I882944

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 **(11)證書號數：TW I882944 B**

(45)公告日： 中華民國 114 (2025) 年 05 月 11 日

(21)申請案號：107114322 (22)申請日： 中華民國 107 (2018) 年 04 月 26 日

(51)Int. Cl.： *C07K14/725 (2006.01)* *C12N15/12 (2006.01)*
C12N5/0783 (2010.01) *A61K35/17 (2025.01)*

(30)優先權：2017/04/26 美國 62/490,576
2017/04/26 美國 62/490,578
2017/04/26 美國 62/490,580

(71)申請人：美商優瑞科生物技術公司 (美國) EUREKA THERAPEUTICS, INC. (US)
美國

(72)發明人：霍蘭 盧卡斯 HORAN, LUCAS (US)；許 奕陽 XU, YIYANG (US)；楊智源 YANG, ZHIYUAN (CN)；劉 宏 LIU, HONG (US)；莫勞斯 賈維亞 MORALES, JAVIER (US)；劉連興 LIU, LIANXING (CN)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：
WO 2014/039523A1

審查人員：吳祖漢

申請專利範圍項數：16 項 圖式數：15 共 359 頁

(54)名稱

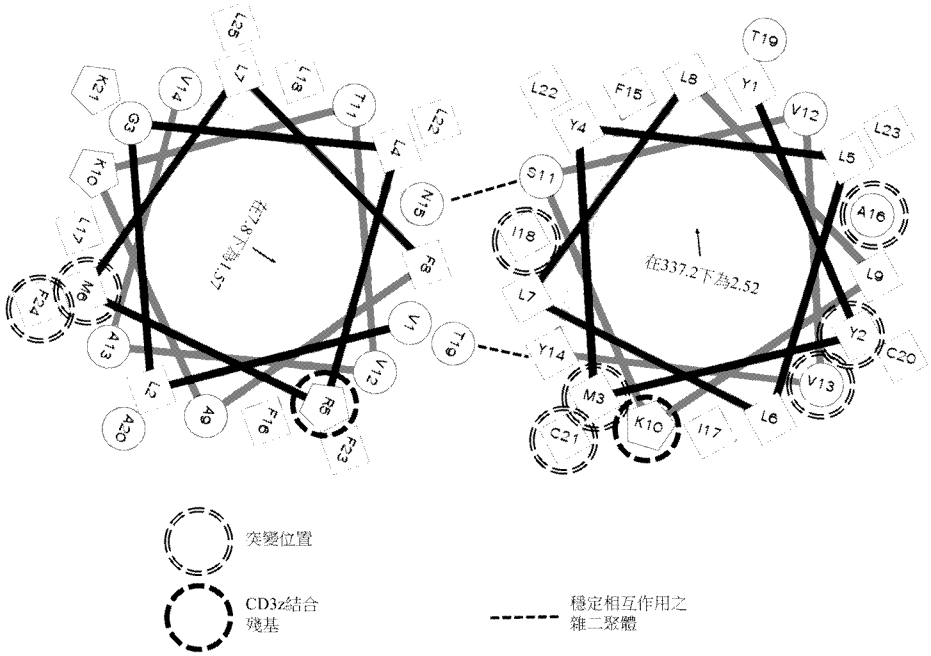
嵌合抗體/ T-細胞受體構築體及其用途

(57)摘要

本申請案提供嵌合抗體-TCR 構築體，其包含特異性結合於靶抗原之抗原結合模組及能夠募集至少一種 TCR 相關信號傳導分子之 T 細胞受體模組。亦提供製造及使用此等構築體之方法。

The present application provides chimeric antibody-TCR constructs comprising an antigen-binding module that specifically binds to a target antigen and a T cell receptor module capable of recruiting at least one TCR-associated signaling molecule. Also provided are methods of making and using these constructs.

指定代表圖：



【圖3】

I882944

【發明摘要】

【中文發明名稱】

嵌合抗體/ T-細胞受體構築體及其用途

【英文發明名稱】

CHIMERIC ANTIBODY/ T-CELL RECEPTOR CONSTRUCTS AND USES THEREOF

【中文】

本申請案提供嵌合抗體-TCR構築體，其包含特異性結合於靶抗原之抗原結合模組及能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子之T細胞受體模組。亦提供製造及使用此等構築體之方法。

【英文】

The present application provides chimeric antibody-TCR constructs comprising an antigen-binding module that specifically binds to a target antigen and a T cell receptor module capable of recruiting at least one TCR-associated signaling molecule. Also provided are methods of making and using these constructs.

【指定代表圖】

圖3

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

嵌合抗體/ T-細胞受體構築體及其用途

【英文發明名稱】

CHIMERIC ANTIBODY/ T-CELL RECEPTOR CONSTRUCTS AND USES THEREOF

【技術領域】

【0001】 本發明係關於嵌合抗體-TCR構築體，其包含特異性結合於一或多種靶抗原之抗原結合模組及能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子之T細胞受體模組。

【先前技術】

【0002】 T細胞介導免疫為發展出抗原(Ag)-特異性T淋巴細胞來消除病毒、細菌、寄生蟲感染或惡性細胞的適應過程。其亦可涉及自體抗原之異常識別，導致自體免疫性發炎疾病。T淋巴細胞之Ag特異性係基於T細胞受體(TCR)對由主要組織相容性複合體(MHC)分子於Ag呈遞細胞(APC)上呈遞之獨特抗原肽的識別(Broere等人, *Principles of Immunopharmacology*, 2011)。由於在胸腺中成熟後之發育選擇，各T淋巴細胞於細胞表面上表現獨特的TCR。TCR以兩種形式存在：αβ雜二聚體或γδ雜二聚體。T細胞於細胞表面上表現αβ形式或γδ形式之TCR。四條鏈α/β/γ/δ均具有由高度多形「免疫球蛋白可變區」樣N端域及「免疫球蛋白恆定區」樣第二域組成的特徵性胞外結構。此等域各自具有特徵性域內二硫橋鍵。恆定區鄰近細胞膜，其後為連接肽、跨膜區及短胞質尾區。雜二聚TCR之2條鏈之間的共價鍵係由位於短連接肽序列內的半胱胺酸殘基

形成，該短連接肽序列橋接胞外恆定域與跨膜區，該半胱胺酸殘基與所配對的TCR鏈半胱胺酸殘基在對應位置形成二硫鍵(The T cell Receptor Factsbook, 2001)。

【0003】 αβ及γδ TCR與非多形膜結合CD3蛋白結合以形成功能性八聚TCR-CD3複合體，由TCR雜二聚體及三個二聚信號傳導分子CD3δ/ε、CD3γ/ε及CD3ζ/ζ或ζ/η組成。各次單元之跨膜域中之可電離殘基形成將複合體固定在一起的極性相互作用網。關於T細胞活化，TCR N端可變區識別於靶細胞表面上呈遞之肽/MHC複合體，而CD3蛋白則參與信號轉導(Call等人, *Cell*. 111(7):967-79, 2002；The T cell Receptor Factsbook, 2001)。

【0004】 αβ TCR亦稱作習知TCR，表現於大部分淋巴細胞上且由糖基化多形α及β鏈組成。不同的αβ TCR可區分嵌入於尺寸及形狀相對恆定的MHC II (大部分表現於APC細胞表面上)及MHC I (表現於所有有核細胞上)分子之表面中的不同肽。γδ TCR儘管在結構上類似於αβ TCR，但以與MHC呈遞無關的方式識別攜帶碳水化合物、核苷酸或磷光體之抗原(The T cell Receptor Factsbook, 2001；Girardi等人, *J. Invest. Dermatol*. 126(1):25-31, 2006；Hayes等人, *Immunity*. 16(6):827-38, 2002)。

【0005】 在過去的二十年裏，在免疫學及腫瘤生物學方面的根本性進展以及大量腫瘤抗原之鑑別促成了基於細胞之免疫療法領域的顯著進展。在基於細胞之免疫療法領域中，T細胞療法佔據重要位置，其目標為藉由將自體及離體擴增的T細胞轉移給患者來治療癌症，且已產生了一些值得注意的抗腫瘤反應(Blattman等人, *Science*. 305(5681):200-5, 2004)。舉例而言，在黑色素瘤患者中，包括龐大的侵襲性腫瘤，在包含

肝、肺、軟組織及大腦之多個部位投與經離體擴增的天然存在之腫瘤浸潤性淋巴細胞(TIL)可介導在50-70%範圍內的客觀反應率(Rosenberg等人, *Nat. Rev. Cancer*. 8(4):299-308, 2008；Dudley ME等人, *J. Clin. Oncol*. 23(10):2346-57, 2005)。

【0006】 TIL療法之普遍應用的主要限制為難以產生具有抗腫瘤潛力的人類T細胞。作為替代方法，可經由T細胞工程改造將外源性高親和力TCR引入患者之正常自體性T細胞中。此等細胞至淋巴缺乏患者中之授受性轉移已顯示可介導諸如黑色素瘤、結腸直腸癌及滑膜肉瘤之癌症的癌症消退(Kunert R等人, *Front. Immunol*. 4:363, 2013)。最新的I期臨床試驗使用針對滑膜肉瘤之抗NY-ESO-1 TCR，報導66%之整體反應率且在一名接受T細胞療法之患者中達成完全反應(Robbins PF等人, *Clin. Cancer Res*. 21(5):1019-27, 2015)。

【0007】 TCR工程改造T細胞療法之優勢之一在於其可靶向潛在胞內腫瘤特異性蛋白之整個陣列，該等蛋白質經由MHC呈遞經處理及傳遞至細胞表面。另外，TCR為高度敏感的且可僅由一些抗原肽/MHC分子活化，其又可觸發細胞溶解性T細胞反應，包括細胞介素分泌、T細胞增殖及限定靶細胞之細胞溶解。因此，相較於抗體或小分子療法，經TCR工程改造之T細胞因其以胞內靶抗原之極少複本殺滅靶細胞的能力而特別有價值(Kunert R等人, *Front. Immunol*. 4:363, 2013)。

【0008】 然而，不同於治療性抗體，其多半經由融合瘤或呈現技術發現，靶特異性TCR之鑑別要求自患者T細胞建立靶肽/MHC特異性TCR純系且篩選出具有最佳靶抗原結合親和力的正確α-β鏈組合。經常在自患者T細胞選殖TCR之後採用噬菌體/酵母呈現來進一步增強TCR之靶標結合

親和力。整個過程要求諸多領域的專業知識且耗時(Kobayashi E等人, *Oncoimmunology*. 3(1):e27258, 2014)。TCR探索過程中之困難極大地阻礙了經TCR工程改造之T細胞療法的普遍應用。其亦受到治療相關之毒性的妨礙，尤其是針對於腫瘤細胞上過度表現且亦表現於健康細胞上之抗原的TCR，或識別脫靶肽/MHC複合體之TCR (Rosenberg SA等人, *Science*. 348(6230):62-8, 2015)。

【0009】近年來已研發出一種不同的方法來使T細胞參與靶向癌症免疫療法。此新方法稱作嵌合抗原受體T細胞療法(CAR-T)。其合併單株抗體之敏銳的靶向特異性與由細胞毒性T細胞提供之強力細胞毒性及長期存留。CAR係由識別細胞表面抗原之胞外域、跨膜區及胞內信號傳導域構成。胞外域由來自單株抗體之重鏈及輕鏈的抗原結合可變區組成，該等可變區融合成單鏈可變片段(scFv)。胞內信號傳導域含有基於免疫受體酪胺酸之活化基元(ITAM)，諸如來自CD3ζ或FcRγ之彼等，及一或多個協同刺激信號傳導域，諸如來自CD28、4-1BB或OX40之彼等(Barrett DM等人, *Annu. Rev. Med*. 65:333-47, 2014；Davila ML等人, *Oncoimmunology*. 1(9):1577-1583, 2012)。移植至T細胞表面上之CAR對靶抗原的結合可觸發與TCR-肽/MHC複合體相互作用無關的T細胞效應功能。因此，具有CAR之T細胞可重定向以攻擊多種細胞，包括不匹配T細胞上之TCR之MHC類型但表現靶細胞表面抗原的彼等細胞。此方法克服了MHC限制性TCR識別的約束且避免了經由抗原呈遞或MHC分子表現障礙所致的腫瘤逃逸。臨床試驗已顯示CAR-T療法在神經母細胞瘤(Louis CU等人, *Blood*. 118(23):6050-6056, 2011)、B-ALL (Maude, SL等人, *New England Journal of Medicine* 371:16:1507-1517, 2014)、CLL

(Brentjens, RJ等人 *Blood* 118:18:4817-4828, 2011)及B細胞淋巴瘤(Kochenderfer, JN等人 *Blood* 116:20:4099-4102, 2010)中在臨床上具有顯著抗腫瘤活性。在一個研究中，報導用CD19-CAR T療法治療之30位患有B-ALL之患者中90%之完全緩解率(Maude, SL等人，同前文獻)。

【0010】 迄今為止的大部分(若非全部) CAR研究均針對具有高細胞表面表現之腫瘤抗原。為靶向低複本數細胞表面腫瘤抗原及胞內腫瘤抗原，其代表95%之所有已知的腫瘤特異性抗原，需要研發更強力且更有效的經工程改造之細胞療法(Cheever等人, *Clin. Cancer Res.* 15(17):5323-37, 2009)。

【0011】 已作出若干嘗試來工程改造具有抗體特異性與T細胞受體效應功能的嵌合受體分子。參見例如Kuwana, Y等人, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 149(3):960-968, 1987；Gross, G等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 86:10024-10028, 1989；Gross, G及Eshhar, Z, *FASEB J.* 6(15):3370-3378, 1992；及美國專利第7,741,465號。迄今為止，此等嵌合受體中無一者用於臨床使用，且需要針對在人類T細胞中具有改良表現及功能的抗體-TCR嵌合受體的新穎設計。

【0012】 本文所提及之所有公開案、專利、專利申請案及公開專利申請案之揭示內容特此以全文引用的方式併入本文中。PCT申請案第PCT/US2016/058305號特此以全文引用的方式併入本文中。

【發明內容】

【0013】 在一個態樣中，本申請案提供一種構築體(諸如經分離構築體)，其包含融合於T細胞受體模組的抗原結合模組(諸如抗體部分) (該構築體在本文中亦稱作「嵌合抗體-TCR分子」或「caTCR」)。在一些實施

例中，caTCR包含特異性結合於靶抗原之抗原結合模組及能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子之T細胞受體模組(TCRM)。在一些實施例中，靶抗原為包含肽及MHC蛋白(諸如MHC I類蛋白質或MHC II類蛋白質)的複合體。在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。

【0014】在一些實施例中，提供一種嵌合抗體-T細胞受體(TCR)構築體(caTCR)，其包含：抗原結合模組，該抗原結合模組特異性結合於靶抗原，及T細胞受體模組(TCRM)，該T細胞受體模組包含含有第一TCR跨膜域(TCR-TM)之第一TCR域(TCRD)及含有第二TCR-TM之第二TCRD，其中該等TCR-TM中之至少一者為非天然存在的，其中該TCRM有助於至少一種TCR相關信號傳導分子之募集，且其中該抗原結合模組並非天然存在之T細胞受體抗原結合部分。

【0015】在一些實施例中，提供一種caTCR，其包含：a)多特異性(例如，雙特異性)抗原結合模組，其包含特異性結合於第一靶抗原之第一抗原結合域及特異性結合於第二靶抗原之第二抗原結合域；以及b) TCRM，其包含含有第一TCR-TM之第一TCRD (TCRD1)及含有第二TCR-TM之第二TCRD (TCRD2)；其中該TCRM有助於募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該等TCR-TM中之至少一者為非天然存在的。在一些實施例中，該第一TCR-TM及該第二TCR-TM為天然存在的。

【0016】在一些實施例中，提供一或多種核酸，其編碼本文所描述之caTCR。在一些實施例中，提供一或多種載體，其包含該一或多種核酸。在一些實施例中，提供一種組合物，其包含該一或多種核酸或該一或多種載體。在一些實施例中，提供一種效應細胞，其包含該一或多種核酸

或該一或多種載體。

【0017】在一些實施例中，提供一種複合體，其包含如本文所描述之caTCR及選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的至少一種TCR相關信號傳導分子。

【0018】在一些實施例中，提供一種組合物，諸如醫藥組合物，其包含本文所描述之效應細胞。

【0019】在一些實施例中，提供一種殺滅呈遞靶抗原之靶細胞的方法，其包含使該靶細胞與本文所描述之效應細胞接觸。

【0020】在一些實施例中，提供一種治療有需要之個體之靶抗原相關疾病的方法，其包含向個體投與有效量之本文所描述之醫藥組合物。

【0021】在一些實施例中，提供一種富集異質細胞群體中本文所描述之效應細胞的方法，其包含：a)使異質細胞群體與包含靶抗原或其中所含之一或多個抗原決定基的配體接觸以形成效應細胞結合於配體之複合體；以及b)自異質細胞群體分離複合體，從而產生效應細胞富集的細胞群體。

【0022】在一些實施例中，提供一種核酸庫，其包含編碼如本文所描述之複數種caTCR之序列。在一些實施例中，提供一種針對對靶抗原具有高親和力之caTCR篩選本文所描述之庫的方法，其包含：a)將核酸庫引入至複數個細胞中，使得caTCR表現於複數個細胞之表面上；b)與包含靶抗原或其中所含之一或多個抗原決定基之配體一起培育複數個細胞；c)收集結合於配體之細胞；以及d)自在步驟c)中所收集的細胞分離編碼caTCR之序列，從而鑑別對靶抗原具有特異性之caTCR。

【圖式簡單說明】

【0023】 圖1展示具有不同抗原結合模組之若干caTCR分子之示意性表示。

【0024】 圖2展示caTCR-1-0構築體之示意性表示，突出顯示進行突變以產生TM突變體的其跨膜區。

【0025】 圖3展示caTCR跨膜區之螺旋輪投影。突出顯示進行突變以獲得跨膜突變體之胺基酸位置。

【0026】 圖4展示JRT3.1細胞上的caTCR跨膜突變體及CD3表現，其呈利用具有抗AFP158/HLA-A*2:01結合部分之caTCR-1-0轉導之細胞上的個別MFI表現的百分比。使用表面CD3ε或caTCR受體之流式細胞測量術分析來計算各個別受體之MFI。

【0027】 圖5展示用於查詢內源性CD3複合體與caTCR-1-0或caTCR-1-TM突變體之間的結合親和力的西方墨點分析。利用抗FLAG及抗CD3ζ抗體對來自利用caTCR-1-0或caTCR-1跨膜突變體(-TM6、-TM10)轉導之JRT3-T3.5細胞的分解物或抗FLAG免疫沈澱物進行印跡。

【0028】 圖6展示自殺滅癌細胞株SK-HEP-1及SK-HEP-1-AFP-MG之特異性裂解百分比，該殺滅由模擬轉導T細胞或caTCR-1-0轉導T細胞或利用具有抗AFP158/HLA-A*2:01結合部分之caTCR-1跨膜突變體轉導的T細胞介導。

【0029】 圖7展示在活體外由利用具有抗AFP158/HLA-A*2:01結合部分之caTCR-1-0或caTCR -1跨膜突變體轉導的T細胞殺滅癌細胞株SK-HEP-1-AFP-MG之後，上清液中發現之細胞介素的濃度。

【0030】 圖8展示自殺滅癌細胞株SK-HEP-1及SK-HEP-1-AFP-MG之特異性裂解百分比，該殺滅由模擬轉導T細胞或caTCR-1-0轉導T細胞或

利用具有抗AFP158/HLA-A*2:01結合部分之caTCR-1跨膜突變體轉導的T細胞介導。

【0031】圖9展示在活體外由利用具有抗AFP158/HLA-A*2:01結合部分之caTCR-1-0或caTCR-1跨膜突變體轉導的T細胞殺滅癌細胞株SK-HEP-1-AFP-MG之後，上清液中發現之細胞介素的濃度。

【0032】圖10展示自殺滅癌細胞株NALM6之特異性裂解百分比，該殺滅由caTCR-1-0轉導T細胞或利用具有抗CD19結合部分之caTCR-TM5跨膜突變體轉導的T細胞介導。

【0033】圖11展示在活體外由模擬轉導T細胞或caTCR-1-0轉導T細胞或利用具有抗CD19結合部分之caTCR-1-TM5跨膜突變體轉導的T細胞殺滅癌細胞株NALM6之後，上清液中發現之細胞介素的濃度。

【0034】圖12A及12B展示caTCR-1-0轉導T細胞或利用caTCR-1-TM5轉導的T細胞內之CFSE量，作為回應於NALM6腫瘤細胞之刺激的增殖速率的論證。腫瘤細胞裂解後之活T細胞之數目列舉於表5中。

【0035】圖13A-13E展示例示性雙特異性caTCR分子之示意性結構。

【0036】圖14展示在活體外將癌細胞株K562、K562-CD19 ($CD19^+$)、K562-CD22 ($CD22^+$)、Raji及Raji CD19 K/O與模擬轉導T細胞或利用編碼雙特異性caTCR構築體抗CD19抗CD22 caTCR-7-2a之載體轉導的T細胞一起培育之後，上清液中發現之IFNγ的濃度。

【0037】圖15展示自殺滅癌細胞株K562、K562-CD19 ($CD19^+$)、K562-CD22 ($CD22^+$)及K562-CD19/CD22 ($CD19^+CD22^+$)之特異性裂解百分比，該殺滅由利用編碼抗CD19 caTCR-1或四個不同抗CD19抗CD22

caTCR構築體中之一者的載體轉導的T細胞介導。

【實施方式】

相關申請案之交叉參考

【0038】本申請案主張2017年4月26日提交之美國臨時申請案第62/490,576號、2017年4月26日提交的美國臨時申請案第62/490,578號及2017年4月26日提交的美國臨時申請案第62/490,580號之優先權，該等申請案之內容全部以全文引用之方式併入本文中。

以ASCII正文檔案形式提交序列表

【0039】以下以ASCII正文檔案提交之內容係以全文引用的方式併入本文中：電腦可讀形式(CRF)之序列表(檔案名稱：750042000640SEQLIST.txt，記錄日期：2018年4月24日，大小：168 KB)。

【0040】在一個態樣中，本申請案提供一種經分離嵌合抗體/T細胞受體構築體(在本文中被稱作「caTCR」)，其包含特異性結合於靶抗原的抗原結合模組及包含一或多個非天然存在之TCR衍生的跨膜域的T細胞受體模組(TCRM)，其中TCRM能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在另一態樣中，本申請案提供一種caTCR，其包含特異性結合於兩個或多於兩個不同靶抗原或抗原決定基的多特異性(諸如雙特異性)抗原結合模組及包含天然存在之或非天然存在之TCR衍生的跨膜域的TCRM。本文所描述之caTCR特異性地重新引導人類T細胞殺滅表現靶抗原的病變細胞。靶抗原可為細胞表面上表現之蛋白質或包含肽與MHC蛋白之複合體(在本文中被稱作「pMHC複合體」或「pMHC」)，諸如病變細胞表面上之呈遞MHC的疾病相關抗原肽。caTCR受控制T細胞受體活化之天然存在的機制

調節，但該T細胞受體不同於天然存在之T細胞受體，其包括增強表面表現及/或功能的修飾。

【0041】 吾人已研發出一系列新穎及合成的嵌合抗體-TCR構築體，其包括非天然存在之TCR序列之變異體，該等變異體相較於僅具有天然存在之TCR序列的類似構築體改良表面表現及/或功能。吾人亦已研發出多特異性嵌合抗體-TCR構築體，其特異性地識別多種靶抗原，以減少抗原逃逸。可有效地在T細胞表面上表現caTCR，且已證實，其與內源性CD3分子結合形成穩定的TCR樣信號複合體。當經工程改造至T細胞中時，caTCR以MHC依賴性(肽/MHC抗原)及MHC非依賴性(細胞表面抗原)組態賦予T細胞活體外及活體內針對攜帶靶標之腫瘤細胞的強力細胞毒性。

【0042】 因此，本申請案之一個態樣提供一種caTCR (諸如經分離caTCR)，其包含特異性結合於靶抗原的抗原結合模組及包含一或多個非天然存在之TCR衍生的跨膜域的T細胞受體模組(TCRM)，其中TCRM能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子。caTCR可呈在抗原結合模組及/或TCRM中具有變異的多種型式中之任一者。舉例而言，caTCR可具有抗原結合模組，其包含選自由Fab、Fab'、$(Fab')_2$、Fv及scFv組成之群的部分；及TCRM，其包含源自α/β及/或γ/δ TCR之一或多個非天然存在之序列，包括跨膜域、連接肽及胞內域中之一或多者的變異體。對於例示性caTCR構築體設計，參見圖1。

【0043】 本申請案之另一態樣提供一種caTCR，其包含：a)多特異性(例如，雙特異性)抗原結合模組，其包含特異性結合於第一靶抗原之第一抗原結合域及特異性結合於第二靶抗原之第二抗原結合域；及b) TCRM，其包含含有第一TCR-TM之第一TCRD (TCRD1)及含有第二

TCR-TM之第二TCRD (TCRD2)；其中該TCRM有助於募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，第一靶抗原為CD19且第二靶抗原為CD22，或者第一靶抗原為CD22且第二靶抗原為CD19。在一些實施例中，第一靶抗原為CD19且第二靶抗原為CD20，或者第一靶抗原為CD20且第二靶抗原為CD22。在一些實施例中，TCRM包含一或多個非天然存在之TCR衍生的跨膜域。對於例示性多特異性caTCR構築體設計，參見圖13A-13E。

【0044】 在另一態樣中，提供一或多個核酸，其編碼caTCR。

【0045】 在又一態樣中，提供一種複合體(在本文中被稱作「caTCR-CD3複合體」)，其包含caTCR及至少一種TCR相關信號傳導分子。複合體可為包含四個二聚體caTCR、CD3δε、CD3γε及ζζ之八聚體。亦提供一種效應細胞，諸如T細胞，其表現caTCR或caTCR-CD3複合體或者與caTCR或caTCR-CD3複合體結合。

【0046】 在又一態樣中，提供一種組合物，其包含caTCR。組合物可為包含caTCR或效應細胞之醫藥組合物，該效應細胞表現caTCR或與caTCR結合(例如，表現caTCR之T細胞)。

【0047】 亦提供caTCR (或表現caTCR或與caTCR結合之細胞)的出於治療目的的製造及使用方法，以及適用於此類方法之套組及製品。進一步提供使用caTCR (或表現caTCR或與caTCR結合之細胞)治療疾病之方法。

定義

【0048】 術語「抗體」或「抗體部分」包括全長抗體及其抗原結合片段。全長抗體包含兩個重鏈及兩個輕鏈。輕鏈及重鏈之可變區負責抗原

結合。兩種鏈中之可變區一般均含有三個稱作互補決定區(CDR)之高度可變環(輕鏈(LC) CDR包括LC-CDR1、LC-CDR2及LC-CDR3，重鏈(HC) CDR包括HC-CDR1、HC-CDR2及HC-CDR3)。本文所揭示之抗體及抗原結合片段之CDR邊界可藉由Kabat、Chothia或Al-Lazikani慣例(Al-Lazikani 1997；Chothia 1985；Chothia 1987；Chothia 1989；Kabat 1987；Kabat 1991)界定或鑑別。重鏈或輕鏈之三個CDR插入於稱為構架區(FR)之側接伸長部之間，該等側接伸長部比CDR更高度保守且形成支撐高變環之架構。重鏈及輕鏈之恆定區不參與抗原結合，但展現各種效應功能。抗體基於其重鏈之恆定區之胺基酸序列歸為各種類別。五種主要抗體類別或同型為IgA、IgD、IgE、IgG及IgM，其特徵為分別存在α、δ、ε、γ及μ重鏈。若干主要抗體類別分成子類，如lgG1 (γ1重鏈)、lgG2 (γ2重鏈)、lgG3 (γ3重鏈)、lgG4 (γ4重鏈)、lgA1 (α1重鏈)或lgA2 (α2重鏈)。

【0049】 如本文所用之術語「抗原結合片段」係指抗體片段，其包括例如雙功能抗體、Fab、Fab'、F(ab')2、Fv片段、二硫鍵穩定的Fv片段(dsFv)、(dsFv)2、雙特異性dsFv (dsFv-dsFv')、二硫鍵穩定的雙功能抗體(ds雙功能抗體)、單鏈抗體分子(scFv)、scFv二聚體(二價雙功能抗體)、由包含一或多個CDR之抗體的一部分形成之多特異性抗體、駱駝的單域抗體、奈米抗體、域抗體、二價域抗體、或結合於抗原但不包含完整抗體結構之任何其他抗體片段。抗原結合片段能夠結合於與親本抗體或親本抗體片段(例如親本scFv)所結合相同之抗原。在一些實施例中，抗原結合片段可包含接枝至來自一或多種不同人類抗體之構架區的來自特定人類抗體之一或多種CDR。

【0050】 如本文所用，當在等莫耳濃度之第一抗體部分存在下，第一抗體部分抑制第二抗體部分之靶抗原結合至少約50% (諸如至少約55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%中之任一者)時，第一抗體部分與第二抗體部分「競爭」結合於靶抗原，或反之亦然。基於抗體之交叉競爭而將其「裝箱」之高通量方法描述於PCT公開案第WO 03/48731號中。

【0051】 如本文所用，術語「特異性結合」或「對.....具有特異性」係指可量測及可再現相互作用，諸如靶標與抗體或抗體部分之間的結合，其在非均質分子(包括生物分子)群體存在下決定靶標之存在。舉例而言，特異性結合於靶標(其可為抗原決定基)之抗體部分為以比其結合於其他靶標更高的親和力、親和性、更容易及/或更長持續時間結合靶標的抗體部分。在一些實施例中，特異性結合於抗原之抗體部分與抗原(例如細胞表面抗原或肽/MHC蛋白複合體)之一或多個抗原決定子，以呈其針對其他靶標之結合親和力至少約10倍的結合親和力反應。

【0052】 術語「T細胞受體」或「TCR」係指由T細胞表面上配對的αβ或γδ鏈構成之雜二聚體受體。各α、β、γ及δ鏈由兩個Ig樣域構成：經由互補決定區(CDR)賦予抗原識別之可變域(V)，隨後為藉由連接肽及跨膜(TM)區錨定至細胞膜的恆定域(C)。TM區與CD3信號傳導設備之恆定次單元結合。V域各自具有三個CDR。此等CDR與結合於由主要組織相容性複合體(pMHC)編碼之蛋白質的抗原肽之間的複合體相互作用(Davis及Bjorkman (1988) Nature, 334, 395-402；Davis等人 (1998) Annu Rev Immunol, 16, 523-544；Murphy (2012), xix, 第868頁)。

【0053】 術語「TCR相關信號傳導分子」係指具有基於細胞質免疫

受體酪胺酸之活化基元(ITAM)的分子，其為TCR-CD3複合體之一部分。TCR相關信號傳導分子包括CD3γε、CD3δε及ζζ (亦稱為CD3ζ或CD3ζζ)。

【0054】 如本文關於表現CD3之細胞所用的「活化」係指已經足夠刺激以誘導CD3信號傳導路徑之下游效應功能(包括但不限於細胞增殖及細胞介素產生)的可偵測提高的細胞之狀態。

【0055】 當提及蛋白質或蛋白質之一部分時，術語「模組」意謂包括一或多個多肽鏈(例如二聚體蛋白質或二聚體蛋白質之一部分)。可諸如藉由連接子(例如肽連接子)或化學鍵(例如肽連接)來連接一或多個鏈。「模組」亦意謂包括一或多個構成蛋白質之多肽的結構上及/或功能上相關部分。舉例而言，二聚體受體之跨膜模組可指受體之各多肽鏈之跨膜部分。模組亦可指單一多肽鏈之相關部分。舉例而言，單體受體之跨膜模組可指受體之單一多肽鏈之跨膜部分。模組亦可僅包括多肽之單一部分。

【0056】 如本文所用之「經分離」構築體(諸如caTCR)係指(1)不與自然界中發現之蛋白質結合，(2)不含來自相同來源之其他蛋白質，(3)由來自不同物種之細胞表現，或(4)不存在於自然界中之構築體。

【0057】 如本文所用之術語「經分離核酸」欲意謂基因組核酸、cDNA或合成來源或其某一組合之核酸，藉助於其來源，「經分離核酸」(1)不與發現「經分離核酸」之自然界中之所有或一部分聚核苷酸結合，(2)可操作地連接於自然界中不與其連接之聚核苷酸，或(3)在自然界中不作為較大序列之部分存在。

【0058】 如本文所用，術語「CDR」或「互補決定區」意欲意謂重鏈與輕鏈多肽兩者之可變區內存在的非鄰接抗原組合位點。以下文獻已對此等特定區進行描述：Kabat等人, J. Biol. Chem. 252:6609-6616

(1977)；Kabat等人，U.S. Dept. of Health and Human Services,「Sequences of proteins of immunological interest」(1991)；Chothia等人, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)；Al-Lazikani B.等人, *J. Mol. Biol.*, 273: 927-948 (1997)；MacCallum等人，J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996)；Abhinandan及Martin, *Mol. Immunol.*, 45: 3832-3839 (2008)；Lefranc M.P.等人，*Dev. Comp. Immunol.*, 27: 55-77 (2003)；以及Honegger及Plückthun, *J. Mol. Biol.*, 309:657-670 (2001)，其中當彼此對照比較時，定義包括胺基酸殘基之重疊或子集。儘管如此，使用任一定義來提及抗體或接枝抗體之CDR或其變異體意欲屬於如本文所定義及使用之術語的範疇。涵蓋如上文所引用之參考文獻中之每一者所定義之CDR的胺基酸殘基闡述於下表1中作為比較。CDR預測演算法及介面為此項技術中已知的，包括(例如)Abhinandan及Martin, *Mol. Immunol.*, 45: 3832-3839 (2008)；Ehrenmann F.等人, *Nucleic Acids Res.*, 38: D301-D307 (2010)；以及Adolf-Bryfogle J.等人, *Nucleic Acids Res.*, 43: D432-D438 (2015)。此段落中所引用之參考文獻內容以其全文引用的方式併入本文中以用於本發明中且可能包括於本文的一或多個技術方案中。

表1：CDR定義

	Kabat[1]	Chothia[2]	MacCallum[3]	IMGT[4]	AHo[5]
V_H CDR1	31-35	26-32	30-35	27-38	25-40
V_H CDR2	50-65	53-55	47-58	56-65	58-77
V_H CDR3	95-102	96-101	93-101	105-117	109-137
V_L CDR1	24-34	26-32	30-36	27-38	25-40
V_L CDR2	50-56	50-52	46-55	56-65	58-77
V_L CDR3	89-97	91-96	89-96	105-117	109-137

[1]殘基編號遵循前述Kabat等人之命名法
[2]殘基編號遵循前述Chothia等人之命名法
[3]殘基編號遵循前述MacCallum等人之命名法
[4]殘基編號遵循前述Lefranc等人之命名法
[5]殘基編號遵循前述Honegger及Plückthun之命名法

【0059】 術語「嵌合抗體」係指其中重鏈及/或輕鏈之一部分與源自特定物種或屬於特定抗體類別或子類別之抗體中之對應序列一致或與其同源，而其餘鏈與源自另一物種或屬於另一抗體類別或子類別之抗體中之對應序列一致或與其同源的抗體，以及此類抗體之片段，只要其展現本發明之生物活性即可(參見美國專利第4,816,567號；及Morrison等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984))。

【0060】 關於抗體或抗體部分之術語「半合成」意謂抗體或抗體部分具有一或多個天然存在之序列及一或多個非天然存在之(亦即合成)序列。

【0061】 關於抗體或抗體部分之術語「全合成」意謂抗體或抗體部分具有固定的、大部分或所有天然存在之V_H/V_L構架配對，而非重鏈及輕鏈兩者之所有6種CDR之非天然存在之(亦即合成)序列。非天然存在之CDR包括包含經修飾之人類CDR序列，諸如藉由保守胺基酸取代修飾或引入半胱胺酸殘基之CDR序列的彼等CDR。

【0062】 非人類(例如嚙齒動物)抗體之「人類化」形式係含有源自非人類免疫球蛋白之最小序列的嵌合抗體。在極大程度上，人類化抗體為人類免疫球蛋白(接受者抗體)，其中來自接受者的高變區(HVR)之殘基經來自諸如具有期望抗體特異性、親和力及能力之小鼠、大鼠、家兔或非人類靈長類動物之非人類物種(供體抗體)的高變區之殘基置換。在一些情況下，人類免疫球蛋白之構架區(FR)殘基經對應非人類殘基置換。此外，人類化抗體可包含在接受者抗體或供者抗體中未發現之殘基。進行此等修飾以進一步改進抗體效能。一般而言，人類化抗體將包含至少一個且通常兩個可變域中的實質上所有可變域，其中所有或實質上所有高變環對應於非

人類免疫球蛋白之高變環且所有或實質上所有FR為人類免疫球蛋白序列之FR。人類化抗體視情況亦將包含免疫球蛋白恆定區(Fc)之至少一部分，通常，人類免疫球蛋白之恆定區的至少一部分。關於其他細節，參見Jones等人，*Nature* 321:522-525 (1986)；Riechmann等人，*Nature* 332:323-329 (1988)；及Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596 (1992)。

【0063】「同源」係指兩個多肽之間或兩個核酸分子之間的序列相似性或序列一致性。當兩個比較序列中之一個位置由相同鹼基或胺基酸單體次單元佔據時，例如若兩個DNA分子中之每一者中的一個位置由腺嘌呤佔據，則該等分子在該位置處「同源」。兩個序列之間的「同源性百分比」或「序列一致性百分比」為兩個序列共用之匹配或同源位置之數目除以所比較位置之數目乘以100之函數，任何保守取代視為序列一致性之一部分。舉例而言，若兩個序列中之10個位置中有6個匹配或同源，則兩個序列為60%同源。舉例而言，DNA序列ATTGCC及TATGGC共用50%同源性。一般而言，當兩個序列經比對以產生最大百分比同源時進行比較。出於測定胺基酸序列一致性百分比目的之比對可以此項技術中之技能範圍內的各種方式達成，例如使用公開可獲得之電腦軟體，諸如BLAST、BLAST-2、ALIGN、Megalign (DNASTAR)或MUSCLE軟體。熟習此項技術者可判定用於量測比對(包括用於達成所比較序列之全長內之最大比對所需的任何演算法)之適當參數。然而，出於本文之目的，使用序列比較電腦程式MUSCLE產生胺基酸序列一致性%值(Edgar, R.C., *Nucleic Acids Research* 32(5):1792-1797, 2004；Edgar, R.C., *BMC Bioinformatics* 5(1):113, 2004)。

【0064】人類IgG之「C_H1域」(亦被稱作「H1」域之「C1」域)通

常自約胺基酸118延伸至約胺基酸215 (EU編號系統)。

【0065】 除非另外指定，否則「編碼胺基酸序列之核苷酸序列」包括為彼此之簡併型式且編碼相同胺基酸序列之所有核苷酸序列。片語編碼蛋白質或RNA之核苷酸序列亦可包括內含子，其達到編碼蛋白質之核苷酸序列可在一些型式中含有內含子之程度。

【0066】 術語「可操作地連接」係指調節序列與異源核酸序列之間的官能鍵，其導致後者之表現。舉例而言，當第一核酸序列與第二核酸序列處於官能性關係時，第一核酸序列可操作地連接第二核酸序列。舉例而言，若啟動子影響編碼序列之轉錄或表現，則啟動子可操作地連接於編碼序列。一般而言，可操作地連接之DNA序列為連續的，且當必需接合兩個蛋白質編碼區時，在相同閱讀框中。

【0067】 術語「誘導性啟動子」係指可藉由添加或移除一或多個特定信號來調節活性的啟動子。舉例而言，誘導性啟動子可在一組特定條件下，例如在活化啟動子及/或緩解啟動子之抑制的誘導劑存在下活化可操作地連接之核酸的轉錄。

【0068】 如本文所用，「治療(treatment/treating)」為用於獲得有益或所需結果(包括臨床結果)之方法。出於本發明之目的，有益或所需臨床結果包括(但不限於)以下中的一或多者：緩解疾病所引起之一或多種症狀、減弱疾病程度、穩定疾病(例如預防或延遲疾病惡化)、預防或延遲疾病擴散(例如轉移)、預防或延遲疾病復發、延遲或減緩疾病進展、改善疾病狀態、使得疾病緩解(部分或完全)、減少治療疾病所需的一或多種其他藥物之劑量、延遲疾病進展、增加或改良生活品質、增大體重增加及/或延長存活期。「治療」亦涵蓋減少疾病之病理性結果(諸如癌症之腫瘤體

積)。本發明之方法涵蓋此等治療態樣中之任何一或多者。

【0069】 術語「復發(recurrence/relapse/relapsed)」係指癌症或疾病在疾病消失之臨床評估之後的恢復。遠端癌轉移或局部復發之診斷可視為復發。

【0070】 術語「難治性」或「耐受性」係指不回應於治療之癌症或疾病。

【0071】 如本文所揭示之caTCR或包含caTCR之組合物的「有效量」為足以進行具體陳述之目的的量。「有效量」可憑經驗及藉由與所陳述目的相關之已知方法判定。

【0072】 術語「治療有效量」係指如本文中所揭示之caTCR或包含caTCR之組合物有效「治療」個體之疾病或病症的量。在癌症之情況下，如本文中所揭示之caTCR或包含caTCR之組合物的治療有效量可降低癌細胞之數目；減小腫瘤尺寸或重量；抑制(亦即在一定程度上減緩且較佳地停止)癌細胞浸潤至周邊器官中；抑制(亦即在一定程度上減緩且較佳地停止)腫瘤癌轉移；在一定程度上抑制腫瘤生長；及/或在一定程度上緩解一或多個與癌症相關之症狀。在如本文所揭示之caTCR或包含caTCR之組合物可預防生長及/或殺滅現有癌細胞之程度上，其可為細胞生長抑制及/或細胞毒性的。在一些實施例中，治療有效量為生長抑制量。在一些實施例中，治療有效量為改良患者之無進展存活期的量。在諸如病毒感染之傳染性疾病之情況下，如本文所揭示之caTCR或包含caTCR之組合物的治療有效量可減少受到病原體感染之細胞的數目；減少源自病原體之抗原的產生或釋放；抑制(亦即在一定程度上減緩且較佳地停止)病原體擴散至未感染細胞中；及/或在一定程度上緩解一或多個與感染相關之症狀。在一些實

施例中，治療有效量為延長患者存活期之量。

【0073】 如本文所用，「醫藥學上可接受」或「藥理學上相容」意謂不為生物學上或其他方面不適宜之物質，例如，該物質可併入向患者投與之醫藥組合物中而不會引起任何顯著不適宜生物效果或以有害方式與含有其之組合物的任何其他組分相互作用。醫藥學上可接受之載劑或賦形劑較佳滿足毒理學及製造測試之所要求標準及/或包括於美國食品藥物管理局(U.S. Food and Drug administration)制定之非活性成分導引(Inactive Ingredient Guide)中。

【0074】 應瞭解，本文所描述之本發明實施例包括「由實施例組成」及/或「基本上由實施例組成」。

【0075】 本文中，對「約」一個值或參數之參考包括(及描述)針對該值或參數本身之變化。舉例而言，提及「約X」之描述包括「X」之描述。

【0076】 如本文所用，提及「並非」一值或參數一般意指及描述「除」一值或參數「以外」。舉例而言，方法不用於治療X型癌症意謂方法用於治療除X以外的類型之癌症。

【0077】 除非上下文另外明確指示，否則如在本文及所附申請專利範圍中所用，單數形式「一(a)」或「一(an)」及「該(the)」包括複數個指示物。

嵌合抗體/T細胞受體(caTCR)構築體

【0078】 在一個態樣中，本發明提供一種靶抗原特異性嵌合抗體/T細胞受體(caTCR)，其特異性結合於靶抗原(諸如細胞表面抗原或肽/MHC複合體)，且能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子(諸如CD3δε、

CD3γε及/或ζζ)，其中caTCR包含至少一個非天然存在之TCR域(諸如非天然存在之TCR跨膜域)。舉例而言，在一些實施例中，TCRM包含一或兩個非天然存在之TCR跨膜域。非天然存在之TCR域可為藉由一個或多個胺基酸之取代、及/或藉由用來自另一TCR之類似域之一部分置換對應域之一部分修飾的天然存在的TCR的對應域。

【0079】 在一個態樣中，本發明提供一種多特異性caTCR，其特異性結合兩個或多於兩個靶抗原或抗原決定基(諸如兩個不同細胞表面抗原)，且能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子(諸如CD3δε、CD3γε及/或ζζ)。在一些實施例中，多特異性抗原結合模組包含雙可變域(DVD)、交叉雙可變(CODV)域一scFv-Fab融合域。在一些實施例中，多特異性抗原結合模組包含第一Fv及第二Fv、第一scFv及第二scFv、或Fab及scFv。在一些實施例中，TCRM包含一或多個非天然存在之TCR域(例如非天然存在之TCR跨膜域)。在一些實施例中，TCRM不包含非天然存在之TCR跨膜域。

【0080】 本文所描述之caTCR包含抗原結合模組(例如單特異性或多特異性抗原結合模組)，其提供抗原特異性及允許CD3募集及信號傳導之T細胞受體模組(TCRM)。抗原結合模組並非天然存在之T細胞受體抗原結合部分。在一些實施例中，抗原結合模組連接於TCRM中之多肽鏈之胺基端。在一些實施例中，抗原結合模組為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。TCRM包含源自一或多個TCR (諸如αβ及/或γδ TCR)之跨膜域(TCR-TM)之跨膜模組，且視情況進一步包含TCR之連接肽或其片段及/或一或多個TCR胞內域或其片段中的一或兩者。在一些實施例中，TCRM包含兩個多肽鏈，各多肽鏈自胺基

端至羧基端包含連接肽、跨膜域及視情況存在之TCR胞內域。在一些實施例中，caTCR包含第一多肽鏈及第二多肽鏈，其中第一及第二多肽鏈一起形成抗原結合模組及TCRM。在一些實施例中，第一及第二多肽鏈為獨立多肽鏈，且caTCR為多聚體，諸如二聚體。在一些實施例中，第一及第二多肽鏈諸如藉由肽鍵或藉由另一化學鍵(諸如，二硫鍵)共價連接。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈藉由至少一個二硫鍵連接。在一些實施例中，caTCR進一步包含一或多個T細胞協同刺激信號傳導序列。一或多個協同刺激信號傳導序列可個別地為協同刺激分子之胞內域之全部或一部分，包括(例如)CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30、CD40、ICOS、淋巴細胞功能相關抗原-1 (LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、與CD83特異性結合之配體及其類似者。在一些實施例中，一或多個協同刺激信號傳導序列係在第一TCR-TM與第一TCR胞內域之間及/或在第二TCR-TM與第二TCR胞內域之間。在一些實施例中，一或多個協同刺激信號傳導序列在第一TCRD及/或第二TCRD之羧基端。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，穩定模組位於抗原結合模組與TCRM之間。在一些實施例中，caTCR進一步包含任何兩個caTCR模組或域之間的間隔模組。在一些實施例中，間隔模組包含連接兩個caTCR模組或域之一或多個肽連接子。

【0081】本文所描述之caTCR (包括包含非天然存在之跨膜域之caTCR及多特異性caTCR)可具有此章節中描述之一或多個特徵。意欲使本文所描述之caTCR之各組分(例如抗原結合模組、TCRD、TCR-TM、間

隔模組、穩定模組、T細胞協同刺激序列及各種連接子等)之特徵中之任一者可彼此組合，如同每一組合經個別描述一般。

【0082】在一些實施例中，抗原結合模組(諸如抗體部分)以下列親和力或K_d特異性結合於靶抗原：a)該親和力為其對其他分子之結合親和力的至少約10倍(包含例如至少約10、20、30、40、50、75、100、200、300、400、500、750、1000或更多倍中之任一者)；b)該K_d不超過其結合於其他分子之K_d的約1/10 (諸如不超過約1/10、1/20、1/30、1/40、1/50、1/75、1/100、1/200、1/300、1/400、1/500、1/750、1/1000或更小中之任一者)。結合親和力可藉由此項技術中已知之方法測定，諸如ELISA、螢光活化細胞分選(FACS)分析或放射免疫沈澱分析(RIA)。K_d可藉由此項技術中已知之方法測定，諸如利用例如Biacore儀器之表面電漿子共振(SPR)分析，或利用例如Sapidyne儀器之動力學排除分析(KinExA)。

【0083】穩定域之實例包括Fc區；鉸鏈區；C_H3域；C_H4域；C_H1或C_L域；白胺酸拉鏈域(例如jun/fos白胺酸拉鏈域，參見例如Kostelney等人，*J. Immunol*, 148: 1547-1553, 1992；或酵母菌GCN4白胺酸拉鏈域)；異白胺酸拉鏈域；二聚合細胞表面受體(例如介白素-8受體(IL-8R)或整合素雜二聚體(諸如LFA-1或GPIIIb/IIIa)之二聚合區；分泌性二聚合配體(例如神經生長因子(NGF)、神經營養蛋白-3 (NT-3)、介白素-8(IL-8)、血管內皮生長因子(VEGF)或腦衍生神經營養因子(BDNF)；參見例如Arakawa等人, *J. Biol. Chem.* 269:27833-27839, 1994，及Radziejewski等人, *Biochem.* 32: 1350, 1993)之二聚合區；捲曲螺旋二聚域(參見例如WO2014152878；Fletcher等人, *ACS Synth. Biol.* 1:240-250, 2012；及

Thomas等人, *J. Am. Chem. Soc.* 135(13):5161-5166, 2013)；以及多肽，其包含至少一個半胱胺酸殘基(例如約一個、兩個或三個至約十個半胱胺酸殘基)，使得可在該多肽與包含至少一個半胱胺酸殘基之第二多肽之間形成二硫鍵。

【0084】 在一些實施例中，本文所描述之TCRM包含：a)第一T細胞受體域(TCRD)，其包含第一TCR跨膜域(TCR-TM)；及b)第二TCRD，其包含第二TCR-TM，其中TCRM有助於募集至少一種TCR相關信號傳導分子，且其中第一TCR-TM及第二TCR-TM為天然存在的。在一些實施例中，本文所描述之TCRM包含：a)第一T細胞受體域(TCRD)，其包含第一TCR跨膜域(TCR-TM)；及b)第二TCRD，其包含第二TCR-TM，其中TCRM有助於募集至少一種TCR相關信號傳導分子，且其中第一TCR-TM及/或第二TCR-TM為非天然存在的。在一些實施例中，兩個TCR-TM均為非天然存在的。在一些實施例中，第一TCR-TM源自天然存在之T細胞受體(諸如αβ TCR或γδ TCR)的跨膜域中之一者，且第二TCR-TM源自天然存在之T細胞受體的另一跨膜域。在一些實施例中，該TCRM相較於包含天然存在之T細胞受體之跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。TCR相關信號傳導分子之募集可藉由此項技術中已知之方法測定，諸如TCR-CD3複合體表面表現之FACS分析或CD3次單元與caTCR之共免疫沈澱。

【0085】 舉例而言，在一些實施例中，本文所描述之TCRM之第一TCR-TM包含TCR α鏈(例如GenBank寄存編號：CCI73895)之跨膜域或其變異體、基本上由其組成或由其組成；且TCRM之第二TCR-TM包含TCR β鏈(例如GenBank寄存編號：CCI73893)之跨膜域或其變異體、基本上由

其組成或由其組成。在一些實施例中，第一TCR-TM包含TCR δ鏈(例如GenBank寄存編號：AAQ57272)之跨膜域或其變異體、基本上由其組成或由其組成；且第二TCR-TM包含TCR γ鏈(例如GenBank寄存編號：AGE91788)之跨膜域或其變異體、基本上由其組成或由其組成。在一些實施例中，本文所描述之TCRM之第一及第二TCR-TM分別地包含TCR α鏈恆定域(例如SEQ ID NO: 1)之跨膜域或其變異體及TCR β鏈恆定域(例如SEQ ID NO: 2)之跨膜域或其變異體、基本上由其組成或由其組成。在一些實施例中，第一及第二TCR-TM分別包含TCR δ鏈恆定域(例如SEQ ID NO: 3)之跨膜域或其變異體及TCR γ鏈恆定域(例如SEQ ID NO: 4)之跨膜域或其變異體、基本上由其組成或由其組成。在一些實施例中，第一及第二TCR-TM分別包含SEQ ID NO: 5及6之胺基酸序列或其變異體、基本上由其組成或由其組成。在一些實施例中，第一及第二TCR-TM分別包含SEQ ID NO: 7及8之胺基酸序列或其變異體、基本上由其組成或由其組成。相較於參考序列，跨膜域之變異體包括(但不限於)具有一或多個胺基酸取代之跨膜域。在一些實施例中，相較於參考序列，變異跨膜域包含不超過5個胺基酸取代。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含在跨膜域之胺基端的第一連接肽及/或第二TCRD進一步包含在跨膜域之胺基端的第二連接肽。在一些實施例中，第一連接肽包含第一TCR-TM所源自之TCR次單元的連接肽之全部或一部分或其變異體，及/或第二連接肽包含第二TCR-TM所源自之TCR次單元的連接肽之全部或一部分或其變異體。在一些實施例中，第一及/或第二連接肽分別包含TCR α鏈恆定域(例如SEQ ID NO: 1)之連接肽之全部或一部分或其變異體及TCR β鏈恆定域(例如SEQ ID NO: 2)之連接肽之全部或一部分或其變異體、基本上由其組成或由其

組成。在一些實施例中，第一及/或第二連接肽分別包含SEQ ID NO: 27或28之連接肽之全部或一部分或其變異體及SEQ ID NO: 29或30之連接肽之全部或一部分或其變異體、基本上由其組成或由其組成。在一些實施例中，第一及/或第二連接肽分別包含TCR δ鏈恆定域(例如SEQ ID NO: 3)之連接肽之全部或一部分或其變異體及TCR γ鏈恆定域(例如SEQ ID NO: 4)之連接肽之全部或一部分或其變異體、基本上由其組成或由其組成。在一些實施例中，第一及/或第二連接肽分別包含SEQ ID NO: 31或32之連接肽之全部或一部分或其變異體及SEQ ID NO: 33或34之連接肽之全部或一部分或其變異體、基本上由其組成或由其組成。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含在第一TCR-TM之羧基端的第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含在第二TCR-TM之羧基端的第二TCR胞內域。在一些實施例中，第一TCR胞內域包含第一TCR-TM所源自之TCR次單元的胞內域之全部或一部分或其變異體，及/或第二胞內域包含第二TCR-TM所源自之TCR次單元的胞內域之全部或一部分或其變異體。在一些實施例中，第二TCR胞內域包含SEQ ID NO: 35-36之胺基酸序列中之任一者或其變異體。在一些實施例中，第一TCRD為天然存在之TCR之一個鏈之片段或其變異體，及/或第二TCRD為天然存在之TCR之另一鏈之片段或其變異體。在一些實施例中，TCRD中之至少一者為非天然存在的。在一些實施例中，第一及第二TCRD藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及第二TCRD藉由第一連接肽中之殘基與第二連接肽中之殘基之間的二硫鍵連接。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM能夠募集CD3δε、CD3γε及ζζ中之每一者以形成caTCR-CD3複合體(亦即，促進

caTCR-CD3複合體形成)。

【0086】 所涵蓋的caTCR構築體包含例如特異性結合於細胞表面抗原之caTCR、特異性結合於細胞表面呈遞肽/MHC複合體之caTCR及特異性結合於細胞表面抗原及細胞表面呈遞肽/MHC複合體兩者之caTCR。

【0087】 在一些實施例中，抗原結合模組為選自由以下組成之群之抗體部分：Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，抗體部分為單特異性的。在一些實施例中，抗體部分為多特異性的。在一些實施例中，抗體部分為雙特異性的。在一些實施例中，抗體部分為串聯scFv、雙功能抗體(Db)、單鏈雙功能抗體(scDb)、雙親和力再靶向(DART)抗體、雙可變域(DVD)抗體、化學交聯的抗體、雜多聚體抗體或雜結合物抗體。在一些實施例中，抗體部分為包含兩個藉由肽連接子連接之scFv的串聯scFv。在一些實施例中，抗體部分為不直接連接之兩個scFv。在一些實施例中，抗體部分為全人類抗體部分、具有人類抗體構架區半合成抗體部分或人類化抗體部分。

【0088】 在一些實施例中，抗原結合模組包含含有V_H抗體域之第一抗原結合域及含有V_L抗體域之第二抗原結合域。在一些實施例中，所有V_H抗體域及V_L抗體域CDR均源自同一抗體部分。在一些實施例中，一些V_H抗體域及V_L抗體域CDR均源自不同抗體部分。在一些實施例中，V_H抗體域及/或V_L抗體域為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成抗體域。

【0089】 在一些實施例中，抗原結合模組為包含全人類序列及一或多個合成區之半合成抗體部分。在一些實施例中，抗原結合模組為包含全人類V_L及半合成V_H之半合成抗體部分，其包含全人類FR1、HC-CDR1、FR2、HC-CDR2、FR3及FR4區以及合成HC-CDR3。在一些實施例中，

半合成V_H包含全合成HC-CDR3，其序列長度為約5至約25 (諸如約5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25中之任一者)個胺基酸。在一些實施例中，半合成V_H或合成HC-CDR3獲自半合成庫(諸如半合成人類庫)，該半合成庫包含全合成HC-CDR3區，其序列長度為約5至約25 (諸如約5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25中之任一者)個胺基酸，其中序列中之各胺基酸彼此獨立地隨機選自減去半胱胺酸的標準人類胺基酸。在一些實施例中，合成HC-CDR3之長度為約10至約19 (諸如約10、11、12、13、14、15、16、17、18或19中之任一者)個胺基酸。在一些實施例中，抗原結合模組為半合成抗體部分，其包含半合成V_L及半合成V_H。在一些實施例中，抗原結合模組為包含具有固定的人類V_H/V_L構架配對的全合成抗體部分，但重鏈及輕鏈之所有6種CDR為隨機合成序列。

【0090】 在一些實施例中，抗原結合模組為包含源自一或多個抗體部分(諸如單株抗體)或包含一或多個胺基酸取代之此類序列之某些變異體的特異性CDR序列的抗體部分。在一些實施例中，變異體序列中之胺基酸取代不實質上降低抗原結合模組結合靶抗原之能力。亦涵蓋實質上改良靶抗原結合親和力或影響一些其他特性(諸如特異性及/或與靶抗原之相關變異體之交叉反應性)的改變。

【0091】 在一些實施例中，穩定模組源自抗體部分。舉例而言，在一些實施例中，穩定模組包含含有C_H1抗體域或其變異體之第一穩定域，及含C_L抗體域或其變異體之第二穩定域。在另一實施例中，穩定模組包含含有C_H3抗體域或其變異體之第一穩定域，及含C_H3抗體域或其變異體之

第二穩定域。在一些實施例中，穩定模組中所含的抗體重鏈恆定域(例如，C_H1或C_H3)源自IgG (例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)、IgA (例如IgA1或IgA2)、IgD、IgM或IgE重鏈，視情況為人類的。在一些實施例中，穩定模組中所含的抗體重鏈恆定域(例如C_H1或C_H3)為相較於該抗體重鏈恆定域所源自之序列包含一或多個修飾(例如胺基酸取代、插入及/或缺失)的變異體。在一些實施例中，穩定模組中所含的抗體輕鏈恆定域(C_L)源自κ或λ輕鏈，視情況為人類的。在一些實施例中，穩定模組中所含的抗體輕鏈恆定域(C_L)為相較於該抗體輕鏈恆定域所源自之序列包含一或多個修飾(例如胺基酸取代、插入及/或缺失)的變異體。在一些實施例中，第一及/或第二穩定域包含不實質上改變其彼此的結合親和力的一或多個修飾。在一些實施例中，第一及/或第二穩定域包含增加其彼此的結合親和力及/或引入非天然存在之二硫鍵的一或多個修飾。在一些實施例中，穩定模組包含杵-臼(knob-into-hole)修飾(參見例如Carter P. *J Immunol Methods*. 248:7-15, 2001)。舉例而言，在一些實施例中，穩定模組包含含有杵-臼修飾之抗體恆定域區(例如C_H3域)。在一些實施例中，穩定模組包含藉由靜電轉向經修飾以增強其結合的抗體恆定域區(例如C_H3域)(參見例如WO2006106905及Gunasekaran K等人. J Biol Chem. 285:19637-46, 2010)。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。

【0092】在一些實施例中，caTCR包含連接於本文所描述之TCRM的本文所描述之抗原結合模組，視情況包括穩定模組。舉例而言，在一些實施例中，caTCR包含連接於TCRD中之一或兩者之N端的抗原結合模組。在一些實施例中，caTCR包含TCRM與抗原結合模組之間的穩定模組。在一些實施例中，caTCR進一步包含任何兩個caTCR模組或域之間的

間隔模組。在一些實施例中，間隔模組包含長度在約5至約70 (諸如約5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65或70中之任一者，包括此等數值之間的任何範圍)個胺基酸之間的一或多個肽連接子。在一些實施例中，caTCR進一步包含一或多個輔助胞內域。在一些實施例中，該一或多個輔助胞內域在第一及/或第二TCRD之羧基端。在一些實施例中，該一或多個輔助胞內域在第一TCR-TM與第一TCR胞內域之間，及/或在第二TCR-TM與第二TCR胞內域之間。在一些實施例中，該一或多個輔助胞內域個別地包含TCR協同刺激域。在一些實施例中，TCR協同刺激域包含免疫協同刺激分子(諸如CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30、CD40、ICOS、淋巴細胞功能相關抗原-1 (LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、與CD83特異性結合之配體及其類似者)之胞內域之全部或一部分。在一些實施例中，TCR協同刺激域包含SEQ ID NO: 49-51中之任一者之胺基酸序列或其變異體之全部或一部分。

【0093】在一些實施例中，抗原結合模組特異性結合細胞表面抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。在一些實施例中，細胞表面抗原為於病變細胞中表現之疾病相關抗原。在一些實施例中，抗原結合模組特異性結合包含肽與MHC蛋白之複合體。肽/MHC複合體包括例如表面呈遞複合體，其包含源自在病變細胞中表現之疾病相關抗原的肽及MHC蛋白。在一些實施例中，全長疾病相關抗原通常不表現於病變細胞(例如，疾病相關抗原為胞內或分泌蛋白)之表面上。在一些實施例中，疾病為癌症且疾病相關抗原為在癌細胞中表現之腫瘤相關抗原。在一些實施例中，腫瘤相關抗原為癌蛋白。在一些實施例中，癌蛋白為原癌基因之突變結果，且癌蛋白包含含有突變之新

生抗原決定基。舉例而言，在一些實施例中，抗原結合模組特異性結合細胞表面腫瘤相關抗原(例如包含新生抗原決定基之癌蛋白)。在一些實施例中，抗原結合模組特異性結合包含源自不通常在癌細胞表面上表現之腫瘤相關抗原(例如包含新生抗原決定基之癌蛋白) (例如胞內或分泌腫瘤相關抗原)之肽與MHC蛋白的複合體。在一些實施例中，疾病為病毒感染且疾病相關抗原為在感染細胞中表現之病毒相關抗原。舉例而言，在一些實施例中，抗原結合模組特異性結合細胞表面病毒相關抗原。在一些實施例中，抗原結合模組特異性結合包含源自通常不在病毒感染細胞表面上表現之病毒相關抗原(例如胞內或分泌病毒相關抗原)之肽與MHC蛋白的複合體。在一些實施例中，caTCR構築體以約0.1 pM至約500 nM (諸如約0.1 pM、1.0 pM、10 pM、50 pM、100 pM、500 pM、1 nM、10 nM、50 nM、100 nM或500 nM中之任一者，包括此等數值之間的任何範圍)之間的K_d結合靶抗原。

【0094】 在一些實施例中，caTCR包含特異性結合於細胞表面抗原之抗原結合模組，其中細胞表面抗原為CD19、CD20、CD22、CD47、GPC-3、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5，包括其變異體或突變體。與例如細胞表面抗原之完全抗原之特異性結合有時被稱作「非MHC限制結合」。

【0095】 在一些實施例中，caTCR包含特異性結合於包含肽與MHC蛋白之複合體的抗原結合模組，其中肽源自選自由以下組成之群的蛋白質：WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1、KRAS、組蛋白H3.3及PSA，包括其變異體或突變體。與包含肽與MHC蛋白之複合體的特異性結合有時被稱作「MHC限制結合」。

【0096】在一些實施例中，caTCR包含特異性結合於包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽與MHC I類蛋白質之複合體的抗原結合模組，其中MHC I類蛋白質為HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-E、HLA-F或HLA-G。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A、HLA-B或HLA-C。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-B。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-C。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A01、HLA-A02、HLA-A03、HLA-A09、HLA-A10、HLA-A11、HLA-A19、HLA-A23、HLA-A24、HLA-A25、HLA-A26、HLA-A28、HLA-A29、HLA-A30、HLA-A31、HLA-A32、HLA-A33、HLA-A34、HLA-A36、HLA-A43、HLA-A66、HLA-A68、HLA-A69、HLA-A74或HLA-A80。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A02。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A*02:01-555中之任一者，諸如HLA-A*02:01、HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:04、HLA-A*02:05、HLA-A*02:06、HLA-A*02:07、HLA-A*02:08、HLA-A*02:09、HLA-A*02:10、HLA-A*02:11、HLA-A*02:12、HLA-A*02:13、HLA-A*02:14、HLA-A*02:15、HLA-A*02:16、HLA-A*02:17、HLA-A*02:18、HLA-A*02:19、HLA-A*02:20、HLA-A*02:21、HLA-A*02:22或HLA-A*02:24。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A*02:01。

【0097】在一些實施例中，caTCR包含特異性結合於包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽與MHC II類蛋白質之複合體的抗原結合模組，其中MHC II類蛋白質為HLA-DP、HLA-DQ或HLA-

DR。在一些實施例中，MHC II類蛋白質為HLA-DP。在一些實施例中，MHC II類蛋白質為HLA-DQ。在一些實施例中，MHC II類蛋白質為HLA-DR。

【0098】在一些實施例中，提供一種caTCR (諸如經分離caTCR)，其包含：a)特異性結合於靶抗原之抗原結合模組，及b)包含源自天然存在之TCR (諸如αβTCR或γδTCR)之跨膜域之第一及第二TCR-TM的TCRM，其中TCRM能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子，且其中第一及/或第二TCR-TM為非天然存在的。在一些實施例中，第一及第二TCR-TM為非天然存在的。在一些實施例中，抗原結合模組連接於TCRM中之一或多個多肽鏈之胺基端。舉例而言，在一些實施例中，TCRM包含兩個多肽鏈，且抗原結合模組連接於TCRM多肽鏈中之一或兩者之胺基端。在一些實施例中，TCRM進一步包含在TCR-TM之胺基端的天然存在之TCR的至少一個連接肽或其片段。在一些實施例中，TCRM進一步包含含有來自在TCR-TM之羧基端的天然存在之TCR之胞內域的序列的至少一個TCR胞內域。在一些實施例中，TCRM包含源自天然存在之TCR鏈之片段的TCRD。TCRD中之至少一者為非天然存在的。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含在TCR-TM之羧基端的T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，抗原結合模組為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分包含V_H抗體域及V_L抗體域。在一些實施例中，抗體部分為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例

中，穩定模組包含連接穩定域之至少一個二硫鍵。在一些實施例中，第一及第二穩定域包含抗體部分(諸如C_H1及C_L抗體域)或其變異體。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含天然存在之T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，任何兩個caTCR模組或域之間存在間隔模組。在一些實施例中，caTCR為雜多聚體，諸如雜二聚體。舉例而言，在一些實施例中，caTCR為包含含有第一TCRD之第一多肽鏈及含有第二TCRD之第二多肽鏈的雜二聚體，其中抗原結合模組連接於第一及/或第二多肽鏈。在一些實施例中，抗原結合模組為多特異性的(諸如雙特異性的)。

【0099】 在一些實施例中，提供一種特異性結合靶抗原之caTCR，其包含：a)第一TCRD，其包含源自天然存在之TCR之跨膜域中之一者的第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含源自天然存在之TCR之另一跨膜域的第二TCR-TM，其中第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子的TCRM，且其中第一及/或第二TCR-TM為非天然存在的；及b)抗原結合模組，其特異性結合於靶抗原，其中抗原結合模組連接於第一及/或第二TCRD。在一些實施例中，天然存在之TCR為αβ TCR，且該第一TCR-TM及該第二TCR-TM源自TCR α及β次單元跨膜域。在一些實施例中，天然存在之TCR為γδ TCR，且該第一TCR-TM及該第二TCR-TM源自TCR γ及δ次單元跨膜域。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽包含第一TCR-TM所源自之

