I718992

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本　**(11)證書號數：TW I718992 B**

(45)公告日： 中華民國 110 (2021) 年 02 月 21 日

(21)申請案號：104123638　(22)申請日： 中華民國 104 (2015) 年 07 月 21 日

(51)Int. Cl.：　*C12N15/11 (2006.01)*　*C12N15/63 (2006.01)*

C12N15/85 (2006.01)　*C07K16/28 (2006.01)*

A61K39/395 (2006.01)　*A61P35/00 (2006.01)*

(30)優先權：2014/07/21　世界智慧財產權組織　PCT/CN2014/082602

2014/11/06　世界智慧財產權組織　PCT/CN2014/090500

(71)申請人：瑞士商諾華公司 (瑞士) NOVARTIS AG　(CH)

瑞士

賓夕法尼亞大學董事會 (美國) THE TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA　(US)

美國

(72)發明人：布拉格登　珍妮佛 BROGDON, JENNIFER (US)；愛伯斯巴赫　希爾瑪 EBERSBACH, HILMAR (DE)；吉兒　薩爾 GILL, SAAR (US)；葛雷斯　大衛 GLASS, DAVID (US)；賈斯庫爾　茱莉亞 JASCUR, JULIA (DE)；肯德雷恩　薩德 KENDERIAN, SAAD (US)；曼尼克　瓊安 MANNICK, JOAN (US)；米隆　麥克 C MILONE, MICHAEL C. (US)；墨菲　里昂 MURPHY, LEON (US)；理查德森　瑟雷斯特 RICHARDSON, CELESTE (US)；星　瑞許瑪 SINGH, RESHMA (US)；魏來 WEI, LAI (CN)；吳　期隆 WU, QILONG (US)；楊秋梅 YANG, QUIMEI (CN)；張繼全 ZHANG, JIQUAN (CN)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

WO　2005/000894A2

Zhao et. al., "Targeting C-type lectin-like molecule-1 for antibody-mediated immunotherapy in acute myeloid leukemia" Haematologica, vol. 95, no. 1, 2009, p. 71-78

Bakker et al., "C-Type Lectin-Like Molecule-1: A Novel Myeloid Cell Surface Marker Associated with Acute Myeloid Leukemia" CANCER RESEARCH 64, 2004, 8443-8450

Gill et al., "Preclinical targeting of human acute myeloid leukemia and myeloablation using chimeric antigen receptor-modified T cells" BLOOD, VOL. 123, No. 15, 2014/4/10

審查人員：吳姵諄

申請專利範圍項數：64 項　圖式數：34　共 632 頁

(54)名稱

使用 CLL-1 嵌合抗原受體治療癌症

(57)摘要

本發明提供用於治療與 CLL-1 表現相關之疾病的組合物及方法。本發明亦關於特異性針對 CLL-1 之嵌合抗原受體(CAR)，編碼其之載體及包含 CLL-1 CAR 之重組細胞。本發明亦包括投與經遺傳修飾之細胞的方法，該細胞表現包含 CLL-1 結合結構域之 CAR。

The invention provides compositions and methods for treating diseases associated with expression of CLL-1. The invention also relates to chimeric antigen receptor (CAR) specific to CLL-1, vectors encoding the same, and recombinant cells comprising the CLL-1 CAR. The invention also includes methods of administering a genetically modified cell expressing a CAR that comprises a CLL-1 binding domain.

指定代表圖：

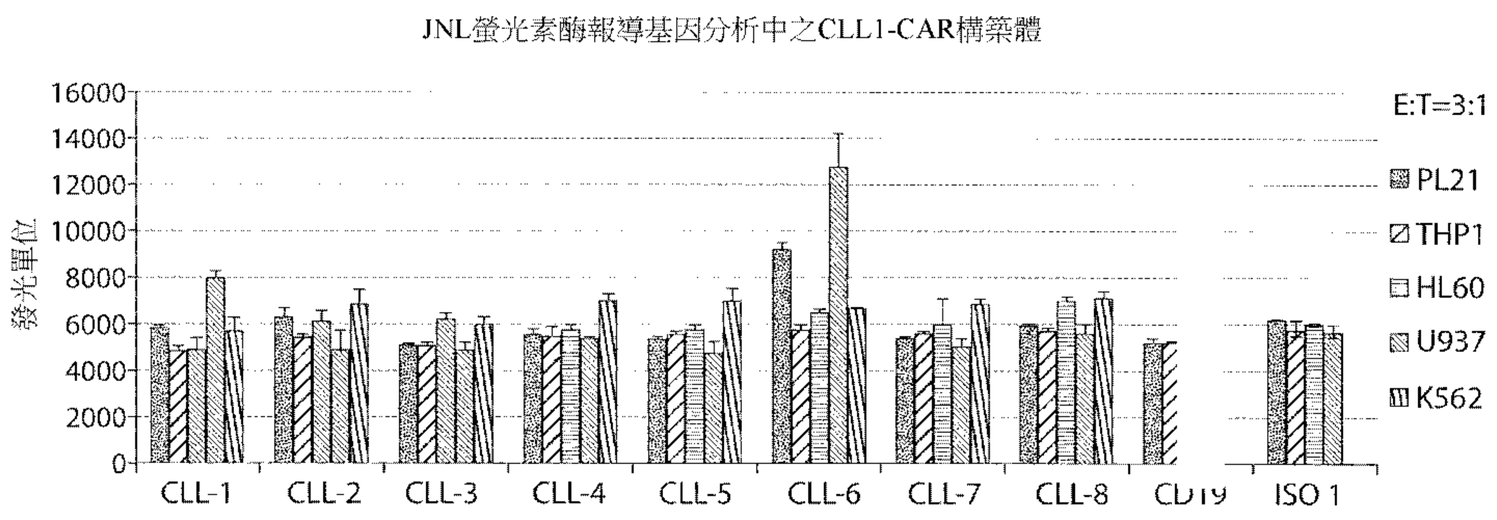


圖1A

公告本

I718992

發明摘要

※ 申請案號：104123638

※ 申請日：104年7月21日

※IPC 分類：***C12N 15/11*** (2006.01)
C12N 15/63 (2006.01)
C12N 15/85 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

【發明名稱】

使用CLL-1嵌合抗原受體治療癌症

TREATMENT OF CANCER USING A CLL-1 CHIMERIC ANTIGEN RECEPTOR

【中文】

本發明提供用於治療與CLL-1表現相關之疾病的組合物及方法。本發明亦關於特異性針對CLL-1之嵌合抗原受體(CAR)，編碼其之載體及包含CLL-1 CAR之重組細胞。本發明亦包括投與經遺傳修飾之細胞的方法，該細胞表現包含CLL-1結合結構域之CAR。

【英文】

The invention provides compositions and methods for treating diseases associated with expression of CLL-1. The invention also relates to chimeric antigen receptor (CAR) specific to CLL-1, vectors encoding the same, and recombinant cells comprising the CLL-1 CAR. The invention also includes methods of administering a genetically modified cell expressing a CAR that comprises a CLL-1 binding domain.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（1A）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

發明專利說明書

（本說明書格式、順序，請勿任意更動）

【發明名稱】

使用CLL-1嵌合抗原受體治療癌症

TREATMENT OF CANCER USING A CLL-1 CHIMERIC ANTIGEN RECEPTOR

相關申請案

本申請案主張2014年7月21日申請之PCT申請案第PCT/CN2014/082602號及2014年11月6日申請之PCT申請案第PCT/CN2014/090500號的優先權。此等申請案每一者之全部內容以引用的方式併入本文中。

序列表

本申請案含有序列表，該序列表已以ASCII格式以電子方式提交且其全部內容以引用的方式併入本文中。於2015年7月15日產生之該ASCII複本命名為N2067-7044WO3_SL.txt且大小為339,932個位元組。

【技術領域】

本發明大體上關於經工程改造以表現嵌合抗原受體(CAR)之免疫效應細胞(例如T細胞、NK細胞)的用途，其用以治療與C型凝集素樣-1 (CLL-1)之表現相關之疾病。

【先前技術】

C型凝集素樣-1 (CLL-1)亦稱為MICL、CLEC12A、CLEC-1、樹突狀細胞相關之凝集素1及DCAL-2。CLL-1為與免疫調控有關之C型凝集素樣受體大家族之醣蛋白受體及成員。CLL-1在造血細胞中，主要在包括單核細胞、DC、pDC及粒細胞之先天性免疫細胞(Cancer Res. 2004; J Immunol 2009)及骨髓祖細胞(Blood, 2007)上表現。亦在

急性骨髓白血病(AML)母細胞及白血病幹細胞(例如$CD34^+/CD38^-$)上發現CLL-1 (Zhao等人, Haematologica. 2010, 95(1):71-78)。CLL-1表現亦可與其他骨髓白血病相關，諸如急性骨髓單核細胞性白血病、急性單核細胞性白血病、急性前髓細胞性白血病、慢性骨髓性白血病(CML)及骨髓發育不良症候群(MDS)。

【發明內容】

在第一態樣中，本發明係關於一種分離之核酸分子，其編碼嵌合抗原受體(CAR)，其中該CAR包含包括人類抗-CLL-1結合結構域、跨膜結構域及胞內信號傳導結構域(例如包含共同刺激結構域及/或主要信號傳導結構域之胞內信號傳導結構域)的抗體或抗體片段。在一個實施例中，CAR包含包括本文所述之人類抗-CLL-1結合結構域、本文所述之跨膜結構域及本文所述之胞內信號傳導結構域(例如包含共同刺激結構域及/或主要信號傳導結構域之胞內信號傳導結構域)的抗體或抗體片段。

在實施例中，CAR包含人類抗-CLL-1結合結構域、跨膜結構域及胞內信號傳導結構域，且其中該抗-CLL-1結合結構域包含表2中所列之任何CLL-1重鏈結合結構域胺基酸序列的重鏈互補決定區1 (HC CDR1)、重鏈互補決定區2 (HC CDR2)及重鏈互補決定區3 (HC CDR3)。在實施例中，人類CLL-1結合結構域進一步包含輕鏈互補決定區1 (LC CDR1)、輕鏈互補決定區2 (LC CDR2)及輕鏈互補決定區3 (LC CDR3)。在實施例中，人類CLL-1結合結構域包含表2中所列之任何CLL-1輕鏈結合結構域胺基酸序列的輕鏈互補決定區1 (LC CDR1)、輕鏈互補決定區2 (LC CDR2)及輕鏈互補決定區3 (LC CDR3)。

在一些實施例中，CAR包含包括人類CLL-1結合結構域、跨膜結構域及包含共同刺激結構域及/或主要信號傳導結構域之胞內信號傳

導結構域的抗體或抗體片段，且其中該CLL-1結合結構域包含表2中所列之任何CLL-1輕鏈結合結構域胺基酸序列的輕鏈互補決定區1 (LC CDR1)、輕鏈互補決定區2 (LC CDR2)及輕鏈互補決定區3 (LC CDR3)中之一或多者，及表2中所列之任何CLL-1重鏈結合結構域胺基酸序列的重鏈互補決定區1 (HC CDR1)、重鏈互補決定區2 (HC CDR2)及重鏈互補決定區3 (HC CDR3)中之一或多者。

在一個實施例中，經編碼之人類抗-CLL-1結合結構域包含本文所述之人類抗-CLL-1結合結構域之一或多個(例如全部三個)輕鏈互補決定區1 (LC CDR1)、輕鏈互補決定區2 (LC CDR2)及輕鏈互補決定區3 (LC CDR3)，及/或本文所述之人類抗-CLL-1結合結構域之一或多個(例如全部三個)重鏈互補決定區1 (HC CDR1)、重鏈互補決定區2 (HC CDR2)及重鏈互補決定區3 (HC CDR3)，例如包含一或多個，例如全部三個LC CDR及一或多個，例如全部三個HC CDR之人類抗-CLL-1結合結構域。

在一個實施例中，經編碼之人類抗-CLL-1結合結構域包含本文所述之輕鏈可變區(例如表2中)及/或本文所述之重鏈可變區(例如表2中)。在一個實施例中，經編碼之人類抗-CLL-1結合結構域為包含表2之胺基酸序列之輕鏈及重鏈的scFv。在一個實施例中，人類抗-CLL-1結合結構域(例如scFv)包含：包含具有對表2中所提供之輕鏈可變區之胺基酸序列的至少一個、兩個或三個修飾(例如取代，例如保守取代)但不超過30個、20個或10個修飾(例如取代，例如保守取代)的胺基酸序列，或與表2之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列的輕鏈可變區；及/或包含具有對表2中所提供之重鏈可變區之胺基酸序列的至少一個、兩個或三個修飾(例如取代，例如保守取代)但不超過30個、20個或10個修飾(例如取代，例如保守取代)之胺基酸序列，或與表2之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列的重鏈可變區。

在其他實施例中，經編碼之CLL-1結合結構域包含表2中所列之任何CLL-1重鏈結合結構域胺基酸序列的HC CDR1、HC CDR2及HC CDR3。在實施例中，CLL-1結合結構域進一步包含LC CDR1、LC CDR2及LC CDR3。在實施例中，CLL-1結合結構域包含表2中所列之任何CLL-1輕鏈結合結構域胺基酸序列的LC CDR1、LC CDR2及LC CDR3。

在一些實施例中，經編碼之CLL-1結合結構域包含表2中所列之任何CLL-1輕鏈結合結構域胺基酸序列的LC CDR1、LC CDR2及LC CDR3中之一者、兩者或全部，及表2中所列之任何CLL-1重鏈結合結構域胺基酸序列的HC CDR1、HC CDR2及HC CDR3中之一者、兩者或全部。

在一個實施例中，經編碼之人類抗-CLL-1結合結構域包含選自由SEQ ID NO: 39-51、65-77、195、78-90或196組成之群的胺基酸序列。在一個實施例中，經編碼之CLL-1結合結構域(例如scFv)包含具有對SEQ ID NO: 39-51、65-77、195、78-90或196之胺基酸序列的至少一個、兩個或三個修飾(例如取代，例如保守取代)但不超過30個、20個或10個修飾(例如取代，例如保守取代)之胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 39-51、65-77、195、78-90或196具有95%-99%一致性之序列。在另一個實施例中，經編碼之CLL-1結合結構域包含：包含選自由SEQ ID NO: 65-77或195組成之群之胺基酸序列或與其具有95%-99%一致性之序列的重鏈可變區。在另一個實施例中，經編碼之CLL-1結合結構域包含：包含選自由SEQ ID NO: 66-74或196組成之群之胺基酸序列或與其具有95%-99%一致性之序列的輕鏈可變區。在一個實施例中，核酸分子包含選自由SEQ ID NO: 52-64組成之群之核苷酸序列或與其具有95%-99%一致性之序列。

在一個實施例中，經編碼之人類化抗-CLL-1結合結構域包括

(Gly4-Ser)n連接子，其中n為1、2、3、4、5或6，較佳為3或4 (SEQ ID NO: 26)。scFv之輕鏈可變區及重鏈可變區可例如呈以下取向中之任一者：輕鏈可變區-連接子-重鏈可變區或重鏈可變區-連接子-輕鏈可變區。

在一個實施例中，經編碼之CAR包括包含選自由以下各者組成之群的蛋白質之跨膜結構域的跨膜結構域：T細胞受體之α、β或ζ鏈、CD28、CD3ε、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137及CD154。在一個實施例中，經編碼之跨膜結構域包含SEQ ID NO: 6之序列。在一個實施例中，經編碼之跨膜結構域包含含有對SEQ ID NO: 6之胺基酸序列的至少一個、兩個或三個修飾但不超過20個、10個或5個修飾的胺基酸序列或與SEQ ID NO: 6之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列。在一個實施例中，編碼跨膜結構域之核酸序列包含SEQ ID NO: 17之序列，或與其具有95%-99%一致性之序列。

在一個實施例中，經編碼之抗-CLL-1結合結構域藉由鉸鏈區(例如本文所述之鉸鏈區)連接至跨膜結構域。在一個實施例中，經編碼之鉸鏈區包含SEQ ID NO: 2或與其具有95%-99%一致性之序列。在一個實施例中，編碼鉸鏈區之核酸序列包含SEQ ID NO: 13之序列或與其具有95%-99%一致性之序列。

在一個實施例中，分離之核酸分子進一步包含編碼共同刺激結構域，例如本文所述之共同刺激結構域之序列。在實施例中，胞內信號傳導結構域包含共同刺激結構域。在實施例中，胞內信號傳導結構域包含主要信號傳導結構域。在實施例中，胞內信號傳導結構域包含共同刺激結構域及主要信號傳導結構域。

在一個實施例中，經編碼之共同刺激結構域為自選自由以下各者組成之群之蛋白質獲得的功能性信號傳導結構域：MHC I類分子、

TNF受體蛋白、免疫球蛋白樣蛋白、細胞因子受體、整合素、信號傳導淋巴細胞活化分子(SLAM蛋白)、活化NK細胞受體、BTLA、Toll配位體受體、OX40、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CDS、ICAM-1、LFA-1 (CD11a/CD18)、4-1BB (CD137)、B7-H3、CDS、ICAM-1、ICOS (CD278)、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM (LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a及特異性結合CD83之配位體。在實施例中，經編碼之共同刺激結構域包含4-1BB、CD27、CD28或ICOS。

在一個實施例中，4-1BB之經編碼之共同刺激結構域包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列。在一個實施例中，經編碼之共同刺激結構域包含具有對SEQ ID NO: 7之胺基酸序列的至少一個、兩個或三個修飾但不超過20個、10個或5個修飾的胺基酸序列或與SEQ ID NO: 7之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列。在一個實施例中，編碼共同刺激結構域之核酸序列包含SEQ ID NO: 18之核苷酸序列或與其具有95%-99%一致性之序列。在另一個實施例中，CD28之經編碼之共同刺激結構域包含SEQ ID NO: 482之胺基酸序列。在一個實施例中，經編碼

之共同刺激結構域包含具有對SEQ ID NO: 482之胺基酸序列的至少一個、兩個或三個修飾但不超過20個、10個或5個修飾的胺基酸序列或與SEQ ID NO: 482之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列。在一個實施例中，編碼CD28之共同刺激結構域之核酸序列包含SEQ ID NO: 483之核苷酸序列或與其具有95%-99%一致性之序列。在另一個實施例中，CD27之經編碼之共同刺激結構域包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列。在一個實施例中，經編碼之共同刺激結構域包含具有對SEQ ID NO: 8之胺基酸序列的至少一個、兩個或三個修飾但不超過20個、10個或5個修飾的胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 8之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列。在一個實施例中，編碼CD27之共同刺激結構域之核酸序列包含SEQ ID NO: 19之核苷酸序列或與其具有95%-99%一致性之序列。

在另一個實施例中，ICOS之經編碼之共同刺激結構域包含SEQ ID NO: 484之胺基酸序列。在一個實施例中，經編碼之共同刺激結構域包含具有對SEQ ID NO: 484之胺基酸序列的至少一個、兩個或三個修飾但不超過20個、10個或5個修飾的胺基酸序列或與SEQ ID NO: 484之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列。在一個實施例中，編碼ICOS之共同刺激結構域之核酸序列包含SEQ ID NO: 485之核苷酸序列或與其具有95%-99%一致性之序列。

在實施例中，經編碼之主要信號傳導結構域包含CD3ζ之功能性信號傳導結構域。在實施例中，CD3ζ之功能性信號傳導結構域包含SEQ ID NO: 9 (突變CD3ζ)或SEQ ID NO: 10 (野生型人類CD3ζ)之序列或與其具有95%-99%一致性之序列。

在一個實施例中，經編碼之胞內信號傳導結構域包含4-1BB之功能性信號傳導結構域及/或CD3ζ之功能性信號傳導結構域。在一個實施例中，4-1BB之經編碼之胞內信號傳導結構域包含SEQ ID NO: 7之

胺基酸序列及/或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之CD3ζ胺基酸序列。在一個實施例中，胞內信號傳導結構域包含具有對SEQ ID NO: 7之胺基酸序列及/或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之胺基酸序列的至少一個、兩個或三個修飾但不超過20個、10個或5個修飾的胺基酸序列或與SEQ ID NO: 7之胺基酸序列及/或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列。在一個實施例中，經編碼之胞內信號傳導結構域包含SEQ ID NO: 7之序列及SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之序列，其中該等構成胞內信號傳導結構域之序列在相同框架中表現且呈單個多肽鏈形式。在一個實施例中，編碼4-1BB之胞內信號傳導結構域之核酸序列包含SEQ ID NO: 18之核苷酸序列或與其具有95%-99%一致性之序列，及/或SEQ ID NO: 20或SEQ ID NO: 21之序列或與其具有95%-99%一致性之CD3ζ核苷酸序列。

在一個實施例中，經編碼之胞內信號傳導結構域包含CD27之功能性信號傳導結構域及/或CD3ζ之功能性信號傳導結構域。在一個實施例中，經編碼之CD27之胞內信號傳導結構域包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列及/或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之CD3ζ胺基酸序列。在一個實施例中，胞內信號傳導結構域包含具有對SEQ ID NO: 8之胺基酸序列及/或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之胺基酸序列的至少一個、兩個或三個修飾但不超過20個、10個或5個修飾的胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 8之胺基酸序列及/或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列。在一個實施例中，經編碼之胞內信號傳導結構域包含SEQ ID NO: 8之序列及SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之序列，其中該等構成胞內信號傳導結構域之序列在相同框架中表現且呈單個多肽鏈形式。在一個實施例中，編碼CD27之胞內信號傳導結構域之核酸序列包含SEQ ID NO: 19之核苷酸序列或與其具有95%-99%一致性之序列，及/或SEQ ID NO: 20或SEQ ID

NO: 21之CD3ζ核苷酸序列或與其具有95%-99%一致性之序列。

在一個實施例中，經編碼之胞內信號傳導結構域包含CD28之功能性信號傳導結構域及/或CD3ζ之功能性信號傳導結構域。在一個實施例中，CD28之經編碼之胞內信號傳導結構域包含SEQ ID NO: 482之胺基酸序列及/或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之CD3ζ胺基酸序列。在一個實施例中，胞內信號傳導結構域包含具有對SEQ ID NO: 482之胺基酸序列及/或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之胺基酸序列的至少一個、兩個或三個修飾但不超過20個、10個或5個修飾的胺基酸序列或與SEQ ID NO: 482之胺基酸序列及/或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列。在一個實施例中，經編碼之胞內信號傳導結構域包含SEQ ID NO: 482之序列及SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之序列，其中該等構成胞內信號傳導結構域之序列在相同框架中表現且呈單個多肽鏈形式。在一個實施例中，編碼CD28之胞內信號傳導結構域之核酸序列包含SEQ ID NO: 483之核苷酸序列或與其具有95%-99%一致性之序列，及/或SEQ ID NO: 20或SEQ ID NO: 21之CD3ζ核苷酸序列或與其具有95%-99%一致性之序列。

在一個實施例中，經編碼之胞內信號傳導結構域包含ICOS之功能性信號傳導結構域及/或CD3ζ之功能性信號傳導結構域。在一個實施例中，ICOS之經編碼之胞內信號傳導結構域包含SEQ ID NO: 484之胺基酸序列及/或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之CD3ζ胺基酸序列。在一個實施例中，胞內信號傳導結構域包含具有對SEQ ID NO: 484之胺基酸序列及/或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之胺基酸序列的至少一個、兩個或三個修飾但不超過20個、10個或5個修飾的胺基酸序列或與SEQ ID NO: 484之胺基酸序列及/或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列。在一個實施例

中，經編碼之胞內信號傳導結構域包含SEQ ID NO: 484之序列及SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之序列，其中該等構成胞內信號傳導結構域之序列在相同框架中表現且呈單個多肽鏈形式。在一個實施例中，編碼ICOS之胞內信號傳導結構域之核酸序列包含SEQ ID NO: 485之核苷酸序列或與其具有95%-99%一致性之序列，及/或SEQ ID NO: 20或SEQ ID NO: 21之CD3ζ核苷酸序列或與其具有95%-99%一致性之序列。

在一個實施例中，分離之CAR分子進一步包含前導序列，例如本文所述之前導序列。在一個實施例中，前導序列包含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 1之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列。

在另一個態樣中，本發明係關於一種分離之核酸分子，其編碼CAR構築體，該CAR構築體包含：前導序列，例如本文所述之前導序列，例如SEQ ID NO: 1之胺基酸序列；本文所述之抗-CLL-1結合結構域，例如本文所述之包含LC CDR1、LC CDR2、LC CDR3、HC CDR1、HC CDR2及HC CDR3之人類抗-CLL-1結合結構域，例如表2中所述之人類抗-CLL-1結合結構域，或與其具有95%-99%一致性之序列；本文所述之鉸鏈區，例如SEQ ID NO: 2之胺基酸序列；本文所述，例如具有SEQ ID NO: 6之序列之跨膜結構域；以及胞內信號傳導結構域，例如本文所述之胞內信號傳導結構域。在一個實施例中，經編碼之胞內信號傳導結構域包含共同刺激結構域，例如本文所述之共同刺激結構域(例如具有SEQ ID NO: 7之胺基酸序列的4-1BB共同刺激結構域、具有SEQ ID NO: 482之胺基酸序列的CD28共同刺激結構域或具有SEQ ID NO: 484之胺基酸序列的ICOS共同刺激結構域或具有SEQ ID NO: 8之胺基酸序列的CD27共同刺激結構域)，及/或主要信號傳導結構域，例如本文所述之主要信號傳導結構域(例如具有SEQ ID

NO: 9或SEQ ID NO: 10之序列的CD3ζ刺激結構域)。

在一個實施例中，編碼CAR構築體的分離之核酸分子包括藉由SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 57、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 63及SEQ ID NO: 64之核酸序列編碼的人類抗-CLL-1結合結構域序列，或與其具有95%-99%一致性之序列。

在一個實施例中，分離之核酸分子包含(例如由以下組成)編碼SEQ ID NO: 91、SEQ ID NO: 92、SEQ ID NO: 93、SEQ ID NO: 94、SEQ ID NO: 95、SEQ ID NO: 96、SEQ ID NO: 97、SEQ ID NO: 98、SEQ ID NO: 99、SEQ ID NO: 100、SEQ ID NO: 101、SEQ ID NO: 102、SEQ ID NO: 103或SEQ ID NO: 197之CAR胺基酸序列；或具有對SEQ ID NO: 91、SEQ ID NO: 92、SEQ ID NO: 93、SEQ ID NO: 94、SEQ ID NO: 95、SEQ ID NO: 96、SEQ ID NO: 97、SEQ ID NO: 98、SEQ ID NO: 99、SEQ ID NO: 100、SEQ ID NO: 101、SEQ ID NO: 102、SEQ ID NO: 103或SEQ ID NO: 197之胺基酸序列的一個、兩個或三個修飾(例如取代，例如保守取代)但不超過30個、20個或10個修飾的胺基酸序列；或與SEQ ID NO: 91、SEQ ID NO: 92、SEQ ID NO: 93、SEQ ID NO: 94、SEQ ID NO: 95、SEQ ID NO: 96、SEQ ID NO: 97、SEQ ID NO: 98、SEQ ID NO: 99、SEQ ID NO: 100、SEQ ID NO: 101、SEQ ID NO: 102、SEQ ID NO: 103或SEQ ID NO: 197之胺基酸序列具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致性之胺基酸序列的核酸。

在一個實施例中，分離之核酸分子包含(例如由以下組成) SEQ ID NO: 104、SEQ ID NO: 105、SEQ ID NO: 106、SEQ ID NO: 107、SEQ ID NO: 108、SEQ ID NO: 109、SEQ ID NO: 110、SEQ ID NO:

111、SEQ ID NO: 112、SEQ ID NO: 113、SEQ ID NO: 114、SEQ ID NO: 115、SEQ ID NO: 116或SEQ ID NO: 198之核酸序列，或與SEQ ID NO: 104、SEQ ID NO: 105、SEQ ID NO: 106、SEQ ID NO: 107、SEQ ID NO: 108、SEQ ID NO: 109、SEQ ID NO: 110、SEQ ID NO: 111、SEQ ID NO: 112、SEQ ID NO: 113、SEQ ID NO: 114、SEQ ID NO: 115、SEQ ID NO: 116或SEQ ID NO: 198之核酸序列具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致性之核酸序列。

在一個實施例中，本發明係關於一種分離之核酸分子，其編碼抗-CLL-1結合結構域，其中該抗-CLL-1結合結構域包含本文所述之抗-CLL-1結合結構域之一或多個(例如全部三個)輕鏈互補決定區1 (LC CDR1)、輕鏈互補決定區2 (LC CDR2)及輕鏈互補決定區3 (LC CDR3)，及/或本文所述之抗-CLL-1結合結構域之一或多個(例如全部三個)重鏈互補決定區1 (HC CDR1)、重鏈互補決定區2 (HC CDR2)及/或重鏈互補決定區3 (HC CDR3)，例如包含一或多個，例如全部三個LC CDR及一或多個，例如全部三個HC CDR之人類抗-CLL-1結合結構域。

在其他實施例中，CLL-1結合結構域包含表2中所列之任何CLL-1重鏈結合結構域胺基酸序列的HC CDR1、HC CDR2及HC CDR3。在實施例中，CLL-1結合結構域進一步包含LC CDR1、LC CDR2及LC CDR3。在實施例中，CLL-1結合結構域包含表2中所列之任何CLL-1輕鏈結合結構域胺基酸序列的LC CDR1、LC CDR2及LC CDR3。

在一些實施例中，CLL-1結合結構域包含表2中所列之任何CLL-1輕鏈結合結構域胺基酸序列的LC CDR1、LC CDR2及LC CDR3中之一者、兩者或全部，及表2中所列之任何CLL-1重鏈結合結構域胺基酸序列的HC CDR1、HC CDR2及HC CDR3中之一者、兩者或全部。

在一個實施例中，經編碼之抗-CLL-1結合結構域包含本文所述

之輕鏈可變區(例如SEQ ID NO: 78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90或196中)及/或本文所述之重鏈可變區(例如SEQ ID NO: 65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77或195中)。在一個實施例中，經編碼之抗-CLL-1結合結構域為包含SEQ ID NO: 39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50或51中之胺基酸序列之輕鏈及重鏈的scFv。在一個實施例中，抗-CLL-1結合結構域(例如scFv)包含：包含具有對SEQ ID NO: 78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90或196中所提供之輕鏈可變區之胺基酸序列的至少一個、兩個或三個修飾(例如取代，例如保守取代)但不超過30個、20個或10個修飾(例如取代，例如保守取代)之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90或196之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列的輕鏈可變區；及/或包含具有對SEQ ID NO: 65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77或195中所提供之重鏈可變區之胺基酸序列的至少一個、兩個或三個修飾(例如取代，例如保守取代)但不超過30個、20個或10個修飾(例如取代，例如保守取代)之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77或195中之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列的重鏈可變區。在一個實施例中，抗-CLL-1結合結構域包含選自由SEQ ID NO: 39、SEQ ID NO: 40、SEQ ID NO: 41、SEQ ID NO: 42、SEQ ID NO: 43、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50及SEQ ID NO: 51組成之群的序列，或與其具有95%-99%一致性之序列。在一個實施例中，經編碼之抗-CLL-1結合結構域為scFv，且包含本文所述之胺基酸序列(例如表2中)的輕鏈可變區經由連接子(例如本文所述之連接子)附接至包含本文所述之胺基酸序列(例如表2中)的重鏈可變區。在一

個實施例中，經編碼之抗-CLL-1結合結構域包括$(Gly_4-Ser)n$連接子，其中n為1、2、3、4、5或6，較佳為4 (SEQ ID NO: 26)。scFv之輕鏈可變區及重鏈可變區可例如呈以下取向中之任一者：輕鏈可變區-連接子-重鏈可變區或重鏈可變區-連接子-輕鏈可變區。在一個實施例中，編碼人類抗-CLL-1結合結構域的分離之核酸序列包含選自由SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 57、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 63及SEQ ID NO: 64組成之群之序列，或與其具有95%-99%一致性之序列。

在另一個態樣中，本發明係關於一種分離之CAR (例如多肽)分子，其藉由該核酸分子編碼。在一個實施例中，分離之CAR分子包含選自由SEQ ID NO: 91、SEQ ID NO: 92、SEQ ID NO: 93、SEQ ID NO: 94、SEQ ID NO: 95、SEQ ID NO: 96、SEQ ID NO: 97、SEQ ID NO: 98、SEQ ID NO: 99、SEQ ID NO: 100、SEQ ID NO: 101、SEQ ID NO: 102、SEQ ID NO: 103及SEQ ID NO: 197組成之群之序列或與其具有95%-99%一致性之序列。

在另一個態樣中，本發明係關於一種分離之嵌合抗原受體(CAR)分子(例如多肽)，其包含抗-CLL-1結合結構域(例如特異性結合CLL-1之人類抗體或抗體片段)、跨膜結構域及胞內信號傳導結構域(例如包含共同刺激結構域及/或主要信號傳導結構域之胞內信號傳導結構域)。在一個實施例中，CAR包含包括本文所述之抗-CLL-1結合結構域(例如如本文所述之特異性結合CLL-1之人類抗體或抗體片段)、本文所述之跨膜結構域及本文所述之胞內信號傳導結構域(例如本文所述之包含共同刺激結構域及/或主要信號傳導結構域之胞內信號傳導結構域)的抗體或抗體片段。

在一個實施例中，抗-CLL-1結合結構域包含本文所述之抗-CLL-

1結合結構域之一或多個(例如全部三個)輕鏈互補決定區1 (LC CDR1)、輕鏈互補決定區2 (LC CDR2)及輕鏈互補決定區3 (LC CDR3)，及/或本文所述之抗-CLL-1結合結構域之一或多個(例如全部三個)重鏈互補決定區1 (HC CDR1)、重鏈互補決定區2 (HC CDR2)及重鏈互補決定區3 (HC CDR3)，例如包含一或多個，例如全部三個LC CDR及一或多個，例如全部三個HC CDR之人類抗-CLL-1結合結構域。在一個實施例中，抗-CLL-1結合結構域包含本文所述之輕鏈可變區(例如表2中)及/或本文所述之重鏈可變區(例如表2中)。在一個實施例中，抗-CLL-1結合結構域為包含表2中所列之胺基酸序列之輕鏈及重鏈的scFv。在一個實施例中，抗-CLL-1結合結構域(例如scFv)包含：包含具有對表2中所提供之輕鏈可變區之胺基酸序列的至少一個、兩個或三個修飾(例如取代，例如保守取代)但不超過30個、20個或10個修飾(例如取代，例如保守取代)的胺基酸序列，或與表2中所提供之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列的輕鏈可變區；及/或包含具有對表2中所提供之重鏈可變區之胺基酸序列的至少一個、兩個或三個修飾(例如取代，例如保守取代)但不超過30個、20個或10個修飾(例如取代，例如保守取代)之胺基酸序列，或與表2中所提供之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列的重鏈可變區。

在其他實施例中，經編碼之CLL-1結合結構域包含表2中所列之任何CLL-1重鏈結合結構域胺基酸序列的HC CDR1、HC CDR2及HC CDR3。在實施例中，CLL-1結合結構域進一步包含LC CDR1、LC CDR2及LC CDR3。在實施例中，CLL-1結合結構域包含表2中所列之任何CLL-1輕鏈結合結構域胺基酸序列的LC CDR1、LC CDR2及LC CDR3。

在一些實施例中，經編碼之CLL-1結合結構域包含表2中所列之任何CLL-1輕鏈結合結構域胺基酸序列的LC CDR1、LC CDR2及LC

CDR3中之一者、兩者或全部，及表2中所列之任何CLL-1重鏈結合結構域胺基酸序列的HC CDR1、HC CDR2及HC CDR3中之一者、兩者或全部。

在一個實施例中，抗-CLL-1結合結構域包含選自由SEQ ID NO: 39、SEQ ID NO: 40、SEQ ID NO: 41、SEQ ID NO: 42、SEQ ID NO: 43、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 65-90或SEQ ID NO: 195-196組成之群之序列；或具有對任一前述序列的至少一個、兩個或三個修飾(例如取代，例如保守取代)但不超過30個、20個或10個修飾(例如取代，例如保守取代)之胺基酸序列；或與其具有95%-99%一致性之序列。在一個實施例中，抗-CLL-1結合結構域為scFv，且包含本文所述之胺基酸序列(例如表2中)的輕鏈可變區經由連接子(例如本文所述之連接子)附接至包含本文所述之胺基酸序列(例如表2中)的重鏈可變區。在一個實施例中，抗-CLL-1結合結構域包括$(Gly_4\text{-}Ser)_n$連接子，其中n為1、2、3、4、5或6，較佳為4 (SEQ ID NO: 26)。scFv之輕鏈可變區及重鏈可變區可例如呈以下取向中之任一者：輕鏈可變區-連接子-重鏈可變區或重鏈可變區-連接子-輕鏈可變區。

在一個實施例中，分離之CAR分子包含選自由以下各者組成之群之蛋白質的跨膜結構域：T細胞受體之α、β或ζ鏈、CD28、CD3ε、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137及CD154。在一個實施例中，跨膜結構域包含SEQ ID NO: 6之序列。在一個實施例中，跨膜結構域包含具有對SEQ ID NO: 6之胺基酸序列的至少一個、兩個或三個修飾(例如取代，例如保守取代)但不超過20個、10個或5個修飾(例如取代，例如保守取代)之胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 6之胺基酸序列

具有95%-99%一致性之序列。

在一個實施例中，抗-CLL-1結合結構域藉由鉸鏈區(例如本文所述之鉸鏈區)連接至跨膜結構域。在一個實施例中，經編碼之鉸鏈區包含SEQ ID NO: 2或與其具有95%-99%一致性之序列。

在實施例中，分離之CAR分子之胞內信號傳導結構域包含共同刺激結構域。在實施例中，分離之CAR分子之胞內信號傳導結構域包含主要信號傳導結構域。在實施例中，分離之CAR分子之胞內信號傳導結構域包含共同刺激結構域及主要信號傳導結構域。在一個實施例中，分離之CAR分子進一步包含編碼共同刺激結構域(例如本文所述之共同刺激結構域)之序列。在一個實施例中，共同刺激結構域包含選自由以下各者組成之群之蛋白質的功能性信號傳導結構域：MHC I類分子、TNF受體蛋白、免疫球蛋白樣蛋白、細胞因子受體、整合素、信號傳導淋巴細胞活化分子(SLAM蛋白)、活化NK細胞受體、BTLA、Toll配位體受體、OX40、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CDS、ICAM-1、LFA-1 (CD11a/CD18)、4-1BB (CD137)、B7-H3、CDS、ICAM-1、ICOS (CD278)、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM (LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、

BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a及特異性結合CD83之配位體。在一個實施例中，4-1BB之共同刺激結構域包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列。在一個實施例中，共同刺激結構域包含具有對SEQ ID NO: 7之胺基酸序列的至少一個、兩個或三個修飾(例如取代，例如保守取代)但不超過20個、10個或5個修飾(例如取代，例如保守取代)的胺基酸序列或與SEQ ID NO: 7之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列。在另一個實施例中，CD28之共同刺激結構域包含SEQ ID NO: 482之胺基酸序列。在一個實施例中，共同刺激結構域包含具有對SEQ ID NO: 482之胺基酸序列的至少一個、兩個或三個修飾但不超過20個、10個或5個修飾的胺基酸序列或與SEQ ID NO: 482之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列。在另一個實施例中，CD27之共同刺激結構域包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列。在一個實施例中，共同刺激結構域包含具有對SEQ ID NO: 8之胺基酸序列的至少一個、兩個或三個修飾但不超過20個、10個或5個修飾的胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 8之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列。在另一個實施例中，ICOS之共同刺激結構域包含SEQ ID NO: 484之胺基酸序列。在一個實施例中，共同刺激結構域包含具有對SEQ ID NO: 484之胺基酸序列的至少一個、兩個或三個修飾但不超過20個、10個或5個修飾的胺基酸序列或與SEQ ID NO: 484之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列。

在實施例中，主要信號傳導結構域包含CD3ζ之功能性信號傳導結構域。在實施例中，CD3ζ之功能性信號傳導結構域包含SEQ ID NO: 9 (突變CD3ζ)或SEQ ID NO: 10 (野生型人類CD3ζ)之胺基酸序列或與其具有95%-99%一致性之序列。

在一個實施例中，胞內信號傳導結構域包含4-1BB之功能性信號傳導結構域及/或CD3ζ之功能性信號傳導結構域。在一個實施例中，

胞內信號傳導結構域包含SEQ ID NO: 7之序列及/或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之序列。在一個實施例中，胞內信號傳導結構域包含具有對SEQ ID NO: 7之胺基酸序列及/或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之胺基酸序列的至少一個、兩個或三個修飾(例如取代，例如保守取代)但不超過20、10或5個修飾(例如取代，例如保守取代)之胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 7之胺基酸序列及/或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列。在一個實施例中，胞內信號傳導結構域包含SEQ ID NO: 7之序列及/或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之序列，其中該等構成胞內信號傳導結構域之序列在相同框架中表現且呈單個多肽鏈形式。

在一個實施例中，胞內信號傳導結構域包含CD27之功能性信號傳導結構域及/或CD3ζ之功能性信號傳導結構域。在一個實施例中，CD27之胞內信號傳導結構域包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列及/或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之CD3ζ胺基酸序列。在一個實施例中，胞內信號傳導結構域包含具有對SEQ ID NO: 8之胺基酸序列及/或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之胺基酸序列的至少一個、兩個或三個修飾但不超過20個、10個或5個修飾的胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 8之胺基酸序列及/或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列。在一個實施例中，胞內信號傳導結構域包含SEQ ID NO: 8之序列及SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之序列，其中該等構成胞內信號傳導結構域之序列在相同框架中表現且呈單個多肽鏈形式。

在一個實施例中，胞內信號傳導結構域包含CD28之功能性信號傳導結構域及/或CD3ζ之功能性信號傳導結構域。在一個實施例中，CD28之經編碼之胞內信號傳導結構域包含SEQ ID NO: 482之胺基酸序列及/或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之CD3ζ胺基酸序列。在一個

實施例中，胞內信號傳導結構域包含具有對SEQ ID NO: 482之胺基酸序列及/或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之胺基酸序列的至少一個、兩個或三個修飾但不超過20個、10個或5個修飾的胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 482之胺基酸序列及/或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列。在一個實施例中，胞內信號傳導結構域包含SEQ ID NO: 482之序列及SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之序列，其中該等構成胞內信號傳導結構域之序列在相同框架中表現且呈單個多肽鏈形式。

在一個實施例中，胞內信號傳導結構域包含ICOS之功能性信號傳導結構域及/或CD3ζ之功能性信號傳導結構域。在一個實施例中，ICOS之胞內信號傳導結構域包含SEQ ID NO: 484之胺基酸序列及/或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之CD3ζ胺基酸序列。在一個實施例中，胞內信號傳導結構域包含具有對SEQ ID NO: 484之胺基酸序列及/或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之胺基酸序列的至少一個、兩個或三個修飾但不超過20個、10個或5個修飾的胺基酸序列，或與SEQ ID NO:484之胺基酸序列及/或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列。在一個實施例中，經編碼之胞內信號傳導結構域包含SEQ ID NO: 484之序列及SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之序列，其中該等構成胞內信號傳導結構域之序列在相同框架中表現且呈單個多肽鏈形式。

在一個實施例中，分離之CAR分子進一步包含前導序列，例如本文所述之前導序列。在一個實施例中，前導序列包含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 1之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列。

在另一個態樣中，本發明係關於一種分離之CAR分子，其包含前導序列，例如本文所述之前導序列，例如SEQ ID NO: 1之前導序列或

與其具有95%-99%一致性；本文所述之抗-CLL-1結合結構域，例如本文所述之包含LC CDR1、LC CDR2、LC CDR3、HC CDR1、HC CDR2及HC CDR3之抗-CLL-1結合結構域，例如表2中所述之抗-CLL-1結合結構域，或與其具有95%-99%一致性之序列；鉸鏈區，例如本文所述之鉸鏈區，例如SEQ ID NO: 2之鉸鏈區，或與其具有95%-99%之一致性；跨膜結構域，例如本文所述之跨膜結構域，例如具有SEQ ID NO: 6之序列或與其具有95%-99%一致性之序列的跨膜結構域；胞內信號傳導結構域，例如本文所述之胞內信號傳導結構域(例如包含共同刺激結構域及/或主要信號傳導結構域之胞內信號傳導結構域)。在一個實施例中，胞內信號傳導結構域包含共同刺激結構域，例如本文所述之共同刺激結構域，例如具有SEQ ID NO: 7之序列或與其具有95%-99%一致性的4-1BB共同刺激結構域；及/或主要信號傳導結構域，例如本文所述之主要信號傳導結構域，例如具有SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之序列或與其具有95%-99%一致性之CD3ζ刺激結構域。在一個實施例中，胞內信號傳導結構域包含共同刺激結構域，例如本文所述之共同刺激結構域(例如具有SEQ ID NO: 7之序列的4-1BB共同刺激結構域)；及/或主要信號傳導結構域，例如本文所述之主要信號傳導結構域，例如具有SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之序列的CD3ζ刺激結構域。

在一個實施例中，分離之CAR分子包含(例如由以下組成) SEQ ID NO: 91、SEQ ID NO: 92、SEQ ID NO: 93、SEQ ID NO: 94、SEQ ID NO: 95、SEQ ID NO: 96、SEQ ID NO: 97、SEQ ID NO: 98、SEQ ID NO: 99、SEQ ID NO: 100、SEQ ID NO: 101、SEQ ID NO: 102、SEQ ID NO: 103或SEQ ID NO: 197之胺基酸序列，或具有對SEQ ID NO: 91、SEQ ID NO: 92、SEQ ID NO: 93、SEQ ID NO: 94、SEQ ID NO: 95、SEQ ID NO: 96、SEQ ID NO: 97、SEQ ID NO: 98、SEQ ID

NO: 99、SEQ ID NO: 100、SEQ ID NO: 101、SEQ ID NO: 102、SEQ ID NO: 103或SEQ ID NO: 197的至少一個、兩個、三個、四個、五個、10個、15個、20個或30個修飾(例如取代，例如保守取代)但不超過60個、50個或40個修飾(例如取代，例如保守取代)之胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 91、SEQ ID NO: 92、SEQ ID NO: 93、SEQ ID NO: 94、SEQ ID NO: 95、SEQ ID NO: 96、SEQ ID NO: 97、SEQ ID NO: 98、SEQ ID NO: 99、SEQ ID NO: 100、SEQ ID NO: 101、SEQ ID NO: 102、SEQ ID NO: 103及SEQ ID NO: 197之胺基酸序列具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致性之胺基酸序列。

在一個態樣中，本發明係關於一種抗-CLL-1結合結構域，其包含本文所述之抗-CLL-1結合結構域之一或多個(例如全部三個)輕鏈互補決定區1 (LC CDR1)、輕鏈互補決定區2 (LC CDR2)及輕鏈互補決定區3 (LC CDR3)，及/或本文所述之抗-CLL-1結合結構域之一或多個(例如全部三個)重鏈互補決定區1 (HC CDR1)、重鏈互補決定區2 (HC CDR2)及重鏈互補決定區3 (HC CDR3)，例如包含一或多個，例如全部三個LC CDR及一或多個，例如全部三個HC CDR之人類抗-CLL-1結合結構域。

在其他實施例中，經編碼之CLL-1結合結構域包含表2中所列之任何CLL-1重鏈結合結構域胺基酸序列的HC CDR1、HC CDR2及HC CDR3。在實施例中，CLL-1結合結構域進一步包含LC CDR1、LC CDR2及LC CDR3。在實施例中，CLL-1結合結構域包含表2中所列之任何CLL-1輕鏈結合結構域胺基酸序列的LC CDR1、LC CDR2及LC CDR3。

在一些實施例中，經編碼之CLL-1結合結構域包含表2中所列之任何CLL-1輕鏈結合結構域胺基酸序列的LC CDR1、LC CDR2及LC CDR3中之一者、兩者或全部，及表2中所列之任何CLL-1重鏈結合結

構域胺基酸序列的HC CDR1、HC CDR2及HC CDR3中之一者、兩者或全部。

在一個實施例中，抗-CLL-1結合結構域包含本文所述之輕鏈可變區(例如SEQ ID NO: 78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90或196中)及/或本文所述之重鏈可變區(例如SEQ ID NO: 65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77或195中)。在一個實施例中，抗-CLL-1結合結構域為包含SEQ ID NO: 39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50或51之胺基酸序列之輕鏈及重鏈的scFv。在一個實施例中，抗-CLL-1結合結構域(例如scFv)包含：包含具有對SEQ ID NO: 78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90或196中所提供之輕鏈可變區之胺基酸序列的至少一個、兩個或三個修飾(例如取代，例如保守取代)但不超過30個、20個或10個修飾(例如取代，例如保守取代)的胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90或196中之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列的輕鏈可變區；及/或包含具有對SEQ ID NO: 65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77或195中所提供之重鏈可變區之胺基酸序列的至少一個、兩個或三個修飾(例如取代，例如保守取代)但不超過30個、20個或10個修飾(例如取代，例如保守取代)之胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77或195中之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列的重鏈可變區。在一個實施例中，抗-CLL-1結合結構域包含選自由SEQ ID NO: 39、SEQ ID NO: 40、SEQ ID NO: 41、SEQ ID NO: 42、SEQ ID NO: 43、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50或SEQ ID NO: 51組成之群的序列或與其具有95%-99%一致性之序列。在一個實施例中，抗-

CLL-1結合結構域為scFv，且包含本文所述，例如表2中之胺基酸序列的輕鏈可變區經由連接子，例如本文所述之連接子附接至包含本文所述，例如表2中之胺基酸序列的重鏈可變區。在一個實施例中，抗-CLL-1結合結構域包括$(Gly_4-Ser)n$連接子，其中n為1、2、3、4、5或6，較佳為4 (SEQ ID NO: 26)。scFv之輕鏈可變區及重鏈可變區可例如呈以下取向中之任一者：輕鏈可變區-連接子-重鏈可變區或重鏈可變區-連接子-輕鏈可變區。

在另一個態樣中，本發明係關於一種載體，其包含本文所述之核酸分子，例如編碼本文所述之CAR的核酸分子。在一個實施例中，該載體係選自由DNA、RNA、質體、慢病毒載體、腺病毒載體或反轉錄病毒載體組成之群。

在一個實施例中，載體為慢病毒載體。在一個實施例中，載體進一步包含啟動子。在一個實施例中，啟動子為EF-1啟動子。在一個實施例中，EF-1啟動子包含SEQ ID NO: 11之序列。在另一個實施例中，啟動子為PGK啟動子，例如如本文所描述之截短PGK啟動子。

在一個實施例中，載體為活體外轉錄載體，例如轉錄本文所述之核酸分子之RNA的載體。在一個實施例中，載體中之核酸序列進一步包含聚(A)尾，例如本文所述之聚A尾，例如包含約150個腺苷鹼基(SEQ ID NO: 312)。在一個實施例中，載體中之核酸序列進一步包含3'UTR，例如本文所述之3'UTR，例如包含來源於人類β-球蛋白之3'UTR之至少一個重複序列。在一個實施例中，載體中之核酸序列進一步包含啟動子，例如T2A啟動子。

在另一個態樣中，本發明係關於一種包含本文所述之載體的細胞。在一個實施例中，該細胞為本文所述之細胞，例如免疫效應細胞，例如人類T細胞，例如本文所述之人類T細胞，或人類NK細胞，例如本文所述之人類NK細胞。在一個實施例中，人類T細胞為CD8+

T細胞。

在另一個實施例中，本文所述之表現CAR之細胞可進一步表現另一藥劑，例如提高表現CAR之細胞之活性之藥劑。舉例而言，在一個實施例中，藥劑可為抑制抑制分子之藥劑。抑制分子之實例包括PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM (例如CEACAM-1、CEACAM-3及/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3 (CD276)、B7-H4 (VTCN1)、HVEM (TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I類、MHC II類、GAL9、腺苷及TGFR β。在一個實施例中，抑制抑制分子之藥劑包含第一多肽(例如抑制分子)與提供正信號至細胞，例如本文所述之胞內信號傳導結構域的第二多肽締合之藥劑。在一個實施例中，藥劑包含第一多肽，例如抑制分子，諸如PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM (例如CEACAM-1、CEACAM-3及/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3 (CD276)、B7-H4 (VTCN1)、HVEM (TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I類、MHC II類、GAL9、腺苷及TGFR β，或此等任一者之片段(例如此等任一者之細胞外域的至少一部分)；及第二多肽，該第二多肽為本文所述之胞內信號傳導結構域(例如包含共同刺激結構域(例如41BB、CD27或CD28，例如如本文所描述)及/或主要信號傳導結構域(例如本文所述之CD3ζ信號傳導結構域)。在一個實施例中，藥劑包含PD1或其片段(例如PD1之細胞外域的至少一部分)之第一多肽，及本文所述之胞內信號傳導結構域(例如本文所述之CD28信號傳導結構域及/或本文所述之CD3ζ信號傳導結構域)之第二多肽。

在另一個態樣中，本發明係關於一種製備細胞之方法，其包含用包含編碼CAR，例如本文所述之CAR之核酸的載體轉導本文所述之

細胞，例如本文所述之免疫效應細胞，例如本文所述之T細胞或NK細胞。

本發明亦提供一種產生經RNA工程改造之細胞之群體，例如本文所述之細胞，例如免疫效應細胞，例如T細胞或NK細胞的方法，該等細胞短暫表現外源性RNA。該方法包含將活體外轉錄之RNA或合成RNA引入細胞中，其中該RNA包含編碼本文所述之CAR分子的核酸。

在另一個態樣中，本發明係關於一種提供哺乳動物中抗腫瘤免疫性之方法，其包含向該哺乳動物投與有效量之表現CAR分子之細胞，例如表現本文所述之CAR分子之細胞。在一個實施例中，細胞為自體免疫效應細胞，例如T細胞。在一個實施例中，細胞為同種異體免疫效應細胞，例如T細胞。在一個實施例中，哺乳動物為人類，例如患有血液癌之患者。在另一態樣中，本發明係關於一種治療患有與CLL-1表現相關之疾病(例如與CLL-1表現相關之增生性疾病、癌變前病狀及非癌症相關適應症)之哺乳動物的方法，其包含向該哺乳動物投與有效量之表現CAR分子之細胞，例如如本文所述之CAR分子。在一個實施例中，哺乳動物為人類，例如患有血液癌之患者。

在一個實施例中，疾病為本文所述之疾病。在一個實施例中，與CLL-1表現相關之疾病係選自血液癌，諸如急性白血病，包括(但不限於)急性骨髓性白血病(AML)；骨髓發育不良症候群；骨髓增生贅瘤；慢性骨髓性白血病(CML)；母細胞性漿細胞樣樹突狀細胞贅瘤；以及與CLL-1表現相關之疾病，包括(但不限於)表現CLL-1之非典型及/或非經典癌症、惡性疾病、癌變前病狀或增生性疾病；以及其組合。在一個實施例中，與CLL-1表現相關之疾病為選自由以下各者組成之群的血液癌：一或多種急性白血病，包括(但不限於)急性骨髓性白血病(或急性骨髓白血病，AML)；慢性骨髓性白血病(或慢性骨髓性白血病，CML)：急性淋巴性白血病(或急性淋巴母細胞白血病，

ALL)；慢性淋巴性白血病(或慢性淋巴細胞性白血病，CLL)及骨髓發育不良症候群、B細胞急性淋巴性白血病(「BALL」或急性淋巴母細胞性B細胞白血病)、T細胞急性淋巴性白血病(「TALL」或急性淋巴母細胞性T細胞白血病)、急性淋巴性白血病(ALL)；一或多種慢性白血病，包括(但不限於)慢性骨髓性白血病(CML)、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)；其他血液癌或血液科病狀，包括(但不限於) B細胞前淋巴細胞性白血病、母細胞性漿細胞樣樹突狀細胞贅瘤、淋巴瘤，包括(但不限於)多發性骨髓瘤；非霍奇金氏淋巴瘤；伯基特氏淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)；小細胞濾泡性淋巴瘤；以及大細胞濾泡性淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤、彌漫性大B細胞淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、毛細胞白血病、小細胞或大細胞濾泡性淋巴瘤、惡性淋巴組織增生病狀、MALT淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、邊緣區淋巴瘤、多發性骨髓瘤、骨髓發育不良及骨髓發育不良症候群、霍奇金氏淋巴瘤、漿母細胞淋巴瘤、漿細胞樣樹突狀細胞贅瘤、漿細胞骨髓瘤、瓦爾登斯特倫巨球蛋白血症(Waldenstrom macroglobulinemia)及「白血病前驅症」，白血病前驅症為由骨髓血細胞無效產生(或發育不良)聯合之各種血液病狀；及與CLL-1表現相關之疾病，包括(但不限於)表現CLL-1之非典型及/或非經典癌症、惡性疾病、癌變前病狀或增生性疾病；以及其組合。

在另一個態樣中，本發明係關於一種在細胞移植前調整個體之方法，其包含向該個體投與有效量之包含本文所述之CAR分子的細胞。在一個實施例中，細胞移植為幹細胞移植。幹細胞移植為造血幹細胞移植或骨髓移植。在一個實施例中，細胞移植為同種異體或自體移植。

在一個實施例中，在細胞移植前調整個體包含減少個體中表現CLL-1之細胞之數目。個體中表現CLL-1之細胞為表現CLL-1之正常細胞或表現CLL-1之癌細胞，且在一些情況下，個體中之狀況在細胞移

植前將減少表現CLL-1之正常與癌細胞。

在一個實施例中，表現CAR分子，例如本文所述之CAR分子之細胞與增加表現CAR分子之細胞之功效的藥劑，例如本文所述之藥劑組合投與。

在一個實施例中，表現CAR分子(例如本文所述之CAR分子)的細胞與低免疫增強劑量之mTOR抑制劑組合投與。雖然不希望受理論束縛，但咸信用低免疫增強劑量(例如不足以完全抑制免疫系統，但足夠提高免疫功能之劑量)治療伴隨PD-1陽性T細胞減少，或PD-1陰性細胞增加。藉由與表現PD-1配位體，例如PD-L1或PD-L2之細胞接合，可耗盡PD-1陽性T細胞，而非PD-1陰性T細胞。

在一個實施例中，此方法可用於使個體中本文所述之CAR細胞的效能最佳。雖然不希望受理論束縛，但咸信在一個實施例中，提高內源性、未經修飾之免疫效應細胞，例如T細胞之效能。雖然不希望受理論束縛，但咸信在一個實施例中，提高表現CLL-1 CAR之細胞之效能。在其他實施例中，已表現或將表現CAR之細胞，例如T細胞可藉由接觸增加PD1陰性免疫效應細胞(例如T細胞)之數目或增加PD1陰性免疫效應細胞(例如T細胞)/PD1陽性免疫效應細胞(例如T細胞)之比率之量的mTOR抑制劑來離體治療。

在一個實施例中，在投與本文所述之表現CAR之細胞，例如T細胞前開始投與低免疫增強劑量之mTOR抑制劑，例如別位抑制劑，例如RAD001。在一個實施例中，在足夠時間或足夠給與mTOR抑制劑之後，投與CAR細胞，使得PD1陰性免疫效應細胞(例如T細胞)的含量或PD1陰性免疫效應細胞(例如T細胞)/PD1陽性免疫效應細胞(例如T細胞)之比率至少短暫增加。

在一個實施例中，本發明提供一種用於治療個體之mTOR抑制劑，其中該mTOR抑制劑增強該個體之免疫反應，且其中該個體已接

受、正接受或即將接受表現如本文所述之CLL-1 CAR之免疫效應細胞。

在一個實施例中，待經工程改造以表現CAR之細胞，例如T細胞係在低免疫增強劑量之mTOR抑制劑給與足夠時間之後或給與充分劑量之後收穫，使得個體中或自個體收穫之PD1陰性免疫效應細胞(例如T細胞)的含量或PD1陰性免疫效應細胞(例如T細胞)/PD1陽性免疫效應細胞(例如T細胞)之比率至少短暫增加。

在一個實施例中，表現CAR分子，例如本文所述之CAR分子之細胞與改善一或多種與表現CAR分子之細胞投與相關之副作用的藥劑，例如本文所述之藥劑組合投與。

在一個實施例中，表現CAR分子，例如本文所述之CAR分子之細胞與治療與CLL-1相關之疾病的藥劑(例如本文所述之藥劑)組合投與。在另一個實施例中，表現CAR分子，例如本文所述之CAR分子之細胞與化學治療劑(例如本文所述之化學治療劑)組合投與。在一個實施例中，化學治療劑在表現CAR分子，例如本文所述之CAR分子的細胞投與前投與。舉例而言，在其中希望化學治療劑投與一次以上的化學治療方案中，化學治療方案在表現CAR分子，例如本文所述之CAR分子的細胞投與前開始或結束。在實施例中，化學治療劑在表現CAR分子之細胞投與前至少5天、10天、15天、30天投與。在實施例中，化學治療劑為例如與正常或非癌細胞上之CLL-1表現相比，增加癌細胞，例如腫瘤細胞上CLL-1表現之化學治療劑。舉例而言，化學治療劑為阿糖胞苷(cytarabine，Ara-C)。在實施例中，化學療法與表現本文所述之CAR分子之細胞的組合適用於治療血液癌，例如白血病，例如AML，或本文所述之血液癌之微小殘留病變(MRD)。

在另一個態樣中，本發明係關於編碼本發明之CAR的分離之核酸分子、本發明之CAR的分離之多肽分子、包含本發明之CAR之載體及

包含本發明之CAR之細胞，其例如如本文所描述，用作藥劑。在另一個態樣中，本發明係關於編碼本發明之CAR的分離之核酸分子、本發明之CAR的分離之多肽分子、包含本發明之CAR之載體及包含本發明之CAR之細胞，其用於治療表現CLL-1之疾病，例如如本文所述之表現CLL-1之疾病。

前述組合物及方法之額外特徵及實施例包括以下中之一或多者：

在某些實施例中，CLL-1 CAR分子(例如如本文所述之CLL-1 CAR核酸或CLL-1 CAR多肽)或如本文所述之CLL-1結合結構域包括表3中所提供之來自重鏈可變區之一個、兩個或三個CDR (例如HC CDR1、HC CDR2及/或HC CDR3)；及/或表4中所提供之來自CLL-1 CAR-1、CLL-1 CAR-2、CLL-1 CAR-3、CLL-1 CAR-4、CLL-1 CAR-5、CLL-1 CAR-6、CLL-1 CAR-7、CLL-1 CAR-8、CLL-1 CAR-9、CLL-1 CAR-10、CLL-1 CAR-11、CLL-1 CAR-12、CLL-1 CAR-13或181268之輕鏈可變區的一個、兩個或三個CDR (例如LC CDR1、LC CDR2及/或LC CDR3)；或與任一前述序列實質上一致(例如95%-99%一致或至多5、4、3、2或1個胺基酸變化，例如取代(例如保守取代))之序列。

在某些實施例中，CLL-1 CAR分子(例如如本文所述之CLL-1 CAR核酸或CLL-1 CAR多肽)或如本文所述之CLL-1結合結構域包括表5中所提供之來自重鏈可變區之一個、兩個或三個CDR (例如HC CDR1、HC CDR2及/或HC CDR3)；及/或表6所提供之來自CLL-1 CAR-1、CLL-1 CAR-2、CLL-1 CAR-3、CLL-1 CAR-4、CLL-1 CAR-5、CLL-1 CAR-6、CLL-1 CAR-7、CLL-1 CAR-8、CLL-1 CAR-9、CLL-1 CAR-10、CLL-1 CAR-11、CLL-1 CAR-12、CLL-1 CAR-13或181268之輕鏈可變區的一個、兩個或三個CDR (例如LC CDR1、LC

CDR2及/或LC CDR3)；或與任一前述序列實質上一致(例如95%-99%一致或至多5、4、3、2或1個胺基酸變化，例如取代(例如保守取代))之序列。

在某些實施例中，CLL-1 CAR分子(例如如本文所述之CLL-1 CAR核酸或CLL-1 CAR多肽)或如本文所述之CLL-1結合結構域包括表7中所提供之來自重鏈可變區之一個、兩個或三個CDR (例如HC CDR1、HC CDR2及/或HC CDR3)；及/或表8中所提供之來自CLL-1 CAR-1、CLL-1 CAR-2、CLL-1 CAR-3、CLL-1 CAR-4、CLL-1 CAR-5、CLL-1 CAR-6、CLL-1 CAR-7、CLL-1 CAR-8、CLL-1 CAR-9、CLL-1 CAR-10、CLL-1 CAR-11、CLL-1 CAR-12、CLL-1 CAR-13或181268之輕鏈可變區的一個、兩個或三個CDR (例如LC CDR1、LC CDR2及/或LC CDR3)；或與任一前述序列實質上一致(例如95%-99%一致或至多5、4、3、2或1個胺基酸變化，例如取代(例如保守取代))之序列。

在某些實施例中，本文所述之CAR分子(例如CAR核酸或CAR多肽)包括：

(1)選自以下之一的一個、兩個或三個輕鏈(LC) CDR：

(i) CLL-1 CAR-1之SEQ ID NO: 156之LC CDR1、SEQ ID NO: 169之LC CDR2及SEQ ID NO: 182之LC CDR3；

(ii) CLL-1 CAR-2之SEQ ID NO: 157之LC CDR1、SEQ ID NO: 170之LC CDR2及SEQ ID NO: 183之LC CDR3；

(iii) CLL-1 CAR-3之SEQ ID NO: 158之LC CDR1、SEQ ID NO: 171之LC CDR2及SEQ ID NO: 184之LC CDR3；

(iv) CLL-1 CAR-4之SEQ ID NO: 159之LC CDR1、SEQ ID NO: 172之LC CDR2及SEQ ID NO: 185之LC CDR3；

(v) CLL-1 CAR-5之SEQ ID NO: 160之LC CDR1、SEQ ID NO:

173之LC CDR2及SEQ ID NO: 186之LC CDR3；

(vi) CLL-1 CAR-6之SEQ ID NO: 161之LC CDR1、SEQ ID NO: 174之LC CDR2及SEQ ID NO: 187之LC CDR3；

(vii) CLL-1 CAR-7之SEQ ID NO: 162之LC CDR1、SEQ ID NO: 175之LC CDR2及SEQ ID NO: 188之LC CDR3；

(viii) CLL-1 CAR-8之SEQ ID NO: 163之LC CDR1、SEQ ID NO: 176之LC CDR2及SEQ ID NO: 189之LC CDR3；或

(ix) CLL-1 CAR-9之SEQ ID NO: 164之LC CDR1、SEQ ID NO: 177之LC CDR2及SEQ ID NO: 190之LC CDR3；

(x) CLL-1 CAR-10之SEQ ID NO: 165之LC CDR1、SEQ ID NO: 178之LC CDR2及SEQ ID NO: 191之LC CDR3；

(xi) CLL-1 CAR-11之SEQ ID NO: 166之LC CDR1、SEQ ID NO: 179之LC CDR2及SEQ ID NO: 192之LC CDR3；

(xii) CLL-1 CAR-12之SEQ ID NO: 167之LC CDR1、SEQ ID NO: 180之LC CDR2及SEQ ID NO: 193之LC CDR3；

(xiii) CLL-1 CAR-13之SEQ ID NO: 168之LC CDR1、SEQ ID NO: 181之LC CDR2及SEQ ID NO: 194之LC CDR3；

(xiv) 181286之SEQ ID NO: 202之LC CDR1、SEQ ID NO: 203之LC CDR2及SEQ ID NO: 204之LC CDR3；及/或

(2)選自以下之一的一個、兩個或三個重鏈(HC) CDR：

(i) CLL-1 CAR-1之SEQ ID NO: 117之HC CDR1、SEQ ID NO: 130之HC CDR2及SEQ ID NO: 143之HC CDR3；

(ii) CLL-1 CAR-2之SEQ ID NO: 118之HC CDR1、SEQ ID NO: 131之HC CDR2及SEQ ID NO: 144之HC CDR3；

(iii) CLL-1 CAR-3之SEQ ID NO: 119之HC CDR1、SEQ ID NO: 132之HC CDR2及SEQ ID NO: 145之HC CDR3；

(iv) CLL-1 CAR-4之SEQ ID NO: 120之HC CDR1、SEQ ID NO: 133之HC CDR2及SEQ ID NO: 146之HC CDR3；

(v) CLL-1 CAR-5之SEQ ID NO: 121之HC CDR1、SEQ ID NO: 134之HC CDR2及SEQ ID NO: 147之HC CDR3；

(vi) CLL-1 CAR-6之SEQ ID NO: 122之HC CDR1、SEQ ID NO: 135之HC CDR2及SEQ ID NO: 148之HC CDR3；

(vii) CLL-1 CAR-7之SEQ ID NO: 123之HC CDR1、SEQ ID NO: 136之HC CDR2及SEQ ID NO: 149之HC CDR3；

(viii) CLL-1 CAR-8之SEQ ID NO: 124之HC CDR1、SEQ ID NO: 137之HC CDR2及SEQ ID NO: 150之HC CDR3；或

(ix) CLL-1 CAR-9之SEQ ID NO: 125之HC CDR1、SEQ ID NO: 138之HC CDR2及SEQ ID NO: 151之HC CDR3；

(x) CLL-1 CAR-10之SEQ ID NO: 126之HC CDR1、SEQ ID NO: 139之HC CDR2及SEQ ID NO: 152之HC CDR3；

(xi) CLL-1 CAR-11之SEQ ID NO: 127之HC CDR1、SEQ ID NO: 140之HC CDR2及SEQ ID NO: 153之HC CDR3；

(xii) CLL-1 CAR-12之SEQ ID NO: 128之HC CDR1、SEQ ID NO: 141之HC CDR2及SEQ ID NO: 154之HC CDR3；

(xiii) CLL-1 CAR-13之SEQ ID NO: 129之HC CDR1、SEQ ID NO: 142之HC CDR2及SEQ ID NO: 155之HC CDR3；

(xiv) 181286之SEQ ID NO: 199之HC CDR1、SEQ ID NO: 200之HC CDR2及SEQ ID NO: 201之HC CDR3。

在某些實施例中，本文所述之CAR分子(例如CAR核酸或CAR多肽)或CLL-1結合結構域包括：

(1)選自以下之一的一個、兩個或三個輕鏈(LC) CDR：

(i) CLL-1 CAR-1之SEQ ID NO: 356之LC CDR1、SEQ ID NO: 370

之LC CDR2及SEQ ID NO: 384之LC CDR3；

(ii) CLL-1 CAR-2之SEQ ID NO: 357之LC CDR1、SEQ ID NO: 371之LC CDR2及SEQ ID NO: 385之LC CDR3；

(iii) CLL-1 CAR-3之SEQ ID NO: 358之LC CDR1、SEQ ID NO: 372之LC CDR2及SEQ ID NO: 386之LC CDR3；

(iv) CLL-1 CAR-4之SEQ ID NO: 359之LC CDR1、SEQ ID NO: 373之LC CDR2及SEQ ID NO: 387之LC CDR3；

(v) CLL-1 CAR-5之SEQ ID NO: 360之LC CDR1、SEQ ID NO: 374之LC CDR2及SEQ ID NO: 388之LC CDR3；

(vi) CLL-1 CAR-6之SEQ ID NO: 361之LC CDR1、SEQ ID NO: 375之LC CDR2及SEQ ID NO: 389之LC CDR3；

(vii) CLL-1 CAR-7之SEQ ID NO: 362之LC CDR1、SEQ ID NO: 376之LC CDR2及SEQ ID NO: 390之LC CDR3；

(viii) CLL-1 CAR-8之SEQ ID NO: 363之LC CDR1、SEQ ID NO: 377之LC CDR2及SEQ ID NO: 391之LC CDR3；或

(ix) CLL-1 CAR-9之SEQ ID NO: 364之LC CDR1、SEQ ID NO: 378之LC CDR2及SEQ ID NO: 392之LC CDR3；

(x) CLL-1 CAR-10之SEQ ID NO: 365之LC CDR1、SEQ ID NO: 379之LC CDR2及SEQ ID NO: 393之LC CDR3；

(xi) CLL-1 CAR-11之SEQ ID NO: 366之LC CDR1、SEQ ID NO: 380之LC CDR2及SEQ ID NO: 394之LC CDR3；

(xii) CLL-1 CAR-12之SEQ ID NO: 367之LC CDR1、SEQ ID NO: 381之LC CDR2及SEQ ID NO: 395之LC CDR3；

(xiii) CLL-1 CAR-13之SEQ ID NO: 368之LC CDR1、SEQ ID NO: 382之LC CDR2及SEQ ID NO: 396之LC CDR3；

(xiv) 181286之SEQ ID NO: 369之LC CDR1、SEQ ID NO: 383之

LC CDR2及SEQ ID NO: 397之LC CDR3；及/或

(2)選自以下之一的一個、兩個或三個重鏈(HC) CDR：

(i) CLL-1 CAR-1之SEQ ID NO: 314之HC CDR1、SEQ ID NO: 328之HC CDR2及SEQ ID NO: 342之HC CDR3；

(ii) CLL-1 CAR-2之SEQ ID NO: 315之HC CDR1、SEQ ID NO: 329之HC CDR2及SEQ ID NO: 343之HC CDR3；

(iii) CLL-1 CAR-3之SEQ ID NO: 316之HC CDR1、SEQ ID NO: 330之HC CDR2及SEQ ID NO: 344之HC CDR3；

(iv) CLL-1 CAR-4之SEQ ID NO: 317之HC CDR1、SEQ ID NO: 331之HC CDR2及SEQ ID NO: 345之HC CDR3；

(v) CLL-1 CAR-5之SEQ ID NO: 318之HC CDR1、SEQ ID NO: 332之HC CDR2及SEQ ID NO: 346之HC CDR3；

(vi) CLL-1 CAR-6之SEQ ID NO: 319之HC CDR1、SEQ ID NO: 333之HC CDR2及SEQ ID NO: 347之HC CDR3；

(vii) CLL-1 CAR-7之SEQ ID NO: 320之HC CDR1、SEQ ID NO: 334之HC CDR2及SEQ ID NO: 348之HC CDR3；

(viii) CLL-1 CAR-8之SEQ ID NO: 321之HC CDR1、SEQ ID NO: 335之HC CDR2及SEQ ID NO: 349之HC CDR3；或

(ix) CLL-1 CAR-9之SEQ ID NO: 322之HC CDR1、SEQ ID NO: 336之HC CDR2及SEQ ID NO: 350之HC CDR3；

(x) CLL-1 CAR-10之SEQ ID NO: 323之HC CDR1、SEQ ID NO: 337之HC CDR2及SEQ ID NO: 351之HC CDR3；

(xi) CLL-1 CAR-11之SEQ ID NO: 324之HC CDR1、SEQ ID NO: 338之HC CDR2及SEQ ID NO: 352之HC CDR3；

(xii) CLL-1 CAR-12之SEQ ID NO: 325之HC CDR1、SEQ ID NO: 339之HC CDR2及SEQ ID NO: 353之HC CDR3；

(xiii) CLL-1 CAR-13之SEQ ID NO: 326之HC CDR1、SEQ ID NO: 340之HC CDR2及SEQ ID NO: 354之HC CDR3；

(xiv) 181286之SEQ ID NO: 327之HC CDR1、SEQ ID NO: 341之HC CDR2及SEQ ID NO: 355之HC CDR3。

在某些實施例中，本文所述之CAR分子(例如CAR核酸或CAR多肽)包括：

(1)選自以下之一的一個、兩個或三個輕鏈(LC) CDR：

(i) CLL-1 CAR-1之SEQ ID NO: 440之LC CDR1、SEQ ID NO: 454之LC CDR2及SEQ ID NO: 468之LC CDR3；

(ii) CLL-1 CAR-2之SEQ ID NO: 441之LC CDR1、SEQ ID NO: 455之LC CDR2及SEQ ID NO: 469之LC CDR3；

(iii) CLL-1 CAR-3之SEQ ID NO: 442之LC CDR1、SEQ ID NO: 456之LC CDR2及SEQ ID NO: 470之LC CDR3；

(iv) CLL-1 CAR-4之SEQ ID NO: 443之LC CDR1、SEQ ID NO: 457之LC CDR2及SEQ ID NO: 471之LC CDR3；

(v) CLL-1 CAR-5之SEQ ID NO: 444之LC CDR1、SEQ ID NO: 458之LC CDR2及SEQ ID NO: 472之LC CDR3；

(vi) CLL-1 CAR-6之SEQ ID NO: 445之LC CDR1、SEQ ID NO: 459之LC CDR2及SEQ ID NO: 473之LC CDR3；

(vii) CLL-1 CAR-7之SEQ ID NO: 446之LC CDR1、SEQ ID NO: 460之LC CDR2及SEQ ID NO: 474之LC CDR3；

(viii) CLL-1 CAR-8之SEQ ID NO: 447之LC CDR1、SEQ ID NO: 461之LC CDR2及SEQ ID NO: 475之LC CDR3；或

(ix) CLL-1 CAR-9之SEQ ID NO: 448之LC CDR1、SEQ ID NO: 462之LC CDR2及SEQ ID NO: 476之LC CDR3；

(x) CLL-1 CAR-10之SEQ ID NO: 449之LC CDR1、SEQ ID NO:

463之LC CDR2及SEQ ID NO: 477之LC CDR3；

(xi) CLL-1 CAR-11之SEQ ID NO: 450之LC CDR1、SEQ ID NO: 464之LC CDR2及SEQ ID NO: 478之LC CDR3；

(xii) CLL-1 CAR-12之SEQ ID NO: 451之LC CDR1、SEQ ID NO: 465之LC CDR2及SEQ ID NO: 479之LC CDR3；

(xiii) CLL-1 CAR-13之SEQ ID NO: 452之LC CDR1、SEQ ID NO: 466之LC CDR2及SEQ ID NO: 480之LC CDR3；

(xiv) 181286之SEQ ID NO: 453之LC CDR1、SEQ ID NO: 467之LC CDR2及SEQ ID NO: 481之LC CDR3；及/或

(2)選自以下之一的一個、兩個或三個重鏈(HC) CDR：

(i) CLL-1 CAR-1之SEQ ID NO: 398之HC CDR1、SEQ ID NO: 412之HC CDR2及SEQ ID NO: 426之HC CDR3；

(ii) CLL-1 CAR-2之SEQ ID NO: 399之HC CDR1、SEQ ID NO: 413之HC CDR2及SEQ ID NO: 427之HC CDR3；

(iii) CLL-1 CAR-3之SEQ ID NO: 400之HC CDR1、SEQ ID NO: 414之HC CDR2及SEQ ID NO: 428之HC CDR3；

(iv) CLL-1 CAR-4之SEQ ID NO: 401之HC CDR1、SEQ ID NO: 415之HC CDR2及SEQ ID NO: 429之HC CDR3；

(v) CLL-1 CAR-5之SEQ ID NO: 402之HC CDR1、SEQ ID NO: 416之HC CDR2及SEQ ID NO: 430之HC CDR3；

(vi) CLL-1 CAR-6之SEQ ID NO: 403之HC CDR1、SEQ ID NO: 417之HC CDR2及SEQ ID NO: 431之HC CDR3；

(vii) CLL-1 CAR-7之SEQ ID NO: 404之HC CDR1、SEQ ID NO: 418之HC CDR2及SEQ ID NO: 432之HC CDR3；

(viii) CLL-1 CAR-8之SEQ ID NO: 405之HC CDR1、SEQ ID NO: 419之HC CDR2及SEQ ID NO: 433之HC CDR3；或

(ix) CLL-1 CAR-9之SEQ ID NO: 406之HC CDR1、SEQ ID NO: 420之HC CDR2及SEQ ID NO: 434之HC CDR3；

(x) CLL-1 CAR-10之SEQ ID NO: 407之HC CDR1、SEQ ID NO: 421之HC CDR2及SEQ ID NO: 435之HC CDR3；

(xi) CLL-1 CAR-11之SEQ ID NO: 408之HC CDR1、SEQ ID NO: 422之HC CDR2及SEQ ID NO: 436之HC CDR3；

(xii) CLL-1 CAR-12之SEQ ID NO: 409之HC CDR1、SEQ ID NO: 423之HC CDR2及SEQ ID NO: 437之HC CDR3；

(xiii) CLL-1 CAR-13之SEQ ID NO: 410之HC CDR1、SEQ ID NO: 424之HC CDR2及SEQ ID NO: 438之HC CDR3；

(xiv) 181286之SEQ ID NO: 411之HC CDR1、SEQ ID NO: 425之HC CDR2及SEQ ID NO: 439之HC CDR3。

除非另外定義，否則本文中所用的所有技術及科學術語均具有與本發明所屬領域中一般技術者通常所理解相同的含義。儘管類似或等效於本文所述之彼等方法及材料之方法及材料可用於實踐或測試本發明，但下文描述適合方法及材料。本文中提及之所有公開案、專利申請案、專利及其他參考案以全文引用的方式併入本文中。另外，材料、方法及實例僅為說明性的且並不欲限制。標題、子標題或編號或標上字母之要素，例如(a)、(b)、(i)等，僅僅為易於閱讀而呈現。此文獻中標題或編號或標上字母之要素的使用不需要步驟或要素以字母次序來執行，或步驟或要素需彼此離散。本發明之其他特徵、目標及優點將自【實施方式】及【圖式】，及自【申請專利範圍】顯而易知。

【圖式簡單說明】

當結合附圖閱讀時將更好地瞭解本發明之較佳實施例之以下詳細描述。出於說明本發明之目的，在圖式中展示目前較佳之實施例。

然而應瞭解，本發明不限於圖式中所展示之實施例之精確配置及手段。

圖1包含圖1A、1B及1C，為證實與經抗-CLL-1 CAR轉導之JNL細胞株混合之標靶陽性(PL21、THP1、HL60、U937)或標靶陰性(K562)細胞株中螢光素酶含量的一系列圖像。

圖2包含圖2A、2B及2C，為如藉由FACS評估，證實經抗-CLL-1 CAR轉導之JNL細胞株中CAR表現的一系列圖像。

圖3包含圖3A及3B，為證實來自展示轉導T細胞之百分比之FACS的相對螢光強度之直方曲線圖的一系列圖像。圖3A展示使用蛋白質L偵測初級T細胞中之CART表現。圖3B展示使用重組CLL-1蛋白質偵測初級T細胞中之CART表現。

圖4包含圖4A、4B及4C，為證實螢光素酶化PL21 (圖4A)、HL60(圖4B)及U87細胞(圖4C)之抗-CLL-1 CART細胞殺死的一系列圖像。

圖5包含圖5A、5B及5C，為證實CART-CLL-1細胞中細胞因子產生之一系列圖像。未轉導之T細胞(UTD)用作背景T細胞作用之非特異性對照。量測TNF-α (圖5A)、IL-2 (圖5B)及干擾素(IFN)-γ (圖5C)。

圖6為證實CLL-1在大多數患有AML之原發性患者樣品中表現的圖像(AML母細胞使用標準側向散射^{低}CD45^{暗}特徵閘控)。CLL-1藉由流動式細胞量測術，使用市售抗體(純系HIM3-4，eBioscience)量測。

圖7包含圖7A及7B，為證實經CAR轉導之T細胞之轉導效率的一系列圖像。

圖8包含圖8A及8B，為證實CLL1-CART細胞針對CLL1+細胞株及原發性AML樣品進行特異性脫粒的一系列圖像。藉由流動式細胞量測術量測CD107a脫粒(圖8A)。針對THP1及原發性AML樣品，CLL-1 CART細胞經歷特異性脫粒，而針對對照細胞株，未經歷(圖8B)。

圖9包含圖9A及9B，為證實CLL1-CART細胞在與CLL1+細胞株及

原發性AML樣品一起培育之後產生TNF-α的一系列圖像。

圖10包含圖10A及10B，為證實CLL1-CART細胞在與CLL1+細胞株及原發性AML樣品一起培育之後產生IL-2的一系列圖像。

圖11包含圖11A-11D，為證實CLL1-CART細胞特異性殺死CLL-1+細胞株MOLM14及THP-1及原發性AML樣品的一系列圖像。在所指示E:T比率下CLL1-CART細胞引起MOLM14 (圖11D)、THP-1 (圖11A)及原發性AML樣品(圖11B)之特異性溶解，且未引起對照細胞株JEKO (圖11C)之特異性溶解。

圖12包含圖12A及12B，為證實CLL1-CART細胞回應於MOLM14、THP-1及原發性AML樣品增殖之一系列圖像。

圖13為說明使用自體異種移植物分析CLL-1 CART細胞之造血幹細胞毒性的示意圖的圖像。

圖14包含圖14A、14B及14C，為證實CLL-1在人類化小鼠中不同骨髓譜系細胞及B細胞上表現之一系列圖像。展示一個小鼠之外周血液分析的代表性FACS曲線圖(圖14A)。CLL-1在單核細胞(CD14+細胞)、骨髓細胞(CD33+及CD123+細胞)、B細胞(CD19+細胞)上表現，但未在血小板(CD41+細胞)或T細胞(CD3+細胞)上表現。展示代表性直方圖(圖14B)。展示來自24個小鼠之外周血液分析的示意性曲線圖(圖14C)。

圖15包含圖15A、15B、15C及15D，為證實CLL-1在人類化小鼠中不同骨髓譜系細胞及B細胞上表現之一系列圖像。

圖16包含圖16A、16B、16C及16D，為證實CLL-1在人類化小鼠中不同骨髓祖細胞及造血幹細胞上表現的一系列圖像。

圖17為說明使用人類化免疫系統(HIS)異種移植物分析CLL-1 CART細胞之造血幹細胞毒性的示意圖的圖像。

圖18包含圖18A及18B，為證實CLL-1 CAR T細胞輸注後4週之骨

髓分析的一系列圖像。在CD34+CD38-組分(造血幹細胞)(圖18A)及CD34+CD38+組分(祖細胞)(圖18B)中進行流動式細胞量測分析。

圖19包含圖19A、19B、19C、19D及19E，為證實T細胞後4週之骨髓分析的一系列圖像。

圖20為證實T細胞後4週HIS小鼠中骨髓分析之圖像。使用HIS異種移植物之CLL1-CART細胞之造血幹細胞毒性。

圖21包含圖21A、21B、21C、21D及21E，為證實T細胞後4週HIS小鼠中骨髓分析之一系列圖像。展示來自用不同CART細胞處理之小鼠之骨髓的代表性曲線圖。

圖22包含圖22A及22B，為展示來自展示轉導T細胞之百分比之FACS分析的相對螢光強度之直方曲線圖的一系列圖像。圖22A展示使用蛋白質L偵測初級T細胞中之CART表現。圖22B展示使用重組CLL-1蛋白質偵測初級T細胞中之CART表現。

圖23包含圖23A及23B，為展示當與標靶細胞一起培養時CLL-1 CART細胞之增殖能力的兩個圖。

圖24為證實用CLL-1 CAR T細胞處理後PL-21-luc異種移植模型中AML疾病進展之圖示。腫瘤細胞之平均生物發光(+/-SEM)展示整個動物中之疾病負荷，展示為ROI (相關區域)之光子/秒(p/s)，ROI為整個小鼠。

圖25包含圖25A及25B，為展示負載PL-21-luc腫瘤之小鼠之外周血液中$CD4^+$ (圖25A)及$CD8^+$ (圖25B) CAR^+ T細胞之定量的兩個圖。

圖26包含圖26A、26B、26C及26D，為定量負載PL-21-luc腫瘤之小鼠之骨髓中$CD4^+$ T細胞(圖26A)、$CD4^+$表現CLL-1 CAR之T細胞(圖26B)、$CD8^+$ T細胞(圖26C)及$CD8^+$表現CLL-1 CAR之T細胞(圖26D)的柱狀圖。展示每一百萬骨髓細胞之平均T細胞數目(+/-SEM)。藉由單因子ANOVA計算顯著性且表示為$*P<0.05$及$**P<0.01$。

圖27包含圖27A、27B、27C及27D，為定量負載PL-21-luc腫瘤之小鼠之脾中$CD4^+$ T細胞(圖27A)、$CD4^+$表現CLL-1 CAR之T細胞(圖27B)、$CD8^+$ T細胞(圖27C)及$CD8^+$表現CLL-1 CAR之T細胞(圖27D)的柱狀圖。展示每一百萬脾細胞之平均T細胞數目(+/-SEM)。藉由單因子ANOVA計算顯著性且表示為*P<0.05及**P<0.01。

圖28包含圖28A、28B、28C及28D，展示用誘發化學療法、接著CLL1-CART細胞處理引起原發性AML異種移植物中白血病根除。圖28A為說明化學療法與CLL-1-CART細胞之組合療法在原發性AML異種移植物中之實驗方案的示意圖。圖28B為展示白血病細胞(活huCD45暗隔室)中CLL1之平均螢光強度(MFI)的柱狀圖。圖28C為展示在如所指示之AML注射後的不同時間點，每1 μL外周血液之外周血液白血病母細胞計數(平均值+/-SD)之定量的圖。箭頭指代投與Ara-C(灰色箭頭)及投與T細胞(未轉導或表現CLL-1 CAR之T細胞，黑色箭頭)。圖28D為展示AML異種移植物之存活的圖。

圖29包含圖29A、圖29B、圖29C及圖29D，顯示單個載體上之多種組態，例如其中U6調控之shRNA在EF1 α調控之CAR編碼元件的上游或下游。在圖29A及圖29B中描繪之例示性構築體中，轉錄經由U6及EF1 α啟動子在相同方向上進行。在圖29C及圖29D中描繪之例示性構築體中，轉錄經由U6及EF1 α啟動子在不同方向上進行。在圖29E中，shRNA (及相應U6啟動子)在第一載體上，且CAR (及相應EF1 α啟動子)在第二載體上。

圖30描繪兩種例示性RCAR組態之結構。抗原結合成員包含抗原結合結構域、跨膜結構域及交換結構域。胞內結合成員包含交換結構域、共同刺激信號傳導結構域及主要信號傳導結構域。兩種組態證實本文所述之第一及第二交換結構域可關於抗原結合成員及胞內結合成員呈不同取向。本文進一步描述其他RCAR組態。

圖31展示在細胞培養系統中表現CAR之經轉導之T細胞的增殖藉由低劑量RAD001增強。CART與Nalm-6細胞在不同濃度RAD001存在下共同培養。在共同培養後第4天評估CAR陽性之CD3陽性T細胞(黑色)及總T細胞(灰色)之數目。

圖32描繪以0.3、1、3及10 mg/kg (mpk)每日給與RAD001或給與媒劑下NALM6-luc細胞之腫瘤生長量測。圓圈指代媒劑；方形指代10 mg/kg劑量之RAD001；三角形指代3 mg/kg劑量之RAD001，倒三角形指代1 mg/kg劑量之RAD001；且菱形指代0.3 mg/kg劑量之RAD001。

圖33包含圖33A及33B，展示藥物動力學曲線，其展示具有NALM6腫瘤之NSG小鼠之血液中RAD001之量。圖33A展示RAD001第一次給與後之第0天PK。圖33B展示最終RAD001給與後之第14天PK。菱形指代10 mg/kg劑量之RAD001；方形指代1 mg/kg劑量之RAD001；三角形指代3 mg/kg劑量之RAD001；且×指代10 mg/kg劑量之RAD001。

圖34包含圖34A及34B，展示給與及未給與RAD001之人類化CD19 CART細胞的活體內增殖。每日低劑量RAD001 (0.003 mg/kg)引起CART細胞增殖之增強，超過huCAR19增殖之正常水準。圖34A展示$CD4^+$ CAR T細胞；圖34B展示$CD8^+$ CAR T細胞。圓圈指代PBS；方形指代huCTL019；三角形指代使用3 mg/kg RAD001之huCTL019；倒三角形指代使用0.3 mg/kg RAD001之huCTL019；菱形指代使用0.03 mg/kg RAD001之huCTL019；且圓圈指代使用0.003 mg/kg RAD001之huCTL019。

【實施方式】

定義

除非另外定義，否則本文所用之所有技術及科學術語均具有與本發明所屬領域的一般技術者通常所理解相同的含義。

術語「一種(a及an)」係指一種或一種以上(亦即至少一種)物品之語法對象。藉由實例，「一種要素」意謂一種要素或超過一種要素。

當涉及諸如量、持續時間及其類似物之可量測值時，術語「約」欲涵蓋相較於指定值±20%，或在一些情況下±10%，或在一些情況下±5%，或在一些情況下±1%，或在一些情況下±0.1%之變化，因而變化適合於進行所揭示之方法。

術語「嵌合抗原受體」或者「CAR」係指包含至少胞外抗原結合結構域、跨膜結構域及包含來源於如下所定義之刺激分子之功能性信號傳導結構域之胞質信號傳導結構域(在本文中亦稱作「胞內信號傳導結構域」)的重組多肽構築體。在一些實施例中，CAR多肽構築體中之結構域在相同多肽鏈中，例如包含嵌合融合蛋白。在一些實施例中，CAR多肽構築體中之結構域不彼此相鄰，例如在不同多肽鏈中，例如如本文所述之RCAR中所提供。

在一個態樣中，CAR之刺激分子為與T細胞受體複合物締合之ζ鏈。在一個態樣中，胞質信號傳導結構域包含主要信號傳導結構域(例如CD3-ζ之主要信號傳導結構域)。在一個態樣中，胞質信號傳導結構域進一步包含一或多個來源於至少一種如下所定義之共同刺激分子的功能性信號傳導結構域。在一個態樣中，共同刺激分子係選自4-1BB (亦即CD137)、CD27、ICOS及/或CD28。在一個態樣中，CAR包含如下嵌合融合蛋白質，該蛋白質包含胞外抗原識別結構域、跨膜結構域及包含來源於刺激分子之功能性信號傳導結構域的胞內信號傳導結構域。在一個態樣中，CAR包含如下嵌合融合蛋白質，該蛋白質包含胞外抗原識別結構域、跨膜結構域及包含來源於共同刺激分子之功能性信號傳導結構域及來源於刺激分子之功能性信號傳導結構域的胞內信號傳導結構域。在一個態樣中，CAR包含如下嵌合融合蛋白質，該蛋白質包含胞外抗原識別結構域、跨膜結構域及包含兩個來源於一

或多個共同刺激分子之功能性信號傳導結構域及一個來源於刺激分子之功能性信號傳導結構域的胞內信號傳導結構域。在一個態樣中，CAR包含如下嵌合融合蛋白質，該蛋白質包含胞外抗原識別結構域、跨膜結構域及包含至少兩個來源於一或多個共同刺激分子之功能性信號傳導結構域及一個來源於刺激分子之功能性信號傳導結構域的胞內信號傳導結構域。在一個態樣中，CAR在CAR融合蛋白之胺基端(N端)包含視情況存在之前導序列。在一個態樣中，CAR在胞外抗原識別結構域之N端進一步包含前導序列，其中前導序列在細胞處理及CAR定位至細胞膜期間視情況自抗原識別結構域(例如aa scFv)裂解。

包含特異性結合特定腫瘤標記物X之抗原結合結構域(例如scFv、單域抗體或TCR (例如TCRα結合結構域或TCRβ結合結構域))的CAR亦稱為XCAR，其中X可為如本文所述之腫瘤標記物。舉例而言，包含特異性結合CLL-1之抗原結合結構域的CAR稱為CLL-1 CAR。CAR可在任何細胞，例如如本文所述之免疫效應細胞(例如T細胞或NK細胞)中表現。

術語「信號傳導結構域」係指藉由在細胞內傳輸資訊起作用，以藉由產生第二信使或藉由回應於此類信使充當效應子而經由界定之信號傳導路徑調控細胞活性的蛋白質功能部分。

如本文所用，術語「CLL-1」係指C型凝集素樣分子-1，其為白血病前驅細胞上及正常免疫細胞上可偵測之抗原決定子。C型凝集素樣分子-1 (CLL-1)亦稱為MICL、CLEC12A、CLEC-1、樹突狀細胞相關凝集素1及DCAL-2。人類及鼠類胺基酸及核酸序列可在諸如GenBank、UniProt及Swiss-Prot之公共資料庫中發現。舉例而言，人類CLL-1之胺基酸序列可作為UniProt/Swiss-Prot寄存編號Q5QGZ9發現且人類CLL-1之編碼核苷酸序列可在寄存編號NM 001207010.1、NM 138337.5、NM 201623.3及NM 201625.1下發現。在一個實施例

中，CAR之抗原結合部分識別及結合CLL-1蛋白質之細胞外域或其片段內的抗原決定基。在一個實施例中，CLL-1蛋白質在癌細胞上表現。

如本文所用之術語「抗體」係指來源於特異性結合抗原之免疫球蛋白分子的蛋白質或多肽序列。抗體可為多株或單株、多鏈或單鏈或完整免疫球蛋白且可來源於天然來源或重組來源。抗體可為免疫球蛋白分子之四聚體。

術語「抗體片段」係指完整抗體或其重組變異體之至少一個部分且係指足以使抗體片段識別且特異性結合諸如抗原之標靶的抗原結合結構域，例如完整抗體之抗原決定可變區。抗體片段之實例包括(但不限於) Fab、Fab'、$F(ab')_2$及Fv片段、scFv抗體片段、線性抗體、諸如sdAb之單域抗體(VL或VH)、駱駝科VHH結構域及由諸如包含兩個或兩個以上，例如兩個在鉸鏈區經二硫橋連接之Fab片段，或兩個或兩個以上，例如兩個分離之CDR或所連接抗體之其他抗原決定基結合片段的二價片段之抗體片段形成的多特異性抗體。抗體片段亦可併入單域抗體、最大抗體、微型抗體、奈米抗體、胞內抗體、雙功能抗體、三功能抗體、四功能抗體、v-NAR及雙scFv中(參見例如Hollinger及Hudson, Nature Biotechnology 23:1126-1136, 2005)。抗體片段亦可移植至基於多肽之骨架，諸如III型纖維結合蛋白(Fn3)(參見美國專利第6,703,199號，其描述纖維結合蛋白多肽微型抗體)。

術語「scFv」係指包含至少一個包含輕鏈可變區之抗體片段及至少一個包含重鏈可變區之抗體片段的融合蛋白，其中輕鏈及重鏈可變區經由短的可撓性多肽連接子連續連接且能夠表現為單鏈多肽，且其中scFv保留其所來源之完整抗體的特異性。除非指定，否則如本文中所用，scFv可具有任一次序之VL及VH可變區，例如相對於多肽之N端及C端末端，scFv可包含VL-連接子-VH或可包含VH-連接子-VL。

如本文所用之術語「互補決定區」或「CDR」係指在抗體可變區內賦予抗原特異性及結合親和力之胺基酸序列。舉例而言，通常，每一重鏈可變區中存在三個CDR (例如HCDR1、HCDR2及HCDR3)且每一輕鏈可變區中三個CDR (LCDR1、LCDR2及LCDR3)。既定CDR之精確胺基酸序列邊界可使用許多熟知方案中之任一者，包括Kabat等人(1991), 「Sequences of Proteins of Immunological Interest」, 第5版 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (「Kabat」編號方案)、Al-Lazikani等人, (1997) JMB 273,927-948 (「Chothia」編號方案)所述之方案或其組合來測定。根據Kabat編號方案，在一些實施例中，重鏈可變結構域(VH)中之CDR胺基酸殘基編號為31-35 (HCDR1)、50-65 (HCDR2)及95-102 (HCDR3)；且輕鏈可變結構域(VL)中之CDR胺基酸殘基編號為24-34 (LCDR1)、50-56 (LCDR2)及89-97 (LCDR3)。根據Chothia編號方案，在一些實施例中，VH中之CDR胺基酸編號為26-32 (HCDR1)、52-56 (HCDR2)及95-102 (HCDR3)；且VL中之CDR胺基酸殘基編號為26-32 (LCDR1)、50-52 (LCDR2)及91-96 (LCDR3)。在組合之Kabat及Chothia編號方案中，在一些實施例中，CDR對應於作為Kabat CDR、Chothia CDR或兩者之一部分的胺基酸殘基。舉例而言，在一些實施例中，CDR對應於VH，例如哺乳動物VH，例如人類VH中之胺基酸殘基26-35 (HCDR1)、50-65 (HCDR2)及95-102 (HCDR3)；及VL，例如哺乳動物VL，例如人類VL中之胺基酸殘基24-34 (LCDR1)、50-56 (LCDR2)及89-97 (LCDR3)。

包含抗體或其抗體片段的本發明之CAR組合物之部分可以多種形式存在，例如其中抗原結合結構域作為多肽鏈(包括例如單域抗體片段(sdAb)、單鏈抗體(scFv)，例如人類抗體)之部分表現(Harlow等人, 1999, Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor

Laboratory Press, NY；Harlow等人, 1989, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, New York；Houston等人, 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883；Bird等人, 1988, Science 242:423-426)。在一個態樣中，本發明CAR組合物之抗原結合結構域包含抗體片段。在另一態樣中，CAR包含包括scFv之抗體片段。

如本文所用，術語「結合結構域」或「抗體分子」(本文中亦稱為「抗標靶(例如CLL-1)結合結構域」)係指包含至少一個免疫球蛋白可變結構域序列之蛋白質，例如免疫球蛋白鏈或其片段。術語「結合結構域」或「抗體分子」涵蓋抗體及抗體片段。在一個實施例中，抗體分子為多特異性抗體分子，例如其包含多個免疫球蛋白可變結構域序列，其中該多個中之第一免疫球蛋白可變結構域序列具有針對第一抗原決定基之結合特異性且該多個中之第二免疫球蛋白可變結構域序列具有針對第二抗原決定基之結合特異性。在一個實施例中，多特異性抗體分子為雙特異性抗體分子。雙特異性抗體對不超過兩個抗原具有特異性。雙特異性抗體分子之特徵為第一免疫球蛋白可變結構域序列具有針對第一抗原決定基之結合特異性及第二免疫球蛋白可變結構域序列具有針對第二抗原決定基之結合特異性。術語「抗體重鏈」係指以天然存在之構形存在於抗體分子中且通常決定抗體所屬類別的兩種類型多肽鏈中之較大者。

術語「抗體輕鏈」係指以天然存在之構形存在於抗體分子中的兩種類型多肽鏈中之較小者。卡帕(κ)及拉姆達(λ)輕鏈係指兩種主要抗體輕鏈同型。

術語「重組抗體」係指使用重組DNA技術產生之抗體，諸如由噬菌體或酵母表現系統所表現之抗體。該術語亦應理解為意謂已藉由合成編碼抗體之DNA分子(且該DNA分子表現抗體蛋白)或指定抗體之胺基酸序列所產生之抗體，其中該DNA或胺基酸序列已使用在此項技

術中可獲得且熟知之重組DNA或胺基酸序列技術獲得。

術語「抗原」或「Ag」係指引起免疫反應之分子。此免疫反應可涉及抗體產生或特異性免疫勝任細胞之活化或兩者。熟習此項技術者應瞭解包括幾乎所有蛋白質或肽之任何大分子均可充當抗原。此外，抗原可來源於重組或基因組DNA。熟習此項技術者應瞭解，當在本文中使用彼術語時，包含編碼引發免疫反應之蛋白質的核苷酸序列或部分核苷酸序列之任何DNA因此編碼「抗原」。此外，熟習此項技術者應瞭解抗原無需僅藉由基因之全長核苷酸序列編碼。顯而易見，本發明包括(但不限於)一種以上基因之部分核苷酸序列之使用且此等核苷酸序列以各種組合排列以編碼引發所需免疫反應之多肽。此外，熟習此項技術者應瞭解抗原根本不必藉由「基因」編碼。顯而易見，抗原可合成產生或可來源於生物樣品或可為除多肽外之大分子。此類生物樣品可包括(但不限於)組織樣品、腫瘤樣品、細胞或具有其他生物組分之體液。

術語「抗腫瘤作用」係指可藉由各種手段顯現之生物作用，其包括(但不限於)例如腫瘤體積減小，腫瘤細胞數目減少，癌轉移數目減少，預期壽命增加，腫瘤細胞增殖減少，腫瘤細胞存活率降低，或與癌性病狀相關之各種生理症狀改善。「抗腫瘤作用」亦可藉由本發明之肽、聚核苷酸、細胞及抗體預防腫瘤初次出現之能力來顯現。

術語「自體」係指來源於與隨後可重新引入之個體相同個體之任何材料。

術語「同種異體」係指來源於與將引入材料之個體相同物種之不同動物的任何材料。當一或多個基因座之基因不相同時，兩個或兩個以上個體稱為彼此同種異體。在一些態樣中，來自相同物種之個體的同種異體材料基因上可足夠不同從而以抗原方式相互作用。

術語「異種」係指移植物來源於不同物種之動物。

如本文中所用之術語「清除術」係指此項技術公認之體外過程，藉由該過程，供體或患者之血液自供體或患者移除且通過將所選特定成分分離出之設備且例如藉由還血法(retransfusion)，使剩餘物質返回至供體或患者之循環。因此，在「清除術樣品」之情況下，係指使用清除術獲得之樣品。

術語「組合」係指呈一種單位劑型之固定組合，或其中本發明之化合物與組合搭配物(例如如以下說明之另一藥物，亦稱為「治療劑」或「輔劑」)可同時獨立投與或在時間間隔內分開投與，尤其其中此等時間間隔允許組合搭配物展示協作，例如協同效應的組合投與。單一組分可包裝在套組中或分開包裝。在投與前組分中之一或兩者(例如粉末或液體)可復原或稀釋至所需劑量。如本文所用，術語「共投與」或「組合投與」或其類似術語意欲涵蓋向有需要之單一個體(例如患者)投與所選擇之組合搭配物，且意欲包括其中藥劑不一定藉由相同投藥途徑或同時投與的治療方案。如本文所用，術語「醫藥組合」意謂由混合或組合一種以上活性成分所產生之產物且包括活性成分之固定與不固定組合兩者。術語「固定組合」意謂活性成分，例如本發明之化合物及組合搭配物，均呈單一實體或劑量形式同時投與患者。術語「非固定組合」意謂活性成分，例如本發明之化合物及組合搭配物，均呈分開的實體形式同時、並行或依序投與患者，無特定時間限制，其中此類投與在患者體內提供治療有效水準之兩種化合物。後者亦適用於混合療法，例如投與三種或三種以上活性成分。

術語「癌症」係指特徵為異常細胞之快速且不受控生長的疾病。癌細胞可局部擴散或經由血流及淋巴系統擴散至身體其他部分。本文描述各種癌症之實例且其包括(但不限於)乳癌、前列腺癌、卵巢癌、子宮頸癌、皮膚癌、胰臟癌、結腸直腸癌、腎癌、肝癌、腦癌、淋巴瘤、白血病、肺癌及其類似癌症。術語「腫瘤」與「癌症」在本

文中可互換使用，例如兩個術語涵蓋實體及液體，例如彌漫性或循環腫瘤。如本文所用，術語「癌症」或「腫瘤」包括惡化前以及惡性癌症及腫瘤。

當「來源於」在本文中使用時該術語指示第一與第二分子之間的關係。其一般係指第一分子與第二分子之間的結構相似性，且不涵蓋或包括對來源於第二分子之第一分子的過程或來源限制。舉例而言，在來源於CD3ζ分子之胞內信號傳導結構域之情況下，胞內信號傳導結構域保留足夠CD3ζ結構，使得具有所需功能，亦即在適當條件下產生信號之能力。其不涵蓋或包括對產生胞內信號傳導結構域之特定過程之限制，例如其並不意謂，為提供胞內信號傳導結構域，必須以CD3ζ序列開始且刪除不必要序列，或施加突變以達成胞內信號傳導結構域。

片語「與CLL-1表現相關之疾病」包括(但不限於)與表現CLL-1之細胞相關的疾病或與表現CLL-1之細胞相關的病狀，包括例如增生性疾病，諸如癌症或惡性疾病或癌變前病狀，諸如骨髓發育不良、骨髓發育不良症候群或白血病前驅症；或與表現CLL-1 (例如野生型或突變CLL-1)之細胞相關的非癌症相關適應症。為避免疑義，與CLL-1表現相關之疾病可包括與例如因為例如由用靶向CLL-1之分子(例如本文所述之CLL-1抑制劑)處理引起CLL-1表現已下調而目前未表現CLL-1，但曾經表現CLL-1之細胞相關的病狀。在一個態樣中，與CLL-1表現相關之癌症為血液癌。在一個態樣中，血液癌包括(但不限於)白血病(諸如急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、急性淋巴性白血病、慢性淋巴性白血病及骨髓發育不良症候群)及惡性淋巴組織增生病狀，包括淋巴瘤(諸如多發性骨髓瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤及小細胞及大細胞濾泡性淋巴瘤)。與CLL-1表現相關之其他疾病包括(但不限於)例如與CLL-1表現相關之非典型及/或非經典癌

症、惡性疾病、癌變前病狀或增生性疾病。亦可包括與CLL-1表現相關之非癌症相關適應症。在一些實施例中，表現腫瘤抗原之細胞表現或在任何時間表現編碼腫瘤抗原之mRNA。在一個實施例中，表現腫瘤抗原之細胞產生腫瘤抗原蛋白質(例如野生型或突變)，且腫瘤抗原蛋白質可以正常水準或降低水準存在。在一個實施例中，表現腫瘤抗原之細胞在一個時間點產生可偵測水準之腫瘤抗原蛋白質，且隨後產生實質上不可偵測之腫瘤抗原蛋白質。

術語「保守序列修飾」或「保守取代」係指胺基酸修飾不顯著影響或改變含有該胺基酸序列之抗體或抗體片段的結合特徵。此類保守修飾包括胺基酸取代、添加及缺失。修飾可藉由此項技術中已知之標準技術(諸如定點突變誘發及PCR介導之突變誘發)引入本發明之抗體或抗體片段中。保守取代為胺基酸殘基置換為具有類似側鏈之胺基酸殘基的取代。此項技術中已界定具有類似側鏈之胺基酸殘基家族。此等家族包括具有鹼性側鏈(例如離胺酸、精胺酸、組胺酸)、酸性側鏈(例如天冬胺酸、麩胺酸)、不帶電極性側鏈(例如甘胺酸、天冬醯胺、麩醯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、酪胺酸、半胱胺酸、色胺酸)、非極性側鏈(例如丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、脯胺酸、苯丙胺酸、甲硫胺酸)、β分支側鏈(例如蘇胺酸、纈胺酸、異白胺酸)及芳族側鏈(例如酪胺酸、苯丙胺酸、色胺酸、組胺酸)之胺基酸。因此，本發明之CAR內的一或多個胺基酸殘基可置換為相同側鏈家族之其他胺基酸殘基且可使用本文所述之功能性分析法測試經改變之CAR。

術語「刺激」係指由刺激分子(例如TCR/CD3複合物)與其同源配位體結合，藉此介導信號轉導事件(諸如(但不限於)經由TCR/CD3複合物之信號轉導)所誘發之主要反應。刺激可介導某些分子之表現改變，諸如TGF-β下調，及/或細胞骨架結構之重新組織及其類似方面。

術語「刺激分子」係指由T細胞表現之分子，其為T細胞信號傳

導路徑之至少一些態樣提供以刺激方式調控TCR複合物初級活化之主要胞質信號傳導序列。在一個態樣中，主要信號傳導藉由例如TCR/CD3複合物與負載有肽之MHC分子結合起始，且其引起T細胞反應之介導，包括(但不限於)增殖、活化、分化及其類似物。以刺激方式起作用之主要胞質信號傳導序列(亦稱作「主要信號傳導結構域」)可含有稱為基於免疫受體酪胺酸之活化基元或ITAM的信號傳導基元。特定用於本發明之含有ITAM之主要胞質信號傳導序列的實例包括(但不限於)源自以下者：TCRζ、FcRγ、 、FcRβ、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD5、CD22、CD79a、CD79b、CD278 (亦稱為「ICOS」)、FcεRI、CD66d、DAP10及DAP12。在本發明之一特異性CAR中，任一或多種本發明之CAR中的胞內信號傳導結構域包含胞內信號傳導序列，例如CD3-ζ之主要信號傳導序列。在本發明之一特異性CAR中，CD3-ζ之主要信號傳導序列為以SEQ ID NO: 9形式提供之序列，或來自非人類物種(例如小鼠、嚙齒動物、猴、猿及其類似物)之等效殘基。在本發明之一特異性CAR中，CD3-ζ之主要信號傳導序列為如SEQ ID NO: 10中所提供之序列，或來自非人類物種(例如小鼠、嚙齒動物、猴、猿及其類似物)之等效殘基。

術語「抗原呈現細胞」或「APC」係指在表面上展現與主要組織相容複合物(MHC)複合之外來抗原的免疫系統細胞，諸如輔助細胞(例如B細胞、樹突狀細胞及其類似細胞)。T細胞可使用其T細胞受體(TCR)識別此等複合物。APC處理抗原且將其呈現給T細胞。

如本文所用之術語「胞內信號傳導結構域」係指分子之胞內部分。胞內信號傳導結構域產生促進含有CAR之細胞(例如CART細胞)之免疫效應功能的信號。免疫效應功能之實例(例如在CART細胞中)包括細胞溶解活性及輔助活性，包括細胞激素之分泌。在實施例中，細胞內信號傳導結構域轉導效應功能信號且引導細胞執行專門功能。

儘管通常可採用整個胞內信號傳導結構域，但在多數情況下，不必使用整條鏈。在使用胞內信號傳導結構域之截短部分的程度上，此類截短部分只要轉導效應功能信號即可用於代替完整鏈。因此術語胞內信號傳導結構域意謂包括足以轉導效應功能信號之胞內信號傳導結構域的任何截短部分。

在一實施例中，胞內信號傳導結構域可包含主要胞內信號傳導結構域。例示性主要胞內信號傳導結構域包括來源於負責主要刺激或抗原依賴性模擬之分子者。在一實施例中，胞內信號傳導結構域可包含共同刺激胞內結構域。例示性共同刺激胞內信號傳導結構域包括來源於負責共同刺激信號或抗原獨立性刺激之分子者。舉例而言，在CART的情況下，主要胞內信號傳導結構域可包含T細胞受體之胞質序列，且共同刺激胞內信號傳導結構域可包含來自輔助受體或共同刺激分子之胞質序列。

主要胞內信號傳導結構域可包含稱為基於免疫受體酪胺酸之活化基元或ITAM的信號傳導基元。含有ITAM之主要胞質信號傳導序列之實例包括(但不限於)源自以下者：CD3ζ、FcRγ、FcRβ、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD5、CD22、CD79a、CD79b、CD278（亦稱為「ICOS」)、FcεRI、CD66d、DAP10及DAP12。

術語「ζ」或者「ζ鏈」、「CD3-ζ」或「TCR-ζ」定義為作為GenBan寄存編號BAG36664.1提供之蛋白質或來自非人類物種(例如小鼠、嚙齒動物、猴、猿及其類似物種)之等效殘基，且「ζ刺激結構域」或者「CD3-ζ刺激結構域」或「TCR-ζ刺激結構域」定義為來自ζ鏈之細胞質域的胺基酸殘基，其足以在功能上傳輸T細胞活化必需之初始信號。在一個態樣中，ζ之細胞質域包含Genbank寄存編號BAG36664.1之殘基52至164或作為其功能性直系同源物的來自非人類物種(例如小鼠、嚙齒動物、猴、猿及其類似物種)之等效殘基。在一

個態樣中，「ζ刺激結構域」或「CD3-ζ刺激結構域」為以SEQ ID NO: 9提供之序列。在一個態樣中，「ζ刺激結構域」或「CD3-ζ刺激結構域」為以SEQ ID NO: 10提供之序列。

術語「共同刺激分子」係指T細胞上之同源結合搭配物，其特異性結合共同刺激配位體，藉此藉由T細胞介導共同刺激反應，諸如(但不限於)增殖。共同刺激分子為除抗原受體或其配位體以外的細胞表面分子，其為有效免疫反應所需。共同刺激分子包括(但不限於)MHC I類分子、TNF受體蛋白、免疫球蛋白樣蛋白、細胞因子受體、整合素、信號傳導淋巴細胞活化分子(SLAM蛋白質)、活化NK細胞受體、BTLA、Toll配位體受體、OX40、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CDS、ICAM-1、LFA-1 (CD11a/CD18)、4-1BB (CD137)、B7-H3、CDS、ICAM-1、ICOS (CD278)、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM (LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a及特異性結合CD83之配位體。

共同刺激胞內信號傳導結構域係指共同刺激分子之胞內部分。

胞內信號傳導結構域可包含其所源自之分子的全部胞內部分或

全部天然胞內信號傳導結構域，或其功能性片段。

術語「4-1BB」係指胺基酸序列以GenBank寄存編號AAA62478.2提供的TNFR超家族之一員，或來自非人類物種(例如小鼠、嚙齒動物、猴、猿及其類似物種)之等效殘基；且「4-1BB共同刺激結構域」定義為GenBank寄存編號AAA62478.2之胺基酸殘基214-255，或來自非人類物種(例如小鼠、嚙齒動物、猴、猿及其類似物種)之等效殘基。在一個態樣中，「4-1BB共同刺激結構域」為以SEQ ID NO: 7提供之序列或來自非人類物種(例如小鼠、嚙齒動物、猴、猿及其類似物種)之等效殘基。

「免疫效應細胞」在該術語在本文中使用時，係指涉及免疫反應，例如促進免疫效應反應之細胞。免疫效應細胞之實例包括T細胞，例如α/β T細胞及γ/δ T細胞、B細胞、自然殺手(NK)細胞、自然殺手T (NKT)細胞、肥大細胞及骨髓衍生之吞噬細胞。

「免疫效應功能或免疫效應反應」在該術語在本文中使用時係指例如免疫效應細胞之增強或促進標靶細胞之免疫侵襲的功能或反應。例如，免疫效應功能或反應係指T或NK細胞促進標靶細胞之殺死或者生長或增殖抑制的特性。在T細胞之情況下，主要刺激及共同刺激為免疫效應功能或反應之實例。

術語「效應功能」係指細胞之專門功能。T細胞之效應功能例如可為細胞溶解活性或輔助活性，包括分泌細胞因子。

術語「編碼」係指諸如基因、cDNA或mRNA之聚核苷酸中之核苷酸之特定序列在生物過程中充當合成其他聚合物及大分子之模板的固有特性，該等聚合物及大分子具有已確定之核苷酸序列(例如rRNA、tRNA及mRNA)或已確定之胺基酸序列及由此獲得之生物特性。因此，若與基因相對應之mRNA之轉錄及轉譯在細胞或其他生物系統中產生蛋白質，則基因、cDNA或RNA編碼該蛋白質。核苷酸序

列與mRNA序列一致且通常提供於序列表中的編碼股與用作基因或cDNA轉錄之模板的非編碼股皆可稱為編碼蛋白質或基因或cDNA之其他產物。

除非另外規定，否則「編碼胺基酸序列之核苷酸序列」包括為彼此之簡併形式且編碼相同胺基酸序列之所有核苷酸序列。在編碼蛋白質之核苷酸序列可在一些型式中含有內含子之程度上，編碼蛋白質或RNA之核苷酸序列一詞亦可包括內含子。

術語「有效量」或「治療有效量」在本文中可互換使用且其係指如本文所述有效獲得特定生物結果之化合物、調配物、物質或組合物之量。

術語「內源性」係指來自或在生物體、細胞、組織或系統內部產生之任何物質。

術語「外源性」係指自生物體、細胞、組織或系統外部引入或產生之任何物質。

術語「表現」係指由啟動子驅動的特定核苷酸序列之轉錄及/或轉譯。

術語「轉移載體」係指包含分離之核酸且可用於將分離之核酸傳遞至細胞內部的物質組合物。許多載體為此項技術中已知，包括(但不限於)線性聚核苷酸、與離子性或兩親媒性化合物有關之聚核苷酸、質體及病毒。因此，術語「轉移載體」包括自主複製質體或病毒。該術語亦應解釋為進一步包括促進核酸轉移至細胞中之非質體及非病毒化合物，諸如聚離胺酸化合物、脂質體及其類似物。病毒轉移載體之實例包括(但不限於)腺病毒載體、腺相關病毒載體、反轉錄病毒載體、慢病毒載體及其類似物。

術語「表現載體」係指包含重組聚核苷酸之載體，該重組聚核苷酸包含可操作地連接於待表現之核苷酸序列之表現控制序列。表現

載體包含足夠順式作用元件用於表現；用於表現之其他元件可由宿主細胞供應或在活體外表現系統中。表現載體包括此項技術中已知之全部，包括併入重組聚核苷酸之黏質體、質體(例如裸露或含於脂質體中)及病毒(例如慢病毒、反轉錄病毒、腺病毒及腺相關病毒)。

術語「慢病毒」係指反轉錄病毒科家族種類。慢病毒在反轉錄病毒中為獨特的，因為其能夠感染未分化細胞；其可將足夠量之遺傳資訊傳遞至宿主細胞之DNA中，因此其為基因傳遞載體之最有效方法之一。HIV、SIV及FIV均為慢病毒之實例。

術語「慢病毒載體」係指來源於慢病毒基因組之至少一部分的載體，尤其包括如Milone等人, Mol. Ther. 17(8): 1453-1464 (2009)中所提供之自身不活化慢病毒載體。臨床中可使用之慢病毒載體之其他實例包括(但不限於)例如來自Oxford BioMedica之LENTIVECTOR®基因傳遞技術、來自Lentigen之LENTIMAX™載體系統及其類似物。非臨床類型之慢病毒載體亦可獲得且將為熟習此項技術者所知。

術語「同源」或「一致性」係指在兩種聚合物分子之間，例如在諸如兩種DNA分子或兩種RNA分子之兩種核酸分子之間，或在兩種多肽分子之間的子單元序列一致性。當兩個分子兩者中之子單元位置由相同單體子單元佔據時；例如若兩個DNA分子中之每一者中之位置均又腺嘌呤佔據，則其在彼位置為同源或一致的。兩個序列之間的同源性為匹配或同源位置數目之直接函數；例如若兩個序列中之位置有一半(例如長度為十個子單元之聚合物中之五個位置)同源，則該兩個序列為50%同源；若90%之位置(例如10個中之9個)匹配或同源，則該兩個序列為90%同源。

非人類(例如鼠類)抗體之「人類化」形式為含有來源於非人類免疫球蛋白之最小序列的嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白鏈或其片段(諸如Fv、Fab、Fab'、F(ab')2或抗體之其他抗原結合子序列)。大多數情

況下，人類化抗體及其抗體片段為人類免疫球蛋白(受體抗體或抗體片段)，其中來自接受者之互補決定區(CDR)之殘基置換為來自諸如具有所需特異性、親和性及能力之小鼠、大鼠或兔之非人類物種(供體抗體)之CDR的殘基。在一些情況下，人類免疫球蛋白之Fv構架區(FR)殘基置換為相應非人類殘基。此外，人類化抗體/抗體片段可包含既不存在於接受者抗體中亦不存在於所輸入之CDR或構架序列中之殘基。此等修飾可進一步使抗體或抗體片段效能得到改進及最佳化。一般而言，人類化抗體或其抗體片段將包含至少一個及通常兩個可變結構域的實質上全部，其中所有或實質上所有CDR區域與非人類免疫球蛋白之彼等區域相對應且所有或絕大部分FR區域為人類免疫球蛋白序列之彼等區域。人類化抗體或抗體片段亦可包含免疫球蛋白恆定區(Fc)之至少一部分，該恆定區典型地為人類免疫球蛋白之恆定區。其他細節參見Jones等人, Nature, 321: 522-525, 1986；Reichmann等人, Nature, 332: 323-329, 1988；Presta, Curr. Op. Struct. Biol., 2: 593-596, 1992。

「完整人類」係指諸如抗體或抗體片段之免疫球蛋白，其中整個分子具有人類來源或由與抗體或免疫球蛋白之人類形式一致的胺基酸序列組成。

術語「分離」意謂自天然狀態改變或移除。舉例而言，天然存在於活動物中之核酸或肽並非「分離」，而自其天然狀態之共存材料部分或完全分離之相同核酸或肽為「分離」。分離之核酸或蛋白質可以實質上經純化之形式存在或可存在於諸如宿主細胞之非原生環境中。

在本發明之情形中，使用以下通常存在之核酸鹼基之縮寫。「A」係指腺苷，「C」係指胞嘧啶，「G」係指鳥苷，「T」係指胸苷且「U」係指尿苷。

術語「可操作地連接」或「轉錄控制」係指調控序列與異源核酸序列之間的功能性連接，其引起異源核酸序列之表現。舉例而言，當第一核酸序列與第二核酸序列處於功能性關係時，第一核酸序列可操作地連接第二核酸序列。舉例而言，若啟動子影響編碼序列之轉錄或表現，則啟動子可操作地連接於編碼序列。可操作地連接之DNA序列可彼此鄰接，且若接合兩個蛋白質編碼區時必要，則在同一閱讀框架中。

術語「非經腸」投與免疫原性組合物包括例如皮下(s.c.)、靜脈內(i.v.)、肌肉內(i.m.)或胸骨內注射、瘤內或輸注技術。

術語「核酸」或「聚核苷酸」係指去氧核糖核酸(DNA)或核糖核酸(RNA)及其呈單股或雙股形式之聚合物。除非明確限制，否則該術語涵蓋含有天然核苷酸之已知類似物的核酸，其具有與參考核酸類似的結合特性且以與天然存在之核苷酸類似的方式代謝。除非另外指示，否則特定核酸序列亦隱含地涵蓋其經保守修飾之變異體(例如簡併密碼子取代)、對偶基因、直系同源物、SNP及互補序列以及明確指示之序列。特定言之，簡併密碼子取代可藉由產生其中一或多個(或所有)所選擇之密碼子之第三位置經混合鹼基及/或去氧肌苷殘基取代之序列實現(Batzer等人, Nucleic Acid Res. 19:5081 (1991)；Ohtsuka等人, J. Biol. Chem. 260:2605-2608 (1985)；及Rossolini等人, Mol. Cell. Probes 8:91-98 (1994))。

術語「肽」、「多肽」及「蛋白質」可互換使用，且係指包含由肽鍵共價連接之胺基酸殘基的化合物。蛋白質或肽必須含有至少兩個胺基酸且對可構成蛋白質或肽序列之胺基酸最大數目無限制。多肽包括包含藉由肽鍵彼此接合之兩個或兩個以上胺基酸之任何肽或蛋白質。如本文所用，該術語係指短鏈(其在此項技術中通常亦稱作例如肽、寡肽及寡聚物)及長鏈(其在此項技術中一般稱作蛋白質，其存在

多種類型)。「多肽」尤其包括例如生物活性片段、實質上同源多肽、寡肽、均二聚體、雜二聚體、多肽變異體、經修飾多肽、衍生物、類似物、融合蛋白。多肽包括天然肽、重組肽或其組合。

術語「啟動子」係指由細胞合成機制或引入之合成機制識別，為起始聚核苷酸序列之特異性轉錄所需的DNA序列。

術語「啟動子/調控序列」係指表現可操作地連接於啟動子/調控序列之基因產物所必需的核酸序列。在一些情況下，此序列可為核心啟動子序列且在其他情況下，此序列亦可包括強化子序列及表現基因產物所必需的其他調控元件。啟動子/調控序列可例如為以組織特異性方式表現基因產物者。

術語「組成性」啟動子係指當與編碼或指明基因產物之核苷酸序列可操作地連接時，在細胞之大多數或全部生理條件下引起基因產物在細胞中產生之核苷酸序列。

術語「誘導性」啟動子係指當與編碼或指明基因產物之聚核苷酸可操作地連接時，僅當細胞中存在對應於啟動子之誘導劑時才引起基因產物在細胞中實質上產生的核苷酸序列。

術語「組織特異性」啟動子係指當與編碼或指明基因之聚核苷酸可操作地連接時，僅當細胞為對應於啟動子之組織類型的細胞時才引起基因產物在細胞中實質上產生之核苷酸序列。

如scFv情形中所用之術語「可撓性多肽連接子」或「連接子」係指由諸如單獨或組合使用之甘胺酸及/或絲胺酸殘基組成之肽連接子，其將可變重鏈區及可變輕鏈區連接在一起。在一個實施例中，可撓性多肽連接子為Gly/Ser連接子且包含胺基酸序列(Gly-Gly-Gly-Ser)$_n$ (SEQ ID NO: 38)，其中n為等於或大於1之正整數。舉例而言，n=1、n=2、n=3、n=4、n=5及n=6、n=7、n=8、n=9及n=10。在一個實施例中，可撓性多肽連接子包括(但不限於)(Gly$_4$ Ser)$_4$ (SEQ ID NO:

27)或$(Gly_4\ Ser)_3$ (SEQ ID NO: 28)。在另一實施例中，連接子包括多個重複(Gly_2Ser)、(GlySer)或(Gly_3Ser) (SEQ ID NO: 29)。本發明之範疇內亦包括WO2012/138475中所述之連接子，該案以引用的方式併入本文中。

如本文所用，5'封端(亦稱為RNA封端、RNA 7-甲基鳥苷封端或RNA m^7G封端)為經修飾之鳥嘌呤核苷酸，其在開始後不久即添加至真核信使RNA的「前部」或5'端。5'封端由連接於第一轉錄核苷酸之末端基團組成。其存在對於核糖體識別及保護免受RNA酶作用至關重要。封端添加與轉錄結合，且以輔助轉錄方式進行，使得各自彼此影響。開始轉錄後不久，所合成之mRNA之5'端由與核糖核酸聚合酶有關之封端合成複合物結合。此酶複合物催化mRNA封端所需之化學反應。合成以多步驟生物化學反應形式進行。封端部分可經修飾以調節mRNA之功能性，諸如其轉譯穩定性或效率。

如本文所用，「活體外轉錄RNA」係指已活體外合成之RNA，較佳mRNA。一般而言，活體外轉錄之RNA自活體外轉錄載體產生。活體外轉錄載體包含用於產生活體外轉錄之RNA的模板。

如本文所用，「聚(A)」為藉由聚腺苷酸化連接至mRNA的一連串腺苷。在短暫表現之構築體之較佳實施例中，聚A為50至5000 (SEQ ID NO: 30)，較佳大於64，更佳大於100，最佳大於300或400。聚(A)序列可經化學修飾或酶修飾以調節mRNA功能性，諸如轉譯之位置、穩定性或效率。

如本文所用，「聚腺苷酸化」係指聚腺苷部分或其經修飾之變異體與信使RNA分子共價連接。在真核生物中，大多數信使RNA (mRNA)分子在3'端經聚腺苷酸化。3'聚(A)尾為經由酶(聚腺苷酸化聚合酶)之作用添加至前-mRNA的腺嘌呤核苷酸長序列(通常幾百)。在高級真核生物中，聚(A)尾添加至含有特定序列(聚腺苷酸化信號)之轉

錄物上。聚(A)尾及結合其之蛋白質幫助保護mRNA免於經外切核酸酶降解。聚腺苷酸化對於轉錄封端、mRNA自細胞核輸出及轉譯而言為重要的。聚腺苷酸化在DNA轉錄成RNA之後立即在細胞核中發生，但此外亦可稍後在細胞質中發生。轉錄結束後，mRNA鏈經由與RNA聚合酶有關之核酸內切酶複合物作用而裂解。裂解位點通常特徵為在裂解位點附近存在鹼基序列AAUAAA。mRNA裂解後，腺苷殘基添加至裂解位點之游離3'端。

如本文所用，「短暫」係指表現非整合轉殖基因持續幾小時、幾天或幾週之時段，其中若整合至基因組中或含於宿主細胞中之穩定質體複製子內，則表現時段少於基因表現時段。

如本文所用，術語「治療」係指藉由投與一或多種療法(例如一或多種治療劑，諸如本發明之CAR)減少或改善增生性病症之進展、嚴重程度及/或持續時間，或改善增生性病症的一或多種症狀(較佳一或多種可辨別症狀)。在特定實施例中，術語「治療(treat)」、「治療(treatment)」及「治療(treating)」係指改善增生性病症的至少一個可量測物理參數(諸如腫瘤生長)，無需患者辨別。在其他實施例中，術語「治療(treat)」、「治療(treatment)」及「治療(treating)」係指藉由例如穩定可辨別症狀以物理方式，藉由例如穩定物理參數以生理學方式抑制增生性病症之進展，或其兩者。在其他實施例中，術語「治療(treat)」、「治療(treatment)」及「治療(treating)」係指減小或穩定腫瘤尺寸或癌細胞數。

術語「信號轉導路徑」係指在將信號自細胞之一部分傳輸至細胞之另一部分中起作用的多種信號轉導分子之間的生物化學關係。「細胞表面受體」一詞包括能夠跨越細胞膜接收信號及傳輸信號之分子及分子複合物。

術語「個體」意欲包括可引起免疫反應之活生物體(例如哺乳動

物、人類)。

術語「實質上經純化」細胞係指基本上不含其他細胞類型之細胞。實質上經純化之細胞亦指已與在其天然存在之狀態中通常與其相關聯之其他細胞類型分離之細胞。在一些情況下，實質上經純化之細胞群體係指均質細胞群體。在其他情況下，此術語僅指已與在其天然狀態下與其天然相關聯之細胞分離的細胞。在一些態樣中，該等細胞在活體外培養。在其他態樣中，該等細胞不在活體外培養。

如本文所用之術語「治療(therapeutic)」意謂治療(treatment)。藉由減輕、抑制、緩解或根除疾病病況來獲得治療作用。

如本文所用之術語「預防」意謂疾病或疾病病況之預防性治療或保護性治療。

在本發明之情形下，「腫瘤抗原」或「過度增生性病症抗原」或「與過度增生性病症相關之抗原」係指特定過度增生性病症常見的抗原。在某些態樣中，本發明之過度增生性病症抗原來源於癌症，包括(但不限於)原發性或轉移性黑色素瘤、胸腺瘤、淋巴瘤、肉瘤、肺癌、肝癌、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、白血病、子宮癌、子宮頸癌、膀胱癌、腎癌及腺癌，諸如乳癌、前列腺癌、卵巢癌、胰臟癌及其類似病症。

術語「轉染」或「轉型」或「轉導」係指使外源性核酸轉移或引入宿主細胞中之過程。「轉染」或「轉型」或「轉導」細胞為已經外源性核酸轉染、轉型或轉導的細胞。該細胞包括初級個體細胞及其後代。

術語「特異性結合」係指識別且結合樣品中存在之同源結合搭配物(例如T細胞上存在之刺激及/或共同刺激分子)蛋白質之抗體或配位體，但該抗體或配位體不實質上識別或結合樣品中之其他分子。

如本文所用，「可調控嵌合抗原受體(RCAR)」係指一組多肽，在

最簡單實施例中通常兩個，其在免疫效應細胞中時，向細胞提供針對標靶細胞(通常癌細胞)之特異性，且產生可調控胞內信號。在一些實施例中，RCAR包含至少一個胞外抗原結合結構域、跨膜及胞質信號傳導結構域(在本文中亦稱作「胞內信號傳導結構域」)，在CAR分子之情況下胞質信號傳導結構域包含來源於如本文所定義之刺激分子及/或共同刺激分子之功能性信號傳導結構域。在一些實施例中，RCAR中多肽組不彼此相鄰，例如在不同多肽鏈中。在一些實施例中，RCAR包括二聚開關，其在二聚分子存在時可將多肽彼此偶合，例如可將抗原結合結構域與胞內信號傳導結構域偶合。在一些實施例中，RCAR在如本文所述之細胞(例如免疫效應細胞)，例如表現RCAR之細胞(在本文中亦稱作「RCARX細胞」)中表現。在一實施例中，RCARX細胞為T細胞，且稱為RCART細胞。在一個實施例中，RCARX細胞為NK細胞，且稱為RCARN細胞。RCAR可為表現RCAR之細胞提供對標靶細胞，通常癌細胞之特異性，及可調控之胞內信號產生或增殖，此可最佳化表現RCAR之細胞之免疫效應特性。在實施例中，RCAR細胞至少部分依賴於抗原結合結構域以提供對包含抗原結合結構域所結合之抗原的標靶細胞之特異性。

「膜錨」或「膜繫栓結構域」在該術語在本文中使用時係指足以將胞外或胞內結構域錨定於質膜之多肽或部分(例如肉豆蔻醯基)。

「開關結構域」在該術語在本文中使用時例如當涉及RCAR時係指在二聚分子存在下與另一開關結構域相關聯之實體，通常為基於多肽之實體。該關聯導致連接於(例如稠合於)第一開關結構域之第一實體與連接於(例如稠合於)第二開關結構域之第二實體功能性偶合。第一及第二開關結構域統稱為二聚開關。在實施例中，第一及第二開關結構域彼此相同，例如其為具有相同一級胺基酸序列之多肽且統稱為均二聚開關。在實施例中，第一及第二開關結構域彼此不同，例如其

為具有不同一級胺基酸序列之多肽且統稱為雜二聚開關。在實施例中，開關為胞內的。在實施例中，開關為胞外的。在實施例中，開關結構域為基於多肽(例如基於FKBP或FRB)之實體且二聚分子為小分子，例如雷帕羅吉(rapalogue)。在實施例中，開關結構域為基於多肽之實體，例如結合myc肽之scFv，且該二聚分子為多肽、其片段或多肽之多聚體，例如結合於一或多個myc scFv的myc配位體或myc配位體之多聚體。在實施例中，開關結構域為基於多肽之實體，例如myc受體，且該二聚分子為抗體或其片段，例如myc抗體。

「二聚分子」在該術語在本文中使用時例如當涉及RCAR時係指促進第一開關結構域與第二開關結構域關聯之分子。在實施例中，二聚分子不天然存在於個體中，或不以將導致顯著二聚之濃度存在。在實施例中，二聚分子為小分子，例如雷帕黴素(rapamycin)或雷帕羅吉，例如RAD001。

術語「生物等效」係指產生之作用與參考劑量或參考量之參考化合物(例如RAD001)產生之作用等效的非參考化合物(例如RAD001)之藥劑之量。在一實施例中，該作用為如例如藉由P70 S6激酶抑制所量測，如例如在活體內或活體外分析法中所評估，如例如本文所描述之分析法(例如Boulay分析法)所量測的mTOR抑制水準，或藉由西方墨點法之磷酸化S6含量之量測。在一實施例中，該作用為改變PD-1陽性/PD-1陰性T細胞之比率，如細胞分選所量測。在一實施例中，mTOR抑制劑之生物等效量或劑量為達到與參考化合物之參考劑量或參考量相同水準之P70 S6激酶抑制的量或劑量。在一實施例中，mTOR抑制劑之生物等效量或劑量為實現與參考化合物之參考劑量或參考量相同水準之PD-1陽性/PD-1陰性T細胞之比率改變的量或劑量。

當與例如異位mTOR抑制劑(例如RAD001或雷帕黴素)或催化mTOR抑制劑之mTOR抑制劑一起使用時，術語「低免疫增強劑量」

係指如例如P70 S6激酶活性抑制所量測，部分(而非完全)抑制mTOR活性之mTOR抑制劑之劑量。本文論述例如藉由P70 S6激酶之抑制來評估mTOR活性之方法。該劑量不足以導致完全免疫抑制但足以增強免疫反應。在一實施例中，低免疫增強劑量之mTOR抑制劑使得PD-1陽性T細胞之數目減少及/或PD-1陰性T細胞之數目增加，或PD-1陰性T細胞/PD-1陽性T細胞之比率升高。在一實施例中，低免疫增強劑量之mTOR抑制劑引起原生T細胞之數目增加。在一實施例中，低免疫增強劑量之mTOR抑制劑引起以下中之一或多者：

例如在例如記憶T細胞前驅細胞之記憶T細胞上以下標記物中之一或多者之表現增加：$CD62L^{高}$、$CD127^{高}$、$CD27^{+}$及BCL2；

例如在例如記憶T細胞前驅細胞之記憶T細胞上KLRG1表現減少；及

記憶T細胞前驅細胞之數目增加，該等細胞為例如具有以下特徵中之任一者或組合之細胞：$CD62L^{高}$增加、$CD127^{高}$增加、$CD27^{+}$增加、KLRG1降低及BCL2增加；

其中例如相較於未經治療之個體，上文所述之變化中之任一者例如至少短暫出現。

如本文中所用，「難治性」係指對治療不起反應之疾病，例如癌症。在實施例中，難治性癌症在治療開始前或開始時可對治療具抗性。在其他實施例中，難治性癌症可在治療期間變得具有抗性。難治性癌症亦稱為抗性癌症。

如本文中所用，「復發性(Relapsed)」或「復發(relapse)」係指在改善或反應期之後，例如在例如癌症療法之療法的先前治療之後，疾病(例如癌症)或諸如癌症之疾病的徵象及症狀的再現。舉例而言，反應期可包括癌細胞水準降至某一閾值以下，例如20%、1%、10%、5%、4%、3%、2%或1%以下。再現可包括癌細胞水準上升至某一閾

值以上，例如20%、1%、10%、5%、4%、3%、2%或1%以上。

範圍：在本發明通篇中，本發明之各種態樣可以範圍格式呈現。應理解，範圍格式之描述僅為了方便及簡潔起見且不應解釋為對本發明範疇的死板限制。因此，範圍之描述應視為已特定揭示所有可能的子範圍以及彼範圍內之單個數值。舉例而言，諸如1至6之範圍描述應視為已特定揭示諸如1至3、1至4、1至5、2至4、2至6、3至6等子範圍以及該範圍內之個別數字，例如1、2、2.7、3、4、5、5.3及6。作為另一實例，諸如95%至99%之一致性範圍包括95%、96%、97%、98%或99%之一致性，且包括子範圍，諸如96%至99%、96%至98%、96%至97%、97%至99%、97%至98%及98%至99%之一致性。不管範圍之寬度如何，此均適用。

描述

本文提供使用CLL-1嵌合抗原受體(CAR)治療諸如癌症之疾病的主題組合物及使用方法。

在一個態樣中，本發明提供許多嵌合抗原受體(CAR)，其包含經工程改造以特異性與CLL-1蛋白或其片段結合之抗體或抗體片段。在一個態樣中，本發明提供經工程改造以表現CAR之細胞(例如免疫效應細胞，例如T細胞或NK細胞)，其中CAR T細胞(「CART」)顯示抗腫瘤特性。在一個態樣中，細胞用CAR轉型且CAR構築體之至少一部分表現於細胞表面上。在一些實施例中，細胞(例如免疫效應細胞，例如T細胞或NK細胞)用編碼CAR之病毒載體轉導。在一些實施例中，病毒載體為反轉錄病毒載體。在一些實施例中，病毒載體為慢病毒載體。在一些此類實施例中，細胞可穩定表現CAR。在另一個實施例中，細胞(例如免疫效應細胞，例如T細胞或NK細胞)經編碼CAR之核酸，例如mRNA、cDNA、DNA轉染。在一些此類實施例中，細胞可短暫表現CAR。

在一個態樣中，CAR之人類抗-CLL-1蛋白質結合部分為scFv抗體片段。在一個態樣中，此類抗體片段因為保留等效結合親和力而具有功能，亦即其以相當功效結合與具有相同重鏈及輕鏈可變區之IgG抗體相同之抗原。在一個態樣中，此類抗體片段因為其提供可包括(但不限於)以下如熟習此項技術者將瞭解之生物反應而具有功能：活化免疫反應、抑制自其標靶抗原之信號轉導起源、抑制激酶活性及其類似生物反應。

