



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 112689642 B

(45) 授权公告日 2025. 01. 17

(21) 申请号 201980047935.6

专利权人 麦克马斯特大学

(22) 申请日 2019.07.17

(72) 发明人 乔纳森·罗恩·布拉姆森

(65) 同一申请的已公布的文献号

克里斯托弗·W·赫尔森

申请公布号 CN 112689642 A

乔安妮·艾丽西亚·汉米尔

(43) 申请公布日 2021.04.20

肯尼斯·安东尼·牧瓦瓦司

(30) 优先权数据

(74) 专利代理机构 北京市立方律师事务所

62/699,173 2018.07.17 US

11330

62/703,037 2018.07.25 US

专利代理师 杨剑

62/773,120 2018.11.29 US

(51) Int.Cl.

62/826,853 2019.03.29 US

G07K 14/705 (2006.01)

62/828,879 2019.04.03 US

G07K 14/725 (2006.01)

62/839,235 2019.04.26 US

G07K 16/28 (2006.01)

16/442,274 2019.06.14 US

C12N 5/0783 (2006.01)

62/874,426 2019.07.15 US

A61K 35/17 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

(56) 对比文件

2021.01.18

CN 106459990 A, 2017.02.22

(86) PCT国际申请的申请数据

US 2016362472 A1, 2016.12.15

PCT/US2019/042297 2019.07.17

审查员 关维

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2020/018727 EN 2020.01.23

(73) 专利权人 特拉姆维拉免疫美国有限公司

权利要求书1页 说明书50页

地址 美国德克萨斯州

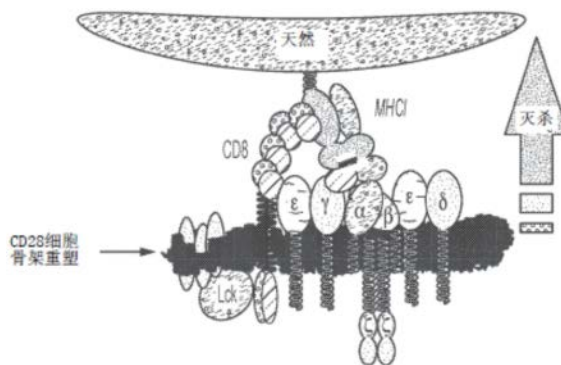
序列表54页 附图64页

(54) 发明名称

具有各种不同的构建物优化的T细胞抗原偶联物

(57) 摘要

提供了一种三功能分子,其包含(i)靶特异性配体,(ii)结合与TCR复合体相关的蛋白的配体,和(iii)T细胞受体信号传导结构域多肽。提供了所述分子的变体,包括表现出优化的表面表达、转导效率和效应子功能的变体。变化包括例如结合CD3 ε 的不同配体(例如OKT3、L2K、F6A、UCHT1和人源化UCHT1)、不同的信号传导结构域和结构域之间的不同连接物。



1. 一种人表皮生长因子受体2 (HER2) T细胞抗原偶联物 (HER2-TAC) 多肽,其由与SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68或SEQ ID NO:76具有100%序列一致性的氨基酸序列构成。
2. 一种核酸分子,其编码权利要求1所述的HER2-TAC。
3. 根据权利要求2所述的核酸分子,其中所述核酸分子与SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:67或SEQ ID NO:75具有100%序列一致性。
4. 一种载体构建物,其包含:
 - (a) 权利要求2所述的核酸分子;和
 - (b) 在哺乳动物细胞中有功能的启动子。
5. 根据权利要求4所述的载体构建物,其中所述核酸分子与SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:67或SEQ ID NO:75具有100%序列一致性。
6. 一种T细胞,其包含(a) 权利要求1所述的HER2-TAC; (b) 权利要求2或3所述的核酸分子;或(c) 权利要求4或5所述的载体构建物。
7. 一种药物组合物,其包含权利要求6所述的T细胞和可药用赋形剂。
8. 权利要求6所述的T细胞在制备用于在需要的个体中治疗表达HER2的癌症的药物中的用途。

具有各种不同的构建物优化的T细胞抗原偶联物

[0001] 交叉引用

[0002] 本申请要求2018年7月17日提交的美国临时申请号62/699,173、2018年7月25日提交的美国临时申请号62/703,037、2018年11月29日提交的美国临时申请号62/773,120、2019年3月29日提交的美国临时申请号62/826,853、2019年4月3日提交的美国临时申请号62/828,879、2019年4月26日提交的美国临时申请号62/839,235、2019年6月14日提交的美国非临时申请号16/442,274和2019年7月15日提交的美国临时申请号62/874,426的利益,每个所述申请整体通过参考并入本文。

[0003] 序列表

[0004] 本申请含有以ASCII格式电子提交并整体通过参考并入本文的序列表。所述在2019年7月17日生成的ASCII拷贝被命名为55247704601_SL.txt,大小为131,072字节。

发明内容

[0005] 在某些实施方式中,本文公开了编码CD19三功能T细胞抗原偶联物(CD19-TAC)的核酸序列。在某些实施方式中,所述编码CD19三功能T细胞抗原偶联物(CD19-TAC)的核酸序列包含:(a) 编码选择性结合CD19抗原的配体的第一多核苷酸。在某些实施方式中,所述编码CD19三功能T细胞抗原偶联物(CD19-TAC)的核酸序列包含:(b) 编码结合CD3的UCHT1配体的第二多核苷酸。在某些实施方式中,所述编码CD19三功能T细胞抗原偶联物(CD19-TAC)的核酸序列包含:(c) 编码包含胞质结构域和跨膜结构域的TCR信号传导结构域多肽的第三多核苷酸。在某些实施方式中,由所述第一、第二和/或第三多核苷酸编码的组分以任何适合的方式连接,例如以任何适合的顺序和/或包含任何适合的连接物。在某些实施方式中,所述由(a) 编码的组分、由(b) 编码的组分和由(c) 编码的组分彼此直接融合或通过至少一个连接物相连。在某些实施方式中,所述选择性结合CD19抗原的配体是单链可变片段(scFv)。在某些实施方式中,所述选择性结合CD19抗原的配体包含与SEQ ID NO:36具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述UCHT1配体是单链抗体。在某些实施方式中,所述UCHT1配体包含Y182T突变(SEQ ID NO:72)。在某些实施方式中,所述UCHT1配体是UCHT1配体的人源化变体(huUCHT1)(SEQ ID NO:44)。在某些实施方式中,所述UCHT1配体是包含Y177T突变的UCHT1的人源化变体(huUCHT1(Y177T))(SEQ ID NO:46)。在某些实施方式中,所述UCHT1配体包含与SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:44或SEQ ID NO:46具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述胞质结构域是CD4胞质结构域并且所述跨膜结构域是CD4跨膜结构域。在某些实施方式中,所述第三多核苷酸编码的多肽包含与SEQ ID NO:18具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述由(a) 编码的组分和由(c) 编码的组分被融合到所述由(b) 编码的组分。在某些实施方式中,所述由(b) 编码的组分和由(c) 编码的组分被融合到所述由(a) 编码的组分。在某些实施方式中,至少一个

连接物将所述由 (a) 编码的组分连接到所述由 (b) 编码的组分。在某些实施方式中,所述至少一个连接物是G₄S柔性连接物 (SEQ ID NO:73)、大蛋白结构域、长螺旋结构或短螺旋结构。在某些实施方式中,所述至少一个连接物包含与SEQ ID NO:12 (G₄S柔性连接物 (“G₄S”被公开为SEQ ID NO:73))、SEQ ID NO:32 (大蛋白结构域)、SEQ ID NO:30 (长螺旋结构) 或SEQ ID NO:28 (短螺旋结构) 具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述CD3是在表达所述第二多核苷酸的细胞上的TCR复合体的CD3。在某些实施方式中,所述CD3的结合诱导表达所述第二多核苷酸的细胞的活化。在某些实施方式中,所述CD19-TAC包含与SEQ ID NO:63具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性的核酸序列。在某些实施方式中,所述CD19-TAC包含与SEQ ID NO:64具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述核酸序列不编码共刺激结构域。在某些实施方式中,所述核酸序列不编码活化结构域。

[0006] 在某些实施方式中,本文公开了载体构建物,其包含 (a) 本文中公开的核酸序列 (例如编码CD19-TAC的核酸序列);和 (b) 在哺乳动物细胞中有功能的启动子。

[0007] 在某些实施方式中,本文公开了包含本文中公开的核酸序列 (例如编码CD19-TAC的核酸序列) 的T细胞。

[0008] 在某些实施方式中,本文公开了包含本文中公开的T细胞和可药用赋形剂的药物组合物。

[0009] 在某些实施方式中,本文公开了在需要的个体中治疗表达CD19的癌症的方法,所述方法包括向所述个体给药本文中公开的药物组合物 (例如包含T细胞的药物组合物,所述T细胞包含本文中描述的核酸序列,例如在本文中被描述为编码CD19三功能T细胞抗原偶联物 (CD19-TAC) 的任一个或多个核酸序列)。在某些实施方式中,所述癌症是B细胞恶性肿瘤。在某些实施方式中,所述癌症是B细胞淋巴瘤、急性成淋巴细胞性白血病 (ALL)、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL) 或非霍奇金淋巴瘤。在某些实施方式中,所述药物组合物经动脉、皮下、真皮内、肿瘤内、结内、髓内、肌肉内、静脉内或腹膜内给药。

[0010] 在某些实施方式中,本文公开了编码三功能T细胞抗原偶联物 (Tri-TAC) 的核酸序列,其包含: (a) 编码靶特异性配体的第一多核苷酸; (b) 编码结合与TCR复合体相关的蛋白的配体的第二多核苷酸;和 (c) 编码T细胞受体信号传导结构域多肽的第三多核苷酸;其中所述结合与TCR复合体相关的蛋白的配体选自OKT3、F6A或L2K。在某些实施方式中,由 (a) 编码的组分、由 (b) 编码的组分和由 (c) 编码的组分彼此直接融合或通过至少一个连接物相连。在某些实施方式中,所述由 (a) 编码的组分和由 (b) 编码的组分被直接融合并通过连接物连接到所述由 (c) 编码的组分。在某些实施方式中,所述由 (b) 编码的组分和由 (c) 编码的组分被直接融合并通过连接物连接到所述由 (a) 编码的组分。在某些实施方式中,所述至少一个连接物是G₄S柔性连接物 (SEQ ID NO:73)、大蛋白结构域、长螺旋结构或短螺旋结构。在某些实施方式中,所述至少一个连接物具有与SEQ ID NO:12 (G₄S柔性连接物 (“G₄S”被公开为SEQ ID NO:73))、SEQ ID NO:32 (大蛋白结构域)、SEQ ID NO:30 (长螺旋结构) 或SEQ ID NO:28 (短螺旋结构) 具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合

与TCR复合体相关的蛋白的配体是OKT3。在某些实施方式中,所述结合与TCR复合体相关的蛋白的配体包含与SEQ ID NO:22具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合与TCR复合体相关的蛋白的配体是F6A。在某些实施方式中,所述结合与TCR复合体相关的蛋白的配体包含与SEQ ID NO:24具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合与TCR复合体相关的蛋白的配体是L2K。在某些实施方式中,所述结合与TCR复合体相关的蛋白的配体包含与SEQ ID NO:26具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述与TCR复合体相关的蛋白是CD3。在某些实施方式中,所述靶特异性配体选择性结合肿瘤抗原。在某些实施方式中,所述靶特异性配体是设计的锚蛋白重复序列(DARPin)多肽或单链可变片段(scFv)。在某些实施方式中,所述靶特异性配体选择性结合CD19抗原、HER2抗原或BCMA抗原。在某些实施方式中,所述靶特异性配体选择性结合HER-2抗原,并包含选自曲妥珠单抗、帕妥珠单抗、拉帕替尼、来那替尼、曲妥珠单抗-美坦新偶联物、甘妥单抗、Margetuximab、替米妥珠单抗和Ertumaxomab的抗体的抗原结合结构域。在某些实施方式中,所述靶特异性配体选择性结合BCMA抗原包含选自Belantamab mafodotin和GSK2857916的抗体的抗原结合结构域。在某些实施方式中,所述靶特异性配体包含与SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:34具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述T细胞受体信号传导结构域多肽包含胞质结构域和跨膜结构域。在某些实施方式中,所述胞质结构域是CD4胞质结构域并且所述跨膜结构域是CD4跨膜结构域,或者其中所述胞质结构域是CD8胞质结构域并且所述跨膜结构域是CD8跨膜结构域。在某些实施方式中,所述核酸序列还包含前导序列。在某些实施方式中,所述前导序列包含与SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:48或SEQ ID NO:50具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述CD3是在表达所述第二多核苷酸的细胞上的TCR复合体的CD3。在某些实施方式中,所述CD3的结合诱导表达所述第二多核苷酸的细胞的活化。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含与SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:59或SEQ ID NO:61具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性的核酸序列。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含与SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60或SEQ ID NO:62具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述核酸序列不编码共刺激结构域。在某些实施方式中,所述核酸序列不编码活化结构域。

[0011] 在某些实施方式中,本文公开了编码三功能T细胞抗原偶联物(Tri-TAC)的核酸序列,其包含:(a) 编码靶特异性配体的第一多核苷酸;(b) 编码结合与TCR复合体相关的蛋白的配体的第二多核苷酸;和(c) 编码T细胞受体信号传导结构域多肽的第三多核苷酸;其中所述核酸序列还包含前导序列,并且其中由(a) 编码的组分、由(b) 编码的组分和由(c) 编码

的组分彼此直接融合或通过至少一个连接物相连。在某些实施方式中,所述靶特异性配体选择性结合肿瘤抗原。在某些实施方式中,所述靶特异性配体是设计的锚蛋白重复序列(DARPin)多肽或单链可变片段(scFv)。在某些实施方式中,所述靶特异性配体选择性结合CD19抗原、HER2抗原或BCMA抗原。在某些实施方式中,所述靶特异性配体选择性结合HER-2抗原,并包含选自曲妥珠单抗、帕妥珠单抗、拉帕替尼、来那替尼、曲妥珠单抗-美坦新偶联物、甘妥单抗、Margetuximab、替米妥珠单抗和Ertumaxomab的抗体的抗原结合结构域。在某些实施方式中,所述靶特异性配体选择性结合BCMA抗原,并包含选自Belantamab mafodotin和GSK2857916的抗体的抗原结合结构域。在某些实施方式中,所述靶特异性配体包含与SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:52或SEQ ID NO:54具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合与TCR复合体相关的蛋白的配体选自UCHT1、UCHT1(Y182T)、huUCHT1、huUCHT1(Y177T)、OKT3、F6A或L2K。在某些实施方式中,所述结合与TCR复合体相关的蛋白的配体具有与SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24或SEQ ID NO:26具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述与TCR复合体相关的蛋白是CD3。在某些实施方式中,所述T细胞受体信号传导结构域多肽包含胞质结构域和跨膜结构域。在某些实施方式中,所述胞质结构域是CD4胞质结构域并且所述跨膜结构域是CD4跨膜结构域,或者其中所述胞质结构域是CD8胞质结构域并且所述跨膜结构域是CD8跨膜结构域。在某些实施方式中,所述前导序列包含与SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:48或SEQ ID NO:50具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述由(a)编码的组分和由(b)编码的组分被直接融合并通过连接物连接到所述由(c)编码的组分。在某些实施方式中,所述由(b)编码的组分和由(c)编码的组分被直接融合并通过连接物连接到所述由(a)编码的组分。在某些实施方式中,所述至少一个连接物是G₄S柔性连接物(SEQ ID NO:73)、大蛋白结构域、长螺旋结构或短螺旋结构。在某些实施方式中,所述至少一个连接物具有与SEQ ID NO:12(G₄S柔性连接物("G₄S"被公开为SEQ ID NO:73))、SEQ ID NO:32(大蛋白结构域)、SEQ ID NO:30(长螺旋结构)或SEQ ID NO:28(短螺旋结构)具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述CD3是在表达所述第二多核苷酸的细胞上的TCR复合体的CD3。在某些实施方式中,所述CD3的结合诱导表达所述第二多核苷酸的细胞的活化。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含与SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:59或SEQ ID NO:61具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性的核酸序列。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含与SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60或SEQ ID NO:62具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述核酸序列不编码共刺激结构域。在某些实施方式中,所述核酸序列不编码活化结构域。

- [0012] 在某些实施方式中,本文公开了由本文中公开的核酸序列编码的多肽。
- [0013] 在某些实施方式中,本文公开了载体构建物,其包含:(a)本文中公开的核酸序列;和(b)在哺乳动物细胞中有功能的启动子。
- [0014] 在某些实施方式中,本文公开了包含本文中公开的核酸序列的T细胞。
- [0015] 在某些实施方式中,本文公开了包含本文中公开的T细胞和可药用赋形剂的药物组合物。
- [0016] 在某些实施方式中,本文公开了在需要的个体中治疗癌症的方法,所述方法包括向所述个体给药本文中公开的药物组合物。在某些实施方式中,所述对象是哺乳动物。在某些实施方式中,所述癌症是实体癌或液体癌。在某些实施方式中,所述癌症是肺癌、乳腺癌、多发性骨髓瘤、成胶质细胞瘤、胃癌、卵巢癌、胃癌、结肠直肠癌、尿道上皮癌、子宫内膜癌或结肠癌。在某些实施方式中,所述癌症包含表达CD19的癌细胞。在某些实施方式中,所述癌症是B细胞恶性肿瘤。在某些实施方式中,所述癌症是B细胞淋巴瘤、急性成淋巴细胞性白血病(ALL)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)或非霍奇金淋巴瘤。在某些实施方式中,所述癌症包含表达HER-2的癌细胞。在某些实施方式中,所述癌症是乳腺癌、膀胱癌、胰腺癌、卵巢癌或胃癌。在某些实施方式中,所述癌症包含表达BCMA的癌细胞。在某些实施方式中,所述癌症是白血病、淋巴瘤或多发性骨髓瘤。在某些实施方式中,所述药物组合物经动脉、皮下、真皮内、肿瘤内、结内、髓内、肌肉内、静脉内或腹膜内给药到所述个体。在某些实施方式中,所述药物组合物采取单位剂量形式。在某些实施方式中,所述药物组合物包含约 $0.5-2 \times 10^9$ 个T细胞。在某些实施方式中,所述药物组合物每天、每周、每两周、每月、每两月或每年给药。
- [0017] 在某些实施方式中,本文公开了编码CD19三功能T细胞抗原偶联物(CD19-TAC)的核酸序列,其包含:(a)编码选择性结合CD19抗原的配体的第一多核苷酸;(b)编码结合CD3的包含Y177T突变的UCHT1配体的人源化变体(huUCHT1)(huUCHT1(Y177T))的第二多核苷酸;和(c)编码包含CD4胞质结构域和CD4跨膜结构域的多肽的第三多核苷酸;其中由(a)编码的配体、由(b)编码的配体和由(c)编码的多肽彼此直接融合或通过至少一个连接物相连。在某些实施方式中,所述核酸序列不编码共刺激结构域、活化结构域或共刺激结构域与活化结构域两者。在某些实施方式中,所述选择性结合CD19抗原的配体是单链可变片段(scFv)。在某些实施方式中,所述选择性结合CD19抗原的配体包含与SEQ ID NO:36具有至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述选择性结合CD19抗原的配体包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述huUCHT1(Y177T)配体是单链抗体。在某些实施方式中,所述huUCHT1(Y177T)配体包含与SEQ ID NO:46具有至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述huUCHT1(Y177T)配体包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述第三多核苷酸编码的多肽包含与SEQ ID NO:18具有至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列。
- [0018] 在某些实施方式中,所述第三多核苷酸编码包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的多肽。在某些实施方式中,所述至少一个连接物是G4S柔性连接物、大蛋白结构域、长螺旋结构或短螺旋结构。在某些实施方式中,所述至少一个连接物包含与SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:30或SEQ ID NO:28具有至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述至少一个连接物包含SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:32、SEQ

ID NO:30或SEQ ID NO:28的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述CD3被表达在表达所述第二多核苷酸的细胞上。在某些实施方式中,所述CD19-TAC包含与SEQ ID NO:63具有至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的核酸序列。在某些实施方式中,所述CD19-TAC包含与SEQ ID NO:64具有至少80%、至少90%或至少95%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述CD19-TAC包含SEQ ID NO:63或SEQ ID NO:64的序列。在某些实施方式中,本文公开了载体构建物,其包含:(a)本文中公开的核酸序列;和(b)在哺乳动物细胞中有功能的启动子。在某些实施方式中,本文公开了包含本文中公开的载体和赋形剂的组合物。在某些实施方式中,本文公开了由本文中公开的核酸序列编码的多肽。

[0019] 在某些实施方式中,本文公开了编码HER2三功能T细胞抗原偶联物(HER2-TAC)的核酸序列,其包含与SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:67或SEQ ID NO:75具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性的核酸序列。在某些实施方式中,所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:68或SEQ ID NO:76具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述核酸序列不编码共刺激结构域。在某些实施方式中,所述核酸序列不编码活化结构域。

[0020] 在某些实施方式中,本文公开了编码BCMA三功能T细胞抗原偶联物(BCMA-TAC)的核酸序列,其包含与SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:59或SEQ ID NO:61具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性的核酸序列。在某些实施方式中,所述BCMA-TAC包含与SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60或SEQ ID NO:62具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述核酸序列不编码共刺激结构域。在某些实施方式中,所述核酸序列不编码活化结构域。

附图说明

[0021] 本发明的新颖特点在随附的权利要求书中具体阐述。通过参考下文阐述了利用本发明的原理的说明性实施方式的详细描述和附图,将获得对本发明的特点和优点的更好的理解,在所述附图中:

[0022] 图1A是天然T-细胞活化的示意图。

[0023] 图1B是基于CAR的T-细胞活化的示意图。

[0024] 图1C是基于三功能-T细胞抗原偶联物(Tri-TAC)的T细胞活化的示意图。

[0025] 图1D是天然T-细胞活化的示意图。

[0026] 图1E是基于CAR的T-细胞活化的示意图。

[0027] 图1F是基于Tri-TAC的T细胞活化的示意图。

[0028] 图2A是Tri-TAC配置的示意图,其中UCHT1结构域居中位于跨膜结构域(TM)与抗原结合结构域之间。

[0029] 图2B是Tri-TAC配置的示意图,其中UCHT1结构域在N-端,随后是抗原结合结构域和跨膜结构域。

[0030] 图2C是具有通用抗原结合结构域和UCHT1结构域的Tri-TAC分子的示意图。

- [0031] 图3A是具有通用抗原结合结构域的Tri-TAC分子的示意图。
- [0032] 图3B是具有抗HER-2DARPin抗原结合结构域的Tri-TAC的示意图。
- [0033] 图3C是具有抗CD19 scFv抗原结合结构域的Tri-TAC的示意图。
- [0034] 图3D是具有抗BCMA scFv抗原结合结构域的Tri-TAC的示意图。
- [0035] 图3E是具有抗HER-2DARPin抗原结合结构域的Tri-TAC分子的示意图。
- [0036] 图3F是具有抗BCMA scFv抗原结合结构域的Tri-TAC分子的示意图。
- [0037] 图4A-图4D示例了使用DARPin的用针对HER-2的Tri-TAC或基于CD28的CAR工程化改造的T细胞。图4A示例了与不表达嵌合受体的T细胞相比所述Tri-TAC和CAR的表面表达。图4B示例了三种细胞群体的生长。图4C-图4D示例了在用抗原刺激后对各种不同T细胞活化标志物阳性的工程化改造的细胞的百分率。
- [0038] 图5示出了CD19-TAC蛋白质结构的模型。
- [0039] 图6A-图6J示出了各种不同的抗HER-2DARPin Tri-TAC对照的受体表面表达和活化。将T细胞用缺少靶向元件的Tri-TAC变体(-DARPin)、缺少UCHT1的Tri-TAC变体(-UCHT1)或全长Tri-TAC工程化改造。图6A、图6D、图6G示出了T细胞转导和Her2结合能力(左);图6B、图6E、图6H示出了脱粒(中),并且图6C、图6F、图6I示出了细胞因子生产(右)。图6J示出了只有全长抗HER-2DARPin Tri-TAC能够引发细胞毒性反应。
- [0040] 图7A-图7C示出了用抗HER-2DARPin Tri-TAC或抗HER-2DARPin基于CD28的CAR工程化改造的T细胞的抗肿瘤活性、毒性和细胞因子生产。将带有已建立的OVCAR-3肿瘤的小鼠用使用抗HER-2DARPin Tri-TAC或抗HER-2DARPin CAR工程化改造的T细胞治疗。图7A示例了相对于T细胞灌注的当天(第35天)的肿瘤生长的变化。图7B示例了在相同小鼠中作为毒性的度量的体重的变化。图7C示出了在T-细胞灌注后第7天小鼠血清中的细胞因子浓度。
- [0041] 图8A-图8H示出了被设计成带有对UCHT1 scFv-CD3召集结构域的各种不同替换方案的Tri-TAC。图8A提供了利用与UCHT1或OKT3抗CD3 scFv配对的抗HER-2DARPin的TAC受体构建物的示意图。图8B示出了CD8+NGFR+(左)或CD4+NGFR+T细胞(右)的HER-2TAC表面表达。图8C、图8C1示出了用抗原阳性SK-OV-3肿瘤细胞刺激的HER-2特异性TAC-T细胞的细胞因子生产。图8D示出了SK-OV-3肿瘤细胞被HER-2TAC和载体对照(只携带tNGFR的载体)T细胞的灭杀。将载体对照T细胞(圆圈)针对带有UCHT1(正方形)或OKT3(三角形)的HER-2特异性TAC-T细胞进行比较。图8E提供了利用与huUCHT1、F6A或L2K抗CD3 scFv配对的抗CD19scFv的TAC受体构建物的示意图。图8F示出了CD8+NGFR+(左)或CD4+NGFR+T细胞(右)的CD19-TAC表面表达。图8G、图8G1示出了用抗原阳性Raji肿瘤细胞刺激的CD19特异性TAC-T细胞的细胞因子生产。将细胞因子生产细胞与带有huUCHT1(正方形)、F6A(三角形)或L2K(菱形)的TAC-T细胞进行比较。图8H示出了NALM-6肿瘤细胞被CD19 TAC和载体对照(只携带tNGFR的载体)T细胞的灭杀。将载体对照T细胞(圆圈)针对带有huUCHT1(正方形)、F6A(三角形)或L2K(菱形)的CD19特异性TAC-T细胞进行比较。
- [0042] 图9A-图9H示出了各种不同的抗CD3 scFv对TCR表面表达的影响。图9A、图9E示出了用对照载体(tNGFR)、UCHT1或OKT3 TAC变体工程化改造的T细胞的TCR表面表达。图9B、图9F示出了相对于UCHT1-TAC,用OKT3-TAC工程化改造的T细胞具有显著降低的TCR表面表达。图9C、图9G示出了用对照载体(tNGFR)、huUCHT1、F6A或L2K TAC变体工程化改造的T细胞的TCR表面表达。图9D、图9H示出了相对于huUCHT1-TAC,用L2K TAC工程化改造的T细胞具有显

著降低的TCR表面表达。

[0043] 图10A-图10B示出了接头结构域变体。将抗原结合结构域与TCR召集结构域相连的结构域被称为接头结构域。图10A提供了具有不同接头结构域的TAC变体的示意图：(i) 柔性接头，(ii) 大结构域接头(从源自于细胞外CD4结构域的结构域3和4构建)，(iii) 长螺旋接头，和(iv) 短螺旋接头。图10B提供了图10A中表示的结构域的示例性氨基酸序列(以出现的顺序分别为SEQ ID NOS 69、28、30和32)。

[0044] 图11A-图11E示出了用不同接头变体工程化改造的CD19 TAC的示例性体外参数。图11A示出了在CD4和CD8细胞两者中TAC变体的表面表达。图11B示出了包含柔性接头的TAC相对于包含螺旋或大结构域接头的TAC的表面表达。图11C示出了相对于柔性接头，包含可替换接头的TAC的总体转导。图11D、图11E示出了对抗原阳性Raji细胞的相对细胞反应性。

[0045] 图12A示出了用不同接头工程化改造的BCMA Tri-TAC变体的体外细胞毒性。图12B示出了与短螺旋接头相比，用柔性接头工程化改造的BCMA Tri-TAC变体的体内肿瘤控制。

[0046] 图13A-图13C示出了CD8 α Tri-TAC scFv抗HER-2和CD8 α Tri-TAC DARPin抗HER-2的性质。图13A、图13C示出了表面表达。图13B示出了细胞因子生产。

[0047] 图14A-图14D提供了CD8 Tri-TAC变体的示意图。抗HER-2-DARPin被用作示例性抗原结合结构域，并且UCHT1 CD3召集结构域被用作示例性召集结构域。图14A示出了包含CD4跨膜和胞质结构域(左)和CD8 α /CD8 β 异二聚体的可比较区域(右)的Tri-TAC。对辅助受体功能来说关键的区域(富含精氨酸的结构域和CXCP基序)被突出。图14B是包含用于确保单体受体分布的半胱氨酸至丝氨酸突变和CD8 α 胞质结构域的CD8 α Tri-TAC的示意图。图14C是包含用于确保单体受体分布的半胱氨酸至丝氨酸突变和其中CD8 α 的富含精氨酸的区域被CD8 β 的富含精氨酸的区域代替的嵌合CD8 α 胞质结构域的CD8 α + β Tri-TAC的示意图。图14D是包含用于确保单体受体分布的半胱氨酸至丝氨酸突变和其中含有Lck结合基序的CD8 α CXCP结构域被添加到CD8 β 胞质结构域的C-端的嵌合CD8 β 胞质结构域的CD8 β +Lck Tri-TAC的示意图。

[0048] 图15A-图15E示出了CD8 Tri-TAC变体相对于含有CD4区域的原型Tri-TAC的体外表征。图15A-图15B示出了CD8-Tri TAC变体相对于原型Tri-TAC的表面表达。图15C示出了与LOX IMVI(HER-2阴性)或A549、SKOV3、SKBR3或MBA MB 231(HER-2阳性)共培养的CD8-Tri TAC变体的体外细胞毒性。图15D示出了用CD8 Tri-TAC变体或原型Tri-TAC工程化改造的T细胞的细胞分裂。图15E示出了包含CD8 Tri-TAC变体或原型Tri-TAC的工程化改造的T细胞的TCR表面表达。

[0049] 图16示出了各种不同的Tri-TAC。

[0050] 图17示出了pCCL慢病毒载体中的TAC-CD19插入片段。图17示出了TAC-CD19的各种不同结构域(CD8 α 前导序列、FMC63 scFv、Myc标签、huUCHT1 Y177T突变体和截短的锚定CD4的辅助受体结构域)。

[0051] 图18示出了从不同供体产生的TAC-CD19的体内效能。

[0052] 图19A-图19C示出了TAC-CD19针对肿瘤细胞系的细胞毒性的体外实例。图19A NALM-6(急性成淋巴细胞性白血病)，图19B Jeko-1(套细胞淋巴瘤)，图19C Raji(伯基特淋巴瘤)。

[0053] 图19D示出了NRG小鼠中的3种不同体内肿瘤模型的示意图。

[0054] 图19E-图19G示出了CD19-TAC在NALM-6 (急性成淋巴细胞性白血病) 图19E、Jeko-1 (套细胞淋巴瘤) 图19F和Raji (伯基特淋巴瘤) 图19G中的体内效能。

[0055] 图20A示出了TAC-CD19治疗的具有NALM-6肿瘤的小鼠的实验设置。在成功治疗后, 随后将小鼠用NALM-6 (CD19阳性) 或KMS11 (CD19阴性) 肿瘤细胞重新激惹。

[0056] 图20B示出了用TAC-CD19治疗的小鼠的体内效能。

[0057] 图21A示出了评估剂量方案和给药对效能和细胞扩增的影响的实验设计。

[0058] 图21B示出了用单一剂量或分次剂量的TAC-CD19治疗的带有NALM-6的小鼠的体内存活率。

[0059] 图22A-图22B示出了针对分次剂量给药后TAC-CD19的体内扩增的实验设置和数据。图22A示出了用于鉴定小鼠血液中的T细胞的门选策略。图22B示出了血液中的T细胞扩增的体内结果。

[0060] 图23A-图23C示出了TAC-CD19在小鼠中的长期体内研究。图23A示出了用各种不同的对照和TAC-CD19以两种剂量水平治疗带有NALM-6的小鼠的实验流程。图23B示出了对照组相比于两种剂量水平的TAC-CD19治疗组的体内效能。图23C示出了低剂量TAC-CD19治疗的小鼠得长期存活率。

[0061] 图24示出了来自于用TAC-CD19或未转导的T细胞治疗的小鼠的临床化学分析结果。

[0062] 图25示出了在用TAC-CD19或未转导的T细胞治疗后小鼠血液中释放出的人类细胞因子。

[0063] 图26A-图26C示出了采取不同配置的BCMA-TAC的效能。图26A示出了实验设计。图26B示出了各种不同的对照和试验品。图26C示出了各种不同TAC构建物的体内效能。图26A-图26C公开了作为SEQ ID NO:73的“G₄S”。

[0064] 图27示出了TAC在遇到细胞上的抗原时增殖,但在所述抗原存在于人造珠子上时不增殖;而不论抗原存在于珠子还是细胞上,CAR均增殖。

[0065] 图28A-图28B示出了TAC工程化改造的T细胞在体内扩增并提供长期保护,指示了细胞在骨髓瘤模型中的持续存留。图28A-图28B示出了在用NanoLuc工程化改造的KMS-11异种移植模型(KMS 11-NanoLuc) (BCMA^{pos}) 中BCMA-TAC T细胞排斥多发性骨髓瘤肿瘤。在肿瘤移植后,将小鼠用BCMA TAC-T细胞(带有萤火虫萤光素酶)治疗。在给药后TAC-T细胞显著扩增。这与肿瘤消退相关。治疗过的小鼠对肿瘤重新激惹有抗性,指示了TAC-T细胞的长期存留。

[0066] 图29示出了在用TAC-CD19或未转导的T细胞治疗后小鼠血液中释放出的人类细胞因子。

[0067] 图30示出了在CD4和CD8工程化改造的T细胞中TAC受体表面表达的示例性直方图。将细胞用muIgG HER2 TAC (EF1 α 启动子)、huIgG HER2 TAC (MSCV启动子)和muIgG HER2 TAC (MSCV启动子)工程化改造。在工程化改造后,将T细胞用TAC特异性试剂染色并使用流式细胞术进行测量。所有构建物显示出可比水平的表面表达,其中与MSCV构建物相比EF1 α 驱动的表达更高。

[0068] 图31示出了在与OVCAR3 (HER2阳性) 或LOX IMVI (HER2阴性) 细胞共培养后,表达TNF α 、IFN γ 或IL-2的T细胞的相对百分率。将T细胞用muIgG HER2 TAC (EF1 α 启动子)、缺少

HER2结合结构域的TAC构建物(Δ 结合TAC;EF1 α 启动子)、huIgG HER2 TAC(MSCV启动子)或muIgG HER2 TAC(MSCV启动子)工程化改造。当与LOX-IMVI(HER2^{neg})共培养时, Δ 结合TAC对照和HER2 TAC细胞未显示出有意义的细胞因子表达。与OVCAR3(HER2^{pos})共培养的所有HER2 TAC工程化改造的构建物均显示出相近的生产细胞因子的能力,而用 Δ 结合TAC工程化改造的对照T细胞未显示出有意义的细胞因子生产。

[0069] 图32示出了TAC工程化改造的T细胞在OVCAR3实体肿瘤模型中的体内效能。将T细胞用 Δ 结合TAC(EF1 α 启动子)、muIgG HER2TAC(EF1 α 启动子)、huIgG HER2 TAC(MSCV启动子)或muIgG HER2 TAC(MSCV启动子)工程化改造。小鼠已用OVCAR3(HER-2阳性)肿瘤皮下接种。使这些肿瘤生长至尺寸为约100mm³。然后将小鼠用总共6百万个HER2 TAC工程化改造的或 Δ 结合TAC对照T细胞的相隔48h的分次剂量通过尾静脉注射进行治疗。通过每两周一次的测量跟踪肿瘤进展。 Δ 结合TAC未显示出肿瘤控制或肿瘤消退。相对于对照小鼠,所有HER2 TAC工程化改造的T细胞显示出显著降低的肿瘤进展,包括肿瘤消退。所有HER2 TAC工程化改造的T细胞具有相近的抗肿瘤活性。

[0070] 详细描述

[0071] 癌症是重大的健康挑战,预期仅在加拿大就将诊断出超过15万癌症病例。尽管早期疾病患者有时通过常规疗法(手术、放射、化疗)可以得到有效治疗,但对晚期疾病患者来说可用选项很少,并且那些选项在本质上通常是姑息性的。

[0072] 主动免疫疗法力图利用患者的免疫系统来清除肿瘤,并且为常规疗法失败的患者提供一种选项。通常,这种治疗涉及向患者灌注大量肿瘤特异性T细胞。这种方法在包括黑色素瘤、骨髓瘤、白血病、淋巴瘤和滑膜肉瘤在内的多种疾病的早期临床试验中被证明是成功的。作为具体实例,几项临床研究证实了使用T细胞的免疫疗法在患有晚期黑色素瘤的患者中是治愈性的,证实了这种方法的用途。另外,患有慢性淋巴细胞性白血病(CLL)和急性成淋巴细胞性白血病(ALL)的患者也已通过T细胞免疫疗法得到有效治疗和治愈。

[0073] 过继性T细胞疗法的临床应用面临的关键挑战是T细胞的来源。通常,将从携带肿瘤的患者分离的T细胞离体生长至大量并给药回所述患者,以诱导鲁棒的抗肿瘤免疫应答。肿瘤特异性通过下述任一方式实现:(i)从所述患者分离天然存在的肿瘤特异性T细胞;或(ii)工程化改造来自于外周血的主体T细胞以表达肿瘤特异性受体。天然存在的肿瘤特异性T细胞是稀有的,并且从癌症患者以治疗量分离此类细胞是费力且昂贵的过程。相比之下,通过遗传操作使用肿瘤特异性受体工程化改造容易获得的外周血T细胞,变得越来越高效。已经开发出用于这种工程化改造过程的在临床上可行的技术,并且几项临床研究已证实了遗传工程改造的T细胞用于治疗癌症的可行性和效能。

[0074] 至此,涉及T细胞遗传修饰的大多数工程化改造的T细胞疗法产生:(i)T细胞受体(TCR)的强制表达;或(ii)特异性针对肿瘤上的抗原靶的嵌合抗原受体(CAR)。迄今为止,用于工程化改造的T细胞的嵌合抗原受体由下述结构域构成:(i)靶向结构域,通常是单链可变片段(scFv);(ii)跨膜结构域;和(iii)含有来自于T细胞受体和相关蛋白的信号传导元件的胞质结构域。此类嵌合抗原受体也被称为“T-体”或“嵌合免疫受体”(CIR),但当前大多数研究人员使用术语“CAR”。CAR方法的一个优点在于它允许以不依赖于主要组织相容性复合物(MHC)的方式针对任何所需靶来靶向任何患者的免疫细胞。这是有吸引力的,因为在肿瘤细胞中MHC呈递通常是缺陷的。

[0075] 考虑了采取模块化形式的CAR,并且科学家花费了大量时间研究不同胞质信号传导结构域对CAR功能的影响。常规CAR通常共有两个主要组分:(i) CD3 ζ 胞质结构域,其含有对T细胞活化来说关键的免疫酪氨酸活化基序(ITAM);和(ii)辅助刺激受体的触发重要存活途径例如Akt途径的组分。

[0076] 第一代CAR利用来自于CD3 ζ 或Fc ϵ RI γ 的单个信号传导结构域。第二代CAR将CD3 ζ 的信号传导结构域与来自于CD28或TNFR受体家族的辅助刺激受体的胞质结构域组合。目前在临床中测试的大多数CAR工程化改造的T细胞利用其中将CD3 ζ 偶联到CD28或CD137的胞质结构域的第二代CAR。这些第二代CAR已在CD19阳性肿瘤中表现出抗肿瘤活性。第三代CAR组合了多个辅助刺激结构域,但存在着第三代CAR可能丧失抗原特异性的顾虑。

[0077] 尽管CAR工程化改造的T细胞已在临床应用中显示出相当大的希望,但它们依靠合成方法来替换由T细胞受体(TCR)提供的本源活化信号。由于这种合成的受体不能递送与TCR相关的所有信号传导组分(例如CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 上的ITAM),因此仍不清楚T细胞是否被CAR最适地活化或CAR活化如何影响T细胞分化(例如发展成记忆性T细胞)。此外,由于正是CAR结构的本性使所述CAR信号传导结构域与它们的天然调控配偶体分开,因此存在着CAR可能导致低水平组成性活化的内在风险,从而可能导致脱靶毒性。因此,所述原型CAR的合成的本质可能破坏限制TCR活化的规范机制,并且可能加剧通常与治疗剂量的常规CAR T细胞相关的严重毒性。

[0078] 考虑到这些限制,优选地将T细胞重新导向为通过它们天然的TCR攻击肿瘤。为此目的,创造了一类被称为“双特异性T-细胞衔接物”(BiTE)的重组蛋白。这些蛋白利用双特异性抗体片段将T-细胞TCR受体与靶抗原交联。这导致高效的T-细胞活化,触发细胞毒性。类似地,已产生了实现这个目标的双特异性抗体,并且一些科学家简单地利用化学键合将抗CD3抗体连接到肿瘤特异性抗体。尽管这些双特异性蛋白在体外已表现出一定的活性,但GMP生产、短的生物半衰期和有限的生物可利用度代表了对这些分子在癌症治疗中成功使用的重大挑战。另外,这些分子也不能正确地重演天然的TCR信号传导,这是因为它们不接合TCR辅助受体(CD8和CD4)。

[0079] 鉴于上述情况,对于具有增强的活性和安全性的嵌合受体仍存在着需求。

[0080] 已开发了一种被称为三功能T细胞抗原偶联物(Tri-TAC或TAC)受体的可选嵌合受体,其利用独特的生物学来引导T细胞攻击肿瘤。CAR是将T细胞受体(TCR)信号传导复合体的组分拼合在一起的完全合成的受体,而TAC受体将所述TCR重新导向肿瘤靶并重演本源的TCR信号传导结构。例如,在某些实施方式中,本文中公开的TAC通过T-细胞受体(TCR)活化天然的主要组织相容性复合物(MHC)信号传导,同时保留不受MHC限制的靶向。此外,本文中公开的TAC与辅助受体刺激相组合召集T-细胞受体(TCR)。此外,在某些实施方式中,本文中公开的Tri-TAC显示出增强的活性和安全性。

[0081] 某些术语

[0082] 当在本文中使用时,术语“T细胞”是指在细胞介导的免疫中发挥中心作用的淋巴细胞类型。也被称为T淋巴细胞的T细胞与其他淋巴细胞例如B细胞和自然杀伤细胞的区别在于在细胞表面上存在T-细胞受体(TCR)。存在几种具有不同功能的T细胞亚类,包括但不限于辅助性T细胞、细胞毒性T细胞、记忆性T细胞、调节性T细胞和自然杀伤T细胞。

[0083] 术语“T细胞抗原偶联物”或TAC可以与“三功能T细胞抗原偶联物”或Tri-TAC互换

使用,并且是指一种工程化改造的核酸构建物或多肽,其当在T细胞上表达时,帮助促进所述T细胞向特定抗原的靶向。在某些实施方式中,所述TAC包含(a)靶特异性配体,(b)结合与T细胞受体(TCR)复合体相关的蛋白的配体,和(c)T细胞受体信号传导结构域。

[0084] 当在本文中使用时,术语“多核苷酸”和/或“核酸序列”和/或“核酸”是指由碱基、糖和糖间(骨架)连键构成的核苷或核苷酸单体的序列。所述术语也包括包含非天然存在的单体或其部分的修饰或替换的序列。本申请的核酸序列可以是脱氧核糖核酸序列(DNA)或核糖核酸序列(RNA),并且可以包括天然存在的碱基,包括腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶、胸腺嘧啶和尿嘧啶。所述序列也可能含有修饰的碱基。此类修饰的碱基的实例包括氮杂和去氮腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶、胸腺嘧啶和尿嘧啶,以及黄嘌呤和次黄嘌呤。本公开的核酸可以从生物有机体分离,通过遗传重组的实验室方法形成,或通过化学合成或用于产生核酸的其他已知方案获得。

[0085] 当在本文中使用时,术语“分离的多核苷酸”或“分离的核酸序列”是指当通过重组DNA技术生产时基本上不含细胞材料或培养基,或者当化学合成时基本上不含化学前体或其他化学品的核酸。分离的核酸也基本上不含在所述核酸所源自的核酸中天然在所述核酸两侧的序列(即位于所述核酸的5'和3'末端处的序列)。术语“核酸”打算包括DNA和RNA并且是双链或单链的,并且表示正义或反义链。此外,术语“核酸”包括互补的核酸序列。

[0086] 当在本文中使用时,术语“重组核酸”或“工程化改造的核酸”是指在生物有机体中不存在的核酸或多核苷酸。例如,重组核酸可以通过遗传重组的实验室方法(例如分子克隆)来形成,以产生原本在自然界中不存在的序列。重组核酸也可以通过化学合成或用于产生核酸的其他已知方案来产生。

[0087] 当在本文中使用时,术语“多肽”或“蛋白质”描述一条氨基酸链。本公开的多肽或蛋白质是肽,其通常描述一条氨基酸链。当在本文中使用时,术语蛋白质还描述包含一条或多条氨基酸链的大分子,并且在某些实施方式中是蛋白质的片段或结构域或全长蛋白。此外,当在本文中使用时,术语蛋白质是指线性氨基酸链,或者是指已被处理并折叠成有功能的蛋白质的氨基酸链。蛋白质结构被分为4个不同水平:(1)一级结构——是指所述多肽链中的氨基酸序列,(2)二级结构——是指所述多肽骨架链上规则的局部子结构,例如 α -螺旋和 β -片层,(3)三级结构——对于单体或多聚体蛋白质分子来说是指三维结构,以及(4)四级结构——是指包含作为单一功能单元起作用的两个或更多个个体多肽链的聚集体的三维结构。在某些实施方式中,本公开的蛋白质通过从天然生产它们的细胞分离和纯化所述蛋白质,通过酶(例如蛋白水解)切割,和/或通过编码本公开的蛋白质或片段的核酸的重组表达来获得。在某些实施方式中,本公开的蛋白质和/或片段通过化学合成或用于生产蛋白质和片段的其他已知方案来获得。

[0088] 术语“分离的多肽”是指当通过重组DNA技术生产时基本上不含细胞材料或培养基,或者当化学合成时基本上不含化学前体或其他化学品的多肽。

[0089] 当在本文中使用时,术语“抗体”打算包括单克隆抗体、多克隆抗体、单链抗体、嵌合抗体和抗体融合体。所述抗体可以来自于重组来源和/或在转基因动物中生产。当在本文中使用时,术语“抗体片段”打算包括但不限于Fab、Fab'、F(ab')₂、scFv、dsFv、ds-scFv、二聚体、微抗体、双体抗体及其多聚体、多特异性抗体片段和结构域抗体。

[0090] 当在本文中使用时,术语“载体”是指用于将核酸递送到细胞内部的多核苷酸。在

某些实施方式中,载体是包含与将要在细胞中表达的核酸可操作连接的表达控制序列(例如启动子)的表达载体。本领域中已知的载体包括但不限于质粒、噬菌粒、粘粒和病毒。

[0091] 当在本文中使用时,术语“肿瘤抗原”或“肿瘤相关抗原”是指在肿瘤细胞中产生的在宿主中触发免疫应答的(例如被MHC复合体呈递的)抗原性物质。在某些实施方式中,肿瘤抗原在肿瘤细胞的表面上。

[0092] 当在本文中使用时,术语“T细胞受体”或TCR是指参与T细胞对抗原的结合做出响应的活化的整合膜蛋白的复合体。TCR是二硫键连接的膜锚定的异二聚体,通常由高度可变的alpha (α) 和beta (β) 链构成,作为与不可变的CD3(分化抗原簇3)链分子的复合体的一部分表达。表达这种受体的T细胞被称为 α : β (或 $\alpha\beta$) T细胞,尽管少数T细胞表达由可变的gamma (γ) 和delta (δ) 链形成的可选受体,并且被称为 γ δ T细胞。CD3是由4条不同的链组成的蛋白质复合体。在哺乳动物中,所述复合体含有CD3 γ 链、CD3 δ 链、两条CD3 ϵ 链和两条CD3 ζ 链。

[0093] 当在本文中使用时,术语“跨膜和胞质结构域”是指包含与T细胞受体(TCR)复合体相关的蛋白的跨膜结构域和胞质结构域的多肽。在某些实施方式中,此类跨膜和胞质结构域可以包括但不限于(a)与脂筏相关和/或(b)结合Lck的蛋白质结构域。

[0094] 当在本文中使用时,“TCR辅助受体”是指协助T细胞受体(TCR)与抗原呈递细胞的通讯的分子,并且可以被认为是导致所述TCR活化的第一信号的一部分。TCR辅助受体的实例包括但不限于CD4、LAG3和CD8。

[0095] 当在本文中使用时,“TCR辅助刺激物”是指增强T细胞对抗原的应答的分子,并且可以被认为是导致所述TCR活化的第二信号。TCR辅助刺激物的实例包括但不限于ICOS、CD27、CD28、4-1BB(CD 137)、OX40(CD134)、CD30、CD40、淋巴细胞虚构相关抗原1(LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3和特异性结合CD83的配体。

[0096] 当在本文中使用时,“TCR辅助抑制剂”或“检查点受体”是指抑制T细胞对抗原的应答的分子。TCR辅助抑制剂的实例包括但不限于PD-1、TIM3、LAG-3、TIGIT、BTLA、CD160和CD37。

[0097] 术语“接受者”、“个体”、“对象”、“宿主”和“患者”在本文中可互换使用,并且在某些实施方式中是指希望对其实施诊断、治疗或疗法的任何哺乳动物对象,特别是人类。出于治疗的目的,“哺乳动物”是指被分类为哺乳动物的任何动物,包括人类、驯养和农场动物以及实验室、动物园、运动动物或宠物,例如狗、马、猫、奶牛、绵羊、山羊、猪、小鼠、大鼠、兔、豚鼠、猴等。在某些实施方式中,所述哺乳动物是人类。这些术语均不需要医务人员的监督。

[0098] 当在本文中使用时,术语“治疗”等在某些实施方式中是指出于获得效果的目的而给药药剂或执行程序。所述效果就完全或部分阻止疾病或其症状而言可以是预防性的,和/或就影响疾病和/或所述疾病的症状的部分或完全治愈而言可以是治疗性的。当在本文中使用时,“治疗”可以包括在哺乳动物中、特别是在人类中治疗疾病或障碍(例如癌症),并且包括:(a)在可能对疾病易感但尚未被诊断为患有所述疾病(例如包括可能与原发性疾病相关或由原发性疾病引起的疾病)的对象中阻止所述疾病或疾病症状的发生;(b)抑制所述疾病,即停止其发展;和(c)缓解所述疾病,即引起所述疾病的消退。治疗可以是指癌症的治疗或改善或预防的任何成功的迹象,包括任何客观或主观参数,例如消减、缓解、症状的减轻、使患者对所述疾病病症更加可忍耐、减缓变性或衰落的速度,或使变性的终点变得不太使人衰弱。症状的治疗或改善是基于一个或多个客观或主观参数,包括由医师进行的检查的

结果。因此,术语“治疗”包括给药本发明的化合物或药剂以阻止、延迟、缓和、终止或抑制与疾病(例如癌症)相关的症状或病症的发展。术语“治疗效果”是指在所述对象中减轻、消除或阻止所述疾病、疾病症状或疾病的副作用。

[0099] 当在本文中使用时,没有具体数目的指称包括复数指称物,除非上下文明确指示不是如此。因此,例如,对“抗体”的指称包括多个抗体,并且对“抗体”的指称在某些实施方式中包括多种抗体,以此类推。

[0100] 当在本文中使用时,所有数值或数值范围包括在这些范围内或涵盖这些范围的全部整数以及在所述范围内或涵盖所述范围的值或整数的分数,除非上下文明确指示不是如此。因此,例如,对90-100%的范围的指称包括91%、92%、93%、94%、95%、95%、96%、97%等,以及91.1%、91.2%、91.3%、91.4%、91.5%等、92.1%、92.2%、92.3%、92.4%、92.5%等,以此类推。在另一个实例中,对1-5,000倍的范围的指称包括1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20倍等,以及1.1、1.2、1.3、1.4、1.5倍等、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5倍等,以此类推。

[0101] 当在本文中使用时,“约”某个数字是指包括所述数字并从比该数字低10%至比该数字高10%的范围。“约”某个范围是指从比所述范围的下限低10%横跨至比所述范围的上限高10%。

[0102] “百分(%)一致性”是指两个序列(核苷酸或氨基酸)在比对中在相同位置处具有相同残基的程度。例如,“氨基酸序列与SEQ ID NO:Y X%一致”是指所述氨基酸序列与SEQ ID NO:Y的一致性%,并且详细说明了所述氨基酸序列中X%的残基与SEQ ID NO:Y中公开的序列的残基一致。通常,使用计算机程序进行此类计算。将成对序列比较和对齐的示例性程序包括ALIGN(Myers和Miller,1988)、FASTA(Pearson和Lipman,1988;Pearson,1990)和带空位BLAST(Altschul等,1997)、BLASTP、BLASTN或GCG(Devereux等,1984)。

[0103] 当在本文中使用时,术语“选择性结合”是指分子(例如蛋白质例如TAC的靶结合性配体)结合其靶分子(例如靶抗原如HER-2、BCMA或CD19)比其他分子具有更高的亲和性。

[0104] T细胞抗原偶联物(Tri-TAC或TAC)

[0105] 在某些实施方式中,本文公开了编码三功能T细胞抗原偶联物(Tri-TAC)的核酸。在某些实施方式中,所述编码Tri-TAC的核酸包含:(a)编码靶特异性配体的第一多核苷酸;(b)编码结合TCR复合体的配体的第二多核苷酸;和(c)编码跨膜结构域和胞质结构域的第二多核苷酸。在某些实施方式中,所述编码Tri-TAC的核酸不编码共刺激结构域。在某些实施方式中,所述编码Tri-TAC的核酸不编码辅助活化结构域。

[0106] 靶特异性配体

[0107] 所述也被称为抗原结合结构域的靶特异性配体是指直接或间接地与靶细胞结合的任何物质或分子。在某些实施方式中,所述靶特异性配体与所述靶细胞上的抗原结合。在某些实施方式中,靶细胞是与疾病状态包括但不限于癌症、血液恶性肿瘤、大B-细胞淋巴瘤、弥漫性大B-细胞淋巴瘤、原发性纵隔B细胞淋巴瘤、高等级B-细胞淋巴瘤或由滤泡性淋巴瘤引起的大B细胞淋巴瘤相关的细胞。在某些实施方式中,靶细胞是肿瘤细胞。在某些实施方式中,靶特异性配体与肿瘤细胞上的肿瘤抗原或肿瘤相关抗原结合。在某些实施方式中,所述靶抗原是肿瘤抗原。在某些实施方式中,所述肿瘤抗原当是蛋白质时是8个或更多个氨基酸的序列直至完整蛋白。在某些实施方式中,所述肿瘤抗原具有8个氨基酸至全长蛋

白之间的任何数目的氨基酸,其包含呈递在主要组织相容性复合物(MHC)中的所述全长蛋白的至少一个抗原性片段。肿瘤抗原的实例包括但不限于CD19、HER-2(erbB-2)、B-细胞成熟抗原(BCMA)、甲胎蛋白(AFP)、癌胚抗原(CEA)、CA-125、MUC-1、上皮肿瘤抗原(ETA)、酪氨酸酶、黑素瘤相关抗原(MAGE)、前列腺特异性抗原(PSA)、神经胶质瘤相关抗原、 β -人绒毛膜促性腺激素、甲状腺球蛋白、RAGE-1、MN-CA IX、人端粒酶反转录酶、RU1、RU2(AS)、肠羧酸酯酶、mut hsp70-2、M-CSF、前列腺酶、PAP、NY-ESO-1、LAGE-1a、p53、prostelin、PSMA、存活蛋白和端粒酶、前列腺癌肿瘤抗原-1(PCTA-1)、ELF2M、中性白细胞弹性蛋白酶、CD22、胰岛素生长因子(IGF)-I、IGF-II、IGF-I受体和间皮素。

[0108] 在某些实施方式中,所述靶特异性配体包括但不限于与靶细胞和/或抗原结合的抗体及其片段,例如单链抗体如单链抗体(scFv)、单结构域抗体、肽、肽模拟物、蛋白质、糖蛋白或蛋白聚糖。在某些实施方式中,所述靶特异性配体包括但不限于设计的锚蛋白重复序列蛋白(DARPin)、凝集素、打结素、centryrin、anticalin或肿瘤抗原的天然存在的配体例如生长因子、酶底物、受体或结合蛋白。在某些实施方式中,靶特异性配体包括与靶细胞和/或抗原结合的非蛋白质化合物,包括但不限于糖类、脂类、核酸或小分子。在某些实施方式中,靶特异性配体是靶向特定细胞和/或抗原的设计的锚蛋白重复序列(DARPin)。在某些实施方式中,靶特异性配体是靶向特定细胞和/或抗原的单链可变片段(ScFv)。

[0109] 在某些实施方式中,所述肿瘤抗原是HER-2抗原。在某些实施方式中,所述HER-2特异性配体包含选自曲妥珠单抗、帕妥珠单抗、拉帕替尼、来那替尼、曲妥珠单抗-美坦新偶联物、甘妥单抗、Margetuximab、替米妥珠单抗和Ertumaxomab的抗体的抗原结合结构域。在某些实施方式中,所述靶特异性配体是选择性结合HER-2(erbB-2)抗原的DARPin。在某些实施方式中,所述靶特异性配体是特异性结合HER-2(erbB-2)抗原的DARPin。在某些实施方式中,所述靶向HER-2(erb-2)的DARPin包含SEQ ID NO:7或SEQ ID NO:8。

[0110] 在某些实施方式中,所述第一多核苷酸包含与SEQ ID NO:7具有至少70%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第一多核苷酸包含与SEQ ID NO:7具有至少75%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第一多核苷酸包含与SEQ ID NO:7具有至少80%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第一多核苷酸包含与SEQ ID NO:7具有至少85%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第一多核苷酸包含与SEQ ID NO:7具有至少90%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第一多核苷酸包含与SEQ ID NO:7具有至少95%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第一多核苷酸包含SEQ ID NO:7的核苷酸序列。

[0111] 在某些实施方式中,所述靶特异性配体包含与SEQ ID NO:8具有至少70%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述靶特异性配体包含与SEQ ID NO:8具有至少75%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述靶特异性配体包含与SEQ ID NO:8具有至少80%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述靶特异性配体包含与SEQ ID NO:8具有至少85%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述靶特异性配体包含与SEQ ID NO:8具有至少90%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述靶特异性配体包含与SEQ ID NO:8具有至少95%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述靶特异性配体包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。

[0112] 在某些实施方式中,所述肿瘤抗原是BCMA抗原。在某些实施方式中,所述BCMA特异

性配体包含选自Belantamab mafodotin和GSK2857916的抗体的抗原结合结构域。在某些实施方式中,所述靶特异性配体是选择性结合BCMA的scFv。在某些实施方式中,所述靶特异性配体是特异性结合BCMA的scFv。在某些实施方式中,所述结合BCMA的scFv包含SEQ ID NO:33或SEQ ID NO:34。

[0113] 在某些实施方式中,所述第一多核苷酸包含与SEQ ID NO:33具有至少70%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第一多核苷酸包含与SEQ ID NO:33具有至少77%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第一多核苷酸包含与SEQ ID NO:33具有至少80%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第一多核苷酸包含与SEQ ID NO:33具有至少85%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第一多核苷酸包含与SEQ ID NO:33具有至少90%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第一多核苷酸包含与SEQ ID NO:33具有至少95%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第一多核苷酸包含SEQ ID NO:33的核苷酸序列。

[0114] 在某些实施方式中,所述靶特异性配体包含与SEQ ID NO:34具有至少70%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述靶特异性配体包含与SEQ ID NO:34具有至少75%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述靶特异性配体包含与SEQ ID NO:34具有至少80%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述靶特异性配体包含与SEQ ID NO:34具有至少85%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述靶特异性配体包含与SEQ ID NO:34具有至少90%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述靶特异性配体包含与SEQ ID NO:34具有至少95%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述靶特异性配体包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列。