TCR次單元的連接肽之全部或一部分或其變異體，及/或第二連接肽包含第二TCR-TM所源自之TCR次單元的連接肽之全部或一部分或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第一TCR胞內域包含來自第一TCR-TM所源自之TCR次單元的胞內域的序列，及/或第二TCR胞內域包含來自第二TCR-TM所源自之TCR次單元的胞內域的序列。在一些實施例中，第一TCRD為第一TCR-TM所源自之TCR次單元的片段，及/或第二TCRD為第二TCR-TM所源自之TCR次單元的片段。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及第二穩定域包含抗體部分(諸如C_H1及C_L抗體域)或其變異體。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含天然存在之T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，任何兩個caTCR模組或域之間存在間隔模組。在一些實施例中，抗原結合模組為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，抗原結合模組為多特異性的(諸如雙特異性的)。

【0100】在一些實施例中，提供一種特異性結合靶抗原之caTCR，其包含：a)第一TCRD，其包含源自天然存在之αβ TCR之跨膜域中之一者之第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含源自天然存在之αβ TCR之另一跨膜域之第二TCR-TM，其中第一及第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導分子的TCRM，且其中第一及/或第二TCR-TM為非天然存在的；及b)抗原結合模組，其特異性結合於靶抗原，其中抗原結合模組連接於第一及/或第二TCRD。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽包含第一TCR-TM所源自之TCR次單元的連接肽之全部或一部分或其變異體，及/或第二連接肽包含第二TCR-TM所源自之TCR次單元的連接肽之全部或一部分或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第一TCR胞內域包含來自第一TCR-TM所源自之TCR次單元的胞內域的序列，及/或第二TCR胞內域包含來自第二TCR-TM所源自之TCR次單元的胞內域的序列。在一些實施例中，第一TCRD為第一TCR-TM所源自之TCR次單元的片段，及/或第二TCRD為第二TCR-TM所源自之TCR次單元的片段。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一

及第二穩定域包含抗體部分(諸如C_H1及C_L抗體域)或其變異體。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含天然存在之αβ T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，任何兩個caTCR模組或域之間存在間隔模組。在一些實施例中，抗原結合模組為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，抗原結合模組為多特異性的(諸如雙特異性的)。

【0101】 在一些實施例中，提供特一種異性結合靶抗原之caTCR，其包含：a)第一TCRD，其包含源自天然存在之γδ TCR之跨膜域中之一者之第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含源自天然存在之γδ TCR之另一跨膜域之第二TCR-TM，其中第一及第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導分子的TCRM，且其中第一及/或第二TCR-TM為非天然存在的；及b)抗原結合模組，其特異性結合於靶抗原，其中抗原結合模組連接於第一及/或第二TCRD。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽包含第一TCR-TM所源自之TCR次單元的連接肽之全部或一部分或其變異體，及/或第二連接肽包含第二TCR-TM所源自之TCR次單元的連接肽之全部或一部分或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第一TCR胞內域包含來自第一TCR-TM所源自

之TCR次單元的胞內域的序列，及/或第二TCR胞內域包含來自第二TCR-TM所源自之TCR次單元的胞內域的序列。在一些實施例中，第一TCRD為第一TCR-TM所源自之TCR次單元的片段，及/或第二TCRD為第二TCR-TM所源自之TCR次單元的片段。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及第二穩定域包含抗體部分(諸如C_H1及C_L抗體域)或其變異體。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含天然存在之γδ T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，任何兩個caTCR模組或域之間存在間隔模組。在一些實施例中，抗原結合模組為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，抗原結合模組為多特異性的(諸如雙特異性的)。

【0102】 在一些實施例中，提供一種特異性結合靶抗原之caTCR，其包含：a)第一TCRD，其包含源自SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2之胺基酸序列中之一者中所含的跨膜域的第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含源自另一胺基酸序列中所含的跨膜域的第二TCR-TM，其中第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子的TCRM，且其中第

一及/或第二TCR-TM為非天然存在的；及b)抗原結合模組，其特異性結合於靶抗原，其中抗原結合模組連接於第一及/或第二TCRD。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽及第二連接肽各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 1-4之胺基酸序列中之任一者中所含的連接肽之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一連接肽及第二連接肽各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 27-34中之任一者之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第一TCR胞內域及第二TCR胞內域各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 1-4中之任一者中所含的胞內域之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一TCR胞內域及第二TCR胞內域各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 35或36之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及第二穩定域包含抗體部分(諸如C_H1及C_L抗體域)或其變異體。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含具有SEQ ID NO: 1及2中所含的跨膜域之序列之T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種

TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，任何兩個caTCR模組或域之間存在間隔模組。在一些實施例中，抗原結合模組為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，抗原結合模組為多特異性的(諸如雙特異性的)。

【0103】在一些實施例中，提供一種特異性結合靶抗原之caTCR，其包含：a)第一TCRD，其包含源自SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2之胺基酸序列中之一者中所含的跨膜域的第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含源自另一胺基酸序列中所含的跨膜域的第二TCR-TM，其中TCR-TM中之至少一者相較於其所源自之胺基酸序列包含一或多個(諸如2、3、4、5或更多個)胺基酸取代，且第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子的TCRM；及b)抗原結合模組，其特異性結合於靶抗原，其中抗原結合模組連接於第一及/或第二TCRD。在一些實施例中，TCR-TM中之每一者相較於其所源自之胺基酸序列彼此獨立地包含一或多個(諸如2、3、4、5或更多個)胺基酸取代。在一些實施例中，第一TCR-TM及/或第二TCR-TM相較於其所源自之胺基酸序列各自彼此獨立地包含不超過5個胺基酸取代。在一些實施例中，TCR-TM中之至少一者相較於其所源自之胺基酸序列包含單一胺基酸取代。在一些實施例中，TCR-TM中之每一者相較於其所源自之胺基酸序列包含單一胺基酸取代。在一些實施例中，第一TCR-TM中的至少一個經取代胺基酸經定位使得其在caTCR中可與第二TCR-TM中的至少一個經取代胺基酸相互作用。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽及第二

連接肽各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 1-4之胺基酸序列中之任一者中所含的連接肽之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一連接肽及第二連接肽各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 27-34中之任一者之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第一TCR胞內域及第二TCR胞內域各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 1-4中之任一者中所含的胞內域之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一TCR胞內域及第二TCR胞內域各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 35或36之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及第二穩定域包含抗體部分(諸如C_H1及C_L抗體域)或其變異體。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含具有SEQ ID NO: 1及2中所含的跨膜域之序列之T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，任何兩個caTCR模組或域之間存在間隔模組。在一些實施例中，抗原結合模組為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，抗原結合

模組為多特異性的(諸如雙特異性的)。

【0104】在一些實施例中，提供一種caTCR，其包含：a)第一TCRD，其包含源自SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 2之胺基酸序列中之一者中所含的跨膜域的第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含源自另一胺基酸序列中所含的跨膜域的第二TCR-TM，其中TCR-TM中之至少一者包含含有來自SEQ ID NO: 3或4中所含的跨膜域之相連胺基酸中之一部分的嵌合序列，且第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子的TCRM；及b)抗原結合模組，其特異性結合於靶抗原，其中抗原結合模組連接於第一及/或第二TCRD。在一些實施例中，TCR-TM中之每一者彼此獨立地包含含有來自SEQ ID NO: 3或4中所含的跨膜域之相連胺基酸中之一部分的嵌合序列。在一些實施例中，第一TCR-TM及/或第二TCR-TM各自彼此獨立地包含含有來自SEQ ID NO: 3或4中所含的跨膜域之一部分不超過約10 (諸如不超過約9、8、7、6、5或更少)個連續胺基酸的嵌合序列。在一些實施例中，第一或第二TCR-TM中之嵌合序列來自SEQ ID NO: 3中所含的跨膜域，且另一TCR-TM中之嵌合序列來自SEQ ID NO: 4中所含的跨膜域。在一些實施例中，第一TCR-TM中的嵌合序列經定位使得其可與第二TCR-TM中的嵌合序列相互作用。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽及第二連接肽各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 1-4之胺基酸序列中之任一者中所含的連接肽之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一連接肽及第二連接肽各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 27-34中之任一者之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一

些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第一TCR胞內域及第二TCR胞內域各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 1-4中之任一者中所含的胞內域之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一TCR胞內域及第二TCR胞內域各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 35或36之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及第二穩定域包含抗體部分(諸如C_H1及C_L抗體域)或其變異體。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含具有SEQ ID NO: 1及2中所含的跨膜域之序列之T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，任何兩個caTCR模組或域之間存在間隔模組。在一些實施例中，抗原結合模組為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，抗原結合模組為多特異性的(諸如雙特異性的)。

【0105】 在一些實施例中，提供一種特異性結合靶抗原之caTCR，其包含：a)第一TCRD，其包含源自SEQ ID NO: 3及SEQ ID NO: 4之胺基酸序列中之一者中所含的跨膜域的第一TCR-TM；及第二TCRD，其包

含源自另一胺基酸序列中所含的跨膜域的第二TCR-TM，其中第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子的TCRM，且其中第一及/或第二TCR-TM為非天然存在的；及b)抗原結合模組，其特異性結合於靶抗原，其中抗原結合模組連接於第一及/或第二TCRD。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽及第二連接肽各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 1-4之胺基酸序列中之任一者中所含的連接肽之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一連接肽及第二連接肽各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 27-34中之任一者之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第一TCR胞內域及第二TCR胞內域各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 1-4中之任一者中所含的胞內域之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一TCR胞內域及第二TCR胞內域各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 35或36之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及第二穩定域包含抗體部分(諸如C_H1及C_L抗體域)或其變異體。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分

子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含具有SEQ ID NO: 3及4中所含的跨膜域之序列之T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，任何兩個caTCR模組或域之間存在間隔模組。在一些實施例中，抗原結合模組為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，抗原結合模組為多特異性的(諸如雙特異性的)。

【0106】在一些實施例中，提供一種特異性結合靶抗原之caTCR，其包含：a)第一TCRD，其包含源自SEQ ID NO: 3及SEQ ID NO: 4之胺基酸序列中之一者中所含的跨膜域的第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含源自另一胺基酸序列中所含的跨膜域的第二TCR-TM，其中TCR-TM中之至少一者相較於其所源自之胺基酸序列包含一或多個(諸如2、3、4、5或更多個)胺基酸取代，且第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子的TCRM；及b)抗原結合模組，其特異性結合於靶抗原，其中抗原結合模組連接於第一及/或第二TCRD。在一些實施例中，TCR-TM中之每一者相較於其所源自之胺基酸序列彼此獨立地包含一或多個(諸如2、3、4、5或更多個)胺基酸取代。在一些實施例中，第一TCR-TM及/或第二TCR-TM相較於其所源自之胺基酸序列各自彼此獨立地包含不超過5個胺基酸取代。在一些實施例中，TCR-TM中之至少一者相較於其所源自之胺基酸序列包含單一胺基酸取代。在一些實施例中，TCR-TM中之每一者相較於其所源自之胺基酸序列包含單一胺基酸取代。在一些實施例中，第一TCR-TM中的至少一個經取代胺基酸經定位使得其在caTCR中可與第二TCR-TM中的至少一個經取代胺基酸相互作用。在一些實施例

中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽及第二連接肽各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 1-4之胺基酸序列中之任一者中所含的連接肽之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一連接肽及第二連接肽各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 27-34中之任一者之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第一TCR胞內域及第二TCR胞內域各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 1-4中之任一者中所含的胞內域之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一TCR胞內域及第二TCR胞內域各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 35或36之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及第二穩定域包含抗體部分(諸如C_H1及C_L抗體域)或其變異體。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含具有SEQ ID NO: 3及4中所含的跨膜域之序列之T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，任何兩個caTCR模組或域之間存在間隔模組。

在一些實施例中，抗原結合模組為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，抗原結合模組為多特異性的(諸如雙特異性的)。

【0107】 在一些實施例中，提供一種特異性結合靶抗原之caTCR，其包含：a)第一TCRD，其包含源自SEQ ID NO: 3及SEQ ID NO: 4之胺基酸序列中之一者中所含的跨膜域的第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含源自另一胺基酸序列中所含的跨膜域的第二TCR-TM，其中TCR-TM中之至少一者包含含有來自SEQ ID NO: 1或2中所含的跨膜域之相連胺基酸中之一部分的嵌合序列，且第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子的TCRM；及b)抗原結合模組，其特異性結合於靶抗原，其中抗原結合模組連接於第一及/或第二TCRD。在一些實施例中，TCR-TM中之每一者彼此獨立地包含含有來自SEQ ID NO: 1或2中所含的跨膜域之相連胺基酸中之一部分的嵌合序列。在一些實施例中，第一TCR-TM及/或第二TCR-TM各自彼此獨立地包含含有來自SEQ ID NO: 1或2中所含的跨膜域之一部分不超過約10 (諸如不超過約9、8、7、6、5或更少)個連續胺基酸的嵌合序列。在一些實施例中，第一或第二TCR-TM中之嵌合序列來自SEQ ID NO: 1中所含的跨膜域，且另一TCR-TM中之嵌合序列來自SEQ ID NO: 2中所含的跨膜域。在一些實施例中，第一TCR-TM中的嵌合序列經定位使得其可與第二TCR-TM中的嵌合序列相互作用。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽及第二連接肽各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 1-4之胺基酸序列中之任一者中所含的連接肽之胺基酸序列或其變異體。在一些實

施例中，第一連接肽及第二連接肽各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 27-34中之任一者之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第一TCR胞內域及第二TCR胞內域各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 1-4中之任一者中所含的胞內域之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一TCR胞內域及第二TCR胞內域各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 35或36之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及第二穩定域包含抗體部分(諸如C_H1及C_L抗體域)或其變異體。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含具有SEQ ID NO: 3及4中所含的跨膜域之序列之T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，任何兩個caTCR模組或域之間存在間隔模組。在一些實施例中，抗原結合模組為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，抗原結合模組為多特異性的(諸如雙特異性的)。

【0108】 在一些實施例中，提供一種特異性結合靶抗原之caTCR，

其包含：a)第一TCRD，其包含源自SEQ ID NO: 5及SEQ ID NO: 6之胺基酸序列中之一者的第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含源自另一胺基酸序列的第二TCR-TM，其中第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子的TCRM，且其中第一及/或第二TCR-TM為非天然存在的；及b)抗原結合模組，其特異性結合於靶抗原，其中抗原結合模組連接於第一及/或第二TCRD。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽及第二連接肽各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 27-34中之任一者之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第一TCR胞內域及第二TCR胞內域各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 35或36之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及第二穩定域包含抗體部分(諸如C_H1及C_L抗體域)或其變異體。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含具有SEQ ID NO: 5及6之序列之T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進

caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，任何兩個caTCR模組或域之間存在間隔模組。在一些實施例中，抗原結合模組為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，抗原結合模組為多特異性的(諸如雙特異性的)。

【0109】在一些實施例中，提供一種特異性結合靶抗原之caTCR，其包含：a)第一TCRD，其包含源自SEQ ID NO: 5及SEQ ID NO: 6之胺基酸序列中之一者的第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含源自另一胺基酸序列的第二TCR-TM，其中TCR-TM中之至少一者相較於其所源自之胺基酸序列包含一或多個(諸如2、3、4、5或更多個)胺基酸取代，且第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子的TCRM；及b)抗原結合模組，其特異性結合於靶抗原，其中抗原結合模組連接於第一及/或第二TCRD。在一些實施例中，TCR-TM中之每一者相較於其所源自之胺基酸序列彼此獨立地包含一或多個(諸如2、3、4、5或更多個)胺基酸取代。在一些實施例中，第一TCR-TM及/或第二TCR-TM相較於其所源自之胺基酸序列各自彼此獨立地包含不超過5個胺基酸取代。在一些實施例中，TCR-TM中之至少一者相較於其所源自之胺基酸序列包含單一胺基酸取代。在一些實施例中，TCR-TM中之每一者相較於其所源自之胺基酸序列包含單一胺基酸取代。在一些實施例中，第一TCR-TM中的至少一個經取代胺基酸經定位使得其在caTCR中可與第二TCR-TM中的至少一個經取代胺基酸相互作用。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽及第二連接肽各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 27-34中之任一者之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一

及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第一TCR胞內域及第二TCR胞內域各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 35或36之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及第二穩定域包含抗體部分(諸如C_H1及C_L抗體域)或其變異體。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含具有SEQ ID NO: 5及6之序列之T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，任何兩個caTCR模組或域之間存在間隔模組。在一些實施例中，抗原結合模組為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，抗原結合模組為多特異性的(諸如雙特異性的)。

【0110】在一些實施例中，提供一種特異性結合靶抗原之caTCR，其包含：a)第一TCRD，其包含源自SEQ ID NO: 5及SEQ ID NO: 6之胺基酸序列中之一者的第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含源自另一胺基酸序列的第二TCR-TM，其中TCR-TM中之至少一者包含含有來自SEQ ID NO: 7或8之相連胺基酸中之一部分的嵌合序列，且第一及第二TCRD

形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子的TCRM；及b)抗原結合模組，其特異性結合於靶抗原，其中抗原結合模組連接於第一及/或第二TCRD。在一些實施例中，TCR-TM中之每一者彼此獨立地包含含有來自SEQ ID NO: 7或8之相連胺基酸中之一部分的嵌合序列。在一些實施例中，第一TCR-TM及/或第二TCR-TM各自彼此獨立地包含含有來自SEQ ID NO: 7或8中所含的跨膜域之一部分不超過約10 (諸如不超過約9、8、7、6、5或更少)個連續胺基酸的嵌合序列。在一些實施例中，第一或第二TCR-TM中的嵌合序列來自SEQ ID NO: 7，且另一TCR-TM中的嵌合序列來自SEQ ID NO: 8。在一些實施例中，第一TCR-TM中的嵌合序列經定位使得其可與第二TCR-TM中的嵌合序列相互作用。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽及第二連接肽各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 27-34中之任一者之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第一TCR胞內域及第二TCR胞內域各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 35或36之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及第二穩定域包含抗體部分(諸如C_H1及

C_L抗體域)或其變異體。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含具有SEQ ID NO: 5及6之序列之T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，任何兩個caTCR模組或域之間存在間隔模組。在一些實施例中，抗原結合模組為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，抗原結合模組為多特異性的(諸如雙特異性的)。

【0111】在一些實施例中，提供一種特異性結合靶抗原之caTCR，其包含：a)第一TCRD，其包含源自SEQ ID NO: 7及SEQ ID NO: 8之胺基酸序列中之一者的第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含源自另一胺基酸序列的第二TCR-TM，其中第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子的TCRM，且其中第一及/或第二TCR-TM為非天然存在的；及b)抗原結合模組，其特異性結合於靶抗原，其中抗原結合模組連接於第一及/或第二TCRD。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽及第二連接肽各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 27-34中之任一者之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第一TCR胞內域及第二TCR胞內域各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 35或36之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，caTCR

進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及第二穩定域包含抗體部分(諸如C_H1及C_L抗體域)或其變異體。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含具有SEQ ID NO: 7及8之序列之T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，任何兩個caTCR模組或域之間存在間隔模組。在一些實施例中，抗原結合模組為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，抗原結合模組為多特異性的(諸如雙特異性的)。

【0112】在一些實施例中，提供一種特異性結合靶抗原之caTCR，其包含：a)第一TCRD，其包含源自SEQ ID NO: 7及SEQ ID NO: 8之胺基酸序列中之一者的第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含源自另一胺基酸序列的第二TCR-TM，其中TCR-TM中之至少一者相較於其所源自之胺基酸序列包含一或多個(諸如2、3、4、5或更多個)胺基酸取代，且第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子的TCRM；及b)抗原結合模組，其特異性結合於靶抗原，其中抗原結合模組連接於第一及/或第二TCRD。在一些實施例中，TCR-TM中之每一者相較於其所源自之胺基酸序列彼此獨立地包含一或多個(諸如2、3、4、5或更多個)胺基酸取

代。在一些實施例中，第一TCR-TM及/或第二TCR-TM相較於其所源自之胺基酸序列各自彼此獨立地包含不超過5個胺基酸取代。在一些實施例中，TCR-TM中之至少一者相較於其所源自之胺基酸序列包含單一胺基酸取代。在一些實施例中，TCR-TM中之每一者相較於其所源自之胺基酸序列包含單一胺基酸取代。在一些實施例中，第一TCR-TM中的至少一個經取代胺基酸經定位使得其在caTCR中可與第二TCR-TM中的至少一個經取代胺基酸相互作用。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽及第二連接肽各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 27-34中之任一者之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第一TCR胞內域及第二TCR胞內域各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 35或36之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及第二穩定域包含抗體部分(諸如C_H1及C_L抗體域)或其變異體。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含具有SEQ ID NO: 7及8之序列之T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少

一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，任何兩個caTCR模組或域之間存在間隔模組。在一些實施例中，抗原結合模組為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，抗原結合模組為多特異性的(諸如雙特異性的)。

【0113】在一些實施例中，提供一種特異性結合靶抗原之caTCR，其包含：a)第一TCRD，其包含源自SEQ ID NO: 7及SEQ ID NO: 8之胺基酸序列中之一者的第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含源自另一胺基酸序列的第二TCR-TM，其中TCR-TM中之至少一者包含含有來自SEQ ID NO: 5或6之相連胺基酸中之一部分的嵌合序列，且第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子的TCRM；及b)抗原結合模組，其特異性結合於靶抗原，其中抗原結合模組連接於第一及/或第二TCRD。在一些實施例中，TCR-TM中之每一者彼此獨立地包含含有來自SEQ ID NO: 5或6之相連胺基酸中之一部分的嵌合序列。在一些實施例中，第一TCR-TM及/或第二TCR-TM各自彼此獨立地包含含有來自SEQ ID NO: 5或6中所含的跨膜域之一部分不超過約10 (諸如不超過約9、8、7、6、5或更少)個連續胺基酸的嵌合序列。在一些實施例中，第一或第二TCR-TM中的嵌合序列來自SEQ ID NO: 5，且另一TCR-TM中的嵌合序列來自SEQ ID NO: 6。在一些實施例中，第一TCR-TM中的嵌合序列經定位使得其可與第二TCR-TM中的嵌合序列相互作用。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽及第二連接肽各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 27-34中之任一者之胺基酸序列或其

變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第一TCR胞內域及第二TCR胞內域各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 35或36之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及第二穩定域包含抗體部分(諸如C_H1及C_L抗體域)或其變異體。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含具有SEQ ID NO: 7及8之序列之T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，任何兩個caTCR模組或域之間存在間隔模組。在一些實施例中，抗原結合模組為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，抗原結合模組為多特異性的(諸如雙特異性的)。

【0114】在一些實施例中，提供一種複合體，其包含根據本文所描述之caTCR中之任一者的caTCR與選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的至少一個信號傳導分子。在一些實施例中，複合體包含CD3δε、CD3γε及ζζ中之每一者。因此，在一些實施例中，提供一種複合體，其包含

caTCR、CD3δε、CD3γε及ζζ。

【0115】 不同態樣更詳細地論述於下文各部分中。

TCR-TM變異體

【0116】 本文所描述之caTCR之TCR-TM源自天然存在之T細胞受體。在一些實施例中，TCR-TM中之至少一者為非天然存在的。源自天然存在之T細胞受體之非天然存在之TCR-TM包括來自天然存在之T細胞受體的跨膜域，其已藉由取代一或多個胺基酸來修飾。在一些實施例中，至少一個經取代胺基酸係經疏水性比對應未經取代殘基更高之殘基取代。在一些實施例中，每一個經取代胺基酸係經疏水性比對應未經取代殘基更高之殘基取代。在一些實施例中，至少一個經取代胺基酸鄰近(在一級序列上或空間上)TCRM中參與結合CD3之胺基酸。舉例而言，在一些實施例中，至少一個經取代胺基酸與TCRM中參與結合CD3之胺基酸間隔不超過3 (諸如0、1、2或3)個胺基酸。在一些實施例中，至少一個經取代胺基酸與TCRM中參與結合CD3之胺基酸間隔不超過約15 (諸如不超過約14、12、10、8、6、4、2或1中之任一者)埃。在一些實施例中，每一個經取代胺基酸鄰近TCRM中參與結合CD3之胺基酸。

【0117】 舉例而言，在一些實施例中，源自天然存在之T細胞受體之非天然存在之TCR-TM包含藉由一或多個胺基酸殘基之取代修飾之α、β、γ或δ TCR次單元的跨膜域、基本上由其組成或由其組成。在一些實施例中，TCR次單元之跨膜域藉由不超過5個胺基酸殘基之取代修飾。在一些實施例中，TCR次單元之跨膜域藉由單一胺基酸殘基之取代修飾。在一些實施例中，至少一個經取代胺基酸係經疏水性比對應未經取代殘基更高之殘基取代。在一些實施例中，每一個經取代胺基酸係經疏水性比對應未

經取代殘基更高之殘基取代。在一些實施例中，至少一個經取代胺基酸鄰近TCRM中參與結合CD3之胺基酸。在一些實施例中，每一個經取代胺基酸鄰近TCRM中參與結合CD3之胺基酸。

【0118】因此，在一些實施例中，源自本文所描述之天然存在之T細胞受體之非天然存在之TCR-TM包含含有SEQ ID NO: 1中所含的跨膜域(例如SEQ ID NO: 5)的胺基酸序列的α TCR次單元的跨膜域、基本上由其組成或由其組成，該跨膜域藉由一或多個胺基酸殘基之取代修飾。在一些實施例中，α TCR次單元之跨膜域藉由SEQ ID NO: 1中所含的跨膜域中之不超過5個胺基酸殘基之取代修飾。在一些實施例中，α TCR次單元之跨膜域藉由SEQ ID NO: 1中所含的跨膜域中之單一胺基酸殘基之取代修飾。在一些實施例中，至少一個經取代胺基酸係經疏水性比對應未經取代殘基更高之殘基取代。在一些實施例中，每一個經取代胺基酸係經疏水性比對應未經取代殘基更高之殘基取代。在一些實施例中，至少一個經取代胺基酸鄰近TCRM中參與結合CD3之胺基酸。在一些實施例中，每一個經取代胺基酸鄰近TCRM中參與結合CD3之胺基酸。

【0119】在一些實施例中，源自本文所描述之天然存在之T細胞受體之非天然存在之TCR-TM包含含有SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之α TCR次單元的跨膜域、基本上由其組成或由其組成，該跨膜域藉由一或多個胺基酸殘基之取代修飾。在一些實施例中，α TCR次單元之跨膜域藉由SEQ ID NO: 5中之不超過5個胺基酸殘基之取代修飾。在一些實施例中，α TCR次單元之跨膜域藉由SEQ ID NO: 5中之單一胺基酸殘基之取代修飾。在一些實施例中，至少一個經取代胺基酸係經疏水性比對應未經取代殘基更高之殘基取代。在一些實施例中，每一個經取代胺基酸係經疏水性

比對應未經取代殘基更高之殘基取代。在一些實施例中，至少一個經取代胺基酸鄰近TCRM中參與結合CD3之胺基酸。在一些實施例中，每一個經取代胺基酸鄰近TCRM中參與結合CD3之胺基酸。

【0120】在一些實施例中，源自本文所描述之天然存在之T細胞受體之非天然存在之TCR-TM包含含有SEQ ID NO: 2中所含的跨膜域(例如SEQ ID NO: 6)之胺基酸序列的β TCR次單元的跨膜域、基本上由其組成或由其組成，該跨膜域藉由一或多個胺基酸殘基之取代修飾。在一些實施例中，β TCR次單元之跨膜域藉由SEQ ID NO: 2中所含的跨膜域中之不超過5個胺基酸殘基取代修飾。在一些實施例中，β TCR次單元之跨膜域藉由SEQ ID NO: 2中所含的跨膜域中之單一胺基酸殘基取代修飾。在一些實施例中，至少一個經取代胺基酸係經疏水性比對應未經取代殘基更高之殘基取代。在一些實施例中，每一個經取代胺基酸係經疏水性比對應未經取代殘基更高之殘基取代。在一些實施例中，至少一個經取代胺基酸鄰近TCRM中參與結合CD3之胺基酸。在一些實施例中，每一個經取代胺基酸鄰近TCRM中參與結合CD3之胺基酸。

【0121】在一些實施例中，源自本文所描述之天然存在之T細胞受體之非天然存在之TCR-TM包含含有SEQ ID NO: 6之胺基酸序列的β TCR次單元的跨膜域、基本上由其組成或由其組成，該跨膜域藉由一或多個胺基酸殘基之取代修飾。在一些實施例中，β TCR次單元之跨膜域藉由SEQ ID NO: 6中之不超過5個胺基酸殘基之取代修飾。在一些實施例中，β TCR次單元之跨膜域藉由SEQ ID NO: 6中之單一胺基酸殘基之取代修飾。在一些實施例中，至少一個經取代胺基酸係經疏水性比對應未經取代殘基更高之殘基取代。在一些實施例中，每一個經取代胺基酸係經疏水性

比對應未經取代殘基更高之殘基取代。在一些實施例中，至少一個經取代胺基酸鄰近TCRM中參與結合CD3之胺基酸。在一些實施例中，每一個經取代胺基酸鄰近TCRM中參與結合CD3之胺基酸。

【0122】在一些實施例中，源自本文所描述之天然存在之T細胞受體之非天然存在之TCR-TM包含含有SEQ ID NO: 3中所含的跨膜域(例如SEQ ID NO: 7)之胺基酸序列的β TCR次單元的跨膜域、基本上由其組成或由其組成，該跨膜域藉由一或多個胺基酸殘基之取代修飾。在一些實施例中，δ TCR次單元之跨膜域藉由SEQ ID NO: 3中之不超過5個胺基酸殘基之取代修飾。在一些實施例中，δ TCR次單元之跨膜域藉由SEQ ID NO: 3中之單一胺基酸殘基之取代修飾。在一些實施例中，至少一個經取代胺基酸係經疏水性比對應未經取代殘基更高之殘基取代。在一些實施例中，每一個經取代胺基酸係經疏水性比對應未經取代殘基更高之殘基取代。在一些實施例中，至少一個經取代胺基酸鄰近TCRM中參與結合CD3之胺基酸。在一些實施例中，每一個經取代胺基酸鄰近TCRM中參與結合CD3之胺基酸。

【0123】在一些實施例中，非天然存在之TCR-TM包含SEQ ID NO: 3中所含的跨膜域(例如SEQ ID NO: 7)之胺基酸序列，其藉由對應於SEQ ID NO: 7中之以下之胺基酸中的一或多個取代(諸如經更具疏水性的殘基取代)經修飾：L4、M6、V12、N15、F245及L25。在一些實施例中，非天然存在之TCR-TM包含SEQ ID NO: 3中所含的跨膜域之胺基酸序列，其藉由對應於SEQ ID NO: 7中之V12及N15之胺基酸中的取代(諸如用更具疏水性的殘基取代)修飾。在一些實施例中，非天然存在之TCR-TM包含SEQ ID NO: 3中所含的跨膜域之胺基酸序列，其藉由對應於SEQ ID

NO: 7中之以下取代之一或多個取代修飾：L4C、M6V、V12F、N15S、F245S及L25S。在一些實施例中，非天然存在之TCR-TM包含SEQ ID NO: 3中所含的跨膜域之胺基酸序列，其藉由對應於SEQ ID NO: 7中之V12F及N15S取代之取代修飾。在一些實施例中，非天然存在之TCR-TM包含SEQ ID NO: 9-13中之任一者之胺基酸序列。

【0124】在一些實施例中，源自本文所描述之天然存在之T細胞受體的非天然存在之TCR-TM包含含有SEQ ID NO: 7之胺基酸序列的δ TCR次單元的跨膜域、基本上由其組成或由其組成，該跨膜域藉由一或多個胺基酸殘基之取代修飾。在一些實施例中，δ TCR次單元之跨膜域藉由SEQ ID NO: 7中之不超過5個胺基酸殘基之取代修飾。在一些實施例中，δ TCR次單元之跨膜域藉由SEQ ID NO: 7中之單一胺基酸殘基之取代修飾。在一些實施例中，至少一個經取代胺基酸係經疏水性比對應未經取代殘基更高之殘基取代。在一些實施例中，每一個經取代胺基酸係經疏水性比對應未經取代殘基更高之殘基取代。在一些實施例中，至少一個經取代胺基酸鄰近TCRM中參與結合CD3之胺基酸。在一些實施例中，每一個經取代胺基酸鄰近TCRM中參與結合CD3之胺基酸。

【0125】在一些實施例中，非天然存在之TCR-TM包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列，其藉由對應於SEQ ID NO: 7中之以下胺基酸之胺基酸中之一或多個取代(諸如用更具疏水性的殘基取代)修飾：L4、M6、V12、N15、F245及L25。在一些實施例中，非天然存在之TCR-TM包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列，其藉由對應於SEQ ID NO: 7中之V12及N15之胺基酸中之取代(諸如用更具疏水性的殘基取代)修飾。在一些實施例中，非天然存在之TCR-TM包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列，其藉由對應於SEQ

ID NO: 7中之以下取代之一或多個取代修飾：L4C、M6V、V12F、N15S、F245S及L25S。在一些實施例中，非天然存在之TCR-TM包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列，其藉由對應於SEQ ID NO: 7中之V12F及N15S之取代修飾。在一些實施例中，非天然存在之TCR-TM包含SEQ ID NO: 9-13中之任一者之胺基酸序列。

【0126】在一些實施例中，源自本文所描述之天然存在之T細胞受體的非天然存在之TCR-TM包含含有SEQ ID NO: 4中所含的跨膜域(例如SEQ ID NO: 8)之胺基酸序列的γ TCR次單元的跨膜域、基本上由其組成或由其組成，該跨膜域藉由一或多個胺基酸殘基之取代修飾。在一些實施例中，γ TCR次單元之跨膜域藉由SEQ ID NO: 4中所含的跨膜域中之不超過5個胺基酸殘基之取代修飾。在一些實施例中，γ TCR次單元之跨膜域藉由SEQ ID NO: 4中所含的跨膜域中之單一胺基酸殘基之取代修飾。在一些實施例中，至少一個經取代胺基酸係經疏水性比對應未經取代殘基更高之殘基取代。在一些實施例中，每一個經取代胺基酸係經疏水性比對應未經取代殘基更高之殘基取代。在一些實施例中，至少一個經取代胺基酸鄰近TCRM中參與結合CD3之胺基酸。在一些實施例中，每一個經取代胺基酸鄰近TCRM中參與結合CD3之胺基酸。

【0127】在一些實施例中，非天然存在之TCR-TM包含SEQ ID NO: 4中所含的跨膜域(例如SEQ ID NO: 8)之胺基酸序列，其藉由對應於SEQ ID NO: 8中之以下胺基酸之胺基酸中之一或多個取代(諸如用更具疏水性的殘基取代)修飾：Y1、Y2、M3、L5、L8、V12、V13、F15、A16、I18、C19、C20及C21。在一些實施例中，非天然存在之TCR-TM包含SEQ ID NO: 4中所含的跨膜域之胺基酸序列，其藉由對應於SEQ ID NO:

8中之Y2、M3、A16及I18之胺基酸中之取代(諸如用更具疏水性的殘基取代)修飾。在一些實施例中，非天然存在之TCR-TM包含SEQ ID NO: 4中所含的跨膜域之胺基酸序列，其藉由對應於SEQ ID NO: 8中之L8、V12及F15之胺基酸中之取代(諸如用更具疏水性的殘基取代)修飾。在一些實施例中，非天然存在之TCR-TM包含SEQ ID NO: 4中所含的跨膜域之胺基酸序列，其藉由對應於SEQ ID NO: 8中之以下取代之一或多個取代修飾：Y1Q、Y2L、Y2I、M3V、M3I、L5C、L8F、V12F、V13Y、F15S、A16V、A16I、I18V、I18L、C19M、C20M及C21G。在一些實施例中，非天然存在之TCR-TM包含SEQ ID NO: 4中所含的跨膜域之胺基酸序列，其藉由對應於SEQ ID NO: 8中之Y2L、M3V、A16V及I18V取代之取代修飾。在一些實施例中，非天然存在之TCR-TM包含SEQ ID NO: 4中所含的跨膜域之胺基酸序列，其藉由對應於SEQ ID NO: 8中之Y2I、M3I、A16I及I18L取代之取代修飾。在一些實施例中，非天然存在之TCR-TM包含SEQ ID NO: 4中所含的跨膜域之胺基酸序列，其藉由對應於SEQ ID NO: 8中之L8F、V12F及F15S取代之取代修飾。在一些實施例中，非天然存在之TCR-TM包含SEQ ID NO: 14-26中之任一者之胺基酸序列。

【0128】在一些實施例中，源自本文所描述之天然存在之T細胞受體的非天然存在之TCR-TM包含含有SEQ ID NO: 8之胺基酸序列的γ TCR次單元的跨膜域、基本上由其組成或由其組成，該跨膜域藉由一或多個胺基酸殘基之取代修飾。在一些實施例中，γ TCR次單元之跨膜域藉由SEQ ID NO: 8中之不超過5個胺基酸殘基之取代修飾。在一些實施例中，γ TCR次單元之跨膜域藉由SEQ ID NO: 8中之單一胺基酸殘基之取代修

飾。在一些實施例中，至少一個經取代胺基酸係經疏水性比對應未經取代殘基更高之殘基取代。在一些實施例中，每一個經取代胺基酸係經疏水性比對應未經取代殘基更高之殘基取代。在一些實施例中，至少一個經取代胺基酸鄰近TCRM中參與結合CD3之胺基酸。在一些實施例中，每一個經取代胺基酸鄰近TCRM中參與結合CD3之胺基酸。

【0129】在一些實施例中，非天然存在之TCR-TM包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列，其藉由對應於SEQ ID NO: 8中之以下胺基酸之胺基酸中之一或多個取代(諸如用更具疏水性的殘基取代)修飾：Y1、Y2、M3、L5、L8、V12、V13、F15、A16、I18、C19、C20及C21。在一些實施例中，非天然存在之TCR-TM包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列，其藉由對應於SEQ ID NO: 8中之Y2、M3、A16及I18之胺基酸中之取代(諸如用更具疏水性的殘基取代)修飾。在一些實施例中，非天然存在之TCR-TM包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列，其藉由對應於SEQ ID NO: 8中之L8、V12及F15之胺基酸中之取代(諸如用更具疏水性的殘基取代)修飾。在一些實施例中，非天然存在之TCR-TM包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列，其藉由對應於SEQ ID NO: 8中之以下取代之一或多個取代修飾：Y1Q、Y2L、Y2I、M3V、M3I、L5C、L8F、V12F、V13Y、F15S、A16V、A16I、I18V、I18L、C19M、C20M及C21G。在一些實施例中，非天然存在之TCR-TM包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列，其藉由對應於SEQ ID NO: 8中之Y2L、M3V、A16V及I18V取代之取代修飾。在一些實施例中，非天然存在之TCR-TM包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列，其藉由對應於SEQ ID NO: 8中之Y2I、M3I、A16I及I18L取代之取代修飾。在一些實施例中，非天然存在之TCR-TM包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列，其

藉由對應於SEQ ID NO: 8中之L8F、V12F及F15S取代之取代修飾。在一些實施例中，非天然存在之TCR-TM包含SEQ ID NO: 14-26中之任一者之胺基酸序列。

【0130】在一些實施例中，提供一種特異性結合靶抗原之caTCR，其包含：a)第一TCRD，其包含含有SEQ ID NO: 7及9-13之胺基酸序列中之任一者、基本上由其組成或由其組成的第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含含有SEQ ID NO: 8及14-26中之任一者之胺基酸序列、基本上由其組成或由其組成的第二TCR-TM，其中第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子的TCRM，且其中第一及/或第二TCR-TM為非天然存在的；及b)抗原結合模組，其特異性結合於靶抗原，其中抗原結合模組連接於第一及/或第二TCRD。在一些實施例中，第一TCR-TM及第二TCR-TM係根據表2中所列之caTCR中之任一者選擇。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽包含SEQ ID NO: 31或32之胺基酸序列或其變異體，及/或第二連接肽包含SEQ ID NO: 33或34之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第二TCR胞內域包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該

caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及第二穩定域包含抗體部分(諸如C_H1及C_L抗體域)或其變異體。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含具有SEQ ID NO: 7及8之序列之T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，任何兩個caTCR模組或域之間存在間隔模組。在一些實施例中，抗原結合模組為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。

表2

caTCR ID	第一TCR-TM (δ次單元)	第二TCR-TM (γ次單元)
TM0	VLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL (SEQ ID NO: 7)	YYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLL (SEQ ID NO: 8)
TM1	VLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFSL (SEQ ID NO: 9)	YYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLL (SEQ ID NO: 8)
TM2	VLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL (SEQ ID NO: 7)	YYMYLLLLLKSVYYFAIITCCLLRRTAF (SEQ ID NO: 14)
TM3	VLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL (SEQ ID NO: 7)	YYMYLLLLLKSVVYFAIITCGLLRRTAF (SEQ ID NO: 15)
TM4	VLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL (SEQ ID NO: 7)	YLVYLLLLLKSVVYFVIVTCCLLRRTAF (SEQ ID NO: 16)
TM5	VLGLRVLFAKTVAVNFLLTAKLFFL (SEQ ID NO: 10)	YLVYLLLLLKSVVYFVIVTCCLLRRTAF (SEQ ID NO: 16)
TM6	VLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL (SEQ ID NO: 7)	YLMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAF (SEQ ID NO: 17)
TM7	VLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL (SEQ ID NO: 7)	YYVYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAF (SEQ ID NO: 18)
TM8	VLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL (SEQ ID NO: 7)	YYMYLLLLLKSVVYFVIITCCLLRRTAF (SEQ ID NO: 19)
TM9	VLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL (SEQ ID NO: 7)	YYMYLLLLLKSVVYFAIVTCCLLRRTAF (SEQ ID NO: 20)
TM10	VLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL (SEQ ID NO: 7)	YYIYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAF (SEQ ID NO: 21)
TM11	VLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL (SEQ ID NO: 7)	YIIYLLLLLKSVVYFIILTCCLLRRTAF (SEQ ID NO: 22)

TM12	VLGCRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL (SEQ ID NO: 11)	YYMYCLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAF (SEQ ID NO: 23)
TM13	VLGLRMLFAKTFAVSFLLTAKLFFL (SEQ ID NO: 12)	YYMYLLLFLKSFVYSAIITCCLLRRTAF (SEQ ID NO: 24)
TM14	VLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL (SEQ ID NO: 7)	YYMYLLLLLKSVVYFAIITMCLLRRTAF (SEQ ID NO: 25)
TM15	VLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFS (SEQ ID NO: 13)	QYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAF (SEQ ID NO: 26)

抗原結合模組

【0131】在一些實施例中，根據本文所描述之caTCR中之任一者，抗原結合模組為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分係選自由以下組成之群：Fab、Fab'、(Fab')2、Fv及單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，當抗體部分為包含第一抗體部分鏈及第二抗體部分鏈之多聚體時，caTCR包含連接於第一或第二抗體部分鏈之第一TCRD及連接於另一抗體部分鏈之第二TCRD。在一些實施例中，抗體部分特異性結合細胞表面抗原，包括(但不限於)CD19、CD20、CD22、CD47、GPC-3、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D及FCRL5，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，抗體部分特異性結合肽/MHC複合體，其中肽源自蛋白質，包括(但不限於) WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1、KRAS、組蛋白H3.3及PSA，包括其變異體或突變體。

【0132】在一些實施例中，根據本文所描述之caTCR中之任一者，抗原結合模組為包含C_H1及C_L域之抗體部分。在一些實施例中，C_H1域源自IgG (例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)重鏈，視情況為人類的。在一些實施例中，C_H1域為相較於其所源自之序列包含一或多個修飾(例如胺基酸取代、插入及/或缺失)之變異體。在一些實施例中，C_H1域包含SEQ ID NO: 37-47及86中之任一者之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，C_H1域包含SEQ ID NO: 37之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，C_L域源自κ或λ輕鏈，視情況為人類的。在一些實施例中，C_L域為相較於

其所源自之序列包含一或多個修飾(例如胺基酸取代、插入及/或缺失)之變異體。在一些實施例中，C_L域包含SEQ ID NO: 48或87之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，C_H1及/或C_L域包含實質上不改變其彼此的結合親和力的一或多個修飾。在一些實施例中，C_H1及/或C_L域包含增加其彼此的結合親和力及/或引入非天然存在之二硫鍵的一或多個修飾。

【0133】在一些實施例中，根據本文所描述之caTCR中之任一者包含特異性結合於靶抗原之抗體部分，抗體部分包含對靶抗原具有特異性之抗體部分的CDR或可變域(V_H及/或V_L域)。在一些實施例中，抗體部分包含對CD19具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如WO2017066136A2)。在一些實施例中，抗體部分包含對CD19具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (例如，V_H域，其包含SEQ ID NO: 54之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成；及/或V_L域，其包含SEQ ID NO: 55之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成；或其中所含之CDR)。在一些實施例中，抗體部分包含對CD20具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (例如，V_H域，其包含SEQ ID NO: 56之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成；及/或V_L域，其包含SEQ ID NO: 57之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成；或其中所含之CDR)。在一些實施例中，抗體部分包含對CD22具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如2018年3月30日提交之USSN 62/650,955，其內容以全文引用之方式併入本文中)。在一些實施例中，抗體部分包含對CD22具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (例如，V_H域，其包含SEQ ID NO: 65之胺

基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成；及/或V_L域，其包含SEQ ID NO: 69之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成；或其中所含之CDR)。在一些實施例中，抗體部分包含對GPC3具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如2017年4月26日提交之USSN 62/490,586，其內容以全文引用之方式併入本文中)。在一些實施例中，抗體部分包含對GPC3具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (例如，V_H域，其包含SEQ ID NO: 58之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成；及/或V_L域，其包含SEQ ID NO: 59之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成；或其中所含之CDR)。在一些實施例中，抗體部分包含對ROR1具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如WO2016/187220及WO2016/187216)。在一些實施例中，抗體部分包含對ROR2具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如WO2016/142768)。在一些實施例中，抗體部分包含對BCMA具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如WO2016/090327及WO2016/090320)。在一些實施例中，抗體部分包含對GPRC5D具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如WO2016/090329及WO2016/090312)。在一些實施例中，抗體部分包含對FCRL5具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如WO2016/090337)。在一些實施例中，抗體部分包含對WT-1具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如WO2012/135854、WO2015/070078及WO2015/070061)。在一些實施例中，抗體部分包含對AFP具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或

V_L域) (參見例如WO2016/161390)。在一些實施例中，抗體部分包含對HPV16-E7具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如WO2016/182957)。在一些實施例中，抗體部分包含對NY-ESO-1具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如WO2016/210365)。在一些實施例中，抗體部分包含對PRAME具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如WO2016/191246)。在一些實施例中，抗體部分包含對EBV-LMP2A具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如WO2016/201124)。在一些實施例中，抗體部分包含對KRAS具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如WO2016/154047)。在一些實施例中，抗體部分包含對PSA具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如WO2017/015634)。在一些實施例中，抗體部分為Fab，其包含：一個Fab鏈，其包含V_H域及C_H1域；及另一Fab鏈，其包含V_L域及C_L域。在一些實施例中，C_H1域包含SEQ ID NO: 37-47及86中之任一者之胺基酸序列，及/或C_L域包含SEQ ID NO: 48或87之胺基酸序列。在一些實施例中，C_H1域包含SEQ ID NO: 37之胺基酸序列、基本上由其組成或由其組成，且C_L域包含SEQ ID NO: 48之胺基酸序列、基本上由其組成或由其組成。

caTCR構築體

【0134】在一些實施例中，提供一種特異性結合靶抗原之caTCR，其包含：a)第一TCRD，其包含源自天然存在之TCR之跨膜域中之一者的第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含源自天然存在之TCR之另一跨膜域的第二TCR-TM，其中第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關

信號傳導分子的TCRM，且其中第一及/或第二TCR-TM為非天然存在的；及b)抗體部分，其特異性結合於靶抗原，其中抗體部分連接於第一及/或第二TCRD。在一些實施例中，抗體部分係選自由以下組成之群：Fab、Fab'、(Fab')2、Fv及單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，抗體部分特異性結合細胞表面抗原，包括(但不限於)CD19、CD20、CD22、CD47、GPC-3、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D及FCRL5，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，抗體部分特異性結合肽/MHC複合體，其中肽源自蛋白質，包括(但不限於) WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1、KRAS、組蛋白H3.3及PSA，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，穩定模組位於TCRM與抗體部分之間。

【0135】在一些實施例中，提供一種特異性結合靶抗原之caTCR，其包含：a)第一TCRD，其包含含有SEQ ID NO: 7及9-13之胺基酸序列中之任一者、基本上由其組成或由其組成的第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含含有SEQ ID NO: 8及14-26中之任一者之胺基酸序列、基本上由其組成或由其組成的第二TCR-TM，其中第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子的TCRM，且其中第一及/或第二TCR-TM為非天然存在的；及b)抗體部分，其特異性結合於靶抗原，其中抗體部分連接於第一及/或第二TCRD。在一些實施例中，第一TCR-TM及第二TCR-TM係根據表2中所列之caTCR中之任一者選擇。在一些實施例中，抗體部分係選自由以下組成之群：Fab、Fab'、(Fab')2、Fv及單鏈Fv

(scFv)。在一些實施例中，抗體部分特異性結合細胞表面抗原，包括(但不限於)CD19、CD20、CD22、CD47、GPC-3、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D及FCRL5，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，抗體部分特異性結合肽/MHC複合體，其中肽源自蛋白質，包括(但不限於) WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1、KRAS、組蛋白H3.3及PSA，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽包含SEQ ID NO: 31或32之胺基酸序列或其變異體，及/或第二連接肽包含SEQ ID NO: 33或34之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第二TCR胞內域包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含具有SEQ ID NO: 7及8之序列之T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更加強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，任何兩

個caTCR模組或域之間存在間隔模組。

【0136】在一些實施例中，提供一種特異性結合靶抗原之caTCR，其包含：a)第一TCRD，其包含第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含第二TCR-TM，其中第一及第二TCR-TM分別包含以下胺基酸序列、基本上由其組成或由其組成：SEQ ID NO: 9及8、7及14、7及15、7及16、10及16、7及17、7及18、7及19、7及20、7及21、7及22、11及23、12及24、7及25或13及26，且其中第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子的TCRM；及b)抗體部分，其特異性結合於靶抗原，其中抗體部分連接於第一及/或第二TCRD。舉例而言，在一些實施例中，提供一種特異性結合靶抗原之caTCR，其包含：a)第一TCRD，其包含含有SEQ ID NO: 9之胺基酸序列、基本上由其組成或由其組成的第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含含有SEQ ID NO: 8之胺基酸序列、基本上由其組成或由其組成的第二TCR-TM，其中第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子的TCRM；及b)抗體部分，其特異性結合於靶抗原，其中抗體部分連接於第一及/或第二TCRD。在一些實施例中，抗體部分係選自由以下組成之群：Fab、Fab'、(Fab')2、Fv及單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，抗體部分特異性結合細胞表面抗原，包括(但不限於)CD19、CD20、CD22、CD47、GPC-3、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D及FCRL5，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，抗體部分特異性結合肽/MHC複合體，其中肽源自蛋白質，包括(但不限於) WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1、KRAS、組蛋白H3.3及PSA，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二

TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽包含SEQ ID NO: 31或32之胺基酸序列或其變異體，及/或第二連接肽包含SEQ ID NO: 33或34之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第二TCR胞內域包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含具有SEQ ID NO: 7及8之序列之T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，任何兩個caTCR模組或域之間存在間隔模組。

【0137】在一些實施例中，提供一種特異性結合靶抗原之caTCR，其包含：a)第一TCRD，其包含具有SEQ ID NO: 10之胺基酸序列的第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含具有SEQ ID NO: 16之胺基酸序列的第二TCR-TM，其中第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子的TCRM；及b)抗體部分，其特異性結合於靶抗原，其中抗體部分連接於第一及/或第二TCRD。在一些實施例中，抗體部分係選自由以下

組成之群：Fab、Fab'、(Fab')2、Fv及單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，抗體部分特異性結合細胞表面抗原，包括(但不限於)CD19、CD20、CD22、CD47、GPC-3、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D及FCRL5，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，抗體部分特異性結合肽/MHC複合體，其中肽源自蛋白質，包括(但不限於) WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1、KRAS、組蛋白H3.3及PSA，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽包含SEQ ID NO: 31或32之胺基酸序列或其變異體，及/或第二連接肽包含SEQ ID NO: 33或34之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第二TCR胞內域包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含具有SEQ ID NO: 7及8之序列之T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形

成。在一些實施例中，任何兩個caTCR模組或域之間存在間隔模組。

【0138】在一些實施例中，提供一種特異性結合靶抗原之caTCR，其包含：a)第一多肽鏈，其包含含有第一Fab鏈的第一抗原結合域，該第一Fab鏈連接於包含源自天然存在之TCR之跨膜域中之一者的第一TCR-TM的第一TCRD；及b)第二多肽鏈，其包含含有第二Fab鏈的第二抗原結合域，該第二Fab鏈連接於包含源自天然存在之TCR之另一跨膜域的第二TCR-TM的第二TCRD，其中第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子的TCRM，其中第一及/或第二TCR-TM為非天然存在的，且其中第一及第二Fab鏈形成特異性結合靶抗原的Fab樣抗原結合模組。在一些實施例中，a)第一Fab鏈包含V_H及C_H1抗體域，且第二Fab鏈包含V_L及C_L抗體域；或b)第一Fab鏈包含V_L及C_L抗體域，且第二Fab鏈包含V_H及C_H1抗體域。舉例而言，在一些實施例中，caTCR包含：a)第一多肽鏈，其包含連接於第一TCRD、包含V_H及C_H1抗體域的第一Fab鏈；及b)第二Fab鏈，其連接於第二TCRD、包含V_L及C_L抗體域。在一些實施例中，caTCR包含：a)第一Fab鏈，其連接於第一TCRD、包含V_L及C_L抗體域；及b)第二Fab鏈，其連接於第二TCRD、包含V_H及C_H1抗體域。在一些實施例中，在TCRD中之一或兩者與其連接之Fab鏈之間存在肽連接子。在一些實施例中，在C_H1域中之殘基與C_L域中之殘基之間存在二硫鍵。在一些實施例中，C_H1及/或C_L域包含增加Fab鏈彼此之結合親和力的一或多個修飾。在一些實施例中，交換C_H1及C_L域，使得Fab鏈中之一者包含V_H及C_L抗體域，且另一Fab鏈包含V_L及C_H1抗體域。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組特異性結合細胞表面抗原，包括(但不限於)CD19、CD20、CD22、CD47、GPC-3、ROR1、ROR2、BCMA、

GPRC5D及FCRL5，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組特異性結合肽/MHC複合體，其中肽源自蛋白質，包括(但不限於) WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1、KRAS、組蛋白H3.3及PSA，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一或第二穩定域位於第一TCRD與其連接的Fab鏈之間，且另一穩定穩定位於第二TCRD與其連接的Fab鏈之間。

【0139】在一些實施例中，提供一種特異性結合靶抗原之caTCR，其包含：a)第一多肽鏈，其包含含有第一Fab鏈的第一抗原結合域，該第一Fab鏈連接於包含含有SEQ ID NO: 7及9-13之胺基酸序列中之任一者、基本上由其組成或由其組成的第一TCR-TM的第一TCRD；及b)第二多肽鏈，其包含含有第二Fab鏈的第二抗原結合域，該第二Fab鏈連接於包含含有SEQ ID NO: 8及14-26中之任一者之胺基酸序列、基本上由其組成或由其組成的第二TCR-TM的第二TCRD，其中第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子的TCRM，其中第一及/或第二TCR-TM為非天然存在的，且其中第一及第二Fab鏈形成特異性結合靶抗原的Fab樣抗原結合模組。在一些實施例中，第一TCR-TM及第二TCR-TM係根據表2中所列之caTCR中之任一者選擇。在一些實施例中，a)第一Fab鏈包含V_H及C_H1抗體域，且第二Fab鏈包含V_L及C_L抗體域；或b)第一Fab鏈包含V_L及C_L抗體域，且第二Fab鏈包含V_H及C_H1抗體域。在一些實施例中，C_H1域包含SEQ ID NO: 37-47及86中之任一者之胺基酸序列，及/或C_L域包含SEQ ID NO: 48或87之胺基酸序列。在一些實施例中，C_H1域包

含SEQ ID NO: 37之胺基酸序列、基本上由其組成或由其組成，且C_L域包含SEQ ID NO: 48之胺基酸序列、基本上由其組成或由其組成。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組特異性結合細胞表面抗原，包括(但不限於)CD19、CD20、CD22、CD47、GPC-3、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D及FCRL5，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組特異性結合肽/MHC複合體，其中肽源自蛋白質，包括(但不限於) WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1、KRAS、組蛋白H3.3及PSA，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽包含SEQ ID NO: 31或32之胺基酸序列或其變異體，及/或第二連接肽包含SEQ ID NO: 33或34之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第二TCR胞內域包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含具有SEQ ID NO: 7及8之序列之T細胞受體跨膜

域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，任何兩個caTCR模組或域之間存在間隔模組。

【0140】在一些實施例中，提供一種特異性結合靶抗原之caTCR，其包含：a)第一多肽鏈，其包含含有第一Fab鏈的第一抗原結合域，該第一Fab鏈連接於包含第一TCR-TM的第一TCRD；及b)第二多肽鏈，其包含含有第二Fab鏈的第二抗原結合域，該第二Fab鏈連接於包含第二TCR-TM的第二TCRD，其中第一及第二TCR-TM分別包含以下胺基酸序列、基本上由其組成或由其組成：SEQ ID NO: 9及8、7及14、7及15、7及16、10及16、7及17、7及18、7及19、7及20、7及21、7及22、11及23、12及24、7及25或13及26，其中第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子的TCRM，且其中第一及第二Fab鏈形成特異性結合靶抗原的Fab-樣抗原結合模組。在一些實施例中，a)第一Fab鏈包含V_H及C_H1抗體域，且第二Fab鏈包含V_L及C_L抗體域；或b)第一Fab鏈包含V_L及C_L抗體域，且第二Fab鏈包含V_H及C_H1抗體域。在一些實施例中，C_H1域包含SEQ ID NO: 37-47及86中之任一者之胺基酸序列，及/或C_L域包含SEQ ID NO: 48或87之胺基酸序列。在一些實施例中，C_H1域包含SEQ ID NO: 37之胺基酸序列、基本上由其組成或由其組成，且C_L域包含SEQ ID NO: 48之胺基酸序列、基本上由其組成或由其組成。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組特異性結合細胞表面抗原，包括(但不限於)CD19、CD20、CD22、CD47、GPC-3、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D及FCRL5，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組特異性結合肽/MHC複合體，其中肽源自蛋白質，包括(但不限於) WT-1、

AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1、KRAS、組蛋白H3.3及PSA，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽包含SEQ ID NO: 31或32之胺基酸序列或其變異體，及/或第二連接肽包含SEQ ID NO: 33或34之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第二TCR胞內域包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含具有SEQ ID NO: 7及8之序列之T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，任何兩個caTCR模組或域之間存在間隔模組。

【0141】在一些實施例中，提供一種特異性結合靶抗原之caTCR，其包含：a)第一多肽鏈，其包含含有第一Fab鏈的第一抗原結合域，該第一Fab鏈連接於包含具有SEQ ID NO: 10之胺基酸序列的第一TCR-TM的

第一TCRD；及b)第二多肽鏈，其包含含有第二Fab鏈的第二抗原結合域，該第二Fab鏈連接於包含具有SEQ ID NO: 16之胺基酸序列的第二TCR-TM的第二TCRD，其中第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子的TCRM，且其中第一及第二Fab鏈形成特異性結合靶抗原的Fab樣抗原結合模組。在一些實施例中，a)第一Fab鏈包含V_H及C_H1抗體域，且第二Fab鏈包含V_L及C_L抗體域；或b)第一Fab鏈包含V_L及C_L抗體域，且第二Fab鏈包含V_H及C_H1抗體域。在一些實施例中，C_H1域包含SEQ ID NO: 37-47及86中之任一者之胺基酸序列，及/或C_L域包含SEQ ID NO: 48或87之胺基酸序列。在一些實施例中，C_H1域包含SEQ ID NO: 37之胺基酸序列、基本上由其組成或由其組成，且C_L域包含SEQ ID NO: 48之胺基酸序列、基本上由其組成或由其組成。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組特異性結合細胞表面抗原，包括(但不限於)CD19、CD20、CD22、CD47、GPC-3、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D及FCRL5，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組特異性結合肽/MHC複合體，其中肽源自蛋白質，包括(但不限於) WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1、KRAS、組蛋白H3.3及PSA，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽包含SEQ ID NO: 31或32之胺基酸序列或其變異體，及/或第二連接肽包含SEQ ID NO: 33或34之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，

第二TCR胞內域包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含具有SEQ ID NO: 7及8之序列之T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，任何兩個caTCR模組或域之間存在間隔模組。

【0142】在一些實施例中，提供一種特異性結合靶抗原之caTCR，其包含：a)第一TCRD，其包含源自天然存在之TCR之跨膜域中之一之第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含源自天然存在之TCR之另一跨膜域的第二TCR-TM，其中第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子的TCRM，且其中第一及/或第二TCR-TM為非天然存在的；及b) Fab'，其特異性結合於靶抗原，其中Fab'包含：含V_H、C_H1及部分鉸鏈抗體域的第一Fab'鏈，及含V_L及C_L抗體域的第二Fab'鏈，且其中第一Fab'鏈連接於第一或第二TCRD，且第二Fab'鏈連接於另一TCRD。在一些實施例中，在TCRD中之一或兩者與其連接之Fab'鏈之間存在肽連接子。在一些實施例中，在C_H1域中之殘基與C_L域中之殘基之間存在二硫鍵。在一些實施例中，C_H1及/或C_L域包含增加Fab'鏈彼此之結合親和力的

一或多個修飾。在一些實施例中，交換C_H1及C_L域，使得第一Fab'鏈包含V_H、C_L及部分鉸鏈抗體域，且第二Fab'鏈包含V_L及C_H1域。在一些實施例中，Fab'特異性結合細胞表面抗原，包括(但不限於)CD19、CD20、CD22、CD47、GPC-3、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D及FCRL5，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，Fab'特異性結合肽/MHC複合體，其中肽源自蛋白質，包括(但不限於) WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1、KRAS、組蛋白H3.3及PSA，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一或第二穩定域位於第一TCRD與其連接的Fab'鏈之間，且另一穩定穩定位於第二TCRD與其連接的Fab'鏈之間。

【0143】在一些實施例中，提供一種特異性結合靶抗原之caTCR，其包含：a)第一TCRD，其包含源自天然存在之TCR之跨膜域中之一之第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含源自天然存在之TCR之另一跨膜域的第二TCR-TM，其中第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子的TCRM，且其中第一及/或第二TCR-TM為非天然存在的；及b) (Fab')2，其特異性結合於靶抗原，其中(Fab')2包含：第一及第二(Fab')2鏈，其包含V_H、C_H1及部分鉸鏈抗體域；及第三及第四(Fab')2鏈，其包含V_L及C_L抗體域，且其中第一(Fab')2鏈連接於第一或第二TCRD，且第二(Fab')2鏈連接於另一TCRD。在一些實施例中，在TCRD中之一或兩者與其連接之(Fab')2鏈之間存在肽連接子。在一些實施例中，在C_H1域中之殘基與C_L域中之殘基之間存在二硫鍵。在一些實施例中，

C_H1及/或C_L域包含增加(Fab')2鏈彼此之結合親和力的一或多個修飾。在一些實施例中，交換C_H1及C_L域，使得第一及第二(Fab')2鏈包含V_H、C_L及部分鉸鏈抗體域，且第三及第四(Fab')2鏈包含V_L及C_H1域。在一些實施例中，(Fab')2特異性結合細胞表面抗原，包括(但不限於)CD19、CD20、CD22、CD47、GPC-3、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D及FCRL5，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，(Fab')2特異性結合肽/MHC複合體，其中肽源自蛋白質，包括(但不限於) WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1、KRAS、組蛋白H3.3及PSA，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一或第二穩定域位於第一TCRD與其連接的(Fab')2鏈之間，且另一穩定穩定位於第二TCRD與其連接的(Fab')2鏈之間。

【0144】 在一些實施例中，提供一種特異性結合靶抗原之caTCR，其包含：a)第一TCRD，其包含源自天然存在之TCR之跨膜域中之一者的第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含源自天然存在之TCR之另一跨膜域的第二TCR-TM，其中第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子的TCRM，且其中第一及/或第二TCR-TM為非天然存在的；及b)Fv，其特異性結合於靶抗原，其中Fv包含含有V_H抗體域的第一Fv鏈及含有V_L抗體域的第二Fv鏈，且其中第一Fv鏈連接於第一或第二TCRD且第二Fv鏈連接於另一TCRD。在一些實施例中，在TCRD中之一或兩者與其連接之Fv鏈之間存在肽連接子。在一些實施例中，Fv特異性結合細胞表面抗原，包括(但不限於)CD19、CD20、CD22、CD47、

GPC-3、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D及FCRL5，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，Fv特異性結合肽/MHC複合體，其中肽源自蛋白質，包括(但不限於) WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1、KRAS、組蛋白H3.3及PSA，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一或第二穩定域位於第一TCRD與其連接的Fv鏈之間，且另一穩定穩定位於第二TCRD與其連接的Fv鏈之間。

【0145】在一些實施例中，提供一種特異性結合靶抗原之caTCR，其包含：a)第一TCRD，其包含源自天然存在之TCR之跨膜域中之一者之第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含源自天然存在之TCR之另一跨膜域之第二TCR-TM，其中第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子的TCRM，且其中第一及/或第二TCR-TM為非天然存在的；及b)第一scFv，其特異性結合於靶抗原，其中第一scFv包含V_H及V_L抗體域，且其中第一scFv連接於第一或第二TCRD。在一些實施例中，caTCR進一步包含連接於第一scFv或連接於未連接於第一scFv之TCRD的第二抗原結合模組。在一些實施例中，第二抗原結合模組特異性結合於靶抗原。在一些實施例中，第二抗原結合模組特異性結合於不同於靶抗原之抗原。在一些實施例中，第二抗原結合模組為第二scFv。在一些實施例中，在第一scFv與其連接的TCRD之間或在第二抗原結合模組與其連接的scFv或TCRD之間存在肽連接子。在一些實施例中，scFv特異性結合細胞表面抗原，其包括(但不限於) CD19、CD20、CD22、CD47、GPC-3、

ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D及FCRL5，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，scFv特異性結合肽/MHC複合體，其中肽源自蛋白質，該蛋白質包括(但不限於) WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1、KRAS、組蛋白H3.3及PSA，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一或第二穩定域位於第一scFv與其連接的TCRD之間，且另一穩定域連接於第二TCRD。

【0146】在一些實施例中，提供一種特異性結合靶抗原之caTCR，其包含a)第一TCRD，其包含源自天然存在之TCR之跨膜域中之一者之第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含源自天然存在之TCR之另一跨膜域之第二TCR-TM，其中第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子的TCRM，且其中第一及/或第二TCR-TM為非天然存在的；及b)第一scFv，其特異性結合於靶抗原及第二scFv，其中第一及第二scFv包含V_H及V_L抗體域，且其中第一scFv連接於第一或第二TCRD且第二scFv連接於另一TCRD。在一些實施例中，第二TCRD特異性結合於靶抗原。在一些實施例中，第二scFv包含第一scFv之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成。在一些實施例中，第二scFv特異性結合於不同於靶抗原之抗原。在一些實施例中，第一及/或第二scFv個別地特異性結合細胞表面抗原，其包括(但不限於) CD19、CD20、CD22、CD47、GPC-3、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D及FCRL5，包括其變異體及突變體。在一些實施例中，第一及/或第二scFv單獨特異性結合肽/MHC複合體，其中肽源自蛋白質，包括(但不限於) WT-1、

AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1、KRAS、組蛋白H3.3及PSA，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一或第二穩定域位於第一scFv與其連接的TCRD之間，且另一穩定域位於第二scFv與其連接的TCRD之間。

