(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 117255799 A
(43)申请公布日 2023.12.19

(21)申请号 202280032798.0
(22)申请日 2022.03.22
(30)优先权数据
63/164,995 2021.03.23 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2023.11.02
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2022/021352 2022.03.22
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2022/204151 EN 2022.09.29
(71)申请人 加利福尼亚大学董事会
地址 美国加利福尼亚州
(72)发明人 K·T·罗伊鲍尔 I·朱 R·刘
(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
专利代理师 封新琴
(51)Int.Cl.
C07K 14/705(2006.01)

权利要求书6页 说明书42页
序列表174页 附图4页

(54)发明名称

用于定制抗原诱导的转录调控的合成膜间蛋白水解受体

(57)摘要

本公开文本总体上尤其涉及一种新类别的被工程化为以配体依赖性方式调节转录调控的受体。特别地,所述新受体含有异源停止转移序列和γ-分泌酶可切割跨膜结构域。本公开文本还提供了可用于产生此类受体的组合物和方法、编码所述受体的核酸、用所述核酸基因修饰的宿主细胞、以及用于调节细胞的活性和/或用于治疗多种疾病如癌症的方法。

CN 117255799 A

1.一种嵌合多肽,所述嵌合多肽从N末端到C末端包含:

a)对选定的配体具有结合亲和力的胞外结合结构域(ECD);

b)连接序列;

c)与1型跨膜受体的跨膜结构域具有至少约80%序列同一性并且含有一个或多个配体诱导型蛋白水解切割位点的跨膜结构域(TMD);以及

d)含有转录调控因子的胞内结构域(ICD),其中所述选定的配体与所述胞外结合结构域的结合诱导在所述转录调控因子与所述连接序列之间的配体诱导型蛋白水解切割位点处的切割,

并且其中所述嵌合多肽不包含来自Notch受体的序列。

2.根据权利要求1所述的嵌合多肽,所述嵌合多肽进一步包含定位在所述TMD与所述ICD之间的停止转移序列(STS),其中所述STS对于所述TMD是异源的。

3.根据权利要求1至2中任一项所述的嵌合多肽,其中所述TMD包含与来自1型跨膜受体的跨膜结构域具有至少80%序列同一性的多肽序列并且包含γ-分泌酶切割位点。

4.根据权利要求1至3中任一项所述的嵌合多肽,其中所述TMD包含与来自1型跨膜受体的跨膜结构域具有至少90%序列同一性的多肽序列并且包含γ-分泌酶切割位点。

5.根据权利要求1至4中任一项所述的嵌合多肽,其中所述TMD包含与来自1型跨膜受体的跨膜结构域具有至少95%序列同一性的多肽序列并且包含γ-分泌酶切割位点。

6.根据权利要求1至5中任一项所述的嵌合多肽,其中所述1型跨膜受体选自CLSTN1、CLSTN2、APLP1、APLP2、LRP8、APP、BTC、TGBR3、SPN、CD44、CSF1R、CXCL16、CX3CL1、DCC、DLL1、DSG2、DAG1、CDH1、EPCAM、EPHA4、EPHB2、EFNB1、EFNB2、ErbB4、GHR、HLA-A、IFNAR2、IL1R1、IL1R2、IL6R、INSR、ERN1、ERN2、JAG2、KCNE1、KCNE2、KCNE3、KCNE4、KL、CHL1、PTPRF、SCN1B、SCN3B、NPR3、NGFR、PLXDC2、PAM、AGER、ROBO1、SORCS3、SORCS1、SORL1、SORT1、SDC1、SDC2、TYR、TYRP1、DCT、VASN、FLT1、CDH5、PKHD1、连接蛋白1、PCDHGC3、NRG1、LRP1B、CDH2、NRG2、PTPRK、SCN2B、Nradd和PTPRM,并且包含γ-分泌酶切割位点。

7.根据权利要求6所述的嵌合多肽,其中所述1型跨膜受体是APP、CLSTN1、CLSTN2、EPCAM、KCNE3、连接蛋白1、PCDHGC3和PTPRF。

8.根据权利要求1至7中任一项所述的嵌合多肽,其中所述STS包含与来自CSF1R、CXCL16、DAG1、GHR、PTPRF、AGER、KL、NRG1、LRP1B、Jag2、EPCAM、KCNE3、CDH2、NRG2、PTPRK、BTC、EPHA3、IL1R2、PTPRF或PTPRM的STS序列具有至少70%序列同一性的序列。

9.根据权利要求8所述的嵌合多肽,其中所述STS包含与来自CSF1R、DAG1、AGER、NRG1、KCNE3、PTPRF或PTPRM的STS序列具有至少70%序列同一性的序列。

10.根据权利要求1至9中任一项所述的嵌合多肽,其中所述胞外结构域包含能够结合至细胞表面上的配体的抗原结合部分。

11.根据权利要求1至10中任一项所述的嵌合多肽,其中所述细胞是致病细胞。

12.根据权利要求1至11中任一项所述的嵌合多肽,其中所述配体包括蛋白质或碳水化合物。

13.根据权利要求1至12中任一项所述的嵌合多肽,其中所述配体选自CD1、CD1a、CD1b、CD1c、CD1d、CD1e、CD2、CD3d、CD3e、CD3g、CD4、CD5、CD7、CD8a、CD8b、CD19、CD20、CD21、CD22、CD23、CD25、CD27、CD28、CD33、CD34、CD40、CD45、CD48、CD52、CD59、CD66、CD70、CD71、CD72、

CD73、CD79A、CD79B、CD80(B7.1)、CD86(B7.2)、CD94、CD95、CD134、CD140(PDGFR4)、CD152、CD154、CD158、CD178、CD181(CXCR1)、CD182(CXCR2)、CD183(CXCR3)、CD210、CD246、CD252、CD253、CD261、CD262、CD273(PD-L2)、CD274(PD-L1)、CD276(B7H3)、CD279、CD295、CD339(JAG1)、CD340(HER2)、EGFR、FGFR2、CEA、AFP、CA125、MUC-1、和MAGE、胎盘碱性磷酸酶样蛋白2(ALPPL2)、B细胞成熟抗原(BCMA)、绿色荧光蛋白(GFP)、增强型绿色荧光蛋白(EGFP)以及信号调节蛋白α(SIRPα)。

14.根据权利要求1至13中任一项所述的嵌合多肽,其中所述配体选自细胞表面受体、粘附蛋白、整合素、粘蛋白、凝集素、肿瘤相关抗原和肿瘤特异性抗原。

15.根据权利要求1至14中任一项所述的嵌合多肽,其中所述配体是肿瘤相关抗原或肿瘤特异性相关抗原。

16.根据权利要求1至15中任一项所述的嵌合多肽,其中所述胞外结合结构域包含受体的配体结合部分。

17.根据权利要求10至16中任一项所述的嵌合多肽,其中所述抗原结合部分选自抗体、纳米抗体、双抗体、三抗体、或微型抗体、$F(ab')_2$片段、Fab片段、单链可变片段(scFv)、单结构域抗体(sdAb)或其功能片段。

18.根据权利要求17所述的嵌合多肽,其中所述抗原结合部分包括scFv。

19.根据权利要求10至18中任一项所述的嵌合多肽,其中所述抗原结合部分是选自以下的肿瘤相关抗原:CD19、B7H3(CD276)、BCMA(CD269)、ALPPL2、CD123、CD171、CD179a、CD20、CD213A2、CD22、CD24、CD246、CD272、CD30、CD33、CD38、CD44v6、CD46、CD71、CD97、CEA、CLDN6、CLECL1、CS-1、EGFR、EGFRvIII、ELF2M、EpCAM、EphA2、肝配蛋白B2、FAP、FLT3、GD2、GD3、GM3、GPRC5D、HER2(ERBB2/neu)、IGLL1、IL-11Ra、KIT(CD117)、MUC1、NCAM、PAP、PDGFR-β、PRSS21、PSCA、PSMA、ROR1、SIRPα、SSEA-4、TAG72、TEM1/CD248、TEM7R、TSHR、VEGFR2、ALPI、瓜氨酸化波形蛋白、cMet和Axl。

20.根据权利要求19所述的嵌合多肽,其中所述肿瘤相关抗原是CD19、CEA、HER2、MUC1、CD20、BCMA、ALPPL2或EGFR。

21.根据权利要求20所述的嵌合多肽,其中所述肿瘤相关抗原是CD19。

22.根据权利要求1至21中任一项所述的嵌合多肽,其中所述配体诱导型蛋白水解切割位点是γ-分泌酶切割位点。

23.根据权利要求1至22中任一项所述的嵌合多肽,其中所述转录调控因子包括转录激活因子或转录阻遏因子。

24.根据权利要求1至23中任一项所述的嵌合多肽,其中所述ICD包含核定位序列和选自以下的转录调控因子序列:Gal4-VP16、Gal4-VP64、tetR-VP64、ZFHD1-VP64、Gal4-KRAB和HAP1-VP16。

25.根据权利要求1至24中任一项所述的嵌合多肽,所述嵌合多肽进一步包含信号序列、可检测标记、肿瘤特异性切割位点、疾病特异性切割位点或其组合。

26.根据权利要求2至25中任一项所述的嵌合多肽,其中所述STS包含与SEQ ID NO:85-156和173具有至少80%序列同一性的氨基酸序列。

27.根据权利要求2至25中任一项所述的嵌合多肽,其中所述STS包含与SEQ ID NO:89、92、108、115、138、146和156具有至少80%序列同一性的氨基酸序列。

28.根据权利要求1至27中任一项所述的嵌合多肽,其中所述铰链结构域能够经由分子间二硫键键合促进所述嵌合多肽的寡聚体形成。

29.根据权利要求1至28中任一项所述的嵌合多肽,其中所述连接序列包含与源自以下的铰链结构域具有至少80%序列同一性的氨基酸序列:CD8α铰链结构域、CD28铰链结构域、CD152铰链结构域、PD-1铰链结构域、CTLA4铰链结构域、OX40铰链结构域、IgG1铰链结构域、IgG2铰链结构域、IgG3铰链结构域和IgG4铰链结构域或其任一种的功能变体。

30.根据权利要求29所述的嵌合多肽,其中所述铰链结构域源自CD8α铰链结构域或其功能变体。

31.根据权利要求30所述的嵌合多肽,其中所述铰链结构域包含与SEQ ID NO:157-161中的任一个具有至少80%序列同一性的氨基酸序列。

32.根据权利要求1至31中任一项所述的嵌合多肽,其中所述TMD包含与SEQ ID NO:1-84、178、182-185和190-192中的任一个具有至少80%序列同一性的氨基酸序列。

33.根据权利要求32所述的嵌合多肽,其中所述TMD包含与SEQ ID NO:1-2、6、20、43、39、54和64中的任一个具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

34.根据权利要求1至33中任一项所述的嵌合多肽,其中所述TMD包含与SEQ ID NO:1-2、6、20、43、39、54和64中的任一个具有至少95%序列同一性的氨基酸序列。

35.根据权利要求34所述的嵌合多肽,其中所述TMD包含与SEQ ID NO:1-2、6、20、43、39、54和64中的任一个基本上相同的氨基酸序列。

36.根据权利要求1至35中任一项所述的嵌合多肽,其中:

a)所述连接序列包含与SEQ ID NO:157-161中的任一个具有至少80%序列同一性的氨基酸序列;

b)所述TMD包含与SEQ ID NO:1-84、178、182-185和190-192中的任一个具有至少80%序列同一性的氨基酸序列;并且

c)所述STS包含与SEQ ID NO:85-156和173具有至少80%序列同一性的氨基酸序列。

37.一种重组核酸,所述重组核酸包含编码根据权利要求1至36中任一项所述的嵌合多肽的核苷酸序列。

38.根据权利要求37所述的重组核酸,其中将所述核苷酸序列掺入表达盒或表达载体中。

39.根据权利要求38所述的重组核酸,其中所述表达载体是病毒载体。

40.根据权利要求39所述的重组核酸,其中所述病毒载体是慢病毒载体、腺病毒载体、腺相关病毒载体或逆转录病毒载体。

41.根据权利要求40所述的重组核酸,其中所述病毒载体是慢病毒载体。

42.一种重组细胞,所述重组细胞包含:

a)根据权利要求1至36中任一项所述的嵌合多肽;和/或

b)根据权利要求37至41中任一项所述的重组核酸。

43.根据权利要求42所述的重组细胞,其中所述细胞是哺乳动物细胞。

44.根据权利要求43所述的重组细胞,其中所述哺乳动物细胞是免疫细胞、神经元、上皮细胞、内皮细胞或干细胞。

45.根据权利要求44所述的重组细胞,其中所述免疫细胞是B细胞、单核细胞、自然杀伤

细胞、嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜中性粒细胞、树突细胞、巨噬细胞、调节性T细胞、辅助性T细胞、细胞毒性T细胞或其他T细胞。

46.根据权利要求42至45中任一项所述的重组细胞,所述重组细胞进一步包含:

a)根据权利要求1至36中任一项所述的第二嵌合多肽;和/或

b)根据权利要求37至41中任一项所述的第二核酸;

其中所述第一嵌合多肽和所述第二嵌合多肽不具有相同的序列,和/或所述第一核酸或所述第二核酸不具有相同的序列。

47.根据权利要求46所述的重组细胞,其中所述嵌合多肽调节所述第二嵌合多肽的表达和/或活性。

48.根据权利要求42至47中任一项所述的重组细胞,所述重组细胞进一步包含可操作地连接至启动子的编码目的蛋白的表达盒,其中所述蛋白质的表达受由所述嵌合受体编码的转录调控因子的调节。

49.根据权利要求48所述的重组细胞,其中所述目的蛋白对于所述细胞是异源的。

50.根据权利要求48或49所述的重组细胞,其中所述启动子是GAL4。

51.根据权利要求48或50所述的重组细胞,其中所述目的蛋白是细胞因子、细胞毒素、趋化因子、免疫调节剂、促凋亡因子、抗凋亡因子、激素、分化因子、去分化因子、免疫细胞受体或报告物。

52.一种细胞培养物,所述细胞培养物包含根据权利要求42至51中任一项所述的重组细胞和培养基。

53.一种药物组合物,所述药物组合物包含药学上可接受的载体以及以下中的一种或多种:

a)根据权利要求37至41中任一项所述的重组核酸;或

b)根据权利要求42至51中任一项所述的重组细胞。

54.根据权利要求53所述的药物组合物,其中所述组合物包含根据权利要求37至41中任一项所述的重组核酸以及药学上可接受的载体。

55.根据权利要求54所述的药物组合物,其中所述重组核酸被包封在病毒衣壳或脂质纳米颗粒中。

56.一种用于调节细胞的活性的方法,所述方法包括:

a)提供根据权利要求42至51中任一项所述的重组细胞;以及

b)使所述重组细胞与所述选定的配体接触,其中所述选定的配体与所述胞外结合结构域的结合诱导配体诱导型蛋白水解切割位点的切割并释放所述转录调控因子,其中所释放的转录调控因子调节所述重组细胞的活性。

57.根据权利要求56所述的方法,所述接触在体内、离体或体外进行。

58.根据权利要求56至57中任一项所述的方法,其中所述细胞的活性选自:所述细胞的选定基因的表达、所述细胞的增殖、所述细胞的凋亡、所述细胞的非凋亡性死亡、所述细胞的分化、所述细胞的去分化、所述细胞的迁移、分子从所述细胞的分泌、所述细胞的细胞粘附和所述细胞的细胞溶解活性。

59.根据权利要求56至58中任一项所述的方法,其中所释放的转录调控因子调节所述细胞的基因产物的表达。

60.根据权利要求56至59中任一项所述的方法,其中所释放的转录调控因子调节异源基因产物的表达。

61.根据权利要求59至60中任一项所述的方法,其中所述细胞的基因产物选自趋化因子、趋化因子受体、嵌合抗原受体、细胞因子、细胞因子受体、分化因子、生长因子、生长因子受体、激素、代谢酶、病原体衍生的蛋白质、增殖诱导剂、受体、RNA指导的核酸酶、位点特异性核酸酶、T细胞受体、毒素、毒素衍生的蛋白质、转录调控因子、转录激活因子、转录阻遏因子、翻译调控因子、翻译激活因子、翻译阻遏因子、激活性免疫受体、抗体、凋亡抑制剂、凋亡诱导剂、工程化T细胞受体、免疫激活因子、免疫抑制剂和抑制性免疫受体。

62.根据权利要求56至61中任一项所述的方法,其中所释放的转录调控因子调节所述细胞的分化,并且其中所述细胞是免疫细胞、干细胞、祖细胞或前体细胞。

63.一种用于抑制个体中靶细胞的活性的方法,所述方法包括向所述个体施用有效数量的根据权利要求42至51中任一项所述的重组细胞,其中所述重组细胞抑制所述个体中所述靶细胞的活性。

64.根据权利要求63所述的方法,其中所述靶细胞是急性骨髓瘤白血病细胞、间变性淋巴瘤细胞、星形细胞瘤细胞、B细胞癌细胞、乳腺癌细胞、结肠癌细胞、室管膜瘤细胞、食管癌细胞、胶质母细胞瘤细胞、神经胶质瘤细胞、平滑肌肉瘤细胞、脂肪肉瘤细胞、肝癌细胞、肺癌细胞、套细胞淋巴瘤细胞、黑色素瘤细胞、神经母细胞瘤细胞、非小细胞肺癌细胞、少突神经胶质瘤细胞、卵巢癌细胞、胰腺癌细胞、外周T细胞淋巴瘤细胞、肾癌细胞、肉瘤细胞、胃癌细胞、癌细胞、间皮瘤细胞或肉瘤细胞。

65.根据权利要求63所述的方法,其中所述靶细胞是致病细胞。

66.一种用于治疗有需要的个体的疾病的方法,所述方法包括:向所述个体施用第一疗法,所述第一疗法包括有效数量的根据权利要求42至51中任一项所述的重组细胞,其中所述重组细胞治疗所述个体的疾病。

67.根据权利要求66所述的方法,所述方法进一步包括向所述个体施用第二疗法。

68.根据权利要求67所述的方法,其中所述第二疗法选自化学疗法、放射疗法、免疫疗法、激素疗法或毒素疗法。

69.根据权利要求66至68中任一项所述的方法,其中将所述第一疗法和所述第二疗法在同一组合物中一起施用或在分开的组合物中施用。

70.根据权利要求67至69中任一项所述的方法,其中将所述第一疗法和所述第二疗法同时施用。

71.根据权利要求67至68中任一项所述的方法,其中将所述第一疗法和所述第二疗法依序施用。

72.根据权利要求71所述的方法,其中将所述第一疗法在所述第二疗法之前施用。

73.根据权利要求71所述的方法,其中将所述第一疗法在所述第二疗法之后施用。

74.根据权利要求71所述的方法,其中将所述第一疗法和所述第二疗法轮流施用。

75.一种用于在有需要的个体中调节细胞的活性、抑制靶癌细胞或治疗疾病的系统,其中所述系统包含以下中的一种或多种:

a)根据权利要求1至36中任一项所述的嵌合多肽;

b)根据权利要求37至41中任一项所述的重组核酸;

c)根据权利要求42至51中任一项所述的重组细胞;以及

d)根据权利要求53至55中任一项所述的药物组合物。

76.一种用于制备根据权利要求42至51中任一项所述的重组细胞的方法,所述方法包括:

a)提供能够表达蛋白质的细胞;以及

b)使所提供的细胞与根据权利要求37至41中任一项所述的重组核酸接触。

77.根据权利要求76所述的方法,其中通过对从人类受试者获得的样品进行的白细胞单采术获得所述细胞,并且离体接触所述细胞。

78.根据权利要求76所述的方法,其中所述重组核酸被包封在病毒衣壳或脂质纳米颗粒(LNP)中。

79.以下中的一种或多种用于治疗疾病的用途:

a)根据权利要求1至36中任一项所述的嵌合多肽;

b)根据权利要求37至41中任一项所述的重组核酸;

c)根据权利要求42至51中任一项所述的重组细胞;以及

d)根据权利要求53至55中任一项所述的组合物。

80.根据权利要求79所述的用途,其中所述疾病是癌症。

81.根据权利要求1至80中任一项所述的本发明用于制造治疗疾病的药物的用途。

用于定制抗原诱导的转录调控的合成膜间蛋白水解受体

关于联邦政府资助研发的声明

[0001] 本发明是在由美国国立卫生研究院授予的授权号OD025751下在美国政府支持下完成的。美国政府享有本发明的某些权利。

相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求在2021年3月23日提交的美国临时专利申请序列号63/164,995的优先权,将其公开内容通过引用以其整体(包括任何附图)并入本文。

序列表的并入

[0003] 本申请含有序列表,所述序列表通过引用以其整体并入本文。所附的名称为“048536-696001WO_Sequence Listing_ST25.txt”的序列表文本文件创建于2022年3月18日,并且为307KB。

技术领域

[0004] 本公开文本总体上涉及结合细胞表面配体并且具有可选择的特异性和活性的新合成细胞受体。本公开文本还提供了可用于产生此类受体的组合物和方法、编码所述受体的核酸、用所述核酸基因修饰的宿主细胞、以及用于调节细胞的活性和/或用于治疗多种疾病如癌症的方法。

背景技术

[0005] 限制工程化细胞疗法在人中的开发的重要问题是调控治疗基因表达和工程化细胞活性的能力。例如,第一代嵌合抗原受体T细胞(CAR-T)缺少在需要时调节或关闭CAR-T活性的能力;其他问题包括脱靶活性和脱肿瘤/中靶活性(即,其中CAR-T靶抗原也发现于肿瘤外部的正常细胞上)。这些问题的一种可能的解决方案是使用能够修饰基因表达和/或细胞行为的合成受体。现有的合成Notch(SynNotch)受体能够结合用户定义的细胞表面展示的配体,从而触发所述受体的蛋白水解切割以及转录调控因子的释放,所述转录调控因子的释放诱导细胞中的定制转录程序。另外,一些现有的SynNotch受体不需要Notch调节区(NRR),其被认为是诱导受体切割所必需的。

[0006] 本公开文本尤其提供包括不需要来自Notch受体的序列的新类别的合成受体的新型嵌合多肽。

发明内容

[0007] 本公开文本描述了不需要来自Notch受体的序列的合成嵌合多肽(例如,嵌合受体)。特别地,系统工程化工作已经说明,人们可以利用(1)ADAM蛋白酶可切割的胞外结构域(例如,来自CD8的铰链结构域)、(2) γ-分泌酶可切割的跨膜结构域(TMD)以及(3)停止转移序列来合理地构建合成调节性膜间蛋白水解受体(SynRIPR)。如下文更详细描述的,这些受体可以用于将各种治疗相关细胞类型靶向疾病部位,并以受控和局部化的方式调控细胞的治疗活性。这些受体可以与诱导型转录程序连接,使得当细胞感测到疾病部位时,它将局部

产生治疗剂,如抗体、细胞因子、毒素和佐剂。它们是用于细胞工程化的高度通用和可编程的平台,并且基本上任何基因可编码的治疗剂的产生都可以通过这些受体来调控。

[0008] 在本公开文本的一些实施方案中提供展现出通过包含异源STS和TMD序列介导的一系列信号特征的合成嵌合受体。这些受体提供一定范围的敏感性,包括当在激活的T细胞中表达时对T细胞激活程度敏感的受体。当在T细胞中表达时,与T细胞未被激活时配体诱导的信号水平相比,一些实施方案在T细胞被激活时展现出更高的配体诱导的信号水平。

[0009] 在一些实施方案中,本公开文本尤其提供含有包含至少一个γ-分泌酶位点的非Notch跨膜结构域(TMD)的新类别的嵌合受体。认为对TMD切割的调节有利于本文所公开的嵌合受体的活性的优化和/或改进,这转而可以在调节细胞的活性和/或治疗疾病中特别有用。在一些实施方案中,本公开文本的嵌合受体包含非Notch STS序列,其允许本文所公开的嵌合受体具有广泛范围的期望特征。例如,通过改变如本文所述的STS,并选择不同的近膜结构域,可以产生具有不同噪声水平(即,在不存在所选靶配体的情况下,受体激活的基础水平)、不同信号水平(即,在所选靶配体的存在下获得的表达水平)和不同信噪比的受体。

[0010] 在一个方面,本文提供嵌合多肽,所述嵌合多肽从N末端至C末端包含:(a)对选定的配体具有结合亲和力的胞外结合结构域;(b)连接序列;(c)与1型跨膜受体的跨膜结构域具有至少约80%序列同一性并且含有一个或多个配体诱导型蛋白水解切割位点的跨膜结构域(TMD);以及(d)含有转录调控因子的胞内结构域(ICD),其中所述选定的配体与所述胞外结合结构域的结合诱导在所述转录调控因子与所述连接序列之间的配体诱导型蛋白水解切割位点处的切割,并且其中所述嵌合多肽不包含来自Notch受体的序列。

[0011] 本文所提供的嵌合多肽的非限制性示例性实施方案包括以下特征中的一种或多种:在一些实施方案中,所述嵌合多肽进一步包含在所述TMD与所述ICD之间的停止转移序列(STS);在一些实施方案中,所述TMD包含与来自1型跨膜受体的跨膜结构域具有至少80%序列同一性的多肽序列并且包含γ-分泌酶切割位点;在一些实施方案中,所述TMD包含与来自I型跨膜受体的跨膜结构域具有至少90%序列同一性的多肽序列并且包含γ-分泌酶切割位点;在一些实施方案中,所述TMD包含与来自I型跨膜受体的跨膜结构域具有至少95%序列同一性的多肽序列并且包含γ-分泌酶切割位点。在一些实施方案中,所述1型跨膜受体选自CLSTN1、CLSTN2、APLP1、APLP2、LRP8、APP、BTC、TGBR3、SPN、CD44、CSF1R、CXCL16、CX3CL1、DCC、DLL1、DSG2、DAG1、CDH1、EPCAM、EPHA4、EPHB2、EFNB1、EFNB2、ErbB4、GHR、HLA-A、IFNAR2、IL1R1、IL1R2、IL6R、INSR、ERN1、ERN2、JAG2、KCNE1、KCNE2、KCNE3、KCNE4、KL、CHL1、PTPRF、SCN1B、SCN3B、NPR3、NGFR、PLXDC2、PAM、AGER、ROBO1、SORCS3、SORCS1、SORL1、SORT1、SDC1、SDC2、TYR、TYRP1、DCT、VASN、FLT1、CDH5、PKHD1、连接蛋白1、PCDHGC3、NRG1、LRP1B、CDH2、NRG2、PTPRK、SCN2B、Nradd和PTPRM,并且包含γ-分泌酶切割位点。在一些实施方案中,所述1型跨膜受体是APP、CLSTN1、CLSTN2、EPCAM、KCNE3、连接蛋白1、PCDHGC3和PTPRF。在一些实施方案中,本文提供的嵌合多肽包含停止转移序列(STS),并且其中所述STS与所述TMD是异源的。在一些实施方案中,所述STS包含与来自CSF1R、CXCL16、DAG1、GHR、PTPRF、AGER、KL、NRG1、LRP1B、Jag2、EPCAM、KCNE3、CDH2、NRG2、PTPRK、BTC、EPHA3、IL1R2、PTPRF或PTPRM的STS序列具有至少70%序列同一性的序列。在一些实施方案中,所述STS包含与来自CSF1R、DAG1、AGER、NRG1、KCNE3、PTPRF或PTPRM的STS序列具有至少70%序列同一性的序列。

[0012] 在一些实施方案中,所述胞外结构域包含能够结合至细胞表面上的配体的抗原结合部分。在一些实施方案中,所述细胞是致病细胞。在一些实施方案中,所述配体包括蛋白质或碳水化合物。在一些实施方案中,所述配体选自CD1、CD1a、CD1b、CD1c、CD1d、CD1e、CD2、CD3d、CD3e、CD3g、CD4、CD5、CD7、CD8a、CD8b、CD19、CD20、CD21、CD22、CD23、CD25、CD27、CD28、CD33、CD34、CD40、CD45、CD48、CD52、CD59、CD66、CD70、CD71、CD72、CD73、CD79A、CD79B、CD80(B7.1)、CD86(B7.2)、CD94、CD95、CD134、CD140(PDGFR4)、CD152、CD154、CD158、CD178、CD181(CXCR1)、CD182(CXCR2)、CD183(CXCR3)、CD210、CD246、CD252、CD253、CD261、CD262、CD273(PD-L2)、CD274(PD-L1)、CD276(B7H3)、CD279、CD295、CD339(JAG1)、CD340(HER2)、EGFR、FGFR2、CEA、AFP、CA125、MUC-1、MAGE、BCMA(CD269)、ALPPL2、GFP、eGFP和SIRPα。

[0013] 在一些实施方案中,所述配体选自CD1、CD1a、CD1b、CD1c、CD1d、CD1e、CD2、CD3d、CD3e、CD3g、CD4、CD5、CD7、CD8a、CD8b、CD19、CD20、CD21、CD22、CD23、CD25、CD27、CD28、CD33、CD34、CD40、CD45、CD48、CD52、CD59、CD66、CD70、CD71、CD72、CD73、CD79A、CD79B、CD80(B7.1)、CD86(B7.2)、CD94、CD95、CD134、CD140(PDGFR4)、CD152、CD154、CD158、CD178、CD181(CXCR1)、CD182(CXCR2)、CD183(CXCR3)、CD210、CD246、CD252、CD253、CD261、CD262、CD273(PD-L2)、CD274(PD-L1)、CD276(B7H3)、CD279、CD295、CD339(JAG1)、CD340(HER2)、EGFR、FGFR2、CEA、AFP、CA125、MUC-1、和MAGE、胎盘碱性磷酸酶样蛋白2(ALPPL2)、B细胞成熟抗原(BCMA)、绿色荧光蛋白(GFP)、增强型绿色荧光蛋白(EGFP)以及信号调节蛋白α(SIRPα)。

[0014] 在一些实施方案中,所述配体选自细胞表面受体、粘附蛋白、整合素、粘蛋白、凝集素、肿瘤相关抗原和肿瘤特异性抗原。在一些实施方案中,所述配体是肿瘤相关抗原或肿瘤特异性相关抗原。在一些实施方案中,所述胞外结合结构域包含受体的配体结合部分。在一些实施方案中,所述抗原结合部分选自抗体、纳米抗体、双抗体、三抗体、或微型抗体、$F(ab')_2$片段、Fab片段、单链可变片段(scFv)、单结构域抗体(sdAb)或其功能片段。在一些实施方案中,所述抗原结合部分包括scFv。

[0015] 在一些实施方案中,所述抗原结合部分是选自以下的肿瘤相关抗原:CD19、B7H3(CD276)、BCMA(CD269)、ALPPL2、CD123、CD171、CD179a、CD20、CD213A2、CD22、CD24、CD246、CD272、CD30、CD33、CD38、CD44v6、CD46、CD71、CD97、CEA、CLDN6、CLECL1、CS-1、EGFR、EGFRvIII、ELF2M、EpCAM、EphA2、肝配蛋白B2、FAP、FLT3、GD2、GD3、GM3、GPRC5D、HER2(ERBB2/neu)、IGLL1、IL-11Ra、KIT(CD117)、MUC1、NCAM、PAP、PDGFR-β、PRSS21、PSCA、PSMA、ROR1、SIRPα、SSEA-4、TAG72、TEM1/CD248、TEM7R、TSHR、VEGFR2、ALPI、瓜氨酸化波形蛋白、cMet和Axl。在一些实施方案中,所述肿瘤相关抗原是CD19、CEA、HER2、MUC1、CD20、BCMA、ALPPL2或EGFR。在一些实施方案中,所述肿瘤相关抗原是CD19。

[0016] 在一些实施方案中,所述配体诱导型蛋白水解切割位点是γ-分泌酶切割位点。在一些实施方案中,所述转录调控因子包括转录激活因子或转录阻遏因子。在一些实施方案中,所述ICD包含核定位序列和选自以下的转录调控因子序列:Gal4-VP16、Gal4-VP64、tetR-VP64、ZFHD1-VP64、Gal4-KRAB和HAP1-VP16。在一些实施方案中,本公开文本的嵌合多肽进一步包含信号序列、可检测标记、肿瘤特异性切割位点、疾病特异性切割位点或其组合。

[0017] 在一些实施方案中,本公开文本的嵌合多肽包含具有与SEQ ID NO:89、92、108、115、138、146或156具有至少80%序列同一性的氨基酸序列的STS。

[0018] 在一些实施方案中,所述铰链结构域能够经由分子间二硫键键合促进所述嵌合多肽的寡聚体形成。在一些实施方案中,所述连接序列包含与源自以下的铰链结构域具有至少80%序列同一性的氨基酸序列:CD8α铰链结构域、CD28铰链结构域、CD152铰链结构域、PD-1铰链结构域、CTLA4铰链结构域、OX40铰链结构域、IgG1铰链结构域、IgG2铰链结构域、IgG3铰链结构域以及IgG4铰链结构域或其任一种的功能变体。在一些实施方案中,所述铰链结构域源自CD8α铰链结构域或其功能变体。在一些实施方案中,所述铰链结构域包含与SEQ ID NO:157-161中的任一个具有至少80%序列同一性的氨基酸序列。

[0019] 在一些实施方案中,所述TMD包含与SEQ ID NO:1-2、6、20、43、39、54和64中的任一个具有至少80%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述TMD包含与SEQ ID NO:1-2、6、20、43、39、54和64中的任一个具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述TMD包含与SEQ ID NO:1-2、6、20、43、39、54和64中的任一个具有至少95%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述TMD包含与SEQ ID NO:1-2、6、20、43、39、54和64中的任一个基本上相同的氨基酸序列。

