



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 106456733 B

(45) 授权公告日 2021. 03. 16

(21) 申请号 201580027510.0	(74) 专利代理机构 北京东方亿思知识产权代理 有限责任公司 11258
(22) 申请日 2015.06.15	代理人 肖善强
(65) 同一申请的已公布的文献号 申请公布号 CN 106456733 A	(51) Int.Cl. A61K 39/00 (2006.01) A61K 39/38 (2006.01) A61K 39/395 (2006.01)
(43) 申请公布日 2017.02.22	(56) 对比文件 WO 2010037395 A3,2010.05.20 WO 02072631 A2,2002.09.19 US 2012264161 A1,2012.10.18 US 2010159594 A1,2010.06.24 US 7670595 B2,2010.03.02 US 2013149305 A1,2013.06.13 US 2005003431 A1,2005.01.06 US 2012264161 A1,2012.10.18 NCBI.NCBI GENE BANK:NP_001009066.1. 《NCBI》.2011,
(30) 优先权数据 62/013,715 2014.06.18 US	审查员 王鹏
(85) PCT国际申请进入国家阶段日 2016.11.28	权利要求书4页 说明书64页 序列表71页 附图36页
(86) PCT国际申请的申请数据 PCT/US2015/035777 2015.06.15	
(87) PCT国际申请的公布数据 WO2015/195531 EN 2015.12.23	
(73) 专利权人 阿尔伯特爱因斯坦医学院 地址 美国纽约	
(72) 发明人 R·D·塞戴尔第三 R·J·查帕罗 B·S·希勒里希 S·J·加福斯 S·C·阿尔莫	

(54) 发明名称
SYNTAC多肽及其用途

(57) 摘要
本发明提供用于克隆抑制或克隆刺激T细胞的方法和组合物。

1. 一种多聚体多肽,其包含:

异源二聚体多肽,所述异源二聚体多肽包含

a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:

i) 肽表位;和

ii) 第一主要组织相容性复合体 (MHC) 多肽;

b) 第二多肽,其包含第二MHC多肽;和

c) 至少一个免疫调节多肽,

其中所述第一多肽和/或所述第二多肽包含所述至少一个免疫调节多肽,

其中所述第一MHC多肽是 β 2微球蛋白多肽;并且其中所述第二MHC多肽是MHC I类重链多肽,

其中所述肽表位是癌症相关的表位,以及

任选地,其中所述多聚体多肽包含免疫球蛋白 (Ig) Fc多肽或非Ig支架。

2. 根据权利要求1所述的多聚体多肽,其中所述多聚体多肽包含:

a1) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:

i) 肽表位;和

ii) 第一MHC多肽;以及

b1) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:

i) 至少一个免疫调节多肽;

ii) 第二MHC多肽;和

iii) 免疫球蛋白 (Ig) Fc多肽;或者

a2) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:

i) 肽表位;

ii) 第一MHC多肽;和

iii) 至少一个免疫调节多肽;以及b2) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:

i) 第二MHC多肽;和

ii) Ig Fc多肽;或者

a3) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:

i) 肽表位;和

ii) 第一MHC多肽;以及

b3) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:

i) 第二MHC多肽;和

ii) Ig Fc多肽;和

iii) 至少一个免疫调节多肽;或者

a4) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:

i) 肽表位;和

ii) 第一MHC多肽;以及

b4) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:

i) 第二MHC多肽;和

ii) 至少一个免疫调节多肽;或者

- a5) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:
i) 肽表位;和
ii) 第一MHC多肽;以及
b5) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:
i) 至少一个免疫调节多肽;和
ii) 第二MHC多肽;或者
a6) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:
i) 肽表位;
ii) 第一MHC多肽;和
iii) 至少一个免疫调节多肽;以及
b6) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:
i) 第二MHC多肽。
3. 根据权利要求1所述的多聚体多肽,其中所述非Ig支架为XTEN多肽、转铁蛋白多肽、Fc受体多肽、弹性蛋白样多肽、丝样多肽或丝-弹性蛋白样多肽。
4. 根据权利要求1至3中任一项所述的多聚体多肽,其中所述至少一个免疫调节多肽选自:4-1BBL多肽、B7-1多肽;B7-2多肽、ICOS-L多肽、OX-40L多肽、CD80多肽、CD86多肽、PD-L1多肽、FasL多肽、细胞因子和PD-L2多肽。
5. 根据权利要求4所述的多聚体多肽,其中所述至少一个免疫调节多肽是细胞因子。
6. 根据权利要求4所述的多聚体多肽,其中所述至少一个免疫调节多肽选自4-1BBL多肽和CD80多肽。
7. 根据权利要求1至6中任一项所述的多聚体多肽,其包含2个或更多个免疫调节多肽。
8. 根据权利要求7所述的多聚体多肽,其中所述2个或更多个免疫调节多肽为串联的。
9. 根据权利要求1至8中任一项所述的多聚体多肽,其中所述多聚体多肽包含:
a1) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:
i) 肽表位;和
ii) 第一MHC多肽;以及
b1) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:
i) 至少一个免疫调节多肽;
ii) 第二MHC多肽;和
iii) 免疫球蛋白(Ig)Fc多肽。
10. 根据权利要求1至8中任一项所述的多聚体多肽,其中所述多聚体多肽包含:
a3) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:
i) 肽表位;和
ii) 第一MHC多肽;以及
b3) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:
i) 第二MHC多肽;和
ii) Ig Fc多肽;和
iii) 至少一个免疫调节多肽。
11. 根据权利要求1至8中任一项所述的多聚体多肽,其中所述多聚体多肽包含:

a4) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:

i) 肽表位;和

ii) 第一MHC多肽;以及

b4) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:

i) 第二MHC多肽;和

ii) 至少一个免疫调节多肽。

12. 根据权利要求1至11中任一项所述的多聚体多肽,其中所述第一多肽和所述第二多肽通过二硫键彼此连接。

13. 根据权利要求12所述的多聚体多肽,其中所述 β 2M多肽和所述MHC重链多肽通过二硫键连接,所述二硫键连接所述 β 2M多肽中的Cys残基和所述MHC重链多肽中的Cys残基。