多特異性caTCR

【0147】本申請案之一個態樣提供特異性結合於兩個或多於兩個(例如2、3、4或更多個)不同靶抗原或抗原決定基之多特異性caTCR。在一些實施例中，多特異性caTCR特異性結合於兩個或多於兩個(例如2、3、4或更多個)不同靶抗原。在一些實施例中，多特異性caTCR特異性結合於相同靶抗原上之兩個或多於兩個(例如2、3、4或更多個)不同抗原決定基。在一些實施例中，多特異性caTCR包含用於各抗原或抗原決定基之抗原結合模組。在一些實施例中，多特異性caTCR包含用於至少一個抗原或抗原決定基之超過兩個抗原結合模組。在一些實施例中，多特異性caTCR包含多特異性抗原結合模組，其包含各自特異性結合於抗原或抗原決定基之兩個或多於兩個(例如2、3、4或更多個)抗原結合域。在一些實施例中，多特異性caTCR為雙特異性的。在一些實施例中，多特異性caTCR為三特異性的。

【0148】多特異性分子為對於至少兩種不同抗原或抗原決定基具有結合特異性的分子(例如雙特異性抗體對兩種抗原或抗原決定基具有結合特異性)。亦涵蓋具有超過兩個價及/或特異性之多特異性caTCR。已描述雙特異性抗體，例如參見Brinkmann U.及Kontermann R.E. (2017)

MABS, 9(2), 182-212。可製備三特異性抗體，參見Tutt等人*J. Immunol.* 147: 60 (1991)。應瞭解，熟習此項技術者可選擇此項技術中已知之單獨多特異性分子之適當特徵以形成多特異性caTCR。

【0149】在一些實施例中，提供一種caTCR (在本文中亦稱為「多特異性caTCR」)，該caTCR包含：a)多特異性(例如雙特異性)抗原結合模組，其包含特異性結合於第一靶抗原之第一抗原結合域及特異性結合於第二靶抗原之第二抗原結合域；及b) TCRM，其包含含有第一TCR-TM之第一TCRD (TCRD1)及含有第二TCR-TM之第二TCRD (TCRD2)；其中TCRM有助於募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽包含第一TCR-TM所源自之TCR次單元的連接肽之全部或一部分或其變異體，及/或第二連接肽包含第二TCR-TM所源自之TCR次單元的連接肽之全部或一部分或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第一TCR胞內域包含來自第一TCR-TM所源自之TCR次單元的胞內域的序列，及/或第二TCR胞內域包含來自第二TCR-TM所源自之TCR次單元的胞內域的序列。在一些實施例中，第一TCRD為第一TCR-TM所源自之TCR次單元的片段，及/或第二TCRD為第二TCR-TM所源自之TCR次單元的片段。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定

模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中第一及第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及第二穩定域包含抗體部分(諸如C_H1及C_L抗體域)或其變異體。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含天然存在之αβ T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，任何兩個caTCR模組或域之間存在間隔模組。在一些實施例中，第一TCR-TM及第二TCR-TM兩者為天然存在的。在一些實施例中，TCR-TM中之至少一者為非天然存在的。在一些實施例中，第一TCR-TM與該第一TCR-TM所源自之跨膜域相比包含至多5個胺基酸取代(例如單一胺基酸取代)，及/或第二TCR-TM與該第二TCR-TM所源自之跨膜域相比包含至多5個胺基酸取代(例如單一胺基酸取代)。在一些實施例中，該第一TCR-TM中之經取代胺基酸鄰近該第二TCR-TM中之經取代胺基酸。在一些實施例中，一或多個經取代胺基酸鄰近該第一或第二TCR-TM中參與結合於CD3的胺基酸。在一些實施例中，一或多個(例如每一)經取代胺基酸之疏水性比其對應的未經取代之胺基酸大。在一些實施例中，第一TCR-TM包含SEQ ID NO: 7及9-13中之任一者之胺基酸序列，且其中第二TCR-TM包含SEQ ID NO: 8及14-26中之任一者之胺基酸序列。

【0150】雙特異性caTCR之例示性結構經展示於圖13A至圖13E中，其中靶抗原為CD19及CD22，但熟習此項技術者將容易理解，可使用相同結構型式來製備靶向其他靶抗原或抗原決定基之雙特異性caTCR。

【0151】舉例而言，源自DVD IgG之雙可變域(DVD)（參見DiGiammarino等人，mAbs 3(5): 487-494)可用作caTCR中之雙特異性抗原結合模組(圖13A)。用於融合外可變域及內可變域之各種連接子已經開發且最佳化以用於DVD-Ig，其可適用於構築具有DVD模組之雙特異性caTCR。然而，DVD模組中之可變域堆疊方法可影響內可變域之摺疊及靶結合親和力。兩種可變域之間的連接子及兩種可變域之次序可影響caTCR之功效。

【0152】在一些實施例中，提供一種caTCR，該caTCR包含：a)多特異性(例如雙特異性)抗原結合模組，其包含特異性結合於第一靶抗原之Fv及特異性結合於第二靶抗原之Fab；及b) TCRM，其包含含有第一TCR-TM之第一TCRD (TCRD1)及含有第二TCR-TM之第二TCRD (TCRD2)；其中TCRM有助於募集至少一種TCR相關信號傳導分子。

【0153】在一些實施例中，提供一種caTCR，該caTCR包含：(i)包含N端至C端之第一多肽鏈：V_H 1-L1-V_H2-C_H1-TCRD1；及包含N端至C端之第二多肽鏈：V_L1-L2-V_L2-C_L-TCRD2；(ii)包含N端至C端之第一多肽鏈：V_H1-L1-V_L2-C_L-TCRD1；及包含N端至C端之第二多肽鏈：V_L1-L2-V_H2-C_H1-TCRD2；(iii)包含N端至C端之第一多肽鏈：V_L1-L1-V_H2-C_H1-TCRD1；及包含N端至C端之第二多肽鏈：V_H1-L2-V_L2-C_L-TCRD2；或(iv)包含N端至C端之第一多肽鏈：V_L1-L1-V_L2-C_L-TCRD1；及包含N端至C端之第二多肽鏈：V_H1-L2-V_H2-C_H1-TCRD2，其中V_H1及V_L1形成特異性結合於第一靶抗原之第一抗原結合域，且V_H2及V_L2形成特異性結合於第二靶抗原之第二抗原結合域，其中TCRD1及TCRD2形成有助於募集至少一種TCR相關信號傳導分子之TCRM，且其中L1及L2為

肽連接子。在一些實施例中，L1及/或L2為約5至約50個(例如約5-10、約10-15或約15-30個)胺基酸長。在一些實施例中，L1及/或L2包含SEQ ID NO: 83-85中之任一者之胺基酸序列。在一些實施例中，L1及L2具有相同長度。在一些實施例中，L1及L2具有相同胺基酸序列。在一些實施例中，L1及L2具有不同長度。在一些實施例中，L1及L2具有不同胺基酸序列。例示性雙特異性caTCR經展示於圖13A中。

【0154】 源自CODV-IgG之交叉雙可變域(CODV) (參見Steinmetz等人，Steinmetz等人；mAbs (2016), 8(5): 867-878)可用作caTCR中之雙特異性抗原結合模組(圖13B)。CODV允許各Fv有相對無障礙抗原結合位點。用於融合外重鏈及輕鏈可變區之各種連接子已經開發且最佳化以用於CODV-Ig，其可適用於構築具有CODV模組之雙特異性caTCR。然而，CODV模組之適當摺疊可受到挑戰，且用於CODV模組中之長連接子可為免疫原性之潛在來源且易受蛋白質裂解影響。

【0155】 在一些實施例中，提供一種caTCR，該caTCR包含：a)多特異性(例如雙特異性)抗原結合模組，其包含特異性結合於第一靶抗原之第一Fv及特異性結合於第二靶抗原之第二Fv；及b) TCRM，其包含含有第一TCR-TM之第一TCRD (TCRD1)及含有第二TCR-TM之第二TCRD (TCRD2)；其中TCRM有助於募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，caTCR進一步包含C_H1及C_L。

【0156】 在一些實施例中，提供一種caTCR，該caTCR包含：(i)包含N端至C端之第一多肽鏈：V_H1-L1-V_H2-C_H1-TCRD1，及包含N端至C端之第二多肽鏈：V_L2-L2-V_L1-C_L-TCRD2；或(ii)包含N端至C端之第一多肽鏈：V_L1-L1-V_L2-C_L-TCRD1，及包含N端至C端之第二多肽鏈：V_H2-

L2-V_H1-C_H1-TCRD2，其中V_H1及V_L1形成特異性結合於第一靶抗原之第一抗原結合域，且V_H2及V_L2形成特異性結合於第二靶抗原之第二抗原結合域，其中TCRD1及TCRD2形成有助於募集至少一種TCR相關信號傳導分子之TCRM，且其中L1及L2為肽連接子。在一些實施例中，L1及/或L2為約5至約50個(例如約5-20、約15-30或約30-50個)胺基酸長。在一些實施例中，L1及/或L2包含SEQ ID NO: 83-85中之任一者之胺基酸序列。在一些實施例中，L1及L2具有相同長度。在一些實施例中，L1及L2具有相同胺基酸序列。在一些實施例中，L1及L2具有不同長度。在一些實施例中，L1及L2具有不同胺基酸序列。例示性雙特異性caTCR經展示於圖13B中。

【0157】 源自scFv融合蛋白之雙特異性抗原結合模組(諸如Chen等人，mAbs 8(4): 761-774中所描述之彼等者)可用於雙特異性caTCR中(圖13C)。具有類似融合型式之雙特異性抗體之表現已展現此型式之適當摺疊及穩定性。用於將scFv融合至恆定域之各種連接子已經開發且最佳化以用於此等雙特異性抗體，其可適用於構築具有類似scFv融合域之雙特異性caTCR。然而，scFv之間的位阻可危害scFv與其靶抗原之結合。

【0158】 在一些實施例中，提供一種caTCR，該caTCR包含：a)多特異性(例如雙特異性)抗原結合模組，其包含特異性結合於第一靶抗原之第一scFv及特異性結合於第二靶抗原之第二scFv；及b) TCRM，其包含含有第一TCR-TM之第一TCRD (TCRD1)及含有第二TCR-TM之第二TCRD (TCRD2)；其中TCRM有助於募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，caTCR進一步包含C_H1及C_L。

【0159】 在一些實施例中，提供一種caTCR，該caTCR包含：(i)包

含N端至C端之第一多肽鏈：scFv1-L1-C_H1-TCRD1，及包含N端至C端之第二多肽鏈：scFv2-L2-C_L-TCRD2；或(ii)包含N端至C端之第一多肽鏈：scFv2-L1-C_H1-TCRD1，及包含N端至C端之第二多肽鏈：scFv1-L2-C_L-TCRD2，其中scFv1特異性結合於第一靶抗原且scFv2特異性結合於第二靶抗原，其中TCRD1及TCRD2形成有助於募集至少一種TCR相關信號傳導分子之TCRM，且L1及L2為肽連接子。在一些實施例中，L1及/或L2為約5至約50個(例如約5-10、約10-15或約15-30個)胺基酸長。在一些實施例中，L1及/或L2包含SEQ ID NO: 83-85中之任一者之胺基酸序列。在一些實施例中，L1及L2具有相同長度。在一些實施例中，L1及L2具有相同胺基酸序列。在一些實施例中，L1及L2具有不同長度。在一些實施例中，L1及L2具有不同胺基酸序列。例示性雙特異性caTCR經展示於圖13C中。

【0160】源自IgG-scFv雙特異性抗體或Fab-scFv-Fc雙特異性抗體之雙特異性抗原結合模組可用於雙特異性caTCR中。在一種型式(圖13D)中，scFv連接於Fab之V_H或V_L，其使scFv有較大可撓性且因此使Fab更多地接近其靶抗原。然而，scFv-Fab模組可具有穩定性問題。在第二型式(圖13E)中，Fab融合至第一TCRD且scFv融合至第二TCRD。

【0161】在一些實施例中，提供一種caTCR，該caTCR包含：a)多特異性(例如雙特異性)抗原結合模組，其包含特異性結合於第一靶抗原之scFv及特異性結合於第二靶抗原之Fab；及b) TCRM，其包含含有第一TCR-TM之第一TCRD (TCRD1)及含有第二TCR-TM之第二TCRD (TCRD2)；其中TCRM有助於募集至少一種TCR相關信號傳導分子。

【0162】在一些實施例中，提供一種caTCR，該caTCR包含：(i)包

含N端至C端之第一多肽鏈：scFv-L1-V_H-C_H1-TCRD1，及包含N端至C端之第二多肽鏈：V_L-C_L-TCRD2；或(ii)包含N端至C端之第一多肽鏈：V_H-C_H1-TCRD1，及包含N端至C端之第二多肽鏈：scFv-L2-V_L-C_L-TCRD2；其中scFv特異性結合於第一靶抗原，且V_H及V_L形成特異性結合於第二靶抗原之第二抗原結合域，其中TCRD1及TCRD2形成有助於募集至少一種TCR相關信號傳導分子之TCRM，且其中L1及L2為肽連接子。在一些實施例中，L1及/或L2為約5至約50個(例如約5-10、約10-15或約15-30個)胺基酸長。在一些實施例中，L1及/或L2包含SEQ ID NO: 83-85中之任一者之胺基酸序列。例示性雙特異性caTCR經展示於圖13D中。

【0163】在一些實施例中，提供一種caTCR，該caTCR包含：(i)含有N端至C端之第一多肽鏈：V_L-C_L-L1-TCRD1、含有N端至C端之第二多肽鏈：V_H-C_H1，及含有N端至C端之第三多肽鏈：scFv-L2-TCRD2；(ii)含有N端至C端之第一多肽鏈：V_H-C_H1-L1-TCRD1、含有N端至C端之第二多肽鏈：V_L-C_L，及含有N端至C端之第三多肽鏈：scFv-L2-TCRD2；(iii)含有N端至C端之第一多肽鏈：scFv-L1-TCRD1、含有N端至C端之第二多肽鏈：V_H-C_H1，及含有N端至C端之第三多肽鏈：V_L-C_L-L2-TCRD2；或(iv)含有N端至C端之第一多肽鏈：scFv-L1-TCRD1、含有N端至C端之第二多肽鏈：V_L-C_L，及含有N端至C端之第三多肽鏈：V_H-C_H1-L2-TCRD2；其中scFv特異性結合於第一靶抗原，且V_H及V_L形成特異性結合於第二靶抗原之第二抗原結合域，其中TCRD1及TCRD2形成有助於募集至少一種TCR相關信號傳導分子之TCRM，且其中L1及L2為肽連接子。在一些實施例中，L1及/或L2為約5至約50個(例如約5-10、約10-15或約15-30個)胺基酸長。在一些實施例中，L1及/或L2包含SEQ ID NO:

83-85中之任一者之胺基酸序列。例示性雙特異性caTCR經展示於圖13E中。scFv與TCRD之間的肽連接子之長度及Fab與TCRD之間的肽連接子之長度可經最佳化，係因為其可影響scFv及Fab與其靶抗原之可接近性。

【0164】 多特異性caTCR之多特異性抗原結合模組可特異性結合於靶抗原或抗原決定基之任何合適組合。在一些實施例中，多特異性抗原結合模組特異性結合於至少一個細胞表面抗原。在一些實施例中，至少一個細胞表面抗原係選自由以下組成之群：CD19、CD20、CD22、CD47、GPC-3、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D及FCRL5，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，多特異性抗原結合模組特異性結合於至少一個肽/MHC複合體。在一些實施例中，至少一個肽/MHC複合體包含源自蛋白質之肽，該蛋白質選自由以下組成之群：WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1、KRAS、組蛋白H3.3及PSA，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，多特異性抗原結合模組特異性結合於第一細胞表面抗原及第二細胞表面抗原。在一些實施例中，多特異性抗原結合模組特異性結合於CD19及CD22。在一些實施例中，多特異性抗原結合模組特異性結合於CD19及CD20。在一些實施例中，多特異性抗原結合模組特異性結合於第一肽/MHC複合體及第二肽/MHC複合體。在一些實施例中，多特異性抗原結合模組特異性結合細胞表面抗原及肽/MHC複合體。

【0165】 第一抗原結合域及第二抗原結合域可為源自合適抗體之抗體部分。例示性抗CD19及抗CD22抗體為此項技術中已知的。參見(例如)描述於WO2017066136A2中之抗CD19抗體及描述於2018年3月30日提交之USSN 62/650,955中之抗CD22抗體，該等申請案之內容以全文引用之

方式併入本文中。

【0166】在一些實施例中，提供一種caTCR，該caTCR包含：a)多特異性(例如雙特異性)抗原結合模組，其包含特異性結合於CD19之第一抗原結合域及特異性結合於CD22之第二抗原結合域；及b) TCRM，其包含含有第一TCR-TM之第一TCRD (TCRD1)及含有第二TCR-TM之第二TCRD (TCRD2)；其中TCRM有助於募集至少一種TCR相關信號傳導分子。

【0167】在一些實施例中，提供一種caTCR，該caTCR包含：a)多特異性(例如雙特異性)抗原結合模組，其包含：(i)特異性結合於CD19之第一抗原結合域，該第一抗原結合域包含：V_H，其包含含有SEQ ID NO:74之胺基酸序列之V_H的HC-CDR1、HC-CDR2及HC-CDR3，及V_L，其包含含有SEQ ID NO:78之胺基酸序列之V_L的LC-CDR1、LC-CDR2及LC-CDR3；及(ii)特異性結合於CD22之第二抗原結合域，該第二抗原結合域包含：V_H，其包含含有SEQ ID NO:65之胺基酸序列之V_H的HC-CDR1、HC-CDR2及HC-CDR3，及V_L，其包含含有SEQ ID NO:69之胺基酸序列之V_L的LC-CDR1、LC-CDR2及LC-CDR3；及b) TCRM，其包含含有第一TCR-TM之第一TCRD (TCRD1)及含有第二TCR-TM之第二TCRD (TCRD2)；其中TCRM有助於募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，特異性結合於CD19之第一抗原結合域包含：V_H，其包含含有SEQ ID NO:71之胺基酸序列之HC-CDR1、含有SEQ ID NO:72之胺基酸序列之HC-CDR2及含有SEQ ID NO:73之胺基酸序列之HC-CDR3；及V_L，其包含含有SEQ ID NO:75之胺基酸序列之LC-CDR1、含有SEQ ID NO:76之胺基酸序列之LC-CDR2及含有SEQ ID

NO:77之胺基酸序列之LC-CDR3。在一些實施例中，特異性結合於CD22之第二抗原結合域包含：V_H，其包含含有SEQ ID NO:62之胺基酸序列之HC-CDR1、含有SEQ ID NO:63之胺基酸序列之HC-CDR2及含有SEQ ID NO:64之胺基酸序列之HC-CDR3；及V_L，其包含含有SEQ ID NO:66之胺基酸序列之LC-CDR1、含有SEQ ID NO:67之胺基酸序列之LC-CDR2及含有SEQ ID NO:68之胺基酸序列之LC-CDR3。在一些實施例中，特異性結合於CD19之第一抗原結合域包含：V_H，其包含SEQ ID NO: 74之胺基酸序列；及V_L，其包含SEQ ID NO: 78之胺基酸序列。在一些實施例中，特異性結合於CD22之第二抗原結合域包含：V_H，其包含SEQ ID NO: 65之胺基酸序列；及V_L，其包含SEQ ID NO: 69之胺基酸序列。在一些實施例中，特異性結合於CD19之第一抗原結合域包含scFv，其包含SEQ ID NO: 79之胺基酸序列。在一些實施例中，特異性結合於CD19之第一抗原結合域包含scFv，其包含SEQ ID NO: 70之胺基酸序列。在一些實施例中，TCRD1包含SEQ ID NO: 80之胺基酸序列且TCRD2包含SEQ ID NO: 81之胺基酸序列，或TCRD1包含SEQ ID NO: 81之胺基酸序列且TCRD2包含SEQ ID NO: 80之胺基酸序列。在一些實施例中，caTCR包含融合於TCRD1之C_H1及融合於TCRD2之C_L，或融合於TCRD1之C_L及融合於TCRD2之C_H1。在一些實施例中，C_H1包含SEQ ID NO: 37之胺基酸序列，且C_L包含SEQ ID NO: 48之胺基酸序列。在一些實施例中，C_H1及C_L包含使二聚穩定之一或多個突變。在一些實施例中，C_H1包含SEQ ID NO: 86之胺基酸序列，且C_L包含SEQ ID NO: 87之胺基酸序列。在一些實施例中，第一抗原結合域或其片段(例如V_H或V_L)經由肽連接子融合於第二抗原結合域或其片段(例如V_H或V_L)。在一些實施例中，第一抗原結

合域或其片段(例如V_H或V_L)經由肽連接子融合於C_H1或C_L。在一些實施例中，第二抗原結合域或其片段(例如V_H或V_L)經由肽連接子融合於C_H1或C_L。在一些實施例中，肽連接子為約5個到約50個胺基酸長。在一些實施例中，肽連接子包含SEQ ID NO: 83-85中之任一者之胺基酸序列。

【0168】在一些實施例中，提供一種特異性結合於CD19及CD20之caTCR，該caTCR包含：(i)第一多肽，其包含SEQ ID NO: 88之胺基酸序列，及第二多肽，其包含SEQ ID NO: 89之胺基酸序列；(ii)第一多肽，其包含SEQ ID NO: 90之胺基酸序列，及第二多肽，其包含SEQ ID NO: 91之胺基酸序列；(iii)第一多肽，其包含SEQ ID NO: 92之胺基酸序列，及第二多肽，其包含SEQ ID NO: 93之胺基酸序列；(iv)第一多肽，其包含SEQ ID NO: 94之胺基酸序列，及第二多肽，其包含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列； (v)第一多肽，其包含SEQ ID NO: 96之胺基酸序列，及第二多肽，其包含SEQ ID NO: 97之胺基酸序列；(vi)第一多肽，其包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列，及第二多肽，其包含SEQ ID NO: 99之胺基酸序列；(vii)第一多肽，其包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列，及第二多肽，其包含SEQ ID NO: 101之胺基酸序列；(viii)第一多肽，其包含SEQ ID NO: 102之胺基酸序列，及第二多肽，其包含SEQ ID NO: 103之胺基酸序列；(ix)第一多肽，其包含SEQ ID NO: 104之胺基酸序列，及第二多肽，其包含SEQ ID NO: 105之胺基酸序列；(x)第一多肽，其包含SEQ ID NO: 106之胺基酸序列，及第二多肽，其包含SEQ ID NO: 107之胺基酸序列；(xi)第一多肽，其包含SEQ ID NO: 108之胺基酸序列，及第二多肽，其包含SEQ ID NO: 109之胺基酸序列；(xii)第一多肽，其包含SEQ ID NO: 110之胺基酸序列，及第二多肽，其包含SEQ ID NO: 111之

胺基酸序列；或(xiii)第一多肽，其包含SEQ ID NO: 112之胺基酸序列，及第二多肽，其包含SEQ ID NO: 113之胺基酸序列。

【0169】在一些實施例中，提供一種caTCR，該caTCR包含：a)多特異性(例如雙特異性)抗原結合模組，其包含特異性結合於CD19之第一抗原結合域及特異性結合於CD20之第二抗原結合域；及b) TCRM，其包含含有第一TCR-TM之第一TCRD (TCRD1)及含有第二TCR-TM之第二TCRD (TCRD2)；其中TCRM有助於募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，特異性結合於CD19之第一抗原結合域包含：V_H，其包含含有SEQ ID NO: 74之胺基酸序列之V_H的HC-CDR1、HC-CDR2及HC-CDR3，及V_L，其包含含有SEQ ID NO:78之胺基酸序列之V_L的LC-CDR1、LC-CDR2及LC-CDR3。在一些實施例中，特異性結合於CD20之第二抗原結合域包含：V_H，其包含含有SEQ ID NO: 56之胺基酸序列之V_H的HC-CDR1、HC-CDR2及HC-CDR3，及V_L，其包含含有SEQ ID NO: 57之胺基酸序列之V_L的LC-CDR1、LC-CDR2及LC-CDR3。在一些實施例中，特異性結合於CD19之第一抗原結合域包含：V_H，其包含SEQ ID NO: 74之胺基酸序列，及V_L，其包含SEQ ID NO: 78之胺基酸序列。在一些實施例中，特異性結合於CD20之第二抗原結合域包含：V_H，其包含SEQ ID NO: 56之胺基酸序列，及V_L，其包含SEQ ID NO: 57之胺基酸序列。在一些實施例中，TCRD1包含SEQ ID NO: 80之胺基酸序列且TCRD2包含SEQ ID NO: 81之胺基酸序列，或TCRD1包含SEQ ID NO: 81之胺基酸序列且TCRD2包含SEQ ID NO: 80之胺基酸序列。在一些實施例中，caTCR包含融合於TCRD1之C_H1及融合於TCRD2之C_L，或融合於TCRD1之C_L及融合於TCRD2之C_H1。在一些實施例中，C_H1包含SEQ

ID NO: 37之胺基酸序列，且C_L包含SEQ ID NO: 48之胺基酸序列。在一些實施例中，C_H1及C_L包含使二聚穩定之一或多個突變。在一些實施例中，C_H1包含SEQ ID NO: 86之胺基酸序列，且C_L包含SEQ ID NO: 87之胺基酸序列。在一些實施例中，第一抗原結合域或其片段(例如V_H或V_L)經由肽連接子融合於第二抗原結合域或其片段(例如V_H或V_L)。在一些實施例中，第一抗原結合域或其片段(例如V_H或V_L)經由肽連接子融合於C_H1或C_L。在一些實施例中，第二抗原結合域或其片段(例如V_H或V_L)經由肽連接子融合於C_H1或C_L。在一些實施例中，肽連接子為約5個到約50個胺基酸長。在一些實施例中，肽連接子包含SEQ ID NO: 83-85中之任一者之胺基酸序列。

嵌合協同刺激受體(CSR)構築體

【0170】 在一些實施例中，提供一種免疫細胞(諸如T細胞)，其包含本文所描述之caTCR中之一者及嵌合協同刺激受體(CSR)，該嵌合協同刺激受體包含：i)能夠與靶配體結合或相互作用之配體結合模組；ii)跨膜模組；及iii)能夠將協同刺激信號提供至免疫細胞之協同刺激免疫細胞信號傳導模組，其中該配體結合模組及協同刺激免疫細胞信號傳導模組並非源自相同分子，且其中CSR缺乏功能性原代免疫細胞信號傳導域。此類免疫細胞在本文中亦被稱作「caTCR加CSR免疫細胞」。

【0171】 本文所描述之配體特異性嵌合協同刺激受體(CSR)特異性結合於靶配體(諸如細胞表面抗原或肽/MHC複合體)，且能夠在靶配體結合之後刺激表面上的功能性表現該CSR的免疫細胞。CSR包含提供配體結合特異性的配體結合模組、跨膜模組及允許刺激免疫細胞的協同刺激免疫細胞信號傳導模組。CSR缺乏功能性原代免疫細胞信號傳導序列。在一些

實施例中，CSR缺乏任何原代免疫細胞信號傳導序列。在一些實施例中，CSR包含含有配體結合模組、跨膜模組及協同刺激信號傳導模組的單一多肽鏈。在一些實施例中，CSR包含第一多肽鏈及第二多肽鏈，其中該第一與第二多肽鏈一起形成配體結合模組、跨膜模組及協同刺激信號傳導模組。在一些實施例中，第一及第二多肽鏈為分開的多肽鏈，且CSR為多聚體，諸如二聚體。在一些實施例中，第一及第二多肽鏈諸如藉由肽鍵或藉由另一化學鍵(諸如，二硫鍵)共價連接。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈藉由至少一個二硫鍵連接。在一些實施例中，CSR在caTCR加CSR免疫細胞中的表現為可誘導性。在一些實施例中，在經由caTCR之信號傳導後，caTCR加CSR免疫細胞的表現為可誘導性。

【0172】 用於本發明之CSR之協同刺激免疫細胞信號傳導域之實例包括T細胞受體(TCR)之協同受體的細胞質序列，以及此等序列之任何衍生物或變異體及具有相同功能性能力之任何合成序列，該T細胞受體可與caTCR相配合起作用以在caTCR接合後引發信號轉導。

【0173】 在一些情形下，經由單獨的TCR產生之信號不足以完全活化T細胞且亦需要次級或協同刺激信號。因此，在一些實施例中，T細胞活化係藉由兩種不同類別之胞內信號傳導序列介導：經由TCR引發抗原依賴性一級活化之彼等序列(在本文中被稱作「原代T細胞信號傳導序列」)；及以抗原非依賴性方式起作用以提供次級或協同刺激信號之彼等序列(在本文中被稱作「協同刺激T細胞信號傳導序列」)。

【0174】 以刺激方式起作用之原代免疫細胞信號傳導序列可含有信號傳導基元，其被稱為基於免疫受體酪胺酸之活化基元或ITAM。含ITAM之原代免疫細胞信號傳導序列之實例包括源自TCRζ、FcRγ、

FcRβ、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD5、CD22、CD79a、CD79b及CD66d之彼等序列。「功能性」原代免疫細胞信號傳導序列為在可操作地耦接於適當受體時能夠轉導免疫細胞活化信號的序列。可包含原代免疫細胞信號傳導序列之片段或變異體之「非功能性」原代免疫細胞信號傳導序列不能轉導免疫細胞活化信號。本文所描述之CSR缺乏功能性原代免疫細胞信號傳導序列，諸如包含ITAM之功能性信號傳導序列。在一些實施例中，CSR缺乏任何原代免疫細胞信號傳導序列。

【0175】協同刺激免疫細胞信號傳導序列可為協同刺激分子之胞內域的一部分，該協同刺激分子包括(例如) CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD27、CD40、PD-1、ICOS、淋巴細胞功能相關抗原-1 (LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、與CD83特異性結合的配體，及其類似物。

【0176】在一些實施例中，靶配體為細胞表面抗原。在一些實施例中，靶配體為肽/MHC複合體。在一些實施例中，靶配體與表現於相同免疫細胞中之caTCR之靶抗原相同。在一些實施例中，靶配體與表現於相同免疫細胞中之caTCR之靶抗原不同。在一些實施例中，靶配體為呈遞靶抗原之細胞之表面上所呈遞之分子。舉例而言，在一些實施例中，caTCR之靶抗原為癌細胞上所呈遞之癌症相關抗原，且靶配體為表現於癌細胞之表面上之遍在分子，諸如整合素。在一些實施例中，靶配體為疾病相關配體。在一些實施例中，靶配體為癌症相關配體。在一些實施例中，癌症相關配體為例如CD19、CD20、CD22、CD47、IL4、GPC-3、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些實施例中，癌症相關配體為肽/MHC複合體，其包含源自包括WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-

1、PRAME、EBV-LMP2A及PSA之蛋白質的肽。在一些實施例中，靶配體為病毒相關配體。在一些實施例中，靶配體為免疫檢查點分子。在一些實施例中，免疫檢查點分子包括PD-L1、PD-L2、CD80、CD86、ICOSL、B7-H3、B7-H4、HVEM、4-1BBL、OX40L、CD70、CD40及GAL9。在一些實施例中，靶配體為細胞凋亡分子。在一些實施例中，細胞凋亡分子包括FasL、FasR、TNFR1及TNFR2。

【0177】在一些實施例中，配體結合模組為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，抗體部分特異性結合細胞表面抗原，該細胞表面抗原包括(但不限於) CD19、CD20、CD22、CD47、GPC-3、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D及FCRL5。在一些實施例中，抗體部分特異性結合肽/MHC複合體，其中肽源自蛋白質，該蛋白質包括(但不限於) WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A及PSA。在一些實施例中，抗體部分包含對CD19具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域)(參見例如WO2017066136A2)。在一些實施例中，抗體部分包含對CD19具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (例如，V_H域，其包含SEQ ID NO: 54之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成；及/或V_L域，其包含SEQ ID NO: 55之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成；或其中所含之CDR)。在一些實施例中，抗體部分包含對CD20具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (例如，V_H域，其包含SEQ ID NO: 56之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成；及/或V_L域，其包含SEQ ID NO: 57之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺

基酸序列組成；或其中所含之CDR)。在一些實施例中，抗體部分包含對CD22具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如2018年3月30日提交之USSN 62/650,955，其內容以全文引用之方式併入本文中)。在一些實施例中，抗體部分包含對CD22具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (例如，V_H域，其包含SEQ ID NO: 65之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成；及/或V_L域，其包含SEQ ID NO: 69之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成；或其中所含之CDR)。在一些實施例中，抗體部分包含對GPC3具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如2017年4月26日提交之USSN 62/490,586，其內容以全文引用之方式併入本文中)。在一些實施例中，抗體部分包含對GPC3具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (例如，V_H域，其包含SEQ ID NO: 58之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成；及/或V_L域，其包含SEQ ID NO: 59之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成；或其中所含之CDR)。在一些實施例中，抗體部分包含對ROR1具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如WO2016/187220及WO2016/187216)。在一些實施例中，抗體部分包含對ROR2具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如WO2016/142768)。在一些實施例中，抗體部分包含對BCMA具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如WO2016/090327及WO2016/090320)。在一些實施例中，抗體部分包含對GPRC5D具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如WO2016/090329及WO2016/090312)。在一些實施例中，抗體部分包含

對FCRL5具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如WO2016/090337)。在一些實施例中，抗體部分包含對WT-1具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域)(參見例如WO2012/135854、WO2015/070078及WO2015/070061)。在一些實施例中，抗體部分包含對AFP具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如WO2016/161390)。在一些實施例中，抗體部分包含對HPV16-E7具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如WO2016/182957)。在一些實施例中，抗體部分包含對NY-ESO-1具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域)(參見例如WO2016/210365)。在一些實施例中，抗體部分包含對PRAME具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域)(參見例如WO2016/191246)。在一些實施例中，抗體部分包含對EBV-LMP2A具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域)(參見例如WO2016/201124)。在一些實施例中，抗體部分包含對KRAS具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如WO2016/154047)。在一些實施例中，抗體部分包含對PSA具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如WO2017/015634)。

【0178】在一些實施例中，配體結合模組為(或源自)用於靶配體之受體之胞外域的全部或一部分。在一些實施例中，受體包括例如FasR、TNFR1、TNFR2、PD-1、CD28、CTLA-4、ICOS、BTLA、KIR、LAG-3、4-1BB、OX40、CD27及TIM-3。

【0179】在一些實施例中，跨膜模組包含一或多個跨膜域，其源自例如CD28、CD3ε、CD3ζ、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、

CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137或CD154。

【0180】在一些實施例中，協同刺激信號傳導模組包含免疫細胞協同刺激分子之胞內域之全部或一部分、基本上由其組成或由其組成，該免疫細胞協同刺激分子包括(例如) CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30、CD40、ICOS、淋巴細胞功能相關抗原-1 (LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、與CD83特異性結合的配體，及其類似物。在一些實施例中，協同刺激信號傳導分子包含CD28之片段，其包含SEQ ID NO: 49或118之胺基酸序列。在一些實施例中，協同刺激信號傳導分子包含4-1BB之片段，其包含SEQ ID NO: 50或119之胺基酸序列。在一些實施例中，協同刺激信號傳導分子包含OX40之片段，其包含SEQ ID NO: 51或120之胺基酸序列。在一些實施例中，協同刺激信號傳導分子包含CD27之片段，其包含SEQ ID NO: 122或123之胺基酸序列。在一些實施例中，協同刺激信號傳導分子包含CD30之片段，其包含SEQ ID NO: 124或125之胺基酸序列。在一些實施例中，協同刺激信號傳導分子包含CD8之片段，其包含SEQ ID NO: 121之胺基酸序列。

【0181】在一些實施例中，CSR進一步包含在配體結合模組、跨膜模組及協同刺激信號傳導模組中之任一者之間的間隔模組。在一些實施例中，間隔模組包含連接兩個CSR模組之一或多個肽連接子。在一些實施例中，間隔模組包含長度在約5至約70 (諸如約5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65或70中之任一者，包括此等數值之間的任何範圍)個胺基酸之間的一或多個肽連接子。

【0182】在一些實施例中，配體結合模組(諸如抗體部分)以下列親

和力或K_d特異性結合於靶抗原：a)該親和力為其對於其他分子之結合親和力之至少約10倍(包括例如至少約10、20、30、40、50、75、100、200、300、400、500、750、1000或更多倍之任一者)；b)該K_d不超過其結合於其他分子之K_d的約1/10 (諸如不超過約1/10、1/20、1/30、1/40、1/50、1/75、1/100、1/200、1/300、1/400、1/500、1/750、1/1000或更小中之任一者)。結合親和力可藉由此項技術中已知之方法測定，諸如ELISA、螢光活化細胞分選(FACS)分析或放射免疫沈澱分析(RIA)。K_d可藉由此項技術中已知之方法測定，諸如利用例如Biacore儀器之表面電漿子共振(SPR)分析，或利用例如Sapidyne儀器之動力學排除分析(KinExA)。

【0183】 在一些實施例中，本文所描述之CSR特異性結合於靶配體(諸如細胞表面抗原或肽/MHC複合體)，其包含：a)靶配體結合域(LBD)；b)跨膜域；及c)協同刺激信號傳導域，其中CSR能夠在靶配體結合之後刺激表面上的功能性表現該CSR的免疫細胞。在一些實施例中，靶配體為細胞表面抗原。在一些實施例中，靶配體為肽/MHC複合體。在一些實施例中，靶配體與表現於相同免疫細胞中之caTCR之靶抗原相同。在一些實施例中，靶配體與表現於相同免疫細胞中之caTCR之靶抗原不同。在一些實施例中，靶配體為疾病相關配體。在一些實施例中，靶配體為癌症相關配體。在一些實施例中，癌症相關配體為例如CD19、CD20、CD22、CD47、IL4、GPC-3、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些實施例中，癌症相關配體為肽/MHC複合體，其包含源自包括WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A及PSA之蛋白質的肽。在一些實施例中，靶配體為病毒相關配體。在一些實施例中，靶配體為免疫檢查點分子。在一些實施例中，免疫檢查點分子包括PD-L1、

PD-L2、CD80、CD86、ICOSL、B7-H3、B7-H4、HVEM、4-1BBL、OX40L、CD70、CD40及GAL9。在一些實施例中，靶配體為細胞凋亡分子。在一些實施例中，細胞凋亡分子包括FasL、FasR、TNFR1及TNFR2。在一些實施例中，配體結合域為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，配體結合域為(或源自)用於靶配體之受體之胞外域的全部或一部分。在一些實施例中，受體包括例如FasR、TNFR1、TNFR2、PD-1、CD28、CTLA-4、ICOS、BTLA、KIR、LAG-3、4-1BB、OX40、CD27及TIM-3。在一些實施例中，跨膜域包含源自跨膜蛋白之跨膜域，該跨膜蛋白包括(例如) CD28、CD3ε、CD3ζ、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137或CD154。在一些實施例中，CSR包含跨膜蛋白之片段(fTMP)，其中fTMP包含CSR跨膜域。在一些實施例中，協同刺激信號傳導域包含免疫細胞協同刺激分子之胞內域之全部或一部分、基本上由其組成或由其組成，該免疫細胞協同刺激分子包括(例如) CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30、CD40、ICOS、淋巴細胞功能相關抗原-1 (LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、與CD83特異性結合的配體，及其類似物。在一些實施例中，CSR包含免疫細胞協同刺激分子之片段(fCSM)，其中fCSM包含CSR跨膜域及CSR協同刺激信號傳導域。在一些實施例中，CSR進一步包含在配體結合域、跨膜域及協同刺激信號傳導域中之任一者之間的間隔域。在一些實施例中，間隔域包含連接兩個CSR域之肽連接子。

【0184】在一些實施例中，本文所描述之CSR特異性結合於靶配

體，其包含：a)靶配體結合域；b)跨膜域；及c)協同刺激信號傳導域，其中靶配體為細胞表面抗原，且其中CSR能夠在靶配體結合之後刺激表面上的功能性表現該CSR的免疫細胞。在一些實施例中，靶配體與表現於相同免疫細胞中之caTCR之靶抗原相同。在一些實施例中，靶配體與表現於相同免疫細胞中之caTCR之靶抗原不同。在一些實施例中，靶配體為疾病相關配體。在一些實施例中，靶配體為癌症相關配體。在一些實施例中，癌症相關配體為例如CD19、CD20、CD22、CD47、IL4、GPC-3、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些實施例中，靶配體為病毒相關配體。在一些實施例中，靶配體為免疫檢查點分子。在一些實施例中，免疫檢查點分子包括PD-L1、PD-L2、CD80、CD86、ICOSL、B7-H3、B7-H4、HVEM、4-1BBL、OX40L、CD70、CD40及GAL9。在一些實施例中，靶配體為細胞凋亡分子。在一些實施例中，細胞凋亡分子包括FasL、FasR、TNFR1及TNFR2。在一些實施例中，配體結合域為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，配體結合域為(或源自)用於靶配體之受體之胞外域的全部或一部分。在一些實施例中，受體包括例如FasR、TNFR1、TNFR2、PD-1、CD28、CTLA-4、ICOS、BTLA、KIR、LAG-3、4-1BB、OX40、CD27及TIM-3。在一些實施例中，跨膜域包含源自跨膜蛋白之跨膜域，該跨膜蛋白包括(例如) CD28、CD3ε、CD3ζ、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137或CD154。在一些實施例中，CSR包含跨膜蛋白之片段(fTMP)，其中fTMP包含CSR跨膜域。在一些實施例中，協同刺激信號傳導域包含免疫細胞協同刺激分子之胞內域之全部或一部分、

基本上由其組成或由其組成，該免疫細胞協同刺激分子包括(例如) CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30、CD40、ICOS、淋巴細胞功能相關抗原-1 (LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、與CD83特異性結合的配體，及其類似物。在一些實施例中，CSR包含免疫細胞協同刺激分子之片段(fCSM)，其中fCSM包含CSR跨膜域及CSR協同刺激信號傳導域。在一些實施例中，CSR進一步包含在配體結合域、跨膜域及協同刺激信號傳導域中之任一者之間的間隔域。在一些實施例中，間隔域包含連接兩個CSR域之肽連接子。

【0185】在一些實施例中，本文所描述之CSR特異性結合於靶配體，其包含：a)靶配體結合域；b)跨膜域；及c)協同刺激信號傳導域，其中靶配體為肽/MHC複合體，且其中CSR能夠在靶配體結合之後刺激表面上的功能性表現該CSR的免疫細胞。在一些實施例中，靶配體與表現於相同免疫細胞中之caTCR之靶抗原相同。在一些實施例中，靶配體與表現於相同免疫細胞中之caTCR之靶抗原不同。在一些實施例中，靶配體為疾病相關配體。在一些實施例中，靶配體為癌症相關配體。在一些實施例中，癌症相關配體為肽/MHC複合體，其包含源自包括WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A及PSA之蛋白質的肽。在一些實施例中，靶配體為病毒相關配體。在一些實施例中，配體結合域為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，跨膜域包含源自跨膜蛋白之跨膜域，該跨膜蛋白包括(例如) CD28、CD3ε、CD3ζ、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137或CD154。在一些實施例中，CSR包含跨膜蛋白之片段(fTMP)，其中

fTMP包含CSR跨膜域。在一些實施例中，協同刺激信號傳導域包含免疫細胞協同刺激分子之胞內域之全部或一部分、基本上由其組成或由其組成，該免疫細胞協同刺激分子包括(例如) CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30、CD40、ICOS、淋巴細胞功能相關抗原-1 (LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、與CD83特異性結合的配體，及其類似物。在一些實施例中，CSR包含免疫細胞協同刺激分子之片段(fCSM)，其中fCSM包含CSR跨膜域及CSR協同刺激信號傳導域。在一些實施例中，CSR進一步包含在配體結合域、跨膜域及協同刺激信號傳導域中之任一者之間的間隔域。在一些實施例中，間隔域包含連接兩個CSR域之肽連接子。

【0186】 在一些實施例中，本文所描述之CSR特異性結合於靶配體(諸如細胞表面抗原或肽/MHC複合體)，其包含：a)靶配體結合域；b)跨膜域；及c)協同刺激信號傳導域，其中配體結合域為抗體部分，且其中CSR能夠在靶配體結合之後刺激表面上的功能性表現該CSR的免疫細胞。在一些實施例中，靶配體為細胞表面抗原。在一些實施例中，靶配體為肽/MHC複合體。在一些實施例中，靶配體與表現於相同免疫細胞中之caTCR之靶抗原相同。在一些實施例中，靶配體與表現於相同免疫細胞中之caTCR之靶抗原不同。在一些實施例中，靶配體為疾病相關配體。在一些實施例中，靶配體為癌症相關配體。在一些實施例中，癌症相關配體為例如CD19、CD20、CD22、CD47、IL4、GPC-3、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些實施例中，癌症相關配體為肽/MHC複合體，其包含源自包括WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A及PSA之蛋白質的肽。在一些實施例中，靶配體

為病毒相關配體。在一些實施例中，靶配體為免疫檢查點分子。在一些實施例中，免疫檢查點分子包括PD-L1、PD-L2、CD80、CD86、ICOSL、B7-H3、B7-H4、HVEM、4-1BBL、OX40L、CD70、CD40及GAL9。在一些實施例中，靶配體為細胞凋亡分子。在一些實施例中，細胞凋亡分子包括FasL、FasR、TNFR1及TNFR2。在一些實施例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，跨膜域包含源自跨膜蛋白之跨膜域，該跨膜蛋白包括(例如) CD28、CD3ε、CD3ζ、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137或CD154。在一些實施例中，CSR包含跨膜蛋白之片段(fTMP)，其中fTMP包含CSR跨膜域。在一些實施例中，協同刺激信號傳導域包含免疫細胞協同刺激分子之胞內域之全部或一部分、基本上由其組成或由其組成，該免疫細胞協同刺激分子包括(例如) CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30、CD40、ICOS、淋巴細胞功能相關抗原-1 (LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、與CD83特異性結合的配體，及其類似物。在一些實施例中，CSR包含免疫細胞協同刺激分子之片段(fCSM)，其中fCSM包含CSR跨膜域及CSR協同刺激信號傳導域。在一些實施例中，CSR進一步包含在配體結合域、跨膜域及協同刺激信號傳導域中之任一者之間的間隔域。在一些實施例中，間隔域包含連接兩個CSR域之肽連接子。

【0187】 在一些實施例中，CSR包含CD28之fCSM。在一些實施例中，CSR包含：a)靶配體結合域；及b) CD28之片段，其包含SEQ ID NO: 118之胺基酸序列。在一些實施例中，CSR包含：靶配體結合域及包含SEQ ID NO: 126之胺基酸序列之CSR域。

【0188】在一些實施例中，本文所描述之CSR特異性結合於靶配體(諸如細胞表面抗原或肽/MHC複合體)，其包含：a)靶配體結合域；b)跨膜域；及c)協同刺激信號傳導域，其中配體結合域為(或源自)用於靶配體之受體之胞外域的全部或一部分，且其中CSR能夠在靶配體結合之後刺激表面上的功能性表現該CSR的免疫細胞。在一些實施例中，靶配體為細胞表面抗原。在一些實施例中，靶配體與表現於相同免疫細胞中之caTCR之靶抗原相同。在一些實施例中，靶配體與表現於相同免疫細胞中之caTCR之靶抗原不同。在一些實施例中，靶配體為疾病相關配體。在一些實施例中，靶配體為癌症相關配體。在一些實施例中，癌症相關配體為例如CD19、CD20、CD22、CD47、IL4、GPC-3、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些實施例中，靶配體為免疫檢查點分子。在一些實施例中，免疫檢查點分子包括PD-L1、PD-L2、CD80、CD86、ICOSL、B7-H3、B7-H4、HVEM、4-1BBL、OX40L、CD70、CD40及GAL9。在一些實施例中，靶配體為細胞凋亡分子。在一些實施例中，細胞凋亡分子包括FasL、FasR、TNFR1及TNFR2。在一些實施例中，靶配體受體包括例如FasR、TNFR1、TNFR2、PD-1、CD28、CTLA-4、ICOS、BTLA、KIR、LAG-3、4-1BB、OX40、CD27及TIM-3。在一些實施例中，跨膜域包含源自例如CD28、CD3ε、CD3ζ、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137或CD154之跨膜域。在一些實施例中，協同刺激信號傳導域包含免疫細胞協同刺激分子之胞內域之全部或一部分、基本上由其組成或由其組成，該免疫細胞協同刺激分子包括(例如) CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30、CD40、ICOS、淋巴細胞功能

相關抗原-1 (LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、與CD83特異性結合的配體，及其類似物。在一些實施例中，CSR進一步包含在配體結合域、跨膜域及協同刺激信號傳導域中之任一者之間的間隔域。在一些實施例中，間隔域包含連接兩個CSR域之肽連接子。

【0189】在一些實施例中，本文所描述之CSR特異性結合於CD19，該CSR包含：a) scFv，其包含具有SEQ ID NO: 74之胺基酸序列之V_H域及具有SEQ ID NO: 78之胺基酸序列之V_L域；及b) CD28之片段，其包含SEQ ID NO: 49或118之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成。在一些實施例中，CD28之片段包含SEQ ID NO: 118之胺基酸序列。在一些實施例中，CSR自胺基端至羧基端包含scFv、肽連接子及CD28之片段。在一些實施例中，CSR包含SEQ ID NO: 127之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成。

【0190】在一些實施例中，本文所描述之CSR特異性結合於GPC3，該CSR包含：a) scFv，其包含具有SEQ ID NO: 58之胺基酸序列之V_H域及具有SEQ ID NO: 59之胺基酸序列之V_L域；及b) CD28之片段，其包含SEQ ID NO: 49或80之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成。在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO: 117之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成。在一些實施例中，CD28之片段包含SEQ ID NO: 118之胺基酸序列。在一些實施例中，CSR自胺基端至羧基端包含scFv、肽連接子及CD28之片段。在一些實施例中，CSR包含SEQ ID NO: 128之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成。

【0191】在一些實施例中，CSR在caTCR加CSR免疫細胞中的表現

為可誘導性。在一些實施例中，caTCR加CSR免疫細胞包含編碼CSR之核酸序列，其可操作地連接於誘導性啟動子，包括本文所描述之誘導性啟動子中之任一者。在一些實施例中，在經由caTCR之信號傳導後，CSR在caTCR加CSR免疫細胞中的表現為可誘導性。在一些此類實施例中，caTCR加CSR免疫細胞包含編碼CSR之核酸序列，其回應於經由caTCR之信號傳導而可操作地連接於啟動子或調節元件。在一些實施例中，編碼CSR之核酸序列可操作地連接於活化T細胞(NFAT)衍生之啟動子之核因子。在一些實施例中，NFAT衍生之啟動子為NFAT衍生之最小啟動子(參見例如Durand, D等人, *Molec. Cell. Biol.* 8, 1715-1724 (1988)；Clipstone, NA、Crabtree, GR. *Nature. 1992* 357(6380): 695-7；Chmielewski, M.等人. *Cancer research* 71.17 (2011): 5697-5706；及Zhang, L.等人. *Molecular therapy* 19.4 (2011): 751-759)。在一些實施例中，NFAT衍生之啟動子包含SEQ ID NO: 116之核苷酸序列。在一些實施例中，編碼CSR之核酸序列可操作地連接於IL-2啟動子。

分泌性次級效應子(SSE)構築體

【0192】在一些實施例中，提供一種包含本文所描述之caTCR中之任一者之免疫細胞(諸如T細胞)，其中該免疫細胞能夠分泌分泌性次級效應子(SSE)。此類免疫細胞在本文中被稱作「caTCR加SSE免疫細胞」。SSE增強藉由SSE經功能性表現於其中及自其分泌之caTCR加SSE免疫細胞介導之免疫反應。在一些實施例中，SSE能夠將其他免疫細胞(諸如旁觀者T細胞或NK細胞)重定向於靶疾病細胞(諸如靶癌細胞)。在一些實施例中，SSE為靶向免疫細胞(諸如T細胞或NK細胞)及疾病細胞(諸如癌細胞)之多特異性抗體(諸如雙特異性抗體)。在一些實施例中，SSE保護

caTCR加SSE免疫細胞免受免疫抑制環境(諸如免疫抑制腫瘤環境)影響。在一些實施例中，SSE提供caTCR加SSE免疫細胞上之刺激受體之自分泌活化。在一些實施例中，SSE為外源性生長因子或刺激細胞介素。在一些實施例中，SSE在caTCR加SSE免疫細胞中的表現為可誘導性。在一些實施例中，在經由caTCR之信號傳導後，SSE在caTCR加SSE免疫細胞中的表現為可誘導性。在一些實施例中，caTCR加SSE免疫細胞進一步包含本文所描述之CSR中之任一者。

【0193】在一些實施例中，SSE為靶向T細胞及疾病細胞之多特異性抗體(諸如雙特異性抗體)。在一些實施例中，SSE包含特異性結合於T細胞之表面抗原之抗體部分。在一些實施例中，T細胞表面抗原為CD3。在一些實施例中，SSE包含特異性結合於疾病相關抗原(諸如癌症相關抗原)之抗體部分。在一些實施例中，疾病相關抗原為疾病細胞(諸如癌細胞)之表面抗原。在一些實施例中，疾病相關抗原為磷脂肌醇蛋白聚醣-3(GPC3)、CD47、黏蛋白-16(MUC16)、CD19、CD20、CD22、EpCAM、EGFR、HER2、CEA、PSMA、AFP、PSA、BCMA、FCRL5、NY-ESO、HPV16或FoxP3，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，SSE為選自由以下組成之群的多特異性抗體：串聯scFv、雙功能抗體(Db)、單鏈雙功能抗體(scDb)、雙親和力再靶向(DART)抗體及雙可變域(DVD)抗體。在一些實施例中，SSE為雙特異性抗體。在一些實施例中，SSE為串聯scFv，其包含靶向T細胞表面抗原之第一scFv及靶向疾病相關抗原之第二scFv。

【0194】在一些實施例中，SSE為串聯scFv，其包含靶向CD3之第一scFv及靶向疾病相關抗原之第二scFv。在一些實施例中，疾病相關抗原

為GPC3、CD47、MUC16、CD19、CD20、CD22、EpCAM、EGFR、HER2、CEA、PSMA、AFP、PSA、BCMA、FCRL5、NY-ESO、HPV16或FoxP3，包括其變異體或突變體。

【0195】在一些實施例中，SSE為串聯scFv，其包含靶向CD3之第一scFv及靶向GPC3之第二scFv。在一些實施例中，第二scFv包含：V_H域，其包含SEQ ID NO: 58之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成；及V_L域，其包含SEQ ID NO: 59之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成。在一些實施例中，V_H域處於V_L域之胺基端。在一些實施例中，V_L域處於V_H域之胺基端。在一些實施例中，第二scFv包含SEQ ID NO: 117之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成。在一些實施例中，第一scFv處於第二scFv之胺基端。在一些實施例中，第二scFv處於第一scFv之胺基端。在一些實施例中，SSE包含SEQ ID NO: 129之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成。

【0196】在一些實施例中，SSE為串聯scFv，其包含靶向CD3之第一scFv及靶向CD47之第二scFv。在一些實施例中，SSE為串聯scFv，其包含靶向CD3之第一scFv及靶向MUC16之第二scFv。

【0197】在一些實施例中，SSE為靶向NK細胞及疾病相關抗原(諸如癌症相關抗原)之多特異性抗體(諸如雙特異性抗體)。在一些實施例中，SSE包含特異性結合於NK細胞之表面抗原之抗體部分。在一些實施例中，NK細胞表面抗原為CD16a。在一些實施例中，SSE包含特異性結合於疾病相關抗原(諸如癌症相關抗原)之抗體部分。在一些實施例中，疾病相關抗原為疾病細胞(諸如癌細胞)之表面抗原。在一些實施例中，疾病

相關抗原為GPC3、CD47、MUC16、CD19、CD20、CD22、EpCAM、EGFR、HER2、CEA、PSMA、AFP、PSA、BCMA、FCRL5、NY-ESO、HPV16或FoxP3，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，SSE為選自由以下組成之群的多特異性抗體：串聯scFv、雙功能抗體(Db)、單鏈雙功能抗體(scDb)、雙親和力再靶向(DART)抗體及雙可變域(DVD)抗體。在一些實施例中，SSE為雙特異性抗體。在一些實施例中，SSE為串聯scFv，其包含靶向NK細胞表面抗原之第一scFv及靶向疾病相關抗原之第二scFv。

【0198】在一些實施例中，SSE為串聯scFv，其包含靶向CD16a之第一scFv及靶向疾病相關抗原之第二scFv。在一些實施例中，疾病相關抗原為GPC3、CD47、MUC16、CD19、CD20、CD22、EpCAM、EGFR、HER2、CEA、PSMA、AFP、PSA、BCMA、FCRL5、NY-ESO、HPV16或FoxP3，包括其變異體或突變體。

【0199】在一些實施例中，SSE為串聯scFv，其包含靶向CD16a之第一scFv及靶向GPC3之第二scFv。在一些實施例中，SSE為串聯scFv，其包含靶向CD16a之第一scFv及靶向CD47之第二scFv。在一些實施例中，SSE為串聯scFv，其包含靶向CD16a之第一scFv及靶向MUC16之第二scFv。

【0200】在一些實施例中，本文所描述之SSE包含特異性結合於疾病相關抗原之抗體部分，其中該抗體部分包含對疾病相關抗原具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域)。在一些實施例中，抗體部分包含對CD19具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如WO2017066136A2)。在一些實施例中，抗體部分包含對CD19具有

特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (例如，V_H域，其包含SEQ ID NO: 54之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成；及/或V_L域，其包含SEQ ID NO: 55之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成；或其中所含之CDR)。在一些實施例中，抗體部分包含對CD20具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (例如，V_H域，其包含SEQ ID NO: 56之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成；及/或V_L域，其包含SEQ ID NO: 57之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成；或其中所含之CDR)。在一些實施例中，抗體部分包含對CD22具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如2018年3月30日提交之USSN 62/650,955，其內容以全文引用之方式併入本文中)。在一些實施例中，抗體部分包含對CD22具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (例如，V_H域，其包含SEQ ID NO: 65之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成；及/或V_L域，其包含SEQ ID NO: 69之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成；或其中所含之CDR)。在一些實施例中，抗體部分包含對GPC3具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如2017年4月26日提交之USSN 62/490,586，其內容以全文引用之方式併入本文中)。在一些實施例中，抗體部分包含對GPC3具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (例如，V_H域，其包含SEQ ID NO: 58之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成；及/或V_L域，其包含SEQ ID NO: 59之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成；或其中所含之CDR)。在一些實施例中，抗

體部分包含對ROR1具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域)(參見例如WO2016/187220及WO2016/187216)。在一些實施例中，抗體部分包含對ROR2具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域)(參見例如WO2016/142768)。在一些實施例中，抗體部分包含對BCMA具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域)(參見例如WO2016/090327及WO2016/090320)。在一些實施例中，抗體部分包含對GPRC5D具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域)(參見例如WO2016/090329及WO2016/090312)。在一些實施例中，抗體部分包含對FCRL5具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域)(參見例如WO2016/090337)。在一些實施例中，抗體部分包含對WT-1具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域)(參見例如WO2012/135854、WO2015/070078及WO2015/070061)。在一些實施例中，抗體部分包含對AFP具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域)(參見例如WO2016/161390)。在一些實施例中，抗體部分包含對HPV16-E7具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域)(參見例如WO2016/182957)。在一些實施例中，抗體部分包含對NY-ESO-1具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域)(參見例如WO2016/210365)。在一些實施例中，抗體部分包含對PRAME具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域)(參見例如WO2016/191246)。在一些實施例中，抗體部分包含對EBV-LMP2A具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域)(參見例如WO2016/201124)。在一些實施例中，抗體部分包含對KRAS具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域)(參見例如WO2016/154047)。

在一些實施例中，抗體部分包含對PSA具有特異性之抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如WO2017/015634)。在一些實施例中，抗體部分為scFv。在一些實施例中，SSE為串聯scFv，其包含：a)特異性結合於T細胞(諸如CD3)或NK細胞(諸如CD16a)之表面抗原之第一scFv；及b)抗體部分，其中該抗體部分為第二scFv。在一些實施例中，SSE包含藉由肽連接子連接之第一及第二scFv。在一些實施例中，第一scFv處於第二scFv之胺基端。在一些實施例中，第二scFv處於第一scFv之胺基端。

【0201】在一些實施例中，SSE為靶向一或多種可溶免疫抑制劑之多特異性抗體(諸如雙特異性抗體)。此類SSE可充當捕獲劑以自其靶標螯合可溶免疫抑制劑，從而減少其免疫抑制效應。在一些實施例中，SSE包含特異性結合於一或多種可溶免疫抑制劑之一或多種抗體部分。在一些實施例中，免疫抑制劑為免疫抑制細胞介素。在一些實施例中，免疫抑制細胞介素包括TGF-β家族成員(諸如TGF-β 1至4)、IL-4及IL-10，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，SSE為選自由以下組成之群的多特異性抗體：串聯scFv、雙功能抗體(Db)、單鏈雙功能抗體(scDb)、雙親和力再靶向(DART)抗體及雙可變域(DVD)抗體。在一些實施例中，SSE為雙特異性抗體。舉例而言，在一些實施例中，SSE為串聯scFv，其包含靶向第一免疫抑制細胞介素(諸如TGFβ)之第一scFv及靶向第二免疫抑制細胞介素(諸如IL-4)之第二scFv。

【0202】在一些實施例中，SSE為靶向免疫檢查點分子之抗體部分。在一些實施例中，SSE為抑制性免疫檢查點分子之拮抗劑。在一些實施例中，抑制性免疫檢查點分子係選自由以下組成之群：PD-1、PD-L1、CTLA-4、HVEM、BTLA、KIR、LAG-3、TIM-3及A2aR。在一些實施

例中，SSE為刺激性免疫檢查點分子之促效劑。在一些實施例中，刺激性免疫檢查點分子係選自由以下組成之群：CD28、ICOS、4-1BB、OX40、CD27及CD40。在一些實施例中，抗體部分為全長抗體、Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，抗體部分為scFv。

【0203】在一些實施例中，SSE為靶向PD-1之拮抗性抗體部分。在一些實施例中，抗體部分包含對PD-1具有特異性之拮抗性抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (參見例如WO2016/210129)。在一些實施例中，拮抗性抗體部分為全長抗體、Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，拮抗性抗體部分為scFv。

【0204】在一些實施例中，SSE為靶向CD47之拮抗性抗體部分。在一些實施例中，拮抗性抗體部分包含對CD47具有特異性之拮抗性抗體部分之CDR或可變域(V_H及/或V_L域) (例如，V_H域，其包含SEQ ID NO: 60之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成；及/或V_L域，其包含SEQ ID NO: 61之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成；或其中所含之CDR)。在一些實施例中，拮抗性抗體部分為全長抗體、Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，拮抗性抗體部分為scFv。

【0205】在一些實施例中，SSE包含抗體部分，其以下列親和力或K_d結合於靶抗原：a)該親和力為其對於其他分子之結合親和力之至少約10倍(包括例如至少約10、20、30、40、50、75、100、200、300、400、500、750、1000或更多倍中之任一者)；b)該K_d不超過其結合於其他分子之K_d的約1/10 (諸如不超過約1/10、1/20、1/30、1/40、1/50、1/75、

1/100、1/200、1/300、1/400、1/500、1/750、1/1000或更小中之任一者)。結合親和力可藉由此項技術中已知之方法測定，諸如ELISA、螢光活化細胞分選(FACS)分析或放射免疫沈澱分析(RIA)。K_d可藉由此項技術中已知之方法測定，諸如利用例如Biacore儀器之表面電漿子共振(SPR)分析，或利用例如Sapidyne儀器之動力學排除分析(KinExA)。

【0206】在一些實施例中，SSE為特異性結合免疫抑制受體之配體之可溶分子。在一些實施例中，SSE包含源自免疫抑制受體之胞外域之配體結合域。在一些實施例中，配體結合域為受體之胞外域之一部分。在一些實施例中，免疫抑制受體係選自由以下組成之群：FasR、TNFR1、TNFR2、SIRPα、PD-1、CD28、CTLA-4、ICOS、BTLA、KIR、LAG-3、4-1BB、OX40、CD27、CD40及TIM-3。

【0207】在一些實施例中，SSE為特異性結合於免疫抑制受體且拮抗免疫抑制受體之可溶分子。在一些實施例中，SSE包含源自免疫抑制受體之配體之胞外域的受體結合域。在一些實施例中，受體結合域為配體之胞外域之一部分。在一些實施例中，配體係選自由以下組成之群：FasL、PD-L1、PD-L2、CD47、CD80、CD86、ICOSL、HVEM、4-1BBL、OX40L、CD70、CD40L及GAL9。

【0208】在一些實施例中，SSE為外源性刺激細胞介素。本文所描述之外源性細胞介素為由外源性基因表現之細胞介素。在一些實施例中，外源性刺激細胞介素為IL-12家族成員。在一些實施例中，IL-12家族成員為IL-12、IL-23、IL-27或IL-35。在一些實施例中，外源性刺激細胞介素為IL-2、IL-15、IL-18或IL-21。在一些實施例中，外源性刺激細胞介素能夠提供caTCR加SSE免疫細胞上之細胞介素之受體的自分泌活化。

【0209】在一些實施例中，SSE在caTCR加SSE免疫細胞中的表現為可誘導性。在一些實施例中，caTCR加SSE免疫細胞包含編碼SSE之核酸序列，其可操作地連接於誘導性啟動子，包括本文所描述之誘導性啟動子中之任一者。在一些實施例中，在經由caTCR之信號傳導後，SSE在caTCR加SSE免疫細胞中的表現為可誘導性。在一些此類實施例中，caTCR加SSE免疫細胞包含編碼SSE之核酸序列，其回應於經由caTCR之信號傳導而可操作地連接於啟動子或調節元件。在一些實施例中，編碼SSE之核酸序列可操作地連接於活化T細胞(NFAT)衍生之啟動子之核因子。在一些實施例中，NFAT衍生之啟動子為NFAT衍生之最小啟動子(參見例如Durand, D等人, *Molec. Cell. Biol.* 8, 1715-1724 (1988)；Clipstone, NA、Crabtree, GR. *Nature. 1992* 357(6380): 695-7；Chmielewski, M.等人, *Cancer research* 71.17 (2011): 5697-5706；及Zhang, L.等人. *Molecular therapy* 19.4 (2011): 751-759)。在一些實施例中，NFAT衍生之啟動子包含SEQ ID NO: 116之核苷酸序列。在一些實施例中，編碼SSE之核酸序列可操作地連接於IL-2啟動子。

核酸

【0210】亦涵蓋編碼本文所描述之caTCR、CSR及/或SSE之核酸分子。在一些實施例中，根據本文所描述之caTCR、CSR及/或SSE中之任一者，提供一種編碼caTCR、CSR及/或SSE之核酸(一組核酸)。

【0211】本發明亦提供其中插入有本發明之核酸的載體。

【0212】簡言之，藉由編碼caTCR之核酸表現caTCR可藉由以下達成：將核酸插入至適當表現載體中，使得核酸可操作地連接於5'及3'調節元件，包括(例如)啟動子(例如淋巴細胞特異性啟動子)及3'非轉譯區

(UTR)。載體可適合於在真核宿主細胞中複製及整合。典型的選殖及表現載體含有轉錄及轉譯終止子、起始序列及適用於調節所要核酸序列表現之啟動子。

【0213】 本發明之核酸亦可用於使用標準基因傳遞方案的核酸免疫接種及基因療法。基因傳遞方法為此項技術中已知的。參見例如美國專利第5,399,346號、第5,580,859號、第5,589,466號，其以全文引用的方式併入本文中。在一些實施例中，本發明提供基因療法載體。

【0214】 核酸可選殖至許多類型的載體中。舉例而言，核酸可選殖至包括(但不限於)質體、噬菌粒、噬菌體衍生物、動物病毒及黏質體之載體中。尤其受關注之載體包括表現載體、複製載體、探針產生載體及定序載體。

【0215】 此外，表現載體可以病毒載體形式提供給細胞。病毒載體技術為此項技術中熟知的且描述於例如Sambrook等人(2001, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York)及其他病毒學及分子生物學手冊中。適用作載體之病毒包括(但不限於)反轉錄病毒、腺病毒、腺相關病毒、疱疹病毒及慢病毒。大體而言，適合的載體含有在至少一種生物體中起作用的複製起點、啟動子序列、適宜限制性核酸內切酶位點及一或多個可選標記物(參見例如 WO 01/96584；WO 01/29058；及美國專利第6,326,193號)。

【0216】 已開發出多種基於病毒之系統用於將基因轉移至哺乳動物細胞中。舉例而言，反轉錄病毒提供基因傳遞系統之適宜平台。所選基因可插入載體中且使用此項技術中已知之技術封裝於反轉錄病毒粒子中。接著可分離重組型病毒且活體內或離體傳遞至個體之細胞中。多種反轉錄病