[0020] 在一些实施方案中,本公开文本的嵌合多肽包含:(a)连接序列,其包含与SEQ ID NO:157-161中的任一个具有至少80%序列同一性的氨基酸序列;(b)TMD,其包含与SEQ ID NO:1-84、178、182-185和190-192中的任一个具有至少80%序列同一性的氨基酸序列;以及(c)STS,其包含与SEQ ID NO:85-156和173具有至少80%序列同一性的氨基酸序列。

[0021] 在另一个方面,本文提供核酸,所述核酸包含编码如本文所公开的嵌合多肽的核苷酸序列。在一些实施方案中,将所述核苷酸序列掺入表达盒或表达载体中。在一些实施方案中,所述表达载体是病毒载体。在一些实施方案中,所述病毒载体是慢病毒载体、腺病毒载体、腺相关病毒载体或逆转录病毒载体。在一些实施方案中,所述病毒载体是慢病毒载体。

[0022] 在另一个方面,本文提供重组细胞,所述重组细胞包含(a)如本文所公开的嵌合多肽和/或(b)如本文所公开的重组核酸。在一些实施方案中,所述细胞是哺乳动物细胞。在一些实施方案中,所述哺乳动物细胞是免疫细胞、神经元、上皮细胞、内皮细胞或干细胞。在一些实施方案中,所述免疫细胞是B细胞、单核细胞、自然杀伤细胞、嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜中性粒细胞、树突细胞、巨噬细胞、调节性T细胞、辅助性T细胞、细胞毒性T细胞或其他T细胞。在一些实施方案中,所述重组细胞进一步包含:(a)如本文所公开的第二嵌合多肽;和/或(b)如本文所公开的第二核酸;其中所述第一嵌合多肽和所述第二嵌合多肽不具有相同的序列,和/或所述第一核酸或所述第二核酸不具有相同的序列。在一些实施方案中,所述嵌合多肽调节所述第二嵌合多肽的表达和/或活性。

[0023] 在一些实施方案中,本公开文本的重组细胞进一步包含可操作地连接至启动子的编码目的蛋白的表达盒,其中所述蛋白质的表达受由所述嵌合受体编码的转录调控因子的调节。在一些实施方案中,所述目的蛋白对于所述细胞是异源的。在一些实施方案中,所述启动子是GAL4。在一些实施方案中,所述目的蛋白是细胞因子、细胞毒素、趋化因子、免疫调节剂、促凋亡因子、抗凋亡因子、激素、分化因子、去分化因子、免疫细胞受体或报告物。

[0024] 在另一个方面,本文进一步提供细胞培养物,所述细胞培养物包含至少一种如本文所公开的重组细胞和培养基。

[0025] 在又另一个方面,本文提供药物组合物,所述药组合物包含药学上可接受的载体

以及以下中的一种或多种:(a)如本文所公开的重组核酸,或(b)如本文所公开的重组细胞。在一些实施方案中,所公开的药物组合物包含如本文所公开的重组核酸以及药学上可接受的载体。在一些实施方案中,所述重组核酸被包封在病毒衣壳或脂质纳米颗粒(LNP)中。

[0026] 在另一个方面,本文提供用于调节细胞的活性的方法,所述方法包括:(a)提供本公开文本的重组细胞,和(b)使其与选定的配体接触,其中所述选定的配体与所述胞外结合结构域的结合诱导配体诱导型蛋白水解切割位点的切割并释放所述转录调控因子,其中所释放的转录调控因子调节所述重组细胞的活性。在一些实施方案中,所述接触在体内、离体或体外进行。在一些实施方案中,所述细胞的活性选自:所述细胞的选定基因的表达、所述细胞的增殖、所述细胞的凋亡、所述细胞的非凋亡性死亡、所述细胞的分化、所述细胞的去分化、所述细胞的迁移、分子从所述细胞的分泌、所述细胞的细胞粘附和所述细胞的细胞溶解活性。在一些实施方案中,所释放的转录调控因子调节所述细胞的基因产物的表达。在一些实施方案中,所释放的转录调控因子调节异源基因产物的表达。在一些实施方案中,所述细胞的基因产物选自趋化因子、趋化因子受体、嵌合抗原受体、细胞因子、细胞因子受体、分化因子、生长因子、生长因子受体、激素、代谢酶、病原体衍生的蛋白质、增殖诱导剂、受体、RNA指导的核酸酶、位点特异性核酸酶、T细胞受体、毒素、毒素衍生的蛋白质、转录调控因子、转录激活因子、转录阻遏因子、翻译调控因子、翻译激活因子、翻译阻遏因子、激活性免疫受体、抗体、凋亡抑制剂、凋亡诱导剂、工程化T细胞受体、免疫激活因子、免疫抑制剂和抑制性免疫受体。在一些实施方案中,所释放的转录调控因子调节所述细胞的分化,并且其中所述细胞是免疫细胞、干细胞、祖细胞或前体细胞。

[0027] 另一方面涉及用于抑制个体中靶细胞的活性的方法,所述方法包括向所述个体施用有效数量的本公开文本的重组细胞,其中所述重组细胞抑制所述个体中靶细胞的活性。在一些实施方案中,所述靶细胞是急性骨髓瘤白血病细胞、间变性淋巴瘤细胞、星形细胞瘤细胞、B细胞癌细胞、乳腺癌细胞、结肠癌细胞、室管膜瘤细胞、食管癌细胞、胶质母细胞瘤细胞、神经胶质瘤细胞、平滑肌肉瘤细胞、脂肪肉瘤细胞、肝癌细胞、肺癌细胞、套细胞淋巴瘤细胞、黑色素瘤细胞、神经母细胞瘤细胞、非小细胞肺癌细胞、少突神经胶质瘤细胞、卵巢癌细胞、胰腺癌细胞、外周T细胞淋巴瘤细胞、肾癌细胞、肉瘤细胞、胃癌细胞、癌细胞、间皮瘤细胞或肉瘤细胞。在一些实施方案中,所述靶细胞是致病细胞。

[0028] 在另一个方面,本文提供了用于治疗个体的疾病的方法,所述方法包括向所述个体施用有效数量的本公开文本的重组细胞的步骤,其中所述重组细胞治疗所述个体的疾病。在一些实施方案中,本公开文本的治疗方法进一步包括向所述个体施用第二疗法。在一些实施方案中,所述第二疗法选自化学疗法、放射疗法、免疫疗法、激素疗法或毒素疗法。在一些实施方案中,将所述第一疗法和所述第二疗法在同一组合物中一起施用或在分开的组合物中施用。在一些实施方案中,将所述第一疗法和所述第二疗法同时施用。在一些实施方案中,将所述第一疗法和所述第二疗法依序施用。在一些实施方案中,将所述第一疗法在所述第二疗法之前施用。在一些实施方案中,将所述第一疗法在所述第二疗法之后施用。在一些实施方案中,将所述第一疗法和所述第二疗法轮流施用。

[0029] 在另一个方面,本文提供用于在有需要的个体中调节细胞的活性、调节靶细胞的活性或治疗疾病的系统,其中所述系统包含以下中的一种或多种:本公开文本的嵌合多肽;本公开文本的多核苷酸;本公开文本的重组细胞;或本公开文本的药物组合物。

[0030] 在另一个方面,本文提供用于制备本公开文本的重组细胞的方法,所述方法包括:(a)提供能够表达蛋白质的细胞;以及(b)使所提供的细胞与本公开文本的重组核酸接触。在一些实施方案中,通过对从人类受试者或患者获得的样品进行的白细胞单采术获得所述细胞,并且离体接触所述细胞。在一些实施方案中,所述重组核酸被包封在病毒衣壳或脂质纳米颗粒(LNP)中。

[0031] 在另一个方面,本文提供本公开文本的嵌合多肽、本公开文本的多核苷酸、本公开文本的重组细胞或本公开文本的药物组合物中的一种或多种用于治疗疾病的用途。在一些实施方案中,所述疾病是癌症。

[0032] 在另一个方面,本文提供本公开文本的嵌合多肽、本公开文本的多核苷酸、本公开文本的重组细胞或本公开文本的药物组合物中的一种或多种在制造用于治疗疾病的药物中的用途。

[0033] 前述发明内容仅是说明性的,并不旨在以任何方式进行限制。除了本文所述的说明性实施方案和特征之外,根据附图、具体实施方式和权利要求,本公开文本的其他方面、实施方案、目的和特征将变得完全清楚。

附图说明

[0034] 图1A-图1C示意性地说明了根据本公开文本的一些非限制性实施方案的示例性非Notch合成调节性膜内蛋白水解受体(SynRIPR或SNIPR)的实验设计和测试。图1A示意性地说明了围绕CLSTN2核心的示例性非Notch SNIPR的模块化组装。图1B-图1C示意性地总结了基于JMD的SNIPR调整实验的结果。在这些实验中,参考受体是优化的CD8αNotch受体(铰链Notch),其由截短的CD8α胞外结构域(ECD)、人Notch1的跨膜结构域(TMD)和来自Notch1的C末端近膜结构域(JMD)构成。表达这种抗CD19铰链Notch的T细胞能够在CD19+K562发送细胞的存在下激活应答元件。这种激活在共表达的抗ALPPL2 CAR被激活时得到加强,从而提供T细胞激活刺激。在这些示例性SynRIPR中的每一种中,胞外结合结构域包含对选定的配体具有结合亲和力的单链抗原结合片段(scFv),所述选定的配体在这个例子中是B淋巴细胞抗原CD19。如图1B-图1C所示,使用CLSTN2 TMD和CLSTN2 JMD组装非Notch SynRIPR产生无活性的受体,然而当CLSTN2 JMD被更高性能的JMD(如来自KCNE3或PTPRF的JMD)替代时,受体功能可以恢复。

[0035] 图2描绘了筛选可以布置在本文所述的嵌合多肽和非Notch SynRIPR中的TMD和JMD/STS的实验设计,包括具有可调转录输出的SynRIPR的模块化组装。在这些实验中,对于TMD选择,Notch1 JMD(STS)保持不变,而对于JMD(STS)选择,Notch1TMD保持不变。将表达高性能的“SynRIPR→BFP表达”回路的T细胞与发送细胞共孵育48小时。使用流式细胞术测量BFP输出。

具体实施方式

[0036] 本公开文本总体上尤其涉及包括不需要来自Notch受体的序列的新类别的合成受体的新型嵌合多肽。特别地,如下文更详细描述的,系统工程化工作已经说明,人们可以利用(1)ADAM蛋白酶可切割的胞外结构域(例如,来自CD8的铰链结构域)、(2)γ-分泌酶可切割的跨膜结构域(TMD)以及(3)停止转移序列来合理地构建合成调节性膜间蛋白水解受体

(SynRIPR)。因此,这些受体在自然界中不存在。如下文所述,本公开文本的嵌合多肽可以是合成多肽,或可以被工程化、设计或修饰以提供期望的和/或改进的特性,例如,调节转录。

[0037] 如下文更详细描述的,这些受体可以用于将各种治疗相关细胞类型靶向疾病部位,并以受控和局部化的方式调控细胞的治疗活性。这些受体可以与诱导型转录程序连接,使得当细胞感测到疾病部位时,它将局部产生治疗剂,如抗体、细胞因子、毒素和佐剂。它们是用于细胞工程化的高度通用和可编程的平台,并且基本上任何基因可编码的治疗剂的产生都可以通过这些受体来调控。因此,本文所述的SynRIPR可以潜在地用于癌症、自身免疫或受损组织再生的任何细胞疗法中。另外,这些受体在尺寸上是紧凑的。可以使得编码本文所提供的嵌合受体的多核苷酸小于现有的SynNotch编码多核苷酸,从而使得能够使用具有更有限的容量但在其他方面具有更期望的特征的载体,或者能够包含原本由于与载体容量相关的尺寸约束而被排除的另外的元件。本文所述的实验数据证明,先进的工程化工作现在可以允许科学家合理地设计功能类似于Notch受体但与Notch蛋白不共享序列的受体。

[0038] 在一些实施方案中,本公开文本提供含有包含至少一个γ-分泌酶位点的非Notch跨膜结构域(TMD)的新类别的嵌合受体。如下文更详细地描述的,TMD的切割是由这些合成受体介导的信号传导中的必需步骤。在不受任何特定理论约束的情况下,认为对TMD切割的调节有利于本文所公开的受体的优化和/或改进,这转而可能在调节细胞活性(例如,激活或抑制选定的生物合成通路)中和/或治疗疾病中特别有用。在一些实施方案中,本文所公开的受体结合靶细胞表面展示的配体,从而触发所述受体的蛋白水解切割以及调节细胞中的定制转录程序的转录调控因子的释放。

[0039] 在一些实施方案中,本文所公开的嵌合受体还包含非Notch STS序列,其允许本公开文本的新合成嵌合受体具有广泛范围的期望的特征。例如,通过改变STS和选择不同的近膜结构域,可以产生如下受体,其具有不同噪声水平(即,在不存在所选靶配体的情况下,受体激活的基础水平)、不同信号水平(即,在所选靶配体的存在下获得的表达水平)和不同信噪比。

[0040] 到目前为止,所有功能SynNotch受体都包含源自Notch家族成员的序列。如下文更详细描述的,为了证明模块化受体组装方法的多功能性,已经设计了实验以基于完全缺乏Notch序列的受体组分从头开始工程化配体激活的受体。观察到,尽管所有受体均以高水平表达,但原本有活性的老年痴呆相关类钙粘蛋白-γ(Alcadein-gamma,CSTLN2)TMD在与其同源但无活性的STS/JMD序列一起时不具有功能。值得注意的是,观察到通过用来自KCNE3(RSRKVDKR;SEQ ID:NO:146)或PTPRF(KRKRTH;SEQ ID:NO:108)的更具活性的一种替代CSTLN2 JMD来恢复受体信号传导,表明原始CLSTN2 JMD是功能限制性的。本文所述的实验结果说明了从一组功能部分构建新功能合成调节性膜内蛋白水解受体的能力,这转而证明了受体组装的合成生物学方法能够产生功能类似于Notch受体但是其活性可以合理定制的受体。

[0041] 本公开文本还提供了可用于产生此类受体的组合物和方法、编码所述受体的核酸、用所述核酸基因修饰的宿主细胞、以及用于调节细胞的活性和/或用于治疗多种疾病如癌症的方法。

[0042] 在以下具体实施方式中,参考了附图(其构成本发明的一部分)。在附图中,除非上下文另外指出,否则类似的符号通常标识类似的组分。在具体实施方式、附图和权利要求中

描述的说明性替换方案不意为是限制性的。在不脱离在此呈现的主题的精神或范围的情况下,可以使用其他替代方案并且可以进行其他改变。容易理解,如本文通常描述的并且在附图中示出的方面可以以各种不同的配置进行布置、取代、组合和设计,所有这些都是明确地预期的并且构成本申请的一部分。

定义

[0043] 除非上下文另外明确规定,否则单数形式“一个/一种(a)”、“一个/一种(an)”和“所述”包括复数指示物。例如,术语“一种细胞”包括一种或多种细胞,包括其混合物。在本文中使用“A和/或B”来包括所有以下替代形式:“A”、“B”、“A或B”以及“A和B”。

[0044] 如本文可互换使用的术语“施用(administration)”和“施用(administering)”是指通过施用途径递送组合物或配制品,所述施用途径包括但不限于静脉内、动脉内、大脑内、鞘内、肌内、腹膜内、皮下、肌内及其组合。所述术语包括但不限于由医学专业人员进行施用和自我施用。

[0045] 术语“宿主细胞”和“重组细胞”在本文中可互换地使用。应理解,此类术语以及“细胞”、“细胞培养物”、“细胞系”不仅指代特定的主题细胞或细胞系,而且指代这种细胞或细胞系的子代或潜在子代,而不考虑转移次数。应当理解,并非所有子代都与亲代细胞完全相同。这是因为某些修饰可能由于突变(例如,故意或无意的突变)或环境影响而在后代中发生,使得子代实际上可能与亲本细胞不同,但是仍然被包括在如本文所用的术语的范围内,只要子代保留与原始细胞或细胞系的功能相同的功能即可。

[0046] 如本文所用,术语“构建体”旨在意指源自任何来源的能够进行基因组整合或自主复制的任何重组核酸分子(如表达盒、质粒、粘粒、病毒、自主复制多核苷酸分子、噬菌体或者线性或环状、单链或双链的DNA或RNA多核苷酸分子),包括一个或多个核酸序列已经以功能上操作性的方式连接(例如,可操作地连接)的核酸分子。

[0047] 如本文所用,术语“可操作地连接”表示两个或更多个元件(例如,多肽序列或多核苷酸序列)之间的物理或功能连接,其允许它们以其预期方式操作。

[0048] 术语“异源的”是指在核酸构建体或嵌合多肽中彼此可操作地连接或以其他方式连接的核酸序列或氨基酸序列,所述核酸序列或氨基酸序列在自然界中彼此不是可操作地连接的或彼此不是相连的。

[0049] 在两个或更多个核酸或蛋白质的上下文中,如本文所用的术语“同一性百分比”是指两个或更多个序列或子序列相同或具有指定百分比的相同核苷酸或氨基酸(例如,当在比较窗口或指定区域上比较和比对以获得最大对应时,在指定区域上的约60%序列同一性、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性),如使用采用下文所述的默认参数的BLAST或BLAST 2.0序列比较算法或通过手动比对和目视检查所测量的。参见例如,NCBI网址ncbi.nlm.nih.gov/BLAST。此定义也涉及或可以应用于测试序列的互补体。此定义还包括具有缺失和/或添加的序列以及具有取代的序列。可以在长度为至少约20个氨基酸或核苷酸的区域上,或在长度为10-100个氨基酸或核苷酸的区域上,或在给定序列的整个长度上计算序列同一性。可以使用已公布的技术和广泛可用的计算机程序来计算序列同一性,所述计算机程序如GCS程序包(Devereux等人,Nucleic Acids Res(1984)12:387)、BLASTP、BLASTN、FASTA(Atschul等人,J Mol Biol(1990)215:403)。可以使用序列分析软件采用其默认参数来测量序列同一性,所述序

列分析软件如威斯康星大学生物技术中心(University of Wisconsin Biotechnology Center)(大学大道1710号,威斯康星州麦迪逊,53705)的遗传学计算机组(Genetics Computer Group)的序列分析软件包。

[0050] 当关于细胞、核酸、蛋白质或载体使用时,术语“重组”指示细胞、核酸、蛋白质或载体已经通过人为干预改变或产生,例如像,已经通过实验室方法修饰或是实验室方法的结果。因此,例如,重组细胞、蛋白质和核酸包括通过实验室方法产生的细胞、蛋白质和核酸。重组蛋白可以包含在天然(非重组或野生型)形式的蛋白质中未发现的氨基酸残基,或可以包含已被修饰(例如,标记)的氨基酸残基。术语重组可以包括对肽、蛋白质或核酸序列的任何修饰。此类修饰可以包括以下:肽、蛋白质或核酸序列的任何化学修饰,包括一个或多个氨基酸、脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸的化学修饰;在肽或蛋白质中一个或多个氨基酸的添加、缺失和/或取代;融合蛋白(例如,包含抗体片段的融合蛋白)的产生;以及在核酸序列中一个或多个核酸的添加、缺失和/或取代。当关于细胞使用时,术语“重组”不旨在包括天然存在的细胞,但涵盖这样的细胞,其已被工程化/修饰以包含或表达如果其未被工程化/修饰将不存在于细胞中的多肽或核酸。

[0051] 如本文所用,并且除非另外指定,否则药剂的“治疗有效量”是足以在健康病症或疾病(例如,癌症)的治疗或控制中提供治疗益处的量或数量,或者足以延迟或最小化与病症或疾病相关的一种或多种症状的量或数量。治疗有效量或数量的治疗剂意指单独或与其他治疗剂组合的一定量或数量的治疗剂,所述量或数量的治疗剂在治疗或控制病症或疾病方面提供治疗益处。术语“治疗有效量”可以涵盖改善整体疗法、减轻或避免病症或疾病的症状或原因、或增强另一种治疗剂的治疗功效的量。“有效量”的例子是足以促成治疗、预防或减轻疾病的一种或多种症状的量,其也可以被称为“治疗有效量”。症状的“减轻”意指一种或多种症状的严重程度或频率的降低或者一种或多种症状的消除。治疗剂的确切量或数量(包括“治疗有效量”)将取决于治疗的目的,并且将由本领域技术人员使用已知技术来确定(参见例如,Lieberman,Pharmaceutical Dosage Forms(第1-3卷,2010);Lloyd,The Art,Science and Technology of Pharmaceutical Compounding(2016);Pickar,Dosage Calculations(2012);以及Remington:The Science and Practice of Pharmacy,第22版,2012,Gennaro编辑,Lippincott,Williams&Wilkins)。

[0052] 如本文所用,“受试者”或“个体”包括动物,如人(例如,人类个体)和非人动物。在一些实施方案中,“受试者”或“个体”可以是在医生护理下的患者。因此,受试者可以是患有、有风险患上或怀疑患有目的疾病(例如,癌症)和/或疾病的一种或多种症状的人类患者或个体。受试者也可以是在诊断时或之后被诊断为有目的病症的风险的个体。术语“非人动物”包括所有脊椎动物,例如哺乳动物(例如,啮齿动物,例如小鼠)和非哺乳动物(如非人灵长类动物、绵羊、狗、牛、鸡、两栖动物、爬行动物等)。

[0053] 在提供值范围的情况下,应理解,除非上下文另外明确规定,否则在该范围的上限值与下限值之间的每个中间值(至下限值的单位的十分之一)以及所陈述的范围内的任何其他陈述的或中间值都被涵盖在本公开文本内。这些更小范围的上限值和下限值可以独立地被包括在更小范围内,并且也被涵盖在本公开文本内,服从于在陈述的范围内任何确切排除的限值。在陈述的范围包括一个或两个限值的情况下,排除那些被包括的限值中的任一个或两个的范围也被包括在本公开文本中。

[0054] 某些范围在本文中通过前面带有术语“约”的数值呈现。在本文中使用术语“约”是为了对其后的精确数字以及接近或近似所述术语后的数字的数字提供文字支持。在确定数字是否接近或近似具体列举的数字时,接近或近似的未列举的数字可以是在呈现它的上下文中提供具体列举的数字的基本等效形式的数字。如果根据上下文原本不清楚近似度,则“约”意指在所提供值的±10%内,或者四舍五入到最接近的有效数字,在所有情况下都包括所提供的值。在一些实施方案中,术语“约”指示指定值±至多10%、至多±5%或至多±1%。

[0055] 应理解,本文所述的本公开文本的方面和实施方案包括“包含方面和实施方案”、“由方面和实施方案组成”和“基本上由方面和实施方案组成”。如本文所用,“包含”与“包括”、“含有”或“其特征在于”同义,并且是包含性的或开放式的,并不排除另外的未列举的要素或方法步骤。如本文所用,“由……组成”排除不在所要求保护的组合物或方法中指定的任何要素、步骤或成分。如本文所用,“基本上由……组成”不排除不实质上影响所要求保护的组合物或方法的基本和新型特征的材料或步骤。在本文中、特别是在组合物的组分的描述中或在方法的步骤的描述中对术语“包含”的任何表述都应理解为涵盖那些基本上由所列举的组分或步骤组成和由所列举的组分或步骤组成的组合物和方法。

[0056] 提供标题(例如,(a)、(b)、(i)等)仅仅是为了便于阅读说明书和权利要求。说明书或权利要求中的标题的使用不要求该步骤或要素按字母或数字顺序或它们提供的顺序进行。

[0057] 本文公开的所有范围还都涵盖任何和所有可能的子范围及其子范围的组合。任何列出的范围都可以被认为充分描述和使得能够将相同的范围分解为至少相等的两份、三份、四份、五份、十份,等等。作为一个非限制性例子,本文所讨论的每个范围都可以容易地分解为下三分之一、中三分之一和上三分之一,等等。同样如本领域技术人员将理解的,诸如“高达”、“至少”、“大于”、“小于”等所有言辞都包括所列举的数字,并且涉及随后可以分解为如上文所讨论的子范围的范围。最后,如本领域技术人员将理解的,范围包括每个单独成员。因此,例如,具有1-3个物品的组是指具有1、2或3个物品的组。类似地,具有1-5个物品的组是指具有1、2、3、4或5个物品的组,等等。

[0058] 应了解,为清楚起见在单独实施方案的上下文中描述的本公开文本的某些特征也可以在单个实施方案中组合提供。相反,为简洁起见在单个实施方案的上下文中描述的本公开文本的各种特征也可以分开地或以任何合适的子组合提供。属于本公开文本的实施方案的所有组合都确切地被本公开文本所涵盖并且在本文中公开,如同每一个组合都单独且明确地公开一样。另外,各种实施方案及其要素的所有子组合也都确切地被本公开文本所涵盖并且在本文中公开,如同每一个这样的子组合都单独且明确地在本文中公开一样。

本公开文本的组合物

[0059] 如下文更详细描述的,本公开文本提供一种新类别的嵌合多肽受体,所述嵌合多肽受体被工程化为以配体依赖性方式调节转录调控,具有优于现有合成受体的多种优点。特别地,本公开文本的一些实施方案提供不需要来自Notch受体的序列的合成受体。在一些实施方案中,异源TMD的包含提供了具有多种改进的表达特征的新合成受体,从而扩大了细胞工程师可用的可用受体的范围。在一些实施方案中,本文所公开的合成受体还包含非Notch STS序列,其允许新合成受体具有广泛范围的期望的特征。另外,如上文所讨论的,这

些新合成受体在尺寸上是紧凑的,使得编码这些合成受体的多核苷酸小于现有的SynNotch编码多核苷酸,从而使得能够使用具有更有限的容量但在其他方面具有更期望的特征的载体,或者能够包含原本由于与载体容量相关的尺寸约束而被排除的另外的元件。

[0060] 如下文所说明,从一组功能部分构建新功能合成调节性膜内蛋白水解受体的能力显示,受体组装的合成生物学方法能够产生功能类似于天然存在的受体(如Notch受体)但是其活性可以合理定制的受体。

[0061] 本领域技术人员将理解,本文所公开的嵌合多肽受体促进在某些特定细胞和环境背景下增强的激活。这种类型的受体活性反馈是新的特征,其可以用于增强和调整由工程化的细胞实现的治疗有效载荷的表达。如本文实施例中所述,已经在原代人T细胞中测试并验证嵌合多肽受体。在不受任何特定理论约束的情况下,预期这些新受体在其他哺乳动物细胞中显示出类似的性能。另外,在审阅本公开文本后,本领域普通技术人员将了解,本文所公开的合成受体可以被工程化到多种免疫细胞类型中以增强对肿瘤的辨别和消除,或在工程化细胞中以可调地控制自身免疫和组织再生。因此,工程化的细胞如被工程化为表达本文公开的嵌合受体中的一种或多种的免疫细胞也在本公开文本的范围内。

嵌合多肽

[0062] 在一个方面,本文提供多种新型的非天然存在的嵌合多肽,其被工程化为以配体依赖性方式调节转录调控。这些新受体通常包含(1) γ-分泌酶可切割跨膜结构域(TMD)和(2)停止转移序列。异源STS和TMD序列的包含有利于本文所公开的新嵌合受体的优化和/或改进,这转而可用于调节细胞活性和/或治疗疾病。在一些实施方案中,本文所提供的受体结合靶细胞表面展示的配体,从而触发所述受体的蛋白水解切割并释放调节细胞中的定制转录程序的转录调控因子。

[0063] 在一些实施方案中,本文提供嵌合多肽,所述嵌合多肽从N末端至C末端包含:(a)对选定的配体具有结合亲和力的胞外结合结构域;(b)连接序列;(c)与1型跨膜受体的跨膜结构域具有至少约80%序列同一性并且含有一个或多个配体诱导型蛋白水解切割位点的TMD;以及(d)含有转录调控因子的ICD,其中所述选定的配体与所述胞外结合结构域的结合诱导在所述转录调控因子与所述连接序列之间的配体诱导型蛋白水解切割位点处的切割,并且其中所述嵌合多肽不包含来自Notch受体的序列。

胞外结构域(ECD)

[0064] 在一些实施方案中,本文所公开的嵌合多肽和嵌合受体(例如,SynRIPR)的ECD具有对一种或多种靶配体的结合亲和力。原则上,关于可以由本文所提供的嵌合多肽靶向的合适的配体没有特别限制。在一些实施方案中,所述靶配体是细胞表面配体。合适的细胞表面配体的非限制性例子包括细胞表面受体;粘附蛋白;表面结合的碳水化合物、脂质、糖脂、脂蛋白和脂多糖;整合素;粘蛋白;以及凝集素。在一些实施方案中,所述配体是蛋白质。在一些实施方案中,所述配体是碳水化合物。

[0065] 在一些实施方案中,所述胞外结构域包含受体的配体结合部分。在一些实施方案中,所述胞外结构域包含结合至一种或多种靶抗原的抗原结合部分。在一些实施方案中,所述ECD包括能够与细胞表面上的一种或多种抗原(例如,细胞表面抗原)结合的抗原结合部分。在一些实施方案中,所述抗原结合部分包括抗体或其功能性抗原结合片段的一种或多种抗原结合决定簇。本领域技术人员在阅读本公开文本后将易于理解,术语“其功能片段”

或“其功能变体”是指与衍生出所述片段或变体的野生型分子具有共同的生物活性的分子。例如,抗体的功能片段或功能变体是保留与功能片段或功能变体所来源的抗体基本上相同的与相同表位结合的能力的功能片段或功能变体。例如,能够与细胞表面受体的表位结合的抗体可以在N末端和/或C末端处截短,并且使用本领域技术人员已知的测定评估其表位结合活性的保留。在一些实施方案中,抗原结合部分选自抗体、纳米抗体、双抗体、三抗体、或微型抗体、$F(ab')_2$片段、Fab片段、单链可变片段(scFv)和单结构域抗体(sdAb)或其功能片段。在一些实施方案中,所述抗原结合部分包括scFv。

[0066] 抗原结合部分可以包含天然存在的氨基酸序列或可以被工程化、设计或修饰以提供期望的和/或改进的特性,例如,结合亲和力。通常,抗原结合部分(例如,抗体)对靶抗原(例如,CD19抗原)的结合亲和力可以通过Frankel等人,Mol Immunol(1979)16:101-06描述的斯卡查德(Scatchard)方法计算。在一些实施方案中,通过抗原/抗体解离速率测量结合亲和力。在一些实施方案中,通过竞争放射免疫测定测量结合亲和力。在一些实施方案中,通过ELISA测量结合亲和力。在一些实施方案中,通过流式细胞术测量抗体亲和力。“选择性结合”抗原(如CD19)的抗体是以高亲和力结合所述抗原并且不会明显结合其他无关抗原的抗原结合部分。

[0067] 熟练技术人员可以基于被遗传修饰以表达本公开文本的嵌合多肽或SynRIPR的细胞的期望定位或功能来选择胞外结构域。例如,胞外结构域可以被选择为将受体表达细胞靶向至雌激素依赖性乳腺癌细胞。在一些实施方案中,所公开的嵌合多肽受体(例如,SynRIPR)的胞外结构域能够结合肿瘤相关抗原(TAA)或肿瘤特异性抗原(TSA)。TAA包括存在于肿瘤细胞上或正常细胞的亚群上或许多正常细胞上(但是比在肿瘤细胞上的浓度低得多)的分子,如例如蛋白质。例子包括但不限于CEA、AFP、HER2、CTAG1B和MAGEA1。相比之下,TSA通常包括存在于肿瘤细胞上但不在正常细胞上表达的分子,例如像蛋白质。例子包括但不限于肿瘤病毒抗原和突变的蛋白质(也称为新抗原)。

[0068] 在一些情形中,抗原结合部分对肿瘤细胞表达的抗原(即,肿瘤相关抗原或肿瘤特异性抗原)中存在的表位具有特异性。肿瘤相关抗原或肿瘤特异性抗原可以是与以下相关的抗原:例如,乳腺癌细胞、B细胞淋巴瘤、胰腺癌、霍奇金淋巴瘤细胞、卵巢癌细胞、前列腺癌细胞、间皮瘤、肺癌细胞、非霍奇金B细胞淋巴瘤(B-NHL)细胞、卵巢癌细胞、前列腺癌细胞、间皮瘤细胞、黑色素瘤细胞、慢性淋巴细胞性白血病细胞、急性淋巴细胞性白血病细胞、神经母细胞瘤细胞、神经胶质瘤、胶质母细胞瘤、结直肠癌细胞等。还应理解,肿瘤相关抗原也可以由非癌细胞表达。在一些实施方案中,所述抗原结合结构域对存在于组织特异性抗原中的表位具有特异性。在一些实施方案中,所述抗原结合结构域对存在于疾病相关抗原中的表位具有特异性。