[0115] 在某些实施方式中,所述肿瘤抗原是CD19抗原。在某些实施方式中,所述靶特异性配体是选择性结合CD19的scFv。在某些实施方式中,所述靶特异性配体是特异性结合CD19的scFv。在某些实施方式中,所述结合CD19的scFv包含SEQ ID NO:35或SEQ ID NO:36。

[0116] 在某些实施方式中,所述第一多核苷酸包含与SEQ ID NO:35具有至少70%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第一多核苷酸包含与SEQ ID NO:35具有至少75%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第一多核苷酸包含与SEQ ID NO:35具有至少80%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第一多核苷酸包含与SEQ ID NO:35具有至少85%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第一多核苷酸包含与SEQ ID NO:35具有至少90%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第一多核苷酸包含与SEQ ID NO:35具有至少95%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第一多核苷酸包含SEQ ID NO:35的核苷酸序列。

[0117] 在某些实施方式中,所述靶特异性配体包含与SEQ ID NO:36具有至少70%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述靶特异性配体包含与SEQ ID NO:36具有至少75%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述靶特异性配体包含与SEQ ID NO:36具有至少80%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述靶特异性配体包含与SEQ ID NO:36具有至少85%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述靶特异性配体包含与SEQ ID NO:36具有至少90%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述靶特异性配体包含与SEQ ID NO:36具有至少95%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述靶特异性配体包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列。

[0118] 结合TCR复合体的配体

[0119] 在某些实施方式中,所述TAC包含结合与TCR复合体相关的蛋白的配体。在某些实施方式中,所述结合与TCR复合体相关的蛋白的配体包括直接或间接与所述TCR的蛋白结合的物质。在某些实施方式中,所述结合与TCR复合体相关的蛋白的配体包括与所述TCR的蛋白选择性结合的物质。在某些实施方式中,所述结合与TCR复合体相关的蛋白的配体包括与所述TCR的蛋白特异性结合的物质。与所述TCR相关的蛋白包括但不限于TCR alpha (α) 链、TCR beta (β) 链、TCR gamma (γ) 链、TCR delta (δ) 链、CD3 γ 链、CD3 δ 链和CD3 ϵ 链。在某些实施方式中,结合与TCR复合体相关的蛋白的配体是针对所述TCR alpha (α) 链、TCR beta (β) 链、TCR gamma (γ) 链、TCR delta (δ) 链、CD3 γ 链、CD3 δ 链和/或CD3 ϵ 链的抗体。在某些实施方式中,所述与TCR复合体相关的蛋白是CD3。在某些实施方式中,所述与TCR复合体相关的蛋白是CD3 ϵ 。CD3抗体的实例包括但不限于。在某些实施方式中,所述结合CD3的抗体是单链抗体,例如单链可变片段(scFv)。在某些实施方式中,所述结合TCR的配体是抗CD3抗体或其片段,例如莫罗单抗、奥昔组单抗、teplizumab、visilizumab、CD3-12、MEM-57、4D10A6、CD3D或TR66。

[0120] 在某些实施方式中,所述CD3是在表达所述第二多核苷酸的细胞上的TCR复合体的CD3。在某些实施方式中,所述CD3的结合诱导表达所述第二多核苷酸的细胞的活化。

[0121] 在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体是UCHT1或其变体。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体是UCHT1(SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14或其同系物)。在某些实施方式中,所述UCHT1配体结合CD3。在某些实施方式中,所述UCHT1配体选择性结合CD3。在某些实施方式中,所述UCHT1配体特异性结合CD3。在某些实施方式中,所述UCHT1配体结合CD3 ϵ 。在某些实施方式中,所述UCHT1配体选择性结合CD3 ϵ 。在某些实施方式中,所述UCHT1配体特异性结合CD3 ϵ 。在某些实施方式中,所述UCHT1配体由SEQ ID NO 13编码。在某些实施方式中,所述UCHT1配体包含SEQ ID NO14。在某些实施方式中,所述UCHT1配体被突变。在某些实施方式中,所述UCHT1配体包含Y182T突变(也被称为UCHT1(Y182T))(SEQ ID NO:71和SEQ ID NO:72)。在某些实施方式中,所述UCHT1(Y182T)配体结合CD3。在某些实施方式中,所述UCHT1(Y182T)配体选择性结合CD3。在某些实施方式中,所述UCHT1(Y182T)配体特异性结合CD3。在某些实施方式中,所述UCHT1(Y182T)配体结合CD3 ϵ 。在某些实施方式中,所述UCHT1(Y182T)配体选择性结合CD3 ϵ 。在某些实施方式中,所述UCHT1(Y182T)配体特异性结合CD3 ϵ 。在某些实施方式中,所述UCHT1(Y182T)配体由SEQ ID NO71编码。在某些实施方式中,所述UCHT1(Y182T)配体包含SEQ ID NO 72。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体是人源化UCHT1(huUCHT1)。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体是huUCHT1(SEQ ID NO 43、SEQ ID NO:44或其同系物)。在某些实施方式中,所述huUCHT1配体结合CD3。在某些实施方式中,所述huUCHT1配体选择性结合CD3。在某些实施方式中,所述huUCHT1配体特异性结合CD3。在某些实施方式中,所述huUCHT1配体结合CD3 ϵ 。在某些实施方式中,所述huUCHT1配体选择性结合CD3 ϵ 。在某些实施方式中,所述huUCHT1配体特异性结合CD3 ϵ 。在某些实施方式中,所述huUCHT1配体由SEQ ID NO 43编码。在某些实施方式中,所述huUCHT1配体包含SEQ ID NO 44。在某些实施方式中,所述huUCHT1具有Y177T突变(也被称为huUCHT1(Y177T))(SEQ ID NO:45和SEQ ID NO:46)。在某些实施方式中,所述huUCHT1(Y177T)配体结合CD3。在某些实施方式中,所述huUCHT1(Y177T)配体选择性结合CD3。在某

些实施方式中,所述huUCHT1(Y177T)配体特异性结合CD3。在某些实施方式中,所述huUCHT1(Y177T)配体结合CD3 ϵ 。在某些实施方式中,所述huUCHT1(Y177T)配体选择性结合CD3 ϵ 。在某些实施方式中,所述huUCHT1(Y177T)配体特异性结合CD3 ϵ 。在某些实施方式中,所述huUCHT1(Y177T)配体由SEQ ID NO 45编码。在某些实施方式中,所述huUCHT1配体包含SEQ ID NO 46。

[0122] 在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:13具有至少70%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:13具有至少75%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:13具有至少80%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:13具有至少85%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:13具有至少90%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:13具有至少95%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含SEQ ID NO:13的核苷酸序列。

[0123] 在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:14具有至少70%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:14具有至少75%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:14具有至少80%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:14具有至少85%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:14具有至少90%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:14具有至少95%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列。

[0124] 在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:71具有至少70%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:71具有至少75%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:71具有至少80%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:71具有至少85%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:71具有至少90%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:71具有至少95%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含SEQ ID NO:71的核苷酸序列。

[0125] 在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:72具有至少70%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:72具有至少75%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:72具有至少80%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:72具有至少85%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:72具有至少90%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:72具有至少95%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列。

[0126] 在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:43具有至少70%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:43具有至少75%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:43具有至少80%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:43具有至少85%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:43具有至少90%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:43具有至少95%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含SEQ ID NO:43的核苷酸序列。

[0127] 在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:44具有至少70%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:44具有至少75%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:44具有至少80%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:44具有至少85%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:44具有至少90%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:44具有至少95%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列。

[0128] 在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:45具有至少70%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:45具有至少75%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:45具有至少80%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:45具有至少85%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:45具有至少90%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:45具有至少95%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含SEQ ID NO:45的核苷酸序列。

[0129] 在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:46具有至少70%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:46具有至少75%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:46具有至少80%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:46具有至少85%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:46具有至少90%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:46具有至少95%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列。

[0130] 在某些实施方式中,所述与CD3结合的配体是OKT3。在某些实施方式中,所述OKT3配体结合CD3。在某些实施方式中,所述OKT3配体选择性结合CD3。在某些实施方式中,所述OKT3配体特异性结合CD3。在某些实施方式中,所述OKT3配体结合CD3 ϵ 。在某些实施方式中,所述OKT3配体选择性结合CD3 ϵ 。在某些实施方式中,所述OKT3配体特异性结合CD3 ϵ 。在某些实施方式中,所述鼠类OKT3配体由SEQ ID NO 21编码。在某些实施方式中,所述OKT3配体包

含SEQ ID NO 22。

[0131] 在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:21具有至少70%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:21具有至少75%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:21具有至少80%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:21具有至少85%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:21具有至少90%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:21具有至少95%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含SEQ ID NO:21的核苷酸序列。

[0132] 在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:22具有至少70%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:22具有至少75%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:22具有至少80%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:22具有至少85%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:22具有至少90%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:22具有至少95%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列。

[0133] 在某些实施方式中,所述与CD3结合的配体是F6A。在某些实施方式中,所述F6A配体结合CD3。在某些实施方式中,所述F6A配体选择性结合CD3。在某些实施方式中,所述F6A配体特异性结合CD3。在某些实施方式中,所述F6A配体结合CD3 ϵ 。在某些实施方式中,所述F6A配体选择性结合CD3 ϵ 。在某些实施方式中,所述F6A配体特异性结合CD3 ϵ 。在某些实施方式中,所述鼠类F6A配体由SEQ ID NO23编码。在某些实施方式中,所述F6A配体包含SEQ ID NO 24。

[0134] 在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:23具有至少70%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:23具有至少75%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:23具有至少80%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:23具有至少85%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:23具有至少90%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:23具有至少95%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含SEQ ID NO:23的核苷酸序列。

[0135] 在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:24具有至少70%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:24具有至少75%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:24具有至少80%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:24具有至少85%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:24具有至少90%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:24具

有至少95%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列。

[0136] 在某些实施方式中,所述与CD3结合的配体是L2K。在某些实施方式中,所述L2K配体结合CD3。在某些实施方式中,所述L2K配体选择性结合CD3。在某些实施方式中,所述L2K配体特异性结合CD3。在某些实施方式中,所述L2K配体结合CD3 ϵ 。在某些实施方式中,所述L2K配体选择性结合CD3 ϵ 。在某些实施方式中,所述L2K配体特异性结合CD3 ϵ 。在某些实施方式中,所述鼠类L2K配体由SEQ ID NO:25编码。在某些实施方式中,所述L2K配体包含SEQ ID NO:26。

[0137] 在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:25具有至少70%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:25具有至少75%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:25具有至少80%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:25具有至少85%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:25具有至少90%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含与SEQ ID NO:25具有至少95%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸包含SEQ ID NO:25的核苷酸序列。

[0138] 在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:26具有至少70%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:26具有至少75%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:26具有至少80%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:26具有至少85%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:26具有至少90%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含与SEQ ID NO:26具有至少95%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列。

[0139] 跨膜结构域和胞质结构域

[0140] 在某些实施方式中,T细胞抗原偶联物包括T细胞受体信号传导结构域多肽。在某些实施方式中,所述TCR信号传导结构域多肽包含跨膜结构域。在某些实施方式中,所述TCR信号传导结构域多肽包含胞质结构域。在某些实施方式中,所述TCR信号传导结构域多肽包含跨膜结构域和胞质结构域。在某些实施方式中,所述胞质结构域和跨膜结构域任选地通过连接物相连。在某些实施方式中,所述T细胞受体信号传导结构域多肽包含TCR辅助受体结构域。在某些实施方式中,所述T细胞受体信号传导结构域多肽不包含TCR辅助刺激物结构域。在某些实施方式中,所述TCR信号传导结构域多肽包含TCR辅助受体的跨膜结构域和/或胞质结构域。在某些实施方式中,所述TCR辅助受体是CD4、CD8、LAG3或其嵌合变化形式。

[0141] 在某些实施方式中,所述TCR辅助受体是CD4。在某些实施方式中,所述TCR信号传导结构域多肽包含由SEQ ID NO:17编码的CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述TCR信号传导结构域多肽包含含有SEQ ID NO:18的CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。

[0142] 在某些实施方式中,所述第三多核苷酸包含与SEQ ID NO:17具有至少70%序列一

致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第三多核苷酸包含与SEQ ID NO:17具有至少75%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第三多核苷酸包含与SEQ ID NO:17具有至少80%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第三多核苷酸包含与SEQ ID NO:17具有至少85%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第三多核苷酸包含与SEQ ID NO:17具有至少90%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第三多核苷酸包含与SEQ ID NO:17具有至少95%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第三多核苷酸包含SEQ ID NO:17的核苷酸序列。

[0143] 在某些实施方式中,所述跨膜结构域和胞质结构域包含与SEQ ID NO:18具有至少70%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述跨膜结构域和胞质结构域包含与SEQ ID NO:18具有至少75%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述跨膜结构域和胞质结构域包含与SEQ ID NO:18具有至少80%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述跨膜结构域和胞质结构域包含与SEQ ID NO:18具有至少85%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述跨膜结构域和胞质结构域包含与SEQ ID NO:18具有至少90%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述跨膜结构域和胞质结构域包含与SEQ ID NO:18具有至少95%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述跨膜结构域和胞质结构域包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

[0144] 在某些实施方式中,所述TCR辅助受体是CD8。在某些实施方式中,所述TCR辅助受体是CD8 α 。在某些实施方式中,所述TCR信号传导结构域多肽包含由SEQ ID NO:37编码的CD8 α 辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述TCR信号传导结构域多肽包含含有SEQ ID NO:38的CD8 α 辅助受体的跨膜和胞质结构域。

[0145] 在某些实施方式中,所述第三多核苷酸包含与SEQ ID NO:37具有至少70%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第三多核苷酸包含与SEQ ID NO:37具有至少75%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第三多核苷酸包含与SEQ ID NO:37具有至少80%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第三多核苷酸包含与SEQ ID NO:37具有至少85%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第三多核苷酸包含与SEQ ID NO:37具有至少90%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第三多核苷酸包含与SEQ ID NO:37具有至少95%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第三多核苷酸包含SEQ ID NO:37的核苷酸序列。

[0146] 在某些实施方式中,所述跨膜结构域和胞质结构域包含与SEQ ID NO:38具有至少70%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述跨膜结构域和胞质结构域包含与SEQ ID NO:38具有至少75%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述跨膜结构域和胞质结构域包含与SEQ ID NO:38具有至少80%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述跨膜结构域和胞质结构域包含与SEQ ID NO:38具有至少85%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述跨膜结构域和胞质结构域包含与SEQ ID NO:38具有至少90%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述跨膜结构域和胞质结构域包含与SEQ ID NO:38具有至少95%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述跨膜结构域和胞质结构域包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列。

[0147] 在某些实施方式中,所述TCR信号传导结构域多肽包含来自于辅助受体的序列或结构域的嵌合体。在某些实施方式中,所述TCR信号传导结构域多肽包含CD8 α 和CD8 β 的嵌合

体,其中所述CD8 α 的富含精氨酸的区域被所述CD8 β 的富含精氨酸的区域代替。在某些实施方式中,所述T细胞受体信号传导结构域多肽包含由SEQ ID NO:39编码的CD8 α +R(β)辅助受体嵌合体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述T细胞受体信号传导结构域多肽包含由SEQ ID NO:40提供的CD8 α +R(β)辅助受体嵌合体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述TCR信号传导结构域多肽包含CD8 α 和CD8 β 的嵌合体,含有Lck结合基序的CD8 α CXCP结构域被附连到所述CD8 β 胞质结构域的C-端。在某些实施方式中,所述T细胞受体信号传导结构域多肽包含由SEQ ID NO:41编码的CD8 β +Lck辅助受体嵌合体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述T细胞受体信号传导结构域多肽包含由SEQ ID NO:42提供的CD8 β +Lck辅助受体嵌合体的跨膜和胞质结构域。

[0148] 在某些实施方式中,所述第三多核苷酸包含与SEQ ID NO:39具有至少70%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第三多核苷酸包含与SEQ ID NO:39具有至少75%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第三多核苷酸包含与SEQ ID NO:39具有至少80%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第三多核苷酸包含与SEQ ID NO:39具有至少85%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第三多核苷酸包含与SEQ ID NO:39具有至少90%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第三多核苷酸包含与SEQ ID NO:39具有至少95%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第三多核苷酸包含SEQ ID NO:39的核苷酸序列。

[0149] 在某些实施方式中,所述跨膜结构域和胞质结构域包含与SEQ ID NO:40具有至少70%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述跨膜结构域和胞质结构域包含与SEQ ID NO:40具有至少75%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述跨膜结构域和胞质结构域包含与SEQ ID NO:40具有至少80%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述跨膜结构域和胞质结构域包含与SEQ ID NO:40具有至少85%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述跨膜结构域和胞质结构域包含与SEQ ID NO:40具有至少90%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述跨膜结构域和胞质结构域包含与SEQ ID NO:40具有至少95%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述跨膜结构域和胞质结构域包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列。

[0150] 在某些实施方式中,所述第三多核苷酸包含与SEQ ID NO:41具有至少70%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第三多核苷酸包含与SEQ ID NO:41具有至少75%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第三多核苷酸包含与SEQ ID NO:41具有至少80%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第三多核苷酸包含与SEQ ID NO:41具有至少85%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第三多核苷酸包含与SEQ ID NO:41具有至少90%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第三多核苷酸包含与SEQ ID NO:41具有至少95%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述第三多核苷酸包含SEQ ID NO:41的核苷酸序列。

[0151] 在某些实施方式中,所述跨膜结构域和胞质结构域包含与SEQ ID NO:42具有至少70%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述跨膜结构域和胞质结构域包含与SEQ ID NO:42具有至少75%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述跨膜结构域和胞质结构域包含与SEQ ID NO:42具有至少80%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述跨膜结构域和胞质结构域包含与SEQ ID NO:42具有至少85%序列一致性的氨

氨基酸序列。在某些实施方式中,所述跨膜结构域和胞质结构域包含与SEQ ID NO:42具有至少90%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述跨膜结构域和胞质结构域包含与SEQ ID NO:42具有至少95%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述跨膜结构域和胞质结构域包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列。

[0152] 在某些实施方式中,所述T细胞受体信号传导结构域多肽包含TCR辅助刺激物结构域。在某些实施方式中,所述TCR辅助刺激物是ICOS。在某些实施方式中,所述TCR辅助刺激物是CD27。在某些实施方式中,所述TCR辅助刺激物是CD28。在某些实施方式中,所述TCR辅助刺激物是4-1BB(CD137)。在某些实施方式中,所述TCR辅助刺激物是OX40(CD134)。在某些实施方式中,所述TCR辅助刺激物是CD30。在某些实施方式中,所述TCR辅助刺激物是CD40。在某些实施方式中,所述TCR辅助刺激物是淋巴细胞虚构相关抗原1(LFA-1)。在某些实施方式中,所述TCR辅助刺激物是CD2。在某些实施方式中,所述TCR辅助刺激物是CD7。在某些实施方式中,所述TCR辅助刺激物是LIGHT。在某些实施方式中,所述TCR辅助刺激物是NKG2C。在某些实施方式中,所述TCR辅助刺激物是B7-H3。在某些实施方式中,所述TCR辅助刺激物是特异性结合CD83的配体。

[0153] 在某些实施方式中,所述TCR信号传导结构域多肽包含TCR辅助抑制剂的跨膜结构域和/或胞质结构域。在某些实施方式中,所述TCR辅助抑制剂是PD-1。在某些实施方式中,所述TCR辅助抑制剂是TIM3。在某些实施方式中,所述TCR辅助抑制剂是LAG-3。在某些实施方式中,所述TCR辅助抑制剂是TIGIT。在某些实施方式中,所述TCR辅助抑制剂是BTLA。在某些实施方式中,所述TCR辅助抑制剂是CD160。在某些实施方式中,所述TCR辅助抑制剂是CD37。

[0154] 在某些实施方式中,所述TCR信号传导结构域多肽包括TCR辅助受体或辅助刺激物蛋白的胞质结构域和跨膜结构域两者。在某些实施方式中,所述胞质结构域和跨膜结构域来自于同一个辅助受体或辅助刺激物或来自于不同的辅助受体或辅助刺激物。在某些实施方式中,所述TAC还包含直接或间接起作用以靶向或活化所述T细胞的其他多肽。

[0155] 连接物、接头和配置

[0156] 在某些实施方式中,本文中公开的核酸采取下述顺序:(1) 编码靶特异性配体的第一多核苷酸;(2) 编码结合TCR复合体的配体的第二多核苷酸;(3) 编码跨膜结构域和胞质结构域第三多核苷酸。在某些实施方式中,本文中公开的核酸采取下述顺序:(1) 编码靶特异性配体的第一多核苷酸;(2) 编码结合TCR复合体的配体的第二多核苷酸;(3) 编码跨膜结构域和胞质结构域第三多核苷酸,其中所述顺序是5'末端至3'末端。在某些实施方式中,本文中公开的核酸采取下述顺序:(1) 编码靶特异性配体的第一多核苷酸;(2) 编码结合TCR复合体的配体的第二多核苷酸;(3) 编码跨膜结构域和胞质结构域第三多核苷酸,其中所述顺序是3'末端至5'末端。在某些实施方式中,本文中描述的核酸采取下述顺序:(1) 编码结合TCR复合体的配体的第一多核苷酸;(2) 编码靶特异性配体的第二多核苷酸;(3) 编码跨膜结构域和胞质结构域第三多核苷酸。在某些实施方式中,本文中描述的核酸采取下述顺序:(1) 编码结合TCR复合体的配体的第一多核苷酸;(2) 编码靶特异性配体的第二多核苷酸;(3) 编码跨膜结构域和胞质结构域第三多核苷酸,其中所述顺序是5'末端至3'末端。在某些实施方式中,本文中描述的核酸采取下述顺序:(1) 编码结合TCR复合体的配体的第一多核苷酸;(2) 编码靶特异性配体的第二多核苷酸;(3) 编码跨膜结构域和胞质结构域第三多核苷酸。

第三多核苷酸,其中所述顺序是3'末端至5'末端。

[0157] 在某些实施方式中,所述第一核酸编码第一多肽,所述第二核酸编码第二多肽,并且所述第三核酸编码第三多肽。在某些实施方式中,所述第一多肽、第二多肽和第三多肽被直接融合。例如,所述靶特异性配体和T细胞受体信号传导结构域多肽两者被融合到所述结合TCR复合体的配体。在某些实施方式中,所述第一多肽、第二多肽和第三多肽通过至少一个连接物相连。在某些实施方式中,所述第一多肽和第三多肽被直接融合,并通过连接物连接到所述第二多肽。在某些实施方式中,所述第二多肽和第三多肽被直接融合,并通过连接物连接到所述第一多肽。

[0158] 在某些实施方式中,所述连接物是肽连接物。在某些实施方式中,所述肽连接物包含1至40个氨基酸。在某些实施方式中,所述肽连接物包含1至30个氨基酸。在某些实施方式中,所述肽连接物包含1至15个氨基酸。在某些实施方式中,所述肽连接物包含1至10个氨基酸。在某些实施方式中,所述肽连接物包含1至6个氨基酸。在某些实施方式中,所述肽连接物包含30至40个氨基酸。在某些实施方式中,所述肽连接物包含32至36个氨基酸。在某些实施方式中,所述肽连接物包含5至30个氨基酸。在某些实施方式中,所述肽连接物包含5个氨基酸。在某些实施方式中,所述肽连接物包含10个氨基酸。在某些实施方式中,所述肽连接物包含15个氨基酸。在某些实施方式中,所述肽连接物包含20个氨基酸。在某些实施方式中,所述肽连接物包含25个氨基酸。在某些实施方式中,所述肽连接物包含30个氨基酸。

[0159] 在某些实施方式中,所述肽连接物包含G₄S₃连接物(SEQ ID NO:74)。在某些实施方式中,所述肽连接物包含SEQ ID NO:11、12、15、16、19、20或其变体或片段。

[0160] 在某些实施方式中,所述将靶特异性配体连接到结合TCR复合体的配体(例如UCHT1)的肽连接物被称为接头,以将该蛋白质结构域与所述Tri-TAC中的其他连接物区分开。所述接头具有任何尺寸。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体与靶特异性配体之间的接头是包含SEQ ID NO ID:28的短螺旋。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体与靶特异性配体之间的接头是由SEQ ID NO ID:27编码的短螺旋。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体与靶特异性配体之间的接头是包含SEQ ID NO ID:30的长螺旋。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体与靶特异性配体之间的接头是由SEQ ID NO ID:29编码的长螺旋。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体与靶特异性配体之间的接头是包含SEQ ID NO ID:32的大结构域。在某些实施方式中,所述结合TCR复合体的配体与靶特异性配体之间的接头是由SEQ ID NO ID:31编码的大结构域。

[0161] 在某些实施方式中,本文中公开的核酸包含前导序列。在某些实施方式中,所述前导序列包含与SEQ ID NO:5、47或49具有至少70%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述前导序列包含与SEQ ID NO:5、47或49具有至少75%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述前导序列包含与SEQ ID NO:5、47或49具有至少80%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述前导序列包含与SEQ ID NO:5、47或49具有至少85%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述前导序列包含与SEQ ID NO:5、47或49具有至少90%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述前导序列包含与SEQ ID NO:5、47或49具有至少95%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述前导序列包含SEQ ID NO:5、47或49的核苷酸序列。

[0162] 在某些实施方式中,本文中公开的核酸包含前导序列。在某些实施方式中,所述前

导序列包含与SEQ ID NO:6、48或50具有至少70%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述前导序列包含与SEQ ID NO:6、48或50具有至少75%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述前导序列包含与SEQ ID NO:6、48或50具有至少80%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述前导序列包含与SEQ ID NO:6、48或50具有至少85%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述前导序列包含与SEQ ID NO:6、48或50具有至少90%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述前导序列包含与SEQ ID NO:6、48或50具有至少95%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述前导序列包含SEQ ID NO:6、48或50的氨基酸序列。

[0163] 如本文中所公开的,设想了所述Tri-TAC以(a)靶特异性配体、(b)结合TCR复合体的配体和(c)TCR信号传导结构域的各种不同配置和组合存在。

[0164] 在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)靶特异性配体,(b)结合CD3 ϵ 的单链抗体(scFv),和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)靶特异性配体,(b)UCHT1,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)靶特异性配体,(b)UCHT1(Y182T),和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)靶特异性配体,(b)huUCHT1,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)靶特异性配体,(b)huUCHT1(Y177T),和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)靶特异性配体,(b)OKT3,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)靶特异性配体,(b)F6A,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)靶特异性配体,(b)L2K,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。

[0165] 在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)DARPin,(b)UCHT1,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)DARPin,(b)UCHT1(Y182T),和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)DARPin,(b)huUCHT1,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)DARPin,(b)huUCHT1(Y177T),和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)DARPin,(b)OKT3,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)DARPin,(b)F6A,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)DARPin,(b)L2K,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。

[0166] 在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)scFv,(b)UCHT1,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)scFv,(b)UCHT1(Y182T),和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)scFv,(b)huUCHT1,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)scFv,(b)huUCHT1(Y177T),和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)scFv,(b)OKT3,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)scFv,(b)F6A,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)scFv,(b)L2K,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。

[0167] 在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)HER-2特异性DARPin,(b)UCHT1,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)HER-2特异性DARPin,(b)UCHT1(Y182T),和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)HER-2特异性DARPin,(b)huUCHT1,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)靶特异性配体,(b)huUCHT1(Y177T),和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)HER-2特异性DARPin,(b)OKT3,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)HER-2特异性DARPin,(b)F6A,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)HER-2特异性DARPin,(b)L2K,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。

[0168] 在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)BCMA特异性ScFv,(b)UCHT1,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)BCMA特异性ScFv,(b)UCHT1(Y182T),和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)BCMA特异性ScFv,(b)huUCHT1,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)BCMA特异性ScFv,(b)huUCHT1(Y177T),和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)BCMA特异性ScFv,(b)OKT3,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)BCMA特异性ScFv,(b)F6A,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)BCMA特异性ScFv,(b)L2K,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。

[0169] 在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)CD19特异性ScFv,(b)UCHT1,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)CD19特异性ScFv,(b)UCHT1(Y182T),和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)CD19特异性ScFv,(b)huUCHT1,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)CD19特异性ScFv,(b)huUCHT1(Y177T),和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)CD19特异性ScFv,(b)OKT3,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)CD19特异性ScFv,(b)F6A,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)CD19特异性ScFv,(b)L2K,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。

[0170] 在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)靶特异性配体,(b)结合CD3 ϵ 的单链抗体(scFv),和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)靶特异性配体,(b)UCHT1,和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)靶特异性配体,(b)UCHT1(Y182T),和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)靶特异性配体,(b)huUCHT1,和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)靶特异性配体,(b)huUCHT1(Y177T),和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)靶特异性配体,(b)OKT3,和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)靶特异性配体,(b)F6A,和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)靶特异性配体,(b)L2K,和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。

[0171] 在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)DARPin,(b)UCHT1,和(c)CD4辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)DARPin,(b)UCHT1(Y182T),和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)DARPin,(b)huUCHT1,和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)DARPin,(b)huUCHT1(Y177T),和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)DARPin,(b)OKT3,和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)DARPin,(b)F6A,和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)DARPin,(b)L2K,和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。

[0172] 在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)scFv,(b)UCHT1,和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)scFv,(b)UCHT1(Y182T),和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)scFv,(b)huUCHT1,和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)scFv,(b)huUCHT1(Y177T),和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)scFv,(b)OKT3,和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)scFv,(b)F6A,和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)scFv,(b)L2K,和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。

[0173] 在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)HER-2特异性DARPin,(b)UCHT1,和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)HER-2特异性DARPin,(b)UCHT1(Y182T),和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)HER-2特异性DARPin,(b)huUCHT1,和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)靶特异性配体,(b)huUCHT1(Y177T),和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)HER-2特异性DARPin,(b)OKT3,和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)HER-2特异性DARPin,(b)F6A,和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)HER-2特异性DARPin,(b)L2K,和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。

[0174] 在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)BCMA特异性ScFv,(b)UCHT1,和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)BCMA特异性ScFv,(b)UCHT1(Y182T),和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)BCMA特异性ScFv,(b)huUCHT1,和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)BCMA特异性ScFv,(b)huUCHT1(Y177T),和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)BCMA特异性ScFv,(b)OKT3,和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)BCMA特异性ScFv,(b)F6A,和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)BCMA特异性ScFv,(b)L2K,和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。

[0175] 在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)CD19特异性ScFv,(b)UCHT1,和(c)CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中,所述Tri-TAC包含(a)CD19特异性ScFv,

(b) UCHT1 (Y182T), 和 (c) CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中, 所述Tri-TAC包含 (a) CD19特异性ScFv, (b) huUCHT1, 和 (c) CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中, 所述Tri-TAC包含 (a) CD19特异性ScFv, (b) huUCHT1 (Y177T), 和 (c) CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中, 所述Tri-TAC包含 (a) CD19特异性ScFv, (b) OKT3, 和 (c) CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中, 所述Tri-TAC包含 (a) CD19特异性ScFv, (b) F6A, 和 (c) CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。在某些实施方式中, 所述Tri-TAC包含 (a) CD19特异性ScFv, (b) L2K, 和 (c) CD8辅助受体的跨膜和胞质结构域。

[0176] 在某些实施方式中, 所述Tri-TAC将CD3和TCR拉入膜的脂筏区中, 并将Lck带入到TCR附近, 类似于天然的MHC结合。

[0177] 在某些实施方式中, 本文中公开的TAC是抗HER-2DARPin Tri-TAC (也被称为配置1; SEQ ID NO:1和2), 并且依次包括:

[0178] 抗HER-2Tri-TAC的前导序列(分泌信号)(SEQ ID NO:5和6)

[0179] 特异性针对HER-2抗原的DARPin(SEQ ID NO:7和8)

[0180] Myc标签(SEQ ID NO:9和10)

[0181] 接头(SEQ ID NO:11和12)

[0182] UCHT1(SEQ ID NO:13和14)

[0183] 连接物(SEQ ID NO:15和16)

[0184] CD4(SEQ ID NO:17和18)。

[0185] 在某些实施方式中, 本文中公开的TAC是HER2-TAC。在某些实施方式中, 所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:65具有至少70%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中, 所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:65具有至少75%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中, 所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:65具有至少80%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中, 所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:65具有至少85%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中, 所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:65具有至少90%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中, 所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:65具有至少95%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中, 所述HER2-TAC包含SEQ ID NO:65的核苷酸序列。

[0186] 在某些实施方式中, 所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:66具有至少70%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中, 所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:66具有至少75%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中, 所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:66具有至少80%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中, 所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:66具有至少85%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中, 所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:66具有至少90%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中, 所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:66具有至少95%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中, 所述HER2-TAC包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列。

[0187] 在某些实施方式中, 本文中公开的TAC是HER2-TAC。在某些实施方式中, 所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:67具有至少70%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中, 所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:67具有至少75%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中, 所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:67具有至少80%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中, 所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:67具有至少85%序列一致性的核苷酸序列。在

某些实施方式中,所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:67具有至少90%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:67具有至少95%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述HER2-TAC包含SEQ ID NO:67的核苷酸序列。

[0188] 在某些实施方式中,所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:68具有至少70%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:68具有至少75%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:68具有至少80%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:68具有至少85%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:68具有至少90%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:68具有至少95%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述HER2-TAC包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列。

[0189] 在某些实施方式中,本文中公开的TAC是HER2-TAC。在某些实施方式中,所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:75具有至少70%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:75具有至少75%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:75具有至少80%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:75具有至少85%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:75具有至少90%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:75具有至少95%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述HER2-TAC包含SEQ ID NO:75的核苷酸序列。

[0190] 在某些实施方式中,所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:76具有至少70%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:76具有至少75%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:76具有至少80%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:76具有至少85%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:76具有至少90%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述HER2-TAC包含与SEQ ID NO:76具有至少95%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述HER2-TAC包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列。

[0191] 在某些实施方式中,本文中公开的TAC是BCMA-TAC。在某些实施方式中,所述BCMA-TAC包含与SEQ ID NO:55、57、59或61具有至少70%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述BCMA-TAC包含与SEQ ID NO:55、57、59或61具有至少75%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述BCMA-TAC包含与SEQ ID NO:55、57、59或61具有至少80%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述BCMA-TAC包含与SEQ ID NO:55、57、59或61具有至少85%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述BCMA-TAC包含与SEQ ID NO:55、57、59或61具有至少90%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述BCMA-TAC包含与SEQ ID NO:55、57、59或61具有至少95%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述BCMA-TAC包含SEQ ID NO:55、57、59或61的核苷酸序列。

[0192] 在某些实施方式中,所述BCMA-TAC包含与SEQ ID NO:56、58、60或62具有至少70%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述BCMA-TAC包含与SEQ ID NO:56、58、60或62具有至少75%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述BCMA-TAC包含与SEQ

ID NO:56、58、60或62具有至少80%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述BCMA-TAC包含与SEQ ID NO:56、58、60或62具有至少85%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述BCMA-TAC包含与SEQ ID NO:56、58、60或62具有至少90%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述BCMA-TAC包含与SEQ ID NO:56、58、60或62具有至少95%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述BCMA-TAC包含SEQ ID NO:56、58、60或62的氨基酸序列。

[0193] 在某些实施方式中,本文中公开的TAC是CD19-TAC。在某些实施方式中,所述CD19-TAC包含与SEQ ID NO:63具有至少70%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述CD19-TAC包含与SEQ ID NO:63具有至少75%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述CD19-TAC包含与SEQ ID NO:63具有至少80%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述CD19-TAC包含与SEQ ID NO:63具有至少85%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述CD19-TAC包含与SEQ ID NO:63具有至少90%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述CD19-TAC包含与SEQ ID NO:63具有至少95%序列一致性的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述CD19-TAC包含SEQ ID NO:63的核苷酸序列。

[0194] 在某些实施方式中,所述CD19-TAC包含与SEQ ID NO:64具有至少70%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述CD19-TAC包含与SEQ ID NO:64具有至少75%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述CD19-TAC包含与SEQ ID NO:64具有至少80%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述CD19-TAC包含与SEQ ID NO:64具有至少85%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述CD19-TAC包含与SEQ ID NO:64具有至少90%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述CD19-TAC包含与SEQ ID NO:64具有至少95%序列一致性的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述CD19-TAC包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列。

[0195] 多肽和载体构建物

[0196] 在某些实施方式中,本文公开了由本文中公开的核酸序列编码的多肽。本文中还公开了包含本文中公开的核酸序列的载体。在某些实施方式中,所述载体还包含启动子。在某些实施方式中,所述启动子在哺乳动物细胞中有功能。启动子是起始特定核酸序列的转录的DNA区域,在本领域中是公知的。“在哺乳动物细胞中有功能的启动子”是指在哺乳动物细胞中驱动相关核酸序列的表达的启动子。驱动核酸序列的表达的启动子被称为“可操作连接”到所述核酸序列。

[0197] 各种不同的递送载体和表达载体被用于将本文中描述的核酸引入到细胞中。

[0198] 在某些实施方式中,本文公开了包含在载体中的多核苷酸,以提供在本文中也被称为载体的载体构建物。在某些实施方式中,本公开提供了一种载体,其包含:

[0199] a. 编码靶特异性配体的第一多核苷酸;

[0200] b. 编码结合与TCR复合体相关的蛋白的配体的第二多核苷酸;

[0201] c. 编码T细胞受体信号传导结构域多肽的第三多核苷酸;和

[0202] d. 在哺乳动物细胞中有功能的启动子。

[0203] 在某些实施方式中,所述靶特异性配体的靶与HER-2、BCMA或CD19结合。在某些实施方式中,所述靶特异性配体是选择性结合HER-2(erbB-2)抗原的DARPin。在某些实施方式中,所述靶特异性配体是特异性结合HER-2(erbB-2)抗原的DARPin。在某些实施方式中,所

述靶向HER-2(erb-2)的DARPin包含SEQ ID NO:7或SEQ ID NO:8。在某些实施方式中,所述靶特异性配体是选择性结合BCMA的scFv。在某些实施方式中,所述靶特异性配体是特异性结合BCMA的scFv。在某些实施方式中,所述结合BCMA的scFv包含SEQ ID NO:33或SEQ ID NO:34。在某些实施方式中,所述靶特异性配体是选择性结合CD19的scFv。在某些实施方式中,所述靶特异性配体是特异性结合CD19的scFv。在某些实施方式中,所述结合CD19的scFv包含SEQ ID NO:35或SEQ ID NO:36。

[0204] 在某些实施方式中,所述结合与TCR复合体相关的蛋白的配体是UCHT1、人源化UCHT1(huUCHT1)、OKT3、F6A或L2K。在某些实施方式中,所述结合与TCR复合体相关的蛋白的配体是UCHT1或其变体。在某些实施方式中,所述结合与TCR复合体相关的蛋白的配体是UCHT1并且由SEQ ID NO:13编码。在某些实施方式中,所述结合与TCR复合体相关的蛋白的配体是UCHT1并且包含SEQ ID NO:14。在某些实施方式中,所述结合与TCR复合体相关的蛋白的UCHT1配体具有Y182T突变(UCHT1(Y182T))并且由SEQ ID NO:71编码。在某些实施方式中,所述结合与TCR复合体相关的蛋白的配体是UCHT1(Y182T)并且包含SEQ ID NO:72。在某些实施方式中,所述结合与TCR复合体相关的蛋白的配体是人源化UCHT1(huUCHT1)或其变体。在某些实施方式中,所述结合与TCR复合体相关的蛋白的配体是人源化UCHT1(huUCHT1)并且由SEQ ID NO:43编码。在某些实施方式中,所述结合与TCR复合体相关的蛋白的配体是huUCHT1并包含SEQ ID NO:44。在某些实施方式中,所述结合与TCR复合体相关的蛋白的huUCHT1配体具有Y177T突变(huUCHT1(Y177T))并且由SEQ ID NO:45编码。在某些实施方式中,所述结合与TCR复合体相关的蛋白的配体是huUCHT1(Y177T)并且包含SEQ ID NO:46。

[0205] 在某些实施方式中,所述结合与TCR复合体相关的蛋白的配体是OKT3或其变体。在某些实施方式中,所述结合与TCR复合体相关的蛋白的配体是OKT3并且由SEQ ID NO:21编码。在某些实施方式中,所述结合与TCR复合体相关的蛋白的配体是OKT3并且包含SEQ ID NO:22。

[0206] 在某些实施方式中,所述结合与TCR复合体相关的蛋白的配体是F6A或其变体。在某些实施方式中,所述结合与TCR复合体相关的蛋白的配体是F6A并且由SEQ ID NO:23编码。在某些实施方式中,所述结合与TCR复合体相关的蛋白的配体是F6A并且包含SEQ ID NO:24。

[0207] 在某些实施方式中,所述结合与TCR复合体相关的蛋白的配体是L2K或其变体。在某些实施方式中,所述结合与TCR复合体相关的蛋白的配体是L2K并且由SEQ ID NO:25编码。在某些实施方式中,所述结合与TCR复合体相关的蛋白的配体是L2K并且包含SEQ ID NO:26。

[0208] 在某些实施方式中,所述与TCR复合体相关的蛋白是CD3。在某些实施方式中,所述与TCR复合体相关的蛋白是CD3 ϵ 。

[0209] 在某些实施方式中,所述TCR信号传导结构域多肽包含TCR辅助受体的跨膜结构域和/或胞质结构域。在某些实施方式中,所述TCR辅助受体是CD4、CD8、LAG3或其嵌合变化形式。

[0210] 在某些实施方式中,所述第一多核苷酸和第三多核苷酸被融合到所述第二多核苷酸,并且所述编码序列被可操作连接到启动子。在某些实施方式中,所述第二多核苷酸和第三多核苷酸被融合到所述第一多核苷酸,并且所述编码序列被可操作连接到启动子。在某

些实施方式中,所述载体被设计成用于在哺乳动物细胞例如T细胞中表达。在某些实施方式中,所述载体是病毒载体。在某些实施方式中,所述病毒载体是反转录病毒载体。

[0211] 在某些实施方式中,有用的载体包括源自于慢病毒、鼠类干细胞病毒(MSCV)、痘病毒、致癌反转录病毒、腺病毒和腺相关病毒的载体。其他有用的递送载体包括源自于单纯性疱疹病毒、转座子、痘苗病毒、人乳头瘤病毒、猿猴免疫缺陷病毒、HTLV、人泡沫状病毒及其变体的载体。其他有用的载体包括源自于泡沫病毒、哺乳动物B型反转录病毒、哺乳动物C型反转录病毒、禽类C型反转录病毒、哺乳动物D型反转录病毒和HTLV/BLV型反转录病毒的载体。在所公开的组合物和方法中有用的慢病毒载体的一个实例是pCCL4载体。

[0212] 在某些实施方式中,所述核酸是重组或工程化改造的核酸。在某些实施方式中,所述第一、第二和/或第三多核苷酸是重组或工程化改造的多核苷酸。在某些实施方式中,本文中描述的多核苷酸被修饰或突变以优化所述编码的多肽的功能和/或所述T细胞抗原偶联物的功能、活性和/或表达。在某些实施方式中,所述核酸编码多肽。

[0213] 在某些实施方式中,对本文中公开的包括载体序列在内的多核苷酸序列和多肽序列做出修饰。修饰包括核苷酸或氨基酸的替换、插入或缺失,或改变核苷酸或氨基酸的相对位置或次序。

[0214] 在T细胞中的表达

[0215] 在某些实施方式中,本文公开了包含本文中公开的核酸序列或本文中公开的载体的工程化改造的T细胞。在某些实施方式中,本文公开了被工程化改造以表达本文中公开的Tri-TAC的人类T细胞。在某些实施方式中,所述T细胞表达本文中公开的Tri-TAC。本文中公开了用T细胞抗原偶联物或包含Tri-TAC的载体转导或转染的T细胞。在某些实施方式中,所述T细胞是分离的T细胞。

[0216] 在某些实施方式中,所述被工程化改造以表达Tri-TAC的人类T细胞在体外表现出与常规CAR等同的功能。在某些实施方式中,用所述Tri-TAC工程化改造的T细胞在体外表现出优于常规CAR的功能。在某些实施方式中,本文中公开了用Tri-TAC工程化改造的人类T细胞,其与传统CAR相比表现出增强的安全性。在某些实施方式中,被工程化改造以表达Tri-TAC的人类T细胞与传统CAR相比表现出增强的安全性。

[0217] 在某些实施方式中,T细胞从大量来源获得,包括但不限于血液(例如外周血单核细胞)、骨髓、胸腺组织、淋巴结组织、脐带血、胸腺组织、来自于感染部位的组织、脾脏组织或肿瘤。在某些实施方式中,所述T细胞是自体T细胞。在某些实施方式中,所述T细胞从T细胞的细胞系获得。在某些实施方式中,所述T细胞从供体获得(同种异体T细胞)。在某些实施方式中,所述T细胞通过胚胎或成体干细胞的分化或从诱导多能干细胞获得。在某些实施方式中,不论T细胞的来源如何,T细胞已被修饰以使它们缺少内源TCR的表达和/或永久或暂时缺少MHC/HLA分子的表达(通用供体T细胞)。在某些实施方式中,所述T细胞对于所述对象来说是自体的。在某些实施方式中,所述T细胞对于所述对象来说是同种异体、同系或异种的。

[0218] 在某些实施方式中,一旦获得后,所述T细胞任选地在体外富集。在某些实施方式中,将细胞群体通过正或负选择进行富集。此外,任选地将所述T细胞冷冻或冻存,然后在较晚的日期融化。

[0219] 在某些实施方式中,在将所述Tri-TAC引入到T细胞之前或之后将所述T细胞活化

和/或扩增。在某些实施方式中,所述T细胞通过与其上附连有刺激CD3/TCR复合体相关信号的试剂和刺激所述T细胞表面上的辅助刺激物分子的配体的表面相接触来扩增。在某些实施方式中,所述T细胞通过与刺激CD3/TCR复合体信号传导和辅助刺激物分子信号传导的一种或多种可溶性试剂相接触来扩增。

[0220] 在某些实施方式中,将所述T细胞用核酸序列转导或转染。所述转导或转染的T细胞表达由所述转染或转导的核酸序列编码的蛋白质。核酸可以通过物理、化学或生物学手段引入到细胞中。物理手段包括但不限于显微注射、电穿孔、离子轰击、脂染和磷酸钙沉淀。生物学手段包括使用DNA和RNA载体。

[0221] 包括反转录病毒载体在内的病毒载体被用于在T细胞中引入和表达核酸。病毒载体包括源自于慢病毒、鼠类干细胞病毒(MSCV)、痘病毒、单纯性疱疹病毒I、腺病毒和腺相关病毒的载体。所述载体任选地包括驱动所述转导的核酸分子在T细胞中表达的启动子(例如CMV启动子、eF1a启动子或MSCV启动子)。

[0222] 可以使用任何适合的测定法来确认所述转导的核酸序列和/或由所述核酸编码的多肽在所述T细胞中的存在和/或表达。测定法包括但不限于Southern和Northern印迹分析、RT-PCR和PCR、ELISA、Western印迹分析和流式细胞术。

[0223] 与不表达TAC的T细胞和/或与表达传统CAR的T细胞相比,表达TAC的T细胞在抗原存在下具有提高的T细胞活化。提高的T细胞活化通过大量方法来确定,包括但不限于提高的肿瘤细胞系灭杀、提高的细胞因子生产、提高的细胞溶解、提高的脱粒和/或活化标志物例如CD107 α 、IFN γ 、IL2或TNF α 的提高的表达。在某些实施方式中,所述提高在个体细胞中或细胞群体中测量。

[0224] 当在本文中使用时,术语“提高的”或“提高”是指与不表达TAC的T细胞或T细胞群体相比和/或与表达传统CAR的T细胞或T细胞群体相比,在表达TAC的T细胞或T细胞群体中至少1%、2%、5%、10%、25%、50%、100%或200%的提高。

[0225] 药物组合物

[0226] 在某些实施方式中,本文公开了药物组合物,其包含本文中公开的工程化改造的T细胞(用TAC转导和/或表达TAC)和可药用载体。可药用载体包括但不限于缓冲剂例如中性缓冲盐水、磷酸盐缓冲盐水等,糖类例如葡萄糖、甘露糖、蔗糖或葡聚糖,甘露糖醇,蛋白质,多肽或氨基酸例如甘氨酸,抗氧化剂,螯合剂例如EDTA或谷胱甘肽,佐剂(例如氢氧化铝)或防腐剂。在某些实施方式中,所述工程化改造的T细胞被配制用于静脉内给药。

[0227] 药物组合物以适合于待治疗(或预防)的疾病的方式给药。给药的量和频率由诸如患者的状况和患者疾病的类型和严重性等因素决定,尽管适合的剂量通过临床试验确定。在指示“免疫有效量”、“抗肿瘤有效量”、“肿瘤移植有效量”或“治疗量”时,待给药的组合物的准确量由医生考虑到患者(对象)在年龄、体重、肿瘤尺寸、感染或转移程度和状况方面的个体差异来确定。

[0228] 在某些实施方式中,本文中描述的修饰的T细胞和/或药物组合物以 10^1 至 10^{15} 个细胞每kg体重、 10^4 至 10^9 个细胞每kg体重、任选地 10^5 至 10^8 个细胞每kg体重、 10^6 至 10^7 个细胞每kg体重或 10^5 至 10^6 个细胞每kg体重的剂量给药,包括那些范围内的所有整数值。在某些实施方式中,本文中描述的修饰的T细胞和/或药物组合物以高于 10^1 个细胞每kg体重的剂量给药。在某些实施方式中,本文中描述的修饰的T细胞和/或药物组合物以低于 10^{15} 个细胞每kg

体重的剂量给药。

[0229] 在某些实施方式中,本文中描述的修饰的T细胞和/或药物组合物以 0.5×10^6 个细胞、 2×10^6 个细胞、 4×10^6 个细胞、 5×10^6 个细胞、 1.2×10^7 个细胞、 2×10^7 个细胞、 5×10^7 个细胞、 2×10^8 个细胞、 5×10^8 个细胞、 2×10^9 个细胞、 $0.5 - 2000 \times 10^6$ 个细胞、 $0.5 - 2 \times 10^6$ 个细胞、 $0.5 - 2 \times 10^7$ 个细胞、 $0.5 - 2 \times 10^8$ 个细胞或 $0.5 - 2 \times 10^9$ 个细胞的剂量给药,包括那些范围内的所有整数。

[0230] 在某些实施方式中,T细胞组合物以这些剂量多次给药。在某些实施方式中,所述剂量单次或多次例如每天、每周、每两周或每月、每小时给药,或者在所述正在治疗的癌症重现、复发或发展后给药。在某些实施方式中,所述细胞使用在免疫疗法中公知的灌注技术来给药(参见例如Rosenberg等,New Eng.J.of Med.319:1676,1988)。

[0231] 所述药物组合物基本上不含、例如不存在可检测水平的污染物,所述污染物例如选自内毒素、支原体、复制型慢病毒(RCL)、p24、VSV-G核酸、HIV gag、残留的抗CD3/抗CD28抗体包被的珠子、小鼠抗体、合并的人血清、牛血清白蛋白、牛血清、培养基组分、载体包装细胞或质粒组分、细菌、真菌、支原体、IL-2和IL-7。

[0232] 在某些实施方式中,将本文中公开的工程化改造的T-细胞给药到对象并随后重新抽血(或进行单采),将从其得到的T-细胞活化并重新灌输到所述具有工程化改造的T细胞的患者中。在某些实施方式中,这一过程每隔几周多次进行。将来自于10cc至400cc抽血样的T-细胞活化。将来自于20cc、30cc、40cc、50cc、60cc、70cc、80cc、90cc或100cc抽血样的T-细胞活化。

[0233] 所述修饰/工程化改造的T细胞和/或药物组合物通过包括但不限于气溶胶吸入、注射、灌注、摄食、输液、植入或移植的方法给药。所述修饰的T细胞和/或药物组合物经动脉、皮下、真皮内、肿瘤内、结内、髓内、肌肉内、通过静脉内(i.v.)注射、通过静脉内(i.v.)灌注或腹膜内给药到对象。所述修饰/工程化改造的T细胞和/或其药物组合物通过真皮内或皮下注射给药到患者。所述修饰/工程化改造的T细胞和/或其药物组合物通过i.v.注射给药。所述修饰/工程化改造的T细胞和/或其药物组合物被直接注射到肿瘤、淋巴结或感染部位中。

[0234] 所述修饰/工程化改造的T细胞和/或药物组合物在约5mL、10mL、15mL、20mL、25mL、30mL、35mL、40mL、45mL、50mL、60mL、70mL、80mL、90mL、100mL、110mL、120mL、130mL、140mL、150mL、200mL、300mL、400mL或500mL的体积中给药。

[0235] 所述修饰/工程化改造的T细胞和/或药物组合物在至多约5mL、10mL、15mL、20mL、25mL、30mL、35mL、40mL、45mL、50mL、60mL、70mL、80mL、90mL、100mL、110mL、120mL、130mL、140mL、150mL、200mL、300mL、400mL或500mL的体积中给药。

[0236] 所述修饰/工程化改造的T细胞和/或药物组合物在至少约5mL、10mL、15mL、20mL、25mL、30mL、35mL、40mL、45mL、50mL、60mL、70mL、80mL、90mL、100mL、110mL、120mL、130mL、140mL、150mL、200mL、300mL、400mL或500mL的体积中给药。

[0237] 药物组合物通过本身已知的用于制备给药到对象的可药用组合物的方法来制备,以便将有效量的所述T细胞与可药用载体合并于混合物中。适合的载体描述在例如《Remington制药学》(Remington's Pharmaceutical Sciences,第20版,Mack Publishing Company,Easton,Pa.,USA,2000)中。在此基础上,所述组合物包含但不仅限于与一种或多

种可药用载体或稀释剂缔合的物质的溶液,并被包含在具有适合的pH并与生理体液等渗的缓冲溶液中。

[0238] 适合的可药用载体包括本质上化学惰性且无毒的组合物,其不干扰所述药物组合物的生物活性的有效性。适合的药用载体的实例包括但不限于水、盐水溶液、甘油溶液、N-(1(2,3-二油烯氧基)丙基)N,N,N-三甲基氯化铵(DOTMA)、二油烯基磷脂酰乙醇胺(DOPE)和脂质体。在某些实施方式中,此类组合物含有治疗有效量的所述化合物以及适合量的载体,以便提供用于直接给药到所述患者的形式。

[0239] 药物组合物包括但不限于冻干粉剂或水性或非水性无菌可注射溶液或悬液,其还可以含有抗氧化剂、缓冲剂、制菌剂和使所述组合物与目标接受者的组织或血液基本上相容的溶质。可以存在于此类组合物中的其他组分包括例如水、表面活性剂(例如吐温)、醇类、多元醇、甘油和植物油。临时注射溶液和悬液可以从无菌粉剂、颗粒剂、片剂或浓缩溶液或悬液制备。

[0240] 本文中公开的药物组合物被配制成各种不同的形式,并通过多种不同手段给药。药物剂型在根据需要含有常规的可接受的载体、佐剂和介质的剂型中口服、直肠或肠胃外给药。当在本文中使用时,术语“肠胃外”包括皮下、静脉内、肌肉内或胸骨内注射和灌注技术。给药包括注射或灌注(包括动脉内、心内、脑室内、真皮内、十二指肠内、髓内、肌肉内、骨内、腹膜内、鞘内、血管内、静脉内、玻璃体内、硬膜外和皮下)、吸入、透皮、透粘膜、舌下、颊和局部(包括表皮、真皮、灌肠剂、眼滴剂、耳滴剂、鼻内、阴道)给药。在某些示例性实施方式中,给药途径是通过注射,例如肌肉内、静脉内、皮下或腹膜内注射。

[0241] 液体剂型包括口服剂型、静脉内剂型、鼻内剂型、眼用剂型、耳用剂型、气溶胶等。在某些实施方式中,给药各种不同剂型的组合。在某些实施方式中,组合物被配制成用于延长释放。

[0242] 治疗和使用方法

[0243] 在某些实施方式中,本文公开了使用本文中公开的Tri-TAC在需要的个体中治疗癌症的方法。在某些实施方式中,本文中公开的TAC的靶特异性配体与肿瘤细胞上的肿瘤抗原或肿瘤相关抗原结合。在某些实施方式中,本文中公开的TAC的靶特异性配体与肿瘤细胞上的肿瘤抗原或肿瘤相关抗原选择性结合。在某些实施方式中,本文中公开的TAC的靶特异性配体与肿瘤细胞上的肿瘤抗原或肿瘤相关抗原特异性结合。在某些实施方式中,所述靶抗原是肿瘤抗原。肿瘤抗原的实例包括但不限于CD19、HER-2(erbB-2)、B-细胞成熟抗原(BCMA)、甲胎蛋白(AFP)、癌胚抗原(CEA)、CA-125、MUC-1、上皮肿瘤抗原(ETA)、酪氨酸酶、黑色素瘤相关抗原(MAGE)、前列腺特异性抗原(PSA)、神经胶质瘤相关抗原、 β -人绒毛膜促性腺激素、甲状腺球蛋白、RAGE-1、MN-CA IX、人端粒酶反转录酶、RU1、RU2(AS)、肠羧酸酯酶、mut hsp70-2、M-CSF、前列腺酶、PAP、NY-ESO-1、LAGE-1a、p53、prostein、PSMA、存活蛋白和端粒酶、前列腺癌肿瘤抗原-1(PCTA-1)、ELF2M、中性白细胞弹性蛋白酶、CD22、胰岛素生长因子(IGF)-I、IGF-II、IGF-I受体和间皮素。

[0244] 在某些实施方式中,本文公开了在需要的个体中治疗表达靶抗原的癌症的方法,所述方法包括向所述个体给药本文中公开的工程化改造的T细胞。在某些实施方式中,所述靶抗原是CD19。在某些实施方式中,所述在需要的个体中治疗表达CD19的癌症的方法包括向所述个体给药包含含有CD19靶向配体的TAC的工程化改造的T细胞。在某些实施方式中,

通过包含CD19靶向配体的TAC治疗的癌症的实例包括但不限于B细胞恶性肿瘤。在某些实施方式中,通过包含CD19靶向配体的TAC治疗的癌症的实例包括但不限于B细胞淋巴瘤、急性成淋巴细胞性白血病(ALL)和慢性淋巴细胞性白血病(CLL)。在某些实施方式中,通过包含CD19靶向配体的TAC治疗的癌症的实例包括但不限于非霍奇金淋巴瘤(NHL)。

[0245] 在某些实施方式中,所述靶抗原是HER-2。在某些实施方式中,所述在需要的个体中治疗其中癌细胞表达HER-2的癌症的方法包括向所述个体给药包含含有HER-2靶向配体的TAC的工程化改造的T细胞。在某些实施方式中,通过包含HER-2靶向配体的TAC治疗的癌症的实例包括但不限于乳腺癌、膀胱癌、胰腺癌、卵巢癌和胃癌。

[0246] 在某些实施方式中,所述靶抗原是BCMA。在某些实施方式中,所述在需要的个体中治疗其中癌细胞表达BCMA的癌症的方法包括向所述个体给药包含含有BCMA靶向配体的TAC的工程化改造的T细胞。在某些实施方式中,通过包含BCMA靶向配体的TAC治疗的癌症的实例包括但不限于白血病、淋巴瘤和多发性骨髓瘤。

[0247] 本文中公开了本文中公开的工程化改造的T细胞的用途,其用于制备药物以在需要的个体中治疗癌症。本文中公开了T细胞混合物的用途,所述混合物包含修饰和未修饰的细胞,或包含修饰的细胞的不同群体并含有或不含有未修饰的细胞。本领域普通技术人员将会理解,治疗量的修饰的T细胞在本质上不一定是均质的。

[0248] 在某些实施方式中,本文中公开的工程化改造的T细胞是组合疗法的一部分。在某些实施方式中,对本文中公开的疗法的有效性进行多次评估。在某些实施方式中,将患者在对本文中公开的治疗的响应的基础上进行分层。在某些实施方式中,治疗的有效性决定是否进入试验。