毒系統為此項技術中已知的。在一些實施例中，使用腺病毒載體。多種腺病毒載體為此項技術中已知的。在一些實施例中，使用慢病毒載體。源自反轉錄病毒(諸如慢病毒)之載體為達成長期基因轉移之適合工具，因為其允許轉殖基因之長期穩定整合及其在子細胞中之傳播。慢病毒載體具有優於源自致癌反轉錄病毒(諸如鼠類白血病病毒)之載體的額外優勢，因為其可轉導非增殖性細胞，諸如肝細胞。其亦具有低免疫原性之額外優勢。

【0217】 額外啟動子元件(例如，強化子)調節轉錄起始頻率。通常，此等元件位於起始位點上游30-110 bp區中，但多個啟動子最近已展示含有亦位於起始位點下游之功能元件。啟動子元件之間的間距通常為靈活的，使得當元件相對於彼此倒置或移動時時保留啟動子功能。在胸苷激酶(tk)啟動子中，啟動子元件之間的間距在活性開始下降之前可增加至相隔50 bp。

【0218】 適合啟動子之一個實例為即刻早期巨細胞病毒(CMV)啟動子序列。此啟動子序列為能夠驅使任何與其可操作地連接之聚核苷酸序列之高表現量的強組成性啟動子序列。適合啟動子之另一實例為延伸生長因子-1α(EF-1α)。然而，亦可使用其他組成性啟動子序列，包括(但不限於)猴病毒40 (SV40)早期啟動子、小鼠乳房腫瘤病毒(MMTV)、人類免疫缺乏病毒(HIV)長末端重複序列(LTR)啟動子、MoMuLV啟動子、禽類白血病病毒啟動子、EB病毒即刻早期啟動子、勞斯肉瘤病毒啟動子，以及人類基因啟動子，諸如(但不限於)肌動蛋白啟動子、肌球蛋白啟動子、血紅蛋白啟動子及肌酸激酶啟動子。

【0219】 此外，本發明應不限於組成性啟動子之使用。亦涵蓋誘導性啟動子作為本發明之一部分。誘導性啟動子之使用提供分子開關，該分

子開關能夠在需要此類表現時打開其可操作地連接之聚核苷酸序列之表現或在不需要表現時關閉表現。用於真核細胞中之例示性誘導性啟動子系統包括(但不限於)激素調節元件(參見例如Mader, S.及White, J. H. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5603-5607)、合成配體調節元件(參見例如Spencer, D. M.等人, 1993) Science 262: 1019-1024)及電離輻射調節元件(參見例如Manome, Y.等人(1993) Biochemistry 32: 10607-10613；Datta, R.等人(1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 1014-10153)。用於活體外或活體內哺乳動物系統中之其他例示性誘導性啟動子系統評述於Gingrich等人(1998) Annual Rev. Neurosci 21:377-405中。

【0220】 用於本發明之例示性誘導性啟動子系統為Tet系統。此類系統係基於Gossen等人(1993)所描述之Tet系統。在一例示性實施例中，所關注的聚核苷酸處於包含一或多個Tet操縱基因(TetO)位點之啟動子的控制下。處於非活性狀態時，Tet抑制子(TetR)將結合至TetO位點且抑制自啟動子轉錄。處於活性狀態時，例如在諸如四環素(Tc)、無水四環素、多西環素(Dox)或其活性類似物之誘導劑存在下，誘導劑促使TetR自TetO釋放，從而允許轉錄發生。多西環素為四環素抗生素家族之成員，化學名稱為1-二甲胺基-2,4a,5,7,12-五羥基-11-甲基-4,6-二側氧基-1,4a,11,11a,12,12a-六氫并四苯-3-甲醯胺。

【0221】 在一個實施例中，TetR的密碼子經最佳化以便表現於哺乳動物細胞(例如鼠類或人類細胞)中。由於遺傳密碼之簡併，所以大部分胺基酸係由超過一個密碼子編碼，從而允許指定核酸之核苷酸序列有實質性變化，但由核酸編碼之胺基酸序列無任何改變。然而，許多生物體顯示出密碼子使用之差異，其亦被稱作「密碼子偏倚」(亦即，指定胺基酸之特

定密碼子之使用的偏倚)。密碼子偏倚常常與特定密碼子之tRNA的主要種類之存在相關，其又可提高mRNA之轉譯效率。因此，可經由密碼子最佳化來調整源自特定生物體(例如原核生物)之編碼序列，以改良在不同生物體(例如真核生物)中之表現。

【0222】 Tet系統之其他特定變化形式包括以下「Tet關」及「Tet開」系統。在Tet關系統中，轉錄在Tc或Dox存在下為不活躍的。在彼系統中，四環素控制的轉活化蛋白(tTA)調節在四環素反應性啟動子元件(TRE)之轉錄控制下的靶核酸之表現，tTA係由與來自單純疱疹病毒之VP16的強轉活化域融合之TetR構成。TRE係由與啟動子(通常為源自人類巨細胞病毒(hCMV)即刻早期啟動子之最小啟動子序列)融合之TetO序列多聯體組成。在不存在Tc或Dox的情況下，tTA結合至TRE且活化靶基因之轉錄。在Tc或Dox存在下，tTA不能結合至TRE，且來自靶基因之表現仍不活躍。

【0223】 反之，在Tet開系統中，轉錄在Tc或Dox存在下為活躍的。Tet開系統係基於反向四環素控制的轉活化劑rtTA。如同tTA一樣，rtTA亦為由TetR抑制因子及VP16轉活化域構成之融合蛋白。然而，TetR DNA結合部分中之四個胺基酸改變使得rtTA之結合特徵改變，使得其僅可在Dox存在下識別靶標轉殖基因之TRE中之tetO序列。因此，在Tet開系統中，TRE調節之靶基因之轉錄僅在Dox存在下受到rtTA刺激。

【0224】 另一誘導性啟動子系統為來自大腸桿菌(*E. coli*)之lac抑制因子系統。(參見Brown等人，Cell 49:603-612 (1987))。lac抑制因子系統藉由調節可操作地連接於包含lac操縱基因(lacO)之啟動子的所關注聚核苷酸之轉錄來起作用。lac抑制因子(lacR)結合於LacO，從而防止所關注

聚核苷酸之轉錄。所關注聚核苷酸之表現係由適合誘導劑誘導，例如異丙基-β-D-硫代哌喃半乳糖苷(IPTG)。

【0225】 為了評定多肽或其部分之表現，待引入細胞中之表現載體亦可含有可選標記基因或報導基因或兩者以有助於自設法經病毒載體轉染或感染之細胞群體鑑別及選擇表現細胞。在其他態樣中，可選標記物可攜載於獨立DNA段上且用於共轉染程序。可選標記物及報導基因皆可側接適當調節序列以使能夠在宿主細胞中表現。有用可選標記物包括例如耐抗生素基因，諸如neo及其類似物。

【0226】 報導基因用於鑑別潛在經轉染細胞及評估調節序列之功能。大體而言，報導基因為接受者生物體或組織中不存在或表現且編碼表現藉由一些可易於偵測之特性(例如，酶促活性)體現之多肽的基因。在DNA已引入接受者細胞中之後的適合時間分析報導基因之表現。適合報導基因可包括編碼螢光素酶、β-半乳糖、氯黴素乙醯基轉移酶、分泌鹼性磷酸酯酶之基因或綠色螢光蛋白基因(例如Ui-Tei等人, 2000 *FEBS Letters* 479: 79-82)。適合表現系統為熟知的且可使用已知技術製備或商購獲得。大體而言，具有展示報導基因最高表現量之最小5'側接區的構築體經鑑別為啟動子。此類啟動子區可連接於報導基因且用於評估調節啟動子驅動之轉錄能力的試劑。

【0227】 在一些實施例中，提供編碼根據本文所描述之caTCR中之任一者的caTCR的核酸。在一些實施例中，編碼caTCR之核酸包含一或多種編碼caTCR之所有多肽鏈的核酸序列。在一些實施例中，該一或多個核酸序列中之各者位於單獨載體上。在一些實施例中，核酸序列中之至少一些位於同一載體上。載體可選自例如由哺乳動物表現載體及病毒載體(諸

如源自反轉錄病毒、腺病毒、腺相關病毒、疱疹病毒及慢病毒之彼等載體)組成之群。舉例而言，在一些實施例中，caTCR為二聚體，其包含第一caTCR多肽鏈及第二caTCR多肽鏈，且編碼caTCR之核酸包含編碼第一caTCR多肽鏈之第一核酸序列及編碼第二caTCR鏈之第二核酸。在一些實施例中，第一核酸序列位於第一載體上且第二核酸序列位於第二載體上。在一些實施例中，第一及第二核酸序列位於同一載體上。在一些實施例中，第一核酸序列處於第一啟動子控制下且第二核酸序列處於第二啟動子控制下。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有相同序列。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有不同序列。在一些實施例中，第一及第二核酸序列表現為在多順反子(諸如雙順反子)載體中在單一啟動子控制下的單一轉錄物。參見例如Kim、JH等人，*PLoS One*6(4):e18556, 2011。在一些實施例中，第一、第二及/或單一啟動子為可誘導性。在一些實施例中，第一核酸序列在宿主細胞(諸如T細胞)中之表現量與第二核酸序列在宿主細胞中之表現量大致相同。在一些實施例中，第一核酸序列在宿主細胞(諸如T細胞)中之表現量係第二核酸序列在宿主細胞中之表現量的至少約兩倍(諸如至少約2、3、4、5或更多倍中之任一者)。在一些實施例中，第一核酸序列在宿主細胞(諸如T細胞)中之表現量不超過第二核酸序列在宿主細胞中之表現量的約1/2 (諸如不超過約1/2、1/3、1/4、1/5或更小中之任一者)。可以mRNA或蛋白質含量測定表現。mRNA之表現量可藉由使用各種熟知方法量測自核酸轉錄之mRNA的量來測定，該等方法包括北方墨點法、定量RT-PCR、微陣列分析及其類似者。蛋白質表現量可藉由已知方法量測，包括免疫細胞化學染色、酶聯免疫吸附分析(ELISA)、西方墨點分析、發光分析、質譜、高效液相層析、高壓液相層析-串聯質譜

及其類似者。應理解，本文所描述之特徵可經調適及組合以涵蓋其中編碼caTCR之核酸包含三個或超過三個核酸序列(例如，其中caTCR包含三個或超過三個獨特多肽鏈)或單一核酸序列(例如，其中caTCR包含單一多肽鏈)的實施例。

【0228】因此，在一些實施例中，提供編碼根據本文所描述之caTCR中之任一者的包含第一多肽鏈及第二多肽鏈的二聚caTCR之核酸，其包含：a)編碼caTCR之第一多肽鏈之第一核酸序列；及b)編碼caTCR之第二多肽鏈之第二核酸，其中第一核酸序列位於第一載體(諸如慢病毒載體)上並可操作地連接於第一啟動子，且第二核酸序列位於第二載體(諸如慢病毒載體)上並可操作地連接於第二啟動子。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有相同序列。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有不同序列。在一些實施例中，第一及/或第二啟動子為可誘導性。在一些實施例中，第一核酸序列在宿主細胞(諸如T細胞)中之表現量與第二核酸序列在宿主細胞中之表現量大致相同。在一些實施例中，第一核酸序列在宿主細胞(諸如T細胞)中之表現量係第二核酸序列在宿主細胞中之表現量的至少約兩倍(諸如至少約2、3、4、5或更多倍中之任一者)。在一些實施例中，第一核酸序列在宿主細胞(諸如T細胞)中之表現量不超過第二核酸序列在宿主細胞中之表現量的約1/2 (諸如不超過約1/2、1/3、1/4、1/5或更小中之任一者)。在一些實施例中，第一及/或第二載體為病毒載體(諸如慢病毒載體)。

【0229】在一些實施例中，提供一種載體(諸如慢病毒載體)，其包含編碼根據本文所描述之caTCR中之任一者的包含第一多肽鏈及第二多肽鏈之二聚caTCR的核酸，該核酸包含：a)第一啟動子，該第一啟動子可操

作地連接於編碼caTCR之第一多肽鏈之第一核酸序列；及b)第二啟動子，該第二啟動子可操作地連接於編碼caTCR之第二多肽鏈之第二核酸序列。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有相同序列。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有不同序列。在一些實施例中，第一及/或第二啟動子為可誘導性。在一些實施例中，第一核酸序列在宿主細胞(諸如T細胞)中之表現量與第二核酸序列在宿主細胞中之表現量大致相同。在一些實施例中，第一核酸序列在宿主細胞(諸如T細胞)中之表現量係第二核酸序列在宿主細胞中之表現量的至少約兩倍(諸如至少約2、3、4、5或更多倍中之任一者)。在一些實施例中，第一核酸序列在宿主細胞(諸如T細胞)中之表現量不超過第二核酸序列在宿主細胞中之表現量的約1/2 (諸如不超過約1/2、1/3、1/4、1/5或更小中之任一者)。在一些實施例中，載體為病毒載體(諸如慢病毒載體)。

【0230】 在一些實施例中，提供一種載體(諸如慢病毒載體)，其包含編碼根據本文所描述之caTCR中之任一者的包含第一多肽鏈及第二多肽鏈之二聚caTCR的核酸，該核酸包含：a)編碼caTCR之第一多肽鏈之第一核酸序列；及b)編碼caTCR之第二多肽鏈之第二核酸序列；其中第一及第二核酸序列處於單一啟動子之控制下。在一些實施例中，啟動子可操作地連接於第一核酸序列之5'端，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第一核酸序列之3'端連接至第二核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，啟動子可操作地連接於第二核酸序列之5'端，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核

酸組成之群的核酸連接子以將第二核酸序列之3'端連接至第一核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，啟動子為可誘導性。在一些實施例中，載體為病毒載體(諸如慢病毒載體)。

【0231】 向細胞中引入及表現基因之方法為此項技術中已知。在表現載體之上下文中，載體可易於藉由此項技術中之任何方法引入至宿主細胞中，例如哺乳動物、細菌、酵母或昆蟲細胞。舉例而言，表現載體可藉由物理、化學或生物方式轉移至宿主細胞中。

【0232】 用於將聚核苷酸引入至宿主細胞中之物理方法包括磷酸鈣沈澱、脂質體轉染、粒子轟擊、顯微注射、電穿孔及其類似方法。用於製造包含載體及/或外源性核酸之細胞的方法為此項技術中熟知的。參見例如Sambrook等人(2001, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York)。在一些實施例中，藉由磷酸鈣轉染進行將聚核苷酸引入至宿主細胞中。

【0233】 將所關注的聚核苷酸引入宿主細胞中之生物方法包括使用DNA及RNA載體。病毒載體及尤其反轉錄病毒載體已成為最廣泛用於將基因插入至哺乳動物(例如人類)細胞中之方法。其他病毒載體可源自慢病毒、痘病毒、1型單純疱疹病毒、腺病毒及腺相關病毒及其類似者。參見例如美國專利第5,350,674號及第5,585,362號。

【0234】 將聚核苷酸引入宿主細胞中之化學方式包括膠態分散系統，諸如大分子複合物、奈米囊劑、微球、珠粒及基於脂質之系統，包括水包油乳液、微胞、混合微胞及脂質體。用作活體外及活體內傳遞媒劑之一例示性膠態系統為脂質體(例如，人工膜泡)。

【0235】在利用非病毒傳遞系統之情況下，例示性傳遞媒劑為脂質體。預期使用脂質調配物將核酸引入至宿主細胞(活體外、離體或活體內)。在另一態樣中，核酸可與脂質相關聯。與脂質相關聯之核酸可囊封於脂質體之水性內部中，穿插於脂質體之脂質雙層內，經由與脂質體及寡核苷酸相關聯之連接分子附接至脂質體，包覆於脂質體中，與脂質體複合，分散於含有脂質之溶液中，與脂質混合，與脂質組合，以懸浮液形式含於脂質中，含有微胞或與微胞複合，或以其他方式與脂質相關聯。與組合物相關聯之脂質、脂質/DNA或脂質/表現載體不限於溶液中之任何特定結構。舉例而言，其可存在於雙層結構中，以微胞形式存在或具有「塌陷」結構。其亦可簡單地穿插於溶液中，可能形成尺寸或形狀上不均勻的聚集物。脂質為可為天然存在之脂質或合成脂質的脂肪物質。舉例而言，脂質包括細胞質中天然存在之脂肪滴以及含有長鏈脂族烴及其衍生物之化合物類別(諸如脂肪酸、醇、胺、胺基醇及醛)。

【0236】不管用於將外源性核酸引入宿主細胞或以其他方式使細胞暴露於本發明之抑制劑的方法，為了確認宿主細胞中重組DNA序列之存在，可進行多種分析。此類分析包括例如熟習此項技術者熟知之「分子生物」分析，諸如南方及北方墨點法、RT-PCR及PCR；「生物化學」分析，諸如偵測特定肽之存在或不存在，例如藉由免疫學方式(ELISA及西方墨點法)或藉由本文所描述之分析來鑑別在本發明之範疇內的試劑。

caTCR效應細胞

【0237】在一些實施例中，提供一種效應細胞(諸如T細胞)，其於其表面上呈遞根據本文所描述之caTCR中之任一者的caTCR。在一些實施例中，效應細胞包含編碼caTCR之核酸，其中caTCR由核酸表現且定位於效

應細胞表面。在一些實施例中，caTCR外源性表現且與效應細胞組合。在一些實施例中，效應細胞為T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由以下組成之群：細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞。在一些實施例中，效應細胞不表現caTCR之TCR-TM所源自的TCR次單元。舉例而言，在一些實施例中，效應細胞為αβ T細胞且所引入caTCR之TCR-TM包含源自TCR δ及γ鏈之序列，或T細胞為γδ T細胞且所引入caTCR之TCR-TM包含源自TCR α及β鏈之序列。在一些實施例中，效應細胞經修飾以阻斷或減少caTCR之TCRD所源自的內源性TCR次單元中之一者或兩者的表現。舉例而言，在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α及/或β鏈之表現的αβ T細胞且所引入caTCR之TCRD包含源自TCR α及β鏈之序列，或效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ及/或δ鏈之表現的γδ T細胞且所引入caTCR之TCRD包含源自TCR γ及δ鏈之序列。用於破壞基因表現之細胞修飾包括此項技術中已知的任何此類技術，包括例如RNA干擾(例如，siRNA、shRNA、miRNA)、基因編輯(例如，基於CRISPR或TALEN之基因剔除)及其類似者。在一些實施例中，效應細胞進一步包含嵌合協同刺激受體(CSR)。在一些實施例中，效應細胞能夠分泌分泌性次級效應子(SSE)，其能夠增強藉由caTCR介導之免疫反應。

【0238】 舉例而言，在一些實施例中，提供一種效應細胞(諸如T細胞)，其包含編碼根據本文所描述之caTCR中之任一者的caTCR的核酸，其中caTCR由核酸表現且定位於效應細胞表面。在一些實施例中，編碼caTCR之核酸包含編碼caTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列及編碼caTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列。在一些實施例中，第一核酸序列位於第一

載體上且第二核酸序列位於第二載體上。在一些實施例中，第一及第二核酸序列位於同一載體上。載體可選自例如由哺乳動物表現載體及病毒載體(諸如源自反轉錄病毒、腺病毒、腺相關病毒、疱疹病毒及慢病毒之彼等載體)組成之群。在一些實施例中，將載體中之一或多者整合於效應細胞之宿主基因組中。在一些實施例中，第一核酸序列處於第一啟動子控制下且第二核酸序列處於第二啟動子控制下。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有相同序列。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有不同序列。在一些實施例中，第一及第二核酸處於單一啟動子控制下。在一些實施例中，第一、第二及/或單一啟動子為可誘導性。在一些實施例中，第一多肽鏈之表現與第二多肽鏈之表現大致相同。在一些實施例中，第一多肽鏈之表現為第二多肽鏈之表現的至少約兩倍(諸如至少約2、3、4、5或更多倍中之任一者)。在一些實施例中，第一多肽鏈之表現不超過第二多肽鏈之表現的約1/2 (諸如不超過約1/2、1/3、1/4、1/5或更小中之任一者)。可以mRNA或蛋白質含量測定表現。mRNA之表現量可藉由使用各種熟知方法量測自核酸轉錄之mRNA的量來測定，該等方法包括北方墨點法、定量RT-PCR、微陣列分析及其類似者。蛋白質表現量可藉由已知方法量測，包括免疫細胞化學染色、酶聯免疫吸附分析(ELISA)、西方墨點分析、發光分析、質譜、高效液相層析、高壓液相層析-串聯質譜及其類似者。在一些實施例中，效應細胞係選自由以下組成之群：細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞。

【0239】 因此，在一些實施例中，提供一種caTCR效應細胞(諸如T細胞)，其於其表面上表現根據本文所描述之caTCR中之任一者的caTCR，其中caTCR效應細胞包含：a)第一核酸，其包含第一啟動子，該

第一啟動子可操作地連接於編碼caTCR之第一多肽鏈的核酸序列；及b)第二核酸，其包含第二啟動子，該第二啟動子可操作地連接於編碼caTCR之第二多肽鏈的核酸序列，其中第一多肽鏈由第一核酸表現且第二多肽鏈由第二核酸表現以形成caTCR，且其中caTCR定位於效應細胞之表面。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有相同序列。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有不同序列。在一些實施例中，第一及/或第二啟動子為可誘導性。在一些實施例中，第一多肽鏈之表現與第二多肽鏈之表現大致相同。在一些實施例中，第一多肽鏈之表現為第二多肽鏈之表現的至少約兩倍(諸如至少約2、3、4、5或更多倍中之任一者)。在一些實施例中，第一多肽鏈之表現不超過第二多肽鏈之表現的約1/2 (諸如不超過約1/2、1/3、1/4、1/5或更小中之任一者)。在一些實施例中，效應細胞不表現caTCR之TCR-TM所源自的TCR次單元。舉例而言，在一些實施例中，效應細胞為αβ T細胞且所引入caTCR之TCR-TM包含源自TCR δ及γ鏈之序列，或效應細胞為γδ T細胞且所引入caTCR之TCR-TM包含源自TCR α及β鏈之序列。在一些實施例中，效應細胞經修飾以阻斷或減少caTCR之TCRD所源自的內源性TCR次單元中之一者或兩者的表現。舉例而言，在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α及/或β鏈之表現的αβ T細胞且所引入caTCR之TCRD包含源自TCR α及β鏈之序列，或效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ及/或δ鏈之表現的γδ T細胞且所引入caTCR之TCRD包含源自TCR γ及δ鏈之序列。在一些實施例中，效應細胞係選自由以下組成之群：細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞。在一些實施例中，載體為整合至效應細胞之宿主基因組中之病毒載體(諸如慢病毒載體)。

【0240】在一些實施例中，提供一種caTCR效應細胞(諸如T細胞)，其於其表面上表現根據本文所描述之caTCR中之任一者的caTCR，其中caTCR效應細胞包含：a)第一載體，其包含第一啟動子，該第一啟動子可操作地連接於編碼caTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列；及b)第二載體，其包含第二啟動子，該第二啟動子可操作地連接於編碼caTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列，其中第一多肽鏈由第一核酸序列表現且第二多肽鏈由第二核酸序列表現以形成caTCR，且其中caTCR定位於效應細胞之表面。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有相同序列。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有不同序列。在一些實施例中，第一及/或第二啟動子為可誘導性。在一些實施例中，第一多肽鏈之表現與第二多肽鏈之表現大致相同。在一些實施例中，第一多肽鏈之表現為第二多肽鏈之表現的至少約兩倍(諸如至少約2、3、4、5或更多倍中之任一者)。在一些實施例中，第一多肽鏈之表現不超過第二多肽鏈之表現的約1/2 (諸如不超過約1/2、1/3、1/4、1/5或更小中之任一者)。在一些實施例中，效應細胞不表現caTCR之TCR-TM所源自的TCR次單元。舉例而言，在一些實施例中，效應細胞為αβ T細胞且所引入caTCR之TCR-TM包含源自TCR δ及γ鏈之序列，或效應細胞為γδ T細胞且所引入caTCR之TCR-TM包含源自TCR α及β鏈之序列。在一些實施例中，效應細胞經修飾以阻斷或減少caTCR之TCRD所源自的內源性TCR次單元中之一者或兩者的表現。舉例而言，在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α及/或β鏈之表現的αβ T細胞且所引入caTCR之TCRD包含源自TCR α及β鏈之序列，或效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ及/或δ鏈之表現的γδ T細胞且所引入caTCR之TCRD包含源自TCR γ及δ鏈之序列。在一些實施例中，效應細胞

係選自由以下組成之群：細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞。在一些實施例中，第一及第二載體為整合於效應細胞之宿主基因組中之病毒載體(諸如慢病毒載體)。

【0241】 在一些實施例中，提供一種caTCR效應細胞(諸如T細胞)，其於其表面上表現根據本文所描述之caTCR中之任一者的caTCR，其中caTCR效應細胞包含載體，該載體包含：a)第一啟動子，其可操作地連接於編碼caTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列；及b)第二啟動子，其可操作地連接於編碼caTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列，其中第一多肽鏈由第一核酸序列表現且第二多肽鏈由第二核酸序列表現以形成caTCR，且其中caTCR定位於效應細胞之表面。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有相同序列。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有不同序列。在一些實施例中，第一及/或第二啟動子為可誘導性。在一些實施例中，第一多肽鏈之表現與第二多肽鏈之表現大致相同。在一些實施例中，第一多肽鏈之表現為第二多肽鏈之表現的至少約兩倍(諸如至少約2、3、4、5或更多倍中之任一者)。在一些實施例中，第一多肽鏈之表現不超過第二多肽鏈之表現的約1/2 (諸如不超過約1/2、1/3、1/4、1/5或更小中之任一者)。在一些實施例中，效應細胞不表現caTCR之TCR-TM所源自的TCR次單元。舉例而言，在一些實施例中，效應細胞為αβ T細胞且所引入caTCR之TCR-TM包含源自TCR δ及γ鏈之序列，或效應細胞為γδ T細胞且所引入caTCR之TCR-TM包含源自TCR α及β鏈之序列。在一些實施例中，效應細胞經修飾以阻斷或減少caTCR之TCRD所源自的內源性TCR次單元中之一者或兩者的表現。舉例而言，在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α及/或β鏈之表現的αβ T細胞且所引入caTCR之TCRD包含源自

TCR α及β鏈之序列，或效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ及/或δ鏈之表現的γδ T細胞且所引入caTCR之TCRD包含源自TCR γ及δ鏈之序列。在一些實施例中，效應細胞係選自由以下組成之群：細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞。在一些實施例中，第一及第二載體為整合於效應細胞之宿主基因組中之病毒載體(諸如慢病毒載體)。

【0242】 在一些實施例中，提供一種caTCR效應細胞(諸如T細胞)，其於其表面上表現根據本文所描述之caTCR中之任一者的caTCR，其中caTCR效應細胞包含宿主基因組整合之慢病毒載體，其包含：a)第一啟動子，該第一啟動子可操作地連接於編碼caTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列；及b)第二啟動子，該第二啟動子可操作地連接於編碼caTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列，其中第一多肽鏈由第一核酸序列表現且第二多肽鏈由第二核酸序列表現以形成caTCR，且其中caTCR定位於效應細胞之表面。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有相同序列。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有不同序列。在一些實施例中，第一及/或第二啟動子為可誘導性。在一些實施例中，第一多肽鏈之表現與第二多肽鏈之表現大致相同。在一些實施例中，第一多肽鏈之表現為第二多肽鏈之表現的至少約兩倍(諸如至少約2、3、4、5或更多倍中之任一者)。在一些實施例中，第一多肽鏈之表現不超過第二多肽鏈之表現的約1/2 (諸如不超過約1/2、1/3、1/4、1/5或更小中之任一者)。在一些實施例中，效應細胞不表現caTCR之TCR-TM所源自的TCR次單元。舉例而言，在一些實施例中，效應細胞為αβ T細胞且所引入caTCR之TCR-TM包含源自TCR δ及γ鏈之序列，或效應細胞為γδ T細胞且所引入caTCR之TCR-TM包含源自TCR α及β鏈之序列。在一些實施例中，效應細胞經修飾以阻斷或減少caTCR之

TCRD所源自的內源性TCR次單元中之一者或兩者的表現。舉例而言，在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α及/或β鏈之表現的αβ T細胞且所引入caTCR之TCRD包含源自TCR α及β鏈之序列，或效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ及/或δ鏈之表現的γδ T細胞且所引入caTCR之TCRD包含源自TCR γ及δ鏈之序列。在一些實施例中，效應細胞係選自由以下組成之群：細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞。

【0243】 在一些實施例中，提供一種caTCR效應細胞(諸如T細胞)，其於其表面上表現根據本文所描述之caTCR中之任一者的caTCR，其中caTCR效應細胞包含載體，該載體包含a)編碼caTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列及b)編碼caTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列，其中第一及第二核酸序列在單一啟動子控制下，其中第一多肽鏈由第一核酸序列表現且第二多肽鏈由第二核酸序列表現以形成caTCR，且其中caTCR定位於效應細胞之表面。在一些實施例中，啟動子可操作地連接於第一核酸序列之5'端，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第一核酸序列之3'端連接至第二核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，啟動子可操作地連接於第二核酸序列之5'端，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第二核酸序列之3'端連接至第一核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，啟動子為可誘導性。在一些實施例中，效應細胞不表現caTCR之TCR-TM所

源自的TCR次單元。舉例而言，在一些實施例中，效應細胞為αβ T細胞且所引入caTCR之TCR-TM包含源自TCR δ及γ鏈之序列，或效應細胞為γδ T細胞且所引入caTCR之TCR-TM包含源自TCR α及β鏈之序列。在一些實施例中，效應細胞經修飾以阻斷或減少caTCR之TCRD所源自的內源性TCR次單元中之一者或兩者的表現。舉例而言，在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α及/或β鏈之表現的αβ T細胞且所引入caTCR之TCRD包含源自TCR α及β鏈之序列，或效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ及/或δ鏈之表現的γδ T細胞且所引入caTCR之TCRD包含源自TCR γ及δ鏈之序列。在一些實施例中，效應細胞係選自由以下組成之群：細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞。在一些實施例中，載體為整合至效應細胞之宿主基因組中之病毒載體(諸如慢病毒載體)。

【0244】 在一些實施例中，提供一種caTCR效應細胞(諸如T細胞)，其於其表面上表現根據本文所描述之caTCR中之任一者的caTCR，其中caTCR效應細胞包含宿主基因組整合的慢病毒載體，其包含a)編碼caTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列及b)編碼caTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列，其中第一及第二核酸序列在單一啟動子控制下，其中第一多肽鏈由第一核酸序列表現且第二多肽鏈由第二核酸序列表現以形成caTCR，且其中caTCR定位於效應細胞之表面。在一些實施例中，存在可操作地連接於第一核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第一核酸序列之3'端連接至第二核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例

中，存在可操作地連接於第一核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第二核酸序列之3'端連接至第一核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，啟動子為可誘導性。在一些實施例中，效應細胞不表現caTCR之TCR-TM所源自的TCR次單元。舉例而言，在一些實施例中，效應細胞為αβ T細胞且所引入caTCR之TCR-TM包含源自TCR δ及γ鏈之序列，或效應細胞為γδ T細胞且所引入caTCR之TCR-TM包含源自TCR α及β鏈之序列。在一些實施例中，效應細胞經修飾以阻斷或減少caTCR之TCRD所源自的內源性TCR次單元中之一者或兩者的表現。舉例而言，在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α及/或β鏈之表現的αβ T細胞且所引入caTCR之TCRD包含源自TCR α及β鏈之序列，或效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ及/或δ鏈之表現的γδ T細胞且所引入caTCR之TCRD包含源自TCR γ及δ鏈之序列。在一些實施例中，效應細胞係選自由以下組成之群：細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞。

caTCR、CSR及SSE之製備

【0245】在一些實施例中，根據本文所描述之caTCR、CSR及SSE中之任一者，抗原結合模組包含Fab樣抗原結合模組，其包含來自單株抗體之序列。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組包含來自單株抗體之V_H、C_H1、V_L及C_L域。在一些實施例中，抗原結合模組包含Fv或scFv，其包含來自單株抗體之序列。在一些實施例中，抗原結合模組包含雙特異性融合域，其包含一或多個源自單株抗體之Fab、Fv及scFv。單株抗體可

例如使用融合瘤方法製備，諸如由Kohler及Milstein, *Nature,* 256:495 (1975)及Sergeeva等人, *Blood*, 117(16):4262-4272所描述之彼等方法。

【0246】在融合瘤方法中，倉鼠、小鼠或其他適當宿主動物通常用免疫劑免疫以產生淋巴細胞，其產生或能夠產生將特異性結合於免疫劑之抗體。或者，淋巴細胞可在活體外免疫。免疫劑可包括多肽或所關注蛋白質之融合蛋白，或包含至少兩種分子之複合體，諸如包含肽及MHC蛋白之複合體。大體而言，若需要人類來源之細胞，則使用末梢血液淋巴細胞(「PBL」)；或若需要非人類哺乳動物來源，則使用脾細胞或淋巴結細胞。淋巴細胞接著使用適合融合劑(諸如聚乙二醇)經永生化細胞株融合以形成融合瘤細胞。參見例如Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice (New York: Academic Press, 1986)，第59-103頁。永生化細胞株通常為經轉化哺乳動物細胞，特定言之，嚙齒動物、牛類及人類來源之骨髓瘤細胞。通常，採用大鼠或小鼠骨髓瘤細胞株。融合瘤細胞可在較佳含有一或多種抑制未融合、永生化細胞之生長或存活之物質的適合培養基中培養。舉例而言，若親本細胞缺乏酶次黃嘌呤-鳥嘌呤磷酸核糖基轉移酶(HGPRT或HPRT)，則用於融合瘤之培養基通常將包括次黃嘌呤、胺基蝶呤及胸苷(「HAT培養基」)，其阻止缺乏HGPRT之細胞生長。

【0247】在一些實施例中，永生化細胞株有效融合，藉由所選產抗體細胞支援抗體之穩定高水準表現且對於諸如HAT培養基之培養基敏感。在一些實施例中，永生化細胞株為鼠類骨髓瘤細胞株，其可例如獲自Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, California及American Type Culture Collection, Manassas, Virginia。已描述用於產生人類單株抗體之人類骨髓瘤及小鼠-人類雜骨髓瘤細胞株。Kozbor, *J. Immunol.*,

133:3001 (1984)；Brodeur 等人 Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications (Marcel Dekker, Inc.: New York, 1987) 第51-63頁。

【0248】接著可分析培養融合瘤細胞之培養基中針對該多肽之單株抗體的存在。可藉由免疫沈澱或藉由活體外結合分析(諸如放射免疫分析(RIA)或酶聯免疫吸附分析(ELISA))測定由融合瘤細胞產生之單株抗體的結合特異性。該等技術及分析法係此項技術中已知的。單株抗體之結合親和力可例如藉由Munson及Pollard, *Anal. Biochem.,* 107:220 (1980)之史卡查分析測定。

【0249】在鑑別所需融合瘤細胞之後，純系可藉由限制稀釋程序次選殖且藉由標準方法生長。前述編碼。適用於此目的之培養基包括例如達爾伯克改良型伊格爾培養基(Dulbecco's Modified Eagle's Medium)及RPMI-1640培養基。或者，融合瘤細胞可以腹水形式活體內生長於哺乳動物中。

【0250】次純系所分泌之單株抗體可藉由習知免疫球蛋白純化程序(諸如蛋白A-瓊脂糖、羥磷灰石層析、凝膠電泳、透析或親和層析)自培養基或腹水液分離或純化。

【0251】在一些實施例中，根據本文所描述之caTCR、CSR及SSE中之任一者，抗原結合模組為抗體部分，其包含來自選自抗體部分庫(諸如呈遞scFv或Fab片段的噬菌體庫)之純系的序列。純系可藉由篩選組合庫中具有所需一或多種活性之抗體片段來鑑別。舉例而言，此項技術中已知多種方法用於產生噬菌體呈現庫及針對具有所需結合特徵之抗體篩選此類庫。此類方法評述於例如Hoogenboom等人, *Methods in Molecular*

Biology 178:1-37 (O'Brien等人編, Human Press, Totowa, NJ, 2001)中，且進一步描述於例如McCafferty等人, *Nature* 348:552-554；Clackson等人, *Nature* 352: 624-628 (1991)；Marks等人, *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992)；Marks及Bradbury, *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo編, Human Press, Totowa, NJ, 2003)；Sidhu等人, *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004)；Lee等人, *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093 (2004)；Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-12472 (2004)；及Lee等人, *J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132(2004)中。

【0252】在某些噬菌體呈現方法中，V_H及V_L基因之譜系分別藉由聚合酶鏈反應(PCR)選殖且在噬菌體庫中隨機重組，其接著可如Winter等人, *Ann. Rev. Immunol.* 12:433-455 (1994)中所描述，針對抗原結合噬菌體進行篩選。噬菌體通常以單鏈Fv (scFv)片段或Fab片段形式呈現抗體片段。來自經免疫來源之庫向免疫原提供高親和力抗體而無需構築融合瘤。或者，可選殖(例如自人類)原生譜系以提供針對廣泛範圍之非自體抗原以及自體抗原之單一抗體來源而無需任何免疫接種，如Griffiths等人, EMBO J, 12: 725-734 (1993)所描述。最後，亦可以合成方式如下製備原生庫：自幹細胞選殖未重排V基因區段，且使用含有隨機序列之PCR引子編碼CDR3高度可變區及實現活體外重排，如Hoogenboom及Winter, *J. Mol. Biol.*, 227: 381-388 (1992)所描述。描述人類抗體噬菌體庫之專利公開案包括例如：美國專利第5,750,373號及美國專利公開案第2005/0079574號、第2005/0119455號、第2005/0266000號、第2007/0117126號、第2007/0160598號、第2007/0237764號、第2007/0292936號及第2009/0002360號。

【0253】 可使用噬菌體呈現以篩選對靶抗原(諸如肽/MHC I/II級複合體或細胞表面抗原)具有特異性之抗體庫來製備抗體部分。庫可為具有至少1×10^{9} (諸如至少約1×10^{9}、2.5×10^{9}、5×10^{9}、7.5×10^{9}、1×10^{10}、2.5×10^{10}、5×10^{10}、7.5×10^{10}或1×10^{11}中的任一者)個獨特人類抗體片段之多樣性之人類scFv噬菌體呈現庫。在一些實施例中，庫為原生人類庫，其由來自健康供者之人類PMBC及脾提取之DNA構築，包含所有人類重鏈及輕鏈亞家族。在一些實施例中，庫為原生人類庫，該庫由分離自患有各種疾病之患者(諸如患有自體免疫疾病之患者、癌症患者及患有感染性疾病之患者)之PBMC提取的DNA構築。在一些實施例中，庫為半合成人類庫，其中重鏈CDR3為完全隨機化的，所有胺基酸(除半胱胺酸之外)同等地可能存在於任何指定位置(參見例如Hoet, R.M.等人, *Nat. Biotechnol.* 23(3):344-348, 2005)。在一些實施例中，半合成人類庫之重鏈CDR3之長度為約5至約24 (諸如約5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23或24中的任一者)個胺基酸。在一些實施例中，庫為全合成噬菌體呈現庫。在一些實施例中，庫為非人類噬菌體呈現庫。

【0254】 可藉由以下來選擇以高親和力結合於靶抗原之噬菌體純系：噬菌體與靶抗原迭代結合，該靶抗原經結合於固體擔體(諸如用於溶液淘選(solution panning)之珠粒或用於細胞淘選(cell panning)之哺乳動物細胞)，隨後移除非結合噬菌體及溶離特異性結合之噬菌體。在溶液淘選之一個實例中，靶抗原可經生物素標記以固定至固體擔體。經生物素標記之靶抗原與噬菌體庫及固體擔體(諸如抗生蛋白鏈菌素結合之Dynabeads M-280)混合，且接著分離靶抗原-噬菌體-珠粒複合體。結合噬菌體純系接

著經溶離且用於感染適當宿主細胞，諸如大腸桿菌XL1-Blue，用於表現及純化。在細胞淘選之實例中，負載有AFP肽之T2細胞(TAP缺陷、HLA-A*02:01^{+}淋巴母細胞細胞株)與噬菌體庫混合，其後收集細胞，且經結合純系經溶離且用以感染適當宿主細胞(用於表現及純化)。可藉由溶液淘選、細胞淘選或兩者之組合進行多輪(諸如約2、3、4、5、6或更大中之任一者)淘選，以富集特異性結合於靶抗原的噬菌體純系。可藉由此項技術中已知之任何方法(包括例如ELISA及FACS)測試所富集之噬菌體純系對靶抗原的特異性結合。

人類及人類化抗體部分

【0255】 caTCR、CSR及SSE抗體部分可為人類或經人類化。人類化形式之非人類(例如鼠類)抗體部分為嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白鏈或其片段(諸如Fv、Fab、Fab'、F(ab')$_2$、scFv或抗體之其他抗原結合子序列)，通常含有源自非人類免疫球蛋白之最小序列。人類化抗體部分包括人類免疫球蛋白、免疫球蛋白鏈或其片段(接受者抗體)，其中來自接受者之CDR的殘基經來自具有所需特異性、親和力及能力之非人類物種(供者抗體)(諸如小鼠、大鼠或兔)之CDR的殘基置換。在一些情況下，人類免疫球蛋白之Fv構架殘基經對應非人類殘基置換。人類化抗體部分亦可包含既未在接受者抗體部分中、亦未在所輸入之CDR或構架序列中發現的殘基。大體而言，人類化抗體部分可包含至少一個且通常兩個可變域之實質上全部，其中CDR區之全部或實質上全部對應於非人類免疫球蛋白之彼等區，且FR區之全部或實質上全部為人類免疫球蛋白共同序列之彼等區。參見例如Jones等人，*Nature,* 321: 522-525 (1986)；Riechmann等人，*Nature,* 332: 323-329 (1988)；Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.,* 2:593-596

(1992)。

【0256】 大體而言，人類化抗體部分中已引入來自非人類來源的一或多個胺基酸殘基。此等非人類胺基酸殘基往往稱為「輸入」殘基，其通常來自「輸入」可變域。根據一些實施例，基本上可遵循Winter及同事之方法進行人類化(Jones等人, *Nature*, 321: 522-525 (1986)；Riechmann等人, *Nature*, 332: 323-327 (1988)；Verhoeyen等人, *Science*, 239: 1534-1536 (1988))，其係由嚙齒動物CDR或CDR序列取代人類抗體之對應序列。因此，此類「人類化」抗體部分為抗體部分(美國專利第4,816,567號)，其中實質上少於完整人類可變域已經被來自非人類物種之對應序列取代。實際上，人類化抗體部分通常為一些CDR殘基及可能一些FR殘基被來自嚙齒動物抗體中類似位點的殘基取代之人類抗體部分。

【0257】 另一種人類化方案，可產生人類抗體部分。舉例而言，現可能產生基因轉殖動物(例如小鼠)，其在免疫接種後能夠在不產生內源性免疫球蛋白的情況下產生完整的人類抗體譜系。舉例而言，已描述嵌合及生殖系突變小鼠中之抗體重鏈接合區(JH)基因的同型接合缺失導致完全抑制內源性抗體產生。將人類生殖系免疫球蛋白基因陣列轉移至此類生殖系突變小鼠中將導致在抗原攻擊時產生人類抗體。參見例如Jakobovits等人, *PNAS USA*, 90:2551 (1993)；Jakobovits等人, *Nature*, 362:255-258 (1993)；Bruggemann等人, *Year in Immunol.*, 7:33 (1993)；美國專利第5,545,806號、第5,569,825號、第5,591,669號；第5,545,807號；及WO 97/17852。或者，可藉由將人類免疫球蛋白基因座引入基因動轉殖物(例如內源性免疫球蛋白基因已部分或完全不活化的小鼠)來製備人類抗體。在攻擊之後，觀察人類抗體產生，其在所有方面與在人類中所見極其類

似，包括基因重排、組合及抗體譜系。此方法描述於例如美國專利第5,545,807號；第5,545,806號；第5,569,825號；第5,625,126號；第5,633,425號；及第5,661,016號，及Marks等人, *Bio/Technology,* 10: 779-783 (1992)；Lonberg等人, *Nature,* 368: 856-859 (1994)；Morrison, *Nature,* 368: 812-813 (1994)；Fishwild等人, *Nature Biotechnology,* 14: 845-851 (1996)；Neuberger, *Nature Biotechnology,* 14: 826 (1996)；Lonberg及Huszar, *Intern. Rev. Immunol.,* 13: 65-93 (1995)中。

【0258】 人類抗體亦可由活體外活化的B細胞產生(參見美國專利5,567,610及5,229,275)或藉由使用此項技術中已知之各種技術(包括噬菌體呈現庫)產生。Hoogenboom及Winter, *J. Mol. Biol.,* 227:381 (1991)；Marks等人, *J. Mol. Biol.,* 222:581 (1991)。Cole等人及Boerner等人之技術亦可用於製備人類單株抗體。Cole等人, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, 第77頁 (1985)及Boerner等人, *J. Immunol.*, 147(1): 86-95 (1991)。

變異體

【0259】 在一些實施例中，涵蓋本文所提供之抗原結合模組之胺基酸序列變異體。舉例而言，可能需要改良抗原結合模組之結合親和力及/或其他生物特性。可藉由引入適當修飾至編碼抗原結合模組之核苷酸序列或藉由肽合成來製備抗原結合模組之胺基酸序列變異體。此類修飾包括例如抗原結合模組之胺基酸序列內的殘基缺失及/或插入及/或取代。可製造缺失、插入及取代之任一組合以獲得最終構築體，其限制條件為最終構築體具有所需特徵，例如抗原結合。

【0260】 在一些實施例中，提供具有一或多個胺基酸置換之抗原結

合模組變異體。用於取代性突變誘發之所關注位點包括抗體部分之HVR及FR。胺基酸置換可經引入至所關注之抗原結合模組中，且針對所需活性進行篩選之產物例如保持/改良抗原結合或減少免疫原性。

【0261】 保守取代經展示於下表3中。

表3：保守取代

原始殘基	例示性取代	較佳取代
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 正白胺酸	Leu
Leu (L)	正白胺酸; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 正白胺酸	Leu

【0262】 胺基酸可根據常見側鏈特性分組為不同類別：

a.疏水性：正白胺酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile；

b.中性親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；

c.酸性：Asp、Glu；

d.鹼性：His、Lys、Arg；

e.影響鏈定向之殘基：Gly、Pro；

f.芳族：Trp、Tyr、Phe。

【0263】 非保守取代必然伴有此等類別中之一者之一員與另一類別

之一員的交換。

【0264】 例示性取代型變異體為親和力成熟抗體部分，其可例如使用基於噬菌體呈現之親和力成熟技術便利地產生。簡言之，使一或多個CDR殘基突變且在噬菌體上呈現變異抗體部分且針對特定生物活性(例如結合親和力)篩選。改變(例如取代)可在HVR中進行以例如改良抗體部分親和力。此類改變可在HVR「熱點」(亦即由在體細胞成熟過程期間經歷高頻率突變之密碼子所編碼之殘基(參見例如Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008))，及/或特異性決定殘基(SDR)中進行，其中測試所得變異體V_H或V_L之結合親和力。藉由構築二級庫及自二級庫再選擇來達成親和力成熟已描述於例如Hoogenboom等人之*Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien等人編, Human Press, Totowa, NJ, (2001))中。

【0265】 在親和力成熟之一些實施例中，藉由多種方法(例如易錯PCR、鏈改組或寡核苷酸定向突變誘發)中之任一種將多樣性引入為了成熟所選之可變基因中。隨後產生二級庫。接著篩選庫以鑑別具有所需親和力之任何抗體部分變異體。引入多樣性之另一方法涉及HVR引導途徑，其中將若干HVR殘基(例如一次4-6個殘基)隨機分組。可例如使用丙胺酸掃描突變誘發或建立模型來特異性鑑別參與抗原結合之HVR殘基。尤其通常靶向CDR-H3及CDR-L3。

【0266】 在一些實施例中，取代、插入或缺失可出現於一或多個HVR內，只要此類改變實質上不降低抗體部分結合抗原之能力。舉例而言，可在HVR中進行不實質上降低結合親和力之保守改變(例如，如本文所提供之保守取代)。此類改變可位於HVR「熱點」或SDR外部。在上文

所提供之變異V_H及V_L序列之一些實施例中，各HVR未改變或含有不超過一個、兩個或三個胺基酸取代。

【0267】 一種適用於鑑別突變誘發可靶向之抗原結合模組之殘基或區的方法稱為「丙胺酸掃描突變誘發」，如Cunningham及Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085所描述。在此方法中，鑑別殘基或一組目標殘基(例如帶電殘基，諸如arg、asp、his、lys及glu)且經中性或帶負電胺基酸(例如丙胺酸或聚丙胺酸)置換以判定抗原結合模組與抗原之相互作用是否受到影響。可在對初始取代展現功能敏感性之胺基酸位置處引入其他取代。或者或另外，可測定抗原-抗原結合模組複合體之晶體結構以鑑別抗原結合模組與抗原之間的接觸點。此類接觸殘基及鄰近殘基可作為取代候選物之靶標或排除在取代候選物之外。可篩選變異體以判定其是否含有所需特性。

【0268】 胺基酸序列插入包括長度在一個殘基至含有一百個或多於一百個殘基之多肽範圍內的胺基端及/或羧基端融合，以及單個或多個胺基酸殘基之序列內插入。末端插入之實例包括具有N端甲硫胺醯基殘基之抗原結合模組。抗原結合模組之其他插入變異體包括抗原結合模組之N或C端與增加抗原結合模組之血清半衰期的酶(例如對於ADEPT)或多肽的融合。

衍生物

【0269】 在一些實施例中，根據本文所描述之caTCR中之任一者的caTCR、根據本文所描述之CSR中之任一者的CSR及/或根據本文所描述之SSE中之任一者的SSE可進一步經修飾為含有此項技術中已知且易於獲得之額外非蛋白性部分。適合於衍生caTCR及/或CSR及/或SSE之部分包

括(但不限於)水溶性聚合物。水溶性聚合物之非限制性實例包括(但不限於)聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纖維素、聚葡萄糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯啶酮、聚-1,3-二氧雜環戊烷、聚-1,3,6-三噁烷、乙烯/順丁烯二酸酐共聚物、聚胺基酸(均聚物或無規共聚物)及聚葡萄糖或聚(N-乙烯吡咯啶酮)聚乙二醇、聚丙二醇均聚物、聚氧化丙烯/氧化乙烯共聚物、聚氧乙基化多元醇(例如甘油)、聚乙烯醇及其混合物。聚乙二醇丙醛因其於水中之穩定性而可在製造中具有優勢。聚合物可具有任何分子量，且可為分支鏈或未分支的。附接至caTCR及/或CSR及/或SSE之聚合物之數目可變化，且若附接超過一個聚合物，則其可為相同或不同分子。大體而言，用於衍生之聚合物之數目及/或類型可基於包括但不限於以下之考量來判定：待改良之caTCR及/或CSR及/或SSE之特定特性或功能，而不管caTCR及/或CSR及/或SSE衍生物是否將用於經限定條件下之療法等。

【0270】 在一些實施例中，提供caTCR及/或CSR及/或SSE與可藉由暴露於輻射而選擇性加熱之非蛋白性部分之結合物。在一些實施例中，非蛋白質部分為碳奈米管(Kam等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 11600-11605 (2005))。輻射可具有任何波長，且包括(但不限於)不損害普通細胞但將非蛋白質部分加熱至殺滅caTCR及/或CSR及/或SSE-非蛋白性部分近側之細胞之溫度的波長。

caTCR效應細胞之製備

【0271】 在一個態樣中，本發明提供表現caTCR之效應細胞(諸如淋巴細胞，例如T細胞)。本文提供表現caTCR之效應細胞(諸如T細胞)(caTCR效應細胞，諸如caTCR T細胞)的例示性製備方法。

【0272】在一些實施例中，可藉由將編碼caTCR (諸如本文所描述之caTCR中之任一者)之一或多個核酸(包括例如慢病毒載體)引入至效應細胞中來產生caTCR效應細胞(諸如caTCR T細胞)，該caTCR特異性結合於靶抗原(諸如疾病相關抗原)。將一或多個核酸引入至效應細胞中可使用此項技術中已知之技術實現，諸如本文針對核酸所描述之彼等技術。在一些實施例中，本發明之caTCR效應細胞(諸如caTCR T細胞)能夠在活體內複製，產生可促成與靶抗原之表現相關之疾病(諸如癌症或病毒感染)之持續控制的長期存留。

【0273】在一些實施例中，本發明係關於使用淋巴細胞輸注投與表現根據本文所描述之caTCR中之任一者的特異性結合於靶抗原之caTCR的經基因修飾之T細胞，以用於治療患有與靶抗原之表現相關之疾病及/或病症(在本文中亦被稱作「靶抗原-陽性」或「TA-陽性」疾病或病症)或有罹患該疾病及/或病症風險的患者，該疾病及/或病症包括(例如)癌症或病毒感染。在一些實施例中，在治療中使用自體淋巴細胞輸注。自需要治療之患者收集自體PBMC且使用本文所描述及此項技術中已知之方法活化及擴增T細胞，且隨後將其輸注回患者體內。

【0274】在一些實施例中，提供一種表現根據本文所描述之caTCR中之任一者的特異性結合於靶抗原的caTCR的T細胞(在本文中亦被稱作「caTCR T細胞」)。本發明之caTCR T細胞可經歷穩固的活體內T細胞擴增且可建立以高含量在血液及骨髓中存留較長時間的靶抗原特異性記憶細胞。在一些實施例中，輸注至患者體內的本發明之caTCR T細胞可活體內消除患有靶抗原相關疾病之患者內呈遞靶抗原之細胞，諸如呈遞靶抗原之癌症或病毒感染細胞。在一些實施例中，輸注至患者體內的本發明之

caTCR T細胞可活體內消除患有難以用至少一種習知療法治療之靶抗原相關疾病的患者內呈遞靶抗原之細胞，諸如呈遞靶抗原之癌症或病毒感染細胞。

【0275】在T細胞擴增及基因修飾之前，T細胞來源獲自個體。T細胞可獲自許多來源，包括末梢血液單核細胞、骨髓、淋巴結組織、臍帶血、胸腺組織、來自感染位點之組織、腹水、肋膜積液、脾組織及腫瘤。在本發明之一些實施例中，可使用任何數目的此項技術中可用之T細胞株。在本發明之一些實施例中，T細胞可獲自使用任何數目的熟習此項技術者已知之技術(諸如FICOLL^{TM}分離)自個體收集之血液單元。在一些實施例中，藉由清除術獲得來自個體之循環血液的細胞。清除術產物通常含有淋巴細胞，包括T細胞、單核細胞、粒細胞、B細胞、其他成核白血球、紅血球及血小板。在一些實施例中，藉由清除術收集之細胞可經洗滌以移除血漿部分且將細胞置於適當緩衝液或培養基中以用於後續處理步驟。在一些實施例中，細胞用磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)洗滌。在一些實施例中，洗滌溶液缺乏鈣且可能缺乏鎂或可能缺乏許多(若並非全部)二價陽離子。如一般技術者將易於瞭解，洗滌步驟可藉由熟習此項技術者已知之方法實現，諸如藉由根據製造商說明書使用半自動「流通」離心機(例如，Cobe 2991細胞處理器、Baxter CytoMate或Haemonetics細胞保存器5)。洗滌之後，可將細胞再懸浮於多種生物相容性緩衝液中，諸如無Ca^{2+}、無Mg^{2+}之PBS、PlasmaLyte A或其他具有或不具有緩衝液之生理鹽水溶液。或者，可移除清除術樣本之非所要組分且細胞直接再懸浮於培養基中。

【0276】在一些實施例中，藉由溶解紅血球及例如藉由經PERCOLL^{TM}梯度離心或藉由逆流離心淘析耗盡單核細胞而自末梢血液淋

巴細胞分離T細胞。T細胞之特異性亞群(諸如$CD3^+$、$CD28^+$、$CD4^+$、$CD8^+$、$CD45RA^+$及$CD45RO^+$ T細胞)可藉由正選擇或負向選擇技術進一步分離。舉例而言，在一些實施例中，藉由用抗CD3/抗CD28 (亦即3×28)結合之珠粒(諸如DYNABEADS® M-450 CD3/CD28 T)培育足夠用於所需T細胞之正選擇的時間來分離T細胞。在一些實施例中，時間為約30分鐘。在一些實施例中，時間在30分鐘至36小時或更長(包括此等數值之間的所有範圍)的範圍內。在一些實施例中，時間為至少1、2、3、4、5或6小時。在一些實施例中，時間為10至24小時。在一些實施例中，培育時間為24小時。為了自患有白血病之患者分離T細胞，使用較長培育時間(諸如24小時)可提高細胞產量。在相較於其他細胞類型存在極少T細胞的任何情況下可使用較長培育時間分離T細胞，諸如自腫瘤組織或免疫功能不全個體分離腫瘤浸潤淋巴細胞(TIL)。此外，使用較長培育時間可提高捕捉$CD8^+$ T細胞之效率。因此，藉由僅縮短或延長允許T細胞結合至CD3/CD28珠粒之時間及/或藉由增加或減小珠粒與T細胞的比率，可關於或針對培養起始或方法期間之其他時間點優先選擇T細胞亞群。另外，藉由增加或減小珠粒或其他表面上抗CD3及/或抗CD28抗體之比率，對於或針對在培養起始時或在其他所要時間點可優先選擇T細胞之亞群。熟習此項技術者將認識到本發明之上下文中亦可使用多個選擇回合。在一些實施例中，可能需要進行選擇程序且在活化及擴增過程中使用「未經選擇之」細胞。「未經選擇之」細胞亦可進行其他選擇回合。

【0277】 藉由負向選擇富集T細胞群體可使用針對負向選擇之細胞所獨特之表面標記的抗體之組合來實現。一種方法為經負磁性免疫黏附或流動式細胞量測術分選及/或選擇細胞，該負磁性免疫黏附或流動式細胞

量測術使用針對負向選擇細胞上存在之細胞表面標記物之單株抗體混合物。舉例而言，為了藉由負向選擇富集CD4+細胞，單株抗體混合液通常包括CD 14、CD20、CD11b、CD 16、HLA-DR及CD8之抗體。在一些實施例中，可能需要富集或正選擇調節T細胞，其通常表現$CD4^+$、$CD25^+$、CD62Lhi、$GITR^+$及$FoxP3^+$。或者，在一些實施例中，T調節細胞藉由抗CD25結合珠粒或其他類似選擇方法耗盡。

【0278】 為了藉由正向或負向選擇分離出所需細胞群體，可改變細胞濃度及表面(例如粒子，諸如珠粒)。在一些實施例中，可能需要顯著減小珠粒及細胞混合在一起之體積(亦即增加細胞濃度)，以確保細胞及珠粒之最大接觸。舉例而言，在一些實施例中，使用約20億個細胞/毫升之濃度。在一些實施例中，使用約10億個細胞/毫升之濃度。在一些實施例中，使用大於約100,000,000個細胞/毫升。在一些實施例中，使用約10,000,000、15,000,000、20,000,000、25,000,000、30,000,000、35,000,000、40,000,000、45,000,000或50,000,000個細胞/毫升中的任一者之細胞濃度。在一些實施例中，使用約75,000,000、80,000,000、85,000,000、90,000,000、95,000,000或100,000,000個細胞/毫升中的任一者之細胞濃度。在一些實施例中，使用約125,000,000或約150,000,000個細胞/毫升之濃度。使用高濃度可導致增加之細胞產量、細胞活化及細胞擴增。此外，使用高細胞濃度允許更有效捕獲可弱表現所關注之靶抗原的細胞(諸如CD28-陰性T細胞)或自其中存在許多腫瘤細胞之樣本(亦即，白血病血液、腫瘤組織等)更有效捕獲該等細胞。此類細胞群體可具有治療價值且將需要獲得。舉例而言，使用高細胞濃度允許更有效選擇通常具有較弱CD28表現之$CD8^+$ T細胞。

【0279】 在本發明之一些實施例中，T細胞直接獲自治療之後的患者。就此而言，已觀測到在某些癌症治療之後，特定言之使用破壞免疫系統之藥物治療之後，在患者通常將自治療恢復的時間期間治療之後不久，獲得之T細胞品質可最佳或其離體擴增之能力得到改良。同樣，在使用本文所描述之方法離體操縱之後，此等細胞之增強移植及活體內擴增可呈較佳狀態。因此，本發明之上下文內涵蓋在此恢復階段期間收集血細胞(包括T細胞)、樹突狀細胞或造血譜系之其他細胞。此外，在一些實施例中，移動(例如用GM-CSF移動)及調節方案可用於建立個體內之條件，其中尤其在治療之後的制定時間窗期間宜再增殖、再循環、再生及/或擴增特定細胞類型。說明性細胞類型包括T細胞、B細胞、樹突狀細胞及免疫系統之其他細胞。

【0280】 無論在基因修飾T細胞以表現合乎需要的caTCR之前抑或之後，大體可使用例如以下中所描述之方法來活化或擴增T細胞：美國專利號第6,352,694號、第6,534,055號、第6,905,680號、第6,692,964號、第5,858,358號、第6,887,466號、第6,905,681號、第7,144,575號、第7,067,318號、第7,172,869號、第7,232,566號、第7,175,843號、第5,883,223號、第6,905,874號、第6,797,514號、第6,867,041號及美國專利申請公開案第20060121005號。

【0281】 大體而言，本發明之T細胞藉由使與其連接之表面與刺激CD3/TCR複合體相關信號之試劑及刺激T細胞表面上之協同刺激分子之配體接觸而擴增。特定言之，T細胞群體可諸如藉由與抗CD3抗體或其抗原結合片段，或固定於表面上之抗CD2抗體接觸，或藉由同與鈣離子載體結合之蛋白激酶C活化劑(例如苔蘚蟲素)接觸而刺激。為了協同刺激T細胞表

面上之輔助分子，使用結合輔助分子之配體。舉例而言，T細胞群體可與抗CD3抗體及抗CD28抗體在適於刺激T細胞增殖之條件下接觸。為了刺激$CD4^+$ T細胞或$CD8^+$ T細胞之增殖，抗CD3抗體及抗CD28抗體。抗CD28抗體之實例包括9.3、B-T3、XR-CD28 (Diaclone, Besançon, France)，可如此項技術中通常已知之其他方法使用(Berg等人, *Transplant Proc.* 30(8):3975-3977, 1998；Haanen等人, *J. Exp. Med.* 190(9):13191328, 1999；Garland等人, *J. Immunol Meth.* 227(1-2):53-63, 1999)。

【0282】 在有些本文所描述之任何此類實施例中，caTCR效應細胞之製備導致最小程度或實質上不耗竭caTCR效應細胞。舉例而言，在一些實施例中，製備導致少於約50% (諸如小於約45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10或5%中之任一者)之caTCR效應細胞發生耗竭。效應細胞耗竭可藉由此項技術中已知之任何方式測定，包括本文所描述之任何方式。

【0283】 在有些本文所描述之任何此類實施例中，caTCR效應細胞之製備導致caTCR效應細胞之最小程度或實質上無終末分化。舉例而言，在一些實施例中，製備導致小於約50% (諸如小於約45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10或5%中之任一者)之caTCR效應細胞發生終末分化。效應細胞分化可藉由此項技術中已知之任何方式測定，包括本文所描述之任何方式。

【0284】 在有些本文所描述之任何此類實施例中，caTCR效應細胞之製備導致caTCR效應細胞上之caTCR之最小程度或實質上無內化。舉例而言，在一些實施例中，製備導致caTCR效應細胞上之小於約50% (諸如小於約45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10或5%中之任一

者)之caTCR發生內化。caTCR效應細胞上之caTCR之內化可藉由此項技術中已知之任何方式測定，包括本文所描述之任何方式。

基因修飾

【0285】 在一些實施例中，本發明之caTCR效應細胞(諸如caTCR T細胞)係藉由用編碼如本文所描述之caTCR的病毒載體轉導效應細胞(諸如藉由本文所描述之方法製備的T細胞)而產生。病毒載體傳遞系統包括DNA及RNA病毒，其在傳遞至效應細胞之後具有游離或整合基因組。為了評述基因療法程序，參見Anderson, Science 256:808-813 (1992)；Nabel及Feigner, TIBTECH 11 :211 - 217 (1993)；Mitani及Caskey, TIBTECH 11 :162-166 (1993)；Dillon, TIBTECH 11 : 167-175 (1993)；Miller, Nature 357:455-460 (1992)；Van Brunt, Biotechnology 6(10): 1149-1 154 (1988)；Vigne, Restorative Neurology and Neuroscience 8:35-36 (1995)；Kremer及Perricaudet, British Medical Bulletin 51(l):31-44 (1995)；及Yu等人, Gene Therapy 1 :13-26 (1994)。在一些實施例中，病毒載體為慢病毒載體，且caTCR效應細胞包含整合至caTCR效應細胞基因組中之慢病毒載體。在一些實施例中，caTCR效應細胞為整合至其基因組中之慢病毒之caTCR T細胞。

【0286】 在一些實施例中，caTCR效應細胞為經修飾以阻斷或減少其內源性TCR鏈中之一者或兩者之表現的T細胞。舉例而言，在一些實施例中，caTCR效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α及/或β鏈之表現的αβ T細胞且所引入caTCR之TCRD包含源自TCR α及β鏈之序列，或caTCR效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ及/或δ鏈之表現的γδ T細胞且所引入caTCR之TCRD包含源自TCR γ及δ鏈之序列。用於破壞基因表現之細胞修

飾包括此項技術中已知的任何此類技術，包括例如RNA干擾(例如，siRNA、shRNA、miRNA)、基因編輯(例如，基於CRISPR或TALEN之基因剔除)及其類似者。

【0287】 在一些實施例中，使用CRISPR/Cas系統產生T細胞之內源性TCR鏈中之一者或兩者之表現減少的caTCR T細胞。為了評述基因編輯之CRISPR/Cas系統，參見例如Jian W及Marraffini LA, *Annu. Rev. Microbiol.* 69, 2015；Hsu PD等人., *Cell*, 157(6):1262-1278, 2014；及O'Connell MR等人, *Nature***第516卷**:第263-266頁, 2014。在一些實施例中，使用基於TALEN之基因組編輯產生T細胞之內源性TCR鏈中之一者或兩者之表現減少的caTCR T細胞。

富集

【0288】 在一些實施例中，提供一種在異質性細胞群體中富集根據本文所描述之caTCR效應細胞中之任一者的caTCR效應細胞的方法。

【0289】 可藉由正選擇技術富集特異性結合於靶抗原之caTCR效應細胞(諸如caTCR T細胞)的特異性亞群。舉例而言，在一些實施例中，caTCR效應細胞(諸如caTCR T細胞)藉由與靶抗原結合之珠粒一起培育足以正選擇所需caTCR效應細胞之時間來進行富集。在一些實施例中，時間為約30分鐘。在一些實施例中，時間在30分鐘至36小時或更長(包括此等數值之間的所有範圍)的範圍內。在一些實施例中，時間為至少1、2、3、4、5或6小時。在一些實施例中，時間為10至24小時。在一些實施例中，培育時間為24小時。關於異質性細胞群體中以低含量存在之caTCR效應細胞之分離，使用較長培育時間(諸如24小時)可提高細胞產量。在任何相較於其他細胞類型存在較少caTCR效應細胞的情形中可使用較長培育時間分

離caTCR效應細胞。熟習此項技術者將認識到本發明之上下文中亦可使用多個選擇回合。

【0290】 為了藉由正選擇分離所需caTCR效應細胞群體，細胞濃度及表面(例如，粒子，諸如珠粒)可變化。在一些實施例中，可能需要顯著減小珠粒及細胞混合在一起之體積(亦即增加細胞濃度)，以確保細胞及珠粒之最大接觸。舉例而言，在一些實施例中，使用約20億個細胞/毫升之濃度。在一些實施例中，使用約10億個細胞/毫升之濃度。在一些實施例中，使用大於約100,000,000個細胞/毫升。在一些實施例中，使用約10,000,000、15,000,000、20,000,000、25,000,000、30,000,000、35,000,000、40,000,000、45,000,000或50,000,000個細胞/毫升中的任一者之細胞濃度。在一些實施例中，使用約75,000,000、80,000,000、85,000,000、90,000,000、95,000,000或100,000,000個細胞/毫升中的任一者之細胞濃度。在一些實施例中，使用約125,000,000或約150,000,000個細胞/毫升之濃度。使用高濃度可導致增加之細胞產量、細胞活化及細胞擴增。此外，使用高細胞濃度使得更有效捕捉可能弱表現caTCR之caTCR效應細胞。