14. 根据权利要求13所述的多聚体多肽,其中所述 β 2M多肽的氨基酸残基12处的Cys残基和所述MHC重链多肽中的氨基酸残基236处的Cys二硫键连接。

15. 根据权利要求13所述的多聚体多肽,其中所述第一多肽链包含所述肽表位和所述 β 2M多肽之间的连接子,以及其中所述二硫键连接所述连接子中存在的Cys和所述MHC重链多肽中的Cys。

16. 根据权利要求15所述的多聚体多肽,其中所述第一多肽链包含所述肽表位和所述 β 2M多肽之间的连接子,以及其中所述二硫键连接所述连接子中取代Gly2的Cys和所述MHC重链多肽中取代Tyr84的Cys残基。

17. 根据权利要求1至16中任一项所述的多聚体多肽,其中所述免疫调节多肽是活化多肽。

18. 包含两个权利要求1至17中任一项所述的多聚体多肽的蛋白,其中所述两个多聚体多肽中的每一个包含免疫球蛋白(Ig)Fc多肽,并且其中所述两个多聚体多肽通过在各自IgFc多肽之间的一个或多个二硫键连接。

19. 一种核酸,其包含编码根据权利要求1至17中任一项所述的第一多肽和第二多肽的核苷酸序列,其中所述第一多肽或所述第二多肽包含至少一个免疫调节多肽。

20. 一种表达载体,其包含权利要求19所述的核酸。

21. 一种宿主细胞,其经权利要求20所述的表达载体遗传修饰。

22. 一种选择性调节与癌症相关的表位结合的T细胞的活性的非治疗性方法,所述方法包括将所述T细胞与权利要求1至17中任一项所述的多聚体多肽或权利要求18所述的蛋白在体外接触,其中所述接触选择性调节所述T细胞的活性。

23. 根据权利要求1至17中任一项所述的多聚体多肽,或权利要求18所述的蛋白,或权利要求19所述的核酸,或权利要求20所述的表达载体在制备药物中的用途,所述药物用在选择性调节个体中与癌症相关的表位结合的T细胞的活性的方法中,其中施用所述多聚体多肽或蛋白或核酸或表达载体以选择性调节所述个体中的T细胞的活性。

24. 根据权利要求1至17中任一项所述的多聚体多肽,或权利要求18所述的蛋白,或权利要求19所述的核酸,或根据权利要求20所述的表达载体,或包含编码权利要求1至17中任一项所述的多聚体多肽或权利要求18所述的蛋白的核苷酸序列的一种或多种mRNA在制备药物中的用途,所述药物用在治疗个体中的癌症的方法中。

25. 一种组合物,其包含:

- a) 权利要求1至17中任一项所述的多聚体多肽,或权利要求18所述的蛋白;和
- b) 药学上可接受的赋形剂。

26. 根据权利要求22所述的方法或根据权利要求23所述的用途,其中所述T细胞是CD8+ T细胞、CD4+T细胞或T调节细胞。

SYNTAC多肽及其用途

[0001] 交叉引用

[0002] 本申请要求2014年6月18日提交的美国临时专利申请第62/013,715号的权益,该申请以引用方式整体并入本文。

[0003] 政府支持声明

[0004] 本发明在国立卫生研究院NIGMS颁发的资助号3U54GM094662-02和5U01GM094665-02下由政府支持完成。政府享有本发明的某些权利。

[0005] 以引用方式并入作为文本文件提供的序列列表

[0006] 序列列表以2015年6月10日创建的且大小为142KB的文本文件“IMGN-E003W0_ST25.txt”随同本文一起提供。该文本文件的内容以引用方式整体并入本文。

[0007] 简介

[0008] 本申请的全文中引用的各种出版物以方括号指出。这些参考文献的全部引文可在本专利说明书的文末找到。本文所引用的这些出版物以及所有专利、专利申请公布和书籍的公开内容据此整体以引用方式并入本申请中,以更全面地描述本发明所属的领域。

[0009] 过去十年在用于发现临床相关生物标志物的高通量技术的开发方面的迅速进展已与生物制剂(其中活性物质由生物来源产生或从生物来源提取的药物,例如单克隆抗体、治疗性蛋白和肽)的逐步发展和应用并行,并且已经彻底变革了免疫源性病症的治疗。然而,目前的生物疗法正以其合成对应物的双倍比率(生物制品17%,合成制品8.5%)推动安全监管措施[1]。这种情况被认为可从这些免疫调节生物制剂的作用模式体现出来:在自体免疫的情况下为全面免疫抑制(例如Humira[2]),以及在治疗癌症的情况下为全面免疫刺激(例如Yervoy[3])。这些治疗并未充分地将免疫调节限制到致病性相关细胞,因而使患者易发生可能致命的感染和一系列麻烦的副作用[4-6]。此外,这些药物的中等疗效和安全特性[7]已引起近来面向靶向治疗的趋势。第一代“靶向”生物制剂将其作用针对更局限的T细胞亚群(例如抗体和蛋白治疗剂,诸如抗4-1BB、抗CD27、LAG-3和TIM-3)[8-11]。然而,如同先前的疗法,这些“第一代”努力仍然无法仅靶向疾病相关细胞。