[0249] 在某些实施方式中,通过包含本文中公开的TAC中的任一者的工程化改造的T细胞治疗的癌症包括任何形式的赘生疾病。在某些实施方式中,治疗的癌症的实例包括但不限于乳腺癌、肺癌和白血病例如混合谱系白血病(MLL)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、急性成淋巴细胞性白血病(ALL)。在某些实施方式中,治疗的癌症的实例包括但不限于大B-细胞淋巴瘤、弥漫性大B-细胞淋巴瘤、原发性纵隔B细胞淋巴瘤、高等级B-细胞淋巴瘤或由滤泡性淋巴瘤引起的大B细胞淋巴瘤。其他癌症包括上皮癌、母细胞瘤、黑素瘤、肉瘤、血液癌、淋巴系恶性肿瘤、良性和恶性肿瘤以及恶性肿瘤。在某些实施方式中,所述癌症包括非实体肿瘤或实体肿瘤。在某些实施方式中,被治疗的癌症包括未血管化或基本上尚未血管化的肿瘤以及血管化的肿瘤。在某些实施方式中,所述癌症是实体癌或包含实体肿瘤。在某些实施方式中,所述癌症是液体癌或包含液体肿瘤。在某些实施方式中,所述癌症是肺癌、乳腺癌、结肠癌、多发性骨髓瘤、成胶质细胞瘤、胃癌、卵巢癌、胃癌、结肠直肠癌、尿道上皮癌、子宫内膜癌或黑素瘤。在某些实施方式中,所述癌症是肺癌。在某些实施方式中,所述癌症是乳腺癌。在某些实施方式中,所述癌症是结肠癌。在某些实施方式中,所述癌症是多发性骨髓瘤。在某些实施方式中,所述癌症是成胶质细胞瘤。在某些实施方式中,所述癌症是胃癌。在某些实施方式中,所述癌症是卵巢癌。在某些实施方式中,所述癌症是胃癌。在某些实施方式中,所述癌症是结肠直肠癌。在某些实施方式中,所述癌症是尿道上皮癌。在某些实施方式中,所述癌症是子宫内膜癌。在某些实施方式中,所述癌症是黑素瘤。

[0250] 表1. 序列列表

[0251]

SEQ ID NO	描述	核苷酸/氨基酸
SEQ ID NO: 1	Tri TAC 配置 1	核苷酸
SEQ ID NO: 2	Tri TAC 配置 1	氨基酸
SEQ ID NO: 3	Tri TAC 配置 2	核苷酸
SEQ ID NO: 4	Tri TAC 配置 2	氨基酸
SEQ ID NO: 5	muIgG 前导序列 (分泌信号)	核苷酸
SEQ ID NO: 6	muIgG 前导序列 (分泌信号)	氨基酸
SEQ ID NO: 7	特异性针对 Her2 抗原的 DARPin	核苷酸
SEQ ID NO: 8	特异性针对 Her2 抗原的 DARPin	氨基酸
SEQ ID NO: 9	Myc 标签	核苷酸
SEQ ID NO: 10	Myc 标签	氨基酸
SEQ ID NO: 11	连接物 1	核苷酸
SEQ ID NO: 12	连接物 1	氨基酸
SEQ ID NO: 13	UCHT11	核苷酸
SEQ ID NO: 14	UCHT12	氨基酸
SEQ ID NO: 15	连接物 2	核苷酸
SEQ ID NO: 16	连接物 2	氨基酸
SEQ ID NO: 17	CD4 结构域 3	核苷酸
SEQ ID NO: 18	CD4 结构域 4	氨基酸
SEQ ID NO: 19	基于 CD4 的连接物	核苷酸
SEQ ID NO: 20	基于 CD4 的连接物	氨基酸
SEQ ID NO: 21	OKT3	核苷酸
SEQ ID NO: 22	OKT3	氨基酸
SEQ ID NO: 23	F6A	核苷酸
SEQ ID NO: 24	F6A	氨基酸
SEQ ID NO: 25	L2K	核苷酸
SEQ ID NO: 26	L2K	氨基酸
SEQ ID NO: 27	短螺旋接头	核苷酸
SEQ ID NO: 28	短螺旋接头	氨基酸
SEQ ID NO: 29	长螺旋接头	核苷酸

[0252]

SEQ ID NO: 30	长螺旋接头	氨基酸
SEQ ID NO: 31	大结构域接头	核苷酸
SEQ ID NO: 32	大结构域接头	氨基酸
SEQ ID NO: 33	特异性针对 BCMA 抗原的 ScFv	核苷酸
SEQ ID NO: 34	特异性针对 BCMA 抗原的 ScFv	氨基酸
SEQ ID NO: 35	特异性针对 CD19 抗原的 ScFv	核苷酸
SEQ ID NO: 36	特异性针对 CD19 抗原的 ScFv	氨基酸
SEQ ID NO: 37	CD8 α 结构域	核苷酸
SEQ ID NO: 38	CD8 α 结构域	氨基酸
SEQ ID NO: 39	CD8 α +R(β)结构域	核苷酸
SEQ ID NO: 40	CD8 α +R(β)结构域	氨基酸
SEQ ID NO: 41	CD8 α +Lck 结构域	核苷酸
SEQ ID NO: 42	CD8 α +Lck 结构域	氨基酸
SEQ ID NO: 43	huUCHT1	核苷酸
SEQ ID NO: 44	huUCHT1	氨基酸
SEQ ID NO: 45	huUCHT1 (Y177T)	核苷酸
SEQ ID NO: 46	huUCHT1 (Y177T)	氨基酸
SEQ ID NO: 47	huIgG	核苷酸
SEQ ID NO: 48	huIgG	氨基酸
SEQ ID NO: 49	huCD8a	核苷酸
SEQ ID NO: 50	huCD8a	氨基酸
SEQ ID NO: 51	3625 scFv BCMA Vh-Vl	核苷酸
SEQ ID NO: 52	3625 scFv BCMA Vh-Vl	氨基酸
SEQ ID NO: 53	3625 scFv BCMA Vl-Vh	核苷酸
SEQ ID NO: 54	3625 scFv BCMA Vl-Vh	氨基酸
SEQ ID NO: 55	3625 TAC 螺旋 Vh-Vl huUCHT1	核苷酸
SEQ ID NO: 56	3625 TAC 螺旋 Vh-Vl huUCHT1	氨基酸
SEQ ID NO: 57	3625 TAC 螺旋 Vl-Vh huUCHT1	核苷酸
SEQ ID NO: 58	3625 TAC 螺旋 Vl-Vh huUCHT1	氨基酸
SEQ ID NO: 59	3625 TAC G4S Vh-Vl huUCHT1	核苷酸

	SEQ ID NO: 60	3625 TAC G4S Vh-Vl huUCHT1	氨基酸
	SEQ ID NO: 61	3625 TAC G4S VL-VH huUCHT1	核苷酸
	SEQ ID NO: 62	3625 TAC G4S VL-VH huUCHT1	氨基酸
	SEQ ID NO: 63	CD19-TAC	核苷酸
	SEQ ID NO: 64	CD19-TAC	氨基酸
	SEQ ID NO: 65	huIgG Her2 TAC huUCHT1	核苷酸
	SEQ ID NO: 66	huIgG Her2 TAC huUCHT1	氨基酸
	SEQ ID NO: 67	CD8a Her2 TAC huUCHT1	核苷酸
[0253]	SEQ ID NO: 68	CD8a Her2 TAC huUCHT1	氨基酸
	SEQ ID NO: 69	柔性接头	氨基酸
	SEQ ID NO: 70	柔性接头	核苷酸
	SEQ ID NO: 71	UCHT1 (Y182T)	核苷酸
	SEQ ID NO: 72	UCHT1 (Y182T)	氨基酸
	SEQ ID NO: 73	G4S 柔性连接物	氨基酸
	SEQ ID NO: 74	G4S3 连接物	氨基酸
	SEQ ID NO: 75	mulgG Her2 TAC huUCHT1	核苷酸
	SEQ ID NO: 76	mulgG Her2 TAC huUCHT1	氨基酸
	SEQ ID NO: 77	G4S3 连接物	核苷酸

[0254] ¹轻链,第1-324位核苷酸;连接物,第3250387位核苷酸;重链,第388-750位核苷酸

[0255] ²轻链,第1-108位氨基酸;连接物,第109-128位氨基酸;重链,第129-250位氨基酸

[0256] ³细胞外连接物,第1-66位核苷酸;跨膜结构域,第67-132位核苷酸;胞质结构域,第133-254位核苷酸

[0257] ⁴细胞外连接物,第1-22位氨基酸;跨膜结构域,第23-44位氨基酸;胞质结构域,第45-84位氨基酸

实施例

[0258] 提供下述实施例是出于说明本发明的各种不同实施方式的目的,并不意味着以任何方式限制本发明。本实施例以及本文中描述的方法是当前优选实施方式的代表,是示例性的,并且不打算作为对本发明范围的限制。本领域技术人员将会想到其中的改变以及涵盖在由权利要求书的范围所限定的本发明的精神之内的其他用途。

[0259] 实施例1.Tri-TAC技术的特征描述

[0260] Tri-TAC技术的概述提供在图1A-图1C中。

[0261] 图1A示出了在不同受体及其相关蛋白配偶体的共同组装的基础上CD8 T-细胞活

化的实例。开始时,主要组织相容性复合物I正呈递抗原(螺旋)。这被能够结合所述抗原的T细胞受体(TCR)复合物识别。所述TCR复合体含有几个单独的亚基。 α/β 结构域能够与呈递在MHC-I上的抗原直接相互作用。然后 α/β 结构域与几个其他结构域(ϵ 、 γ 、 δ 和 ζ)相互作用,所述几个其他结构域都通过各种不同的细胞内活化结构域参与T-细胞活化。所述TCR复合体和CD8辅助受体同时与MHC-I相互作用。所述CD8辅助受体以不依赖于抗原的方式与所述MHC-I结合。CD8直接与Lck相互作用,所述Lck是一种对活化所述TCR受体复合物来说重要的蛋白激酶。所述CD8与Lck的相互作用也确保它们与脂筏(膜部分)微结构域的缔合,所述脂筏微结构域被假设可以组织并包封其他相关信号传导组成部分(深色球体)。随后活化的较晚阶段导致CD28召集。如果这种相互作用级联平行地发生几次,则T-细胞变得活化并且能够发挥它们的细胞毒性效应。

[0262] 图1B提供了嵌合抗原受体(CAR)的概述。CAR力图通过将几个关键的活化结构域例如CD3 ζ 和CD28组合在单个合成工程化的分子中,来重现T-细胞活化的复合物机制。然后所述CAR使用特异性结合结构域与选择的抗原相互作用。这里描绘的是锚蛋白重复序列蛋白(DARPin)。据信并行发生的几个此类相互作用引起T-细胞活化。

[0263] 图1C是模拟天然活化过程的Tri-TAC技术的概述。开发所述Tri-TAC是为了更好地重演通过TCR的天然信号传导,同时保留不受MHC限制的靶向。T-细胞活化在MHC被TCR和T细胞辅助受体(CD4或CD8)连接后发生,所述两种受体同时与MHC分子内的保守区结合。辅助受体具体来说位于“脂筏”这种对TCR信号传导复合物的形成来说特别重要的膜微结构域内。除了确保TCR活化复合物的正确微结构域定位之外,这些辅助受体还与Lck这种对T-细胞活化来说关键的蛋白激酶直接结合。传统的嵌合受体或双功能蛋白均不能衔接辅助受体分子或Lck。产生了一种分子,其中CD4辅助受体的分别定位到脂筏和结合Lck的跨膜和细胞内区域被融合到结合CD3的单链抗体(UCHT1;SEQ ID NO:13、14和共同系物)。这个构建物被设计成将CD3分子和TCR拉入脂筏区域中并将Lck带入到所述TCR附近,类似于天然的MHC结合。为了靶向这个受体,将设计的锚蛋白重复序列(DARPin)连接到CD4-UCHT1嵌合体以产生三功能T细胞抗原偶联物(Tri-TAC)。在这个实例中,所述DARPin特异性针对原癌基因HER-2(erbB-2)。

[0264] 多种Tri-TAC配置是可能的(图2A和图2B)。在配置1(图2A)中,抗原结合结构域位于N-端,被连接到CD3配体结合结构域,然后是辅助受体结构域。在配置2(图2B)中,CD3配体结合结构域位于N-端,被连接到抗原结合结构域,其进而连接到辅助受体结构域。

[0265] 可以将多类配体结合结构域并入到所述Tri-TAC分子中(图3A-图3D)。本文中的实例示出了配置1Tri-TAC(图3A)、带有HER-2特异性DARPin的Tri-TAC(图3B)、带有CD19特异性scFv的Tri-TAC(图3C)和带有BCMA特异性scFv的Tri-TAC(图3D)的通用示意图。

[0266] 图4A-图4D示出了带有HER-2特异性DARPin的Tri-TAC的功能。将人类T细胞工程化改造以表达本文中所公开的Tri-TAC或具有相同DARPin的常规CAR。确定了在所有情况下,用所Tri-TAC述工程化改造的T细胞表现出与常规CAR至少等同的功能。有趣的是,对于2个参数(TNF- α 生产和CD107a动员)来说,观察到在某些情况下所述Tri-TAC比常规CAR活性更高。

[0267] 图4A示出了抗HER-2DARPin Tri-TAC与抗HER-2DARPin CAR和对照T细胞相比的表面表达。嵌合受体通过与重组HER-2温育来检测。所述抗HER-2DARPin Tri-TAC在工程化改

造的T细胞表面上表达良好。图4B示出了所述工程化改造的T细胞培养物的生长。将T细胞用抗CD3/抗CD28抗体Dynabead活化,并用编码Tri-TAC、CAR或不编码受体(对照)的慢病毒工程化改造。2周后,所述CAR和对照培养物生长至相近数目,而所述Tri-TAC培养物生长得略微更慢。图4C和图4D示出了所述工程化改造的T细胞的功能属性。将工程化改造以表达所述带有HER-2DARPin的Tri-TAC或CAR的T细胞用板结合的抗原刺激。所述工程化改造以表达Tri-TAC和CAR的T细胞可以执行所有测量的功能(TNF- α 生产、IFN- γ 生产和CD107a动员,图3C和图3D)。相对于用CAR工程化改造的T细胞,用Tri-TAC工程化改造的T细胞在刺激后表现出高频率的CD107a阳性细胞(图3D),表明在每个细胞的基础上增强的细胞毒性。

[0268] 图6A-图6J提供的数据证实了配体结合结构域和UCHT1 CD3结合结构域两者对Tri-TAC功能的重要性。将T细胞用带有HER-2DARPin的全长Tri-TAC(图6G、图6H、图6I,底端行)、缺少DARPin的Tri-TAC变体(图6A、图6B、图6C,顶端行)或缺少UCHT1的Tri-TAC变体(图6D、图6E、图6F,中间行)工程化改造。将所有三种工程化改造的T细胞群体用HER-2阳性肿瘤细胞刺激。所述用全长Tri-TAC工程化改造的T细胞在刺激后可以产生IFN- γ 、TNF-和IL-2,而所述变体在刺激后不能产生任何细胞因子。也将所述三种T细胞群体与D2F2/E2细胞(表达HER-2)或D2F2细胞(HER-2阴性)以4:1的效应细胞:靶细胞比例共培养(图6J)。用全长Tri-TAC工程化改造的T细胞表现出对D2F2/E2细胞的鲁棒灭杀,但不杀死D2F2细胞。缺少DARPin或UCHT1的其他Tri-TAC变体不表现出灭杀。

[0269] 图7A-图7C示出了用载体对照(NGFR)、抗HER-2DARPin CAR或抗HER-2DARPin Tri-TAC治疗的小鼠的结果。使用了异种移植小鼠模型。将OVCAR-3肿瘤细胞皮下给药到小鼠并允许其生长直至肿瘤达到100-200mm³的尺寸。图7A示出了归一化到治疗当天的肿瘤尺寸的相对肿瘤进展。抗HER-2DARPin Tri-TAC工程化改造的T-细胞引起肿瘤体积的快速减小,对照没有效果,并且CAR细胞减缓肿瘤生长并显示出肿瘤尺寸的延迟减小。图7B示出了T-细胞灌注后体重的相对变化。对照和抗HER-2DARPin Tri-TAC工程化改造的细胞两者在治疗后没有显示出小鼠体重的显著变化。相反,抗HER-2DARPin CAR治疗的小鼠显示出体重的显著减轻,指示了严重毒性。图7C示出了在T-细胞灌注后第7天小鼠血清中的细胞因子浓度。与Tri-TAC治疗的小鼠相比,在CAR治疗的小鼠中细胞因子水平更高。

[0270] 实施例2. UCHT1的替换影响Tri-TAC功能

[0271] 图8A-图8H示出了带有可选CD3结合结构域的Tri-TAC的功能。所述结构域被列于图8A和图8E中。含有UCHT1(图8B)、OKT3(图8B)和huUCHT1(图8F)的Tri-TAC表现出高的表面表达,而含有F6A(图8F)和L2K(图8F)的Tri-TAC显示出较低的表面表达。表达含有OKT3的Tri-TAC的细胞在Tri-TAC连接后表现出低的细胞因子生产(图8C、图8C1)和中等的细胞毒性(图8D)。表达含有F6A的Tri-TAC的细胞在Tri-TAC连接后表现出强的细胞因子生产(图8G、图8G1)和细胞毒性(图8H)。表达含有L2K的Tri-TAC的细胞表现出低的细胞因子生产(图8G、图8G1)和中等的细胞毒性(图8H)。

[0272] 图9A-图9H示出了在用图8A和图8E中示出的不同Tri-TAC变体工程化改造的T细胞上的TCR表面表达。用包含OKT3(图9A、图9E和图9B、图9F)或L2K(图9C、图9G和图9D、图9H)的Tri-TAC变体工程化改造的T细胞相对于用分别包含UCHT1或huUCHT1的Tri-TAC工程化改造的T细胞表现出较低的TCR表面表达。相反,相对于带有huUCHT1的Tri-TAC,用包含F6A的Tri-TAC变体工程化改造的T细胞未表现出TCR下调(图9C、图9G和图9D、图9H)。所述F6A替换

降低Tri-TAC受体表面表达,同时保留了适当的细胞因子生产和细胞毒性。所述L2K替换适当降低表面表达并降低细胞因子生产,但保留了中等的细胞毒性。所述OKT3替换导致高的Tri-TAC表面表达、低的细胞因子生产和中等的细胞毒性。这些数据表明Tri-TAC表面表达和T细胞效应物功能不是固有成比例的,并且在某些情况下Tri-TAC结构域的替换不依赖于表面表达水平而改变效应物功能。可以想象,具有降低的细胞毒性和低的表面表达的TAC变体可能在某些临床应用中有价值的。

[0273] 在许多情况下,所述scFv替换减弱了所述工程化改造的T细胞制造IFN- γ 、TNF- α 和IL-2的能力,但所述工程化改造的T细胞仍保留了杀死靶细胞的能力。过量的细胞因子生产已与临床背景中的副作用相关联,将当前的CAR技术限制到危及生命的疾病。修饰TAC分子以降低它们的细胞因子生产并同时保留适当的细胞毒性的能力,允许产生具有满足临床效能和安全性所需的准确反应性水平的Tri-TAC受体。

[0274] 所述包含OKT3的Tri-TAC变体抑制TCR表面表达和细胞因子生产并在同时保留细胞毒性的能力可能在同种异体情形中具有极大价值,在所述情形中TCR的抑制可以抑制移植抗宿主疾病。

[0275] 这些数据证实了UCHT1的scFv替换影响Tri-TAC的功能。进一步的修饰将产生可用于各种不同应用(例如肿瘤学、自体免疫、过敏)的Tri-TAC。

[0276] 实施例3. 引入将结合TCR复合体的配体连接到靶结合配体结构域的各种不同连接物

[0277] 图10A-图10B示出了具有将所述结合TCR复合体的配体与靶结合配体结构域相连的不同连接物的几种TAC变体。柔性接头允许所述两个结构域之间的移动。大结构域接头含有两个折叠的结构域,并且是非常大且刚性的。小的和长的螺旋接头也引入刚性,但与所述大结构域连接物相比时限制性较低。

[0278] 图11A-图11E示出了接头替换对Tri-TAC连接后的Tri-TAC表面表达、Tri-TAC转导效率和细胞因子生产的影响。图11A和图11B显示出当与柔性连接物相比时,螺旋连接物增强表面表达和转导效率,而大结构域接头增强转导效率但不增强表面表达。图11D、图11E示出了表达带有短螺旋、长螺旋或大结构域接头的Tri-TAC的细胞的细胞因子生产。

[0279] 图12A示出了表达带有短螺旋接头的Tri-TAC的T细胞的增强的体外细胞毒性。图12B示出了表达带有短螺旋接头的Tri-TAC的T细胞的增强的体内肿瘤控制。所述短螺旋接头与高的体外细胞毒性和有效的体内肿瘤控制相关。

[0280] 实施例4. 引入CD8 α / β 胞质结构域

[0281] 图13A示出了与抗HER-2scFv或在图13C中与抗HER-2DARPin配对的CD8 α Tri-TAC的表面表达。图13B示出了表达与抗HER-2scFv或抗HER-2DARPin配对的CD8 α Tri-TAC的T细胞的细胞因子生产。

[0282] 图14A示出了CD4 Tri-TAC单体和CD8 α / β 异二聚体。CD4和CD8两种TCR辅助受体均带有对辅助受体的功能来说重要的功能结构域。这些区域包括假定对脂筏缔合来说重要的富含精氨酸的区域和Lck结合所需的CXCP基序。与作为单体的CD4不同,CD8辅助受体是由 α 和 β 亚基组成的异二聚体(图14A)。所述 α 和 β CD8亚基两者都含有富含精氨酸的区域,但只有 α 亚基含有CXCP基序。

[0283] 图14B-图14D提供了合并有来自于图14A中示出的CD8辅助受体的元件的Tri-TAC

变体的示意图。在所有CD8 Tri-TAC变体中将负责CD8 α 和CD8 β 的二聚化的半胱氨酸用丙氨酸代替。图14B是包含用于确保单体受体分布的半胱氨酸至丝氨酸突变和CD8 α 胞质结构域的CD8 α Tri-TAC的示意图。图14C是包含用于确保单体受体分布的半胱氨酸至丝氨酸突变和其中CD8 α 的富含精氨酸的区域被CD8 β 的富含精氨酸的区域代替的嵌合CD8 α 胞质结构域的CD8 α +R β Tri-TAC的示意图。图14D是包含用于确保单体受体分布的半胱氨酸至丝氨酸突变和其中将包含Lck结合基序的CD8 α CXCP结构域添加到CD8 β 胞质结构域的C-端的嵌合CD8 β 胞质结构域的CD8 β +Lck Tri-TAC的示意图。

[0284] 图15A-图15D示出了基于CD8的Tri-TAC变体相对于原型Tri-TAC的各种不同的表型和功能属性。图15A-图15B示出了CD8-Tri TAC变体相对于原型Tri-TAC的表面表达。在不同Tri-TAC之间表面表达是可比的。图15C示出了与LOX IMVI (HER-阴性)和A549、SKOV3、SKBR3或MBA MB 231 (均为HER-2阳性)共培养的CD8-Tri TAC变体的体外细胞毒性。所有用Tri-TAC工程化改造的T细胞均表现出细胞毒性。图15D示出了用CD8 Tri-TAC变体或原型Tri-TAC工程化改造的T细胞的细胞分裂(图15D)。图15E示出了包含CD8Tri-TAC变体或原型Tri-TAC的工程化改造的T细胞的TCR表面表达。所有Tri-TAC变体对TCR表达都具有相近的影响。尽管具有scFv和DARPin抗HER-2两者的CD4辅助受体均表现出良好的表面表达和功能,但CD8 α 构建物只在DARPin抗原结合结构域的情形中才显示出活性。在测试不同的CD8 α 胞质结构域时,所有配置都含有所报道的与辅助受体功能相关的关键序列属性(富含精氨酸的区域和CXCP)。当与CD4原型相比时,所有CD8 α / β 构建物均显示出相近的性能。这强调了与特定胞质多肽序列相比,特定生物化学性质例如脂筏亲和性和Lck结合的保留对决定Tri TAC性能来说更加重要。

[0285] 用CD8 α +R(β)和CD8 β +Lck Tri-TAC工程化改造的T细胞的生长相对于用其他变化形式工程化改造的T细胞的生长明显受损。尽管对生长具有显著影响,但这些Tri-TAC都表现出可比的活化T细胞的能力。所述CD8 α +R(β)和CD8 β +Lck Tri-TAC的降低的生长对于不希望最大T细胞扩增的某些应用来说可能是有利的。

[0286] 实施例5. CD19-TAC构建物的开发

[0287] 图16示出了CD19-TAC构建物的逐步开发。产生了在设计元件中具有各种不同改变的几代慢病毒载体,以确保CD19特异性、适合的TAC表达和GMP等级的慢病毒生产。每个框代表慢病毒载体,并指定了3个主要设计元件:(A)抗原结合结构域,(b)TCR/CD3结合结构域,和(c)辅助受体结构域。带阴影的区域指示在载体开发过程中成为修饰的对象的结构域。

[0288] 在第一步中,所述TAC包含HER-2特异性设计的锚蛋白重复序列蛋白(DARPin)、鼠类UCHT1 CD3特异性scFv和柔性跨膜和胞质CD4多肽。所述TAC被克隆到pCCL4慢病毒载体中。

[0289] 为了产生CD19特异性Tri-TAC,将HER-2特异性DARPin用包含融合到抗CD19 scFv的N-端CD8 α 前导肽的多肽代替。所述CD19 scFv的重链和轻链通过甘氨酸-丝氨酸连接物区域相连。

[0290] 将UCHT1结构域用人源化版本(huUCHT1)代替,以降低免疫原性。这个TAC构建物与其前体相比表现出优越的表面表达水平。

[0291] 为了进一步提高在T细胞的细胞表面上的受体表达而不损害功能,平行地评估了两个独立的修饰。为了提高单链稳定性,将在所述抗CD19 scFv中使用的G₄S连接物(SEQ ID

NO:73) 用更加结构化的Whitlow连接物代替。分开地,将Y177T突变引入到huUCHT1结构域中。两种策略均增强TAC受体的表达,并产生了具有Whitlow连接物和Y177T突变两者的受体。

[0292] 图17示出了pCCL慢病毒载体中的CD19-TAC插入片段。所述pCCL载体的特点在于双向启动子系统,其中 Δ NGFR(hu)在mCMV启动子的控制之下,并且TAC表达由EF-1 α 启动子驱动。所述 Δ NGFR(hu)是截短的人类CD271(肿瘤坏死因子受体超家族成员16),具有跨膜结构域但缺少胞质信号传导结构域。所述 Δ NGFR(hu)的表达产物被用于定量慢病毒转导。所述CD19-TAC#921开放阅读框被放大,以示出所述TAC构建物的关键元件:CD8 α 前导肽,FMC63单链(抗CD19 scFv),人类c-Myc标签,huUCHT1(Y177T)和 Δ CD4结构域。所述huUCHT1(Y177T)突变通过检查随即引入到鼠类UCHT1 CD3 ϵ 结合界面的残基中的点突变来鉴定。在筛选中成功地鉴定到所述(Y177T)突变。所述(Y177T)突变导致更好的Tri-TAC表面表达,同时保留T细胞活化。 Δ CD4缺少4个CD4细胞外免疫球蛋白样结构域并保留细胞外连接物、跨膜和胞质结构域。

[0293] 为了产生GMP等级的慢病毒载体,将所述CD19-Tri-TAC构建物克隆到新的慢病毒载体中MSCV启动子的控制之下。所述CD19-Tri-TAC构建物与图17中示出的相同。

[0294] 实施例6. 从不同供体材料制造表达CD19-TAC的T细胞的能力

[0295] 图18示出了从多种供体制造的表达CD19-TAC的T细胞的效能。使用来自于三种不同供体的T细胞生产表达CD19-TAC的T细胞,并在NALM-6肿瘤模型中进行测试。将带有已建立的NALM-6肿瘤的小鼠用单剂 4×10^6 个表达CD19-TAC的T细胞治疗。对照小鼠显示出快速的肿瘤长大,并且到研究结束时所有小鼠都达到终点。来自于供体1和2的T细胞产物在所有小鼠中导致完全控制。来自于供体3的T细胞产物在所有小鼠中导致鲁棒的肿瘤控制,并在2/4的治疗的小鼠中导致长期控制。所述研究证实,通过源自于多个健康供体的表达CD19-TAC的T细胞实现了肿瘤排斥。图18中的NALM-6肿瘤模型的结果表明从多个供体来源的材料生产了有效的CD19-TAC。

[0296] 实施例7. 表达CD19-TAC的T细胞的体外细胞毒性和体内效能

[0297] 为了评估CD19-TAC有效接合各种不同的CD19阳性细胞的能力,将Tri-TAC工程化改造的T细胞与NALM-6(急性成淋巴细胞性白血病)、Raji(伯基特淋巴瘤)或Jeko-1(套细胞淋巴瘤)共培养。NALM-6、Jeko-1和Raji细胞被工程化改造成具有增强的萤火虫萤光素酶,以便能够通过生物发光成像在体外和活动中跟踪肿瘤负荷。

[0298] 图19A-图19C示出了肿瘤细胞系被表达CD19-TAC的T细胞的灭杀。所述效果是剂量依赖性的,并随着效应细胞与靶细胞(E:T)比率提高而提高。作为阴性对照,使用用 Δ TAC(缺少抗原结合结构域)工程化改造的细胞或未转导的T细胞。这些结果证实表达CD19-TAC的T细胞杀死CD19阳性肿瘤细胞。

[0299] 图19D-图19G示出了评估CD19-TAC在移植有NALM-6(急性成淋巴细胞性白血病)、Raji(伯基特淋巴瘤)或Jeko-1(套细胞淋巴瘤)液体肿瘤的小鼠中的效能的体内研究的设计和结果。为了引发NALM-6、Raji和Jeko-1肿瘤,将小鼠分别用NALM-6、Raji或Jeko-1细胞接种并饲养4或7天,以允许肿瘤的植入。在第4或7天,将表达CD19-TAC的T细胞通过尾静脉静脉内注射给药。以每周的间隔时间测量肿瘤负荷,并将数据作为平均辐照度[p/s/cm²/sr]作图。

[0300] 图19E-图19G说明了在NALM-6(急性成淋巴细胞性白血病)、Raji(伯基特淋巴瘤)或Jeko-1(套细胞淋巴瘤)液体肿瘤中,CD19-TAC工程化改造的T细胞在诱导肿瘤减退和长期肿瘤控制中有效。

[0301] 图19A-图19G中NALM-6、Raji或Jeko-1肿瘤模型的结果表明CD19-TAC在各种不同的CD19阳性肿瘤模型中有效。

[0302] 实施例8.表达CD19-TAC的T细胞的持久性和持续的肿瘤免疫力

[0303] 图20A-图20B示出了在接受表达CD19-TAC的T细胞的小鼠中肿瘤免疫力的持久性和对重新激惹的抗性。将带有已建立的NALM-6肿瘤的小鼠用表达CD19-TAC的T细胞治疗。

[0304] 图20A示出了用于确定CD19-TAC在小鼠中的持久性的实验设置。首先将小鼠用NALM-6细胞接种,在4天的植入期后将其用CD19-TAC治疗。所有小鼠均显示出肿瘤减退和完全的肿瘤控制。在初始治疗后56天,将小鼠用NALM-6(CD19阳性)或KMS11(CD19阴性)液体肿瘤重新激惹。在所有情况下将幼稚小鼠用肿瘤细胞共同注射并用作阴性对照。通过发光信号跟踪肿瘤负荷。

[0305] 图20B:将带有已建立的NALM-6肿瘤的小鼠用表达CD19-TAC的T细胞治疗,所述T细胞作为分次剂量给药,总共 4×10^6 个工程化改造的细胞。作为对照,使用一组未治疗的动物。在ACT后,治疗的小鼠呈现出持久的抗肿瘤应答。相反,对照小鼠显示出肿块的指数增长,并达到肿瘤负荷相关的终点。在ACT后第56天,将小鼠用NALM-6肿瘤细胞(CD19阳性)或KMS11肿瘤细胞(CD19阴性)重新激惹。CD19-TAC治疗的小鼠仍受到保护以免于NALM-6(CD19阳性)肿瘤细胞,但不免于KMS11(CD19阴性)肿瘤细胞。

[0306] 图20A和图20B中的重新激惹实验的结果表明CD19-TAC在某些情况下分化成保留抗肿瘤性质的长寿的记忆性细胞。

[0307] 实施例9.表达CD19-TAC的T细胞的体内扩和剂量依赖性

[0308] 图21和图22示出了在NALM-6癌症模型中表达CD19-TAC的T细胞的剂量依赖性、剂量方案(分次或单次)和扩增。图21A示出了实验设计。小鼠在肿瘤接种后第4天接受单剂表达CD19-TAC的T细胞或接受相隔7天递送的分次剂量。测试了表达CD19-TAC的T细胞的多个剂量: 0.5×10^6 、 1×10^6 和 4×10^6 个细胞。图21B示出了接受 4×10^6 个未转导的细胞或冷冻介质(介质对照)的小鼠对照组。

[0309] 图21B示出了在NALM-6注射和CD19-TAC注射后小鼠的存活率。在单剂和分次剂量组两者中观察到存活率的剂量依赖性提升,其中最高的单次给药剂量限制肿瘤生长并提升小鼠存活率。

[0310] 图22A示出了用于评估T细胞增殖的门选策略。首先将细胞在前向和侧向散射的基础上进行选择,以选出淋巴细胞群体。通过高度门上方的前向散射区域识别单个T细胞。活细胞通过近IR门选来识别。人类细胞通过hCD45门来识别。将得到的细胞子集进一步分成CD3阳性细胞。然后将这些细胞根据CD4/CD8和蛋白L进行门选。染色策略也包含muCD45_1,以识别鼠类血液细胞。包含CD19以便染色NALM-6细胞。

[0311] 图22B示出了在分次剂量过继性T细胞转移(ACT)后T细胞在小鼠中的扩增。在ACT后定期获取血样并通过流式细胞术进行分析。将值归一化到在ACT1后存在于血液中的总T细胞数目。也将值归一化到CD45.1+(鼠类)细胞的总数,以将抽血的差异考虑在内。在第一次ACT后大约1-2周内,用CD19-TAC工程化改造的细胞治疗的小鼠中的T细胞在接受者小鼠

中显示出扩增(图22B)。未转导的细胞不扩增(图22B)。

[0312] 各种不同的剂量、剂量方案(图21B)和T细胞计数(图22B)的结果表明CD19-TAC的效能是剂量依赖性的,工程化改造的T细胞在体内扩增,并且在带有CD19阳性肿瘤的动物中这种扩增是CD19-TAC工程化改造的细胞特有的。

[0313] 实施例10. CD19-TAC治疗的体内效能、长期效能和安全性

[0314] 图23-图25证实了长期安全性和效能(图23)和不存在任何治疗相关的急性毒性(图24-图25)。

[0315] 图23A示出了实验设计。将小鼠用 0.5×10^6 个增强萤光素酶工程化改造的NALM-6细胞注射,允许其植入4天。然后将小鼠用两种剂量水平(4和 12×10^6 个工程化改造的细胞)的CD19-TAC-工程化改造的T细胞在单剂给药中治疗。然后通过定期发光测量跟踪肿瘤生长。通过检查小鼠的行为和身体特征(理毛行为、移动性、毛皮完整性)定期评估小鼠健康。

[0316] 图23B示出了在用单独的介质(冷冻介质)、非工程化改造的对照细胞(总T细胞剂量等于最高的工程化治疗组的总T细胞剂量)和4或 12×10^6 个工程化改造的CD19-TAC工程化改造的T细胞治疗后通过发光测量的肿瘤负荷。两种对照显示出快速肿瘤生长并且没有抗肿瘤效能。相对于单独的介质,所述对照药剂引起肿瘤生长延缓,据推测是由于高剂量T细胞与肿瘤细胞之间对移植生境的竞争。工程化改造的T细胞在所有病例下显示出肿瘤消退。高剂量治疗组在所有病例中显示出完全的肿瘤控制。 4×10^6 治疗组显示出3只小鼠完全控制,1只小鼠具有延缓的肿瘤生长,1只小鼠具有受控但高的肿瘤负荷。

[0317] 图23C示出了不同治疗组的总存活率。在介质和非工程化改造的对照小鼠两者中,所有小鼠分别在23至35天内死于肿瘤。在高剂量CD19-TAC治疗的情况下,所有小鼠发生GvHD症状,并在61天内死于GvHD。GvHD是小鼠模型本身而不是使用修饰的T细胞治疗的结果。低剂量小鼠显示出3只小鼠存活到90天时的研究结束,1只小鼠死于高肿瘤负荷,1只小鼠死于GvHD。

[0318] 图24和图25示出了来自于介质对照、非工程化改造的和CD19-TAC(4 和 12×10^6 个有效的CD19-TAC工程化改造的细胞)治疗的小鼠的临床化学参数和细胞因子水平。在ACT后对小鼠跟踪33天,并在第5、12和33天获取血样。只有CD19-TAC治疗的小鼠存活了33天。介质对照小鼠在可以收集第三次血样之前死于肿瘤负荷,非工程化改造的细胞组早在第26天,在小鼠即将达到肿瘤负荷相关终点之前被处死。分析所有血样的几个临床化学参数和细胞因子水平。

[0319] 图24显示出在第5和12天,与对照小鼠相比CD19-TAC治疗的小鼠没有显示出明显更高的参数。在第33天,所有治疗的小鼠显示出与早期治疗时间点相当的临床化学参数,例外的是丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天冬氨酸氨基转移酶(AST),其中某些小鼠经历了高水平,与在第26天取样的用非工程化改造的细胞治疗的小鼠相似。

[0320] 图25示出了在第5、12和33天的细胞因子响应。在ACT后第5天,CD19-TAC但不是对照小鼠显示出所有测试的细胞因子的升高。所述细胞因子增加与CD19-TAC工程化改造的T细胞识别抗原阳性NALM-6肿瘤细胞并与其反应的炎性应答相符。在它们的初始反应后,到第12天为止,细胞因子水平下降,这与随后诱导肿瘤减退和通常低的肿瘤负荷相关。在第12天,除了IL10之外,CD19-TAC治疗组的细胞因子水平近似于或低于非工程化改造的T细胞

组。在更晚的阶段,用非转导的或CD19-TAC工程化改造的T细胞治疗的所有小鼠显示出细胞因子的增加,推测与GvHD的发作相关。也参见图29,其示出了在第5、12、26和33天的细胞因子响应。

[0321] 用CD19-TAC治疗的小鼠和它们的临床化学情况的长期跟踪的结果证实了工程化改造的T细胞对使用来说是安全的,并且未显示出由CD19-TAC工程化改造特异性引起的毒性的任何迹象。所述细胞因子研究的结果证实了与抗肿瘤效能相关的早期炎性应答,随后所有细胞因子水平下降,表明受控的炎性应答。

[0322] 实施例11.几种BCMA Tri-TAC变体的体内效能

[0323] 图26示出了各种不同BCMA Tri-TAC构建物的体内效能研究。图26A示出了总体实验设计。允许1百万个萤光素酶工程化改造的KMS11 (BCMA阳性) 肿瘤细胞植入12天。然后将小鼠用单次有效剂量的4百万个BCMA构建物和对照进行治疗(图26B)。通过发光测量定期评估肿瘤负荷。然后将显示出肿瘤消退和肿瘤控制的所有小鼠在ACT后第25天用1百万个KMS11细胞重新激惹。

[0324] 图26C:在ACT后,对照小鼠表现出肿瘤细胞的快速生长,在19至25天内达到肿瘤相关终点。相反,所有BCMA-TAC治疗的小鼠显示出初始肿瘤减退。肿瘤控制随着构建物而变,其中G₄S (SEQ ID NO:73) 3625VH-VL显示出最低水平的初始肿瘤控制,短螺旋3625VL-VH显示出最高水平的初始肿瘤控制。在重新激惹后,已维持肿瘤控制直至第25天的所有构建物中的大部分仍保持针对重新激惹的保护作用。

[0325] 这项体内研究的结果证明各种不同的BCMA Tri-TAC构建物在控制KMS11 (BCMA阳性) 液体肿瘤中有效。但某些优选的配置提供优越的效能。总的来说,螺旋接头区当与相同scFv配置内的柔性连接物相比时提供相对益处。

[0326] 实施例12.TAC-Her2的体内效能

[0327] 将小鼠在后肋部用OVCAR3实体肿瘤接种。允许肿瘤建立并生长至100mm³的尺寸。然后将小鼠用TAC-Her2工程化改造的T细胞的尾静脉注射进行治疗。定期测量肿瘤体积。

[0328] 实施例13.临床试验

[0329] 进行了临床研究,其中将至少18岁,患有CD19阳性弥漫性大B-细胞淋巴瘤,对包括ASCT在内的至少两种当前的一线疗法失败或不符合ASCT资格的对象,用表达CD19-TAC的T细胞进行治疗。所述研究是开放标签、单臂、1/2期两阶段试验,其特点在于剂量递增阶段用于确定最大耐受剂量(MTD)或推荐的II期剂量(RPh2D),随后在选定的剂量下扩展组群。

[0330] 入选后,对象经历白细胞单采以获得用于制造表达CD19-TAC的T细胞的T细胞。在成功制造后,对象进入治疗阶段。该阶段包括用氟达拉滨和环磷酰胺进行清除淋巴细胞的化疗,然后静脉内(IV)给药表达CD19-TAC的T细胞。在用表达CD19-TAC的T细胞治疗后,对象进入治疗后的随访,并在他们的最后一剂表达CD19-TAC的T细胞后对安全性、疾病状态和存活率进行2年的跟踪。在研究完成后,在单独的长期随访方案中跟踪对象的存活率、长期毒性和病毒载体安全性,直至他们的最后一剂表达CD19-TAC的T细胞后15年。

[0331] 在所有组中,在整个研究期间评估安全性。从第一剂表达CD19-TAC的T细胞之时起到不再可检测到细胞为止,评估T细胞扩增。在治疗前以及在最后一剂表达CD19-TAC的T细胞后大约3、6、9、12、18和24个月或直至进行性疾病或使用另外的抗癌疗法治疗为止,通过正电子发射断层扫描(PET)和/或计算机断层扫描(CT)进行放射学疾病评估。

[0332] 实施例14. 表达CD19-TAC的T细胞药品的制造

[0333] 表达CD19-TAC的T细胞药品的制造过程包括从白细胞单采产物选择CD4/CD8 T细胞,活化所述CD4/CD8阳性细胞,用包含CD19-TAC构建物的慢病毒载体转导所述细胞(如实施例5中所述),将所述转导的细胞扩增到足以用于提出的给药方案的水平,以及收获并冷冻保存所述最终产品。

[0334] 在制造场所接收患者的带有相关的独一无二对象标识(UPN)的白细胞单采材料,并对其提供独一无二的样本编号(ISN)。选出CD4/CD8细胞并冷冻保存直至培养过程步骤开始。

[0335] 将所述冷冻保存的CD4/CD8阳性选择的T细胞在37°C融化,重悬浮在适合的培养基中并接种到含有活化试剂的培养袋中,将所述培养物在37°C/5%CO₂下温育过夜。

[0336] 将所述细胞用CD19-TAC慢病毒载体以适合的感染复数(MOI)转导,并在37°C/5%CO₂下温育过夜。在随后的几天,用完全培养基增补所述培养物以维持所需的细胞浓度,并最终合并并在转移袋中,离心,重悬浮,并以目标细胞密度接种到更大的培养袋。

[0337] 对于药品剂型来说,将收获的细胞悬液重悬浮在赋形剂中并用控速冰箱冻存,然后转移到LN₂储存。

[0338] 将所述产品在冷冻状态下运输到临床场所,在现场融化并静脉内给药。

[0339] 在临床试验之前,使用健康供体的白细胞单采材料进行工程化制造运行,包括所有过程内和发行测试。除了过程内和发行测试之外,还对来自于这些工程化运行的最终药品进行了支持监管备案文件的研究。这些研究包括融化后稳定性、长期稳定性的启动、确保促进生长的细胞因子的清除的残留物测试以及指示潜在功能/效价的测定法的早期评估。

[0340] 实施例15. 用于治疗BCMA阳性恶性肿瘤的BCMA特异性T-细胞抗原偶联物(TAC)疗法的临床前开发

[0341] 图27示出了TAC在遇到细胞上的抗原时增殖,但在所述抗原存在于人造珠子上时不增殖;但CAR不论抗原是存在于珠子还是细胞上均增殖。

[0342] 图28A-图28B示出了在骨髓瘤模型中TAC工程化改造的T细胞在体内扩增并提供长期保护,指示了细胞的持久性。图28A-图28B示出了在用NanoLuc(KMS 11-NanoLuc)工程化改造的KMS-11异种移植模型(BCMA^{POS})中BCMA-TAC T细胞排斥多发性骨髓瘤肿瘤。在肿瘤植入后,将小鼠用BCMA TAC-T细胞(带有萤火虫萤光素酶)治疗。TAC-T细胞在给药后显著扩增。这与肿瘤减退相关。治疗的小鼠对肿瘤重新激惹具有抗性,指示了TAC-T细胞的长期存留。

[0343] 所述数据说明TAC-T细胞可能通过模拟T细胞活化的天然过程的机制破坏肿瘤细胞。所述TAC技术显示出:1)在液体肿瘤中的强效能,2)体内增殖,3)T细胞持久性,保护小鼠对抗重新激惹,和4)在T细胞给药后细胞扩增。

[0344] 实施例16. 具有MSCV或EF1 α 启动子的hu-或muIg HER2-TAC的体内和体外活性

[0345] 将CD4和CD8 T细胞用表达各种不同TAC的病毒工程化改造。一组细胞用一种慢病毒工程化改造,所述慢病毒利用MSCV启动子来表达特异性针对HER-2的使用鼠类IgG信号肽的TAC[muIgG TAC(MSCV)]。另一组细胞用另一种慢病毒工程化改造,所述慢病毒利用MSCV启动子来表达特异性针对HER-2的使用人类IgG信号肽的TAC[huIgG TAC(MSCV)]。第三组细胞用另一种慢病毒工程化改造,所述慢病毒利用EF1 α 启动子来表达特异性针对HER-2的使

用鼠类IgG信号肽的TAC[μ IgG TAC (EF1 α)]。作为阴性对照,使用缺少HER2结合结构域的TAC(Δ 结合结构域TAC)。然后将工程化改造的细胞在体外表征其重新表面表达和特异性活性,并体内表征在OVCAR3 HER2阳性实体肿瘤模型中的活性。

[0346] 图30示出了在MCSV或EF1 α 启动子控制之下的人类或鼠类IgG前导肽HER2 TAC受体的T细胞表面表达。表面表达是生物学活性的关键要求,并且这说明HER2 TAC受体表达不受IgG信号肽的物种来源影响。

[0347] 图31证实了用在MCSV或EF1 α 启动子控制之下的人类或鼠类IgG前导肽HER2 TAC构建物工程化改造的T细胞,当与HER2阳性靶细胞(OVCAR3)共培养时诱导细胞因子生产,但与HER2阴性细胞(LOX IMVI)共培养时不诱导细胞因子生产。这说明HER2 TAC受体工程化改造的T细胞能够特异性接合表达HER2的靶细胞,但对抗原阴性细胞没有反应性。

[0348] 图32证实了在MCSV或EF1 α 启动子控制之下的人类或鼠类IgG前导肽HER2 TAC构建物的体内效能。在工程化改造的T细胞的分次剂量给药后,相对于阴性对照 Δ 接合TAC,HER2 TAC工程化改造的细胞对肿瘤生长显示出显著影响,包括肿瘤减退。这项体内实验证实了所有HER2 TAC工程化改造的细胞在体内显示出对抗实体肿瘤模型的显著活性。

[0349] 尽管在本文中已示出并描述了本发明的优选实施方式,但对于本领域技术人员来说,显然这些实施方式的提供仅仅是示例性的。本领域技术人员将会发现大量变动、变化和替换,而不背离本发明。应该理解,本文描述的本发明的实施方式的各种不同替选方案可用于实践本发明。下面的权利要求书旨在定义本发明的范围,并打算将在这些权利要求项及其等同性范围之内的方法和结构涵盖在其中。

- [0001] 序列表
- [0002] <110> 麦克马斯特大学 (MCMASTER UNIVERSITY)
- [0003] 特拉姆维拉免疫美国有限公司 (TRIUMVIRA IMMUNOLOGICS USA, INC.)
- [0004] <120> 具有各种不同的构建物优化的T细胞抗原偶联物
- [0005] <130> 55247-704.601
- [0006] <140>
- [0007] <141>
- [0008] <150> 62/839,235
- [0009] <151> 2019-04-26
- [0010] <150> 62/828,879
- [0011] <151> 2019-04-03
- [0012] <150> 62/826,853
- [0013] <151> 2019-03-29
- [0014] <150> 62/773,120
- [0015] <151> 2018-11-29
- [0016] <150> 62/703,037
- [0017] <151> 2018-07-25
- [0018] <150> 62/699,173
- [0019] <151> 2018-07-17
- [0020] <160> 77
- [0021] <170> PatentIn version 3.5
- [0022] <210> 1
- [0023] <211> 1521
- [0024] <212> DNA
- [0025] <213> 人工序列
- [0026] <220>
- [0027] <223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸
- [0028] <400> 1
- [0029] atgtcacggg gctccgacct gggcaaaaag ctgctggagg ccgctagggc cgggcaggac 60
- [0030] gatgaagtga gaatcctgat ggccaacggg gctgacctga atgctaagga tgagtacggc 120
- [0031] ctgaccccc tgtatctggc tacagcacac ggccatctgg agatcgtgga agtctctgtg 180
- [0032] aaaaacggag ccgacctgaa tgcagtcgat gccattgggt tcaactcctct gcacctggca 240
- [0033] gcctttatcg gacatctgga gattgcagaa gtgctgctga agcacggcgc tgacctgaac 300
- [0034] gcacaggata agttcggaaa aaccgctttt gacatcagca ttggcaacgg aatgaagac 360
- [0035] ctggctgaaa tctgcagaa actgaatgaa cagaaactga ttagcgaaga agacctgaac 420
- [0036] cccgggggag gaggaggag cgggggagga ggcagcggcg ggggaggctc tggaggagga 480
- [0037] gggagcggat ccatggacat ccagatgact cagaccacaa gctccctgtc tgcaagtctg 540
- [0038] ggcgaccggg tgacaatctc ctgcagagcc tctcaggata ttaggaacta cctgaattgg 600
- [0039] tatcagcaga aacctgatgg cacagtcaag ctgctgatct actataccag ccggctgcac 660
- [0040] tcaggcgtgc caagcaaatt ctcaggaagc ggctccggga ctgactactc cctgaccatc 720
- [0041] tctaacctgg agcaggaaga tattgtctacc tatttctgcc agcagggcaa tacactgcc 780

[0042] tggacttttg ccggaggcac caaactggag atcaaggggg gaggcgggag tggaggcggg 840
 [0043] ggatcaggag gaggaggcag cggaggagga ggttccgagg tccagctgca gcagagcgga 900
 [0044] ccagaactgg tgaagcccgg agcaagtatg aaaatctcct gtaaggctc aggatacagc 960
 [0045] ttcaccggct atacaatgaa ctgggtgaaa cagtcccatg gcaagaacct ggaatggatg 1020
 [0046] gggctgatta atccttaciaa aggcgtcagc acctataatc agaagtttaa agacaaggcc 1080
 [0047] aactgactg tggataagtc tagttcaacc gttacatgg agctgctgic cctgacatct 1140
 [0048] gaagacagtg ccgtgtacta ttgtgctcgg tctggctact atggggacag tgattggtac 1200
 [0049] ttgatgtct ggggacaggg cactaccctg accgtgtttt ctactagtgg cggaggagga 1260
 [0050] tcaactcgaga gcggacaggt gctgctggaa tccaatatca aagtctctgc cacttggtct 1320
 [0051] acccccgtgc agcctatggc tctgattgtg ctgggaggag tcgcaggact gctgctgttt 1380
 [0052] atcgggctgg gaattttctt ttgcgtcgc tgccggcacc ggagaaggca ggccgagcgc 1440
 [0053] atgagccaga tcaagcgact gctgagcag aagaaaacct gtcagtgtcc ccatagattc 1500
 [0054] cagaagacct gttcacccat t 1521
 [0055] <210> 2
 [0056] <211> 525
 [0057] <212> PRT
 [0058] <213> 人工序列
 [0059] <220>
 [0060] <223> 人工序列的描述:合成的多肽
 [0061] <400> 2
 [0062] Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser
 [0063] 1 5 10 15
 [0064] Val Ile Met Ser Arg Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala
 [0065] 20 25 30
 [0066] Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly
 [0067] 35 40 45
 [0068] Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Glu Tyr Gly Leu Thr Pro Leu Tyr Leu
 [0069] 50 55 60
 [0070] Ala Thr Ala His Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Asn
 [0071] 65 70 75 80
 [0072] Gly Ala Asp Val Asn Ala Val Asp Ala Ile Gly Phe Thr Pro Leu His
 [0073] 85 90 95
 [0074] Leu Ala Ala Phe Ile Gly His Leu Glu Ile Ala Glu Val Leu Leu Lys
 [0075] 100 105 110
 [0076] His Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe
 [0077] 115 120 125
 [0078] Asp Ile Ser Ile Gly Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln
 [0079] 130 135 140
 [0080] Lys Leu Asn Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asn Pro Gly
 [0081] 145 150 155 160
 [0082] Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 [0083] 165 170 175

[0084]	Gly Gly Gly Ser Gly Ser Met Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser
[0085]	180 185 190
[0086]	Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala
[0087]	195 200 205
[0088]	Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp
[0089]	210 215 220
[0090]	Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly
[0091]	225 230 235 240
[0092]	Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu
[0093]	245 250 255
[0094]	Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln
[0095]	260 265 270
[0096]	Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe Ala Gly Gly Thr Lys Leu Glu
[0097]	275 280 285
[0098]	Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
[0099]	290 295 300
[0100]	Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu
[0101]	305 310 315 320
[0102]	Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser Met Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly
[0103]	325 330 335
[0104]	Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly
[0105]	340 345 350
[0106]	Lys Asn Leu Glu Trp Met Gly Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser
[0107]	355 360 365
[0108]	Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys
[0109]	370 375 380
[0110]	Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp
[0111]	385 390 395 400
[0112]	Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp
[0113]	405 410 415
[0114]	Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Phe Ser
[0115]	420 425 430
[0116]	Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Ser Gly Gln Val Leu Leu Glu
[0117]	435 440 445
[0118]	Ser Asn Ile Lys Val Leu Pro Thr Trp Ser Thr Pro Val Gln Pro Met
[0119]	450 455 460
[0120]	Ala Leu Ile Val Leu Gly Gly Val Ala Gly Leu Leu Leu Phe Ile Gly
[0121]	465 470 475 480
[0122]	Leu Gly Ile Phe Phe Cys Val Arg Cys Arg His Arg Arg Arg Gln Ala
[0123]	485 490 495
[0124]	Glu Arg Met Ser Gln Ile Lys Arg Leu Leu Ser Glu Lys Lys Thr Cys
[0125]	500 505 510

[0126]	Gln Cys Pro His Arg Phe Gln Lys Thr Cys Ser Pro Ile
[0127]	515 520 525
[0128]	<210> 3
[0129]	<211> 1647
[0130]	<212> DNA
[0131]	<213> 人工序列
[0132]	<220>
[0133]	<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸
[0134]	<400> 3
[0135]	atggactttc aggtgcagat tttctctttt ctgctgattt ccgcaagcgt catcgagctc 60
[0136]	gggggggggg ggtcaggatc catggacatc cagatgactc agaccacaag ctccctgagc 120
[0137]	gcatccctgg gcgaccgagt gacaatctca tgcagagcca gccaggatat taggaactac 180
[0138]	ctgaattggt atcagcagaa acctgacggc acagtcaagc tgctgatcta ctatacttcc 240
[0139]	cggctgcact ctggcgtgcc aagtaaattc tctgggagtg gatcaggcac tgactactca 300
[0140]	ctgaccatca gcaacctgga gcaggaagat attgctacct atttctgcca gcagggcaat 360
[0141]	acaactgccct ggacttttgc aggcgggacc aaactggaga tcaagggcgg cggcggaagt 420
[0142]	ggaggaggag gctcaggcgg aggagggagc ggcggaggag gcagcgaggt ccagctgcag 480
[0143]	cagagcggac cagaactggt gaagcctggc gcatccatga aaatctcttg taaggcctct 540
[0144]	gggtacagtt tcaccgata tacaatgaac tgggtgaaac agtctcatgg caagaacctg 600
[0145]	gaatggatgg gcctgattaa tccttacaaa ggcgtcagca cctataatca gaagtttaaa 660
[0146]	gacaaggcca cactgactgt ggataagtct agttcaaccg cttacatgga gctgctgtca 720
[0147]	ctgacaagcg aagactccgc cgtgtactat tgcgctagga gcggatacta tggcgactcc 780
[0148]	gattgtact tcgatgtctg ggggcaggga actacctga ccgtgtttag cactagtgga 840
[0149]	ggaggaggct ctggaggagg agggagtgga ggcgggggat caggaggagg aggcagcgt 900
[0150]	atcatgtcac ggggctccga cctgggcaaa aagctgctgg aggccgctag ggccgggcag 960
[0151]	gacgatgaag tgagaatcct gatggccaac ggggctgacg tgaatgctaa ggatgagtac 1020
[0152]	ggcctgacct ccctgtatct ggctacagca cacggccatc tggagatcgt ggaagtcctg 1080
[0153]	ctgaaaaacg gagccgacgt gaatgcagtc gatgccattg ggttactcc tctgcacctg 1140
[0154]	gcagccttta tcggacatct ggagattgca gaagtgtgc tgaagcacgg cgctgacgtg 1200
[0155]	aacgcacagg ataagtctgg aaaaaccgct tttgacatca gcattggcaa cggaaatgaa 1260
[0156]	gacctggctg aatcctgca gaaactgaat gaacagaaac tgattagcga agaagacctg 1320
[0157]	aacgtcgacg gaggaggagg gtctggagga gggggaagtg gcgggggagg cagcggggga 1380
[0158]	ggcgggtctc tcgagagtgg ccaggtgctg ctggaaagca atatcaaggt cctgccaaact 1440
[0159]	tggtccaccc cagtgcagcc tatggtctctg attgtgctgg gaggagtgcg aggactgctg 1500
[0160]	ctgtttatcg gcctggggat tttcttttgc gtgcgctgcc ggcaccggag aaggcaggct 1560
[0161]	gagcgcattg ctgagattaa gcgactgctg agcgagaaga agacctgtca gtgccccat 1620
[0162]	agattccaga aaacctgttc acccatt 1647
[0163]	<210> 4
[0164]	<211> 547
[0165]	<212> PRT
[0166]	<213> 人工序列
[0167]	<220>

[0168]	<223> 人工序列的描述:合成的多肽															
[0169]	<400> 4															
[0170]	Met	Asp	Phe	Gln	Val	Gln	Ile	Phe	Ser	Phe	Leu	Leu	Ile	Ser	Ala	Ser
[0171]	1			5							10					15
[0172]	Val	Ile	Glu	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Ser	Met	Asp	Ile	Gln	Met
[0173]				20							25					30
[0174]	Thr	Gln	Thr	Thr	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Leu	Gly	Asp	Arg	Val	Thr
[0175]				35							40					45
[0176]	Ile	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Asp	Ile	Arg	Asn	Tyr	Leu	Asn	Trp	Tyr
[0177]				50							55					60
[0178]	Gln	Gln	Lys	Pro	Asp	Gly	Thr	Val	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Tyr	Thr	Ser
[0179]	65					70						75				80
[0180]	Arg	Leu	His	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Lys	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly
[0181]					85							90				95
[0182]	Thr	Asp	Tyr	Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Asn	Leu	Glu	Gln	Glu	Asp	Ile	Ala
[0183]					100							105				110
[0184]	Thr	Tyr	Phe	Cys	Gln	Asn	Thr	Leu	Pro	Trp	Thr	Phe	Ala	Gly	Gly	Thr
[0185]					115							120				125
[0186]	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly
[0187]																
[0188]	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser
[0189]	145					150						155				160
[0190]	Gly	Pro	Glu	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	Ala	Ser	Met	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys
[0191]						165						170				175
[0192]	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ser	Phe	Thr	Gly	Tyr	Thr	Met	Asn	Trp	Val	Lys	Gln
[0193]						180						185				190
[0194]	Ser	His	Gly	Lys	Asn	Leu	Glu	Trp	Met	Gly	Leu	Ile	Asn	Pro	Tyr	Lys
[0195]																
[0196]	Gly	Val	Ser	Thr	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe	Lys	Asp	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr
[0197]																
[0198]	Val	Asp	Lys	Ser	Ser	Ser	Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Leu	Ser	Leu	Thr
[0199]	225					230						235				240
[0200]	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Ser	Gly	Tyr	Tyr	Gly
[0201]						245						250				255
[0202]	Asp	Ser	Asp	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Leu	Thr
[0203]						260						265				270
[0204]	Val	Phe	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly
[0205]																
[0206]	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Ile	Met	Ser	Arg	Gly	Ser
[0207]																
[0208]	Asp	Leu	Gly	Lys	Lys	Leu	Leu	Glu	Ala	Ala	Arg	Ala	Gly	Gln	Asp	Asp
[0209]	305					310							315			320