【0291】 在有些本文所描述之任何此類實施例中，富集之結果為caTCR效應細胞之耗竭程度最小或實質上無耗竭。舉例而言，在一些實施例中，富集之結果為caTCR效應細胞之耗竭小於約50% (諸如小於約45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10或5%中之任一者)。效應細胞耗竭可藉由此項技術中已知之任何方式測定，包括本文所描述之任何方式。

【0292】 在有些本文所描述之任何此類實施例中，富集之結果為

caTCR效應細胞之終末分化程度最小或實質上無終末分化。舉例而言，在一些實施例中，富集之結果為小於約50% (諸如小於約45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10或5%中之任一者)之caTCR效應細胞發生終末分化。效應細胞分化可藉由此項技術中已知之任何方式測定，包括本文所描述之任何方式。

【0293】在有些本文所描述之任何此類實施例中，富集之結果為caTCR效應細胞上之caTCR的內化程度最小或實質上無內化。舉例而言，在一些實施例中，富集之結果為caTCR效應細胞上小於約50% (諸如小於約45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10或5%中之任一者)之caTCR發生內化。caTCR效應細胞上之caTCR之內化可藉由此項技術中已知之任何方式測定，包括本文所描述之任何方式。

【0294】在有些本文所描述之任何此類實施例中，富集之結果為caTCR效應細胞之增殖增加。舉例而言，在一些實施例中，富集之結果為caTCR效應細胞之數目在富集後的至少約10% (諸如約20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、1000%或更大中之至少一者)的增加。

【0295】因此，在一些實施例中，提供一種在異質性細胞群體中富集表現特異性結合於靶抗原之caTCR的caTCR效應細胞的方法，其包含：a)使異質性細胞群體與包含靶抗原或其中所含之一或多個抗原決定基的捕獲分子接觸，形成包含caTCR效應細胞結合於捕獲分子的複合體；及b)自異質性細胞群體分離複合體，從而產生caTCR效應細胞富集的細胞群體。在一些實施例中，將捕獲分子固定至固體擔體。在一些實施例中，固體擔體為微粒(諸如珠粒)。在一些實施例中，固體擔體為表面(諸如孔的底

部)。在一些實施例中，捕獲分子經標籤標記。在一些實施例中，標籤為螢光分子、親和力標籤或磁性標籤。在一些實施例中，該方法進一步包含自捕獲分子溶離caTCR效應細胞且回收溶離液。

庫篩選

【0296】在一些實施例中，為分離對靶抗原具有特異性之候選caTCR構築體，caTCR庫(例如表現編碼複數個caTCR之核酸庫的細胞)可暴露於包含靶抗原或其中所含之一或多個抗原決定基之捕獲分子，接著分離特異性結合捕獲分子之庫之親和力成員。在一些實施例中，將捕獲分子固定於固體擔體上。在一些實施例中，擔體可為珠粒表面、微量滴定盤、免疫管或此項技術中已知適用於此類目的的任何材料。在一些實施例中，在溶液中發生與經標記捕獲分子(例如經生物素標記之捕獲分子)的相互作用。在一些實施例中，該程序涉及一或多個用於移除非特異性且非反應性庫成員的洗滌步驟(淘選)。在一些實施例中，為了純化溶液中之複合體，藉由固定或藉由離心收集複合體。在一些實施例中，在可溶性經生物素標記之捕獲分子上捕獲親和力成員，隨後將親和力複合體(親和力成員及捕獲分子)固定於抗生蛋白鏈菌素珠粒上。在一些實施例中，固體擔體為珠粒。在一些實施例中，珠粒包括例如磁性珠粒(例如來自Bangs Laboratories, Polysciences inc., Dynal Biotech, Miltenyi Biotech 或 Quantum Magnetic)、非磁性珠粒(例如Pierce and Upstate technology)、單分散珠粒(例如 Dynal Biotech and Microparticle Gmbh)及多分散珠粒(例如Chemagen)。磁性珠粒之使用在文獻中已有詳盡描述(Uhlen, M等人(1994) Advances in Biomagnetic Separation, BioTechniques press, Westborough, MA)。在一些實施例中，藉由正選擇純化親和力成員。在

一些實施例中，藉由負向選擇純化親和力成員以移除不合需要之庫成員。在一些實施例中，藉由正向及負向選擇步驟純化親和力成員。

【0297】 大體而言，用於製備庫構築體之技術將基於已知的基因工程技術。就此而言，將編碼庫中待表現之caTCR的核酸序列併入至適合於待使用類型之表現系統的表現載體中。用於在諸如CD3+細胞之細胞中呈現的適當表現載體在此項技術中為熟知的且有描述。舉例而言，在一些實施例中，表現載體為病毒載體，諸如慢病毒載體。

【0298】 在一些實施例中，提供一種核酸庫，其包含編碼複數個根據本文所描述之實施例中之任一者的caTCR的序列。在一些實施例中，核酸庫包含編碼複數個caTCR之病毒載體。在一些實施例中，病毒載體為慢病毒載體。

【0299】 在一些實施例中，提供一種針對編碼對靶抗原具有特異性之caTCR之序列而篩選根據本文所描述之實施例中之任一者的核酸庫的方法，其包含：a)引入核酸庫至複數個細胞中，使得caTCR表現於複數個細胞之表面上；b)用包含靶抗原或其中所含之一或多個抗原決定基的捕獲分子培育複數個細胞；c)收集結合於捕獲分子之細胞；及d)自步驟c)中所收集之細胞分離編碼caTCR之序列，由此鑑別對靶抗原具有特異性之caTCR。在一些實施例中，該方法進一步包含一或多個洗滌步驟。在一些實施例中，一或多個洗滌步驟係在步驟b)與c)之間進行。在一些實施例中，複數個細胞為複數個CD3+細胞。在一些實施例中，將捕獲分子固定於固體擔體上。在一些實施例中，固體擔體為珠粒。在一些實施例中，收集結合於捕獲分子之細胞包含自結合於固體擔體之捕獲配體溶離細胞及收集溶離液。在一些實施例中，捕獲分子經標籤標記。在一些實施例中，標

籤為螢光分子、親和力標籤或磁性標籤。在一些實施例中，收集結合於捕獲分子之細胞包含分離包含該等細胞及經標記之配體的複合體。在一些實施例中，自複合體解離該等細胞。

MHC蛋白

【0300】 MHC I類蛋白質為兩種主要類別之主要組織相容複合體(MHC)分子中的一者(另一者為MHC II類)且發現於身體之幾乎每一成核細胞上。其功能為向T細胞呈現細胞內之蛋白質片段；健康細胞將忽略，而含有外來的或突變的蛋白質之細胞將受到免疫系統攻擊。由於MHC I類蛋白質呈遞源自胞溶質蛋白質之肽，MHC I類呈遞路徑通常稱作胞溶質或內源性路徑。I類MHC分子結合主要由蛋白酶體降解胞溶質蛋白質產生的肽。MHC I:肽複合體接著插入至細胞之質膜中。肽結合於I類MHC分子之胞外部分。因此，I類MHC之功能為向細胞毒性T細胞(CTL)呈現胞內蛋白。然而，I類MHC亦可在稱為交叉呈遞之方法中呈遞產生自外源蛋白質之肽。

【0301】 MHC I類蛋白質由兩個多肽鏈組成：α及β2-微球蛋白(β2M)。兩條鏈經由β2M與α3域之相互作用非共價連接。僅α鏈為多形的且由HLA基因編碼，而β2M次單元並非多形的且由β-2微球蛋白基因編碼。α3域為跨越質膜且與T細胞之CD8共受體相互作用。α3-CD8相互作用將MHC I分子保持在適當的位置，而細胞毒性T細胞表面上之T細胞受體(TCR)結合其α1-α2雜二聚體配體，且檢查偶合肽之抗原性。α1及α2域摺疊而構成凹槽，用於肽結合。MHC I類蛋白質結合長度為8-10個胺基酸之肽。

【0302】 MHC II類分子為通常僅發現於抗原呈遞細胞上之分子家

族，抗原呈遞細胞諸如樹突狀細胞、單核吞噬細胞、一些內皮細胞、胸腺上皮細胞及B細胞。由II類肽呈遞之抗原源自胞外蛋白(並非如同I類中之胞溶質蛋白質)；因此，MHC II類依賴性抗原呈遞路徑稱作胞吞或外源性路徑。MHC II類分子之負載藉由吞噬作用發生；胞外蛋白遭胞吞，在溶酶體中消化，且所得抗原決定基肽片段負載至MHC II類分子上，其隨後遷移至細胞表面。

【0303】 如同MHC I類分子一樣，II類分子亦為雜二聚體，但在此情況下由兩個均質肽組成：α及β鏈。子名稱α1、α2等係指HLA基因內之單獨域；各域通常由該基因內之不同外顯子編碼，且一些基因具有編碼前導序列、跨膜序列等之其他域。因為MHC II類分子之抗原結合凹槽在兩個末端均打開而I類分子上之對應凹槽在各末端關閉，所以由MHC II類分子呈遞之抗原更長，長度一般介於15個與24個胺基酸殘基之間。

【0304】 人類白血球抗原(HLA)基因為MHC基因之人類型式。人體中之三種主要MHC I類蛋白質為HLA-A、HLA-B及HLA-C，而3種次要MHC I類蛋白質為HLA-E、HLA-F及HLA-G。人體中參與抗原呈遞之三種主要MHC II類蛋白質為HLA-DP、HLDA-DQ及HLA-DR，而其他MHC II類蛋白質HLA-DM及HLA-DO則參與抗原之內部處理及負載。HLA-A位列人體中具有最快演進編碼序列之基因中。截至2013年12月，存在2432種編碼1740種活性蛋白質及117種無效蛋白質之已知HLA-A對偶基因。HLA-A基因位於染色體6之短臂上且編碼HLA-A之較大α鏈成分。HLA-A α-鏈之變化對於HLA功能至關重要。此變化促進群體中之基因多樣性。由於各HLA對於某些結構之肽具有不同親和力，所以較多種HLA意謂較多種抗原『呈遞』於細胞表面上，提高群體子組將對任何指定外來

侵入物具抗性之可能性。此降低單一病原體具有消滅整個人類群體之能力的可能性。各個體可表現至多兩種類型之HLA-A，分別來自其親本。一些個體將自親本繼承相同HLA-A，減少其個體HLA多樣性；然而，大多數個體將接受HLA-A之兩種不同複本。所有HLA組遵循此相同模式。換言之，個體可僅表現2432種已知HLA-A對偶基因中之一者或兩者。

【0305】所有對偶基因接受至少四種數位分類，例如HLA-A*02:12。A表示對偶基因所屬的HLA基因。存在許多HLA-A對偶基因，使得藉由血清型之分類使分類簡化。下一對數字指示此分配。舉例而言，HLA-A*02:02、HLA-A*02:04及HLA-A*02:324全部為A2血清型之成員(藉由*02字首指示)。此組為造成HLA相容性之主要因素。此後的所有數字無法藉由血清分型測定且經由基因定序指示。第二組數字指示產生何種HLA蛋白。此等以發現順序指定且截至2013年12月，存在456種不同的已知HLA-A02蛋白(指定名稱HLA-A*02:01至HLA-A*02:456)。可能的最短HLA名稱包括此等細節中之兩者。超出其的各擴展表示可或可不改變蛋白質之核苷酸變化。

【0306】在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組特異性結合於包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC I類蛋白質的複合體，其中MHC I類蛋白質為HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-E、HLA-F或HLA-G。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A、HLA-B或HLA-C。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-B。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-C。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A01、HLA-A02、HLA-A03、HLA-A09、HLA-A10、HLA-A11、HLA-A19、HLA-A23、

HLA-A24、HLA-A25、HLA-A26、HLA-A28、HLA-A29、HLA-A30、HLA-A31、HLA-A32、HLA-A33、HLA-A34、HLA-A36、HLA-A43、HLA-A66、HLA-A68、HLA-A69、HLA-A74或HLA-A80。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A02。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A*02:01-555中的任一者，諸如HLA-A*02:01、HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:04、HLA-A*02:05、HLA-A*02:06、HLA-A*02:07、HLA-A*02:08、HLA-A*02:09、HLA-A*02:10、HLA-A*02:11、HLA-A*02:12、HLA-A*02:13、HLA-A*02:14、HLA-A*02:15、HLA-A*02:16、HLA-A*02:17、HLA-A*02:18、HLA-A*02:19、HLA-A*02:20、HLA-A*02:21、HLA-A*02:22 或 HLA-A*02:24。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A*02:01。所有高加索人(Caucasian)中有39-46%的人表現HLA-A*02:01且因此表示適合選擇MHC I類蛋白質用於本發明。

【0307】 在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組特異性結合於包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC II類蛋白質的複合體，其中MHC II類蛋白質為HLA-DP、HLA-DQ或HLA-DR。在一些實施例中，MHC II類蛋白質為HLA-DP。在一些實施例中，MHC II類蛋白質為HLA-DQ。在一些實施例中，MHC II類蛋白質為HLA-DR。

【0308】 適用於產生Fab樣抗原結合模組之肽可例如基於蛋白酶體及免疫蛋白酶體之HLA (諸如HLA-A*02:01)結合基元及裂解位點的存在，使用熟習此項技術者已知之電腦預測模型來確定。關於預測MHC結合位點，此類模型包括(但不限於) ProPred1 (更詳細地描述於Singh及Raghava, *ProPred: prediction of HLA-DR binding sites.*

BIOINFORMATICS 17(12):1236-1237, 2001中)及SYFPEITHI (參見Schuler等人 *SYFPEITHI, Database for Searching and T-Cell Epitope Prediction. Immunoinformatics Methods in Molecular Biology*, 第409卷(1): 75-93, 2007)。

【0309】一旦鑑別出適當肽，即可根據熟習此項技術者熟知之方案完成肽合成。本發明之肽由於其相對較小尺寸，而可根據習知肽合成技術直接在溶液中或固體擔體上合成。各種自動合成器為可商購的且可根據已知方案使用。在溶液相中合成肽已成為大規模生產合成肽之公認程序且因此為製備本發明之肽之適合替代方法(參見例如Solid Phase Peptide Synthesis, John Morrow Stewart及Martin等人 *Application of Almez-mediated Amidation Reactions to Solution Phase Peptide Synthesis*, Tetrahedron Letters 第39卷, 第1517-1520頁, 1998)。

醫藥組合物

【0310】本文亦提供組合物(諸如醫藥組合物，在本文中亦稱作調配物)，其包含根據本文所描述之實施例中之任一者的caTCR、編碼根據本文所描述之實施例中之任一者的caTCR之核酸或根據本文所描述之實施例中之任一者的caTCR效應細胞。在一些實施例中，該組合物為caTCR效應細胞組合物(諸如醫藥組合物)，其包含於其表面上呈遞根據本文所描述之caTCR中之任一者之caTCR的效應細胞(諸如T細胞)。在一些實施例中，caTCR效應細胞組合物為醫藥組合物。

【0311】該組合物可包含均質細胞群體或異質細胞群體，該均質細胞群體包含相同細胞類型且表現相同caTCR之caTCR效應細胞，該異質細胞群體包含複數個包含不同細胞類型及/或表現不同caTCR之caTCR效應

細胞的caTCR效應細胞群體。該組合物可進一步包含不為caTCR效應細胞的細胞。

【0312】因此，在一些實施例中，提供一種caTCR效應細胞組合物，其包含相同細胞類型及表現相同caTCR之caTCR效應細胞(諸如caTCR T細胞)的均質細胞群體。在一些實施例中，caTCR效應細胞為T細胞。在一些實施例中，caTCR效應細胞係選自由以下組成之群：細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞。在一些實施例中，caTCR效應細胞組合物為醫藥組合物。

【0313】在一些實施例中，提供一種caTCR效應細胞組合物，其包含異質細胞群體，該異質細胞群體包含複數個包含不同細胞類型及/或表現不同caTCR之caTCR效應細胞的caTCR效應細胞群體。在一些實施例中，caTCR效應細胞為T細胞。在一些實施例中，各caTCR效應細胞群體彼此獨立地具有選自由以下組成之群的細胞類型：細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞。在一些實施例中，組合物中的所有caTCR效應細胞具有相同細胞類型(例如，所有caTCR效應細胞為細胞毒性T細胞)。在一些實施例中，至少一個caTCR效應細胞群體具有不同於其他caTCR效應細胞群體的細胞類型(例如，一個caTCR效應細胞群體由細胞毒性T細胞組成且其他caTCR效應細胞群體由自然殺手T細胞組成)。在一些實施例中，各caTCR效應細胞群體表現相同caTCR。在一些實施例中，至少一個caTCR效應細胞群體表現不同於其他caTCR效應細胞群體的caTCR。在一些實施例中，各caTCR效應細胞群體表現不同於其他caTCR效應細胞群體的caTCR。在一些實施例中，各caTCR效應細胞群體表現特異性結合於相同靶抗原之caTCR。在一些實施例中，至少一個caTCR效應

細胞群體表現特異性結合於不同於其他caTCR效應細胞群體的靶抗原之caTCR (例如，一個caTCR效應細胞群體特異性結合於pMHC複合體且其他caTCR效應細胞群體特異性結合於細胞表面受體)。在一些實施例中，在至少一個caTCR效應細胞群體表現特異性結合於不同靶抗原之caTCR的情況下，各caTCR效應細胞群體表現特異性結合於與相同疾病或病症相關之靶抗原(例如，各靶抗原與諸如乳癌之癌症相關)的caTCR。在一些實施例中，caTCR效應細胞組合物為醫藥組合物。

【0314】因此，在一些實施例中，提供一種caTCR效應細胞組合物，其包含複數個根據本文所描述之實施例中之任一者的caTCR效應細胞群體，其中組合物中之所有caTCR效應細胞具有相同細胞類型(例如，所有caTCR效應細胞為細胞毒性T細胞)，且其中各caTCR效應細胞群體表現不同於其他caTCR效應細胞群體的caTCR。在一些實施例中，caTCR效應細胞為T細胞。在一些實施例中，caTCR效應細胞係選自由以下組成之群：細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞。在一些實施例中，各caTCR效應細胞群體表現特異性結合於相同靶抗原之caTCR。在一些實施例中，至少一個caTCR效應細胞群體表現特異性結合於不同於其他caTCR效應細胞群體的靶抗原之caTCR (例如，一個caTCR效應細胞群體特異性結合於pMHC複合體且其他caTCR效應細胞群體特異性結合於細胞表面受體)。在一些實施例中，在至少一個caTCR效應細胞群體表現特異性結合於不同靶抗原之caTCR的情況下，各caTCR效應細胞群體表現特異性結合於與相同疾病或病症相關之靶抗原(例如，各靶抗原與諸如乳癌之癌症相關)的caTCR。在一些實施例中，caTCR效應細胞組合物為醫藥組合物。

【0315】在一些實施例中，提供一種組合物，其包含複數個根據本文所描述之實施例中之任一者的caTCR效應細胞群體，其中至少一個caTCR效應細胞群體具有不同於其他caTCR效應細胞群體的細胞類型。在一些實施例中，所有caTCR效應細胞群體具有不同細胞類型。在一些實施例中，caTCR效應細胞為T細胞。在一些實施例中，各caTCR效應細胞群體彼此獨立地具有選自由以下組成之群的細胞類型：細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞。在一些實施例中，各caTCR效應細胞群體表現相同caTCR。在一些實施例中，至少一個caTCR效應細胞群體表現不同於其他caTCR效應細胞群體的caTCR。在一些實施例中，各caTCR效應細胞群體表現不同於其他caTCR效應細胞群體的caTCR。在一些實施例中，各caTCR效應細胞群體表現特異性結合於相同靶抗原之caTCR。在一些實施例中，至少一個caTCR效應細胞群體表現特異性結合於不同於其他caTCR效應細胞群體的靶抗原之caTCR (例如，一個caTCR效應細胞群體特異性結合於pMHC複合體且其他caTCR效應細胞群體特異性結合於細胞表面受體)。在一些實施例中，在至少一個caTCR效應細胞群體表現特異性結合於不同靶抗原之caTCR的情況下，各caTCR效應細胞群體表現特異性結合於與相同疾病或病症相關之靶抗原(例如，各靶抗原與諸如乳癌之癌症相關)的caTCR。在一些實施例中，caTCR效應細胞組合物為醫藥組合物。

【0316】在組合物製備期間的各個時刻，可能需要或者宜低溫保存細胞。術語「冷凍(frozen/freezing)」及「低溫保存(cryopreserved/cryopreserving)」可互換使用。冷凍包括冷凍乾燥。

【0317】如一般技術者所理解，冷凍細胞可具破壞性(參見Mazur,

P., 1977, Cryobiology 14:251-272)，但存在大量可供防止此類破壞用之程序。舉例而言，可藉由(a)使用低溫保護劑、(b)控制冷凍速率及/或(c)在可使降解反應降到最低的足夠低的溫度下儲存來避免破壞。例示性低溫保護劑包括二甲亞碸(DMSO) (Lovelock及Bishop, 1959, Nature 183:1394-1395；Ashwood-Smith, 1961 , Nature 190:1204-1205)、甘油、聚乙烯吡咯啶酮(Rinfret, 1960, Ann. N.Y. Acad. Sci. 85:576)、聚乙二醇(Sloviter及Ravdin, 1962, Nature 196:548)、白蛋白、聚葡萄糖、蔗糖、乙二醇、i-赤藻糖醇、D-核糖醇、D-甘露糖醇(Rowe等人, 1962, Fed. Proc. 21 :157)、D-山梨糖醇、i-肌醇、D-乳糖、氯化膽鹼(Bender等人, 1960, J. Appl. Physiol. 15:520)、胺基酸(Phan The Tran及Bender, 1960, Exp. Cell Res. 20:651)、甲醇、乙醯胺、甘油單乙酸酯(Lovelock, 1954, Biochem. J. 56:265)及無機鹽(Phan The Tran及Bender, 1960, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 104:388；Phan The Tran及Bender, 1961, Radiobiology, Proceedings of the Third Australian Conference on Radiobiology, llbery編, Butterworth, London, 第59頁)。在特定實施例中，可使用DMSO。添加血漿(例如，至20-25%之濃度)可強化DMSO之保護作用。在添加DMSO之後，細胞可保持在0℃下直至冷凍，因為1%之DMSO濃度在高於4℃之溫度下可具有毒性。

【0318】 在細胞之低溫保存中，緩慢控制的冷卻速率可為關鍵的且不同低溫保護劑(Rapatz等人, 1968, Cryobiology 5(1): 18-25)及不同細胞類型具有不同的最佳冷卻速率(關於冷卻速度對幹細胞之存活率及對於其移植潛能的影響，參見例如Rowe及Rinfret, 1962, Blood 20:636；Rowe, 1966, Cryobiology 3(1):12-18；Lewis等人, 1967, Transfusion 7(1):17-

32；及Mazur, 1970, Science 168:939-949)。水變成冰之融化階段的熱量應該極少。冷卻程序可藉由使用例如可程式化冷凍裝置或甲醇浴液程序進行。可程式化冷凍設備允許測定最佳冷卻速率且促成標準可再現冷卻。

【0319】在特定實施例中，經DMSO處理之細胞可於冰上預先冷卻且轉移至含有經冷藏之甲醇的托盤中，其又置放於機械製冷機(例如，Harris或Revco)中於-80℃下。甲醇浴液及樣本之熱電偶量測指示1℃至3℃/分鐘之冷卻速率可為較佳的。在至少兩個小時之後，樣本可達到-80℃之溫度且可直接置放於液氮(-196℃)中。

【0320】在徹底冷凍之後，細胞可迅速轉移至長期低溫儲存容器中。在一較佳實施例中，樣本可低溫儲存於液氮(-196℃)或蒸氣(-1℃)中。高效液氮冰箱之可用性有助於此類儲存。

【0321】關於操控、低溫保存及長期儲存細胞之其他考慮因素及程序可見於以下例示性參考文獻中：美國專利第4,199,022號、第3,753,357號及第4,559,298號；Gorin, 1986, Clinics In Haematology 15(1):19-48；Bone-Marrow Conservation, Culture and Transplantation, Proceedings of a Panel, Moscow, 1968年7月22-26日, International Atomic Energy Agency, Vienna, 第107-186頁；Livesey及Linner, 1987, Nature 327:255；Linner等人, 1986, J. Histochem. Cytochem. 34(9):1 123-1 135；Simione, 1992, J. Parenter. Sci. Technol. 46(6):226-32。

【0322】在低溫保存之後，可解凍冷凍細胞以根據一般技術者已知之方法使用。冷凍細胞較佳快速解凍且在解凍後立刻冷藏。在特定實施例中，含有冷凍細胞之小瓶可浸入溫水浴中直至其頸部；平緩旋轉將確保細胞懸浮液隨著解凍發生混合且提高自溫水至內部冰塊的熱傳遞。一旦冰完

全融化，即可立刻將小瓶置放於冰上。

【0323】在特定實施例中，可在解凍期間使用防止細胞凝集的方法。例示性方法包括：在冷凍之前及/或之後添加脫氧核糖核酸酶(Spitzer等人, 1980, Cancer 45:3075-3085)、低分子量聚葡萄糖及檸檬酸鹽、羥乙基澱粉(Stiff等人, 1983, Cryobiology 20:17-24)等。[0162]如一般技術者所理解，若使用對人類有毒的低溫保護劑，則其應在治療用途之前移除。DMSO無嚴重毒性。

【0324】例示性載劑及細胞投與模式描述於美國專利公開案第2010/0183564號第14-15頁。其他醫藥載劑描述於Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第21版, David B. Troy編, Lippicott Williams & Wilkins (2005)中。

【0325】在特定實施例中，細胞可自培養基收集，且洗滌並於載劑中濃縮至治療有效量。例示性載劑包括鹽水、緩衝鹽水、生理鹽水、水、漢克氏溶液(Hanks' solution)、林格氏溶液(Ringer's solution)、Nonnosol-R (Abbott Labs)、Plasma-Lyte A(R) (Baxter Laboratories, Inc., Morton Grove, IL)、甘油、乙醇及其組合。

【0326】在特定實施例中，載劑可補充有人血清白蛋白(HSA)或其他人類血清組分或胎牛血清。在特定實施例中，輸注載劑包括含5% HAS或右旋糖之緩衝鹽水。其他等張劑包括多羥基糖醇，包括三元醇或高級糖醇，諸如甘油、赤藻糖醇、阿拉伯糖醇、木糖醇、山梨糖醇或甘露糖醇。

【0327】載劑可包括緩衝劑，諸如檸檬酸鹽緩衝劑、丁二酸鹽緩衝劑、酒石酸鹽緩衝劑、反丁烯二酸鹽緩衝劑、葡糖酸鹽緩衝劑、草酸鹽緩衝劑、乳酸鹽緩衝劑、乙酸鹽緩衝劑、磷酸鹽緩衝劑、組胺酸緩衝劑及/

或三甲胺鹽。

【0328】 穩定劑係指寬泛的一類賦形劑，其功能範圍可介於增積劑至有助於防止細胞黏附於容器壁上的添加劑之間。典型的穩定劑可包括多羥基糖醇；胺基酸，諸如精胺酸、離胺酸、甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺、組胺酸、丙胺酸、鳥胺酸、L-白胺酸、2-苯丙胺酸、麩胺酸及蘇胺酸；有機糖或糖醇，諸如乳糖、海藻糖、水蘇糖、甘露糖醇、山梨糖醇、木糖醇、核糖醇、肌肉肌醇、半乳糖醇、甘油及環醇，諸如肌醇；PEG；胺基酸聚合物；含硫還原劑，諸如脲、麩胱甘肽、硫辛酸、巯乙酸鈉、硫代甘油、α-單硫代甘油及硫代硫酸鈉；低分子量多肽(亦即，<10個殘基)；蛋白質，諸如HSA、牛血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，諸如聚乙烯吡咯啶酮；單醣，諸如木糖、甘露糖、果糖及葡萄糖；雙醣，諸如乳糖、麥芽糖及蔗糖；三醣，諸如棉子糖；及多醣，諸如聚葡萄糖。

【0329】 在需要時或在有利時，組合物可包括諸如利多卡因(lidocaine)之局部麻醉劑以減輕注射部位之疼痛。

【0330】 例示性防腐劑包括苯酚、苯甲醇、間甲酚、對羥基苯甲酸甲酯、對羥基苯甲酸丙酯、氯化十八烷基二甲基苯甲銨、鹵化苯甲烴銨、氯化六羥季銨、對羥基苯甲酸烷基酯(諸如對羥基苯甲酸甲酯或丙酯)、兒茶酚、間苯二酚、環己醇及3-戊醇。

【0331】 組合物內之細胞的治療有效量可為大於10^2個細胞、大於10^3個細胞、大於10^4個細胞、大於10^5個細胞、大於10^6個細胞、大於10^7個細胞、大於10^8個細胞、大於10^9個細胞、大於10^{10}個細胞或大於10^{11}個細胞。

【0332】在本文所揭示之組合物及調配物中，細胞之體積一般為一公升或更小、500 ml或更小、250 ml或更小、或100 ml或更小。因此，所投與之細胞密度通常為大於10^4個細胞/毫升、10^7個細胞/毫升或10^8個細胞/毫升。

【0333】本文亦提供caTCR核酸組合物(諸如醫藥組合物，在本文中亦稱作調配物)，其包含編碼本文所描述之caTCR的核酸中之任一者。在一些實施例中，caTCR核酸組合物為醫藥組合物。在一些實施例中，caTCR核酸組合物進一步包含以下中之任一者：等張劑、賦形劑、稀釋劑、增稠劑、穩定劑、緩衝劑及/或防腐劑；及/或含水媒劑，諸如純化水、糖水溶液、緩衝溶液、生理鹽水、聚合物水溶液或不含核糖核酸酶之水。待添加之此等添加劑及含水媒劑的量可根據caTCR核酸組合物之使用形式適當地選擇。

【0334】本文所揭示之組合物及調配物可經製備用於藉由例如注射、輸注、灌注或灌洗投與。組合物及調配物可進一步經調配用於骨髓、靜脈內、皮內、動脈內、結節內、淋巴管內、腹膜內、病灶內、前列腺內、陰道內、直腸內、局部、鞘內、瘤內、肌肉內、囊泡內及/或皮下注射。

【0335】用於活體內投與之調配物必須為無菌的。此藉由例如經由無菌過濾膜過濾容易地實現。

使用caTCR之治療方法

【0336】可向個體(例如，諸如人類之哺乳動物)投與本發明之caTCR及/或組合物，以治療與靶抗原(TA)表現相關之疾病及/或病症(在本文中亦稱作「靶抗原陽性」或「TA陽性」疾病或病症)，包括(例如)癌症

及傳染性疾病(諸如病毒感染)。因此在一些實施例中，本申請案提供一種用於治療個體之靶抗原陽性疾病(諸如癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之組合物(諸如醫藥組合物)，該組合物包含含有抗體部分之caTCR，諸如本文所描述之caTCR中之任一者。在一些實施例中，組合物進一步包含與caTCR結合之細胞(諸如效應細胞)。在一些實施例中，癌症係選自例如由以下組成之群：腎上腺皮質癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、膽管癌、結腸直腸癌、食道癌、神經膠母細胞瘤、神經膠質瘤、肝細胞癌、頭頸癌、腎癌、肺癌、黑色素瘤、間皮瘤、多發性骨髓瘤、胰臟癌、嗜鉻細胞瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤、胃癌、子宮癌及甲狀腺癌。在一些實施例中，病毒感染係由選自由例如以下組成之群的病毒引起的：巨細胞病毒(CMV)、EB病毒(EBV)、B型肝炎病毒(HBV)、卡波西氏肉瘤相關疱疹病毒(KSHV)、人類乳頭狀瘤病毒(HPV)、傳染性軟疣病毒(MCV)、人類T細胞白血病病毒1 (HTLV-1)、HIV (人類免疫缺乏病毒)及C型肝炎病毒(HCV)。

【0337】 舉例而言，在一些實施例中，提供一種治療有需要之個體的靶抗原相關疾病(諸如癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於其表面上呈遞caTCR(諸如經分離caTCR)的效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，該caTCR包含：a)第一TCRD，其包含源自天然存在之TCR的跨膜域中之一者的第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含源自天然存在之TCR的另一跨膜域的第二TCR-TM，其中TCR-TM中之至少一者為非天然存在的且該第一TCRD及該第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子之TCRM；以及b)抗原結合模組，其特異性結合於靶抗原，其中該抗原結合模組連接於第一及/或第二

TCRD。在一些實施例中，天然存在之TCR為αβ TCR，且該第一TCR-TM及該第二TCR-TM源自TCR α及β次單元跨膜域。在一些實施例中，天然存在之TCR為γδ TCR，且該第一TCR-TM及該第二TCR-TM源自TCR γ及δ次單元跨膜域。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽包含第一TCR-TM所源自之TCR次單元的連接肽之全部或一部分或其變異體，及/或第二連接肽包含第二TCR-TM所源自之TCR次單元的連接肽之全部或一部分或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第一TCR胞內域包含來自第一TCR-TM所源自之TCR次單元的胞內域的序列，及/或第二TCR胞內域包含來自第二TCR-TM所源自之TCR次單元的胞內域的序列。在一些實施例中，第一TCRD為第一TCR-TM所源自之TCR次單元的片段，及/或第二TCRD為第二TCR-TM所源自之TCR次單元的片段。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中該第一穩定域及該第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及第二穩定域包含抗體部分(諸如C_H1及C_L抗體域)或其變異體。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含天然存在之T

細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，抗原結合模組、穩定模組及TCRM中之任一者之間存在間隔模組。在一些實施例中，抗原結合模組為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，抗原結合模組為多特異性的(例如，雙特異性的)。在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。在一些實施例中，細胞表面抗原為疾病相關抗原，諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原為CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些實施例中，靶抗原為表面呈遞肽/MHC複合體。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白，其中肽源自選自由以下組成之群的蛋白質：WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1、KRAS、組蛋白H3.3及PSA，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，MHC蛋白為MHC I類蛋白質。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為HLA-A*02:01。在一些實施例中，效應細胞為γδ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α及/或β鏈之表現的αβ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由以下組成之群：細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞。

【0338】在一些實施例中，提供一種治療有需要之個體的靶抗原相關疾病(諸如癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之組合

物，該組合物包含於其表面上呈遞特異性識別靶抗原之caTCR的效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，該caTCR包含：a)第一TCRD，其包含源自天然存在之αβ TCR的跨膜域中之一者的第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含源自天然存在之αβ TCR的另一跨膜域的第二TCR-TM，其中TCR-TM中之至少一者為非天然存在的且該第一TCRD及該第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子之TCRM；以及b)抗原結合模組，其特異性結合於靶抗原，其中該抗原結合模組連接於第一及/或第二TCRD。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽包含第一TCR-TM所源自之TCR次單元的連接肽之全部或一部分或其變異體，及/或第二連接肽包含第二TCR-TM所源自之TCR次單元的連接肽之全部或一部分或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第一TCR胞內域包含來自第一TCR-TM所源自之TCR次單元的胞內域的序列，及/或第二TCR胞內域包含來自第二TCR-TM所源自之TCR次單元的胞內域的序列。在一些實施例中，第一TCRD為第一TCR-TM所源自之TCR次單元的片段，及/或第二TCRD為第二TCR-TM所源自之TCR次單元的片段。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中該第一穩定域及該第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第

二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及第二穩定域包含抗體部分(諸如C_H1及C_L抗體域)或其變異體。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含天然存在之αβ T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，抗原結合模組、穩定模組及TCRM中之任一者之間存在間隔模組。在一些實施例中，抗原結合模組為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，抗原結合模組為多特異性的(例如，雙特異性的)。

【0339】 在一些實施例中，提供一種治療有需要之個體的靶抗原相關疾病(諸如癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於其表面上呈遞特異性識別靶抗原之caTCR的效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，該caTCR包含：a)第一TCRD，其包含源自天然存在之γδ TCR的跨膜域中之一者的第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含源自天然存在之γδ TCR的另一跨膜域的第二TCR-TM，其中TCR-TM中之至少一者為非天然存在的且該第一TCRD及該第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子之TCRM；以及b)抗原結合模組，其特異性結合於靶抗原，其中該抗原結合模組連接於第一及/或第二TCRD。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽包含第一TCR-TM所源自之TCR次單元的連接肽之全部或一部分或其變異體，及/或第二連接肽包含第二TCR-TM所源自之TCR次單元的連

接肽之全部或一部分或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第一TCR胞內域包含來自第一TCR-TM所源自之TCR次單元的胞內域的序列，及/或第二TCR胞內域包含來自第二TCR-TM所源自之TCR次單元的胞內域的序列。在一些實施例中，第一TCRD為第一TCR-TM所源自之TCR次單元的片段，及/或第二TCRD為第二TCR-TM所源自之TCR次單元的片段。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中該第一穩定域及該第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及第二穩定域包含抗體部分(諸如C_H1及C_L抗體域)或其變異體。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含天然存在之γδ T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，抗原結合模組、穩定模組及TCRM中之任一者之間存在間隔模組。在一些實施例中，抗原結合模組為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，抗原結合模組為多特異性的(例如，雙特異性的)。

【0340】在一些實施例中，提供一種治療有需要之個體的靶抗原相

關疾病(諸如癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於其表面上呈遞特異性識別靶抗原之caTCR的效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，該caTCR包含：a)第一TCRD，其包含源自SEQ ID NO: 5及SEQ ID NO: 6中之一者之胺基酸序列的第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含源自另一胺基酸序列的第二TCR-TM，其中TCR-TM中之至少一者為非天然存在的且該第一TCRD及該第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子之TCRM；以及b)抗原結合模組，其特異性結合於靶抗原，其中該抗原結合模組連接於第一及/或第二TCRD。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽及第二連接肽各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 27-34中之任一者之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第一TCR胞內域及第二TCR胞內域各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 35或36之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中該第一穩定域及該第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及第二穩定域包含抗體部分(諸如C_H1及C_L抗體域)或其變異體。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關

信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含具有SEQ ID NO: 5及6之序列之T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，抗原結合模組、穩定模組及TCRM中之任一者之間存在間隔模組。在一些實施例中，抗原結合模組為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，抗原結合模組為多特異性的(例如，雙特異性的)。

【0341】在一些實施例中，提供一種治療有需要之個體的靶抗原相關疾病(諸如癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於其表面上呈遞特異性識別靶抗原之caTCR的效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，該caTCR包含：a)第一TCRD，其包含源自SEQ ID NO: 5及SEQ ID NO: 6中之一者之胺基酸序列的第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含源自另一胺基酸序列的第二TCR-TM，其中TCR-TM中之至少一者相較於TCR-TM所源自之胺基酸序列包含一或多個(諸如2、3、4、5或更多個)胺基酸取代，且第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子之TCRM；以及b)抗原結合模組，其特異性結合於靶抗原，其中抗原結合模組連接於第一及/或第二TCRD。在一些實施例中，TCR-TM中之每一者相較於其所源自之胺基酸序列彼此獨立地包含一或多個(諸如2、3、4、5或更多個)胺基酸取代。在一些實施例中，第一TCR-TM及/或第二TCR-TM相較於其所源自之胺基酸序列各自彼此獨立地包含不超過5個胺基酸取代。在一些實施例中，TCR-TM中之至少一者相較於其所源自之胺基酸序列包含單一胺基酸取代。在一些實施例中，TCR-TM中之每一者相較於其所源自之胺基酸序列包含單一胺基酸取代。

在一些實施例中，第一TCR-TM中的至少一個經取代胺基酸經定位使得其在caTCR中可與第二TCR-TM中的至少一個經取代胺基酸相互作用。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽及第二連接肽各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 27-34中之任一者之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第一TCR胞內域及第二TCR胞內域各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 35或36之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中該第一穩定域及該第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及第二穩定域包含抗體部分(諸如C_H1及C_L抗體域)或其變異體。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含具有SEQ ID NO: 5及6之序列之T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，抗原結合模組、穩定模組及TCRM中之任一者之間存在間隔模組。在一些實施例中，抗原結合模組為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施

例中，抗原結合模組為多特異性的(例如，雙特異性的)。

【0342】在一些實施例中，提供一種治療有需要之個體的靶抗原相關疾病(諸如癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於其表面上呈遞特異性識別靶抗原之caTCR的效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，該caTCR包含：a)第一TCRD，其包含源自SEQ ID NO: 5及SEQ ID NO: 6中之一者之胺基酸序列的第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含源自另一胺基酸序列之第二TCR-TM，其中TCR-TM中之至少一者包含含有來自SEQ ID NO: 7或8之相連胺基酸中之一部分的嵌合序列，且第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子之TCRM；以及b)抗原結合模組，其特異性結合於靶抗原，其中抗原結合模組連接於第一及/或第二TCRD。在一些實施例中，TCR-TM中之每一者彼此獨立地包含含有來自SEQ ID NO: 7或8之相連胺基酸中之一部分的嵌合序列。在一些實施例中，第一TCR-TM及/或第二TCR-TM各自彼此獨立地包含含有來自SEQ ID NO: 7或8之不超過約10個(諸如不超過約9、8、7、6、5或小於5個)相連胺基酸中之一部分的嵌合序列。在一些實施例中，第一或第二TCR-TM中的嵌合序列來自SEQ ID NO: 7，且另一TCR-TM中的嵌合序列來自SEQ ID NO: 8。在一些實施例中，第一TCR-TM中的嵌合序列經定位使得其可與第二TCR-TM中的嵌合序列相互作用。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽及第二連接肽各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 27-34中之任一者之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內

域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第一TCR胞內域及第二TCR胞內域各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 35或36之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中該第一穩定域及該第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及第二穩定域包含抗體部分(諸如C_H1及C_L抗體域)或其變異體。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含具有SEQ ID NO: 5及6之序列之T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，抗原結合模組、穩定模組及TCRM中之任一者之間存在間隔模組。在一些實施例中，抗原結合模組為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，抗原結合模組為多特異性的(例如，雙特異性的)。

【0343】 在一些實施例中，提供一種治療有需要之個體的靶抗原相關疾病(諸如癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於其表面上呈遞特異性識別靶抗原之caTCR的效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，該caTCR包含：a)第一TCRD，其包含源自SEQ ID NO: 7及SEQ ID NO: 8中之一者之胺基酸序列的第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含源自另一胺基酸序列的第二TCR-TM，其中TCR-

TM中之至少一者為非天然存在的且該第一TCRD及該第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子之TCRM；以及b)抗原結合模組，其特異性結合於靶抗原，其中該抗原結合模組連接於第一及/或第二TCRD。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽及第二連接肽各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 27-34中之任一者之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第一TCR胞內域及第二TCR胞內域各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 35或36之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中該第一穩定域及該第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及第二穩定域包含抗體部分(諸如C_H1及C_L抗體域)或其變異體。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含具有SEQ ID NO: 7及8之序列之T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，抗原結合模組、穩定模組及TCRM中之任一者之間存在間隔模組。在一些實施例中，抗原結合模組為抗體部分。在一些實施

例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，第一TCR-TM及第二TCR-TM係根據表2中所列之caTCR中之任一者選擇。在一些實施例中，抗原結合模組為多特異性的(例如，雙特異性的)。

【0344】在一些實施例中，提供一種治療有需要之個體的靶抗原相關疾病(諸如癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於其表面上呈遞特異性識別靶抗原之caTCR的效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，該caTCR包含：a)第一TCRD，其包含源自SEQ ID NO: 7及SEQ ID NO: 8中之一者之胺基酸序列的第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含源自另一胺基酸序列的第二TCR-TM，其中TCR-TM中之至少一者相較於其所源自之胺基酸序列包含一或多個(諸如2、3、4、5或更多個)胺基酸取代，且第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子之TCRM；以及b)抗原結合模組，其特異性結合於靶抗原，其中抗原結合模組連接於第一及/或第二TCRD。在一些實施例中，TCR-TM中之每一者相較於其所源自之胺基酸序列彼此獨立地包含一或多個(諸如2、3、4、5或更多個)胺基酸取代。在一些實施例中，第一TCR-TM及/或第二TCR-TM相較於其所源自之胺基酸序列各自彼此獨立地包含不超過5個胺基酸取代。在一些實施例中，TCR-TM中之至少一者相較於其所源自之胺基酸序列包含單一胺基酸取代。在一些實施例中，TCR-TM中之每一者相較於其所源自之胺基酸序列包含單一胺基酸取代。在一些實施例中，第一TCR-TM中的至少一個經取代胺基酸經定位使得其在caTCR中可與第二TCR-TM中的至少一個經取代胺基酸相互作用。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二

TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽及第二連接肽各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 27-34中之任一者之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第一TCR胞內域及第二TCR胞內域各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 35或36之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中該第一穩定域及該第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及第二穩定域包含抗體部分(諸如C_H1及C_L抗體域)或其變異體。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含具有SEQ ID NO: 7及8之序列之T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，抗原結合模組、穩定模組及TCRM中之任一者之間存在間隔模組。在一些實施例中，抗原結合模組為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，第一TCR-TM及第二TCR-TM係根據表2中所列之caTCR中之任一者選擇。在一些實施例中，抗原結合模組為多特異性的(例如，雙特異性的)。

【0345】在一些實施例中，提供一種治療有需要之個體的靶抗原相關疾病(諸如癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於其表面上呈遞特異性識別靶抗原之caTCR的效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，該caTCR包含：a)包含第一TCR-TM之第一TCRD及包含第二TCR-TM之第二TCRD，其中第一及第二TCR-TM包含以下之胺基酸序列、基本上由其組成或由其組成：分別為SEQ ID NO: 9及8、7及14、7及15、7及16、10及16、7及17、7及18、7及19、7及20、7及21、7及22、11及23、12及24、7及25或13及26，且其中第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子之TCRM；以及b)抗原結合模組，其特異性結合於靶抗原，其中該抗原結合模組連接於第一及/或第二TCRD。在一些實施例中，抗體部分係選自由以下組成之群：Fab、Fab'、(Fab')2、Fv及單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，抗體部分特異性結合細胞表面抗原，包括(但不限於)CD19、CD20、CD22、CD47、GPC-3、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D及FCRL5，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，抗體部分特異性結合肽/MHC複合體，其中肽源自蛋白質，包括(但不限於) WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1、KRAS、組蛋白H3.3及PSA，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽包含SEQ ID NO: 31或32之胺基酸序列或其變異體，及/或第二連接肽包含SEQ ID NO: 33或34之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含

第二TCR胞內域。在一些實施例中，第二TCR胞內域包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中該第一穩定域及該第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含具有SEQ ID NO: 7及8之序列之T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，任何兩個caTCR模組或域之間存在間隔模組。在一些實施例中，抗原結合模組為多特異性的(例如，雙特異性的)。

【0346】在一些實施例中，提供一種治療有需要之個體的靶抗原相關疾病(諸如癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於其表面上呈遞特異性識別靶抗原之caTCR的效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，該caTCR包含：a)包含具有SEQ ID NO: 10之胺基酸序列之第一TCR-TM的第一TCRD及包含具有SEQ ID NO: 16之胺基酸序列之第二TCR-TM的第二TCRD，其中第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子之TCRM；以及b)抗原結合模組，其特異性結合於靶抗原，其中抗原結合模組連接於第一及/或第二TCRD。在一些實施例中，抗體部分係選自由以下組成之群：Fab、Fab'、(Fab')2、Fv及單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，抗體部分特異性結合細

胞表面抗原，包括(但不限於)CD19、CD20、CD22、CD47、GPC-3、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D及FCRL5，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，抗體部分特異性結合肽/MHC複合體，其中肽源自蛋白質，包括(但不限於) WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1、KRAS、組蛋白H3.3及PSA，包括其變異體或突變體。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽包含SEQ ID NO: 31或32之胺基酸序列或其變異體，及/或第二連接肽包含SEQ ID NO: 33或34之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第二TCR胞內域包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中該第一穩定域及該第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含具有SEQ ID NO: 7及8之序列之T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，任何兩個caTCR模組或域之間存在間隔模組。在一些實施例

中，抗原結合模組為多特異性的(例如，雙特異性的)。

【0347】在一些實施例中，提供一種治療有需要之個體的靶抗原相關疾病(諸如癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於其表面上呈遞特異性識別靶抗原之caTCR的效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，該caTCR包含：a)第一TCRD，其包含源自SEQ ID NO: 7及SEQ ID NO: 8中之一者之胺基酸序列的第一TCR-TM；及第二TCRD，其包含源自另一胺基酸序列之第二TCR-TM，其中TCR-TM中之至少一者包含含有來自SEQ ID NO: 5或6之相連胺基酸中之一部分的嵌合序列，且第一及第二TCRD形成能夠募集至少一種TCR相關信號傳導分子之TCRM；以及b)抗原結合模組，其特異性結合於靶抗原，其中抗原結合模組連接於第一及/或第二TCRD。在一些實施例中，TCR-TM中之每一者彼此獨立地包含含有來自SEQ ID NO: 5或6之相連胺基酸中之一部分的嵌合序列。在一些實施例中，第一TCR-TM及/或第二TCR-TM各自彼此獨立地包含含有來自SEQ ID NO: 7或8之不超過約10個(諸如不超過約9、8、7、6、5或小於5個)相連胺基酸中之一部分的嵌合序列。在一些實施例中，第一或第二TCR-TM中的嵌合序列來自SEQ ID NO: 5，且另一TCR-TM中的嵌合序列來自SEQ ID NO: 6。在一些實施例中，第一TCR-TM中的嵌合序列經定位使得其可與第二TCR-TM中的嵌合序列相互作用。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽及第二連接肽各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 27-34中之任一者之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內

域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第一TCR胞內域及第二TCR胞內域各自彼此獨立地包含SEQ ID NO: 35或36之胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中該第一穩定域及該第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及第二穩定域包含抗體部分(諸如C_H1及C_L抗體域)或其變異體。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含具有SEQ ID NO: 7及8之序列之T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，抗原結合模組、穩定模組及TCRM中之任一者之間存在間隔模組。在一些實施例中，抗原結合模組為抗體部分。在一些實施例中，抗體部分為Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或單鏈Fv (scFv)。在一些實施例中，抗原結合模組為多特異性的(例如，雙特異性的)。

【0348】 在一些實施例中，提供一種治療有需要之個體的與第一靶抗原及第二靶抗原相關之疾病(諸如癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於其表面上呈遞caTCR的效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，該caTCR包含：a)多特異性(例如，雙特異性)抗原結合模組，其包含特異性結合於第一靶抗原之第一抗原結合域及特異性結合於第二靶抗原之第二抗原結合域；以及b) TCRM，其包含含有

第一TCR-TM之第一TCRD (TCRD1)及含有第二TCR-TM之第二TCRD (TCRD2)；其中該TCRM有助於募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR連接肽或其片段，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR連接肽或其片段。在一些實施例中，第一連接肽包含第一TCR-TM所源自之TCR次單元的連接肽之全部或一部分或其變異體，及/或第二連接肽包含第二TCR-TM所源自之TCR次單元的連接肽之全部或一部分或其變異體。在一些實施例中，第一及第二連接肽藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR胞內域，及/或第二TCRD進一步包含第二TCR胞內域。在一些實施例中，第一TCR胞內域包含來自第一TCR-TM所源自之TCR次單元的胞內域的序列，及/或第二TCR胞內域包含來自第二TCR-TM所源自之TCR次單元的胞內域的序列。在一些實施例中，第一TCRD為第一TCR-TM所源自之TCR次單元的片段，及/或第二TCRD為第二TCR-TM所源自之TCR次單元的片段。在一些實施例中，caTCR進一步包含至少一個輔助胞內域，其包含T細胞協同刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)。在一些實施例中，caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中該第一穩定域及該第二穩定域彼此具有使該caTCR穩定的結合親和力。在一些實施例中，第一及第二穩定域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及第二穩定域包含抗體部分(諸如C_H1及C_L抗體域)或其變異體。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一種選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。在一些實施例中，該TCRM相較於包含天然存在之αβ T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集至少一種TCR相關信號傳導分子。在一些實施例

中，TCRM促進caTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，任何兩個caTCR模組或域之間存在間隔模組。在一些實施例中，該第一TCR-TM及該第二TCR-TM兩者為天然存在的。在一些實施例中，該等TCR-TM中之至少一者為非天然存在的。在一些實施例中，該第一靶抗原為CD19且該第二靶抗原為CD22，或者該第一靶抗原為CD22且該第二靶抗原為CD19。在一些實施例中，該第一靶抗原為CD19且該第二靶抗原為CD20，或者該第一靶抗原為CD20且該第二目標抗原為CD19。在一些實施例中，疾病為白血病。

【0349】亦涵蓋治療有需要之個體的靶抗原相關疾病的方法，其包含向個體投與包含複數個表現不同caTCR之效應細胞的組合物。因此，在一些實施例中，根據本文所描述之用於治療個體的靶抗原相關疾病中之任一者的方法，組合物為如本文所描述之異質caTCR效應細胞組合物。

【0350】舉例而言，在一些實施例中，提供一種治療有需要之個體的靶抗原相關疾病(諸如癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之異質caTCR效應細胞組合物，該組合物包含複數個根據本文所描述之實施例中之任一者的caTCR效應細胞群體，其中組合物中的所有caTCR效應細胞具有相同細胞類型(例如，所有caTCR效應細胞為細胞毒性T細胞)，其中各caTCR效應細胞群體表現不同於其他caTCR效應細胞群體的caTCR，且其中至少一個caTCR效應細胞群體表現特異性結合於靶抗原之caTCR。在一些實施例中，caTCR效應細胞為T細胞。在一些實施例中，caTCR效應細胞係選自由以下組成之群：細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞。在一些實施例中，各caTCR效應細胞群體表現特異性結合於靶抗原之caTCR。在一些實施例中，至少一個caTCR效

應細胞群體表現特異性結合於不同靶抗原之caTCR。在一些實施例中，在至少一個caTCR效應細胞群體表現特異性結合於不同靶抗原之caTCR的情況下，各不同靶抗原與靶抗原相關疾病相關。

【0351】在一些實施例中，提供一種治療有需要之個體的靶抗原相關疾病(諸如癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之異質caTCR效應細胞組合物，該組合物包含複數個根據本文所描述之實施例中之任一者的caTCR效應細胞群體，其中至少一個caTCR效應細胞群體具有不同於其他caTCR效應細胞群體的細胞類型，且其中至少一個caTCR效應細胞群體表現特異性結合於靶抗原之caTCR。在一些實施例中，所有caTCR效應細胞群體具有不同細胞類型。在一些實施例中，caTCR效應細胞為T細胞。在一些實施例中，各caTCR效應細胞群體彼此獨立地具有選自由以下組成之群的細胞類型：細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞。在一些實施例中，各caTCR效應細胞群體表現相同caTCR。在一些實施例中，至少一個caTCR效應細胞群體表現不同於其他caTCR效應細胞群體的caTCR。在一些實施例中，各caTCR效應細胞群體表現不同於其他caTCR效應細胞群體的caTCR。在一些實施例中，各caTCR效應細胞群體表現特異性結合於靶抗原之caTCR。在一些實施例中，至少一個caTCR效應細胞群體表現特異性結合於不同靶抗原之caTCR。在一些實施例中，在至少一個caTCR效應細胞群體表現特異性結合於不同靶抗原之caTCR的情況下，各不同靶抗原與靶抗原相關疾病相關。

【0352】在一些實施例中，提供一種治療有需要之個體的與複數個靶抗原相關之疾病的方法，其包含向個體投與有效量之異質caTCR效應細

胞組合物，該組合物包含複數個根據本文所描述之實施例中之任一者的caTCR效應細胞群體，其中組合物中的所有caTCR效應細胞具有相同細胞類型(例如，所有caTCR效應細胞為細胞毒性T細胞)，其中各caTCR效應細胞群體表現不同於其他caTCR效應細胞群體的caTCR，且其中針對複數個靶抗原中之各靶抗原，至少一個caTCR效應細胞群體表現特異性結合於靶抗原之caTCR。在一些實施例中，caTCR效應細胞為T細胞。在一些實施例中，caTCR效應細胞係選自由以下組成之群：細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞。

【0353】 在一些實施例中，提供一種治療有需要之個體的與複數個靶抗原相關之疾病的方法，其包含向個體投與有效量之異質caTCR效應細胞組合物，該組合物包含複數個根據本文所描述之實施例中之任一者的caTCR效應細胞群體，其中至少一個caTCR效應細胞群體具有不同於其他caTCR效應細胞群體之細胞類型，且其中針對複數個靶抗原中之各靶抗原，至少一個caTCR效應細胞群體表現特異性結合於靶抗原之caTCR。在一些實施例中，所有caTCR效應細胞群體具有不同細胞類型。在一些實施例中，caTCR效應細胞為T細胞。在一些實施例中，各caTCR效應細胞群體彼此獨立地具有選自由以下組成之群的細胞類型：細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞。在一些實施例中，各caTCR效應細胞群體表現不同於其他caTCR效應細胞群體的caTCR。

【0354】 在一些實施例中，個體為哺乳動物(例如，人類、非人靈長類、大鼠、小鼠、母牛、馬、豬、綿羊、山羊、狗、貓等)。在一些實施例中，個體為人類。在一些實施例中，個體為臨床患者、臨床試驗志願者、實驗動物等。在一些實施例中，個體年齡小於約60歲(包括例如年齡

小於約50、40、30、25、20、15或10歲中的任一者)。在一些實施例中，個體年齡大於約60歲(包括例如年齡大於約70、80、90或100歲中的任一者)。在一些實施例中，個體經診斷患有或在環境或遺傳學上易患本文所描述之疾病或病症中之一或多者(諸如癌症或病毒感染)。在一些實施例中，個體具有與一或多種本文所描述之疾病或病症相關之一或多種風險因素。

【0355】在一些實施例中，本發明之caTCR效應細胞組合物與第二、第三或第四試劑(包括例如抗腫瘤劑、生長抑制劑、細胞毒性劑或化學治療劑)組合投與以治療涉及靶抗原表現之疾病或病症。在一些實施例中，caTCR效應細胞組合物與細胞介素(諸如IL-2)組合投與。在一些實施例中，caTCR與增加MHC蛋白之表現及/或增強MHC蛋白對肽之表面呈遞的試劑組合投與。在一些實施例中，試劑包括例如IFN受體促效劑、Hsp90抑制劑、p53表現增強劑及化學治療劑。在一些實施例中，試劑為IFN受體促效劑，包括例如IFNγ、IFNβ及IFNα。在一些實施例中，試劑為Hsp90抑制劑，包括例如坦螺旋黴素(tanespimycin)(17-AAG)、阿螺旋黴素(alvespimycin)(17-DMAG)、瑞他黴素(retaspimycin)(IPI-504)、IPI-493、CNF2024/BIIB021、MPC-3100、Debio 0932 (CUDC-305)、PU-H71、Ganetespib (STA-9090)、NVP-AUY922(VER-52269)、HSP990、KW-2478、AT13387、SNX-5422、DS-2248及XL888。在一些實施例中，試劑為p53表現增強劑，包括例如5-氟尿嘧啶及nutlin-3。在一些實施例中，試劑為化學治療劑，包括例如拓朴替康(topotecan)、依託泊苷(etoposide)、順鉑(cisplatin)、太平洋紫杉醇及長春鹼。

【0356】在一些實施例中，提供一種治療有需要之個體的靶抗原陽

性疾病的方法，其包含向個體與細胞介素(諸如IL-2)組合投與根據本文所描述之實施例中之任一者的caTCR效應細胞組合物。在一些實施例中，caTCR效應細胞組合物與細胞介素同時投與。在一些實施例中，caTCR效應細胞組合物及細胞介素依序投與。

【0357】在一些實施例中，提供一種治療有需要之個體的靶抗原陽性疾病的方法，其中表現靶抗原之細胞通常並不呈遞或以相對低水準於其表面上呈遞包含靶抗原及MHC I類蛋白質之複合體，該方法包含向個體與一試劑組合投與根據本文所描述之實施例中之任一者的caTCR效應細胞組合物，該試劑增加MHC I類蛋白質之表現及/或增強MHC I類蛋白質對靶抗原之表面呈遞。在一些實施例中，試劑包括例如IFN受體促效劑、Hsp90抑制劑、p53表現增強劑及化學治療劑。在一些實施例中，試劑為IFN受體促效劑，包括例如IFNγ、IFNβ及IFNα。在一些實施例中，試劑為Hsp90抑制劑，包括例如坦螺旋黴素(17-AAG)、阿螺旋黴素(17-DMAG)、瑞他黴素(IPI-504)、IPI-493、CNF2024/BIIB021、MPC-3100、Debio 0932(CUDC-305)、PU-H71、Ganetespib(STA-9090)、NVP-AUY922(VER-52269)、HSP990、KW-2478、AT13387、SNX-5422、DS-2248及XL888。在一些實施例中，試劑為p53表現增強劑，包括例如5-氟尿嘧啶及nutlin-3。在一些實施例中，試劑為化學治療劑，包括例如拓朴替康、依託泊苷、順鉑、太平洋紫杉醇及長春鹼。在一些實施例中，caTCR效應細胞組合物與試劑同時投與。在一些實施例中，caTCR效應細胞組合物及試劑依序投與。

【0358】在一些實施例中，提供一種治療有需要之個體的靶抗原相關疾病(諸如癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之組合

物，該組合物包含編碼根據本文所描述之實施例中之任一者的caTCR之核酸。基因傳遞方法為此項技術中已知的。參見例如美國專利第5,399,346號、第5,580,859號、第5,589,466號，其以全文引用的方式併入本文中。

【0359】 癌症治療可例如藉由腫瘤消退、腫瘤重量或尺寸收縮、進展時間、存活持續時間、無進展存活期、總反應率、反應持續時間、生活品質、蛋白質表現及/或活性來評估。可使用確定療法功效之方法，包括例如經由放射成像量測反應。

【0360】 在一些實施例中，治療功效以腫瘤生長抑制百分比(TGI%)形式量測，其使用方程式100-(T/C×100)計算，其中T為經治療腫瘤之平均相對腫瘤體積，且C為未治療腫瘤之平均相對腫瘤體積。在一些實施例中，%TGI為約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%或超過95%。

【0361】 病毒感染治療可例如藉由病毒負荷、存活持續時間、生活品質、蛋白質表現及/或活性來評估。

疾病

【0362】 在一些實施例中，caTCR效應細胞可適用於治療與靶抗原相關之癌症。可使用本文所描述之方法中之任一者治療之癌症包括非血管化，或基本上尚未血管化之腫瘤，以及血管化腫瘤。癌症可包含非實體腫瘤((諸如血液腫瘤，例如白血病及淋巴瘤)或可包含實體腫瘤。待用本發明之caTCR效應細胞治療之癌症的類型包括(但不限於)癌瘤、母細胞瘤及肉瘤，以及某些白血病或淋巴惡性病、良性與惡性腫瘤及例如肉瘤、癌瘤與黑色素瘤之惡性病。成人腫瘤/癌症及兒科腫瘤/癌症亦包括在內。

【0363】 血液癌為血液或骨髓之癌症。血液(或血性)癌之實例包括白血病，包括急性白血病(諸如急性淋巴球性白血病、急性骨髓細胞性白血病、急性骨髓性白血病及骨髓母細胞性、前髓細胞性、骨髓單核細胞性、單核細胞性及紅白血病)、慢性白血病(諸如慢性骨髓細胞性(粒細胞性)白血病、慢性骨髓性白血病及慢性淋巴球性白血病)、真性紅血球增多症、淋巴瘤、霍奇金氏病(Hodgkin's disease)、非霍奇金氏淋巴瘤(頑固性及高級形式)、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、瓦爾登斯特倫氏巨球蛋白血症(Waldenstrom's macroglobulinemia)、重鏈病、骨髓發育不良症候群、毛細胞白血病及骨髓發育不良。

【0364】 實體腫瘤為通常不含有囊腫或液體區域之異常組織塊體。實體腫瘤可為良性或惡性的。不同類型的實體腫瘤關於形成其之細胞類型命名(諸如肉瘤、癌瘤及淋巴瘤)。諸如肉瘤及癌瘤之實體腫瘤之實例包括腎上腺皮質癌、膽管癌、纖維肉瘤、黏液肉瘤、脂肉瘤、軟骨肉瘤、骨肉瘤及其他肉瘤、滑膜瘤、間皮瘤、尤文氏腫瘤、平滑肌肉瘤、橫紋肌肉瘤、結腸癌、胃癌、淋巴惡性腫瘤、胰臟癌、乳癌、肺癌、卵巢癌、前列腺癌、肝細胞癌、鱗狀細胞癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、甲狀腺癌(例如，甲狀腺髓質癌及乳頭狀甲狀腺癌)、嗜鉻細胞瘤、皮脂腺癌、乳頭狀癌、乳頭狀腺癌、髓質癌、支氣管癌、腎細胞癌、肝癌、膽管癌、絨膜癌、威耳姆士瘤、子宮頸癌(例如，子宮頸癌瘤及侵襲前子宮頸發育不良)、結腸直腸癌、肛門、肛管或肛腸癌、陰道癌、外陰癌(例如，鱗狀細胞癌、上皮內癌、腺癌及纖維肉瘤)、陰莖癌、口咽癌、食道癌、頭癌(例如，鱗狀細胞癌)、頸癌(例如，鱗狀細胞癌)、睪丸癌(例如，精細胞癌、畸胎瘤、胚胎性癌、畸胎上皮癌、絨膜癌、肉瘤、萊迪希氏細胞瘤、纖維

瘤、纖維腺瘤、腺瘤樣腫瘤及脂肪瘤)、膀胱癌、腎癌、黑素瘤、子宮癌(例如，子宮內膜癌)、尿道上皮癌(例如，鱗狀細胞癌、移行細胞癌、腺癌、輸尿管癌及膀胱癌)、以及CNS腫瘤(諸如神經膠質瘤(諸如腦幹神經膠質瘤及混合神經膠質瘤)、神經膠母細胞瘤(亦稱為多形性神經膠母細胞瘤)、星形細胞瘤、CNS淋巴瘤、胚細胞瘤、神經管胚細胞瘤、神經鞘瘤、顱咽管瘤、室管膜瘤、松果體瘤、血管母細胞瘤、聽神經瘤、少突神經膠質瘤、腦膜瘤、神經母細胞瘤、視網膜母細胞瘤及腦轉移瘤)。

【0365】 癌症治療可例如藉由腫瘤消退、腫瘤重量或尺寸收縮、進展時間、存活持續時間、無進展存活期、總反應率、反應持續時間、生活品質、蛋白質表現及/或活性來評估。可使用確定療法功效之方法，包括例如經由放射成像量測反應。

【0366】 在其他實施例中，caTCR效應細胞可適用於藉由靶向病原體相關(諸如病毒編碼)抗原治療傳染性疾病。待預防或治療之感染例如可能係由病毒、細菌、原蟲或寄生蟲引起的。靶抗原可為病原性蛋白質、多肽或肽，其造成由病原體引起之疾病，或能夠在受到病原體感染之宿主中誘導免疫反應。可由caTCR效應細胞靶向之病原性抗原包括(但不限於)源自以下之抗原：鮑氏不動桿菌(Acinetobacter baumannii)、邊蟲屬(Anaplasma genus)、嗜吞噬細胞無形體(Anaplasma phagocytophilum)、巴西鉤蟲(Ancylostoma braziliense)、十二指腸鉤蟲(Ancylostoma duodenale)、溶血隱秘桿菌(Arcanobacterium haemolyticum)、人蛔蟲(Ascaris lumbricoides)、麴菌屬(Aspergillus genus)、星狀病毒科(Astroviridae)、巴貝西蟲屬(Babesia genus)、炭疽芽孢桿菌(Bacillus anthracis)、蠟樣芽胞桿菌(Bacillus cereus)、幹瑟勒巴通氏菌(Bartonella

henselae)、BK病毒、人芽囊原蟲(Blastocystis hominis)、皮炎芽生菌(Blastomyces dermatitidis)、百日咳博德特氏菌(Bordetella pertussis)、伯氏疏螺旋體(Borrelia burgdorferi)、螺旋體屬(Borrelia genus)、螺旋體(Borrelia spp)、布魯氏菌屬(Brucella genus)、馬來血絲蟲(Brugia malayi)、布尼亞病毒科(Bunyaviridae family)、洋蔥伯克霍爾德氏菌(Burkholderia cepacia)及其他伯克霍爾德菌物種、鼻疽伯克霍爾德氏菌(Burkholderia mallei)、類鼻疽伯克霍爾德氏菌(Burkholderia pseudomallei)、杯狀病毒科(Caliciviridae family)、曲桿菌屬(Campylobacter genus)、白色念珠菌(Candida albicans)、念珠菌屬(Candida spp)、沙眼披衣菌(Chlamydia trachomatis)、肺炎性披衣菌(Chlamydophila pneumoniae)、鸚鵡熱披衣菌(Chlamydophila psittaci)、CJD朊病毒、華支睾吸蟲(Clonorchis sinensis)、肉毒梭菌(Clostridium botulinum)、艱難梭菌(Clostridium difficile)、產氣莢膜梭菌(Clostridium perfringens)、產氣莢膜梭菌(Clostridium perfringens)、梭菌屬(Clostridium spp)、破傷風梭菌(Clostridium tetani)、粗球菌屬(Coccidioides spp)、冠狀病毒(coronaviruses)、白喉棒狀桿菌(Corynebacterium diphtheriae)、貝氏考克斯菌(Coxiella burnetii)、克里米亞-剛果出血熱病毒、新型隱球菌(Cryptococcus neoformans)、隱胞子蟲屬(Cryptosporidium genus)、巨細胞病毒(CMV)、登革病毒(DEN-1、DEN-2、DEN-3及DEN-4)、脆雙核阿米巴(Dientamoeba fragilis)、埃博拉病毒(EBOV)、胞蟲屬、查菲艾利希體(Ehrlichia chaffeensis)、尤溫艾利希氏體(Ehrlichia ewingii)、艾利希體屬(Ehrlichia genus)、溶組織內阿米巴(Entamoeba histolytica)、腸球菌屬(Enterococcus genus)、腸病毒