[0010] 包含适应性免疫反应的分子事件的核心是T细胞受体(TCR)与主要组织相容性复合体(MHC)分子非共价呈递的小肽抗原接合。这代表免疫系统的靶向机制且为T细胞活化和效应子功能的必要分子相互作用。在表位特异性细胞靶向之后,被招募的T细胞通过在抗原呈递细胞上发现的共刺激分子的一般性接合而活化。两种信号对驱动T细胞特异性和活化或抑制都是必要的。重要的是,在T细胞发育期间,基因组编辑过程导致在每个T细胞上表达独特的TCR[12],而该共刺激分子通常在所有T细胞(或大T细胞“亚群”)上表达。目前的方法几乎完全依赖该共刺激分子的一般性接合,而导致“全面性疗法”。这些全面性免疫疗法非常有效,但无差别地靶向T细胞而导致严重毒性。如果共刺激分子能优先结合到具有疾病相关TCR的T细胞,则其效力将从不利推进成优点。

[0011] 存在多种调节T细胞的方法,其包括使用通常以Fc融合体形式表达的可溶性共刺激分子或能阻断共刺激功能的针对共刺激分子的抗体[13,14]、抗体-药物偶联物(ADC)[15]、双特异性抗体(BsAb)[16,17]和游离肽抗原[18]。值得注意的是,ADC(通常称为魔弹)

确保将毒素(或其他药物有效载荷)直接向病理细胞的靶向递送。然而,ADC目前苦于缺乏用于靶向抗体的优选生物标志物和不良的内化率,因为施用的剂量被发现仅有~1.5%在肿瘤细胞内,而内化通常是杀灭细胞所必需的。双特异性抗体提供有吸引力的机会来结合多种单克隆抗体(mAb)的加成和协同作用,并可用于桥联肿瘤细胞与T细胞[17],因此,不需要内化以引发反应。虽然已开发出双特异性抗体以具有与两种不同抗原的二价相互作用[19],但是这些构建体仍然缺乏模块性且与亲代mAb相比存在较低的亲和力[20]。过继性T细胞(CAR-T)疗法部分地解决了这些问题,且为上述传统疗法的有吸引力的替代方案[21]。CAR-T利用在其表面上具有嵌合抗原受体(CAR)的经遗传修饰的原代T细胞:提取患者的T细胞、纯化并遗传修饰以通过使用CAR靶向肿瘤特异性抗原。CAR通常具有靶向病理细胞的外部单链可变结构域(抗体片段),但具有传统的共刺激分子胞质结构域。一旦该经工程改造的T细胞结合到靶抗原,内部刺激性结构域就提供必要的信号使T细胞变成完全活性的。在这种完全活性状态中,T细胞可以更有效地增殖并攻击癌细胞。缓和该反应以避免细胞因子释放综合征和相关副作用,以及可扩展性问题(例如与T细胞提取和修饰相关的大量花费和难度)目前阻止了该项技术进入主流使用[22]。

[0012] 生物制剂(也称为生物药品)是其中活性物质由生物来源产生或从生物来源提取的药物(与“小分子”药物相反)。生物制剂相对晚加入全球治疗市场,多半为通过基因工程制备的重组蛋白;这些生物制剂包括单克隆抗体、治疗性蛋白和肽。大多数量前已上市的生物药物用于缓和罹患慢性疾病(诸如癌症、糖尿病、心血管疾病、不孕症和囊性纤维化)的患者。2012年全球生物制剂市场的总值为1630亿美元,预计在2017年将达到2520亿美元,支持五年复合年均增长率(compound annual growth rate)为9%。推动这一增长的是对于更多的在研药物(drug pipeline)的需求、对抗挑战性疾病的有吸引力的靶标的识别以及追求后续生物制剂(生物仿制药(biosimilar)、仿制生物制剂(generic biologic))的推力,其示例为近期引入的缩短的FDA审批流程。

[0013] 本发明解决对用于免疫肿瘤学和自体免疫的精确治疗剂的需求-与目前市场上的或开发中的全面性和“伪靶向”调节剂相反的用于上调(例如在癌症的情况下)或抑制(例如在自体免疫的情况下)的仅克隆靶向疾病相关T细胞的定制治疗剂。

[0014] 简述

[0015] 本发明提供如下所述的的重组多肽:其包含与第一B2M前导序列相同的氨基酸序列,该与第一B2M前导序列相同的氨基酸序列邻接候选表位肽,该候选表位肽邻接第一氨基酸连接子序列,该第一氨基酸连接子序列邻接与人天然B2M肽序列相同的氨基酸序列,该与人天然B2M肽序列相同的氨基酸序列邻接第二氨基酸连接子序列,该第二氨基酸连接子序列邻接T细胞调节结构域肽序列,该T细胞调节结构域肽序列邻接第三氨基酸连接子,该第三氨基酸连接子邻接第二B2M前导序列,该第二B2M前导序列邻接与MHC重链相同的氨基酸序列,该与MHC重链相同的氨基酸序列邻接与免疫球蛋白Fc结构域相同的氨基酸序列。

[0016] 本发明还提供如下所述的的重组多肽:其包含与第一B2M前导序列相同的氨基酸序列,该与第一B2M前导序列相同的氨基酸序列邻接候选表位肽,该候选表位肽邻接第一氨基酸连接子序列,该第一氨基酸连接子序列邻接与人天然B2M肽序列相同的氨基酸序列,该与人天然B2M肽序列相同的氨基酸序列邻接第二氨基酸连接子序列,该第二氨基酸连接子序列邻接第二B2M前导序列,该第二B2M前导序列邻接T细胞调节结构域肽序列,该T细胞调

节结构域肽序列邻接第三氨基酸连接子,该第三氨基酸连接子邻接与MHC重链相同的氨基酸序列,该与MHC重链相同的氨基酸序列邻接与免疫球蛋白Fc结构域相同的氨基酸序列。

[0017] 本发明还提供抑制识别表位肽的T细胞克隆的方法,其包括将该克隆的T细胞与有效抑制T细胞克隆的量的如本文所述的重组肽接触,其中该重组肽包含该表位肽且包含为抑制性结构域的T细胞调节结构域。