在一些態樣中，本發明之抗體併入嵌合抗原受體(CAR)中。在一個態樣中，CAR包含本文提供為SEQ ID NO: 91-103之多肽序列。

在一個態樣中，本發明之CAR之抗-CLL-1結合結構域(例如人類scFv)部分藉由序列已針對在哺乳動物細胞中表現經密碼子最佳化之轉殖基因編碼。在一個態樣中，本發明之整個CAR構築體由整個序列已針對在哺乳動物細胞中表現經密碼子最佳化之轉殖基因編碼。密碼子最佳化係指發現同義密碼子(亦即編碼相同胺基酸之密碼子)在編碼DNA中之出現頻率在不同物種中有偏向。此類密碼子簡併允許相同多肽由多種核苷酸序列編碼。多種密碼子最佳化方法為此項技術中已知，且包括例如至少US專利第5,786,464號及第6,114,148號中所揭示之方法。

在一個態樣中，人類CLL-1結合結構域包含SEQ ID NO: 39-51中所提供之scFv部分。在一個實施例中，人類抗-CLL-1結合結構域包含SEQ ID NO: 39中所提供之scFv部分。在一個實施例，人類抗-CLL-1結合結構域包含SEQ ID NO: 40中所提供之scFv部分。在一個實施例中，人類抗-CLL-1結合結構域包含SEQ ID NO: 41中所提供之scFv部分。在一個實施例中，人類抗-CLL-1結合結構域包含SEQ ID NO: 42中所提供之scFv部分。在一個實施例中，人類抗-CLL-1結合結構域包含SEQ ID NO: 43中所提供之scFv部分。在一個實施例中，人類抗-

CLL-1結合結構域包含SEQ ID NO: 44中所提供之scFv部分。在一個實施例中，人類抗-CLL-1結合結構域包含SEQ ID NO: 45中所提供之scFv部分。在一個實施例中，人類抗-CLL-1結合結構域包含SEQ ID NO: 46中所提供之scFv部分。在一個實施例中，人類抗-CLL-1結合結構域包含SEQ ID NO: 47中所提供之scFv部分。在一個實施例中，人類抗-CLL-1結合結構域包含SEQ ID NO: 48中所提供之scFv部分。在一個實施例中，人類抗-CLL-1結合結構域包含SEQ ID NO: 49中所提供之scFv部分。在一個實施例中，人類抗-CLL-1結合結構域包含SEQ ID NO: 50中所提供之scFv部分。在一個實施例中，人類抗-CLL-1結合結構域包含SEQ ID NO: 51中所提供之scFv部分。在一個態樣中，本發明之CAR組合特異性抗體之抗原結合結構域與胞內信號傳導分子。舉例而言，在一些態樣中，胞內信號傳導分子包括(但不限於)CD3-ζ鏈、4-1BB及CD28信號傳導模組及其組合。在一個態樣中，抗原結合結構域結合於CLL-1。在一個態樣中，CLL-1 CAR包含選自SEQ ID NO: 91-103或197中之一或多者中所提供之序列的CAR。在一個態樣中，CLL-1 CAR包含SEQ ID NO: 91中所提供之序列。在一個態樣中，CLL-1 CAR包含SEQ ID NO: 92中所提供之序列。在一個態樣中，CLL-1 CAR包含SEQ ID NO: 93中所提供之序列。在一個態樣中，CLL-1 CAR包含SEQ ID NO: 94中所提供之序列。在一個態樣中，CLL-1 CAR包含SEQ ID NO: 95中所提供之序列。在一個態樣中，CLL-1 CAR包含SEQ ID NO: 96中所提供之序列。在一個態樣中，CLL-1 CAR包含SEQ ID NO: 97中所提供之序列。在一個態樣中，CLL-1 CAR包含SEQ ID NO: 98中所提供之序列。在一個態樣中，CLL-1 CAR包含SEQ ID NO: 99中所提供之序列。在一個態樣中，CLL-1 CAR包含SEQ ID NO: 100中所提供之序列。在一個態樣中，CLL-1 CAR包含SEQ ID NO: 101中所提供之序列。在一個態樣

中，CLL-1 CAR包含SEQ ID NO: 102中所提供之序列。在一個態樣中，CLL-1 CAR包含SEQ ID NO: 103中所提供之序列。在一個態樣中，CLL-1 CAR包含SEQ ID NO: 197中所提供之序列。此外，本發明提供CLL-1 CAR組合物及其於用於在其他疾病中治療涉及表現CLL-1之細胞或組織的癌症或任何惡性疾病或自體免疫疾病之藥劑或方法中的用途。

在一個態樣中，本發明之CAR可用於根除表現CLL-1之正常細胞，因此適用於用作細胞移植前之細胞調整療法。在一個態樣中，表現CLL-1之正常細胞為表現CLL-1之正常幹細胞且細胞移植為幹細胞移植。

在一個態樣中，本發明提供一種細胞(例如免疫效應細胞，例如T細胞或NK細胞)，其經工程改造以表現本發明之嵌合抗原受體(CAR)，其中細胞(例如表現CAR之免疫效應細胞，例如CAR T細胞，例如「CART」)呈現抗腫瘤特性。一種較佳抗原為CLL-1。在一個態樣中，CAR之抗原結合結構域包含人類抗-CLL-1抗體片段。在一個態樣中，CAR之抗原結合結構域包含含有scFv之人類抗-CLL-1抗體片段。在一個實施例中，CAR之抗原結合結構域包含人類抗-CLL-1 scFv。因此，本發明提供一種CLL-1-CAR，其包含抗-CLL-1結合結構域且經工程改造至免疫效應細胞，例如T細胞或NK細胞；及其用於過繼療法之使用方法。在一個態樣中，CLL-1-CAR包含人類抗-CLL-1結合結構域。

在一個態樣中，CLL-1-CAR包含選自CD137 (4-1BB)信號傳導結構域、CD28信號傳導結構域、CD3ζ信號傳導結構域及其任何組合之群的至少一個胞內結構域。在一個態樣中，CLL-1-CAR包含至少一個來自除CD137 (4-1BB)或CD28外之一或多個共同刺激分子的胞內信號傳導結構域。

嵌合抗原受體(CAR)

本發明提供一種CAR (例如CAR多肽)，其包含抗-CLL-1結合結構域(例如如本文所述之人類或人類化CLL-1結合結構域)、跨膜結構域及胞內信號傳導結構域，且其中該抗-CLL-1結合結構域包含表2中所列之任何抗-CLL-1重鏈結合結構域胺基酸序列的重鏈互補決定區1 (HC CDR1)、重鏈互補決定區2 (HC CDR2)及重鏈互補決定區3 (HC CDR3)。CAR之抗-CLL-1結合結構域可進一步包含表2中所列之任何抗-CLL-1輕鏈結合結構域胺基酸序列的輕鏈互補決定區1 (LC CDR1)、輕鏈互補決定區2 (LC CDR2)及輕鏈互補決定區3 (LC CDR3)。

本發明亦提供核酸分子，其編碼如本文所述之CAR，例如編碼包含抗-CLL-1結合結構域(例如如本文所述之人類或人類化CLL-1結合結構域)、跨膜結構域及胞內信號傳導結構域的CAR，且其中該抗-CLL-1結合結構域包含表2中所列之任何抗-CLL-1重鏈結合結構域胺基酸序列的重鏈互補決定區1 (HC CDR1)、重鏈互補決定區2 (HC CDR2)及重鏈互補決定區3 (HC CDR3)。

在一個實施例中，CAR之經編碼之抗-CLL-1結合結構域可進一步包含表2中所列之任何抗-CLL-1輕鏈結合結構域胺基酸序列的輕鏈互補決定區1 (LC CDR1)、輕鏈互補決定區2 (LC CDR2)及輕鏈互補決定區3 (LC CDR3)。

在特定態樣中，本發明之CAR構築體包含選自由SEQ ID NO: 39-51組成之群的scFv結構域，其中scFv前面可為視情況存在之諸如SEQ ID NO: 1中所提供之前導序列，且接著為視情況存在之諸如SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 3或SEQ ID NO: 4或SEQ ID NO: 5中所提供之鉸鏈序列、諸如SEQ ID NO: 6中所提供之跨膜區、包括SEQ ID NO: 7或SEQ ID NO: 8之胞內信號傳導結構域及包括SEQ ID NO: 9或SEQ ID

NO: 10之CD3ζ序列，例如其中該等結構域相鄰且在相同閱讀框架中以形成單一融合蛋白。本發明亦包括一種核苷酸序列，其編碼選自由SEQ ID NO: 39-51組成之群的各scFv片段之多肽。本發明亦包括一種核苷酸序列，其編碼選自由SEQ ID NO: 39-51組成之群的各scFv片段之多肽，及SEQ ID NO: 1、2及6-9之各結構域。在一個態樣中，例示性CLL-1 CAR構築體包含視情況存在之前導序列、胞外抗原結合結構域、鉸鏈、跨膜結構域及胞內刺激結構域。在一個態樣中，例示性CLL-1 CAR構築體包含視情況存在之前導序列、胞外抗原結合結構域、鉸鏈、跨膜結構域、胞內共同刺激結構域及胞內刺激結構域。

在一些實施例中，全長CAR序列亦在本文提供為如表2中所示之SEQ ID NO: 91-103。

一例示性前導序列提供為SEQ ID NO: 1。一例示性鉸鏈/間隔序列提供為SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 3或SEQ ID NO: 4或SEQ ID NO: 5。一例示性跨膜結構域序列提供為SEQ ID NO: 6。4-1BB蛋白質之胞內信號傳導結構域之一例示性序列提供為SEQ ID NO: 7。CD27之胞內信號傳導結構域之一例示性序列提供為SEQ ID NO: 8。一例示性CD3ζ結構域序列提供為SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10。

在一個態樣中，本發明涵蓋一種包含編碼CAR之核酸分子的重組核酸構築體，其中該核酸分子包含編碼例如本文所述之CLL-1結合結構域的核酸序列，例如其與編碼胞內信號傳導結構域之核酸序列鄰接且在相同閱讀框架中。在一個態樣中，CLL-1結合結構域係選自SEQ ID NO: 39-51中之一或多者。在一個實施例中，CLL-1結合結構域包含SEQ ID NO: 39。在一個實施例中，CLL-1結合結構域包含SEQ ID NO: 40。在一個實施例中，CLL-1結合結構域包含SEQ ID NO: 41。在一個實施例中，CLL-1結合結構域包含SEQ ID NO: 42。在一個實施例中，CLL-1結合結構域包含SEQ ID NO: 43。在一個實施例中，

CLL-1結合結構域包含SEQ ID NO: 44。在一個實施例中，CLL-1結合結構域包含SEQ ID NO: 45。在一個實施例中，CLL-1結合結構域包含SEQ ID NO: 46。在一個實施例中，CLL-1結合結構域包含SEQ ID NO: 47。在一個實施例中，CLL-1結合結構域包含SEQ ID NO: 48。在一個實施例中，CLL-1結合結構域包含SEQ ID NO: 49。在一個實施例中，CLL-1結合結構域包含SEQ ID NO: 50。在一個實施例中，CLL-1結合結構域包含SEQ ID NO: 51。

在一個態樣中，本發明涵蓋一種重組核酸構築體，其包含編碼CAR之轉殖基因，其中該核酸分子包含編碼選自SEQ ID NO: 39-51中之一或多者的抗-CLL-1結合結構域之核酸序列，例如其中序列與編碼胞內信號傳導結構域之核酸序列相鄰且在相同閱讀框架中。可用於CAR中之一例示性胞內信號傳導結構域包括(但不限於)例如CD3-ζ、CD28、4-1BB及其類似物的一或多個胞內信號傳導結構域。在一些情況下，CAR可包含CD3-ζ、CD28、4-1BB及其類似物的任何組合。在一個態樣中，本發明之CAR構築體之核酸序列係選自SEQ ID NO: 104-116或198中之一或多者。在一個態樣中，CAR構築體之核酸序列為SEQ ID NO: 104。在一個態樣中，CAR構築體之核酸序列為SEQ ID NO: 105。在一個態樣中，CAR構築體之核酸序列為SEQ ID NO: 106。在一個態樣中，CAR構築體之核酸序列為SEQ ID NO: 107。在一個態樣中，CAR構築體之核酸序列為SEQ ID NO: 108。在一個態樣中，CAR構築體之核酸序列為SEQ ID NO: 109。在一個態樣中，CAR構築體之核酸序列為SEQ ID NO: 110。在一個態樣中，CAR構築體之核酸序列為SEQ ID NO: 111。在一個態樣中，CAR構築體之核酸序列為SEQ ID NO: 112。在一個態樣中，CAR構築體之核酸序列為SEQ ID NO: 113。在一個態樣中，CAR構築體之核酸序列為SEQ ID NO: 114。在一個態樣中，CAR構築體之核酸序列為SEQ ID NO: 115。在

一個態樣中，CAR構築體之核酸序列為SEQ ID NO: 116。在一個態樣中，CAR構築體之核酸序列為SEQ ID NO: 198。編碼所需分子之核酸序列可使用此項技術中已知之重組方法獲得，諸如藉由使用標準技術，自表現基因之細胞篩選庫、自已知包括基因之載體獲得基因或自含有基因之細胞及組織直接分離。或者，相關核酸可以合成方式產生而非選殖。

本發明包括表現可直接轉導至細胞中之CAR的反轉錄病毒及慢病毒載體構築體。

本發明亦包括可直接轉染至細胞中之RNA構築體。產生用於轉染之mRNA之方法涉及用專門設計之引子活體外轉錄(IVT)模板，隨後添加聚A，產生含有3'及5'未轉譯序列(「UTR」)、5'封端及/或內部核糖體入口位點(IRES)、待表現之核酸及長度通常50-2000個鹼基之聚A尾(SEQ ID NO: 35)的構築體。所產生之RNA可有效轉染不同種類之細胞。在一個實施例中，模板包括CAR之序列。在一個實施例中，RNA CAR載體藉由電穿孔法轉導至T細胞。

抗原結合結構域

本發明之CAR包含標靶特異性結合結構域。部分之選擇視界定標靶細胞之表面的配位體類型及數目而定。舉例而言，可選擇抗原結合結構域來識別在與特定疾病病況相關之標靶細胞上充當細胞表面標記物之配位體。因此，可用作本發明之CAR中抗原結合結構域之配位體的細胞表面標記物之實例包括與病毒、細菌及寄生蟲感染、自體免疫疾病及癌細胞相關之細胞表面標記物。

在一個態樣中，CAR介導之T細胞反應可藉助於將特異性結合所需抗原之抗原結合結構域工程改造至CAR中來針對相關抗原。

在一個態樣中，本發明之CAR包含特異性結合CLL-1之結合結構域。在一個態樣中，抗原結合結構域特異性結合人類CLL-1。

抗原結合結構域可為任何結構域，其結合於抗原，包括(但不限於)單株抗體、多株抗體、重組抗體、人類抗體、人類化抗體及其功能性片段，包括(但不限於)單域抗體，諸如重鏈可變結構域(VH)、輕鏈可變結構域(VL)及駱駝科衍生之奈米抗體之可變結構域(VHH)；及結合於此項技術中已知之替代骨架以充當抗原結合結構域，諸如重組纖維結合蛋白結構域及其類似物。在一些情況下，抗原結合結構域宜來源於將最終使用CAR之相同物種。舉例而言，為用於人類，CAR之抗原結合結構域宜包含人類或人類化殘基用於抗體或抗體片段之抗原結合結構域。

在一些情況下，抗原結合結構域宜來源於將最終使用CAR之相同物種。舉例而言，為用於人類，CAR之抗原結合結構域宜包含抗體或抗體片段之抗原結合結構域的人類或人類化殘基。因此，在一個態樣中，抗原結合結構域包含人類抗體或抗體片段。

因此，在一個態樣中，抗原結合結構域包含人類抗體或抗體片段。在一個實施例中，人類抗-CLL-1結合結構域包含本文所述之人類抗-CLL-1結合結構域之一或多個(例如全部三個)輕鏈互補決定區1 (LC CDR1)、輕鏈互補決定區2 (LC CDR2)及輕鏈互補決定區3 (LC CDR3)，及/或本文所述之人類抗-CLL-1結合結構域之一或多個(例如全部三個)重鏈互補決定區1 (HC CDR1)、重鏈互補決定區2 (HC CDR2)及重鏈互補決定區3 (HC CDR3)，例如包含一或多個，例如全部三個LC CDR及一或多個，例如全部三個HC CDR之人類抗-CLL-1結合結構域。在一個實施例中，人類抗-CLL-1結合結構域包含本文所述之人類抗-CLL-1結合結構域之一或多個(例如全部三個)重鏈互補決定區1 (HC CDR1)、重鏈互補決定區2 (HC CDR2)及重鏈互補決定區3 (HC CDR3)，例如人類抗-CLL-1結合結構域具有兩個可變重鏈區，每個可變重鏈區包含本文所述之HC CDR1、HC CDR2及HC CDR3。在

一個實施例中，人類抗-CLL-1結合結構域包含本文所述之人類輕鏈可變區(例如表4中)及/或本文所述之人類重鏈可變區(例如表3中)。在一個實施例中，人類抗-CLL-1結合結構域包含本文所述之人類重鏈可變區(例如表3中)，例如至少兩個本文所述之人類重鏈可變區(例如表3中)。在一個實施例中，抗-CLL-1結合結構域為包含表4之胺基酸序列之輕鏈及重鏈的scFv。在一個實施例中，抗-CLL-1結合結構域(例如scFv)包含：包含具有對表4中所提供之輕鏈可變區之胺基酸序列的至少一個、兩個或三個修飾(例如取代，例如保守取代)但不超過30個、20個或10個修飾(例如取代，例如保守取代)之胺基酸序列或與表4之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列的輕鏈可變區；及/或包含具有對表3中所提供之重鏈可變區之胺基酸序列的至少一個、兩個或三個修飾(例如取代，例如保守取代)但不超過30個、20個或10個修飾(例如取代，例如保守取代)之胺基酸序列或與表3之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列的重鏈可變區。在一個實施例中，人類抗-CLL-1結合結構域包含選自由SEQ ID NO: 39-51組成之群的序列，或與其具有95%-99%一致性之序列。在一個實施例中，編碼人類抗-CLL-1結合結構域之核酸序列包含選自由SEQ ID NO: 52-64組成之群的序列，或與其具有95%-99%一致性之序列。在一個實施例中，人類抗-CLL-1結合結構域為scFv，且包含本文所述之胺基酸序列(例如表2中)的輕鏈可變區經由連接子(例如本文所述之連接子)附接至包含本文所述之胺基酸序列(例如表2中)的重鏈可變區。在一個實施例中，人類抗-CLL-1結合結構域包括$(Gly_4\text{-}Ser)_n$連接子，其中n為1、2、3、4、5或6，較佳為3或4 (SEQ ID NO: 26)。scFv之輕鏈可變區及重鏈可變區可例如呈以下取向中之任一者：輕鏈可變區-連接子-重鏈可變區或重鏈可變區-連接子-輕鏈可變區。

在一個態樣中，抗原結合結構域部分包含一或多個選自SEQ ID

NO: 39-41之序列。在一個態樣中，CAR係選自一或多個選自SEQ ID NO: 91-103或197之序列。

在一個態樣中，抗-CLL-1結合結構域之特徵為抗體或抗體片段之特定功能特徵或特性。舉例而言，在一個態樣中，包含抗原結合結構域的本發明之CAR組合物之部分特異性結合人類CLL-1。

在一個態樣中，本發明係關於一種包含抗體或抗體片段之抗原結合結構域，其中抗體結合結構域特異性結合於CLL-1蛋白質或其片段，其中抗體或抗體片段包含包括39-51之胺基酸序列的可變輕鏈及/或可變重鏈。在一個態樣中，抗原結合結構域包含選自SEQ ID NO: 39-51之scFv之胺基酸序列。在某些態樣中，scFv與前導序列相鄰且在相同閱讀框架中。在一個態樣中，前導序列為提供為SEQ ID NO: 1之多肽序列。

在一個態樣中，人類抗-CLL-1結合結構域為片段，例如單鏈可變片段(scFv)。在一個態樣中，人類抗-CLL-1結合結構域為Fv、Fab、(Fab')2或雙功能(例如雙特異性)雜交抗體(例如Lanzavecchia等人, Eur. J. Immunol. 17, 105 (1987))。在一個態樣中，本發明之抗體及其片段以野生型或增強之親和力結合CLL-1蛋白質或其片段。

在一些情況下，人類scFv來源於展現庫。展現庫為一批實體；各實體包括可及多肽組分及編碼或鑑別多肽組分之可回收組分。多肽組分為變化的，從而表示不同胺基酸序列。多肽組分可為任何長度，例如三個胺基酸至超過300個胺基酸。展現庫實體可包括一種以上多肽組分，例如Fab之兩條多肽鏈。在一個例示性實施例中，展現庫可用於鑑別人類CLL-1結合結構域。在選擇時，將文庫各成員之多肽組分用CLL-1或其片段探測，且若多肽組分結合於CLL-1，則通常藉由保留在支撐物上來鑑別展現庫成員。

自支撐物回收保留之展現庫成員且進行分析。分析可包括擴增

及隨後在類似或相異條件下選擇。舉例而言，陽性及陰性選擇可交替進行。分析亦可包括測定多肽組分(亦即CLL-1結合結構域)之胺基酸序列，及純化多肽組分以供具體表徵。

展現庫可使用多種格式。實例包括噬菌體展現。在噬菌體展現中，蛋白質組分通常共價連接於噬菌體外殼蛋白質。由轉譯編碼與外殼蛋白質融合之蛋白質組分的核酸產生鍵聯。鍵聯可包括可撓性肽連接子、蛋白酶位點或因抑制終止密碼子而併入之胺基酸。噬菌體展現描述例如於U.S. 5,223,409；Smith (1985) *Science* 228:1315-1317；WO 92/18619；WO 91/17271；WO 92/20791；WO 92/15679；WO 93/01288；WO 92/01047；WO 92/09690；WO 90/02809；de Haard等人 (1999) *J. Biol. Chem* 274:18218-30；Hoogenboom 等人 (1998) *Immunotechnology* 4:1-20；Hoogenboom等人 (2000) *Immunol Today* 2:371-8及Hoet等人(2005) *Nat Biotechnol.* 23(3)344-8中。展現蛋白質組分之噬菌體可使用標準噬菌體製備方法(例如自生長培養基進行PEG沈澱)生長及收穫。選擇個別展現噬菌體之後，可在擴增後自感染所選噬菌體之細胞或自噬菌體本身分離編碼所選蛋白質組分之核酸。可挑選個別菌落或斑塊，分離核酸且測序。

其他展現格式包括基於細胞之展現(參見例如WO 03/029456)、蛋白質-核酸融合物(參見例如US 6,207,446)、核糖體展現(參見例如Mattheakis等人 (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:9022及Hanes等人 (2000) *Nat Biotechnol.* 18:1287-92；Hanes等人 (2000) *Methods Enzymol.* 328:404-30；及Schaffitzel等人 (1999) *J Immunol Methods.* 231(1-2):119-35)，及大腸桿菌周質展現(2005年11月22日;PMID: 16337958)。

在一些情況下，scFv可根據此項技術中已知之方法(參見例如Bird等人, (1988) Science 242:423-426及Huston等人, (1988) Proc. Natl.

Acad. Sci. USA 85:5879-5883)製備。可藉由使用可撓性多肽連接子將VH及VL區連接在一起產生ScFv分子。scFv分子包含具有最佳化長度及/或胺基酸組成之連接子(例如Ser-Gly連接子)。連接子長度可極大地影響scFv可變區之摺疊及相互作用的方式。實際上，若採用短的多肽連接子(例如5-10個胺基酸)，則防止鏈內摺疊。亦需要鏈間摺疊以使兩個可變區一起形成功能性抗原決定基結合位點。關於連接子取向及尺寸之實例，參見例如Hollinger等人 1993 Proc Natl Acad. Sci. U.S.A. 90:6444-6448；美國專利申請公開案第2005/0100543號、第2005/0175606號、第2007/0014794號及PCT公開案第WO2006/020258號及第WO2007/024715號，以引用的方式併入本文中。

scFv可在其VL及VH區之間包含至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50個或50個以上胺基酸殘基的連接子。連接子序列可包含任何天然存在之胺基酸。在一些實施例中，連接子序列包含胺基酸甘胺酸及絲胺酸。在另一實施例中，連接子序列包含甘胺酸及絲胺酸重複單元組，諸如$(Gly_4Ser)_n$，其中n為等於或大於1之正整數(SEQ ID NO: 25)。在一個實施例中，連接子可為$(Gly_4Ser)_4$ (SEQ ID NO: 27)或$(Gly_4Ser)_3$ (SEQ ID NO: 28)。連接子長度之變化可保留或提高活性，在活性研究中產生優良功效。

例示性人類CLL-1 CAR構築體及抗原結合結構域

本文中揭示之例示性CLL-1 CAR構築體包含scFv (例如如本文中表2中所揭示之人類scFv)，視情況前面有視情況存在之前導序列(例如例示性前導胺基酸及核苷酸序列分別為SEQ ID NO: 1及SEQ ID NO: 12)。人類scFv片段之序列(SEQ ID NO: 39-51之胺基酸序列，及SEQ ID NO: 52-64之核苷酸序列)提供於本文中之表2中。CLL-1 CAR構築體可進一步包括視情況存在之鉸鏈結構域，例如CD8鉸鏈結構域(例

如包括SEQ ID NO: 2之胺基酸序列或藉由SEQ ID NO: 13之核酸序列編碼)；跨膜結構域，例如CD8跨膜結構域(例如包括SEQ ID NO: 6之胺基酸序列或藉由SEQ ID NO: 17之核苷酸序列編碼)；胞內結構域，例如4-1BB胞內結構域(例如包括SEQ ID NO: 7之胺基酸序列或藉由SEQ ID NO: 18之核苷酸序列編碼)；以及功能性信號傳導結構域，例如CD3ζ結構域(例如包括SEQ ID NO: 9或10之胺基酸序列，或藉由SEQ ID NO: 20或21之核苷酸序列編碼)。在某些實施例中，結構域相鄰且在相同閱讀框架中以形成單一融合蛋白。在其他實施例中，結構域在分開多肽中，例如如本文所述之RCAR分子中。

在某些實施例中，全長CLL-1 CAR分子包括表2中所提供之CLL-1 CAR-1、CLL-1 CAR-2、CLL-1 CAR-3、CLL-1 CAR-4、CLL-1 CAR-5、CLL-1 CAR-6、CL-L1 CAR-7、CLL-1 CAR-8、CLL-1 CAR-9、CLL-1 CAR-10、CLL-1 CAR-11、CLL-1 CAR-12、CLL-1 CAR-13、181268之胺基酸序列或與其實質上(例如95%-99%)一致之序列或藉由CLL-1 CAR-1、CLL-1 CAR-2、CLL-1 CAR-3、CLL-1 CAR-4、CLL-1 CAR-5、CLL-1 CAR-6、CL-L1 CAR-7、CLL-1 CAR-8、CLL-1 CAR-9、CLL-1 CAR-10、CLL-1 CAR-11、CLL-1 CAR-12、CLL-1 CAR-13、181268之核苷酸序列或與其實質上(例如95%-99%)一致之序列編碼。

在某些實施例中，CLL-1 CAR分子或抗-CLL-1抗原結合結構域包括表2中所提供之CLL-1 CAR-1、CLL-1 CAR-2、CLL-1 CAR-3、CLL-1 CAR-4、CLL-1 CAR-5、CLL-1 CAR-6、CL-L1 CAR-7、CLL-1 CAR-8、CLL-1 CAR-9、CLL-1 CAR-10、CLL-1 CAR-11、CLL-1 CAR-12、CLL-1 CAR-13、181268之scFv胺基酸序列；或包括CLL-1 CAR-1、CLL-1 CAR-2、CLL-1 CAR-3、CLL-1 CAR-4、CLL-1 CAR-5、CLL-1 CAR-6、CL-L1 CAR-7、CLL-1 CAR-8、CLL-1 CAR-9、

CLL-1 CAR-10、CLL-1 CAR-11、CLL-1 CAR-12、CLL-1 CAR-13、181268之scFv胺基酸序列，或與任一前述序列實質上一致(例如95%-99%一致，或至多20、15、10、8、6、5、4、3、2或1個胺基酸變化，例如取代(例如保守取代))之序列，或由CLL-1 CAR-1、CLL-1 CAR-2、CLL-1 CAR-3、CLL-1 CAR-4、CLL-1 CAR-5、CLL-1 CAR-6、CL-L1 CAR-7、CLL-1 CAR-8、CLL-1 CAR-9、CLL-1 CAR-10、CLL-1 CAR-11、CLL-1 CAR-12、CLL-1 CAR-13、181268之核苷酸序列或與任一前述序列實質上一致(例如95%-99%一致，或至多20、15、10、8、6、5、4、3、2或1個胺基酸變化，例如取代(例如保守取代))之序列編碼。

在某些實施例中，CLL-1 CAR分子或抗-CLL-1抗原結合結構域包括表2中所提供之CLL-1 CAR-1、CLL-1 CAR-2、CLL-1 CAR-3、CLL-1 CAR-4、CLL-1 CAR-5、CLL-1 CAR-6、CL-L1 CAR-7、CLL-1 CAR-8、CLL-1 CAR-9、CLL-1 CAR-10、CLL-1 CAR-11、CLL-1 CAR-12、CLL-1 CAR-13、181268之重鏈可變區及/或輕鏈可變區，或與任一前述序列實質上一致(例如95%-99%一致，或至多20、15、10、8、6、5、4、3、2或1個胺基酸變化，例如取代(例如保守取代))之序列。

在某些實施例中，CLL-1 CAR分子或抗-CLL-1抗原結合結構域包括來自表3中所提供之重鏈可變區之一個、兩個或三個CDR (例如HC CDR1、HC CDR2及/或HC CDR3)；及/或來自表4中所提供之CLL-1 CAR-1、CLL-1 CAR-2、CLL-1 CAR-3、CLL-1 CAR-4、CLL-1 CAR-5、CLL-1 CAR-6、CL-L1 CAR-7、CLL-1 CAR-8、CLL-1 CAR-9、CLL-1 CAR-10、CLL-1 CAR-11、CLL-1 CAR-12、CLL-1 CAR-13、181268的輕鏈可變區之一個、兩個或三個CDR (例如LC CDR1、LC CDR2及/或LC CDR3)；或與任一前述序列實質上一致(例如95%-

99%一致，或至多5、4、3、2或1個胺基酸變化，例如取代(例如保守取代))之序列。

在某些實施例中，CLL-1 CAR分子或抗-CLL-1抗原結合結構域包括來自表5中所提供之重鏈可變區之一個、兩個或三個CDR (例如HC CDR1、HC CDR2及/或HC CDR3)；及/或來自表6中所提供之CLL-1 CAR-1、CLL-1 CAR-2、CLL-1 CAR-3、CLL-1 CAR-4、CLL-1 CAR-5、CLL-1 CAR-6、CL-L1 CAR-7、CLL-1 CAR-8、CLL-1 CAR-9、CLL-1 CAR-10、CLL-1 CAR-11、CLL-1 CAR-12、CLL-1 CAR-13、181268的輕鏈可變區之一個、兩個或三個CDR (例如LC CDR1、LC CDR2及/或LC CDR3)；或與任一前述序列實質上一致(例如95%-99%一致，或至多5、4、3、2或1個胺基酸變化，例如取代(例如保守取代))之序列。

在某些實施例中，CLL-1 CAR分子或抗-CLL-1抗原結合結構域包括來自表7中所提供之重鏈可變區之一個、兩個或三個CDR (例如HC CDR1、HC CDR2及/或HC CDR3)；及/或來自表8中所提供之CLL-1 CAR-1、CLL-1 CAR-2、CLL-1 CAR-3、CLL-1 CAR-4、CLL-1 CAR-5、CLL-1 CAR-6、CL-L1 CAR-7、CLL-1 CAR-8、CLL-1 CAR-9、CLL-1 CAR-10、CLL-1 CAR-11、CLL-1 CAR-12、CLL-1 CAR-13、181268的輕鏈可變區之一個、兩個或三個CDR (例如LC CDR1、LC CDR2及/或LC CDR3)；或與任一前述序列實質上一致(例如95%-99%一致，或至多5、4、3、2或1個胺基酸變化，例如取代(例如保守取代))之序列。

scFv結構域關於重鏈可變結構域之人類化CDR序列之序列展示於表3、5及7中，且關於輕鏈可變結構域，展示於表4、6及8中。「ID」代表各CDR之相應SEQ ID NO。

表3及4中提供之CDR係根據Kabat與Chothia編號方案之組合。

表3. 重鏈可變結構域CDR

候選序列	HCDR1	ID	HCDR2	ID	HCDR3	ID
CLL-1 CAR 9	ANTFSDHVMH	125	YIHAANGGTHYSQKFQD	138	GGYNSDAFDI	151
CLL-1 CAR 6	GGSFSGYYWS	122	EINHSGSTNYNPSLKS	135	GSGLVVYAIRVGSGWFDY	148
CLL-1 CAR 10	GFTFSSYSMN	126	YISSSSSTIYYADSVKG	139	DLSVRAIDAFDI	152
CLL-1 CAR 11	GFTFNSYGLH	127	LIEYDGSNKYYGDSVKG	140	EGNEDLAFDI	153
CLL-1 CAR 12	GFNVSSNYMT	128	VIYSGGATYYGDSVKG	141	DRLYCGNNCYLYYYYGMDV	154
CLL-1 CAR 1	GGTFSSYAIS	117	GIIPIFGTANYAQKFQ	130	DLEMATIMGGY	143
CLL-1 CAR 2	GFTFDDYAMH	118	LISGDGGSTYYADSVKG	131	VFDSYYMDV	144
CLL-1 CAR 3	GGSISSSSYYWG	119	SIYYSGSTYYNPSLKS	132	PGTYYDFLSGYYPFY	145
CLL-1 CAR 4	GFTFSSYWMS	120	NINEDGSAKFYVDSVKG	133	DLRSGRY	146
CLL-1 CAR 5	GGPVRSGSHYWN	121	YIYYSGSTNYNPSLEN	134	GTATFDWNFPFDS	147
CLL-1 CAR 7	GFTFSSYSMN	123	SISSSSSYIYYADSVKG	136	DPSSSGSYYMEDSYYYGMDV	149
CLL-1 CAR 8	GFTFSSYEMN	124	YISSSGSTIYYADSVKG	137	EALGSSWE	150
CLL-1 CAR 13	GYPFTGYYIQ	129	WIDPNSGNTGYAQKFQG	142	DSYGYYYGMDV	155
181268	GFTFSSYEMN	199	YISSSGSTIYYADSVKG	200	DPYSSSWHDAFDI	201

表4.輕鏈可變結構域CDR

候選序列	LCDR1	ID	LCDR2	ID	LCDR3	ID
CLL-1 CAR 9	RASQDISSWLA	164	AASSLQS	177	QQSYSTPLT	190
CLL-1 CAR 6	RASQSISSYLN	161	AASSLQS	174	QQSYSTPPWT	187
CLL-1 CAR 10	QASQDISNYLN	165	DASNLET	178	QQAYSTPFT	191
CLL-1 CAR 11	QASQFIKKNLN	166	DASSLQT	179	QQHDNLPLT	192
CLL-1 CAR 12	RASQSISSYLN	167	AASSLQS	180	QQSYSTPPLT	193
CLL-1 CAR 1	TGTSSDVGGYNYVS	156	DVSNRPS	169	SSYTSSSTLDVV	182
CLL-1 CAR 2	RSSQSLVYTDGNTYLN	157	KVSNRDS	170	MQGTHWSFT	183
CLL-1 CAR 3	RASQGISSYLA	158	AASTLQS	171	QQLNSYPYT	184
CLL-1 CAR 4	RASQSISGSFLA	159	GASSRAT	172	QQYGSSPPT	185
CLL-1 CAR 5	RASQSISSYLN	160	AASSLQS	173	QQSYSTPWT	186
CLL-1 CAR 7	TGSSGSIASNYVQ	162	EDNQRPS	175	QSYDSSNQVV	188
CLL-1 CAR 8	QASQDISNYLN	163	DASNLET	176	QQYDNLPLT	189
CLL-1 CAR 13	RASQGISSALA	168	DASSLES	181	QQFNNYPLT	194
181268	RASQSVSSSYLA	202	GASSRAT	203	QQYGSSPLT	204

表5：根據Kabat編號方案(Kabat等人(1991), 「Sequences of Proteins of Immunological Interest,」 第5版 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD)之重鏈可變結構域CDR

候選序列	**HCDR1**	**ID**	**HCDR2**	**ID**	**HCDR3**	**ID**
146259-CLL-1-CAR9	DHVMH	322	YIHAANGGTHYSQKFQD	336	GGYNSDAFDI	350
139119-CLL-1-CAR6	GYYWS	319	EINHSGSTNYNPSLKS	333	GSGLVVYAIRVGSGWFDY	347
146261-CLL-1-CAR10	SYSMN	323	YISSSSSTIYYADSVKG	337	DLSVRAIDAFDI	351
146262-CLL-1-CAR11	SYGLH	324	LIEYDGSNKYYGDSVKG	338	EGNEDLAFDI	352
146263-CLL-1-CAR12	SNYMT	325	VIYSGGATYYGDSVKG	339	DRLYCGNNCYLYYYYGMDV	353
139115-	SYAIS	314	GIIPIFGTANYAQKFQ	328	DLEMATIMGGY	342

CLL-1-CAR1			G			
139116-CLL-1-CAR2	DYAMH	315	LISGDGGSTYYADSVKG	329	VFDSYYMDV	343
139118-CLL-1-CAR3	SSSYYWG	316	SIYYSGSTYYNPSLKS	330	PGTYYDFLSGYYPFY	344
139122-CLL-1-CAR4	SYWMS	317	NINEDGSAKFYVDSVKG	331	DLRSGRY	345
139117-CLL-1-CAR5	SGSHYWN	318	YIYYSGSTNYNPSLEN	332	GTATFDWNFPFDS	346
139120-CLL-1-CAR7	SYSMN	320	SISSSSSYIYYADSVKG	334	DPSSSGSYYMEDSYYYGMDV	348
139121-CLL-1-CAR8	SYEMN	321	YISSSGSTIYYADSVKG	335	EALGSSWE	349
146264-CLL-1-CAR13	GYYIQ	326	WIDPNSGNTGYAQKFQG	340	DSYGYYYGMDV	354
181268	SYEMN	327	YISSSGSTIYYADSVKG	341	DPYSSSWHDAFDI	355

表6：根據Kabat編號方案(Kabat等人 (1991), 「Sequences of Proteins of Immunological Interest,」 第5版 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD)之輕鏈可變結構域CDR

候選序列	**LCDR1**	**ID**	**LCDR2**	**ID**	**LCDR3**	**ID**
146259-CLL-1-CAR9	RASQDISSWLA	364	AASSLQS	378	QQSYSTPLT	392
139119-CLL-1-CAR6	RASQSISSYLN	361	AASSLQS	375	QQSYSTPPWT	389
146261-CLL-1-CAR10	QASQDISNYLN	365	DASNLET	379	QQAYSTPFT	393
146262-CLL-1-CAR11	QASQFIKKNLN	366	DASSLQT	380	QQHDNLPLT	394
146263-CLL-1-CAR12	RASQSISSYLN	367	AASSLQS	381	QQSYSTPPLT	395
139115-CLL-1-CAR1	TGTSSDVGGYNYVS	356	DVSNRPS	370	SSYTSSSTLDVV	384
139116-CLL-1-CAR2	RSSQSLVYTDGNTYLN	357	KVSNRDS	371	MQGTHWSFT	385
139118-CLL-1-CAR3	RASQGISSYLA	358	AASTLQS	372	QQLNSYPYT	386
139122-CLL-1-CAR4	RASQSISGSFLA	359	GASSRAT	373	QQYGSSPPT	387
139117-CLL-1-CAR5	RASQSISSYLN	360	AASSLQS	374	QQSYSTPWT	388
139120-CLL-1-CAR7	TGSSGSIASNYVQ	362	EDNQRPS	376	QSYDSSNQVV	390
139121-CLL-1-CAR8	QASQDISNYLN	363	DASNLET	377	QQYDNLPLT	391
146264-CLL-1-CAR13	RASQGISSALA	368	DASSLES	382	QQFNNYPLT	396
181268	RASQSVSSSYLA	369	GASSRAT	383	QQYGSSPLT	397

表7：根據Chothia編號方案(Al-Lazikani等人, (1997) JMB 273,927-

948)之重鏈可變結構域CDR

候選序列	HCDR1	ID	HCDR2	ID	HCDR3	ID
146259-CLL-1-CAR9	ANTFSDH	406	HAANGG	420	GGYNSDAFDI	434
139119-CLL-1-CAR6	GGSFSGY	403	NHSGS	417	GSGLVVYAIRVGSGWFDY	431
146261-CLL-1-CAR10	GFTFSSY	407	SSSSST	421	DLSVRAIDAFDI	435
146262-CLL-1-CAR11	GFTFNSY	408	EYDGSN	422	EGNEDLAFDI	436
146263-CLL-1-CAR12	GFNVSSN	409	YSGGA	423	DRLYCGNNCYLYYYYGMDV	437
139115-CLL-1-CAR1	GGTFSSY	398	IPIFGT	412	DLEMATIMGGY	426
139116-CLL-1-CAR2	GFTFDDY	399	SGDGGS	413	VFDSYYMDV	427
139118-CLL-1-CAR3	GGSISSSSY	400	YYSGS	414	PGTYYDFLSGYYPFY	428
139122-CLL-1-CAR4	GFTFSSY	401	NEDGSA	415	DLRSGRY	429
139117-CLL-1-CAR5	GGPVRSGSH	402	YYSGS	416	GTATFDWNFPFDS	430
139120-CLL-1-CAR7	GFTFSSY	404	SSSSSY	418	DPSSSGSYYMEDSYYYGMDV	432
139121-CLL-1-CAR8	GFTFSSY	405	SSSGST	419	EALGSSWE	433
146264-CLL-1-CAR13	GYPFTGY	410	DPNSGN	424	DSYGYYYGMDV	438
181268	GFTFSSY	411	SSSGST	425	DPYSSSWHDAFDI	439

表8：根據Chothia編號方案(Al-Lazikani等人，(1997) JMB 273,927-948)之輕鏈可變結構域CDR

候選序列	LCDR1	ID	LCDR2	ID	LCDR3	ID
146259-CLL-1-CAR9	SQDISSW	448	AAS	462	SYSTPL	476
139119-CLL-1-CAR6	SQSISSY	445	AAS	459	SYSTPPW	473
146261-CLL-1-CAR10	SQDISNY	449	DAS	463	AYSTPF	477
146262-CLL-1-CAR11	SQFIKKN	450	DAS	464	HDNLPL	478
146263-CLL-1-CAR12	SQSISSY	451	AAS	465	SYSTPPL	479
139115-CLL-1-CAR1	TSSDVGGYNY	440	DVS	454	YTSSSTLDV	468
139116-CLL-1-CAR2	SQSLVYTDGNTY	441	KVS	455	GTHWSF	469
139118-CLL-1-CAR3	SQGISSY	442	AAS	456	LNSYPY	470
139122-CLL-1-CAR4	SQSISGSF	443	GAS	457	YGSSPP	471

139117-CLL-1-CAR5	SQSISSY	444	AAS	458	SYSTPW	472
139120-CLL-1-CAR7	SSGSIASNY	446	EDN	460	YDSSNQV	474
139121-CLL-1-CAR8	SQDISNY	447	DAS	461	YDNLPL	475
146264-CLL-1-CAR13	SQGISSA	452	DAS	466	FNNYPL	480
181268	SQSVSSSY	453	GAS	467	YGSSPL	481

在某些實施例中，本文所述之CAR分子(例如CAR核酸或CAR多肽)包括：

(1)選自以下之一的一個、兩個或三個輕鏈(LC) CDR：

(i) CLL-1 CAR-1之SEQ ID NO: 156之LC CDR1、SEQ ID NO: 169之LC CDR2及SEQ ID NO: 182之LC CDR3；

(ii) CLL-1 CAR-2之SEQ ID NO: 157之LC CDR1、SEQ ID NO: 170之LC CDR2及SEQ ID NO: 183之LC CDR3；

(iii) CLL-1 CAR-3之SEQ ID NO: 158之LC CDR1、SEQ ID NO: 171之LC CDR2及SEQ ID NO: 184之LC CDR3；

(iv) CLL-1 CAR-4之SEQ ID NO: 159之LC CDR1、SEQ ID NO: 172之LC CDR2及SEQ ID NO: 185之LC CDR3；

(v) CLL-1 CAR-5之SEQ ID NO: 160之LC CDR1、SEQ ID NO: 173之LC CDR2及SEQ ID NO: 186之LC CDR3；

(vi) CLL-1 CAR-6之SEQ ID NO: 161之LC CDR1、SEQ ID NO: 174之LC CDR2及SEQ ID NO: 187之LC CDR3；

(vii) CLL-1 CAR-7之SEQ ID NO: 162之LC CDR1、SEQ ID NO: 175之LC CDR2及SEQ ID NO: 188之LC CDR3；

(viii) CLL-1 CAR-8之SEQ ID NO: 163之LC CDR1、SEQ ID NO: 176之LC CDR2及SEQ ID NO: 189之LC CDR3；或

(ix) CLL-1 CAR-9之SEQ ID NO: 164之LC CDR1、SEQ ID NO: 177之LC CDR2及SEQ ID NO: 190之LC CDR3；

(x) CLL-1 CAR-10之SEQ ID NO: 165之LC CDR1、SEQ ID NO: 178之LC CDR2及SEQ ID NO: 191之LC CDR3；

(xi) CLL-1 CAR-11之SEQ ID NO: 166之LC CDR1、SEQ ID NO: 179之LC CDR2及SEQ ID NO: 192之LC CDR3；

(xii) CLL-1 CAR-12之SEQ ID NO: 167之LC CDR1、SEQ ID NO: 180之LC CDR2及SEQ ID NO: 193之LC CDR3；

(xiii) CLL-1 CAR-13之SEQ ID NO: 168之LC CDR1、SEQ ID NO: 181之LC CDR2及SEQ ID NO: 194之LC CDR3；

(xiv) 181286之SEQ ID NO: 202之LC CDR1、SEQ ID NO: 203之LC CDR2及SEQ ID NO: 204之LC CDR3；及/或

(2)選自以下之一的一個、兩個或三個重鏈(HC) CDR：

(i)CLL-1 CAR-1之SEQ ID NO: 117之HC CDR1、SEQ ID NO: 130之HC CDR2及SEQ ID NO: 143之HC CDR3；

(ii) CLL-1 CAR-2之SEQ ID NO: 118之HC CDR1、SEQ ID NO: 131之HC CDR2及SEQ ID NO: 144之HC CDR3；

(iii)CLL-1 CAR-3之SEQ ID NO: 119之HC CDR1、SEQ ID NO: 132之HC CDR2及SEQ ID NO: 145之HC CDR3；

(iv)CLL-1 CAR-4之SEQ ID NO: 120之HC CDR1、SEQ ID NO: 133之HC CDR2及SEQ ID NO: 146之HC CDR3；

(v)CLL-1 CAR-5之SEQ ID NO: 121之HC CDR1、SEQ ID NO: 134之HC CDR2及SEQ ID NO: 147之HC CDR3；

(vi) CLL-1 CAR-6之SEQ ID NO: 122之HC CDR1、SEQ ID NO: 135之HC CDR2及SEQ ID NO: 148之HC CDR3；

(vii) CLL-1 CAR-7之SEQ ID NO: 123之HC CDR1、SEQ ID NO: 136之HC CDR2及SEQ ID NO: 149之HC CDR3；

(viii) CLL-1 CAR-8之SEQ ID NO: 124之HC CDR1、SEQ ID NO:

137之HC CDR2及SEQ ID NO: 150之HC CDR3；或

(ix) CLL-1 CAR-9之SEQ ID NO: 125之HC CDR1、SEQ ID NO: 138之HC CDR2及SEQ ID NO: 151之HC CDR3；

(x) CLL-1 CAR-10之SEQ ID NO: 126之HC CDR1、SEQ ID NO: 139之HC CDR2及SEQ ID NO: 152之HC CDR3；

(xi) CLL-1 CAR-11之SEQ ID NO: 127之HC CDR1、SEQ ID NO: 140之HC CDR2及SEQ ID NO: 153之HC CDR3；

(xii) CLL-1 CAR-12之SEQ ID NO: 128之HC CDR1、SEQ ID NO: 141之HC CDR2及SEQ ID NO: 154之HC CDR3；

(xiii) CLL-1 CAR-13之SEQ ID NO: 129之HC CDR1、SEQ ID NO: 142之HC CDR2及SEQ ID NO: 155之HC CDR3；

(xiv) 181286之SEQ ID NO: 199之HC CDR1、SEQ ID NO: 200之HC CDR2及SEQ ID NO: 201之HC CDR3。

在某些實施例中，本文所述之CAR分子(例如CAR核酸或CAR多肽)或CLL-1結合結構域包括：

(1)選自以下之一的一個、兩個或三個輕鏈(LC) CDR：

(i) CLL-1 CAR-1之SEQ ID NO: 356之LC CDR1、SEQ ID NO: 370之LC CDR2及SEQ ID NO: 384之LC CDR3；

(ii) CLL-1 CAR-2之SEQ ID NO: 357之LC CDR1、SEQ ID NO: 371之LC CDR2及SEQ ID NO: 385之LC CDR3；

(iii) CLL-1 CAR-3之SEQ ID NO: 358之LC CDR1、SEQ ID NO: 372之LC CDR2及SEQ ID NO: 386之LC CDR3；

(iv) CLL-1 CAR-4之SEQ ID NO: 359之LC CDR1、SEQ ID NO: 373之LC CDR2及SEQ ID NO: 387之LC CDR3；

(v) CLL-1 CAR-5之SEQ ID NO: 360之LC CDR1、SEQ ID NO: 374之LC CDR2及SEQ ID NO: 388之LC CDR3；

(vi) CLL-1 CAR-6之SEQ ID NO: 361之LC CDR1、SEQ ID NO: 375之LC CDR2及SEQ ID NO: 389之LC CDR3；

(vii) CLL-1 CAR-7之SEQ ID NO: 362之LC CDR1、SEQ ID NO: 376之LC CDR2及SEQ ID NO: 390之LC CDR3；

(viii) CLL-1 CAR-8之SEQ ID NO: 363之LC CDR1、SEQ ID NO: 377之LC CDR2及SEQ ID NO: 391之LC CDR3；或

(ix) CLL-1 CAR-9之SEQ ID NO: 364之LC CDR1、SEQ ID NO: 378之LC CDR2及SEQ ID NO: 392之LC CDR3；

(x) CLL-1 CAR-10之SEQ ID NO: 365之LC CDR1、SEQ ID NO: 379之LC CDR2及SEQ ID NO: 393之LC CDR3；

(xi) CLL-1 CAR-11之SEQ ID NO: 366之LC CDR1、SEQ ID NO: 380之LC CDR2及SEQ ID NO: 394之LC CDR3；

(xii) CLL-1 CAR-12之SEQ ID NO: 367之LC CDR1、SEQ ID NO: 381之LC CDR2及SEQ ID NO: 395之LC CDR3；

(xiii) CLL-1 CAR-13之SEQ ID NO: 368之LC CDR1、SEQ ID NO: 382之LC CDR2及SEQ ID NO: 396之LC CDR3；

(xiv) 181286之SEQ ID NO: 369之LC CDR1、SEQ ID NO: 383之LC CDR2及SEQ ID NO: 397之LC CDR3；及/或

(2)選自以下之一的一個、兩個或三個重鏈(HC) CDR：

(i) CLL-1 CAR-1之SEQ ID NO: 314之HC CDR1、SEQ ID NO: 328之HC CDR2及SEQ ID NO: 342之HC CDR3；

(ii) CLL-1 CAR-2之SEQ ID NO: 315之HC CDR1、SEQ ID NO: 329之HC CDR2及SEQ ID NO: 343之HC CDR3；

(iii) CLL-1 CAR-3之SEQ ID NO: 316之HC CDR1、SEQ ID NO: 330之HC CDR2及SEQ ID NO: 344之HC CDR3；

(iv) CLL-1 CAR-4之SEQ ID NO: 317之HC CDR1、SEQ ID NO:

331之HC CDR2及SEQ ID NO: 345之HC CDR3；

(v) CLL-1 CAR-5之SEQ ID NO: 318之HC CDR1、SEQ ID NO: 332之HC CDR2及SEQ ID NO: 346之HC CDR3；

(vi) CLL-1 CAR-6之SEQ ID NO: 319之HC CDR1、SEQ ID NO: 333之HC CDR2及SEQ ID NO: 347之HC CDR3；

(vii) CLL-1 CAR-7之SEQ ID NO: 320之HC CDR1、SEQ ID NO: 334之HC CDR2及SEQ ID NO: 348之HC CDR3；

(viii) CLL-1 CAR-8之SEQ ID NO: 321之HC CDR1、SEQ ID NO: 335之HC CDR2及SEQ ID NO: 349之HC CDR3；或

(ix) CLL-1 CAR-9之SEQ ID NO: 322之HC CDR1、SEQ ID NO: 336之HC CDR2及SEQ ID NO: 350之HC CDR3；

(x) CLL-1 CAR-10之SEQ ID NO: 323之HC CDR1、SEQ ID NO: 337之HC CDR2及SEQ ID NO: 351之HC CDR3；

(xi) CLL-1 CAR-11之SEQ ID NO: 324之HC CDR1、SEQ ID NO: 338之HC CDR2及SEQ ID NO: 352之HC CDR3；

(xii) CLL-1 CAR-12之SEQ ID NO: 325之HC CDR1、SEQ ID NO: 339之HC CDR2及SEQ ID NO: 353之HC CDR3；

(xiii) CLL-1 CAR-13之SEQ ID NO: 326之HC CDR1、SEQ ID NO: 340之HC CDR2及SEQ ID NO: 354之HC CDR3；

(xiv) 181286之SEQ ID NO: 327之HC CDR1、SEQ ID NO: 341之HC CDR2及SEQ ID NO: 355之HC CDR3。

在某些實施例中，本文所述之CAR分子(例如CAR核酸或CAR多肽)包括：

(1)選自以下之一的一個、兩個或三個輕鏈(LC) CDR：

(i) CLL-1 CAR-1之SEQ ID NO: 440之LC CDR1、SEQ ID NO: 454之LC CDR2及SEQ ID NO: 468之LC CDR3；

(ii) CLL-1 CAR-2之SEQ ID NO: 441之LC CDR1、SEQ ID NO: 455之LC CDR2及SEQ ID NO: 469之LC CDR3；

(iii) CLL-1 CAR-3之SEQ ID NO: 442之LC CDR1、SEQ ID NO: 456之LC CDR2及SEQ ID NO: 470之LC CDR3；

(iv) CLL-1 CAR-4之SEQ ID NO: 443之LC CDR1、SEQ ID NO: 457之LC CDR2及SEQ ID NO: 471之LC CDR3；

(v) CLL-1 CAR-5之SEQ ID NO: 444之LC CDR1、SEQ ID NO: 458之LC CDR2及SEQ ID NO: 472之LC CDR3；

(vi) CLL-1 CAR-6之SEQ ID NO: 445之LC CDR1、SEQ ID NO: 459之LC CDR2及SEQ ID NO: 473之LC CDR3；

(vii) CLL-1 CAR-7之SEQ ID NO: 446之LC CDR1、SEQ ID NO: 460之LC CDR2及SEQ ID NO: 474之LC CDR3；

(viii) CLL-1 CAR-8之SEQ ID NO: 447之LC CDR1、SEQ ID NO: 461之LC CDR2及SEQ ID NO: 475之LC CDR3；或

(ix) CLL-1 CAR-9之SEQ ID NO: 448之LC CDR1、SEQ ID NO: 462之LC CDR2及SEQ ID NO: 476之LC CDR3；

(x) CLL-1 CAR-10之SEQ ID NO: 449之LC CDR1、SEQ ID NO: 463之LC CDR2及SEQ ID NO: 477之LC CDR3；

(xi) CLL-1 CAR-11之SEQ ID NO: 450之LC CDR1、SEQ ID NO: 464之LC CDR2及SEQ ID NO: 478之LC CDR3；

(xii) CLL-1 CAR-12之SEQ ID NO: 451之LC CDR1、SEQ ID NO: 465之LC CDR2及SEQ ID NO: 479之LC CDR3；

(xiii) CLL-1 CAR-13之SEQ ID NO: 452之LC CDR1、SEQ ID NO: 466之LC CDR2及SEQ ID NO: 480之LC CDR3；

(xiv) 181286之SEQ ID NO: 453之LC CDR1、SEQ ID NO: 467之LC CDR2及SEQ ID NO: 481之LC CDR3；及/或

(2)選自以下之一的一個、兩個或三個重鏈(HC) CDR：

(i) CLL-1 CAR-1之SEQ ID NO: 398之HC CDR1、SEQ ID NO: 412之HC CDR2及SEQ ID NO: 426之HC CDR3；

(ii) CLL-1 CAR-2之SEQ ID NO: 399之HC CDR1、SEQ ID NO: 413之HC CDR2及SEQ ID NO: 427之HC CDR3；

(iii) CLL-1 CAR-3之SEQ ID NO: 400之HC CDR1、SEQ ID NO: 414之HC CDR2及SEQ ID NO: 428之HC CDR3；

(iv) CLL-1 CAR-4之SEQ ID NO: 401之HC CDR1、SEQ ID NO: 415之HC CDR2及SEQ ID NO: 429之HC CDR3；

(v) CLL-1 CAR-5之SEQ ID NO: 402之HC CDR1、SEQ ID NO: 416之HC CDR2及SEQ ID NO: 430之HC CDR3；

(vi) CLL-1 CAR-6之SEQ ID NO: 403之HC CDR1、SEQ ID NO: 417之HC CDR2及SEQ ID NO: 431之HC CDR3；

(vii) CLL-1 CAR-7之SEQ ID NO: 404之HC CDR1、SEQ ID NO: 418之HC CDR2及SEQ ID NO: 432之HC CDR3；

(viii) CLL-1 CAR-8之SEQ ID NO: 405之HC CDR1、SEQ ID NO: 419之HC CDR2及SEQ ID NO: 433之HC CDR3；或

(ix) CLL-1 CAR-9之SEQ ID NO: 406之HC CDR1、SEQ ID NO: 420之HC CDR2及SEQ ID NO: 434之HC CDR3；

(x) CLL-1 CAR-10之SEQ ID NO: 407之HC CDR1、SEQ ID NO: 421之HC CDR2及SEQ ID NO: 435之HC CDR3；

(xi) CLL-1 CAR-11之SEQ ID NO: 408之HC CDR1、SEQ ID NO: 422之HC CDR2及SEQ ID NO: 436之HC CDR3；

(xii) CLL-1 CAR-12之SEQ ID NO: 409之HC CDR1、SEQ ID NO: 423之HC CDR2及SEQ ID NO: 437之HC CDR3；

(xiii) CLL-1 CAR-13之SEQ ID NO: 410之HC CDR1、SEQ ID NO:

424之HC CDR2及SEQ ID NO: 438之HC CDR3；

(xiv) 181286之SEQ ID NO: 411之HC CDR1、SEQ ID NO: 425之HC CDR2及SEQ ID NO: 439之HC CDR3。

在實施例中，產生完整人類抗-CLL-1單鏈可變片段且選殖至具有胞內CD3ζ結構域及4-1BB之胞內共同刺激結構域的慢病毒CAR表現載體中。例示性完整人類CLL-1 scFv之名稱描繪於表1中。

表1：CAR-CLL-1構築體

構築體ID	暱稱
139115	CLL-1 (或CLL-1 CAR-1)
139116	CLL-2 (或CLL-1 CAR-2)
139117	CLL-3 (或CLL-1 CAR-3)
139118	CLL-4 (或CLL-1 CAR-4)
139119	CLL-5 (或CLL-1 CAR-5)
139120	CLL-6 (或CLL-1 CAR-6)
139121	CLL-7 (或CLL-1 CAR-7)
139122	CLL-8 (或CLL-1 CAR-8)
146259	CLL-9 (或CLL-1 CAR-9)
146261	CLL-10 (或CLL-1 CAR-10)
146262	CLL-11 (或CLL-1 CAR-11)
146263	CLL-12 (或CLL-1 CAR-12)
146264	CLL-13 (或CLL-1 CAR-13)

在實施例中，scFv中VL及VH結構域出現之次序變化(亦即VL-VH或VH-VL取向)，且其中各次單元包含序列GGGGS (SEQ ID NO: 25)之「G4S」(SEQ ID NO: 25)次單元之三個或四個複本(例如$(G4S)_3$ (SEQ ID NO: 28)或$(G4S)_4$(SEQ ID NO: 27))連接可變結構域以產生整個scFv結構域，如表2中所示。

CLL-1 scFv結構域及CLL-1 CAR分子之胺基酸及核酸序列提供於

表2中。各scFv之可變重鏈及可變輕鏈的胺基酸序列亦提供於表2中。應注意本發明亦涵蓋具有前導序列(例如SEQ ID NO: 1之胺基酸序列或SEQ ID NO: 12之核苷酸序列)的scFv片段(SEQ ID NO: 39-51)。

前導序列(胺基酸序列)(SEQ ID NO: 1)

MALPVTALLLPLALLLHAARP

前導序列(核酸序列)(SEQ ID NO: 12)

ATGGCCCTGCCTGTGACAGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTGCTGCTGCATGCCGCTAG
ACCC

CD8鉸鏈(胺基酸序列) (SEQ ID NO: 2)

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD

CD8鉸鏈(核酸序列)(SEQ ID NO: 13)

ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCACCATCGCGTCGCAGCCCC
TGTCCCTGCGCCCAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGG
GGCTGGACTTCGCCTGTGA

CD8跨膜(胺基酸序列)(SEQ ID NO: 6)

IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC

CD8跨膜(核酸序列) (SEQ ID NO: 17)

ATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATC
ACCCTTTACTGC

4-1BB胞內結構域(胺基酸序列) (SEQ ID NO: 7)

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL

4-1BB胞內結構域(核酸序列) (SEQ ID NO: 18)

AAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTAC
AAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAG
GATGTGAACTG

CD28胞內結構域(胺基酸序列) (SEQ ID NO: 482)

RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS (SEQ ID NO: 482)

CD28胞內結構域(核苷酸序列)(SEQ ID NO: 483)

AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACATGACTCCCCG
CCGCCCCGGGCCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTT
CGCAGCCTATCGCTCC (SEQ ID NO: 483)

ICOS胞內結構域(胺基酸序列) (SEQ ID NO: 484)

T K K K Y S S S V H D P N G E Y M F M R A V N T A K K S R L T D V T L
(SEQ ID NO: 484)

ICOS胞內結構域(核苷酸序列) (SEQ ID NO: 485)

ACAAAAAAGAAGTATTCATCCAGTGTGCACGACCCTAACGGTGAATACATGTTCATGA
GAGCAGTGAACACAGCCAAAAAATCCAGACTCACAGATGTGACCCTA (SEQ ID NO: 485)

CD3ζ結構域(胺基酸序列)(SEQ ID NO: 9)

RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY
NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

CD3ζ(核酸序列) (SEQ ID NO: 20)

AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACAAGCAGGGCCAGAACCAG
CTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGAC
GTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCC
TGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGA
AAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAG
CCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC

CD3ζ結構域(胺基酸序列；NCBI參考序列NM_000734.3) (SEQ ID NO: 10)

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY
NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

CD3ζ (核酸序列；NCBI參考序列NM_000734.3)；(SEQ ID NO: 21)

AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACCAGCAGGGCCAG
AACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTT
TGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGA
AGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGG
AGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGC
ACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGC
CCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC

IgG4鉸鏈(胺基酸序列) (SEQ ID NO: 36)

ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD
GSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGKM

IgG4鉸鏈(核苷酸序列) (SEQ ID NO: 37)

GAGAGCAAGTACGGCCCTCCCTGCCCCCCTTGCCCTGCCCCCGAGTTCCTGGGCGGACC
CAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCG
AGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGAGGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTG
GTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCCGGGAGGAGCAGTT
CAATAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAAC
GGCAAGGAATACAAGTGTAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCAGCAGCATCGAGAAA
ACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTA
GCCAAGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTA
CCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAA
GACCACCCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCCGGCTGACCG
TGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAGGGCAACGTCTTTAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGC
CCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCTGGGCAAGATG

在實施例中，此等純系在來源於CD3ζ鏈之共同刺激結構域的信號結構域中均含有Q/K殘基改變。

表2：抗-CLL-1 scFv結構域及CLL-1 CAR分子之胺基酸及核酸序列

名稱/描述	**SEQ ID NO:**	**序列**
146259		
146259- aa ScFv結構域 CLL-1 CAR 9	47	QVQLVQSGAEVKEPGASVKVSCKAPANTFSDHVMHWVRQAPGQRFEW MGYIHAANGGTHYSQKFQDRVTITRDTSANTVYMDLSSLRSEDTAVYY CARGGYNSDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIV MTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQDISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAAS SLQSGVPSRFNGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTK VEIK
146259- nt ScFv結構域 CLL-1 CAR 9	60	CAAGTGCAACTCGTCCAGTCCGGTGCAGAAGTCAAGGAACCCGGAG CCTCCGTGAAAGTGTCCTGCAAAGCTCCTGCCAACACTTTCTCGGAC CACGTGATGCACTGGGTGCGCCAGGCGCCGGGCCAGCGCTTCGAATG GATGGGATACATTCATGCCGCCAATGGCGGTACCCACTACTCCCAAAA GTTCCAGGATAGAGTCACCATCACCCGGGACACCAGCGCCAACACCG TGTATATGGATCTGTCCAGCCTGAGGTCCGAGGATACCGCCGTGTACT ACTGCGCCCGGGGCGGATACAACTCAGACGCGTTCGACATTTGGGGA CAGGGTACTATGGTCACCGTGTCATCCGGGGGCGGTGGCAGCGGGGG CGGAGGCTCTGGCGGAGGCGGATCAGGGGGAGGAGGGTCCGACATC GTGATGACCCAGTCCCCGTCATCGGTGTCCGCGTCCGTGGGAGACAG AGTGACCATCACGTGTCGCGCCAGCCAGGACATCTCCTCGTGGTTGG CATGGTACCAGCAGAAGCCTGGAAAGGCCCCGAAGCTGCTCATCTAC GCCGCCTCCTCCCTTCAATCGGGAGTGCCCTCGCGGTTCAACGGAAG CGGAAGCGGGACAGATTTTACCCTGACTATTAGCTCGCTGCAGCCCG AGGACTTCGCTACTTACTACTGCCAACAGAGCTACTCCACCCCACTG

		ACTTTCGGCGGGGGTACCAAGGTCGAGATCAAG
146259- aa ScFv之VH CLL-1 CAR 9	73	QVQLVQSGAEVKEPGASVKVSCKAPANTFSDHVMHWVRQAPGQRFEW MGYIHAANGGTHYSQKFQDRVTITRDTSANTVYMDLSSLRSEDTAVYY CARGGYNSDAFDIWGQGTMVTVSS
146259- aa ScFv之VL CLL-1 CAR 9	86	DIVMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQDISSWLAWYQQKPGKAPKLLIY AASSLQSGVPSRFNGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGG GTKVEIK
146259- aa 完整CAR CLL-1 CAR 9	99	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKEPGASVKVSCKAPAN TFSDHVMHWVRQAPGQRFEWMGYIHAANGGTHYSQKFQDRVTITRDT SANTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARGGYNSDAFDIWGQGTMVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQDISS WLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFNGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEA CRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKK LLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYK QGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNE LQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
146259- nt 完整CAR CLL-1 CAR 9	112	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCCAAGTGCAACTCGTCCAGTCCGGTGCAGAAGT CAAGGAACCCGGAGCCTCCGTGAAAGTGTCCTGCAAAGCTCCTGCC AACACTTTCTCGGACCACGTGATGCACTGGGTGCGCCAGGCGCCGGG CCAGCGCTTCGAATGGATGGGATACATTCATGCCGCCAATGGCGGTAC CCACTACTCCCAAAAGTTCCAGGATAGAGTCACCATCACCCGGGACA CCAGCGCCAACACCGTGTATATGGATCTGTCCAGCCTGAGGTCCGAG GATACCGCCGTGTACTACTGCGCCCGGGGCGGATACAACTCAGACGC GTTCGACATTTGGGGACAGGGTACTATGGTCACCGTGTCATCCGGGG GCGGTGGCAGCGGGGGCGGAGGCTCTGGCGGAGGCGGATCAGGGGG AGGAGGGTCCGACATCGTGATGACCCAGTCCCCGTCATCGGTGTCCG CGTCCGTGGGAGACAGAGTGACCATCACGTGTCGCGCCAGCCAGGA CATCTCCTCGTGGTTGGCATGGTACCAGCAGAAGCCTGGAAAGGCCC CGAAGCTGCTCATCTACGCCGCCTCCTCCCTTCAATCGGGAGTGCCCT CGCGGTTCAACGGAAGCGGAAGCGGGACAGATTTTACCCTGACTATT AGCTCGCTGCAGCCCGAGGACTTCGCTACTTACTACTGCCAACAGAG CTACTCCACCCCACTGACTTTCGGCGGGGGTACCAAGGTCGAGATCA AGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATC GCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGC TGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTA CATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACT CGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACAT CTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGG ACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGA ACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGC AGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGA GGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATG GGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACG AGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATG AAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAG GGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCA GGCCCTGCCGCCTCGG
139119		
139119- aa ScFv結構域 CLL-1 CAR	44	QVQLQESGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWV GEINHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARG SGLVVYAIRVGSGWFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGDSGGGGSDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLMYAASSL

6		QSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPPWTFGQGTK VDIK
139119- nt ScFv結構域 CLL-1 CAR 6	57	CAAGTGCAACTTCAAGAATCAGGCGCAGGACTTCTCAAGCCATCCGA AACACTCTCCCTCACTTGCGCGGTGTACGGGGGAAGCTTCTCGGGAT ACTACTGGTCCTGGATTAGGCAGCCTCCCGGCAAAGGCCTGGAATGG GTCGGGGAGATCAACCACTCCGGTTCAACCAACTACAACCCGTCGCT GAAGTCCCGCGTGACCATTTCCGTGGACACCTCTAAGAATCAGTTCA GCCTGAAGCTCTCGTCCGTGACCGCGGCGGACACCGCCGTCTACTAC TGCGCTCGGGGATCAGGACTGGTGGTGTACGCCATCCGCGTGGGCTC GGGCTGGTTCGATTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACTGTGTCGT CCGGCGGAGGAGGTTCGGGGGGCGGAGACAGCGGTGGAGGGGGTA GCGACATCCAGATGACCCAGTCCCCGTCCTCGCTGTCCGCCTCCGTG GGAGATAGAGTGACCATCACCTGTCGGGCATCCCAGAGCATTTCCAG CTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGAAAGGCCCCTAAGCTGT TGATGTACGCCGCCAGCAGCTTGCAGTCGGGCGTGCCGAGCCGGTTT TCCGGTTCCGGCTCCGGGACTGACTTCACCCTGACTATCTCATCCCTG CAACCCGAGGACTTCGCCACTTATTACTGCCAGCAGTCCTACTCAACC CCTCCCTGGACGTTCGGACAGGGCACCAAGGTCGATATCAAG
139119- aa ScFv之VH CLL-1 CAR 6	70	QVQLQESGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWV GEINHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARG SGLVVYAIRVGSGWFDYWGQGTLVTVSS
139119- aa ScFv之VL CLL-1 CAR 6	83	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLMY AASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPPWTFG QGTKVDIK
139119- aa 完整CAR CLL-1 CAR 6	96	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQESGAGLLKPSETLSLTCAVYGGS FSGYYWSWIRQPPGKGLEWVGEINHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCARGSGLVVYAIRVGSGWFDYWGQGTLVTVS SGGGGSGGGDSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLMYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQSYSTPPWTFGQGTKVDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC RPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLL YIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQ GQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNEL QKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQAL PPR
139119- nt 完整CAR CLL-1 CAR 6	109	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCCAAGTGCAACTTCAAGAATCAGGCGCAGGAC TTCTCAAGCCATCCGAAACACTCTCCCTCACTTGCGCGGTGTACGGG GGAAGCTTCTCGGGATACTACTGGTCCTGGATTAGGCAGCCTCCCGGC AAAGGCCTGGAATGGGTCGGGGAGATCAACCACTCCGGTTCAACCA ACTACAACCCGTCGCTGAAGTCCCGCGTGACCATTTCCGTGGACACC TCTAAGAATCAGTTCAGCCTGAAGCTCTCGTCCGTGACCGCGGCGGA CACCGCCGTCTACTACTGCGCTCGGGGATCAGGACTGGTGGTGTACG CCATCCGCGTGGGCTCGGGCTGGTTCGATTACTGGGGCCAGGGAACC CTGGTCACTGTGTCGTCCGGCGGAGGAGGTTCGGGGGGCGGAGACA GCGGTGGAGGGGGTAGCGACATCCAGATGACCCAGTCCCCGTCCTCG CTGTCCGCCTCCGTGGGAGATAGAGTGACCATCACCTGTCGGGCATC CCAGAGCATTTCCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGAA AGGCCCCTAAGCTGTTGATGTACGCCGCCAGCAGCTTGCAGTCGGGC GTGCCGAGCCGGTTTTCCGGTTCCGGCTCCGGGACTGACTTCACCCT GACTATCTCATCCCTGCAACCCGAGGACTTCGCCACTTATTACTGCCA GCAGTCCTACTCAACCCCTCCCTGGACGTTCGGACAGGGCACCAAGG TCGATATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCT CCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGA CCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTG

		CGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCT GCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCT GCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCA AGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGC GGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGC CTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTC GGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACC CAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCT GTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGA TTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACT GTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTC ACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
146261		
146261- aa ScFv結構域 CLL-1 CAR 10	48	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEW VSYISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCA RDLSVRAIDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVL TQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASN LETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDFATYYCQQAYSTPFTFGPGTKV EIK
146261- nt ScFv結構域 CLL-1 CAR 10	61	CAAGTGCAACTTGTTCAATCCGGTGGAGGTCTTGTGCAGCCCGGAGG ATCACTCAGACTGTCGTGCGCCGCCTCTGGGTTCACTTTCTCCTCATA CTCGATGAACTGGGTGCGCCAGGCGCCGGGAAAGGGCCTGGAATGG GTGTCATACATCTCCTCCTCATCCTCCACCATCTACTACGCCGATTCCG TGAAGGGCCGCTTCACTATTTCCCGGGACAACGCGAAAAACTCGCTC TATCTGCAAATGAACTCCCTGCGCGCCGAGGACACCGCCGTGTACTA CTGCGCCCGGGACCTGAGCGTGCGGGCTATTGATGCGTTCGACATCT GGGGACAGGGCACCATGGTCACAGTGTCCAGCGGAGGCGGCGGCAG CGGTGGAGGAGGATCAGGGGGAGGAGGTTCGGGGGGCGGTGGCTCC GATATCGTGCTGACCCAGAGCCCGTCGAGCCTCTCCGCCTCCGTCGG CGACAGAGTGACCATCACGTGTCAGGCATCCCAGGACATTAGCAACT ACCTGAATTGGTACCAGCAGAAGCCTGGAAAGGCACCCAAGTTGCTG ATCTACGACGCCTCCAACCTGGAAACCGGAGTGCCATCCAGGTTCTC GGGCAGCGGCTCGGGAACCGACTTCACTTTTACTATCTCCTCCCTGCA ACCCGAGGATTTCGCGACCTACTACTGCCAGCAGGCCTACAGCACCC CTTTCACCTTCGGGCCGGGAACTAAGGTCGAAATCAAG
146261- aa ScFv之VH CLL-1 CAR 10	74	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEW VSYISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCA RDLSVRAIDAFDIWGQGTMVTVSS
146261- aa ScFv之VL CLL-1 CAR 10	87	DIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYD ASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDFATYYCQQAYSTPFTFGPG TKVEIK
146261- aa 完整CAR CLL-1 CAR 10	100	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLSVRAIDAFDIWGQGTMVTVSSGGGG SGGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLN WYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDFA TYYCQQAYSTPFTFGPGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRP AAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYI FKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQ NQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPP R
146261- nt 完整CAR	113	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCCAAGTGCAACTTGTTCAATCCGGTGGAGGTCT

CLL-1 CAR 10		TGTGCAGCCCGGAGGATCACTCAGACTGTCGTGCGCCGCCTCTGGGT TCACTTTCTCCTCATACTCGATGAACTGGGTGCGCCAGGCGCCGGGA AAGGGCCTGGAATGGGTGTCATACATCTCCTCCTCATCCTCCACCATC TACTACGCCGATTCCGTGAAGGGCCGCTTCACTATTTCCCGGGACAAC GCGAAAAACTCGCTCTATCTGCAAATGAACTCCCTGCGCGCCGAGGA CACCGCCGTGTACTACTGCGCCCGGGACCTGAGCGTGCGGGCTATTG ATGCGTTCGACATCTGGGGACAGGGCACCATGGTCACAGTGTCCAGC GGAGGCGGCGGCAGCGGTGGAGGAGGATCAGGGGGAGGAGGTTCG GGGGGCGGTGGCTCCGATATCGTGCTGACCCAGAGCCCGTCGAGCCT CTCCGCCTCCGTCGGCGACAGAGTGACCATCACGTGTCAGGCATCCC AGGACATTAGCAACTACCTGAATTGGTACCAGCAGAAGCCTGGAAAG GCACCCAAGTTGCTGATCTACGACGCCTCCAACCTGGAAACCGGAGT GCCATCCAGGTTCTCGGGCAGCGGCTCGGGAACCGACTTCACTTTTA CTATCTCCTCCCTGCAACCCGAGGATTTCGCGACCTACTACTGCCAGC AGGCCTACAGCACCCCTTTCACCTTCGGGCCGGGAACTAAGGTCGAA ATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTAC CATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGC AGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATAT CTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTC ACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGT ACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAG GAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCT GCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTAC AAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGA GAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAG AAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTA CAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTG GTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTA CCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACA TGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
146262		
146262- aa ScFv結構域 CLL-1 CAR 11	49	EVQLVQSGGGVVRSGRSLRLSCAASGFTFNSYGLHWVRQAPGKGLEW VALIEYDGSNKYYGDSVKGRFTISRDKSKSTLYLQMDNLRAEDTAVYYC AREGNEDLAFDIWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLT QSPSSLSASVGDRVTITCQASQFIKKNLNWYQHKPGKAPKLLIYDASSLQ TGVPSRFSGNRSGTTFSFTISSLQPEDVATYYCQQHDNLPLTFGGGTKVEI K
146262- nt ScFv結構域 CLL-1 CAR 11	62	GAAGTGCAATTGGTGCAATCAGGAGGAGGAGTGGTCAGATCTGGAA GAAGCCTGAGACTGTCATGCGCGGCTTCGGGCTTTACCTTCAACTCCT ACGGCCTCCACTGGGTGCGCCAGGCCCCCGGAAAAGGCCTCGAATG GGTCGCACTGATTGAGTACGACGGGTCCAACAAGTACTACGGAGATA GCGTGAAGGGCCGCTTCACCATCTCACGGGACAAGTCCAAGTCCACC CTGTATCTGCAAATGGACAACCTGAGGGCCGAGGATACTGCCGTGTA CTACTGCGCCCGCGAAGGAAACGAAGATCTGGCCTTCGATATTTGGG GCCAGGGTACTCTTGTGACCGTGTCGAGCGGAGGCGGAGGCTCCGGT GGAGGAGGATCGGGGGGTGGTGGTTCCGGCGGCGGGGGGAGCGAAA TCGTGCTGACCCAGTCGCCTTCCTCCCTCTCCGCTTCCGTGGGGGACC GGGTCACTATTACGTGTCAGGCGTCCCAATTCATCAAGAAGAATCTGA ACTGGTACCAGCACAAGCCGGGAAAGGCCCCCAAACTGCTCATCTAC GACGCCAGCTCGCTGCAGACTGGCGTGCCTTCCCGGTTTTCCGGGAA CCGGTCGGGAACCACCTTCTCATTCACCATCAGCAGCCTCCAGCCGG AGGACGTGGCGACCTACTACTGCCAGCAGCATGACAACCTTCCACTG ACTTTCGGCGGGGGCACCAAGGTCGAGATTAAG
146262- aa ScFv之VH CLL-1 CAR 11	75	EVQLVQSGGGVVRSGRSLRLSCAASGFTFNSYGLHWVRQAPGKGLEW VALIEYDGSNKYYGDSVKGRFTISRDKSKSTLYLQMDNLRAEDTAVYYC AREGNEDLAFDIWGQGTLVTVSS

146262- aa ScFv之VL CLL-1 CAR 11	88	EIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQFIKKNLNWYQHKPGKAPKLLIYD ASSLQTGVPSRFSGNRSGTTFSFTISSLQPEDVATYYCQQHDNLPLTFGG GTKVEIK
146262- aa 完整CAR CLL-1 CAR 11	101	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVQSGGGVVRSGRSLRLSCAASGFT FNSYGLHWVRQAPGKGLEWVALIEYDGSNKYYGDSVKGRFTISRDKSK STLYLQMDNLRAEDTAVYYCAREGNEDLAFDIWGQGTLVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQFIKKNLN WYQHKPGKAPKLLIYDASSLQTGVPSRFSGNRSGTTFSFTISSLQPEDVA TYYCQQHDNLPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACR PAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLY IFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQG QNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQ KDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALP PR
146262- nt 完整CAR CLL-1 CAR 11	114	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAATTGGTGCAATCAGGAGGAGGAG TGGTCAGATCTGGAAGAAGCCTGAGACTGTCATGCGCGGCTTCGGGC TTTACCTTCAACTCCTACGGCCTCCACTGGGTGCGCCAGGCCCCCGG AAAAGGCCTCGAATGGGTCGCACTGATTGAGTACGACGGGTCCAACA AGTACTACGGAGATAGCGTGAAGGGCCGCTTCACCATCTCACGGGAC AAGTCCAAGTCCACCCTGTATCTGCAAATGGACAACCTGAGGGCCGA GGATACTGCCGTGTACTACTGCGCCCGCGAAGGAAACGAAGATCTGG CCTTCGATATTTGGGGCCAGGGTACTCTTGTGACCGTGTCGAGCGGA GGCGGAGGCTCCGGTGGAGGAGGATCGGGGGGTGGTGGTTCCGGCG GCGGGGGGAGCGAAATCGTGCTGACCCAGTCGCCTTCCTCCCTCTCC GCTTCCGTGGGGGACCGGGTCACTATTACGTGTCAGGCGTCCCAATTC ATCAAGAAGAATCTGAACTGGTACCAGCACAAGCCGGGAAAGGCCC CCAAACTGCTCATCTACGACGCCAGCTCGCTGCAGACTGGCGTGCCT TCCCGGTTTTCCGGGAACCGGTCGGGAACCACCTTCTCATTCACCATC AGCAGCCTCCAGCCGGAGGACGTGGCGACCTACTACTGCCAGCAGCA TGACAACCTTCCACTGACTTTCGGCGGGGGCACCAAGGTCGAGATTA AGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATC GCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGC TGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTA CATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACT CGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACAT CTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGG ACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGA ACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGC AGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGA GGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATG GGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACG AGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATG AAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAG GGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCA GGCCCTGCCGCCTCGG
146263		
146263- aa ScFv結構域 CCLL-1 CAR 12	50	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNVSSNYMTWVRQAPGKGLEW VSVIYSGGATYYGDSVKGRFTVSRDNSKNTVYLQMNRLTAEDTAVYYC ARDRLYCGNNCYLYYYYGMDVWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGG SGGGGSDIQVTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAP KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPP LTFGQGTKVEIK
146263- nt ScFv結構域 CCLL-1	63	CAAGTGCAACTCGTGGAATCAGGCGGAGGACTCGTGCAACCCGGAG GTTCCCTTAGACTGTCATGTGCCGCTTCCGGGTTCAATGTGTCCAGCA ACTACATGACCTGGGTCAGACAGGCGCCGGGAAAGGGACTTGAATG

CAR 12		GGTGTCCGTGATCTACTCCGGTGGAGCAACATACTACGGAGACTCCG TGAAAGGCCGCTTTACCGTGTCCCGCGATAACTCGAAGAACACCGTG TACTTGCAGATGAACAGGCTGACTGCCGAGGACACCGCCGTGTATTAT TGCGCCCGGGACAGGCTGTACTGTGGAAACAACTGCTACCTGTACTA CTACTACGGGATGGACGTGTGGGGACAGGGCACTCTCGTCACTGTGT CATCCGGGGGGGGCGGTAGCGGTGGCGGAGGGTCCGGCGGAGGAGG CTCAGGGGGAGGCGGAAGCGATATCCAGGTCACCCAGTCTCCCTCCT CGCTGTCCGCCTCCGTGGGCGACCGCGTCACCATTACTTGCCGGGCG TCGCAGTCGATCAGCTCCTACCTGAACTGGTACCAGCAGAAGCCTGG AAAGGCCCCGAAGCTGCTGATCTACGCGGCCTCGTCCCTGCAAAGCG GCGTCCCGTCGCGGTTCAGCGGTTCCGGTTCGGGAACCGACTTCACC CTGACTATTTCCTCCCTGCAACCCGAGGATTTCGCCACTTACTACTGC CAGCAGTCCTACTCCACCCCACCTCTGACCTTCGGCCAAGGAACCAA GGTCGAAATCAAG
146263- aa ScFv之VH CCLL-1 CAR 12	76	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNVSSNYMTWVRQAPGKGLEW VSVIYSGGATYYGDSVKGRFTVSRDNSKNTVYLQMNRLTAEDTAVYYC ARDRLYCGNNCYLYYYYGMDVWGQGTLVTVSS
146263- aa ScFv之VL CCLL-1 CAR 12	89	DIQVTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPPLTFGQ GTKVEIK
146263- aa 完整CAR CCLL-1 CAR 12	102	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFN VSSNYMTWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGATYYGDSVKGRFTVSRDNSK NTVYLQMNRLTAEDTAVYYCARDRLYCGNNCYLYYYYGMDVWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQVTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQSYSTPPLTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIAS QPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITL YCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFS RSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRK NPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDT YDALHMQALPPR
146263- nt 完整CAR CCLL-1 CAR 12	115	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCCAAGTGCAACTCGTGGAATCAGGCGGAGGAC TCGTGCAACCCGGAGGTTCCCTTAGACTGTCATGTGCCGCTTCCGGGT TCAATGTGTCCAGCAACTACATGACCTGGGTCAGACAGGCGCCGGGA AAGGGACTTGAATGGGTGTCCGTGATCTACTCCGGTGGAGCAACATA CTACGGAGACTCCGTGAAAGGCCGCTTTACCGTGTCCCGCGATAACT CGAAGAACACCGTGTACTTGCAGATGAACAGGCTGACTGCCGAGGA CACCGCCGTGTATTATTGCGCCCGGGACAGGCTGTACTGTGGAAACA ACTGCTACCTGTACTACTACTACGGGATGGACGTGTGGGGACAGGGC ACTCTCGTCACTGTGTCATCCGGGGGGGGCGGTAGCGGTGGCGGAGG GTCCGGCGGAGGAGGCTCAGGGGGAGGCGGAAGCGATATCCAGGTC ACCCAGTCTCCCTCCTCGCTGTCCGCCTCCGTGGGCGACCGCGTCAC CATTACTTGCCGGGCGTCGCAGTCGATCAGCTCCTACCTGAACTGGTA CCAGCAGAAGCCTGGAAAGGCCCCGAAGCTGCTGATCTACGCGGCCT CGTCCCTGCAAAGCGGCGTCCCGTCGCGGTTCAGCGGTTCCGGTTCG GGAACCGACTTCACCCTGACTATTTCCTCCCTGCAACCCGAGGATTTC GCCACTTACTACTGCCAGCAGTCCTACTCCACCCCACCTCTGACCTTC GGCCAAGGAACCAAGGTCGAAATCAAGACCACTACCCCAGCACCGA GGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGC GTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGG GGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGT ACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAG CGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAG GCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCC

		CAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCG CAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTAC AACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACA AGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAA AGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATG GCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAG GCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAA GGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139115		
139115- aa ScFv結構域 CLL-1 CAR 1	39	EVQLQQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWM GGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARD LEMATIMGGYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSG SPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSGVS NRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLDVVFGGGTKLTV L
139115- nt ScFv結構域 CLL-1 CAR 1	52	GAAGTGCAACTCCAACAGTCAGGCGCAGAAGTCAAGAAGCCCGGAT CGTCAGTGAAAGTGTCCTGCAAAGCCTCCGGCGGAACCTTCAGCTCC TACGCAATCAGCTGGGTGCGGCAGGCGCCCGGACAGGGACTGGAGT GGATGGGCGGTATCATTCCGATCTTTGGCACCGCCAATTACGCCCAGA AGTTCCAGGGACGCGTCACAATCACCGCCGACGAATCGACTTCCACC GCCTACATGGAGCTGTCGTCCTTGAGGAGCGAAGATACCGCCGTGTA CTACTGCGCTCGGGATCTGGAGATGGCCACTATCATGGGGGGTTACTG GGGCCAGGGGACCCTGGTCACTGTGTCCTCGGGAGGAGGGGGATCA GGCGGCGGCGGTTCCGGGGGAGGAGGAAGCCAGTCCGCGCTGACTC AGCCAGCTTCCGTGTCTGGTTCGCCGGGACAGTCCATCACTATTAGCT GTACCGGCACCAGCAGCGACGTGGGCGGCTACAACTATGTGTCATGG TACCAGCAGCACCCGGGGAAGGCGCCTAAGCTGATGATCTACGACGT GTCCAACCGCCCTAGCGGAGTGTCCAACAGATTCTCCGGTTCGAAGT CAGGGAACACTGCCTCCCTCACGATTAGCGGGCTGCAAGCCGAGGAT GAAGCCGACTACTACTGCTCCTCCTATACCTCCTCCTCGACCCTGGAC GTGGTGTTCGGAGGAGGCACCAAGCTCACCGTCCTT
139115- aa ScFv之VH CLL-1 CAR 1	65	EVQLQQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWM GGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARD LEMATIMGGYWGQGTLVTVSS
139115- aa ScFv之VL CLL-1 CAR 1	78	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLM IYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTL DVVFGGGTKLTVL
139115- aa 完整CAR CLL-1 CAR 1	91	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLQQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGG TFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARDLEMATIMGGYWGQGTLVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQ HPGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYY CSSYTSSSTLDVVFGGGTKLTVLTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRP AAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYI FKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQ NQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPP R
139115- nt 完整CAR CLL-1 CAR 1	104	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAACTCCAACAGTCAGGCGCAGAAG TCAAGAAGCCCGGATCGTCAGTGAAAGTGTCCTGCAAAGCCTCCGGC GGAACCTTCAGCTCCTACGCAATCAGCTGGGTGCGGCAGGCGCCCGG ACAGGGACTGGAGTGGATGGGCGGTATCATTCCGATCTTTGGCACCG CCAATTACGCCCAGAAGTTCCAGGGACGCGTCACAATCACCGCCGAC

		GAATCGACTTCCACCGCCTACATGGAGCTGTCGTCCTTGAGGAGCGA AGATACCGCCGTGTACTACTGCGCTCGGGATCTGGAGATGGCCACTAT CATGGGGGGTTACTGGGGCCAGGGGACCCTGGTCACTGTGTCCTCGG GAGGAGGGGGATCAGGCGGCGGCGGTTCCGGGGGGAGGAGGAAGCC AGTCCGCGCTGACTCAGCCAGCTTCCGTGTCTGGTTCGCCGGGACAG TCCATCACTATTAGCTGTACCGGCACCAGCAGCGACGTGGGCGGCTA CAACTATGTGTCATGGTACCAGCAGCACCCGGGGAAGGCGCCTAAGC TGATGATCTACGACGTGTCCAACCGCCCTAGCGGAGTGTCCAACAGA TTCTCCGGTTCGAAGTCAGGGAACACTGCCTCCCTCACGATTAGCGG GCTGCAAGCCGAGGATGAAGCCGACTACTACTGCTCCTCCTATACCTC CTCCTCGACCCTGGACGTGGTGTTCGGAGGAGGCACCAAGCTCACCG TCCTTACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCA TCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCA GCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATC TACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCA CTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTAC ATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGA GGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGC GAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAA GCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGA GAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAA TGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAA CGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTA TGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACC AGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATG CAGGCCCTGCCGCCTCGG
139116		
139116- aa ScFv結構域 CLL-1 CAR 2	40	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEW VSLISGDGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRVEDTAVYYC ARVFDSYYMDVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGSGGSEIVLTQSPLSL PVTPGQPASISCRSSQSLVYTDGNTYLNWFQQRPGQSPRRLIYKVSNRDS GVPDRFSGSGSDTDFTLKISRVEAEDVGIYYCMQGTHWSFTFGQGTRLE IK
139116- nt ScFv結構域 CLL-1 CAR 2	53	GAAGTGCAATTGGTGGAAAGCGGAGGAGGAGTGGTGCAACCTGGAG GAAGCCTGAGACTGTCATGTGCCGCCTCGGGATTCACTTTCGATGACT ACGCAATGCACTGGGTCCGCCAGGCCCCCGGAAAGGGTCTGGAATG GGTGTCCCTCATCTCCGGCGATGGGGGTTCCACTTACTATGCGGATTC TGTGAAGGGCCGCTTCACAATCTCCCGGGACAATTCCAAGAACACTC TGTACCTTCAAATGAACTCCCTGAGGGTGGAGGACACCGCTGTGTAC TACTGCGCGAGAGTGTTTGACTCGTACTATATGGACGTCTGGGGAAA GGGCACCACCGTGACCGTGTCCAGCGGTGGCGGTGGATCGGGGGGC GGCGGCTCCGGGAGCGGAGGTTCCGAGATTGTGCTGACTCAGTCGCC GTTGTCACTGCCTGTCACCCCCGGGCAGCCGGCCTCCATTTCATGCCG GTCCAGCCAGTCCCTGGTCTACACCGATGGGAACACTTACCTCAACT GGTTCCAGCAGCGCCCAGGACAGTCCCCGCGGAGGCTGATCTACAAA GTGTCAAACCGGGACTCCGGCGTCCCCGATCGGTTCTCGGGAAGCGG CAGCGACACCGACTTCACGCTGAAGATTTCCCGCGTGGAAGCCGAG GACGTGGGCATCTACTACTGTATGCAGGGCACCCACTGGTCGTTTACC TTCGGACAAGGAACTAGGCTCGAGATCAAG
139116- aa ScFv之VH CLL-1 CAR 2	66	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEW VSLISGDGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRVEDTAVYYC ARVFDSYYMDVWGKGTTVTVSS
139116- aa ScFv之VL CLL-1 CAR 2	79	EIVLTQSPLSLPVTPGQPASISCRSSQSLVYTDGNTYLNWFQQRPGQSPRR LIYKVSNRDSGVPDRFSGSGSDTDFTLKISRVEAEDVGIYYCMQGTHWS FTFGQGTRLEIK

139116- aa 完整CAR CLL-1 CAR 2	92	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFT FDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSLISGDGGSTYYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRVEDTAVYYCARVFDSYYMDVWGKGTTVTVSSGGGGS GGGGSGSGGSEIVLTQSPLSLPVTPGQPASISCRSSQSLVYTDGNTYLNW FQQRPGQSPRRLIYKVSNRDSGVPDRFSGSGSDTDFTLKISRVEAEDVGI YYCMQGTHWSFTFGQGTRLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRP AAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYI FKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQ NQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPP R
139116- nt 完整CAR CLL-1 CAR 2	105	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAATTGGTGGAAAGCGGAGGAGGAG TGGTGCAACCTGGAGGAAGCCTGAGACTGTCATGTGCCGCCTCGGGA TTCACTTTCGATGACTACGCAATGCACTGGGTCCGCCAGGCCCCCGG AAAGGGTCTGGAATGGGTGTCCCTCATCTCCGGCGATGGGGGTTCCA CTTACTATGCGGATTCTGTGAAGGGCCGCTTCACAATCTCCCGGGACA ATTCCAAGAACACTCTGTACCTTCAAATGAACTCCCTGAGGGTGGAG GACACCGCTGTGTACTACTGCGCGAGAGTGTTTGACTCGTACTATATG GACGTCTGGGGAAAGGGCACCACCGTGACCGTGTCCAGCGGTGGCG GTGGATCGGGGGGGCGGCGGCTCCGGGAGCGGAGGTTCCGAGATTGT GCTGACTCAGTCGCCGTTGTCACTGCCTGTCACCCCCGGGCAGCCGG CCTCCATTTCATGCCGGTCCAGCCAGTCCCTGGTCTACACCGATGGGA ACACTTACCTCAACTGGTTCCAGCAGCGCCCAGGACAGTCCCCGCGG AGGCTGATCTACAAAGTGTCAAACCGGGACTCCGGCGTCCCCGATCG GTTCTCGGGAAGCGGCAGCGACACCGACTTCACGCTGAAGATTTCCC GCGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCATCTACTACTGTATGCAGGGCACC CACTGGTCGTTTACCTTCGGACAAGGAACTAGGCTCGAGATCAAGAC CACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCT CCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGT GGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATT TGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTG ATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTT AAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACG GCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACT GCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGG GGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGA GTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGC GGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGC TCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAA GGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGA CTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGC CCTGCCGCCTCGG
139118		
139118- aa ScFv結構域 CLL-1 CAR 3	41	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWI GSIYYSGSTYYNPSLKSRVSISVDTSKNQFSLKLKYVTAADTAVYYCATP GTYYDFLSGYYPFYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSP SSLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGV PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNSYPYTFGQGTKLEIK
139118- nt ScFv結構域 CLL-1 CAR 3	54	CAAGTGCAGCTTCAAGAAAGCGGTCCAGGACTCGTCAAGCCATCAG AAACTCTTTCCCTCACTTGTACCGTGTCGGGAGGCAGCATCTCCTCGA GCTCCTACTACTGGGGTTGGATTAGACAGCCCCCGGGAAAGGGGTTG GAGTGGATCGGTTCCATCTACTACTCCGGGTCGACCTACTACAACCCT TCCCTGAAATCTCGGGTGTCCATCTCCGTCGACACCTCCAAGAACCA GTTCAGCCTGAAGCTGAAATATGTGACCGCGGCCGATACTGCCGTGTA CTATTGCGCCACCCCGGGAACCTACTACGACTTCCTCTCGGGGTACTA CCCGTTTTACTGGGGACAGGGGACTCTCGTGACCGTGTCCTCGGGCG

		GCGGAGGTTCAGGCGGTGGCGGATCGGGGGGAGGAGGCTCAGACAT TGTGATGACCCAGAGCCCGTCCAGCCTGAGCGCCTCCGTGGGCGATA GGGTCACGATTACTTGCCGGGCGTCCCAGGGAATCTCAAGCTACCTG GCCTGGTACCAACAGAAGCCCGGAAAGGCACCCAAGTTGCTGATCTA TGCCGCTAGCACTCTGCAGTCCGGGGTGCCTTCCCGCTTCTCCGGCTC CGGCTCGGGCACCGACTTCACCCTGACCATTTCCTCACTGCAACCCG AGGACTTCGCCACTTACTACTGCCAGCAGCTGAACTCCTACCCTTACA CATTCGGACAGGGAACCAAGCTGGAAATCAAG
139118- aa ScFv之VH CLL-1 CAR 3	67	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWI GSIYYSGSTYYNPSLKSRVSISVDTSKNQFSLKLKYVTAADTAVYYCATP GTYYDFLSGYYPFYWGQGTLVTVSS
139118- aa ScFv之VL CLL-1 CAR 3	80	DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYA ASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNSYPYTFGQG TKLEIK
139118- aa 完整CAR CLL-1 CAR 3	93	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSI SSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVSISVDTSKNQ FSLKLKYVTAADTAVYYCATPGTYYDFLSGYYPFYWGQGTLVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWY QQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY CQQLNSYPYTFGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFK QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQ LYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDK MAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
139118- nt 完整CAR CLL-1 CAR 3	106	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCCAAGTGCAGCTTCAAGAAAGCGGTCCAGGAC TCGTCAAGCCATCAGAAACTCTTTCCCTCACTTGTACCGTGTCGGGAG GCAGCATCTCCTCGAGCTCCTACTACTGGGGTTGGATTAGACAGCCCC CGGGAAAGGGGTTGGAGTGGATCGGTTCCATCTACTACTCCGGGTCG ACCTACTACAACCCTTCCCTGAAATCTCGGGTGTCCATCTCCGTCGAC ACCTCCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAAATATGTGACCGCGGC CGATACTGCCGTGTACTATTGCGCCACCCCGGGAACCTACTACGACTT CCTCTCGGGGTACTACCCGTTTTACTGGGGACAGGGGACTCTCGTGA CCGTGTCCTCGGGCGGCGGAGGTTCAGGCGGTGGCGGATCGGGGGGG AGGAGGCTCAGACATTGTGATGACCCAGAGCCCGTCCAGCCTGAGCG CCTCCGTGGGCGATAGGGTCACGATTACTTGCCGGGCGTCCCAGGGA ATCTCAAGCTACCTGGCCTGGTACCAACAGAAGCCCGGAAAGGCACC CAAGTTGCTGATCTATGCCGCTAGCACTCTGCAGTCCGGGGTGCCTTC CCGCTTCTCCGGCTCCGGCTCGGGCACCGACTTCACCCTGACCATTTC CTCACTGCAACCCGAGGACTTCGCCACTTACTACTGCCAGCAGCTGA ACTCCTACCCTTACACATTCGGACAGGGAACCAAGCTGGAAATCAAG ACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGC CTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTG GTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACA TTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCG TGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCT TTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGAC GGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAAC TGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAG GGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGG AGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGG CGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAG CTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAA AGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGG ACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGG

		CCCTGCCGCCTCGG
139122		
139122- aa ScFv結構域 CLL-1 CAR 4	42	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEW VANINEDGSAKFYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYFC ARDLRSGRYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLS PGGRATLSCRASQSISGSFLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFS GSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPPTFGLGTKLEIK
139122- nt ScFv結構域 CLL-1 CAR 4	55	CAAGTGCAACTCGTGGAATCTGGTGGAGGACTCGTGCAACCCGGAG GATCATTGCGACTCTCGTGTGCGGCATCCGGCTTTACCTTTTCATCCTA CTGGATGTCCTGGGTCAGACAGGCCCCCGGGAAGGGACTGGAATGG GTCGCGAACATCAACGAGGACGGCTCGGCCAAGTTCTACGTGGACTC CGTGAAGGGCCGCTTCACGATCTCACGGGATAACGCCAAGAATTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACTGCGGTGTAC TTCTGCGCACGCGACCTGAGGTCCGGGAGATACTGGGGACAGGGCA CCCTCGTGACCGTGTCGAGCGGAGGAGGGGGGTCGGGCGGCGGCGG TTCCGGTGGCGGCGGTAGCGAAATTGTGTTGACCCAGTCCCCTGGAA CCCTGAGCCTGTCACCTGGAGGACGCGCCACCCTGTCCTGCCGGGCC AGCCAGAGCATCTCAGGGTCCTTCCTGGCTTGGTACCAGCAGAAGCC GGGACAGGCTCCGAGACTTCTGATCTACGGCGCCTCCTCGCGGGCGA CCGGAATCCCGGATCGGTTCTCCGGCTCGGGAAGCGGAACTGACTTC ACTCTTACCATTTCCCGCCTGGAGCCGGAAGATTTCGCCGTGTACTAC TGCCAGCAGTACGGGTCATCCCCTCCAACCTTCGGCCTGGGAACTAA GCTGGAAATCAAA
139122- aa ScFv之VH CLL-1 CAR 4	68	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEW VANINEDGSAKFYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYFC ARDLRSGRYWGQGTLVTVSS
139122- aa ScFv之VL CLL-1 CAR 4	81	EIVLTQSPGTLSLSPGGRATLSCRASQSISGSFLAWYQQKPGQAPRLLIYG ASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPPTFGLG TKLEIK
139122- aa 完整CAR CLL-1 CAR 4	94	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FSSYWMSWVRQAPGKGLEWVANINEDGSAKFYVDSVKGRFTISRDNA KNSLYLQMNSLRAEDTAVYFCARDLRSGRYWGQGTLVTVSSGGGGSGG GGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGGRATLSCRASQSISGSFLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYG SSPPTFGLGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRP VQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELN LGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYS EIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
139122- nt 完整CAR CLL-1 CAR 4	107	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCCAAGTGCAACTCGTGGAATCTGGTGGAGGACT CGTGCAACCCGGAGGATCATTGCGACTCTCGTGTGCGGCATCCGGCT TTACCTTTTCATCCTACTGGATGTCCTGGGTCAGACAGGCCCCCGGGA AGGGACTGGAATGGGTCGCGAACATCAACGAGGACGGCTCGGCCAA GTTCTACGTGGACTCCGTGAAGGGCCGCTTCACGATCTCACGGGATA ACGCCAAGAATTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGGGCCGAG GACACTGCGGTGTACTTCTGCGCACGCGACCTGAGGTCCGGGAGATA CTGGGGACAGGGCACCCTCGTGACCGTGTCGAGCGGAGGAGGGGGG TCGGGCGGCGGCGGTTCCGGTGGCGGCGGTAGCGAAATTGTGTTGAC CCAGTCCCCTGGAACCCTGAGCCTGTCACCTGGAGGACGCGCCACCC TGTCCTGCCGGGCCAGCCAGAGCATCTCAGGGTCCTTCCTGGCTTGG TACCAGCAGAAGCCGGGACAGGCTCCGAGACTTCTGATCTACGGCGC CTCCTCGCGGGCGACCGGAATCCCGGATCGGTTCTCCGGCTCGGGAA GCGGAACTGACTTCACTCTTACCATTTCCCGCCTGGAGCCGGAAGATT

		TCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTACGGGTCATCCCCTCCAACCTTCG GCCTGGGAACTAAGCTGGAAATCAAAACCACTACCCCAGCACCGAG GCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCG TCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGG GTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTAC TTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCG CGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGC CTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCA GAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCA GCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAA CGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAG CGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAG AATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGC AGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGC AAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGG ACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139117		
139117- aa ScFv結構域 CLL-1 CAR 5	43	EVQLQQSGPGLVRPSETLSLTCTVSGGPVRSGSHYWNWIRQPPGRGLEW IGYIYYSGSTNYNPSLENRVTISIDTSNNHFSLKLSSVTAADTALYFCARG TATFDWNFPFDSWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGSGGSDIQMTQSPSSL SASIGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPWTFGQGTKLEIK
139117- nt ScFv結構域 CLL-1 CAR 5	56	GAAGTGCAACTCCAACAATCCGGTCCAGGACTCGTCAGACCCTCCGA AACTCTCTCGCTTACATGCACTGTGTCCGGCGGCCCTGTGCGGTCCGG CTCTCATTACTGGAACTGGATTCGCCAGCCCCCGGGACGCGGACTGG AGTGGATCGGCTACATCTATTACTCGGGGTCGACTAACTACAACCCGA GCCTGGAAAATAGAGTGACCATCTCAATCGACACGTCCAACAACCAC TTCTCGCTGAAGTTGTCCTCCGTGACTGCCGCCGATACTGCCCTGTAC TTCTGTGCTCGCGGAACCGCCACCTTCGACTGGAACTTCCCTTTTGAC TCATGGGGCCAGGGGACCCTTGTGACCGTGTCCAGCGGAGGAGGAG GCTCCGGTGGTGGCGGGAGCGGTAGCGGCGGAAGCGACATCCAGAT GACCCAGTCACCGTCCTCGCTGTCCGCATCCATTGGGGATCGGGTCA CTATTACTTGCCGGGCGTCCCAGTCCATCTCGTCCTACCTGAACTGGT ATCAGCAGAAGCCAGGGAAAGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCGGCC AGCAGCCTGCAGTCAGGAGTGCCTTCAAGGTTTAGCGGCAGCGGATC GGGAACCGACTTCACCCTGACCATTTCCTCCCTCCAACCCGAGGATTT CGCCACCTACTACTGCCAGCAGTCCTACTCCACCCCGTGGACCTTCGG ACAGGGAACCAAGCTGGAGATCAAG
139117- aa ScFv之VH CLL-1 CAR 5	69	EVQLQQSGPGLVRPSETLSLTCTVSGGPVRSGSHYWNWIRQPPGRGLEW IGYIYYSGSTNYNPSLENRVTISIDTSNNHFSLKLSSVTAADTALYFCARG TATFDWNFPFDSWGQGTLVTVSS
139117- aa ScFv之VL CLL-1 CAR 5	82	DIQMTQSPSSLSASIGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAA SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPWTFGQGT KLEIK
139117- aa 完整CAR CLL-1 CAR 5	95	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLQQSGPGLVRPSETLSLTCTVSGGPV RSGSHYWNWIRQPPGRGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLENRVTISIDTSNNH FSLKLSSVTAADTALYFCARGTATFDWNFPFDSWGQGTLVTVSSGGGGS GGGGSGSGGSDIQMTQSPSSLSASIGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQS YSTPWTFGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAV HTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFM RPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNE LNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

139117- nt 完整CAR CLL-1 CAR 5	108	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAACTCCAACAATCCGGTCCAGGACT CGTCAGACCCTCCGAAACTCTCTCGCTTACATGCACTGTGTCCGGCG GCCCTGTGCGGTCCGGCTCTCATTACTGGAACTGGATTCGCCAGCCCC CGGGACGCGGACTGGAGTGGATCGGCTACATCTATTACTCGGGGTCG ACTAACTACAACCCGAGCCTGGAAAATAGAGTGACCATCTCAATCGA CACGTCCAACAACCACTTCTCGCTGAAGTTGTCCTCCGTGACTGCCG CCGATACTGCCCTGTACTTCTGTGCTCGCGGAACCGCCACCTTCGACT GGAACTTCCCTTTTGACTCATGGGGCCAGGGGACCCTTGTGACCGTG TCCAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGTGGTGGCGGGAGCGGTAGCGGCG GAAGCGACATCCAGATGACCCAGTCACCGTCCTCGCTGTCCGCATCC ATTGGGGATCGGGTCACTATTACTTGCCGGGCGTCCCAGTCCATCTCG TCCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCAGGGAAAGCCCCCAAGCT GCTGATCTACGCGGCCAGCAGCCTGCAGTCAGGAGTGCCTTCAAGGT TTAGCGGCAGCGGATCGGGAACCGACTTCACCCTGACCATTTCCTCC CTCCAACCCGAGGATTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTCCTACTCC ACCCCGTGGACCTTCGGACAGGGAACCAAGCTGGAGATCAAGACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCC CAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGG GGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTG GGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGAT CACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAA GCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCT GTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCG CGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGC AGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTAC GACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGG AAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCC AAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGG GAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCA GCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTG CCGCCTCGG
139120		
139120- aa ScFv結構域 CLL-1 CAR 7	45	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWV SSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR DPSSSGSYYMEDSYYYGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTGSSGSIASNYVQWYQQRPGSAPTTVIY EDNQRPSGVPDRFSGSIDSSSNSASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSSNQV VFGGGTKLTVL
139120- nt ScFv結構域 CLL-1 CAR 7	58	GAAGTGCAATTGGTGGAATCTGGAGGAGGACTTGTGAAACCTGGTG GAAGCCTGAGACTTTCCTGTGCGGCCTCGGGATTCACTTTCTCCTCCT ACTCCATGAACTGGGTCAGACAGGCCCCTGGGAAGGGACTGGAATG GGTGTCATCCATCTCCTCCTCATCGTCGTACATCTACTACGCCGATAGC GTGAAGGGGCGGTTCACCATTTCCCGGGACAACGCTAAGAACAGCCT CTATCTGCAAATGAATTCCCTCCGCGCCGAGGACACTGCCGTGTACTA CTGCGCGAGGGACCCCTCATCAAGCGGCAGCTACTACATGGAGGACT CGTATTACTACGGAATGGACGTCTGGGGCCAGGGAACCACTGTGACG GTGTCCTCCGGTGGAGGGGGCTCCGGGGGCGGGGGATCTGGCGGAG GAGGCTCCAACTTCATGCTGACCCAGCCGCACTCCGTGTCCGAAAGC CCCGGAAAGACCGTGACAATTTCCTGCACCGGGTCCTCCGGCTCGAT CGCATCAAACTACGTGCAGTGGTACCAGCAGCGCCCGGGCAGCGCCC CCACCACTGTCATCTACGAGGATAACCAGCGGCCGTCGGGTGTCCCA GACCGGTTTTCCGGTTCGATCGATAGCAGCAGCAACAGCGCCTCCCT GACCATTTCCGGCCTCAAGACCGAGGATGAGGCTGACTACTACTGCC AGTCGTATGACTCCTCGAACCAAGTGGTGTTCGGTGGCGGCACCAAG CTGACTGTGCTG
139120- aa	71	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWV

ScFv之VH CLL-1 CAR 7		SSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR DPSSSGSYYMEDSYYYGMDVWGQGTTVTVSS
139120- aa ScFv之VL CLL-1 CAR 7	84	NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTGSSGSIASNYVQWYQQRPGSAPTTVIY EDNQRPSGVPDRFSGSIDSSSNSASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSSNQV VFGGGTKLTVL
139120- aa 完整CAR CLL-1 CAR 7	97	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFT FSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPSSSGSYYMEDSYYYGMDVWGQGTT VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSNFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTGSSGSIA SNYVQWYQQRPGSAPTTVIYEDNQRPSGVPDRFSGSIDSSSNSASLTISG LKTEDEADYYCQSYDSSNQVVFGGGTKLTVLTTTPAPRPPTPAPTIASQP LSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSA DAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQ EGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYD ALHMQALPPR
139120- nt 完整CAR CLL-1 CAR 7	110	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAATTGGTGGAATCTGGAGGAGGACT TGTGAAACCTGGTGGAAGCCTGAGACTTTCCTGTGCGGCCTCGGGAT TCACTTTCTCCTCCTACTCCATGAACTGGGTCAGACAGGCCCCTGGGA AGGGACTGGAATGGGTGTCATCCATCTCCTCCTCATCGTCGTACATCT ACTACGCCGATAGCGTGAAGGGGCGGTTCACCATTTCCCGGGACAAC GCTAAGAACAGCCTCTATCTGCAAATGAATTCCCTCCGCGCCGAGGA CACTGCCGTGTACTACTGCGCGAGGGACCCCTCATCAAGCGGCAGCT ACTACATGGAGGACTCGTATTACTACGGAATGGACGTCTGGGGCCAG GGAACCACTGTGACGGTGTCCTCCGGTGGAGGGGGCTCCGGGGGCG GGGGATCTGGCGGAGGAGGCTCCAACTTCATGCTGACCCAGCCGCAC TCCGTGTCCGAAAGCCCCGGAAAGACCGTGACAATTTCCTGCACCGG GTCCTCCGGCTCGATCGCATCAAACTACGTGCAGTGGTACCAGCAGC GCCCGGGCAGCGCCCCCACCACTGTCATCTACGAGGATAACCAGCGG CCGTCGGGTGTCCCAGACCGGTTTTCCGGTTCGATCGATAGCAGCAG CAACAGCGCCTCCCTGACCATTTCCGGCCTCAAGACCGAGGATGAGG CTGACTACTACTGCCAGTCGTATGACTCCTCGAACCAAGTGGTGTTCG GTGGCGGCACCAAGCTGACTGTGCTGACCACTACCCCAGCACCGAG GCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCG TCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGG GTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTAC TTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCG CGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGC CTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCA GAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCA GCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAA CGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAG CGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAG AATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGC AGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGC AAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGG ACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139121		
139121- aa ScFv結構域 CLL-1 CAR 8	46	QVNLRESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYEMNWVRQAPGKGLEW VSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCA REALGSSWEWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRF SGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQYDNLPLTFGGGTKLEIK
139121- nt	59	CAAGTGAACCTGAGAGAAAGCGGCGGAGGACTTGTGCAACCTGGAG

ScFv結構域 CLL-1 CAR 8		GAAGCCTGAGACTGTCATGTGCCGCGTCCGGCTTCACCTTCTCGTCCT ACGAGATGAACTGGGTCCGCCAGGCACCGGGCAAAGGACTGGAATG GGTGTCCTACATTTCCTCGTCCGGGTCCACCATCTATTACGCCGACTCC GTGAAGGGACGGTTCACCATCTCCCGGGACAACGCCAAGAACTCCCT CTACCTCCAAATGAACTCACTGAGGGCAGAGGACACTGCGGTCTACT ACTGCGCCCGCGAAGCTTTGGGTAGCTCCTGGGAGTGGGGCCAGGG AACCACTGTGACCGTGTCCTCGGGTGGAGGGGGCTCCGGTGGCGGG GGTTCAGGGGGTGGCGGAAGCGATATCCAGATGACTCAGTCACCAAG CTCCCTGAGCGCCTCAGTGGGAGATCGGGTCACAATCACGTGCCAGG CGTCCCAGGACATTTCTAACTACCTCAATTGGTACCAGCAGAAGCCG GGGAAGGCCCCCAAGCTTCTGATCTACGATGCCTCCAACCTGGAAAC CGGCGTGCCCTCCCGCTTCTCGGGATCGGGCAGCGGCACTGACTTCA CCTTTACCATCTCGTCCCTGCAACCTGAGGACATCGCCACCTATTACT GCCAGCAGTACGATAACCTCCCGCTGACTTTCGGAGGCGGAACTAAG CTGGAGATTAAG
139121- aa ScFv之VH CLL-1 CAR 8	72	QVNLRESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYEMNWVRQAPGKGLEW VSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCA REALGSSWEWGQGTTVTVSS
139121- aa ScFv之VL CLL-1 CAR 8	85	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIY DASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQYDNLPLTFGG GTKLEIK
139121- aa 完整CAR CLL-1 CAR 8	98	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVNLRESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FSSYEMNWVRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREALGSSWEWGQGTTVTVSSGGGGSGG GGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPG KAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQYD NLPLTFGGGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVH TRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMR PVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNEL NLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAY SEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
139121- nt 完整CAR CLL-1 CAR 8	111	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCCAAGTGAACCTGAGAGAAAGCGGCGGAGGAC TTGTGCAACCTGGAGGAAGCCTGAGACTGTCATGTGCCGCGTCCGGC TTCACCTTCTCGTCCTACGAGATGAACTGGGTCCGCCAGGCACCGGG CAAAGGACTGGAATGGGTGTCCTACATTTCCTCGTCCGGGTCCACCAT CTATTACGCCGACTCCGTGAAGGGACGGTTCACCATCTCCCGGGACA ACGCCAAGAACTCCCTCTACCTCCAAATGAACTCACTGAGGGCAGAG GACACTGCGGTCTACTACTGCGCCCGCGAAGCTTTGGGTAGCTCCTG GGAGTGGGGCCAGGGAACCACTGTGACCGTGTCCTCGGGTGGAGGG GGCTCCGGTGGCGGGGGTTCAGGGGGTGGCGGAAGCGATATCCAGAT GACTCAGTCACCAAGCTCCCTGAGCGCCTCAGTGGGAGATCGGGTCA CAATCACGTGCCAGGCGTCCCAGGACATTTCTAACTACCTCAATTGGT ACCAGCAGAAGCCGGGGAAGGCCCCCAAGCTTCTGATCTACGATGCC TCCAACCTGGAAACCGGCGTGCCCTCCCGCTTCTCGGGATCGGGCAG CGGCACTGACTTCACCTTTACCATCTCGTCCCTGCAACCTGAGGACAT CGCCACCTATTACTGCCAGCAGTACGATAACCTCCCGCTGACTTTCGG AGGCGGAACTAAGCTGGAGATTAAGACCACTACCCCAGCACCGAGG CCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGT CCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGG TCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACT TGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGC GGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCC TGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAG AGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAG

		CGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAAC GAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGC GGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGA ATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCA GAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCA AAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGA CACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
146264		
146264- aa ScFv結構域 CCLL-1 CAR 13	51	QVQLVQSGAEVKKSGASVKVSCKASGYPFTGYYIQWVRQAPGQGLEW MGWIDPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYC ASDSYGYYYGMDVWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTFTCRASQGISSALAWYQQKPGKPPKLLIYDASS LESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNNYPLTFGGGTKV EIK
146264- nt ScFv結構域 CCLL-1 CAR 13	64	CAAGTGCAACTCGTCCAGTCCGGTGCAGAAGTGAAAAAGAGCGGAG CCTCAGTGAAAGTGTCCTGCAAGGCCTCCGGTTACCCCTTCACTGGAT ACTACATTCAGTGGGTCCGCCAAGCCCCGGGACAGGGTCTGGAGTGG ATGGGGTGGATTGACCCTAACTCGGGAAATACGGGATACGCGCAGAA GTTCCAGGGCCGCGTGACCATGACCAGGAACACCTCGATCAGCACCG CCTACATGGAACTGTCCTCCCTGCGGTCGGAGGATACTGCCGTGTACT ACTGCGCCTCCGATTCCTATGGGTACTACTACGGAATGGACGTCTGGG GACAGGGCACCCTCGTGACCGTGTCCTCGGGAGGCGGAGGGAGCGG CGGGGGTGGATCGGGAGGAGGCGGCTCCGGCGGCGGCGGTAGCGAC ATCCAGATGACCCAGTCACCATCAAGCCTTAGCGCCTCCGTGGGCGA CAGAGTGACATTCACTTGTCGGGCGTCCCAGGGAATCTCCTCCGCTC TGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGGAAGCCTCCGAAGCTGTTGATC TACGACGCGAGCAGCCTGGAATCAGGGGTGCCCTCCCGGTTTTCCGG GTCCGGTTCTGGCACCGATTTCACCCTGACCATTTCGTCCCTCCAACC CGAGGACTTCGCCACTTACTACTGCCAGCAGTTCAACAACTACCCGC TGACCTTCGGAGGAGGCACTAAGGTCGAGATCAAG
146264- aa ScFv之VH CCLL-1 CAR 13	77	QVQLVQSGAEVKKSGASVKVSCKASGYPFTGYYIQWVRQAPGQGLEW MGWIDPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYC ASDSYGYYYGMDVWGQGTLVTVSS
146264- aa ScFv之VL CCLL-1 CAR 13	90	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTFTCRASQGISSALAWYQQKPGKPPKLLIYD ASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNNYPLTFGGG TKVEIK
146264- aa 完整CAR CCLL-1 CAR 13	103	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKSGASVKVSCKASGY PFTGYYIQWVRQAPGQGLEWMGWIDPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRNT SISTAYMELSSLRSEDTAVYYCASDSYGYYYGMDVWGQGTLVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTFTCRASQGISS ALAWYQQKPGKPPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQFNNYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEA CRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKK LLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYK QGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNE LQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
146264- nt 完整CAR CCLL-1 CAR 13	116	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCCAAGTGCAACTCGTCCAGTCCGGTGCAGAAGT GAAAAAGAGCGGAGCCTCAGTGAAAGTGTCCTGCAAGGCCTCCGGT TACCCCTTCACTGGATACTACATTCAGTGGGTCCGCCAAGCCCCGGGA CAGGGTCTGGAGTGGATGGGGTGGATTGACCCTAACTCGGGAAATAC GGGATACGCGCAGAAGTTCCAGGGCCGCGTGACCATGACCAGGAAC ACCTCGATCAGCACCGCCTACATGGAACTGTCCTCCCTGCGGTCGGA

		GGATACTGCCGTGTACTACTGCGCCTCCGATTCCTATGGGTACTACTAC GGAATGGACGTCTGGGGACAGGGCACCCTCGTGACCGTGTCCTCGG GAGGCGGAGGGAGCGGCGGGGGTGGATCGGGAGGAGGCGGCTCCG GCGGCGGCGGTAGCGACATCCAGATGACCCAGTCACCATCAAGCCTT AGCGCCTCCGTGGGCGACAGAGTGACATTCACTTGTCGGGCGTCCCA GGGAATCTCCTCCGCTCTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGGAAGC CTCCGAAGCTGTTGATCTACGACGCGAGCAGCCTGGAATCAGGGGTG CCCTCCCGGTTTTCCGGGTCCGGTTCTGGCACCGATTTCACCCTGACC ATTTCGTCCCTCCAACCCGAGGACTTCGCCACTTACTACTGCCAGCAG TTCAACAACTACCCGCTGACCTTCGGAGGAGGCACTAAGGTCGAGAT CAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCA TCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCA GCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATC TACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCA CTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTAC ATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGA GGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGC GAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAA GCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGA GAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAA TGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAA CGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTA TGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACC AGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATG CAGGCCCTGCCGCCTCGG
181268		
181268- aa ScFv之VH	195	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYEMNWVRQAPGKGLEWV SYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR DPYSSSWHDAFDIWGQGTMVTVSS
181268- aa ScFv之VL	196	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIY GASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGG GTKVDIK
181268- aa 完整CAR	197	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FSSYEMNWVRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPYSSSWHDAFDIWGQGTMVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWY QQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CQQYGSSPLTFGGGTKVDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFK QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQ LYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDK MAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
181268- nt 完整CAR	198	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAACTCGTGGAAAGCGGTGGAGGTC TTGTGCAACCTGGAGGTTCCTTGCGCCTGTCATGTGCAGCTTCCGGCT TCACTTTCTCCTCGTACGAGATGAATTGGGTGCGGCAGGCGCCTGGA AAGGGGCTGGAATGGGTGTCCTACATCTCAAGCTCCGGCTCGACCAT CTACTACGCGGACAGCGTGAAGGGGCGGTTCACGATTTCGAGGGACA ACGCCAAGAACTCGCTCTATCTGCAAATGAACTCCCTGAGAGCCGAG GACACCGCTGTGTATTACTGCGCCCGGGACCCCTACTCCTCCTCATGG CACGACGCCTTTGATATCTGGGGCCAGGGAACCATGGTCACCGTCAG CAGCGGGGGCGGAGGTTCCGGGGGAGGGGGCTCCGGCGGAGGAGG CTCCGAGATTGTGTTGACTCAGAGCCCGGGTACCCTGTCGCTGAGCC CCGGAGAGCGGGCCACCCTTTCATGCCGCGCCAGCCAGTCCGTGTCC TCATCCTACCTCGCGTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCCCCGCG GCTGCTGATCTACGGCGCCTCCTCGCGCGCAACCGGAATCCCCGACC GGTTCTCCGGGTCTGGCAGCGGAACCGACTTCACTCTCACCATTTCG

		AGGCTGGAGCCGGAAGATTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTACGG CTCCTCGCCACTGACTTTCGGCGGAGGAACCAAGGTCGATATCAAGA CCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCC TCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGG TGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACAT TTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGT GATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTT TAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACG GCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACT GCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGG GGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGA GTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGC GGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGC TCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAA GGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGA CTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGC CCTGCCGCCTCGG

在實施例中，接著CAR scFv片段選殖至慢病毒載體中以在單一編碼框中且使用EF1α啟動子產生全長CAR構築體用於表現(SEQ ID NO: 11)。

EF1α啟動子

CGTGAGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGG
CAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTT
CCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCA
GAACACAGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTTGCGTGCCTTGAAT
TACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCCCGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAGGCCT
TGCGCTTAAGGAGCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCGCCGCGTGCGAATCT
GGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTCGATAAGTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGAC
GCTTTTTTTCTGGCAAGATAGTCTTGTAAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTCGGTTTTTGGGGCCGCG
GGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCGCACATGTTCGGCGAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCG
GACGGGGGTAGTCTCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCCGTGTATCGCCCCGCCCTGGGC
GGCAAGGCTGGCCCGGTCGGCACCAGTTGCGTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCA
AAATGGAGGACGCGGCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAAAAGGGCCTTTCCGTCCTCAG
CCGTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGTACCGGGCGCCGTCCAGGCACCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTAC
GTCGTCTTTAGGTTGGGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTGGGTGGAGACTGAAGTTAGG
CCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAATTTGCCCTTTTTGAGTTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTC
AGACAGTGGTTCAAAGTTTTTTTCTTCCATTTCAGGTGTCGTGA

Gly/Ser (SEQ ID NO: 25)

GGGGS

Gly/Ser (SEQ ID NO: 26)：此序列可涵蓋1-6個「Gly Gly Gly Gly Ser」重複單元

GGGGSGGGGS GGGGSGGGGS GGGGSGGGGS

Gly/Ser (SEQ ID NO: 27)

GGGGSGGGGS GGGGSGGGGS

Gly/Ser (SEQ ID NO: 28)

GGGGSGGGGS GGGGS

Gly/Ser (SEQ ID NO: 29)

GGGS

聚A：$(A)_{5000}$ (SEQ ID NO: 30)

此序列可涵蓋50-5000個腺嘌呤。

聚A：$(T)_{100}$ (SEQ ID NO: 31)

聚A：$(T)_{5000}$ (SEQ ID NO: 32)

此序列可涵蓋50-5000個胸腺嘧啶。

聚A：$(A)_{5000}$ (SEQ ID NO: 33)

此序列可涵蓋100-5000個腺嘌呤。

聚A：$(A)_{400}$ (SEQ ID NO: 34)

聚A：$(A)_{2000}$ (SEQ ID NO: 35)

Gly/Ser (SEQ ID NO: 38)：此序列可涵蓋1至10個「Gly Gly Gly Ser」重複單元

GGGSGGGSGG GSGGGSGGGS GGGSGGGSGG GSGGGSGGGS

在一個實施例中，CLL-1 CAR可包含PCT公開案WO2014/051433(其全部內容以引用的方式併入本文中)中所揭示之抗-CLL-1(CLEC12A)抗體之重鏈可變結構域之一或多個，例如一個、兩個或三個CDR及/或輕鏈可變結構域之一或多個，例如一個、兩個或三個CDR，或可變重鏈(VH)或可變輕鏈(VL)。

CAR scFv片段可選殖至慢病毒載體中，以在單個編碼框中且使用EF1 α啟動子形成全長CAR構築體，用於表現(SEQ ID NO: 11)。

CAR構築體可包括具有以下序列中之一或多者的Gly/Ser連接子：GGGGS (SEQ ID NO: 25)；涵蓋1-6個「Gly Gly Gly Gly Ser」重複單元，例如GGGGSGGGGS GGGGSGGGGS GGGGSGGGGS (SEQ

ID NO: 26)；GGGGSGGGGS GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 27)；GGGGSGGGGS GGGGS (SEQ ID NO: 28)；GGGS (SEQ ID NO: 29)；或涵蓋1-10個「Gly Gly Gly Ser」重複單元，例如GGGSGGGSGG GSGGGSGGGS GGGSGGGSGG GSGGGSGGGS (SEQ ID NO: 38)。

在實施例中，CAR構築體包括聚A序列，例如涵蓋50-5000個或100-5000個腺嘌呤之序列(例如SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 33、SEQ ID NO: 34或SEQ ID NO: 35)或涵蓋50-5000個胸腺嘧啶之序列(例如SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32)。或者，CAR構築體可包括例如包括序列GSTSGSGKPGSGEGSTKG之連接子(SEQ ID NO: 486)。

雙特異性CAR

在一個實施例中，多特異性抗體分子為雙特異性抗體分子。雙特異性抗體具有針對不超過兩個抗原之特異性。雙特異性抗體分子之特徵為第一免疫球蛋白可變結構域序列具有針對第一抗原決定基之結合特異性及第二免疫球蛋白可變結構域序列具有針對第二抗原決定基之結合特異性。在一個實施例中，第一及第二抗原決定基在相同抗原，例如相同蛋白質(或多聚蛋白質之次單元)上。在一實施例中，第一及第二抗原決定基重疊。在一實施例中，第一及第二抗原決定基不重疊。在一實施例中，第一及第二抗原決定基在不同抗原，例如不同蛋白質(或多聚蛋白質之不同次單元)上。在一個實施例中，雙特異性抗體分子包含對於第一抗原決定基具有結合特異性之重鏈可變結構域序列及輕鏈可變結構域序列及對於第二抗原決定基具有結合特異性之重鏈可變結構域序列及輕鏈可變結構域序列。在一個實施例中，雙特異性抗體分子包含對於第一抗原決定基具有結合特異性之半抗體及對於第二抗原決定基具有結合特異性之半抗體。在一個實施例中，雙特異性抗體分子包含對於第一抗原決定基具有結合特異性之半抗體或其片段及對於第二抗原決定基具有結合特異性之半抗體或其片段。在一

個實施例中，雙特異性抗體分子包含具有針對第一抗原決定基之結合特異性的scFv或其片段及具有針對第二抗原決定基之結合特異性的scFv或其片段。

在某些實施例中，抗體分子為多特異性(例如雙特異性或三特異性)抗體分子。用於產生雙特異性或雜二聚體抗體分子之方案為此項技術中已知；包括(但不限於)如例如US 5731168中所述之「杵臼」法；如例如WO 09/089004、WO 06/106905及WO 2010/129304中所述之靜電導向Fc配對；如例如WO 07/110205中所述之股交換工程改造結構域(SEED)雜二聚體形成；如例如WO 08/119353、WO 2011/131746及WO 2013/060867中所述之Fab臂交換；雙重抗體結合物，例如藉由使用具有胺反應性基團及硫氫基反應性基團之異雙官能試劑進行抗體交聯，產生雙特異性結構，如例如US 4433059中所述；藉由對兩個重鏈之間的二硫鍵進行還原及氧化循環來重組來自不同抗體之半抗體(重-輕鏈對或Fab)所產生的雙特異性抗體決定子，如例如美國4444878中所述；三功能抗體，例如三個Fab'片段經由硫氫基反應基團交聯，如例如US5273743中所述；生物合成結合蛋白，例如經由C端尾，較佳經由二硫化物或胺反應性化學交聯進行交聯之scFv對，如例如US5534254中所述；雙官能抗體，例如經由白胺酸拉鏈(例如c-fos及c-jun)二聚之已置換恆定結構域之具有不同結合特異性的Fab片段，如例如US5582996中所述；雙特異性及寡特異性單價及寡價受體，例如在一個抗體之CH1區與通常締合輕鏈之其他抗體之VH區之間經由多肽間隔子連接的兩個抗體(兩個Fab片段)之VH-CH1區，如例如US5591828中所述；雙特異性DNA-抗體結合物，例如經由DNA之雙股片的抗體或Fab片段之交聯，如例如US5635602中所述；雙特異性融合蛋白，例如含有兩個scFv之其間具有親水性螺旋肽連接子且具有完整恆定區的表現構築體，如例如US5637481中所述；多價及多特

異性結合蛋白，例如具有含有Ig重鏈可變區之結合區之第一結構域及含有Ig輕鏈可變區之結合區之第二結構域的多肽二聚體，一般稱為雙功能抗體(亦涵蓋針對雙特異性、三特異性或四特異性分子產生之高階結構)，如例如US5837242中所述；微型抗體構築體，其連接有VL及VH鏈，VL及VH鏈用肽間隔子進一步連接至抗體鉸鏈區及CH3區，其可二聚以形成雙特異性/多價分子，如例如US5837821中所述；與短肽連接子(例如5或10個胺基酸)連接或在任一取向上均無連接子的VH及VL結構域，其可形成二聚體以形成雙特異性雙功能抗體；三聚體及四聚體，如例如US5844094中所述；在C端藉由具有可交聯基團之肽鍵連接之VH結構域(或家族成員中之VL結構域)鏈帶進一步與VL結構域締合以形成一連串FV (或scFv)，如例如US5864019中所述；以及VH與VL結構域經由肽連接子連接之單鏈結合多肽經由非共價或化學交聯而組合成多價結構以使用scFV或雙功能抗體類型格式形成例如同二價、異二價、三價及四價結構，如例如US5869620中所述。其他例示性多特異性及雙特異性分子及其製備方法見於例如US5910573、US5932448、US5959083、US5989830、US6005079、US6239259、US6294353、US6333396、US6476198、US6511663、US6670453、US6743896、US6809185、US6833441、US7129330、US7183076、US7521056、US7527787、US7534866、US7612181、US2002004587A1、US2002076406A1、US2002103345A1、US2003207346A1、US2003211078A1、US2004219643A1、US2004220388A1、US2004242847A1、US2005003403A1、US2005004352A1、US2005069552A1、US2005079170A1、US2005100543A1、US2005136049A1、US2005136051A1、US2005163782A1、US2005266425A1、US20060083747A1、US2006120960A1、US2006204493A1、US20062633367A1、

US2007004909A1、US2007087381A1、US2007128150A1、US2007141049A1、US2007154901A1、US2007274985A1、US2008050370A1、US2008069820A1、US2008152645A1、US2008171855A1、US2008241884A1、US2008254512A1、US2008260738A1、US2009130106A1、US2009148905A1、US2009155275A1、US2009162359A1、US2009162360A1、US2009175851A1、US2009175867A1、US2009232811A1、US2009234105A1、US2009263392A1、US2009274649A1、EP346087A2、WO0006605A2、WO02072635A2、WO04081051A1、WO06020258A2、WO2007044887A2、WO2007095338A2、WO2007137760A2、WO2008119353A1、WO200902175 4A2、WO2009068630A1、WO9103493A1、WO9323537A1、WO9409131A1、WO9412625A2、WO9509917A1、WO9637621A2、WO9964460A1。上文提及之申請案之內容以全文引用的方式併入本文中。

在雙特異性抗體分子之每一抗體或抗體片段(例如scFv)內，VH可在VL之上游或下游。在一些實施例中，上游抗體或抗體片段(例如scFv)經配置使得其VH (VH_1)在其VL (VL_1)上游，且下游抗體或抗體片段(例如scFv)經配置使得其VL (VL_2)在其VH (VH_2)上游，使得整個雙特異性抗體分子具有配置VH_1-VL_1-VL_2-VH_2。在其他實施例中，上游抗體或抗體片段(例如scFv)經配置使得其VL (VL_1)在其VH (VH_1)上游，且下游抗體或抗體片段(例如scFv)經配置使得其VH (VH_2)在其VL (VL_2)上游，使得整個雙特異性抗體分子具有配置VL_1-VH_1-VH_2-VL_2。視情況，若構築體配置為VH_1-VL_1-VL_2-VH_2，則連接子安置在兩個抗體或抗體片段(例如scFv)之間，例如VL_1與VL_2之間，或若構築體配置為VL_1-VH_1-VH_2-VL_2，則安置在VH_1與VH_2之間。連接子可為

如本文所述之連接子，例如(Gly$_4$-Ser)n連接子，其中n為1、2、3、4、5或6，較佳為4 (SEQ ID NO: 64)。一般而言，兩個scFv之間的連接子應足夠長以避免兩個scFv之結構域之間錯配。視情況，連接子安置在第一scFv之VL與VH之間。視情況，連接子安置在第二scFv之VL與VH之間。在具有多個連接子之構築體中，任兩個或兩個以上連接子可相同或不同。因此，在一些實施例中，雙特異性CAR包含VL、VH及視情況存在之一或多個連接子，配置如本文所述。

在一個態樣中，雙特異性抗體分子之特徵為第一免疫球蛋白可變結構域序列，例如scFv，其對CLL-1具有結合特異性，例如包含如本文所述，例如如表2中所述之scFv，或包含來自本文所述之CLL-1 scFv之輕鏈CDR及/或重鏈CDR；及第二免疫球蛋白可變結構域序列，其對不同抗原上之第二抗原決定基具有結合特異性。在一些態樣中，第二免疫球蛋白可變結構域序列對在AML細胞上表現之抗原，例如除CLL-1外之抗原具有結合特異性。舉例而言，第二免疫球蛋白可變結構域序列對CD123具有結合特異性。作為另一實例，第二免疫球蛋白可變結構域序列對CD33具有結合特異性。作為另一實例，第二免疫球蛋白可變結構域序列對CD34具有結合特異性。作為另一實例，第二免疫球蛋白可變結構域序列對FLT3具有結合特異性。舉例而言，第二免疫球蛋白可變結構域序列對葉酸鹽受體β具有結合特異性。在一些態樣中，第二免疫球蛋白可變結構域序列對在B細胞上表現之抗原，例如CD19、CD20、CD22或ROR1具有結合特異性。

嵌合TCR

在一個態樣中，本發明之CLL-1抗體及抗體片段(例如表2中所揭示者)可移植至T細胞受體(「TCR」)鏈，例如TCRα或TCRβ鏈之一或多個恆定結構域，以產生特異性結合於CLL-1之嵌合TCR。不受理論束縛，咸信嵌合TCR在抗原結合時將經由TCR複合物進行信號傳導。

舉例而言，如本文所揭示之CLL-1 scFv可移植至TCR鏈，例如TCRα鏈及/或TCRβ鏈之恆定結構域(例如細胞外恆定結構域之至少一部分)、跨膜結構域及細胞質域。作為另一實例，CLL-1抗體片段，例如如本文所述之VL結構域，可移植至TCRα鏈之恆定結構域，且CLL-1抗體片段，例如如本文所述之VH結構域，可移植至TCRβ鏈之恆定結構域(或者VL結構域可移植至TCRβ鏈之恆定結構域且VH結構域可移植至TCRα鏈)。作為另一實例，CLL-1抗體或抗體片段之CDR，例如如表3、4、5、6、7或8中所述之CLL-1抗體或抗體片段之CDR可移植至TCRα及/或β鏈以產生特異性結合於CLL-1之嵌合TCR。舉例而言，本文所揭示之LCDR可移植至TCRα鏈之可變結構域且本文所揭示之HCDR可移植至TCRβ鏈之可變結構域，或反之亦然。此類嵌合TCR可為藉由此項技術中已知之方法(例如Willemsen RA等人, Gene Therapy 2000; 7: 1369-1377；Zhang T等人, Cancer Gene Ther 2004; 11: 487-496；Aggen等人, Gene Ther. 2012 Apr;19(4):365-74)產生。

跨膜結構域

在各種實施例中，關於跨膜結構域，CAR可經設計以包含連接至CAR之胞外域的跨膜結構域。跨膜結構域可包括一或多個與跨膜區相鄰之額外胺基酸，例如一或多個與跨膜所源自之蛋白質之胞外區相關聯的胺基酸(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10直至15個胞外區胺基酸)及/或一或多個與跨膜蛋白所源自之蛋白質之胞內區相關聯的額外胺基酸(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10直至15個胞內區胺基酸)。在一個態樣中，跨膜結構域為與所用CAR之其他結構域中之一者相關聯的結構域。在一些情況下，跨膜結構域可經選擇或藉由胺基酸取代修飾以避免此類結構域結合於相同或不同表面膜蛋白質之跨膜結構域，例如以使與受體複合物之其他成員的相互作用降至最低。在一個態樣中，跨膜結構域能夠與CART細胞表面上的另一CAR均二

聚。在不同態樣中，跨膜結構域之胺基酸序列可經修飾或經取代以使與相同CART中存在之原生結合搭配物之結合結構域的相互作用降至最低。

跨膜結構域可來源於天然或重組來源。若來源為天然的，則該結構域可來源於任何膜結合蛋白或跨膜蛋白。在一個態樣中，只要CAR結合於標靶，跨膜結構域均能夠向胞內結構域進行信號傳導。特定用於本發明中之跨膜結構域可至少包括例如以下之跨膜區：T細胞受體之α、β或ζ鏈、CD28、CD3ε、CD45、CD4、CD5、CD8 (例如CD8α、CD8β)、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154。在一些實施例中，跨膜結構域可包括至少共同刺激分子，例如以下之跨膜區：MHC I類分子、TNF受體蛋白、免疫球蛋白樣蛋白、細胞因子受體、整合素、信號傳導淋巴細胞活化分子(SLAM蛋白質)、活化NK細胞受體、BTLA、Toll配位體受體、OX40、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CDS、ICAM-1、LFA-1 (CD11a/CD18)、4-1BB (CD137)、B7-H3、CDS、ICAM-1、ICOS (CD278)、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM (LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、

SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a及特異性結合CD83之配位體。

在一些情況下，跨膜結構域可經由鉸鏈(例如來自人類蛋白質之鉸鏈)連接至CAR之胞外區，例如CAR之抗原結合結構域。舉例而言，在一個實施例中，鉸鏈可為人類 Ig (免疫球蛋白)鉸鏈，例如IgG4鉸鏈、或CD8a鉸鏈。在一個實施例中，鉸鏈或間隔子包含(例如由其組成) SEQ ID NO: 2之胺基酸序列。在一個態樣中，跨膜結構域包含(例如由其組成) SEQ ID NO: 6之跨膜結構域。

在一個態樣中，鉸鏈或間隔子包含IgG4鉸鏈。舉例而言，在一個實施例中，鉸鏈或間隔子包含以下胺基酸序列之鉸鏈：ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGKM (SEQ ID NO: 3)。在一些實施例中，鉸鏈或間隔子包含由以下核苷酸序列編碼之鉸鏈：GAGAGCAAGTACGGCCCTCCCTGCCCCCCTTGCCCTGCCCCCGAGTTCCTGGGCGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGAGGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCCGGGAGGAGCAGTTCAATAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGTAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCAGCAGCATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCC

TAGCCAAGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCT

GGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAG

CAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCCTGTGCT

GGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCCGGCTGACCGTGGA

CAAGAGCCGGTGGCAGGAGGGCAACGTCTTTAGCTGCTCCGTGAT

GCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCT

GTCCCTGGGCAAGATG (SEQ ID NO: 14)。

在一個態樣中，鉸鏈或間隔子包含IgD鉸鏈。舉例而言，在一個實施例中，鉸鏈或間隔子包含以下胺基酸序列之鉸鏈：RWPESPKAQASSVPTAQPQAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGEEKKKE KEKEEQEERETKTPECPSHTQPLGVYLLTPAVQDLWLRDKATFTCFV VGSDLKDAHLTWEVAGKVPTGGVEEGLLERHSNGSQSQHSRLTLPRS LWNAGTSVTCTLNHPSLPPQRLMALREPAAQAPVKLSLNLLASSDPP EAASWLLCEVSGFSPPNILLMWLEDQREVNTSGFAPARPPPQPGSTTF WAWSVLRVPAPPSPQPATYTCVVSHEDSRTLLNASRSLEVSYVTDH (SEQ ID NO: 4)。在一些實施例中，鉸鏈或間隔子包含由以下核苷酸序列編碼之鉸鏈：AGGTGGCCCGAAAGTCCCAAGGCCCAGGCATCTAGTGTTCCTACT GCACAGCCCCAGGCAGAAGGCAGCCTAGCCAAAGCTACTACTGCA CCTGCCACTACGCGCAATACTGGCCGTGGCGGGGAGGAGAAGAAA AAGGAGAAAGAGAAAGAAGAACAGGAAGAGAGGGAGACCAAGA CCCCTGAATGTCCATCCCATACCCAGCCGCTGGGCGTCTATCTCTTG ACTCCCGCAGTACAGGACTTGTGGCTTAGAGATAAGGCCACCTTTA CATGTTTCGTCGTGGGCTCTGACCTGAAGGATGCCCATTTGACTTG GGAGGTTGCCGGAAAGGTACCCACAGGGGGGGTTGAGGAAGGGT TGCTGGAGCGCCATTCCAATGGCTCTCAGAGCCAGCACTCAAGAC

TCACCCTTCCGAGATCCCTGTGGAACGCCGGGACCTCTGTCACATG
TACTCTAAATCATCCTAGCCTGCCCCCACAGCGTCTGATGGCCCTTA
GAGAGCCAGCCGCCCAGGCACCAGTTAAGCTTAGCCTGAATCTGC
TCGCCAGTAGTGATCCCCCAGAGGCCGCCAGCTGGCTCTTATGCGA
AGTGTCCGGCTTTAGCCCGCCCAACATCTTGCTCATGTGGCTGGAG
GACCAGCGAGAAGTGAACACCAGCGGCTTCGCTCCAGCCCGGCCC
CCACCCCAGCCGGGTTCTACCACATTCTGGGCCTGGAGTGTCTTAA
GGGTCCCAGCACCACCTAGCCCCCAGCCAGCCACATACACCTGTGT
TGTGTCCCATGAAGATAGCAGGACCCTGCTAAATGCTTCTAGGAGT
CTGGAGGTTTCCTACGTGACTGACCATT (SEQ ID NO: 15)。

在一個態樣中，跨膜結構域可為重組跨膜結構域，在此情況下，其將主要包含疏水性殘基，諸如白胺酸及纈胺酸。在一個態樣中，在重組跨膜結構域之各端可發現苯丙胺酸、色胺酸及纈胺酸之三聯體。

視情況，長度為2至10個胺基酸的短寡肽或多肽連接子可在CAR之跨膜結構域與細胞質區之間形成連接。甘胺酸-絲胺酸二聯體提供尤其適合之連接子。舉例而言，在一個態樣中，連接子包含胺基酸序列GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 5)。在一些實施例中，連接子藉由核苷酸序列GGTGGCGGAGGTTCTGGAGGTGGAGGTTCC (SEQ ID NO: 16)編碼。

在一個態樣中，鉸鏈或間隔子包含KIR2DS2鉸鏈。

細胞質域

本發明之CAR之細胞質域或細胞質區包括胞內信號傳導結構域。胞內信號傳導結構域一般負責活化已引入CAR之免疫細胞之正常效應功能中之至少一者。

用於本發明之CAR的胞內信號傳導結構域之實例包括共同作用以

在抗原受體接合後起始信號轉導的T細胞受體(TCR)及輔助受體之胞質序列，以及此等序列之任何衍生物或變異體及具有相同功能性能力之任何重組序列。

已知由單獨TCR產生之信號不足以完全活化T細胞且亦需要二級及/或共同刺激信號。因此，T細胞活化可稱為由兩個獨特類別之胞質信號傳導序列介導：經由TCR起始抗原依賴性初級活化者(主要胞內信號傳導結構域)及以抗原獨立方式起作用以提供二級或共同刺激信號者(二級細胞質域，例如共同刺激結構域)。

主要信號傳導結構域以刺激方式或抑制方式調控TCR複合物之初級活化。以刺激方式起作用之主要胞內信號傳導結構域可含有稱為基於免疫受體酪胺酸之活化基元或ITAM的信號傳導基元。

尤其適用於本發明的含有主要胞內信號傳導結構域之ITAM之實例包括以下者：TCRζ、FcRγ、FcRβ、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD5、CD22、CD79a、CD79b、CD278（亦稱為「ICOS」）、FcεRI、DAP10、DAP12及CD66d。在一個實施例中，本發明之CAR包含胞內信號傳導結構域，例如CD3-ζ之主要信號傳導結構域。

在一個實施例中，主要信號傳導結構域包含經修飾之ITAM結構域，例如相較於原生ITAM結構域具有改變(例如增加或降低)之活性的突變ITAM結構域。在一個實施例中，主要信號傳導結構域包含含有經修飾之ITAM之主要胞內信號傳導結構域，例如含有最佳化及/或截斷ITAM之主要胞內信號傳導結構域。在一實施例中，主要信號傳導結構域包含一個、兩個、三個、四個或更多個ITAM基元。

尤其適用於本發明的含有主要胞內信號傳導結構域之分子的其他實例包括DAP10、DAP12及CD32者。

CAR之胞內信號傳導結構域可包含主要信號傳導結構域，例如CD3-ζ信號傳導結構域本身或其可與適用於本發明之CAR情形下的任

何其他所要胞內信號傳導結構域組合。舉例而言，CAR之胞內信號傳導結構域可包含主要信號傳導結構域，例如CD3ζ鏈部分，及共同刺激信號傳導結構域。共同刺激信號傳導結構域係指包含共同刺激分子之胞內結構域的CAR之一部分。共同刺激分子為除淋巴細胞對抗原有效反應所需之抗原受體或其配位體以外的細胞表面分子。此類分子之實例包括MHC I類分子、TNF受體蛋白、免疫球蛋白樣蛋白、細胞因子受體、整合素、信號傳導淋巴細胞活化分子(SLAM蛋白質)、活化NK細胞受體、BTLA、Toll配位體受體、OX40、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CDS、ICAM-1、LFA-1 (CD11a/CD18)、4-1BB (CD137)、B7-H3、CDS、ICAM-1、ICOS (CD278)、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM (LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a及特異性結合CD83之配位體及其類似物。舉例而言，CD27共同刺激已展示活體外提高人類CART細胞之擴增、效應功能及存活率且活體內加強人類T細胞持久性及抗腫瘤活性(Song等人. Blood. 2012; 119(3):696-706)。本發明之CAR的細胞質部分內的胞內信號傳導序列可以隨機或指定順序彼此連接。視情況，長度為2至

10個胺基酸(例如2、3、4、5、6、7、8、9或10個胺基酸)的短寡肽或多肽連接子可在胞內信號傳導序列之間形成連接。在一個實施例中，甘胺酸-絲胺酸二聯體可用作適合連接子。在一個實施例中，例如丙胺酸、甘胺酸之單個胺基酸可用作適合連接子。

在一個態樣中，胞內信號傳導結構域經設計以包含兩個或兩個以上，例如2、3、4、5個或更多個共同刺激信號傳導結構域。在一實施例中，兩個或兩個以上(例如2、3、4、5個或更多個)共同刺激信號傳導結構域藉由連接子分子(例如本文所述之連接子分子)分離。在一個實施例中，胞內信號傳導結構域包含兩個共同刺激信號傳導結構域。在一些實施例中，連接分子為甘胺酸殘基。在一些實施例中，連接子為丙胺酸殘基。

在一個態樣中，胞內信號傳導結構域經設計以包含CD3-ζ之信號傳導結構域及CD28之信號傳導結構域。在一個態樣中，胞內信號傳導結構域經設計以包含CD3-ζ之信號傳導結構域及4-1BB之信號傳導結構域。在一個態樣中，4-1BB之信號傳導結構域為SEQ ID NO: 7之信號傳導結構域。在一個態樣中，CD3-ζ之信號傳導結構域為SEQ ID NO: 9 (突變CD3ζ)或SEQ ID NO: 10 (野生型人類CD3ζ)之信號傳導結構域。

在一個態樣中，胞內信號傳導結構域經設計以包含CD3-ζ之信號傳導結構域及CD27之信號傳導結構域。在一個態樣中，CD27之信號傳導結構域包含胺基酸序列

QRRKYRSNKGESPVEPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP

(SEQ ID NO: 8)。在一個態樣中，CD27之信號傳導結構域由

AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACATG

ACTCCCCGCCGCCCCGGGCCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATG

CCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCC(SEQ ID NO: 19)之核

酸序列編碼。

在一個態樣中，胞內信號傳導結構域經設計以包含CD3-ζ之信號傳導結構域及CD28之信號傳導結構域。在一個態樣中，CD28之信號傳導結構域包含SEQ ID NO: SEQ ID NO: 482之胺基酸序列。在一個態樣中，CD28之信號傳導結構域藉由SEQ ID NO: SEQ ID NO: 483之核酸序列編碼。

在一個態樣中，胞內信號傳導結構域經設計以包含CD3-ζ之信號傳導結構域及ICOS之信號傳導結構域。在一個態樣中，ICOS之信號傳導結構域包含SEQ ID NO: SEQ ID NO: 484之胺基酸序列。在一個態樣中，ICOS之信號傳導結構域藉由SEQ ID NO: SEQ ID NO: 485之核酸序列編碼。

在一個態樣中，本文所述之表現CAR之細胞可進一步包含第二CAR，例如包括例如針對相同標靶(CLL-1)或不同標靶(例如CD123、CD33、CD34、FLT3或葉酸鹽受體β)的不同抗原結合結構域之第二CAR。在一個實施例中，第二CAR包括針對在急性骨髓白血病細胞上表現之標靶(諸如CD123、CD33、CD34、FLT3或葉酸鹽受體β)的抗原結合結構域。在一個實施例中，表現CAR之細胞包含特異性結合第一抗原且包括具有共同刺激信號傳導結構域而非主要信號傳導結構域之胞內信號傳導結構域的第一CAR，及特異性結合第二不同抗原且包括具有主要信號傳導結構域而非共同刺激信號傳導結構域之胞內信號傳導結構域的第二CAR。雖然不希望受理論束縛，但共同刺激信號傳導結構域(例如4-1BB、CD28、CD27 ICOS或OX-40)置於第一CAR上，且主要信號傳導結構域(例如CD3ζ)置於第二CAR上可將CAR活性限於表現兩個標靶之細胞。在一個實施例中，表現CAR之細胞包含第一CLL-1 CAR，其包括CLL-1結合結構域、跨膜結構域及共同刺激結構域；及第二CAR，其特異性結合除CLL-1以外之抗原(例如在AML細

胞上表現之抗原，例如CD123、CD33、CD34、FLT3或葉酸鹽受體β)且包括抗原結合結構域、跨膜結構域及主要信號傳導結構域。在另一實施例中，表現CAR之細胞包含第一CLL-1 CAR，其包括CLL-1結合結構域、跨膜結構域及主要信號傳導結構域；及第二CAR，其特異性結合除CLL-1以外的抗原(例如在AML細胞上表現之抗原，例如CD123、CD33、CD34、FLT3或葉酸鹽受體β)且包括針對該抗原之抗原結合結構域、跨膜結構域及共同刺激信號傳導結構域。

在一個實施例中，表現CAR之細胞包含本文所述之CLL-1 CAR及抑制CAR。在一個實施例中，抑制CAR包含結合在正常細胞(例如亦表現CLL之正常細胞)而非癌細胞上發現之抗原的抗原結合結構域。在一個實施例中，抑制CAR包含抑制分子之抗原結合結構域、跨膜結構域及胞內結構域。舉例而言，抑制CAR之胞內結構域可為PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM (例如CEACAM-1、CEACAM-3及/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3 (CD276)、B7-H4 (VTCN1)、HVEM (TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I類、MHC II類、GAL9、腺苷及TGFR β之胞內結構域。

在一個實施例中，當表現CAR之細胞包含兩個或兩個以上不同CAR時，不同CAR之抗原結合結構域可使得抗原結合結構域不彼此相互作用。舉例而言，表現第一及第二CAR之細胞可具有第一CAR之抗原結合結構域，例如片段形式，例如scFv，其不與第二CAR之抗原結合結構域形成關聯，例如該第二CAR之抗原結合結構域為VHH。

在一些實施例中，抗原結合結構域包含單域抗原結合(SDAB)分子，其包括其中互補決定區為單域多肽之部分的分子。實例包括(但不限於)重鏈可變結構域、天然缺乏輕鏈之結合分子、衍生自習知4-鏈抗體之單個結構域、經工程改造之結構域及除衍生自抗體之骨架以

外的單域骨架。SDAB分子可為此項技術中之任一者，或任何未來單域分子。SDAB分子可來源於任何物種，包括(但不限於)小鼠、人類、駱駝、大羊駝、七鰓鰻、魚、鯊魚、山羊、兔及牛。此術語亦包括天然存在之來自除駱駝及鯊魚以外之物種的單域抗體分子。

在一個態樣中，SDAB分子可來源於在魚中發現之免疫球蛋白的可變區，諸如來源於在鯊魚血清中發現的稱為新穎抗原受體(NAR)之免疫球蛋白同型者。產生來源於NAR (「IgNAR」)之可變區的單域分子之方法描述於WO 03/014161及Streltsov (2005) Protein Sci. 14:2901-2909中。

根據另一態樣，SDAB分子為天然存在之單域抗原結合分子，其稱為缺乏輕鏈之重鏈。此類單域分子揭示於例如WO 9404678及Hamers-Casterman, C.等人, (1993) Nature 363:446-448中。為求清晰，來源於天然缺乏輕鏈之重鏈分子的此可變結構域在本文中稱為VHH或奈米抗體，以與四鏈免疫球蛋白之習知VH區分。此類VHH分子可來源於駱駝科物種，例如駱駝、大羊駝、單峰駝、羊駝及原駝。除駱駝科以外的其他物種可產生天然缺乏輕鏈之重鏈分子；此類VHH在本發明之範疇內。

SDAB分子可重組、CDR移植、人類化、駱駝化、去免疫及/或活體外產生(例如藉由噬菌體展現選擇)。

亦已發現，具有複數個嵌合性膜嵌入受體(包含在該等受體之抗原結合結構域之間相互作用的抗原結合結構域)之細胞可能不合需要，因為其抑制抗原結合結構域中之一或多者結合其同源抗原的能力。因此，本文揭示具有第一及第二非天然存在之嵌合性膜嵌入受體(包含使此類相互作用降至最低的抗原結合結構域)之細胞。本文亦揭示編碼第一及第二非天然存在之嵌合性膜嵌入受體(包含使此類相互作用降至最低的抗原結合結構域)之核酸，以及此類細胞及核酸之製

備及使用方法。在一實施例中，該第一及該第二非天然存在之嵌合性膜嵌入受體中之一者的抗原結合結構域包含scFv，且另一者包含單VH結構域，例如駱駝科、鯊魚或七鰓鰻單VH結構域，或來源於人類或小鼠序列之單VH結構域。

在一些實施例中，本發明包含第一及第二CAR，其中該第一CAR及該第二CAR中之一者的抗原結合結構域不包含可變輕鏈結構域及可變重鏈結構域。在一些實施例中，該第一CAR及該第二CAR中之一者的抗原結合結構域為scFv，且另一者不為scFv。在一些實施例中，該第一CAR及該第二CAR中之一者的抗原結合結構域包含單VH結構域，例如駱駝科、鯊魚或七鰓鰻單VH結構域，或來源於人類或小鼠序列之單VH結構域。在一些實施例中，該第一CAR及該第二CAR中之一者的抗原結合結構域包含奈米抗體。在一些實施例中，該第一CAR及該第二CAR中之一者的抗原結合結構域包含駱駝科VHH結構域。

在一些實施例中，該第一CAR及該第二CAR中之一者的抗原結合結構域包含scFv，且另一者包含單VH結構域，例如駱駝科、鯊魚或七鰓鰻單VH結構域，或來源於人類或小鼠序列之單VH結構域。在一些實施例中，該第一CAR及該第二CAR中之一者的抗原結合結構域包含scFv，且另一者包含奈米抗體。在一些實施例中，該第一CAR或該第二CAR中之一者的抗原結合結構域包含scFv，且另一者包含駱駝科VHH結構域。

在一些實施例中，當存在於細胞表面上時，該第一CAR之抗原結合結構域與其同源抗原之結合不因存在該第二CAR而實質上降低。在一些實施例中，該第一CAR之抗原結合結構域與其同源抗原在該第二CAR存在下之結合為該第一CAR之抗原結合結構域與其同源抗原在無該第二CAR存在下之結合的85%、90%、95%、96%、97%、98%或

99%。

在一些實施例中，當存在於細胞表面上時，該第一CAR及該第二CAR之抗原結合結構域的彼此關聯小於兩者皆為scFv抗原結合結構域的情況。在一些實施例中，該第一CAR及該第二CAR之抗原結合結構域的彼此關聯小於兩者皆為scFv抗原結合結構域之情況的85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%。

在另一態樣中，本文所述之表現CAR之細胞可進一步表現另一藥劑，例如增強表現CAR之細胞之活性之藥劑。舉例而言，在一個實施例中，藥劑可為抑制抑制分子之藥劑。在一些實施例中，抑制分子(例如PD1)可降低表現CAR之細胞建立免疫效應子反應之能力。抑制分子之實例包括PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM(例如CEACAM-1、CEACAM-3及/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3(CD276)、B7-H4(VTCN1)、HVEM(TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I類、MHC II類、GAL9、腺苷及TGFR β。在一個實施例中，抑制抑制分子之藥劑包含第一多肽(例如抑制分子)與向細胞提供正信號之第二多肽(例如本文所述之胞內信號傳導結構域)締合的藥劑。在一個實施例中，藥劑包含例如抑制分子之第一多肽，諸如PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM(例如CEACAM-1、CEACAM-3及/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3(CD276)、B7-H4(VTCN1)、HVEM(TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I類、MHC II類、GAL9、腺苷及TGFR β，或此等中任一者之片段(例如此等中任一者之胞外域的至少一部分)；及為本文所述之胞內信號傳導結構域(例如包含共同刺激結構域(如例如本文所述之4-1BB、CD27、ICOS或CD28)及/或主要信號傳導結構域(例如本文所述之CD3ζ信號傳

導結構域))的第二多肽。在一個實施例中，該藥劑包含PD1或其片段之第一多肽(例如PD1之胞外域的至少一部分)，及本文所述之胞內信號傳導結構域的第二多肽(例如本文所述之CD28信號傳導結構域及/或本文所述之CD3ζ信號傳導結構域)。在實施例中，本文所述之表現CAR之細胞包含開關共同刺激受體，例如如WO 2013/019615中所述，WO 2013/019615以全文引用的方式併入本文中。PD1為CD28受體家族之抑制成員，該家族亦包括CD28、CTLA-4、ICOS及BTLA。PD-1在經活化之B細胞、T細胞及骨髓細胞上表現(Agata等人1996 Int. Immunol 8:765-75)。PD1之兩個配位體PD-L1及PD-L2已展示在與PD1結合時下調T細胞活化(Freeman等人, 2000 J Exp Med 192:1027-34；Latchman等人2001 Nat Immunol 2:261-8；Carter等人2002 Eur J Immunol 32:634-43)。PD-L1在人類癌症中大量存在(Dong等人 2003 J Mol Med 81:281-7；Blank等人 2005 Cancer Immunol. Immunother 54:307-314；Konishi等人 2004 Clin Cancer Res 10:5094)。免疫抑制可藉由抑制PD1與PD-L1之局部相互作用來逆轉。

在一個實施例中，該藥劑包含抑制分子(例如程式化死亡1 (PD1))之胞外域(ECD)，其可融合於跨膜結構域及胞內信號傳導結構域，諸如41BB及CD3ζ (在本文中亦稱為PD1 CAR)。在一個實施例中，PD1 CAR在與本文所述之CLL-1 CAR組合使用時提高表現CAR之細胞，例如T細胞或NK細胞之持久性。在一個實施例中，CAR為包含SEQ ID NO: 24中以下劃線指示的PD1之胞外域的PD1 CAR。在一個實施例中，PD1 CAR包含SEQ ID NO: 24之胺基酸序列。

Malpvtalllplalllhaarppgwfldspdrpwnpptfspallvvtegdnatftcsfsntsesfvlnwyrmspsnqtdklaaf pedrsqpgqdcrfrvtqlpngrdfhmsvvrarrndsgtylcgaislapkaqikeslraelrvterraevptahpspsprpagqfqtlvttt paprpptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqee dgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkma eayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdtydalhmqalppr (SEQ ID NO:24).

在一個實施例中，PD1 CAR包含下文提供之胺基酸序列(SEQ ID NO: 22)。

pgwfldspdrpwnpptfspallvvtegdnatftcsfsntsesfvlnwyrmspsnqtdklaafpedrsqpgqdcrfrvtqlp
ngrdfhmsvvrarrndsgtylcgaislapkaqikeslraelrvterraevptahpspsprpagqfqtlvtttpaprpptpaptiasqplslr
peacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrv
kfsrsadapaykqgqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkgh
dglyqglstatkdtydalhmqalppr (SEQ ID NO:22).

在一個實施例中，藥劑包含編碼PD1 CAR (例如本文所述之PD1 CAR)的核酸序列。在一個實施例中，PD1 CAR之核酸序列顯示於下文中，其中PD1 ECD在下文中在SEQ ID NO: 23中以下劃線示出

atggccctccctgtcactgccctgcttctccccctcgcactcctgctccacgccgctagaccacccggatggtttctggactctc
cggatcgcccgtggaatccccaaccttctcaccggcactcttggttgtgactgagggcgataatgcgaccttcacgtgctcgttctccaa
cacctccgaatcattcgtgctgaactggtaccgcatgagcccgtcaaaccagaccgacaagctcgccgcgtttccggaagatcggtcgc
aaccgggacaggattgtcggttccgcgtgactcaactgccgaatggcagagacttccacatgagcgtggtccgcgctaggcgaaacga
ctccgggacctacctgtgcggagccatctcgctggcgcctaaggcccaaatcaaagagagcttgagggccgaactgagagtgaccga
gcgcagagctgaggtgccaactgcacatccatccccatcgcctcggcctgcggggcagtttcagaccctggtcacgaccactccggcg
ccgcgcccaccgactccggccccaactatcgcgagccagccctgtcgctgaggccggaagcatgccgccctgccgccggaggtgc
tgtgcataccccggggattggacttcgcatgcgacatctacatttgggctcctctcgccggaacttgtggcgtgctccttctgtccctggtcat
caccctgtactgcaagcggggtcggaaaaagcttctgtacattttcaagcagcccttcatgaggcccgtgcaaaccacccaggaggagg
acggttgctcctgccggttccccgaagaggaagaaggaggttgcgagctgcgcgtgaagttctccccggagcgccgacgcccccgcct
ataagcagggccagaaccagctgtacaacgaactgaacctgggacggcgggaagagtacgatgtgctggacaagcggcgcggccg
ggaccccgaaatgggcgggaagcctagaagaaagaaccctcaggaaggcctgtataacgagctgcagaaggacaagatggccgag
gcctactccgaaattgggatgaagggagagcggcggaggggaaaggggcacgacggcctgtaccaaggactgtccaccgccacca
aggacacatacgatgccctgcacatgcaggcccttccccctcgc (SEQ ID NO: 23).

在另一態樣中，本發明提供表現CAR之細胞(例如CART細胞或表現CAR之NK細胞)群體。在一些實施例中，表現CAR之細胞群體包含表現不同CAR之細胞的混合物。舉例而言，在一個實施例中，表現CAR之細胞(例如CART細胞或表現CAR之NK細胞)群體可包括表現具有本文所述之抗-CLL-1結合結構域的CAR之第一細胞，及表現具有不同抗-CLL-1結合結構域(例如與第一細胞表現之CAR中的抗-CLL-1結合結構域不同的本文所述之抗-CLL-1結合結構域)之CAR的第二細胞。作為另一實例，表現CAR之細胞群體可包括表現包括例如如本文

所述之抗-CLL-1結合結構域之CAR的第一細胞，及表現包括針對除CLL-1以外之標靶(例如CD123、CD33、CD34、FLT3或葉酸鹽受體β)的抗原結合結構域之CAR的第二細胞。在一個實施例中，表現CAR之細胞之群體包括例如表現包括主要胞內信號傳導結構域之CAR的第一細胞及表現包括二級信號傳導結構域，例如共同刺激信號傳導結構域之CAR的第二細胞。

在另一態樣中，本發明提供一種細胞群體，其中該群體中之至少一種細胞表現具有本文所述之抗-CLL-1結合結構域的CAR，且第二種細胞表現另一藥劑，例如增強表現CAR之細胞之活性的藥劑。舉例而言，在一個實施例中，該藥劑可為抑制抑制分子之藥劑。在一些實施例中，抑制分子可例如降低表現CAR之細胞建立免疫效應子反應之能力。抑制分子之實例包括PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM (例如CEACAM-1、CEACAM-3及/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3 (CD276)、B7-H4 (VTCN1)、HVEM (TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I類、MHC II類、GAL9、腺苷及TGFR β。在一個實施例中，抑制抑制分子之藥劑包含第一多肽(例如抑制分子)，其與向細胞提供正信號之第二多肽(例如本文所述之胞內信號傳導結構域)締合。在一個實施例中，藥劑包含例如抑制分子之第一多肽，諸如PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM (例如CEACAM-1、CEACAM-3及/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3 (CD276)、B7-H4 (VTCN1)、HVEM (TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I類、MHC II類、GAL9、腺苷及TGFR β，或此等中任一者之片段(例如此等中任一者之胞外域的至少一部分)；及為本文所述之胞內信號傳導結構域(例如包含共同刺激結構域(例如本文所述之4-1BB、CD27、

ICOS或CD28)及/或主要信號傳導結構域(例如本文所述之CD3ζ信號傳導結構域))的第二多肽。在一個實施例中，藥劑包含PD1之第一多肽或其片段(例如PD1之胞外域的至少一部分)，及本文所述之胞內信號傳導結構域(例如本文所述之CD28信號傳導結構域及/或本文所述之CD3ζ信號傳導結構域)的第二多肽。

在一個態樣中，本發明提供包含投與表現CAR之細胞群體(例如CART細胞或表現CAR之NK細胞)，例如表現不同CAR之細胞的混合物與另一藥劑(例如激酶抑制劑，諸如本文所述之激酶抑制劑)之組合的方法。在另一態樣中，本發明提供包含投與細胞群體(其中該群體之至少一種細胞表現具有如本文所述之抗癌症相關抗原結合結構域的CAR，且第二種細胞表現另一藥劑，例如增強表現CAR之細胞之活性的藥劑)與另一藥劑(例如激酶抑制劑，諸如本文所述之激酶抑制劑)之組合的方法。

自然殺手細胞受體(NKR) CAR

在一個實施例中，本文所述之CAR分子包含自然殺手細胞受體(NKR)之一或多種組分，由此形成NKR-CAR。NKR組分可為來自以下自然殺手細胞受體任一者之跨膜結構域、鉸鏈結構域或細胞質域：殺手細胞免疫球蛋白樣受體(KIR)，例如KIR2DL1、KIR2DL2/L3、KIR2DL4、KIR2DL5A、KIR2DL5B、KIR2DS1、KIR2DS2、KIR2DS3、KIR2DS4、DIR2DS5、KIR3DL1/S1、KIR3DL2、KIR3DL3、KIR2DP1及KIR3DP1；自然細胞毒性受體(NCR)，例如NKp30、NKp44、NKp46；免疫細胞受體之信號傳導淋巴細胞活化分子(SLAM)家族，例如CD48、CD229、2B4、CD84、NTB-A、CRACC、BLAME及CD2F-10；Fc受體(FcR)，例如CD16及CD64；及Ly49受體，例如LY49A、LY49C。本文所述之NKR-CAR分子可與銜接分子或胞內信號傳導結構域，例如DAP12相互作用。包含NKR組分

之CAR分子的例示性組態及序列描述於國際公開案第WO2014/145252號中，其內容以引用的方式併入本文中。

用於調控嵌合抗原受體之策略

存在許多可調控CAR活性之方式。在一些實施例中，需要可控制CAR活性的可調控CAR (RCAR)使CAR療法之安全性及功效最佳。舉例而言，使用例如融合於二聚結構域之卡斯蛋白酶誘發細胞凋亡(參見例如Di等人, N Egnl. J. Med. 2011年11月3日; 365(18):1673-1683)可用作本發明之CAR療法的安全性開關。在另一實例中，表現CAR之細胞亦可表現誘導性卡斯蛋白酶-9 (iCaspase-9)分子，該分子在投與二聚體藥物(例如瑞米杜西(rimiducid)(亦稱為AP1903 (Bellicum Pharmaceuticals)或AP20187 (Ariad))時導致卡斯蛋白酶-9活化及該等細胞之細胞凋亡。iCaspase-9分子含有在CID存在下介導二聚之二聚(CID)結合結構域的化學誘導劑。此導致表現CAR之細胞之誘導性及選擇性缺失。在一些情況下，iCaspase-9分子藉由與CAR編碼載體分開之核酸分子編碼。在一些情況下，iCaspase-9分子藉由與CAR編碼載體相同之核酸分子編碼。iCaspase-9可提供安全性開關以避免表現CAR之細胞之任何毒性。參見例如Song等人 Cancer Gene Ther. 2008; 15(10):667-75；Clinical Trial Id. No. NCT02107963；及Di Stasi等人 N. Engl. J. Med. 2011; 365:1673-83。

用於調控本發明之CAR療法之替代性策略包括利用例如藉由使表現CAR之細胞缺失，例如藉由誘發抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)去活化或切斷CAR活性的小分子或抗體。舉例而言，本文所述之表現CAR之細胞亦可表現由能夠誘發細胞死亡，例如ADCC或補體誘發之細胞死亡的分子識別之抗原。舉例而言，本文所述之表現CAR之細胞亦可表現能夠由抗體或抗體片段靶向之受體。此類受體之實例包括EpCAM、VEGFR、整合素(例如整合素αvβ3、α4、αI¾β3、

α4β7、α5β1、αvβ3、αv)、TNF受體超家族之成員(例如TRAIL-R1、TRAIL-R2)、PDGF受體、干擾素受體、葉酸鹽受體、GPNMB、ICAM-1、HLA-DR、CEA、CA-125、MUC1、TAG-72、IL-6受體、5T4、GD2、GD3、CD2、CD3、CD4、CD5、CD11、CD11a/LFA-1、CD15、CD18/ITGB2、CD19、CD20、CD22、CD23/IgE受體、CD25、CD28、CD30、CD33、CD38、CD40、CD41、CD44、CD51、CD52、CD62L、CD74、CD80、CD125、CD147/基礎免疫球蛋白、CD152/CTLA-4、CD154/CD40L、CD195/CCR5、CD319/SLAMF7及EGFR，及其截短型式(例如保持一或多個胞外抗原決定基但缺乏細胞質域內之一或多個區域的型式)。舉例而言，本文所述之表現CAR之細胞亦可表現缺乏信號傳導能力但保留由能夠誘發ADCC之分子(例如西妥昔單抗(cetuximab，ERBITUX®))識別之抗原決定基的截短之表皮生長因子受體(EGFR)，使得西妥昔單抗之投與誘發ADCC且隨後表現CAR之細胞缺失(參見例如WO2011/056894，及Jonnalagadda等人，Gene Ther. 2013; 20(8)853-860)。另一策略包括在本文所述之表現CAR之細胞中表現組合來自CD32與CD20抗原之標靶抗原決定基的高度緊密標記物/自殺基因，其結合利妥昔單抗，例如藉由ADCC，引起表現CAR之細胞之選擇性缺失(參見例如Philip等人，Blood. 2014; 124(8)1277-1287)。用於使本文所述之表現CAR之細胞缺失的其他方法包括投與CAMPATH，CAMPATH為一種單株抗-CD52抗體，其選擇性地結合及靶向成熟淋巴細胞，例如表現CAR之細胞以例如藉由誘發ADCC進行破壞。在其他實施例中，表現CAR之細胞可使用CAR配位體，例如抗個體基因型抗體選擇性地靶向。在一些實施例中，抗個體基因型抗體可引起效應細胞活性，例如ADCC或ADC活性，因此減少表現CAR之細胞之數目。在其他實施例中，CAR配位體，例如抗個體基因型抗體，可偶合至誘發細胞殺死之藥劑，例如毒素，由此減少表

現CAR之細胞之數目。或者，CAR分子本身可經組態使得活性可調控，例如打開及切斷，如下所述。

在一些實施例中，RCAR包含一組多肽，在最簡單實施例中通常兩個，其中本文所述之標準CAR的組分(例如抗原結合結構域及胞內信號傳導結構域)分配於分開之多肽或成員上。在一些實施例中，多肽組包括二聚開關，其在存在二聚分子時可使多肽彼此偶合，例如可使抗原結合結構域偶合至胞內信號傳導結構域。本文及國際公開案第WO2015/090229號(以全文引用的方式併入本文中)中提供此類可調控CAR之額外描述及例示性組態。

在一個態樣中，RCAR包含兩個多肽或成員：1)胞內信號傳導成員，其包含胞內信號傳導結構域(例如本文所述之主要胞內信號傳導結構域)及第一開關結構域；2)抗原結合成員，其包含如本文所述之抗原結合結構域(例如特異性結合本文所述之腫瘤抗原)及第二開關結構域。視情況，RCAR包含本文所述之跨膜結構域。在一實施例中，跨膜結構域可安置於胞內信號傳導成員上、抗原結合成員上或其兩者上。(除非另外指示，否則當本文描述RCAR的成員或要素時，順序可如所提供，但亦可包括其他順序。換言之，在一實施例中，順序如文字所陳述，但在其他實施例中，順序可不同。例如，跨膜區之單側上的要素順序可與實例不同，例如開關結構域相對於胞內信號傳導結構域之位置可不同，例如顛倒)。

在一實施例中，第一及第二開關結構域可形成胞內或胞外二聚開關。在一實施例中，二聚開關可為均二聚開關，例如其中第一及第二開關結構域相同，或雜二聚開關，例如其中第一及第二開關結構域彼此不同。

在實施例中，RCAR可包含「多重開關」。多重開關可包含雜二聚開關結構域或均二聚開關結構域。多重開關在第一成員(例如抗原

結合成員)及第二成員(例如胞內信號傳導成員)上獨立包含複數個(例如2、3、4、5、6、7、8、9或10個)開關結構域。在一實施例中，第一成員可包含複數個第一開關結構域，例如基於FKBP之開關結構域，且第二成員可包含複數個第二開關結構域，例如基於FRB之開關結構域。在一實施例中，第一成員可包含第一及第二開關結構域，例如基於FKBP之開關結構域及基於FRB之開關結構域，且第二成員可包含第一及第二開關結構域，例如基於FKBP之開關結構域及基於FRB之開關結構域。

在一實施例中，胞內信號傳導成員包含一或多個胞內信號傳導結構域，例如主要胞內信號傳導結構域，及一或多個共同刺激信號傳導結構域。

在一實施例中，抗原結合成員可包含一或多個胞內信號傳導結構域，例如一或多個共同刺激信號傳導結構域。在一實施例中，抗原結合成員包含複數個(例如2或3個)本文所述之共同刺激信號傳導結構域，例如選自4-1BB、CD28、CD27、ICOS及OX40，且在實施例中，無主要胞內信號傳導結構域。在一實施例中，抗原結合成員自胞外至胞內方向包含以下共同刺激信號傳導結構域：4-1BB-CD27；4-1BB-CD27；CD27-4-1BB；4-1BB-CD28；CD28-4-1BB；OX40-CD28；CD28-OX40；CD28-4-1BB；或4-1BB-CD28。在此類實施例中，胞內結合成員包含CD3ζ結構域。在一個此類實施例中，RCAR包含(1)抗原結合成員，其包含例如抗原結合結構域、跨膜結構域及兩個共同刺激結構域及第一開關結構域；及(2)胞內信號傳導結構域，其包含跨膜結構域或膜繫栓結構域及至少一個主要胞內信號傳導結構域，及第二開關結構域。

一實施例提供RCAR，其中抗原結合成員不繫栓至CAR細胞之表面。此使得具有胞內信號傳導成員之細胞方便地與一或多個抗原結合

結構域成對，而不用編碼該抗原結合成員之序列將細胞轉型。在此類實施例中，RCAR包含：1)胞內信號傳導成員，其包含：第一開關結構域、跨膜結構域、胞內信號傳導結構域(例如主要胞內信號傳導結構域)及第一開關結構域；及2)抗原結合成員，其包含：抗原結合結構域及第二開關結構域，其中該抗原結合成員不包含跨膜結構域或膜繫栓結構域，且視情況不包含胞內信號傳導結構域。在一些實施例中，RCAR可進一步包含3)第二抗原結合成員，其包含：第二抗原結合結構域，例如結合與抗原結合結構域所結合不同之抗原的第二抗原結合結構域；及第二開關結構域。

本文亦提供RCAR，其中該抗原結合成員包含雙特異性活化及靶向能力。在此實施例中，抗原結合成員可包含複數個(例如2、3、4或5個)抗原結合結構域(例如scFv)，其中各抗原結合結構域結合於標靶抗原，例如不同抗原或相同抗原，例如同一抗原之相同或不同抗原決定基。在一實施例中，複數個抗原結合結構域串聯，且視情況在各抗原結合結構域之間安置連接子或鉸鏈區。本文描述適合連接子及鉸鏈區。

一個實施例提供具有允許開關增殖之組態的RCAR。在此實施例中，RCAR包含：1)胞內信號傳導成員，其包含：視情況存在之跨膜結構域或膜繫栓結構域；一或多個共同刺激信號傳導結構域，例如選自4-1BB、CD28、CD27、ICOS及OX40，及開關結構域；及2)抗原結合成員，其包含：抗原結合結構域、跨膜結構域及主要胞內信號傳導結構域，例如CD3ζ結構域，其中抗原結合成員不包含開關結構域，或不包含與胞內信號傳導成員上之開關結構域二聚的開關結構域。在一實施例中，抗原結合成員不包含共同刺激信號傳導結構域。在一實施例中，胞內信號傳導成員包含來自均二聚開關之開關結構域。在一實施例中，胞內信號傳導成員包含雜二聚開關之第一開關結構域且

RCAR包含第二胞內信號傳導成員，其包含雜二聚開關之第二開關結構域。在此類實施例中，第二胞內信號傳導成員包含與胞內信號傳導成員相同之胞內信號傳導結構域。在一實施例中，二聚開關為胞內的。在一實施例中，二聚開關為胞外的。

在本文所述之任何RCAR組態中，第一及第二開關結構域包含如本文所述之基於FKBP/FRB之開關。

本文亦提供包含本文所述之RCAR的細胞。經工程改造以表現RCAR之任何細胞均可用作RCARX細胞。在一實施例中，RCARX細胞為T細胞，且稱為RCART細胞。在一實施例中，RCARX細胞為NK細胞，且稱為RCARN細胞。

本文亦提供包含RCAR編碼序列之核酸及載體。編碼RCAR之各種元件的序列可安置於相同核酸分子上，例如相同質體或載體，例如病毒載體，例如慢病毒載體。在一實施例中，(i)編碼抗原結合成員之序列及(ii)編碼胞內信號傳導成員之序列可存在於同一核酸，例如載體上。可例如藉由使用分開之啟動子或藉由使用雙順反子轉錄產物(其可藉由裂解單個轉譯產物或藉由轉譯兩個分開蛋白質產物產生兩個蛋白質)產生相應蛋白質。在一實施例中，編碼可裂解肽之序列(例如P2A或F2A序列)安置於(i)與(ii)之間。在一實施例中，編碼IRES (例如EMCV或EV71 IRES)之序列安置於(i)與(ii)之間。在此等實施例中，(i)及(ii)以單個RNA形式轉錄。在一實施例中，第一啟動子可操作地連接於(i)且第二啟動子可操作地連接於(ii)，使得(i)及(ii)以分開之mRNA形式轉錄。

或者，編碼RCAR之多種元件的序列可安置於不同核酸分子上，例如不同質體或載體，例如病毒載體，例如慢病毒載體。舉例而言，(i)編碼抗原結合成員之序列可存在於第一核酸(例如第一載體)上，且(ii)編碼胞內信號傳導成員之序列可存在於第二核酸(例如第二載體)

上。

二聚開關

二聚開關可為非共價或共價的。在非共價二聚開關中，二聚分子促進開關結構域之間的非共價相互作用。在共價二聚開關中，二聚分子促進開關結構域之間的共價相互作用。

在一實施例中，RCAR包含基於FKBP/FRAP或FKBP/FRB之二聚開關。FKBP12 (FKBP或FK506結合蛋白)為充當天然產物免疫抑制藥物(雷帕黴素)之初始胞內標靶的豐富細胞質蛋白質。雷帕黴素結合於FKBP及大型PI3K同源物FRAP (RAFT，mTOR)。FRB為FRAP之93個胺基酸部分，其足夠用於結合FKBP-雷帕黴素複合物(Chen, J., Zheng, X. F., Brown, E. J. & Schreiber, S. L. (1995) *Identification of an 11-kDa FKBP12-rapamycin-binding domain within the 289-kDa FKBP12-rapamycin-associated protein and characterization of a critical serine residue*. Proc Natl Acad Sci U S A 92: 4947-51)。

在實施例中，基於FKBP/FRAP (例如FKBP/FRB)之開關可使用例如雷帕黴素或雷帕黴素類似物之二聚分子。

FKBP之胺基酸序列如下：

DVPDYASLGGPSSPKKKRKVSRGVQVETISPGDGRTFPK
RGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFKFMLGKQEVIRG
WEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFD
VELLKLETSY (SEQ ID NO: 205)

在實施例中，FKBP開關結構域可包含在雷帕黴素或雷帕黴素類似物存在下能夠結合FRB或其片段或類似物之FKBP片段，例如SEQ ID NO: 205之帶下劃線之部分，如下：

VQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSR
DRNKPFKFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYA
YGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLETS (SEQ ID NO:206)

FRB之胺基酸序列如下：

ILWHEMWHEG LEEASRLYFG ERNVKGMFEV LEPLHAMMER GPQTLKETSF NQAYGRDLME AQEWCRKYMK SGNVKDLTQA WDLYYHVFRR ISK (SEQ ID NO: 207)

「基於FKBP/FRAP，例如FKBP/FRB之開關」在該術語在本文中使用時係指二聚開關，其包含：第一開關結構域，其包含能夠在雷帕黴素或雷帕黴素類似物(例如RAD001)存在下結合FRB或其片段或類似物之FKBP片段或其類似物，且與SEQ ID NO: 54或55之FKBP序列具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或不同之處在於不超過30、25、20、15、10、5、4、3、2或1個胺基酸殘基；及第二開關結構域，其包含能夠在雷帕黴素或雷帕黴素類似物存在下結合FRB或其片段或類似物之FRB片段或其類似物，且與SEQ ID NO: 56之FRB序列具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致性或不同之處在於不超過30、25、20、15、10、5、4、3、2或1個胺基酸殘基。在一個實施例中，本文所述之RCAR包括包含SEQ ID NO: 205 (或SEQ ID NO: 206)中所揭示之胺基酸殘基之一個開關結構域，及包含SEQ ID NO: 207中所揭示之胺基酸殘基之一個開關結構域。

在實施例中，FKBP/FRB二聚開關包含經修飾之FRB開關結構域，其展示改變(例如增強)的基於FRB之開關結構域，例如經修飾之FRB開關結構域、基於FKBP之開關結構域與二聚分子(例如雷帕黴素或雷帕羅吉，例如RAD001)之間的複合物形成。在一實施例中，經修飾之FRB開關結構域包含一或多個突變，例如2、3、4、5、6、7、8、9、10個或更多個選自胺基酸位置L2031、E2032、S2035、R2036、F2039、G2040、T2098、W2101、D2102、Y2105及F2108處之突變，其中野生型胺基酸突變成任何其他天然存在之胺基酸。在一實施例中，突變FRB在E2032處包含突變，其中E2032突變成苯丙胺酸(E2032F)、甲硫胺酸(E2032M)、精胺酸(E2032R)、纈胺酸(E2032V)、

酪胺酸(E2032Y)、異白胺酸(E2032I)，例如SEQ ID NO: 208，或白胺酸(E2032L)，例如SEQ ID NO: 209。在一實施例中，突變FRB在T2098處包含突變，其中T2098突變成苯丙胺酸(T2098F)或白胺酸(T2098L)，例如SEQ ID NO: 210。在一實施例中，突變FRB在E2032及T2098處包含突變，其中E2032突變成任何胺基酸，且其中T2098突變成任何胺基酸，例如SEQ ID NO: 211。在一實施例中，突變FRB包含E2032I及T2098L突變，例如SEQ ID NO: 212。在一實施例中，突變FRB包含E2032L及T2098L突變，例如SEQ ID NO: 213。

表9.對二聚分子具有增加之親和力的例示性突變FRB

FRB突變體	**胺基酸序列**	**SEQ ID NO:**
E2032I突變體	ILWHEMWHEGLIEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETS FNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYYHVFRRISKTS	208
E2032L突變體	ILWHEMWHEGLLEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKET SFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYYHVFRRISKTS	209
T2098L突變體	ILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKET SFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISKTS	210
E2032、T2098突變體	ILWHEMWHEGL**X**EASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKET SFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDL**X**QAWDLYYHVFRRISKTS	211
E2032I、T2098L突變體	ILWHEMWHEGLIEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETS FNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISKTS	212
E2032L、T2098L突變體	ILWHEMWHEGLLEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKET SFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISKTS	213

其他適合二聚開關包括基於GyrB-GyrB之二聚開關、基於赤黴素之二聚開關、標籤/黏合劑二聚開關及鹵基-標籤/搭扣-標籤二聚開關。遵照本文提供之指導，此類開關及相關二聚分子將為一般技術者顯而易知。

二聚分子

二聚分子促進開關結構域之間的關聯。二聚分子相互作用或開關結構域之間的關聯的存在允許與第一開關結構域關聯(例如融合)之多肽同與第二開關結構域關聯(例如融合)之多肽之間的信號轉導。如例如在本文所述之系統中所量測，在非限制性水準之二聚分子存在下

信號轉導增加1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、5、10、50、100倍。

雷帕黴素及雷帕黴素類似物(有時稱為雷帕羅吉)，例如RAD001，可用作本文所述之基於FKBP/FRB之二聚開關中的二聚分子。在一實施例中，二聚分子可選自雷帕黴素(西羅莫司(sirolimus))、RAD001(依維莫司(everolimus))、佐他莫司(zotarolimus)、坦羅莫司(temsirolimus)、AP-23573(地磷莫司(ridaforolimus))、拜利莫司(biolimus)及AP21967。適於與基於FKBP/FRB之二聚開關一起使用的額外雷帕黴素類似物進一步描述於題目為「組合療法」之章節或題目為「與低劑量mTOR抑制劑組合」之子章節中。

分裂CAR

在一些實施例中，表現CAR之細胞使用分裂CAR。分裂CAR方法更詳細地描述於以引用的方式併入本文中之公開案WO2014/055442及WO2014/055657中。簡言之，分裂CAR系統包含表現具有第一抗原結合結構域及共同刺激結構域(例如41BB)之第一CAR的細胞，且細胞亦表現具有第二抗原結合結構域及胞內信號傳導結構域(例如CD3ζ)之第二CAR。當細胞遇到第一抗原時，活化共同刺激結構域，且細胞增殖。當細胞遇到第二抗原時，活化胞內信號傳導結構域且開始細胞殺死活性。因此，表現CAR之細胞僅僅在兩種抗原存在下完全活化。在實施例中，第一抗原結合結構域識別CLL-1，例如包含本文所述之抗原結合結構域，且第二抗原結合結構域識別在急性骨髓性白血病細胞上表現之抗原，例如CD123、CD33、CD34、FLT3或葉酸鹽受體β。在實施例中，第一抗原結合結構域識別CLL-1，例如包含本文所述之抗原結合結構域，且第二抗原結合結構域識別在B細胞上表現之抗原，例如CD19、CD20、CD22或ROR1。

穩定性及突變

CLL-1結合結構域，例如scFv分子(例如可溶性scFv)之穩定性可參考習知對照scFv分子或全長抗體之生物物理特性(例如熱穩定性)來評估。在一個實施例中，在所述分析中人類scFv之熱穩定性比對照結合分子(例如習知scFv分子)高約0.1、約0.25、約0.5、約0.75、約1、約1.25、約1.5、約1.75、約2、約2.5、約3、約3.5、約4、約4.5、約5、約5.5、約6、約6.5、約7、約7.5、約8、約8.5、約9、約9.5、約10攝氏度、約11攝氏度、約12攝氏度、約13攝氏度、約14攝氏度或約15攝氏度。

隨後賦予整個CLL-1 CAR構築體以抗-CLL-1結合結構域(例如scFv)的改良之熱穩定性，使得CLL-1 CAR構築體之治療特性改良。與習知抗體相比，抗-CLL-1結合結構域(例如scFv)之熱穩定性可提高至少約2℃或3℃。在一個實施例中，與習知抗體相比，抗-CLL-1結合結構域(例如scFv)之熱穩定性提高1℃。在另一實施例中，與習知抗體相比，抗-CLL-1結合結構域(例如scFv)之熱穩定性提高2℃。在另一個實施例中，與習知抗體相比，scFv之熱穩定性提高4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15℃。可例如在本文揭示之scFv分子與全長抗體之間進行比較。可使用此項技術中已知之方法量測熱穩定性。舉例而言，在一個實施例中，可量測Tm。下文中更詳細描述量測Tm之方法及測定蛋白質穩定性之其他方法。

scFv之突變改變scFv之穩定性且提高scFv及CART CLL-1構築體之整體穩定性。可使用諸如Tm、變性溫度及聚集溫度之量測值測定人類scFv之穩定性。

突變scFv之結合能力可使用實例中所述之分析法測定。

在一個實施例中，抗-CLL-1結合結構域(例如scFv)包含至少一個突變，使得經突變之scFv賦予CLL-1 CAR構築體以改良之穩定性。在

另一實施例中，抗-CLL-1結合結構域(例如scFv)包含至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10個由人類化方法引起之突變，使得經突變之scFv賦予CLL-1 CAR構築體以改良之穩定性。

評估蛋白質穩定性之方法

可使用例如下文描述之方法評估抗原結合結構域之穩定性。此類方法允許測定多個熱展開轉變，其中最不穩定之結構域首先展開或限制合作展開之多域單元(例如顯示單一展開轉變之多域蛋白質)之整體穩定性閾值。最不穩定之結構域可用許多其他方式鑑別。可對結構域限制整體穩定性之探針進行突變誘發。另外，多域蛋白質之蛋白酶抗性可在已知最不穩定結構域本質上經由DSC或其他光譜方法展開之條件下進行(Fontana等人, (1997) Fold. Des., 2: R17-26；Dimasi等人(2009) J. Mol. Biol. 393: 672-692)。一旦鑑別最不穩定結構域，則編碼此結構域之序列(或其一部分)可用作該方法中之測試序列。

a)熱穩定性

組合物之熱穩定性可使用此項技術中已知之多種非限制性生物物理學或生物化學技術分析。在某些實施例中，熱穩定性藉由分析光譜學評估。

一種例示性分析光譜學方法為差示掃描熱量測定(DSC)。DSC採用量熱計，其對伴隨大部分蛋白質或蛋白質結構域展開之吸熱度敏感(參見例如Sanchez-Ruiz等人, Biochemistry, 27: 1648-52, 1988)。為測定蛋白質之熱穩定性，將蛋白質樣品插入至量熱計中且溫度升高，直至Fab或scFv展開。使蛋白質展開之溫度指示整體蛋白質穩定性。

另一種例示性分析光譜學方法為圓二色性(CD)光譜法。CD光譜法量測組合物之光學活性隨溫度增加的變化。圓二色性(CD)光譜法量測由結構不對稱性引起的左旋偏振光對比右旋偏振光的吸收差異。無序或展開結構產生極不同於有序或摺疊結構的CD光譜。CD光譜反映

蛋白質對增加溫度之變性作用的敏感性且因此指示蛋白質之熱穩定性(參見van Mierlo及Steemsma, J. Biotechnol., 79(3):281-98, 2000)。

另一種用於量測熱穩定性之例示性分析光譜法為螢光發射光譜法(參見van Mierlo及Steemsma, 上文)。又一種用於量測熱穩定性之例示性分析光譜法為核磁共振(NMR)光譜法(參見例如Mierlo及Steemsma, 上文)。

組合物之熱穩定性可以生物化學方式量測。用於評估熱穩定性之一種例示性生物化學方法為熱攻擊分析。在「熱攻擊分析」中，組合物經受一系列升高溫度，歷時設定時段。舉例而言，在一個實施例中，測試scFv分子或包含scFv分子之分子經受一系列遞增溫度，例如歷時1-1.5小時。接著藉由相關生物化學分析來分析蛋白質之活性。舉例而言，若蛋白質為結合蛋白(例如scFv或含scFv之多肽)，則該結合蛋白之結合活性可藉由功能或定量ELISA測定。

此類分析可以高通量格式及實例中所揭示之彼等格式，使用大腸桿菌及高通量篩選來進行。可使用此項技術中已知之方法產生抗-CLL-1結合結構域(例如scFv)變異體之文庫。可誘發抗-CLL-1結合結構域(例如scFv)表現，且抗-CLL-1結合結構域(例如scFv)可經受熱攻擊。可分析所攻擊之測試樣品的結合情況，且穩定的彼等抗-CLL-1結合結構域(例如scFv)可按比例擴大且進一步表徵。

藉由使用以上技術(例如分析光譜法技術)任一者量測組合物之熔融溫度(Tm)來評估熱穩定性。熔融溫度為熱轉變曲線之中點的溫度，其中組合物之50%分子呈摺疊狀態(參見例如Dimasi等人 (2009) J. Mol Biol. 393: 672-692)。在一個實施例中，抗-CLL-1結合結構域(例如scFv)之Tm值為約40℃、41℃、42℃、43℃、44℃、45℃、46℃、47℃、48℃、49℃、50℃、51℃、52℃、53℃、54℃、55℃、56℃、57℃、58℃、59℃、60℃、61℃、62℃、63℃、64℃、65℃、66℃、

67℃、68℃、69℃、70℃、71℃、72℃、73℃、74℃、75℃、76℃、77℃、78℃、79℃、80℃、81℃、82℃、83℃、84℃、85℃、86℃、87℃、88℃、89℃、90℃、91℃、92℃、93℃、94℃、95℃、96℃、97℃、98℃、99℃、100℃。在一個實施例中，IgG之Tm值為約40℃、41℃、42℃、43℃、44℃、45℃、46℃、47℃、48℃、49℃、50℃、51℃、52℃、53℃、54℃、55℃、56℃、57℃、58℃、59℃、60℃、61℃、62℃、63℃、64℃、65℃、66℃、67℃、68℃、69℃、70℃、71℃、72℃、73℃、74℃、75℃、76℃、77℃、78℃、79℃、80℃、81℃、82℃、83℃、84℃、85℃、86℃、87℃、88℃、89℃、90℃、91℃、92℃、93℃、94℃、95℃、96℃、97℃、98℃、99℃、100℃。

在一個實施例中，多價抗體之Tm值為約40℃、41℃、42℃、43℃、44℃、45℃、46℃、47℃、48℃、49℃、50℃、51℃、52℃、53℃、54℃、55℃、56℃、57℃、58℃、59℃、60℃、61℃、62℃、63℃、64℃、65℃、66℃、67℃、68℃、69℃、70℃、71℃、72℃、73℃、74℃、75℃、76℃、77℃、78℃、79℃、80℃、81℃、82℃、83℃、84℃、85℃、86℃、87℃、88℃、89℃、90℃、91℃、92℃、93℃、94℃、95℃、96℃、97℃、98℃、99℃、100℃。

熱穩定性亦藉由使用分析量熱技術(例如DSC)量測組合物之比熱或熱容量(Cp)評估。組合物之比熱為1 mol水之溫度升高1℃所需的能量(例如以kcal/mol計)。由於大Cp為變性或失活蛋白質組合物之特點。藉由在組合物熱轉變之前和之後測定其比熱來量測組合物之熱容變化(ΔCp)。熱穩定性亦可藉由量測或測定其他熱力學穩定性參數來評估，所述參數包括展開之吉布斯自由能(ΔG)、展開焓(ΔH)或展開熵(ΔS)。以上生物化學分析(例如熱攻擊分析)中之一或多者用於測定使50%組合物保留其活性(例如結合活性)的溫度(亦即T_C值)。

此外，與未突變之抗-CLL-1結合結構域(例如scFv)相比，抗-

CLL-1結合結構域(例如scFv)之突變改變抗-CLL-1結合結構域(例如scFv)之熱穩定性。在一個實施例中，抗-CLL-1結合結構域(例如scFv)包含賦予抗-CLL-1結合結構域(例如scFv)熱穩定性之單一突變。在另一個實施例中，抗-CLL-1結合結構域(例如scFv)包含賦予抗-CLL-1結合結構域(例如scFv)熱穩定性之多個突變。在一個實施例中，抗-CLL-1結合結構域(例如scFv)中之多個突變對抗-CLL-1結合結構域(例如scFv)之熱穩定性具有累加效應。

*b)*聚集%

組合物之穩定性可藉由量測其聚集之傾向來測定。聚集可藉由許多非限制性生物化學或生物物理技術量測。舉例而言，組合物之聚集可使用層析法，例如尺寸排阻層析法(SEC)評估。SEC基於尺寸分離分子。管柱填充有將准許離子及小分子進入其內部但不准許大分子進入的聚合物凝膠之半固體珠粒。當蛋白質組合物施加至管柱頂部時，緊密摺疊蛋白質(亦即未聚集蛋白質)分佈在體積比大蛋白質聚集體可獲得大的溶劑中。因此，大聚集體更迅速地移動穿過管柱，且以此方式，混合物可分離或分級分離成其組分。每一溶離份在自凝膠溶離時可分開定量(例如藉由光散射)。因此，組合物之聚集%可藉由比較溶離份之濃度與施加至凝膠之蛋白質之總濃度來測定。穩定組合物呈基本上單一溶離份自管柱溶離且在溶離型態或層析圖中呈基本上單一峰出現。

c)結合親和力

組合物之穩定性可藉由測定其標靶結合親和力來評估。測定結合親和力之多種方法為此項技術中已知。一種測定結合親和力之例示性方法採用表面電漿子共振。表面電漿子共振為一種光學現象，其允許藉由例如使用BIAcore系統(Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden and Piscataway, N.J.)偵測生物感測器基質中之蛋白質濃度改

變來分析即時生物特異性相互作用。其他描述參見Jonsson, U.等人, (1993) Ann. Biol. Clin. 51:19-26；Jonsson, U., i (1991) Biotechniques 11:620-627；Johnsson, B.等人, (1995) J. Mol. Recognit. 8:125-131；及Johnnson, B.等人, (1991) Anal. Biochem. 198:268-277。

在一個態樣中，CAR之抗原結合結構域包含與本文所述之抗原結合結構域胺基酸序列同源之胺基酸序列，且抗原結合結構域保留本文所述之抗-CLL-1抗體片段之所需功能特性。在一個特定態樣中，本發明之CAR組合物包含抗體片段。在另一態樣中，抗體片段包含scFv。

在各種態樣中，CAR之抗原結合結構域藉由修飾一個或兩個可變區(例如VH及/或VL)內，例如一或多個CDR區內及/或一或多個構架區內之一或多個胺基酸來工程改造。在一個特定態樣中，本發明之CAR組合物包含抗體片段。在另一態樣中，抗體片段包含scFv。

一般技術者應瞭解本發明之抗體或抗體片段可經進一步修飾使得其胺基酸序列(例如自野生型)變化，但所要活性不變。舉例而言，可對蛋白質進行在「非必需」胺基酸殘基引起胺基酸取代之額外核苷酸取代。舉例而言，分子中之非必需胺基酸殘基可經來自相同側鏈家族之另一胺基酸殘基置換。在另一個實施例中，胺基酸條帶可經側鏈家族成員之順序及/或組成不同的結構上類似之條帶置換，例如可進行其中胺基酸殘基經具有類似側鏈之胺基酸殘基置換的保守取代。

此項技術中已定義具有類似側鏈之胺基酸殘基家族，包括鹼性側鏈(例如離胺酸、精胺酸、組胺酸)、酸性側鏈(例如天冬胺酸、麩胺酸)、不帶電極性側鏈(例如甘胺酸、天冬醯胺、麩醯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、酪胺酸、半胱胺酸)、非極性側鏈(例如丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、脯胺酸、苯丙胺酸、甲硫胺酸、色胺酸)、β分支鏈側鏈(例如蘇胺酸、纈胺酸、異白胺酸)及芳族側鏈(例如酪胺酸、苯丙胺酸、色胺酸、組胺酸)。

在兩種或兩種以上核酸或多肽序列情形下的一致性百分比係指兩種或兩種以上序列的相同程度。當在比較窗或指定區上比較及比對以最大對應時，如使用以下序列比較演算法中之一者或藉由手動比對及目測所量測，若兩個序列具有指定百分比之相同胺基酸殘基或核苷酸(例如在指定區域上或未指定時整個序列上60%一致性，視情況70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%一致性)，則兩個序列「實質上一致」。視情況，一致性存在於至少約50個核苷酸(或10個胺基酸)長度之區域上，或更佳100個至500個或1000個或更多核苷酸(或20個、50個、200個或更多胺基酸)長度之區域上。

為進行序列比較，通常一個序列用作參考序列，測試序列與其比較。當使用序列比較演算法時，將測試序列及參考序列輸入至電腦中，必要時指定子序列座標，且指定序列演算法程式參數。可使用預設程式參數，或可指定替代參數。基於程式參數，隨後序列比較演算法計算測試序列相對於參考序列之序列一致性百分比。用於比較之序列比對方法為此項技術中所熟知。可進行最佳序列比對進行比較，例如藉由Smith及Waterman, (1970) Adv. Appl. Math. 2:482c之局部同源演算法，藉由Needleman及Wunsch, (1970) J. Mol. Biol. 48:443之同源比對演算法，藉由Pearson及Lipman, (1988) Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444之相似性方法研究，藉由此等演算法之電腦化實施(Wisconsin Genetics Software Package (Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI)中之GAP、BESTFIT、FASTA及TFASTA)，或藉由手動比對及目測(參見例如Brent等人, (2003) Current Protocols in Molecular Biology)。

適於測定序列一致性百分比及序列相似性百分比之兩個演算法

實例為BLAST及BLAST 2.0演算法，其分別描述於Altschul等人, (1977) Nuc. Acids Res. 25:3389-3402；及Altschul等人, (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410中。進行BLAST分析之軟體為經國家生物技術資訊中心(National Center for Biotechnology Information)公開獲得。

亦可使用E. Meyers及W. Miller, (1988) Comput. Appl. Biosci. 4:11-17之演算法(其已併入ALIGN程式(2.0版)中)，使用PAM120權重殘基表、12分之間隙長度罰分及4分之間隙罰分來測定兩個胺基酸序列之間的一致性百分比。此外，兩個胺基酸序列之間的一致性百分比可使用Needleman及Wunsch (1970) J. Mol. Biol. 48:444-453之演算法(其已併入GCG軟體套件(在www.gcg.com可獲得)中之GAP程式中)，使用Blossom 62矩陣或PAM250矩陣，及16、14、12、10、8、6或4之間隙權重及1、2、3、4、5或6之長度權重來測定。

在一個態樣中，本發明涵蓋產生功能上等效分子之起始抗體或片段(例如scFv)胺基酸序列之修飾。舉例而言，CAR中所包含之抗-CLL-1結合結構域(例如scFv)之VH或VL可經修飾以保留抗-CLL-1結合結構域(例如scFv)之起始VH或VL構架區之至少約70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%一致性。本發明涵蓋整個CAR構築體之修飾，例如CAR構築體之多個結構域的一或多個胺基酸序列之修飾，以產生功能上等效分子。CAR構築體可經修飾以保留至少約70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%起始CAR構築體一致性。

RNA轉染

本文揭示產生活體外轉錄之RNA CAR的方法。本發明亦包括可直接轉染至細胞中之編碼CAR之RNA構築體。一種產生用於轉染之mRNA的方法可涉及用專門設計之引子活體外轉錄(IVT)模板，隨後添加聚A，產生含有3'及5'未轉譯序列(「UTR」)、5'封端及/或內部核糖體入口位點(IRES)、待表現之核酸及長度通常為50-2000個鹼基之聚A尾(SEQ ID NO: 35)的構築體。所產生之RNA可有效轉染不同種類之細胞。在一個態樣中，模板包括CAR之序列。

在一個態樣中，抗-CLL-1 CAR由信使RNA (mRNA)編碼。在一個態樣中，編碼抗-CLL-1 CAR之mRNA引入T細胞中，以產生CART細胞。

在一個實施例中，活體外轉錄之RNA CAR可以短暫轉染形式引入細胞中。藉由使用聚合酶鏈反應(PCR)產生之模板進行活體外轉錄產生RNA。來自任何來源之相關DNA可藉由PCR，使用適當引子及RNA聚合酶直接轉化成用於活體外mRNA合成的模板。DNA來源可為例如染色體組DNA、質體DNA、噬菌體DNA、cDNA、合成DNA序列或任何其他適當DNA來源。用於活體外轉錄之所要模板為本發明之CAR。舉例而言，RNA CAR之模板包含含有抗腫瘤抗體之單鏈可變結構域的胞外區；鉸鏈區、跨膜結構域(例如CD8a之跨膜結構域)；及包括胞內信號傳導結構域(例如包含CD3-ζ之信號傳導結構域及4-1BB之信號傳導結構域)的細胞質區。

在一個實施例中，待用於PCR之DNA含有開放閱讀框架。DNA可來自生物體基因組的天然存在之DNA序列。在一個實施例中，核酸可包括一些或全部5'及/或3'未轉譯區域(UTR)。核酸可包括外顯子及內含子。在一個實施例中，待用於PCR之DNA為人類核酸序列。在另一實施例中，待用於PCR之DNA為包括5'及3' UTR之人類核酸序列。或者DNA可為通常不在天然存在之生物體中表現的人工DNA序列。

例示性人工DNA序列為含有接合在一起形成編碼融合蛋白之開放閱讀框架的基因部分之序列。接合在一起之DNA部分可來自單個生物體或一種以上生物體。

使用PCR產生用於活體外轉錄用於轉染之mRNA之模板。此項技術中熟知進行PCR之方法。用於PCR之引子經設計以具有與待用作PCR模板之DNA區域實質上互補的區域。如本文中所用之「實質上互補」係指引子序列中之大部分或全部鹼基互補或一或多個鹼基不互補或不匹配的核苷酸序列。實質上互補序列能夠與預期DNA標靶在用於PCR之退火條件下退火或雜交。引子可經設計以與DNA模板之任何部分實質上互補。舉例而言，引子可經設計以擴增通常在細胞中轉錄之核酸部分(開放閱讀框架)，包括5'及3' UTR。引子亦可經設計以擴增編碼相關特定結構域之核酸的一部分。在一個實施例中，引子經設計以擴增人類cDNA之編碼區，包括全部或部分5'及3' UTR。適用於PCR之引子可藉由此項技術中熟知之合成方法產生。「正向引子」為含有與在待擴增DNA序列上游的DNA模板上之核苷酸實質上互補之核苷酸區的引子。「上游」在本文中用以指相對於編碼股的待擴增之DNA序列之5'位置。「反向引子」為含有與在待擴增DNA序列下游之雙股DNA模板實質上互補的核苷酸區的引子。「下游」在本文中用以指相對於編碼股的待擴增之DNA序列之3'位置。

適用於PCR之任何DNA聚合酶可用於本文揭示之方法中。試劑及聚合酶購自許多來源。

亦可使用能夠促進穩定性及/或轉譯效率之化學結構。RNA較佳具有5'及3' UTR。在一個實施例中，5' UTR的長度為1至3000個核苷酸。待添加至編碼區的5'及3' UTR序列之長度可藉由不同方法改變，包括(但不限於)設計退火至UTR之不同區域的PCR引子。使用此方法，一般技術者可在經轉錄RNA之轉染後改變實現最佳轉譯效率所需

的5'及3' UTR長度。

5'及3' UTR可為相關核酸的天然存在之內源性5'及3' UTR。或者，可藉由將並非相關核酸內源性之UTR序列併入至正向及反向引子或藉由模板之任何其他修飾來添加該等UTR序列。並非相關核酸內源性之UTR序列之使用可適用於改變RNA之穩定性及/或轉譯效率。舉例而言，已知3' UTR序列中之AU增濃元件可降低mRNA之穩定性。因此，可選擇及設計3'UTR以基於此項技術中熟知之UTR特性提高轉錄RNA之穩定性。

在一個實施例中，5' UTR可含有內源性核酸之克紮克序列(Kozak sequence)。或者，當藉由如上文所述之PCR添加並非相關核酸內源性之5' UTR時，共同克紮克序列可藉由添加5' UTR序列重新設計。克紮克序列可提高一些RNA轉錄物的轉譯效率，但似乎並非為所有RNA能夠有效轉移所需。此項技術中已知許多mRNA需要克紮克序列。在其他實施例中，5' UTR可為RNA基因組在細胞中穩定之RNA病毒之5'UTR。在其他實施例中，多種核苷酸類似物可用於3'或5' UTR以阻礙mRNA之核酸外切酶分解。

為能夠無需基因選殖即自DNA模板合成RNA，轉錄啟動子應連接至待轉錄序列上游之DNA模板。當充當RNA聚合酶之啟動子的序列添加至正向引子之5'端時，RNA聚合酶啟動子併入待轉錄之開放閱讀框架上游的PCR產物中。在一個較佳實施例中，啟動子為如本文別處所述之T7聚合酶啟動子。其他適用啟動子包括(但不限於) T3及SP6 RNA聚合酶啟動子。此項技術中已知T7、T3及SP6啟動子的共同核苷酸序列。

在一較佳實施例中，mRNA具有決定核糖體結合、轉譯起始及細胞中之mRNA穩定性的5'端上之封端及3'聚(A)尾。在圓形DNA模板，例如質體DNA上，RNA聚合酶產生不適於在真核細胞中表現的長多聯

產物。在3' UTR之末端經線性化之質體DNA的轉錄產生正常尺寸之mRNA，其即使在轉錄後經聚腺苷酸化亦在真核轉染中無效。

在線性DNA模板上，噬菌體T7 RNA聚合酶可使轉錄物之3'端延伸超過模板之最後一個鹼基(Schenborn及Mierendorf, Nuc Acids Res., 13:6223-36 (1985)；Nacheva及Berzal-Herranz, Eur. J. Biochem., 270:1485-65 (2003))。

將聚A/T伸長部整合至DNA模板中之習知方法為分子選殖。然而，整合至質體DNA中之聚A/T序列可使質體不穩定，此為獲自細菌細胞之質體DNA模板通常高度混雜有缺失及其他畸變之原因。此使得選殖程序不僅費力且費時，且亦通常不可靠。此為高度需要一種在無選殖下用聚A/T 3'伸長部構築DNA模板之方法的原因。

可藉由在PCR期間使用含有聚T尾(諸如100T尾(SEQ ID NO: 31))之反向引子(尺寸可為50-5000 T (SEQ ID NO: 32))或在PCR之後藉由包括(但不限於) DNA接合或活體外重組之任何其他方法，產生轉錄DNA模板之聚A/T區段。聚(A)尾亦向RNA提供穩定性且減少其降解。一般而言，聚(A)尾之長度與經轉錄RNA之穩定性正相關。在一個實施例中，聚(A)尾為100至5000個腺苷(SEQ ID NO: 33)。

RNA之聚(A)尾在使用聚(A)聚合酶(諸如大腸桿菌聚A聚合酶(E-PAP))活體外轉錄之後可進一步延伸。在一個實施例中，將聚(A)尾之長度由100個核苷酸增至300至400個核苷酸(SEQ ID NO: 34)使得RNA之轉譯效率提高約兩倍。此外，不同化學基團與3'端之連接可提高mRNA穩定性。此類連接可含有經修飾/人工核苷酸、適體及其他化合物。舉例而言，ATP類似物可使用聚(A)聚合酶併入聚(A)尾中。ATP類似物可進一步提高RNA穩定性。

5'封端亦向RNA分子提供穩定性。在一較佳實施例中，本文揭示之方法產生的RNA包括5'封端。使用此項技術中已知及本文所述之技

術提供5'封端(Cougot等人, Trends in Biochem. Sci., 29:436-444 (2001)；Stepinski等人, RNA, 7:1468-95 (2001)；Elango等人, Biochim. Biophys. Res. Commun., 330:958-966 (2005))。

藉由本文揭示之方法產生的RNA亦可含有內部核糖體入口位點(IRES)序列。IRES序列可為任何病毒、染色體或人工設計之序列，其引發封端獨立性的核糖體結合於mRNA且促進轉譯之起始。可包括適於細胞電穿孔之任何溶解物，其可含有有助於細胞滲透性及活力之因素，諸如糖、肽、脂質、蛋白質、抗氧化劑及界面活性劑。

RNA可使用許多不同方法中之任一者引入標靶細胞中，例如包括(但不限於)以下之市售方法：電穿孔(Amaxa Nucleofector-II (Amaxa Biosystems, Cologne, Germany))、(ECM 830 (BTX) (Harvard Instruments, Boston, Mass.)或基因脈衝發生器II (Gene Pulser II) (BioRad, Denver, Colo.)、Multiporator (Eppendort, Hamburg Germany)、使用脂質體轉染之陽離子脂質體介導之轉染、聚合物封裝、肽介導之轉染或生物彈粒子傳遞系統，諸如「基因槍」(參見例如Nishikawa等人, Hum Gene Ther., 12(8):861-70 (2001))。

非病毒傳遞方法

在一些態樣中，非病毒方法可用於傳遞編碼本文所述之CAR的核酸至細胞或組織或個體。

在一些實施例中，非病毒方法包括使用轉座子(亦稱為可轉座元件)。在一些實施例中，轉座子為本身可插入基因組中之位置的DNA片，例如能夠自我複製且將其複本插入至基因組中之DNA片，或可自較長核酸剪接且插入至基因組中之另一位置的DNA片。舉例而言，轉座子包含由側接用於轉座之基因之反向重複序列組成的DNA序列。

使用轉座子之核酸傳遞的例示性方法包括睡美人轉座子系統(SBTS)及piggyBac (PB)轉座子系統。參見例如Aronovich等人 Hum.

Mol. Genet. 20.R1(2011):R14-20 ； Singh 等 人 Cancer Res. 15(2008):2961-2971 ； Huang 等 人 Mol. Ther. 16(2008):580-589 ； Grabundzija 等 人 Mol. Ther. 18(2010):1200-1209 ； Kebriaei 等 人 Blood. 122.21(2013):166 ； Williams. Molecular Therapy 16.9(2008):1515-16 ； Bell等人 Nat. Protoc. 2.12(2007):3153-65 ； 及 Ding等人 Cell. 122.3(2005):473-83，均以引用的方式併入本文中。

SBTS包括兩個組分：1)含有轉殖基因之轉座子及2)轉座酶來源。轉座酶可將轉座子自載體質體(或其他供體DNA)轉至標靶DNA，諸如宿主細胞染色體/基因組。舉例而言，轉座酶結合於載體質體/供體DNA，自質體切割轉座子(包括轉殖基因)，且將其插入至宿主細胞之基因組。參見例如Aronovich等人，上文。

例示性轉座子包括基於pT2之轉座子。參見例如Grabundzija等人 Nucleic Acids Res. 41.3(2013):1829-47 ； 及 Singh等人 Cancer Res. 68.8(2008): 2961-2971，均以引用的方式併入本文中。例示性轉座酶包括Tc1/水手型轉座酶，例如SB10轉座酶或SB11轉座酶(一種高活性轉座酶，其可例如自巨細胞病毒啟動子表現)。參見例如Aronovich等人 ； Kebriaei等人 ； 及 Grabundzija等人，均以引用的方式併入本文中。

SBTS之使用允許轉殖基因，例如編碼本文所述之CAR之核酸的有效整合及表現。本文提供例如使用諸如SBTS之轉座子系統，產生穩定表現本文所述之CAR的細胞，例如T細胞或NK細胞之方法。

根據本文所述之方法，在一些實施例中，含有SBTS組分之一或多個核酸，例如質體傳遞至細胞(例如T或NK細胞)。舉例而言，核酸藉由核酸(例如質體DNA)傳遞之標準方法，例如本文所述之方法，例如電穿孔、轉染或脂質體轉染來傳遞。在一些實施例中，核酸含有包含轉殖基因，例如編碼本文所述之CAR之核酸的轉座子。在一些實施

例中，核酸含有包含轉殖基因(例如編碼本文所述之CAR之核酸)以及編碼轉座酶之核酸序列的轉座子。在其他實施例中，提供具有兩種核酸之系統，例如雙重質體系統，例如其中第一質體含有包含轉殖基因之轉座子，且第二質體含有編碼轉座酶之核酸序列。舉例而言，第一及第二核酸共傳遞至宿主細胞。

在一些實施例中，藉由使用利用SBTS之基因插入與使用核酸酶(例如鋅指核酸酶(ZFN)、轉錄活化因子樣效應核酸酶(TALEN)、CRISPR/Cas系統或經工程改造之大範圍核酸酶再工程改造歸巢核酸內切酶)之基因編輯的組合，產生表現本文所述之CAR的細胞，例如T或NK細胞。

在一些實施例中，使用非病毒傳遞方法允許例如T或NK細胞之細胞的程式化及細胞直接輸注至個體。非病毒載體之優點包括(但不限於)容易及相對低成本地產生足以滿足患者群體之量、儲存期間之穩定性及缺乏免疫原性。

編碼CAR之核酸構築體

本發明亦提供編碼一或多種本文所述之CAR構築體的核酸分子。在一個態樣中，核酸分子作為信使RNA轉錄物提供。在一個態樣中，核酸分子作為DNA構築體提供。

因此，在一個態樣中，本發明係關於一種分離之核酸分子，其編碼嵌合抗原受體(CAR)，其中該CAR包含抗-CLL-1結合結構域(例如人類抗-CLL-1結合結構域)、跨膜結構域及包含刺激結構域之胞內信號傳導結構域(例如共同刺激信號傳導結構域及/或主要信號傳導結構域，例如ζ鏈)。在一個實施例中，抗-CLL-1結合結構域為本文所述之抗-CLL-1結合結構域，例如包含選自由SEQ ID NO: 39-51組成之群的序列，或與其具有95%-99%一致性之序列的抗-CLL-1結合結構域。在一個實施例中，跨膜結構域為本文所述，例如選自由以下各者組成之

群的蛋白質之跨膜結構域：T細胞受體之α、β或ζ鏈、CD28、CD3ε、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137及CD154。在一個實施例中，跨膜結構域包含SEQ ID NO: 6之序列或與其具有95%-99%一致性之序列。在一個實施例中，抗-CLL-1結合結構域藉由鉸鏈區(例如本文所述之鉸鏈)連接至跨膜結構域。在一個實施例中，鉸鏈區包含SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 3或SEQ ID NO: 4或SEQ ID NO: 5，或與其具有95%-99%一致性的序列。在一個實施例中，分離之核酸分子進一步包含編碼共同刺激結構域之序列。在一個實施例中，共同刺激結構域為本文所述，例如選自由以下各者組成之群之蛋白質的功能性信號傳導結構域：MHC I類分子、TNF受體蛋白、免疫球蛋白樣蛋白、細胞因子受體、整合素、信號傳導淋巴細胞活化分子(SLAM蛋白)、活化NK細胞受體、BTLA、Toll配位體受體、OX40、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CDS、ICAM-1、LFA-1 (CD11a/CD18)、4-1BB (CD137)、B7-H3、CDS、ICAM-1、ICOS (CD278)、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM (LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-

76、PAG/Cbp、CD19a及特異性結合CD83之配位體。

在一個實施例中，共同刺激結構域包含SEQ ID NO: 7之序列或與其具有95%-99%一致性之序列。在一個實施例中，胞內信號傳導結構域包含4-1BB之功能性信號傳導結構域及CD3ζ之功能性信號傳導結構域。在一個實施例中，胞內信號傳導結構域包含SEQ ID NO: 7或SEQ ID NO: 8之序列，或與其具有95%-99%一致性的序列，及SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之序列，或與其具有95%-99%一致性的序列，其中構成胞內信號傳導結構域之序列在相同框架中表現且呈單個多肽鏈形式。

在另一個態樣中，本發明係關於一種分離之核酸分子，其編碼CAR構築體，該CAR構築體包含SEQ ID NO: 1之前導序列、具有選自由SEQ ID NO: 39-51組成之群之序列(或與其具有95%-99%一致性之序列)的scFv結構域、SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 3或SEQ ID NO: 4或SEQ ID NO: 5 (或與其具有95%-99%一致性之序列)之鉸鏈區、具有SEQ ID NO: 6之序列(或與其具有95%-99%一致性之序列)之跨膜結構域、具有SEQ ID NO: 7之序列之4-1BB共同刺激結構域或具有SEQ ID NO: 8之序列(或與其具有95%-99%一致性之序列)之CD27共同刺激結構域或具有SEQ ID NO: SEQ ID NO: 482之序列(或與其具有95%-99%一致性之序列)之CD28共同刺激結構域或具有SEQ ID NO: SEQ ID NO: 483之序列(與其具有95%-99%一致性之序列)之ICOS共同刺激結構域，及具有SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之序列(或與其具有95%-99%一致性之序列)之CD3ζ刺激結構域。

在另一態樣中，本發明係關於一種藉由核酸分子編碼之分離之多肽分子。在一個實施例中，分離之多肽分子包含選自由SEQ ID NO: 91-103組成之群的序列，或與其具有95%-99%一致性之序列。

在另一個態樣中，本發明係關於一種編碼嵌合抗原受體(CAR)分

子之核酸分子，該CAR分子包含抗-CLL-1結合結構域、跨膜結構域及包含刺激結構域之胞內信號傳導結構域，且其中該抗-CLL-1結合結構域包含選自由SEQ ID NO: 39-51組成之群之序列，或與其具有95%-99%一致性之序列。

在一個實施例中，經編碼之CAR分子進一步包含編碼共同刺激結構域之序列。在一個實施例中，共同刺激結構域為選自由以下各者組成之群之蛋白質的功能性信號傳導結構域：MHC I類分子、TNF受體蛋白、免疫球蛋白樣蛋白、細胞因子受體、整合素、信號傳導淋巴細胞活化分子(SLAM蛋白)、活化NK細胞受體、BTLA、Toll配位體受體、OX40、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CDS、ICAM-1、LFA-1 (CD11a/CD18)、4-1BB (CD137)、B7-H3、CDS、ICAM-1、ICOS (CD278)、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM (LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a及特異性結合CD83之配位體。在一個實施例中，4-1BB共同刺激結構域包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列。在一個實施例中，CD27共同刺激結構域包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列。在一個實施例中，CD28

共同刺激結構域包含SEQ ID NO: 482之胺基酸序列。在一個實施例中，ICOS共同刺激結構域包含SEQ ID NO: 484之胺基酸序列。

在一個實施例中，該跨膜結構域為選自由以下各者組成之群的蛋白質之跨膜結構域：T細胞受體之α、β或ζ鏈、CD28、CD3ε、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154、MHC I類分子、TNF受體蛋白、免疫球蛋白樣蛋白、細胞因子受體、整合素、信號傳導淋巴細胞活化分子(SLAM蛋白)、活化NK細胞受體、BTLA、Toll配位體受體、OX40、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CDS、ICAM-1、LFA-1 (CD11a/CD18)、4-1BB (CD137)、B7-H3、CDS、ICAM-1、ICOS (CD278)、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM (LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a及特異性結合CD83之配位體。在一個實施例中，跨膜結構域包含SEQ ID NO: 6之序列。在一個實施例中，胞內信號傳導結構域包含4-1BB之功能性信號傳導結構域及ζ之功能性信號傳導結構域。在一個實施例中，胞內信號傳導結構域包含SEQ ID NO: 7之序列及SEQ ID

NO: 9之序列，其中該等構成胞內信號傳導結構域之序列在相同框架中表現且呈單個多肽鏈形式。在一個實施例中，抗-CLL-1結合結構域藉由鉸鏈區連接至跨膜結構域。在一個實施例中，鉸鏈區包含SEQ ID NO: 2。在一個實施例中，鉸鏈區包含SEQ ID NO: 3或SEQ ID NO: 4或SEQ ID NO: 5。

在另一個態樣中，本發明係關於一種經編碼之CAR分子，其包含SEQ ID NO: 1之前導序列、具有選自由SEQ ID NO: 39-51組成之群之序列或與其具有95%-99%一致性之序列的scFv結構域、SEQ ID NO: 2或SEQ ID NO: 3或SEQ ID NO: 4或SEQ ID NO: 5之鉸鏈區、具有SEQ ID NO: 6之序列之跨膜結構域、具有SEQ ID NO: 7之序列之4-1BB共同刺激結構域或具有SEQ ID NO: 8之序列之CD27共同刺激結構域，及具有SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之序列之CD3ζ刺激結構域。在一個實施例中，經編碼之CAR分子包含選SEQ ID NO: 91-103組成之群之序列，或與其具有95%-99%一致性之序列。

編碼所需分子之核酸序列可使用此項技術中已知之重組方法獲得，諸如藉由使用標準技術，自表現基因之細胞篩選文庫、藉由自已知包括基因之載體獲得基因或藉由自含有基因之細胞及組織直接分離。或者，相關基因可以合成方式產生而非選殖。

本發明亦提供插入有本發明之DNA的載體。來源於反轉錄病毒(諸如慢病毒)之載體為實現長期基因轉移之適合工具，因為其允許轉殖基因長期穩定整合及其在子細胞中繁殖。慢病毒載體優於來源於致癌反轉錄病毒(諸如鼠類白血病病毒)之載體的額外優勢在於其可轉導非增殖性細胞，諸如肝細胞。其亦具有低免疫原性之額外優勢。反轉錄病毒載體亦可為例如γ反轉錄病毒載體。γ反轉錄病毒載體可包括例如啟動子、封裝信號(ψ)、引子結合位點(PBS)、一或多個(例如兩個)長末端重複序列(LTR)及相關轉殖基因，例如編碼CAR之基因。γ反轉

錄病毒載體可缺乏病毒結構基因，諸如gag、pol及env。例示性γ反轉錄病毒載體包括鼠類白血病病毒(MLV)、脾病灶形成性病毒(SFFV)及骨髓增生肉瘤病毒(MPSV)以及來源於其之載體。其他γ反轉錄病毒載體描述於例如Tobias Maetzig等人，「Gammaretroviral Vectors: Biology, Technology and Application」 Viruses. 2011年6月; 3(6): 677-713中。

在另一實施例中，包含編碼本發明之所要CAR之核酸的載體為腺病毒載體(A5/35)。在另一實施例中，編碼CAR之核酸的表現可使用轉座子(諸如睡美人(sleeping beauty)、crispr、CAS9及鋅指核酸酶)實現。參見以下June等人, 2009 *Nature Reviews Immunology* 9.10: 704-716，其以引用的方式併入本文中。

簡言之，編碼CAR之天然或合成核酸之表現通常藉由將編碼CAR多肽或其部分之核酸可操作地連接於啟動子，且將構築體併入至表現載體來實現。載體可適於複製及整合真核生物。典型選殖載體含有適用於調控所要核酸序列表現之轉錄及轉譯終止子、起始序列及啟動子。

本發明之表現構築體亦可用於使用標準基因傳遞方案的核酸免疫接種及基因療法。基因傳遞方法為此項技術中已知。參見例如美國專利第5,399,346號、第5,580,859號、第5,589,466號，其以全文引用的方式併入本文中。在另一實施例中，本發明提供基因療法載體。

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

此外，表現載體可以病毒載體形式提供給細胞。病毒載體技術為此項技術中熟知且描述於例如Sambrook等人, 2012, MOLECULAR

CLONING: A LABORATORY MANUAL, 第1卷-第4卷, Cold Spring Harbor Press, NY)，及其他病毒學及分子病毒學手冊中。適用作載體之病毒包括(但不限於)反轉錄病毒、腺病毒、腺相關病毒、疱疹病毒及慢病毒。一般而言，適合載體含有在至少一種生物體中起作用之複製起點、啟動子序列、適宜限制核酸內切酶位點及一或多個可選標記物(例如WO 01/96584；WO 01/29058；及美國專利第6,326,193號)。

已開發出許多基於病毒之系統將基因轉移至哺乳動物細胞中。舉例而言，反轉錄病毒為基因傳遞系統提供適宜平台。所選基因可插入至載體中且使用此項技術中已知之技術封裝於反轉錄病毒粒子中。重組病毒可接著經分離且在活體內或離體傳遞至個體之細胞中。許多反轉錄病毒系統為此項技術中已知。在一些實施例中，使用腺病毒載體。此項技術中已知許多腺病毒載體。在一個實施例中，使用慢病毒載體。

額外啟動子元件(例如強化子)調控轉錄起始頻率。通常，此等元件位於起始位點上游30-110 bp區中，不過許多啟動子已顯示亦在起始位點下游含有功能性元件。啟動子元件之間的間距通常為靈活的，使得當元件倒置或相對於彼此移動時保留啟動子功能。在胸苷激酶(tk)啟動子中，啟動子元件之間的間距在活性開始減退之前可增加至相隔50 bp。視啟動子而定，似乎個別元件可合作或獨立地用以活化轉錄。

能夠在哺乳動物T細胞中表現CAR轉殖基因之啟動子的一個實例為EF1a啟動子。原生EF1a啟動子驅動延長因子-1複合物之α子單元的表現，該複合物負責將胺基醯基tRNA藉由酶傳遞至核糖體。EF1a啟動子已廣泛用於哺乳動物表現質體且已顯示有效驅動自選殖至慢病毒載體中之轉殖基因表現CAR。參見例如Milone等人, Mol. Ther. 17(8): 1453-1464 (2009)。在一個態樣中，EF1a啟動子包含作為SEQ ID NO:

11提供之序列。

啟動子之另一實例為即刻早期巨細胞病毒(CMV)啟動子序列。此啟動子序列為能夠驅動任何可操作地連接於其之聚核苷酸序列高程度表現的強組成性啟動子序列。然而，亦可使用其他組成性啟動子序列，包括(但不限於)猿病毒40 (SV40)早期啟動子、小鼠乳房腫瘤病毒(MMTV)、人類免疫缺乏病毒(HIV)長末端重複序列(LTR)啟動子、MoMuLV啟動子、禽類白血病病毒啟動子、埃-巴二氏病毒即刻早期啟動子、勞斯肉瘤病毒啟動子(Rous sarcoma virus promoter)，以及人類基因啟動子，諸如(但不限於)肌動蛋白啟動子、肌球蛋白啟動子、延長因子-1α啟動子、血紅蛋白啟動子及肌酸激酶啟動子。此外，本發明應不限於組成性啟動子之使用。誘導性啟動子亦預期作為本發明之部分。誘導性啟動子之使用提供分子開關，該分子開關能夠在需要其可操作地連接之聚核苷酸序列表現時打開此類表現或不需要表現時關閉表現。誘導性啟動子之實例包括(但不限於)金屬硫蛋白啟動子、糖皮質激素啟動子、孕酮啟動子及四環素啟動子。

啟動子之另一實例為磷酸甘油酸激酶(PGK)啟動子。在實施例中，可需要截短PGK啟動子(例如與野生型PGK啟動子序列相比，具有一或多個，例如1、2、5、10、100、200、300或400個核苷酸缺失之PGK啟動子)。以下提供例示性PGK啟動子之核苷酸序列。

WT PGK啟動子

ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACGTCTTAC
GCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGCGGAGGGCGTGGCGGGGAAGGGC
CGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATAACCGGTGTCGGGTAGCGCCAGCCGCGCGACGGTAA
CGAGGGACCGCGACAGGCAGACGCTCCCATGATCACTCTGCACGCCGAAGGCAAATAGTGCAGGCCGTGCGGC
GCTTGGCGTTCCTTGGAAGGGCTGAATCCCCGCCTCGTCCTTCGCAGCGGCCCCCCGGGTGTTCCCATCGCCG
CTTCTAGGCCCACTGCGACGCTTGCCTGCACTTCTTACACGCTCTGGGTCCCAGCCGCGGCGACGCAAAGGGC
CTTGGTGCGGGTCTCGTCGGCGCAGGGACGCGTTTGGGTCCCGACGGAACCTTTTCCGCGTTGGGGTTGGGGC
ACCATAAGCT

(SEQ ID NO: 487)

例示性截短PGK啟動子：

PGK100：

ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACGTCTTAC
GCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTG

(SEQ ID NO: 488)

PGK200：

ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACGTCTTAC
GCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGCGGAGGGCGTGGCGGGGAAGGGC
CGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATAACCGGTGTCGGGTAGCGCCAGCCGCGCGACGGTAA
CG

(SEQ ID NO: 489)

PGK300：

ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACGTCTTAC
GCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGCGGAGGGCGTGGCGGGGAAGGGC
CGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATAACCGGTGTCGGGTAGCGCCAGCCGCGCGACGGTAA
CGAGGGACCGCGACAGGCAGACGCTCCCATGATCACTCTGCACGCCGAAGGCAAATAGTGCAGGCCGTGCGGC
GCTTGGCGTTCCTTGGAAGGGCTGAATCCCCG

(SEQ ID NO: 490)

PGK400：

ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACGTCTTAC
GCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGCGGAGGGCGTGGCGGGGAAGGGC
CGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATAACCGGTGTCGGGTAGCGCCAGCCGCGCGACGGTAA
CGAGGGACCGCGACAGGCAGACGCTCCCATGATCACTCTGCACGCCGAAGGCAAATAGTGCAGGCCGTGCGGC
GCTTGGCGTTCCTTGGAAGGGCTGAATCCCCGCCTCGTCCTTCGCAGCGGCCCCCCGGGTGTTCCCATCGCCG
CTTCTAGGCCCACTGCGACGCTTGCCTGCACTTCTTACACGCTCTGGGTCCCAGCCG

(SEQ ID NO: 491)

載體亦可包括例如促進分泌之信號序列、聚腺苷酸化信號及轉錄終止子(例如來自牛生長激素(BGH)基因)、允許游離型複製及在原核生物中複製之元件(例如SV40起點及ColE1或此項技術中已知之其他元件)及/或允許選擇之元件(例如安比西林(ampicillin)抗性基因及/或勻黴素(zeocin)標記物)。

為評估CAR多肽或其部分之表現，待引入細胞中之表現載體亦可含有可選標記基因或報導基因或兩者以促進自設法經由病毒載體轉染或感染之細胞群體鑑別及選擇表現細胞。在其他態樣中，可選標記物可攜帶於分開DNA片上且用於共轉染程序。可選標記物與報導基因皆可側接適當調控序列以能夠在宿主細胞中表現。適用可選標記物包括例如耐抗生素基因，諸如neo及其類似物。

報導基因用於鑑別潛在之轉染細胞及評估調控序列之功能性。一般而言，報導基因為一種在接受生物體或組織中不存在或不表現且編碼表現藉由一些容易偵測之特性(例如酶活性)顯現之多肽的基因。在DNA已引入接受細胞之後的適合時間分析報導基因之表現。適合報導基因可包括編碼螢光素酶、β-半乳糖苷酶、氯黴素乙醯基轉移酶、分泌之鹼性磷酸酶之基因或綠色螢光蛋白質基因(例如Ui-Tei等人，2000 FEBS Letters 479: 79-82)。適合表現系統為熟知且可使用已知技術製備或購得。一般而言，具有顯示報導基因最高表現程度之最小5'側接區的構築體鑑別為啟動子。此類啟動子區域可連接於報導基因且用於評估藥劑調節啟動子驅使之轉錄的能力。

在一個實施例中，載體可進一步包含編碼第二CAR之核酸。在一個實施例中，第二CAR包括針對在急性骨髓性白血病細胞上表現之標靶，諸如CD123、CD33、CD34、FLT3或葉酸鹽受體β的抗原結合結構域。在一個實施例中，載體包含編碼第一CAR之核酸序列，該第一CAR特異性結合第一抗原且包括具有共同刺激信號傳導結構域但不具有主要信號傳導結構域之胞內信號傳導結構域；及編碼第二CAR之核酸，該第二CAR特異性結合第二不同抗原且包括具有主要信號傳導結構域但不具有共同刺激信號傳導結構域之胞內信號傳導結構域。在一個實施例中，載體包含編碼第一CLL-1 CAR之核酸，該第一CLL-1 CAR包括CLL-1結合結構域、跨膜結構域及共同刺激結構域；及編碼第二CAR之核酸，該第二CAR特異性結合除CLL-1外之抗原(例如在AML細胞上表現之抗原，例如CD123、CD33、CD34、FLT3或葉酸鹽受體β)，且包括抗原結合結構域、跨膜結構域及主要信號傳導結構域。在另一個實施例中，載體包含編碼第一CLL-1 CAR之核酸，該第一CLL-1 CAR包括CLL-1結合結構域、跨膜結構域及主要信號傳導結構域；及編碼第二CAR之核酸，該第二CAR特異性結合除CLL-1外之

抗原(例如在AML細胞上表現之抗原，例如CD123、CD33、CD34、FLT3或葉酸鹽受體β)且包括針對該抗原之抗原結合結構域、跨膜結構域及共同刺激信號傳導結構域。

在一個實施例中，載體包含編碼本文所述之CLL-1 CAR的核酸及編碼抑制CAR之核酸。在一個實施例中，抑制CAR包含結合在正常細胞(例如亦表現CLL之正常細胞)而非癌細胞上發現之抗原的抗原結合結構域。在一個實施例中，抑制CAR包含抑制分子之抗原結合結構域、跨膜結構域及胞內結構域。舉例而言，抑制CAR之胞內結構域可為PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM (例如CEACAM-1、CEACAM-3及/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3 (CD276)、B7-H4 (VTCN1)、HVEM (TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I類、MHC II類、GAL9、腺苷及TGFR β之胞內結構域。

在實施例中，載體可包含兩個或兩個以上核酸序列，其編碼CAR，例如本文所述之CLL-1 CAR，及第二CAR，例如抑制CAR或特異性結合於除CLL-1外之抗原(例如在AML細胞上表現之抗原，例如CD123、CD33、CD34、FLT3或葉酸鹽受體β)的CAR。在此類實施例中，編碼CAR之兩個或兩個以上核酸序列藉由同框且呈單一多肽鏈形式之單一核酸分子編碼。在此態樣中，兩個或兩個以上CAR可例如藉由一或多個肽裂解位點分離(例如自體裂解位點或細胞內蛋白酶之受質)。肽裂解位點之實例包括以下，其中GSG殘基為視情況存在的：

T2A：(GSG) E G R G S L L T C G D V E E N P G P (SEQ ID NO: 492)

P2A：(GSG) A T N F S L L K Q A G D V E E N P G P (SEQ ID NO: 493)

E2A：(GSG) Q C T N Y A L L K L A G D V E S N P G P (SEQ ID NO: 494)

F2A：(GSG) V K Q T L N F D L L K L A G D V E S N P G P (SEQ ID NO: 495)

向細胞中引入及表現基因之方法為此項技術中已知。在表現載

體之情形下，載體容易藉由此項技術中之任何方法引入宿主細胞(例如哺乳動物、細菌、酵母或昆蟲細胞)中。舉例而言，表現載體可藉由物理、化學或生物方式轉移至宿主細胞中。

用於將聚核苷酸引入宿主細胞中之物理方法包括磷酸鈣沈澱、脂質體轉染、粒子轟擊、顯微注射、電穿孔及其類似方法。用於產生包含載體及/或外源性核酸之細胞的方法為此項技術中熟知。參見例如Sambrook等人，2012, MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL，第1卷-第4卷, Cold Spring Harbor Press, NY。用於將聚核苷酸引入宿主細胞中之一種較佳方法為磷酸鈣轉染。

用於將相關聚核苷酸引入宿主細胞之生物方法包括使用DNA及RNA載體。病毒載體及尤其反轉錄病毒載體已成為最廣泛用於將基因插入至哺乳動物(例如人類細胞)中之方法。其他病毒載體可來源於慢病毒、痘病毒、I型單純疱疹病毒、腺病毒及腺相關病毒及其類似病毒。參見例如美國專利第5,350,674號及第5,585,362號。

用於將聚核苷酸引入宿主細胞中之化學方式包括膠態分散系統，諸如大分子複合物、奈米囊劑、微球、珠粒及基於脂質之系統，包括水包油乳液、微胞、混合微胞及脂質體。用作活體外及活體內傳遞媒劑之一種例示性膠態系統為脂質體(例如人工膜泡)。可獲得目前先進技術之靶向傳遞核酸之其他方法，諸如用靶向奈米粒子或其他適合次微米尺寸傳遞送系統傳遞聚核苷酸。

在利用非病毒傳遞系統的情況下，例示性傳遞媒劑為脂質體。預期使用脂質調配物將核酸引入宿主細胞(活體外、離體或活體內)。在另一態樣中，核酸可與脂質相關聯。與脂質關聯之核酸可囊封於脂質體之水性內部中，穿插於脂質體之脂質雙層內，經由與脂質體及寡核苷酸兩者締合之連接分子附接至脂質體，包覆於脂質體中，與脂質體複合，分散於含有脂質之溶液中，與脂質混合，與脂質組合，以懸

浮液形式含於脂質中，含有微胞或與微胞複合，或以其他方式與脂質關聯。與脂質、脂質/DNA或脂質/表現載體有關之組合物在溶液中不限於任何特定結構。舉例而言，其可存在於雙層結構中，以微胞形式存在或具有「塌陷」結構。其亦可簡單地穿插於溶液中，可能形成尺寸或形狀上不均勻的聚集物。脂質為脂肪物質，其可為天然存在之脂質或合成脂質。舉例而言，脂質包括細胞質中天然存在之脂肪滴以及含有長鏈脂族烴及其衍生物之化合物類別(諸如脂肪酸、醇、胺、胺基醇及醛)。

適用之脂質可獲自商業來源。舉例而言，二肉豆蔻基磷脂醯膽鹼(「DMPC」)可獲自Sigma, St. Louis, MO；磷酸三十二烷基酯(「DCP」)可獲自K & K Laboratories (Plainview, NY)；膽固醇(「Choi」)可獲自Calbiochem-Behring；二肉豆蔻基磷脂醯甘油(「DMPG」)及其他脂質可獲自Avanti Polar Lipids, Inc. (Birmingham, AL.)。脂質於氯仿或氯仿/甲醇中之儲備溶液可在約-20℃下儲存。氯仿用作唯一溶劑，因為其比甲醇容易蒸發。「脂質體」為涵蓋藉由產生封閉脂質雙層或聚集物所形成的多種單層及多層脂質媒劑的通用術語。脂質體之特徵為具有囊泡結構，其具有磷脂雙層膜及內部水性介質。多層脂質體具有藉由水性介質分隔之多個脂質層。其在磷脂懸浮於過量水溶液中時自發地形成。脂質組分在形成封閉結構之前進行自身重排且在脂質雙層之間捕獲水及溶解之溶解物(Ghosh等人，1991 Glycobiology 5: 505-10)。然而，亦涵蓋在溶液中具有與正常囊泡結構不同之結構的組合物。舉例而言，脂質可採用膠束結構或僅以脂質分子之非均勻聚集物形式存在。亦預期脂染胺-核酸複合物。

不管用於將外源性核酸引入宿主細胞或另外使細胞暴露於本發明之抑制劑的方法任何，為確認宿主細胞中重組DNA序列之存在，可進行多種分析。此類分析包括例如熟習此項技術者熟知之「分子生物

學」分析，諸如南方及北方墨點法、RT-PCR及PCR；「生物化學」分析，諸如偵測特定肽之存在或不存在，例如藉由免疫方式(ELISA及西方墨點法)或藉由本文所述之鑑別在本發明之範疇內之藥劑的分析法。

本發明進一步提供一種包含編碼CAR之核酸分子之載體。在一個態樣中，CAR載體可直接轉導至細胞，例如免疫效應細胞，例如T細胞或NK細胞中。在一個態樣中，載體為選殖或表現載體，例如包括(但不限於)以下之載體：一或多種質體(例如表現質體、選殖載體、微環、微載體、雙微染色體)、反轉錄病毒及慢病毒載體構築體。在一個態樣中，載體能夠在哺乳動物T細胞中表現CAR構築體。在一個態樣中，哺乳動物T細胞為人類T細胞。

細胞來源

在擴增及基因修飾之前，細胞(例如免疫效應細胞，例如T細胞或NK細胞)之來源獲自個體。術語「個體」欲包括可引起免疫反應之活生物體(例如哺乳動物)。個體之實例包括人類、犬、貓、小鼠、大鼠及其轉殖基因物種。T細胞可獲自許多來源，包括外周血液單核細胞、骨髓、淋巴結組織、臍帶血、胸腺組織、來自感染部位之組織、腹水、肋膜積液、脾臟組織及腫瘤。

在本發明之某些態樣中，可使用許多此項技術中可獲得之免疫效應細胞(例如T細胞或NK細胞)。在本發明之某些態樣中，T細胞可獲自使用熟習此項技術者已知的許多技術(諸如Ficoll™分離)自個體收集之血液單元。在一個較佳態樣中，藉由清除術獲得來自個體之循環血液的細胞。清除術產物通常含有淋巴細胞，包括T細胞、單核細胞、粒細胞、B細胞、其他成核白血球、紅血球及血小板。在一個態樣中，藉由清除術收集之細胞可經洗滌以移除血漿部分且將細胞置於適當緩衝液或培養基中以用於後續處理步驟。在本發明之一個態樣

中，用磷酸鹽緩衝生理食鹽水(PBS)洗滌細胞。在一替代態樣中，洗滌溶液缺乏鈣且可缺乏鎂或可缺乏許多(若非全部)二價陽離子。在無鈣存在下初始活化步驟可導致放大之活化。如一般技術者將容易瞭解，洗滌步驟可藉由熟習此項技術者已知之方法實現，諸如藉由根據製造商說明書使用半自動「流通」離心機(例如Cobe 2991細胞處理器、Baxter CytoMate或Haemonetics細胞保存器5)。洗滌後，可將細胞再懸浮於多種生物相容性緩衝劑中，諸如不含Ca、不含Mg之PBS、PlasmaLyte A或其他具有或不具有緩衝劑之生理食鹽水溶液。或者，可移除清除術樣品之非所要組分且細胞直接再懸浮於培養基中。

認識到本申請案之方法可利用包含5%或更低，例如2%人類AB血清之培養基條件且採用已知之培養基條件及組合物，例如以下中所述之條件及組合物：Smith等人，「Ex vivo expansion of human T cells for adoptive immunotherapy using the novel Xeno-free CTS Immune Cell Serum Replacement」 *Clinical & Translational Immunology* (2015) 4, e31; doi:10.1038/cti.2014.31。

在一個態樣中，藉由溶解紅血球且例如藉由經PERCOLLTM梯度離心或藉由逆流離心淘析耗盡單核細胞，將T細胞自外周血液淋巴細胞分離。T細胞之特定亞群(諸如CD3+、CD28+、CD4+、CD8+、CD45RA+及CD45RO+T細胞)可藉由正選擇或負選擇技術進一步分離。舉例而言，在一個態樣中，藉由與抗-CD3/抗-CD28 (例如3×28)結合之珠粒(諸如DYNABEADS® M-450 CD3/CD28 T)一起培育足以正選擇所要T細胞之時間段來分離T細胞。在一個態樣中，該時間段為約30分鐘。在另一態樣中，時間段在30分鐘至36小時或更長及其間所有整數值範圍內。在另一態樣中，該時間段為至少1、2、3、4、5或6小時。在另一較佳態樣中，該時間段為10至24小時。在一個態樣中，培育時間段為24小時。在相較於其他細胞類型存在較少T細胞的任何

情形下可使用較長培育時間分離T細胞，諸如自腫瘤組織或免疫功能不全個體分離腫瘤浸潤淋巴細胞(TIL)。此外，使用較長培育時間可提高捕捉CD8+ T細胞之效率。因此，藉由簡單縮短或延長時間，使T細胞結合於CD3/CD28珠粒，及/或藉由增加或降低珠粒比T細胞之比率(如本文進一步描述)，可在培養開始時或該方法期間之其他時間點優先選擇T細胞之亞群。此外，藉由增加或降低珠粒或其他表面上抗-CD3及/或抗-CD28抗體之比率，可在培養開始時或在其他所要時間點優先選擇T細胞亞群。熟習此項技術者將瞭解本發明情形中亦可使用多輪選擇。在某些態樣中，可能需要進行選擇程序且在活化及擴增過程中使用「未經選擇之」細胞。「未經選擇之」細胞亦可進行其他輪之選擇。

可使用針對負選擇細胞所獨有之表面標記物之抗體的組合實現藉由負選擇增濃T細胞群體。一種方法為經由負磁性免疫黏附或流動式細胞量測術分選及/或選擇細胞，其使用針對負選擇細胞上存在之細胞表面標記物之單株抗體混合物。舉例而言，為藉由負選擇增濃CD4+細胞，單株抗體混合物通常包括CD14、CD20、CD11b、CD16、HLA-DR及CD8之抗體。在某些態樣中，可能需要增濃或正選擇通常表現CD4+、CD25+、CD62Lhi、GITR+及FoxP3+之調控T細胞。或者，在某些態樣中，藉由抗C25結合之珠粒或其他類似選擇方法耗盡T調控細胞。

本文所述之方法可包括例如使用如例如本文所述之負選擇技術選擇免疫效應細胞，例如T細胞之作為T調控細胞耗盡群體之特定亞群，CD25+耗盡細胞。較佳地，T調控耗盡細胞群體含有少於30%、25%、20%、15%、10%、5%、4%、3%、2%、1%之CD25+細胞。

在一個實施例中，使用抗-CD25抗體或其片段或CD25結合配位體IL-2自群體移除T調控細胞，例如CD25+ T細胞。在一個實施例

中，抗-CD25抗體或其片段或CD25結合配位體結合於例如珠粒之受質，或另外塗佈在例如珠粒之受質上。在一個實施例中，抗-CD25抗體或其片段結合於如本文所述之受質。

在一個實施例中，使用來自Miltenyi™之CD25耗盡試劑自群體移除T調控細胞，例如CD25+ T細胞。在一個實施例中，細胞與CD25耗盡試劑之比率為1e7個細胞與20 μL，或1e7個細胞與15 μL，或1e7個細胞與10 μL，或1e7個細胞與5 μL，或1e7個細胞與2.5 μL，或1e7個細胞與1.25 μL。在一個實施例中，例如對於T調控細胞，例如CD25+耗盡，使用超過5億個細胞/毫升。在另一態樣中，使用6、7、8或9億個細胞/毫升之細胞濃度。

在一個實施例中，待耗盡之免疫效應細胞的群體包括約6×10^9個CD25+ T細胞。在其他態樣中，待耗盡之免疫效應細胞之群體包括約1×10^9至1×10^{10}個CD25+ T細胞及兩者之間的任何整數值。在一個實施例中，所得群體T調控耗盡細胞具有2×10^9個T調控細胞，例如CD25+細胞，或更低(例如1×10^9、5×10^8、1×10^8、5×10^7、1×10^7或更少CD25+細胞)。

在一個實施例中，使用具有耗盡管組，諸如管162-01之CliniMAC系統，自群體移除T調控細胞，例如CD25+細胞。在一個實施例中，CliniMAC系統在諸如DEPLETION2.1之耗盡設置上操作。

不希望受特定理論束縛，在個體中在清除術前或在製造表現CAR之細胞產物期間減少免疫細胞之負調控因子水準(例如減少不必要免疫細胞，例如T_{REG}細胞之數目)可降低個體復發風險。舉例而言，此項技術中已知耗盡T_{REG}細胞之方法。減少T_{REG}細胞之方法包括(但不限於)環磷醯胺、抗-GITR抗體(本文所述之抗-GITR抗體)、CD25耗盡及其組合。

在一些實施例中，製造方法包含在製造表現CAR之細胞前減少

T_{REG}細胞數目(例如耗盡)。舉例而言，製造方法包含使樣品(例如清除術樣品)與抗-GITR抗體及/或抗-CD25抗體(或其片段或CD25結合配位體)接觸，例如以在製造表現CAR之細胞(例如T細胞、NK細胞)產物前耗盡T_{REG}細胞。

在一個實施例中，在收集細胞用於製造表現CAR之細胞產物前將個體用一或多種減少T_{REG}細胞之療法預處理，由此降低個體面對表現CAR之細胞治療復發之風險。在一個實施例中，減少T_{REG}細胞之方法包括(但不限於)向個體投與環磷醯胺、抗-GITR抗體、CD25耗盡中之一或多者或其組合。投與環磷醯胺、抗-GITR抗體、CD25耗盡中之一或多者或其組合可在表現CAR之細胞產物輸注之前、期間或之後進行。

在一個實施例中，在收集細胞用於製造表現CAR之細胞產物前將個體用環磷醯胺預處理，由此降低個體面對表現CAR之細胞治療復發之風險。在一個實施例中，在收集細胞用於製造表現CAR之細胞產物前將個體用抗-GITR抗體預處理，由此降低個體面對表現CAR之細胞治療復發之風險。

在一個實施例中，待移除之細胞群體既非調控T細胞亦非腫瘤細胞，而為以其他方式負面影響CART細胞之擴增及/或功能的細胞，例如表現CD14、CD11b、CD33、CD15或藉由潛在免疫抑制細胞表現之其他標記物之細胞。在一個實施例中，預想此類細胞與調控T細胞及/或腫瘤細胞並行移除，或在該耗盡後移除，或以另一次序移除。

本文所述之方法可包括一個以上選擇步驟，例如一個以上耗盡步驟。藉由負選擇增濃T細胞群體可例如使用針對負選擇細胞所獨有之表面標記物之抗體的組合來實現。一種方法為經由負磁性免疫黏附或流動式細胞量測術分選及/或選擇細胞，其使用針對負選擇細胞上存在之細胞表面標記物之單株抗體混合物。舉例而言，為藉由負選擇

增濃CD4+細胞，單株抗體混合物可包括CD14、CD20、CD11b、CD16、HLA-DR及CD8之抗體。

本文所述之方法可進一步包括自表現腫瘤抗原，例如不包含CD25之腫瘤抗原，例如CD19、CD30、CD38、CD123、CD20、CD14或CD11b之群體移除細胞，藉此提供適合於表現CAR，例如本文所述之CAR的T調控耗盡，例如CD25+耗盡及腫瘤抗原耗盡之細胞群體。在一個實施例中，表現腫瘤抗原之細胞與T調控，例如CD25+細胞同時移除。舉例而言，抗-CD25抗體或其片段及抗腫瘤抗原抗體或其片段可附接至可用於去除細胞之相同受質，例如珠粒，或抗-CD25抗體或其片段或抗腫瘤抗原抗體或其片段可附接至混合物可用於去除細胞之分開珠粒。在其他實施例中，T調控細胞，例如CD25+細胞之去除及腫瘤抗原表現細胞之去除為連續的，且可以例如任一次序進行。

亦提供包括自群體移除表現檢查點抑制劑(例如本文所述之檢查點抑制劑)之細胞，例如PD1+細胞、LAG3+細胞及TIM3+細胞中之一或多者之方法，藉此提供T調控耗盡，例如CD25+耗盡細胞及檢查點抑制劑耗盡細胞，例如PD1+、LAG3+及/或TIM3+耗盡細胞之群體。例示性檢查點抑制劑包括PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM (例如CEACAM-1、CEACAM-3及/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3 (CD276)、B7-H4 (VTCN1)、HVEM (TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I類、MHC II類、GAL9、腺苷及TGFR β。在一個實施例中，表現檢查點抑制劑之細胞與T調控，例如CD25+細胞同時移除。舉例而言，抗-CD25抗體或其片段及抗-檢查點抑制劑抗體或其片段可附接至可用於去除細胞之相同珠粒，或抗-CD25抗體或其片段或抗-腫瘤抗原抗體或其片段可附接至混合物可用於去除細胞之分開珠粒。在其他實施例中，T調控細胞，例如CD25+細胞之去除及檢查點抑制劑

表現細胞之去除為連續的，且可以例如任一次序進行。

在一個實施例中，可選擇表現以下中之一或多者的T細胞群體：IFN-γ、TNFα、IL-17A、IL-2、IL-3、IL-4、GM-CSF、IL-10、IL-13、顆粒酶B及穿孔素，或其他適當分子，例如其他細胞因子。可例如藉由PCT公開案第WO 2013/126712號中所述之方法確定篩選細胞表現之方法。

為藉由正選擇或負選擇來分離所要細胞群體，細胞濃度及表面(例如粒子，諸如珠粒)可變化。在某些態樣中，可能需要顯著降低珠粒及細胞混合在一起的體積(例如提高細胞濃度)以確保細胞與珠粒最大程度地接觸。舉例而言，在一個態樣中，使用2000,000,000個細胞/毫升之濃度。在一個態樣中，使用1,000,000,000個細胞/毫升之濃度。在另一態樣中，使用大於100,000,000個細胞/毫升。在另一態樣中，使用10,000,000、15,000,000、20,000,000、25,000,000、30,000,000、35,000,000、40,000,000、45,000,000或50,000,000個細胞/毫升。在另一態樣中，使用75,000,000、80,000,000、85,000,000、90,000,000、95,000,000或100,000,000個細胞/毫升之濃度。在其他態樣中，可使用125,000,000或150,000,000個細胞/毫升之濃度。使用高濃度可引起增加之細胞產量、細胞活化及細胞擴增。此外，使用高細胞濃度允許更有效地捕捉可能弱表現相關標靶抗原之細胞(諸如CD28陰性T細胞)或自存在許多腫瘤細胞之樣品(例如白血病血液、腫瘤組織等)更有效捕捉細胞。此類細胞群體可具有治療價值且將需要獲得。舉例而言，使用高濃度細胞允許更有效地選擇通常具有較弱CD28表現之CD8+ T細胞。

在相關態樣中，可能需要使用較低濃度之細胞。藉由顯著稀釋T細胞及表面(例如粒子，諸如珠粒)之混合物，使粒子與細胞之間的相互作用降至最低。此選擇表現大量待結合於粒子之所要抗原的細胞。

舉例而言，CD4+ T細胞表現較高水準之CD28且在稀濃度下比CD8+ T細胞更有效捕捉。在一個態樣中，所用細胞濃度為5×10^6/ml。在其他態樣中，所用濃度可為約1×10^5/ml至1×10^6/ml，及其間之任何整數值。

在其他態樣中，細胞可在旋轉器上在2-10℃或室溫下在變化之速度下培育持續變化之時間長度。

用於刺激之T細胞亦可在洗滌步驟後經冷凍。不希望受理論束縛，凍結及隨後解凍步驟藉由移除細胞群體中之粒細胞及一定程度上移除單核細胞來提供更均勻產物。在移除血漿及血小板之洗滌步驟後，細胞可懸浮於冷凍溶液中。儘管許多冷凍溶液及參數為此項技術中已知且將適用於此情形，但一種方法涉及使用含有20% DMSO及8%人類血清白蛋白之PBS，或含有10%聚葡萄糖40及5%右旋糖，20%人類血清白蛋白及7.5% DMSO，或31.25% Plasmalyte-A、31.25%右旋糖5%、0.45% NaCl、10%聚葡萄糖40及5%右旋糖，20%人類血清白蛋白及7.5% DMSO之培養基或含有例如Hespan及PlasmaLyte A之其他適合細胞冷凍培養基，細胞接著在每分鐘1°之速率下冷凍至-80℃且儲存於液氮儲槽之氣相中。可使用冷凍受控以及在-20℃下或在液氮中不受控冷凍之其他方法。

在某些態樣中，將低溫保存之細胞如本文所述解凍及洗滌，且在室溫下靜置一小時，隨後使用本發明之方法活化。

本發明之情形中亦預期在可能需要如本文所述之擴增細胞之前一段時間自個體收集血液樣品或清除術產物。因而，待擴增之細胞來源可在任何需要時間點收集，且分離及冷凍所要細胞(諸如免疫效應細胞，例如T細胞或NK細胞)以隨後用於針對許多將受益於細胞療法，例如T細胞療法之疾病或病狀(諸如本文所述之疾病或病狀)之細胞療法，例如T細胞療法中。在一個態樣中，血液樣品或清除術取自

大體健康之個體。在某些態樣中，血液樣品或清除術取自處於出現疾病之風險中但尚未出現疾病的大體健康之個體，且相關細胞經分離及冷凍以供隨後使用。在某些態樣中，免疫效應細胞(例如T細胞或NK細胞)可擴增、冷凍及稍後使用。在某些態樣中，在診斷出如本文所述之特定疾病後不久但在任何治療之前自患者收集樣品。在另一態樣中，細胞在許多相關治療模式之前自個體之血液樣品或清除術分離，該等治療模式包括(但不限於)使用諸如那他珠單抗(natalizumab)、艾法珠單抗(efalizumab)、抗病毒劑、化學療法、放射、免疫抑制劑(諸如環孢靈(cyclosporin)、硫唑嘌呤(azathioprine)、甲胺喋呤、黴酚酸酯(mycophenolate)及FK506)、抗體或其他免疫消融劑(諸如CAMPATH、抗CD3抗體、賽特杉、氟達拉賓(fludarabine)、環孢靈、FK506、雷帕黴素、黴酚酸(mycophenolic acid)、類固醇、FR901228)之藥劑及照射處理。

在本發明之另一態樣中，T細胞直接在使個體與功能性T細胞在一起之治療後獲自患者。就此而言，已觀測到在某些癌症治療之後，尤其使用破壞免疫系統之藥物治療之後，在患者通常將自治療恢復期間的治療之後不久，獲得之T細胞品質對於其離體擴增之能力而言可為最佳或有所改良。同樣，在使用本文所述之方法離體操作之後，此等細胞可呈較佳狀態以增強移植及活體內擴增。因此，在此回收階段收集血細胞(包括T細胞、樹突狀細胞或造血譜系之其他細胞)涵蓋於本發明之情形中。此外，在某些態樣中，移動(例如用GM-CSF移動)及調整方案可用於建立個體內之條件，其中尤其在治療之後的界定時間窗其間宜再增殖、再循環、再生及/或擴增特定細胞類型。說明性細胞類型包括T細胞、B細胞、樹突狀細胞及免疫系統之其他細胞。

在一個實施例中，表現CAR分子，例如本文所述之CAR分子的免疫效應細胞自接受低免疫增強劑量之mTOR抑制劑的個體獲得。在一

個實施例中，待經工程改造以表現CAR之免疫效應細胞，例如T細胞之群體係在低免疫增強劑量之mTOR抑制劑給與足夠時間之後或給與充分劑量之後收穫，使得個體中或自個體收穫的PD1陰性免疫效應細胞(例如T細胞)之水準或PD1陰性免疫效應細胞(例如T細胞)/PD1陽性免疫效應細胞(例如T細胞)之比率至少短暫增加。

在其他實施例中，已或將經工程改造以表現CAR之免疫效應細胞，例如T細胞之群體可藉由接觸增加PD1陰性免疫效應細胞(例如T細胞)數目或增加PD1陰性免疫效應細胞(例如T細胞)/PD1陽性免疫效應細胞(例如T細胞)之比率之量的mTOR抑制劑來離體處理。

在一個實施例中，T細胞群體缺乏甘油二酯激酶(DGK)。DGK缺乏細胞包括不表現DGK RNA或蛋白質或具有降低或抑制之DGK活性之細胞。DGK缺乏細胞可藉由遺傳方法產生，例如投與RNA干擾劑(例如siRNA、shRNA、miRNA)以減少或防止DGK表現。或者，DGK缺乏細胞可藉由用本文所述之DGK抑制劑處理來產生。

在一個實施例中，T細胞群體缺乏Ikaros。Ikaros缺乏細胞包括不表現Ikaros RNA或蛋白質，或具有降低或抑制之Ikaros活性之細胞，Ikaros缺乏細胞可藉由遺傳方法產生，例如投與RNA干擾劑(例如siRNA、shRNA、miRNA)以減少或防止Ikaros表現。或者，Ikaros缺乏細胞可藉由用Ikaros抑制劑(例如來那度胺(lenalidomide))處理產生。

在實施例中，T細胞群體缺乏DGK及缺乏Ikaros，例如不表現DGK及Ikaros，或具有降低或抑制之DGK及Ikaros活性。此類DGK及Ikaros缺乏細胞可藉由本文所述之任何方法產生。

在一實施例中，NK細胞獲自個體。在另一實施例中，NK細胞為NK細胞株，例如NK-92細胞株(Conkwest)。

同種異體CAR

在本文所述之實施例中，免疫效應細胞可為同種異體免疫效應細胞，例如T細胞或NK細胞。舉例而言，細胞可為同種異體T細胞，例如缺乏功能性T細胞受體(TCR)及/或人類白細胞抗原(HLA)(例如HLA I類及/或HLA II類)表現之同種異體T細胞。

缺乏功能性TCR之T細胞可例如經工程改造使得其不在其表面上表現任何功能性TCR，經工程改造使得其不表現一或多個構成功能性TCR之子單元(例如經工程改造使得其不表現TCRα、TCRβ、TCRγ、TCRδ、TCRε或TCRζ (或顯示表現降低))或經工程改造使得其在其表面產生極少功能性TCR。或者，T細胞可表現實質上受損之TCR，例如表現突變或截短形式之一或多個TCR子單元。術語「實質上受損之TCR」意謂此TCR將不會在宿主中引起不利免疫反應。

本文所述之T細胞可例如經工程改造使得其不在其表面上表現功能性HLA。舉例而言，本文所述之T細胞可經工程改造使得HLA (例如HLA I類及/或HLA II類)之細胞表面表現下調。在一些態樣中，HLA下調可藉由減少或消除β-2微球蛋白(B2M)之表現來實現。

在一些實施例中，T細胞可缺乏功能性TCR及功能性HLA，例如HLA I類及/或HLA II類。

缺乏功能性TCR及/或HLA表現之經修飾T細胞可藉由任何適合方式獲得，包括一或多個TCR或HLA子單元之基因剔除或阻斷基因表現。舉例而言，T細胞可包括使用siRNA、shRNA、叢集規律間隔之短回文重複序列(CRISPR)、轉錄活化因子樣效應核酸酶(TALEN)或鋅指核酸內切酶(ZFN)阻斷TCR及/或HLA基因表現。

在一些實施例中，同種異體細胞可為不表現或低程度表現抑制分子之細胞，例如藉由本文所述之任何方法工程改造之細胞。舉例而言，細胞可為不表現或低程度表現抑制分子之細胞，該抑制分子例如可降低表現CAR之細胞建立免疫效應子反應之能力。抑制分子之實例

包括PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM (例如CEACAM-1、CEACAM-3及/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3 (CD276)、B7-H4 (VTCN1)、HVEM (TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I類、MHC II類、GAL9、腺苷及TGFR β。抑制分子之抑制，例如在DNA、RNA或蛋白質水準上之抑制，可使表現CAR之細胞效能最佳。在實施例中，可使用例如如本文所述之抑制核酸，例如抑制核酸，例如dsRNA，例如siRNA或shRNA、叢集規律間隔之短回文重複序列(CRISPR)、轉錄活化因子樣效應核酸酶(TALEN)或鋅指核酸內切酶(ZFN)。

抑制TCR或HLA之siRNA及shRNA

在一些實施例中，可使用靶向T細胞中編碼TCR及/或HLA，及/或本文所述之抑制分子(例如PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM (例如CEACAM-1、CEACAM-3及/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3 (CD276)、B7-H4 (VTCN1)、HVEM (TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I類、MHC II類、GAL9、腺苷及TGFR β)之核酸的siRNA或shRNA抑制TCR表現及/或HLA表現。

可使用任何習知表現系統(例如慢病毒表現系統)實現T細胞中siRNA及shRNAs之表現。

下調TCR之組分之表現的例示性shRNA描述於例如美國公開案第2012/0321667號中。下調HLA I類及/或HLA II類基因表現之例示性siRNA及shRNA描述於例如美國公開案第US 2007/0036773號中。

抑制TCR或HLA之CRISPR

如本文所用之「CRISPR」或「TCR及/或HLA之CRISPR」或「抑制TCR及/或HLA之CRISPR」係指一組叢集規律間隔之短回文重複序

列或包含此組重複序列之系統。如本文所用，「Cas」係指CRISPR相關蛋白質。「CRISPR/Cas」系統係指來源於CRISPR及Cas之系統，其可用於沉默或突變TCR及/或HLA基因，及/或本文所述之抑制分子(例如PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM (例如CEACAM-1、CEACAM-3及/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3 (CD276)、B7-H4 (VTCN1)、HVEM (TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I類、MHC II類、GAL9、腺苷及TGFR β)。

天然存在之CRISPR/Cas系統在約40%定序真細菌基因組及90%定序古菌中發現。Grissa等人, (2007) *BMC Bioinformatics* 8: 172。此系統為原核免疫系統類型，其賦予外來遺傳元件(諸如質體及噬菌體)以抗性且提供後天性免疫性形式。Barrangou等人, (2007) *Science* 315: 1709-1712；Marragini等人, (2008) *Science* 322: 1843-1845。

CRISPR/Cas系統已經修飾以用於在諸如小鼠或靈長類動物之真核生物中的基因編輯(沉默、提高或改變特異性基因)。Wiedenheft等人, (2012) *Nature* 482: 331-8。此藉由向真核細胞中引入含有特定設計之CRISPR及一或多個適當Cas的質體來實現。

CRISPR序列有時稱為CRISPR基因座，包含交替重複序列及間隔子。在天然存在之CRISPR中，間隔子通常包含細菌外源性序列，諸如質體或噬菌體序列；在TCR及/或HLA CRISPR/Cas系統中，間隔子來源於TCR或HLA基因序列。

來自CRISPR基因座之RNA組成性表現且藉由Cas蛋白質加工成小RNA。此等包含側接重複序列之間隔子。RNA指導其他Cas蛋白質在RNA或DNA水準下沉默外源性遺傳元件。Horvath等人, (2010) *Science* 327: 167-170；Makarova等人, (2006) *Biology Direct* 1: 7。間隔子因此用作RNA分子之模板，類似於siRNA。Pennisi (2013) *Science* 341:

833-836。

因為此等天然存在於許多不同類型之細菌中，所以CRISPR之精確排列及Cas基因之結構、功能及數目以及其產物在各物種之間略有不同。Haft等人, (2005) *PLoS Comput. Biol.* 1: e60；Kunin等人, (2007) *Genome Biol.* 8: R61；Mojica等人, (2005) *J. Mol. Evol.* 60: 174-182；Bolotin等人, (2005) *Microbiol.* 151: 2551-2561；Pourcel等人, (2005) *Microbiol.* 151: 653-663；及Stern等人, (2010) *Trends. Genet.* 28: 335-340。舉例而言，Cse (Cas亞型，大腸桿菌)蛋白質(例如CasA)形成功能性複合物Cascade，其將CRISPR RNA轉錄物加工成保留Cascade之間隔子-重複序列單元。Brouns等人, (2008) *Science* 321: 960-964。在其他原核生物中，Cas6加工CRISPR轉錄物。大腸桿菌中基於CRISPR之噬菌體不活化需要Cascade及Cas3，而非Cas1或Cas2。強烈火球菌(Pyrococcus furiosus)及其他原核生物中之Cmr (Cas RAMP模組)蛋白質與識別及裂解互補標靶RNA的小CRISPR RNA形成功能性複合物。較簡單CRISPR系統依賴於蛋白質Cas9，其為具有兩個活性切割位點之核酸酶，雙螺旋的每條股各一個。Cas9與經修飾CRISPR基因座RNA組合可用於基因編輯系統中。Pennisi (2013) *Science* 341: 833-836。

CRISPR/Cas系統可因此用於編輯TCR及/或HLA基因(添加或缺失鹼基對)，或引入提前終止子，因此降低TCR及/或HLA表現。或者可如RNA干擾一般，使用CRISPR/Cas系統，以可逆方式關閉TCR及/或HLA基因。在哺乳動物細胞中，例如，RNA可將Cas蛋白質引導至TCR及/或HLA啟動子，空間上阻斷RNA聚合酶。

可使用此項技術中已知之技術產生抑制TCR及/或HLA的人工CRISPR/Cas系統，例如美國公開案第20140068797號及Cong (2013) *Science* 339: 819-823中所述。亦可產生此項技術中已知之抑制TCR及/

或HLA的其他人工CRISPR/Cas系統，例如Tsai (2014) *Nature Biotechnol.*, 32:6 569-576、美國專利第8,871,445號；第8,865,406號；第8,795,965號；第8,771,945號及第8,697,359號中所述。

抑制TCR及/或HLA之TALEN

「TALEN」或「針對HLA及/或TCR之TALEN」或「抑制HLA及/或TCR之TALEN」係指轉錄活化因子樣效應核酸酶，一種可用於編輯HLA及/或TCR基因，及/或本文所述之抑制分子(例如PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM (例如CEACAM-1、CEACAM-3及/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3 (CD276)、B7-H4 (VTCN1)、HVEM (TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I類、MHC II類、GAL9、腺苷及TGFR β)之人工核酸酶。

藉由使TAL效應子DNA結合結構域融合於DNA裂解結構域來人工產生TALEN。轉錄活化因子樣作用(TALE)可經工程改造以結合任何所要DNA序列，包括HLA或TCR基因之一部分。藉由將工程改造之TALE與DNA裂解結構域組合，可產生特異性針對任何所要DNA序列(包括HLA或TCR序列)之限制酶。接著此等可引入細胞中，其中其可用於基因組編輯。Boch (2011) *Nature Biotech.* 29: 135-6；及Boch等人, (2009) *Science* 326: 1509-12；Moscou等人, (2009) *Science* 326: 3501。

TALE為黃單胞菌屬細菌分泌之蛋白質。DNA結合結構域含有高度保守之重複33-34個胺基酸序列，第12個及第13個胺基酸除外。此兩個位置高度變化，顯示與特異性核苷酸識別的強相關性。因此其可經工程改造以結合於所要DNA序列。

為產生TALEN，TALE蛋白質融合於核酸酶(N)，其為野生型或突變FokI核酸內切酶。已對FokI作出若干突變以用於TALEN；此等例如

提高裂解特異性或活性。Cermak等人, (2011) *Nucl. Acids Res.* 39: e82；Miller等人, (2011) *Nature Biotech.* 29: 143-8；Hockemeyer等人, (2011) *Nature Biotech.* 29: 731-734；Wood等人, (2011) *Science* 333: 307；Doyon等人, (2010) *Nature Methods* 8: 74-79；Szczepek等人, (2007) *Nature Biotech.* 25: 786-793；及Guo等人, (2010) *J. Mol. Biol.* 200: 96。

FokI結構域用作二聚體，需要兩個對標靶基因組中具有適當取向及間隔之位點具有獨特DNA結合結構域之構築體。TALE DNA結合結構域與FokI裂解結構域之間的胺基酸殘基數目以及兩個個別TALEN結合位點之間的鹼基數目似乎皆為實現高活性水準之重要參數。Miller等人, (2011) *Nature Biotech.* 29: 143-8.