(Enterovirus genus)、腸病毒(Enteroviruses) (主要為科沙奇A病毒及腸病毒71 (EV71))、表皮癬菌屬(Epidermophyton spp)、EB病毒(Epstein-Barr Virus；EBV)、大腸桿菌O157：H7、大腸桿菌O111及大腸桿菌O104：H4、肝片吸蟲(Fasciola hepatica)及巨大肝蛭(Fasciola gigantica)、FFI朊病毒、絲蟲總科(Filarioidea superfamily)、黃病毒屬(Flaviviruses)、土倫病法蘭西斯氏菌(Francisella tularensis)、梭桿菌屬(Fusobacterium genus)、白地絲黴菌、藍氏賈第鞭毛蟲(Giardia intestinalis)、頷口蟲屬(Gnathostoma spp)、GSS朊病毒、瓜納里托病毒(Guanarito virus)、杜氏嗜血桿菌(Haemophilus ducreyi)、流感嗜血桿菌(Haemophilus influenzae)、幽門螺桿菌(Helicobacter pylori)、亨尼帕病毒(亨德拉病毒尼帕病毒)、A型肝炎病毒、B型肝炎病毒(HBV)、C型肝炎病毒(HCV)、D型肝炎病毒、E型肝炎病毒、單純疱疹病毒1及2(HSV-1及HSV-2)、莢膜組織胞漿菌(Histoplasma capsulatum)、HIV (人類免疫缺乏病毒)、威尼克外瓶黴(Hortaea werneckii)、人類博卡病毒(HBoV)、人類疱疹病毒6 (HHV-6)及人類疱疹病毒7 (HHV-7)、人類間質肺炎病毒(hMPV)、人類乳頭狀瘤病毒(HPV)、人類副流行性感冒病毒(HPIV)、人類T細胞白血病病毒1 (HTLV-1)、日本腦炎病毒、JC病毒、胡寧病毒(Junin virus)、卡波西氏肉瘤相關疱疹病毒(Kaposi's Sarcoma associated herpesvirus；KSHV)、金格桿菌(Kingella kingae)、肉芽腫克雷伯氏菌(Klebsiella granulomatis)、庫魯氏朊病毒(Kuru prion)、拉沙病毒(Lassa virus)、嗜肺性退伍軍人桿菌(Legionella pneumophila)、利什曼原蟲屬(Leishmania genus)、鉤端螺旋體屬(Leptospira genus)、單核球增多性李氏菌(Listeria monocytogenes)、淋巴球性脈絡叢腦膜炎病毒(Lymphocytic

choriomeningitis virus；LCMV)、馬丘波病毒(Machupo virus)、馬拉色氏黴菌屬(Malassezia spp)、馬爾堡病毒(Marburg virus)、麻疹病毒、橫川後殖吸蟲(Metagonimus yokagawai)、微孢子蟲門(Microsporidia phylum)、傳染性軟疣病毒(MCV)、腮腺炎病毒、麻風分支桿菌及彌漫型麻風分枝桿菌、結核分支桿菌、潰瘍分枝桿菌、肺炎黴漿菌、變形纖毛蟲(Naegleria fowleri)、美洲鉤蟲(Necator americanus)、淋病雙球菌(Neisseria gonorrhoeae)、腦膜炎雙球菌(Neisseria meningitidis)、星形土壤絲菌(Nocardia asteroides)、諾卡菌屬(Nocardia spp)、人蟠尾絲蟲(Onchocerca volvulus)、恙蟲病立克次體(Orientia tsutsugamushi)、正黏液病毒科(流感)、巴西副球孢子菌(Paracoccidioides brasiliensis)、並殖吸蟲屬(Paragonimus spp)、衛氏並殖吸蟲(Paragonimus westermani)、細小病毒B19(Parvovirus B19)、巴斯德菌屬(Pasteurella genus)、瘧原蟲屬(Plasmodium genus)、傑氏肺囊蟲(Pneumocystis jirovecii)、脊髓灰白質炎病毒(Poliovirus)、狂犬病病毒(Rabies virus)、呼吸道融合病毒(RSV)、鼻病毒(Rhinovirus/rhinoviruses)、痘立克次體(Rickettsia akari)、立克次體屬(Rickettsia genus)、普氏立克次體(Rickettsia prowazekii)、立克次氏立克次體(Rickettsia rickettsii)、傷寒立克次體(Rickettsia typhi)、東非瑞夫特河谷羊熱病病毒、輪狀病毒(Rotavirus)、德國麻疹病毒(Rubella virus)、薩比亞病毒(Sabia virus)、沙門氏菌屬(Salmonella genus)、疥蟎(Sarcoptes scabiei)、SARS冠狀病毒、住血吸蟲屬(Schistosoma genus)、志賀桿菌屬(Shigella genus)、辛諾柏病毒(Sin Nombre virus)、漢坦病毒(Hantavirus)、申克孢子絲菌(Sporothrix schenckii)、葡萄球菌屬(Staphylococcus genus)、葡萄球菌屬

(Staphylococcus genus)、無乳鏈球菌(Streptococcus agalactiae)、肺炎鏈球菌(Streptococcus pneumoniae)、化膿性鏈球菌(Streptococcus pyogenes)、腸類圓線蟲(Strongyloides stercoralis)、絛蟲屬(Taenia genus)、有鉤條蟲(Taenia solium)、蜱傳腦炎病毒(Tick-borne encephalitis virus；TBEV)、犬蛔蟲(Toxocara canis)或貓蛔蟲(Toxocara cati)、弓蟲(Toxoplasma gondii)、梅毒螺旋體(Treponema pallidum)、旋毛蟲(Trichinella spiralis)、陰道毛滴蟲(Trichomonas vaginalis)、發癬菌屬(Trichophyton spp)、鞭蟲(Trichuris trichiura)、布氏錐蟲(Trypanosoma brucei)、克氏錐蟲(Trypanosoma cruzi)、解脲支原體(Ureaplasma urealyticum)、水痘帶狀疱疹病毒(Varicella zoster virus；VZV)、主天花病毒或次天花病毒、vCJD朊病毒、委內瑞拉馬腦炎病毒(Venezuelan equine encephalitis virus)、霍亂弧菌(Vibrio cholerae)、西尼羅河病毒(West Nile virus)、西部馬腦炎病毒(Western equine encephalitis virus)、潘氏絲狀蟲(Wuchereria bancrofti)、黃熱病病毒(Yellow fever virus)、小腸結腸炎耶爾森氏菌(Yersinia enterocolitica)、鼠疫耶爾森菌(Yersinia pestis)及假結核耶爾森菌(Yersinia pseudotuberculosis)。

【0367】在一些實施例中，使用caTCR效應細胞治療致癌傳染性疾病，諸如由致癌病毒造成之感染。致癌病毒包括(但不限於) CMV、EBV、HBV、KSHV、HPV、MCV、HTLV-1、HIV-1及HCV。caTCR之靶抗原可為病毒癌蛋白，包括(但不限於) Tax、E7、E6/E7、E6、HBx、EBNA蛋白(例如，EBNA3 A、EBNA3 C及EBNA 2)、v-週期素、LANA1、LANA2、LMP-1、k-bZIP、RTA、KSHV K8及其片段。參見

Ahuja, Richa等人, Curr. Sci., 2014。

製品及套組

【0368】在本發明之一些實施例中，提供一種製品，其含有適用於治療靶抗原陽性疾病之材料，該靶抗原陽性疾病諸如癌症(例如腎上腺皮質癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、膽管癌、結腸直腸癌、食道癌、神經膠母細胞瘤、神經膠質瘤、肝細胞癌、頭頸癌、腎癌、肺癌、黑素瘤、間皮瘤、多發性骨髓瘤、胰臟癌、嗜鉻細胞瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤、胃癌、子宮癌或甲狀腺癌)或病毒感染(例如由CMV、EBV、HBV、KSHV、HPV、MCV、HTLV-1、HIV-1或HCV造成之感染)。製品可包含容器及在容器上或容器隨附之標籤或藥品說明書。適合的容器包括例如瓶子、小瓶、注射器等。容器可由各種材料形成，諸如玻璃或塑膠。一般而言，容器容納對於治療本文所描述之疾病或病症有效之組合物，且可具有無菌接取口(例如容器可為靜脈內溶液袋或具有可由皮下注射針刺穿之塞子的小瓶)。組合物中的至少一種活性劑為於其表面上呈遞本發明之caTCR的效應細胞。標籤或藥品說明書指示該組合物用於治療特定病狀。標籤或藥品說明書將進一步包含關於向患者投與caTCR效應細胞組合物之說明。亦涵蓋包含本文所描述之組合療法的製品及套組。

【0369】藥品說明書係指市售治療產品封裝中通常所包括之含有關於適應症、使用、劑量、投與、與此類治療產品之使用有關之禁忌及/或警告之資訊的說明。在一些實施例中，藥品說明書指示，該組合物用於治療靶抗原陽性癌症(諸如腎上腺皮質癌、膀胱癌、白血病、乳癌、子宮頸癌、膽管癌、結腸直腸癌、食道癌、神經膠母細胞瘤、神經膠質瘤、肝細

胞癌、頭頸癌、腎癌、肺癌、黑素瘤、間皮瘤、多發性骨髓瘤、胰臟癌、嗜鉻細胞瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤、胃癌、子宮癌或甲狀腺癌)。在其他實施例中，藥品說明書指示，該組合物用於治療靶抗原陽性病毒感染(例如由CMV、EBV、HBV、KSHV、HPV、MCV、HTLV-1、HIV-1或HCV造成之感染)。

【0370】另外，製品可進一步包含第二容器，其包含醫藥學上可接受之緩衝液，諸如抑菌性注射用水(BWFI)、磷酸鹽緩衝鹽水、林格氏溶液及右旋糖溶液。其可進一步包括就商業及使用者觀點而言所需之其他物質，包括其他緩衝劑、稀釋劑、過濾器、針及注射器。

【0371】亦提供適用於視情況與製品組合用於各種用途，例如用於治療本文所描述之靶抗原陽性疾病或病症的套組。本發明之套組包括包含caTCR效應細胞組合物(或單位劑型及/或製品)之一或多個容器，及在一些實施例中進一步包含另一試劑(諸如本文所描述之試劑)及/或根據本文所描述之方法中之任一者使用的說明書。套組可進一步包含選擇適合於治療之個體的說明。本發明套組中供應之說明為通常在標籤或藥品說明書(例如，套組中包括之紙片)上之書面說明，但機器可讀說明(例如，磁性或光學儲存盤上載有的說明)亦為可接受的。

【0372】舉例而言，在一些實施例中，套組包含含有於其表面上呈遞caTCR之效應細胞的組合物。在一些實施例中，套組包含：a)包含於其表面上呈遞caTCR之效應細胞的組合物，及b)有效量之至少一種其他試劑，其中其他試劑增加MHC蛋白之表現及/或增強MHC蛋白對肽之表面呈遞(例如，IFNγ、IFNβ、IFNα或Hsp90抑制劑)。在一些實施例中，套組包含：a)包含於其表面上呈遞caTCR之效應細胞的組合物，及b)關於向個

體投與caTCR效應細胞組合物以治療靶抗原陽性疾病(諸如癌症或病毒感染)的說明。在一些實施例中，套組包含：a)包含於其表面上呈遞caTCR之效應細胞的組合物，b)有效量之至少一種其他試劑，其中其他試劑增加MHC蛋白之表現及/或增強MHC蛋白對肽之表面呈遞(例如，IFNγ、IFNβ、IFNα或Hsp90抑制劑)，及c)關於向個體投與caTCR效應細胞組合物及其他試劑以治療靶抗原陽性疾病(諸如癌症或病毒感染)的說明。caTCR效應細胞組合物及其他試劑可存在於單獨待容器中或單一容器中。舉例而言，套組可包含一種獨特組合物或兩種或多於兩種組合物，其中一種組合物包含caTCR效應細胞且另一組合物包含其他試劑。

【0373】 在一些實施例中，套組包含：a)包含caTCR之組合物，及b)關於組合caTCR與效應細胞(諸如源自個體之效應細胞，例如T細胞或自然殺手細胞)以形成包含於其表面上呈遞caTCR之效應細胞的組合物及向個體投與caTCR效應細胞組合物以治療靶抗原陽性疾病(諸如癌症或病毒感染)的說明。在一些實施例中，套組包含：a)包含caTCR之組合物，及b)效應細胞(諸如細胞毒性細胞)。在一些實施例中，套組包含：a)包含caTCR之組合物，b)效應細胞(諸如細胞毒性細胞)，及c)關於組合caTCR與效應細胞以形成包含於其表面上呈遞caTCR之效應細胞的組合物及向個體投與caTCR效應細胞組合物以治療靶抗原陽性疾病(諸如癌症或病毒感染)的說明。

【0374】 在一些實施例中，套組包含編碼caTCR的一種核酸(或一組核酸)。在一些實施例中，套組包含：a)編碼caTCR之核酸(或一組核酸)，及b)表現核酸(或一組核酸)之宿主細胞(諸如效應細胞)。在一些實施例中，套組包含：a)編碼caTCR之核酸(或一組核酸)，及b)關於以下的說

明：i)於宿主細胞(諸如效應細胞，例如T細胞)中表現caTCR、ii)製備包含表現caTCR之宿主細胞的組合物及iii)向個體投與包含表現caTCR之宿主細胞的組合物以治療靶抗原陽性疾病(諸如癌症或病毒感染)。在一些實施例中，宿主細胞源自個體。在一些實施例中，套組包含：a)編碼caTCR之核酸(或一組核酸)，b)表現核酸(或一組核酸)之宿主細胞(諸如效應細胞)，及c)關於i)於宿主細胞中表現caTCR、ii)製備包含表現caTCR之宿主細胞的組合物及iii)向個體投與包含表現caTCR之宿主細胞的組合物以治療靶抗原陽性疾病(諸如癌症或病毒感染)的說明。

【0375】 本發明之套組係在適合的包裝中。適合的包裝包括(但不限於)小瓶、瓶子、罐、可撓性包裝(例如密封Mylar或塑膠袋)及其類似物。套組可視情況提供諸如緩衝劑之額外組分及說明性資訊。本申請案因此亦提供製品，其包括小瓶(諸如密封小瓶)、瓶子、罐、可撓性包裝及其類似物。

【0376】 與caTCR效應細胞組合物之使用相關的說明大體上包括關於所期望治療之劑量、給藥時程及投與途徑之資訊。容器可為單位劑量、散裝(例如，多劑量包裝)或次單位劑量。舉例而言，可提供如下套組，該套組含有足夠劑量之如本文所揭示之caTCR效應細胞組合物以向個體提供延長時間(諸如一週、8天、9天、10天、11天、12天、13天、2週、3週、4週、6週、8週、3個月、4個月、5個月、7個月、8個月、9個月或更長時間中之任一者)之有效治療。套組亦可包括多個單位劑量之caTCR及醫藥組合物以及使用說明且以對於在藥房(例如醫院藥房及配藥房)中儲存及使用而言足夠之量包裝。

【0377】 熟習此項技術者將認識到，在本發明之範疇及精神內，若

干實施例為可能的。現將參照下列非限制性實例來更詳細地描述本發明。以下實例進一步說明本發明，但當然不應解釋為以任何方式限制其範疇。

例示性實施例

【0378】 實施例1.一種嵌合抗體-T細胞受體(TCR)構築體(caTCR)，其包含：抗原結合模組，該抗原結合模組特異性結合於靶抗原，及T細胞受體模組(TCRM)，該T細胞受體模組包含含有第一TCR跨膜域(TCR-TM)之第一TCR域(TCRD)及含有第二TCR-TM之第二TCRD，其中該等TCR-TM中之至少一者為非天然存在的，其中該TCRM有助於至少一種TCR相關信號傳導分子之募集，且其中該抗原結合模組並非天然存在之T細胞受體抗原結合部分。

【0379】 實施例2.如實施例1之caTCR，其中該等兩個TCR-TM均為非天然存在的。

【0380】 實施例3.如實施例1或2之caTCR，其中該第一TCR-TM源自天然存在之第一T細胞受體的跨膜域中之一者，且該第二TCR-TM源自該天然存在之第一T細胞受體的另一跨膜域。

【0381】 實施例4.如實施例3之caTCR，其中該該TCRM相較於包含該天然存在之第一T細胞受體跨膜域的TCRM，可以更增強募集該至少一種TCR相關信號傳導分子。

【0382】 實施例5.如實施例3或4之caTCR，其中該第一TCR-TM相較於第一TCR-TM所源自之該跨膜域包含至多5個胺基酸取代，及/或該第二TCR-TM相較於第二TCR-TM所源自之該跨膜域包含至多5個胺基酸取代。

【0383】 實施例6.如實施例5之caTCR，其中該第一TCR-TM包含單

一胺基酸取代及/或該第二TCR-TM包含單一胺基酸取代。

【0384】 實施例7.如實施例5或6之caTCR，其中該第一TCR-TM中的經取代胺基酸鄰近該第二TCR-TM中之經取代胺基酸。

【0385】 實施例8.如實施例5至7中任一項之caTCR，其中一或多個經取代胺基酸鄰近該第一或第二TCR TM中參與與CD3之結合的胺基酸。

【0386】 實施例9.如實施例5至8中任一項之caTCR，其中一或多個經胺基酸比其對應未經取代胺基酸更具疏水性。

【0387】 實施例10.如實施例9之caTCR，其中各經胺基酸比其對應未經取代胺基酸更具疏水性。

【0388】 實施例11.如實施例1之caTCR，其中該第一TCR-TM包含SEQ ID NO: 7及9-13中之任一者之胺基酸序列，且其中該第二TCR-TM包含SEQ ID NO: 8及14-26中之任一者之胺基酸序列。

【0389】 實施例12.如實施例1之caTCR，其中該第一TCR-TM及該第二TCR-TM包含以下之胺基酸序列：a)分別為SEQ ID NO: 9及8；b)分別為SEQ ID NO: 7及14；c)分別為SEQ ID NO: 7及15；d)分別為SEQ ID NO: 7及16；e)分別為SEQ ID NO: 10及16；f)分別為SEQ ID NO: 7及17；g)分別為SEQ ID NO: 7及18；h)分別為SEQ ID NO: 7及19；i)分別為SEQ ID NO: 7及20；j)分別為SEQ ID NO: 7及21；k)分別為SEQ ID NO: 7及22；l)分別為SEQ ID NO: 11及23；m)分別為SEQ ID NO: 12及24；n)分別為SEQ ID NO: 7及25；o)分別為SEQ ID NO: 13及26。

【0390】 實施例13.如實施例1至12中任一項之caTCR，其中該caTCR進一步包含穩定模組，該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中該第一穩定域及該第二穩定域彼此具有使caTCR穩定的結合親和力。

【0391】 實施例14.如實施例13之caTCR，其中該穩定模組係選自由以下組成之群：C_H1-C_L模組、C_H2-C_H2模組、C_H3-C_H3模組及C_H4-C_H4模組。

【0392】 實施例15.如實施例13或14之caTCR，其中第一與第二穩定域之間存在共價鍵。

【0393】 實施例16.如實施例15之caTCR，其中該共價鍵為二硫鍵。

【0394】 實施例17.如實施例13至16中任一項之caTCR，其中該穩定模組位於抗原結合模組與TCRM之間。

【0395】 實施例18.如實施例1至17中任一項之caTCR，其中該caTCR進一步包含抗原結合模組與TCRM之間的間隔模組，且其中該間隔模組包含將抗原結合模組連接至TCRM的一或多個肽連接子。

【0396】 實施例19.如實施例18之caTCR，其中該肽連接子之長度為約5至約50個胺基酸。

【0397】 實施例20.如實施例1至19中任一項之caTCR，其中抗原結合模組為選自由以下組成之群的抗體部分：Fab、Fab'、(Fab')2、Fv及單鏈Fv (scFv)。

【0398】 實施例21.如實施例1至20中任一項之caTCR，其中該caTCR包含兩個或多於兩個抗原結合模組。

【0399】 實施例22.如實施例21之caTCR，其中該caTCR為多特異性的。

【0400】 實施例23.如實施例1至22中任一項之caTCR，其中該抗原結合模組包含連接於TCRD中之至少一者的至少一個scFv。

【0401】 實施例24.如實施例1至23中任一項之caTCR，其中該抗原

結合模組包含連接於TCRD中之一者的V_H域及連接於另一TCRD之V_L域。

【0402】實施例25.如實施例1至24中任一項之caTCR，其中該caTCR為雜二聚體，其包含含有第一TCRD之第一多肽鏈及含有第二TCRD之第二多肽鏈。

【0403】實施例26.如實施例1至25中任一項之caTCR，其中靶抗原為細胞表面抗原。

【0404】實施例27.如實施例26之caTCR，其中該細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。

【0405】實施例28.如實施例26之caTCR，其中該細胞表面抗原係選自由以下組成之群：CD19、CD20、CD22、CD47、GPC-3、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D及FCRL5。

【0406】實施例29.如實施例1至25中任一項之caTCR，其中靶抗原為包含肽及主要組織相容性複合體(MHC)蛋白之複合體。

【0407】實施例30.如實施例29之caTCR，其中該肽源自選自由以下組成之群的蛋白質：WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1、KRAS、組蛋白H3.3及PSA。

【0408】實施例31.如實施例1至30中任一項之caTCR，其中該caTCR以約0.1 pM至約500 nM之平衡解離常數(K_d)結合於靶抗原。

【0409】實施例32.一種caTCR，其包含：a)多特異性抗原結合模組，其包含特異性結合於第一靶抗原之第一抗原結合域及特異性結合於第二靶抗原之第二抗原結合域；及b) TCRM，其包含含有第一TCR-TM之第一TCRD (TCRD1)及含有第二TCR-TM之第二TCRD (TCRD2)；其中TCRM有助於至少一種TCR相關信號傳導分子之募集。

【0410】 實施例33.如實施例32之caTCR，其中該第一抗原結合域為Fv，該Fv包含第一重鏈可變域(V_H1)及第一輕鏈可變域(V_L1)，且該第二抗原結合域為Fab，該Fab包含融合於重鏈恆定域1 (C_H1)之第二V_H (V_H2)及融合於輕鏈恆定域(C_L)之第二V_L (V_L2)。

【0411】 實施例34.如實施例33之caTCR，其包含：(i)第一多肽鏈，其自N端至C端包含：V_H1-L1-V_H2-C_H1-TCRD1；及第二多肽鏈，其自N端至C端包含：V_L1-L2-V_L2-C_L-TCRD2；(ii)第一多肽鏈，其自N端至C端包含：V_H1-L1-V_L2-C_L-TCRD1；及第二多肽鏈，其自N端至C端包含：V_L1-L2-V_H2-C_H1-TCRD2；(iii)第一多肽鏈，其自N端至C端包含：V_L1-L1-V_H2-C_H1-TCRD1；及第二多肽鏈，其自N端至C端包含：V_H1-L2-V_L2-C_L-TCRD2；或(iv)第一多肽鏈，其自N端至C端包含：V_L1-L1-V_L2-C_L-TCRD1；及第二多肽鏈，其自N端至C端包含：V_H1-L2-V_H2-C_H1-TCRD2，其中L1及L2為肽連接子。

【0412】 實施例35.如實施例32之caTCR，其中該第一抗原結合域為包含V_H1及V_L1之第一Fv，且該第二抗原結合域為包含V_H2及V_L2之第二Fv，且其中該caTCR進一步包含C_H1及C_L。

【0413】 實施例36.如實施例35之caTCR，其包含：(i)第一多肽鏈，其自N端至C端包含：V_H1-L1-V_H2-C_H1-TCRD1；及第二多肽鏈，其自N端至C端包含：V_L2-L2-V_L1-C_L-TCRD2；或(ii)第一多肽鏈，其自N端至C端包含：V_L1-L1-V_L2-C_L-TCRD1；及第二多肽鏈，其自N端至C端包含：V_H2-L2-V_H1-C_H1-TCRD2，其中L1及L2為肽連接子。

【0414】 實施例37.如實施例32之caTCR，其中該第一抗原結合域為第一scFv (scFv1)，且該第二抗原結合域為第二scFv (scFv2)，且其中該

caTCR進一步包含C_H1及C_L。

【0415】實施例38.如實施例37之caTCR，其包含：(i)第一多肽鏈，其自N端至C端包含：scFv1-L1-C_H1-TCRD1；及第二多肽鏈，其自N端至C端包含：scFv2-L2-C_L-TCRD2；或(ii)第一多肽鏈，其自N端至C端包含：scFv2-L1-C_H1-TCRD1；及第二多肽鏈，其自N端至C端包含：scFv1-L2-C_L-TCRD2，其中L1及L2為肽連接子。

【0416】實施例39.如實施例32之caTCR，其中該第一抗原結合域為第一scFv，且該第二抗原結合域為Fab，該Fab包含融合於C_H1之V_H及融合於C_L之V_L。

【0417】實施例40.如實施例39之caTCR，其包含：(i)第一多肽鏈，其自N端至C端包含：scFv-L1-V_H-C_H1-TCRD1；及第二多肽鏈，其自N端至C端包含：V_L-C_L-TCRD2；或(ii)第一多肽鏈，其自N端至C端包含：V_H-C_H1-TCRD1；及第二多肽鏈，其自N端至C端包含：scFv-L2-V_L-C_L-TCRD2；其中L1及L2為肽連接子。

【0418】實施例41.如實施例39之caTCR，其包含：(i)第一多肽鏈，其自N端至C端包含：V_L-C_L-L1-TCRD1；第二多肽鏈，其自N端至C端包含：V_H-C_H1；及第三多肽鏈，其自N端至C端包含：scFv-L2-TCRD2；(ii)第一多肽鏈，其自N端至C端包含：V_H-C_H1-L1-TCRD1；第二多肽鏈，其自N端至C端包含：V_L-C_L；及第三多肽鏈，其自N端至C端包含：scFv-L2-TCRD2；(iii)第一多肽鏈，其自N端至C端包含：scFv-L1-TCRD1；第二多肽鏈，其自N端至C端包含：V_H-C_H1；及第三多肽鏈，其自N端至C端包含：V_L-C_L-L2-TCRD2；或(iv)第一多肽鏈，其自N端至C端包含：scFv-L1-TCRD1；第二多肽鏈，其自N端至C端包含：V_L-

C_L；及第三多肽鏈，其自N端至C端包含：V_H-C_H1-L2-TCRD2；其中L1及L2為肽連接子。

【0419】 實施例42.如實施例34、36、38、40或41之caTCR，其中L1及/或L2為約5至約50個胺基酸長。

【0420】 實施例43.如實施例42之caTCR，其中L1及/或L2包含SEQ ID NO: 82-85中之任一者之胺基酸序列。

【0421】 實施例44.如實施例32至43中任一項之caTCR，其中該第一靶抗原為第一細胞表面抗原，且該第二靶抗原為第二細胞表面抗原。

【0422】 實施例45.如實施例44之caTCR，其中該第一靶抗原為CD19且該第二靶抗原為CD22，或該第一靶抗原為CD22且該第二靶抗原為CD19。

【0423】 實施例46.如實施例44之caTCR，其中該第一靶抗原為CD19且該第二靶抗原為CD20，或該第一靶抗原為CD20且該第二靶抗原為CD19。

【0424】 實施例47.如實施例45或46之caTCR，其中特異性結合於CD22之該抗原結合域包含：V_H，其包含含有SEQ ID NO: 65之胺基酸序列之該V_H的HC-CDR1、HC-CDR2及HC-CDR3；及V_L，其包含含有SEQ ID NO: 69之胺基酸序列之該V_L的LC-CDR1、LC-CDR2及LC-CDR3。

【0425】 實施例48.如實施例47之caTCR，其中特異性結合於CD22之該抗原結合域包含：V_H，其包含SEQ ID NO: 65之胺基酸序列；及V_L，其包含SEQ ID NO: 69之胺基酸序列。

【0426】 實施例49.如實施例45至48中任一項之caTCR，其中特異性結合於CD19之該抗原結合域包含：V_H，其包含含有SEQ ID NO: 74之

胺基酸序列之該V_H的HC-CDR1、HC-CDR2及HC-CDR3；及V_L，其包含含有SEQ ID NO: 78之胺基酸序列之該V_L的LC-CDR1、LC-CDR2及LC-CDR3。

【0427】實施例50.如實施例49之caTCR，其中特異性結合於CD19之該抗原結合域包含：V_H，其包含SEQ ID NO: 74之胺基酸序列；及V_L，其包含SEQ ID NO: 78之胺基酸序列。

【0428】實施例51.如實施例32至50中任一項之caTCR，其中該第一TCR-TM及該第二TCR-TM均為天然存在的。

【0429】實施例52.如實施例32至50中任一項之caTCR，其中該等TCR-TM中之至少一者為非天然存在的。

【0430】實施例53.如實施例32至52中任一項之caTCR，其中該多特異性抗原結合模組為雙特異性的。

【0431】實施例54.如實施例1至53中任一項之caTCR，其中該第一TCRD進一步包含TCR次單元之第一連接肽或其片段。

【0432】實施例55.如實施例1至54中任一項之caTCR，其中該第二TCRD進一步包含TCR次單元之第二連接肽或其片段。

【0433】實施例56.如實施例55之caTCR，其中該TCRM包含在該第一連接肽中之殘基與該第二連接肽中之殘基之間的二硫鍵。

【0434】實施例57.如實施例1至56中任一項之caTCR，其中該第一TCRD進一步包含含有TCR胞內序列之第一TCR胞內域。

【0435】實施例58.如實施例1至57中任一項之caTCR，其中該第二TCRD進一步包含含有TCR胞內序列之第二TCR細胞內域。

【0436】實施例59.如實施例1至58中任一項之caTCR，其中該

caTCR進一步包含含有協同刺激胞內信號傳導序列之第一輔助胞內域。

【0437】 實施例60.如實施例1至59中任一項之caTCR，其中該TCR相關信號傳導分子係選自由以下組成之群：CD3δε、CD3γε及ζζ。

【0438】 實施例61.如實施例3至60中任一項之caTCR，其中該天然存在之第一T細胞受體為γ/δ T細胞受體。

【0439】 實施例62.如實施例3至60中任一項之caTCR，其中該天然存在之第一T細胞受體為α/β T細胞受體。

【0440】 實施例63.一或多種核酸，其編碼如實施例1至62中任一項之caTCR。

【0441】 實施例64.如實施例63之一或多種核酸，其中該caTCR經編碼於相同核酸分子上。

【0442】 實施例65.一或多種載體，其包含如實施例63或64之一或多種核酸。

【0443】 實施例66.如實施例65之一或多種載體，其包含含有一或多種核酸之單一載體。

【0444】 實施例67.一種組合物，其包含如實施例63或64之一或多種核酸或如實施例65或66之一或多種載體。

【0445】 實施例68.一種複合體，其包含如實施例1至62中任一項之caTCR及選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的TCR相關信號傳導分子。

【0446】 實施例69.如實施例68之複合體，其中該複合體為包含caTCR以及CD3δε、CD3γε及ζζ的八聚體。

【0447】 實施例70.一種效應細胞，其於其表面上呈遞如實施例1至62中任一項之caTCR或如實施例68或69之複合體。

【0448】 實施例71.一種效應細胞，其包含如實施例63或64之一或多種核酸或如實施例65或66之一或多種載體，其中該效應細胞表現caTCR。

【0449】 實施例72.如實施例70或71之效應細胞，其中該效應細胞不表現能夠與第一及/或第二TCRD配對之內源性T細胞受體次單元。

【0450】 實施例73.如實施例72之效應細胞，其中該效應細胞天然地不表現能夠與第一及/或第二TCRD配對之內源性T細胞受體次單元。

【0451】 實施例74.如實施例72之效應細胞，其中該效應細胞經修飾以阻斷或減少第一內源性TCR次單元及/或第二內源性TCR次單元之表現。

【0452】 實施例75.如實施例70至74中任一項之效應細胞，其中該效應細胞為CD3+細胞。

【0453】 實施例76.如實施例75之效應細胞，其中該CD3+細胞係選自由以下組成之群：細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞。

【0454】 實施例77.如實施例70至76中任一項之效應細胞，其中該caTCR為雜二聚體，其包含：a)第一載體，其包含在第一啟動子控制下編碼caTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列；及b)第二載體，其包含在第二啟動子控制下編碼caTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列。

【0455】 實施例78.如實施例70至76中任一項之效應細胞，其中該caTCR為雜二聚體，其包含載體，該載體包含：a)在第一啟動子控制下編碼caTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列；以及b)在第二啟動子控制下編碼caTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列。

【0456】 實施例79.如實施例70至76中任一項之效應細胞，其中該caTCR為雜二聚體，其包含載體，該載體包含a)編碼caTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列及編碼caTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列，其中第一及第二核酸序列係在單一啟動子之控制下。

【0457】 實施例80.如實施例70至78中任一項之效應細胞，其中caTCR之第一多肽鏈的表現與caTCR之第二多肽鏈的表現相差超過兩倍。

【0458】 實施例81.一種殺滅呈遞靶抗原之靶細胞的方法，其包含使該靶細胞與如實施例70至80中任一者之效應細胞接觸，其中該caTCR特異性結合於該靶抗原。

【0459】 實施例82.如實施例81之方法，其中該接觸係在活體內進行。

【0460】 實施例83.如實施例81之方法，其中該接觸係在活體外進行。

【0461】 實施例84.一種醫藥組合物，其包含：(a)如實施例1至62中任一項之caTCR、如實施例63或64之一或多種核酸或如實施例65或66之一或多種載體、或如實施例70至80中任一項之效應細胞；以及(b)醫藥學上可接受之載劑。

【0462】 實施例85.一種治療有需要之個體之靶抗原相關疾病的方法，其包含向該個體投與有效量之如實施例84之組合物。

【0463】 實施例86.如實施例85之方法，其中該靶抗原相關疾病為癌症。

【0464】 實施例87.如實施例86之方法，其中該癌症係選自由以下組成之群：腎上腺皮質癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、膽管癌、結腸直腸

癌、食道癌、神經膠母細胞瘤、神經膠質瘤、肝細胞癌、頭頸癌、腎癌、白血病、肺癌、淋巴瘤、黑素瘤、間皮瘤、多發性骨髓瘤、胰臟癌、嗜鉻細胞瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤、胃癌、子宮癌及甲狀腺癌。

【0465】 實施例88.如實施例85之方法，其中該靶抗原相關疾病為病毒感染。

【0466】 實施例89.如實施例88之方法，其中該病毒感染係由選自由以下組成之群的病毒引起的：巨細胞病毒(CMV)、EB病毒(EBV)、B型肝炎病毒(HBV)、卡波西氏肉瘤相關疱疹病毒(KSHV)、人類乳頭狀瘤病毒(HPV)、傳染性軟疣病毒(MCV)、人類T細胞白血病病毒1 (HTLV-1)、人類免疫缺乏病毒(HIV)及C型肝炎病毒(HCV)。

【0467】 實施例90.一種富集異質細胞群體中如實施例70至80中任一項之效應細胞的方法，其包含：a)使異質細胞群體與包含靶抗原或其中所含之一或多個抗原決定基的配體接觸以形成效應細胞結合於配體之複合體；以及b)自異質細胞群體分離複合體，從而產生效應細胞富集的細胞群體。

【0468】 實施例91.一種核酸庫，其包含編碼如實施例1至62中任一項之複數個caTCR的序列。

實施例92.一種針對對靶抗原具有高親和力之caTCR篩選如實施例91之庫的方法，其包含：a)將核酸庫引入至複數個細胞中，使得caTCR表現於複數個細胞之表面上；b)與包含靶抗原或其中所含之一或多個抗原決定基之配體一起培育複數個細胞；c)收集結合於配體之細胞；以及d)自在步驟c)中所收集的細胞分離編碼caTCR之序列，從而鑑別對靶抗原具有特異

性之caTCR。

實例

材料及方法

細胞樣本、細胞株及抗體

【0469】自美國菌種保存中心(American Type Culture Collection)獲得細胞株HepG2 (ATCC HB-8065；HLA-A2+，AFP^+)、SK-HEP-1 (ATCC HTB-52；HLA-A2+，AFP^-)、Raji (ATCC CCL-86；$CD19^+$)、CA46 (ATCC CRL-1648；$CD19^+$)、Jurkat (ATCC CRL-2899，$CD19^-$)、J.RT3-T3.5 (ATCC TIB-153)、Jeko-1 (ATCC CRL-3006；$CD19^+$)、K562 (ATCC CC-243，$CD19^-$)、THP-1 (ATCC TIB-202，$CD19^-$)、Daudi (ATCC CCL-213；$CD19^+$)、HeLa (ATCC CCL-2)、MDA-MB-231 (ATCC HTB-26)及MCF-7 (ATCC HTB-22)。Jurkat為源自T細胞白血病之人類T淋巴細胞細胞株。J.RT3-T3.5為源自Jurkat細胞的缺乏T細胞受體β鏈之突變株。Raji為表現CD19之伯基特淋巴瘤(Burkitt lymphoma)細胞株。藉由CRISPR技術產生Raji-CD19基因剔除(Raji-CD19KO)株。設計三個不同的指導序列用於靶向Raji細胞中之CD19。自Origene購得CRISPR-Cas9載體且將各指導序列單獨地選殖至pCas-Guide載體中。在電穿孔三天後，藉由流動式細胞測量術評估藉由各指導序列達成之基因剔除之效率且選擇最佳CD19基因剔除合併物以藉由限制稀釋法進行純系選擇。所選擇之純系經定序確認為完全CD19基因剔除。藉由用表現AFP肽AFP158之袖珍基因卡匣轉導SK-HEP-1細胞株，該轉導引起AFP158/HLA-A*02:01複合體之高水準的細胞表面表現，產生了另一對照細胞株SK-HEP-1-AFP-MG。K562為慢性骨髓性白血病(CML)細胞株。

K562-CD22係藉由用表現CD22之載體轉導K562細胞株來產生的。K562-CD19係藉由用表現CD19之載體轉導K562細胞株來產生的。K562-CD19/CD22係藉由用表現CD19之載體及表現CD22之載體轉導K562細胞株來產生的。所有細胞株係在補充有10% FBS及2 mM麩醯胺酸之RPMI 1640或DMEM中於37℃/5% CO_2下培養。

【0470】 購買以下各者：針對結合至FITC或APC之人類HLA-A02(純系BB7.2)之單株Ab及其結合至FITC或APC之同型對照小鼠IgG 2b；針對人類或小鼠CD3、人類T細胞受體各種次單元、3×Flag標籤、HA標籤的抗體；與PE或FITC結合之山羊F(ab)2抗人類IgG；及螢光結合之山羊F(ab')2抗小鼠Ig (Invitrogen)。Eureka Therapeutics內部研發且生產了針對AFP158/HLA-A*02:01特異性抗體之抗個體基因型抗體。使用BD FACSCanto II收集流動式細胞測量術資料且使用FlowJo套裝軟體分析。

【0471】 所有肽均為購買的且由Elim Biopharma合成。肽之純度>90%。將肽溶解於DMSO中或以10 mg/mL於鹽水中稀釋且在-80℃下冷凍。藉由使肽與重組HLA-A*02:01及β-2微球蛋白(β2M)再摺疊，產生生物素標記單鏈AFP158/HLA-A*02:01及對照肽/HLA-A*02:01複合單體。經由連接於HLA-A*02:01胞外域(ECD)之C端末端的BSP肽藉由BirA酶來生物素標記單體。將螢光標記抗生蛋白鏈菌素與生物素標記肽/HLA-A*02:01複合單體混合，形成螢光標記肽/HLA-A*02:01四聚體。

【0472】 例如藉由用編碼嵌合構築體之載體轉染293T細胞，產生含有人類CD19特異性或AFP158/HLA-A*02:01特異性CAR或abTCR的慢病毒。在用CD3/CD28珠粒(DYNABEADS®, Invitrogen)刺激一天之後，在100 U/ml介白素-2 (IL-2)存在下，使用原代人類T細胞進行轉導。向塗有

Retronectin (Takara)之6孔培養盤中之T細胞塗覆經濃縮之慢病毒，持續96小時。使用分別含有PE結合之抗生蛋白鏈菌素或抗myc抗體的生物素標記AFP158/HLA-A*02:01四聚體(「AFP158四聚體」)，藉由流動式細胞測量術評定抗AFP及抗CD19嵌合構築體之轉導效率。在第5天及其後每3至4天重複流動式細胞測量術分析。

【0473】 用一個或兩個編碼caTCR構築體之兩個次單元之載體轉導細胞株。轉導五天後，使用抗HA (抗HA標籤抗體，ChIP級，Abcam)或抗Flag抗體(在兔中產生之抗Flag抗體，Sigma)，產生細胞裂解產物用於西方墨點法。

【0474】 藉由Cytox 96非放射性LDH細胞毒性分析(Promega)分析腫瘤細胞毒性。使用EasySep人類T細胞分離套組(StemCell Technologies)，由PBMC富集之全血製備$CD3^+$ T細胞，其不利地耗竭CD14、CD16、CD19、CD20、CD36、CD56、CD66b、CD123、血型糖蛋白A表現細胞。藉由CD3/CD28戴諾珠粒(Invitrogen)，根據製造商方案活化及擴增人類T細胞。在具有10% FBS加上100 U/ml IL-2之RPMI1640培養基中培養及維持經活化之T細胞(ATC)，且在第7至14天使用。經活化之T細胞(效應細胞)與靶細胞以各種效靶比(effector-to-target ratio) (例如，2:1、2.5:1或5:1)共培養16小時且分析細胞毒性。

實例1.嵌合抗體-T細胞受體(caTCR)設計

【0475】 涵蓋各種嵌合抗體-T細胞受體(caTCR)設計，且於圖1中展示六個不同之實例(caTCR-1、caTCR-2、caTCR-3、caTCR-4、caTCR-5及caTCR-6)。在此等設計中，各種抗體部分(Fab、Fab'、(Fab')2、Fv或scFv)融合於缺乏可變域及恆定域且包括其連接肽(在恆定域後之區)、其

跨膜域或其變異體及任何胞內域的全部或部分之T細胞受體α/β鏈或γ/δ鏈的胺基端，以形成可表現於T細胞之表面上的caTCR雜二聚體。在原生TCR中，Vα/Vβ或Vδ/Vγ域形成TCR之抗原結合域。吾人之設計以各種抗體部分置換Vα-Cα/Vβ-Cβ或Vδ-Cδ/Vγ-Cγ區，且引入至少一個變異TCR跨膜域，因此賦予抗體對構築體之結合特異性，及使得該構築體相較於僅具有天然存在之TCR跨膜域之TCR或相關構築體在TCR複合體中募集輔助分子(諸如CD3δε、CD3γε及CD3ζζ)的能力增強。caTCR構築體如下命名：caTCR-[設計#]-[變異體位置][#]。設計#1對應於具有Fab抗體部分之caTCR，設計#2對應於具有Fab'抗體部分之caTCR，設計#3對應於具有(Fab')2抗體部分之caTCR，設計#4對應於具有Fv抗體部分之caTCR，設計#5對應於具有單一scFv抗體部分之caTCR，且設計#6對應於具有兩個scFv抗體部分之caTCR(參見圖1)。無變異體位置及#0 (例如，caTCR-1-0)對應於具有天然存在之TCR域之構築體，且#≥1對應於在變異體位置中具有特異性變異體之caTCR(例如，caTCR-1-TM1對應於一個跨膜域變異體，caTCR-1-EC1對應於一個胞外域變異體；參見表2)。

【0476】在 caTCR-1 (IgV_H-IgC_H1-TCRδ/IgV_L-IgC_L-TCRγ) 設計中，抗體重鏈之可變域及第一恆定域(IgV_H-IgC_H1)置換TCRδ鏈中直至一位置之胺基端部分，該位置毗鄰TCRδ鏈之胞外域中在Vδ-Cδ區後的連接肽或在該連接肽內，視情況地，其中TCRδ鏈之跨膜域諸如藉由一或多個胺基酸之取代修飾。對應抗體輕鏈之可變域及恆定域(IgV_L-IgC_L)置換TCRγ鏈中直至一位置之胺基端部分，該位置毗鄰TCRγ鏈之胞外域中之Vγ-Cγ區後的連接肽或在該連接肽內，視情況地，其中TCRγ鏈之跨膜域諸如藉由一或多個胺基酸之取代修飾。

【0477】在caTCR-1之一個實施例中，一個鏈包括抗AFP158/HLA-A*02:01抗體之IgV_H域(SEQ ID NO:52)，該IgV_H域融合於IgC_H1域(SEQ ID NO:37)，該IgC_H1域融合於TCRδ鏈之羧基端部分，該羧基端部分包括跨膜域及TCRδ鏈之連接肽之全部或部分，且另一鏈包括抗AFP158/HLA-A*02:01抗體之IgV_L域(SEQ ID NO:53)，該IgV_L域融合於IgC_L域(SEQ ID NO:48)，該IgC_L域融合於TCRγ鏈之羧基端部分，該羧基端部分包括跨膜域及TCRγ鏈之連接肽之全部或部分，其中TCR域中之至少一者(諸如TCR跨膜域)為包含一或多個胺基酸取代的非天然存在之變異體。在一些實施例中，TCRδ鏈之羧基端部分包括具有SEQ ID NO: 31或32之胺基酸序列的連接肽。在一些實施例中，TCRδ鏈之羧基端部分包括具有SEQ ID NO: 7及9-13中之任一者之胺基酸序列的跨膜域。在一些實施例中，TCRγ鏈之羧基端部分包括具有SEQ ID NO: 33或34之胺基酸序列的連接肽。在一些實施例中，TCRγ鏈之羧基端部分包括具有SEQ ID NO: 8及14-26中之任一者之胺基酸序列的跨膜域。

【0478】在caTCR-2 (IgV_H-IgC_H1-鉸鏈-TCRδ/IgV_L-IgC_L-連接子-TCRγ)設計中，抗體重鏈之可變域、第一恆定域及鉸鏈(IgV_H-IgC_H1-鉸鏈)置換TCRδ鏈中直至一位置之胺基端部分，該位置毗鄰TCRδ鏈之胞外域中在Vδ-Cδ區後的連接肽或在該連接肽內，視情況地，其中TCRδ鏈之跨膜域諸如藉由一或多個胺基酸之取代修飾。融合於連接子(IgV_L-IgC_L-連接子)的對應抗體輕鏈之可變域及恆定域置換TCRγ鏈中直至一位置之胺基端部分，該位置毗鄰TCRγ鏈之胞外域中在Vγ-Cγ區後的連接肽或在該連接肽內，視情況地，其中TCRγ鏈之跨膜域諸如藉由一或多個胺基酸之取代修飾。

【0479】在caTCR-3 (IgV_H-IgC_H1-鉸鏈-TCRδ/IgV_H-IgC_H1-鉸鏈-TCRγ + IgV_L-IgC_L)設計中，抗體重鏈之可變域、第一恆定域及鉸鏈(IgV_H-IgC_H1-鉸鏈)置換TCRδ鏈中直至一位置之胺基端部分，該位置毗鄰TCRδ鏈之胞外域中在Vδ-Cδ區後的連接肽或在該連接肽內，視情況地，其中TCRδ鏈之跨膜域諸如藉由一或多個胺基酸之取代修飾。抗體重鏈之可變域、第一恆定域及鉸鏈(IgV_H-IgC_H1-鉸鏈)置換TCRγ鏈中直至一位置之胺基端部分，該位置毗鄰TCRγ鏈之胞外域中在Vγ-Cγ區後的連接肽或在該連接肽內，視情況地，其中TCRγ鏈之跨膜域諸如藉由一或多個胺基酸之取代修飾。對應抗體輕鏈之可變域及恆定域(IgV_L-IgC_L)與IgV_H-IgC_H1域結合。

【0480】在caTCR-4 (IgV_H-TCRδ/IgV_L-TCRγ)設計中，抗體重鏈之可變域(IgV_H)置換TCRδ鏈中直至一位置之胺基端部分，該位置毗鄰TCRδ鏈之胞外域中在Vδ-Cδ區後的連接肽或在該連接肽內，視情況地，其中TCRδ鏈之跨膜域諸如藉由一或多個胺基酸之取代修飾。對應抗體輕鏈之可變域(IgV_L)置換TCRγ鏈中直至一位置之胺基端部分，該位置毗鄰TCRγ鏈之胞外域中在Vγ-Cγ區後的連接肽或在該連接肽內，視情況地，其中TCRγ鏈之跨膜域諸如藉由一或多個胺基酸之取代修飾。

【0481】在caTCR-5 (IgV_H-IgV_L-TCRδ/TCRγ)設計中，融合於對應抗體輕鏈之可變域的抗體重鏈之可變域(IgV_H-IgV_L或IgV_L-IgV_H)置換TCRδ鏈中直至一位置之胺基端部分，該位置毗鄰TCRδ鏈之胞外域中在Vδ-Cδ區後的連接肽或在該連接肽內，視情況地，其中TCRδ鏈之跨膜域諸如藉由一或多個胺基酸之取代修飾。TCRγ鏈中直至一位置之胺基端部分缺失，該位置毗鄰TCRγ鏈之胞外域中在Vγ-Cγ區後的連接肽或在該連

接肽內，視情況地，其中TCRγ鏈之跨膜域諸如藉由一或多個胺基酸之取代修飾。

【0482】在caTCR-6 (IgV_H-IgV_L-TCRδ/IgV_H-IgV_L-TCRγ)設計中，融合於對應抗體輕鏈之可變域的抗體重鏈之可變域(IgV_H-IgV_L或IgV_L-IgV_H)置換TCRδ鏈中直至一位置之胺基端部分，該位置毗鄰TCRδ鏈之胞外域中在Vδ-Cδ區後的連接肽或在該連接肽內，視情況地，其中TCRδ鏈之跨膜域諸如藉由一或多個胺基酸之取代修飾。融合於對應抗體輕鏈之可變域的抗體重鏈之可變域(IgV_H-IgV_L或IgV_L-IgV_H)置換TCRγ鏈中直至一位置之胺基端部分，該位置毗鄰TCRγ鏈之胞外域中在Vγ-Cγ區後的連接肽或在該連接肽內，視情況地，其中TCRγ鏈之跨膜域諸如藉由一或多個胺基酸之取代修飾。

實例2：經取代以形成caTCR-1-TM變異體之跨膜胺基酸

【0483】此實例描述用於產生caTCR-1-TM構築體的天然存在之TCR跨膜域的變異體。caTCR-1受體包含源自δ及γ TCR次單元之跨膜域。caTCR-1受體之示意圖展示於圖2中，突出顯示跨膜域。增強caTCR療法之功效的取代集中於構成兩個鏈之跨膜域的胺基酸上。展示構成caTCR-1-0受體之跨膜區之α螺旋輪狀投影，突出顯示突變以形成caTCR-1-TM跨膜突變體之位置(圖3)。

【0484】δ TCR次單元的天然存在之跨膜域具有SEQ ID NO: 7之胺基酸序列，且藉由以下取代修飾：L4C；M6V；V12F及N15S；F245S；或L25S。γ TCR次單元的天然存在之跨膜域具有SEQ ID NO: 8之胺基酸序列，且藉由以下取代修飾：Y2L、M3V、A16V及I18V；Y2I、M3I、A16I及I18L；L8F、V12F及F15S；Y1Q；Y2L；M3V；M3I；L5C；

V13Y；A16V；I18V；C19M；或C21G。產生之caTCR-1-TM變異體概述於表2中。

實例3.藉由流動式細胞測量術偵測caTCR細胞表面表現及TCR-CD3複合體形成

【0485】3個跨膜突變受體(caTCR-1-TM3、caTCR-1-TM4、caTCR-1-TM5)連同caTCR-1-0個別地經轉導至J.RT3-T3.5細胞中。用caTCR-1-0及ca TCR-1-TM突變構築體轉導之細胞係藉由抗CD3ε抗體評定，以評定TCR陰性J.RT3-T3.5細胞及PE標記AFP158/HLA-A*02:01四聚體上之CD3ε表現的拯救，從而量測caTCR構築體於細胞表面上之表現。流動式細胞測量術分析用於量測CD3及caTCR在細胞表面上之MFI。CD3或caTCR之表現表示為對caTCR-1-0轉導細胞之MFI度量百分比。

【0486】結果展示於圖4中。模擬轉導未賦予與AFP158/HLA-A*02:01四聚體之結合且未引起J.RT3-T3.5細胞表面上之CD3ε表現。個別地經轉導以表現突變受體且使用螢光標記AFP158/HLA-A*02:01及抗CD3ε染色的JRT3-T3.5細胞呈現螢光強度之MFI值大於關於caTCR-1-0所觀察到之MFI值的明顯的峰。明顯地，突變受體不僅能夠拯救TCR陰性JRT3-T3.5細胞株中的CD3ε之細胞表面表現，而且亦能夠增加其上與caTCR-1-0於細胞表面上之表現相關的CD3信號傳導複合體之表現。

【0487】此表明跨膜突變體能夠改良對於caTCR募集內源性CD3複合體之重要需求。此可被視為非預期的，因為已確定TCR之恆定域與CD3鏈相互作用(評述於Kuhns及Davis, *Front. Immunol.* 2012; 3: 159以及Wang及Reinherz, *Immunol. Rev.* 2012, 250:102中)，且低估了TCR跨膜區對於TCR-CD3信號傳導複合體之穩定性的作用。另外，吾人之嵌合體用

IgG C_H1置換TCR恆定域，表明TCR恆定域並非具有所分析之caTCR受體中之任一者的CD3集合體所必需。此指示所有所測試外源性caTCR嵌合體形成了可結合其同源抗原且拯救CD3複合體於J.RT3-T3.5細胞上之細胞表面表現的功能性受體。

實例4.具有caTCR-1-TM突變體之CD3ζ的Co-IP下拉

【0488】 對如(圖4)中經轉導之JRT3-T3.5細胞之細胞裂解產物進行抗FLAG免疫沈澱，以經由融合於所有caTCR受體之鏈II的FLAG標籤下拉(pull down) caTCR複合體。使經轉導JRT3-T3.5細胞裂解，且用非離性清潔劑洗滌caTCR複合體並如(Cohen等人, 2006 *Cancer Res.*)中進行純化。使用抗Flag抗體以西方墨點法偵測caTCR鏈II之表現(圖5)。使用抗CD3ζ抗體藉由西方墨點法觀測FLAG標記之caTCR與CD3複合體的結合(圖5)。caTCR-1-TM4及caTCR-1-TM5對CD3複合體具有更高親和力，如藉由兩個受體下拉之CD3ζ量的增加可見(圖5之箭頭)。caTCR-1-TM4於鏈II上具有突變，而caTCR-1-TM5於鏈II上具有相同突變且於鏈1上具有其他突變。

實例5.表徵用caTCR-1跨膜突變體轉導之T細胞對AFP陽性腫瘤之活體外殺滅活性

【0489】 原代T細胞經模擬轉導或用編碼抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分(分別為SEQ ID NO: 52及53之V_H及V_L域)的caTCR-1-0或caTCR-1跨膜突變體(caTCR-1-TM1至caTCR-1-TM5，及caTCR-1-TM14至caTCR-1-TM16)轉導。藉由用經PE標記之AFP158/HLA-A*02:01四聚體染色來測定轉導效率。藉由與模擬T細胞混合，所有caTCR-1 T細胞匹配40%之受體陽性。以2.5 :1之效靶比使用兩個細胞株：SK-HEP-1 (AFP-

/HLA-A2+)及SK-HEP-1-AFP-MG (用AFP袖珍基因轉導之SK-HEP-1)。培育16小時後，使用Cytox 96非放射性細胞毒性分析(Promega)量測特異性T細胞溶胞率。用帶抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分之所有caTCR-1-TM突變體轉導之T細胞引導殺滅抗原陽性細胞株SK-HEP-1-AFP-MG，但不引起殺滅抗原陰性細胞株SK-HEP-1 (圖6)。所有caTCR-1-TM突變體轉導之細胞中觀察到的特異性裂解率之水準與caTCR-1-0轉導之T細胞的水準相當，表明TM突變體(TM1至TM5)保留其用信號向抗原陽性腫瘤細胞傳導T細胞細胞毒性的功能。

實例6.在使用caTCR-1-TM突變T細胞活體外殺滅SK-HEP-1-AFP-MG腫瘤細胞株期間釋放的細胞介素

【0490】原代T細胞經模擬轉導或用編碼抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分(分別為SEQ ID NO: 52及53之V_H及V_L域)的caTCR-1-0或caTCR-1跨膜突變體(caTCR-1-TM1至caTCR-1-TM5)轉導。藉由用經PE標記之AFP158/HLA-A*02:01四聚體染色來測定轉導效率。藉由與模擬T細胞混合，所有caTCR-1 T細胞匹配40%之受體陽性。以2.5 :1之效靶比使用SK-HEP-1-AFP-MG (用AFP袖珍基因轉導之SK-HEP-1)。在SK-HEP1-AFP-MG活體外殺滅分析(圖6) 16小時後，使用Magpix多重系統(Luminex)與Bio-plex Pro人類細胞介素8重分析(BioRad)量測IL-2、IL-10、GM-CSF、IFN-γ及TNF-α至培養基中之細胞介素釋放。將來自SK-HEP-1-AFP-MG靶標反應之分析上清液稀釋10倍。使用由BioRad Bio-plex套組供應之標準曲線測定細胞介素濃度(圖7)。關於跨膜突變體之細胞介素釋放的略微增加表明特異性跨膜突變體可增加抗原誘導之T細胞信號傳導強度，同時維持防止毒性水準之細胞介素釋放的調節機制。

實例7.表徵用caTCR-1跨膜突變體轉導之T細胞對AFP陽性腫瘤之活體外殺滅活性

【0491】原代T細胞經模擬轉導或用編碼抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分(分別為SEQ ID NO: 52及53之V_H及V_L域)的caTCR-1-0或caTCR-1跨膜突變體(caTCR-1-TM5至caTCR-1-TM13)轉導。藉由用經PE標記之AFP158/HLA-A*02:01四聚體染色來測定轉導效率。藉由與模擬T細胞混合，所有caTCR-1 T細胞匹配40%之受體陽性。以2.5 :1之效靶比使用三個細胞株：SK-HEP-1 (AFP-/HLA-A2+)、SK-HEP-1-AFP-MG (用AFP袖珍基因轉導之SK-HEP-1)及內源性AFP表現HepG2 (AFP+/HLA-A2+)。培育16小時後，使用Cytox 96非放射性細胞毒性分析(Promega)量測特異性T細胞溶胞率。用攜帶抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分之所有caTCR-1-TM突變體轉導之T細胞引導殺滅抗原陽性細胞株HepG2及SK-HEP-1-AFP-MG，但不引起殺滅抗原陰性細胞株SK-HEP-1 (圖8)。兩種AFP陽性腫瘤細胞SK-HEP1-AFP-MG及HepG2之特異性裂解率與所有caTCR-1-TM突變體轉導之細胞之間的特異性裂解率相當，表明TM突變體(TM5至TM13)保留其用信號向抗原陽性腫瘤細胞傳導T細胞細胞毒性的功能。

實例8.在使用caTCR-1-TM突變T細胞活體外殺滅HepG2腫瘤細胞株期間釋放的細胞介素

【0492】原代T細胞經模擬轉導或用編碼抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分(分別為SEQ ID NO: 52及53之V_H及V_L域)的caTCR-1-0或caTCR-1跨膜突變體(caTCR-1-TM5至caTCR-1-TM13)轉導。藉由用經PE標記之AFP158/HLA-A*02:01四聚體染色來測定轉導效率。藉由與模擬T

細胞混合，所有caTCR-1 T細胞匹配40%之受體陽性。以2.5:1之效靶比使用HepG2細胞。在HepG2活體外殺滅分析(圖8) 16小時之後，使用Magpix多重系統(Luminex)與Bio-plex Pro人類細胞介素8重分析(BioRad)量測GM-CSF、IFN-γ及TNF-α向培養基中之細胞介素釋放。將來自HepG2靶標反應之分析上清液稀釋4倍。使用由BioRad Bio-plex套組供應之標準曲線測定細胞介素濃度(圖9)。在殺滅HepG2時使用caTCR-1-TM5之細胞介素釋放的顯著增加表明caTCR-1-TM5受體內之跨膜突變賦予增加之細胞毒性信號傳導潛力。

實例9.使用用caTCR-1-TM5轉導之T細胞活體外殺滅CD19陽性NALM6腫瘤

【0493】 用編碼抗CD19結合部分(分別為SEQ ID NO: 54及55之V_H及V_L域)之caTCR-1-0或caTCR-1-TM5轉導原代T細胞。測定轉導效率且T細胞藉由與模擬T細胞混合而匹配40%之受體陽性。使用CFSE標記NALM6靶細胞5 min，之後以1:1、1:2或1:4之效靶比與適當T細胞一起培育4小時。藉由FACS分析對CFSE陽性細胞之數目進行計數，且藉由除以無T細胞之孔內的CFSE陽性細胞之數目來確定殺滅百分比(圖10)。CD19陽性NALM6腫瘤之活體外殺滅效率在親本caTCR-1-0與突變caTCR-1-TM5轉導T細胞之間保持相當，表明caTCR-1-TM5突變體保持其在抗CD19模型中的細胞毒性信號傳導功能。

實例10.在使用caTCR-1-TM5 T細胞活體外殺滅NALM6腫瘤細胞株期間釋放的細胞介素

【0494】 用編碼抗CD19結合部分(分別為SEQ ID NO: 54及55之V_H及V_L域)之caTCR-1-0或caTCR-1-TM5轉導原代T細胞。測定轉導效率且T

細胞藉由與模擬T細胞混合而匹配40%之受體陽性。以2.5:1之效靶比使用NALM6。在NALM6活體外殺滅分析(圖10) 16小時後，使用Magpix多重系統(Luminex)與Bio-plex Pro人類細胞介素8重分析(BioRad)量測IL-2、GM-CSF、IFN-γ及TNF-α至培養基中之細胞介素釋放。將來自NALM6靶標反應之分析上清液稀釋4倍。使用由BioRad Bio-plex套組供應之標準曲線測定細胞介素濃度(圖11)。在殺滅NALM6時使用caTCR-1-TM5之細胞介素釋放的顯著增加表明caTCR-1-TM5突變受體保持其在抗CD19模型中的增加之細胞毒性信號傳導潛力。

實例11.回應於CD19陽性靶細胞之胞內細胞介素產生

【0495】為了更直接地測定細胞介素表現之caTCR-1信號傳導結果，吾人量測回應於抗原陽性腫瘤細胞之刺激的胞內細胞介素產生。用編碼抗CD19結合部分(分別為SEQ ID NO: 54及55之V_H及V_L域)之caTCR-1-0或caTCR-1-TM5轉導原代T細胞。測定轉導效率且T細胞藉由與模擬T細胞混合而匹配40%之受體陽性。使用蛋白質轉運抑制劑混合物(eBioscience Cat#00498003)以2.5:1之比率與NALM6或Raji靶細胞共培養經模擬轉導之T細胞或用caTCR-1-0或caTCR-1-TM5轉導之T細胞以防止細胞介素分泌。在處理4小時後，對T細胞進行caTCR-1受體及抗CD4抗體以及抗TNF-α、抗IFN-γ或抗IL-2抗體染色。使用流動式細胞測量術，對caTCR-1受體陽性細胞進行閘控，吾人計算出對胞內TNF-α、IFN-γ及IL-2呈陽性之細胞的百分比(表4)。經由caTCR-1-TM5突變受體進行之刺激引起細胞中的胞內細胞介素表現增加，進一步表明caTCR-1-TM5中之跨膜突變賦予增加之T細胞細胞毒性信號傳導潛力的能力。

表4

	Raji	NALM6	單獨的T細胞
	CD8+ T細胞中的胞內TNFα表現(陽性%)		
模擬	0.5055	1.09	0.94
-0	11.5	12.7	0.73
-TM5	15.3	17.85	0.91
	CD4+ T細胞中的胞內IL-2表現(陽性%)		
模擬	2.935	0.21	0.28
-0	5.51	4.74	0.33
-TM5	8.555	7.46	0.22
	CD8+T細胞中的胞內IFNγ表現(陽性%)		
模擬	0.545	0.21	0.39
-0	6.2	6.8	1.01
-TM5	5.96	7.32	1.08

實例12.經由caTCR-1受體進行之刺激後的增殖及存留

【0496】 用編碼抗CD19結合部分(分別為SEQ ID NO: 54及55之V_H及V_L域)之caTCR-1-0或caTCR-1-TM5轉導原代T細胞。測定轉導效率且T細胞藉由與模擬T細胞混合而匹配40%之受體陽性。使用CFSE標記T細胞，且用Raji或NALM6靶細胞進行刺激。以2:1之效靶比使用5×10^4 個NALM6細胞。使用FACS分析量測CFSE螢光(圖12A及圖12B)。CFSE螢光強度隨著每一細胞分裂降低且因此可用於分析T細胞回應於抗原刺激的增殖潛力。為了觀察在刺激後存活之T細胞的存留，吾人對靶細胞暴露後3天之後仍存活之T細胞之總數目進行計數(表5)。經由caTCR-1-TM5受體進行之刺激自存活T細胞之總數目展示了增殖潛力(如由CFSE峰在第3天之向左移位所見)及存留兩者的增加。T細胞之存留及增殖兩者均為重要屬性，因為其在授受性T細胞療法期間與較佳臨床結果相關聯。

表5

	接合後存留之T細胞的#			
	BV173		NALM6	
	-0	-TM5	-0	-TM5
	方案A			
第3天	10354	17726	6591	8067
第5天	2945	3590	1240	3190
第7天	253	460	329	534
	方案B			
第3天	16057	39189	18457	32564
第5天	2945	31236	3190	12712
第7天	253	7323	534	3021

實例13.雙特異性抗CD19抗CD22 caTCR之構築及表徵

【0497】使用靶向單一靶抗原之嵌合抗原受體之療法可能由於靶抗原基因之喪失、替代性剪接及抗原決定基喪失而易受抗原逃逸影響。雙特異性caTCR經設計藉由降低抗原逃逸之可能性來提供具有改良功效之療法。

【0498】構築具有源自抗CD19抗體之一個抗原結合域及源自抗CD22抗體之一個抗原結合域的雙特異性caTCR(本文中稱為「抗CD19抗CD22 caTCR」或縮寫為「CD19 CD22 caTCR」)。抗CD19抗體先前已描述於WO2017066136A2中。抗CD22抗體被稱為「抗CD22純系2」，描述於2018年3月30日提交之USSN 62/650,955中。各抗CD19抗CD22 caTCR包含兩種多肽，一種含有TCR δ域且一種含有TCR γ域。構築體中使用不同結構型式及連接子(不同長度及序列)。在抗CD19抗CD22 caTCR-9-2中，將突變引入至C_H1域(S64E及S66V突變)及C_L域(S69L及T71S突變)以使二聚合穩定。其他抗CD19抗CD22 caTCR構築體可藉由改變連接子、穩定域及/或跨膜域(例如，使用突變跨膜域)及/或藉由交換抗原結合域產生。

【0499】下表6展示各抗CD19抗CD22 caTCR構築體中各多肽自N

端至C端的結構特徵。製備編碼抗CD19抗CD22 caTCR構築體之各對多肽的慢病毒載體。

表6.