[0018] 本发明还提供通过抑制识别表位肽的自体反应性T细胞克隆来治疗自体免疫疾病的方法,其包括将该克隆的T细胞与有效治疗自体免疫疾病的量的如本文所述的重组肽接触,其中该重组肽包含该表位肽且包含为抑制性结构域的T细胞调节结构域。

[0019] 本发明还提供刺激识别表位肽的T细胞克隆的方法,其包括将该克隆的T细胞与有效刺激T细胞克隆的量的如本文所述的重组肽接触,其中该重组肽包含该表位肽且包含为刺激性结构域的T细胞调节结构域。

[0020] 本发明还提供通过刺激识别在癌症上的表位肽的T细胞克隆来治疗癌症的方法,其包括将该克隆的T细胞与有效治疗癌症的量的如本文所述的重组肽接触,其中该重组肽包含该表位肽且包含为刺激性结构域的T细胞调节结构域。

[0021] 本发明还提供重组多肽构建体,其包含(i)与第一氨基酸连接子序列结合的候选表位肽,该第一氨基酸连接子序列邻接包含与人天然B2M肽序列相同的序列的氨基酸序列,该包含与人天然B2M肽序列相同的序列的氨基酸序列邻接第二氨基酸连接子序列,该第二氨基酸连接子序列邻接T细胞调节结构域肽,其中(i)通过一个或一个以上的二硫键与(ii)具有MHC重链序列的氨基酸序列结合,该具有MHC重链序列的氨基酸序列邻接第三氨基酸连接子序列,该第三氨基酸连接子序列邻接与免疫球蛋白Fc结构域相同的氨基酸序列。

[0022] 本发明还提供重组多肽构建体,其包含(i)与第一氨基酸连接子序列结合的候选表位肽,该第一氨基酸连接子序列邻接包含与人天然B2M肽序列相同的序列的氨基酸序列,其中(i)通过一个或一个以上的二硫键与(ii)T细胞调节结构域肽结合,该T细胞调节结构域肽邻接第二氨基酸连接子序列,该第二氨基酸连接子序列邻接具有MHC重链序列的氨基酸序列,该具有MHC重链序列的氨基酸序列邻接第三氨基酸连接子序列,该第三氨基酸连接子序列邻接与免疫球蛋白Fc结构域相同的氨基酸序列。

[0023] 本发明还提供包含两个本文所述的重组多肽构建体的蛋白,该两个构建体通过一个或多个介于其相应免疫球蛋白Fc结构域之间的二硫键连接。

[0024] 本发明还提供包含两个本文所述的重组多肽构建体的蛋白,该两个构建体通过一个或多个介于其相应免疫球蛋白Fc结构域之间的二硫键连接。

[0025] 本发明提供通过异源核酸转导或以异源核酸转染的经分离的悬浮适应细胞(suspension adapted cell),所述核酸按5'至3'的顺序包含编码如本文所述的重组多肽的序列。

[0026] 本公开提供如下所述的重组多肽:其包含与第一B2M前导序列相同的氨基酸序列,该与第一B2M前导序列相同的氨基酸序列邻接候选表位肽,该候选表位肽邻接第一氨基酸连接子序列,该第一氨基酸连接子序列邻接与人天然B2M肽序列相同的氨基酸序列,该与人天然B2M肽序列相同的氨基酸序列邻接第二氨基酸连接子序列,该第二氨基酸连接子序列邻接T细胞调节结构域肽序列,该T细胞调节结构域肽序列邻接第三氨基酸连接子序列,该第三氨基酸连接子序列邻接第二B2M前导序列,该第二B2M前导序列邻接与MHC重链相同

的氨基酸序列,该与MHC重链相同的氨基酸序列邻接与免疫球蛋白Fc结构域相同的氨基酸序列。在一些情况中,该候选表位包含7至20个氨基酸。在一些情况中,该第三氨基酸连接子为自裂解的。在一些情况中,该第二氨基酸连接子为自裂解的。在一些情况中,该自裂解肽为病毒2A肽或具有其序列。在一些情况中,该第一和/或第二B2M前导序列具有人B2M前导序列的序列。在一些情况中,该MHC重链为人MHC重链。在一些情况中,该MHC重链为MHC I分子。在一些情况中,该MHC重链为HLA-A02:01。在一些情况中,该MHC重链为MHC II分子。在一些情况中,该免疫球蛋白Fc结构域为IgG Fc结构域。在一些情况中,该免疫球蛋白Fc结构域为IgA Fc结构域。在一些情况中,该免疫球蛋白Fc结构域为IgM Fc结构域。在一些情况中,该免疫球蛋白Fc结构域为人免疫球蛋白Fc结构域。在一些情况中,该免疫球蛋白Fc结构域为IgG1 Fc结构域。在一些情况中,该重组多肽包含与其C端邻接的His-8标签。在一些情况中,该T细胞调节结构域为抑制性结构域。在一些情况中,该T细胞调节结构域为刺激性结构域。在一些情况中,该T细胞调节结构域为抗体和抗体片段、肽配体、T细胞共刺激肽、细胞因子或毒素。在一些情况中,该T细胞调节结构域包含PD-L1肽、PD-L1肽的Ig可变结构域,该T细胞调节结构域包含4-1BBL,该T细胞调节结构域包含B7-1W88A或该T细胞调节结构域包含抗CD28单链Fv。在一些情况中,该重组多肽在其人天然B2M肽序列及其重链序列中包含突变以便在该B2M肽序列与重链序列之间实现二硫键。