可在細胞內部使用HLA或TCR TALEN產生雙股斷裂(DSB)。若修復機制經由非同源端接合不恰當地修復斷裂，則可在斷裂處引入突變。舉例而言，不當修復可引入框移突變。或者，外來DNA可與TALEN一起引入細胞中；視外來DNA序列及染色體序列而定，此過程可用於校正HLA或TCR基因中之缺陷或將此類缺陷引入wt HLA或TCR基因中，因此降低HLA或TCR表現。

特異性針對HLA或TCR中之序列的TALEN可使用此項技術中已知之任何方法構築，包括多種使用模組組分之方案。Zhang等人, (2011) *Nature Biotech.* 29: 149-53；Geibler等人, (2011) *PLoS ONE* 6: e19509。

抑制HLA及/或TCR之鋅指核酸酶

「ZFN」或「鋅指核酸酶」或「針對HLA及/或TCR之ZFN」或「抑制HLA及/或TCR之ZFN」係指鋅指核酸酶，一種可用於編輯HLA及/或TCR基因，及/或本文所述之抑制分子(例如PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM (例如CEACAM-1、CEACAM-3及/或

CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3 (CD276)、B7-H4 (VTCN1)、HVEM (TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I類、MHC II類、GAL9、腺苷及TGFR β)之人工核酸酶。

與TALEN一樣，ZFN包含融合於DNA結合結構域之FokI核酸酶結構域(或其衍生物)。在ZFN之情況中，DNA結合結構域包含一或多個鋅指。Carroll等人, (2011) *Genetics Society of America* 188: 773-782；及Kim等人, (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 1156-1160。

鋅指為藉由一或多個鋅離子穩定化之小蛋白質結構基元。鋅指可包含例如Cys2His2，且可識別約3-bp序列。具有已知特異性之多個鋅指可組合產生多指多肽，其識別約6、9、12、15或18-bp序列。多種選擇及模組總成技術為用於產生識別特異性序列(包括噬菌體展現)、酵母單雜交系統、細菌單雜交及雙雜交系統及哺乳動物細胞之鋅指(及其組合)。

與TALEN一樣，ZFN必須二聚以裂解DNA。因此，需要一對ZFN來靶向非回文DNA位點。兩種個別ZFN必須結合DNA之相對股，將其核酸酶適當地隔開。Bitinaite等人, (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 10570-5。

亦與TALEN一樣，ZFN可在DNA中形成雙股斷裂，其在未適當修復時可形成框移突變，導致細胞中之HLA及/或TCR的表現及量降低。ZFN亦可與同源重組一起用於HLA或TCR基因之突變。

特異性針對HLA及/或TCR中之序列的ZFN可使用此項技術中已知之任何方法構築。參見例如Provasi (2011) *Nature Med.* 18: 807-815；Torikai (2013) *Blood* 122: 1341-1349；Cathomen等人, (2008) *Mol. Ther.* 16: 1200-7；Guod等人, (2010) *J. Mol. Biol.* 400: 96；及美國專利公開案2011/0158957；美國專利公開案2012/0060230。

端粒酶表現

雖然不希望受任何特定理論束縛，但在一些實施例中，歸因於T細胞中之端粒縮短，故治療T細胞在患者中具有短期持久性；因此，經端粒酶基因轉染可延長T細胞之端粒且提高患者中T細胞之持久性。參見Carl June, 「Adoptive T cell therapy for cancer in the clinic」, Journal of Clinical Investigation, 117:1466-1476 (2007)。因此，在一個實施例中，免疫效應細胞，例如T細胞，異位表現端粒酶次單元，例如端粒酶之催化次單元，例如TERT，例如hTERT。在一些態樣中，本發明提供一種產生表現CAR之細胞之方法，其包含使細胞與編碼端粒酶次單元，例如端粒酶之催化次單元，例如TERT，例如hTERT之核酸接觸。細胞可與核酸在與編碼CAR之構築體接觸之前、與其同時或之後接觸。

在一個態樣中，本發明提供一種製備免疫效應細胞(例如T細胞、NK細胞)群體之方法。在一個實施例中，該方法包含：提供免疫效應細胞(例如T細胞或NK細胞)群體，使該免疫效應細胞群體與編碼CAR之核酸接觸；以及在允許CAR及端粒酶表現之條件下使該免疫效應細胞群體與編碼端粒酶次單元，例如hTERT之核酸接觸。

在一個實施例中，編碼端粒酶次單元之核酸為DNA。在一個實施例中，編碼端粒酶次單元之核酸包含能夠驅動端粒酶次單元表現之啟動子。

在一個實施例中，hTERT具有如下GenBank蛋白質ID AAC51724.1之胺基酸序列(Meyerson等人，「hEST2, the Putative Human Telomerase Catalytic Subunit Gene, Is Up-Regulated in Tumor Cells and during Immortalization」 Cell第90卷，第4期，1997年8月22日，第785-795頁)：

MPRAPRCRAVRSLLRSHYREVLPLATFVRRLGPQGWRLVQRGDPAAFRALVA
QCLVCVPWDARPPPAAPSFRQVSCLKELVARVLQRLCERGAKNVLAFGFALLDGARG
GPPEAFTTSVRSYLPNTVTDALRGSGAWGLLLRRVGDDVLVHLLARCALFVLVAPSCA
YQVCGPPLYQLGAATQARPPPHASGPRRRLGCERAWNHSVREAGVPLGLPAPGARRR
GGSASRSLPLPKRPRRGAAPEPERTPVGQGSWAHPGRTRGPSDRGFCVVSPARPAEEA
TSLEGALSGTRHSHPSVGRQHHAGPPSTSRPPRPWDTPCPPVYAETKHFLYSSGDKEQL
RPSFLLSSLRPSLTGARRLVETIFLGSRPWMPGTPRRLPRLPQRYWQMRPLFLELLGNH
AQCPYGVLLKTHCPLRAAVTPAAGVCAREKPQGSVAAPEEEDTDPRRLVQLLRQHSSP
WQVYGFVRACLRRLVPPGLWGSRHNERRFLRNTKKFISLGKHAKLSLQELTWKMSVR
GCAWLRRSPGVGCVPAAEHRLREEILAKFLHWLMSVYVVELLRSFFYVTETTFQKNRL
FFYRKSVWSKLQSIGIRQHLKRVQLRELSEAEVRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLRPI
VNMDYVVGARTFRREKRAERLTSRVKALFSVLNYERARRPGLLGASVLGLDDIHRAW
RTFVLRVRAQDPPPELYFVKVDVTGAYDTIPQDRLTEVIASIIKPQNTYCVRRYAVVQK
AAHGHVRKAFKSHVSTLTDLQPYMRQFVAHLQETSPLRDAVVIEQSSSLNEASSGLFD
VFLRFMCHHAVRIRGKSYVQCQGIPQGSILSTLLCSLCYGDMENKLFAGIRRDGLLLRL
VDDFLLVTPHLTHAKTFLRTLVRGVPEYGCVVNLRKTVVNFPVEDEALGGTAFVQMP
AHGLFPWCGLLLDTRTLEVQSDYSSYARTSIRASLTFNRGFKAGRNMRRKLFGVLRLK
CHSLFLDLQVNSLQTVCTNIYKILLLQAYRFHACVLQLPFHQQVWKNPTFFLRVISDTA
SLCYSILKAKNAGMSLGAKGAAGPLPSEAVQWLCHQAFLLKLTRHRVTYVPLLGSLR
TAQTQLSRKLPGTTLTALEAAANPALPSDFKTILD (SEQ ID NO: 214)

在一個實施例中，hTERT具有與SEQ ID NO: 214之序列至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致之序列。在一個實施例中，hTERT具有SEQ ID NO: 214之序列。在一個實施例中，hTERT在N端、C端或兩端包含缺失(例如不超過5、10、15、20或30個胺基酸)。在一個實施例中，hTERT在N端、C端或兩端包含轉殖基因胺基酸序列(例如不超過5、10、15、20個或30個胺基酸)。

在一個實施例中，hTERT藉由Genbank寄存編號AF018167之核酸序列編碼(Meyerson等人，「hEST2, the Putative Human Telomerase Catalytic Subunit Gene, Is Up-Regulated in Tumor Cells and during Immortalization」 Cell第90卷，第4期，1997年8月22日，第785-795頁)：

1 caggcagcgt ggtcctgctg cgcacgtggg aagccctggc cccggccacc ccegcgatgc

61 cgcgcgctcc ccgctgccga gccgtgcgct ccctgctgcg cagccactac cgcgaggtgc

121 tgccgctggc cacgttcgtg cggcgcctgg ggccccaggg ctggcggctg gtgcagcgcg

181 gggacccggc ggctttccgc gcgctggtgg cccagtgcct ggtgtgcgtg ccctgggacg

241 cacggccgcc ccccgccgcc ccctccttcc gccaggtgtc ctgcctgaag gagctggtgg

301 cccgagtgct gcagaggctg tgcgagcgcg gcgcgaagaa cgtgctggcc ttcggcttcg

361 cgctgctgga cggggcccgc gggggccccc ccgaggcctt caccaccagc gtgcgcagct

421 acctgcccaa cacggtgacc gacgcactgc gggggagcgg ggcgtggggg ctgctgttgc

481 gccgcgtggg cgacgacgtg ctggttcacc tgctggcacg ctgcgcgctc tttgtgctgg

541 tggctcccag ctgcgcctac caggtgtgcg ggccgccgct gtaccagctc ggcgctgcca

601 ctcaggcccg gccccccgcca cacgctagtg gaccccgaag gcgtctggga tgcgaacggg

661 cctggaacca tagcgtcagg gaggccgggg tccccctggg cctgccagcc ccgggtgcga

721 ggaggcgcgg gggcagtgcc agccgaagtc tgccgttgcc caagaggccc aggcgtggcg

781 ctgcccctga gccggagcgg acgcccgttg ggcaggggtc ctgggcccac ccgggcagga

841 cgcgtggacc gagtgaccgt ggtttctgtg tggtgtcacc tgccagaccc gccgaagaag

901 ccacctcttt ggagggtgcg ctctctggca cgcgccactc ccacccatcc gtgggccgcc

961 agcaccacgc gggccccccca tccacatcgc ggccaccacg tccctgggac acgccttgtc

1021 ccccggtgta cgccgagacc aagcacttcc tctactcctc aggcgacaag gagcagctgc

1081 ggccctcctt cctactcagc tctctgaggc ccagcctgac tggcgctcgg aggctcgtgg

1141 agaccatctt tctgggttcc aggccctgga tgccagggac tccccgcagg ttgccccgcc

1201 tgccccagcg ctactggcaa atgcggcccc tgtttctgga gctgcttggg aaccacgcgc

1261 agtgccccta cggggtgctc ctcaagacgc actgcccgct gcgagctgcg gtcaccccag

1321 cagccggtgt ctgtgcccgg gagaagcccc agggctctgt ggcggccccc gaggaggagg

1381 acacagaccc ccgtcgcctg gtgcagctgc tccgccagca cagcagcccc tggcaggtgt

1441 acggcttcgt gcgggcctgc ctgcgccggc tggtgccccc aggcctctgg ggctccaggc

1501 acaacgaacg ccgcttcctc aggaacacca agaagttcat ctccctgggg aagcatgcca

1561 agctctcgct gcaggagctg acgtggaaga tgagcgtgcg gggctgcgct tggctgcgca

1621 ggagcccagg ggttggctgt gttccggccg cagagcaccg tctgcgtgag gagatcctgg

1681 ccaagttcct gcactggctg atgagtgtgt acgtcgtcga gctgctcagg tctttctttt

1741 atgtcacgga gaccacgttt caaaagaaca ggctcttttt ctaccggaag agtgtctgga

1801 gcaagttgca aagcattgga atcagacagc acttgaagag ggtgcagctg cgggagctgt

1861 cggaagcaga ggtcaggcag catcgggaag ccaggcccgc cctgctgacg tccagactcc

1921 gcttcatccc caagcctgac gggctgcggc cgattgtgaa catggactac gtcgtgggag

1981 ccagaacgtt ccgcagagaa aagagggccg agcgtctcac ctcgagggtg aaggcactgt

2041 tcagcgtgct caactacgag cgggcgcggc gccccggcct cctgggcgcc tctgtgctgg

2101 gcctggacga tatccacagg gcctggcgca ccttcgtgct gcgtgtgcgg gcccaggacc

2161 cgccgcctga gctgtacttt gtcaaggtgg atgtgacggg cgcgtacgac accatccccc

2221 aggacaggct cacggaggtc atcgccagca tcatcaaacc ccagaacacg tactgcgtgc

2281 gtcggtatgc cgtggtccag aaggccgccc atgggcacgt ccgcaaggcc ttcaagagcc

2341 acgtctctac cttgacagac ctccagccgt acatgcgaca gttcgtggct cacctgcagg

2401 agaccagccc gctgagggat gccgtcgtca tcgagcagag ctcctccctg aatgaggcca

2461 gcagtggcct cttcgacgtc ttcctacgct tcatgtgcca ccacgccgtg cgcatcaggg

2521 gcaagtccta cgtccagtgc caggggatcc cgcagggctc catcctctcc acgctgctct

2581 gcagcctgtg ctacggcgac atggagaaca agctgtttgc ggggattcgg cgggacgggc

2641 tgctcctgcg tttggtggat gatttcttgt tggtgacacc tcacctcacc cacgcgaaaa

2701 ccttcctcag gaccctggtc cgaggtgtcc ctgagtatgg ctgcgtggtg aacttgcgga

2761 agacagtggt gaacttccct gtagaagacg aggccctggg tggcacggct tttgttcaga

2821 tgccggccca cggcctattc ccctggtgcg gcctgctgct ggatacccgg accctggagg

2881 tgcagagcga ctactccagc tatgcccgga cctccatcag agccagtctc accttcaacc

2941 gcggcttcaa ggctgggagg aacatgcgtc gcaaactctt tggggtcttg cggctgaagt

3001 gtcacagcct gtttctggat ttgcaggtga acagcctcca gacggtgtgc accaacatct

3061 acaagatcct cctgctgcag gcgtacaggt ttcacgcatg tgtgctgcag ctcccatttc

3121 atcagcaagt ttggaagaac cccacatttt tcctgcgcgt catctctgac acggcctccc

3181 tctgctactc catcctgaaa gccaagaacg cagggatgtc gctgggggcc aagggcgccg

3241 ccggccctct gccctccgag gccgtgcagt ggctgtgcca ccaagcattc ctgctcaagc

3301 tgactcgaca ccgtgtcacc tacgtgccac tcctggggtc actcaggaca gcccagacgc

3361 agctgagtcg gaagctcccg gggacgacgc tgactgccct ggaggccgca gccaacccgg

3421 cactgccctc agacttcaag accatcctgg actgatggcc acccgcccac agccaggccg

3481 agagcagaca ccagcagccc tgtcacgccg ggctctacgt cccagggagg gaggggcggc

3541 ccacacccag gcccgcaccg ctgggagtct gaggcctgag tgagtgtttg gccgaggcct

3601 gcatgtccgg ctgaaggctg agtgtccggc tgaggcctga gcgagtgtcc agccaagggc

3661 tgagtgtcca gcacacctgc cgtcttcact tccccacagg ctggcgctcg gctccacccc

3721 agggccagct tttcctcacc aggagcccgg cttccactcc ccacatagga atagtccatc

3781 cccagattcg ccattgttca cccctcgccc tgccctcctt tgccttccac ccccaccatc

3841 caggtggaga ccctgagaag gaccctggga gctctgggaa tttggagtga ccaaaggtgt

3901 gccctgtaca caggcgagga ccctgcacct ggatgggggt ccctgtgggt caaattgggg

3961 ggaggtgctg tgggagtaaa atactgaata tatgagtttt tcagttttga aaaaaaaaaa

4021 aaaaaaa (SEQ ID NO: 215)

在一個實施例中，hTERT藉由序列與SEQ ID NO: 215之序列至少80%、85%、90%、95%、96、97%、98%或99%一致之核酸編碼。在一個實施例中，hTERT藉由SEQ ID NO: 215之核酸編碼。

T細胞之活化及擴增

T細胞一般可使用如以下中所述之方法活化及擴增，例如美國專利 6,352,694 ； 6,534,055 ； 6,905,680 ； 6,692,964 ； 5,858,358 ； 6,887,466 ； 6,905,681 ； 7,144,575 ； 7,067,318 ； 7,172,869 ； 7,232,566 ； 7,175,843 ； 5,883,223 ； 6,905,874 ； 6,797,514 ；

6,867,041；及美國專利申請公開案第20060121005號。

一般而言，本發明之T細胞可藉由與附接有刺激CD3/TCR複合物相關信號之藥劑以及刺激T細胞表面上之共同刺激分子的配位體之表面接觸來擴增。詳言之，T細胞群體可如本文所述刺激，諸如藉由與抗-CD3抗體或其抗原結合片段，或固定於表面上之抗-CD2抗體接觸，或藉由與蛋白激酶C活化因子(例如苔蘚蟲素)以及鈣離子載體接觸。為共同刺激T細胞表面上之輔助分子，使用結合輔助分子之配位體。舉例而言，T細胞群體可與抗-CD3抗體及抗-CD28抗體在適於刺激T細胞增殖之條件下接觸。為刺激CD4+ T細胞或CD8+ T細胞之增殖，可使用抗-CD3抗體及抗-CD28抗體。抗-CD28抗體之實例包括9.3、B-T3、XR-CD28 (Diaclone, Besançon, France)，可如此項技術中通常已知之其他方法一樣使用(Berg等人, Transplant Proc. 30(8):3975-3977, 1998；Haanen等人, J. Exp. Med. 190(9):13191328, 1999；Garland等人, J. Immunol Meth. 227(1-2):53-63, 1999)。

在某些態樣中，針對T細胞之主要刺激信號及共同刺激信號可藉由不同方案提供。舉例而言，提供各信號之藥劑可在溶液中或偶合至表面。當偶合至表面時，藥劑可偶合至同一表面(亦即「順」形式)或不同表面(亦即「反」形式)。或者，一種藥劑可偶合至表面且另一藥劑在溶液中。在一個態樣中，提供共同刺激信號之藥劑結合於細胞表面且提供主要活化信號之藥劑在溶液中或偶合至表面。在某些態樣中，兩種藥劑皆可在溶液中。在一個態樣中，該等藥劑可為可溶性形式，接著交聯至表面(諸如表現Fc受體之細胞或抗體或將結合於該等藥劑之其他結合劑)。就此而言，關於人工抗原呈現細胞(aAPC)參見例如美國專利申請公開案第20040101519號及第20060034810號，其預期在本發明中用於活化及擴增T細胞。

在一個態樣中，兩種藥劑固定於珠粒上(同一珠粒，亦即「順」；

或不同珠粒，亦即「反」)。舉例而言，提供主要活化信號之藥劑為抗-CD3抗體或其抗原結合片段且提供共同刺激信號之藥劑為抗-CD28抗體或其抗原結合片段；且兩種藥劑以等效分子量共同固定於同一珠粒。在一個態樣中，使用1:1比率之結合於珠粒之各抗體用於CD4+ T細胞擴增及T細胞生長。在本發明之某些態樣中，使用一定比率之結合於珠粒之抗CD3:CD28抗體，使得T細胞擴增相較於使用1:1比率觀測到的擴增增加。在一個特定態樣中，相較於使用1:1比率觀測到的擴增，觀測到自約1倍至約3倍之增加。在一個態樣中，結合於珠粒之CD3:CD28抗體之比率在100:1至1:100以及其間之全部整數值範圍內。在本發明之一個態樣中，結合於粒子之抗-CD28抗體比抗-CD3抗體多，亦即CD3:CD28之比率小於一。在本發明之某些態樣中，結合於珠粒的抗CD28抗體比抗CD3抗體之比率大於2:1。在一個特定態樣中，使用1:100 CD3:CD28比率的結合於珠粒之抗體。在一個態樣中，使用1:75 CD3:CD28比率的結合於珠粒之抗體。在另一態樣中，使用1:50 CD3:CD28比率的結合於珠粒之抗體。在一個態樣中，使用1:30 CD3:CD28比率的結合於珠粒之抗體。在一個態樣中，使用1:10 CD3:CD28比率的結合於珠粒之抗體。在一個態樣中，使用1:3 CD3:CD28比率的結合於珠粒之抗體。在另一態樣中，使用3:1 CD3:CD28比率的結合於珠粒之抗體。

可使用1:500至500:1及其間之任何整數值的粒子比細胞比率刺激T細胞或其他標靶細胞。如一般技術者容易瞭解，粒子比細胞之比率可視相對於標靶細胞之粒徑而定。舉例而言，小尺寸珠粒可僅結合少數細胞，而較大珠粒可結合許多細胞。在某些態樣中，細胞比粒子之比率在1:100至100:1及其間之任何整數值範圍內且在其他態樣中，包含1:9至9:1及其間之任何整數值的比率亦可用於刺激T細胞。引起T細胞刺激的抗-CD3及抗-CD28偶合粒子比T細胞之比率可如上所述變

化，然而某些較佳值包括1:100、1:50、1:40、1:30、1:20、1:10、1:9、1:8、1:7、1:6、1:5、1:4、1:3、1:2、1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1及15:1，其中一個較佳比率為至少1:1粒子比T細胞。在一個態樣中，使用1:1或更小的粒子比細胞之比率。在一個特定態樣中，較佳粒子:細胞比率為1:5。在其他態樣中，粒子比細胞之比率可視刺激天數而變化。舉例而言，在一個態樣中，第一天粒子比細胞之比率為1:1至10:1，且此後每天或每隔一天向細胞添加額外粒子直至10天，最終比率為1:1至1:10 (以添加當天之細胞數計)。在一個特定態樣中，刺激第一天粒子比細胞之比率為1:1且在刺激第三天及第五天調至1:5。在一個態樣中，每天或每隔一天添加粒子直至第一天的最終比率為1:1，且刺激第三天及第五天為1:5。在一個態樣中，刺激第一天粒子比細胞之比率為2:1且刺激第三天及第五天調至1:10。在一個態樣中，每天或每隔一天添加粒子直至第一天的最終比率為1:1，且刺激第三天及第五天為1:10。熟習此項技術者將瞭解多種其他比率可適用於本發明。詳言之，比率將視粒徑以及細胞尺寸及類型而變化。在一個態樣中，第一天使用之最典型比率為約1:1、2:1及3:1。

在本發明之其他態樣中，細胞(諸如T細胞)與經藥劑塗佈之珠粒組合，隨後分離珠粒與細胞，接著培養細胞。在替代態樣中，在培養之前，經藥劑塗佈之珠粒與細胞不分離，而是一起培養。在另一態樣中，珠粒及細胞首先藉由施加力(諸如磁力)集中，導致細胞表面標記物之接合增加，藉此誘導細胞刺激。

舉例而言，細胞表面蛋白質可藉由使附接有抗-CD3及抗-CD28之順磁性珠粒(3×28珠粒)與T細胞接觸而接合。在一個態樣中，在例如PBS的緩衝液(不具有二價陽離子，諸如鈣及鎂)中組合細胞(例如10^4至10^9個T細胞)及珠粒(例如1:1比率之DYNABEADS® M-450

CD3/CD28順磁性珠粒)。此外，一般技術者容易瞭解可使用之任何細胞濃度。舉例而言，樣品中的標靶細胞可能極少且僅占樣品0.01%，或全部樣品(亦即100%)可包含相關標靶細胞。因此，任何細胞數目均在本發明之情形中。在某些態樣中，可能需要顯著降低粒子與細胞混合在一起的體積(亦即提高細胞濃度)以確保細胞與粒子最大程度地接觸。舉例而言，在一個態樣中，使用約10,000,000,000個細胞/毫升、9,000,000,000個細胞/毫升、8,000,000,000個細胞/毫升、6,000,000,000個細胞/毫升、5,000,000,000個細胞/毫升或2,000,000,000個細胞/毫升之濃度。在一個態樣中，使用大於100,000,000個細胞/毫升。在另一態樣中，使用10,000,000、15,000,000、20,000,000、25,000,000、30,000,000、35,000,000、40,000,000、45,000,000或50,000,000個細胞/毫升。在另一態樣中，使用75,000,000、80,000,000、85,000,000、90,000,000、95,000,000或100,000,000個細胞/毫升之濃度。在其他態樣中，可使用125,000,000或150,000,000個細胞/毫升之濃度。使用高濃度可引起增加之細胞產量、細胞活化及細胞擴增。此外，使用高細胞濃度允許更有效地捕捉可能弱表現相關標靶抗原之細胞，諸如CD28陰性T細胞。此類細胞群體可具有治療價值且在某些態樣中將需要獲得。舉例而言，使用高濃度細胞允許更有效地選擇通常具有較弱CD28表現之CD8+ T細胞。

在一個實施例中，經編碼CAR，例如本文所述之CAR之核酸轉導之細胞例如藉由本文所述之方法擴增。在一個實施例中，細胞培養擴增若干小時(例如約2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、18、21小時)至約14天(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14天)之時間段。在一個實施例中，細胞擴增4至9天之時間段。在一個實施例中，細胞擴增8天或更少，例如7、6或5天之時間段。在一個實施例中，細胞，例如本文所述之CLL-1 CAR細胞，培養擴增5天，且

所得細胞比在相同培養條件下培養擴增9天之相同細胞有效。效能可例如藉由各種T細胞功能，例如增殖、標靶細胞殺死、細胞因子產生、活化、遷移或其組合來界定。在一個實施例中，擴增5天之細胞，例如本文所述之CLL-1 CAR細胞展示與在相同培養條件下培養擴增9天之相同細胞相比，在抗原刺激時細胞加倍至少一、二、三或四倍。在一個實施例中，細胞，例如表現本文所述之CLL-1 CAR之細胞，培養擴增5天，且所得細胞展現與在相同培養條件下培養擴增9天之相同細胞相比，促炎性細胞因子產生，例如IFN-γ及/或GM-CSF含量更高。在一個實施例中，擴增5天之細胞，例如本文所述之CLL-1 CAR細胞，展示與在相同培養條件下培養擴增9天之相同細胞相比，促炎性細胞因子產生，例如IFN-γ及/或GM-CSF含量增加至少一、二、三、四、五、十倍或更多倍(以pg/ml計)。

在本發明之一個態樣中，可培養混合物若干小時(約3小時)至約14天或其間之任何整點小時數。在一個態樣中，混合物可培養21天。在本發明之一個態樣中，珠粒及T細胞一起培養約八天。在一個態樣中，珠粒與T細胞一起培養2-3天。亦可能需要若干刺激循環使得T細胞培養時間可為60天或更長。適於T細胞培養之條件包括可含有增殖及活力必需之因素的適當培養基(例如最基本培養基或RPMI培養基1640或X-vivo 15 (Lonza))，包括血清(例如胎牛血清或人類血清)、介白素-2 (IL-2)、胰島素、IFN-γ、IL-4、IL-7、GM-CSF、IL-10、IL-12、IL-15、TGFβ及TNF-α或熟習此項技術者已知用於細胞生長之任何其他添加劑。用於細胞生長之其他添加劑包括(但不限於)界面活性劑、人血漿蛋白粉及還原劑，諸如N-乙醯基-半胱胺酸及2-巰基乙醇。培養基可包括RPMI 1640、AIM-V、DMEM、MEM、α-MEM、F-12、X-Vivo 15及X-Vivo 20、Optimizer，添加有胺基酸、丙酮酸鈉及維生素，無血清或補充有適量血清(或血漿)或限定激素組，及/或足夠

T細胞生長及擴增之量的細胞因子。抗生素(例如青黴素及鏈黴素)僅包括於實驗培養物中，而不在待輸注至個體之細胞培養物中。標靶細胞保持於支持生長必需之條件下，例如適當溫度(例如37℃)及氛圍(例如空氣加5% CO_2)。

在一個實施例中，細胞在包括一或多種介白素之適當培養基(例如本文所述之培養基)中擴增，使得例如如藉由本文所述之方法，諸如流動式細胞量測術所量測，在14天擴增時間期內，細胞增加至少200倍(例如200倍、250倍、300倍、350倍)。在一個實施例中，細胞在IL-15及/或IL-7 (例如IL-15及IL-7)存在下擴增。

在實施例中，本文所述之方法，例如表現CAR之細胞之製造方法，包含例如使用抗-CD25抗體或其片段或CD25結合配位體IL-2，自細胞群體移除T調控細胞，例如CD25+ T細胞。本文中描述自細胞群體移除T調控細胞，例如CD25+ T細胞之方法。在實施例中，該等方法，例如製造方法，進一步包含使細胞群體(例如其中已耗盡T調控細胞，諸如CD25+ T細胞之細胞群體；或已預先接觸抗-CD25抗體、其片段、或CD25結合配位體之細胞群體)與IL-15及/或IL-7接觸。舉例而言，細胞群體(例如已預先接觸抗-CD25抗體、其片段或CD25結合配位體)在IL-15及/或IL-7存在下擴增。

在一些實施例中，在製造表現CAR之細胞期間，例如離體，使本文所述之表現CAR之細胞與包含介白素-15 (IL-15)多肽、介白素-15受體α (IL-15Ra)多肽或IL-15多肽與IL-15Ra多肽之組合(例如hetIL-15)的組合物接觸。在實施例中，在製造表現CAR之細胞期間，例如離體，使本文所述之表現CAR之細胞與包含IL-15多肽之組合物接觸。在實施例中，在製造表現CAR之細胞期間，例如離體，使本文所述之表現CAR之細胞與包含IL-15多肽與IL-15 Ra多肽之組合的組合物接觸。在實施例中，在製造表現CAR之細胞期間，例如離體，使本文所述之表

現CAR之細胞與包含hetIL-15之組合物接觸。

在一個實施例中，在離體擴增期間使本文所述之表現CAR之細胞與包含hetIL-15之組合物接觸。在一個實施例中，在離體擴增期間使本文所述之表現CAR之細胞與包含IL-15多肽之組合物接觸。在一個實施例中，在離體擴增期間使本文所述之表現CAR之細胞與包含IL-15多肽與IL-15Ra多肽之組合物接觸。在一個實施例中，接觸使得淋巴細胞亞群，例如CD8+ T細胞存活及增殖。

已暴露於不同刺激時間之T細胞可顯示不同特徵。舉例而言，典型血液或球形外周血液單核細胞產物具有大於細胞毒性或抑制T細胞群體(TC、CD8+)的輔助T細胞群體(TH、CD4+)。藉由刺激CD3及CD28受體離體擴增T細胞產生在約第8天至第9天之前主要由TH細胞組成的T細胞群體，而在約第8天至第9天之後，T細胞群體包含日益增大之TC細胞群體。因此，視治療目的而定，向個體輸注主要包含TH細胞的T細胞群體可能有利。類似地，若已分離TC細胞之抗原特異性子集，則宜將在更大程度上擴增此子集。

此外，除CD4及CD8標記物之外，其他表型標記物顯著變化，但大部分在細胞擴增過程期間可再現。因此，此類再現性使得能夠針對特定目的調整活化之T細胞產物。

一旦構築CLL-1 CAR，則可使用多種分析法來評估分子活性，諸如(但不限於)在抗原刺激後擴增T細胞之能力、在無再刺激存在下支撐T細胞擴增及適當活體外及動物模型中之抗癌活性。下文詳細描述評估CLL-1 CAR之作用的分析法。

初級T細胞中CAR表現之西方墨點分析可用於偵測單體及二聚體之存在。參見例如Milone等人, Molecular Therapy 17(8): 1453-1464 (2009)。簡言之，表現CAR之T細胞($CD4^+$及$CD8^+$ T細胞之1:1混合物)活體外擴增超過10天，隨後進行細胞溶解且還原條件下SDS-PAGE。

藉由西方墨點法，使用TCR-ζ鏈之抗體偵測含有全長TCR-ζ細胞質域及內源性TCR-ζ鏈之CAR。相同T細胞子組用於非還原條件下之SDS-PAGE分析以允許評估共價二聚體形成。

可藉由流動式細胞量測術量測CAR^+ T細胞在抗原刺激後的活體外擴增。舉例而言，將$CD4^+$及$CD8^+$ T細胞之混合物用αCD3/αCD28 aAPC刺激，隨後在待分析之啟動子控制下用表現GFP之慢病毒載體轉導。例示性啟動子包括CMV IE基因、EF-1α、泛素C或磷酸甘油酸激酶(PGK)啟動子。在培養第6天藉由流動式細胞量測術評估$CD4^+$及/或$CD8^+$ T細胞子組中之GFP螢光。參見例如Milone等人, Molecular Therapy 17(8): 1453-1464 (2009)。或者，在第0天用αCD3/αCD28塗佈之磁性珠粒刺激$CD4^+$及$CD8^+$ T細胞之混合物，且在第1天使用表現CAR之雙順反子慢病毒載體以及使用2A核糖體跳印序列之eGFP用CAR轉導。培養物可用表現CLL-1之細胞再刺激。

亦可量測在無再刺激存在下的持久CAR^+ T細胞擴增。參見例如Milone等人, Molecular Therapy 17(8): 1453-1464 (2009)。簡言之，在第0天使用αCD3/αCD28塗佈之磁性珠粒刺激且在第1天用指定CAR轉導後，在培養第8天使用Coulter Multisizer III粒子計數器、Nexcelom Cellometer Vision或Millipore Scepter量測平均T細胞體積(fl)。

動物模型亦可用於量測CART活性。舉例而言，可使用利用人類CLL-1特異性CAR^+ T細胞治療免疫缺乏小鼠之原發性人類AML的異種移植模型。極簡言之，在建立腫瘤之後，將小鼠關於處理組進行隨機化。將CLL-1 CART細胞例如經靜脈內注射至免疫缺乏小鼠。以每週一次之時間間隔評估動物之癌細胞。在注射CLL-1 CART細胞或模擬轉導之T細胞之小鼠中量測外周血液表現CLL-1之AML細胞數。使用時序測試(log-rank test)比較該等組之存活曲線。

可藉由標準51Cr釋放分析法評估細胞毒性。參見例如Milone等

人, Molecular Therapy 17(8): 1453-1464 (2009)。簡言之，在37℃下，在頻繁攪拌下，用51Cr (如NaCrO4，New England Nuclear, Boston, MA)負載標靶細胞2小時，在完全RPMI中洗滌兩次且接種至微量滴定盤中。在各孔中，在完全RPMI中，混合不同效應細胞:標靶細胞(E:T)比率之效應子T細胞與標靶細胞。亦製備僅含有培養基(自發釋放，SR)或1% triton-X 100清潔劑溶液(總釋放，TR)之額外孔。在37℃下培育4小時後，自各孔收穫上清液。接著使用γ粒子計數器(Packard Instrument Co., Waltham, MA)量測釋放之51Cr。各條件至少重複進行三次，且使用下式計算溶解百分比：溶解% = (ER - SR)/(TR - SR)，其中ER表示各實驗條件釋放之平均51Cr。

成像技術可用於評估腫瘤負載動物模型中CAR之特定運輸及增殖。此類分析已描述於例如Barrett等人, Human Gene Therapy 22:1575-1586 (2011)中。簡言之，將NOD/SCID/$\gamma c^{-/-}$ (NSG)小鼠用Nalm-6細胞IV注射，接著7天後，用經CAR構築體電穿孔後4小時的T細胞注射。將T細胞用慢病毒構築體穩定轉染以表現螢火蟲螢光素酶且針對生物發光，使小鼠成像。或者，Nalm-6異種移植模型中單次注射CAR^+ T細胞之治療功效及特異性可如下量測：將NSG小鼠用經轉導以穩定表現螢火蟲螢光素酶之Nalm-6注射，接著7天後單次尾靜脈注射經CLL-1 CAR電穿孔之T細胞。在注射後各時間點使動物成像。舉例而言，可產生第5天(治療前2天)及第8天(CAR^+ PBL後24小時)代表性小鼠中螢火蟲螢光素酶陽性白血病之光子密度熱圖。

包括本文實例章節中所述以及此項技術中已知之其他分析法亦可用於評估本發明之CLL-1 CAR構築體。

或者，或與本文所揭示之方法組合，揭示用於以下一或多者之方法及組合物：偵測及/或定量表現CAR之細胞(例如活體外或活體內(例如臨床監測))；免疫細胞擴增及/或活化；及/或CAR特異性選擇，

其包括CAR配位體之使用。在一個例示性實施例中，CAR配位體為結合於CAR分子，例如結合於CAR之胞外抗原結合結構域之抗體(例如結合於抗原結合結構域之抗體，例如抗個體基因型抗體；或結合於胞外結合結構域之恆定區的抗體)。在其他實施例中，CAR配位體為CAR抗原分子(例如如本文所述之CAR抗原分子)。

在一個態樣中，揭示一種用於偵測及/或定量表現CAR之細胞之方法。舉例而言，CAR配位體可用於在活體外或活體內偵測及/或定量表現CAR之細胞(例如患者中表現CAR之細胞之臨床監測，或患者給藥)。該方法包括：

提供CAR配位體(視情況，標記之CAR配位體，例如包括標籤、珠粒、放射性或螢光標記之CAR配位體)；

獲取表現CAR之細胞(例如獲取含有表現CAR之細胞之樣品，諸如製造樣品或臨床樣品)；

在發生結合之條件下使表現CAR之細胞與CAR配位體接觸，由此偵測存在之表現CAR之細胞之含量(例如量)。可使用諸如FACS、ELISA及其類似技術之標準技術，偵測表現CAR之細胞與CAR配位體之結合。

在另一個態樣中，揭示一種擴增及/或活化細胞(例如免疫效應細胞)之方法。該方法包括：

提供表現CAR之細胞(例如第一表現CAR之細胞或短暫表現CAR之細胞)；

在發生免疫細胞擴增及/或增殖之條件下，使該表現CAR之細胞與CAR配位體(例如如本文所述之CAR配位體)接觸，由此產生活化及/或擴增之細胞群體。

在某些實施例中，CAR配位體存在於(例如固定或附接至)受質，例如非天然存在之受質上。在一些實施例中，受質為非細胞受質。非

細胞受質可為選自以下之固體支撐物：例如盤(例如微量滴定盤)、膜(例如硝化纖維膜)、基質、晶片或珠粒。在實施例中，CAR配位體存在於受質中(例如受質表面上)。CAR配位體可固定、附接或共價或非共價締合(例如交聯)於受質。在一個實施例中，CAR配位體附接(例如共價附接)至珠粒。在前述實施例中，免疫細胞群體可活體外或離體擴增。該方法可進一步包括例如使用本文所述之任一方法，在CAR分子之配位體存在下培養免疫細胞群體。

在其他實施例中，擴增及/或活化細胞之方法進一步包含添加第二刺激分子，例如CD28。舉例而言，CAR配位體及第二刺激分子可固定至受質，例如一或多個珠粒，由此提供增加之細胞擴增及/或活化。

在又一態樣中，提供一種選擇或富集表現CAR之細胞之方法。該方法包括使表現CAR之細胞與如本文所述之CAR配位體接觸；以及基於CAR配位體之結合選擇細胞。

在其他實施例中，提供一種耗盡、減少及/或殺死表現CAR之細胞之方法。該方法包括使表現CAR之細胞與如本文所述之CAR配位體接觸；以及基於CAR配位體之結合靶向細胞，由此減少表現CAR之細胞之數目及/或殺死表現CAR之細胞。在一個實施例中，CAR配位體偶合至毒性劑(例如毒素或細胞消融藥物)。在另一個實施例中，抗個體基因型抗體可引起效應細胞活性，例如ADCC或ADC活性。

可用於本文所揭示之方法中的例示性抗-CAR抗體描述於例如WO 2014/190273及Jena等人，「Chimeric Antigen Receptor (CAR)-Specific Monoclonal Antibody to Detect CD19-Specific T cells in Clinical Trials」, PLOS March 2013 8:3 e57838 (內容以引用的方式併入)中。在一個實施例中，抗個體基因型抗體分子識別抗-CD19抗體分子，例如抗-CD19 scFv。舉例而言，抗個體基因型抗體分子可與Jena等人，

PLOS 2013年3月8:3 e57838中描述之CD19特異性CAR mAb純系第136.20.1號競爭結合；可具有與CD19特異性CAR mAb純系第136.20.1號相同之CDR (例如使用Kabat定義、Chothia定義或Kabat與Chothia定義之組合，VH CDR1、VH CDR2、CH CDR3、VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3中之一或多者，例如全部)；可具有一或多個(例如2個)如CD19特異性CAR mAb純系第136.20.1號之可變區，或可包含CD19特異性CAR mAb純系第136.20.1號。在一些實施例中，抗個體基因型抗體根據Jena等人中所述之方法製備。在另一個實施例中，抗個體基因型抗體分子為WO 2014/190273中所述之抗個體基因型抗體分子。在一些實施例中，抗個體基因型抗體分子具有與WO 2014/190273之抗體分子，諸如136.20.1相同之CDR (例如VH CDR1、VH CDR2、CH CDR3、VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3中之一或多者，例如全部)；可具有一或多個(例如2個) WO 2014/190273之抗體分子之可變區，或可包含WO 2014/190273之抗體分子，諸如136.20.1。在其他實施例中，抗-CAR抗體結合於例如如WO 2014/190273中所述之CAR分子之胞外結合結構域的恆定區。在一些實施例中，抗-CAR抗體結合於CAR分子之胞外結合結構域之恆定區，例如重鏈恆定區(例如CH2-CH3鉸鏈區)或輕鏈恆定區。舉例而言，在一些實施例中，抗-CAR抗體與WO 2014/190273中所述之2D3單株抗體競爭結合，具有與2D3相同之CDR (例如VH CDR1、VH CDR2、CH CDR3、VL CDR1、VL CDR2及VL CDR3中之一或多者，例如全部)，或具有一或多個(例如2個) 2D3之可變區，或包含如WO 2014/190273中所述之2D3。

在一些態樣及實施例中，例如如2014年7月31日申請之美國第62/031,699號(內容以全文引用的方式併入本文中)中所述，針對特定T細胞子集最佳化本文中之組合物及方法。在一些實施例中，與對照T細胞，例如表現相同構築體之不同類型(例如$CD8^+$或$CD4^+$) T細胞相

比，最佳化之T細胞子集顯示增強之持久性。

在一些實施例中，$CD4^+$ T細胞包含本文所述之CAR，該CAR包含適合於(例如針對增強持久性而最佳化) $CD4^+$ T細胞之胞內信號傳導結構域，例如ICOS結構域。在一些實施例中，$CD8^+$ T細胞包含本文所述之CAR，該CAR包含適合於(例如針對增強持久性而最佳化) $CD8^+$ T細胞之胞內信號傳導結構域，例如4-1BB結構域、CD28結構域或除ICOS結構域外之另一共同刺激結構域。在一些實施例中，本文所述之CAR包含本文所述之抗原結合結構域，例如包含特異性結合CLL-1之抗原結合結構域的CAR，例如表2之CAR。

在一態樣中，本文描述一種治療個體，例如患有癌症之個體的方法。該方法包括向該個體投與有效量之：

1)包含CAR (CAR^{CD4+})之$CD4^+$ T細胞：

該CAR包含：

抗原結合結構域，例如本文所述之抗原結合結構域，例如特異性結合CLL-1之抗原結合結構域，例如表2之抗原結合結構域；

跨膜結構域；以及

胞內信號傳導結構域，例如第一共同刺激結構域，例如ICOS結構域；以及

2)包含CAR (CAR^{CD8+})之$CD8^+$ T細胞，該CAR包含：

抗原結合結構域，例如本文所述之抗原結合結構域，例如特異性結合CLL-1之抗原結合結構域，例如表2之抗原結合結構域；

跨膜結構域；以及

胞內信號傳導結構域，例如第二共同刺激結構域，例如4-1BB結構域、CD28結構域或除ICOS結構域外之另一共同刺激結構域；

其中CAR^{CD4+}與CAR^{CD8+}彼此不同。

視情況，該方法進一步包括投與：

3)包含CAR (第二CAR^{CD8+})之第二CD8+ T細胞，該CAR包含：

抗原結合結構域，例如本文所述之抗原結合結構域，例如特異性結合CLL-1之抗原結合結構域，例如表2之抗原結合結構域；

跨膜結構域；以及

胞內信號傳導結構域，其中該第二CAR^{CD8+}包含不存在於CAR^{CD8+}上之胞內信號傳導結構域，例如共同刺激信號傳導結構域，且視情況不包含ICOS信號傳導結構域。

治療應用

CLL-1相關之疾病及/或病症

本發明尤其提供用於治療癌症之組合物及方法。在一個態樣中，癌症為血液癌，包括(但不限於)白血病(諸如急性骨髓性白血病(AML)、慢性骨髓性白血病(CML)、急性淋巴性白血病、慢性淋巴性白血病、急性淋巴母細胞性B細胞白血病(B細胞急性淋巴性白血病，BALL)、急性淋巴母細胞性T細胞白血病(T細胞急性淋巴性白血病(TALL)、B細胞前淋巴球性白血病、漿細胞骨髓瘤及骨髓發育不良症候群)及惡性淋巴組織增生病狀，包括淋巴瘤(諸如多發性骨髓瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤及小細胞及大細胞濾泡性淋巴瘤)。

治療應用

在一個態樣中，本發明提供用於治療與CLL-1表現相關之疾病的方法。在一個態樣中，本發明提供用於治療其中一部分腫瘤為CLL-1陰性且一部分腫瘤為CLL-1陽性之疾病的方法。舉例而言，本發明之CAR可用於治療已針對與CLL-1表現升高相關之疾病經受治療的個體，其中該已針對CLL-1含量升高經受治療之個體顯示與CLL-1含量升高相關之疾病。在實施例中，本發明之CAR可用於治療已針對與CLL-1表現相關之疾病經受治療的個體，其中該已經受與CLL-1表現

相關之治療的個體顯示與CLL-1表現相關之疾病。

在一個態樣中，本發明係關於一種載體，其包含可操作地連接於啟動子以在哺乳動物免疫效應細胞(例如T細胞或NK細胞)中表現之CLL-1 CAR。在一個態樣中，本發明提供一種重組免疫效應細胞(例如T細胞或NK細胞)，其表現用於治療表現CLL-1之腫瘤之CLL-1 CAR，其中該表現CLL-1 CAR之重組免疫效應細胞(例如T細胞或NK細胞)稱為表現CLL-1 CAR之細胞(例如CLL-1 CART或表現CLL-1 CAR之NK細胞)。在一個態樣中，本發明之表現CLL-1 CAR之細胞(例如CLL-1 CART或表現CLL-1 CAR之NK細胞)能夠使腫瘤細胞與在其表面上表現之至少一種本發明之CLL-1 CAR接觸，使得表現CLL-1 CAR之細胞(例如CLL-1 CART或表現CLL-1 CAR之NK細胞)靶向腫瘤細胞且抑制腫瘤生長。

在一個態樣中，本發明係關於一種抑制表現CLL-1之腫瘤細胞之生長的方法，其包含使腫瘤細胞與本發明之表現CLL-1 CAR之細胞(例如CLL-1 CART或表現CLL-1 CAR之NK細胞)接觸，使得表現CLL-1 CAR之細胞(例如CLL-1 CART或表現CLL-1 CAR之NK細胞)回應於抗原而活化且靶向癌細胞，其中抑制腫瘤生長。

在一個態樣中，本發明係關於一種治療個體之癌症的方法。該方法包含向該個體投與本發明之表現CLL-1 CAR之細胞(例如CLL-1 CART或表現CLL-1 CAR之NK細胞)，從而治療個體之癌症。可藉由本發明之表現CLL-1 CAR之細胞(例如CLL-1 CART或表現CLL-1 CAR之NK細胞)治療之癌症的一個實例為與CLL-1表現相關之癌症。在一個態樣中，與CLL-1表現相關之癌症為血液癌。在一個態樣中，血液癌包括(但不限於)白血病(諸如急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、急性淋巴性白血病、慢性淋巴性白血病及骨髓發育不良症候群)及惡性淋巴組織增生病狀，包括淋巴瘤(諸如多發性骨髓瘤、非霍奇

金氏淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤及小細胞及大細胞濾泡性淋巴瘤)。在其他實施例中，血液癌可包括例如白血病，例如AML或MDS之微小殘留病變MRD。

本發明包括一種類型之細胞療法，其中免疫效應細胞(例如T細胞或NK細胞)經遺傳修飾以表現嵌合抗原受體(CAR)且表現CLL-1 CAR之細胞(例如CLL-1 CART或表現CLL-1 CAR之NK細胞)輸注至有需要之接受者中。輸注之細胞能夠殺死接受者中之腫瘤細胞。不同於抗體療法，CAR修飾之免疫效應細胞(例如T細胞或NK細胞)能夠在活體內複製，產生可引起持久腫瘤控制之長期持續性。在各種態樣中，向患者投與之免疫效應細胞(例如T細胞或NK細胞)或其後代在向患者投與該免疫效應細胞(例如T細胞或NK細胞)後在患者體內保持至少四個月、五個月、六個月、七個月、八個月、九個月、十個月、十一個月、十二個月、十三個月、十四個月、十五個月、十六個月、十七個月、十八個月、十九個月、二十個月、二十一個月、二十二個月、二十三個月、兩年、三年、四年或五年。

本發明亦包括一種類型之細胞療法，其中表現CLL-1 CAR之細胞(例如CLL-1 CAR T細胞或表現CLL-1 CAR之NK細胞)例如藉由活體外轉錄之RNA修飾以短暫表現嵌合抗原受體(CAR)且免疫效應細胞(例如T細胞或NK細胞)輸注至有需要之接受者中。輸注之細胞能夠殺死接受者中之腫瘤細胞。因此，在各種態樣中，向患者投與之免疫效應細胞(例如T細胞或NK細胞)在向患者投與免疫效應細胞(例如T細胞或NK細胞)之後存在不足一個月，例如三週、兩週、一週。

不希望受任何特定理論束縛，CAR修飾之免疫效應細胞(例如T細胞或NK細胞)引起的抗腫瘤免疫性反應可為主動或被動免疫反應，或者可歸因於直接免疫反應對比間接免疫反應。在一個態樣中，CAR轉導之免疫效應細胞(例如T細胞或NK細胞)因應表現CLL-1之人類癌細

胞而顯示特異性促炎性細胞因子分泌及強效細胞溶解活性，抵抗可溶性CLL-1抑制，介導旁觀者殺死效應且介導現有之人類腫瘤消退。舉例而言，在表現CLL-1之腫瘤之異質場內的抗原較少之腫瘤細胞可易於經CLL-1重導向的免疫效應細胞(例如T細胞或NK細胞)間接破壞，該等CLL-1重導向的免疫效應細胞先前已對相鄰抗原陽性癌細胞進行反應。

在一個態樣中，本發明之完全人類CAR修飾之免疫效應細胞(例如T細胞或NK細胞)可為用於哺乳動物離體免疫接種及/或活體內療法的疫苗類型。在一個態樣中，哺乳動物為人類。

關於離體免疫接種，在向哺乳動物投與細胞之前，活體外進行以下中之至少一者：i)擴增細胞，ii)向細胞中引入編碼CAR之核酸或iii)低溫保存細胞。

離體程序為此項技術中熟知且在下文中更完全論述。簡言之，細胞自哺乳動物(例如人類)分離且使用表現本文揭示之CAR的載體遺傳修飾(亦即活體外轉導或轉染)。向哺乳動物接受者投與CAR修飾之細胞以提供治療益處。哺乳動物接受者可為人類且CAR修飾細胞可關於接受者為自體的。或者，細胞關於接受者可為同種異體、同源或異種的。

用於離體擴增造血幹細胞及祖細胞之程序描述於以引用的方式併入本文中的美國專利第5,199,942號中，且可應用於本發明之細胞。其他適合方法為此項技術中已知，因此本發明不限於離體擴增細胞之任何特定方法。簡言之，T細胞之離體培養及擴增包含：(1)藉由外周血液採集或骨髓外植體自哺乳動物收集CD34+造血幹細胞及祖細胞；及(2)離體擴增此類細胞。除美國專利第5,199,942號中描述之細胞生長因子之外，諸如flt3-L、IL-1、IL-3及c-套組配位體之其他因子可用於培養及擴增該等細胞。

除在離體免疫接種方面使用基於細胞之疫苗之外，本發明亦提供用於活體內免疫接種以在患者中針對抗原引起免疫反應的組合物及方法。

一般而言，如本文所述活化及擴增之細胞可用於治療及預防免疫功能不全個體中產生的疾病。詳言之，本發明之CAR修飾之免疫效應細胞(例如T細胞或NK細胞)用於治療與CLL-1表現相關的疾病、病症及病狀。在某些態樣中，本發明之細胞用於治療處於產生與CLL-1表現相關之疾病、病症及病狀風險中的患者。因此，本發明提供用於治療或預防與CLL-1表現相關之疾病、病症及病狀的方法，其包含向有需要之個體投與治療有效量的本發明之CAR修飾之免疫效應細胞(例如T細胞或NK細胞)。在一個態樣中，本發明之表現CAR之細胞(例如CART細胞或表現CAR之NK細胞)可用於治療增生性疾病，諸如癌症或惡性疾病，或癌變前病狀，諸如骨髓發育不良、骨髓發育不良症候群或白血病前驅症過度增生性病症、增生或發育不良，其特徵為細胞生長異常。

在一個態樣中，本發明之表現CAR之細胞(例如CART細胞或表現CAR之NK細胞)用於治療癌症，其中癌症為血液癌。血液癌病狀為諸如白血病及惡性淋巴組織增生病狀之影響血液、骨髓及淋巴系統的癌症類型。

在一個態樣中，本發明之組合物及表現CAR之細胞(例如CART細胞或表現CAR之NK細胞)特別適用於治療骨髓白血病、AML及其亞型、慢性骨髓性白血病(CML)及骨髓發育不良症候群(MDS)。

白血病可歸類為急性白血病及慢性白血病。急性白血病可進一步歸類為急性骨髓性白血病(AML)及急性淋巴性白血病(ALL)。慢性白血病包括慢性骨髓性白血病(CML)及慢性淋巴性白血病(CLL)。其他相關病狀包括骨髓發育不良症候群(MDS，以前稱為「白血病前驅

症」)，其為由骨髓血細胞無效產生(或發育不良)及轉化成AML之風險聯合之各種血液病狀。

淋巴瘤為自淋巴細胞發展之一組血細胞腫瘤。例示性淋巴瘤包括非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin lymphoma)及霍奇金淋巴瘤(Hodgkin lymphoma)。

AML中，異常分化之長期存活之骨髓祖細胞的惡性轉化及不受控增殖引起高度循環數目之不成熟血液形式，且正常骨髓經惡性細胞置換。症狀包括疲乏、皮膚蒼白、容易撞傷及出血、發熱及感染；白血病浸潤之症狀僅僅在約5%患者中存在(通常呈皮膚表現形式)。外周血液刮片及骨髓之檢查為診斷性的。現有治療包括實現緩解之誘發性化學療法及避免復發之緩解後化學療法(有或無干細胞移植)。

AML具有許多亞型，彼此藉由形態、免疫表型及細胞化學區分。基於主要細胞類型，描述五個類別，包括骨髓細胞、骨髓單核細胞、單核細胞、紅細胞及巨核細胞。

緩解誘發率在50%至85%範圍內。據報導在20%至40%患者中發生長期無病存活，且在用幹細胞移植治療之較年輕患者中增加至40%至50%。

預後因子幫助確定治療方案及強度；通常給與具有強陰性預測特徵之患者更強力形式之療法，因為認為潛在益處證明增加之治療毒性。最重要之預後因子為白血病細胞核型；有利的核型包括t(15;17)、t(8;21)及inv16 (p13;q22)。陰性因子包括年齡增加、前述骨髓發育不良期、繼發性白血病、高WBC數及不存在Auer棒。

初始療法嘗試誘發緩解且大多數與ALL不同，因為AML對較少藥物有反應。基礎誘發方案包括阿糖胞苷(cytarabine)連續IV輸注或高劑量持續5至7天；在此時間期間道諾黴素(daunorubicin)或艾達黴素(idarubicin) IV給與3天。一些方案包括6-硫代鳥嘌呤(6-thioguanine)、

依託泊苷(etoposide)、長春新鹼(vincristine)及潑尼松(prednisone)，但其作用不明確。治療通常引起顯著骨髓抑制，伴有感染或出血；在骨髓恢復前存在顯著等待時間。在此時間期間，謹慎之預防性及支持性護理為至關重要的。

慢性骨髓性(或骨髓)白血病(CML)亦稱為慢性顆粒球性白血病且特徵在於白血球之癌症。CML之常見治療方案包括Bcr-Abl酪胺酸激酶抑制劑伊馬替尼(imatinib，Gleevec®)、達沙替尼(dasatinib)及尼羅替尼(nilotinib)。Bcr-Abl酪胺酸激酶抑制劑特別適用於具有費城染色體易位(Philadelphia chromosome translocation)之CML患者。

骨髓發育不良症候群(MDS)為特徵為血細胞生成或血液產生混亂及無效的血液醫學病狀。因此，形成血液細胞之數目及品質不可逆地下降。一些MDS患者可出現嚴重貧血，而其他無癥狀。

MDS之分類方案為此項技術中已知，其中標準指明特定血細胞類型，例如骨髓母細胞、單核細胞及紅血球前驅細胞之比率或頻率。MDS包括難治性貧血、伴有環狀鐵粒幼紅細胞之難治性貧血、伴有過量母細胞之難治性貧血、伴有過量母細胞轉型之難治性貧血、慢性骨髓單核細胞性白血病(CMML)。

MDS之治療隨症狀之嚴重程度變化。經歷嚴重症狀之患者的侵襲性治療形式包括骨髓移植及使用血液產物支撐(例如輸血)及造血生長因子(例如紅血球生成素)之支持性護理。其他藥劑時常用於治療MDS：5-氮雜胞苷(5-azacytidine)、地西他濱(decitabine)及來那度胺(lenalidomide)。在一些情況下，亦可投與鐵螯合劑去鐵胺(deferoxamine，Desferal®)及地拉羅司(deferasirox，Exjade®)。

在另一個實施例中，本發明之表現CAR之細胞(例如CART細胞或表現CAR之NK細胞)用於治療具有白血病幹細胞之癌症或白血病。舉例而言，白血病幹細胞為$CD34^+/CD38^-$白血病細胞。

本發明尤其提供用於治療癌症之組合物及方法。在一個態樣中，癌症為血液癌，包括但不限於白血病(諸如急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、急性淋巴性白血病、慢性淋巴性白血病及骨髓發育不良症候群)及惡性淋巴組織增生病狀，包括淋巴瘤(諸如多發性骨髓瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)及小細胞及大細胞濾泡性淋巴瘤)。

在一個態樣中，本發明之表現CAR之細胞(例如CART細胞或表現CAR之NK細胞)可用於治療其他癌症及惡性疾病，諸如(但不限於)例如急性白血病，包括(但不限於)例如B細胞急性淋巴性白血病(「BALL」)、T細胞急性淋巴性白血病(「TALL」)、急性淋巴性白血病(ALL)；一或多種慢性白血病，包括(但不限於)例如慢性骨髓性白血病(CML)、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)；其他血液癌或血液科病狀，包括(但不限於)例如B細胞前淋巴細胞性白血病、母細胞性漿細胞樣樹突狀細胞贅瘤、伯基特氏淋巴瘤、彌漫性大B細胞淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、毛細胞白血病、小細胞或大細胞濾泡性淋巴瘤、惡性淋巴組織增生病狀、MALT淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、邊緣區淋巴瘤、多發性骨髓瘤、骨髓發育不良及骨髓發育不良症候群、非霍奇金氏淋巴瘤、漿母細胞淋巴瘤、漿細胞樣樹突狀細胞贅瘤、瓦爾登斯特倫巨球蛋白血症及「白血病前驅症」，白血病前驅症為由骨髓血細胞無效產生(或發育不良)聯合之各種血液病狀；及其類似病症。本發明之CAR修飾之免疫效應細胞(例如T細胞或NK細胞)可單獨投與或作為與稀釋劑及/或其他組分(諸如IL-2或其他細胞因子或細胞群體)組合的醫藥組合物投與。

本發明亦提供用於抑制表現CLL-1之細胞群體增殖或減少表現CLL-1之細胞群體的方法，該等方法包含使包含表現CLL-1之細胞之細胞群體與結合於表現CLL-1之細胞的本發明之表現CLL-1 CAR之細

胞(例如CLL-1 CART細胞或表現CLL-1 CAR之NK細胞)接觸。在一特定態樣中，本發明提供用於抑制表現CLL-1之癌細胞群體增殖或減少表現CLL-1之癌細胞群體的方法，該等方法包含使表現CLL-1之癌細胞群體與結合於表現CLL-1之細胞的本發明之表現CLL-1 CAR之細胞(例如CLL-1 CART細胞或表現CLL-1 CAR之NK細胞)接觸。在一個態樣中，本發明提供用於抑制表現CLL-1之癌細胞群體增殖或減少表現CLL-1之癌細胞群體的方法，該等方法包含使表現CLL-1之癌細胞群體與結合於表現CLL-1之細胞的本發明之表現CLL-1 CAR之細胞(例如CLL-1 CART細胞或表現CLL-1 CAR之NK細胞)接觸。在某些態樣中，本發明之表現CLL-1 CAR之細胞(例如CLL-1 CART細胞或表現CLL-1 CAR之NK細胞)使患有多發性骨髓瘤或另一與表現CLL-1之細胞有關之癌症的個體或動物模型中的細胞及/或癌細胞之數量、數目、量或百分比相對於陰性對照減少至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少65%、至少75%、至少85%、至少95%或至少99% 在一個態樣中，個體為人類。

本發明亦提供用於預防、治療及/或管理與表現CLL-1之細胞相關之疾病(例如表現CLL-1之血液癌或非典型癌症)的方法，該等方法包含向有需要之個體投與結合於表現CLL-1之細胞的本發明之CLL-1表現CAR之細胞(例如CLL-1 CART細胞或表現CLL-1 CAR之NK細胞)。在一個態樣中，個體為人類。與表現CLL-1之細胞相關的病症之非限制性實例包括自體免疫病症(諸如狼瘡)、發炎性病症(諸如過敏及哮喘)及癌症(諸如表現CLL-1之血液癌症或非典型癌症)。

本發明亦提供用於預防、治療及/或管理與表現CLL-1之細胞有關之疾病的方法，該等方法包含向有需要之個體投與結合於表現CLL-1之細胞的本發明之CLL-1表現CAR之細胞(例如CLL-1 CART細胞或表現CLL-1 CAR之NK細胞)。在一個態樣中，個體為人類。

本發明提供用於預防與表現CLL-1之細胞有關之癌症復發的方法，該等方法包含向有需要之個體投與結合於表現CLL-1之細胞的本發明之CLL-1表現CAR之細胞(例如CLL-1 CART細胞或表現CLL-1 CAR之NK細胞)。在一個態樣中，該等方法包含向有需要之個體投與有效量之結合於表現CLL-1之細胞的本發明之CLL-1表現CAR之細胞(例如CLL-1 CART細胞或表現CLL-1 CAR之NK細胞)與有效量之另一療法的組合。

組合療法

本文所述之表現CAR之細胞可與其他已知藥劑及療法組合使用。如本文中所用，「組合」投與意謂在個體受病症折磨之病程期間向個體傳遞兩種(或兩種以上)不同治療，例如在個體經診斷患有病症之後及在病症治癒或消除或出於其他原因治療停止之前，傳遞兩種或兩種以上治療。在一些實施例中，當開始提供第二治療時，第一治療之提供仍存在以使得投與存在重疊。此在本文中有時係指「同時」或「並行傳遞」。在其他實施例中，一種治療之傳遞在另一治療傳遞開始之前結束。在任一情況之一些實施例中，治療由於組合投與而更有效。舉例而言，相較於在無第一治療存在下投與第二治療所見，第二治療更有效，例如使用較少第二治療即可見同等效果，或第二治療使症狀更大程度減輕，或對於第一治療可見相似情形。在一些實施例中，傳遞使得症狀減輕或與病症有關之其他參數大於在無另一治療存在下用一種治療傳遞所觀測到的參數。兩種治療之作用可部分加合，完全加合或大於加合。傳遞可使得所傳遞之第一治療之作用在傳遞第二治療時仍可偵測。

本文所述之表現CAR之細胞及至少一種額外治療劑可在相同或分開組合物中同時投與或依序投與。對於依序投與，本文所述之表現CAR之細胞可首先投與，且接著投與額外藥劑，或投與順序可顛倒。

CAR療法及/或其他治療劑、程序或儀器治療在病症活躍期期間或在疾病緩解或不太活躍期期間投與。CAR療法可在其他治療之前、與治療同時、在治療之後或在病症緩解期間投與。

當組合投與時，CAR療法及其他藥劑(例如第二或第三藥劑)或全部藥劑可以比個別使用，例如呈單一療法使用之各藥劑之量或劑量高、低或與其相同的量或劑量投與。在某些實施例中，CAR療法、其他藥劑(例如第二或第三藥劑)或全部藥劑之投與量或劑量比個別使用，例如呈單一療法使用之各藥劑的量或劑量低(例如至少20%、至少30%、至少40%或至少50%)。在其他實施例中，CAR療法、其他藥劑(例如第二或第三藥劑)或全部藥劑引起所需作用(例如治療癌症)之量或劑量比實現相同治療作用所需的個別使用，例如呈單一療法使用之各藥劑之量或劑量低(例如低至少20%、至少30%、至少40%或至少50%)。

在其他態樣中，本文所述之表現CAR之細胞與以下組合用於治療方案中：手術、化學療法、放射、免疫抑制劑(諸如環孢靈、硫唑嘌呤、甲胺喋呤、黴酚酸酯及FK506)、抗體或其他免疫消融劑(諸如CAMPATH、抗CD3抗體或其他抗體療法)、細胞毒素、氟達拉濱、環孢靈、FK506、雷帕黴素、黴酚酸、類固醇、FR901228、細胞因子及照射。肽疫苗，諸如Izumoto等人, 2008 J Neurosurg 108:963-971中所述。

在某些情況下，本發明之化合物與其他治療劑組合，諸如其他抗癌劑、抗過敏性劑、抗噁心劑(或抗嘔吐劑)、疼痛舒解劑、細胞保護劑及其組合。

在一個實施例中，本文所述之表現CAR之細胞可與化學治療劑組合使用。例示性化學治療劑包括蒽環黴素(例如小紅莓(例如脂質體小紅莓))、長春花生物鹼(例如長春鹼(vinblastine)、長春新鹼、長春地

辛(vindesine)、長春瑞賓(vinorelbine))、烷基化劑(例如環磷醯胺、達卡巴嗪(decarbazine)、美法侖、異環磷醯胺、替莫唑胺)、免疫細胞抗體(例如阿來木單抗(alemtuzamab)、吉妥單抗、利妥昔單抗、奧伐木單抗(ofatumumab)、托西莫單抗、貝倫妥單抗(brentuximab))、抗代謝產物(包括例如葉酸拮抗劑、嘧啶類似物、嘌呤類似物及腺苷脫胺酶抑制劑(例如氟達拉濱))、mTOR抑制劑、TNFR糖皮質激素誘導之TNFR相關蛋白質(GITR)促效劑、蛋白酶體抑制劑(例如阿克拉黴素A、膠毒素或硼替佐米)、免疫調節劑(諸如沙立度胺或沙立度胺衍生物(例如來那度胺))。

一般考慮用於組合療法之化學治療劑包括阿那曲唑(anastrozole)(Arimidex®)、比卡魯胺(bicalutamide)(Casodex®)、硫酸博萊黴素(bleomycin sulfate)(Blenoxane®)、白消安(busulfan)(Myleran®)、白消安注射劑(Busulfex®)、卡培他濱(capecitabine)(Xeloda®)、N4-戊氧基羰基-5-去氧基-5-氟胞嘧啶核苷、卡鉑(carboplatin)(Paraplatin®)、卡莫司汀(carmustine)(BiCNU®)、苯丁酸氮芥(Leukeran®)、順鉑(Platinol®)、克拉屈濱(cladribine，Leustatin®)、環磷醯胺(cyclophosphamide，Cytoxan®或Neosar®)、阿糖胞苷、胞嘧啶阿拉伯糖苷(cytosine arabinoside)(Cytosar-U®)、阿糖胞苷脂質體注射劑(DepoCyt®)、達卡巴嗪(dacarbazine)(DTIC-Dome®)、放線菌素d (dactinomycin)(放線菌素D、Cosmegan)、鹽酸道諾黴素(daunorubicin hydrochloride)(Cerubidine®)、檸檬酸道諾黴素脂質體注射劑(DaunoXome®)、地塞米松(dexamethasone)、多西他賽(docetaxel)(Taxotere®)、鹽酸小紅黴(doxorubicin hydrochloride)(Adriamycin®、Rubex®)、依託泊苷(Vepesid®)、磷酸氟達拉賓(fludarabine phosphate)(Fludara®)、5-氟尿嘧啶(Adrucil®、

Efudex®)、氟他胺(flutamide)(Eulexin®)、特紮替濱(tezacitibine)、吉西他濱(二氟去氧胞苷)、羥脲(hydroxyurea)(Hydrea®)、艾達黴素(Idamycin®)、異環磷醯胺(ifosfamide)(IFEX®)、伊立替康(irinotecan)(Camptosar®)、L-天冬醯胺酶(ELSPAR®)、甲醯四氫葉酸鈣、美法侖(Alkeran®)、6-巰基嘌呤(Purinethol®)、甲胺喋呤(Folex®)、米托蒽醌(mitoxantrone，Novantrone®)、麥羅塔(mylotarg)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)(Taxol®)、菲尼克斯(phoenix)(釔90/MX-DTPA)、噴司他丁、具有卡莫司汀植入物之聚苯丙生20 (Gliadel®)、檸檬酸他莫昔芬(tamoxifen citrate)(Nolvadex®)、替尼泊甙(teniposide)(Vumon®)、6-硫代鳥嘌呤、噻替派(thiotepa)、替拉紮明(tirapazamine)(Tirazone®)、注射用鹽酸拓朴替康(Hycamptin®)、長春鹼(Velban®)、長春新鹼(Oncovin®)及長春瑞賓(Navelbine®)。

用化學治療劑與本文所述之表現CLL-1 CAR分子的細胞之組合處理可用於治療本文所述之血液癌，例如AML。在實施例中，化學治療劑與表現CLL-1 CAR之細胞的組合適用於靶向，例如殺死例如患有AML之個體中的癌症幹細胞，例如白血病幹細胞。在實施例中，化學治療劑與表現CLL-1 CAR之細胞的組合適用於治療微小殘留病變(MRD)。MRD係指在例如化學療法之治療期間或治療後殘留在個體中之少數癌細胞。MRD通常為復發之主要原因。本發明提供一種治療例如MRD之癌症之方法，其包含投與化學治療劑與例如如本文所述之表現CLL-1 CAR之細胞的組合。

在一個實施例中，化學治療劑在表現CAR分子，例如本文所述之CAR分子的細胞投與前投與。在其中希望化學治療劑投與一次以上的化學治療方案中，化學治療方案在表現CAR分子，例如本文所述之CAR分子的細胞投與前開始或結束。在實施例中，化學治療劑在投與

表現CAR分子之細胞前至少1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、20天、25天或30天投與。在實施例中，化學治療方案在投與表現CAR分子之細胞前至少1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、20天、25天或30天開始或結束。在實施例中，化學治療劑為例如與正常或非癌細胞上之CLL-1表現相比，增加癌細胞，例如腫瘤細胞上CLL-1表現之化學治療劑。可例如藉由免疫組織化學染色或流動式細胞量測分析測定CLL-1表現。舉例而言，化學治療劑為阿糖胞苷(cytarabine，Ara-C)。

尤其受關注之與本發明之化合物組合的抗癌劑包括：抗代謝物；抑制鈣依賴性磷酸酶鈣調神經磷酸酶或p70S6激酶FK506或抑制p70S6激酶之藥物；烷基化劑；mTOR抑制劑；免疫調節劑；蒽環黴素；長春花生物鹼；蛋白酶體抑制劑；GITR促效劑；蛋白質酪胺酸磷酸酶抑制劑；CDK4激酶抑制劑；BTK激酶抑制劑；MKN激酶抑制劑；DGK激酶抑制劑；或溶瘤病毒。

例示性抗代謝物包括(但不限於)葉酸拮抗劑(本文中亦稱為抗葉酸劑)嘧啶類似物、嘌呤類似物及腺苷脫胺酶抑制劑：甲胺喋呤(methotrexate，Rheumatrex®、Trexall®)、5-氟尿嘧啶(Adrucil®、Efudex®、Fluoroplex®)、氟尿苷(floxuridine，FUDF®)、阿糖胞苷(Cytosar-U®、Tarabine PFS)、6-巰基嘌呤(Puri-Nethol®)、6-硫代鳥嘌呤(Thioguanine Tabloid®)、氟達拉賓磷酸鹽(Fludara®)、噴司他丁(pentostatin，Nipent®)、培美曲塞(pemetrexed，Alimta®)、雷替曲塞(raltitrexed，Tomudex®)、克拉屈濱(Leustatin®)、氯法拉濱(clofarabine，Clofarex®、Clolar®)、巰基嘌呤(mercaptopurine，Puri-Nethol®)、卡培他濱(capecitabine，Xeloda®)、奈拉濱(nelarabine，Arranon®)、阿紮胞苷(azacitidine，Vidaza®)及吉西他濱

(gemcitabine，Gemzar®)。較佳抗代謝物包括例如5-氟尿嘧啶(Adrucil®、Efudex®、Fluoroplex®)、氟尿苷(FUDF®)、卡培他濱(Xeloda®)、培美曲塞(pemetrexed，Alimta®)、雷替曲塞(raltitrexed，Tomudex®)及吉西他濱(Gemzar®)。

例示性烷基化劑包括(但不限於)氮芥、乙烯亞胺衍生物、烷基磺酸酯、亞硝基脲及三氮烯)：尿嘧啶氮芥(Aminouracil Mustard®、Chlorethaminacil®、Demethyldopan®、Desmethyldopan®、Haemanthamine®、Nordopan®、Uracil nitrogen mustard®、Uracillost®、Uracilmostaza®、Uramustin®、Uramustine®)、雙氯乙基甲胺(Mustargen®)、環磷醯胺(Cytoxan®、Neosar®、Clafen®、Endoxan®、Procytox®、Revimmune™)、異環磷醯胺(Mitoxana®)、美法侖(Alkeran®)、苯丁酸氮芥(Leukeran®)、哌泊溴烷(Amedel®、Vercyte®)、曲他胺(Hemel®、Hexalen®、Hexastat®)、三伸乙基硫代磷胺、替莫唑胺(Temodar®)、噻替派(Thioplex®)、白消安(Busilvex®、Myleran®)、卡莫司汀(BiCNU®)、洛莫司汀(lomustine)(CeeNU®)、鏈脲菌素(streptozocin)(Zanosar®)及達卡巴嗪(DTIC-Dome®)。額外例示性烷基化劑包括(但不限於)奧沙利鉑(Oxaliplatin)(Eloxatin®)；替莫唑胺(Temodar®及Temodal®)；放線菌素d (亦稱為放線菌素-D，Cosmegen®)；美法侖(亦稱為L-PAM、L-溶肉瘤素及苯丙胺酸氮芥、Alkeran®)；六甲蜜胺(亦稱為六甲基三聚氰胺(HMM)、Hexalen®)；卡莫司汀(BiCNU®)；苯達莫司汀(Bendamustine)(Treanda®)；白消安(Busulfex®及Myleran®)；卡鉑(Paraplatin®)；洛莫司汀(Lomustine)(亦稱為CCNU、CeeNU®)；順鉑(亦稱為CDDP、Platinol®及Platinol®-AQ)；苯丁酸氮芥(Leukeran®)；環磷醯胺(Cytoxan®及Neosar®)；達卡巴嗪(亦稱為DTIC、DIC及咪唑羧醯胺、DTIC-Dome®)；六甲蜜胺(Altretamine)(亦

稱為六甲基三聚氰胺(HMM)、Hexalen®)；異環磷醯胺(Ifex®)；普萊德莫司汀(Prednumustine)；丙卡巴肼(Procarbazine) (Matulane®)；氮芥(Mechlorethamine)(亦稱為氮芥(nitrogen mustard)、氮芥(mustine)及甲氯乙胺鹽酸鹽，Mustargen®)；鏈脲菌素(Streptozocin)(Zanosar®)；噻替派(亦稱為硫代磷醯胺、TESPA及TSPA、Thioplex®)；環磷醯胺(Endoxan®、Cytoxan®、Neosar®、Procytox®、Revimmune®)；及苯達莫司汀HCl (Treanda®)。

在實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與氟達拉賓、環磷醯胺及/或利妥昔單抗組合投與個體。在實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與氟達拉賓、環磷醯胺及利妥昔單抗(FCR)組合投與個體。在實施例中，個體患有CLL。舉例而言，個體在染色體17之短臂中具有缺失(del(17p)，例如白血病細胞中)。在其他實例中，個體不具有del(17p)。在實施例中，個體包含在免疫球蛋白重鏈可變區(IgV_H)基因中包含突變之白血病細胞。在其他實施例中，個體不包含在免疫球蛋白重鏈可變區(IgV_H)基因中包含突變之白血病細胞。在實施例中，氟達拉賓以約10-50 mg/m^2 (例如約10-15、15-20、20-25、25-30、30-35、35-40、40-45或45-50 mg/m^2)之劑量，例如經靜脈內投與。在實施例中，環磷醯胺以約200-300 mg/m^2 (例如約200-225、225-250、250-275或275-300 mg/m^2)之劑量，例如經靜脈內投與。在實施例中，利妥昔單抗以約400-600 mg/m^2 (例如400-450、450-500、500-550或550-600 mg/m^2)之劑量，例如經靜脈內投與。

在實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與苯達莫司汀及利妥昔單抗組合投與個體。在實施例中，個體患有CLL。舉例而言，個體在染色體17之短臂中具有缺失(del(17p)，例如白血病細胞中)。在其他實例中，個體不具有del(17p)。在實施例中，個體包含在免疫球蛋白重鏈可變區(IgV_H)基因中包含突變之白血病細胞。在其他實施例中，

個體不包含在免疫球蛋白重鏈可變區(IgV_H)基因中包含突變之白血病細胞。在實施例中，苯達莫司汀以約70-110 mg/m^2 (例如70-80、80-90、90-100或100-110 mg/m^2)之劑量，例如經靜脈內投與。在實施例中，利妥昔單抗以約400-600 mg/m^2 (例如400-450、450-500、500-550或550-600 mg/m^2)之劑量，例如經靜脈內投與。

在實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與利妥昔單抗、環磷醯胺、小紅莓、長春新鹼及/或皮質類固醇(例如潑尼松)組合投與個體。在實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與利妥昔單抗、環磷醯胺、小紅莓、長春新鹼及潑尼松(R-CHOP)組合投與個體。在實施例中，個體患有彌漫性大型B細胞淋巴瘤(DLBCL)。在實施例中，個體患有體積不大之侷限期DLBCL (例如包含尺寸/直徑小於7 cm之腫瘤)。在實施例中，個體用放射線與R-CHOP組合治療。舉例而言，向個體投與R-CHOP (例如1-6個週期，例如1、2、3、4、5或6個R-CHOP週期)，接著為放射線。在一些情況下，在放射線後向個體投與R-CHOP (例如1-6個週期，例如1、2、3、4、5或6個R-CHOP週期)。

在實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與依託泊苷、潑尼松、長春新鹼、環磷醯胺、小紅莓及/或利妥昔單抗組合投與個體。在實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與依託泊苷、潑尼松、長春新鹼、環磷醯胺、小紅莓及利妥昔單抗(EPOCH-R)組合投與個體。在實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與劑量調整之EPOCH-R (DA-EPOCH-R)組合投與個體。在實施例中，個體患有B細胞淋巴瘤，例如Myc重排之侵襲性B細胞淋巴瘤。

在實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與利妥昔單抗及/或來那度胺組合投與個體。來那度胺((*RS*)-3-(4-胺基-1-側氧基1,3-二氫-2*H*-異吲哚-2-基)哌啶-2,6-二酮)為一種免疫調節劑。在實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與利妥昔單抗及來那度胺組合投與個體。在

實施例中，個體患有濾泡性淋巴瘤(FL)或套細胞淋巴瘤(MCL)。在實施例中，個體患有FL且先前未用癌症療法治療。在實施例中，來那度胺以約10-20 mg (例如10-15或15-20 mg)之劑量，例如每日投與。在實施例中，利妥昔單抗以約350-550 mg/m^2 (例如350-375、375-400、400-425、425-450、450-475或475-500 mg/m^2)之劑量，例如經靜脈內投與。

例示性mTOR抑制劑包括例如坦羅莫司；地磷莫司(ridaforolimus)(前稱為地非洛莫司(deferolimus)、二甲基亞膦酸(1*R*,2*R*,4*S*)-4-[(2*R*)-2 [(1*R*,9*S*,12*S*,15*R*,16*E*,18*R*,19*R*,21*R*,23*S*, 24*E*, 26*E*, 28*Z*, 30*S*, 32*S*, 35*R*)-1,18-二羥基-19,30-二甲氧基-15,17,21,23, 29,35-六甲基-2,3,10,14,20-五側氧基-11,36-二氧雜-4-氮雜三環[30.3.1.0^{4,9}]六(三十烷)-16,24,26,28-四烯-12-基]丙基]-2-甲氧基環己基酯，亦稱為AP23573及MK8669，且描述於PCT公開案第WO 03/064383號中)；依維莫司(Afinitor®或RAD001)；雷帕黴素(AY22989、Sirolimus®)；司馬匹莫德(simapimod) (CAS 164301-51-3)；埃西莫司(emsirolimus)、(5-{2,4-雙[(3S)-3-甲基嗎啉-4-基]吡啶并[2,3-*d*]嘧啶-7-基}-2-甲氧基苯基))甲醇(AZD8055)；2-胺基-8-[反-4-(2-羥基乙氧基)環己基]-6-(6-甲氧基-3-吡啶基)-4-甲基-吡啶并[2,3-d]嘧啶-7(8H)-酮(PF04691502，CAS 1013101-36-4)；及*N*^{2}-[1,4-二側氧基-4-[[4-(4-側氧基-8-苯基-4*H*-1-苯并哌喃-2-基)嗎啉鎓-4-基]甲氧基]丁基]-L-精胺醯基甘胺醯基-L-α-天冬胺醯基L-絲胺酸-(SEQ ID NO: 313)，內鹽(SF1126，CAS 936487-67-1)及XL765。

例示性免疫調節劑包括例如阿夫妥珠單抗(afutuzumab)(獲自Roche®)；派非格司亭(pegfilgrastim)(Neulasta®)；來那度胺(CC-5013，Revlimid®)；沙立度胺(Thalomid®)；艾可米得(actimid)(CC4047)；及IRX-2(包括介白素1、介白素2及干擾素γ之人

類細胞因子混合物，CAS 951209-71-5，獲自IRX療法)。

例示性蒽環黴素包括例如小紅莓(Adriamycin®及Rubex®)；博萊黴素(lenoxane®)；道諾黴素(鹽酸道諾黴素、柔紅黴素及鹽酸紅比黴素，Cerubidine®)；道諾黴素脂質體(檸檬酸道諾黴素脂質體，DaunoXome®)；米托蒽醌(DHAD，Novantrone®)；表柔比星(Ellence™)；艾達黴素(Idamycin®、IdamycinPFS®)；絲裂黴素C(Mutamycin®)；格爾德黴素(geldanamycin)；除莠黴素(herbimycin)；拉維黴素(ravidomycin)；及去乙醯基拉維黴素(desacetylravidomycin)。

例示性長春花生物鹼包括例如酒石酸長春瑞濱(Navelbine®)、長春新鹼(Oncovin®)及長春地辛(Eldisine®)；長春鹼(亦稱為硫酸長春鹼、長春花鹼(vincaleukoblastine)及VLB，Alkaban-AQ®及Velban®)；及長春瑞濱(Navelbine®)。

例示性蛋白酶體抑制劑包括硼替佐米(Velcade®)；卡非唑米(PX-171-007，(*S*)-4-甲基-*N*-((*S*)-1-(((S)-4-甲基-1-((*R*)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-1-側氧基戊-2-基)胺基)-1-側氧基-3-苯基丙-2-基)-2-((*S*)-2-(2-嗎啉基乙醯胺基)-4-苯基丁醯胺基)-戊醯胺)；馬瑞唑米(marizomib)(NPI-0052)；檸檬酸依薩唑米(ixazomib)(MLN-9708)；迪蘭唑米(delanzomib)(CEP-18770)；及*O*-甲基-*N*-[(2-甲基-5-噻唑基)羰基]-L-絲胺醯基-*O*-甲基-*N*-[(1*S*)-2-[(2*R*)-2-甲基-2-環氧乙烷基]-2-側氧基-1-(苯基甲基)乙基]-L-絲胺醯胺(ONX-0912)。

在實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與貝倫妥單抗組合投與個體。貝倫妥單抗為抗-CD30抗體與單甲基奧瑞他汀E之抗體-藥物結合物。在實施例中，個體患有霍奇金氏淋巴瘤(HL)，例如復發性或難治性HL。在實施例中，個體包含CD30+HL。在實施例中，個體已進行自體幹細胞移植(ASCT)。在實施例中，個體尚未進行ASCT。在實

施例中，貝倫妥單抗以約1-3 mg/kg (例如約1-1.5、1.5-2、2-2.5或2.5-3 mg/kg)之劑量，例如經靜脈內，例如每3週投與。

在實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與貝倫妥單抗及達卡巴嗪組合或與貝倫妥單抗及苯達莫司汀組合投與個體。達卡巴嗪為一種烷基化劑，化學名稱為5-(3,3-二甲基-1-三氮烯基)咪唑-4-甲醯胺。苯達莫司汀為一種烷基化劑，化學名稱為4-[5-[雙(2-氯乙基)胺基]-1-甲基苯并咪唑-2-基]丁酸。在實施例中，個體患有霍奇金氏淋巴瘤(HL)。在實施例中，個體先前未用癌症療法治療。在實施例中，個體至少60歲，例如60、65、70、75、80、85或更老。在實施例中，達卡巴嗪以約300-450 mg/m^2 (例如約300-325、325-350、350-375、375-400、400-425或425-450 mg/m^2)之劑量，例如經靜脈內投與。在實施例中，苯達莫司汀以約75-125 mg/m^2 (例如75-100或100-125 mg/m^2，例如約90 mg/m^2)之劑量，例如經靜脈內投與。在實施例中，貝倫妥單抗以約1-3 mg/kg (例如約1-1.5、1.5-2、2-2.5或2.5-3 mg/kg)之劑量，例如經靜脈內，例如每3週投與。

在一些實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與CD20抑制劑，例如抗-CD20抗體(例如抗-CD20單特異性抗體或雙特異性抗體)或其片段組合投與個體。例示性抗-CD20抗體包括(但不限於)利妥昔單抗、奧伐木單抗、奧克珠單抗、維托珠單抗、歐比托珠單抗、TRU-015 (Trubion Pharmaceuticals)、奧卡拉珠單抗(ocaratuzumab)及Pro131921 (Genentech)。參見例如Lim等人 Haematologica. 95.1(2010):135-43。

在一些實施例中，抗-CD20抗體包含利妥昔單抗。利妥昔單抗為結合於CD20且造成表現CD20之細胞進行細胞溶解的嵌合小鼠/人類單株抗體IgG1κ，例如如www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2010/103705s5311lbl.pdf中所述。在實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與利妥昔單抗組合

投與個體。在實施例中，個體患有CLL或SLL。

在一些實施例中，利妥昔單抗經靜脈內，例如呈靜脈內輸液形式投與。舉例而言，各輸液提供約500-2000 mg (例如約500-550、550-600、600-650、650-700、700-750、750-800、800-850、850-900、900-950、950-1000、1000-1100、1100-1200、1200-1300、1300-1400、1400-1500、1500-1600、1600-1700、1700-1800、1800-1900或1900-2000 mg)利妥昔單抗。在一些實施例中，利妥昔單抗以150 mg/m^2至750 mg/m^2，例如約150-175 mg/m^2、175-200 mg/m^2、200-225 mg/m^2、225-250 mg/m^2、250-300 mg/m^2、300-325 mg/m^2、325-350 mg/m^2、350-375 mg/m^2、375-400 mg/m^2、400-425 mg/m^2、425-450 mg/m^2、450-475 mg/m^2、475-500 mg/m^2、500-525 mg/m^2、525-550 mg/m^2、550-575 mg/m^2、575-600 mg/m^2、600-625 mg/m^2、625-650 mg/m^2、650-675 mg/m^2或675-700 mg/m^2之劑量投與，其中m^2指示個體之體表面積。在一些實施例中，利妥昔單抗以至少4天，例如4、7、14、21、28、35天或更多天之給藥時間間隔投與。舉例而言，利妥昔單抗以至少0.5週，例如0.5、1、2、3、4、5、6、7、8週或更多週之給藥時間間隔投與。在一些實施例中，利妥昔單抗以本文所述之劑量及給藥時間間隔投與一段時間，例如至少2週，例如至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20週或更多週。舉例而言，利妥昔單抗以本文所述之劑量及給藥時間間隔投與，每一治療循環總共至少4劑(例如每一治療週期至少4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16或更多劑)。

在一些實施例中，抗-CD20抗體包含奧伐木單抗。奧伐木單抗為分子量為約149 kDa之抗-CD20 IgG1κ人類單株抗體。舉例而言，使用轉殖基因小鼠及融合瘤技術產生奧伐木單抗，且自重組鼠類細胞株(NS0)表現及純化。參見例如

www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2009/125326lbl.pdf；臨床試驗標識號NCT01363128、NCT01515176、NCT01626352及NCT01397591。在實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與奧伐木單抗組合投與個體。在實施例中，個體患有CLL或SLL。

在一些實施例中，奧伐木單抗呈靜脈內輸液形式投與。舉例而言，各輸液提供約150-3000 mg (例如約150-200、200-250、250-300、300-350、350-400、400-450、450-500、500-550、550-600、600-650、650-700、700-750、750-800、800-850、850-900、900-950、950-1000、1000-1200、1200-1400、1400-1600、1600-1800、1800-2000、2000-2200、2200-2400、2400-2600、2600-2800或2800-3000 mg)奧伐木單抗。在實施例中，奧伐木單抗以約300 mg之起始劑量，接著2000 mg投與，例如約11劑，例如24週。在一些實施例中，奧伐木單抗以至少4天，例如4、7、14、21、28、35天或更多天之給藥時間間隔投與。舉例而言，奧伐木單抗以至少1週，例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、24、26、28、20、22、24、26、28、30週或更多週之給藥時間間隔投與。在一些實施例中，奧伐木單抗以本文所述之劑量及給藥時間間隔投與一段時間，例如至少1週，例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、22、24、26、28、30、40、50、60週或更多週，或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12個月或更多個月，或1、2、3、4、5年或更多年。舉例而言，奧伐木單抗以本文所述之劑量及給藥時間間隔投與，每一治療週期總共至少2劑(例如每一治療週期至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、18、20或更多劑)。

在一些情況下，抗-CD20抗體包含奧克珠單抗。奧克珠單抗為一種人類化抗-CD20單株抗體，例如如臨床試驗標識號NCT00077870、

NCT01412333、NCT00779220、NCT00673920、NCT01194570及Kappos等人Lancet. 19.378(2011):1779-87中所述。

在一些情況下，抗-CD20抗體包含維托珠單抗。維托珠單抗為一種針對CD20之人類化單株抗體。參見例如臨床試驗標識號NCT00547066、NCT00546793、NCT01101581及Goldenberg等人Leuk Lymphoma. 51(5)(2010):747-55。

在一些情況下，抗-CD20抗體包含GA101。GA101 (亦稱為歐比托珠單抗或RO5072759)為一種人類化及經糖基工程改造之抗-CD20單株抗體。參見例如Robak. Curr. Opin. Investig. Drugs. 10.6(2009):588-96；臨床試驗標識號：NCT01995669、NCT01889797、NCT02229422及NCT01414205；以及www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/125486s000lbl.pdf。

在一些情況下，抗-CD20抗體包含AME-133v。AME-133v (亦稱為LY2469298或奧卡拉珠單抗)為一種針對CD20之人類化IgG1單株抗體，與利妥昔單抗相比，其對FcγRIIIa受體之親和力增加且抗體依賴性細胞毒性(ADCC)活性增強。參見例如Robak等人 BioDrugs 25.1(2011):13-25；及Forero-Torres等人 Clin Cancer Res. 18.5(2012):1395-403。

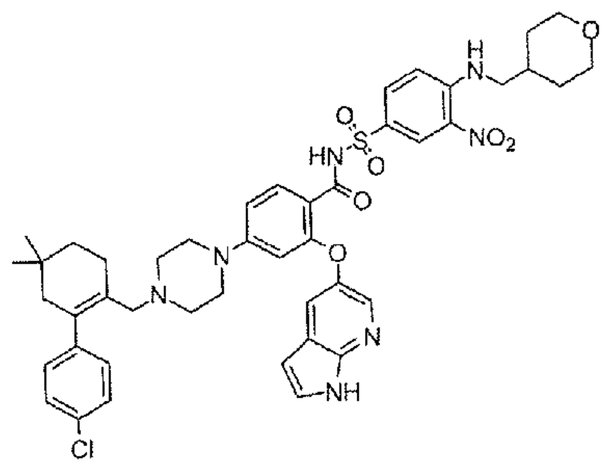
在一些情況下，抗-CD20抗體包含PRO131921。PRO131921為一種人類化抗-CD20單株抗體，其經工程改造以與利妥昔單抗相比，更好地結合於FcγRIIIa且ADCC增強。參見例如Robak等人 BioDrugs 25.1(2011):13-25；及Casulo等人 Clin Immunol. 154.1(2014):37-46；以及臨床試驗標識號NCT00452127。

在一些情況下，抗-CD20抗體包含TRU-015。TRU-015為一種來源於針對CD20之抗體的結構域之抗-CD20融合蛋白。雖然TRU-015小於單株抗體，但保留Fc介導之效應功能。參見例如Robak等人 BioDrugs 25.1(2011):13-25。TRU-015含有連接於人類IgG1鉸鏈、CH2

及CH3結構域，但缺乏CH1及CL結構域之抗-CD20單鏈可變片段(scFv)。

在一些實施例中，本文所述之抗-CD20抗體結合或以其他方式結合於治療劑，例如化學治療劑(例如賽特杉、氟達拉賓、組蛋白脫乙醯基酶抑制劑、去甲基化劑、肽疫苗、抗腫瘤抗生素、酪胺酸激酶抑制劑、烷基化劑、抗微管或抗有絲分裂劑、抗過敏劑、抗噁心劑(或抗嘔吐劑)、疼痛舒解劑或本文所述之細胞保護劑。

在實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與B細胞淋巴瘤2(BCL-2)抑制劑(例如維托拉斯(venetoclax)，亦稱為ABT-199或GDC-0199)及/或利妥昔單抗組合投與個體。在實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與維托拉斯及利妥昔單抗組合投與個體。維托拉斯為抑制抗細胞凋亡蛋白質BCL-2之小分子。以下展示維托拉斯之結構(4-(4-{[2-(4-氯苯基))-4,4-二甲基環己-1-烯-1-基]甲基}哌嗪-1-基)-*N*-({3-硝基-4-[(四氫-2*H*-哌喃-4-基甲基)胺基]苯基}磺醯基)-2-(1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-5-基氧基)苯甲醯胺)。



在實施例中，個體患有CLL。在實施例中，個體患有復發性CLL，例如個體先前已投與癌症療法。在實施例中，維托拉斯以約15-600 mg (例如15-20、20-50、50-75、75-100、100-200、200-300、300-400、400-500或500-600 mg)之劑量，例如每日投與。在實施例中，利妥昔單抗以約350-550 mg/m^2 (例如350-375、375-400、400-425、425-450、450-475或475-500 mg/m^2)之劑量，例如經靜脈內，例如每月投與。

在一些實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與溶瘤病毒組合投與。在實施例中，溶瘤病毒能夠在癌細胞中選擇性地複製且觸發癌細胞之死亡或減緩癌細胞之生長。在一些情況下，溶瘤病毒對非癌細胞無作用或作用最小。溶瘤病毒包括(但不限於)溶瘤腺病毒、溶瘤單純疱疹病毒、溶瘤反轉錄病毒、溶瘤小病毒、溶瘤牛痘病毒、溶瘤新必斯病毒(oncolytic Sinbis virus)、溶瘤流感病毒或溶瘤RNA病毒(例如溶瘤呼腸孤病毒、溶瘤新城疫病毒(NDV)、溶瘤麻疹病毒或溶瘤水泡性口炎病毒(VSV))。

在一些實施例中，溶瘤病毒為以全文引用之方式併入本文中之US2010/0178684 A1中所述之病毒，例如重組溶瘤病毒。在一些實施例中，重組溶瘤病毒包含編碼免疫或發炎反應之抑制劑的核酸序列(例如異源核酸序列)，例如如以全文引用之方式併入本文中之US2010/0178684 A1中所述。在實施例中，重組溶瘤病毒，例如溶瘤NDV，包含促細胞凋亡蛋白質(例如凋亡蛋白)、細胞因子(例如GM-CSF、干擾素-γ、介白素-2 (IL-2)、腫瘤壞死因子-α)、免疫球蛋白(例如針對ED-B纖維連接蛋白之抗體)、腫瘤相關抗原、雙特異性銜接蛋白質(例如針對NDV HN蛋白質及T細胞共同刺激受體(諸如CD3或CD28)之雙特異性抗體或抗體片段；或人類IL-2與針對NDV HN蛋白質之單鏈抗體之間的融合蛋白)。參見例如Zamarin等人 Future Microbiol. 7.3(2012):347-67，以全文引用的方式併入本文中。在一些實施例中，溶瘤病毒為各以全文引用的方式併入本文中之US 8591881 B2、US 2012/0122185 A1或US 2014/0271677 A1中所述之嵌合溶瘤NDV。

在一些實施例中，溶瘤病毒包含條件性複製腺病毒(CRAd)，其經設計以僅僅在癌細胞中複製。參見例如Alemany等人 Nature Biotechnol. 18(2000):723-27。在一些實施例中，溶瘤腺病毒包含以全

文引用之方式併入本文中的Alemany等人第725頁上表1中所述者。

例示性溶瘤病毒包括(但不限於)以下：

B組溶瘤腺病毒(ColoAd1) (PsiOxus Therapeutics Ltd.) (參見例如臨床試驗標識號：NCT02053220)；

ONCOS-102 (先前稱為CGTG-102)，其為包含粒細胞-巨噬細胞群落刺激因子(GM-CSF)之腺病毒(Oncos Therapeutics) (參見例如臨床試驗標識號：NCT01598129)；

VCN-01，其為編碼人類PH20玻尿酸酶之經遺傳修飾之溶瘤人類腺病毒(VCN Biosciences, S.L.) (參見例如臨床試驗標識號：NCT02045602及NCT02045589)；

條件性複製腺病毒ICOVIR-5，其為來源於野生型人類腺病毒血清型5 (Had5)之病毒，其經修飾以選擇性地在具有失調視網膜母細胞瘤/E2F路徑之癌細胞中複製(Institut Català d'Oncologia) (參見例如臨床試驗標識號：NCT01864759)；

塞利維爾(Celyvir)，其包含感染ICOVIR5 (一種溶瘤腺病毒)之骨髓衍生之自體間質幹細胞(MSC)(Hospital Infantil Universitario Niño Jesús, Madrid, Spain/Ramon Alemany) (參見例如臨床試驗標識號：NCT01844661)；

CG0070，其為條件性複製溶瘤血清型5腺病毒(Ad5)，其中人類E2F-1啟動子驅動基本E1a病毒基因之表現，由此將病毒複製及細胞毒性限制於Rb路徑缺乏之腫瘤細胞(Cold Genesys, Inc.) (參見例如臨床試驗標識號：NCT02143804)；或

DNX-2401 (前稱為δ-24-RGD)，其為已經工程改造以選擇性地在視網膜母細胞瘤(Rb)路徑缺乏之細胞中複製且更有效地感染表現某些RGD結合整合素之細胞的腺病毒(Clinica Universidad de Navarra, Universidad de Navarra/DNAtrix, Inc.) (參見例如臨床試驗標識號：

NCT01956734)。

在一些實施例中，本文所述之溶瘤病毒藉由注射，例如皮下、動脈內、靜脈內、肌肉內、鞘內或腹膜內注射投與。在實施例中，本文所述之溶瘤病毒經瘤內、經皮、經黏膜、經口、鼻內或經由肺部投與來投與。

在一個實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與減少Treg細胞群體之分子組合投與個體。減少(例如耗盡) Treg細胞數目之方法為此項技術中已知且包括例如CD25耗盡、環磷醯胺投與、調節GITR功能。不希望受理論束縛，咸信在清除術前或在投與本文所述之表現CAR之細胞前減少個體中Treg細胞之數目減少腫瘤微環境中不必要免疫細胞(例如Treg)之數目且降低個體復發風險。

在一個實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與靶向GITR及/或調節GITR功能之分子(諸如GITR促效劑及/或耗盡調控T細胞(Treg)之GITR抗體)組合投與個體。在實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與環磷醯胺組合投與個體。在一個實施例中，在投與表現CAR之細胞之前投與GITR結合分子及/或調節GITR功能之分子(例如GITR促效劑及/或耗盡Treg之GITR抗體)。舉例而言，在一個實施例中，GITR促效劑可在細胞清除術之前投與。在實施例中，環磷醯胺在投與(例如輸液或再輸液)表現CAR之細胞前或在細胞清除術前投與個體。在實施例中，環磷醯胺及抗-GITR抗體在投與(例如輸液或再輸液)表現CAR之細胞前或在細胞清除術前投與個體。在一個實施例中，個體患有癌症(例如實體癌症或血液癌，諸如ALL或CLL)。在一個實施例中，個體患有CLL。在實施例中，個體患有ALL。在實施例中，個體患有實體癌症，例如本文所述之實體癌症。例示性GITR促效劑包括例如GITR融合蛋白及抗GITR抗體(例如二價抗GITR抗體)，諸如美國專利第6,111,090號、歐洲專利第090505B1號、美國專利第8,586,023號、

PCT公開案第WO 2010/003118號及第WO 2011/090754號中所描述之GITR融合蛋白，或例如美國專利第7,025,962號、歐洲專利第1947183B1號、美國專利第7,812,135號、美國專利第8,388,967號、美國專利第8,591,886號、歐洲專利第EP 1866339號、PCT公開案第WO 2011/028683號、PCT公開案第WO 2013/039954號、PCT公開案第WO2005/007190號、PCT公開案第WO 2007/133822號、PCT公開案第WO2005/055808號、PCT公開案第WO 99/40196號、PCT公開案第WO 2001/03720號、PCT公開案第WO99/20758號、PCT公開案第WO2006/083289號、PCT公開案第WO 2005/115451號、美國專利第7,618,632號及PCT公開案第WO 2011/051726號中所述之抗GITR抗體。

在一個實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與mTOR抑制劑(例如本文所述之mTOR抑制劑，例如雷帕羅吉，諸如依維莫司)組合投與個體。在一個實施例中，mTOR抑制劑在表現CAR之細胞之前投與。舉例而言，在一個實施例中，mTOR抑制劑可在細胞清除術之前投與。

在一個實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與GITR促效劑(例如本文所述之GITR促效劑)組合投與個體。在一個實施例中，GITR促效劑在表現CAR之細胞之前投與。舉例而言，在一個實施例中，GITR促效劑可在細胞清除術之前投與。

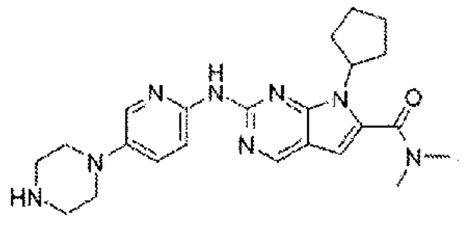
在一個實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與蛋白質酪胺酸磷酸酶抑制劑(例如本文所述之蛋白質酪胺酸磷酸酶抑制劑)組合投與個體。在一個實施例中，蛋白質酪胺酸磷酸酶抑制劑為SHP-1抑制劑，例如本文所述之SHP-1抑制劑，諸如葡萄糖酸銻鈉。在一個實施例中，蛋白質酪胺酸磷酸酶抑制劑為SHP-2抑制劑，例如本文所述之SHP-2抑制劑。

在一個實施例中，本文所述之表現CAR之細胞可與激酶抑制劑組合使用。在一個實施例中，激酶抑制劑為CDK4抑制劑，例如本文所述之CDK4抑制劑，例如CDK4/6抑制劑，諸如6-乙醯基-8-環戊基-5-甲基-2-(5-哌嗪基-1-基-吡啶-2-基胺基)-8*H*-吡啶并[2,3-*d*]嘧啶-7-酮鹽酸鹽(亦稱作帕博西里(palbociclib)或PD0332991)。在一個實施例中，激酶抑制劑為BTK抑制劑，例如本文所述之BTK抑制劑，諸如依魯替尼(ibrutinib)。在一個實施例中，激酶抑制劑為mTOR抑制劑，例如本文所述之mTOR抑制劑，諸如雷帕黴素、雷帕黴素類似物、OSI-027。mTOR抑制劑可為例如mTORC1抑制劑及/或mTORC2抑制劑，例如本文所述之mTORC1抑制劑及/或mTORC2抑制劑。在一個實施例中，激酶抑制劑為MNK抑制劑，例如本文所述之MNK抑制劑，諸如4-胺基-5-(4-氟苯胺基)-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶。MNK抑制劑可為例如MNK1a、MNK1b、MNK2a及/或MNK2b抑制劑。在一個實施例中，激酶抑制劑為本文所述之雙重PI3K/mTOR抑制劑，諸如PF-04695102。在一個實施例中，激酶抑制劑為DGK抑制劑，例如本文所述之DGK抑制劑，諸如DGKinh1 (D5919)或DGKinh2 (D5794)。在一個實施例中，激酶抑制劑為選自以下之CDK4抑制劑：阿洛新A (aloisine A)；夫拉平度(flavopiridol)或HMR-1275、2-(2-氯苯基)-5,7-二羥基-8-[(3S,4R)-3-羥基-1-甲基-4-哌啶基]-4-色酮；克卓替尼(crizotinib) (PF-02341066；2-(2-氯苯基)-5,7-二羥基-8-[(2R,3S)-2-(羥基甲基)-1-甲基-3-吡咯啶基]-4*H*-1-苯并哌喃-4-酮鹽酸鹽(P276-00)；1-甲基-5-[[2-[5-(三氟甲基)-1*H*-咪唑-2-基]-4-吡啶基]氧基]-*N*-[4-(三氟甲基)苯基]-1*H*-苯并咪唑-2-胺(RAF265)；依地蘇蘭(indisulam)(E7070)；羅斯維汀(roscovitine) (CYC202)；帕博西里(palbociclib) (PD0332991)；戴那西里(dinaciclib) (SCH727965)；N-[5-[[(5-第三丁基噁唑-2-基)甲基]硫基]噻唑-2-基]哌啶-4-甲醯胺(BMS 387032)；4-[[9-氯-7-(2,6-二氟苯基)-5*H*-嘧啶并[5,4-

d][2]苯并氮呼-2-基]胺基]-苯甲酸(MLN8054)；5-[3-(4,6-二氟-1H-苯并咪唑-2-基)-1H-吲唑-5-基]-N-乙基-4-甲基-3-吡啶甲胺(AG-024322)；4-(2,6-二氯苯甲醯胺基)-1H-吡唑-3-甲酸N-(哌啶-4-基)醯胺(AT7519)；4-[2-甲基-1-(1-甲基乙基)-1*H*-咪唑-5-基]-*N*-[4-(甲基磺醯基)苯基]-2-嘧啶胺(AZD5438)；及XL281 (BMS908662)。

在一個實施例中，激酶抑制劑為CDK4抑制劑，例如帕博西里(PD0332991)，且帕博西里係以每日約50 mg、60 mg、70 mg、75 mg、80 mg、90 mg、100 mg、105 mg、110 mg、115 mg、120 mg、125 mg、130 mg、135 mg (例如75 mg、100 mg或125 mg)之劑量投與一段時間，例如每日以上述劑量持續28天週期中之14天至21天或每日以上述劑量持續21天週期中之7天至12天。在一個實施例中，投與1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12個或更多個週期的帕博西里。

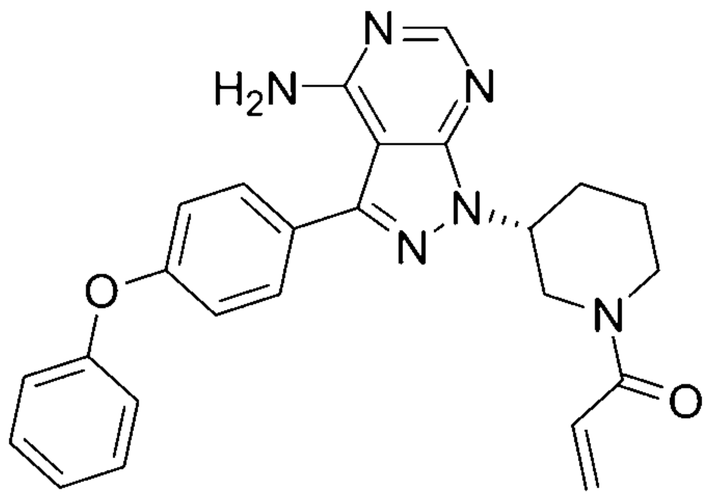
在實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與週期素依賴性激酶(CDK) 4或6抑制劑，例如本文所述之CDK4抑制劑或CDK6抑制劑組合投與個體。在實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與CDK4/6抑制劑(例如靶向CDK4與CDK6之抑制劑)，例如本文所述之CDK4/6抑制劑組合投與個體。在一個實施例中，個體患有MCL。MCL為對當前可用之療法反應差的侵襲性癌症，亦即基本上不可治癒。在MCL之多數情況下，週期素D1 (CDK4/6之調控因子)在MCL細胞中表現(例如歸因於涉及免疫球蛋白及週期素D1基因之染色體易位)。因此，不受理論束縛，認為MCL細胞以高度特異性對CDK4/6抑制高度敏感(亦即對正常免疫細胞之作用最小)。單獨CDK4/6抑制劑對治療MCL具有一些功效，但僅僅實現部分緩解且具有高復發率。一種例示性CDK4/6抑制劑為LEE011(亦稱為瑞博斯利(ribociclib))，其結構展示於下文。



不受理論束縛，咸信本文所述之表現CAR之細胞與CDK4/6抑制劑(例如LEE011或本文所述之其他CDK4/6抑制劑)一起投與可實現更高反應，例如與單獨CDK4/6抑制劑相比，例如緩解率更高及/或復發率更低。

在一個實施例中，激酶抑制劑為選自以下之BTK抑制劑：依魯替尼(PCI-32765)；GDC-0834；RN-486；CGI-560；CGI-1764；HM-71224；CC-292；ONO-4059；CNX-774；及LFM-A13。在一較佳實施例中，BTK抑制劑不降低或抑制介白素-2-誘導型激酶(ITK)之激酶活性，且係選自GDC-0834；RN-486；CGI-560；CGI-1764；HM-71224；CC-292；ONO-4059；CNX-774；及LFM-A13。

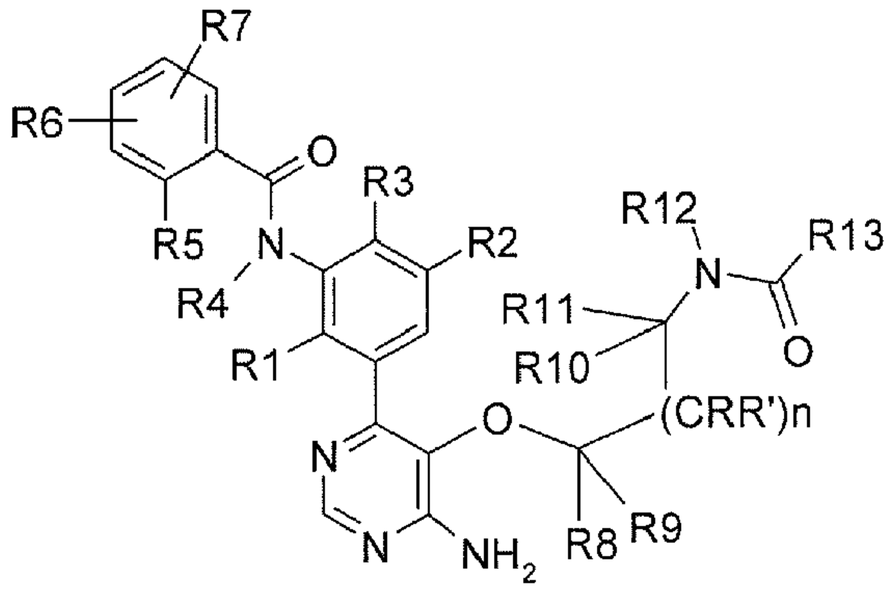
在一個實施例中，激酶抑制劑為BTK抑制劑，例如依魯替尼(PCI-32765)。在實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與Btk抑制劑(例如依魯替尼)組合投與個體。在實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與依魯替尼(亦稱為PCI-32765)組合投與個體。依魯替尼之結構(1-[(3*R*)-3-[4-胺基-3-(4-苯氧基苯基)-1*H*-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基]哌啶-1-基]丙-2-烯-1-酮)展示於下文中。



在實施例中，個體患有CLL、套細胞淋巴瘤(MCL)或小淋巴球性淋巴瘤(SLL)。舉例而言，個體在染色體17之短臂中具有缺失(del(17p)，例如白血病細胞中)。在其他實例中，個體不具有del(17p)。在實施例中，個體患有復發性CLL或SLL。例如個體先前已投與癌症療法(例如先前投與一種、兩種、三種或四種先前癌症療

法)。在實施例中，個體患有難治性CLL或SLL。在其他實施例中，個體患有濾泡性淋巴瘤，例如復發性或難治性濾泡性淋巴瘤。在一些實施例中，依魯替尼以約300-600毫克/天(例如約300-350、350-400、400-450、450-500、500-550或550-600毫克/天，例如約420毫克/天或約560毫克/天)之劑量，例如經口投與。在實施例中，依魯替尼以每日約250 mg、300 mg、350 mg、400 mg、420 mg、440 mg、460 mg、480 mg、500 mg、520 mg、540 mg、560 mg、580 mg、600 mg (例如250 mg、420 mg或560 mg)之劑量投與一段時間，例如每日以上述劑量持續21天的週期或每日以上述劑量持續28天的週期。在一個實施例中，投與1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12個或更多個週期的依魯替尼。在一些實施例中，依魯替尼與利妥昔單抗組合投與。參見例如Burger等人(2013) Ibrutinib In Combination With Rituximab (iR) Is Well Tolerated and Induces a High Rate Of Durable Remissions In Patients With High-Risk Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL): New, Updated Results Of a Phase II Trial In 40 Patients, Abstract 675 presented at 55th ASH Annual Meeting and Exposition, New Orleans, LA 7-10 Dec。不受理論束縛，認為添加依魯替尼增強T細胞增生性反應且可將T細胞自T輔助-2 (Th2)變成T輔助-1 (Th1)表現型。Th1及Th2為輔助T細胞之表現型，其中Th1對比Th2，引導不同免疫反應路徑。Th1表現型與促炎性反應相關，例如以殺死細胞，諸如細胞內病原體/病毒或癌細胞，或使自身免疫反應永存。Th2表現型與嗜伊紅血球累積及消炎反應相關。

在本文中之方法、用途及組合物之一些實施例中，BTK抑制劑為國際申請案WO/2015/079417中所述之BTK抑制劑，其以全文引用的方式併入本文中。舉例而言，在一些實施例中，BTK抑制劑為式(I)化合物或其醫藥學上可接受之鹽；



(I)

其中，

R1為氫、視情況經羥基取代之C1-C6烷基；

R2為氫或鹵素；

R3為氫或鹵素；

R4為氫；

R5為氫或鹵素；

或R4及R5彼此附接且表示一鍵、-CH2-、-CH2-CH2-、-CH=CH-、-CH=CH-CH2-；-CH2-CH=CH-；或-CH2-CH2-CH2-；

R6及R7彼此獨立地表示H、視情況經羥基取代之C1-C6烷基、視情況經鹵素或羥基取代之C3-C6環烷基或鹵素；

R8、R9、R、R'、R10及R11彼此獨立地表示H或視情況經C1-C6烷氧基取代之C1-C6烷基；或R8、R9、R、R'、R10及R11中之任兩者連同其結合之碳原子一起可形成3-6員飽和碳環；

R12為氫或視情況經鹵素或C1-C6烷氧基取代之C1-C6烷基；

或R12與R8、R9、R、R'、R10或R11中之任一者連同其結合之原子一起可形成4、5、6或7員氮雜環，該環可視情況經鹵素、氰基、羥基、C1-C6烷基或C1-C6烷氧基取代；

n為0或1；且

R13為視情況經C1-C6烷基、C1-C6烷氧基或N,N-二-C1-C6烷基胺基取代之C2-C6烯基；視情況經C1-C6烷基或C1-C6烷氧基取代之C2-

C6炔基；或視情況經C1-C6烷基取代之C2-C6伸烷基氧化物。

在一些實施例中，式I之BTK抑制劑係選自：N-(3-(5-((1-丙烯醯基氮雜環丁烷-3-基)氧基)-6-胺基嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；(E)-N-(3-(6-胺基-5-((1-(丁-2-烯醯基)氮雜環丁烷-3-基)氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；N-(3-(6-胺基-5-((1-丙炔醯基氮雜環丁烷-3-基)氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；N-(3-(6-胺基-5-((1-(丁-2-炔醯基)氮雜環丁烷-3-基)氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；N-(3-(5-((1-丙烯醯基哌啶-4-基)氧基)-6-胺基嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；N-(3-(6-胺基-5-(2-(N-甲基丙烯醯胺基)乙氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；(E)-N-(3-(6-胺基-5-(2-(N-甲基丁-2-烯醯胺基)乙氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；N-(3-(6-胺基-5-(2-(N-甲基丙炔醯胺基)乙氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；(E)-N-(3-(6-胺基-5-(2-(4-甲氧基-N-甲基丁-2-烯醯胺基)乙氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；N-(3-(6-胺基-5-(2-(N-甲基丁-2-炔醯胺基)乙氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；N-(2-((4-胺基-6-(3-(4-環丙基-2-氟苯甲醯胺基)-5-氟-2-甲基苯基)嘧啶-5-基)氧基)乙基)-N-甲基環氧乙烷-2-甲醯胺；N-(2-((4-胺基-6-(3-(6-環丙基-8-氟-1-側氧基異喹啉-2(1H)-基)苯基)嘧啶-5-基)氧基)乙基)-N-甲基丙烯醯胺；N-(3-(5-(2-丙烯醯胺基乙氧基)-6-胺基嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；N-(3-(6-胺基-5-(2-(N-乙基丙烯醯胺)乙氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；N-(3-(6-胺基-5-(2-(N-(2-氟乙基)丙烯醯胺)乙氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；N-(3-(5-((1-丙烯醯胺環丙基)甲氧基)-6-胺基嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環

丙基-2-氟苯甲醯胺；(S)-N-(3-(5-(2-丙烯醯胺丙氧基)-6-胺基嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；(S)-N-(3-(6-胺基-5-(2-(丁-2-炔醯胺基)丙氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；(S)-N-(3-(6-胺基-5-(2-(N-甲基丙烯醯胺)丙氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；(S)-N-(3-(6-胺基-5-(2-(N-甲基丁-2-炔醯胺基)丙氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；N-(3-(6-胺基-5-(3-(N-甲基丙烯醯胺)丙氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；(S)-N-(3-(5-((1-丙烯醯基吡咯啶-2-基)甲氧基)-6-胺基嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；(S)-N-(3-(6-胺基-5-((1-(丁-2-炔醯基)吡咯啶-2-基)甲氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；(S)-2-(3-(5-((1-丙烯醯基吡咯啶-2-基)甲氧基)-6-胺基嘧啶-4-基)-5-氟-2-(羥基甲基)苯基)-6-環丙基-3,4-二氫異喹啉-1(2H)-酮；N-(2-((4-胺基-6-(3-(6-環丙基-1-側氧基-3,4-二氫異喹啉-2(1H)-基)-5-氟-2-(羥基甲基)苯基)嘧啶-5-基)氧基)乙基)-N-甲基丙烯醯胺；N-(3-(5-(((2S,4R)-1-丙烯醯基-4-甲氧基吡咯啶-2-基)甲氧基)-6-胺基嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；N-(3-(6-胺基-5-(((2S,4R)-1-(丁-2-炔醯基)-4-甲氧基吡咯啶-2-基)甲氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；2-(3-(5-(((2S,4R)-1-丙烯醯基-4-甲氧基吡咯啶-2-基)甲氧基)-6-胺基嘧啶-4-基)-5-氟-2-(羥基甲基)苯基)-6-環丙基-3,4-二氫異喹啉-1(2H)-酮；N-(3-(5-(((2S,4S)-1-丙烯醯基-4-甲氧基吡咯啶-2-基)甲氧基)-6-胺基嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；N-(3-(6-胺基-5-(((2S,4S)-1-(丁-2-炔醯基)-4-甲氧基吡咯啶-2-基)甲氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；N-(3-(5-(((2S,4R)-1-丙烯醯基-4-氟吡咯啶-2-基)甲氧基)-6-胺基嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；N-(3-(6-胺基-5-(((2S,4R)-

1-(丁-2-炔醯基)-4-氟吡咯啶-2-基)甲氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；(S)-N-(3-(5-((1-丙烯醯基氮雜環丁烷-2-基)甲氧基)-6-胺基嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；(S)-N-(3-(6-胺基-5-((1-丙炔醯基氮雜環丁烷-2-基)甲氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；(S)-2-(3-(5-((1-丙烯醯基氮雜環丁烷-2-基)甲氧基)-6-胺基嘧啶-4-基)-5-氟-2-(羥基甲基)苯基)-6-環丙基-3,4-二氫異喹啉-1(2H)-酮；(R)-N-(3-(5-((1-丙烯醯基氮雜環丁烷-2-基)甲氧基)-6-胺基嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；(R)-N-(3-(5-((1-丙烯醯基哌啶-3-基)甲氧基)-6-胺基嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；N-(3-(5-(((2R,3S)-1-丙烯醯基-3-甲氧基吡咯啶-2-基)甲氧基)-6-胺基嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；N-(3-(5-(((2S,4R)-1-丙烯醯基-4-氰基吡咯啶-2-基)甲氧基)-6-胺基嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺；或N-(3-(5-(((2S,4S)-1-丙烯醯基-4-氰基吡咯啶-2-基)甲氧基)-6-胺基嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-環丙基-2-氟苯甲醯胺。

除非以其他方式提供，否則以上用於描述式I之BTK抑制劑的化學術語根據如國際申請案WO/2015/079417 (其以全文引用的方式併入本文中)中陳述之其含義使用。

在一個實施例中，激酶抑制劑為選自以下之mTOR抑制劑：坦羅莫司；地磷莫司，二甲基亞膦酸(1*R*,2*R*,4*S*)-4-[(2*R*)-2[(1*R*,9*S*,12*S*,15*R*,16*E*,18*R*,19*R*,21*R*,23*S*,24*E*,26*E*,28*Z*,30*S*,32*S*,35*R*)-1,18-二羥基-19,30-二甲氧基-15,17,21,23,29,35-六甲基-2,3,10,14,20-五側氧基-11,36-二氧雜-4-氮雜三環[30.3.1.$0^{4,9}$]六(三十烷)-16,24,26,28-四烯-12-基]丙基]-2-甲氧基環己基酯，亦稱為AP23573及MK8669；依維莫司(RAD001)；雷帕黴素(AY22989)；司馬匹莫德；(5-{2,4-雙[(3S)-3-

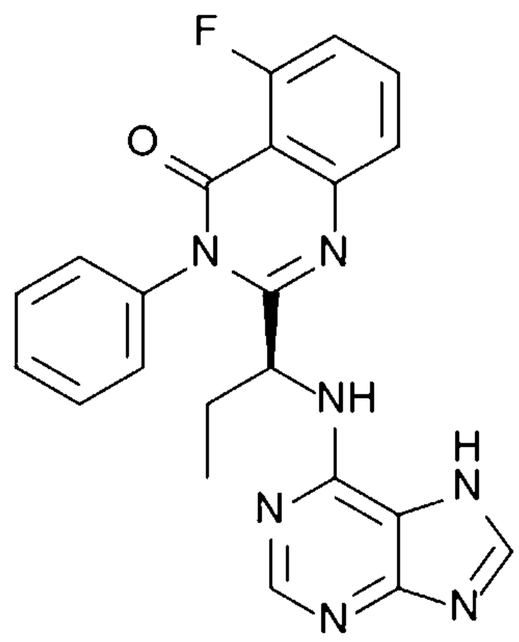
甲基嗎啉-4-基]吡啶并[2,3-*d*]嘧啶-7-基}-2-甲氧基苯基)甲醇(AZD8055)；2-胺基-8-[反-4-(2-羥基乙氧基)環己基]-6-(6-甲氧基-3-吡啶基)-4-甲基-吡啶并[2,3-d]嘧啶-7(8*H*)-酮(PF04691502)；及N^2-[1,4-二側氧基-4-[[4-(4-側氧基-8-苯基-4*H*-1-苯并哌喃-2-基)嗎啉鎓-4-基]甲氧基]丁基]-L-精胺醯基甘胺醯基-L-α-天冬胺醯基L-絲胺酸-(SEQ ID NO: 313)，內鹽(SF1126)；及XL765。

在一個實施例中，激酶抑制劑為mTOR抑制劑，例如雷帕黴素，且雷帕黴素以每日約3 mg、4 mg、5 mg、6 mg、7 mg、8 mg、9 mg、10 mg (例如6 mg)之劑量投與一段時間，例如每日以上述劑量持續21天的週期或每日以上述劑量持續28天的週期。在一個實施例中，投與1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12個或更多個週期的雷帕黴素。在一個實施例中，激酶抑制劑為mTOR抑制劑，例如依維莫司，且依維莫司以每日約2 mg、2.5 mg、3 mg、4 mg、5 mg、6 mg、7 mg、8 mg、9 mg、10 mg、11 mg、12 mg、13 mg、14 mg、15 mg (例如10 mg)之劑量投與一段時間，例如每日以上述劑量持續28天的週期。在一個實施例中，投與1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12個或更多個週期的依維莫司。

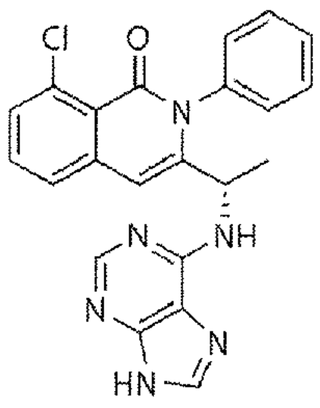
在一個實施例中，激酶抑制劑為選自以下之MNK抑制劑：CGP052088；4-胺基-3-(對氟苯胺基)-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶(CGP57380)；尾孢醯胺(cercosporamide)；ETC-1780445-2；及4-胺基-5-(4-氟苯胺基)-吡唑并[3,4-d]嘧啶。

在實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與磷酸肌醇3-激酶(PI3K)抑制劑(例如本文所述之PI3K抑制劑，例如艾德斯布(idelalisib)或杜維力絲(duvelisib))及/或利妥昔單抗組合投與個體。在實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與艾德斯布及利妥昔單抗組合投與個體。在實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與杜維力絲及利妥昔單

抗組合投與個體。艾德斯布(亦稱為GS-1101或CAL-101；Gilead)為阻斷PI3K之δ同功異型物之小分子。艾德斯布之結構(5-氟-3-苯基-2-[(1S)-1-(7*H*-嘌呤-6-基胺基)丙基]-4(3*H*)-喹唑啉酮)展示於下文中。



杜維力絲(亦稱為IPI-145；Infinity Pharmaceuticals and Abbvie)為阻斷PI3K-δ,γ之小分子。杜維力絲之結構(8-氯-2-苯基-3-[(1S)-1-(9H-嘌呤-6-基胺基)乙基]-1(2H)-異喹啉酮)展示於下文中。



在實施例中，個體患有CLL。在實施例中，個體患有復發性CLL，例如個體先前已投與癌症療法(例如先前投與抗-CD20抗體或先前投與依魯替尼)。舉例而言，個體在染色體17之短臂中具有缺失(del(17p)，例如白血病細胞中)。在其他實例中，個體不具有del(17p)。在實施例中，個體包含在免疫球蛋白重鏈可變區(IgV_H)基因中包含突變之白血病細胞。在其他實施例中，個體不包含在免疫球蛋白重鏈可變區(IgV_H)基因中包含突變之白血病細胞。在實施例中，個體在染色體11之長臂中具有缺失(del(11q))。在其他實例中，個體不具有del(11q)。在實施例中，艾德斯布以約100-400 mg (例如100-125、125-150、150-175、175-200、200-225、225-250、250-275、275-

300、325-350、350-375或375-400)之劑量，例如BID投與。在實施例中，杜維力絲以約15-100 mg (例如約15-25、25-50、50-75或75-100 mg)之劑量，例如一日兩次投與。在實施例中，利妥昔單抗以約350-550 mg/m^2 (例如350-375、375-400、400-425、425-450、450-475或475-500 mg/m^2)之劑量，例如經靜脈內投與。

在一個實施例中，激酶抑制劑為選自以下之雙重磷脂醯肌醇3-激酶(PI3K)及mTOR抑制劑：2-胺基-8-[反-4-(2-羥基乙氧基)環己基]-6-(6-甲氧基-3-吡啶基)-4-甲基-吡啶并[2,3-*d*]嘧啶-7(8*H*)-酮(PF-04691502)；*N*-[4-[[4-(二甲基胺基)-1-哌啶基]羰基]苯基]-*N*'-[4-(4,6-二-4-嗎啉基-1,3,5-三嗪-2-基)苯基]脲(PF-05212384，PKI-587)；2-甲基-2-{4-[3-甲基-2-側氧基-8-(喹啉-3-基)-2,3-二氫-1*H*-咪唑并[4,5-c]喹啉-1-基]苯基}丙腈(BEZ-235)；阿匹托里斯(apitolisib) (GDC-0980、RG7422)；2,4-二氟-N-{2-(甲基氧基)-5-[4-(4-噠嗪基)-6-喹啉基]-3-吡啶基}苯磺醯胺(GSK2126458)；8-(6-甲氧基吡啶-3-基)-3-甲基-1-(4-(哌嗪-1-基)-3-(三氟甲基)苯基)-1H-咪唑并[4,5-c]喹啉-2(3H)-酮順丁烯二酸(NVP-BGT226)；3-[4-(4-嗎啉基吡啶并[3',2':4,5]呋喃并[3,2-d]嘧啶-2-基]苯酚(PI-103)；5-(9-異丙基-8-甲基-2-(N-嗎啉基)-9H-嘌呤-6-基)嘧啶-2-胺(VS-5584、SB2343)；及N-[2-[(3,5-二甲氧基苯基)胺基]喹喏啉-3-基]-4-[(4-甲基-3-甲氧基苯基)羰基]胺基苯基磺醯胺(XL765)。

在實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與多形性淋巴瘤激酶(ALK)抑制劑組合投與個體。例示性ALK激酶包括(但不限於)克卓替尼(Pfizer)、色瑞替尼(Novartis)、艾樂替尼(alectinib)(Chugai)、布加替尼(brigatinib)(亦稱為AP26113；Ariad)、恩曲替尼(entrectinib)(Ignyta)、PF-06463922 (Pfizer)、TSR-011(Tesaro)(參見例如臨床試驗標識號NCT02048488)、CEP-37440 (Teva)及X-396

(Xcovery)。在一些實施例中，個體患有實體癌症，例如本文所述之實體癌症，例如肺癌。

克卓替尼之化學名稱為3-[(1*R*)-1-(2,6-二氯-3-氟苯基)乙氧基]-5-(1-哌啶-4-基吡唑-4-基)吡啶-2-胺。色瑞替尼之化學名稱為5-氯-N^2-[2-異丙氧基-5-甲基-4-(4-哌啶yl)苯基]-N^4-[2-(異丙基磺醯基)苯基]-2,4-嘧啶二胺。艾樂替尼之化學名稱為9-乙基-6,6-二甲基-8-(4-嗎啉基哌啶-1-基)-11-側氧基-6,11-二氫-5H-苯并[b]咔唑-3-甲腈。布加替尼之化學名稱為5-氯-N^2-{4-[4-(二甲基胺基)-1-哌啶基]-2-甲氧基苯基}-N^4-[2-(二甲基磷醯基)苯基]-2,4-嘧啶二胺。恩曲替尼之化學名稱為N-(5-(3,5-二氟苯甲基)-1H-吲唑-3-基)-4-(4-甲基哌嗪-1-基)-2-((四氫-2H-哌喃-4-基)胺基)苯甲醯胺。PF-06463922之化學名稱為(10R)-7-胺基-12-氟-2,10,16-三甲基-15-側氧基-10,15,16,17-四氫-2H-8,4-(亞甲橋)吡唑并[4,3-h][2,5,11]-苯并氧雜二氮雜環十四烷-3-甲腈。CEP-37440之化學名稱為(S)-2-((5-氯-2-((6-(4-(2-羥基乙基)哌嗪-1-基)-1-甲氧基-6,7,8,9-四氫-5H-苯并[7]輪烯-2-基)胺基)嘧啶-4-基)胺基)-N-甲基苯甲醯胺。X-396之化學名稱為(R)-6-胺基-5-(1-(2,6-二氯-3-氟苯基)乙氧基)-N-(4-(4-甲基哌嗪-1-羰基)苯基)噠嗪-3-甲醯胺。

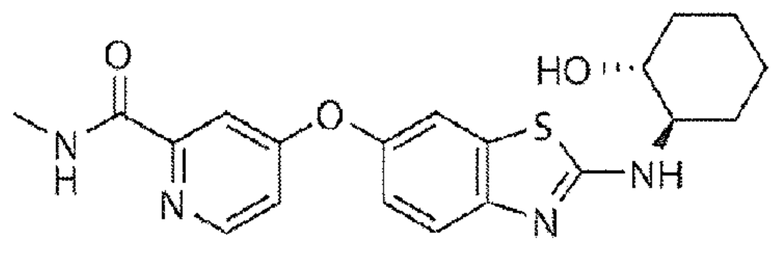
亦可使用抑制鈣依賴性磷酸酶鈣調神經磷酸酶(環孢靈及FK506)或抑制對生長因子誘導之信號傳導重要之p70S6激酶(雷帕黴素)之藥物(Liu等人，Cell 66:807-815, 1991；Henderson等人，Immun. 73:316-321, 1991；Bierer等人，Curr. Opin. Immun. 5:763-773, 1993)。在另一態樣中，本發明之細胞組合物可與以下結合投與患者(例如之前、同時或之後)：骨髓移植、使用諸如氟達拉濱之化學治療劑的T細胞消融療法、外光束放射療法(XRT)、環磷醯胺及/或諸如OKT3或CAMPATH之抗體。在一個態樣中，本發明之細胞組合物在B細胞消融療法(諸如與CD20反應之藥劑，例如美羅華(Rituxan))之後投與。舉例而言，在

一個實施例中，個體可進行使用高劑量化學療法，隨後外周血液幹細胞移植的標準治療。在某些實施例中，在移植後，個體接受本發明之擴增免疫細胞輸液。在另一實施例中，在手術之前或之後投與擴增之細胞。

在實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與吲哚胺2,3-二加氧酶(IDO)抑制劑組合投與個體。IDO為一種催化胺基酸L-色胺酸降解為犬尿胺酸之酶。許多癌症過度表現IDO，例如前列腺癌、結腸直腸癌、胰臟癌、子宮頸癌、胃癌、卵巢癌、頭部癌及肺癌。pDC、巨噬細胞及樹突狀細胞(DC)可表現IDO。不受理論束縛，認為L-色胺酸減少(例如由IDO催化)藉由誘發T細胞失能及細胞凋亡而引起免疫抑制環境。因此，不受理論束縛，認為IDO抑制劑可例如藉由減少表現CAR之免疫細胞的遏制或死亡，來增強本文所述之表現CAR之細胞之功效。在實施例中，個體患有實體腫瘤，例如本文所述之實體腫瘤，例如前列腺癌、結腸直腸癌、胰臟癌、子宮頸癌、胃癌、卵巢癌、頭部癌或肺癌。例示性IDO抑制劑包括(但不限於) 1-甲基-色胺酸、吲哚莫德 (indoximod) (NewLink Genetics) (參見例如臨床試驗標識號NCT01191216；NCT01792050)及INCB024360 (Incyte Corp.) (參見例如臨床試驗標識號NCT01604889；NCT01685255)。

在實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與骨髓衍生抑制細胞(MDSC)之調節劑組合投與個體。MDSC積聚在外周及許多實體腫瘤之腫瘤部位。此等細胞抑制T細胞反應，由此阻礙表現CAR之細胞療法之功效。不受理論束縛，認為投與MDSC調節劑增強本文所述之表現CAR之細胞之功效。在一個實施例中，個體患有實體腫瘤，例如本文所述之實體腫瘤，例如神經膠母細胞瘤。例示性MDSC調節劑包括(但不限於) MCS110及BLZ945。MCS110為針對巨噬細胞群落刺激因子 (M-CSF) 之單株抗體 (mAb)。參見例如臨床試驗標識號

NCT00757757。BLZ945為群落刺激因子1受體(CSF1R)之小分子抑制劑。參見例如Pyonteck等人 Nat. Med. 19(2013):1264-72。BLZ945之結構展示在下文中。



在實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與CD19 CART細胞(例如CTL019，例如如以引用的方式併入本文中之WO2012/079000中所述)組合投與個體。在實施例中，個體患有急性骨髓性白血病(AML)，例如CD19陽性AML或CD19陰性AML。在實施例中，個體患有CD19+淋巴瘤，例如CD19+非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、CD19+ FL或CD19+ DLBCL。在實施例中，個體患有復發性或難治性CD19+淋巴瘤。在實施例中，淋巴細胞耗盡化學療法在CD19 CART細胞投與(例如輸注)之前、與其並行或之後投與個體。在一個實例中，淋巴細胞耗盡化學療法在投與CD19 CART細胞之前投與個體。舉例而言，淋巴細胞耗盡化學療法在CD19 CART細胞輸注前1-4天(例如1、2、3或4天)結束。在實施例中，例如如本文所述，投與多劑CD19 CART細胞。舉例而言，單劑包含約5×10^8個CD19 CART細胞。在實施例中，淋巴細胞耗盡化學療法在投與(例如輸注)本文所述之表現CAR之細胞，例如表現非CD19 CAR之細胞之前、與其並行或之後投與個體。在實施例中，CD19 CART在投與(例如輸注)表現非CD19 CAR之細胞，例如本文所述之表現非CD19 CAR之細胞之前、與其並行或之後投與個體。

在一些實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與表現CD19 CAR之細胞(例如CTL019，例如如以引用的方式併入本文中之WO2012/079000中所述)組合投與個體，以治療與CLL-1表現相關之疾

病，例如本文所述之癌症。不受理論束縛，咸信投與表現CD19 CAR之細胞與表現CAR之細胞組合藉由靶向早期譜系癌細胞，例如癌症幹細胞，調節免疫反應，耗盡調控B細胞及/或改善腫瘤微環境，來提高本文所述之表現CAR之細胞之功效。舉例而言，表現CD19 CAR之細胞靶向表現早期譜系標記物之癌細胞，例如癌症幹細胞及表現CD19之細胞，而本文所述之表現CAR之細胞靶向表現晚期譜系標記物，例如CLL-1之癌細胞。此預調整方法可提高本文所述之表現CAR之細胞之功效。在此類實施例中，表現CD19 CAR之細胞在投與(例如輸注)本文所述之表現CAR之細胞之前、與其並行或之後投與。

在實施例中，本文所述之表現CAR之細胞亦表現靶向CD19之CAR，例如CD19 CAR。在一個實施例中，本文所述之表現CAR之細胞及CD19 CAR投與個體以治療本文所述之癌症，例如AML。在一個實施例中，CAR分子中之一或兩者之組態包含主要胞內信號傳導結構域及共同刺激信號傳導結構域。在另一個實施例中，CAR分子中之一或兩者之組態包含主要胞內信號傳導結構域及兩個或兩個以上，例如2、3、4或5個或更多個共同刺激信號傳導結構域。在此類實施例中，本文所述之CAR分子及CD19 CAR可具有相同或不同主要胞內信號傳導結構域、相同或不同共同刺激信號傳導結構域或相同數目或不同數目之共同刺激信號傳導結構域。或者，本文所述之CAR及CD19 CAR經組態為分裂CAR，其中CAR分子之一包含抗原結合結構域及共同刺激結構域(例如4-1BB)，而另一CAR分子包含抗原結合結構域及主要胞內信號傳導結構域(例如CD3ζ)。

在一些實施例中，本文所述之表現CAR之細胞與介白素-15 (IL-15)多肽、介白素-15受體α (IL-15Ra)多肽或IL-15多肽與IL-15Ra多肽兩者之組合(例如hetIL-15 (Admune Therapeutics, LLC))組合投與個體。hetIL-15為IL-15與IL-15Ra之雜二聚體非共價複合物。hetIL-15描

述於例如以引用的方式併入本文中之U.S. 8,124,084、U.S. 2012/0177598、U.S. 2009/0082299、U.S. 2012/0141413及U.S. 2011/0081311中。在實施例中，het-IL-15經皮下投與。在實施例中，個體患有癌症，例如實體癌症，例如黑色素瘤或結腸癌。在實施例中，個體患有轉移性癌症。

在實施例中，向患有本文所述之疾病，例如血液病症，例如AML或MDS之個體投與本文所述之表現CAR之細胞以及藥劑，例如細胞毒性或化學療法藥劑、生物療法(例如抗體，例如單株抗體，或細胞療法)或抑制劑(例如激酶抑制劑)。在實施例中，向個體投與本文所述之表現CAR之細胞以及細胞毒性劑，例如CPX-351 (Celator Pharmaceuticals)、阿糖胞苷、道諾黴素、沃薩洛辛(vosaroxin，Sunesis Pharmaceuticals)、沙帕他濱(sapacitabine，Cyclacel Pharmaceuticals)、艾達黴素或米托蒽醌。CPX-351為包含5:1莫耳比之阿糖胞苷及道諾黴素的脂質體調配物。在實施例中，向個體投與本文所述之表現CAR之細胞以及低甲基化劑，例如DNA甲基轉移酶抑制劑，例如阿紮胞苷或地西他濱。在實施例中，向個體投與本文所述之表現CAR之細胞以及生物療法，例如抗體或細胞療法，例如225Ac-林妥珠單抗(225Ac-lintuzumab，Actimab-A；Actinium Pharmaceuticals)、IPH2102 (Innate Pharma/Bristol Myers Squibb)、SGN-CD33A (Seattle Genetics)或吉妥珠單抗奧唑米星(Mylotarg；Pfizer)。SGN-CD33A為一種包含吡咯并苯并二氮呼二聚體附接於抗-CD33抗體之抗體-藥物結合物(ADC)。Actimab-A為一種經鉍標記之抗-CD33抗體(林妥珠單抗)。IPH2102為一種靶向殺手細胞免疫球蛋白樣受體(KIR)之單株抗體。在實施例中，向個體投與本文所述之表現CAR之細胞以及FLT3抑制劑，例如索拉非尼(sorafenib，Bayer)、米哚妥林(midostaurin，Novartis)、喹雜替尼(quizartinib，Daiichi

Sankyo)、克瑞拉尼(crenolanib，Arog Pharmaceuticals)、PLX3397 (Daiichi Sankyo)、AKN-028 (Akinion Pharmaceuticals)或ASP2215 (Astellas)。在實施例中，向個體投與本文所述之表現CAR之細胞以及異檸檬酸鹽脫氫酶(IDH)抑制劑，例如AG-221 (Celgene/Agios)或AG-120 (Agios/Celgene)。在實施例中，向個體投與本文所述之表現CAR之細胞以及細胞週期調控因子，例如polo樣激酶1 (Plk1)之抑制劑，例如沃拉替尼(volasertib，Boehringer Ingelheim)；或週期素依賴性激酶9 (Cdk9)之抑制劑，例如阿昔迪布(alvocidib，Tolero Pharmaceuticals/Sanofi Aventis)。在實施例中，向個體投與本文所述之表現CAR之細胞以及B細胞受體信號傳導網路抑制劑，例如B細胞淋巴瘤2 (Bcl-2)之抑制劑，例如維托拉斯(venetoclax，Abbvie/Roche)；或布魯頓氏酪胺酸激酶(Bruton's tyrosine kinase，Btk)之抑制劑，例如依魯替尼(ibrutinib，Pharmacyclics/Johnson & Johnson Janssen Pharmaceutical)。在實施例中，向個體投與本文所述之表現CAR之細胞以及M1胺基肽酶之抑制劑，例如托多斯塔(tosedostat，CTI BioPharma/Vernalis)；組蛋白脫乙醯基酶之抑制劑(HDAC)，例如普拉斯塔(pracinostat，MEI Pharma)；多激酶抑制劑，例如瑞格斯替(rigosertib，Onconova Therapeutics/Baxter/SymBio)；或肽CXCR4反向促效劑，例如BL-8040 (BioLineRx)。在實施例中，向個體投與靶向CLL-1之表現CAR之細胞以及特異性結合除CLL-1外之抗原，例如CLL、BCMA、CD123、CD19、FLT-3或葉酸鹽受體β的表現CAR之細胞。

在另一個實施例中，個體在細胞移植，例如同種異體幹細胞移植前接受本發明之表現CLL-1之細胞組合物之輸注。在一個較佳實施例中，表現CLL-1之細胞例如藉由mRNA CLL-1 CAR電穿孔而短暫表現CLL-1 CAR，從而在供體幹細胞輸注前終止表現CLL-1以避免移植

失敗。

一些患者在投與期間或之後可經歷對本發明之化合物及/或其他抗癌劑的過敏反應；因此，通常投與抗過敏藥劑以將過敏反應風險降至最低。適合抗過敏藥劑包括皮質類固醇，諸如地塞米松(例如Decadron®)、倍氯米松(beclomethasone)(例如Beclovent®)、羥皮質酮(亦稱為可的松、羥皮質酮丁二酸鈉、羥皮質酮磷酸鈉且以商品名稱Ala-Cort®、羥皮質酮磷酸鹽、Solu-Cortef®、HydrocortAcetate®及Lanacort®出售)、潑尼龍(以商品名稱δ-Cortel®、Orapred®、Pediapred®及Prelone®出售)、潑尼松(以商品名稱Deltasone®、LiquidRed®、Meticorten®及Orasone®出售)、甲基潑尼龍(亦稱為6-甲基潑尼龍、甲基潑尼龍乙酸鹽、甲基潑尼龍丁二酸鈉，以商品名稱Duralone®、Medralone®、Medrol®、M-Prednisol®及Solu-Medrol®出售)；抗組織胺，諸如苯海拉明(diphenhydramine)(例如Benadryl®)、安泰樂(hydroxyzine)及塞庚啶(cyproheptadine)；以及支氣管擴張劑，諸如β-腎上腺素激導性受體促效劑、沙丁胺醇(albuterol)(例如Proventil®)及特布他林(terbutaline)(Brethine®)。

一些患者在投與本發明之化合物及/或其他抗癌劑期間及之後可經歷噁心；因此，將抗嘔吐劑用於預防噁心(上胃)及嘔吐。適合抗嘔吐劑包括阿匹坦(aprepitant，Emend®)、昂丹司瓊(ondansetron，Zofran®)、格拉司瓊HCl (granisetron HCl，Kytril®)、勞拉西泮(lorazepam，Ativan®)、地塞米松(Decadron®)、丙氯拉嗪(prochlorperazine，Compazine®)、卡索匹坦(casopitant，Rezonic®及Zunrisa®)及其組合。

通常規定藥物治療緩解治療時間段期間所經歷之疼痛以使得患者更舒適。通常使用常見非處方鎮痛劑，諸如Tylenol®。然而，諸如氫可酮(hydrocodone)/撲熱息痛(paracetamol)或氫可酮/乙醯胺苯酚

(acetaminophen)(例如Vicodin®)、嗎啡(例如Astramorph®或Avinza®)、羥考酮(oxycodone)(例如OxyContin®或Percocet®)、羥嗎啡酮鹽酸鹽(Opana®)及芬太尼(fentanyl)(例如Duragesic®)之類鴉片鎮痛藥物亦適用於中度或重度疼痛。

在致力於保護正常細胞免於治療毒性且限制器官毒性中，細胞保護劑(諸如神經保護劑、自由基清除劑、心臟保護劑、蒽環黴素溢出中和劑、營養物及類似者)可用作輔助療法。適合細胞保護劑包括阿米福汀(Amifostine，Ethyol®)、麩醯胺酸、地美司鈉(dimesna，Tavocept®)、美司鈉(mesna，Mesnex®)、右雷佐生(dexrazoxane，Zinecard®或Totect®)、紮利羅登(xaliproden，Xaprila®)及甲醯四氫葉酸(leucovorin，亦稱為甲醯四氫葉酸鈣、檸膠因子及亞葉酸)。