構築體	多肽鏈1	多肽鏈2
caTCR-7-1a	抗CD22 V_H-連接子1-抗CD19 V_H-C_H1-TCR (SEQ ID NO:88)	抗CD22 V_L-連接子1-抗CD19 V_L-C_L-TCR (SEQ ID NO:89)
caTCR-7-2a	抗CD22 V_L-連接子1-抗CD19 V_H-C_H1-TCR (SEQ ID NO:90)	抗CD22 V_H-連接子1-抗CD19 V_L-C_L-TCR (SEQ ID NO:91)
caTCR-7-3a	抗CD19 V_H-連接子1-抗CD22 V_H-C_H1-TCR (SEQ ID NO:92)	抗CD19 V_L-連接子1-抗CD22 V_L-C_L-TCR (SEQ ID NO:93)
caTCR-7-4	抗CD19 V_H-連接子1-抗CD22 V_L-C_H1-TCR (SEQ ID NO:94)	抗CD19 V_L-連接子1-抗CD22 V_H-C_L-TCR (SEQ ID NO:95)
caTCR-7-1b	抗CD22V_H-連接子2-抗CD19 V_H- C_H1-TCR (SEQ ID NO:96)	抗CD22 V_L-連接子2-抗CD19 V_L-C_L-TCR (SEQ ID NO:97)
caTCR-7-2b	抗CD22 V_L-連接子2-抗CD19 V_H-C_H1-TCR (SEQ ID NO:98)	抗CD22 V_H-連接子2-抗CD19 V_L-C_L-TCR (SEQ ID NO:99)
caTCR-7-1c	抗CD22 V_H-連接子3-抗CD19 V_H-C_H1-TCR (SEQ ID NO:100)	抗CD22 V_L-連接子3-抗CD19 V_L-C_L-TCR (SEQ ID NO:101)
caTCR-7-2b	抗CD22 V_L-連接子3-抗CD19 V_H-C_H1-TCR (SEQ ID NO:102)	抗CD22 V_H-連接子3-抗CD19 V_L-C_L-TCR (SEQ ID NO:103)
caTCR-8-1	抗CD22 scFv-連接子1-抗CD19 V_H-C_H1-TCR (SEQ ID NO:104)	抗CD19 V_L-C_L-TCR (SEQ ID NO:105)
caTCR-8-2	抗CD22 scFv-連接子2-抗CD19 V_H-C_H1-TCR (SEQ ID NO:106)	抗CD19 V_L-C_L-TCR (SEQ ID NO:107)
caTCR-9-1	抗CD22 scFv-連接子3-C_H1-TCR (SEQ ID NO:108)	抗CD19 scFv-連接子3-C_L-TCR (SEQ ID NO:109)
caTCR-9-2	抗CD22 scFv-連接子3-C_H1 (S64E/S66V)-TCR (SEQ ID NO:110)	抗CD19 scFv-連接子3-C_L (S69L/T71S)-TCR (SEQ ID NO:111)
caTCR-9-3	抗CD22 scFv-連接子4-C_H1-TCR (SEQ ID NO:112)	抗CD19 scFv-連接子4-C_L (S69LT71S)-TCR (SEQ ID NO:113)

細胞介素分泌

【0500】 原代T細胞經模擬轉導或用編碼抗CD19抗CD22 caTCR-7-2a構築體之慢病毒載體轉導。以2.5:1之效靶比將經轉導T細胞與K562 (CD19 CD22雙陰性)、K562-CD22 (用CD22轉導之K562)、K562-CD19 (用CD19轉導之K562)、Raji (其表現CD19及CD22兩者)或Raji CD19 K/O (具有CD19基因剔除之Raji)細胞混合。T細胞在藉由與靶配體TCR接

合來活化時分泌IFN-γ。量測IFN-γ之細胞介素釋放量且用作受體之信號傳導潛力之指示符(量越高，受體之信號傳導潛力及細胞毒性T細胞活性更高)。在共培養16小時後，使用Magpix多重系統(Luminex)與Bio-plex Pro人類細胞介素8重分析(BioRad)量測細胞介素濃度。

【0501】 如圖14中所示，在一組$CD19^+$及/或$CD22^+$細胞株中觀察到抗原特異性IFN-γ釋放。表現抗CD19抗CD22 caTCR-7-2a構築體之T細胞具體而言在與表現CD19或CD22抗原之K562一起培育時活化IFN-γ分泌。caTCR-7-2a T細胞亦在抗原逃逸模型中釋放IFN-γ，其中CD19基因自$CD19^+CD22^+$Raji淋巴瘤細胞株進行基因剔除(Raji CD19 K/O)，因此表明單一caTCR-7結合兩個獨立抗原之能力。

活體外殺滅

【0502】 藉由方法中所描述之LDH細胞毒性分析評定各種抗CD19抗CD22 caTCR-7構築體之活體外細胞殺滅活性。簡言之，來自供體(R177)之人類原代T細胞經模擬轉導，或用編碼抗CD19 caTCR-1或抗CD19抗CD22 caTCR構築體(caTCR-7-1b、caTCR-7-2b、caTCR-7-1c或caTCR-7-2c)之慢病毒轉導。以2:1之效靶比將經轉導T細胞與K562、K562-CD22 (表現CD22之K562)、K562-CD19 (表現CD19之K562)或K562-CD19/CD22 (表現CD19及CD22抗原之K562細胞)細胞混合。培育16 hr後，使用Cytox 96非放射性細胞毒性分析(Promega)量測特異性T細胞裂解率。

【0503】 如圖15中所示，表現各種雙特異性抗CD19抗CD22 caTCR之T細胞能夠裂解表現CD19、CD22或CD19及CD22兩者的K562靶細胞。然而，表現單特異性CD19 caTCR-1之T細胞僅能夠裂解表現CD19之

K562靶細胞。

序列表

SEQ ID NO	描述	序列
1	TCRα恆定域	PNIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNLSVIGFRILLLKVAGFNLLMTLRLWSS
2	TCRβ恆定域	EDLNKVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWWVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRKDF
3	TCRδ恆定域	SQPHTKPSVFVMKNGTNVACLVKEFYPKDIRINLVSSKKITEFDPAIVISPSGKYNAVKLGKYEDSNSVTCSVQHDNKTVHSTDFEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
4	TCRγ恆定域	DKQLDADVSPKPTIFLPSIAETKLQKAGTYLCLLEKFFPDVIKIHWQEKKSNTILGSQEGNTMKTNDTYMKFSWLTVPEKSLDKEHRCIVRHENNKNGVDQEIIFPPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS
5	TCRα跨膜域	ILLLKVAGFNLLMTLRLWSS
6	TCRβ跨膜域	TILYEILLGKATLYAVLVSALVL
7	TCRδ跨膜域	VLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
8	TCRγ跨膜域(與uniprot相同)	YYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLL
9	TCRδ跨膜域F24S	VLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLF**S**L
10	TCRδ跨膜域M6V	VLGLR**V**LFAKTVAVNFLLTAKLFFL
11	TCRδ跨膜域L4C	VLGCRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
12	TCRδ跨膜域V12F、N15S	VLGLRMLFAKTFAVSFLLTAKLFFL
13	TCRδ跨膜域L25S	VLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFF**S**
14	TCRγ跨膜域V13Y	YYMYLLLLLKSV**Y**YFAIITCCLLRRTAF
15	TCRγ跨膜域C21G	YYMYLLLLLKSVVYFAIITC**G**LLRRTAF
16	TCRγ跨膜域Y2L、M3V、A16V、I18V	Y**LV**YLLLLLKSVVYF**VIV**TCCLLRRTAF
17	TCRγ跨膜域Y2L	YLMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAF
18	TCRγ跨膜域M3V	YYVYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAF
19	TCRγ跨膜域A16V	YYMYLLLLLKSVVYFVIITCCLLRRTAF
20	TCRγ跨膜域I18V	YYMYLLLLLKSVVYFAIVTCCLLRRTAF
21	TCRγ跨膜域M3I	YYIYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAF

22	TCRγ跨膜域 Y2I、M3I、A16I、I18L	YIIYLLLLLKSVVYFIILTCCLLRRTAF
23	TCRγ跨膜域 L5C	YYMYCLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAF
24	TCRγ跨膜域 L8F、V12F、F15S	YYMYLLLFLKSFVYSAIITCCLLRRTAF
25	TCRγ跨膜域 C19M	YYMYLLLLLKSVVYFAIIT**M**CLLRRTAF
26	TCRγ跨膜域 Y1Q	**Q**YMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAF
27	TCRα連接肽	ESSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNLSVIGFR
28	TCRα連接肽 MD	IPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNLSVIGFR
29	TCRβ連接肽	ADCGFTSVSYQQGVLSA
30	TCRβ連接肽 MD	GRADCGFTSVSYQQGVLSA
31	TCRδ連接肽	DHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLR
32	TCRδ連接肽 MD	EVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLR
33	TCRγ連接肽	MDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSA
34	TCRγ連接肽 MD	PIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSA
35	TCRβ胞內域	MAMVKRKDF
36	TCRγ胞內域	RRTAFCCNGEKS
37	IgG1 C_H1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
38	IgG2-0C C_H1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERK
39	IgG2-1C C_H1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKC
40	IgG2-2C C_H1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCC
41	IgG3 C_H1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHKPSNTKVDKRVELKTP
42	IgG4 C_H1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYG
43	IgA1 C_H1	ASPTSPKVFPLSLCSTQPDGNVVIACLVQGFFPQEPLSVTWSESGQGVTARNFPPSQDASGDL YTTSSQLTLPATQCLAGKSVTCHVKHYTNPSQDVTVPCPVPSTPPTPSPSTPPTPSPS
44	IgA2 C_H1	ASPTSPKVFPLSLDSTPQDGNVVVACLVQGFFPQEPLSVTWSESGQNVTARNFPPSQDASGDL YTTSSQLTLPATQCPDGKSVTCHVKHYTNPSQDVTVPCPVPPPPP
45	IgD C_H1	APTKAPDVFPIISGCRHPKDNSPVVLACLITGYHPTSVTVTWYMGTQSQPQRTFPEIQRRDSY YMTSSQLSTPLQQWRQGEYKCVVQHTASKSKKEIFRWPESPKAQASSVPTAQPQAEGSLAK ATTAPATTRNTGRGGEEKKKEKEKEEQEERETKTP
46	IgE C_H1	ASTQSPSVFPLTRCCKNIPSNATSVTLGCLATGYFPEPVMVTWDTGSLNGTTMTLPATTLTLS GHYATISLLTVSGAWAKQMFTCRVAHTPSSTDWVDNKTFS
47	IgM C_H1	GSASAPTLFPLVSCENSPSDTSSVAVGCLAQDFLPDSITLSWKYKNNSDISSTRGFPSVLRGGK YAATSQVLLPSKDVMQGTDEHVVCKVQHPNGNKEKNVPLP
48	IgCL域	GQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQS NNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
49	CD28協同刺激片段2	RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS

50	4-1BB協同刺激片段2	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL
51	OX40協同刺激片段2	ALYLLRRDQRLPPDAHKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI
52	抗AFP158/HLA-A*02:01抗體之IgV_H域	EVQLVQSGAEVKKPGESLTISCKASGYSFPNYWITWVRQMSGGGLEWMGRIDPGDSYTTYNPSFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTAMYYCARYYVSLVDIWGQGTLVTVSS
53	抗AFP158/HLA-A*02:01抗體之IgV_L域	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVNNRPSEVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTTGSRAVFGGGTKLTVL
54	抗CD19抗體之IgV_H域	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQVWGWQGGMYPRSNWWYNLDSWGQGTLVTVSS
55	抗CD19抗體之IgV_L域	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDYVVFGGGTKLTVLG
56	抗CD20抗體之IgV_H域	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTTVTVSS
57	抗CD20抗體之IgV_L域	QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSYIHWFQQKPGSSPKPWIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWTSNPPTFGGGTKLEIKR
58	抗GPC3抗體之IgV_H域	QSVLTQPPSVSAAPGQRVTISCSGTRSNIGSDYVSWYQHLPGTAPKLLVYGDNLRPSGIPDRFSASKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDYTLNGVVFGGGTKLTVLG
59	抗GPC3抗體之IgV_L域	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGSSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTSYLNHGDYWGQGTLVTVSS
60	抗CD47之IgV_H域	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYTFTNYYVFWVRQARGQRLEWIGDINPVNGDTNFNEKFKNRVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARGGYTMDYWGQGTLVTVSS
61	抗CD47之IgV_L域	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYQQKPGKAPKLLIYKVSYRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQNTHVPRTFGQGTKVEIKR
62	抗CD22 HC-CDR1	GFTFSNYA
63	抗CD22 HC-CDR2	ISGSGGST
64	抗CD22 HC-CDR3	ARYGSAAWMDS
65	抗CD22抗體之IgV_H域	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDTSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGSAAWMDSWGQGTLVTVSS
66	抗CD22 LC-CDR1	HDIRNY
67	抗CD22 LC-CDR2	AAS
68	抗CD22 LC-CDR3	QQYDGLPLT
69	抗CD22抗體之IgV_L域	DIQLTQSPSSLSTSVGDRVTITCQASHDIRNYLNWYQQKPGKAPNLLIYAASNLQTGVPSRFSGRGSGTDFTLTISSLQPEDIATYYCQQYDGLPLTFGQGTRLEIKR
70	抗CD22 scFv	DIQLTQSPSSLSTSVGDRVTITCQASHDIRNYLNWYQQKPGKAPNLLIYAASNLQTGVPSRFSGRGSGTDFTLTISSLQPEDIATYYCQQYDGLPLTFGQGTRLEIKRSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDTSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGSAAWMDSWGQGTLVTVSS
71	抗CD19 HC-	GYSFTSY

	CDR1	
72	抗CD19 HC-CDR2	IYPGDSDT
73	抗CD19 HC-CDR3	ARQVWGWQGGMYPRSNWWYNLDS
74	抗CD19抗體之IgV$_H$域	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTIADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQVWGWQGGMYPRSNWWYNLDSWGQGTLVTVSS
75	抗CD19 LC-CDR1	NIGSKS
76	抗CD19 LC-CDR2	DDS
77	抗CD19 LC-CDR3	QVWDSSSDYVV
78	抗CD19抗體之IgV$_L$域	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDYVVFGGGTKLTVL
79	抗CD19 scFv	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDYVVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQVWGWQGGMYPRSNWWYNLDSWGQGTLVTVSS
80	TCR δ域	EVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
81	TCR γ域	PIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS
82	連接子1	GGGGS
83	連接子2	GGGGSGGGGS
84	連接子3	GGGGSGGGGSGGGGS
85	連接子4	TPLGDTTH
86	C$_H$1、S64E S66V突變體	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYELVSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
87	κ C$_L$、S69L T71S突變體	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
88	抗CD19抗CD22 caTCR-7-1a鏈1	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDTSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGSAAWMDSWGQGTLVTVSSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQVWGWQGGMYPRSNWWYNLDSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
89	抗CD19抗CD22 caTCR-7-1a鏈2	DIQLTQSPSSLSTSVGDRVTITCQASHDIRNYLNWYQQKPGKAPNLLIYAASNLQTGVPSRFSGRGSGTDFTLTISSLQPEDIATYYCQQYDGLPLTFGQGTRLEIKRGGGGSLPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDYVVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS
90	抗CD19抗CD22 caTCR-7-2a鏈1	DIQLTQSPSSLSTSVGDRVTITCQASHDIRNYLNWYQQKPGKAPNLLIYAASNLQTGVPSRFSGRGSGTDFTLTISSLQPEDIATYYCQQYDGLPLTFGQGTRLEIKRGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQVWGWQGGMYPRSNWWYNLDSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL

91	抗CD19抗CD22 caTCR-7-2a鏈2	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDTSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGSAAWMDSWGQGTLVTVSSGGGGSLPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDYVVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS
92	抗CD19抗CD22 caTCR-7-3鏈1	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQVWGWQGGMYPRSNWWYNLDSWGQGTLVTVSSGGGGSQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDTSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGSAAWMDSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
93	抗CD19抗CD22 caTCR-7-3鏈2	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDYVVFGGGTKLTVLGGGGGSDIQLTQSPSSLSTSVGDRVTITCQASHDIRNYLNWYQQKPGKAPNLLIYAASNLQTGVPSRFSGRGSGTDFTLTISSLQPEDIATYYCQQYDGLPLTFGQGTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS
94	抗CD19抗CD22 caTCR-7-4鏈1	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQVWGWQGGMYPRSNWWYNLDSWGQGTLVTVSSGGGGSDIQLTQSPSSLSTSVGDRVTITCQASHDIRNYLNWYQQKPGKAPNLLIYAASNLQTGVPSRFSGRGSGTDFTLTISSLQPEDIATYYCQQYDGLPLTFGQGTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS
95	抗CD19抗CD22 caTCR-7-4鏈2	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDYVVFGGGTKLTVLGGGGGSQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDTSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGSAAWMDSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
96	抗CD19抗CD22 caTCR-7-1b鏈1	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDTSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGSAAWMDSWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQVWGWQGGMYPRSNWWYNLDSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
97	抗CD19抗CD22 caTCR-7-1b鏈2	DIQLTQSPSSLSTSVGDRVTITCQASHDIRNYLNWYQQKPGKAPNLLIYAASNLQTGVPSRFSGRGSGTDFTLTISSLQPEDIATYYCQQYDGLPLTFGQGTRLEIKRGGGGSGGGGSLPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDYVVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS
98	抗CD19抗CD22 caTCR-7-2b鏈1	DIQLTQSPSSLSTSVGDRVTITCQASHDIRNYLNWYQQKPGKAPNLLIYAASNLQTGVPSRFSGRGSGTDFTLTISSLQPEDIATYYCQQYDGLPLTFGQGTRLEIKRGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQVWGWQGGMYPRSNWWYNLDSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPS

		KSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
99	抗CD19抗CD22 caTCR-7-2b鏈2	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDTSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGSAAWMDSWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSLPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDYVVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS
100	抗CD19抗CD22 caTCR-7-1c鏈1	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDTSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGSAAWMDSWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQVWGWQGGMYPRSNWWYNLDSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
101	抗CD19抗CD22 caTCR-7-1c鏈2	DIQLTQSPSSLSTSVGDRVTITCQASHDIRNYLNWYQQKPGKAPNLLIYAASNLQTGVPSRFSGRGSGTDFTLTISSLQPEDIATYYCQQYDGLPLTFGQGTRLEIKRGGGGSGGGGSGGGGSLPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDYVVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS
102	抗CD19抗CD22 caTCR-7-2c鏈1	DIQLTQSPSSLSTSVGDRVTITCQASHDIRNYLNWYQQKPGKAPNLLIYAASNLQTGVPSRFSGRGSGTDFTLTISSLQPEDIATYYCQQYDGLPLTFGQGTRLEIKRGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQVWGWQGGMYPRSNWWYNLDSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
103	抗CD19抗CD22 caTCR-7-2c鏈2	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDTSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGSAAWMDSWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSLPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDYVVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS
104	抗CD19抗CD22 caTCR-8-1 鏈1	DIQLTQSPSSLSTSVGDRVTITCQASHDIRNYLNWYQQKPGKAPNLLIYAASNLQTGVPSRFSGRGSGTDFTLTISSLQPEDIATYYCQQYDGLPLTFGQGTRLEIKRSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDTSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGSAAWMDSWGQGTLVTVSSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQVWGWQGGMYPRSNWWYNLDSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
105	抗CD19 抗CD22 caTCR-8-1 鏈2	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDYVVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS
106	抗CD19抗CD22 caTCR-8-2 鏈1	DIQLTQSPSSLSTSVGDRVTITCQASHDIRNYLNWYQQKPGKAPNLLIYAASNLQTGVPSRFSGRGSGTDFTLTISSLQPEDIATYYCQQYDGLPLTFGQGTRLEIKRSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDTSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGSAAWMDSWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGII

		YPGDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQVWGWQGGMYPRSN WWYNLDSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVK TDSTDHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTAK LFFL
107	抗CD19抗 CD22 caTCR-8-2 鏈2	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVYDDSDRPSGIPERFSG SNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDYVVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSE ELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQ WKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYY MYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS
108	抗CD19抗 CD22 caTCR-9-1 鏈1	DIQLTQSPSSLSTSVGDRVTITCQASHDIRNYLNWYQQKPGKAPNLLIYAASNLQTGVPSRFS GRGSGTDFTLTISSLQPEDIATYYCQQYDGLPLTFGQGTRLEIKRSRGGGGSGGGGSGGGGSL EMAQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGGST YYADSVKGRFTISRDTSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGSAAWMDSWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVKTDST DHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
109	抗CD19抗 CD22 caTCR-9-1 鏈2	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVYDDSDRPSGIPERFSG SNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDYVVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGG GSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGD SDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQVWGWQGGMYPRSNWWY NLDSWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDF YPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGS TVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIIT CCLLRRTAFCCNGEKS
110	抗CD19抗 CD22 caTCR-9-2 鏈1	DIQLTQSPSSLSTSVGDRVTITCQASHDIRNYLNWYQQKPGKAPNLLIYAASNLQTGVPSRFS GRGSGTDFTLTISSLQPEDIATYYCQQYDGLPLTFGQGTRLEIKRSRGGGGSGGGGSGGGGSL EMAQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGGST YYADSVKGRFTISRDTSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGSAAWMDSWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYELVSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVKTDST DHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
111	抗CD19抗 CD22 caTCR-9-2 鏈2	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVYDDSDRPSGIPERFSG SNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDYVVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGG GSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGD SDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQVWGWQGGMYPRSNWWY NLDSWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGECPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAII TCCLLRRTAFCCNGEKS
112	抗CD19抗 CD22 caTCR-9-3 鏈1	DIQLTQSPSSLSTSVGDRVTITCQASHDIRNYLNWYQQKPGKAPNLLIYAASNLQTGVPSRFS GRGSGTDFTLTISSLQPEDIATYYCQQYDGLPLTFGQGTRLEIKRSRGGGGSGGGGSGGGGSL EMAQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGGST YYADSVKGRFTISRDTSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYGSAAWMDSWGQGTLVTVSS TPLGDTTHTSGASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVKTDSTDHVKP KETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
113	抗CD19 抗 CD22 caTCR-9-3 鏈2	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVYDDSDRPSGIPERFSG SNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDYVVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGG GSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGD SDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQVWGWQGGMYPRSNWWY NLDSWGQGTLVTVSSTPLGDTTHTSGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAV TVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKT VAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLR RTAFCCNGEKS
114	6NFAT反應元	GGAGGAAAAACTGTTTCATACAGAAGGCGTGGAGGAAAAACTGTTTCATACAGAAGGCG

	件	TGGAGGAAAAACTGTTTCATACAGAAGGCGTGGAGGAAAAACTGTTTCATACAGAAGGCGTGGAGGAAAAACTGTTTCATACAGAAGGCGTGGAGGAAAAACTGTTTCATACAGAAGGCGT
115	TA啟動子	GCCGCCCCGACTGCATCTGCGTGTTCCAATTCGCCAATGACAAGACGCTGGGCGGGGTTTGTGTCATCATAGAACTAAAGACATGCAAATATATTTCTTCCGGGGACACCGCCAGCAAACGCGAGCAACGGGCCACGGGGATGAAGCAG
116	NFAT衍生啟動子	GGAGGAAAAACTGTTTCATACAGAAGGCGTGGAGGAAAAACTGTTTCATACAGAAGGCGTGGAGGAAAAACTGTTTCATACAGAAGGCGTGGAGGAAAAACTGTTTCATACAGAAGGCGTGGAGGAAAAACTGTTTCATACAGAAGGCGTCTCGAGGCCGCCCCGACTGCATCTGCGTGTTCCAATTCGCCAATGACAAGACGCTGGGCGGGGTTTGTGTCATCATAGAACTAAAGACATGCAAATATATTTCTTCCGGGGACACCGCCAGCAAACGCGAGCAACGGGCCACGGGGATGAAGCAG
117	抗GPC3 #37 scFv	QSVLTQPPSVSAAPGQRVTISCSGTRSNIGSDYVSWYQHLPGTAPKLLVYGDNLRPSGIPDRFSASKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDYTLNGVVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGSSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTSYLNHGDYWGQGTLVTVSS
118	CD28協同刺激片段1	IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLFPGPSKPFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS
119	4-1BB協同刺激片段1	PADLSPGASSVTPPAPAREPGHSPQIISFFLALTSTALLFLLFFLTLRFSVVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL
120	OX40協同刺激片段1	DPPATQPQETQGPPARPITVQPTEAWPRTSQGPSTRPVEVPGGRAVAAILGLGLVLGLLGPLAILLALYLLRRDQRLPPDAHKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI
121	CD8 TM片段	TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC
122	CD27協同刺激片段1	PTHLPYVSEMLEARTAGHMQTLADFRQLPARTLSTHWPPQRSLCSSDFIRILVIFSGMFLVFTLAGALFLHQRRKYRSNKGESPVEPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP
123	CD27協同刺激片段2	QRRKYRSNKGESPVEPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP
124	CD30協同刺激片段1	APPLGTQPDCNPTPENGEAPASTSPTQSLLVDSQASKTLPIPTSAPVALSSTGKPVLDAGPVLFWVILVLVVVVGSSAFLLCHRRACRKRIRQKLHLCYPVQTSQPKLELVDSRPRRSSTQLRSGASVTEPVAEERGLMSQPLMETCHSVGAAYLESLPLQDASPAGGPSSPRDLPEPRVSTEHTNNKIEKIYIMKADTVIVGTVKAELPEGRGLAGPAEPELEEELEADHTPHYPEQETEPPLGSCSDVMLSVEEEGKEDPLPTAASGK
125	CD30協同刺激片段2	HRRACRKRIRQKLHLCYPVQTSQPKLELVDSRPRRSSTQLRSGASVTEPVAEERGLMSQPLMETCHSVGAAYLESLPLQDASPAGGPSSPRDLPEPRVSTEHTNNKIEKIYIMKADTVIVGTVKAELPEGRGLAGPAEPELEEELEADHTPHYPEQETEPPLGSCSDVMLSVEEEGKEDPLPTAASGK
126	CSR1	AAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLFPGPSKPFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS
127	抗CD19 CSR	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDYVVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQVWGWQGGMYPRSNWWYNLDSWGQGTLVTVSSAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLFPGPSKPFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS
128	抗GPC3 CSR	QSVLTQPPSVSAAPGQRVTISCSGTRSNIGSDYVSWYQHLPGTAPKLLVYGDNLRPSGIPDRFSASKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDYTLNGVVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGSSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTSYLNHGDYWGQGTLVTVSSAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLFPGPSKPFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS
129	GPC3-37/CD3 BsAb	QSVLTQPPSVSAAPGQRVTISCSGTRSNIGSDYVSWYQHLPGTAPKLLVYGDNLRPSGIPDRFSASKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDYTLNGVVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVIYSG

		GSSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTSYLNHGDYWGQGTLVT VSSTSGGGGSDVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGQGLEWIGYI NPSRGYTNYADSVKGRFTITTDKSTSTAYMELSSLRSEDTATYYCARYYDDHYCLDYWGQG TTVTVSSGEGTSTGSGGSGGSGGADDIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYMNWYQQ KPGKAPKRWIYDTSKVASGVPARFSGSGSGTDYSLTINSLEAEDAATYYCQQWSSNPLTFGG GTKVEIK

【序列表】

<110> 美商優瑞科生物技術公司(Eureka Therapeutics, Inc.)

<120> 嵌合抗體/ T-細胞受體構築體及其用途

<130> 75004-20006.40

<140> 107114322
<141> 2018-04-26

<150> US 62/490,580
<151> 2017-04-26

<150> US 62/490,578
<151> 2017-04-26

<150> US 62/490,576
<151> 2017-04-26

<160> 129

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1
<211> 142
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 1
Pro Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser
1 5 10 15
Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln
20 25 30
Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys
35 40 45
Thr Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val
50 55 60
Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn
65 70 75 80
Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys
85 90 95
Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn
100 105 110
Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val
115 120 125

Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
130 135 140

<210> 2
<211> 177
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 2
Glu Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro
1 5 10 15
Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu
20 25 30
Ala Thr Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn
35 40 45
Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys
50 55 60
Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu
65 70 75 80
Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys
85 90 95
Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp
100 105 110
Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg
115 120 125
Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser
130 135 140
Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala
145 150 155 160
Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp
165 170 175
Phe

<210> 3
<211> 153
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 3
Ser Gln Pro His Thr Lys Pro Ser Val Phe Val Met Lys Asn Gly Thr
1 5 10 15

Asn Val Ala Cys Leu Val Lys Glu Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Arg Ile
20 25 30
Asn Leu Val Ser Ser Lys Lys Ile Thr Glu Phe Asp Pro Ala Ile Val
35 40 45
Ile Ser Pro Ser Gly Lys Tyr Asn Ala Val Lys Leu Gly Lys Tyr Glu
50 55 60
Asp Ser Asn Ser Val Thr Cys Ser Val Gln His Asp Asn Lys Thr Val
65 70 75 80
His Ser Thr Asp Phe Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr Asp His Val Lys
85 90 95
Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys
100 105 110
Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr
115 120 125
Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe
130 135 140
Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
145 150

<210> 4
<211> 173
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 4
Asp Lys Gln Leu Asp Ala Asp Val Ser Pro Lys Pro Thr Ile Phe Leu
1 5 10 15
Pro Ser Ile Ala Glu Thr Lys Leu Gln Lys Ala Gly Thr Tyr Leu Cys
20 25 30
Leu Leu Glu Lys Phe Phe Pro Asp Val Ile Lys Ile His Trp Gln Glu
35 40 45
Lys Lys Ser Asn Thr Ile Leu Gly Ser Gln Glu Gly Asn Thr Met Lys
50 55 60
Thr Asn Asp Thr Tyr Met Lys Phe Ser Trp Leu Thr Val Pro Glu Lys
65 70 75 80
Ser Leu Asp Lys Glu His Arg Cys Ile Val Arg His Glu Asn Asn Lys
85 90 95
Asn Gly Val Asp Gln Glu Ile Ile Phe Pro Pro Ile Lys Thr Asp Val
100 105 110
Ile Thr Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr
115 120 125
Leu Leu Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu
130 135 140
Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu
145 150 155 160
Leu Arg Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser

165 170

<210> 5
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 5
Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg
1 5 10 15
Leu Trp Ser Ser
20

<210> 6
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 6
Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val
1 5 10 15
Leu Val Ser Ala Leu Val Leu
20

<210> 7
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 7
Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe
1 5 10 15
Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
20 25

<210> 8
<211> 23

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 8
Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala
1 5 10 15
Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu
20

<210> 9
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 9
Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe
1 5 10 15
Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Ser Leu
20 25

<210> 10
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 10
Val Leu Gly Leu Arg Val Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe
1 5 10 15
Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
20 25

<210> 11
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 11
Val Leu Gly Cys Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe
1 5 10 15
Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
20 25

<210> 12
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 12
Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Phe Ala Val Ser Phe
1 5 10 15
Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
20 25

<210> 13
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 13
Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe
1 5 10 15
Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Ser
20 25

<210> 14
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 14
Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val Tyr Tyr Phe Ala
1 5 10 15
Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe

20 25

<210> 15
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 15
Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala
1 5 10 15
Ile Ile Thr Cys Gly Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe
20 25

<210> 16
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 16
Tyr Leu Val Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Val
1 5 10 15
Ile Val Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe
20 25

<210> 17
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 17
Tyr Leu Met Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala
1 5 10 15
Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe
20 25

<210> 18
<211> 28

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 18
Tyr Tyr Val Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala
1 5 10 15
Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe
20 25

<210> 19
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 19
Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Val
1 5 10 15
Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe
20 25

<210> 20
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 20
Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala
1 5 10 15
Ile Val Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe
20 25

<210> 21
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 21
Tyr Tyr Ile Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala
1 5 10 15
Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe
20 25

<210> 22
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 22
Tyr Ile Ile Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ile
1 5 10 15
Ile Leu Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe
20 25

<210> 23
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 23
Tyr Tyr Met Tyr Cys Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala
1 5 10 15
Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe
20 25

<210> 24
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 24
Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Phe Leu Lys Ser Phe Val Tyr Ser Ala
1 5 10 15
Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe

20 25

<210> 25
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 25
Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala
1 5 10 15
Ile Ile Thr Met Cys Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe
20 25

<210> 26
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 26
Gln Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala
1 5 10 15
Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe
20 25

<210> 27
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 27
Glu Ser Ser Cys Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp
1 5 10 15
Thr Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg
20 25 30

<210> 28
<211> 40

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 28
Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val
1 5 10 15
Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln
20 25 30
Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg
35 40

<210> 29
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 29
Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser
1 5 10 15
Ala

<210> 30
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 30
Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val
1 5 10 15
Leu Ser Ala

<210> 31
<211> 41
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 31
Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys
1 5 10 15
Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met
20 25 30
Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg
35 40

<210> 32
<211> 48
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 32
Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu
1 5 10 15
Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val
20 25 30
His Thr Glu Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg
35 40 45

<210> 33
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 33
Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu
1 5 10 15
Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala
20

<210> 34
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 34
Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser
1 5 10 15
Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala
20 25 30

<210> 35
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 35
Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Phe
1 5

<210> 36
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 36
Arg Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
1 5 10

<210> 37
<211> 103
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 37
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

<210> 38
<211> 101
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 38
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys
100

<210> 39
<211> 102
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 39
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

<210> 40
<211> 103
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 40
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys
100

<210> 41
<211> 103
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 41
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

<210> 42
<211> 103
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 42
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
100

<210> 43
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 43
Ala Ser Pro Thr Ser Pro Lys Val Phe Pro Leu Ser Leu Cys Ser Thr
1 5 10 15
Gln Pro Asp Gly Asn Val Val Ile Ala Cys Leu Val Gln Gly Phe Phe
20 25 30
Pro Gln Glu Pro Leu Ser Val Thr Trp Ser Glu Ser Gly Gln Gly Val
35 40 45

Thr Ala Arg Asn Phe Pro Pro Ser Gln Asp Ala Ser Gly Asp Leu Tyr
50 55 60
Thr Thr Ser Ser Gln Leu Thr Leu Pro Ala Thr Gln Cys Leu Ala Gly
65 70 75 80
Lys Ser Val Thr Cys His Val Lys His Tyr Thr Asn Pro Ser Gln Asp
85 90 95
Val Thr Val Pro Cys Pro Val Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro
100 105 110
Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro Ser
115 120

<210> 44
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 44
Ala Ser Pro Thr Ser Pro Lys Val Phe Pro Leu Ser Leu Asp Ser Thr
1 5 10 15
Pro Gln Asp Gly Asn Val Val Val Ala Cys Leu Val Gln Gly Phe Phe
20 25 30
Pro Gln Glu Pro Leu Ser Val Thr Trp Ser Glu Ser Gly Gln Asn Val
35 40 45
Thr Ala Arg Asn Phe Pro Pro Ser Gln Asp Ala Ser Gly Asp Leu Tyr
50 55 60
Thr Thr Ser Ser Gln Leu Thr Leu Pro Ala Thr Gln Cys Pro Asp Gly
65 70 75 80
Lys Ser Val Thr Cys His Val Lys His Tyr Thr Asn Pro Ser Gln Asp
85 90 95
Val Thr Val Pro Cys Pro Val Pro Pro Pro Pro Pro
100 105

<210> 45
<211> 159
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 45
Ala Pro Thr Lys Ala Pro Asp Val Phe Pro Ile Ile Ser Gly Cys Arg
1 5 10 15
His Pro Lys Asp Asn Ser Pro Val Val Leu Ala Cys Leu Ile Thr Gly
20 25 30

Tyr His Pro Thr Ser Val Thr Val Thr Trp Tyr Met Gly Thr Gln Ser
35 40 45
Gln Pro Gln Arg Thr Phe Pro Glu Ile Gln Arg Arg Asp Ser Tyr Tyr
50 55 60
Met Thr Ser Ser Gln Leu Ser Thr Pro Leu Gln Gln Trp Arg Gln Gly
65 70 75 80
Glu Tyr Lys Cys Val Val Gln His Thr Ala Ser Lys Ser Lys Lys Glu
85 90 95
Ile Phe Arg Trp Pro Glu Ser Pro Lys Ala Gln Ala Ser Ser Val Pro
100 105 110
Thr Ala Gln Pro Gln Ala Glu Gly Ser Leu Ala Lys Ala Thr Thr Ala
115 120 125
Pro Ala Thr Thr Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys
130 135 140
Glu Lys Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro
145 150 155

<210> 46
<211> 103
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 46
Ala Ser Thr Gln Ser Pro Ser Val Phe Pro Leu Thr Arg Cys Cys Lys
1 5 10 15
Asn Ile Pro Ser Asn Ala Thr Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Ala Thr
20 25 30
Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Met Val Thr Trp Asp Thr Gly Ser Leu
35 40 45
Asn Gly Thr Thr Met Thr Leu Pro Ala Thr Thr Leu Thr Leu Ser Gly
50 55 60
His Tyr Ala Thr Ile Ser Leu Leu Thr Val Ser Gly Ala Trp Ala Lys
65 70 75 80
Gln Met Phe Thr Cys Arg Val Ala His Thr Pro Ser Ser Thr Asp Trp
85 90 95
Val Asp Asn Lys Thr Phe Ser
100

<210> 47
<211> 104
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 47
Gly Ser Ala Ser Ala Pro Thr Leu Phe Pro Leu Val Ser Cys Glu Asn
1 5 10 15
Ser Pro Ser Asp Thr Ser Ser Val Ala Val Gly Cys Leu Ala Gln Asp
20 25 30
Phe Leu Pro Asp Ser Ile Thr Leu Ser Trp Lys Tyr Lys Asn Asn Ser
35 40 45
Asp Ile Ser Ser Thr Arg Gly Phe Pro Ser Val Leu Arg Gly Gly Lys
50 55 60
Tyr Ala Ala Thr Ser Gln Val Leu Leu Pro Ser Lys Asp Val Met Gln
65 70 75 80
Gly Thr Asp Glu His Val Val Cys Lys Val Gln His Pro Asn Gly Asn
85 90 95
Lys Glu Lys Asn Val Pro Leu Pro
100

<210> 48
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 48
Gly Gln Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15
Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30
Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro
35 40 45
Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60
Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80
Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95
Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 49
<211> 41
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 49
Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr
1 5 10 15
Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro
20 25 30
Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
35 40

<210> 50
<211> 42
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 50
Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
1 5 10 15
Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
20 25 30
Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
35 40

<210> 51
<211> 42
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 51
Ala Leu Tyr Leu Leu Arg Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala His
1 5 10 15
Lys Pro Pro Gly Gly Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln
20 25 30
Ala Asp Ala His Ser Thr Leu Ala Lys Ile
35 40

<210> 52
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 52
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Pro Asn Tyr
20 25 30
Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Met Ser Gly Gly Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Phe
50 55 60
Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ile Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu His Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Leu Val Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 53
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 53
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30
Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Met Ile Tyr Asp Val Asn Asn Arg Pro Ser Glu Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Gly
85 90 95
Ser Arg Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 54
<211> 130
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 54
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn
100 105 110
Trp Trp Tyr Asn Leu Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
115 120 125
Ser Ser
130

<210> 55
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 55
Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
1 5 10 15
Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45
Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr
85 90 95
Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105

<210> 56
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 56
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Asn Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln 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 Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Ser Thr Tyr Tyr Gly Gly Asp Trp Tyr Phe Asn Val Trp Gly
100 105 110
Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 57
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 57
Gln Ile Val Leu Ser Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Ile
20 25 30
His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Tyr
35 40 45
Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Val Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu
65 70 75 80
Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Thr Ser Asn Pro Pro Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 58
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 58
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Thr Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asp
20 25 30
Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Val Tyr Gly Asp Asn Leu Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80
Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Tyr Thr Leu
85 90 95
Asn Gly Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 59
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 59
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Thr Ser Tyr Leu Asn His Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 60
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 60
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Tyr Val Phe Trp Val Arg Gln Ala Arg Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Ile Asn Pro Val Asn Gly Asp Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Asn Arg Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Gly Tyr Thr Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 61
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 61
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30
Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
35 40 45
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Tyr Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Asn
85 90 95
Thr His Val Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110
Arg

<210> 62
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 62
Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala
1 5

<210> 63
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 63
Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr
1 5

<210> 64
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 64
Ala Arg Tyr Gly Ser Ala Ala Trp Met Asp Ser
1 5 10

<210> 65
<211> 118
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 65
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Tyr Gly Ser Ala Ala Trp Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 66
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 66
His Asp Ile Arg Asn Tyr
1 5

<210> 67
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 67
Ala Ala Ser
1

<210> 68
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 68
Gln Gln Tyr Asp Gly Leu Pro Leu Thr
1 5

<210> 69
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 69
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser His Asp Ile Arg Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Arg Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Gly Leu Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 70
<211> 247
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 70
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser His Asp Ile Arg Asn Tyr

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

<210> 71
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 71
Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
1 5

<210> 72
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 72
Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr
1 5

<210> 73
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 73
Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn
1 5 10 15
Trp Trp Tyr Asn Leu Asp Ser
20

<210> 74
<211> 129
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 74
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn Trp
100 105 110
Trp Tyr Asn Leu Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
115 120 125
Ser

<210> 75
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 75
Asn Ile Gly Ser Lys Ser
1 5

<210> 76
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 76
Asp Asp Ser
1

<210> 77
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 77
Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr Val Val
1 5 10

<210> 78
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 78
Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys

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

<210> 79
<211> 260
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 79
Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
1 5 10 15
Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45
Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr
85 90 95
Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly
100 105 110
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu
115 120 125
Met Ala Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro
130 135 140
Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr
145 150 155 160
Ser Tyr Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu
165 170 175
Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro
180 185 190
Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr
195 200 205

Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr
210 215 220
Tyr Cys Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg
225 230 235 240
Ser Asn Trp Trp Tyr Asn Leu Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
245 250 255
Thr Val Ser Ser
260

<210> 80
<211> 68
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 80
Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu
1 5 10 15
Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val
20 25 30
His Thr Glu Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg
35 40 45
Met Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys
50 55 60
Leu Phe Phe Leu
65

<210> 81
<211> 67
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 81
Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser
1 5 10 15
Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala
20 25 30
Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala
35 40 45
Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly
50 55 60
Glu Lys Ser
65

<210> 82
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 82
Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 83
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 83
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 84
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 84
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 85
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 85

Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His
1 5

<210> 86
<211> 103
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 86
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Glu
50 55 60
Leu Val Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
100

<210> 87
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 87
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60
Tyr Ser Leu Leu Ser Ser Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 88
<211> 424
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 88
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Tyr Gly Ser Ala Ala Trp Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val
115 120 125
Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser
130 135 140
Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Gly Trp Val
145 150 155 160
Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro
165 170 175
Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr
180 185 190
Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser
195 200 205
Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Val Trp
210 215 220
Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn Trp Trp Tyr Asn Leu
225 230 235 240
Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
245 250 255
Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
260 265 270
Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
275 280 285
Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His

290 295 300
Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
305 310 315 320
Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
325 330 335
Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu
340 345 350
Pro Lys Ser Cys Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr Asp His Val Lys Pro
355 360 365
Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys Pro
370 375 380
Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr Val
385 390 395 400
Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe Leu
405 410 415
Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
420

<210> 89
<211> 394
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 89
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser His Asp Ile Arg Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Arg Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Gly Leu Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly Gly
100 105 110
Ser Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly
115 120 125
Lys Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser
130 135 140
Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val
145 150 155 160
Tyr Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly
165 170 175

Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala
180 185 190
Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp
195 200 205
Tyr Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
210 215 220
Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
225 230 235 240
Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
245 250 255
Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys Ala
260 265 270
Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
275 280 285
Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
290 295 300
Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
305 310 315 320
Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr Met
325 330 335
Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu Leu
340 345 350
Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Leu
355 360 365
Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg
370 375 380
Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
385 390

<210> 90
<211> 414
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 90
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser His Asp Ile Arg Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Arg Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Gly Leu Pro Leu

85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly Gly
100 105 110
Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly
115 120 125
Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser
130 135 140
Tyr Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
145 150 155 160
Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser
165 170 175
Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala
180 185 190
Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr
195 200 205
Cys Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser
210 215 220
Asn Trp Trp Tyr Asn Leu Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
225 230 235 240
Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
245 250 255
Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
260 265 270
Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
275 280 285
Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
290 295 300
Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
305 310 315 320
Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
325 330 335
Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Glu Val Lys Thr Asp Ser
340 345 350
Thr Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser
355 360 365
Lys Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn
370 375 380
Met Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr
385 390 395 400
Val Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
405 410

<210> 91
<211> 404
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 91
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Tyr Gly Ser Ala Ala Trp Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Pro Val Leu Thr
115 120 125
Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys Thr Ala Arg Ile Thr
130 135 140
Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val His Trp Tyr Gln Gln
145 150 155 160
Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr Asp Asp Ser Asp Arg
165 170 175
Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr
180 185 190
Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr
195 200 205
Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr Val Val Phe Gly Gly
210 215 220
Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val
225 230 235 240
Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr
245 250 255
Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala
260 265 270
Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys
275 280 285
Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser
290 295 300
Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val
305 310 315 320
Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys
325 330 335
Ser Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys
340 345 350
Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser
355 360 365
Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe
370 375 380

Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn
385 390 395 400
Gly Glu Lys Ser

<210> 92
<211> 424
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 92
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn
100 105 110
Trp Trp Tyr Asn Leu Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
115 120 125
Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
130 135 140
Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
145 150 155 160
Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro
165 170 175
Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser
180 185 190
Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
195 200 205
Thr Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu
210 215 220
Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Gly Ser Ala Ala Trp Met
225 230 235 240
Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
245 250 255
Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
260 265 270
Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu

275 280 285
Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
290 295 300
Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
305 310 315 320
Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
325 330 335
Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu
340 345 350
Pro Lys Ser Cys Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr Asp His Val Lys Pro
355 360 365
Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys Pro
370 375 380
Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr Val
385 390 395 400
Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe Leu
405 410 415
Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
420

<210> 93
<211> 395
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 93
Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
1 5 10 15
Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45
Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr
85 90 95
Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly
100 105 110
Gly Ser Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Thr Ser
115 120 125
Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser His Asp Ile Arg
130 135 140
Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu
145 150 155 160

Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe
165 170 175
Ser Gly Arg Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
180 185 190
Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Gly Leu
195 200 205
Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val
210 215 220
Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys
225 230 235 240
Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg
245 250 255
Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn
260 265 270
Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser
275 280 285
Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
290 295 300
Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
305 310 315 320
Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr
325 330 335
Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu
340 345 350
Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu
355 360 365
Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg
370 375 380
Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
385 390 395

<210> 94
<211> 416
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 94
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn
100 105 110
Trp Trp Tyr Asn Leu Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
115 120 125
Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser
130 135 140
Ser Leu Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala
145 150 155 160
Ser His Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
165 170 175
Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Thr Gly
180 185 190
Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Arg Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
195 200 205
Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
210 215 220
Gln Tyr Asp Gly Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu
225 230 235 240
Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser
245 250 255
Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn
260 265 270
Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala
275 280 285
Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys
290 295 300
Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp
305 310 315 320
Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu
325 330 335
Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Pro Ile Lys
340 345 350
Thr Asp Val Ile Thr Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala
355 360 365
Asn Asp Thr Leu Leu Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met
370 375 380
Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr
385 390 395 400
Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
405 410 415

<210> 95
<211> 403
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 95
Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
1 5 10 15
Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45
Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr
85 90 95
Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly
100 105 110
Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
115 120 125
Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
130 135 140
Asn Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
145 150 155 160
Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp
165 170 175
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Thr
180 185 190
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
195 200 205
Tyr Cys Ala Arg Tyr Gly Ser Ala Ala Trp Met Asp Ser Trp Gly Gln
210 215 220
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
225 230 235 240
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
245 250 255
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
260 265 270
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
275 280 285
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
290 295 300
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
305 310 315 320
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Glu
325 330 335
Val Lys Thr Asp Ser Thr Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn
340 345 350
Thr Lys Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His
355 360 365

Thr Glu Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg Met
370 375 380
Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu
385 390 395 400
Phe Phe Leu

<210> 96
<211> 429
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 96
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Tyr Gly Ser Ala Ala Trp Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
130 135 140
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
145 150 155 160
Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
165 170 175
Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
180 185 190
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
195 200 205
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
210 215 220
Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn
225 230 235 240
Trp Trp Tyr Asn Leu Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
245 250 255
Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser

260 265 270
Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
275 280 285
Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
290 295 300
Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
305 310 315 320
Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
325 330 335
Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
340 345 350
Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr
355 360 365
Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys
370 375 380
Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met
385 390 395 400
Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val
405 410 415
Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
420 425

<210> 97
<211> 399
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 97
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser His Asp Ile Arg Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Arg Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Gly Leu Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly Gly
100 105 110
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val
115 120 125
Ser Val Ala Pro Gly Lys Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn
130 135 140

Ile Gly Ser Lys Ser Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
145 150 155 160
Pro Val Leu Val Val Tyr Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro
165 170 175
Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile
180 185 190
Ser Arg Val Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp
195 200 205
Asp Ser Ser Ser Asp Tyr Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
210 215 220
Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro
225 230 235 240
Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile
245 250 255
Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly
260 265 270
Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser
275 280 285
Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln
290 295 300
Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser
305 310 315 320
Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser Pro Ile Lys Thr
325 330 335
Asp Val Ile Thr Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn
340 345 350
Asp Thr Leu Leu Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr
355 360 365
Leu Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys
370 375 380
Cys Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
385 390 395

<210> 98
<211> 419
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 98
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser His Asp Ile Arg Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60
Arg Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Gly Leu Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly Gly
100 105 110
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
115 120 125
Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly
130 135 140
Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly
145 150 155 160
Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr
165 170 175
Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys
180 185 190
Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp
195 200 205
Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly
210 215 220
Met Tyr Pro Arg Ser Asn Trp Trp Tyr Asn Leu Asp Ser Trp Gly Gln
225 230 235 240
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
245 250 255
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
260 265 270
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
275 280 285
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
290 295 300
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
305 310 315 320
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
325 330 335
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Glu
340 345 350
Val Lys Thr Asp Ser Thr Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn
355 360 365
Thr Lys Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His
370 375 380
Thr Glu Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg Met
385 390 395 400
Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu
405 410 415
Phe Phe Leu

<210> 99

<211> 409
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 99
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Tyr Gly Ser Ala Ala Trp Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125
Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
130 135 140
Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
145 150 155 160
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
165 170 175
Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
180 185 190
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
195 200 205
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr
210 215 220
Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
225 230 235 240
Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln
245 250 255
Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
260 265 270
Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys Ala Gly
275 280 285
Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
290 295 300
Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
305 310 315 320
Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val
325 330 335

Ala Pro Thr Glu Cys Ser Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr Met Asp
340 345 350
Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu Leu Gln
355 360 365
Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys
370 375 380
Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr
385 390 395 400
Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
405

<210> 100
<211> 434
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 100
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Tyr Gly Ser Ala Ala Trp Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
130 135 140
Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr
145 150 155 160
Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys
165 170 175
Gly Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg
180 185 190
Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser
195 200 205
Ile Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr
210 215 220
Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met

225 230 235 240
Tyr Pro Arg Ser Asn Trp Trp Tyr Asn Leu Asp Ser Trp Gly Gln Gly
245 250 255
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
260 265 270
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
275 280 285
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
290 295 300
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
305 310 315 320
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
325 330 335
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
340 345 350
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Glu Val
355 360 365
Lys Thr Asp Ser Thr Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr
370 375 380
Lys Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr
385 390 395 400
Glu Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg Met Leu
405 410 415
Phe Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe
420 425 430
Phe Leu

<210> 101
<211> 404
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 101
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser His Asp Ile Arg Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Arg Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Gly Leu Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly Gly
100 105 110
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Pro Val Leu Thr
115 120 125
Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys Thr Ala Arg Ile Thr
130 135 140
Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val His Trp Tyr Gln Gln
145 150 155 160
Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr Asp Asp Ser Asp Arg
165 170 175
Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr
180 185 190
Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr
195 200 205
Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr Val Val Phe Gly Gly
210 215 220
Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val
225 230 235 240
Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr
245 250 255
Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala
260 265 270
Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys
275 280 285
Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser
290 295 300
Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val
305 310 315 320
Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys
325 330 335
Ser Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys
340 345 350
Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser
355 360 365
Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe
370 375 380
Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn
385 390 395 400
Gly Glu Lys Ser

<210> 102
<211> 424
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 102
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser His Asp Ile Arg Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Arg Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Gly Leu Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Gly Gly Gly Gly
100 105 110
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val
115 120 125
Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser
130 135 140
Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Gly Trp Val
145 150 155 160
Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro
165 170 175
Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr
180 185 190
Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser
195 200 205
Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Val Trp
210 215 220
Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn Trp Trp Tyr Asn Leu
225 230 235 240
Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
245 250 255
Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
260 265 270
Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
275 280 285
Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
290 295 300
Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
305 310 315 320
Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
325 330 335
Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu
340 345 350
Pro Lys Ser Cys Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr Asp His Val Lys Pro
355 360 365
Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys Pro
370 375 380
Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr Val

385 390 395 400
Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe Leu
405 410 415
Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
420

<210> 103
<211> 414
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 103
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Tyr Gly Ser Ala Ala Trp Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser
130 135 140
Val Ala Pro Gly Lys Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile
145 150 155 160
Gly Ser Lys Ser Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
165 170 175
Val Leu Val Val Tyr Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu
180 185 190
Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser
195 200 205
Arg Val Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp
210 215 220
Ser Ser Ser Asp Tyr Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val
225 230 235 240
Leu Gly Gln Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser
245 250 255
Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser
260 265 270

Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser
275 280 285
Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn
290 295 300
Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp
305 310 315 320
Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr
325 330 335
Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser Pro Ile Lys Thr Asp
340 345 350
Val Ile Thr Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp
355 360 365
Thr Leu Leu Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu
370 375 380
Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys
385 390 395 400
Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
405 410

<210> 104
<211> 553
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 104
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser His Asp Ile Arg Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Arg Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Gly Leu Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Ser Arg Gly Gly
100 105 110
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Met
115 120 125
Ala Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
130 135 140
Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn
145 150 155 160
Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

165 170 175
Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
180 185 190
Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu
195 200 205
Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
210 215 220
Cys Ala Arg Tyr Gly Ser Ala Ala Trp Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly
225 230 235 240
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
245 250 255
Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile
260 265 270
Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Gly Trp
275 280 285
Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Tyr
290 295 300
Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val
305 310 315 320
Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser
325 330 335
Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Val
340 345 350
Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn Trp Trp Tyr Asn
355 360 365
Leu Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
370 375 380
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
385 390 395 400
Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
405 410 415
Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
420 425 430
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
435 440 445
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
450 455 460
Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val
465 470 475 480
Glu Pro Lys Ser Cys Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr Asp His Val Lys
485 490 495
Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys
500 505 510
Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr
515 520 525
Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe
530 535 540
Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
545 550

<210> 105
<211> 281
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 105
Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
1 5 10 15
Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45
Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr
85 90 95
Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
100 105 110
Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln
115 120 125
Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
130 135 140
Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys Ala Gly
145 150 155 160
Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
165 170 175
Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
180 185 190
Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val
195 200 205
Ala Pro Thr Glu Cys Ser Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr Met Asp
210 215 220
Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu Leu Gln
225 230 235 240
Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys
245 250 255
Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr
260 265 270
Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
275 280

<210> 106
<211> 558

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 106
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser His Asp Ile Arg Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Arg Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Gly Leu Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Ser Arg Gly Gly
100 105 110
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Met
115 120 125
Ala Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
130 135 140
Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn
145 150 155 160
Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
165 170 175
Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
180 185 190
Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu
195 200 205
Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
210 215 220
Cys Ala Arg Tyr Gly Ser Ala Ala Trp Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly
225 230 235 240
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
245 250 255
Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly
260 265 270
Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser
275 280 285
Tyr Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
290 295 300
Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser
305 310 315 320
Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala
325 330 335
Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr

340 345 350
Cys Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser
355 360 365
Asn Trp Trp Tyr Asn Leu Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
370 375 380
Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
385 390 395 400
Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
405 410 415
Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
420 425 430
Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
435 440 445
Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
450 455 460
Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
465 470 475 480
Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Glu Val Lys Thr Asp Ser
485 490 495
Thr Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser
500 505 510
Lys Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn
515 520 525
Met Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr
530 535 540
Val Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
545 550 555

<210> 107
<211> 281
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 107
Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
1 5 10 15
Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45
Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr
85 90 95

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
100 105 110
Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln
115 120 125
Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
130 135 140
Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys Ala Gly
145 150 155 160
Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
165 170 175
Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
180 185 190
Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val
195 200 205
Ala Pro Thr Glu Cys Ser Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr Met Asp
210 215 220
Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu Leu Gln
225 230 235 240
Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys
245 250 255
Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr
260 265 270
Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
275 280

<210> 108
<211> 433
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 108
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser His Asp Ile Arg Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Arg Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Gly Leu Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Ser Arg Gly Gly
100 105 110
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Met

115 120 125
Ala Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
130 135 140
Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn
145 150 155 160
Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
165 170 175
Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
180 185 190
Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu
195 200 205
Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
210 215 220
Cys Ala Arg Tyr Gly Ser Ala Ala Trp Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly
225 230 235 240
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
245 250 255
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
260 265 270
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
275 280 285
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
290 295 300
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
305 310 315 320
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
325 330 335
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
340 345 350
Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Glu Val Lys
355 360 365
Thr Asp Ser Thr Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys
370 375 380
Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu
385 390 395 400
Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe
405 410 415
Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe
420 425 430
Leu

<210> 109
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 109
Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
1 5 10 15
Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45
Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr
85 90 95
Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly
100 105 110
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu
115 120 125
Met Ala Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro
130 135 140
Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr
145 150 155 160
Ser Tyr Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu
165 170 175
Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro
180 185 190
Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr
195 200 205
Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr
210 215 220
Tyr Cys Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg
225 230 235 240
Ser Asn Trp Trp Tyr Asn Leu Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
245 250 255
Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
260 265 270
Gly Gly Ser Gln Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro
275 280 285
Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile
290 295 300
Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly
305 310 315 320
Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser
325 330 335
Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln
340 345 350
Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser
355 360 365
Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser Pro Ile Lys Thr
370 375 380

Asp Val Ile Thr Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn
385 390 395 400
Asp Thr Leu Leu Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr
405 410 415
Leu Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys
420 425 430
Cys Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
435 440 445

<210> 110
<211> 433
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 110
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser His Asp Ile Arg Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Arg Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Gly Leu Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Ser Arg Gly Gly
100 105 110
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Met
115 120 125
Ala Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
130 135 140
Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn
145 150 155 160
Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
165 170 175
Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
180 185 190
Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu
195 200 205
Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
210 215 220
Cys Ala Arg Tyr Gly Ser Ala Ala Trp Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly
225 230 235 240
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

245 250 255
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
260 265 270
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
275 280 285
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
290 295 300
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
305 310 315 320
Ser Ser Gly Leu Tyr Glu Leu Val Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
325 330 335
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
340 345 350
Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Glu Val Lys
355 360 365
Thr Asp Ser Thr Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys
370 375 380
Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu
385 390 395 400
Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe
405 410 415
Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe
420 425 430
Leu

<210> 111
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 111
Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
1 5 10 15
Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45
Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr
85 90 95
Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu
115 120 125
Met Ala Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro
130 135 140
Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr
145 150 155 160
Ser Tyr Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu
165 170 175
Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro
180 185 190
Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr
195 200 205
Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr
210 215 220
Tyr Cys Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg
225 230 235 240
Ser Asn Trp Trp Tyr Asn Leu Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
245 250 255
Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
260 265 270
Gly Gly Ser Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser
275 280 285
Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn
290 295 300
Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala
305 310 315 320
Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys
325 330 335
Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Leu Ser Ser Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp
340 345 350
Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu
355 360 365
Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Pro Ile Lys
370 375 380
Thr Asp Val Ile Thr Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala
385 390 395 400
Asn Asp Thr Leu Leu Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met
405 410 415
Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr
420 425 430
Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
435 440 445

<210> 112
<211> 429
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 112
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser His Asp Ile Arg Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Arg Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Gly Leu Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Ser Arg Gly Gly
100 105 110
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Met
115 120 125
Ala Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
130 135 140
Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn
145 150 155 160
Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
165 170 175
Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
180 185 190
Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Thr Leu
195 200 205
Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
210 215 220
Cys Ala Arg Tyr Gly Ser Ala Ala Trp Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly
225 230 235 240
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr
245 250 255
Ser Gly Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
260 265 270
Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
275 280 285
Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
290 295 300
Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
305 310 315 320
Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
325 330 335
Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
340 345 350
Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr
355 360 365
Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys

370 375 380
Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met
385 390 395 400
Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val
405 410 415
Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
420 425

<210> 113
<211> 443
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 113
Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
1 5 10 15
Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45
Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr
85 90 95
Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly
100 105 110
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu
115 120 125
Met Ala Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro
130 135 140
Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr
145 150 155 160
Ser Tyr Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu
165 170 175
Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro
180 185 190
Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr
195 200 205
Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr
210 215 220
Tyr Cys Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg
225 230 235 240
Ser Asn Trp Trp Tyr Asn Leu Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
245 250 255

Thr Val Ser Ser Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Ser Gly Gln
260 265 270
Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
275 280 285
Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
290 295 300
Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys
305 310 315 320
Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
325 330 335
Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
340 345 350
Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
355 360 365
Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr
370 375 380
Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu
385 390 395 400
Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu
405 410 415
Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg
420 425 430
Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
435 440

<210> 114
<211> 180
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 114
ggaggaaaaa ctgtttcata cagaaggcgt ggaggaaaaa ctgtttcata cagaaggcgt 60
ggaggaaaaa ctgtttcata cagaaggcgt ggaggaaaaa ctgtttcata cagaaggcgt 120
ggaggaaaaa ctgtttcata cagaaggcgt ggaggaaaaa ctgtttcata cagaaggcgt 180

<210> 115
<211> 149
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 115
gccgccccga ctgcatctgc gtgttccaat tcgccaatga caagacgctg ggcggggttt 60

gtgtcatcat agaactaaag acatgcaaat atatttcttc cggggacacc gccagcaaac 120
gcgagcaacg ggccacgggg atgaagcag 149

<210> 116
<211> 335
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 116
ggaggaaaaa ctgtttcata cagaaggcgt ggaggaaaaa ctgtttcata cagaaggcgt 60
ggaggaaaaa ctgtttcata cagaaggcgt ggaggaaaaa ctgtttcata cagaaggcgt 120
ggaggaaaaa ctgtttcata cagaaggcgt ggaggaaaaa ctgtttcata cagaaggcgt 180
ctcgaggccg ccccgactgc atctgcgtgt tccaattcgc caatgacaag acgctgggcg 240
gggtttgtgt catcatagaa ctaaagacat gcaaatatat ttcttccggg gacaccgcca 300
gcaaacgcga gcaacgggcc acggggatga agcag 335

<210> 117
<211> 250
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 117
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Thr Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asp
20 25 30
Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Val Tyr Gly Asp Asn Leu Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80
Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Tyr Thr Leu
85 90 95
Asn Gly Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
100 105 110
Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125
Leu Glu Met Ala Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
130 135 140
Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
145 150 155 160
Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
165 170 175

Leu Glu Trp Val Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr
180 185 190
Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys
195 200 205
Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
210 215 220
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Ser Tyr Leu Asn His Gly Asp Tyr Trp
225 230 235 240
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 118
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 118
Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn
1 5 10 15
Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu
20 25 30
Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly
35 40 45
Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe
50 55 60
Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn
65 70 75 80
Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr
85 90 95
Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
100 105

<210> 119
<211> 94
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 119
Pro Ala Asp Leu Ser Pro Gly Ala Ser Ser Val Thr Pro Pro Ala Pro
1 5 10 15
Ala Arg Glu Pro Gly His Ser Pro Gln Ile Ile Ser Phe Phe Leu Ala
20 25 30

Leu Thr Ser Thr Ala Leu Leu Phe Leu Leu Phe Phe Leu Thr Leu Arg
35 40 45
Phe Ser Val Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
50 55 60
Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys
65 70 75 80
Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
85 90

<210> 120
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 120
Asp Pro Pro Ala Thr Gln Pro Gln Glu Thr Gln Gly Pro Pro Ala Arg
1 5 10 15
Pro Ile Thr Val Gln Pro Thr Glu Ala Trp Pro Arg Thr Ser Gln Gly
20 25 30
Pro Ser Thr Arg Pro Val Glu Val Pro Gly Gly Arg Ala Val Ala Ala
35 40 45
Ile Leu Gly Leu Gly Leu Val Leu Gly Leu Leu Gly Pro Leu Ala Ile
50 55 60
Leu Leu Ala Leu Tyr Leu Leu Arg Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp
65 70 75 80
Ala His Lys Pro Pro Gly Gly Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu
85 90 95
Glu Gln Ala Asp Ala His Ser Thr Leu Ala Lys Ile
100 105

<210> 121
<211> 69
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 121
Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala
1 5 10 15
Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
20 25 30
Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile
35 40 45

Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val
50 55 60
Ile Thr Leu Tyr Cys
65

<210> 122
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 122
Pro Thr His Leu Pro Tyr Val Ser Glu Met Leu Glu Ala Arg Thr Ala
1 5 10 15
Gly His Met Gln Thr Leu Ala Asp Phe Arg Gln Leu Pro Ala Arg Thr
20 25 30
Leu Ser Thr His Trp Pro Pro Gln Arg Ser Leu Cys Ser Ser Asp Phe
35 40 45
Ile Arg Ile Leu Val Ile Phe Ser Gly Met Phe Leu Val Phe Thr Leu
50 55 60
Ala Gly Ala Leu Phe Leu His Gln Arg Arg Lys Tyr Arg Ser Asn Lys
65 70 75 80
Gly Glu Ser Pro Val Glu Pro Ala Glu Pro Cys Arg Tyr Ser Cys Pro
85 90 95
Arg Glu Glu Glu Gly Ser Thr Ile Pro Ile Gln Glu Asp Tyr Arg Lys
100 105 110
Pro Glu Pro Ala Cys Ser Pro
115

<210> 123
<211> 48
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 123
Gln Arg Arg Lys Tyr Arg Ser Asn Lys Gly Glu Ser Pro Val Glu Pro
1 5 10 15
Ala Glu Pro Cys Arg Tyr Ser Cys Pro Arg Glu Glu Glu Gly Ser Thr
20 25 30
Ile Pro Ile Gln Glu Asp Tyr Arg Lys Pro Glu Pro Ala Cys Ser Pro
35 40 45

<210> 124
<211> 270
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 124
Ala Pro Pro Leu Gly Thr Gln Pro Asp Cys Asn Pro Thr Pro Glu Asn
1 5 10 15
Gly Glu Ala Pro Ala Ser Thr Ser Pro Thr Gln Ser Leu Leu Val Asp
20 25 30
Ser Gln Ala Ser Lys Thr Leu Pro Ile Pro Thr Ser Ala Pro Val Ala
35 40 45
Leu Ser Ser Thr Gly Lys Pro Val Leu Asp Ala Gly Pro Val Leu Phe
50 55 60
Trp Val Ile Leu Val Leu Val Val Val Val Gly Ser Ser Ala Phe Leu
65 70 75 80
Leu Cys His Arg Arg Ala Cys Arg Lys Arg Ile Arg Gln Lys Leu His
85 90 95
Leu Cys Tyr Pro Val Gln Thr Ser Gln Pro Lys Leu Glu Leu Val Asp
100 105 110
Ser Arg Pro Arg Arg Ser Ser Thr Gln Leu Arg Ser Gly Ala Ser Val
115 120 125
Thr Glu Pro Val Ala Glu Glu Arg Gly Leu Met Ser Gln Pro Leu Met
130 135 140
Glu Thr Cys His Ser Val Gly Ala Ala Tyr Leu Glu Ser Leu Pro Leu
145 150 155 160
Gln Asp Ala Ser Pro Ala Gly Gly Pro Ser Ser Pro Arg Asp Leu Pro
165 170 175
Glu Pro Arg Val Ser Thr Glu His Thr Asn Asn Lys Ile Glu Lys Ile
180 185 190
Tyr Ile Met Lys Ala Asp Thr Val Ile Val Gly Thr Val Lys Ala Glu
195 200 205
Leu Pro Glu Gly Arg Gly Leu Ala Gly Pro Ala Glu Pro Glu Leu Glu
210 215 220
Glu Glu Leu Glu Ala Asp His Thr Pro His Tyr Pro Glu Gln Glu Thr
225 230 235 240
Glu Pro Pro Leu Gly Ser Cys Ser Asp Val Met Leu Ser Val Glu Glu
245 250 255
Glu Gly Lys Glu Asp Pro Leu Pro Thr Ala Ala Ser Gly Lys
260 265 270

<210> 125
<211> 188
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 125
His Arg Arg Ala Cys Arg Lys Arg Ile Arg Gln Lys Leu His Leu Cys
1 5 10 15
Tyr Pro Val Gln Thr Ser Gln Pro Lys Leu Glu Leu Val Asp Ser Arg
20 25 30
Pro Arg Arg Ser Ser Thr Gln Leu Arg Ser Gly Ala Ser Val Thr Glu
35 40 45
Pro Val Ala Glu Glu Arg Gly Leu Met Ser Gln Pro Leu Met Glu Thr
50 55 60
Cys His Ser Val Gly Ala Ala Tyr Leu Glu Ser Leu Pro Leu Gln Asp
65 70 75 80
Ala Ser Pro Ala Gly Gly Pro Ser Ser Pro Arg Asp Leu Pro Glu Pro
85 90 95
Arg Val Ser Thr Glu His Thr Asn Asn Lys Ile Glu Lys Ile Tyr Ile
100 105 110
Met Lys Ala Asp Thr Val Ile Val Gly Thr Val Lys Ala Glu Leu Pro
115 120 125
Glu Gly Arg Gly Leu Ala Gly Pro Ala Glu Pro Glu Leu Glu Glu Glu
130 135 140
Leu Glu Ala Asp His Thr Pro His Tyr Pro Glu Gln Glu Thr Glu Pro
145 150 155 160
Pro Leu Gly Ser Cys Ser Asp Val Met Leu Ser Val Glu Glu Glu Gly
165 170 175
Lys Glu Asp Pro Leu Pro Thr Ala Ala Ser Gly Lys
180 185

