



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111315768 A

(43)申请公布日 2020.06.19

(21)申请号 201880071636.1

鲁道夫·J·查帕罗

(22)申请日 2018.09.06

约翰·F·罗斯 罗志鸣

(30)优先权数据

62/555,559 2017.09.07 US

62/609,082 2017.12.21 US

62/615,402 2018.01.09 US

(74)专利代理机构 北京东方亿思知识产权代理
有限责任公司 11258

代理人 赵萌

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2020.05.06

(51)Int.Cl.

C07K 14/74(2006.01)

A61K 48/00(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2018/049803 2018.09.06

(87)PCT国际申请的公布数据

W02019/051127 EN 2019.03.14

(71)申请人 库尔生物制药有限公司
地址 美国马萨诸塞州

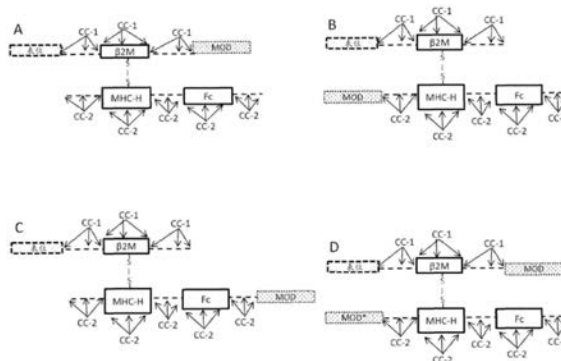
权利要求书3页 说明书146页
序列表102页 附图23页

(54)发明名称

具有缀合位点的T细胞调节性多聚体多肽及其使用方法

(57)摘要

本公开提供T细胞调节性多聚体多肽(“T细胞-MMP”),所述T细胞调节性多聚体多肽包含可选择以便对同源共免疫调节多肽(“Co-MOD”)和用于共价附接可充当表位的分子,诸如表位肽的位置表现出降低的结合亲和力的免疫调节多肽(“MOD”)。一旦附接所述表位分子,所得T细胞-MMP-表位缀合物就可用于通过以表位选择性/特异性方式向所述T细胞递送免疫调节肽,诸如对IL-2R表现出降低的结合亲和力的IL-2或IL-2变体来调节T细胞的活性,并且因此用于调节个体的免疫应答。



1. 一种T细胞调节性多聚体多肽(T细胞-MMP), 所述T细胞调节性多聚体多肽包含:
 - a) 第一多肽, 所述第一多肽包含,
 - i) 具有N-末端和C-末端的第一主要组织相容性复合物(MHC)多肽;
 - b) 第二多肽, 所述第二多肽从N-末端至C-末端依次包含,
 - i) 第二MHC多肽; 以及
 - ii) 任选的免疫球蛋白(Ig)Fc多肽或非Ig多肽支架;
 - c) 附接至所述第一多肽或处于所述第一多肽内的一个或多个第一多肽化学缀合位点和/或附接至所述第二多肽或处于所述第二多肽内的一个或多个第二多肽化学缀合位点; 以及
 - d) 一个或多个免疫调节多肽(MOD), 其中所述一个或多个MOD中的至少一个
 - A) 处于所述第一多肽的C-末端,
 - B) 处于所述第二多肽的N-末端,
 - C) 处于所述第二多肽的C-末端, 或
 - D) 处于所述第一多肽的C-末端且处于所述第二多肽的N-末端;其中所述一个或多个MOD中的每一个为独立选择的野生型或变体MOD。
2. 如权利要求1所述的T细胞-MMP, 其中所述第一MHC多肽和所述第二MHC多肽为I类MHC多肽, 并且所述第一MHC多肽包含:

具有N-末端和C-末端而在其N-末端和C-末端上无接头的 β -2-微球蛋白(“ β 2M”)多肽, 在其N-末端上携带接头的 β 2M多肽, 在其C-末端上携带接头的 β 2M多肽, 或在其N-末端和C-末端上携带接头的 β 2M多肽。
3. 如权利要求2所述的T细胞-MMP, 其中所述第二多肽包含:

在其N-末端和C-末端上无接头的第二MHC多肽(包含例如I类MHC重链(“MHC-H”)多肽); 在其N-末端上携带接头的第二MHC多肽; 在其C-末端上携带接头的第二MHC多肽; 或在其N-末端和C-末端上携带接头的第二MHC多肽。
4. 如权利要求3所述的T细胞-MMP, 其中所述第二多肽还包含免疫球蛋白(Ig)Fc多肽或非Ig多肽支架。
5. 如权利要求3所述的T细胞-MMP, 其中所述T细胞-MMP包含一个或多个独立选择的野生型和/或变体MOD多肽。
6. 如权利要求3所述的T细胞-MMP, 其中所述T细胞-MMP包含一个或多个独立选择的野生型和/或变体MOD多肽; 其中所述一个或多个变体MOD多肽中的至少一个对Co-MOD(其Co-MOD表现出与相应野生型MOD对所述Co-MOD的亲合力相比有所降低的亲合力; 并且其中当通过生物层干涉测量法(“BLI”)进行测量时, i) 对照T细胞-MMP-表位缀合物(其中所述对照包含野生型MOD)对Co-MOD的结合亲和力与ii) 本公开的包含所述野生型MOD的变体的T细胞-MMP-表位缀合物对所述Co-MOD的结合亲和力的比率为至少1.5:1或处于1.5:1至 10^6 :1的范围内。
7. 如权利要求6所述的T细胞-MMP, 其中所述野生型MOD多肽独立地选自以下组成的组: IL-2、4-1BBL、PD-L1、CD70、CD80、CD86、ICOS-L、OX-40L、FasL、JAG1、TGF β 、ICAM和PD-L2,

并且所述变体MOD多肽为它们的变体。

8. 如权利要求1至7中任一项所述的T细胞-MMP, 其中所述第一化学缀合位点和所述第二化学缀合位点独立地选自:

- a) 充当酶修饰序列(例如, 硫酸酯酶基序)的肽序列;
- b) 非天然氨基酸和/或硒代半胱氨酸;
- c) 经工程改造的氨基酸化学缀合位点;
- d) 碳水化合物或寡糖部分; 和/或
- e) IgG核苷酸结合位点。

9. 如权利要求8所述的T细胞-MMP, 其中所述一个或多个第一化学缀合位点和第二化学缀合位点中的至少一个包含酶修饰序列。

10. 如权利要求9所述的T细胞-MMP, 其中所述一个或多个第一化学缀合位点或第二化学缀合位点中的至少一个为硫酸酯酶基序。

11. 如权利要求10所述的T细胞-MMP, 其中所述硫酸酯酶基序包含序列X1Z1X2Z2X3Z3、X1(C/S)X2(P/A)X3Z3、X1CX2PX3Z3或CX2PX3R; 其中

- Z1为半胱氨酸或丝氨酸;
- Z2为脯氨酸或丙氨酸残基;
- Z3为碱性氨基酸;

X1存在或不存在, 并且当存在时可为任何氨基酸, 但通常为脂族氨基酸、含硫氨基酸或极性不带电氨基酸, 限制条件为当所述硫酸酯酶基序处于所述多肽的N-末端时, X1存在; 并且

X2和X3可独立地为任何氨基酸, 但通常为脂族氨基酸、极性不带电氨基酸或含硫氨基酸。

12. 如权利要求11所述的T细胞-MMP, 所述T细胞-MMP包含fGly氨基酸残基作为所述第一化学缀合位点或所述第二化学缀合位点。

13. 一种T细胞-MMP-表位缀合物, 所述T细胞-MMP-表位缀合物包含: 如权利要求8所述的T细胞-MMP, 并且还包含表位; 其中所述表位在所述第一多肽化学缀合位点或在第二多肽化学缀合位点直接地或经由间隔区或接头间接地缀合至所述第一多肽或所述第二多肽。

14. 如权利要求13所述的T细胞-MMP-表位缀合物, 其中所述表位经由间隔区或接头缀合至所述第一多肽或所述第二多肽。

15. 如权利要求13所述的T细胞-MMP-表位缀合物, 其中所述表位为癌症表位、病毒表位或自身表位。

16. 如权利要求15所述的T细胞-MMP-表位缀合物, 其中所述表位为选自HPV表位、CMV表位或HBV表位的病毒表位。

17. 一种组合物, 所述组合物包含:

- a) 如权利要求15所述的T细胞-MMP-表位缀合物; 以及
- b) 药学上可接受的赋形剂。

18. 如权利要求15所述的T细胞-MMP-表位缀合物的用途, 其用于制造用于向有需要的个体施用有效量的所述T细胞-MMP-表位缀合物的药物。

19. 如权利要求15所述的T细胞-MMP-表位缀合物的用途, 其用于制造用于在体外以表

位选择性或表位选择性/特异性方式向靶T细胞或在体内向个体递送免疫调节多肽 (MOD) 的方法中的药物,所述方法包括:

在体外使所述药物与所述T细胞接触,或

向所述个体施用所述药物;

其中所述靶T细胞对所述T细胞-MMP-表位缀合物中存在的所述表位具有特异性。

具有缀合位点的T细胞调节性多聚体多肽及其使用方法

[0001] 本申请要求2017年9月7日提交的美国临时专利申请号62/555,559、2017年12月21日申请的美国临时专利申请号62/609,082和2018年1月9日申请的美国临时专利申请号62/615,402的权益。

[0002] 本申请含有经由EFS-web以电子方式提交的序列表,所述序列表呈纸质拷贝和计算机可读形式(CRF)并且由名为“123640-8001W000_seqlist.txt”的文件组成,于2018年9月3日创建,大小为196,180字节,并且以引用的方式整体并入本文中。

[0003] 引言

[0004] 适应性免疫应答涉及通过主要组织相容性复合物(MHC;在人中还称为人白细胞抗原(HLA)复合物)接合T细胞表面上存在的T细胞受体(TCR)与抗原呈递细胞(APC)表面上非共价呈递的小肽抗原。这种接合表示免疫系统的靶向机制并且对于T细胞调节(活化或抑制)和效应功能而言为必需的分子相互作用。在表位特异性细胞靶向后,通过接合APC上发现的共刺激蛋白与T细胞上的对应共刺激蛋白来活化所靶向的T细胞。需要两种信号,即表位/TCR结合和APC共刺激蛋白与T细胞共刺激蛋白接合,来驱动T细胞特异性和活化或抑制。TCR对给定表位具有特异性;然而,共刺激蛋白不具有表位特异性,而是通常表达于所有T细胞上或大T细胞亚群上。

发明内容

[0005] 本公开提供T细胞调节性多聚体多肽(“T细胞-MMP”或多个“T细胞-MMP”),在一个实施方案中,所述T细胞调节性多聚体多肽包含MHC受体的一部分和至少一个免疫调节多肽(本文中还称为“MOD多肽”或简称为“MOD”)。所述T细胞-MMP中存在的MOD中的任一个或多个均可野生型或对其细胞(例如T细胞表面)结合配偶体/受体(通称为“Co-MOD”)表现出降低的结合亲和力的变体。所述T细胞-MMP包含至少一个包含靶表位的分子(例如肽或非肽,诸如糖)可共价结合以便呈递至携带T细胞受体的细胞的化学缀合位点。包含用于连接表位的化学缀合位点的T细胞-MMP可用于快速制备可调节对所呈递的表位具有特异性的T细胞的活性的T细胞-MMP-表位缀合物并且因此用于调节个体中涉及那些T细胞的免疫应答。T细胞-MMP和它们的表位缀合物可另外包含用于缀合诸如化学治疗剂的生物活性物质(有效负载)的位点以便与特定靶表位一起共递送。因此,T细胞-MMP-表位缀合物可被视为以表位特异性方式向细胞递送免疫调节肽(例如IL-2、4-1BBL、FasL、TGF β 、CD70、CD80、CD86、OX40L、ICOS-L、ICAM、JAG1或它们的片段,或它们的经改变(突变)的变体)和/或有效负载(例如化学治疗剂)的手段。

[0006] 在本文所描述的实施方案中,T细胞-MMP可包含有助于即使在不存在相关表位肽的情况下还在细胞内运输期间和/或在由表达所述多聚体多肽的细胞分泌后使T细胞-MMP稳定的修饰。在本文所描述的实施方案中,T细胞-MMP可包括连接MHC-I α ₁螺旋的羧基端与MHC-I α ₂₋₁螺旋的氨基端的修饰。此类修饰包括引起连接那些螺旋的所指示区域的二硫键联的形成的半胱氨酸残基的插入。举例而言,相对于形成所述螺旋的序列,在MHC-I的氨基酸84(Y84C取代)和139(A139C取代)或等效位置处插入半胱氨酸残基可形成有助于使T细胞-

MMP稳定的二硫键联。参见例如Z.Hein等人(2014), Journal of Cell Science 127,2885-2897。

附图说明

[0007] 图1通过本公开的携带经由化学偶联(以“CC”表示)至 β -2微球蛋白(β 2M)多肽序列而得以附接的表位的T细胞-MMP的实施方案来描绘表位特异性T细胞相对于表位非特异性T细胞的优先活化。

[0008] 图2A-2G提供免疫球蛋白Fc多肽的氨基酸序列(SEQ ID NO.1-12)。

[0009] 图3A、3B和3C提供人白细胞抗原(HLA) I类重链多肽的氨基酸序列。信号序列(氨基酸1-24)加粗并且加下划线。图3A条目3A.1为HLA-A α 链(HLA-A*01:01:01:01)(NCBI登录号NP_001229687.1), SEQ ID NO:134;条目3A.2来自于HLA-A*1101 SEQ ID NO:135;条目3A.3来自于HLA-A*2402 SEQ ID NO:136;并且条目3A.4来自于HLA-A*3303 SEQ ID NO:137。

[0010] 图3D示出无前导序列并且无跨膜域区域的十一个成熟I类MHC重链肽序列的比对。所比对的序列包括人HLA-A, SEQ ID NO:140(还参见SEQ ID NO:134);HLA-B, SEQ ID NO:141(参见SEQ ID NO:138);HLA-C, SEQ ID NO:142(参见SEQ ID NO:139);HLA-A*0201, SEQ ID NO:143;小鼠H2K蛋白序列, SEQ ID NO:144;HLA-A的三个变体(var.2、var.2C和var.2CP, SEQ ID NO:145-147);3个人HLA-A变体(HLA-A*1101(HLA-A11), SEQ ID NO:148;HLA-A*2402(HLA-A24), SEQ ID NO:149;以及HLA-A*3303(HLA-A33), SEQ ID NO:150))。HLA-A*0201为HLA-A的变体。标记为HLA-A(var.2)者为HLA-A的Y84A和A236C变体。标记为HLA-A(var.2C)的第七个HLA-A序列显示在位置84、139和236处用C残基取代的HLA-A,并且第8个序列在前一序列的C-末端添加一个额外脯氨酸。第9个至第11个序列分别来自于HLA-A11(HLA-A*1101)、HLA-A24(HLA-A*2402)和HLA-A33(HLA-A*3303),所述序列在某些亚洲人群中盛行。比对指示可插入半胱氨酸残基来替代所述位置处的氨基酸以形成二硫键从而在不存在结合的表位肽的情况下使MHC- β 2M复合物稳定的位置(成熟蛋白质的84和139)。比对还显示(成熟多肽的)可被半胱氨酸残基置换,从而可与 β 2M形成链内二硫键的位置236(例如在成熟多肽的aa 12处)。箭头呈现在那些位置中的每一者的上方并且将残基加粗。残基84、139和236两侧的方框显示那六组五个残基的任一侧上可通过独立地选自(i)任何天然存在的氨基酸或(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何天然存在的氨基酸的1至5个氨基酸置换的诸组五个氨基酸,表示为aa聚簇1、aa聚簇2、aa聚簇3、aa聚簇4、aa聚簇5和aa聚簇6(所述图中分别显示为aac 1至aac 6)。

[0011] 图4提供来自智人(NP_004039.1;SEQ ID NO:151)、黑猩猩(NP_001009066.1;SEQ ID NO:152)、恒河猴(NP_001040602.1;SEQ ID NO:153)、欧洲牛(NP_776318.1;SEQ ID NO:154)和小家鼠(NP_033865.2;SEQ ID NO:155)的 β 2M前体(即,包括前导序列)的多氨基酸序列比对。加下划线的氨基酸1-20为信号肽(有时称为前导序列)。

[0012] 图5提供四个T细胞-MMP实施方案,标记为A至D。在每种情况下,所述T细胞-MMP包含:第一多肽,所述第一多肽具有N-末端和C-末端并且包含第一主要组织相容性复合物(MHC)多肽(MHC-1);以及第二多肽,所述第二多肽具有N-末端和C-末端和第二MHC多肽(MHC-2),并且任选地包含免疫球蛋白(Fc)多肽或非Ig多肽支架。在所示实施方案中显示第一多肽和第二多肽通过二硫键连接;然而,T细胞-MMP不需要第一多肽与第二多肽之间存在

二硫键联或任何其他共价键联。T细胞-MMP还可包含由虚线(---)指示的独立选择的接头序列。T细胞-MMP的第一多肽、第二多肽或第一多肽与第二多肽两者包含至少一个化学缀合位点。通过箭头显示第一多肽化学缀合位点(CC-1)和第二多肽化学缀合位点(CC-2)的一些潜在位置。通过处于斑点方框中的“MOD”来显示一个或多个独立选择的MOD的位置(例如,包含利用介于MOD之间的任选氨基酸接头连接于序列中的一个、两个、三个或更多个MOD的序列)。MOD可含有本公开中的其他部分以MOD*表示的变体MOD。在A中,MOD位于第一多肽的C-末端;在B中,MOD位于第二多肽的N-末端;在C中,MOD位于第二多肽的C-末端;并且在D中,可能相同或不同的MOD位于第一多肽的C-末端和第二多肽的N-末端。

[0013] 图6提供T细胞-MMP表位缀合物的八个实施方案,标记为A至H,与图5中的实施方案并行。如同图5中,第一多肽具有N-末端和C-末端与第一MHC多肽,提供为包含 β -2-微球蛋白多肽(β 2M能够与I类MHC重链(MHC-H)相互作用并且将表位呈递至T细胞受体。第二多肽具有N-末端和C-末端、MHC-H多肽并且任选地包含免疫球蛋白(Fc)多肽或非Ig多肽支架。在A至D中显示连结T细胞-MMP表位缀合物的第一多肽与第二多肽的任选二硫键连接 β 2M肽序列与MHC-H肽序列,并且不需要由虚线(---)指示的独立选择的任选的接头序列。在E至H中,重复A至D中的复合物,然而显示连结第一多肽与第二多肽的二硫键连结MHC-H肽序列与插置在表位与 β 2M肽序列之间的接头序列(例如,从MHC-H链序列的位置84处的Cys残基(参见图3)至插置的接头的键)。T细胞-MMP的第一多肽、第二多肽或第一多肽与第二多肽两者还可包含除用于缀合表位的位点以外的一个或多个化学缀合位点。通过箭头显示此类CC-1和CC-2的潜在位置。一个或多个免疫调节多肽(MOD或变体MOD)如图5中所描绘。

[0014] 图7提供由T细胞-MMP形成的两种二聚体的实例。标记为“A”的二聚体为图6中标记为“A”的T细胞-MMP中的两个发生二聚的结果。标记为“B”的二聚体为图6中标记为“B”的T细胞-MMP中的两个发生二聚的结果。所示实施方案包括介于多肽之间的一个或多个二硫键,其中每一个均为任选的。另外,仅显示Fc区或所附接的任选的接头中的CC-2位点的亚群。

[0015] 图8示出根据美国专利号9,310,374改编的胍基咪唑与含醛多肽反应的示意图。

[0016] 图9在A部分中显示T细胞-MMP的图,其中第一多肽具有硫酸酯酶基序作为通过FGE酶的作用产生化学缀合位点(fGly残基)的位置。在B中,图9示出T细胞-MMP的第二多肽具有串联IL-2MOD附接至人I类MHC HLA-A重链多肽的氨基端,之后是人IgG1 Fc多肽。

[0017] 图10A-10D示出从N-末端至C-末端具有以下划线和粗体方式显示的人IL-2信号序列的一系列HLA A*1101重链构建体。信号(前导)序列之后是MOD,后者指示为人IL-2或“任选的肽接头-免疫调节多肽-任选的肽接头”。在未规定MOD时,其可为任何所需MOD。所述序列的其余部分为具有三个半胱氨酸取代(Y84C;A139C;A236C)的HLA A*1101H链序列;接头;以及具有两个氨基酸取代(L234A;L235A)的hIgG1 Fc。星号指示序列终止。

[0018] 图11A-11E示出包含人 β 2M多肽序列的一系列构建体。所述构建体从N-末端至C-末端包含:前导序列MSRSVALAVLALLSLSGLEA(加粗并且加下划线);任选的接头和硫酸酯酶位点和如实施例1和实施例2中所描述的另一独立选择的接头,即(接头)₀₋₄X1Z1X2Z2X 3Z3(接头)₀₋₄;以及具有R12C氨基酸修饰的人 β 2M序列(IQRTPKIQ

VYS**CH****PAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHS**
DLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNHVTL**SQPKIVKWDR**

DM)。在哺乳动物细胞中与含I类MHC重链的多肽,诸如图10中的肽共表达后,为了产生T细胞-MMP,对硫酸酯酶序列进行酶促修饰以含有甲酰基甘氨酸残基。随后可通过使T细胞-MMP的甲酰基甘氨酸与已经修饰为在例如它们的羧基末端处携带胍基(例如胍基吡啶基)的HBV肽(例如,如图11A-11E中所示)反应来制备T细胞-MMP缀合物。

[0019] 定义

[0020] 本文中可互换使用的术语“多核苷酸”和“核酸”是指任何长度的多聚体形式的核苷酸(核糖核苷酸或脱氧核糖核苷酸)。因此,此术语包括但不限于单链、双链或多链DNA或RNA、基因组DNA、cDNA、DNA-RNA杂合体或包含嘌呤和嘧啶碱基或其他天然、经化学或生物化学修饰的、非天然或经衍生化的核苷酸碱基的聚合物。

[0021] 术语“肽”、“多肽”和“蛋白质”在本文中可互换使用,并且是指任何长度的多聚体形式的氨基酸,其可包括编码和非编码氨基酸、经化学或生物化学修饰的或衍生化的氨基酸,和具有经修饰的肽主链的多肽。

[0022] 多核苷酸或多肽与另一多核苷酸或多肽具有某一百分比“序列同一性”意指当比对时所述百分比的碱基或氨基酸相同并且当比较两个序列时处于相同的相对位置。可用众多不同的方式测定序列同一性。为了测定序列同一性,可使用可在万维网上在诸多网站,包括ncbi.nlm.nih.gov/BLAST、ebi.ac.uk/Tools/msa/tcoffee/、ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle/和mafft.cbrc.jp/alignment/software/获得的各种便利方法和计算机程序(例如BLAST、T-COFFEE、MUSCLE、MAFFT等)对序列进行比对。参见例如Altschul等人(1990), J.Mol.Biol.215:403-10。除非另外陈述,否则使用BLAST进行序列比对。

[0023] 术语“氨基酸(amino acid)”和“氨基酸(amino acids)”分别缩写为“aa”和“aas”。除非另外陈述,否则天然存在的氨基酸意指:L(Leu,亮氨酸)、A(Ala,丙氨酸)、G(Gly,甘氨酸)、S(Ser,丝氨酸)、V(Val,缬氨酸)、F(Phe,苯丙氨酸)、Y(Tyr,酪氨酸)、H(His,组氨酸)、R(Arg,精氨酸)、N(Asn,天冬酰胺)、E(Glu,谷氨酸)、D(Asp,天冬氨酸)、C(Cys,半胱氨酸)、Q(Gln,谷氨酰胺)、I(Ile,异亮氨酸)、M(Met,甲硫氨酸)、P(Pro,脯氨酸)、T(Thr,苏氨酸)、K(Lys,赖氨酸)和W(Trp,色氨酸);均为L构型。硒代半胱氨酸和羟基脯氨酸两者均为在意图涵盖其的任何情况下具体提及的天然存在的氨基酸。

[0024] 非天然氨基酸为除以上所叙述的天然存在的氨基酸、硒代半胱氨酸和羟基脯氨酸以外的任何氨基酸。

[0025] 如本文中所使用的“化学缀合”意指形成共价键。如本文中所使用的“化学缀合位点”意指多肽中可形成共价键的位置,包括与所述多肽形成共价键时所需要或有帮助的任何环境要素(例如,周围氨基酸序列)。因此,包含一组氨基酸(所述组氨基酸指导酶修饰并且最终指导所述组内的氨基酸处的共价键形成)的位点也可称为化学缀合位点。在一些情况下,如从上下文显而易见,术语化学缀合位点可用于指已发生共价键形成或化学修饰的位置。

[0026] 术语“保守氨基酸取代”是指蛋白质中具有类似侧链的氨基酸残基的可互换性。举例而言,具有脂族侧链的一组氨基酸由甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸组成;具有脂族-羟基侧链的一组氨基酸由丝氨酸和苏氨酸组成;具有含酰胺侧链的一组氨基酸由天冬酰胺和谷氨酰胺组成;具有芳族侧链的一组氨基酸由苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸组成;具有碱性侧链的一组氨基酸由赖氨酸、精氨酸和组氨酸组成;具有酸性侧链的一组氨基酸

由谷氨酸和天冬氨酸组成;并且具有含硫侧链的一组氨基酸由半胱氨酸和甲硫氨酸组成。示例性保守氨基酸取代组为:缬氨酸-亮氨酸-异亮氨酸、苯丙氨酸-酪氨酸、赖氨酸-精氨酸、丙氨酸-缬氨酸-甘氨酸和天冬酰胺-谷氨酰胺。

[0027] 如本文中所使用的术语“免疫突触 (immunological synapse)”或“免疫突触 (immune synapse)”通常是指适应性免疫应答的两种相互作用的免疫细胞之间的天然界面,包括例如APC或靶T细胞与效应细胞(例如,淋巴细胞、效应T细胞、天然杀伤细胞等)之间的界面。APC与T细胞之间的免疫突触通常由T细胞抗原受体与一个或多个MHC分子的相互作用引发,例如,如Bromley等人,Ann Rev Immunol.2001;19:375-96中所描述,所述文献的公开内容以引用的方式整体并入本文中。

[0028] “T细胞”包括所有类型的表达CD3的免疫细胞,包括T辅助细胞(CD4⁺细胞)、细胞毒性T细胞(CD8⁺细胞)、T调控细胞(Treg)和NK-T细胞。

[0029] 除非另外陈述,否则如本文中所使用,术语“第一主要组织相容性复合物(MHC)多肽”或“第一MHC多肽”以及术语“第二MHC多肽”、“MHC重链”和“MHC-H”是指I类MHC受体元件。

[0030] 如本文中所使用的术语“MOD”(还称为共免疫调节或共刺激多肽)包括APC(例如树突状细胞、B细胞等)上的多肽或APC上的多肽的一部分,所述多肽特异性地结合T细胞上的“Co-MOD”(还称为同源共免疫调节多肽或同源共刺激多肽),从而提供连同由例如TCR/CD3复合物与负载有肽的MHC多肽结合所提供的第二信号一起介导T细胞应答的信号,包括但不限于增殖、活化、分化等。MOD包括但不限于CD7、B7-1(CD80)、B7-2(CD86)、PD-L1、PD-L2、4-1BBL、OX40L、Fas配体(FasL)、诱导型共刺激配体(ICOS-L)、细胞间粘附分子(ICAM)、CD30L、CD40、CD70、CD83、HLA-G、MICA、MICB、HVEM、淋巴细胞毒素B受体、3/ TR6、ILT3、ILT4、HVEM、结合To11配体受体的激动剂或抗体以及特异性地与B7-H3结合的配体。MOD还尤其涵盖特异性地与T细胞上存在的Co MOD(诸如但不限于CD27、CD28、4-1BB、OX40、CD30、CD40、PD-1、ICOS、淋巴细胞功能相关抗原-1(LFA-1)、CD2、LIGHT、NKG2C、B7-H3和特异性地结合至CD83的配体)结合的抗体(或其抗原结合部分,诸如Fab)。

[0031] T细胞-MMP的“免疫调节结构域”(“MOD”)为T细胞-MMP的充当MOD的多肽。

[0032] 如本文中所使用的“异源”分别意指并非在天然核酸或蛋白质中发现的核苷酸或多肽。

[0033] 如本文中所使用的“重组”意指特定核酸(DNA或RNA)为产生与天然系统中发现的内源核酸不同的具有结构性编码或非编码序列的构建体的克隆、限制、聚合酶链反应(PCR)和/或连接步骤的各种组合的产物。可由cDNA片段或由一系列合成寡核苷酸来组装编码多肽的DNA序列,以提供能够由细胞或无细胞转录和翻译系统中所含的重组转录单元表达的合成核酸。

[0034] 术语“重组表达载体”和“DNA构建体”在本文中可互换用于指包含载体和至少一种插入物的DNA分子。通常出于表达和/或增殖插入物的目的或为了构建其他重组核苷酸序列而产生重组表达载体。插入物可以或可以不与启动子序列可操作地连接,并且可以或可以不与DNA调控序列可操作地连接。

[0035] 如本文中所使用,术语“亲和力”是指两种试剂(例如,抗体和抗原)的可逆结合的平衡常数并且表示为解离常数(K_D)。与抗体对不相关的氨基酸序列的亲和力相比,亲和力可高出至少1倍、至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9

倍、至少10倍、至少20倍、至少30倍、至少40倍、至少50倍、至少60倍、至少70倍、至少80倍、至少90倍、至少100倍或至少1,000倍或更多倍。抗体对靶蛋白质的亲和力可为例如约100纳摩尔 (nM) 至约0.1nM、约100nM至约1皮摩尔 (pM) 或约100nM至约1飞摩尔 (fM) 或更高。如本文中所述使用,术语“亲和力”是指两种或更多种剂的复合物在稀释之后对解离的抗性。就抗体和/或抗原结合片段而言,术语“免疫反应性”和“优先结合”在本文中可互换使用。

[0036] 如本文中所使用的“结合”(例如,参考诸如包含一个或多个MOD的T细胞-MMP或其表位缀合物的分子与一个或多个多肽(例如,T细胞上的T细胞受体和同源共免疫调节多肽 (Co-MOD) 的结合)是指分子之间的非共价相互作用。非共价结合是指两个分子之间由于例如静电相互作用、疏水性相互作用、离子相互作用和/或氢键相互作用,包括诸如盐桥和水桥的相互作用而直接缔合。非共价结合相互作用通常以小于 10^{-6} M、小于 10^{-7} M、小于 10^{-8} M、小于 10^{-9} M、小于 10^{-10} M、小于 10^{-11} M或小于 10^{-12} M的解离常数(K_D)为特征。“亲和力”是指非共价结合的强度,增加的结合亲和力与较低的 K_D 相关。“特异性结合”通常是指例如配体分子与其结合位点或“受体”之间以至少约 10^{-7} M或更大(例如低于 5×10^{-7} M、低于 10^{-8} M、低于 5×10^{-8} M、低于 10^{-9} M、低于 10^{-10} M、低于 10^{-11} M或低于 10^{-12} M和更大的亲和力,或者处于 10^{-7} 至 10^{-9} 或 10^{-9} 至 10^{-12} 的范围内)的亲和力结合。“非特异性结合”通常是指配体与除其指定结合位点或“受体”以外的某物通常以低于约 10^{-7} M的亲和力结合(例如,以低于约 10^{-6} M、低于约 10^{-5} M、低于约 10^{-4} M的亲和力结合)。然而,在一些情况下,例如,TCR与肽/MHC复合物之间的结合,“特异性结合”可处于 $1\mu\text{M}$ 至 $100\mu\text{M}$ 或 $100\mu\text{M}$ 至 1mM 的范围内。如本文中所使用的“共价结合”意指两个不同的分子之间形成一个或多个共价化学键。

[0037] 术语“治疗(treatment)”、“治疗(treating)”等在本文中一般用于意指获得所需的药理学和/或生理学效应。所述效应就完全或部分预防疾病或其症状而言可为预防性的,和/或就部分或完全治愈疾病和/或可归因于所述疾病的不利效应而言可为治疗性的。如本文所用的“治疗(treatment)”涵盖对哺乳动物的疾病或症状的任何治疗,并且包括:(a) 预防可能易患所述疾病或症状但尚未诊断为患有所述疾病或症状的受试者出现所述疾病或症状;(b) 抑制所述疾病或症状,即,阻遏其发展;或(c) 减轻所述疾病,即,引起所述疾病消退。治疗剂可在疾病或损伤发作之前、期间或之后施用。尤其关注持续性疾病的治疗,其中所述治疗使患者的不良临床症状稳定或减轻。期望在受影响的组织的功能完全丧失之前进行这种治疗。将希望在疾病的有症状阶段期间,并且在一些情况下在疾病的有症状阶段之后施用主题疗法。

[0038] 术语“个体”、“受试者”、“宿主”和“患者”在本文中可互换使用并且是指希望诊断、治疗或疗法的任何哺乳动物受试者。哺乳动物包括例如人、非人灵长类动物、啮齿动物(例如大鼠;小鼠)、兔类动物(例如兔)、有蹄类动物(例如牛、绵羊、猪、马、山羊和其类似动物)等。

[0039] 在进一步描述本发明之前,应当理解本发明不限于所描述的特定实施方案,因此,当然也可有所变化。还应理解,本文使用的术语仅出于描述特定实施方案的目的,并且并不意图是限制性的,因为本发明的范围将仅受所附权利要求限制。

[0040] 在提供值的范围时,应理解,除非上下文另外清楚指出,否则所述范围包括介于所述范围的上限与下限之间的各插入值(至下限的十分之一),并且所述范围中的任何其他所述值或插入值均涵盖在本发明内。这些较小范围的上限和下限可独立地包括于所述较

小范围内,并且也涵盖在本发明内,从属于所陈述的范围内的任何明确排除的界限。在范围包括上限和下限时,排除那些界限中的任一者或两者的范围也包括在本发明中。

[0041] 除非另外定义,否则本文所用的所有技术和科学术语均具有与本发明所属领域的技术人员通常所理解的含义相同的含义。虽然在实践或检测本发明时也可使用与本文中描述的方法和材料类似或等同的任何方法和材料,但是现在描述优选的方法和材料。本文中所提及的所有出版物均以引用的方式并入本文中,以便结合所引用的出版物来公开并描述所述方法和/或材料。

[0042] 必须指出,除非上下文另外明确地规定,否则如本文和所附权利要求书中所用,单数形式“一个/种(a/an)”和“所述”包括复数指示物。因此,举例而言,提及“多聚体T细胞调节多肽”包括多种此类多肽,并且提及“免疫调节多肽”或“MOD”包括提及本领域技术人员已知的一种或多种免疫调节多肽及其等效物,以此类推。此外应指出,可撰写权利要求书以排除任何任选的要素。因此,这种表述意图作为在列举权利要求要素时使用诸如“单独地”、“仅仅”等的排他性术语或使用“否定”限制的先行基础。

[0043] 应理解的是,为清楚起见在单独的实施方案的上下文中描述的本发明的某些特征也可在单个实施方案中组合提供。相反,为简洁起见而在单个实施方案的背景下描述的本发明的不同特征也可单独地或以任何适合的子组合形式提供。与本发明有关的实施方案的所有组合由本发明具体包括,并且在本文中公开,如同每个和每一组合均单独地且明确地公开一样。此外,各种实施方案及其要素的所有子组合也明确地由本发明涵盖并且在本文中公开,如同每个和每一这样的子组合均单独地且明确地在本文中公开一样。

[0044] 本文中所论述的出版物仅由于其在本申请的申请日期之前公开而得以提供。在本文中不应被视为承认本发明由于先前发明而无权先于这种出版物。此外,所提供的公开日期可能与实际公开日期不同,由此可能需要独立地进行证实。

具体实施方式

[0045] I. 具有用于表位结合的化学缀合位点的T细胞调节性多聚体多肽(T细胞-MMP)

[0046] 本公开提供可用于调节T细胞的活性的T细胞-MMP及其表位缀合物,以及它们的制备方法和在调节个体的免疫应答中的用途。T细胞-MMP可包含对它们的Co-MOD表现出降低的结合亲和力的一个或多个独立选择的野生型和/或变体MOD多肽以及用于偶联表位和有效负载的化学缀合位点。本公开中包括包含两种类型的多肽(第一多肽和第二多肽)的异源二聚体T细胞-MMP,其中那些多肽中的至少一者包含用于附接(例如,共价附接)诸如化学治疗剂和/或可结合TCR的物质(例如,表位肽和无效肽)的有效负载的化学缀合位点。本公开中还包括已与表位和/或有效负载(例如,化学治疗剂)化学缀合的T细胞-MMP。取决于T细胞-MMP中存在的MOD的类型,当T细胞-MMP上存在TCR特异性表位时,T细胞可通过进行活化来作出反应,包括例如克隆扩增(例如,当诸如IL-2、4-1BBL和/或CD80的活化MOD并入T细胞-MMP中时)。替代地,当诸如CD86和/或PD-L1的MOD并入T细胞-MMP中时,T细胞可进行下调T细胞活性(例如阻断自身免疫反应)的抑制。因为MOD对任何表位均不具有特异性,因此可通过将对它们的Co-MOD具有降低的亲和力的变体MOD并入T细胞-MMP中以使T细胞-MMP与T细胞的结合受MHC-表位-TCR相互作用强烈影响或甚至受其控制而使T细胞的活化或抑制偏向表位特异性相互作用。

[0047] 在本文所描述的实施方案中,T细胞-MMP-表位缀合物充当替代APC,并且模拟适应性免疫应答。T细胞-MMP-表位缀合物通过接合T细胞表面上存在的TCR与T细胞-MMP-表位缀合物复合物中呈递的共价结合的表位而做到这一点。这种接合提供能够实现表位特异性细胞靶向的T细胞-MMP-表位缀合物。在本文所描述的实施方案中,T细胞-MMP-表位缀合物还具有至少一个接合T细胞上的对应共刺激蛋白 (Co-MOD) 的MOD。两种信号,即表位/MHC与TCR结合和MOD与Co-MOD结合,随后驱动所需T细胞特异性和抑制或活化/增殖。

[0048] 具有化学缀合位点的T细胞-MMP得以用作可插入不同的表位和/或有效负载以制备用于治疗应用、诊断应用和研究应用的物质的平台。此类包含化学缀合位点的T细胞-MMP允许快速制备诊断剂和治疗剂,因为它们允许含表位的物质(例如肽)快速插入T细胞-MMP中并且测试携带对所述表位具有特异性的TCR的T细胞的活化或抑制。

[0049] 在一个实施方案中,可利用这种T细胞-MMP的化学缀合位点将诸如化学治疗剂或酶的有效负载附接至T细胞-MMP。在不存在添加的表位时,所得复合物可以类似于抗体的方式用于递送有效负载,尤其当T细胞-MMP由于并入Fc支架而形成多聚体(例如二聚体或更高级结构)时。由于缺乏表位,T细胞-MMP-有效负载缀合物的MOD将通过它们的结合特异性和所述复合物对不同细胞的亲合力来指定将接受有效负载的细胞。

[0050] 在T细胞-MMP中并入刺激T细胞增殖的变体MOD和表位的实施方案中,使所述T细胞与至少一种浓度的T细胞-MMP接触在具有对所述表位具有特异性的TCR的T细胞的活化方面与同相同浓度的不具有对所述表位具有特异性的TCR的T细胞-MMP接触的T细胞相比诱导至少两倍(例如至少2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、20倍、30倍、50倍、75倍或100倍)差异(如通过T细胞增殖或ZAP-70活性所测量,参见例如Wang等人,Cold Spring Harbor perspectives in biology 2.5(2010):a002279)。

[0051] 在T细胞-MMP中并入抑制T细胞活化的变体MOD和表位的实施方案中,使T细胞与至少一种浓度的T细胞-MMP接触防止T细胞以表位特异性方式活化(如通过T细胞增殖所测量)。

[0052] 已并入表位的T细胞-MMP的特异性将取决于所述表位和MOD对结合的相对贡献。在MOD控制结合相互作用时,对所述表位具有特异性的T细胞的T细胞-MMP的特异性相对于T细胞-MMP复合物将有所降低,其中所述表位通过比MOD对总体结合能贡献更多来控制结合相互作用。表位对于对所述表位具有特异性的TCR贡献越大,T细胞-MMP对所述T细胞类型的特异性将越大。在表位对其TCR具有强亲和力时,使用对它们的Co-MOD具有降低的亲合力的变体MOD将有利于T细胞-MMP-表位缀合物的表位选择性相互作用,并且还有助于选择性地递送可与T细胞-MMP-表位缀合物缀合的任何有效负载。

[0053] 除可用作并入表位和制备表位特异性的T细胞-MMP的结构以外,描述为缺乏表位或含有无效肽的T细胞-MMP还可用于向携带T细胞-MMP中存在的MOD和/或变体MOD的受体的靶细胞递送有效负载。

[0054] 在一个实施方案中,缺乏表位(或含有无效肽)的携带对T细胞活化和/或增殖具有抑制性的MOD的T细胞-MMP可用作含有T细胞-MMP中存在的MOD或变体MOD的一个或多个受体的T细胞模拟剂。此类刺激性T细胞-MMP可用于同时向与其结合的T细胞递送有效负载(例如化学缀合的化学治疗剂)。

[0055] 在一个实施方案中,缺乏表位(或含有无效肽)的携带对T细胞活化和/或增殖具有

抑制性的MOD的T细胞-MMP可单独或与诸如环孢霉素的其他免疫抑制剂联合用作免疫抑制剂以抑制免疫反应(例如预防移植物抗宿主或宿主抗移植物排斥反应)。此类抑制性T细胞-MMP可用于同时向与其结合的T细胞递送有效负载(例如化学缀合的化学治疗剂)。

[0056] 本公开提供可用于调节T细胞的活性并且因此用于调节个体的免疫应答的T细胞-MMP。所述T细胞-MMP包含对Co-MOD表现出降低的结合亲和力的MOD。

[0057] I. A. T细胞-MMP

[0058] 本文中所描述的T细胞-MMP框架在第一多肽链或第二多肽链上包含至少一个化学缀合位点。

[0059] 在一个实施方案中,本公开提供一种包含异源二聚体的T细胞-MMP,所述T细胞-MMP包含:a)第一多肽,所述第一多肽包含第一MHC多肽;b)第二多肽,所述第二多肽包含第二MHC多肽;c)第一多肽或第二多肽中的至少一者包含化学缀合位点;以及d)至少一个MOD,其中所述第一多肽和/或所述第二多肽包含所述至少一个MOD(例如一个、两个、三个或更多个)。任选地,所述第一多肽或所述第二多肽包含Ig Fc多肽或非Ig支架。独立选择的MOD中的一个或多个可为对Co-MOD表现出与相应野生型MOD对Co-MOD的亲和力相比有所降低的亲和力的变体MOD。本公开还提供T细胞-MMP,其中表位(例如携带表位的肽)共价结合(直接地或间接地)至化学缀合位点、从而形成T细胞-MMP-表位缀合物。在这种实施方案中,本公开的T细胞-MMP表位缀合物中存在的表位(例如表位肽)可以至少100 μ M(例如至少10 μ M、至少1 μ M、至少100nM、至少10nM或至少1nM)的亲和力结合至T细胞上的T细胞受体(TCR)。T细胞-MMP表位缀合物可以比T细胞-MMP表位缀合物结合至第二T细胞的亲和力高出至少25%的亲和力结合至第一T细胞,其中所述第一T细胞在其表面上表达Co-MOD和以至少100 μ M的亲和力结合表位的TCR,并且其中第二T细胞在其表面上表达Co-MOD但不在其表面上表达以至少100 μ M(例如,至少10 μ M、至少1 μ M、至少100nM、至少10nM或至少1nM)的亲和力结合表位的TCR。

[0060] 在一个实施方案中,本公开提供一种异源二聚T细胞-MMP(其可形成异源二聚体的更高级多聚体、二聚体、三聚体等),所述源二聚T细胞-MMP包含:

[0061] a) 第一多肽,所述第一多肽包含i) 第一MHC多肽;

[0062] b) 第二多肽,所述第二多肽从N-末端至C-末端依次包含:i) 第二MHC多肽和ii) 任选的免疫球蛋白(Ig)Fc多肽支架或非Ig多肽支架;

[0063] c) 一个或多个附接至所述第一多肽或处于其内部的第一多肽化学缀合位点和/或一个或多个附接至所述第二多肽或处于其内部的第二多肽化学缀合位点;以及

[0064] d) 一个或多个免疫调节多肽(MOD),其中所述一个或多个MOD中的至少一个

[0065] A) 处于所述第一多肽的C-末端(参见例如图5或图6中的A),

[0066] B) 处于所述第二多肽的N-末端(参见例如图5或图6中的B),

[0067] C) 处于所述第二多肽的C-末端(参见例如图5或图6中的C),或

[0068] D) 处于所述第一多肽的C-末端且处于所述第二多肽的N-末端(参见例如图5或图6中的D);

[0069] 其中所述一个或多个MOD中的每一个为独立选择的野生型或变体MOD。

[0070] 此类T细胞-MMP框架充当表位(例如多肽表位)可经由键联共价附接至与第一MHC多肽和第二MHC多肽中的至少一者结合的第一化学缀合位点或第二化学缀合位点中的一

者、从而形成T细胞-MMP-表位缀合物的平台。由此允许将不同的表位轻易引入所述框架中以便在T细胞-MMP的情况下呈递至T细胞上的T细胞受体(TCR)。有效负载(例如化学治疗剂)可通过共价附接至第一化学缀合位点或第二化学缀合位点中的一者(例如,未用于附接表位的位点)而类似地附接至T细胞-MMP。

[0071] 在采用可多聚的免疫球蛋白(Ig)Fc多肽或非Ig多肽支架时,T细胞-MMP可多聚。复合物可呈二聚体(参见例如图7)、三聚体、四聚体或五聚体的形式。包含T细胞-MMP多聚体的组合物还可包含单体,并且因此可包含单体、二聚体、三聚体、四聚体、五聚体或其任何组合(例如单体与二聚体的混合物)。

[0072] 在一个实施方案中,MOD为任选地包含表位的T细胞-MMP中所呈递的独立选择的野生型MOD或变体MOD。在一个实施方案中,MOD为能够刺激表位特异性T细胞活化/增殖的一个或多个MOD或变体MOD(例如IL-2、4-1BBL和/或CD80)。在另一个实施方案中,MOD为能够抑制T细胞活化/增殖的一个或多个MOD或变体MOD(例如FAS-L和/或PD-L1)。当与携带适合的表位的T细胞-MMP结合使用时,此类活化或抑制性MOD能够进行表位特异性T细胞作用,尤其在所述MOD为变体MOD并且MHC-表位-TCR相互作用的强足以控制T细胞-MMP与T细胞的相互作用时。

[0073] I.A.1 T细胞-MMP中的第一化学缀合位点和第二化学缀合位点的位置

[0074] 在进行并入表位(例如含表位的肽)和/或有效负载的化学缀合反应之前,本文中所描述的T细胞-MMP包含至少一个化学缀合位点。在T细胞-MMP包含多于一个化学缀合位点时,可能存在处于第一多肽上的两个或更多个缀合位点(第一多肽化学缀合位点)、处于第二多肽上的两个或更多个缀合位点(第二多肽化学缀合位点),或至少一个第一多肽化学缀合位点和至少一个第二多肽化学缀合位点。在T细胞-MMP分子中存在多于一个化学缀合位点的各情况下,所述位点为独立地选择并且可采用相同或不同的化学性质、氨基酸序列或用于缀合的化学基团。第一多肽化学缀合位点(指示为CC-1)和第二多肽化学缀合位点(指示为CC-1)的位置的一些实例示于图5-7中。

[0075] 在实施方案中,T细胞-MMP的第一多肽包含:在其N-末端和C-末端上无接头的第一MHC多肽;在其N-末端上携带接头的第一MHC多肽;在其C-末端上携带接头的第一MHC多肽;或在其N-末端和C-末端上携带接头的第一MHC多肽。所述一个或多个第一多肽化学缀合位点中的至少一个:a)当第一MHC多肽在其N-末端和C-末端上无接头时附接至所述第一MHC多肽序列(例如处于N-末端或C-末端)或处于其内部;b)在第一MHC多肽在其N-末端和C-末端上包含接头时附接至所述第一MHC多肽序列或处于其内部;c)附接至所述第一MHC多肽N-末端上的接头序列或处于其内部;和/或d)附接至所述第一MHC多肽C-末端上的接头序列或处于其内部。T细胞-MMP的额外第一多肽化学缀合位点可存在于(附接至或处于内部)第一多肽(例如,充当化学缀合位点的多于一个酶修饰序列),包括第一MHC多肽上的任何位置或处于与其附接的任何接头中。在此类实施方案中,第一MHC多肽可包含如以下所描述的β2M多肽序列。

[0076] 在实施方案中,T细胞-MMP的第二多肽包含:在其N-末端和C-末端上无接头的第二MHC多肽;在其N-末端上携带接头的第二MHC多肽;在其C-末端上携带接头的第二MHC多肽;或在其N-末端和C-末端上携带接头的第二MHC多肽。所述一个或多个第二多肽化学缀合位点中的至少一个:a)当第二MHC多肽在其N-末端和C-末端上无接头时附接至所述第二MHC多

肽序列(例如处于N-末端或C-末端)或处于其内部;b)在第二MHC多肽在其N-末端和C-末端上包含接头时附接至所述第二MHC多肽序列或处于其内部;c)附接至所述第二MHC多肽N-末端上的接头序列或处于其内部;和/或d)附接至所述第二MHC多肽C-末端上的接头序列或处于其内部。另外,当第二多肽含有免疫球蛋白(Fc)多肽氨基酸序列或非Ig多肽支架以及与其附接的额外接头时,所述第二多肽化学缀合位点可附接至所述第二MHC多肽、所述免疫球蛋白多肽、所述多肽支架或所附接的接头或者处于其内部。T细胞-MMP的额外第二多肽化学缀合位点可存在于(附接至或处于内部)第二多肽(例如,充当化学缀合位点的多于一个酶修饰序列),包括第二MHC多肽上的任何位置或处于与其附接的任何接头中。在此类实施方案中,第二MHC多肽可包含如以下所描述的MHC重链(MHC-H)多肽序列。

[0077] 在一个实施方案中,第一MHC多肽和第二MHC多肽可被选择为I类MHC多肽,其中所述第一MHC多肽包含 β 2M多肽序列并且所述第二多肽包含MHC重链序列,其中所述第一多肽或第二多肽上存在至少一个化学缀合位点。在一个实施方案中,T细胞-MMP中的一个或多个第一化学缀合位点中的至少一个可附接至 β 2M多肽抑或其N-末端或C-末端附接的接头(包括处于N-末端或C-末端)或者处于其内部。在一个实施方案中,T细胞-MMP中的一个或多个第二多肽化学缀合位点中的至少一个可附接至以下各项(包括处于N-末端或C-末端)或处于其内部:MHC-H多肽;与所述MHC-H多肽的N-末端或C-末端附接的接头;或当存在时附接至免疫球蛋白(Fc)多肽(或非Ig多肽支架)或与其附接的接头或者处于其内部。在此类I类MHC多肽构建体的另一个实施方案中,第一多肽和第二多肽二者均包含至少一个化学缀合位点。

[0078] 在T细胞-MMP包含 β 2M多肽序列时,所述序列可与图4中所示的氨基酸序列之一具有至少85%氨基酸序列同一性(例如,至少90%、95%、98%或99%同一性,或甚至100%同一性)。所述 β 2M多肽可包含与图4中所示的氨基酸序列的一部分具有同一性的具有至少20、30、40、50、80、100或110个连续氨基酸的氨基酸序列。化学缀合序列可附接至所述 β 2M多肽(例如处于N-末端和/或C-末端或与其附接的接头处)或处于所述 β 2M多肽内。

[0079] 在T细胞-MMP包含MHC-H多肽时,其可为HLA-A、HLA-B或HLA-C重链。在一个实施方案中,所述MHC-H多肽可包含与图3A-3D之一中所示的氨基酸序列具有至少85%氨基酸序列同一性(例如,至少90%、95%、98%或99%同一性,或甚至100%同一性)的氨基酸序列。I类MHC重链多肽可包含与图3A-3D中所示的氨基酸序列的一部分具有同一性的具有至少20、30、40、50、80、100、150、200、250、300或330个连续氨基酸的氨基酸序列。化学缀合序列可附接至MHC-H多肽(例如处于N-末端和/或C-末端或与其附接的接头处)或处于其内部。

[0080] T细胞-MMP的第二多肽可包含Ig Fc多肽序列,所述多肽序列可充当提供结构并且能够与T细胞-MMP(或其表位缀合物)多聚并且另外提供潜在化学缀合位置的分子支架的一部分。在一些实施方案中,所述Ig Fc多肽为IgG1 Fc多肽、IgG2 Fc多肽、IgG3 Fc多肽、IgG4 Fc多肽、IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在此类实施方案中,所述Ig Fc多肽可包含与图2A-2D之一中所描绘的氨基酸序列具有至少85%、90%、95%、98%或99%或甚至100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。Ig Fc多肽可包含与图2中的氨基酸序列的一部分具有同一性的具有至少20、30、40、50、60、80、100、120、140、160、180、200或220个连续氨基酸的序列。在第二多肽包含IgG1 Fc多肽的实施方案中,所述多肽还可包含一个或多个选自N297A、L234A、L235A、L234F、L235E和P331S的氨基酸取代。在一个这样的实施方案中,所述IgG1 Fc多肽包

含单独或与第二多肽化学缀合位点组合的L234A和L235A取代。化学缀合位点可位于/附接至N-末端和/或C-末端或与其附接的接头或处于Ig Fc多肽内。

[0081] I.A.2 T细胞-MMP的化学缀合位点

[0082] T细胞-MMP的第一多肽化学缀合位点和第二多肽化学缀合位点可为可在用试剂和/或催化剂(诸如允许与所述T细胞-MMP多肽中的一者抑或两者形成共价键联的酶)处理后经修饰的任何适合的位点。在一个实施方案中,T细胞-MMP的第一多肽或第二多肽中已引入仅一个化学缀合位点。在另一个实施方案中,选择各第一多肽化学缀合位点和第二多肽化学缀合位点,使得个别多肽上仅存在一种类型的缀合位点(不同的缀合位点),从而允许不同的分子选择性地结合至所述多肽中的每一者。在其他实施方案中,诸如在T细胞-MMP中并入表位分子和一个或多个有效负载分子两者时,可将第一多肽化学缀合和/或第二多肽化学缀合的多于一个拷贝引入所述T细胞-MMP中。举例而言,T细胞-MMP可具有一个第一多肽化学缀合位点(例如用于结合表位)和多个第二多肽化学缀合位点(用于递送有效负载分子)。

[0083] 在实施方案中,第一化学缀合位点和第二化学缀合位点可独立地选自:

[0084] a) 附接至第一多肽或第二多肽或者处于其内部的充当酶修饰序列的肽序列(例如硫酸酯酶、分选酶和/或转谷氨酰胺酶序列);

[0085] b) 附接至第一多肽或第二多肽或者处于其内部的非天然氨基酸和/或硒代半胱氨酸;

[0086] c) 经工程改造的氨基酸化学缀合位点;

[0087] d) 附接至第一多肽或第二多肽的碳水化合物或寡糖部分;以及

[0088] e) 附接至第一多肽或第二多肽或者处于其内部的IgG核苷酸缀合位点。

[0089] I.A.2.1硫酸酯酶基序

[0090] 在选择酶修饰作为提供化学缀合位点的手段的那些实施方案中,所述一个或多个第一化学缀合位点和第二化学缀合位点中的至少一者可包含硫酸酯酶基序。硫酸酯酶基序的长度通常为5或6个氨基酸,并且描述于例如美国专利号9,540,438和美国专利公布号2017/0166639A1中,所述专利以引用的方式并入。所述基序的插入引起形成有时称为醛标记的或具有醛标签的蛋白质或多肽。所述基序可受甲酰基甘氨酸产生酶(“FGE”)作用而将所述基序中的半胱氨酸或丝氨酸转化成甲酰基甘氨酸残基(“fGly”,但有时表示为“FGly”),其为可用于选择性(例如位点特异性)化学缀合反应的含醛氨基酸。因此,如本文中所使用,“醛标签”或“醛标记的”多肽是指包含未转化的硫酸酯酶基序的氨基酸序列,以及包含硫酸酯酶基序的氨基酸序列,其中所述基序的半胱氨酸或丝氨酸残基已通过FGE的作用而转化成fGly。另外,在氨基酸序列的情况下提供硫酸酯酶基序时,应理解为公开含有未转化的基序的氨基酸序列(例如多肽)以及其含fGly的对应物两者。一旦并入多肽(例如T细胞-MMP的多肽)中,fGly残基便可与包含多种反应基团(包括但不限于氨基硫脲、氨基氧基、酰肼和肼基)的分子(例如表位肽)反应,以便经由所述fGly残基形成具有介于所述肽与所述分子之间的共价键的缀合物(例如T细胞-MMP表位缀合物)。

[0091] 在实施方案中,硫酸酯酶基序的长度为至少5或6个氨基酸残基,但可为例如5至16(例如6-16、5-14、6-14、5-12、6-12、5-10、6-10、5-8或6-8)个氨基酸。硫酸酯酶基序可受限少于16、14、12、10或8个氨基酸残基的长度。

[0092] 在一个实施方案中,硫酸酯酶基序含有式(I)中所示的序列:

[0093] X1Z1X2Z2X3Z3(I)(SEQ ID NO:45),其中

[0094] Z1为半胱氨酸或丝氨酸;

[0095] Z2为脯氨酸或丙氨酸残基(其还可由“P/A”表示);

[0096] Z3为碱性氨基酸(精氨酸、赖氨酸或组氨酸,通常为赖氨酸)或脂族氨基酸(丙氨酸、甘氨酸、亮氨酸、缬氨酸、异亮氨酸或脯氨酸,通常为A、G、L、V或I);

[0097] X1存在或不存在,并且当存在时可为任何氨基酸,但通常为脂族氨基酸、含硫氨基酸或极性不带电氨基酸(例如,不为芳族氨基酸或带电氨基酸),通常为L、M、V、S或T,更通常为L、M、S或V,限制条件为当所述硫酸酯酶基序处于靶多肽的N-末端时,X1存在;并且

[0098] X2和X3可独立地为任何氨基酸,但通常为脂族氨基酸、极性不带电氨基酸或含硫氨基酸(例如,不为芳族氨基酸或带电氨基酸),通常为S、T、A、V、G或C,更通常为S、T、A、V或G。

[0099] 因此,在一个实施方案中,可使用具有式I的硫酸酯酶基序来制备含FGly的多肽,其中:

[0100] Z1为半胱氨酸或丝氨酸;

[0101] Z2为脯氨酸或丙氨酸残基;

[0102] Z3为脂族氨基酸或碱性氨基酸;

[0103] X1存在或不存在,并且当存在时为任何氨基酸,限制条件为当硫酸酯酶基序处于多肽的N-末端时,X1存在;并且

[0104] X2和X3各自独立地为任何氨基酸,其中所述序列处于Ig恒定区的溶剂可及环区域内或附近,并且其中所述序列并非处于Ig重链的C-末端。

[0105] 在醛标签存在于除靶多肽N-末端以外的位置时,硫酸酯酶基序的X1可由并入靶多肽的序列的氨基酸提供。因此,在一些实施方案中,在所述基序存在于除靶多肽N-末端以外的位置时,所述硫酸酯酶基序可具有下式:

[0106] (C/S)X2(P/A)X3Z3,式(II)(SEQ ID NO:46),其中:X1不存在;X2、X3和Z3如以上所定义。

[0107] 在制备含硫酸酯酶基序的肽以便通过真核生物FGE,例如通过在真核细胞或使用真核生物FGE的无细胞系统对所述肽进行表达和转化而转化成含fGly的肽时,可能适宜采用顺应于由真核生物FGE转化的硫酸酯酶基序。一般而言,顺应于由真核生物FGE转化的硫酸酯酶基序含有分别处于以上式(I)(例如X1CX2PX3Z3,SEQ ID NO:47)和CX2PX3Z3SEQ ID NO:48(由以上式(II)涵盖)中的Z1和Z2处的半胱氨酸和脯氨酸。可通过“SUMF1型”FGE对携带那些基序的肽进行修饰。

[0108] 在FGE为真核生物FGE的实施方案中,硫酸酯酶基序可包含选自以下组成的组的氨基酸序列:

[0109] X1CX2PX3R或CX2PX3R(SEQ ID NO:47和48,其中Z3为R,并且X1存在或不存在);

[0110] X1CX2PX3K或CX2PX3K(SEQ ID NO:47和48,其中Z3为K,并且X1存在或不存在);

[0111] X1CX2PX3H或CX2PX3H(SEQ ID NO:47和48,其中Z3为H,并且X1存在或不存在);

[0112] X1CX2PX3L或CX2PX3L(SEQ ID NO:47和48,其中Z3为L,并且X1存在或不存在);其中X1、X2和X3如以上所定义。

[0113] 在一个实施方案中,硫酸酯酶基序包含以下序列:X1C(X2)P(X3)Z3(参见SEQ ID NO:47),其中:

[0114] X1存在或不存在,并且当存在时为任何氨基酸,限制条件为当硫酸酯酶基序处于多肽N-末端时,X1存在;并且

[0115] X2和X3为独立选择的丝氨酸、苏氨酸、丙氨酸或甘氨酸残基。

[0116] 顺应于由原核生物FGE转化的具有式(I)和式(II)的硫酸酯酶基序通常含有处于Z1处的半胱氨酸或丝氨酸和处于Z2处的脯氨酸,其分别可通过“SUMP I型”FGE或“AtsB型”FGE进行修饰。易由原核生物FGE转化的具有式(I)或式(II)的其他硫酸酯酶基序含有处于Z1处的半胱氨酸或丝氨酸和处于Z2处的脯氨酸或丙氨酸(其中每一者经独立地选择),所述序列的其余氨基酸如针对式(I)和式(II)所描述;并且易通过例如来自产气荚膜梭菌(*Clostridium perfringens*) (半胱氨酸型酶)、肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*) (丝氨酸型酶)的FGE或结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)的FGE进行修饰。

[0117] 硫酸酯酶基序可并入T细胞-MMP(或其表位缀合物)的第一多肽或第二多肽上的任何所需位置。硫酸酯酶基序可用于不仅并入表位(例如表位呈递肽),而且并入有效负载(例如,在与药物和诊断分子形成缀合物时)。在一个实施方案中,可在T细胞-MMP(或其表位缀合物)的第一多肽或第二多肽中的任何元件,包括第一MHC多肽和第二MHC多肽(例如MHC-H和 β 2M多肽)、支架或Ig Fc和接合那些元件的接头的末端处或附近添加硫酸酯酶基序。在实施方案中,硫酸酯酶基序可并入 β 2M I类MHC重链和/或Fc Ig多肽中。在一个实施方案中,硫酸酯酶基序可并入接近或处于第一MHC多肽(例如 β 2M多肽)的氨基末端处的第一多肽或与其附接的接头中。在一个实施方案中,在第一多肽包含 β 2M多肽序列时,硫酸酯酶基序X1(C/S)X2PX3Z3(SEQ ID NO:45,其中Z1为C或S并且Z2为P)可并入在 β 2M序列的N-末端处或附近,从而允许例如表位直接或经由接头进行化学缀合。举例而言,如图4中所示的 β 2-微球蛋白的成熟序列起始于20个氨基酸的前导序列,并且所述成熟多肽起始于起始序列IQ(R/K)TP(K/Q)IQVYS...(SEQ ID NO:151-155的氨基酸残基21-31)并且延续至 β 2M多肽的其余部分。因此,连接至 β 2M的N-末端区域中的氨基酸(存在或不存在接头)的硫酸酯酶基序可显示为例如:

[0118]	X1Z1X2Z2X3Z3-IQ(R/K)TP(K/Q)IQVYS...; 连接至 β 2M序列的SEQ ID NO:45	X1Z1X2Z2X3Z3-接头 -IQ(R/K)TP(K/Q)IQ VYS...; 利用居间接头连接至 β 2M序列的SEQ ID NO:45
	X1Z1X2Z2X3Z3-(R/K)TP(K/Q)IQVYS...; 连接至 β 2M序列的SEQ ID NO:45	X1CX2PX3Z3-(RTP(K/Q)IQVYS...; 连接至 β 2M序列的SEQ ID NO:47
	X1CX2PX3Z3-IQ(R/K)TP(K/Q)IQ	X1CX2PX3Z3-接头
[0119]	VYS...; 连接至 β 2M序列的SEQ ID NO:47	-IQ(R/K)TP(K/Q)IQVYS...; 利用居间接头连接至 β 2M序列的SEQ ID NO:47

[0120] 或如人 β 2M前导序列MSRSVALAVLALLSLSGLEA (SEQ ID NO:151的氨基酸1-20) 和任选的接头(例如接头肽)所示

[0121] (SEQ ID NO:151的氨基酸1-20)-接头-(SEQ ID NO:45或47)-(β 2M序列)

[0122] MSRSVALAVLALLSLSGLEA-接头-X1Z1X2Z2X3Z3IQRTP (K/Q) IQVYS...;

[0123] MSRSVALAVLALLSLSGLEA-接头-X1Z1X2Z2X3Z3-接头-IQRTP (K/Q) IQVYS...;

[0124] MSRSVALAVLALLSLSGLEA-接头-X1Z1X2Z2X3RTP (K/Q) IQVYS...;

[0125] MSRSVALAVLALLSLSGLEA-接头-X1CX2PX3IQRTP (K/Q) IQVYS...;

[0126] MSRSVALAVLALLSLSGLEA-接头-X1CX2PX3Z3-接头-IQRTP (K/Q) IQVYS...;或

[0127] MSRSVALAVLALLSLSGLEA-接头-X1CX2PX3RTP (K/Q) IQVYS...;

[0128] 其中所述接头当存在时可包含独立选择的氨基酸序列(例如1至50个氨基酸,诸如聚甘氨酸、聚丙氨酸、聚丝氨酸和聚Gly,诸如AAAGG (SEQ ID NO:75) 或(GGGGS)_n,其中n为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10 (SEQ ID NO:76))。所显示的接头可能存在或不存在,并且当显示两个时,其可能相同或不同。

[0129] 在一个实施方案中,硫酸酯酶基序并入或附接至(例如经由肽接头)T细胞-MMP(或其表位缀合物)的第一多肽或第二多肽中,所述第一多肽或第二多肽具有与图4中所示的序列具有至少85%(例如至少90%、95%、98%或99%,或甚至100%)氨基酸序列同一性的 β 2M多肽序列(例如,图4中所示的全长序列中的任一者,或成熟 β 2M多肽中任一者的起始于氨基酸21并且终止于其C-末端的序列)。出于此实施方案的目的,在不考虑所添加的硫酸酯酶基序和所存在的任何接头序列的情况下确定 β 2M多肽相对于图4中的 β 2M多肽的相应部分的序列同一性。

[0130] 在一个实施方案中,硫酸酯酶基序并入或附接至(例如在N-末端、C-末端或N-末端与C-末端两处经由一个或多个独立选择的肽接头)具有第一多肽或第二多肽的T细胞-MMP(或其表位缀合物),所述第一多肽或第二多肽具有与图4中所示的序列相比具有1至15(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15)个氨基酸缺失、插入和/或变化的 β 2M多肽序列(例如,图4中所示的全长序列中的任一者,或成熟 β 2M多肽中任一者的起始于氨基酸21并且终止于其C-末端的序列),其中在不考虑所添加的A₂₋₅或G₂₋₅基序和所存在的任何接头序列的情况下评定氨基酸缺失、插入和/或变化。出于此实施方案的目的,在硫酸酯酶基序的氨基酸和所存在的任何接头序列的情况下确定 β 2M多肽中相对于图4中的 β 2M多肽的相应部分的氨基酸缺失、插入和/或变化。在一个这样的实施方案中,硫酸酯酶基序(例如,具有以上所描述的式X1Z1X2Z2X3Z3、(C/S) X2 (P/A) X3Z3、X1CX2PX3R或X1CX2PX3L)可置换和/或插入在成熟 β 2M序列(诸如图4中所示的那些)的氨基末端15个氨基酸中的任一者之间。

[0131] 在另一个实施方案中,式(I) SEQ ID NO:45或式(II) SEQ ID NO:46的硫酸酯酶基序可并入或附接至(例如经由肽接头)Ig Fc区作为第二多肽化学缀合位点。在一个实施方案中,在添加硫酸酯酶基序序列之前将硫酸酯酶基序并入相对于图2中所示的序列的相应部分具有至少85%(例如至少90%、95%、98%或99%,或甚至100%)氨基酸序列同一性的序列中。在一个这样的实施方案中,硫酸酯酶基序可用作直接或经由肽接头或化学接头间接地缀合例如表位和/或有效负载的位点。

[0132] 在另一个实施方案中,SEQ ID NO:45(式(I))或SEQ ID NO:46(式II)的硫酸酯酶基序可并入MHC-H多肽序列中作为化学缀合位点。在一个实施方案中,在添加硫酸酯酶基序

序列之前将硫酸酯酶基序并入相对于图3中所示的序列的相应部分具有至少85% (例如,至少90%、95%、98%或99%,或甚至100%) 氨基酸序列同一性的MHC-H序列中。在一个这样的实施方案中,硫酸酯酶基序可用作直接或经由肽接头或化学接头间接地缀合例如表位和/或有效负载的位点。

[0133] 在另一个实施方案中,SEQ ID NO:45 (式I) 或SEQ ID NO:46 (式II) 的硫酸酯酶基序的一个或多个拷贝可并入IgFc区中作为一个或多个第二多肽化学缀合位点。在一个这样的实施方案中,它们可用作直接或经由肽接头或化学接头间接地缀合例如表位和/或有效负载的位点。

[0134] 如以上所指示,醛标签的硫酸酯酶基序的长度为至少5或6个氨基酸残基,但可为例如5至16个氨基酸。所述基序可在N-末端和C-末端中的一者或两者处含有额外残基,使得醛标签包含硫酸酯酶基序和“辅助基序”两者。在一个实施方案中,硫酸酯酶基序包含C-末端辅助基序(即,在所述基序的Z3位置后),并且可包含选自由以下组成的组的氨基酸序列的连续残基中的1、2、3、4、5、6或所有7个:AALLTGR (SEQ ID NO:49)、SLLLTGR (SEQ ID NO:50)、AAFMTGR (SEQ ID NO:51)、AAFLTGR (SEQ ID NO:52) 和GSLFTGR (SEQ ID NO:53);已描述了许多其他辅助基序。醛标签的硫酸酯酶基序的FGE介导的转化并不需要辅助基序氨基酸残基,并且因此所述辅助基序氨基酸残基仅是任选的并且可从本文中所描述的醛标签中明确排除。

[0135] 美国专利号9,540,438论述硫酸酯酶基序并入各种免疫球蛋白序列,包括Fc区多肽中,并且其关于硫酸酯酶基序以及Fc多肽和其他多肽的修饰的教导内容以引用的方式并入本文中。所述专利因其关于FGE酶的指导以及它们在形成fGly残基方面的用途以及与将诸如表位和有效负载的分子偶联至fGly残基相关的化学反应而也以引用的方式并入。

[0136] 硫酸酯酶基序的并入可通过在编码T细胞-MMP的第一多肽和/或第二多肽的核酸中的所需位置处并入编码所述基序的核酸序列来实现。如以下所论述,核酸序列可受转录调控序列(启动子)控制并且设有指导其表达的调控元件。所表达的蛋白质可在表达和部分或完全纯化之后用一种或多种FGE进行处理。替代地,在表达识别硫酸酯酶基序的FGE的细胞中表达核酸引起所述基序的半胱氨酸或丝氨酸转化成fGly,有时称为氧代丙氨酸。在存在两个或更多个不同的硫酸酯酶基序(例如,第一硫酸酯酶基序和第二硫酸酯酶基序)时,还有可能在细胞表达期间对各基序或在细胞表达和部分或完全纯化之后对各基序进行转化。使用具有不同的基序选择性的两种或更多种FGE酶和由所述FGE中的每一种优先转化的基序,还有可能顺序地在细胞表达期间转化至少一个硫酸酯酶基序和在部分或完全纯化之后转化至少一个硫酸酯酶基序,或者在表达之后将硫酸酯酶基序单独转化成fGly残基。如以下所论述,单独转化不同的硫酸酯酶基序并且以顺序方式将它们化学偶联至表位和/或有效负载的能力允许使用硫酸酯酶偶联在不同基序的位置处并入不同的表位或有效负载。

[0137] 宿主细胞在产生具有未转化的硫酸酯酶基序的多肽时或在细胞表达适用于转化含fGly的多肽序列的FGE时包括原核生物和真核生物的宿主细胞。非限制性实施例包括大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 菌株、芽孢杆菌属 (*Bacillus* spp.) (例如枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 等)、酵母或真菌(例如酿酒酵母 (*S. cerevisiae*)、毕赤酵母属 (*Pichia* spp.) 等)。其他宿主细胞,包括来源于诸如昆虫和脊椎动物、尤其是哺乳动物的高级生物体的宿主细胞的实例包括但不限于CHO细胞、HEK细胞等(例如,美国典型培养物保藏中心(ATCC)号

CCL-2)、CHO细胞(例如ATCC号CRL9618和CRL9096)、CHO DG44细胞、CHO K1细胞(ATCC CCL-61)、293细胞(例如,ATCC号CRL-1573)、Vero细胞、NIH 3T3细胞(例如,ATCC号CRL-1658)、Hnh-7细胞、BHK细胞(例如,ATCC号CCL10)、PC12细胞(ATCC号CRL1721)、COS细胞、COS-7细胞(ATCC号CRL1651)、RAT1细胞、小鼠L细胞(ATCC号CCL1.3)、人胚肾(HEK)细胞(ATCC号CRL1573)、HLHepG2细胞等。

[0138] 可采用多种FGE将硫酸酯酶基序中的半胱氨酸或丝氨酸转化(氧化)成fGly。如本文中所使用,术语甲酰基甘氨酸产生酶或FGE是指催化硫酸酯酶基序的半胱氨酸或丝氨酸转化成fGly的fGly产生酶。如美国专利号9,540,438中所论述,所述文献通常将术语甲酰基甘氨酸产生酶用于将所述基序的半胱氨酸转化成fGly的那些酶,而将硫酸酯酶基序中的丝氨酸转化成fGly的酶则被称为Ats-B样蛋白。

[0139] FGE可分为两个类别,需氧性和厌氧性。需氧性酶,包括真核生物酶(例如人酶),将半胱氨酸残基转化成fGly,其中半胱氨酸通常在式X1CX2PX3Z3(SEQ ID NO:47)的硫酸酯酶基序的情况下。真核生物FGE属于“SUMF1型”并且在人中由SUMF1基因编码。厌氧性酶属于最通常来自原核生物来源(例如,产气荚膜梭菌、肺炎克雷伯菌或结核分枝杆菌)的AtsB型,并且看似能够使用与需氧形式不同的机制将其硫酸酯酶基序中的半胱氨酸或丝氨酸转化成fGly。

[0140] 催化丝氨酸或半胱氨酸转化成fGly的能力取决于酶和硫酸酯酶基序。由于FGE转化丝氨酸和半胱氨酸的能力存在差异,所以有可能不同的硫酸酯酶基序可用作不同的化学缀合位点。举例而言,有可能向T细胞-MMP中并入编码适于由真核生物需氧性SUMF1型FGE转化的含半胱氨酸的位点和适于由AtsB型FGE转化的含丝氨酸的位点两者的序列。在表达SumF1型FGE的真核细胞中表达之后,半胱氨酸基序将携带可与表位或有效负载进行第一化学缀合的fGly残基。在第一化学缀合后,将在无细胞系统中用AtsB型丝氨酸型酶处理T细胞-MMP缀合物,并且由含丝氨酸的基序产生的fGly随后可与同第一化学缀合中所使用的分子相同或不同的分子进行化学缀合。

[0141] 鉴于上述内容,本公开提供包含并入如以上所论述的第一多肽链或第二多肽链的序列中的一个或多个fGly残基的T细胞-MMP。举例而言,fGly残基可处于序列X1(fGly)X2Z2X3Z3的情况下,其中:fGly为甲酰基甘氨酸残基;并且Z2、Z3、X1、X2和X3如以上式(I)中所定义。

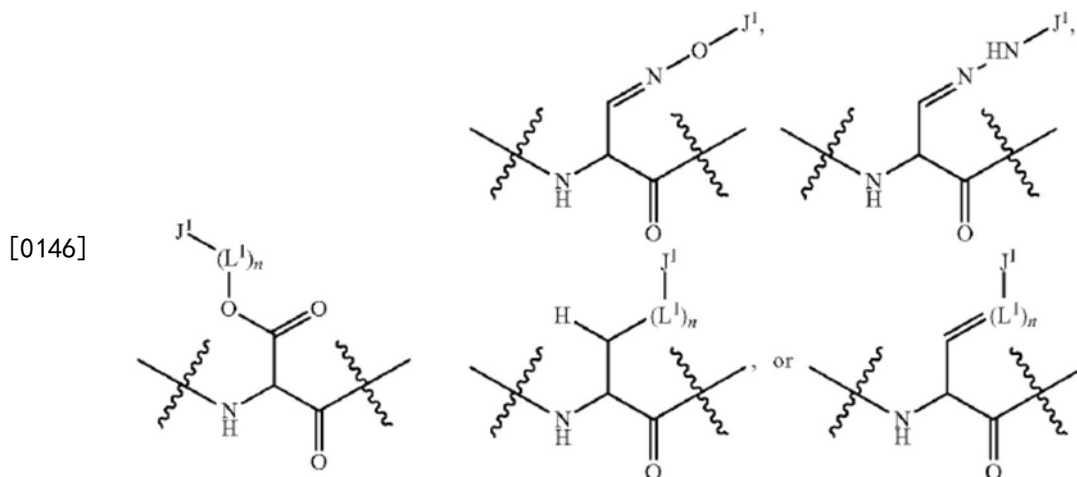
[0142] 在化学缀合之后,在序列X1(fGly')X2Z2X3Z3的情况下,T细胞-MMP包含并入第一多肽链或第二多肽链的序列中的一个或多个fGly'残基,其中所述fGly'残基为已进行化学反应并且现在具有共价衔接部分(例如表位或有效负载)的甲酰基甘氨酸。

[0143] 众多化学反应和市售试剂可用于将分子(例如表位或有效负载)缀合至fGly残基,包括但不限于使用氨基硫脲、氨基氧基、酰肼或肼基、待偶联于含fGly的化学缀合位点处的分子的衍生物。举例而言,表位(例如,表位肽)和/或携带氨基硫脲、氨基氧基、酰肼、肼基或肼基官能团(例如,直接或经由诸如PEG的接头衔接至肽的氨基酸)的有效负载可与T细胞-MMP的含fGly的第一多肽或第二多肽反应以形成共价连接的表位。类似地,可使用例如生物素酰肼作为连接剂来并入有效负载,诸如药物和治疗剂。

[0144] 在一个实施方案中,对肽(例如,含表位的肽)进行修饰以并入与并入T细胞-MMP的第一多肽和/或第二多肽中的fGly残基反应的含亲核试剂的部分(例如,氨基氧基或酰肼部

分)。所述反应形成T细胞-MMP和肽(例如,表位或有效负载)共价连接(例如,通过肟或肟键联)的缀合物。(参见例如美国专利号9,238,878和7,351,797;Interchem,Aminooxy& Aldehyde PEO/PEG reagents for Biorthogonal Conjugation and Labeling Featuring Oxime Formation(已更新),可在<http://www.interchim.fr/ft/J/JV2290.pdf>获得(2017年9月2日可存取)。