以編碼序號、類屬或商標名鑑別之活性化合物之結構可自正版標準概要「默克索引(The Merck Index)」或自資料庫，例如專利國際(Patents International)(例如IMS世界公開案(IMS World Publications))獲得。

可與本發明之化合物組合使用之以上提及之化合物可如此項技術中，諸如上文所引用之文獻中所述製備及投與。

在一個實施例中，本發明提供醫藥組合物，其包含至少一種本發明之化合物(例如本發明之化合物)或其醫藥學上可接受之鹽以及適合於投與人類或動物個體之醫藥學上可接受之載劑，單獨或與其他抗癌劑一起。

在一個實施例中，本發明提供治療患有細胞增生性疾病，諸如癌症之人類或動物個體之方法。本發明提供治療需要此類治療之人類或動物個體的方法，其包含向該個體投與治療有效量之本發明之化合物(例如本發明之化合物)或其醫藥學上可接受之鹽，單獨或與其他抗癌劑組合。

詳言之，組合物將呈組合治療劑調配在一起或分開投與。

在組合療法中，本發明之化合物及其他抗癌劑可同時、並行或依序投與，無特定時間限制，其中此類投與在患者體內提供治療有效含量之兩種化合物。

在一個較佳實施例中，本發明之化合物及其他抗癌劑一般藉由輸注或經口按任何次序依序投與。給藥方案可視疾病階段、患者之身體健康狀況、個別藥物之安全型態及個別藥物之耐受性以及投與該組合之主治醫師及行醫者熟知之其他標準而變化。本發明之化合物及其他抗癌劑可彼此相隔數分鐘、數小時、數天或甚至數週投與，視用於治療之特定週期而定。另外，週期可包括在治療週期期間一種藥物比其他更頻繁地投與且每次藥物投與劑量不同。

在本發明之另一個態樣中，提供包括一或多種本發明之化合物及如本文所揭示之組合搭配物的套組。代表性套組包括(a)本發明之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，(b)至少一種組合搭配物，例如如上所指出，從而此類套組可包含藥品說明書或包括投與指導之其他標籤。

本發明之化合物亦可與已知之治療方法，例如投與激素或尤其放射線組合投與。本發明之化合物可尤其用作放射增敏劑，尤其用於治療對於放射線療法展現不佳敏感性之腫瘤。

在一個實施例中，可向個體投與減輕或改善與投與表現CAR之細胞有關之副作用的藥劑。與投與表現CAR之細胞有關之副作用包括(但不限於) CRS及噬血細胞性淋巴組織細胞增生症(HLH)，亦稱為巨噬細胞活化症候群(MAS)。CRS之症狀包括高熱、噁心、短暫低血壓、低氧及其類似症狀。CRS可包括臨床體征及症狀，諸如發熱、疲乏、食慾不振、肌痛、關節疼痛、噁心、嘔吐及頭痛。CRS可包括臨床皮膚徵象及症狀，諸如皮疹。CRS可包括臨床腸胃徵象及症狀，諸

如噁心、嘔吐及腹瀉。CRS可包括臨床呼吸道徵象及症狀，諸如呼吸急促及血氧過低。CRS可包括臨床心血管徵象及症狀，諸如心動過速、加寬之脈衝壓力、低血壓、增加之心輸出量(早期)及潛在減少之心輸出量(晚期)。CRS可包括臨床凝血徵象及症狀，諸如升高之d-二聚體、具有或不具有出血之纖維蛋白原血症。CRS可包括臨床腎臟徵象及症狀，諸如氮血症。CRS可包括臨床肝臟徵象及症狀，諸如轉胺酶升高及高膽紅素血症。CRS可包括臨床神經徵象及症狀，諸如頭痛、精神狀態變化、意識模糊、譫妄、喚詞困難或弗蘭克失語症(frank aphasia)、幻覺、顫抖、癡呆(dymetria)、步態改變及癲癇。

因此，本文所述之方法可包含向個體投與本文所述之表現CAR之細胞及進一步投與一或多種控制可溶性因子含量升高之藥劑，該含量升高由使用表現CAR之細胞治療引起。在一個實施例中，個體中升高之可溶性因子為IFN-γ、TNFα、IL-2及IL-6中之一或多者。在一實施例中，個體中升高之因子為IL-1、GM-CSF、IL-10、IL-8、IL-5及fraktalkine中之一或多者。因此，投與以治療此副作用之藥劑可為抵消此等可溶性因子中之一或多者之藥劑。在一個實施例中，抵消此等可溶性形式中之一或多者的藥劑為抗體或其抗體片段。此類藥劑之實例包括(但不限於)類固醇(例如皮質類固醇)、TNFα抑制劑及IL-6抑制劑。TNFα抑制劑之一實例為抗TNFα抗體分子，諸如英利昔單抗(infliximab)、阿達木單抗(adalimumab)、聚乙二醇賽妥珠單抗(certolizumab pegol)及戈利木單抗(golimumab)。TNFα抑制劑之另一實例為融合蛋白，諸如依那西普(entanercept)。TNFα之小分子抑制劑包括(但不限於)黃嘌呤衍生物(例如己酮可可鹼)及安非他酮。IL-6抑制劑之一實例為抗IL-6抗體分子，諸如托西利單抗(tocilizumab)(toc)、薩瑞魯單抗(sarilumab)、艾思莫單抗(elsilimomab)、CNTO 328、ALD518/BMS-945429、CNTO 136、

CPSI-2364、CDP6038、VX30、ARGX-109、FE301及FM101。在一個實施例中，抗IL-6抗體分子為托西利單抗。基於IL-1R之抑制劑的一實例為阿那白滯素(anakinra)。

在一個實施例中，可向個體投與提高表現CAR之細胞之活性的藥劑。舉例而言，在一個實施例中，藥劑可為抑制抑制分子之藥劑，例如藥劑為檢查點抑制劑。在一些實施例中，抑制分子(例如程式化死亡1 (PD1))可降低表現CAR之細胞建立免疫效應子反應之能力。抑制分子之實例包括PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM(例如CEACAM-1、CEACAM-3及/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3(CD276)、B7-H4 (VTCN1)、HVEM (TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I類、MHC II類、GAL9、腺苷及TGFR β。例如藉由在DNA、RNA或蛋白質水準下抑制來抑制抑制分子可使表現CAR之細胞效能最佳。在實施例中，例如如本文所述，抑制核酸，例如抑制核酸，例如dsRNA，例如siRNA或shRNA可用於抑制表現CAR之細胞中抑制分子的表現。在一實施例中，抑制劑為shRNA。在一實施例中，抑制表現CAR之細胞內之抑制分子。在此等實施例中，抑制抑制分子之表現的dsRNA分子連接至編碼CAR之組分(例如全部組分)的核酸。

在一實施例中，編碼抑制調節或調控(例如抑制) T細胞功能之分子之表現的dsRNA分子之核酸分子可操作地連接於啟動子，例如源自H1或U6之啟動子，使得抑制調節或調控(例如抑制) T細胞功能之分子之表現的dsRNA分子表現，例如表現於表現CAR之細胞內。參見例如Tiscornia G., 「Development of Lentiviral Vectors Expressing siRNA」, 第3章, ***Gene Transfer: Delivery and Expression of DNA and RNA*** (Friedmann及Rossi編). Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA, 2007；Brummelkamp TR等人, (2002) *Science*

296: 550-553；Miyagishi M等人, (2002) *Nat. Biotechnol.* 19: 497-500。在一實施例中，編碼抑制調節或調控(例如抑制) T細胞功能之分子之表現的dsRNA分子之核酸分子存在於包含編碼CAR之組分(例如全部組分)之核酸分子之相同載體(例如慢病毒載體)上。在此類實施例中，編碼抑制調節或調控(例如抑制) T細胞功能之分子之表現的dsRNA分子之核酸分子位於載體(例如慢病毒載體)上，編碼CAR之組分(例如全部組分)之核酸的5'或3'。編碼抑制調節或調控(例如抑制) T細胞功能之分子之表現的dsRNA分子之核酸分子可在與編碼CAR之組分(例如全部組分)之核酸相同或不同之方向上轉錄。在一實施例中，編碼(抑制調節或調控(例如抑制) T細胞功能之分子之表現的dsRNA分子之核酸分子存在於除包含編碼CAR之組分(例如全部組分)之核酸的載體以外之載體上。在一實施例中，編碼抑制調節或調控(例如抑制) T細胞功能之分子之表現的dsRNA分子之核酸分子短暫表現於表現CAR之細胞內。在一實施例中，編碼抑制調節或調控(例如抑制) T細胞功能之分子之表現的dsRNA分子之核酸分子穩定整合至表現CAR之細胞之基因組中。圖29A-29E描繪用於表現CAR之組分(例如全部組分)之載體的實例，其具有抑制調節或調控(例如抑制) T細胞功能之分子之表現的dsRNA分子。

下文提供適用於抑制調節或調控(例如抑制) T細胞功能之分子之表現的dsRNA分子之實例，其中調節或調控(例如抑制) T細胞功能之分子為PD-1。

下表10中提供PDCD1 (PD1) RNAi試劑之名稱(來源於其在小鼠PDCD1基因序列NM_008798.2中之位置)，以及表示DNA序列的SEQ ID NO: 216-263。有義(S)及反義(AS)序列在此表中皆以19聚體及21聚體序列形式呈現。亦應注意，位置(PoS，例如176)來源於小鼠PDCD1基因序列NM_008798.2中之位置編號。SEQ ID NO在對應於「有義

19」 SEQ ID NO: 216-227；「有義21」 SEQ ID NO: 228-239；「反義21」 SEQ ID NO: 240-251；「反義19」 SEQ ID NO: 252-263的12個組中指示。

表10. 小鼠PDCD1 (PD1) shRNA序列

NM_008798.2 上之位置	標靶區域	有義19	有義21	反義21	反義19
176	CDS	GGAGGTCCCTCACCTTCTA (SEQ ID NO: 216)	CTGGAGGTCCCTCACCTTCTA (SEQ ID NO: 228)	TAGAAGGTGAGGGACCTCCAG (SEQ ID NO: 240)	TAGAAGGTGAGGGACCTCC (SEQ ID NO: 252)
260	CGGAGGATCTTATGCTGAA (SEQ ID NO: 217)	GTCGGAGGATCTTATGCTGAA (SEQ ID NO: 229)	TTCAGCATAAGATCCTCCGAC (SEQ ID NO: 241)	TTCAGCATAAGATCCTCCG (SEQ ID NO: 253)
359	CCCGCTTCCAGATCATACA (SEQ ID NO: 218)	TGCCCGCTTCCAGATCATACA (SEQ ID NO: 230)	TGTATGATCTGGAAGCGGGCA (SEQ ID NO: 242)	TGTATGATCTGGAAGCGGG (SEQ ID NO: 254)
528	CDS	GGAGACCTCAACAAGATAT (SEQ ID NO: 219)	CTGGAGACCTCAACAAGATAT (SEQ ID NO: 231)	ATATCTTGTTGAGGTCTCCAG (SEQ ID NO: 243)	ATATCTTGTTGAGGTCTCC (SEQ ID NO: 255)
581	CDS	AAGGCATGGTCATTGGTAT (SEQ ID NO: 220)	TCAAGGCATGGTCATTGGTAT (SEQ ID NO: 232)	ATACCAATGACCATGCCTTGA (SEQ ID NO: 244)	ATACCAATGACCATGCCTT (SEQ ID NO: 256)
584	CDS	GCATGGTCATTGGTATCAT (SEQ ID NO: 221)	AGGCATGGTCATTGGTATCAT (SEQ ID NO: 233)	ATGATACCAATGACCATGCCT (SEQ ID NO: 245)	ATGATACCAATGACCATGC (SEQ ID NO: 257)
588	CDS	GGTCATTGGTATCATGAGT (SEQ ID NO: 222)	ATGGTCATTGGTATCATGAGT (SEQ ID NO: 234)	ATGGTCATTGGTATCATGAGT (SEQ ID NO: 246)	ATGGTCATTGGTATCATGA (SEQ ID NO: 258)
609	CDS	CCTAGTGGGTATCCCTGTA (SEQ ID NO: 223)	GCCCTAGTGGGTATCCCTGTA (SEQ ID NO: 235)	GCCCTAGTGGGTATCCCTGTA (SEQ ID NO: 247)	GCCCTAGTGGGTATCCCTG (SEQ ID NO: 259)
919	CDS	GAGGATGGACATTGTTCTT (SEQ ID NO: 224)	ATGAGGATGGACATTGTTCTT (SEQ ID NO: 236)	ATGAGGATGGACATTGTTCTT (SEQ ID NO: 248)	ATGAGGATGGACATTGTTC (SEQ ID NO: 260)

1021	3'UTR	GCATGCAGGCTACAGTTCA (SEQ ID NO: 225)	GAGCATGCAGGCTACAGTTCA (SEQ ID NO: 237)	GAGCATGCAGGCTACAGTTCA (SEQ ID NO: 249)	GAGCATGCAGGCTACAGTT (SEQ ID NO: 261)
1097	3'UTR	CCAGCACATGCACTGTTGA (SEQ ID NO: 226)	TTCCAGCACATGCACTGTTGA (SEQ ID NO: 238)	TTCCAGCACATGCACTGTTGA (SEQ ID NO: 250)	TTCCAGCACATGCACTGTT (SEQ ID NO: 262)
1101	3'UTR	CACATGCACTGTTGAGTGA (SEQ ID NO: 227)	AGCACATGCACTGTTGAGTGA (SEQ ID NO: 239)	AGCACATGCACTGTTGAGTGA (SEQ ID NO: 251)	AGCACATGCACTGTTGAGT (SEQ ID NO: 263)

下表11中提供PDCD1 (PD1) RNAi試劑之名稱(來源於其在人類PDCD1基因序列中之位置)，以及表示DNA序列之SEQ ID NO. 264-311。有義(S)及反義(AS)序列以19聚體及21聚體序列形式呈現。SEQ ID NO在對應於「有義19」 SEQ ID NO: 264-275；「有義21」 SEQ ID NO: 276-287；「反義21」 SEQ ID NO: 288-299；「反義19」 SEQ ID NO: 300-311之12個組中指示。

表11. 人類PDCD1- (PD1) shRNA序列

NM_005018.2 上之位置	標 靶位置	有義19	反義19	有義21	反義21
145	CDS	GGCCAGGATGGTTCTTAGA (SEQ ID NO: 264)	TCTAAGAACCATCCTGGCC (SEQ ID NO: 276)	GCGGCCAGGATGGTTCTTAGA (SEQ ID NO: 288)	TCTAAGAACCATCCTGGCCGC (SEQ ID NO: 300)
271	CDS	GCTTCGTGCTAAACTGGTA (SEQ ID NO: 265)	TACCAGTTTAGCACGAAGC (SEQ ID NO: 277)	GAGCTTCGTGCTAAACTGGTA (SEQ ID NO: 289)	TACCAGTTTAGCACGAAGCTC (SEQ ID NO: 301)
393	CDS	GGGCGTGACTTCCACATGA (SEQ ID NO: 266)	TCATGTGGAAGTCACGCCC (SEQ ID NO: 278)	ACGGGCGTGACTTCCACATGA (SEQ ID NO: 290)	TCATGTGGAAGTCACGCCCGT (SEQ ID NO: 302)
1497	3'UTR	CAGGCCTAGAGAAGTTTCA (SEQ ID NO: 267)	TGAAACTTCTCTAGGCCTG (SEQ ID NO: 279)	TGCAGGCCTAGAGAAGTTTCA (SEQ ID NO: 291)	TGAAACTTCTCTAGGCCTGCA (SEQ ID NO: 303)

1863	3'UTR	CTTGGAACCCATTCCTGAA (SEQ ID NO: 268)	TTCAGGAATGGGTTCCAAG (SEQ ID NO: 280)	TCCTTGGAACCCATTCCTGAA (SEQ ID NO: 292)	TTCAGGAATGGGTTCCAAGGA (SEQ ID NO: 304)
1866	3'UTR	GGAACCCATTCCTGAAATT (SEQ ID NO: 269)	AATTTCAGGAATGGGTTCC (SEQ ID NO: 281)	TTGGAACCCATTCCTGAAATT (SEQ ID NO: 293)	AATTTCAGGAATGGGTTCCAA (SEQ ID NO: 305)
1867	3'UTR	GAACCCATTCCTGAAATTA (SEQ ID NO: 270)	TAATTTCAGGAATGGGTTC (SEQ ID NO: 282)	TGGAACCCATTCCTGAAATTA (SEQ ID NO: 294)	TAATTTCAGGAATGGGTTCCA (SEQ ID NO: 306)
1868	3'UTR	AACCCATTCCTGAAATTAT (SEQ ID NO: 271)	ATAATTTCAGGAATGGGTT (SEQ ID NO: 283)	GGAACCCATTCCTGAAATTAT (SEQ ID NO: 295)	ATAATTTCAGGAATGGGTTCC (SEQ ID NO: 307)
1869	3'UTR	ACCCATTCCTGAAATTATT (SEQ ID NO: 272)	AATAATTTCAGGAATGGGT (SEQ ID NO: 284)	GAACCCATTCCTGAAATTATT (SEQ ID NO: 296)	AATAATTTCAGGAATGGGTTC (SEQ ID NO: 308)
1870	3'UTR	CCCATTCCTGAAATTATTT (SEQ ID NO: 273)	AAATAATTTCAGGAATGGG (SEQ ID NO: 285)	AACCCATTCCTGAAATTATTT (SEQ ID NO: 297)	AAATAATTTCAGGAATGGGTT (SEQ ID NO: 309)
2079	3'UTR	CTGTGGTTCTATTATATTA (SEQ ID NO: 274)	TAATATAATAGAACCACAG (SEQ ID NO: 286)	CCCTGTGGTTCTATTATATTA (SEQ ID NO: 298)	TAATATAATAGAACCACAGGG (SEQ ID NO: 310)
2109	3'UTR	AAATATGAGAGCATGCTAA (SEQ ID NO: 275)	TTAGCATGCTCTCATATTT (SEQ ID NO: 287)	TTAAATATGAGAGCATGCTAA (SEQ ID NO: 299)	TTAGCATGCTCTCATATTTAA (SEQ ID NO: 311)

在一個實施例中，抑制信號之抑制劑可為例如結合於抑制分子之抗體或抗體片段。舉例而言，藥劑可為結合於PD1、PD-L1、PD-L2或CTLA4之抗體或抗體片段(例如伊派利單抗(ipilimumab)(亦稱作MDX-010及MDX-101，且以Yervoy®出售；Bristol-Myers Squibb)；曲美單抗(Tremelimumab)(IgG2單株抗體，獲自Pfizer，先前稱為替西單抗(ticilimumab)，CP-675,206))。在一實施例中，藥劑為結合於TIM3

之抗體或抗體片段。在一實施例中，藥劑為結合於LAG3之抗體或抗體片段。在實施例中，增強表現CAR之細胞之活性的藥劑，例如抑制分子之抑制劑，與同種異體CAR，例如本文所述之同種異體CAR (例如本文中之同種異體CAR章節中所述)組合投與。

PD-1為CD28受體家族之抑制成員，該受體家族亦包括CD28、CTLA-4、ICOS及BTLA。PD-1在經活化之B細胞、T細胞及骨髓細胞上表現(Agata等人1996 Int. Immunol 8:765-75)。PD-1之兩個配位體PD-L1及PD-L2已展示在與PD-1結合時下調T細胞活化(Freeman等人, 2000 J Exp Med 192:1027-34；Latchman等人2001 Nat Immunol 2:261-8；Carter等人2002 Eur J Immunol 32:634-43)。PD-L1在人類癌症中大量存在(Dong等人 2003 J Mol Med 81:281-7；Blank等人 2005 Cancer Immunol. Immunother 54:307-314；Konishi等人 2004 Clin Cancer Res 10:5094)。免疫抑制可藉由抑制PD-1與PD-L1之局部相互作用來逆轉。PD-1、PD-L1及PD-L2之抗體、抗體片段及其他抑制劑在此項技術中可獲得且可與本文所述之本發明之car組合使用。舉例而言，尼沃單抗(nivolumab)(亦稱作BMS-936558或MDX1106；Bristol-Myers Squibb)為完全人類IgG4單株抗體，其特異性阻斷PD-1。與PD-1特異性結合之尼沃單抗(純系5C4)及其他人類單株抗體揭示於US 8,008,449及WO2006/121168中。皮立珠單抗(Pidilizumab)(CT-011；Cure Tech)為結合於PD-1之人類化IgG1k單株抗體。皮立珠單抗及其他人類化抗-PD-1單株抗體揭示於WO2009/101611中。派立珠單抗(Pembrolizumab)(先前稱為拉立珠單抗(lambrolizumab)，且亦稱為MK03475；Merck)為結合於PD-1之人類化IgG4單株抗體。派立珠單抗及其他人類化抗-PD-1抗體揭示於US 8,354,509及WO2009/114335中。MEDI4736 (Medimmune)為結合於PDL1且抑制配位體與PD1相互作用之人類單株抗體。MDPL3280A (Genentech/Roche)為結合於PD-

L1之人類Fc最佳化IgG1單株抗體。MDPL3280A及其他針對PD-L1之人類單株抗體揭示於美國專利第7,943,743號及美國公開案第20120039906號中。其他抗PD-L1結合劑包括YW243.55.S70 (重鏈及輕鏈可變區展示於WO2010/077634中之SEQ ID NO 20及21中)及MDX-1105 (亦稱作BMS-936559，及例如WO2007/005874中所揭示之抗PD-L1結合劑)。AMP-224 (B7-DCIg；Amplimmune；例如WO2010/027827及WO2011/066342中所揭示)為阻斷PD-1與B7-H1之間的相互作用之PD-L2 Fc融合可溶性受體。其他抗-PD-1抗體包括AMP 514 (Amplimmune)，尤其例如US 8,609,089、US 2010028330及/或US 20120114649中所揭示之抗-PD-1抗體。

TIM3 (T細胞免疫球蛋白-3)尤其在分泌IFN-g之CD4+ T輔助1及CD8+ T細胞毒性1細胞中亦負調控T細胞功能，且在T細胞耗盡中起關鍵作用。抑制TIM3與其配位體(例如半乳糖凝集素-9 (Gal9)、磷脂醯絲胺酸(PS)及HMGB1)之間的相互作用可提高免疫反應。TIM3及其配位體之抗體、抗體片段及其他抑制劑在此項技術中可獲得且可與本文所述之CD19 CAR組合使用。舉例而言，靶向TIM3之抗體、抗體片段、小分子或肽抑制劑結合於TIM3之IgV結構域以抑制與其配位體的相互作用。抑制TIM3之抗體及肽揭示於WO2013/006490及US20100247521中。其他抗TIM3抗體包括RMT3-23之人類化型式(揭示於Ngiow等人，2011，Cancer Res，71:3540-3551中)及純系8B.2C12(揭示於Monney等人，2002，Nature，415:536-541中)。抑制TIM3及PD-1之雙特異性抗體揭示於US20130156774中。

在其他實施例中，提高表現CAR之細胞活性之藥劑為CEACAM抑制劑(例如CEACAM-1、CEACAM-3及/或CEACAM-5抑制劑)。在一個實施例中，CEACAM之抑制劑為抗-CEACAM抗體分子。例示性抗-CEACAM-1抗體描述於WO 2010/125571、WO 2013/082366、WO

2014/059251及WO 2014/022332中，例如單株抗體34B1、26H7及5F4；或其重組形式，如例如US 2004/0047858、US 7,132,255及WO 99/052552中所述。在其他實施例中，抗-CEACAM抗體結合於CEACAM-5，如例如Zheng等人, *PLoS One*. 2010年9月2日;5(9). pii: e12529 (DOI:10:1371/journal.pone.0021146)中所述，或與CEACAM-1及CEACAM-5交叉反應，如例如WO 2013/054331及US 2014/0271618中所述。

不希望受理論束縛，咸信諸如CEACAM-1及CEACAM-5之癌胚抗原細胞黏附分子(CEACAM)至少部分介導抗腫瘤免疫反應之抑制(參見例如Markel等人, *J Immunol*. 2002年3月15日;168(6):2803-10；Markel等人, *J Immunol*. 2006年11月1日;177(9):6062-71；Markel等人, *Immunology*. 2009年2月;126(2):186-200；Markel等人, *Cancer Immunol Immunother*. 2010年2月;59(2):215-30；Ortenberg等人, *Mol Cancer Ther*. 2012年6月;11(6):1300-10；Stern等人, *J Immunol*. 2005年6月1日;174(11):6692-701；Zheng等人, *PLoS One*. 2010年9月2日;5(9). pii: e12529)。舉例而言，CEACAM-1已描述為TIM-3之異嗜性配位體且在TIM-3介導之T細胞耐受性及耗盡中起作用(參見例如WO 2014/022332；Huang等人, (2014) *Nature* doi:10.1038/nature13848)。在實施例中，CEACAM-1及TIM-3之共同阻斷已顯示提高異種移植結腸直腸癌模型中之抗腫瘤免疫反應(參見例如WO 2014/022332；Huang等人(2014), 上文)。在其他實施例中，共同阻斷CEACAM-1及PD-1降低T細胞耐受性，如例如WO 2014/059251中所述。因此，CEACAM抑制劑可與本文所述之其他免疫調節劑(例如抗PD-1及/或抗TIM-3抑制劑)一起用於提高針對癌症，例如黑素瘤、肺癌(例如NSCLC)、膀胱癌、結腸癌、卵巢癌及如本文所述之其他癌症之免疫反應。

LAG3 (淋巴細胞活化基因-3或CD223)為在活化之T細胞及B細胞上表現之細胞表面分子，其已顯示在CD8+ T細胞耗盡中起作用。LAG3及其配位體之抗體、抗體片段及其他抑制劑在此項技術中可獲得且可與本文所述之CD19 CAR組合使用。舉例而言，BMS-986016 (Bristol-Myers Squib)為靶向LAG3之單株抗體。IMP701 (Immutep)為拮抗劑LAG3抗體且IMP731 (Immutep及GlaxoSmithKline)為耗盡LAG3抗體。其他LAG3抑制劑包括IMP321 (Immutep)，其為LAG3及Ig之可溶性部分的重組融合蛋白，其結合於MHC II類分子且活化抗原呈現細胞(APC)。其他抗體揭示於例如WO2010/019570中。

在一些實施例中，提高表現CAR之細胞活性之藥劑可為例如包含第一結構域及第二結構域之融合蛋白，其中第一結構域為抑制分子或其片段，且第二結構域為與正信號有關之多肽，例如包含如本文所述之胞內信號傳導結構域的多肽。在一些實施例中，與正信號有關之多肽可包括CD28、CD27、ICOS之共同刺激結構域，例如CD28、CD27及/或ICOS之胞內信號傳導結構域，及/或例如本文所述之CD3ζ的主要信號傳導結構域。在一個實施例中，融合蛋白由表現CAR之相同細胞表現。在另一實施例中，融合蛋白由例如不表現抗-CLL-1 CAR之T細胞的細胞表現。

在一個實施例中，提高本文所述之表現CAR之細胞活性之藥劑為miR-17-92。

在一個實施例中，增強本文所述之CAR之活性的藥劑為細胞因子。細胞因子具有與T細胞擴增、分化、存活及穩態相關之重要功能。可投與接受本文所述之表現CAR之細胞的個體之細胞因子包括：IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15、IL-18及IL-21或其組合。在較佳實施例中，投與之細胞因子為IL-7、IL-15或IL-21或其組合。細胞因子可一天投與一次或一天投與多次，例如一天兩次、一天三次或一天四

次。細胞因子可投與一天以上，例如細胞因子投與2天、3天、4天、5天、6天、1週、2週、3週或4週。舉例而言，細胞因子一天投與一次，歷時7天。

在實施例中，細胞因子與表現CAR之T細胞組合投與。細胞因子可與表現CAR之T細胞同時或並行投與，例如在同一天投與。細胞因子可製備在與表現CAR之T細胞相同的醫藥組合物中，或可製備在分開醫藥組合物中。或者，細胞因子可在投與表現CAR之T細胞之後不久投與，例如在表現CAR之T細胞投與之後1天、2天、3天、4天、5天、6天或7天投與。在其中細胞因子在超過一天以上進行之給藥方案中投與的實施例中，細胞因子給藥方案之第一天可在與表現CAR之T細胞投與相同之日，或細胞因子給藥方案之第一天可在表現CAR之T細胞投與之後1天、2天、3天、4天、5天、6天或7天。在一個實施例中，在第一天，表現CAR之T細胞投與個體，且在第二天，細胞因子一天投與一次，歷時隨後7天。在一較佳實施例中，待與表現CAR之T細胞組合投與之細胞因子為IL-7、IL-15或IL-21。

在其他實施例中，在投與表現CAR之細胞之後一段時間，例如在投與表現CAR之細胞之後至少2週、3週、4週、6週、8週、10週、12週、4個月、5個月、6個月、7個月、8個月、9個月、10個月、11個月或1年或更多年投與細胞因子。在一個實施例中，在評估個體對表現CAR之細胞之反應之後投與細胞因子。舉例而言，根據本文所述之劑量及方案向個體投與表現CAR之細胞。使用本文所述之任一方法，包括腫瘤生長之抑制、循環腫瘤細胞之減少或腫瘤消退，在投與表現CAR之細胞之後2週、3週、4週、6週、8週、10週、12週、4個月、5個月、6個月、7個月、8個月、9個月、10個月、11個月或1年或更多年評估個體對表現CAR之細胞療法之反應。對表現CAR之細胞療法未顯示足夠反應之個體可投與細胞因子。細胞因子投與對表現CAR之細

胞療法具有次佳反應之個體提高表現CAR之細胞功效或抗癌活性。在一較佳實施例中，在投與表現CAR之細胞之後投與之細胞因子為IL-7。

與低免疫增強劑量之mTOR抑制劑組合

本文所述之方法使用低免疫增強劑量之mTOR抑制劑，例如別位mTOR抑制劑，包括雷帕黴素類似物，諸如RAD001。投與低免疫增強劑量之mTOR抑制劑(例如不足以完全抑制免疫系統但足夠提高免疫功能之劑量)可最佳化免疫效應細胞，例如T細胞或表現CAR之細胞在個體中之效能。用於量測mTOR抑制之方法、劑量、治療方案及適合醫藥組合物描述於以引用的方式併入本文中之美國專利申請案第2015/01240036號中。

在一個實施例中，投與低免疫增強劑量之mTOR抑制劑可引起以下中之一或多者：

i) PD-1陽性免疫效應細胞之數目減少；

ii) PD-1陰性免疫效應細胞之數目增加；

iii) PD-1陰性免疫效應細胞/PD-1陽性免疫效應細胞之比率增加；

iv)原始T細胞之數目增加；

v)例如在例如記憶T細胞前驅細胞之記憶T細胞上以下標記物中之一或多者之表現增加：$CD62L^{高}$、$CD127^{高}$、$CD27^{+}$及BCL2；

vi)例如在例如記憶T細胞前驅細胞之記憶T細胞上KLRG1表現減少；或

vii)記憶T細胞前驅細胞之數目增加，該等細胞例如為具有以下特徵中之任一者或組合之細胞：$CD62L^{高}$增加、$CD127^{高}$增加、$CD27^{+}$增加、KLRG1降低及BCL2增加；

且其中例如與未經處理之個體相比，以上中之任一者，例如i)、

ii)、iii)、iv)、v)、vi)或vii)，例如至少短暫發生。

在另一個實施例中，例如與未經處理之表現CAR之細胞或未經處理之個體相比，投與低免疫增強劑量之mTOR抑制劑引起表現CAR之細胞例如培養或在個體中之增殖或持久性增加或延長。在實施例中，增殖增加與表現CAR之細胞之數目增加相關。用於量測增殖增加或延長之方法描述於實例8及9中。在另一個實施例中，例如與未經處理之表現CAR之細胞或未經處理之個體相比，投與低免疫增強劑量之mTOR抑制劑引起例如培養或個體中之表現CAR之細胞對癌細胞之殺死增加。在實施例中，癌細胞殺死增加與腫瘤體積減少相關。實例2中描述用於量測癌細胞殺死增加之方法。

在一個實施例中，表現CAR分子，例如本文所述之CAR分子之細胞與低免疫增強劑量之mTOR抑制劑，例如別位mTOR抑制劑，例如RAD001或催化mTOR抑制劑組合投與。舉例而言，投與低免疫增強劑量之mTOR抑制劑可在投與本文中描述之表現CAR之細胞前開始；在投與本文中所述之表現CAR之細胞前結束；與投與本文所述之表現CAR之細胞同時開始；與投與本文所述之表現CAR之細胞重疊；或在投與本文所述之表現CAR之細胞之後繼續。

或者或另外，投與低免疫增強劑量之mTOR抑制劑可最佳化待工程改造以表現本文所述之CAR分子的免疫效應細胞。在此類實施例中，投與低免疫增強劑量之mTOR抑制劑，例如別位抑制劑，例如RAD001或催化抑制劑，在自個體收穫待工程改造以表現本文所述之CAR分子的免疫效應細胞，例如T細胞或NK細胞前開始或結束。

在另一個實施例中，例如在自個體收穫之後待工程改造以表現本文所述之CAR分子的免疫效應細胞，例如T細胞或NK細胞，或例如在投與個體之前表現CAR之免疫效應細胞，例如T細胞或NK細胞可在低免疫增強劑量之mTOR抑制劑存在下培養。

在一個實施例中，向個體投與低免疫增強劑量之mTOR抑制劑包含例如每週一次，例如呈立即釋放劑型，投與0.1至20、0.5至10、2.5至7.5、3至6或約5 mg RAD001或其生物等效劑量。在一個實施例中，向個體投與低免疫增強劑量之mTOR抑制劑包含例如每週一次，例如呈持續釋放劑型，投與0.3至60、1.5至30、7.5至22.5、9至18或約15 mg RAD001或其生物等效劑量。

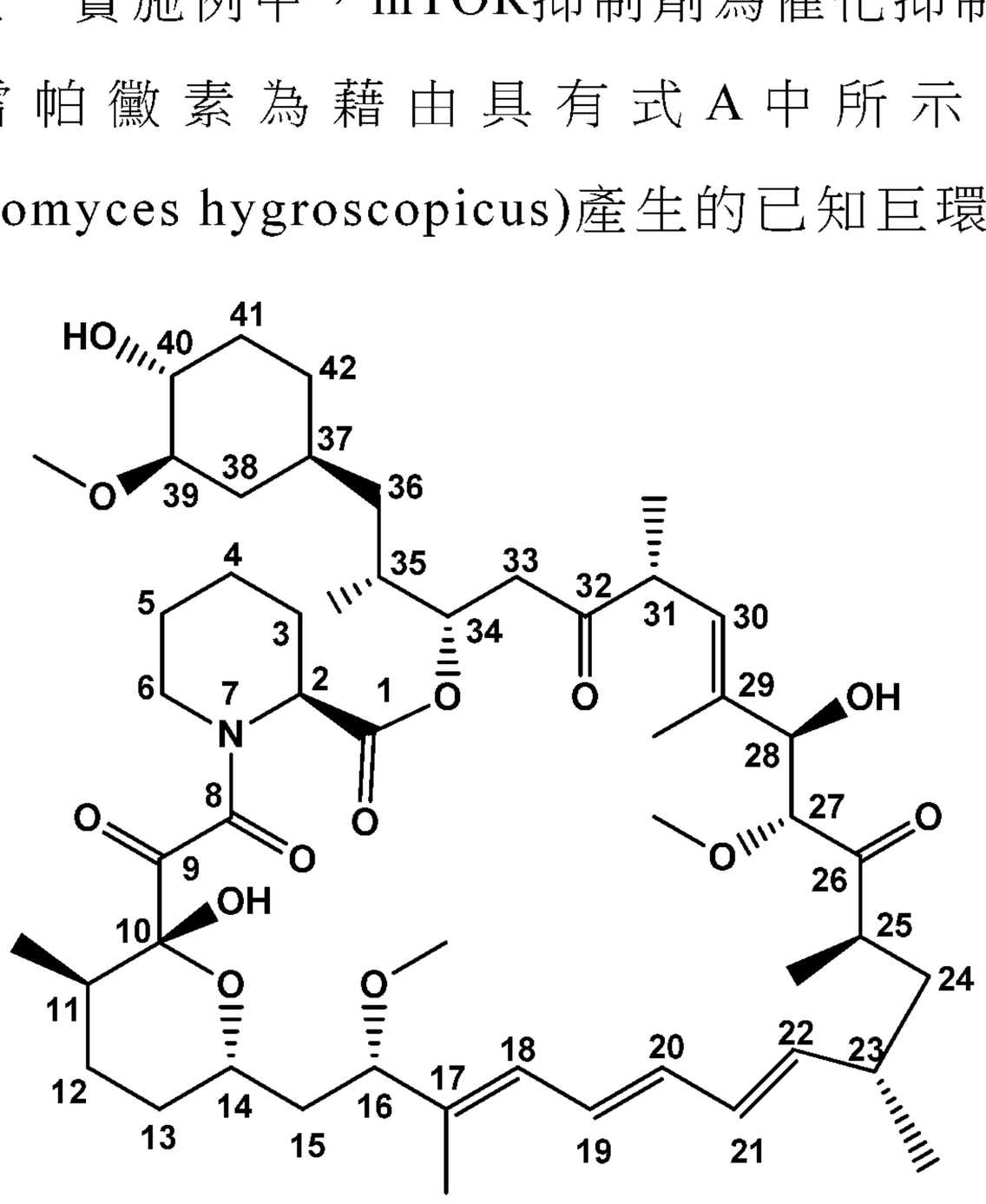
在一實施例中，mTOR抑制劑之劑量引起或提供至少5%但不超過90%，至少10%但不超過90%，至少15%但不超過90%，至少20%但不超過90%，至少30%但不超過90%，至少40%但不超過90%，至少50%但不超過90%，至少60%但不超過90%，至少70%但不超過90%，至少5%但不超過80%，至少10%但不超過80%，至少15%但不超過80%，至少20%但不超過80%，至少30%但不超過80%，至少40%但不超過80%，至少50%但不超過80%，至少60%但不超過80%，至少5%但不超過70%，至少10%但不超過70%，至少15%但不超過70%，至少20%但不超過70%，至少30%但不超過70%，至少40%但不超過70%，至少50%但不超過70%，至少5%但不超過60%，至少10%但不超過60%，至少15%但不超過60%，至少20%但不超過60%，至少30%但不超過60%，至少40%但不超過60%，至少5%但不超過50%，至少10%但不超過50%，至少15%但不超過50%，至少20%但不超過50%，至少30%但不超過50%，至少40%但不超過50%，至少5%但不超過40%，至少10%但不超過40%，至少15%但不超過40%，至少20%但不超過40%，至少30%但不超過40%，或至少35%但不超過40%，至少5%但不超過30%，至少10%但不超過30%，至少15%但不超過30%，至少20%但不超過30%，或至少25%但不超過30%之mTOR抑制。

mTOR抑制程度可傳達為或對應於P70 S6激酶抑制程度，例如mTOR抑制程度可藉由P70 S6激酶活性減少程度，例如藉由P70 S6激

酶受質磷酸化之減少來確定。mTOR抑制程度可藉由各種方法評估，諸如如以引用的方式併入本文中之美國專利申請案第2015/01240036號中所述或如以引用的方式併入本文中之美國專利第7,727,950號中所述，藉由Boulay分析量測P70 S6激酶活性；藉由西方墨點法量測磷酸化S6程度；或評估PD1陰性免疫效應細胞與PD1陽性免疫效應細胞之比率的改變。

如本文所用，術語「mTOR抑制劑」係指抑制細胞中之mTOR激酶的化合物或配位體或其醫藥學上可接受之鹽。在一實施例中，mTOR抑制劑為異位抑制劑。異位mTOR抑制劑包括中性三環化合物雷帕黴素(西羅莫司)、與雷帕黴素相關之化合物，亦即具有與雷帕黴素類似的結構及功能之化合物，其包括例如雷帕黴素衍生物、雷帕黴素類似物(亦稱作雷帕羅吉)及抑制mTOR活性之其他巨環內酯化合物。在一實施例中，mTOR抑制劑為催化抑制劑。

雷帕黴素為藉由具有式A中所示之結構的吸水鏈黴菌(Streptomyces hygroscopicus)產生的已知巨環內酯抗生素。



(A)

參見例如McAlpine, J.B.等人, J. Antibiotics (1991) 44: 688；

Schreiber, S.L.等人, J. Am. Chem. Soc. (1991) 113: 7433；美國專利第3,929,992號。存在針對雷帕黴素提出之各種編號方案。為避免混淆，當在本文中命名特定雷帕黴素類似物時，該等名稱參考使用式A之編號方案的雷帕黴素給出。

適用於本發明中之雷帕黴素類似物為例如O取代之類似物，其中雷帕黴素之環己基環上之羥基經OR_1置換，其中R_1為羥基烷基、羥基烷氧基烷基、醯基胺基烷基或胺基烷基；例如RAD001，亦稱為依維莫司，如US 5,665,772及WO94/09010中所描述，其內容以引用的方式併入。其他適合雷帕黴素類似物包括在位置26或28經取代之類似物。雷帕黴素類似物可為上述類似物之差向異構體，尤其在位置40、28或26經取代之類似物的差向異構體，且可視情況進一步經氫化，例如如US 6,015,815、WO95/14023及WO99/15530中所述，其內容以引用的方式併入；例如US 7,091,213、WO98/02441及WO01/14387中所描述之ABT578，亦稱為佐他莫司或雷帕黴素類似物，其內容以引用的方式併入；例如AP23573，亦稱為地磷莫司。

適用於本發明之來自US 5,665,772之雷帕黴素類似物的實例包括(但不限於) 40-O-苯甲基-雷帕黴素、40-O-(4'-羥基甲基)苯甲基-雷帕黴素、40-O-[4'-(1,2-二羥基乙基)]苯甲基-雷帕黴素、40-O-烯丙基-雷帕黴素、40-O-[3'-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊環-4(S)-基)-丙-2'-烯-1'-基]-雷帕黴素、(2'E,4'S)-40-O-(4',5'-二羥基戊-2'-烯-1'-基)-雷帕黴素、40-O-(2-羥基)乙氧羰基甲基-雷帕黴素、40-O-(2-羥基)乙基-雷帕黴素、40-O-(3-羥基)丙基-雷帕黴素、40-O-(6-羥基)己基-雷帕黴素、40-O-[2-(2-羥基)乙氧基]乙基-雷帕黴素、40-O-[(3S)-2,2-二甲基二氧戊環-3-基]甲基-雷帕黴素、40-O-[(2S)-2,3-二羥基丙-1-基]-雷帕黴素、40-O-(2-乙醯氧基)乙基-雷帕黴素、40-O-(2-菸鹼醯基氧基)乙基-雷帕黴素、40-O-[2-(N-嗎啉基)乙醯氧基]乙基-雷帕黴素、40-O-(2-N-咪唑基

乙醯氧基)乙基-雷帕黴素、40-O-[2-(N-甲基-N'-哌嗪基)乙醯氧基]乙基-雷帕黴素、39-O-去甲基-39,40-O,O-伸乙基-雷帕黴素、(26R)-26-二氫-40-O-(2-羥基)乙基-雷帕黴素、40-O-(2-胺基乙基)-雷帕黴素、40-O-(2-乙醯胺基乙基)-雷帕黴素、40-O-(2-菸鹼醯胺基乙基)-雷帕黴素、40-O-(2-(N-甲基-咪唑-2'-基乙氧羰胺基)乙基)-雷帕黴素、40-O-(2-乙氧羰基胺基乙基)-雷帕黴素、40-O-(2-甲苯基磺醯胺基乙基)-雷帕黴素及40-O-[2-(4',5'-二乙氧羰基-1',2',3'-三唑-1'-基)-乙基]-雷帕黴素。

已知適用於本發明之其他雷帕黴素類似物為雷帕黴素之環己基環上之羥基及/或在位置28之羥基經羥基酯基置換的類似物，例如見於US RE44,768中之雷帕黴素類似物，例如坦羅莫司。

適用於本發明之其他雷帕黴素類似物包括彼等類似物，其中在位置16之甲氧基經較佳為(視情況經羥基取代之)炔基氧基、苯甲基、鄰甲氧基苯甲基或氯苯甲基之另一取代基置換，及/或其中位置39之甲氧基連同39碳一起缺失使得雷帕黴素之環己基環變為缺少位置39甲基氧基之環戊基環；該等類似物如例如WO95/16691及WO96/41807中所描述，其內容以引用的方式併入。類似物可進一步經修飾以使得雷帕黴素之位置40之羥基經烷基化及/或減少32-羰基。

來自WO95/16691之雷帕黴素類似物包括(但不限於) 16-去甲氧基-16-(戊-2-炔基)氧基-雷帕黴素、16-去甲氧基-16-(丁-2-炔基)氧基-雷帕黴素、16-去甲氧基-16-(炔丙基)氧基-雷帕黴素、16-去甲氧基-16-(4-羥基-丁-2-炔基)氧基-雷帕黴素、16-去甲氧基-16-苯甲氧基-40-O-(2-羥基乙基)-雷帕黴素、16-去甲氧基-16-苯甲氧基-雷帕黴素、16-去甲氧基-16-鄰甲氧基苯甲基-雷帕黴素、16-去甲氧基-40-O-(2-甲氧基乙基)-16-戊-2-炔基)氧基-雷帕黴素、39-去甲氧基-40-去氧基-39-甲醯基-42-降雷帕黴素、39-去甲氧基-40-去氧基-39-羥基甲基-42-降雷帕

黴素、39-去甲氧基-40-去氧基-39-羧基-42-降雷帕黴素、39-去甲氧基-40-去氧基-39-(4-甲基-哌嗪-1-基)羰基-42-降雷帕黴素、39-去甲氧基-40-去氧基-39-(嗎啉-4-基)羰基-42-降雷帕黴素、39-去甲氧基-40-去氧基-39-[N-甲基,N-(2-吡啶-2-基-乙基)]胺甲醯基-42-降雷帕黴素及39-去甲氧基-40-去氧基-39-(對甲苯磺醯基亞肼基甲基)-42-降雷帕黴素。

來自WO96/41807之雷帕黴素類似物包括(但不限於) 32-去氧-雷帕黴素、16-O-戊-2-炔基-32-去氧-雷帕黴素、16-O-戊-2-炔基-32-去氧-40-O-(2-羥基-乙基)-雷帕黴素、16-O-戊-2-炔基-32-(S)-二氫-40-O-(2-羥乙基)-雷帕黴素、32(S)-二氫-40-O-(2-甲氧基)乙基-雷帕黴素及32(S)-二氫-40-O-(2-羥基乙基)-雷帕黴素。

另一適合雷帕黴素類似物為如US2005/0101624中所述之烏米莫司(umirolimus)，其內容以引用的方式併入。

RAD001另外稱為依維莫司(Afinitor®)，其具有化學名稱(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28E,30S,32S,35R)-1,18-二羥基-12-{(1R)-2-[(1S,3R,4R)-4-(2-羥基乙氧基)-3-甲氧基環己基]-1-甲基乙基}-19,30-二甲氧基-15,17,21,23,29,35-六甲基-11,36-二氧雜-4-氮雜-三環[30.3.1.04,9]六(三十烷)-16,24,26,28-四烯-2,3,10,14,20-戊酮，如US 5,665,772及WO94/09010 (其內容以引用的方式併入)中所述。

異位mTOR抑制劑之其他實例包括西羅莫司(雷帕黴素，AY-22989)、40-[3-羥基-2-(羥基甲基)-2-甲基丙酸酯]-雷帕黴素(亦稱為坦羅莫司或CCI-779)及地磷莫司(AP-23573/MK-8669)。異位mTor抑制劑之其他實例包括佐他莫司(ABT578)及烏米莫司。

或者或另外，已發現催化ATP競爭性mTOR抑制劑直接靶向mTOR激酶結構域且靶向mTORC1及mTORC2兩者。此等亦為比諸如雷帕黴素之異位mTOR抑制劑更有效之mTORC1抑制劑，因為其調節

抗雷帕黴素性mTORC1輸出，諸如4EBP1-T37/46磷酸化及封端依賴性轉譯。

催化抑制劑包括：BEZ235或2-甲基-2-[4-(3-甲基-2-側氧基-8-喹啉-3-基-2,3-二氫-咪唑并[4,5-c]喹啉-1-基)-苯基]-丙腈，或單甲苯磺酸鹽形式(BEZ235之合成描述於WO2006/122806中)；CCG168 (另稱為AZD-8055，Chresta, C.M.等人, Cancer Res, 2010, 70(1), 288-298)，其具有化學名稱{5-[2,4-雙-((S)-3-甲基-嗎啉-4-基)-吡啶并[2,3d]嘧啶-7-基]-2-甲氧基-苯基}}-甲醇；3-[2,4-雙[(3S)-3-甲基嗎啉-4-基]吡啶并[2,3-d]嘧啶-7-基]-N-甲基苯甲醯胺(WO09104019)；3-(2-胺基苯并[d]噁唑-5-基)-1-異丙基-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-胺(WO10051043及WO2013023184)；N-(3-(N-(3-((3,5-二甲氧基苯基)胺基)喹喏啉-2-基)胺磺醯基)苯基)-3-甲氧基-4-甲基苯甲醯胺(WO07044729及WO12006552)；PKI-587 (Venkatesan, A.M., J. Med.Chem., 2010, 53, 2636-2645)，其具有化學名稱1-[4-[4-(二甲基胺基)哌啶-1-羰基]苯基]-3-[4-(4,6-二嗎啉)-1,3,5-三嗪-2-基)苯基]脲；GSK-2126458 (ACS Med. Chem. Lett., 2010, 1, 39-43)，其具有化學名稱2,4-二氟-N-{2-甲氧基-5-[4-(4-噠嗪基)-6-喹啉基]-3-吡啶基}苯磺醯胺；5-(9-異丙基-8-甲基-2-嗎啉基-9H-嘌呤-6-基)嘧啶-2-胺(WO10114484)；(E)-N-(8-(6-胺基-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-1-(6-(2-氰基丙-2-基)吡啶-3-基)-3-甲基-1H-咪唑并[4,5-c]喹啉-2(3H)-亞基)氰胺(WO12007926)。

催化mTOR抑制劑之其他實例包括8-(6-甲氧基-吡啶-3-基)-3-甲基-1-(4-哌嗪-1-基-3-三氟甲基-苯基)-1,3-二氫-咪唑并[4,5-c]喹啉-2-酮(WO2006/122806)及Ku-0063794 (Garcia-Martinez JM等人, Biochem J., 2009, 421(1), 29-42)。Ku-0063794為雷帕黴素之哺乳動物標靶特異性抑制劑(mTOR)。WYE-354為催化mTor抑制劑之另一實例(Yu K等人, (2009). Biochemical, Cellular, and In vivo Activity of Novel ATP-

Competitive and Selective Inhibitors of the Mammalian Target of Rapamycin. Cancer Res. 69(15): 6232-6240)。

根據本發明適用之mTOR抑制劑亦包括其前藥、衍生物、醫藥學上可接受之鹽或前述中之任一者之類似物。

諸如RAD001之mTOR抑制劑可經調配以便於基於此項技術中公認的方法基於本文所述之特定劑量傳遞。詳言之，美國專利6,004,973(以引用的方式併入本文中)提供可與本文所述之mTOR抑制劑一起使用的調配物之實例。

用於評估CAR有效性或樣品適合性之方法及生物標記物

在另一個態樣中，本發明提供一種評估或監測個體(例如患有癌症，例如血液癌之個體)中表現CAR之細胞療法(例如CLL-1 CAR療法)之有效性或樣品(例如清除術樣品)對於CAR療法(例如CLL-1 CAR療法)之適合性的方法。該方法包括獲取CAR療法有效性或樣品適合性之值，其中該值指示表現CAR之細胞療法之有效性或適合性。

在實施例中，CAR療法之有效性或樣品適合性之值包含以下一者、兩者、三者、四者、五者、六者或更多者(全部)的量測：

(i)樣品(例如清除術樣品或製造之表現CAR之細胞產物樣品)中靜止T_{EFF}細胞、靜止T_{REG}細胞、較年輕T細胞(例如較年輕CD4或CD8細胞或γ/δ T細胞)或早期記憶T細胞中之一者、兩者、三者或更多者(例如全部)或其組合的含量或活性；

(ii)樣品(例如清除術樣品或製造之表現CAR之細胞產物樣品)中活化T_{EFF}細胞、活化T_{REG}細胞、較老T細胞(例如較老CD4或CD8細胞)或晚期記憶T細胞中之一者、兩者、三者或更多者(例如全部)或其組合的含量或活性；

(iii)樣品(例如清除術樣品或製造之表現CAR之細胞產物樣品)中免疫細胞耗盡標記物，例如一種、兩種或兩種以上檢查點抑制劑(例

如PD-1、PD-L1、TIM-3及/或LAG-3)之含量或活性。在一個實施例中，免疫細胞具有耗盡表現型，例如共表現至少兩種耗盡標記物，例如共表現PD-1及TIM-3。在其他實施例中，免疫細胞具有耗盡表現型，例如共表現至少兩種耗盡標記物，例如共表現PD-1及LAG-3；

(iv)樣品(例如清除術樣品或製造之表現CAR之細胞產物樣品)中例如CD4+或CD8+T細胞群體中CD27及/或CD45RO-(例如CD27+CD45RO-)免疫效應細胞之含量或活性；

(v)選自CCL20、IL-17a及/或IL-6、PD-1、PD-L1、LAG-3、TIM-3、CD57、CD27、CD122、CD62L、KLRG1之生物標記物中一者、兩者、三者、四者、五者、十者、二十者或更多者之含量或活性；

(vi)表現CAR之細胞產物樣品，例如表現CLL-1 CAR之細胞產物樣品中細胞因子含量或活性(例如細胞因子庫之品質)；或

(vii)製造之表現CAR之細胞產物樣品中表現CAR之細胞之轉導效率。

在本文所揭示之任一方法之一些實施例中，表現CAR之細胞療法包含複數個(例如一群)表現CAR之免疫效應細胞，例如複數個(例如一群) T細胞或NK細胞或其組合。在一個實施例中，表現CAR之細胞療法為CLL-1 CAR療法。

在本文所揭示之任一方法之一些實施例中，自獲自個體之清除術樣品獲得(i)-(vii)中之一或多者的量測。可在輸注或再次輸注前評估清除術樣品。

在本文所揭示之任一方法之一些實施例中，自製造之表現CAR之細胞產物樣品，例如表現CLL-1 CAR之細胞產物樣品獲得(i)-(vii)中之一或多者的量測。可在輸注或再次輸注前評估製造之表現CAR之細胞產物。

在本文所揭示之任一方法之一些實施例中，在接受表現CAR之細

胞療法之前，在此期間或在接受之後評估個體。

在本文所揭示之任一方法之一些實施例中，(i)-(vii)中之一或多者的量測評估基因表現、流動式細胞量測術或蛋白質表現中之一或多者的型態。

在本文所揭示之任一方法之一些實施例中，該方法進一步包含基於(i)-(vii)中之一或多者的量測，鑑別個體為反應者、無反應者、復發者或非復發者。

在本文所揭示之任一方法之一些實施例中，反應者(例如完全反應者)具有或經鑑別具有與無反應者相比，GZMK、PPF1BP2或原始T細胞中一者、兩者或更多者(全部)更大之含量或活性。

在本文所揭示之任一方法之一些實施例中，無反應者具有或經鑑別具有與反應者相比，IL22、IL-2RA、IL-21、IRF8、IL8、CCL17、CCL22、效應T細胞或調控T細胞中一者、兩者、三者、四者、五者、六者、七者或更多者(全部)更大之含量或活性。

在一個實施例中，復發者為具有或經鑑別具有與非復發者相比，增加的以下基因中之一或多者(例如2、3、4者或全部)之表現量：MIR199A1、MIR1203、uc021ovp、ITM2C及HLA-DQB1，及/或與非復發者相比，減少的以下基因中之一或多者(例如2、3、4、5、6、7、8、9、10、11者或全部)之表現量的患者：PPIAL4D、TTTY10、TXLNG2P、MIR4650-1、KDM5D、USP9Y、PRKY、RPS4Y2、RPS4Y1、NCRNA00185、SULT1E1及EIF1AY。

在本文所揭示之任一方法之一些實施例中，完全反應者具有或經鑑別具有與參考值，例如CD8+ T細胞之無反應者百分比相比，更大，例如統計學上顯著更大百分比之CD8+ T細胞。

在本文所揭示之任一方法之一些實施例中，完全反應者具有或經鑑別具有與參考值，例如CD27+CD45RO-免疫效應細胞之無反應者

數目相比，例如CD8+群體中更大百分比之CD27+CD45RO-免疫效應細胞。

在本文所揭示之任一方法之一些實施例中，完全反應者或部分反應者具有或經鑑別具有與參考值，例如CD4+ T細胞之無反應者百分比相比，更大，例如統計學上顯著更大百分比之CD4+ T細胞。

在本文所揭示之任一方法之一些實施例中，完全反應者具有或經鑑別具有與參考值，例如靜止T_{EFF}細胞、靜止T_{REG}細胞、較年輕T細胞(例如較年輕CD4或CD8細胞)或早期記憶T細胞之無反應者數目相比，更大百分比之靜止T_{EFF}細胞、靜止T_{REG}細胞、較年輕T細胞(例如較年輕CD4或CD8細胞或γ/δ T細胞)或早期記憶T細胞中之一者、兩者、三者或更多者(例如全部)或其組合。

在本文所揭示之任一方法之一些實施例中，無反應者具有或經鑑別具有與參考值，例如活化T_{EFF}細胞、活化T_{REG}細胞、較老T細胞(例如較老CD4或CD8細胞)或晚期記憶T細胞之反應者數目相比，更大百分比之活化T_{EFF}細胞、活化T_{REG}細胞、較老T細胞(例如較老CD4或CD8細胞)或晚期記憶T細胞中之一者、兩者、三者或更多者(例如全部)或其組合。

在本文所揭示之任一方法之一些實施例中，無反應者具有或經鑑別具有更大百分比之免疫細胞耗盡標記物，例如一種、兩種或兩種以上免疫檢查點抑制劑(例如PD-1、PD-L1、TIM-3及/或LAG-3)。在一個實施例中，無反應者具有或經鑑別具有與來自反應者之表現PD-1或LAG-3之免疫效應細胞之百分比相比，更大百分比之表現PD-1、PD-L1或LAG-3之免疫效應細胞(例如CD4+ T細胞及/或CD8+ T細胞)(例如表現CAR之CD4+細胞及/或CD8+ T細胞)。

在一個實施例中，無反應者具有或經鑑別具有更大百分比之具有耗盡表現型之免疫細胞，例如共表現至少兩種耗盡標記物，例如共

表現PD-1、PD-L1及/或TIM-3之免疫細胞。在其他實施例中，無反應者具有或經鑑別具有更大百分比之具有耗盡表現型之免疫細胞，例如共表現至少兩種耗盡標記物，例如共表現PD-1及LAG-3之免疫細胞。

在本文所揭示之任一方法之一些實施例中，無反應者具有或經鑑別具有與表現CAR之細胞療法之反應者(例如完全反應者)相比，表現CAR之細胞群體(例如CLL-1 CAR+細胞群體)中更大百分比之PD-1/PD-L1+/LAG-3+細胞。

在本文所揭示之任一方法之一些實施例中，部分反應者具有或經鑑別具有與反應者相比，表現CAR之細胞群體(例如CLL-1 CAR+細胞群體)中更高百分比之PD-1/PD-L1+/LAG-3+細胞。

在本文所揭示之任一方法之一些實施例中，無反應者具有或經鑑別具有在表現CAR之細胞群體(例如CLL-1 CAR+細胞群體)中PD1/PD-L1+CAR+之耗盡表現型及LAG3之共表現。

在本文所揭示之任一方法之一些實施例中，無反應者具有或經鑑別具有與反應者(例如完全反應者)相比，表現CAR之細胞群體(例如CLL-1 CAR+細胞群體)中更大百分比之PD-1/PD-L1+/TIM-3+細胞。

在本文所揭示之任一方法之一些實施例中，部分反應者具有或經鑑別具有與反應者相比，表現CAR之細胞群體(例如CLL-1 CAR+細胞群體)中更高百分比之PD-1/PD-L1+/TIM-3+細胞。

在本文所揭示之任一方法之一些實施例中，清除術樣品中CD8+CD27+CD45RO- T細胞之存在為個體對表現CAR之細胞療法(例如CLL-1 CAR療法)反應陽性之預測因子。

在本文所揭示之任一方法之一些實施例中，清除術樣品中高百分比之PD1+CAR+及LAG3+或TIM3+T細胞為個體對表現CAR之細胞療法(例如CLL-1 CAR療法)反應不良之預測因子。

在本文所揭示之任一方法之一些實施例中，反應者(例如完全或

部分反應者)具有以下型態中之一者、兩者、三者或三者以上(或全部)：

(i)與參考值，例如CD27+免疫效應細胞之無反應者數目相比，具有更大數目之CD27+免疫效應細胞；

(ii)與參考值，例如CD8+ T細胞之無反應者數目相比，具有更大數目之CD8+ T細胞；

(iii)與參考值，例如表現一或多種檢查點抑制劑之細胞之無反應者數目相比，具有較低數目之表現一或多種檢查點抑制劑，例如選自PD-1、PD-L1、LAG-3、TIM-3或KLRG-1或組合之檢查點抑制劑之免疫細胞；或

(iv)與參考值，例如靜止T_{EFF}細胞、靜止T_{REG}細胞、原始CD4細胞、未經刺激之記憶T細胞或早期記憶T細胞之無反應者數目相比，具有更大數目之靜止T_{EFF}細胞、靜止T_{REG}細胞、原始CD4細胞、未經刺激之記憶T細胞或早期記憶T細胞中之一者、兩者、三者、四者或四者以上(全部)或其組合。

在本文所揭示之任一方法之一些實施例中，(vi)之細胞因子含量或活性係選自細胞因子CCL20/MIP3a、IL17A、IL6、GM-CSF、IFNγ、IL10、IL13、IL2、IL21、IL4、IL5、IL9或TNFα中之一者、兩者、三者、四者、五者、六者、七者、八者或更多者(或全部)或其組合。細胞因子可選自IL-17A、CCL20、IL2、IL6或TNFa中之一者、兩者、三者、四者或更多者(全部)。在一個實施例中，選自IL-17A及CCL20中之一或兩者的細胞因子之含量或活性增加指示反應增加或復發減少。

在本文所揭示之任一方法之一些實施例中，(vii)中15%或更高之轉導效率指示反應增加或復發減少。

在本文所揭示之任一方法之一些實施例中，(vii)中少於15%之轉

導效率指示反應減少或復發增加。

在實施例中，藉由本文中之方法鑑別之反應者、無反應者、復發者或非復發者可根據臨床標準進一步評估。舉例而言，完全反應者患有或鑑別為患有疾病，例如癌症，對治療顯示完全反應，例如完全緩解之個體。可例如使用NCCN Guidelines®或Cheson等人，J Clin Oncol 17:1244 (1999)及Cheson等人，「Revised Response Criteria for Malignant Lymphoma」，J Clin Oncol 25:579-586 (2007) (均以全文引用的方式併入本文中)鑑別完全反應。部分反應者患有或鑑別為患有疾病，例如癌症，對治療顯示部分反應，例如部分緩解之個體。可例如使用如本文所述之NCCN Guidelines®或Cheson標準鑑別部分反應。無反應者患有或鑑別為患有疾病，例如癌症，對治療不顯示反應之個體，例如患者具有穩定疾病或進展性疾病。可例如使用如本文所述之NCCN Guidelines®或Cheson標準鑑別無反應者。

或者，或與本文所揭示之方法組合，回應於該值，進行以下中之一者、兩者、三者、四者或更多者：

例如向反應者或非復發者投與表現CAR之細胞療法；

投與改變劑量之表現CAR之細胞療法；

改變表現CAR之細胞療法之進度或時程；

例如向無反應者或部分反應者投與另一藥劑與表現CAR之細胞療法，例如檢查點抑制劑，例如本文所述之檢查點抑制劑之組合；

在用表現CAR之細胞療法處理之前向無反應者或部分反應者投與增加個體中較年輕T細胞之數目的療法；

修改表現CAR之細胞療法之製造方法，例如在引入編碼CAR之核酸之前富集較年輕T細胞，或例如針對鑑別為無反應者或部分反應者之個體，增加轉導效率；

例如針對無反應者或部分反應者或復發者，投與替代性療法；

或

若個體為或鑑別為無反應者或復發者，則例如藉由CD25耗盡、投與環磷醯胺、抗-GITR抗體或其組合中之一或多者，減少T_{REG}細胞群體及/或T_{REG}基因特徵。

在某些實施例中，個體用抗-GITR抗體預治療。在某一實施例中，在輸注或再輸注之前個體用抗-GITR抗體治療。

生物聚合物傳遞方法

在一些實施例中，一或多個如本文所揭示之表現CAR之細胞可經由生物聚合物支架，例如生物聚合物植入物投與或傳遞至個體。生物聚合物支架可支撐或增強本文所述之表現CAR之細胞之傳遞、擴增及/或分散。生物聚合物支架包含可天然存在或合成之生物相容性(例如不實質上誘發發炎性或免疫反應)及/或生物可降解之聚合物。

適合生物聚合物之實例包括(但不限於)單獨或與任何其他聚合物組合物以任何濃度及任何比率組合的瓊脂、瓊脂糖、海藻酸鹽、海藻酸鹽/磷酸鈣水泥(CPC)、β-半乳糖苷酶(β-GAL)、(1,2,3,4,6-五乙醯基a-D-半乳糖)、纖維素、幾丁質、聚葡萄胺糖、膠原蛋白、彈性蛋白、明膠、玻尿酸、膠原蛋白、羥磷灰石、聚(3-羥丁酸酯-共-3-羥基-己酸酯) (PHBHHx)、聚(丙交酯)、聚(己內酯) (PCL)、聚(丙交酯-共-乙交酯) (PLG)、聚氧化乙烯(PEO)、聚(乳酸-共-乙醇酸)(PLGA)、聚氧化丙烯(PPO)、聚乙烯醇(PVA)、絲綢、大豆蛋白及分離大豆蛋白。

生物聚合物可經促進黏附或遷移之分子，例如結合於淋巴細胞之膠原蛋白受體的膠原蛋白模擬肽及/或增強待傳遞之細胞之傳遞、擴增或功能，例如抗癌活性的刺激分子強化或改質。生物聚合物支架可為可注射劑，例如凝膠或半固體，或固體組合物。

在一些實施例中，在傳遞至個體之前本文所述之表現CAR之細胞接種至生物聚合物支架上。在實施例中，生物聚合物支架進一步包含

一或多種例如併入或結合於支架之生物聚合物的本文所述之其他治療劑(例如另一表現CAR之細胞、抗體或小分子)或增強表現CAR之細胞之活性的藥劑。在實施例中，生物聚合物支架例如瘤內注射或以外科手術方式植入腫瘤或植入足以介導抗腫瘤作用之腫瘤附近位置內。生物聚合物組合物之其他實例及其傳遞方法描述於Stephan等人, *Nature Biotechnology*, 2015, 33:97-101；及WO2014/110591中。

醫藥組合物及治療

本發明之醫藥組合物可包含表現CAR之細胞(例如複數個如本文所述之表現CAR之細胞)與一或多種醫藥學上或生理學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑的組合。此類組合物可包含緩衝劑，諸如中性緩衝生理食鹽水、磷酸鹽緩衝生理食鹽水及其類似物；碳水化合物，諸如葡萄糖、甘露糖、蔗糖或葡聚糖、甘露糖醇；蛋白質；多肽或胺基酸，諸如甘胺酸；抗氧化劑；螯合劑，諸如EDTA或麩胱甘肽；佐劑(例如氫氧化鋁)；及防腐劑。在一個態樣中，本發明之組合物調配用於靜脈內投與。

本發明之醫藥組合物可以適於待治療(或預防)疾病之方式投與。儘管可藉由臨床試驗確定適當劑量，但投與量及頻率將由諸如以下之因素決定：患者之條件，及患者疾病之類型及嚴重程度。

在一個實施例中，醫藥組合物實質上不含，例如不存在可偵測含量的例如選自由以下各者組成之群的污染物：內毒素、黴漿菌、複製勝任型慢病毒(RCL)、p24、VSV-G核酸、HIV gag、殘餘抗-CD3/抗-CD28塗佈之珠粒、小鼠抗體、彙聚人類血清、牛血清白蛋白、牛血清、培養基組分、載體封裝細胞或質體組分、細菌及真菌。在一個實施例中，細菌為選自由以下各者組成之群的至少一者：糞產鹼桿菌(Alcaligenes faecalis)、白色念珠菌(Candida albicans)、大腸桿菌、流行性嗜血桿菌(Haemophilus influenza)、腦膜炎雙球菌(Neisseria

meningitides)、綠膿桿菌(Pseudomonas aeruginosa)、金黃色葡萄球菌(Staphylococcus aureus)、肺炎鏈球菌(Streptococcus pneumonia)及A群化膿性鏈球菌(Streptococcus pyogenes group A)。

當指示「免疫有效量」、「抗腫瘤有效量」、「腫瘤抑制有效量」或「治療量」時，待投與之本發明之組合物的精確量可由醫師考慮個體之年齡、體重、腫瘤尺寸、感染或癌轉移程度及患者(個體)條件的差異來決定。通常可規定包含本文所述之T細胞之醫藥組合物可以每公斤體重10^4至10^9個細胞，在一些情況下每公斤體重10^5至10^6個細胞(包括彼等範圍內之全部整數值)之劑量投與。T細胞組合物亦可以此等劑量多次投與。細胞可藉由使用免疫療法中通常已知之輸注技術投與(參見例如Rosenberg等人, New Eng. J. of Med. 319:1676, 1988)。

在某些態樣中，可能需要向個體投與活化T細胞，隨後重新抽血(或進行清除術)，根據本發明自其活化T細胞，且用此等經活化及擴增之T細胞重新輸注患者。此過程可每幾週進行多次。在某些態樣中，T細胞可自抽出之10cc至400cc血液活化。在某些態樣中，T細胞自抽取之20cc、30cc、40cc、50cc、60cc、70cc、80cc、90cc或100cc血液活化。

可以任何適宜方式投與標的組合物，包括藉由氣霧劑吸入、注射、攝入、輸注、植入或移植。可經動脈內、皮下、皮內、瘤內、結節內、髓內、肌肉內、靜脈內(i.v.)注射或腹膜內向患者投與本文所述之組合物。在一個態樣中，藉由皮內或皮下注射向患者投與本發明之T細胞組合物。在一個態樣中，藉由靜脈內注射投與本發明之表現CAR之細胞(例如T細胞或NK細胞)組合物。表現CAR之細胞(例如T細胞或NK細胞)之組合物可直接注射至腫瘤、淋巴結或感染部位。

在一特定例示性態樣中，個體可經歷白細胞去除術，其中將白細胞收集、增濃或離體耗盡以選擇及/或分離相關細胞，例如免疫效

應細胞(例如T細胞或NK細胞)。此等免疫效應細胞(例如T細胞或NK細胞)分離物可藉由此項技術中已知之方法擴增及處理，使得可引入一或多種本發明之CAR構築體，藉此產生本發明之表現CAR之細胞(例如CAR T細胞或表現CAR之NK細胞)。有需要之個體可隨後經歷使用高劑量化學療法繼之以外周血液幹細胞移植的標準治療。在某些態樣中，在移植之後或同時，個體接受經擴增之本發明之表現CAR之細胞(例如CAR T細胞或表現CAR之NK細胞)輸注。在另一態樣中，在手術之前或之後投與經擴增之表現CAR之細胞(例如CAR T細胞或NK細胞)。

上述待投與患者的治療之劑量將隨所治療病狀之準確性質及治療接受者而變化。可根據此項技術中接受之實踐對用於人類投與之劑量按比例調整。CAMPATH之劑量例如對成年患者而言將在1至約100 mg範圍內，通常每日投與，持續1至30天之時間。較佳每日劑量為每日1至10 mg，然而在一些情況下，可使用高達每日40 mg之較大劑量(描述於美國專利第6,120,766號中)。

在一個實施例中，CAR例如使用活體外轉錄引入免疫效應細胞(例如T細胞或NK細胞)中，且個體(例如人類)接受本發明之表現CAR之免疫效應細胞(例如T細胞、NK細胞)的初始投與，及一或多次本發明之表現CAR之免疫效應細胞(例如T細胞、NK細胞)的隨後投與，其中一或多次隨後投與在先前投與之後不足15天，例如14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3或2天投與。在一個實施例中，每週向個體(例如人類)投與本發明之表現CAR之免疫效應細胞(例如T細胞、NK細胞)的一次以上投與，例如每週投與2、3或4次本發明之表現CAR之免疫效應細胞(例如T細胞、NK細胞)的投與。在一個實施例中，個體(例如人類個體)每週接受一次以上表現CAR之免疫效應細胞(例如T細胞、NK細胞)投與(例如每週2、3或4次投與)(在本文中亦稱

為週期)，隨後一週不投與表現CAR之免疫效應細胞(例如T細胞、NK細胞)，接著向個體投與一或多次表現CAR之免疫效應細胞(例如T細胞、NK細胞)的額外投與(例如每週一次以上表現CAR之免疫效應細胞(例如T細胞、NK細胞)投與)。在另一實施例中，個體(例如人類個體)接受一個以上表現CAR之免疫效應細胞(例如T細胞、NK細胞)週期，且各週期之間的時間小於10、9、8、7、6、5、4或3天。在一個實施例中，每隔一天投與表現CAR之免疫效應細胞(例如T細胞、NK細胞)，每週投與3次。在一個實施例中，投與本發明之表現CAR之免疫效應細胞(例如T細胞、NK細胞)持續至少兩週、三週、四週、五週、六週、七週、八週或八週以上。

在一個態樣中，使用慢病毒載體(諸如慢病毒)產生表現CLL-1 CAR之細胞(例如CLL-1 CART或表現CLL-1 CAR之NK細胞)。彼方式產生之表現CAR之細胞(例如CART或表現CAR之NK細胞)將具有穩定CAR表現。

在一個態樣中，使用諸如γ反轉錄病毒載體，例如本文所述之γ反轉錄病毒載體的病毒載體產生表現CAR之細胞，例如CART或表現CAR之NK細胞。使用此等載體產生之表現CAR之細胞，例如CART或表現CAR之NK細胞可具有穩定CAR表現。

在一個態樣中，在轉導後，表現CAR之細胞(例如CART或表現CAR之NK細胞)短暫表現CAR載體持續4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15天。可藉由RNA CAR載體傳遞實現CAR短暫表現。在一個態樣中，藉由電穿孔將CAR RNA轉導至T細胞中。

使用短暫表現表現CAR之細胞(例如CART或表現CAR之NK細胞)(尤其使用攜帶鼠類scFv之CART)治療之患者中可能產生的潛在問題為多次治療後的全身性過敏反應。

不受此理論束縛，咸信此類過敏性反應可由產生體液抗-CAR反

應(亦即具有抗IgE同型之抗-CAR抗體)之患者引起。當存在十天至十四天抗原暴露中斷時，認為患者之抗體產生細胞經歷IgG同型(不引起全身性過敏反應)至IgE同型的類別轉換。

若患者在短暫CAR療法過程中處於產生抗-CAR抗體反應(諸如由RNA轉導產生之反應)之高風險中，則CART輸注中斷不應持續超過十天至十四天。

實例

參考以下實驗性實例，進一步詳細描述本發明。除非另外規定，否則提供此等實例僅出於說明的目的，且不欲限制。因此，本發明決不應解釋為限於以下實例，而應解釋為涵蓋由於本文所提供之教示而變得顯而易見的任何及所有變體。

無需進一步描述，咸信一般技術者可使用前述描述及以下說明性實例製造及利用本發明之組合物且實踐所主張之方法。以下實施例特定指出本發明之各種態樣且不應理解為以任何方式限制本發明之剩餘部分。

實例1：產生CAR構築體

產生完整人類抗-CD33單鏈可變片段(scFv)且選殖至具有胞內CD3ζ鏈及4-1BB之胞內共同刺激結構域之慢病毒表現載體中且給與表1 (其展示在實施方式中)中描繪之名稱。

scFv中VL及VH結構域出現之次序變化(亦即VL-VH或VH-VL取向)，且其中各次單元包含序列GGGGS (SEQ ID NO: 25)之「G4S」(SEQ ID NO: 25)次單元之三個或四個複本(例如$(G4S)_3$ (SEQ ID NO: 28)或$(G4S)_4$ (SEQ ID NO: 27))連接可變結構域以產生整個scFv結構域，如表2中所示。

人類scFv片段之序列(SEQ ID NO: 39-51)提供於本文表2(實施方式中)中。此等純系在來源於CD3ζ鏈之共同刺激結構域的信號結構域

中均含有Q/K殘基改變。接著CAR scFv片段選殖至慢病毒載體中，以在單個編碼框中且使用EF1 α啟動子形成全長CAR構築體，用於表現(SEQ ID NO: 11)。

CAR構築體之序列及其結構域序列列於實施方式中。人類CAR構築體之分析如實例2-5中所述進行。

實例2：攜帶人類scFv之CART的分析及活體外活性

使用含有由NFAT啟動子驅動之螢光素酶報導基因之Jurkat細胞株(稱為JNL細胞)評估抗-CLL-1 CAR構築體之活性。CAR活性量測為此NFAT驅動之報導基因的活化。將含有CART構築體之慢病毒上清液添加至JNL細胞以進行轉導。在轉導之後4-6天，藉由如下所述之FACS評估JNL細胞的CAR表現(圖2A、2B及2C)或將JNL細胞與標靶陽性(PL21、THP1、HL60、U937)或標靶陰性(K562)細胞株以所指示之效應(JNL)與標靶細胞株(E:T)比率混合以引發活化。在共培育20小時之後，使用Bright-Glo™螢光素酶分析，在EnVision儀器上量測螢光素酶信號(圖1A、1B及2C)。

基於經CLL-1 CAR轉導之T細胞(「CART-CLL-1」或「CART-CLL-1 T細胞」)回應於表現CLL-1 (「CLL-1+」)標靶之效應T細胞反應的數量及品質，選擇最佳抗-CLL-1 CAR構築體。效應T細胞反應包括(但不限於)細胞擴增、增殖、倍增、細胞因子產生及標靶細胞殺死或細胞溶解活性(脫粒)。

CART-CLL-1之產生

編碼人類scFv之慢病毒轉移載體用於產生封裝至VSVg假型慢病毒粒子中之基因組材料。將慢病毒轉移載體DNA與三種封裝組分VSVg、gag/pol及rev混合，VSVg、gag/pol及rev與脂染胺試劑組合以將其一起轉染至Lenti-X 293T細胞(Clontech)中。

30小時後，收集培養基，過濾且儲存在-80℃下。藉由以來自正

常清血供體之血液為起始物質產生治療性CART-CLL-1，該供體之原始T細胞藉由針對T細胞、CD4+及CD8+淋巴細胞的陰性選擇獲得。在37℃、5% CO_2下，在RPMI 1640 (10%熱滅活胎牛血清(FCS)、2 mM L-麩醯胺酸、1×青黴素/鏈黴素、100 μM非必需胺基酸、1 mM丙酮酸鈉、10 mM Hepes及55 μM 2-巰基乙醇)中，在1:3比率下藉由CD3×28珠粒(Dynabeads® Human T-Expander CD3/CD28，Invitrogen)活化此等細胞。T細胞以於24孔盤每孔0.5 mL培養基中1×10^6個T細胞培養。在24小時之後，T細胞爆發且添加0.5 mL病毒上清液。T細胞開始以對數生長模式分裂，此藉由量測每毫升之細胞數來監測，且T細胞每兩天在新鮮培養基中稀釋。在約10天後，當T細胞開始休止時，對數生長衰減。生長速率減緩與T細胞尺寸接近約300 fl之組合確定T細胞狀態進行冷凍保存以供隨後分析。

在冷凍保存前，轉導細胞(在細胞表面上表現抗-CLL-1 CAR)之百分比及其表現之相對螢光強度藉由在BD LSRFortessa或BD-FACSCanto上的流動細胞學分析，使用蛋白質L (圖3A及22A)或生物素標記之重組人類CLL-1蛋白質(圖3B及22B)作為偵測試劑來測定。來自該FACS之相對螢光強度之直方曲線圖展示轉導T細胞之百分比。轉導引起10%-50%範圍內之CART陽性細胞。

評估CART-CLL-1重導向T細胞之細胞溶解活性及細胞因子分泌

為評估CART-CLL-1 T細胞殺死及分泌細胞因子的功能性能力，將細胞解凍且使其恢復隔夜。

T細胞殺死針對穩定表現螢光素酶的表現CLL-1之PL21 (圖4A)及HL-60 (圖4B)*急性骨髓性白血病*細胞株。不表現CLL-1之U87細胞用作對照(圖4C)且未轉導之T細胞用於測定非特異性背景殺死水準。隨著10:1之效應:標靶細胞比率的滴定及T細胞3倍稀釋，量測CART-CLL-1之細胞溶解活性，其中效應細胞定義為表現抗-CLL-1嵌合受體

之T細胞。藉由混合適當數目之T細胞與恆定數目之標靶細胞來起始分析。在20小時之後，使用Bright-Glo™螢光素酶分析，在EnVision儀器上量測螢光素酶信號。

比較此等殺死曲線，滴定效應細胞之量展示彼等表現CLL-1之細胞破壞。來自相同供體之經負載人類scFv之CAR-CLL-1細胞任一者轉導的T細胞能夠選擇性地殺死CLL-1+標靶。有趣地，並非所有CART-CLL-1細胞均為活性。含有純系13之CART細胞在此分析中不活化，即使在表現標靶之細胞存在下。

為量測CART-CLL-1細胞之細胞因子產生，使細胞解凍且使其恢復隔夜。未轉導之T細胞(UTD)用作背景T細胞作用之非特異性對照。T細胞針對HL-60、PL21或U87細胞。分析測試如所述之1:1或10:1之效應細胞：標靶比率，其中效應細胞定義為表現抗-CLL-1 CAR之T細胞。在細胞混合24小時之後進行分析，此時移除培養基以使用CBA-Flex套組偵測人類細胞因子來分析細胞因子TNF-α (圖5A)、IL-2 (圖5B)及IFN-γ (圖5C)。

當CART-CLL-1 T細胞與內源性表現CLL-1之癌細胞一起培養時，除CLL-1-13外之所有CLL-1-CART均回應於表現標靶之細胞產生細胞因子。各種CLL-1-CART純系對低表現CLL-1之標靶細胞的反應性差異可轉變為經此等構築體轉導之CART細胞更好的臨床功效。

評估CART-CLL-1之增殖能力

測試CART-CLL1 T細胞回應於暴露於標靶細胞上之抗原增殖的能力。測試多種CLL-1 CAR構築體，CLL-6、CLL-9、CLL-10、CLL-11、CLL-12及CLL-13。標靶細胞包括U937、PL-21、HL60及Molm13細胞。在分析當天(第0天)，計算標靶細胞數，且以3e6個細胞/毫升轉移至50 ml管中之6 mL T細胞培養基中。以10,000 rad照射在冰上之標靶細胞。在照射之後，將標靶細胞在T細胞培養基中洗滌兩次，計數

且再懸浮於在冰上之T細胞培養基中至5e5個細胞/毫升。

使冷凍之經轉導之T細胞解凍，在10 mL完全T細胞培養基中洗滌，以300 g旋轉10分鐘，且於室溫下輕輕地再懸浮於3 mL完全T細胞培養基中。接著在細胞計數儀(cellometer)中計算T細胞數，且再懸浮在10 mL培養基中至2.5e6個/毫升。在96孔U形底盤中，將25,000個經照射之標靶細胞及25,000個經轉導之CAR T細胞(1:1比率)組合於二重覆孔中。在其中一孔中，將含於100 μl培養基中之75,000個抗-CD3/CD28珠粒添加至25,000個經轉導之T細胞中以產生1:3細胞與珠粒比率，作為陽性對照；在另一孔中，添加100 μl培養基至單獨25,000個經轉導之T細胞，作為僅僅培養基之對照組。將細胞在37℃、5% CO_2下培育4天。

第4天，收穫細胞且藉由吸液及轉移至U形底盤上之相同孔來組合該等二重覆物，以供使用蛋白質L或重組人類CLL-1蛋白質染色用於CD4、CD8及CAR之FACS。在染色之後，使細胞再懸浮於120 μl MACS+0.5% BSA緩衝液中且將20微升/孔countbright珠粒添加至各孔。以用於計算2500個珠粒之期間偵測到之FACS陽性細胞數目來量測增殖性。

如圖23A及23B中所示，表現CLL-1 CAR構築體CLL-6、CLL-9、CLL-10、CLL-11及CLL-12之細胞在不同標靶細胞存在下增殖。

實例3：CLL-1毒性研究

CLL-1藉由流動式細胞量測術，使用市售抗體(純系HIM3-4，eBioscience)量測。本文中之結果證實CLL-1在具有AML之大多數原發性患者樣品中表現(AML母細胞使用標準側向散射低CD45暗特徵閘控)(圖6)。

將來自兩種不同供體之T細胞用CLL-1 (圖6)轉導且引起35%-45%之轉導效率。T細胞首先用CD3/CD28 Dynabeads (Invitrogen)刺激且維

持在以IL-2支持之無血清T細胞培養基中。接著第二天，使用慢病毒載體將T細胞用CLL-1 CAR(圖6)轉導且在培養基中擴增約10天。接著當中值細胞體積接近300 fl時冷凍T細胞。藉由流動式細胞量測術，使用生物素標記之CLL-1蛋白質(Sino Biological)與使用抗生蛋白鏈菌素之二次染色來偵測T細胞上之CAR表現。本文中呈現之結果證實用CAR轉導之T細胞的轉導效率(圖7A及7B)。

將CART123、CLL1-CART細胞及未轉導之T細胞與CD123+/CLL1+細胞株THP-1、CLL1+/CD123+之兩種原發性AML樣品及對照ALL細胞株NALM6一起培育4小時。藉由流動式細胞量測術量測CD107a脫粒(8A)。針對THP1及原發性AML樣品，CLL-1 CART細胞經歷特異性脫粒，而針對對照細胞株，未經歷(圖8B)。本文中呈現之結果證實CLL1-CART細胞針對CLL1+細胞株及原發性AML樣品經歷特異性脫粒。

將CART123、CLL1-CART細胞及未轉導之T細胞與CD123+/CLL1+細胞株THP-1、CLL1+/CD123+之兩種原發性AML樣品及對照ALL細胞株NALM6一起培育4小時。接著收穫細胞且藉由流動式細胞量測術量測胞質內TNFa。在與THP1及原發性AML樣品特異性培育之後更多CLL-1 CART細胞產生腫瘤壞死因子-α，而對照細胞株未產生。本文中呈現之結果證實CLL1-CART細胞在與CLL1+細胞株及原發性AML樣品一起培育之後產生TNF-α (圖9A及9B)。

將CART123、CLL1-CART細胞及未轉導之T細胞與CD123+/CLL1+細胞株THP-1、CLL1+/CD123+之兩種原發性AML樣品及對照ALL細胞株NALM6一起培育4小時。接著收穫細胞且藉由流動式細胞量測術量測胞質內IL-2。在與THP1及原發性AML樣品特異性培育之後更多CLL-1 CART細胞產生IL-2，而對照細胞株未產生。本文中呈現之結果證實CLL1-CART細胞在與CLL1+細胞株及原發性

AML樣品一起培育之後產生IL-2 (圖10A及10B)。

將CART123、CLL1-CART細胞及未轉導之T細胞與CD123+/CLL1+細胞株THP-1及MOLM14、CLL1+/CD123+之原發性AML樣品及對照套細胞淋巴瘤細胞株JEKO一起培育24小時。接著收穫細胞且添加7-AAD及計數珠粒。接著在腫瘤細胞之CFSE標記(例如Cao等人, Cytometry Part A 2010;7&A:534-545)之後，使用基於流動式細胞量測術之分析或藉由在各種效應與標靶比率下將CART細胞與表現螢光素酶之標靶細胞一起培育達20小時，接著針對標靶細胞發射之光子進行光學成像，來量測殺死。在此後一分析中，活標靶細胞之數目與發射之光子數目正相關。在所指示E:T比率下CLL1-CART細胞引起MOLM14 (圖11D)、THP -1 (圖11A)及原發性AML樣品(圖11B)之特異性溶解，且未引起對照細胞株JEKO (圖11C)之特異性溶解。本文中呈現之結果證實CLL1-CART細胞特異性殺死CLL-1+細胞株MOLM14及THP-1及原發性AML樣品(圖11A-11D)。

量測CART123、CART33及CLL1-CART細胞回應於MOLM14、THP-1及兩種原發性AML樣品之增殖。將T細胞用CFSE標記且以1:1之效應細胞：標靶比率與標靶一起培育120小時。CLL1-CART細胞回應於MOLM14、THP1及原發性AML樣品經歷特異性增殖。未增殖之T細胞保留CFSE表現之單一明亮峰(藉由FITC通道中綠色螢光)，而增殖CART細胞具有一個以上低於基線之CFSE峰及表現。本文中呈現之結果證實CLL1-CART細胞回應於MOLM14、THP-1及原發性AML樣品增殖(圖12A及12B)。

圖13呈現使用自體異種移植物分析CLL-1 CART細胞之造血幹細胞細胞毒性的示意圖。NSGS (針對IL-3、GM-CSF、幹細胞因子轉殖基因之NOD-SCID-γ小鼠)小鼠腹膜內接受白消安，接著第二天為來自正常供體之T細胞耗盡骨髓。藉由在4週之後外周血液之流動細胞學分

析，證實移植，且定義為循環CD45陽性細胞>1%。接著將小鼠用自體T細胞藉由靜脈內尾靜脈注射處理。T細胞來源於相同供體且用CART33、CLL1-CAR或UTD轉導。第四組不接受處理。接著在第7天、第14天及第21天，利用後眼眶抽血追蹤小鼠。

量測來自人類化異種移植物之不同外周血液細胞上的CLL-1表現。在麻醉之後，使用標準技術，經由後眼眶靜脈對小鼠抽血。接著使50-60 μl標準體積之血液溶解於1 ml ACK裂解緩衝液中。接著使用螢光標記之抗體將血液染色且使用流動式細胞量測術偵測不同外周血液細胞上CLL-1之表現。此分析在基線、在移植T細胞耗盡之正常供體骨髓之後及在任何處理之前進行。展示一個小鼠之外周血液分析的代表性FACS曲線圖(圖14A)。CLL-1在單核細胞(CD14+細胞)、骨髓細胞(CD33+及CD123+細胞)、B細胞(CD19+細胞)上表現，但未在血小板(CD41+細胞)或T細胞(CD3+細胞)上表現。展示代表性直方圖(圖14B)。展示來自24個小鼠之外周血液分析的示意性曲線圖(圖14C)。本文中呈現之結果證實CLL-1在人類化小鼠中不同骨髓譜系細胞及B細胞上表現。

使用自體模型測定CLL1-CART細胞之造血幹細胞毒性。藉由流動式細胞量測術之外周血液分析之代表性曲線圖。用CART33或CLL1-CART細胞處理使骨髓細胞(CD123+、CD33+、CLL1+)及CD14+單核細胞顯著減少。本文中呈現之結果證實CLL-1在人類化小鼠中不同骨髓譜系細胞及B細胞上表現。

分析來自人類化異種移植物之不同骨髓祖細胞上的CLL-1表現。在用T細胞處理4週之後，處死小鼠且收穫骨髓且分析。藉由股骨之沖洗收穫骨髓。來自對照未經處理之動物的骨髓樣品用作參考以分析不同祖細胞上CLL-1之表現。接著使用螢光標記之抗體將樣品染色且使用流動式細胞量測術偵測不同祖細胞上CLL-1之表現。CLL-1在

CD34+CD38-造血幹細胞、CD123亮、CD123暗及CD33陽性細胞上表現。針對$CD45^{暗}$、LIN^-、活細胞閘控。本文中呈現之結果證實CLL-1在人類化小鼠中不同骨髓祖細胞上及造血幹細胞上表現(16A-16D)。

圖17說明使用人類化免疫系統(HIS)異種移植物分析CLL-1 CART細胞之造血幹細胞毒性的示意圖。在注射CD34+胎兒肝之後6-8週將HIS小鼠經後眼眶抽血，以證實人類細胞之移植，且接著用CLL1-CART、CART123、CART33-CD8鉸鏈、CART33-IgG4鉸鏈、未轉導之T細胞處理或無處理。接著利用連續每週一次後眼眶抽血來追蹤小鼠。接著小鼠在第28天處死且收穫器官且分析。

在T細胞輸注後4週分析骨髓。使用HIS異種移植物量測CLL1-CART細胞之造血幹細胞毒性。在T細胞輸注之後4週處死小鼠，收穫股骨且針對骨髓進行沖洗。接著使用螢光標記之抗體將樣品染色。用不同CART細胞處理之所有小鼠的示意性曲線圖。用CLL1-CART細胞處理使得CD34+CD38-組分(造血幹細胞)(圖18A)及CD34+CD38+組分(祖細胞)(圖18B)顯著減少。展示來自用不同CART細胞處理之小鼠之骨髓的代表性曲線圖。針對活CD45暗LIN-細胞閘控(圖19A-19E)。

在T細胞輸注後4週在HIS小鼠中分析骨髓。使用HIS異種移植物之CLL1-CART細胞之造血幹細胞毒性。在T細胞輸注之後4週處死小鼠，收穫股骨且針對骨髓進行沖洗。接著使用螢光標記之抗體將樣品染色。展示用不同CART細胞處理之所有小鼠的示意性曲線圖(圖20)。用CLL1-CART細胞處理未引起CD123亮群體之顯著減少。接著使用螢光標記之抗體將樣品染色。展示來自用不同CART細胞處理之小鼠之骨髓的代表性曲線圖(圖21)。

實例4：活體內評估CLL-1 CART細胞

PL-21為一種自患有難治性急性前髓細胞性白血病之24歲男性患者之外周血液分離的人類急性骨髓白血病細胞株，且可作為異種移植

物在免疫受損小鼠中生長。此異種移植物模擬如在人類中看到之骨髓中之疾病，建立一種測試療法對骨骼中AML之功效的模型。此等小鼠可用於測試對在急性骨髓(或前髓細胞)白血病細胞上發現之細胞標記物，諸如CLL-1 (C型凝集素型分子)具有特異性之嵌合抗原受體CAR) T細胞的功效。將PL-21細胞用螢火蟲螢光素酶報導基因標記且用於NOD.Cg-*Prkdc*^{scid}*Il2rg*^{tm1Wjl}/SzJ (NSG)小鼠中急性骨髓白血病(AML)之原位模型中以測試對CLL-1具有特異性之CAR T細胞之功效。

在PL-21細胞上測試CLL-1表現且此等細胞用於活體外分析中以查看CLL-1特異性CART細胞識別及對標靶起反應之能力。當經由尾靜脈經靜脈內植入時活體內PL-21細胞生長且生長主要限於骨髓。植入腫瘤細胞後一週，疾病完全移位至骨骼且開始以指數速率生長。在腫瘤植入之後4-6週未經處理之小鼠將開始顯示臨床症狀及後肢麻痹。此實例中描述之研究調查來自活體外篩選之任一CLL-1特異性scFv純系是否在此活體內異種移植模型中展示針對腫瘤之活性。

以下材料及方法用於本文所述之實驗中。

材料與方法：

PL-21細胞株：自患有急性前髓細胞性白血病之患者之外周血液產生PL-21人類AML細胞株。接著將細胞用螢火蟲螢光素酶標記。此等懸浮細胞在補充有10%熱滅活胎牛血清之RPMI中生長。

小鼠：6週齡NSG (NOD.Cg-*Prkdc*^{scid}*Il2rg*^{tm1Wjl}/SzJ)小鼠自Jackson Laboratory (儲存編號005557)收到。在實驗之前使動物在Novartis NIBRI動物設施中適應新環境至少3天。根據Novartis ACUC法規及準則處理動物。

腫瘤植入：使PL-21-luc細胞在活體外在補充有10%熱滅活胎牛血清之RPMI中生長及擴增。接著細胞轉移至50 ml錐形管且用冷的無菌

PBS洗滌兩次。接著對PL-21-luc細胞計數且以每毫升PBS 10×10^6個細胞之濃度再懸浮。將細胞置於冰上且立刻(一小時內)植入小鼠中。PL-21-luc細胞以100 μl體積經由尾靜脈經靜脈內注射，每一小鼠總共1×10^6個細胞。

CAR T細胞給與：在腫瘤植入之後8天投與小鼠5×10^6個CAR^+ T細胞。細胞在37℃水浴中部分解凍，接著藉由向含有細胞之試管中添加1 ml冷的無菌PBS完全解凍。經解凍之細胞轉移至15 ml falcon管且用PBS調整至10 ml之最終體積。在1000 rpm下洗滌細胞兩次，每次10分鐘，接著在血球計上計數。將CAR T細胞針對CAR轉導校正，使得各組具有相同百分比之CAR^+ T細胞。接著5×10^6個CAR^+ T細胞以每毫升冷PBS 50×10^6個CAR^+ T細胞之濃度再懸浮且保存在冰上，直至給與小鼠給藥。小鼠經由尾靜脈經靜脈內注射100 μl CAR T細胞，每一小鼠劑量為5×10^6個CAR^+ T細胞。

每組八隻小鼠用100 μl單獨PBS (PBS)、CD19對照CAR T細胞(CD19)、CLL-1-6 (純系6) CAR T細胞、CLL-1-9 (純系9) CAR T細胞、CLL-1-10 (純系10) CAR T細胞、CLL-1-11 (純系11) CAR T細胞及CLL-1-12 (純系12) CAR T細胞處理。T細胞均同時自相同人類供體製備。

動物監測：每日監測小鼠之健康狀況，包括每週量測體重兩次。體重變化百分比計算為$(BW_{現在} - BW_{初始})/(BW_{初始}) \times 100\%$。藉由生物發光成像每週監測腫瘤負荷兩次。在麻醉之前10分鐘小鼠腹膜內注射D-螢光素且用Xenogen將小鼠成像。藉由計算腫瘤細胞之生物發光(光子/秒)計算疾病負荷。

處理/對照百分比(T/C)值使用下式計算：

若$\Delta T \geq 0$，則$T/C\% = 100 \times \Delta T/\Delta C$；

若$\Delta T < 0$，則回歸$\% = 100 \times \Delta T/T_{初始}$；

其中T = 藥物處理組在研究最後一天的平均生物發光；$T_{初始}$ = 藥物處理組在開始給藥當天之平均生物發光；ΔT = 藥物處理組在研究最後一天的平均生物發光 - 藥物處理組在開始給藥當天之平均生物發光；C = 對照組在研究最後一天的平均生物發光；及ΔC = 對照組在研究最後一天的平均生物發光 - 對照組在開始給藥當天之平均生物發光。

100%至42%範圍內之T/C值解釋為不具有或具有最小抗腫瘤活性；≤42%且> 10%之T/C值解釋為具有抗腫瘤活性或腫瘤生長抑制。T/C值≤10%或消退值≥-10%解釋為腫瘤停滯。<-10%之消退值報導為消退。

外周血液FACS分析：亦監測小鼠外周血液中之T細胞。經由尾靜脈每週對小鼠抽血至經EDTA塗佈之保存在冰上之管。10 μl血液自管塗鋪至冰上96孔盤中。將紅血球用ACK紅血球裂解緩衝液(Life Technologies，目錄號A10492-01)溶解且接著用冷PBS洗滌兩次。將細胞與人類及小鼠Fc嵌段之Fc阻斷混合物(Miltenyi Biotec，目錄號130-059-901及130-092-575)一起培育30分鐘，且接著與抗-小鼠CD11b、抗-人類CD45、抗-人類CD4、抗-人類CD8及CLL-1-Fc或蛋白質L抗體，接著二級抗體一起培育。將細胞用2%三聚甲醛溶液固定20分鐘，洗滌且儲存在PBS+2% FBS中隔夜，接著在BD Fortessa上分析，接著使用FlowJo FACS分析軟體進一步分析。分析細胞以確定負載PL-21-luc腫瘤之NSG小鼠中每毫升血液之CAR^+ $CD4^+$及$CD8^+$ T細胞之數目。血液中之T細胞數目報導為平均值±平均值之標準誤差(SEM)。

結果：

評估一組CLL-1特異性CART細胞(純系6、9、10、11及12)之抗腫瘤活性且在人類AML之PL-21模型中直接比較。第0天植入腫瘤後，將小鼠隨機化至處理組且第8天用5×10^6個CAR^+ T細胞經靜脈內處

理。監測AML疾病負荷及動物健康直至動物實現終點。當對照組中之疾病負荷經由成像接近最大發光時，在CAR T細胞給與後第18天(腫瘤植入後第26天)處死對照PBS及CD19組以及CLL-1-11及CLL-1-12組中之小鼠。剩餘經CLL-1 CAR T細胞處理之組(CLL-1-6、CLL-1-9及CLL-1-10)中的小鼠在CAR T細胞給與後第25天(腫瘤植入後第33天)處死以能夠比較所有組之終末樣品。

在對照組與經CLL-1-6、CLL-1-9及CLL-1-10處理之組之間的觀測到疾病進展延遲，且在經CLL-1-11及CLL-1-12 CAR T細胞處理之組下，在晚期時間點觀測到腫瘤生長減緩。在所有組均表示之最後時間點(CAR T細胞給與後第18天)計算，所有CLL-1 CAR T細胞組顯著不同於對照組。與經PBS處理之小鼠相比，經CD19 CAR T細胞處理之組未證實顯著性，*P*值為0.496。與PBS相比，所有經CLL-1 CAR T細胞處理之組具有$P \leq 0.01$ (純系6 $P=0.0008$；純系9 $P=0.0006$；純系10 $P=0.0006$；純系11 $P=0.0013$；純系12 $P=0.0109$)。展示腫瘤進展初始延遲的三個CLL-1純系，純系6、9及10展示在CART細胞給與後第18天腫瘤生長停滯。另兩個CLL-1純系，純系11及12展示至此時間點之抗腫瘤活性，不過在早期時間點，其未展示疾病進展之任何延遲。在T細胞給與後第18天計算，與PBS對照組相比之各處理組之ΔT/C%值如下：CD19為98.38%，CLL-1-6為3.15%，CLL-1-9為2.04%，CLL-1-10為4.92%，CLL-1-11為13.42%且CLL-1-12為25.19%。基於此等值，經CD19 CAR T細胞處理之組展示無活性，經CLL-1-6、-9及-10 CAR T細胞處理之組展示腫瘤生長停滯，且經CLL-1-11及-12 CAR T細胞處理之組證實抗腫瘤活性。

此研究之生物發光成像結果展示在圖24中。未接受任何T細胞之PBS處理組證實經靜脈內植入之NSG小鼠中基線PL-21腫瘤生長動力學。CD19處理組接受對PL-21細胞不具有特異性之對照CD19 CAR T

細胞，其經歷與CAR T細胞相同之活體外擴增過程。此等細胞用作T細胞對照以顯示此腫瘤模型中T細胞之非特異性反應。PBS與CD19 CAR T細胞處理組均證實在整個實驗中連續腫瘤進展。

除經由生物發光監測疾病負荷外，亦經由外周血液FACS分析監測各組中之CAR^+ T細胞數目。此研究之FACS結果顯示於圖25A及25B中。在CAR T細胞處理之後展示最大抗腫瘤活性及腫瘤生長延遲的組展示在晚期時間點外周血液中$CD4^+CAR^+$(圖25A)及$CD8^+CAR^+$T細胞(圖25B)增加。在早期時間點觀測到外周血液中有限數目之細胞。在此等時間點，AML主要在骨髓中且CAR T細胞亦可在骨髓中。然而，此組未展示抗腫瘤活性。在最終時間點，CLL-1-6、CLL-1-9及CLL-1-10組之外周血液中存在CAR T細胞之擴增群體。

在該研究結束時，自小鼠收穫脾及骨髓細胞且分析以確定CAR T細胞是否保留。如圖26A-26D中所見，在經CLL-1-9及CLL-1-10處理之組中看到可觀數目之CD4及CD8 CAR+ T細胞。在一些其他組中亦看到T細胞擴增，尤其經CLL-1-12 CAR T細胞處理之組。然而，雖然在此組骨髓中看到大量CD4+與CD8+ T細胞，但細胞不為CAR+，指示此等小鼠中T細胞之非特異性擴增。CLL-1-6、CLL-1-9及CLL-10展示最大抗腫瘤作用及腫瘤生長延遲，且此對應於終末骨髓CAR+ T細胞數目。值得注意地，未很好地偵測CLL-1-6 CAR，因此此組中之CAR+數目可能低估。CLL-1-11組中CD4與CD8 T細胞之略微持久性及CLL-1-12組中此等細胞之更大數目可與腫瘤上非特異性晚期活性相關，引起在圖24中晚期時間點所見到之腫瘤負荷略微下降。

在該研究結束時，亦測定脾中細胞之表現型。類似於在此等小鼠之骨髓樣品中所觀測，脾中具有可觀數目之CD4及CD8 CAR^+ T細胞的僅有組為CLL-1-9及CLL-1-10組，如圖27A-27D中所示。此等組亦為脾中具有大量$CD4^+$及$CD8^+$ T細胞之僅有組。CLL-1-11及CLL-12

組未展示在骨髓樣品中觀測到之在脾中之非CAR累積。歸因於CLL-1-10小鼠之脾樣品中偵測到之CAR+ T細胞的巨大變化，此組未與對比對照組而顯著不同相關聯。

討論：

在負載人類AML之異種移植模型的NSG小鼠中在功效研究中評估新穎CLL-1 CAR轉導之T細胞的抗腫瘤活性。此等研究展示PL-21-luc模型在NSG小鼠中再現人類AML且能夠由CLL-1 CAR T細胞靶向(圖24)。此研究證實CLL-1 CAR中之三者(CLL-1-6、CLL-1-9及CLL-1-10)能夠在AML之異種移植模型中建立抗腫瘤反應(圖24)。在所有組之血液中均偵測到最小數目之CAR T細胞，然而在晚期時間點，在CLL-1-6、CLL-1-9及CLL-1-10組中看到CAR T細胞數目增加(圖25A及25B)。用此三個CAR T細胞處理之組展示腫瘤生長延遲，且詳言之，CLL-1-9及CLL-1-10組展示在該研究結束時終末骨髓及脾樣品中顯著數目之CAR T細胞(圖26A-26D及27A-27D)。CLL-1-6組亦展示腫瘤生長之初始及長期延遲，但歸因於偵測T細胞表面上scFv表現的困難，故終末CAR T細胞數目可能未準確計算。綜合而言，CLL-1-9及CLL-1-10組展示腫瘤生長延遲，外周血液中$CD4^+CAR^+$ T細胞及$CD8^+CAR^+$ T細胞增加，以及終末骨髓及脾樣品中顯著數目之$CD4^+CAR^+$ T細胞及CD8+CAR+ T細胞。僅僅CLL-1-9組在骨髓與脾中具有與對照組相比顯著不同量之CD4+CAR+及CD8+CAR+ T細胞。

實例5：化學療法與CLL1-CAR組合療法

使用活體內AML小鼠模型檢驗CLL-1 CAR療法與化學療法組合之作用。用誘發化學療法、接著CLL1-CART細胞(純系6)處理引起原發性AML異種移植物中白血病根除。

另外針對幹細胞因子GM-CSF及IL-3 (NSG-S)轉殖基因的NSG小鼠注射原發性AML母細胞(經由尾靜脈注射3×10^6，第0天)。在4-6週之

後，收集外周血液(PB)以證實移植，其定義為存在>1%之循環白血病細胞(活人類CD45暗細胞)。接著將AML異種移植物用阿糖胞苷(Ara-C，60 mg/kg，藉由腹膜內注射，在第35-39天之間每天)處理。監測外周血液計數且接著在第55天將此等異種移植物隨機化以接受CLL1導向之CART細胞或對照未轉導之T細胞(靜脈內1×10^5)。此後，進行連續後眼眶抽血且絕對白血病母細胞計數計算為疾病負荷之量度且追蹤異種移植物之存活情況。

圖33B包含白血病細胞(活huCD45暗隔室)中CLL1之平均螢光強度(MFI)之代表性曲線圖，且證實用化學療法處理引起殘餘AML中CLL-1抗原上調。在用阿糖胞苷化學療法處理後兩週，AML異種移植物中CLL1-MFI顯著增加。

用誘發化學療法、接著未轉導之T細胞處理之小鼠未展示外周血液白血病母細胞數減少。相比之下，用誘發化學療法、接著CLL-1-CART處理之小鼠引起外周血液白血病母細胞數顯著減少及AML異種移植物中白血病根除，如圖33C中所示。曲線圖代表在如所指示之注射AML後的不同時間點，每1 μL外周血液之外周血液絕對白血病母細胞計數(平均值+/-SD)。總存活率之分析亦展示誘發化學療法、接著CLL1-CART而非未轉導之T細胞引起AML異種移植物中總存活率的顯著益處(圖33D)。

實例6：在細胞培養模型中低劑量RAD001刺激CART增殖

藉由將表現CART之細胞與標靶細胞在不同濃度RAD001存在下共同培養，來評估低劑量RAD001對活體外CAR T細胞增殖之作用。

材料與方法

產生CAR轉導之T細胞

人類化抗-人類CD19 CAR (huCART19)慢病毒轉移載體用於產生封裝至VSVg假慢病毒粒子中之基因組材料。人類化抗-人類CD19

CAR (huCART19)之胺基酸及核苷酸序列為2014年3月15日申請之PCT公開案WO2014/153270中所述之CAR 1，ID 104875，且其中命名為SEQ ID NO.85及31。

將慢病毒轉移載體DNA與三種封裝組分VSVg env、gag/pol及rev混合，VSVg env、gag/pol及rev與脂染胺試劑組合以轉染Lenti-X293T細胞。在此後24小時及30小時之後改變培養基，收集含病毒之培養基，過濾且儲存在-80℃下。藉由將藉由健康供體血液或leukopak之陰性磁性選擇所獲得的新鮮或冷凍原始T細胞轉導來產生CART。藉由與抗-CD3/抗-CD28珠粒一起培育24小時來活化T細胞，隨後將病毒上清液或濃病毒(分別MOI=2或10)添加至培養物。使經修飾之T細胞擴增約10天。藉由在第7天與第9天之間進行流動細胞學分析，來測定轉導細胞百分比(在細胞表面上表現CAR)及CAR表現量(相對螢光強度，幾何平均值)。生長速率減緩與T細胞尺寸接近約350 fL之組合確定待低溫保存之T細胞的狀態供隨後分析。

評估CART之增殖

為評估CART之功能性，將T細胞解凍且計數，且藉由細胞計數儀(cellometer)評估存活力。使用未經轉導之T細胞(UTD)校正各培養物中CAR陽性細胞之數目。以50 nM開始，用RAD001滴定，來測試RAD001對CART之影響。用於所有共同培養實驗中之標靶細胞株為Nalm-6，其為一種表現CD19且經轉導以表現螢光素酶之人類前B細胞急性淋巴母細胞白血病(ALL)細胞株。

為量測CART之增殖，將T細胞與標靶細胞以1:1之比率一起培養。分析操作4天，此時針對CD3、CD4、CD8及CAR表現將細胞染色。藉由流動式細胞量測術，使用計數珠粒作為參考，評估T細胞數目。

結果

在4天共同培養分析中測試CART細胞之增殖能力。在CAR轉導及未經轉導之T細胞與Nalm-6一起培養之後，評估CAR陽性CD3陽性T細胞(暗條)及總CD3陽性T細胞(淺條)之數目(圖31)。當在少於0.016 nM RAD001存在下培養時huCART19細胞擴增，且在更高濃度該化合物下程度更小。重要地，0.0032與0.016 nM RAD001下，增殖均高於在不添加RAD001下所觀測到之增殖。未經轉導之T細胞(UTD)未展示可偵測擴增。

實例7：在活體內低劑量RAD001刺激CART擴增

此實例評估huCAR19細胞在活體內在不同濃度RAD001下增殖之能力。

材料與方法：

*NALM6-luc細胞：*自患有復發性ALL之患者之外周血液產生NALM6人類急性淋巴母細胞白血病(ALL)細胞株。接著將細胞用螢火蟲螢光素酶標記。此等懸浮細胞在補充有10%熱滅活胎牛血清之RPMI中生長。

*小鼠：*6週齡NSG (NOD.Cg-*Prkdc*^{scid}*Il2rg*^{tm1Wjl}/SzJ)小鼠自Jackson Laboratory (庫存編號005557)收到。

腫瘤植入：使NALM6-luc細胞在活體外在補充有10%熱滅活胎牛血清之RPMI中生長及擴增。接著細胞轉移至15 ml錐形管且用冷的無菌PBS洗滌兩次。接著對NALM6-luc細胞計數且以每毫升PBS 10×10^6個細胞之濃度再懸浮。將細胞置於冰上且立刻(一小時內)植入小鼠中。NALM6-luc細胞以100 µl體積經由尾靜脈經靜脈內注射，每一小鼠總共1×10^6個細胞。

*CAR T細胞給與：*在腫瘤植入之後7天投與小鼠5×10^6個CAR T細胞。將細胞在37℃水浴中部分解凍，接著藉由向含有細胞之試管中添加1 ml冷的無菌PBS完全解凍。經解凍之細胞轉移至15 ml falcon管且

用PBS調整至10 ml之最終體積。在1000 rpm下洗滌細胞兩次，每次10分鐘，接著在血球計上計數。接著將T細胞以每毫升冷PBS 50×10^6個細胞的濃度再懸浮，且保持於冰上直至給與小鼠。小鼠經由尾靜脈經靜脈內注射100 µl CAR T細胞，每一小鼠劑量為5×10^6個CAR T細胞。將每一組八隻小鼠用100 µl單獨PBS (PBS)或人類化CD19 CART細胞處理。

*RAD001給與：*調配等於1 mg RAD001之50 mg濃微乳液且接著在給藥時再懸浮於D5W (5%於水中之右旋糖)中。小鼠每日經口給與(經由經口管飼) 200 µl RAD001所需劑量。

*PK分析：*植入腫瘤後第7天開始，將小鼠每日給與RAD001。給與組如下：0.3 mg/kg、1 mg/kg、3 mg/kg及10 mg/kg。在第0天及第14天，第一劑及最後一劑RAD001後的以下時間點，對小鼠抽血供PK分析：15分鐘、30分鐘、1小時、2小時、4小時、8小時、12小時及24小時。

結果：

在具有NALM6-luc腫瘤之NSG小鼠中測試RAD001之擴增及藥物動力學。單獨RAD001之每日經口給與未影響NALM6-luc腫瘤之生長(圖32)。RAD001之藥物動力學分析展示其在腫瘤負載小鼠之血液中相當穩定(圖33A及33B)。第0天與第14天PK分析均展示血液中之RAD001濃度超過10 nm，甚至在最低測試劑量(0.3 mg/kg)下在給藥24小時後。

基於此等劑量，在有及無RAD001下給與huCAR19 CAR T細胞，以確定此等細胞之增殖能力。基於給與24小時後血液中RAD001之含量，所用最高劑量為3 mg/kg。因為最後一劑RAD001 24小時之後RAD001濃度超過10 nM，所以若干較低劑量之RAD001用於CAR T細胞之活體內研究。在開始每日經口給與RAD001前一天，IV給與CAR

T細胞。經由FACS，監測小鼠之T細胞擴增。

最低劑量之RAD001展示CAR T細胞之增殖增強(圖34)。此增強之增殖在$CD4^+$ CART細胞下比$CD8^+$ CAR T細胞更明顯及更長。然而，在$CD8^+$ CAR T細胞下，在CAR T細胞劑量後早期時間點可見增強之增殖。

相等物

本文所引用之每一專利、專利申請案及公開案之揭示內容皆以全文引用的方式併入本文中。雖然已參考特定態樣揭示本發明，但顯而易見熟習此項技術者可在不悖離本發明之真實精神及範疇的情況下設計本發明之其他態樣及變化。隨附申請專利範圍意欲理解為包括所有此類態樣及相等變化。

【符號說明】

無

【序列表】

<110> 瑞士商諾華公司(NOVARTIS AG)
賓夕法尼亞大學董事會(THE TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA)

<120> 使用CLL-1嵌合抗原受體治療癌症

<140> TW104123638
<141> 2015-07-21

<150> PCT/CN2014/090500
<151> 2014-11-06

<150> PCT/CN2014/082602
<151> 2014-07-21

<160> 481

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 1
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro
20

<210> 2
<211> 45
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 2
Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala
1 5 10 15

Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
20 25 30

Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp
35 40 45

<210> 3
<211> 230
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 3
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
1 5 10 15

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
20 25 30

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
35 40 45

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
50 55 60

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
65 70 75 80

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
85 90 95

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
100 105 110

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
115 120 125

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
130 135 140

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
145 150 155 160

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
165 170 175

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
180 185 190

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
195 200 205

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
210 215 220

Leu Ser Leu Gly Lys Met
225 230

<210> 4
<211> 282
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 4
Arg Trp Pro Glu Ser Pro Lys Ala Gln Ala Ser Ser Val Pro Thr Ala
1 5 10 15

Gln Pro Gln Ala Glu Gly Ser Leu Ala Lys Ala Thr Thr Ala Pro Ala
20 25 30

Thr Thr Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys Glu Lys
35 40 45

Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys Pro
50 55 60

Ser His Thr Gln Pro Leu Gly Val Tyr Leu Leu Thr Pro Ala Val Gln
65 70 75 80

Asp Leu Trp Leu Arg Asp Lys Ala Thr Phe Thr Cys Phe Val Val Gly
85 90 95

Ser Asp Leu Lys Asp Ala His Leu Thr Trp Glu Val Ala Gly Lys Val
100 105 110

Pro Thr Gly Gly Val Glu Glu Gly Leu Leu Glu Arg His Ser Asn Gly
115 120 125

Ser Gln Ser Gln His Ser Arg Leu Thr Leu Pro Arg Ser Leu Trp Asn
130 135 140

Ala Gly Thr Ser Val Thr Cys Thr Leu Asn His Pro Ser Leu Pro Pro
145 150 155 160

Gln Arg Leu Met Ala Leu Arg Glu Pro Ala Ala Gln Ala Pro Val Lys
165 170 175

Leu Ser Leu Asn Leu Leu Ala Ser Ser Asp Pro Pro Glu Ala Ala Ser
180 185 190

Trp Leu Leu Cys Glu Val Ser Gly Phe Ser Pro Pro Asn Ile Leu Leu
195 200 205

Met Trp Leu Glu Asp Gln Arg Glu Val Asn Thr Ser Gly Phe Ala Pro
210 215 220

Ala Arg Pro Pro Pro Gln Pro Gly Ser Thr Thr Phe Trp Ala Trp Ser
225 230 235 240

Val Leu Arg Val Pro Ala Pro Pro Ser Pro Gln Pro Ala Thr Tyr Thr
245 250 255

Cys Val Val Ser His Glu Asp Ser Arg Thr Leu Leu Asn Ala Ser Arg
260 265 270

Ser Leu Glu Val Ser Tyr Val Thr Asp His
275 280

<210> 5
<211> 10

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 5
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 6
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 6
Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu
1 5 10 15

Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys
20

<210> 7
<211> 42
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 7
Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
1 5 10 15

Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
20 25 30

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
35 40

<210> 8
<211> 48
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 8
Gln Arg Arg Lys Tyr Arg Ser Asn Lys Gly Glu Ser Pro Val Glu Pro
1 5 10 15

Ala Glu Pro Cys Arg Tyr Ser Cys Pro Arg Glu Glu Glu Gly Ser Thr
20 25 30

Ile Pro Ile Gln Glu Asp Tyr Arg Lys Pro Glu Pro Ala Cys Ser Pro
35 40 45

<210> 9
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 9
Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly
1 5 10 15

Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
20 25 30

Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
35 40 45

Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
50 55 60

Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
65 70 75 80

Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala

85 90 95

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
100 105 110

<210> 10
<211> 112
<212> PRT
<213> 智人

<400> 10

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
1 5 10 15

Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
20 25 30

Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
35 40 45

Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
50 55 60

Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
65 70 75 80

Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
85 90 95

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
100 105 110

<210> 11
<211> 1184
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 11
cgtgaggctc cggtgcccgt cagtgggcag agcgcacatc gcccacagtc cccgagaagt 60

tgggggggagg ggtcggcaat tgaaccggtg cctagagaag gtggcgcggg gtaaactggg 120

aaagtgatgt cgtgtactgg ctccgccttt ttcccgaggg tgggggagaa ccgtatataa 180

gtgcagtagt cgccgtgaac gttctttttc gcaacgggtt tgccgccaga acacaggtaa 240

gtgccgtgtg tggttcccgc gggcctggcc tctttacggg ttatggccct tgcgtgcctt 300

gaattacttc cacctggctg cagtacgtga ttcttgatcc cgagcttcgg gttggaagtg 360

ggtgggagag ttcgaggcct tgcgcttaag gagcccctc gcctcgtgct tgagttgagg 420

cctggcctgg gcgctggggc cgccgcgtgc gaatctggtg gcaccttcgc gcctgtctcg 480

ctgctttcga taagtctcta gccatttaaa atttttgatg acctgctgcg acgcttttt 540

tctggcaaga tagtcttgta aatgcgggcc aagatctgca cactggtatt tcggttttg 600

gggccgcggg cggcgacggg gcccgtgcgt cccagcgcac atgttcggcg aggcggggcc 660

tgcgagcgcg gccaccgaga atcggacggg ggtagtctca agctggccgg cctgctctgg 720

tgcctggcct cgcgccgccg tgtatcgccc cgccctgggc ggcaaggctg gcccggtcgg 780

caccagttgc gtgagcggaa agatggccgc ttcccggccc tgctgcaggg agctcaaaat 840

ggaggacgcg gcgctcggga gagcgggcgg gtgagtcacc cacacaaagg aaaagggcct 900

ttccgtcctc agccgtcgct tcatgtgact ccacggagta ccgggcgccg tccaggcacc 960

tcgattagtt ctcgagcttt tggagtacgt cgtctttagg ttgggggggag gggttttatg 1020

cgatggagtt tccccacact gagtgggtgg agactgaagt taggccagct tggcacttga 1080

tgtaattctc cttggaattt gccctttttg agtttggatc ttggttcatt ctcaagcctc 1140

agacagtggt tcaaagtttt tttcttccat ttcaggtgtc gtga 1184

<210> 12
<211> 63
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 12
atggccctgc ctgtgacagc cctgctgctg cctctggctc tgctgctgca tgccgctaga 60

ccc 63

<210> 13

<211> 135
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 13
accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca ccggcgccca ccatcgcgtc gcagcccctg 60

tccctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg gcgggggcgc agtgcacac gagggggctg 120

gacttcgcct gtgat 135

<210> 14
<211> 690
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 14
gagagcaagt acggccctcc ctgccccccct tgccctgccc ccgagttcct gggcggaccc 60

agcgtgttcc tgttcccccc caagcccaag gacaccctga tgatcagccg gacccccgag 120

gtgacctgtg tggtggtgga cgtgtcccag gaggaccccg aggtccagtt caactggtac 180

gtggacggcg tggaggtgca caacgccaag accaagcccc gggaggagca gttcaatagc 240

acctaccggg tggtgtccgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggaa 300

tacaagtgta aggtgtccaa caagggcctg cccagcagca tcgagaaaac catcagcaag 360

gccaagggcc agcctcggga gccccaggtg tacaccctgc cccctagcca agaggagatg 420

accaagaacc aggtgtccct gacctgcctg gtgaagggct tctaccccag cgacatcgcc 480

gtggagtggg agagcaacgg ccagcccgag aacaactaca agaccacccc ccctgtgctg 540

gacagcgacg gcagcttctt cctgtacagc cggctgaccg tggacaagag ccggtggcag 600

gagggcaacg tctttagctg ctccgtgatg cacgaggccc tgcacaacca ctacacccag 660

aagagcctga gcctgtccct gggcaagatg 690

<210> 15
<211> 847

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 15
aggtggcccg aaagtcccaa ggcccaggca tctagtgttc ctactgcaca gccccaggca 60

gaaggcagcc tagccaaagc tactactgca cctgccacta cgcgcaatac tggccgtggc 120

ggggaggaga agaaaaagga gaaagagaaa gaagaacagg aagagaggga gaccaagacc 180

cctgaatgtc catcccatac ccagccgctg ggcgtctatc tcttgactcc cgcagtacag 240

gacttgtggc ttagagataa ggccaccttt acatgtttcg tcgtgggctc tgacctgaag 300

gatgcccatt tgacttggga ggttgccgga aaggtaccca cagggggggt tgaggaaggg 360

ttgctggagc gccattccaa tggctctcag agccagcact caagactcac ccttccgaga 420

tccctgtgga acgccgggac ctctgtcaca tgtactctaa atcatcctag cctgccccca 480

cagcgtctga tggcccttag agagccagcc gcccaggcac cagttaagct tagcctgaat 540

ctgctcgcca gtagtgatcc cccagaggcc gccagctggc tcttatgcga agtgtccggc 600

tttagcccgc ccaacatctt gctcatgtgg ctggaggacc agcgagaagt gaacaccagc 660

ggcttcgctc cagcccggcc cccaccccag ccgggttcta ccacattctg ggcctggagt 720

gtcttaaggg tcccagcacc acctagcccc cagccagcca catacacctg tgttgtgtcc 780

catgaagata gcaggaccct gctaaatgct tctaggagtc tggaggtttc ctacgtgact 840

gaccatt 847

<210> 16
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 16
ggtggcggag gttctggagg tggaggttcc 30

<210> 17

<211> 72
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 17
atctacatct gggcgcccct ggccgggact tgtggggtcc ttctcctgtc actggttatc 60

acccttttact gc 72

<210> 18
<211> 126
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 18
aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacaac catttatgag accagtacaa 60

actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt 120

gaactg 126

<210> 19
<211> 123
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 19
aggagtaaga ggagcaggct cctgcacagt gactacatga acatgactcc ccgccgcccc 60

gggcccaccc gcaagcatta ccagccctat gccccaccac gcgacttcgc agcctatcgc 120

tcc 123

<210> 20
<211> 336
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 20
agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtaca agcagggcca gaaccagctc 60

tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc 120

cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180

gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240

cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300

tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc 336

<210> 21
<211> 336
<212> DNA
<213> 智人

<400> 21
agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc 60

tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc 120

cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180

gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240

cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300

tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc 336

<210> 22
<211> 373
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 22
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 Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr
145 150 155 160

Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala
165 170 175

Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe
180 185 190

Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val
195 200 205

Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys
210 215 220

Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr
225 230 235 240

Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu
245 250 255

Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro
260 265 270

Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly
275 280 285

Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro
290 295 300

Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr
305 310 315 320

Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly
325 330 335

Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln
340 345 350

Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln
355 360 365

Ala Leu Pro Pro Arg
370

<210> 23
<211> 1182
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 23
atggccctcc ctgtcactgc cctgcttctc cccctcgcac tcctgctcca cgccgctaga 60

ccacccggat ggtttctgga ctctccggat cgcccgtgga atcccccaac cttctcaccg 120

gcactcttgg ttgtgactga gggcgataat gcgaccttca cgtgctcgtt ctccaacacc 180

tccgaatcat tcgtgctgaa ctggtaccgc atgagcccgt caaaccagac cgacaagctc 240

gccgcgtttc cggaagatcg gtcgcaaccg ggacaggatt gtcggttccg cgtgactcaa 300

ctgccgaatg gcagagactt ccacatgagc gtggtccgcg ctaggcgaaa cgactccggg 360

acctacctgt gcggagccat ctcgctggcg cctaaggccc aaatcaaaga gagcttgagg 420

gccgaactga gagtgaccga gcgcagagct gaggtgccaa ctgcacatcc atccccatcg 480

cctcggcctg cggggcagtt tcagaccctg gtcacgacca ctccggcgcc gcgcccaccg 540

actccggccc caactatcgc gagccagccc ctgtcgctga ggccggaagc atgccgccct 600

gccgccggag gtgctgtgca tacccgggga ttggacttcg catgcgacat ctacatttgg 660

gctcctctcg ccggaacttg tggcgtgctc cttctgtccc tggtcatcac cctgtactgc 720

aagcggggtc ggaaaaagct tctgtacatt ttcaagcagc ccttcatgag gcccgtgcaa 780

accacccagg aggaggacgg ttgctcctgc cggttccccg aagaggaaga aggaggttgc 840

gagctgcgcg tgaagttctc ccggagcgcc gacgcccccg cctataagca gggccagaac 900

cagctgtaca acgaactgaa cctgggacgg cgggaagagt acgatgtgct ggacaagcgg 960

cgcggccggg accccgaaat gggcgggaag cctagaagaa agaaccctca ggaaggcctg 1020

tataacgagc tgcagaagga caagatggcc gaggcctact ccgaaattgg gatgaaggga 1080

gagcggcgga ggggaaaggg gcacgacggc ctgtaccaag gactgtccac cgccaccaag 1140

gacacatacg atgccctgca catgcaggcc cttccccctc gc 1182

<210> 24
<211> 394
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 24

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro
20 25 30

Trp Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly
35 40 45

Asp Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe
50 55 60

Val Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu
65 70 75 80

Ala Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe
85 90 95

Arg Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val
100 105 110

Arg Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser
115 120 125

Leu Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg
130 135 140

Val Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser
145 150 155 160

Pro Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln Thr Leu Val Thr Thr Thr Pro Ala
165 170 175

Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser
180 185 190

Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr
195 200 205

Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala
210 215 220

Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys
225 230 235 240

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
245 250 255

Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
260 265 270

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg
275 280 285

Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
290 295 300

Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
305 310 315 320

Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
325 330 335

Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala
340 345 350

Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
355 360 365

Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
370 375 380

Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
385 390

<210> 25
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 25
Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 26
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(30)
<223> /備註=“此序列可涵蓋1-6個'Gly Gly Gly Gly Ser'重複單元，其中一些位置可能不存在”

<220>
<221> source
<223> /備註=“關於取代的詳細說明和較佳實施例請參見提交的說明書”

<400> 26
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25 30

<210> 27
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 27
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser
20

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

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 28

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 29
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 29
Gly Gly Gly Ser
1

<210> 30
<211> 5000
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(5000)
<223> /備註=“此序列可涵蓋50-5,000個核苷酸，其中一些位置可能不存在”

<220>
<221> source
<223> /備註=“關於取代的詳細說明和較佳實施例請參見提交的說明書”

<400> 30
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 60

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 120

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 180

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 240

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 300

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 360

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 420

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 480

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 540

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 600

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 660

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 720

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 780

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 840

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 900

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 960

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1020

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1080

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1140

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1200

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1260

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1320

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1380

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1440

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1500

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1560

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1620

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1680

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1740

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1800

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1860

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1920

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1980

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2040

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2100

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2160

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2220

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2280

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2340

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2400

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2460

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2520

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2580

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2640

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2700

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2760

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2820

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2880

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2940

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3000

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3060

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3120

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3180

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3240

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3300

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3360

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3420

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3480

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3540

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3600

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3660

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3720

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3780

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3840

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3900

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3960

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4020

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4080

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4140

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4200

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4260

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4320

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4380

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4440

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4500

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4560

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4620

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4680

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4740

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4800

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4860

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4920

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4980

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 5000

<210> 31
<211> 100
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 31
ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 60

ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 100

<210> 32
<211> 5000
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(5000)
<223> /備註=“此序列可涵蓋50-5,000個核苷酸，其中一些位置可能不存在”

<400> 32
ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 60

ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 120

ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 180

ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 240

ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 300

ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 360

ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 420

ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 480

ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 540

ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 600

ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 660

ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 720

ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 780

ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 840

ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 900

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 960

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1020

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1080

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1140

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1200

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1260

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1320

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1380

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1440

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1500

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1560

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1620

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1680

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1740

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1800

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1860

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1920

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1980

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2040

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2100

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2160

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2220

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2280

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2340

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2400

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2460

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2520

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2580

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2640

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2700

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2760

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2820

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2880

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2940

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3000

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3060

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3120

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3180

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3240

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3300

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3360

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3420

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3480

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3540

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3600

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3660

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3720

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3780

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3840

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3900

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3960

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4020

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4080

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4140

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4200

ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 4260

ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 4320

ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 4380

ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 4440

ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 4500

ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 4560

ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 4620

ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 4680

ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 4740

ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 4800

ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 4860

ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 4920

ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 4980

ttttttttt ttttttttt 5000

<210> 33
<211> 5000
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(5000)
<223> /備註=“此序列可涵蓋100-5,000個核苷酸，其中一些位置可能不存在”

<400> 33
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 60

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 120

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 180

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 240

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 300

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 360

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 420

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 480

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 540

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 600

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 660

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 720

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 780

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 840

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 900

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 960

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1020

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1080

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1140

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1200

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1260

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1320

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1380

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1440

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1500

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1560

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1620

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1680

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1740

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1800

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1860

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1920

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1980

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2040

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2100

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2160

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2220

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2280

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2340

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2400

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2460

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2520

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2580

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2640

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2700

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2760

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2820

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2880

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2940

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3000

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3060

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3120

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3180

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3240

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3300

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3360

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3420

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3480

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3540

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3600

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3660

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3720

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3780

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3840

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3900

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3960

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4020

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4080

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4140

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4200

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4260

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4320

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4380

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4440

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4500

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4560

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4620

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4680

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4740

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4800

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4860

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4920

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4980

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 5000

<210> 34
<211> 400
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(400)
<223> /備註=“此序列可涵蓋100-400個核苷酸，其中一些位置可能不存在”

<220>
<221> source
<223> /備註=“關於取代的詳細說明和較佳實施例請參見提交的說明書”

<400> 34
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 60

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 120

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 180

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 240

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 300

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 360

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaa 400

<210> 35
<211> 2000
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(2000)
<223> /備註=“此序列可涵蓋50-2,000個核苷酸，其中一些位置可能不存在”

<400> 35
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 60

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 120

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 180

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 240

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 300

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 360

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 420

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 480

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 540

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 600

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 660

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 720

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 780

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 840

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 900

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 960

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1020

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1080

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1140

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1200

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1260

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1320

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1380

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1440

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1500

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1560

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1620

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1680

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1740

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1800

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1860

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1920

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1980

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2000

<210> 36
<211> 230
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 36
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
1 5 10 15

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
20 25 30

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
35 40 45

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
50 55 60

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
65 70 75 80

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
85 90 95

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
100 105 110

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
115 120 125

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln

130 135 140

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
145 150 155 160

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
165 170 175

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
180 185 190

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
195 200 205

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
210 215 220

Leu Ser Leu Gly Lys Met
225 230

<210> 37
<211> 690
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 37
gagagcaagt acggccctcc ctgcccccct tgccctgccc ccgagttcct gggcggaccc 60

agcgtgttcc tgttcccccc caagcccaag gacaccctga tgatcagccg gacccccgag 120

gtgacctgtg tggtggtgga cgtgtcccag gaggaccccg aggtccagtt caactggtac 180

gtggacggcg tggaggtgca caacgccaag accaagcccc gggaggagca gttcaatagc 240

acctaccggg tggtgtccgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggaa 300

tacaagtgta aggtgtccaa caagggcctg cccagcagca tcgagaaaac catcagcaag 360

gccaagggcc agcctcggga gccccaggtg tacaccctgc cccctagcca agaggagatg 420

accaagaacc aggtgtccct gacctgcctg gtgaagggct tctaccccag cgacatcgcc 480

gtggagtggg agagcaacgg ccagcccgag aacaactaca agaccacccc ccctgtgctg 540

gacagcgacg gcagcttctt cctgtacagc cggctgaccg tggacaagag ccggtggcag 600

gagggcaacg tctttagctg ctccgtgatg cacgaggccc tgcacaacca ctacacccag 660

aagagcctga gcctgtccct gggcaagatg 690

<210> 38
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(40)
<223> /備註=“此序列可涵蓋1-10個'Gly Gly Gly Ser'重複單元，其中一些位置可能不存在”

<220>
<221> source
<223> /備註=“關於取代的詳細說明和較佳實施例請參見提交的說明書”

<400> 38
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
20 25 30

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
35 40

<210> 39
<211> 247
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 39
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Leu Glu Met Ala Thr Ile Met Gly Gly Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser
130 135 140

Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr
145 150 155 160

Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His
165 170 175

Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Asp Val Ser Asn Arg Pro
180 185 190

Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala
195 200 205

Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr
210 215 220

Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Asp Val Val Phe Gly Gly
225 230 235 240

Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245

<210> 40
<211> 245
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 40
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Leu Ile Ser Gly Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Val Phe Asp Ser Tyr Tyr Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu
130 135 140

Pro Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln
145 150 155 160

Ser Leu Val Tyr Thr Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln
165 170 175

Arg Pro Gly Gln Ser Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg
180 185 190

Asp Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Asp
195 200 205

Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile Tyr
210 215 220

Tyr Cys Met Gln Gly Thr His Trp Ser Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240

Arg Leu Glu Ile Lys
245

<210> 41
<211> 247
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 41
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Ser Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Lys Tyr Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Thr Pro Gly Thr Tyr Tyr Asp Phe Leu Ser Gly Tyr Tyr Pro
100 105 110

Phe Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met
130 135 140

Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
145 150 155 160

Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr
165 170 175

Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser
180 185 190

Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
210 215 220

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln
225 230 235 240

Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
245

<210> 42
<211> 239
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source

<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 42

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Asn Ile Asn Glu Asp Gly Ser Ala Lys Phe Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Leu Arg Ser Gly Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu
130 135 140

Ser Pro Gly Gly Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile
145 150 155 160

Ser Gly Ser Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
165 170 175

Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp
180 185 190

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
195 200 205

Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly
210 215 220

Ser Ser Pro Pro Thr Phe Gly Leu Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
225 230 235

<210> 43
<211> 245
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 43
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Pro Val Arg Ser Gly
20 25 30

Ser His Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Glu Asn Arg Val Thr Ile Ser Ile Asp Thr Ser Asn Asn His Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Leu Tyr Phe
85 90 95

Cys Ala Arg Gly Thr Ala Thr Phe Asp Trp Asn Phe Pro Phe Asp Ser
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln
130 135 140

Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Ile Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr
145 150 155 160

Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln
165 170 175

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu
180 185 190

Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
195 200 205

Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr
210 215 220

Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240

Lys Leu Glu Ile Lys
245

<210> 44
<211> 249
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 44
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Ser Gly Leu Val Val Tyr Ala Ile Arg Val Gly Ser Gly Trp
100 105 110

Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Asp Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln
130 135 140

Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val
145 150 155 160

Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp
165 170 175

Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Met Tyr Ala Ala
180 185 190

Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
195 200 205

Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe
210 215 220

Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Trp Thr Phe
225 230 235 240

Gly Gln Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
245

<210> 45
<211> 255
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 45

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Pro Ser Ser Ser Gly Ser Tyr Tyr Met Glu Asp Ser Tyr
100 105 110

Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Glu Ser Pro Gly Lys
145 150 155 160

Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Gly Ser Ile Ala Ser Asn
165 170 175

Tyr Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Ser Ala Pro Thr Thr Val
180 185 190

Ile Tyr Glu Asp Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
195 200 205

Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly
210 215 220

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

Ser Asn Gln Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245 250 255

<210> 46
<211> 239
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 46
Gln Val Asn Leu Arg Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Glu Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Ala Leu Gly Ser Ser Trp Glu Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
130 135 140

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp
145 150 155 160

Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
165 170 175

Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser
180 185 190

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser
195 200 205

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp
210 215 220

Asn Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
225 230 235

<210> 47
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 47
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Glu Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Pro Ala Asn Thr Phe Ser Asp His
20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Phe Glu Trp Met
35 40 45

Gly Tyr Ile His Ala Ala Asn Gly Gly Thr His Tyr Ser Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Asp Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Asp Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Tyr Asn Ser Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr
130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln
165 170 175

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser
180 185 190

Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Asn Gly Ser Gly Ser Gly Thr
195 200 205

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
210 215 220

Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly
225 230 235 240

Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 48
<211> 248
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 48
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Leu Ser Val Arg Ala Ile Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val
130 135 140

Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val
145 150 155 160

Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp
165 170 175

Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala
180 185 190

Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser

195 200 205

Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe
210 215 220

Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Tyr Ser Thr Pro Phe Thr Phe Gly
225 230 235 240

Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 49
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 49
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Ser Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Tyr
20 25 30

Gly Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Leu Ile Glu Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Gly Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Lys Ser Lys Ser Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asp Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Gly Asn Glu Asp Leu Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr
130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
145 150 155 160

Thr Cys Gln Ala Ser Gln Phe Ile Lys Lys Asn Leu Asn Trp Tyr Gln
165 170 175

His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser
180 185 190

Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Asn Arg Ser Gly Thr
195 200 205

Thr Phe Ser Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr
210 215 220

Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asp Asn Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly
225 230 235 240

Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 50
<211> 255
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 50
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Val Ser Ser Asn
20 25 30

Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ala Thr Tyr Tyr Gly Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Arg Leu Thr Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Arg Leu Tyr Cys Gly Asn Asn Cys Tyr Leu Tyr Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
130 135 140

Gly Gly Ser Asp Ile Gln Val Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala
145 150 155 160

Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile
165 170 175

Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys
180 185 190

Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg
195 200 205

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser
210 215 220

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

Thr Pro Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
245 250 255

<210> 51
<211> 247
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 51

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

Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser
180 185 190

Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
210 215 220

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Asn Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly
225 230 235 240