[0027] 本公开提供如下所述的重组多肽:提供与第一B2M前导序列相同的氨基酸序列,该与第一B2M前导序列相同的氨基酸序列邻接候选表位肽,该候选表位肽邻接第一氨基酸连接子序列,该第一氨基酸连接子序列邻接与人天然B2M肽序列相同的氨基酸序列,该与人天然B2M肽序列相同的氨基酸序列邻接第二氨基酸连接子序列,该第二氨基酸连接子序列邻接第二B2M前导序列,该第二B2M前导序列邻接T细胞调节结构域肽序列,该T细胞调节结构域肽序列邻接第三氨基酸连接子,该第三氨基酸连接子邻接与MHC重链相同的氨基酸序列,该与MHC重链相同的氨基酸序列邻接与免疫球蛋白Fc结构域相同的氨基酸序列。在一些情况中,该候选表位包含7至20个氨基酸。在一些情况中,该第三氨基酸连接子为自裂解的。在一些情况中,该第二氨基酸连接子为自裂解的。在一些情况中,该自裂解肽为病毒2A肽或具有其序列。在一些情况中,该第一和/或第二B2M前导序列具有人B2M前导序列的序列。在一些情况中,该MHC重链为人MHC重链。在一些情况中,该MHC重链为MHC I分子。在一些情况中,该MHC重链为HLA-A02:01。在一些情况中,该MHC重链为MHC II分子。在一些情况中,该免疫球蛋白Fc结构域为IgG Fc结构域。在一些情况中,该免疫球蛋白Fc结构域为IgA Fc结构域。在一些情况中,该免疫球蛋白Fc结构域为IgM Fc结构域。在一些情况中,该免疫球蛋白Fc结构域为人免疫球蛋白Fc结构域。在一些情况中,该免疫球蛋白Fc结构域为IgG1 Fc结构域。在一些情况中,该重组多肽包含与其C端邻接的His-8标签。在一些情况中,该T细胞调节结构域为抑制性结构域。在一些情况中,该T细胞调节结构域为刺激性结构域。在一些情况中,该T细胞调节结构域为抗体和抗体片段、肽配体、T细胞共刺激肽、细胞因子或毒素。在一些情况中,该T细胞调节结构域包含PD-L1肽、PD-L1肽的Ig可变结构域,该T细胞调节结构域包含4-1BBL,该T细胞调节结构域包含B7-1W88A或该T细胞调节结构域包含抗CD28单链Fv。在一些情况中,该重组多肽在其人天然B2M肽序列及其重链序列中包含突变以便在该B2M肽序列与重链序列之间实现二硫键。

[0028] 在一些情况中,该重组多肽在其人天然B2M肽序列及其重链序列中包含突变以便

在该B2M肽序列与重链序列之间实现二硫键。在一些情况中,该重链序列为HLA且其中该二硫键连接下列残基对之一: B2M残基12,HLA残基236; B2M残基12,HLA残基237; B2M残基8,HLA残基234; B2M残基10,HLA残基235; B2M残基24,HLA残基236; B2M残基28,HLA残基232; B2M残基98,HLA残基192; B2M残基99,HLA残基234; B2M残基3,HLA残基120; B2M残基31,HLA残基96; B2M残基53,HLA残基35; B2M残基60,HLA残基96; B2M残基60,HLA残基122; B2M残基63,HLA残基27; B2M残基Arg3,HLA残基Gly120; B2M残基His31,HLA残基Gln96; B2M残基Asp53,HLA残基Arg35; B2M残基Trp60,HLA残基Gln96; B2M残基Trp60,HLA残基Asp122; B2M残基Tyr63,HLA残基Tyr27; B2M残基Lys6,HLA残基Glu232; B2M残基Gln8,HLA残基Arg234; B2M残基Tyr10,HLA残基Pro235; B2M残基Ser11,HLA残基Gln242; B2M残基Asn24,HLA残基Ala236; B2M残基Ser28,HLA残基Glu232; B2M残基Asp98,HLA残基His192; 和B2M残基Met99,HLA残基Arg234。

[0029] 在一些情况中,该重组多肽在其人天然B2M肽序列及其重链序列中包含突变以便在该B2M肽序列与重链序列之间实现二硫键。在一些情况中,该重链序列为HLA且其中该二硫键连接下列残基对之一: 第一连接子位置Gly 2,重链(HLA)位置Tyr 84;轻链(B2M)位置Arg 12,HLA Ala236;和/或B2M残基Arg12,HLA残基Gly237。

[0030] 在一些情况中,该T细胞调节结构域为抑制性结构域。在一些情况中,该T细胞调节结构域为刺激性结构域。在一些情况中,该T细胞调节结构域为抗体和抗体片段、肽配体、T细胞共刺激肽、细胞因子或毒素。在一些情况中,该T细胞调节结构域包含PD-L1肽、PD-L1肽的Ig可变结构域,该T细胞调节结构域包含4-1BBL,该T细胞调节结构域包含B7-1W88A或该T细胞调节结构域包含抗CD28单链Fv。

[0031] 本公开提供编码上文或本文其他地方所述的任一重组多肽的核酸。本公开提供以编码上文或本文其他地方所述的任一重组多肽的核酸转化的细胞。

[0032] 本公开提供抑制识别表位肽的T细胞克隆的方法,其包括将该克隆的T细胞与有效抑制T细胞克隆的量的上文或本文其他地方所述的任一重组肽接触,其中该重组肽包含该表位肽且包含为抑制性结构域的T细胞调节结构域。

[0033] 本公开提供通过抑制识别表位肽的自体反应性T细胞克隆来治疗自体免疫病症的方法,其包括将该克隆的T细胞与有效治疗自体免疫病症的量的上文或本文其他地方所述的重组肽接触,其中该重组肽包含该表位肽且包含为抑制性结构域的T细胞调节结构域。

[0034] 本公开提供刺激识别表位肽的T细胞克隆的方法,其包括将该克隆的T细胞与有效刺激T细胞克隆的量的上文或本文其他地方所述的任一重组肽接触,其中该重组肽包含该表位肽且包含为刺激性结构域的T细胞调节结构域。