[0210]	Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
[0211]	325 330 335
[0212]	Glu Tyr Gly Leu Thr Pro Leu Tyr Leu Ala Thr Ala His Gly His Leu
[0213]	340 345 350
[0214]	Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Val
[0215]	355 360 365
[0216]	Asp Ala Ile Gly Phe Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Phe Ile Gly His
[0217]	370 375 380
[0218]	Leu Glu Ile Ala Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala
[0219]	385 390 395 400
[0220]	Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Gly Asn Gly
[0221]	405 410 415
[0222]	Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Leu Asn Glu Gln Lys Leu
[0223]	420 425 430
[0224]	Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asn Val Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
[0225]	435 440 445
[0226]	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Ser
[0227]	450 455 460
[0228]	Gly Gln Val Leu Leu Glu Ser Asn Ile Lys Val Leu Pro Thr Trp Ser
[0229]	465 470 475 480
[0230]	Thr Pro Val Gln Pro Met Ala Leu Ile Val Leu Gly Gly Val Ala Gly
[0231]	485 490 495
[0232]	Leu Leu Leu Phe Ile Gly Leu Gly Ile Phe Phe Cys Val Arg Cys Arg
[0233]	500 505 510
[0234]	His Arg Arg Arg Gln Ala Glu Arg Met Ser Gln Ile Lys Arg Leu Leu
[0235]	515 520 525
[0236]	Ser Glu Lys Lys Thr Cys Gln Cys Pro His Arg Phe Gln Lys Thr Cys
[0237]	530 535 540
[0238]	Ser Pro Ile
[0239]	545
[0240]	<210> 5
[0241]	<211> 54
[0242]	<212> DNA
[0243]	<213> 人工序列
[0244]	<220>
[0245]	<223> 人工序列的描述:合成的寡核苷酸
[0246]	<400> 5
[0247]	atgatttcc aggtccagat tttctccttc ctgctgattt ccgcaagcgt catt 54
[0248]	<210> 6
[0249]	<211> 18
[0250]	<212> PRT
[0251]	<213> 人工序列

[0252] <220>

[0253] <223> 人工序列的描述:合成的肽

[0254] <400> 6

[0255] Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser

[0256] 1 5 10 15

[0257] Val Ile

[0258] <210> 7

[0259] <211> 387

[0260] <212> DNA

[0261] <213> 人工序列

[0262] <220>

[0263] <223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸

[0264] <400> 7

[0265] atgtcacggg gctccgacct gggcaaaaag ctgctggagg ccgctagggc cgggcaggac 60

[0266] gatgaagtga gaatctgat ggccaacggg gctgacgtga atgctaagga tgagtacggc 120

[0267] ctgaccccc tgtatctggc tacagcacac ggccatctgg agatcgtgga agtctctgtg 180

[0268] aaaaacggag ccgacgtgaa tgcagtcgat gccattgggt tcaactcctct gcacctggca 240

[0269] gcctttatcg gacatctgga gattgcagaa gtgctgctga agcacggcgc tgacgtgaac 300

[0270] gcacaggata agttcggaaa aaccgctttt gacatcagca ttggcaacgg aaatgaagac 360

[0271] ctggetgaaa tctgcagaa actgaat 387

[0272] <210> 8

[0273] <211> 129

[0274] <212> PRT

[0275] <213> 人工序列

[0276] <220>

[0277] <223> 人工序列的描述:合成的多肽

[0278] <400> 8

[0279] Met Ser Arg Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg

[0280] 1 5 10 15

[0281] Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp

[0282] 20 25 30

[0283] Val Asn Ala Lys Asp Glu Tyr Gly Leu Thr Pro Leu Tyr Leu Ala Thr

[0284] 35 40 45

[0285] Ala His Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Asn Gly Ala

[0286] 50 55 60

[0287] Asp Val Asn Ala Val Asp Ala Ile Gly Phe Thr Pro Leu His Leu Ala

[0288] 65 70 75 80

[0289] Ala Phe Ile Gly His Leu Glu Ile Ala Glu Val Leu Leu Lys His Gly

[0290] 85 90 95

[0291] Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile

[0292] 100 105 110

[0293] Ser Ile Gly Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Leu

[0294]	115	120	125
[0295]	Asn		
[0296]	<210> 9		
[0297]	<211> 30		
[0298]	<212> DNA		
[0299]	<213> 人工序列		
[0300]	<220>		
[0301]	<223> 人工序列的描述:合成的寡核苷酸		
[0302]	<400> 9		
[0303]	gaacagaaac tgattagcga agaagacctg 30		
[0304]	<210> 10		
[0305]	<211> 10		
[0306]	<212> PRT		
[0307]	<213> 人工序列		
[0308]	<220>		
[0309]	<223> 人工序列的描述:合成的肽		
[0310]	<400> 10		
[0311]	Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu		
[0312]	1 5 10		
[0313]	<210> 11		
[0314]	<211> 75		
[0315]	<212> DNA		
[0316]	<213> 人工序列		
[0317]	<220>		
[0318]	<223> 人工序列的描述:合成的寡核苷酸		
[0319]	<400> 11		
[0320]	aaccccgggg gaggaggagg gagcggggga ggaggcagcg gcgggggagg ctctggagga 60		
[0321]	ggagggagcg gatcc 75		
[0322]	<210> 12		
[0323]	<211> 25		
[0324]	<212> PRT		
[0325]	<213> 人工序列		
[0326]	<220>		
[0327]	<223> 人工序列的描述:合成的肽		
[0328]	<400> 12		
[0329]	Asn Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly		
[0330]	1 5 10 15		
[0331]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser		
[0332]	20 25		
[0333]	<210> 13		
[0334]	<211> 750		
[0335]	<212> DNA		

- [0336] <213> 人工序列
- [0337] <220>
- [0338] <223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸
- [0339] <400> 13
- [0340] atggacatcc agatgactca gaccacaagc tcctgtctg caagtctggg cgaccgggtg 60
- [0341] acaatctcct gcagagcctc tcaggatatt aggaactacc tgaattggta tcagcagaaa 120
- [0342] cctgatggca cagtcaagct gctgatctac tataccagcc ggctgcactc aggcgtgcca 180
- [0343] agcaaattct caggaagcgg ctccgggact gactactccc tgaccatctc taacctggag 240
- [0344] caggaagata ttgtaccta tttctgccag cagggaata cactgccctg gacttttggc 300
- [0345] ggaggcacca aactggagat caagggggga ggcgggagtg gaggcggggg atcaggagga 360
- [0346] ggaggcagcg gaggaggagg gtccgagtc cagctgcagc agagcggacc agaactgggtg 420
- [0347] aagcccggag caagtatgaa aatctcctgt aaggcctcag gatacagctt caccggctat 480
- [0348] acaatgaact gggatgaaca gtcccatgac aagaacctgg aatggatggg gctgattaat 540
- [0349] ccttacaag gcgtcagcac ctataatcag aagtttaaag acaaggccac actgactgtg 600
- [0350] gataagtcta gttcaaccgc ttacatggag ctgctgtccc tgacatctga agacagtgcc 660
- [0351] gtgtactatt gtgctcggtc tggctactat ggggacagtg attggtactt cgatgtctgg 720
- [0352] ggacagggca ctaccctgac cgtgttttct 750
- [0353] <210> 14
- [0354] <211> 250
- [0355] <212> PRT
- [0356] <213> 人工序列
- [0357] <220>
- [0358] <223> 人工序列的描述:合成的多肽
- [0359] <400> 14
- [0360] Met Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu
- [0361] 1 5 10 15
- [0362] Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn
- [0363] 20 25 30
- [0364] Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu
- [0365] 35 40 45
- [0366] Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser
- [0367] 50 55 60
- [0368] Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu
- [0369] 65 70 75 80
- [0370] Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro
- [0371] 85 90 95
- [0372] Trp Thr Phe Ala Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly
- [0373] 100 105 110
- [0374] Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
- [0375] 115 120 125
- [0376] Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
- [0377] 130 135 140

- [0420] tggtcaccca tt 252
- [0421] <210> 18
- [0422] <211> 84
- [0423] <212> PRT
- [0424] <213> 人工序列
- [0425] <220>
- [0426] <223> 人工序列的描述:合成的多肽
- [0427] <400> 18
- [0428] Ser Gly Gln Val Leu Leu Glu Ser Asn Ile Lys Val Leu Pro Thr Trp
- [0429] 1 5 10 15
- [0430] Ser Thr Pro Val Gln Pro Met Ala Leu Ile Val Leu Gly Gly Val Ala
- [0431] 20 25 30
- [0432] Gly Leu Leu Leu Phe Ile Gly Leu Gly Ile Phe Phe Cys Val Arg Cys
- [0433] 35 40 45
- [0434] Arg His Arg Arg Arg Gln Ala Glu Arg Met Ser Gln Ile Lys Arg Leu
- [0435] 50 55 60
- [0436] Leu Ser Glu Lys Lys Thr Cys Gln Cys Pro His Arg Phe Gln Lys Thr
- [0437] 65 70 75 80
- [0438] Cys Ser Pro Ile
- [0439] <210> 19
- [0440] <211> 66
- [0441] <212> DNA
- [0442] <213> 人工序列
- [0443] <220>
- [0444] <223> 人工序列的描述:合成的寡核苷酸
- [0445] <400> 19
- [0446] agcggacagg tgctgctgga atccaatatc aaagtctctgc ccacttggtc taccgccgtg 60
- [0447] cagcct 66
- [0448] <210> 20
- [0449] <211> 22
- [0450] <212> PRT
- [0451] <213> 人工序列
- [0452] <220>
- [0453] <223> 人工序列的描述:合成的肽
- [0454] <400> 20
- [0455] Ser Gly Gln Val Leu Leu Glu Ser Asn Ile Lys Val Leu Pro Thr Trp
- [0456] 1 5 10 15
- [0457] Ser Thr Pro Val Gln Pro
- [0458] 20
- [0459] <210> 21
- [0460] <211> 769
- [0461] <212> DNA

[0462] <213> 人工序列
 [0463] <220>
 [0464] <223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸
 [0465] <400> 21
 [0466] atggccgaca tcgtgctgac acagagcccc gccatcatgt ctgccagccc tggcgagaaa 60
 [0467] gtgaccatga cctgtagcgc cagcagcagc gtgtcctaca tgaactggta tcagcagaag 120
 [0468] tccggcacca gcccgaagcg gtggatctac gacacaagca agctggcctc tggcgtgccc 180
 [0469] gcccacttta gaggtcttgg cagcggcaca agctacagcc tgaccatcag cggcatggaa 240
 [0470] gccgaggatg ccgccaccta ctactgccag cagtgggtcca gcaaccctt cacctttggc 300
 [0471] tccggcacia agctggaaat caaccgggcc gacaccgccc ctacaggcgg cggaggatct 360
 [0472] ggcggaggcg gatctggggg cggaggaaat ggggggggag gatctatggc tcaggtgcag 420
 [0473] ctgcagcagt ctgggccga actggctaga cctggcgct cctggaagat gagctgcaag 480
 [0474] gccagcggct acaccttca cgggtacacc atgcactggg tcaagcagag gcctggacag 540
 [0475] ggcttggaaat ggatcggcta catcaacccc agccggggct acaccaacta caaccagaag 600
 [0476] ttcaaggaca aggccaccct gaccaccgac aagagcagca gcaccgcta catgcagctg 660
 [0477] tctccctga ccagcgagga cagcggcgtg tactactgag cccggtacta cgacgaccac 720
 [0478] tactccctgg actactgggg ccagggcacc aactgaccg tgtctagta 769
 [0479] <210> 22
 [0480] <211> 256
 [0481] <212> PRT
 [0482] <213> 人工序列
 [0483] <220>
 [0484] <223> 人工序列的描述:合成的多肽
 [0485] <400> 22
 [0486] Met Ala Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser
 [0487] 1 5 10 15
 [0488] Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser
 [0489] 20 25 30
 [0490] Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp
 [0491] 35 40 45
 [0492] Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala His Phe Arg
 [0493] 50 55 60
 [0494] Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Gly Met Glu
 [0495] 65 70 75 80
 [0496] Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro
 [0497] 85 90 95
 [0498] Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Asn Arg Ala Asp Thr
 [0499] 100 105 110
 [0500] Ala Pro Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 [0501] 115 120 125
 [0502] Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met Ala Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser
 [0503] 130 135 140

[0546]	1	5	10	15
[0547]	Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly			
[0548]	20	25	30	
[0549]	Tyr Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly			
[0550]	35	40	45	
[0551]	Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe			
[0552]	50	55	60	
[0553]	Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val			
[0554]	65	70	75	80
[0555]	Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn			
[0556]	85	90	95	
[0557]	Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly			
[0558]	100	105	110	
[0559]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu			
[0560]	115	120	125	
[0561]	Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu			
[0562]	130	135	140	
[0563]	Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ile Tyr Ala Met Asn Trp			
[0564]	145	150	155	160
[0565]	Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg			
[0566]	165	170	175	
[0567]	Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Ser			
[0568]	180	185	190	
[0569]	Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln			
[0570]	195	200	205	
[0571]	Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg			
[0572]	210	215	220	
[0573]	His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Phe Phe Ala Tyr Trp Gly			
[0574]	225	230	235	240
[0575]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
[0576]	245			
[0577]	<210> 25			
[0578]	<211> 720			
[0579]	<212> DNA			
[0580]	<213> 人工序列			
[0581]	<220>			
[0582]	<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸			
[0583]	<400> 25			
[0584]	gacatccagc tgaccagag ccccgccatc atgagcgcca gccccggcga gaaggtgacc 60			
[0585]	atgacctgca gggccagcag cagcgtgagc tacatgaact ggtaccagca gaagagcggc 120			
[0586]	accagcccca agaggtgat ctacgacacc agcaagtggt ccagcggcgt gccctacagg 180			
[0587]	ttcagcggca gcggcagcgg caccagctac agcctgacca tcagcagcat ggaggccgag 240			

[0630]	210	215	220
[0631]	Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser		
[0632]	225	230	235 240
[0633]	<210> 27		
[0634]	<211> 51		
[0635]	<212> DNA		
[0636]	<213> 人工序列		
[0637]	<220>		
[0638]	<223> 人工序列的描述:合成的寡核苷酸		
[0639]	<400> 27		
[0640]	gccgaagcag cagcaaagga ggccgcagcg aaggaagcag ctgcgaaggc c 51		
[0641]	<210> 28		
[0642]	<211> 17		
[0643]	<212> PRT		
[0644]	<213> 人工序列		
[0645]	<220>		
[0646]	<223> 人工序列的描述:合成的肽		
[0647]	<400> 28		
[0648]	Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys		
[0649]	1	5	10 15
[0650]	Ala		
[0651]	<210> 29		
[0652]	<211> 81		
[0653]	<212> DNA		
[0654]	<213> 人工序列		
[0655]	<220>		
[0656]	<223> 人工序列的描述:合成的寡核苷酸		
[0657]	<400> 29		
[0658]	gccgagcag ctgcaaagga agctgcggcg aaggaggccg cagcgaaaga agcagcggca 60		
[0659]	aaagaagcag ccgccaagc c 81		
[0660]	<210> 30		
[0661]	<211> 27		
[0662]	<212> PRT		
[0663]	<213> 人工序列		
[0664]	<220>		
[0665]	<223> 人工序列的描述:合成的肽		
[0666]	<400> 30		
[0667]	Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys		
[0668]	1	5	10 15
[0669]	Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala		
[0670]		20	25
[0671]	<210> 31		

[0672] <211> 576
 [0673] <212> DNA
 [0674] <213> 人工序列
 [0675] <220>
 [0676] <223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸
 [0677] <400> 31
 [0678] atcgtagtgt tggcatttca aaaagcgtct agcatcgtct ataagaagga aggtgaacaa 60
 [0679] gtcgagtttt ctttcccct tgcatttacg gtggaaaagc ttacgggtag cggcgagctg 120
 [0680] tggtagcaag ctgaacgggc ttcaagctca aaatcttga ttacttttga cttgaagaac 180
 [0681] aaagaggtga gtgtcaaaag agttactcag gacccaaagc ttcaaattggg gaagaaactt 240
 [0682] ccgctgcacc tgacgttgcc tcaggccctg cctcaatatg ccgctcagg caatctgacc 300
 [0683] ctgcgctgg aagctaagac cggaaaattg caccaggaag tcaatttggg tgtgatgcgc 360
 [0684] gccactcagc tccaaaaaaa tctcacttgc gaggtatggg ggcctacgag cccaaaactt 420
 [0685] atgctgtctt tgaagcttga aaacaaggaa gcgaaagttt ctaagcgca gaaagcggtg 480
 [0686] tgggttttga atcctgagc tggaatgtgg caatgcctcc tgagcgatag cgggcaggtg 540
 [0687] ctgttgaga gcaacatcaa ggttttgcga gcagcc 576
 [0688] <210> 32
 [0689] <211> 192
 [0690] <212> PRT
 [0691] <213> 人工序列
 [0692] <220>
 [0693] <223> 人工序列的描述:合成的多肽
 [0694] <400> 32
 [0695] Ile Val Val Leu Ala Phe Gln Lys Ala Ser Ser Ile Val Tyr Lys Lys
 [0696] 1 5 10 15
 [0697] Glu Gly Glu Gln Val Glu Phe Ser Phe Pro Leu Ala Phe Thr Val Glu
 [0698] 20 25 30
 [0699] Lys Leu Thr Gly Ser Gly Glu Leu Trp Trp Gln Ala Glu Arg Ala Ser
 [0700] 35 40 45
 [0701] Ser Ser Lys Ser Trp Ile Thr Phe Asp Leu Lys Asn Lys Glu Val Ser
 [0702] 50 55 60
 [0703] Val Lys Arg Val Thr Gln Asp Pro Lys Leu Gln Met Gly Lys Lys Leu
 [0704] 65 70 75 80
 [0705] Pro Leu His Leu Thr Leu Pro Gln Ala Leu Pro Gln Tyr Ala Gly Ser
 [0706] 85 90 95
 [0707] Gly Asn Leu Thr Leu Ala Leu Glu Ala Lys Thr Gly Lys Leu His Gln
 [0708] 100 105 110
 [0709] Glu Val Asn Leu Val Val Met Arg Ala Thr Gln Leu Gln Lys Asn Leu
 [0710] 115 120 125
 [0711] Thr Cys Glu Val Trp Gly Pro Thr Ser Pro Lys Leu Met Leu Ser Leu
 [0712] 130 135 140
 [0713] Lys Leu Glu Asn Lys Glu Ala Lys Val Ser Lys Arg Glu Lys Ala Val

[0714]	145	150	155	160
[0715]	Trp Val Leu Asn Pro Glu Ala Gly Met Trp Gln Cys Leu Leu Ser Asp			
[0716]		165	170	175
[0717]	Ser Gly Gln Val Leu Leu Glu Ser Asn Ile Lys Val Leu Pro Ala Ala			
[0718]		180	185	190
[0719]	<210> 33			
[0720]	<211> 801			
[0721]	<212> DNA			
[0722]	<213> 人工序列			
[0723]	<220>			
[0724]	<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸			
[0725]	<400> 33			
[0726]	atgatttttc aggtgcagat tttcagcttc ctgctaataca gtgcctcagt cataatgtct	60		
[0727]	agagacatcg tgctgaccca gagccccccc agcctggcca tgtctctggg caagagagcc	120		
[0728]	accatcagct gccgggccag cgagagcgtg accatcctgg gcagccacct gatccactgg	180		
[0729]	tatcagcaga agccccgcca gccccccacc ctgctgatcc agctcgccag caatgtgcag	240		
[0730]	accggcgtgc ccgccagatt cagcggcagc ggcagcagaa ccgacttcac cctgaccatc	300		
[0731]	gaccccgctgg aagaggacga cgtggccgtg tactactgcc tgcagagccg gaccatcccc	360		
[0732]	cggacctttg gcggaggcac caaactggaa atcaagggca gcaccagcgg ctccggcaag	420		
[0733]	cctggctctg gcgagggcag cacaaagga cagattcagc tgggtgcagag cggccctgag	480		
[0734]	ctgaagaaac ccggcgagac agtgaagatc agctgcaagg cctccggcta caccttcacc	540		
[0735]	gactacagca tcaactgggt gaaaagagcc cctggcaagg gcctgaagtg gatgggctgg	600		
[0736]	atcaacaccg agacaagaga gcccgcctac gcctacgact tccggggcag attcgccttc	660		
[0737]	agcctggaaa ccagcggcag caccgcctac ctgcagatca acaacctgaa gtacgaggac	720		
[0738]	accgccacct acttttgcgc cctggactac agctacgcca tggactactg gggccagggc	780		
[0739]	accagcgtga ccgtgtccag c	801		
[0740]	<210> 34			
[0741]	<211> 267			
[0742]	<212> PRT			
[0743]	<213> 人工序列			
[0744]	<220>			
[0745]	<223> 人工序列的描述:合成的多肽			
[0746]	<400> 34			
[0747]	Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser			
[0748]	1	5	10	15
[0749]	Val Ile Met Ser Arg Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Pro Ser Leu			
[0750]		20	25	30
[0751]	Ala Met Ser Leu Gly Lys Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu			
[0752]		35	40	45
[0753]	Ser Val Thr Ile Leu Gly Ser His Leu Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys			
[0754]		50	55	60
[0755]	Pro Gly Gln Pro Pro Thr Leu Leu Ile Gln Leu Ala Ser Asn Val Gln			

[0756]	65	70	75	80
[0757]	Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe			
[0758]		85	90	95
[0759]	Thr Leu Thr Ile Asp Pro Val Glu Glu Asp Asp Val Ala Val Tyr Tyr			
[0760]		100	105	110
[0761]	Cys Leu Gln Ser Arg Thr Ile Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys			
[0762]		115	120	125
[0763]	Leu Glu Ile Lys Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly			
[0764]		130	135	140
[0765]	Glu Gly Ser Thr Lys Gly Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu			
[0766]		145	150	155
[0767]	Leu Lys Lys Pro Gly Glu Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly			
[0768]		165	170	175
[0769]	Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Ser Ile Asn Trp Val Lys Arg Ala Pro Gly			
[0770]		180	185	190
[0771]	Lys Gly Leu Lys Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Glu Thr Arg Glu Pro			
[0772]		195	200	205
[0773]	Ala Tyr Ala Tyr Asp Phe Arg Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr			
[0774]		210	215	220
[0775]	Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Tyr Glu Asp			
[0776]		225	230	235
[0777]	Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Leu Asp Tyr Ser Tyr Ala Met Asp Tyr			
[0778]		245	250	255
[0779]	Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser			
[0780]		260	265	
[0781]	<210> 35			
[0782]	<211> 735			
[0783]	<212> DNA			
[0784]	<213> 人工序列			
[0785]	<220>			
[0786]	<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸			
[0787]	<400> 35			
[0788]	gatatccaga tgactcagac gacctcatca ttgtccgcca gtttggggga cagggttaca 60			
[0789]	atatcctgcc gggcgagcca agacatcagt aaatatctta attggtacca gcagaaacca 120			
[0790]	gatggtacag taaaacttct tatctaccac acctctcggc tccactctgg ggttcctct 180			
[0791]	aggttcagtg gtagtgggtc aggcaccgac tacagcctta cgataagcaa cttggaacag 240			
[0792]	gaggatateg caacttactt ctgccaacag ggaaatacc tgccttacac gttcgggtgga 300			
[0793]	ggcactaaac tggagatcac tgggtcaacc tctggtagcg gtaagcctgg ctccggcgaa 360			
[0794]	ggctccacaa agggtaggt gaaactcaa gagtcaggtc ccggtttggt agccccctca 420			
[0795]	caaagtttgt cagtacttg taccgtaagc ggcgtttccc tgcccatta cgggtgtgagc 480			
[0796]	tggataaggc agccaccgag aaaaggctt gaatggctgg gagtgatctg ggggtctgag 540			
[0797]	acaacgtatt acaactcagc tcttaagagc aggcttacga tcattaaaga taacagcaaa 600			

[0798] tctcaagtgt tcctcaaat gaatagcctt caaactgatg atactgcat ctattattgt 660
 [0799] gctaagcatt attactatgg cggcagttac gcaatggatt attgggggca aggtacctca 720
 [0800] gtcactgtaa gcagc 735
 [0801] <210> 36
 [0802] <211> 245
 [0803] <212> PRT
 [0804] <213> 人工序列
 [0805] <220>
 [0806] <223> 人工序列的描述:合成的多肽
 [0807] <400> 36
 [0808] Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
 [0809] 1 5 10 15
 [0810] Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
 [0811] 20 25 30
 [0812] Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
 [0813] 35 40 45
 [0814] Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 [0815] 50 55 60
 [0816] Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
 [0817] 65 70 75 80
 [0818] Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr
 [0819] 85 90 95
 [0820] Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Ser Thr Ser Gly
 [0821] 100 105 110
 [0822] Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr Lys Gly Glu Val Lys
 [0823] 115 120 125
 [0824] Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser
 [0825] 130 135 140
 [0826] Val Thr Cys Thr Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser
 [0827] 145 150 155 160
 [0828] Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile
 [0829] 165 170 175
 [0830] Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu
 [0831] 180 185 190
 [0832] Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn
 [0833] 195 200 205
 [0834] Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr
 [0835] 210 215 220
 [0836] Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser
 [0837] 225 230 235 240
 [0838] Val Thr Val Ser Ser
 [0839] 245

- [0840] <210> 37
 [0841] <211> 237
 [0842] <212> DNA
 [0843] <213> 人工序列
 [0844] <220>
 [0845] <223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸
 [0846] <400> 37
 [0847] ctcgagctga ggcccgaggc ttctagacct gctgccggcg gagccgtgca caccagaggc 60
 [0848] ctggacttcg ccagcgacat ctacatctgg gccctctgg ccggcacctg tggcgtgctg 120
 [0849] ctgctgagcc tggatcatcac cctgtactgc aaccaccgga accggcggag agtgtgcaag 180
 [0850] tgccccagac ccgtgggtcaa gacggcgac aagcccagcc tgagcggcag atacgtg 237
 [0851] <210> 38
 [0852] <211> 79
 [0853] <212> PRT
 [0854] <213> 人工序列
 [0855] <220>
 [0856] <223> 人工序列的描述:合成的多肽
 [0857] <400> 38
 [0858] Leu Glu Leu Arg Pro Glu Ala Ser Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val
 [0859] 1 5 10 15
 [0860] His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Ser Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro
 [0861] 20 25 30
 [0862] Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu
 [0863] 35 40 45
 [0864] Tyr Cys Asn His Arg Asn Arg Arg Val Cys Lys Cys Pro Arg Pro
 [0865] 50 55 60
 [0866] Val Val Lys Ser Gly Asp Lys Pro Ser Leu Ser Ala Arg Tyr Val
 [0867] 65 70 75
 [0868] <210> 39
 [0869] <211> 234
 [0870] <212> DNA
 [0871] <213> 人工序列
 [0872] <220>
 [0873] <223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸
 [0874] <400> 39
 [0875] ctcgagctga ggcccgaggc ttctagacct gctgccggcg gagccgtgca caccagaggc 60
 [0876] ctggacttcg ccagcgacat ctacatctgg gccctctgg ccggcacctg tggcgtgctg 120
 [0877] ctgctgagcc tggatcatcac cctgtacctg tgctgcagac ggccgagagt gtgcaagtgc 180
 [0878] cccagaccg tggatcaagag cggcgacaag cccagcctga gcgccagata cgtg 234
 [0879] <210> 40
 [0880] <211> 78
 [0881] <212> PRT

- [0882] <213> 人工序列
 [0883] <220>
 [0884] <223> 人工序列的描述:合成的多肽
 [0885] <400> 40
 [0886] Leu Glu Leu Arg Pro Glu Ala Ser Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val
 [0887] 1 5 10 15
 [0888] His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Ser Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro
 [0889] 20 25 30
 [0890] Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu
 [0891] 35 40 45
 [0892] Tyr Leu Cys Cys Arg Arg Arg Arg Val Cys Lys Cys Pro Arg Pro Val
 [0893] 50 55 60
 [0894] Val Lys Ser Gly Asp Lys Pro Ser Leu Ser Ala Arg Tyr Val
 [0895] 65 70 75
 [0896] <210> 41
 [0897] <211> 213
 [0898] <212> DNA
 [0899] <213> 人工序列
 [0900] <220>
 [0901] <223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸
 [0902] <400> 41
 [0903] ctcgagaaga agtccaccct gaagaaacgg gtgtcccggc tgcccagacc cgagacacag 60
 [0904] aaggcccccc tgagcagccc tatcacctg ggactgctgg tggccggcgt gctggtgctg 120
 [0905] ctggtgtctc tgggagtggc catccactg tgctgccggc ggagaagggc ctgcaagtgc 180
 [0906] cccagactgc ggttcatgaa gcagttctac aag 213
 [0907] <210> 42
 [0908] <211> 71
 [0909] <212> PRT
 [0910] <213> 人工序列
 [0911] <220>
 [0912] <223> 人工序列的描述:合成的多肽
 [0913] <400> 42
 [0914] Leu Glu Lys Lys Ser Thr Leu Lys Lys Arg Val Ser Arg Leu Pro Arg
 [0915] 1 5 10 15
 [0916] Pro Glu Thr Gln Lys Gly Pro Leu Ser Ser Pro Ile Thr Leu Gly Leu
 [0917] 20 25 30
 [0918] Leu Val Ala Gly Val Leu Val Leu Leu Val Ser Leu Gly Val Ala Ile
 [0919] 35 40 45
 [0920] His Leu Cys Cys Arg Arg Arg Arg Ala Cys Lys Cys Pro Arg Leu Arg
 [0921] 50 55 60
 [0922] Phe Met Lys Gln Phe Tyr Lys
 [0923] 65 70

- [0924] <210> 43
 [0925] <211> 735
 [0926] <212> DNA
 [0927] <213> 人工序列
 [0928] <220>
 [0929] <223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸
 [0930] <400> 43
 [0931] atggatatcc agatgacca gtccccgagc tcctgtccg cctctgtggg cgatagggtc 60
 [0932] accatcacct gccgtgccag tcaggacatc cgtaattatc tgaactggta tcaacagaaa 120
 [0933] ccaggaaaag ctccgaaact actgatttac tatacctccc gcctggagtc tggagtccct 180
 [0934] tctcgttct ctggttctgg ttctgggacg gattacactc tgaccatcag cagtctgcaa 240
 [0935] ccggaagact tcgcaactta ttactgtcag caaghtaata ctctgccgtg gacgttcgga 300
 [0936] caggcacca aggtggagat caaaggcggc ggcggaagtg gaggaggagg ctcaggcgga 360
 [0937] ggaggagcg aggttcagct ggtggagtct ggcggtggcc tgggtgcagcc agggggctca 420
 [0938] ctccgtttgt cctgtgcagc ttctggctac tcctttaccg gctacactat gaactgggtg 480
 [0939] cgtcaggccc caghtaaggg cctggaatgg gttgcaactga ttaatcetta taaaggtgtt 540
 [0940] agtacctaca accagaagtt caaggaccgt ttcactataa gcgtagataa atccaaaaac 600
 [0941] acagcctacc tgcaaatgaa cagcctgcgt gctgaggaca ctgccgtcta ttattgtgct 660
 [0942] agaagcggat actacggcga tagtgactgg tattttgacg tgtgggtca aggaaccctg 720
 [0943] gtcaccgtct cctcg 735
 [0944] <210> 44
 [0945] <211> 245
 [0946] <212> PRT
 [0947] <213> 人工序列
 [0948] <220>
 [0949] <223> 人工序列的描述:合成的多肽
 [0950] <400> 44
 [0951] Met Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
 [0952] 1 5 10 15
 [0953] Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn
 [0954] 20 25 30
 [0955] Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
 [0956] 35 40 45
 [0957] Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
 [0958] 50 55 60
 [0959] Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
 [0960] 65 70 75 80
 [0961] Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro
 [0962] 85 90 95
 [0963] Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly
 [0964] 100 105 110
 [0965] Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val

[0966]	115	120	125
[0967]	Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser		
[0968]	130	135	140
[0969]	Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val		
[0970]	145	150	155
[0971]	Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Leu Ile Asn Pro		
[0972]	165	170	175
[0973]	Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr		
[0974]	180	185	190
[0975]	Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser		
[0976]	195	200	205
[0977]	Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Tyr		
[0978]	210	215	220
[0979]	Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu		
[0980]	225	230	235
[0981]	Val Thr Val Ser Ser		
[0982]	245		
[0983]	<210> 45		
[0984]	<211> 735		
[0985]	<212> DNA		
[0986]	<213> 人工序列		
[0987]	<220>		
[0988]	<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸		
[0989]	<400> 45		
[0990]	atggatatcc agatgacca gtccccgagc tcctgtccg cctctgtggg cgatagggtc 60		
[0991]	accatcacct gccgtgccag tcaggacatc cgtaattatc tgaactggta tcaacagaaa 120		
[0992]	ccaggaaaag ctccgaaact actgatttac tatacctccc gcctggagtc tggagtccct 180		
[0993]	tctcgttct ctggttctgg ttctgggacg gattacactc tgaccatcag cagtctgcaa 240		
[0994]	ccggaagact tcgcaactta ttactgtcag caaggtaata ctctgccgtg gacgttcgga 300		
[0995]	cagggcacca aggtggagat caaaggcggc ggcggaagtg gaggaggagg ctcaggcgga 360		
[0996]	ggagggagcg aggttcagct ggtggagtct ggcggtggcc tgggtcagcc agggggctca 420		
[0997]	ctccgtttgt cctgtgcagc ttctggctac tcctttaccg gctacactat gaactgggtg 480		
[0998]	cgtcaggccc caggtaaggc cctggaatgg gttgcaactga ttaatcctac caaaggtgtt 540		
[0999]	agtacctaca accagaagtt caaggaccgt ttactataa gcgtagataa atccaaaaac 600		
[1000]	acagcctacc tgcaaatgaa cagcctgcgt gctgaggaca ctgccgtcta ttattgtgct 660		
[1001]	agaagcggat actacggcga tagtgactgg tattttgacg tgtgggtgca aggaaccctg 720		
[1002]	gtaccgtct cctcg 735		
[1003]	<210> 46		
[1004]	<211> 245		
[1005]	<212> PRT		
[1006]	<213> 人工序列		
[1007]	<220>		

- [1008] <223> 人工序列的描述:合成的多肽
- [1009] <400> 46
- [1010] Met Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
- [1011] 1 5 10 15
- [1012] Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn
- [1013] 20 25 30
- [1014] Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
- [1015] 35 40 45
- [1016] Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
- [1017] 50 55 60
- [1018] Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
- [1019] 65 70 75 80
- [1020] Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro
- [1021] 85 90 95
- [1022] Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly
- [1023] 100 105 110
- [1024] Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val
- [1025] 115 120 125
- [1026] Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
- [1027] 130 135 140
- [1028] Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val
- [1029] 145 150 155 160
- [1030] Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Leu Ile Asn Pro
- [1031] 165 170 175
- [1032] Thr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr
- [1033] 180 185 190
- [1034] Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser
- [1035] 195 200 205
- [1036] Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Tyr
- [1037] 210 215 220
- [1038] Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
- [1039] 225 230 235 240
- [1040] Val Thr Val Ser Ser
- [1041] 245
- [1042] <210> 47
- [1043] <211> 60
- [1044] <212> DNA
- [1045] <213> 人工序列
- [1046] <220>
- [1047] <223> 人工序列的描述:合成的寡核苷酸
- [1048] <400> 47
- [1049] atggagaccc ccgccagct gctgttctctg ctgctgctgt ggctgcccga caccaccgce 60

- [1050] <210> 48
 [1051] <211> 20
 [1052] <212> PRT
 [1053] <213> 人工序列
 [1054] <220>
 [1055] <223> 人工序列的描述:合成的肽
 [1056] <400> 48
 [1057] Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
 [1058] 1 5 10 15
 [1059] Asp Thr Thr Gly
 [1060] 20
 [1061] <210> 49
 [1062] <211> 63
 [1063] <212> DNA
 [1064] <213> 人工序列
 [1065] <220>
 [1066] <223> 人工序列的描述:合成的寡核苷酸
 [1067] <400> 49
 [1068] atggctttgc ctgtcacggc tcttctgctc cctctggccc tgcttctgca cgcggcgcga 60
 [1069] ccc 63
 [1070] <210> 50
 [1071] <211> 21
 [1072] <212> PRT
 [1073] <213> 人工序列
 [1074] <220>
 [1075] <223> 人工序列的描述:合成的肽
 [1076] <400> 50
 [1077] Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 [1078] 1 5 10 15
 [1079] His Ala Ala Arg Pro
 [1080] 20
 [1081] <210> 51
 [1082] <211> 732
 [1083] <212> DNA
 [1084] <213> 人工序列
 [1085] <220>
 [1086] <223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸
 [1087] <400> 51
 [1088] gaggtgcagc tggaggagtc tggaggagc ctggtgcagc ctggcggctc cctgaggctg 60
 [1089] tcttgcgcag caagcggctt caacatctac tatagctaca tgcactgggt gcgccaggcc 120
 [1090] cctggaagg gcctggagtg ggtggcctcc atctctccat actatggcta cacctcctat 180
 [1091] gccgactctg tgaagggccg gtttacaatc agcgcggata cctccaagaa cacagcctat 240

[1134]	Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
[1135]	210 215 220
[1136]	Ser Val Trp Val Gly Tyr Ser Leu Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys
[1137]	225 230 235 240
[1138]	Val Glu Ile Lys
[1139]	<210> 53
[1140]	<211> 732
[1141]	<212> DNA
[1142]	<213> 人工序列
[1143]	<220>
[1144]	<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸
[1145]	<400> 53
[1146]	gacatccaga tgacacagtc cccaagctcc ctgtccgcct ctgtgggcga tagggtgacc 60
[1147]	atcacatgca gggcaagcca gtccgtgtct agcgccgtgg catggtacca gcagaagccc 120
[1148]	ggcaaggccc ctaagctgct gatctacagc gcctcctctc tgtattccgg cgtgccatct 180
[1149]	cggttctctg gcagcagatc cggcaccgac tttacctga caatcagetc cctgcagccc 240
[1150]	gaggatttcg ccacatacta ttgccagcag agcgtgtggg tgggctactc cctgatcacc 300
[1151]	tttggccagg gcacaaaggt ggagatcaag ggatctacca gcggatccgg caagcctggc 360
[1152]	agcggagagg gatccacaaa gggagaggtg cagctgggtg agtctggagg aggccctggg 420
[1153]	cagcctggcg gctctctgag gctgagetgt gcagcatccg gcttcaacat ctactatage 480
[1154]	tacatgcaact ggggtgcgcca ggccccggc aagggcctgg agtgggtggc ctctatcage 540
[1155]	ccttactatg gctacacctc ttatgccgac agcgtgaagg gccggtttac aatctccgcc 600
[1156]	gatactcteta agaacacagc ctatctgcag atgaattccc tgagggcaga ggacaccgcc 660
[1157]	gtgtactatt gtgccagaca cggctacgcc ctggattatt ggggccaggg caccctgggtg 720
[1158]	acagtgteta gc 732
[1159]	<210> 54
[1160]	<211> 244
[1161]	<212> PRT
[1162]	<213> 人工序列
[1163]	<220>
[1164]	<223> 人工序列的描述:合成的多肽
[1165]	<400> 54
[1166]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[1167]	1 5 10 15
[1168]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ala
[1169]	20 25 30
[1170]	Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[1171]	35 40 45
[1172]	Tyr Ser Ala Ser Ser Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[1173]	50 55 60
[1174]	Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[1175]	65 70 75 80

[1176]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Val Trp Val Gly Tyr
[1177]	85 90 95
[1178]	Ser Leu Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Ser
[1179]	100 105 110
[1180]	Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr Lys Gly
[1181]	115 120 125
[1182]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[1183]	130 135 140
[1184]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Tyr Tyr Ser
[1185]	145 150 155 160
[1186]	Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[1187]	165 170 175
[1188]	Ala Ser Ile Ser Pro Tyr Tyr Gly Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val
[1189]	180 185 190
[1190]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
[1191]	195 200 205
[1192]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1193]	210 215 220
[1194]	Ala Arg His Gly Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
[1195]	225 230 235 240
[1196]	Thr Val Ser Ser
[1197]	<210> 55
[1198]	<211> 1905
[1199]	<212> DNA
[1200]	<213> 人工序列
[1201]	<220>
[1202]	<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸
[1203]	<400> 55
[1204]	atggcctgc cagtgaccgc cctgctgctg ccaactggccc tgetgctgca cgccgccaga 60
[1205]	cccgaggtgc agctggtgga gtctggagga ggctggtgc agcctggcgg ctccctgagg 120
[1206]	ctgtcttgcg cagcaagcgg cttcaacatc tactatagct acatgcactg ggtgcccag 180
[1207]	gccctggca agggcctgga gtgggtggcc tccatctctc catactatgg ctacacctcc 240
[1208]	tatgccgact ctgtgaaggc cggtttaca atcagcgcg atacctcaa gaacacagcc 300
[1209]	tatctgcaga tgaattccct gagggcagag gacaccgcc tgtactattg cgccagacac 360
[1210]	ggctacgcc tggattattg gggccagggc accctggtga cagtgagctc cggcagcaca 420
[1211]	tccgatctg gcaagccagg ctctggagag ggaagcacca agggcgacat ccagatgaca 480
[1212]	cagtcccat ctagcctgag cgctccgtg ggcgatagg tgaccatcac atgtcgcgcc 540
[1213]	tctcagagcg tgtcctctgc cgtggcatgg taccagcaga agcccggcaa ggcccctaag 600
[1214]	ctgctgatct acagcgcag ctccctgtat tccggcgtgc cttctcggtt ctccggtct 660
[1215]	agaagcggca ccgactttac cctgacaatc tctagcctgc agcccagga tttcgccaca 720
[1216]	tactattgtc agcagagcgt gtgggtgggc tactccctga tcaccttgg ccagggcaca 780
[1217]	aaggtggaga tcaaggagca gaagctgatc agcgaggagg acctgaatcc cggggccgaa 840

[1218]	gcagcagcaa aggaggccgc agcgaaggaa gcagctgcga aggccggatc catggatatc	900
[1219]	caatgacccc agtccccgag ctccctgtcc gcctctgtgg gcgatagggt caccatcacc	960
[1220]	tgccgtgcc a gtcaggacat ccgtaattat ctgaaactgg atcaacagaa accaggaaaa	1020
[1221]	gctccgaaac tactgattta ctatacctcc cgcctggagt ctggagtccc ttctcgttc	1080
[1222]	tctggttctg gttctgggac ggattacact ctgacatca gcagtctgca accggaagac	1140
[1223]	ttcgcaactt attactgtca gcaaggtaat actctgccgt ggacgttcgg acagggcacc	1200
[1224]	aaggtggaga tcaaaggcgg cggcggaagt ggaggaggag gctcaggcgg aggagggagc	1260
[1225]	gaggttcagc tgggtggagtc tggcggtggc ctgggtgcagc cagggggctc actccgtttg	1320
[1226]	tcctgtgcag cttctggcta ctcccttacc ggctacacta tgaactgggt gcgtcaggcc	1380
[1227]	ccaggaagg gcctggaatg ggttgactg attaatcctt ataaagggt tagtacctac	1440
[1228]	aaccagaagt tcaaggaccg tttactata agcgtagata aatccaaaa cacagcctac	1500
[1229]	ctgcaaatga acagcctgcg tgctgaggac actgccgtct attattgtgc tagaagcgga	1560
[1230]	tactacggcg atagtactg gtattttgac gtgtggggtc aaggaaccct ggtcacctc	1620
[1231]	tcctcgacta gtggcggagg aggatcactc gagagcggac aggtgctgct ggaatccaat	1680
[1232]	atcaaagtcc tgcccacttg gtctaccccc gtgcagccta tggctctgat tgtgctggga	1740
[1233]	ggagtcgag gactgtgct gtttatcggg ctgggaattt tcttttgct gcgctgccgg	1800
[1234]	caccggagaa ggcaggccga gcgcatgagc cagatcaagc gactgctgag cgagaagaaa	1860
[1235]	acctgtcagt gtcccacatg attccagaag acctgttcac ccatt	1905
[1236]	<210>	56
[1237]	<211>	635
[1238]	<212>	PRT
[1239]	<213>	人工序列
[1240]	<220>	
[1241]	<223>	人工序列的描述:合成的多肽
[1242]	<400>	56
[1243]	Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu	
[1244]	1 5 10 15	
[1245]	His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu	
[1246]	20 25 30	
[1247]	Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe	
[1248]	35 40 45	
[1249]	Asn Ile Tyr Tyr Ser Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys	
[1250]	50 55 60	
[1251]	Gly Leu Glu Trp Val Ala Ser Ile Ser Pro Tyr Tyr Gly Tyr Thr Ser	
[1252]	65 70 75 80	
[1253]	Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser	
[1254]	85 90 95	
[1255]	Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr	
[1256]	100 105 110	
[1257]	Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Gly Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp Gly	
[1258]	115 120 125	
[1259]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly	

[1260]	130	135	140
[1261]	Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr Lys Gly Asp Ile Gln Met Thr		
[1262]	145	150	155
[1263]	Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile		
[1264]		165	170
[1265]	Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ala Val Ala Trp Tyr Gln		
[1266]		180	185
[1267]	Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Ser		
[1268]		195	200
[1269]	Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Thr		
[1270]	210	215	220
[1271]	Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr		
[1272]	225	230	235
[1273]	Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Val Trp Val Gly Tyr Ser Leu Ile Thr Phe		
[1274]		245	250
[1275]	Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu		
[1276]		260	265
[1277]	Glu Asp Leu Asn Pro Gly Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala		
[1278]		275	280
[1279]	Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala Gly Ser Met Asp Ile Gln Met Thr Gln		
[1280]	290	295	300
[1281]	Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr		
[1282]	305	310	315
[1283]	Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln		
[1284]		325	330
[1285]	Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu		
[1286]		340	345
[1287]	Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp		
[1288]		355	360
[1289]	Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr		
[1290]	370	375	380
[1291]	Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr		
[1292]	385	390	395
[1293]	Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly		
[1294]		405	410
[1295]	Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val		
[1296]		420	425
[1297]	Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser		
[1298]		435	440
[1299]	Phe Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly		
[1300]	450	455	460
[1301]	Leu Glu Trp Val Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr		

[1302]	465	470	475	480
[1303]	Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys			
[1304]		485	490	495
[1305]	Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala			
[1306]		500	505	510
[1307]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr			
[1308]		515	520	525
[1309]	Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr Ser			
[1310]		530	535	540
[1311]	Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Ser Gly Gln Val Leu Leu Glu Ser Asn			
[1312]		545	550	555
[1313]	Ile Lys Val Leu Pro Thr Trp Ser Thr Pro Val Gln Pro Met Ala Leu			
[1314]		565	570	575
[1315]	Ile Val Leu Gly Gly Val Ala Gly Leu Leu Leu Phe Ile Gly Leu Gly			
[1316]		580	585	590
[1317]	Ile Phe Phe Cys Val Arg Cys Arg His Arg Arg Arg Gln Ala Glu Arg			
[1318]		595	600	605
[1319]	Met Ser Gln Ile Lys Arg Leu Leu Ser Glu Lys Lys Thr Cys Gln Cys			
[1320]		610	615	620
[1321]	Pro His Arg Phe Gln Lys Thr Cys Ser Pro Ile			
[1322]		625	630	635
[1323]	<210> 57			
[1324]	<211> 1905			
[1325]	<212> DNA			
[1326]	<213> 人工序列			
[1327]	<220>			
[1328]	<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸			
[1329]	<400> 57			
[1330]	atggcctgc cagtgaccgc cctgctgctg ccaactgccc tgctgctgca cgccgcccgg 60			
[1331]	cctgacatcc agatgacaca gtcccaagc tcctgtccg cctctgtggg cgatagggtg 120			
[1332]	accatcacat gcagggaag ccagtcctg tctagcgcc tggcatgta ccagcagaag 180			
[1333]	cccggcaagg cccctaagct gctgatctac agcgctcct ctctgtattc cggcgtgcca 240			
[1334]	tctcggttct ctggcagcag atccggcacc gactttacc tgacaatcag ctccctgcag 300			
[1335]	cccgaggatt tcgccacata ctattgccag cagagcgtg ggggtgggcta ctccctgatc 360			
[1336]	acctttggcc agggcacaaa ggtggagatc aagggatcta ccagcggatc cggcaagcct 420			
[1337]	ggcagcggag agggatccac aaaggagag gtgcagctgg tggagtctgg aggaggcctg 480			
[1338]	gtgcagcctg gcggctctct gagcctgagc tgtgcagcat ccggcttcaa catctactat 540			
[1339]	agctacatgc actgggtgcg ccaggcccc ggcaaggcc tggagtgggt ggcctctatc 600			
[1340]	agcccttact atggctacac ctcttatgcc gacagcgtga agggccggtt tacaatctcc 660			
[1341]	gccgatacct ctaagaacac agcctatctg cagatgaatt ccctgagggc agaggacacc 720			
[1342]	gccgtgtact attgtgccag acacggctac gccctggatt attggggcca gggcaccctg 780			
[1343]	gtgacagtgt ctagcgagca gaagctgatc agcgaggagg acctgaatcc cggggccgaa 840			

[1344]	gcagcagcaa aggaggccgc agcgaaggaa gcagctgcga aggccggatc catggatatc	900
[1345]	cagatgaccc agtccccgag ctccctgtcc gcctctgtgg gcgatagggt caccatcacc	960
[1346]	tgccgtgcc a gtcaggacat ccgtaattat ctgaaactgt atcaacagaa accaggaaaa	1020
[1347]	gctccgaaac tactgattta ctatacctcc cgcctggagt ctggagtccc ttctcgttc	1080
[1348]	tctggttctg gttctgggac ggattacact ctgacatca gcagtctgca accggaagac	1140
[1349]	ttcgcaactt attactgtca gcaaggtaat actctgccgt ggacgttcgg acagggcacc	1200
[1350]	aaggtggaga tcaaaggcgg cggcggaagt ggaggaggag gctcaggcgg aggagggagc	1260
[1351]	gaggttcagc tgggtggagtc tggcgggtgc ctggtgcagc cagggggctc actccgtttg	1320
[1352]	tcctgtgcag cttctggcta ctcccttacc ggctacacta tgaactgggt gcgtcaggcc	1380
[1353]	ccaggttaagg gcctggaatg ggttgactg attaatcctt ataaagggtg tagtacctac	1440
[1354]	aaccagaagt tcaaggaccg tttcactata agcgtagata aatccaaaaa cacagcctac	1500
[1355]	ctgcaaatga acagcctgcg tgctgaggac actgccgtct attattgtgc tagaagcgga	1560
[1356]	tactacggcg atagtactg gtattttgac gtgtggggtc aaggaaccct ggtcacctgc	1620
[1357]	tcctcgacta gtggcggagg aggatcactc gagagcggac aggtgctgct ggaatccaat	1680
[1358]	atcaaagtcc tgcccacttg gtctaccccc gtgcagccta tggctctgat tgtgctggga	1740
[1359]	ggagtcgcag gactgtgct gtttatcggg ctgggaattt tcttttgcgt gcgctgccgg	1800
[1360]	caccggagaa ggcaggccga gcgcatgagc cagatcaagc gactgctgag cgagaagaaa	1860
[1361]	acctgtcagt gtccccatag attccagaag acctgttcac ccatt	1905
[1362]	<210>	58
[1363]	<211>	635
[1364]	<212>	PRT
[1365]	<213>	人工序列
[1366]	<220>	
[1367]	<223>	人工序列的描述:合成的多肽
[1368]	<400>	58
[1369]	Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu	
[1370]	1 5 10 15	
[1371]	His Ala Ala Arg Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu	
[1372]	20 25 30	
[1373]	Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln	
[1374]	35 40 45	
[1375]	Ser Val Ser Ser Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala	
[1376]	50 55 60	
[1377]	Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Ser Leu Tyr Ser Gly Val Pro	
[1378]	65 70 75 80	
[1379]	Ser Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile	
[1380]	85 90 95	
[1381]	Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser	
[1382]	100 105 110	
[1383]	Val Trp Val Gly Tyr Ser Leu Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val	
[1384]	115 120 125	
[1385]	Glu Ile Lys Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu	

[1386]	130	135	140
[1387]	Gly Ser Thr Lys Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu		
[1388]	145	150	155 160
[1389]	Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe		
[1390]		165	170 175
[1391]	Asn Ile Tyr Tyr Ser Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys		
[1392]		180	185 190
[1393]	Gly Leu Glu Trp Val Ala Ser Ile Ser Pro Tyr Tyr Gly Tyr Thr Ser		
[1394]		195	200 205
[1395]	Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser		
[1396]		210	215 220
[1397]	Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr		
[1398]		225	230 235 240
[1399]	Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Gly Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp Gly		
[1400]		245	250 255
[1401]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu		
[1402]		260	265 270
[1403]	Glu Asp Leu Asn Pro Gly Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala		
[1404]		275	280 285
[1405]	Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala Gly Ser Met Asp Ile Gln Met Thr Gln		
[1406]		290	295 300
[1407]	Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr		
[1408]		305	310 315 320
[1409]	Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln		
[1410]		325	330 335
[1411]	Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu		
[1412]		340	345 350
[1413]	Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp		
[1414]		355	360 365
[1415]	Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr		
[1416]		370	375 380
[1417]	Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr		
[1418]		385	390 395 400
[1419]	Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly		
[1420]		405	410 415
[1421]	Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val		
[1422]		420	425 430
[1423]	Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser		
[1424]		435	440 445
[1425]	Phe Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly		
[1426]		450	455 460
[1427]	Leu Glu Trp Val Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr		

[1428]	465	470	475	480
[1429]	Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys			
[1430]		485	490	495
[1431]	Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala			
[1432]		500	505	510
[1433]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr			
[1434]		515	520	525
[1435]	Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr Ser			
[1436]		530	535	540
[1437]	Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Ser Gly Gln Val Leu Leu Glu Ser Asn			
[1438]	545	550	555	560
[1439]	Ile Lys Val Leu Pro Thr Trp Ser Thr Pro Val Gln Pro Met Ala Leu			
[1440]		565	570	575
[1441]	Ile Val Leu Gly Gly Val Ala Gly Leu Leu Leu Phe Ile Gly Leu Gly			
[1442]		580	585	590
[1443]	Ile Phe Phe Cys Val Arg Cys Arg His Arg Arg Arg Gln Ala Glu Arg			
[1444]		595	600	605
[1445]	Met Ser Gln Ile Lys Arg Leu Leu Ser Glu Lys Lys Thr Cys Gln Cys			
[1446]		610	615	620
[1447]	Pro His Arg Phe Gln Lys Thr Cys Ser Pro Ile			
[1448]	625	630	635	
[1449]	<210> 59			
[1450]	<211> 1914			
[1451]	<212> DNA			
[1452]	<213> 人工序列			
[1453]	<220>			
[1454]	<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸			
[1455]	<400> 59			
[1456]	atggcctgc cagtgaccgc cctgctgctg ccaactgccc tgetgctgca cgccgccaga 60			
[1457]	cccgaggtgc agctggtgga gtctggagga ggcctggtgc agcctggcgg ctccctgagg 120			
[1458]	ctgtcttgcg cagcaagcgg cttcaacatc tactatagct acatgcactg ggtgcccag 180			
[1459]	gccctggca agggcctgga gtgggtggcc tccatctctc catactatgg ctacacctcc 240			
[1460]	tatgccgact ctgtgaaggg ccggtttaca atcagcgcg atacctcaa gaacacagcc 300			
[1461]	tatctgcaga tgaattccct gagggcagag gacaccgcg tgtactattg cgccagacac 360			
[1462]	ggctacgcc tggattattg gggccagggc accctggtga cagtgagctc cggcagcaca 420			
[1463]	tccgatctg gcaagccagg ctctggagag ggaagcacca agggcgacat ccagatgaca 480			
[1464]	cagtcccat ctagcctgag cgctccgtg ggcgatagg tgaccatcac atgtcgcgcc 540			
[1465]	tctcagagcg tgtcctctgc cgtggcatgg taccagcaga agcccggcaa ggcccctaag 600			
[1466]	ctgctgatct acagcgcag ctccctgat tccggcgtgc cttctcggtt ctccggtct 660			
[1467]	agaagcggca ccgactttac cctgacaatc tctagcctgc agcccagga tttcgccaca 720			
[1468]	tactattgtc agcagagcgt gtgggtggc tactccctga tcaccttgg ccagggcaca 780			
[1469]	aaggtggaga tcaaggagca gaagctgatc agcgaggagg acctgaatcc cgggggagga 840			

[1512]	130	135	140
[1513]	Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr Lys Gly Asp Ile Gln Met Thr		
[1514]	145	150	155
[1515]	Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile		
[1516]		165	170
[1517]	Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ala Val Ala Trp Tyr Gln		
[1518]		180	185
[1519]	Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Ser		
[1520]		195	200
[1521]	Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Thr		
[1522]		210	215
[1523]	Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr		
[1524]		225	230
[1525]	Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Val Trp Val Gly Tyr Ser Leu Ile Thr Phe		
[1526]		245	250
[1527]	Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu		
[1528]		260	265
[1529]	Glu Asp Leu Asn Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser		
[1530]		275	280
[1531]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Met Asp Ile Gln		
[1532]		290	295
[1533]	Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val		
[1534]		305	310
[1535]	Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn Trp		
[1536]		325	330
[1537]	Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr		
[1538]		340	345
[1539]	Ser Arg Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser		
[1540]		355	360
[1541]	Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe		
[1542]		370	375
[1543]	Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly		
[1544]		385	390
[1545]	Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly		
[1546]		405	410
[1547]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly		
[1548]		420	425
[1549]	Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser		
[1550]		435	440
[1551]	Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro		
[1552]		450	455
[1553]	Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val		

[1554]	465	470	475	480
[1555]	Ser Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp			
[1556]		485	490	495
[1557]	Lys Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu			
[1558]		500	505	510
[1559]	Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser			
[1560]		515	520	525
[1561]	Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser			
[1562]		530	535	540
[1563]	Ser Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Ser Gly Gln Val Leu Leu			
[1564]	545	550	555	560
[1565]	Glu Ser Asn Ile Lys Val Leu Pro Thr Trp Ser Thr Pro Val Gln Pro			
[1566]		565	570	575
[1567]	Met Ala Leu Ile Val Leu Gly Gly Val Ala Gly Leu Leu Leu Phe Ile			
[1568]		580	585	590
[1569]	Gly Leu Gly Ile Phe Phe Cys Val Arg Cys Arg His Arg Arg Arg Gln			
[1570]		595	600	605
[1571]	Ala Glu Arg Met Ser Gln Ile Lys Arg Leu Leu Ser Glu Lys Lys Thr			
[1572]		610	615	620
[1573]	Cys Gln Cys Pro His Arg Phe Gln Lys Thr Cys Ser Pro Ile			
[1574]	625	630	635	
[1575]	<210> 61			
[1576]	<211> 1914			
[1577]	<212> DNA			
[1578]	<213> 人工序列			
[1579]	<220>			
[1580]	<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸			
[1581]	<400> 61			
[1582]	atggcctgc cagtgaccgc cctgctgctg ccaactggccc tgetgctgca cgccgcccgg 60			
[1583]	cctgacatcc agatgacaca gtcccaagc tcctgtccg cctctgtggg cgatagggtg 120			
[1584]	accatcacat gcaggcaag ccagtcctg tctagcggc tggcatgta ccagcagaag 180			
[1585]	cccggcaagg ccctaagct gctgatctac agcgcctcct ctctgtattc cggcgtgcca 240			
[1586]	tctcggttct ctggcagcag atccggcacc gactttacc tgacaatcag ctccctgcag 300			
[1587]	cccgaggatt tcgccacata ctattgccag cagagcgtgt ggggtgggcta ctccctgac 360			
[1588]	acctttggcc agggcacaaa ggtggagatc aagggatcta ccagcggatc cggcaagcct 420			
[1589]	ggcagcggag agggatccac aaaggagag gtgcagctgg tggagtctgg aggaggcctg 480			
[1590]	gtgcagcctg gcggctctct gagcctgagc tgtgcagcat ccggcttcaa catctactat 540			
[1591]	agctacatgc actgggtgcg ccaggcccc ggcaaggccc tggagtgggt ggcctctatc 600			
[1592]	agcccttact atggctacac ctcttatgcc gacagcgtga agggccggtt tacaatctcc 660			
[1593]	gccgatacct ctaagaacac agcctatctg cagatgaatt ccctgagggc agaggacacc 720			
[1594]	gccgtgtact attgtgccag acacggctac gccctggatt attggggcca gggcaccctg 780			
[1595]	gtgacagtgt ctagcgagca gaagctgatc agcgaggagg acctgaatcc cgggggagga 840			