[0145] 在一个实施方案中,使表位(例如,肽表位)和/或携带氨基硫脲、氨基氧基、酰肼或肟基的有效负载与T细胞-MMP的含fGly的第一多肽和/或第二多肽反应。所述反应引起T细胞-MMP与表位和/或有效负载之间形成共价键。如美国专利号9,540,438和美国专利公布号2017/0166639A1中所论述,所得缀合物可含有下式的结构(经修饰的氨基酸残基):



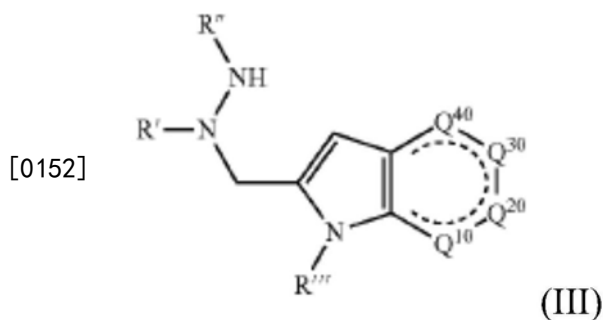
[0147] 其中:

[0148] J1为共价结合的部分;

[0149] 各L1为独立地选自以下的二价部分:亚烷基、取代的亚烷基、亚烯基、取代的亚烯基、亚炔基、取代的亚炔基、亚芳基、取代的亚芳基、亚环烷基、取代的亚环烷基、亚杂芳基、取代的亚杂芳基、亚杂环基、取代的亚杂环基、酰基、酰胺基、酰氧基、亚脲烷基、硫代酯、磺酰基、磺酰胺、磺酰基酯、-O-、-S-、-NH-和取代的胺;并且

[0150] n为选自零至40的数字(例如1-5、5-10、10-20、20-30或30-40)。

[0151] 在一个实施方案中,可对表位和/或有效负载进行修饰以包括共价结合的肟基,包括携带环状取代基(例如吡啶)的肟基,从而允许它们共价附接至携带fGly氨基酸残基的T细胞-MMP。在一个实施方案中,所述肟基化合物为式(III)化合物:



[0153] 其中,出于式(III)的目的:

[0154] R''可为将与含fGly的多肽缀合的目标有效负载或表位;

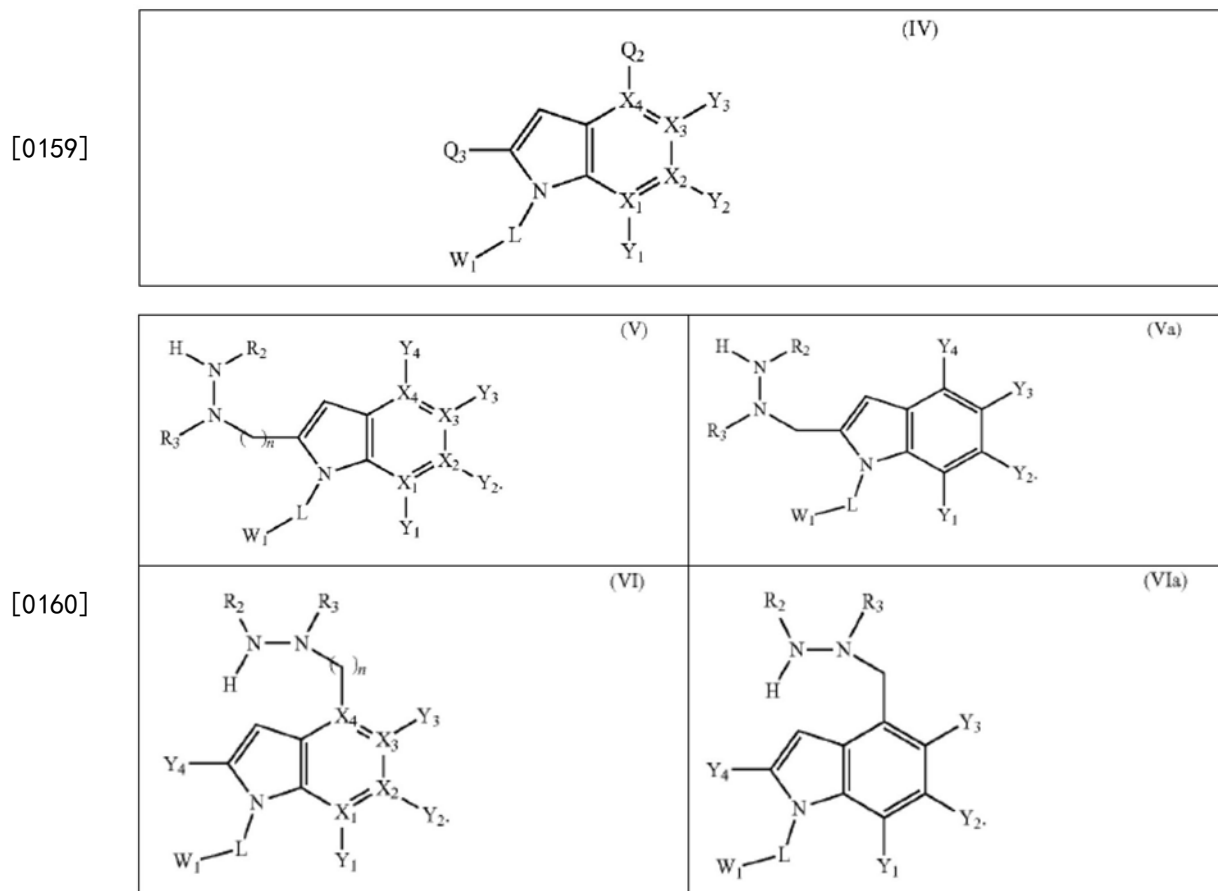
[0155] R'和R'''可各自独立地为任何所需取代基,包括但不限于氢、烷基、取代的烷基、烯

基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、烷氧基、取代的烷氧基、氨基、取代的氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰基氨基、氨基酰基、烷基酰胺、取代的烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代的硫代烷氧基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基；

[0156] Q^{10} 、 Q^{20} 、 Q^{30} 和 Q^{40} 可为 CR^{11} 、 NR^{12} 、N、O或S；

[0157] 其中 Q^{10} 、 Q^{20} 、 Q^{30} 和 Q^{40} 中的一者为任选的，并且 R^{11} 和 R^{12} 可为任何所需取代基（例如烷基）。参见美国专利公布号2015/0352225。

[0158] 在其他实施方案中，经修饰的表位和有效负载（例如，药物和/或诊断剂）的胍基具有由式（IV）、式（V）、式（Va）、式（VI）或式（VIa）提供的结构。参见美国专利号9,310,374，所述专利因其关于胍基化合物的制备和在生物缀合物（包括涉及肽和多肽的缀合物）的形成中的用途的教导内容而以引用的方式并入。



[0161] 其中，出于此部分中所叙述的式（IV）、式（V）、式（Va）、式（VI）或式（VIa）的目的：

[0162] Q_2 和 Q_3 中的一者为 $-(CH_2)_nNR_3NHR_2$ ，并且另一者为 Y_4 ；

[0163] n 为0或1；

[0164] R_2 和 R_3 各自独立地选自氢、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、烷氧基、取代的烷氧基、氨基、取代的氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰基氨基、氨基酰基、烷基酰胺、取代的烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代的硫代烷氧基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基；

[0165] X_1 、 X_2 、 X_3 和 X_4 各自独立地选自C、N、O和S；

[0166] Y_1 、 Y_2 、 Y_3 和 Y_4 各自独立地选自氢、卤素、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔

基、取代的炔基、烷氧基、取代的烷氧基、氨基、取代的氨基、羧基、羧基酯、酰基、酰氧基、酰基氨基、氨基酰基、烷基酰胺、取代的烷基酰胺、磺酰基、硫代烷氧基、取代的硫代烷氧基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基；

[0167] L为任选的接头；并且

[0168] W_1 选自表位(例如,表位多肽)、药物、诊断剂或其他有效负载。

[0169] 属于那些结构内的胍基咪唑与醛官能化肽的示例性反应示意性地示于图8中。

[0170] 在一个实施方案中, Q_2 为 $-(CH_2)_nNR_3NHR_2$ 并且 Q_3 为 Y_4 。在一个实施方案中, Q_3 为 $-(CH_2)_nNR_3NHR_2$ 并且 Q_2 为 Y_4 。在一个实施方案中, n 为1。在一个实施方案中, R_2 和 R_3 各自独立地选自烷基和取代的烷基。在一些实施方案中, R_2 和 R_3 各自为甲基。在一个实施方案中, X_1 、 X_2 、 X_3 和 X_4 各自为C。在一个实施方案中, Y_1 、 Y_2 、 Y_3 和 Y_4 各自为H。

[0171] 在一个实施方案中,L存在并且包括选自以下的基团:烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、烷氧基、取代的烷氧基、氨基、取代的氨基、羧基、羧基酯、酰基氨基、烷基酰胺、取代的烷基酰胺、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、环烷基、取代的环烷基、杂环基和取代的杂环基。在一些实施方案中,L存在并且包括聚合物。在一些实施方案中,所述聚合物为聚乙二醇。

[0172] 出于式(IV)、式(V)、式(Va)、式(VI)或式(VIa)的目的:

[0173] 1. “烷基”是指具有1至10个碳原子并且优选1至6个碳原子的单价饱和脂族烃基。此术语包括例如直链和支链烃基,诸如甲基(CH_3-)、乙基(CH_3CH_2-)、正丙基($CH_3CH_2CH_2-$)、异丙基($(CH_3)_2CH-$)、正丁基($CH_3CH_2CH_2CH_2-$)、异丁基($(CH_3)_2CHCH_2-$)、仲丁基($(CH_3)(CH_3CH_2)CH-$)、叔丁基($(CH_3)_3C-$)、正戊基($CH_3CH_2CH_2CH_2CH_2-$)和新戊基($(CH_3)_3CCH_2-$)。

[0174] 2. 术语“取代的烷基”是指如本文中所定义的烷基,其中烷基链中的一个或多个碳原子已任选地被诸如 $-O-$ 、 $-N-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)_n-$ (其中 n 为0至2)或 $-NR-$ (其中 R 为氢或烷基)的杂原子置换并且具有1至5个选自由以下组成的组的取代基:烷氧基、取代的烷氧基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、酰基、酰基氨基、酰氧基、氨基、氨基酰基、氨基酰基氧基、氧基氨基酰基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、氧代基、硫代酮基、羧基、羧基烷基、硫代芳基氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、硫醇、硫代烷氧基、取代的硫代烷氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟基氨基、烷氧基氨基、硝基、 $-SO-$ 烷基、 $-SO-$ 芳基、 $-SO-$ 杂芳基、 $-SO_2-$ 烷基、 $-SO_2-$ 芳基、 $-SO_2-$ 杂芳基和 $-NR^aR^b$,其中 R^a 和 R^b 可相同或不同并且选自氢、任选取代的烷基、环烷基、烯基、环烯基、炔基、芳基、杂芳基和杂环。

[0175] 3. “亚烷基”是指优选具有1至6个并且更优选1至3个碳原子的二价脂族烃基,其为直链或支链并且其任选地插置一个或多个选自 $-O-$ 、 $-NR^{10}-$ 、 $-NR^{10}C(O)-$ 、 $-C(O)NR^{10}-$ 等的基团。此术语包括例如亚甲基($-CH_2-$)、亚乙基($-CH_2CH_2-$)、亚正丙基($-CH_2CH_2CH_2-$)、亚异丙基($-CH_2CH(CH_3)-$)、 $-(C(CH_3)_2CH_2CH_2-)$ 、 $-(C(CH_3)_2CH_2C(O)-)$ 、 $-(C(CH_3)_2CH_2C(O)NH-)$ 、 $-(CH(CH_3)CH_2-)$ 等。

[0176] 4. R^{10} 为H或烷基(例如,H、 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ 或 $-CH_2CH_2CH_3$)。

[0177] 5. “取代的亚烷基”是指有1至3个氢被如针对以下“取代的”定义中的碳所描述的取代基置换的亚烷基。

[0178] 6. 术语“烷烃”是指如本文中所定义的烷基和亚烷基。

[0179] 7. 术语“烷基氨基烷基”、“烷基氨基烯基”和“烷基氨基炔基”是指基团 $R'NHR''-$,其

中R'为如本文中所定义的烷基并且R"为如本文中所定义的亚烷基、亚烯基或亚炔基。

[0180] 8. 术语“烷芳基”或“芳烷基”是指基团-亚烷基-芳基和-取代的亚烷基-芳基,其中亚烷基、取代的亚烷基和芳基如本文中所定义。

[0181] 9. “烷氧基”是指基团-O-烷基,其中烷基如本文中所定义。烷氧基包括例如甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、叔丁氧基、仲丁氧基、正戊氧基等。术语“烷氧基”还指基团烯基-O-、环烷基-O-、环烯基-O-和炔基-O-,其中烯基、环烷基、环烯基和炔基如本文中所定义。

[0182] 10. 术语“取代的烷氧基”是指基团取代的烷基O-、取代的烯基-O-、取代的环烷基-O-、取代的环烯基-O-和取代的炔基-O-,其中取代的烷基、取代的烯基、取代的环烷基、取代的环烯基和取代的炔基如本文中所定义。

[0183] 11. 术语“烷氧基氨基”是指基团-NH-烷氧基,其中烷氧基如本文中所定义。

[0184] 12. 术语“卤基烷氧基”是指基团烷基-O-,其中所述烷基上的一个或多个氢原子已被卤基取代,并且举例而言,包括诸如三氟甲氧基等的基团。

[0185] 13. 术语“卤烷基”是指如以上所描述的取代的烷基,其中所述烷基上的一个或多个氢原子已被卤基取代。此类基团的实例包括但不限于氟烷基,诸如三氟甲基、二氟甲基、三氟乙基等。

[0186] 14. 术语“烷基烷氧基”是指基团-亚烷基-O-烷基、亚烷基-O-取代的烷基、取代的亚烷基-O-烷基和取代的亚烷基-O-取代的烷基,其中烷基、取代的烷基、亚烷基和取代的亚烷基如本文中所定义。

[0187] 15. 术语“烷基硫代烷氧基”是指基团-亚烷基-S-烷基、亚烷基-S-取代的烷基、取代的亚烷基-S-烷基和取代的亚烷基-S-取代的烷基,其中烷基、取代的烷基、亚烷基和取代的亚烷基如本文中所定义。

[0188] 16. “烯基”是指具有2至6个碳原子并且优选2至4个碳原子并且具有至少1个并且优选1至2个双键不饱和位点的直链或支链烃基。此术语包括例如联乙烯基、烯丙基和丁-3-烯-1-基。此术语内包括顺式和反式异构体或这些异构体的混合物。

[0189] 17. 术语“取代的烯基”是指具有1至5个取代基或1至3个取代基的如本文中所定义的烯基,所述取代基为选自烷氧基、取代的烷氧基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、酰基、酰基氨基、酰氧基、氨基、取代的氨基、氨基酰基、氨基酰氧基、氧基氨基酰基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、氧代基、硫代酮基、羧基、羧基烷基、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、硫醇、硫代烷氧基、取代的硫代烷氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟基氨基、烷氧基氨基、硝基、-SO-烷基、-SO-取代的烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO₂-烷基、-SO₂-取代的烷基、-SO₂-芳基和-SO₂-杂芳基。

[0190] 18. “炔基”是指具有2至6个碳原子并且优选2至3个碳原子并且具有至少1个并且优选1至2个三键不饱和位点的直链或支链单价烃基。此类炔基的实例包括乙炔基(-C≡CH)和炔丙基(-CH₂C≡CH)。

[0191] 19. 术语“取代的炔基”是指具有1至5个取代基或1至3个取代基的如本文中所定义的炔基,所述取代基选自烷氧基、取代的烷氧基、环烷基、取代的环烷基、环炔基、取代的环炔基、酰基、酰基氨基、酰氧基、氨基、取代的氨基、氨基酰基、氨基酰氧基、氧基氨基酰基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、氧代基、硫代酮基、羧基、羧基烷基、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫

代杂环氧基、硫醇、硫代烷氧基、取代的硫代烷氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟基氨基、烷氧基氨基、硝基、-SO-烷基、-SO-取代的烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO₂-烷基、-SO₂-取代的烷基、-SO₂-芳基和-SO₂-杂芳基。

[0192] 20. “炔氧基”是指基团-O-炔基,其中炔基如本文中所定义。炔氧基包括例如乙炔氧基、丙炔氧基等。

[0193] 21. “酰基”是指基团H-C(O)-、烷基-C(O)-、取代的烷基-C(O)-、烯基-C(O)-、取代的烯基-C(O)-、炔基-C(O)-、取代的炔基-C(O)-、环烷基-C(O)-、取代的环烷基-C(O)-、环烯基-C(O)-、取代的环烯基-C(O)-、芳基-C(O)-、取代的芳基-C(O)-、杂芳基-C(O)-、取代的杂芳基-C(O)-、杂环基-C(O)-和取代的杂环基-C(O)-,其中烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、杂环和取代的杂环如本文中所定义。举例而言,酰基包括“乙酰基”基团CH₃C(O)-。

[0194] 22. “酰基氨基”是指基团-NR²⁰C(O)烷基、-NR²⁰C(O)取代的烷基、NR²⁰C(O)环烷基、-NR²⁰C(O)取代的环烷基、-NR²⁰C(O)环烯基、-NR²⁰C(O)取代的环烯基、-NR²⁰C(O)烯基、-NR²⁰C(O)取代的烯基、-NR²⁰C(O)炔基、-NR²⁰C(O)取代的炔基、-NR²⁰C(O)芳基、-NR²⁰C(O)取代的芳基、-NR²⁰C(O)杂芳基、-NR²⁰C(O)取代的杂芳基、-NR²⁰C(O)杂环和-NR²⁰C(O)取代的杂环,其中R²⁰为氢或烷基并且其中烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、杂环和取代的杂环如本文中所定义。

[0195] 23. “氨基羰基”或术语“氨基酰基”是指基团-C(O)NR²¹R²²,其中R²¹和R²²独立地选自自由以下组成的组:氢、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、芳基、取代的芳基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、杂芳基、取代的杂芳基、杂环和取代的杂环,并且其中R²¹和R²²任选地用与其结合的氮连结在一起而形成杂环基或取代的杂环基,并且其中烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、杂环和取代的杂环如本文中所定义。

[0196] 24. “氨基羰基氨基”是指基团-NR²¹C(O)NR²²R²³,其中R²¹、R²²和R²³独立地选自氢、烷基、芳基或环烷基,或其中两个R基团连结以形成杂环基。

[0197] 25. 术语“烷氧基羰基氨基”是指基团-NRC(O)OR,其中各R独立地为氢、烷基、取代的烷基、芳基、杂芳基或杂环基,其中烷基、取代的烷基、芳基、杂芳基和杂环基如本文中所定义。

[0198] 26. 术语“酰氧基”是指基团烷基-C(O)O-、取代的烷基-C(O)O-、环烷基-C(O)O-、取代的环烷基-C(O)O-、芳基-C(O)O-、杂芳基-C(O)O-和杂环基-C(O)O-,其中烷基、取代的烷基、环烷基、取代的环烷基、芳基、杂芳基和杂环基如本文中所定义。

[0199] 27. “氨基磺酰基”是指基团-SO₂NR²¹R²²,其中R²¹和R²²独立地选自自由以下组成的组:氢、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、芳基、取代的芳基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、杂芳基、取代的杂芳基、杂环和取代的杂环,并且其中R²¹和R²²任选地用与其结合的氮连结在一起而形成杂环基或取代的杂环基,并且烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基

基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、杂环和取代的杂环如本文中所定义。

[0200] 28. “磺酰基氨基”是指基团 $-\text{NR}^{21}\text{SO}_2\text{R}^{22}$, 其中 R^{21} 和 R^{22} 独立地选自由以下组成的组: 氢、烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、芳基、取代的芳基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、杂芳基、取代的杂芳基、杂环和取代的杂环, 并且其中 R^{21} 和 R^{22} 任选地用与其结合的原子连结在一起而形成杂环基或取代的杂环基, 并且其中烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、杂环和取代的杂环如本文中所定义。

[0201] 29. “芳基”或“Ar”是指具有单一环的具有6至18个碳原子的单价芳族碳环基团(诸如存在于苯基中时)或具有多个缩合环的环系统(此类芳族环系统的实例包括萘基、蒽基和茚满基), 所述缩合环可能为或可能不为芳族的, 限制条件为附接点为经由芳族环的原子。此术语包括例如苯基和萘基。除非另外受芳基取代基的定义约束, 否则此类芳基可任选地被取代以形成具有1至5个取代基或1至3个取代基的“取代的芳基”, 所述取代基选自酰氧基、羟基、硫醇、酰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、取代的烷基、取代的烷氧基、取代的烯基、取代的炔基、取代的环烷基、取代的环烯基、氨基、取代的氨基、氨基酰基、酰基氨基、烷芳基、芳基、芳氧基、叠氮基、羧基、羧基烷基、氰基、卤素、硝基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、氨基酰氧基、氧基酰基氨基、硫代烷氧基、取代的硫代烷氧基、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、 $-\text{SO}-$ 烷基、 $-\text{SO}-$ 取代的烷基、 $-\text{SO}-$ 芳基、 $-\text{SO}-$ 杂芳基、 $-\text{SO}_2-$ 烷基、 $-\text{SO}_2-$ 取代的烷基、 $-\text{SO}_2-$ 芳基、 $-\text{SO}_2-$ 杂芳基和三卤代甲基。

[0202] 30. “芳氧基”是指基团 $-\text{O}-$ 芳基, 其中芳基如本文中所定义, 包括例如苯氧基、萘氧基等, 包括还如本文中所定义的任选取代的芳基。

[0203] 31. “氨基”是指基团 $-\text{NH}_2$ 。

[0204] 32. 术语“取代的氨基”是指基团 $-\text{NRR}$, 其中各R独立地选自由以下组成的组: 氢、烷基、取代的烷基、环烷基、取代的环烷基、烯基、取代的烯基、环烯基、取代的环烯基、炔基、取代的炔基、芳基、杂芳基和杂环基, 其限制条件为至少一个R不为氢。

[0205] 33. 术语“叠氮基”是指基团 $-\text{N}_3$ 。

[0206] 34. “羧基 (Carboxyl)”、“羧基 (carboxy)”或“羧酸酯”是指 $-\text{CO}_2\text{H}$ 或其盐。

[0207] 35. “羧基酯 (Carboxyl ester)”或“羧基酯 (carboxy ester)”或者术语“羧基烷基 (carboxyalkyl)”或“羧基烷基 (carboxylalkyl)”是指基团 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 烷基、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 取代的烷基、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 烯基、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 取代的烯基、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 炔基、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 取代的炔基、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 芳基、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 取代的芳基、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 环烷基、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 取代的环烷基、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 环烯基、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 取代的环烯基、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 杂芳基、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 取代的杂芳基、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 杂环和 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 取代的杂环, 其中烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、杂环和取代的杂环如本文中所定义。

[0208] 36. “(羧基酯) 氧基”或“碳酸酯”是指基团 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 烷基、 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 取代的烷基、 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 烯基、 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 取代的烯基、 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 炔基、 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 取代的炔基、 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 芳基、 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 取代的芳基、 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 环烷基、 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 取代的环烷基、 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 环烯基、 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 取代的环烯基、 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 杂芳基、 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 取代的杂芳基、 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 杂环和 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 取代的杂环, 其中烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、

基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、杂环和取代的杂环如本文中所定义。

[0209] 37. “氰基”或“腈”是指基团-CN。

[0210] 38. “环烷基”是指具有单一环状环或多个环状环的3至10个碳原子的环状烷基,包括稠合系统、桥连系统和螺旋系统。适合的环烷基的实例包括例如金刚烷基、环丙基、环丁基、环戊基、环辛基等。此类环烷基包括例如诸如环丙基、环丁基、环戊基、环辛基等的单环结构或诸如金刚烷基等的多环结构。

[0211] 39. 术语“取代的环烷基”是指具有1至5个取代基或1至3个取代基的环烷基,所述取代基选自烷基、取代的烷基、烷氧基、取代的烷氧基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、酰基、酰基氨基、酰氧基、氨基、取代的氨基、氨基酰基、氨基酰氧基、氧基氨基酰基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、氧代基、硫代酮基、羧基、羧基烷基、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、硫醇、硫代烷氧基、取代的硫代烷氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟基氨基、烷氧基氨基、硝基、-SO-烷基、-SO-取代的烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO₂-烷基、-SO₂-取代的烷基、-SO₂-芳基和-SO₂-杂芳基。

[0212] 40. “环烯基”是指具有单一环或多个环并且具有至少一个双键并且优选1至2个双键的3至10个碳原子的非芳族环状烷基。

[0213] 41. 术语“取代的环烯基”是指具有1至5个取代基或1至3个取代基的环烯基,所述取代基选自烷氧基、取代的烷氧基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、酰基、酰基氨基、酰氧基、氨基、取代的氨基、氨基酰基、氨基酰氧基、氧基氨基酰基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、酮基、硫代酮基、羧基、羧基烷基、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、硫醇、硫代烷氧基、取代的硫代烷氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟基氨基、烷氧基氨基、硝基、-SO-烷基、-SO-取代的烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO₂-烷基、-SO₂-取代的烷基、-SO₂-芳基和-SO₂-杂芳基。

[0214] 42. “环炔基”是指具有单一环或多个环并且具有至少一个三键的5至10个碳原子的非芳族环烷基。

[0215] 43. “环烷氧基”是指-O-环烷基。

[0216] 44. “环烯氧基”是指-O-环烯基。

[0217] 45. “卤基”或“卤素”是指氟、氯、溴和碘。

[0218] 46. “羟基”是指-OH基团。

[0219] 47. “杂芳基”是指在环内具有1至15个碳原子,诸如1至10个碳原子和1至10个选自氧、氮和硫组成的组的杂原子的芳族基团。此类杂芳基可在环系统中具有单一环(诸如吡啶基、咪唑基或呋喃基)或多个缩合环(举例而言,如在诸如吲哚基、喹啉基、苯并呋喃、苯并咪唑基或苯并噻吩基的基团中),其中所述环系统内的至少一个环为芳族的,限制条件为附接点为经由芳族环的原子。在某些实施方案中,杂芳基的氮和/或硫原子任选地被氧化以提供N-氧化物(N→O)、亚磺酰基或磺酰基部分。此术语包括例如吡啶基、吡咯基、吲哚基、苯硫基和呋喃基。除非另外受杂芳基取代基的定义约束,否则此类杂芳基可任选地被取代而形成具有1至5个取代基或1至3个取代基的“取代的杂芳基”,所述取代基选自酰氧基、羟基、硫醇、酰基、烷基、烷氧基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、取代的烷基、取代的烷氧基、取代的烯基、取代的炔基、取代的环烷基、取代的环烯基、氨基、取代的氨基、氨基酰基、酰基氨基、

烷芳基、芳基、芳氧基、叠氮基、羧基、羧基烷基、氰基、卤素、硝基、杂芳基、杂芳基氧基、杂环基、杂环氧基、氨基酰氧基、氧基酰基氨基、硫代烷氧基、取代的硫代烷氧基、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、-S₀-烷基、-S₀-取代的烷基、-S₀-芳基、-S₀-杂芳基、-S₀₂-烷基、-S₀₂-取代的烷基、-S₀₂-芳基和-S₀₂-杂芳基,以及三卤代甲基。

[0220] 48. 术语“杂芳烷基”是指基团-亚烷基-杂芳基,其中亚烷基和杂芳基如本文中所定义。此术语包括例如吡啶基甲基、吡啶基乙基、吡啶基甲基等。

[0221] 49. “杂芳氧基”是指-O-杂芳基。

[0222] 50. “杂环”、“杂环状”、“杂环烷基”和“杂环基”是指具有单个环或多个缩合环,包括稠合环系统、桥连环系统和螺环系统并且具有3至20个环原子,包括1至10个杂原子的饱和或不饱和基团。这些环原子选自由以下组成的组:氮、硫或氧,其中在稠合环系统中,所述环中的一个或多个可为环烷基、芳基或杂芳基,限制条件为附接点为经由非芳族环。在某些实施方案中,杂环状基团的氮和/或硫原子任选地被氧化以提供N-氧化物、-S(0)-或-S₀₂-部分。

[0223] 51. 杂环和杂芳基的实例包括但不限于氮杂环丁烷、吡咯、咪唑、吡唑、吡啶、吡嗪、嘧啶、哒嗪、吡嗪、异吡啶、吡啶、二氢吡啶、吡啶、嘌呤、喹啉、异喹啉、喹啉、酞嗪、萘基吡啶、喹啉、喹啉、喹啉、蝶啶、呋喃、呋喃、菲啶、吡啶、菲啶、异喹啉、吩嗪、异喹啉、吩嗪、吩嗪、咪唑烷、咪唑啉、哌啶、哌啶、吡啶、邻苯二甲酰亚胺、1,2,3,4-四氢异喹啉、4,5,6,7-四氢苯并[b]噻吩、噻吩、噻吩、噻吩、噻吩、苯并[b]噻吩、吗啉基、硫代吗啉基(还称为硫杂吗啉基)、1,1-二氧化基硫代吗啉基、哌啶基、吡咯烷、四氢呋喃基等。

[0224] 52. 除非另外受杂环状基团取代基的定义约束,否则此类杂环状基团可任选地被1至5个取代基或1至3个取代基取代,所述取代基选自烷氧基、取代的烷氧基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、酰基、酰基氨基、酰氧基、氨基、取代的氨基、氨基酰基、氨基酰氧基、氧基氨基酰基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、氧代基、硫代酮基、羧基、羧基烷基、硫代芳氧基、硫代杂芳氧基、硫代杂环氧基、硫醇、硫代烷氧基、取代的硫代烷氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟基氨基、烷氧基氨基、硝基、-S₀-烷基、-S₀-取代的烷基、-S₀-芳基、-S₀-杂芳基、-S₀₂-烷基、-S₀₂-取代的烷基、-S₀₂-芳基、-S₀₂-杂芳基和稠合的杂环。

[0225] 53. “杂环氧基”是指基团-O-杂环基。

[0226] 54. 术语“杂环硫基”是指基团杂环-S-。

[0227] 55. 术语“亚杂环基”是指由如本文中所定义的杂环形成的二价基团。

[0228] 56. 术语“羟基氨基”是指基团-NH₂OH。

[0229] 57. “硝基”是指基团-NO₂。

[0230] 58. “氧代基”是指原子(=O)。

[0231] 59. “磺酰基”是指基团S₀₂-烷基、S₀₂-取代的烷基、S₀₂-烯基、S₀₂-取代的烯基、S₀₂-环烷基、S₀₂-取代的环烷基、S₀₂-环烯基、S₀₂-取代的环烯基、S₀₂-芳基、S₀₂-取代的芳基、S₀₂-杂芳基、S₀₂-取代的杂芳基、S₀₂-杂环和S₀₂-取代的杂环,其中烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、杂环和取代的杂环如本文中所定义。磺酰基包括例如甲基-S₀₂-、苯基-S₀₂-和4-甲基苯基-S₀₂-。

[0232] 60. “磺酰氧基”是指基团 $-\text{OSO}_2$ -烷基、 $-\text{OSO}_2$ -取代的烷基、 $-\text{OSO}_2$ -烯基、 $-\text{OSO}_2$ -取代的烯基、 $-\text{OSO}_2$ -环烷基、 $-\text{OSO}_2$ -取代的环烷基、 $-\text{OSO}_2$ -环烯基、 $-\text{OSO}_2$ -取代的环烯基、 $-\text{OSO}_2$ -芳基、 $-\text{OSO}_2$ -取代的芳基、 $-\text{OSO}_2$ -杂芳基、 $-\text{OSO}_2$ -取代的杂芳基、 $-\text{OSO}_2$ -杂环和 $-\text{OSO}_2$ -取代的杂环,其中烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、杂环和取代的杂环如本文中所定义。

[0233] 61. 术语“氨基羰氧基”是指基团 $-\text{OC}(\text{O})\text{NRR}$,其中各R独立地为氢、烷基、取代的烷基、芳基、杂芳基或杂环,其中烷基、取代的烷基、芳基、杂芳基和杂环如本文中所定义。

[0234] 62. “硫醇”是指基团 $-\text{SH}$ 。

[0235] 63. “硫代”或术语“硫酮基”是指原子 $(=\text{S})$ 。

[0236] 64. “烷硫基”或术语“硫代烷氧基”是指基团 $-\text{S}$ -烷基,其中烷基如本文中所定义。在某些实施方案中,硫可氧化成 $-\text{S}(\text{O})-$ 。亚砷可呈一种或多种立体异构体的形式存在。

[0237] 65. 术语“取代的硫代烷氧基”是指基团 $-\text{S}$ -取代的烷基。

[0238] 66. 术语“硫代芳氧基”是指基团芳基 $-\text{S}-$,其中芳基如本文中所定义,包括还如本文中所定义的任选取代的芳基。

[0239] 67. 术语“硫代杂芳氧基”是指基团杂芳基 $-\text{S}-$,其中杂芳基如本文中所定义,包括还如本文中所定义的任选取代的芳基。

[0240] 68. 术语“硫代杂环氧基”是指基团杂环基 $-\text{S}-$,其中杂环基如本文中所定义,包括还如本文中所定义的任选取代的杂环基。

[0241] 69. 除本文中的公开内容以外,术语“取代的”当用于修饰指定基团时还可意指指定基团的一个或多个氢原子各自彼此独立地被相同或不同的如以下所定义的取代基置换。

[0242] 70. 除非另外规定,否则除关于本文中的个别术语所公开的基团以外,用于取代指定基团中饱和碳原子上的一个或多个氢(可用 $=\text{O}$ 、 $=\text{NR}^{70}$ 、 $=\text{N}-\text{OR}^{70}$ 、 $=\text{N}_2$ 或 $=\text{S}$ 置换单一碳上的任两个氢)的取代基为 $-\text{R}^{60}$ 、卤基、 $=\text{O}$ 、 $-\text{OR}^{70}$ 、 $-\text{SR}^{70}$ 、 $-\text{NR}^{80}\text{R}^{80}$ 、三卤代甲基、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OCN}$ 、 $-\text{SCN}$ 、 $-\text{NO}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $=\text{N}_2$ 、 $-\text{N}_3$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}^{70}$ 、 $-\text{SO}_2\text{O}^-\text{M}^+$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}^{70}$ 、 $-\text{OSO}_2\text{R}^{70}$ 、 $-\text{OSO}_2\text{O}^-\text{M}^+$ 、 $-\text{OSO}_2\text{OR}^{70}$ 、 $-\text{P}(\text{O})(\text{O}^-)_2(\text{M}^+)_2$ 、 $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}^{70})\text{O}^-\text{M}^+$ 、 $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}^{70})_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^{70}$ 、 $-\text{C}(\text{S})\text{R}^{70}$ 、 $-\text{C}(\text{NR}^{70})\text{R}^{70}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}^-\text{M}^+$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{70}$ 、 $-\text{C}(\text{S})\text{OR}^{70}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^{80}\text{R}^{80}$ 、 $-\text{C}(\text{NR}^{70})\text{NR}^{80}\text{R}^{80}$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^{70}$ 、 $-\text{OC}(\text{S})\text{R}^{70}$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{O}^-\text{M}^+$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{OR}^{70}$ 、 $-\text{OC}(\text{S})\text{OR}^{70}$ 、 $-\text{NR}^{70}\text{C}(\text{O})\text{R}^{70}$ 、 $-\text{NR}^{70}\text{C}(\text{S})\text{R}^{70}$ 、 $-\text{NR}^{70}\text{CO}_2^-\text{M}^+$ 、 $-\text{NR}^{70}\text{CO}_2\text{R}^{70}$ 、 $-\text{NR}^{70}\text{C}(\text{S})\text{OR}^{70}$ 、 $-\text{NR}^{70}\text{C}(\text{O})\text{NR}^{80}\text{R}^{80}$ 、 $-\text{NR}^{70}\text{C}(\text{NR}^{70})\text{R}^{70}$ 和 $-\text{NR}^{70}\text{C}(\text{NR}^{70})\text{NR}^{80}\text{R}^{80}$,其中 R^{60} 选自由以下组成的组:任选取代的烷基、环烷基、杂烷基、杂环烷基烷基、环烷基烷基、芳基、芳基烷基、杂芳基和杂芳基烷基;各 R^{70} 独立地为氢或 R^{60} ;各 R^{80} 独立地为 R^{70} ,或替代地,两个 R^{80} 与其所键结的氮原子一起形成5元、6元或7元杂环烷基,所述杂环烷基可任选地包括选自由O、N和S组成的组的1至4个相同或不同的额外杂原子,其中N可具有 $-\text{H}$ 或 C_1 - C_3 烷基取代;并且各 M^+ 为具有净单一正电荷的抗衡离子。各 M^+ 可独立地为例如碱金属离子,诸如 K^+ 、 Na^+ 、 Li^+ ;铵离子,诸如 $\text{N}(\text{R}^{60})_4^+$;或碱土金属离子,诸如 $[\text{Ca}^{2+}]_{0.5}$ 、 $[\text{Mg}^{2+}]_{0.5}$ 或 $[\text{Ba}^{2+}]_{0.5}$ (“0.5”意指此类二价碱土金属离子的抗衡离子中一个可为本公开化合物的电离形式并且另一个为典型抗衡离子,诸如氯离子,或两种离子化的本文中所公开的化合物可充当此类二价碱土金属离子的抗衡离子,或双离子化的本公开化合物可充当此类二价碱土金属离子的抗衡离子)。作为聚体实例, $-\text{NR}^{80}\text{R}^{80}$ 意图包括 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NH}$ -烷基、 N -吡咯烷基、 N -哌嗪基、 4N -甲基-哌嗪-1-基和 N -吗啉基。

[0243] 71. 除非另外规定,否则除本文中的公开内容以外,“取代的”烯烃、炔烃、芳基和杂

芳基中的不饱和碳原子上的氢的取代基为 $-R^{60}$ 、卤基、 $-O^+M^+$ 、 $-OR^{70}$ 、 $-SR^{70}$ 、 $-S^+M^+$ 、 $-NR^{80}R^{80}$ 、三卤代甲基、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-OCN$ 、 $-SCN$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ 、 $-N_3$ 、 $-SO_2R^{70}$ 、 $-SO_3^+M^+$ 、 $-SO_3R^{70}$ 、 $-OSO_2R^{70}$ 、 $-OSO_3^+M^+$ 、 $-OSO_3R^{70}$ 、 $-PO_3^{2-}2(M^+)_2$ 、 $-P(O)(OR^{70})O^+M^+$ 、 $-P(O)(OR^{70})_2$ 、 $-C(O)R^{70}$ 、 $-C(S)R^{70}$ 、 $-C(NR^{70})R^{70}$ 、 $-CO_2^+M^+$ 、 $-CO_2R^{70}$ 、 $-C(S)OR^{70}$ 、 $-C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ 、 $-OC(O)R^{70}$ 、 $-OC(S)R^{70}$ 、 $-OCO_2^+M^+$ 、 $-OCO_2R^{70}$ 、 $-OC(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)R^{70}$ 、 $-NR^{70}CO_2^+M^+$ 、 $-NR^{70}CO_2R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$ 和 $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ ，其中 R^{60} 、 R^{70} 、 R^{80} 和 M^+ 如先前所定义，限制条件为在取代的烯烃或炔烃的情况下，取代基不为 $-O^+M^+$ 、 $-OR^{70}$ 、 $-SR^{70}$ 或 $-S^+M^+$ 。

[0244] 72. 除非另外规定，否则除关于本文中的个别术语所公开的基团以外，“取代的”杂烷基和环杂烷基中的氮原子上的氢的取代基为 $-R^{60}$ 、 $-O^+M^+$ 、 $-OR^{70}$ 、 $-SR^{70}$ 、 $-S^+M^+$ 、 $-NR^{80}R^{80}$ 、三卤代甲基、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ 、 $-S(O)_2R^{70}$ 、 $-S(O)_2O^+M^+$ 、 $-S(O)_2R^{70}$ 、 $-OS(O)_2R^{70}$ 、 $-OS(O)_2O^+M^+$ 、 $-OS(O)_2R^{70}$ 、 $-P(O)(O^-)_2(M^+)_2$ 、 $-P(O)(OR^{70})O^+M^+$ 、 $-P(O)(OR^{70})(OR^{70})$ 、 $-C(O)R^{70}$ 、 $-C(S)R^{70}$ 、 $-C(NR^{70})R^{70}$ 、 $-C(O)OR^{70}$ 、 $-C(S)OR^{70}$ 、 $-C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ 、 $-OC(O)R^{70}$ 、 $-OC(S)R^{70}$ 、 $-OC(O)OR^{70}$ 、 $-OC(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$ 和 $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ ，其中 R^{60} 、 R^{70} 、 R^{80} 和 M^+ 如先前所定义。

[0245] 在一个实施方案中，表位（例如肽表位）和/或将与含fGly的多肽缀合的有效负载具有式(III)、式(IV)、式(V)、式(Va)、式(VI)或式(VIa)的形式。在一些实施方案中，表位共价结合于式(III)、式(IV)、式(V)、式(Va)、式(VI)或式(VIa)的化合物中。在一个这样的实施方案中，表位为包含表位（例如病毒或癌症表位）的氨基酸序列的肽。在一个实施方案中，肽表位具有约4个氨基酸至约20个氨基酸（例如，4个氨基酸、5个氨基酸、6个氨基酸、7个氨基酸、8个氨基酸、9个氨基酸、10个氨基酸、11个氨基酸、12个氨基酸、13个氨基酸、14个氨基酸、15个氨基酸、16个氨基酸、17个氨基酸、18个氨基酸、19个氨基酸或20个氨基酸）的长度。

[0246] 本公开提供制备T细胞-MMP-表位缀合物和/或T细胞-MMP-有效负载缀合物的方法，所述方法包括：

[0247] a) 将编码包括丝氨酸或半胱氨酸的硫酸酯酶基序（例如，式(I)或式(II)的硫酸酯酶基序，诸如以上所论述的X1CX2PX3Z3 (SEQ ID NO:47)、CX1PX2Z3 (SEQ ID NO:48))的序列并入编码T细胞-MMP的第一多肽和/或第二多肽的核酸中；

[0248] b) 在细胞中表达含有所述硫酸酯酶基序的第一多肽和/或第二多肽，所述细胞

[0249] i) 表达FGE并且将所述硫酸酯酶基序的丝氨酸或半胱氨酸转化成fGly；以及部分或完全纯化单独或呈T细胞-MMP形式的含fGly的第一多肽和/或第二多肽，或

[0250] ii) 不表达将所述硫酸酯酶基序的丝氨酸或半胱氨酸转化成fGly的FGE；纯化或部分纯化含fGly残基的T细胞-MMP；以及使经纯化或部分纯化的T细胞-MMP与将所述硫酸酯酶基序的丝氨酸或半胱氨酸转化成fGly残基的FGE接触；以及

[0251] c) 使单独或作为T细胞-MMP的一部分的含fGly的第一多肽和/或第二多肽与已用可在fGly的醛与表位和/或有效负载之间形成共价键的基团进行官能化的表位和/或有效负载接触；

[0252] 从而形成T细胞-MMP-表位缀合物和/或T细胞-MMP有效负载缀合物。

[0253] 在此类方法中，表位（含表位的分子）和/或有效负载可通过选择性地与醛基反应的任何适合的官能团进行官能化。此类基团可例如选自由以下组成的组：氨基硫脲、氨基氧基、酰肼和肼基。在实施方案中，表位和/或有效负载为式(III)、式(IV)、式(V)、式(Va)、式

(VI) 或式 (VIa) 的胍基化合物的一部分。在一个这样的实施方案中, 将硫酸酯酶基序并入包含 β 2M氨基酸序列的T细胞-MMP第一多肽中的 β 2M序列或与其附接的接头内(例如, 在N-末端的10、20、30、40、50、60、70、80、90或100个氨基酸内。在一个实施方案中, 将硫酸酯酶基序并入包含与图4中所示的 β 2M序列具有至少85% (例如, 至少90%、95%、98%或99%, 或甚至100%) 序列同一性的 β 2M氨基酸序列的第一多肽或第二多肽中(例如, 其中在不包括硫酸酯酶基序序列的情况下或在添加硫酸酯酶基序序列之前计算同一性)。举例而言, 可将硫酸酯酶基序置于信号序列与成熟肽序列之间或成熟肽的N-末端处, 并且可通过肽接头将所述基序与 β 2M序列隔开。

[0254] 在制备T细胞-MMP-表位缀合物和/或T细胞-MMP有效负载缀合物的方法的其他实施方案中, 可将SEQ ID NO:45 (式(I)) 或SEQ ID NO:46的硫酸酯酶基序并入第二多肽的IgFc区中作为第二多肽化学缀合位点。在一个实施方案中, 可将硫酸酯酶基序并入在添加硫酸酯酶基序序列之前与图2中所示的序列具有至少85% (例如, 至少90%、95%、98%或99%, 或甚至100%) 氨基酸序列同一性的序列中。

[0255] 在制备T细胞-MMP-表位缀合物和/或T细胞-MMP有效负载缀合物的方法的另一个实施方案中, 可将SEQ ID NO:45 (式(I)) 或SEQ ID NO:46的硫酸酯酶基序并入I类MHC重链多肽中作为化学缀合位点。

[0256] 在制备T细胞-MMP-表位缀合物和/或T细胞-MMP有效负载缀合物的方法的一个实施方案中, 将硫酸酯酶基序并入与图3中所示的序列具有至少85% (例如, 至少90%、95%、98%或99%, 或甚至100%) 氨基酸序列同一性的序列中(例如, 其中在不包括硫酸酯酶基序序列的情况下或在添加硫酸酯酶基序序列之前计算同一性)。在一个这样的实施方案中, 硫酸酯酶基序可用作直接或经由肽接头或化学接头间接地缀合例如表位和/或有效负载的位点。

[0257] I.A.2.2分选酶A酶位点

[0258] 可通过在T细胞-MMP的第一多肽和/或第二多肽的N-末端和/或C-末端并入用于分选酶A缀合的位点而将表位(例如, 包含表位的序列的肽) 和有效负载附接至那些位置。

[0259] 分选酶A识别C-末端五肽序列LP (X5) TG/A (SEQ ID NO 54, 其中X5为任何单一氨基酸, 并且G/A为甘氨酸或丙氨酸), 并且在所述序列内的苏氨酸与缀合配偶体的N-末端中的甘氨酸或丙氨酸之间产生酰胺键。有利的是, 可将识别序列并入任一缀合配偶体中, 从而允许第一多肽或第二多肽的氨基末端抑或羧基末端充当化学缀合位点。此外, LP (X5) TG/A序列不需要任何非天然氨基酸, 从而允许表达至T细胞-MMP得以在不同的细胞类型中在多种条件下进行。分选酶A酶连接的潜在不利之处在于其采用还可促进谷氨酰胺侧链偶联至烷基伯胺, 诸如赖氨酸的细菌转谷氨酰胺酶(mTG)。细菌mTG看似不能够修饰天然IgG1中的谷氨酰胺残基, 但在采用时可能引起多肽序列的二次修饰。

[0260] 为了将表位或有效负载附接至T细胞-MMP的第一多肽或第二多肽的羧基末端, 将LP (X5) TG/A工程改造至所需肽的羧基末端部分中。将甘氨酸或丙氨酸暴露段(例如, 当使用来自金黄色葡萄球菌的分选酶A时, (G)₃₋₅ (SEQ ID NO:55和56); 或当使用来自酿脓链球菌的分选酶A时, (A)₃₋₅ (SEQ ID NO:57和58)) 工程改造至包含表位的肽(或与其附接的接头)、肽有效负载(或与其附接的接头) 或者共价附接至非肽表位或有效负载的肽的N-末端。

[0261] 为了将表位或有效负载附接至T细胞-MMP的第一多肽或第二多肽的氨基末端, 对

甘氨酸暴露段(例如, (G)_{2,3,4或5})或丙氨酸暴露段(例如, (A)_{2,3,4或5})进行工程改造以出现在所需多肽的N-末端,并且将LP (X5) TG/A工程改造至包含表位的肽(或与其附接的接头)、肽有效负载(或与其附接的接头)或者共价附接至非肽表位或有效负载的肽的羧基末端部分中。

[0262] 组合分选酶A与用氨基和羧基工程改造的肽引起LP (X5) TG/A序列中的Thr与Gly/AIa残基之间裂解,从而形成具有经羧基标记的肽的硫酯中间体。通过N-末端修饰的多肽进行亲核性侵袭引起形成以下形式的共价偶联复合物:羧基修饰的多肽-LP (X5) T*G/A-氨基修饰的多肽,其中“*”表示LP (X5) TG/A基序的苏氨酸与N-末端修饰的肽的甘氨酸或丙氨酸之间形成的键。鉴于上述内容,本公开设想含有T细胞-MMP的组合物及其用途,所述T细胞-MMP具有:

[0263] 处于第一多肽和/或第二多肽的羧基末端的至少一个LP (X5) TG/A氨基酸序列(例如,用于与在其N-末端处用寡甘氨酸或寡丙氨酸修饰的表位肽偶联);

[0264] 处于第一多肽和/或第二多肽的氨基末端的至少一个寡甘氨酸(例如, (G)_{2,3,4或5})(例如,用于与在其N-末端处用LP (X5) TG/A氨基酸序列修饰的表位肽偶联);

[0265] 处于第一多肽和/或第二多肽的氨基末端的至少一个寡丙氨酸(例如, (A)_{2,3,4或5})(例如,用于与在其N-末端处用LP (X5) TG/A氨基酸序列修饰的表位肽偶联);

[0266] 处于第一多肽和/或第二多肽中的至少一个LP (X5) TA(例如,LPETA,SEQ ID NO:54,其中X5为E并且末端位置为A)氨基酸序列(例如,用于与在其N-末端处用寡甘氨酸或寡丙氨酸修饰的表位肽偶联);和/或

[0267] 处于第一多肽和/或第二多肽中的至少一个LP (X5) TG(例如,LPETG,SEQ ID NO:54,其中X5为E并且末端位置为G)氨基酸序列(例如,用于与在其N-末端处用寡甘氨酸或寡丙氨酸修饰的表位肽偶联)。

[0268] 作为LP (X5) TG/A的替代,LPETGG (SEQ ID NO:59)肽可用于金黄色葡萄球菌分选酶A偶联,或LPETAA (SEQ ID NO:60)可用于酿脓链球菌分选酶A偶联。缀合反应仍在苏氨酸与氨基末端寡甘氨酸或寡丙氨酸肽之间进行,从而产生羧基修饰的多肽-LP (X5) T*G/A-氨基修饰的多肽,其中“*”表示苏氨酸与N-末端修饰的肽的甘氨酸或丙氨酸之间形成的键。

[0269] 在T细胞-MMP的第一多肽包含β2M多肽的一个实施方案中,第一多肽含有处于所述多肽的N-末端或处于附接至所述第一多肽的多肽接头(例如,所述接头与所述第一多肽共翻译并且处于其N-末端)的N-末端的寡甘氨酸(例如, (G)_{2,3,4或5})或寡丙氨酸(例如, (A)_{2,3,4或5})。寡甘氨酸或寡丙氨酸可用作分选酶A化学缀合位点以便通过使其与包含在其羧基末端区域中携带LP (X5) TG/A的多肽的表位缀合而将表位分子引入T细胞-MMP中。举例而言,如图4中所示的β2M序列起始于20个氨基酸的前导序列,并且成熟多肽起始于起始序列IQ RTP (K/Q) IQVYS并且延续至多肽的其余部分。SEQ ID NO:54、59和69的分选酶基序可并入其中,例如,如下:

[0270] A₂₋₅或G₂₋₅-接头-IQ (R/K) TP (K/Q) IQVYS...;

[0271] A₂₋₅或G₂₋₅-接头-Q (R/K) TP (K/Q) IQVYS...;或

[0272] A₂₋₅或G₂₋₅-接头-(R/K) TP (K/Q) IQVYS...;

[0273] (对于A₂₋₅或G₂₋₅,参见SEQ ID NO:55至58,并且对于β2M序列,参见SEQ ID NO:151-155和图4);

[0274] 或如以下所示具有人前导序列MSRSVALAVLALLSLSGLEA (参见SEQ ID NO:151和图4)

[0275] MSRSVALAVLALLSLSGLEA (A₂₋₅或G₂₋₅)-接头-IQ (R/K) TP (K/Q) IQVYS...;

[0276] MSRSVALAVLALLSLSGLEA (A₂₋₅或G₂₋₅)-接头-Q (R/K) TP (K/Q) IQVYS...;

[0277] 或

[0278] MSRSVALAVLALLSLSGLEA (A₂₋₅或G₂₋₅)-接头- (R/K) TP (K/Q) IQVYS...;

[0279] 其中所述接头当存在时可包含独立选择的氨基酸序列 (例如1至50个氨基酸, 诸如聚甘氨酸、聚丙氨酸、聚丝氨酸和聚Gly, 诸如AAAGG (SEQ ID NO:75) 或 (GGGS)_n, 其中n为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10 (SEQ ID NO:76)) 或化学基团 (例如聚氧化乙烯、聚乙二醇等)。接头可能存在或不存在, 并且当显示两个时, 它们可能相同或不同。

[0280] 在通过在基于细胞的系统中表达来制备在其N-末端处携带寡甘氨酸的多肽并且表达细胞未移除或未完全移除前导序列和/或接头的任一部分时, 可将凝血酶裂解位点 (Leu-Val-Pro-Arg-Gly, SEQ ID NO:61) 插入在甘氨酸之前。在凝血酶于Arg与Gly残基之间裂解时, 确保在裂解后将甘氨酸暴露于蛋白质分子上以使用寡甘氨酸进行标记并且缀合, 限制条件为多肽中不存在其他凝血酶位点。

[0281] 在一个实施方案中, 将A₂₋₅或G₂₋₅基序并入包含与图4中所示的序列 (例如, 图4中所示的整个序列, 或起始于氨基酸21并且终止于其C-末端的成熟多肽序列) 具有至少85% (例如, 至少90%、95%、98%或99%, 或甚至100%) 氨基酸序列同一性的序列的多肽中, 其中在不考虑所添加的A₂₋₅或G₂₋₅基序和所存在的任何接头序列的情况下对序列同一性进行评定。

[0282] 在一个实施方案中, 将A₂₋₅或G₂₋₅基序并入包含与图4中所示的序列 (例如, 图4中所示的全长序列中的任一者, 或起始于氨基酸21并且终止于其C-末端的成熟多肽序列中的任一者) 相比具有1至15 (例如, 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15) 个氨基酸缺失、插入和/或变化的β2M序列的多肽中, 其中在不考虑所添加的A₂₋₅或G₂₋₅基序和所存在的任何接头序列的情况下评定氨基酸缺失、插入和/或变化。在一个这样的实施方案中, A₂₋₅或G₂₋₅基序可置换和/或插入在成熟β2M序列 (诸如图4中所示的那些序列) 的氨基末端15 (例如, 1-5、5-10或10-15) 个氨基酸中的任一个之间。

[0283] I.A.2.3转谷氨酰胺酶酶位点

[0284] 转谷氨酰胺酶 (mTG) 促进谷氨酰胺残基侧链上的酰胺基与伯胺供体 (例如, 伯烷基胺, 诸如多肽中的赖氨酸残基侧链上所发现者) 之间形成共价键。可采用转谷氨酰胺酶使表位和有效负载直接或经由包含游离伯胺的接头间接地与T细胞-MMP缀合。因此, T细胞-MMP的第一多肽和/或第二多肽中存在的谷氨酰胺残基在通过诸如茂原链轮丝菌 (*Streptovorticillium mobaraense*) 转谷氨酰胺酶的酶对其进行评定时可视为化学缀合位点。所述酶 (EC 2.3.2.13) 为促进谷氨酰胺的γ-酰基转移至赖氨酸的ε-氨基的稳定非钙依赖性酶。然而, 序列中出现的谷氨酰胺残基对于酶修饰而言未必始终可及。受限的可及性可能为有利的, 因为其限制可发生修饰的位置数。举例而言, 细菌mTG一般不能够修饰天然IgG1中的谷氨酰胺残基; 然而, Schibli和同事 (Jeger, S. 等人, *Angew Chem (Int Engl)* .2010;49:99957以及Dennler P等人, *Bioconjug Chem*.2014;25 (3) :569-78) 发现N297处的去糖基化IgG1致使谷氨酰胺残基Q295可及并且允许酶连接从而产生抗体药物缀合物。此外, 通过产生N297至Q297 IgG1突变体, 它们引入两个位点用于通过转谷氨酰胺酶进行酶促

标记。

[0285] 在T细胞-MMP的第一多肽和/或第二多肽不含可用作化学缀合位点的谷氨酰胺(例如,其对于转谷氨酰胺酶不可及或未处于所需位置上)时,可将可充当转谷氨酰胺酶底物的谷氨酰胺残基或包含可及谷氨酰胺的序列(有时称为“谷氨酰胺标签”或“Q标签”)并入所述多肽中。所添加的谷氨酰胺或Q标签可充当第一多肽化学缀合位点或第二多肽化学缀合位点。美国专利公布2017/0043033A1描述谷氨酰胺残基和Q标签的并入和转谷氨酰胺酶用于修饰多肽的用途,并且因那些教导内容而并入本文中。

[0286] 谷氨酰胺残基和Q标签的并入可用合成肽的化学手段或通过对编码多肽的核酸进行修饰并且在细胞或无细胞系统中表达经修饰的核酸来实现。

[0287] 在第一多肽化学缀合位点为谷氨酰胺或Q标签的实施方案中,谷氨酰胺或Q标签可处于针对以上所描述的第一多肽化学缀合位点或第二多肽化学缀合位点所指示的任何位置。

[0288] 在一个实施方案中,所添加的谷氨酰胺残基或Q标签附接至第一MHC多肽序列或与第一MHC多肽附接的接头(如果存在)(例如,处于N-末端或C-末端)或处于其内部。额外第一多肽化学缀合位点可存在于(附接至或处于内部)T细胞-MMP的第一多肽上的任何位置。在一个这样的实施方案中,T细胞-MMP的第一MHC多肽为 β 2M多肽,并且所添加的谷氨酰胺或Q标签并入图4中所提供的成熟 β 2M多肽序列N-末端的20、15或10个氨基酸(不包括20碱基对信号序列)(或与图4中的成熟 β 2M多肽具有至少85%、90%、95%、98%、99%或甚至100%序列同一性的肽)内。在另一个实施方案中,谷氨酰胺或Q标签存在于与图4中所提供的成熟 β 2M多肽之一的N-末端附接的多肽接头中。

[0289] 在一个实施方案中,所添加的谷氨酰胺残基或Q标签附接至T细胞-MMP的第二多肽的序列(例如,处于N-末端或C-末端)或处于其内部,例如,第二MHC多肽(例如,MHC-H肽)或者直接或间接地附接至第二MHC多肽的Fc、支架肽或接头(如果存在)的末端或内部。额外第二多肽化学缀合位点可存在于(附接至或处于内部)T细胞-MMP的第二多肽上的任何位置。在一个实施方案中,第二MHC多肽为MHC-H多肽,第二多肽包含Fc多肽,并且所添加的谷氨酰胺或Q标签并入MHC-H或Fc多肽序列内。在另一个实施方案中,谷氨酰胺或Q标签存在于MHC-H与Fc多肽之间的多肽接头内或与Fc多肽羧基末端附接的接头内。

[0290] 在实施方案中,含谷氨酰胺的标签包含选自以下组成的组的氨基酸序列:LQG、LLQGG (SEQ ID NO:62)、LLQG (SEQ ID NO:63)、LSLSQG (SEQ ID NO:64) 和LLQLQG (SEQ ID NO:65) (可利用众多其他氨基酸序列)。

[0291] 含有或已经修饰而含有伯胺基团的有效负载和表位可作为胺供体用于在谷氨酰胺残基(例如,Q标签中的谷氨酰胺残基)与表位或有效负载之间形成共价键的转谷氨酰胺酶催化反应中。

[0292] 在表位或有效负载不包含允许其充当胺供体的适合伯胺时,所述表位或有效负载可经化学修饰以并入胺基(例如,经修饰以通过键联至赖氨酸、氨基己酸、尸胺等而并入伯胺)。在表位或有效负载包含肽并且需要伯胺来充当胺供体时,可将伯胺与转谷氨酰胺酶可作用于其的含赖氨酸或其他胺的化合物并入肽中。可提供伯胺基团并且可并入 α 氨基酸链中或其末端的含其他胺的化合物包括但不限于高赖氨酸、2,7-二氨基庚酸和氨基庚酸。替代地,表位或有效负载可附接至包含适合胺基的肽或非肽接头。适合非肽接头的实例包括

烷基接头和PEG (聚乙二醇) 接头。

[0293] 转谷氨酰胺酶可获自多种来源,并且包括来自以下的酶:哺乳动物肝脏(例如,豚鼠肝脏);真菌(例如,卵菌类(Oomycetes)、放线菌类(Actinomycetes)、酵母菌属(Saccharomyces)、念珠菌属(Candida)、隐球菌属(Cryptococcus)、红曲霉属(Monascus)或根霉菌属(Rhizopus)转谷氨酰胺酶);粘菌属(myxomycetes)(例如,多头绒泡菌(Physarum polycephalum)转谷氨酰胺酶);和/或细菌(例如,茂原链轮丝菌(*Streptoverticillium mobarensis*)、灰肉色链轮丝菌(*Streptoverticillium griseocarneum*)、拉达喀尔链轮丝菌(*Streptoverticillium ladakanum*)、茂原链霉菌(*Streptomyces mobarensis*)、绿色链霉菌(*Streptomyces viridis*)、拉达喀尔链霉菌(*Streptomyces ladakanum*)、生暗灰链霉菌(*Streptomyces caniferus*)、扁平链霉菌(*Streptomyces platensis*)、吸水链霉菌(*Streptomyces hygroscopicus*)、纺锤链霉菌(*Streptomyces netropsis*)、弗氏链霉菌(*Streptomyces fradiae*)、玫瑰轮丝链霉菌(*Streptomyces roseovervillatus*)、肉桂链霉菌(*Streptomyces cinnamomeus*)、灰肉色链霉菌(*Streptomyces griseocarneum*)、淡紫灰链霉菌(*Streptomyces lavendulae*)、浅青紫链霉菌(*Streptomyces lividans*)、利迪链霉菌(*Streptomyces lydicus*)、茂原链霉菌(*S. mobarensis*)、盐屋链霉菌(*Streptomyces sioyansis*)、马杜拉放线菌属(*Actinomadura* sp.)、环状芽孢杆菌(*Bacillus circulans*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、产胺棒状杆菌(*Corynebacterium ammoniagenes*)、谷氨酸棒状杆菌(*Corynebacterium glutamicum*)、梭菌属(*Clostridium*)、肠杆菌属(*Enterobacter* sp.)、微球菌属(*Micrococcus*)。在一些实施方案中,转谷氨酰胺酶为不需要钙来诱导酶构象变化并且允许酶活性的非钙依赖性转谷氨酰胺酶。

[0294] 如以上关于其他第一多肽化学缀合位点和第二多肽化学缀合位点所论述,谷氨酰胺或Q标签可并入T细胞-MMP的第一多肽或第二多肽上的任何所需位置。在一个实施方案中,可在T细胞-MMP的第一多肽或第二多肽中的任何元件,包括第一MHC多肽和第二MHC多肽(例如,MHC-H多肽和 β 2M多肽)、支架或Ig Fc和连结那些元件的接头的末端处或附近添加谷氨酰胺或Q标签。

[0295] 在T细胞-MMP的第一多肽包含 β 2M多肽序列的一个实施方案中,第一多肽含有处于所述多肽的N-末端或处于与所述第一多肽附接的多肽接头(例如,所述接头附接至所述第一多肽的N-末端)的N-末端的谷氨酰胺或Q标签。谷氨酰胺或Q标签可用作化学缀合位点以便通过利用转谷氨酰胺酶使表位分子与可用作酰胺供体的携带伯胺的表位或与包含伯胺的接头结合的表位结合而将其引入T细胞-MMP中。举例而言,如图4中所示的 β 2M序列起始于20个氨基酸的前导序列,并且成熟多肽起始于起始序列IQ RTP (K/Q) IQVYS并且延续至多肽的其余部分。可由以上所示的其他Q标签代表和替代的具有氨基酸序列LLQG (SEQ ID NO: 63)的Q标签可并入 β 2M的N-末端,如以下所示:

[0296] Q-标签-接头-IQ RTP (K/Q) IQVYS...;

[0297] LLQG-接头-IQ RTP (K/Q) IQVYS...;

[0298] LLQG-接头-Q RTP (K/Q) IQVYS.....;或

[0299] LLQG-接头-RTP (K/Q) IQVYS...;

[0300] (关于 β 2M序列,参见SEQ ID NO:151-155)

[0301] 或如以下所示具有人前导序列MSRSVALAVLALLSLSGLEA(参见SEQ ID NO:151和图

4),

[0302] MSRSVALAVLALLSLSGLEA-接头-Q标签-接头-IQ RTP (K/Q) IQVYS...;

[0303] MSRSVALAVLALLSLSGLEA-接头-LLQG-接头-IQ RTP (K/Q) IQVYS...;

[0304] MSRSVALAVLALLSLSGLEA-接头-LLQG-接头-Q RTP (K/Q) IQVYS...;或

[0305] MSRSVALAVLALLSLSGLEA-接头-LLQG-接头-RTP (K/Q) IQVYS....

[0306] 其中所述接头当存在时可包含独立选择的氨基酸序列(例如1至50个氨基酸,诸如聚甘氨酸、聚丙氨酸、聚丝氨酸和聚Gly,诸如AAAGG (SEQ ID NO:75)或(GGGGS)_n,其中n为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10 (SEQ ID NO:76))或化学基团(例如聚氧化乙烯、聚乙二醇等)。接头可能存在或不存在,并且当显示两个时,其可能相同或不同。

[0307] 在一个实施方案中,将Q标签基序并入包含与图4中所示的序列(例如,图4中所示的全长序列中的任一者,或起始于氨基酸21并且终止于其C-末端的成熟β2M多肽中的任一者的序列)具有至少85%(例如,至少90%、95%、98%或99%,或甚至100%)氨基酸序列同一性的β2M序列的多肽中,其中在不考虑所添加的Q标签基序和所存在的任何接头序列的情况下对同一性进行评定。

[0308] 在一个实施方案中,将Q标签基序并入与图4中所示的序列(例如,图4中所示的整个序列,或起始于氨基酸21并且终止于其C-末端的成熟多肽序列)相比具有1至15(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15)个氨基酸缺失、插入和/或变化的序列中,在不考虑所添加的Q标签基序和所存在的任何接头序列的情况下对变化进行评定。在一个这样的实施方案中,Q标签基序可置换和/或插入在成熟β2M序列(诸如图4中所示的那些序列)的氨基末端15(例如,1-5、5-10或10-15)个氨基酸中的任一个之间。

[0309] 替代地,可对T细胞-MMP中出现的MHC-H链序列中出现的谷氨酰胺残基中的任一个、两个或三个周围的序列进行修饰以匹配Q标签的序列,并且用作供添加表位或有效负载用的化学缀合位点。

[0310] 在另一个实施方案中,谷氨酰胺或Q标签可并入IgFc区中作为第二多肽化学缀合位点。在一个这样的实施方案中,其可用作直接或经由携带伯胺的肽接头或化学接头间接地缀合例如表位和/或有效负载的位点。

[0311] I.A.2.4作为化学缀合位点的硒代半胱氨酸和非天然氨基酸

[0312] 一种在T细胞-MMP的第一多肽和/或第二多肽中提供位点特异性化学缀合位点的策略采用插入具有与所述多肽中存在的其他氨基酸不同的反应性的氨基酸。此类氨基酸包括但不限于非天然氨基酸、乙酰基苯丙氨酸(对乙酰基-L-苯丙氨酸,pAcPhe)、对叠氮基苯丙氨酸和丙炔基酪氨酸,以及天然存在的氨基酸硒代半胱氨酸(Sec)。

[0313] Thanos等人在美国专利公布号20140051836A1中论述一些其他非天然氨基酸,包括O-甲基-L-酪氨酸、L-3-(2-萘基)丙氨酸、3-甲基-苯丙氨酸、O-4-烯丙基-L-酪氨酸、4-丙基-L-酪氨酸、三-O-乙酰基-GlcNAcβ-丝氨酸、L-多巴胺、氟化苯丙氨酸、异丙基-L-苯丙氨酸、对酰基-L-苯丙氨酸、对苯甲酰基-L-苯丙氨酸、L-磷酸丝氨酸、磷酰基丝氨酸、磷酰基酪氨酸、对碘苯丙氨酸、对溴苯丙氨酸、对氨基-L-苯丙氨酸、异丙基-L-苯丙氨酸和对炔丙氧基苯丙氨酸。其他非天然氨基酸包括反应性基团,包括氨基、羧基、乙酰基、胍基、酰胍基、半卡胍基、氢硫基、叠氮基和炔基。参见例如美国专利公布号20140046030A1。

[0314] 除了在实验室中直接合成多肽以外,还已开发两种利用终止密码子的方法以利用

转录-翻译系统将非天然氨基酸并入蛋白质和多肽中。第一种通过使蛋白石终止密码子UGA与Sec插入序列配对来并入硒代半胱氨酸(Sec)。第二种一般通过使用琥珀终止密码子、赭石终止密码子或蛋白石终止密码子将非天然氨基酸并入多肽中。还已报告使用其他类型密码子诸如独特密码子、罕见密码子、非天然密码子、五碱基密码子和四碱基密码子以及使用无意义和框移阻遏。参见例如美国专利公布号20140046030A1和Rodriguez等人,PNAS103(23)8650-8655(2006)。举例而言,可在体内或无细胞转录-翻译系统中使用tRNA/氨酰基tRNA合成酶配对将非天然氨基酸乙酰基苯丙氨酸并入琥珀密码子处。

[0315] 硒代半胱氨酸和非天然氨基酸二者的并入需要将必需终止密码子工程改造至T细胞-MMP的第一多肽和/或第二多肽的核酸编码序列中的所需位置,此后使用所述编码序列在体内或无细胞转录-翻译系统中表达T细胞-MMP的第一多肽链或第二多肽链。

[0316] 体内系统通常依赖于经工程改造的细胞系将充当生物正交化学缀合位点的非天然氨基酸并入多肽和蛋白质中。参见例如标题为“*In vivo incorporation of unnatural amino acids*”的国际公开申请号2002/085923。体内非天然氨基酸并入依赖于与宿主细胞中的所有内源tRNA和合成酶正交的tRNA和氨酰基tRNA合成酶(aaRS)配对。在细胞培养或发酵期间将所选非天然氨基酸补充至培养基,使得细胞渗透性和稳定性成为重要考虑因素。

[0317] 具有带电tRNA的各种无细胞合成系统也可用于并入非天然氨基酸。此类系统包括以下文献中所描述的那些系统:美国公开专利申请号20160115487A1;Gubens等人,RNA.2010年8月;16(8):1660-1672;Kim,D.M.和Swartz,J.R.Biotechnol.Bioeng.66:180-8(1999);Kim,D.M.和Swartz,J.R.Biotechnol.Prog.16:385-90(2000);Kim,D.M.和Swartz,J.R.Biotechnol.Bioeng.74:309-16(2001);Swartz等人,Methods Mol.Biol.267:169-82(2004);Kim,D.M.和Swartz,J.R.Biotechnol.Bioeng.85:122-29(2004);Jewett,M.C.和Swartz,J.R.,Biotechnol.Bioeng.86:19-26(2004);Yin,G.和Swartz,J.R.,Biotechnol.Bioeng.86:188-95(2004);Jewett,M.C.和Swartz,J.R.,Biotechnol.Bioeng.87:465-72(2004);Voloshin,A.M.和Swartz,J.R.,Biotechnol.Bioeng.91:516-21(2005)。

[0318] 一旦并入T细胞-MMP的第一多肽或第二多肽中,就使与所并入的硒代半胱氨酸或非天然氨基酸具有反应性的携带表位和/或有效负载的基团与T细胞-MMP在适合条件下接触以形成共价键。举例而言,pAcPhe的酮基与烷氧基胺并且经由脲偶联反应,并且可直接缀合至含烷氧基胺的表位和/或有效负载,或者经由含烷氧基胺的接头间接地缀合至表位和有效负载。硒代半胱氨酸与例如伯烷基碘化物(例如,可用作接头的碘乙酰胺)、马来酰亚胺和甲砒苯基噻二唑基团反应。因此,携带那些基团或与携带那些基团的接头结合的表位和/或有效负载可共价结合至携带硒代半胱氨酸的多肽链。

[0319] 如以上关于其他第一多肽化学缀合位点和第二多肽化学缀合位点所论述,硒代半胱氨酸和/或非天然氨基酸可并入T细胞-MMP的第一多肽或第二多肽中的任何所需位置。在一个实施方案中,可在T细胞-MMP的第一多肽或第二多肽中的任何元件,包括第一MHC多肽和第二MHC多肽(例如,MHC-H多肽和 β 2M多肽)、支架或Ig Fc和连结那些元件的接头的末端处或附近添加硒代半胱氨酸和/或非天然氨基酸。在实施方案中,硒代半胱氨酸和/或非天然氨基酸可并入 β 2M、I类MHC重链和/或Fc Ig多肽中。在一个实施方案中,硒代半胱氨酸和/或非天然氨基酸可并入第一MHC多肽(例如, β 2M多肽)的氨基末端处或附近的第一多肽或与

其附接的接头中。举例而言,在第一多肽包含 β 2M序列时,硒代半胱氨酸和/或非天然氨基酸可并入 β 2M序列的N-末端处或附近,从而允许例如表位直接或经由接头进行化学缀合。举例而言,如图4中所示的 β 2M序列起始于20个氨基酸的前导序列,并且成熟多肽起始于起始序列IQ RTP (K/Q) IQVYS并且延续至多肽的其余部分。硒代半胱氨酸和/或非天然氨基酸(以“ Ψ ”表示)可并入其中,例如,如下:

[0320] Ψ IQ RTP (K/Q) IQVYS...; Ψ -接头-IQ RTP (K/Q) IQVYS...;

[0321] Ψ -接头-Q RTP (K/Q) IQVYS...;或 Ψ -接头-RTP (K/Q) IQVYS...;

[0322] 或如下所示具有人前导序列MSRSVALAVLALLSLSGLEA(关于 β 2M序列,参见SEQ ID NO:151-155和图4),

[0323] MSRSVALAVLALLSLSGLEA-接头- Ψ IQ RTP (K/Q) IQVYS...;

[0324] MSRSVALAVLALLSLSGLEA-接头- Ψ -接头-IQ RTP (K/Q) IQVYS...;

[0325] MSRSVALAVLALLSLSGLEA-接头- Ψ -接头-Q RTP (K/Q) IQVYS...;或

[0326] MSRSVALAVLALLSLSGLEA-接头- Ψ -接头-RTP (K/Q) IQVYS...;

[0327] 其中所述接头当存在时可包含独立选择的氨基酸序列(例如1至50个氨基酸,诸如聚甘氨酸、聚丙氨酸、聚丝氨酸和聚Gly,诸如AAAGG (SEQ ID NO:75)或(GGGGS)_n,其中n为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10 (SEQ ID NO:76))或化学基团(例如聚氧化乙烯、聚乙二醇等)。接头可能存在或不存在,并且当显示两个时,其可能相同或不同。

[0328] 在一个实施方案中,将硒代半胱氨酸和/或非天然氨基酸并入包含与图4中所示的 β 2M序列(例如,图4中所示的全长序列中的任一者,或起始于氨基酸21并且终止于其C-末端的成熟 β 2M多肽中的任一者的序列)具有至少85%(例如,至少90%、95%、98%或99%,或甚至100%)氨基酸序列同一性的 β 2M序列的多肽中,其中在不考虑所添加的硒代半胱氨酸和/或非天然氨基酸和所存在的任何接头序列的情况下对序列同一性进行评定。

[0329] 在一个实施方案中,将硒代半胱氨酸和/或非天然氨基酸并入包含与图4中所示的 β 2M序列(例如,图4中所示的全长序列中的任一者,或起始于氨基酸21并且终止于其C-末端的成熟 β 2M多肽中的任一者的序列)相比具有1至15(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15)个氨基酸缺失、插入和/或变化的 β 2M序列的多肽中,在不考虑硒代半胱氨酸和/或非天然氨基酸的氨基酸和所存在的任何接头序列的情况下对变化进行评定。在一个这样的实施方案中,硒代半胱氨酸和/或非天然氨基酸可置换和/或插入在成熟 β 2M序列(诸如图4中所示的那些)的氨基末端15个氨基酸中的任一者之间。

[0330] 在其他实施方案中,硒代半胱氨酸和/或非天然氨基酸可并入包含MHC-H链或IgFc多肽序列(包括与其附接的接头)的多肽中作为化学缀合位点。在一个这样的实施方案中,其可用作例如直接或经由肽接头或化学接头间接地缀合与T细胞-MMP缀合的表位和/或有效负载的位点。

[0331] I.A.2.5经工程改造的氨基酸化学缀合位点

[0332] 天然存在的氨基酸的侧链中或多肽末端处所存在的多种官能团(例如,-SH、-NH₃、-OH、-COOH等)中的任一者均可用作化学缀合位点。这包括分别容易通过包括N-羧基琥珀酰亚胺和马来酰亚胺官能团的试剂进行修饰的赖氨酸和半胱氨酸侧链。利用此类氨基酸残基的主要不利之处在于产物的潜在变异性和异质性。举例而言,IgG具有超过80个赖氨酸,其中超过20个处于溶剂可及位点。参见例如McComb和Owen AAPS J.117(2):339-351。半

胱氨酸倾向于不太广泛分布;其倾向于接合于二硫键中并且可能不可及并且不位于对放置化学缀合位点而言合乎需要处。因此,可能对第一多肽和或第二多肽进行工程改造以在所需位置并入非天然存在的氨基酸,以便对T细胞-MMP第一多肽和/或第二多肽进行选择修饰。工程改造可呈直接化学合成多肽(例如,通过偶联经适当阻断的氨基酸)和/或通过对编码所述多肽的核酸的序列进行修饰并且在细胞或无细胞系统中对其进行表达的形式。因此,本说明书包括并提供通过转录/翻译来制备T细胞-MMP的第一多肽和/或第二多肽的全部或部分并且向第一多肽和/或第二多肽的经翻译部分的C-末端或N-末端连结携带非天然或天然(包括硒代半胱氨酸)氨基酸以用作化学缀合位点(例如,对于表位或肽)的经工程改造的多肽。经工程改造的肽可通过任何适合的方法,包括使用如针对表位肽所描述的分选酶来连结,并且可包括接头肽序列。在一个实施方案中,经工程改造的肽可包含2、3、4或5个丙氨酸或甘氨酸的序列,所述序列可充当分选酶缀合和/或作为接头序列的一部分。