[0069] 通常,关于可以由本文所公开的嵌合多肽受体靶向的合适的表面抗原没有特别限制。合适的靶抗原的非限制性例子包括CD19、B7H3(CD276)、BCMA(CD269)、胎盘碱性磷酸酶样蛋白2(ALPPL2)、绿色荧光蛋白(GFP)、增强型绿色荧光蛋白(EGFP)、信号调节蛋白α(SIRPα)、CD123、CD171、CD179a、CD20、CD213A2、CD22、CD24、CD246、CD272、CD30、CD33、CD38、CD44v6、CD46、CD71、CD97、CEA、CLDN6、CLECL1、CS-1、EGFR、EGFRvIII、ELF2M、EpCAM、EphA2、肝配蛋白B2、FAP、FLT3、GD2、GD3、GM3、GPRC5D、HER2(ERBB2/neu)、IGLL1、IL-11Ra、KIT(CD117)、MUC1、NCAM、PAP、PDGFR-β、PRSS21、PSCA、PSMA、ROR1、SSEA-4、TAG72、TEM1/CD248、

TEM7R、TSHR、VEGFR2、ALPI、瓜氨酸化波形蛋白、cMet和Axl。

[0070] 在一些实施方案中,靶抗原选自CD19、B7H3(CD276)、BCMA(CD269)、CD123、CD171、CD179a、CD20、CD213A2、CD22、CD24、CD246、CD272、CD30、CD33、CD38、CD44v6、CD46、CD71、CD97、CEA、CLDN6、CLECL1、CS-1、EGFR、EGFRvIII、ELF2M、EpCAM、EphA2、肝配蛋白B2、FAP、FLT3、GD2、GD3、GM3、GPRC5D、HER2(ERBB2/neu)、IGLL1、IL-11Ra、KIT(CD117)、MUC1、NCAM、PAP、PDGFR-β、PRSS21、PSCA、PSMA、ROR1、SSEA-4、TAG72、TEM1/CD248、TEM7R、TSHR、VEGFR2、ALPI、瓜氨酸化波形蛋白、cMet、Axl、GPC2、人表皮生长因子受体2(Her2/neu)、CD276(B7-H3)、IL-13Rα1、IL-13Rα2、α-甲胎蛋白(AFP)、癌胚抗原(CEA)、癌症抗原-125(CA-125)、CA19-9、钙视网膜蛋白、MUC-1、上皮膜蛋白(EMA)、上皮肿瘤抗原(ETA)、酪氨酸酶、黑色素瘤相关抗原(MAGE)、CD34、CD45、CD123、CD93、CD99、CD117、嗜铬粒蛋白、细胞角蛋白、结蛋白、胶质细胞原纤维酸性蛋白(GFAP)、巨囊性病液蛋白(GCDFP-15)、ALK、DLK1、FAP、NY-ESO、WT1、HMB-45抗原、蛋白质黑色素-A(由T淋巴细胞识别的黑色素瘤抗原;MART-1)、myo-D1、肌肉特异性肌动蛋白(MSA)、神经丝、神经元特异性烯醇化酶(NSE)、胎盘碱性磷酸酶、突触小泡蛋白、甲状腺球蛋白、甲状腺转录因子-1、AOC3(VAP-1)、CAM-3001、CCL11(嗜酸性粒细胞趋化因子-1)、CD125、CD147(basigin)、CD154(CD40L)、CD2、CD20、CD23(IgE受体)、CD25(IL-2受体的链)、CD3、CD4、CD5、IFN-α、IFN-γ、IgE、IgE Fc区、IL-1、IL-12、IL-23、IL-13、IL-17、IL-17A、IL-22、IL-4、IL-5、IL-5、IL-6、IL-6受体、整合素α4、整合素α4β7、LFA-1(CD11α)、肌生成抑制蛋白、OX-40、硬化蛋白、SOST、TGFβ1、TNF-α、VEGF-A、丙酮酸激酶同工酶M2型(肿瘤M2-PK)、CD20、CD5、CD7、CD3、TRBC1、TRBC2、CD38、CD123、CD93、CD34、CD1a、SLAMF7/CS1、FLT3、CD33、CD123、TALLA-1、CSPG4、DLL3、κ轻链、λ轻链、CD16/FcγRIII、CD64、FITC、CD22、CD27、CD30、CD70、GD2(神经节苷脂G2)、GD3、EGFRvIII(表皮生长因子变体III)、EGFR及其同种变体、TEM-8、精子蛋白17(Sp17)和间皮素。

[0071] 合适的抗原的其他非限制性例子包括PAP(前列腺酸性磷酸酶)、前列腺干细胞抗原(PSCA)、prostein、NKG2D、TARP(T细胞受体γ交替阅读框蛋白)、Trp-p8、STEAP1(前列腺六跨膜上皮抗原1)、异常ras蛋白、异常p53蛋白、整合素β3(CD61)、催乳素、K-Ras(V-Ki-ras2 Kirsten大鼠肉瘤病毒癌基因)、Ral-B、GPC2、CD276(B7-H3)或IL-13Rα。在一些实施方案中,所述抗原是ALPPL2。在一些实施方案中,所述抗原是BCMA。在一些实施方案中,所述ECD的抗原结合部分对报告蛋白如GFP和eGFP具有特异性。这种抗原结合部分的非限制性例子包括LaG17抗GFP纳米抗体。在一些实施方案中,所述ECD的抗原结合部分包括抗BCMA完全人源化VH结构域(FHVH)。在一些实施方案中,所述抗原是信号调节蛋白α(SIRPα)。

[0072] 可能适合于本文所公开的嵌合多肽受体的另外的抗原包括但不限于GPC2、人表皮生长因子受体2(Her2/neu)、CD276(B7-H3)、IL-13Rα1、IL-13Rα2、α-甲胎蛋白(AFP)、癌胚抗原(CEA)、癌症抗原-125(CA-125)、CA19-9、钙视网膜蛋白、MUC-1、上皮膜蛋白(EMA)、上皮肿瘤抗原(ETA)。其他合适的靶抗原包括但不限于酪氨酸酶、黑色素瘤相关抗原(MAGE)、CD34、CD45、CD123、CD93、CD99、CD117、嗜铬粒蛋白、细胞角蛋白、结蛋白、胶质纤维酸性蛋白(GFAP)、巨囊性病液体蛋白(GCDFP-15)、ALK、DLK1、FAP、NY-ESO、WT1、HMB-45抗原、蛋白质黑色素-A(T淋巴细胞识别的黑色素瘤抗原;MART-1)、myo-D1、肌肉特异性肌动蛋白(MSA)、神经丝、神经元特异性烯醇化酶(NSE)、胎盘碱性磷酸酶、突触小泡蛋白、甲状腺球蛋白、甲状腺转录因子-1。

[0073] 另外的合适的抗原包括但不限于与炎性疾病相关的那些,如AOC3(VAP-1)、CAM-3001、CCL11(嗜酸性粒细胞趋化因子-1)、CD125、CD147(basigin)、CD154(CD40L)、CD2、CD20、CD23(IgE受体)、CD25(异二聚IL-2受体的一个亚基)、CD3、CD4、CD5、IFNα、IFNγ、IgE、IgE Fc区、IL-1、IL-12、IL-23、IL-13、IL-17、IL-17A、IL-22、IL-4、IL-5、IL-5、IL-6、IL-6受体、整合素α4、整合素α4β7、LFA-1(CD11α)、肌生成抑制蛋白、OX-40、硬化蛋白、SOST、TGFβ1、TNFα和VEGF-A。

[0074] 适合于本文所公开的嵌合多肽和SynRIPR的其他抗原包括但不限于丙酮酸激酶同工酶M2型(肿瘤M2-PK)、CD20、CD5、CD7、CD3、TRBC1、TRBC2、BCMA、CD38、CD123、CD93、CD34、CD1a、SLAMF7/CS1、FLT3、CD33、CD123、TALLA-1、CSPG4、DLL3、κ轻链、λ轻链、CD16/FcγRIII、CD64、FITC、CD22、CD27、CD30、CD70、GD2(神经节苷脂G2)、GD3、EGFRvIII(表皮生长因子变体III)、EGFR及其同种变体、TEM-8、精子蛋白17(Sp17)、间皮素。合适的抗原的其他非限制性例子包括PAP(前列腺酸性磷酸酶)、前列腺干细胞抗原(PSCA)、prostein、NKG2D、TARP(T细胞受体γ交替阅读框蛋白)、Trp-p8、STEAP1(前列腺六跨膜上皮抗原-1)、异常ras蛋白、异常p53蛋白、整合素β3(CD61)、催乳素、K-Ras(V-Ki-ras2 Kirsten大鼠肉瘤病毒癌基因)和Ral-B。在一些实施方案中,抗原是ALPPL2。在一些实施方案中,所述抗原是BCMA。在一些实施方案中,所述ECD的抗原结合部分对报告蛋白如GFP和eGFP具有特异性。这种抗原结合部分的非限制性例子包括LaG17抗GFP纳米抗体。在一些实施方案中,所述ECD的抗原结合部分包括抗BCMA完全人源化VH结构域(FHVH)。在一些实施方案中,所述抗原是信号调节蛋白α(SIRPα)。

[0075] 在一些实施方案中,适合于由本文所公开的嵌合多肽和嵌合受体靶向的抗原包括源自病原体的配体。例如,所述抗原可以是由HER2阳性乳腺癌细胞产生的HER2。在一些实施方案中,所述抗原可以是在B细胞白血病上表达的CD19。在一些实施方案中,所述抗原可以是在多形性胶质母细胞瘤(GBM)上表达但在健康CNS组织上表达少得多的EGFR。在一些实施方案中,所述抗原可以是与成人癌症例如结肠癌相关的CEA。

[0076] 在一些实施方案中,胞外结构域的抗原结合部分对细胞表面靶标具有特异性,其中细胞表面靶标的非限制性例子包括CD19、CD30、Her2、CD22、ENPP3、EGFR、CD20、CD52、CD11α和α-整合素。在一些实施方案中,本文所公开的嵌合多肽和SynRIPR包括具有结合CD19、CEA、HER2、MUC1、CD20或EGFR的抗原结合部分的胞外结构域。在一些实施方案中,本文所公开的嵌合多肽和SynRIPR包括包含结合CD19的抗原结合部分的胞外结构域。

连接序列

[0077] 如上所述,本公开文本的嵌合多肽和受体包括设置在胞外配体结合结构域(ECD)与TMD之间的连接序列。

[0078] 在一些实施方案中,嵌合受体的连接序列与多肽铰链结构域具有至少约80%氨基酸序列同一性。在不受任何特定理论约束的情况下,本公开文本的嵌合多肽和SynRIPR的铰链结构域可以提供几种功能,包括控制所述嵌合多肽和SynRIPR的柔性和刚性,其转而可以影响抗原结合和信号转导。可以调整铰链结构域的长度以增强SynRIPR够到在SynRIPR与靶细胞之间的空间中的抗原的能力。还可以调整铰链结构域以介导二聚化。在选择合适的铰链结构域时应当谨慎。例如,较短的铰链结构域可以在接合在靶抗原上后更具刚性并且在转导信号时更有效,但是可能不能够到膜更近端或在其他方面特殊受限的靶标。在一些实

施方案中,所述铰链结构域能够经由分子间二硫键键合促进所述嵌合多肽的寡聚体形成。在这些情形中,在本文公开的嵌合多肽和SynRIPR内,所述铰链结构域通常包括设置在ECD与TMD之间的柔性寡肽或多肽连接区域。因此,所述铰链结构域提供在ECD与TMD之间的柔性,并且还提供在两个或更多个嵌合多肽单体之间的分子间二硫键键合的位点以形成寡聚复合物。在一些实施方案中,所述铰链结构域包含促进本文公开的嵌合多肽的二聚体形成的基序。在一些实施方案中,所述铰链结构域包含促进本文公开的嵌合多肽的三聚体形成的基序(例如,源自OX40的铰链结构域)。

[0079] 适合于本公开文本的组合物和方法的铰链多肽序列可以是天然存在的铰链多肽序列(例如,来自天然存在的免疫球蛋白的那些)。可替代地,铰链多肽序列可以是对应于天然存在的铰链多肽序列的合成序列,或者可以是完全合成的铰链序列,或者可以被工程化、设计或修饰为提供期望的和/或改进的特性,例如调节转录。合适的铰链多肽序列包括但不限于源自IgA、IgD和IgG亚类的那些,如IgG1铰链结构域、IgG2铰链结构域、IgG3铰链结构域和IgG4铰链结构域或其功能变体。在一些实施方案中,所述铰链多肽序列含有一个或多个CXXC基序。在一些实施方案中,所述铰链多肽序列含有一个或多个CPPC基序。关于这一点的另外信息可以在例如Vidarsson G等人,Frontiers Immunol.2014年10月20日的近期综述中找到,所述文献特此通过引用以其整体并入。

[0080] 因此,在一些实施方案中,所述铰链结构域包含源自IgG1铰链结构域或其功能变体的铰链多肽序列。在一些实施方案中,所述铰链结构域包含源自IgG2铰链结构域或其功能变体的铰链多肽序列。在一些实施方案中,所述铰链结构域包含源自IgG3铰链结构域或其功能变体的铰链多肽序列。在一些实施方案中,所述铰链结构域包含源自IgG4铰链结构域或其功能变体的铰链多肽序列。在一些实施方案中,所述铰链结构域包含源自IgA铰链结构域或其功能变体的铰链多肽序列。在一些实施方案中,所述铰链结构域包含源自IgD铰链结构域或其功能变体的铰链多肽序列。

[0081] 适合于本文公开的组合物和方法的另外的铰链多肽序列包括但不限于源自CD8α铰链结构域、CD28铰链结构域、CD152铰链结构域、PD-1铰链结构域、CTLA4铰链结构域、OX40铰链结构域、Fc γ RIIIα铰链结构域及其功能变体的铰链多肽序列。在一些实施方案中,所述铰链结构域包含源自CD8α铰链结构域或其功能变体的铰链多肽序列。在一些实施方案中,所述铰链结构域包含源自CD28铰链结构域或其功能变体的铰链多肽序列。在一些实施方案中,所述铰链结构域包含源自OX40铰链结构域或其功能变体的铰链多肽序列。在一些实施方案中,所述铰链结构域包含源自IgG4铰链结构域或其功能变体的铰链多肽序列。

[0082] 原则上,除了铰链结构域应赋予柔性和寡聚化能力之外,对其长度和/或氨基酸组成没有特别限制。然而,本领域技术人员将容易地理解,可以优化铰链多肽序列的长度和氨基酸组成以改变ECD和TMD相对于彼此的取向和/或接近性,以及嵌合多肽单体相对于彼此的取向和/或接近性,以实现本公开文本的嵌合多肽的期望活性。在一些实施方案中,包含约一至100个氨基酸残基(例如,2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等的氨基酸残基)的任何单链肽可以用作铰链结构域。在一些实施方案中,所述铰链结构域包含约5至50、约10至60、约20至70、约30至80、约40至90、约50至100、约60至80、约70至100、约30至60、约20至80、约30至90个氨基酸残基。在一些实施方案中,所述铰链结构域包含约1至10、约5至15、约10至20、约15至25、约20至40、约30至50、约40至60、约50至70个氨基酸残

基。在一些实施方案中,所述铰链结构域包含约40至70、约50至80、约60至80、约70至90、或约80至100个氨基酸残基。在一些实施方案中,所述铰链结构域包含约1至10、约5至15、约10至20、约15至25个氨基酸残基。

[0083] 在一些实施方案中,所述连接序列包含与源自以下的铰链结构域具有至少80%序列同一性的氨基酸序列:CD8α铰链结构域、CD28铰链结构域、CD152铰链结构域、PD-1铰链结构域、CTLA4铰链结构域、OX40铰链结构域、IgG1铰链结构域、IgG2铰链结构域、IgG3铰链结构域和IgG4铰链结构域或其任一种的功能变体。

[0084] 在一些实施方案中,所述铰链结构域源自CD8α铰链结构域或其功能变体。在一些实施方案中,所述铰链结构域包含与SEQ ID NO:157-161中的任一个具有至少80%序列同一性的氨基酸序列。

[0085] 在一些实施方案中,所述连接序列包含与序列表中的SEQ ID NO:157-161中所示的序列具有至少约80%序列同一性(如至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或约99%序列同一性)的氨基酸序列或由其组成。在一些实施方案中,所述连接序列包含与SEQ ID NO:157-161中所示的序列具有至少约80%序列同一性的氨基酸序列或由其组成。在一些实施方案中,所述连接序列包含与SEQ ID NO:157-161中所示的序列具有至少约90%序列同一性的氨基酸序列或由其组成。在一些实施方案中,所述连接序列包含与SEQ ID NO:157-161中所示的序列具有至少约95%序列同一性的氨基酸序列或由其组成。在一些实施方案中,所述连接序列包含与SEQ ID NO:157-161中所示的序列具有约100%序列同一性的氨基酸序列或由其组成。在一些实施方案中,所述连接序列包含选自SEQ ID NO:157-161的氨基酸序列或由其组成,其中SEQ ID NO:157-161中的任一个的一个、两个、三个、四个或五个氨基酸残基被不同的氨基酸残基取代。

[0086] 在一些实施方案中,将ROBO(Roundabout)细胞表面受体的一个或多个结构域掺入本公开文本的嵌合受体的连接序列中。在配体诱导的通过ADAM10 MMP和γ-分泌酶对受体胞外部分的切割之后,ROBO受体释放核转录因子结构域。然而,ROBO不含LIN/Notch结构域、EGF样重复或HD结构域。另外,ROBO的主要配体是可溶蛋白(SLIT)。哺乳动物具有四种ROBO受体:ROBO1-3具有五个免疫球蛋白样(Ig)结构域、三个纤连蛋白(Fn)重复以及与胞内结构域连接的跨膜结构域。ROBO4仅具有两个Ig结构域和两个Fn结构域。关于这一点的另外信息可以在例如H.Blockus等人,Development(2016)143:3037-44中找到,其通过引用特此并入。

[0087] 在一些实施方案中,如本文所公开的嵌合受体的连接序列包括源自ROBO受体的至少一个纤连蛋白(Fn)重复。所公开的嵌合受体的连接序列可以含有1、2、3、4或5个Fn重复。在一些实施方案中,所述嵌合受体的连接序列包括约1至约5个Fn重复、约1至约3个Fn重复或者约2至约3个Fn重复。在一些实施方案中,所述嵌合受体的连接序列与包含至少一个纤连蛋白重复的ROBO1 JMD具有至少约80%氨基酸序列同一性。

[0088] 在一些实施方案中,所述嵌合受体的连接序列具有长度为约4至约40个氨基酸残基(例如,4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基)的多肽序列。在一些实施方案中,可以优化连接序列的长度和氨基酸组成以改变ECD和TMD相对于彼此的取向和/或接近度,以实现本公开文本的嵌合多肽的期望活性。在一些实施方案中,所述嵌合受体的连接序列具有长度为约4至约40、约5至约30、约10至约20、约10至约30、约

10至约40、约5至约20、约5至约40或约20至约40个氨基酸残基的多肽序列。

跨膜结构域(TMD)

[0089] 如上文所述,本公开文本的嵌合受体包括与1型跨膜受体的TMD具有至少约80％序列同一性并且包含一个或多个配体诱导型蛋白水解切割位点的跨膜结构域。

[0090] 适合于本文所公开的组合物和方法的蛋白水解切割位点的例子包括但不限于选自以下的基质金属蛋白酶(MMP)的金属蛋白酶切割位点:胶原酶-1、胶原酶-2和胶原酶-3(MMP-1、MMP-8和MMP-13)、明胶酶A和明胶酶B(MMP-2和MMP-9)、溶基质蛋白酶1、溶基质蛋白酶2和溶基质蛋白酶3(MMP-3、MMP-10和MMP-11)、基质溶解因子(MMP-7)以及膜金属蛋白酶(MT1-MMP和MT2-MMP)。例如,MMP-9的切割序列是Pro-X-X-Hy(其中,X表示任意残基;Hy表示疏水残基,如Leu、Ile、Val、Phe、Trp、Tyr、Val、Met和Pro)(SEQ ID NO:165),例如Pro-X-X-Hy-(Ser/Thr)(SEQ ID NO:166),例如Pro-Leu/Gln-Gly-Met-Thr-Ser(SEQ ID NO:167)或Pro-Leu/Gln-Gly-Met-Thr(SEQ ID NO:168)。合适的蛋白酶切割位点的另一个例子是血纤蛋白溶解酶原激活因子切割位点,例如,尿激酶血纤蛋白溶解酶原激活因子(uPA)或组织血纤蛋白溶解酶原激活因子(tPA)切割位点。合适的蛋白酶切割位点的另一个例子是催乳素切割位点。uPA和tPA的切割序列的具体例子包括包含Val-Gly-Arg的序列(SEQ ID NO:169)。可以包含在蛋白水解可切割接头中的另一个蛋白酶切割位点的例子是烟草蚀刻病毒(TEV)蛋白酶切割位点,例如Glu-Asn-Leu-Tyr-Thr-Gln-Ser(SEQ ID NO:170),其中蛋白酶在谷氨酰胺与丝氨酸之间切割。可以包含在蛋白水解可切割接头中的蛋白酶切割位点的另一个例子是肠激酶切割位点,例如Asp-Asp-Asp-Asp-Lys(SEQ ID NO:171),其中切割发生在赖氨酸残基之后。可以包含在蛋白水解可切割接头中的蛋白酶切割位点的另一个例子是凝血酶切割位点,例如Leu-Val-Pro-Arg(SEQ ID NO:172)。包含蛋白酶切割位点的另外的合适的接头包括可通过以下蛋白酶切割的序列:PreScission™蛋白酶(包含人鼻病毒3C蛋白酶和谷胱甘肽-S-转移酶的融合蛋白)、凝血酶、组织蛋白酶B、EB病毒(Epstein-Barr virus)蛋白酶、MMP-3(溶基质蛋白酶)、MMP-7(基质溶解因子)、MMP-9;嗜热菌蛋白酶样MMP、基质金属蛋白酶2(MMP-2)、组织蛋白酶L;组织蛋白酶D、基质金属蛋白酶1(MMP-1)、尿激酶型血纤蛋白溶解酶原激活因子、膜1型基质金属蛋白酶(MT-MMP)、溶基质蛋白酶3(或MMP-11)、嗜热菌蛋白酶、成纤维细胞胶原酶和溶基质蛋白酶-1、基质金属蛋白酶13(胶原酶-3)、组织型血纤蛋白溶解酶原激活因子(tPA)、人前列腺特异性抗原、激肽释放酶(hK3)、嗜中性粒细胞弹性蛋白酶以及钙蛋白酶(钙激活的中性蛋白酶)。对于其中表达受体的宿主细胞(例如,TEV)并非天然的蛋白酶可以用作另一种调控机制,其中在表达或以其他方式提供蛋白酶之前,本公开文本的SynRIPR的激活是降低的。另外,蛋白酶可以是肿瘤相关的或疾病相关的(表达程度显著高于在正常组织中的表达程度),并且充当独立的调控机制。例如,一些基质金属蛋白酶在某些癌症类型中高度表达。

[0091] 通常,适合于本文所公开的嵌合受体的TMD可以是包含至少一个γ-分泌酶切割位点的1型跨膜受体的任何跨膜结构域。γ-分泌酶复合物以及其底物蛋白(包括淀粉样前体蛋白(APP))的结构和功能的详细描述可以例如在Zhang等人,Frontiers Cell Neurosci(2014)的近期综述中找到。来自1型跨膜受体的非限制性的合适的TMD包括来自以下的那些:CLSTN1、CLSTN2、APLP1、APLP2、LRP8、APP、BTC、TGBR3、SPN、CD44、CSF1R、CXCL16、CX3CL1、DCC、DLL1、DSG2、DAG1、CDH1、EPCAM、EPHA4、EPHB2、EFNB1、EFNB2、ErbB4、GHR、HLA-A和

IFNAR2,其中所述TMD包括至少一个γ-分泌酶切割位点。适合于本文所述的组合物和方法的另外的TMD包括但不限于来自以下1型跨膜受体的跨膜结构域:IL1R1、IL1R2、IL6R、INSR、ERN1、ERN2、JAG2、KCNE1、KCNE2、KCNE3、KCNE4、KL、CHL1、PTPRF、SCN1B、SCN3B、NPR3、NGFR、PLXDC2、PAM、AGER、ROBO1、SORCS3、SORCS1、SORL1、SORT1、SDC1、SDC2、SPN、TYR、TYRP1、DCT、VASN、FLT1、CDH5、PKHD1、连接蛋白1、PCDHGC3、NRG1、LRP1B、CDH2、NRG2、PTPRK、SCN2B、Nradd和PTPRM。在一些实施方案中,本公开文本的嵌合多肽或SynRIPR的TMD是源自APP、CLSTN1、CLSTN2、EPCAM、KCNE3、连接蛋白1、PCDHGC3和PTPRF的TMD。在一些实施方案中,本公开文本的嵌合多肽或SynRIPR的TMD是源自钙同线蛋白家族成员如老年痴呆相关类钙粘蛋白α和老年痴呆相关类钙粘蛋白γ的TMD。

[0092] 因此,在一些实施方案中,所述跨膜结构域包含展现出与多肽序列的至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%序列同一性的氨基酸序列,所述多肽序列与包含γ-分泌酶切割位点的来自1型跨膜受体的跨膜结构域具有至少约70%序列同一性。在一些实施方案中,所述跨膜结构域包含展现出与包含γ-分泌酶切割位点的来自1型跨膜受体的跨膜结构域的至少70%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述跨膜结构域包含展现出与包含γ-分泌酶切割位点的来自1型跨膜受体的跨膜结构域的至少约80%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述跨膜结构域包含展现出与包含γ-分泌酶切割位点的来自1型跨膜受体的跨膜结构域的至少约90%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述跨膜结构域包含展现出与包含γ-分泌酶切割位点的来自1型跨膜受体的跨膜结构域的至少约95%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述1型跨膜受体选自CLSTN1、CLSTN2、APLP1、APLP2、LRP8、APP、BTC、TGBR3、SPN、CD44、CSF1R、CXCL16、CX3CL1、DCC、DLL1、DSG2、DAG1、CDH1、EPCAM、EPHA4、EPHB2、EFNB1、EFNB2、ErbB4、GHR、HLA-A、IFNAR2、IL1R1、IL1R2、IL6R、INSR、ERN1、ERN2、JAG2、KCNE1、KCNE2、KCNE3、KCNE4、KL、CHL1、PTPRF、SCN1B、SCN3B、NPR3、NGFR、PLXDC2、PAM、AGER、ROBO1、SORCS3、SORCS1、SORL1、SORT1、SDC1、SDC2、TYR、TYRP1、DCT、VASN、FLT1、CDH5、PKHD1、连接蛋白1、PCDHGC3、NRG1、LRP1B、CDH2、NRG2、PTPRK、SCN2B、Nradd和PTPRM。在一些实施方案中,所述TMD包含展现出与序列表中的SEQ ID NO:1-84、178、182-185和190-192中的任一个至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述跨膜结构域包含与SEQ ID NO:1-84、178、182-185和190-192具有至少约90%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述跨膜结构域包含与SEQ ID NO:1-88具有至少约95%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述跨膜结构域包含与SEQ ID NO:1-84、178、182-185和190-192具有约100%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述跨膜结构域包含SEQ ID NO:1-84、178、182-185和190-192的氨基酸序列,其中氨基酸序列中的一个、两个、三个、四个或五个氨基酸残基被不同的氨基酸残基取代。

[0093] 在一些实施方案中,所述TMD内的一个或多个氨基酸取代包括TMD的“GV”基序内的一个或多个取代。在一些实施方案中,此类取代中的至少一个包括取代为丙氨酸。例如,序列IATVVIIISVCMLVFVVAMGVY(SEQ ID NO:2)以及如SEQ ID NO:1、6、20、43、39、54和64中所示的序列中的任一个的一个、两个、三个、四个、五个或更多个氨基酸残基可以被不同的氨

基酸残基取代。在一些实施方案中,SEQ ID NO:2内“GV”基序的位置18和/或19处的氨基酸残基被不同的氨基酸残基取代。在一些实施方案中,SEQ ID NO:2的位置20处的甘氨酸残基被不同的氨基酸残基取代。在一些实施方案中,SEQ ID NO:2的位置21处的缬氨酸残基被不同的氨基酸残基取代。在一些实施方案中,跨膜结构域包含具有对应于SEQ ID NO:2的序列的氨基酸序列,其在对应于SEQ ID NO:20的位置18的位置处具有突变,如G18A突变。在一些实施方案中,跨膜结构域包含具有对应于SEQ ID NO:2的序列的氨基酸序列,其在对应于SEQ ID NO:57的位置21的位置处具有突变,如V19A突变。

停止转移序列(STS)

[0094] 在一些实施方案中,本公开文本的嵌合受体包括停止转移序列(STS),其基本上是位于TMD与ICD之间的高电荷结构域。在不受任何特定理论约束的情况下,设置在TMD与ICD之间的这种高电荷结构域防止ICD进入膜。原则上,对所述STS的长度和/或氨基酸组成没有特别限制。在一些实施方案中,可以使用包含约1至约40个氨基酸残基(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基)的任何任意单链肽作为STS。在一些实施方案中,所述STS包含约1至15、约5至20、约8至25、约10至30、约12至35、约14至40、约5至40、约10至35、约15至30、约20至25、约20至40、约10至30、约4至20、或约5至25个氨基酸残基。在一些实施方案中,所述STS包含约1至10、约5至12、约6至14、约7至18、约8至20、约9至22、约10至24、或约11至26个氨基酸残基。在一些实施方案中,所述STS包含约4至10个残基,如4、5、6、7、8、9或10个氨基酸残基。

[0095] 在一些实施方案中,所述STS包含与1型受体的STS结构域具有至少约80%序列同一性(如至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或99%序列同一性)的序列。在一些实施方案中,所述STS包含与1型受体的STS结构域具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述STS包含与来自CSF1R、CXCL16、DAG1、GHR、PTPRF、AGER、KL、NRG1、LRP1B、Jag2、EPCAM、KCNE3、CDH2、NRG2、PTPRK、BTC、EPHA3、IL1R2、PTPRF或PTPRM的STS序列具有至少70%序列同一性(如至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、或99%序列同一性)的序列。在一些实施方案中,所述STS包含与来自CSF1R、DAG1、AGER、NRG1、KCNE3、PTPRF或PTPRM的STS序列具有至少70%序列同一性(如至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或99%序列同一性)的序列。在一些实施方案中,所述STS包含在前4个残基中仅包含Lys(K)或Arg(R)的序列。在一些实施方案中,所述STS包含一个、两个、三个、四个、五个或更多个碱性残基。在一些实施方案中,所述STS包含五个、四个、三个、两个、一个或零个芳族残基或具有疏水和/或庞大侧链的残基。

[0096] 在一些实施方案中,,所述STS包含与序列表中的SEQ ID NO:85-156和173具有至少80%序列同一性(如至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或99%序列同一性)的序列。在一些实施方案中,所述STS包含与SEQ ID NO:89、92、108、115、138、146和156具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述STS包含与SEQ ID NOS:89、92、108、115、138、146和156具有至少95%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述STS包含与SEQ ID NO:89、92、108、115、138、146和156具有至少100%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述STS包含与SEQ ID NO:146具有至少90%或至少95%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述STS包含与SEQ ID

NO:108具有至少95％序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述STS包含SEQ ID NO:89、92、108、115、138、146和156中的任一个的氨基酸序列,其中氨基酸序列中的一个、两个、三个、四个或五个氨基酸残基被不同的氨基酸残基取代。

胞内结构域(ICD)

[0097] 本公开文本的嵌合受体进一步包含含有转录调控因子的胞内结构域(ICD)。转录调控因子是用以激活或阻遏启动子驱动的DNA序列的转录的生化元件。适合于本公开文本的组合物和方法的转录调控因子可以是天然存在的转录调控因子,或者可以被工程化、设计或修饰以提供期望的和/或改进的特性,例如调节转录。在一些实施方案中,所述转录调控因子直接调控细胞的分化中涉及的一个或多个基因的表达。在一些实施方案中,所述转录调控因子通过以下方式间接调节细胞的分化中涉及的一个或多个基因的表达:调节第二转录因子的表达,这转而调节细胞的分化中涉及的一个或多个基因的表达。技术人员将理解,转录调控因子可以是转录激活因子或转录阻遏因子。在一些实施方案中,所述转录调控因子是转录阻遏因子。在一些实施方案中,所述转录调控因子是转录激活因子。在一些实施方案中,所述转录调控因子可以进一步包括核定位信号。在一些实施方案中,所述转录调控因子选自Gal4-VP16、Gal4-VP64、tetR-VP64、ZFHD1-VP64、Gal4-KRAB和HAP1-VP16。在一些实施方案中,所述转录调控因子是Gal4-VP64。

另外的结构域

[0098] 在一些实施方案中,位于TMD的N末端的胞外结构域可以进一步包含另外的结构域,例如膜定位信号如CD8α信号、可检测标记物如myc标签或his标签等。在一些实施方案中,所述嵌合受体进一步包含一个或多个另外的蛋白水解切割位点。在一些实施方案中,所述嵌合受体不包含另外的蛋白水解切割位点。在一些实施方案中,所述嵌合受体进一步包含一个或多个糖基化位点。在一些实施方案中,所述嵌合受体不包含糖基化位点。在一些实施方案中,所述嵌合受体不包含用于经由分子间二硫键键合促进嵌合多肽的寡聚化的铰链结构域。

[0099] 在一些实施方案中,所述嵌合受体进一步包含高度保守的ROBO细胞表面受体的元件。在一些实施方案中,所公开的嵌合受体从N末端到C末端包含:(a)对选定的配体具有结合亲和力的胞外配体结合结构域;(b)含有纤连蛋白重复的ROBO结构域;(c)含有一个或多个配体诱导型蛋白水解切割位点的TMD;以及(d)含有转录调控因子的ICD,其中所述选定的配体与所述胞外结合结构域的结合诱导所述TMD中的配体诱导型蛋白水解切割位点处的切割,并且其中所述嵌合多肽不包含来自Notch受体的序列。