[1596]	ggagggagcg ggggaggagg cagcggcggg ggaggctctg gaggaggagg gagcggatcc	900
[1597]	atggatatcc agatgacca gtccccgagc tccctgtccg cctctgtggg cgatagggtc	960
[1598]	accatcacct gccgtgccag tcaggacatc cgtaattatc tgaactggta tcaacagaaa	1020
[1599]	ccagaaaag ctccgaaact actgatttac tatacctccc gcctggagtc tggagtccct	1080
[1600]	tctcgcttct ctggttctgg ttctgggacg gattacactc tgaccatcag cagtctgcaa	1140
[1601]	ccggaagact tcgcaactta ttactgtcag caaggtaata ctctgccgtg gacgttcgga	1200
[1602]	caggcacca aggtggagat caaaggcggc ggcggaagtg gaggaggagg ctcaggcgga	1260
[1603]	ggagggagcg aggttcagct ggtggagtct ggcggtggcc tgggtgcagcc agggggctca	1320
[1604]	ctccgtttgt cctgtgcagc ttctggctac tcctttaccg gctacactat gaactgggtg	1380
[1605]	cgtcaggccc caghtaaggg cctggaatgg gttgactga ttaatcetta taaaggtgtt	1440
[1606]	agtacctaca accagaagtt caaggaccgt ttcactataa gcgtagataa atccaaaaac	1500
[1607]	acagcctacc tgcaaatgaa cagcctgcgt gctgaggaca ctgccgteta ttattgtget	1560
[1608]	agaagcgat actacggcga tagtgactgg tattttgacg tgtgggtca aggaaccctg	1620
[1609]	gtcacgtct cctcgactag tggcggagga ggatcactcg agagcggaca ggtgctgctg	1680
[1610]	gaatccaata tcaaagtcct gccacttg tctacccccg tgcagcctat ggctctgatt	1740
[1611]	gtgtggggag gactcgcagg actgctgctg tttatcgggc tgggaatfff cttttgcgtg	1800
[1612]	cgctgccggc accggagaag gcaggccgag cgcattgagcc agatcaagcg actgctgagc	1860
[1613]	gagaagaaaa cctgtcagtg tccccataga ttccagaaga cctgttcacc catt	1914
[1614]	<210>	62
[1615]	<211>	638
[1616]	<212>	PRT
[1617]	<213>	人工序列
[1618]	<220>	
[1619]	<223>	人工序列的描述:合成的多肽
[1620]	<400>	62
[1621]	Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu	
[1622]	1 5 10 15	
[1623]	His Ala Ala Arg Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu	
[1624]	20 25 30	
[1625]	Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln	
[1626]	35 40 45	
[1627]	Ser Val Ser Ser Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala	
[1628]	50 55 60	
[1629]	Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Ser Leu Tyr Ser Gly Val Pro	
[1630]	65 70 75 80	
[1631]	Ser Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile	
[1632]	85 90 95	
[1633]	Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser	
[1634]	100 105 110	
[1635]	Val Trp Val Gly Tyr Ser Leu Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val	
[1636]	115 120 125	
[1637]	Glu Ile Lys Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu	

[1638]	130	135	140
[1639]	Gly Ser Thr Lys Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu		
[1640]	145	150	155 160
[1641]	Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe		
[1642]		165	170 175
[1643]	Asn Ile Tyr Tyr Ser Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys		
[1644]		180	185 190
[1645]	Gly Leu Glu Trp Val Ala Ser Ile Ser Pro Tyr Tyr Gly Tyr Thr Ser		
[1646]		195	200 205
[1647]	Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser		
[1648]		210	215 220
[1649]	Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr		
[1650]		225	230 235 240
[1651]	Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Gly Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp Gly		
[1652]		245	250 255
[1653]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu		
[1654]		260	265 270
[1655]	Glu Asp Leu Asn Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser		
[1656]		275	280 285
[1657]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Met Asp Ile Gln		
[1658]		290	295 300
[1659]	Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val		
[1660]		305	310 315 320
[1661]	Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn Trp		
[1662]		325	330 335
[1663]	Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr		
[1664]		340	345 350
[1665]	Ser Arg Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser		
[1666]		355	360 365
[1667]	Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe		
[1668]		370	375 380
[1669]	Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly		
[1670]		385	390 395 400
[1671]	Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly		
[1672]		405	410 415
[1673]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly		
[1674]		420	425 430
[1675]	Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser		
[1676]		435	440 445
[1677]	Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro		
[1678]		450	455 460
[1679]	Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val		

[1680]	465	470	475	480
[1681]	Ser Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp			
[1682]		485	490	495
[1683]	Lys Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu			
[1684]		500	505	510
[1685]	Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser			
[1686]		515	520	525
[1687]	Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser			
[1688]		530	535	540
[1689]	Ser Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Ser Gly Gln Val Leu Leu			
[1690]	545	550	555	560
[1691]	Glu Ser Asn Ile Lys Val Leu Pro Thr Trp Ser Thr Pro Val Gln Pro			
[1692]		565	570	575
[1693]	Met Ala Leu Ile Val Leu Gly Gly Val Ala Gly Leu Leu Leu Phe Ile			
[1694]		580	585	590
[1695]	Gly Leu Gly Ile Phe Phe Cys Val Arg Cys Arg His Arg Arg Arg Gln			
[1696]		595	600	605
[1697]	Ala Glu Arg Met Ser Gln Ile Lys Arg Leu Leu Ser Glu Lys Lys Thr			
[1698]		610	615	620
[1699]	Cys Gln Cys Pro His Arg Phe Gln Lys Thr Cys Ser Pro Ile			
[1700]	625	630	635	
[1701]	<210> 63			
[1702]	<211> 1917			
[1703]	<212> DNA			
[1704]	<213> 人工序列			
[1705]	<220>			
[1706]	<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸			
[1707]	<400> 63			
[1708]	atggetttgc ctgtcacggc ttttctgctc cctctggccc tgcttctgca cgcggcgcga 60			
[1709]	cccgatatcc agatgactca gacgacctca tcattgtccg ccagtttggg ggacagggtt 120			
[1710]	acaatatcct gccgggcgag ccaagacatc agtaaatac ttaattggta ccagcagaaa 180			
[1711]	ccagatggta cagtaaaact tcttatctac cacacctc ggctccactc tggggttccc 240			
[1712]	tctaggttca gtgtagtg gtcaggcacc gactacagcc ttacgataag caacttgaa 300			
[1713]	caggaggata tcgcaactta cttctgcca cagggaaata ccctgcctta cacgttcggt 360			
[1714]	ggaggcacta aactggagat cactgggtca acctctggta gcggtaaacc tggctccggc 420			
[1715]	gaaggtcca caaagggtga ggtgaaactc caagagtcag gtcccggttt ggtagcccc 480			
[1716]	tcacaaagtt tgtcagttac ttgtaccgta agcggcgttt ccctgccca ttacggtgtg 540			
[1717]	agctggataa ggcagccacc gagaaaaggt cttgaatggc tgggagtgat ctgggggtct 600			
[1718]	gagacaactg attacaactc agctcttaag agcaggctta cgatcattaa agataacagc 660			
[1719]	aaatctcaag tgttcctcaa aatgaatagc cttcaactg atgatactgc catctattat 720			
[1720]	tgtgctaagc attattacta tggcggcagt tacgcaatgg attattgggg gcaagggtacc 780			
[1721]	tcagtcactg taagcagcga acagaagctc atttctgaag aagacctcaa ccccgagggg 840			

[1722] ggagggggaa gtgggggagg gggtagtggg ggcggaggat caggcggggg gggatcagga 900
 [1723] tccatggata tccagatgac ccagtcctcg agctcctgt ccgcctctgt gggcgatagg 960
 [1724] gtcaccatca cctgccgtgc cagtcaggac atccgtaatt atctgaactg gtatcaacag 1020
 [1725] aaaccaggaa aagctccgaa actactgatt tactatacct cccgcctgga gtctggagtc 1080
 [1726] ctttctcgct tctctggttc tggttctggg acggattaca ctctgaccat cagcagtctg 1140
 [1727] caaccggaag acttcgcaac ttattactgt cagcaaggta atactctgcc gtggacgttc 1200
 [1728] ggacagggca ccaaggtgga gatcaaaggc ggcggcgaa gtggaggagg aggctcagge 1260
 [1729] ggaggaggga gcgaggtca gctggtggag tctggcgtg gcctggtgca gccagggggc 1320
 [1730] tcaactccgtt tgcctctgtc agcttctggc tactccttta ccggctacac tatgaactgg 1380
 [1731] gtgcgtcagg ccccaggtaa ggcctgga tgggttgac tgattaatcc taccaaaggt 1440
 [1732] gttagtacct acaaccagaa gttcaaggac cgtttcacta taagcgtaga taaatccaaa 1500
 [1733] aacacagcct acctgcaaat gaacagcctg cgtgctgagg aactgcccgt ctattattgt 1560
 [1734] gctagaagcg gatactacgg cgatagtac tggattttg acgtgtgggg tcaaggaacc 1620
 [1735] ctggtcaccg tctcctcgac tagtggcggg ggaggatcac tcgagagcgg acaggtgctg 1680
 [1736] ctggaatcca atatcaaagt cctgccact tggctctacc ccgtgcagcc tatggctctg 1740
 [1737] attgtgctgg gaggagtcgc aggactgctg ctgtttatcg ggctgggaat tttcttttgc 1800
 [1738] gtgcgtgcc ggcaccggag aaggcaggcc gagcgcata gccagatcaa gcgactgctg 1860
 [1739] agcgagaaga aaacctgtca gtgtcccat agattcaga agacctgttc acccatt 1917
 [1740] <210> 64
 [1741] <211> 639
 [1742] <212> PRT
 [1743] <213> 人工序列
 [1744] <220>
 [1745] <223> 人工序列的描述:合成的多肽
 [1746] <400> 64
 [1747] Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 [1748] 1 5 10 15
 [1749] His Ala Ala Arg Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu
 [1750] 20 25 30
 [1751] Ser Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln
 [1752] 35 40 45
 [1753] Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr
 [1754] 50 55 60
 [1755] Val Lys Leu Leu Ile Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro
 [1756] 65 70 75 80
 [1757] Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile
 [1758] 85 90 95
 [1759] Ser Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly
 [1760] 100 105 110
 [1761] Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr
 [1762] 115 120 125
 [1763] Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr

[1764]	130	135	140
[1765]	Lys Gly Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro		
[1766]	145	150	155 160
[1767]	Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Ser Gly Val Ser Leu Pro		
[1768]		165	170 175
[1769]	Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu		
[1770]		180	185 190
[1771]	Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala		
[1772]		195	200 205
[1773]	Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val		
[1774]	210	215	220
[1775]	Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr		
[1776]	225	230	235 240
[1777]	Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp		
[1778]		245	250 255
[1779]	Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Glu Gln Lys Leu Ile Ser		
[1780]		260	265 270
[1781]	Glu Glu Asp Leu Asn Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly		
[1782]		275	280 285
[1783]	Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Met Asp Ile		
[1784]	290	295	300
[1785]	Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg		
[1786]	305	310	315 320
[1787]	Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn		
[1788]		325	330 335
[1789]	Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr		
[1790]		340	345 350
[1791]	Thr Ser Arg Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly		
[1792]		355	360 365
[1793]	Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp		
[1794]	370	375	380
[1795]	Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe		
[1796]	385	390	395 400
[1797]	Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly		
[1798]		405	410 415
[1799]	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly		
[1800]		420	425 430
[1801]	Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala		
[1802]		435	440 445
[1803]	Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala		
[1804]	450	455	460
[1805]	Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Leu Ile Asn Pro Thr Lys Gly		

[1806]	465	470	475	480
[1807]	Val Ser Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val			
[1808]		485	490	495
[1809]	Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala			
[1810]		500	505	510
[1811]	Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp			
[1812]		515	520	525
[1813]	Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val			
[1814]		530	535	540
[1815]	Ser Ser Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Ser Gly Gln Val Leu			
[1816]	545	550	555	560
[1817]	Leu Glu Ser Asn Ile Lys Val Leu Pro Thr Trp Ser Thr Pro Val Gln			
[1818]		565	570	575
[1819]	Pro Met Ala Leu Ile Val Leu Gly Gly Val Ala Gly Leu Leu Leu Phe			
[1820]		580	585	590
[1821]	Ile Gly Leu Gly Ile Phe Phe Cys Val Arg Cys Arg His Arg Arg Arg			
[1822]		595	600	605
[1823]	Gln Ala Glu Arg Met Ser Gln Ile Lys Arg Leu Leu Ser Glu Lys Lys			
[1824]		610	615	620
[1825]	Thr Cys Gln Cys Pro His Arg Phe Gln Lys Thr Cys Ser Pro Ile			
[1826]	625	630	635	
[1827]	<210> 65			
[1828]	<211> 1566			
[1829]	<212> DNA			
[1830]	<213> 人工序列			
[1831]	<220>			
[1832]	<223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸			
[1833]	<400> 65			
[1834]	atggagacc ccgcccagct gctgttctctg ctgctgctgt ggctgcccga caccaccggc 60			
[1835]	atgtcacggg gctccgacct gggcaaaaag ctgctggagg ccgctagggc cgggcaggac 120			
[1836]	gatgaagtga gaatctgat ggccaacggg gctgacgtga atgctaagga tgagtacggc 180			
[1837]	ctgaccccc tgtatctggc tacagcacac ggccatctgg agatcgtgga agtcctgctg 240			
[1838]	aaaaacggag ccgacgtgaa tgcagtcgat gccattgggt tcaactcctc gcacctggca 300			
[1839]	gcctttatcg gacatctgga gattgcagaa gtgctgctga agcacggcgc tgacgtgaac 360			
[1840]	gcacaggata agttcggaaa aaccgctttt gacatcagca ttggcaacgg aatgaagac 420			
[1841]	ctggctgaaa tctgcagaa actgaatgaa cagaaactga ttagcgaaga agacctgaac 480			
[1842]	ccggggggag gaggaggag cggggggagga ggcagcggcg ggggaggctc tggaggagga 540			
[1843]	gggagcggat ccatggatat ccagatgacc cagtccccga gctccctgtc cgcctctgtg 600			
[1844]	ggcgataggg tcaccatcac ctgccgtgcc agtcaggaca tccgtaatta tctgaactgg 660			
[1845]	tatcaacaga aaccaggaaa agctccgaaa ctactgattt actatactc ccgcctggag 720			
[1846]	tctggagtcc cttctcgtt ctctggttct ggttctggga cggattacac tctgaccatc 780			
[1847]	agcagtctgc aaccggaaga cttcgcaact tattactgtc agcaaggtaa tactctgccg 840			

[1848] tggacgttcg gacagggcac caaggtggag atcaaaggcg gcggcggaag tggaggagga 900
 [1849] ggctcaggcg gaggaggag cgaggttcag ctggtggagt ctggcggagg cctggtgcag 960
 [1850] ccagggggct cactccgttt gtctgtgca gttcttgct actcctttac cggctacact 1020
 [1851] atgaactggg tgcgtcaggc cccagtaag ggcctggaat gggttgcact gattaatcct 1080
 [1852] tataaagggtg ttagtaccta caaccagaag ttcaaggacc gtttactat aagcgtagat 1140
 [1853] aaatcaaaa acacagccta cctgcaaatg aacagcctgc gtgctgagga cactgccgtc 1200
 [1854] tattattgtg ctagaagcgg atactacggc gatagtgact ggtatattga cgtgtgggg 1260
 [1855] caaggaacc tggtcaccgt ctctcgact agtggcggag gaggatcact cgagagcgga 1320
 [1856] caggtgctgc tggaatcaa tatcaaagtc ctgcccactt ggtctacccc cgtgcagcct 1380
 [1857] atggctctga ttgtgctggg aggagtgcga ggactgctgc tgtttatcgg gctgggaatt 1440
 [1858] ttcttttgcg tgcgtgccg gcaccggaga aggcaggccg agcgcagtag ccagatcaag 1500
 [1859] cgactgctga gcgagaagaa aacctgtcag tgtccccata gattccagaa gacctgttca 1560
 [1860] cccatt 1566
 [1861] <210> 66
 [1862] <211> 522
 [1863] <212> PRT
 [1864] <213> 人工序列
 [1865] <220>
 [1866] <223> 人工序列的描述:合成的多肽
 [1867] <400> 66
 [1868] Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
 [1869] 1 5 10 15
 [1870] Asp Thr Thr Gly Met Ser Arg Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu
 [1871] 20 25 30
 [1872] Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala
 [1873] 35 40 45
 [1874] Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Glu Tyr Gly Leu Thr Pro Leu
 [1875] 50 55 60
 [1876] Tyr Leu Ala Thr Ala His Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu
 [1877] 65 70 75 80
 [1878] Lys Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Val Asp Ala Ile Gly Phe Thr Pro
 [1879] 85 90 95
 [1880] Leu His Leu Ala Ala Phe Ile Gly His Leu Glu Ile Ala Glu Val Leu
 [1881] 100 105 110
 [1882] Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr
 [1883] 115 120 125
 [1884] Ala Phe Asp Ile Ser Ile Gly Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile
 [1885] 130 135 140
 [1886] Leu Gln Lys Leu Asn Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asn
 [1887] 145 150 155 160
 [1888] Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 [1889] 165 170 175

[1890]	Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Met Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser
[1891]	180 185 190
[1892]	Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
[1893]	195 200 205
[1894]	Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys
[1895]	210 215 220
[1896]	Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Glu
[1897]	225 230 235 240
[1898]	Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr
[1899]	245 250 255
[1900]	Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr
[1901]	260 265 270
[1902]	Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys
[1903]	275 280 285
[1904]	Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
[1905]	290 295 300
[1906]	Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
[1907]	305 310 315 320
[1908]	Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Phe
[1909]	325 330 335
[1910]	Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
[1911]	340 345 350
[1912]	Glu Trp Val Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Asn
[1913]	355 360 365
[1914]	Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn
[1915]	370 375 380
[1916]	Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
[1917]	385 390 395 400
[1918]	Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe
[1919]	405 410 415
[1920]	Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Gly
[1921]	420 425 430
[1922]	Gly Gly Gly Ser Leu Glu Ser Gly Gln Val Leu Leu Glu Ser Asn Ile
[1923]	435 440 445
[1924]	Lys Val Leu Pro Thr Trp Ser Thr Pro Val Gln Pro Met Ala Leu Ile
[1925]	450 455 460
[1926]	Val Leu Gly Gly Val Ala Gly Leu Leu Leu Phe Ile Gly Leu Gly Ile
[1927]	465 470 475 480
[1928]	Phe Phe Cys Val Arg Cys Arg His Arg Arg Arg Gln Ala Glu Arg Met
[1929]	485 490 495
[1930]	Ser Gln Ile Lys Arg Leu Leu Ser Glu Lys Lys Thr Cys Gln Cys Pro
[1931]	500 505 510

- [1932] His Arg Phe Gln Lys Thr Cys Ser Pro Ile
 [1933] 515 520
 [1934] <210> 67
 [1935] <211> 1569
 [1936] <212> DNA
 [1937] <213> 人工序列
 [1938] <220>
 [1939] <223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸
 [1940] <400> 67
 [1941] atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
 [1942] ccgatgtcac ggggctccga cctgggcaaa aagctgctgg aggccgctag ggccgggcag 120
 [1943] gacgatgaag tgagaatcct gatggccaac ggggctgacg tgaatgctaa ggatgagtac 180
 [1944] ggctgaccc ccctgtatct ggctacagca cacggccatc tggagatcgt ggaagtctct 240
 [1945] ctgaaaaacg gagccgacgt gaatgcagtc gatgccattg ggttactcc tctgcacctg 300
 [1946] gcagccttta tcggacatct ggagattgca gaagtgcctg tgaagcacgg cgctgacgtg 360
 [1947] aacgcacagg ataagttcgg aaaaaccgct tttgacatca gcattggcaa cggaaatgaa 420
 [1948] gacctggctg aaatcctgca gaaactgaat gaacagaaac tgattagcga agaagacctg 480
 [1949] aacccggggg gaggaggagg gagcggggga ggaggcagcg gcgggggagg ctctggagga 540
 [1950] ggagggagcg gatccatgga tatccagatg acccagtccc cgagctccct gtccgcctct 600
 [1951] gtgggcgata gggtcacat cacctgccgt gccagtcagg acatccgtaa ttatctgaac 660
 [1952] tggtatcaac agaaaccagg aaaagctccg aaactactga tttactatac ctcccgcctg 720
 [1953] gagtctggag tcccttctcg cttctctggt tctggttctg ggacggatta cactctgacc 780
 [1954] atcagcagtc tgcaaccgga agacttcgca acttattact gtcagcaagg taatactctg 840
 [1955] ccgtggacgt tcggacaggg caccaaggtg gagatcaaag gcggcggcgg aagtggagga 900
 [1956] ggaggetcag gcggaggagg gagcgaggtt cagctggtgg agtctggcgg tggcctggtg 960
 [1957] cagccagggg gctcactccg tttgtcctgt gcagcttctg gctactcctt taccggctac 1020
 [1958] actatgaact gggcgcgtca ggccccaggt aaggcctgga aatgggttgc actgattaat 1080
 [1959] cttataaag gtgttagtac ctacaaccag aagttcaagg accgtttcac tataagcgtg 1140
 [1960] gataaatcca aaaacacagc ctacctgcaa atgaacagcc tgcgtgctga ggacactgcc 1200
 [1961] gtctattatt gtgctagaag cggatactac ggcgatagtg actggtatit tgacgtgtgg 1260
 [1962] ggtcaaggaa ccctggtcac cgtctcctcg actagtgccg gaggaggatc actcgagagc 1320
 [1963] ggacaggtgc tgctggaatc caatatcaaa gtcctgcca cttggtctac ccccgtgcag 1380
 [1964] cctatggctc tgattgtgct gggaggagtc gcaggactgc tgctgtttat cgggctggga 1440
 [1965] attttctttt gcgtgcgctg ccggcaccgg agaaggcagg ccgagcgcac gagccagatc 1500
 [1966] aagcactgct tgagcgagaa gaaaacctgt cagtgtcccc atagattcca gaagacctgt 1560
 [1967] tcaccatt 1569
 [1968] <210> 68
 [1969] <211> 523
 [1970] <212> PRT
 [1971] <213> 人工序列
 [1972] <220>
 [1973] <223> 人工序列的描述:合成的多肽

[1974]	<400>	68
[1975]	Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu	
[1976]	1	5 10 15
[1977]	His Ala Ala Arg Pro Met Ser Arg Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu	
[1978]		20 25 30
[1979]	Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met	
[1980]		35 40 45
[1981]	Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Glu Tyr Gly Leu Thr Pro	
[1982]		50 55 60
[1983]	Leu Tyr Leu Ala Thr Ala His Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu	
[1984]		65 70 75 80
[1985]	Leu Lys Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Val Asp Ala Ile Gly Phe Thr	
[1986]		85 90 95
[1987]	Pro Leu His Leu Ala Ala Phe Ile Gly His Leu Glu Ile Ala Glu Val	
[1988]		100 105 110
[1989]	Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys	
[1990]		115 120 125
[1991]	Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Gly Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu	
[1992]		130 135 140
[1993]	Ile Leu Gln Lys Leu Asn Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu	
[1994]		145 150 155 160
[1995]	Asn Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly	
[1996]		165 170 175
[1997]	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Met Asp Ile Gln Met Thr Gln	
[1998]		180 185 190
[1999]	Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr	
[2000]		195 200 205
[2001]	Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln	
[2002]		210 215 220
[2003]	Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu	
[2004]		225 230 235 240
[2005]	Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp	
[2006]		245 250 255
[2007]	Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr	
[2008]		260 265 270
[2009]	Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr	
[2010]		275 280 285
[2011]	Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly	
[2012]		290 295 300
[2013]	Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val	
[2014]		305 310 315 320
[2015]	Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser	

[2016]		325		330		335
[2017]	Phe Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly					
[2018]		340		345		350
[2019]	Leu Glu Trp Val Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr					
[2020]		355		360		365
[2021]	Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys					
[2022]		370		375		380
[2023]	Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala					
[2024]		385		390		395
[2025]	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr					
[2026]		405		410		415
[2027]	Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr Ser					
[2028]		420		425		430
[2029]	Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Ser Gly Gln Val Leu Leu Glu Ser Asn					
[2030]		435		440		445
[2031]	Ile Lys Val Leu Pro Thr Trp Ser Thr Pro Val Gln Pro Met Ala Leu					
[2032]		450		455		460
[2033]	Ile Val Leu Gly Gly Val Ala Gly Leu Leu Leu Phe Ile Gly Leu Gly					
[2034]		465		470		475
[2035]	Ile Phe Phe Cys Val Arg Cys Arg His Arg Arg Arg Gln Ala Glu Arg					
[2036]		485		490		495
[2037]	Met Ser Gln Ile Lys Arg Leu Leu Ser Glu Lys Lys Thr Cys Gln Cys					
[2038]		500		505		510
[2039]	Pro His Arg Phe Gln Lys Thr Cys Ser Pro Ile					
[2040]		515		520		
[2041]	<210> 69					
[2042]	<211> 20					
[2043]	<212> PRT					
[2044]	<213> 人工序列					
[2045]	<220>					
[2046]	<223> 人工序列的描述:合成的肽					
[2047]	<400> 69					
[2048]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly					
[2049]	1	5		10		15
[2050]	Gly Gly Gly Ser					
[2051]		20				
[2052]	<210> 70					
[2053]	<211> 60					
[2054]	<212> DNA					
[2055]	<213> 人工序列					
[2056]	<220>					
[2057]	<223> 人工序列的描述:合成的寡核苷酸					

- [2058] <400> 70
- [2059] ggaggaggag ggagcggggg aggaggcagc ggcgggggag gctctggagg aggagggagc 60
- [2060] <210> 71
- [2061] <211> 750
- [2062] <212> DNA
- [2063] <213> 人工序列
- [2064] <220>
- [2065] <223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸
- [2066] <400> 71
- [2067] atggacatcc agatgactca gaccacaagc tccctgtctg caagtctggg cgaccgggtg 60
- [2068] acaatctcct gcagagcctc tcaggatatt aggaactacc tgaattggta tcagcagaaa 120
- [2069] cctgatggca cagtcaagct gctgatctac tataccagcc ggctgcactc aggcgtgcca 180
- [2070] agcaaattct caggaagcgg ctccgggact gactactccc tgaccatctc taacctggag 240
- [2071] caggaagata ttgctaccta tttctgccag cagggcaata cactgccctg gacttttggc 300
- [2072] ggaggcacca aactggagat caagggggga ggcggggagtg gaggcggggg atcaggagga 360
- [2073] ggaggcagcg gaggaggagg gtccgagtc cagctgcagc agagcggacc agaactgggtg 420
- [2074] aagcccggag caagtatgaa aatctcctgt aaggcctcag gatacagctt caccggctat 480
- [2075] acaatgaact gggatgaaaca gtcccatggc aagaacctgg aatggatggg gctgattaat 540
- [2076] cctaccaaaag gcgtcagcac ctataatcag aagtttaaag acaaggccac actgactgtg 600
- [2077] gataagtcta gttcaaccgc ttacatggag ctgctgtccc tgacatctga agacagtgcc 660
- [2078] gtgtactatt gtgctcggtc tggctactat ggggacagtg attggtactt cgatgtctgg 720
- [2079] ggacagggca ctaccctgac cgtgttttct 750
- [2080] <210> 72
- [2081] <211> 250
- [2082] <212> PRT
- [2083] <213> 人工序列
- [2084] <220>
- [2085] <223> 人工序列的描述:合成的多肽
- [2086] <400> 72
- [2087] Met Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu
- [2088] 1 5 10 15
- [2089] Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn
- [2090] 20 25 30
- [2091] Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu
- [2092] 35 40 45
- [2093] Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser
- [2094] 50 55 60
- [2095] Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu
- [2096] 65 70 75 80
- [2097] Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro
- [2098] 85 90 95
- [2099] Trp Thr Phe Ala Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly

[2100]	100	105	110
[2101]	Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser		
[2102]	115	120	125
[2103]	Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala		
[2104]	130	135	140
[2105]	Ser Met Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr		
[2106]	145	150	155 160
[2107]	Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Asn Leu Glu Trp Met		
[2108]	165	170	175
[2109]	Gly Leu Ile Asn Pro Thr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Asn Gln Lys Phe		
[2110]	180	185	190
[2111]	Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr		
[2112]	195	200	205
[2113]	Met Glu Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys		
[2114]	210	215	220
[2115]	Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp		
[2116]	225	230	235 240
[2117]	Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Phe Ser		
[2118]	245	250	
[2119]	<210> 73		
[2120]	<211> 5		
[2121]	<212> PRT		
[2122]	<213> 人工序列		
[2123]	<220>		
[2124]	<223> 人工序列的描述:合成的肽		
[2125]	<400> 73		
[2126]	Gly Gly Gly Gly Ser		
[2127]	1	5	
[2128]	<210> 74		
[2129]	<211> 15		
[2130]	<212> PRT		
[2131]	<213> 人工序列		
[2132]	<220>		
[2133]	<223> 人工序列的描述:合成的肽		
[2134]	<400> 74		
[2135]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser		
[2136]	1	5	10 15
[2137]	<210> 75		
[2138]	<211> 1560		
[2139]	<212> DNA		
[2140]	<213> 人工序列		
[2141]	<220>		

- [2142] <223> 人工序列的描述:合成的多核苷酸
- [2143] <400> 75
- [2144] atggaattcc aggtccagat tttctccttc ctgctgattt cgcgaagcgt cattatgtca 60
- [2145] cggggctccg acctgggcaa aaagctgctg gaggccgcta gggccgggca ggacgatgaa 120
- [2146] gtgagaatcc tgatggccaa cggggctgac gtgaatgcta aggatgagta cggcctgacc 180
- [2147] cccctgtatc tggctacagc acacggccat ctggagatcg tggaagtcct gctgaaaaac 240
- [2148] ggagccgacg tgaatgcagt cgatgccatt gggttcactc ctctgcacct ggcagccttt 300
- [2149] atcggacatc tggagattgc agaagtgtg ctgaagcacg gcgctgacgt gaacgcacag 360
- [2150] gataagttcg gaaaaaccgc ttttgacatc agcattggca acggaaatga agacctggct 420
- [2151] gaaatcctgc agaaactgaa tgaacagaaa ctgattagcg aagaagacct gaacccccggg 480
- [2152] ggaggaggag ggagcggggg aggaggcagc ggcgggggag gctctggagg aggagggagc 540
- [2153] ggatccatgg atatccagat gaccagctcc ccgagctccc tgtccgcctc tgtgggcat 600
- [2154] aggtcacca tcacctccg tgccagtcag gacatccgta attatctgaa ctggtatcaa 660
- [2155] cagaaaccag gaaaagctcc gaaactactg atttactata cctcccgcct ggagtctgga 720
- [2156] gtcccttctc gcttctctgg ttctggttct gggacggatt acactctgac catcagcagt 780
- [2157] ctgcaaccgg aagacttgc aacttattac tgtcagcaag gtaatactct gccgtggacg 840
- [2158] ttcggacagg gcaccaaggt ggagatcaaa ggcggcggcg gaagtggagg aggaggctca 900
- [2159] ggcggaggag ggagcgaggt tcagctggtg gactctggcg gtggcctggt gcagccaggg 960
- [2160] ggctactcct gttgtcctg tgcagcttct ggctactcct ttaccggcta cactatgaac 1020
- [2161] tgggtgcgtc agccccagg taagggctg gaatgggtg cactgattaa tccttataaa 1080
- [2162] ggtgttagta cctacaacca gaagttcaag gaccgttca ctataagcgt agataaatcc 1140
- [2163] aaaaacacag cctacctgca aatgaacagc ctgcgtgctg aggacactgc cgtctattat 1200
- [2164] tgtgctagaa gcggatacta cggcgatagt gactggtatt ttgacgtgtg gggctcaagga 1260
- [2165] acctgggtca ccgtctcctc gactagtggc ggaggaggat cactcgagag cggacaggtg 1320
- [2166] ctgctggaat ccaatatcaa agtctgccc acttggctca cccccgtgca gcctatgget 1380
- [2167] ctgattgtgc tgggaggagt cgcaggactg ctgctgttta tcgggctggg aattttcttt 1440
- [2168] tgcgtgcgct gccggcaccg gagaaggcag gccgagcga tgagccagat caagcgactg 1500
- [2169] ctgagcgaga agaaaacctg tcagtgctcc catagattcc agaagacctg ttcaccatt 1560
- [2170] <210> 76
- [2171] <211> 520
- [2172] <212> PRT
- [2173] <213> 人工序列
- [2174] <220>
- [2175] <223> 人工序列的描述:合成的多肽
- [2176] <400> 76
- [2177] Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser
- [2178] 1 5 10 15
- [2179] Val Ile Met Ser Arg Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala
- [2180] 20 25 30
- [2181] Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly
- [2182] 35 40 45
- [2183] Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Glu Tyr Gly Leu Thr Pro Leu Tyr Leu

[2184]	50	55	60
[2185]	Ala Thr Ala His Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Asn		
[2186]	65	70	75 80
[2187]	Gly Ala Asp Val Asn Ala Val Asp Ala Ile Gly Phe Thr Pro Leu His		
[2188]		85	90 95
[2189]	Leu Ala Ala Phe Ile Gly His Leu Glu Ile Ala Glu Val Leu Leu Lys		
[2190]		100	105 110
[2191]	His Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe		
[2192]		115	120 125
[2193]	Asp Ile Ser Ile Gly Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln		
[2194]		130	135 140
[2195]	Lys Leu Asn Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asn Pro Gly		
[2196]		145	150 155 160
[2197]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly		
[2198]		165	170 175
[2199]	Gly Gly Gly Ser Gly Ser Met Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser		
[2200]		180	185 190
[2201]	Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala		
[2202]		195	200 205
[2203]	Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly		
[2204]		210	215 220
[2205]	Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Glu Ser Gly		
[2206]		225	230 235 240
[2207]	Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu		
[2208]		245	250 255
[2209]	Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln		
[2210]		260	265 270
[2211]	Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu		
[2212]		275	280 285
[2213]	Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly		
[2214]		290	295 300
[2215]	Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly		
[2216]		305	310 315 320
[2217]	Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly		
[2218]		325	330 335
[2219]	Tyr Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp		
[2220]		340	345 350
[2221]	Val Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Asn Gln Lys		
[2222]		355	360 365
[2223]	Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ala		
[2224]		370	375 380
[2225]	Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr		

[2226]	385	390	395	400
[2227]	Cys Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val			
[2228]		405	410	415
[2229]	Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Gly Gly Gly			
[2230]		420	425	430
[2231]	Gly Ser Leu Glu Ser Gly Gln Val Leu Leu Glu Ser Asn Ile Lys Val			
[2232]		435	440	445
[2233]	Leu Pro Thr Trp Ser Thr Pro Val Gln Pro Met Ala Leu Ile Val Leu			
[2234]		450	455	460
[2235]	Gly Gly Val Ala Gly Leu Leu Leu Phe Ile Gly Leu Gly Ile Phe Phe			
[2236]	465	470	475	480
[2237]	Cys Val Arg Cys Arg His Arg Arg Arg Gln Ala Glu Arg Met Ser Gln			
[2238]		485	490	495
[2239]	Ile Lys Arg Leu Leu Ser Glu Lys Lys Thr Cys Gln Cys Pro His Arg			
[2240]		500	505	510
[2241]	Phe Gln Lys Thr Cys Ser Pro Ile			
[2242]		515	520	
[2243]	<210> 77			
[2244]	<211> 45			
[2245]	<212> DNA			
[2246]	<213> 人工序列			
[2247]	<220>			
[2248]	<223> 人工序列的描述:合成的寡核苷酸			
[2249]	<400> 77			
[2250]	ggcggcggcg gaagtggagg aggaggctca ggcggaggag ggagc 45			