[0333] 在一个实施方案中,T细胞-MMP的第一多肽或第二多肽含有至少一个天然存在的氨基酸以用作化学缀合位点而工程改造至如图4中所示的 β 2M序列、如图2中所示的IgFc序列或如图3中所示的I类MHC重链多肽中。在一个实施方案中,将至少一个用作化学缀合位点的天然存在的氨基酸工程改造至与如图4中所示的 β 2M序列、如图2中所示的IgFc序列或如图3中所示的I类MHC重链多肽具有至少85%(例如,至少90%、95%、98%或99%,或甚至100%)氨基酸序列同一性的多肽中。在一个实施方案中,将至少一个用作化学缀合位点的天然存在的氨基酸工程改造至包含以下各所述的T细胞-MMP第一多肽或第二多肽中:与如图4中所示的成熟 β 2M序列的至少氨基末端10、20、30、40、50、60或70个氨基酸具有至少90%(例如,至少93%、95%、98%或99%,或甚至100%)氨基酸序列同一性的 β 2M氨基酸序列中;如图2中所示的IgFc序列;或如图3中所示的I类MHC重链多肽。在另一个实施方案中,将至少一个用作化学缀合位点的天然存在的氨基酸工程改造至包含与如图4中所示的 β 2M序列、如图2中所示的IgFc序列或如图3中所示的I类MHC重链序列具有100%氨基酸序列同一性的至少30、40、50、60、70、80、90或100个氨基酸的连续序列的多肽中。在以上所提及的将天然存在的氨基酸工程改造至多肽中的实施方案中的任一者中,氨基酸可选自由以下组成的组:精氨酸、赖氨酸、半胱氨酸、丝氨酸、苏氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、天冬氨酸和天冬酰胺。在另一这样的实施方案中,氨基酸选自由以下组成的组:赖氨酸、半胱氨酸、丝氨酸、苏氨酸和谷氨酰胺。在另一个这样的实施方案中,氨基酸选自由以下组成的组:赖氨酸、谷氨酰胺和半胱氨酸。在一个实施方案中,氨基酸为半胱氨酸。在一个实施方案中,氨基酸为赖氨酸;在另一个实施方案中,氨基酸为谷氨酰胺。

[0334] 本领域中已知的任何方法均可用于将有效负载或表位偶联至工程改造至T细胞-MMP的第一多肽或第二多肽中的氨基酸。举例而言,可利用马来酰亚胺偶联至巯基,可利用N-羟基琥珀酰亚胺偶联至氨基,可使用酸酐或酰氯偶联至醇或胺,并且可使用脱水剂将醇或胺偶联至羧基。因此,使用此类化学反应,表位或有效负载可直接或经由接头(例如,同双官能交联剂或异双官能交联剂)间接地偶联至第一多肽和/或第二多肽上的位置。举例而言,包括马来酰亚胺氨基酸的表位肽(或含肽的有效负载)可缀合至天然存在或工程改造至T细胞-MMP中的化学缀合位点(例如,半胱氨酸残基)的巯基。使用狄耳士-阿德尔/逆狄耳士-阿德尔保护流程,有可能使用固相肽合成技术直接将马来酰亚胺氨基酸并入肽(例如,表位肽)中。参见例如Koehler, Kenneth Christopher (2012), "Development and

Implementation of Clickable Amino Acids,”Chemical&Biological Engineering Graduate Theses&Dissertations,31,https://scholar.colorado.edu/chbe_gradetds/31.因此,在一个实施方案中,表位肽包含偶联至T细胞-MMP的结合袋中存在的半胱氨酸的马来酰亚胺氨基酸。还可使用可将马来酰亚胺附接至肽的交联剂(例如,异双官能N-羟基琥珀酰亚胺-马来酰亚胺交联剂,其可将马来酰亚胺附接至例如肽赖氨酸上的氨基)将马来酰亚胺附加至表位肽。在一个实施方案中,具有至少一(例如,1或2)个马来酰亚胺氨基酸的表位肽结合至在选自位置5、7、59、84、116、139、167、168、170和/或171的任一个或多个(例如,1或2个)氨基酸位置具有半胱氨酸残基(例如Y7C、Y59C、Y84C、Y116C、A139C、W167C、L168C、R170C和Y171C取代)的MHC重链,其中编号如图3D中。在一个实施方案中,具有至少一个(例如,1或2个)马来酰亚胺氨基酸的表位肽结合至在选自位置7、84和/或116的任一个或多个(例如,1或2个)氨基酸位置具有半胱氨酸残基(例如Y7C、Y84C和Y116C取代)的MHC重链,其中编号如图3D中。在一个实施方案中,具有至少一个(例如,1或2个)马来酰亚胺氨基酸的表位肽结合至在选自位置84和/或116的任一个或多个(例如,1或2)个氨基酸位置具有半胱氨酸残基(例如Y84C和/或Y116C取代)的MHC重链,其中编号如图3D中。

[0335] 可同时采用成对巯基来产生T细胞-MMP的化学缀合物。在此类实施方案中,具有二硫键或具有工程改造至彼此邻近的位置上的两个半胱氨酸(或硒代半胱氨酸)的T细胞-MMP可通过使用双硫醇接头而用作化学缀合位点。Godwin和同事所描述的双硫醇接头避免与通过在其位置上形成桥连基团来还原二硫键相关的不稳定性,并且同时允许并入另一分子,所述分子可为表位或有效负载。参见例如Badescu G等人,(2014),Bioconjug Chem.,25(6):1124-36,标题为Bridging disulfides for stable and defined antibody drug conjugates,描述并入亲水性接头(例如,PEG(聚乙二醇)接头)的双硫试剂的用途。

[0336] 在T细胞-MMP包含二硫键时,可通过通常用化学计算量或接近化学计算量的二硫醇还原剂(例如二硫苏糖醇)将所述键还原并且允许接头与两个半胱氨酸残基反应而使用双硫醇接头并入表位或有效负载。在存在多个二硫键时,使用化学计算量或接近化学计算量的还原剂可允许在一个位点进行选择性修饰。参见例如Brocchini等人,Adv Drug Delivery Rev. (2008) 60:3-12。在T细胞-MMP的第一多肽和/或第二多肽不包含成对半胱氨酸和/或硒代半胱氨酸(例如,硒代半胱氨酸和半胱氨酸)时,可将其工程改造至多肽中(通过引入半胱氨酸或硒代半胱氨酸的一者或两者)以提供可与双硫醇接头相互作用的成对残基。半胱氨酸和/或硒代半胱氨酸应位于双硫醇接头可将其桥接处(例如,处于两个半胱氨酸可形成二硫键的位置)。可采用半胱氨酸与硒代半胱氨酸的任何组合(即,两个半胱氨酸、两个硒代半胱氨酸,或硒代半胱氨酸与半胱氨酸)。半胱氨酸和/或硒代半胱氨酸可皆存在于T细胞-MMP的第一多肽和/或第二多肽上。替代地,半胱氨酸和/或硒代半胱氨酸可存在于第一多肽上,并且用于双硫醇接头反应的其对应物存在于T细胞-MMP的第二多肽上。

[0337] 在一个实施方案中,在添加成对半胱氨酸和/或硒代半胱氨酸之前将成对半胱氨酸和/或硒代半胱氨酸并入包含与图4中所示的序列具有至少85%(例如,至少90%、95%、98%或99%,或甚至100%)氨基酸序列同一性的β2M序列的T细胞-MMP第一多肽或第二多肽中,或并入与那些序列之一附接的肽接头中。在一个这样的实施方案中,可利用成对半胱氨酸和/或硒代半胱氨酸作为双硫醇接头偶联位点以用于直接或者经由肽接头或化学接头间

接地缀合例如表位和/或有效负载。在一个实施方案中,成对半胱氨酸和/或硒代半胱氨酸位于T细胞-MMP第一多肽氨基末端的10、20、30、40或50个氨基酸内。

[0338] 在另一个实施方案中,将成对半胱氨酸和/或硒代半胱氨酸并入已并入第二多肽中的IgFc序列中以提供化学缀合位点。在一个实施方案中,在添加成对半胱氨酸和/或硒代半胱氨酸之前将成对半胱氨酸和/或硒代半胱氨酸并入包含与图2中所示的序列具有至少85% (例如,至少90%、95%、98%或99%,或甚至100%) 氨基酸序列同一性的IgFc序列的多肽中,或并入与那些序列之一附接的肽接头中。在一个这样的实施方案中,可利用成对半胱氨酸和/或硒代半胱氨酸作为双硫醇接头偶联位点以用于直接或者经由肽接头或化学接头间接地缀合例如表位和/或有效负载。

[0339] 在另一个实施方案中,将成对半胱氨酸和/或硒代半胱氨酸并入包含I类MHC重链多肽序列的多肽中作为化学缀合位点。在一个实施方案中,在添加成对半胱氨酸和/或硒代半胱氨酸之前将成对半胱氨酸和/或硒代半胱氨酸并入包含与图3中所示的序列具有至少85% (例如,至少90%、95%、98%或99%,或甚至100%) 氨基酸序列同一性的序列的多肽中,或并入与那些序列之一附接的肽接头中。在一个这样的实施方案中,可利用成对半胱氨酸和/或硒代半胱氨酸作为双硫醇接头偶联位点以用于直接或者经由肽接头或化学接头间接地缀合例如表位和/或有效负载。

[0340] 可同时采用成对巯基来产生T细胞-MMP的化学缀合物。在这种实施方案中,具有二硫键或具有工程改造至彼此邻近的位置上的两个半胱氨酸(或硒代半胱氨酸)的T细胞-MMP可通过使用双硫醇接头而用作化学缀合位点。

[0341] I.A.2.6其他化学缀合位点

[0342] 碳水化合物化学缀合位点

[0343] 许多通过细胞表达制备的蛋白质含有添加的碳水化合物(例如,添加至哺乳动物细胞中所表达的抗体的类型的寡糖)。因此,在通过细胞表达来制备T细胞-MMP的第一多肽和/或第二多肽时,碳水化合物可存在并且可用作二醇缀合反应中的位点选择性化学缀合位点。McCombs和Owen, AAPS Journal, (2015) 17 (2) :339-351和其中所引用的参考文献描述碳水化合物残基用于分子与抗体的二醇缀合的用途。

[0344] 还可通过使用改变碳水化合物的化学物质(例如,过碘酸盐,其引入醛基)或通过可并入化学反应性碳水化合物或碳水化合物类似物以用作化学缀合位点的酶(例如,岩藻糖基转移酶)的作用而离体进行碳水化合物残基的添加和修饰。

[0345] 在一个实施方案中,并入具有已知糖基化位点的IgFc支架可用于引入位点特异性化学缀合位点。

[0346] 本公开包括并提供具有碳水化合物作为化学缀合(二醇缀合)位点的T细胞-MMP及其表位缀合物。本公开还包括并提供此类分子在与表位和与其他分子(诸如药物和诊断剂)形成缀合物方面的用途和那些分子在医学治疗和诊断方法中的用途。

[0347] 核苷酸结合位点

[0348] 核苷酸结合位点通过使用可共价连接至所述结合位点的UV反应性部分而提供位点特异性官能化。Bilgicer等人, Bioconjug Chem. 2014; 25 (7) :1198-202报告可在核苷酸结合位点处共价连接至IgG的吡啶-3-丁酸(IBA)部分的用途。通过并入形成核苷酸结合位点所需的序列,具有经适当修饰的表位和/或携带反应性核苷酸的其他分子(例如,药物或

诊断剂)的T细胞-MMP的化学缀合物可用于制备T细胞-MMP-表位缀合物。

[0349] 本公开包括并提供具有核苷酸结合位点作为化学缀合位点的T细胞-MMP。本公开还包括并提供此类分子在与表位和与其他分子(诸如药物和诊断剂)形成缀合物方面的用途和那些分子在医学治疗和诊断方法中的用途。

[0350] I.A.2.7 T细胞-MMP、表位和MOD的结合和性质

[0351] 本公开提供T细胞-MMP-表位缀合物。在一个实施方案中,本公开提供一种T细胞-MMP表位缀合物,所述T细胞-MMP表位缀合物包含:a)第一多肽;和b)第二多肽,其中所述多聚体多肽的第一多肽和第二多肽包含表位;第一MHC多肽;第二MHC多肽;以及任选的免疫球蛋白(Ig)Fc多肽或非Ig支架。在另一个实施方案中,本公开还提供一种T细胞-MMP-表位缀合物,所述T细胞-MMP-表位缀合物包含:a)第一多肽,所述第一多肽从N-末端至C-末端依次包含:i)表位;ii)第一MHC多肽;以及b)第二多肽,所述第二多肽从N-末端至C-末端依次包含:i)第二MHC多肽;和ii)任选的Ig Fc多肽或非Ig支架。除以上所叙述的那些组分以外,本公开的T细胞-MMP-表位缀合物的第一多肽和第二多肽中的至少一者包含一个或多个(例如,至少一个)MOD。所述一个或多个MOD位于:A)所述第一多肽的C-末端;B)所述第二多肽的N-末端;C)所述第二多肽的C-末端;和/或D)所述第一多肽的C-末端和所述第二多肽的N-末端。在一个实施方案中,所述一个或多个MOD中的至少一个(例如,至少两个或至少三个)为对Co-MOD表现出与相应野生型MOD对所述Co-MOD的亲和力相比有所降低的亲和力的变体MOD。

[0352] 在一个实施方案中,本公开的T细胞-MMP-表位缀合物中存在的表位以至少100 μ M(例如,至少10 μ M、至少1 μ M、至少100nM、至少10nM或至少1nM)的亲和力结合至T细胞上的T细胞受体(TCR)。在一个实施方案中,本公开的T细胞-MMP-表位缀合物以比T细胞-MMP-表位缀合物结合至第二T细胞的亲和力高出至少25%的亲和力结合至第一T细胞,其中所述第一T细胞在其表面上表达Co-MOD和以至少100 μ M的亲和力结合表位的TCR,并且其中所述第二T细胞在其表面上表达所述Co-MOD但不在其表面上表达以至少100 μ M(例如,至少10 μ M、至少1 μ M、至少100nM、至少10nM或至少1nM)的亲和力结合表位的TCR。

[0353] 在一些情况下,本公开的T细胞-MMP-表位缀合物中存在的表位以约 10^{-4} M至约 5×10^{-4} M、约 5×10^{-4} M至约 10^{-5} M、约 10^{-5} M至约 5×10^{-5} M、约 5×10^{-5} M至约 10^{-6} M、约 10^{-6} M至约 5×10^{-6} M、约 5×10^{-6} M至约 10^{-7} M、约 10^{-7} M至约 10^{-8} M或约 10^{-8} M至约 10^{-9} M的亲和力结合至T细胞上的TCR。以另一方式表述,在一些情况下,本公开的T细胞-MMP-表位缀合物中存在的表位以约0.1 μ M至约0.5 μ M、约0.5 μ M至约1 μ M、约1 μ M至约5 μ M、约5 μ M至约10 μ M、约10 μ M至约25 μ M、约25 μ M至约50 μ M、约50 μ M至约75 μ M或约75 μ M至约100 μ M的亲和力结合至T细胞上的TCR。

[0354] 在一个实施方案中,本公开的T细胞-MMP-表位缀合物中存在的变体MOD以比相应野生型MOD对所述Co-MOD的亲和力低至少10%、低至少15%、低至少20%、低至少25%、低至少30%、低至少35%、低至少40%、低至少45%、低至少50%、低至少55%、低至少60%、低至少65%、低至少70%、低至少75%、低至少80%、低至少85%、低至少90%、低至少95%或低超过至少95%的亲和力结合至其Co-MOD。

[0355] 在一些情况下,本公开的T细胞-MMP-表位缀合物中存在的变体MOD对Co-MOD具有1nM至100nM或100nM至100 μ M的结合亲和力。举例而言,在一些情况下,本公开的T细胞-MMP-表位缀合物中存在的变体MOD对Co-MOD具有约1nM至约5nM、约5nM至约10nM、约10nM至约

50nM、约50nM至约100nM、约100nM至约150nM、约150nM至约200nM、约200nM至约250nM、约250nM至约300nM、约300nM至约350nM、约350nM至约400nM、约400nM至约500nM、约500nM至约600nM、约600nM至约700nM、约700nM至约800nM、约800nM至约900nM、约900nM至约1 μ M、约1 μ M至约5 μ M、约5 μ M至约10 μ M、约10 μ M至约15 μ M、约15 μ M至约20 μ M、约20 μ M至约25 μ M、约25 μ M至约50 μ M、约50 μ M至约75 μ M或约75 μ M至约100 μ M的结合亲和力。在一些情况下,本公开的T细胞-MMP中存在的变体MOD对Co-MOD具有约1nM至约5nM、约5nM至约10nM、约10nM至约50nM、约50nM至约100nM的结合亲和力。

[0356] MOD对其Co-MOD的降低的亲和力与表位对TCR的亲和力的组合提供本公开的T细胞-MMP-表位缀合物的增强的选择性,同时仍允许MOD的活性。举例而言,相较于结合至呈递以下各所述的第二T细胞:i) 对除T细胞-MMP-表位缀合物中存在的表位以外的表位具有特异性的TCR;以及ii) 结合至T细胞-MMP-表位缀合物中存在的MOD的Co-MOD,本公开的T细胞-MMP-表位缀合物选择性地结合至呈递以下两者的第一T细胞:i) 对T细胞-MMP-表位缀合物中存在的表位具有特异性的TCR;以及ii) 结合至T细胞-MMP-表位缀合物中存在的MOD的Co-MOD。举例而言,本公开的T细胞-MMP-表位缀合物以比其结合第二T细胞的亲和力高出至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少200% (2倍)、至少250% (2.5倍)、至少500% (5倍)、至少1,000% (10倍)、至少1,500% (15倍)、至少2,000% (20倍)、至少2,500% (25倍)、至少5,000% (50倍)、至少10,000% (100倍) 或超过100倍的亲和力结合至第一T细胞。

[0357] 在一些情况下,本公开的T细胞-MMP表位缀合物在施用至有需要的个体时诱导表位特异性T细胞应答和表位非特异性T细胞应答。本公开的T细胞-MMP表位缀合物在施用至有需要的个体时通过调节呈递以下两者的第一T细胞的活性而诱导表位特异性T细胞应答:i) 对T细胞-MMP-表位缀合物中存在的表位具有特异性的TCR;以及ii) 结合至T细胞-MMP-表位缀合物中存在的MOD的Co-MOD。T细胞-MMP表位缀合物还通过调节呈递以下各所述的第二T细胞的活性而诱导表位非特异性T细胞应答:i) 对除T细胞-MMP-表位缀合物中存在的表位以外的表位具有特异性的TCR;以及ii) 结合至T细胞-MMP-表位缀合物中存在的MOD的Co-MOD。表位特异性T细胞应答与表位非特异性T细胞应答的比率为至少2:1、至少5:1、至少10:1、至少15:1、至少20:1、至少25:1、至少50:1或至少100:1。表位特异性T细胞应答与表位非特异性T细胞应答的范围为约2:1至约5:1、约5:1至约10:1、约10:1至约15:1、约15:1至约20:1、约20:1至约25:1、约25:1至约50:1或约50:1至约100:1,或超过100:1。“调节T细胞的活性”可包括以下一项或多项:i) 活化细胞毒性(例如CD8⁺) T细胞;ii) 诱导细胞毒性(例如CD8⁺) T细胞的细胞毒性活性;iii) 诱导细胞毒性(例如CD8⁺) T细胞的细胞毒素(例如,穿孔素;颗粒酶;颗粒溶素)的产生和释放;以及iv) 抑制自身反应性T细胞的活性;等。

[0358] MOD对其Co-MOD的降低的亲和力与表位对TCR的亲和力的组合提供本公开的T细胞-MMP-表位缀合物的增强的选择性。因此,举例而言,本公开的T细胞-MMP-表位缀合物相较于其结合至呈递以下的第二T细胞的亲合力:i) 对除T细胞-MMP-表位缀合物中存在的表位以外的表位具有特异性的TCR;和ii) 结合至T细胞-MMP-表位缀合物中存在的MOD的Co-MOD,以较高亲合力结合至呈递以下两者的第一T细胞:i) 对T细胞-MMP-表位缀合物中存在的表位具有特异性的TCR;和ii) 结合至T细胞-MMP-表位缀合物中存在的MOD的Co-MOD。

[0359] I.A.2.8测定结合亲和力

[0360] 可通过生物层干涉测量法 (BLI) 使用经纯化的MOD和经纯化的Co-MOD来测定MOD与其Co-MOD之间的结合亲和力。可通过BLI使用经纯化的T细胞-MMP-表位缀合物和Co-MOD来测定T细胞-MMP-表位缀合物与其Co-MOD之间的结合亲和力。BLI方法对本领域的技术人员为熟知的。参见例如Lad等人 (2015) J. Biomol. Screen. 20 (4) : 498-507; 以及Shah和Duncan (2014) J. Vis. Exp. 18: e51383。可使用以下程序测定本公开中所描述的Co-MOD与MOD之间或Co-MOD与T细胞-MMP (或其表位缀合物) 之间的特异性结合亲和力和相对结合亲和力。

[0361] 可使用Octet RED 96 (Pal FortéBio) 仪器或类似仪器如下进行BLI测定。举例而言, 为了测定Co-MOD对T细胞-MMP (或其表位缀合物) (例如, 本公开的具有变体MOD的T细胞-MMP表位缀合物; 或包含野生型MOD的对照T细胞-MMP-表位缀合物) 的结合亲和力, 将T细胞-MMP (或其表位缀合物) 固定至不溶性载体 (“生物传感器”) 上。经固定的T细胞-MMP (或其表位缀合物) 为 “靶标”。可通过将捕获抗体固定至不溶性载体上来实现固定, 其中所述捕获抗体固定所述T细胞-MMP (或其表位缀合物)。举例而言, 在T细胞-MMP包含IgFc多肽时, 可通过将抗Fc (例如, 抗人IgG Fc) 抗体固定至不溶性载体上并且使T细胞-MMP表位缀合物与将结合至并且固定其的经固定的抗Fc抗体接触来实现固定。将Co-MOD以若干不同的浓度施加至经固定的T细胞-MMP (或其经固定的表位缀合物), 并且记录仪器的反应。在包含25mM HEPES pH 6.8、5% 聚(乙二醇) 6000、50mM KCl、0.1% 牛血清白蛋白和0.02% Tween 20非离子洗涤剂的液体培养基中进行测定。在30℃下进行Co-MOD与经固定的T细胞-MMP (或其表位缀合物) 的结合。作为结合亲和力的阳性对照, 可使用抗I类MHC单克隆抗体。举例而言, 可使用抗I类HLA单克隆抗体 (mAb) W6/32 (美国典型培养物保藏中心号HB-95; Parham等人 (1979) J. Immunol. 123: 342), 其具有7nM的 K_D 。可使用抗I类MHC单克隆抗体的连续稀释来产生标准曲线。Co-MOD或抗I类MHC mAb为 “分析物”。BLI分析从两个表面反射的白光的干涉图案: i) 经固定的多肽 (“靶标”); 和ii) 内部参考层。与生物传感器尖端结合的分子 (“分析物”; 例如, Co-MOD; 抗HLA抗体) 的数目变化引起干涉图案的位移; 可实时测量干涉图案的这种位移。描述靶标/分析物相互作用的亲和力的两个动力学术语为缔合常数 (k_a) 和解离常数 (k_d)。这两个术语的比率 (k_d/k_a) 得到亲和力常数 K_D 。还可用于固定于生物传感器上的经纯化的野生型或其变体MOD来进行测定, 同时以若干不同的浓度施加Co-MOD以测定MOD与其Co-MOD之间的结合参数。

[0362] 测定Co-MOD (例如, IL-2R) 与野生型MOD (例如, IL-2) 和变体MOD (例如, 如本文中所公开的IL-2变体) 或者含有野生型MOD或变体MOD的T细胞-MMP (或其表位缀合物) 的结合亲和力因此允许确定野生型分子和变体分子的相对结合亲和力。即, 可确定变体MOD对其受体 (其Co-MOD) 的结合亲和力与野生型MOD对同一Co-MOD的结合亲和力相比是否有所降低, 并且如果有所降低, 即为相对于野生型Co-MOD的结合亲和力的降低百分比。

[0363] 在多孔板中进行BLI测定。为了进行所述测定, 定义板布局, 定义测定步骤, 并且在Octet数据采集软件中给生物传感器赋值。使生物传感器组件水化。使经水化的生物传感器组件和测定板在Octet仪器上平衡10分钟。一旦获取数据, 便将所获取的数据加载至Octet数据分析软件中。在处理窗口中通过规定参考扣除、y轴比对、步骤间修正和Savitzky-Golay过滤的方法来处理数据。在分析窗口中通过规定待分析的步骤 (缔合和解离)、选择曲线拟合模型 (1:1)、拟合方法 (全局) 和相关窗口 (以秒计) 来分析数据。评价拟合质量。各数据迹线 (分析物浓度) 的 K_D 值如果在3倍范围内则可取平均值。 K_D 误差值应在亲和力常数值的

一个数量级内; R^2 值应在0.95以上。参见例如Abdiche等人(2008), *J. Anal. Biochem.*, 377: 209。

[0364] 除非本文中另外陈述, 否则使用如以上所描述的BLI来测定本公开的T细胞-MMP-表位缀合物对Co-MOD的亲合力或对照T细胞-MMP-表位缀合物(其中对照T细胞-MMP-表位缀合物包含野生型MOD)对Co-MOD的亲合力。同样, 可使用如以上所描述的BLI来测定MOD和其Co-MOD多肽的亲合力。

[0365] 在一些情况下, 当通过BLI(如以上所描述)进行测量时, i) 对照T细胞-MMP-表位缀合物(其中所述对照包含野生型MOD)对Co-MOD的结合亲合力与ii) 包含野生型MOD的变体的本公开T细胞-MMP-表位缀合物对Co-MOD的结合亲和力的比率为至少1.5:1、至少2:1、至少5:1、至少10:1、至少15:1、至少20:1、至少25:1、至少50:1、至少100:1、至少500:1、至少 10^2 :1、至少 5×10^2 :1、至少 10^3 :1、至少 5×10^3 :1、至少 10^4 :1、至少 10^5 :1或至少 10^6 :1。在一些情况下, 当通过BLI进行测量时, i) 对照T细胞-MMP-表位缀合物(其中所述对照包含野生型MOD)对Co-MOD的结合亲合力与ii) 包含野生型MOD的变体的本公开T细胞-MMP-表位缀合物对Co-MOD的结合亲和力的比率处于1.5:1至 10^6 :1, 例如1.5:1至10:1、10:1至50:1、50:1至 10^2 :1、 10^2 :1至 10^3 :1、 10^3 :1至 10^4 :1、 10^4 :1至 10^5 :1或 10^5 :1至 10^6 :1的范围内。

[0366] 作为一个实例, 在对照T细胞-MMP-表位缀合物包含野生型IL-2多肽时, 并且在本公开的T细胞-MMP-表位缀合物包含变体IL-2多肽(相对于野生型IL-2多肽的氨基酸序列包含1至10个氨基酸取代)作为MOD时, 当通过BLI进行测量时, i) 对照T细胞-MMP-表位缀合物对IL-2受体(即, Co-MOD)的结合亲合力与ii) 本公开的T细胞-MMP-表位缀合物对所述IL-2受体(即, Co-MOD)的结合亲和力的比率为至少1.5:1、至少2:1、至少5:1、至少10:1、至少15:1、至少20:1、至少25:1、至少50:1、至少100:1、至少500:1、至少 10^2 :1、至少 5×10^2 :1、至少 10^3 :1、至少 5×10^3 :1、至少 10^4 :1、至少 10^5 :1或至少 10^6 :1。在一些情况下, 在对照T细胞-MMP-表位缀合物包含野生型IL-2多肽时, 并且在本公开的T细胞-MMP-表位缀合物包含变体IL-2多肽(相对于野生型IL-2多肽的氨基酸序列包含1至10个氨基酸取代)作为MOD时, 当通过BLI进行测量时, i) 对照T细胞-MMP-表位缀合物对IL-2受体(即, Co-MOD)的结合亲合力与ii) 本公开的T细胞-MMP-表位缀合物对所述IL-2受体的结合亲和力的比率处于1.5:1至 10^6 :1, 例如1.5:1至10:1、10:1至50:1、50:1至 10^2 :1、 10^2 :1至 10^3 :1、 10^3 :1至 10^4 :1、 10^4 :1至 10^5 :1或 10^5 :1至 10^6 :1的范围内。

[0367] 作为另一个实例, 在对照T细胞-MMP-表位缀合物包含野生型PD-L1多肽时, 并且在本公开的T细胞-MMP-表位缀合物包含变体PD-L1多肽(相对于野生型PD-L1多肽的氨基酸序列包含1至10个氨基酸取代)作为MOD时, 当通过BLI进行测量时, i) 对照T细胞-MMP-表位缀合物对PD-1多肽(即, Co-MOD)的结合亲合力与ii) 本公开的T细胞-MMP-表位缀合物对所述PD-1多肽的结合亲和力的比率为至少1.5:1、至少2:1、至少5:1、至少10:1、至少15:1、至少20:1、至少25:1、至少50:1、至少100:1、至少500:1、至少 10^2 :1、至少 5×10^2 :1、至少 10^3 :1、至少 5×10^3 :1、至少 10^4 :1、至少 10^5 :1或至少 10^6 :1。

[0368] 作为另一个实例, 在对照T细胞-MMP-表位缀合物包含野生型CD80多肽时, 并且在本公开的T细胞-MMP-表位缀合物包含变体CD80多肽(相对于野生型CD80多肽的氨基酸序列包含1至10个氨基酸取代)作为MOD时, 当通过BLI进行测量时, i) 对照T细胞-MMP-表位缀合物对CTLA4多肽(即, Co-MOD)的结合亲合力与ii) 本公开的T细胞-MMP-表位缀合物对所述

CTLA4多肽的结合亲和力的比率为至少1.5:1、至少2:1、至少5:1、至少10:1、至少15:1、至少20:1、至少25:1、至少50:1、至少100:1、至少500:1、至少 10^2 :1、至少 5×10^2 :1、至少 10^3 :1、至少 5×10^3 :1、至少 10^4 :1、至少 10^5 :1或至少 10^6 :1。

[0369] 作为另一个实例,在对照T细胞-MMP-表位缀合物包含野生型CD80多肽时,并且在本公开的T细胞-MMP-表位缀合物包含变体CD80多肽(相对于野生型CD80多肽的氨基酸序列包含1至10个氨基酸取代)作为MOD时,当通过BLI进行测量时,i)对照T细胞-MMP-表位缀合物对CD28多肽(即,Co-MOD)的结合亲和力与ii)本公开的T细胞-MMP-表位缀合物对所述CD28多肽的结合亲和力的比率为至少1.5:1、至少2:1、至少5:1、至少10:1、至少15:1、至少20:1、至少25:1、至少50:1、至少100:1、至少500:1、至少 10^2 :1、至少 5×10^2 :1、至少 10^3 :1、至少 5×10^3 :1、至少 10^4 :1、至少 10^5 :1或至少 10^6 :1。

[0370] 作为另一个实例,在对照T细胞-MMP-表位缀合物包含野生型4-1BBL多肽时,并且在本公开的T细胞-MMP-表位缀合物包含变体4-1BBL多肽(相对于野生型4-1BBL多肽的氨基酸序列包含1至10个氨基酸取代)作为MOD时,当通过BLI进行测量时,i)对照T细胞-MMP-表位缀合物对4-1BB多肽(即,Co-MOD)的结合亲和力与ii)本公开的T细胞-MMP-表位缀合物对所述4-1BB多肽的结合亲和力的比率为至少1.5:1、至少2:1、至少5:1、至少10:1、至少15:1、至少20:1、至少25:1、至少50:1、至少100:1、至少500:1、至少 10^2 :1、至少 5×10^2 :1、至少 10^3 :1、至少 5×10^3 :1、至少 10^4 :1、至少 10^5 :1或至少 10^6 :1。

[0371] 作为另一个实例,在对照T细胞-MMP-表位缀合物包含野生型CD86多肽时,并且在本公开的T细胞-MMP-表位缀合物包含变体CD86多肽(相对于野生型CD86多肽的氨基酸序列包含1至10个氨基酸取代)作为MOD时,当通过BLI进行测量时,i)对照T细胞-MMP-表位缀合物对CD28多肽(即,Co-MOD)的结合亲和力与ii)本公开的T细胞-MMP-表位缀合物对所述CD28多肽的结合亲和力的比率为至少1.5:1、至少2:1、至少5:1、至少10:1、至少15:1、至少20:1、至少25:1、至少50:1、至少100:1、至少500:1、至少 10^2 :1、至少 5×10^2 :1、至少 10^3 :1、至少 5×10^3 :1、至少 10^4 :1、至少 10^5 :1或至少 10^6 :1。

[0372] 可用以下方式测量本公开的T细胞-MMP-表位缀合物对靶T细胞的结合亲和力:A)使本公开的T细胞-MMP-表位缀合物与在其表面上表达以下各项的靶T细胞接触:i)结合至亲本野生型MOD的Co-MOD;和ii)结合至表位的TCR,其中所述T细胞-MMP-表位缀合物包含表位标签或荧光标记,以使所述T细胞-MMP-表位缀合物结合至靶T细胞;B)如果T细胞-MMP表位缀合物未经标记,则使靶T细胞结合的T细胞-MMP-表位缀合物与结合至所述表位标签的经荧光标记的结合剂(例如,经荧光标记的抗体)接触,从而产生T细胞-MMP-表位缀合物/靶T细胞/结合剂复合物;C)使用流式细胞术来测量T细胞-MMP-表位缀合物/靶T细胞/结合剂复合物的平均荧光强度(MFI)。表位标签可为例如FLAG标签、血凝素标签、c-myc标签、聚(组氨酸)标签等。在T细胞-MMP-表位缀合物(库成员)的浓度范围内测量的MFI提供亲和力的量度。在T细胞-MMP-表位缀合物(库成员)的浓度范围内测量的MFI提供T细胞-MMP-表位缀合物的半最大有效浓度(EC₅₀)。在一些情况下,本公开的T细胞-MMP-表位缀合物对靶T细胞的EC₅₀处于nM范围内;并且所述T细胞-MMP-表位缀合物对对照T细胞(其中对照T细胞在其表面上表达:i)结合亲本野生型MOD的Co-MOD;和ii)不结合至T细胞-MMP-表位缀合物中存在的表位的T细胞受体)的EC₅₀处于μM范围内。在一些情况下,本公开的T细胞-MMP-表位缀合物对对照T细胞的EC₅₀与所述T细胞-MMP-表位缀合物对靶T细胞的EC₅₀的比率为至少1.5:1、至少

2:1、至少5:1、至少10:1、至少15:1、至少20:1、至少25:1、至少50:1、至少100:1、至少500:1、至少 10^2 :1、至少 5×10^2 :1、至少 10^3 :1、至少 5×10^3 :1、至少 10^4 :1、至少 10^5 :1或至少 10^6 :1。本公开的T细胞-MMP-表位缀合物对对照T细胞的EC₅₀与所述T细胞-MMP-表位缀合物对靶T细胞的EC₅₀的比率为T细胞-MMP-表位缀合物的选择性的表达。

[0373] 在一些情况下,当如前一段中所描述进行测量时,相较于T细胞-MMP-表位缀合物(库成员)与包含以下各项的对照T细胞的结合:i)结合亲本野生型MOD的Co-MOD;和ii)结合至除T细胞-MMP-表位缀合物库成员中存在的表位以外的表位的TCR,本公开的T细胞-MMP-表位缀合物对靶T细胞表现出选择性结合。

[0374] 二聚的多聚体T细胞调节多肽

[0375] 本公开的T细胞-MMP,包括具有与其化学缀合的表位的那些T细胞-MMP,可二聚;即,本公开提供一种包含本公开的多聚体T细胞-MMP的二聚体的多聚体多肽。因此,本公开提供一种多聚体T细胞-MMP,所述多聚体T细胞-MMP包含:A)第一异源二聚体,所述第一异源二聚体包含:a)第一多肽,所述第一多肽包含:i)肽表位;和ii)第一MHC多肽;以及b)第二多肽,所述第二多肽包含第二MHC多肽,其中所述第一异源二聚体包含一个或多个MOD;以及B)第二异源二聚体,所述第二异源二聚体包含:a)第一多肽,所述第一多肽包含:i)肽表位;和ii)第一MHC多肽;以及b)第二多肽,所述第二多肽包含第二MHC多肽,其中所述第二异源二聚体包含一个或多个MOD,并且其中所述第一异源二聚体和所述第二异源二聚体彼此共价连接。在一些情况下,所述两个多聚体T细胞-MMP在氨基酸序列方面彼此相同。在一些情况下,所述第一异源二聚体和所述第二异源二聚体经由所述第一异源二聚体的第二多肽的C-末端区域和所述第二异源二聚体的第二多肽的C-末端区域彼此共价连接。在一些情况下,所述第一异源二聚体和所述第二异源二聚体经由所述第一异源二聚体的第二多肽的C-末端氨基酸和所述第二异源二聚体的第二多肽的C-末端区域彼此共价连接;举例而言,在一些情况下,所述第一异源二聚体的第二多肽的C-末端氨基酸和所述第二异源二聚体的第二多肽的C-末端区域直接或经由接头彼此连接。所述接头可为肽接头。所述肽接头可具有1个氨基酸至200个氨基酸的长度(例如,1个氨基酸至5个氨基酸、5个氨基酸至10个氨基酸、10个氨基酸至25个氨基酸、25个氨基酸至50个氨基酸、50个氨基酸至100个氨基酸、100个氨基酸至150个氨基酸或150个氨基酸至200个氨基酸)。在一些情况下,所述第一异源二聚体的肽表位和所述第二异源二聚体的肽表位包含相同的氨基酸序列。在一些情况下,所述第一异源二聚体和所述第二异源二聚体的第一MHC多肽为I类MHCβ2M,并且所述第一异源二聚体和所述第二异源二聚体的第二MHC多肽为I类MHC重链。在一些情况下,所述第一异源二聚体的MOD和所述第二异源二聚体的MOD包含相同的氨基酸序列。在一些情况下,所述第一异源二聚体的MOD和所述第二异源二聚体的MOD为与相应亲本野生型MOD相比包含1至10个氨基酸取代的变体MOD,其中1至10个氨基酸取代引起变体MOD对Co-MOD的结合亲和力降低。在一些情况下,所述第一异源二聚体的MOD和所述第二异源二聚体的MOD选自自由以下组成的组:IL-2、4-1BBL、PD-L1、CD70、CD80、CD86、ICOS-L、OX-40L、FasL、JAG1 (CD339)、TGFβ、ICAM及其变体MOD(例如,与相应亲本野生型MOD相比具有1至10个氨基酸取代的变体MOD)。以下描述适合MHC多肽、MOD和肽表位的实例。

[0376] 除二聚体以外,本公开的T细胞-MMP和T细胞-MMP表位缀合物可形成高级复合物,包括三聚体、四聚体或五聚体。包含T细胞-MMP多聚体的组合物还可包含低级复合物,诸如

单体,并且因此可包含单体、二聚体、三聚体、四聚体、五聚体或它们的任何组合(例如,单体与二聚体的混合物)。

[0377] I.B.T细胞-MMP的MHC多肽

[0378] 如以上所指出,T细胞-MMP和T细胞-MMP-表位缀合物包括MHC多肽。出于本公开的目的,术语“主要组织相容性复合物(MHC)多肽”意图包括不同物种的I类MHC多肽,包括人MHC(还称为人白细胞抗原(HLA))多肽、啮齿动物(例如,小鼠、大鼠等)MHC多肽和其他哺乳动物物种(例如,兔类动物、非人灵长类动物、犬科动物、猫科动物、有蹄类动物(例如,马、牛、绵羊、山羊等)等的MHC多肽。术语“MHC多肽”意图包括I类MHC多肽(例如, β -2微球蛋白和I类MHC重链和/或其部分)。

[0379] 如以上所指出,本文中所描述的T细胞-MMP和T细胞-MMP-表位缀合物的第一MHC多肽和第二MHC多肽为I类MHC多肽(例如,在一些情况下,所述第一MHC多肽为I类MHC β 2M(β 2M)多肽,并且所述第二MHC多肽为I类MHC重链(H链) (“MHC-H”)。在一个实施方案中,T细胞-MMP(或其表位缀合物)中的 β 2M和MHC-H链序列具有人起源。除非另外明确陈述,否则本文中所描述的T细胞-MMP不意图包括I类MHC分子的膜锚定结构域(跨膜区),或所述分子中足以将所得T细胞-MMP或其肽锚定至表达其的细胞(例如,真核细胞,诸如哺乳动物细胞)的部分。

[0380] 在一些情况下,T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物的MHC多肽为I类HLA多肽,例如 β 2M多肽或I类HLA重链多肽。可包括在T细胞-MMP或其表位缀合物中的I类HLA重链多肽包括HLA-A重链多肽、HLA-B重链多肽、HLA-C重链多肽、HLA-E重链多肽、HLA-F重链多肽和HLA-G重链多肽或包含与图3A、3B、3C和/或3D中所描绘的人HLA重链多肽中任一者的氨基酸序列的氨基酸25-365具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的序列的多肽(例如,所述多肽可包含1-30、1-5、5-10、10-15、15-20、20-25或25-30个氨基酸插入、缺失和/或取代)。

[0381] 作为一个实例,多聚体多肽的I类MHC重链多肽可包含与图3A中所描绘的人HLA-A重链多肽中任一者的氨基酸序列的氨基酸25-365具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0382] I.B.1 I类MHC重链

[0383] HLA-A(HLA-A*01:01:01:01)

[0384] 在一个实施方案中,T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物的I类MHC重链多肽包含HLA-A*01:01:01:01(图3D中的HLA-A(SEQ ID NO:140))的氨基酸序列,或与所述序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的序列(例如,其可包含1-25、1-5、5-10、10-15、15-20、20-25或25-30个氨基酸插入、缺失和/或取代)。在一个实施方案中,在T细胞-MMP或其表位缀合物的HLA-A重链多肽与图3D中标记为HLA-A的序列具有低于100%同一性时,其可能在位置84、139和/或236中的一个或多个处包含选自以下的取代:位置84处酪氨酸至丙氨酸(Y84A);位置84处酪氨酸至半胱氨酸(Y84C);位置139处丙氨酸至半胱氨酸(A139C);以及位置236处丙氨酸至半胱氨酸取代(A236C)。Y84A取代打开MHC结合袋的一端,允许接头(如果存在)“穿过”袋状结构的所述端,并且允许表位大小存在更大程度的变化(例如,携带表位序列的较长肽)以便装配至袋状结构中并且由T细胞-MMP呈递。在一个实施方案中,T细胞-MMP或其表位缀合物的HLA-A重

链多肽包含Y84A和A236C突变。在一个实施方案中,T细胞-MMP或其表位缀合物的HLA-A重链多肽包含Y84C和A139C突变。在一个实施方案中,T细胞-MMP或其表位缀合物的HLA-A重链多肽包含Y84C、A139C和A236C突变。

[0385] HLA-A*0201

[0386] 在一个实施方案中,T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物的I类MHC重链多肽包含图3D中所提供的HLA-A*0201 (SEQ ID NO:143) 的氨基酸序列,或与所述序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的序列(例如,其可包含1-25、1-5、5-10、10-15、15-20、20-25或25-30个氨基酸插入、缺失和/或取代)。在一个实施方案中,在T细胞-MMP或其表位缀合物的HLA-A*0201重链多肽与图3D中标记为HLA-A*0201的序列具有低于100%同一性时,其可能在位置84、139和/或236中的一个或多个处包含选自以下的突变:位置84处酪氨酸至丙氨酸(Y84A);位置84处酪氨酸至半胱氨酸(Y84C);位置139处丙氨酸至半胱氨酸(A139C);以及位置236处丙氨酸至半胱氨酸取代(A236C)。在一个实施方案中,T细胞-MMP或其表位缀合物的HLA-A*0201重链多肽包含Y84A和A236C突变。在一个实施方案中,T细胞-MMP或其表位缀合物的HLA-A*0201重链多肽包含Y84C和A139C突变。在一个实施方案中,T细胞-MMP或其表位缀合物的HLA-A*0201重链多肽包含Y84C、A139C和A236C突变。

[0387] HLA-A*1101

[0388] 在一个实施方案中,T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物的I类MHC重链多肽包含图3D中所提供的HLA-A*1101 (SEQ ID NO:148) 的氨基酸序列,或与所述序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的序列(例如,其可包含1-25、1-5、5-10、10-15、15-20、20-25或25-30个氨基酸插入、缺失和/或取代)。在一个实施方案中,在T细胞-MMP或其表位缀合物的HLA-A*1101重链多肽与图3D中标记为HLA-A*1101的序列具有低于100%同一性时,其可能在位置84、139和/或236中的一个或多个处包含选自以下的突变:位置84处酪氨酸至丙氨酸(Y84A);位置84处酪氨酸至半胱氨酸(Y84C);位置139处丙氨酸至半胱氨酸(A139C);以及位置236处丙氨酸至半胱氨酸取代(A236C)。在一个实施方案中,T细胞-MMP或其表位缀合物的HLA-A*1101重链多肽包含Y84A和A236C突变。在一个实施方案中,T细胞-MMP或其表位缀合物的HLA-A*1101重链多肽包含Y84C和A139C突变。在一个实施方案中,T细胞-MMP或其表位缀合物的HLA-A*1101重链多肽包含Y84C、A139C和A236C突变。

[0389] HLA-A*2402

[0390] 在一个实施方案中,T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物的I类MHC重链多肽包含图3D中所提供的HLA-A*2402 (SEQ ID NO:149) 的氨基酸序列,或与所述序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的序列(例如,其可包含1-25、1-5、5-10、10-15、15-20、20-25或25-30个氨基酸插入、缺失和/或取代)。在一个实施方案中,在T细胞-MMP或其表位缀合物的HLA-A*2402重链多肽与图3D中标记为HLA-A*2402的序列具有低于100%同一性时,其可能在位置84、139和/或236中的一个或多个处包含选自以下的突变:位置84处酪氨酸至丙氨酸(Y84A);位置84处酪氨酸至半胱氨酸(Y84C);位置139处丙氨酸至半胱氨酸(A139C);以及位置236处丙氨酸至半胱氨酸取代(A236C)。在一个实施方案中,T细胞-MMP或其表位缀合物的HLA-A*2402重链多肽包

含Y84A和A236C突变。在一个实施方案中,T细胞-MMP或其表位缀合物的HLA-A*2402重链多肽包含Y84C和A139C突变。在一个实施方案中,T细胞-MMP或其表位缀合物的HLA-A*2402重链多肽包含Y84C、A139C和A236C突变。

[0391] HLA-A*3303

[0392] 在一个实施方案中,T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物的I类MHC重链多肽包含图3D中所提供的HLA-A*3303 (SEQ ID NO:150) 的氨基酸序列,或与所述序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的序列(例如,其可包含1-25、1-5、5-10、10-15、15-20、20-25或25-30个氨基酸插入、缺失和/或取代)。在一个实施方案中,在T细胞-MMP或其表位缀合物的HLA-A*3303重链多肽与图3D中标记为HLA-A*3303的序列具有低于100%同一性时,其可能在位置84、139和/或236中的一个或多个处包含选自以下的突变:位置84处酪氨酸至丙氨酸(Y84A);位置84处酪氨酸至半胱氨酸(Y84C);位置139处丙氨酸至半胱氨酸(A139C);以及位置236处丙氨酸至半胱氨酸取代(A236C)。在一个实施方案中,T细胞-MMP或其表位缀合物的HLA-A*3303重链多肽包含Y84A和A236C突变。在一个实施方案中,T细胞-MMP或其表位缀合物的HLA-A*3303重链多肽包含Y84C和A139C突变。在一个实施方案中,T细胞-MMP或其表位缀合物的HLA-A*3303重链多肽包含Y84C、A139C和A236C突变。

[0393] HLA-B

[0394] 在一个实施方案中,T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物的I类MHC重链多肽包含HLA-B (SEQ ID NO:141) (图3D中的HLA-B) 的氨基酸序列,或与所述序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的序列(例如,其可包含1-25、1-5、5-10、10-15、15-20、20-25或25-30个氨基酸插入、缺失和/或取代)。在一个实施方案中,在T细胞-MMP或其表位缀合物的HLA-B重链多肽与图3D中标记为HLA-B的序列具有低于100%同一性时,其可能在位置84、139和/或236中的一个或多个处包含选自以下的突变:位置84处酪氨酸至丙氨酸(Y84A);位置84处酪氨酸至半胱氨酸(Y84C);位置139处丙氨酸至半胱氨酸(A139C);以及位置236处丙氨酸至半胱氨酸取代(A236C)。在一个实施方案中,T细胞-MMP或其表位缀合物的HLA-B重链多肽包含Y84A和A236C突变。在一个实施方案中,T细胞-MMP或其表位缀合物的HLA-B重链多肽包含Y84C和A139C突变。在一个实施方案中,T细胞-MMP或其表位缀合物的HLA-B重链多肽包含Y84C、A139C和A236C突变。

[0395] HLA-C

[0396] 在一个实施方案中,T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物的I类MHC重链多肽包含HLA-C (SEQ ID NO:142) (图3D中的HLA-C) 的氨基酸序列,或与所述序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的序列(例如,其可包含1-25、1-5、5-10、10-15、15-20、20-25或25-30个氨基酸插入、缺失和/或取代)。在一个实施方案中,在T细胞-MMP或其表位缀合物的HLA-C重链多肽与图3D中标记为HLA-C的序列具有低于100%同一性时,其可能在位置84、139和/或236中的一个或多个处包含选自以下的突变:位置84处酪氨酸至丙氨酸(Y84A);位置84处酪氨酸至半胱氨酸(Y84C);位置139处丙氨酸至半胱氨酸(A139C);以及位置236处丙氨酸至半胱氨酸取代(A236C)。在一个实施方案中,T细胞-MMP或其表位缀合物的HLA-C重链多肽包含Y84A和A236C突变。在一个实施方案中,T细胞-MMP或其表位缀合物的HLA-C重链多肽包含Y84C和A139C突变。在一个

实施方案中,T细胞-MMP或其表位缀合物的HLA-C重链多肽包含Y84C、A139C和A236C突变。

[0397] 小鼠H2K

[0398] 在一个实施方案中,T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物的I类MHC重链多肽包含小鼠H2K (SEQ ID NO:144) (图3D中的小鼠H2K) 的氨基酸序列,或与所述序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的序列(例如,其可包含1-25、1-5、5-10、10-15、15-20、20-25或25-30个氨基酸插入、缺失和/或取代)。在一个实施方案中,在T细胞-MMP或其表位缀合物的小鼠H2K重链多肽与图3D中标记为小鼠H2K的序列具有低于100%同一性时,其可能在位置84、139和/或236中的一个或多个处包含选自以下的突变:位置84处酪氨酸至丙氨酸(Y84A);位置84处酪氨酸至半胱氨酸(Y84C);位置139处丙氨酸至半胱氨酸(A139C);以及位置236处丙氨酸至半胱氨酸取代(A236C)。在一个实施方案中,T细胞-MMP或其表位缀合物的小鼠H2K重链多肽包含Y84A和A236C突变。在一个实施方案中,T细胞-MMP或其表位缀合物的小鼠H2K重链多肽包含Y84C和A139C突变。在一个实施方案中,T细胞-MMP或其表位缀合物的小鼠H2K重链多肽包含Y84C、A139C和A236C突变。

[0399] 位置116和167处的取代

[0400] 任何I类MHC重链序列(包括上文针对以下各项所公开的那些I类MHC重链序列:HLA-A (HLA-A*01:01:01:01);HLA-A*0201;HLA-A*1101;HLA-A*2402;HLA-A*3303;HLA-B;HLA-C;以及小鼠H2K) 均可进一步包含处于位置116处的半胱氨酸取代(Y116C,从而提供硫醇以用于锚定表位肽,诸如通过与马来酰亚胺肽反应) 和/或位置167处的丙氨酸(W167A) 或半胱氨酸(W167C) 之一。如同打开MHC-H结合袋的一端的取代(例如,位置84处或其等效物,诸如Y84A),位置167处的丙氨酸或甘氨酸取代或其等效物(例如,W167A取代) 打开MHC结合袋的另一端,从而产生可由T细胞-MMP表位缀合物呈递的允许更大程度变化(例如,更长的长度) 表位肽的沟槽。位置84和167处的取代或其等效物(例如,Y84A与W167A或W167G的组合) 可组合用于修饰MHC-H链的结合袋。在位置167处放置半胱氨酸(例如,W167C突变) 或其等效物提供硫醇残基以用于锚定表位肽。位置116和167处的半胱氨酸取代可分别用于锚定表位(例如,表位肽) 或组合用于锚定两个位置(例如,含表位的肽的两端) 上的表位。位置116和/或167处的突变可与以上所描述的位置84、139和/或236处的任一个或多个突变组合。

[0401] 取代的组合

[0402] 当氨基酸84和139均为半胱氨酸时,它们可形成链内二硫键,从而即使在未负载表位肽时也可使I类MHC蛋白稳定并且允许翻译和由真核细胞分泌。当位置84为C残基时,其还可与同β2M多肽的N-末端附接的接头形成链内二硫键(例如,表位-GCGGS (G₄S) n (SEQ ID NO:133)-成熟β2M多肽,参见SEQ IDNO:151至155)。当氨基酸236为半胱氨酸时,其可与在氨基酸12处包含R12C取代的变体β2M多肽的所述位置上的半胱氨酸形成链间二硫键。可并入T细胞-MMP或其表位缀合物中的I类MHC重链序列修饰的一些可能组合示于下表中。所述表中所提供的残基84、139和236处的取代的任何组合均可与所述表中所提供的位置116和167处的取代的任何组合进行组合。

[0403] 可并入T细胞-MMP或其表位缀合物中的I类MHC重链序列修饰的一些组合

[0404]

序号	碱基序列 (来自图 3D)	SEQ ID NO.	序列同一性 范围*	氨基酸位置 84、 139 和/或 236 处 的特定取代	位置 116 和/ 或 167 处的 取代
1	HLA-A	140	100%	无	无
2	HLA-A	140	75%-99.8%、 80%-99.8%、 85%-99.8%、 90%-99.8%、 95%-99.8%、 98%-99.8% 或 99%-99.8%； 或者 1-25、 1-5、5-10、 10-15、15-20 或 20-25 个氨 基酸插入、缺	无；Y84C；Y84A； A139C；A236C； (Y84A 和 A236C)； (Y84C 和 A139C)；或 (Y84C、A139C 和 A236C)	无； Y116C； W167A； W167C；或 (Y116C 和 W167C)

[0405]

图 标	碱基序列 (来自图 3D)	SEQ ID NO.	序列同一性 范围 [†]	氨基酸位置 84、 139 和/或 236 处 的特定取代	位置 116 和/ 或 167 处的 取代
			失和/或取代)		
3	HLA-B	141	100%	无	无
4	HLA-B	141	75%-99.8%、 80%-99.8%、 85%-99.8%、 90%-99.8%、 95%-99.8%、 98%-99.8% 或 99%-99.8%； 或者 1-25、 1-5、5-10、 10-15、15-20 或 20-25 个氨 基酸插入、缺 失和/或取代)	无；Y84C；Y84A； A139C；A236C； (Y84A 和 A236C)； (Y84C 和 A139C)；或 (Y84C、A139C 和 A236C)	无； Y116C； W167A； W167C；或 (Y116C 和 W167C)
5	HLA-C	142	100%	无	无
6	HLA-C	142	75%-99.8%、 80%-99.8%、 85%-99.8%、 90%-99.8%、 95%-99.8%、 98%-99.8% 或 99%-99.8%； 或者 1-25、 1-5、5-10、 10-15、15-20 或 20-25 个氨 基酸插入、缺 失和/或取代)	无；Y84C；Y84A； A139C；A236C； (Y84A 和 A236C)； (Y84C 和 A139C)；或 (Y84C、A139C 和 A236C)	无； Y116C； W167A； W167C；或 (Y116C 和 W167C)
7	HLA-A*0201	143	100%	无	无
8	HLA-A*0201	143	75%-99.8%、 80%-99.8%、 85%-99.8%、 90%-99.8%、 95%-99.8%、 98%-99.8%	无；Y84C；Y84A； A139C；A236C； (Y84A 和 A236C)； (Y84C 和 A139C)；或	无； Y116C； W167A； W167C；或 (Y116C 和 W167C)

[0406]

图 标	碱基序列 (来自图 3D)	SEQ ID NO.	序列同一性 范围 [†]	氨基酸位置 84、 139 和/或 236 处 的特定取代	位置 116 和/ 或 167 处的 取代
			或 99%-99.8%; 或者 1-25、 1-5、5-10、 10-15、15-20 或 20-25 个氨 基酸插入、缺 失和/或取代)	(Y84C、A139C 和 A236C)	
9	小鼠 H2K	144	100%	无	无
10	小鼠 H2K	144	75%-99.8%、 80%-99.8%、 85%-99.8%、 90%-99.8%、 95%-99.8%、 98%-99.8% 或 99%-99.8%; 或者 1-25、 1-5、5-10、 10-15、15-20 或 20-25 个氨 基酸插入、缺 失和/或取代)	无; Y84C; Y84A; A139C; A236C; (Y84A 和 A236C); (Y84C 和 A139C); 或 (Y84C、A139C 和 A236C)	无; Y116C; W167A; W167C; 或 (Y116C 和 W167C)
11	HLA-A*1101	148	100%	无	无
12	HLA-A*1101	148	75%-99.8%、 80%-99.8%、 85%-99.8%、 90%-99.8%、 95%-99.8%、 98%-99.8% 或 99%-99.8%; 或者 1-25、 1-5、5-10、 10-15、15-20 或 20-25 个氨 基酸插入、缺 失和/或取代)	无; Y84C; Y84A; A139C; A236C; (Y84A 和 A236C); (Y84C 和 A139C); 或 (Y84C、A139C 和 A236C)	无; Y116C; W167A; W167C; 或 (Y116C 和 W167C)

[0407]

图 表	碱基序列 (来自图 3D)	SEQ ID NO.	序列同一性 范围*	氨基酸位置 84、 139 和/或 236 处 的特定取代	位置 116 和/ 或 167 处的 取代
13	HLA-A*2402	149	100%	无	无
14	HLA-A*2402	149	75%-99.8%、 80%-99.8%、 85%-99.8%、 90%-99.8%、 95%-99.8%、 98%-99.8% 或 99%-99.8%； 或者 1-25、 1-5、5-10、 10-15、15-20 或 20-25 个氨 基酸插入、缺 失和/或取代	无；Y84C；Y84A； A139C；A236C； (Y84A 和 A236C)； (Y84C 和 A139C)；或 (Y84C、A139C 和 A236C)	无； Y116C； W167A； W167C；或 (Y116C 和 W167C)
15	HLA-A*3303	150	100%	无	无
16	HLA-A*3303	150	75%-99.8%、 80%-99.8%、 85%-99.8%、 90%-99.8%、 95%-99.8%、 98%-99.8% 或 99%-99.8%； 或者 1-25、 1-5、5-10、 10-15、15-20 或 20-25 个氨 基酸插入、缺 失和/或取代	无；Y84C；Y84A； A139C；A236C； (Y84A 和 A236C)； (Y84C 和 A139C)；或 (Y84C、A139C 和 A236C)	无； Y116C； W167A； W167C；或 (Y116C 和 W167C)

[0408] *所述序列同一性范围为并入T细胞-MMP中的MHC-H多肽序列相对于图3D中所列出的序列的相应部分的序列同一性的容许范围。

[0409] I.B.2 I类MHCβ2-微球蛋白和与MHC-H多肽的组合

[0410] 多聚体多肽的β2M多肽可为人β2M多肽、非人灵长类动物β2M多肽、鼠类β2M多肽等。在一些情况下，β2M多肽包含与图4中所描绘的β2M氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况下，β2M多肽包含与图4中所描绘的β2M氨基酸序列的氨基酸21至119具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0411] 在一些情况下,MHC多肽相对于参考MHC多肽包含单一氨基酸取代(其中参考MHC多肽可为野生型MHC多肽),其中所述单一氨基酸取代用半胱氨酸(Cys)残基取代氨基酸。此类半胱氨酸残基当存在于T细胞-MMP或其表位缀合物的第一多肽的MHC多肽中时可与第二多肽链中存在的半胱氨酸残基形成二硫键。

[0412] 在一些情况下,多聚体多肽的第一多肽中的第一MHC多肽和/或多聚体多肽的第二多肽中的第二MHC多肽包括用半胱氨酸取代氨基酸的氨基酸取代,其中第一MHC多肽中的取代的半胱氨酸与第二MHC多肽中的半胱氨酸形成二硫键,其中第一MHC多肽中的半胱氨酸与第二MHC多肽中的取代的半胱氨酸形成二硫键,或其中第一MHC多肽中的取代的半胱氨酸与第二MHC多肽中的取代的半胱氨酸形成二硫键。

[0413] 举例而言,在一些情况下,HLA β 2M和I类HLA重链中的以下残基配对之一被半胱氨酸取代(其中残基编号为成熟多肽的那些残基编号):1) β 2M残基12、I类HLA重链残基236;2) β 2M残基12、I类HLA重链残基237;3) β 2M残基8、I类HLA重链残基234;4) β 2M残基10、I类HLA重链残基235;5) β 2M残基24、I类HLA重链残基236;6) β 2M残基28、I类HLA重链残基232;7) β 2M残基98、I类HLA重链残基192;8) β 2M残基99、I类HLA重链残基234;9) β 2M残基3、I类HLA重链残基120;10) β 2M残基31、I类HLA重链残基96;11) β 2M残基53、I类HLA重链残基35;12) β 2M残基60、I类HLA重链残基96;13) β 2M残基60、I类HLA重链残基122;14) β 2M残基63、I类HLA重链残基27;15) β 2M残基Arg3、I类HLA重链残基Gly120;16) β 2M残基His31、I类HLA重链残基Gln96;17) β 2M残基Asp53、I类HLA重链残基Arg35;18) β 2M残基Trp60、I类HLA重链残基Gln96;19) β 2M残基Trp60、I类HLA重链残基Asp122;20) β 2M残基Tyr63、I类HLA重链残基Tyr27;21) β 2M残基Lys6、I类HLA重链残基Glu232;22) β 2M残基Gln8、I类HLA重链残基Arg234;23) β 2M残基Tyr10、I类HLA重链残基Pro235;24) β 2M残基Ser11、I类HLA重链残基Gln242;25) β 2M残基Asn24、I类HLA重链残基Ala236;26) β 2M残基Ser28、I类HLA重链残基Glu232;27) β 2M残基Asp98、I类HLA重链残基His192;以及28) β 2M残基Met99、I类HLA重链残基Arg234。I类MHC/HLA重链的氨基酸编号参考无信号肽的成熟I类MHC/HLA重链。举例而言,在图3A中所描绘的包括信号肽的氨基酸序列中,Gly120为Gly144;Gln96为Gln120;等等。在一些情况下, β 2M多肽包含R12C取代,并且I类HLA重链包含A236C取代;在此类情况下,二硫键形成在 β 2M多肽的Cys-12与I类HLA重链的Cys-236之间。举例而言,在一些情况下,成熟HLA-A氨基酸序列的残基236(即,图3A中所描绘的氨基酸序列的残基260)被Cys取代。在一些情况下,成熟HLA-B氨基酸序列的残基236(即,图3B中所描绘的氨基酸序列的残基260)被Cys取代。在一些情况下,成熟HLA-C氨基酸序列的残基236(即,图3C中所描绘的氨基酸序列的残基260)被Cys取代。在一些情况下,图4中所描绘的氨基酸序列的残基32(对应于成熟 β 2M的Arg-12)被Cys取代。

[0414] 单独地,或除 β 2M和I类HLA重链多肽中可用于在T细胞-MMP的第一多肽与第二多肽之间形成链间二硫键的成对半胱氨酸残基(如上文所论述)以外,T细胞-MMP或其表位缀合物的HLA重链可被半胱氨酸取代以便在取代至 α 1螺旋的羧基端部分中的半胱氨酸与 α 2-1螺旋的氨基端部分中的半胱氨酸之间形成链内二硫键。此类二硫键使T细胞-MMP稳定并且允许其在不存在已结合的表位肽(或无效肽)的情况下进行细胞加工和从真核细胞分泌。在一个实施方案中, α 1螺旋的羧基端部分是从I类MHC重链的约氨基酸位置79至约氨基酸位置89,并且 α 2-1螺旋的氨基端部分是从约氨基酸位置134至氨基酸位置144(氨基酸位置为基

于无其前导序列的重链序列而确定(参见例如图3D)。在一个这样的实施方案中,二硫键在位于I类MHC重链的位置83、84或85处的半胱氨酸与位于位置138、139或140中的任一者处的半胱氨酸之间。举例而言,可由并入I类MHC重链中氨基酸83处的半胱氨酸和位于位置138、139或140中任一者处的氨基酸处的半胱氨酸形成二硫键。替代地,可在插入位置84处的半胱氨酸与插入位置138、139或140中任一者处的半胱氨酸之间或在插入位置85处的半胱氨酸与插入位置138、139或140中任一者处的半胱氨酸之间形成二硫键。在一个实施方案中,1类MHC重链链内二硫键在取代至重链序列中位置84与139处的半胱氨酸之间(例如,所述重链序列可为图3D中所示的重链序列之一)。如以上所指出,I类MHC链内二硫键(包括介于84与139处的半胱氨酸之间的二硫键)中的任一者可与链内二硫键(包括在1类MHC重链位置236与如例如图4中所示的成熟 β 2M多肽序列(缺乏其前导序列)的位置12之间的键)组合。

[0415] 在另一个实施方案中,可在T细胞-MMP或其表位缀合物的MHC-H序列中在取代至图3D中所提供的序列的氨基酸位置79与89之间的区域中的半胱氨酸与取代至氨基酸位置134与144之间的区域中的半胱氨酸之间形成链内二硫键。在此类实施方案中,I类MHC重链序列可在形成介于 α 1螺旋的羧基端部分与 α 2-1螺旋的氨基端部分之间的二硫键的半胱氨酸前后具有1至5个氨基酸的插入、缺失和/或取代。任何插入的氨基酸均可选自天然存在的氨基酸或除脯氨酸和丙氨酸以外的天然存在的氨基酸。

[0416] 在一个实施方案中,T细胞-MMP或其表位缀合物的 β 2M多肽包含NP_004039.1、NP_001009066.1、NP_001040602.1、NP_776318.1或NP_033865.2(SEQ ID NO 151至155)中任一者的成熟 β 2M多肽序列(氨基酸21-119)。

[0417] 在一些情况下,T细胞-MMP或其表位缀合物的I类HLA重链多肽包含图3D中所示的HLA-A、HLA-B或HLA-C序列中的任一者。重链序列中的任一者均可在位置84和139处进一步包含可形成链内二硫键的半胱氨酸取代。

[0418] 在一个实施方案中,T细胞-MMP或其表位缀合物的 β 2M多肽包含图4中的序列中的任一者的成熟 β 2M多肽序列(氨基酸21-119),所述多肽序列还包含R12C取代。

[0419] 在一个实施方案中,T细胞-MMP或其表位缀合物包含:第一多肽,所述第一多肽包含具有R12C取代的成熟 β 2M多肽序列(例如,图4中的序列中的任一者的氨基酸21-119);以及第二多肽,所述第二多肽包含在位置236处携带半胱氨酸的图3D中的HLA-A、HLA-B或HLA-C重链序列中的任一者。在此类实施方案中,链内二硫键可形成在位置12与236处的半胱氨酸之间。另外,所述重链序列中的任一者均可在位置84和139处进一步包含可形成链内二硫键的半胱氨酸取代。

[0420] 在一些情况下,T细胞-MMP或其表位缀合物的I类HLA重链多肽包含HLA-A*0201的氨基酸序列(图3D)。在一些情况下,T细胞-MMP或其表位缀合物的I类HLA重链多肽包含具有A236C取代的HLA-A*0201的氨基酸序列(图3D)。在一些情况下,T细胞-MMP或其表位缀合物的I类HLA重链多肽包含具有Y84A和A236C取代的HLA-A*0201的氨基酸序列(图3D)。

[0421] 在一个实施方案中,T细胞-MMP或其表位缀合物包含:第一多肽,所述第一多肽包含具有R12C取代的NP_004039.1的氨基酸残基21-119(参见图4);以及第二多肽,所述第二多肽包含图3D中的HLA-A0201(HLA-A2)序列。在一个这样的实施方案中,HLA-A0201序列具有A236C取代。在另一个这样的实施方案中,HLA-A0201序列具有Y84C和A139C取代。在另一个这样的实施方案中,HLA-A0201序列具有Y84C、A139C和A236C取代。如所指示,具有Y84C和

A139C取代的MHC-H序列可形成稳定链内二硫键,并且位置236处的半胱氨酸可键结至成熟 β 2M多肽的位置12处的半胱氨酸。

[0422] 在一个实施方案中,T细胞-MMP或其表位缀合物包含含有具有R12C取代的NP_004039.1的氨基酸残基21-119(参见图4)的第一多肽;并且第二多肽I类HLA重链多肽包含氨基酸序列

[0423] GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKKVKAHSQTHRVDL(aa聚簇1){C}(aa聚簇2)AGSHTVQRMYGCDVGS DWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSW(aa聚簇3){C}(aa聚簇4)HKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFP AEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRPAGDGTQKWA AVVPSGQEQR YTCHVQHEGLPKPLTLR WEP(SEQ ID NO:156);或者,

[0424] 所述第一多肽包含序列

[0425] IQRTPKIQVY SCHPAENGKS NFLNCYVSGF HPSDIEVDLLKNGERIEKVE HSDLSFSKDW SFYLLYYTEF TPTEKDEYAC RVNHVTL SQP KIVKWDRDM(SEQ ID NO:157),并且所述第二多肽包含氨基酸序列

[0426] GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKKVKAHSQTHRVDL(aa聚簇1){C}(aa聚簇2)AGSHTVQRMYGCDVGS DWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSW(aa聚簇3){C}(aa聚簇4))HKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFP AEITLTWQRDGEDQTQDTEL(aa聚簇5)(C)(aa聚簇6)QKWA AVVPSGQEQR YTCHVQHEGLPKPLTLR WEP(SEQ ID NO:158);

[0427] 其中指示为{C}的半胱氨酸残基在 α 1螺旋与 α 2-1螺旋之间形成二硫键,并且所述(C)残基与位置12处的 β 2M多肽半胱氨酸形成二硫键。

[0428] aa聚簇1、aa聚簇2、aa聚簇3、aa聚簇4、aa聚簇5和aa聚簇6在每次出现时独立地选择为1-5个氨基酸残基,其中所述氨基酸残基各自独立地选自i)任何天然存在的(病理性)氨基酸或ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何天然存在的氨基酸。

[0429] 在一个实施方案中:

[0430] aa聚簇1可为氨基酸序列GTLRG或者有一个或两个氨基酸缺失或被其他天然存在的氨基酸取代(例如,L置换为I、V、A或F)的所述序列;

[0431] aa聚簇2可为氨基酸序列YNQSE或者有一个或两个氨基酸缺失或被其他天然存在的氨基酸取代(例如,N置换为Q,Q置换为N,和/或E置换为D)的所述序列;

[0432] aa聚簇3可为氨基酸序列TAADM或者有一个或两个氨基酸缺失或经其他天然存在的氨基酸取代(例如,T置换为S,A置换为G,D置换为E,和/或M置换为L、V或I)的所述序列;

[0433] aa聚簇4可为氨基酸序列AQTTK或者有一个或两个氨基酸缺失或被其他天然存在的氨基酸取代(例如,A置换为G,Q置换为N,或T置换为S,和或K置换为R或Q)的所述序列;

[0434] aa聚簇5可为氨基酸序列VETRP或者有一个或两个氨基酸缺失或被其他天然存在的氨基酸取代(例如,V置换为I或L,E置换为D,T置换为S,和/或R置换为K)的所述序列;和/或

[0435] aa聚簇6可为氨基酸序列GDGTF或者有一个或两个氨基酸缺失或被其他天然存在的氨基酸取代(例如,D置换为E,T置换为S,或F置换为L、W或Y)的所述序列。

[0436] 在一些情况下,所述 β 2M多肽包含氨基酸序列:IQRTPKIQVYSCHPAENGKSNFLNCYVSG

FHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNHVTLSPKIVKWDRDM (SEQ ID NO:157)。

[0437] 在一些情况下,本公开的T细胞-MMP的第一多肽和第二多肽经由以下与彼此二硫键连接:i)连接第一多肽链中的肽表位和 β 2M多肽的接头中存在的Cys残基(例如,其中所述表位放置于所述接头和所述 β 2M序列的N-末端);和ii)第二多肽链中的I类MHC重链中存在的Cys残基。在一些情况下,I类MHC重链中存在的Cys残基为作为Y84C取代引入的Cys。在一些情况下,连接第一多肽链中的肽表位和 β 2M多肽的接头为GCGGS (G₄S)_n,其中n为1、2、3、4、5、6、7、8或9 (SEQ ID NO:133) (例如,表位-GCGGS (G₄S)_n-成熟 β 2M多肽)。举例而言,在一些情况下,所述接头包含氨基酸序列GCGSGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:78)。作为另一个实例,所述接头包含氨基酸序列GCGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:79)。此类二硫键连接的第一多肽和第二多肽的实例示意性地描绘于图6E-6H中。

[0438] I.C. 支架多肽

[0439] T细胞-MMP和T细胞-MMP-表位缀合物可包含Fc多肽,或可包含另一适合的支架多肽。

[0440] 适合的支架多肽包括基于抗体的支架多肽和非基于抗体的支架。非基于抗体的支架包括例如白蛋白、XTEN(延伸重组)多肽、转铁蛋白、Fc受体多肽、弹性蛋白样多肽(参见例如Hassounh等人(2012) *Methods Enzymol.* 502:215;例如,包含五肽重复单元 (Val-Pro-Gly-X-Gly;SEQ ID NO:159)的多肽,其中X为除脯氨酸以外的任何氨基酸)、白蛋白结合多肽、丝样多肽(参见例如Valluzzi等人(2002) *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 357:165)、丝-弹性蛋白样多肽(SELP;参见例如Megeed等人(2002) *Adv Drug Deliv Rev.* 54:1075)等。适合的XTEN多肽包括例如以下文献中所公开的那些XTEN多肽:WO 2009/023270、WO 2010/091122、WO 2007/103515、US2010/0189682和US 2009/0092582;还参见Schellenberger等人(2009) *Nat Biotechnol.* 27:1186)。适合的白蛋白多肽包括例如人血清白蛋白。

[0441] 在一些情况下,适合的支架多肽将为半衰期延长多肽。因此,在一些情况下,适合的支架多肽使多聚体多肽的体内半衰期(例如,血清半衰期)与缺乏所述支架多肽的对照多聚体多肽相比有所增加。举例而言,在一些情况下,支架多肽使多聚体多肽的体内半衰期与缺乏所述支架多肽的对照多聚体多肽相比增加至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约50%、至少约2倍、至少约2.5倍、至少约5倍、至少约10倍、至少约25倍、至少约50倍、至少约100倍或超过100倍。举例而言,在一些情况下,Fc多肽使多聚体多肽的体内半衰期(血清半衰期)与缺乏所述Fc多肽的对照多聚体多肽相比增加至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约50%、至少约2倍、至少约2.5倍、至少约5倍、至少约10倍、至少约25倍、至少约50倍、至少约100倍或超过100倍。

[0442] I.D. Fc多肽

[0443] 在一些情况下,T细胞-MMP(或其相应T细胞-MMP-表位缀合物)的第一多肽链和/或第二多肽链包含处于多肽内或附接(例如,处于末端或由接头附接)于多肽的可经修饰以包括一个或多个化学缀合位点的Fc多肽。T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物的Fc多肽可例如来自IgA、IgD、IgE、IgG或IgM,其可含有多肽序列、人源化多肽序列、合成重链恒定区的Fc区多肽或共有重链恒定区。在实施方案中,所述Fc多肽可来自于人IgG1 Fc、人IgG2 Fc、

人IgG3 Fc、人IgG4 Fc、人IgA Fc、人IgD Fc、人IgE Fc、人IgM Fc等。除非另外陈述,否则T细胞-MMP和其表位缀合物中所使用的Fc多肽不包含跨膜锚定结构域或其足以将T细胞-MMP或其表位缀合物锚定至细胞膜的部分。在一些情况下,Fc多肽包含与图2A-2G中所描绘的Fc区的氨基酸序列具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况下,Fc区包含与图2A中所描绘的人IgG1 Fc多肽具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况下,Fc区包含与图2A中所描绘的人IgG1 Fc多肽具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列;并且包含N77取代;例如,Fc多肽包含N77A取代。在一些情况下,Fc多肽包含与图2A中所描绘的人IgG2 Fc多肽具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列;例如,Fc多肽包含与图2A中所描绘的人IgG2 Fc多肽的氨基酸99-325具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况下,Fc多肽包含与图2A中所描绘的人IgG3Fc多肽具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列;例如,Fc多肽包含与图2A中所描绘的人IgG3 Fc多肽的氨基酸19-246具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况下,Fc多肽包含与图2B中所描绘的人IgM Fc多肽具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列;例如,Fc多肽包含与图2B中所描绘的人IgM Fc多肽的氨基酸1-276具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况下,Fc多肽包含与图2C中所描绘的人IgAFc多肽具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列;例如,Fc多肽包含与图2C中所描绘的人IgA Fc多肽的氨基酸1-234具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0444] 在一些情况下,多聚体多肽中存在的Fc多肽包含图2A中所描绘的氨基酸序列(人IgG1 Fc)。在一些情况下,多聚体多肽中存在的Fc多肽包含图2A中所描绘的氨基酸序列(人IgG1 Fc),但用除天冬酰胺以外的氨基酸取代N297。在一些情况下,多聚体多肽中存在的Fc多肽包含图2C中所描绘的氨基酸序列(包含N297A取代的人IgG1 Fc)。在一些情况下,多聚体多肽中存在的Fc多肽包含图2A中所描绘的氨基酸序列(人IgG1 Fc),但用除亮氨酸以外的氨基酸取代L234。在一些情况下,多聚体多肽中存在的Fc多肽包含图2A中所描绘的氨基酸序列(人IgG1 Fc),但用除亮氨酸以外的氨基酸取代L235。

[0445] 在一些情况下,多聚体多肽中存在的Fc多肽包含图2E中所描绘的氨基酸序列。在一些情况下,多聚体多肽中存在的Fc多肽包含图2F中所描绘的氨基酸序列。在一些情况下,多聚体多肽中存在的Fc多肽包含图2G中所描绘的氨基酸序列(包含L234A取代和L235A取代

的人IgG1 Fc)。在一些情况下,多聚体多肽中存在的Fc多肽包含图2A中所描绘的氨基酸序列(人IgG1 Fc),但用除脯氨酸以外的氨基酸取代P331;在一些情况下,所述取代为P331S取代。在一些情况下,多聚体多肽中存在的Fc多肽包含图2A中所描绘的氨基酸序列(人IgG1 Fc),但用除亮氨酸以外的氨基酸在L234和L235处进行取代。在一些情况下,多聚体多肽中存在的Fc多肽包含图2A中所描绘的氨基酸序列(人IgG1 Fc),但用除亮氨酸以外的氨基酸在L234和L235处进行取代,并且用除脯氨酸以外的氨基酸取代P331。在一些情况下,多聚体多肽中存在的Fc多肽包含图2B中所描绘的氨基酸序列(包含L234F、L235E和P331S取代的人IgG1 Fc)。在一些情况下,多聚体多肽中存在的Fc多肽为包含L234A和L235A取代的IgG1 Fc多肽。

[0446] I.E. 接头

[0447] T细胞-MMP(和它们的T细胞-MMP-表位缀合物)可包括插入例如以下任一者或多者之间的一个或多个独立选择的接头肽:i) MHC多肽和Ig Fc多肽,其中这种接头在本文中称为“L1接头”;ii) MHC多肽和MOD,其中这种接头在本文中称为“L2接头”;iii) 第一MOD和第二MOD,其中这种接头在本文中称为“L3接头”(例如,介于第一变体4-1BBL多肽与第二变体4-1BBL多肽之间;或介于第二变体4-1BBL多肽与第三变体4-1BBL多肽之间);iv) 缀合位点或肽抗原(缀合的“表位肽”)和I类MHC多肽(例如, β 2M);v) I类MHC多肽和二聚多肽(例如,二聚对的第一成员或第二成员);以及vi) 二聚多肽(例如,二聚对的第一成员或第二成员)和IgFc多肽。