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 52
<211> 741
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 52
gaagtgcaac tccaacagtc aggcgcagaa gtcaagaagc ccggatcgtc agtgaaagtg 60
tcctgcaaag cctccggcgg aaccttcagc tcctacgcaa tcagctgggt gcggcaggcg 120
cccggacagg gactggagtg gatgggcggt atcattccga tctttggcac cgccaattac 180
gcccagaagt tccagggacg cgtcacaatc accgccgacg aatcgacttc caccgcctac 240
atggagctgt cgtccttgag gagcgaagat accgccgtgt actactgcgc tcgggatctg 300
gagatggcca ctatcatggg gggttactgg ggccagggga ccctggtcac tgtgtcctcg 360
ggaggagggg gatcaggcgg cggcggttcc gggggaggag gaagccagtc cgcgctgact 420
cagccagctt ccgtgtctgg ttcgccggga cagtccatca ctattagctg taccggcacc 480
agcagcgacg tgggcggcta caactatgtg tcatggtacc agcagcaccc ggggaaggcg 540
cctaagctga tgatctacga cgtgtccaac cgccctagcg gagtgtccaa cagattctcc 600
ggttcgaagt cagggaacac tgcctccctc acgattagcg ggctgcaagc cgaggatgaa 660
gccgactact actgctcctc ctatacctcc tcctcgaccc tggacgtggt gttcggagga 720

ggcaccaagc tcaccgtcct t 741

<210> 53
<211> 735
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 53
gaagtgcaat tggtggaaag cggaggagga gtggtgcaac ctggaggaag cctgagactg 60

tcatgtgccg cctcgggatt cactttcgat gactacgcaa tgcactgggt ccgccaggcc 120

cccggaaagg gtctggaatg ggtgtccctc atctccggcg atgggggttc cacttactat 180

gcggattctg tgaagggccg cttcacaatc tcccgggaca attccaagaa cactctgtac 240

cttcaaatga actccctgag ggtggaggac accgctgtgt actactgcgc gagagtgttt 300

gactcgtact atatggacgt ctggggaaag ggcaccaccg tgaccgtgtc cagcggtggc 360

ggtggatcgg ggggcggcgg ctccgggagc ggaggttccg agattgtgct gactcagtcg 420

ccgttgtcac tgcctgtcac ccccgggcag ccggcctcca tttcatgccg gtccagccag 480

tccctggtct acaccgatgg gaacacttac ctcaactggt tccagcagcg cccaggacag 540

tccccgcgga ggctgatcta caaagtgtca aaccgggact ccggcgtccc cgatcggttc 600

tcgggaagcg gcagcgacac cgacttcacg ctgaagattt cccgcgtgga agccgaggac 660

gtgggcatct actactgtat gcagggcacc cactggtcgt ttaccttcgg acaaggaact 720

aggctcgaga tcaag 735

<210> 54
<211> 741
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 54
caagtgcagc ttcaagaaag cggtccagga ctcgtcaagc catcagaaac tctttccctc 60

acttgtaccg tgtcgggagg cagcatctcc tcgagctcct actactgggg ttggattaga 120

cagcccccgg gaaaggggtt ggagtggatc ggttccatct actactccgg gtcgacctac 180

tacaaccctt ccctgaaatc tcgggtgtcc atctccgtcg acacctccaa gaaccagttc 240

agcctgaagc tgaaatatgt gaccgcggcc gatactgccg tgtactattg cgccaccccg 300

ggaacctact acgacttcct ctcggggtac tacccgtttt actggggaca ggggactctc 360

gtgaccgtgt cctcgggcgg cggaggttca ggcggtggcg gatcgggggg aggaggctca 420

gacattgtga tgacccagag cccgtccagc ctgagcgcct ccgtgggcga tagggtcacg 480

attacttgcc gggcgtccca gggaatctca agctacctgg cctggtacca acagaagccc 540

ggaaaggcac ccaagttgct gatctatgcc gctagcactc tgcagtccgg ggtgccttcc 600

cgcttctccg gctccggctc gggcaccgac ttcaccctga ccatttcctc actgcaaccc 660

gaggacttcg ccacttacta ctgccagcag ctgaactcct acccttacac attcggacag 720

ggaaccaagc tggaaatcaa g 741

<210> 55
<211> 717
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 55
caagtgcaac tcgtggaatc tggtggagga ctcgtgcaac ccggaggatc attgcgactc 60

tcgtgtgcgg catccggctt tacctttca tcctactgga tgtcctgggt cagacaggcc 120

cccgggaagg gactggaatg ggtcgcgaac atcaacgagg acggctcggc caagttctac 180

gtggactccg tgaagggccg cttcacgatc tcacgggata acgccaagaa ttccctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag ggccgaggac actgcggtgt acttctgcgc acgcgacctg 300

aggtccggga gatactgggg acagggcacc ctcgtgaccg tgtcgagcgg aggaggggg 360

tcgggcggcg gcggttccgg tggcggcggt agcgaaattg tgttgaccca gtcccctgga 420

accctgagcc tgtcacctgg aggacgcgcc accctgtcct gccgggccag ccagagcatc 480

tcagggtcct tcctggcttg gtaccagcag aagccgggac aggctccgag acttctgatc 540

tacggcgcct cctcgcgggc gaccggaatc ccggatcggt tctccggctc gggaagcgga 600

actgacttca ctcttaccat ttcccgcctg gagccggaag atttcgccgt gtactactgc 660

cagcagtacg ggtcatcccc tccaaccttc ggcctgggaa ctaagctgga aatcaaa 717

<210> 56
<211> 735
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 56
gaagtgcaac tccaacaatc cggtccagga ctcgtcagac cctccgaaac tctctcgctt 60

acatgcactg tgtccggcgg ccctgtgcgg tccggctctc attactggaa ctggattcgc 120

cagcccccgg gacgcggact ggagtggatc ggctacatct attactcggg gtcgactaac 180

tacaacccga gcctggaaaa tagagtgacc atctcaatcg acacgtccaa caaccacttc 240

tcgctgaagt tgtcctccgt gactgccgcc gatactgccc tgtacttctg tgctcgcgga 300

accgccacct tcgactggaa cttccctttt gactcatggg gccaggggac ccttgtgacc 360

gtgtccagcg gaggaggagg ctccggtggt ggcgggagcg gtagcggcgg aagcgacatc 420

cagatgaccc agtcaccgtc ctcgctgtcc gcatccattg gggatcgggt cactattact 480

tgccgggcgt cccagtccat ctcgtcctac ctgaactggt atcagcagaa gccagggaaa 540

gcccccaagc tgctgatcta cgcggccagc agcctgcagt caggagtgcc ttcaaggttt 600

agcggcagcg gatcgggaac cgacttcacc ctgaccattt cctccctcca acccgaggat 660

ttcgccacct actactgcca gcagtcctac tccaccccgt ggaccttcgg acagggaacc 720

aagctggaga tcaag 735

<210> 57
<211> 747
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 57
caagtgcaac ttcaagaatc aggcgcagga cttctcaagc catccgaaac actctccctc 60

acttgcgcgg tgtacggggg aagcttctcg ggatactact ggtcctggat taggcagcct 120

cccggcaaag gcctggaatg ggtcggggag atcaaccact ccggttcaac caactacaac 180

ccgtcgctga agtcccgcgt gaccatttcc gtggacacct ctaagaatca gttcagcctg 240

aagctctcgt ccgtgaccgc ggcggacacc gccgtctact actgcgctcg gggatcagga 300

ctggtggtgt acgccatccg cgtgggctcg ggctggttcg attactgggg ccagggaacc 360

ctggtcactg tgtcgtccgg cggaggaggt tcgggggggcg gagacagcgg tggagggggt 420

agcgacatcc agatgaccca gtccccgtcc tcgctgtccg cctccgtggg agatagagtg 480

accatcacct gtcgggcatc ccagagcatt tccagctacc tgaactggta tcagcagaag 540

cccggaaagg cccctaagct gttgatgtac gccgccagca gcttgcagtc gggcgtgccg 600

agccggtttt ccggttccgg ctccgggact gacttcaccc tgactatctc atccctgcaa 660

cccgaggact tcgccactta ttactgccag cagtcctact caacccctcc ctggacgttc 720

ggacagggca ccaaggtcga tatcaag 747

<210> 58
<211> 765
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 58
gaagtgcaat tggtggaatc tggaggagga cttgtgaaac ctggtggaag cctgagactt 60

tcctgtgcgg cctcgggatt cactttctcc tcctactcca tgaactgggt cagacaggcc 120

cctgggaagg gactggaatg ggtgtcatcc atctcctcct catcgtcgta catctactac 180

gccgatagcg tgaaggggcg gttcaccatt tcccgggaca acgctaagaa cagcctctat 240

ctgcaaatga attccctccg cgccgaggac actgccgtgt actactgcgc gagggacccc 300

tcatcaagcg gcagctacta catggaggac tcgtattact acggaatgga cgtctggggc 360

cagggaacca ctgtgacggt gtcctccggt ggagggggct ccgggggcgg gggatctggc 420

ggaggaggct ccaacttcat gctgacccag ccgcactccg tgtccgaaag ccccggaaag 480

accgtgacaa tttcctgcac cgggtcctcc ggctcgatcg catcaaacta cgtgcagtgg 540

taccagcagc gcccgggcag cgcccccacc actgtcatct acgaggataa ccagcggccg 600

tcgggtgtcc cagaccggtt ttccggttcg atcgatagca gcagcaacag cgcctccctg 660

accatttccg gcctcaagac cgaggatgag gctgactact actgccagtc gtatgactcc 720

tcgaaccaag tggtgttcgg tggcggcacc aagctgactg tgctg 765

<210> 59
<211> 717
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 59
caagtgaacc tgagagaaag cggcggagga cttgtgcaac ctggaggaag cctgagactg 60

tcatgtgccg cgtccggctt caccttctcg tcctacgaga tgaactgggt ccgccaggca 120

ccgggcaaag gactggaatg ggtgtcctac atttcctcgt ccgggtccac catctattac 180

gccgactccg tgaagggacg gttcaccatc tcccgggaca acgccaagaa ctccctctac 240

ctccaaatga actcactgag ggcagaggac actgcggtct actactgcgc ccgcgaagct 300

ttgggtagct cctgggagtg gggccaggga accactgtga ccgtgtcctc gggtggaggg 360

ggctccggtg gcgggggttc agggggtggc ggaagcgata tccagatgac tcagtcacca 420

agctccctga gcgcctcagt gggagatcgg gtcacaatca cgtgccaggc gtcccaggac 480

atttctaact acctcaattg gtaccagcag aagccgggga aggcccccaa gcttctgatc 540

tacgatgcct ccaacctgga aaccggcgtg ccctcccgct tctcgggatc gggcagcggc 600

actgacttca cctttaccat ctcgtccctg caacctgagg acatcgccac ctattactgc 660

cagcagtacg ataacctccc gctgactttc ggaggcggaa ctaagctgga gattaag 717

<210> 60
<211> 738
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 60
caagtgcaac tcgtccagtc cggtgcagaa gtcaaggaac ccggagcctc cgtgaaagtg 60

tcctgcaaag ctcctgccaa cactttctcg gaccacgtga tgcactgggt gcgccaggcg 120

ccgggccagc gcttcgaatg gatgggatac attcatgccg ccaatggcgg tacccactac 180

tcccaaaagt tccaggatag agtcaccatc acccgggaca ccagcgccaa caccgtgtat 240

atggatctgt ccagcctgag gtccgaggat accgccgtgt actactgcgc ccggggcgga 300

tacaactcag acgcgttcga catttgggga cagggtacta tggtcaccgt gtcatccggg 360

ggcggtggca gcgggggcgg aggctctggc ggaggcggat cagggggagg agggtccgac 420

atcgtgatga cccagtcccc gtcatcggtg tccgcgtccg tgggagacag agtgaccatc 480

acgtgtcgcg ccagccagga catctcctcg tggttggcat ggtaccagca gaagcctgga 540

aaggccccga agctgctcat ctacgccgcc tcctcccttc aatcgggagt gccctcgcgg 600

ttcaacggaa gcggaagcgg gacagatttt accctgacta ttagctcgct gcagcccgag 660

gacttcgcta cttactactg ccaacagagc tactccaccc cactgacttt cggcgggggt 720

accaaggtcg agatcaag 738

<210> 61
<211> 744
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 61
caagtgcaac ttgttcaatc cggtggaggt cttgtgcagc ccggaggatc actcagactg 60

tcgtgcgccg cctctgggtt cactttctcc tcatactcga tgaactgggt gcgccaggcg 120

ccgggaaagg gcctggaatg ggtgtcatac atctcctcct catcctccac catctactac 180

gccgattccg tgaagggccg cttcactatt tcccgggaca acgcgaaaaa ctcgctctat 240

ctgcaaatga actccctgcg cgccgaggac accgccgtgt actactgcgc ccgggacctg 300

agcgtgcggg ctattgatgc gttcgacatc tggggacagg gcaccatggt cacagtgtcc 360

agcggaggcg gcggcagcgg tggaggagga tcagggggag gaggttcggg gggcggtggc 420

tccgatatcg tgctgaccca gagcccgtcg agcctctccg cctccgtcgg cgacagagtg 480

accatcacgt gtcaggcatc ccaggacatt agcaactacc tgaattggta ccagcagaag 540

cctggaaagg cacccaagtt gctgatctac gacgcctcca acctggaaac cggagtgcca 600

tccaggttct cgggcagcgg ctcgggaacc gacttcactt ttactatctc ctccctgcaa 660

cccgaggatt tcgcgaccta ctactgccag caggcctaca gcacccctttcaccttcggg 720

ccgggaacta aggtcgaaat caag 744

<210> 62
<211> 738
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 62
gaagtgcaat tggtgcaatc aggaggagga gtggtcagat ctggaagaag cctgagactg 60

tcatgcgcgg cttcgggctt taccttcaac tcctacggcc tccactgggt gcgccaggcc 120

cccggaaaag gcctcgaatg ggtcgcactg attgagtacg acgggtccaa caagtactac 180

ggagatagcg tgaagggccg cttcaccatc tcacgggaca agtccaagtc caccctgtat 240

ctgcaaatgg acaacctgag ggccgaggat actgccgtgt actactgcgc ccgcgaagga 300

aacgaagatc tggccttcga tatttggggc cagggtactc ttgtgaccgt gtcgagcgga 360

ggcggaggct ccggtggagg aggatcgggg ggtggtggtt ccggcggcgg ggggagcgaa 420

atcgtgctga cccagtcgcc ttcctccctc tccgcttccg tgggggaccg ggtcactatt 480

acgtgtcagg cgtcccaatt catcaagaag aatctgaact ggtaccagca caagccggga 540

aaggccccca aactgctcat ctacgacgcc agctcgctgc agactggcgt gccttcccgg 600

ttttccggga accggtcggg aaccaccttc tcattcacca tcagcagcct ccagccggag 660

gacgtggcga cctactactg ccagcagcat gacaaccttc cactgacttt cggcgggggc 720

accaaggtcg agattaag 738

<210> 63
<211> 765
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 63
caagtgcaac tcgtggaatc aggcggagga ctcgtgcaac ccggaggttc ccttagactg 60

tcatgtgccg cttccgggtt caatgtgtcc agcaactaca tgacctgggt cagacaggcg 120

ccgggaaagg gacttgaatg ggtgtccgtg atctactccg gtggagcaac atactacgga 180

gactccgtga aaggccgctt taccgtgtcc cgcgataact cgaagaacac cgtgtacttg 240

cagatgaaca ggctgactgc cgaggacacc gccgtgtatt attgcgcccg ggacaggctg 300

tactgtggaa acaactgcta cctgtactac tactacggga tggacgtgtg gggacagggc 360

actctcgtca ctgtgtcatc cgggggggggc ggtagcggtg gcggagggtc cggcggagga 420

ggctcagggg gaggcggaag cgatatccag gtcacccagt ctccctcctc gctgtccgcc 480

tccgtgggcg accgcgtcac cattacttgc cgggcgtcgc agtcgatcag ctcctacctg 540

aactggtacc agcagaagcc tggaaaggcc ccgaagctgc tgatctacgc ggcctcgtcc 600

ctgcaaagcg gcgtcccgtc gcggttcagc ggttccggtt cgggaaccga cttcaccctg 660

actatttcct ccctgcaacc cgaggatttc gccacttact actgccagca gtcctactcc 720

accccacctc tgaccttcgg ccaaggaacc aaggtcgaaa tcaag 765

<210> 64
<211> 741
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 64
caagtgcaac tcgtccagtc cggtgcagaa gtgaaaaaga gcggagcctc agtgaaagtg 60

tcctgcaagg cctccggtta ccccttcact ggatactaca ttcagtgggt ccgccaagcc 120

ccgggacagg gtctggagtg gatggggtgg attgacccta actcgggaaa tacgggatac 180

gcgcagaagt tccagggccg cgtgaccatg accaggaaca cctcgatcag caccgcctac 240

atggaactgt cctccctgcg gtcggaggat actgccgtgt actactgcgc ctccgattcc 300

tatgggtact actacggaat ggacgtctgg ggacagggca ccctcgtgac cgtgtcctcg 360

ggaggcggag ggagcggcgg gggtggatcg ggaggaggcg gctccggcgg cggcggtagc 420

gacatccaga tgacccagtc accatcaagc cttagcgcct ccgtgggcga cagagtgaca 480

ttcacttgtc gggcgtccca gggaatctcc tccgctctgg cttggtatca gcagaagcct 540

gggaagcctc cgaagctgtt gatctacgac gcgagcagcc tggaatcagg ggtgccctcc 600

cggttttccg ggtccggttc tggcaccgat ttcaccctga ccatttcgtc cctccaaccc 660

gaggacttcg ccacttacta ctgccagcag ttcaacaact acccgctgac cttcggagga 720

ggcactaagg tcgagatcaa g 741

<210> 65
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 65

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Leu Glu Met Ala Thr Ile Met Gly Gly Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 66
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 66
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Leu Ile Ser Gly Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Val Phe Asp Ser Tyr Tyr Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 67
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 67
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Ser Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Lys Tyr Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Thr Pro Gly Thr Tyr Tyr Asp Phe Leu Ser Gly Tyr Tyr Pro
100 105 110

Phe Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 68
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 68
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Asn Ile Asn Glu Asp Gly Ser Ala Lys Phe Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Leu Arg Ser Gly Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 69
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 69

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Pro Val Arg Ser Gly
20 25 30

Ser His Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Glu Asn Arg Val Thr Ile Ser Ile Asp Thr Ser Asn Asn His Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Leu Tyr Phe
85 90 95

Cys Ala Arg Gly Thr Ala Thr Phe Asp Trp Asn Phe Pro Phe Asp Ser
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 70
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 70
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Ser Gly Leu Val Val Tyr Ala Ile Arg Val Gly Ser Gly Trp
100 105 110

Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 71
<211> 129

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 71
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Pro Ser Ser Ser Gly Ser Tyr Tyr Met Glu Asp Ser Tyr
100 105 110

Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser

<210> 72
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 72
Gln Val Asn Leu Arg Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Glu Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Ala Leu Gly Ser Ser Trp Glu Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 73
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 73
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Glu Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Pro Ala Asn Thr Phe Ser Asp His
20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Phe Glu Trp Met
35 40 45

Gly Tyr Ile His Ala Ala Asn Gly Gly Thr His Tyr Ser Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Asp Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Asp Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Tyr Asn Ser Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 74
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 74
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Leu Ser Val Arg Ala Ile Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 75
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 75
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Ser Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Tyr
20 25 30

Gly Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Leu Ile Glu Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Gly Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Lys Ser Lys Ser Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asp Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Gly Asn Glu Asp Leu Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 76
<211> 127
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 76
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Val Ser Ser Asn
20 25 30

Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ala Thr Tyr Tyr Gly Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Arg Leu Thr Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Arg Leu Tyr Cys Gly Asn Asn Cys Tyr Leu Tyr Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 77
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 77
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Ser Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Pro Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asn Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Asp Ser Tyr Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 78
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 78
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser
85 90 95

Ser Thr Leu Asp Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 79
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 79
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Thr
20 25 30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile Tyr Tyr Cys Met Gln Gly
85 90 95

Thr His Trp Ser Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 80
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 80
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 81
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 81
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Gly Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ser
20 25 30

Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Leu Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 82
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 82
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Ile Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 83
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 83
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Met
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 84
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 84
Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Glu Ser Pro Gly Lys
1 5 10 15

Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Gly Ser Ile Ala Ser Asn
20 25 30

Tyr Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Ser Ala Pro Thr Thr Val
35 40 45

Ile Tyr Glu Asp Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly
65 70 75 80

Leu Lys Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser
85 90 95

Ser Asn Gln Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 85
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 85
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 86
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 86
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Asn Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 87
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 87
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Tyr Ser Thr Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 88
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 88
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Phe Ile Lys Lys Asn
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Asn Arg Ser Gly Thr Thr Phe Ser Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asp Asn Leu Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 89
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 89
Asp Ile Gln Val Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
85 90 95

Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 90
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 90

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

<210> 91
<211> 491
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 91

Met	Ala	Leu	Pro	Val	Thr	Ala	Leu	Leu	Leu	Pro	Leu	Ala	Leu	Leu	Leu
1				5					10					15	

His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30

Lys Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly
35 40 45

Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60

Gly Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn
65 70 75 80

Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser
85 90 95

Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr
100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Leu Glu Met Ala Thr Ile Met Gly
115 120 125

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

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu
145 150 155 160

Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile
165 170 175

Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
180 185 190

Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Asp
195 200 205

Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ser Lys
210 215 220

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

Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Asp
245 250 255

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Thr Thr Thr Pro
260 265 270

Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu
275 280 285

Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His
290 295 300

Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu
305 310 315 320

Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr
325 330 335

Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe
340 345 350

Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg
355 360 365

Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser
370 375 380

Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr
385 390 395 400

Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys
405 410 415

Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn
420 425 430

Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu
435 440 445

Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly
450 455 460

His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr
465 470 475 480

Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485 490

<210> 92
<211> 489
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 92
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val
20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
35 40 45

Thr Phe Asp Asp Tyr Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60

Gly Leu Glu Trp Val Ser Leu Ile Ser Gly Asp Gly Gly Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser
85 90 95

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr
100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Val Phe Asp Ser Tyr Tyr Met Asp Val
115 120 125

Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln
145 150 155 160

Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser
165 170 175

Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Thr Asp Gly Asn Thr Tyr Leu
180 185 190

Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Arg Arg Leu Ile Tyr
195 200 205

Lys Val Ser Asn Arg Asp Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
210 215 220

Gly Ser Asp Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu
225 230 235 240

Asp Val Gly Ile Tyr Tyr Cys Met Gln Gly Thr His Trp Ser Phe Thr
245 250 255

Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro
260 265 270

Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu
275 280 285

Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg
290 295 300

Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly
305 310 315 320

Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys
325 330 335

Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg
340 345 350

Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro

355 360 365

Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser
370 375 380

Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu
385 390 395 400

Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg
405 410 415

Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln
420 425 430

Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
435 440 445

Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
450 455 460

Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
465 470 475 480

Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 93
<211> 491
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 93
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu
20 25 30

Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly

35 40 45

Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro
50 55 60

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr
65 70 75 80

Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Ser Ile Ser Val Asp Thr
85 90 95

Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Lys Tyr Val Thr Ala Ala Asp
100 105 110

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

Ser Gly Tyr Tyr Pro Phe Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
130 135 140

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
145 150 155 160

Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
165 170 175

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser
180 185 190

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
195 200 205

Ile Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
210 215 220

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
225 230 235 240

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro
245 250 255

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro
260 265 270

Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu
275 280 285

Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His
290 295 300

Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu
305 310 315 320

Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr
325 330 335

Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe
340 345 350

Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg
355 360 365

Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser
370 375 380

Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr
385 390 395 400

Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys
405 410 415

Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn
420 425 430

Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu
435 440 445

Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly
450 455 460

His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr
465 470 475 480

Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485 490

<210> 94
<211> 483
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 94
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
35 40 45

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

Gly Leu Glu Trp Val Ala Asn Ile Asn Glu Asp Gly Ser Ala Lys Phe
65 70 75 80

Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
85 90 95

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

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
130 135 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro
145 150 155 160

Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg
165 170 175

Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ser Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys
180 185 190

Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala
195 200 205

Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
210 215 220

Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr
225 230 235 240

Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Pro Thr Phe Gly Leu Gly Thr Lys
245 250 255

Leu Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala
260 265 270

Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg
275 280 285

Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys
290 295 300

Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu
305 310 315 320

Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu
325 330 335

Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln
340 345 350

Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly
355 360 365

Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr
370 375 380

Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg
385 390 395 400

Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met
405 410 415

Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu
420 425 430

Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys
435 440 445

Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu
450 455 460

Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu
465 470 475 480

Pro Pro Arg

<210> 95
<211> 489
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 95
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu
20 25 30

Val Arg Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly
35 40 45

Pro Val Arg Ser Gly Ser His Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro
50 55 60

Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr
65 70 75 80

Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Asn Arg Val Thr Ile Ser Ile Asp Thr
85 90 95

Ser Asn Asn His Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp
100 105 110

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

Phe Pro Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Gly Gly Ser Asp
145 150 155 160

Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Ile Gly Asp
165 170 175

Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu
180 185 190

Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
195 200 205

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
210 215 220

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
225 230 235 240

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Trp Thr
245 250 255

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro
260 265 270

Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu

275 280 285

Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg
290 295 300

Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly
305 310 315 320

Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys
325 330 335

Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg
340 345 350

Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro
355 360 365

Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser
370 375 380

Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu
385 390 395 400

Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg
405 410 415

Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln
420 425 430

Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
435 440 445

Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
450 455 460

Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
465 470 475 480

Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 96
<211> 493
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 96
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Ala Gly Leu
20 25 30

Leu Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly
35 40 45

Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys
50 55 60

Gly Leu Glu Trp Val Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr
65 70 75 80

Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys
85 90 95

Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala
100 105 110

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Ser Gly Leu Val Val Tyr Ala Ile Arg
115 120 125

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

Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Asp Ser Gly Gly Gly
145 150 155 160

Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser
165 170 175

Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser
180 185 190

Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
195 200 205

Leu Met Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe
210 215 220

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
225 230 235 240

Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr
245 250 255

Pro Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Thr Thr
260 265 270

Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln
275 280 285

Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala
290 295 300

Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala
305 310 315 320

Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr
325 330 335

Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln
340 345 350

Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser
355 360 365

Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys
370 375 380

Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln
385 390 395 400

Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu
405 410 415

Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg
420 425 430

Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met
435 440 445

Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly
450 455 460

Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp
465 470 475 480

Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485 490

<210> 97
<211> 499
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 97
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30

Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
35 40 45

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

Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr
65 70 75 80

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
85 90 95

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

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Pro Ser Ser Ser Gly Ser Tyr Tyr
115 120 125

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

Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Ser Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser
165 170 175

Glu Ser Pro Gly Lys Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Gly
180 185 190

Ser Ile Ala Ser Asn Tyr Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Ser
195 200 205

Ala Pro Thr Thr Val Ile Tyr Glu Asp Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val
210 215 220

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser
225 230 235 240

Leu Thr Ile Ser Gly Leu Lys Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
245 250 255

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn Gln Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys
260 265 270

Leu Thr Val Leu Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala
275 280 285

Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg
290 295 300

Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys
305 310 315 320

Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu
325 330 335

Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu
340 345 350

Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln
355 360 365

Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly
370 375 380

Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr
385 390 395 400

Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg
405 410 415

Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met
420 425 430

Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu
435 440 445

Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys
450 455 460

Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu
465 470 475 480

Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu
485 490 495

Pro Pro Arg

<210> 98

<211> 483
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 98
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Asn Leu Arg Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
35 40 45

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

Gly Leu Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr
65 70 75 80

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
85 90 95

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

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Ala Leu Gly Ser Ser Trp Glu Trp
115 120 125

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser
145 150 155 160

Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
165 170 175

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys

180 185 190

Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu
195 200 205

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

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

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

Leu Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala
260 265 270

Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg
275 280 285

Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys
290 295 300

Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu
305 310 315 320

Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu
325 330 335

Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln
340 345 350

Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly
355 360 365

Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr
370 375 380

Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg
385 390 395 400

Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met
405 410 415

Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu
420 425 430

Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys
435 440 445

Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu
450 455 460

Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu
465 470 475 480

Pro Pro Arg

<210> 99
<211> 490
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 99
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30

Lys Glu Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Pro Ala Asn
35 40 45

Thr Phe Ser Asp His Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60

Arg Phe Glu Trp Met Gly Tyr Ile His Ala Ala Asn Gly Gly Thr His
65 70 75 80

Tyr Ser Gln Lys Phe Gln Asp Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser
85 90 95

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

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

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145 150 155 160

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
165 170 175

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Trp
180 185 190

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
195 200 205

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Asn Gly
210 215 220

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
225 230 235 240

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
245 250 255

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala
260 265 270

Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser
275 280 285

Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr
290 295 300

Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala
305 310 315 320

Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys
325 330 335

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
340 345 350

Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
355 360 365

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg
370 375 380

Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
385 390 395 400

Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
405 410 415

Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
420 425 430

Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala
435 440 445

Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
450 455 460

Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
465 470 475 480

Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485 490

<210> 100
<211> 492
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 100

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

Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe
210 215 220

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu
225 230 235 240

Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Tyr Ser Thr
245 250 255

Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Thr Thr Thr
260 265 270

Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro
275 280 285

Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val
290 295 300

His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro
305 310 315 320

Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu
325 330 335

Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro
340 345 350

Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys
355 360 365

Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe
370 375 380

Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu
385 390 395 400

Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
405 410 415

Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys

420 425 430

Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
435 440 445

Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
450 455 460

Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
465 470 475 480

Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485 490

<210> 101
<211> 490
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 101
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val
20 25 30

Val Arg Ser Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
35 40 45

Thr Phe Asn Ser Tyr Gly Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60

Gly Leu Glu Trp Val Ala Leu Ile Glu Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr
65 70 75 80

Tyr Gly Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Lys Ser
85 90 95

Lys Ser Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asp Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr

100 105 110

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

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145 150 155 160

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
165 170 175

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Phe Ile Lys Lys Asn
180 185 190

Leu Asn Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
195 200 205

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
210 215 220

Asn Arg Ser Gly Thr Thr Phe Ser Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
225 230 235 240

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asp Asn Leu Pro Leu
245 250 255

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala
260 265 270

Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser
275 280 285

Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr
290 295 300

Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala
305 310 315 320

Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys
325 330 335

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
340 345 350

Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
355 360 365

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg
370 375 380

Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
385 390 395 400

Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
405 410 415

Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
420 425 430

Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala
435 440 445

Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
450 455 460

Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
465 470 475 480

Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485 490

<210> 102
<211> 499
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 102

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
35 40 45

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

Gly Leu Glu Trp Val Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ala Thr Tyr Tyr
65 70 75 80

Gly Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ser Lys
85 90 95

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

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Leu Tyr Cys Gly Asn Asn Cys Tyr
115 120 125

Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
130 135 140

Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
145 150 155 160

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Val Thr Gln Ser Pro
165 170 175

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg
180 185 190

Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
195 200 205

Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
210 215 220

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
225 230 235 240

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
245 250 255

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys
260 265 270

Val Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala
275 280 285

Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg
290 295 300

Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys
305 310 315 320

Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu
325 330 335

Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu
340 345 350

Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln
355 360 365

Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly
370 375 380

Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr
385 390 395 400

Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg
405 410 415

Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met
420 425 430

Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu
435 440 445

Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys
450 455 460

Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu
465 470 475 480

Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu
485 490 495

Pro Pro Arg

<210> 103
<211> 491
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 103
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30

Lys Lys Ser Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45

Pro Phe Thr Gly Tyr Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60

Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asp Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly
65 70 75 80

Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asn Thr Ser
85 90 95

Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr
100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Asp Ser Tyr Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met
115 120 125

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

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
145 150 155 160

Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
165 170 175

Gly Asp Arg Val Thr Phe Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser
180 185 190

Ala Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu Leu
195 200 205

Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
210 215 220

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
225 230 235 240

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Asn Tyr Pro
245 250 255

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro
260 265 270

Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu
275 280 285

Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His
290 295 300

Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu
305 310 315 320

Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr

325 330 335

Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe
340 345 350

Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg
355 360 365

Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser
370 375 380

Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr
385 390 395 400

Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys
405 410 415

Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn
420 425 430

Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu
435 440 445

Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly
450 455 460

His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr
465 470 475 480

Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485 490

<210> 104
<211> 1473
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 104
atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60

cccgaagtgc aactccaaca gtcaggcgca gaagtcaaga agcccggatc gtcagtgaaa 120

gtgtcctgca aagcctccgg cggaaccttc agctcctacg caatcagctg ggtgcggcag 180

gcgcccggac agggactgga gtggatgggc ggtatcattc cgatctttgg caccgccaat 240

tacgcccaga agttccaggg acgcgtcaca atcaccgccg acgaatcgac ttccaccgcc 300

tacatggagc tgtcgtcctt gaggagcgaa gataccgccg tgtactactg cgctcgggat 360

ctggagatgg ccactatcat gggggggttac tggggccagg ggaccctggt cactgtgtcc 420

tcgggaggag ggggatcagg cggcggcggt tccgggggag gaggaagcca gtccgcgctg 480

actcagccag cttccgtgtc tggttcgccg ggacagtcca tcactattag ctgtaccggc 540

accagcagcg acgtgggcgg ctacaactat gtgtcatggt accagcagca cccggggaag 600

gcgcctaagc tgatgatcta cgacgtgtcc aaccgcccta gcggagtgtc caacagattc 660

tccggttcga agtcagggaa cactgcctcc ctcacgatta gcgggctgca agccgaggat 720

gaagccgact actactgctc ctcctatacc tcctcctcga ccctggacgt ggtgttcgga 780

ggaggcacca agctcaccgt ccttaccact accccagcac cgaggccacc caccccggct 840

cctaccatcg cctcccagcc tctgtccctg cgtccggagg catgtagacc cgcagctggt 900

ggggccgtgc atacccgggg tcttgacttc gcctgcgata tctacatttg ggcccctctg 960

gctggtactt gcggggtcct gctgctttca ctcgtgatca ctctttactg taagcgcggt 1020

cggaagaagc tgctgtacat ctttaagcaa cccttcatga ggcctgtgca gactactcaa 1080

gaggaggacg gctgttcatg ccggttccca gaggaggagg aaggcggctg cgaactgcgc 1140

gtgaaattca gccgcagcgc agatgctcca gcctacaagc aggggcagaa ccagctctac 1200

aacgaactca atcttggtcg gagagaggag tacgacgtgc tggacaagcg gagaggacgg 1260

gacccagaaa tgggcgggaa gccgcgcaga aagaatcccc aagagggcct gtacaacgag 1320

ctccaaaagg ataagatggc agaagcctat agcgagattg gtatgaaagg ggaacgcaga 1380

agaggcaaag gccacgacgg actgtaccag ggactcagca ccgccaccaa ggacacctat 1440

gacgctcttc acatgcaggc cctgccgcct cgg 1473

<210> 105
<211> 1467
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 105
atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60

cccgaagtgc aattggtgga aagcggagga ggagtggtgc aacctggagg aagcctgaga 120

ctgtcatgtg ccgcctcggg attcactttc gatgactacg caatgcactg ggtccgccag 180

gcccccggaa agggtctgga atgggtgtcc ctcatctccg gcgatggggg ttccacttac 240

tatgcggatt ctgtgaaggg ccgcttcaca atctcccggg acaattccaa gaacactctg 300

taccttcaaa tgaactccct gagggtggag gacaccgctg tgtactactg cgcgagagtg 360

tttgactcgt actatatgga cgtctgggga aagggcacca ccgtgaccgt gtccagcggt 420

ggcggtggat cgggggggcgg cggctccggg agcggaggtt ccgagattgt gctgactcag 480

tcgccgttgt cactgcctgt caccccgggg cagccggcct ccatttcatg ccggtccagc 540

cagtccctgg tctacaccga tgggaacact tacctcaact ggttccagca gcgcccagga 600

cagtccccgc ggaggctgat ctacaaagtg tcaaaccggg actccggcgt ccccgatcgg 660

ttctcgggaa gcggcagcga caccgacttc acgctgaaga tttcccgcgt ggaagccgag 720

gacgtgggca tctactactg tatgcagggc acccactggt cgtttacctt cggacaagga 780

actaggctcg agatcaagac cactacccca gcaccgaggc cacccacccc ggctcctacc 840

atcgcctccc agcctctgtc cctgcgtccg gaggcatgta gacccgcagc tggtggggcc 900

gtgcataccc ggggtcttga cttcgcctgc gatatctaca tttgggcccc tctggctggt 960

acttgcgggg tcctgctgct ttcactcgtg atcactcttt actgtaagcg cggtcggaag 1020

aagctgctgt acatctttaa gcaacccttc atgaggcctg tgcagactac tcaagaggag 1080

gacggctgtt catgccggtt cccagaggag gaggaaggcg gctgcgaact gcgcgtgaaa 1140

ttcagccgca gcgcagatgc tccagcctac aagcaggggc agaaccagct ctacaacgaa 1200

ctcaatcttg gtcggagaga ggagtacgac gtgctggaca agcggagagg acgggaccca 1260

gaaatgggcg ggaagccgcg cagaaagaat ccccaagagg gcctgtacaa cgagctccaa 1320

aaggataaga tggcagaagc ctatagcgag attggtatga aaggggaacg cagaagaggc 1380

aaaggccacg acggactgta ccagggactc agcaccgcca ccaaggacac ctatgacgct 1440

cttcacatgc aggccctgcc gcctcgg 1467

<210> 106
<211> 1473
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 106
atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
ccccaagtgc agcttcaaga aagcggtcca ggactcgtca agccatcaga aactctttcc 120
ctcacttgta ccgtgtcggg aggcagcatc tcctcgagct cctactactg gggttggatt 180
agacagcccc cgggaaaggg gttggagtgg atcggttcca tctactactc cgggtcgacc 240
tactacaacc cttccctgaa atctcgggtg tccatctccg tcgacacctc caagaaccag 300
ttcagcctga agctgaaata tgtgaccgcg gccgatactg ccgtgtacta ttgcgccacc 360
ccgggaacct actacgactt cctctcgggg tactacccgt tttactgggg acaggggact 420
ctcgtgaccg tgtcctcggg cggcggaggt tcaggcggtg gcggatcggg gggaggaggc 480
tcagacattg tgatgaccca gagcccgtcc agcctgagcg cctccgtggg cgatagggtc 540
acgattactt gccgggcgtc ccagggaatc tcaagctacc tggcctggta ccaacagaag 600
cccggaaagg cacccaagtt gctgatctat gccgctagca ctctgcagtc cggggtgcct 660
tcccgcttct ccggctccgg ctcgggcacc gacttcaccc tgaccatttc ctcactgcaa 720
cccgaggact tcgccactta ctactgccag cagctgaact cctacccctta cacattcgga 780
cagggaacca agctggaaat caagaccact accccagcac cgaggccacc caccccggct 840
cctaccatcg cctcccagcc tctgtccctg cgtccggagg catgtagacc cgcagctggt 900
ggggccgtgc atacccgggg tcttgacttc gcctgcgata tctacatttg ggcccctctg 960
gctggtactt gcggggtcct gctgctttca ctcgtgatca ctctttactg taagcgcggt 1020
cggaagaagc tgctgtacat ctttaagcaa cccttcatga ggcctgtgca gactactcaa 1080
gaggaggacg gctgttcatg ccggttccca gaggaggagg aaggcggctg cgaactgcgc 1140
gtgaaattca gccgcagcgc agatgctcca gcctacaagc aggggcagaa ccagctctac 1200
aacgaactca atcttggtcg gagagaggag tacgacgtgc tggacaagcg gagaggacgg 1260

gacccagaaa tgggcgggaa gccgcgcaga aagaatcccc aagagggcct gtacaacgag 1320

ctccaaaagg ataagatggc agaagcctat agcgagattg gtatgaaagg ggaacgcaga 1380

agaggcaaag gccacgacgg actgtaccag ggactcagca ccgccaccaa ggacacctat 1440

gacgctcttc acatgcaggc cctgccgcct cgg 1473

<210> 107
<211> 1449
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 107
atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60

ccccaagtgc aactcgtgga atctggtgga ggactcgtgc aacccggagg atcattgcga 120

ctctcgtgtg cggcatccgg ctttaccttt tcatcctact ggatgtcctg ggtcagacag 180

gcccccggga agggactgga atgggtcgcg aacatcaacg aggacggctc ggccaagttc 240

tacgtggact ccgtgaaggg ccgcttcacg atctcacggg ataacgccaa gaattccctg 300

tatctgcaaa tgaacagcct gagggccgag gacactgcgg tgtacttctg cgcacgcgac 360

ctgaggtccg ggagatactg gggacagggc accctcgtga ccgtgtcgag cggaggaggg 420

gggtcgggcg gcggcggttc cggtggcggc ggtagcgaaa ttgtgttgac ccagtccgct 480

ggaaccctga gcctgtcacc tggaggacgc gccaccctgt cctgccgggc cagccagagc 540

atctcagggt ccttcctggc ttggtaccag cagaagccgg gacaggctcc gagacttctg 600

atctacggcg cctcctcgcg ggcgaccgga atcccggatc ggttctccgg ctcgggaagc 660

ggaactgact tcactcttac catttcccgc ctggagccgg aagatttcgc cgtgtactac 720

tgccagcagt acgggtcatc ccctccaacc ttcggcctgg gaactaagct ggaaatcaaa 780

accactaccc cagcaccgag gccacccacc ccggctccta ccatcgcctc ccagcctctg 840

tccctgcgtc cggaggcatg tagacccgca gctggtgggg ccgtgcatac ccggggtctt 900

gacttcgcct gcgatatcta catttgggcc cctctggctg gtacttgcgg ggtcctgctg 960

ctttcactcg tgatcactct ttactgtaag cgcggtcgga agaagctgct gtacatcttt 1020

aagcaaccct tcatgaggcc tgtgcagact actcaagagg aggacggctg ttcatgccgg 1080

ttcccagagg aggaggaagg cggctgcgaa ctgcgcgtga aattcagccg cagcgcagat 1140

gctccagcct acaagcaggg gcagaaccag ctctacaacg aactcaatct tggtcggaga 1200

gaggagtacg acgtgctgga caagcggaga ggacgggacc cagaaatggg cgggaagccg 1260

cgcagaaaga atccccaaga gggcctgtac aacgagctcc aaaaggataa gatggcagaa 1320

gcctatagcg agattggtat gaaaggggaa cgcagaagag gcaaaggcca cgacggactg 1380

taccagggac tcagcaccgc caccaaggac acctatgacg ctcttcacat gcaggccctg 1440

ccgcctcgg 1449

<210> 108
<211> 1467
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 108
atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60

cccgaagtgc aactccaaca atccggtcca ggactcgtca gaccctccga aactctctcg 120

cttacatgca ctgtgtccgg cggccctgtg cggtccggct ctcattactg gaactggatt 180

cgccagcccc cgggacgcgg actggagtgg atcggctaca tctattactc ggggtcgact 240

aactacaacc cgagcctgga aaatagagtg accatctcaa tcgacacgtc caacaaccac 300

ttctcgctga agttgtcctc cgtgactgcc gccgatactg ccctgtactt ctgtgctcgc 360

ggaaccgcca ccttcgactg gaacttccct tttgactcat ggggccaggg gacccttgtg 420

accgtgtcca gcggaggagg aggctccggt ggtggcggga gcggtagcgg cggaagcgac 480

atccagatga cccagtcacc gtcctcgctg tccgcatcca ttggggatcg ggtcactatt 540

acttgccggg cgtcccagtc catctcgtcc tacctgaact ggtatcagca gaagccaggg 600

aaagccccca agctgctgat ctacgcggcc agcagcctgc agtcaggagt gccttcaagg 660

tttagcggca gcggatcggg aaccgacttc accctgacca tttcctccct ccaacccgag 720

gatttcgcca cctactactg ccagcagtcc tactccaccc cgtggacctt cggacaggga 780

accaagctgg agatcaagac cactacccca gcaccgaggc cacccacccc ggctcctacc 840

atcgcctccc agcctctgtc cctgcgtccg gaggcatgta gacccgcagc tggtggggcc 900

gtgcataccc ggggtcttga cttcgcctgc gatatctaca tttgggcccc tctggctggt 960

acttgcgggg tcctgctgct ttcactcgtg atcactcttt actgtaagcg cggtcggaag 1020

aagctgctgt acatctttaa gcaacccttc atgaggcctg tgcagactac tcaagaggag 1080

gacggctgtt catgccggtt cccagaggag gaggaaggcg gctgcgaact gcgcgtgaaa 1140

ttcagccgca gcgcagatgc tccagcctac aagcaggggc agaaccagct ctacaacgaa 1200

ctcaatcttg gtcggagaga ggagtacgac gtgctggaca agcggagagg acgggaccca 1260

gaaatgggcg ggaagccgcg cagaaagaat ccccaagagg gcctgtacaa cgagctccaa 1320

aaggataaga tggcagaagc ctatagcgag attggtatga aaggggaacg cagaagaggc 1380

aaaggccacg acggactgta ccagggactc agcaccgcca ccaaggacac ctatgacgct 1440

cttcacatgc aggccctgcc gcctcgg 1467

<210> 109
<211> 1479
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 109
atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60

ccccaagtgc aacttcaaga atcaggcgca ggacttctca agccatccga aacactctcc 120

ctcacttgcg cggtgtacgg gggaagcttc tcgggatact actggtcctg gattaggcag 180

cctcccggca aaggcctgga atgggtcggg gagatcaacc actccggttc aaccaactac 240

aacccgtcgc tgaagtcccg cgtgaccatt tccgtggaca cctctaagaa tcagttcagc 300

ctgaagctct cgtccgtgac cgcggcggac accgccgtct actactgcgc tcggggatca 360

ggactggtgg tgtacgccat ccgcgtgggc tcgggctggt tcgattactg gggccaggga 420

accctggtca ctgtgtcgtc cggcggagga ggttcggggg gcggagacag cggtggaggg 480

ggtagcgaca tccagatgac ccagtccccg tcctcgctgt ccgcctccgt gggagataga 540

gtgaccatca cctgtcgggc atcccagagc atttccagct acctgaactg gtatcagcag 600

aagcccggaa aggcccctaa gctgttgatg tacgccgcca gcagcttgca gtcgggcgtg 660

ccgagccggt tttccggttc cggctccggg actgacttca ccctgactat ctcatccctg 720

caacccgagg acttcgccac ttattactgc cagcagtcct actcaacccc tccctggacg 780

ttcggacagg gcaccaaggt cgatatcaag accactaccc cagcaccgag gccacccacc 840

ccggctccta ccatcgcctc ccagcctctg tccctgcgtc cggaggcatg tagacccgca 900

gctggtgggg ccgtgcatac ccggggtctt gacttcgcct gcgatatcta catttgggcc 960

cctctggctg gtacttgcgg ggtcctgctg ctttcactcg tgatcactct ttactgtaag 1020

cgcggtcgga agaagctgct gtacatcttt aagcaaccct tcatgaggcc tgtgcagact 1080

actcaagagg aggacggctg ttcatgccgg ttcccagagg aggaggaagg cggctgcgaa 1140

ctgcgcgtga aattcagccg cagcgcagat gctccagcct acaagcaggg gcagaaccag 1200

ctctacaacg aactcaatct tggtcggaga gaggagtacg acgtgctgga caagcggaga 1260

ggacgggacc cagaaatggg cgggaagccg cgcagaaaga atccccaaga gggcctgtac 1320

aacgagctcc aaaaggataa gatggcagaa gcctatagcg agattggtat gaaaggggaa 1380

cgcagaagag gcaaaggcca cgacggactg taccagggac tcagcaccgc caccaaggac 1440

acctatgacg ctcttcacat gcaggccctg ccgcctcgg 1479

<210> 110
<211> 1497
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 110
atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60

cccgaagtgc aattggtgga atctggagga ggacttgtga aacctggtgg aagcctgaga 120

ctttcctgtg cggcctcggg attcactttc tcctcctact ccatgaactg ggtcagacag 180

gcccctggga agggactgga atgggtgtca tccatctcct cctcatcgtc gtacatctac 240

tacgccgata gcgtgaaggg gcggttcacc atttcccggg acaacgctaa gaacagcctc 300

tatctgcaaa tgaattccct ccgcgccgag gacactgccg tgtactactg cgcgagggac 360

ccctcatcaa gcggcagcta ctacatggag gactcgtatt actacggaat ggacgtctgg 420

ggccagggaa ccactgtgac ggtgtcctcc ggtggagggg gctccggggg cgggggatct 480

ggcggaggag gctccaactt catgctgacc cagccgcact ccgtgtccga aagccccgga 540

aagaccgtga caatttcctg caccgggtcc tccggctcga tcgcatcaaa ctacgtgcag 600

tggtaccagc agcgcccggg cagcgccccc accactgtca tctacgagga taaccagcgg 660

ccgtcgggtg tcccagaccg gttttccggt tcgatcgata gcagcagcaa cagcgcctcc 720

ctgaccattt ccggcctcaa gaccgaggat gaggctgact actactgcca gtcgtatgac 780

tcctcgaacc aagtggtgtt cggtggcggc accaagctga ctgtgctgac cactacccca 840

gcaccgaggc cacccacccc ggctcctacc atcgcctccc agcctctgtc cctgcgtccg 900

gaggcatgta gacccgcagc tggtggggcc gtgcataccc ggggtcttga cttcgcctgc 960

gatatctaca tttgggcccc tctggctggt acttgcgggg tcctgctgct ttcactcgtg 1020

atcactcttt actgtaagcg cggtcggaag aagctgctgt acatctttaa gcaacccttc 1080

atgaggcctg tgcagactac tcaagaggag gacggctgtt catgccggtt cccagaggag 1140

gaggaaggcg gctgcgaact gcgcgtgaaa ttcagccgca gcgcagatgc tccagcctac 1200

aagcaggggc agaaccagct ctacaacgaa ctcaatcttg gtcggagaga ggagtacgac 1260

gtgctggaca agcggagagg acgggaccca gaaatgggcg ggaagccgcg cagaaagaat 1320

ccccaagagg gcctgtacaa cgagctccaa aaggataaga tggcagaagc ctatagcgag 1380

attggtatga aaggggaacg cagaagaggc aaaggccacg acggactgta ccagggactc 1440

agcaccgcca ccaaggacac ctatgacgct cttcacatgc aggccctgcc gcctcgg 1497

<210> 111
<211> 1449
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 111
atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60

ccccaagtga acctgagaga aagcggcgga ggacttgtgc aacctggagg aagcctgaga 120

ctgtcatgtg ccgcgtccgg cttcaccttc tcgtcctacg agatgaactg ggtccgccag 180

gcaccgggca aaggactgga atgggtgtcc tacatttcct cgtccgggtc caccatctat 240

tacgccgact ccgtgaaggg acggttcacc atctcccggg acaacgccaa gaactccctc 300

tacctccaaa tgaactcact gagggcagag gacactgcgg tctactactg cgcccgcgaa 360

gctttgggta gctcctggga gtggggccag ggaaccactg tgaccgtgtc ctcgggtgga 420

gggggctccg gtggcggggg ttcagggggt ggcggaagcg atatccagat gactcagtca 480

ccaagctccc tgagcgcctc agtgggagat cgggtcacaa tcacgtgcca ggcgtcccag 540

gacatttcta actacctcaa ttggtaccag cagaagccgg ggaaggcccc caagcttctg 600

atctacgatg cctccaacct ggaaaccggc gtgccctccc gcttctcggg atcgggcagc 660

ggcactgact tcacctttac catctcgtcc ctgcaacctg aggacatcgc cacctattac 720

tgccagcagt acgataacct cccgctgact ttcggaggcg gaactaagct ggagattaag 780

accactaccc cagcaccgag gccacccacc ccggctccta ccatcgcctc ccagcctctg 840

tccctgcgtc cggaggcatg tagacccgca gctggtgggg ccgtgcatac ccggggtctt 900

gacttcgcct gcgatatcta catttgggcc cctctggctg gtacttgcgg ggtcctgctg 960

ctttcactcg tgatcactct ttactgtaag cgcggtcgga agaagctgct gtacatcttt 1020

aagcaaccct tcatgaggcc tgtgcagact actcaagagg aggacggctg ttcatgccgg 1080

ttcccagagg aggaggaagg cggctgcgaa ctgcgcgtga aattcagccg cagcgcagat 1140

gctccagcct acaagcaggg gcagaaccag ctctacaacg aactcaatct tggtcggaga 1200

gaggagtacg acgtgctgga caagcggaga ggacgggacc cagaaatggg cgggaagccg 1260

cgcagaaaga atccccaaga gggcctgtac aacgagctcc aaaaggataa gatggcagaa 1320

gcctatagcg agattggtat gaaaggggaa cgcagaagag gcaaaggcca cgacggactg 1380

taccagggac tcagcaccgc caccaaggac acctatgacg ctcttcacat gcaggccctg 1440

ccgcctcgg 1449

<210> 112
<211> 1470
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 112

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60

ccccaagtgc aactcgtcca gtccggtgca gaagtcaagg aacccggagc ctccgtgaaa 120

gtgtcctgca aagctcctgc caacactttc tcggaccacg tgatgcactg ggtgcgccag 180

gcgccgggcc agcgcttcga atggatggga tacattcatg ccgccaatgg cggtacccac 240

tactcccaaa agttccagga tagagtcacc atcacccggg acaccagcgc caacaccgtg 300

tatatggatc tgtccagcct gaggtccgag gataccgccg tgtactactg cgcccggggc 360

ggatacaact cagacgcgtt cgacatttgg ggacagggta ctatggtcac cgtgtcatcc 420

gggggcggtg gcagcggggg cggaggctct ggcggaggcg gatcaggggg aggagggtcc 480

gacatcgtga tgacccagtc cccgtcatcg gtgtccgcgt ccgtgggaga cagagtgacc 540

atcacgtgtc gcgccagcca ggacatctcc tcgtggttgg catggtacca gcagaagcct 600

ggaaaggccc cgaagctgct catctacgcc gcctcctccc ttcaatcggg agtgccctcg 660

cggttcaacg gaagcggaag cgggacagat tttaccctga ctattagctc gctgcagccc 720

gaggacttcg ctacttacta ctgccaacag agctactcca ccccactgac tttcggcggg 780

ggtaccaagg tcgagatcaa gaccactacc ccagcaccga ggccacccac cccggctcct 840

accatcgcct cccagcctct gtccctgcgt ccggaggcat gtagacccgc agctggtggg 900

gccgtgcata cccggggtct tgacttcgcc tgcgatatct acatttgggc ccctctggct 960

ggtacttgcg gggtcctgct gctttcactc gtgatcactc tttactgtaa gcgcggtcgg 1020

aagaagctgc tgtacatctt taagcaaccc ttcatgaggc ctgtgcagac tactcaagag 1080

gaggacggct gttcatgccg gttcccagag gaggaggaag gcggctgcga actgcgcgtg 1140

aaattcagcc gcagcgcaga tgctccagcc tacaagcagg ggcagaacca gctctacaac 1200

gaactcaatc ttggtcggag agaggagtac gacgtgctgg acaagcggag aggacgggac 1260

ccagaaatgg gcgggaagcc gcgcagaaag aatccccaag agggcctgta caacgagctc 1320

caaaaggata agatggcaga agcctatagc gagattggta tgaaagggga acgcagaaga 1380

ggcaaaggcc acgacggact gtaccaggga ctcagcaccg ccaccaagga cacctatgac 1440

gctcttcaca tgcaggccct gccgcctcgg 1470

<210> 113
<211> 1476
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 113
atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60

ccccaagtgc aacttgttca atccggtgga ggtcttgtgc agcccggagg atcactcaga 120

ctgtcgtgcg ccgcctctgg gttcactttc tcctcatact cgatgaactg ggtgcgccag 180

gcgccgggaa agggcctgga atgggtgtca tacatctcct cctcatcctc caccatctac 240

tacgccgatt ccgtgaaggg ccgcttcact atttcccggg acaacgcgaa aaactcgctc 300

tatctgcaaa tgaactccct gcgcgccgag gacaccgccg tgtactactg cgcccgggac 360

ctgagcgtgc gggctattga tgcgttcgac atctggggac agggcaccat ggtcacagtg 420

tccagcggag gcggcggcag cggtggagga ggatcagggg gaggaggttc gggggggcggt 480

ggctccgata tcgtgctgac ccagagcccg tcgagcctct ccgcctccgt cggcgacaga 540

gtgaccatca cgtgtcaggc atcccaggac attagcaact acctgaattg gtaccagcag 600

aagcctggaa aggcacccaa gttgctgatc tacgacgcct ccaacctgga aaccggagtg 660

ccatccaggt tctcgggcag cggctcggga accgacttca cttttactat ctcctccctg 720

caacccgagg atttcgcgac ctactactgc cagcaggcct acagcacccc tttcaccttc 780

gggccgggaa ctaaggtcga aatcaagacc actaccccag caccgaggcc acccaccccg 840

gctcctacca tcgcctccca gcctctgtcc ctgcgtccgg aggcatgtag acccgcagct 900

ggtggggccg tgcatacccg gggtcttgac ttcgcctgcg atatctacat ttgggccct 960

ctggctggta cttgcggggt cctgctgctt tcactcgtga tcactcttta ctgtaagcgc 1020

ggtcggaaga agctgctgta catctttaag caacccttca tgaggcctgt gcagactact 1080

caagaggagg acggctgttc atgccggttc ccagaggagg aggaaggcgg ctgcgaactg 1140

cgcgtgaaat tcagccgcag cgcagatgct ccagcctaca agcaggggca gaaccagctc 1200

tacaacgaac tcaatcttgg tcggagagag gagtacgacg tgctggacaa gcggagagga 1260

cgggacccag aaatgggcgg gaagccgcgc agaaagaatc cccaagaggg cctgtacaac 1320

gagctccaaa aggataagat ggcagaagcc tatagcgaga ttggtatgaa aggggaacgc 1380

agaaggaggca aaggccacga cggactgtac cagggactca gcaccgccac caaggacacc 1440

tatgacgctc ttcacatgca ggccctgccg cctcgg 1476

<210> 114
<211> 1470
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 114
atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60

cccgaagtgc aattggtgca atcaggagga ggagtggtca gatctggaag aagcctgaga 120

ctgtcatgcg cggcttcggg ctttaccttc aactcctacg gcctccactg ggtgcgccag 180

gcccccggaa aaggcctcga atgggtcgca ctgattgagt acgacgggtc caacaagtac 240

tacggagata gcgtgaaggg ccgcttcacc atctcacggg acaagtccaa gtccaccctg 300

tatctgcaaa tggacaacct gagggccgag gatactgccg tgtactactg cgcccgcgaa 360

ggaaacgaag atctggcctt cgatatttgg ggccagggta ctcttgtgac cgtgtcgagc 420

ggaggcggag gctccggtgg aggaggatcg gggggtggtg gttccggcgg cgggggggagc 480

gaaatcgtgc tgacccagtc gccttcctcc ctctccgctt ccgtggggga ccgggtcact 540

attacgtgtc aggcgtccca attcatcaag aagaatctga actggtacca gcacaagccg 600

ggaaaggccc ccaaactgct catctacgac gccagctcgc tgcagactgg cgtgccttcc 660

cggttttccg ggaaccggtc gggaaccacc ttctcattca ccatcagcag cctccagccg 720

gaggacgtgg cgacctacta ctgccagcag catgacaacc ttccactgac tttcggcggg 780

ggcaccaagg tcgagattaa gaccactacc ccagcaccga ggccacccac cccggctcct 840

accatcgcct cccagcctct gtccctgcgt ccggaggcat gtagacccgc agctggtggg 900

gccgtgcata cccggggtct tgacttcgcc tgcgatatct acatttgggc ccctctggct 960

ggtacttgcg gggtcctgct gctttcactc gtgatcactc tttactgtaa gcgcggtcgg 1020

aagaagctgc tgtacatctt taagcaaccc ttcatgaggc ctgtgcagac tactcaagag 1080

gaggacggct gttcatgccg gttcccagag gaggaggaag gcggctgcga actgcgcgtg 1140

aaattcagcc gcagcgcaga tgctccagcc tacaagcagg ggcagaacca gctctacaac 1200

gaactcaatc ttggtcggag agaggagtac gacgtgctgg acaagcggag aggacgggac 1260

ccagaaatgg gcgggaagcc gcgcagaaag aatccccaag agggcctgta caacgagctc 1320

caaaaggata agatggcaga agcctatagc gagattggta tgaaagggga acgcagaaga 1380

ggcaaaggcc acgacggact gtaccaggga ctcagcaccg ccaccaagga cacctatgac 1440

gctcttcaca tgcaggccct gccgcctcgg 1470

<210> 115
<211> 1497
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 115
atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60

ccccaagtgc aactcgtgga atcaggcgga ggactcgtgc aacccggagg ttcccttaga 120

ctgtcatgtg ccgcttccgg gttcaatgtg tccagcaact acatgacctg ggtcagacag 180

gcgccgggaa agggacttga atgggtgtcc gtgatctact ccggtggagc aacatactac 240

ggagactccg tgaaaggccg ctttaccgtg tcccgcgata actcgaagaa caccgtgtac 300

ttgcagatga acaggctgac tgccgaggac accgccgtgt attattgcgc ccgggacagg 360

ctgtactgtg gaaacaactg ctacctgtac tactactacg ggatggacgt gtggggacag 420

ggcactctcg tcactgtgtc atccgggggg ggcggtagcg gtggcggagg gtccggcgga 480

ggaggctcag ggggaggcgg aagcgatatc caggtcaccc agtctccctc ctcgctgtcc 540

gcctccgtgg gcgaccgcgt caccattact tgccgggcgt cgcagtcgat cagctcctac 600

ctgaactggt accagcagaa gcctggaaag gccccgaagc tgctgatcta cgcggcctcg 660

tccctgcaaa gcggcgtccc gtcgcggttc agcggttccg gttcgggaac cgacttcacc 720

ctgactattt cctccctgca acccgaggat ttcgccactt actactgcca gcagtcctac 780

tccaccccac ctctgacctt cggccaagga accaaggtcg aaatcaagac cactacccca 840

gcaccgaggc cacccacccc ggctcctacc atcgcctccc agcctctgtc cctgcgtccg 900

gaggcatgta gacccgcagc tggtggggcc gtgcataccc ggggtcttga cttcgcctgc 960

gatatctaca tttgggcccc tctggctggt acttgcgggg tcctgctgct ttcactcgtg 1020

atcactcttt actgtaagcg cggtcggaag aagctgctgt acatctttaa gcaacccttc 1080

atgaggcctg tgcagactac tcaagaggag gacggctgtt catgccggtt cccagaggag 1140

gaggaaggcg gctgcgaact gcgcgtgaaa ttcagccgca gcgcagatgc tccagcctac 1200

aagcaggggc agaaccagct ctacaacgaa ctcaatcttg gtcggagaga ggagtacgac 1260

gtgctggaca agcggagagg acgggaccca gaaatgggcg ggaagccgcg cagaaagaat 1320

ccccaagagg gcctgtacaa cgagctccaa aaggataaga tggcagaagc ctatagcgag 1380

attggtatga aaggggaacg cagaagaggc aaaggccacg acggactgta ccagggactc 1440

agcaccgcca ccaaggacac ctatgacgct cttcacatgc aggccctgcc gcctcgg 1497

<210> 116
<211> 1473
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 116
atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60

ccccaagtgc aactcgtcca gtccggtgca gaagtgaaaa agagcggagc ctcagtgaaa 120

gtgtcctgca aggcctccgg ttacccccttc actggatact acattcagtg ggtccgccaa 180

gccccgggac agggtctgga gtggatgggg tggattgacc ctaactcggg aaatacggga 240

tacgcgcaga agttccaggg ccgcgtgacc atgaccagga acacctcgat cagcaccgcc 300

tacatggaac tgtcctccct gcggtcggag gatactgccg tgtactactg cgcctccgat 360

tcctatgggt actactacgg aatggacgtc tggggacagg gcaccctcgt gaccgtgtcc 420

tcgggaggcg gagggagcgg cgggggtgga tcgggaggag gcggctccgg cggcggcggt 480

agcgacatcc agatgaccca gtcaccatca agccttagcg cctccgtggg cgacagagtg 540

acattcactt gtcgggcgtc ccagggaatc tcctccgctc tggcttggta tcagcagaag 600

cctgggaagc ctccgaagct gttgatctac gacgcgagca gcctggaatc aggggtgccc 660

tcccggtttt ccgggtccgg ttctggcacc gatttcaccc tgaccatttc gtccctccaa 720

cccgaggact tcgccactta ctactgccag cagttcaaca actacccgct gaccttcgga 780

ggaggcacta aggtcgagat caagaccact accccagcac cgaggccacc caccccggct 840

cctaccatcg cctcccagcc tctgtccctg cgtccggagg catgtagacc cgcagctggt 900

ggggccgtgc atacccgggg tcttgacttc gcctgcgata tctacatttg ggcccctctg 960

gctggtactt gcggggtcct gctgctttca ctcgtgatca ctctttactg taagcgcggt 1020

cggaagaagc tgctgtacat ctttaagcaa cccttcatga ggcctgtgca gactactcaa 1080

gaggaggacg gctgttcatg ccggttccca gaggaggagg aaggcggctg cgaactgcgc 1140

gtgaaattca gccgcagcgc agatgctcca gcctacaagc aggggcagaa ccagctctac 1200

aacgaactca atcttggtcg gagagaggag tacgacgtgc tggacaagcg gagaggacgg 1260

gacccagaaa tgggcgggaa gccgcgcaga aagaatcccc aagagggcct gtacaacgag 1320

ctccaaaagg ataagatggc agaagcctat agcgagattg gtatgaaagg ggaacgcaga 1380

agaggcaaag gccacgacgg actgtaccag ggactcagca ccgccaccaa ggacacctat 1440

gacgctcttc acatgcaggc cctgccgcct cgg 1473

<210> 117
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 117
Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5 10

<210> 118
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 118
Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala Met His
1 5 10

<210> 119

<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 119
Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Tyr Trp Gly
1 5 10

<210> 120
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 120
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Trp Met Ser
1 5 10

<210> 121
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 121
Gly Gly Pro Val Arg Ser Gly Ser His Tyr Trp Asn
1 5 10

<210> 122
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 122

Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser
1 5 10

<210> 123
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 123
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Asn
1 5 10

<210> 124
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 124
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Glu Met Asn
1 5 10

<210> 125
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 125
Ala Asn Thr Phe Ser Asp His Val Met His
1 5 10

<210> 126
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 126
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Asn
1 5 10

<210> 127
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 127
Gly Phe Thr Phe Asn Ser Tyr Gly Leu His
1 5 10

<210> 128
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 128
Gly Phe Asn Val Ser Ser Asn Tyr Met Thr
1 5 10

<210> 129
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 129
Gly Tyr Pro Phe Thr Gly Tyr Tyr Ile Gln
1 5 10

<210> 130

<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 130
Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

<210> 131
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 131
Leu Ile Ser Gly Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 132
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 132
Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 133
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source

<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 133
Asn Ile Asn Glu Asp Gly Ser Ala Lys Phe Tyr Val Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 134
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 134
Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Asn
1 5 10 15

<210> 135
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 135
Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 136
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 136
Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 137
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 137
Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 138
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 138
Tyr Ile His Ala Ala Asn Gly Gly Thr His Tyr Ser Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Asp

<210> 139
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 139

Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 140
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 140
Leu Ile Glu Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Gly Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 141
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 141
Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ala Thr Tyr Tyr Gly Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 142
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 142
Trp Ile Asp Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 143
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 143
Asp Leu Glu Met Ala Thr Ile Met Gly Gly Tyr
1 5 10

<210> 144
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 144
Val Phe Asp Ser Tyr Tyr Met Asp Val
1 5

<210> 145
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 145
Pro Gly Thr Tyr Tyr Asp Phe Leu Ser Gly Tyr Tyr Pro Phe Tyr
1 5 10 15

<210> 146
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 146
Asp Leu Arg Ser Gly Arg Tyr
1 5

<210> 147
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 147
Gly Thr Ala Thr Phe Asp Trp Asn Phe Pro Phe Asp Ser
1 5 10

<210> 148
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 148
Gly Ser Gly Leu Val Val Tyr Ala Ile Arg Val Gly Ser Gly Trp Phe
1 5 10 15

Asp Tyr

<210> 149
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 149
Asp Pro Ser Ser Ser Gly Ser Tyr Tyr Met Glu Asp Ser Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Gly Met Asp Val
20

<210> 150
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 150
Glu Ala Leu Gly Ser Ser Trp Glu
1 5

<210> 151
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 151
Gly Gly Tyr Asn Ser Asp Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 152
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 152
Asp Leu Ser Val Arg Ala Ile Asp Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 153

<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 153
Glu Gly Asn Glu Asp Leu Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 154
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 154
Asp Arg Leu Tyr Cys Gly Asn Asn Cys Tyr Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
1 5 10 15

Met Asp Val

<210> 155
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 155
Asp Ser Tyr Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 156
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source

<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 156
Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
1 5 10

<210> 157
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 157
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Thr Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn
1 5 10 15

<210> 158
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 158
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 159
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 159
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ser Phe Leu Ala
1 5 10

<210> 160
<211> 11

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 160
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 161
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 161
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 162
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 162
Thr Gly Ser Ser Gly Ser Ile Ala Ser Asn Tyr Val Gln
1 5 10

<210> 163
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 163
Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 164
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 164
Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 165
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 165
Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 166
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 166
Gln Ala Ser Gln Phe Ile Lys Lys Asn Leu Asn
1 5 10

<210> 167
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source

<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 167
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 168
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 168
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
1 5 10

<210> 169
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 169
Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 170
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 170
Lys Val Ser Asn Arg Asp Ser
1 5

<210> 171
<211> 7

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 171
Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser
1 5

<210> 172
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 172
Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 173
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 173
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 174
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 174
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 175
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 175
Glu Asp Asn Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 176
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 176
Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr
1 5

<210> 177
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 177
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 178
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source

<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 178
Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr
1 5

<210> 179
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 179
Asp Ala Ser Ser Leu Gln Thr
1 5

<210> 180
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 180
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 181
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 181
Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 182
<211> 12

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 182
Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Asp Val Val
1 5 10

<210> 183
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 183
Met Gln Gly Thr His Trp Ser Phe Thr
1 5

<210> 184
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 184
Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 185
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 185
Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Pro Thr

1 5

<210> 186
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 186
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Trp Thr
1 5

<210> 187
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 187
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Trp Thr
1 5 10

<210> 188
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 188
Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn Gln Val Val
1 5 10

<210> 189
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source

<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 189
Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Leu Thr
1 5

<210> 190
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 190
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr
1 5

<210> 191
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 191
Gln Gln Ala Tyr Ser Thr Pro Phe Thr
1 5

<210> 192
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 192
Gln Gln His Asp Asn Leu Pro Leu Thr
1 5

<210> 193
<211> 10

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 193
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Leu Thr
1 5 10

<210> 194
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 194
Gln Gln Phe Asn Asn Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 195
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 195
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Glu Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Pro Tyr Ser Ser Ser Trp His Asp Ala Phe Asp Ile Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 196
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 196
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 197
<211> 489
<212> PRT
<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 197
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
35 40 45

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

Gly Leu Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr
65 70 75 80

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
85 90 95

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

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Pro Tyr Ser Ser Ser Trp His Asp
115 120 125

Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly
130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile
145 150 155 160

Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg
165 170 175

Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu
180 185 190

Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
195 200 205

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
210 215 220

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu
225 230 235 240

Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu Thr
245 250 255

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro
260 265 270

Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu
275 280 285

Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg
290 295 300

Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly
305 310 315 320

Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys
325 330 335

Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg
340 345 350

Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro
355 360 365

Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser
370 375 380

Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu
385 390 395 400

Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg
405 410 415

Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln
420 425 430

Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
435 440 445

Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
450 455 460

Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
465 470 475 480

Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 198
<211> 1467
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 198
atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60

cccgaagtgc aactcgtgga aagcggtgga ggtcttgtgc aacctggagg ttccttgcgc 120

ctgtcatgtg cagcttccgg cttcactttc tcctcgtacg agatgaattg ggtgcggcag 180

gcgcctggaa aggggctgga atgggtgtcc tacatctcaa gctccggctc gaccatctac 240

tacgcggaca gcgtgaaggg gcggttcacg atttcgaggg acaacgccaa gaactcgctc 300

tatctgcaaa tgaactccct gagagccgag gacaccgctg tgtattactg cgcccgggac 360

ccctactcct cctcatggca cgacgccttt gatatctggg gccagggaac catggtcacc 420

gtcagcagcg ggggcggagg ttccgggggа gggggctccg gcggaggagg ctccgagatt 480

gtgttgactc agagcccggg taccctgtcg ctgagccccg gagagcgggc cacccttтca 540

tgccgcgcca gccagtccgt gtcctcatcc tacctcgcgt ggtaccagca gaaacctggc 600

caggccccgc ggctgctgat ctacggcgcc tcctcgcgcg caaccggaat ccccgaccgg 660

ttctccgggt ctggcagcgg aaccgacttc actctcacca tttcgaggct ggagccggaa 720

gatttcgccg tgtactactg ccagcagtac ggctcctcgc cactgacttt cggcggagga 780

accaaggtcg atatcaagac cactacccca gcaccgaggc cacccacccc ggctcctacc 840

atcgcctccc agcctctgtc cctgcgtccg gaggcatgta gacccgcagc tggtggggcc 900

gtgcataccc ggggtcttga cttcgcctgc gatatctaca tttgggcccc tctggctggt 960

acttgcgggg tcctgctgct ttcactcgtg atcactcttt actgtaagcg cggtcggaag 1020

aagctgctgt acatctttaa gcaacccttc atgaggcctg tgcagactac tcaagaggag 1080

gacggctgtt catgccggtt cccagaggag gaggaaggcg gctgcgaact gcgcgtgaaa 1140

ttcagccgca gcgcagatgc tccagcctac aagcaggggc agaaccagct ctacaacgaa 1200

ctcaatcttg gtcggagaga ggagtacgac gtgctggaca agcggagagg acgggaccca 1260

gaaatgggcg ggaagccgcg cagaaagaat ccccaagagg gcctgtacaa cgagctccaa 1320

aaggataaga tggcagaagc ctatagcgag attggtatga aaggggaacg cagaagaggc 1380

aaaggccacg acggactgta ccagggactc agcaccgcca ccaaggacac ctatgacgct 1440

cttcacatgc aggccctgcc gcctcgg 1467

<210> 199
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 199
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Glu Met Asn
1 5 10

<210> 200
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 200
Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 201
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 201
Asp Pro Tyr Ser Ser Ser Trp His Asp Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 202
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 202
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 203
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 203
Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 204
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 204
Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu Thr
1 5

<210> 205
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 205
Asp Val Pro Asp Tyr Ala Ser Leu Gly Gly Pro Ser Ser Pro Lys Lys
1 5 10 15

Lys Arg Lys Val Ser Arg Gly Val Gln Val Glu Thr Ile Ser Pro Gly
20 25 30

Asp Gly Arg Thr Phe Pro Lys Arg Gly Gln Thr Cys Val Val His Tyr
35 40 45

Thr Gly Met Leu Glu Asp Gly Lys Lys Phe Asp Ser Ser Arg Asp Arg
50 55 60

Asn Lys Pro Phe Lys Phe Met Leu Gly Lys Gln Glu Val Ile Arg Gly
65 70 75 80

Trp Glu Glu Gly Val Ala Gln Met Ser Val Gly Gln Arg Ala Lys Leu
85 90 95

Thr Ile Ser Pro Asp Tyr Ala Tyr Gly Ala Thr Gly His Pro Gly Ile
100 105 110

Ile Pro Pro His Ala Thr Leu Val Phe Asp Val Glu Leu Leu Lys Leu
115 120 125

Glu Thr Ser Tyr
130

<210> 206
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 206
Val Gln Val Glu Thr Ile Ser Pro Gly Asp Gly Arg Thr Phe Pro Lys
1 5 10 15

Arg Gly Gln Thr Cys Val Val His Tyr Thr Gly Met Leu Glu Asp Gly
20 25 30

Lys Lys Phe Asp Ser Ser Arg Asp Arg Asn Lys Pro Phe Lys Phe Met
35 40 45

Leu Gly Lys Gln Glu Val Ile Arg Gly Trp Glu Glu Gly Val Ala Gln
50 55 60

Met Ser Val Gly Gln Arg Ala Lys Leu Thr Ile Ser Pro Asp Tyr Ala
65 70 75 80

Tyr Gly Ala Thr Gly His Pro Gly Ile Ile Pro Pro His Ala Thr Leu
85 90 95

Val Phe Asp Val Glu Leu Leu Lys Leu Glu Thr Ser
100 105

<210> 207
<211> 93
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 207
Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Glu Glu Ala Ser Arg
1 5 10 15

Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu
20 25 30

Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr
35 40 45

Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp
50 55 60

Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Thr Gln Ala
65 70 75 80

Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys
85 90

<210> 208
<211> 95
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註= “人工序列的描述：合成多肽”

<400> 208
Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Ile Glu Ala Ser Arg
1 5 10 15

Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu
20 25 30

Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr
35 40 45

Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp
50 55 60

Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Thr Gln Ala

65 70 75 80

Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys Thr Ser
85 90 95

<210> 209
<211> 95
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 209
Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Leu Glu Ala Ser Arg
1 5 10 15

Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu
20 25 30

Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr
35 40 45

Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp
50 55 60

Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Thr Gln Ala
65 70 75 80

Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys Thr Ser
85 90 95

<210> 210
<211> 95
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 210
Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Glu Glu Ala Ser Arg
1 5 10 15

Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu
20 25 30

Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr
35 40 45

Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp
50 55 60

Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Leu Gln Ala
65 70 75 80

Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys Thr Ser
85 90 95

<210> 211
<211> 95
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<220>
<221> MOD_RES
<222> (12)..(12)
<223> 任何胺基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (78)..(78)
<223> 任何胺基酸

<400> 211
Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Xaa Glu Ala Ser Arg
1 5 10 15

Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu
20 25 30

Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr
35 40 45

Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp
50 55 60

Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Xaa Gln Ala
65 70 75 80

Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys Thr Ser
85 90 95

<210> 212
<211> 95
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 212
Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Ile Glu Ala Ser Arg
1 5 10 15

Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu
20 25 30

Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr
35 40 45

Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp
50 55 60

Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Leu Gln Ala
65 70 75 80

Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys Thr Ser
85 90 95

<210> 213
<211> 95
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source

<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 213
Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Leu Glu Ala Ser Arg
1 5 10 15

Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu
20 25 30

Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr
35 40 45

Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp
50 55 60

Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Leu Gln Ala
65 70 75 80

Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys Thr Ser
85 90 95

<210> 214
<211> 1132
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成多肽”

<400> 214
Met Pro Arg Ala Pro Arg Cys Arg Ala Val Arg Ser Leu Leu Arg Ser
1 5 10 15

His Tyr Arg Glu Val Leu Pro Leu Ala Thr Phe Val Arg Arg Leu Gly
20 25 30

Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val Gln Arg Gly Asp Pro Ala Ala Phe Arg
35 40 45

Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro Trp Asp Ala Arg Pro
50 55 60

Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser Cys Leu Lys Glu Leu
65 70 75 80

Val Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn Val
85 90 95

Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Pro Pro
100 105 110

Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val Thr
115 120 125

Asp Ala Leu Arg Gly Ser Gly Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg Val
130 135 140

Gly Asp Asp Val Leu Val His Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe Val
145 150 155 160

Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu Tyr
165 170 175

Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln Ala Arg Pro Pro Pro His Ala Ser Gly
180 185 190

Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys Glu Arg Ala Trp Asn His Ser Val Arg
195 200 205

Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg Arg
210 215 220

Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser Leu Pro Leu Pro Lys Arg Pro Arg Arg
225 230 235 240

Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu Arg Thr Pro Val Gly Gln Gly Ser Trp
245 250 255

Ala His Pro Gly Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys Val
260 265 270

Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly Ala
275 280 285

Leu Ser Gly Thr Arg His Ser His Pro Ser Val Gly Arg Gln His His
290 295 300

Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr Pro
305 310 315 320

Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly
325 330 335

Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro
340 345 350

Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser
355 360 365

Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln
370 375 380

Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn His
385 390 395 400

Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg
405 410 415

Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln
420 425 430

Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu
435 440 445

Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe
450 455 460

Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser
465 470 475 480

Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser
485 490 495

Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met
500 505 510

Ser Val Arg Gly Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Cys
515 520 525

Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe
530 535 540

Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe
545 550 555 560

Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr
565 570 575

Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His
580 585 590

Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln
595 600 605

His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
610 615 620

Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val
625 630 635 640

Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr Ser
645 650 655

Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg
660 665 670

Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg
675 680 685

Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro
690 695 700

Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Thr Ile
705 710 715 720

Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys Pro Gln

725 730 735

Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His
740 745 750

Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr Asp
755 760 765

Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser
770 775 780

Pro Leu Arg Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn Glu
785 790 795 800

Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His His
805 810 815

Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro
820 825 830

Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp
835 840 845

Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu
850 855 860

Arg Leu Val Asp Asp Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala
865 870 875 880

Lys Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys
885 890 895

Val Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu
900 905 910

Ala Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe
915 920 925

Pro Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser
930 935 940

Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe
945 950 955 960

Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly
965 970 975

Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn
980 985 990

Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln
995 1000 1005

Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln
1010 1015 1020

Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp
1025 1030 1035

Thr Ala Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly
1040 1045 1050

Met Ser Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu
1055 1060 1065

Ala Val Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr
1070 1075 1080

Arg His Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr
1085 1090 1095

Ala Gln Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr
1100 1105 1110

Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys
1115 1120 1125

Thr Ile Leu Asp
1130

<210> 215
<211> 4027
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成聚核苷酸”

<400> 215
caggcagcgt ggtcctgctg cgcacgtggg aagccctggc cccggccacc cccgcgatgc 60

cgcgcgctcc ccgctgccga gccgtgcgct ccctgctgcg cagccactac cgcgaggtgc 120

tgccgctggc cacgttcgtg cggcgcctgg ggccccaggg ctggcggctg gtgcagcgcg 180

gggacccggc ggctttccgc gcgctggtgg cccagtgcct ggtgtgcgtg ccctgggacg 240

cacggccgcc ccccgccgcc ccctccttcc gccaggtgtc ctgcctgaag gagctggtgg 300

cccgagtgct gcagaggctg tgcgagcgcg gcgcgaagaa cgtgctggcc ttcggcttcg 360

cgctgctgga cggggcccgc gggggccccc ccgaggcctt caccaccagc gtgcgcagct 420

acctgcccaa cacggtgacc gacgcactgc gggggagcgg ggcgtggggg ctgctgttgc 480

gccgcgtggg cgacgacgtg ctggttcacc tgctggcacg ctgcgcgctc tttgtgctgg 540

tggctcccag ctgcgcctac caggtgtgcg ggccgccgct gtaccagctc ggcgctgcca 600

ctcaggcccg gccccccgcca cacgctagtg gaccccgaag gcgtctggga tgcgaacggg 660

cctggaacca tagcgtcagg gaggccgggg tccccctggg cctgccagcc ccgggtgcga 720

ggaggcgcgg gggcagtgcc agccgaagtc tgccgttgcc caagaggccc aggcgtggcg 780

ctgcccctga gccggagcgg acgcccgttg ggcaggggtc ctgggcccac ccgggcagga 840

cgcgtggacc gagtgaccgt ggtttctgtg tggtgtcacc tgccagaccc gccgaagaag 900

ccacctcttt ggagggtgcg ctctctggca cgcgccactc ccacccatcc gtgggccgcc 960

agcaccacgc gggccccccca tccacatcgc ggccaccacg tccctgggac acgccttgtc 1020

ccccggtgta cgccgagacc aagcacttcc tctactcctc aggcgacaag gagcagctgc 1080

ggccctcctt cctactcagc tctctgaggc ccagcctgac tggcgctcgg aggctcgtgg 1140

agaccatctt tctgggttcc aggccctgga tgccagggac tccccgcagg ttgccccgcc 1200

tgccccagcg ctactggcaa atgcggcccc tgtttctgga gctgcttggg aaccacgcgc 1260

agtgccccta cggggtgctc ctcaagacgc actgcccgct gcgagctgcg gtcaccccag 1320

cagccggtgt ctgtgcccgg gagaagcccc agggctctgt ggcggccccc gaggaggagg 1380

acacagaccc ccgtcgcctg gtgcagctgc tccgccagca cagcagcccc tggcaggtgt 1440

acggcttcgt gcgggcctgc ctgcgccggc tggtgccccc aggcctctgg ggctccaggc 1500

acaacgaacg ccgcttcctc aggaacacca agaagttcat ctccctgggg aagcatgcca 1560

agctctcgct gcaggagctg acgtggaaga tgagcgtgcg gggctgcgct tggctgcgca 1620

ggagcccagg ggttggctgt gttccggccg cagagcaccg tctgcgtgag gagatcctgg 1680

ccaagttcct gcactggctg atgagtgtgt acgtcgtcga gctgctcagg tctttctttt 1740

atgtcacgga gaccacgttt caaaagaaca ggctcttttt ctaccggaag agtgtctgga 1800

gcaagttgca aagcattgga atcagacagc acttgaagag ggtgcagctg cgggagctgt 1860

cggaagcaga ggtcaggcag catcgggaag ccaggcccgc cctgctgacg tccagactcc 1920

gcttcatccc caagcctgac gggctgcggc cgattgtgaa catggactac gtcgtgggag 1980

ccagaacgtt ccgcagagaa aagagggccg agcgtctcac ctcgagggtg aaggcactgt 2040

tcagcgtgct caactacgag cgggcgcggc gccccggcct cctgggcgcc tctgtgctgg 2100

gcctggacga tatccacagg gcctggcgca ccttcgtgct gcgtgtgcgg gcccaggacc 2160

cgccgcctga gctgtacttt gtcaaggtgg atgtgacggg cgcgtacgac accatccccc 2220

aggacaggct cacggaggtc atcgccagca tcatcaaacc ccagaacacg tactgcgtgc 2280

gtcggtatgc cgtggtccag aaggccgccc atgggcacgt ccgcaaggcc ttcaagagcc 2340

acgtctctac cttgacagac ctccagccgt acatgcgaca gttcgtggct cacctgcagg 2400

agaccagccc gctgagggat gccgtcgtca tcgagcagag ctcctccctg aatgaggcca 2460

gcagtggcct cttcgacgtc ttcctacgct tcatgtgcca ccacgccgtg cgcatcaggg 2520

gcaagtccta cgtccagtgc caggggatcc cgcagggctc catcctctcc acgctgctct 2580

gcagcctgtg ctacggcgac atggagaaca agctgtttgc ggggattcgg cgggacgggc 2640

tgctcctgcg tttggtggat gatttcttgt tggtgacacc tcacctcacc cacgcgaaaa 2700

ccttcctcag gaccctggtc cgaggtgtcc ctgagtatgg ctgcgtggtg aacttgcgga 2760

agacagtggt gaacttccct gtagaagacg aggccctggg tggcacggct tttgttcaga 2820

tgccggccca cggcctattc ccctggtgcg gcctgctgct ggatacccgg accctggagg 2880

tgcagagcga ctactccagc tatgcccgga cctccatcag agccagtctc accttcaacc 2940

gcggcttcaa ggctgggagg aacatgcgtc gcaaactctt tggggtcttg cggctgaagt 3000

gtcacagcct gtttctggat ttgcaggtga acagcctcca gacggtgtgc accaacatct 3060

acaagatcct cctgctgcag gcgtacaggt ttcacgcatg tgtgctgcag ctcccatttc 3120

atcagcaagt ttggaagaac cccacatttt tcctgcgcgt catctctgac acggcctccc 3180

tctgctactc catcctgaaa gccaagaacg cagggatgtc gctgggggcc aagggcgccg 3240

ccggccctct gccctccgag gccgtgcagt ggctgtgcca ccaagcattc ctgctcaagc 3300

tgactcgaca ccgtgtcacc tacgtgccac tcctggggtc actcaggaca gcccagacgc 3360

agctgagtcg gaagctcccg gggacgacgc tgactgccct ggaggccgca gccaacccgg 3420

cactgccctc agacttcaag accatcctgg actgatggcc acccgcccac agccaggccg 3480

agagcagaca ccagcagccc tgtcacgccg ggctctacgt cccagggagg gaggggcggc 3540

ccacacccag gcccgcaccg ctgggagtct gaggcctgag tgagtgtttg gccgaggcct 3600

gcatgtccgg ctgaaggctg agtgtccggc tgaggcctga gcgagtgtcc agccaagggc 3660

tgagtgtcca gcacacctgc cgtcttcact tccccacagg ctggcgctcg gctccacccc 3720

agggccagct tttcctcacc aggagcccgg cttccactcc ccacatagga atagtccatc 3780

cccagattcg ccattgttca cccctcgccc tgccctcctt tgccttccac ccccaccatc 3840

caggtggaga ccctgagaag gaccctggga gctctgggaa tttggagtga ccaaaggtgt 3900

gccctgtaca caggcgagga ccctgcacct ggatgggggt ccctgtgggt caaattgggg 3960

ggaggtgctg tgggagtaaa atactgaata tatgagtttt tcagttttga aaaaaaaaaa 4020

aaaaaaa 4027

<210> 216
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 216
ggaggtccct caccttcta 19

<210> 217
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 217
cggaggatct tatgctgaa 19

<210> 218
<211> 19
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 218
cccgcttcca gatcataca 19

<210> 219
<211> 19
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 219
ggagacctca acaagatat 19

<210> 220
<211> 19
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 220
aaggcatggt cattggtat 19

<210> 221
<211> 19
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 221
gcatggtcat tggtatcat 19

<210> 222
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 222
ggtcattggt atcatgagt 19

<210> 223
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 223
cctagtgggt atccctgta 19

<210> 224
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 224
gaggatggac attgttctt 19

<210> 225
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 225
gcatgcaggc tacagttca 19

<210> 226
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 226
ccagcacatg cactgttga 19

<210> 227
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 227
cacatgcact gttgagtga 19

<210> 228
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 228
ctggaggtcc ctcaccttct a 21

<210> 229
<211> 21
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 229
gtcggaggat cttatgctga a 21

<210> 230
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 230
tgcccgcttc cagatcatac a 21

<210> 231
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 231
ctggagacct caacaagata t 21

<210> 232
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 232
tcaaggcatg gtcattggta t 21

<210> 233
<211> 21

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 233
aggcatggtc attggtatca t 21

<210> 234
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 234
atggtcattg gtatcatgag t 21

<210> 235
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 235
gccctagtgg gtatccctgt a 21

<210> 236
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 236
atgaggatgg acattgttct t 21

<210> 237

<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 237
gagcatgcag gctacagttc a 21

<210> 238
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 238
ttccagcaca tgcactgttg a 21

<210> 239
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 239
agcacatgca ctgttgagtg a 21

<210> 240
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 240
tagaaggtga gggacctcca g 21

<210> 241
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 241
ttcagcataa gatcctccga c 21

<210> 242
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 242
tgtatgatct ggaagcgggc a 21

<210> 243
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 243
atatcttgtt gaggtctcca g 21

<210> 244
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 244
ataccaatga ccatgccttg a 21

<210> 245
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 245
atgataccaa tgaccatgcc t 21

<210> 246
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 246
atggtcattg gtatcatgag t 21

<210> 247
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 247
gccctagtgg gtatccctgt a 21

<210> 248
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 248
atgaggatgg acattgttct t 21

<210> 249
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 249
gagcatgcag gctacagttc a 21

<210> 250
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 250
ttccagcaca tgcactgttg a 21

<210> 251
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 251
agcacatgca ctgttgagtg a 21

<210> 252
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 252

tagaaggtga gggacctcc 19

<210> 253
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 253
ttcagcataa gatcctccg 19

<210> 254
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 254
tgtatgatct ggaagcggg 19

<210> 255
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 255
atatcttgtt gaggtctcc 19

<210> 256
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 256
ataccaatga ccatgcctt 19

<210> 257
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 257
atgataccaa tgaccatgc 19

<210> 258
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 258
atggtcattg gtatcatga 19

<210> 259
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 259
gccctagtgg gtatccctg 19

<210> 260
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸 ”

<400> 260
atgaggatgg acattgttc 19

<210> 261
<211> 19
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 261
gagcatgcag gctacagtt 19

<210> 262
<211> 19
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 262
ttccagcaca tgcactgtt 19

<210> 263
<211> 19
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 263
agcacatgca ctgttgagt 19

<210> 264
<211> 19
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 264
ggccaggatg gttcttaga 19

<210> 265
<211> 19
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 265
gcttcgtgct aaactggta 19

<210> 266
<211> 19
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 266
gggcgtgact tccacatga 19

<210> 267
<211> 19
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 267
caggcctaga gaagtttca 19

<210> 268
<211> 19
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<221> source

<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 268
cttggaaccc attcctgaa 19

<210> 269
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 269
ggaacccatt cctgaaatt 19

<210> 270
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 270
gaacccattc ctgaaatta 19

<210> 271
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 271
aacccattcc tgaaattat 19

<210> 272
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 272
acccattcct gaaattatt 19

<210> 273
<211> 19
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 273
cccattcctg aaattattt 19

<210> 274
<211> 19
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 274
ctgtggttct attatatta 19

<210> 275
<211> 19
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 275
aaatatgaga gcatgctaa 19

<210> 276
<211> 19
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 276
tctaagaacc atcctggcc 19

<210> 277
<211> 19
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 277
taccagttta gcacgaagc 19

<210> 278
<211> 19
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 278
tcatgtggaa gtcacgccc 19

<210> 279
<211> 19
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 279
tgaaacttct ctaggcctg 19

<210> 280
<211> 19
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 280
ttcaggaatg ggttccaag 19

<210> 281
<211> 19
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 281
aatttcagga atgggttcc 19

<210> 282
<211> 19
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 282
taatttcagg aatgggttc 19

<210> 283
<211> 19
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 283
ataatttcag gaatgggtt 19

<210> 284
<211> 19
<212> DNA

<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 284
aataatttca ggaatgggt 19

<210> 285
<211> 19
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 285
aaataatttc aggaatggg 19

<210> 286
<211> 19
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 286
taatataata gaaccacag 19

<210> 287
<211> 19
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 287
ttagcatgct ctcatattt 19

<210> 288
<211> 21

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 288
gcggccagga tggttcttag a 21

<210> 289
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 289
gagcttcgtg ctaaactggt a 21

<210> 290
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 290
acgggcgtga cttccacatg a 21

<210> 291
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 291
tgcaggccta gagaagtttc a 21

<210> 292

<211> 21
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 292
tccttggaac ccattcctga a 21

<210> 293
<211> 21
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 293
ttggaaccca ttcctgaaat t 21

<210> 294
<211> 21
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 294
tggaacccat tcctgaaatt a 21

<210> 295
<211> 21
<212> DNA
<213>人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 295
ggaacccatt cctgaaatta t 21

<210> 296
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 296
gaacccattc ctgaaattat t 21

<210> 297
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 297
aacccattcc tgaaattatt t 21

<210> 298
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 298
ccctgtggtt ctattatatt a 21

<210> 299
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 299
ttaaatatga gagcatgcta a 21

<210> 300
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 300
tctaagaacc atcctggccg c 21

<210> 301
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 301
taccagttta gcacgaagct c 21

<210> 302
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 302
tcatgtggaa gtcacgcccg t 21

<210> 303
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 303
tgaaacttct ctaggcctgc a 21

<210> 304
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 304
ttcaggaatg ggttccaagg a 21

<210> 305
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 305
aatttcagga atgggttcca a 21

<210> 306
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 306
taatttcagg aatgggttcc a 21

<210> 307
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 307

ataatttcag gaatgggttc c 21

<210> 308
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 308
aataatttca ggaatgggtt c 21

<210> 309
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 309
aaataatttc aggaatgggt t 21

<210> 310
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 310
taatataata gaaccacagg g 21

<210> 311
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成寡核苷酸”

<400> 311
ttagcatgct ctcatattta a 21

<210> 312
<211> 150
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述:合成聚核苷酸”

<400> 312
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 60

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 120

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 150

<210> 313
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述:合成肽”

<400> 313
Arg Gly Asp Ser
1

<210> 314
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述:合成肽”

<400> 314
Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 315
<211> 5
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 315
Asp Tyr Ala Met His
1 5

<210> 316
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 316
Ser Ser Ser Tyr Tyr Trp Gly
1 5

<210> 317
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 317
Ser Tyr Trp Met Ser
1 5

<210> 318
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 318
Ser Gly Ser His Tyr Trp Asn
1 5

<210> 319
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 319
Gly Tyr Tyr Trp Ser
1 5

<210> 320
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 320
Ser Tyr Ser Met Asn
1 5

<210> 321
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 321
Ser Tyr Glu Met Asn
1 5

<210> 322
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 322
Asp His Val Met His
1 5

<210> 323
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 323
Ser Tyr Ser Met Asn
1 5

<210> 324
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 324
Ser Tyr Gly Leu His
1 5

<210> 325
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 325
Ser Asn Tyr Met Thr
1 5

<210> 326
<211> 5
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 326
Gly Tyr Tyr Ile Gln
1 5

<210> 327
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 327
Ser Tyr Glu Met Asn
1 5

<210> 328
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 328
Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 329
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 329
Leu Ile Ser Gly Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 330
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 330
Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 331
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 331
Asn Ile Asn Glu Asp Gly Ser Ala Lys Phe Tyr Val Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 332
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 332

Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Asn
1 5 10 15

<210> 333
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 333
Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 334
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 334
Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 335
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 335
Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 336
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 336
Tyr Ile His Ala Ala Asn Gly Gly Thr His Tyr Ser Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Asp

<210> 337
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 337
Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 338
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 338
Leu Ile Glu Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Gly Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 339
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 339
Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ala Thr Tyr Tyr Gly Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 340
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 340
Trp Ile Asp Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 341
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 341
Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 342
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 342
Asp Leu Glu Met Ala Thr Ile Met Gly Gly Tyr
1 5 10

<210> 343
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 343
Val Phe Asp Ser Tyr Tyr Met Asp Val
1 5

<210> 344
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 344
Pro Gly Thr Tyr Tyr Asp Phe Leu Ser Gly Tyr Tyr Pro Phe Tyr
1 5 10 15

<210> 345
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 345
Asp Leu Arg Ser Gly Arg Tyr
1 5

<210> 346
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 346
Gly Thr Ala Thr Phe Asp Trp Asn Phe Pro Phe Asp Ser
1 5 10

<210> 347
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 347
Gly Ser Gly Leu Val Val Tyr Ala Ile Arg Val Gly Ser Gly Trp Phe
1 5 10 15

Asp Tyr

<210> 348
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 348
Asp Pro Ser Ser Ser Gly Ser Tyr Tyr Met Glu Asp Ser Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Gly Met Asp Val
20

<210> 349
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 349
Glu Ala Leu Gly Ser Ser Trp Glu
1 5

<210> 350
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 350
Gly Gly Tyr Asn Ser Asp Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 351
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 351
Asp Leu Ser Val Arg Ala Ile Asp Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 352
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 352
Glu Gly Asn Glu Asp Leu Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 353
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 353
Asp Arg Leu Tyr Cys Gly Asn Asn Cys Tyr Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
1 5 10 15

Met Asp Val

<210> 354
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 354
Asp Ser Tyr Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 355
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 355

Asp Pro Tyr Ser Ser Ser Trp His Asp Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 356
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 356
Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
1 5 10

<210> 357
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 357
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Thr Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn
1 5 10 15

<210> 358
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 358
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 359
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 359
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ser Phe Leu Ala
1 5 10

<210> 360
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 360
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 361
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 361
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 362
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 362
Thr Gly Ser Ser Gly Ser Ile Ala Ser Asn Tyr Val Gln
1 5 10

<210> 363

<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 363
Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 364
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 364
Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 365
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 365
Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 366
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 366

Gln Ala Ser Gln Phe Ile Lys Lys Asn Leu Asn
1 5 10

<210> 367
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 367
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 368
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 368
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
1 5 10

<210> 369
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 369
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 370
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 370
Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 371
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 371
Lys Val Ser Asn Arg Asp Ser
1 5

<210> 372
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 372
Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser
1 5

<210> 373
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 373
Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 374

<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 374
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 375
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 375
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 376
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 376
Glu Asp Asn Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 377
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 377

Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr
1 5

<210> 378
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 378
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 379
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 379
Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr
1 5

<210> 380
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 380
Asp Ala Ser Ser Leu Gln Thr
1 5

<210> 381
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 381
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 382
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 382
Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 383
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 383
Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 384
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 384
Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Asp Val Val
1 5 10

<210> 385

<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 385
Met Gln Gly Thr His Trp Ser Phe Thr
1 5

<210> 386
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 386
Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 387
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 387
Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Pro Thr
1 5

<210> 388
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 388

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Trp Thr
1 5

<210> 389
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 389
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Trp Thr
1 5 10

<210> 390
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 390
Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn Gln Val Val
1 5 10

<210> 391
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 391
Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Leu Thr
1 5

<210> 392
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 392
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr
1 5

<210> 393
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 393
Gln Gln Ala Tyr Ser Thr Pro Phe Thr
1 5

<210> 394
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 394
Gln Gln His Asp Asn Leu Pro Leu Thr
1 5

<210> 395
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 395
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Leu Thr
1 5 10

<210> 396

<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 396
Gln Gln Phe Asn Asn Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 397
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 397
Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu Thr
1 5

<210> 398
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 398
Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
1 5

<210> 399
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 399

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
1 5

<210> 400
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 400
Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr
1 5

<210> 401
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 401
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
1 5

<210> 402
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 402
Gly Gly Pro Val Arg Ser Gly Ser His
1 5

<210> 403
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 403
Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
1 5

<210> 404
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 404
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
1 5

<210> 405
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 405
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
1 5

<210> 406
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 406
Ala Asn Thr Phe Ser Asp His
1 5

<210> 407

<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 407
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
1 5

<210> 408
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 408
Gly Phe Thr Phe Asn Ser Tyr
1 5

<210> 409
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 409
Gly Phe Asn Val Ser Ser Asn
1 5

<210> 410
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 410

Gly Tyr Pro Phe Thr Gly Tyr
1 5

<210> 411
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 411
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
1 5

<210> 412
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 412
Ile Pro Ile Phe Gly Thr
1 5

<210> 413
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 413
Ser Gly Asp Gly Gly Ser
1 5

<210> 414
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 414
Tyr Tyr Ser Gly Ser
1 5

<210> 415
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 415
Asn Glu Asp Gly Ser Ala
1 5

<210> 416
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 416
Tyr Tyr Ser Gly Ser
1 5

<210> 417
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 417
Asn His Ser Gly Ser
1 5

<210> 418

<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 418
Ser Ser Ser Ser Ser Tyr
1 5

<210> 419
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 419
Ser Ser Ser Gly Ser Thr
1 5

<210> 420
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 420
His Ala Ala Asn Gly Gly
1 5

<210> 421
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 421

Ser Ser Ser Ser Ser Thr
1 5

<210> 422
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 422
Glu Tyr Asp Gly Ser Asn
1 5

<210> 423
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 423
Tyr Ser Gly Gly Ala
1 5

<210> 424
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 424
Asp Pro Asn Ser Gly Asn
1 5

<210> 425
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 425
Ser Ser Ser Gly Ser Thr
1 5

<210> 426
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 426
Asp Leu Glu Met Ala Thr Ile Met Gly Gly Tyr
1 5 10

<210> 427
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 427
Val Phe Asp Ser Tyr Tyr Met Asp Val
1 5

<210> 428
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 428
Pro Gly Thr Tyr Tyr Asp Phe Leu Ser Gly Tyr Tyr Pro Phe Tyr
1 5 10 15

<210> 429

<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 429
Asp Leu Arg Ser Gly Arg Tyr
1 5

<210> 430
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 430
Gly Thr Ala Thr Phe Asp Trp Asn Phe Pro Phe Asp Ser
1 5 10

<210> 431
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 431
Gly Ser Gly Leu Val Val Tyr Ala Ile Arg Val Gly Ser Gly Trp Phe
1 5 10 15

Asp Tyr

<210> 432
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source

<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 432
Asp Pro Ser Ser Ser Gly Ser Tyr Tyr Met Glu Asp Ser Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Gly Met Asp Val
20

<210> 433
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 433
Glu Ala Leu Gly Ser Ser Trp Glu
1 5

<210> 434
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 434
Gly Gly Tyr Asn Ser Asp Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 435
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 435
Asp Leu Ser Val Arg Ala Ile Asp Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 436
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 436
Glu Gly Asn Glu Asp Leu Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 437
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 437
Asp Arg Leu Tyr Cys Gly Asn Asn Cys Tyr Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
1 5 10 15

Met Asp Val

<210> 438
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 438
Asp Ser Tyr Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 439
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 439
Asp Pro Tyr Ser Ser Ser Trp His Asp Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 440
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 440
Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr
1 5 10

<210> 441
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 441
Ser Gln Ser Leu Val Tyr Thr Asp Gly Asn Thr Tyr
1 5 10

<210> 442
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 442
Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr
1 5

<210> 443
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 443
Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ser Phe
1 5

<210> 444
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 444
Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
1 5

<210> 445
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 445
Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
1 5

<210> 446
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 446
Ser Ser Gly Ser Ile Ala Ser Asn Tyr
1 5

<210> 447
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 447
Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
1 5

<210> 448
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 448
Ser Gln Asp Ile Ser Ser Trp
1 5

<210> 449
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 449
Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
1 5

<210> 450
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 450
Ser Gln Phe Ile Lys Lys Asn
1 5

<210> 451
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 451
Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
1 5

<210> 452
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 452
Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala
1 5

<210> 453
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 453
Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr
1 5

<210> 454
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 454
Asp Val Ser
1

<210> 455
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 455
Lys Val Ser
1

<210> 456
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 456
Ala Ala Ser
1

<210> 457
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 457
Gly Ala Ser
1

<210> 458
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 458
Ala Ala Ser
1

<210> 459
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 459
Ala Ala Ser
1

<210> 460
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 460
Glu Asp Asn
1

<210> 461
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 461
Asp Ala Ser
1

<210> 462
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 462
Ala Ala Ser
1

<210> 463
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 463
Asp Ala Ser
1

<210> 464
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 464
Asp Ala Ser
1

<210> 465
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 465
Ala Ala Ser
1

<210> 466
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 466
Asp Ala Ser
1

<210> 467
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 467
Gly Ala Ser
1

<210> 468
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 468
Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Asp Val
1 5

<210> 469
<211> 6
<212> PRT
<213>

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 469
Gly Thr His Trp Ser Phe
1 5

<210> 470
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 470
Leu Asn Ser Tyr Pro Tyr
1 5

<210> 471
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 471
Tyr Gly Ser Ser Pro Pro
1 5

<210> 472
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 472
Ser Tyr Ser Thr Pro Trp
1 5

<210> 473
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 473
Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Trp
1 5

<210> 474
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 474
Tyr Asp Ser Ser Asn Gln Val
1 5

<210> 475
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 475
Tyr Asp Asn Leu Pro Leu
1 5

<210> 476
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 476
Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
1 5

<210> 477
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 477
Ala Tyr Ser Thr Pro Phe
1 5

<210> 478
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 478
His Asp Asn Leu Pro Leu
1 5

<210> 479
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 479
Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Leu
1 5

<210> 480
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 480
Phe Asn Asn Tyr Pro Leu
1 5

<210> 481
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> source
<223> /備註=“人工序列的描述：合成肽”

<400> 481
Tyr Gly Ser Ser Pro Leu
1 5

申請專利範圍

1. 一種分離之核酸分子，其編碼特異性結合CLL-1之嵌合抗原受體(CAR)，其中該CAR包含人類抗-CLL-1結合結構域、跨膜結構域及胞內信號傳導結構域，且其中該抗-CLL-1結合結構域包含CLL-1 CAR胺基酸序列的重鏈互補決定區1 (HC CDR1)、重鏈互補決定區2 (HC CDR2)、重鏈互補決定區3 (HC CDR3)、輕鏈互補決定區1 (LC CDR1)、輕鏈互補決定區2 (LC CDR2)及輕鏈互補決定區3 (LC CDR3)，該CLL-1-CAR胺基酸序列選自CLL-1-CAR9、CLL-1-CAR6、CLL-1-CAR10、CLL-1-CAR11或CLL-1-CAR12，其中：

(a) 該CDR序列根據Kabat編號方案為：

(i) 對於CLL-1-CAR9，SEQ ID NO: 364之LC CDR1、SEQ ID NO: 378之LC CDR2及SEQ ID NO: 392之LC CDR3；及SEQ ID NO: 322之HC CDR1、SEQ ID NO: 336之HC CDR2及SEQ ID NO: 350之HC CDR3；

(ii) 對於CLL-1-CAR6，SEQ ID NO: 361之LC CDR1、SEQ ID NO: 375之LC CDR2及SEQ ID NO: 389之LC CDR3；及SEQ ID NO: 319之HC CDR1、SEQ ID NO: 333之HC CDR2及SEQ ID NO: 347之HC CDR3；

(iii) 對於CLL-1-CAR10，SEQ ID NO: 365之LC CDR1、SEQ ID NO: 379之LC CDR2及SEQ ID NO: 393之LC CDR3；及SEQ ID NO: 323之HC CDR1、SEQ ID NO: 337之HC CDR2及SEQ ID NO: 351之HC CDR3；

(iv) 對於CLL-1-CAR11，SEQ ID NO: 366之LC CDR1、SEQ ID NO: 380之LC CDR2及SEQ ID NO: 394之LC CDR3；及

SEQ ID NO: 324之HC CDR1、SEQ ID NO: 338之HC CDR2及SEQ ID NO: 352之HC CDR3；及

(v) 對於CLL-1-CAR12，SEQ ID NO: 367之LC CDR1、SEQ ID NO: 381之LC CDR2及SEQ ID NO: 395之LC CDR3；及SEQ ID NO: 325之HC CDR1、SEQ ID NO: 339之HC CDR2及SEQ ID NO: 353之HC CDR3；

(b)該CDR序列根據Chothia編號方案為：

(i) 對於CLL-1-CAR9，SEQ ID NO: 448之LC CDR1、SEQ ID NO: 462之LC CDR2及SEQ ID NO: 476之LC CDR3；及SEQ ID NO: 406之HC CDR1、SEQ ID NO: 420之HC CDR2及SEQ ID NO: 434之HC CDR3；

(ii)對於CLL-1-CAR6，SEQ ID NO: 445之LC CDR1、SEQ ID NO: 459之LC CDR2及SEQ ID NO: 473之LC CDR3；及SEQ ID NO: 403之HC CDR1、SEQ ID NO: 417之HC CDR2及SEQ ID NO: 431之HC CDR3；

(iii) 對於CLL-1-CAR10，SEQ ID NO: 449之LC CDR1、SEQ ID NO: 463之LC CDR2及SEQ ID NO: 477之LC CDR3；及SEQ ID NO: 407之HC CDR1、SEQ ID NO: 421之HC CDR2及SEQ ID NO: 435之HC CDR3；

(iv) 對於CLL-1-CAR11，SEQ ID NO: 450之LC CDR1、SEQ ID NO: 464之LC CDR2及SEQ ID NO: 478之LC CDR3；及SEQ ID NO: 408之HC CDR1、SEQ ID NO: 422之HC CDR2及SEQ ID NO: 436之HC CDR3；及

(v) 對於CLL-1-CAR12，SEQ ID NO: 451之LC CDR1、SEQ ID NO: 465之LC CDR2及SEQ ID NO: 479之LC CDR3；及SEQ ID NO: 409之HC CDR1、SEQ ID NO: 423之HC CDR2及SEQ

ID NO: 437之HC CDR3；及/或

(c) 該CDR序列根據編號方案之組合為：

(i) 對於CLL-1-CAR9，SEQ ID NO: 164之LC CDR1、SEQ ID NO: 177之LC CDR2及SEQ ID NO: 190之LC CDR3；及SEQ ID NO: 125之HC CDR1、SEQ ID NO: 138之HC CDR2及SEQ ID NO: 151之HC CDR3；

(ii) 對於CLL-1-CAR6，SEQ ID NO: 161之LC CDR1、SEQ ID NO: 174之LC CDR2及SEQ ID NO: 187之LC CDR3；及SEQ ID NO: 122之HC CDR1、SEQ ID NO: 135之HC CDR2及SEQ ID NO: 148之HC CDR3；

(iii) 對於CLL-1-CAR10，SEQ ID NO: 165之LC CDR1、SEQ ID NO: 178之LC CDR2及SEQ ID NO: 191之LC CDR3；及SEQ ID NO: 126之HC CDR1、SEQ ID NO: 139之HC CDR2及SEQ ID NO: 152之HC CDR3；

(iv) 對於CLL-1-CAR11，SEQ ID NO: 166之LC CDR1、SEQ ID NO: 179之LC CDR2及SEQ ID NO: 192之LC CDR3；及SEQ ID NO: 127之HC CDR1、SEQ ID NO: 140之HC CDR2及SEQ ID NO: 153之HC CDR3；及

(v) 對於CLL-1-CAR12，SEQ ID NO: 167之LC CDR1、SEQ ID NO: 180之LC CDR2及SEQ ID NO: 193之LC CDR3；及SEQ ID NO: 128之HC CDR1、SEQ ID NO: 141之HC CDR2及SEQ ID NO: 154之HC CDR3。

2. 如請求項1之分離之核酸分子，其編碼包含以下之CAR：

(a) (i)SEQ ID NO: 86之CLL-1-CAR9、SEQ ID NO: 83之CLL-1-CAR6、SEQ ID NO: 87之CLL-1-CAR10、SEQ ID NO: 88之CLL-1-CAR11或SEQ ID NO: 89之CLL-1-CAR12之輕鏈可變區的胺基

酸序列；

或

(ii)與SEQ ID NO: 86之CLL-1-CAR9、SEQ ID NO: 83之CLL-1-CAR6、SEQ ID NO: 87之CLL-1-CAR10、SEQ ID NO: 88之CLL-1-CAR11或SEQ ID NO: 89之CLL-1-CAR12之輕鏈可變區之胺基酸序列具有95%-99%一致性的胺基酸序列；

及/或

(b)(i)SEQ ID NO: 73之CLL-1-CAR9、SEQ ID NO: 70之CLL-1-CAR6、SEQ ID NO: 74之CLL-1-CAR10、SEQ ID NO: 75之CLL-1-CAR11或SEQ ID NO: 76之CLL-1-CAR12之重鏈可變區的胺基酸序列；

或

(ii)與SEQ ID NO: 73之CLL-1-CAR9、SEQ ID NO: 70之CLL-1-CAR6、SEQ ID NO: 74之CLL-1-CAR10、SEQ ID NO: 75之CLL-1-CAR11或SEQ ID NO: 76之CLL-1-CAR12之重鏈可變區之胺基酸序列具有95%-99%一致性的胺基酸序列。

3. 如請求項1或2之分離之核酸分子，其中

(i)該經編碼之CLL-1結合結構域包含選自由SEQ ID NO: 47、44、48、49及50組成之群之胺基酸序列；

(ii)該經編碼之CLL-1結合結構域包含與SEQ ID NO: 47、44、48、49或50中任一者具有95%-99%一致性之胺基酸序列；或

(iii)該CLL-1結合結構域係由選自由SEQ ID NO: 60、57、61、62及63組成之群之核苷酸序列或與其具有95%-99%一致性之序列所編碼。

4. 如請求項1或2之分離之核酸分子，其中該經編碼之CAR包括跨膜結構域，該跨膜結構域包含選自由以下各者組成之群的蛋白質

之跨膜結構域：T細胞受體之α、β或ζ鏈、CD28、CD3ε、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137及CD154。

5. 如請求項1或2之分離之核酸分子，其中：

(i)該經編碼之跨膜結構域包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 6之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列；

(ii)編碼該跨膜結構域之該核酸序列包含SEQ ID NO: 17之胺基酸序列，或與其具有95%-99%一致性之序列；或

(iii)編碼該跨膜結構域之該核酸序列包含SEQ ID NO: 112、109、113、114、115、104、105、106、107、108、110、111、116或198中任一者提供之序列之編碼該跨膜結構域之區域。

6. 如請求項4之分離之核酸分子，其中該經編碼之CLL-1結合結構域藉由鉸鏈區連接至該跨膜結構域。

7. 如請求項6之分離之核酸分子，其中：

(a)該經編碼之鉸鏈區包含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列或與其具有95%-99%一致性之序列；或

(b)編碼該鉸鏈區之核酸序列包含SEQ ID NO: 13之核苷酸序列或與其具有95%-99%一致性之序列。

8. 如請求項1或2之分離之核酸分子，其中該經編碼之胞內信號傳導結構域包含共同刺激結構域，其中該共同刺激結構域包含自選自由以下各者組成之群之蛋白質所衍生的功能性信號傳導結構域：MHC I類分子、TNF受體蛋白、免疫球蛋白樣蛋白、細胞因子受體、整合素、信號傳導淋巴細胞活化分子(SLAM蛋白)、活化NK細胞受體、BTLA、Toll配位體受體、OX40、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CDS、ICAM-1、LFA-1(CD11a/CD18)、4-1BB (CD137)、B7-H3、CDS、ICAM-1、ICOS

(CD278)、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM (LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a及特異性結合CD83之配位體。

9. 如請求項8之分離之核酸分子，其中：

(i)該經編碼之胞內信號傳導結構域包含共同刺激結構域，其中該共同刺激結構域包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 7之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列；或

(ii)該分離之核酸分子包含編碼該共同刺激結構域之核酸序列，其中該核酸分子包含SEQ ID NO: 18之核酸序列或與其具有95%-99%一致性之序列，或包含SEQ ID NO: 112、109、113、114或115中任一者所提供之編碼4-1BB結構域之序列或與其具有95%-99%一致性之序列。

10. 如請求項1或2之分離之核酸分子，其中：

(i)該經編碼之胞內信號傳導結構域包含4-1BB之功能性信號傳導結構域及/或CD3ζ之功能性信號傳導結構域；

(ii)該經編碼之胞內信號傳導結構域包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列及/或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之胺基酸序列；或與SEQ ID NO: 7之胺基酸序列及/或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列；

(iii)該經編碼之胞內信號傳導結構域包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列及SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之胺基酸序列，其中包含該胞內信號傳導結構域之該等序列在相同框架中表現且呈單個多肽鏈形式；

(iv)該分離之核酸分子包含編碼該胞內信號傳導結構域之核酸序列，其中該核酸分子包含SEQ ID NO: 18之核酸序列或與其具有95%-99%一致性之序列，及/或

(a)SEQ ID NO: 20或SEQ ID NO: 21之核苷酸序列，或與其具有95%-99%一致性之序列；或

(b)SEQ ID NO: 112、109、113、114或115中任一者所提供之編碼CD3ζ結構域之序列或與其具有95%-99%一致性之序列。

11. 如請求項10之分離之核酸分子，其中該分離之核酸分子進一步包含編碼SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的前導序列。

12. 如請求項1或2之分離之核酸分子，其中：

(a)該分離之核酸分子編碼包含以下之CAR：

(i) SEQ ID NO: 99、96、100、101或102中任一者之胺基酸序列；或

(ii)與SEQ ID NO: 99、96、100、101或102中任一者具有95%-99%一致性之胺基酸序列；

及/或

(b)該分離之核酸分子包含SEQ ID NO: 112、109、113、114或115中任一者之核苷酸序列，或與SEQ ID NO: 112、109、113、

114或115中任一者具有95%-99%一致性之核苷酸序列。

13. 一種特異性結合CLL-1之分離之嵌合抗原受體(CAR)多肽，其中該CAR包含包括人類抗-CLL-1結合結構域、跨膜結構域及包含共同刺激結構域及/或主要信號傳導結構域之胞內信號傳導結構域的抗體或抗體片段，且其中該抗-CLL-1結合結構域包含CLL-1-CAR之重鏈互補決定區1 (HC CDR1)、重鏈互補決定區2 (HC CDR2)、重鏈互補決定區3 (HC CDR3)、輕鏈互補決定區1 (LC CDR1)、輕鏈互補決定區2 (LC CDR2)及輕鏈互補決定區3 (LC CDR3)，該CLL-1-CAR選自CLL-1-CAR9、CLL-1-CAR6、CLL-1-CAR10、CLL-1-CAR11或CLL-1-CAR12，其中：

(a) 該CDR序列根據Kabat編號方案為：

(i) 對於CLL-1-CAR9，SEQ ID NO: 364之LC CDR1、SEQ ID NO: 378之LC CDR2及SEQ ID NO: 392之LC CDR3；及SEQ ID NO: 322之HC CDR1、SEQ ID NO: 336之HC CDR2及SEQ ID NO: 350之HC CDR3；

(ii) 對於CLL-1-CAR6，SEQ ID NO: 361之LC CDR1、SEQ ID NO: 375之LC CDR2及SEQ ID NO: 389之LC CDR3；及SEQ ID NO: 319之HC CDR1、SEQ ID NO: 333之HC CDR2及SEQ ID NO: 347之HC CDR3；

(iii) 對於CLL-1-CAR10，SEQ ID NO: 365之LC CDR1、SEQ ID NO: 379之LC CDR2及SEQ ID NO: 393之LC CDR3；及SEQ ID NO: 323之HC CDR1、SEQ ID NO: 337之HC CDR2及SEQ ID NO: 351之HC CDR3；

(iv) 對於CLL-1-CAR11，SEQ ID NO: 366之LC CDR1、SEQ ID NO: 380之LC CDR2及SEQ ID NO: 394之LC CDR3；及SEQ ID NO: 324之HC CDR1、SEQ ID NO: 338之HC CDR2及

SEQ ID NO: 352之HC CDR3；及

(v) 對於CLL-1-CAR12，SEQ ID NO: 367之LC CDR1、SEQ ID NO: 381之LC CDR2及SEQ ID NO: 395之LC CDR3；及SEQ ID NO: 325之HC CDR1、SEQ ID NO: 339之HC CDR2及SEQ ID NO: 353之HC CDR3；

(b)該CDR序列根據Chothia編號方案為：

(i) 對於CLL-1-CAR9，SEQ ID NO: 448之LC CDR1、SEQ ID NO: 462之LC CDR2及SEQ ID NO: 476之LC CDR3；及SEQ ID NO: 406之HC CDR1、SEQ ID NO: 420之HC CDR2及SEQ ID NO: 434之HC CDR3；

(ii)對於CLL-1-CAR6，SEQ ID NO: 445之LC CDR1、SEQ ID NO: 459之LC CDR2及SEQ ID NO: 473之LC CDR3；及SEQ ID NO: 403之HC CDR1、SEQ ID NO: 417之HC CDR2及SEQ ID NO: 431之HC CDR3；

(iii) 對於CLL-1-CAR10，SEQ ID NO: 449之LC CDR1、SEQ ID NO: 463之LC CDR2及SEQ ID NO: 477之LC CDR3；及SEQ ID NO: 407之HC CDR1、SEQ ID NO: 421之HC CDR2及SEQ ID NO: 435之HC CDR3；

(iv) 對於CLL-1-CAR11，SEQ ID NO: 450之LC CDR1、SEQ ID NO: 464之LC CDR2及SEQ ID NO: 478之LC CDR3；及SEQ ID NO: 408之HC CDR1、SEQ ID NO: 422之HC CDR2及SEQ ID NO: 436之HC CDR3；及

(v) 對於CLL-1-CAR12，SEQ ID NO: 451之LC CDR1、SEQ ID NO: 465之LC CDR2及SEQ ID NO: 479之LC CDR3；及SEQ ID NO: 409之HC CDR1、SEQ ID NO: 423之HC CDR2及SEQ ID NO: 437之HC CDR3；及

(c) 該CDR序列根據編號方案之組合為：

(i) 對於CLL-1-CAR9，SEQ ID NO: 164之LC CDR1、SEQ ID NO: 177之LC CDR2及SEQ ID NO: 190之LC CDR3；及SEQ ID NO: 125之HC CDR1、SEQ ID NO: 138之HC CDR2及SEQ ID NO: 151之HC CDR3；

(ii) 對於CLL-1-CAR6，SEQ ID NO: 161之LC CDR1、SEQ ID NO: 174之LC CDR2及SEQ ID NO: 187之LC CDR3；及SEQ ID NO: 122之HC CDR1、SEQ ID NO: 135之HC CDR2及SEQ ID NO: 148之HC CDR3；

(iii) 對於CLL-1-CAR10，SEQ ID NO: 165之LC CDR1、SEQ ID NO: 178之LC CDR2及SEQ ID NO: 191之LC CDR3；及SEQ ID NO: 126之HC CDR1、SEQ ID NO: 139之HC CDR2及SEQ ID NO: 152之HC CDR3；

(iv) 對於CLL-1-CAR11，SEQ ID NO: 166之LC CDR1、SEQ ID NO: 179之LC CDR2及SEQ ID NO: 192之LC CDR3；及SEQ ID NO: 127之HC CDR1、SEQ ID NO: 140之HC CDR2及SEQ ID NO: 153之HC CDR3；及

(v) 對於CLL-1-CAR12，SEQ ID NO: 167之LC CDR1、SEQ ID NO: 180之LC CDR2及SEQ ID NO: 193之LC CDR3；及SEQ ID NO: 128之HC CDR1、SEQ ID NO: 141之HC CDR2及SEQ ID NO: 154之HC CDR3。

14. 如請求項13之分離之CAR多肽，其包含：

(a) (i)SEQ ID NO: 86之CLL-1-CAR9、SEQ ID NO: 83之CLL-1-CAR6、SEQ ID NO: 87之CLL-1-CAR10、SEQ ID NO: 88之CLL-1-CAR11或SEQ ID NO: 89之CLL-1-CAR12之輕鏈可變區的胺基酸序列；或

(ii)與SEQ ID NO: 86之CLL-1-CAR9、SEQ ID NO: 83之CLL-1-CAR6、SEQ ID NO: 87之CLL-1-CAR10、SEQ ID NO: 88之CLL-1-CAR11或SEQ ID NO: 89之CLL-1-CAR12之該輕鏈可變區之胺基酸序列具有95%-99%一致性的胺基酸序列；

及/或

(b)(i)SEQ ID NO: 73之CLL-1-CAR9、SEQ ID NO: 70之CLL-1-CAR6、SEQ ID NO: 74之CLL-1-CAR10、SEQ ID NO: 75之CLL-1-CAR11或SEQ ID NO: 76之CLL-1-CAR12之重鏈可變區的胺基酸序列；或

(ii)與SEQ ID NO: 73之CLL-1-CAR9、SEQ ID NO: 70之CLL-1-CAR6、SEQ ID NO: 74之CLL-1-CAR10、SEQ ID NO: 75之CLL-1-CAR11或SEQ ID NO: 76之CLL-1-CAR12之該重鏈可變區之胺基酸序列具有95%-99%一致性的胺基酸序列。

15. 如請求項13或14之分離之CAR多肽，其中：

(a)該分離之CAR多肽包含：

(i)選自由SEQ ID NO: 47、44、48、49及50組成之群之胺基酸序列；或

(ii)與SEQ ID NO: 47、44、48、49或50中任一者具有95%-99%一致性之胺基酸序列；

(b)該跨膜結構域包含選自由以下各者組成之群的蛋白質之跨膜結構域：T細胞受體之α、β或ζ鏈、CD28、CD3ε、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137及CD154；

及/或

(c)該CLL-1結合結構域藉由鉸鏈區連接於該跨膜結構域。

16. 如請求項13或14之分離之CAR多肽，其中該跨膜結構域包含SEQ

ID NO: 6之胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 6之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列。

17. 如請求項15之分離之CAR多肽，其中在選項(c)中該鉸鏈區包含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列或與其具有95%-99%一致性之序列。

18. 如請求項13或14之分離之CAR多肽，其中：

(i)該共同刺激結構域包含自選自由以下各者組成之群之蛋白質所衍生的功能性信號傳導結構域：MHC I類分子、TNF受體蛋白、免疫球蛋白樣蛋白、細胞因子受體、整合素、信號傳導淋巴細胞活化分子(SLAM蛋白)、活化NK細胞受體、BTLA、Toll配位體受體、OX40、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CDS、ICAM-1、LFA-1 (CD11a/CD18)、4-1BB (CD137)、B7-H3、CDS、ICAM-1、ICOS (CD278)、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM (LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a及特異性結合CD83之配位體；或

(ii)該胞內信號傳導結構域包含4-1BB之功能性信號傳導結構

域及/或CD3ζ之功能性信號傳導結構域；

及/或

(iii)該多肽進一步包含含有SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之前導序列。

19. 如請求項13或14之分離之CAR多肽，其中該共同刺激結構域包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 7之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列。

20. 如請求項13或14之分離之CAR多肽，其中該胞內信號傳導結構域包含：

(a) SEQ ID NO: 7之胺基酸序列及/或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之胺基酸序列；或與SEQ ID NO: 7之胺基酸序列及/或SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之胺基酸序列具有95%-99%一致性之序列；或

(b) SEQ ID NO: 7之胺基酸序列及SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10之胺基酸序列，其中構成該胞內信號傳導結構域之該等序列在相同框架中表現且呈單個多肽鏈形式。

21. 如請求項13或14之分離之CAR多肽，其包含：

(i) SEQ ID NO: 99、96、100、101或102中任一者之胺基酸序列；或

(ii)與SEQ ID NO: 99、96、100、101或102中任一者具有95%-99%一致性之胺基酸序列。

22. 一種特異性結合CLL-1之抗-CLL-1結合結構域，其包含 CLL-1-CAR9、CLL-1-CAR6、CLL-1-CAR10、CLL-1-CAR11或CLL-1-CAR12之CLL-1重鏈結合結構域之重鏈互補決定區1 (HC CDR1)、重鏈互補決定區2 (HC CDR2)及重鏈互補決定區3 (HC CDR3)及抗-CLL-1輕鏈結合結構域之輕鏈互補決定區1 (LC

CDR1)、輕鏈互補決定區2 (LC CDR2)及輕鏈互補決定區3 (LC CDR3)；其中：

(a) 該CDR序列根據Kabat編號方案為：

(i) 對於CLL-1-CAR9，SEQ ID NO: 364之LC CDR1、SEQ ID NO: 378之LC CDR2及SEQ ID NO: 392之LC CDR3；及SEQ ID NO: 322之HC CDR1、SEQ ID NO: 336之HC CDR2及SEQ ID NO: 350之HC CDR3；

(ii) 對於CLL-1-CAR6，SEQ ID NO: 361之LC CDR1、SEQ ID NO: 375之LC CDR2及SEQ ID NO: 389之LC CDR3；及SEQ ID NO: 319之HC CDR1、SEQ ID NO: 333之HC CDR2及SEQ ID NO: 347之HC CDR3；

(iii) 對於CLL-1-CAR10，SEQ ID NO: 365之LC CDR1、SEQ ID NO: 379之LC CDR2及SEQ ID NO: 393之LC CDR3；及SEQ ID NO: 323之HC CDR1、SEQ ID NO: 337之HC CDR2及SEQ ID NO: 351之HC CDR3；

(iv) 對於CLL-1-CAR11，SEQ ID NO: 366之LC CDR1、SEQ ID NO: 380之LC CDR2及SEQ ID NO: 394之LC CDR3；及SEQ ID NO: 324之HC CDR1、SEQ ID NO: 338之HC CDR2及SEQ ID NO: 352之HC CDR3；及

(v) 對於CLL-1-CAR12，SEQ ID NO: 367之LC CDR1、SEQ ID NO: 381之LC CDR2及SEQ ID NO: 395之LC CDR3；及SEQ ID NO: 325之HC CDR1、SEQ ID NO: 339之HC CDR2及SEQ ID NO: 353之HC CDR3；

(b) 該CDR序列根據Chothia編號方案為：

(i) 對於CLL-1-CAR9，SEQ ID NO: 448之LC CDR1、SEQ ID NO: 462之LC CDR2及SEQ ID NO: 476之LC CDR3；及SEQ

ID NO: 406之HC CDR1、SEQ ID NO: 420之HC CDR2及SEQ ID NO: 434之HC CDR3；

(ii)對於CLL-1-CAR6，SEQ ID NO: 445之LC CDR1、SEQ ID NO: 459之LC CDR2及SEQ ID NO: 473之LC CDR3；及SEQ ID NO: 403之HC CDR1、SEQ ID NO: 417之HC CDR2及SEQ ID NO: 431之HC CDR3；

(iii) 對於CLL-1-CAR10，SEQ ID NO: 449之LC CDR1、SEQ ID NO: 463之LC CDR2及SEQ ID NO: 477之LC CDR3；及SEQ ID NO: 407之HC CDR1、SEQ ID NO: 421之HC CDR2及SEQ ID NO: 435之HC CDR3；

(iv) 對於CLL-1-CAR11，SEQ ID NO: 450之LC CDR1、SEQ ID NO: 464之LC CDR2及SEQ ID NO: 478之LC CDR3；及SEQ ID NO: 408之HC CDR1、SEQ ID NO: 422之HC CDR2及SEQ ID NO: 436之HC CDR3；及

(v)對於CLL-1-CAR12，SEQ ID NO: 451之LC CDR1、SEQ ID NO: 465之LC CDR2及SEQ ID NO: 479之LC CDR3；及SEQ ID NO: 409之HC CDR1、SEQ ID NO: 423之HC CDR2及SEQ ID NO: 437之HC CDR3；及/或

(c)該CDR序列根據編號方案之組合為：

(i) 對於CLL-1-CAR9，SEQ ID NO: 164之LC CDR1、SEQ ID NO: 177之LC CDR2及SEQ ID NO: 190之LC CDR3；及SEQ ID NO: 125之HC CDR1、SEQ ID NO: 138之HC CDR2及SEQ ID NO: 151之HC CDR3；

(ii)對於CLL-1-CAR6，SEQ ID NO: 161之LC CDR1、SEQ ID NO: 174之LC CDR2及SEQ ID NO: 187之LC CDR3；及SEQ ID NO: 122之HC CDR1、SEQ ID NO: 135之HC CDR2及SEQ

ID NO: 148之HC CDR3；

(iii) 對於CLL-1-CAR10，SEQ ID NO: 165之LC CDR1、SEQ ID NO: 178之LC CDR2及SEQ ID NO: 191之LC CDR3；及SEQ ID NO: 126之HC CDR1、SEQ ID NO: 139之HC CDR2及SEQ ID NO: 152之HC CDR3；

(iv) 對於CLL-1-CAR11，SEQ ID NO: 166之LC CDR1、SEQ ID NO: 179之LC CDR2及SEQ ID NO: 192之LC CDR3；及SEQ ID NO: 127之HC CDR1、SEQ ID NO: 140之HC CDR2及SEQ ID NO: 153之HC CDR3；及

(v) 對於CLL-1-CAR12，SEQ ID NO: 167之LC CDR1、SEQ ID NO: 180之LC CDR2及SEQ ID NO: 193之LC CDR3；及SEQ ID NO: 128之HC CDR1、SEQ ID NO: 141之HC CDR2及SEQ ID NO: 154之HC CDR3。

23. 如請求項22之抗-CLL-1結合結構域，其包含：

(i)選自由SEQ ID NO: 47、44、48、49及50組成之群之胺基酸序列；或

(ii)與SEQ ID NO: 47、44、48、49及50中任一者具有95%-99%一致性之胺基酸序列。

24. 如請求項22或23之抗-CLL-1結合結構域，其包含：

(i) SEQ ID NO: 99、96、100、101或102中任一者之胺基酸序列；或

(ii)與SEQ ID NO: 99、96、100、101或102中任一者具有95%-99%一致性之胺基酸序列。

25. 一種抗-CLL-1結合結構域，其特異性結合CLL-1，其中該抗-CLL-1結合結構域包含：

(i) 重鏈可變結構域，其包含CLL-1-CAR9中SEQ ID NO: 322之

HC CDR1、SEQ ID NO: 336之HC CDR2及SEQ ID NO: 350之HC CDR3：及

(ii)輕鏈可變結構域，其包含CLL-1-CAR9中SEQ ID NO: 364之LC CDR1、SEQ ID NO: 378之LC CDR2及SEQ ID NO: 392之LC CDR3。

26. 一種抗-CLL-1結合結構域，其特異性結合CLL-1，其中該抗-CLL-1結合結構域包含輕鏈可變區及重鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 86之胺基酸序列，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 73之胺基酸序列。

27. 一種抗-CLL-1結合結構域，其特異性結合CLL-1，其中該抗-CLL-1結合結構域包含SEQ ID NO: 47之胺基酸序列。

28. 一種包含抗-CLL-1結合結構域之嵌合抗原受體(CAR)多肽，其特異性結合CLL-1，其中該抗-CLL-1結合結構域包含：

(i) 重鏈可變結構域，其包含CLL-1-CAR9中SEQ ID NO: 322之HC CDR1、SEQ ID NO: 336之HC CDR2及SEQ ID NO: 350之HC CDR3：及

(ii)輕鏈可變結構域，其包含CLL-1-CAR9中SEQ ID NO: 364之LC CDR1、SEQ ID NO: 378之LC CDR2及SEQ ID NO: 392之LC CDR3。

29. 一種包含抗-CLL-1結合結構域之CAR多肽，其特異性結合CLL-1，其中該抗-CLL-1結合結構域包含輕鏈可變區及重鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 86之胺基酸序列，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 73之胺基酸序列。

30. 一種包含抗-CLL-1結合結構域之CAR多肽，其特異性結合CLL-1，其中該抗-CLL-1結合結構域包含SEQ ID NO: 47之胺基酸序列。

31. 一種包含抗-CLL-1結合結構域之CAR多肽，其特異性結合CLL-1，其中該CAR多肽包含SEQ ID NO: 99之胺基酸序列。

32. 一種核酸，其編碼如請求項13至21及28至31中任一項之CAR多肽或如請求項22至27中任一項之抗-CLL-1結合結構域。

33. 一種載體，其包含編碼如請求項13至21及28至31中任一項之CAR多肽或如請求項22至27中任一項之抗-CLL-1結合結構域的核酸分子，其中該載體係選自由DNA載體、RNA載體、質體、慢病毒載體、腺病毒載體或反轉錄病毒載體組成之群。

34. 如請求項33之載體，其中該載體進一步包含含有SEQ ID NO: 11之序列的EF-1啟動子。

35. 一種細胞，其包含如請求項1至12及32中任一項之核酸分子、如請求項13至21及28至31中任一項之CAR多肽、如請求項22至27中任一項之抗-CLL-1結合結構域或如請求項33之載體。

36. 如請求項35之細胞，其中該細胞為免疫效應細胞。

37. 如請求項35或36之細胞，其中該細胞係與一或多種醫藥學上或生理學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑組合存在於醫藥組合物中。

38. 如請求項35或36之細胞，其進一步表現抑制分子，該抑制分子包含含有抑制分子之至少一部分之第一多肽，該第一多肽與包含來自胞內信號傳導結構域之正信號之第二多肽締合。

39. 如請求項38之細胞，其中該抑制分子包含含有PD1之至少一部分之第一多肽及包含共同刺激結構域及主要信號傳導結構域之第二多肽。

40. 一種製備細胞之活體外方法，其包含用如請求項33或34之載體轉導免疫效應細胞。

41. 一種產生經RNA工程改造之細胞群體的活體外方法，其包含將

活體外轉錄之RNA或合成RNA引入細胞中，其中該RNA包含編碼如請求項13至21及28至31中任一項之CAR多肽的核酸。

42. 一種製備細胞之離體方法，其包含用如請求項33或34之載體轉導免疫效應細胞。

43. 一種產生經RNA工程改造之細胞群體的離體方法，其包含將活體外轉錄之RNA或合成RNA引入細胞中，其中該RNA包含編碼如請求項13至21及28至31中任一項之CAR多肽的核酸。

44. 一種細胞，該細胞包含如請求項1至12及32中任一項之分離之核酸分子、如請求項13至21及28至31中任一項之CAR多肽或如請求項22至27中任一項之抗-CLL-1結合結構域，該細胞係用於下列方法中：

(i)於哺乳動物中提供抗腫瘤免疫性之方法，該方法包含向該哺乳動物投與有效量之該細胞或細胞群體；

(ii)治療患有與CLL-1表現相關之疾病之哺乳動物的方法，其包含向該哺乳動物投與有效量之該細胞或細胞群體；或

(iii)在細胞移植前調整個體之方法，其包含向該個體投與有效量之該細胞。

45. 如請求項44之細胞，其中在選項(i)中該細胞為自體T細胞或同種異體T細胞。

46. 如請求項44之細胞，其中在選項(iii)中：

(a)該細胞移植為幹細胞移植；及/或

(b)在細胞移植前調整個體包含減少個體中表現CLL-1之細胞數目。

47. 如請求項44之細胞，其中

(i)該與CLL-1表現相關之疾病為：

急性骨髓白血病(AML)；

及/或

(ii)該細胞，與以下中之一或多者組合投與：

(a)增加該包含該CAR核酸或CAR多肽之細胞之功效的藥劑；

(b)改善一或多個與投與該包含該CAR核酸或CAR多肽之細胞相關之副作用的藥劑；或

(c)治療該與CLL-1表現相關之疾病的藥劑。

48. 如請求項47之細胞，其中該治療該與CLL-1表現相關之疾病的藥劑為mTOR抑制劑，且該細胞係與低的免疫增強劑量之選自RAD001或雷帕黴素(rapamycin)之mTOR抑制劑組合投與。

49. 如請求項1或2之分離之核酸分子，其用作藥劑。

50. 如請求項13或14之分離之CAR多肽，其用作藥劑。

51. 如請求項22至27中任一項之抗-CLL-1結合結構域，其用作藥劑。

52. 如請求項33或34之載體，其用作藥劑。

53. 如請求項35或36之細胞，其用作藥劑。

54. 一種細胞，該細胞包含如請求項1至12及32中任一項之CAR核酸分子或如請求項13至21及28至31中任一項之CAR多肽或如請求項22至27中任一項之抗-CLL-1結合結構域，該細胞係用於治療患有與CLL-1表現相關之癌症的哺乳動物之方法，該方法包含向該哺乳動物投與有效量之該細胞或細胞群體與化學治療劑之組合，其中該化學治療劑在投與該細胞前投與；且其中該化學治療劑增加該癌細胞上CLL-1表現。

55. 如請求項54之細胞，其中該化學治療劑為阿糖胞苷(cytarabine)。

56. 如請求項54或55之細胞，其中

(i)該化學治療劑係在表現CAR分子之細胞投與前至少5天、10

天、15天或30天投與；及/或

(ii)該與CLL-1表現相關之疾病為血液癌或血液癌之微小殘留病變(MRD)。

57. 如請求項56之細胞，其中該血液癌為白血病。

58. 如請求項56之細胞，其中該白血病為AML。

59. 一種細胞之用途，該細胞包含如請求項1至12及32中任一項之CAR核酸分子、如請求項13至21及28至31中任一項之CAR多肽或如請求項22至27中任一項之抗-CLL-1結合結構域，該用途之特徵在於其製造供下列使用之組合物或藥物：

(i)於患有AML的哺乳動物中提供抗腫瘤免疫性，其中包含向該哺乳動物投與有效量之該細胞或細胞群體；

(ii)治療患有與CLL-1表現相關之疾病之哺乳動物，其包含向該哺乳動物投與有效量之該細胞或細胞群體；或

(iii)在細胞移植前調整個體，其包含向該個體投與有效量之該細胞。

60. 如請求項59之用途，其中在選項(i)中該細胞為自體T細胞或同種異體T細胞。

61. 如請求項59之用途，其中在選項(iii)中：

(a)該細胞移植為幹細胞移植；及/或

(b)在細胞移植前調整個體包含減少個體中表現CLL-1之細胞數目。

62. 一種細胞之用途，該細胞包含如請求項1至12及32中任一項之CAR核酸分子或如請求項13至21及28至31中任一項之CAR多肽或如請求項22至27中任一項之抗-CLL-1結合結構域，該用途之特徵在於其製造用於治療患有與CLL-1相關之癌症之哺乳動物的藥物，該治療包含向該哺乳動物投與有效量之該細胞或細胞群體

與化學治療劑之組合，其中該化學治療劑在投與該細胞前投與，且其中該化學治療劑增加該癌細胞上CLL-1表現。

63. 如請求項62之用途，其中該化學治療劑為阿糖胞苷。

64. 一種醫藥組合物，其特徵在於包含如請求項35所定義之細胞與一或多種醫藥學上或生理學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑之組合。