[0100] 在一些实施方案中,所述嵌合受体进一步包含胞外寡聚化结构域(例如,铰链结构域)以促进嵌合受体的寡聚化(例如,二聚化、三聚化或更高阶多聚物)。在一些实施方案中,所公开的嵌合受体从N末端到C末端包含:(a)对选定的配体具有结合亲和力的胞外配体结合结构域;(b)铰链结构域;(c)含有一个或多个配体诱导型蛋白水解切割位点的TMD;以及(d)含有转录调控因子的ICD,其中所述选定的配体与所述胞外结合结构域的结合诱导所述TMD中的配体诱导型蛋白水解切割位点处的切割,并且其中所述嵌合多肽不包含来自Notch受体的序列。

[0101] 在一些实施方案中,所述铰链结构域包含能够经由分子间二硫键键合促进嵌合多肽的寡聚物形成的多肽基序。在一些实施方案中,本文所公开的嵌合受体从N末端到C末端

包含:(a)对选定的配体具有结合亲和力的胞外配体结合结构域;(b)能够经由分子间二硫键键合促进嵌合多肽的寡聚物形成的铰链结构域;(c)含有一个或多个配体诱导型蛋白水解切割位点的TMD;以及(d)含有转录调控因子的ICD,其中所述选定的配体与所述胞外结合结构域的结合诱导所述TMD中的配体诱导型蛋白水解切割位点处的切割,并且其中所述嵌合多肽不包含来自Notch受体的序列。

[0102] 本公开文本的嵌合受体可以是任何长度的嵌合多肽,包括如下长度的嵌合多肽:通常在约100个氨基酸(aa)至约1000个aa之间,例如,约100个aa至约200个aa、约150个aa至约250个aa、约200个aa至约300个aa、约250个aa至约350个aa、约300个aa至约400个aa、约350个aa至约450个aa、约400个aa至约500个aa。在一些实施方案中,所公开的嵌合多肽的长度通常在约400个aa至约450个aa之间、约450个aa至约500个aa、约500个aa至约550个aa、约550个aa至约600个aa、约600个aa至约650个aa、约650个aa至约700个aa、约700个aa至约750个aa、约750个aa至约800个aa、约800个aa至约850个aa、约850个aa至约900个aa、约900个aa至约950个aa、或约950个aa至约1000个aa。在一些情形中,本公开文本的嵌合多肽的长度为约300个aa至约400个aa。在一些情形中,本公开文本的嵌合多肽的长度为300个aa至350个aa。在一些情形中,本公开文本的嵌合多肽的长度为300个aa至325个aa。在一些情形中,本公开文本的嵌合多肽的长度为350个aa至400个aa。在一些情形中,本公开文本的嵌合多肽的长度为750个aa至850个aa。

[0103] 在一些实施方案中,本公开文本的嵌合受体包含:(a)胞外配体结合结构域;(b)连接序列,其包含与SEQ ID NO:157-161中的任一个具有至少约80%、90%、95%、96%、97、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;(c)TMD,其包含与SEQ ID NO:1-84、178、182-185和190-192中的任一个具有至少约80%、90%、95%、96%、97、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;(d)STS,其包含与SEQ ID NO:89、92、108、115、138、146和156中的任一个具有至少约80%、90%、95%、96%、97、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;以及(e)含有转录调控因子的ICD。在一些实施方案中,本公开文本的嵌合受体包含:(a)连接序列,其包含与SEQ ID NO:157-161中的任一个具有至少约90%序列同一性的氨基酸序列;(b)TMD,其包含与SEQ ID NO:1-84、178、182-185和190-192中的任一个具有至少约90%序列同一性的氨基酸序列;以及(c)STS,其包含与SEQ ID NO:89、92、108、115、138、146和156中的任一个具有至少约90%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开文本的嵌合受体包含:(a)连接序列,其包含与SEQ ID NO:157-161中的任一个具有至少约95%序列同一性的氨基酸序列;(b)跨膜结构域,其包含与SEQ ID NO:1-84、178、182-185和190-192中的任一个具有至少约95%序列同一性的氨基酸序列;以及(c)STS,其包含与SEQ ID NO:89、92、108、115、138、146和156中的任一个具有至少约95%序列同一性的氨基酸序列。

[0104] 在一些实施方案中,本公开文本的嵌合多肽包含与本文所公开的嵌合受体(例如,在表1中描述的那些)具有至少约80%、90%、95%、96%、97、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列。因此,在一些实施方案中,本公开文本的嵌合多肽包含与选自序列表中SEQ ID NO:197-248的序列具有至少约80%、90%、95%、96%、97、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开文本的嵌合多肽包含与选自SEQ ID NO:197-248的序列具有至少约90%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开文本的嵌合多肽包含与选自SEQ ID NO:197-248的序列具有至少约95%序列同一性的氨基酸序列。

在一些实施方案中,本公开文本的嵌合多肽包含与选自SEQ ID NO:197-248的序列具有至少约100%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开文本的嵌合多肽包含与选自SEQ ID NO:197-248的序列具有至少约100%序列同一性的氨基酸序列,其中氨基酸序列中的一个、两个、三个、四个或五个氨基酸残基被不同的氨基酸残基取代。

核酸分子

[0105] 在一个方面,本公开文本的一些实施方案涉及包含可操作地连接至异源核酸序列的编码本公开文本的嵌合多肽和Notch受体的核苷酸序列的核酸分子,包括含有这些核酸分子的表达盒和表达载体,所述异源核酸序列如例如引导所述受体在宿主细胞中的体内表达的调控序列。

[0106] 本公开文本的核酸分子可以是任何长度的核酸分子,包括通常在约5Kb与约50Kb之间,例如在约5Kb与约40Kb之间、在约5Kb与约30Kb之间、在约5Kb与约20Kb之间,或在约10Kb与约50Kb之间,例如在约15Kb至30Kb之间、在约20Kb与约50Kb之间、在约20Kb与约40Kb之间、在约5Kb与约25Kb之间或在约30Kb与约50Kb之间的核酸分子。

[0107] 在一些实施方案中,所述核酸分子包含编码嵌合受体的核苷酸序列,所述嵌合受体从N末端至C末端包含:(a)对选定的配体具有结合亲和力的胞外配体结合结构域;(b)连接序列,所述连接序列具有:(i)与多肽铰链结构域至少约80%序列同一性;或(ii)与包含至少一个纤连蛋白(Fn)重复的ROBO1 JMD至少约80%序列同一性;(c)与1型跨膜受体的跨膜结构域具有至少约80%序列同一性并且包含一个或多个配体诱导型蛋白水解切割位点的TMD;以及(d)包含转录调控因子的ICD,其中所述选定的配体与所述胞外结合结构域的结合诱导在所述转录调控因子与所述连接序列之间的配体诱导型蛋白水解切割位点处的切割,并且其中所述嵌合多肽不包含来自Notch受体的序列。

[0108] 在一些实施方案中,将所述核苷酸序列掺入表达盒或表达载体中。将理解,表达盒通常包括遗传物质的构建体,其含有编码序列和足够的调控信息以指导编码序列在体内和/或离体地在受体细胞中正确地转录和/或翻译。通常,可以将所述表达盒插入用于靶向至期望的宿主细胞或组织的载体中和/或个体中。因此,在一些实施方案中,本公开文本的表达盒包含可操作地连接至足以指导所述盒的体内表达的表达控制元件的编码嵌合多肽的核苷酸序列。在一些实施方案中,所述表达控制元件包含启动子和/或增强子,以及任选地,能够影响编码序列的转录和/或翻译的其他核酸序列中的任一种或组合。

[0109] 在一些实施方案中,所述核苷酸序列被掺入表达载体中。本领域技术人员将理解,术语“载体”通常是指如下重组多核苷酸构建体,其被设计用于在宿主细胞之间转移并且可以用于转化的目的,例如将异源DNA引入宿主细胞中。因此,在一些实施方案中,所述载体可以是复制子,如质粒、噬菌体或粘粒,可以将另一个DNA区段插入其中以导致所插入区段的复制。在一些实施方案中,所述表达载体可以是整合载体。

[0110] 在一些实施方案中,所述表达载体可以是病毒载体。如本领域技术人员将了解的,术语“病毒载体”广泛用于指代包括通常促进核酸分子的转移或整合至细胞的基因组中的病毒来源的核酸元件的核酸分子(例如,转移质粒),或者指代介导核酸转移的病毒颗粒。病毒颗粒将通常包括各种病毒组分,并且有时还包括除了一种或多种核酸之外的宿主细胞组分。术语病毒载体可以指代能够将核酸转移至细胞中的病毒或病毒颗粒或者指代所转移的核酸本身。病毒载体和转移质粒含有主要源自病毒的结构性和/或功能性遗传元件。术语

“逆转录病毒载体”是指含有主要源自逆转录病毒的结构性和功能性遗传元件或其部分的病毒载体或质粒。术语“慢病毒载体”是指含有主要源自慢病毒的结构和功能遗传元件或其部分(包括LTR)的病毒载体或质粒。在一些实施方案中,编码本公开文本的嵌合受体的核酸分子可以掺入一个或多个慢病毒载体构建体中。在一些实施方案中,编码本公开文本的嵌合受体的核酸分子可以掺入单个慢病毒载体构建体中。在一些实施方案中,编码本公开文本的嵌合受体的核酸分子可以掺入两个、三个、四个、五个或更多个慢病毒载体构建体中。

[0111] 在一些实施方案中,所述重组核酸编码具有与本文所公开的嵌合受体具有至少约80%、90%、95%、96%、97、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,所述核酸分子编码嵌合多肽,所述嵌合多肽包含:(a)连接序列,其包含与SEQ ID NO:157-161中的任一个具有至少约80%、90%、95%、96%、97、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;(b)跨膜结构域,其包含与SEQ ID NO:1-84、178、182-185和190-192中的任一个具有至少约80%、90%、95%、96%、97、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列;以及(c)STS,其包含与SEQ ID NO:89、92、108、115、138、146和156中的任一个具有至少约80%、90%、95%、96%、97、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述核酸分子编码嵌合多肽,所述嵌合多肽包含:(a)连接序列,其包含与SEQ ID NO:157-161中的任一个具有至少约90%序列同一性的氨基酸序列;(b)跨膜结构域,其包含与SEQ ID NO:1-84、178、182-185和190-192中的任一个具有至少约90%序列同一性的氨基酸序列;以及(c)STS,其包含与SEQ ID NO:89、92、108、115、138、146和156中的任一个具有至少约90%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述核酸分子编码嵌合多肽,所述嵌合多肽包含:(a)连接序列,其包含与SEQ ID NO:157-161中的任一个具有至少约95%序列同一性的氨基酸序列;(b)跨膜结构域,其包含与SEQ ID NO:1-84、178、182-185和190-192中的任一个具有至少约95%序列同一性的氨基酸序列;以及(c)STS,其包含与SEQ ID NO:89、92、108、115、138、146和156中的任一个具有至少约95%序列同一性的氨基酸序列。

[0112] 可以针对在目的宿主细胞中的表达优化编码嵌合受体的核酸序列。例如,可以将序列的G-C含量调整至给定细胞宿主的平均水平,如参照宿主细胞中表达的已知基因所计算的。用于密码子优化的方法是本领域已知的。可以优化本文公开的嵌合受体的编码序列内的密码子使用以增强在宿主细胞中的表达,使得已经优化编码序列内的约1%、约5%、约10%、约25%、约50%、约75%或多达100%的密码子以用于在特定宿主细胞中表达。

[0113] 本文公开的一些实施方案涉及载体或表达盒,所述载体或表达盒包含编码本文公开的嵌合受体的重组核酸分子。表达盒通常含有编码序列和足够的调控信息以引导编码序列在体内和/或离体的受体细胞中恰当转录和/或翻译。可以将所述表达盒插入用于靶向期望的宿主细胞的载体中和/或个体中。表达盒可以作为线性或环状、单链或双链的DNA或RNA多核苷酸被插入源自任何来源、能够进行基因组整合或自主复制的质粒、粘粒、病毒、自主复制多核苷酸分子或细菌噬菌体中,包括一个或多个核酸序列已经以功能上操作性的方式连接(即,可操作地连接)的核酸分子。

[0114] 本文还提供含有编码本文所公开的任何嵌合受体的一种或多种核酸分子的载体、质粒或病毒。所述核酸分子可以包含在载体内,所述载体能够引导它们在例如已经被所述载体转化/转导的细胞中的表达。用于真核和原核细胞中的合适的载体是本领域中已知的并且可商业购得,或者由技术人员容易地制备。参见例如,Sambrook,J.和Russell,D.W.

(2012).Molecular Cloning:A Laboratory Manual(第4版).Cold Spring Harbor,NY:Cold Spring Harbor Laboratory以及Sambrook,J.和Russel,D.W.(2001).Molecular Cloning:A Laboratory Manual(第3版).Cold Spring Harbor,NY:Cold Spring Harbor Laboratory(在本文中合称为"Sambrook");Ausubel,F.M.(1987).Current Protocols in Molecular Biology.New York,NY:Wiley(包括至2014年的增刊);Bollag,D.M.等人(1996).Protein Methods.New York,NY:Wiley-Liss;Huang,L.等人(2005).Nonviral Vectors for Gene Therapy.San Diego:Academic Press;Kaplitt,M.G.等人(1995).Viral Vectors:Gene Therapy and Neuroscience Applications.San Diego,CA:Academic Press;Lefkovits,I.(1997).The Immunology Methods Manual:The Comprehensive Sourcebook of Techniques.San Diego,CA:Academic Press;Doyle,A.等人(1998).Cell and Tissue Culture:Laboratory Procedures in Biotechnology.New York,NY:Wiley;Mullis,K.B.,Ferré,F.和Gibbs,R.(1994).PCR:The Polymerase Chain Reaction.Boston:Birkhauser Publisher;Greenfield,E.A.(2014).Antibodies:A Laboratory Manual(第2版).New York,NY:Cold Spring Harbor Laboratory Press;Beaucage,S.L.等人(2000).Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry.New York,NY:Wiley(包括至2014年的增刊);以及Makrides,S.C.(2003).Gene Transfer and Expression in Mammalian Cells.Amsterdam,NL:Elsevier Sciences B.V.,将所述文献的公开内容通过引用并入本文。

[0115] 可以经由常规转化或转染技术将DNA载体引入真核细胞中。用于转化或转染宿主细胞的合适方法可以在Sambrook等人(2012,同上)和其他标准分子生物学实验室手册中找到,如磷酸钙转染、DEAE-葡聚糖介导的转染、转染、显微注射、阳离子脂质介导的转染、电穿孔、转导、划痕负载(scrape loading)、弹道引入、核穿孔、流体力学冲击和感染。

[0116] 可以在本公开文本中使用的病毒载体包括例如逆转录病毒载体、腺病毒载体和腺相关病毒载体、慢病毒载体、疱疹病毒、猿猴病毒40(SV40)和牛乳头瘤病毒载体(参见例如,Gluzman(编辑),Eukaryotic Viral Vectors,CSH Laboratory Press,Cold Spring Harbor,N.Y.)。例如,如本文所公开的嵌合受体可以在真核宿主如哺乳动物细胞(例如,COS细胞、NIH 3T3细胞或HeLa细胞)中产生。这些细胞可以从许多来源获得,包括美国典型菌种保藏中心(马纳萨斯,弗吉尼亚州)。在选择表达系统时,应注意确保组分彼此相容。技术人员或普通技术人员能够做出这样的决定。此外,如果在选择表达系统时需要指导,技术人员可以查询P.Jones,"Vectors:Cloning Applications",John Wiley and Sons,New York,N.Y.,2009。

[0117] 所提供的核酸分子可以含有天然存在的序列,或者与天然存在的序列不同但是由于遗传密码的简并性而编码相同基因产物的序列。这些核酸分子可以由RNA或DNA(例如,基因组DNA、cDNA或合成DNA(如通过基于亚磷酰胺的合成产生的DNA))或这些类型的核酸内的核苷酸的组合或修饰组成。另外,所述核酸分子可以是双链或单链的(例如,包含有义链或反义链)。

[0118] 核酸分子不限于编码多肽(例如,抗体)的序列;也可以包括位于编码序列(例如,嵌合受体的编码序列)上游或下游的一些或全部非编码序列。分子生物学领域的普通技术人员熟悉用于分离核酸分子的常规程序。它们可以例如通过用限制性核酸内切酶处理基因

组DNA或通过聚合酶链式反应(PCR)来产生。在核酸分子是核糖核酸(RNA)的情况下,转录物可以例如通过体外转录产生。

重组细胞和细胞培养物

[0119] 可以将本公开文本的核酸引入宿主细胞(如人T淋巴细胞)中,以产生含有所述核酸分子的重组细胞。因此,本公开文本的一些实施方案涉及用于制备重组细胞的方法,所述方法包括以下步骤:(a)提供能够蛋白质表达的细胞,以及(b)使所提供的细胞与本文所述的任一种重组核酸接触。

[0120] 将本公开文本的核酸分子引入细胞可以通过以下方式实现:病毒感染、转染、缀合、原生质体融合、脂转染、电穿孔、核转染、磷酸钙沉淀、聚乙烯亚胺(PEI)介导的转染、DEAE葡聚糖介导的转染、脂质体介导的转染、粒子枪技术、磷酸钙沉淀、直接微注射、纳米颗粒介导的核酸递送等。

[0121] 因此,在一些实施方案中,所述核酸分子可以通过本领域中已知的病毒或非病毒递送媒介物来递送至细胞。例如,核酸分子可以稳定地整合到宿主基因组中、或者可以以附加体复制、或者作为微环表达载体存在于重组宿主细胞中以用于稳定或瞬时表达。因此,在本文公开的一些实施方案中,所述核酸分子在重组宿主细胞中作为附加体单元被维持和复制。在一些实施方案中,所述核酸分子稳定整合到重组细胞的基因组中。稳定整合可以使用经典随机基因组重组技术或更精确的基因组编辑技术完成,如使用指导RNA引导的CRISPR/Cas9、或DNA指导的核酸内切酶基因组编辑NgAgo(格氏嗜盐碱杆菌(Natronobacterium gregoryi)Argonaute)、或TALEN基因组编辑(转录激活因子样效应物核酸酶)。在一些实施方案中,所述核酸分子作为用于稳定或瞬时表达的微环表达载体存在于重组宿主细胞中。

[0122] 可以将核酸分子包封在病毒衣壳或脂质纳米颗粒中。例如,将核酸引入细胞中可以通过病毒转导来实现。在非限制性例子中,腺相关病毒(AAV)是可以被工程化为经由病毒转导将核酸递送至靶细胞的无包膜病毒。已经描述了若干种AAV血清型,并且所有已知的血清型都可以感染来自多种不同组织类型的细胞。AAV能够在体内转导广泛的物种和组织,而没有毒性迹象,并且它产生相对温和的先天性和适应性免疫应答。

[0123] 慢病毒系统也适用于经由病毒转导进行核酸递送和基因疗法。慢病毒载体作为基因递送媒介物提供若干种有吸引力的特性,包括:(i)通过将载体稳定整合到宿主基因组中进行持续的基因递送;(ii)感染分裂细胞和非分裂细胞二者的能力;(iii)具有广泛的组织趋性,包括重要的基因和细胞疗法靶细胞类型;(iv)载体转导后不表达病毒蛋白;(v)能够递送复杂遗传元件,如多顺反子序列或含有内含子的序列;(vi)具有可能更安全的整合位点特征;以及(vii)为相对容易的用于载体操纵和生产的系统。

[0124] 在一些实施方案中,宿主细胞已经用例如包含编码如本文所述的嵌合受体的核酸序列的载体基因工程化(例如,转导、转化或转染),所述载体是病毒衍生的表达载体或者用于同源重组的载体,其还包含与宿主细胞的基因组的一部分同源的核酸序列。宿主细胞可以是未转化的细胞或者已经用一种或多种核酸分子转染的细胞。

[0125] 在一些实施方案中,所述重组细胞是原核细胞或真核细胞。在一些实施方案中,所述细胞是体内转化的。在一些实施方案中,所述细胞是离体转化的。在一些实施方案中,所述细胞是体外转化的。在一些实施方案中,所述重组细胞是真核细胞。在一些实施方案中,所述重组细胞是动物细胞。在一些实施方案中,所述动物细胞是哺乳动物细胞。在一些实施

方案中,所述动物细胞是人细胞。在一些实施方案中,所述细胞是非人灵长类动物细胞。在一些实施方案中,所述哺乳动物细胞是免疫细胞、神经元、上皮细胞和内皮细胞或干细胞。在一些实施方案中,所述重组细胞是免疫系统细胞,例如淋巴细胞(例如,T细胞或NK细胞)或树突细胞。在一些实施方案中,所述免疫细胞是B细胞、单核细胞、自然杀伤(NK)细胞、嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜中性粒细胞、树突细胞、巨噬细胞、调节性T细胞、辅助性T细胞、细胞毒性T细胞或其他T细胞。在一些实施方案中,所述免疫系统细胞是T淋巴细胞。

[0126] 在一些实施方案中,所述细胞是干细胞。在一些实施方案中,所述细胞是造血干细胞。在细胞的一些实施方案中,所述细胞是淋巴细胞。在一些实施方案中,所述细胞是前体T细胞或T调节性(Treg)细胞。在一些实施方案中,所述细胞是CD34+细胞、CD8+细胞或CD4+细胞。在一些实施方案中,所述细胞是选自以下的CD8+T细胞毒性淋巴细胞:幼稚CD8+T细胞、中央记忆CD8+T细胞、效应记忆CD8+T细胞和大量CD8+T细胞。在细胞的一些实施方案中,所述细胞是选自以下的CD4+T辅助淋巴细胞:幼稚CD4+T细胞、中央记忆CD4+T细胞、效应记忆CD4+T细胞和大量CD4+T细胞。在一些实施方案中,所述细胞可以通过对获自人类受试者的样品进行白细胞单采术获得。

[0127] 在一些实施方案中,所述重组细胞进一步包含如本文所公开的第二核酸分子,其中第一核酸分子和第二核酸分子不具有相同的序列。在一些实施方案中,所述重组细胞进一步包含如本文所公开的第二嵌合多肽,其中所述第一嵌合多肽和所述第二嵌合多肽不具有相同的序列。在一些实施方案中,所述第一嵌合多肽调节所述第二嵌合多肽的表达和/或活性。

[0128] 在一些实施方案中,所述重组细胞还包含可操作地连接至启动子的编码目的蛋白的表达盒,其中所述目的蛋白的表达受由嵌合受体编码的转录调控因子的调节。在一些实施方案中,所述目的蛋白对于所述重组细胞是异源的。原则上,关于选择蛋白质以靶向用于由嵌合受体编码的转录调控因子调节表达没有特别限制。适合于通过本文所公开的组合物和方法进行调控的蛋白质的非限制性例子包括细胞因子、细胞毒素、趋化因子、免疫调节剂、促凋亡因子、抗凋亡因子、激素、分化因子、去分化因子、免疫细胞受体或报告基因。在一些实施方案中,免疫细胞受体包括T细胞受体(TCR)。TCR通常包含两个多肽(例如,多肽链),如TCR的α链、TCR的β链、TCR的γ链、TCR的δ链或其组合。此类TCR的多肽链在本领域中是已知的。在一些实施方案中,免疫细胞受体包括嵌合抗原受体(CAR)。在T细胞中,用于CAR设计、递送和表达以及制造临床级CAR-T细胞群的方法是本领域已知的。参见例如,Lee等人,Clin Cancer Res(2012)18(10):2780-90,将所述文献特此通过引用以其整体并入。在一些实施方案中,将编码目的蛋白的表达盒掺入编码本公开文本的嵌合受体的相同核酸分子中。在一些实施方案中,将编码目的蛋白的表达盒掺入与编码本公开文本的嵌合受体的核酸分子分离的第二表达载体中。

[0129] 在另一个方面,本文提供包括至少一种如本文所公开的重组细胞和培养基的各种细胞培养物。通常,培养基可以是用于本文所述的细胞培养物的任何一种合适的培养基。用于转化各种各样的上文提到的宿主细胞和物种的技术是本领域已知的并且描述于技术和科学文献中。因此,包括至少一种如本文所公开的重组细胞的细胞培养物也在本申请的范围内。适用于产生和维持细胞培养物的方法和系统是本领域已知的。

药物组合物

[0130] 在一些实施方案中,本公开文本的核酸和重组细胞可以并入组合物(包括药物组合物)中。此类组合物通常包含所述核酸和/或重组细胞以及药学上可接受的赋形剂(例如,载体)。

[0131] 适用于注射使用的药物组合物包括无菌水溶液(水溶性的)或分散液,以及用于临时制备无菌可注射溶液或分散液的无菌粉末。对于静脉内施用,合适的载体包括生理盐水、抑菌水、Cremophor EL™(BASF,新泽西州帕西帕尼)或磷酸盐缓冲盐水(PBS)。在所有情形中,所述组合物应是无菌的并且应为可通过注射器施用的程度的流体。其在制造和储存条件下应稳定并且必须抵抗微生物(如细菌和真菌)的污染作用而保存。载体可以是溶剂或分散介质,所述溶剂或分散介质含有例如水、乙醇、多元醇(例如,甘油、丙二醇和液体聚乙二醇等)及其合适的混合物。例如,可以通过使用包衣(如卵磷脂)、通过在分散液的情况下维持所需的粒度以及通过使用表面活性剂(例如,十二烷基硫酸钠)来维持适当的流动性。防止微生物的作用可以通过各种抗细菌剂和抗真菌剂(例如,对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、抗坏血酸、硫柳汞等)来实现。在许多情形中,所述组合物中通常将包括等渗剂,例如,糖、多元醇如甘露醇、山梨醇和/或氯化钠。通过在所述组合物中包括延迟吸收的试剂(例如,单硬脂酸铝和明胶),可以实现可注射组合物的延长吸收。

[0132] 无菌可注射溶液可以通过以下方式制备:将活性化合物以所需量掺入视需要具有上文所列举成分中的一种或组合的适当溶剂中,之后过滤灭菌。通常,通过将活性化合物掺入无菌媒介物中来制备分散液,所述无菌媒介物含有基本分散介质和来自上文所列举成分的所需其他成分。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况下,优选制备方法为真空干燥和冷冻干燥,这些方法由先前无菌过滤的溶液产生活性成分加上任何另外的期望成分的粉末。

[0133] 在一些实施方案中,本公开文本的嵌合多肽和SynRIPR还可以使用本领域已知的方法通过转染或感染来施用,所述方法包括但不限于McCaffrey等人(Nature(2002)418:6893)、Xia等人(Nature Biotechnol(2002)20:1006-10)或Putnam(Am J Health Syst Pharm(1996)53:151-60,在Am J Health Syst Pharm(1996)53:325处勘误)中描述的方法。

本公开文本的方法

[0134] 本文所述的治疗组合物中的任一种或多种(例如,核酸、重组细胞和药物组合物)的施用可以用于治疗患有疾病(如癌症和慢性感染)的个体。在一些实施方案中,将核酸、重组细胞和药物组合物并入用于治疗个体的方法中的治疗组合物中,所述个体患有与检查点抑制相关的一种或多种自身免疫性障碍或疾病,怀疑患有所述障碍或疾病,或者可能具有患上所述障碍或疾病的高风险。示例性的自身免疫障碍和疾病可以包括而不限于乳糜泻、1型糖尿病、格雷夫斯病、炎性肠病、多发性硬化、银屑病、类风湿性关节炎和系统性红斑狼疮。

[0135] 因此,在一个方面,本文提供用于抑制个体中靶细胞的活性的方法,所述方法包括向所述个体施用包括本文所提供的核酸、重组细胞和药物组合物中的一种或多种的第一疗法的步骤,其中所述第一疗法抑制所述靶细胞的活性。例如,如果靶细胞的增殖减少,如果靶细胞的病理或致病行为减少,如果靶细胞被破坏或杀伤等,则所述靶细胞的活性可以被抑制。抑制包括所测量的量减少至少约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%或

约95％。在一些实施方案中,所述方法包括向所述个体施用有效数量的如本文所公开的重组细胞,其中所述重组细胞抑制所述个体的靶细胞。通常,所公开的方法的靶细胞可以是任何细胞,如例如急性骨髓瘤白血病细胞、间变性淋巴瘤细胞、星形细胞瘤细胞、B细胞癌细胞、乳腺癌细胞、结肠癌细胞、室管膜瘤细胞、食管癌细胞、胶质母细胞瘤细胞、神经胶质瘤细胞、平滑肌肉瘤细胞、脂肪肉瘤细胞、肝癌细胞、肺癌细胞、套细胞淋巴瘤细胞、黑色素瘤细胞、神经母细胞瘤细胞、非小细胞肺癌细胞、少突神经胶质瘤细胞、卵巢癌细胞、胰腺癌细胞、外周T细胞淋巴瘤细胞、肾癌细胞、肉瘤细胞、胃癌细胞、癌细胞、间皮瘤细胞或肉瘤细胞。在一些实施方案中,所述靶细胞是致病细胞。

[0136] 在另一个方面,本文提供用于治疗有需要的个体的疾病的方法,所述方法包括向所述个体施用包括本文所提供的嵌合多肽、SynRIPR、核酸、重组细胞或药物组合物中的一种或多种的第一疗法的步骤,其中所述第一疗法治疗所述个体的疾病。在一些实施方案中,所述方法包括向所述个体施用第一疗法,所述第一疗法包括有效数量的本文所提供的重组细胞,其中所述重组细胞治疗所述疾病。

[0137] 在另一方面,本文提供用于辅助治疗有需要的个体的疾病的方法,所述方法包括以下步骤:向所述个体施用包括如本文所公开的一种或多种重组核酸、重组细胞或药物组合物的第一疗法,以及向所述个体施用第二疗法,其中所述第一疗法和所述第二疗法一起治疗所述个体的疾病。在一些实施方案中,所述方法包括向所述个体施用第一疗法,所述第一疗法包含有效数量的如本文所公开的重组细胞,其中所述重组细胞治疗所述疾病。

向个体施用重组细胞

[0138] 在一些实施方案中,所述方法涉及将有效量或数量的本公开文本的重组细胞施用至需要这样的方法的个体。此施用步骤可以使用本领域中已知的任何植入方法来完成。例如,本公开文本的重组细胞可以通过静脉内输注直接注射至个体的血流中,或者以其他方式施用至个体。

[0139] 术语“施用”、“引入”和“移植”在本文中可互换使用,以指代将表达本文所提供的嵌合受体的重组细胞递送至个体的方法。在一些实施方案中,所述方法包括通过导致将所引入细胞至少部分定位于期望的部位从而产生一种或多种期望的作用的方法或途径向个体施用重组细胞。可以通过任何适当的途径施用所述重组细胞或其分化的子代,所述适当的途径导致递送至个体的期望位置,所施用的细胞或细胞组分的至少一部分在此位置处保持存活。在施用至个体后细胞的活力时间段可以短至数小时(例如二十四小时),至数天,至长至数年,或甚至持续个体的寿命的长期移植。

[0140] 在预防性提供时,在一些实施方案中,在要治疗的疾病或病症的任何症状之前将本文所述的重组细胞施用至个体。因此,在一些实施方案中,重组干细胞群的预防性施用用于预防疾病或病症的症状的发生。

[0141] 当在一些实施方案中治疗性地提供时,在疾病或病症的症状或指征发作时(或之后),例如在疾病或病症发作时,提供重组干细胞。

[0142] 为了在本文所述的各种实施方案中使用,如本文所公开的重组细胞的有效量可以是至少10^2个细胞、至少5×10^2个细胞、至少10^3个细胞、至少5×10^3个细胞、至少10^4个细胞、至少5×10^4个细胞、至少10^5个细胞、至少2×10^5个细胞、至少3×10^5个细胞、至少4×10^5个细胞、至少5×10^5个细胞、至少6×10^5个细胞、至少7×10^5个细胞、至少8×10^5个细胞、至少9×

10^5个细胞、至少1×10^6个细胞、至少2×10^6个细胞、至少3×10^6个细胞、至少4×10^6个细胞、至少5×10^6个细胞、至少6×10^6个细胞、至少7×10^6个细胞、至少8×10^6个细胞、至少9×10^6个细胞或其倍数。所述重组细胞可以源自一个或多个供体或可以从自体来源(即,正在治疗的人类受试者)获得。在一些实施方案中,将所述重组细胞在施用至有需要的个体之前在培养物中扩增。

[0143] 在一些实施方案中,通过方法或途径将包含重组细胞的组合物(即,包含表达本文所提供的任何嵌合受体的多个重组细胞的组合物)递送至个体中导致将细胞组合物至少部分定位于期望部位。可以通过任何导致个体的有效治疗的适当途径施用细胞组合物,例如,施用导致递送至个体的期望位置,其中所递送组合物的至少一部分(例如至少1×10^4个细胞)被递送至期望部位持续一段时间。施用方式包括注射、输注、滴注等。“注射”包括但不限于静脉内、肌内、动脉内、鞘内、心室内、囊内、眼眶内、心脏内、皮内、腹膜内、经气管、皮下、角质层下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊柱内、脑脊髓内和胸骨内注射和输注。在一些实施方案中,所述途径是静脉内。对于细胞的递送,可以进行通过注射或输注来施用。