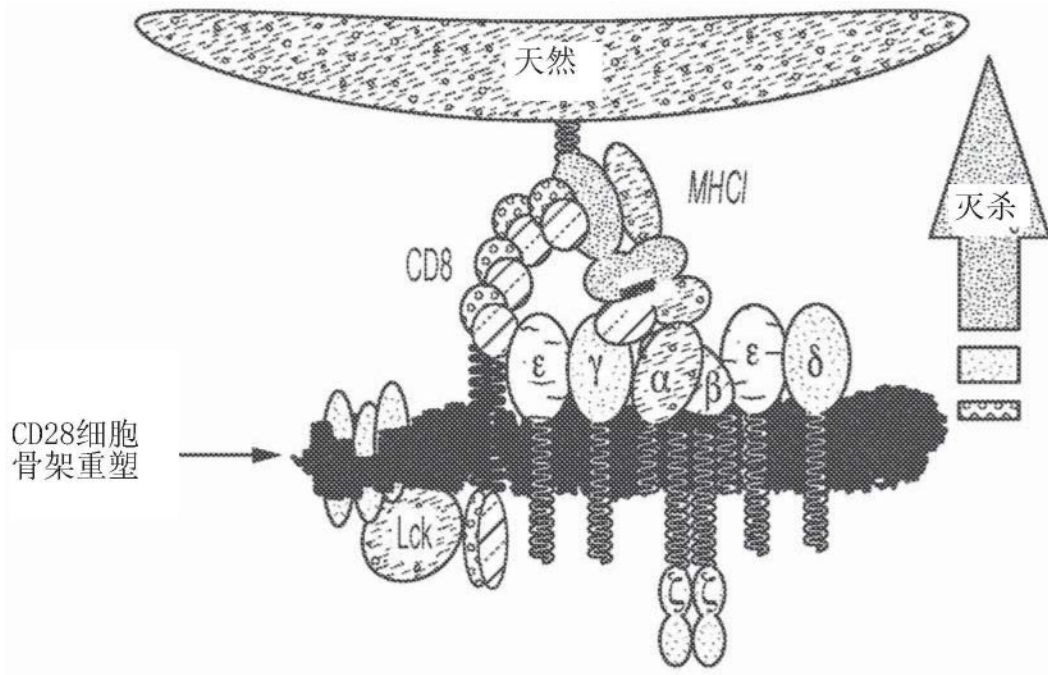


图1A

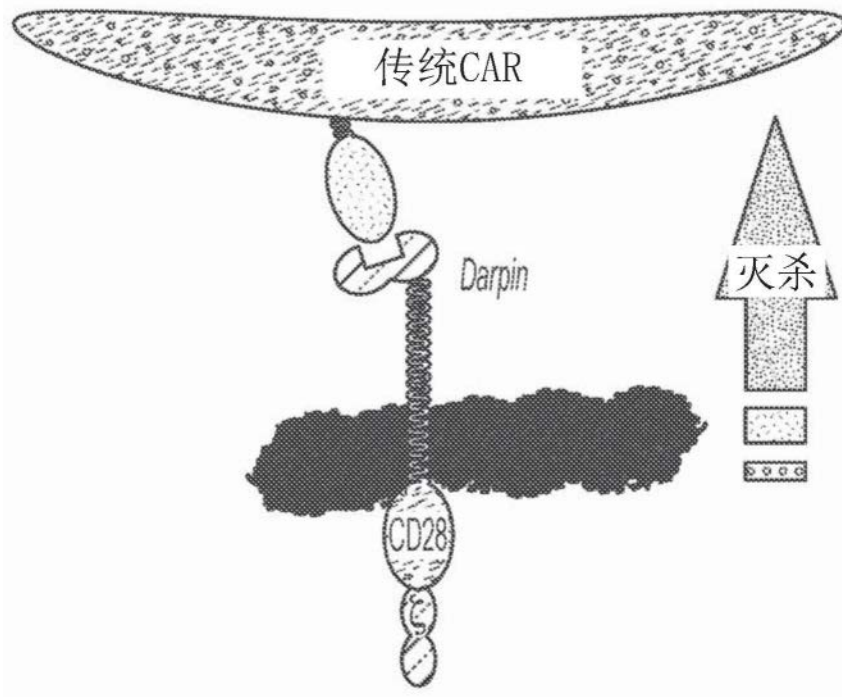


图1B

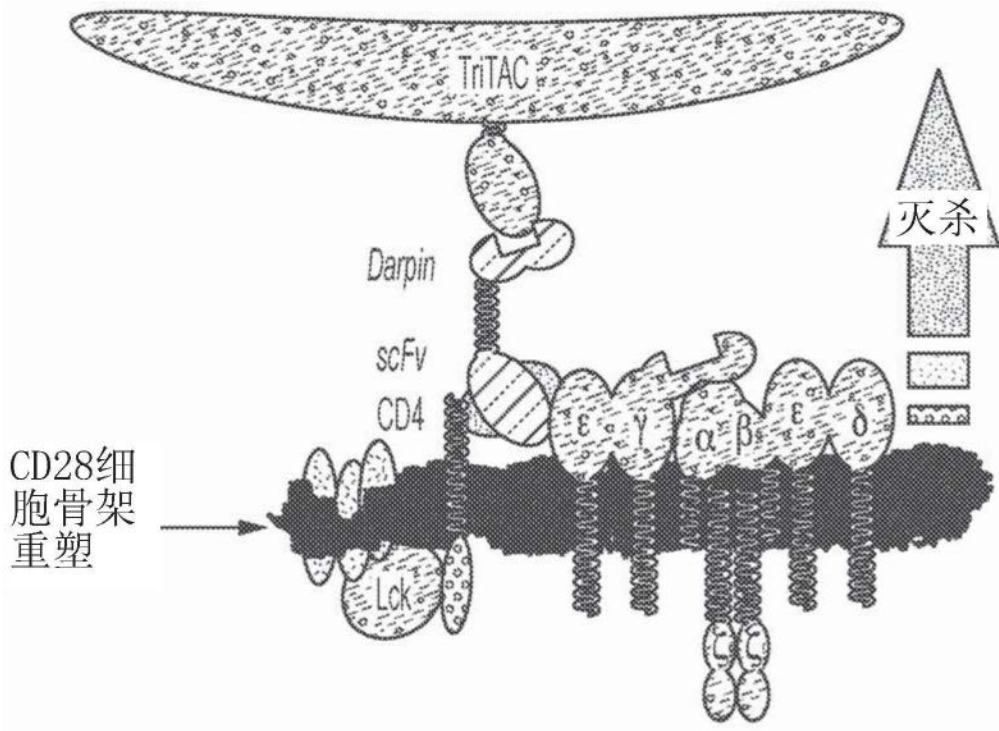


图1C

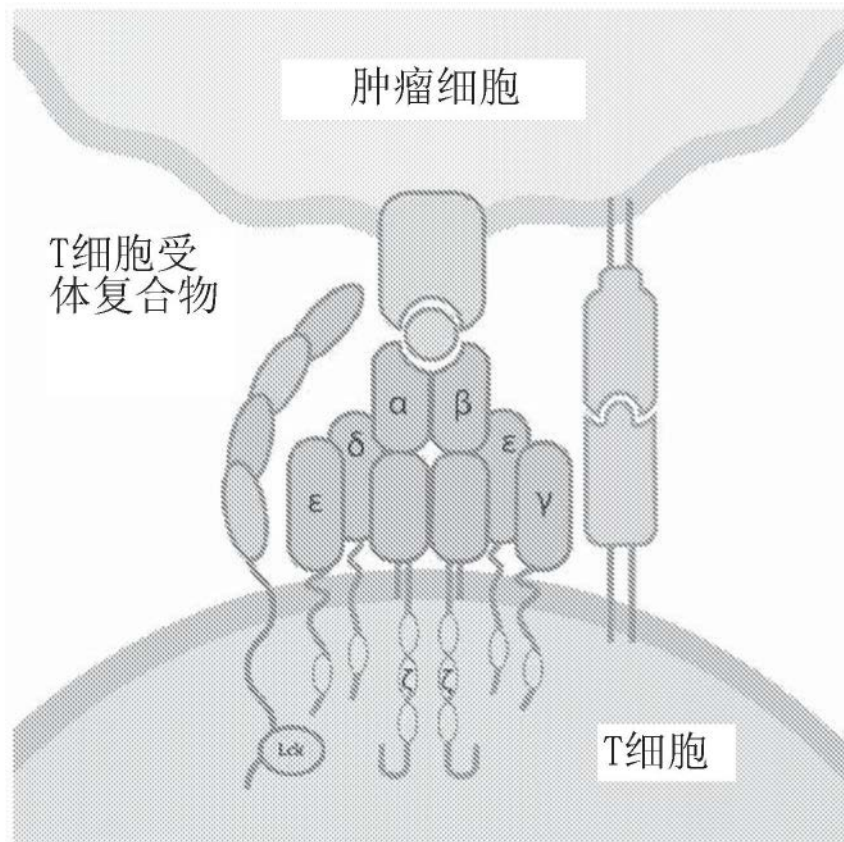


图1D

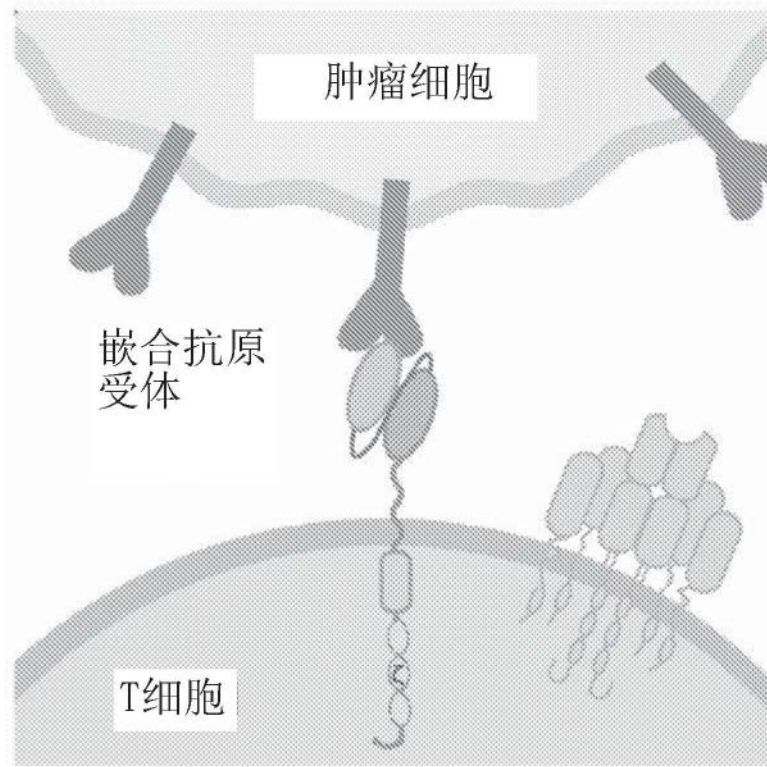


图1E

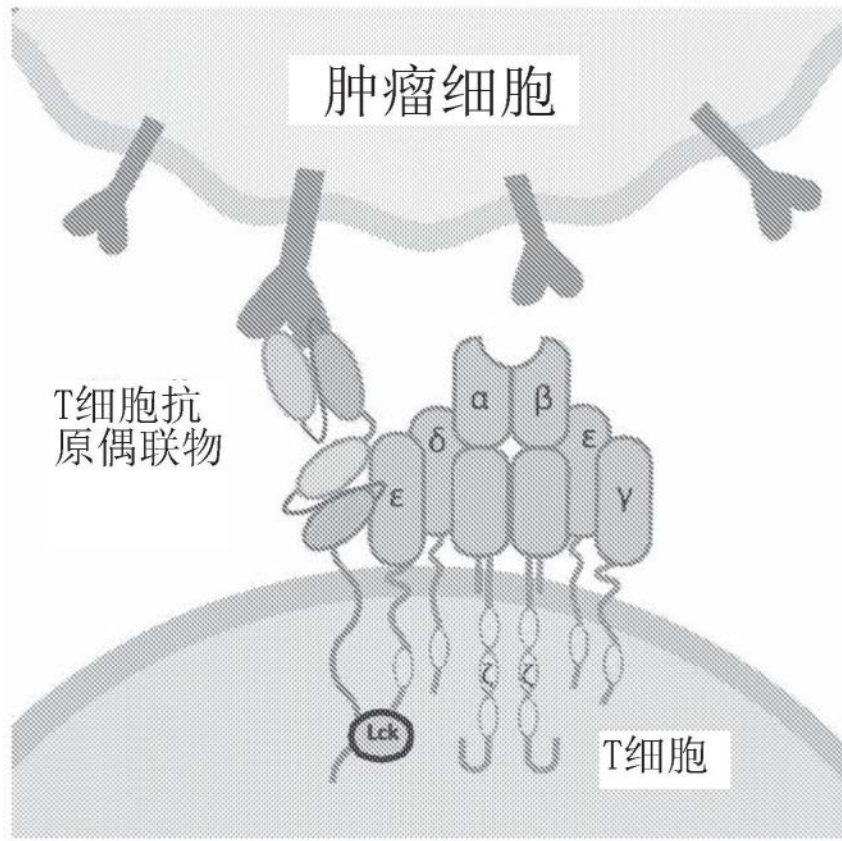


图1F

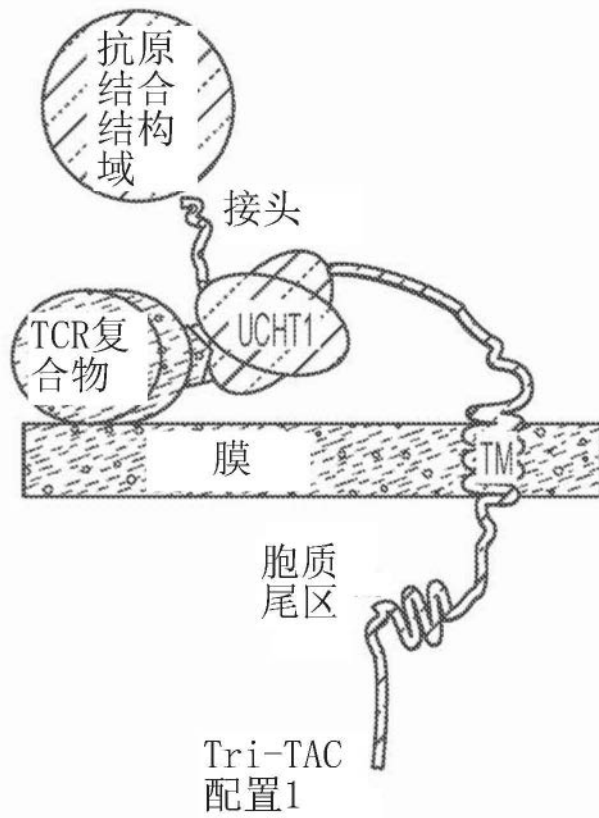


图2A

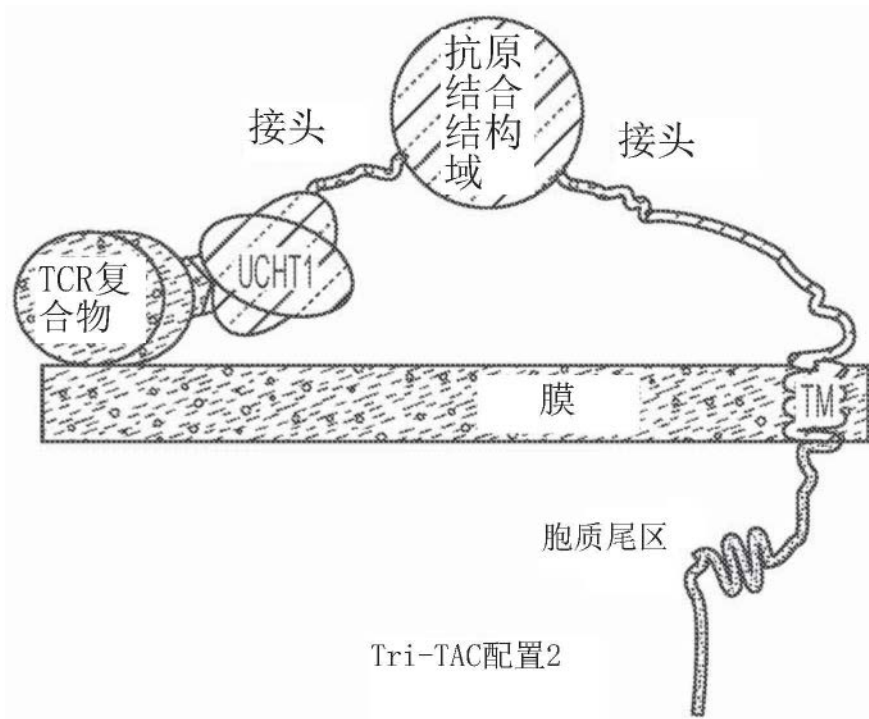


图2B

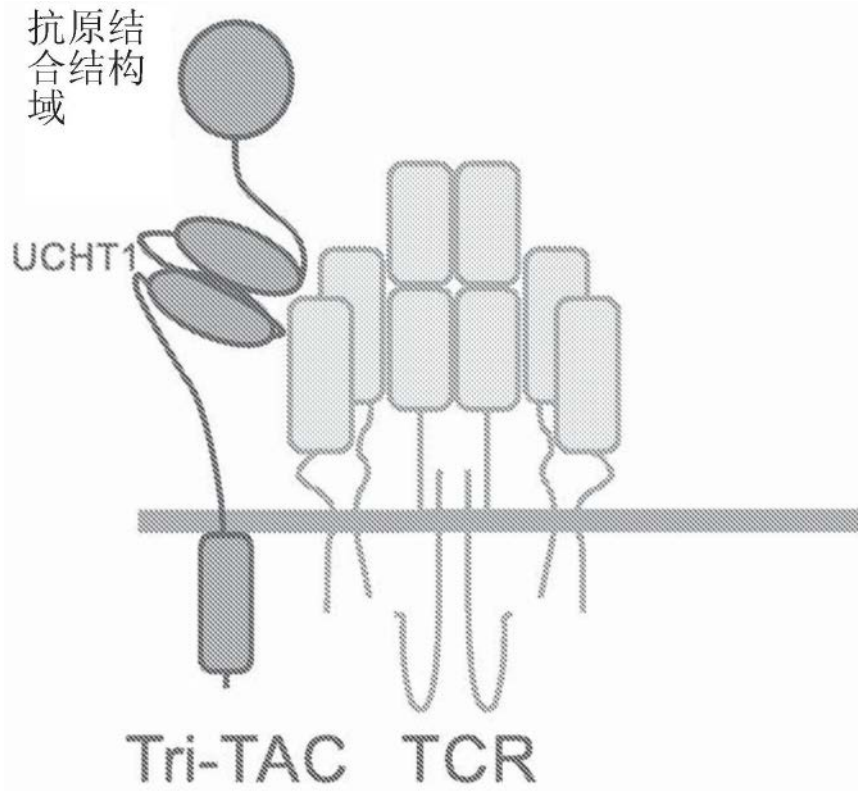


图2C

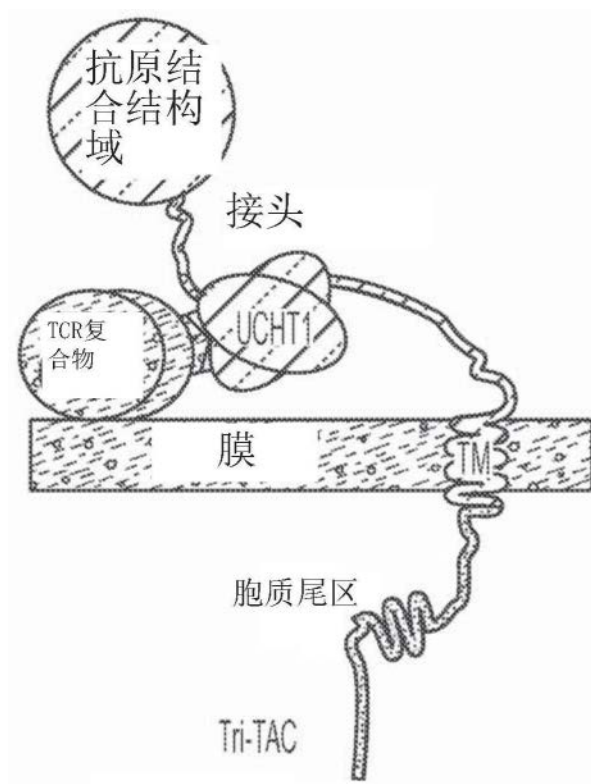


图3A

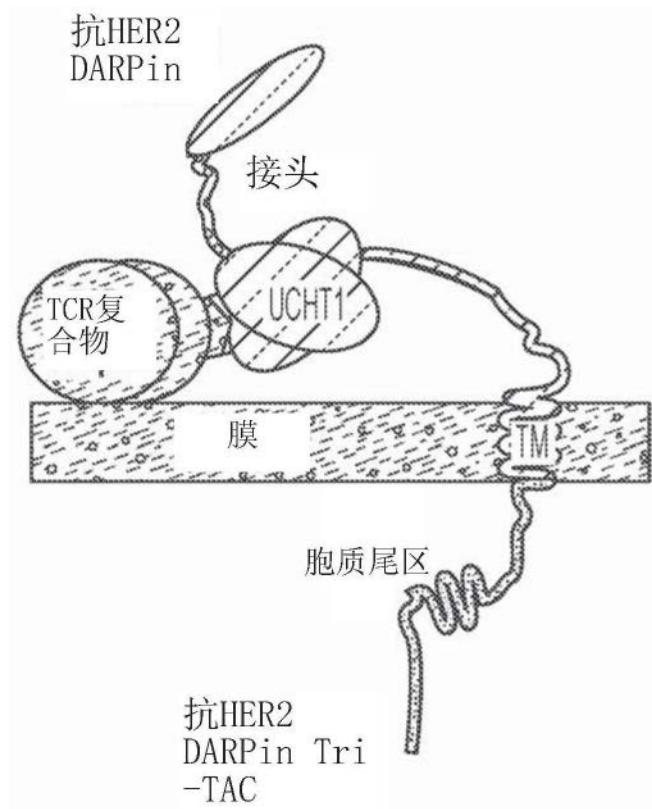


图3B

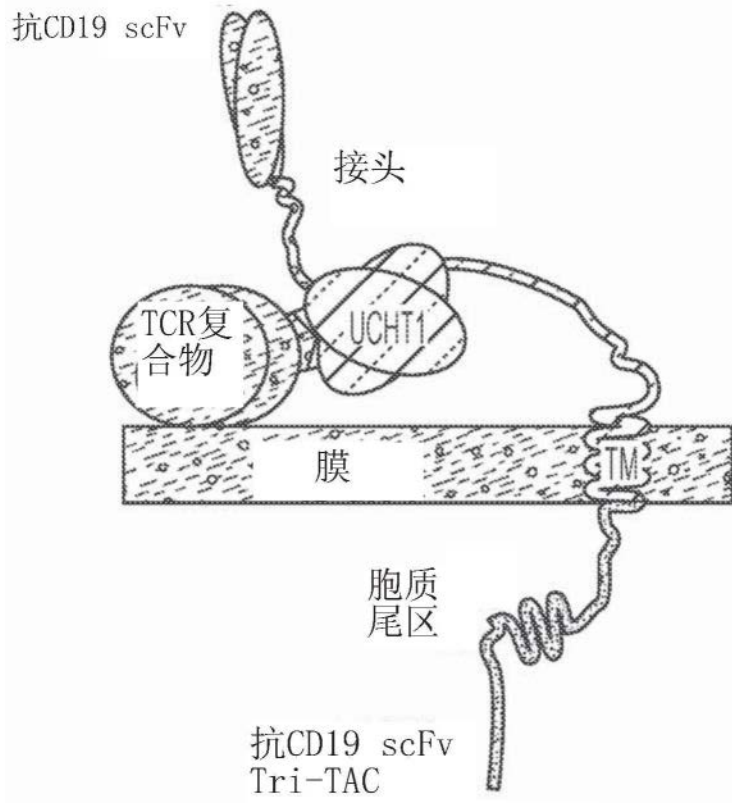


图3C

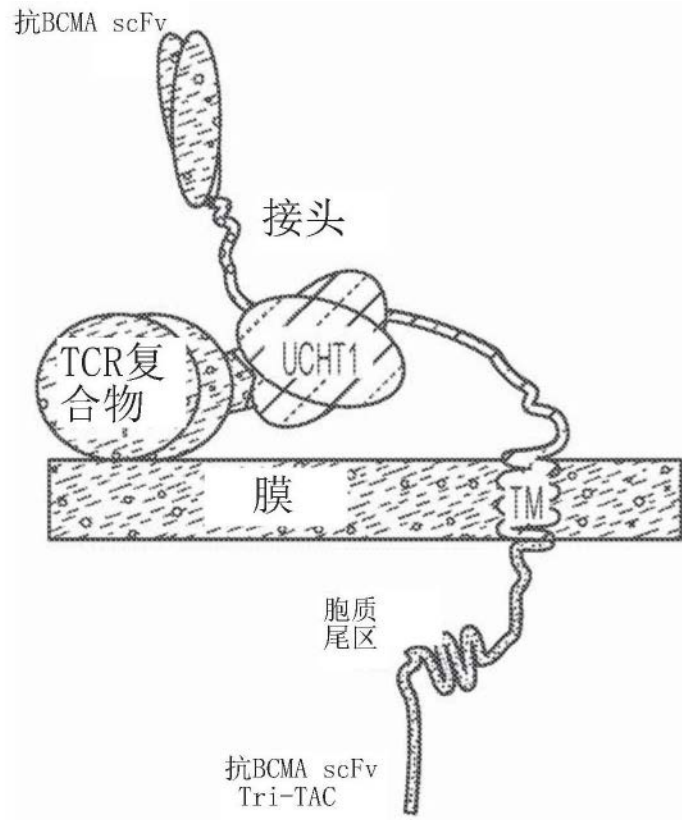


图3D

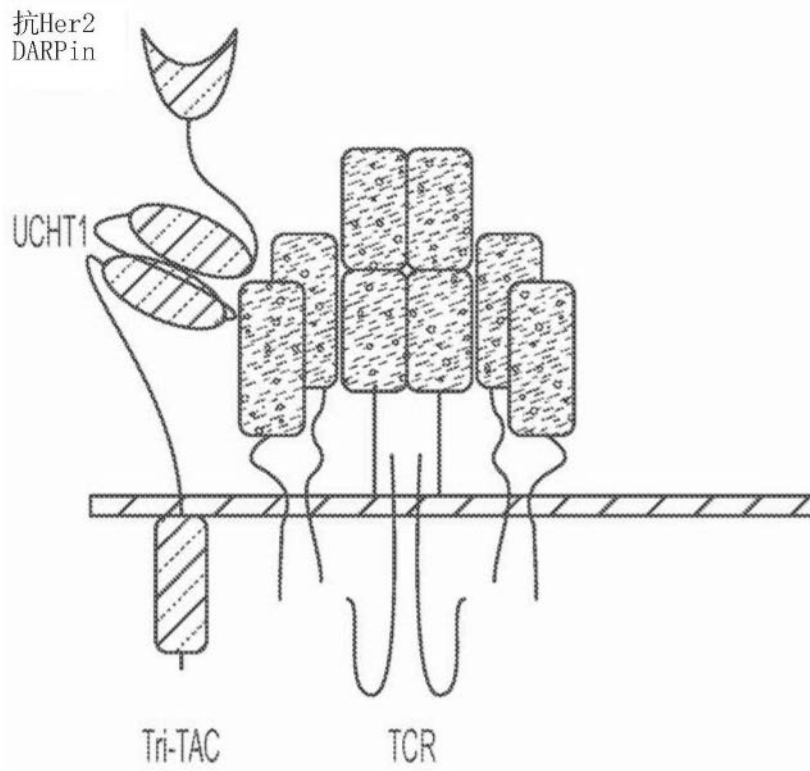


图3E

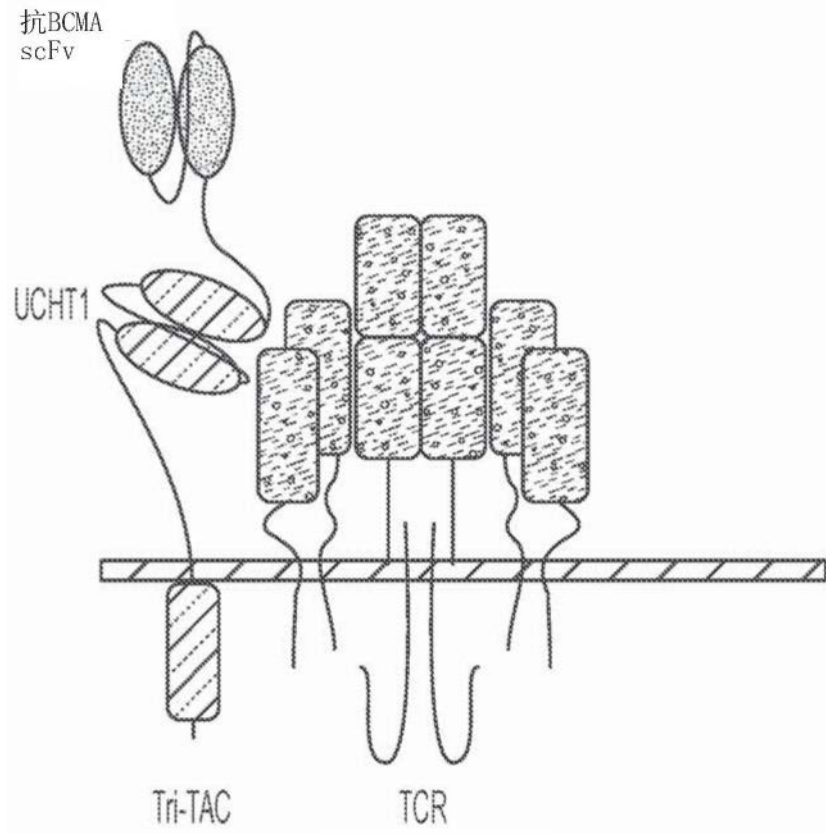


图3F

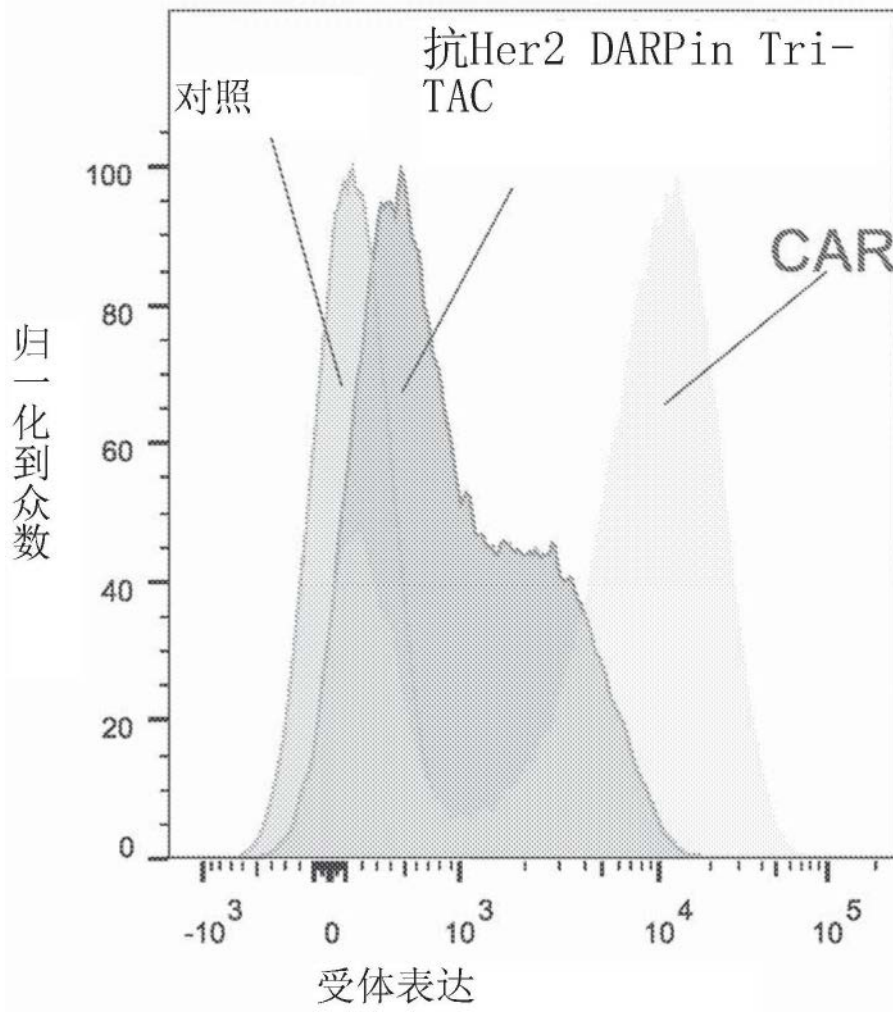


图4A

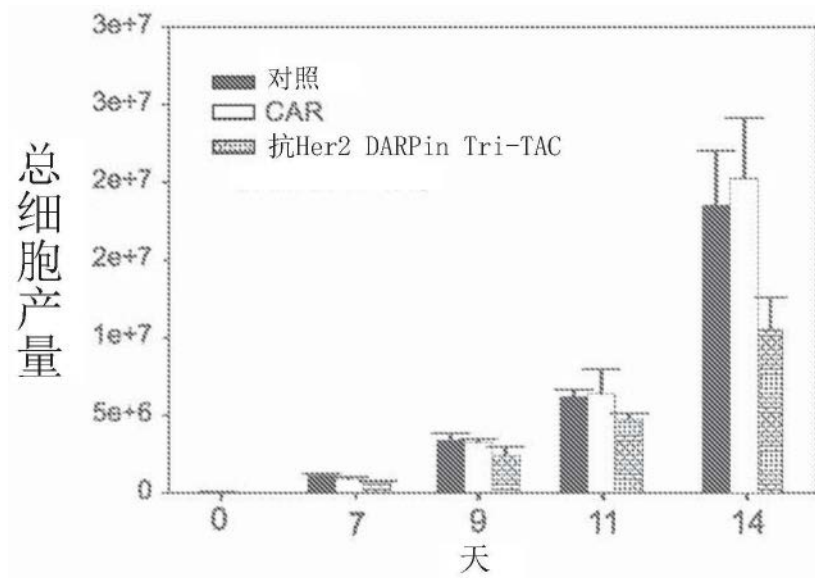


图4B

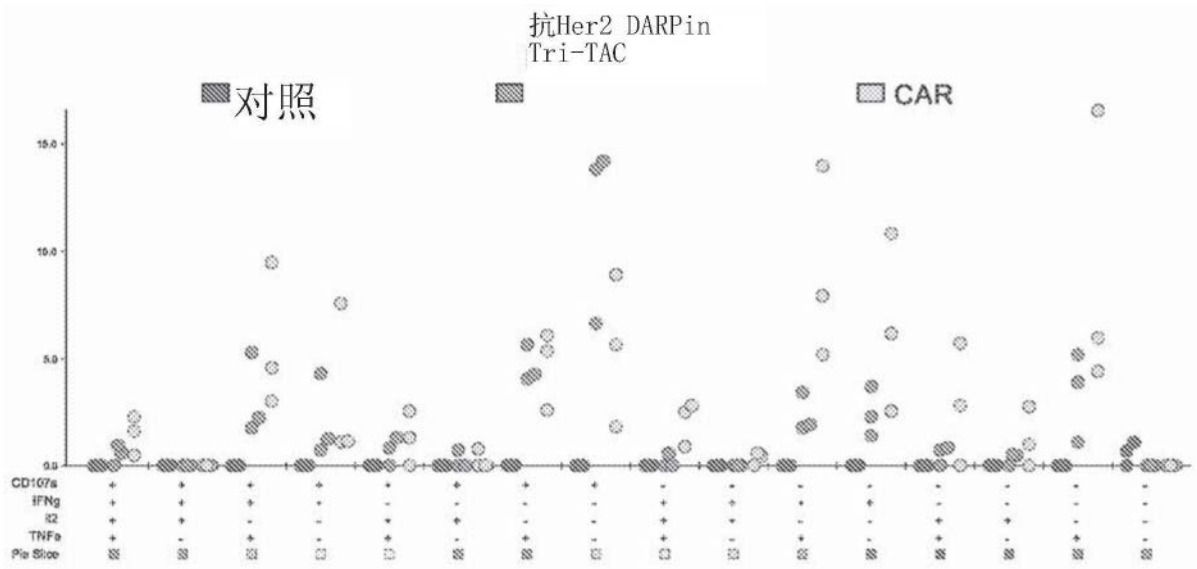


图4C

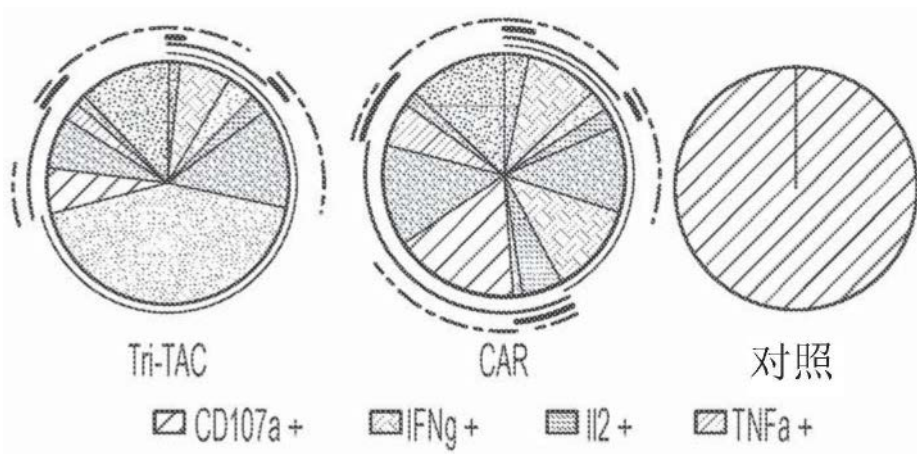


图4D

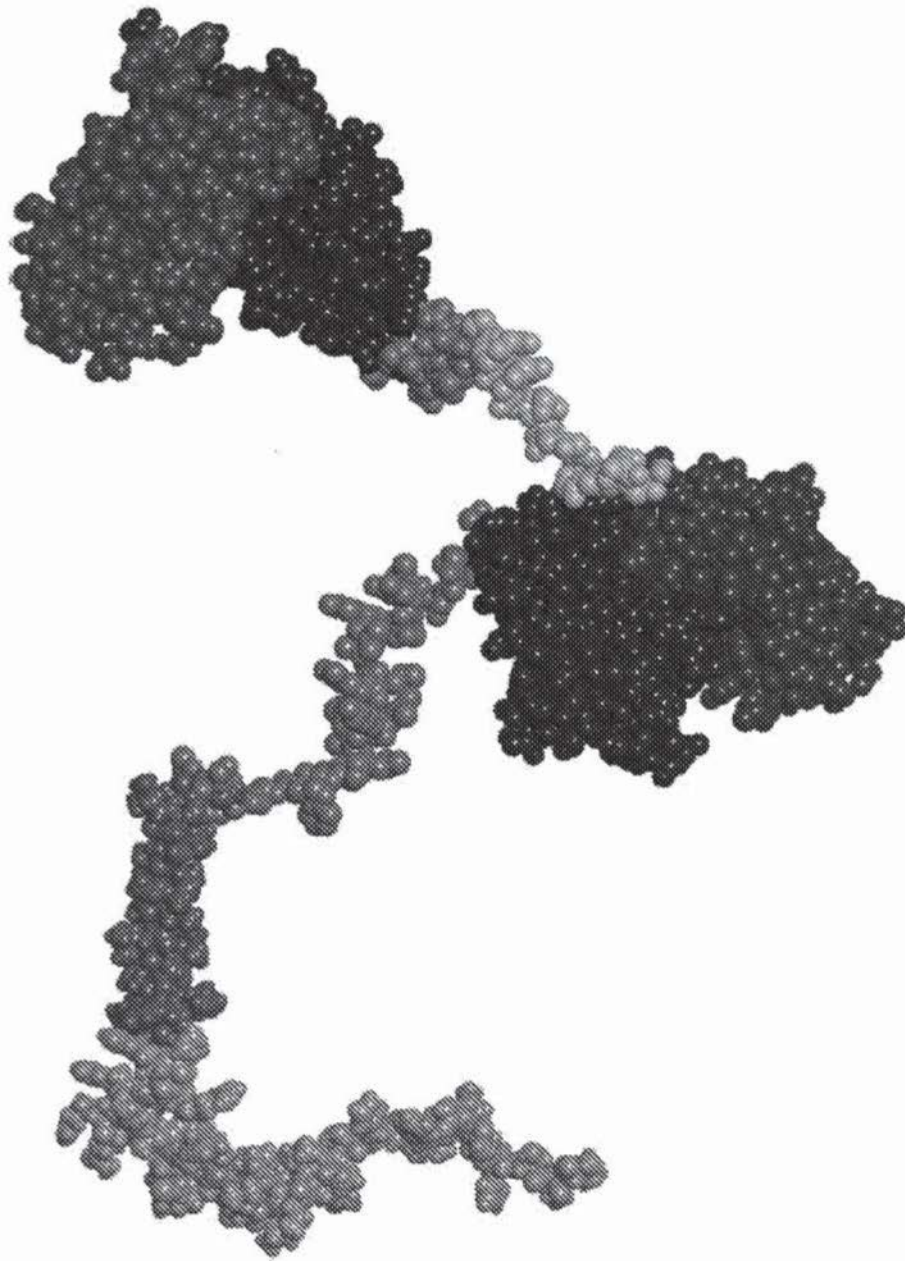


图5

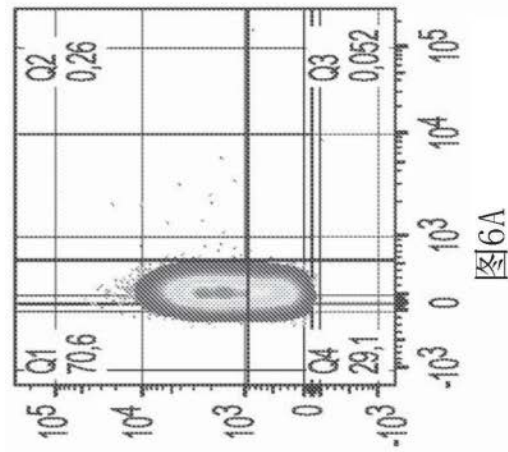
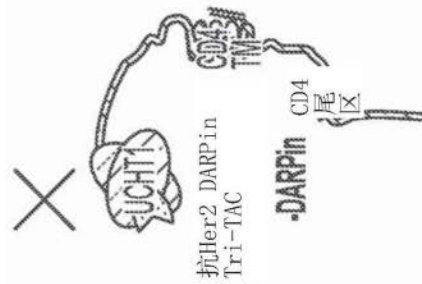


图6A

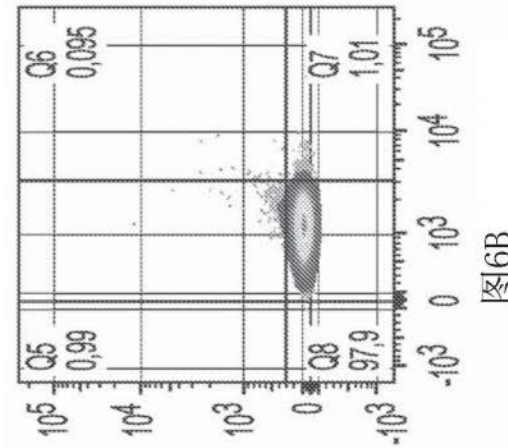


图6B

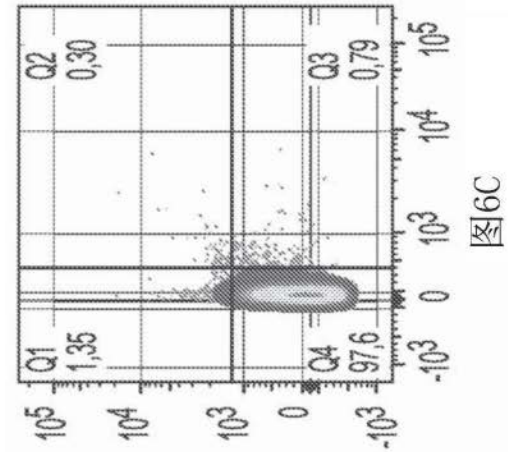


图6C

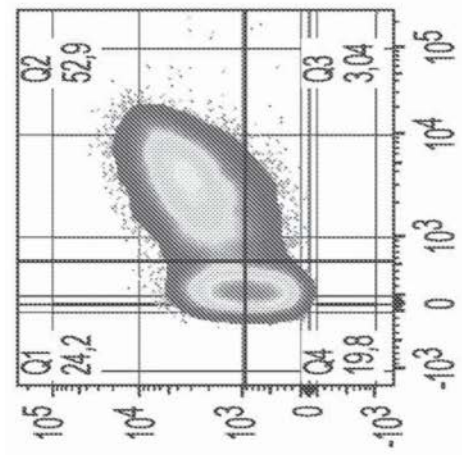
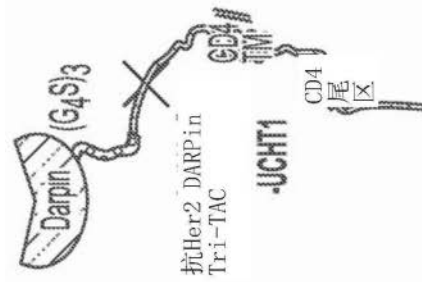


图6D

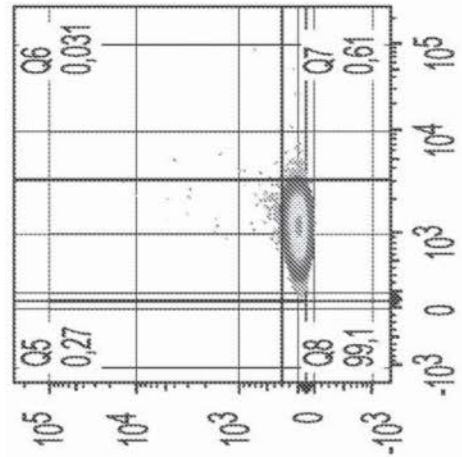


图6E

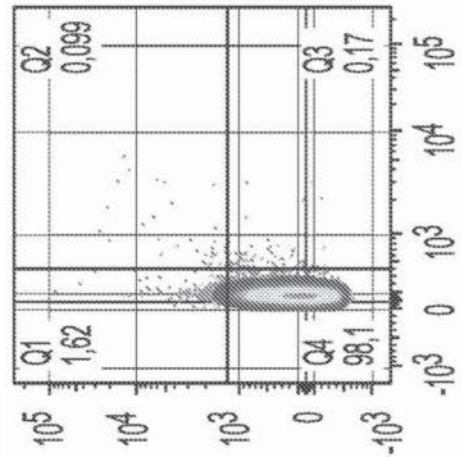
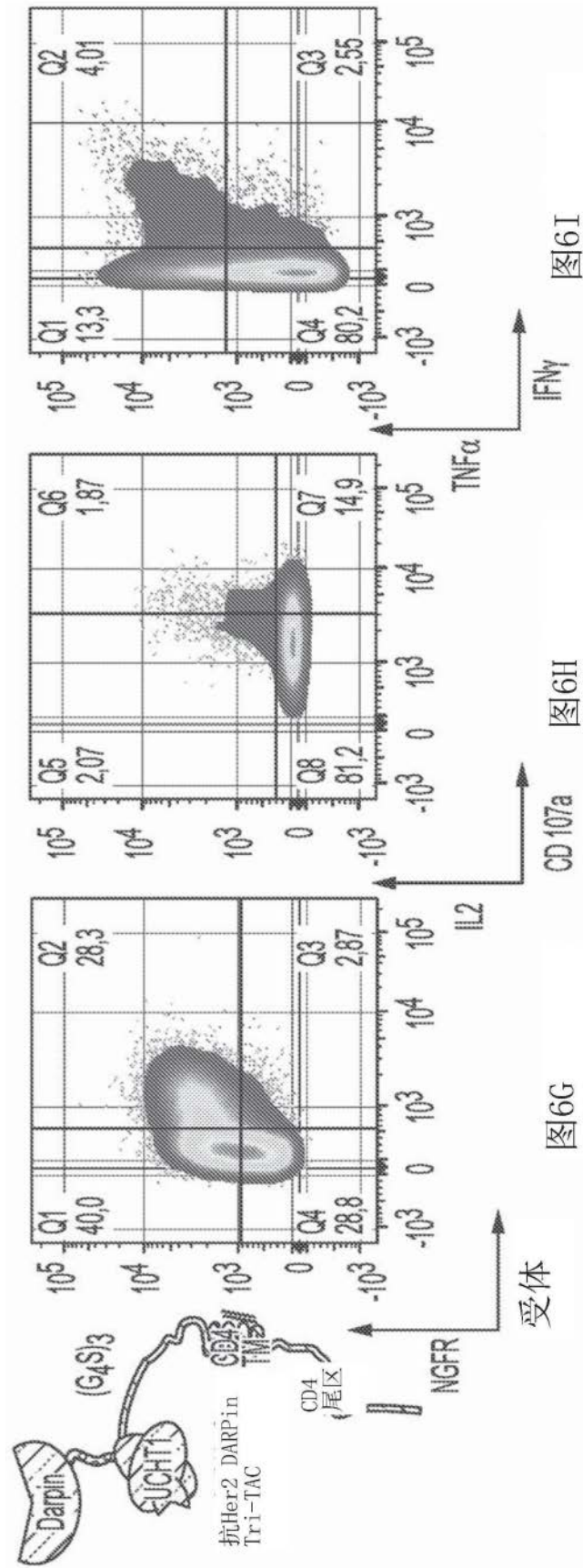


图6F



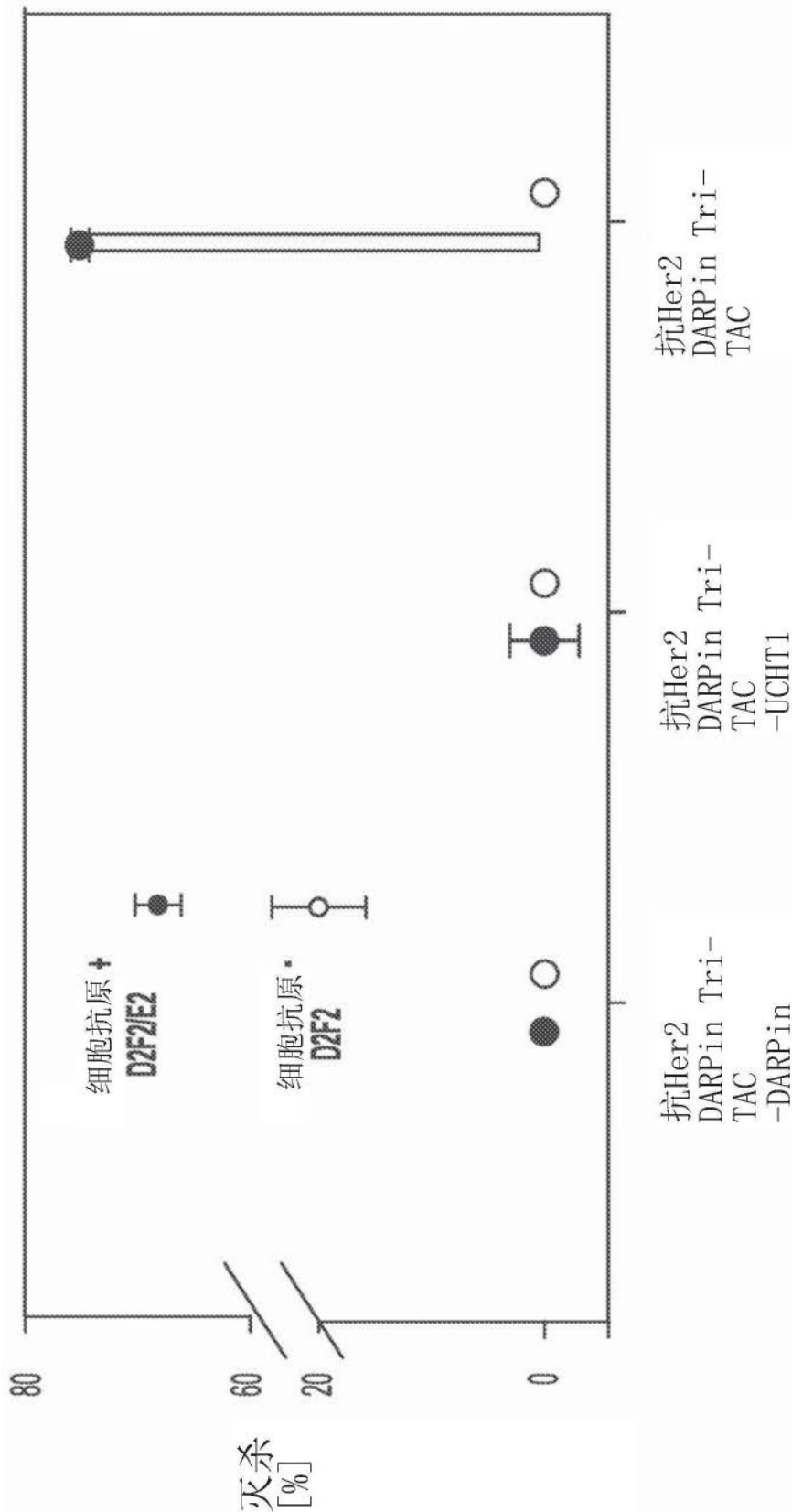


图6J

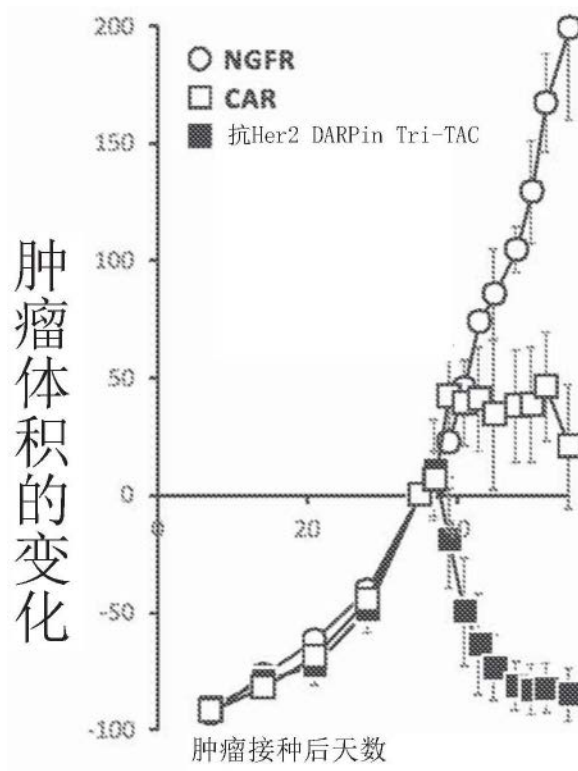


图7A

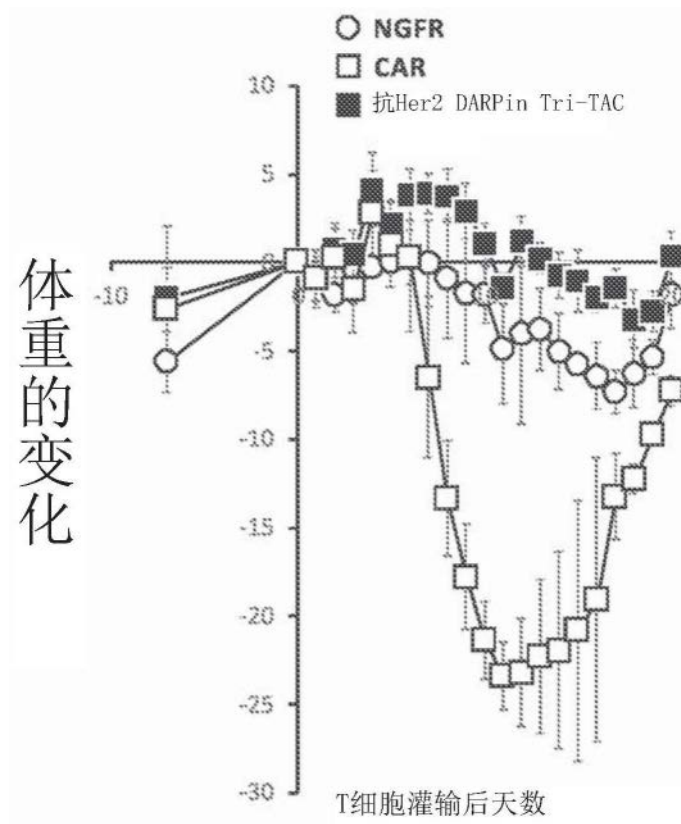


图7B

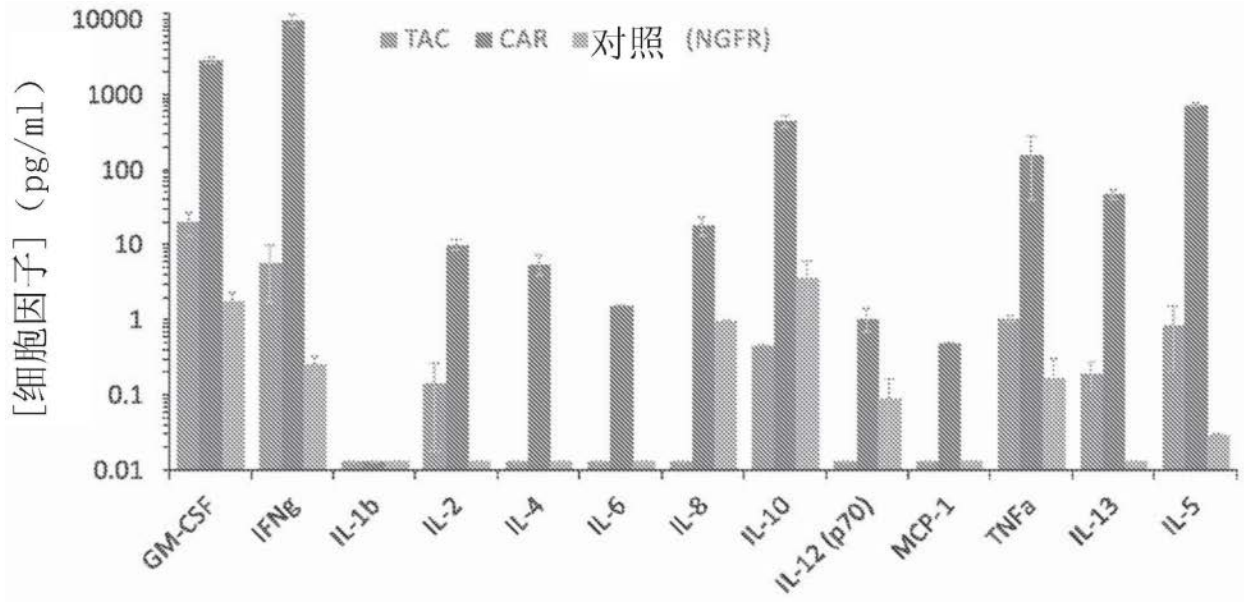


图7C



图8A

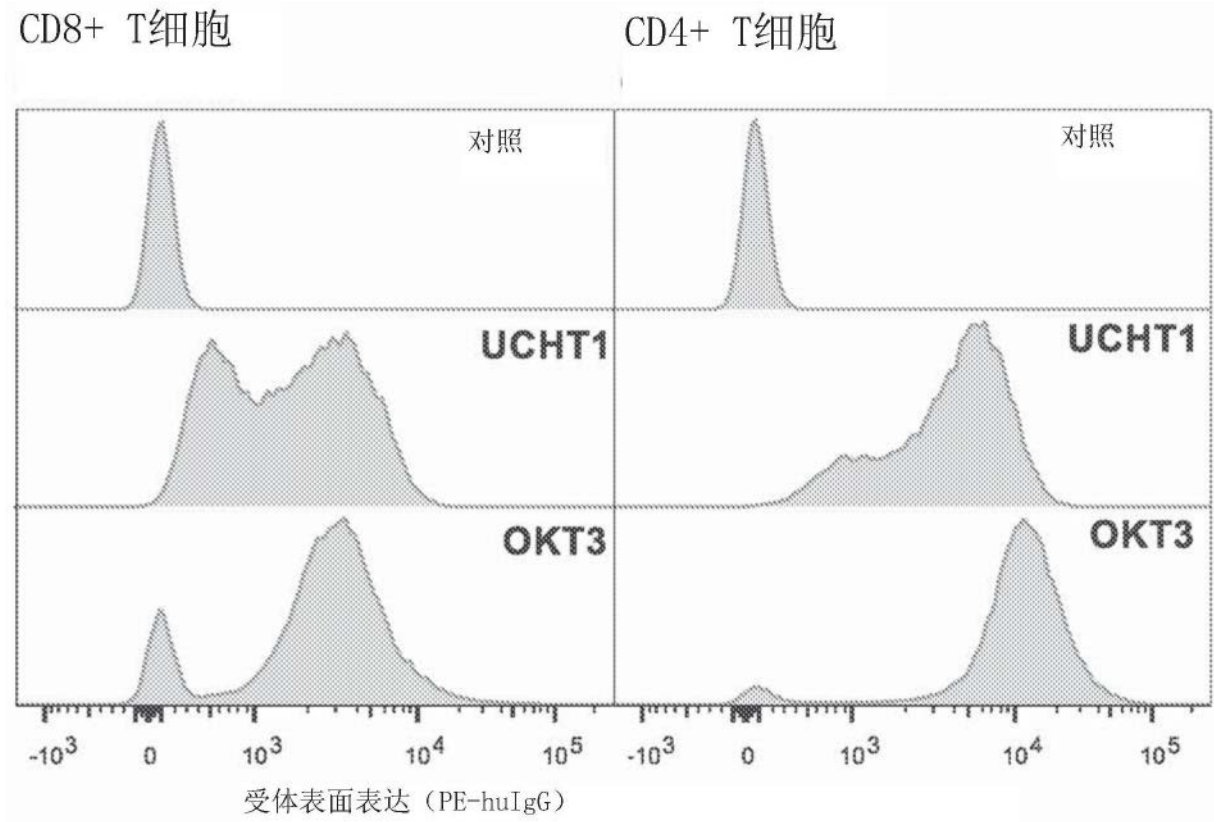


图8B

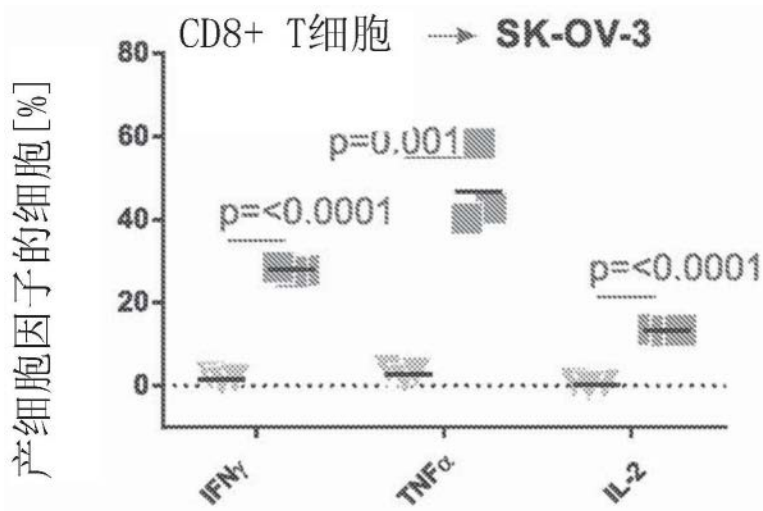


图8C

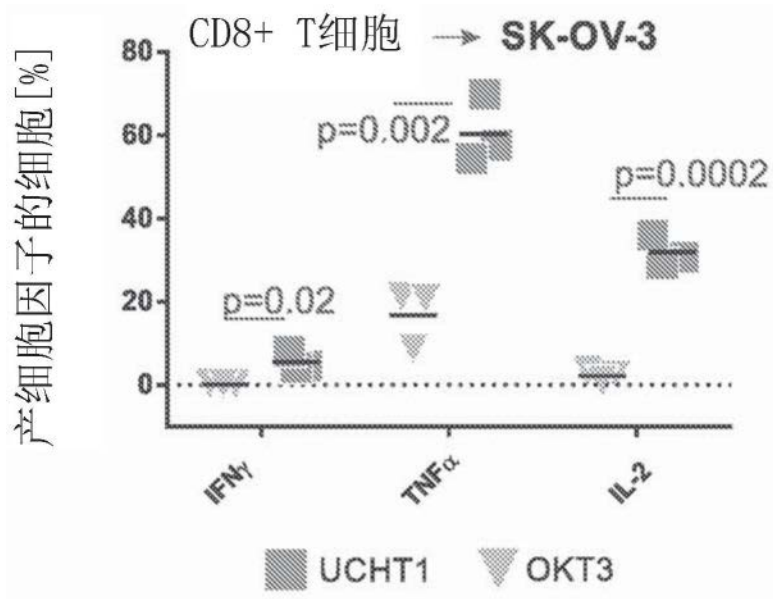


图8C1

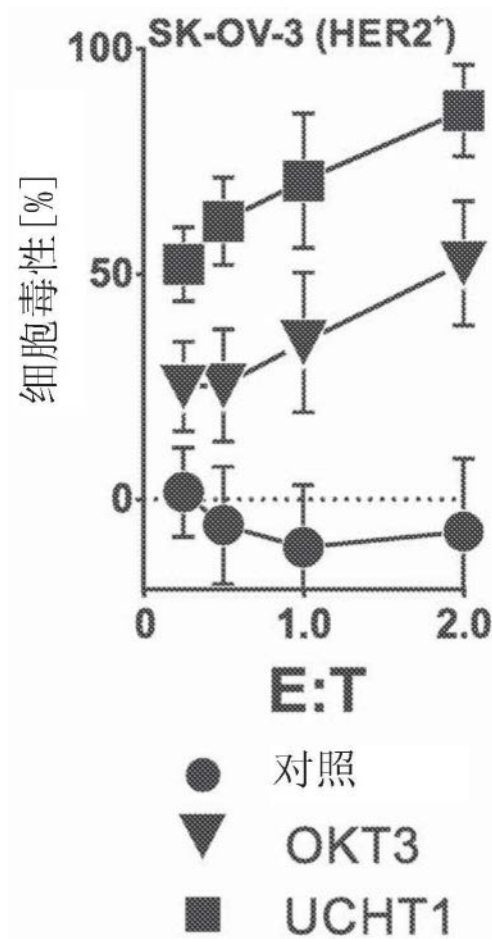


图8D

抗原结合结构域	CD3 ϵ 靶向结构域	辅助受体
scFv (抗 CD19)	huUCHT1	CD4
scFv (抗 CD19)	F6A	CD4
scFv (抗 CD19)	L2K	CD4

图8E

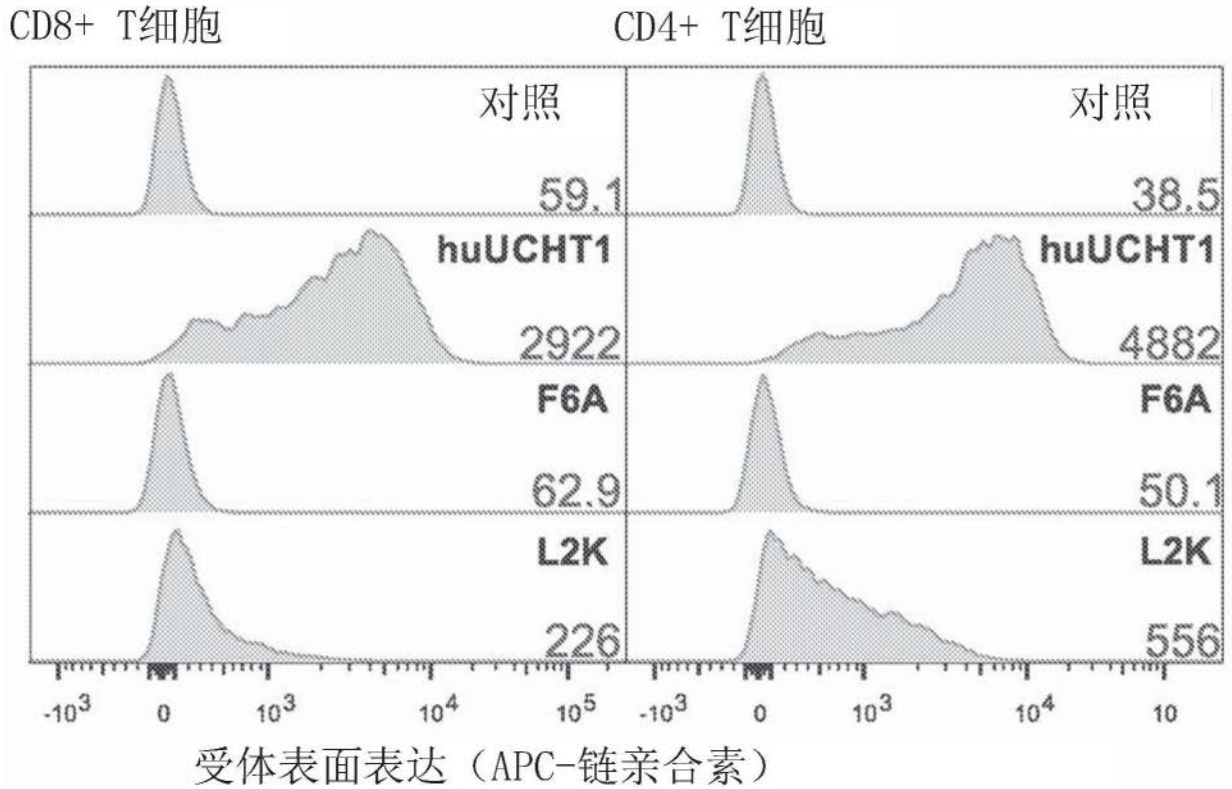


图8F

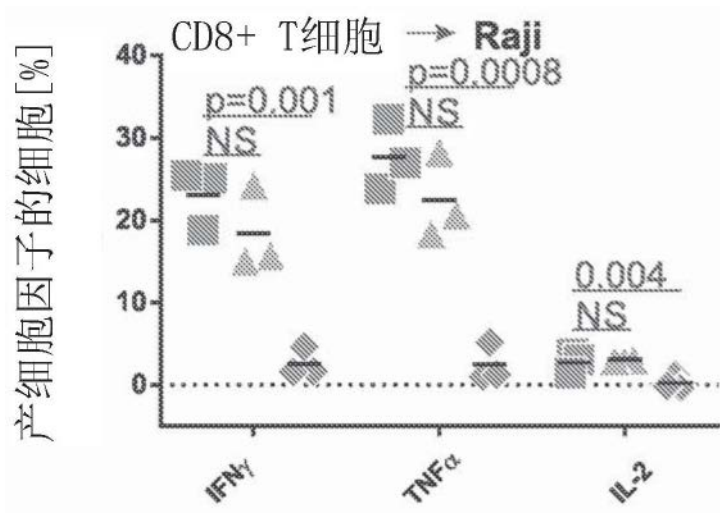


图8G

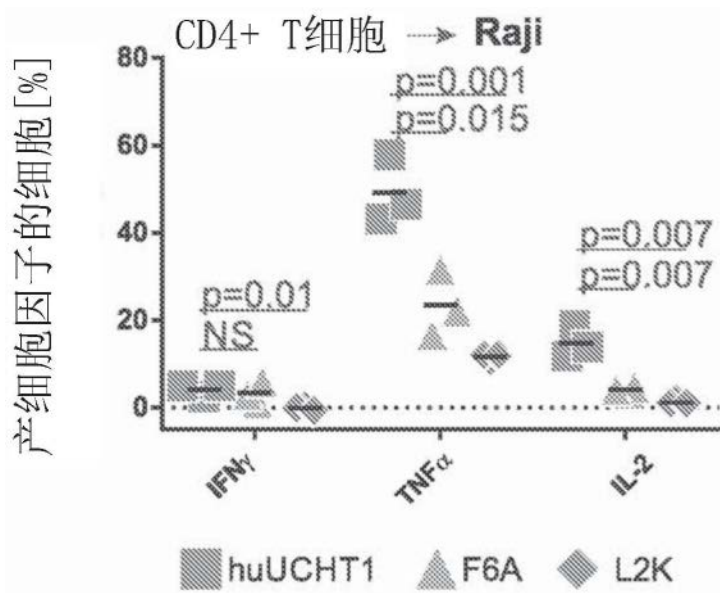


图8G1

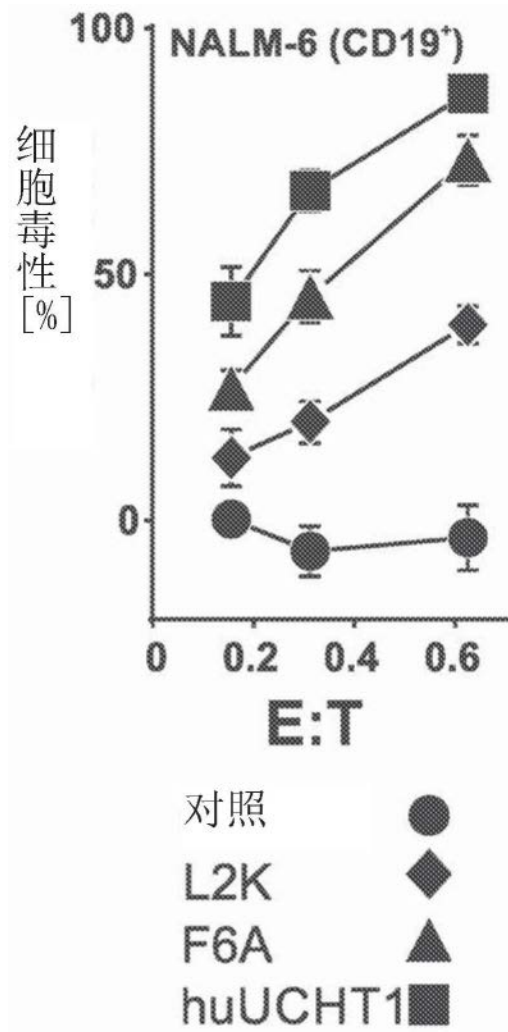


图8H

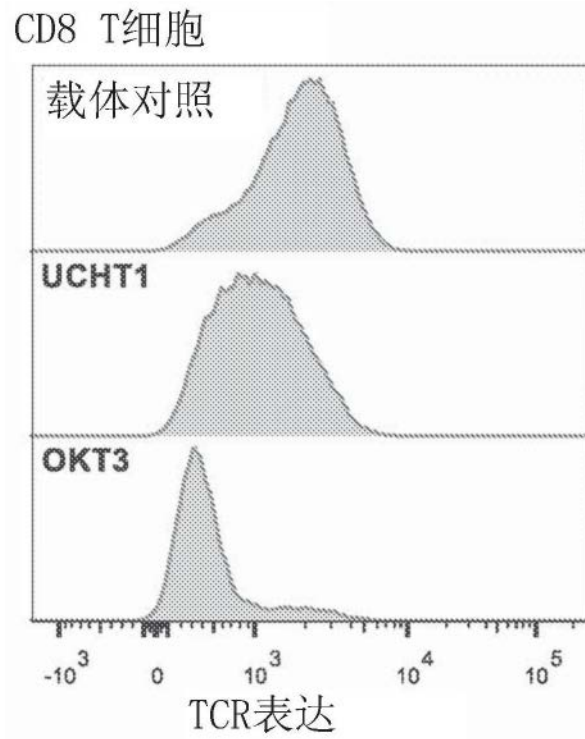


图9A

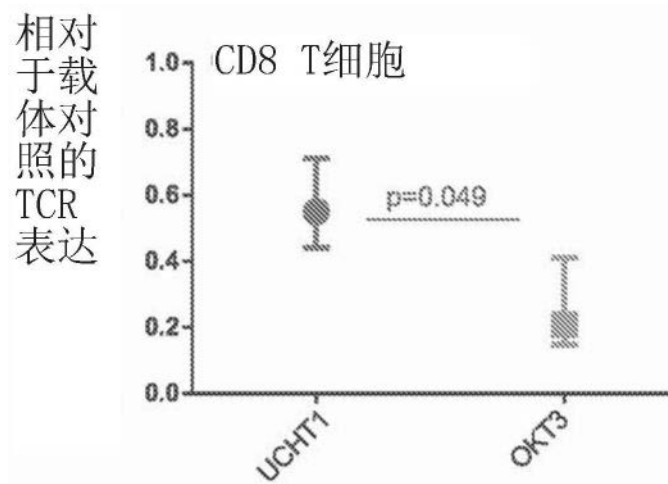


图9B

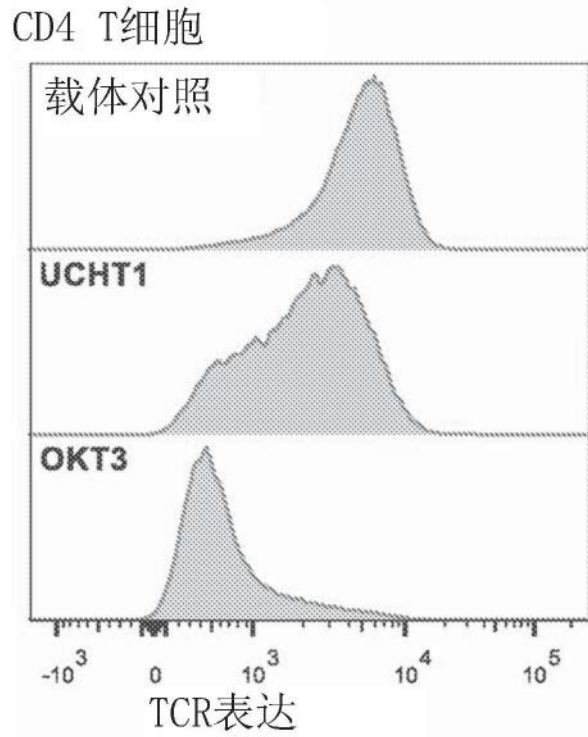


图9E

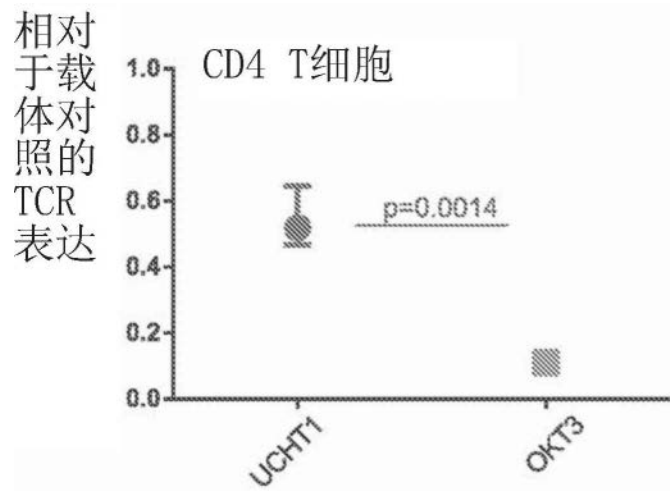


图9F

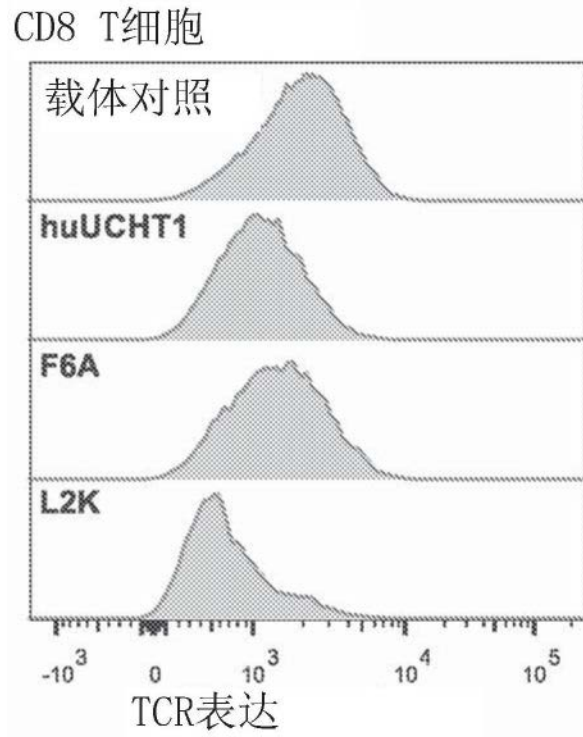


图9C

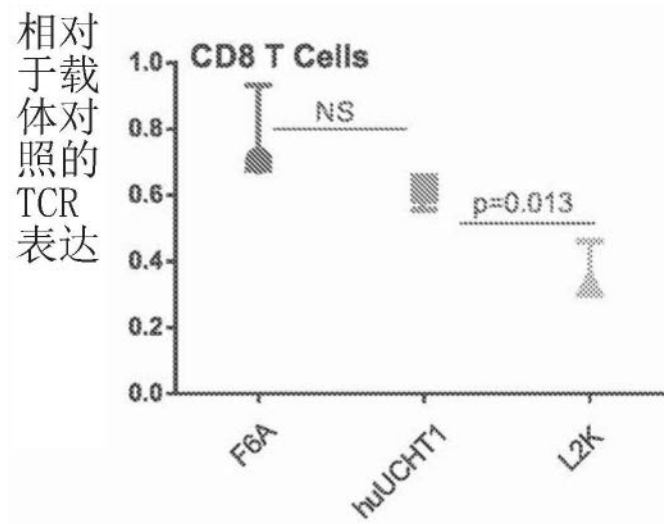


图9D

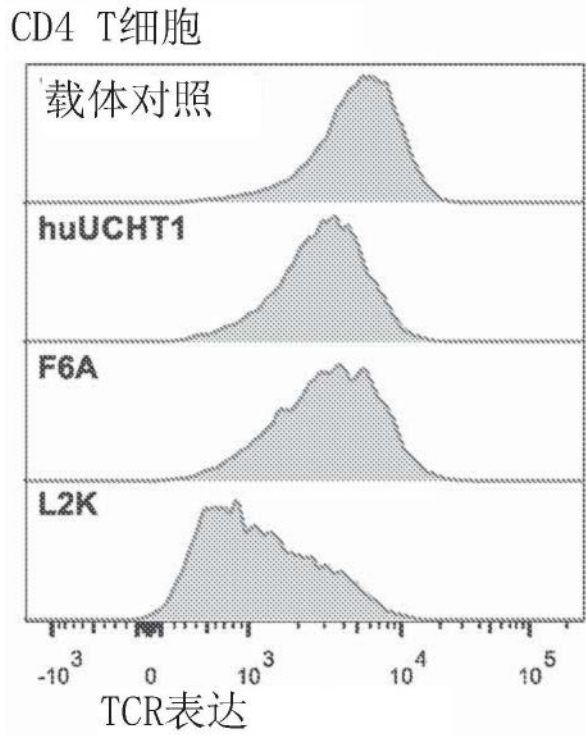


图9G

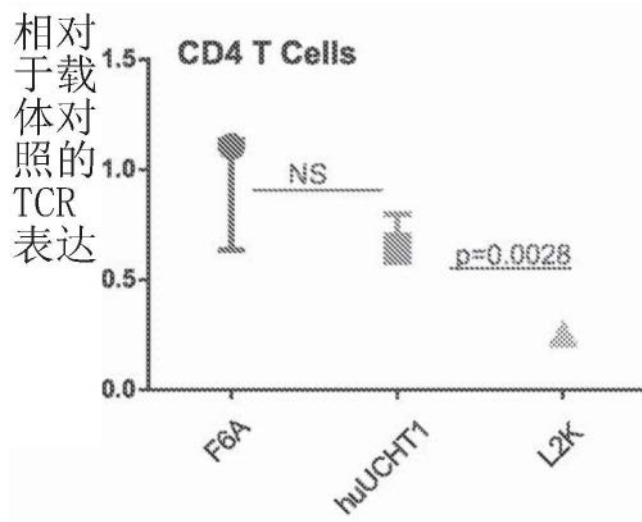


图9H

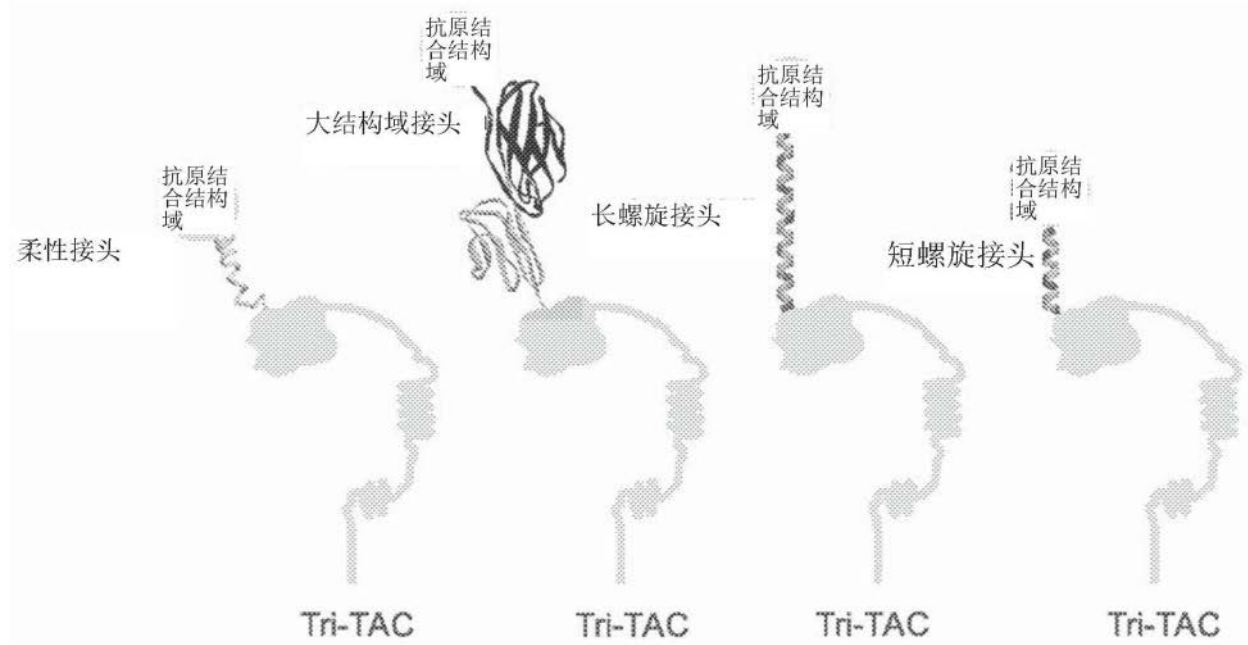


图10A

柔性接头

GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS

短螺旋接头

AEAAAKEAAAKEAAAKA

长螺旋接头

AEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKA

大结构域接头

IVVLAFAQASSIVYKKEGEGQVEFSFPLAFTVEKLTGSGELWWQAERASSSKSWITFDLKNKE
 VSVKRVTDQPKLQMGKKLPLHLTPQALPQYAGSGNLTALAEAKTGKLGHEVNLVVMRATQ
 LQKNLTCEVWGPTSPKMLSLKLENKEAKVSKREKAVWVLNPEAGMWQCLLSDSGQVLE
 SNIKVLPA