[0448] 适合的接头(还称为“间隔区”)可容易地选择,并且可具有众多适合长度中的任一种,诸如1个氨基酸至25个氨基酸、3个氨基酸至20个氨基酸、2个氨基酸至15个氨基酸、3个氨基酸至12个氨基酸,包括4个氨基酸至10个氨基酸、5个氨基酸至9个氨基酸、6个氨基酸至8个氨基酸或7个氨基酸至8个氨基酸。在实施方案中,适合的接头的长度可为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个氨基酸。在一些情况下,接头具有25个氨基酸至50个氨基酸的长度,例如25至30、30至35、35至40、40至45或45至50个氨基酸的长度。

[0449] 示例性接头包括甘氨酸聚合物($(G)_n$)、甘氨酸-丝氨酸聚合物(包括例如 $(GS)_n$ 、 $(GSGGS)_n$ (SEQ ID NO:66)和 $(GGGS)_n$ (SEQ ID NO:67),其中n为至少一的整数(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10)、甘氨酸-丙氨酸聚合物、丙氨酸-丝氨酸聚合物和本领域中已知的其他柔性接头。甘氨酸和甘氨酸-丝氨酸聚合物均可使用;Gly和Ser两者相对未经结构化,并且因此可充当介于组分之间的中性系链。甘氨酸聚合物可触及甚至显著多于丙氨酸的 Φ - Ψ 空间,并且所受约束比具有较长侧链的残基少得多(参见Scheraga, Rev. Computational Chem. 11173-142 (1992))。示例性接头还可包含氨基酸序列,包括但不限于GGSG(SEQ ID NO:68)、GGSGG(SEQ ID NO:69)、GSGSG(SEQ ID NO:70)、GSGGG(SEQ ID NO:71)、GGGSG(SEQ ID NO:72)、GSSSG(SEQ ID NO:73)等。示例性接头可包括例如Gly(Ser₄)_n(SEQ ID NO:74),其中n为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。在一个实施方案中,接头包含氨基酸序列AAAGG(SEQ ID NO:75)。

[0450] 在一些情况下,接头包含氨基酸序列 $(GGGGS)_n$ (SEQ ID NO:76),其中n为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。在一些情况下,T细胞-MMP或其表位缀合物的第一多肽中存在的接头多肽包括可与表位或者T细胞-MMP或其表位缀合物的第二多肽中存在的半胱氨酸残基形成二硫

键的半胱氨酸残基。在一些情况下,举例而言,接头包含氨基酸序列GCGGS (G₄S)_n (其中n为1、2、3、4、5、6、7、8或9) (SEQ ID NO:133)、GCGASGGGSGGGGS (SEQ ID NO:77)、序列GCGSGGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:78) 或序列GCGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:79)。

[0451] 接头,包括以上所描述的多肽接头,可存在于与T细胞-MMP (或其表位缀合物) 的第一多肽或第二多肽偶联的有效负载之间。除以上所叙述的多肽接头以外,用于将有效负载或表位 (例如肽) 附接至第一多肽和/或第二多肽的接头可为非肽。此类非肽接头包括包含例如聚乙二醇 (PEG) 的聚合物。还可利用其他接头,包括由与双官能交联剂 (诸如以下所叙述的那些双官能交联剂) 偶联而产生的那些接头。

[0452] I.F. 表位

[0453] 本文中所描述的化学缀合位点和化学反应允许将肽 (表位呈递肽) 和非肽表位并入T细胞-MMP中。除多肽表位以外,表位可包括例如糖肽。

[0454] 在一个实施方案中,多聚体多肽中存在的表位可具有约4个氨基酸至约25个氨基酸的长度,例如所述表位可具有4个氨基酸至10个氨基酸、10个氨基酸至15个氨基酸、15个氨基酸至20个氨基酸或20个氨基酸至25个氨基酸的长度。举例而言,T细胞-MMP-表位缀合物中存在的表位可具有4个氨基酸、5个氨基酸、6个氨基酸、7个氨基酸、8个氨基酸、9个氨基酸、10个氨基酸、11个氨基酸、12个氨基酸、13个氨基酸、14个氨基酸、15个氨基酸、16个氨基酸、17个氨基酸、18个氨基酸、19个氨基酸、20个氨基酸、21个氨基酸、22个氨基酸、23个氨基酸、24个氨基酸或25个氨基酸的长度。在一些情况下,多聚体多肽中存在的表位具有5个氨基酸至10个氨基酸,例如5个氨基酸、6个氨基酸、7个氨基酸、8个氨基酸、9个氨基酸或10个氨基酸的长度。

[0455] 在一个实施方案中,T细胞特异性地结合多聚体多肽中存在的表位,即,表位特异性T细胞特异性地结合所述表位。表位特异性T细胞结合具有参考氨基酸序列的表位,但实质上不结合与参考氨基酸序列不同的表位。举例而言,表位特异性T细胞结合具有参考氨基酸序列的表位,并且结合与参考氨基酸序列不同的表位,如果果真如此,则亲和力低于 10^{-6} M、低于 10^{-5} M或低于 10^{-4} M。表位特异性T细胞可以至少 10^{-7} M、至少 10^{-8} M、至少 10^{-9} M或至少 10^{-10} M的亲和力结合其具有特异性的表位。

[0456] 适合的肽/多肽表位包括但不限于癌症相关抗原中存在的表位。癌症相关抗原在本领域中为已知的;参见例如Cheever等人 (2009) Clin. Cancer Res. 15:5323。癌症相关抗原包括但不限于α叶酸受体;碳酸酐酶IX (CAIX); CD19; CD20; CD22; CD30; CD33; CD44v7/8; 癌胚抗原 (CEA); 上皮糖蛋白-2 (EGP-2); 上皮糖蛋白-40 (EGP-40); 叶酸结合蛋白 (FBP); 胎儿乙酰胆碱受体; 神经节苷脂抗原GD2; Her2/neu; IL-13R-α2; κ轻链; LeY; L1细胞粘附分子; 黑素瘤相关抗原 (MAGE); MAGE-A1; 间皮素; MUC1; NKG2D配体; 癌胚抗原 (h5T4); 前列腺干细胞抗原 (PSCA); 前列腺特异性膜抗原 (PSMA); 肿瘤相关糖蛋白-72 (TAG-72); 血管内皮生长因子受体-2 (VEGF-R2) (参见例如Vigneron等人 (2013) Cancer Immunity 13:15; 和Vigneron (2015) BioMed Res. Int' l 论文编号948501); 以及表皮生长因子受体 (EGFR) vIII多肽 (参见例如Wong等人 (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:2965; 和Miao等人 (2014) PLoS One 9: e94281)。在一些情况下,表位为人乳头状瘤病毒E7抗原表位; (参见例如Ramos等人 (2013) J. Immunother. 36:66)。

[0457] 在一些情况下,适合的肽表位为以下各项的约4个氨基酸至约20个氨基酸 (例如,4

个氨基酸、5个氨基酸、6个氨基酸、7个氨基酸、8个氨基酸、9个氨基酸、10个氨基酸、11个氨基酸、12个氨基酸、13个氨基酸、14个氨基酸、15个氨基酸、16个氨基酸、17个氨基酸、18个氨基酸、19个氨基酸或20个氨基酸)的长度的肽片段:MUC1多肽、人乳头状瘤病毒(HPV)E6多肽、LMP2多肽、HPVE7多肽、表皮生长因子受体(EGFR)vIII多肽、HER-2/neu多肽、黑素瘤抗原家族A,3(MAGE A3)多肽、p53多肽、突变p53多肽、NY-ESO-1多肽、叶酸水解酶(前列腺特异性膜抗原;PSMA)多肽、癌胚抗原(CEA)多肽、T细胞识别的黑素瘤抗原(melanA/MART1)多肽、Ras多肽、gp100多肽、蛋白酶3(PR1)多肽、bcr-abl多肽、酪氨酸酶多肽、存活蛋白多肽、前列腺特异性抗原(PSA)多肽、hTERT多肽、肉瘤易位断裂点多肽、滑膜肉瘤X(SSX)断裂点多肽、EphA2多肽、酸性磷酸酶、前列腺(PAP)多肽、黑素瘤细胞凋亡抑制剂(ML-IAP)多肽、 α -胎蛋白(AFP)多肽、上皮细胞粘附分子(EpCAM)多肽、ERG(TMPSR2 ETS融合物)多肽、NA17多肽、配对框-3(PAX3)多肽、间变性淋巴瘤激酶(ALK)多肽、雄激素受体多肽、细胞周期蛋白B1多肽、N-myc原癌基因(MYCN)多肽、Ras同系物基因家族成员C(RhoC)多肽、酪氨酸酶相关蛋白-2(TRP-2)多肽、间皮素多肽、前列腺干细胞抗原(PSCA)多肽、黑素瘤相关抗原-1(MAGE A1)多肽、细胞色素P450 1B1(CYP1B1)多肽、胎盘特异性蛋白1(PLAC1)多肽、BORIS多肽(还称为CCCTC结合因子或CTCF)、ETV6-AML多肽、乳癌抗原NY-BR-1多肽(也称为含锚蛋白重复结构域的蛋白30A)、G蛋白信号传导调节剂(RGS5)多肽、T细胞识别的鳞状细胞癌抗原(SART3)多肽、碳酸酐酶IX多肽、配对框-5(PAX5)多肽、OY-TES1(睾丸抗原;也称为精子顶体蛋白结合蛋白)多肽、精液蛋白17多肽、淋巴细胞特异性蛋白-酪氨酸激酶(LCK)多肽、高分子量黑素瘤相关抗原(HMW-MAA)、A-激酶锚定蛋白-4(AKAP-4)、滑膜肉瘤X断裂点2(SSX2)多肽、X抗原家族成员1(XAGE1)多肽、B7同系物3(B7H3;也称为CD276)多肽、豆荚蛋白多肽(LGMN1;也称为天冬酰胺酰基内肽酶)、具有Ig和EGF同源性结构域的酪氨酸激酶-2(Tie-2;也称为血管生成素-1受体)多肽、P抗原家族成员4(PAGE4)多肽、血管内皮生长因子受体2(VEGF2)多肽、MAD-CT-1多肽、成纤维细胞活化蛋白(FAP)多肽、血小板源性生长因子受体 β (PDGF β)多肽、MAD-CT-2多肽、Fos相关抗原-1(FOSL)多肽或威尔姆斯瘤-1(WT-1)多肽。

[0458] 癌症相关抗原的氨基酸序列在本领域中为已知的;参见例如MUC1(GenBank CAA56734);LMP2(GenBank CAA47024);HPV E6(GenBank AAD33252);HPV E7(GenBank AHG99480);EGFRvIII(GenBank NP_001333870);HER-2/neu(GenBank AAI67147);MAGE-A3(GenBank AAH11744);p53(GenBank BAC16799);NY-ESO-1(GenBank CAA05908);PSMA(GenBank AAH25672);CEA(GenBank AAA51967);melan/MART1(GenBank NP_005502);Ras(GenBank NP_001123914);gp100(GenBank AAC60634);bcr-abl(GenBank AAB60388);酪氨酸酶(GenBank AAB60319);存活蛋白(GenBank AAC51660);PSA(GenBank CAD54617);hTERT(GenBank BAC11010);SSX(GenBank NP_001265620);Eph2A(GenBank NP_004422);PAP(GenBank AAH16344);ML-IAP(GenBank AAH14475);AFP(GenBank NP_001125);EpCAM(GenBank NP_002345);ERG(TMPSR2 ETS融合物)(GenBank ACA81385);PAX3(GenBank AAI01301);ALK(GenBank NP_004295);雄性素受体(GenBank NP_000035);细胞周期蛋白B1(GenBank CA099273);MYCN(GenBank NP_001280157);RhoC(GenBank AAH52808);TRP-2(GenBank AAC60627);间皮素(GenBank AAH09272);PSCA(GenBank AAH65183);MAGE A1(GenBank NP_004979);CYP1B1(GenBank AAM50512);PLAC1(GenBank AAG22596);BORIS(GenBank NP_001255969);ETV6(GenBank NP_001978);NY-BR1(GenBank NP_443723);

SART3 (GenBank NP_055521); 碳酸酐酶IX (GenBank EAW58359); PAX5 (GenBank NP_057953); OY-TES1 (GenBank NP_115878); 精液蛋白17 (GenBank AAK20878); LCK (GenBank NP_001036236); HMW-MAA (GenBank NP_001888); AKAP-4 (GenBank NP_003877); SSX2 (GenBank CAA60111); XAGE1 (GenBank NP_001091073; XP_001125834; XP_001125856; 以及 XP_001125872); B7H3 (GenBank NP_001019907; XP_947368; XP_950958; XP_950960; XP_950962; XP_950963; XP_950965; 以及 XP_950967); LGMN1 (GenBank NP_001008530); TIE-2 (GenBank NP_000450); PAGE4 (GenBank NP_001305806); VEGFR2 (GenBank NP_002244); MAD-CT-1 (GenBank NP_005893NP_056215); FAP (GenBank NP_004451); PDGF β (GenBank NP_002600); MAD-CT-2 (GenBank NP_001138574); FOSL (GenBank NP_005429); 以及 WT-1 (GenBank NP_000369)。这些多肽还论述于例如以下文献中: Cheever等人 (2009) Clin.Cancer Res.15:5323, 和其中引用的参考文献; Wagner等人 (2003) J.Cell.Sci.116:1653; Matsui等人 (1990) Oncogene 5:249; Zhang等人 (1996) Nature 383:168。

[0459] 在一些情况下, 所述表位为诸如病毒、支原体 (例如肺炎支原体) 或细菌致病原的感染性致病原的表位。在表位为病毒表位的一些情况下, 所述表位来自于核心蛋白、早期蛋白、晚期蛋白、DNA或RNA聚合酶或者外壳蛋白。举例而言, 在一些情况下, 病毒表位为来自乳头状瘤病毒 (例如, 人乳头状瘤病毒 (HPV)) 或肝炎病毒 (例如, 甲型肝炎病毒或乙型肝炎病毒 (HBV)) 的肽表位。在另一个实施方案中, 表位来自于巨细胞病毒 (“CMV”)。

[0460] 在表位为HPV病毒的实施方案中, 其来源于人乳头状瘤早期蛋白。在一个这样的实施方案中, 表位来自于HPV E6多肽、HPV E7多肽、HPV 16早期蛋白7 (HPV16E7) 氨基酸82-90 (HPV16E7/82-90, LLMGTLGIV; SEQ ID NO:80)。在一个实施方案中, 表位为HPV16E7氨基酸86-93 (TLGIVCPI; SEQ ID NO:81)。在一个实施方案中, 表位为HPV16E7氨基酸11-20 (YMLDLQPETT; SEQ ID NO:82)。在一个实施方案中, 表位为HPV16E7氨基酸11-19 (YMLDLQPET; SEQ ID NO:83)。关于其他适合的HPV表位, 参见例如Ressing等人 ((1995) J.Immunol.154:5934)。

[0461] 在一些情况下, 所述表位为乙型肝炎病毒 (HBV) 表位。众多HBV表位为本领域中已知的。参见例如Desmond等人 (2008) Antiviral Therapy 13:161; Lumley等人 (2016) Wellcome Open Res.1:9; 以及Kefalakes等人 (2015) Hepatology 62:47。适于包含在本公开的T细胞-MMP表位缀合物中的HBV肽可为来自多种HBV基因型, 包括HBV基因型A、HBV基因型B、HBV基因型C或HBV基因型D中的任一种的HBV肽。适于包含在本公开的T细胞-MMP中的HBV肽可为来自多种HBV子基因型中的任一种的HBV肽。适于包含在本公开的T细胞-MMP中的HBV肽可以至少 10^{-7} M、至少 10^{-8} M、至少 5×10^{-9} M、至少 10^{-9} M、至少 5×10^{-10} M或至少 10^{-10} M的亲合力结合至MHC复合物; 并且当与MHC复合物复合时被TCR结合。

[0462] 适于包含在本公开的T细胞-MMP中的HBV肽可具有约4个氨基酸至约25个氨基酸的长度, 例如, 所述表位可具有4个氨基酸至10个氨基酸、9个氨基酸至15个氨基酸、10个氨基酸至15个氨基酸、15个氨基酸至20个氨基酸或20个氨基酸至25个氨基酸的长度。举例而言, 适于包含在本公开的T细胞-MMP中的HBV肽可具有4个氨基酸、5个氨基酸、6个氨基酸、7个氨基酸、8个氨基酸、9个氨基酸、10个氨基酸、11个氨基酸、12个氨基酸、13个氨基酸、14个氨基酸、15个氨基酸、16个氨基酸、17个氨基酸、18个氨基酸、19个氨基酸、20个氨基酸、21个氨基酸、22个氨基酸、23个氨基酸、24个氨基酸或25个氨基酸的长度。

[0463] 在一些情况下,适于包含在本公开的T细胞-MMP中的HBV肽为I类MHC限制性HBV肽(例如,其局限于特定I类HLA等位基因)。举例而言,在一些情况下,适于包含在本公开的T细胞-MMP中的HBV肽局限于HLA-A,例如HLA-A2、HLA-A11 (HLA-A*1101)、HLA-A*2402或HLA-A3303(参见例如图3)。作为另一个实例,在一些情况下,适于包含在本公开的T细胞-MMP表位缀合物中的HBV肽局限于HLA-B。作为另一个实例,在一些情况下,适于包含在本公开的T细胞-MMP表位缀合物中的HBV肽局限于HLA-C。

[0464] 适于包括在本文所描述的T细胞-MMP表位缀合物中的HBV肽为:HBV外膜肽;HBV前核心/核心肽;聚合酶肽和HBV X-蛋白肽。一些HBV表位为本领域中已知的。参见例如Desmond等人(2008) *Antiviral Therapy* 13:161;Lumley等人(2016) *Wellcome Open Res.* 1:9;以及Kefalakes等人(2015) *Hepatology* 62:47。适于包含在本公开的T细胞-MMP表位缀合物中的HBV肽可以至少 10^{-7} M、至少 10^{-8} M、至少 5×10^{-9} M、至少 10^{-9} M、至少 5×10^{-10} M或至少 10^{-10} M的亲和力结合至I类MHC复合物;并且当与MHC复合物复合时被TCR结合。本文中所提供的HBV表位的表阐述可形成并入T细胞-MMP-表位缀合物中的表位肽的全部或一部分的含HBV表位的肽序列的非限制性实施方案。

[0465] HBV表位的表

[0466]

编号	序列	氨基酸残基的长度	SEQ ID NO.	编号	序列	氨基酸残基的长度	SEQ ID NO.
1	来自 HBV 核心蛋白的 FLPSDFFPSV	10-12	84	26	ATVELLSFL-PSDFFPSV	17-19	109
2	来自 HBV 聚合酶的 GLSRYVARLG	10-12	85	27	LPSDFFPSV	9-11	110
3	来自 HBV 聚合酶的 KLHLYSHP I	9-11	86	28	CLTFGRET V	9-11	111
4	来自 HBV 聚合酶的 FLLSLGIH L	9-11	87	29	VLEYLVSF G V	10-12	112
5	来自 HBV 聚合酶的 ALMPLYA CI	9-11	88	30	EYLVSF G V W	9-11	113
6	来自 HBV 聚合酶的 SLYADSPS V	9-11	89	31	ILSTLPETTV	10-12	114
7	STLPETTV V	9-11	90	32	STLPETTV V RR	11-13	115
8	LIMPARFY PK	10-12	91	33	NVSIPWTHK	9-11	116
9	AIMPARFY PK	10-12	92	34	KVGNFTGL Y	9-11	117
10	YVNVNMG LK	9-11	93	35	GLYSSTVPV		118
11	PLGFFPDH	8-10	94	36	TLWKAGILY K	10-12	119
12	MQWNSTA LH-QALQD P	15-17	95	37	TPARVTGGV F	10-12	120
13	LLDPRVRG L	9-11	96	38	LVVDFSQFS R	10-12	121
14	SILSKTGD PV	10-12	97	39	GLSRYVARL	9-11	122

[0467]

15	VLQAGFFL L	9-11	98	40	SIACSVVRR	9-11	123
16	FLLTRILTI	9-11	99	41	YMDDVVLG A	9-11	124
17	FLGGTPVC L	9-11	100	42	QAFTFSPTY K	9-11	125
18	LLCLIFLL V	9-11	101	43	KYTSFPWLL	9-11	126
19	LVLLDYQ GML	10-11	102	44	ILRGTSFVY V	10-12	127
20	LLDYQGM LPV	10-12	103	45	HLSLRGLFV	9-11	128
21	IPIPSSWAF	9-11	104	46	VLHKRTLGL	9-11	129
22	WLSLLVPF V	9-11	105	47	GLSAMSTTD L	10-12	130
23	GLSPTVW LSV	10-12	106	48	CLFKDWEEL	9-11	131
24	SIVSPFIPL L	9-11	107	49	VLGGCRHK L	9-11	132
25	ILSPFLPLL	9-11	108	50	STLPETTVV	9-11	167

[0468] I.G. 免疫调节多肽 (MOD)

[0469] 适合的MOD多肽可并入T细胞-MMP中作为对Co-MOD表现出降低的亲力的结构域。所述MOD多肽相对于野生型免疫调节结构域可具有1个氨基酸至10个氨基酸差异。举例而言,在一些情况下,本公开的T细胞-MMP中存在的变体MOD多肽相对于相应野生型MOD可在氨基酸序列方面相差例如1个氨基酸、2个氨基酸、3个氨基酸、4个氨基酸、5个氨基酸、6个氨基酸、7个氨基酸、8个氨基酸、9个氨基酸、10个氨基酸、11个氨基酸、12个氨基酸、13个氨基酸、14个氨基酸、15个氨基酸、16个氨基酸、17个氨基酸、18个氨基酸、19个氨基酸或20个氨基酸(例如,1个氨基酸至5个氨基酸、5个氨基酸至10个氨基酸或10个氨基酸至20个氨基酸)。举例而言,在一些情况下,本公开的T细胞-MMP中存在的变体MOD多肽与相应参考(例如野生型)MOD相比可具有和/或包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20(例如,1至5、2至5、3至5、5至10或10至20)个氨基酸取代。在一些情况下,T细胞-MMP中存在的变体MOD多肽与相应参考(例如,野生型)MOD相比包含单一氨基酸取代。在一些情况下,T细胞-MMP中存在的变体MOD相对于相应野生型参考(例如,野生型MOD)包含:1至2个氨基酸取代;1至3个氨基酸取代;1至4个氨基酸取代;1至5个氨基酸取代;1至6个氨基酸取代;1至7个氨基酸取代;1至8个氨基酸取代;1至9个氨基酸取代;1至10个氨基酸取代;1至11个氨基酸取代;1至12个氨基酸取代;1至13个氨基酸取代;1至14个氨基酸取代;1至15个氨基酸取代;1至16个氨基酸取代;1至17个氨基酸取代;1至18个氨基酸取代;1至19个氨基酸取代;或1至20个氨基酸取代。

[0470] 如以上所论述,适于作为结构域(MOD多肽)包含在本公开的T细胞-MMP(和/或其表位缀合物)中的变体MOD包括对Co-MOD表现出与相应野生型MOD对所述Co-MOD的亲力相比有所降低的亲力的那些变体MOD。可通过例如诱变,诸如扫描诱变(例如丙氨酸、丝氨酸或甘氨酸扫描诱变)来鉴定适合的变体MOD。

[0471] MOD与Co-MOD的示例性对包括但不限于下表中所列出的条目(a)至(r):

[0472] MOD与Co-MOD的示例性对

[0473]	a) 4-1BBL (MOD)与 4-1BB (Co-MOD); b) PD-L1 (MOD)与 PD1 (Co-MOD); c) IL-2 (MOD)与 IL-2 受体 (Co-MOD); d) CD80 (MOD)与 CD28 (Co-MOD); e) CD86 (MOD)与 CD28 (Co-MOD); f) OX40L (CD252) (MOD)与 OX40 (CD134) (Co-MOD); g) Fas 配体(MOD)与 Fas	k) CD40 (MOD)与 CD40L (Co-MOD); l) CD83 (MOD)与 CD83L (Co-MOD); m) HVEM (CD270) (MOD)与 CD160 (Co-MOD); n) JAG1 (CD339) (MOD)与 Notch (Co-MOD); o) JAG1 (CD339) (MOD)与 CD46 (Co-MOD); p) CD70 (MOD)与 CD27 (Co-MOD); q) CD80 (MOD)与 CTLA4
[0474]	(Co-MOD); h) ICOS-L (MOD)与 ICOS (Co-MOD); i) ICAM (MOD)与 LFA-1 (Co-MOD); j) CD30L (MOD)与 CD30 (Co-MOD);	(Co-MOD); 以及 r) CD86 (MOD)与 CTLA4 (Co-MOD)

[0475] 在一些情况下,本公开的T细胞-MMP中存在的变体MOD对Co-MOD具有100nM至100μM的结合亲和力。举例而言,在一些情况下,本公开的T细胞-MMP(或其表位缀合物)中存在的变体MOD多肽对Co-MOD具有约100nM至约150nM、约100nM至约500nM、约150nM至约200nM、约200nM至约250nM、约250nM至约300nM、约300nM至约350nM、约350nM至约400nM、约400nM至约500nM、约500nM至约600nM、约500nM至约1μM、约600nM至约700nM、约700nM至约800nM、约800nM至约900nM、约900nM至约1μM、约1μM至约5μM、约1μM至约25μM、约5μM至约10μM、约10μM至约15μM、约15μM至约20μM、约20μM至约25μM、约25μM至约50μM、约25μM至约100μM、约50μM至约75μM或约75μM至约100μM的结合亲和力(例如,T细胞-MMP或其表位缀合物包含对Co-MOD具有结合亲和力的变体MOD)。

[0476] I.G.1野生型和变体PD-L1 MOD

[0477] 作为一个非限制性实施例,在一些情况下,本公开的T细胞-MMP中存在的变体MOD多肽为变体PD-L1多肽。野生型PD-L1结合至PD1。

[0478] 野生型人PD-L1多肽可包含以下氨基酸序列: **MRIFAVFIFM**

[0479] TYWHLLNAFT VTPKDLVV EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL
AALIVYWEME DKNIIQFVHG EEDLKVQHSS YRQRARLLKD
QLSLGNAALQ ITDVKLQDAG VYRCMISYGG ADYKRITVKV
NAPYNKINQR ILVVDPTSE HELTCQAEY PKAEVIWTSS
DHQVLSGKTT TTNSKREEKL FNVSTLRIN TTTNEIFYCT
FRRLDPEENH TAELVIPGNI LNVSIKICLT LSPST (SEQ ID NO:13)。

[0480] 野生型人PD-L1胞外域可包含以下氨基酸序列:FT

VTPKDLVV EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL AALIVYWEME
DKNIIQFVHG EEDLKVQHSS YRQRARLLKD QLSLGNAALQ
ITDVKLQDAG VYRCMISYGG ADYKRITVKV NAPYNKINQR
ILVVDPTSE HELTCQAEY PKAEVIWTSS DHQVLSGKTT
TTNSKREEKL FNVSTLRIN TTTNEIFYCT FRRLDPEENH
TAELVIPGNI LNVSIKI (SEQ ID NO:14)。

[0481] 野生型PD-1多肽 (NCBI登录号NP_005009.2,氨基酸21-288) 可包含以下氨基酸序列:PGWFLDSPDR PWNPTFSPA

LLVVTEGDNA TFTCSFSNTS ESFVLNWYRM SPSNQTDKLA
AFPEDRSQPG QDCRFRVTQL PNGRDFHMSV VRARRNDSGT
YLCGAISLAP KAQIKESLRA ELRVTERRAE VPTAHPSPSP
RPAGQFQTLV VGVVGGLLS LVLLVWVLAV ICSRAARGTI
GARRTGQPLK EDPSAVPVFS VDYGELDFQW REKTPEPPVP
CVPEQTEYAT IVFPSGMGTS SPARRGSADG PRSAQPLRPE
DGHCSWPL (SEQ ID NO:15)。

[0482] 在一些情况下,可用作MOD多肽的变体PD-L1多肽对其Co-MOD PD-1 (例如,包含SEQ ID NO:15中所示的氨基酸序列的PD-1多肽)表现出与包含SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:14中所示的氨基酸序列的PD-L1多肽的结合亲和力相比有所降低的结合亲和力。举例而言,在一个实施方案中,本公开的变体PD-L1多肽以比包含SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:14中所示的氨基酸序列的PD-L1多肽的结合亲和力低至少10%、低至少15%、低至少20%、低至少25%、低至少30%、低至少35%、低至少40%、低至少45%、低至少50%、低至少55%、低至少60%、低至少65%、低至少70%、低至少75%、低至少80%、低至少85%、低至少90%、低至少95%或低95%以上的结合亲和力结合PD-1 (例如,包含SEQ ID NO:15中所示的氨基酸序列的PD-1多肽)。

[0483] 在一个实施方案中,变体PD-L1多肽对PD-1具有1nM至1 μ M的结合亲和力。在一些情况下,本公开的变体PD-L1多肽对PD-1具有100nM至100 μ M的结合亲和力。作为另一个实例,

在一些情况下,变体PD-L1多肽对PD1(例如,包含SEQ ID NO:15中所示的氨基酸序列的PD1多肽)具有约100nM至约150nM、约150nM至约200nM、约200nM至约250nM、约250nM至约300nM、约300nM至约350nM、约350nM至约400nM、约400nM至约500nM、约500nM至约600nM、约600nM至约700nM、约700nM至约800nM、约800nM至约900nM、约900nM至约1 μ M、约1 μ M至约5 μ M、约5 μ M至约10 μ M、约10 μ M至约15 μ M、约15 μ M至约20 μ M、约20 μ M至约25 μ M、约25 μ M至约50 μ M、约50 μ M至约75 μ M或约75 μ M至约100 μ M的结合亲和力。

[0484] 在一些情况下,变体PD-L1多肽与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2中所示的PD-L1氨基酸序列相比具有单一氨基酸取代。在一些情况下,变体PD-L1多肽与SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:14中所示的PD-L1氨基酸序列相比具有2至10个氨基酸取代。在一些情况下,变体PD-L1多肽与SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:14中所示的PD-L1氨基酸序列相比具有2、3、4、5、6、7、8、9或10个氨基酸取代。

[0485] 适合的PD-L1变体包括包含与以下氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列的多肽:

[0486] FT VTPKXLYVV EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL
AALIVYWEME DKNIIQFVHG EEDLKVQHSS YRQRARLLKD
QLSLGNAALQ ITDVKLQDAG VYRCMISYGG ADYKRITVKV
NAPYNKINQR ILVVDPTSE HELTCQAEGY PKAEVIWTSS
DHQVLSGKTT TTNSKREEKL FNVSTSLRIN TTTNEIFYCT

FRRLDPEENH TAEVIPGNI LNVSIIKI (SEQ ID NO:14),其中X为除Asp以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala。在一些情况下,X为Arg。

[0487] 适合的PD-L1变体包括包含与以下氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列的多肽:

[0488] FT VTPKDLVYVV EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL
AALXVYWEME DKNIIQFVHG EEDLKVQHSS YRQRARLLKD
QLSLGNAALQ ITDVKLQDAG VYRCMISYGG ADYKRITVKV
NAPYNKINQR ILVVDPTSE HELTCQAEGY PKAEVIWTSS
DHQVLSGKTT TTNSKREEKL FNVSTSLRIN TTTNEIFYCT

FRRLDPEENH TAEVIPGNI LNVSIIKI (SEQ ID NO:14),其中X为除Ile以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Asp。

[0489] 适合的PD-L1变体包括包含与以下氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列的多肽:

FT VTVPKDLYVV EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL
AALIVYWEME DKNIIQFVHG EXDLKVQHSS YRQRARLLKD
[0490] QLSLGNAALQ ITDVKLQDAG VYRCMISYGG ADYKRITVKV
NAPYNKINQR ILVVDPTSE HELTCQAEGY PKAEVIWTSS
DHQVLSGKTT TTNSKREEKL FNVSTSLRIN TTTNEIFYCT
FRRLDPEENH TAEVIPGNI LNVSIIKI (SEQ ID NO:14), 其中X为除Glu以外的
任何氨基酸。在一些情况下,X为Arg。

[0491] I.G.2野生型和变体CD80 MOD

[0492] 在一些情况下,本公开的T细胞-MMP中存在的变体MOD多肽为变体CD80多肽。野生型CD80结合至CD28。

[0493] 人CD80的胞外域的野生型氨基酸序列可以是如下:

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSVLELA QTRIWQKEK
KMVLTMMSGD MNIWPEYKNR TIFDITNLS IVILALRPSD
EGTYECVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF
[0494] EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN
WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:16)。

[0495] 野生型CD28氨基酸序列可以是如下: MLRLLLALNL

FPSIQVTGNK ILVKQSPMLV AYDNAVNLSK KYSYNLFSRE
FRASLHKGLD SAVEVCVVYG NYSQQLQVYS KTGFNCDGKL
GNESVTFYLQ NLYVNQTDIY FCKIEVMYPP PYLDNEKSNG
TIIHVKGKHL CPSPLFPGPS KPFWVLVVVG GVLACYSLLV
TVAFIIFWVR SKRSRLLHSD YMNMTPRRPG PTRKHYQPYA
PPRDFAA YRS (SEQ ID NO:17)。在本公开的T细胞-MMP包含变体CD80多肽的一些情
况下,Co-MOD为包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CD28多肽。

[0496] 野生型CD28氨基酸序列可以是如下: MLRLLLALNL

FPSIQVTGNK ILVKQSPMLV AYDNAVNLSW KHLCPSPFLP
GPSKPFWVLV VVGGLACYS LLVTVAFIIF WVRSKRSRLL
HSDYMNMTPR RPGPTRKHYQ PYAPPRDFAA YRS (SEQ ID
NO:17)

[0497] 野生型CD28氨基酸序列可以是如下: MLRLLLALNL

FPSIQVTGKH LCPSPLFPGP SKPFWVLVVV GGVLCYSL
 VTVAFIIFWV RSKRSRLLS DYMNMTPRRP GPTRKHYPY
 APPRDFAAAYR S (SEQ ID NO:19)。

[0498] 在一些情况下,变体CD80多肽对CD28表现出与包含SEQ ID NO:16中所示的氨基酸序列的CD80多肽对CD28的结合亲和力相比有所降低的结合亲和力。举例而言,在一些情况下,变体CD80多肽以比包含SEQ ID NO:16中所示的氨基酸序列的CD80多肽对CD28(例如,包含SEQ ID NO:17、18或19之一中所示的氨基酸序列的CD28多肽)的结合亲和力低至少10%、低至少15%、低至少20%、低至少25%、低至少30%、低至少35%、低至少40%、低至少45%、低至少50%、低至少55%、低至少60%、低至少65%、低至少70%、低至少75%、低至少80%、低至少85%、低至少90%、低至少95%或低95%以上的结合亲和力结合CD28。

[0499] 在一些情况下,变体CD80多肽对CD28具有100nM至100μM的结合亲和力。作为另一个实例,在一些情况下,本公开的变体CD80多肽对CD28(例如,包含SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18或SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列的CD28多肽)具有约100nM至150nM、约150nM至约200nM、约200nM至约250nM、约250nM至约300nM、约300nM至约350nM、约350nM至约400nM、约400nM至约500nM、约500nM至约600nM、约600nM至约700nM、约700nM至约800nM、约800nM至约900nM、约900nM至约1μM、约1μM至约5μM、约5μM至约10μM、约10μM至约15μM、约15μM至约20μM、约20μM至约25μM、约25μM至约50μM、约50μM至约75μM或约75μM至约100μM的结合亲和力。

[0500] 在一些情况下,变体CD80多肽与SEQ ID NO:16中所示的CD80氨基酸序列相比具有单一氨基酸取代。在一些情况下,变体CD80多肽与SEQ ID NO:16中所示的CD80氨基酸序列相比具有2至10个氨基酸取代。在一些情况下,变体CD80多肽与SEQ ID NO:16中所示的CD80氨基酸序列相比具有2、3、4、5、6、7、8、9或10个氨基酸取代。

[0501] 一些适合的CD80变体包括包含与以下氨基酸序列中的任一者具有至少90%(少于20个取代)、至少95%(少于10个取代)、至少97%(少于6个取代)、至少98%(少于4个取代)、至少99%(少于2个取代)或至少99.5%(一个取代)氨基酸序列同一性的序列同一性的氨基酸序列的多肽:

VIHVTK EVKEVATLSC GHXVSVEELA QTRIWQKEK
 KMVLTMMMSGD MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD
 [0502] EGTYESVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF
 EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
 QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN

WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO16),其中X为除Asn以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSV EELA QTRIWQKEK
KMVLTMMSGD MNIWPEYKNR TIFDITXNLS IVILALRPSD
[0503] EGTYESVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF
EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN
WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:16), 其中X为除Asn以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSV EELA QTRIWQKEK
KMVLTMMSGD MNIWPEYKNR TIFDITNNLS XVILALRPSD
[0504] EGTYESVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF
EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN
WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:16), 其中X为除Ile以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSV EELA QTRIWQKEK
[0505] KMVLTMMSGD MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD
EGTYESVVLXYEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF
EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN
WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:16), 其中X为除Lys以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSV EELA QTRIWQKEK
KMVLTMMSGD MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD
[0506] EGTYESVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF
EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
XDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN
WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:16), 其中X为除Gln以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIWQKEK
KMVLTMMSGD MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD
[0507] EGTYESCVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF
EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
QXPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN
WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:16), 其中X为除Asp以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSVEEXA QTRIWQKEK
KMVLTMMSGD MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD
[0508] EGTYESCVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF
EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN
WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:16), 其中X为除Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0509] VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIXWQKEK
KMVLTMMSGD MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD
EGTYESCVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF
EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN
WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:16), 其中X为除Tyr以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIW~~X~~KEK
KMVLTMMSGD MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD
[0510] EGTYESCVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF
EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN
WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:16), 其中X为除Gln以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSV EELA QTRIWQKEK
KXVLTMMSGD MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD
[0511] EGTYESCVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF
EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN
WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:16), 其中X为除Met以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSV EELA QTRIWQKEK
KMXLTMMSGD MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD
[0512] EGTYESCVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF
EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN
WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:16), 其中X为除Val以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSV EELA QTRIWQKEK
KMVLTMMSGD MNXWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD
[0513] EGTYESCVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF
EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN
WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:16), 其中X为除Ile以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSV EELA QTRIWQKEK
KMVLTMMSGD MNIWPEXKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD
[0514] EGTYESCVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF
EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN
WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:16), 其中X为除Tyr以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSV EELA QTRIWQKEK
KMVLTMMSGD MNIWPEYKNR TIFXITNNLS IVILALRPSD
[0515] EGTYESCVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF
EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN
WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:16), 其中X为除Asp以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSV EELA QTRIWQKEK
KMVLTMMSGD MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD
[0516] EGTYESCVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DXPTPSISDF
EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN
WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:16), 其中X为除Phe以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSV EELA QTRIWQKEK
KMVLTMMSGD MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD
[0517] EGTYESCVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF
EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVX
QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN
WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:16), 其中X为除Ser以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;以及

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSV EELA QTRIWQKEK
KMVLTMMSGD MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD
[0518] EGTYESCVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTXSISDF
EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN
WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:16), 其中X为除Pro以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala。

[0519] I.G.3野生型和变体CD86 MOD

[0520] 在一些情况下,本公开的T细胞-MMP中存在的变体MOD多肽为变体CD86多肽。野生型CD86结合至CD28。

[0521] 野生型人CD86的完全胞外域的氨基酸序列可以是如下:

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVFWQDQENLVLNE
VYLGKEKFDSVHSKYMNRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCII
[0522] HHKPTGMIRIHQMNSELSVLNFSQPEIVPISNITENVYINLTCSSI
HGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYDVSISLSV
SFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPPPPDHIP (SEQ ID
NO:20)。

[0523] 野生型人CD86的IgV结构域的氨基酸序列可以是如下：
APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVFWQDQENLVLNE
VYLGKEKFDSVHSKYMNRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCII
HHKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:21)。

[0524] 在一些情况下，变体CD86多肽对CD28表现出与包含SEQ ID NO:20或SEQ ID NO:21中所示的氨基酸序列的CD86多肽对CD28的结合亲和力相比有所降低的结合亲和力。举例而言，在一些情况下，变体CD86多肽以比包含SEQ ID NO:20或SEQ ID NO:21中所示的氨基酸序列的CD86多肽对CD28 (例如，包含SEQ ID NO:17、18或19之一中所示的氨基酸序列的CD28多肽) 的结合亲和力低至少10%、低至少15%、低至少20%、低至少25%、低至少30%、低至少35%、低至少40%、低至少45%、低至少50%、低至少55%、低至少60%、低至少65%、低至少70%、低至少75%、低至少80%、低至少85%、低至少90%、低至少95%或低95%以上的结合亲和力结合CD28。

[0525] 在一些情况下，变体CD86多肽对CD28具有100 nM至100μM的结合亲和力。作为另一个实例，在一些情况下，本公开的变体CD86多肽对CD28 (例如，包含SEQ ID NO:17、18或19之一中所示的氨基酸序列的CD28多肽) 具有约100 nM至150 nM、约150 nM至约200nM、约200 nM至约250 nM、约250 nM至约300 nM、约300 nM至约350 nM、约350 nM至约400 nM、约400 nM至约500 nM、约500nM至约600 nM、约600 nM至约700 nM、约700 nM至约800 nM、约800 nM至约900 nM、约900 nM至约1μM、至约1μM至约5μM、约5μM至约10μM、约10μM至约15μM、约15μM至约20μM、约20μM至约25μM、约25μM至约50μM、约50μM至约75μM或约75μM至约100μM的结合亲和力。

[0526] 在一些情况下，变体CD86多肽与SEQ ID NO:20中所示的CD86氨基酸序列相比具有单一氨基酸取代。在一些情况下，变体CD86多肽与SEQ ID NO:20中所示的CD86氨基酸序列相比具有2至10个氨基酸取代。在一些情况下，变体CD86多肽与SEQ ID NO:20中所示的CD86氨基酸序列相比具有2、3、4、5、6、7、8、9或10个氨基酸取代。

[0527] 在一些情况下，变体CD86多肽与SEQ ID NO:21中所示的CD86氨基酸序列相比具有单一氨基酸取代。在一些情况下，变体CD86多肽与SEQ ID NO:21中所示的CD86氨基酸序列相比具有2至10个氨基酸取代。在一些情况下，变体CD86多肽与SEQ ID NO:21中所示的CD86氨基酸序列相比具有2、3、4、5、6、7、8、9或10个氨基酸取代。

[0528] 适合的CD86变体包括包含与以下氨基酸序列中的任一者具有至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列的多肽：

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVFWQDQENLVL
NEVYLGKEKFDSVHSKYMXRTSFDSWTLRLHNLQIKDKGLYQ
[0529] CIIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVLNFSQPEIVPISNITENVYINLTC
SSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYDVSISL
SVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPPPPDHIP (SEQ
ID NO:20), 其中X为除Asn以外的任何氨基酸。在一些情况下, X为Ala;

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVFWQDQENLVL
NEVYLGKEKFDSVHSKYMNRTSFXSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQ
[0530] CIIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVLNFSQPEIVPISNITENVYINLTC
SSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYDVSISL
SVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPPPPDHIP (SEQ
ID NO:20), 其中X为除Asp以外的任何氨基酸。在一些情况下, X为Ala;

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVFWQDQENLVL
NEVYLGKEKFDSVHSKYMNRTSFDSXTLRLHNLQIKDKGLYQ
[0531] CIIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVLNFSQPEIVPISNITENVYINLTC
SSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYDVSISL
SVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPPPPDHIP (SEQ
ID NO:20), 其中X为除Trp以外的任何氨基酸。在一些情况下, X为Ala;

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVFWQDQENLVL
NEVYLGKEKFDSVHSKYMNRTSFDSWTLRLHNLQIKDKGLYQ
[0532] CIIHXKKPTGMIRIHQMNSELSVLNFSQPEIVPISNITENVYINLTC
SSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYDVSISL
SVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPPPPDHIP (SEQ
ID NO:20), 其中X为除His以外的任何氨基酸。在一些情况下, X为Ala;

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVFWQDQENLVL
[0533] NEVYLGKEKFDSVHSKYMXRTSFDSWTLRLHNLQIKDKGLYQ
CIIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:20), 其中X为除Asn以外的任何氨基酸。在一些情况下, X为Ala;

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVFWQDQENLVL
[0534] NEVYLGKEKFDSVHSKYMNRTSFXSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQ

CIIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:20), 其中X为除Asp以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0535] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFWDQENLVL
NEVYLGKEKFDSVHISKYMNRTSFDSDSXTLRLHNLQIKDKGLYQ

CIIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:20), 其中X为除Trp以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0536] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFWDQENLVL
NEVYLGKEKFDSVHISKYMNRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQ

CIIHXKKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:20), 其中X为除His以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0537] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFWDQENLXL
NEVYLGKEKFDSVHISKYMNRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQ
CIIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVLANFSQPEIVPISNITENVYINLTC
SSIHGYPEPKKMSVLLRRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYDVSSISL
SVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPPPPDHIP (SEQ

ID NO:20), 其中X为除Val以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0538] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFWDQENLXL
NEVYLGKEKFDSVHISKYMNRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQ

CIIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:20), 其中X为除Val以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0539] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFWDQENLVL
NEVYLGKEKFDSVHISKYMNRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQ
CIIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVLANFSQPEIVPISNITENVYINLTC
SSIHGYPEPKKMSVLLRRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYDVSSISL
SVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPPPPDHIP (SEQ

ID NO:20), 其中X为除Gln以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0540] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFWDQENLVL
NEVYLGKEKFDSVHISKYMNRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQ

CIIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:20), 其中X为除Gln以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVXWQDQENLV
LNEVYLGKEKFDSVHSKYMNRTSFSDSWTLRLHNLQIKDKGLY
[0541] QCIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVLNFSQPEIVPISNITENVYINLT
CSSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYDVSIS
LSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPQPPPDHIP (SEQ
ID NO:20), 其中X为除Phe以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVXWQDQENLV
[0542] LNEVYLGKEKFDSVHSKYMNRTSFSDSWTLRLHNLQIKDKGLY
QCIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:20), 其中X为除Phe以外的任
何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFQDQENLV
NEVYLGKEKFDSVHSKYMNRTSFSDSWTXRLHNLQIKDKGLYQ
[0543] CIIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVLNFSQPEIVPISNITENVYINLTC
SSIHHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYDVSISL
SVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPQPPPDHIP (SEQ
ID NO:20), 其中X为除Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFQDQENLV
[0544] NEVYLGKEKFDSVHSKYMNRTSFSDSWTXRLHNLQIKDKGLYQ
CIIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:20), 其中X为除Leu以外的任何氨
基酸。在一些情况下,X为Ala;

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFQDQENLV
NEVYLGKEKFDSVHSKXMNRTSFSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQ
[0545] CIIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVLNFSQPEIVPISNITENVYINLTC
SSIHHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYDVSISL
SVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPQPPPDHIP (SEQ
ID NO:20), 其中X为除Tyr以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFQDQENLV
[0546] NEVYLGKEKFDSVHSKXMNRTSFSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQ
CIIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:20), 其中X为除Tyr以外的任何氨
基酸。在一些情况下,X为Ala;

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFWDQDENLVL
NEVYLGKEKFDSVHSKYMX₁RTSFDSWTLRLHNLQIKDKGLY
[0547] QCIHX₂KKPTGMIRIHQMNSELSVLNFSQPEIVPISNITENVYINL
TCSSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYDVSI
SLSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPPPPDHIP

(SEQ ID NO:20), 其中X₁为除Asn以外的任何氨基酸, 并且第二X₂为除His以外的任何氨基酸。在一些情况下, X₁和X₂均为Ala;

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFWDQDENLVL
[0548] NEVYLGKEKFDSVHSKYMX₁RTSFDSWTLRLHNLQIKDKGLYQ
CIIHX₂KKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:20), 其中X₁为除Asn以外的任何

氨基酸, 并且X₂为除His以外的任何氨基酸。在一些情况下, X₁和X₂均为Ala;

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFWDQDENLVL
NEVYLGKEKFDSVHSKYMNRTSFX₁SDSWTLRLHNLQIKDKGLY
[0549] QCIHX₂KKPTGMIRIHQMNSELSVLNFSQPEIVPISNITENVYINL
TCSSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYDVSI
SLSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPPPPDHIP

(SEQ ID NO:20), 其中X₁为除Asp以外的任何氨基酸, 并且X₂为除His以外的任何氨基酸。在一些情况下, X₁为Ala并且X₂为Ala;

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFWDQDENLVL
[0550] NEVYLGKEKFDSVHSKYMNRTSFX₁SDSWTLRLHNLQIKDKGLY
QCIHX₂KKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:20), 其中X₁为除Asn以外的任

何氨基酸, 并且X₂为除His以外的任何氨基酸。在一些情况下, X₁和X₂均为Ala;

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFWDQDENLVL
[0551] NEVYLGKEKFDSVHSKYMX₁RTSFX₂SDSWTLRLHNLQIKDKGLY
QCIHX₃KKPTGMIRIHQMNSELSVLNFSQPEIVPISNITENVYINL
[0552] TCSSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYDVSI
SLSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPPPPDHIP

(SEQ ID NO:20), 其中X₁为除Asn以外的任何氨基酸, X₂为除Asp以外的任何氨基酸, 并且X₃为除His以外的任何氨基酸。在一些情况下, X₁为Ala, X₂为Ala, 并且X₃为Ala; 以及

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFWDQDENLVL
[0553] NEVYLGKEKFDSVHSKYMX₁RTSFX₂SDSWTLRLHNLQIKDKGLY

QCIIHX₃KKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:21), 其中X₁为除Asn以外的任何氨基酸, X₂为除Asp以外的任何氨基酸, 并且X₃为除His以外的任何氨基酸。在一些情况下, X₁为Ala, X₂为Ala, 并且X₃为Ala。

[0554] I.G.4野生型和变体4-1BBL MOD

[0555] 在一些情况下, 本公开的T细胞-MMP中存在的变体MOD多肽为变体4-1BBL多肽。野生型4-1BBL结合至4-1BB (CD137)。

[0556] 野生型4-1BBL氨基酸序列可以是如下: MEYASDASLD

PEAPWPPAPR ARACRVLPWA LVAGLLLLLL LAAACAVFLA
CPWAVSGARA SPGSAASPRL REGPELSPDD PAGLLDLRQG
MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
[0557] KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL
RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ
RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS
PRSE (SEQ ID NO:22)。

[0558] 在一些情况下, 变体4-1BBL多肽为人4-1BBL的肿瘤坏死因子 (TNF) 同源性结构域 (THD) 的变体。

[0559] 人4-1BBL的THD的野生型氨基酸序列可例如为如下的SEQ ID NO:23-25之一:

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23);

[0560]

D PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY
SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR
RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ
GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:24); 或

D PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY
SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR
[0561] RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
GATVLGLFRV TPEIPA (SEQ ID NO:25)。

[0562] 野生型4-1BB氨基酸序列可以是如下: MGNSCYNIVA

TLLLVLNFER TRSLQDPCSN CPAGTFCDNN RNQICSPCPP
NSFSSAGGQR TCDICRQCKG VFRTRKECSS TSNAECDCTP
[0563] GFHCLGAGCS MCEQDCKQGQ ELTKKGCKDC CFGTFNDQKR
GICRPWTNCS LDGKSVLVNG TKERDVVCGP SPADLSPGAS
SVTPPAPARE PGHSPQIISF FLALTSTALL FLLFFLTLRF
SVVKRGRKKL LYIFKQPFMR PVQTTQEEDG CSCRFPEEEE

GGCEL (SEQ ID NO:26)。在本公开的T细胞-MMP包含变体4-1BBL多肽的一些情况下, Co-MOD为包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的4-1BB多肽。

[0564] 在一些情况下,变体4-1BBL多肽对4-1BB表现出与包含SEQ ID NO:22-25之一中所示的氨基酸序列的4-1BBL多肽的结合亲和力相比有所降低的结合亲和力。举例而言,在一些情况下,当在相同条件下测定时,本公开的变体4-1BBL多肽以比包含SEQ ID NO:22-25之一中所示的氨基酸序列的4-1BBL多肽对4-1BB多肽(例如,包含SEQ ID NO:26中所示的氨基酸序列的4-1BB多肽)的结合亲和力低至少10%、低至少15%、低至少20%、低至少25%、低至少30%、低至少35%、低至少40%、低至少45%、低至少50%、低至少55%、低至少60%、低至少65%、低至少70%、低至少75%、低至少80%、低至少85%、低至少90%、低至少95%或低95%以上的结合亲和力结合4-1BB。

[0565] 在一些情况下,变体4-1BBL多肽对4-1BB具有100nM至100μM的结合亲和力。作为另一个实例,在一些情况下,变体4-1BBL多肽对4-1BB(例如,包含SEQ ID NO:26中所示的氨基酸序列的4-1BB多肽)具有约100nM至150nM、约150nM至约200nM、约200nM至约250nM、约250nM至约300nM、约300nM至约350nM、约350nM至约400nM、约400nM至约500nM、约500nM至约600nM、约600nM至约700nM、约700nM至约800nM、约800nM至约900nM、约900nM至约1μM、至约1μM至约5μM、约5μM至约10μM、约10μM至约15μM、约15μM至约20μM、约20μM至约25μM、约25μM至约50μM、约50μM至约75μM或约75μM至约100μM的结合亲和力。

[0566] 在一些情况下,变体4-1BBL多肽与SEQ ID NO:22-25之一中所示的4-1BBL氨基酸序列相比具有单一氨基酸取代。在一些情况下,变体4-1BBL多肽与SEQ ID NO:22-25之一中所示的4-1BBL氨基酸序列相比具有2至10个氨基酸取代。在一些情况下,变体4-1BBL多肽与SEQ ID NO:22-25之一中所示的4-1BBL氨基酸序列相比具有2、3、4、5、6、7、8、9或10个氨基酸取代。

[0567] 适合的4-1BBL变体包括包含与以下氨基酸序列中的任一者具有至少90%、至少

95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列的多肽:

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
TGGLSYXEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
[0568] VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Lys以外的任何氨基酸。在一些情况
下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
[0569] VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWXLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Gln以外的任何氨基酸。在一些情况
下,X为Ala;

PAGLLDLRQG XFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
[0570] VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Met以外的任何氨基酸。在一些情况
下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MXAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
[0571] VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Phe以外的任何氨基酸。在一些情况
下,X为Ala;

[0572] PAGLLDLRQG MFAXLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Gln以外的任何氨基酸。在一些情况
下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQXVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
[0573] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLXAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
[0574] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Val以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAXNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
[0575] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Gln以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQXV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
[0576] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Asn以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNX LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
[0577] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Val以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV XLIDGPLSWY SDPGLAGVSL
[0578] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LXIDGPLSWY SDPGLAGVSL
[0579] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLXDGPLSWY
[0580] SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR
RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS
EARNSAFGFQ GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Ile以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0581] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIXGPLSWY SDPGLAGVSL
TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
[0582] VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Asp以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDXPLSWY SDPGLAGVSL
[0583] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Gly以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGXLSWY SDPGLAGVSL
[0584] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Pro以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPXSWY SDPGLAGVSL
[0585] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLXWY SDPGLAGVSL
[0586] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Ser以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSXY SDPGLAGVSL
[0587] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Trp以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWX SDPGLAGVSL
[0588] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Tyr以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY XDPGLAGVSL
[0589] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Ser以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SXPGLAGVSL
[0590] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Asp以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0591] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDXGLAGVSL
TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
[0592] VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Pro以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPXLAGVSL
[0593] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Gly以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGXAGVSL
[0594] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLA**X**VSL
[0595] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Gly以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAG**X**SL
[0596] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Val以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGV**X**L
[0597] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Ser以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGV**SX**
[0598] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGV**S**L
[0599] **X**GGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Thr以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0600] TXGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Gly以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0601] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
TGXLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Gly以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0602] TGGXSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0603] TGGLXYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Ser以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0604] TGGLSXKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Tyr以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0605] TGGLSYKXDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Glu以外的任何氨基酸。在一些情况
下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0606] TGGLSYKEXT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Asp以外的任何氨基酸。在一些情况
下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0607] TGGLSYKEDX KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Thr以外的任何氨基酸。在一些情况
下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0608] TGGLSYKEDT XELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Lys以外的任何氨基酸。在一些情况
下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0609] TGGLSYKEDT KXLVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Glu以外的任何氨基酸。在一些情况
下,X为Ala;

[0610] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL

TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVXFQLELR RVVAGEGSGS
[0611] VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV

TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Phe以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFXQLELR RVVAGEGSGS
[0612] VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV

TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Phe以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFXLELR RVVAGEGSGS
[0613] VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV

TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Gln以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQXELR RVVAGEGSGS
[0614] VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV

TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLXLR RVVAGEGSGS
[0615] VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV

TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Glu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0616] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLEXR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0617] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELX RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Arg以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0618] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR XVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Arg以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0619] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RXVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Val以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0620] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVXAGEGSGS
[0621] VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Val以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0622] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAXEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Gly以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0623] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGXGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Glu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0624] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEXSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Gly以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0625] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGXGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Ser以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0626] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVXLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Asp以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0627] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDXPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0628] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLXPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Pro以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0629] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPAXS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Ser以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0630] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
[0631] VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASX EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Ser以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0632] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS XARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Glu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0633] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EAXNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Arg以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0634] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARXSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Asn以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0635] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNXAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Ser以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0636] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAXGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Phe以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0637] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGX RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Gln以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0638] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ XLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Arg以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0639] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RXGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0640] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
[0641] VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLXVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Gly以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0642] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGXHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Val以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0643] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVXLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除His以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0644] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVBHXHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0645] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVBHLXTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除His以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0646] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVBHLHXEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Thr以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0647] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVBHLHTXA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Glu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0648] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVBHLHTEA XARHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Arg以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0649] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RAXHAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Arg以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0650] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
[0651] VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARXAWQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除His以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
[0652] VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAXQLTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Trp以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
[0653] VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQXTQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
[0654] VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLXQ GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Thr以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0655] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTX GATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Gln以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0656] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ XATVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Gly以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0657] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GAXVLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Thr以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;以及

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL
[0658] TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS
VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
GRLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATXLGLFRV
TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:23), 其中X为除Val以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala。

[0659] I.G.5 IL-2变体

[0660] 在一些情况下,本公开的T细胞-MMP中存在的变体MOD多肽为变体IL-2多肽。野生型IL-2结合至IL-2受体(IL-2R),即,包含IL-2R α 、IL-2R β 和IL-2R γ 的异源三聚体多肽。

[0661] 野生型IL-2氨基酸序列可以是如下: APTSSSTKKT

QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TKFYMPKKA

TELKHLQCLEEELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN
 [0662] VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNRWITFCQSIIS TLT
 (SEQ ID NO:27)。

[0663] 野生型IL2结合至细胞表面上的IL2受体(IL2R)。在一些情况下,IL2受体为包含 α 链(IL-2R α ;还称为CD25)、 β 链(IL-2R β ;还称为CD122)和 γ 链(IL-2R γ ;还称为CD132)的异源三聚体多肽。人IL-2R α 、IL2R β 和IL-2R γ 的氨基酸序列可如下。

[0664] 人IL-2R α : ELCDDDPPE IPHATFKAMA YKEGTMLNCE
 CKRGFRRIKS GSLYMLCTGN SSHSSWDNQC QCTSSATRNT
 TKQVTPQPEE QKERKTTEMQ SPMQPVDQAS LPGHCREPPP
 [0665] WENEATERIY HFVVGQMVYY QCVQGYRALH RGPAESVCKM
 THGKTRWTQP QLICTGEMET SQFPGEEKPQ ASPEGRPESE
 TSCLVTTTDF QIQTEMAATM ETSIFTTEYQ VAVAGCVFLL
 ISVLLLSGLT WQRRQRKSRR TI (SEQ ID NO:28)。

[0666] 人IL-2R β : VNG TSQFTCFYNS RANISCVWSQ DGALQDTSCQ
 VHAWPDRRRW NQTCELLPVS QASWACNLIL GAPDSQKLTT
 VDIVTLRVLC REGVRWRVMA IQDFKPFENL RLMAPISLQV
 VHVETHRCNI SWEISQASHY FERHLEFEAR TLSPGHTWEE
 APLLTLKQKQ EWICLETLTP DTQYEFQVRV KPLQGEFTTW
 SPWSQPLAFR TKPAALGKDT IPWLGHLLVG LSGAFGFIL
 VYLLINCRNT GPWLKKVLKC NTPDPSKFFS QLSSEHGGDV
 [0667] QKWLSSPFPS SSFSPGGLAP EISPLEVLER DKVTQLLLQQ
 DKVPEPASLS SNHSLTSCFT NQGYFFFHLP DALEIEACQV
 YFTYDPYSEE DPDEGVAGAP TGSSPQPLQP LSGEDDAYCT
 FPSRDDLLLF SPSLLGGPSP PSTAPGGSGA GEERMPPSLQ
 ERVPRDWDPO PLGPPTPGVP DLVDFQPPPE LVLREAGEEV
 PDAGPREGVS FPWSRPPGQG EFRALNARLP LNTDAYLSLQ
 ELQGQDPTHL V (SEQ ID NO:29)。

[0668] 人IL-2R γ : LNTTILTP NGNEDTTADF FLTTMPTDSL

SVSTLPLPEV QCFVFNVEYM NCTWNSSSEP QPTNLTLYHW
 YKNSDNDKVQ KCSHYLFSEE ITSGCQLQKK EIHLYQTFVV
 QLQDPREPRR QATQMLKLQN LVIPWAPENL TLHKLSESQ
 ELNWNNRFLN HCLEHLVQYR TDWDHSWTEQ SVDYRHKFSL
 [0669] PSVDGQKRYT FRVRSRFNPL CGSAQHWSEW SHPIHWGSNT
 SKENPFLFAL EAVVISVGSM GLIISLLCVY FWLERTMPRI
 PTLKNLEDLV TEYHGNFSAW SGVSKGLAES LQPDYSERLC
 LVSEIPPKGG ALGEGPGASP CNQHSPYWAP PCYTLKPET (SEQ
 ID NO:30)。

[0670] 在本公开的T细胞-MMP包含变体IL-2多肽的一些情况下,Co-MOD为包含含有SEQ ID NO:28、29和30的氨基酸序列的多肽的IL-2R。

[0671] 在一些情况下,变体IL-2多肽对IL-2R表现出与包含SEQ ID NO:27中所示的氨基酸序列的IL-2多肽的结合亲和力相比有所降低的结合亲和力。举例而言,在一些情况下,当在相同条件下测定时,本公开的变体IL-2多肽以比包含SEQ ID NO:27中所示的氨基酸序列的IL-2多肽对IL-2R(例如,包含含有SEQ ID NO:28-30中所示的氨基酸序列的多肽的IL-2R)的结合亲和力低至少10%、低至少15%、低至少20%、低至少25%、低至少30%、低至少35%、低至少40%、低至少45%、低至少50%、低至少55%、低至少60%、低至少65%、低至少70%、低至少75%、低至少80%、低至少85%、低至少90%、低至少95%或低95%以上的结合亲和力结合IL-2R。

[0672] 在一些情况下,变体IL-2多肽对IL-2R具有100nM至100μM的结合亲和力。作为另一个实例,在一些情况下,变体IL-2多肽对IL-2R(例如,包含含有SEQ ID NO:28-30中所示的氨基酸序列的多肽的IL-2R)具有约100nM至150nM、约150nM至约200nM、约200nM至约250nM、约250nM至约300nM、约300nM至约350nM、约350nM至约400nM、约400nM至约500nM、约500nM至约600nM、约600nM至约700nM、约700nM至约800nM、约800nM至约900nM、约900nM至约1μM、至约1μM至约5μM、约5μM至约10μM、约10μM至约15μM、约15μM至约20μM、约20μM至约25μM、约25μM至约50μM、约50μM至约75μM或约75μM至约100μM的结合亲和力。

[0673] 在一些情况下,变体IL-2多肽与SEQ ID NO:27中所示的IL-2氨基酸序列相比具有单一氨基酸取代。在一些情况下,变体IL-2多肽与SEQ ID NO:27中所示的IL-2氨基酸序列相比具有2至10个氨基酸取代。在一些情况下,变体IL-2多肽与SEQ ID NO:27中所示的IL-2氨基酸序列相比具有2、3、4、5、6、7、8、9或10个氨基酸取代。

[0674] 适合的IL-2变体MOD多肽包括包含与以下氨基酸序列中的任一者具有至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列的多肽:

APTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML
 [0675] TXKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL
 RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
 WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:27),其中X为除Phe以外的任何氨基酸。在一些情况

下,X为Ala;

APTSSSTKKT QLQLEHLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML
[0676] TFKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL
RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:27), 其中X为除Asp以外的任何氨基酸。在一些情况
下,X为Ala;

APTSSSTKKT QLQLXHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML
[0677] TFKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL
RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:27), 其中X为除Glu以外的任何氨基酸。在一些情况
下,X为Ala;

APTSSSTKKT QLQLEXLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML
[0678] TFKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL
RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:27), 其中X为除His以外的任何氨基酸。在一些情况
下,X为Ala;

APTSSSTKKT QLQLEXLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML
[0679] TFKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL
RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:27), 其中X为除His以外的任何氨基酸。在一些情况
下,X为Ala、Asn、Asp、Cys、Glu、Gln、Gly、Ile、Lys、Leu、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Tyr、Trp或
Val;

APTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML
[0680] TFKFXMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL
RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:27), 其中X为除Tyr以外的任何氨基酸。在一些情况
下,X为Ala;

APTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML
[0681] TFKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL
RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCXSIIS TLT (SEQ ID NO:27), 其中X为除Gln以外的任何氨基酸。在一些情况
下,X为Ala;

APTSSSTKKT QLQLEX₁LLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML
[0682] TX₂KFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL
RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:27), 其中X₁为除His以外的任何氨基酸, 并且其中X₂为除Phe以外的任何氨基酸。在一些情况下, X₁为Ala。在一些情况下, X₂为Ala。在一些情况下, X₁为Ala并且X₂为Ala;

APTSSSTKKT QLQLEHLLLX₁ LQMILNGINN YKNPKLTRML
[0683] TX₂KFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL
RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:27), 其中X₁为除Asp以外的任何氨基酸, 并且其中X₂为除Phe以外的任何氨基酸。在一些情况下, X₁为Ala。在一些情况下, X₂为Ala。在一些情况下, X₁为Ala并且X₂为Ala;

APTSSSTKKT QLQLX₁HLLLX₂ LQMILNGINN YKNPKLTRML
[0684] TX₃KFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL
RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:27), 其中X₁为除Glu以外的任何氨基酸; 其中X₂为除Asp以外的任何氨基酸; 并且其中X₃为除Phe以外的任何氨基酸。在一些情况下, X₁为Ala。在一些情况下, X₂为Ala。在一些情况下, X₃为Ala。在一些情况下, X₁为Ala; X₂为Ala; 并且X₃为Ala;

APTSSSTKKT QLQLEX₁LLLX₂ LQMILNGINN YKNPKLTRML
[0685] TX₃KFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL
RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:27), 其中X₁为除His以外的任何氨基酸; 其中X₂为除Asp以外的任何氨基酸; 并且其中X₃为除Phe以外的任何氨基酸。在一些情况下, X₁为Ala。在一些情况下, X₂为Ala。在一些情况下, X₃为Ala。在一些情况下, X₁为Ala; X₂为Ala; 并且X₃为Ala;

APTSSSTKKT QLQLEHLLLX₁ LQMILNGINN YKNPKLTRML
[0686] TX₂KFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL
RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCX₃SIIS TLT (SEQ ID NO:27), 其中X₁为除Asp以外的任何氨基酸; 其中X₂为除Phe以外的任何氨基酸; 并且其中X₃为除Gln以外的任何氨基酸。在一些情况下, X₁为Ala。在一些情况下, X₂为Ala。在一些情况下, X₃为Ala。在一些情况下, X₁为Ala; X₂为Ala; 并且X₃为Ala;

APTSSSTKKT QLQLEHLLLX₁ LQMILNGINN YKNPKLTRML
[0687] TX₂KFX₃MPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL
RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:27), 其中X₁为除Asp以外的任何氨基酸;其中X₂为除Phe以外的任何氨基酸;并且其中X₃为除Tyr以外的任何氨基酸。在一些情况下,X₁为Ala。在一些情况下,X₂为Ala。在一些情况下,X₃为Ala。在一些情况下,X₁为Ala;X₂为Ala;并且X₃为Ala;

APTSSSTKKT QLQLEX₁LLLX₂ LQMILNGINN YKNPKLTRML
[0688] TX₃KFX₄MPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL
RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:27), 其中X₁为除His以外的任何氨基酸;其中X₂为除Asp以外的任何氨基酸;其中X₃为除Phe以外的任何氨基酸;并且其中X₄为除Tyr以外的任何氨基酸。在一些情况下,X₁为Ala。在一些情况下,X₂为Ala。在一些情况下,X₃为Ala。在一些情况下,X₄为Ala。在一些情况下,X₁为Ala;X₂为Ala;X₃为Ala;并且X₄为Ala;

APTSSSTKKT QLQLEHLLLX₁ LQMILNGINN YKNPKLTRML
[0689] TX₂KFX₃MPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL
RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCX₄SIIS TLT (SEQ ID NO:27), 其中X₁为除Asp以外的任何氨基酸;其中X₂为除Phe以外的任何氨基酸;其中X₃为除Tyr以外的任何氨基酸;并且其中X₄为除Gln以外的任何氨基酸。在一些情况下,X₁为Ala。在一些情况下,X₂为Ala。在一些情况下,X₃为Ala。在一些情况下,X₄为Ala。在一些情况下,X₁为Ala;X₂为Ala;X₃为Ala;并且X₄为Ala;

APTSSSTKKT QLQLEX₁LLLX₂ LQMILNGINN YKNPKLTRML
[0690] TX₃KFX₄MPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL
RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCX₅SIIS TLT (SEQ ID NO:27), 其中X₁为除His以外的任何氨基酸;其中X₂为除Asp以外的任何氨基酸;其中X₃为除Phe以外的任何氨基酸;其中X₄为除Tyr以外的任何氨基酸;并且其中X₅为除Gln以外的任何氨基酸。在一些情况下,X₁为Ala。在一些情况下,X₂为Ala。在一些情况下,X₃为Ala。在一些情况下,X₄为Ala。在一些情况下,X₅为Ala。在一些情况下,X₁为Ala;X₂为Ala;X₃为Ala;X₄为Ala;并且X₅为Ala;以及

APTSSSTKKT QLQLEX₁LLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML
[0691] TX₂KFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL
RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR
WITFCX₃SIIS TLT (SEQ ID NO:27), 其中X₁为除His以外的任何氨基酸;其中X₂为除Phe以外的任何氨基酸;并且其中X₃为除Gln以外的任何氨基酸。在一些情况下,X₁为Ala。在

一些情况下, X_2 为Ala。在一些情况下, X_3 为Ala。在一些情况下, X_1 为Ala; X_2 为Ala; 并且 X_3 为Ala。

[0692] 在本文中所提供的野生型或变体IL-2序列中的任一者中, 位置125处的半胱氨酸可被丙氨酸取代(C125A取代)。除了由所述取代所提供的任何稳定性以外, 还可采用例如含表位的肽或有效负载缀合至T细胞-MMP第一多肽或第二多肽中其他处的半胱氨酸残基, 从而避免与IL-2MOD序列中的C125竞争。

[0693] I.H. 额外多肽

[0694] T细胞-MMP或其表位缀合物的多肽链可包括除以上所描述的那些多肽以外的一个或多个多肽。适合的额外多肽包括表位标签和亲和力结构域。一个或多个额外多肽可作为由细胞或无细胞系统翻译的多肽的一部分包含在多聚体多肽的多肽链的N-末端、多聚体多肽的多肽链的C-末端或在多聚体多肽的多肽链内部。

[0695] I.I. 表位标签

[0696] 适合的表位标签包括但不限于血凝素(HA; 例如, YPYDVDPYA (SEQ ID NO:31)); FLAG (例如, DYKDDDDK (SEQ ID NO:32)); c-myc (例如, EQKLISEEDL; SEQ ID NO:33) 等。

[0697] I.J. 亲和力结构域

[0698] 亲和力结构域包括可与结合配偶体, 例如, 诸如固定于可用于鉴定或纯化的固体载体上的结合配偶体相互作用的肽序列。编码多个连续单一氨基酸, 诸如组氨酸的DNA序列当与所表达的蛋白质融合时可用于通过与树脂柱, 诸如镍SEPHAROSE®的高亲和力结合对重组蛋白质进行一步式纯化。示例性亲和力结构域包括His5 (HHHHH) (SEQ ID NO:34)、HisX6 (HHHHHH) (SEQ ID NO:35)、C-myc (EQKLISEEDL) (SEQ ID NO:33)、Flag (DYKDDDDK) (SEQ ID NO:32)、StrepTag (WSHPQFEK) (SEQ ID NO:36)、血凝素 (例如, HA标签 (YPYDVDPYA) (SEQ ID NO:31))、谷胱甘肽-S-转移酶 (GST)、硫氧还原蛋白、纤维素结合结构域、RYIRS (SEQ ID NO:37)、Phe-His-His-Thr (SEQ ID NO:38)、几丁质结合结构域、S肽、T7肽、SH2结构域、C端RNA标签、WEAAAREACCRECCARA (SEQ ID NO:39)、金属结合结构域 (例如, 锌结合结构域或钙结合结构域, 诸如来自钙结合蛋白, 例如钙调蛋白、肌钙蛋白C、钙调磷酸酶B、肌蛋白轻链、恢复蛋白、S-调控蛋白、视锥蛋白、VILIP、神经钙蛋白、海马钙蛋白、频率蛋白 (frecuenin)、钙牵蛋白、钙蛋白酶大亚基、S100蛋白、小白蛋白、钙结合蛋白D9K、钙结合蛋白D28K和钙网膜蛋白的那些钙结合结构域)、内含肽、生物素、链霉抗生物素蛋白、MyoD、Id、亮氨酸拉链序列和麦芽糖结合蛋白。

[0699] I.K. 有效负载

[0700] 多种有效负载可与T细胞-MMP和T细胞-MMP-表位缀合物缔合, 从而可在第一化学缀合位点或第二化学缀合位点处并入超过一种类型的有效负载以及与T细胞-MMP (共价缀合的表位)。另外, 在T细胞-MMP分子或其表位缀合物多聚时, 有可能将用不同的有效负载标记的单体并入多聚体中。因此, 有可能引入选自以下组成的组的一种或多种有效负载: 治疗剂、化学治疗剂、诊断剂、标记等。应了解, 一些有效负载可属于超过一个类别 (例如, 放射性标记可用作诊断剂和治疗剂以用于选择性地辐照特定组织或细胞类型)。

[0701] 如以上所指出, T细胞-MMP多肽 (例如, 支架或Fc多肽) 可用交联试剂修饰以便将有效负载和/或表位缀合至附接至T细胞-MMP的第一多肽或第二多肽或者处于其中的化学缀合位点 (例如, 在诸如经工程改造的半胱氨酸或赖氨酸的化学缀合位点处)。此类交联剂包

括4-(N-马来酰亚胺基甲基)-环己烷-1-甲酸琥珀酰亚胺酯(SMCC)、磺基-SMCC、马来酰亚胺基苯甲酰基-N-羟基琥珀酰亚胺酯(MBS)、磺基-MBS或磺基乙酸琥珀酰亚胺酯。使用过量的此类交联剂引入有效负载可引起多个有效负载分子并入T细胞-MMP中。用于将有效负载引入T细胞-MMP及其表位缀合物中的一些双官能接头包括可裂解接头和非可裂解接头。在一些情况下,有效负载接头为蛋白酶可裂解接头。适合的有效负载接头包括例如肽(例如,2至10个氨基酸的长度;例如,2、3、4、5、6、7、8、9或10个氨基酸的长度)、烷基链、聚(乙二醇)、二硫基、硫醚基、酸不稳定基团、光不稳定基团、肽酶不稳定基团和酯酶不稳定基团。适合接头的非限制性实施例为:N-琥珀酰亚胺基-[(N-马来酰亚胺基丙酰胺基)-四乙二醇]酯(NHS-PEG4-马来酰亚胺);4-(2-吡啶基二硫代)丁酸N-琥珀酰亚胺基酯(SPDB);辛二酸二琥珀酰亚胺酯(DSS);戊二酸二琥珀酰亚胺酯(DGS);二酰亚胺己二酸二甲酯(DMA);4-(2-吡啶基二硫代)2-磺基丁酸N-琥珀酰亚胺基酯(磺基-SPDB);4-(2-吡啶基二硫代)戊酸N-琥珀酰亚胺基酯(SPP);4-(N-马来酰亚胺基甲基)-环己烷-1-羧基-(6-酰胺基己酸N-琥珀酰亚胺基酯)(LC-SMCC); κ -马来酰亚胺基十一酸N-琥珀酰亚胺基酯(KMUA); γ -马来酰亚胺基丁酸N-琥珀酰亚胺基酯(GMBS); ϵ -马来酰亚胺基己酸N-羟基琥珀酰亚胺基酯(EMCS);间马来酰亚胺基苯甲酰基-N-羟基琥珀酰亚胺基酯(MBS);N-(α -马来酰亚胺基乙酰氧基)-琥珀酰亚胺基酯(AMAS);6-(β -马来酰亚胺基丙酰胺)己酸琥珀酰亚胺基酯(SMPH);4-(对马来酰亚胺基苯基)丁酸N-琥珀酰亚胺基酯(SMPB);异氰酸N-(对马来酰亚胺基苯基)酯(PMPI);4-(2-吡啶基硫代)戊酸N-琥珀酰亚胺基酯(SPP);(4-碘-乙酰基)氨基苯甲酸N-琥珀酰亚胺基酯(SIAB);6-马来酰亚胺基己酰基(MC);马来酰亚胺基丙酰基(MP);对氨基苯甲氧基羰基(PAB);4-(马来酰亚胺基甲基)环己烷甲酸N-琥珀酰亚胺基酯(SMCC);3-(2-吡啶基二硫代)丙酸琥珀酰亚胺基酯(SPDP);PEG4-SPDP(聚乙二醇化长链SPDP交联剂);BS(PEG)₅(聚乙二醇化辛二酸双(磺基琥珀酰亚胺基)酯);BS(PEG)₉(聚乙二醇化辛二酸双(磺基琥珀酰亚胺基)酯);马来酰亚胺-PEG₆-琥珀酰亚胺基酯;马来酰亚胺-PEG₈-琥珀酰亚胺基酯;马来酰亚胺-PEG₁₂-琥珀酰亚胺基酯;PEG₄-SPDP(聚乙二醇化长链SPDP交联剂);PEG₁₂-SPDP(聚乙二醇化长链SPDP交联剂);4-(N-马来酰亚胺基甲基)-环己烷-1-羧基-(6-酰胺基己酸N-琥珀酰亚胺基酯)、SMCC的“长链”类似物(LC-SMCC);3-马来酰亚胺基丙酸N-琥珀酰亚胺基酯(BMPS);碘乙酸N-琥珀酰亚胺基酯(SIA);溴乙酸N-琥珀酰亚胺基酯(SBA);以及3-(溴乙酰胺基)丙酸N-琥珀酰亚胺基酯(SBAP)。

[0702] 控制反应的化学计算量可获得某种选择性修饰,其中不利用具有与分子中的所有其他基团正交的化学性质的经工程改造的位点。同与单一赖氨酸或半胱氨酸残基反应的试剂相比,呈递更大选择性的试剂,诸如以上所论述的双硫代接头,倾向于允许对位置和化学计算量进行更精确的控制。