[0144] 在一些实施方案中,所述重组细胞是全身性施用的,换句话说,不直接将重组细胞群施用至靶部位、组织或器官,而是使其进入个体的循环系统,并且从而经受代谢和其他类似的过程。

[0145] 用组合物治疗疾病或病症的治疗功效可以通过熟练的临床医生确定。然而,本领域技术人员将了解,如果疾病的任一种或全部体征或症状或标记物发生改进或改善,则认为治疗是有效治疗。也可以通过如住院治疗或对医疗干预的需要所评估的个体恶化的失败(例如,疾病进展停止或至少减缓)来测量功效。测量这些指标的方法是本领域技术人员已知的和/或在本文中有描述。治疗包括对个体或动物(一些非限制性例子包括人或哺乳动物)的疾病的任何治疗,并且包括:(1)抑制疾病进展,例如停止或减缓症状的进展;或(2)缓解疾病,例如导致症状消退;以及(3)预防症状的发展或降低其可能性。

[0146] 如上文所讨论的,治疗有效量包括治疗组合物当施用至个体时足以促进特定作用的量,所述受试者是如患有、怀疑患有或有风险患上疾病的受试者。在一些实施方案中,有效量包括足以预防或延迟疾病症状的发展、改变疾病症状的进程(例如但不限于减缓疾病症状的进展)或逆转疾病症状的量。应理解,对于任何给定的病例,本领域普通技术人员都可以使用常规实验确定适当的有效量。

[0147] 包括所公开的组合物的治疗用于治疗疾病的功效可以通过熟练的临床医生确定。然而,如果疾病的至少任一种或全部体征或症状发生改进或改善,则认为治疗是有效的。也可以通过如住院治疗或对医疗干预的需要所评估的个体恶化的失败(例如,疾病进展停止或至少减缓)来测量功效。测量这些指标的方法是本领域技术人员已知的和/或在本文中有描述。治疗包括对个体或动物(一些非限制性例子包括人或哺乳动物)的疾病的任何治疗,并且包括:(1)抑制疾病,例如停止或减缓症状的进展;(2)缓解疾病,例如导致症状消退;或(3)预防症状的发展或降低其可能性。

[0148] 在一些实施方案中,所述个体是哺乳动物。在一些实施方案中,所述哺乳动物是人。在一些实施方案中,所述个体患有或怀疑患有与由细胞表面配体或抗原介导的细胞信号传导的抑制相关的疾病。适合于通过本公开文本的组合物和方法治疗的疾病包括但不限于癌症、自身免疫病、炎性疾病和感染性疾病。在一些实施方案中,所述疾病是癌症或慢性

感染。

[0149] 在T细胞中,用于CAR设计、递送和表达以及制造临床级CAR-T细胞群的方法是本领域已知的。参见例如,Lee等人,Clin Cancer Res(2012)18(10):2780-90,将所述文献特此通过引用以其整体并入。例如,可以使用逆转录病毒将工程化的CAR引入细胞(例如,T细胞)中,所述逆转录病毒将编码嵌合抗原受体的核酸序列有效且稳定地整合到靶细胞基因组中。示例性方法描述在以下实施例4和7中。

[0150] 本领域已知的其他方法包括但不限于慢病毒转导、基于转座子的系统、直接RNA转染和CRISPR/Cas系统(例如,使用合适的Cas蛋白的I型、II型或III型系统)。

[0151] 在一些实施方案中,重组腺相关病毒(AAV)载体可以用于递送。产生rAAV颗粒的技术是本领域的标准技术,其中向细胞提供包括待递送的多核苷酸、rep和cap基因以及辅助病毒功能在内的待包装的AAV基因组。rAAV的产生需要以下组分存在于单个细胞(本文表示为包装细胞)内:rAAV基因组、与rAAV基因组分离的(例如,不在rAAV基因组中)AAV rep和cap基因以及辅助病毒功能。AAV rep和cap基因可以来自可衍生重组病毒的任何AAV血清型,并且可以来自与rAAV基因组ITR不同的AAV血清型,包括但不限于AAV血清型AAV-1、AAV-2、AAV-3、AAV-4、AAV-5、AAV-6、AAV-7、AAV-8、AAV-9、AAV-10、AAV-11、AAV-12、AAV-13和AAV rh 74。假型化rAAV的产生披露在例如,国际专利申请公开号WO 01/83692中。

[0152] 一旦CAR-T细胞响应于例如自身免疫疾病抗原而离体扩增,就可以将其以治疗有效量再输注到受试者体内。

[0153] 待施用的CAR T细胞的精确量可以由医生在考虑受试者在年龄、体重、疾病和病症的程度方面的个体差异后确定。

[0154] T细胞疗法的施用可以通过每次输注的总细胞数量或每千克体重的细胞数量来定义,特别是对于儿童受试者(例如,患者)。由于T细胞在转移后复制和扩增,因此所施用的细胞剂量可能不类似于细胞的最终稳态数量。在一些实施方案中,包含本公开文本的CAR T细胞的药物组合物可以以10^4至10^{10}个总细胞的剂量施用。在另一个实施方案中,包含本公开文本的CAR T细胞的药物组合物可以10^3至10^8个细胞/kg体重(包括那些范围内的所有整数值)的剂量施用。

[0155] 包含本公开文本的CAR T细胞的组合物还可以以这些剂量多次施用。可以通过使用本领域已知的输注技术来施用细胞(参见例如,Rosenberg等人,New Engl J Med,(1988)319:1676)。对于特定受试者的最佳剂量和治疗方案可以由本领域的技术人员通过监测受试者的疾病的体征,并且相应地调整治疗来确定。

另外的疗法

[0156] 如上所讨论的,可以将本文所述的重组细胞和药物组合物与一种或多种另外的治疗剂(如例如化学治疗剂或抗癌剂或抗癌疗法)组合施用。与一种或多种另外的治疗剂“组合”施用包括以任何顺序同时(并行)和连续施用。在一些实施方案中,所述一种或多种另外的治疗剂、化学治疗剂、抗癌剂或抗癌疗法选自化学疗法、放射疗法、免疫疗法、激素疗法、毒素疗法和手术。“化学疗法”和“抗癌剂”在本文中可互换使用。可以使用各种类别的抗癌剂。非限制性例子包括:烷化剂、抗代谢物、蒽环类、植物生物碱、拓扑异构酶抑制剂、鬼臼毒素、抗体(例如,单克隆或多克隆的)、酪氨酸激酶抑制剂(例如,甲磺酸伊马替尼(Gleevec®或Glivec®))、激素治疗、可溶性受体和其他抗肿瘤药。

[0157] 因此,在一些实施方案中,本公开文本的方法包括将本文公开的组合物作为单一疗法(例如,单药疗法)单独地施用至受试者。在一些实施方案中,将本公开文本的组合物作为第一疗法与第二疗法组合施用至受试者。在一些实施方案中,所述第二疗法选自化学疗法、放射疗法、免疫疗法、激素疗法、毒素疗法和手术。在一些实施方案中,将所述第一疗法和所述第二疗法伴随施用。在一些实施方案中,将所述第一疗法与所述第二疗法同时施用。在一些实施方案中,将所述第一疗法和所述第二疗法依序施用。在一些实施方案中,将所述第一疗法在所述第二疗法之前施用。在一些实施方案中,将所述第一疗法在所述第二疗法之后施用。在一些实施方案中,将所述第一疗法在所述第二疗法之前和/或之后施用。在一些实施方案中,将所述第一疗法和所述第二疗法轮流施用。在一些实施方案中,将所述第一疗法和所述第二疗法以单一配制品一起施用。

用于调节细胞的活性的方法

[0158] 在另一个方面,本文提供用于调节细胞的活性的各种方法。所述方法包括:(a)提供本公开文本的重组细胞,以及(b)使其与选定的配体接触,其中所述选定的配体与所述胞外结合结构域的结合诱导配体诱导型蛋白水解切割位点的切割并释放转录调控因子,其中所释放的转录调控因子调节所述重组细胞的活性。本领域技术人员在阅读本公开文本后将理解,所公开的方法可以在体内、离体或体外进行。

[0159] 可以使用本公开文本的方法调节的细胞的活性包括但不限于细胞的选定基因的表达、细胞的增殖、细胞的凋亡、细胞的非凋亡性死亡、细胞的分化、细胞的去分化、细胞的迁移、分子从细胞分泌、细胞的细胞粘附和细胞的细胞溶解活性。

[0160] 在一些实施方案中,所释放的转录调控因子调节所述细胞的基因产物的表达。在一些实施方案中,所释放的转录调控因子调节细胞中异源基因产物的表达。异源基因产物是通常并非由细胞产生的基因产物。例如,可以用包含编码所述异源基因产物的核苷酸序列的核酸基因修饰细胞。

[0161] 在一些实施方案中,所述异源基因产物是分泌的基因产物。在一些实施方案中,所述异源基因产物是细胞表面基因产物。在一些情形中,所述异源基因产物是胞质基因产物。在一些实施方案中,所释放的转录调控因子同时调节细胞中两种或更多种异源基因产物的表达。

[0162] 在一些实施方案中,细胞中的异源基因产物选自趋化因子、趋化因子受体、嵌合抗原受体、细胞因子、细胞因子受体、分化因子、生长因子、生长因子受体、激素、代谢酶、病原体衍生的蛋白质、增殖诱导剂、受体、RNA指导的核酸酶、位点特异性核酸酶、T细胞受体(TCR)、嵌合抗原受体(CAR)、毒素、毒素衍生的蛋白质、转录调控因子、转录激活因子、转录阻遏因子、翻译调控因子、翻译激活因子、翻译阻遏因子、激活性免疫受体、抗体、凋亡抑制剂、凋亡诱导剂、工程化T细胞受体、免疫激活因子、免疫抑制剂和抑制性免疫受体。

[0163] 在一些实施方案中,所释放的转录调控因子调节所述细胞的分化,并且其中所述细胞是免疫细胞、干细胞、祖细胞或前体细胞。

[0164] 当使用相同的结合结构域和ICD时,本公开文本的嵌合受体与标准SynNotch受体相比提供更高程度的表达。在一些实施方案中,根据配体/结合结构域对及其亲和力,本公开文本的SynRIPR可以提供比相应SynNotch受体高约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%或约50%的表达增强。

[0165] 另外,本公开文本的嵌合受体可以提供转录调控,所述转录调控响应于T细胞激活的程度,而不依赖于配体结合。这允许在使用中具有额外的灵活性,例如在尽管不存在嵌合受体配体但当被激活时仍期望增强或阻遏T细胞应答的情况下。

系统和试剂盒

[0166] 本文还提供了系统和试剂盒,其包括本文提供并描述的嵌合多肽、SynRIPR、重组核酸、重组细胞或药物组合物以及用于它们的制备和使用的书面说明书。例如,在一些实施方案中,本文提供系统和/或试剂盒,所述系统和/或试剂盒包含以下中的一种或多种:如本文所述的嵌合多肽、如本文所述的SynRIPR、如本文所述的重组核酸、如本文所述的重组细胞或如本文所述的药物组合物。在一些实施方案中,本公开文本的系统和/或试剂盒进一步包含一个或多个注射器(包括预填充注射器)和/或导管(包括预填充注射器),用于将所提供的嵌合多肽、SynRIPR、重组核酸、重组细胞或药物组合物中的任一种施用至个体。在一些实施方案中,试剂盒可以具有一种或多种另外的治疗剂,所述一种或多种另外的治疗剂可以与其他试剂盒组分同时或依序施用用于所希望的目的,例如用于在有需要的个体中调节细胞的活性、抑制靶癌细胞或治疗疾病。

[0167] 任何上述系统和试剂盒可以进一步包含一种或多种另外的试剂,其中此类另外的试剂可以选自:稀释缓冲液、重构溶液、洗涤缓冲液、对照试剂、对照表达载体、阴性对照多肽、阳性对照多肽、用于体外产生所述嵌合受体多肽的试剂。

[0168] 在一些实施方案中,系统或试剂盒的组分可以在分开的容器中。在一些其他实施方案中,系统或试剂盒的组分可以组合在单个容器中。

[0169] 在一些实施方案中,系统或试剂盒可以进一步包含使用所述试剂盒的组分来实践所述方法的说明书。用于实践所述方法的说明书通常记录在合适的记录介质上。例如,可以将说明书印刷在基材(如纸或塑料等)上。说明书可以作为包装插页存在于试剂盒中,在试剂盒的容器或其组分的标签中(即,与包装或子包装相关)等。所述说明书可以作为存在于合适的计算机可读存储介质(例如,CD-ROM、软磁盘、闪存驱动器等)上的电子存储数据文件而存在。在一些情形中,实际说明书不存在于所述试剂盒中,而是可以提供用于从远程源(例如,经由互联网)获得说明书的手段。此实施方案的例子是包括网址的试剂盒,在所述网址中可以查看说明书和/或可以从其下载说明书。与说明书一样,可以将这种用于获得说明书的手段记录在合适的基材上。

[0170] 将本公开文本中提到的所有出版物和专利申请都通过引用并入本文,并入程度如同确切且单独地指示每个单独出版物或专利申请都通过引用并入一般。

[0171] 不承认本文引用的任何参考文献构成现有技术。参考文献的讨论陈述其著者的主张,并且诸位发明人保留质疑所引用文献的准确性和相关性的权利。将清楚地理解,尽管在本文中提及许多信息源,包括科学期刊文章、专利文件和教科书;但此提及并不构成承认任何这些文件构成本领域公知常识的一部分。

[0172] 本文给出的一般方法的讨论仅旨在用于说明目的。在审阅本公开文本后,其他替代方法和替代方案对于本领域技术人员而言将是清楚的,并且将被包括在本申请的精神和范围内。

实施例

[0173] 除非另外指示,否则本公开文本的实践将采用本领域技术人员熟知的分子生物

学、微生物学、细胞生物学、生物化学、核酸化学和免疫学的常规技术。在上面引用的文献中对此类技术进行了充分解释。

[0174] 在以下实施例中进一步详细公开了另外的实施方案,所述实施例仅通过说明的方式提供,并不旨在以任何方式限制本公开文本或权利要求的范围。

实施例1

嵌合受体和应答元件构建体的设计和构建

[0175] 本实施例描述了非Notch调节性膜内蛋白水解受体(SynRIPR)受体家族的设计和构建。通过将CD19 scFV(Porter等人,2011)融合到由截短的CD8α(P01732)铰链区(Thr138至Cys164;SEQ ID NO:158)组成的胞外结构域、跨膜结构域(TMD)和胞内近膜结构域(如下所指示的STS)以及转录调控因子来构建受体。用于这些实验的转录调控因子GAL4-VP64含有与激活结构域VP64融合的来自酵母GAL4转录因子的DNA结构域,所述激活结构域VP64由单纯疱疹蛋白VP16的最小激活结构域(氨基酸437-447)的四聚体重复组成。

[0176] 本公开文本的各种示例性受体的详细信息可以在下表1中找到。

表1.此表提供了对本公开文本的每种嵌合受体、其相应组分以及如序列表中所示的相应序列标识符的简要描述。ECD:胞外结构域;N-JMD:N末端近膜结构域(即,铰链结构域);TMD:跨膜结构域;STS:停止转移序列;TF:转录因子。

构建体ID	受体描述	ECD	N-JMD	TMD	STS	TF	全长序列
pIZ343GIVV	抗CD19scFv-CD8铰链2-Notch1TMD_GIVVLLSmut-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 176	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 197
pIZ343GIVVa	抗CD19scFv-CD8铰链2-Notch1TMD_GIVVSmut-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 177	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 198
pIZ373	抗CD19scFv-IgG4铰链(NoGS接头)-Notch1TMD-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 175	SEQ ID NO: 173	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 199
pIZ377	抗CD19scFv-CD8铰链2-CLSTN2TMD-PTPRFSTS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 108	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 200
pIZ378	抗CD19scFv-CD8	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 115	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 201

构建体ID	受体描述	ECD	N-JMD	TMD	STS	TF	全长序列
	铰链 2-CLSTN2TMD-AGERSTS-Gal4VP64						
pIZ379	抗CD19scFv-CD8铰链 2-CLSTN2TMD-KCNE3STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 146	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 202
pTMD206	抗CD19scFv-CD8铰链 2-APPTMD-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 6	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 203
pTMD206GV	抗CD19scFv-CD8铰链 2-APPTMD_GV mut-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 178	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 204
pTMD207	抗CD19scFv-CD8铰链 2-BTCTMD-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 205
pTMD213	抗CD19scFv-CD8铰链 2-CX3CL1TMD-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 13	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 206
pTMD214	抗CD19scFv-CD8铰链 2-DCCTMD-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 14	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 207
pTMD215	抗CD19scFv-CD8铰链 2-DLL1TMD-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 208
pTMD220	抗CD19scFv-CD8铰链 2-EPCAMTMD-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 209
pTMD225	抗CD19scFv-CD8铰链 2-ErbB4TMD-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 25	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 210
pTMD244	抗CD19scFv-CD8铰链 2-LRP1TMD-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 44	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 211
pTMD247	抗CD19scFv-CD8铰链 2-LRP6TMD-Notch1STS-Gal4VP6	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 47	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 212

构建体ID	受体描述	ECD	N-JMD	TMD	STS	TF	全长序列
	4						
pTMD253	抗CD19scFv-CD8铰链2-SCN4BTMD-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 53	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 213
pTMD254	抗CD19scFv-CD8铰链2-连接蛋白1TMD-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 54	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 214
pTMD258	抗CD19scFv-CD8铰链2-Notch2TMD-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 179	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 215
pTMD259	抗CD19scFv-CD8铰链2-Notch3TMD-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 180	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 216
pTMD260	抗CD19scFv-CD8铰链2-Notch4TMD-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 181	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 217
pTMD260GV	抗CD19scFv-CD8铰链2-Notch4TMD_GVmut-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 181	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 218
pTMD268	抗CD19scFv-CD8铰链2-PCDHGC3TMD-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 64	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 219
pTMD270	抗CD19scFv-CD8铰链2-AGERTMD-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 66	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 220
pTMD270GVLVS	抗CD19scFv-CD8铰链2-AGERTMD_GVLVSmut-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 182	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 221
pTMD270LL	抗CD19scFv-CD8铰链2-AGERTMD_LLmut-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 183	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 222
pTMD272	抗CD19scFv-CD8铰链2-PTPRMTMD-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 68	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 223

构建体ID	受体描述	ECD	N-JMD	TMD	STS	TF	全长序列
pTMD273	抗CD19scFv-CD8铰链2-ROBO1TMD-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 69	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 224
pTMD273GV	抗CD19scFv-CD8铰链2-ROBO1TMD_GVmut-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 69	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 225
pTMD273GVLLS	抗CD19scFv-CD8铰链2-ROBO1TMD_GVLVSmut-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 184	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 226
pTMD276	抗CD19scFv-CD8铰链2-SORL1TMD-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 72	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 227
pTMD277	抗CD19scFv-CD8铰链2-SORT1TMD-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 73	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 228
pTMD278	抗CD19scFv-CD8铰链2-SDC1TMD-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 74	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 229
pTMD279	抗CD19scFv-CD8铰链2-SDC2TMD-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 75	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 230
pTMD280	抗CD19scFv-CD8铰链2-SDC3TMD-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 76	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 231
pTMD289	抗CD19scFv-CD8铰链2-Notch1_斑马鱼（Drerio）TMD-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 185	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 232
pTMD290	抗CD19scFv-CD8铰链2-Notch1_果蝇（Dmelanogaster）TMD-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 186	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 233
pTMD291	抗CD19scFv-CD8铰链2-Notch1_非	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 187	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 234

构建体ID	受体描述	ECD	N-JMD	TMD	STS	TF	全长序列
	洲爪蟾（Xlaevis）TMD-Notch1STS-Gal4VP64						
pTMD292	抗CD19scFv-CD8铰链2-Notch1_红原鸡（Ggallus）TMD-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 188	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 235
pTMD295	抗CD19scFv-CD8铰链2-Notch1_小家鼠（Mmusculus）TMD-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 189	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 236
pTMD297 pre	抗CD19scFv-CD8铰链-CD8aTMD-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 157	SEQ ID NO: 190	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 237
pTMD297 pre_GV	抗CD19scFv-CD8铰链-CD8aTMD_GV-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 157	SEQ ID NO: 191	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 238
pTMD297 pre_GVLVS	抗CD19scFv-CD8铰链-CD8aTMD_GVLVSmut-Notch1STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 157	SEQ ID NO: 192	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 239
pSTS205	抗CD19scFv-CD8铰链2-Notch1TMD-CSF1RSTS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 173	SEQ ID NO: 89	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 240
pSTS231	抗CD19scFv-CD8铰链2-Notch1TMD-AGERSTS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 173	SEQ ID NO: 115	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 241
pSTS262	抗CD19scFv-CD8铰链2-Notch1TMD-KCNE3STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 173	SEQ ID NO: 146	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 242
pSTS263	抗CD19scFv-CD8铰链2-Notch1TMD-CDH2STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 173	SEQ ID NO: 147	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 243
pSTS266	抗CD19scFv-CD8铰链2-Notch1TMD-BTCSTS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 173	SEQ ID NO: 150	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 244
pSTS267	抗CD19scFv-CD8	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID

构建体ID	受体描述	ECD	N-JMD	TMD	STS	TF	全长序列
	铰链 2-Notch1TMD-EPHA4STS-Gal4VP64	NO: 174	NO: 158	NO: 173	NO: 151	NO: 196	NO: 245
pSTS268	抗CD19scFv-CD8铰链 2-Notch1TMD-IL1R2STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 173	SEQ ID NO: 101	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 246
pSTS274	抗CD19scFv-CD8铰链 2-Notch1TMD-Notch3STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 173	SEQ ID NO: 194	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 247
pIZ364	抗CD19scFv-CD8铰链 2-Notch1TMD-Notch4STS-Gal4VP64	SEQ ID NO: 174	SEQ ID NO: 158	SEQ ID NO: 173	SEQ ID NO: 195	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 248

[0177] 所有受体都含有用于膜靶向的N末端CD8α信号肽(MALPVTALLLPLALLLHAARP;SEQ ID NO:162)和myc标签(EQKLISEEDL;SEQ ID NO:163),所述标签用于使用α-myc AF647(Cell-Signaling#2233)适当地确定表面表达。对于这些受体的构建,将编码序列表中提供的氨基酸序列的DNA片段从含有所指示蛋白质的DNA序列的合成基因片段或质粒进行PCR扩增,并且使用标准克隆技术(例如,突出端PCR、融合PCR和无缝克隆)将其与侧接的翻译起始序列和终止序列一起组装至含有3-磷酸甘油酸激酶(PGK)启动子的经修饰的pHR'SIN:CSW载体(K.T.Roybal等人,Cell(2016)167(2):419-32)中以用于下文所述的所有原代T细胞实验。

[0178] 所述pHR'SIN:CSW载体也被修饰以产生应答元件质粒。为此目的,将用于结合GAL4 DBD结构域(GGAGCACTGTCCTCCGAACG;SEQ ID NO:164)的靶序列的五个拷贝克隆至最小合成pybTATA启动子的5'侧。

[0179] 应答元件质粒中还包含PGK启动子,其组成性地驱动荧光团(mCitrine或mCherry)的表达以适当地鉴定转导的T细胞或用于单载体实验的SynRIPR。对于所有诱导型嵌合抗原受体(CAR)载体,CAR在N末端用Flag标签标记,并且使用T2A元件与GFP共诱导。所有诱导的元件经由多克隆中位于Gal4应答元件的3'侧的BamHI位点克隆。所有构建体都是根据制造商的说明书经由In-Fusion®克隆(Takara#638951)克隆的。

实施例2

原代人T细胞分离和培养

[0180] 本实施例描述了原代人T细胞的分离和培养,所述原代人T细胞随后用于以下实施例3中描述的各种细胞转导实验。

[0181] 在这些实验中,原代$CD4^+$T细胞和原代$CD8^+$T细胞在单采术后从匿名供体血液中分离,并且通过阴性选择使用人T细胞分离试剂盒(人$CD4^+$和$CD8^+$富集混合物;STEMCELL Technologies目录号15062和15063)进行富集。血液获自太平洋血液中心(Blood Centers of the Pacific)(加利福尼亚州旧金山市),如大学机构审查委员会(University Institutional Review Board)批准的。将T细胞冷冻保存在具有20%人AB血清(Valley

Biomedical Inc.,#HP1022)和10％DMSO的生长培养基(RPMI-1640,UCSF细胞培养核心)中。解冻后,对于所有实验,在补充有30单位/mL IL-2(NCI BRB临床前储存库)的含有X-VIVO™ 15(Lonza#04-418Q)、5％人AB血清和10mM中和的N-乙酰基L-半胱氨酸(Sigma-Aldrich# A9165)的人T细胞培养基中培养T细胞。

实施例3

用慢病毒载体稳定转导人T细胞

[0182] 所述实施例描述用于人T细胞的慢病毒转导的通用方案。

[0183] 通常,经由用pHR'SIN:CSW转基因表达载体和病毒包装质粒pCMVdR8.91和pMD2.G使用Mirus TransIT®-Lenti(Mirus,#MIR 6606)转染Lenti-X™293T细胞(Clontech# 11131D)产生用水疱性口炎病毒包膜G蛋白(VSV-G)假型化的慢病毒载体(泛嗜性载体)。通常,将原代T细胞在同一天解冻,并且在培养24小时后,用具有结合至表面的抗CD3抗体和抗CD28抗体的珠粒(人T激活因子CD3/CD28Dynabeads®,Life Technologies#11131D)以1:3细胞:珠粒比刺激原代T细胞。在48小时,收获病毒上清液,并且将原代T细胞暴露于病毒,持续24小时。在T细胞刺激后第5天,去除珠粒,并且进行T细胞扩增,直到第14天,此时它们静止并且可以用于测定。用Beckton Dickinson(BD Biosciences)FACSAria™II流式细胞仪分选T细胞用于测定。将分选的T细胞扩增直到第10天以用于体内测定,并且扩增直到第14天以用于体外测定。

实施例4

体外SynRIPR激活测定

[0184] 对于所有体外SynRIPR激活测定,将1×10^5个T细胞或Jurkat T细胞与靶细胞以1:1比率在96孔圆底板(VWR)中共培养。为了外源性激活T细胞,将100ng/mL PMA(Sigma# P1575)或MCAM BiTE添加至共培养物中。当激活共表达的ALPPL2 CAR时,将ALPPL2+K562细胞与T细胞以1:1的比率添加至共培养物中。在所指示的时间点使用BD FACSymphony Fortessa X-50分析培养物的报告基因激活。所有流式细胞术分析都在FlowJo软件(BD)中进行。

实施例5

癌细胞系

[0185] 本实施例描述了以与Daudi肿瘤等同的水平表达CD19的髓细胞性白血病"发送"细胞的产生。

[0186] 所用的癌细胞系是K562髓细胞性白血病细胞(ATCC#CCL-243)和Daudi B细胞淋巴母细胞(ATCC#CCL-213)。K562细胞用慢病毒转导以按与Daudi肿瘤等同的水平稳定表达人CD19。CD19水平是通过将细胞用α-CD19 APC(Biolegend®#302212)染色来确定。针对转基因的表达分选所有细胞系。

实施例6

用于筛选的报告Jurkat T细胞的产生

[0187] 本实施例描述了报告Jurkat T细胞的产生,其随后用于筛选含有非Notch跨膜结构域(TMD)和/或停止转移序列(STS)的各种合成受体。

[0188] 在这些实验中,将E6-1 Jurkat T细胞(ATCC#TIB-152)用携带诱导型Gal4驱动的BFP报告基因和组成型表达的mCitrine报告基因的报告质粒进行慢病毒转导,如先前所述

(K.T.Roybal等人,Cell,164:1-10,2016)。使用Beckton Dickinson(BD Biosciences)FACSAria™II流式细胞仪针对mCitrine阳性表达分选报告阳性Jurkat细胞并扩增。

[0189] 用受体转基因表达载体产生慢病毒颗粒,如先前所述(L.Morsut等人,Cell(2016)164:780-91)。在96孔板中用具有修饰的跨膜结构域(TMD)或近膜结构域(STS)的myc标记的α-CD19人SynNotch1受体慢病毒转导报告物阳性Jurkat T细胞的单独培养物。在病毒转导后,在用抗myc AF647(Cell-Signaling#2233)染色后,用BD FACSymphony Fortessa X-50测量每个Jurka细胞群的受体转导效率。

实施例7

非Notch合成调节性膜内蛋白水解受体(SynRIPR)

[0190] 本实施例描述了为了证明本文所述的示例性嵌合非Notch多肽在体外对膜内蛋白水解的调节而进行的实验。

[0191] 在这些实验中,参考受体是优化的CD8αNotch受体(铰链Notch),其由截短的CD8α胞外结构域(ECD)、人Notch1的跨膜结构域(TMD)和来自Notch1的C末端近膜结构域(JMD/STS)构成。表达这种抗CD19铰链Notch的T细胞能够在CD19+K562发送细胞的存在下激活应答元件。这种激活在共表达的抗ALPPL2 CAR被激活时得到加强,从而提供T细胞激活刺激。这些实验的结果示意性地呈现在图1A-图1C中。

[0192] 观察到,尽管所有受体均以高水平表达,但原本有活性的老年痴呆相关类钙粘蛋白-γ(CSTLN2)TMD在与其同源但无活性的STS/JMD序列一起时不具有功能。特别地,通过用来自CLSTN2的等同结构域替代Notch1 TMD和JMD/STS,观察到检测不到受体活性。尽管CLSTN2 TMD在先前的TMD筛选实验(数据未示出)中表现良好,但发现CLSTN2 JMD/STS是无功能的。还观察到,通过恢复Notch1 JMD,采用CLSTN2 TMD的受体活性得以恢复。

[0193] 值得注意的是,观察到通过用来自KCNE3(RSRKVDKR;SEQ ID NO:146)或PTPRF(KRKRTH;SEQ ID NO:108)的更具活性的JMD/STS替代CSTLN2 JMD/STS(例如,当与CLSTN2 TMD配对时产生功能受体)来恢复受体信号传导。此结果表明原始CLSTN2 JMD是功能限制性的。

[0194] 总之,在本实施例中所述的实验结果证明,使用CLSTN2 TMD和JMD组装非Notch SynRIPR导致无活性的受体,然而当用更高性能的JMD替代CLSTN2 JMD时,受体功能恢复。

[0195] 如上文所讨论的,所有现有的功能SynNotch受体都包含源自Notch家族成员的序列。为了证明模块化受体组装方法的多功能性,本实施例中所述的实验已经被设计为基于完全缺乏Notch序列的受体组分从头开始工程化配体激活的受体。本文所述的实验结果说明了从一组功能部分构建新功能合成调节性膜内蛋白水解受体的能力,这转而证明了受体组装的合成生物学方法能够产生功能类似于Notch受体但是其活性可以合理定制的受体。

实施例8

SynRIPR的模块化组装

[0196] 本实施例描述了为了说明合成受体可以通过组合配体结合结构域、ECD、TMD、JMD和转录因子以模块化方式组装而进行的实验。

[0197] 在这些实验中,由于优化的CD8α铰链ECD的稳健表达和缺乏配体非依赖性信号传导,因此选择其进行另外的测试。在下文的实验中,对于TMD选择,Notch1 JMD(STS)保持不变,而对于JMD(STS)选择,Notch1 TMD保持不变。

[0198] 为了选择TMD,将这种CD8α铰链ECD与抗CD19 scFV、来自先前筛选的多种高性能TMD、Notch1 JMD和转录调控因子Gal4VP64组合。将表达这些受体的T细胞与CD19+发送K562细胞共孵育48小时并且使用流式细胞术测量BFP报告物的产生。由于Notch1 TMD和两个TMD突变体的配体非依赖性信号传导的水平低,因此选择了它们。

[0199] 为了选择JMD,将优化的CD8α铰链ECD与抗CD19 scFV、Notch1 TMD、多种JMD和转录调控因子Gal4VP64配对。将表达这些受体的T细胞与CD19+发送K562细胞共孵育,并且使用流式细胞术测量BFP报告物的产生。由于Notch1、NRG1和Notch2 JMD的可变输出产生水平允许信号调整,因此选择它们。

[0200] 在这些实验中,将表达高性能"SynRIPR→BFP表达"回路的T细胞与发送细胞共孵育48小时。使用流式细胞术测量BFP输出。这些实验的结果示意性地呈现在图2中。

[0201] 总之,本文所述的实验说明,可以通过选择ECD、TMD和JMD用于进一步测试来设计和组装适合于临床翻译的合成调节性膜内蛋白水解受体支架。示例性设计标准包括在基础和激活的T细胞二者的条件下的稳健表达、高配体依赖性激活和低配体非依赖性激活。在一个示例性工作流程中,由于优化的CD8α-铰链ECD的强表达和对配体的选择性应答,因此可以最初选择优化的CD8α-铰链ECD,并通过选择高性能TMD和JMD对其进行筛选。由于SynRIPR的组装表明每种组分对总受体功能的粗略加性效应,因此可以通过筛选具有恒定Notch1互补组分的TMD和JMD来简化优化搜索。根据实验,由于Notch1 TMD的稳健激活和同类最佳水平的配体非依赖性信号传导以及突变体针对可调性的现成可用性,因此决定维持Notch1 TMD。针对一组JMD筛选这种ECD-TMD组合,选择了一组具有一定范围的激活水平的SNIPR(合成膜内蛋白水解受体)。观察到,尽管SynRIPR表达水平在TMD与JMD之间变化,但这些差异并不完全与受体激活相关,这似乎表明JMD具有更多效性的作用。

[0202] 虽然已经公开了本公开文本的特定替代方案,但应理解,各种修改和组合都是可能的并且被考虑在所附权利要求的真实精神和范围内。因此,无意限制于本文呈现的确切摘要和公开文本。

参考文献

David L.Porter,M.D.,Bruce L.Levine,Ph.D.,Michael Kalos,Ph.D.,Adam Bagg,M.D.,and Carl H.June,M.D.Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells in Chronic Lymphoid Leukemia.N.Engl J Med.(2011)Aug 25;365(8):725-33.