[0035] 本公开提供通过刺激识别在癌症上的表位肽的T细胞克隆来治疗癌症的方法,其包括将该克隆的T细胞与有效治疗该癌症的量的上文或本文其他地方所述的重组肽接触,其中该重组肽包含该表位肽且包含为刺激性结构域的T细胞调节结构域。

[0036] 本公开提供重组多肽构建体,其包含(i)与第一氨基酸连接子序列结合的候选表位肽,该第一氨基酸连接子序列邻接包含与人天然B2M肽序列相同的序列的氨基酸序列,该包含与人天然B2M肽序列相同的序列的氨基酸序列邻接第二氨基酸连接子序列,该第二氨基酸连接子序列邻接T细胞调节结构域肽,其中(i)通过一个或一个以上的二硫键与(ii)具有MHC重链序列的氨基酸序列结合,该具有MHC重链序列的氨基酸序列邻接第三氨基酸连接子序列,该第三氨基酸连接子序列邻接与免疫球蛋白Fc结构域相同的氨基酸序列。本公开

提供包含两个重组多肽构建体的蛋白,该两个重组多肽构建体通过一个或多个介于其相应免疫球蛋白Fc结构域之间的二硫键连接。

[0037] 本公开提供重组多肽构建体,其包含(i)与第一氨基酸连接子序列结合的候选表位肽,该第一氨基酸连接子序列邻接包含与人天然B2M肽序列相同的序列的氨基酸序列,其中(i)通过一个或一个以上的二硫键与(ii)T细胞调节结构域肽结合,该T细胞调节结构域肽邻接第二氨基酸连接子序列,该第二氨基酸连接子序列邻接具有MHC重链序列的氨基酸序列,该具有MHC重链序列的氨基酸序列邻接第三氨基酸连接子序列,该第三氨基酸连接子序列邻接与免疫球蛋白Fc结构域相同的氨基酸序列。本公开提供包含两个重组多肽构建体的蛋白,该两个重组多肽构建体通过一个或多个介于其相应免疫球蛋白Fc结构域之间的二硫键连接。

[0038] 本公开提供包含至少第一多肽和第二多肽的多聚体多肽,其中该第一多肽按从N端至C端的顺序包含:i)表位;和ii)第一主要组织相容性复合体(MHC)多肽;且其中该第二多肽按从N端至C端的顺序包含:i)第二MHC多肽;和ii)免疫球蛋白(Ig)Fc多肽,其中该多聚体多肽在该第一多肽的C端或该第二多肽的N端包含免疫调节结构域。本公开提供包含编码该多聚体多肽的核苷酸序列的核酸。本公开提供包含该核酸的重组表达载体。本公开提供经遗传修饰的宿主细胞,其中该经遗传修饰的宿主细胞经本公开的核酸或本公开的重组表达载体遗传修饰。本公开提供包含该多聚体多肽的组合物,包括药物组合物。本公开提供调节T细胞活性的方法,该方法涉及将T细胞与本公开的多聚体多肽接触。本公开提供治疗方法,该方法涉及向有此需要的个体施用有效量的本公开的多聚体多肽。本公开提供容纳本公开的多聚体多肽或包含本公开的多聚体多肽的组合物(例如药物组合物)的容器。

[0039] 本公开提供一种多聚体多肽,其包含:a)第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i)表位;和ii)第一MHC多肽;以及b)第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i)免疫调节结构域;iii)第二MHC多肽;和ii)Ig Fc多肽。本公开提供一种多聚体多肽,其包含:a)第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i)表位;ii)第一MHC多肽;和iii)免疫调节结构域;以及b)第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i)第二MHC多肽;和ii)免疫球蛋白(Ig)Fc多肽。在一些情况中,该第一MHC多肽为 β 2微球蛋白多肽;且其中该第二MHC多肽为MHC I类重链多肽。在一些情况中,该 β 2微球蛋白多肽包含与SEQ ID NO:4所列的氨基酸序列具有至少85%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况中,该MHC I类重链多肽为HLA-A、HLA-B或HLA-C重链。在一些情况中,该MHC I类重链多肽包含与SEQ ID NO:5所列的氨基酸序列具有至少85%、至少90%、至少95%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况中,该第一MHC多肽为MHC II类 α 链多肽;且其中该第二MHC多肽为MHC II类 β 链多肽。在一些情况中,该表位为T细胞表位。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG1 Fc多肽、IgG2 Fc多肽、IgG3 Fc多肽、IgG4 Fc多肽、IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽包含与图24A-24C中所描绘的氨基酸序列具有至少85%、至少90%、至少95%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽非共价缔合。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽共价连接。在一些情况中,该共价键合经由二硫键。在一些情况中,该第一MHC多肽或介于该表位与第一MHC多肽之间的连接子包含氨基酸取代以提供第一Cys残基,该第二MHC多肽包含氨基酸取代以提供第二Cys残基,且其中该二硫键合介于该第一Cys残基与第二Cys残基之间。在一些情况中,该多聚体多肽包含介于该表位与第一MHC多肽之

间的第一连接子。在一些情况中,该免疫调节多肽选自:4-1BBL多肽、B7-1多肽;B7-2多肽、ICOS-L多肽、OX-40L多肽、CD80多肽、CD86多肽、PD-L1多肽、FasL多肽和PD-L2多肽。在一些情况中,该第一多肽或第二多肽包含2个或更多个免疫调节多肽。在一些情况中,该2个或更多个免疫调节多肽为串联的。在一些情况中,该多聚体多肽包含第三多肽,其中该第三多肽包含免疫调节多肽,该免疫调节多肽包含与该第一多肽的免疫调节多肽具有至少90%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况中,该第三多肽与该第一多肽共价连接。在一些情况中,其中该第二多肽按从N端至C端的顺序包含:

[0040] i) 第二MHC多肽;ii) 免疫球蛋白(Ig)Fc多肽;和iii) 亲和标签。

[0041] 本公开提供一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) 表位;ii) 第一MHC多肽;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) 第二MHC多肽;和ii) 任选地Ig Fc多肽或非Ig支架,其中该多聚体多肽任选地包含免疫球蛋白(Ig)Fc多肽或非Ig支架,其中该多聚体多肽包含一个或多个免疫调节结构域,其中该一个或多个免疫调节结构域:A) 位于第一多肽的C端;B) 位于第二多肽的N端;C) 位于第二多肽的C端;或D) 位于第一多肽的C端和第二多肽的N端。在一些情况中,多聚体多肽包含单一免疫调节多肽。在一些情况中,多聚体多肽包含两个免疫调节多肽(例如相同免疫调节多肽的两个拷贝)。在一些情况中,多聚体多肽包含三个免疫调节多肽(例如相同免疫调节多肽的三个拷贝)。在一些情况中,多聚体多肽包含四个免疫调节多肽(例如相同免疫调节多肽的四个拷贝)。在一些情况中,多聚体多肽包含单一免疫调节多肽。在一些情况中,多聚体多肽包含两个免疫调节多肽(例如相同免疫调节多肽的两个拷贝)。在一些情况中,多聚体多肽包含三个免疫调节多肽(例如相同免疫调节多肽的三个拷贝)。在一些情况中,多聚体多肽包含四个免疫调节多肽(例如相同免疫调节多肽的四个拷贝)。在一些情况中,该多聚体多肽包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) 表位;ii) 第一MHC多肽;和iii) 免疫调节结构域;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含i) 第二MHC多肽;和ii) Ig Fc多肽。在一些情况中,该多聚体多肽包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) 表位;和ii) 第一MHC多肽;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) 免疫调节结构域;iii) 第二MHC多肽;和ii) 免疫球蛋白(Ig)Fc多肽。在一些情况中,该多聚体多肽包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) 表位;和ii) 第一MHC多肽;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) 第二MHC多肽;和ii) Ig Fc多肽;和iii) 免疫调节结构域。在一些情况中,该多聚体多肽包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) 表位;和ii) 第一MHC多肽;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) 第二MHC多肽;和ii) 免疫调节结构域。在一些情况中,该多聚体多肽包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) 表位;和ii) 第一MHC多肽;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) 免疫调节结构域;和ii) 第二MHC多肽。在一些情况中,该多聚体多肽包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) 表位;ii) 第一MHC多肽;和iii) 免疫调节结构域;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) 第二MHC多肽。在一些情况中,该非Ig支架为XTEN多肽、转铁蛋白多肽、Fc受体多肽、弹性蛋白样多肽、丝样多肽或丝-弹性蛋白样多肽。在一些情况中,该第一MHC多肽为 β 2微球蛋白多肽;且其中该第二MHC多肽为MHC I类重链多肽。在一些情况中,该 β 2微球蛋白多肽包含与SEQ ID NO:4所列的氨基酸序列具有至少85%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况中,该MHC I类重链多肽为HLA-A、HLA-B或HLA-C重链。在一些情况中,该MHC I类重链多肽包含

与SEQ ID NO:5所列的氨基酸序列具有至少85%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况中,该第一MHC多肽为MHC II类 α 链多肽;且其中该第二MHC多肽为MHC II类 β 链多肽。在一些情况中,该表位为T细胞表位。在一些情况中,该多聚体多肽包含Fc多肽,且其中该Ig Fc多肽为IgG1 Fc多肽、IgG2 Fc多肽、IgG3 Fc多肽、IgG4 Fc多肽、IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽包含与图24A-24C中所描绘的氨基酸序列具有至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽非共价连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽共价连接。在一些情况中,该共价键合经由二硫键。在一些情况中,该第一MHC多肽或介于该表位与第一MHC多肽之间的连接子包含氨基酸取代以提供第一Cys残基,该第二MHC多肽包含氨基酸取代以提供第二Cys残基,且其中该二硫键合介于该第一Cys残基与第二Cys残基之间。在一些情况中,该多聚体多肽包含介于表位与第一MHC多肽之间的第一连接子。在一些情况中,该免疫调节多肽选自:4-1BBL多肽、B7-1多肽、B7-2多肽、ICOS-L多肽、OX-40L多肽、CD80多肽、CD86多肽、PD-L1多肽、FasL多肽和PD-L2多肽。在一些情况中,该多聚体多肽包含2个或更多个免疫调节多肽。在一些情况中,该2个或更多个免疫调节多肽为串联的。在一些情况中,该多聚体多肽包含第三多肽,其中该第三多肽包含免疫调节多肽,该免疫调节多肽包含与该第一多肽或第二多肽的免疫调节多肽具有至少90%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况中,该第三多肽与第一多肽共价连接。在一些情况中,该第二多肽按从N端至C端的顺序包含:i) 第二MHC多肽;ii) Ig Fc多肽;和iii) 亲和标签。