[0703] 在本公开的T细胞-MMP包含Fc多肽时,Fc多肽可包含直接或经由接头间接地附接的一个或多个共价附接的有效负载分子。举例而言,在本公开的T细胞-MMP包含Fc多肽时,包含Fc多肽的多肽链可具有式(A)-(L)-(C),其中(A)为包含Fc多肽的多肽链;其中(L)如果存在则为接头;并且其中(C)为有效负载(例如,细胞毒性剂)。(L)如果存在则连接(A)与(C)。在一些情况下,包含Fc多肽的多肽链可包含多于一个有效负载分子(例如,2、3、4、5或更多于5个细胞毒性剂分子)。

[0704] 在一个实施方案中,有效负载选自以下组成的组:生物活性剂或药物、诊断剂或标记、核苷酸或核苷类似物、核酸或合成核酸(例如,反义核酸、小干扰RNA、双链(ds)DNA、单

链(ss)DNA、ssRNA、dsRNA)、毒素、脂质粒(例如,并入化学治疗剂,诸如5-氟脱氧尿苷)、纳米粒子(例如,携带核酸或其他分子的金或其他金属、脂质、携带核酸或其他分子的粒子)以及它们的组合。

[0705] 在一个实施方案中,所述有效负载选自生物活性剂或药物,所述生物活性剂或药物独立地选自由以下组成的组:治疗剂(例如,药物或前药)、化学治疗剂、细胞毒性剂、抗生素、抗病毒剂、细胞周期同步剂、细胞表面受体的配体、免疫调节剂(例如,免疫抑制剂,诸如环孢霉素)、促细胞凋亡剂、抗血管生成剂、细胞因子、趋化因子、生长因子、蛋白质或多肽、抗体或其抗原结合片段、酶、酶原、激素以及它们的组合。

[0706] 在一个实施方案中,所述有效负载选自生物活性剂或药物,所述生物活性剂或药物独立地选自由以下组成的组:治疗诊断剂或标记,所述治疗诊断剂或标记独立地选自由以下组成的组:光可检测标记(例如染料、荧光标记、磷光标记、发光标记)、造影剂(例如含碘或钡的材料)、放射性标记、成像剂、顺磁性标记/成像剂(含钆的磁共振成像标记)、超声标记以及它们的组合。

[0707] I.L. 治疗剂和化学治疗剂

[0708] T细胞-MMP的多肽链可包含有效负载,包括但不限于在化学缀合位点处连接(例如,共价附接)于第一多肽链或第二多肽链的小分子药物。有效负载与T细胞-MMP或其表位缀合物的第一多肽链或第二多肽链之间的键联可为直接或间接键联。直接键联可包括直接至氨基酸侧链的键联。间接键联可为经由接头的键联。药物(例如,有效负载,诸如癌症化学治疗剂)可经由硫醚键、酰胺键、氨基甲酸酯键、二硫键或醚键连接至本公开的T细胞-MMP的多肽链(例如,Fc多肽)。

[0709] 适合的治疗剂包括例如雷帕霉素(rapamycin);类视黄醇,诸如全反式视黄酸(ATRA);维生素D3;维生素D3类似物;等等。如以上所指出,在一些情况下,药物为细胞毒性剂。细胞毒性剂为本领域中已知的。适合的细胞毒性剂可为引起细胞死亡或诱导细胞死亡或以某种方式降低细胞活力的任何化合物,并且包括例如类美登素(maytansinoid)和类美登素类似物、苯并二氮杂卓、紫杉烷、CC-1065和CC-1065类似物、倍癌霉素(duocarmycin)和倍癌霉素类似物、烯二炔(诸如卡奇霉素(calicheamicin))、尾海兔素(dolastatin)和尾海兔素类似物(包括奥瑞斯他汀(auristatins))、茅屋霉素(tomaymycin)衍生物、来普霉素(leptomycin)衍生物、甲氨蝶呤(methotrexate)、顺铂(cisplatin)、卡铂(carboplatin)、道诺霉素(daunorubicin)、阿霉素(doxorubicin)、长春新碱(vincristine)、长春碱(vinblastine)、美法仑(melphalan)、丝裂霉素C、苯丁酸氮芥和吗啉代阿霉素。

[0710] 举例而言,在一些情况下,细胞毒性剂为抑制真核细胞中的微管形成的化合物。此类剂包括例如类美登素、苯并二氮杂卓、紫杉烷、CC-1065、倍癌霉素、倍癌霉素类似物、卡奇霉素、尾海兔素、尾海兔素类似物、奥瑞斯他汀、茅屋霉素和来普霉素或上述任一者的前药。类美登素化合物包括例如N(2')-脱乙酰基-N(2')-(3-巯基-1-氧代丙基)-美登素(DM1);N(2')-脱乙酰基-N(2')-(4-巯基-1-氧代戊基)-美登素(DM3);以及N(2')-脱乙酰基-N2-(4-巯基-4-甲基-1-氧代戊基)-美登素(DM4)。苯并二氮杂卓包括例如吲哚啉并苯并二氮杂卓和噁唑啉并苯并二氮杂卓。

[0711] 细胞毒性剂包括紫杉醇;细胞松弛素B;短杆菌肽D;溴化乙锭;吐根碱(emetine);丝裂霉素(mitomycin);依托泊苷(etoposide);替尼泊苷(tenoposide);长春新碱;长春碱;

秋水仙碱(colchicin);阿霉素;道诺霉素;二羟基蒽二酮;美登素或其类似物或衍生物;奥瑞斯他汀或其功能肽类似物或衍生物;尾海兔素10或15或其类似物;伊立替康(irinotecan)或其类似物;米托蒽醌(mitoxantrone);光辉霉素(mithramycin);放线菌素D;1-脱氢睾酮;糖皮质激素;普鲁卡因(procaine);丁卡因(tetracaine);利多卡因(lidocaine);普萘洛尔(propranolol);嘌呤霉素(puromycin);卡奇霉素或其类似物或衍生物;抗代谢物;6-巯基嘌呤;6-硫鸟嘌呤;阿糖胞苷;氟达拉滨(fludarabin);5-氟尿嘧啶;达卡巴嗪(decarbazine);羟基脲;天冬酰胺酶;吉西他滨(gemcitabine);克拉屈滨(cladribine);烷化剂;铂衍生物;倍癌霉素A;倍癌霉素SA;拉奇霉素(rachelmycin)(CC-1065)或其类似物或衍生物;抗生素;吡咯并[2,1-c][1,4]-苯并二氮杂卓(PDB);白喉毒素;蓖麻毒素;霍乱毒素;类志贺(Shiga)毒素;LT毒素;C3毒素;志贺毒素;百日咳毒素;破伤风毒素;大豆鲍曼-比尔克蛋白酶抑制剂(Bowman-Birk protease inhibitor);假单胞菌外毒素;芦苔素(alorin);皂草素;蒴莲根毒素;甘丙胺肽;相思子毒素A链;蒴莲根毒素A链; α -帚曲菌素;油桐(Aleurites fordii)蛋白;石竹素蛋白;美国商陆(Phytolacca americana)蛋白;苦瓜抑制剂;麻疯树毒素;巴豆毒素;肥皂草(sapaonaria officinalis)抑制剂;白树毒素;丝林霉素;局限曲菌素;酚霉素;伊诺霉素毒素;核糖核酸酶(RNase);脱氧核糖核酸酶I(DNase I);葡萄球菌肠毒素A;美洲商陆抗病毒蛋白;白喉毒素;以及假单胞菌内毒素。

[0712] I.M. 诊断剂和标记

[0713] T细胞-MMP的第一多肽链和/或第二多肽链可包含光可检测标记(例如,染料、荧光标记、磷光标记、发光标记)、造影剂(例如,含碘或钡的材料)、放射性标记、成像剂、自旋标记、福斯特共振能量转移(FRET)型标记、顺磁标记/成像剂(例如,含钆的磁共振成像标记)、超声标记以及它们的组合的一个或多个有效负载分子。

[0714] 在一些实施方案中,缀合物部分包含标记,所述标记为放射性同位素或包括放射性同位素。放射性同位素或其他标记的实例包括但不限于 ^3H 、 ^{11}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{18}F 、 ^{32}P 、 ^{33}P 、 ^{64}Cu 、 ^{68}Ga 、 ^{89}Zr 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{111}In 、 ^{131}In 、 ^{153}Sm 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{211}At 、 ^{212}Bi 和 ^{153}Pb 。

[0715] II. 产生T细胞-MMP多肽的方法

[0716] 本公开提供一种获得T细胞-MMP和T细胞-MMP-表位缀合物,包括包含一个或多个对Co-MOD表现出相较于相应亲本野生型MOD对Co-MOD的亲和力而言较低的亲和力的变体MOD的那些T细胞-MMP和T细胞-MMP-表位缀合物的方法,所述方法包括:

[0717] A) 通过在细胞或无细胞系统中引入编码T细胞-MMP的第一多肽和第二多肽的核酸来产生T细胞-MMP,其中各成员包含:

[0718] a) 第一多肽,所述第一多肽包含:i) 第一I类MHC多肽(例如, $\beta 2\text{M}$ 多肽);以及

[0719] b) 第二多肽,所述第二多肽包含:i) 第二MHC多肽(例如,I类MHC重链多肽多肽);和ii) 任选地Ig Fc多肽或非Ig支架,

[0720] 其中所述第一多肽包含第一化学缀合位点和/或所述第二多肽包含第二化学缀合位点,并且所述第一多肽或第二多肽中的至少一者包含一个或多个独立选择的MOD(例如,1、2、3或更多个野生型和/或变体MOD);以及

[0721] B) 使所述第一多肽与第二多肽接触(如果共表达于同一细胞或无细胞系统中,则所述多肽可在它们翻译时得以接触)以形成T细胞-MMP;

[0722] 其中当所述T细胞-MMP包含一个或多个新生(例如,未活化)化学缀合位点时,可任选地活化所述新生化学缀合位点以产生具有第一化学缀合位点和/或第二化学缀合位点的T细胞-MMP(例如,如果表达T细胞-MMP的细胞不表达甲酰甘氨酸产生酶,则使硫酸酯酶基序与甲酰甘氨酸产生酶反应)。

[0723] 此时可终止所述方法并且通过纯化获得T细胞-MMP;替代地,在需要T细胞-MMP表位缀合物时,所述方法可继续进行以下步骤:

[0724] C) 提供适合与第一化学缀合位点和/或第二化学缀合位点结合的表位(例如,表肽)(例如,用于与硫酸酯酶基序的甲酰甘氨酸反应的用胍基或胍基吡啶修饰的肽)和使所述表位与所述T细胞-MMP接触(例如,在适合的反应条件下)以产生T细胞-MMP表位缀合物。

[0725] 在需要T细胞-MMP含有有效负载(例如,小分子药物、放射性标记物等),所述有效负载可与T细胞-MMP而不是如以上所描述的表位缀合物反应。在需要T细胞-MMP表位缀合物含有有效负载时,所述有效负载可在表位与其化学反应位点接触并反应之前或之后与化学缀合位点反应。可通过使用正交化学反应和/或控制结合反应中的化学计算量来控制表位和有效负载对不同的缀合位点(例如,第一化学缀合位点和第二化学缀合位点)的选择性。在实施方案中,接头(例如,多肽或其他双官能化学接头)可用于将表位和/或有效负载附接至其缀合位点。

[0726] 本公开提供一种获得包含一个或多个对Co-MOD表现出相较于相应亲本野生型MOD对Co-MOD的亲合力而言较低的亲合力的变体MOD的T细胞-MMP表位缀合物的方法,所述方法包括:

[0727] A) 产生包括多个成员的T细胞-MMP表位缀合物库,其中各成员包含:a) 第一多肽,所述第一多肽包含:i) 表位;和ii) 第一MHC多肽(例如, β 2M多肽);以及b) 第二多肽,所述第二多肽包含:i) 第二MHC多肽(例如,I类MHC重链多肽);和ii) 任选的Ig Fc多肽或非Ig支架,其中各成员在第一多肽、第二多肽或第一多肽与第二多肽两者上包含不同的变体MOD;

[0728] B) 测定所述库的各成员对Co-MOD的亲合力;以及

[0729] C) 选择对Co-MOD表现出降低的亲合力的库成员。

[0730] 在一些情况下,通过BLI使用纯化的T细胞-MMP库成员和Co-MOD来测定亲合力。BLI方法对本领域的技术人员为熟知的。BLI测定如以上所描述。参见例如Lad等人(2015) J.Biomol.Screen.20(4):498-507;以及Shah和Duncan(2014) J.Vis.Exp.18:e51383。

[0731] 本公开提供一种获得对T细胞表现出选择性结合的T细胞-MMP-表位缀合物的方法,所述方法包括:

[0732] A) 产生包含多个成员的T细胞-MMP-表位缀合物库,其中各成员包含:

[0733] a) 第一多肽:所述第一多肽包含i) 第一MHC多肽;以及

[0734] b) 第二多肽,所述第二多肽包含:i) 第二MHC多肽;和ii) 任选的免疫球蛋白(Ig)Fc多肽或非Ig支架,

[0735] 其中各成员在第一多肽、第二多肽或第一多肽与第二多肽两者上包含不同的变体MOD,其中变体MOD相对于亲本野生型MOD在氨基酸序列方面相差1个氨基酸至10个氨基酸,

[0736] 其中T细胞-MMP-表位缀合物库成员还包含表位标签或荧光标记),并且

[0737] 其中第一多肽或第二多肽之一包含通过化学缀合位点,直接或经由接头间接地共价结合至第一多肽和/或第二多肽的表位;

[0738] B) 使T细胞-MMP-表位缀合物库成员与靶T细胞接触,所述靶T细胞在其表面上表达:i) 结合亲本野生型MOD的Co-MOD;以及ii) 结合表位的TCR;

[0739] C) 当T细胞-MMP表位缀合物包含表位标签时,使靶T细胞所结合的T细胞-MMP-表位缀合物库成员与结合至表位标签的用荧光标记的结合剂接触(这对于用荧光标记的T细胞-MMP表位缀合物而言为非必需的),从而产生库成员/靶T细胞/结合剂复合物;

[0740] D) 使用流式细胞术测量T细胞-MMP-表位缀合物库成员/靶T细胞/结合剂复合物的平均荧光强度(MFI),其中在T细胞-MMP-表位缀合物库成员的浓度范围内测量的MFI提供亲和力和表观亲合力的量度;以及

[0741] E) 选择与T细胞-MMP-表位缀合物库成员与对照T细胞的结合相比选择性地结合靶T细胞的T细胞-MMP-表位缀合物库成员,所述T细胞-MMP-表位缀合物库成员包含:i) 结合亲本野生型MOD的Co-MOD;以及ii) 结合至除T细胞-MMP库成员中存在的表位以外的表位的TCR。

[0742] 在一些情况下,将鉴定为选择性地结合至靶T细胞的T细胞-MMP库成员从库中分离。在一些情况下,亲本野生型MOD和Co-MOD对选自:IL-2与IL-2受体;4-1BBL与4-1BB;PD-L1与PD-1;FasL与Fas;TGF β 与TGF β 受体;CD80与CD28;CD86与CD28;OX40L与OX40;ICOS-L与ICOS;ICAM与LFA-1;JAG1与Notch;JAG1与CD46;CD70与CD27;CD80与CTLA4;以及CD86与CTLA4。

[0743] 本公开提供一种获得包含一个或多个对Co-MOD表现出与相应亲本野生型MOD对Co-MOD的亲和力相比有所降低的亲合力的变体MOD的T细胞-MMP-表位缀合物的方法,所述方法包括从包括多个成员的T细胞-MMP-表位缀合物库中选择对Co-MOD表现出降低的亲合力的成员,其中所述多个成员各自包含:a) 第一多肽,所述第一多肽包含:i) 共价结合至化学缀合位点的表位;和ii) 第一MHC多肽;以及b) 第二多肽,所述第二多肽包含:i) 第二MHC多肽;和ii) 任选的Ig Fc多肽或非Ig支架,其中所述库的成员包含第一多肽、第二多肽或第一多肽与第二多肽两者中存在的多个变体MOD。在一些情况下,选择步骤包括使用BLI测定T细胞-MMP-表位缀合物库成员与Co-MOD之间的结合亲和力。在一些情况下,T细胞-MMP-表位缀合物如以上所描述。

[0744] 在一些情况下,获得包含一个或多个对Co-MOD表现出与相应亲本野生型MOD对Co-MOD的亲和力相比有所降低的亲合力的变体MOD的T细胞-MMP-表位缀合物的方法进一步包括:a) 使所选T细胞-MMP-表位缀合物库成员与靶T细胞接触,所述靶T细胞在其表面上表达:i) 结合亲本野生型MOD的Co-MOD;和ii) 结合表位的TCR,其中所述T细胞-MMP-表位缀合物库成员包含表位标签,使得T细胞-MMP-表位缀合物库成员结合至靶T细胞;b) 使与靶T细胞结合的所选T细胞-MMP-表位缀合物库成员与结合至表位标签的用荧光标记的结合剂接触,从而产生所选T细胞-MMP-表位缀合物库成员/靶T细胞/结合剂复合物;以及c) 使用流式细胞术测量所选T细胞-MMP-表位缀合物库成员/靶T细胞/结合剂复合物的MFI,其中在所选T细胞-MMP-表位缀合物库成员的浓度范围内测量的MFI提供亲和力和表观亲合力的量度。与T细胞-MMP-表位缀合物库成员与对照T细胞的结合相比选择性地结合靶T细胞并且包含以下各项的所选T细胞-MMP-表位缀合物库成员:i) 结合亲本野生型MOD的Co-MOD;和ii) 结合至除T细胞-MMP-表位缀合物库成员中存在的表位以外的表位的TCR,被鉴定为选择性地结合至靶T细胞。在一些情况下,结合剂为对表位标签具有特异性的抗体。在一些情况下,变体

MOD与相应亲本野生型MOD相比包含1至20个氨基酸取代(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个氨基酸取代)。在一些情况下,T细胞-MMP-表位缀合物包含两个变体MOD。在一些情况下,所述两个变体MOD包含相同的氨基酸序列。在一些情况下,第一多肽包含两个变体MOD中的一者,并且第二多肽包含所述两个变体MOD中的第二者。在一些情况下,所述两个变体MOD处于T细胞-MMP-表位缀合物的同一多肽链上。在一些情况下,所述两个变体MOD处于T细胞-MMP-表位缀合物的第一多肽上。在一些情况下,所述两个变体MOD处于T细胞-MMP-表位缀合物的第二多肽上。

[0745] 在一些情况下,获得包含一个或多个对Co-MOD表现出与相应亲本野生型MOD对Co-MOD的亲和力相比有所降低的亲和力的变体MOD的T细胞-MMP-表位缀合物的方法进一步包括从所述库中分离所选T细胞-MMP-表位缀合物库成员。在一些情况下,所述方法进一步包括提供包含编码用于制备所选库成员的具有至少一个化学缀合位点的T细胞-MMP的核苷酸序列的核酸。在一些情况下,所述核酸存在于重组表达载体中。在一些情况下,所述核苷酸序列可操作地连接至在真核细胞中具有功能性的转录控制元件。在一些情况下,所述方法进一步包括将所述核酸引入真核生物宿主细胞中,以及在液体培养基中培养所述细胞以便在所述细胞中合成所编码的具有至少一个化学缀合位点的T细胞-MMP,从所述细胞或从液体培养基中分离所合成的具有至少一个化学缀合位点的T细胞-MMP,以及使所述T细胞-MMP与至少一个表位结合以形成所选T细胞-MMP-表位缀合物。在一些情况下,所选具有至少一个化学缀合位点的T细胞-MMP包含Ig Fc多肽。在一些情况下,所述方法进一步包括使药物与Ig Fc多肽结合。在一些情况下,所述药物选自类美登素、苯并二氮杂卓、紫杉烷、CC-1065、倍癌霉素、倍癌霉素类似物、卡奇霉素、尾海兔素、尾海兔素类似物、奥瑞斯他汀、茅屋霉素和来普霉素或上述任一者的前药的细胞毒性剂。在一些情况下,所述药物为类视黄醇。在一些情况下,亲本野生型MOD和Co-MOD选自:IL-2和IL-2受体;4-1BBL和4-1BB;PD-L1和PD-1;FasL和Fas;TGF β 和TGF β 受体;CD70和CD27;CD80和CD28;CD86和CD28;OX40L和OX40;FasL和Fas;ICOS-L和ICOS;ICAM和LFA-1;以及JAG1和Notch;JAG1和CD46;CD80和CTLA4;以及CD86和CTLA4。

[0746] 本公开提供一种获得包含一个或多个对Co-MOD表现出与相应亲本野生型MOD对Co-MOD的亲和力相比有所降低的亲和力的变体MOD的T细胞-MMP-表位缀合物的方法,所述方法包括:A)提供包括多个成员的T细胞-MMP-表位缀合物库,其中所述多个成员包含:a)第一多肽,所述第一多肽包含:i)共价结合于化学缀合位点处的表位;和ii)第一MHC多肽;以及b)第二多肽,所述第二多肽包含:i)第二MHC多肽;和ii)任选的Ig Fc多肽或非Ig支架,其中所述库的成员包含第一多肽、第二多肽或第一多肽与第二多肽两者中存在的多个变体MOD;以及B)从所述库中选择对Co-MOD表现出降低的亲和力的成员。在一些情况下,选择步骤包括使用BLI测定T细胞-MMP-表位缀合物库成员与Co-MOD之间的结合亲和力。在一些情况下,选择步骤包括使用BLI测定T细胞-MMP-表位缀合物库成员与Co-MOD之间的结合亲和力。在一些情况下,T细胞-MMP-表位缀合物如以上所描述。

[0747] 在一些情况下,所述方法进一步包括:a)使所选T细胞-MMP-表位缀合物库成员与靶T细胞接触,所述靶T细胞在其表面上表达:i)结合亲本野生型MOD的Co-MOD;和ii)结合至表位的T细胞受体,其中所述T细胞-MMP-表位缀合物库成员包含表位标签,使得T细胞-MMP-表位缀合物库成员结合至靶T细胞;b)使与靶T细胞结合的所选T细胞-MMP-表位缀合物库成

员与结合至表位标签的用荧光标记的结合剂接触,从而产生所选T细胞-MMP-表位缀合物库成员/靶T细胞/结合剂复合物;以及c)使用流式细胞术测量所选T细胞-MMP-表位缀合物库成员/靶T细胞/结合剂复合物的MFI,其中在所选T细胞-MMP-表位缀合物库成员的浓度范围内测量的MFI提供亲和力和表观亲和力的量度。与T细胞-MMP-表位缀合物库成员与对照T细胞的结合相比选择性地结合靶T细胞并且包含以下各项的所选T细胞-MMP-表位缀合物库成员:i)结合亲本野生型MOD的Co-MOD;和ii)结合至除T细胞-MMP-表位缀合物库成员中存在的表位以外的表位的T细胞受体,被鉴定为选择性地结合至靶T细胞。在一些情况下,结合剂为对表位标签具有特异性的抗体。在一些情况下,变体MOD与相应亲本野生型MOD相比包含1至20个氨基酸取代(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个氨基酸取代)。在一些情况下,T细胞-MMP-表位缀合物包含两个变体MOD。在一些情况下,所述两个变体MOD包含相同的氨基酸序列。在一些情况下,第一多肽包含两个变体MOD中的一者,并且第二多肽包含所述两个变体MOD中的第二者。在一些情况下,所述两个变体MOD处于T细胞-MMP-表位缀合物的同一多肽链上。在一些情况下,所述两个变体MOD处于T细胞-MMP-表位缀合物的第一多肽上。在一些情况下,所述两个变体MOD处于T细胞-MMP-表位缀合物的第二多肽上。

[0748] 在一些情况下,所述方法进一步包括从所述库中分离所选T细胞-MMP-表位缀合物库成员。在一些情况下,所述方法进一步包括提供包含编码用于制备所选库成员的具有至少一个化学缀合位点的T细胞-MMP的核苷酸序列的核酸。在一些情况下,所述核酸存在于重组表达载体中。在一些情况下,所述核苷酸序列可操作地连接至在真核细胞中具有功能性的转录控制元件。在一些情况下,所述方法进一步包括将所述核酸引入真核生物宿主细胞中,以及在液体培养基中培养所述细胞以便在所述细胞中合成所编码的具有至少一个化学缀合位点的T细胞-MMP,从所述细胞或从液体培养基中分离所合成的具有至少一个化学缀合位点的所选T细胞-MMP,以及使所述T细胞-MMP与至少一个表位结合以形成所选T细胞-MMP-表位缀合物。在一些情况下,所选T细胞-MMP库成员包含Ig Fc多肽。在一些情况下,所述方法进一步包括使药物与Ig Fc多肽结合。在一些情况下,所述药物选自类美登素、苯并二氮杂卓、紫杉烷、CC-1065、倍癌霉素、倍癌霉素类似物、卡奇霉素、尾海兔素、尾海兔素类似物、奥瑞斯他汀、茅屋霉素和来普霉素或上述任一者的前药的细胞毒性剂。在一些情况下,所述药物为类视黄醇。在一些情况下,亲本野生型MOD和同源MOD选自:IL-2和IL-2受体;4-1BBL和4-1BB;PD-L1和PD-1;FasL和Fas;TGF β 和TGF β 受体;CD70和CD27;CD80和CD28;CD86和CD28;OX40L和OX40;FasL和Fas;ICOS-L和ICOS;ICAM和LFA-1;以及JAG1和Notch;JAG1和CD46;CD80和CTLA4;以及CD86和CTLA4。

[0749] III. 核酸

[0750] 本公开提供一种包含编码本公开的T细胞-MMP的核苷酸序列的核酸。本公开提供一种包含编码本公开的T细胞-MMP的核苷酸序列的核酸,所述T细胞-MMP包括可工程改造至T细胞-MMP的多肽中的化学缀合位点。

[0751] 本公开提供包含编码本文中所描述的T细胞-MMP的核苷酸序列的核酸。在一些情况下,本公开的T细胞-MMP的个别多肽链在独立的核酸中编码。在一些情况下,本公开的T细胞-MMP的所有多肽链均于单一核酸中编码。在一些情况下,第一核酸包含编码本公开的T细胞-MMP的第一多肽的核苷酸序列;并且第二核酸包含编码本公开的T细胞-MMP的第二多肽

的核苷酸序列。在一些情况下,单一核酸包含编码本公开的T细胞-MMP的第一多肽和本公开的T细胞-MMP的第二多肽的核苷酸序列。

[0752] III.A. 编码多聚体多肽的个别多肽链的单独核酸

[0753] 本公开提供包含编码T细胞-MMP的核苷酸序列的核酸。如以上所指出,在一些情况下,T细胞-MMP的个别多肽链在独立的核酸中编码。在一些情况下,编码T细胞-MMP的独立多肽链的核苷酸序列可操作地连接至转录控制元件,例如,启动子,诸如在真核细胞中具有功能性的启动子,其中所述启动子可为组成型启动子或诱导型启动子。

[0754] 本公开提供第一核酸和第二核酸,其中所述第一核酸包含编码本公开的T细胞-MMP的第一多肽的核苷酸序列,其中所述第一多肽从N-末端至C-末端依次包含:a) 第一MHC多肽;和b) MOD(例如,如以上所描述的亲和力降低的变体MOD多肽);并且其中所述第二核酸包含编码T细胞-MMP的第二多肽的核苷酸序列,其中所述第二多肽从N-末端至C-末端依次包含:a) 第二MHC多肽;和b) Ig Fc多肽。适合的表位、MHC多肽、MOD和Ig Fc多肽如以上所描述。第一多肽和第二多肽中的至少一者包含化学缀合位点(或可转化成化学缀合位点的新生位点)。在一些情况下,编码第一多肽和第二多肽的核苷酸序列可操作地连接至转录控制元件。在一些情况下,转录控制元件为在真核细胞中具有功能性的启动子。在一些情况下,核酸存在于独立的表达载体中。

[0755] 本公开提供第一核酸和第二核酸,其中所述第一核酸包含编码T细胞-MMP的第一多肽的核苷酸序列,其中所述第一多肽包含第一MHC多肽;并且其中所述第二核酸包含编码T细胞-MMP的第二多肽的核苷酸序列,其中所述第二多肽从N-末端至C-末端依次包含:a) MOD(例如,如以上所描述的亲和力降低的变体MOD多肽);b) 第二MHC多肽;以及c) Ig Fc多肽。适合的MHC多肽、MOD和IgFc多肽如以上所描述。第一多肽和第二多肽中的至少一者包含化学缀合位点。在一些情况下,编码第一多肽和第二多肽的核苷酸序列可操作地连接至转录控制元件。在一些情况下,转录控制元件为在真核细胞中具有功能性的启动子。在一些情况下,核酸存在于独立的表达载体中。

[0756] III.B. 编码T细胞-MMP中存在的两个或更多个多肽的核酸

[0757] 本公开提供一种包含编码T细胞-MMP的至少第一多肽和第二多肽的核苷酸序列的核酸。在一些情况下,在本公开的T细胞-MMP包含第一多肽、第二多肽和第三多肽时,核酸包含编码所述第一多肽、第二多肽和第三多肽的核苷酸序列。在一些情况下,编码T细胞-MMP的第一多肽和第二多肽的核苷酸序列包含插入编码第一多肽的核苷酸序列与编码第二多肽的核苷酸序列之间的蛋白水解可裂解接头。在一些情况下,编码T细胞-MMP的第一多肽和第二多肽的核苷酸序列包含插入编码第一多肽的核苷酸序列与编码第二多肽的核苷酸序列之间的内部核糖体进入位点(IRES)。在一些情况下,编码T细胞-MMP的第一多肽和第二多肽的核苷酸序列包含插入编码第一多肽的核苷酸序列与编码第二多肽的核苷酸序列之间的核糖体跳跃信号(或顺式作用水解酶元件,CHYSEL)。核酸的实例如以下所描述,其中蛋白水解可裂解接头提供在编码T细胞-MMP的第一多肽和第二多肽的核苷酸序列之间;在这些实施方案中的任一者中,可使用IRES或核糖体跳跃信号来替代编码蛋白水解可裂解接头的核苷酸序列。

[0758] 在一些情况下,如本文中所提供,第一核酸(例如,重组表达载体、mRNA、病毒RNA等)包含编码T细胞-MMP的第一多肽链的核苷酸序列;并且第二核酸(例如,重组表达载体、

mRNA、病毒RNA等) 包含编码T细胞-MMP的第二多肽链的核苷酸序列。在一些情况下, 编码第一多肽的核苷酸序列和编码第二多肽的第二核苷酸序列各自可操作地连接至转录控制元件, 例如, 启动子, 诸如在真核细胞中具有功能性的启动子, 其中所述启动子可为组成型启动子或诱导型启动子。

[0759] 本公开提供包含编码重组多肽的核苷酸序列的核酸, 其中所述重组多肽从N-末端至C-末端依次包含以下元件: a) 第一MHC多肽; b) MOD (例如, 如以上所描述的亲和力降低的变体); c) 蛋白水解可裂解接头; d) 第二MHC多肽; 以及e) 免疫球蛋白 (Ig) Fc多肽; 其中所述元件中的至少一者包含在细胞加工期间未被移除的化学缀合位点。本公开提供包含编码重组多肽的核苷酸序列的核酸, 其中所述重组多肽从N-末端至C-末端依次包含以下元件: a) 第一前导肽; b) 第一MHC多肽; c) MOD (例如, 如以上所描述的亲和力降低的变体); d) 蛋白水解可裂解接头; e) 第二前导肽; f) 第二MHC多肽; 以及g) Ig Fc多肽; 其中所述元件中的至少一者包含在细胞加工期间未被移除的化学缀合位点。本公开提供包含编码重组多肽的核苷酸序列的核酸, 其中所述重组多肽从N-末端至C-末端依次包含以下元件: a) 第一MHC多肽; b) 蛋白水解可裂解接头; c) MOD (例如, 如以上所描述的亲和力降低的变体); d) 第二MHC多肽; 以及e) Ig Fc多肽; 其中所述元件中的至少一者包含在细胞加工期间未被移除的化学缀合位点。在一些情况下, 第一前导肽和第二前导肽为 β 2M前导肽。在一些情况下, 核苷酸序列可操作地连接至转录控制元件。在一些情况下, 转录控制元件为在真核细胞中具有功能性的启动子。

[0760] 适合的MHC多肽如以上所描述。在一些情况下, 第一MHC多肽为 β 2-微球蛋白多肽; 并且第二MHC多肽为I类MHC重链多肽。在一些情况下, β 2-微球蛋白多肽包含与图4中所描绘的 β 2M氨基酸序列具有至少约85% (例如, 至少约90%、95%、98%、99%或甚至100%) 氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况下, I类MHC重链多肽为HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-E、HLA-F、HLA-G、HLA-K或HLA-L重链。在一些情况下, I类MHC重链多肽包含与图3A至图3D中的任一者中所描绘的氨基酸序列具有至少85%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在此类实施方案中, I类MHC重链多肽可能不包含跨膜锚定结构域 (例如, 所述重链多肽包含图3D中的序列)。

[0761] 适合的Fc多肽如以上所描述。在一些情况下, Ig Fc多肽为IgG1 Fc多肽、IgG2 Fc多肽、IgG3 Fc多肽、IgG4 Fc多肽、IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况下, Ig Fc多肽包含与图2A至图2G中所描绘的氨基酸序列具有至少85%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0762] 适合的免疫调节多肽 (MOD) 如以上所描述。

[0763] 在一些情况下, 所述蛋白水解可裂解接头以及任何其他蛋白水解可裂解接头包含选自由以下组成的组的氨基酸序列: a) LEVLFQGP (SEQ ID NO:40); b) ENLYTQS (SEQ ID NO:41); c) DDDDK (SEQ ID NO:42); d) LVPR (SEQ ID NO:43); 以及e) GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO:44)。

[0764] 在一些情况下, 提供附接至第一MHC多肽的包含第一Cys残基的接头, 并且第二MHC多肽包含氨基酸取代以提供第二 (工程改造的) Cys残基, 使得第一Cys残基和第二Cys残基在接头与第二MHC多肽之间提供二硫键联。在一些情况下, 第一MHC多肽包含氨基酸取代以提供第一工程改造的Cys残基, 并且第二MHC多肽包含氨基酸取代以提供第二工程改造的Cys残基, 使得第一Cys残基和第二Cys残基在第一MHC多肽与第二MHC多肽之间提供二硫键

联。如以上所论述,在提供二硫桥时,有可能使用硫醇反应剂或双硫醇接头来并入有效负载或表位。

[0765] III.C. 重组表达载体

[0766] 本公开提供包含本公开的核酸的重组表达载体。在一些情况下,重组表达载体为非病毒载体。在一些实施方案中,重组表达载体为病毒构建体,例如重组腺相关病毒构建体(参见例如美国专利号7,078,387)、重组腺病毒构建体、重组慢病毒构建体、重组逆转录病毒构建体、非整合病毒载体等。

[0767] 适合的表达载体包括但不限于病毒载体(例如基于痘苗病毒的病毒载体;基于脊髓灰质炎病毒的病毒载体;基于腺病毒的病毒载体(参见例如Li等人,Invest Ophthalmol Vis Sci 35:2543-2549,1994;Borrás等人,Gene Ther 6:515-524,1999;Li和Davidson,PNAS 92:7700-7704,1995;Sakamoto等人,H Gene Ther 5:1088-1097,1999;WO 94/12649、WO 93/03769;WO 93/19191;WO 94/28938;WO 95/11984和WO 95/00655);基于腺相关病毒的病毒载体(参见例如Ali等人,Hum Gene Ther 9:81-86,1998;Flannery等人,PNAS 94:6916-6921,1997;Bennett等人,Invest Ophthalmol Vis Sci 38:2857-2863,1997;Jomary等人,Gene Ther 4:683-690,1997;Rolling等人,Hum Gene Ther 10:641-648,1999;Ali等人,Hum Mol Genet 5:591-594,1996;Srivastava,WO 93/09239;Samulski等人,J. Vir. (1989) 63:3822-3828;Mendelson等人,Viol. (1988) 166:154-165;以及Flotte等人,PNAS (1993) 90:10613-10617);基于SV40的病毒载体;基于单纯疱疹病毒的病毒载体;基于人免疫缺陷病毒的病毒载体(参见例如Miyoshi等人,PNAS 94:10319-23,1997;Takahashi等人,J Virol 73:7812-7816,1999);逆转录病毒载体(例如鼠类白血病病毒、脾脏坏死病毒和来源于诸如劳氏肉瘤病毒、哈维氏肉瘤病毒、禽白血病病毒、慢病毒、人免疫缺陷病毒、骨髓增殖性肉瘤病毒和乳腺癌病毒的逆转录病毒的载体)等。

[0768] 众多适合的表达载体对本领域的技术人员为已知的,并且许多可商购。提供以下载体以例如用于真核生物宿主细胞:pXT1、pSG5 (Stratagene)、pSVK3、pBPV、pMSG和pSVLSV40 (Pharmacia)。然而,可使用任何其他载体,只要其与宿主细胞相容即可。

[0769] 取决于所利用的宿主/载体系统,众多适合的转录和翻译控制元件,包括组成型启动子和诱导型启动子、转录增强子元件、转录终止子等中的任一者均可用于表达载体(参见例如Bitter等人(1987) Methods in Enzymology, 153:516-544)。

[0770] 在一些实施方案中,编码DNA靶向性RNA和/或定点修饰多肽的核苷酸序列可操作地连接至控制元件,例如转录控制元件,诸如启动子。转录控制元件可在真核细胞(例如哺乳动物细胞)或原核细胞(例如细菌细胞或古细菌细胞)中具有功能性。在一些实施方案中,编码DNA靶向性RNA和/或定点修饰多肽的核苷酸序列可操作地连接至多个控制元件,从而允许在原核细胞和真核细胞中表达编码DNA靶向性RNA和/或定点修饰多肽的核苷酸序列。

[0771] 适合的真核生物启动子(在真核细胞中具有功能性的启动子)的非限制性实施例包括来自巨细胞病毒(CMV)立即早期、单纯疱疹病毒(HSV)胸苷激酶、早期和晚期SV40、逆转录病毒的长末端重复序列(LTR)和小鼠金属硫蛋白-I的那些启动子。适当载体和启动子的选择完全在一般技术人员的能力范围内。表达载体还可含有用于翻译起始的核糖体缀合位点,和转录终止子。表达载体还可包括适用于增强表达的序列。

[0772] IV. 宿主细胞

[0773] 本公开提供一种经遗传修饰的宿主细胞,其中所述宿主细胞用本公开的核酸进行遗传修饰。

[0774] 适合的宿主细胞包括真核细胞,诸如酵母细胞、昆虫细胞和哺乳动物细胞。在一些情况下,宿主细胞为哺乳动物细胞系的细胞。适合的哺乳动物细胞系包括人细胞系、非人灵长类动物细胞系、啮齿动物(例如小鼠、大鼠)细胞系等。适合的哺乳动物细胞系包括但不限于HeLa细胞(例如,美国典型培养物保藏中心(ATCC)编号CCL-2™)、CHO细胞(例如ATCC编号CRL-9618™、CCL-61™、CRL9096)、293细胞(例如,ATCC编号CRL-1573™)、Vero细胞、NIH 3T3细胞(例如,ATCC编号CRL-1658)、Huh-7细胞、BHK细胞(例如,ATCC编号CCL-10™)、PC12细胞(ATCC编号CRL-1721™)、COS细胞、COS-7细胞(ATCC编号CRL1651)、RAT1细胞、小鼠L细胞(ATCC编号CCL1.3)、人胚肾(HEK)细胞(ATCC编号CRL1573)、HLHepG2细胞等。

[0775] 在一些情况下,宿主细胞为已经遗传修饰以使其不合成内源MHCβ2M和/或使其不合成内源I类MHC重链(MHC-H)的哺乳动物细胞。除上述以外,上文论述用于包含硫酸酯酶基序的T细胞-MMP的表达甲酰甘氨酸产生酶(FGE)活性的宿主细胞,并且适宜对此类细胞进行修饰以使其不表达内源MHCβ2M和MHC-H蛋白中的至少一者,甚至两者。

[0776] V.组合物

[0777] 本公开提供包含一种或多种T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物的组合物,包括药物组合物。本公开提供包含本公开的核酸或重组表达载体的组合物,包括药物组合物。

[0778] V.A.包含T细胞-MMP的组合物

[0779] 本公开的组合物可包含本公开的T细胞-MMP以及以下中的一者或多者:盐,例如NaCl、MgCl₂、KCl、MgSO₄等;缓冲液,例如Tris缓冲液、N-(2-羟乙基)哌嗪-N'-(2-乙磺酸)(HEPES)、2-(N-吗啉代)乙磺酸(MES)、2-(N-吗啉代)乙磺酸钠盐(MES)、3-(N-吗啉代)丙磺酸(MOPS)、N-三[羟甲基]甲基-3-氨基丙磺酸(TAPS)等;增溶剂;洗涤剂,例如非离子洗涤剂,诸如Tween-20等;蛋白酶抑制剂;甘油;等。

[0780] 所述组合物可包含药学上可接受的赋形剂,其中多种为本领域中已知的并且已知无需在本文中详细论述。药学上可接受的赋形剂已详尽描述于多种出版物中,包括例如“Remington:The Science and Practice of Pharmacy”,第19版(1995)或最新版本,Mack Publishing Co;A.Gennaro(2000)“Remington:The Science and Practice of Pharmacy”,第20版,Lippincott,Williams,&Wilkins;Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems(1999)H.C.Ansel等人编,第7版,Lippincott,Williams,&Wilkins;以及Handbook of Pharmaceutical Excipients(2000)A.H.Kibbe等人编,第3版,Amer.Pharmaceutical Assoc。

[0781] 药物组合物可包含本公开的T细胞-MMP和药学上可接受的赋形剂。在一些情况下,主题药物组合物将适合于施用至受试者,例如,将为无菌的。举例而言,在一些实施方案中,主题药物组合物将适合于施用至人受试者,例如,其中所述组合物为无菌的并且不含可检测的热原和/或其他毒素。

[0782] 蛋白质组合物可包含其他组分,诸如药物级甘露糖醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、滑石、纤维素、葡萄糖、蔗糖、镁、碳酸盐等。所述组合物在需要接近生理条件时可含有药学上可接受的辅助物质,诸如pH值调节和缓冲剂、毒性调节剂等,例如乙酸钠、氯化钠、氯化钾、氯化钙、乳酸钠、盐酸盐、硫酸盐、溶剂合物(例如,混合离子盐、水、有机物)、水合物(例

如,水)等。

[0783] 举例而言,组合物可包括(例如,呈以下形式)水溶液、粉末、颗粒、片剂、丸剂、栓剂、胶囊、悬浮液、喷雾剂等。可根据以下所描述的各种施用途来配制组合物。

[0784] 在本公开的T细胞-MMP作为可注射剂直接施用至组织中(例如,经皮下、腹膜内、肌肉内和/或静脉内)时,可将制剂提供为即用剂型、非水性形式(例如可复原型储存稳定粉末)或水性形式,诸如由药学上可接受的载体和赋形剂构成的液体。还可提供含蛋白质的制剂以便在施用后增强主题蛋白质的血清半衰期。举例而言,可将蛋白质提供于脂质粒制剂中,制备为胶体,或用于延长血清半衰期的其他常规技术。多种方法可用于制备脂质粒,如例如Szoka等人,1980Ann.Rev.Biophys.Bioeng.9:467、美国专利号4,235,871、4,501,728和4,837,028中所描述。所述制剂还可呈控制释放或缓慢释放形式提供。

[0785] 适用于胃肠外施用的制剂的其他实例包括等渗无菌注射溶液、抗氧化剂、抑菌剂和致使制剂与预定受体的血液等渗的溶质、悬浮剂、增溶剂、增稠剂、稳定剂和防腐剂。举例而言,主题药物组合物可存在于容器,例如无菌容器,诸如注射器中。制剂可存在于单位剂量或多剂量密封容器中,诸如安瓿和小瓶,并且可储存在冷冻干燥(冻干)条件下,从而仅需要在临使用前添加无菌液体赋形剂,例如注射用水。可由无菌粉末、颗粒剂和片剂来制备临时注射溶液和悬浮液。

[0786] 制剂中的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物的浓度可广泛变化(例如,以重量计低于约0.1%,通常为或至少为约2%至高达20%至50%或更高),并且通常将主要基于流体体积、粘度和基于患者的因素,根据所选特定施用模式和患者的需要进行选择。

[0787] 本公开提供一种包含本公开组合物,例如液体组合物的容器。容器可为例如注射器、安瓿等。在一些情况下,容器为无菌的。在一些情况下,容器和组合物两者均为无菌的。

[0788] 本公开提供包含T细胞-MMP或其表位缀合物的组合物,包括药物组合物。组合物可包含:a) T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物;以及b) 如以上针对T细胞-MMP以及它们的表位缀合物所描述的赋形剂。在一些情况下,赋形剂为药学上可接受的赋形剂。

[0789] 在一些情况下,T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物存在于液体组合物中。因此,本公开提供包含本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物的组合物(例如,液体组合物,包括药物组合物)。在一些情况下,本公开的组合物包含:a) 本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物;以及b) 生理盐水(例如,0.9%或约0.9%NaCl)。在一些情况下,组合物为无菌的。在一些情况下,组合物适合于施用至人受试者,例如在组合物为无菌的并且不含可检测的热原和/或其他毒素时。因此,本公开提供一种组合物,所述组合物包含:a) T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物;以及b) 生理盐水(例如,0.9%或约0.9%NaCl),其中所述组合物为无菌的并且不含可检测的热原和/或其他毒素。

[0790] VI. 包含核酸或重组表达载体的组合物

[0791] 本公开提供包含本公开的核酸或重组表达载体的组合物,例如药物组合物。多种药学上可接受的赋形剂为本领域中已知的并且无需在本文中详细论述。药学上可接受的赋形剂已详尽描述于多种出版物中,包括例如A.Gennaro(2000)“Remington:The Science and Practice of Pharmacy,”第20版,Lippincott,Williams,&Wilkins;Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems(1999)H.C.Ansel等人编,第7版,Lippincott,Williams,&Wilkins;以及Handbook of Pharmaceutical Excipients(2000)A.H.Kibbe等

人编,第3版,Amer.Pharmaceutical Assoc.

[0792] 本公开的组合物可包含:a)包含编码T细胞-MMP的核苷酸序列的一种或多种核酸或者一种或多种重组表达载体;以及b)以下中的一种或多种:缓冲剂、表面活性剂、抗氧化剂、亲水性聚合物、糊精、螯合剂、悬浮剂、增溶剂、增稠剂、稳定剂、抑菌剂、润湿剂和防腐剂。适合的缓冲剂包括但不限于(例如)N,N-双(2-羟乙基)-2-氨基乙磺酸(BES)、双(2-羟乙基)氨基-三(羟甲基)甲烷(BIS-Tris)、N-(2-羟乙基)哌嗪-N'3-丙磺酸(EPPS或HEPPS)、甘氨酸基甘氨酸、N-2-羟乙基哌嗪-N'-2-乙磺酸(HEPES)、3-(N-吗啉代)丙磺酸(MOPS)、哌嗪-N,N'-双(2-乙烷-磺酸)(PIPES)、碳酸氢钠、3-(N-三(羟甲基)-甲基-氨基)-2-羟基-丙磺酸(TAPSO)、(N-三(羟甲基)甲基-2-氨基乙磺酸(TES)、N-三(羟甲基)甲基-甘氨酸(Tricine)、三(羟甲基)-氨基甲烷(Tris)等)。适合的盐包括例如NaCl、MgCl₂、KCl、MgSO₄等。

[0793] 本公开的药物制剂可包含约0.001%至约90%(w/w)的量的本公开的核酸或重组表达载体。以下在描述制剂时,“主题核酸或重组表达载体”应理解为包括本公开的核酸或重组表达载体。举例而言,在一些实施方案中,主题制剂包含本公开的核酸或重组表达载体。

[0794] 主题核酸或重组表达载体可与其他化合物或化合物混合物混合、囊封、结合或以其他方式缔合;此类化合物可包括例如脂质粒或受体靶向性分子。主题核酸或重组表达载体可与一种或多种有助于摄取、分布和/或吸收的组分组合于制剂中。

[0795] 主题核酸或重组表达载体组合物可配制成许多可能剂型中的任一种,诸如但不限于片剂、胶囊剂、凝胶胶囊剂、液体糖浆、软凝胶剂、栓剂和灌肠剂。主题核酸或重组表达载体组合物还可配制为处于水性、非水性或混合性介质中的悬浮液。水性悬浮液可更含有增加悬浮液的粘度的物质,包括例如羧甲基纤维素钠盐、山梨糖醇和/或聚葡萄糖。悬浮液还可含有稳定剂。

[0796] 包含主题核酸或重组表达载体的制剂可为脂质粒制剂。如本文中所使用,术语“脂质粒”意指由排列在一个或多个球形双层中的两亲脂质构成的囊泡。脂质粒为具有由亲脂性材料形成的膜和含有待递送的组合物的水性内部的单层或多层囊泡。阳离子脂质粒为可与带负电DNA分子相互作用以形式稳定复合物的带正电脂质粒。据信pH值敏感性脂质粒或带负电脂质粒捕获DNA而非与其复合。阳离子脂质粒和非阳离子脂质粒均可用于递送主题核酸或重组表达载体。

[0797] 脂质粒还包括“空间稳定型脂质粒”,如本文中所使用,所述术语是指包含一种或多种当并入脂质粒中时引起循环寿命相对于缺乏此类特化脂质的脂质粒有所增加的特化脂质的脂质粒。空间稳定型脂质粒的实例为脂质粒的囊泡形成脂质部分的一部分包含一种或多种糖脂或用一种或多种亲水性聚合物,诸如聚乙二醇(PEG)部分进行衍生化的那些脂质粒。美国专利号6,287,860中进一步描述脂质粒及其用途,所述专利以引用的方式整体并入本文中。

[0798] 本公开的制剂和组合物还可包括表面活性剂。表面活性剂在药物产品、制剂和乳液中的用途为本领域中熟知的。美国专利号6,287,860中进一步描述表面活性剂及其用途。

[0799] 在一个实施方案中,包括各种渗透增强剂,以实现核酸的有效递送。除辅助非亲脂性药物扩散越过细胞膜以外,渗透增强剂还增强亲脂性药物的渗透性。渗透增强剂可分类为属于五个大类之一,即,表面活性剂、脂肪酸、胆汁盐、螯合剂和非螯合性非表面活性剂。

美国专利号6,287,860中进一步描述渗透增强剂及其用途,所述专利以引用的方式整体并入本文中。

[0800] 用于经口施用的组合物和制剂包括粉末或颗粒剂、微粒、纳米粒子、水或非水性介质中的悬浮液或溶液、胶囊、凝胶胶囊、扁囊、片剂或微型片剂。可能需要增稠剂、调味剂、稀释剂、乳化剂、分散助剂或粘合剂。适合的经口制剂包括施用主题反义核酸连同一种或多种渗透增强剂、表面活性剂和螯合剂的那些经口制剂。适合的表面活性剂包括但不限于脂肪酸和/或其酯或盐、胆汁酸和/或其盐。美国专利号6,287,860中进一步描述适合的胆汁酸/盐和脂肪酸及其用途。渗透增强剂的组合,例如脂肪酸/盐与胆汁酸/盐的组合也为适合的。示例性适合的组合为月桂酸、羊脂酸和UDCA的钠盐。其他渗透增强剂包括但不限于聚氧化乙烯-9-月桂醚和聚氧化乙烯-20-鲸蜡醚。适合的渗透增强剂还包括丙二醇、二甲亚砜、三乙醇胺、N,N-二甲基乙酰胺、N,N-二甲基甲酰胺、2-吡咯烷酮及其衍生物、四氢呋喃醇和AZONE™。

[0801] VII调节T细胞活性的方法

[0802] T细胞-MMP和在一些情况下T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物上的MOD可携带有效负载。缺乏表位的T细胞-MMP可用于将有效负载递送至由MOD定义的T细胞类别和/或作为刺激或抑制那些类别的T细胞的手段。在其他情况下,在T细胞-MMP已结合至表位(即,其为T细胞-MMP-表位缀合物)时,缀合物与T细胞接触引起表位特异性T细胞调节。在一些情况下,所述接触在体内发生(例如,在哺乳动物中,诸如人、大鼠、小鼠、狗、猫、猪、马或灵长类动物)。在一些情况下,所述接触在体外发生。在一些情况下,所述接触离体发生。

[0803] 本公开提供一种选择性地调节表位特异性T细胞的活性的方法,所述方法包括使T细胞与本公开的T细胞-MMP-表位缀合物接触,其中T细胞与本公开的T细胞-MMP-表位缀合物接触选择性地调节表位特异性T细胞的活性。在一些情况下,所述接触在体外发生。在一些情况下,所述接触在体内发生。在一些情况下,所述接触离体发生。

[0804] 在一些情况下,例如,在靶T细胞为CD8⁺T细胞时,T细胞-MMP-表位缀合物包含I类MHC多肽(例如, β 2-微球蛋白和I类MHC重链)。

[0805] 在本公开的T细胞-MMP-表位缀合物包括作为活化多肽的MOD时,T细胞与T细胞-MMP-表位缀合物接触使表位特异性T细胞活化。在一些情况下,表位特异性T细胞为对癌细胞上存在的表位具有特异性的T细胞,并且表位特异性T细胞与T细胞-MMP-表位缀合物接触增加T细胞对癌细胞的细胞毒性活性。在一些情况下,表位特异性T细胞为对癌细胞上存在的表位具有特异性的T细胞,并且表位特异性T细胞与T细胞-MMP-表位缀合物接触增加表位特异性T细胞的数目。

[0806] 在一些情况下,表位特异性T细胞为对病毒感染细胞上存在的表位具有特异性的T细胞,并且表位特异性T细胞与T细胞-MMP-表位缀合物接触增加T细胞对病毒感染细胞的细胞毒性活性。在一些情况下,表位特异性T细胞为对病毒感染细胞上存在的表位具有特异性的T细胞,并且表位特异性T细胞与T细胞-MMP-表位缀合物接触增加表位特异性T细胞的数目。

[0807] 在本公开的T细胞-MMP-表位缀合物包括作为抑制多肽的MOD时,T细胞与多聚体接触抑制表位特异性T细胞。在一些情况下,表位特异性T细胞为对自身抗原中存在的表位具有特异性的自身反应性T细胞,并且所述接触减少自身反应性T细胞的数目。

[0808] VIII选择性地递送共刺激多肽(MOD)的方法

[0809] 本公开提供一种将MOD或天然存在的MOD的亲合力降低的变体(诸如本文中所公开的变体)递送至所选T细胞或所选T细胞群体,例如以靶向对指定表位具有特异性的TCR的方式进行此举的方法。本公开提供一种将MOD或本文中所公开的天然存在的MOD的亲合力降低的变体选择性地递送至携带对本公开的T细胞-MMP-表位缀合物中存在的表位具有特异性的TCR的靶T细胞的方法。所述方法包括使T细胞群体与本公开的T细胞-MMP-表位缀合物接触。T细胞群体可为包含以下的混合群体:i)靶T细胞;和ii)对表位不具有特异性的非靶T细胞(例如,对除表位特异性T细胞结合的表位以外的表位具有特异性的T细胞)。表位特异性T细胞对T细胞-MMP表位缀合物中存在的表位呈递肽具有特异性,并且结合至由T细胞-MMP表位缀合物提供的肽HLA复合物或肽MHC复合物。因此,T细胞群体与T细胞-MMP表位缀合物接触将共刺激多肽(例如,如本文中所描述的野生型MOD或野生型MOD的亲合力降低的变体)选择性地递送至对T细胞-MMP表位缀合物中存在的表位具有特异性的T细胞。

[0810] 因此,本公开提供一种将MOD(诸如IL-2)或本文中所公开的天然存在的MOD的亲合力降低的变体(诸如IL-2变体)或两者的组合选择性地递送至靶T细胞的方法,所述方法包括使混合T细胞群体与本公开的T细胞-MMP-表位缀合物接触。混合T细胞群体包含靶T细胞和非靶T细胞。靶T细胞对T细胞-MMP-表位缀合物内存在的表位具有特异性。混合T细胞群体与本公开的T细胞-MMP-表位缀合物接触将T细胞-MMP-表位缀合物内所存在的MOD递送至靶T细胞。

[0811] 举例而言,使本公开的T细胞-MMP表位缀合物与包含以下的T细胞群体接触:i)对T细胞-MMP-表位缀合物中存在的表位具有特异性的靶T细胞;和ii)非靶T细胞,例如,对除T细胞-MMP-表位缀合物中存在的表位以外的第二表位具有特异性的T细胞。接触所述群体引起T细胞-MMP-表位缀合物中存在的MOD(例如,天然存在的MOD(例如,天然存在的IL-2)或天然存在的MOD的亲合力降低的变体(例如,本文中所公开的IL-2变体))选择性递送至靶T细胞。因此,例如,少于50%、少于40%、少于30%、少于25%、少于20%、少于15%、少于10%、少于5%或少于4%、3%、2%或1%的非靶T细胞结合T细胞-MMP表位缀合物,并且因此,共刺激多肽(例如,IL-2或IL-2变体)未递送至非靶T细胞。作为另一个实例,接触所述群体引起T细胞-MMP-表位缀合物中存在的共刺激多肽(例如,天然存在的共刺激多肽(例如,天然存在的4-1BBL)或天然存在的共刺激多肽的亲合力降低的变体(例如,本文中所公开的4-1BBL变体))选择性递送至靶T细胞。因此,例如,少于50%、少于40%、少于30%、少于25%、少于20%、少于15%、少于10%、少于5%或少于4%、3%、2%或1%的非靶T细胞结合T细胞-MMP表位缀合物,并且因此,共刺激多肽(例如,4-1BBL或4-1BBL变体)未递送至非靶T细胞。

[0812] 在一些情况下,T细胞群体在体外。在一些情况下,T细胞群体在体外,并且在体外培养的情况下引发靶T细胞群体对本公开的T细胞-MMP-表位缀合物的生物应答(例如,T细胞活化和/或扩增和/或表型分化)。举例而言,混合T细胞群体可获自个体,并且可在体外与T细胞-MMP-表位缀合物接触。这种接触可包括T细胞群体单次或多次暴露于所定义的剂量和/或暴露时程。在一些情况下,所述接触引起选择性地结合/活化和/或扩增T细胞群体内的靶T细胞,并且引起产生活化的和/或扩增的靶T细胞的群体。举例而言,混合T细胞群体可为外周血单核细胞(PBMC)。举例而言,可通过标准抽血和PBMC富集技术来获得患者的PBMC,随后在标准淋巴细胞培养条件下暴露于0.1-1000nM的本公开的多聚体多肽。在混合T细胞

群体以所定义的剂量和时程暴露之前、期间和之后的时间点,可通过特定肽-MHC多聚体和/或表型标记物和/或功能活性(例如,细胞因子ELISpot测定)来监测体外培养物中靶T细胞的丰度。在一些情况下,在体外实现抗原特异性细胞的最佳丰度和/或表型后,将活化的和/或扩增的靶T细胞的群体的全部或部分施用至个体(获得混合T细胞群体的个体)。

[0813] 在一些情况下,T细胞群体在体外。举例而言,混合T细胞群体可获自个体,并且可在体外与本公开的T细胞-MMP-表位缀合物接触。这种接触(其可包括在体外细胞培养的情况下T细胞单次或多次暴露于所定义的剂量和/或暴露时程)可用于确定混合T细胞群体是否包括对T细胞-MMP-表位缀合物所呈递的表位具有特异性的T细胞。对T细胞-MMP-表位缀合物的表位具有特异性的T细胞的存在可通过测定包含混合T细胞群体的样品来确定,所述T细胞群体包含对所述表位不具有特异性的T细胞(非靶T细胞)并且可包含对所述表位具有特异性的T细胞(靶T细胞)。可使用已知测定来检测靶T细胞的活化和/或增殖,从而提供可确定特定T细胞-MMP-表位缀合物是否具有结合至个体中存在的T细胞的表位并且因此确定所述T细胞-MMP-表位缀合物是否具有作为用于所述个体的治疗组合物的潜在用途的离体测定。适用于检测靶T细胞的活化和/或增殖的已知测定包括例如T细胞表型和/或抗原特异性和/或增殖的流式细胞表征。这种用于检测表位特异性T细胞的存在测定,例如,伴随诊断,可进一步包括额外的测定(例如,效应细胞因子ELISpot测定)和/或适当的对照物(例如抗原特异性和抗原非特异性多聚体肽-HLA染色试剂),以确定T细胞-MMP-表位缀合物是否选择性地结合/活化和/或扩增靶T细胞。因此,举例而言,本公开提供一种检测获自个体的混合T细胞群体中结合目标表位的靶T细胞存在的方法,所述方法包括:a)在体外使混合T细胞群体与本公开的T细胞-MMP-表位缀合物接触,其中所述T细胞-MMP-表位缀合物包含目标表位;以及b)检测T细胞响应于所述接触的活化和/或增殖,其中活化的和/或增殖的T细胞指示存在靶T细胞。替代地和/或另外地,如果使用T细胞-MMP-表位缀合物获得所需T细胞群体的活化和/或扩增(增殖),则可将包含活化的/扩增的T细胞的T细胞群体的全部或部分施用回至所述个体作为疗法。

[0814] 在一些情况下,T细胞群体在个体的体内。在此类情况下,本公开的用于将MOD(例如,IL-2或亲和力的降低IL-2;4-1BBL或亲和力降低的4-1BBL;PD-L1或亲和力降低的PD-L1;CD80或亲和力降低的CD80;或者CD86或亲和力降低的CD86)选择性地递送至表位特异性T细胞的方法包括向所述个体施用T细胞-MMP-表位缀合物。

[0815] 向其选择性地递送MOD(例如,IL-2或亲和力降低的IL-2;4-1BBL或亲和力降低的4-1BBL;PD-L1或亲和力降低的PD-L1;CD80或亲和力降低的CD80;或者CD86或亲和力降低的CD86)的表位特异性T细胞在本文中还可称为“靶T细胞”。在一些情况下,靶T细胞为调控性T细胞(Treg)。在一些情况下,Treg抑制或阻抑自身反应性T细胞的活性。

[0816] 在一些情况下,靶T细胞为细胞毒性T细胞。举例而言,靶T细胞可为对癌症表位(例如,由癌细胞呈递的表位)具有特异性的细胞毒性T细胞。

[0817] XI. 治疗方法

[0818] 本公开提供一种选择性地调节个体的表位特异性T细胞的活性(例如,治疗个体)的方法,所述方法包括向所述个体施用一定量的本公开的T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物或者一种或多种编码T细胞-MMP的核酸,所述T细胞-MMP在缀合至表位之后对选择性地调节个体的表位特异性T细胞的活性有效。还提供本公开的T细胞-MMP表位缀合物以用于治

疗人或动物体的方法中。在一些情况下,本公开的治疗方法包括向有需要的个体施用一种或多种包含编码本公开的T细胞-MMP的核苷酸序列的重组表达载体。在一些情况下,本公开的治疗方法包括向有需要的个体施用一种或多种包含编码本公开的T细胞-MMP的核苷酸序列的mRNA分子。在一些情况下,本公开的治疗方法包括向有需要的个体施用本公开的T细胞-MMP-表位缀合物。可治疗的疾患包括感染、癌症和自身免疫病症,其中一些的实施例如以下所描述。

[0819] 在一些情况下,本公开的T细胞-MMP表位缀合物在施用至有需要的个体时诱导表位特异性T细胞应答和表位非特异性T细胞应答。换言之,在一些情况下,本公开的T细胞-MMP-表位缀合物在施用至有需要的个体时通过调节展示以下两者的第一T细胞的活性而诱导表位特异性T细胞应答:i)对T细胞-MMP中存在的表位具有特异性的TCR;和ii)结合至T细胞-MMP-表位缀合物中存在的MOD的Co-MOD;并且通过调节展示以下的第二T细胞的活性而诱导表位非特异性T细胞应答:i)对除T细胞-MMP中存在的表位以外的表位具有特异性的TCR;和ii)结合至T细胞-MMP中存在的MOD的Co-MOD。表位特异性T细胞应答与表位非特异性T细胞应答的比率为至少2:1、至少5:1、至少10:1、至少15:1、至少20:1、至少25:1、至少50:1或至少100:1。表位特异性T细胞应答与表位非特异性T细胞应答的比率为约2:1至约5:1、约5:1至约10:1、约10:1至约15:1、约15:1至约20:1、约20:1至约25:1、约25:1至约50:1、约50:1至约100:1,或超过100:1。“调节T细胞的活性”可包括以下中的一项或多项:i)活化细胞毒性(例如CD8⁺)T细胞;ii)诱导细胞毒性(例如CD8⁺)T细胞的细胞毒性活性;iii)诱导细胞毒性(例如CD8⁺)T细胞的细胞毒素(例如,穿孔素;颗粒酶;颗粒溶素)的产生和释放;iv)抑制自身反应性T细胞的活性等。

[0820] 在实施方案中,诸如在患者总体上受免疫抑制时,可向患者施用一种或多种携带独立选择的MOD(例如,野生型)或对其Co-MOD具有降低的亲力的变体MOD的T细胞-MMP,以模拟其总体免疫状态/反应性(例如,如通过其对疫苗抗原或感染作出反应的能力所量度)。在其他实施方案中,诸如在患者总体上受免疫抑制时,可向患者施用一种或多种携带独立选择的MOD(例如,野生型)或对其Co-MOD具有降低的亲力的变体MOD的T细胞-MMP与T细胞-MMP-表位缀合物的组合,以模拟所述患者的免疫应答。

[0821] 在实施方案中,可向患者施用一种或多种携带独立选择的MOD(例如,野生型)或对其Co-MOD具有降低的亲力的变体MOD的T细胞-MMP连同针对病原体的疫苗(例如,蛋白质或核酸疫苗),以便模拟/增强产生针对病原体的免疫力。在另一个实施方案中,向患者施用一种或多种携带针对病原体的表位的T细胞-MMP-表位缀合物连同针对病原体的疫苗(例如,蛋白质或核酸疫苗),以模拟产生针对病原体的免疫力。在这种情况下,T细胞-MMP-表位缀合物可包含独立选择的MOD(例如,野生型)或对它们的Co-MOD具有降低的亲力的变体MOD。在施用T细胞-MMP连同疫苗(例如蛋白质或核酸)时,可将其与疫苗组合或处于在与疫苗施用相同或不同的时间施用的独立制剂中共施用。

[0822] MOD对其Co-MOD的降低的亲力与表位对TCR的亲力的组合提供本公开的T细胞-MMP-表位缀合物的增强的选择性。因此,举例而言,本公开的T细胞-MMP-表位缀合物相较于其结合至展示以下的第二T细胞的亲合力:i)对除T细胞-MMP-表位缀合物中存在的表位以外的表位具有特异性的TCR;和ii)结合至T细胞-MMP表位缀合物中存在的MOD的Co-MOD,以较高亲合力结合至展示以下两者的第一T细胞:i)对T细胞-MMP-表位缀合物中存在

的表位具有特异性的TCR;和ii)结合至T细胞-MMP-表位缀合物中存在的MOD的Co-MOD。

[0823] 本公开提供一种选择性地调节个体的表位特异性T细胞的活性的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的本公开的T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物,其中所述T细胞-MMP或其表位缀合物选择性地调节个体的表位特异性T细胞的活性。选择性地调节表位特异性T细胞的活性可治疗个体的疾病或病症。因此,本公开提供一种治疗方法,所述治疗方法包括向有需要的个体施用有效量的T细胞-MMP或其表位缀合物。

[0824] 在一些情况下,所述MOD为活化多肽,并且所述T细胞-MMP-表位缀合物活化表位特异性T细胞。在一些情况下,所述表位为癌症相关表位,并且所述T细胞-MMP-表位缀合物增加对所述癌症相关表位具有特异性的T细胞的活性。

[0825] 本公开提供一种治疗个体的癌症的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的本公开的T细胞-MMP-表位缀合物,其中所述T细胞-MMP-表位缀合物包含作为癌症表位的T细胞表位,并且其中所述T细胞-MMP-表位缀合物包含刺激性MOD。在一些情况下,T细胞-MMP-表位缀合物的“有效量”为当以一个或多个剂量施用至有需要的个体时使所述个体的癌细胞数目降低的量。举例而言,在一些情况下,本公开的T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物的“有效量”为当以一个或多个剂量施用至有需要的个体时使所述个体的癌细胞数目与所述个体在施用T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物之前或者在不施用T细胞-MMP-表位缀合物的情况下的癌细胞数目相比减少至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%或减少至不可检测的水平。在另一情况下,本公开的T细胞-MMP-表位缀合物的“有效量”为当以一个或多个剂量施用至有需要的个体时使所述个体的至少一个实体肿瘤的体积与所述肿瘤在施用T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物的第一个剂量时的体积相比减小至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%或减小至不可检测的水平。在另一情况下,本公开的T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物的“有效量”为当以一个或多个剂量施用至有需要的个体(存在肿瘤的个体)时使所述个体的癌细胞数目抑或至少一个肿瘤的体积降至不可检测的水平。在另一情况下,本公开的T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物的“有效量”为当以一个或多个剂量施用至有需要的个体(存在肿瘤的个体)时使所述个体的至少一个肿瘤的肿瘤体积减小的量。举例而言,在一些情况下,本公开的多聚体多肽的“有效量”为当以一个或多个剂量施用至有需要的个体(存在肿瘤的个体)时使肿瘤体积与所述个体在施用T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物之前或者在不施用T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物的情况下的肿瘤体积相比减小至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%或减小至不可检测的水平(体积)的量。在这种实施方案中,可基于肿瘤密度和体积来计算质量。

[0826] 在一些情况下,本公开的T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物的“有效量”为当以一个或多个剂量施用至有需要的个体(存在肿瘤的个体)时使所述个体的癌细胞数目抑或至少一个肿瘤的体积降至不可检测的水平。在另一情况下,本公开的T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物的“有效量”为当以一个或多个剂量施用至有需要的个体(存在肿瘤的个体)时使所述个体的至少一个肿瘤的肿瘤体积减小的量。举例而言,在一些情况下,本公开的多聚体多肽的“有效量”为当以一个或多个剂量施用至有需要的个体(存在肿瘤的个体)时使肿瘤体积与所述个体在施用T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物之前或者在不施用T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物的情况下的肿瘤体积相比减小至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%或减小至不可检测的水平(体积)的量。在这种实施方案中,可基于肿瘤密度和体积来计算质量。

[0827] 在一些情况下,本公开的T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物的“有效量”为当以一个或多个剂量施用至有需要的个体时使所述个体的存活时间增加的量。举例而言,在一些情况下,本公开的T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物的“有效量”为当以一个或多个剂量施用至有需要的个体时使所述个体的存活时间与所述个体在不施用T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物的情况下的预期存活时间相比增加至少1个月、至少2个月、至少3个月、3个月至6个月、6个月至1年、1年至2年、2年至5年、5年至10年或超过10年的量。

[0828] 在一些情况下,本公开的T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物的“有效量”为当以一个或多个剂量施用至有需要的个体群体中的个体时使所述群体的平均存活时间增加的量。举例而言,在一些情况下,本公开的T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物的“有效量”为当以一个或多个剂量施用至有需要的个体群体中的个体时使接受T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物的个体群体的存活时间与未接受T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物的个体的存活时间相比增加至少1个月、至少2个月、至少3个月、3个月至6个月、6个月至1年、1年至2年、2年至5年、5年至10年或超过10年的量;其中所述群体为年龄、性别、体重和疾病状态(疾病和进展程度)相匹配的群体。在一些情况下,表位特异性T细胞为对病毒感染细胞上存在的表位具有特异性的T细胞,并且表位特异性T细胞与T细胞-MMP-表位缀合物接触增加T细胞对病毒感染细胞的细胞毒性活性。在一些情况下,表位特异性T细胞为对病毒感染细胞上存在的表位具有特异性的T细胞,并且表位特异性T细胞与T细胞-MMP-表位缀合物接触增加表位特异性T细胞的数目。因此,本公开提供一种治疗个体的病毒感染的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的本公开的T细胞-MMP-表位缀合物,其中所述T细胞-MMP-表位缀合物包含作为病毒表位的T细胞表位,并且其中所述T细胞-MMP-表位缀合物包含刺激性MOD。在一些情况下,T细胞-MMP-表位缀合物的“有效量”为当以一个或多个剂量施用至有需要的个体时使所述个体的病毒感染细胞的数目减少的量。举例而言,在一些情况下,本公开的T细胞-MMP-表位缀合物的“有效量”为当以一个或多个剂量施用至有需要的个体时使所述个体的病毒感染细胞的数目与所述个体在施用T细胞-MMP-表位缀合物之前或在不施用T细胞-MMP-表位缀合物的情况下的病毒感染细胞的数目相比减少至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%的量。在一些情况下,本公开的T细胞-MMP-表位缀合物的“有效量”为当以一个或多个剂量施用至有需要的个体时使所述个体的病毒感染细胞的数目减少的量。

[0829] 本公开还提供一种治疗个体的感染的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物,其中所述T细胞-MMP-表位缀合物包含作为病原体相关表位的T细胞表位,并且其中所述T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物包含刺激性MOD。在一些情况下,T细胞-MMP的“有效量”为当以一个或多个剂量施用至有需要的个体时使所述个体的病原体数目减少的量。举例而言,在一些情况下,本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物的“有效量”为当以一个或多个剂量施用至有需要的个体时使所述个体的病原体数目与所述个体在施用T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物之前或者在不施用T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物的情况下的病原体数目相比减少至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%的量。在一些情况下,本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物的“有效量”为当以一个或多个剂量施用至有需要的个体时使所述个体

的病原体数目减至不可检测的水平的量。病原体包括病毒、细菌、原生动物等。

[0830] 在一些情况下,所述MOD为抑制性多肽,并且所述T细胞-MMP-表位缀合物抑制表位特异性T细胞的活性。在一些情况下,所述表位为自身表位,并且所述T细胞-MMP-表位缀合物选择性地抑制对自身表位具有特异性的T细胞的活性。

[0831] 本公开提供一种治疗个体的自身免疫病症的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的T细胞-MMP(或者包含编码所述T细胞-MMP的核苷酸序列的一种或多种核酸)和/或包含自身表位的T细胞-MMP表位缀合物,其中所述T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物包含抑制性MOD。在此类情况下,T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物的“有效量”为当以一个或多个剂量施用至有需要的个体时使自身反应性T细胞数目与所述个体在施用T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物之前和/或在不施用T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物的情况下的自身反应性T细胞数目相比减少至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%的量。在一些情况下,这种T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物的“有效量”为当以一个或多个剂量施用至有需要的个体时使所述个体的Th2细胞因子的产生减少(例如,至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%)的量。在一些情况下,这种T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物的“有效量”为当以一个或多个剂量施用至有需要的个体时改善所述个体的与自身免疫疾病相关的一种或多种症状的量。

[0832] 如以上所指出,在一些情况下,在进行主题治疗方法时,将本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物作为多肽本身施用至有需要的个体。在其他情况下,在进行主题治疗方法时,向有需要的个体施用包含编码本公开的T细胞-MMP的核苷酸序列的一种或多种核酸。因此,在其他情况下,向有需要的个体施用一种或多种本公开的核酸,例如,一种或多种本公开的重组表达载体。

[0833] X. 制剂

[0834] 适合的制剂如以上所描述,其中适合的制剂包含药学上可接受的赋形剂。在一些情况下,适合的制剂包含:a)本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物;以及b)药学上可接受的赋形剂。在一些情况下,适合的制剂包含:a)包含编码本公开的T细胞-MMP的核苷酸序列的核酸;以及b)药学上可接受的赋形剂;在一些情况下,所述核酸为mRNA。在一些情况下,适合的制剂包含:a)包含编码本公开的T细胞-MMP的第一多肽的核苷酸序列的第一核酸;b)包含编码本公开的T细胞-MMP的第二多肽的核苷酸序列的第二核酸;以及c)药学上可接受的赋形剂。在一些情况下,适合的制剂包含:a)包含编码本公开的T细胞-MMP的核苷酸序列的重组表达载体;以及b)药学上可接受的赋形剂。在一些情况下,适合的制剂包含:a)包含编码本公开的T细胞-MMP的第一多肽的核苷酸序列的第一重组表达载体;b)包含编码本公开的T细胞-MMP的第二多肽的核苷酸序列的第二重组表达载体;以及c)药学上可接受的赋形剂。

[0835] 适合的药学上可接受的赋形剂如以上所描述。

[0836] X.A. 剂量

[0837] 主治医师或其他合格医务人员可基于各种临床因素来确定适合的剂量。如医学领域中所熟知,任一患者的剂量均取决于许多因素,包括患者的体型、体表面积、年龄、待施用

的特定多肽或核酸、患者的性别、施用时间、途径、总体健康状况和并行施用的其他药物。本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物可以介于每剂量1ng/kg体重与20mg/kg体重之间,例如介于0.1mg/kg体重至10mg/kg体重之间,例如介于0.5mg/kg体重至5mg/kg体重之间的量施用;然而,预想在此示例性范围以下或以上的剂量,尤其在考虑上述因素的情况下。如果方案为连续输注,则其还可处于每千克体重每分钟1 μ g至10mg的范围内。本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物可以约1mg/kg体重至50mg/kg体重,例如约1mg/kg体重至约5mg/kg体重、约5mg/kg体重至约10mg/kg体重、约10mg/kg体重至约15mg/kg体重、约15mg/kg体重至约20mg/kg体重、约20mg/kg体重至约25mg/kg体重、约25mg/kg体重至约30mg/kg体重、约30mg/kg体重至约35mg/kg体重、约35mg/kg体重至约40mg/kg体重或约40mg/kg体重至约50mg/kg体重的量施用。

[0838] 在一些情况下,本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物的适合剂量为每千克体重0.01 μ g至100g、每千克体重0.1 μ g至10g、每千克体重1 μ g至1g、每千克体重10 μ g至100mg、每千克体重100 μ g至10mg或每千克体重100 μ g至1mg。本领域的技术人员可基于所施用的剂在体液或组织中的所测量滞留时间和浓度而容易地估计重复给药速率。在成功治疗后,可能需要患者进行维持疗法以防止疾病状态复发,其中以介于每千克体重0.01 μ g至100g、每千克体重0.1 μ g至10g、每千克体重1 μ g至1g、每千克体重10 μ g至100mg、每千克体重100 μ g至10mg或每千克体重100 μ g至1mg的范围内的维持剂量施用本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物。

[0839] 本领域的技术人员将容易了解,剂量水平可随特定T细胞-MMP、症状的严重程度和个体对副作用的易感性而变化。本领域的技术人员可通过多种手段容易地确定指定化合物的优选剂量。

[0840] 在一些实施方案中,施用本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物、本公开的核酸或本公开的重组表达载体的多个剂量。本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物、本公开的核酸或本公开的重组表达载体的施用频率可取决于多种因素中的任一种,例如症状严重程度等而变化。举例而言,在一些实施方案中,每月一次、每月两次、每月三次、每隔一周(qow)、每周一次(qw)、每周两次(biw)、每周三次(tiw)、每周四次、每周五次、每周六次、每隔一天(qod)、每天(qd)、每天两次(qid)或每天三次(tid)施用本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物、本公开的核酸或本公开的重组表达载体。