Gordon WR et al.,The molecular logic of Notch signaling-a structural and biochemical perspective.J.Cell Sci.(2008)121:3109-19.

Gordon WR et al.,Mechanical Allostery:Evidence for a Force Requirement in the Proteolytic Activation of Notch.Dev Cell(2015)33:729-36.

Haapasalo A1,Kovacs DM.The many substrates of presenilin/γ-secretase.J Alzheimers Dis.(2011);25(1):3-28.

Rosmalen M.,Krom M.,and Merkx M.Tuning the Flexibility of Glycine-Serine Linkers To Allow Rational.Biochemistry(2017)56:6565-6574.

Morsut L,Roybal KT,Xiong X,Gordley RM,Coyle SM,Thomson M,and Lim WA.Engineering Customized Cell Sensing and Response Behaviors Using Synthetic Notch Receptors.Cell.(2016)February 11;164(4):780-91.

Naso MF,Tomkowicz B,Perry WL 3rd,Strohl WR.Adeno-Associated Virus (AAV)as aVector for Gene Therapy.BioDrugs.(2017);31(4):317-34.

Nasri M,Karimi A,Allahbakhshian Farsani M.Production,purification and titration of alentivirus-based vector for gene delivery purposes.Cytotechnology.(2014);66(6):1031-38.

Roybal KT,Jasper Z.Williams,Leonardo Morsut,Levi J.Rupp,Isabel Kolinko,Joseph H.Choe,Whitney J.Walker,Krista A.McNally,and Wendell A.Lim.Engineering T cells with Customized Therapeutic Response Programs Using Synthetic Notch Receptors.Cell.(2016)Oct 6;167(2):419-32.

Samulski and Muzyczka.AAV-Mediated Gene Therapy for Research and Therapeutic Purposes.Annu.Rev.Virol.(2014)1:427.

Sakuma,et al.(2012).Lentiviral vectors:basic to translational.Biochem.J.443:603.

Watson D.J.,Wolfe J.H.Viral vectors for gene therapy:methods and protocols.Totowa,NJ,USA:Humana Press;(2003).pp.383-404.

Vidarsson G.et al.,IgG subclasses and allotypes:from structure to effector functions.Frontiers Immunol.(2014)Oct 20;5:520.

Zhang et al.,The γ-secretase complex:from structure to function.Frontiers in Cellular Neuroscience.(2014)December 8:427.

序列表
<110> 加利福尼亚大学董事会
<120> 用于定制抗原诱导的转录调控的合成膜间蛋白水解受体
<130> 048536-696001WO
<140> 与此一起
<141> 与此一起
<150> US 63/164,995
<151> 2021-03-23
<160> 248
<170> PatentIn 3.5版
<210> 1
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CLSTN1 TMD
<400> 1
Ala Thr Val Val Ile Val Val Cys Val Ser Phe Leu Val Phe Met Ile
1 5 10 15
Ile Leu Gly Val Phe
20
<210> 2
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CLSTN2 TMD
<400> 2
Ile Ala Thr Val Val Ile Ile Ile Ser Val Cys Met Leu Val Phe Val
1 5 10 15
Val Ala Met Gly Val Tyr
20

<210> 3
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> APLP1 TMD
<400> 3
Ala Val Ser Gly Leu Leu Ile Met Gly Ala Gly Gly Gly Ser Leu Ile
1 5 10 15
Val Leu Ser Met Leu Leu Leu
20
<210> 4
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> APLP2 TMD
<400> 4
Ser Ala Leu Ile Gly Leu Leu Val Ile Ala Val Ala Ile Ala Thr Val
1 5 10 15
Ile Val Ile Ser Leu Val Met Leu
20
<210> 5
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> LRP8 TMD
<400> 5
Val Ile Gly Ile Ile Val Pro Ile Val Val Ile Ala Leu Leu Cys Met

1 5 10 15
Ser Gly Tyr Leu Ile Trp
20
<210> 6
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> APP TMD
<400> 6
Gly Ala Ile Ile Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val Ile Ala Thr Val
1 5 10 15
Ile Val Ile Thr Leu Val Met Leu
20
<210> 7
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> BTC TMD
<400> 7
Ile Leu Val Ile Cys Leu Ile Ala Val Met Val Val Phe Ile Ile Leu
1 5 10 15
Val Ile Gly Val Cys Thr Cys Cys
20
<210> 8
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征

<223> TGBR3 TMD
<400> 8
Met Gly Ile Ala Phe Ala Ala Phe Val Ile Gly Ala Leu Leu Thr Gly
1 5 10 15
Ala Leu Trp Tyr Ile Tyr Ser
20
<210> 9
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> SPN TMD
<400> 9
Gly Met Leu Pro Val Ala Val Leu Val Ala Leu Leu Ala Val Ile Val
1 5 10 15
Leu Val Ala Leu Leu Leu Leu Trp
20
<210> 10
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD44 TMD
<400> 10
Trp Leu Ile Ile Leu Ala Ser Leu Leu Ala Leu Ala Leu Ile Leu Ala
1 5 10 15
Val Cys Ile Ala Val Asn Ser
20
<210> 11
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CSF1R TMD
<400> 11
Val Val Val Ala Cys Met Ser Ile Met Ala Leu Leu Leu Leu Leu Leu
1 5 10 15
Leu Leu Leu Leu Tyr
20
<210> 12
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CXCL16 TMD
<400> 12
Val Pro Val Leu Cys Leu Leu Ala Ile Ile Phe Ile Leu Thr Ala Ala
1 5 10 15
Leu Ser Tyr Val Leu Cys
20
<210> 13
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CX3CL1 TMD
<400> 13
Ala Val Gly Leu Leu Ala Phe Leu Gly Leu Leu Phe Cys Leu Gly Val
1 5 10 15
Ala Met Phe Thr Tyr Gln Ser Leu Gln Gly Cys Pro
20 25
<210> 14
<211> 25

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> DCC TMD
<400> 14
Leu Leu Val Ile Ile Val Val Thr Val Gly Val Ile Thr Val Leu Val
1 5 10 15
Val Val Ile Val Ala Val Ile Cys Thr
20 25
<210> 15
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> DLL1 TMD
<400> 15
Val Ala Val Cys Ala Gly Val Ile Leu Val Leu Met Leu Leu Leu Gly
1 5 10 15
Cys Ala Ala Val Val Val Cys Val
20
<210> 16
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> DSG2 TMD
<400> 16
Leu Gly Pro Ala Ala Ile Ala Leu Met Ile Leu Ala Phe Leu Leu Leu
1 5 10 15
Leu Leu Val Pro Leu Leu Leu Leu Met Cys

20 25

<210> 17
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> DNER TMD
<400> 17
Ile Ile Ile Gly Ala Leu Cys Val Ala Phe Ile Leu Met Leu Ile Ile
1 5 10 15
Leu Ile Val Gly Ile Cys
20
<210> 18
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> DAG1 TMD
<400> 18
Tyr Leu His Thr Val Ile Pro Ala Val Val Val Ala Ala Ile Leu Leu
1 5 10 15
Ile Ala Gly Ile Ile Ala Met Ile Cys Tyr
20 25
<210> 19
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CDH1 TMD
<400> 19

Ile Leu Gly Ile Leu Gly Gly Ile Leu Ala Leu Leu Ile Leu Ile Leu
1 5 10 15
Leu Leu Leu Leu Phe Leu
20

<210> 20
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> EPCAM TMD
<400> 20
Ala Gly Val Ile Ala Val Ile Val Val Val Val Ile Ala Val Val Ala
1 5 10 15
Gly Ile Val Val Leu Val Ile Ser
20

<210> 21
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> EPHA4 TMD
<400> 21
Val Leu Leu Val Ser Val Ser Gly Ser Val Val Leu Val Val Ile Leu
1 5 10 15
Ile Ala Ala Phe Val Ile Ser
20

<210> 22
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>

<221> 尚未归类的特征
<223> EPHB2 TMD
<400> 22
Ile Ile Gly Ser Ser Ala Ala Gly Leu Val Phe Leu Ile Ala Val Val
1 5 10 15
Val Ile Ala Ile Val Cys Asn
20
<210> 23
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> EFNB1 TMD
<400> 23
Val Ala Leu Phe Ala Ala Val Gly Ala Gly Cys Val Ile Phe Leu Leu
1 5 10 15
Ile Ile Ile Phe Leu Thr Val Leu Leu Leu
20 25
<210> 24
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> EFNB2 TMD
<400> 24
Gly Ile Ala Ser Gly Cys Ile Ile Phe Ile Val Ile Ile Ile Thr Leu
1 5 10 15
Val Val Leu Leu Leu
20
<210> 25
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> ErbB4 TMD
<400> 25
Leu Ile Ala Ala Gly Val Ile Gly Gly Leu Phe Ile Leu Val Ile Val
1 5 10 15
Gly Leu Thr Phe Ala Val Tyr Val
20
<210> 26
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> GHR TMD
<400> 26
Phe Pro Trp Leu Leu Ile Ile Ile Phe Gly Ile Phe Gly Leu Thr Val
1 5 10 15
Met Leu Phe Val Phe Leu Phe Ser
20
<210> 27
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> HLA-A TMD
<400> 27
Val Gly Ile Ile Ala Gly Leu Val Leu Phe Gly Ala Val Ile Thr Gly
1 5 10 15
Ala Val Val Ala Ala Val Met Trp
20
<210> 28

<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> IFNAR2 TMD
<400> 28
Ile Gly Gly Ile Ile Thr Val Phe Leu Ile Ala Leu Val Leu Thr Ser
1 5 10 15
Thr Ile Val Thr Leu
20
<210> 29
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> IGF1R TMD
<400> 29
Leu Ile Ile Ala Leu Pro Val Ala Val Leu Leu Ile Val Gly Gly Leu
1 5 10 15
Val Ile Met Leu Tyr Val Phe
20
<210> 30
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> IL1R1 TMD
<400> 30
His Met Ile Gly Ile Cys Val Thr Leu Thr Val Ile Ile Val Cys Ser
1 5 10 15

Val Phe Ile Tyr
20

<210> 31
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> IL1R2 TMD
<400> 31
Ala Ser Ser Thr Phe Ser Trp Gly Ile Val Leu Ala Pro Leu Ser Leu
1 5 10 15
Ala Phe Leu Val Leu Gly Gly Ile Trp Met
20 25
<210> 32
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> IL6R TMD
<400> 32
Thr Phe Leu Val Ala Gly Gly Ser Leu Ala Phe Gly Thr Leu Leu Cys
1 5 10 15
Ile Ala Ile Val Leu
20
<210> 33
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> INSR TMD

<400> 33
Ile Ile Ile Gly Pro Leu Ile Phe Val Phe Leu Phe Ser Val Val Ile
1 5 10 15
Gly Ser Ile Tyr Leu Phe Leu
20
<210> 34
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> ERN1 TMD
<400> 34
Met Ala Thr Ile Ile Leu Ser Thr Phe Leu Leu Ile Gly Trp Val Ala
1 5 10 15
Phe Ile Ile Thr Tyr Pro Leu Ser Met
20 25
<210> 35
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> ERN2 TMD
<400> 35
Gln Asp Leu Leu Ala Ala Ser Leu Thr Ala Val Leu Leu Gly Gly Trp
1 5 10 15
Ile Leu Phe Val Met
20
<210> 36
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体

<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> JAG2 TMD
<400> 36
Gly Leu Leu Val Pro Val Leu Cys Gly Ala Phe Ser Val Leu Trp Leu
1 5 10 15
Ala Cys Val Val Leu Cys Val Trp Trp Thr
20 25
<210> 37
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> KCNE1 TMD
<400> 37
Ala Leu Tyr Val Leu Met Val Leu Gly Phe Phe Gly Phe Phe Thr Leu
1 5 10 15
Gly Ile Met Leu Ser Tyr Ile
20
<210> 38
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> KCNE2 TMD
<400> 38
Val Ile Leu Tyr Leu Met Val Met Ile Gly Met Phe Ser Phe Ile Ile
1 5 10 15
Val Ala Ile Leu Val Ser Thr Val
20
<210> 39
<211> 23
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> KCNE3 TMD
<400> 39
Tyr Met Tyr Ile Leu Phe Val Met Phe Leu Phe Ala Val Thr Val Gly
1 5 10 15
Ser Leu Ile Leu Gly Tyr Thr
20
<210> 40
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> KCNE4 TMD
<400> 40
Tyr Phe Tyr Ile Leu Val Val Met Ser Phe Tyr Gly Ile Phe Leu Ile
1 5 10 15
Gly Ile Met Leu Gly Tyr Met
20
<210> 41
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> KL TMD
<400> 41
Leu Leu Ala Phe Ile Ala Phe Leu Phe Phe Ala Ser Ile Ile Ser Leu
1 5 10 15
Ser Leu Ile Phe Tyr Tyr Ser
20

<210> 42
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CHL1 TMD
<400> 42
Phe Ile Gly Leu Met Cys Ala Ile Ala Leu Leu Thr Leu Leu Leu Leu
1 5 10 15
Thr Val Cys Phe Val
20
<210> 43
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PTPRF TMD
<400> 43
Val Thr Gly Pro Val Leu Ala Val Ile Leu Ile Ile Leu Ile Val Ile
1 5 10 15
Ala Ile Leu Leu Phe
20
<210> 44
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> LRP1 TMD
<400> 44
His Ile Ala Ser Ile Leu Ile Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Val

1 5 10 15
Leu Val Ala Gly Val Val Phe Trp Tyr
20 25
<210> 45
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> LRP1B TMD
<400> 45
Ala Ile Ile Val Pro Leu Val Leu Leu Val Thr Leu Ile Thr Thr Leu
1 5 10 15
Val Ile Gly Leu Val Leu Cys
20
<210> 46
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> LRP2 TMD
<400> 46
Ala Val Ala Val Leu Leu Thr Ile Leu Leu Ile Val Val Ile Gly Ala
1 5 10 15
Leu Ala Ile Ala Gly Phe Phe
20
<210> 47
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征

<223> LRP6 TMD
<400> 47
Thr Asn Thr Val Gly Ser Val Ile Gly Val Ile Val Thr Ile Phe Val
1 5 10 15
Ser Gly Thr Val Tyr Phe Ile Cys Gln
20 25
<210> 48
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> MUC1 TMD
<400> 48
Trp Gly Ile Ala Leu Leu Val Leu Val Cys Val Leu Val Ala Leu Ala
1 5 10 15
Ile Val Tyr Leu Ile Ala Leu Ala Val Cys Gln Cys
20 25
<210> 49
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CDH2 TMD
<400> 49
Ile Ile Ala Ile Leu Leu Cys Ile Ile Ile Leu Leu Ile Leu Val Leu
1 5 10 15
Met Phe Val Val Trp Met
20
<210> 50
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> SCN1B TMD
<400> 50
Ile Met Met Tyr Val Leu Ile Val Val Leu Thr Ile Trp Leu Val Ala
1 5 10 15
Glu Met Ile Tyr Cys Tyr
20
<210> 51
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> SCN2B TMD
<400> 51
Val Ile Val Gly Ala Ser Val Gly Gly Phe Leu Ala Val Val Ile Leu
1 5 10 15
Val Leu Met Val Val
20
<210> 52
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> SCN3B TMD
<400> 52
Ile Met Met Tyr Ile Leu Leu Val Phe Leu Thr Leu Trp Leu Leu Ile
1 5 10 15
Glu Met Ile Tyr Cys Tyr
20
<210> 53
<211> 21

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> SCN4B TMD
<400> 53
Thr Leu Ile Ile Leu Ala Val Val Gly Gly Val Ile Gly Leu Leu Ile
1 5 10 15
Leu Ile Leu Leu Ile
20
<210> 54
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> 连接蛋白1 TMD
<400> 54
Ile Ile Gly Gly Val Ala Gly Ser Ile Leu Leu Val Leu Ile Val Val
1 5 10 15
Gly Gly Ile Val Val Ala Leu
20
<210> 55
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> NRG1 TMD
<400> 55
Val Leu Thr Ile Thr Gly Ile Cys Ile Ala Leu Leu Val Val Gly Ile
1 5 10 15
Met Cys Val Val Ala Tyr Cys

20

<210> 56
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> NRG2 TMD
<400> 56
Val Leu Thr Ile Thr Gly Ile Cys Val Ala Leu Leu Val Val Gly Ile
1 5 10 15
Val Cys Val Val Ala Tyr Cys
20
<210> 57
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> NPR3 TMD
<400> 57
Ser Ala Val Thr Gly Ile Val Val Gly Ala Leu Leu Gly Ala Gly Leu
1 5 10 15
Leu Met Ala Phe Tyr Phe Phe
20
<210> 58
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> Nradd TMD
<400> 58

Ile Ile Pro Val Tyr Cys Ala Leu Leu Ala Thr Val Ile Leu Gly Leu
1 5 10 15
Leu Ala Tyr Val Ala Phe
20

<210> 59
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> NGFR TMD
<400> 59
Leu Ile Pro Val Tyr Cys Ser Ile Leu Ala Ala Val Val Val Gly Leu
1 5 10 15
Val Ala Tyr Ile Ala Phe
20

<210> 60
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PAM TMD
<400> 60
Val Pro Val Val Leu Ile Thr Thr Leu Leu Val Ile Pro Val Val Val
1 5 10 15
Leu Leu Ala Ile Ala Ile Phe Ile
20

<210> 61
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>

<221> 尚未归类的特征
<223> PLXDC2 TMD
<400> 61
Gly Leu Ile Ile Gly Ile Leu Ile Leu Val Leu Ile Val Ala Thr Ala
1 5 10 15
Ile Leu Val Thr Val Tyr Met Tyr
20
<210> 62
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PKHD1 TMD
<400> 62
Ile Ile Leu Ala Ala Ser Leu Ser Ser Val Ala Ser Trp Leu Ala Leu
1 5 10 15
Ser Cys Leu Val Cys Cys Trp Leu
20
<210> 63
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PCDHA4 TMD
<400> 63
Val Tyr Leu Ile Ile Ala Ile Cys Ala Val Ser Ser Leu Leu Val Leu
1 5 10 15
Thr Leu Leu Leu Tyr Thr Ala Leu
20
<210> 64
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PCDHGC3 TMD
<400> 64
Leu Leu Leu Ser Leu Ile Leu Val Ser Val Gly Phe Val Val Thr Val
1 5 10 15
Phe Gly Val Ile Ile Phe
20
<210> 65
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PTPRZ1 TMD
<400> 65
Ala Val Ile Pro Leu Val Ile Val Ser Ala Leu Thr Phe Ile Cys Leu
1 5 10 15
Val Val Leu Val Gly Ile Leu Ile Tyr Trp
20 25
<210> 66
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> AGER TMD
<400> 66
Leu Ala Leu Gly Ile Leu Gly Gly Leu Gly Thr Ala Ala Leu Leu Ile
1 5 10 15
Gly Val Ile Leu Trp Gln
20
<210> 67

<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PTPRK TMD
<400> 67
Ile Ala Gly Ile Ser Ala Gly Ile Leu Val Phe Ile Leu Leu Leu Leu
1 5 10 15
Val Val Ile Leu Ile Val
20
<210> 68
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PTPRM TMD
<400> 68
Ile Ala Gly Val Ile Ala Gly Ile Leu Leu Phe Val Ile Ile Phe Leu
1 5 10 15
Gly Val Val Leu Val Met
20
<210> 69
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> ROBO1 TMD
<400> 69
Ala Phe Ile Ala Gly Ile Gly Ala Ala Cys Trp Ile Ile Leu Met Val
1 5 10 15

Phe Ser Ile Trp Leu Tyr
20

<210> 70
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> SORCS3 TMD
<400> 70
Ala Met Leu Met Leu Leu Ser Val Val Phe Val Gly Leu Ala Val Phe
1 5 10 15
Leu Ile Tyr Lys Phe
20

<210> 71
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> SORCS1 TMD
<400> 71
Gly Ser Ala Met Leu Met Leu Leu Ser Val Val Phe Val Gly Leu Ala
1 5 10 15
Val Phe Val Ile Tyr
20

<210> 72
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> SORL1 TMD

<400> 72
Ala Val Val Val Pro Ile Leu Phe Leu Ile Leu Leu Ser Leu Gly Val
1 5 10 15
Gly Phe Ala Ile Leu Tyr Thr
20
<210> 73
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> SORT1 TMD
<400> 73
Ser Val Pro Ile Ile Leu Ala Ile Val Gly Leu Met Leu Val Thr Val
1 5 10 15
Val Ala Gly Val Leu Ile Val
20
<210> 74
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> SDC1 TMD
<400> 74
Gly Val Ile Ala Gly Gly Leu Val Gly Leu Ile Phe Ala Val Cys Leu
1 5 10 15
Val Gly Phe Met Leu Tyr
20
<210> 75
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体

<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> SDC2 TMD
<400> 75
Val Leu Ala Ala Val Ile Ala Gly Gly Val Ile Gly Phe Leu Phe Ala
1 5 10 15
Ile Phe Leu Ile Leu Leu Leu Val Tyr
20 25
<210> 76
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> SDC3 TMD
<400> 76
Ala Val Ile Val Gly Gly Val Val Gly Ala Leu Phe Ala Ala Phe Leu
1 5 10 15
Val Thr Leu Leu Ile Tyr
20
<210> 77
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> TIE1 TMD
<400> 77
Gln Leu Ile Leu Ala Val Val Gly Ser Val Ser Ala Thr Cys Leu Thr
1 5 10 15
Ile Leu Ala Ala Leu Leu Thr Leu Val Cys Ile
20 25
<210> 78
<211> 24
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> TYR TMD
<400> 78
Trp Leu Leu Gly Ala Ala Met Val Gly Ala Val Leu Thr Ala Leu Leu
1 5 10 15
Ala Gly Leu Val Ser Leu Leu Cys
20
<210> 79
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> TYRP1 TMD
<400> 79
Ile Ile Ala Ile Ala Val Val Gly Ala Leu Leu Leu Val Ala Leu Ile
1 5 10 15
Phe Gly Thr Ala Ser Tyr Leu Ile
20
<210> 80
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> DCT TMD
<400> 80
Leu Leu Val Val Met Gly Thr Leu Val Ala Leu Val Gly Leu Phe Val
1 5 10 15
Leu Leu Ala Phe Leu Gln Tyr
20

<210> 81
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VASN TMD
<400> 81
Leu Leu Ile Ala Pro Ala Leu Ala Ala Val Leu Leu Ala Ala Leu Ala
1 5 10 15
Ala Val Gly Ala Ala Tyr Cys Val
20
<210> 82
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CDH5 TMD
<400> 82
Ala Val Val Ala Ile Leu Leu Cys Ile Leu Thr Ile Thr Val Ile Thr
1 5 10 15
Leu Leu Ile Phe Leu
20
<210> 83
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> FLT1 TMD
<400> 83
Leu Ile Thr Leu Thr Cys Thr Cys Val Ala Ala Thr Leu Phe Trp Leu

1 5 10 15
Leu Leu Thr Leu Phe Ile
20
<210> 84
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VLDLR TMD
<400> 84
Ala Ala Trp Ala Ile Leu Pro Leu Leu Leu Leu Val Met Ala Ala Val
1 5 10 15
Gly Gly Tyr Leu Met Trp
20
<210> 85
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> APLP1 STS
<400> 85
Arg Arg Lys Lys
1
<210> 86
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> APLP2 STS
<400> 86

Arg Lys Arg
1
<210> 87
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> APP STS
<400> 87
Lys Lys Lys
1
<210> 88
<211> 1
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> TGBR3 STS
<400> 88
His
1
<210> 89
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CSF1R STS
<400> 89
Lys Tyr Lys Gln Lys Pro Lys
1 5
<210> 90

<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CXCL16 STS
<400> 90
Lys Arg Arg Arg
1
<210> 91
<211> 2
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CX3CL1 STS
<400> 91
Arg Lys
1
<210> 92
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> DAG1 STS
<400> 92
Arg Lys Lys Arg Lys Gly Lys
1 5
<210> 93
<211> 2
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> DCC STS
<400> 93
Arg Arg
1
<210> 94
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> DNER STS
<400> 94
Arg Ile Ser Arg
1
<210> 95
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> DSG2 STS
<400> 95
Lys Cys Gly Lys Gly Ala Lys
1 5
<210> 96
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>

<221> 尚未归类的特征
<223> CDH1 STS
<400> 96
Arg Arg Arg
1
<210> 97
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> GHR STS
<400> 97
Lys Gln Gln Arg Ile Lys
1 5
<210> 98
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> HLA-A STS
<400> 98
Arg Arg Lys
1
<210> 99
<211> 1
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> IFNAR2 STS
<400> 99

Lys
1
<210> 100
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> IGF1R STS
<400> 100
His Arg Lys Arg
1
<210> 101
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> IL1R1 STS
<400> 101
Lys Ile Phe Lys
1
<210> 102
<211> 1
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> ERN2 STS
<400> 102
Arg
1
<210> 103

<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> KCNE1 STS
<400> 103
Arg Ser Lys Lys Leu Glu His
1 5
<210> 104
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> KCNE2 STS
<400> 104
Lys Ser Lys Arg Arg Glu His
1 5
<210> 105
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CHL1 STS
<400> 105
Lys Arg Asn Arg Gly Gly Lys
1 5
<210> 106
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> LRP1 STS
<400> 106
Lys Arg Arg
1
<210> 107
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> LRP2 STS
<400> 107
His Tyr Arg Arg
1
<210> 108
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PTPRF STS
<400> 108
Lys Arg Lys Arg Thr His
1 5
<210> 109
<211> 2
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>

<221> 尚未归类的特征
<223> SCN1B STS
<400> 109
Lys Lys
1
<210> 110
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> SCN3B STS
<400> 110
Arg Lys Val Ser Lys
1 5
<210> 111
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> NPR3 STS
<400> 111
Arg Lys Lys Tyr Arg
1 5
<210> 112
<211> 2
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> NGFR STS
<400> 112

Lys Arg
1
<210> 113
<211> 2
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PLXDC2 STS
<400> 113
His His
1
<210> 114
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PAM STS
<400> 114
Arg Trp Lys Lys Ser Arg
1 5
<210> 115
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> AGER STS
<400> 115
Arg Arg Gln Arg Arg
1 5
<210> 116

<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> ROBO1 STS
<400> 116
Arg His Arg Lys Lys Arg
1 5
<210> 117
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> SORCS3 STS
<400> 117
Lys Arg Lys
1
<210> 118
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> SORCS1 STS
<400> 118
Lys Phe Lys Arg Arg
1 5
<210> 119
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> SORL1 STS
<400> 119
Lys His Arg Arg
1
<210> 120
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> SDC1 STS
<400> 120
Arg Met Lys Lys Lys
1 5
<210> 121
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> SDC2 STS
<400> 121
Arg Met Arg Lys Lys
1 5
<210> 122
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>

<221> 尚未归类的特征
<223> SPN STS
<400> 122
Arg Arg Arg Gln Lys Arg Arg
1 5
<210> 123
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> TYR STS
<400> 123
Arg His Lys Arg Lys
1 5
<210> 124
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> TYRP1 STS
<400> 124
Arg Ala Arg Arg
1
<210> 125
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> DCT STS
<400> 125

Arg Arg Leu Arg Lys
1 5
<210> 126
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VASN STS
<400> 126
Arg Arg Gly Arg
1
<210> 127
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> FLT1 STS
<400> 127
Arg Lys Met Lys Arg
1 5
<210> 128
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CDH5 STS
<400> 128
Arg Arg Arg Leu Arg Lys Gln Ala Arg Ala His Gly Lys
1 5 10
<210> 129

<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PKHD1 STS
<400> 129
Lys Arg Ser Lys Ser Arg Lys Thr Lys
1 5
<210> 130
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> 连接蛋白1 STS
<400> 130
Arg Arg Arg Arg His Thr Phe Lys
1 5
<210> 131
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> KL STS
<400> 131
Lys Lys Gly Arg Arg Ser Tyr Lys
1 5
<210> 132
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> IL6R STS
<400> 132
Arg Phe Lys Lys Thr Trp Lys Leu Arg Ala Leu Lys Glu Gly Lys
1 5 10 15
<210> 133
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> EFNB1 STS
<400> 133
Lys Leu Arg Lys Arg His Arg Lys His
1 5
<210> 134
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD44 STS
<400> 134
Arg Arg Arg Cys Gly Gln Lys Lys Lys
1 5
<210> 135
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>

<221> 尚未归类的特征
<223> CLSTN1 STS
<400> 135
Arg Ile Arg Ala Ala His Arg Arg Thr Met Arg
1 5 10
<210> 136
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> LRP8 STS
<400> 136
Arg Asn Trp Lys Arg Lys Asn Thr Lys
1 5
<210> 137
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PCDHGC3 STS
<400> 137
Lys Val Tyr Lys Trp Lys Gln Ser Arg
1 5
<210> 138
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> NRG1 STS
<400> 138

Lys Thr Lys Lys Gln Arg Lys Lys Leu His Asp Arg Leu Arg
1 5 10

<210> 139
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> LRP1B STS
<400> 139
Lys Arg Lys Arg Arg Thr Lys Thr Ile Arg Arg
1 5 10

<210> 140
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> JAG2 STS
<400> 140
Arg Lys Arg Arg Lys Glu Arg Glu Arg Ser Arg Leu Pro Arg
1 5 10

<210> 141
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> EFNB2 STS
<400> 141
Lys Tyr Arg Arg Arg His Arg Lys His
1 5

<210> 142

<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> DLL1 STS
<400> 142
Arg Leu Arg Leu Gln Lys His Arg
1 5
<210> 143
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CLSTN2 STS
<400> 143
Arg Val Arg Ile Ala His Gln His
1 5
<210> 144
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> EPCAM STS
<400> 144
Arg Lys Lys Arg Met Ala Lys Tyr Glu Lys
1 5 10
<210> 145
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> ErbB4 STS
<400> 145
Arg Arg Lys Ser Ile Lys Lys Lys Arg Ala Leu Arg Arg
1 5 10
<210> 146
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> KCNE3 STS
<400> 146
Arg Ser Arg Lys Val Asp Lys Arg
1 5
<210> 147
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CDH2 STS
<400> 147
Lys Arg Arg Asp Lys Glu Arg Gln Ala Lys
1 5 10
<210> 148
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>

<221> 尚未归类的特征
<223> NRG2 STS
<400> 148
Lys Thr Lys Lys Gln Arg Lys Gln Met His Asn His Leu Arg
1 5 10
<210> 149
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PTPRK STS
<400> 149
Lys Lys Ser Lys Leu Ala Lys Lys Arg Lys
1 5 10
<210> 150
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> BTC STS
<400> 150
His Pro Leu Arg Lys Arg Arg Lys Arg Lys Lys Lys
1 5 10
<210> 151
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> EPHA4 STS
<400> 151

Arg Arg Arg Ser Lys Tyr Ser Lys Ala Lys
1 5 10

<210> 152
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> IL1R2 STS
<400> 152
His Arg Arg Cys Lys His Arg Thr Gly Lys
1 5 10

<210> 153
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> KCNE4 STS
<400> 153
Lys Ser Lys Arg Arg Glu Lys Lys
1 5

<210> 154
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> SCN2B STS
<400> 154
Lys Cys Val Arg Arg Lys Lys Glu Gln Lys
1 5 10

<210> 155

<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> Nradd STS
<400> 155
Lys Cys Trp Arg Ser His Lys Gln Arg
1 5
<210> 156
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PTPRM STS
<400> 156
Lys Lys Arg Lys Leu Ala Lys Lys Arg Lys
1 5 10
<210> 157
<211> 45
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD8a铰链
<400> 157
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> 158
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> 截短的CD8a铰链
<400> 158
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
20 25
<210> 159
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> 铰链结构域
<400> 159
Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn
1 5 10 15
Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu
20 25 30
Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro
35
<210> 160
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> 铰链结构域