<210> 126
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 126
Ala Ala Ala Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu
1 5 10 15
Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro
20 25 30
Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val
35 40 45
Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe
50 55 60
Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp
65 70 75 80
Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr

85 90 95
Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
100 105 110

<210> 127
<211> 370
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 127
Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
1 5 10 15
Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45
Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr
85 90 95
Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly
100 105 110
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu
115 120 125
Met Ala Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro
130 135 140
Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr
145 150 155 160
Ser Tyr Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu
165 170 175
Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro
180 185 190
Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr
195 200 205
Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr
210 215 220
Tyr Cys Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg
225 230 235 240
Ser Asn Trp Trp Tyr Asn Leu Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
245 250 255
Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr
260 265 270
Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys
275 280 285

His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp
290 295 300
Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val
305 310 315 320
Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu
325 330 335
Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr
340 345 350
Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr
355 360 365
Arg Ser
370

<210> 128
<211> 360
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 128
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Thr Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asp
20 25 30
Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Val Tyr Gly Asp Asn Leu Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80
Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Tyr Thr Leu
85 90 95
Asn Gly Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
100 105 110
Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125
Leu Glu Met Ala Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
130 135 140
Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
145 150 155 160
Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
165 170 175
Leu Glu Trp Val Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr
180 185 190
Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys
195 200 205
Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala

210 215 220
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Ser Tyr Leu Asn His Gly Asp Tyr Trp
225 230 235 240
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala Ile Glu Val
245 250 255
Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile
260 265 270
Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly
275 280 285
Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala
290 295 300
Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg
305 310 315 320
Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro
325 330 335
Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro
340 345 350
Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
355 360

<210> 129
<211> 500
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 129
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Thr Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asp
20 25 30
Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Val Tyr Gly Asp Asn Leu Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80
Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Tyr Thr Leu
85 90 95
Asn Gly Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
100 105 110
Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125
Leu Glu Met Ala Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
130 135 140
Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
145 150 155 160

Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
165 170 175
Leu Glu Trp Val Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr
180 185 190
Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys
195 200 205
Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
210 215 220
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Ser Tyr Leu Asn His Gly Asp Tyr Trp
225 230 235 240
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Gly Gly Gly Gly
245 250 255
Ser Asp Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly
260 265 270
Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg
275 280 285
Tyr Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp
290 295 300
Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser
305 310 315 320
Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Thr Thr Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala
325 330 335
Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
340 345 350
Cys Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
355 360 365
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Glu Gly Thr Ser Thr Gly Ser
370 375 380
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ala Asp Asp Ile Val Leu Thr Gln
385 390 395 400
Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser
405 410 415
Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys
420 425 430
Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala
435 440 445
Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr
450 455 460
Ser Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr
465 470 475 480
Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
485 490 495
Val Glu Ile Lys
500

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種嵌合抗體-T細胞受體(TCR)構築體(caTCR)，其包含：

a) 多特異性抗原結合模組，其包含特異性結合至第一靶抗原之第一抗原結合域及特異性結合至第二靶抗原之第二抗原結合域；及

b) 穩定模組，其中該穩定模組包含第一穩定域及第二穩定域，其中該穩定模組係選自由以下組成之群：C_H1-C_L模組、C_H2-C_H2模組、C_H3-C_H3模組、C_H4-C_H4模組、Cα-Cβ模組及Cγ-Cδ模組；及

c) TCR模組(TCRM)，其中該TCRM包含第一TCR域(TCRD1)，其包含第一TCR跨膜域(TCR-TM)；及第二TCR域(TCRD2)其包含第二TCR-TM；其中該第一TCR-TM源自TCR之該等跨膜域中之一者，且該第二TCR-TM源自該TCR之該另一跨膜域；

其中該多特異性抗原結合模組的C端連接於該穩定模組的N端，且該穩定模組的C端連接於該TCRM的N端；

其中該TCRM有助於至少一種TCR相關信號傳導分子之募集，且其中該caTCR不包含功能性原代免疫細胞信號傳導序列(primary immune cell signaling sequence)。

【請求項2】

如請求項1之caTCR，其中：

(i) 該第一穩定域為C_H1且該第二穩定域為C_L，其中該C_H1連接於該TCRD1的N端，且該C_L連接於該TCRD2的N端；或

(ii) 該第二穩定域為C_H1且該第一穩定域為C_L，其中該C_H1連接於該TCRD2的N端，且該C_L連接於該TCRD1的N端。

【請求項3】

如請求項1之caTCR，其中該第一抗原結合域包含第一重鏈可變域(V_H1)及第一輕鏈可變域(V_L1)，其中該第二抗原結合域包含第二V_H(V_H2)及第二V_L(V_L2)；其中該caTCR包含：

(i) 第一多肽鏈，其自N端至C端包含：V_H1-L1-V_H2-C_H1-TCRD1；及第二多肽鏈，其自N端至C端包含：V_L1-L2-V_L2-C_L-TCRD2；

(ii) 第一多肽鏈，其自N端至C端包含：V_H1-L1-V_L2-C_L-TCRD1；及第二多肽鏈，其自N端至C端包含：V_L1-L2-V_H2-C_H1-TCRD2；

(iii) 第一多肽鏈，其自N端至C端包含：V_L1-L1-V_H2-C_H1-TCRD1；及第二多肽鏈，其自N端至C端包含：V_H1-L2-V_L2-C_L-TCRD2；

(iv) 第一多肽鏈，其自N端至C端包含：V_L1-L1-V_L2-C_L-TCRD1；及第二多肽鏈，其自N端至C端包含：V_H1-L2-V_H2-C_H1-TCRD2；

(v) 第一多肽鏈，其自N端至C端包含：V_H1-L1-V_H2-C_H1-TCRD1，及第二多肽鏈，其自N端至C端包含：V_L2-L2-V_L1-C_L-TCRD2；

(vi) 第一多肽鏈，其自N端至C端包含：V_L1-L1-V_L2-C_L-TCRD1，及第二多肽鏈，其自N端至C端包含：V_H2-L2-V_H1-C_H1-TCRD2；

(vii) 第一多肽鏈，其自N端至C端包含：V_H1-L1-V_H2-C_H1-TCRD2，及第二多肽鏈，其自N端至C端包含：V_L2-L2-V_L1-C_L-

TCRD1；或

(viii) 第一多肽鏈，其自N端至C端包含：V_L1-L1-V_L2-C_L-TCRD2，及第二多肽鏈，其自N端至C端包含：V_H2-L2-V_H1-C_H1-TCRD1；且

其中L1及L2為肽連接子。

【請求項4】

如請求項1之caTCR，其中該第一抗原結合域為第一scFv(scFv1)且該第二抗原結合域為第二scFv(scFv2)，其中該caTCR包含：

(i) 第一多肽鏈，其自N端至C端包含：scFv1-L1-C_H1-TCRD1，及第二多肽鏈，其自N端至C端包含：scFv2-L2-C_L-TCRD2；

(ii) 第一多肽鏈，其自N端至C端包含：scFv2-L1-C_H1-TCRD1，及第二多肽鏈，其自N端至C端包含：scFv1-L2-C_L-TCRD2；

(iii) 第一多肽鏈，其自N端至C端包含：scFv1-L1-C_L-TCRD1，及第二多肽鏈，其自N端至C端包含：scFv2-L2-C_H1-TCRD2；或

(iv) 第一多肽鏈，其自N端至C端包含：scFv2-L1-C_L-TCRD1，及第二多肽鏈，其自N端至C端包含：scFv1-L2-C_H1-TCRD2；且

其中L1及L2為肽連接子。

【請求項5】

如請求項1之caTCR，其中該第一抗原結合域為scFv且該第二抗原結合域包含V_H及V_L，其中該caTCR包含：

(i) 第一多肽鏈，其自N端至C端包含：scFv-L1-V_H-C_H1-TCRD1，及第二多肽鏈，其自N端至C端包含：V_L-C_L-TCRD2；

(ii) 第一多肽鏈，其自N端至C端包含：V_H-C_H1-TCRD1，及第二多肽鏈，其自N端至C端包含：scFv-L2-V_L-C_L-TCRD2；

(iii) 第一多肽鏈，其自N端至C端包含：V_H-C_H1-TCRD2，及第二多肽鏈，其自N端至C端包含：scFv-L2-V_L-C_L-TCRD1；或

(iv) 第一多肽鏈，其自N端至C端包含：scFv-L1-V_H-C_H1-TCRD2，及第二多肽鏈，其自N端至C端包含：V_L-C_L-TCRD1；且

其中L1及L2為肽連接子。

【請求項6】

如請求項1之caTCR，其中該第一靶抗原為第一細胞表面抗原，且該第二靶抗原為第二細胞表面抗原。

【請求項7】

如請求項6之caTCR，其中該第一靶抗原為CD19且該第二靶抗原為CD22，或者該第一靶抗原為CD22且該第二靶抗原為CD19。

【請求項8】

如請求項7之caTCR，其中:

(i) 特異性結合於CD22之該抗原結合域包含：V_H，其包含含有SEQ ID NO: 65之胺基酸序列之V_H的重鏈互補決定區(HC-CDR)1、HC-CDR2及HC-CDR3；及V_L，其包含含有SEQ ID NO: 69之胺基酸序列之V_L的輕鏈互補決定區(LC-CDR)1、LC-CDR2及LC-CDR3，及/或

(ii)特異性結合於CD19之該抗原結合域包含：V_H，其包含含有SEQ ID NO: 74之胺基酸序列之V_H的HC-CDR1、HC-CDR2及HC-CDR3；及V_L，其包含含有SEQ ID NO: 78之胺基酸序列之V_L的LC-CDR1、LC-CDR2及LC-CDR3。

【請求項9】

如請求項1之caTCR，其中：

(a) TCRD1進一步包含第一TCR次單元之第一連接肽或其片段；及/或TCRD2進一步包含第二TCR次單元之第二連接肽或其片段；及/或

(b) TCRD1進一步包含第一TCR胞內域，其含有第一TCR胞內序列；及/或TCRD2進一步包含第二TCR胞內域，其含有第二TCR胞內序列；及/或

(c) (i) 該第一TCR-TM源自TCRα且該第二TCR-TM源自TCRβ，或

(ii) 該第一TCR-TM源自TCRβ且該第二TCR-TM源自TCRα，或

(iii) 該第一TCR-TM源自TCRγ且該第二TCR-TM源自TCRδ，或

(iv) 該第一TCR-TM源自TCRδ且該第二TCR-TM源自TCRγ。

【請求項10】

一或多種核酸，其編碼如請求項1至9中任一項之caTCR。

【請求項11】

一或多種載體，其包含如請求項10之一或多種核酸。

【請求項12】

一種複合體，其包含如請求項1至9中任一項之caTCR及選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的至少一種TCR相關信號傳導分子。

【請求項13】

一種效應細胞，在其表面上呈遞如請求項1至9中任一項之caTCR，或包含如請求項1至9中任一項之該caTCR及選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的至少一種TCR相關信號傳導分子之複合體。

【請求項14】

一種如請求項13之效應細胞之用途，其係用於製備殺滅呈遞靶抗原

之靶細胞之藥劑，其中該用途包含使該靶細胞與該效應細胞接觸，其中該caTCR特異性結合於該靶抗原。

【請求項15】

一種醫藥組合物，其包含：

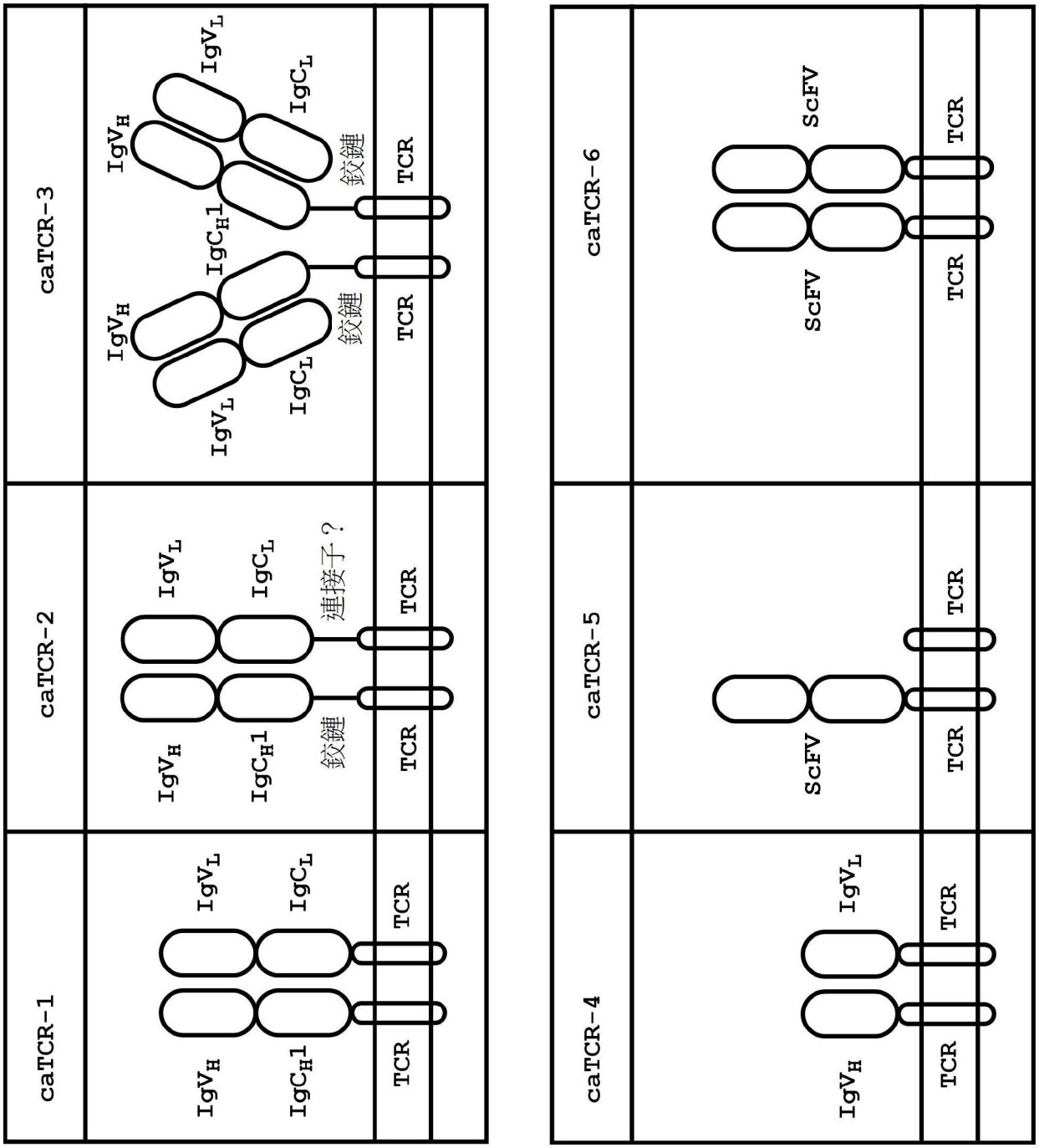
(a) 如請求項1至9中任一項之caTCR、一或多種編碼該caTCR之核酸、一或多種包含該一或多種核酸之載體、或在其表面上呈遞該caTCR之效應細胞、或包含該caTCR之複合體及選自由CD3δε、CD3γε及ζζ組成之群的至少一種TCR相關信號傳導分子之複合體；及

(b) 醫藥學上可接受之載劑。

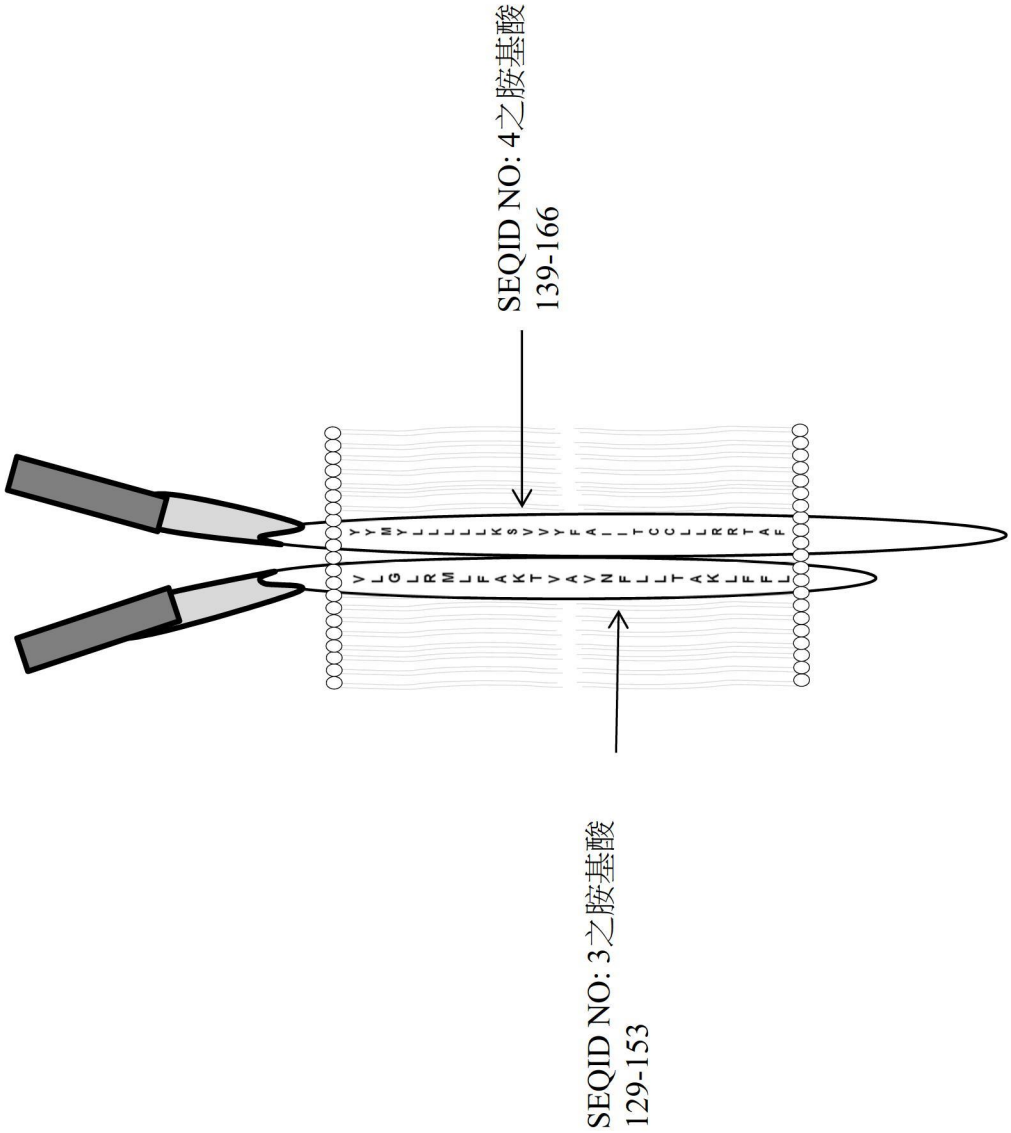
【請求項16】

一種如請求項15之醫藥組合物之用途，其用於製備供治療有需要之個體之靶抗原相關疾病用的藥物，其中該caTCR特異性結合於該靶抗原。

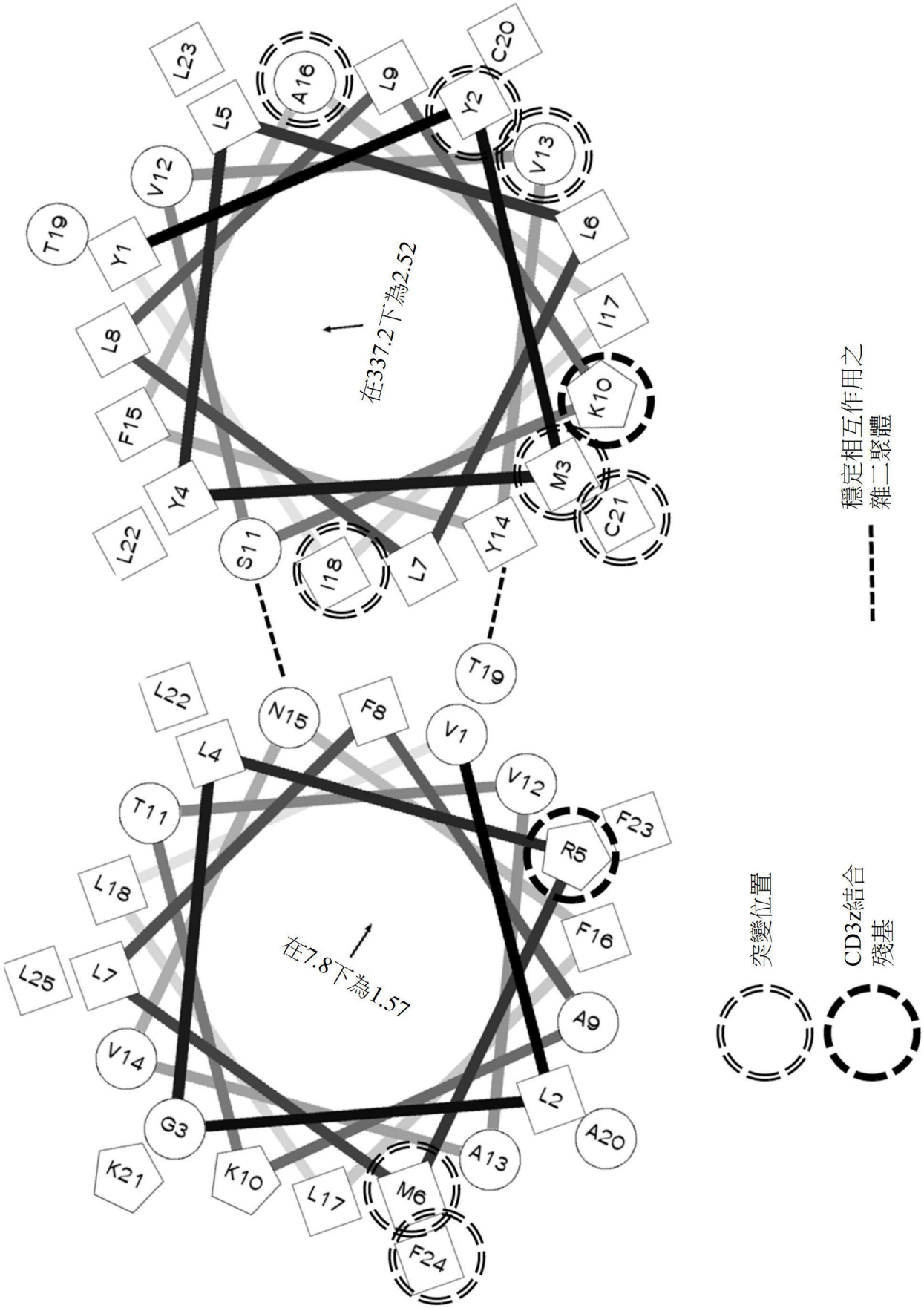
【發明圖式】


caTCR-1
IgV_H
IgC_H1
IgV_L
IgC_L
TCR
TCR
caTCR-2
IgV_H
IgC_H1
IgV_L
IgC_L
鉸鏈
連接子？
TCR
TCR
caTCR-3
IgV_H
IgV_L
IgC_H1
IgC_L
IgV_H
IgV_L
IgC_L
鉸鏈
鉸鏈
TCR
TCR
caTCR-4
IgV_H
IgV_L
TCR
TCR
caTCR-5
ScFV
TCR
TCR
caTCR-6
ScFV
ScFV
TCR
TCR

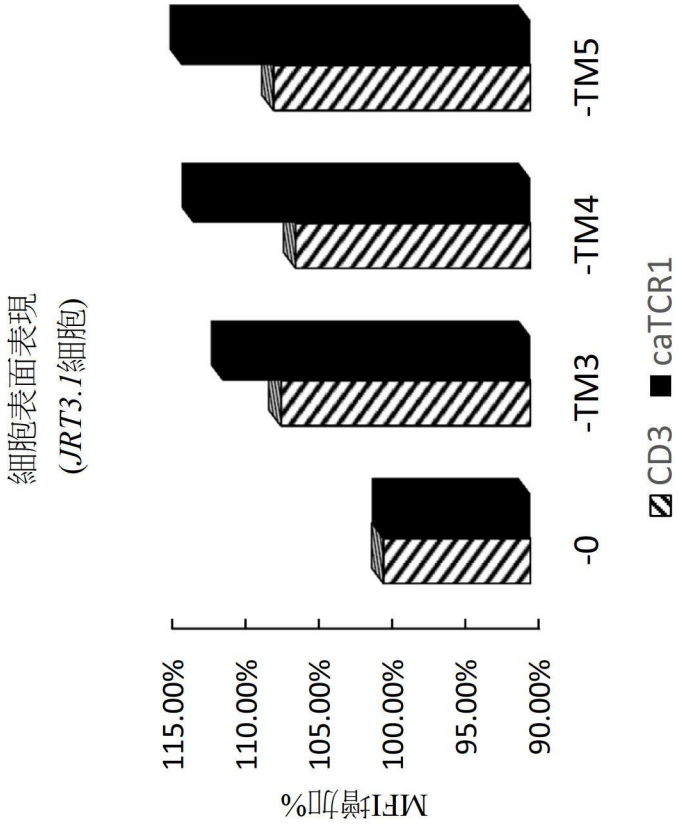
【圖1】



【圖2】

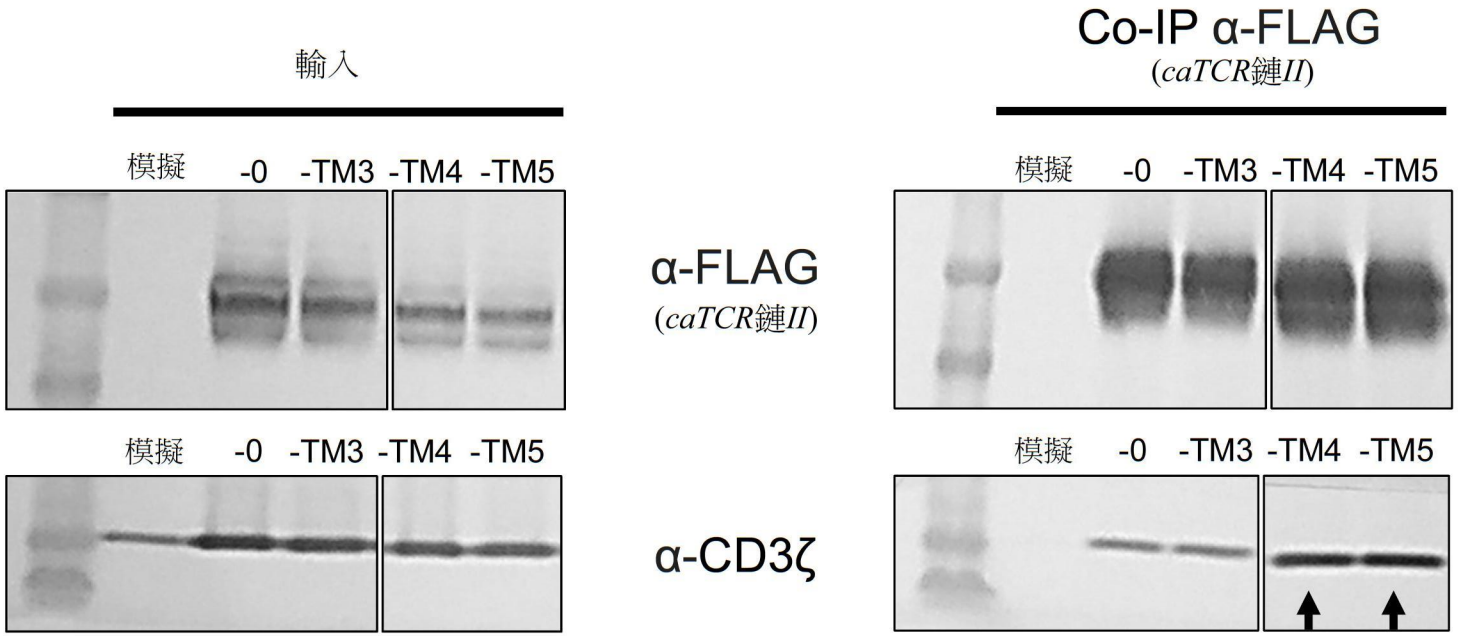

在337.2下為2.52
在7.8下為1.57
T19
Y1
V12
L23
L5
A16
L9
Y2
C20
V13
L6
I17
K10
C21
M3
Y14
L7
I18
S11
Y4
L22
F15
L8
L22
L4
N15
F8
V1
T19
V12
F23
R5
F16
A9
L2
A20
A13
M6
F24
L17
K10
K21
G3
V14
L7
L25
L18
T11
穩定相互作用之
雜二聚體
突變位置
CD3z結合
殘基

【圖3】

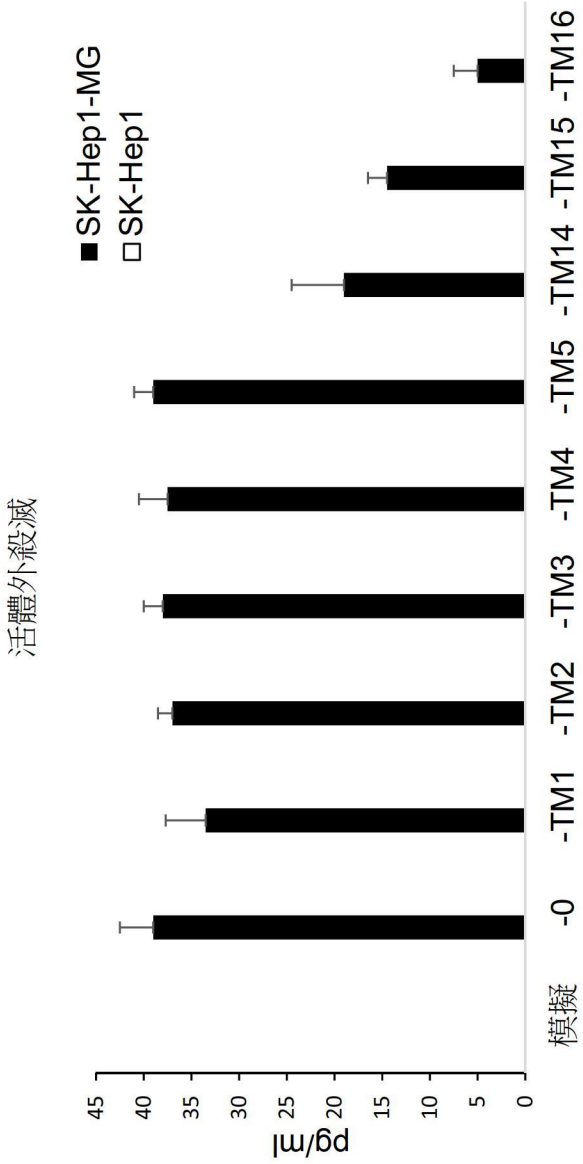

細胞表面表現
(JRT3.1細胞)
MFI增加%
115.00%
110.00%
105.00%
100.00%
95.00%
90.00%
-0
-TM3
-TM4
-TM5
CD3
caTCR1

【圖4】

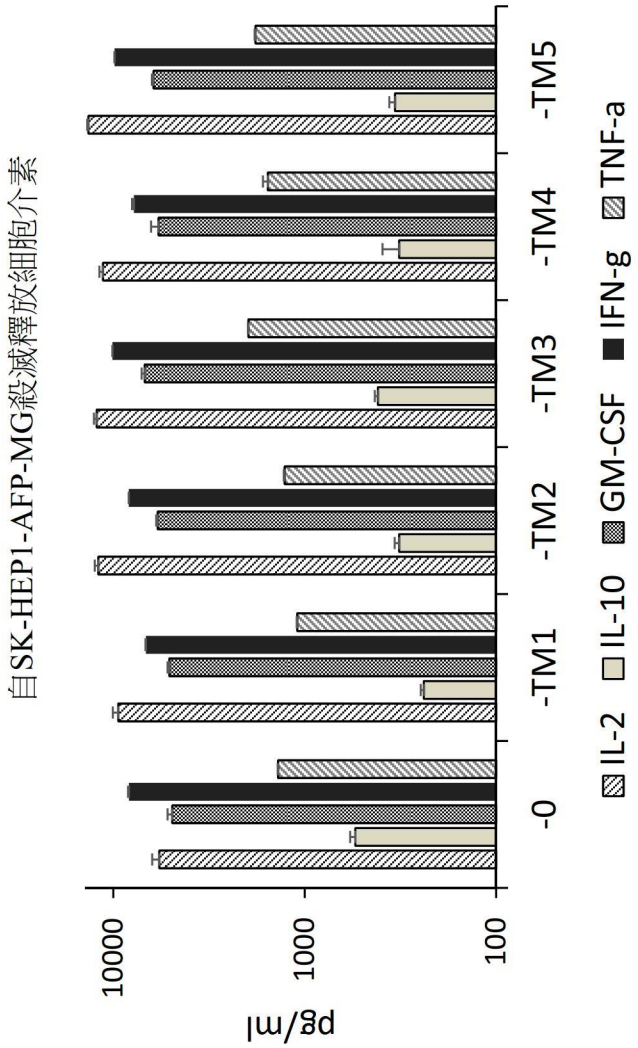
與caTCR-1共免疫沈澱



【圖5】

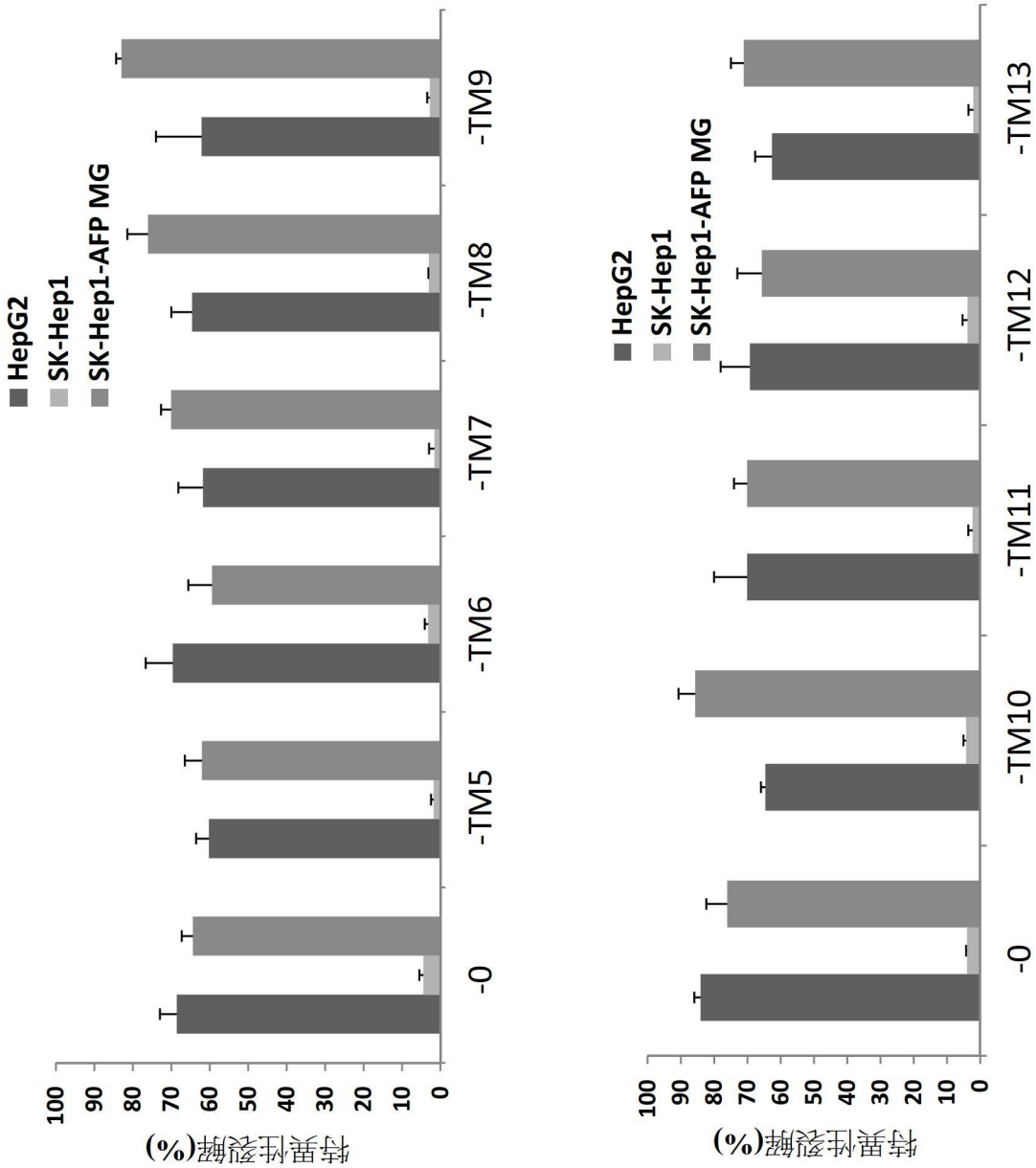

活體外殺滅
pg/ml
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
模擬
-0
-TM1
-TM2
-TM3
-TM4
-TM5
-TM14
-TM15
-TM16
SK-Hep1-MG
SK-Hep1

【圖6】

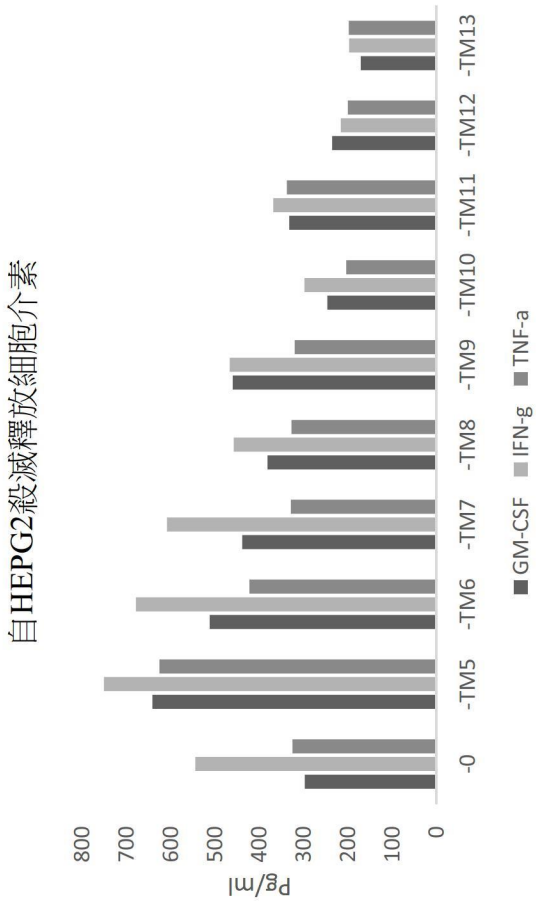

自SK-HEP1-AFP-MG殺滅釋放細胞介素
pg/ml
10000
1000
100
-0
-TM1
-TM2
-TM3
-TM4
-TM5
IL-2
IL-10
GM-CSF
IFN-g
TNF-a

【圖7】

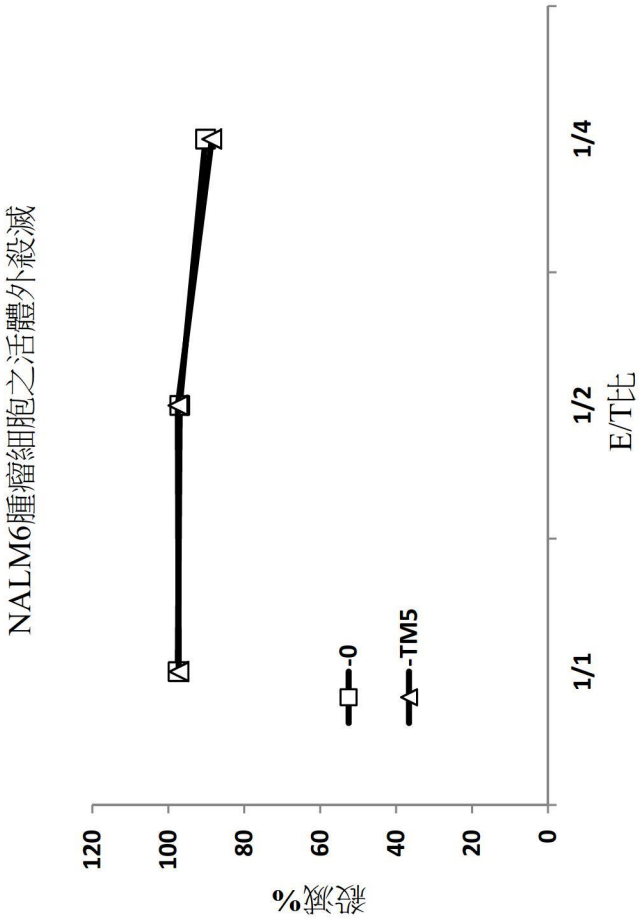
活體外殺滅


特異性殺解(%)
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
HepG2
SK-Hep1
SK-Hep1-AFP MG
-0
-TM5
-TM6
-TM7
-TM8
-TM9
-TM10
-TM11
-TM12
-TM13

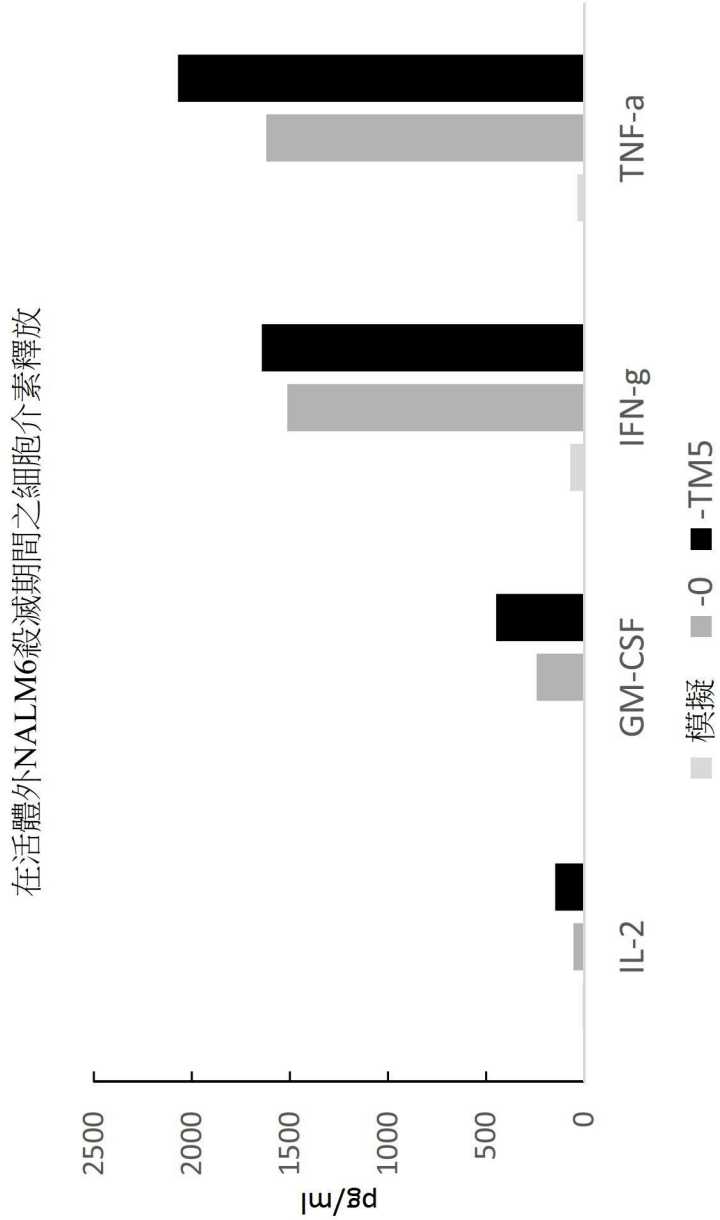
【圖8】


自HEPG2殺滅釋放細胞介素
Pg/ml
800
700
600
500
400
300
200
100
0
-0
-TM5
-TM6
-TM7
-TM8
-TM9
-TM10
-TM11
-TM12
-TM13
GM-CSF
IFN-g
TNF-a

【圖9】



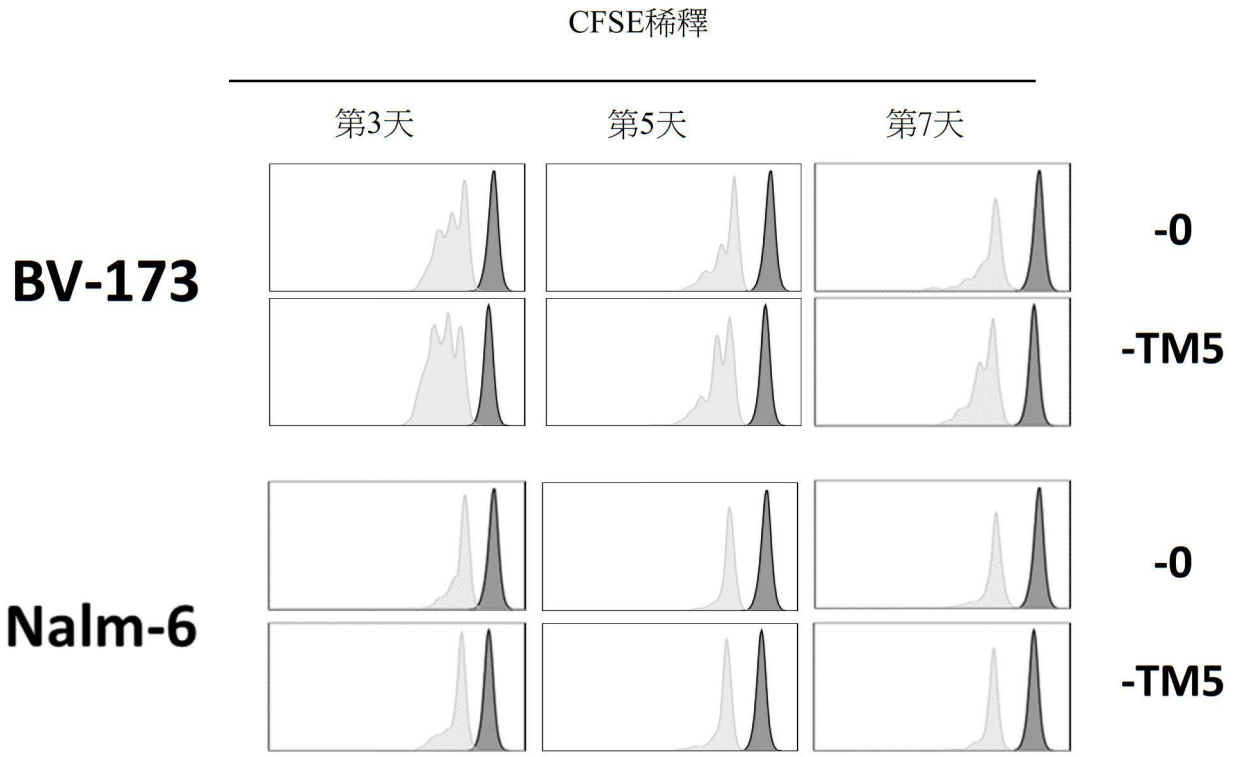
【圖10】


在活體外NALM6殺滅期間之細胞介素釋放
pg/ml
2500
2000
1500
1000
500
0
IL-2
GM-CSF
IFN-g
TNF-a
模擬
-0
-TM5

【圖11】

caTCR-1 T細胞擴增

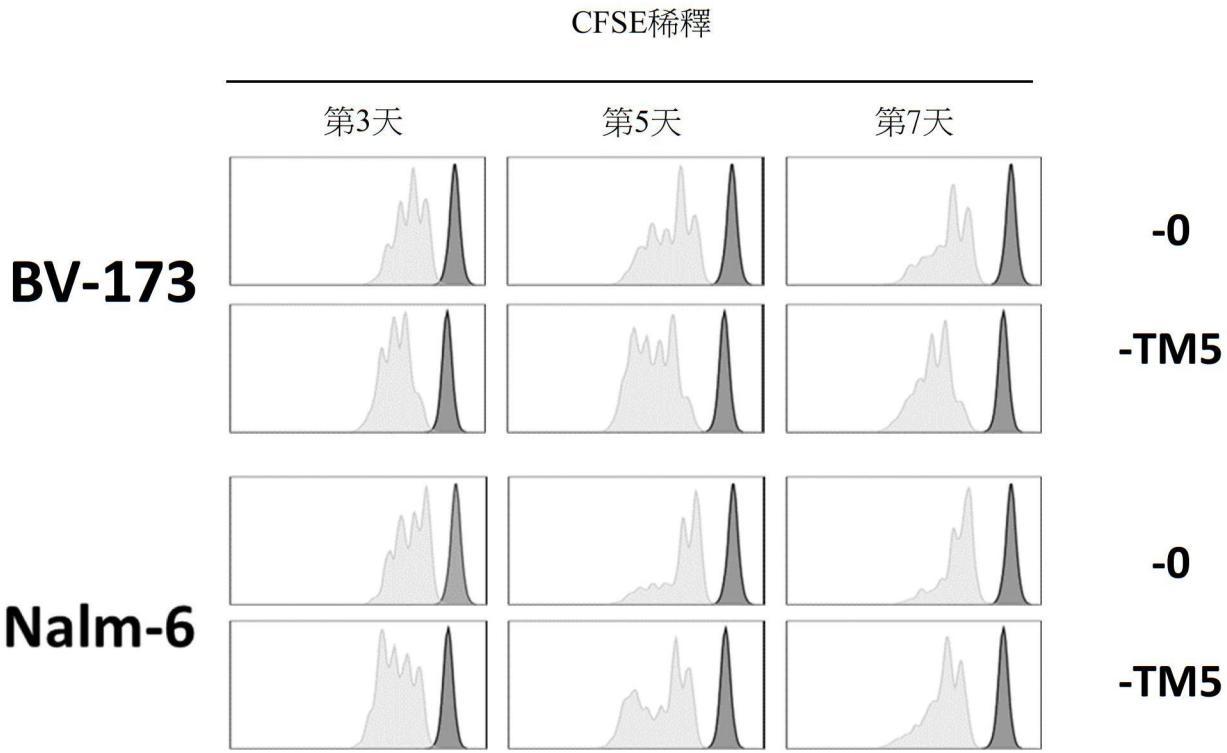
方案**A**



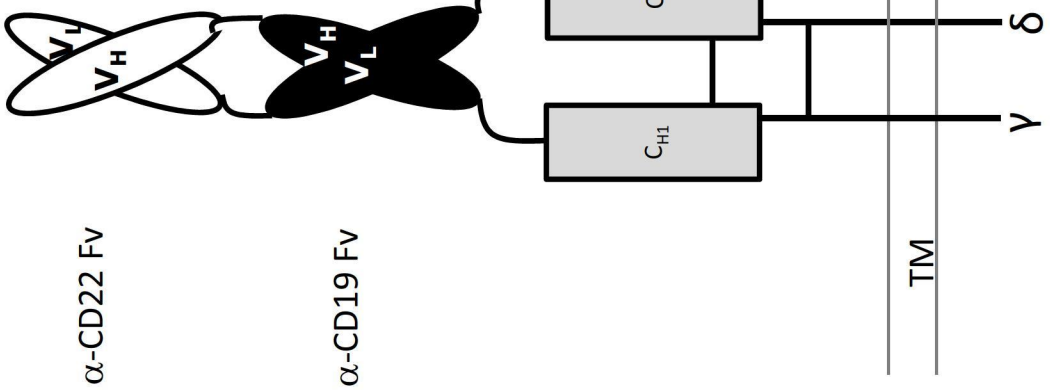
【圖12A】

caTCR-1 T細胞擴增

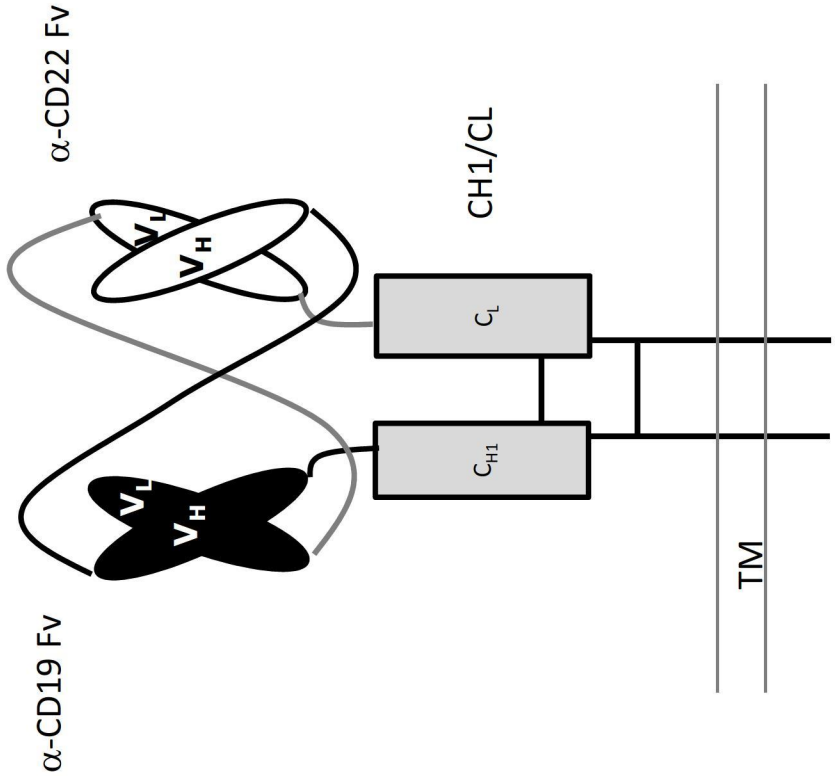
方案**B**



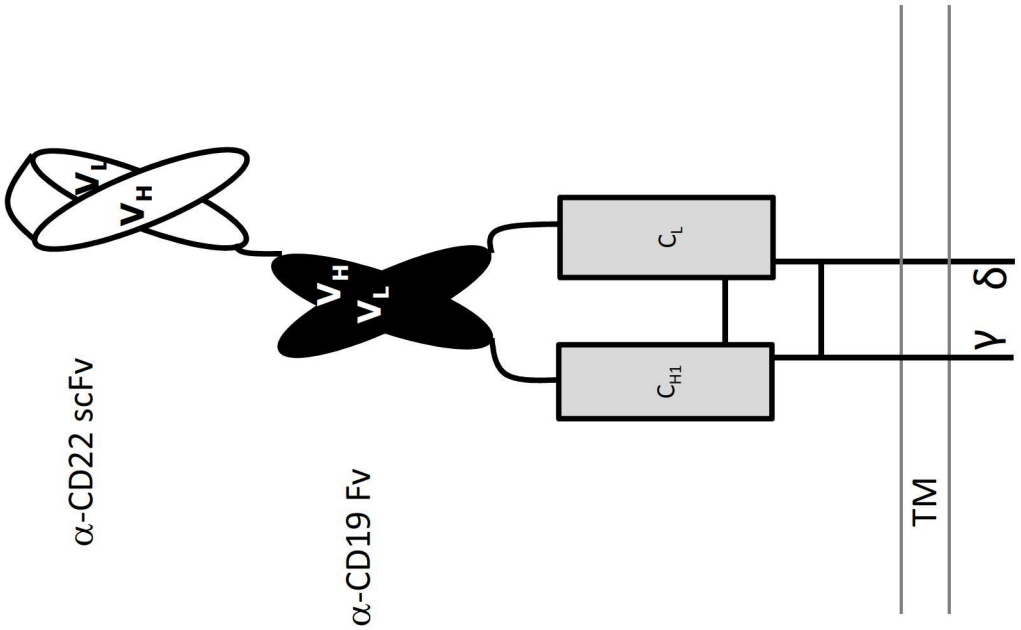
【圖12B】


α-CD22 Fv
α-CD19 Fv
V_L
V_H
V_H
V_L
C_{H1}
C_L
TM
γ
δ

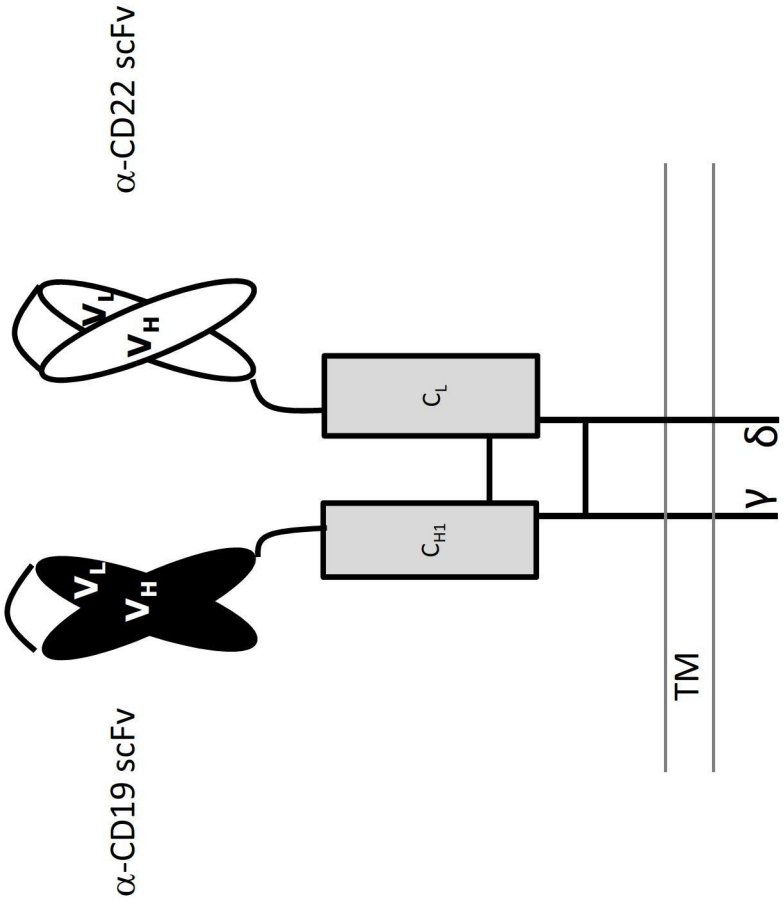
【圖13A】


α-CD22 Fv
α-CD19 Fv
CH1/CL
V_L
V_H
V_H
V_L
C_{H1}
C_L
TM
γ
δ

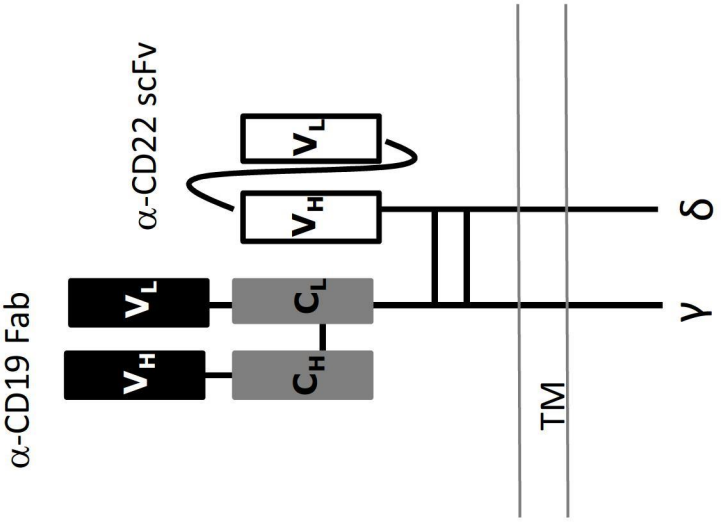
【圖13B】


α-CD22 scFv
α-CD19 Fv
V_L
V_H
V_H
V_L
C_L
C_{H1}
TM
γ δ

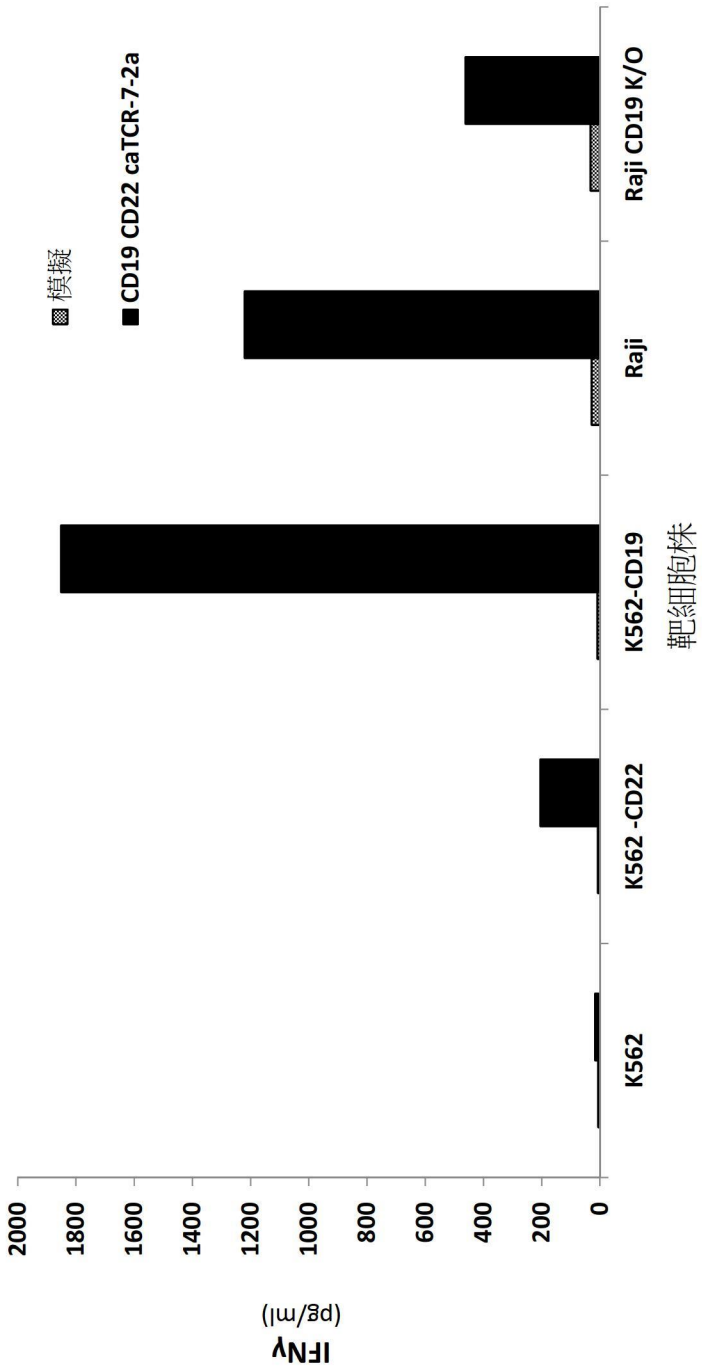
【圖13D】


α-CD22 scFv
α-CD19 scFv
V_L
V_H
V_L
V_H
C_L
C_{H1}
TM
γ δ

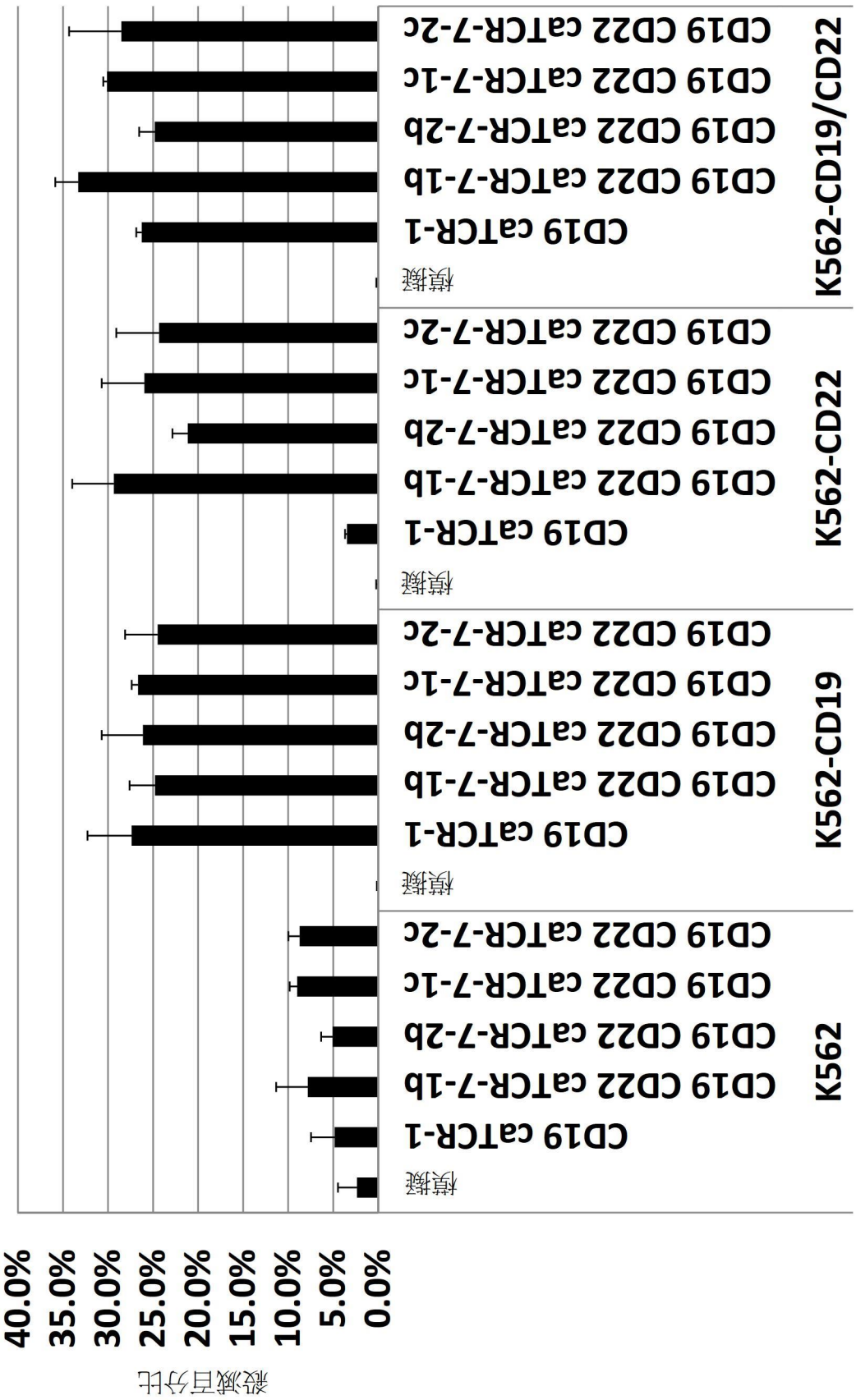
【圖13C】



【圖13E】


模擬
CD19 CD22 caTCR-7-2a
IFNγ
(pg/ml)
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
K562
K562 -CD22
K562-CD19
Raji
Raji CD19 K/O
靶細胞株

【圖14】


殺滅百分比
40.0%
35.0%
30.0%
25.0%
20.0%
15.0%
10.0%
5.0%
0.0%
K562
模擬
CD19 caTCR-1
CD19 CD22 caTCR-7-1b
CD19 CD22 caTCR-7-2b
CD19 CD22 caTCR-7-1c
CD19 CD22 caTCR-7-2c
K562-CD19
模擬
CD19 caTCR-1
CD19 CD22 caTCR-7-1b
CD19 CD22 caTCR-7-2b
CD19 CD22 caTCR-7-1c
CD19 CD22 caTCR-7-2c
K562-CD22
模擬
CD19 caTCR-1
CD19 CD22 caTCR-7-1b
CD19 CD22 caTCR-7-2b
CD19 CD22 caTCR-7-1c
CD19 CD22 caTCR-7-2c
K562-CD19/CD22
模擬
CD19 caTCR-1
CD19 CD22 caTCR-7-1b
CD19 CD22 caTCR-7-2b
CD19 CD22 caTCR-7-1c
CD19 CD22 caTCR-7-2c

【圖15】