[0841] 本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物、本公开的核酸或本公开的重组表达载体的施用持续时间,例如,施用本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物、本公开的核酸或本公开的重组表达载体的时间段可取决于多种因素中的任一种,例如患者反应等而变化。举例而言,本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物、本公开的核酸或本公开的重组表达载体可在介于约一天至约一周、约两周至约四周、约一个月至约两个月、约两个月至约四个月、约四个月至约六个月、约六个月至约八个月、约八个月至约1年、约1年至约2年或约2年至约4年或更久范围内的时间段内施用。

[0842] X.B. 施用途径

[0843] 使用适于药物递送的任何可利用方法和途径,包括体内和离体方法以及全身性和局部化施用途径向个体施用活性剂(本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物、本公开的核酸或本公开的重组表达载体)。

[0844] 常规药理学上可接受的施用途径包括肿瘤内、肿瘤周围、肌肉内、淋巴内、气管内、颅内、皮下、皮内、局部、静脉内、动脉内、直肠、经鼻、经口以及其他经肠和胃肠外施用途径。施用途径可在需要时进行组合或取决于T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物和/或所需效应进行调节。本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物或本公开的核酸或重组表达载体可呈单次剂量形式或呈多次剂量形式施用。

[0845] 在一些实施方案中，静脉内施用本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物、本公开的核酸或本公开的重组表达载体。在一些实施方案中，肌肉内施用本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物、本公开的核酸或本公开的重组表达载体。在一些实施方案中，淋巴内施用本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物、本公开的核酸或本公开的重组表达载体。在一些实施方案中，局部施用T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物、本公开的核酸或本公开的重组表达载体。在一些实施方案中，肿瘤内施用本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物、本公开的核酸或本公开的重组表达载体。在一些实施方案中，肿瘤周围施用本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物、本公开的核酸或本公开的重组表达载体。在一些实施方案中，颅内施用本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物、本公开的核酸或本公开的重组表达载体。在一些实施方案中，皮下施用本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物、本公开的核酸或本公开的重组表达载体。

[0846] 在一些实施方案中，静脉内施用本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物。在一些实施方案中，肌肉内施用本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物。在一些实施方案中，局部施用本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物。在一些实施方案中，肿瘤内施用本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物。在一些实施方案中，肿瘤周围施用本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物。在一些实施方案中，颅内施用本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物。在一些实施方案中，皮下施用本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物。在一些实施方案中，淋巴内施用本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物。在一些实施方案中，淋巴内施用本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物。

[0847] 可使用适于递送常规药物的任何可利用常规方法和途径，包括全身性或局部化途径向宿主施用本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物、本公开的核酸或本公开的重组表达载体。一般而言，设想用于本公开方法中的施用途径包括但未必限于经肠、胃肠外和吸入途径。

[0848] 除吸入施用以外的胃肠外施用途径包括但未必限于局部、经皮、皮下、肌肉内、眶内、囊内、脊柱内、胸骨内、肿瘤内、淋巴内、肿瘤周围和静脉内途径，即，除经由消化道以外的任何施用途径。可进行胃肠外施用以实现本公开的T细胞-MMP和/或T细胞-MMP-表位缀合物、本公开的核酸或本公开的重组表达载体的全身或局部递送。在需要全身递送时，施用通常涉及药物制剂的侵袭性施用或全身吸收局部或粘膜施用。

[0849] X.C. 适于治疗的个体

[0850] 适于用本公开方法进行治疗的个体包括患有癌症的个体，包括已诊断为患有癌症的个体、已进行癌症治疗但未能对所述治疗有反应的个体和已进行癌症治疗并且起初对治疗有反应但随后对治疗无反应的个体。适于用本公开方法进行治疗的个体包括存在感染（例如，存在诸如细菌、病毒、原生动物等病原体的感染）的个体，包括已诊断为存在感染的

个体和已进行感染治疗但未能对所述治疗有反应的个体。适于用本公开方法进行治疗的个体包括存在细菌感染的个体,包括已诊断为存在细菌感染的个体和已进行细菌感染治疗但未能对所述治疗有反应的个体。适于用本公开方法进行治疗的个体包括存在病毒感染的个体,包括已诊断为存在病毒感染的个体和已进行病毒感染治疗但未能对所述治疗有反应的个体。适于用本公开方法进行治疗的个体包括患有自身免疫疾病的个体,包括已诊断为患有自身免疫疾病的个体和已进行自身免疫疾病治疗但未能对所述治疗有反应的个体。

[0851] 在某些情况下,例如,在本公开的T细胞调节性多聚体多肽包含HBV表位,适于治疗的个体为已感染HBV的个体。在一些情况下,所述个体存在急性HBV感染。在一些情况下,所述个体存在急性HBV感染,并且未患有肝癌。在一些情况下,所述个体为HBV的无活性携带者。在一些情况下,所述个体为HBV的无活性携带者,并且未患有肝癌。在一些情况下,所述个体存在慢性活性HBV。在一些情况下,所述个体存在慢性活性HBV,并且未患有肝癌。在一些情况下,所述个体患有由于HBV感染所致的肝癌。

[0852] 在某些情况下,例如,在本公开的T细胞调节性多聚体多肽包含HBV表位时,适于治疗的个体为已感染HBV的个体,其中所述个体为亚洲人,例如,其中所述个体具有HLA-A11、HLA-A24或HLA-A33等位基因。在一些情况下,所述个体存在急性HBV感染。在一些情况下,所述个体存在急性HBV感染,并且未患有肝癌,其中所述个体为亚洲人,例如,其中所述个体具有HLA-A11、HLA-A24或HLA-A33等位基因。在一些情况下,所述个体为HBV的无活性携带者,其中所述个体为亚洲人,例如,其中所述个体具有HLA-A11、HLA-A24或HLA-A33等位基因。在一些情况下,所述个体为HBV的无活性携带者,并且未患有肝癌,其中所述个体为亚洲人,例如,其中所述个体具有HLA-A11、HLA-A24或HLA-A33等位基因。在一些情况下,所述个体存在慢性活性HBV,其中所述个体为亚洲人,例如,其中所述个体具有HLA-A11、HLA-A24或HLA-A33等位基因。在一些情况下,所述个体存在慢性活性HBV,并且未患有肝癌,其中所述个体为亚洲人,例如,其中所述个体具有HLA-A11、HLA-A24或HLA-A33等位基因。在一些情况下,所述个体患有由于HBV感染所致的肝癌,其中所述个体为亚洲人,例如,其中所述个体具有HLA-A11、HLA-A24或HLA-A33等位基因。

[0853] XI. 某些实施方案

[0854] 尽管已参考本公开的特定实施方案描述本公开,但本领域的技术人员应理解,可进行各种变化并且可在不背离本公开的精神和范围的情况下取代等效方案。另外,可进行众多修改以使特定情形、材料、物质组成、方法和/或一个或多个方法步骤适于本公开的目标、精神和范围。所有此类修改均意图处于所附权利要求的范围内。

[0855] 1. 一种T细胞-MMP (“T细胞-MMP”), 所述T细胞-MMP包含:

[0856] a) 第一多肽, 所述第一多肽包含,

[0857] i) 具有N-末端和C-末端的第一主要组织相容性复合物 (MHC) 多肽;

[0858] b) 第二多肽, 所述第二多肽从N-末端至C-末端依次包含,

[0859] i) 第二MHC多肽; 和

[0860] ii) 任选的免疫球蛋白 (Ig) Fc多肽或非Ig多肽支架;

[0861] c) 一个或多个附接至所述第一多肽 (例如, 处于N-末端或C-末端) 或处于其内部的第一多肽化学缀合位点, 和/或一个或多个附接至所述第二多肽 (例如, 处于N-末端或C-末端) 或处于其内部的第二多肽化学缀合位点; 以及

- [0862] d) 一个或多个免疫调节多肽 (MOD), 其中所述一个或多个MOD中的至少一个
- [0863] A) 处于所述第一多肽的C-末端,
- [0864] B) 处于所述第二多肽的N-末端,
- [0865] C) 处于所述第二多肽的C-末端;或
- [0866] D) 处于所述第一多肽的C-末端且处于所述第二多肽的N-末端;
- [0867] 其中所述一个或多个MOD中的每一个为独立选择的野生型或变体MOD。
- [0868] 2. 如实施方案1的T细胞-MMP, 其中所述第一多肽包含:
- [0869] 在其N-末端和C-末端上无接头的第一MHC多肽,
- [0870] 在其N-末端上携带接头的第一MHC多肽,
- [0871] 在其C-末端上携带接头的第一MHC多肽,或
- [0872] 在其N-末端和C-末端上携带接头的第一MHC多肽。
- [0873] 3. 如实施方案1至2中任一项的T细胞-MMP, 其中所述一个或多个第一多肽化学缀合位点中的至少一个:
- [0874] a) 附接至所述第一MHC多肽序列 (例如, 处于N-末端或C-末端) 或处于其内部, 其中所述第一MHC多肽在其N-末端和C-末端上无接头;
- [0875] b) 附接至所述第一MHC多肽序列 (例如, 处于N-末端或C-末端) 或处于其内部, 其中所述第一MHC多肽在其N-末端和C-末端上包含接头;
- [0876] c) 附接至所述第一MHC多肽N-末端上的接头序列 (例如, 处于N-末端或C-末端) 或处于其内部;和/或
- [0877] d) 附接至所述第一MHC多肽C-末端上的接头序列 (例如, 处于N-末端或C-末端) 或处于其内部。
- [0878] 4. 如实施方案1至3中任一项的T细胞-MMP, 其中所述第一MHC多肽和所述第二MHC多肽为I类MHC多肽, 并且所述第一MHC多肽包含:
- [0879] 具有N-末端和C-末端而在其N-末端和C-末端上无接头的 β -2-微球蛋白 (“ β 2M”) 多肽,
- [0880] 在其N-末端上携带接头的 β 2M多肽,
- [0881] 在其C-末端上携带接头的 β 2M多肽,或
- [0882] 在其N-末端和C-末端上携带接头的 β 2M多肽。
- [0883] 5. 如实施方案4的T细胞-MMP, 其中所述一个或多个第一多肽化学缀合位点中的至少一个:
- [0884] a) 附接至所述 β 2M多肽序列 (例如, 处于N-末端或C-末端) 或处于其内部, 所述 β 2M多肽在其N-末端或C-末端上无接头;
- [0885] b) 附接至所述 β 2M多肽序列 (例如, 处于N-末端或C-末端) 或处于其内部, 其中所述 β 2M多肽在其N-末端和C-末端上包含接头;
- [0886] c) 附接至所述 β 2M多肽N-末端上的接头序列 (例如, 处于N-末端或C-末端) 或处于其内部;和/或
- [0887] d) 附接至所述 β 2M多肽C-末端上的接头序列 (例如, 处于N-末端或C-末端) 或处于其内部。
- [0888] 6. 如实施方案1至5中任一项的T细胞-MMP, 其中所述第二多肽包含:

- [0889] 在其N-末端和C-末端上无接头的第二MHC多肽(包含例如I类MHC重链(“MHC-H”)多肽),
- [0890] 在其N-末端上携带接头的第二MHC多肽,
- [0891] 在其C-末端上携带接头的第二MHC多肽,或
- [0892] 在其N-末端和C-末端上携带接头的第二MHC多肽。
- [0893] 7.如实施方案6的T细胞-MMP,其中所述第二多肽还包含免疫球蛋白(Ig)Fc多肽或非Ig多肽支架。
- [0894] 8.如实施方案7的T细胞-MMP,其中所述第二多肽从N-末端至C-末端依次包含:
- [0895] 在其C-末端上依次携带接头和免疫球蛋白(Ig)Fc多肽或非Ig多肽支架的第二MHC多肽;或
- [0896] 在其N-末端和/或C-末端上依次携带接头和免疫球蛋白(Ig)Fc多肽或非Ig多肽支架的第二MHC多肽。
- [0897] 9.如实施方案1至8中任一者的T细胞-MMP,其中所述一个或多个第二多肽化学缀合位点中的至少一个:
- [0898] a) 附接至所述第二MHC多肽序列(例如,处于N-末端或C-末端)或处于其内部,其中所述第二MHC多肽在其N-末端和C-末端上无接头;
- [0899] b) 附接至所述第二MHC多肽序列(例如,处于N-末端或C-末端)或处于其内部,其中所述第二MHC多肽在其N-末端和/或C-末端上包含接头;
- [0900] c) 附接至所述第二MHC多肽N-末端上的接头序列(例如,处于N-末端或C-末端)或处于其内部;
- [0901] d) 附接至所述第二MHC多肽C-末端上的接头序列(例如,处于N-末端或C-末端)或处于其内部;和/或
- [0902] e) 当所述第二MHC多肽后面有免疫球蛋白(Ig)Fc多肽或非Ig多肽支架时附接至免疫球蛋白(Ig)Fc多肽或非Ig多肽支架序列(例如,处于N-末端或C-末端)或处于其内部。
- [0903] 10.如实施方案1至9中任一项的T细胞-MMP,其中所述第二MHC多肽包含:具有N-末端和C-末端而在其N-末端和C-末端上无接头的I类MHC重链(“MHC-H”)多肽;在其N-末端上携带接头的MHC-H多肽;在其C-末端上携带接头的MHC-H多肽;或在其N-末端和C-末端上携带接头的MHC-H多肽。
- [0904] 11.如实施方案4-10中任一项的T细胞-MMP,其中所述一个或多个第一多肽化学缀合位点中的至少一个:
- [0905] a) 附接至所述 β 2M多肽序列(例如,处于N-末端或C-末端)或处于其内部,所述 β 2M多肽在其N-末端或C-末端上无接头;
- [0906] b) 附接至所述 β 2M多肽序列(例如,处于N-末端或C-末端)或处于其内部,其中所述 β 2M多肽在其N-末端和C-末端上包含接头;
- [0907] c) 附接至所述 β 2M多肽N-末端上的接头序列(例如,处于N-末端或C-末端)或处于其内部;和/或
- [0908] d) 附接至所述 β 2M多肽C-末端上的接头序列(例如,处于N-末端或C-末端)或处于其内部。
- [0909] 12.如实施方案4-10中任一项的T细胞-MMP,其中所述一个或多个第一多肽化学缀

合位点中的至少一个置换和/或插入在缺乏信号序列的成熟 β 2M多肽序列(例如,图4中所示的 β 2M多肽序列)的氨基末端15个氨基酸中的任一个之间。

[0910] 13.如实施方案1至12中任一项的T细胞-MMP,其中所述第二多肽包含Ig Fc多肽。

[0911] 14.如实施方案13的T细胞-MMP,其中所述Ig Fc多肽为IgG1 Fc多肽、IgG2 Fc多肽、IgG3 Fc多肽、IgG4 Fc多肽、IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。

[0912] 15.如实施方案14的T细胞-MMP,其中所述Ig Fc多肽包含与图2A-2D之一中所描绘的氨基酸序列具有至少85%氨基酸序列同一性(例如,至少90%、95%、98%或99%同一性,或甚至100%同一性)的氨基酸序列或图2A-2D之一中对应于所述Ig Fc多肽的序列的一部分(长度为至少约50、75、100、125或150个氨基酸)。

[0913] 16.如实施方案15的T细胞-MMP,其中所述IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。

[0914] 17.如实施方案16的T细胞-MMP,其中所述IgG1 Fc多肽包含一个或多个选自N297A、L234A、L235A、L234F、L235E和P331S的氨基酸取代。

[0915] 18.如实施方案17的T细胞-MMP,其中所述IgG1 Fc多肽包含L234A和L235A取代。

[0916] 19.如实施方案1至18中任一项的T细胞-MMP,其中T细胞-MMP包含一个或多个独立选择的野生型和/或变体MOD多肽;其中所述一个或多个变体MOD多肽中的至少一个对Co-MOD(其Co-MOD)表现出与相应野生型MOD对所述Co-MOD的亲和力相比有所降低的亲和力(例如,当通过BLI(如以上所描述)进行测量时,对照T细胞-MMP-表位缀合物(其中所述对照物包含野生型MOD)对Co-MOD的结合亲和力与ii)包含野生型MOD变体的本公开T细胞-MMP-表位缀合物对Co-MOD的结合亲和力的比率为至少1.5:1、至少2:1、至少5:1、至少10:1、至少15:1、至少20:1、至少25:1、至少50:1、至少100:1、至少500:1、至少 10^2 :1、至少 5×10^2 :1、至少 10^3 :1、至少 5×10^3 :1、至少 10^4 :1、至少 10^5 :1或至少 10^6 :1)。

[0917] 20.如实施方案19的T细胞-MMP,其中所述变体MOD多肽相对于相应野生型免疫调节多肽包含1至10个氨基酸的取代、插入或缺失;或者包含与相应野生型MOD的氨基酸序列具有至少85%氨基酸序列同一性(例如至少90%、95%、98%或99%同一性,或甚至100%同一性)的氨基酸序列,或野生型MOD序列的一部分(例如,长度为野生型MOD的至少约50、75、100、125或150个连续氨基酸)。

[0918] 21.如实施方案1至20中任一项的T细胞-MMP,其中所述野生型免疫调节多肽独立地选自由以下组成的组:IL-2、4-1BBL、PD-L1、CD70、CD80、CD86、ICOS-L、OX-40L、FasL、JAG1、TGF β 、ICAM和PD-L2。

[0919] 22.如实施方案1至21中任一项的T细胞-MMP,其中所述第一MHC多肽为 β 2微球蛋白 β 2M多肽;并且其中所述第二MHC多肽为I类MHC重链多肽。

[0920] 23.如实施方案4至22中任一项的T细胞-MMP,其中所述 β 2M多肽包含与图4中所示的氨基酸序列之一具有至少85%氨基酸序列同一性(例如,至少90%、95%、98%或99%同一性,或甚至100%同一性)的氨基酸序列,或图4中的成熟序列 β 2M多肽的一部分(例如,长度为至少约60、70、80或90个氨基酸)。

[0921] 24.如实施方案4至23中任一项的T细胞-MMP,其中所述 β 2M多肽包含与图4中所示的氨基酸序列之一的至少一部分具有同一性的具有至少20、30、40、50、60、70、80、90或99个连续氨基酸的序列(例如,与图4中所示的缺乏其信号序列的成熟 β 2M多肽序列具有同一性的具有20-99、20-40、30-50、40-60、40-90、50-70、60-80、60-99、70-90或79-99个连续氨基

酸的序列)、基本上由所述序列组成或由所述序列组成。

[0922] 25. 如实施方案10至24中任一项的T细胞-MMP, 其中所述I类MHC重链多肽为HLA-A、HLA-B或HLA-C重链(例如, 图3的HLA-A、HLA-B或HLA-C, 包括HLA-A11、HLA-A24和HLA-A33)。

[0923] 26. 如实施方案25的T细胞-MMP, 其中所述I类MHC重链多肽序列包含与图3A-3D之一中所示的氨基酸序列具有至少85%氨基酸序列同一性(例如, 至少90%、95%、98%或99%同一性, 或甚至100%同一性)的氨基酸序列, 或图3A-3D之一中对应于所述I类MHC重链多肽的序列(例如, 与图3A-3D之一中所示的序列具有同一性的具有20-100、20-40、30-50、40-60、40-90、50-70、60-80、60-90、70-90、80-100、100-150、150-200、200-250或多于250个连续氨基酸的序列)的一部分, 并且任选的限制条件为所述I类MHC重链多肽不包含功能性跨膜锚定结构域。

[0924] 27. 如实施方案26的T细胞-MMP, 其中所述I类MHC重链多肽包含与图3A-3D中所示的氨基酸序列中的至少一者的一部分具有同一性的具有至少20、30、40、50、80、100、150、200或250个连续氨基酸的序列, 限制条件为所述I类MHC重链多肽不包含功能性跨膜结构域。

[0925] 28. 如实施方案10至27中任一项的T细胞-MMP, 其中所述I类MHC重链多肽序列包含介于 α 1螺旋的羧基端部分的半胱氨酸与 α 2-1螺旋的氨基端部分中的半胱氨酸和/或氨基酸残基2、7、84、5、59、116、139、167、168、170或171中的任一个或多个(两个、三个、四个等)处的半胱氨酸或半胱氨酸取代之间的二硫键。

[0926] 29. 如实施方案28的T细胞-MMP, 其中所述 α 1螺旋的羧基端部分是从约氨基酸位置79至约氨基酸位置89, 并且所述 α 2-1螺旋的氨基端部分是从所述I类MHC重链的约氨基酸位置134至氨基酸位置144, 其中所述氨基酸位置为基于无前导序列的重链序列(参见例如如图3D)来确定。

[0927] 30. 如实施方案28至29中任一项的T细胞-MMP, 其中所述二硫键介于位于位置83、84或85处的半胱氨酸与位于位置138、139或140处的半胱氨酸之间(例如, 从位置83至位置138、139或140, 从位置84至位置138、139或140, 或者从位置85至位置138、139或140)。

[0928] 31. 如实施方案28至30中任一项的T细胞-MMP, 其中所述二硫键介于位于位置84处的半胱氨酸与位于位置139处的半胱氨酸之间。

[0929] 32. 如实施方案28的T细胞-MMP, 其中所述I类MHC重链序列可在形成介于所述 α 1螺旋的羧基端部分与所述 α 2-1螺旋的氨基端部分之间的二硫键的半胱氨酸前后具有1至5个氨基酸的插入、缺失和/或取代。

[0930] 33. 如实施方案32的T细胞-MMP, 其中当存在取代和/或插入时, 所述氨基酸可选自任何天然存在的氨基酸, 或除甘氨酸和脯氨酸以外的任何天然存在的氨基酸。

[0931] 34. 如实施方案25至33中任一项的T细胞-MMP, 其中位置1至79处的I类MHC重链多肽氨基酸序列与图3D中所示的至少一个序列的相应部分具有至少85%氨基酸序列同一性(例如, 至少90%、95%、98%或99%同一性, 或甚至100%同一性)(例如, 所述序列相对于图3D中的序列具有1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个氨基酸插入、缺失或取代)。

[0932] 35. 如实施方案25至34中任一项的T细胞-MMP, 其中从位置89至134(包括那些位置在内)的I类MHC重链多肽氨基酸序列与图3D中所示的至少一个序列的相应部分具有至少85%氨基酸序列同一性(例如, 至少90%、95%、98%或99%同一性, 或甚至100%同一性)

(例如,所述序列相对于图3D中的序列具有1、2、3、4、5或6个氨基酸插入、缺失或取代)。

[0933] 36.如实施方案25至35中任一项的T细胞-MMP,其中从位置144至230(包括那些位置在内)的I类MHC重链多肽氨基酸序列与图3D中所示的至少一个序列的相应部分具有至少85%氨基酸序列同一性(例如,至少90%、95%、98%或99%同一性,或甚至100%同一性)(例如,所述序列相对于图3D中的序列具有1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或13个氨基酸插入、缺失或取代)。

[0934] 37.如实施方案25至36中任一项的T细胞-MMP,其中从位置242至274(包括那些位置在内)的I类MHC重链多肽氨基酸序列与图3D中所示的至少一个序列的相应部分具有至少85%氨基酸序列同一性(例如,至少90%、95%、98%或99%同一性,或甚至100%同一性)(例如,所述序列相对于图3D中的序列具有1、2、3或4个氨基酸插入、缺失或取代)。

[0935] 38.如实施方案1至37中任一项的T细胞-MMP,其中所述第一多肽与所述第二多肽非共价缔合。

[0936] 39.如实施方案1至37中任一项的T细胞-MMP,其中所述第一多肽与所述第二多肽彼此共价连接。

[0937] 40.如实施方案39的T细胞-MMP,其中所述共价键联为经由二硫键进行。

[0938] 41.如实施方案1至40中任一项的T细胞-MMP,所述T细胞-MMP包含两个或更多个、三个或更多个或者四个或更多个独立选择的MOD。

[0939] 42.如实施方案41的T细胞-MMP,所述T细胞-MMP包含介于所述两个或更多个(例如两个、三个或四个)野生型或变体MOD中的任两个或更多个、三个或更多个或者四个或更多个之间的肽接头。

[0940] 43.如实施方案1至42中任一项的T细胞-MMP,其中所述第一多肽包含介于所述第一MHC多肽与至少一个野生型或变体MOD之间的肽接头。

[0941] 44.如实施方案1至42中任一项的T细胞-MMP,其中所述第二多肽包含介于所述第二MHC多肽与至少一个野生型或变体MOD之间的肽接头。

[0942] 45.如实施方案2至44中任一项的T细胞-MMP,其中所述接头具有5个氨基酸至30个氨基酸(例如,5-10、10-20或20-30个氨基酸)的长度。

[0943] 46.如实施方案45的T细胞-MMP,其中所述接头为式(AAAGG)_n或(GGGGS)_n的肽,其中n为1至8(例如,1、2、3、4、5、6、7或8,或者处于选自1至4、3至6或4至8的范围内)。

[0944] 47.如实施方案1至46中任一项的T-细胞-MMP,其中所述第一化学缀合位点和所述第二化学缀合位点独立地选自:

[0945] a) 充当酶修饰序列的肽序列(例如,硫酸酯酶基序);

[0946] b) 非天然氨基酸和/或硒代半胱氨酸;

[0947] c) 经工程改造的氨基酸化学缀合位点;

[0948] d) 碳水化合物或寡糖部分;和/或

[0949] e) IgG核苷酸缀合位点。

[0950] 48.如实施方案1至47中任一项的T细胞-MMP,其中所述一个或多个第一化学缀合位点和第二化学缀合位点中的至少一个包含酶修饰序列。

[0951] 49.如实施方案48的T细胞-MMP,其中所述一个或多个第一化学缀合位点或第二化学缀合位点中的至少一个为硫酸酯酶基序。

[0952] 50.如实施方案49的T细胞-MMP,其中所述硫酸酯酶基序包含序列X1Z1X2Z2X3Z3、X1(C/S)X2(P/A)X3Z3、X1CX2PX3Z3或CX2PX3R;其中

[0953] Z1为半胱氨酸或丝氨酸;

[0954] Z2为脯氨酸或丙氨酸残基;

[0955] Z3为碱性氨基酸(精氨酸、赖氨酸或组氨酸,通常为赖氨酸)或脂族氨基酸(丙氨酸、甘氨酸、亮氨酸、缬氨酸、异亮氨酸或脯氨酸,通常为A、G、L、V或I);

[0956] X1存在或不存在,并且当存在时可为任何氨基酸,但通常为脂族氨基酸、含硫氨基酸或极性不带电氨基酸(即,不为芳族氨基酸或带电氨基酸),通常为L、M、V、S或T,更通常为L、M、S或V,限制条件为当所述硫酸酯酶基序处于靶多肽的N-末端时,X1存在;并且

[0957] X2和X3可独立地为任何氨基酸,但通常为脂族氨基酸、极性不带电氨基酸或含硫氨基酸(即,不为芳族氨基酸或带电氨基酸),通常为S、T、A、V、G或C,更通常为S、T、A、V或G。

[0958] 51.如实施方案50的T细胞-MMP,所述T细胞-MMP在所述第一多肽或所述第二多肽的氨基酸序列中包含一个或多个fGly氨基酸残基。

[0959] 52.如实施方案1至51中任一项的T细胞-MMP,其中所述一个或多个第一化学缀合位点或第二化学缀合位点中的至少一个为包含位于所述第一多肽和/或所述第二多肽的C-末端处的氨基酸序列LP(X5)TG、LP(X5)TG、LP(X5)TA、LP(X5)TGG、LP(X5)TAA、LPETGG或LPETAA的分选酶A酶位点,并且其中X5为任何氨基酸。

[0960] 53.如实施方案1至52中任一项的T细胞-MMP,其中所述一个或多个第一化学缀合位点或第二化学缀合位点中的至少一者为包含位于所述第一多肽和/或所述第二多肽的氨基末端处的至少一个寡甘氨酸(例如,(G)_{2,3,4或5})和/或位于所述第一多肽和/或所述第二多肽的氨基末端处的至少一个寡丙氨酸(例如,(A)_{2,3,4或5})的分选酶A酶位点。

[0961] 54.如实施方案1至53中任一项的T细胞-MMP,其中所述一个或多个第一化学缀合位点或第二化学缀合位点中的至少一个为转谷氨酰胺酶位点。

[0962] 55.如实施方案54的T细胞-MMP,其中所述一个或多个转谷氨酰胺酶位点中的至少一个选自由以下组成的组:LQG、LLQGG、LLQG、LSLSQG、GGLLQGG、GLLQG、LLQ、GSPLAQSHGG、GLLQGGG、GLLQGG、GLLQ、LLQLLQGA、LLQGA、LLQYQGA、LLQSG、LLQYQG、LLQLLQG、SLLQG、LLQLQ、LLQLLQ、LLQGR、LLQGPP、LLQGPA、GGLLQGPP、GGLLQGA、LLQGPGK、LLQGP、LLQGP、LLQP、LLQPGK、LLQAPGK、LLQGAPG、LLQGAP和LLQLQG。

[0963] 56.如实施方案1至55中任一项的T细胞-MMP,其中所述一个或多个第一化学缀合位点和第二化学缀合位点中的至少一个包含硒代半胱氨酸或含一个或多个独立选择的非天然氨基酸的氨基酸序列。

[0964] 57.如实施方案56的T细胞-MMP,其中所述一个或多个非天然氨基酸中的至少一个选自由以下组成的组:对乙酰基苯丙氨酸、对叠氮基苯丙氨酸和丙炔基酪氨酸。

[0965] 58.如实施方案1至57中任一项的T细胞-MMP,其中所述一个或多个第一化学缀合位点和第二化学缀合位点中的至少一个包含经工程改造的氨基酸位点。

[0966] 59.如实施方案1至57中任一项的T细胞-MMP,其中所述一个或多个第一化学缀合位点和第二化学缀合位点中的至少一个包含一个或多个巯基或氨基(例如,氨基酸残基2、7、84、5、59、116、139、167、168、170或171中的任一个或多个(两个、三个、四个等)处的半胱氨酸取代)。

[0967] 60.如实施方案59的T细胞-MMP,其中所述一个或多个巯基或胺基中的至少一个由所述第一多肽和或所述第二多肽中存在赖氨酸或半胱氨酸而产生。

[0968] 61.如实施方案1至60中任一项的T细胞-MMP,其中所述一个或多个第一化学缀合位点和第二化学缀合位点中的至少一个包含独立选择的糖、单糖、二糖和/或寡糖。

[0969] 62.如实施方案1至61中任一项的T细胞-MMP,其中所述一个或多个第一化学缀合位点和第二化学缀合位点中的至少一个包含一个或多个IgG核苷酸抗体结合位点。

[0970] 63.如实施方案1至62中任一项的T细胞-MMP,所述T细胞-MMP还包含表位(例如,表位多肽);其中所述表位在所述第一多肽化学缀合位点处或在第二多肽化学缀合位点处直接或者经由间隔区或接头间接地缀合(共价附接)至所述第一多肽或所述第二多肽,从而形成T细胞-MMP-表位缀合物。

[0971] 64.如实施方案63的T细胞-MMP-表位缀合物,其中所述一个或多个MOD中的至少一个为变体MOD。

[0972] 65.如实施方案63至64中任一项的T细胞-MMP-表位缀合物,其中所述表位通过接头或间隔区间接地共价结合至所述第一肽化学缀合位点或第二肽化学缀合位点。

[0973] 66.如实施方案63至65中任一项的T细胞-MMP-表位缀合物,其中所述表位经由选自肽或非肽聚合物的接头缀合。

[0974] 67.如实施方案66的T细胞-MMP-表位缀合物,其中所述接头为具有10个氨基酸至30个氨基酸(例如,10-20或20-30个氨基酸)的长度的肽,包括但不限于甘氨酸聚合物(G)_n、甘氨酸-丝氨酸聚合物(包括例如(GS)_n、(GSGS)_n、(GGGS)_n、GGSg)、(GGSgG)、(GSGSG)、(GSGGG)_n、(GGGSg)_n、(GSSSG)_n和(GGGGS)_n、甘氨酸-丙氨酸聚合物诸如(AAAGG)_n、丙氨酸-丝氨酸聚合物和含半胱氨酸的接头诸如GCGGS(G4S)_n、GCGASGGGGSGGGGS、GCGSGGGSGGGSGGGGS或GCGSGGGSGGGGS,其中n为至少一的整数(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10)。

[0975] 68.如67的T细胞-MMP-表位缀合物,其中所述接头为式(AAAGG)_n或(GGGGS)_n的肽,其中n为1至8(例如,1、2、3、4、5、6、7或8,或者处于选自1至4、3至6或4至8的范围内)。

[0976] 69.如实施方案63至68中任一项的T细胞-MMP-表位缀合物,其中:

[0977] (a) 所述T细胞-MMP-表位缀合物以比所述T细胞-MMP结合第二T细胞的亲和力高出至少25%(1.25倍)的亲和力结合至第一T细胞,

[0978] 其中所述第一T细胞在其表面上表达Co-MOD和以至少 10^{-7} M(例如, 10^{-8} 或 10^{-9} M)的亲和力结合所述表位的TCR,并且

[0979] 其中所述第二T细胞在其表面上表达所述Co-MOD但不在其表面上表达以至少 10^{-7} M的亲和力(例如,低于 10^{-7} M,诸如 10^{-6} 或 10^{-5} M的亲和力)结合所述表位的TCR;或

[0980] (b) 其中所述T细胞-MMP-表位缀合物以比其结合所述第二T细胞的亲和力高出至少10%(例如,至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%)或至少2倍(例如,至少2.5倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少50倍、至少100倍或超过100倍)的亲和力结合至第一T细胞,

[0981] 其中所述第一T细胞展示:i) 对T细胞-MMP-表位缀合物中存在的表位具有特异性的TCR;以及ii) 结合至T细胞-MMP-表位缀合物中存在的MOD的Co-MOD,并且

[0982] 其中所述第二T细胞展示:i) 对除T细胞-MMP-表位缀合物中存在的表位以外的表

位具有特异性的TCR;以及ii)结合至T细胞-MMP-表位缀合物中存在的MOD的Co-MOD。

[0983] 70.如实施方案63至68中任一项的T细胞-MMP-表位缀合物,所述T细胞-MMP-表位缀合物包含一个或多个变体MOD,其中当通过生物层干涉测量法进行测量时,所述一个或多个MOD对其Co-MOD表现出与相应野生型MOD对所述Co-MOD的亲和力相比有所降低的亲和力(例如,当通过BLI(如以上所描述)进行测量时,对照T细胞-MMP-表位缀合物(其中所述对照物包含野生型MOD)对Co-MOD的结合亲和力与ii)本公开的包含野生型MOD的变体的T细胞-MMP-表位缀合物对所述Co-MOD的结合亲和力的比率为至少1.5:1、至少2:1、至少5:1、至少10:1、至少15:1、至少20:1、至少25:1、至少50:1、至少100:1、至少500:1、至少 10^2 :1、至少 5×10^2 :1、至少 10^3 :1、至少 5×10^3 :1、至少 10^4 :1、至少 10^5 :1或至少 10^6 :1)。

[0984] 71.如实施方案63至70中任一项的T细胞-MMP-表位缀合物,其中所述表位为癌症表位、病毒表位或自身表位。

[0985] 72.如实施方案63至70中任一项的T细胞-MMP-表位缀合物,其中所述表位为选自HPV、CMV或HBV表位的病毒表位。

[0986] 73.如实施方案63至72中任一项的T细胞-MMP-表位缀合物,其中所述表位为具有4个氨基酸(aa)、5个氨基酸、6个氨基酸、7个氨基酸、8个氨基酸、9个氨基酸、10个氨基酸、11个氨基酸、12个氨基酸、13个氨基酸、14个氨基酸、15个氨基酸、16个氨基酸、17个氨基酸、18个氨基酸、19个氨基酸或20个氨基酸长度的肽片段。

[0987] 74.如实施方案63至72中任一项的T细胞-MMP-表位缀合物,其中所述表位缀合于分选酶、硫酸酯酶或转谷氨酰胺酶位点处。

[0988] 75.如实施方案63至72中任一项的T细胞-MMP-表位缀合物,其中所述表位经由非天然氨基酸或硒代半胱氨酸而得以缀合。

[0989] 76.如实施方案63至72中任一项的T细胞-MMP-表位缀合物,其中所述表位经由经工程改造的氨基酸而得以缀合。

[0990] 77.如实施方案63至76中任一项的T细胞-MMP-表位缀合物,所述T细胞-MMP-表位缀合物还包含一个或多个独立选择的有效负载,所述一个或多个有效负载直接或者经由间隔区或接头间接地共价结合至一个或多个第一化学缀合位点和/或第二化学缀合位点,其中所述间隔区或接头任选地可裂解(例如,在哺乳动物细胞的核内体中)。

[0991] 78.如实施方案77的T细胞-MMP-表位缀合物,其中所述有效负载包含一种或多种独立选择的生物活性剂或药物、诊断剂或标记、核苷酸或核苷类似物、核酸或合成核酸、或毒素、脂质粒(例如,并入药物,诸如5-氟脱氧尿苷)、纳米粒子或它们的组合。

[0992] 79.如实施方案77的T细胞-MMP-表位缀合物,所述T细胞-MMP-表位缀合物包含选自一种或多种生物活性剂或药物的有效负载,所述一种或多种生物活性剂或药物独立地选自由以下组成的组:治疗剂(例如,药物或前药)、化学治疗剂、细胞毒性剂、抗生素、抗病毒剂、细胞周期同步剂、细胞表面受体配体、免疫调节剂(例如,免疫抑制剂,诸如环孢霉素)、促细胞凋亡剂、抗血管生成剂、细胞因子、趋化因子、生长因子、蛋白质或多肽、抗体或其抗原结合片段、酶、酶原、激素或其组合。

[0993] 80.如实施方案77的T细胞-MMP-表位缀合物,所述T细胞-MMP-表位缀合物包含选自一种或多种诊断剂或标记的有效负载,所述一种或多种诊断剂或标记独立地选自由以下组成的组:光可检测标记(例如染料、荧光标记、磷光标记、发光标记)和放射性标记、成像

剂、造影剂、顺磁性标记、超声标记物以及它们的组合。

[0994] 81. 如实施方案77的T细胞-MMP-表位缀合物, 所述T细胞-MMP-表位缀合物包含选自一种或多种核苷酸或核苷、核苷类似物、核酸或合成核酸的有效负载, 所述一种或多种核苷酸或核苷、核苷类似物、核酸或合成核酸选自由以下组成的组: 单链或双链DNA、单链或双链RNA、DNA/RNA杂合体、核糖酶、siRNA、反义RNA、cDNA、球形核酸和质粒。

[0995] 82. 如实施方案77的T细胞-MMP-表位缀合物, 所述T细胞-MMP-表位缀合物包含选自一种或多种脂质体和/或纳米粒子的有效负载, 所述一种或多种脂质体和/或纳米粒子独立地选自由以下组成的组: 微胞、金属纳米粒子(例如, 金纳米粒子) 和非金属纳米粒子, 其中任一种或全部均可缀合至核酸和或蛋白质。

[0996] 83. 如实施方案77的T细胞-MMP-表位缀合物, 其中所述有效负载经由具有1至20(例如, 1-2、2-4、5-10或10-20) 个独立选择的 α 、 β 、 δ 、 γ 氨基酸或它们的组合的接头缀合; 或其中所述接头为式聚甘氨酸聚丙氨酸、随机聚甘氨酸/丙氨酸共聚物或聚(GGGGS) n 的肽, 其中 n 为1、2、3、4、5、6、7或8。

[0997] 84. 如实施方案77的T细胞-MMP-表位缀合物, 其中所述有效负载通过间隔区附接至化学缀合位点, 其中所述间隔区包含通过单键或双键、二硫键、碳-氧键、碳氮键或它们的组合连结的两个或更多个碳原子。

[0998] 85. 如实施方案77的T细胞-MMP-表位缀合物, 其中所述有效负载通过间隔区附接至化学缀合位点, 其中所述间隔区由同官能(例如, 同双官能) 交联剂或异官能(例如, 异双官能) 交联剂的作用产生。

[0999] 86. 如实施方案77-85中任一项的T细胞-MMP-表位缀合物, 其中所述有效负载通过接头结合, 并且可通过在人T细胞核内体内使所述接头或间隔区裂解或通过用过量硫醇还原剂(例如, 二硫苏糖醇、DTT) 进行还原而从T细胞-MMP中移除。

[1000] 87. 一种组合物, 所述组合物包含如实施方案63-85中任一项的T细胞-MMP-表位缀合物。

[1001] 88. 一种组合物, 所述组合物包含:

[1002] a) 如实施方案63至87中任一项的T细胞-MMP-表位缀合物; 以及

[1003] b) 药学上可接受的赋形剂。

[1004] 89. 一种调节个体的免疫应答的方法, 所述方法包括: 向所述个体施用有效量的如实施方案63至87中任一项的T细胞-MMP-表位缀合物。

[1005] 90. 一种在体外以表位选择性或表位选择性/特异性方式向靶T细胞(例如, 调控性T细胞或细胞毒性T细胞) 或在体内向个体递送免疫调节多肽(MOD) 的方法, 所述方法包括:

[1006] 在体外使如实施方案63至86中任一项的T细胞-MMP-表位缀合物与所述T细胞接触, 或

[1007] 向所述个体施用如实施方案63至86中任一项的T细胞-MMP-表位缀合物或如实施方案87至88中任一项的包含T细胞-MMP-表位缀合物的组合物;

[1008] 其中所述靶T细胞对所述T细胞-MMP-表位缀合物中存在的表位具有特异性。

[1009] 91. 如实施方案90的方法, 其中所述MOD为选自IL-2、4-1BBL、PD-L1、CD70、CD80、CD86、ICOS-L、OX-40L、FasL、ICAM或PD-L2多肽的野生型或变体MOD。

[1010] 92. 如实施方案89至91中任一项的方法, 其中所述个体为人。

[1011] 93.如实施方案89至92中任一项的方法,其中所述调节包括增加对癌细胞的细胞毒性T细胞应答。

[1012] 94.如实施方案89至93中任一项的方法,其中所述调节包括降低对自身抗原的T细胞应答。

[1013] 95.如实施方案89至94中任一项的方法,其中所述施用为经直肠、经鼻、经口以及其他经肠和/或胃肠外施用途径。

[1014] 96.如实施方案89至95中任一项的方法,其中所述施用为经肿瘤内、肿瘤周围、肌肉内、气管内、颅内、皮下、淋巴内、皮内、局部、静脉内和/或动脉内进行。

[1015] 97.一种或多种核酸,所述一种或多种核酸包含编码如实施方案1至62中任一项的T细胞-MMP的第一多肽和第二多肽的核苷酸序列。

[1016] 98.如实施方案97的一种或多种核酸,其中所述第一多肽由第一核苷酸序列编码,所述第二多肽由第二核苷酸序列编码,并且其中所述第一核苷酸序列和所述第二核苷酸序列存在于单一核酸(例如,质粒)中。

[1017] 99.如实施方案97至98中任一项的一种或多种核酸,其中所述第一核苷酸序列和所述第二核苷酸序列可操作地连接至转录控制元件。

[1018] 100.如实施方案97的一种或多种核酸,其中所述第一多肽由第一核酸(例如,第一质粒)中存在的第一核苷酸序列编码,并且所述第二多肽由第二核酸(例如,第二质粒)中存在的第二核苷酸序列编码。

[1019] 101.如实施方案98或100中任一项的一种或多种核酸,其中所述第一核苷酸序列可操作地连接至第一转录控制元件,并且所述第二核苷酸序列可操作地连接至第二转录控制元件。

[1020] 102.一种组合物,所述组合物包含:如实施方案97-101中任一项的一种或多种核酸。

[1021] 103.一种制备如实施方案1至62中任一项的T细胞-MMP的方法,所述方法包括:

[1022] a) 提供编码所述第一MHC多肽的核酸、编码所述第二MHC多肽的核酸和编码一个或多个独立选择的MOD的核酸,以及任选的编码免疫球蛋白(Ig)Fc多肽、非Ig多肽支架和/或一个或多个独立选择的接头中的任一个或多个的核酸;

[1023] b) 以任何顺序进行步骤i和步骤ii,那些步骤包括:

[1024] i) 对所提供的核酸中的至少一者进行修饰以便将一个或多个化学缀合位点包括至除编码所述一个或多个独立选择的MOD的核酸以外的所提供核酸之一中(工程改造至编码序列中);以及

[1025] ii) 将所提供的核酸并入编码所述第一多肽的第一核酸和编码所述第二多肽的第二核酸中;

[1026] c) 表达由所述第一核酸和所述第二核酸编码的多肽以获得T细胞-MMP,从而获得所述第一多肽和所述第二多肽。

[1027] 104.如实施方案103的方法,其中所述一个或多个化学缀合位点独立地选自充当酶修饰序列的肽序列、非天然氨基酸和/或硒代半胱氨酸、经工程改造的氨基酸化学缀合位点、IgG核苷酸缀合位点。

[1028] 105.如实施方案104的方法,其中对所提供的核酸中的至少一者进行修饰包括对

所提供的核酸中除编码MOD的核酸以外的一者或多者进行修饰,以便编码为在野生型第一MHC多肽、第二MHC多肽、MOD的肽序列中或任何任选的免疫球蛋白(Ig)Fc多肽、非Ig多肽支架或接头中不存在的位置处包括天然存在的氨基酸的多肽序列。

[1029] 106.如实施方案103至105中任一项的方法,所述方法进一步包括:

[1030] a) 提供携带反应性基团的表位肽或与携带反应性基团的任选的接头缀合的表位肽;

[1031] b) 在所述反应性基团与化学缀合位点之间形成共价键的条件下使所述表位肽或与任选的接头缀合的表位肽与如实施方案103至105中任一项的T细胞-MMP接触;

[1032] 从而产生T细胞-MMP-表位缀合物。

[1033] 107.如实施方案106的方法,其中选择性地在所述反应性基团与所述第一MHC多肽或附接至所述第一MHC多肽的接头中的化学缀合位点之间形成共价键。

[1034] 108.如实施方案107的方法,其中所述第一MHC多肽包含具有附接至其N-末端的任选肽接头的 β -2-微球蛋白("β2M")多肽。

[1035] 109.如108的方法,其中所述β2M多肽处于所述第一多肽的N-末端。

[1036] 110.如实施方案103至109中任一项的方法,所述方法进一步包括使携带反应性基团的有效负载与T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物接触以形成T细胞-MMP或T细胞-MMP-表位缀合物的有效负载缀合物。

[1037] 111.如实施方案63至86中任一项的T细胞-MMP-表位缀合物,其中所述表位共价结合以产生T细胞-MMP-表位的化学缀合位点不位于与以下序列具有100%氨基酸同一性的氨基酸序列中:

[1038] 图2A-2G中的Fc多肽序列;

[1039] 图3A-3D中的I类MHC重链多肽序列;或

[1040] 图4中的β-2微球蛋白多肽序列。

[1041] 112.如实施方案63至86中任一项的T细胞-MMP-表位缀合物,其中所述表位共价结合以产生T细胞-MMP-表位的化学缀合位点不位于与以下序列中的任一个的任何部分具有100%氨基酸同一性的10、20、30、40或50个氨基酸长的序列中:

[1042] 图2A-2G中的Fc多肽序列;

[1043] 图3A-3D中的I类MHC重链多肽序列;或

[1044] 图4中的β-2微球蛋白多肽序列。

[1045] 113.如实施方案63至86中任一项的T细胞-MMP-表位缀合物,其中所述表位共价结合以产生T细胞-MMP-表位的化学缀合位点并非与以下序列中任一个的任何部分具有100%氨基酸同一性的5、6、7、8、9、10、20、30、40、50、60或70个氨基酸长的序列中出现的氨基酸:

[1046] 图2A-2G中的Fc多肽;

[1047] 图3A-3D中的I类MHC重链多肽;或

[1048] 图4中的β-2微球蛋白多肽序列。

[1049] 114.如实施方案63-86中任一项的T细胞-MMP-表位缀合物,其中所述表位共价结合以产生T细胞-MMP-表位缀合物的化学缀合位点并非位于与以下序列中任一个的任何部分具有100%氨基酸同一性的10、20、30、40、50、60或70个氨基酸长的序列中的赖氨酸、半胱氨酸、丝氨酸、苏氨酸、精氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、天冬酰胺或谷氨酰胺:

- [1050] 图2A-2G中的Fc多肽序列;
- [1051] 图3A-3D中的I类MHC重链多肽序列;或
- [1052] 图4中的 β -2微球蛋白多肽序列。
- [1053] 115.一种多肽,所述多肽包含,
- [1054] 具有N-末端和C-末端的成熟 β 2M多肽序列(缺乏其信号序列);
- [1055] 任选的接头;以及
- [1056] 处于所述成熟 β 2M多肽序列内或经由任选的接头附接至所述成熟 β 2M多肽的一个或多个化学缀合位点。
- [1057] 116.如实施方案115的多肽,其中所述成熟 β 2M多肽具有与图4中所提供的成熟 β 2M序列具有至少85%(例如,至少90%、95%、98%或99%同一性,或甚至100%)氨基酸序列同一性的序列;其中在不考虑所添加的硫酸酯酶基序和所存在的任何任选的接头序列的情况下确定所述 β 2M多肽与图4中的相应序列之间的同一性。
- [1058] 117.如实施方案115至116中任一项的多肽,其中所述 β 2M多肽序列包含与图4中所示的氨基酸序列之一的至少一部分具有同一性的具有至少20、30、40、50、60、70、80、90或99个连续氨基酸的序列(例如,与图4中所示的缺乏其信号序列的成熟 β 2M序列具有同一性的具有20-99、20-40、30-50、40-60、40-90、50-70、60-80、60-99、70-90或79-99个连续氨基酸的序列)、基本上由所述序列组成或由所述序列组成。
- [1059] 118.如实施方案115至117中任一项的多肽,其中所述 β 2M多肽序列包含处于所述成熟 β 2M多肽序列的氨基酸位置10、11、12、13或14中的一处、两处或更多处的半胱氨酸。
- [1060] 119.如实施方案118的多肽,其中所述 β 2M多肽序列的前12个氨基酸为IQRTPKIQVYSC。
- [1061] 120.如实施方案115至119中任一项的多肽,其中所述硫酸酯酶基序包含序列X1Z1X2Z2X3Z3、X1(C/S)X2(P/A)X3Z3、X1CX2PX3Z3或CX2PX3R;其中
- [1062] Z1为半胱氨酸或丝氨酸;
- [1063] Z2为脯氨酸或丙氨酸残基;
- [1064] Z3为碱性氨基酸(精氨酸、赖氨酸或组氨酸,通常为赖氨酸)或脂族氨基酸(丙氨酸、甘氨酸、亮氨酸、缬氨酸、异亮氨酸或脯氨酸,通常为A、G、L、V或I);
- [1065] X1存在或不存在,并且当存在时可为任何氨基酸,但通常为脂族氨基酸、含硫氨基酸或极性不带电氨基酸(即,不为芳族氨基酸或带电氨基酸),通常为L、M、V、S或T,更通常为L、M、S或V,限制条件为当所述硫酸酯酶基序处于靶多肽的N-末端时,X1存在;并且
- [1066] X2和X3可独立地为任何氨基酸,但通常为脂族氨基酸、极性不带电氨基酸或含硫氨基酸(即,不为芳族氨基酸或带电氨基酸),通常为S、T、A、V、G或C,更通常为S、T、A、V或G。
- [1067] 121.如实施方案115至120中任一项的多肽,其中所述硫酸酯酶基序为直接或经由接头间接地连接至所述 β 2M多肽序列的N-末端。
- [1068] 122.如实施方案115至121中任一项的多肽,所述多肽还包含信号序列或信号序列和接头,其中所述信号序列为所述多肽的最氨基末端元件。
- [1069] 123.如实施方案115至122中任一项的多肽,其中所述任一个或多个接头包含独立选择的多肽、基本上由所述多肽组成或由所述多肽组成。
- [1070] 124.如实施方案123的多肽,其中所述接头中的任一个或多个为独立地选自式

(AAAGG)_n或(GGGGS)_n的肽,其中n为1至8(例如,1、2、3、4、5、6、7或8,或处于选自1至4、3至6或4至8的范围内)。

[1071] 125.如实施方案123的多肽,其中所述多肽具有序列:

[1072] MSRSVALAVLALLSLSGLEALCTPSRGGGGSIQRTPKIQVYSCHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVD
LLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNHVTLSPKIVKWDRDM

[1073] 或序列

[1074] MSRSVALAVLALLSLSGLEAGGGGSLCTPSRGGGGSIQRTPKIQVYSCHPAENGKSNFLNCYVSGFHP
SDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNHVTLSPKIVKWDRDM。

[1075] 126.如实施方案115至125中任一项的多肽,其中所述硫酸酯酶基序的丝氨酸或半胱氨酸已转化成fGly(甲酰基甘氨酸)残基。

[1076] 127.如实施方案126的多肽,所述多肽还包含通过与所述fGly残基的化学反应(例如,经氨基硫脲、氨基氧基、酰肼或肼基修饰的表位多肽与所述fGly的醛的反应)而得以共价结合至所述多肽的表位。

[1077] 128.如实施方案127的多肽,其中所述表位包含肼基吡啶基以便与所述fGly残基的醛反应。

[1078] 129.如实施方案127或128的多肽,其中所述表位为多肽表位。

[1079] 130.一种组合物,所述组合物包含如实施方案115至129中任一项的多肽。

[1080] 131.一种组合物,所述组合物包含如实施方案127至129中任一项的多肽和药学上可接受的载体。

[1081] 132.一种多肽,所述多肽从N-末端至C-末端依次包含,

[1082] 成熟I类MHC重链多肽序列(缺乏其信号序列);

[1083] 任选的接头;以及

[1084] 免疫球蛋白(Ig)Fc多肽或非Ig多肽支架。

[1085] 133.如实施方案132的多肽,其中所述I类MHC重链多肽具有与图3D中所提供的序列具有至少85%(例如,至少90%、95%、98%或99%同一性,或甚至100%)氨基酸序列同一性的序列;其中在不考虑所述(Ig)Fc多肽和所存在的任何任选的接头的情况下确定所述I类MHC重链多肽与图3D中的相应序列之间的同一性。

[1086] 134.如实施方案132至133中任一项的多肽,其中所述I类MHC重链多肽包含与图3D中所示的氨基酸序列之一的至少一部分具有同一性的具有至少20、30、40、50、60、70、80、90或100个连续氨基酸的序列(例如,与图3D中所示的I类MHC重链多肽序列具有同一性的具有20-100、20-40、30-50、40-60、40-90、50-70、60-80、60-90、70-90或80-100个连续氨基酸的序列)、基本上由所述序列组成或由所述序列组成。

[1087] 135.如实施方案134的多肽,其中所述I类MHC重链多肽包含选自由以下组成的组的一个、两个或三个序列:

[1088] i) 从约氨基酸位置79至约氨基酸位置89的序列;

[1089] ii) 从约氨基酸位置134至约氨基酸位置144的序列;以及

[1090] iii) 图3D中所示的I类MHC重链序列的从约氨基酸位置231至约氨基酸位置241的序列。

[1091] 136.如实施方案135的多肽,其中所述I类MHC重链多肽包含:

[1092] i) 从约氨基酸位置79至约氨基酸位置89的序列;以及

[1093] ii) 从约氨基酸位置134至约氨基酸位置144的序列;

[1094] 其中位置83、84或85之一已经半胱氨酸取代,从而与取代于位置138、139或140之一处的半胱氨酸形成链内二硫键。

[1095] 137. 如实施方案135至136中任一项的多肽,其中所述多肽包含从I类MHC重链多肽序列的约氨基酸位置231至图3D中所示的I类MHC重链序列的约氨基酸位置241,其中位置235、236或237之一已经半胱氨酸取代。

[1096] 138. 如实施方案132至137中任一项的多肽,其中所述接头中的任一个或多个独立地选自式(AAAGG)_n或(GGGGS)_n的肽,其中n为1至8(例如,1、2、3、4、5、6、7或8,或处于1至4、3至6或4至8的范围内)。

[1097] 139. 如实施方案137的多肽,其中所述多肽具有以下序列:

MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEALLLDLQ
MILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLE
EVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETAT
IVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSST
KKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKAT
[1098] ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELK
GSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGGSG
GGGGSGGGGSGSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRF
DSDAASQRM EPRAPWIEQEGPEYWDGETR KVK AHSQTHRVDLGLTR
GCYNQSEAGSHTVQRM YGCDVGS DWRFLRGYHQYAYDGKD YIALKE
DLRSWTAADMCAQTTKHKWEAAHVAEQ LRAYLEGTCVEWLRRYLEN
GKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALS FYPAEITLTWQRDG
EDQTQDTEL VETRPCGDGTFQKWA AVVVP SGQE QRYTCHVQHEGLP
KPLTLRWEAAAGGDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
[1099] NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMH
EALHNHYTQKSLSLSPGK。

[1100] 140. 一种组合物,所述组合物包含如实施方案132至139中任一项的多肽。

[1101] 141. 一种组合物,所述组合物包含如实施方案132至139中任一项的多肽和药学上可接受的载体。

[1102] 142. 一种制备T细胞-MMP-表位缀合物的方法,所述方法包括:

[1103] a) 将编码化学缀合位点的核苷酸序列并入编码T细胞-MMP的第一多肽和/或第二多肽的核酸序列中,以引入第一多肽化学缀合位点和/或第二多肽化学缀合位点;

[1104] b) 将所述核酸引入细胞以表达所述T细胞-MMP并获得具有第一多肽化学缀合位点和/或第二多肽化学缀合位点的T细胞-MMP,并且任选地纯化所述T细胞-MMP(部分或完全);

[1105] c) 其中所述化学缀合位点需要酶促活化或化学转化,从而活化或转化所述化学缀合位点(例如,用酶);以及

[1106] d) 使具有第一多肽化学缀合位点和/或第二多肽化学缀合位点的T细胞-MMP与能够在适于引起在所述第一多肽化学缀合位点或所述第二多肽化学缀合位点与所述表位(或附接至所述表位的接头)之间形成共价键(例如在酶或催化剂存在下)的反应条件下与所述第一多肽化学缀合位点或所述第二多肽化学缀合位点进行反应的表位(或具有附接的接头的表位)接触以产生所述T细胞-MMP表位缀合物。

[1107] 143.如实施方案142的方法,其中所述化学缀合位点是硫酸酯酶基序(例如,式(I)或(II)的硫酸酯酶基序,如X1CX2PX3Z3;CX1PX2Z3)。

[1108] 144.如实施方案143的方法,其中所述细胞:

[1109] i) 表达FGE并将所述硫酸酯酶基序的丝氨酸或半胱氨酸转化为FGly,或

[1110] ii) 不表达将所述硫酸酯酶基序的丝氨酸或半胱氨酸转化为FGly的FGE,并且所述方法进一步包括使具有第一多肽化学缀合位点和/或第二多肽化学缀合位点的T细胞-MMP与将所述硫酸酯酶基序的丝氨酸或半胱氨酸转化为FGly的FGE接触;以及

[1111] iii) 使含有FGly的多肽与已经被在FGly的醛与所述表位之间形成共价键的基团官能化的表位接触,

[1112] 从而形成T细胞-MMP-表位缀合物。

[1113] XII. 实施例

[1114] 实施例1.具有甲酰甘氨酸(fGly)化学缀合位点的T细胞-MMP的制备。

[1115] 此预示性实施例提供具有第一多肽和第二多肽的T细胞-MMP的制备,所述第一多肽含有fGly化学缀合位点。第一多肽与第二多肽一起形成可缀合表位的T细胞-MMP。

[1116] 通过将第一多肽和第二多肽的编码序列组装于包括用于驱动编码第一多肽和第二多肽的mRNA分子的表达的组成型或诱导型启动子元件以及聚腺苷酸化和终止密码子的表达盒中来制备所述多肽。将表达盒组装至单独的载体(质粒、病毒等)或单一载体中,以便由适合的细胞系(例如CHO、HEK、Vero、COS、酵母等)进行瞬时表达。或者,将所组装的盒稳定整合至此类细胞中以用于第一多肽和第二多肽的组成性或诱导性表达。

[1117] 以下所描述的T细胞-MMP多肽的第一多肽和第二多肽中所显示的接头为任选的。当存在时,所述接头为氨基酸序列(例如1至50个氨基酸,诸如AAAGG(SEQ ID NO:75)或(GGGGS)_n(SEQ ID NO:76),其中n为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。在显示多于一个接头序列时,针对各位置所选择的接头序列可与针对出现接头的任何其他位点所选择的接头序列相同或不同。

[1118] 1A. 第一多肽

[1119] 此实施例的第一多肽从N-末端至C-末端包含a) 前导序列、b) 用于引入fGly化学偶联位点的硫酸酯酶基序、c) 任选的接头和d) β2M多肽。在FGE作用后,第一肽允许所述基序中的半胱氨酸转化成甲酰甘氨酸(fGly)残基。因此,mRNA编码具有以下总体序列的第一多肽

(在前导序列移除和用于产生fGly残基的FGE作用之前显示)：

[1120] MSRSVALAVLALLSLSGLEA-接头-X1Z1X2Z2X3Z3IQRTTP (β 2M的其余部分,例如,根据图4)；

[1121] MSRSVALAVLALLSLSGLEA-接头-X1Z1X2Z2X3Z3-接头-IQRTTP (β 2M的其余部分,例如,根据图4)；

[1122] MSRSVALAVLALLSLSGLEA-接头-X1Z1X2Z2X3RTP (β 2M的其余部分,例如,根据图4)；

[1123] MSRSVALAVLALLSLSGLEA-接头-X1CX2PX3IQRTTP (β 2M的其余部分,例如,根据图4)；

[1124] MSRSVALAVLALLSLSGLEA-接头-X1CX2PX3Z3-接头-IQRTTP (β 2M的其余部分,例如,根据图4)；或

[1125] MSRSVALAVLALLSLSGLEA-接头-X1CX2PX3RTP (K/Q) IQVYS... (β 2M的其余部分,例如,根据图4)。

[1126] 在以上提及的第一肽内,序列MSRSVALAVLALLSLSGLEA (SEQ ID NO:167) 充当信号序列并且在多肽成熟期间在细胞加工过程中被移除。以上第I.A部分中描述硫酸酯酶基序的残基 (X1、Z1、X2、Z2、X3和Z3)。这种第一多肽的图示于图9部分A中,其中硫酸酯酶基序 (LCTPSR) 显示于G₄S (GGGGS) SEQ ID NO:76接头内以强调接头可置于所述基序之前和/或之后。所述图还指示 β 2M多肽中位置12处精氨酸变成半胱氨酸 (R12C) 的潜在氨基酸取代位置。所述图下方显示包含前导序列的第一多肽的示例性肽序列。 β 2M多肽以粗体与斜体显示,并且硫酸酯酶序列 (LCTPSR) 以粗体显示。

[1127] 1B. 第二多肽

[1128] 此实施例的第二多肽从N-末端至C-末端包含a) 前导序列、b) MOD多肽、c) 任选的接头、d) 1类MHC重链多肽、e) 任选的接头和f) 免疫球蛋白Fc区。

[1129] mRNA编码具有以下总体结构的第二多肽:信号序列-接头-IL2多肽-接头-IL2多肽-1类MHC重链多肽-接头-免疫球蛋白重链Fc多肽,其中信号序列为人IL2信号序列。这种第二多肽的图示于图9部分B中,其中多肽含有信号序列MYRMQLLSCIALSLALVTNS (SEQ ID NO:168)、由具有四个G₄S (GGGGS) (SEQ ID NO:76) 重复序列的接头隔开的人IL2 MOD的重复序列 (以粗体显示)。所述多肽还含有人HLA-A多肽 (以粗体和斜体显示) 和人IgG1 Fc多肽。图下指示潜在氨基酸取代位置,包括Y84C、A139C和A236C半胱氨酸取代位置。Y84C和A139C取代允许HLA α 1螺旋羧基端附近的区域与HLA α 2-1螺旋氨基末端周围的区域之间形成稳定二硫键。由A236C取代产生的半胱氨酸可与例如第一多肽中的 β 2M多肽的位置12处的半胱氨酸形成链间二硫键。所述图下方显示包含前导序列的第二多肽的示例性肽序列。

[1130] 1C. 第一多肽第二多肽的表达和成熟

[1131] 如以上所指出,通过在适合的细胞系 (例如真核生物或哺乳动物细胞系) 中瞬时或稳定表达来制备第一多肽和第二多肽。细胞中的加工移除信号序列并且当用于多肽表达的细胞还表达能够将硫酸酯酶基序的半胱氨酸或丝氨酸转化成甲酰甘氨酸 (fGly) 残基的FGE时形成fGly残基。

[1132] 可通过细胞将T细胞-MMP加工为包含第一多肽和第二多肽和结合 (非共价缔合) 的表位或空多肽的复合物。在HLA重链多肽中介于 α 1螺旋羧基端处的区域与 α 2-1螺旋氨基末端处的区域之间处引入二硫键允许在不存在与第一多肽和第二多肽缔合的表位多肽的情况下进行表达。另外,由于T细胞-MMP复合物不含膜锚定区,所述所述复合物得以呈可溶形

式从表达细胞中释放。

[1133] 在已获得适合水平的所表达的T细胞-MMP之后,收集含有所表达的T细胞-MMP的细胞培养基。在用于表达的细胞不具有FGE活性时,用能够在硫酸酯酶基序处形成fGly残基的FGE处理T细胞-MMP。使用例如色谱法进行从培养基分离和浓缩T细胞-MMP,以产生在复合物的第一多肽的氨基末端处或附近具有fGly化学缀合位点的经纯化的T细胞-MMP。所得T细胞-MMP具有图5部分B中所示的通用结构,其中第一多肽中的MHC-1为 β 2M多肽,第二多肽“MOD”为成对IL2多肽,MHC-2为HLA-A多肽,并且Fc为IgG1重链恒定区。介于第一多肽与第二多肽之间的二硫键由因 β 2M多肽R12C和HLA-A A236C取代而来的半胱氨酸产生。

[1134] 实施例2.T细胞-MMP-表位缀合物的制备

[1135] 通过在表位肽上形成能够与T细胞-MMP中的fGly醛反应的基团使表位多肽与实施例1中制备的fGly多肽缀合。尽管可利用氨基硫脲、氨基氧基、酰肼或肼基醛反应性基团,但通过使用附接至吡啶的肼基来说明此实施例,其中表位肽(图8中的R)直接或间接地共价结合至吡啶环的氮。如图8中所示,取决于肼基吡啶的特定结构,表位肽(R)与T细胞-MMP的含fGly多肽(圈出的多肽)接触使得T细胞-MMP和表位通过形成三环基团而共价连接,从而形成T细胞-MMP-表位缀合物。所述缀合物具有图6中的实施方案B的通用化结构,其中未显示共价连接表位和 β 2M多肽的三环基团。

[1136] 实施例3.与HBV表位缀合的T细胞-MMP

[1137] 可制备以产生T细胞-MMP复合物的T细胞-MMP构建体的非限制性实施例包括图10A-10D和图11A-11E中所描绘的那些。虽然通过特定复合物进行例示,但来自图10的肽与来自图11的肽的任何组合均可用于形成可与表位肽结合以形成T细胞-MMP复合物的T细胞-MMP。图10中所示的肽中的每一者含有构成人IL-2序列、HLA-A重链序列和IgG支架的氨基酸。通过如以上所描述在氨基酸89和139处并入半胱氨酸以形成稳定链内二硫键并且在氨基酸236处并入半胱氨酸从而可与接下来描述的含 β 2M的多肽形成链间二硫键而使HLA-A序列稳定。在每种情况下,图11中所示的多肽含有在位置12处具有半胱氨酸取代以用于链间二硫键形成的 β 2M序列和侧接有任选的接头的硫酸酯酶基序(SEQ ID NO:45):(接头)₀₋₄-X1Z1X2Z2X3Z3-(接头)₀₋₄。可如以上(例如,如实施例1和实施例2中)所描述来选择硫酸酯酶基序氨基酸以包括硫酸酯酶氨基酸序列,诸如LCTPSR。独立地选择硫酸酯酶基序氨基侧和羧基侧上的接头,并且当其存在时可作为任何所需氨基酸序列,诸如1至4个GGGG(SEQ ID NO:76)重复序列。举例而言,在哺乳动物细胞中表达引起形成包含HLA-A重链的T细胞-MMP复合物和包含硫酸酯酶和 β 2M序列的肽。表位肽,诸如选自以下的HBV表位肽:LIMPARFYPK(SEQ ID NO:91)、AIMPARFYPK(SEQ ID NO:92)、YVNVNMGGLK(SEQ ID NO:93)、FLPSDFFPSV(SEQ ID NO:84)、STLPETTVV(SEQ ID NO:90)或HBV表位表中所列出的其他HBV表位,可通过在硫酸酯酶基序中形成甲酰甘氨酸,随后使所述甲酰基与经适当修饰的肽(例如在其羧基末端处或附近携带氨基硫脲、氨基氧基、酰肼或肼基(诸如肼基吡啶)的肽)缀合而与第一肽和第二肽复合物缀合。

[1138] 在T细胞-MMP的一个非限制性实施例中,所述复合物包含含有图10A中命名为1775'的氨基酸序列的MHC重链;并且所述第二多肽为图11A中命名为1783'的多肽。所述多肽在一些情况下将不包含信号肽(MYRMQLLSIALSLALVTNS(SEQ ID NO:168)),并且所述含有 β 2M序列的多肽在一些情况下将不包含前导肽(MSRSVLAVLALLSLSGLEA(SEQ ID NO:

167))。在一些情况下,表位肽不为图11A中所描绘的LIMPARFYPPK (SEQ ID NO:91) 肽。

[1139] 在T细胞-MMP的第二非限制性实施例中,所述复合物包含含有图10B中命名为1777'的氨基酸序列的MHC重链;并且所述第二多肽为图11A中命名为1783'的多肽。所述多肽在一些情况下将不包含信号肽(MYRMQLLSICIALSLALVTNS (SEQ ID NO:168)),并且所述含有β2M序列的多肽在一些情况下将不包含前导肽(MSRVALAVLALLSLSGLEA (SEQ ID NO:167))。在一些情况下,表位肽不为图11A中所描绘的LIMPARFYPPK (SEQ ID NO:91) 肽。

[1140] 在T细胞-MMP的第三非限制性实施例中,所述复合物包含含有图10C中命名为1779'的氨基酸序列的MHC重链;并且所述第二多肽为图11A中命名为1783'的多肽。所述多肽在一些情况下将不包含信号肽(MYRMQLLSICIALSLALVTNS (SEQ ID NO:168)),并且所述含有β2M序列的多肽在一些情况下将不包含前导肽(MSRVALAVLALLSLSGLEA (SEQ ID NO:167))。在一些情况下,表位肽不为图11A中所描绘的LIMPARFYPPK (SEQ ID NO:91) 肽。

[1141] 在T细胞-MMP的第四非限制性实施例中,所述复合物包含含有图10D中命名为1781'的氨基酸序列的MHC重链;并且所述第二多肽为图11A中命名为1783'的多肽。所述多肽在一些情况下将不包含信号肽(MYRMQLLSICIALSLALVTNS (SEQ ID NO:168)),并且所述含有β2M序列的多肽在一些情况下将不包含前导肽(MSRVALAVLALLSLSGLEA (SEQ ID NO:167))。在一些情况下,表位肽不为图11A中所描绘的LIMPARFYPPK (SEQ ID NO:91) 肽。

[1142] 在T细胞-MMP的第五非限制性实施例中,所述复合物包含含有图10A中命名为1775'的氨基酸序列的MHC重链;并且所述第二多肽为图11B中命名为1784'的多肽。所述多肽在一些情况下将不包含信号肽(MYRMQLLSICIALSLALVTNS (SEQ ID NO:168)),并且所述含有β2M序列的多肽在一些情况下将不包含前导肽(MSRVALAVLALLSLSGLEA (SEQ ID NO:167))。在一些情况下,表位肽不为图11B中所描绘的AIMPARFYPPK (SEQ ID NO:92) 肽。

[1143] 在T细胞-MMP的第六非限制性实施例中,所述复合物包含含有图10B中命名为1777'的氨基酸序列的MHC重链;并且所述第二多肽为图11B中命名为1784'的多肽。所述多肽在一些情况下将不包含信号肽(MYRMQLLSICIALSLALVTNS (SEQ ID NO:168)),并且所述含有β2M序列的多肽在一些情况下将不包含前导肽(MSRVALAVLALLSLSGLEA (SEQ ID NO:167))。在一些情况下,表位肽不为图11B中所描绘的AIMPARFYPPK (SEQ ID NO:92) 肽。

[1144] 在T细胞-MMP的第七非限制性实施例中,所述复合物包含含有图10C中命名为1779'的氨基酸序列的MHC重链;并且所述第二多肽为图11B中命名为1784'的多肽。所述多肽在一些情况下将不包含信号肽(MYRMQLLSICIALSLALVTNS (SEQ ID NO:168)),并且所述含有β2M序列的多肽在一些情况下将不包含前导肽(MSRVALAVLALLSLSGLEA (SEQ ID NO:167))。在一些情况下,表位肽不为图11B中所描绘的AIMPARFYPPK (SEQ ID NO:92) 肽。

[1145] 在T细胞-MMP的第八非限制性实施例中,所述复合物包含含有图10D中命名为1781'的氨基酸序列的MHC重链;并且所述第二多肽为图11B中命名为1784'的多肽。所述多肽在一些情况下将不包含信号肽(MYRMQLLSICIALSLALVTNS (SEQ ID NO:168)),并且所述含有β2M序列的多肽在一些情况下将不包含前导肽(MSRVALAVLALLSLSGLEA (SEQ ID NO:167))。在一些情况下,表位肽不为图11B中所描绘的AIMPARFYPPK (SEQ ID NO:92) 肽。

[1146] 在T细胞-MMP的第九非限制性实施例中,所述复合物包含含有图10A中命名为1775'的氨基酸序列的MHC重链;并且所述第二多肽为图11C中命名为1785'的多肽。所述多肽在一些情况下将不包含信号肽(MYRMQLLSICIALSLALVTNS (SEQ ID NO:168)),并且所述含

有 β 2M序列的多肽在一些情况下将不包含前导肽(MSRSV₁AVLALLSLSGLEA (SEQ ID NO: 167))。在一些情况下,表位肽不为图11C中所描绘的YVNVNMGLK (SEQ ID NO:93) 肽。

[1147] 在T细胞-MMP的第十非限制性实施例中,所述复合物包含含有图10B中命名为1777'的氨基酸序列的MHC重链;并且所述第二多肽为图11C中命名为1785'的多肽。所述多肽在一些情况下将不包含信号肽(MYRMQLLS₁CIALSLALVTNS (SEQ ID NO:168)),并且所述含有 β 2M序列的多肽在一些情况下将不包含前导肽(MSRSV₁AVLALLSLSGLEA (SEQ ID NO: 167))。在一些情况下,表位肽不为图11C中所描绘的YVNVNMGLK (SEQ ID NO:93) 肽。

[1148] 在T细胞-MMP的第十一非限制性实施例中,所述复合物包含含有图10C中命名为1779'的氨基酸序列的MHC重链;并且所述第二多肽为图11C中命名为1785'的多肽。所述多肽在一些情况下将不包含信号肽(MYRMQLLS₁CIALSLALVTNS (SEQ ID NO:168)),并且所述含有 β 2M序列的多肽在一些情况下将不包含前导肽(MSRSV₁AVLALLSLSGLEA (SEQ ID NO: 167))。在一些情况下,表位肽不为图11C中所描绘的YVNVNMGLK (SEQ ID NO:93) 肽。

[1149] 在T细胞-MMP的第十二非限制性实施例中,所述复合物包含含有图10D中命名为1781'的氨基酸序列的MHC重链;并且所述第二多肽为图11C中命名为1785'的多肽。所述多肽在一些情况下将不包含信号肽(MYRMQLLS₁CIALSLALVTNS (SEQ ID NO:168)),并且所述含有 β 2M序列的多肽在一些情况下将不包含前导肽(MSRSV₁AVLALLSLSGLEA (SEQ ID NO: 167))。在一些情况下,表位肽不为图11C中所描绘的YVNVNMGLK (SEQ ID NO:93) 肽。

[1150] 实施例4. 与CMV表位缀合的T细胞-MMP

[1151] 依次包含信号肽(MSRSV₁AVLALLSLSGLEA (SEQ ID NO:167))、侧接任选的接头的硫酸酯酶基序(SEQ ID NO:45)和 β 2M序列(参见SEQ ID NO:151和图4)的第一多肽:

MSRSVALAVLALLSLSGLEA(接头)₀₋₄X1Z1X2Z2X3Z3(接头)₀₋₄I
QRTPKIQVYSCHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIE
KVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNHVTL₁SQPKI

VKWDRDM可与依次含有信号序列(MYRMQLLS₁CIALSLALVTNS (SEQ ID NO:168))和人IL-2MOD、具有Y84C、A139C和A236C氨基酸取代的HLA-A11 (HLA A*1101) 序列的第二多肽:

MYRMQLLSICIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEALLDL
QMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCLEE
LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCE
YADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGGGSGGGGGSGG
[1152] GGSAPTSSSTKKTQLQLEALLDLQMILNGINNYKNPKLTRML
TAKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLR
RDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQ
SIISTLTGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSGSHSMRYFYTSVSRPGRG
EPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMERAPWIEQEGPEYWDQ
ETRNVKAQSQTDRVDLGLRGCYNQSEDGSHTIQIMYGCDVGPD
GRFLRGYRQDAYDGKDIALNEDLRSWTCADMCAQITKRKWEA
AHAAEQQRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDPPKTHMTHH
PISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPCG
DGTFQKWAAVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEAAAGG
DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
[1153] SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL
DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS

LSPGK。(SEQ ID NO:169)一起表达。

[1154] 可共表达其他1类MHC重链构建体(诸如图10中的那些构建体)作为以上所示的含HLA-A构建体的替代物。接头和硫酸酯酶基序如以上例如实施例1和实施例2中所描述。

[1155] 共表达产生具有可与多肽结合的硫酸酯酶基序的T细胞-MMP复合物。在硫酸酯酶基序为例如LCTPSR(转化成醛之后为L(fGly)TPSR)并且供缀合的表位来自CMV(例如,NLVPMVATV(SEQ ID NO:170))时,转化之后含有fGly残基并且结合至表位肽的c-末端的第一多肽可显示为:NLVPMVATV(接头)₀₋₄L(fGly)TPSR(接头)₀₋₄

IQRTPKIQVYSCHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERI
EKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNHVTLSPK
IVKWDRDM(β2M序列参见SEQ ID NO:151和图4)。

[1156] 已通过细胞加工移除信号肽并且未显示介于半胱氨酸12与含HLA-A*1101的构建体之间的键联。

序列表

<110> 库尔生物制药有限公司 (Cue Biopharma, Inc.)
<120> 具有缀合位点的T细胞调节性多聚体多肽及其使用方法
<130> 123640-8001.W000
<150> US 62/555,559
<151> 2017-09-07
<150> US62/609,082
<151> 2017-12-21
<150> US 62/615,402
<151> 2018-01-09
<160> 170
<170> PatentIn version 3.5
<210> 1
<211> 227
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)
<400> 1
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

	165		170		175										
Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val
	180							185					190		
Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
	195						200					205			
His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
	210						215				220				
Pro	Gly	Lys													
225															
<210>	2														
<211>	325														
<212>	PRT														
<213>	智人 (Homo sapiens)														
<400>	2														
Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser
1				5					10					15	
Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe
			20					25					30		
Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly
			35				40					45			
Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu
	50					55					60				
Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr
65					70				75					80	
Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr
				85					90				95		
Val	Glu	Arg	Lys	Cys	Cys	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro
			100					105					110		
Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr
		115					120					125			
Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val
	130					135					140				
Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val
145					150				155					160	
Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser
				165					170				175		
Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu
			180						185				190		
Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala

195	200	205
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro		
210	215	220
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln		
225	230	235
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala		
245	250	255
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr		
260	265	270
Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu		
275	280	285
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser		
290	295	300
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser		
305	310	315
Leu Ser Pro Gly Lys		320
325		
<210> 3		
<211> 246		
<212> PRT		
<213> 智人 (Homo sapiens)		
<400> 3		
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Leu Lys Thr		
1	5	10
Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu		
20	25	30
Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp		
35	40	45
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp		
50	55	60
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly		
65	70	75
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn		
85	90	95
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp		
100	105	110
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro		
115	120	125
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu		

130	135	140
Pro Gln Val Tyr Thr Leu	Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn	
145	150	155
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile		160
	165	170
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr		175
	180	185
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys		190
	195	200
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys		205
210	215	220
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu		
225	230	235
Ser Leu Ser Pro Gly Lys		240
	245	
<210> 4		
<211> 383		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 4		
Pro Thr Lys Ala Pro Asp Val Phe Pro Ile Ile Ser Gly Cys Arg His		
1	5	10
Pro Lys Asp Asn Ser Pro Val Val Leu Ala Cys Leu Ile Thr Gly Tyr		15
	20	25
His Pro Thr Ser Val Thr Val Thr Trp Tyr Met Gly Thr Gln Ser Gln		30
	35	40
Pro Gln Arg Thr Phe Pro Glu Ile Gln Arg Arg Asp Ser Tyr Tyr Met		45
50	55	60
Thr Ser Ser Gln Leu Ser Thr Pro Leu Gln Gln Trp Arg Gln Gly Glu		
65	70	75
Tyr Lys Cys Val Val Gln His Thr Ala Ser Lys Ser Lys Lys Glu Ile		80
	85	90
Phe Arg Trp Pro Glu Ser Pro Lys Ala Gln Ala Ser Ser Val Pro Thr		95
	100	105
Ala Gln Pro Gln Ala Glu Gly Ser Leu Ala Lys Ala Thr Thr Ala Pro		110
	115	120
Ala Thr Thr Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys Glu		125
130	135	140
Lys Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys		

145	150	155	160
Pro Ser His Thr Gln	Pro Leu Gly Val Tyr	Leu Leu Thr Pro	Ala Val
165	170	175	
Gln Asp Leu Trp Leu Arg Asp Lys	Ala Thr Phe Thr Cys Phe	Val Val	
180	185	190	
Gly Ser Asp Leu Lys Asp Ala His	Leu Thr Trp Glu Val	Ala Gly Lys	
195	200	205	
Val Pro Thr Gly Gly Val Glu Glu Gly	Leu Leu Glu Arg His Ser	Asn	
210	215	220	
Gly Ser Gln Ser Gln His Ser Arg	Leu Thr Leu Pro Arg Ser	Leu Trp	
225	230	235	240
Asn Ala Gly Thr Ser Val Thr Cys Thr	Leu Asn His Pro Ser	Leu Pro	
245	250	255	
Pro Gln Arg Leu Met Ala Leu Arg	Glu Pro Ala Ala Gln Ala	Pro Val	
260	265	270	
Lys Leu Ser Leu Asn Leu Leu Ala Ser	Ser Asp Pro Pro Glu Ala Ala		
275	280	285	
Ser Trp Leu Leu Cys Glu Val Ser Gly	Phe Ser Pro Pro Asn Ile	Leu	
290	295	300	
Leu Met Trp Leu Glu Asp Gln Arg Glu	Val Asn Thr Ser Gly Phe	Ala	
305	310	315	320
Pro Ala Arg Pro Pro Pro Gln Pro Arg	Ser Thr Thr Phe Trp Ala	Trp	
325	330	335	
Ser Val Leu Arg Val Pro Ala Pro Pro	Ser Pro Gln Pro Ala Thr	Tyr	
340	345	350	
Thr Cys Val Val Ser His Glu Asp Ser	Arg Thr Leu Leu Asn Ala	Ser	
355	360	365	
Arg Ser Leu Glu Val Ser Tyr Val Thr	Asp His Gly Pro Met	Lys	
370	375	380	
<210>	5		
<211>	276		
<212>	PRT		
<213>	智人 (Homo sapiens)		
<400>	5		
Val Thr Ser Thr Leu Thr Ile Lys Glx	Ser Asp Trp Leu Gly Glu	Ser	
1	5	10	15
Met Phe Thr Cys Arg Val Asp His Arg	Gly Leu Thr Phe Gln Gln	Asn	
20	25	30	
Ala Ser Ser Met Cys Val Pro Asp Gln	Asp Thr Ala Ile Arg	Val Phe	

35	40	45
Ala Ile Pro Pro Ser Phe	Ala Ser Ile Phe Leu Thr Lys Ser Thr Lys	
50	55	60
Leu Thr Cys Leu Val Thr Asp	Leu Thr Thr Tyr Asx Ser Val Thr Ile	
65	70	75
Ser Trp Thr Arg Glu Glu Asn Gly	Ala Val Lys Thr His Thr Asn Ile	
85	90	95
Ser Glu Ser His Pro Asn Ala Thr	Phe Ser Ala Val Gly Glu Ala Ser	
100	105	110
Ile Cys Glu Asp Asx Asp Trp Ser	Gly Glu Arg Phe Thr Cys Thr Val	
115	120	125
Thr His Thr Asp Leu Pro Ser Pro	Leu Lys Gln Thr Ile Ser Arg Pro	
130	135	140
Lys Gly Val Ala Leu His Arg Pro	Asx Val Tyr Leu Leu Pro Pro Ala	
145	150	155
Arg Glx Glx Leu Asn Leu Arg Glu	Ser Ala Thr Ile Thr Cys Leu Val	
165	170	175
Thr Gly Phe Ser Pro Ala Asp Val	Phe Val Glu Trp Met Gln Arg Gly	
180	185	190
Glu Pro Leu Ser Pro Gln Lys Tyr	Val Thr Ser Ala Pro Met Pro Glu	
195	200	205
Pro Gln Ala Pro Gly Arg Tyr Phe	Ala His Ser Ile Leu Thr Val Ser	
210	215	220
Glu Glu Glu Trp Asn Thr Gly Gly	Thr Tyr Thr Cys Val Val Ala His	
225	230	235
Glu Ala Leu Pro Asn Arg Val Thr	Glu Arg Thr Val Asp Lys Ser Thr	
245	250	255
Gly Lys Pro Thr Leu Tyr Asn Val	Ser Leu Val Met Ser Asp Thr Ala	
260	265	270
Gly Thr Cys Tyr		
275		
<210>	6	
<211>	353	
<212>	PRT	
<213>	智人 (Homo sapiens)	
<400>	6	
Ala Ser Pro Thr Ser Pro Lys Val	Phe Pro Leu Ser Leu Cys Ser Thr	
1	5	10
Gln Pro Asp Gly Asn Val Val Ile	Ala Cys Leu Val Gln Gly Phe Phe	

20	25	30
Pro Gln Glu Pro Leu Ser Val Thr Trp Ser Glu Ser Gly Gln Gly Val		
35	40	45
Thr Ala Arg Asn Phe Pro Pro Ser Gln Asp Ala Ser Gly Asp Leu Tyr		
50	55	60
Thr Thr Ser Ser Gln Leu Thr Leu Pro Ala Thr Gln Cys Leu Ala Gly		
65	70	75
Lys Ser Val Thr Cys His Val Lys His Tyr Thr Asn Pro Ser Gln Asp		
85	90	95
Val Thr Val Pro Cys Pro Val Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro		
100	105	110
Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro Ser Cys Cys His Pro Arg Leu Ser		
115	120	125
Leu His Arg Pro Ala Leu Glu Asp Leu Leu Leu Gly Ser Glu Ala Asn		
130	135	140
Leu Thr Cys Thr Leu Thr Gly Leu Arg Asp Ala Ser Gly Val Thr Phe		
145	150	155
Thr Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Ser Ala Val Gln Gly Pro Pro Glu		
165	170	175
Arg Asp Leu Cys Gly Cys Tyr Ser Val Ser Ser Val Leu Pro Gly Cys		
180	185	190
Ala Glu Pro Trp Asn His Gly Lys Thr Phe Thr Cys Thr Ala Ala Tyr		
195	200	205
Pro Glu Ser Lys Thr Pro Leu Thr Ala Thr Leu Ser Lys Ser Gly Asn		
210	215	220
Thr Phe Arg Pro Glu Val His Leu Leu Pro Pro Pro Ser Glu Glu Leu		
225	230	235
Ala Leu Asn Glu Leu Val Thr Leu Thr Cys Leu Ala Arg Gly Phe Ser		
245	250	255
Pro Lys Asp Val Leu Val Arg Trp Leu Gln Gly Ser Gln Glu Leu Pro		
260	265	270
Arg Glu Lys Tyr Leu Thr Trp Ala Ser Arg Gln Glu Pro Ser Gln Gly		
275	280	285
Thr Thr Thr Phe Ala Val Thr Ser Ile Leu Arg Val Ala Ala Glu Asp		
290	295	300
Trp Lys Lys Gly Asp Thr Phe Ser Cys Met Val Gly His Glu Ala Leu		
305	310	315
Pro Leu Ala Phe Thr Gln Lys Thr Ile Asp Arg Leu Ala Gly Lys Pro		
325	330	335

Thr His Val Asn Val Ser Val Val Met Ala Glu Val Asp Gly Thr Cys
 340 345 350
 Tyr
 <210> 7
 <211> 222
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens)
 <400> 7
 Ala Asp Pro Cys Asp Ser Asn Pro Arg Gly Val Ser Ala Tyr Leu Ser
 1 5 10 15
 Arg Pro Ser Pro Phe Asp Leu Phe Ile Arg Lys Ser Pro Thr Ile Thr
 20 25 30
 Cys Leu Val Val Asp Leu Ala Pro Ser Lys Gly Thr Val Asn Leu Thr
 35 40 45
 Trp Ser Arg Ala Ser Gly Lys Pro Val Asn His Ser Thr Arg Lys Glu
 50 55 60
 Glu Lys Gln Arg Asn Gly Thr Leu Thr Val Thr Ser Thr Leu Pro Val
 65 70 75 80
 Gly Thr Arg Asp Trp Ile Glu Gly Glu Thr Tyr Gln Cys Arg Val Thr
 85 90 95
 His Pro His Leu Pro Arg Ala Leu Met Arg Ser Thr Thr Lys Thr Ser
 100 105 110
 Gly Pro Arg Ala Ala Pro Glu Val Tyr Ala Phe Ala Thr Pro Glu Trp
 115 120 125
 Pro Gly Ser Arg Asp Lys Arg Thr Leu Ala Cys Leu Ile Gln Asn Phe
 130 135 140
 Met Pro Glu Asp Ile Ser Val Gln Trp Leu His Asn Glu Val Gln Leu
 145 150 155 160
 Pro Asp Ala Arg His Ser Thr Thr Gln Pro Arg Lys Thr Lys Gly Ser
 165 170 175
 Gly Phe Phe Val Phe Ser Arg Leu Glu Val Thr Arg Ala Glu Trp Glu
 180 185 190
 Gln Lys Asp Glu Phe Ile Cys Arg Ala Val His Glu Ala Ala Ser Pro
 195 200 205
 Ser Gln Thr Val Gln Arg Ala Val Ser Val Asn Pro Gly Lys
 210 215 220
 <210> 8
 <211> 327
 <212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 8

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

290	295	300
Cys Ser Val Met His Glu	Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser	
305	310	315 320
Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys		
325		
<210> 9		
<211> 227		
<212> PRT		
<213> 智人 (Homo sapiens)		
<400> 9		
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly		
1 5 10 15		
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met		
20 25 30		
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His		
35 40 45		
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val		
50 55 60		
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr		
65 70 75 80		
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly		
85 90 95		
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile		
100 105 110		
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val		
115 120 125		
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser		
130 135 140		
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu		
145 150 155 160		
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro		
165 170 175		
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val		
180 185 190		
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met		
195 200 205		
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser		
210 215 220		
Pro Gly Lys		

225
 <210> 10
 <211> 227
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)
 <400> 10
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly
 1 5 10 15
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 20 25 30
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 35 40 45
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 50 55 60
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 65 70 75 80
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 85 90 95
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile
 100 105 110
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly Lys
 225
 <210> 11
 <211> 227
 <212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 11

```

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

```

<210> 12

<211> 227

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 12

```

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
1           5           10           15

```

Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met
			20					25					30		
Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His
		35					40					45			
Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
	50					55					60				
His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr
65					70					75				80	
Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
				85					90					95	
Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile
			100					105					110		
Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val
		115					120					125			
Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser
	130					135					140				
Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu
145					150					155				160	
Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro
				165					170					175	
Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val
			180					185					190		
Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
		195					200					205			
His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
	210					215					220				
Pro	Gly	Lys													
225															
<210>	13														
<211>	245														
<212>	PRT														
<213>	智人 (Homo sapiens)														
<400>	13														
Met	Arg	Ile	Phe	Ala	Val	Phe	Ile	Phe	Met	Thr	Tyr	Trp	His	Leu	Leu
1				5					10					15	
Asn	Ala	Phe	Thr	Val	Thr	Val	Pro	Lys	Asp	Leu	Tyr	Val	Val	Glu	Tyr
			20					25					30		
Gly	Ser	Asn	Met	Thr	Ile	Glu	Cys	Lys	Phe	Pro	Val	Glu	Lys	Gln	Leu
		35					40						45		

Asp Leu Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile		
50	55	60
Ile Gln Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser		
65	70	75 80
Tyr Arg Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn		
	85	90 95
Ala Ala Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr		
	100	105 110
Arg Cys Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val		
	115	120 125
Lys Val Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val		
	130	135 140
Asp Pro Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr		
145	150	155 160
Pro Lys Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser		
	165	170 175
Gly Lys Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn		
	180	185 190
Val Thr Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr		
	195	200 205
Cys Thr Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu		
	210	215 220
Val Ile Pro Gly Asn Ile Leu Asn Val Ser Ile Lys Ile Cys Leu Thr		
225	230	235 240
Leu Ser Pro Ser Thr		
	245	
<210> 14		
<211> 219		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 14		
Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr Gly Ser		
1	5	10 15
Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu Asp Leu		
	20	25 30
Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile Ile Gln		
	35	40 45
Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser Tyr Arg		
50	55	60

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

<210> 15

<211> 268

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 15

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

Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val Thr Glu Arg Arg		
115	120	125
Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Gly		
130	135	140
Gln Phe Gln Thr Leu Val Val Gly Val Val Gly Gly Leu Leu Gly Ser		
145	150	155
160		
Leu Val Leu Leu Val Trp Val Leu Ala Val Ile Cys Ser Arg Ala Ala		
165	170	175
Arg Gly Thr Ile Gly Ala Arg Arg Thr Gly Gln Pro Leu Lys Glu Asp		
180	185	190
Pro Ser Ala Val Pro Val Phe Ser Val Asp Tyr Gly Glu Leu Asp Phe		
195	200	205
Gln Trp Arg Glu Lys Thr Pro Glu Pro Pro Val Pro Cys Val Pro Glu		
210	215	220
Gln Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val Phe Pro Ser Gly Met Gly Thr Ser		
225	230	235
240		
Ser Pro Ala Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Pro Arg Ser Ala Gln Pro		
245	250	255
Leu Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro Leu		
260	265	
<210> 16		
<211> 208		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 16		
Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys		
1	5	10
15		
Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp		
20	25	30
Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn		
35	40	45
Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn		
50	55	60
Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr		
65	70	75
80		
Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg Glu His		
85	90	95
Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser		
100	105	110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys		
115	120	125
Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn		
130	135	140
Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu		
145	150	155
Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr		
	165	170
Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn		
	180	185
Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn		
	195	200
<210> 17		
<211> 220		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 17		
Met Leu Arg Leu Leu Leu Ala Leu Asn Leu Phe Pro Ser Ile Gln Val		
1	5	10
Thr Gly Asn Lys Ile Leu Val Lys Gln Ser Pro Met Leu Val Ala Tyr		
	20	25
Asp Asn Ala Val Asn Leu Ser Cys Lys Tyr Ser Tyr Asn Leu Phe Ser		
	35	40
Arg Glu Phe Arg Ala Ser Leu His Lys Gly Leu Asp Ser Ala Val Glu		
	50	55
Val Cys Val Val Tyr Gly Asn Tyr Ser Gln Gln Leu Gln Val Tyr Ser		
65	70	75
Lys Thr Gly Phe Asn Cys Asp Gly Lys Leu Gly Asn Glu Ser Val Thr		
	85	90
Phe Tyr Leu Gln Asn Leu Tyr Val Asn Gln Thr Asp Ile Tyr Phe Cys		
	100	105
Lys Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser		
	115	120
Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro		
	130	135
Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly		
145	150	155
Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile		
	165	170
		175

Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met
 180 185 190
 Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro
 195 200 205
 Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
 210 215 220

<210> 18

<211> 123

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 18

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

<210> 19

<211> 101

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 19

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

50	55	60
Ser Arg Leu Leu His	Ser Asp Tyr Met Asn Met	Thr Pro Arg Arg Pro
65	70	75
Gly Pro Thr Arg Lys	His Tyr Gln Pro Tyr Ala	Pro Pro Arg Asp Phe
85	90	95
Ala Ala Tyr Arg Ser		
100		
<210> 20		
<211> 224		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 20		
Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro		
1	5	10
Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Gln Ser Leu Ser Glu Leu Val Val		
20	25	30
Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly		
35	40	45
Lys Glu Lys Phe Asp Ser Val His Ser Lys Tyr Met Asn Arg Thr Ser		
50	55	60
Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln Ile Lys		
65	70	75
Asp Lys Gly Leu Tyr Gln Cys Ile Ile His His Lys Lys Pro Thr Gly		
85	90	95
Met Ile Arg Ile His Gln Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala Asn		
100	105	110
Phe Ser Gln Pro Glu Ile Val Pro Ile Ser Asn Ile Thr Glu Asn Val		
115	120	125
Tyr Ile Asn Leu Thr Cys Ser Ser Ile His Gly Tyr Pro Glu Pro Lys		
130	135	140
Lys Met Ser Val Leu Leu Arg Thr Lys Asn Ser Thr Ile Glu Tyr Asp		
145	150	155
Gly Ile Met Gln Lys Ser Gln Asp Asn Val Thr Glu Leu Tyr Asp Val		
165	170	175
Ser Ile Ser Leu Ser Val Ser Phe Pro Asp Val Thr Ser Asn Met Thr		
180	185	190
Ile Phe Cys Ile Leu Glu Thr Asp Lys Thr Arg Leu Leu Ser Ser Pro		
195	200	205
Phe Ser Ile Glu Leu Glu Asp Pro Gln Pro Pro Pro Asp His Ile Pro		

210	215	220
<210> 21		
<211> 110		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 21		
Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro		
1 5 10 15		
Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Gln Ser Leu Ser Glu Leu Val Val		
20 25 30		
Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly		
35 40 45		
Lys Glu Lys Phe Asp Ser Val His Ser Lys Tyr Met Asn Arg Thr Ser		
50 55 60		
Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln Ile Lys		
65 70 75 80		
Asp Lys Gly Leu Tyr Gln Cys Ile Ile His His Lys Lys Pro Thr Gly		
85 90 95		
Met Ile Arg Ile His Gln Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu		
100 105 110		
<210> 22		
<211> 254		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 22		
Met Glu Tyr Ala Ser Asp Ala Ser Leu Asp Pro Glu Ala Pro Trp Pro		
1 5 10 15		
Pro Ala Pro Arg Ala Arg Ala Cys Arg Val Leu Pro Trp Ala Leu Val		
20 25 30		
Ala Gly Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ala Ala Ala Cys Ala Val Phe		
35 40 45		
Leu Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser Pro Gly Ser		
50 55 60		
Ala Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp		
65 70 75 80		
Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val		
85 90 95		
Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp		
100 105 110		

Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu
 115 120 125
 Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe
 130 135 140
 Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser
 145 150 155 160
 Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala
 165 170 175
 Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala
 180 185 190
 Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala
 195 200 205
 Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His
 210 215 220
 Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val
 225 230 235 240
 Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu
 245 250

<210> 23

<211> 174

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 23

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

Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His
 130 135 140
 Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val
 145 150 155 160
 Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu
 165 170

<210> 24

<211> 175

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 24

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

<210> 25

<211> 167

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 25

Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu

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

<210> 26

<211> 255

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 26

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

	100					105					110					
Thr	Lys	Lys	Gly	Cys	Lys	Asp	Cys	Cys	Phe	Gly	Thr	Phe	Asn	Asp	Gln	
	115					120					125					
Lys	Arg	Gly	Ile	Cys	Arg	Pro	Trp	Thr	Asn	Cys	Ser	Leu	Asp	Gly	Lys	
	130					135					140					
Ser	Val	Leu	Val	Asn	Gly	Thr	Lys	Glu	Arg	Asp	Val	Val	Cys	Gly	Pro	
145				150					155					160		
Ser	Pro	Ala	Asp	Leu	Ser	Pro	Gly	Ala	Ser	Ser	Val	Thr	Pro	Pro	Ala	
	165					170					175					
Pro	Ala	Arg	Glu	Pro	Gly	His	Ser	Pro	Gln	Ile	Ile	Ser	Phe	Phe	Leu	
	180					185					190					
Ala	Leu	Thr	Ser	Thr	Ala	Leu	Leu	Phe	Leu	Leu	Phe	Phe	Leu	Thr	Leu	
	195					200					205					
Arg	Phe	Ser	Val	Val	Lys	Arg	Gly	Arg	Lys	Lys	Leu	Leu	Tyr	Ile	Phe	
	210					215					220					
Lys	Gln	Pro	Phe	Met	Arg	Pro	Val	Gln	Thr	Thr	Gln	Glu	Glu	Asp	Gly	
225				230					235					240		
Cys	Ser	Cys	Arg	Phe	Pro	Glu	Glu	Glu	Glu	Gly	Gly	Cys	Glu	Leu		
	245					250					255					
<210>	27															
<211>	133															
<212>	PRT															
<213>	智人(Homo sapiens)															
<400>	27															
Ala	Pro	Thr	Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	His	
1			5					10					15			
Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys	
	20					25					30					
Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Phe	Lys	Phe	Tyr	Met	Pro	Lys	
	35					40					45					
Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys	
	50					55					60					
Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu	
65			70					75					80			
Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu	
	85					90					95					
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala	
	100					105					110					
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Cys	Gln	Ser	Ile	

115	120	125
Ile Ser Thr Leu Thr		
130		
<210> 28		
<211> 251		
<212> PRT		
<213> 智人 (Homo sapiens)		
<400> 28		
Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala Thr Phe Lys		
1 5 10 15		
Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg		
20 25 30		
Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu Cys Thr Gly		
35 40 45		
Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser		
50 55 60		
Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln		
65 70 75 80		
Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln Pro Val Asp		
85 90 95		
Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn		
100 105 110		
Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Met Val Tyr		
115 120 125		
Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu		
130 135 140		
Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln		
145 150 155 160		
Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln Phe Pro Gly Glu Glu		
165 170 175		
Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu Ser Glu Thr Ser Cys		
180 185 190		
Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr Glu Met Ala Ala Thr		
195 200 205		
Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln Val Ala Val Ala Gly		
210 215 220		
Cys Val Phe Leu Leu Ile Ser Val Leu Leu Leu Ser Gly Leu Thr Trp		
225 230 235 240		
Gln Arg Arg Gln Arg Lys Ser Arg Arg Thr Ile		

245	250
<210> 29	
<211> 524	
<212> PRT	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 29	
Val Asn Gly Thr Ser Gln Phe Thr Cys Phe Tyr Asn Ser Arg Ala Asn	
1 5 10 15	
Ile Ser Cys Val Trp Ser Gln Asp Gly Ala Leu Gln Asp Thr Ser Cys	
20 25 30	
Gln Val His Ala Trp Pro Asp Arg Arg Arg Trp Asn Gln Thr Cys Glu	
35 40 45	
Leu Leu Pro Val Ser Gln Ala Ser Trp Ala Cys Asn Leu Ile Leu Gly	
50 55 60	
Ala Pro Asp Ser Gln Lys Leu Thr Thr Val Asp Ile Val Thr Leu Arg	
65 70 75 80	
Val Leu Cys Arg Glu Gly Val Arg Trp Arg Val Met Ala Ile Gln Asp	
85 90 95	
Phe Lys Pro Phe Glu Asn Leu Arg Leu Met Ala Pro Ile Ser Leu Gln	
100 105 110	
Val Val His Val Glu Thr His Arg Cys Asn Ile Ser Trp Glu Ile Ser	
115 120 125	
Gln Ala Ser His Tyr Phe Glu Arg His Leu Glu Phe Glu Ala Arg Thr	
130 135 140	
Leu Ser Pro Gly His Thr Trp Glu Glu Ala Pro Leu Leu Thr Leu Lys	
145 150 155 160	
Gln Lys Gln Glu Trp Ile Cys Leu Glu Thr Leu Thr Pro Asp Thr Gln	
165 170 175	
Tyr Glu Phe Gln Val Arg Val Lys Pro Leu Gln Gly Glu Phe Thr Thr	
180 185 190	
Trp Ser Pro Trp Ser Gln Pro Leu Ala Phe Arg Thr Lys Pro Ala Ala	
195 200 205	
Leu Gly Lys Asp Thr Ile Pro Trp Leu Gly His Leu Leu Val Gly Leu	
210 215 220	
Ser Gly Ala Phe Gly Phe Ile Ile Leu Val Tyr Leu Leu Ile Asn Cys	
225 230 235 240	
Arg Asn Thr Gly Pro Trp Leu Lys Lys Val Leu Lys Cys Asn Thr Pro	
245 250 255	
Asp Pro Ser Lys Phe Phe Ser Gln Leu Ser Ser Glu His Gly Gly Asp	

			260				265				270					
Val	Gln	Lys	Trp	Leu	Ser	Ser	Pro	Phe	Pro	Ser	Ser	Ser	Phe	Ser	Pro	
			275				280				285					
Gly	Gly	Leu	Ala	Pro	Glu	Ile	Ser	Pro	Leu	Glu	Val	Leu	Glu	Arg	Asp	
			290				295				300					
Lys	Val	Thr	Gln	Leu	Leu	Leu	Gln	Gln	Asp	Lys	Val	Pro	Glu	Pro	Ala	
305							310				315				320	
Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	His	Ser	Leu	Thr	Ser	Cys	Phe	Thr	Asn	Gln	Gly	
			325				330				335					
Tyr	Phe	Phe	Phe	His	Leu	Pro	Asp	Ala	Leu	Glu	Ile	Glu	Ala	Cys	Gln	
			340				345				350					
Val	Tyr	Phe	Thr	Tyr	Asp	Pro	Tyr	Ser	Glu	Glu	Asp	Pro	Asp	Glu	Gly	
			355				360				365					
Val	Ala	Gly	Ala	Pro	Thr	Gly	Ser	Ser	Pro	Gln	Pro	Leu	Gln	Pro	Leu	
370							375				380					
Ser	Gly	Glu	Asp	Asp	Ala	Tyr	Cys	Thr	Phe	Pro	Ser	Arg	Asp	Asp	Leu	
385							390				395				400	
Leu	Leu	Phe	Ser	Pro	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Pro	Pro	Ser	Thr	
			405				410				415					
Ala	Pro	Gly	Gly	Ser	Gly	Ala	Gly	Glu	Glu	Arg	Met	Pro	Pro	Ser	Leu	
			420				425				430					
Gln	Glu	Arg	Val	Pro	Arg	Asp	Trp	Asp	Pro	Gln	Pro	Leu	Gly	Pro	Pro	
			435				440				445					
Thr	Pro	Gly	Val	Pro	Asp	Leu	Val	Asp	Phe	Gln	Pro	Pro	Pro	Glu	Leu	
450							455				460					
Val	Leu	Arg	Glu	Ala	Gly	Glu	Glu	Val	Pro	Asp	Ala	Gly	Pro	Arg	Glu	
465							470				475				480	
Gly	Val	Ser	Phe	Pro	Trp	Ser	Arg	Pro	Pro	Gly	Gln	Gly	Glu	Phe	Arg	
			485				490				495					
Ala	Leu	Asn	Ala	Arg	Leu	Pro	Leu	Asn	Thr	Asp	Ala	Tyr	Leu	Ser	Leu	
			500				505				510					
Gln	Glu	Leu	Gln	Gly	Gln	Asp	Pro	Thr	His	Leu	Val					
			515				520									
<210>	30															
<211>	347															
<212>	PRT															
<213>	智人 (Homo sapiens)															
<400>	30															
Leu	Asn	Thr	Thr	Ile	Leu	Thr	Pro	Asn	Gly	Asn	Glu	Asp	Thr	Thr	Ala	

1	5	10	15
Asp Phe Phe Leu Thr Thr Met Pro Thr Asp Ser Leu Ser Val Ser Thr			
20	25	30	
Leu Pro Leu Pro Glu Val Gln Cys Phe Val Phe Asn Val Glu Tyr Met			
35	40	45	
Asn Cys Thr Trp Asn Ser Ser Ser Glu Pro Gln Pro Thr Asn Leu Thr			
50	55	60	
Leu His Tyr Trp Tyr Lys Asn Ser Asp Asn Asp Lys Val Gln Lys Cys			
65	70	75	80
Ser His Tyr Leu Phe Ser Glu Glu Ile Thr Ser Gly Cys Gln Leu Gln			
85	90	95	
Lys Lys Glu Ile His Leu Tyr Gln Thr Phe Val Val Gln Leu Gln Asp			
100	105	110	
Pro Arg Glu Pro Arg Arg Gln Ala Thr Gln Met Leu Lys Leu Gln Asn			
115	120	125	
Leu Val Ile Pro Trp Ala Pro Glu Asn Leu Thr Leu His Lys Leu Ser			
130	135	140	
Glu Ser Gln Leu Glu Leu Asn Trp Asn Asn Arg Phe Leu Asn His Cys			
145	150	155	160
Leu Glu His Leu Val Gln Tyr Arg Thr Asp Trp Asp His Ser Trp Thr			
165	170	175	
Glu Gln Ser Val Asp Tyr Arg His Lys Phe Ser Leu Pro Ser Val Asp			
180	185	190	
Gly Gln Lys Arg Tyr Thr Phe Arg Val Arg Ser Arg Phe Asn Pro Leu			
195	200	205	
Cys Gly Ser Ala Gln His Trp Ser Glu Trp Ser His Pro Ile His Trp			
210	215	220	
Gly Ser Asn Thr Ser Lys Glu Asn Pro Phe Leu Phe Ala Leu Glu Ala			
225	230	235	240
Val Val Ile Ser Val Gly Ser Met Gly Leu Ile Ile Ser Leu Leu Cys			
245	250	255	
Val Tyr Phe Trp Leu Glu Arg Thr Met Pro Arg Ile Pro Thr Leu Lys			
260	265	270	
Asn Leu Glu Asp Leu Val Thr Glu Tyr His Gly Asn Phe Ser Ala Trp			
275	280	285	
Ser Gly Val Ser Lys Gly Leu Ala Glu Ser Leu Gln Pro Asp Tyr Ser			
290	295	300	
Glu Arg Leu Cys Leu Val Ser Glu Ile Pro Pro Lys Gly Gly Ala Leu			
305	310	315	320

Gly Glu Gly Pro Gly Ala Ser Pro Cys Asn Gln His Ser Pro Tyr Trp
325 330 335

Ala Pro Pro Cys Tyr Thr Leu Lys Pro Glu Thr
340 345

<210> 31

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 表位标签

<400> 31

Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala
1 5

<210> 32

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 表位标签

<400> 32

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
1 5

<210> 33

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 表位标签

<400> 33

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
1 5 10

<210> 34

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 5x His标签

<400> 34

His His His His His

1 5
<210> 35
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 6x His标签
<400> 35
His His His His His His
1 5
<210> 36
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> STREP标签
<400> 36
Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
1 5
<210> 37
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 纤维素结合结构域
<400> 37
Arg Tyr Ile Arg Ser
1 5
<210> 38
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> Phe-His-His-Thr
<400> 38
Phe His His Thr
1
<210> 39
<211> 16

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> WEAAAREACCRECCAR肽
<400> 39
Trp Glu Ala Ala Ala Arg Glu Ala Cys Cys Arg Glu Cys Cys Ala Arg
1 5 10 15
<210> 40
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> LEVLFQGP裂解位点
<400> 40
Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro
1 5
<210> 41
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> ENLYTQS裂解位点
<400> 41
Glu Asn Leu Tyr Thr Gln Ser
1 5
<210> 42
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> DDDDK裂解位点
<400> 42
Asp Asp Asp Asp Lys
1 5
<210> 43
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

- <223> LVPR裂解位点
 <400> 43
 Leu Val Pro Arg
 1
 <210> 44
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP裂解位点
 <400> 44
 Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val
 1 5 10 15
 Glu Glu Asn Pro Gly Pro
 20
 <210> 45
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 硫酸酯酶基序
 <220>
 <221> 不确定
 <222> (1) .. (1)
 <223> Xaa存在或不存在,且当存在时可为任何氨基酸,但通常为脂族氨基酸、含硫氨基酸或极性不带电氨基酸(例如,不为芳族氨基酸或带电氨基酸),通常为L、M、V、S或T
 <220>
 <221> 不确定
 <222> (2) .. (2)
 <223> Xaa为半胱氨酸或丝氨酸
 <220>
 <221> 不确定
 <222> (3) .. (3)
 <223> Xaa为任何氨基酸,但通常为脂族氨基酸、极性不带电氨基酸或含硫氨基酸(例如,不为芳族氨基酸或带电氨基酸),通常为S、T、A、V、G或C。
 <220>
 <221> 不确定
 <222> (4) .. (4)
 <223> Xaa为脯氨酸或丙氨酸

- <220>
<221> 不确定
<222> (5) .. (5)
<223> Xaa为任何氨基酸,但通常为脂族氨基酸、极性不带电氨基酸或含硫氨基酸(例如,不为芳族氨基酸或带电氨基酸),通常为S、T、A、V、G或C。
- <220>
<221> 不确定
<222> (6) .. (6)
<223> Xaa为碱性氨基酸(精氨酸、赖氨酸或组氨酸,通常为赖氨酸),或脂族氨基酸(丙氨酸、甘氨酸、亮氨酸、缬氨酸、异亮氨酸或脯氨酸,通常为A、G、L、V或I。
- <400> 45
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5
- <210> 46
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
- <220>
<223> 硫酸酯酶基序
<220>
<221> 不确定
<222> (1) .. (1)
<223> Xaa为半胱氨酸或丝氨酸。
- <220>
<221> 不确定
<222> (2) .. (2)
<223> Xaa为任何氨基酸,但通常为脂族氨基酸、极性不带电氨基酸或含硫氨基酸(即,不为芳族氨基酸或带电氨基酸),通常为S、T、A、V、G或C。
- <220>
<221> 不确定
<222> (2) .. (2)
<223> Xaa为半胱氨酸或丝氨酸。
- <220>
<221> misc_feature
<222> (3) .. (3)
<223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 不确定
<222> (4) .. (4)

<223> Xaa为任何氨基酸,但通常为脂族氨基酸、极性不带电氨基酸或含硫氨基酸(即,不为芳族氨基酸或带电氨基酸),通常为S、T、A、V、G或C

<220>

<221> 不确定

<222> (5) .. (5)

<223> Xaa为碱性氨基酸(精氨酸、赖氨酸或组氨酸,通常为赖氨酸),或脂族氨基酸(丙氨酸、甘氨酸、亮氨酸、缬氨酸、异亮氨酸或脯氨酸,通常为A、G、L、V或I。

<400> 46

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5

<210> 47

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 硫酸酯酶基序

<220>

<221> 不确定

<222> (1) .. (1)

<223> Xaa存在或不存在,且当存在时可为任何氨基酸,但通常为脂族氨基酸、含硫氨基酸或极性不带电氨基酸(例如,不为芳族氨基酸或带电氨基酸),通常为L、M、V、S或T

<220>

<221> 不确定

<222> (3) .. (3)

<223> Xaa为任何氨基酸,但通常为脂族氨基酸、极性不带电氨基酸或含硫氨基酸(例如,不为芳族氨基酸或带电氨基酸),通常为S、T、A、V、G或C。

<220>

<221> 不确定

<222> (5) .. (5)

<223> Xaa为任何氨基酸,但通常为脂族氨基酸、极性不带电氨基酸或含硫氨基酸(例如,不为芳族氨基酸或带电氨基酸),通常为S、T、A、V、G或C。

<220>

<221> 不确定

<222> (6) .. (6)

<223> Xaa为碱性氨基酸(精氨酸、赖氨酸或组氨酸,通常为赖氨酸),或脂族氨基酸(丙氨酸、甘氨酸、亮氨酸、缬氨酸、异亮氨酸或脯氨酸,通常为A、G、L、V或I。

<400> 47

Xaa Cys Xaa Pro Xaa Xaa

1 5

- <210> 48
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 硫酸酯酶基序
 <220>
 <221> 不确定
 <222> (2) .. (2)
 <223> Xaa为任何氨基酸,但通常为脂族氨基酸、极性不带电氨基酸或含硫氨基酸(例如,不为芳族氨基酸或带电氨基酸),通常为S、T、A、V、G或C。
 <220>
 <221> 不确定
 <222> (4) .. (4)
 <223> Xaa为任何氨基酸,但通常为脂族氨基酸、极性不带电氨基酸或含硫氨基酸(例如,不为芳族氨基酸或带电氨基酸),通常为S、T、A、V、G或C。
 <220>
 <221> 不确定
 <222> (5) .. (5)
 <223> Xaa为碱性氨基酸(精氨酸、赖氨酸或组氨酸,通常为赖氨酸),或脂族氨基酸(丙氨酸、甘氨酸、亮氨酸、缬氨酸、异亮氨酸或脯氨酸,通常为A、G、L、V或I。
 <400> 48
 Cys Xaa Pro Xaa Xaa
 1 5
 <210> 49
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 辅助硫酸酯酶基序
 <400> 49
 Ala Ala Leu Leu Thr Gly Arg
 1 5
 <210> 50
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 辅助硫酸酯酶基序

<400> 50
Ser Gln Leu Leu Thr Gly Arg
1 5
<210> 51
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 辅助硫酸酯酶基序
<400> 51
Ala Ala Phe Met Thr Gly Arg
1 5
<210> 52
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 辅助硫酸酯酶基序
<400> 52
Ala Ala Phe Leu Thr Gly Arg
1 5
<210> 53
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 辅助硫酸酯酶基序
<400> 53
Gly Ser Leu Phe Thr Gly Arg
1 5
<210> 54
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 分选酶位点
<220>
<221> 不确定
<222> (3) .. (3)

<223> Xaa为任何氨基酸。
<220>
<221> 不确定
<222> (5) .. (5)
<223> Xaa为甘氨酸或丙氨酸。
<400> 54
Leu Pro Xaa Thr Xaa
1 5
<210> 55
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 5X甘氨酸
<400> 55
Gly Gly Gly Gly Gly
1 5
<210> 56
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 4X甘氨酸
<400> 56
Gly Gly Gly Gly
1
<210> 57
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 5X丙氨酸
<400> 57
Ala Ala Ala Ala Ala
1 5
<210> 58
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>
<223> 4X丙氨酸
<400> 58
Ala Ala Ala Ala
1
<210> 59
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> LPETGG 分选酶位点
<400> 59
Leu Pro Glu Thr Gly Gly
1 5
<210> 60
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> LPETAA 分选酶位点
<400> 60
Leu Pro Glu Thr Ala Ala
1 5
<210> 61
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 凝血酶裂解位点
<400> 61
Leu Val Pro Arg Gly
1 5
<210> 62
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 转谷氨酰胺酶位点
<400> 62

Leu Leu Gln Gly Gly

1 5

<210> 63

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 转谷氨酰胺酶位点

<400> 63

Leu Leu Gln Gly

1

<210> 64

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 转谷氨酰胺酶位点

<400> 64

Leu Ser Leu Ser Gln Gly

1 5

<210> 65

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 转谷氨酰胺酶位点

<400> 65

Leu Leu Gln Leu Gln Gly

1 5

<210> 66

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> GSGGS肽

<400> 66

Gly Ser Gly Gly Ser

1 5

<210> 67

<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> GGS肽
<400> 67
Gly Gly Gly Ser
1
<210> 68
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> GGSG肽
<400> 68
Gly Gly Ser Gly
1
<210> 69
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> GGSGG肽
<400> 69
Gly Gly Ser Gly Gly
1 5
<210> 70
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> GSGSG肽
<400> 70
Gly Ser Gly Ser Gly
1 5
<210> 71
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>
<223> GS GGG 肽
<400> 71
Gly Ser Gly Gly Gly
1 5
<210> 72
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> GGGSG 肽
<400> 72
Gly Gly Gly Ser Gly
1 5
<210> 73
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> GSSSG 肽
<400> 73
Gly Ser Ser Ser Gly
1 5
<210> 74
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> GSSSS 肽
<400> 74
Gly Ser Ser Ser Ser
1 5
<210> 75
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> AAAGG 肽
<400> 75

Ala Ala Ala Gly Gly

1 5

<210> 76

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> GGGGS肽

<400> 76

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 77

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> GCGASGGGSGGGGS肽

<400> 77

Gly Cys Gly Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 78

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> GCGGSGGGGSGGGGSGGGGS肽

<400> 78

Gly Cys Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser

20

<210> 79

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> GCGGSGGGGSGGGGS肽

<400> 79

Gly Cys Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1	5	10	15
<210>	80		
<211>	9		
<212>	PRT		
<213>	人乳头状瘤病毒16型 (Human papillomavirus type 16)		
<400>	80		
Leu Leu Met Gly Thr Leu Gly Ile Val			
1	5		
<210>	81		
<211>	8		
<212>	PRT		
<213>	人乳头状瘤病毒16型 (Human papillomavirus type 16)		
<400>	81		
Thr Leu Gly Ile Val Cys Pro Ile			
1	5		
<210>	82		
<211>	10		
<212>	PRT		
<213>	人乳头状瘤病毒16型 (Human papillomavirus type 16)		
<400>	82		
Tyr Met Leu Asp Leu Gln Pro Glu Thr Thr			
1	5	10	
<210>	83		
<211>	9		
<212>	PRT		
<213>	人乳头状瘤病毒16型 (Human papillomavirus type 16)		
<400>	83		
Tyr Met Leu Asp Leu Gln Pro Glu Thr			
1	5		
<210>	84		
<211>	10		
<212>	PRT		
<213>	乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)		
<400>	84		
Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val			
1	5	10	
<210>	85		
<211>	10		
<212>	PRT		

<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 85
Gly Leu Ser Arg Tyr Val Ala Arg Leu Gly
1 5 10
<210> 86
<211> 9
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 86
Lys Leu His Leu Tyr Ser His Pro Ile
1 5
<210> 87
<211> 9
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 87
Phe Leu Leu Ser Leu Gly Ile His Leu
1 5
<210> 88
<211> 9
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 88
Ala Leu Met Pro Leu Tyr Ala Cys Ile
1 5
<210> 89
<211> 9
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 89
Ser Leu Tyr Ala Asp Ser Pro Ser Val
1 5
<210> 90
<211> 9
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 90
Ser Thr Leu Pro Glu Thr Thr Val Val
1 5

<210> 91
<211> 10
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 91
Leu Ile Met Pro Ala Arg Phe Tyr Pro Lys
1 5 10
<210> 92
<211> 10
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 92
Ala Ile Met Pro Ala Arg Phe Tyr Pro Lys
1 5 10
<210> 93
<211> 9
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 93
Tyr Val Asn Val Asn Met Gly Leu Lys
1 5
<210> 94
<211> 8
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 94
Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His
1 5
<210> 95
<211> 15
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 95
Met Gln Trp Asn Ser Thr Ala Leu His Gln Ala Leu Gln Asp Pro
1 5 10 15
<210> 96
<211> 9
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)

<400> 96
Leu Leu Asp Pro Arg Val Arg Gly Leu
1 5
<210> 97
<211> 10
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 97
Ser Ile Leu Ser Lys Thr Gly Asp Pro Val
1 5 10
<210> 98
<211> 9
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 98
Val Leu Gln Ala Gly Phe Phe Leu Leu
1 5
<210> 99
<211> 9
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 99
Phe Leu Leu Thr Arg Ile Leu Thr Ile
1 5
<210> 100
<211> 9
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 100
Phe Leu Gly Gly Thr Pro Val Cys Leu
1 5
<210> 101
<211> 9
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 101
Leu Leu Cys Leu Ile Phe Leu Leu Val
1 5
<210> 102

<211> 10
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 102
Leu Val Leu Leu Asp Tyr Gln Gly Met Leu
1 5 10
<210> 103
<211> 10
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 103
Leu Leu Asp Tyr Gln Gly Met Leu Pro Val
1 5 10
<210> 104
<211> 9
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 104
Ile Pro Ile Pro Ser Ser Trp Ala Phe
1 5
<210> 105
<211> 9
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 105
Trp Leu Ser Leu Leu Val Pro Phe Val
1 5
<210> 106
<211> 10
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 106
Gly Leu Ser Pro Thr Val Trp Leu Ser Val
1 5 10
<210> 107
<211> 10
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 107

Ser Ile Val Ser Pro Phe Ile Pro Leu Leu

1 5 10

<210> 108

<211> 9

<212> PRT

<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)

<400> 108

Ile Leu Ser Pro Phe Leu Pro Leu Leu

1 5

<210> 109

<211> 17

<212> PRT

<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)

<400> 109

Ala Thr Val Glu Leu Leu Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser

1 5 10 15

Val

<210> 110

<211> 9

<212> PRT

<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)

<400> 110

Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val

1 5

<210> 111

<211> 9

<212> PRT

<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)

<400> 111

Cys Leu Thr Phe Gly Arg Glu Thr Val

1 5

<210> 112

<211> 10

<212> PRT

<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)

<400> 112

Val Leu Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val

1 5 10

<210> 113

<211> 9
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 113
Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp
1 5
<210> 114
<211> 10
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 114
Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu Thr Thr Val
1 5 10
<210> 115
<211> 11
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 115
Ser Thr Leu Pro Glu Thr Thr Val Val Arg Arg
1 5 10
<210> 116
<211> 9
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 116
Asn Val Ser Ile Pro Trp Thr His Lys
1 5
<210> 117
<211> 9
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 117
Lys Val Gly Asn Phe Thr Gly Leu Tyr
1 5
<210> 118
<211> 9
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 118

Gly Leu Tyr Ser Ser Thr Val Pro Val

1 5

<210> 119

<211> 10

<212> PRT

<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)

<400> 119

Thr Leu Trp Lys Ala Gly Ile Leu Tyr Lys

1 5 10

<210> 120

<211> 10

<212> PRT

<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)

<400> 120

Thr Pro Ala Arg Val Thr Gly Gly Val Phe

1 5 10

<210> 121

<211> 10

<212> PRT

<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)

<400> 121

Leu Val Val Asp Phe Ser Gln Phe Ser Arg

1 5 10

<210> 122

<211> 9

<212> PRT

<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)

<400> 122

Gly Leu Ser Arg Tyr Val Ala Arg Leu

1 5

<210> 123

<211> 9

<212> PRT

<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)

<400> 123

Ser Ile Ala Cys Ser Val Val Arg Arg

1 5

<210> 124

<211> 9

<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 124
Tyr Met Asp Asp Val Val Leu Gly Ala
1 5
<210> 125
<211> 10
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 125
Gln Ala Phe Thr Phe Ser Pro Thr Tyr Lys
1 5 10
<210> 126
<211> 9
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 126
Lys Tyr Thr Ser Phe Pro Trp Leu Leu
1 5
<210> 127
<211> 10
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 127
Ile Leu Arg Gly Thr Ser Phe Val Tyr Val
1 5 10
<210> 128
<211> 9
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 128
His Leu Ser Leu Arg Gly Leu Phe Val
1 5
<210> 129
<211> 9
<212> PRT
<213> 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)
<400> 129
Val Leu His Lys Arg Thr Leu Gly Leu

1	5	
<210>	130	
<211>	10	
<212>	PRT	
<213>	乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)	
<400>	130	
Gly Leu Ser Ala Met Ser Thr Thr Asp Leu		
1	5	10
<210>	131	
<211>	9	
<212>	PRT	
<213>	乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)	
<400>	131	
Cys Leu Phe Lys Asp Trp Glu Glu Leu		
1	5	
<210>	132	
<211>	9	
<212>	PRT	
<213>	乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus)	
<400>	132	
Val Leu Gly Gly Cys Arg His Lys Leu		
1	5	
<210>	133	
<211>	10	
<212>	PRT	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	接头序列GCCGS (GGGGS) n, 其中n为1-9	
<400>	133	
Gly Cys Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser		
1	5	10
<210>	134	
<211>	365	
<212>	PRT	
<213>	智人 (Homo sapiens)	
<400>	134	
Met Ala Val Met Ala Pro Arg Thr Leu Leu Leu Leu Ser Gly Ala		
1	5	10 15
Leu Ala Leu Thr Gln Thr Trp Ala Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe		

20	25	30
Phe Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala		
35	40	45
Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala		
50	55	60
Ala Ser Gln Lys Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly		
65	70	75
Pro Glu Tyr Trp Asp Gln Glu Thr Arg Asn Met Lys Ala His Ser Gln		
85	90	95
Thr Asp Arg Ala Asn Leu Gly Thr Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser		
100	105	110
Glu Asp Gly Ser His Thr Ile Gln Ile Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly		
115	120	125
Pro Asp Gly Arg Phe Leu Arg Gly Tyr Arg Gln Asp Ala Tyr Asp Gly		
130	135	140
Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Asn Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala		
145	150	155
Asp Met Ala Ala Gln Ile Thr Lys Arg Lys Trp Glu Ala Val His Ala		
165	170	175
Ala Glu Gln Arg Arg Val Tyr Leu Glu Gly Arg Cys Val Asp Gly Leu		
180	185	190
Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Pro		
195	200	205
Pro Lys Thr His Met Thr His His Pro Ile Ser Asp His Glu Ala Thr		
210	215	220
Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr		
225	230	235
Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu		
245	250	255
Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val		
260	265	270
Val Pro Ser Gly Glu Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu		
275	280	285
Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu Arg Trp Glu Leu Ser Ser Gln Pro		
290	295	300
Thr Ile Pro Ile Val Gly Ile Ile Ala Gly Leu Val Leu Leu Gly Ala		
305	310	315
Val Ile Thr Gly Ala Val Val Ala Ala Val Met Trp Arg Arg Lys Ser		
325	330	335

Ser	Asp	Arg	Lys	Gly	Gly	Ser	Tyr	Thr	Gln	Ala	Ala	Ser	Ser	Asp	Ser	
				340						345		350				
Ala	Gln	Gly	Ser	Asp	Val	Ser	Leu	Thr	Ala	Cys	Lys	Val				
				355						360		365				
<210> 135																
<211> 365																
<212> PRT																
<213> 智人(Homo sapiens)																
<400> 135																
Met	Ala	Val	Met	Ala	Pro	Arg	Thr	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Ser	Gly	Ala	
1					5					10					15	
Leu	Ala	Leu	Thr	Gln	Thr	Trp	Ala	Gly	Ser	His	Ser	Met	Arg	Tyr	Phe	
				20						25		30				
Tyr	Thr	Ser	Val	Ser	Arg	Pro	Gly	Arg	Gly	Glu	Pro	Arg	Phe	Ile	Ala	
				35						40		45				
Val	Gly	Tyr	Val	Asp	Asp	Thr	Gln	Phe	Val	Arg	Phe	Asp	Ser	Asp	Ala	
				50						55		60				
Ala	Ser	Gln	Arg	Met	Glu	Pro	Arg	Ala	Pro	Trp	Ile	Glu	Gln	Glu	Gly	
65					70						75		80			
Pro	Glu	Tyr	Trp	Asp	Gln	Glu	Thr	Arg	Asn	Val	Lys	Ala	Gln	Ser	Gln	
				85						90		95				
Thr	Asp	Arg	Val	Asp	Leu	Gly	Thr	Leu	Arg	Gly	Tyr	Tyr	Asn	Gln	Ser	
				100						105		110				
Glu	Asp	Gly	Ser	His	Thr	Ile	Gln	Ile	Met	Tyr	Gly	Cys	Asp	Val	Gly	
				115						120		125				
Pro	Asp	Gly	Arg	Phe	Leu	Arg	Gly	Tyr	Arg	Gln	Asp	Ala	Tyr	Asp	Gly	
				130						135		140				
Lys	Asp	Tyr	Ile	Ala	Leu	Asn	Glu	Asp	Leu	Arg	Ser	Trp	Thr	Ala	Ala	
145					150						155		160			
Asp	Met	Ala	Ala	Gln	Ile	Thr	Lys	Arg	Lys	Trp	Glu	Ala	Ala	His	Ala	
				165						170		175				
Ala	Glu	Gln	Gln	Arg	Ala	Tyr	Leu	Glu	Gly	Arg	Cys	Val	Glu	Trp	Leu	
				180						185		190				
Arg	Arg	Tyr	Leu	Glu	Asn	Gly	Lys	Glu	Thr	Leu	Gln	Arg	Thr	Asp	Pro	
				195						200		205				
Pro	Lys	Thr	His	Met	Thr	His	His	Pro	Ile	Ser	Asp	His	Glu	Ala	Thr	
				210						215		220				
Leu	Arg	Cys	Trp	Ala	Leu	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ala	Glu	Ile	Thr	Leu	Thr	
225					230						235		240			

Trp	Gln	Arg	Asp	Gly	Glu	Asp	Gln	Thr	Gln	Asp	Thr	Glu	Leu	Val	Glu			
																245	250	255
Thr	Arg	Pro	Ala	Gly	Asp	Gly	Thr	Phe	Gln	Lys	Trp	Ala	Ala	Val	Val			
																260	265	270
Val	Pro	Ser	Gly	Glu	Glu	Gln	Arg	Tyr	Thr	Cys	His	Val	Gln	His	Glu			
																275	280	285
Gly	Leu	Pro	Lys	Pro	Leu	Thr	Leu	Arg	Trp	Glu	Leu	Ser	Ser	Gln	Pro			
																290	295	300
Thr	Ile	Pro	Ile	Val	Gly	Ile	Ile	Ala	Gly	Leu	Val	Leu	Leu	Gly	Ala			
																305	310	315
Val	Ile	Thr	Gly	Ala	Val	Val	Ala	Ala	Val	Met	Trp	Arg	Arg	Lys	Ser			
																325	330	335
Ser	Asp	Arg	Lys	Gly	Gly	Ser	Tyr	Thr	Gln	Ala	Ala	Ser	Ser	Asp	Ser			
																340	345	350
Ala	Gln	Gly	Ser	Asp	Val	Ser	Leu	Thr	Ala	Cys	Lys	Val						
																355	360	365
<210>	136																	
<211>	365																	
<212>	PRT																	
<213>	智人(Homo sapiens)																	
<400>	136																	
Met	Ala	Val	Met	Ala	Pro	Arg	Thr	Leu	Val	Leu	Leu	Leu	Ser	Gly	Ala			
																1	5	10
Leu	Ala	Leu	Thr	Gln	Thr	Trp	Ala	Gly	Ser	His	Ser	Met	Arg	Tyr	Phe			
																20	25	30
Ser	Thr	Ser	Val	Ser	Arg	Pro	Gly	Arg	Gly	Glu	Pro	Arg	Phe	Ile	Ala			
																35	40	45
Val	Gly	Tyr	Val	Asp	Asp	Thr	Gln	Phe	Val	Arg	Phe	Asp	Ser	Asp	Ala			
																50	55	60
Ala	Ser	Gln	Arg	Met	Glu	Pro	Arg	Ala	Pro	Trp	Ile	Glu	Gln	Glu	Gly			
																65	70	75
Pro	Glu	Tyr	Trp	Asp	Glu	Glu	Thr	Gly	Lys	Val	Lys	Ala	His	Ser	Gln			
																85	90	95
Thr	Asp	Arg	Glu	Asn	Leu	Arg	Ile	Ala	Leu	Arg	Tyr	Tyr	Asn	Gln	Ser			
																100	105	110
Glu	Ala	Gly	Ser	His	Thr	Leu	Gln	Met	Met	Phe	Gly	Cys	Asp	Val	Gly			
																115	120	125
Ser	Asp	Gly	Arg	Phe	Leu	Arg	Gly	Tyr	His	Gln	Tyr	Ala	Tyr	Asp	Gly			
																130	135	140

Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Lys Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala			
145	150	155	160
Asp Met Ala Ala Gln Ile Thr Lys Arg Lys Trp Glu Ala Ala His Val			
	165	170	175
Ala Glu Gln Gln Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Asp Gly Leu			
	180	185	190
Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Pro			
	195	200	205
Pro Lys Thr His Met Thr His His Pro Ile Ser Asp His Glu Ala Thr			
	210	215	220
Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr			
225	230	235	240
Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu			
	245	250	255
Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val			
	260	265	270
Val Pro Ser Gly Glu Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu			
	275	280	285
Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu Arg Trp Glu Pro Ser Ser Gln Pro			
	290	295	300
Thr Val Pro Ile Val Gly Ile Ile Ala Gly Leu Val Leu Leu Gly Ala			
305	310	315	320
Val Ile Thr Gly Ala Val Val Ala Ala Val Met Trp Arg Arg Asn Ser			
	325	330	335
Ser Asp Arg Lys Gly Gly Ser Tyr Ser Gln Ala Ala Ser Ser Asp Ser			
	340	345	350
Ala Gln Gly Ser Asp Val Ser Leu Thr Ala Cys Lys Val			
	355	360	365
<210>	137		
<211>	365		
<212>	PRT		
<213>	智人 (Homo sapiens)		
<400>	137		
Met Ala Val Met Ala Pro Arg Thr Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gly Ala			
1	5	10	15
Leu Ala Leu Thr Gln Thr Trp Ala Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe			
	20	25	30
Thr Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala			
	35	40	45

Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala			
50	55	60	
Ala Ser Gln Arg Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly			
65	70	75	80
Pro Glu Tyr Trp Asp Arg Asn Thr Arg Asn Val Lys Ala His Ser Gln			
	85	90	95
Ile Asp Arg Val Asp Leu Gly Thr Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser			
	100	105	110
Glu Ala Gly Ser His Thr Ile Gln Met Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly			
	115	120	125
Ser Asp Gly Arg Phe Leu Arg Gly Tyr Gln Gln Asp Ala Tyr Asp Gly			
	130	135	140
Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Asn Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala			
145	150	155	160
Asp Met Ala Ala Gln Ile Thr Gln Arg Lys Trp Glu Ala Ala Arg Val			
	165	170	175
Ala Glu Gln Leu Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu			
	180	185	190
Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Pro			
	195	200	205
Pro Lys Thr His Met Thr His His Ala Val Ser Asp His Glu Ala Thr			
	210	215	220
Leu Arg Cys Trp Ala Leu Ser Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr			
225	230	235	240
Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu			
	245	250	255
Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ser Val Val			
	260	265	270
Val Pro Ser Gly Gln Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu			
	275	280	285
Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu Arg Trp Glu Pro Ser Ser Gln Pro			
	290	295	300
Thr Ile Pro Ile Val Gly Ile Ile Ala Gly Leu Val Leu Phe Gly Ala			
305	310	315	320
Val Phe Ala Gly Ala Val Val Ala Ala Val Arg Trp Arg Arg Lys Ser			
	325	330	335
Ser Asp Arg Lys Gly Gly Ser Tyr Ser Gln Ala Ala Ser Ser Asp Ser			
	340	345	350
Ala Gln Gly Ser Asp Met Ser Leu Thr Ala Cys Lys Val			

355	360	365
<210> 138		
<211> 362		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 138		
Met Leu Val Met Ala Pro Arg Thr Val Leu Leu Leu Leu Ser Ala Ala		
1 5 10 15		
Leu Ala Leu Thr Glu Thr Trp Ala Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe		
20 25 30		
Tyr Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ser		
35 40 45		
Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala		
50 55 60		
Ala Ser Pro Arg Glu Glu Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly		
65 70 75 80		
Pro Glu Tyr Trp Asp Arg Asn Thr Gln Ile Tyr Lys Ala Gln Ala Gln		
85 90 95		
Thr Asp Arg Glu Ser Leu Arg Asn Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser		
100 105 110		
Glu Ala Gly Ser His Thr Leu Gln Ser Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly		
115 120 125		
Pro Asp Gly Arg Leu Leu Arg Gly His Asp Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly		
130 135 140		
Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Asn Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala		
145 150 155 160		
Asp Thr Ala Ala Gln Ile Thr Gln Arg Lys Trp Glu Ala Ala Arg Glu		
165 170 175		
Ala Glu Gln Arg Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Glu Cys Val Glu Trp Leu		
180 185 190		
Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Asp Lys Leu Glu Arg Ala Asp Pro		
195 200 205		
Pro Lys Thr His Val Thr His His Pro Ile Ser Asp His Glu Ala Thr		
210 215 220		
Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr		
225 230 235 240		
Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu		
245 250 255		
Thr Arg Pro Ala Gly Asp Arg Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val		

260	265	270
Val Pro Ser Gly Glu Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His	Val Gln His Glu	
275	280	285
Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu Arg Trp Glu Pro Ser Ser Gln Ser		
290	295	300
Thr Val Pro Ile Val Gly Ile Val Ala Gly Leu Ala Val Leu Ala Val		
305	310	315
Val Val Ile Gly Ala Val Val Ala Ala Val Met Cys Arg Arg Lys Ser		
325	330	335
Ser Gly Gly Lys Gly Gly Ser Tyr Ser Gln Ala Ala Cys Ser Asp Ser		
340	345	350
Ala Gln Gly Ser Asp Val Ser Leu Thr Ala		
355	360	
<210> 139		
<211> 365		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 139		
Met Arg Val Met Ala Pro Arg Ala Leu Leu Leu Leu Leu Ser Gly Gly		
1	5	10
Leu Ala Leu Thr Glu Thr Trp Ala Cys Ser His Ser Met Arg Tyr Phe		
20	25	30
Asp Thr Ala Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ser		
35	40	45
Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala		
50	55	60
Ala Ser Pro Arg Gly Glu Pro Arg Ala Pro Trp Val Glu Gln Glu Gly		
65	70	75
Pro Glu Tyr Trp Asp Arg Glu Thr Gln Asn Tyr Lys Arg Gln Ala Gln		
85	90	95
Ala Asp Arg Val Ser Leu Arg Asn Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser		
100	105	110
Glu Asp Gly Ser His Thr Leu Gln Arg Met Tyr Gly Cys Asp Leu Gly		
115	120	125
Pro Asp Gly Arg Leu Leu Arg Gly Tyr Asp Gln Ser Ala Tyr Asp Gly		
130	135	140
Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Asn Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala		
145	150	155
Asp Thr Ala Ala Gln Ile Thr Gln Arg Lys Leu Glu Ala Ala Arg Ala		

																165					170					175				
Ala	Glu	Gln	Leu	Arg	Ala	Tyr	Leu	Glu	Gly	Thr	Cys	Val	Glu	Trp	Leu															
																180					185					190				
Arg	Arg	Tyr	Leu	Glu	Asn	Gly	Lys	Glu	Thr	Leu	Gln	Arg	Ala	Glu	Pro															
																195					200					205				
Pro	Lys	Thr	His	Val	Thr	His	His	Pro	Leu	Ser	Asp	His	Glu	Ala	Thr															
																210					215					220				
Leu	Arg	Cys	Trp	Ala	Leu	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ala	Glu	Ile	Thr	Leu	Thr															
225																230					235					240				
Trp	Gln	Arg	Asp	Gly	Glu	Asp	Gln	Thr	Gln	Asp	Thr	Glu	Leu	Val	Glu															
																245					250					255				
Thr	Arg	Pro	Ala	Gly	Asp	Gly	Thr	Phe	Gln	Lys	Trp	Ala	Ala	Val	Val															
																260					265					270				
Val	Pro	Ser	Gly	Gln	Glu	Gln	Arg	Tyr	Thr	Cys	His	Met	Gln	His	Glu															
																275					280					285				
Gly	Leu	Gln	Glu	Pro	Leu	Thr	Leu	Ser	Trp	Glu	Pro	Ser	Ser	Gln	Pro															
																290					295					300				
Thr	Ile	Pro	Ile	Met	Gly	Ile	Val	Ala	Gly	Leu	Ala	Val	Leu	Val	Val															
305																310					315					320				
Leu	Ala	Val	Leu	Gly	Ala	Val	Val	Thr	Ala	Met	Met	Cys	Arg	Arg	Lys															
																325					330					335				
Ser	Ser	Gly	Gly	Lys	Gly	Gly	Ser	Cys	Ser	Gln	Ala	Ala	Cys	Ser	Asn															
																340					345					350				
Ser	Ala	Gln	Gly	Ser	Asp	Glu	Ser	Leu	Ile	Thr	Cys	Lys																		
																355					360					365				
<210>																140														
<211>																275														
<212>																PRT														
<213>																智人 (Homo sapiens)														
<400>																140														
Gly	Ser	His	Ser	Met	Arg	Tyr	Phe	Phe	Thr	Ser	Val	Ser	Arg	Pro	Gly															
1																5					10					15				
Arg	Gly	Glu	Pro	Arg	Phe	Ile	Ala	Val	Gly	Tyr	Val	Asp	Asp	Thr	Gln															
																20					25					30				
Phe	Val	Arg	Phe	Asp	Ser	Asp	Ala	Ala	Ser	Gln	Lys	Met	Glu	Pro	Arg															
																35					40					45				
Ala	Pro	Trp	Ile	Glu	Gln	Glu	Gly	Pro	Glu	Tyr	Trp	Asp	Gln	Glu	Thr															
																50					55					60				
Arg	Asn	Met	Lys	Ala	His	Ser	Gln	Thr	Asp	Arg	Ala	Asn	Leu	Gly	Thr															

65	70	75	80
Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser Glu Asp Gly Ser His Thr Ile Gln			
	85	90	95
Ile Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Pro Asp Gly Arg Phe Leu Arg Gly			
	100	105	110
Tyr Arg Gln Asp Ala Tyr Asp Gly Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Asn Glu			
	115	120	125
Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met Ala Ala Gln Ile Thr Lys			
	130	135	140
Arg Lys Trp Glu Ala Val His Ala Ala Glu Gln Arg Arg Val Tyr Leu			
145	150	155	160
Glu Gly Arg Cys Val Asp Gly Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys			
	165	170	175
Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Pro Pro Lys Thr His Met Thr His His			
	180	185	190
Pro Ile Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe			
	195	200	205
Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln			
	210	215	220
Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr			
225	230	235	240
Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Ser Gly Glu Glu Gln Arg			
	245	250	255
Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu			
	260	265	270
Arg Trp Glu			
	275		
<210>	141		
<211>	275		
<212>	PRT		
<213>	智人 (Homo sapiens)		
<400>	141		
Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Tyr Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly			
1	5	10	15
Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ser Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln			
	20	25	30
Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser Pro Arg Glu Glu Pro Arg			
	35	40	45
Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Gly Ser His Ser			

50					55					60							
Met	Arg	Tyr	Phe	Tyr	Thr	Ser	Val	Ser	Arg	Pro	Gly	Arg	Gly	Glu	Pro		
65					70					75						80	
Arg	Phe	Ile	Ser	Val	Gly	Tyr	Val	Asp	Asp	Thr	Gln	Phe	Val	Arg	Phe		
85					90					95							
Asp	Ser	Asp	Ala	Ala	Ser	Pro	Arg	Glu	Glu	Pro	Arg	Ala	Pro	Trp	Ile		
100					105					110							
Glu	Gln	Glu	Gly	Pro	Glu	Tyr	Trp	Lys	Asp	Tyr	Ile	Ala	Leu	Asn	Glu		
115					120					125							
Asp	Leu	Arg	Ser	Trp	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Ala	Gln	Ile	Thr	Gln		
130					135					140							
Arg	Lys	Trp	Glu	Ala	Ala	Arg	Glu	Ala	Glu	Gln	Arg	Arg	Ala	Tyr	Leu		
145					150					155						160	
Glu	Gly	Glu	Cys	Val	Glu	Trp	Leu	Arg	Arg	Tyr	Leu	Glu	Asn	Gly	Lys		
165					170					175							
Asp	Lys	Leu	Glu	Arg	Ala	Asp	Pro	Pro	Lys	Thr	His	Val	Thr	His	His		
180					185					190							
Pro	Ile	Ser	Asp	His	Glu	Ala	Thr	Leu	Arg	Cys	Trp	Ala	Leu	Gly	Phe		
195					200					205							
Tyr	Pro	Ala	Glu	Ile	Thr	Leu	Thr	Trp	Gln	Arg	Asp	Gly	Glu	Asp	Gln		
210					215					220							
Thr	Gln	Asp	Thr	Glu	Leu	Val	Glu	Thr	Arg	Pro	Ala	Gly	Asp	Arg	Thr		
225					230					235						240	
Phe	Gln	Lys	Trp	Ala	Ala	Val	Val	Val	Pro	Ser	Gly	Glu	Glu	Gln	Arg		
245					250					255							
Tyr	Thr	Cys	His	Val	Gln	His	Glu	Gly	Leu	Pro	Lys	Pro	Leu	Thr	Leu		
260					265					270							
Arg	Trp	Glu															
		275															
<210>	142																
<211>	276																
<212>	PRT																
<213>	智人(Homo sapiens)																
<400>	142																
Cys	Ser	His	Ser	Met	Arg	Tyr	Phe	Asp	Thr	Ala	Val	Ser	Arg	Pro	Gly		
1	5						10						15				
Arg	Gly	Glu	Pro	Arg	Phe	Ile	Ser	Val	Gly	Tyr	Val	Asp	Asp	Thr	Gln		
20					25					30							
Phe	Val	Arg	Phe	Asp	Ser	Asp	Ala	Ala	Ser	Pro	Arg	Gly	Glu	Pro	Arg		

35					40					45						
Ala	Pro	Trp	Val	Glu	Gln	Glu	Gly	Pro	Glu	Tyr	Trp	Asp	Arg	Glu	Thr	
50					55					60						
Gln	Asn	Tyr	Lys	Arg	Gln	Ala	Gln	Ala	Asp	Arg	Val	Ser	Leu	Arg	Asn	
65					70					75					80	
Leu	Arg	Gly	Tyr	Tyr	Asn	Gln	Ser	Glu	Asp	Gly	Ser	His	Thr	Leu	Gln	
85					90					95						
Arg	Met	Tyr	Gly	Cys	Asp	Leu	Gly	Pro	Asp	Gly	Arg	Leu	Leu	Arg	Gly	
100					105					110						
Tyr	Asp	Gln	Ser	Ala	Tyr	Asp	Gly	Lys	Asp	Tyr	Ile	Ala	Leu	Asn	Glu	
115					120					125						
Asp	Leu	Arg	Ser	Trp	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Ala	Gln	Ile	Thr	Gln	
130					135					140						
Arg	Lys	Leu	Glu	Ala	Ala	Arg	Ala	Ala	Glu	Gln	Leu	Arg	Ala	Tyr	Leu	
145					150					155					160	
Glu	Gly	Thr	Cys	Val	Glu	Trp	Leu	Arg	Arg	Tyr	Leu	Glu	Asn	Gly	Lys	
165					170					175						
Glu	Thr	Leu	Gln	Arg	Ala	Glu	Pro	Pro	Lys	Thr	His	Val	Thr	His	His	
180					185					190						
Pro	Leu	Ser	Asp	His	Glu	Ala	Thr	Leu	Arg	Cys	Trp	Ala	Leu	Gly	Phe	
195					200					205						
Tyr	Pro	Ala	Glu	Ile	Thr	Leu	Thr	Trp	Gln	Arg	Asp	Gly	Glu	Asp	Gln	
210					215					220						
Thr	Gln	Asp	Thr	Glu	Leu	Val	Glu	Thr	Arg	Pro	Ala	Gly	Asp	Gly	Thr	
225					230					235					240	
Phe	Gln	Lys	Trp	Ala	Ala	Val	Val	Val	Pro	Ser	Gly	Gln	Glu	Gln	Arg	
245					250					255						
Tyr	Thr	Cys	His	Met	Gln	His	Glu	Gly	Leu	Gln	Glu	Pro	Leu	Thr	Leu	
260					265					270						
Ser	Trp	Glu	Pro													
275																
<210>	143															
<211>	276															
<212>	PRT															
<213>	智人(Homo sapiens)															
<400>	143															
Gly	Ser	His	Ser	Met	Arg	Tyr	Phe	Phe	Thr	Ser	Val	Ser	Arg	Pro	Gly	
1	5				10				15							
Arg	Gly	Glu	Pro	Arg	Phe	Ile	Ala	Val	Gly	Tyr	Val	Asp	Asp	Thr	Gln	

Gly Pro His Ser Leu Arg Tyr Phe Val Thr Ala Val Ser Arg Pro Gly

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

Trp

<210> 145

<211> 275

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 145

Gly	Ser	His	Ser	Met	Arg	Tyr	Phe	Phe	Thr	Ser	Val	Ser	Arg	Pro	Gly
1				5					10					15	
Arg	Gly	Glu	Pro	Arg	Phe	Ile	Ala	Val	Gly	Tyr	Val	Asp	Asp	Thr	Gln
			20					25						30	
Phe	Val	Arg	Phe	Asp	Ser	Asp	Ala	Ala	Ser	Gln	Arg	Met	Glu	Pro	Arg
		35					40					45			
Ala	Pro	Trp	Ile	Glu	Gln	Glu	Gly	Pro	Glu	Tyr	Trp	Asp	Gly	Glu	Thr
		50					55					60			
Arg	Lys	Val	Lys	Ala	His	Ser	Gln	Thr	His	Arg	Val	Asp	Leu	Gly	Thr
65					70					75					80
Leu	Arg	Gly	Ala	Tyr	Asn	Gln	Ser	Glu	Ala	Gly	Ser	His	Thr	Val	Gln
					85					90					95
Arg	Met	Tyr	Gly	Cys	Asp	Val	Gly	Ser	Asp	Trp	Arg	Phe	Leu	Arg	Gly
			100						105					110	
Tyr	His	Gln	Tyr	Ala	Tyr	Asp	Gly	Lys	Asp	Tyr	Ile	Ala	Leu	Lys	Glu
		115							120					125	
Asp	Leu	Arg	Ser	Trp	Thr	Ala	Ala	Asp	Met	Ala	Ala	Gln	Thr	Thr	Lys
		130							135					140	
His	Lys	Trp	Glu	Ala	Ala	His	Val	Ala	Glu	Gln	Leu	Arg	Ala	Tyr	Leu
145					150					155					160
Glu	Gly	Thr	Cys	Val	Glu	Trp	Leu	Arg	Arg	Tyr	Leu	Glu	Asn	Gly	Lys
					165					170					175
Glu	Thr	Leu	Gln	Arg	Thr	Asp	Ala	Pro	Lys	Thr	His	Met	Thr	His	His
			180						185					190	
Ala	Val	Ser	Asp	His	Glu	Ala	Thr	Leu	Arg	Cys	Trp	Ala	Leu	Ser	Phe
		195							200					205	
Tyr	Pro	Ala	Glu	Ile	Thr	Leu	Thr	Trp	Gln	Arg	Asp	Gly	Glu	Asp	Gln
		210							215					220	
Thr	Gln	Asp	Thr	Glu	Leu	Val	Glu	Thr	Arg	Pro	Cys	Gly	Asp	Gly	Thr
225					230					235					240
Phe	Gln	Lys	Trp	Ala	Ala	Val	Val	Val	Pro	Ser	Gly	Gln	Glu	Gln	Arg
					245					250					255
Tyr	Thr	Cys	His	Val	Gln	His	Glu	Gly	Leu	Pro	Lys	Pro	Leu	Thr	Leu
			260						265						270
Arg	Trp	Glu													
		275													
<210>	146														
<211>	275														
<212>	PRT														

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 146

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

<210> 147

<211> 275
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)
 <400> 147
 Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Phe Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly
 1 5 10 15
 Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln
 20 25 30
 Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser Gln Arg Met Glu Pro Arg
 35 40 45
 Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Asp Gly Glu Thr
 50 55 60
 Arg Lys Val Lys Ala His Ser Gln Thr His Arg Val Asp Leu Gly Thr
 65 70 75 80
 Leu Arg Gly Ala Tyr Asn Gln Ser Glu Ala Gly Ser His Thr Val Gln
 85 90 95
 Arg Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Phe Leu Arg Gly
 100 105 110
 Tyr His Gln Tyr Ala Tyr Asp Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Lys Glu Asp
 115 120 125
 Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met Ala Ala Gln Thr Thr Lys His
 130 135 140
 Lys Trp Glu Ala Ala His Val Ala Glu Gln Leu Arg Ala Tyr Leu Glu
 145 150 155 160
 Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu
 165 170 175
 Thr Leu Gln Arg Thr Asp Ala Pro Lys Thr His Met Thr His His Ala
 180 185 190
 Val Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Ser Phe Tyr
 195 200 205
 Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr
 210 215 220
 Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Cys Gly Asp Gly Thr Phe
 225 230 235 240
 Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Ser Gly Gln Glu Gln Arg Tyr
 245 250 255
 Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu Arg
 260 265 270
 Trp Glu Pro

275
 <210> 148
 <211> 275
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)
 <400> 148
 Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Tyr Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly
 1 5 10 15
 Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln
 20 25 30
 Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser Gln Arg Met Glu Pro Arg
 35 40 45
 Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Asp Gln Glu Thr
 50 55 60
 Arg Asn Val Lys Ala Gln Ser Gln Thr Asp Arg Val Asp Leu Gly Thr
 65 70 75 80
 Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser Glu Asp Gly Ser His Thr Ile Gln
 85 90 95
 Ile Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Pro Asp Gly Arg Phe Leu Arg Gly
 100 105 110
 Tyr Arg Gln Asp Ala Tyr Asp Gly Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Asn Glu
 115 120 125
 Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met Ala Ala Gln Ile Thr Lys
 130 135 140
 Arg Lys Trp Glu Ala Ala His Ala Ala Glu Gln Gln Arg Ala Tyr Leu
 145 150 155 160
 Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys
 165 170 175
 Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Pro Pro Lys Thr His Met Thr His His
 180 185 190
 Pro Ile Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe
 195 200 205
 Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln
 210 215 220
 Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr
 225 230 235 240
 Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Ser Gly Glu Glu Gln Arg
 245 250 255
 Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu

	260	265	270
Arg Trp Glu			
275			
<210> 149			
<211> 341			
<212> PRT			
<213> 智人 (Homo sapiens)			
<400> 149			
Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Ser Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly			
1 5 10 15			
Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln			
20 25 30			
Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser Gln Arg Met Glu Pro Arg			
35 40 45			
Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Asp Glu Glu Thr			
50 55 60			
Gly Lys Val Lys Ala His Ser Gln Thr Asp Arg Glu Asn Leu Arg Ile			
65 70 75 80			
Ala Leu Arg Tyr Tyr Asn Gln Ser Glu Ala Gly Ser His Thr Leu Gln			
85 90 95			
Met Met Phe Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp Gly Arg Phe Leu Arg Gly			
100 105 110			
Tyr His Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Lys Glu			
115 120 125			
Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met Ala Ala Gln Ile Thr Lys			
130 135 140			
Arg Lys Trp Glu Ala Ala His Val Ala Glu Gln Gln Arg Ala Tyr Leu			
145 150 155 160			
Glu Gly Thr Cys Val Asp Gly Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys			
165 170 175			
Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Pro Pro Lys Thr His Met Thr His His			
180 185 190			
Pro Ile Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe			
195 200 205			
Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln			
210 215 220			
Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr			
225 230 235 240			
Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Ser Gly Glu Glu Gln Arg			