图10B

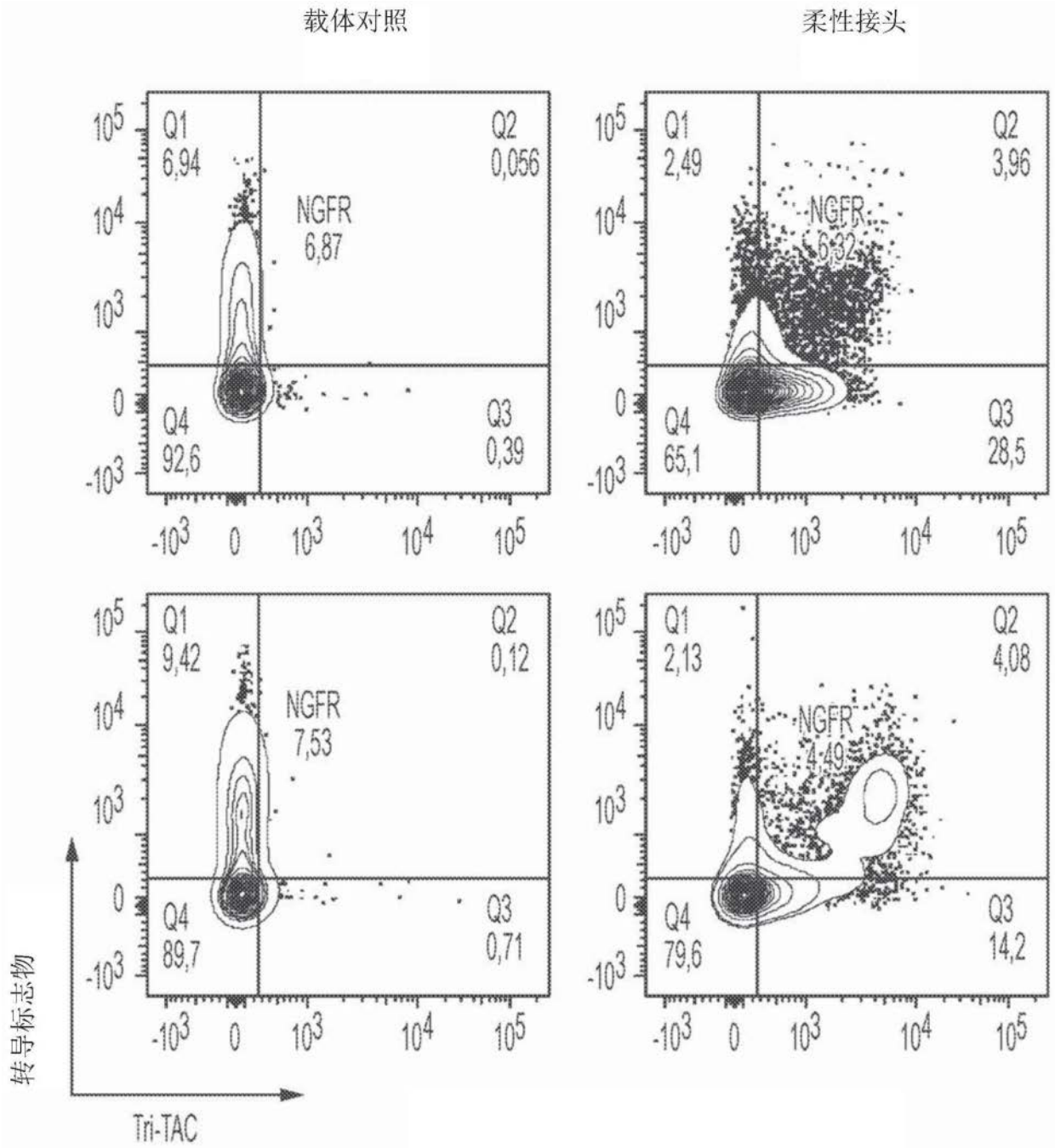


图11A

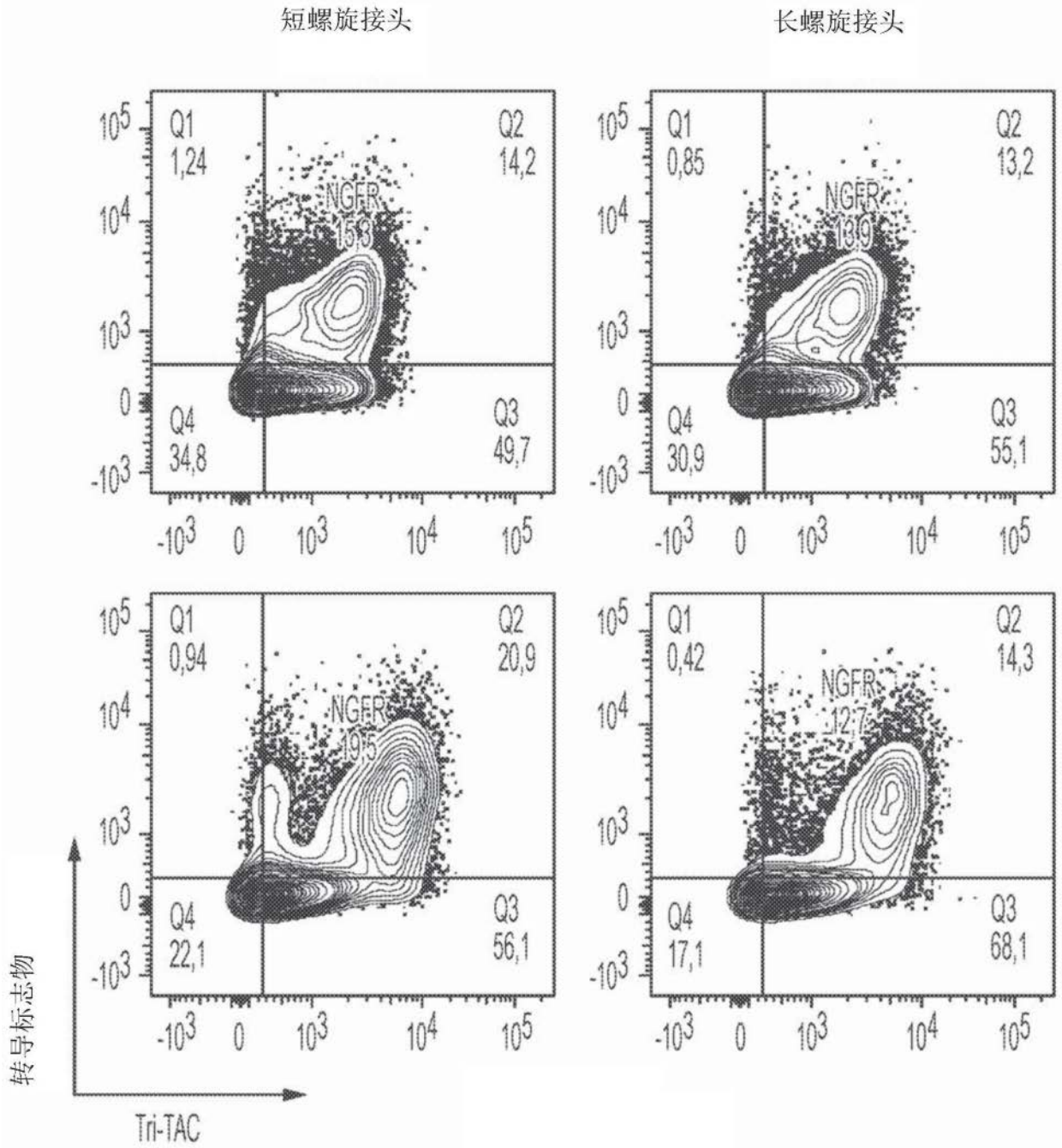


图11A续

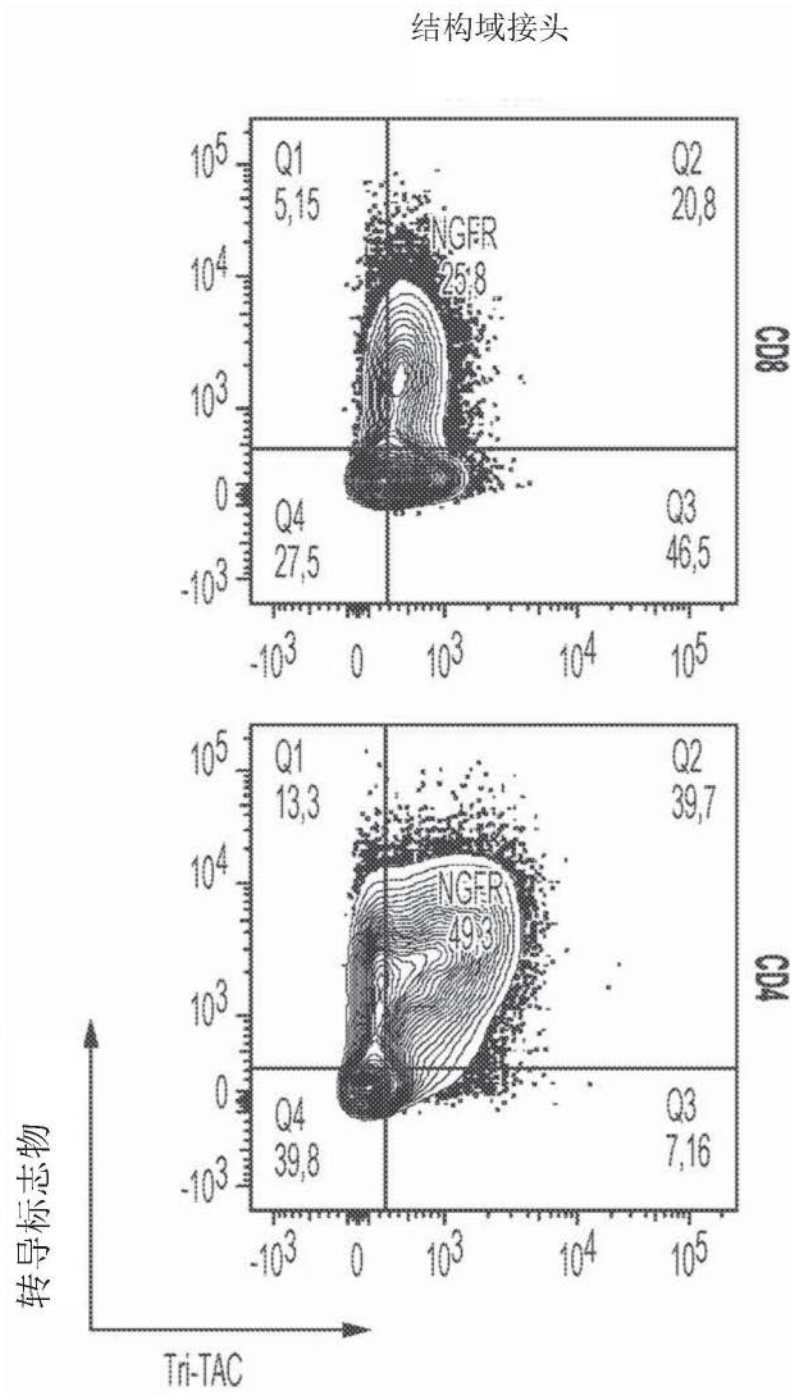


图11A续

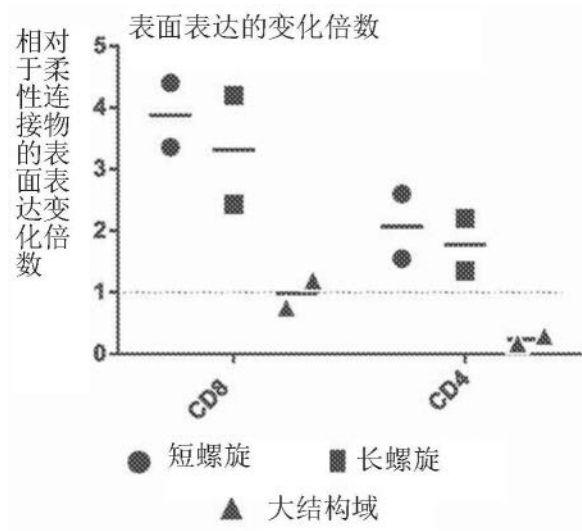


图11B

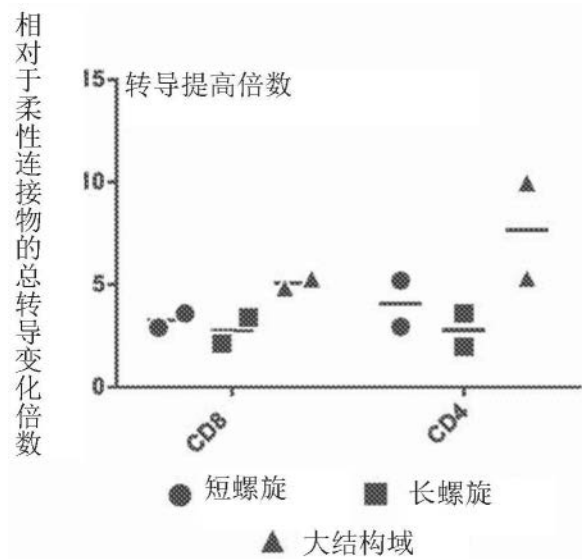


图11C

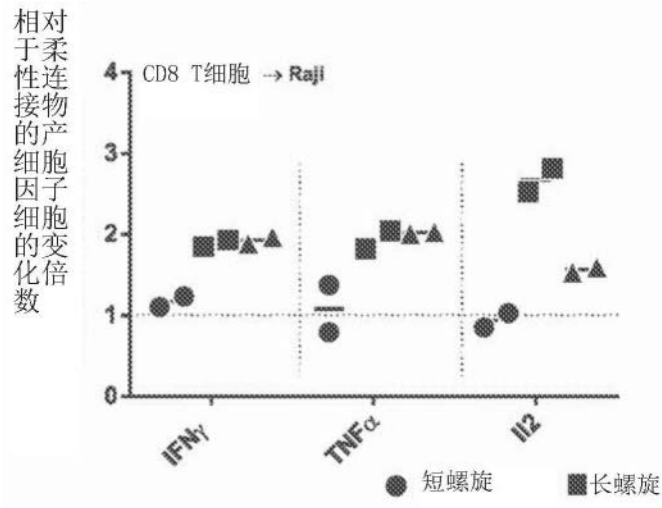


图11D

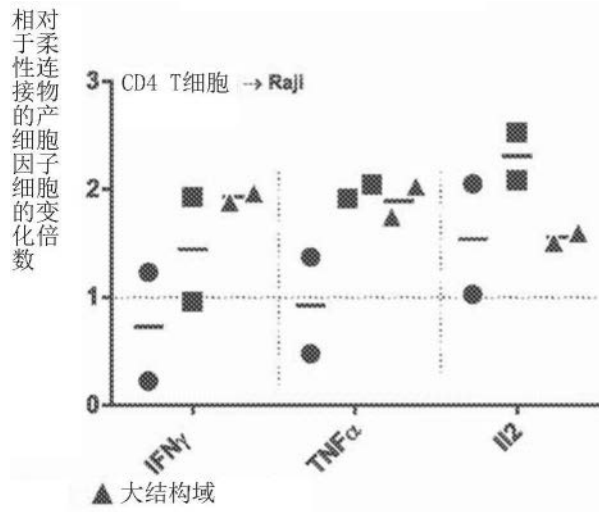


图11E

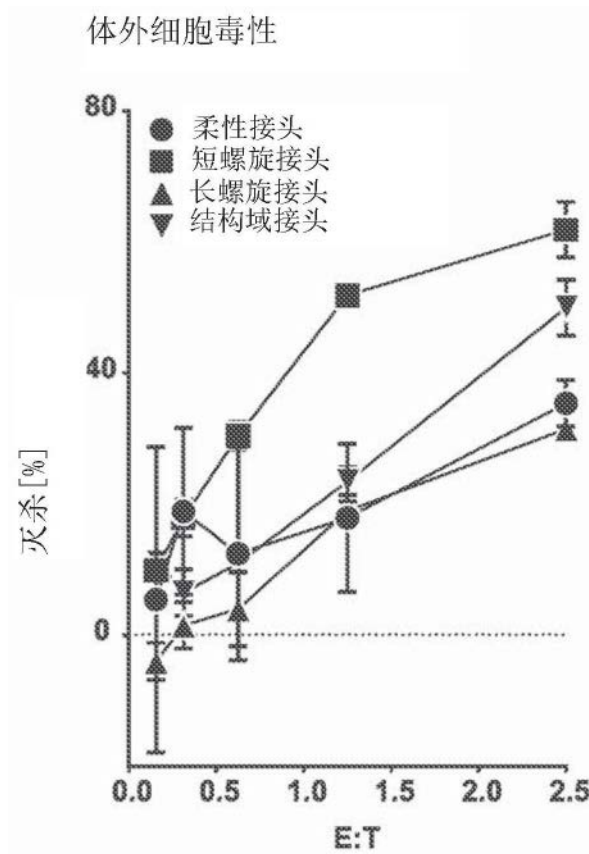


图12A

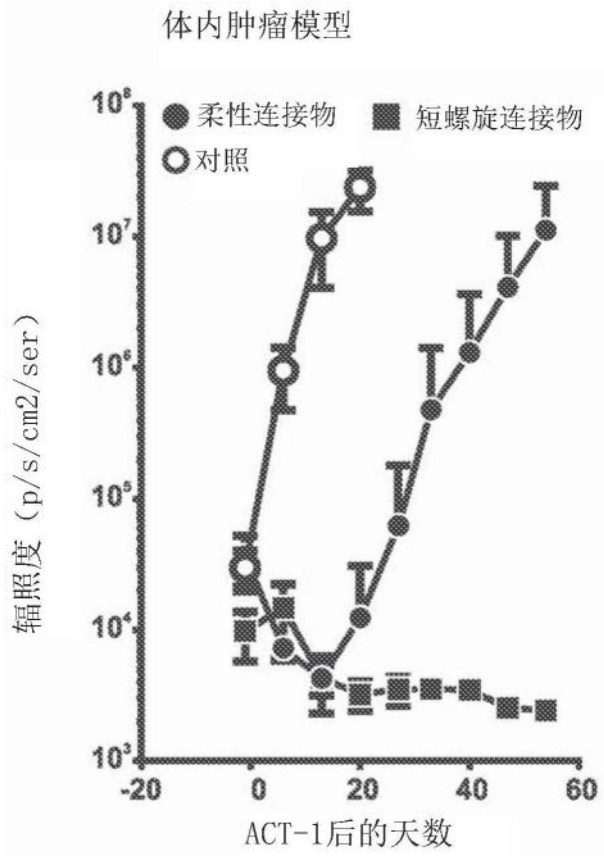


图12B

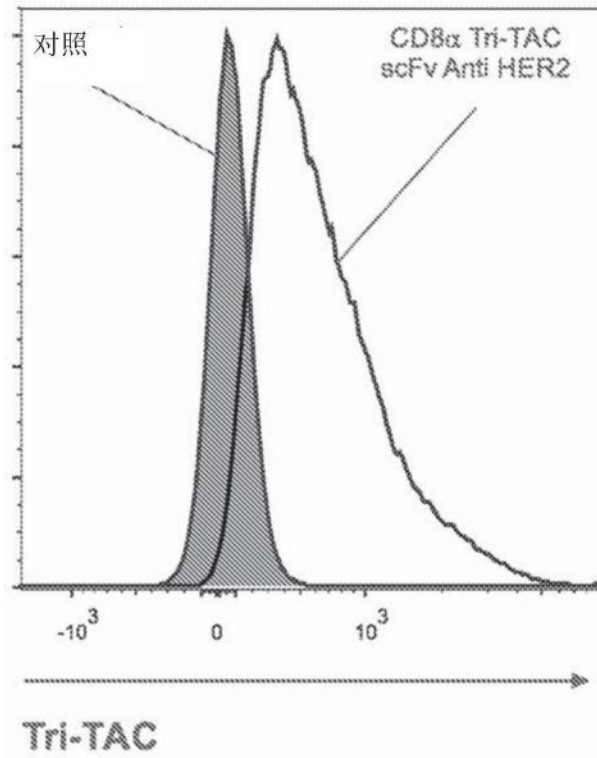


图13A

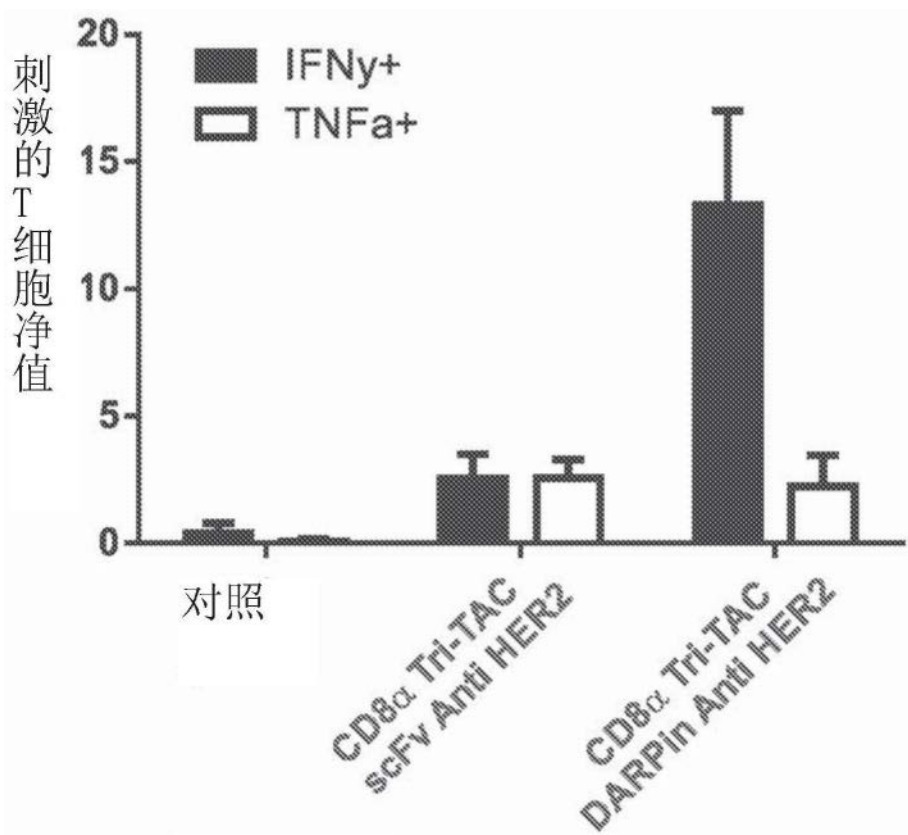


图13B

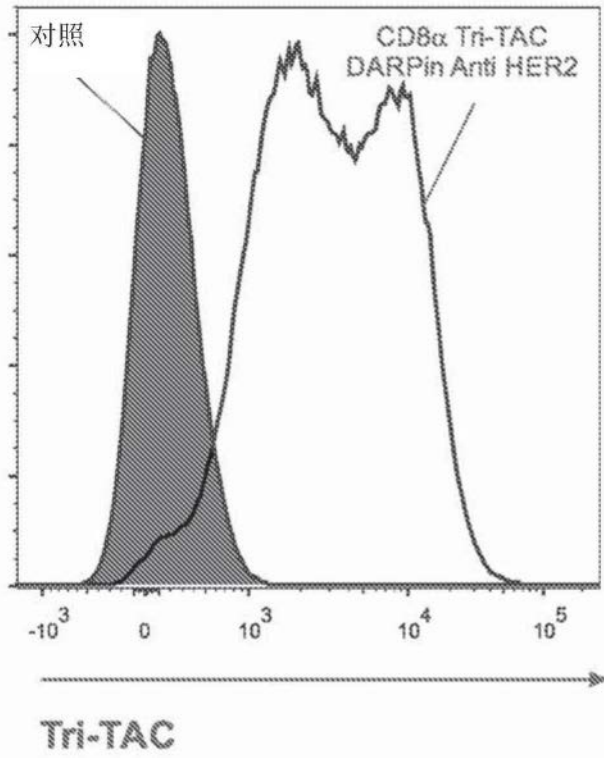
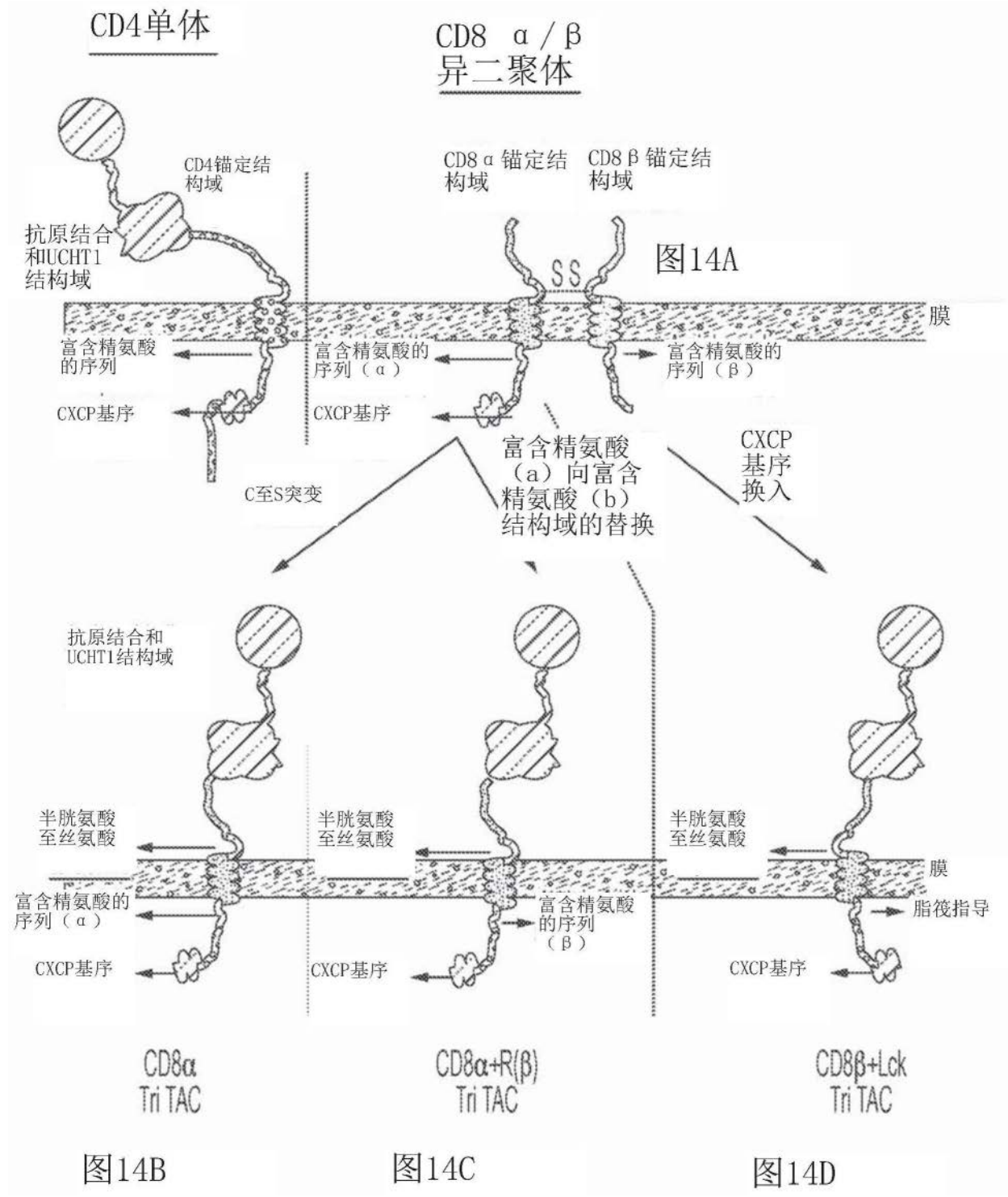