<400> 160

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
1 5 10 15

Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
20 25

<210> 161

<211> 186

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> 尚未归类的特征

<223> 铰链结构域

<400> 161

Leu His Cys Val Gly Asp Thr Tyr Pro Ser Asn Asp Arg Cys Cys His
1 5 10 15

Glu Cys Arg Pro Gly Asn Gly Met Val Ser Arg Cys Ser Arg Ser Gln
20 25 30

Asn Thr Val Cys Arg Pro Cys Gly Pro Gly Phe Tyr Asn Asp Val Val
35 40 45

Ser Ser Lys Pro Cys Lys Pro Cys Thr Trp Cys Asn Leu Arg Ser Gly
50 55 60

Ser Glu Arg Lys Gln Leu Cys Thr Ala Thr Gln Asp Thr Val Cys Arg
65 70 75 80

Cys Arg Ala Gly Thr Gln Pro Leu Asp Ser Tyr Lys Pro Gly Val Asp
85 90 95

Cys Ala Pro Cys Pro Pro Gly His Phe Ser Pro Gly Asp Asn Gln Ala
100 105 110

Cys Lys Pro Trp Thr Asn Cys Thr Leu Ala Gly Lys His Thr Leu Gln
115 120 125

Pro Ala Ser Asn Ser Ser Asp Ala Ile Cys Glu Asp Arg Asp Pro Pro
130 135 140

Ala Thr Gln Pro Gln Glu Thr Gln Gly Pro Pro Ala Arg Pro Ile Thr
145 150 155 160

Val Gln Pro Thr Glu Ala Trp Pro Arg Thr Ser Gln Gly Pro Ser Thr
165 170 175

Arg Pro Val Glu Val Pro Gly Gly Arg Ala
180 185

<210> 162
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD8α信号肽
<400> 162
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> 163
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> myc标签
<400> 163
Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
1 5 10
<210> 164
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> GAL4 DBD识别基序
<400> 164
Gly Gly Ala Gly Cys Ala Cys Thr Gly Thr Cys Cys Thr Cys Cys Gly
1 5 10 15
Ala Ala Cys Gly

20

<210> 165
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> MMP-9的示例性切割序列
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (2)..(3)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (4)..(4)
<223> Xaa是Leu, Ile, Val, Phe, Trp, Tyr, Val, Met或Pro
<400> 165
Pro Xaa Xaa Xaa
1
<210> 166
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> MMP-9的示例性切割序列
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (2)..(4)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (5)..(5)
<223> Xaa是Ser或Thr
<400> 166

Pro Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5
<210> 167
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> MMP-9的示例性切割序列
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (2)..(2)
<223> Xaa是Leu或Gln
<400> 167
Pro Xaa Gly Met Thr Ser
1 5
<210> 168
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> MMP-9的示例性切割序列
<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (2)..(2)
<223> Xaa是Leu或Gln
<400> 168
Pro Xaa Gly Met Thr
1 5
<210> 169
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> 尚未归类的特征

<223> 示例性尿激酶型血纤蛋白溶解酶原激活因子(uPA)或组织血纤蛋白溶解酶原激活因子(tPA)切割位点

<400> 169

Val Gly Arg

1

<210> 170

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> 尚未归类的特征

<223> 烟草蚀刻病毒(TEV)蛋白酶切割位点

<400> 170

Glu Asn Leu Tyr Thr Gln Ser

1 5

<210> 171

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> 尚未归类的特征

<223> 示例性肠激酶切割位点

<400> 171

Asp Asp Asp Asp Lys

1 5

<210> 172

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> 尚未归类的特征
<223> 示例性凝血酶切割位点
<400> 172
Leu Val Pro Arg
1
<210> 173
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> 野生型Notch1 TMD
<400> 173
Phe Met Tyr Val Ala Ala Ala Ala Phe Val Leu Leu Phe Phe Val Gly
1 5 10 15
Cys Gly Val Leu Leu Ser
20
<210> 174
<211> 273
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> ECD
<400> 174
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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30
Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45
Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60
Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80

His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110
Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190
Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser

<210> 175
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> IgG4 N-JMD
<400> 175
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10
<210> 176
<211> 24

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> 突变的Notch1_GIVVLLSmut TMD(添加来自EPCAM/连接蛋白1的维持切割的位点(GIVV))
<400> 176
Phe Met Tyr Val Ala Ala Ala Ala Phe Val Leu Leu Phe Phe Val Gly
1 5 10 15
Cys Gly Ile Val Val Leu Leu Ser
20
<210> 177
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> 突变的Notch1_GIVVSmut TMD(添加来自EPCAM/连接蛋白1的维持切割的位点(GIVV))
<400> 177
Phe Met Tyr Val Ala Ala Ala Ala Phe Val Leu Leu Phe Phe Val Gly
1 5 10 15
Cys Gly Ile Val Val Ser
20
<210> 178
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> APP TMD
<400> 178
Gly Ala Ile Ile Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val Ile Ala Thr Val

1 5 10 15
Ile Val Ile Thr Gly Val Met Leu
20
<210> 179
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> Notch2 TMD
<400> 179
Leu Leu Tyr Leu Leu Ala Val Ala Val Val Ile Ile Leu Phe Ile Ile
1 5 10 15
Leu Leu Gly Val Ile Met Ala
20
<210> 180
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> Notch3 TMD
<400> 180
Leu Pro Leu Leu Val Ala Gly Ala Val Leu Leu Leu Val Ile Leu Val
1 5 10 15
Leu Gly Val Met Val Ala
20
<210> 181
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征

<223> Notch3 TMD

<400> 181

Pro Val Leu Cys Ser Pro Val Ala Gly Val Ile Leu Leu Ala Leu Gly
1 5 10 15
Ala Leu Leu Val Leu Gln Leu Ile
20

<210> 182

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> 尚未归类的特征

<223> 突变的AGER _GVLVSmut TMD(用“LVS”替代野生型AGER TMD的最后4个氨基酸以使TMD功能化)

<400> 182

Leu Ala Leu Gly Ile Leu Gly Gly Leu Gly Thr Ala Ala Leu Leu Ile
1 5 10 15
Gly Val Leu Val Ser
20

<210> 183

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> 尚未归类的特征

<223> 突变的AGER _LLmut TMD(用“LVS”替代野生型AGER TMD的最后4个氨基酸以使TMD功能化)

<400> 183

Leu Ala Leu Gly Ile Leu Gly Gly Leu Leu Leu Ala Ala Leu Leu Ile
1 5 10 15
Gly Val Ile Leu Trp Gln
20

<210> 184

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> 突变的ROBO1 TMD(用“GVLLS”替代野生型Robo1 TMD的最后4个氨基酸以使TMD功能化)
<400> 184
Ala Phe Ile Ala Gly Ile Gly Ala Ala Cys Trp Ile Ile Leu Met Val
1 5 10 15
Phe Ser Gly Val Leu Leu Ser
20
<210> 185
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> Notch1斑马鱼(D. rerio)TMD
<400> 185
Met Tyr Pro Met Phe Leu Val Leu Leu Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu
1 5 10 15
Ala Ala Val Gly Val Val Val Ser
20
<210> 186
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> Notch1果蝇(D. melanogaster)TMD
<400> 186
Val Ile Thr Gly Ile Ile Leu Val Ile Ile Ala Leu Ala Phe Phe Gly
1 5 10 15
Met Val Leu Ser Thr Gln

20

<210> 187
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> Notch1非洲爪蟾(X. laevis)TMD
<400> 187
Pro Met Leu Ser Met Leu Val Ile Pro Leu Leu Ile Ile Phe Val Phe
1 5 10 15
Met Met Val Ile Val Asn
20
<210> 188
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> Notch1红原鸡(G. gallus)TMD
<400> 188
Pro Met Tyr Val Val Val Ala Ala Leu Val Leu Leu Ala Phe Ile Gly
1 5 10 15
Val Gly Val Leu Val Ser
20
<210> 189
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> Notch1小家鼠(M. muculs)TMD
<400> 189

Leu Met Tyr Val Ala Ala Ala Ala Phe Val Leu Leu Phe Phe Val Gly
1 5 10 15
Cys Gly Val Leu Leu Ser
20

<210> 190
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD8a TMD
<400> 190
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
20

<210> 191
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> 突变的CD8a TMD
<400> 191
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 Gly Val Leu Leu Ser
20 25

<210> 192
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>

<221> 尚未归类的特征
<223> 突变的CD8a TMD
<400> 192
Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu
1 5 10 15
Ser Leu Gly Val Leu Val Ser
20
<210> 193
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> Notch1 STS
<400> 193
Arg Lys Arg Arg Arg
1 5
<210> 194
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> Notch3 STS
<400> 194
Arg Arg Lys Arg Glu His
1 5
<210> 195
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征

<223> Notch4 STS
<400> 195
Arg Arg Arg Arg Glu His
1 5
<210> 196
<211> 211
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> Gal4-VP64
<400> 196
Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile Glu Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu
1 5 10 15
Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys Glu Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu
20 25 30
Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg Tyr Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro
35 40 45
Leu Thr Arg Ala His Leu Thr Glu Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu
50 55 60
Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile Phe Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile
65 70 75 80
Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln Asp Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu
85 90 95
Phe Val Gln Asp Asn Val Asn Lys Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala
100 105 110
Ser Val Glu Thr Asp Met Pro Leu Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser
115 120 125
Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu Ser Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu
130 135 140
Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp
145 150 155 160
Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp
165 170 175
Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp
180 185 190
Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met

195 200 205

Leu Gly Ser
210

<210> 197
<211> 558
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pIZ343GIVV
<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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30
Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45
Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60
Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80
His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110
Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190
Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205

Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala
290 295 300
Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Met
305 310 315 320
Tyr Val Ala Ala Ala Ala Phe Val Leu Leu Phe Phe Val Gly Cys Gly
325 330 335
Ile Val Val Leu Leu Ser Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser
340 345 350
Ser Ile Glu Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys
355 360 365
Ser Lys Glu Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu
370 375 380
Cys Arg Tyr Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His
385 390 395 400
Leu Thr Glu Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu
405 410 415
Leu Ile Phe Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser
420 425 430
Leu Gln Asp Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn
435 440 445
Val Asn Lys Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp
450 455 460
Met Pro Leu Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser
465 470 475 480
Glu Glu Ser Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala
485 490 495
Ala Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe
500 505 510
Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp

515 520 525

Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly
530 535 540

Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
545 550 555

<210> 198
<211> 556
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pIZ343GIVVa
<400> 198

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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30

Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45

Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60

Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80

His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110

Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140

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

Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175

Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala
290 295 300
Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Met
305 310 315 320
Tyr Val Ala Ala Ala Ala Phe Val Leu Leu Phe Phe Val Gly Cys Gly
325 330 335
Ile Val Val Ser Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile
340 345 350
Glu Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys
355 360 365
Glu Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg
370 375 380
Tyr Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr
385 390 395 400
Glu Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile
405 410 415
Phe Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln
420 425 430
Asp Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn
435 440 445
Lys Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro
450 455 460
Leu Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu
465 470 475 480
Ser Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly
485 490 495
Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu

500 505 510

Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu

515 520 525

Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp

530 535 540

Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

545 550 555

<210> 199

<211> 523

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> 尚未归类的特征

<223> pIZ373

<400> 199

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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp

20 25 30

Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp

35 40 45

Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

85 90 95

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu

100 105 110

Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr

115 120 125

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr

165 170 175

Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190
Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Phe Met Tyr
275 280 285
Val Ala Ala Ala Ala Phe Val Leu Leu Phe Phe Val Gly Cys Gly Val
290 295 300
Leu Leu Ser Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile Glu
305 310 315 320
Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys Glu
325 330 335
Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg Tyr
340 345 350
Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr Glu
355 360 365
Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile Phe
370 375 380
Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln Asp
385 390 395 400
Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn Lys
405 410 415
Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro Leu
420 425 430
Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu Ser
435 440 445
Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly Gly
450 455 460
Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp
465 470 475 480
Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly

485 490 495
Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala
500 505 510
Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
515 520

<210> 200
<211> 539
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pIZ377
<400> 200
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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30
Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45
Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60
Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80
His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110
Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Ile Ala Thr Val
290 295 300
Val Ile Ile Ile Ser Val Cys Met Leu Val Phe Val Val Ala Met Gly
305 310 315 320
Val Tyr Lys Arg Lys Arg Thr His Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile Glu
325 330 335
Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys Glu
340 345 350
Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg Tyr
355 360 365
Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr Glu
370 375 380
Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile Phe
385 390 395 400
Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln Asp
405 410 415
Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn Lys
420 425 430
Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro Leu
435 440 445
Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu Ser
450 455 460
Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly Gly
465 470 475 480
Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp
485 490 495
Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly

500 505 510
Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala
515 520 525
Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535
<210> 201
<211> 538
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pIZ378
<400> 201
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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30
Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45
Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60
Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80
His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110
Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Ile Ala Thr Val
290 295 300
Val Ile Ile Ile Ser Val Cys Met Leu Val Phe Val Val Ala Met Gly
305 310 315 320
Val Tyr Arg Arg Gln Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile Glu Gln
325 330 335
Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys Glu Lys
340 345 350
Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg Tyr Ser
355 360 365
Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr Glu Val
370 375 380
Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile Phe Pro
385 390 395 400
Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln Asp Ile
405 410 415
Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn Lys Asp
420 425 430
Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro Leu Thr
435 440 445
Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu Ser Ser
450 455 460
Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly Gly Ser
465 470 475 480
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met
485 490 495
Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

500 505 510
Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu
515 520 525
Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535
<210> 202
<211> 541
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pIZ379
<400> 202
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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30
Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45
Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60
Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80
His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110
Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Ile Ala Thr Val
290 295 300
Val Ile Ile Ile Ser Val Cys Met Leu Val Phe Val Val Ala Met Gly
305 310 315 320
Val Tyr Arg Ser Arg Lys Val Asp Lys Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser
325 330 335
Ile Glu Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser
340 345 350
Lys Glu Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys
355 360 365
Arg Tyr Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu
370 375 380
Thr Glu Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu
385 390 395 400
Ile Phe Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu
405 410 415
Gln Asp Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val
420 425 430
Asn Lys Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met
435 440 445
Pro Leu Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu
450 455 460
Glu Ser Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala
465 470 475 480
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp
485 490 495
Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met

500 505 510

Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

515 520 525

Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

530 535 540

<210> 203

<211> 540

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> 尚未归类的特征

<223> pTMD206

<400> 203

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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp

20 25 30

Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp

35 40 45

Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

85 90 95

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu

100 105 110

Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr

115 120 125

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr

165 170 175

Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln

180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Gly Ala Ile Ile
290 295 300
Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val Ile Ala Thr Val Ile Val Ile Thr
305 310 315 320
Leu Val Met Leu Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile
325 330 335
Glu Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys
340 345 350
Glu Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg
355 360 365
Tyr Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr
370 375 380
Glu Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile
385 390 395 400
Phe Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln
405 410 415
Asp Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn
420 425 430
Lys Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro
435 440 445
Leu Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu
450 455 460
Ser Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly
465 470 475 480
Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu
485 490 495
Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu

500 505 510
Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp
515 520 525
Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535 540

<210> 204
<211> 540
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pTMD206GV
<400> 204

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

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Gly Ala Ile Ile
290 295 300
Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val Ile Ala Thr Val Ile Val Ile Thr
305 310 315 320
Gly Val Met Leu Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile
325 330 335
Glu Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys
340 345 350
Glu Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg
355 360 365
Tyr Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr
370 375 380
Glu Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile
385 390 395 400
Phe Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln
405 410 415
Asp Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn
420 425 430
Lys Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro
435 440 445
Leu Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu
450 455 460
Ser Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly
465 470 475 480
Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu
485 490 495
Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu

500 505 510
Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp
515 520 525
Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535 540

<210> 205
<211> 540
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pTMD207
<400> 205

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

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Ile Leu Val Ile
290 295 300
Cys Leu Ile Ala Val Met Val Val Phe Ile Ile Leu Val Ile Gly Val
305 310 315 320
Cys Thr Cys Cys Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile
325 330 335
Glu Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys
340 345 350
Glu Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg
355 360 365
Tyr Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr
370 375 380
Glu Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile
385 390 395 400
Phe Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln
405 410 415
Asp Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn
420 425 430
Lys Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro
435 440 445
Leu Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu
450 455 460
Ser Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly
465 470 475 480
Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu
485 490 495
Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu

500 505 510
Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp
515 520 525
Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535 540
<210> 206
<211> 544
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pTMD213
<400> 206
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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30
Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45
Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60
Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80
His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110
Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Ala Val Gly Leu
290 295 300
Leu Ala Phe Leu Gly Leu Leu Phe Cys Leu Gly Val Ala Met Phe Thr
305 310 315 320
Tyr Gln Ser Leu Gln Gly Cys Pro Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu
325 330 335
Leu Ser Ser Ile Glu Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu
340 345 350
Lys Cys Ser Lys Glu Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn
355 360 365
Trp Glu Cys Arg Tyr Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg
370 375 380
Ala His Leu Thr Glu Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu
385 390 395 400
Phe Leu Leu Ile Phe Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met
405 410 415
Asp Ser Leu Gln Asp Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln
420 425 430
Asp Asn Val Asn Lys Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu
435 440 445
Thr Asp Met Pro Leu Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser
450 455 460
Ser Ser Glu Glu Ser Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser
465 470 475 480
Ala Ala Ala Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp
485 490 495
Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp

500 505 510

Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met
515 520 525

Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535 540

<210> 207

<211> 541

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> 尚未归类的特征

<223> pTMD214

<400> 207

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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30

Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45

Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60

Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80

His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110

Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140

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

Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175

Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Leu Leu Val Ile
290 295 300
Ile Val Val Thr Val Gly Val Ile Thr Val Leu Val Val Val Ile Val
305 310 315 320
Ala Val Ile Cys Thr Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser
325 330 335
Ile Glu Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser
340 345 350
Lys Glu Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys
355 360 365
Arg Tyr Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu
370 375 380
Thr Glu Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu
385 390 395 400
Ile Phe Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu
405 410 415
Gln Asp Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val
420 425 430
Asn Lys Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met
435 440 445
Pro Leu Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu
450 455 460
Glu Ser Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala
465 470 475 480
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp
485 490 495
Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met

500 505 510

Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

515 520 525

Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

530 535 540

<210> 208

<211> 540

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> 尚未归类的特征

<223> pTMD215

<400> 208

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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp

20 25 30

Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp

35 40 45

Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

85 90 95

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu

100 105 110

Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr

115 120 125

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr

165 170 175

Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln

180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Val Ala Val Cys
290 295 300
Ala Gly Val Ile Leu Val Leu Met Leu Leu Leu Gly Cys Ala Ala Val
305 310 315 320
Val Val Cys Val Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile
325 330 335
Glu Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys
340 345 350
Glu Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg
355 360 365
Tyr Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr
370 375 380
Glu Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile
385 390 395 400
Phe Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln
405 410 415
Asp Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn
420 425 430
Lys Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro
435 440 445
Leu Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu
450 455 460
Ser Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly
465 470 475 480
Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu
485 490 495
Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu

500 505 510
Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp
515 520 525
Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535 540
<210> 209
<211> 540
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pTMD220
<400> 209
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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30
Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45
Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60
Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80
His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110
Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Ala Gly Val Ile
290 295 300
Ala Val Ile Val Val Val Val Ile Ala Val Val Ala Gly Ile Val Val
305 310 315 320
Leu Val Ile Ser Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile
325 330 335
Glu Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys
340 345 350
Glu Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg
355 360 365
Tyr Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr
370 375 380
Glu Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile
385 390 395 400
Phe Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln
405 410 415
Asp Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn
420 425 430
Lys Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro
435 440 445
Leu Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu
450 455 460
Ser Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly
465 470 475 480
Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu
485 490 495
Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu

500 505 510
Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp
515 520 525
Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535 540

<210> 210
<211> 540
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pTMD225
<400> 210

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

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Leu Ile Ala Ala
290 295 300
Gly Val Ile Gly Gly Leu Phe Ile Leu Val Ile Val Gly Leu Thr Phe
305 310 315 320
Ala Val Tyr Val Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile
325 330 335
Glu Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys
340 345 350
Glu Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg
355 360 365
Tyr Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr
370 375 380
Glu Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile
385 390 395 400
Phe Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln
405 410 415
Asp Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn
420 425 430
Lys Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro
435 440 445
Leu Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu
450 455 460
Ser Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly
465 470 475 480
Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu
485 490 495
Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu

500 505 510
Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp
515 520 525
Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535 540
<210> 211
<211> 541
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pTMD244
<400> 211
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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30
Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45
Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60
Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80
His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110
Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys His Ile Ala Ser
290 295 300
Ile Leu Ile Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Val Leu Val Ala Gly
305 310 315 320
Val Val Phe Trp Tyr Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser
325 330 335
Ile Glu Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser
340 345 350
Lys Glu Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys
355 360 365
Arg Tyr Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu
370 375 380
Thr Glu Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu
385 390 395 400
Ile Phe Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu
405 410 415
Gln Asp Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val
420 425 430
Asn Lys Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met
435 440 445
Pro Leu Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu
450 455 460
Glu Ser Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala
465 470 475 480
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp
485 490 495
Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met

500 505 510

Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

515 520 525

Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

530 535 540

<210> 212

<211> 541

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> 尚未归类的特征

<223> pTMD247

<400> 212

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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp

20 25 30

Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp

35 40 45

Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

85 90 95

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu

100 105 110

Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr

115 120 125

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr

165 170 175

Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln

180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Thr Asn Thr Val
290 295 300
Gly Ser Val Ile Gly Val Ile Val Thr Ile Phe Val Ser Gly Thr Val
305 310 315 320
Tyr Phe Ile Cys Gln Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser
325 330 335
Ile Glu Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser
340 345 350
Lys Glu Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys
355 360 365
Arg Tyr Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu
370 375 380
Thr Glu Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu
385 390 395 400
Ile Phe Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu
405 410 415
Gln Asp Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val
420 425 430
Asn Lys Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met
435 440 445
Pro Leu Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu
450 455 460
Glu Ser Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala
465 470 475 480
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp
485 490 495
Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met

500 505 510

Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

515 520 525

Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

530 535 540

<210> 213

<211> 537

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> 尚未归类的特征

<223> pTMD253

<400> 213

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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp

20 25 30

Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp

35 40 45

Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

85 90 95

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu

100 105 110

Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr

115 120 125

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr

165 170 175

Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln

180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Thr Leu Ile Ile
290 295 300
Leu Ala Val Val Gly Gly Val Ile Gly Leu Leu Ile Leu Ile Leu Leu
305 310 315 320
Ile Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile Glu Gln Ala
325 330 335
Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys Glu Lys Pro
340 345 350
Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg Tyr Ser Pro
355 360 365
Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr Glu Val Glu
370 375 380
Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile Phe Pro Arg
385 390 395 400
Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln Asp Ile Lys
405 410 415
Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn Lys Asp Ala
420 425 430
Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro Leu Thr Leu
435 440 445
Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu Ser Ser Asn
450 455 460
Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly Gly Ser Gly
465 470 475 480
Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu
485 490 495
Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp

500 505 510

Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp

515 520 525

Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

530 535

<210> 214

<211> 539

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> 尚未归类的特征

<223> pTMD254

<400> 214

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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp

20 25 30

Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp

35 40 45

Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

85 90 95

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu

100 105 110

Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr

115 120 125

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr

165 170 175

Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln

180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Ile Ile Gly Gly
290 295 300
Val Ala Gly Ser Ile Leu Leu Val Leu Ile Val Val Gly Gly Ile Val
305 310 315 320
Val Ala Leu Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile Glu
325 330 335
Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys Glu
340 345 350
Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg Tyr
355 360 365
Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr Glu
370 375 380
Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile Phe
385 390 395 400
Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln Asp
405 410 415
Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn Lys
420 425 430
Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro Leu
435 440 445
Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu Ser
450 455 460
Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly Gly
465 470 475 480
Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp
485 490 495
Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly

500 505 510
Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala
515 520 525
Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535
<210> 215
<211> 539
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pTMD258
<400> 215
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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30
Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45
Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60
Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80
His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110
Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Leu Leu Tyr Leu
290 295 300
Leu Ala Val Ala Val Val Ile Ile Leu Phe Ile Ile Leu Leu Gly Val
305 310 315 320
Ile Met Ala Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile Glu
325 330 335
Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys Glu
340 345 350
Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg Tyr
355 360 365
Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr Glu
370 375 380
Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile Phe
385 390 395 400
Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln Asp
405 410 415
Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn Lys
420 425 430
Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro Leu
435 440 445
Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu Ser
450 455 460
Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly Gly
465 470 475 480
Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp
485 490 495
Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly

500 505 510
Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala
515 520 525
Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535
<210> 216
<211> 538
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pTMD259
<400> 216
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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30
Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45
Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60
Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80
His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110
Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Leu Pro Leu Leu
290 295 300
Val Ala Gly Ala Val Leu Leu Leu Val Ile Leu Val Leu Gly Val Met
305 310 315 320
Val Ala Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile Glu Gln
325 330 335
Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys Glu Lys
340 345 350
Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg Tyr Ser
355 360 365
Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr Glu Val
370 375 380
Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile Phe Pro
385 390 395 400
Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln Asp Ile
405 410 415
Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn Lys Asp
420 425 430
Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro Leu Thr
435 440 445
Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu Ser Ser
450 455 460
Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly Gly Ser
465 470 475 480
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met
485 490 495
Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

500 505 510
Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu
515 520 525
Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535
<210> 217
<211> 540
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pTMD260
<400> 217
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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30
Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45
Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60
Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80
His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110
Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Pro Val Leu Cys
290 295 300
Ser Pro Val Ala Gly Val Ile Leu Leu Ala Leu Gly Ala Leu Leu Val
305 310 315 320
Leu Gln Leu Ile Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile
325 330 335
Glu Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys
340 345 350
Glu Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg
355 360 365
Tyr Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr
370 375 380
Glu Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile
385 390 395 400
Phe Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln
405 410 415
Asp Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn
420 425 430
Lys Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro
435 440 445
Leu Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu
450 455 460
Ser Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly
465 470 475 480
Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu
485 490 495
Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu

500 505 510
Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp
515 520 525
Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535 540
<210> 218
<211> 540
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pTMD260GV
<400> 218
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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30
Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45
Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60
Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80
His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110
Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Pro Val Leu Cys
290 295 300
Ser Pro Val Ala Gly Val Ile Leu Leu Ala Leu Gly Ala Leu Gly Val
305 310 315 320
Leu Gln Leu Ile Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile
325 330 335
Glu Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys
340 345 350
Glu Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg
355 360 365
Tyr Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr
370 375 380
Glu Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile
385 390 395 400
Phe Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln
405 410 415
Asp Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn
420 425 430
Lys Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro
435 440 445
Leu Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu
450 455 460
Ser Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly
465 470 475 480
Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu
485 490 495
Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu

500 505 510
Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp
515 520 525
Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535 540
<210> 219
<211> 538
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pTMD268
<400> 219
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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30
Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45
Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60
Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80
His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110
Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Leu Leu Leu Ser
290 295 300
Leu Ile Leu Val Ser Val Gly Phe Val Val Thr Val Phe Gly Val Ile
305 310 315 320
Ile Phe Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile Glu Gln
325 330 335
Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys Glu Lys
340 345 350
Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg Tyr Ser
355 360 365
Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr Glu Val
370 375 380
Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile Phe Pro
385 390 395 400
Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln Asp Ile
405 410 415
Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn Lys Asp
420 425 430
Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro Leu Thr
435 440 445
Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu Ser Ser
450 455 460
Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly Gly Ser
465 470 475 480
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met
485 490 495
Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

500 505 510

Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu

515 520 525

Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

530 535

<210> 220

<211> 538

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> 尚未归类的特征

<223> pTMD270

<400> 220

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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp

20 25 30

Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp

35 40 45

Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

85 90 95

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu

100 105 110

Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr

115 120 125

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr

165 170 175

Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln

180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Leu Ala Leu Gly
290 295 300
Ile Leu Gly Gly Leu Gly Thr Ala Ala Leu Leu Ile Gly Val Ile Leu
305 310 315 320
Trp Gln Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile Glu Gln
325 330 335
Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys Glu Lys
340 345 350
Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg Tyr Ser
355 360 365
Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr Glu Val
370 375 380
Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile Phe Pro
385 390 395 400
Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln Asp Ile
405 410 415
Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn Lys Asp
420 425 430
Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro Leu Thr
435 440 445
Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu Ser Ser
450 455 460
Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly Gly Ser
465 470 475 480
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met
485 490 495
Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

500 505 510

Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu

515 520 525

Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

530 535

<210> 221

<211> 537

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> 尚未归类的特征

<223> pTMD270GVLVS

<400> 221

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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp

20 25 30

Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp

35 40 45

Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

85 90 95

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu

100 105 110

Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr

115 120 125

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr

165 170 175

Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln

180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Leu Ala Leu Gly
290 295 300
Ile Leu Gly Gly Leu Gly Thr Ala Ala Leu Leu Ile Gly Val Leu Val
305 310 315 320
Ser Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile Glu Gln Ala
325 330 335
Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys Glu Lys Pro
340 345 350
Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg Tyr Ser Pro
355 360 365
Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr Glu Val Glu
370 375 380
Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile Phe Pro Arg
385 390 395 400
Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln Asp Ile Lys
405 410 415
Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn Lys Asp Ala
420 425 430
Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro Leu Thr Leu
435 440 445
Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu Ser Ser Asn
450 455 460
Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly Gly Ser Gly
465 470 475 480
Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu
485 490 495
Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp

500 505 510
Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp
515 520 525
Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535
<210> 222
<211> 538
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pTMD270LL
<400> 222
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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30
Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45
Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60
Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80
His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110
Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Leu Ala Leu Gly
290 295 300
Ile Leu Gly Gly Leu Leu Leu Ala Ala Leu Leu Ile Gly Val Ile Leu
305 310 315 320
Trp Gln Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile Glu Gln
325 330 335
Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys Glu Lys
340 345 350
Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg Tyr Ser
355 360 365
Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr Glu Val
370 375 380
Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile Phe Pro
385 390 395 400
Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln Asp Ile
405 410 415
Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn Lys Asp
420 425 430
Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro Leu Thr
435 440 445
Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu Ser Ser
450 455 460
Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly Gly Ser
465 470 475 480
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met
485 490 495
Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

500 505 510

Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu

515 520 525

Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

530 535

<210> 223

<211> 538

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> 尚未归类的特征

<223> pTMD272

<400> 223

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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp

20 25 30

Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp

35 40 45

Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

85 90 95

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu

100 105 110

Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr

115 120 125

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr

165 170 175

Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln

180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Ile Ala Gly Val
290 295 300
Ile Ala Gly Ile Leu Leu Phe Val Ile Ile Phe Leu Gly Val Val Leu
305 310 315 320
Val Met Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile Glu Gln
325 330 335
Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys Glu Lys
340 345 350
Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg Tyr Ser
355 360 365
Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr Glu Val
370 375 380
Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile Phe Pro
385 390 395 400
Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln Asp Ile
405 410 415
Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn Lys Asp
420 425 430
Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro Leu Thr
435 440 445
Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu Ser Ser
450 455 460
Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly Gly Ser
465 470 475 480
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met
485 490 495
Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

500 505 510
Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu
515 520 525
Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535
<210> 224
<211> 538
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pTMD273
<400> 224
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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30
Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45
Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60
Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80
His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110
Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Ala Phe Ile Ala
290 295 300
Gly Ile Gly Ala Ala Cys Trp Ile Ile Leu Met Val Phe Ser Ile Trp
305 310 315 320
Leu Tyr Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile Glu Gln
325 330 335
Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys Glu Lys
340 345 350
Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg Tyr Ser
355 360 365
Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr Glu Val
370 375 380
Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile Phe Pro
385 390 395 400
Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln Asp Ile
405 410 415
Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn Lys Asp
420 425 430
Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro Leu Thr
435 440 445
Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu Ser Ser
450 455 460
Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly Gly Ser
465 470 475 480
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met
485 490 495
Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

500 505 510

Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu

515 520 525

Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

530 535

<210> 225

<211> 538

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> 尚未归类的特征

<223> pTMD273GV

<400> 225

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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp

20 25 30

Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp

35 40 45

Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

85 90 95

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu

100 105 110

Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr

115 120 125

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr

165 170 175

Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln

180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Ala Phe Ile Ala
290 295 300
Gly Ile Gly Ala Ala Cys Trp Ile Ile Leu Met Val Phe Ser Gly Val
305 310 315 320
Leu Tyr Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile Glu Gln
325 330 335
Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys Glu Lys
340 345 350
Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg Tyr Ser
355 360 365
Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr Glu Val
370 375 380
Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile Phe Pro
385 390 395 400
Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln Asp Ile
405 410 415
Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn Lys Asp
420 425 430
Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro Leu Thr
435 440 445
Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu Ser Ser
450 455 460
Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly Gly Ser
465 470 475 480
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met
485 490 495
Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

500 505 510

Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu

515 520 525

Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

530 535

<210> 226

<211> 539

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> 尚未归类的特征

<223> pTMD273GVLLS

<400> 226

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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp

20 25 30

Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp

35 40 45

Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

85 90 95

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu

100 105 110

Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr

115 120 125

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr

165 170 175

Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln

180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Ala Phe Ile Ala
290 295 300
Gly Ile Gly Ala Ala Cys Trp Ile Ile Leu Met Val Phe Ser Gly Val
305 310 315 320
Leu Leu Ser Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile Glu
325 330 335
Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys Glu
340 345 350
Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg Tyr
355 360 365
Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr Glu
370 375 380
Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile Phe
385 390 395 400
Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln Asp
405 410 415
Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn Lys
420 425 430
Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro Leu
435 440 445
Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu Ser
450 455 460
Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly Gly
465 470 475 480
Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp
485 490 495
Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly

500 505 510
Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala
515 520 525
Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535
<210> 227
<211> 539
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pTMD276
<400> 227
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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30
Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45
Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60
Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80
His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110
Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Ala Val Val Val
290 295 300
Pro Ile Leu Phe Leu Ile Leu Leu Ser Leu Gly Val Gly Phe Ala Ile
305 310 315 320
Leu Tyr Thr Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile Glu
325 330 335
Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys Glu
340 345 350
Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg Tyr
355 360 365
Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr Glu
370 375 380
Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile Phe
385 390 395 400
Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln Asp
405 410 415
Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn Lys
420 425 430
Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro Leu
435 440 445
Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu Ser
450 455 460
Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly Gly
465 470 475 480
Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp
485 490 495
Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly

500 505 510
Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala
515 520 525
Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535
<210> 228
<211> 539
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pTMD277
<400> 228
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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30
Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45
Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60
Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80
His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110
Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Ser Val Pro Ile
290 295 300
Ile Leu Ala Ile Val Gly Leu Met Leu Val Thr Val Val Ala Gly Val
305 310 315 320
Leu Ile Val Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile Glu
325 330 335
Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys Glu
340 345 350
Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg Tyr
355 360 365
Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr Glu
370 375 380
Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile Phe
385 390 395 400
Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln Asp
405 410 415
Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn Lys
420 425 430
Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro Leu
435 440 445
Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu Ser
450 455 460
Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly Gly
465 470 475 480
Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp
485 490 495
Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly

500 505 510
Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala
515 520 525
Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535
<210> 229
<211> 538
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pTMD278
<400> 229
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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30
Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45
Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60
Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80
His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110
Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Gly Val Ile Ala
290 295 300
Gly Gly Leu Val Gly Leu Ile Phe Ala Val Cys Leu Val Gly Phe Met
305 310 315 320
Leu Tyr Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile Glu Gln
325 330 335
Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys Glu Lys
340 345 350
Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg Tyr Ser
355 360 365
Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr Glu Val
370 375 380
Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile Phe Pro
385 390 395 400
Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln Asp Ile
405 410 415
Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn Lys Asp
420 425 430
Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro Leu Thr
435 440 445
Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu Ser Ser
450 455 460
Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly Gly Ser
465 470 475 480
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met
485 490 495
Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

500 505 510

Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu

515 520 525

Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

530 535

<210> 230

<211> 541

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> 尚未归类的特征

<223> pTMD279

<400> 230

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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp

20 25 30

Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp

35 40 45

Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

85 90 95

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu

100 105 110

Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr

115 120 125

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr

165 170 175

Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln

180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Val Leu Ala Ala
290 295 300
Val Ile Ala Gly Gly Val Ile Gly Phe Leu Phe Ala Ile Phe Leu Ile
305 310 315 320
Leu Leu Leu Val Tyr Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser
325 330 335
Ile Glu Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser
340 345 350
Lys Glu Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys
355 360 365
Arg Tyr Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu
370 375 380
Thr Glu Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu
385 390 395 400
Ile Phe Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu
405 410 415
Gln Asp Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val
420 425 430
Asn Lys Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met
435 440 445
Pro Leu Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu
450 455 460
Glu Ser Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala
465 470 475 480
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp
485 490 495
Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met

500 505 510
Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
515 520 525
Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535 540
<210> 231
<211> 538
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pTMD280
<400> 231
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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30
Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45
Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60
Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80
His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110
Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Ala Val Ile Val
290 295 300
Gly Gly Val Val Gly Ala Leu Phe Ala Ala Phe Leu Val Thr Leu Leu
305 310 315 320
Ile Tyr Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile Glu Gln
325 330 335
Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys Glu Lys
340 345 350
Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg Tyr Ser
355 360 365
Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr Glu Val
370 375 380
Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile Phe Pro
385 390 395 400
Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln Asp Ile
405 410 415
Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn Lys Asp
420 425 430
Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro Leu Thr
435 440 445
Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu Ser Ser
450 455 460
Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly Gly Ser
465 470 475 480
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met
485 490 495
Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

500 505 510
Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu
515 520 525
Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535
<210> 232
<211> 540
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pTMD289
<400> 232
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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30
Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45
Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60
Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80
His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110
Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Met Tyr Pro Met
290 295 300
Phe Leu Val Leu Leu Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Ala Ala Val Gly
305 310 315 320
Val Val Val Ser Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile
325 330 335
Glu Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys
340 345 350
Glu Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg
355 360 365
Tyr Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr
370 375 380
Glu Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile
385 390 395 400
Phe Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln
405 410 415
Asp Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn
420 425 430
Lys Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro
435 440 445
Leu Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu
450 455 460
Ser Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly
465 470 475 480
Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu
485 490 495
Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu

500 505 510
Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp
515 520 525
Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535 540
<210> 233
<211> 538
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pTMD290
<400> 233
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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30
Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45
Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60
Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80
His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110
Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Val Ile Thr Gly
290 295 300
Ile Ile Leu Val Ile Ile Ala Leu Ala Phe Phe Gly Met Val Leu Ser
305 310 315 320
Thr Gln Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile Glu Gln
325 330 335
Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys Glu Lys
340 345 350
Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg Tyr Ser
355 360 365
Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr Glu Val
370 375 380
Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile Phe Pro
385 390 395 400
Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln Asp Ile
405 410 415
Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn Lys Asp
420 425 430
Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro Leu Thr
435 440 445
Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu Ser Ser
450 455 460
Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly Gly Ser
465 470 475 480
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met
485 490 495
Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

500 505 510

Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu

515 520 525

Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

530 535

<210> 234

<211> 538

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> 尚未归类的特征

<223> pTMD291

<400> 234

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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp

20 25 30

Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp

35 40 45

Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

85 90 95

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu

100 105 110

Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr

115 120 125

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr

165 170 175

Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln

180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Pro Met Leu Ser
290 295 300
Met Leu Val Ile Pro Leu Leu Ile Ile Phe Val Phe Met Met Val Ile
305 310 315 320
Val Asn Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile Glu Gln
325 330 335
Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys Glu Lys
340 345 350
Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg Tyr Ser
355 360 365
Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr Glu Val
370 375 380
Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile Phe Pro
385 390 395 400
Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln Asp Ile
405 410 415
Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn Lys Asp
420 425 430
Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro Leu Thr
435 440 445
Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu Ser Ser
450 455 460
Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly Gly Ser
465 470 475 480
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met
485 490 495
Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

500 505 510
Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu
515 520 525
Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535
<210> 235
<211> 538
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pTMD292
<400> 235
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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30
Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45
Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60
Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80
His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110
Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Pro Met Tyr Val
290 295 300
Val Val Ala Ala Leu Val Leu Leu Ala Phe Ile Gly Val Gly Val Leu
305 310 315 320
Val Ser Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile Glu Gln
325 330 335
Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys Glu Lys
340 345 350
Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg Tyr Ser
355 360 365
Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr Glu Val
370 375 380
Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile Phe Pro
385 390 395 400
Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln Asp Ile
405 410 415
Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn Lys Asp
420 425 430
Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro Leu Thr
435 440 445
Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu Ser Ser
450 455 460
Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly Gly Ser
465 470 475 480
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met
485 490 495
Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

500 505 510

Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu

515 520 525

Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

530 535

<210> 236

<211> 538

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> 尚未归类的特征

<223> pTMD295

<400> 236

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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp

20 25 30

Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp

35 40 45

Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

85 90 95

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu

100 105 110

Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr

115 120 125

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr

165 170 175

Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln

180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Leu Met Tyr Val
290 295 300
Ala Ala Ala Ala Phe Val Leu Leu Phe Phe Val Gly Cys Gly Val Leu
305 310 315 320
Leu Ser Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile Glu Gln
325 330 335
Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys Glu Lys
340 345 350
Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg Tyr Ser
355 360 365
Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr Glu Val
370 375 380
Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile Phe Pro
385 390 395 400
Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln Asp Ile
405 410 415
Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn Lys Asp
420 425 430
Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro Leu Thr
435 440 445
Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu Ser Ser
450 455 460
Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly Gly Ser
465 470 475 480
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met
485 490 495
Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

500 505 510
Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu
515 520 525
Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535
<210> 237
<211> 555
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pTMD297pre
<400> 237
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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30
Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45
Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60
Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80
His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110
Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190

Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala
290 295 300
Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr
305 310 315 320
Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu
325 330 335
Val Ile Thr Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile Glu
340 345 350
Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys Glu
355 360 365
Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg Tyr
370 375 380
Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr Glu
385 390 395 400
Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile Phe
405 410 415
Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln Asp
420 425 430
Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn Lys
435 440 445
Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro Leu
450 455 460
Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu Ser
465 470 475 480
Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly Gly
485 490 495
Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp

500 505 510
Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly
515 520 525
Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala
530 535 540
Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
545 550 555

<210> 238
<211> 560
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pTMD297pre_GV
<400> 238
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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30
Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45
Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60
Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80
His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95
Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110
Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175

Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190
Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala
290 295 300
Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr
305 310 315 320
Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu
325 330 335
Val Ile Thr Gly Val Leu Leu Ser Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu
340 345 350
Leu Ser Ser Ile Glu Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu
355 360 365
Lys Cys Ser Lys Glu Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn
370 375 380
Trp Glu Cys Arg Tyr Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg
385 390 395 400
Ala His Leu Thr Glu Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu
405 410 415
Phe Leu Leu Ile Phe Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met
420 425 430
Asp Ser Leu Gln Asp Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln
435 440 445
Asp Asn Val Asn Lys Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu
450 455 460
Thr Asp Met Pro Leu Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser
465 470 475 480
Ser Ser Glu Glu Ser Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser

485 490 495
Ala Ala Ala Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp
500 505 510
Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp
515 520 525
Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met
530 535 540
Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
545 550 555 560

<210> 239
<211> 557
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pTMD297pre_GVLVS
<400> 239

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

Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190
Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala
290 295 300
Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr
305 310 315 320
Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu
325 330 335
Gly Val Leu Val Ser Arg Lys Arg Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser
340 345 350
Ile Glu Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser
355 360 365
Lys Glu Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys
370 375 380
Arg Tyr Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu
385 390 395 400
Thr Glu Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu
405 410 415
Ile Phe Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu
420 425 430
Gln Asp Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val
435 440 445
Asn Lys Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met
450 455 460
Pro Leu Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu

465 470 475 480
Glu Ser Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala
485 490 495
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp
500 505 510
Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met
515 520 525
Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535 540
Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
545 550 555

<210> 240
<211> 540
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pSTS205
<400> 240

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190
Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Phe Met Tyr Val
290 295 300
Ala Ala Ala Ala Phe Val Leu Leu Phe Phe Val Gly Cys Gly Val Leu
305 310 315 320
Leu Ser Lys Tyr Lys Gln Lys Pro Lys Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile
325 330 335
Glu Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys
340 345 350
Glu Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg
355 360 365
Tyr Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr
370 375 380
Glu Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile
385 390 395 400
Phe Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln
405 410 415
Asp Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn
420 425 430
Lys Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro
435 440 445
Leu Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu

450 455 460

Ser Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly
465 470 475 480

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu
485 490 495

Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu
500 505 510

Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp
515 520 525

Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535 540

<210> 241
<211> 538
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pSTS231
<400> 241

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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30

Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45

Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60

Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80

His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110

Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190
Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Phe Met Tyr Val
290 295 300
Ala Ala Ala Ala Phe Val Leu Leu Phe Phe Val Gly Cys Gly Val Leu
305 310 315 320
Leu Ser Arg Arg Gln Arg Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile Glu Gln
325 330 335
Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys Glu Lys
340 345 350
Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg Tyr Ser
355 360 365
Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr Glu Val
370 375 380
Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile Phe Pro
385 390 395 400
Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln Asp Ile
405 410 415
Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn Lys Asp
420 425 430
Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro Leu Thr
435 440 445
Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu Ser Ser

450 455 460

Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly Gly Ser
465 470 475 480

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met
485 490 495

Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
500 505 510

Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu
515 520 525

Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535

<210> 242
<211> 541
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pSTS262
<400> 242

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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30

Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45

Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60

Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80

His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110

Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190
Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Phe Met Tyr Val
290 295 300
Ala Ala Ala Ala Phe Val Leu Leu Phe Phe Val Gly Cys Gly Val Leu
305 310 315 320
Leu Ser Arg Ser Arg Lys Val Asp Lys Arg Met Lys Leu Leu Ser Ser
325 330 335
Ile Glu Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser
340 345 350
Lys Glu Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys
355 360 365
Arg Tyr Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu
370 375 380
Thr Glu Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu
385 390 395 400
Ile Phe Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu
405 410 415
Gln Asp Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val
420 425 430
Asn Lys Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met
435 440 445
Pro Leu Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu

450 455 460

Glu Ser Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala
465 470 475 480

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp
485 490 495

Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met
500 505 510

Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
515 520 525

Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535 540

<210> 243

<211> 543

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> 尚未归类的特征

<223> pSTS263

<400> 243

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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30

Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45

Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60

Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80

His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110

Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190
Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Phe Met Tyr Val
290 295 300
Ala Ala Ala Ala Phe Val Leu Leu Phe Phe Val Gly Cys Gly Val Leu
305 310 315 320
Leu Ser Lys Arg Arg Asp Lys Glu Arg Gln Ala Lys Met Lys Leu Leu
325 330 335
Ser Ser Ile Glu Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys
340 345 350
Cys Ser Lys Glu Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp
355 360 365
Glu Cys Arg Tyr Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala
370 375 380
His Leu Thr Glu Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe
385 390 395 400
Leu Leu Ile Phe Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp
405 410 415
Ser Leu Gln Asp Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp
420 425 430
Asn Val Asn Lys Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr
435 440 445
Asp Met Pro Leu Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser

450 455 460

Ser Glu Glu Ser Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala
465 470 475 480

Ala Ala Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp
485 490 495

Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu
500 505 510

Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu
515 520 525

Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535 540

<210> 244

<211> 545

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> 尚未归类的特征

<223> pSTS266

<400> 244

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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30

Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45

Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60

Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80

His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110

Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190
Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Phe Met Tyr Val
290 295 300
Ala Ala Ala Ala Phe Val Leu Leu Phe Phe Val Gly Cys Gly Val Leu
305 310 315 320
Leu Ser His Pro Leu Arg Lys Arg Arg Lys Arg Lys Lys Lys Met Lys
325 330 335
Leu Leu Ser Ser Ile Glu Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys
340 345 350
Leu Lys Cys Ser Lys Glu Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn
355 360 365
Asn Trp Glu Cys Arg Tyr Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr
370 375 380
Arg Ala His Leu Thr Glu Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln
385 390 395 400
Leu Phe Leu Leu Ile Phe Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys
405 410 415
Met Asp Ser Leu Gln Asp Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val
420 425 430
Gln Asp Asn Val Asn Lys Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val
435 440 445
Glu Thr Asp Met Pro Leu Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr

450 455 460

Ser Ser Ser Glu Glu Ser Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val
465 470 475 480

Ser Ala Ala Ala Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu
485 490 495

Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe
500 505 510

Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp
515 520 525

Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly
530 535 540

Ser
545

<210> 245

<211> 543

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> 尚未归类的特征

<223> pSTS267

<400> 245

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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30

Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45

Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60

Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80

His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110

Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190
Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Phe Met Tyr Val
290 295 300
Ala Ala Ala Ala Phe Val Leu Leu Phe Phe Val Gly Cys Gly Val Leu
305 310 315 320
Leu Ser Arg Arg Arg Ser Lys Tyr Ser Lys Ala Lys Met Lys Leu Leu
325 330 335
Ser Ser Ile Glu Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys
340 345 350
Cys Ser Lys Glu Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp
355 360 365
Glu Cys Arg Tyr Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala
370 375 380
His Leu Thr Glu Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe
385 390 395 400
Leu Leu Ile Phe Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp
405 410 415
Ser Leu Gln Asp Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp
420 425 430
Asn Val Asn Lys Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr

435 440 445

Asp Met Pro Leu Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser
450 455 460

Ser Glu Glu Ser Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala
465 470 475 480

Ala Ala Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp
485 490 495

Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu
500 505 510

Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu
515 520 525

Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535 540

<210> 246
<211> 537
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pSTS268
<400> 246

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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30

Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45

Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60

Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80

His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110

Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190
Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Phe Met Tyr Val
290 295 300
Ala Ala Ala Ala Phe Val Leu Leu Phe Phe Val Gly Cys Gly Val Leu
305 310 315 320
Leu Ser Lys Ile Phe Lys Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile Glu Gln Ala
325 330 335
Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys Glu Lys Pro
340 345 350
Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg Tyr Ser Pro
355 360 365
Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr Glu Val Glu
370 375 380
Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile Phe Pro Arg
385 390 395 400
Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln Asp Ile Lys
405 410 415
Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn Lys Asp Ala
420 425 430
Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro Leu Thr Leu

435 440 445

Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu Ser Ser Asn
450 455 460

Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly Gly Ser Gly
465 470 475 480

Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu
485 490 495

Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp
500 505 510

Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp
515 520 525

Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535

<210> 247

<211> 539

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<220>

<221> 尚未归类的特征

<223> pSTS274

<400> 247

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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30

Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45

Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60

Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80

His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110

Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190
Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Phe Met Tyr Val
290 295 300
Ala Ala Ala Ala Phe Val Leu Leu Phe Phe Val Gly Cys Gly Val Leu
305 310 315 320
Leu Ser Arg Arg Lys Arg Glu His Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile Glu
325 330 335
Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys Glu
340 345 350
Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg Tyr
355 360 365
Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr Glu
370 375 380
Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile Phe
385 390 395 400
Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln Asp
405 410 415
Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn Lys
420 425 430
Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro Leu

435 440 445

Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu Ser
450 455 460

Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly Gly
465 470 475 480

Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp
485 490 495

Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly
500 505 510

Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala
515 520 525

Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser
530 535

<210> 248
<211> 539
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> pIZ364
<400> 248

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 Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp
20 25 30

Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp
35 40 45

Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu
50 55 60

Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr
65 70 75 80

His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
85 90 95

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu
100 105 110

Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
115 120 125

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr
165 170 175
Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln
180 185 190
Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu
195 200 205
Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys
210 215 220
Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr
225 230 235 240
Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly
245 250 255
Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Phe Met Tyr Val
290 295 300
Ala Ala Ala Ala Phe Val Leu Leu Phe Phe Val Gly Cys Gly Val Leu
305 310 315 320
Leu Ser Arg Arg Arg Arg Glu His Met Lys Leu Leu Ser Ser Ile Glu
325 330 335
Gln Ala Cys Asp Ile Cys Arg Leu Lys Lys Leu Lys Cys Ser Lys Glu
340 345 350
Lys Pro Lys Cys Ala Lys Cys Leu Lys Asn Asn Trp Glu Cys Arg Tyr
355 360 365
Ser Pro Lys Thr Lys Arg Ser Pro Leu Thr Arg Ala His Leu Thr Glu
370 375 380
Val Glu Ser Arg Leu Glu Arg Leu Glu Gln Leu Phe Leu Leu Ile Phe
385 390 395 400
Pro Arg Glu Asp Leu Asp Met Ile Leu Lys Met Asp Ser Leu Gln Asp
405 410 415
Ile Lys Ala Leu Leu Thr Gly Leu Phe Val Gln Asp Asn Val Asn Lys
420 425 430
Asp Ala Val Thr Asp Arg Leu Ala Ser Val Glu Thr Asp Met Pro Leu

435 440 445

Thr Leu Arg Gln His Arg Ile Ser Ala Thr Ser Ser Ser Glu Glu Ser

450 455 460

Ser Asn Lys Gly Gln Arg Gln Leu Thr Val Ser Ala Ala Ala Gly Gly

465 470 475 480

Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp

485 490 495

Met Leu Gly Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly

500 505 510

Ser Asp Ala Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser Asp Ala

515 520 525

Leu Asp Asp Phe Asp Leu Asp Met Leu Gly Ser

530 535

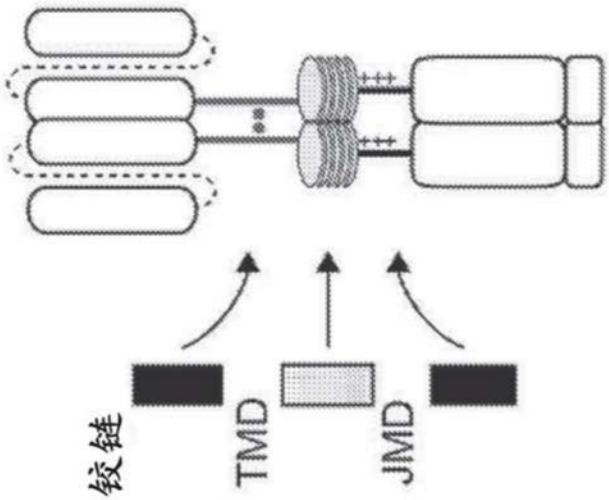

铰链
TMD
JMD

图1A

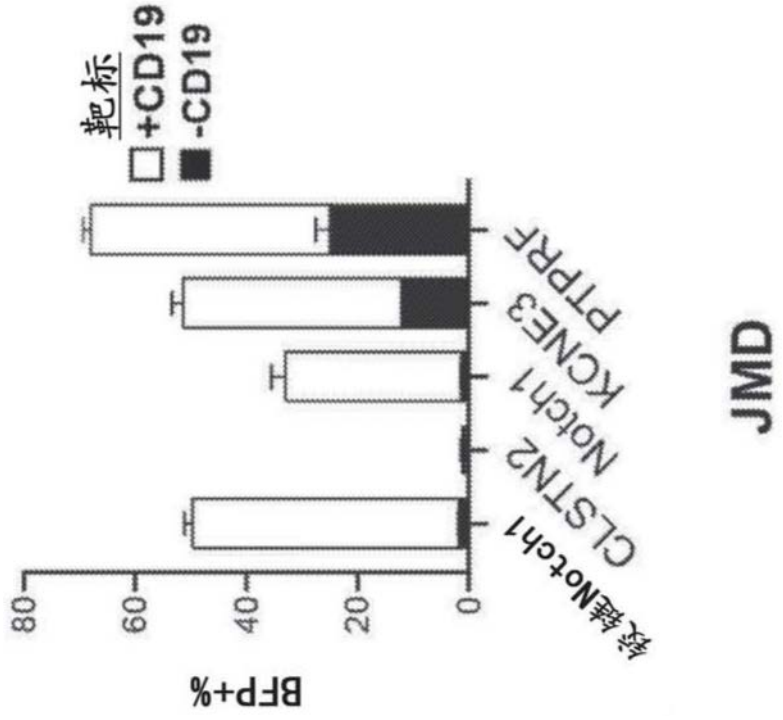

靶标
+CD19
-CD19
80
60
40
20
0
BFP+%
突变Notch1
CLSTN2
Notch1
KCNE3
PTPRF
JMD

图1B

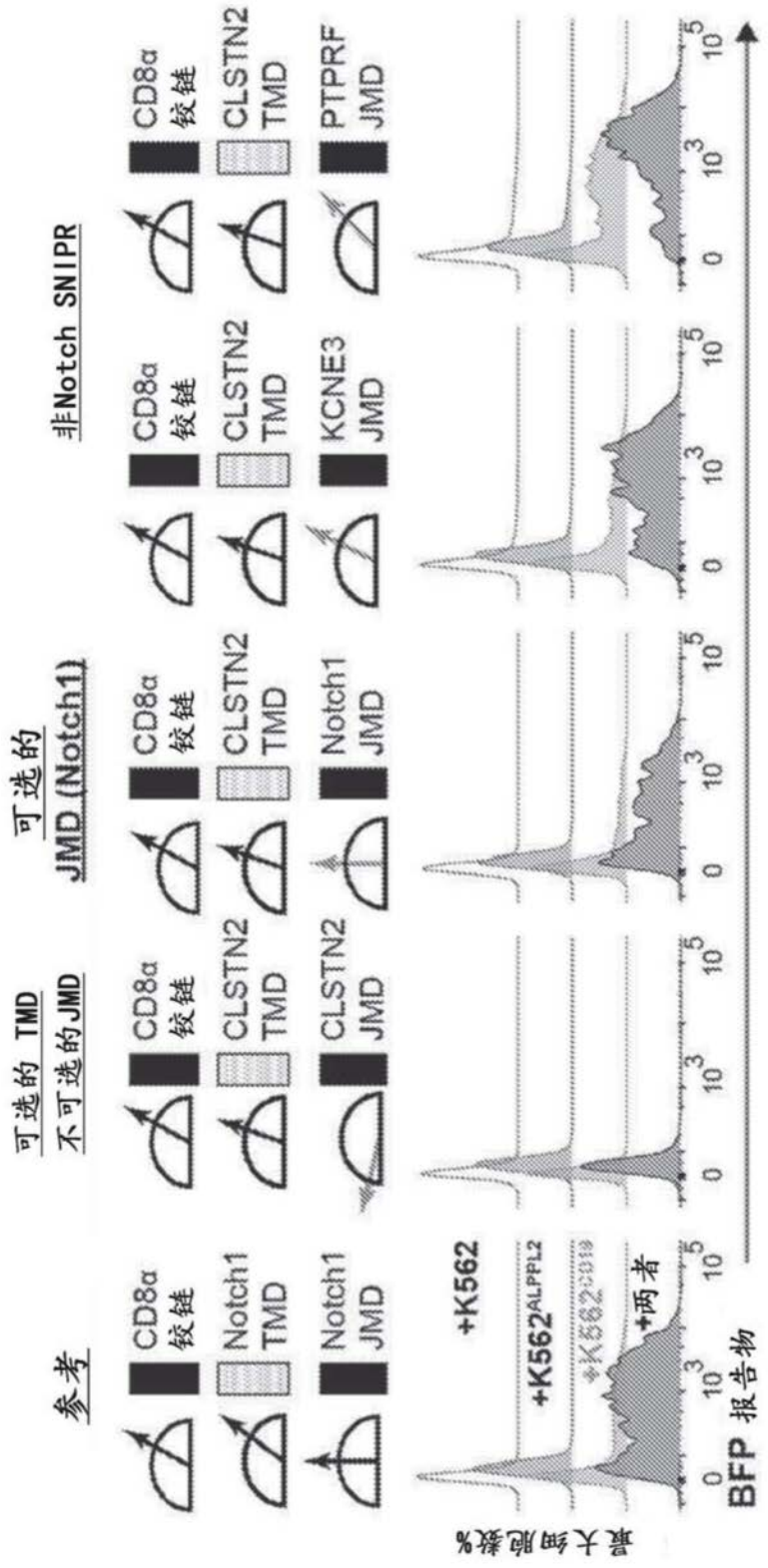

参考
可选的 TMD
不可选的JMD
可选的
JMD (Notch1)
非Notch SNIPR
CD8α 铰链
Notch1 TMD
Notch1 JMD
CLSTN2 TMD
CLSTN2 JMD
Notch1 JMD
KCNE3 JMD
PTPRF JMD
+K562
+K562ALPPL2
+两者
最大细胞数%
BFP 报告物

图1C

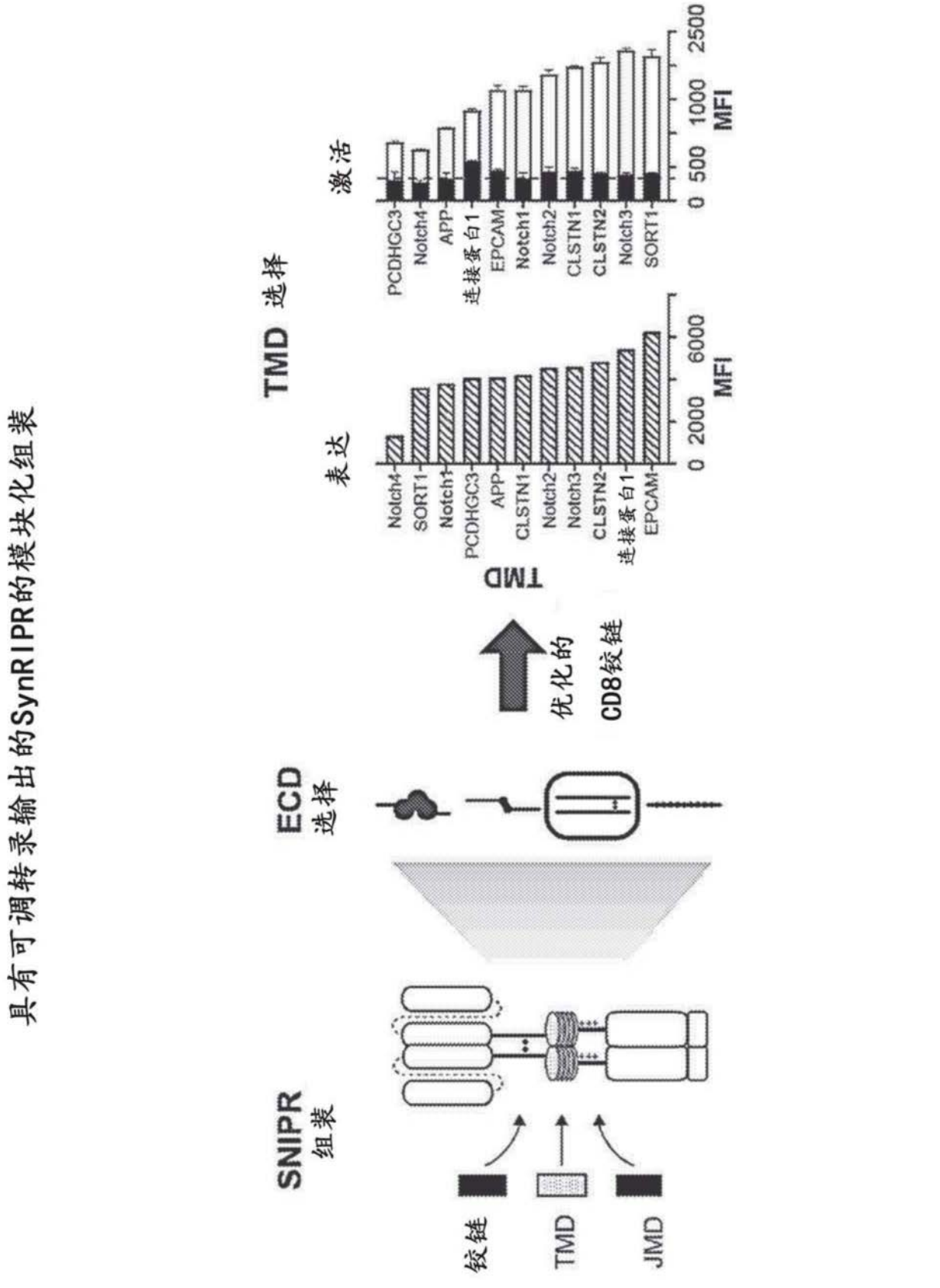

具有可调转录输出的SynRIPR的模块化组装
SNIPR
组装
ECD
选择
TMD
选择
表达
激活
优化的
CD8铰链
铰链
TMD
JMD
Notch4
SORT1
Notch1
PCDHGC3
APP
CLSTN1
Notch2
Notch3
CLSTN2
连接蛋白1
EPCAM
0 2000 6000
MFI
0 500 1000 2500
MFI

图2

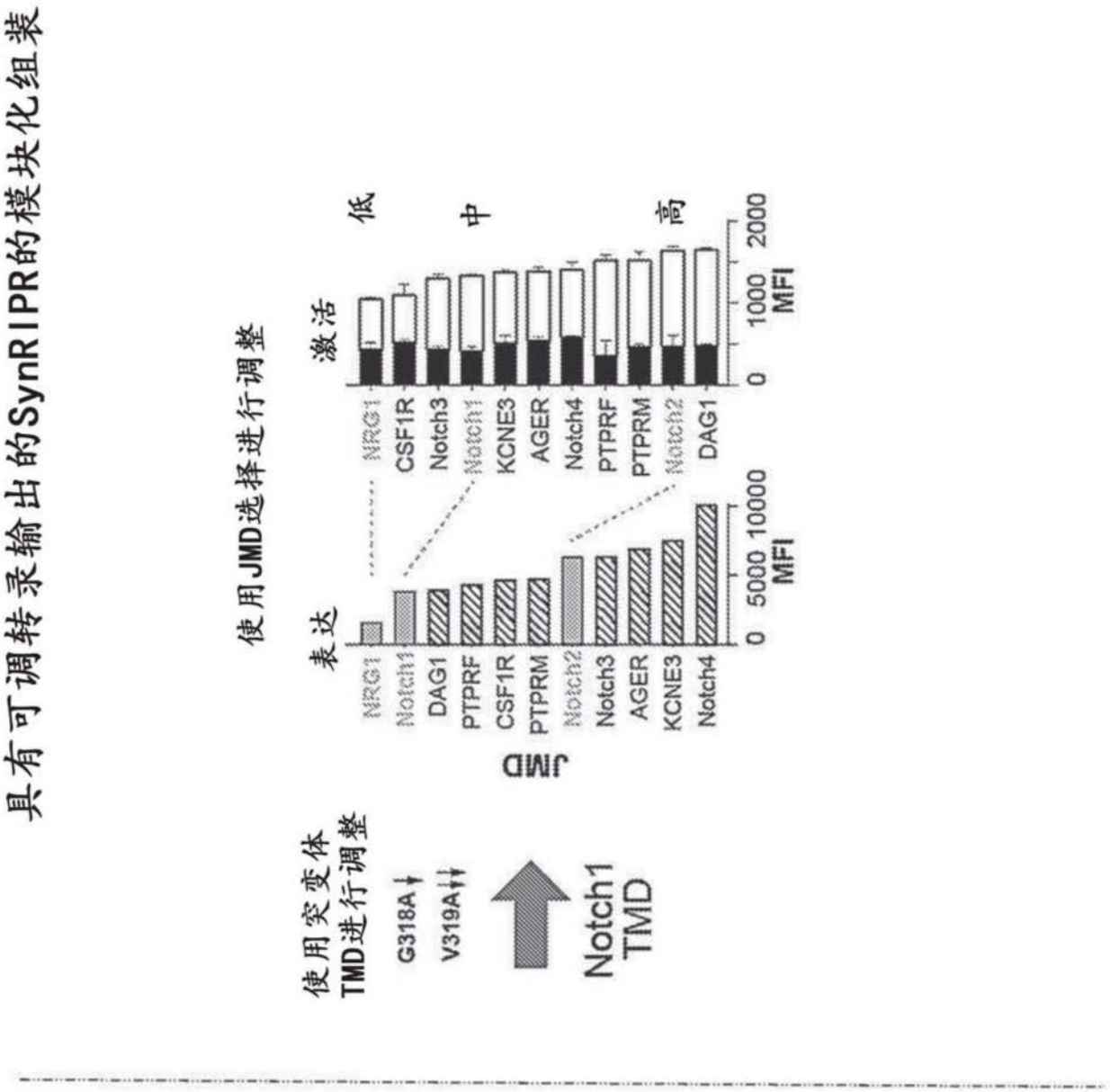

具有可调转录输出的SynRIPR的模块化组装
使用JMD选择进行调整
表达
激活
低
中
高
NRG1
Notch1
DAG1
PTPRF
CSF1R
PTPRM
Notch2
Notch3
AGER
KCNE3
Notch4
0 5000 10000
MFI
0 1000 2000
MFI
使用突变体TMD进行调整
G318A
V319A
Notch1 TMD

图2(续)