				245					250					255			
Tyr	Thr	Cys	His	Val	Gln	His	Glu	Gly	Leu	Pro	Lys	Pro	Leu	Thr	Leu		
				260					265					270			
Arg	Trp	Glu	Pro	Ser	Ser	Gln	Pro	Thr	Val	Pro	Ile	Val	Gly	Ile	Ile		
				275					280					285			
Ala	Gly	Leu	Val	Leu	Leu	Gly	Ala	Val	Ile	Thr	Gly	Ala	Val	Val	Ala		
				290					295					300			
Ala	Val	Met	Trp	Arg	Arg	Asn	Ser	Ser	Asp	Arg	Lys	Gly	Gly	Ser	Tyr		
305						310				315					320		
Ser	Gln	Ala	Ala	Ser	Ser	Asp	Ser	Ala	Gln	Gly	Ser	Asp	Val	Ser	Leu		
				325					330					335			
Thr	Ala	Cys	Lys	Val													
				340													
<210>	150																
<211>	341																
<212>	PRT																
<213>	智人(Homo sapiens)																
<400>	150																
Gly	Ser	His	Ser	Met	Arg	Tyr	Phe	Thr	Thr	Ser	Val	Ser	Arg	Pro	Gly		
1				5					10					15			
Arg	Gly	Glu	Pro	Arg	Phe	Ile	Ala	Val	Gly	Tyr	Val	Asp	Asp	Thr	Gln		
				20					25					30			
Phe	Val	Arg	Phe	Asp	Ser	Asp	Ala	Ala	Ser	Gln	Arg	Met	Glu	Pro	Arg		
				35					40					45			
Ala	Pro	Trp	Ile	Glu	Gln	Glu	Gly	Pro	Glu	Tyr	Trp	Asp	Arg	Asn	Thr		
				50					55					60			
Arg	Asn	Val	Lys	Ala	His	Ser	Gln	Ile	Asp	Arg	Val	Asp	Leu	Gly	Thr		
65						70				75					80		
Leu	Arg	Gly	Tyr	Tyr	Asn	Gln	Ser	Glu	Ala	Gly	Ser	His	Thr	Ile	Gln		
						85				90					95		
Met	Met	Tyr	Gly	Cys	Asp	Val	Gly	Ser	Asp	Gly	Arg	Phe	Leu	Arg	Gly		
				100					105					110			
Tyr	Gln	Gln	Asp	Ala	Tyr	Asp	Gly	Lys	Asp	Tyr	Ile	Ala	Leu	Asn	Glu		
				115					120					125			
Asp	Leu	Arg	Ser	Trp	Thr	Ala	Ala	Asp	Met	Ala	Ala	Gln	Ile	Thr	Gln		
				130					135					140			
Arg	Lys	Trp	Glu	Ala	Ala	Arg	Val	Ala	Glu	Gln	Leu	Arg	Ala	Tyr	Leu		
145						150				155					160		
Glu	Gly	Thr	Cys	Val	Glu	Trp	Leu	Arg	Arg	Tyr	Leu	Glu	Asn	Gly	Lys		

	165		170		175
Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Pro Pro Lys Thr His Met Thr His His					
	180		185		190
Ala Val Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Ser Phe					
	195		200		205
Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln					
	210		215		220
Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr					
225		230		235	240
Phe Gln Lys Trp Ala Ser Val Val Val Pro Ser Gly Gln Glu Gln Arg					
	245		250		255
Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu					
	260		265		270
Arg Trp Glu Pro Ser Ser Gln Pro Thr Ile Pro Ile Val Gly Ile Ile					
	275		280		285
Ala Gly Leu Val Leu Phe Gly Ala Val Phe Ala Gly Ala Val Val Ala					
	290		295		300
Ala Val Arg Trp Arg Arg Lys Ser Ser Asp Arg Lys Gly Gly Ser Tyr					
305		310		315	320
Ser Gln Ala Ala Ser Ser Asp Ser Ala Gln Gly Ser Asp Met Ser Leu					
	325		330		335
Thr Ala Cys Lys Val					
	340				
<210>	151				
<211>	119				
<212>	PRT				
<213>	智人(Homo sapiens)				
<400>	151				
Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser					
1	5		10		15
Gly Leu Glu Ala Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Arg					
	20		25		30
His Pro Ala Glu Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser					
	35		40		45
Gly Phe His Pro Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu					
	50		55		60
Arg Ile Glu Lys Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp					
65		70		75	80
Ser Phe Tyr Leu Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Lys Asp					

	85		90		95
Glu Tyr Ala Cys Arg Val Asn His Val Thr Leu Ser Gln Pro Lys Ile					
	100		105		110
Val Lys Trp Asp Arg Asp Met					
	115				
<210>	152				
<211>	119				
<212>	PRT				
<213>	智人 (Homo sapiens)				
<400>	152				
Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser					
1	5		10		15
Gly Leu Glu Ala Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Arg					
	20		25		30
His Pro Ala Glu Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser					
	35		40		45
Gly Phe His Pro Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu					
	50		55		60
Arg Ile Glu Lys Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp					
65	70		75		80
Ser Phe Tyr Leu Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Lys Asp					
	85		90		95
Glu Tyr Ala Cys Arg Val Asn His Val Thr Leu Ser Gln Pro Lys Ile					
	100		105		110
Val Lys Trp Asp Arg Asp Met					
	115				
<210>	153				
<211>	119				
<212>	PRT				
<213>	智人 (Homo sapiens)				
<400>	153				
Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser					
1	5		10		15
Gly Leu Glu Ala Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Arg					
	20		25		30
His Pro Pro Glu Asn Gly Lys Pro Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser					
	35		40		45
Gly Phe His Pro Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu					
	50		55		60

35	40	45
Gln Phe His Pro Pro His Ile Glu Ile Gln Met Leu Lys Asn Gly Lys		
50	55	60
Lys Ile Pro Lys Val Glu Met Ser Asp Met Ser Phe Ser Lys Asp Trp		
65	70	75
Ser Phe Tyr Ile Leu Ala His Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Thr Asp		
85	90	95
Thr Tyr Ala Cys Arg Val Lys His Ala Ser Met Ala Glu Pro Lys Thr		
100	105	110
Val Tyr Trp Asp Arg Asp Met		
115		
<210>	156	
<211>	276	
<212>	PRT	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	具有可变区的I类MHC重链序列	
<220>		
<221>	不确定	
<222>	(79) .. (79)	
<223>	Xaa为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸	
<220>		
<221>	不确定	
<222>	(80) .. (80)	
<223>	Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸	
<220>		
<221>	不确定	
<222>	(81) .. (81)	
<223>	Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸	
<220>		
<221>	不确定	
<222>	(82) .. (82)	
<223>	Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸	
<220>		
<221>	不确定	
<222>	(83) .. (83)	

<223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸

<220>

<221> 不确定

<222> (85) .. (85)

<223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸

<220>

<221> 不确定

<222> (86) .. (86)

<223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸

<220>

<221> 不确定

<222> (87) .. (87)

<223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸

<220>

<221> 不确定

<222> (88) .. (88)

<223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸

<220>

<221> 不确定

<222> (89) .. (89)

<223> Xaa为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸

<220>

<221> 不确定

<222> (134) .. (134)

<223> Xaa为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸

<220>

<221> 不确定

<222> (135) .. (135)

<223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸

<220>

<221> 不确定

<222> (136) .. (136)

<223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸

以外的任何氨基酸

<220>

<221> 不确定

<222> (137) .. (137)

<223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸

以外的任何氨基酸

<220>

<221> 不确定

<222> (138) .. (138)

<223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸

以外的任何氨基酸

<220>

<221> 不确定

<222> (138) .. (138)

<223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸

以外的任何氨基酸

<220>

<221> 不确定

<222> (140) .. (140)

<223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸

以外的任何氨基酸

<220>

<221> 不确定

<222> (141) .. (141)

<223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸

以外的任何氨基酸

<220>

<221> 不确定

<222> (142) .. (142)

<223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以

外的任何氨基酸

<220>

<221> 不确定

<222> (143) .. (143)

<223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸

以外的任何氨基酸

<220>

<221> 不确定

<222> (144) .. (144)

<223> Xaa为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸
 <400> 156
 Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Phe Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly
 1 5 10 15
 Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln
 20 25 30
 Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser Gln Arg Met Glu Pro Arg
 35 40 45
 Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Asp Gly Glu Thr
 50 55 60
 Arg Lys Val Lys Ala His Ser Gln Thr His Arg Val Asp Leu Xaa Xaa
 65 70 75 80
 Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Gly Ser His Thr Val Gln
 85 90 95
 Arg Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Phe Leu Arg Gly
 100 105 110
 Tyr His Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Lys Glu
 115 120 125
 Asp Leu Arg Ser Trp Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 130 135 140
 His Lys Trp Glu Ala Ala His Val Ala Glu Gln Leu Arg Ala Tyr Leu
 145 150 155 160
 Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys
 165 170 175
 Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Ala Pro Lys Thr His Met Thr His His
 180 185 190
 Ala Val Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Ser Phe
 195 200 205
 Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln
 210 215 220
 Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr
 225 230 235 240
 Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Ser Gly Gln Glu Gln Arg
 245 250 255
 Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu
 260 265 270
 Arg Trp Glu Pro
 275
 <210> 157

<211> 99

<212> PRT

〈213〉 智人 (Homo sapiens)

〈400〉 157

Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Cys His Pro Ala Glu

1 5 10 15

Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser Gly Phe His Pro

20 25 30

Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu Arg Ile Glu Lys

35 40 45

Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Leu

50 55 60

Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Lys Asp Glu Tyr Ala Cys

65 70 75 80

Arg Val Asn His Val Thr Leu Ser Gln Pro Lys Ile Val Lys Trp Asp

85 90 95

Arg Asp Met

⟨210⟩ 158

276 $\langle 211 \rangle$

⟨212⟩ PRT

〈213〉 人工序列 (Artificial Sequence)

 $\langle 220 \rangle$

〈223〉 具有可变区的1类MHC重链序列

 $\langle 220 \rangle$

〈221〉 不确定

$$\langle 222 \rangle \quad (79) \dots (79)$$

<223> Xaa为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸

 $\langle 220 \rangle$

〈221〉 不确定

$$\langle 222 \rangle \quad (79) \dots (79)$$

<223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸

 $\langle 220 \rangle$

〈221〉 不確定

$$\langle 222 \rangle \quad (80) \dots (80)$$

<223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸

 $\langle 220 \rangle$

〈221〉 不確定

- <222> (81) .. (81)
- <223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸
- <220>
- <221> 不确定
- <222> (82) .. (82)
- <223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸
- <220>
- <221> 不确定
- <222> (83) .. (83)
- <223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸
- <220>
- <221> 不确定
- <222> (85) .. (85)
- <223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸
- <220>
- <221> 不确定
- <222> (86) .. (86)
- <223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸
- <220>
- <221> 不确定
- <222> (87) .. (87)
- <223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸
- <220>
- <221> 不确定
- <222> (88) .. (88)
- <223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸
- <220>
- <221> 不确定
- <222> (89) .. (89)
- <223> Xaa为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸
- <220>
- <221> 不确定

- <222> (134) .. (134)
- <223> Xaa为 (i) 任何氨基酸或者 (ii) 除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸
- <220>
- <221> 不确定
- <222> (135) .. (135)
- <223> Xaa存在或不存在,且当存在时为 (i) 任何氨基酸或者 (ii) 除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸
- <220>
- <221> 不确定
- <222> (136) .. (136)
- <223> Xaa存在或不存在,且当存在时为 (i) 任何氨基酸或者 (ii) 除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸
- <220>
- <221> 不确定
- <222> (137) .. (137)
- <223> Xaa存在或不存在,且当存在时为 (i) 任何氨基酸或者 (ii) 除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸
- <220>
- <221> 不确定
- <222> (138) .. (138)
- <223> Xaa存在或不存在,且当存在时为 (i) 任何氨基酸或者 (ii) 除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸
- <220>
- <221> 不确定
- <222> (140) .. (140)
- <223> Xaa存在或不存在,且当存在时为 (i) 任何氨基酸或者 (ii) 除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸
- <220>
- <221> 不确定
- <222> (141) .. (141)
- <223> Xaa存在或不存在,且当存在时为 (i) 任何氨基酸或者 (ii) 除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸
- <220>
- <221> 不确定
- <222> (142) .. (142)
- <223> Xaa存在或不存在,且当存在时为 (i) 任何氨基酸或者 (ii) 除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸
- <220>
- <221> 不确定

- <222> (143) .. (143)
- <223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸
- <220>
- <221> 不确定
- <222> (144) .. (144)
- <223> Xaa为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸
- <220>
- <221> 不确定
- <222> (231) .. (231)
- <223> Xaa为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸
- <220>
- <221> 不确定
- <222> (232) .. (232)
- <223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸
- <220>
- <221> 不确定
- <222> (233) .. (233)
- <223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸
- <220>
- <221> 不确定
- <222> (234) .. (234)
- <223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸
- <220>
- <221> 不确定
- <222> (235) .. (235)
- <223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸
- <220>
- <221> 不确定
- <222> (237) .. (237)
- <223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸
- <220>
- <221> 不确定
- <222> (238) .. (238)

<223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸

<220>

<221> 不确定

<222> (239) .. (239)

<223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸

<220>

<221> 不确定

<222> (240) .. (240)

<223> Xaa存在或不存在,且当存在时为(i)任何氨基酸或者(ii)除脯氨酸或甘氨酸以外的任何氨基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (241) .. (241)

<223> Xaa可为任何天然存在的氨基酸

<400> 158

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

Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Ala Pro Lys Thr His Met Thr His His
 180 185 190
 Ala Val Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Ser Phe
 195 200 205
 Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln
 210 215 220
 Thr Gln Asp Thr Glu Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa
 225 230 235 240
 Xaa Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Ser Gly Gln Glu Gln Arg
 245 250 255
 Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu
 260 265 270
 Arg Trp Glu Pro
 275

<210> 159

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> Val-Pro-Gly-X-Gly五肽

<220>

<221> 不确定

<222> (4) .. (4)

<223> Xaa为除脯氨酸以外的任何氨基酸

<400> 159

Val Pro Gly Xaa Gly

1 5

<210> 160

<211> 135

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 肽构建体

<400> 160

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser

1 5 10 15

Gly Leu Glu Ala Gly Gly Gly Gly Ser Leu Cys Thr Pro Ser Arg Gly

20 25 30

Gly Gly Gly Ser Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Cys

	35				40				45								
His	Pro	Ala	Glu	Asn	Gly	Lys	Ser	Asn	Phe	Leu	Asn	Cys	Tyr	Val	Ser		
	50				55				60								
Gly	Phe	His	Pro	Ser	Asp	Ile	Glu	Val	Asp	Leu	Leu	Lys	Asn	Gly	Glu		
65					70					75						80	
Arg	Ile	Glu	Lys	Val	Glu	His	Ser	Asp	Leu	Ser	Phe	Ser	Lys	Asp	Trp		
				85					90						95		
Ser	Phe	Tyr	Leu	Leu	Tyr	Tyr	Thr	Glu	Phe	Thr	Pro	Thr	Glu	Lys	Asp		
	100				105				110								
Glu	Tyr	Ala	Cys	Arg	Val	Asn	His	Val	Thr	Leu	Ser	Gln	Pro	Lys	Ile		
	115				120				125								
Val	Lys	Trp	Asp	Arg	Asp	Met											
	130				135												
<210>	161																
<211>	833																
<212>	PRT																
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)																
<220>																	
<223>	肽构建体																
<400>	161																
Met	Tyr	Arg	Met	Gln	Leu	Leu	Ser	Cys	Ile	Ala	Leu	Ser	Leu	Ala	Leu		
1				5					10					15			
Val	Thr	Asn	Ser	Ala	Pro	Thr	Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu		
			20					25					30				
Gln	Leu	Glu	Ala	Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile		
	35					40					45						
Asn	Asn	Tyr	Lys	Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Ala	Lys	Phe		
	50					55					60						
Tyr	Met	Pro	Lys	Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu		
65				70					75						80		
Glu	Glu	Leu	Lys	Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys		
				85					90					95			
Asn	Phe	His	Leu	Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile		
	100					105					110						
Val	Leu	Glu	Leu	Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala		
	115					120					125						
Asp	Glu	Thr	Ala	Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe		
	130					135					140						
Cys	Gln	Ser	Ile	Ile	Ser	Thr	Leu	Thr	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly		

145	150	155	160
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Thr			
	165	170	175
Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Ala Leu Leu Leu			
	180	185	190
Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys			
	195	200	205
Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr			
	210	215	220
Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu			
225	230	235	240
Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg			
	245	250	255
Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser			
	260	265	270
Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val			
	275	280	285
Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr			
	290	295	300
Leu Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly			
305	310	315	320
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Phe Thr			
	325	330	335
Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly			
	340	345	350
Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser			
	355	360	365
Gln Arg Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu			
	370	375	380
Tyr Trp Asp Gly Glu Thr Arg Lys Val Lys Ala His Ser Gln Thr His			
385	390	395	400
Arg Val Asp Leu Gly Thr Leu Arg Gly Cys Tyr Asn Gln Ser Glu Ala			
	405	410	415
Gly Ser His Thr Val Gln Arg Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp			
	420	425	430
Trp Arg Phe Leu Arg Gly Tyr His Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly Lys Asp			
	435	440	445
Tyr Ile Ala Leu Lys Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met			
450	455	460	

Cys	Ala	Gln	Thr	Thr	Lys	His	Lys	Trp	Glu	Ala	Ala	His	Val	Ala	Glu
465						470				475					480
Gln	Leu	Arg	Ala	Tyr	Leu	Glu	Gly	Thr	Cys	Val	Glu	Trp	Leu	Arg	Arg
					485				490					495	
Tyr	Leu	Glu	Asn	Gly	Lys	Glu	Thr	Leu	Gln	Arg	Thr	Asp	Ala	Pro	Lys
					500				505					510	
Thr	His	Met	Thr	His	His	Ala	Val	Ser	Asp	His	Glu	Ala	Thr	Leu	Arg
					515				520					525	
Cys	Trp	Ala	Leu	Ser	Phe	Tyr	Pro	Ala	Glu	Ile	Thr	Leu	Thr	Trp	Gln
						535								540	
Arg	Asp	Gly	Glu	Asp	Gln	Thr	Gln	Asp	Thr	Glu	Leu	Val	Glu	Thr	Arg
545					550					555					560
Pro	Cys	Gly	Asp	Gly	Thr	Phe	Gln	Lys	Trp	Ala	Ala	Val	Val	Val	Pro
					565				570						575
Ser	Gly	Gln	Glu	Gln	Arg	Tyr	Thr	Cys	His	Val	Gln	His	Glu	Gly	Leu
					580				585					590	
Pro	Lys	Pro	Leu	Thr	Leu	Arg	Trp	Glu	Ala	Ala	Ala	Gly	Gly	Asp	Lys
					595				600					605	
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro
						615								620	
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser
625					630					635					640
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp
					645					650					655
Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn
					660				665					670	
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val
					675				680					685	
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu
					690				695					700	
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys
705					710					715					720
Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr
					725					730					735
Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr
					740				745					750	
Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu
					755				760					765	
Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu

770	775	780
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys		
785	790	795
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu		800
	805	810
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly		815
	820	825
		830
Lys		
<210> 162		
<211> 527		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 肽构建体		
<400> 162		
Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu		
1	5	10
Val Thr Asn Ser Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Tyr Thr Ser Val		
	20	25
		30
Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val		
	35	40
		45
Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser Gln Arg		
	50	55
		60
Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp		
65	70	75
		80
Asp Gln Glu Thr Arg Asn Val Lys Ala Gln Ser Gln Thr Asp Arg Val		
	85	90
		95
Asp Leu Gly Thr Leu Arg Gly Cys Tyr Asn Gln Ser Glu Asp Gly Ser		
	100	105
		110
His Thr Ile Gln Ile Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Pro Asp Gly Arg		
	115	120
		125
Phe Leu Arg Gly Tyr Arg Gln Asp Ala Tyr Asp Gly Lys Asp Tyr Ile		
	130	135
		140
Ala Leu Asn Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met Cys Ala		
145	150	155
		160
Gln Ile Thr Lys Arg Lys Trp Glu Ala Ala His Ala Ala Glu Gln Gln		
	165	170
		175
Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu		
	180	185
		190

Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Pro Pro Lys Thr His		
195	200	205
Met Thr His His Pro Ile Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp		
210	215	220
Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln Arg Asp		
225	230	235 240
Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Cys		
	245	250 255
Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Ser Gly		
	260	265 270
Glu Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu Pro Lys		
	275	280 285
Pro Leu Thr Leu Arg Trp Glu Ala Ala Ala Gly Gly Asp Lys Thr His		
	290	295 300
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val		
305	310	315 320
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr		
	325	330 335
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu		
	340	345 350
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys		
	355	360 365
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser		
	370	375 380
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys		
385	390	395 400
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile		
	405	410 415
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro		
	420	425 430
Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu		
	435	440 445
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn		
	450	455 460
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser		
465	470	475 480
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg		
	485	490 495
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu		

	500		505		510
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys					
	515		520		525
<210>	163				
<211>	275				
<212>	PRT				
<213>	人工序列(Artificial Sequence)				
<220>					
<223>	肽构建体				
<400>	163				
Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Tyr Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly					
1	5		10		15
Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln					
	20		25		30
Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser Gln Arg Met Glu Pro Arg					
	35		40		45
Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Asp Gln Glu Thr					
	50		55		60
Arg Asn Val Lys Ala Gln Ser Gln Thr Asp Arg Val Asp Leu Gly Thr					
65	70		75		80
Leu Arg Gly Cys Tyr Asn Gln Ser Glu Asp Gly Ser His Thr Ile Gln					
	85		90		95
Ile Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Pro Asp Gly Arg Phe Leu Arg Gly					
	100		105		110
Tyr Arg Gln Asp Ala Tyr Asp Gly Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Asn Glu					
	115		120		125
Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met Cys Ala Gln Ile Thr Lys					
	130		135		140
Arg Lys Trp Glu Ala Ala His Ala Ala Glu Gln Gln Arg Ala Tyr Leu					
145	150		155		160
Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys					
	165		170		175
Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Pro Pro Lys Thr His Met Thr His His					
	180		185		190
Pro Ile Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe					
	195		200		205
Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln					
	210		215		220
Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Cys Gly Asp Gly Thr					

225	230	235	240
Phe Gln Lys Trp	Ala Ala Val Val Val	Pro Ser Gly Glu Glu Gln Arg	
	245	250	255
Tyr Thr Cys His	Val Gln His Glu Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu		
	260	265	270
Arg Trp Glu			
275			
<210>	164		
<211>	833		
<212>	PRT		
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)		
<220>			
<223>	肽构建体		
<400>	164		
Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu			
1	5	10	15
Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu			
	20	25	30
Gln Leu Glu Ala Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile			
	35	40	45
Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe			
50	55	60	
Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu			
65	70	75	80
Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys			
	85	90	95
Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile			
	100	105	110
Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala			
	115	120	125
Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe			
	130	135	140
Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly			
145	150	155	160
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Thr			
	165	170	175
Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Ala Leu Leu Leu			
	180	185	190
Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys			

195	200	205
Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr		
210	215	220
Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu		
225	230	235
Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg		
245	250	255
Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser		
260	265	270
Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val		
275	280	285
Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr		
290	295	300
Leu Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly		
305	310	315
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Tyr Thr		
325	330	335
Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly		
340	345	350
Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser		
355	360	365
Gln Arg Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu		
370	375	380
Tyr Trp Asp Gln Glu Thr Arg Asn Val Lys Ala Gln Ser Gln Thr Asp		
385	390	395
Arg Val Asp Leu Gly Thr Leu Arg Gly Cys Tyr Asn Gln Ser Glu Asp		
405	410	415
Gly Ser His Thr Ile Gln Ile Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Pro Asp		
420	425	430
Gly Arg Phe Leu Arg Gly Tyr Arg Gln Asp Ala Tyr Asp Gly Lys Asp		
435	440	445
Tyr Ile Ala Leu Asn Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met		
450	455	460
Cys Ala Gln Ile Thr Lys Arg Lys Trp Glu Ala Ala His Ala Ala Glu		
465	470	475
Gln Gln Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg		
485	490	495
Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Pro Pro Lys		
500	505	510

Thr His Met Thr His His Pro Ile Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg		
515	520	525
Cys Trp Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln		
530	535	540
Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg		
545	550	555
Pro Cys Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro		
	565	570
Ser Gly Glu Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu		
	580	585
Pro Lys Pro Leu Thr Leu Arg Trp Glu Ala Ala Ala Gly Gly Asp Lys		
	595	600
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro		
610	615	620
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser		
625	630	635
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp		
	645	650
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn		
	660	665
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val		
	675	680
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu		
690	695	700
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys		
705	710	715
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr		
	725	730
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr		
	740	745
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu		
	755	760
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu		
770	775	780
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys		
785	790	795
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu		
	805	810
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly		

820	825	830
Lys		
<210> 165		
<211> 552		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 蛋白质构建体		
<400> 165		
Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu		
1 5 10 15		
Val Thr Asn Ser Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Tyr Thr Ser Val		
20 25 30		
Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val		
35 40 45		
Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser Gln Arg		
50 55 60		
Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp		
65 70 75 80		
Asp Gln Glu Thr Arg Asn Val Lys Ala Gln Ser Gln Thr Asp Arg Val		
85 90 95		
Asp Leu Gly Thr Leu Arg Gly Cys Tyr Asn Gln Ser Glu Asp Gly Ser		
100 105 110		
His Thr Ile Gln Ile Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Pro Asp Gly Arg		
115 120 125		
Phe Leu Arg Gly Tyr Arg Gln Asp Ala Tyr Asp Gly Lys Asp Tyr Ile		
130 135 140		
Ala Leu Asn Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met Cys Ala		
145 150 155 160		
Gln Ile Thr Lys Arg Lys Trp Glu Ala Ala His Ala Ala Glu Gln Gln		
165 170 175		
Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu		
180 185 190		
Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Pro Pro Lys Thr His		
195 200 205		
Met Thr His His Pro Ile Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp		
210 215 220		
Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln Arg Asp		
225 230 235 240		

Gly	Glu	Asp	Gln	Thr	Gln	Asp	Thr	Glu	Leu	Val	Glu	Thr	Arg	Pro	Cys	
				245					250					255		
Gly	Asp	Gly	Thr	Phe	Gln	Lys	Trp	Ala	Ala	Val	Val	Val	Pro	Ser	Gly	
				260					265					270		
Glu	Glu	Gln	Arg	Tyr	Thr	Cys	His	Val	Gln	His	Glu	Gly	Leu	Pro	Lys	
				275					280					285		
Pro	Leu	Thr	Leu	Arg	Trp	Glu	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	
				290					295					300		
Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	
305					310					315					320	
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	
				325					330					335		
Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	
				340					345					350		
Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	
				355					360					365		
Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	
				370					375					380		
Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	
385					390					395					400	
Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	
				405					410					415		
Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	
				420					425					430		
Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	
				435					440					445		
Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	
				450					455					460		
Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	
465					470					475					480	
Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	
				485					490					495		
Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	
				500					505					510		
Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	
				515					520					525		
Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	
				530					535					540		
Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys									

545 550
 <210> 166
 <211> 858
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 肽构建体
 <400> 166
 Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
 1 5 10 15
 Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu
 20 25 30
 Gln Leu Glu Ala Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
 35 40 45
 Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe
 50 55 60
 Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
 65 70 75 80
 Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys
 85 90 95
 Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile
 100 105 110
 Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
 115 120 125
 Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe
 130 135 140
 Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 145 150 155 160
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Thr
 165 170 175
 Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu Ala Leu Leu Leu
 180 185 190
 Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys
 195 200 205
 Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr
 210 215 220
 Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu
 225 230 235 240
 Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg

				245				250				255				
Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu	Lys	Gly	Ser	
				260				265				270				
Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala	Thr	Ile	Val	
				275				280				285				
Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Cys	Gln	Ser	Ile	Ile	Ser	Thr	
				290				295				300				
Leu	Thr	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	
305					310				315				320			
Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Ser	His	Ser	Met	Arg	Tyr	Phe	Tyr	Thr	
				325				330				335				
Ser	Val	Ser	Arg	Pro	Gly	Arg	Gly	Glu	Pro	Arg	Phe	Ile	Ala	Val	Gly	
				340				345				350				
Tyr	Val	Asp	Asp	Thr	Gln	Phe	Val	Arg	Phe	Asp	Ser	Asp	Ala	Ala	Ser	
				355				360				365				
Gln	Arg	Met	Glu	Pro	Arg	Ala	Pro	Trp	Ile	Glu	Gln	Glu	Gly	Pro	Glu	
				370				375				380				
Tyr	Trp	Asp	Gln	Glu	Thr	Arg	Asn	Val	Lys	Ala	Gln	Ser	Gln	Thr	Asp	
385					390				395				400			
Arg	Val	Asp	Leu	Gly	Thr	Leu	Arg	Gly	Cys	Tyr	Asn	Gln	Ser	Glu	Asp	
				405				410				415				
Gly	Ser	His	Thr	Ile	Gln	Ile	Met	Tyr	Gly	Cys	Asp	Val	Gly	Pro	Asp	
				420				425				430				
Gly	Arg	Phe	Leu	Arg	Gly	Tyr	Arg	Gln	Asp	Ala	Tyr	Asp	Gly	Lys	Asp	
				435				440				445				
Tyr	Ile	Ala	Leu	Asn	Glu	Asp	Leu	Arg	Ser	Trp	Thr	Ala	Ala	Asp	Met	
				450				455				460				
Cys	Ala	Gln	Ile	Thr	Lys	Arg	Lys	Trp	Glu	Ala	Ala	His	Ala	Ala	Glu	
465					470				475				480			
Gln	Gln	Arg	Ala	Tyr	Leu	Glu	Gly	Thr	Cys	Val	Glu	Trp	Leu	Arg	Arg	
				485				490				495				
Tyr	Leu	Glu	Asn	Gly	Lys	Glu	Thr	Leu	Gln	Arg	Thr	Asp	Pro	Pro	Lys	
				500				505				510				
Thr	His	Met	Thr	His	His	Pro	Ile	Ser	Asp	His	Glu	Ala	Thr	Leu	Arg	
				515				520				525				
Cys	Trp	Ala	Leu	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ala	Glu	Ile	Thr	Leu	Thr	Trp	Gln	
				530				535				540				
Arg	Asp	Gly	Glu	Asp	Gln	Thr	Gln	Asp	Thr	Glu	Leu	Val	Glu	Thr	Arg	
545					550				555				560			

Pro Cys Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro		
565	570	575
Ser Gly Glu Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu		
580	585	590
Pro Lys Pro Leu Thr Leu Arg Trp Glu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly		
595	600	605
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly		
610	615	620
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys		
625	630	635
Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro		
645	650	655
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys		
660	665	670
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp		
675	680	685
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu		
690	695	700
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu		
705	710	715
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
725	730	735
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly		
740	745	750
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu		
755	760	765
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
770	775	780
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
785	790	795
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
805	810	815
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
820	825	830
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
835	840	845
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
850	855	

<210> 167

<211> 20

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 167

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser

1 5 10 15

Gly Leu Glu Ala

20

<210> 168

<211> 20

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 168

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu

1 5 10 15

Val Thr Asn Ser

20

<210> 169

<211> 833

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 蛋白质构建体

<400> 169

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu

1 5 10 15

Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu

20 25 30

Gln Leu Glu Ala Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile

35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe

50 55 60

Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu

65 70 75 80

Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys

85 90 95

Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile

100 105 110

Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala

115	120	125
Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val	Glu Phe Leu Asn Arg Trp	Ile Thr Phe
130	135	140
Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr	Leu Thr Gly Gly Gly Gly	Ser Gly Gly
145	150	155
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly	Ser Gly Gly Gly Ser Ala	Pro Thr
165	170	175
Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr	Gln Leu Gln Leu Glu Ala	Leu Leu Leu
180	185	190
Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn	Gly Ile Asn Asn Tyr Lys	Asn Pro Lys
195	200	205
Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala	Lys Phe Tyr Met Pro Lys	Lys Ala Thr
210	215	220
Glu Leu Lys His Leu Gln Cys	Leu Glu Glu Glu Leu Lys	Pro Leu Glu
225	230	235
Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln	Ser Lys Asn Phe His Leu	Arg Pro Arg
245	250	255
Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn	Val Ile Val Leu Glu Leu	Lys Gly Ser
260	265	270
Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu	Tyr Ala Asp Glu Thr Ala	Thr Ile Val
275	280	285
Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile	Thr Phe Cys Gln Ser Ile	Ile Ser Thr
290	295	300
Leu Thr Gly Gly Gly Gly Ser	Gly Gly Gly Gly Ser Gly	Gly Gly Gly
305	310	315
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly	Ser His Ser Met Arg Tyr	Phe Tyr Thr
325	330	335
Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg	Gly Glu Pro Arg Phe Ile	Ala Val Gly
340	345	350
Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe	Val Arg Phe Asp Ser Asp	Ala Ala Ser
355	360	365
Gln Arg Met Glu Pro Arg Ala	Pro Trp Ile Glu Gln Glu	Gly Pro Glu
370	375	380
Tyr Trp Asp Gln Glu Thr Arg	Asn Val Lys Ala Gln Ser	Gln Thr Asp
385	390	395
Arg Val Asp Leu Gly Thr Leu	Arg Gly Cys Tyr Asn Gln	Ser Glu Asp
405	410	415
Gly Ser His Thr Ile Gln Ile	Met Tyr Gly Cys Asp Val	Gly Pro Asp
420	425	430

Gly Arg Phe Leu Arg Gly Tyr Arg Gln Asp Ala Tyr Asp Gly Lys Asp		
435	440	445
Tyr Ile Ala Leu Asn Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Cys Ala Asp Met		
450	455	460
Cys Ala Gln Ile Thr Lys Arg Lys Trp Glu Ala Ala His Ala Ala Glu		
465	470	475
Gln Gln Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg		
	485	490
Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Pro Pro Lys		
	500	510
Thr His Met Thr His His Pro Ile Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg		
	515	520
Cys Trp Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln		
530	535	540
Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg		
545	550	555
Pro Cys Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro		
	565	570
Ser Gly Glu Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu		
	580	585
Pro Lys Pro Leu Thr Leu Arg Trp Glu Ala Ala Ala Gly Gly Asp Lys		
	595	600
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro		
610	615	620
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser		
625	630	635
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp		
	645	650
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn		
	660	665
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val		
	675	680
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu		
	690	700
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys		
705	710	715
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr		
	725	730
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr		

740	745	750
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu		
755	760	765
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu		
770	775	780
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys		
785	790	795
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu		
805	810	815
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
820	825	830
Lys		
<210> 170		
<211> 9		
<212> PRT		
<213> 巨细胞病毒(cytomegalovirus)		
<400> 170		
Asn Leu Val Pro Met Val Ala Thr Val		
1	5	

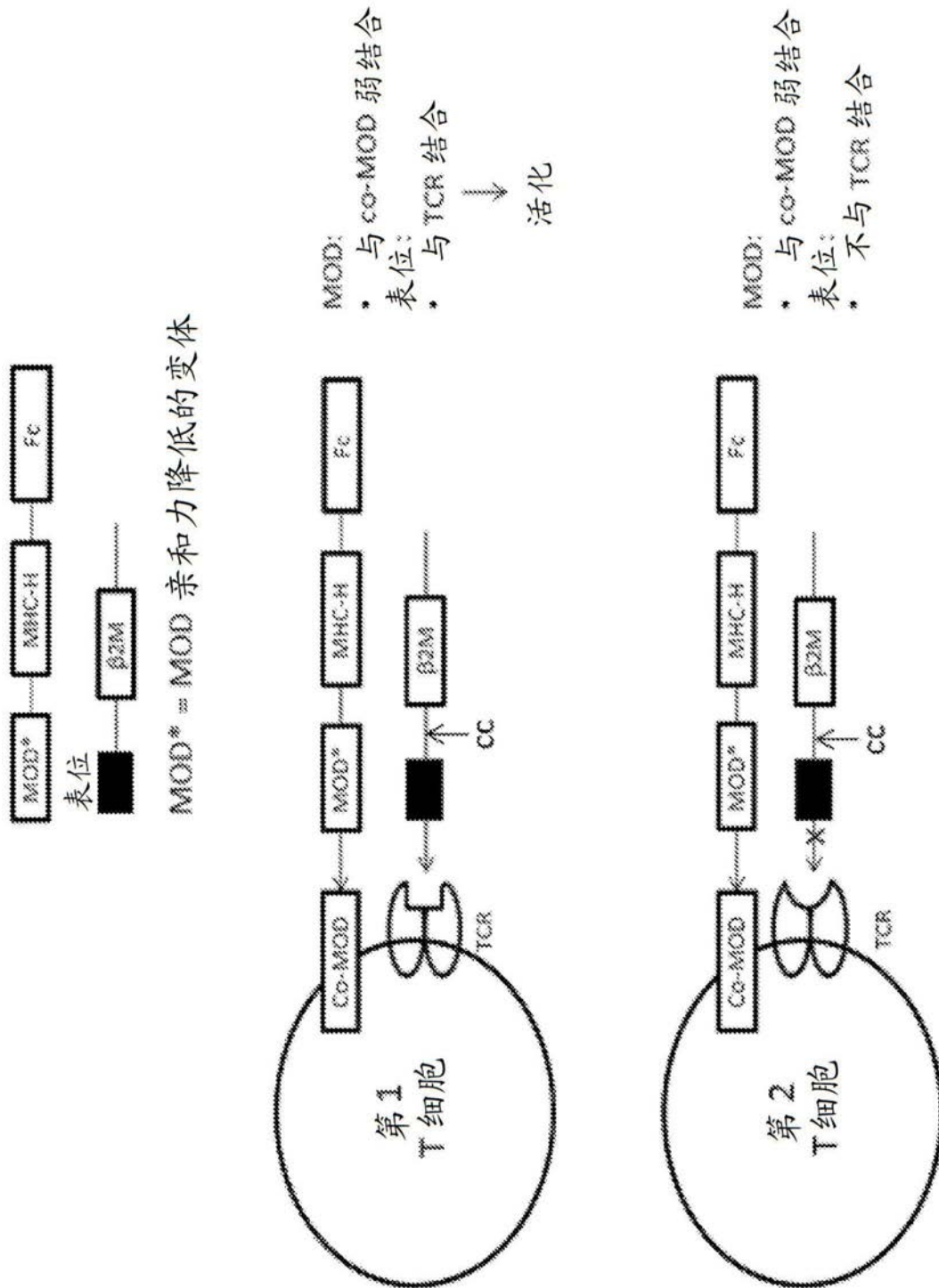


图1

GenBank 3S7G_A
 智人 **IgG1** Fc (SEQ ID NO:1)
 227 aa

```

1 dkthtcppcp apellggpsv flfppkpkdt lmsrtpevt cvvvdvshed pevfnwyvd
61 gvevhnaktk preeqynsty rvsvltvlh qdwlngkeyk ckvsnkappa piektiskak
121 gqprepqvyt lppsrdelntk nqslntlclvk gfypsdiave wesngqpenn ykttppvlds
181 dgsfflyskl tvdksrwqgg nvfscsvmhe alhnhytqks lslspgk

```

GenBank AAN76044
 智人 **IgG2** Fc (氨基酸 99-325) (SEQ ID NO:2)
 227 aa

```

1 stkgpsvfp1 apcsrstsnes taalgc1vkd yfpepvtvsw nsgaltsgvh tfpav1qssg
61 lyslssvvtv pssnfgtqnty tcnvdhkpsn tkvdkntverk ccvecppcpa ppvagpsvfl
121 fppkpkdtlm isrtpevtcv vvdvshedpe vqfnwyvdgv evhnaktkpr eegfnstfrv
181 vsvltvvhqd wlngkeykck vsnkg1papi ektisktkgq prepqvytlp psreemtknq
241 vslntlclvkngf ypsdiavewe sngqpennnyk ttpmldsdg sfflyskltv dksrwqqgnv
301 fscsvmheal hnhytqks1 lspgk

```

GenBank AAW65947
 智人 **IgG3** Fc (氨基酸 19-246) (SEQ ID NO:3)
 238 aa

```

1 hkpsntkvdk rvelktplgd tthtcppcpa pellggpsvf lfppkpkdtl misrtpevtc
61 vvvdvshedp evkfnwyvdg vevhnaktkp reeqynstnyr vsvltvlhnq dwlngkeykc
121 kvsnkappa iektiskakg qpnrepqvytl ppsrdeltkn qvslntlclvkng fypsdiavenw
181 esngqpenny kttppvldsng sfflyskltn vdksrwqqgn vfscsvmhea lnhytqks1
241 slspgk

```

图2A

GenBank AAA52770

智人 **IgD** Fc (氨基酸 162-383) (SEQ ID NO:4)

222 aa

```

1  ptkapdvfpi isgcrhpkn spvvlacilit gyhptsvtvt wymgtqsqpq rtfpeiqrdr
61  syymtssqls tplqqwrqge ykcvvqhtas kskkeifrwp espkaqassv ptaqpqaegs
121 lakattapat trntgrggee kkekekeeq eeretktp ec pshtqplgvy lltpavqdlw
181 lrdkatftcf vvgSDLkdah ltwevagkvp tggveeglle rhsngsqsqh srltlprslw
241 nagtsvtct1 nhpslppqr1 malrepaaqa pvklslnlla ssdppeaasw llcevsgfsp
301 pnillmwled grevntsgfa parppqprrs ttfwawsvlr vpappspqpa tytcvvhed
361 srlllnasrs levsyvtldhg pmk

```

GenBank 0308221A

智人 **IgM** Fc (SEQ ID NO:5)

276 aa

```

1  vtstltikzs dwlgesmftc rvdhrgltfq qnassmcvpd qdtairvfai ppsfasiflt
61  kstkltcclvt dltybsvti swtreengav kthtnishesh pnatfsavge asicedbdws
121 gerftctvth tdlpsplkqt isrpkgvalh rpbvylppa rzzlnlresa titclvtgfs
181 padvfvevmq rgeplspqky vtsapmpepq apgryfahsi ltvseeewnt ggtytcvvh
241 ealpnrvter tvdkstgkpt lynvslvmsd tagtcy

```

图2B

GenBank P01876
 智人 **IgA Fc** (氨基酸 120-353) (SEQ ID NO:6)
 234 aa

```

1 asptspkvfp lslcstqpdg nvviaclvqg ffpqeplsvt wsesggqvta rnfpssqdas
61 gdlyttssql tlpataqlag ksvtchvkh tnpdqdvtp cpvpstpttp spstptptsp
121 scchprlslh rpaledlllg seanltctlt glrdasgtf twtpssgksa vqgpperdlc
181 gcysvssvlp gcaepwnhgk tftctaaype sktpltatls ksgntfrpev hllpppseel
241 alnelvtltc largfspkdv lvrwlqgsqe lprekyltwa srqepsqgtt tfavtsilrv
301 aaedwkkgdt fscmvghcal plaftqktid rlagkpthvn vsvvmaevdg tcy

```

GenBank 1F6A_B
 智人 **IgE Fc** (氨基酸 6-222) (SEQ ID NO:7)
 212 aa

```

1 adpcdsnprg vsaylsrpsp fdlfirkst itclvvdlap skgtvnltws rasgkpvnhs
61 trkeekqrng tltvtstlpv gtrdwieget yqcrvthphl pralmrsttk tsgpraapev
121 yafatpewpg srdkrtlacl ignfmpedis vqwlhnevql pdarhsttqp rktkgsgffv
181 fsrlevtrae weqkdeficr avheaaspsq tvqravsvnp gk

```

GenBank P01861
 智人 **IgG4 Fc** (氨基酸 100-327) (SEQ ID NO:8)
 228 aa

```

1 astkgpsvfp lapcsrstse staaalgclvk dyfpepvtvs wnsгалtsgv htfpavlgss
61 glyslssvvt vpssslgtkt ytcnvdhkps ntkvdkrves kygppcpscp afeflggpsv
121 flfppkpkdt lmisrtpevt cvvvdvsqed pevqfnwyvd gvevhnaktk preeqfnsty
181 rvsvlvtvlh qdwlngkeyk ckvsnkglps siektiskak gqprepqvvt lppsqeemtk
241 nqvsltclvk gfypsdiave wesngqpenn ykttppvlds dgsfflysr1 tvdksrwqeg
301 nvfscsvmhe alhnhytqks ls1slgk

```

图2C

野生型人 IgG1 Fc 序列 (SEQ ID NO:9)
DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY~~ST~~YRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAP~~IE~~KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
PVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV~~F~~SCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图2D

人 IgG1 Fc 突变体: L234F/L235E/P331S (三突变体 "TM") (SEQ ID NO:10)
DKTHTCPPCPAPEFEEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY~~STYRVVSVLT~~
VLHQDWLNGKEYCKVSNKALPASP~~IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP~~
PVLDSDGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV~~FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK~~

图2E

人 IgG1 Fc 突变体: N297A (SEQ ID NO:11)
DKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图2F

人IgG1 Fc 突变体: L234A/L235A ("LALA") (SEQ ID NO:12)
DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
PVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

残基根据 EU 索引 (Kabat 编号) 进行编号

图2G

智人 HLA-A
氨基酸 25-365

3A.1 HLA-A*01:01:01:01 NCBI (美国国家生物技术信息中心) 登录号 NP_001229687.1
(SEQ ID NO:134)

1 mavmaprtll lllsgalalt qtwagshsmr yfstsvsrpg rgeprfiavg yvddtqfvrf
61 dsdaasqkme prapwiegeg peywdqetn mkahsqtdra nlgtlrgyyn qsedgshtliq
121 imygcdvgsd grflrgyrgd aydgkdyial nedlrswtas dmaaqitkrk weavhaaeqr
181 rvylegrcvd glrrylengk etlqrtppk thmthhpisd heatlrcwal gfypaeitlt
241 wqrdgedtq dtelvetrpa gdtgfkwa vvpvsgeeqr ytchvqhegl pkpltrwel
301 ssqptipivg iiaaglvlga vitgavvaav mwrrkssdrk ggsytqaass dsaggsdvs1
361 tackv

3A.2 HLA-A*1101 NCBI 登录号 P13746.1 (SEQ ID NO:135)

1 mavmaprtll lllsgalalt qtwagshsmr yfstsvsrpg rgeprfiavg yvddtqfvrf
61 dsdaasqkme prapwiegeg peywdqetn vkaqsqtdrv dlgtlrgyyn qsedgshtliq
121 imygcdvgsd grflrgyrgd aydgkdyial nedlrswtas dmaaqitkrk weaahaaeqq
181 raylegrcve wlrrylengk etlqrtppk thmthhpisd heatlrcwal gfypaeitlt
241 wqrdgedtq dtelvetrpa gdtgfkwa vvpvsgeeqr ytchvqhegl pkpltrwel
301 ssqptipivg iiaaglvlga vitgavvaav mwrrkssdrk ggsytqaass dsaggsdvs1
361 tackv

3A.3 HLA-A*2402 NCBI 登录号 P05534.2 (SEQ ID NO:136)

1 mavmaprtlv lllsgalalt qtwagshsmr yfstsvsrpg rgeprfiavg yvddtqfvrf
61 dsdaasqkme prapwiegeg peyweetgk vkahsqtdre nlrilryyn qseagshltlq
121 mmfgcdvgsd grflrgyhqy aydgkdyial kedlrswtas dmaaqitkrk weaahvaeqq
181 raylegtcvd glrrylengk etlqrtppk thmthhpisd heatlrcwal gfypaeitlt
241 wqrdgedtq dtelvetrpa gdtgfkwa vvpvsgeeqr ytchvqhegl pkpltrwep
301 ssqptvpihg iiaaglvlga vitgavvaav mwrrnssdrk ggsysqaass dsaggsdvs1
361 tackv

3A.4 HLA-A*3303 NCBI 登录号 AAA79865.1 SEQ ID NO:137

1 mavmaprtll llllgalalt qtwagshsmr yfstsvsrpg rgeprfiavg yvddtqfvrf

图3A

```

61 dsdaasqrme prapwiegeg peywdnrtrn vkahsqidrv dltlrgyyn qseagshtiq
121 mmygcdvgsd grflrgyqgd aydgkdyial nedlrswwta dmaaqitqrk weaarvaeql
181 raylegtcve wlrrylengk etlqtrdppk thmthhavs d heatlrcwal sfypaeitlt
241 wqrddgedtq dtelvetrpa gdtfqkwas vvpssgqqr ytchvqhegl pkpltlrwep
301 ssqptipivg iiaglvlfga vfagavvaav rwrkssdrk ggsysqaass dsaggdsmsl
361 tackv

```

智人 HLA-B

HLA-B GcnBank 登录号 NP_005505.2

氨基酸 25-362 (SEQ ID NO:138)

```

1 mlvmaprtvl lllsaalalt etwagshsmr yfytvsrpg rgeprfivg yvddtqfvr
61 dsdaaspre prapwiegeg peywdnrntqi ykaaqtdre slnrlrgyyn qseagshtlq
121 smygcdvgsd grllrghdq aydgkdyial nedlrswwta dtaaqitqrk weaareaeqr
181 raylegecve wlrrylengk dkleradppk thvthhpisd heatlrcwal gfypaeitlt
241 wqrddgedtq dtelvetrpa gdrtfqkwa vvpssgqqr ytchvqhegl pkpltlrwep
301 ssqstvpivg ivaglavlav vvigavvaav mcrkssggk ggsysqaacs dsaggdsvsl
361 ta

```

图3B

智人 HLA-C
HLA-C GenBank 登录号 NP_001229971.1,
氨基酸 25-366 (SEQ ID NO:139)

```
1  mrvmaprall lllsgglalt etwacshsmr yfdtavsrpg rgeprfivsg yvddtqfvrf
61 dsdaasprge prapwveqeg peywdretqn ykrqagadrp slrnlrgyyn qsedgshtlq
121 rmygcdlpgd grllrgydgqs aydgkdyial nedlrswwta dtaaqitqrk leaaraaeql
181 raylegtcve wlrrylengk etlqraepk thvthhplsd heatlrcwal gfypaeitlt
241 wqrdgedqtq dtelvetrpa gdtgfkwaav vvpvsggeqr ytchmqhegl qepltlswep
301 ssqptipimg ivaglavlv lavlgavvta mmcrkssgg kggscsqaac snsaggsdes
361 litck
```

图3C

139

HLA-A	KDYIALNEDLRSWTAADMAAQITKRKWEAVHAAEQRRVYLEGRCVDGLRRYLENGKETLQ
HLA-B	KDYIALNEDLRSWTAADITAAQITQRKWEAAREAEQRRAYLEGECEVWLRRYLENGCKDKLE
HLA-C	KDYIALNEDLRSWTAADITAAQITQRKLEAARAAEQRLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQ
HLA_A(变体 1)	KDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKEKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQ
小鼠 H2K	RDYIALNEDLKTWTAADITAAITRRKWEQAGDAEYYRAYLEGECEVWLRRYLELGNETLL
HLA_A(变体 2)	KDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKEKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQ
HLA_A(变体 2C)	KDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKEKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQ
HLA-A(变体 2CP)	KDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKEKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQ
HLA-A*1101	KDYIALNEDLRSWTAADMAAQITKRKWEAAHAAEQRRAYLEGRCVEWLRRYLENGKETLQ
HLA-A*2402	KDYIALKEDLRSWTAADMAAQITKRKWEAAHVAEQRRAYLEGTCVDGLRRYLENGKETLQ
HLA-A*3303	KDYIALNEDLRSWTAADMAAQITQRKWEAAARVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQ

:*****:::*** * * * * * . ** * .***** **: ***** *:..*

aac3 aac4

图3D

		236	
		↓	
HLA-A	RTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETRPAGDGT	
HLA-B	RADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETRPAGDRIF	
HLA-C	RAEPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETRPAGDGT	
HLA_A(变体 1)	RTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETRPAGDGT	
小鼠 H2K	RTDSPKAHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPADITLTWQLNGEDLTQDMEL	VETRPAGDGT	
HLA_A(变体 2)	RTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETRPAGDGT	
HLA_A(变体 2C)	RTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETRPAGDGT	
HLA-A(变体 2CP)	RTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETRPAGDGT	
HLA-A*1101	RTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETRPAGDGT	
HLA-A*2402	RTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETRPAGDGT	
HLA-A*3303	RTDPPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETRPAGDGT	
	*:: **::**::** * : :.*****.*****:***** :*** ** *****. ** **	aac5	aac6
HLA-A	QKWAADVVPSCGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE		
HLA-B	QKWAADVVPSCGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE		
HLA-C	QKWAADVVPSCGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE		
HLA_A(变体 1)	QKWAADVVPSCGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE		
小鼠 H2K	QKWAADVVPSCGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE		
HLA_A(变体 2)	QKWAADVVPSCGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE		
HLA_A(变体 2C)	QKWAADVVPSCGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE		
HLA- (变体 2CP)	QKWAADVVPSCGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE		
HLA-A*1101	QKWAADVVPSCGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE		
HLA-A*2402	QKWAADVVPSCGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE		
HLA-A*3303	QKWAADVVPSCGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE		
	*****:***** *:***.*****:***:***** *		

图3D续

```

NP_004039.1      MSRSVALAVLALLSLSGLEAIAQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFNCYVSGEHPSDIEVDLL 60
NP_001009066.1   MSRSVALAVLALLSLSGLEAIAQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFNCYVSGEHPSDIEVDLL 60
NP_001040602.1   MSRSVALAVLALLSLSGLEAIAQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFNCYVSGEHPSDIEVDLL 60
NP_776318.1      MAREVALVLLGLLSLGLDAIAQRPCKIQVYSRHPPEDEGKPNFNCYVYGEHPFQIEIDL 60
NP_033865.2      MARSVTLVFLVLSLTGLYIAIQATFQIQVYSRHPPEDEGKPNFNCYVYGEHPFQIEIQML 60
*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*
*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*
*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*

NP_004039.1      KNGERIEKVEHSDLSFSKDWSEYLLYYTEFTPEKDEYACRVNHHVTLTSQLIVKWDRDM 119
NP_001009066.1   KNGERIEKVEHSDLSFSKDWSEYLLYYTEFTPEKDEYACRVNHHVTLTSQLIVKWDRDM 119
NP_001040602.1   KNGEKMCKVEHSDLSFSKDWSEYLLYYTEFTPEKDEYACRVNHHVTLTSQLIVKWDRDM 119
NP_776318.1      KNGEKI-KSEQSDLSESKDWSEYLLSHAEFTPNKSKDQYSCRVKHVTLTLEQPRIVKWDRDL 118
NP_033865.2      KNGKKIPKVEMSDMSFSKDWSEYILAHTEFTPTETDTYACRVKHASMAEPEKTVYWDMDM 119
*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*
*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*:*

```

图4

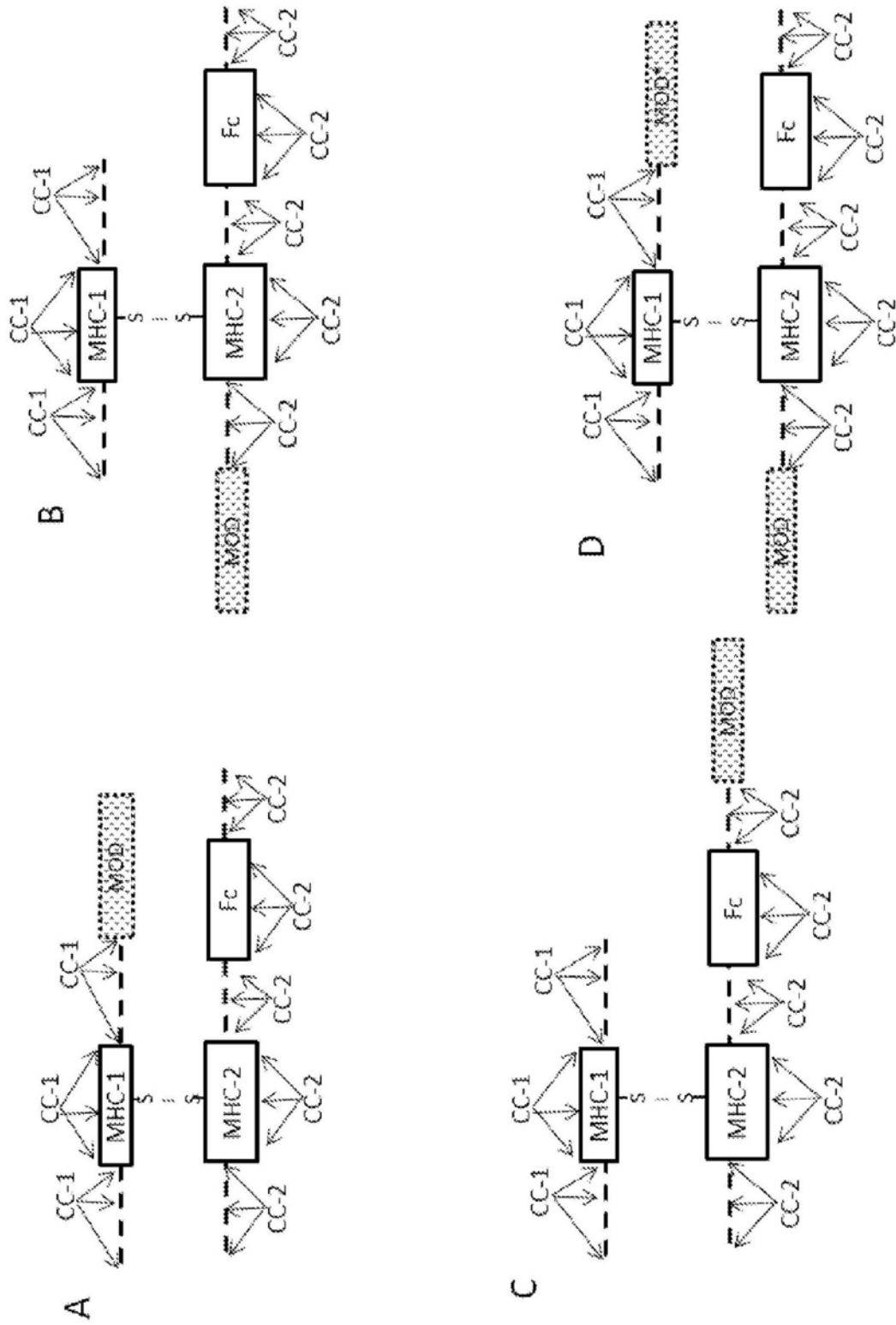


图5

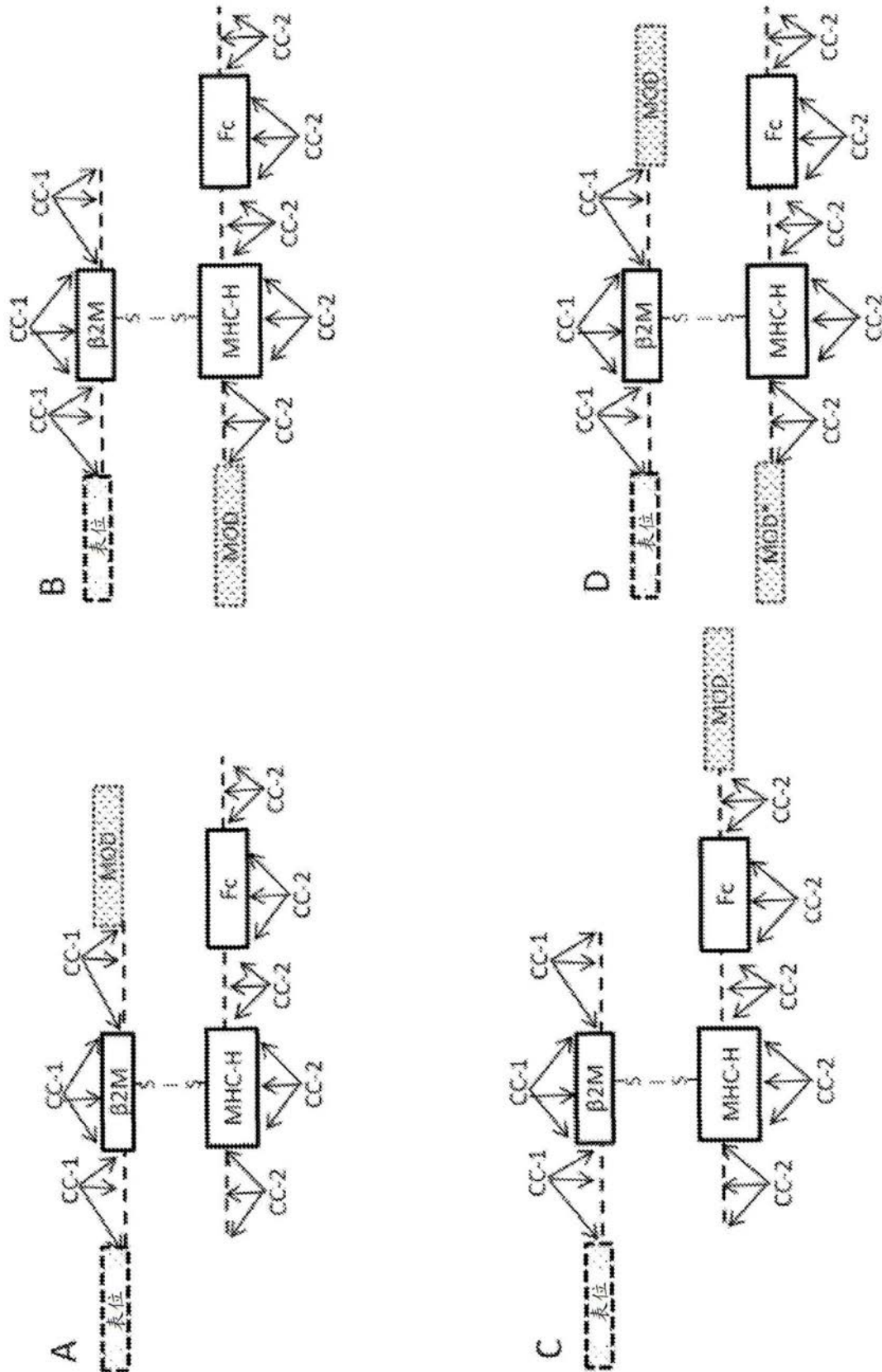


图6

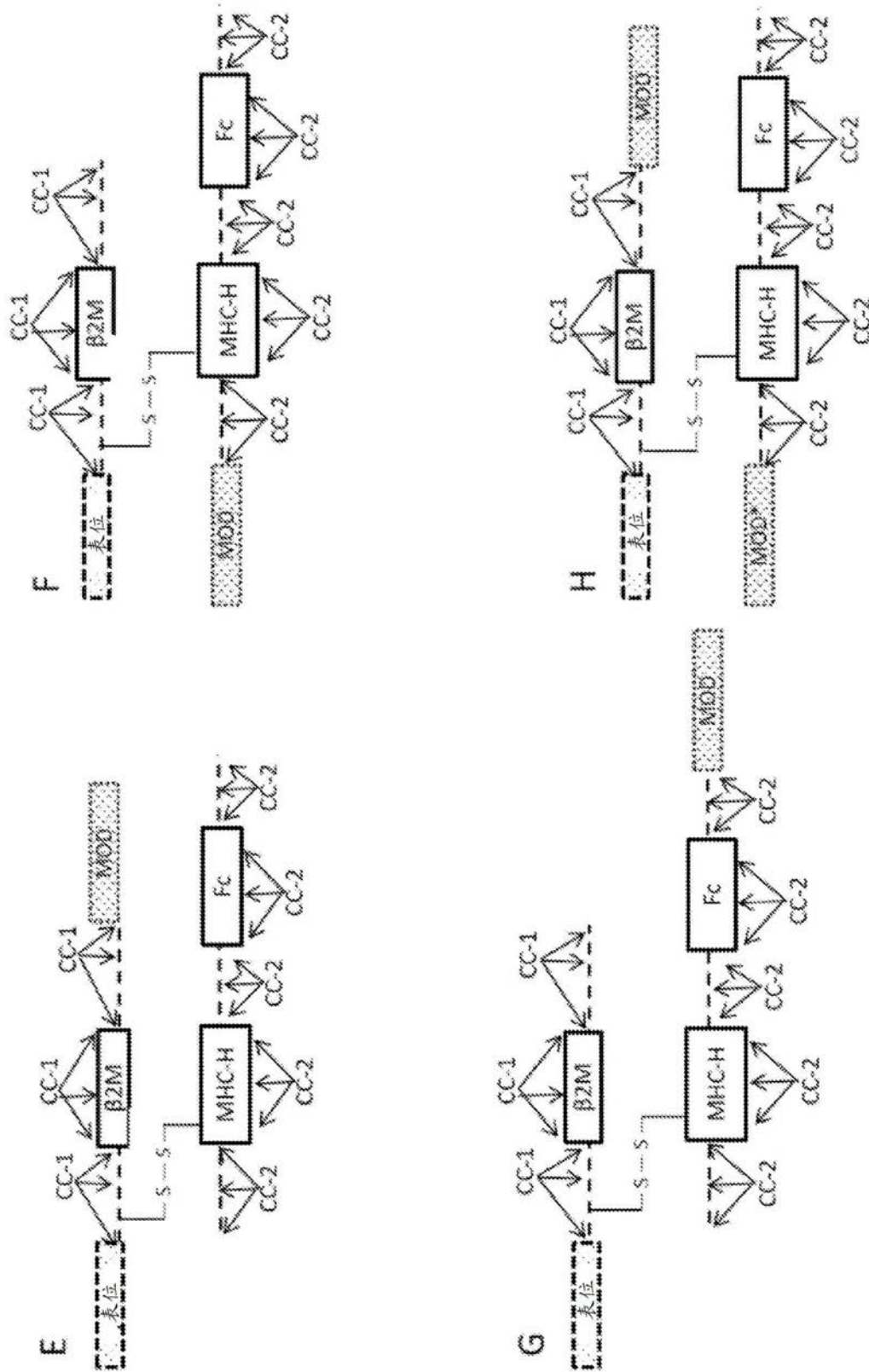


图6 (续)

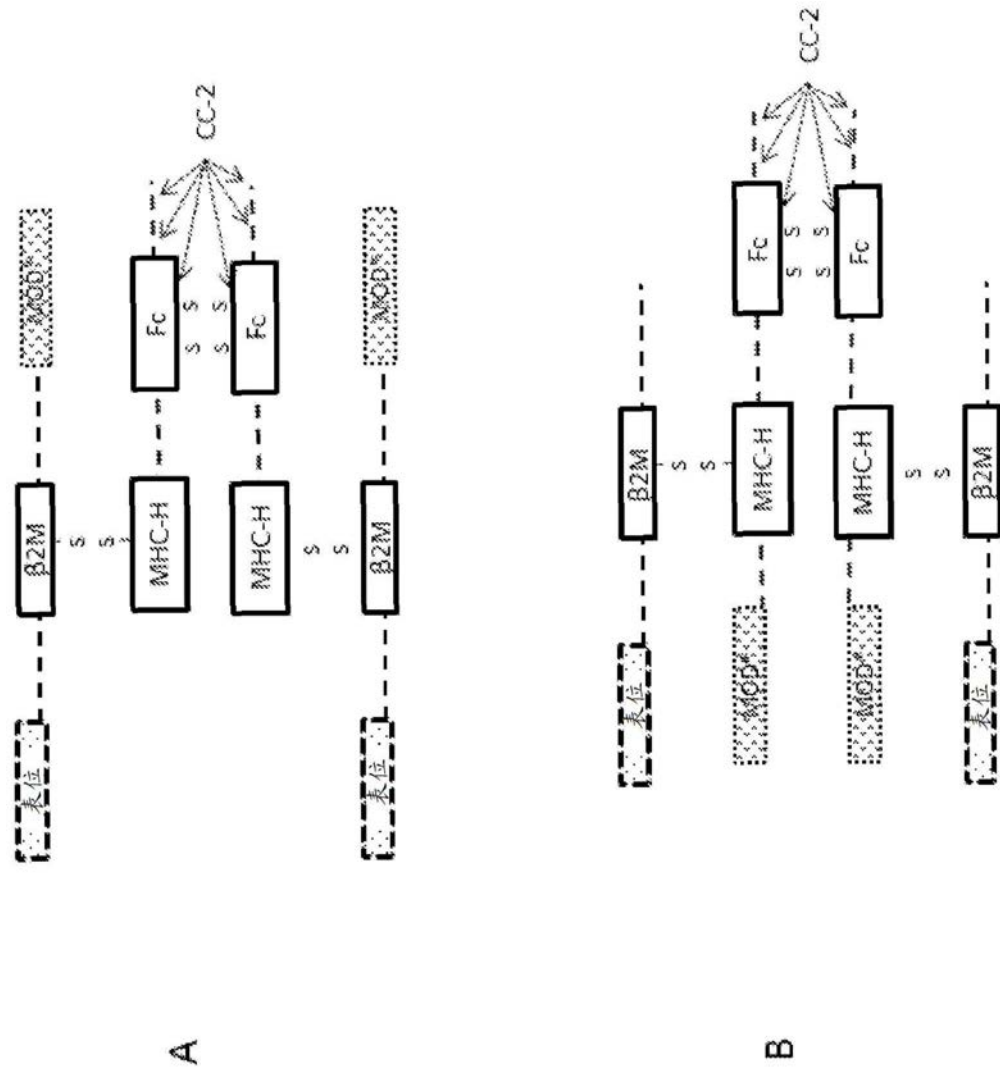


图7

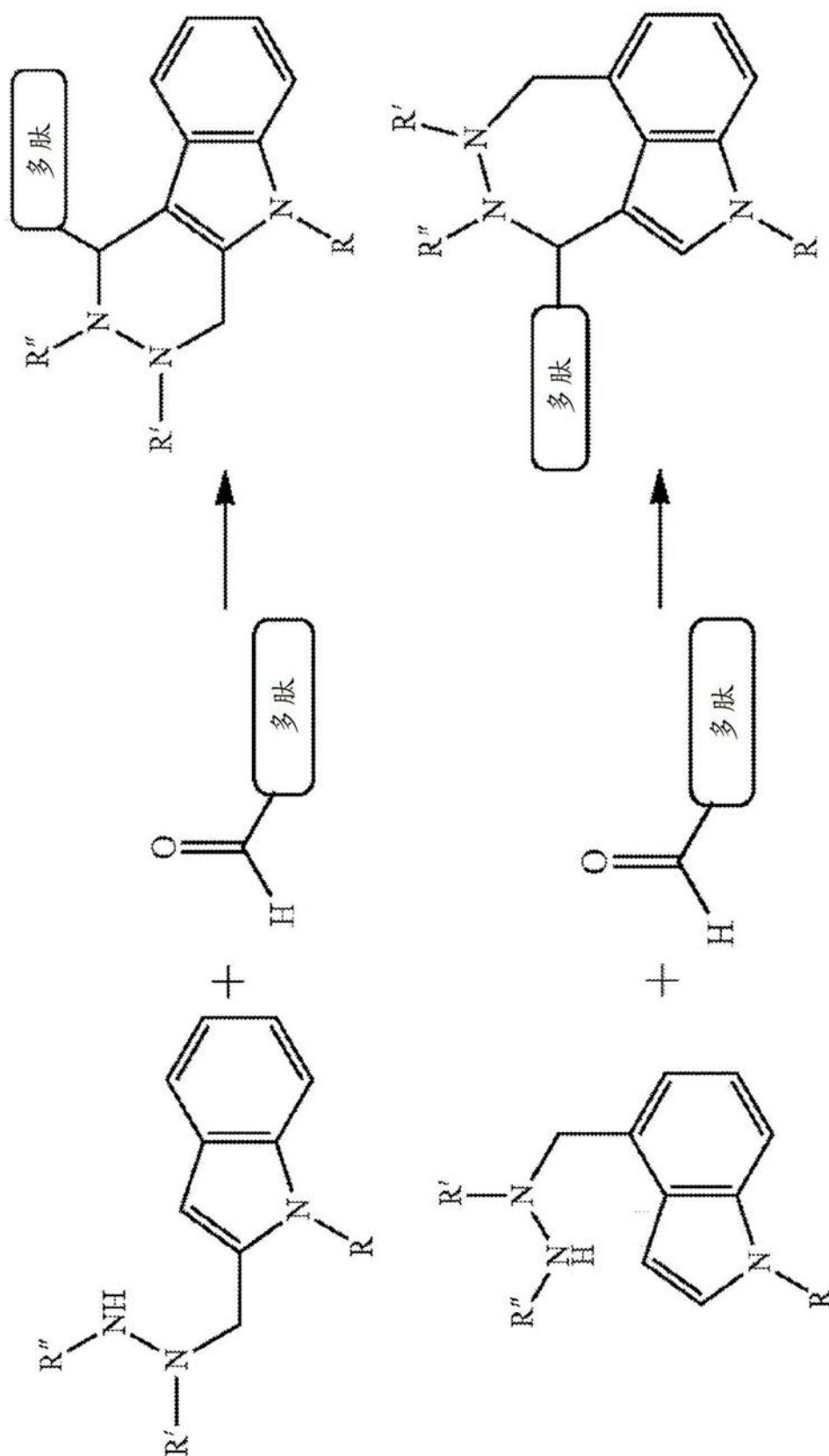


图8

1775' hIL-2 信号;任选的接头;免疫调节肽 (MOD);任选的接头;HLA-A11 H 链 (Y84C; A139C;A236C); AAAGG 接头; hIgG1 Fc (L234A; L235A) (SEQ ID NO:162)

MYRMQLLSICIALSLALVTNS(任选的接头)免疫调节肽(任选的接头)

GSLSMRYFYTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPE
YWDQETRNVKAQSQTDRVDLGTLRG**CYNQ**SEDGSHTIQIMYGCDVGPDGRFLRGYR
QDAYDGKDIALNEDLRSWTAADM**CAQIT**KRKWEAAHAAEQRAYLEGTCVEWLR
RYLENGKETLQRTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQD
TELVE**TRPC**GDGTFQKWA**AVV**VPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEAAAGGDKTH
TCPPCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL
DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK**

HLA-A11 (Y84C; A139C;A236C) (SEQ ID NO:163)

GSLSMRYFYTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPE
YWDQETRNVKAQSQTDRVDLGTLRG**CYNQ**SEDGSHTIQIMYGCDVGPDGRFLRGYR
QDAYDGKDIALNEDLRSWTAADM**CAQIT**KRKWEAAHAAEQRAYLEGTCVEWLR
RYLENGKETLQRTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQD
TELVE**TRPC**GDGTFQKWA**AVV**VPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE

图10A

1777' hIL-2 信号; hIL2 (H16A; F42A); (G4S)4 接头; hIL2 (H16A; F42A); (G4S)4 接头;
HLA A11 H 链 (Y84C; A139C; A236C); AAAGG 接头; hIgG1 Fc (L234A; L235A) (SEQ ID NO:164)

MYRMQLLSICIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTR
MLTAKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELK
GSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT**GGGGSGGGSGGGSGGGGS**APTS
SSTKKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCLEE
LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELK**GSETTFMCEYADETATIVEFLNRW**
ITFCQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGSGSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRFIAVGYV
DDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDQETRNVKAQSQTDRVDLGTLRG**CYNQ**
SEDGSHTIQIMYGCDVGPDGRFLRGYRQDAYDGKDIALNEDLRSWTAADM**CAQIT**
TKRKWEAAHAAEQRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDPPKTHMTHHPISDHEA
TLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVE**TRPC**GDGTFQKWA**AVV**VPSGEEQ
RYTCHVQHEGLPKPLTLRWEAAAGGDKTHTCPPCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图10B

1779' hIL-2 信号;任选的接头;免疫调节肽 (MOD);任选的接头;HLA-A A11 (Y84C; A139C;A236C); (G4S)₆ 接头; hIgG1 Fc (L234A; L235A) (SEQ ID NO:165)

MYRMQLLSICIALSLALVTNS(任选的接头)免疫调节肽(任选的接头)
 GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPE
 YWDQETRNVKAQSQTDRLVGLTLRG_{CYNQ}SEDGSHTIQIMYGCDVGPDRFLRGYR
 QDAYDGKDIALNEDLRSWTAADM_{CAQIT}KRKWEAAHAAEQRAYLEGTCVEWLR
 RYLENGKETLQRTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQD
 TELVETRPC_{GDGTFQKWA}AVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE**GGGGSGGG**
GS**GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPEAA**GGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
 EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW
 LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
 YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE
 ALHNHYTQKSLSLSPGK

图10C

1781' hIL-2 信号; hIL2 (H16A; F42A); (G4S)₄ 接头; hIL2 (H16A; F42A); (G4S)₄ 接头;
 HLA-A A11 (Y84C; A139C; A236C); (G4S)₆ 接头; hIgG1 Fc (L234A; L235A) (SEQ ID NO:166)

MYRMQLLSICIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEA**ALLDLQ**MILNGINNYKNPKLTR
 MLT**AK**FYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELK
 GSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT**GGGGSGGGSGGGSGGGSGGG**SAPTS
 SSTKKTQLQLEA**ALLDLQ**MILNGINNYKNPKLTRMLT**AK**FYMPKKATELKHLQCLEE
 LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELK**GSETTFMCEYADETATIVEFLNRWI**
TFCQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRFIAVGYV
 DDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDQETRNVKAQSQTDRLVGLTLRG_{CYNQ}
 NQSEDGSHTIQIMYGCDVGPDRFLRGYRQDAYDGKDIALNEDLRSWTAADM_{CAQI}
 TKRKWEAAHAAEQRAYLEGTCVEWLRRLYLENGKETLQRTDPPKTHMTHHPISDHEA
 TLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPC_{GDGTFQKWA}AVVPSGEEQR
 YTCHVQHEGLPKPLTLRWE**GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTC**
PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
 NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ
 REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD
 GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图10D

1783' - β 2M 前导序列; (接头)₀₋₄X1Z1X2Z2X3Z3(接头)₀₋₄; 人 β 2M (R12C)

MSRSVALAVLALLSLSGLEA(接头)₀₋₄X1Z1X2Z2X3Z3(接头)₀₋₄IQRTPKIQVY**SCH**PAE
 NGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDW**SFYLL**Y**TEFT**PT**TEK**
 DEYACRVNHV**TL**SQPKIVKWDRDM

用于缀合的HBV表位: LIMPARYPK (SEQ ID NO:91)

图11A

1784' - β 2M 前导序列; (接头)₀₋₄X1Z1X2Z2X3Z3(接头)₀₋₄; 人 β 2M (R12C)

MSRSVALAVLALLSLSGLEA(接头)₀₋₄X1Z1X2Z2X3Z3(接头)₀₋₄IQRTPKIQVYSCHPAE
NGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTEK
DEYACRVNHVTLSPKIVKWDRDM

用于缀合的 HBV 表位: AIMPARFYPK (SEQ ID NO:92)

图11B

1785' - β 2M 前导序列; (接头)₀₋₄X1Z1X2Z2X3Z3(接头)₀₋₄; 人 β 2M (R12C)

MSRSVALAVLALLSLSGLEA(接头)₀₋₄X1Z1X2Z2X3Z3(接头)₀₋₄IQRTPKIQVYSCHPAE
NGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTEK
DEYACRVNHVTLSPKIVKWDRDM

用于缀合的 HBV 表位: YVNVNMGLK (SEQ ID NO:93)

图11C

1938' - β 2M 前导序列; (接头)₀₋₄X1Z1X2Z2X3Z3(接头)₀₋₄; 人 β 2M (R12C)

MSRSVALAVLALLSLSGLEA(接头)₀₋₄X1Z1X2Z2X3Z3(接头)₀₋₄IQRTPKIQVYSCHPAE
NGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTEK
DEYACRVNHVTLSPKIVKWDRDM

用于缀合的 HBV (C 18-27) 表位: FLPSDFFPSV (SEQ ID NO:84)

图11D

1939' - β 2M 前导序列; (接头)₀₋₄X1Z1X2Z2X3Z3(接头)₀₋₄; 人 β 2M (R12C)

MSRSVALAVLALLSLSGLEA(接头)₀₋₄X1Z1X2Z2X3Z3(接头)₀₋₄IQRTPKIQVYSCHPAE
NGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTEK
DEYACRVNHVTLSPKIVKWDRDM

用于缀合的 HBV (C 141-149) 表位: STLPETTVV (SEQ ID NO:90)

图11E