图13C



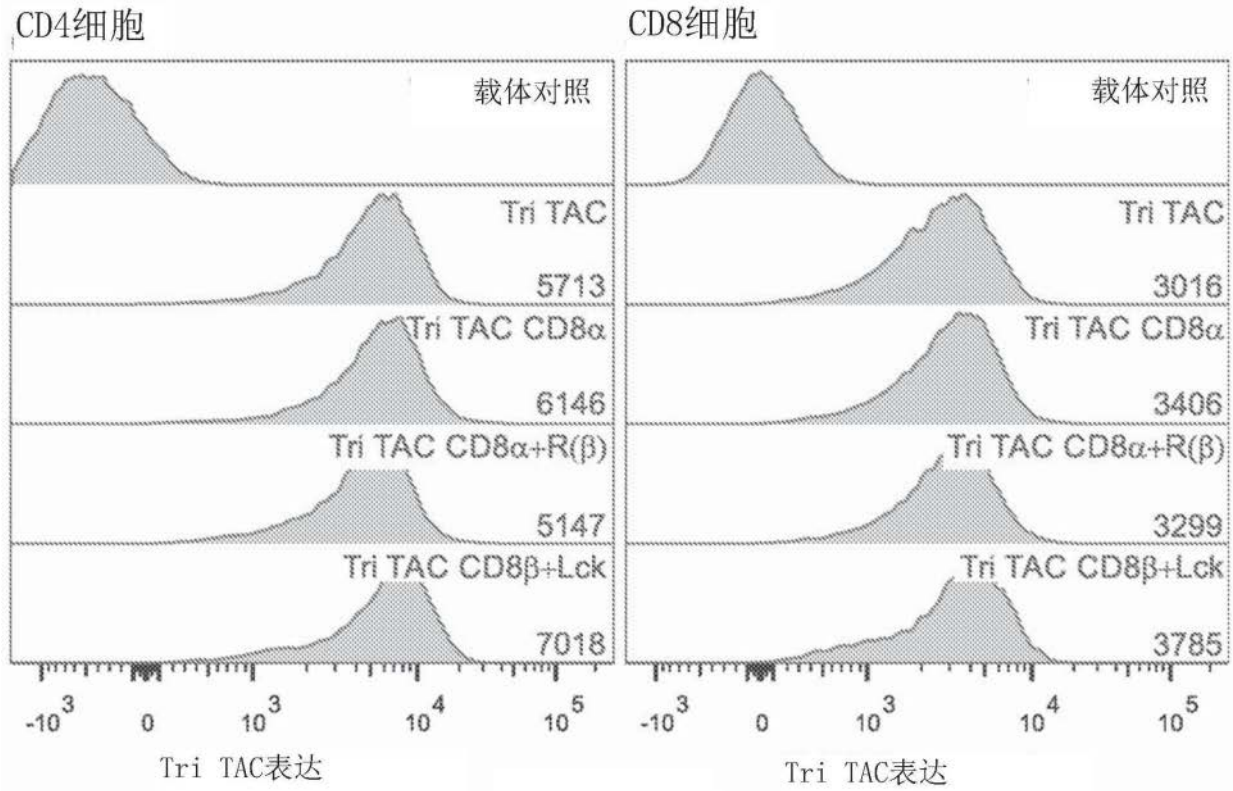


图15A

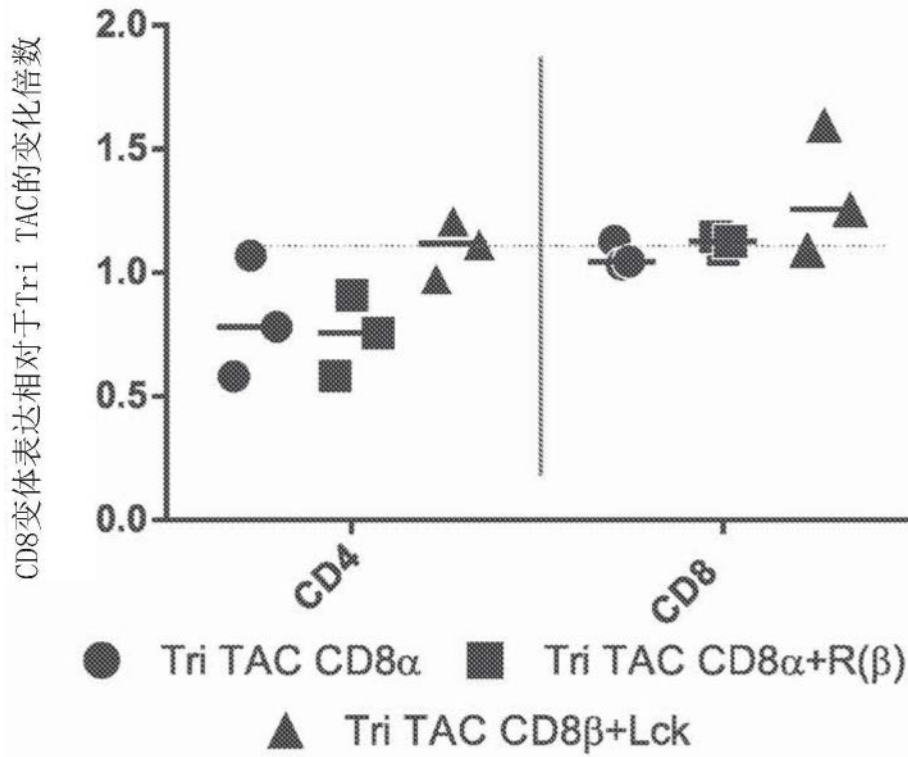


图15B

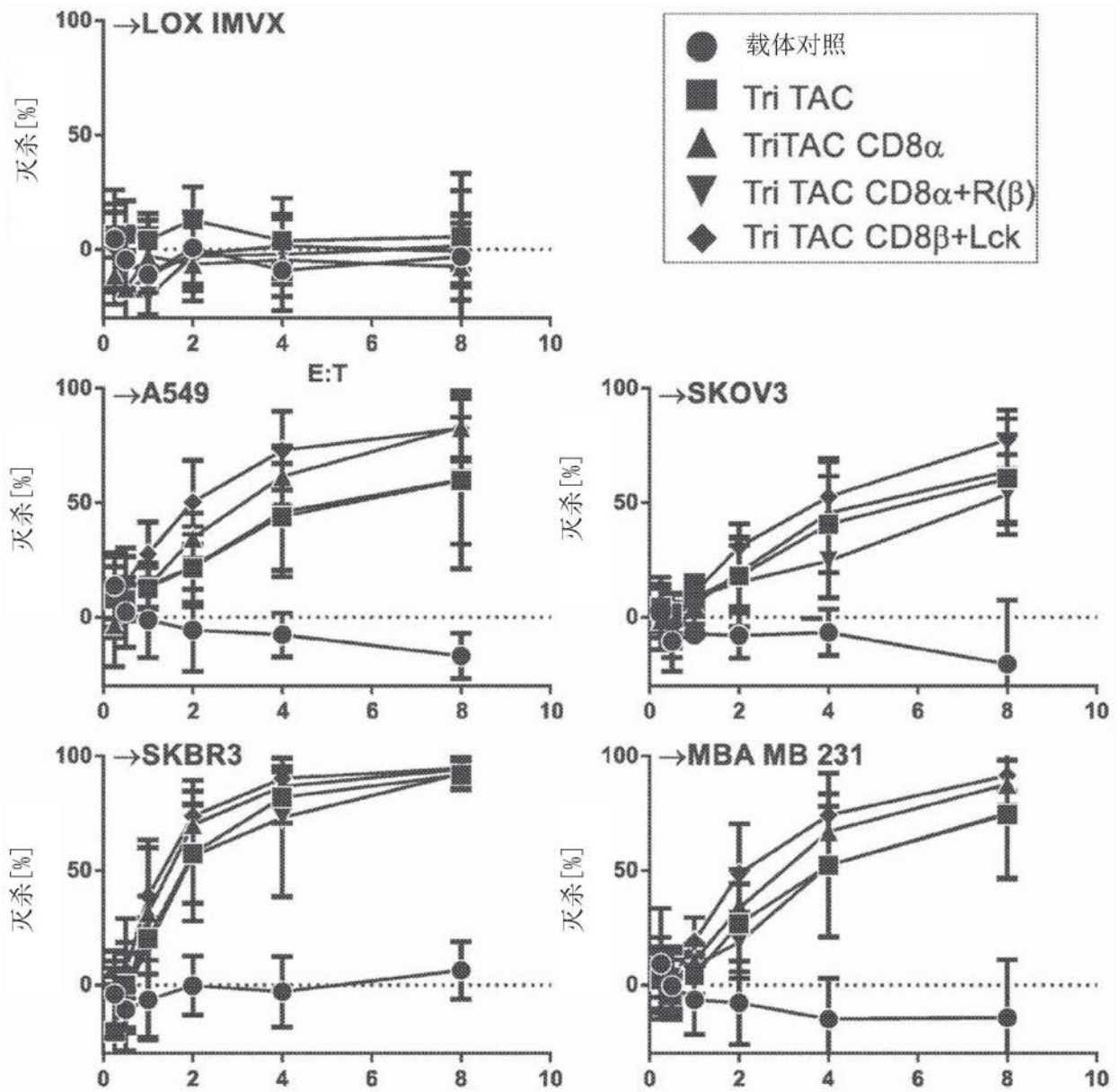


图15C

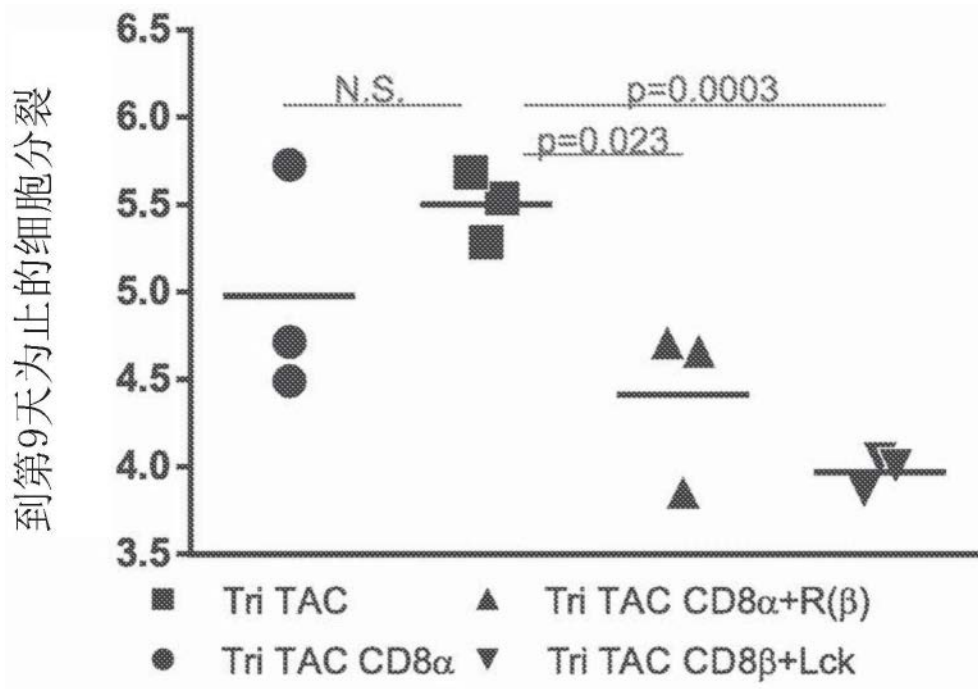


图15D

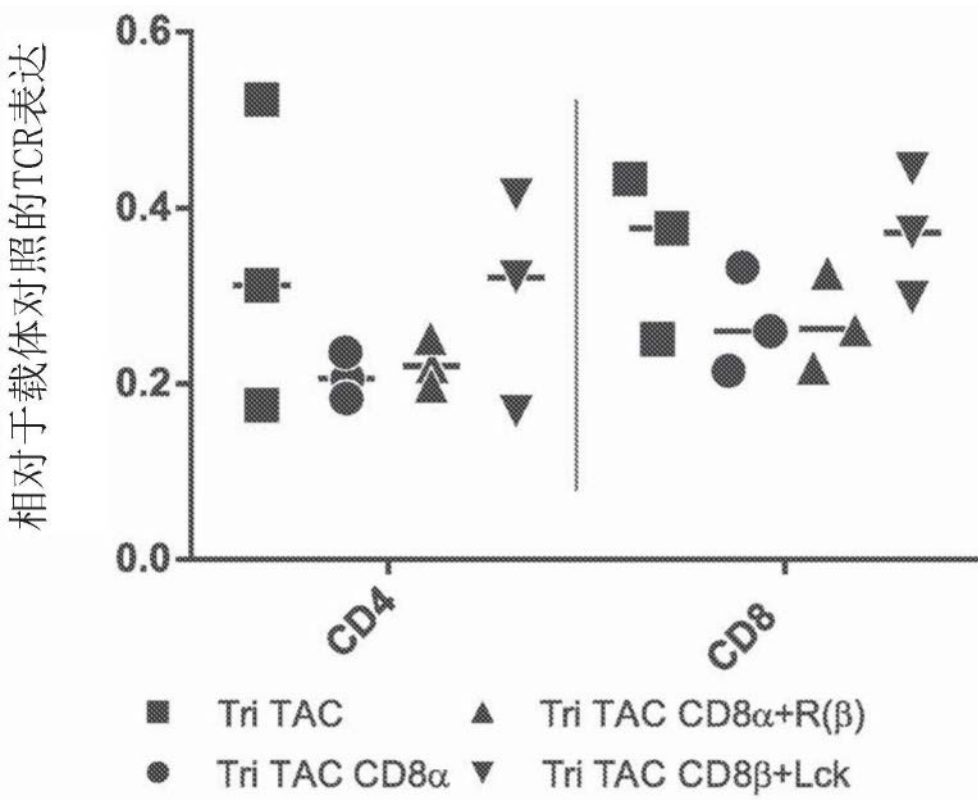


图15E

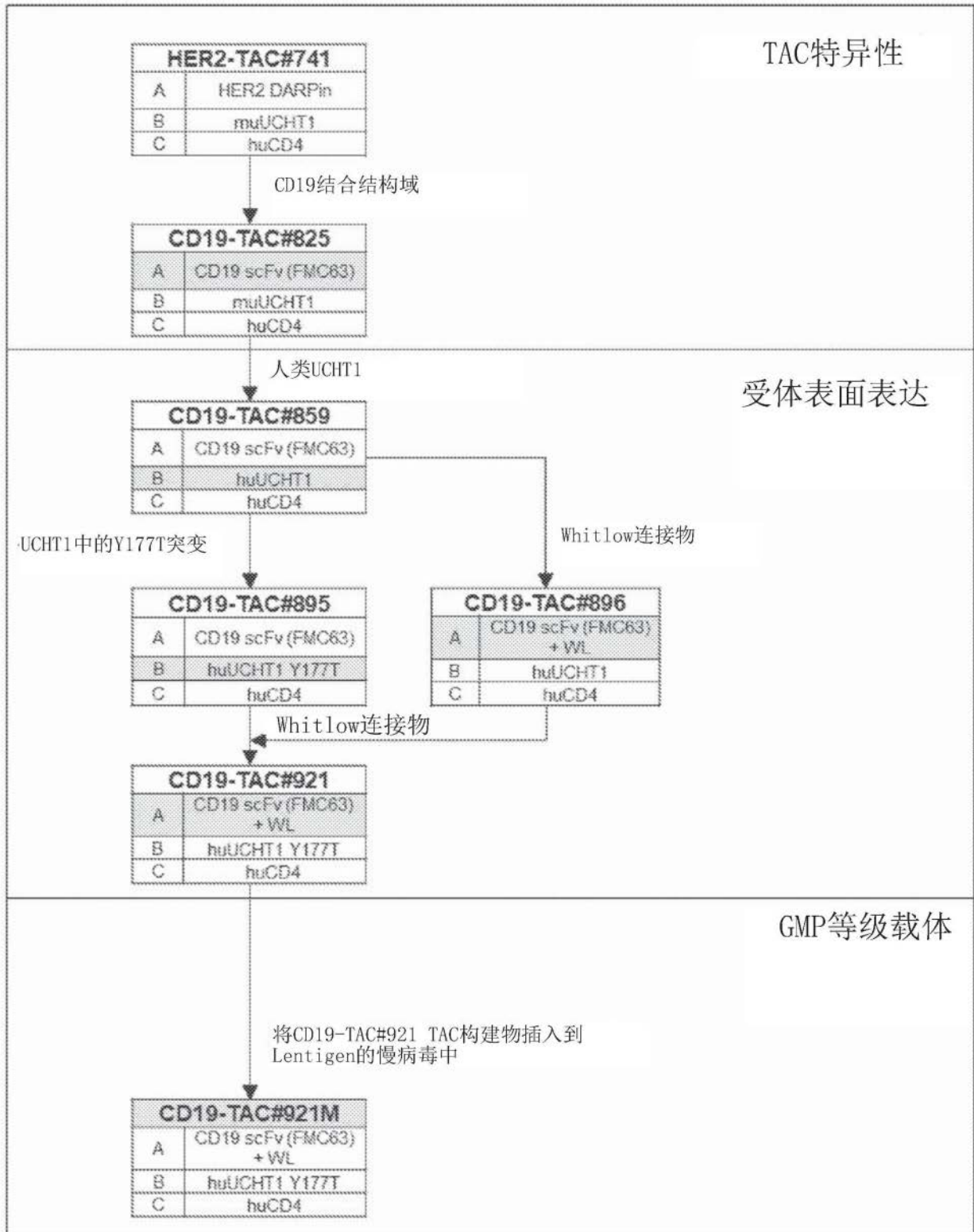


图16

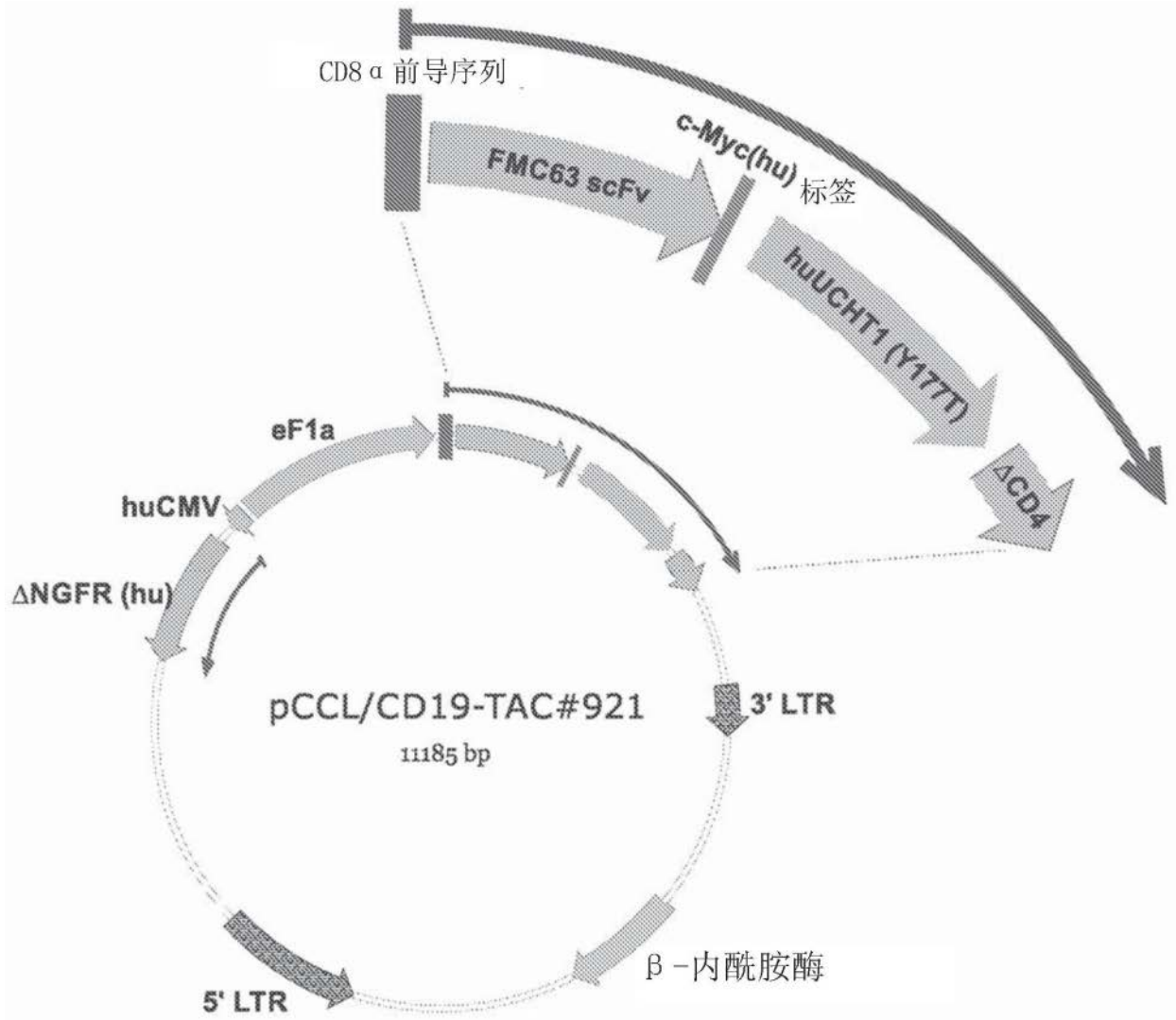


图17

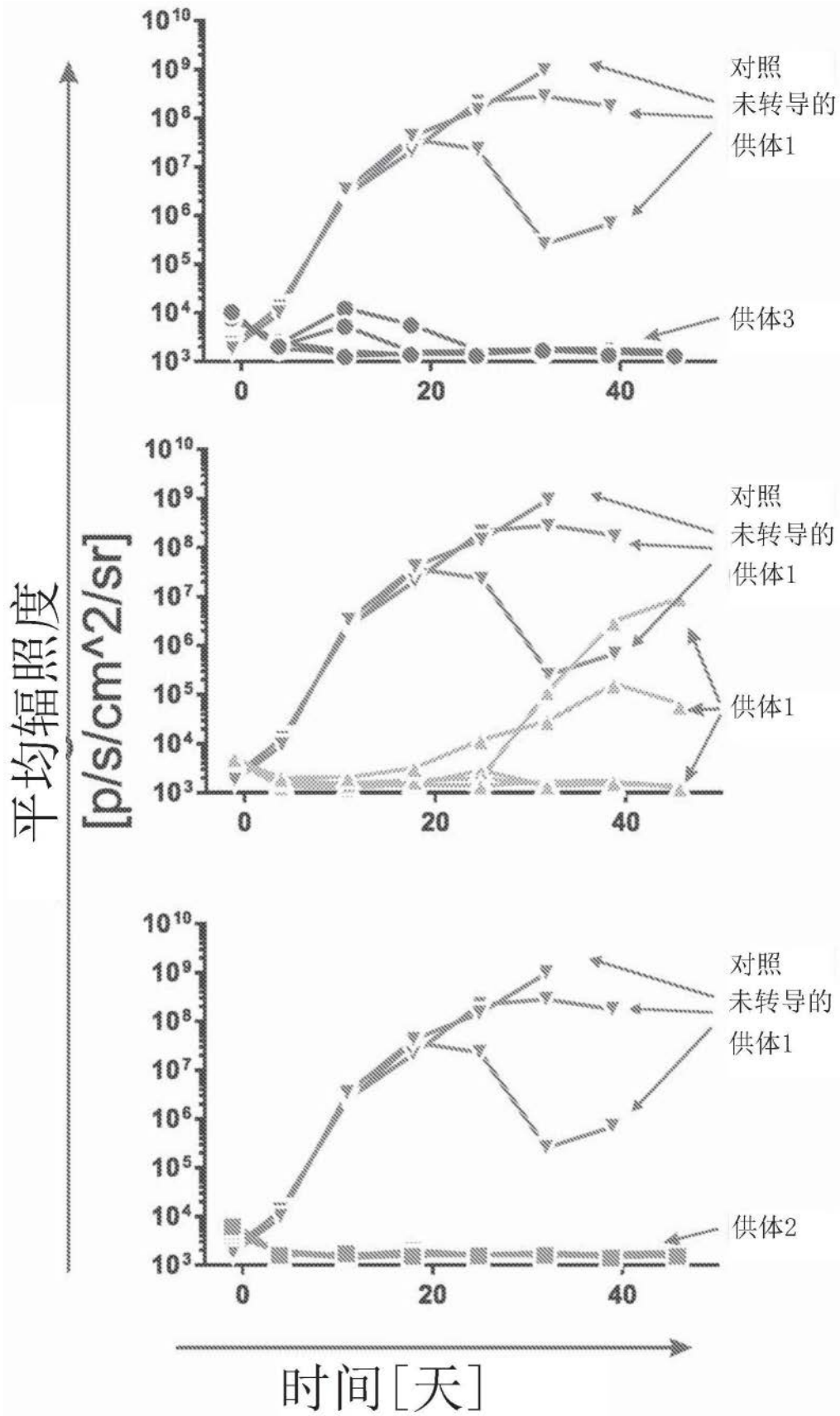


图18

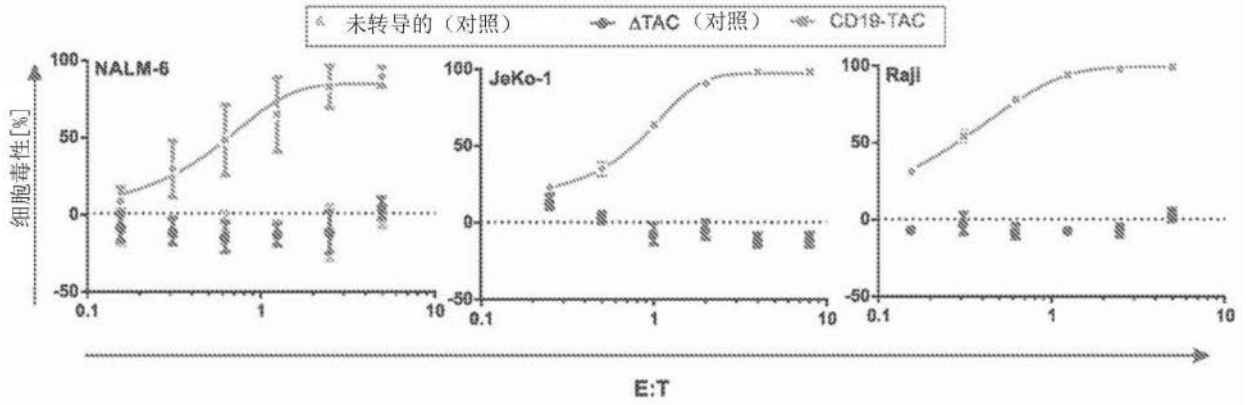


图19A

图19B

图19C

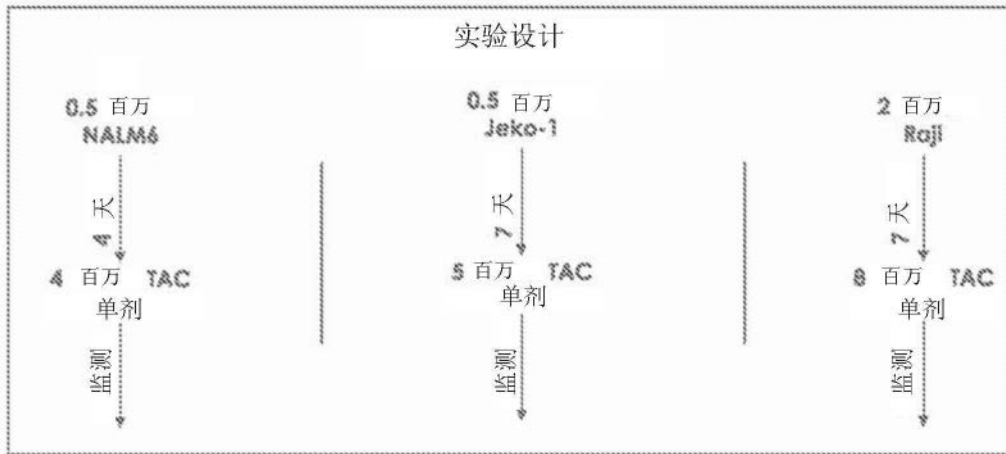


图19D

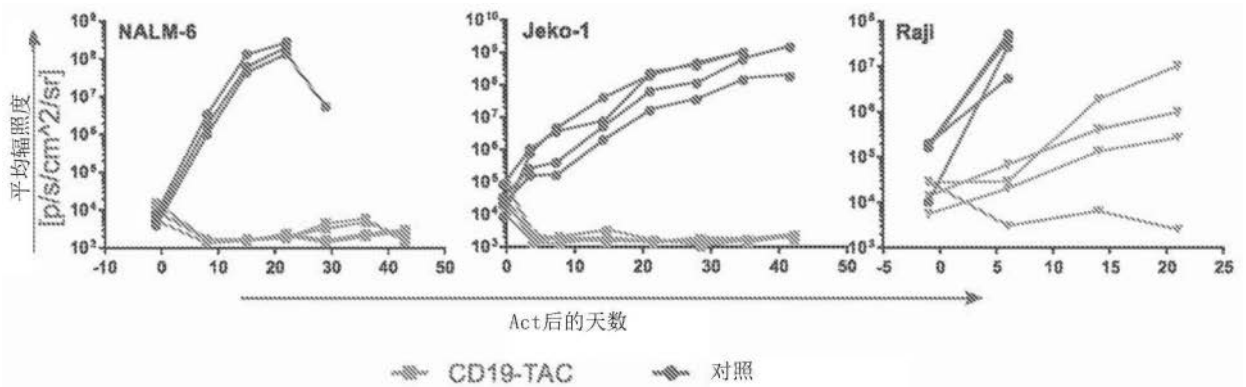


图19E

图19F

图19G

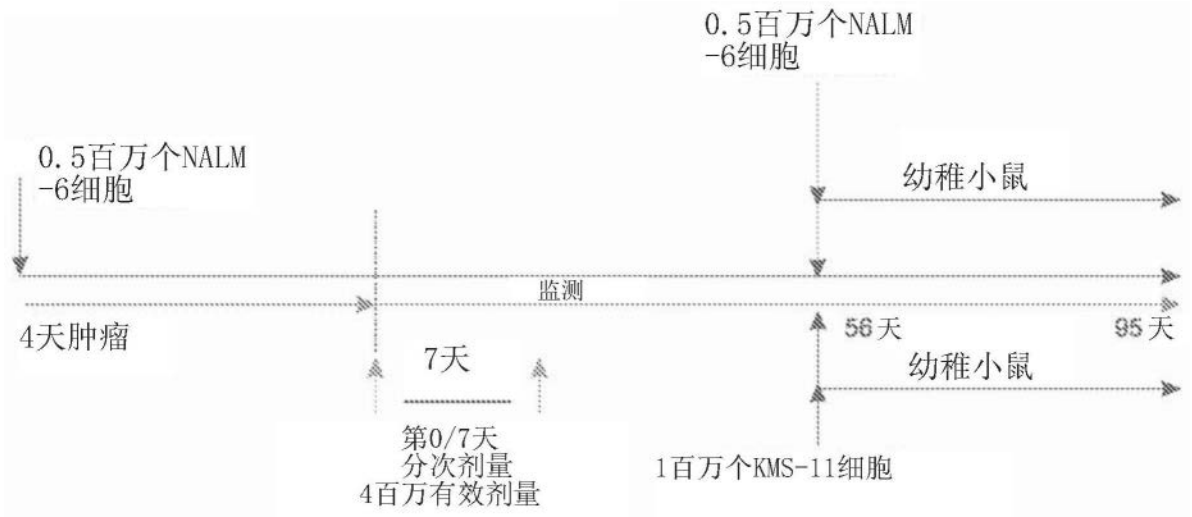


图20A

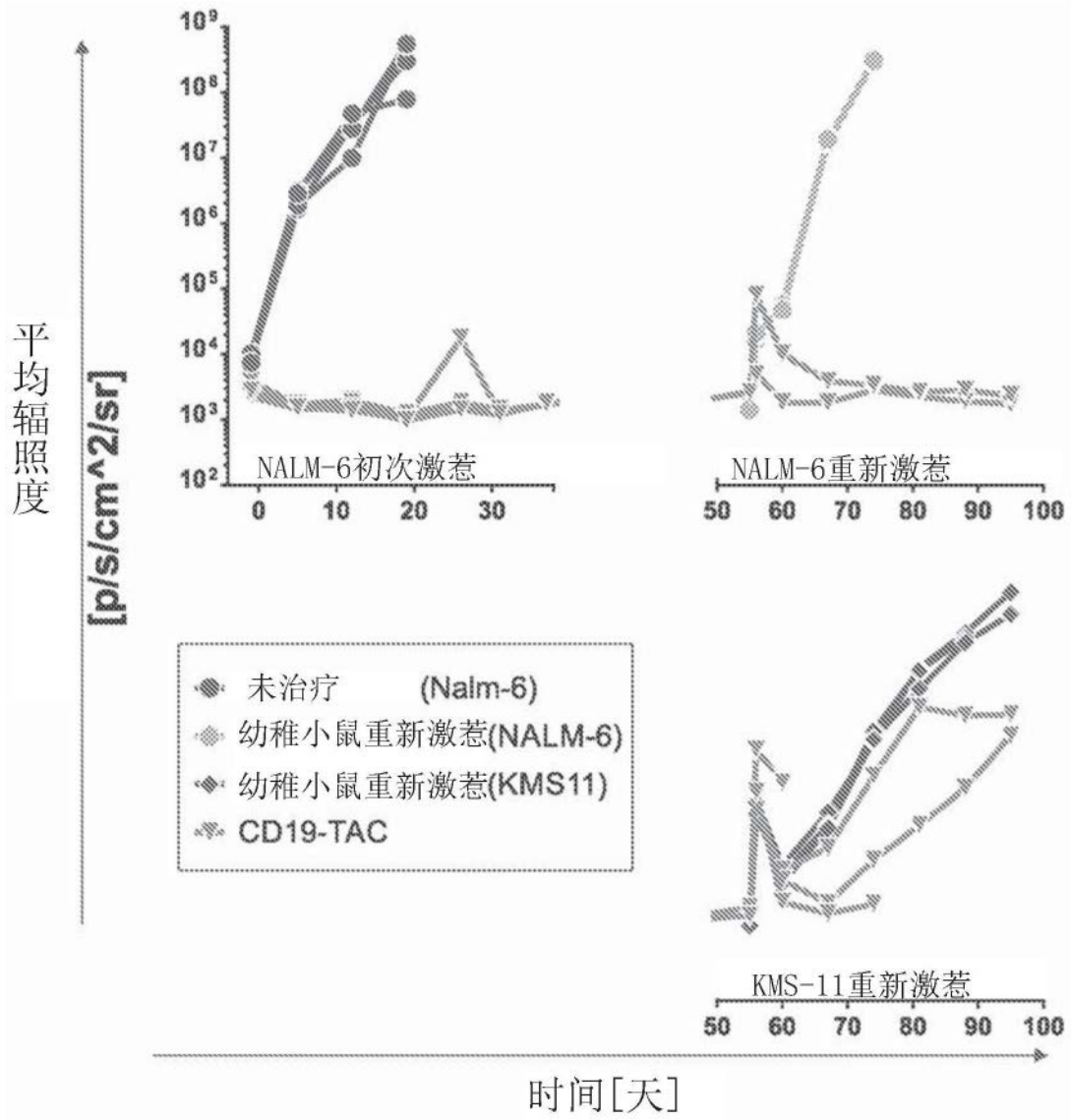


图20B

实验设计

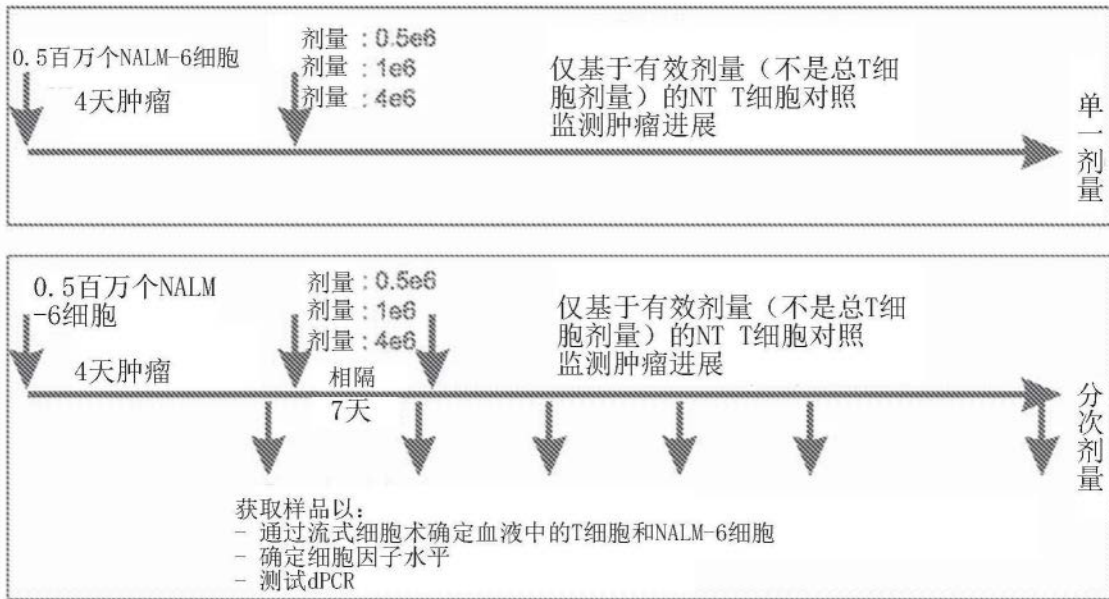


图21A

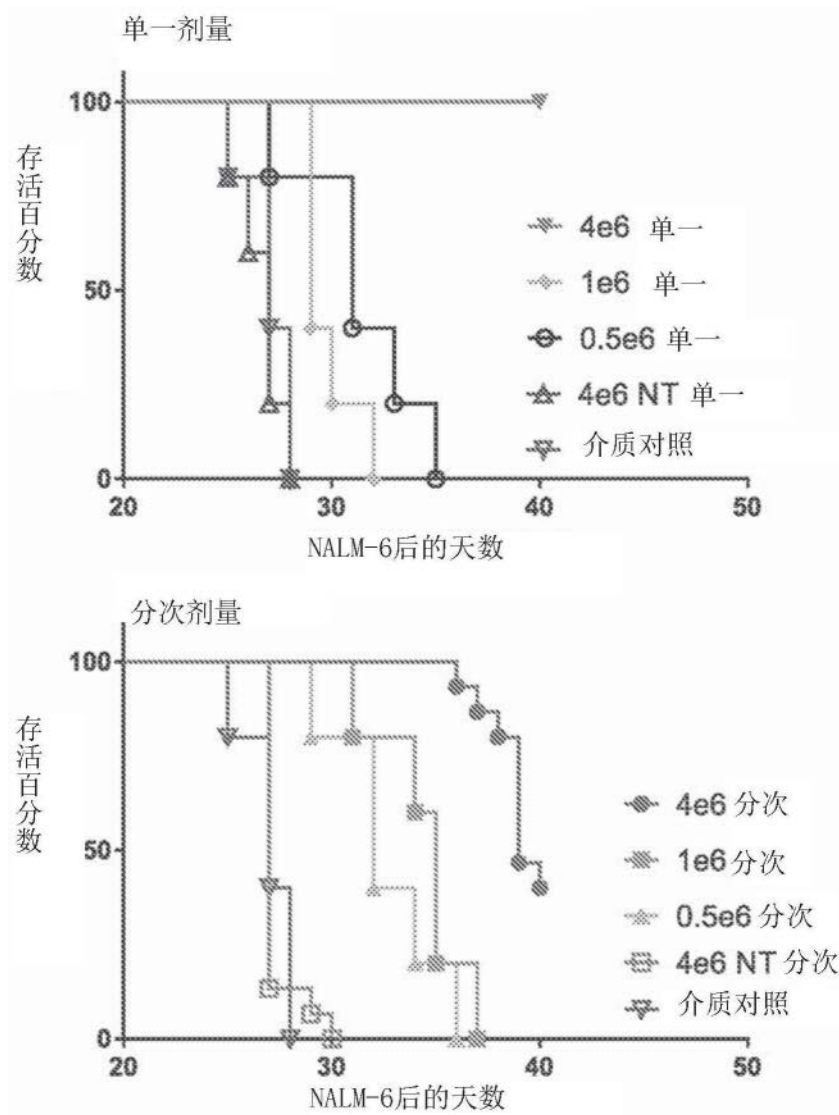


图21B

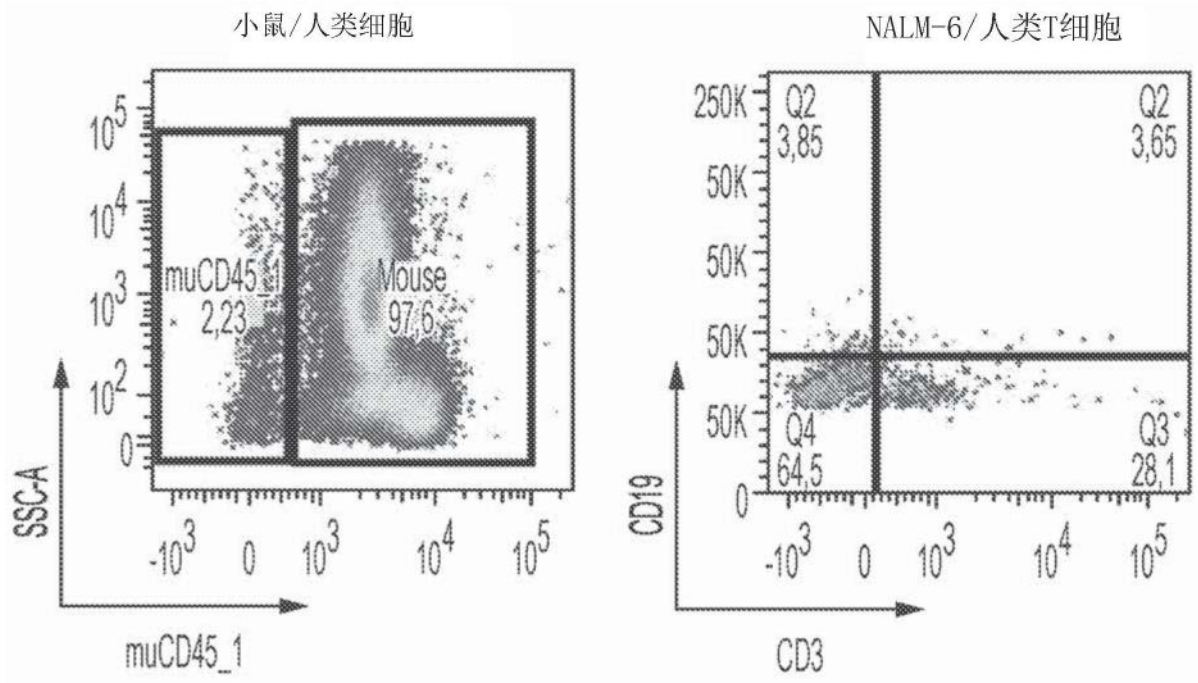


图22A

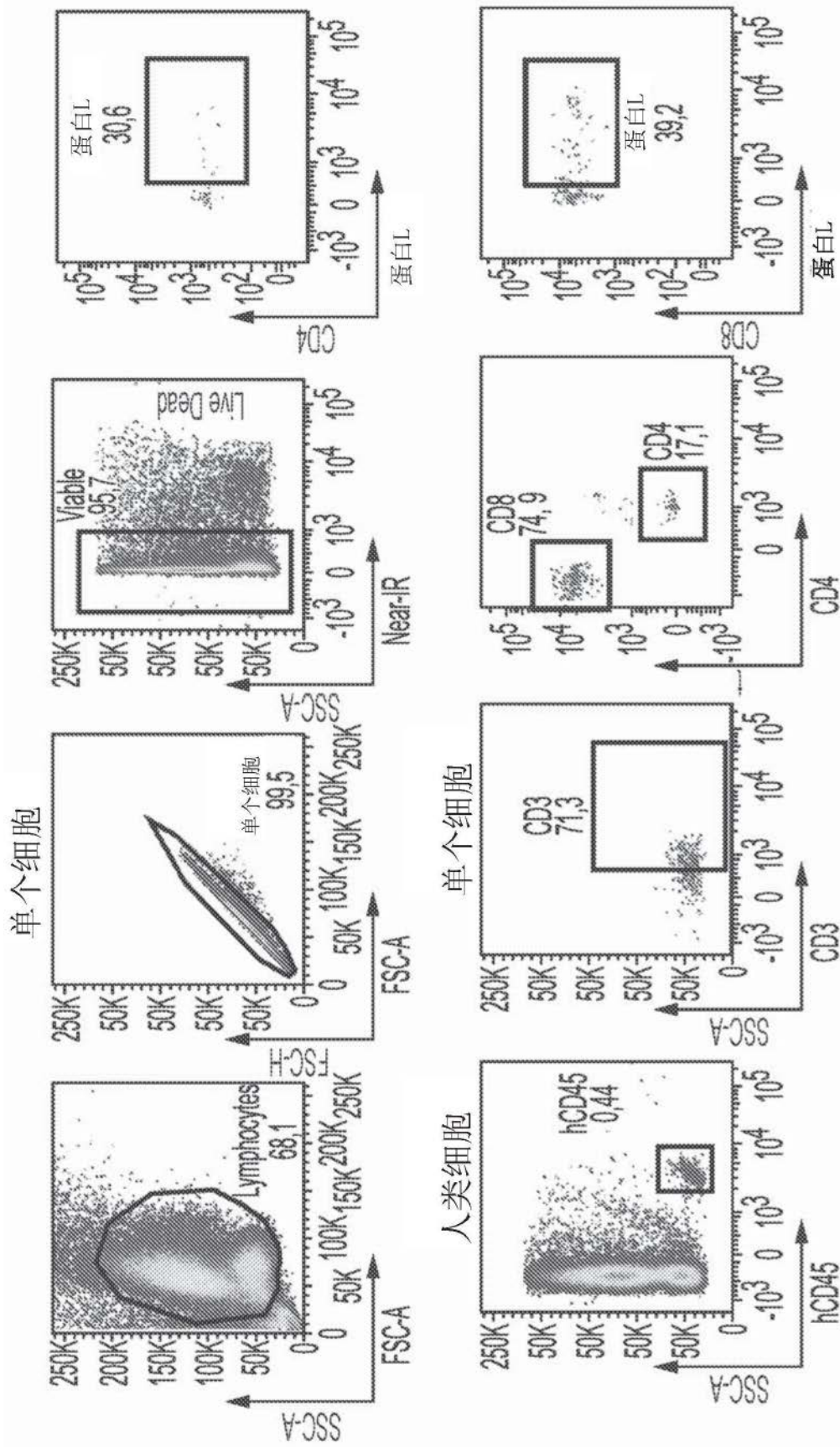


图22A续

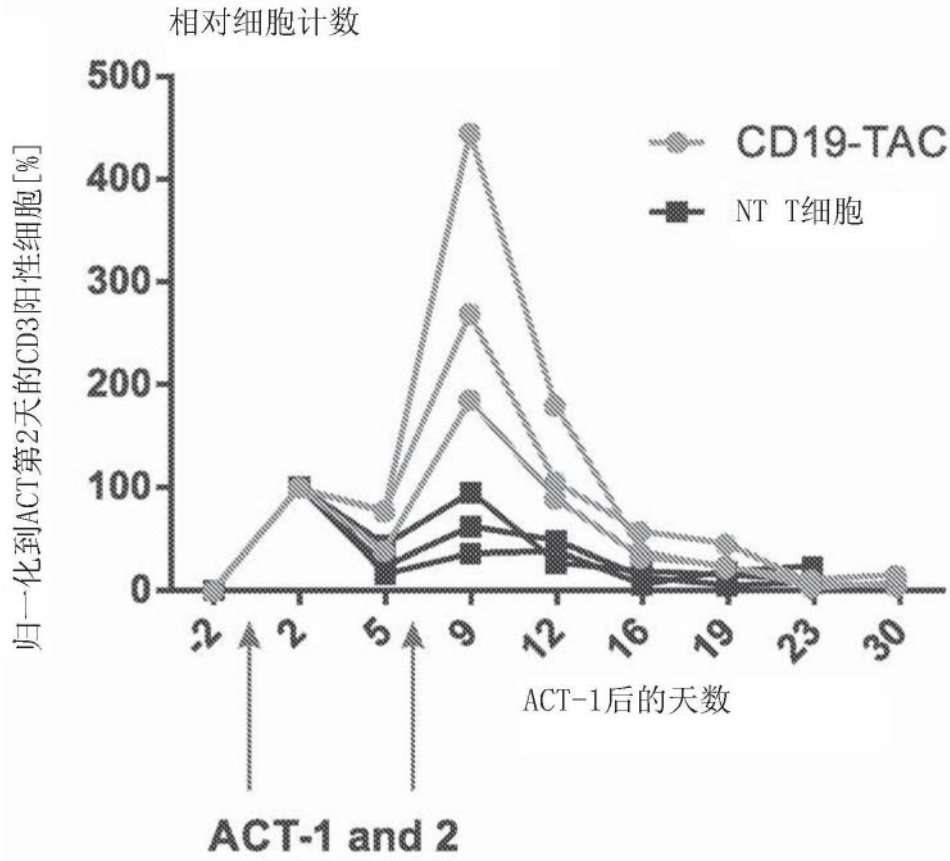


图22B

长期



图23A

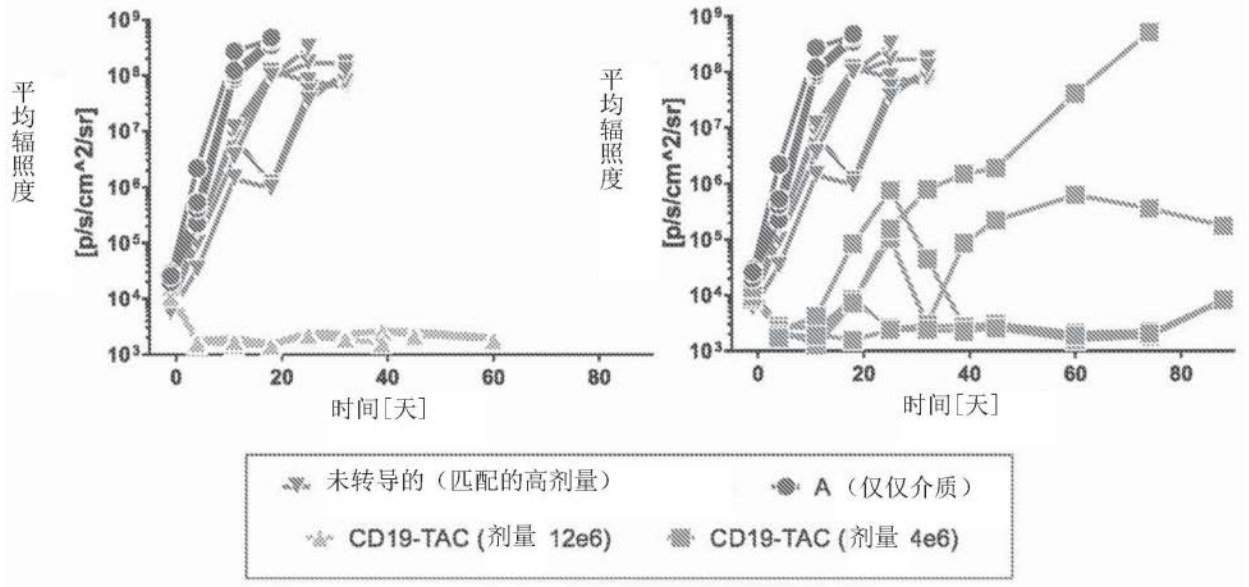


图23B

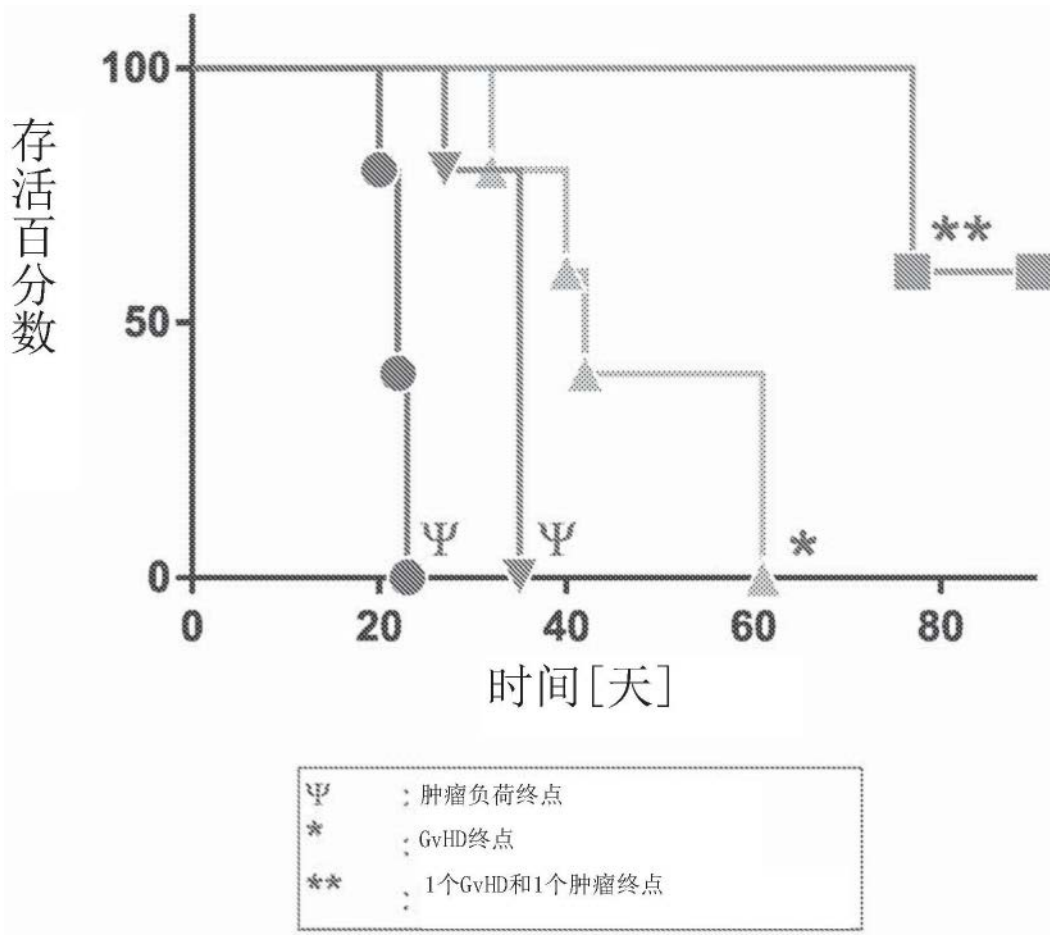


图23C

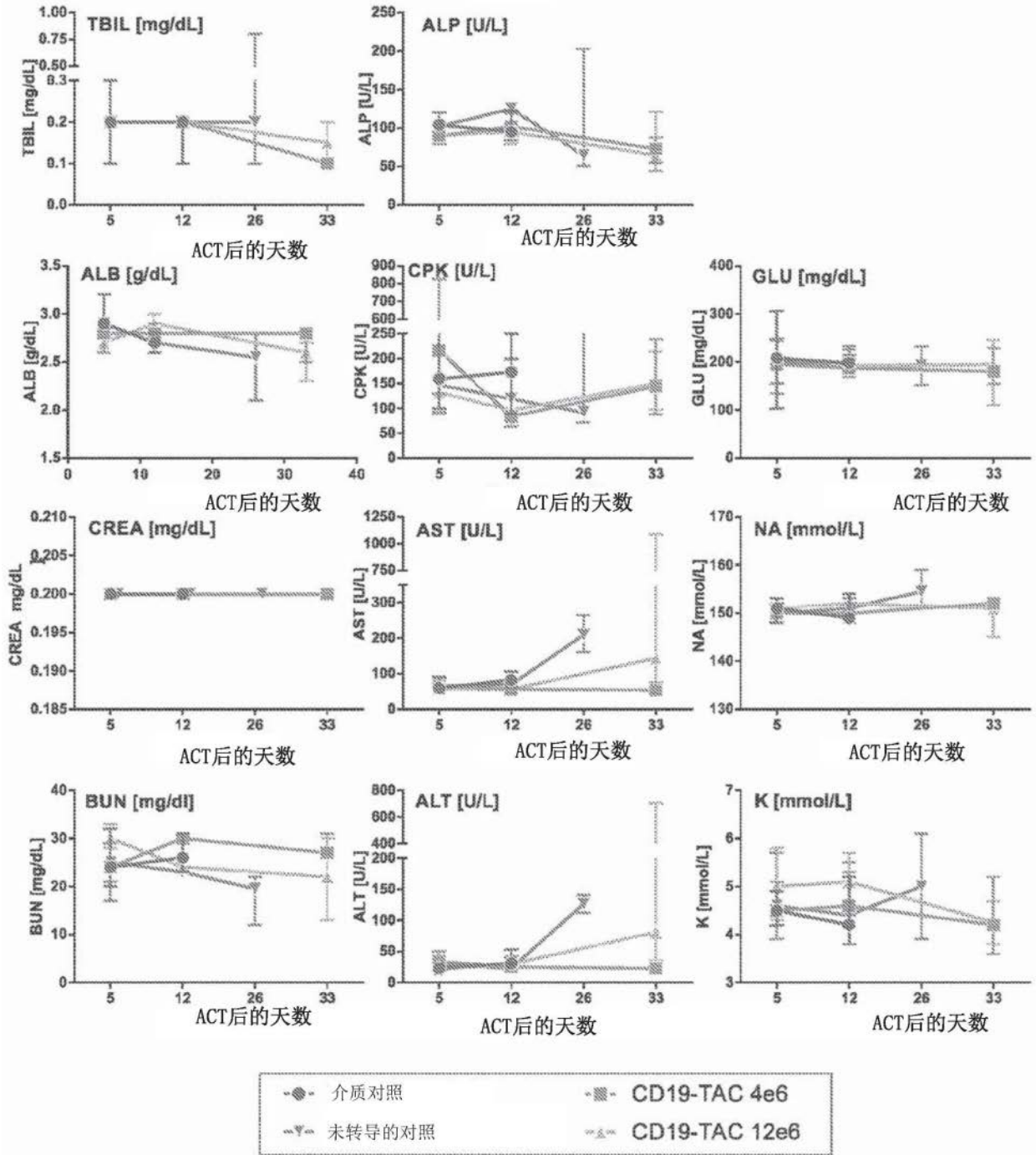


图24

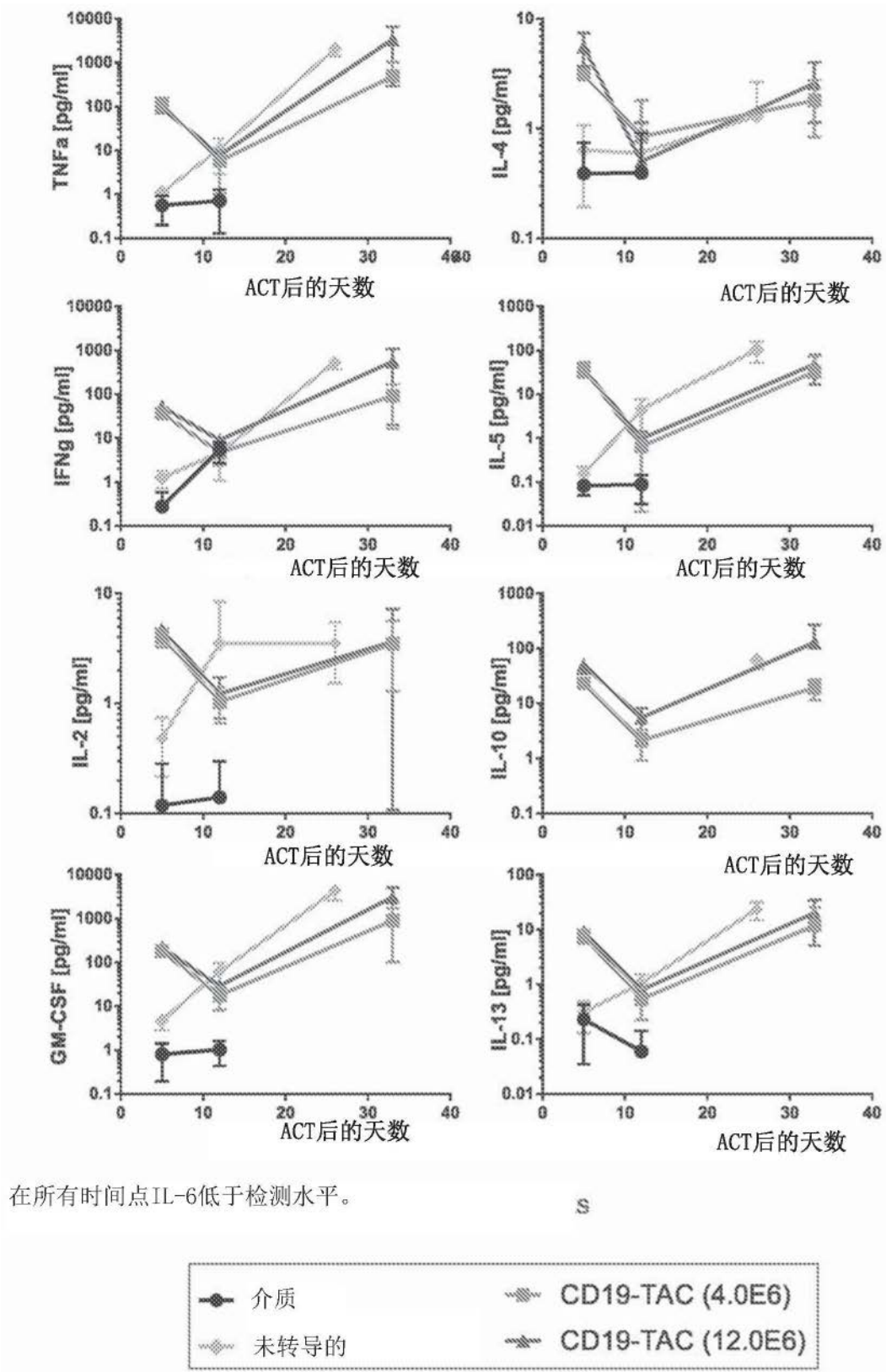


图25

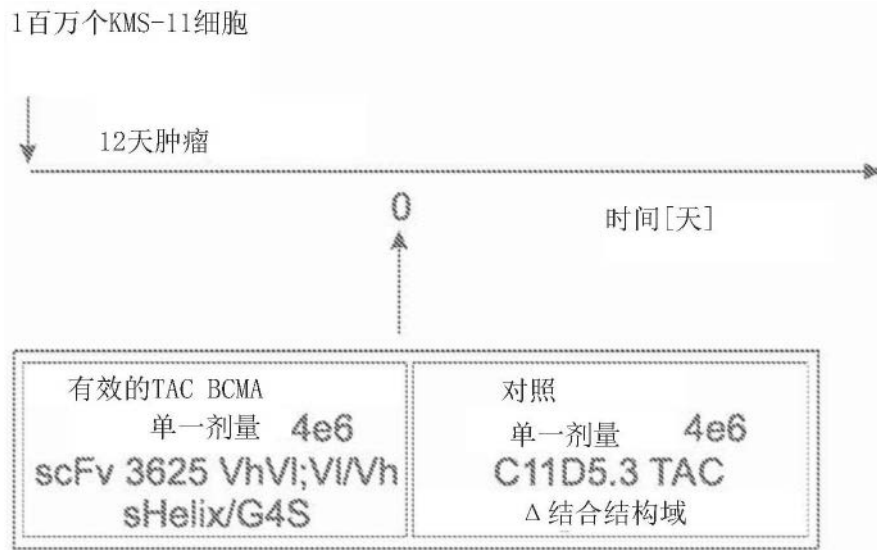


图26A

ID	连接物	单链
872	G4S	-----
888	G4S	C11D5.3
1001	G4S	3625 H-L
1002	Short Helix	3625 L-H
1042	Short Helix	3625 H-L
1043	G4S	3625 L-H

图26B

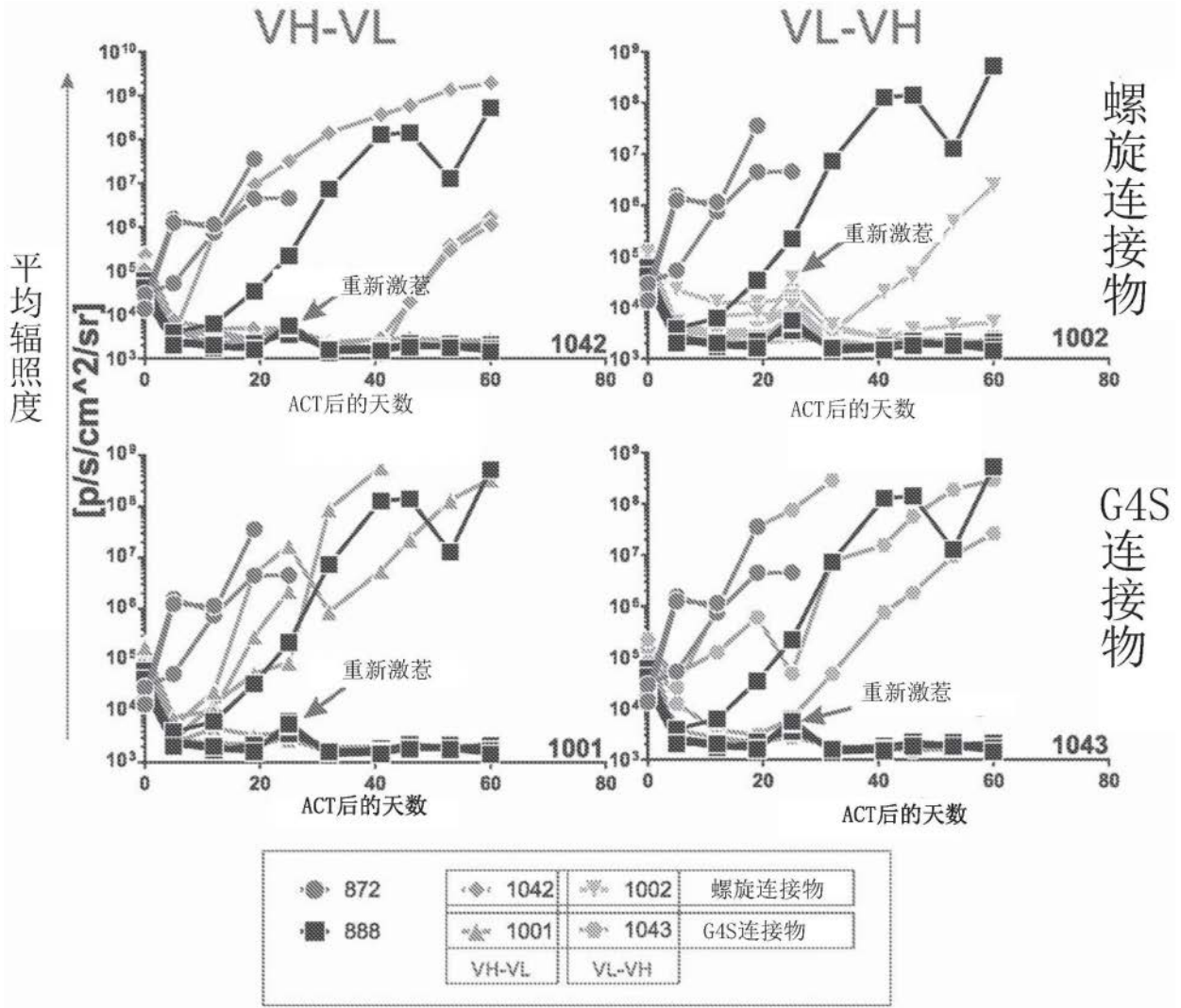


图26C

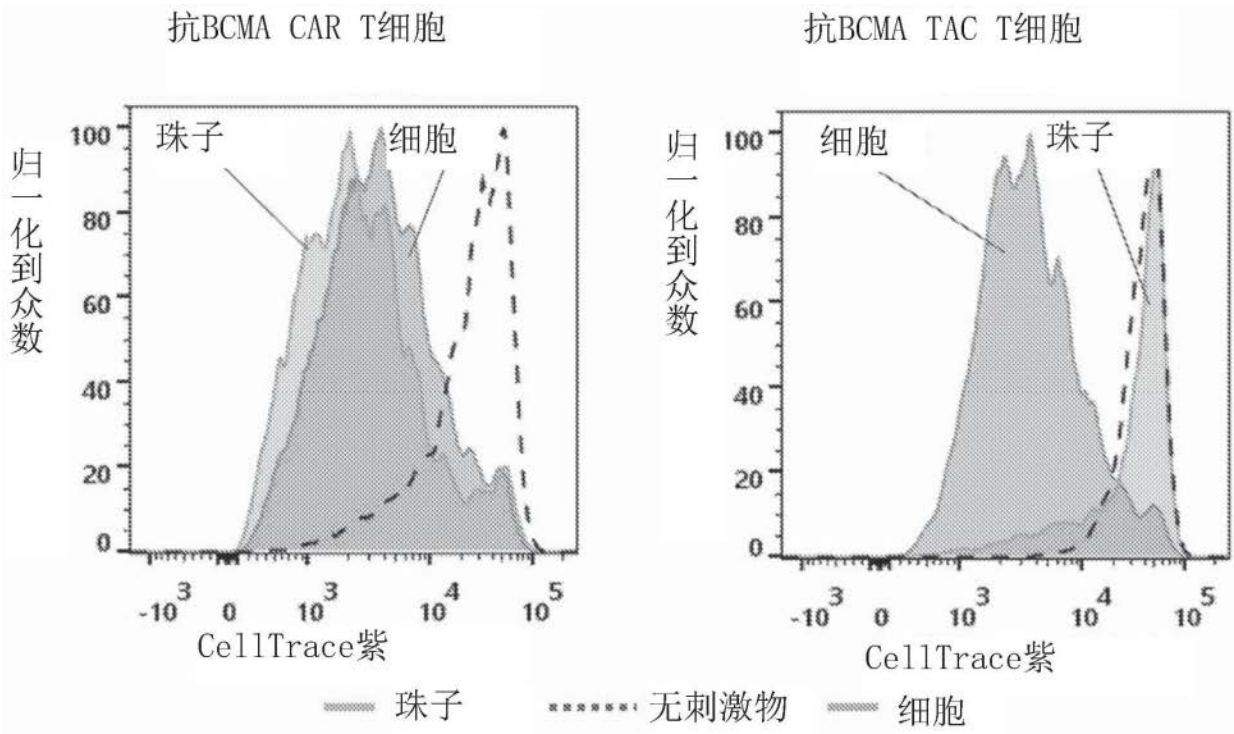


图27

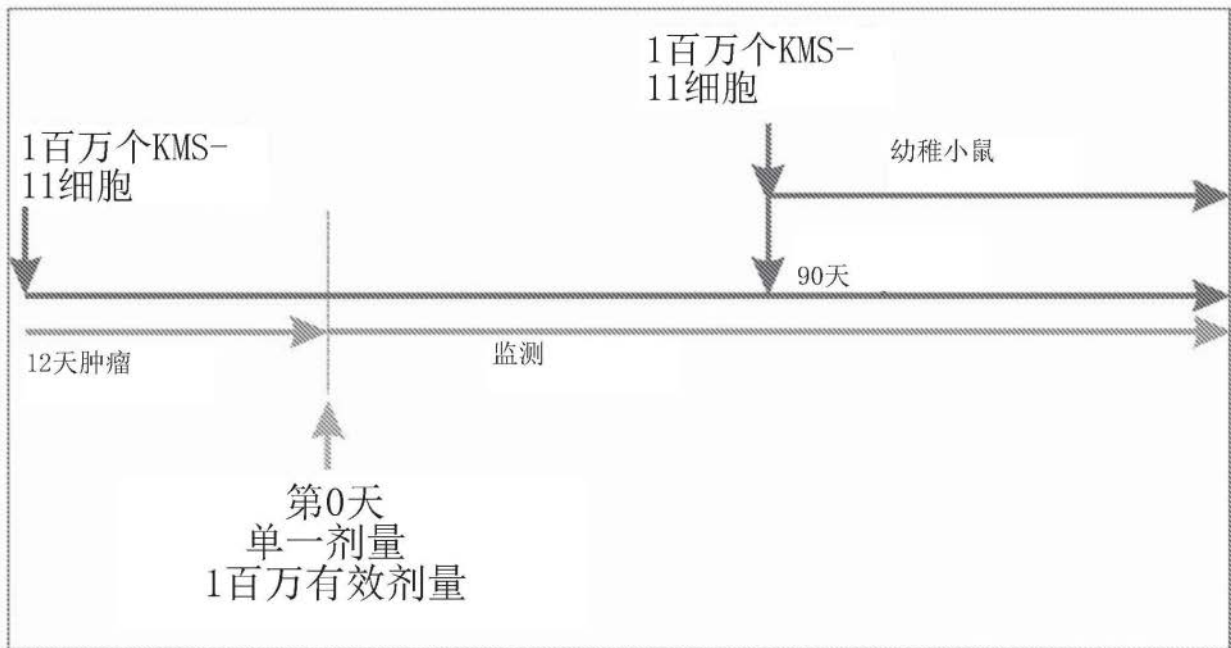


图28A

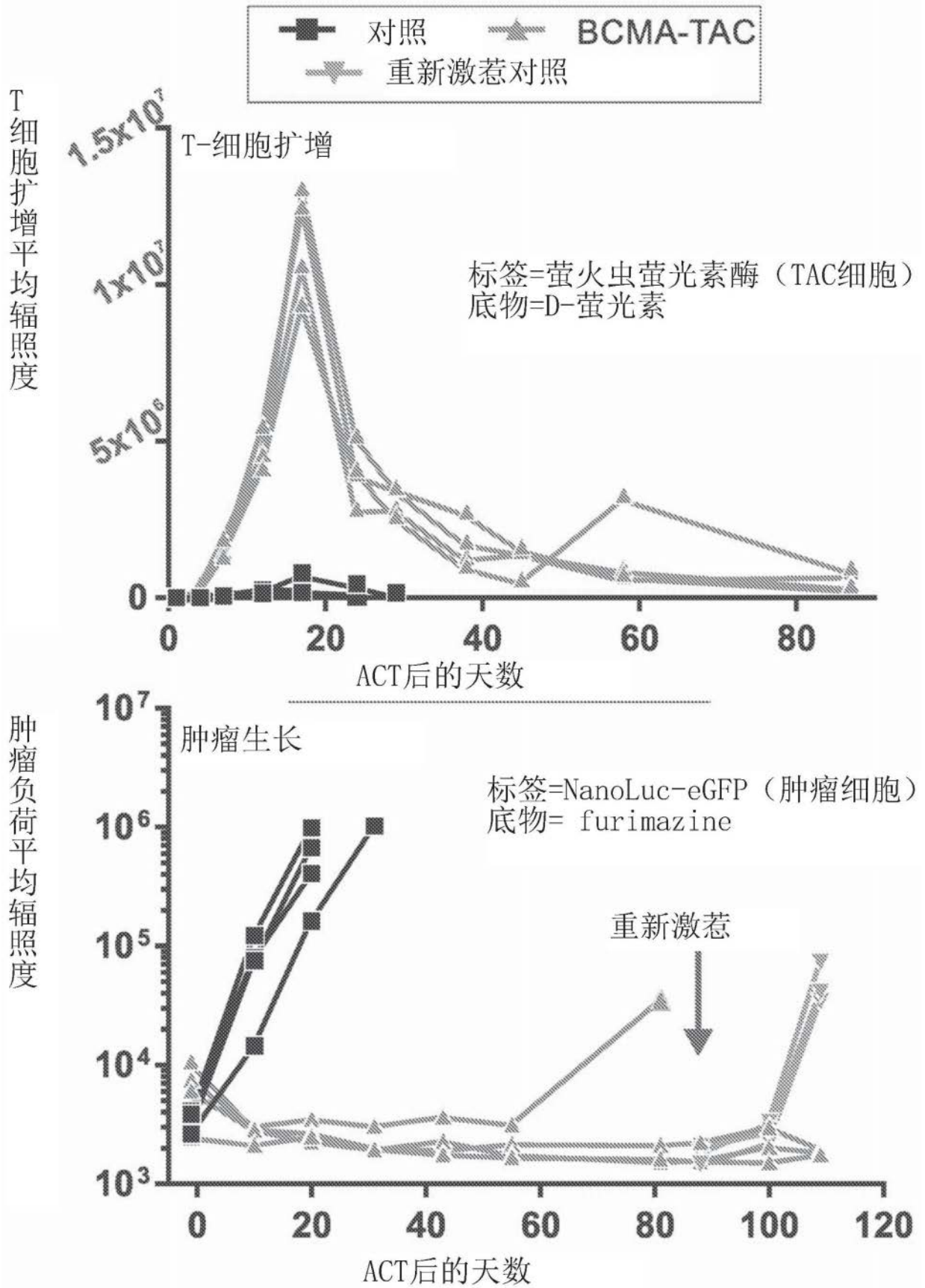


图28B

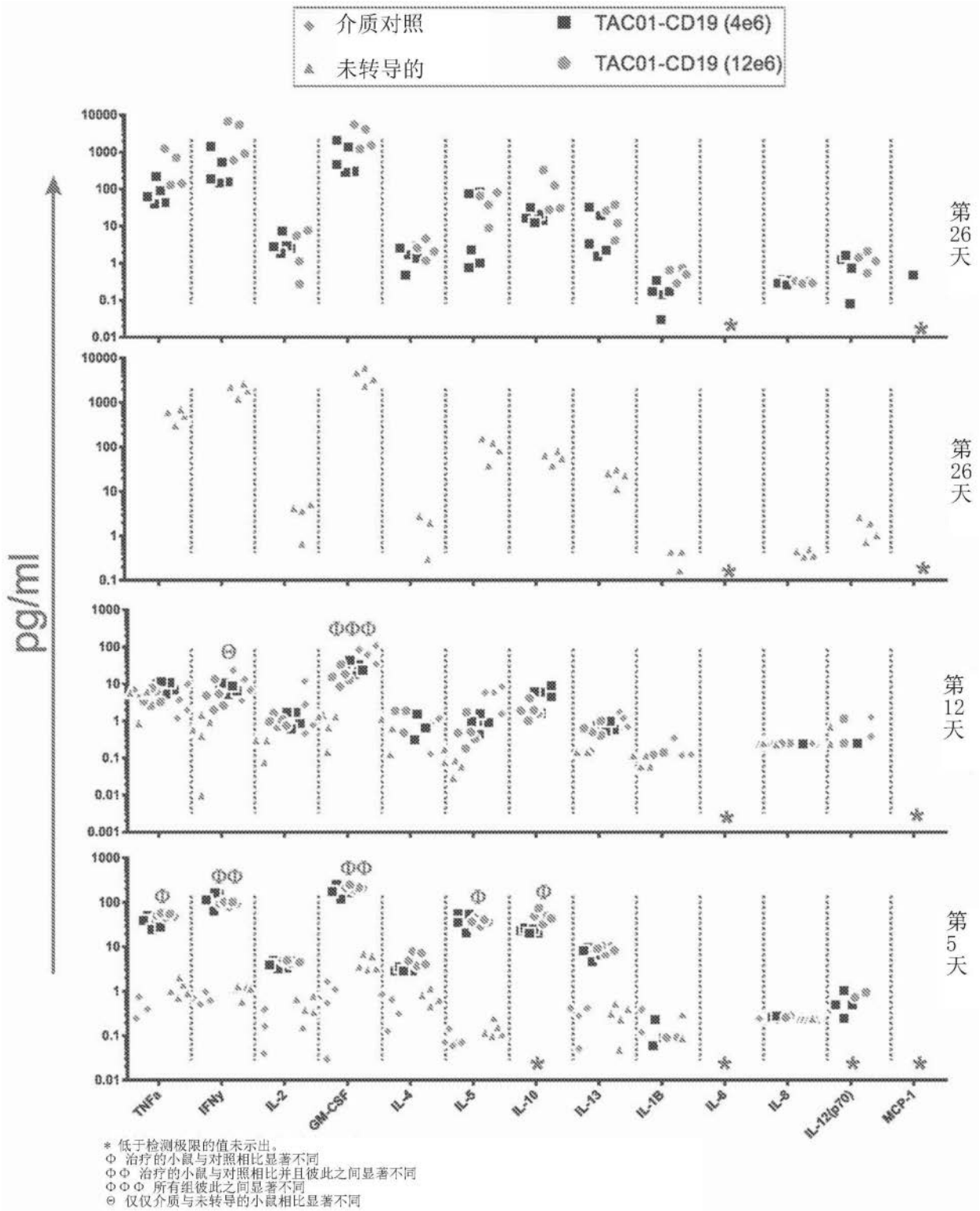


图29

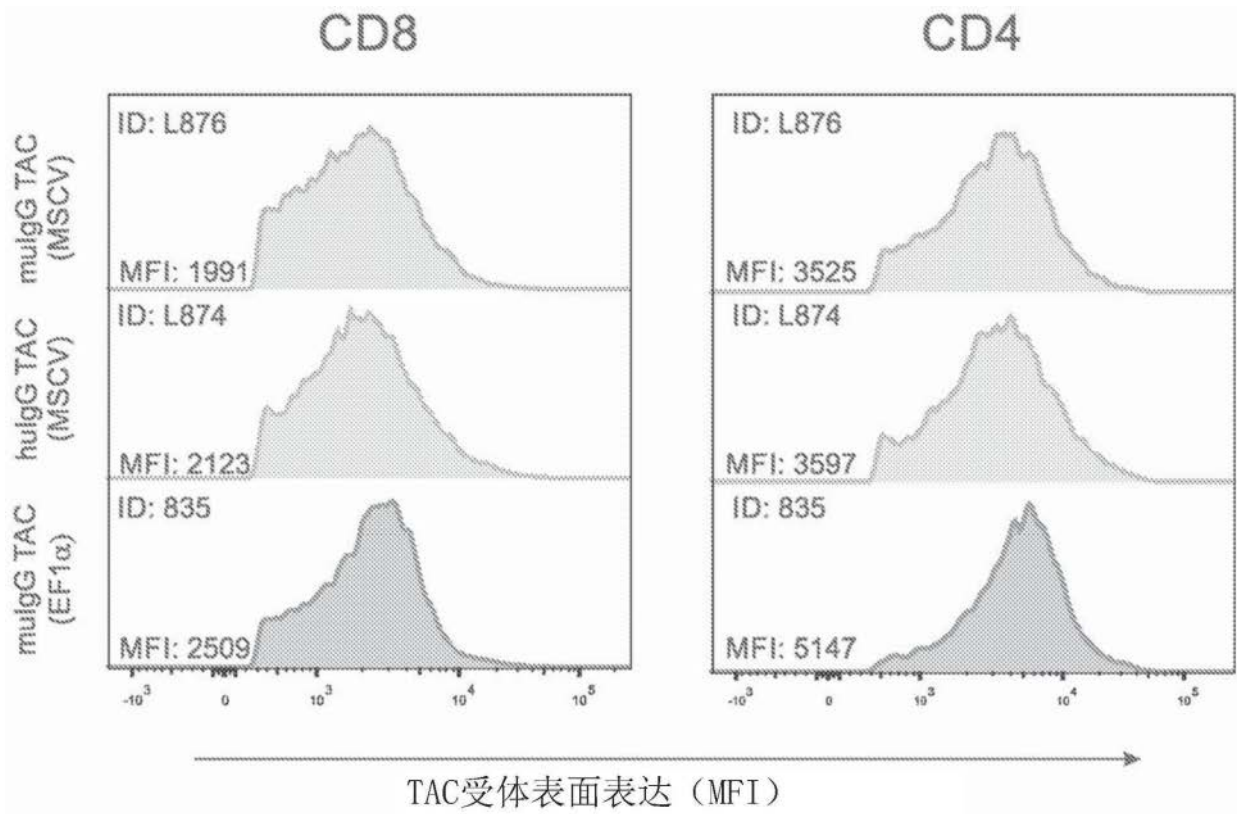


图30

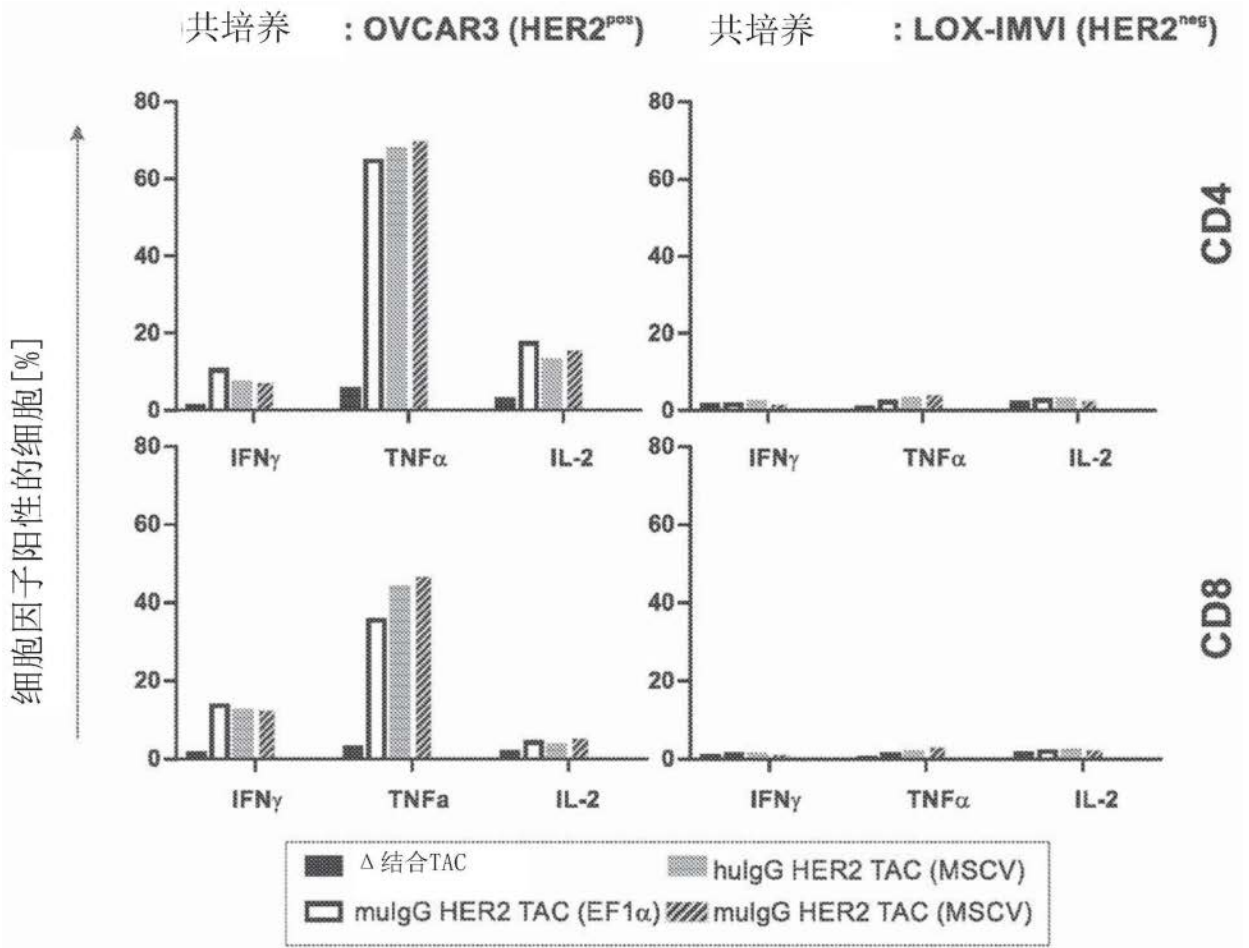


图31

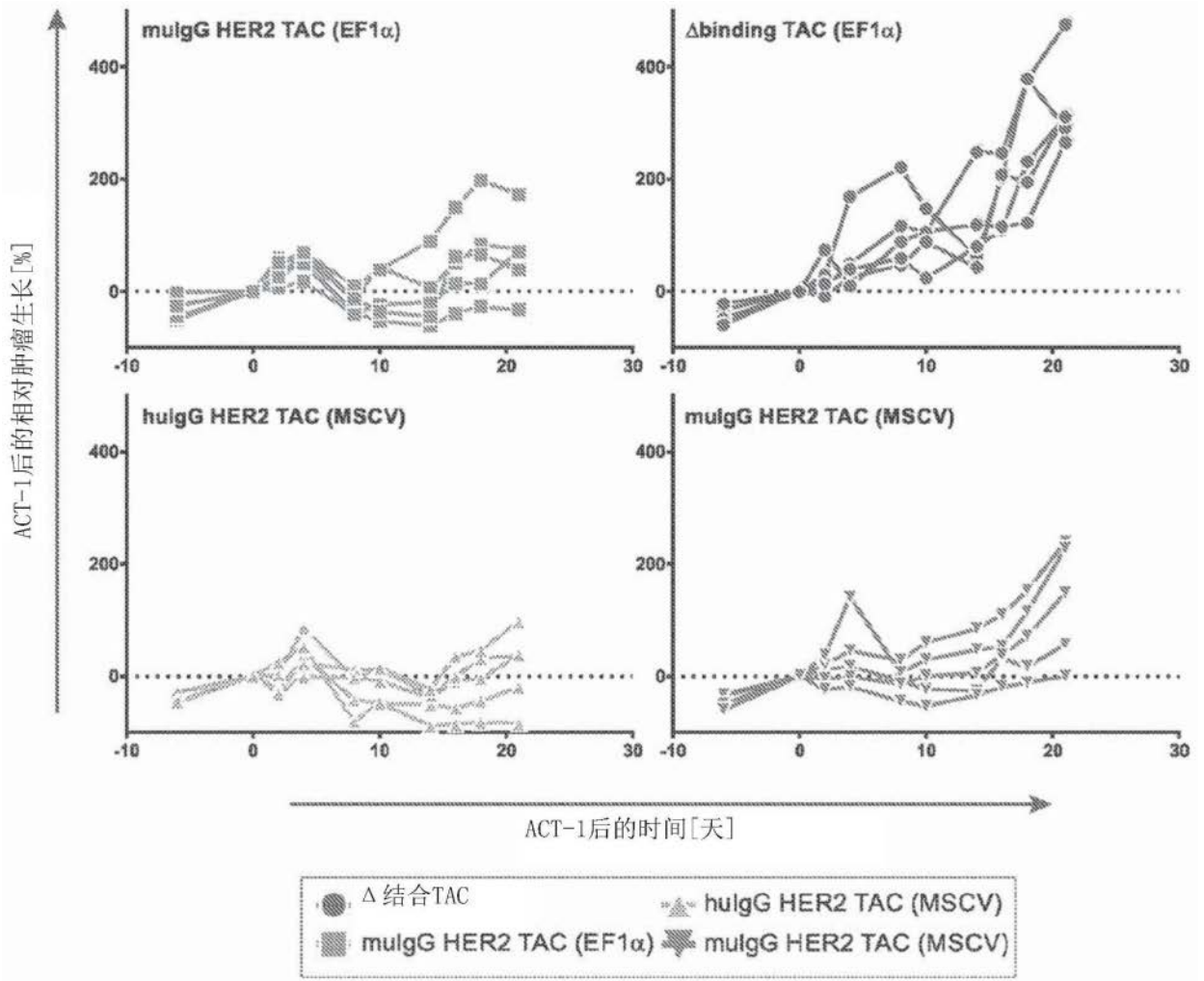


图32