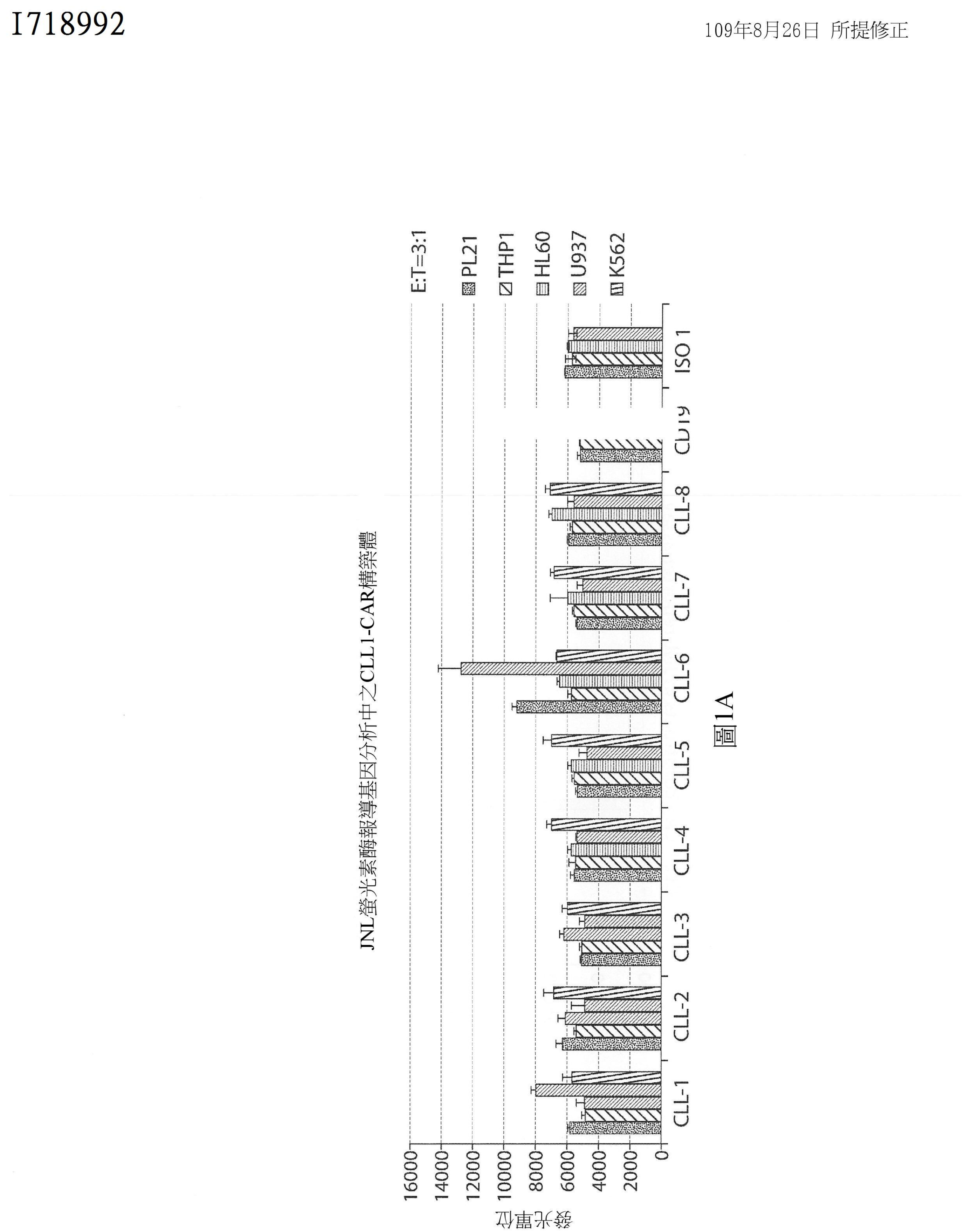

JNL螢光素酶報導基因分析中之CLL1-CAR構築體
E:T=3:1
PL21
THP1
HL60
U937
K562
ISO 1
CLL-1
CLL-2
CLL-3
CLL-4
CLL-5
CLL-6
CLL-7
CLL-8
CLL-9
發光單位
16000
14000
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0

圖1A

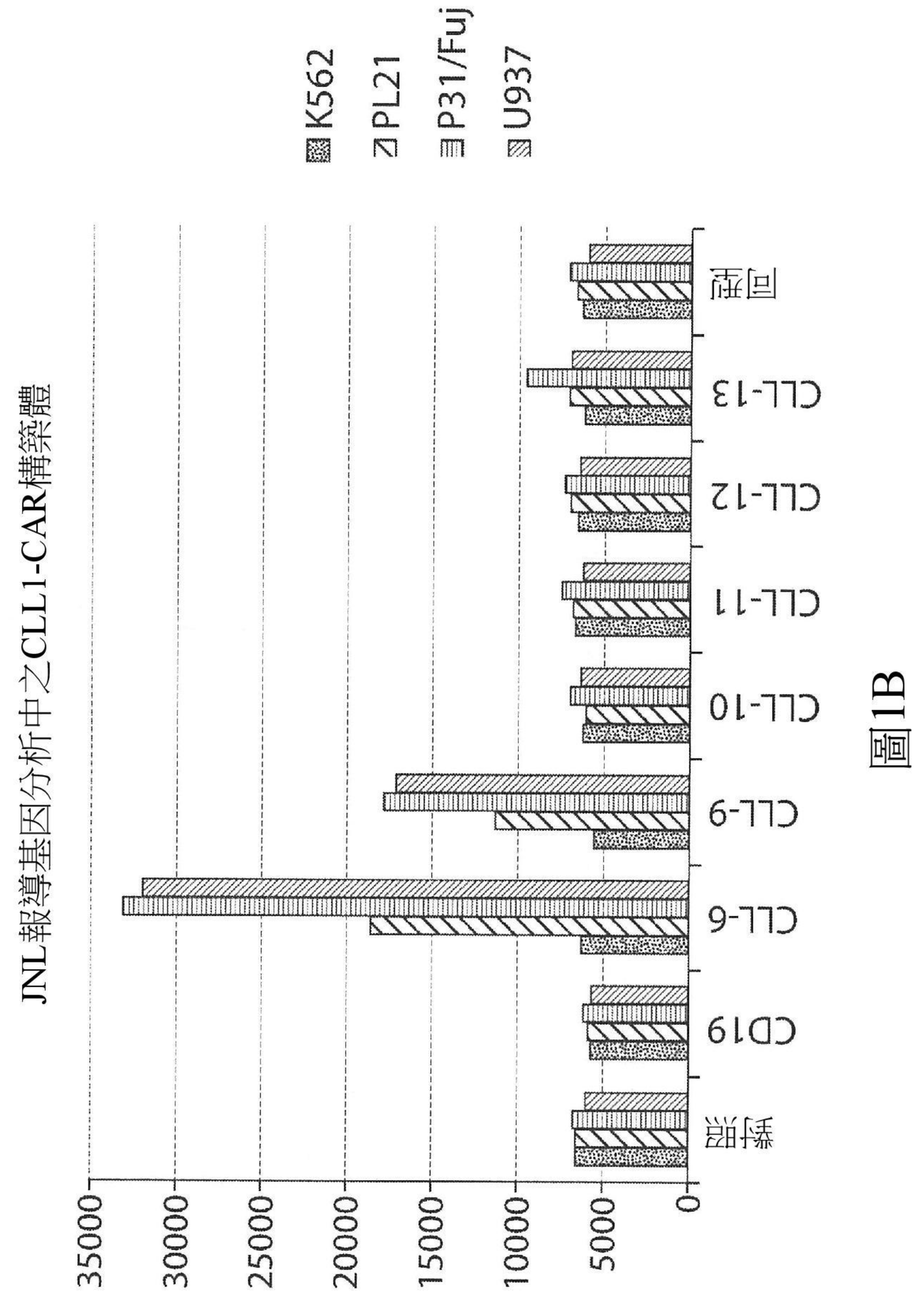

JNL報導基因分析中之CLL1-CAR構築體
RLU
35000
30000
25000
20000
15000
10000
5000
0
對照
CD19
CLL-6
CLL-9
CLL-10
CLL-11
CLL-12
CLL-13
回覆
K562
PL21
P31/F
U937

圖1B

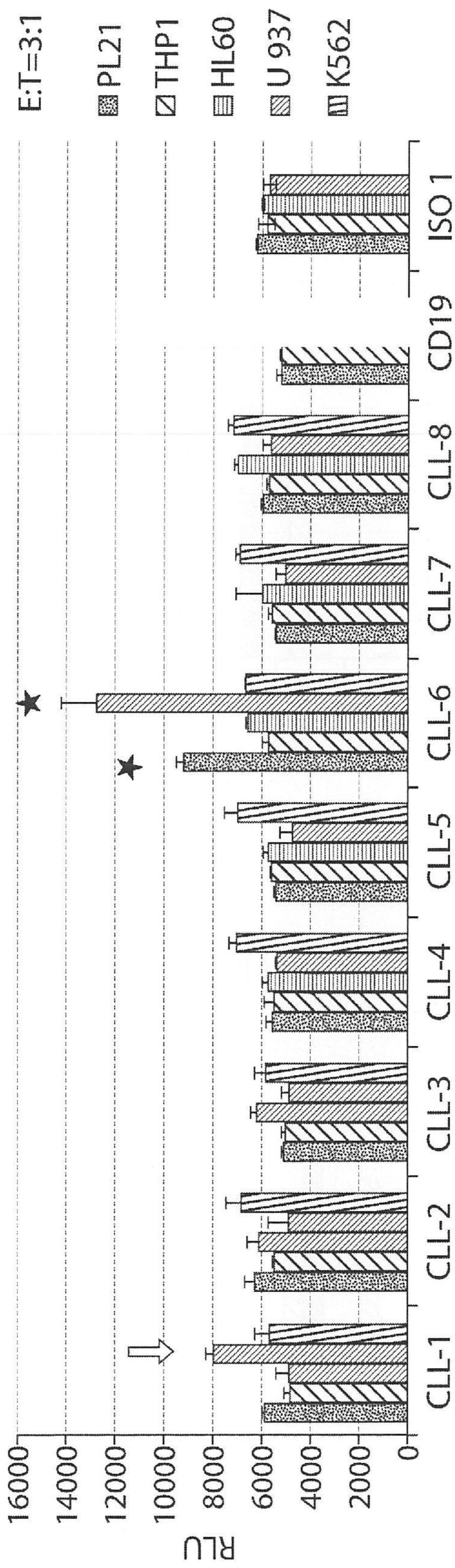

JNL分析(藉由自動操作擴增至繼代5之細胞)
RLU
16000
14000
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
CLL-1
CLL-2
CLL-3
CLL-4
CLL-5
CLL-6
CLL-7
CLL-8
CD19
ISO 1
E:T=3:1
PL21
THP1
HL60
U 937
K562

圖1C

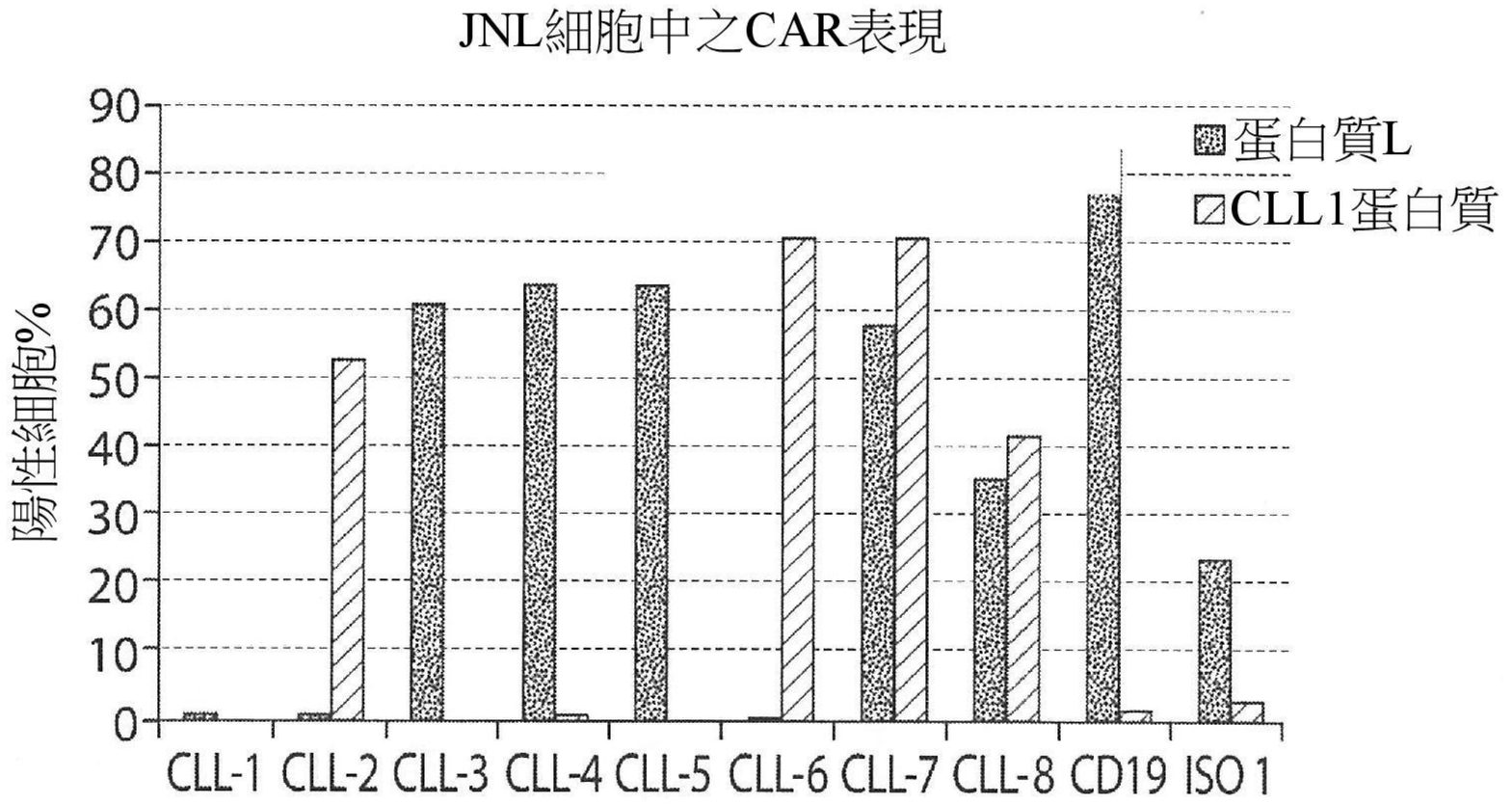

JNL細胞中之CAR表現
陽性細胞%
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
CLL-1
CLL-2
CLL-3
CLL-4
CLL-5
CLL-6
CLL-7
CLL-8
CD19
ISO 1
蛋白質L
CLL1蛋白質

圖2A

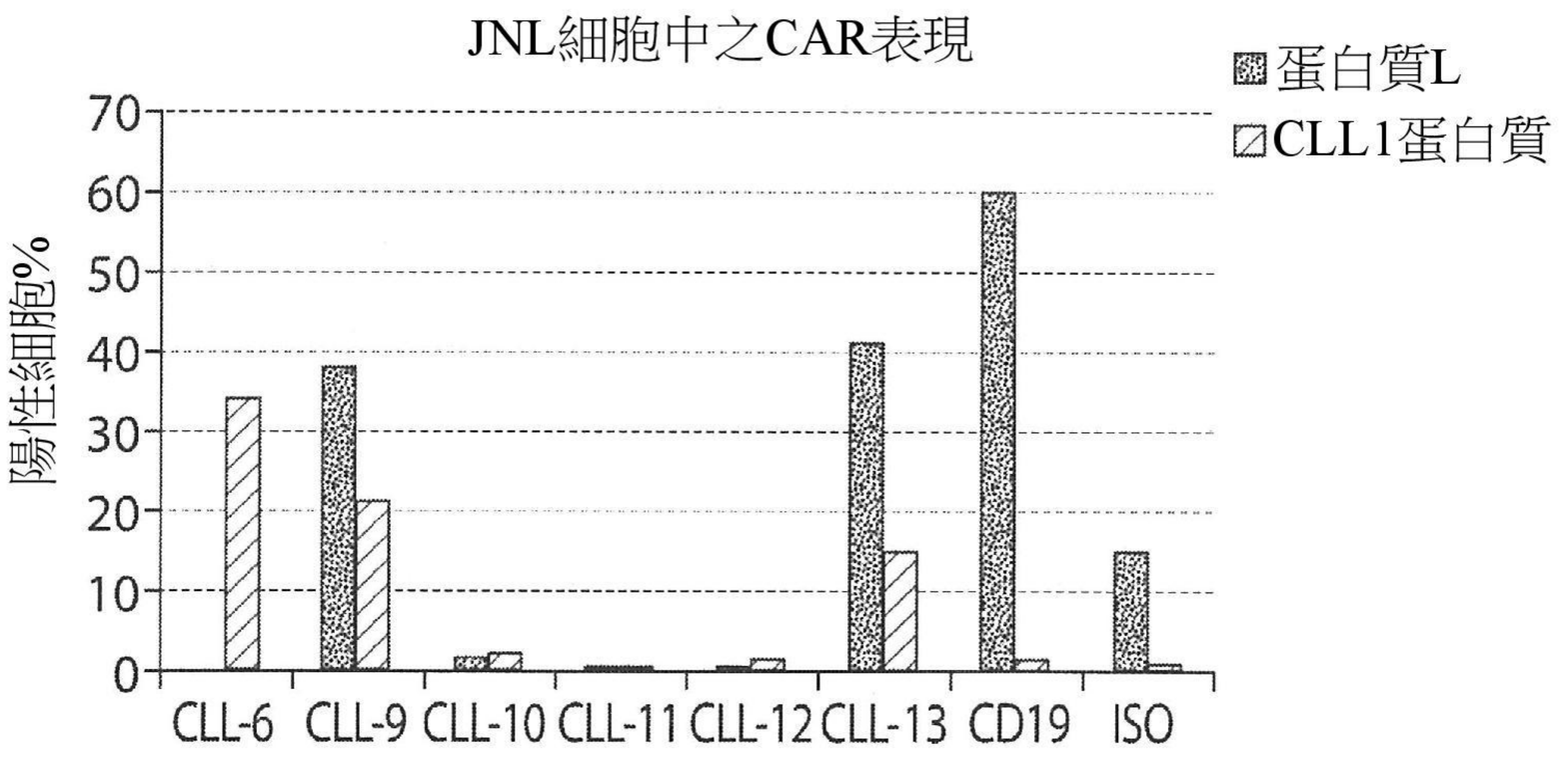

JNL細胞中之CAR表現
陽性細胞%
70
60
50
40
30
20
10
0
CLL-6
CLL-9
CLL-10
CLL-11
CLL-12
CLL-13
CD19
ISO
蛋白質L
CLL1蛋白質

圖2B

CLL1 CAR表現(JNL繼代5)

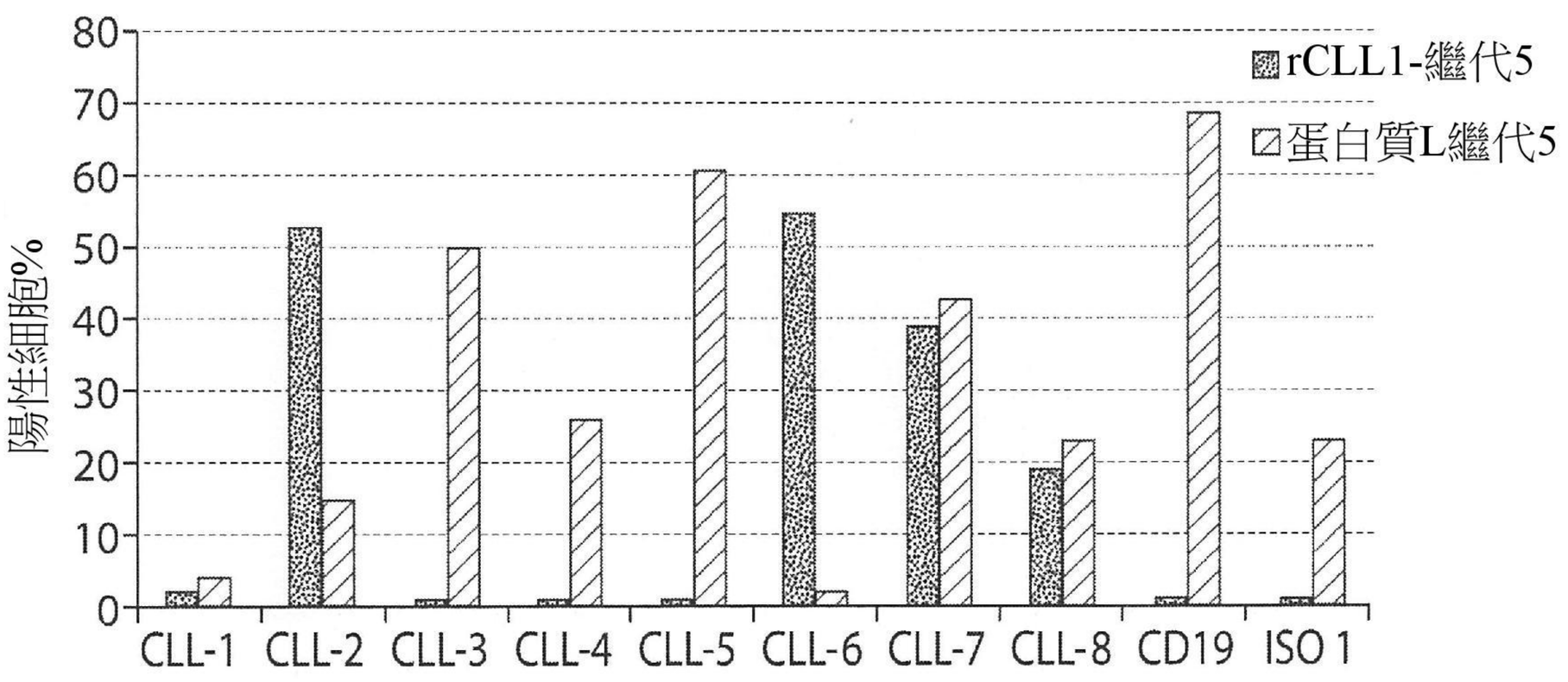


圖2C

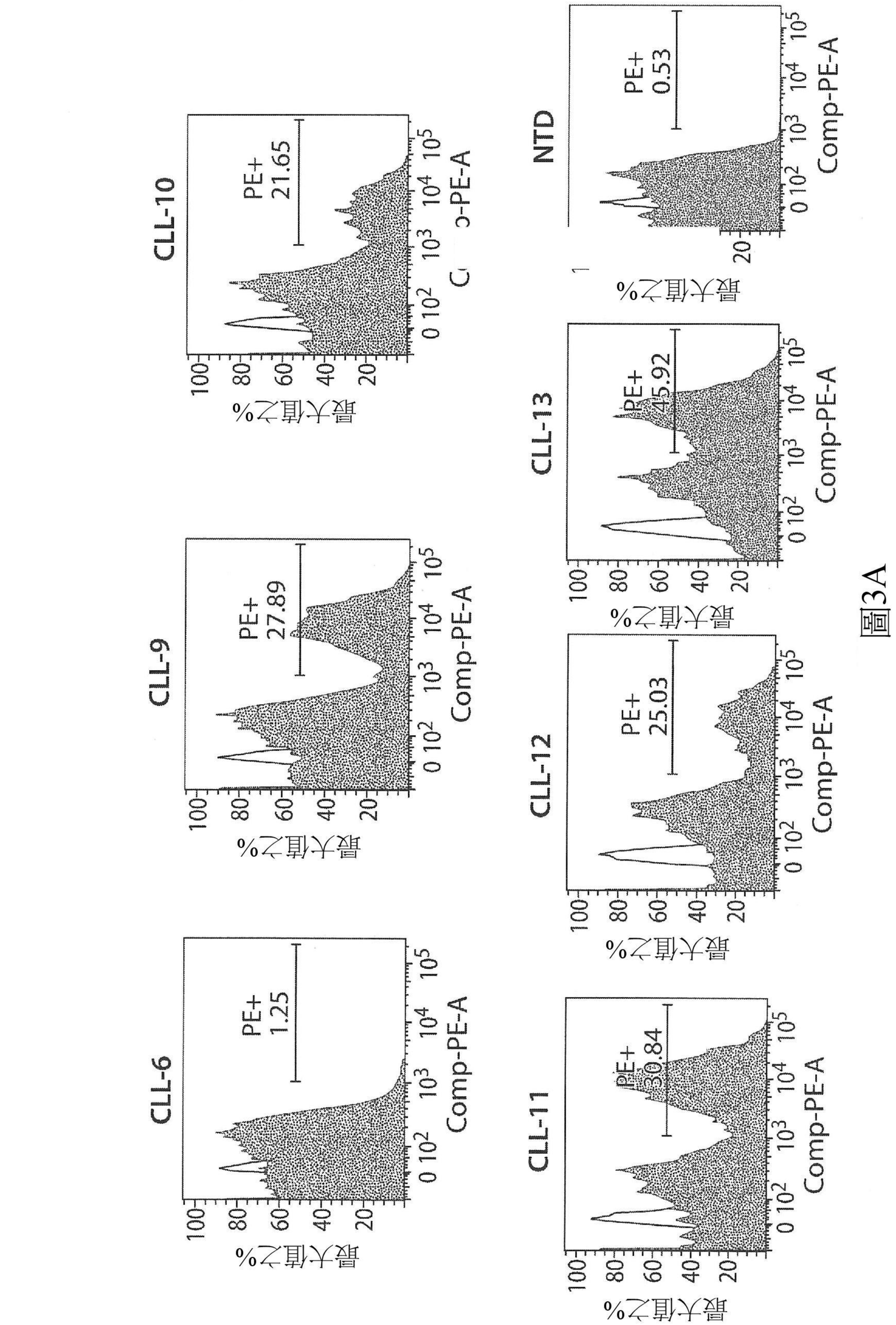

CLL-1
CLL-2
CLL-3
CLL-4
CLL-5
CLL-6
CLL-7
CLL-8
CLL-9
CLL-10
CLL-11
CLL-12
CLL-13
NTD
PE+
0.53
PE+
1.25
PE+
27.89
PE+
21.65
PE+
30.84
PE+
25.03
PE+
45.92
PE+
0.53
Comp-PE-A
最大值之%

圖3A

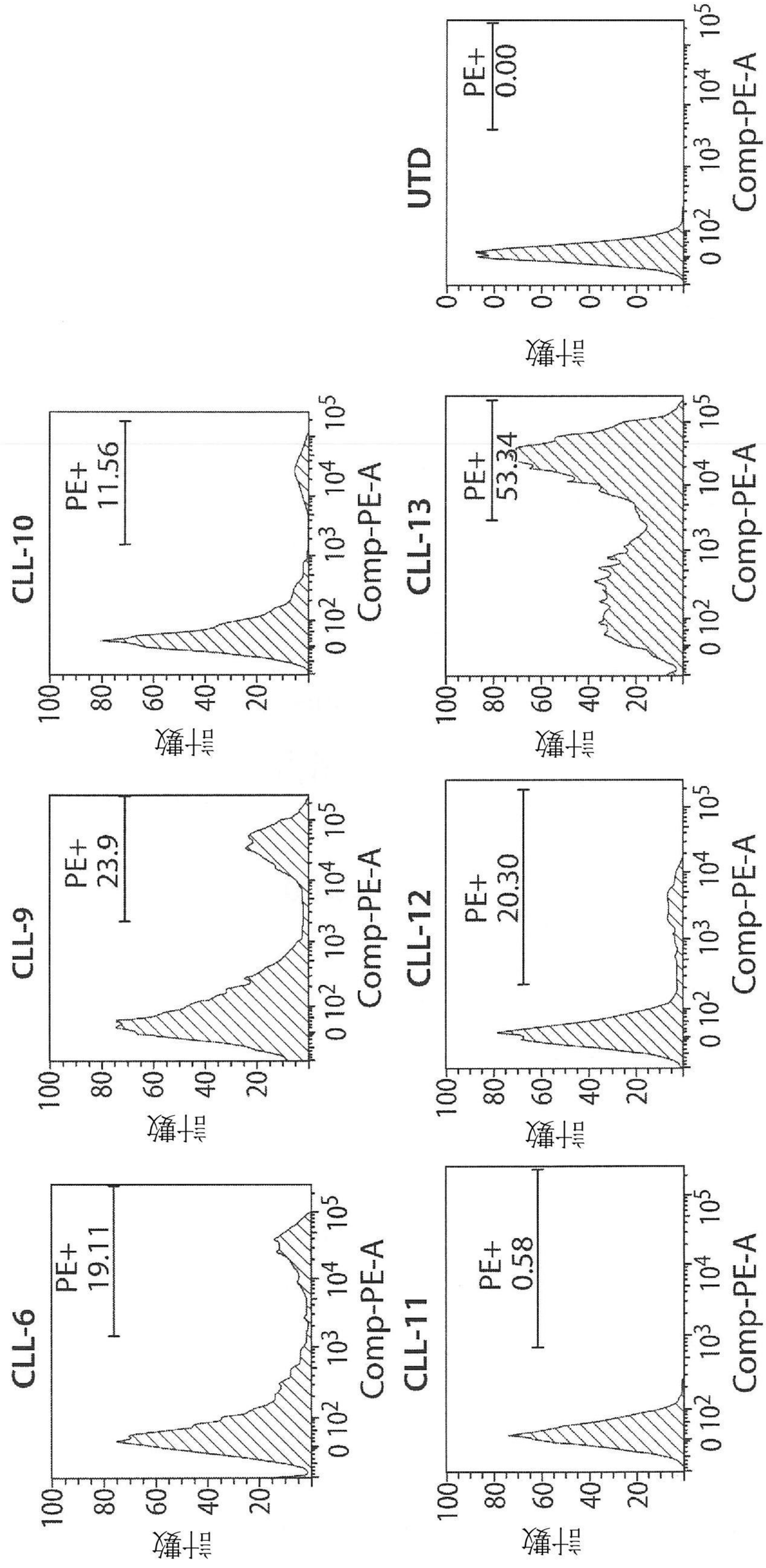

UTD
PE+
0.00
CLL-10
PE+
11.56
CLL-13
PE+
53.34
CLL-9
PE+
23.9
CLL-12
PE+
20.30
CLL-6
PE+
19.11
CLL-11
PE+
0.58
計數
Comp-PE-A
0
20
40
60
80
100
10^2
10^3
10^4
10^5

圖3B

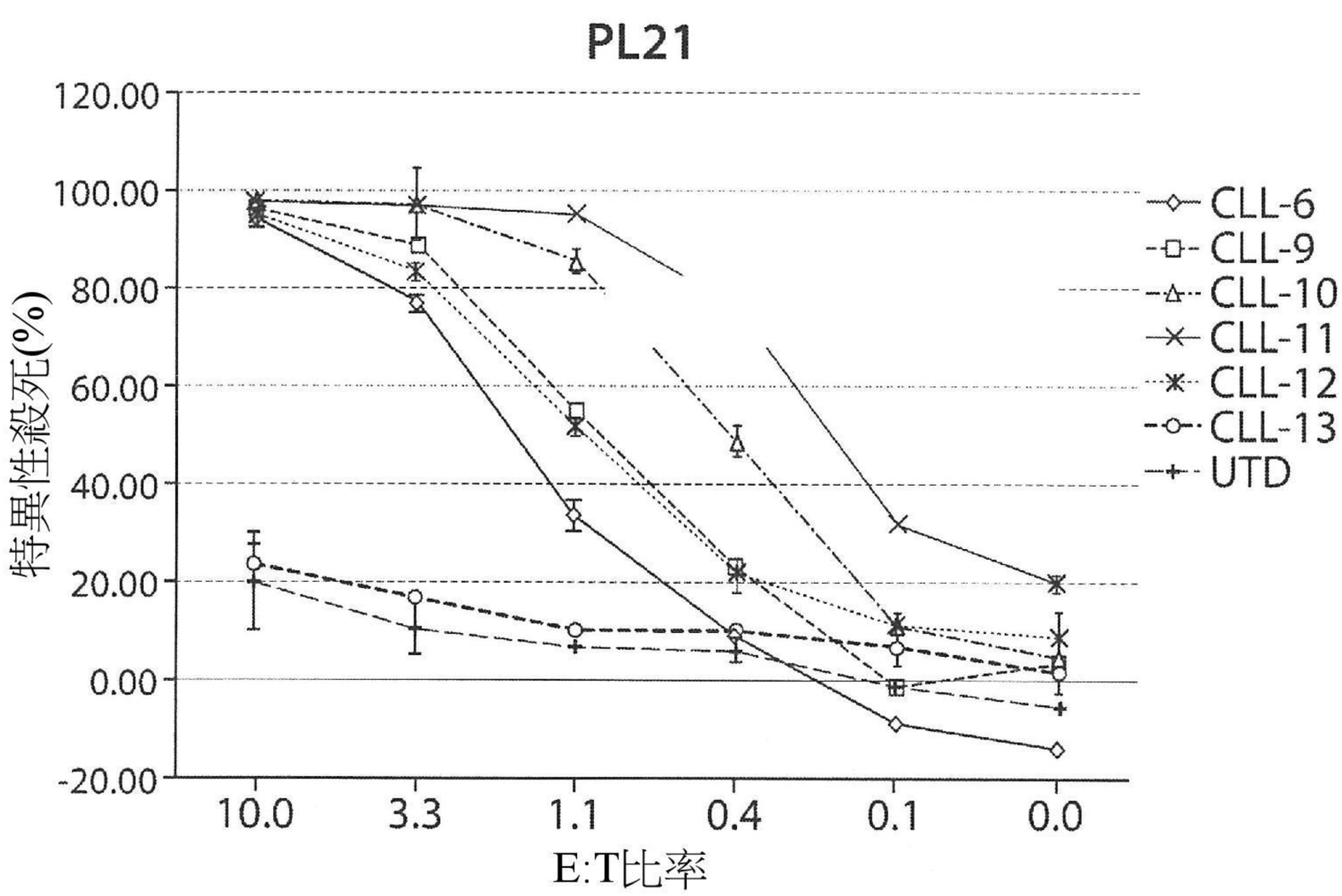

PL21
120.00
100.00
80.00
60.00
40.00
20.00
0.00
-20.00
特異性殺死(%)
10.0
3.3
1.1
0.4
0.1
0.0
E:T比率
CLL-6
CLL-9
CLL-10
CLL-11
CLL-12
CLL-13
UTD

圖4A

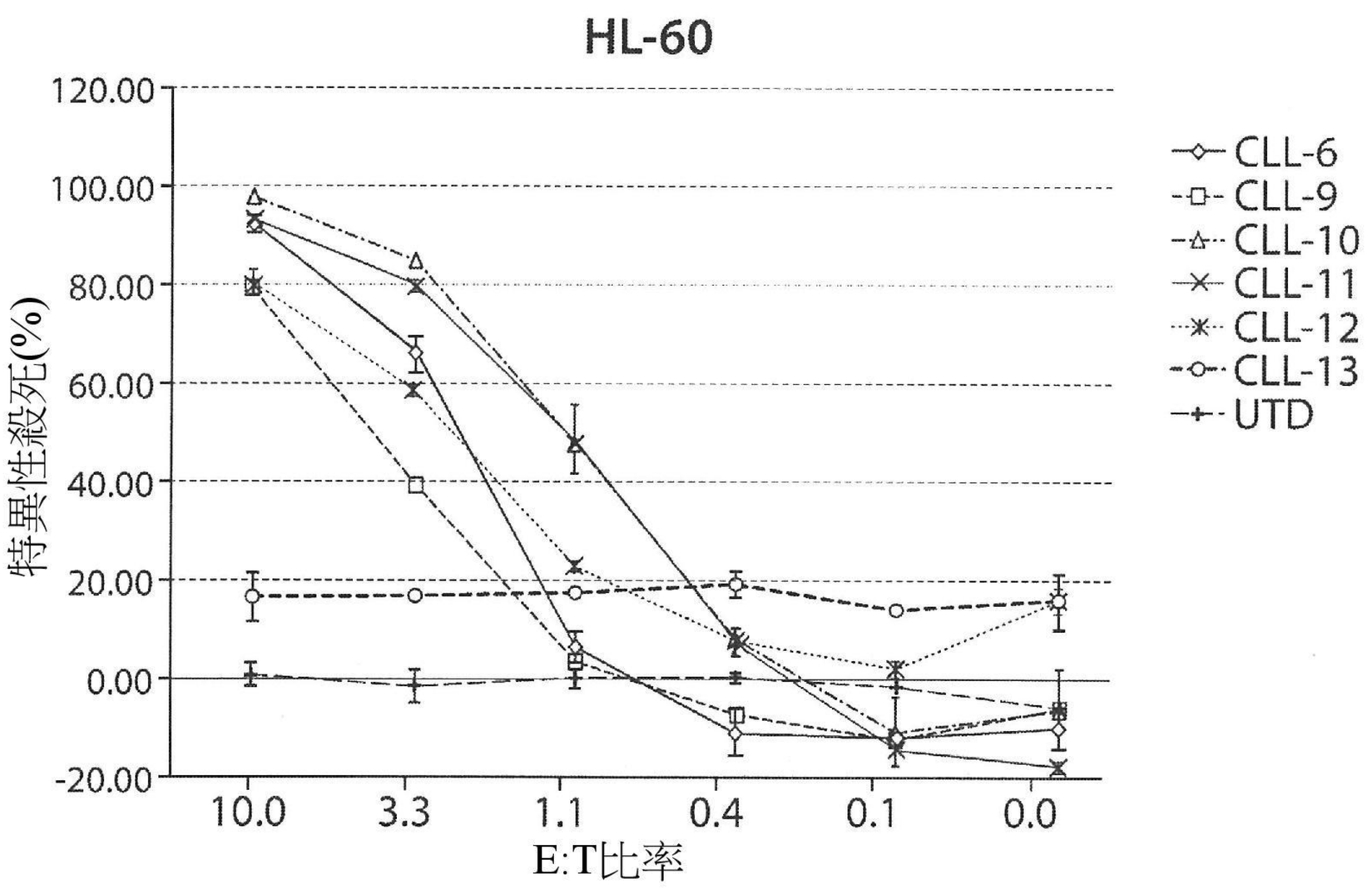

HL-60
120.00
100.00
80.00
60.00
40.00
20.00
0.00
-20.00
特異性殺死(%)
10.0
3.3
1.1
0.4
0.1
0.0
E:T比率
CLL-6
CLL-9
CLL-10
CLL-11
CLL-12
CLL-13
UTD

圖4B

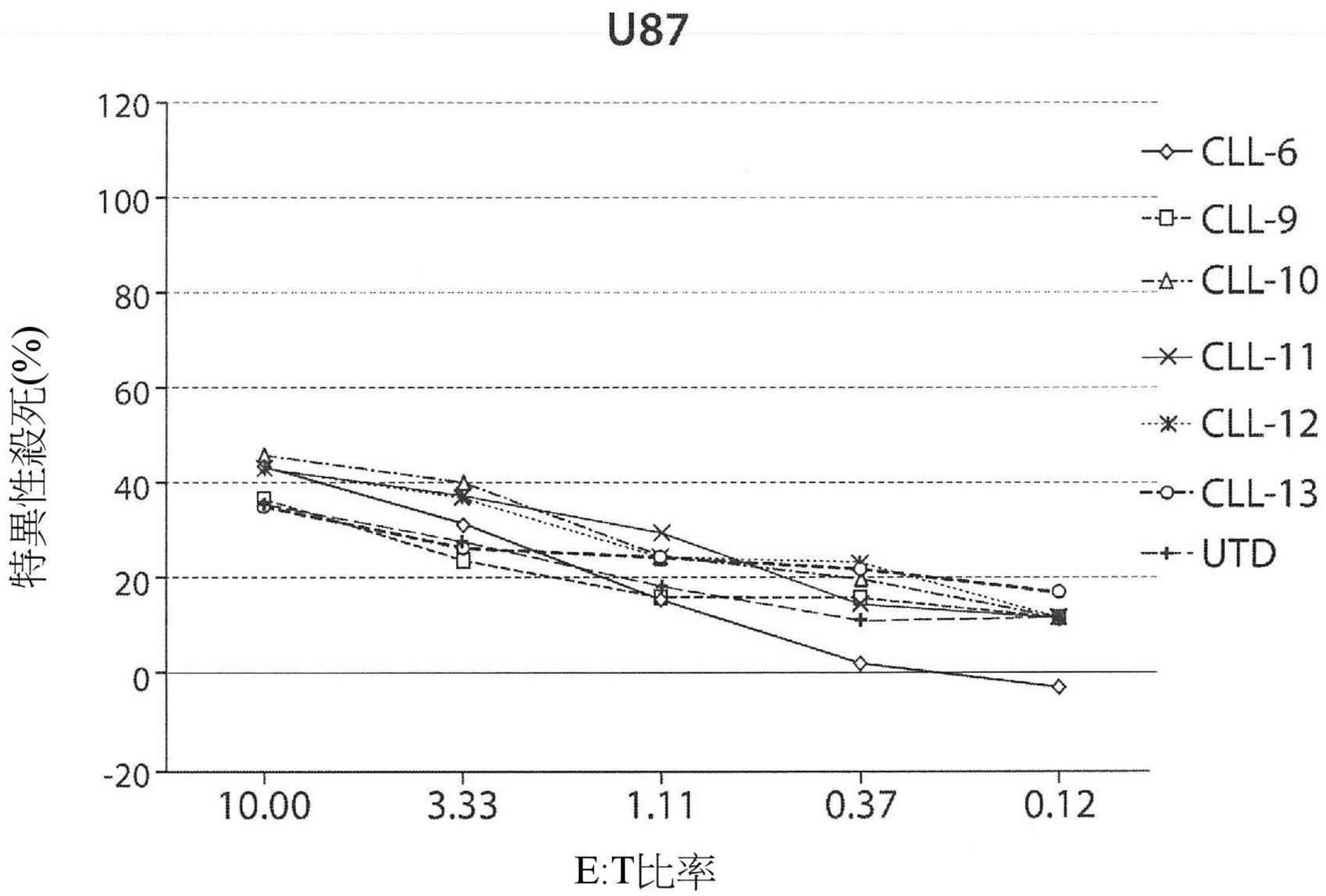

U87
120
100
80
60
40
20
0
-20
特異性殺死(%)
10.00
3.33
1.11
0.37
0.12
E:T比率
CLL-6
CLL-9
CLL-10
CLL-11
CLL-12
CLL-13
UTD

圖4C

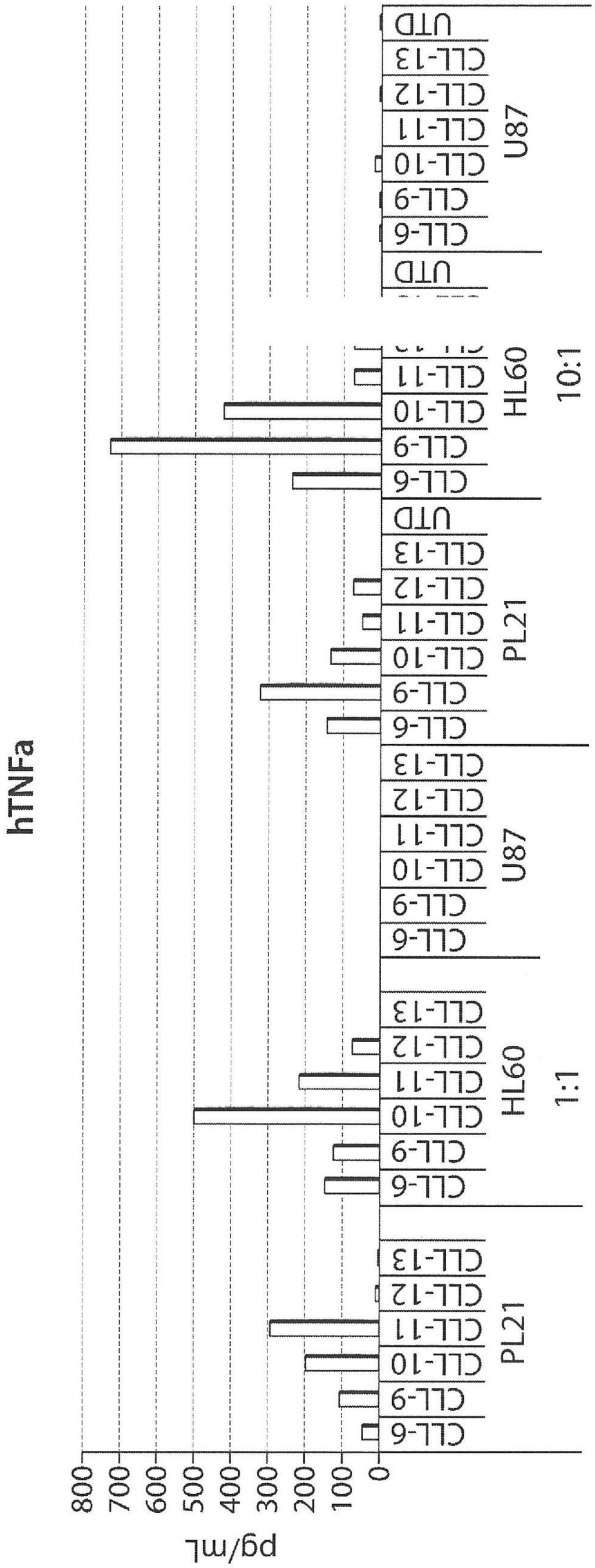

hTNFa
pg/mL
800
700
600
500
400
300
200
100
0
U87
HL60
PL21
10:1
1:1
CLL-6
CLL-9
CLL-10
CLL-11
CLL-12
CLL-13
UTD

圖5A

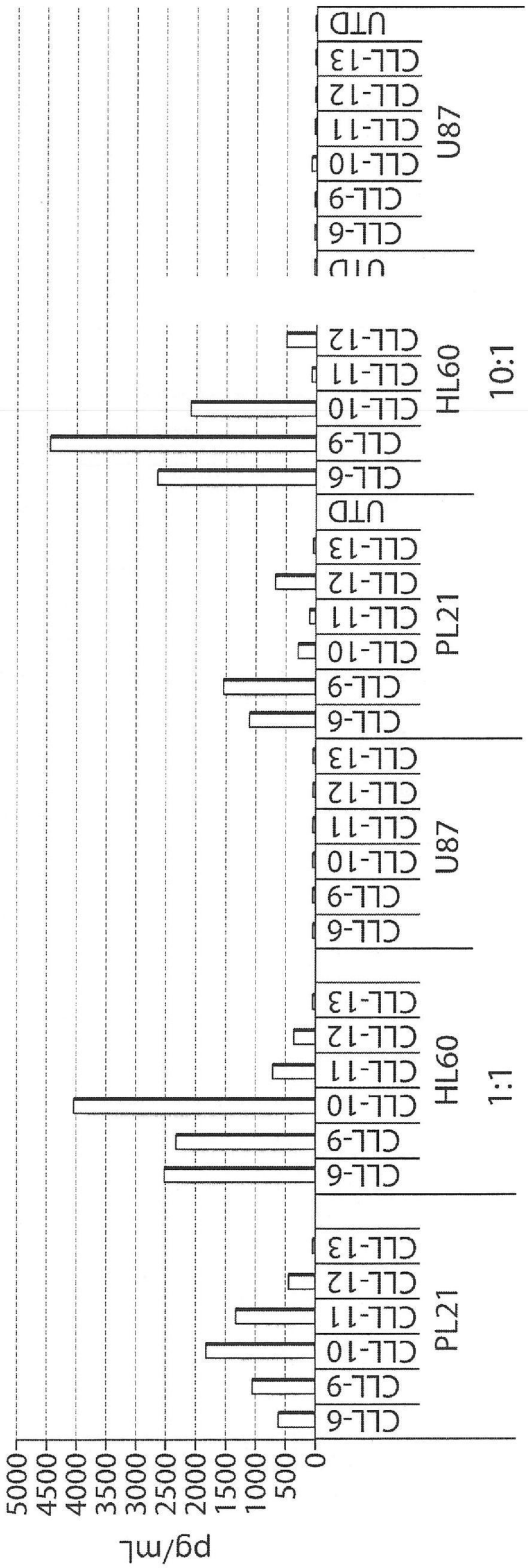

hIL2
pg/mL
5000
4500
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
1:1
10:1
HL60
PL21
U87
CLL-6
CLL-9
CLL-10
CLL-11
CLL-12
CLL-13
UTD

圖5B

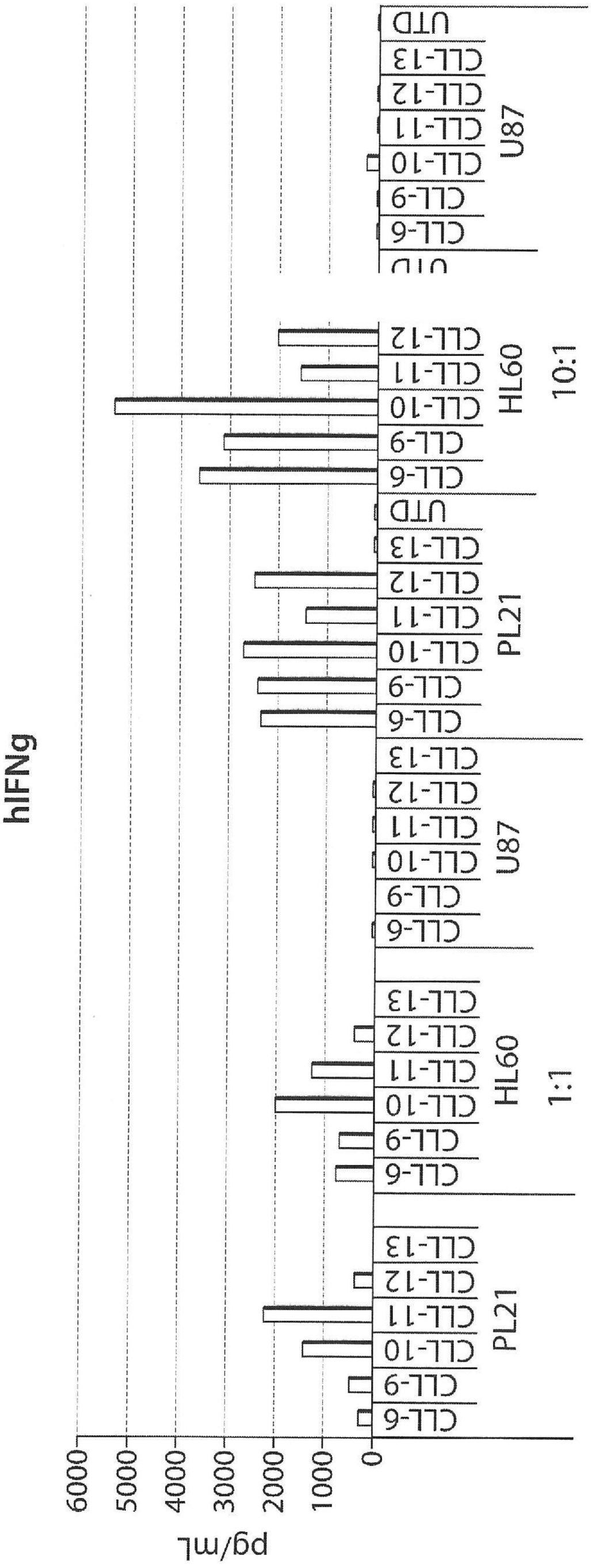

hIFNg
pg/mL
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
10:1
1:1
U87
HL60
PL21
UTD
CLL-13
CLL-12
CLL-11
CLL-10
CLL-9
CLL-6

圖5C

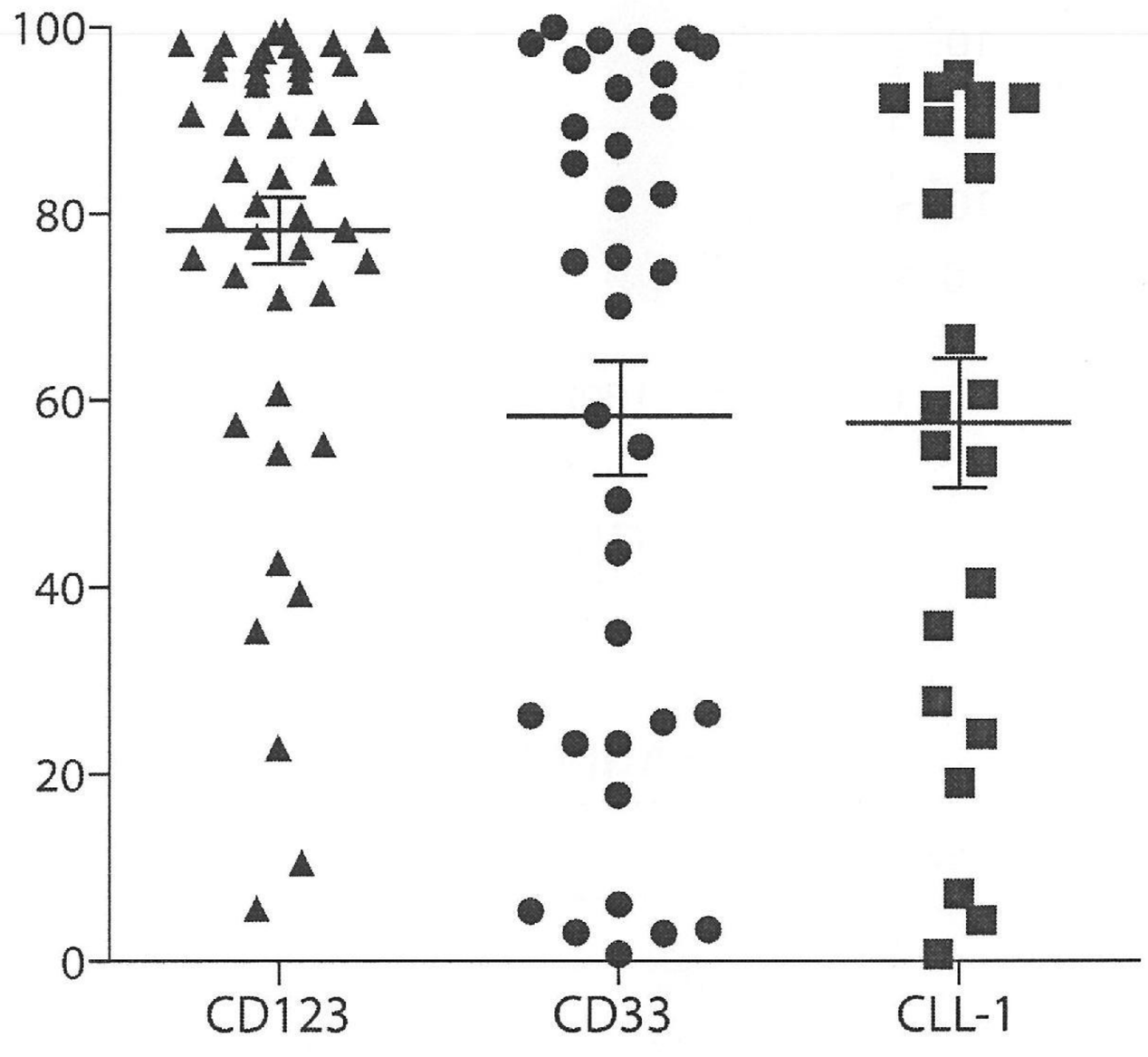


圖6

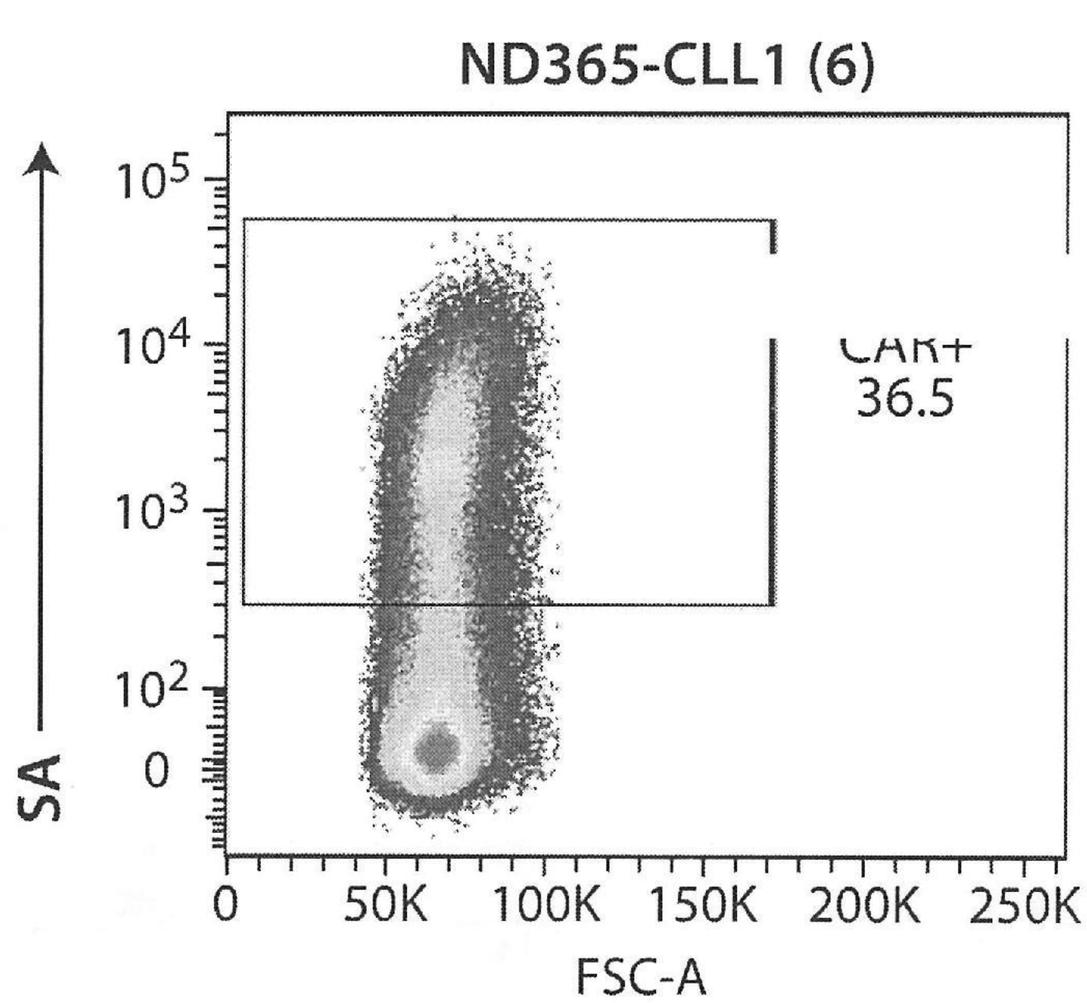

ND365-CLL1 (6)
SA
10^5
10^4
10^3
10^2
0
CAR+
36.5
0
50K
100K
150K
200K
250K
FSC-A

圖7A

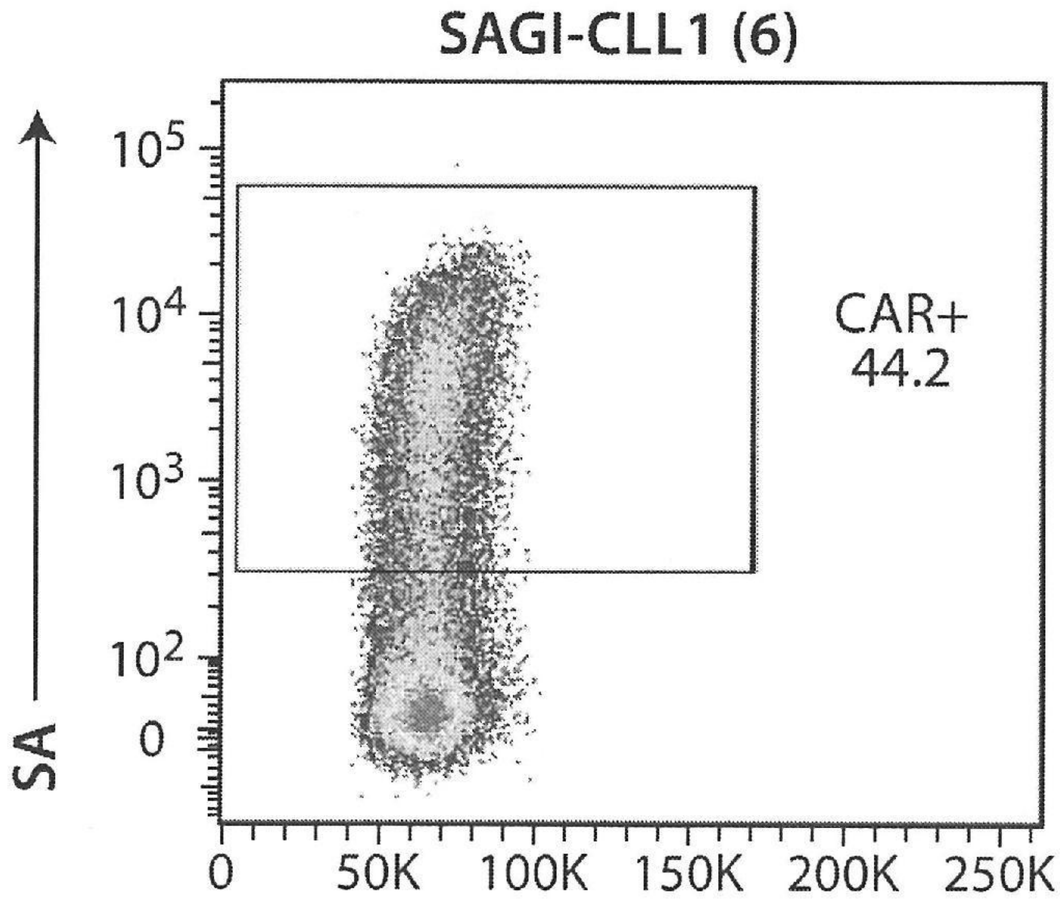

SAGI-CLL1 (6)
SA
10^5
10^4
10^3
10^2
0
CAR+
44.2
0
50K
100K
150K
200K
250K
FSC-A

圖7B

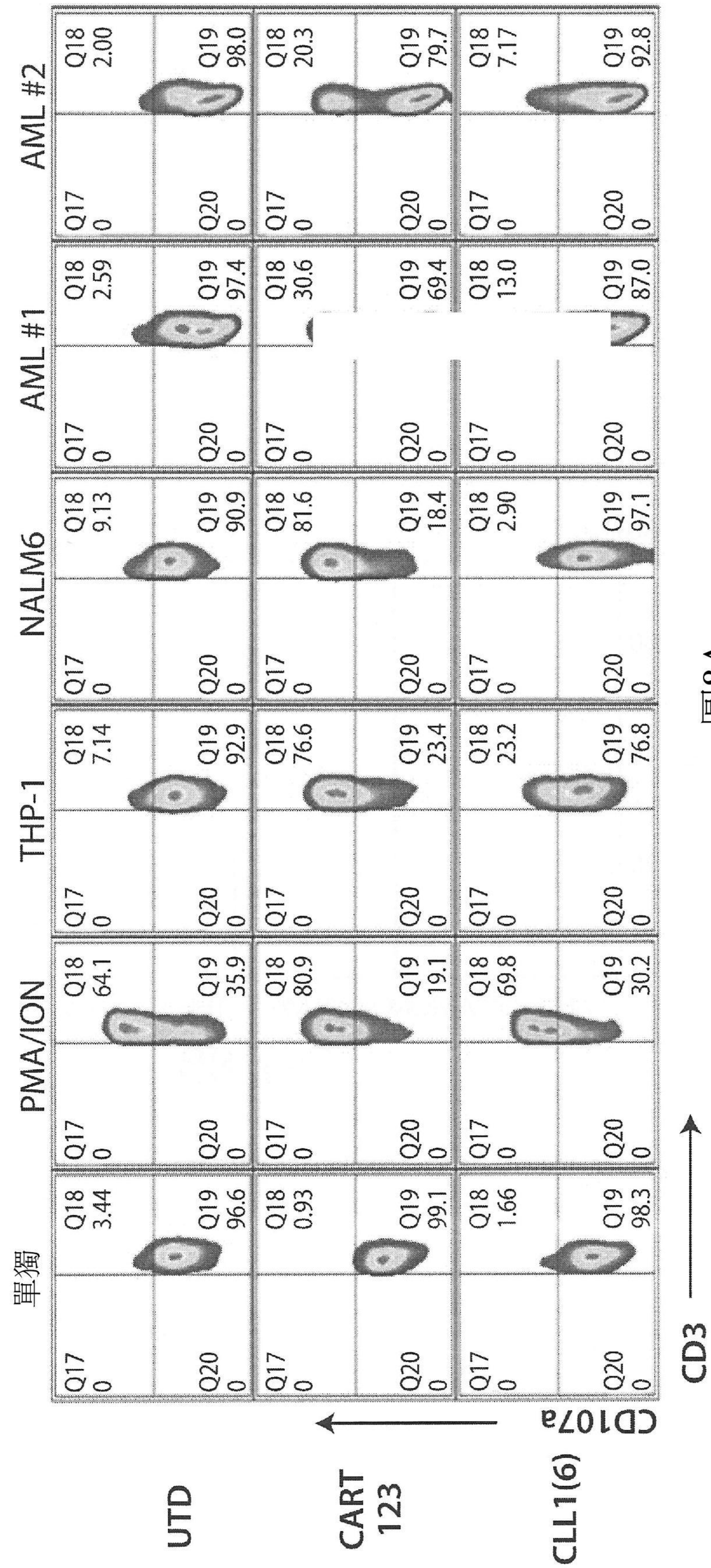

AML #2
NALM6
AML #1
THP-1
PMA/ION
單獨
Q18 2.00
Q19 98.0
Q17 0
Q20 0
Q18 20.3
Q19 79.7
Q18 7.17
Q19 92.8
Q18 2.59
Q19 97.4
Q18 30.6
Q19 69.4
Q18 13.0
Q19 87.0
Q18 9.13
Q19 90.9
Q18 81.6
Q19 18.4
Q18 2.90
Q19 97.1
Q18 7.14
Q19 92.9
Q18 76.6
Q19 23.4
Q18 23.2
Q19 76.8
Q18 64.1
Q19 35.9
Q18 80.9
Q19 19.1
Q18 69.8
Q19 30.2
Q18 3.44
Q19 96.6
Q18 0.93
Q19 99.1
Q18 1.66
Q19 98.3
UTD
CART 123
CLL1(6)
CD107a
CD3

圖8A

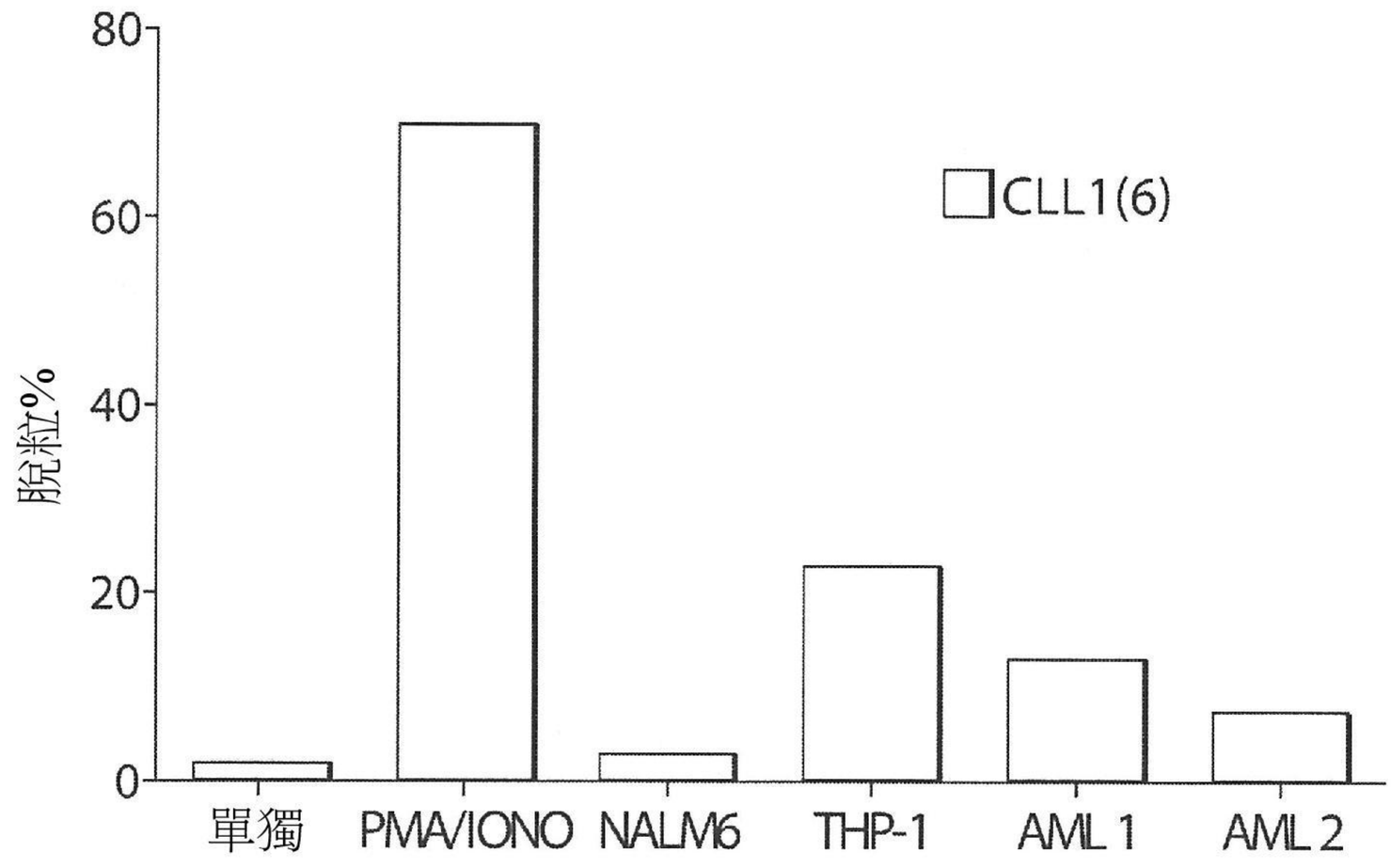


圖8B

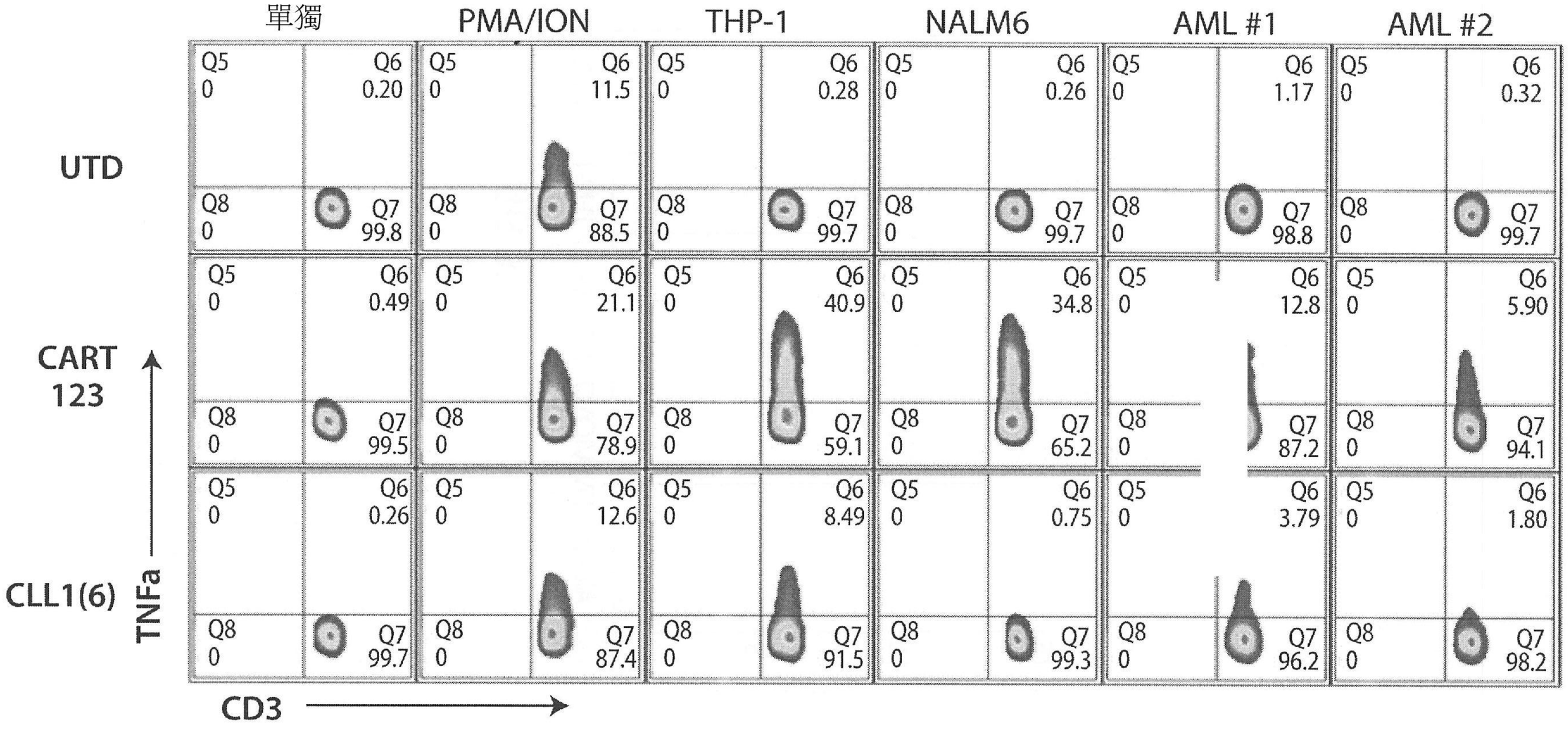

單獨
PMA/ION
THP-1
NALM6
AML #1
AML #2
UTD
CART 123
CLL1(6)
TNFa
CD3
Q5 0
Q6 0.20
Q8 0
Q7 99.8
Q5 0
Q6 11.5
Q8 0
Q7 88.5
Q5 0
Q6 0.28
Q8 0
Q7 99.7
Q5 0
Q6 0.26
Q8 0
Q7 99.7
Q5 0
Q6 1.17
Q8 0
Q7 98.8
Q5 0
Q6 0.32
Q8 0
Q7 99.7
Q5 0
Q6 0.49
Q8 0
Q7 99.5
Q5 0
Q6 21.1
Q8 0
Q7 78.9
Q5 0
Q6 40.9
Q8 0
Q7 59.1
Q5 0
Q6 34.8
Q8 0
Q7 65.2
Q5 0
Q6 12.8
Q8 0
Q7 87.2
Q5 0
Q6 5.90
Q8 0
Q7 94.1
Q5 0
Q6 0.26
Q8 0
Q7 99.7
Q5 0
Q6 12.6
Q8 0
Q7 87.4
Q5 0
Q6 8.49
Q8 0
Q7 91.5
Q5 0
Q6 0.75
Q8 0
Q7 99.3
Q5 0
Q6 3.79
Q8 0
Q7 96.2
Q5 0
Q6 1.80
Q8 0
Q7 98.2

圖9A

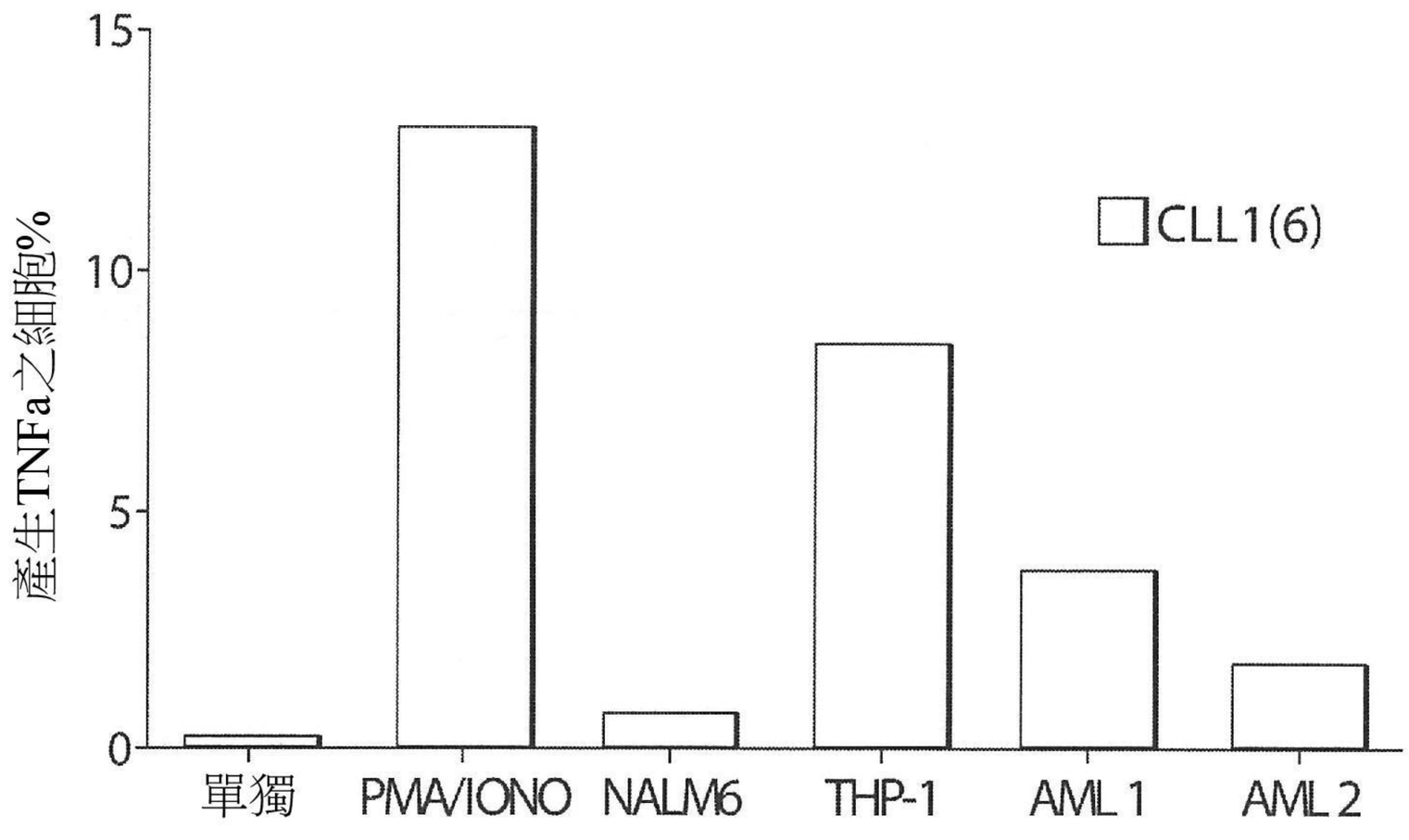


圖9B

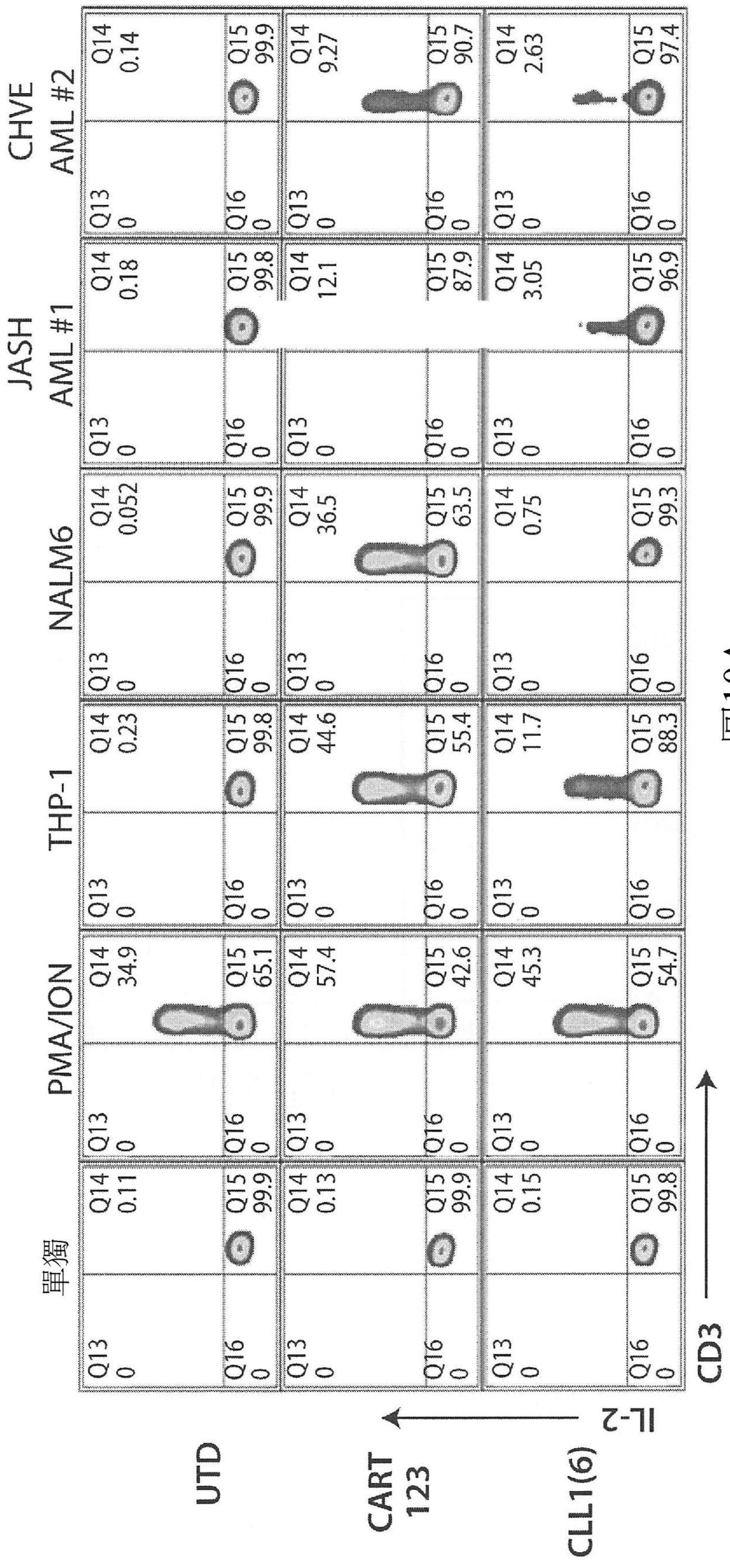

CHVE
AML #2
JASH
AML #1
NALM6
THP-1
PMA/ION
單獨
Q13 0
Q14 0.14
Q15 99.9
Q16 0
Q13 0
Q14 9.27
Q15 90.7
Q16 0
Q13 0
Q14 2.63
Q15 97.4
Q16 0
Q13 0
Q14 0.18
Q15 99.8
Q16 0
Q13 0
Q14 12.1
Q15 87.9
Q16 0
Q13 0
Q14 3.05
Q15 96.9
Q16 0
Q13 0
Q14 0.052
Q15 99.9
Q16 0
Q13 0
Q14 36.5
Q15 63.5
Q16 0
Q13 0
Q14 0.75
Q15 99.3
Q16 0
Q13 0
Q14 0.23
Q15 99.8
Q16 0
Q13 0
Q14 44.6
Q15 55.4
Q16 0
Q13 0
Q14 11.7
Q15 88.3
Q16 0
Q13 0
Q14 34.9
Q15 65.1
Q16 0
Q13 0
Q14 57.4
Q15 42.6
Q16 0
Q13 0
Q14 45.3
Q15 54.7
Q16 0
Q13 0
Q14 0.11
Q15 99.9
Q16 0
Q13 0
Q14 0.13
Q15 99.9
Q16 0
Q13 0
Q14 0.15
Q15 99.8
Q16 0
UTD
CART 123
CLL1(6)
IL-2
CD3

圖10A

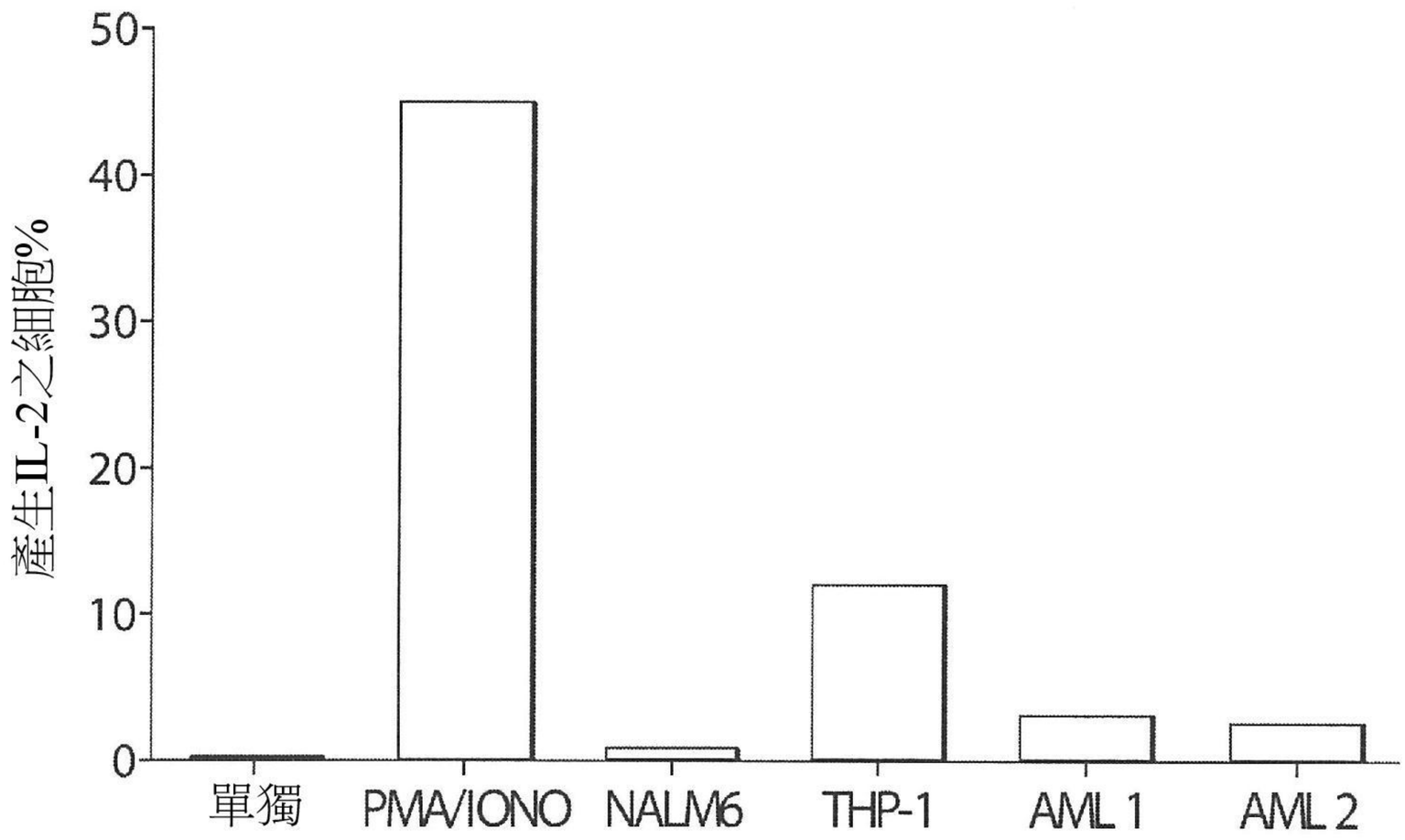


圖10B

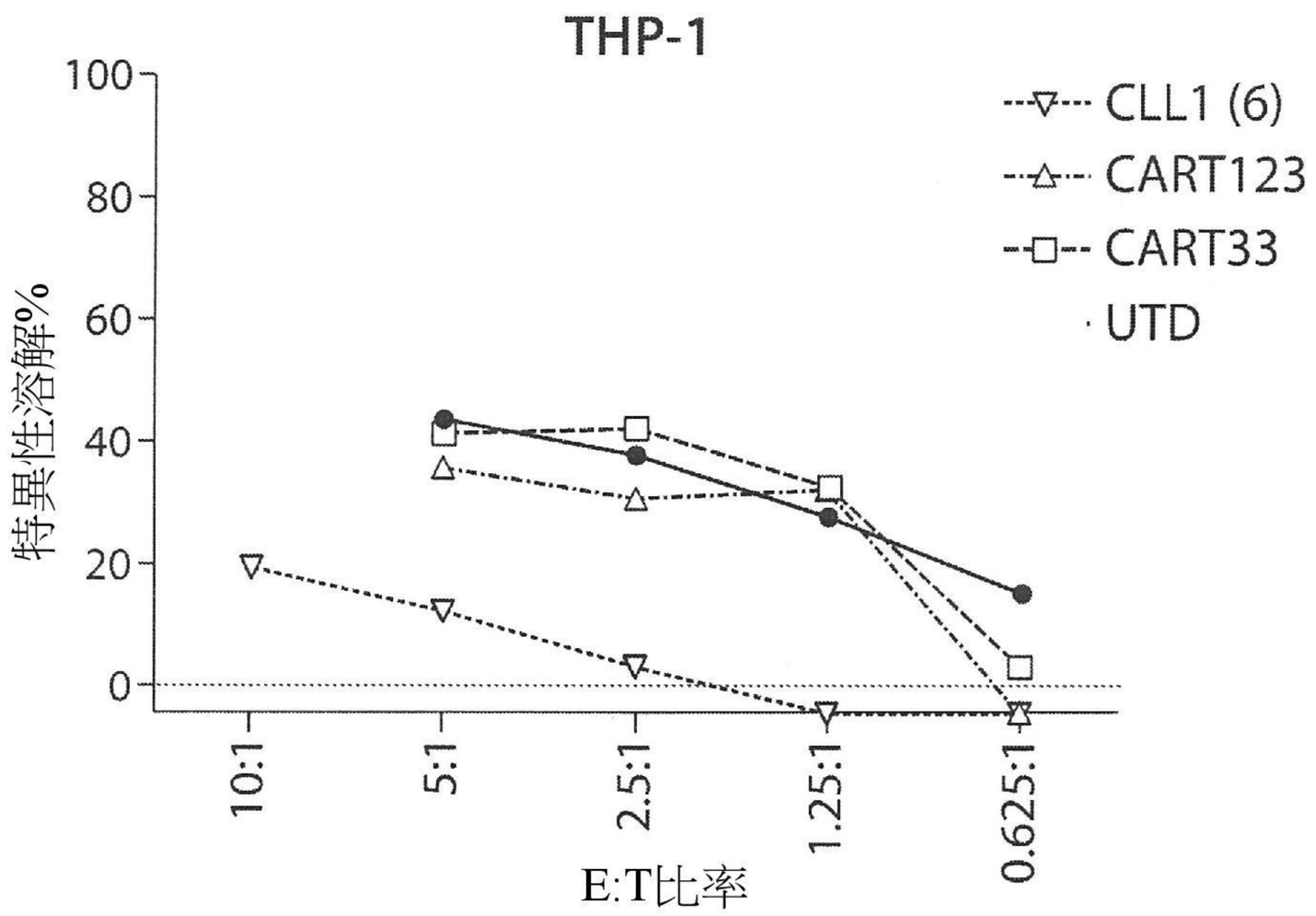

THP-1
100
80
60
40
20
0
特異性溶解%
CLL1 (6)
CART123
CART33
UTD
10:1
5:1
2.5:1
1.25:1
0.625:1
E:T比率

圖11A

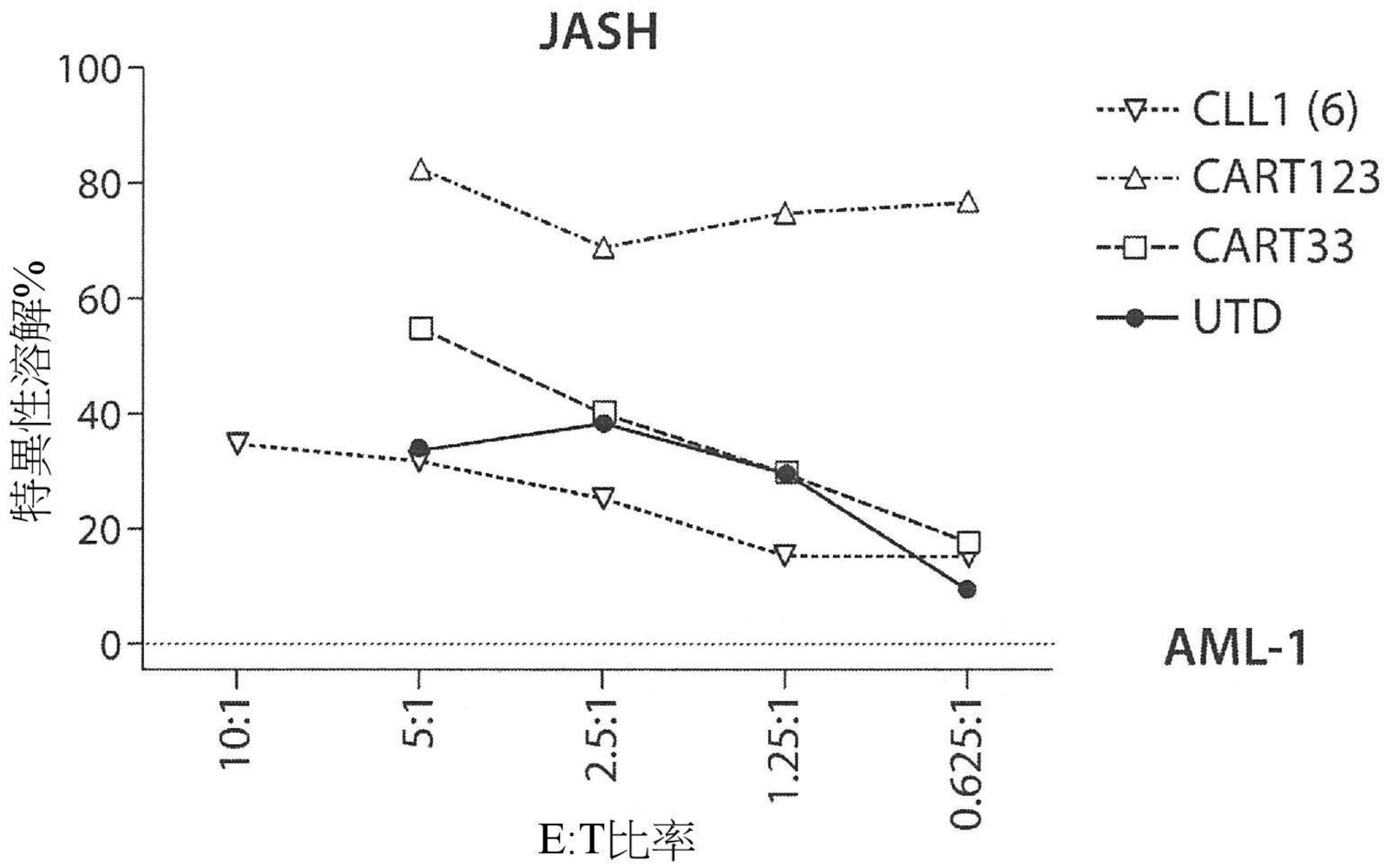

JASH
100
80
60
40
20
0
特異性溶解%
CLL1 (6)
CART123
CART33
UTD
10:1
5:1
2.5:1
1.25:1
0.625:1
E:T比率
AML-1

圖11B

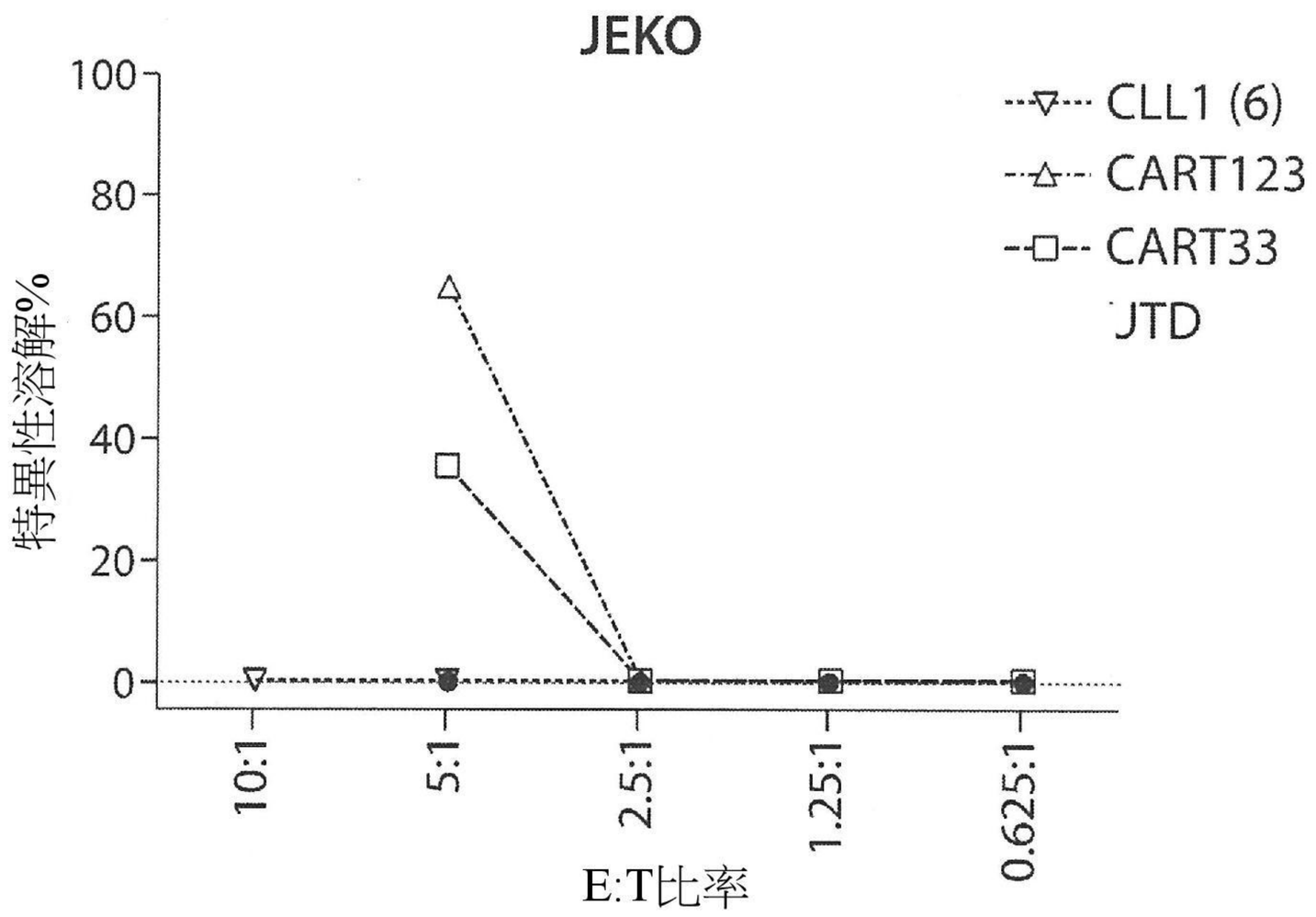

JEKO
100
80
60
40
20
0
特異性溶解%
CLL1 (6)
CART123
CART33
JTD
10:1
5:1
2.5:1
1.25:1
0.625:1
E:T比率

圖11C

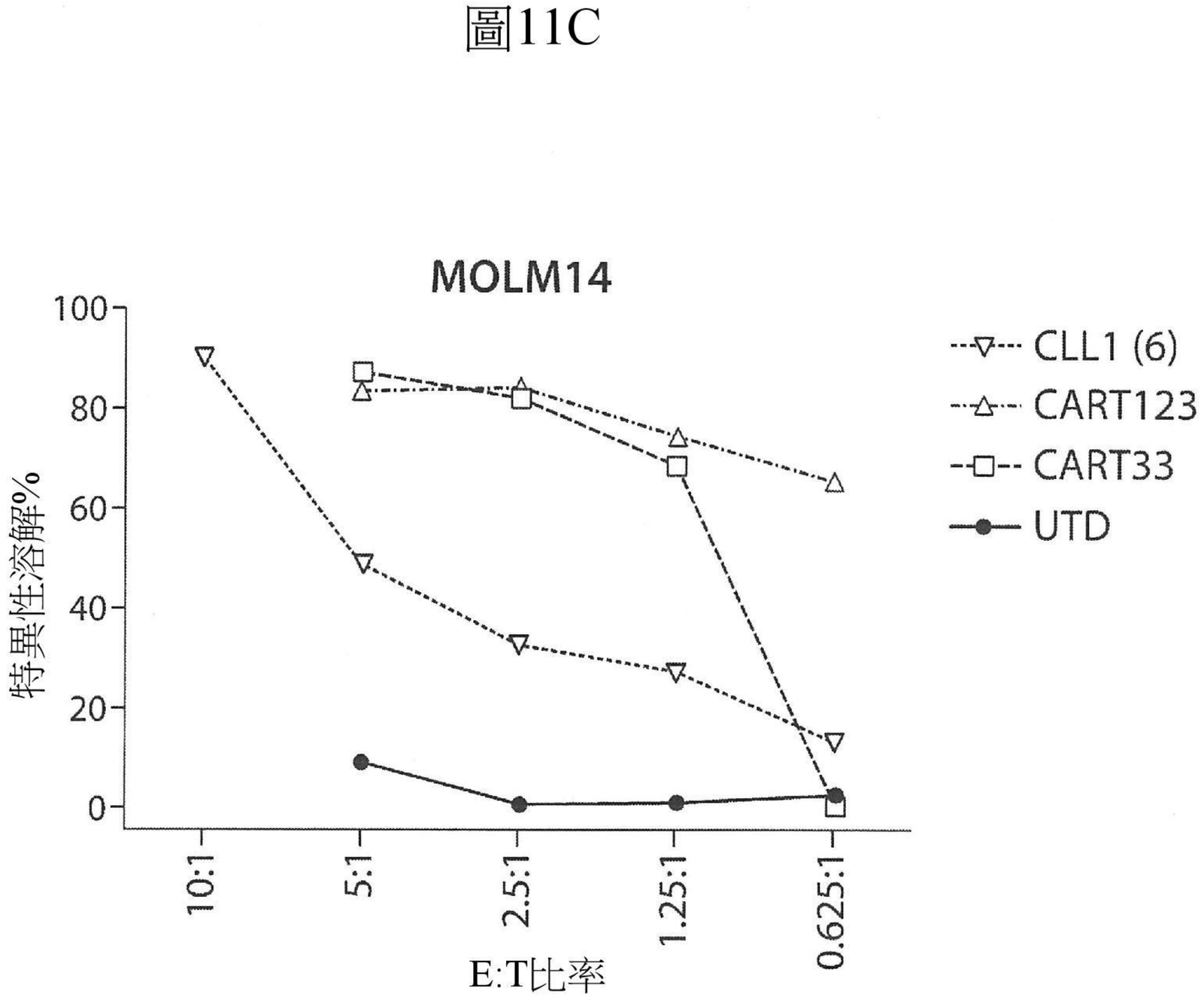

MOLM14
100
80
60
40
20
0
特異性溶解%
CLL1 (6)
CART123
CART33
UTD
10:1
5:1
2.5:1
1.25:1
0.625:1
E:T比率

圖11D

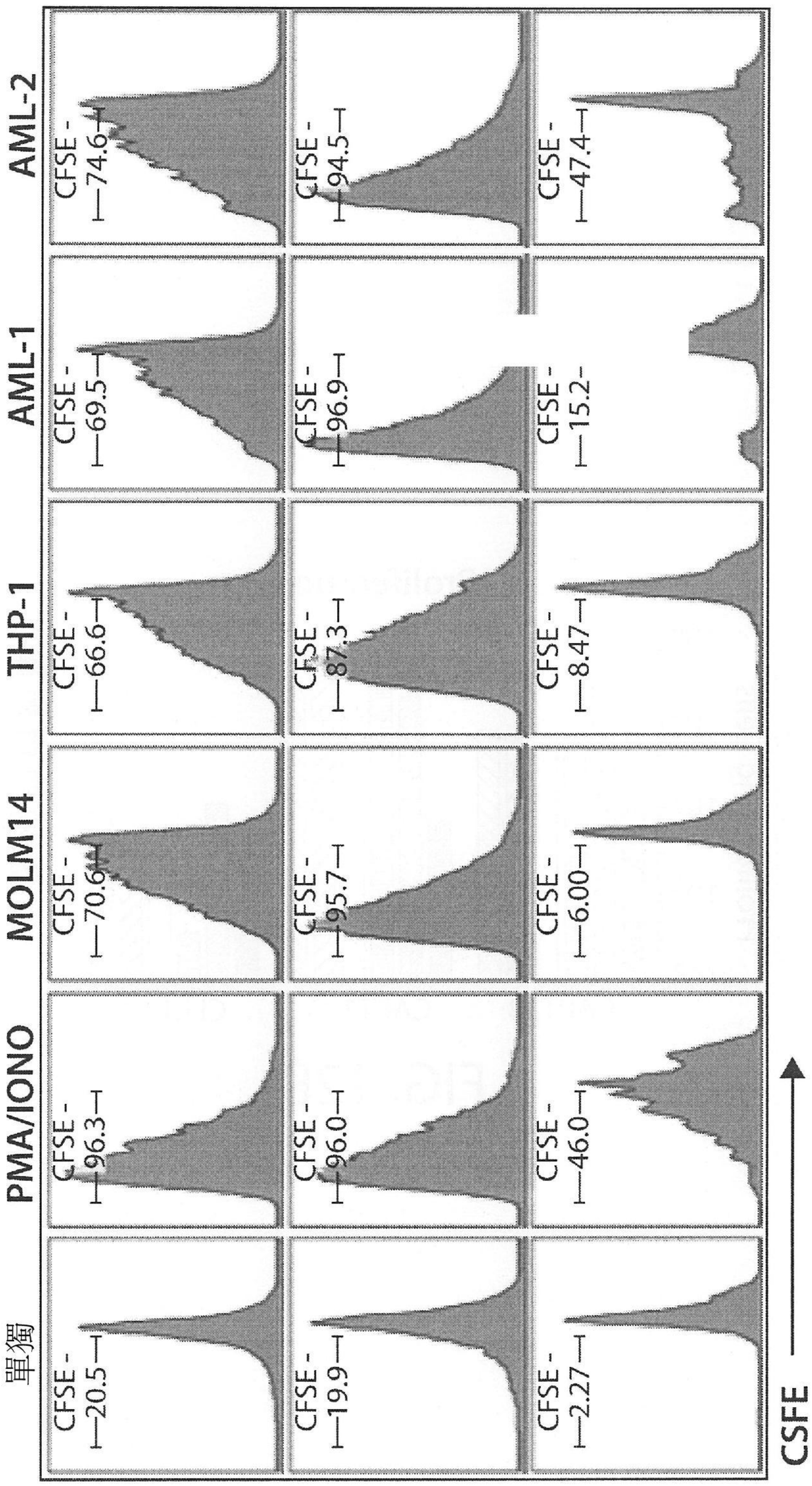

AML-2
CFSE - 74.6
CFSE - 94.5
CFSE - 47.4
THP-1
AML-1
CFSE - 66.6
CFSE - 87.3
CFSE - 8.47
CFSE - 69.5
CFSE - 96.9
CFSE - 15.2
PMA/IONO
MOLM14
CFSE - 96.3
CFSE - 96.0
CFSE - 46.0
CFSE - 70.6
CFSE - 95.7
CFSE - 6.00
單獨
CFSE - 20.5
CFSE - 19.9
CFSE - 2.27
CART33
CART123
CLL1 (6)
CSFE

圖12A

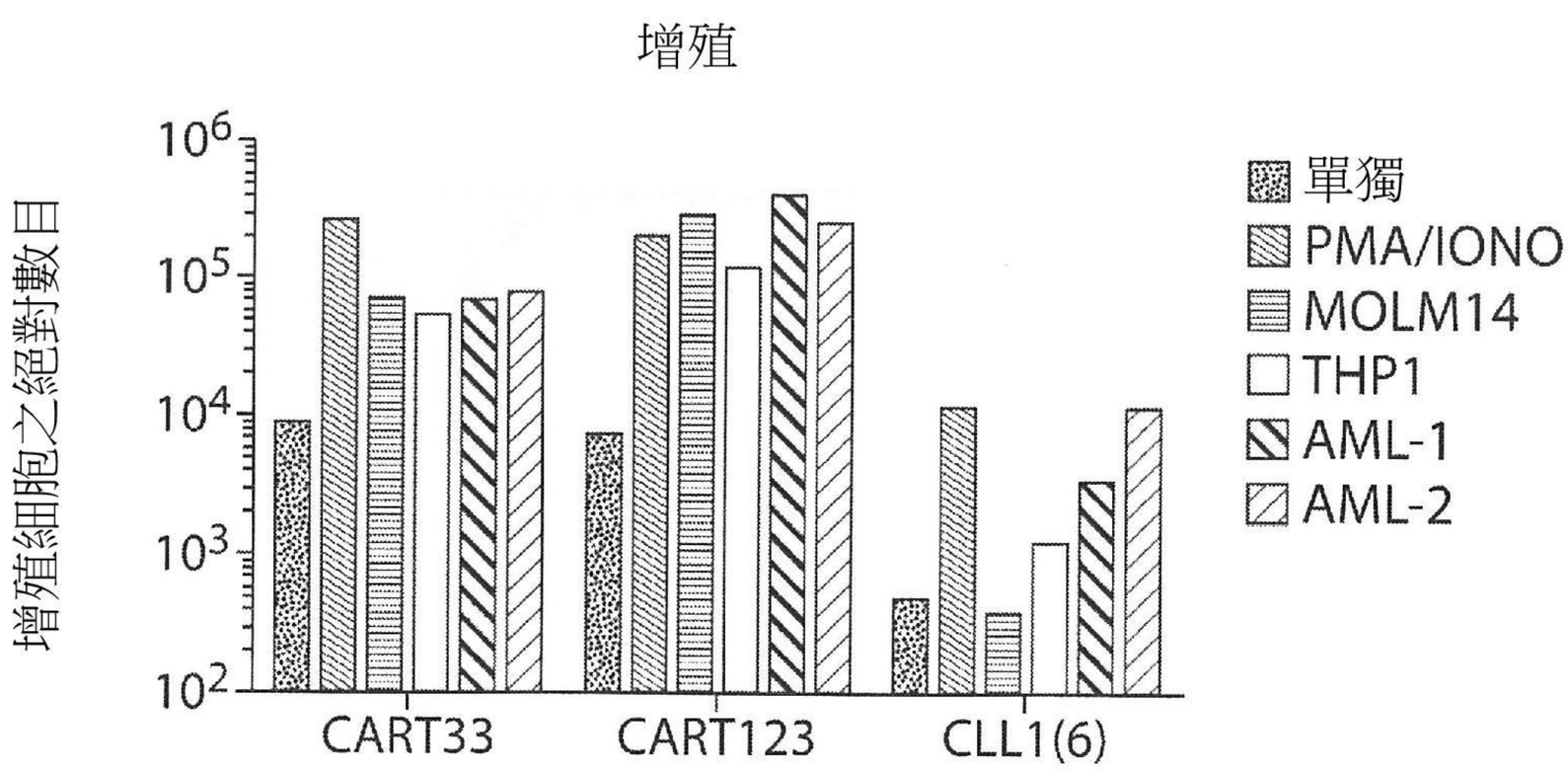

增殖
增殖細胞之絕對數目
10^6
10^5
10^4
10^3
10^2
CART33
CART123
CLL1(6)
單獨
PMA/IONO
MOLM14
THP1
AML-1
AML-2

圖12B

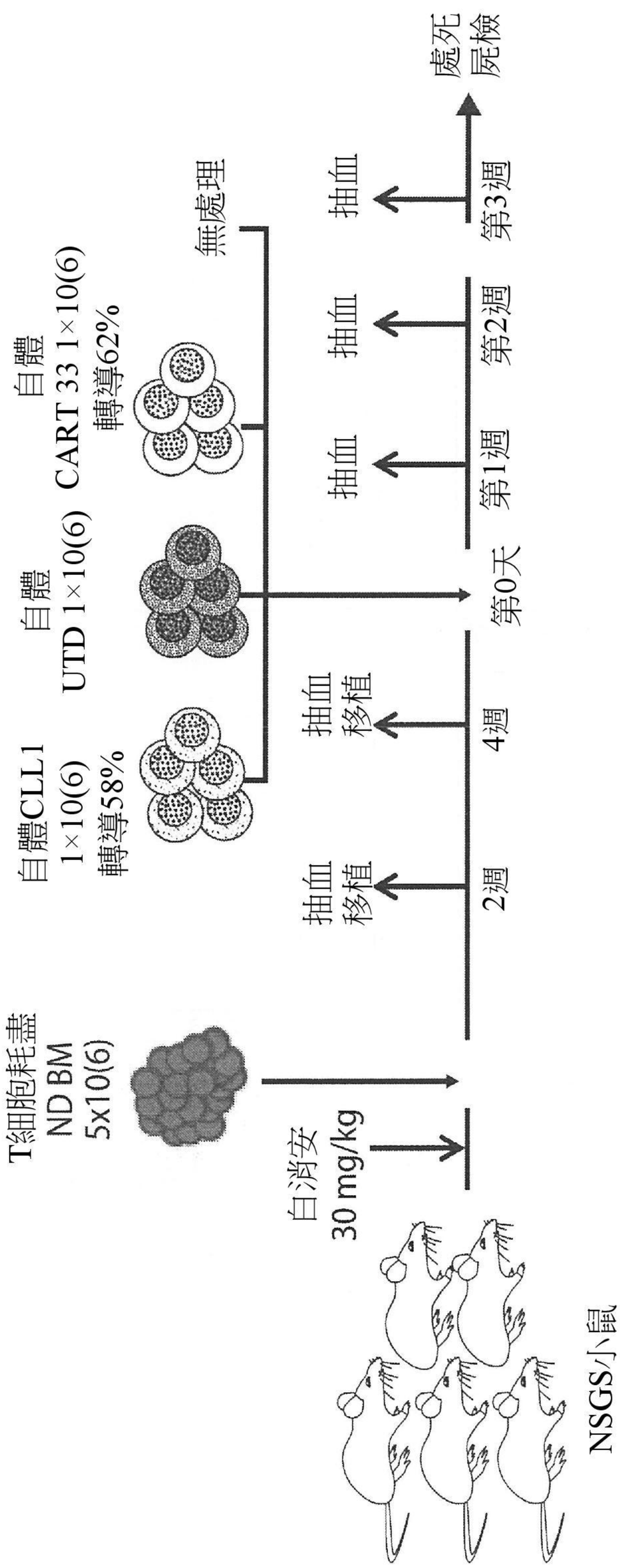

NSGS小鼠
白濁安 30 mg/kg
T細胞耗盡 ND BM 5x10(6)
自體CLL1 1×10(6) 轉導58%
自體 UTD 1×10(6)
自體 CART 33 1×10(6) 轉導62%
無處理
2週
4週
第0天
第1週
第2週
第3週
抽血 移植
抽血
抽血
抽血
處死 屍檢

圖13

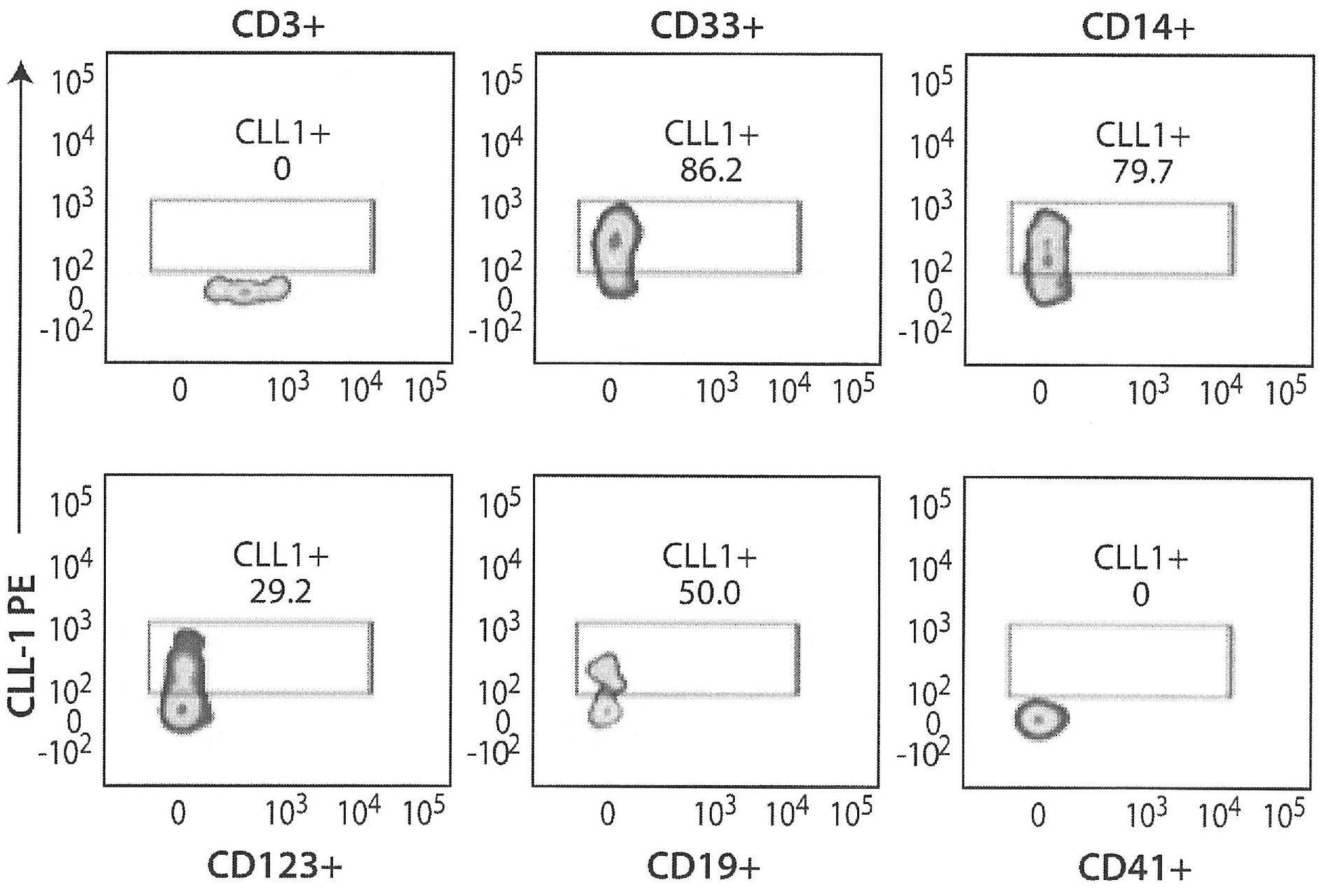

CD3+
CD33+
CD14+
CLL1+
0
CLL1+
86.2
CLL1+
79.7
CLL1+
29.2
CLL1+
50.0
CLL1+
0
CLL-1 PE
CD123+
CD19+
CD41+
10^5
10^4
10^3
10^2
0
-10^2
0
10^3
10^4
10^5

圖14A

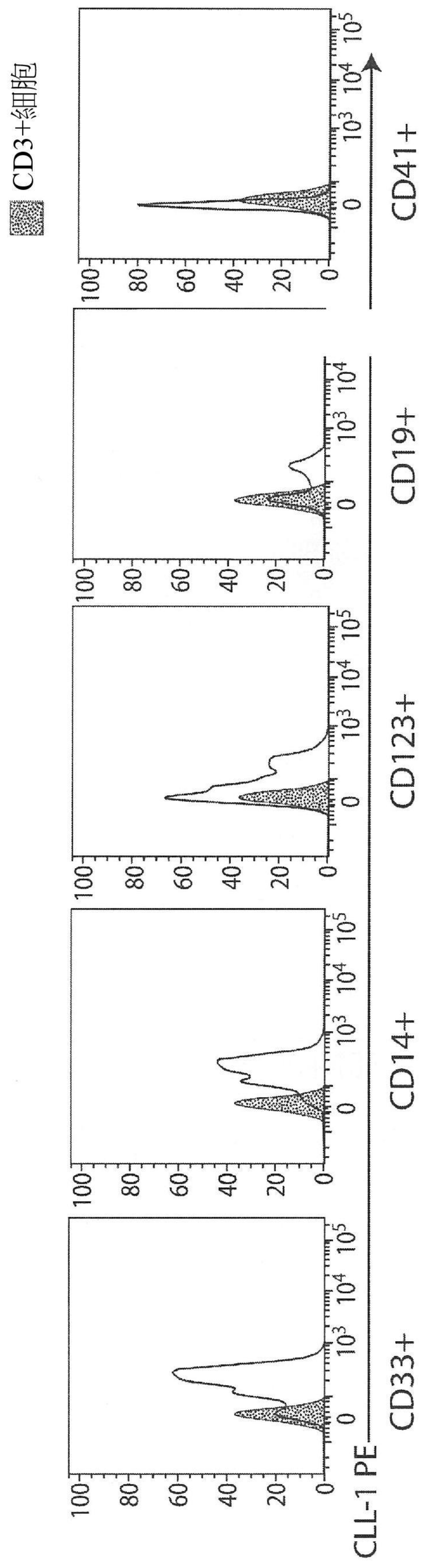

CD3+細胞
CD41+
CD19+
CD123+
CD14+
CD33+
CLL-1 PE
0
20
40
60
80
100
10^3
10^4
10^5

圖14B

CLL-1表現PB

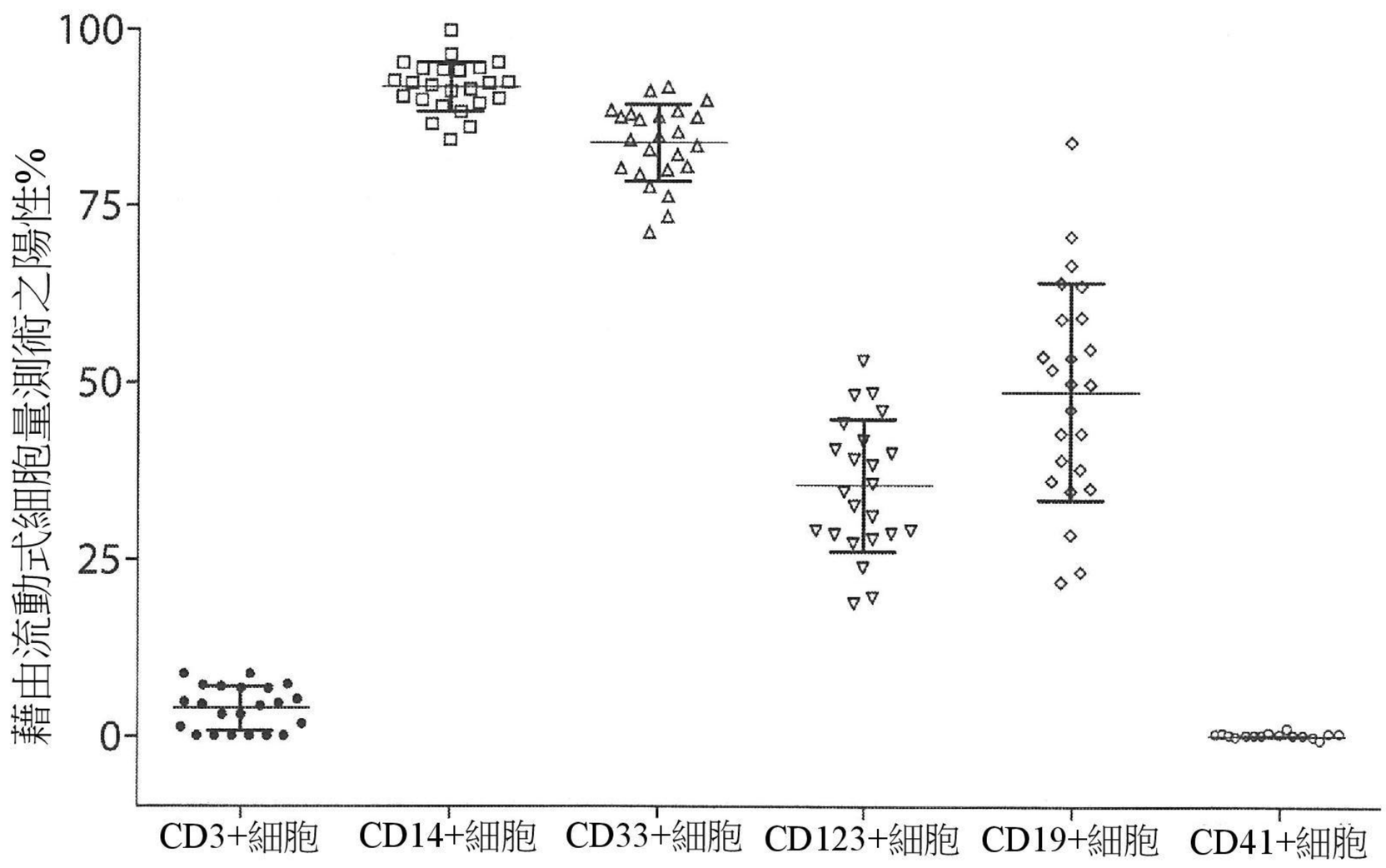


圖14C

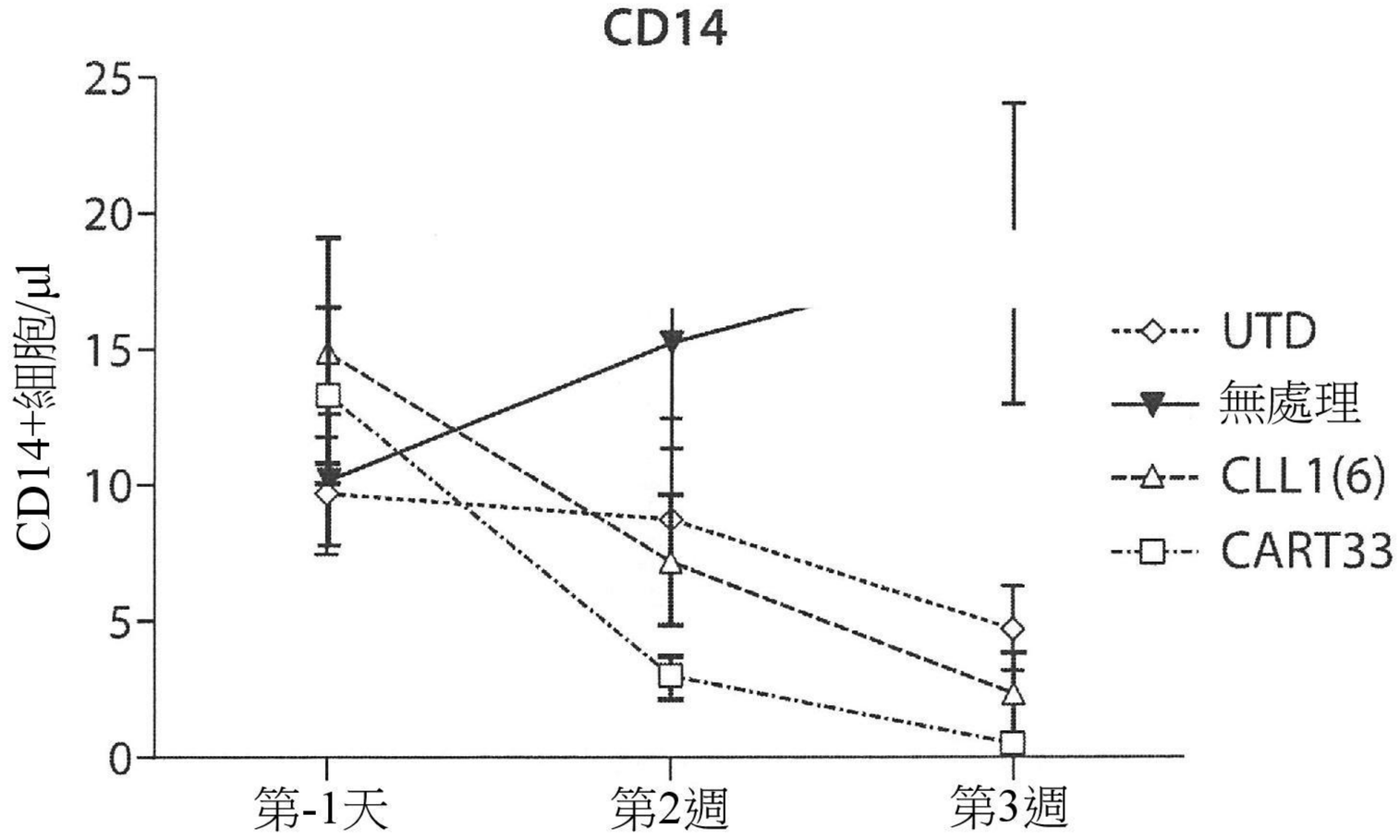

CD14
CD14+細胞/μl
25
20
15
10
5
0
第-1天
第2週
第3週
UTD
無處理
CLL1(6)
CART33

圖15A

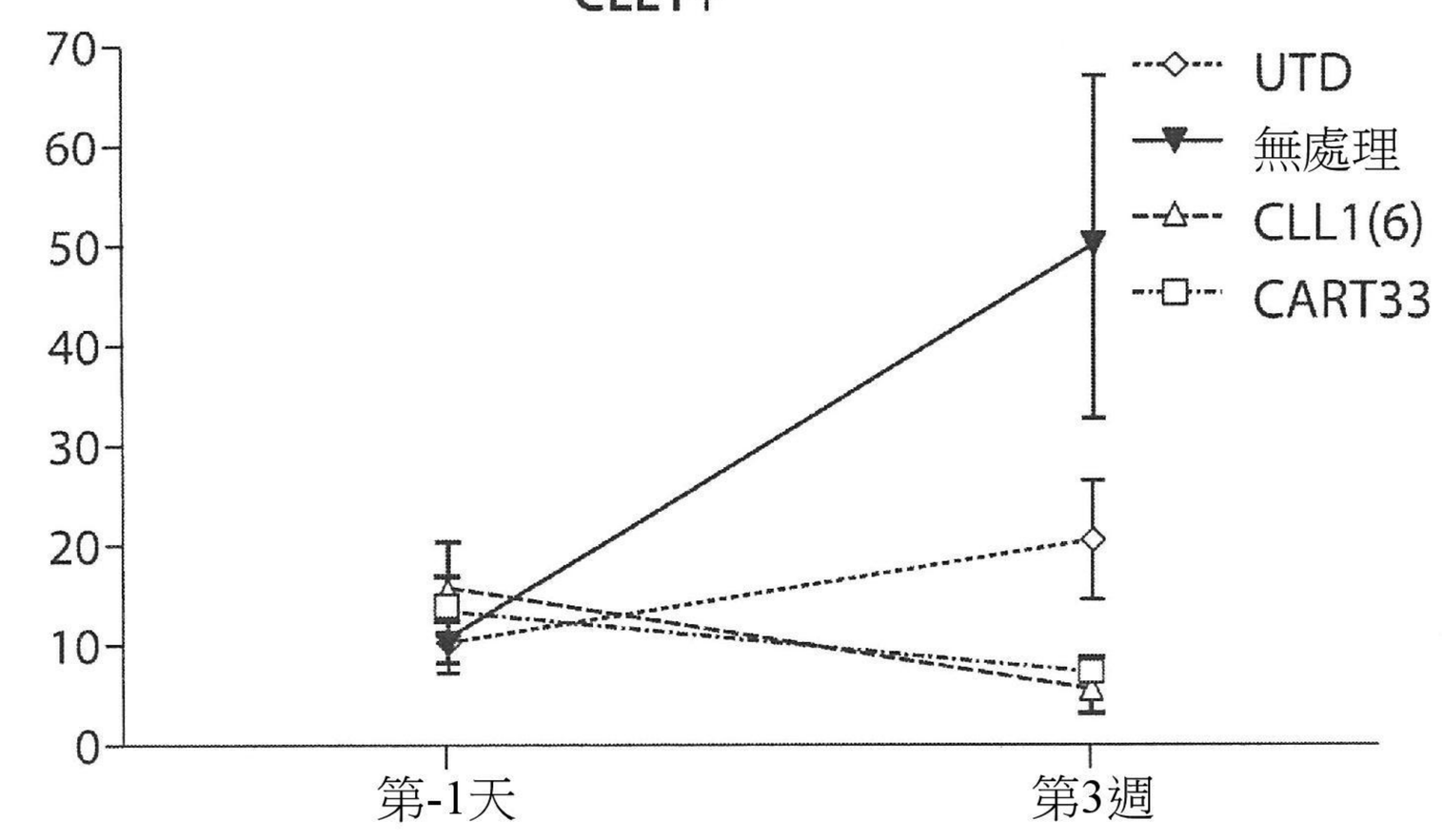

CLL1+
70
60
50
40
30
20
10
0
第-1天
第3週
UTD
無處理
CLL1(6)
CART33

圖15B

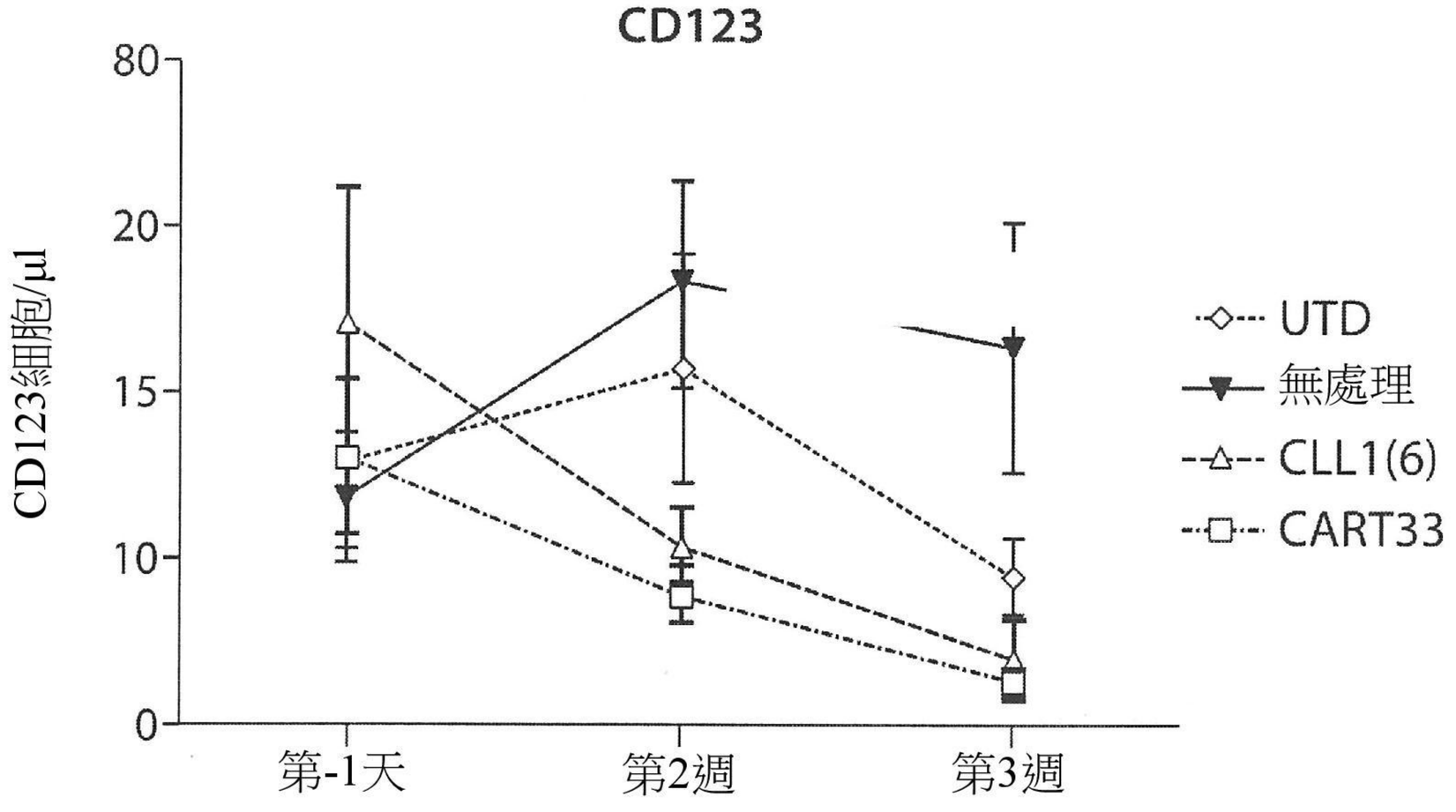

CD123
CD123細胞/μl
80
20
15
10
0
第-1天
第2週
第3週
UTD
無處理
CLL1(6)
CART33

圖15C

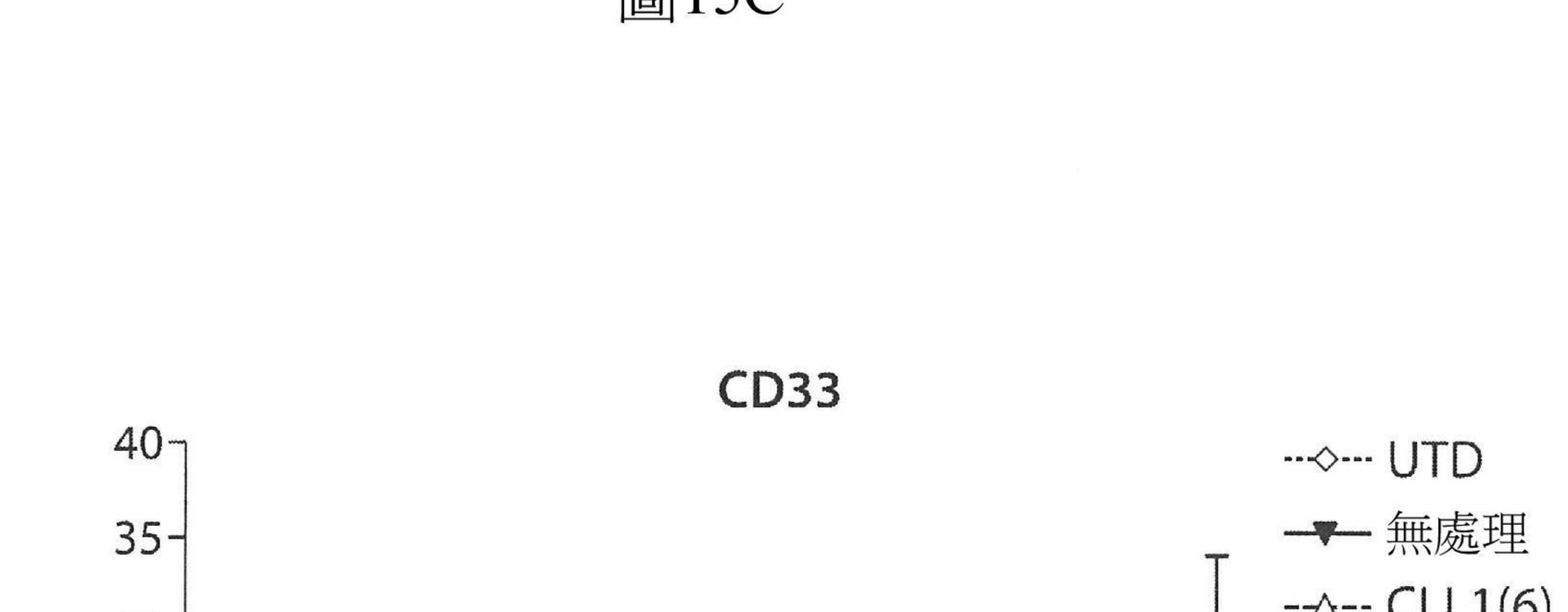

CD33
CD33+細胞/μl
40
35
30
25
20
15
10
5
0
第-1天
第2週
第3週
UTD
無處理
CLL1(6)
CART33

圖15D

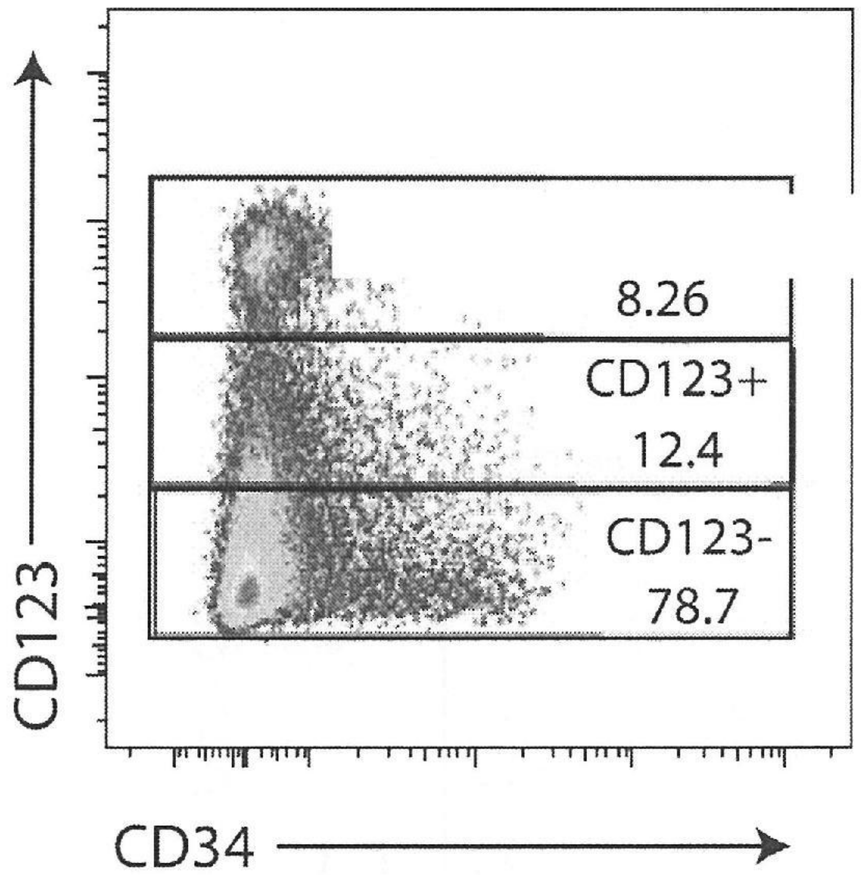

8.26
CD123+
12.4
CD123-
78.7
CD123
CD34

圖16A

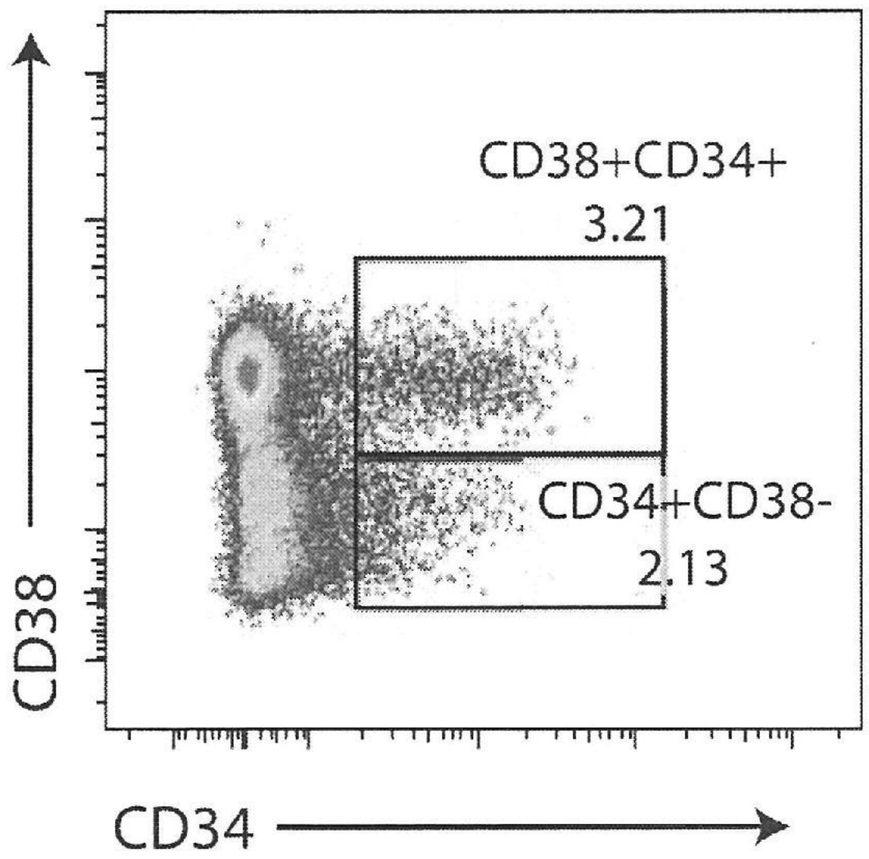

CD38+CD34+
3.21
CD34+CD38-
2.13
CD38
CD34

圖16B

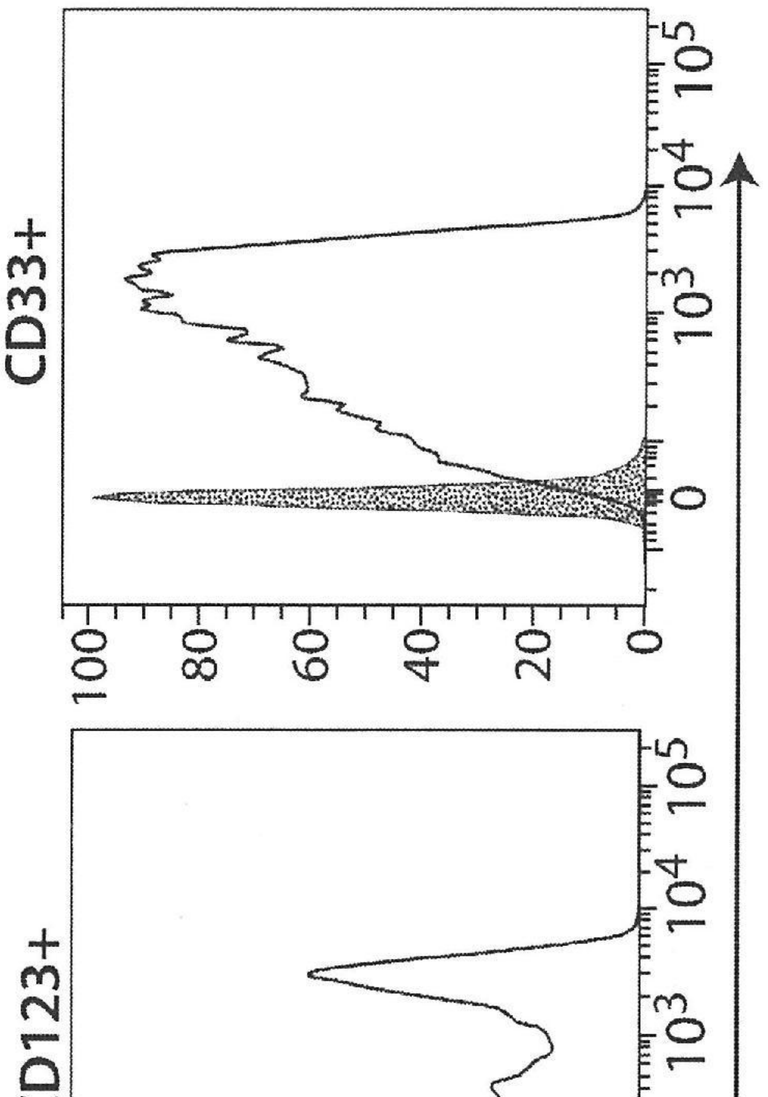

CD123+++
CD123+
CD33+
CLL-1
0
20
40
60
80
100
0
10^3
10^4
10^5

圖16C

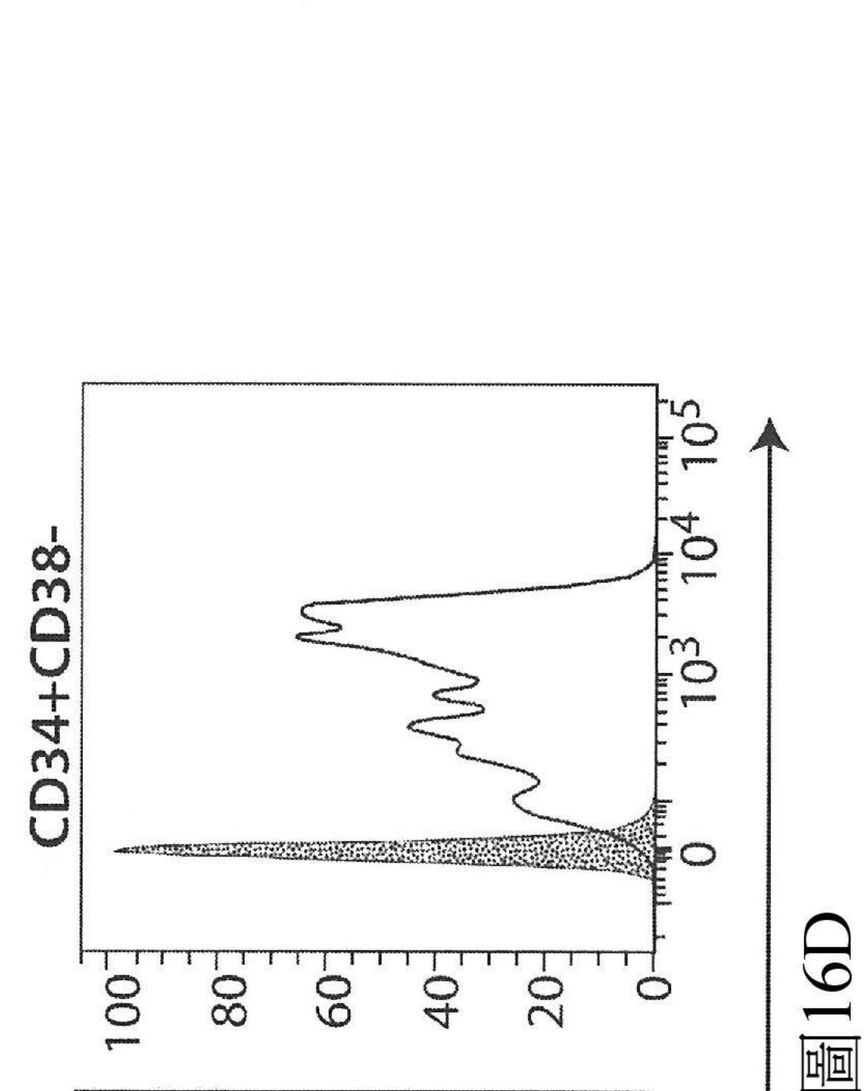

CD34+CD38+
CD34+CD38-
CLL-1
0
200
400
600
800
1.0K
0
20
40
60
80
100
0
10^3
10^4
10^5

圖16D

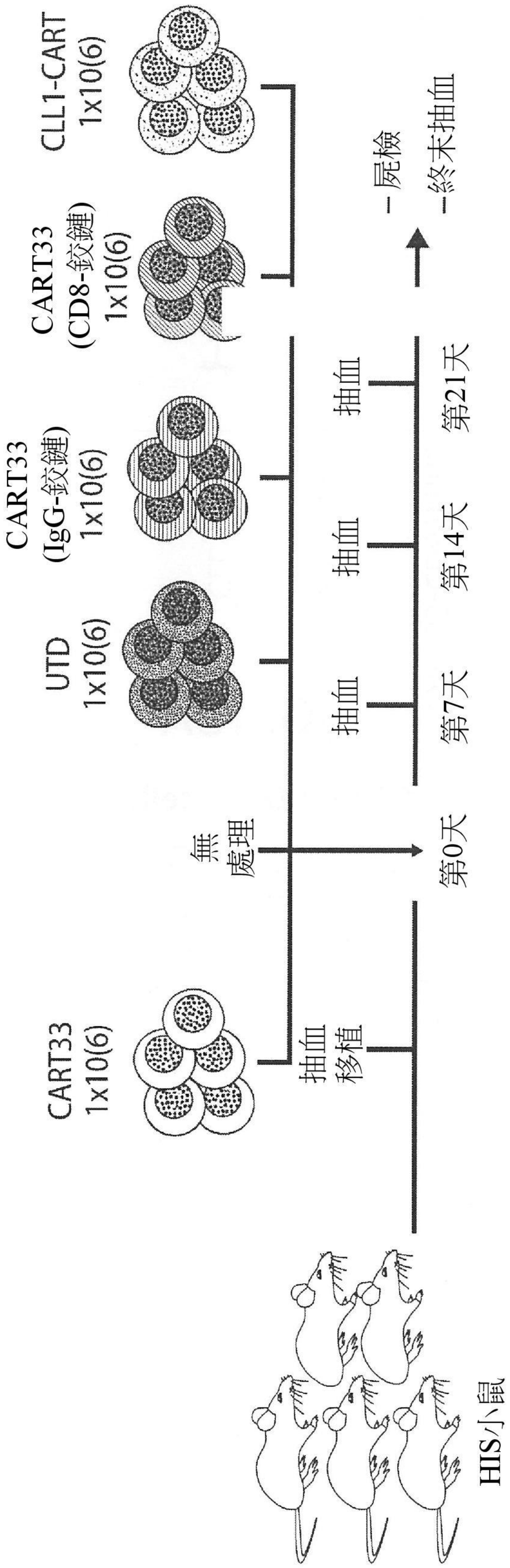

CLL1-CART
1x10(6)
CART33
(CD8-鉸鏈)
1x10(6)
CART33
(IgG-鉸鏈)
1x10(6)
UTD
1x10(6)
抽血
抽血
抽血
第7天
第14天
第21天
-屍檢
-終末抽血
第0天
無
處理
抽血
移植
CART33
1x10(6)
HIS小鼠

圖17

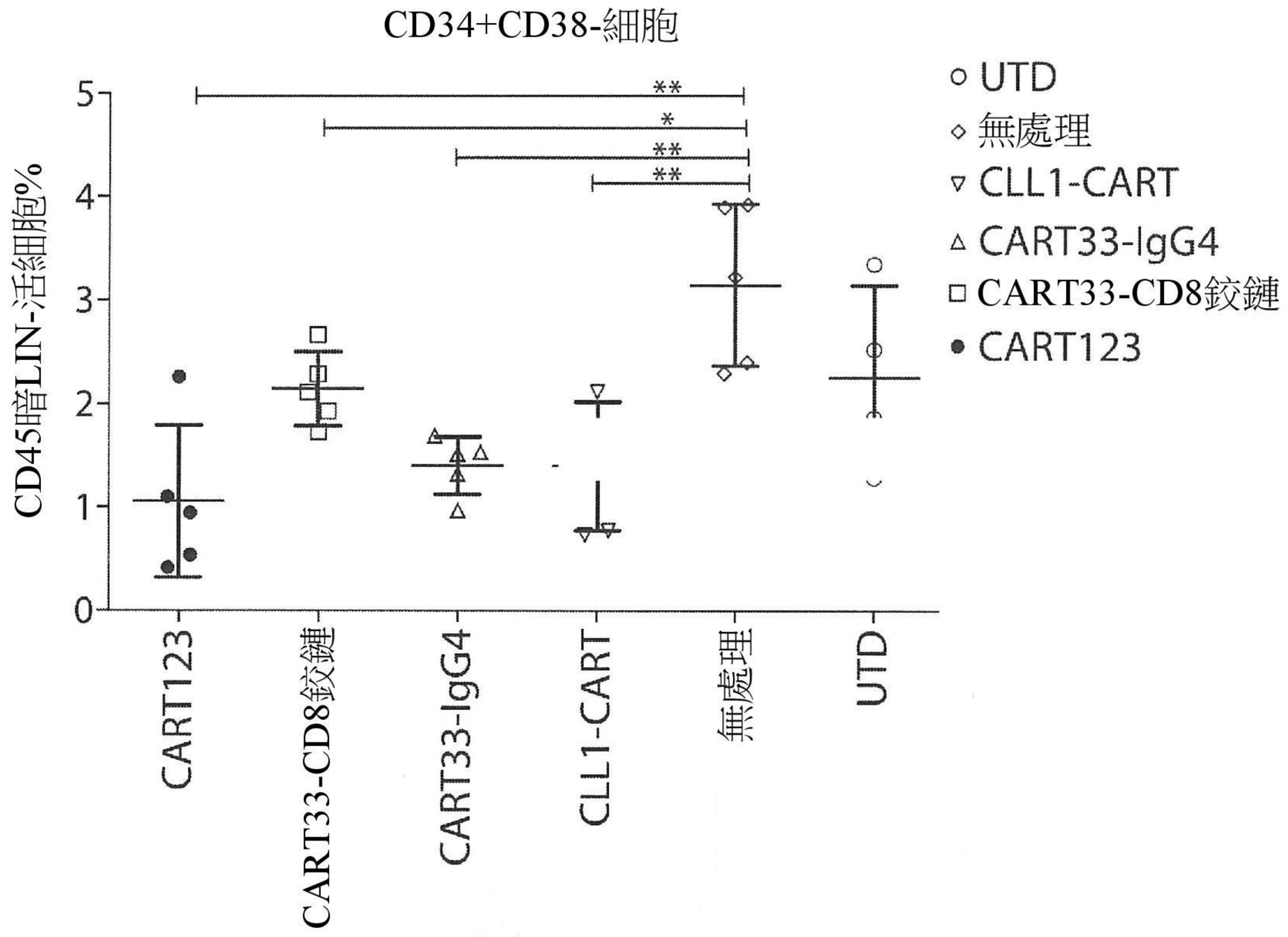

CD34+CD38-細胞
CD45暗LIN-活細胞%
0
1
2
3
4
5
**
*
**
**
CART123
CART33-CD8鉸鏈
CART33-IgG4
CLL1-CART
無處理
UTD
UTD
無處理
CLL1-CART
CART33-IgG4
CART33-CD8鉸鏈
CART123

圖18A

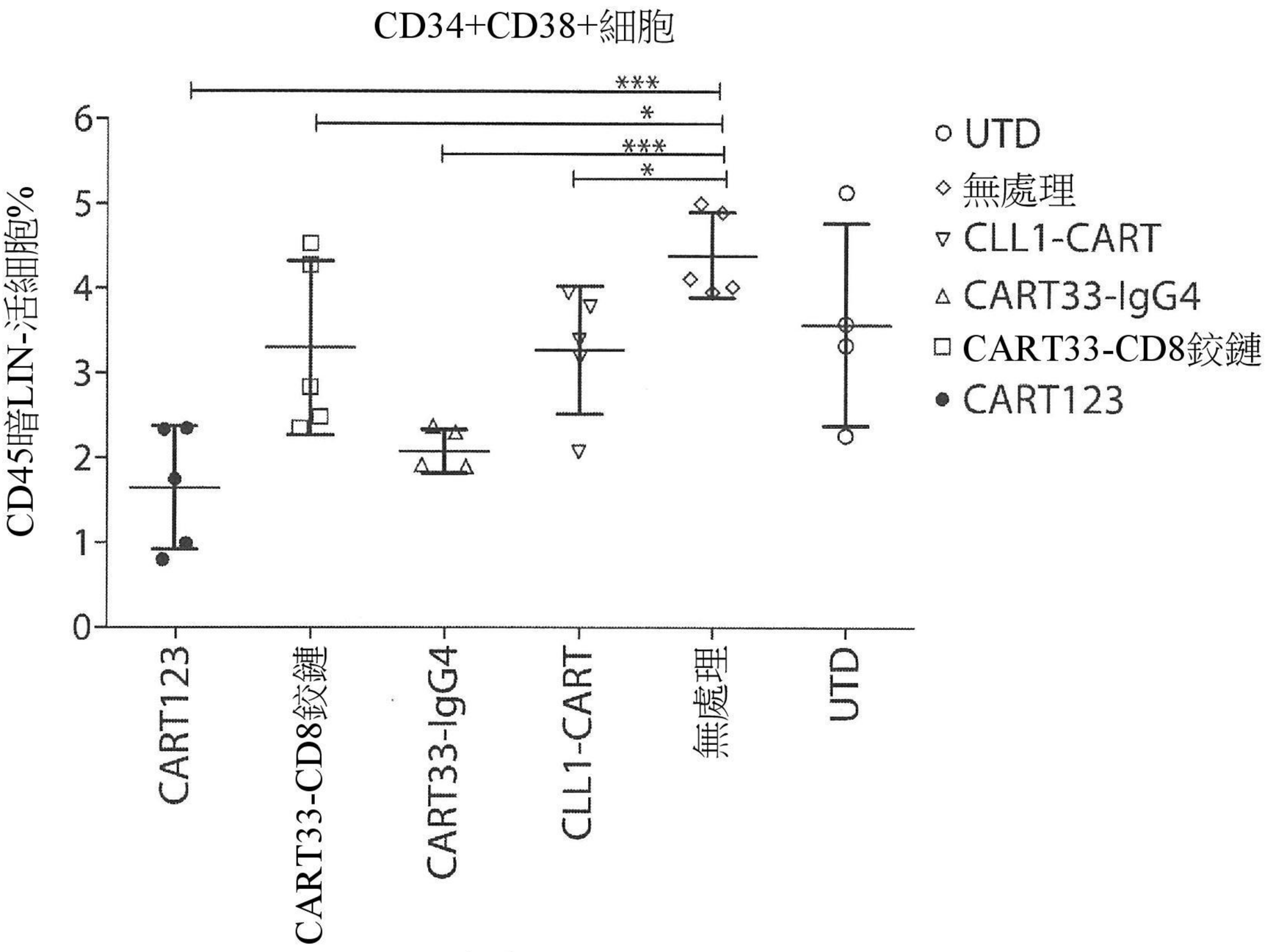
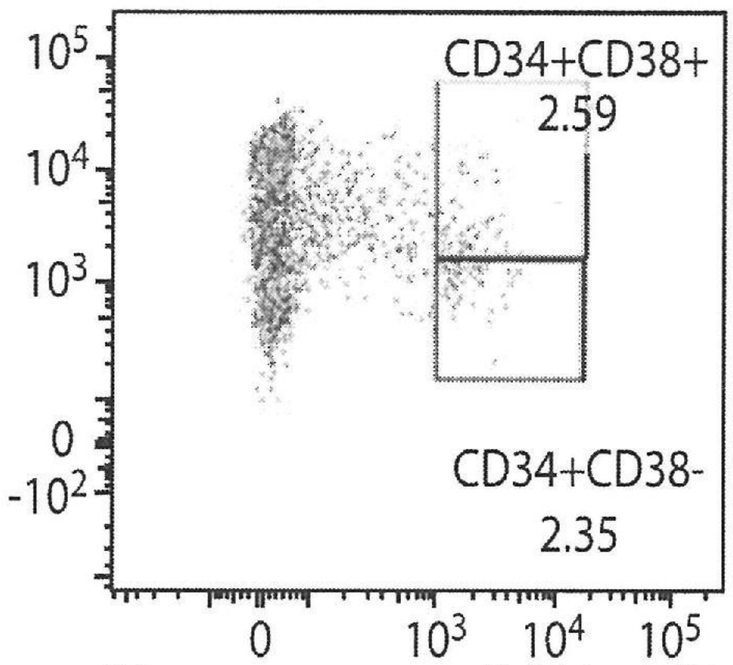
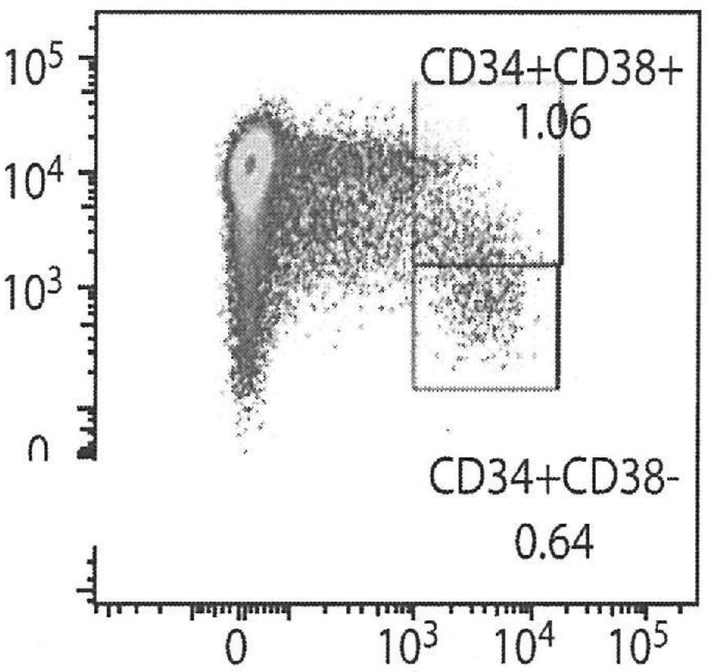

CD34+CD38+細胞
CD45暗LIN-活細胞%
0
1
2
3
4
5
6
***
*
***
*
CART123
CART33-CD8鉸鏈
CART33-IgG4
CLL1-CART
無處理
UTD
UTD
無處理
CLL1-CART
CART33-IgG4
CART33-CD8鉸鏈
CART123

圖18B



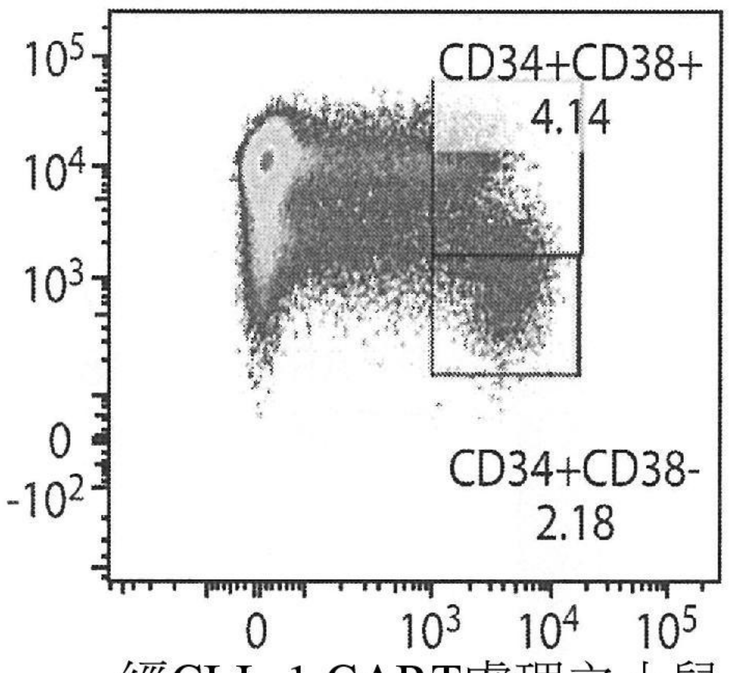
經CART33-IgG4處理之小鼠

圖19A



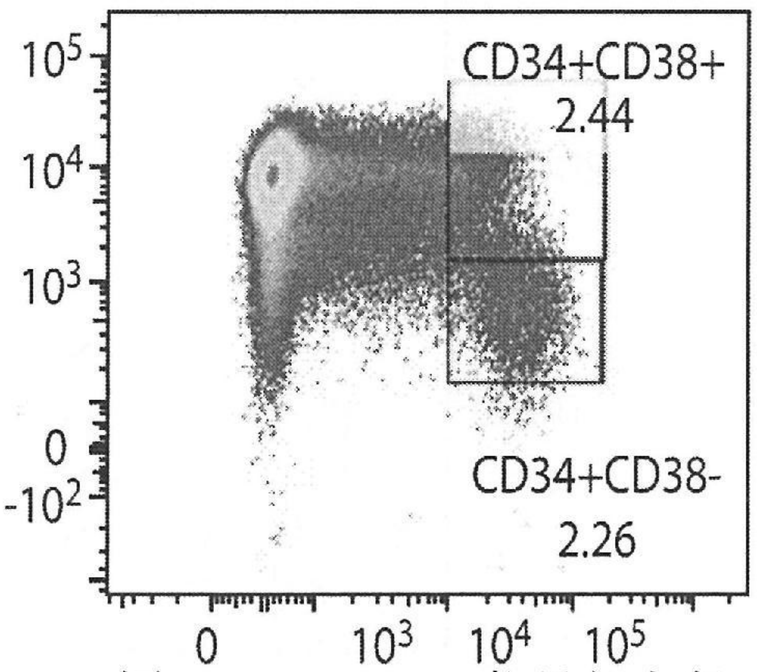
經CART123處理之小鼠

圖19B



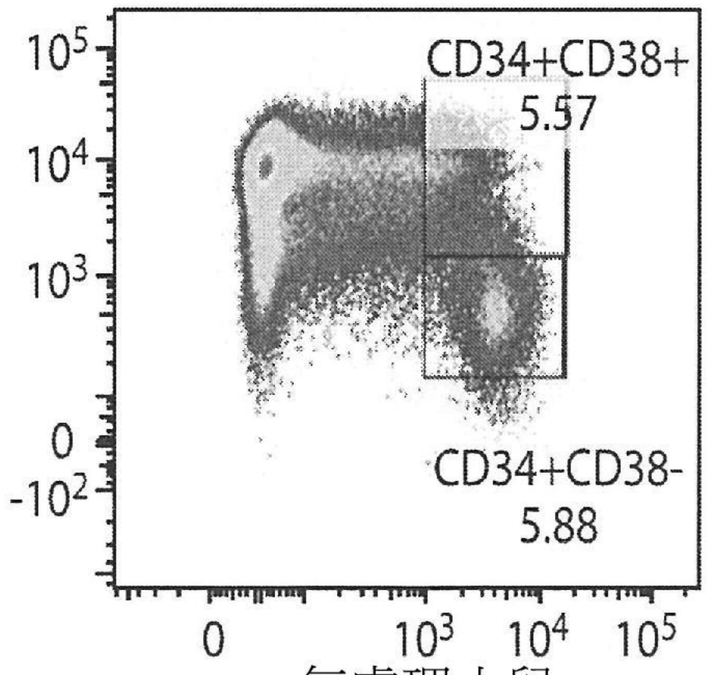
經CLL-1 CART處理之小鼠

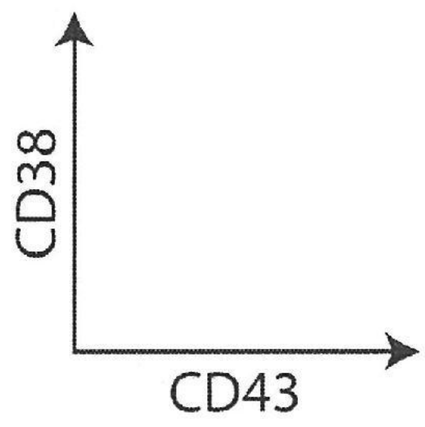
圖19C



經CART33-CD8處理之小鼠

圖19D





無處理小鼠

圖19E

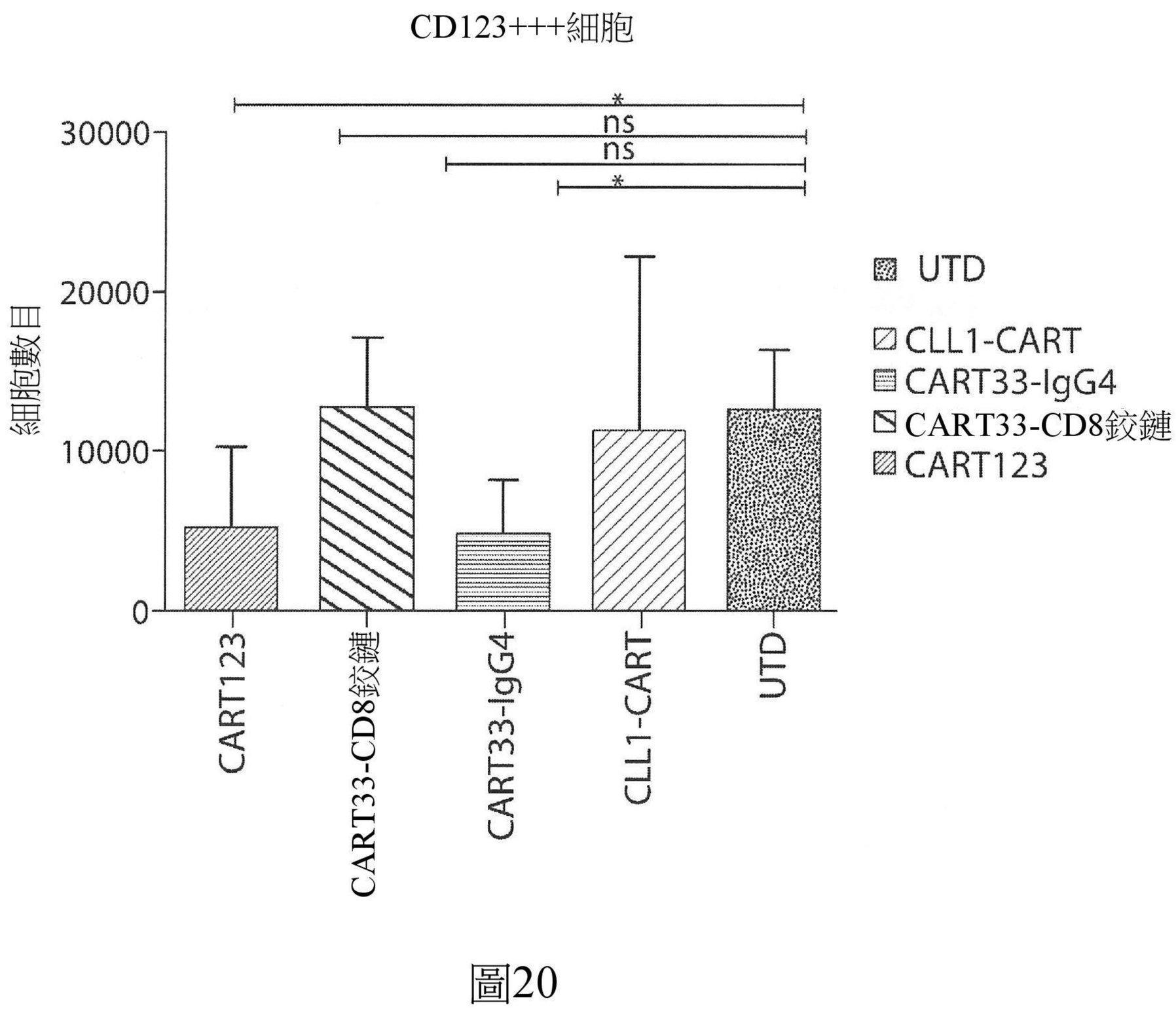
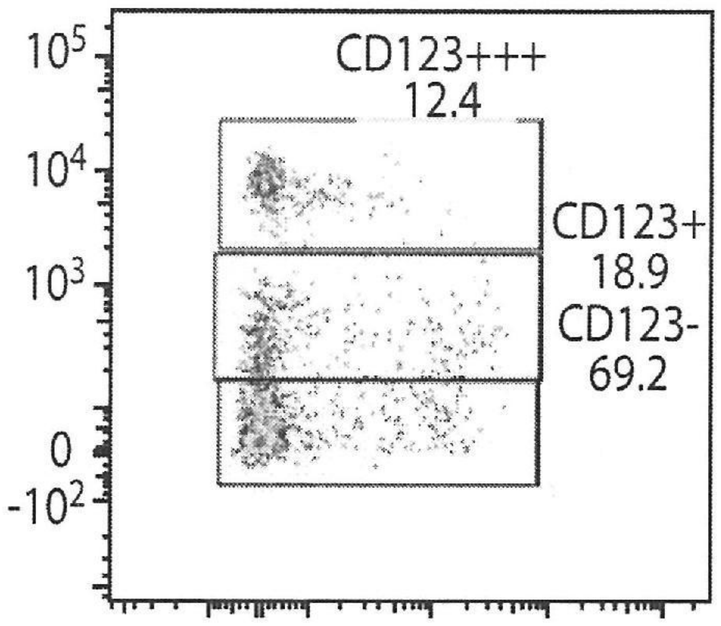
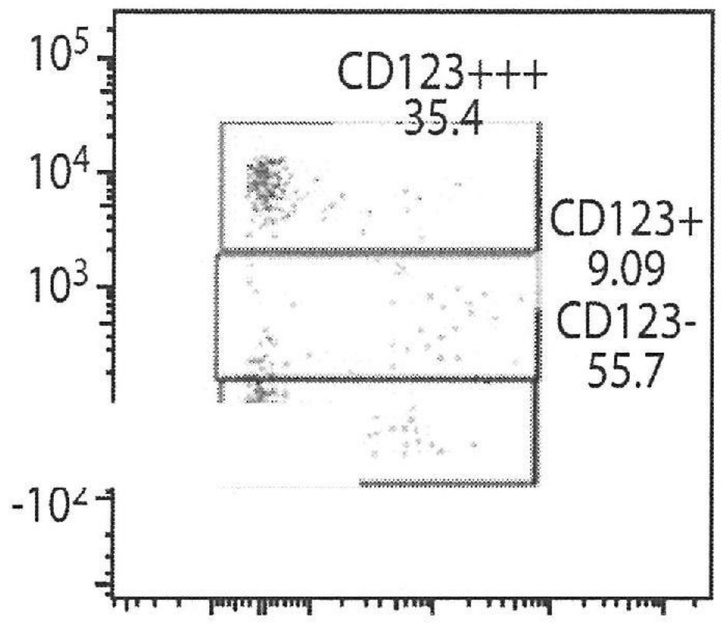

CD123+++細胞
*
ns
ns
*
30000
20000
10000
0
細胞數目
CART123
CART33-CD8鉸鏈
CART33-IgG4
CLL1-CART
UTD
UTD
CLL1-CART
CART33-IgG4
CART33-CD8鉸鏈
CART123

圖20



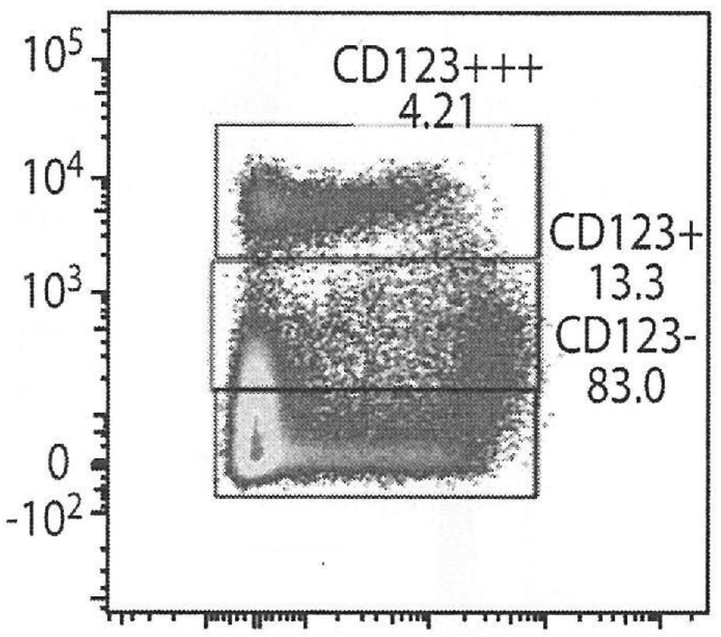
經CART33-IgG4處理之小鼠

圖21A



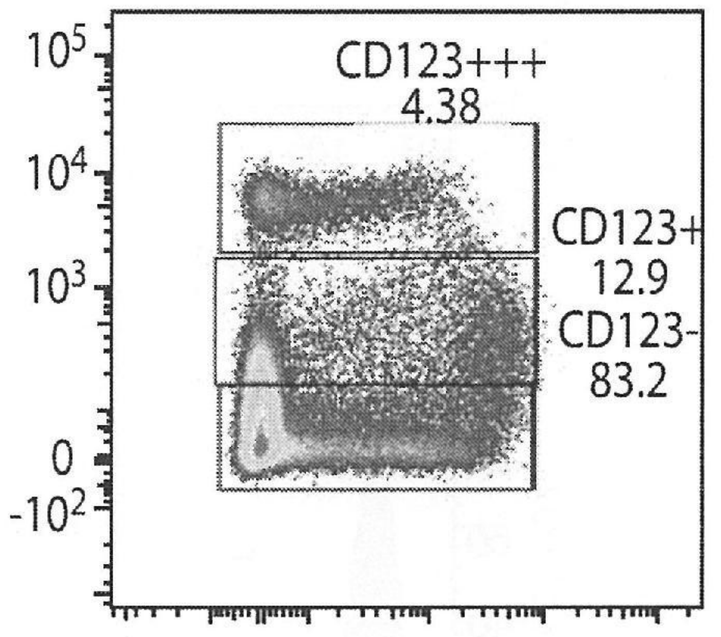
經CART123處理之小鼠

圖21B



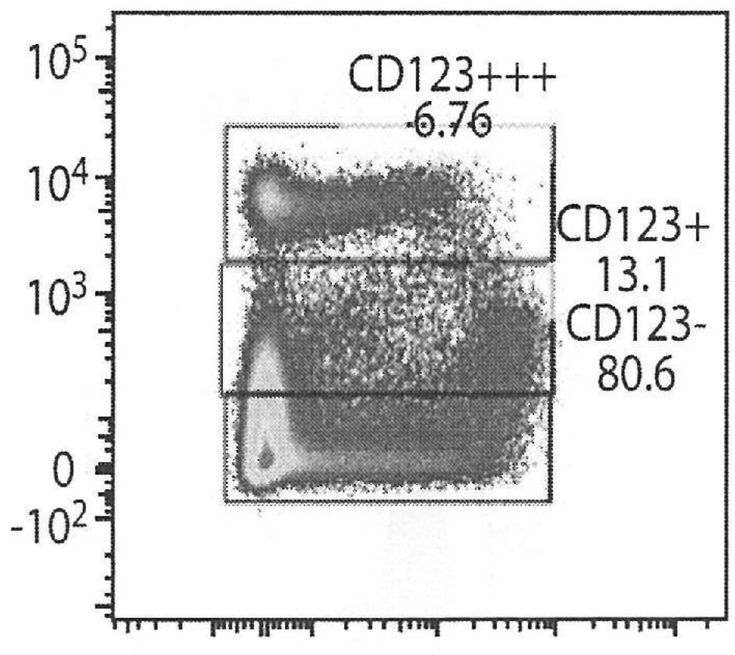
經CLL-1 CART處理之小鼠

圖21C



經CART33-CD8處理之小鼠

圖21D



無處理小鼠

圖21E

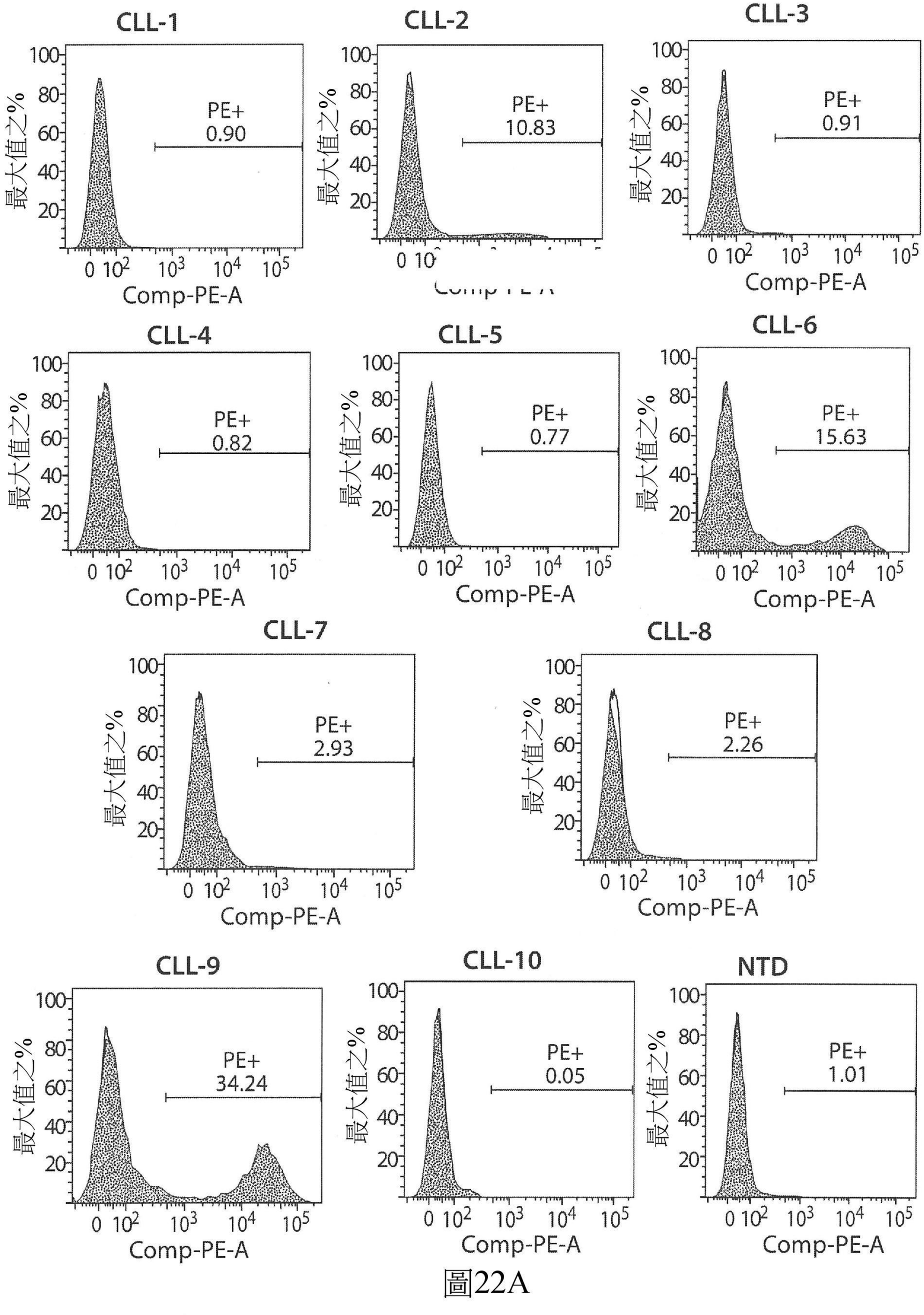

CLL-1
PE+
0.90
CLL-2
PE+
10.83
CLL-3
PE+
0.91
CLL-4
PE+
0.82
CLL-5
PE+
0.77
CLL-6
PE+
15.63
CLL-7
PE+
2.93
CLL-8
PE+
2.26
CLL-9
PE+
34.24
CLL-10
PE+
0.05
NTD
PE+
1.01
最大值之%
Comp-PE-A

圖22A

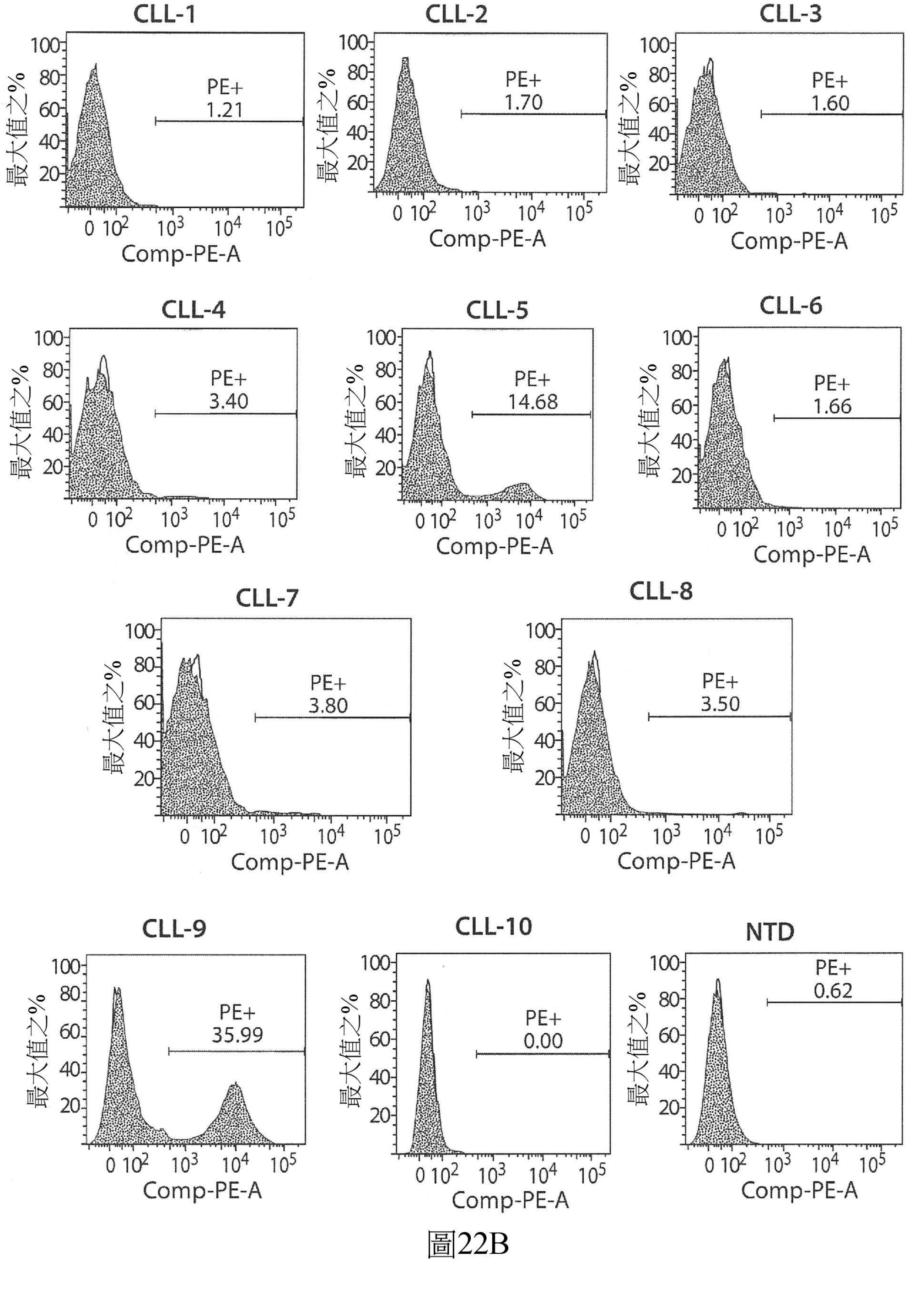

CLL-1
PE+
1.21
CLL-2
PE+
1.70
CLL-3
PE+
1.60
CLL-4
PE+
3.40
CLL-5
PE+
14.68
CLL-6
PE+
1.66
CLL-7
PE+
3.80
CLL-8
PE+
3.50
CLL-9
PE+
35.99
CLL-10
PE+
0.00
NTD
PE+
0.62
最大值之%
Comp-PE-A
0 10^2 10^3 10^4 10^5
20 40 60 80 100

圖22B

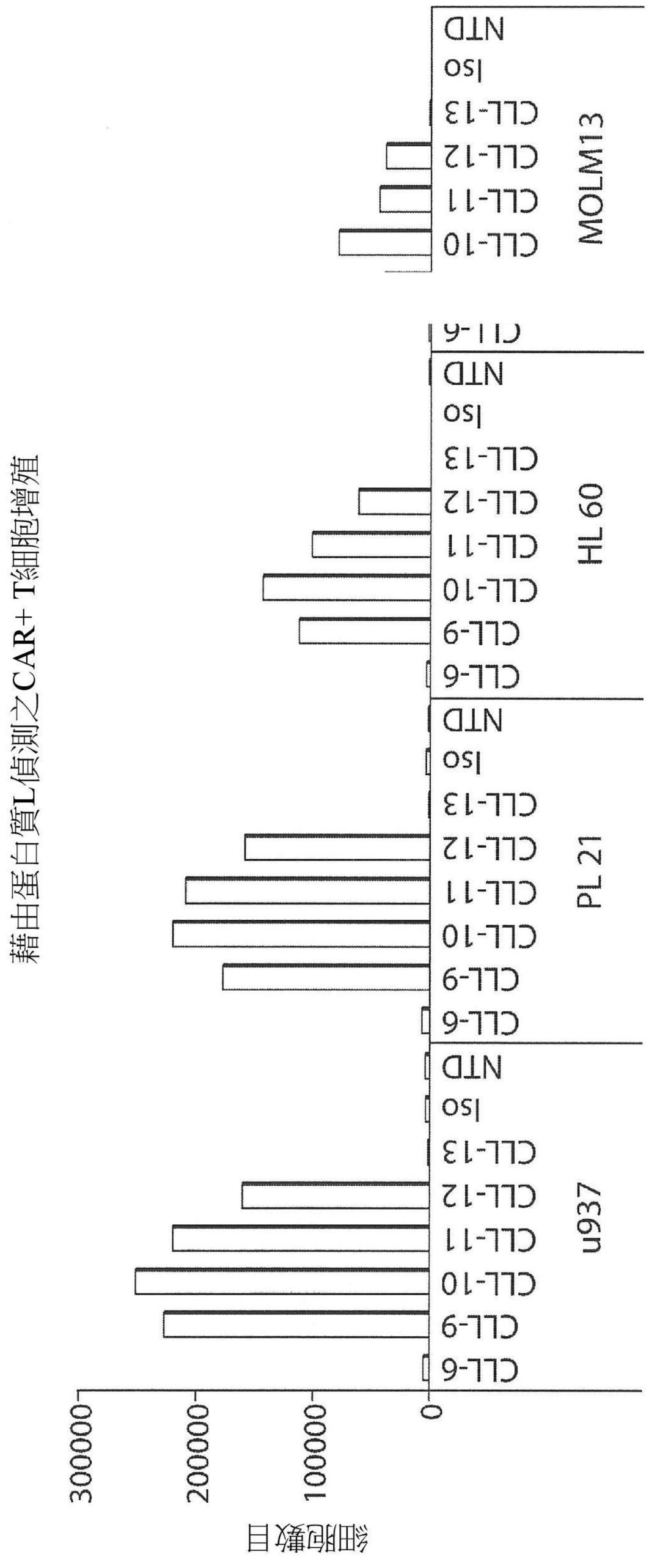

藉由蛋白質L偵測之CAR+ T細胞增殖
細胞數目
300000
200000
100000
0
MOLM13
HL 60
PL 21
u937
NTD
Iso
CLL-13
CLL-12
CLL-11
CLL-10
CLL-9
CLL-6

圖23A

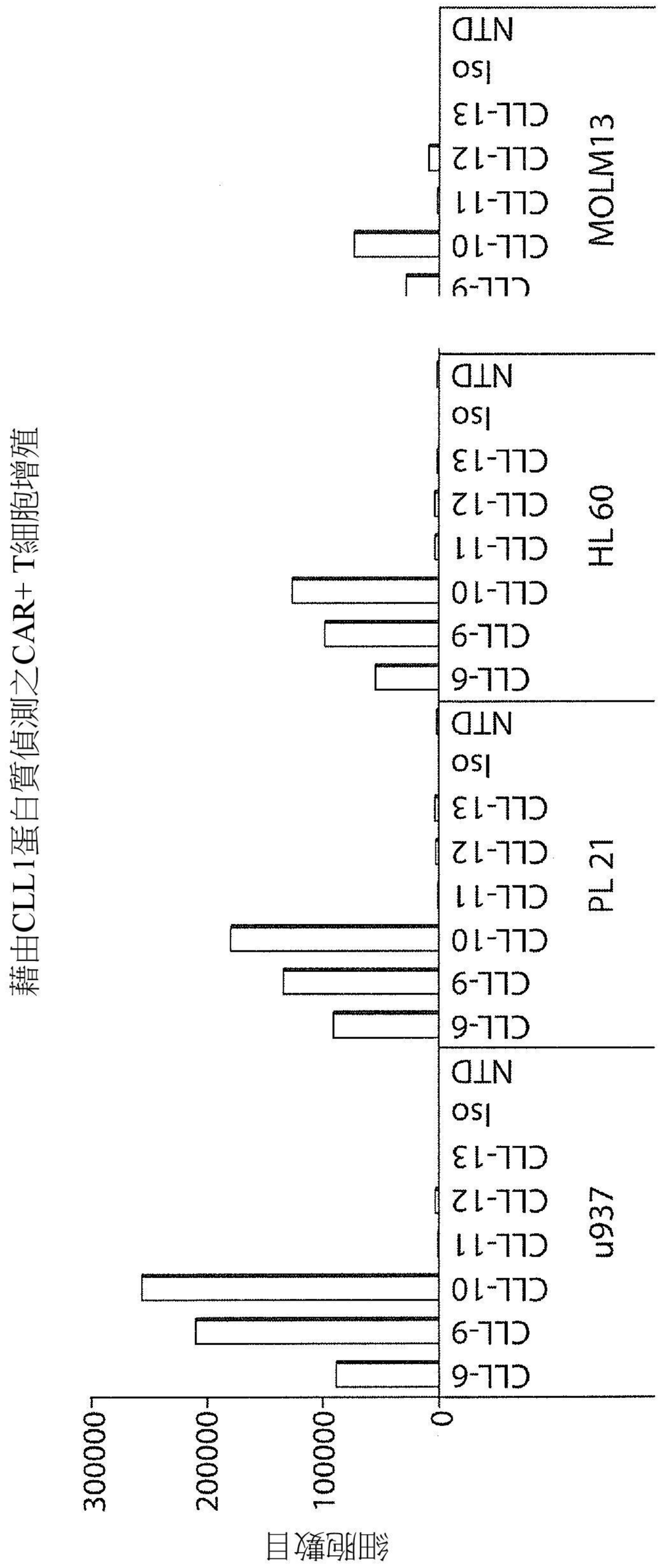

藉由CLL1蛋白質偵測之CAR+ T細胞增殖
細胞數目
300000
200000
100000
0
CLL-6
CLL-9
CLL-10
CLL-11
CLL-12
CLL-13
Iso
NTD
u937
CLL-6
CLL-9
CLL-10
CLL-11
CLL-12
CLL-13
Iso
NTD
PL 21
CLL-6
CLL-9
CLL-10
CLL-11
CLL-12
CLL-13
Iso
NTD
HL 60
CLL-9
CLL-10
CLL-11
CLL-12
CLL-13
Iso
NTD
MOLM13

圖23B

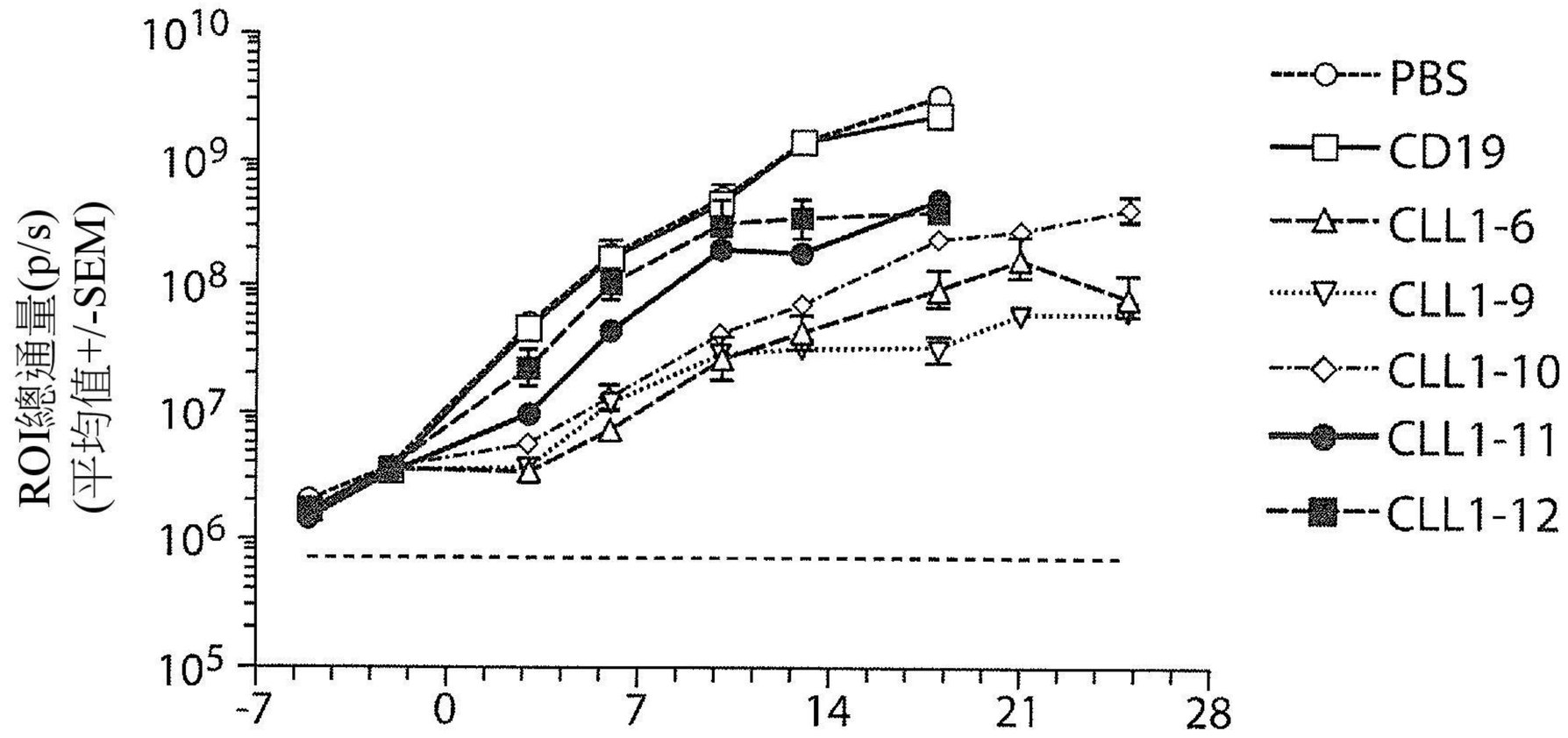

ROI總通量(p/s)
(平均值+/-SEM)
10^{10}
10^{9}
10^{8}
10^{7}
10^{6}
10^{5}
-7
0
7
14
21
28
給與CAR T細胞後之天數
PBS
CD19
CLL1-6
CLL1-9
CLL1-10
CLL1-11
CLL1-12

圖24

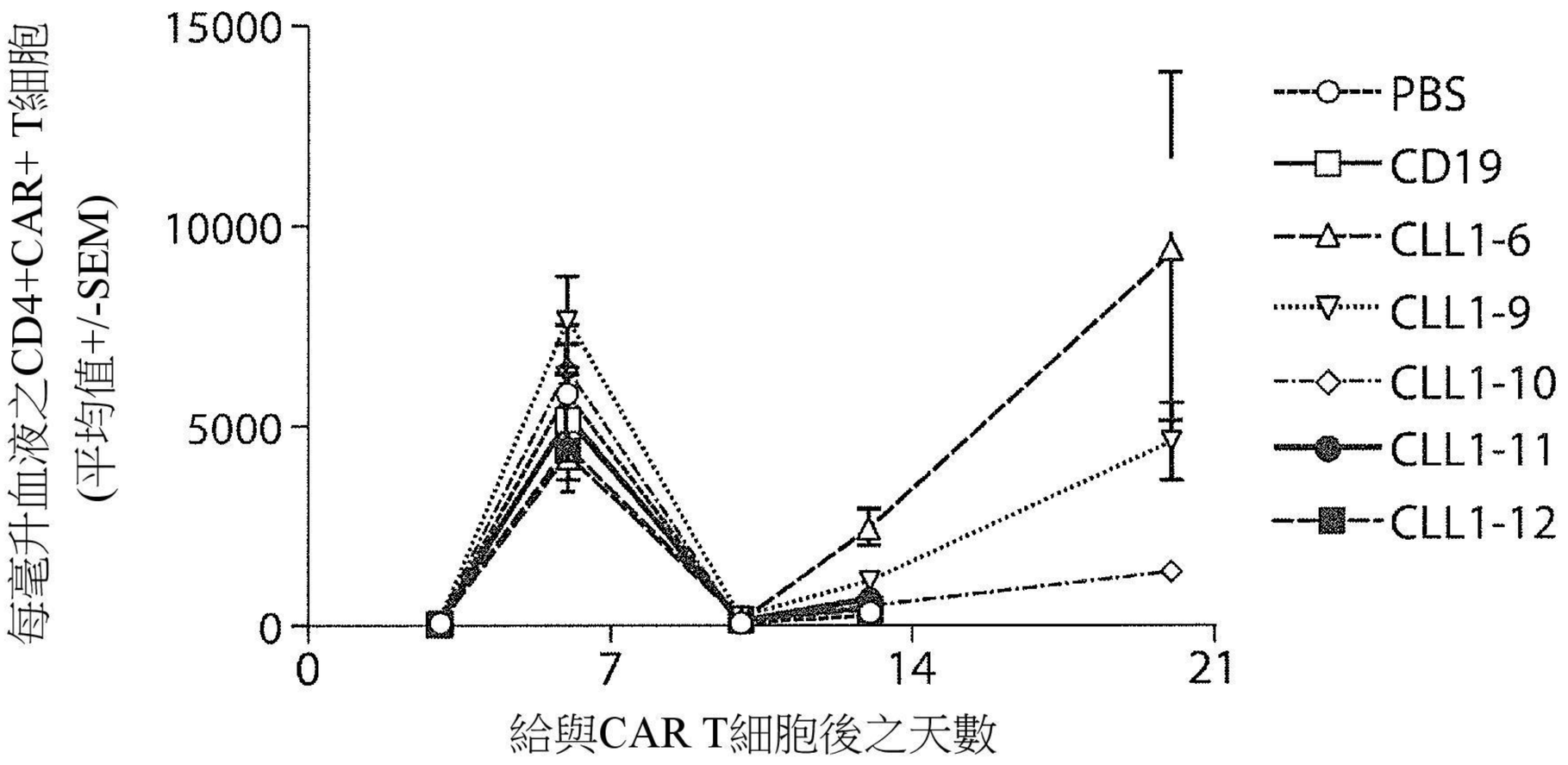

每毫升血液之CD4+CAR+ T細胞
(平均值+/-SEM)
15000
10000
5000
0
0
7
14
21
給與CAR T細胞後之天數
PBS
CD19
CLL1-6
CLL1-9
CLL1-10
CLL1-11
CLL1-12

圖25A

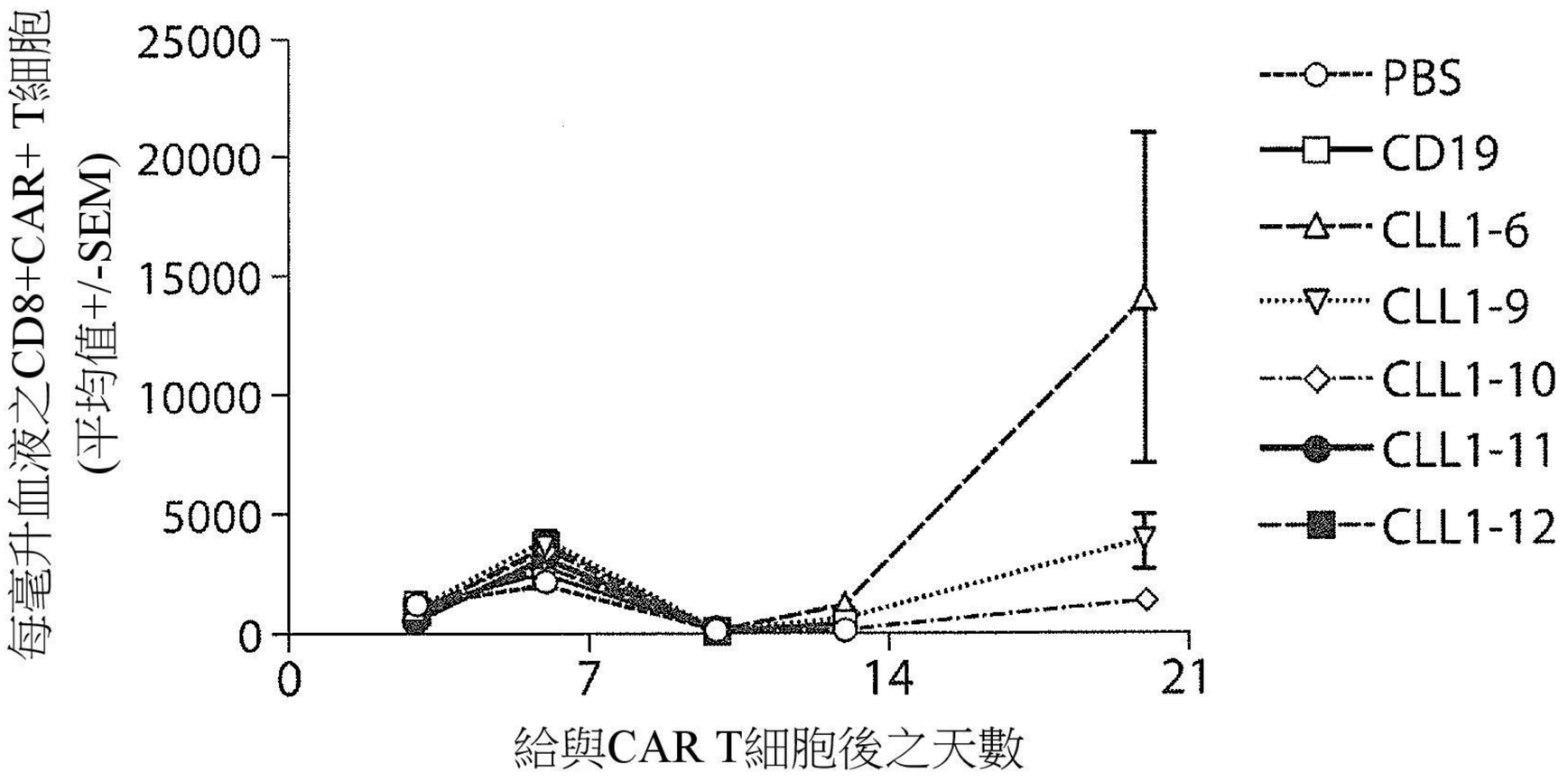

每毫升血液之CD8+CAR+ T細胞
(平均值+/-SEM)
25000
20000
15000
10000
5000
0
0
7
14
21
給與CAR T細胞後之天數
PBS
CD19
CLL1-6
CLL1-9
CLL1-10
CLL1-11
CLL1-12

圖25B

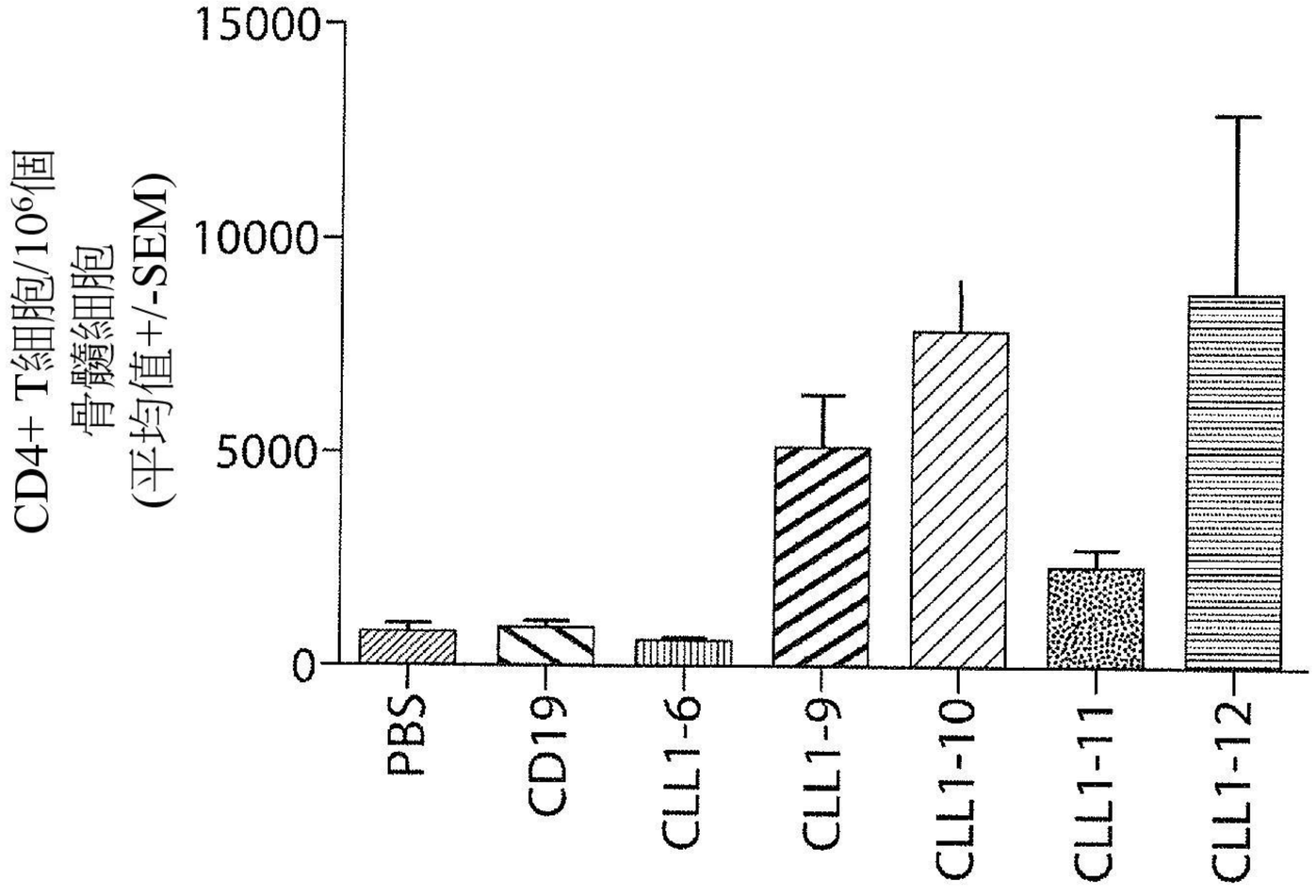

CD4+ T細胞/10⁶個
骨髓細胞
(平均值+/-SEM)
15000
10000
5000
0
PBS
CD19
CLL1-6
CLL1-9
CLL1-10
CLL1-11
CLL1-12

圖26A

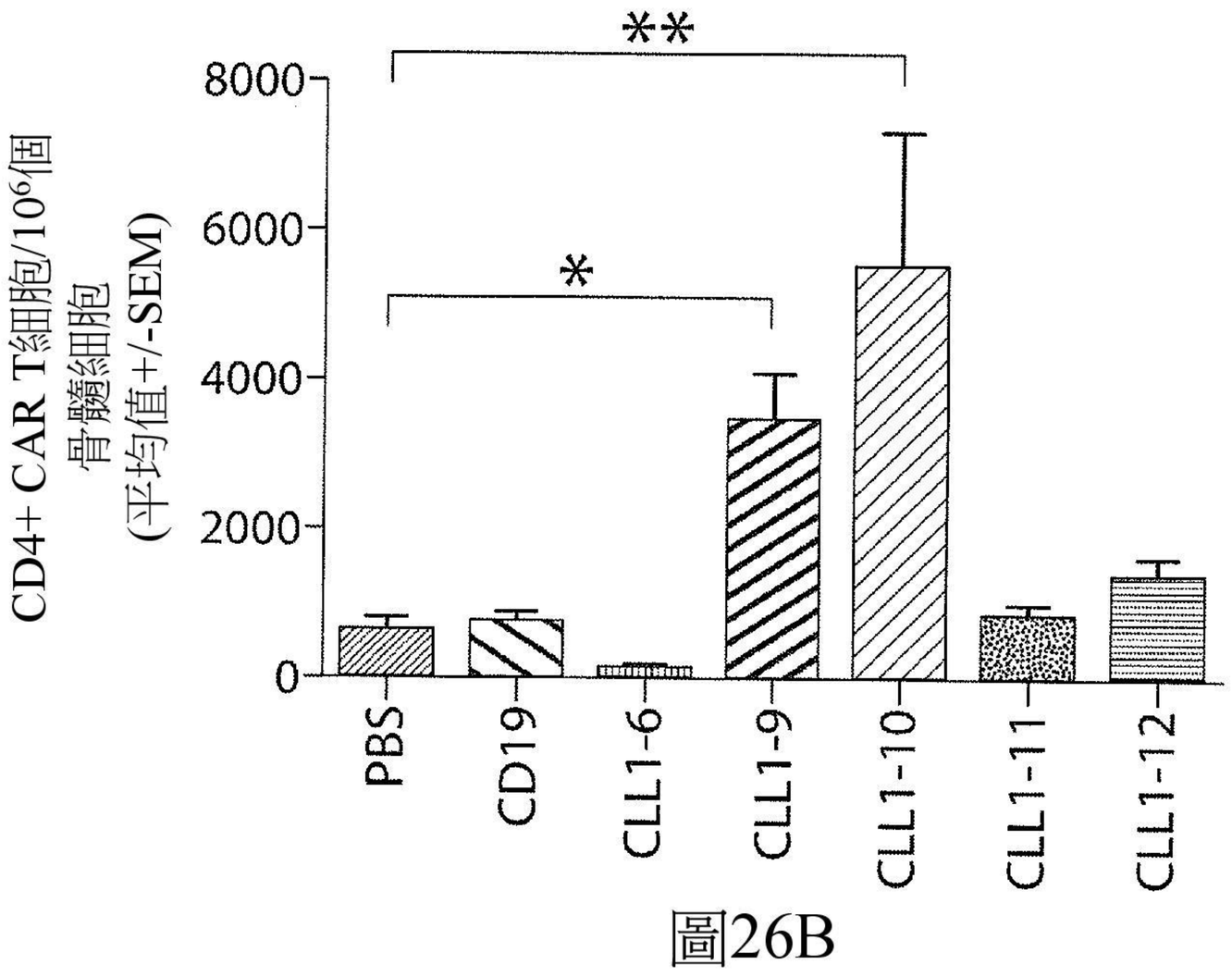

**
*
CD4+ CAR T細胞/10⁶個
骨髓細胞
(平均值+/-SEM)
8000
6000
4000
2000
0
PBS
CD19
CLL1-6
CLL1-9
CLL1-10
CLL1-11
CLL1-12

圖26B

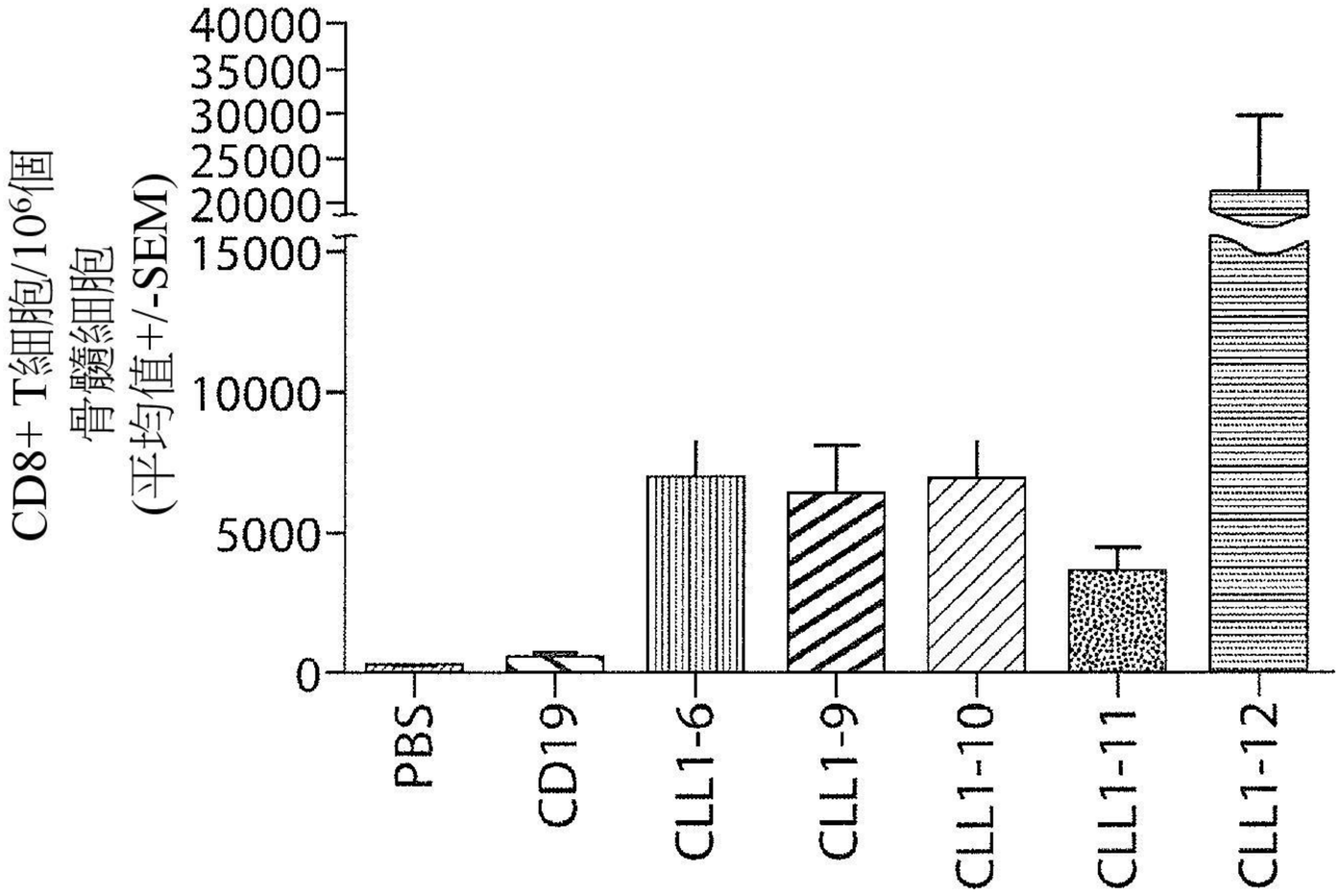

CD8+ T細胞/10⁶個
骨髓細胞
(平均值+/-SEM)
40000
35000
30000
25000
20000
15000
10000
5000
0
PBS
CD19
CLL1-6
CLL1-9
CLL1-10
CLL1-11
CLL1-12

圖26C

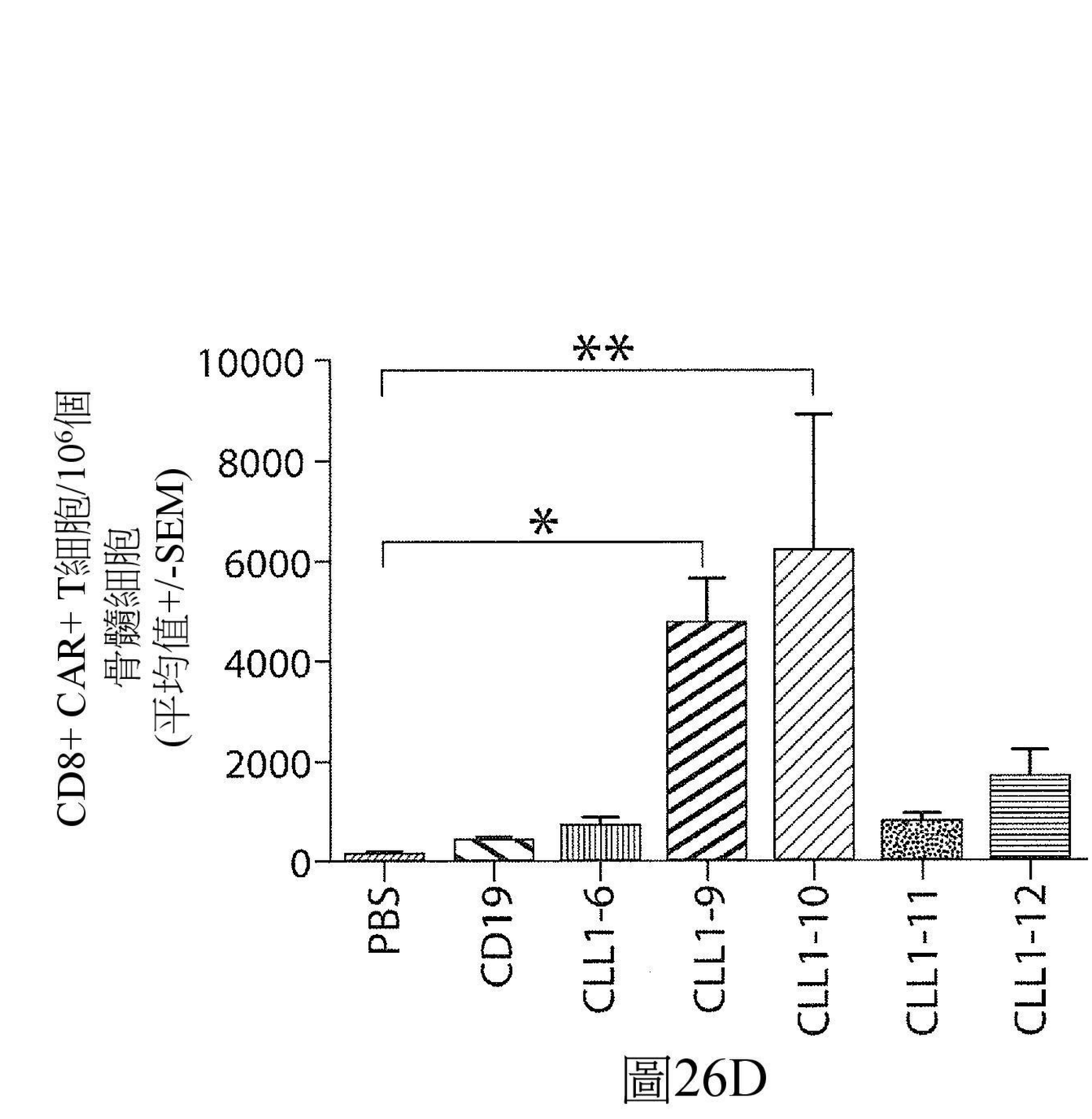

CD8+ CAR+ T細胞/10⁶個
骨髓細胞
(平均值+/-SEM)
10000
8000
6000
4000
2000
0
*
**
PBS
CD19
CLL1-6
CLL1-9
CLL1-10
CLL1-11
CLL1-12

圖26D

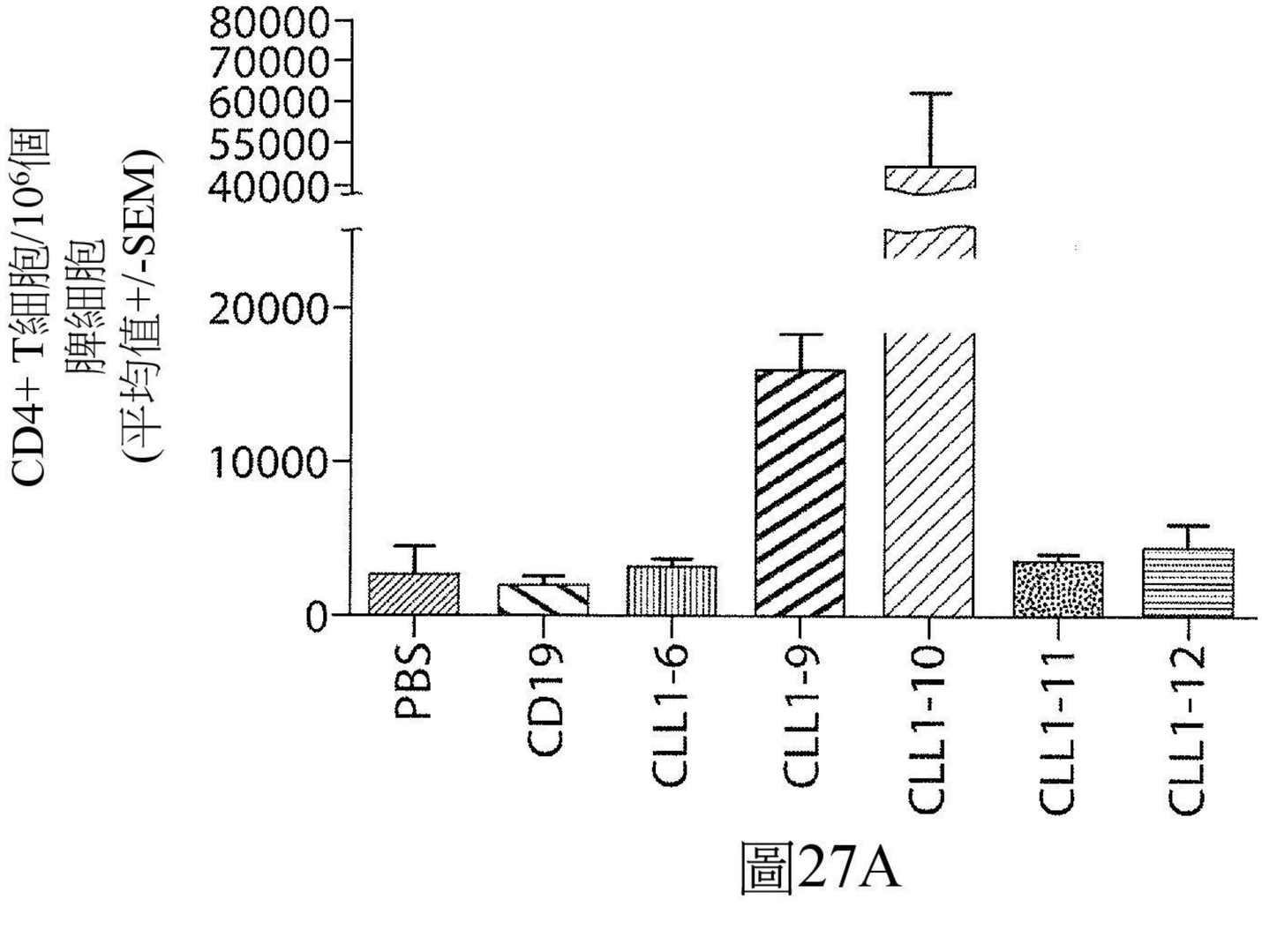

CD4+ T細胞/10⁶個
脾細胞
(平均值+/-SEM)
80000
70000
60000
55000
40000
20000
10000
0
PBS
CD19
CLL1-6
CLL1-9
CLL1-10
CLL1-11
CLL1-12

圖27A

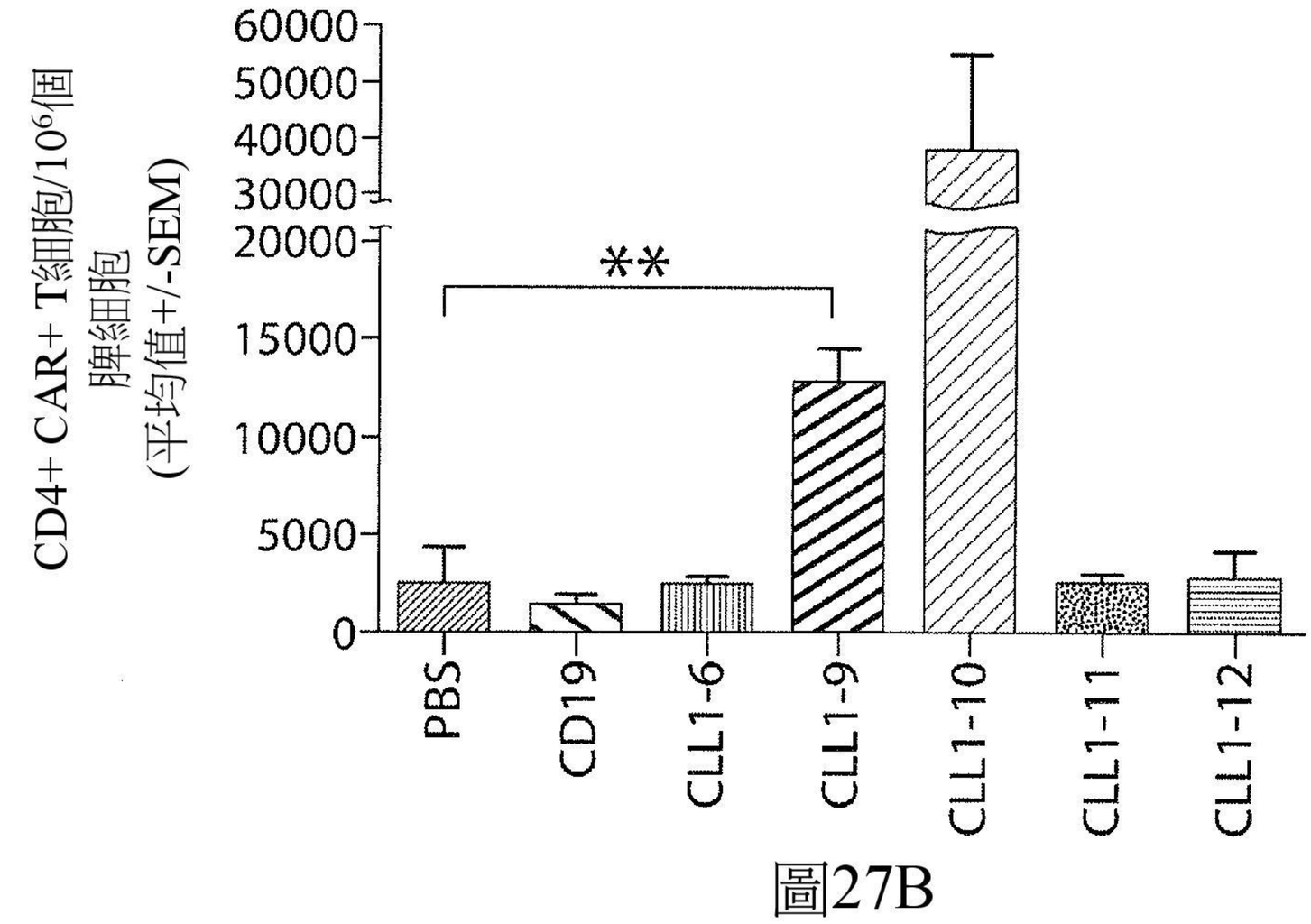

CD4+ CAR+ T細胞/10⁶個
脾細胞
(平均值+/-SEM)
60000
50000
40000
30000
20000
15000
10000
5000
0
**
PBS
CD19
CLL1-6
CLL1-9
CLL1-10
CLL1-11
CLL1-12

圖27B

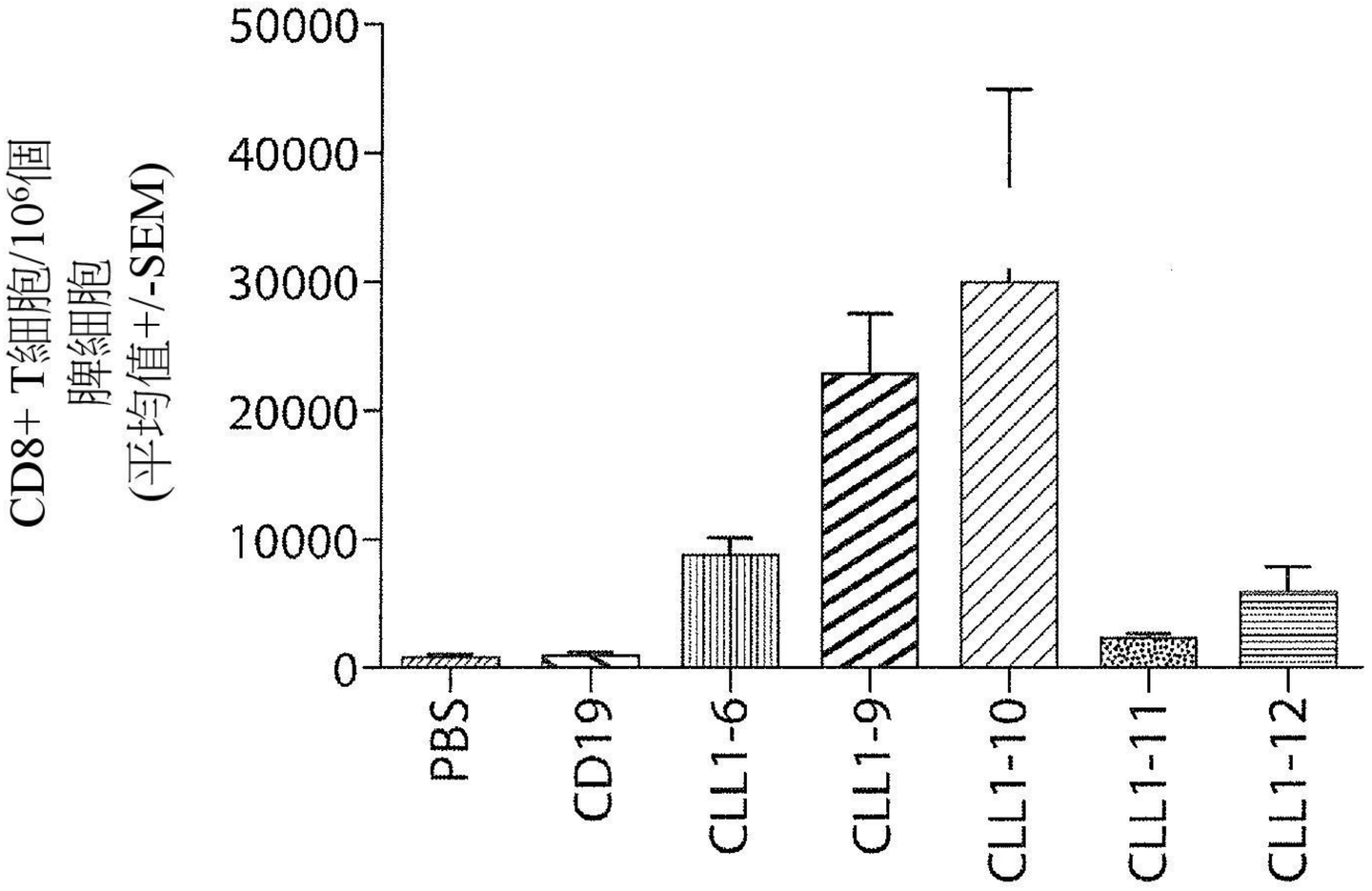

CD8+ T細胞/10⁶個
脾細胞
(平均值+/-SEM)
50000
40000
30000
20000
10000
0
PBS
CD19
CLL1-6
CLL1-9
CLL1-10
CLL1-11
CLL1-12

圖27C

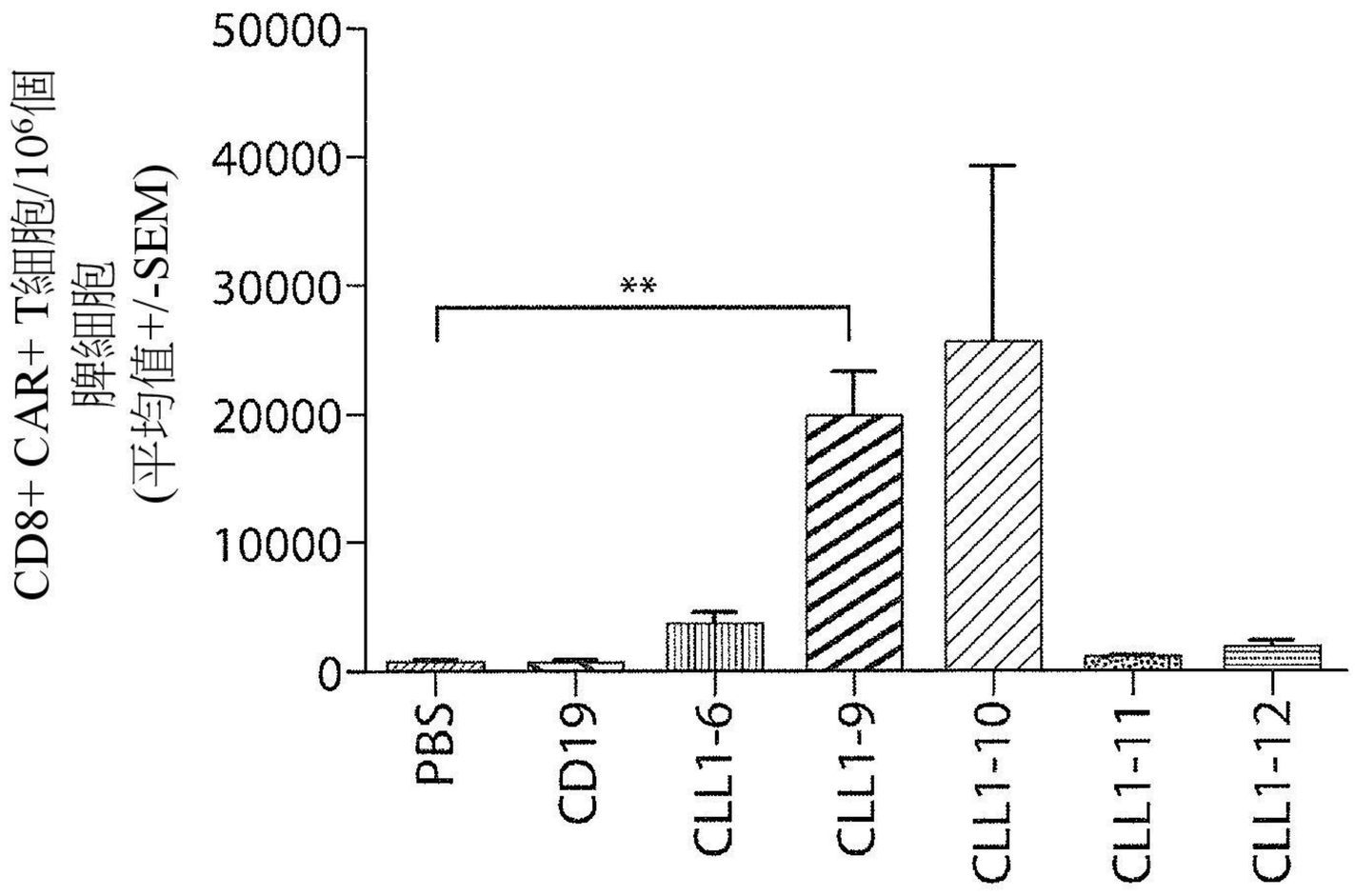

CD8+ CAR+ T細胞/10⁶個
脾細胞
(平均值+/-SEM)
50000
40000
30000
20000
10000
0
**
PBS
CD19
CLL1-6
CLL1-9
CLL1-10
CLL1-11
CLL1-12

圖27D

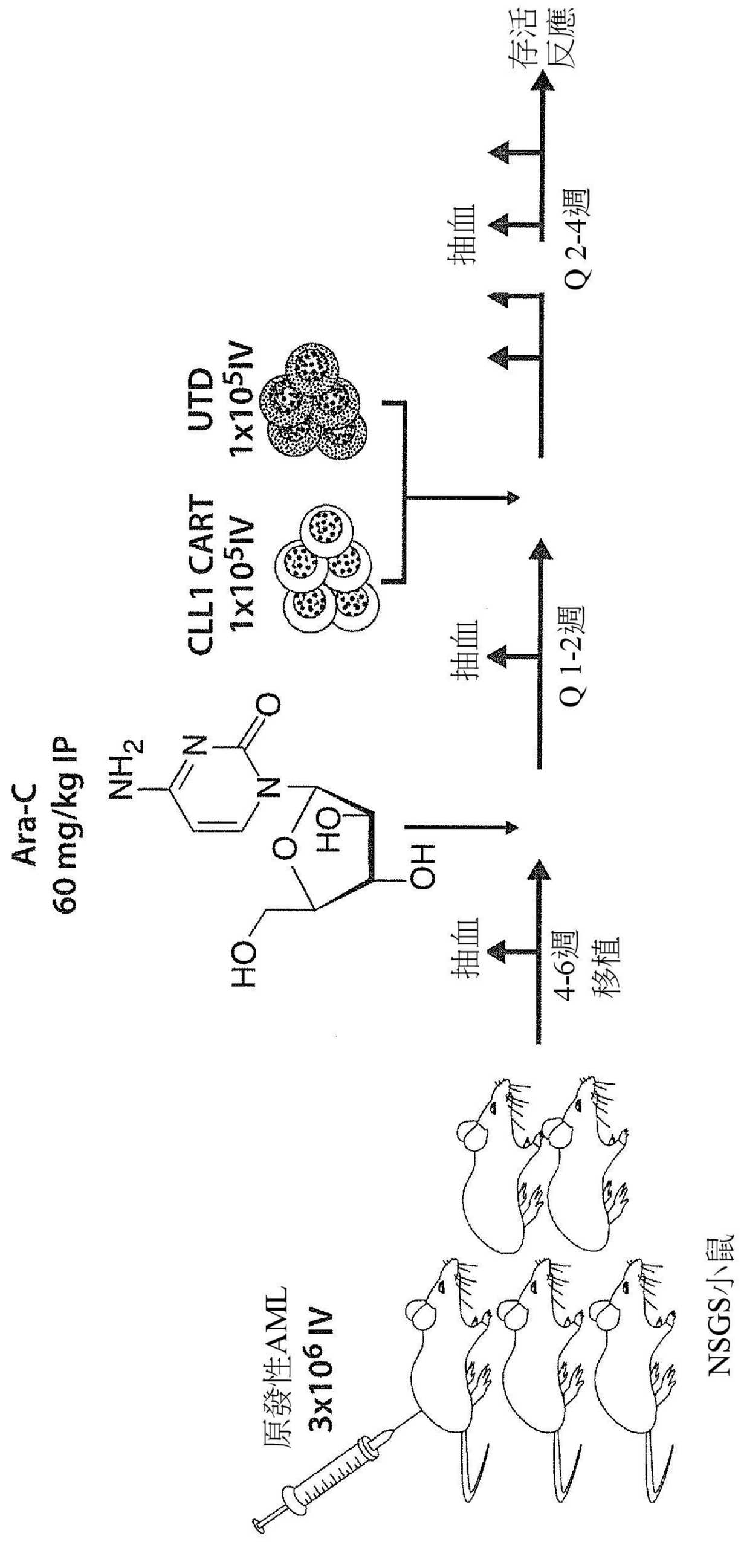

原發性AML
3x10⁶ IV
NSGS小鼠
Ara-C
60 mg/kg IP
4-6週
移植
抽血
Q 1-2週
CLL1 CART
1x10⁵IV
UTD
1x10⁵IV
Q 2-4週

圖28A

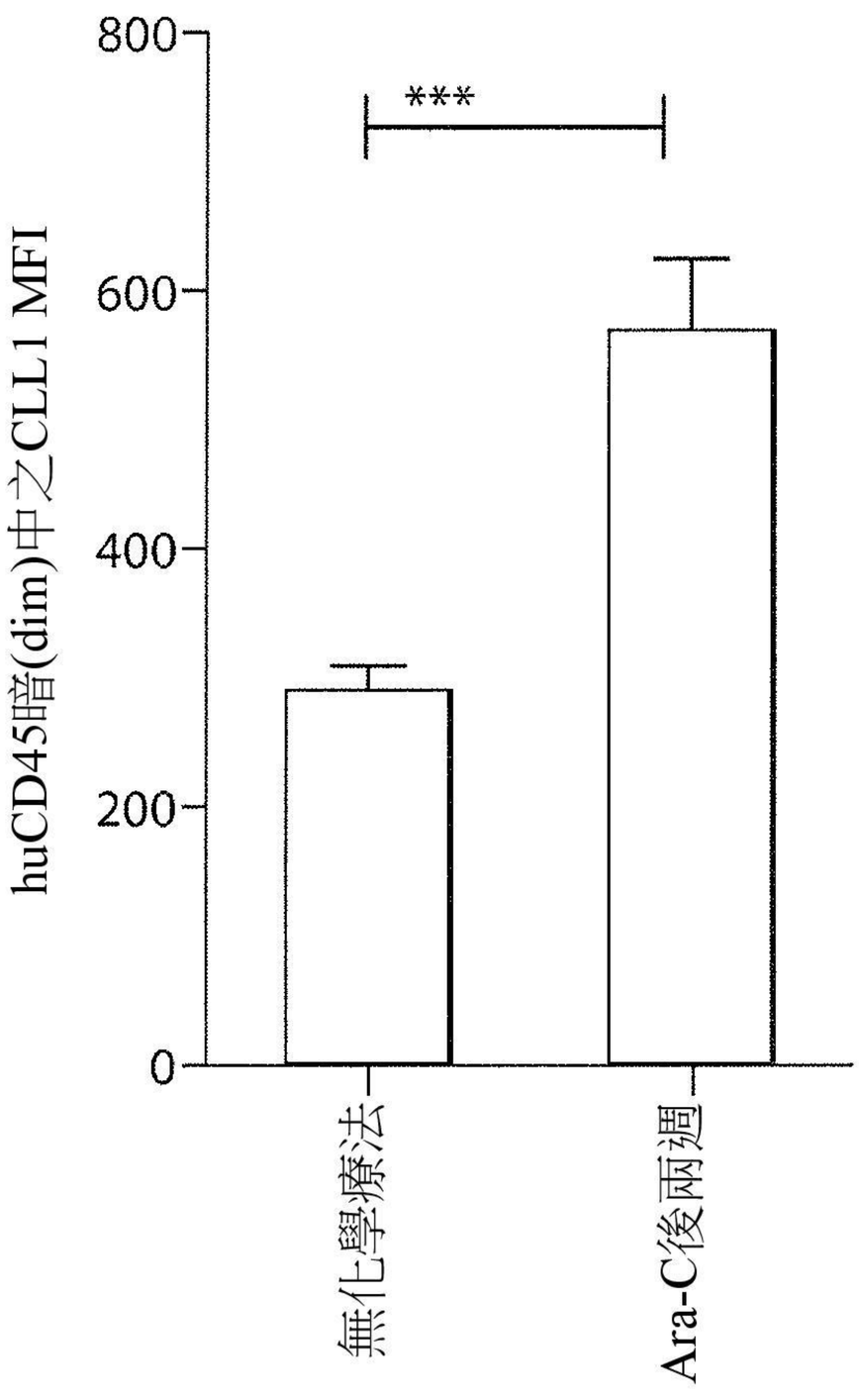


圖28B

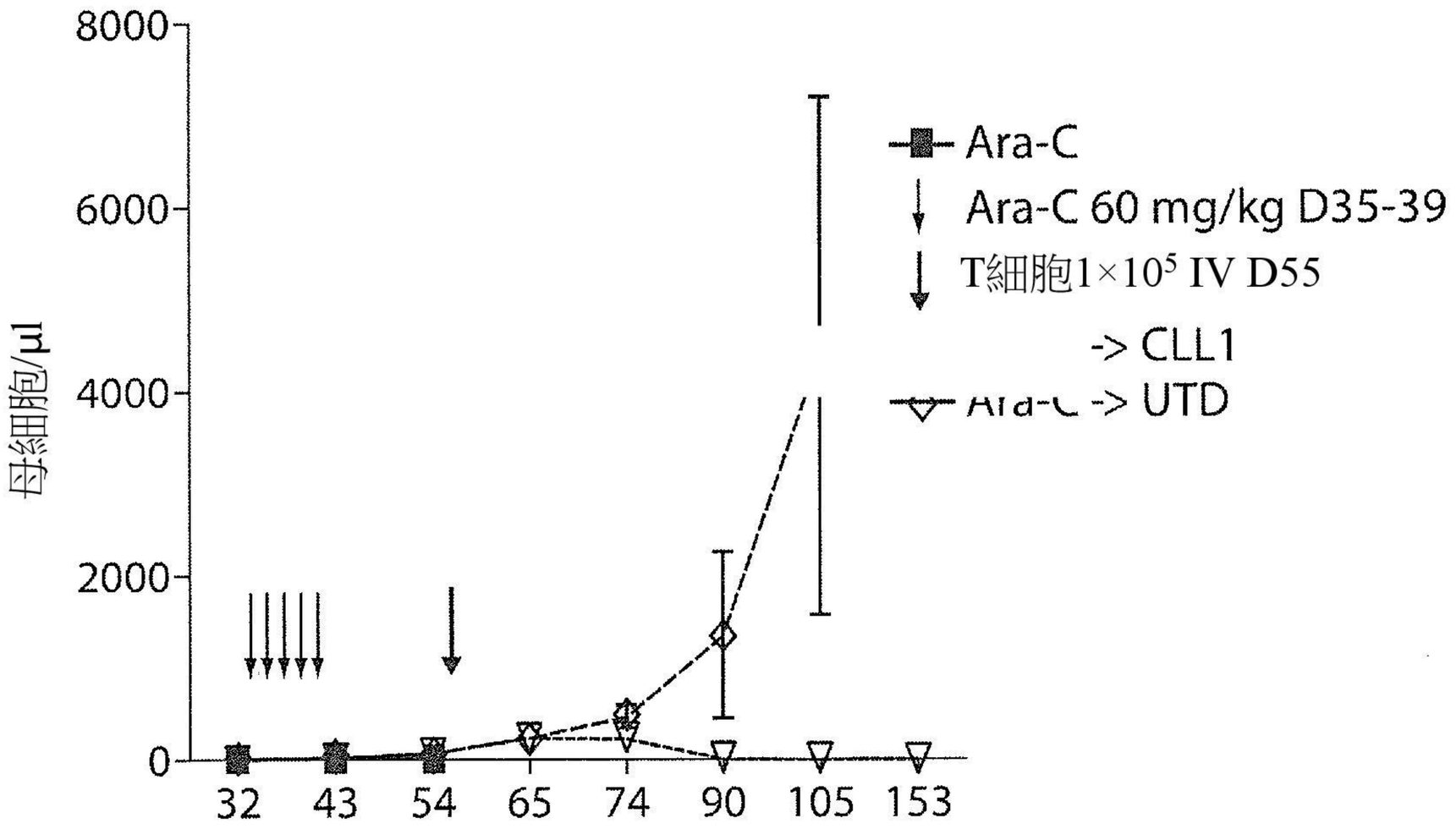

8000
6000
4000
2000
0
母細胞/μl
32
43
54
65
74
90
105
153
注射AML後之天數
Ara-C
Ara-C 60 mg/kg D35-39
T細胞1×10^5 IV D55
-> CLL1
-> UTD

圖28C

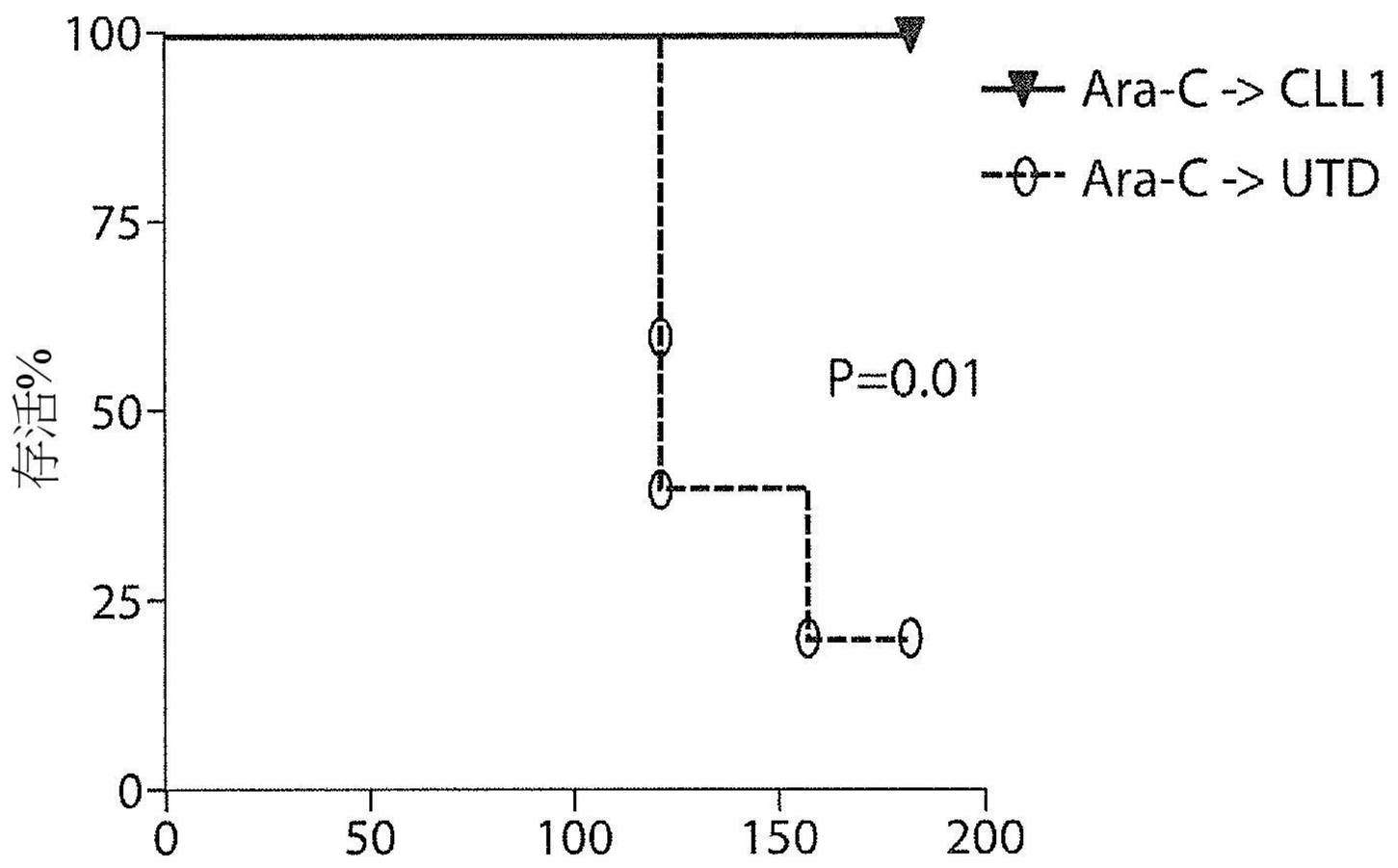
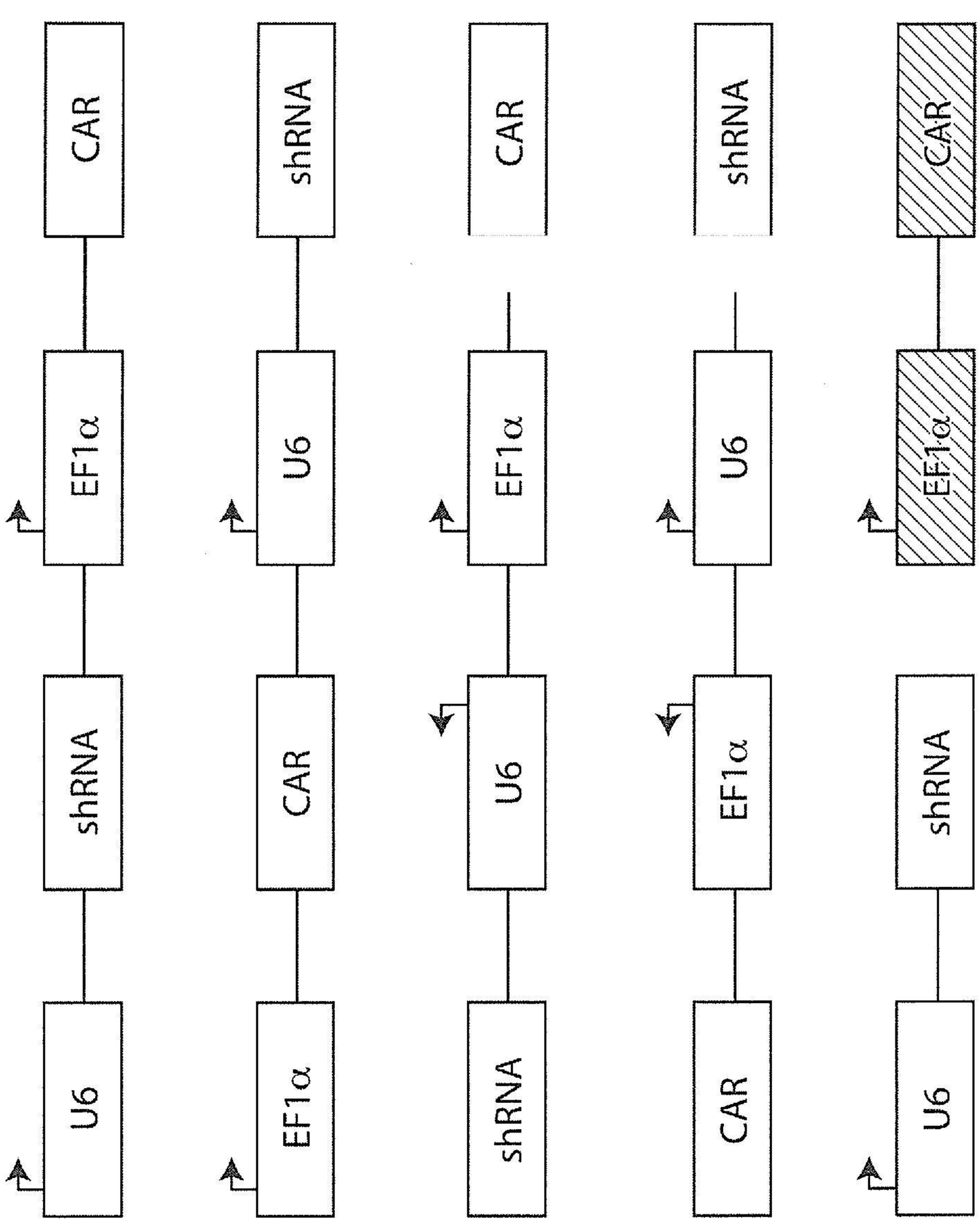

100
75
50
25
0
存活%
0
50
100
150
200
P=0.01
Ara-C -> CLL1
Ara-C -> UTD
注射AML後之天數

圖28D



載體構築體

圖29A 圖29B 圖29C 圖29D 圖29E

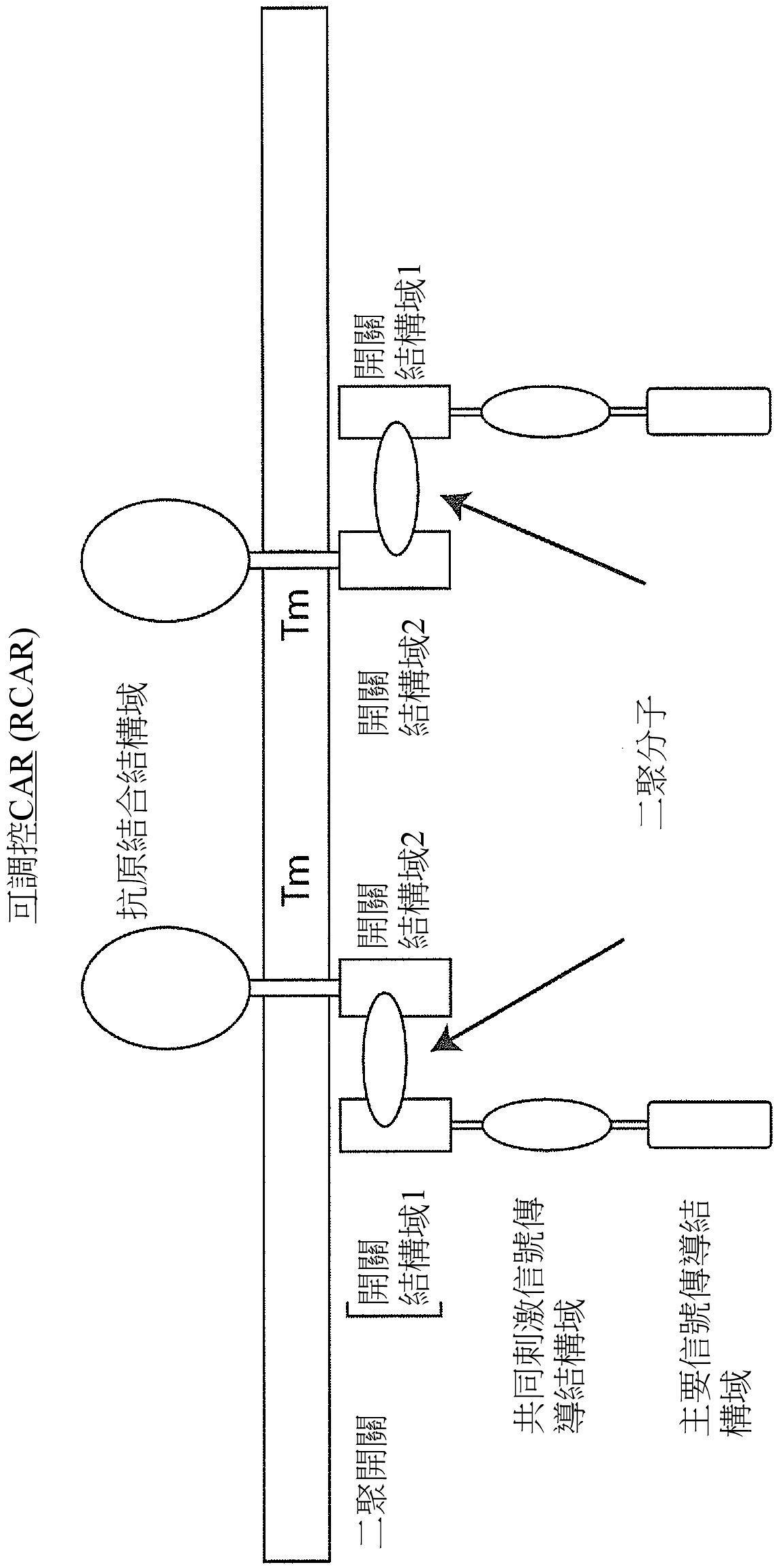

可調控CAR (RCAR)
抗原結合結構域
Tm
開關
結構域1
二聚開關
共同刺激信號傳
導結構域
主要信號傳導結
構域
開關
結構域2
二聚分子
開關
結構域1

圖30

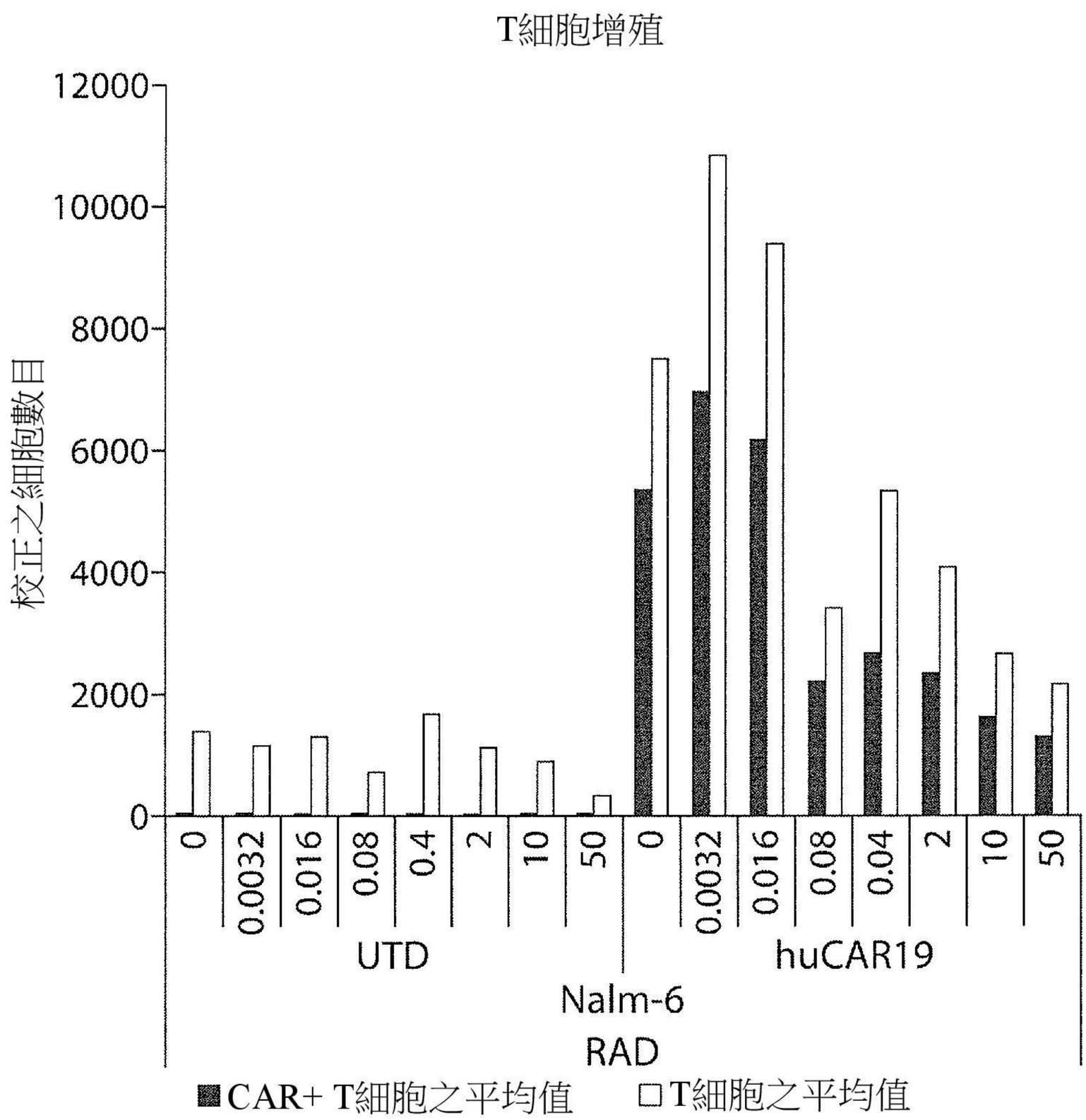

T細胞增殖
校正之細胞數目
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
0
0.0032
0.016
0.08
0.4
2
10
50
0
0.0032
0.016
0.08
0.04
2
10
50
UTD
huCAR19
Nalm-6
RAD
CAR+ T細胞之平均值
T細胞之平均值

圖31

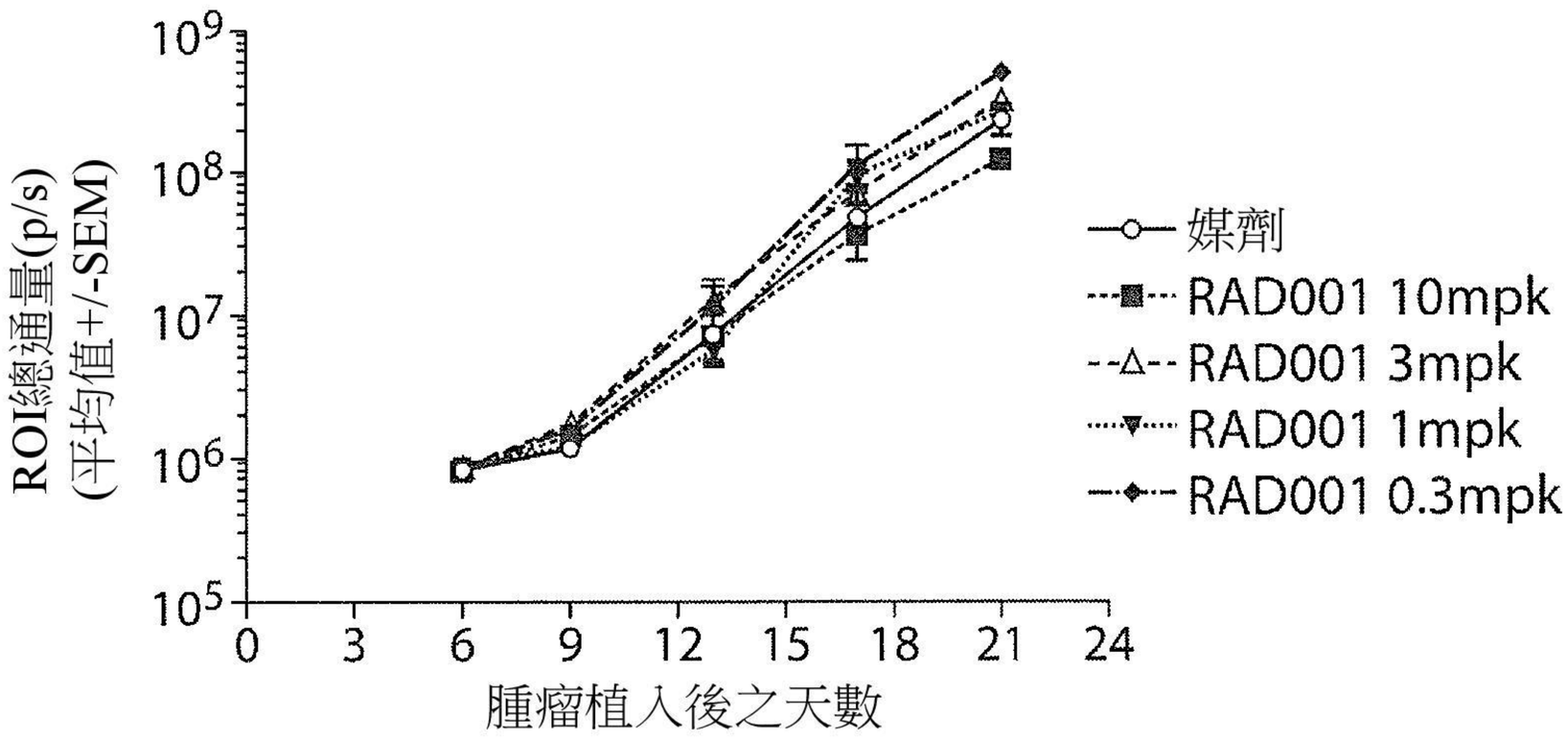

ROI總通量(p/s)
(平均值+/-SEM)
10^9
10^8
10^7
10^6
10^5
0
3
6
9
12
15
18
21
24
腫瘤植入後之天數
媒劑
RAD001 10mpk
RAD001 3mpk
RAD001 1mpk
RAD001 0.3mpk

圖32

RAD001之經口投與：NSG小鼠中第0天之PK

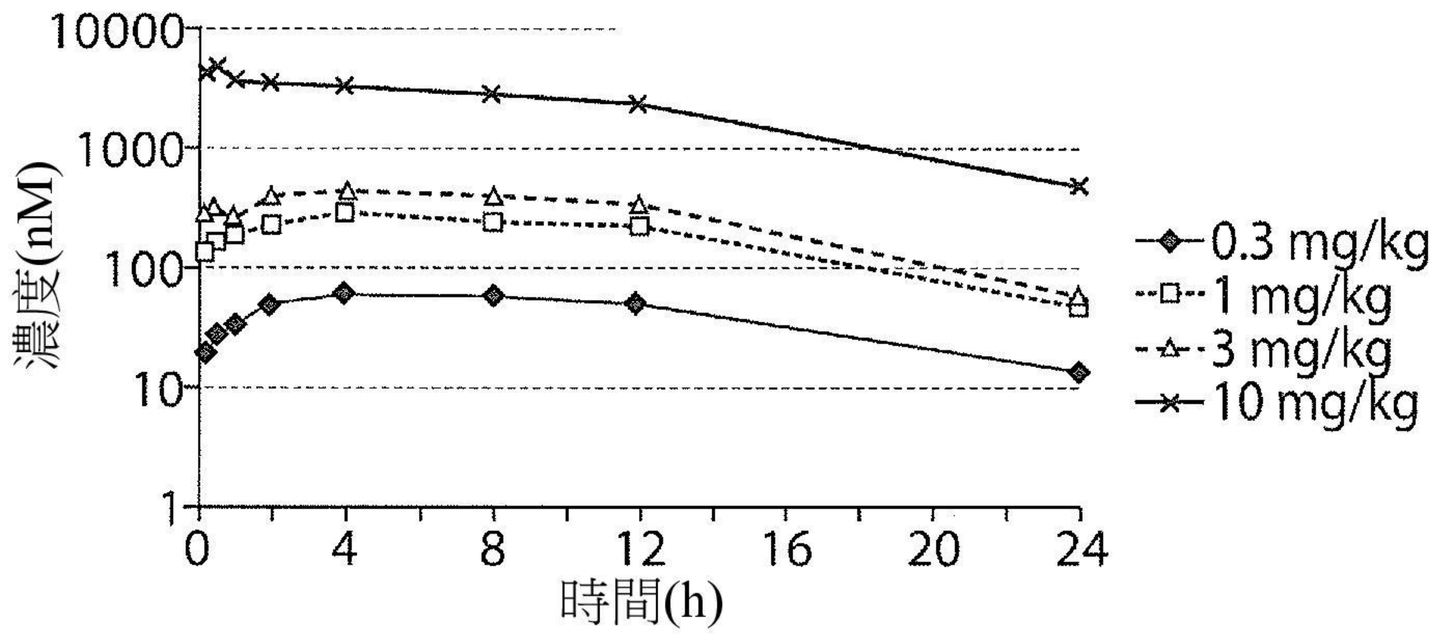


圖33A

RAD001之經口投與：NSG小鼠中第14天之PK

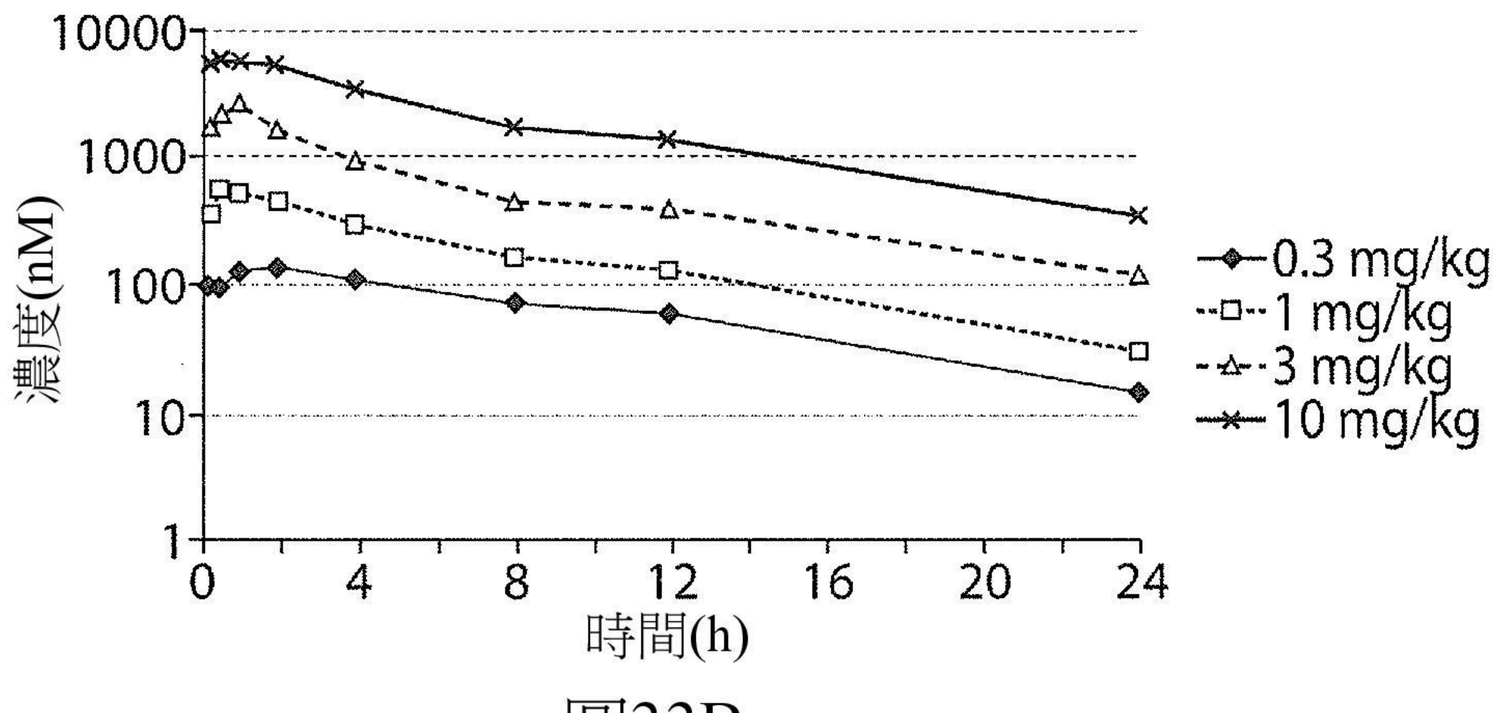


圖33B

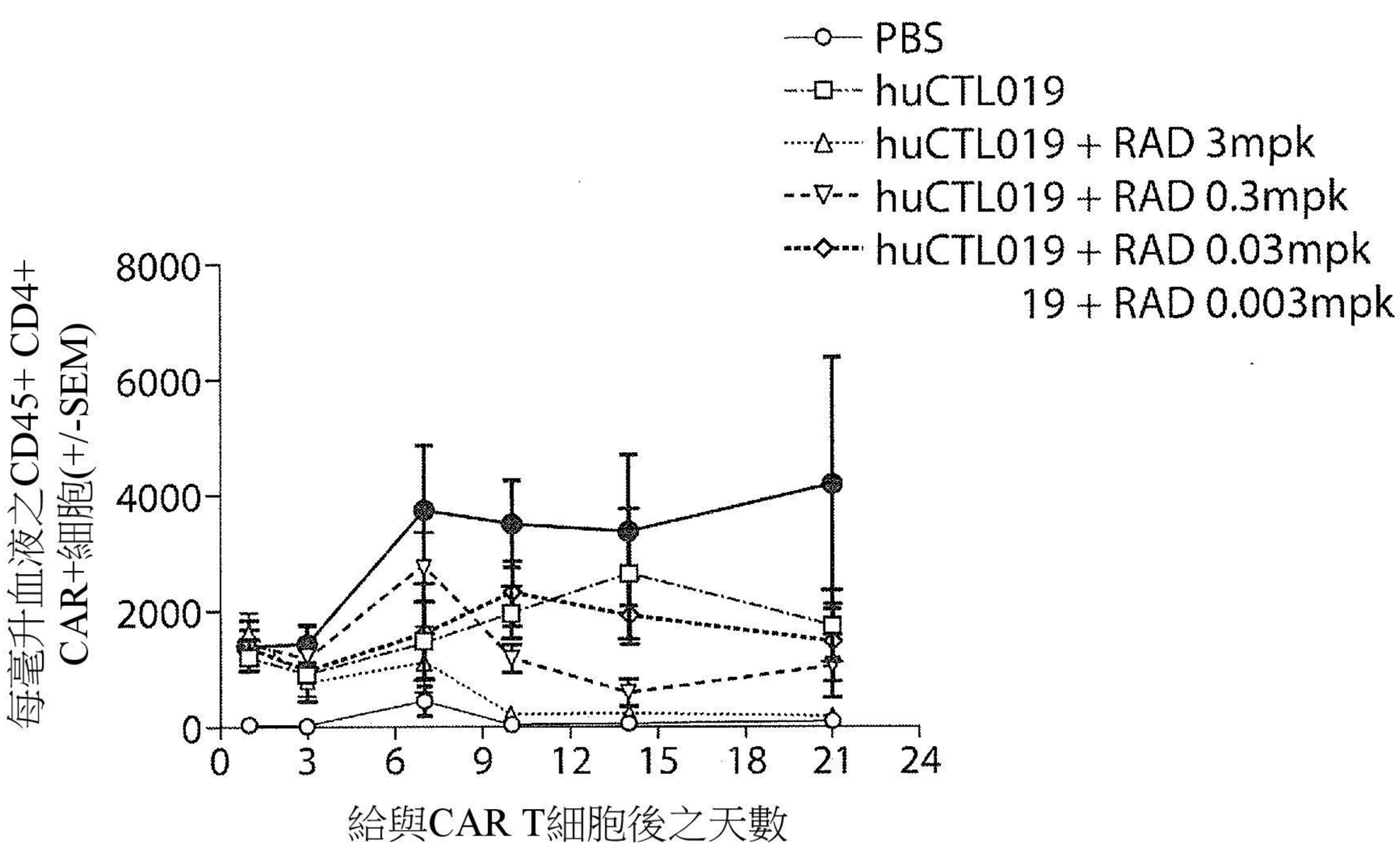

PBS
huCTL019
huCTL019 + RAD 3mpk
huCTL019 + RAD 0.3mpk
huCTL019 + RAD 0.03mpk
19 + RAD 0.003mpk
每毫升血液之CD45+ CD4+ CAR+細胞(+/-SEM)
8000
6000
4000
2000
0
0
3
6
9
12
15
18
21
24
給與CAR T細胞後之天數

圖34A

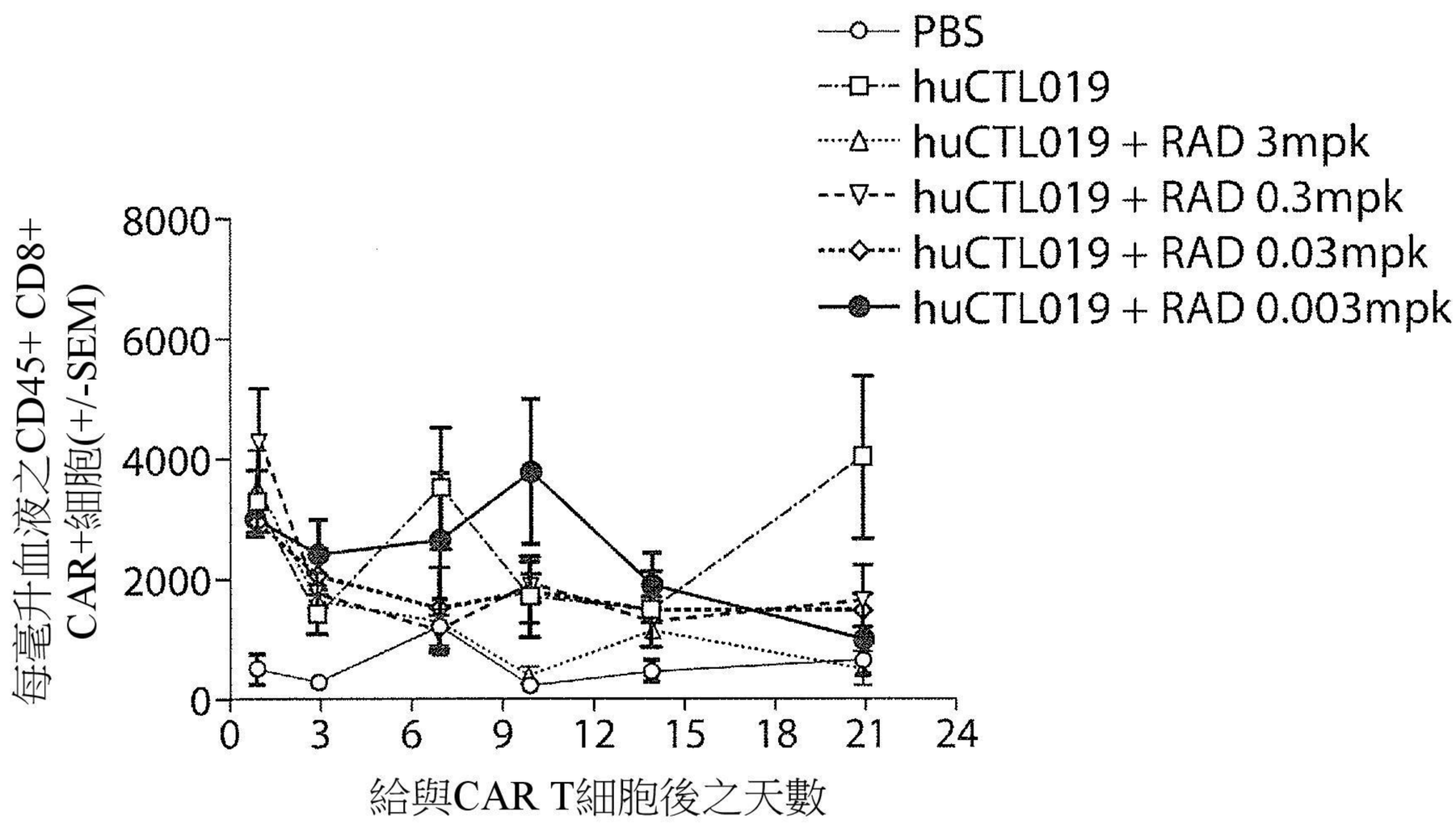

PBS
huCTL019
huCTL019 + RAD 3mpk
huCTL019 + RAD 0.3mpk
huCTL019 + RAD 0.03mpk
huCTL019 + RAD 0.003mpk
每毫升血液之CD45+ CD8+ CAR+細胞(+/-SEM)
8000
6000
4000
2000
0
0
3
6
9
12
15
18
21
24
給與CAR T細胞後之天數

圖34B