[0042] 本公开提供包含编码本公开的多聚体多肽的多肽链的核苷酸序列的核酸;在一些情况中,该核酸存在于重组表达载体中。本公开提供包含编码重组多肽的核苷酸序列的核酸,i) 其中该重组多肽按从N端至C端的顺序包含:a) 表位;b) 第一MHC多肽;c) 免疫调节多肽;d) 可蛋白水解裂解的连接子或核糖体跳跃信号;e) 第二MHC多肽;和f) 免疫球蛋白(Ig) Fc多肽或基于非Ig的支架;或ii) 其中该重组多肽按从N端至C端的顺序包含:a) 表位;b) 第一MHC多肽;c) 可蛋白水解裂解的连接子或核糖体跳跃信号;d) 免疫调节多肽;e) 第二MHC多肽;和f) Ig Fc多肽或基于非Ig的支架。在一些情况中,该第一MHC多肽为 β 2微球蛋白多肽;且其中该第二MHC多肽为MHC I类重链多肽。在一些情况中,该 β 2微球蛋白多肽包含与SEQ ID NO:4所列的氨基酸序列具有至少85%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况中,该MHC I类重链多肽为HLA-A、HLA-B或HLA-C重链。在一些情况中,该MHC I类重链多肽包含与SEQ ID NO:5所列的氨基酸序列具有至少85%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况中,该第一MHC多肽为MHC II类 α 链多肽;且其中该第二MHC多肽为MHC II类 β 链多肽。在一些情况中,该表位为T细胞表位。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG1 Fc多肽、IgG2 Fc多肽、IgG3 Fc多肽、IgG4 Fc多肽、IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽包含与图24A-24C中所描绘的氨基酸序列具有至少85%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况中,该免疫调节多肽选自:4-1BBL多肽、B7-1多肽、B7-2多肽、ICOS-L多肽、OX-40L多肽、CD80多肽、CD86多肽、PD-L1多肽、FasL多肽和PD-L2多肽。在一些情况中,该免疫调节多肽选自:CD7、CD30L、CD40、CD70、CD83、HLA-G、MICA、MICB、HVEM、淋巴毒素 β 受体、3/TR6、ILT3、ILT4和HVEM。在一些情况中,该可蛋白水解裂解的连接子或核糖体跳跃信号包含选自以下的氨基酸序列:a) LEVLFQGP (SEQ ID NO:37); b) ENLYTQS (SEQ ID NO:34); c) 弗林蛋白酶裂解位点;d) LVPR (SEQ ID NO:36); e) GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO:64); f)

GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP (SEQ ID NO:65); g) GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO:66); 和h) GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO:67)。在一些情况中,该重组多肽按从N端至C端的顺序包含:a) 第一前导肽;b) 表位;c) 第一MHC多肽;d) 免疫调节多肽;e) 可蛋白水解裂解的连接子或核糖体跳跃信号;f) 第二前导肽;g) 第二MHC多肽;和h) 免疫球蛋白(Ig)Fc多肽。在一些情况中,该第一前导肽和第二前导肽为 β 2-M前导肽。在一些情况中,该核苷酸序列可操作地连接到转录控制元件。在一些情况中,该转录控制元件为在真核细胞中起作用的启动子。在一些情况中,该第一MHC多肽或介于该表位与第一MHC多肽之间的连接子包含氨基酸取代以提供第一Cys残基,该第二MHC多肽包含氨基酸取代以提供第二Cys残基,且其中该第一和第二Cys残基提供介于该第一MHC多肽与第二MHC多肽之间的二硫键。本公开提供包含上文或本文其他地方所述的任一核酸的重组表达载体。在一些情况中,该重组表达载体为病毒载体。在一些情况中,该重组表达载体为非病毒载体。本公开提供经如上文或本文其他地方所述的重组表达载体遗传修饰的宿主细胞。在一些情况中,该宿主细胞在体外。在一些情况中,该宿主细胞经遗传修饰从而使该细胞不会产生内源性MHC β 2微球蛋白多肽。在一些情况中,该宿主细胞为T淋巴细胞。

[0043] 本公开提供一种组合物,其包含:a) 第一核酸,其包含编码第一多肽的核苷酸序列,该第一多肽按从N端至C端的顺序包含:i) 表位;ii) 第一MHC多肽;和iii) 免疫调节结构域;以及b) 第一核酸,其包含编码第二多肽的核苷酸序列,该第二多肽按从N端至C端的顺序包含:i) 第二MHC多肽;和ii) Ig Fc多肽或基于非Ig的支架。本公开提供一种组合物,其包含:a) 第一核酸,其包含编码第一多肽的核苷酸序列,该第一多肽按从N端至C端的顺序包含:i) 表位;和ii) 第一MHC多肽;以及b) 第一核酸,其包含编码第二多肽的核苷酸序列,该第二多肽按从N端至C端的顺序包含:i) 免疫调节结构域;ii) 第二MHC多肽;和iii) Ig Fc多肽。在一些情况中,该第一和/或第二核酸存在于重组表达载体中。本公开提供经上文或本文其他地方所述的核酸组合物遗传修饰的宿主细胞。

[0044] 本公开提供制备如上文或本文其他地方所述的多聚体多肽的方法,该方法包括:a) 将如上文或本文其他地方所述的宿主细胞在能使该宿主细胞合成该多聚体多肽的条件下在培养基中体外培养;以及b) 从宿主细胞和/或培养基中分离该多聚体多肽。在一些情况中,该第二多肽包含亲和标签,且其中所述分离包括将该由细胞产生的多聚体多肽与用于该亲和标签的结合伴侣接触,其中该结合伴侣被固定化,从而固定该多聚体多肽。在一些情况中,该方法包括对经固定的多聚体多肽进行洗脱。

[0045] 本公开提供选择性调节表位特异性T细胞的活性的方法,该方法包括将该T细胞与如上文或本文其他地方所述的多聚体多肽接触,其中所述接触选择性调节该表位特异性T细胞的活性。在一些情况中,该免疫调节多肽为活化多肽,且其中该多聚体多肽使该表位特异性T细胞活化。在一些情况中,该免疫调节多肽为抑制多肽,且其中该多聚体多肽抑制该表位特异性T细胞。在一些情况中,该接触在体外进行。在一些情况中,该接触在体内进行。

[0046] 本公开提供选择性调节个体中的表位特异性T细胞的活性的方法,该方法包括向该个体施用有效量的如上文或本文其他地方所述的多聚体多肽,以有效地选择性调节个体中的表位特异性T细胞的活性。在一些情况中,该免疫调节多肽为活化多肽,且其中该多聚体多肽使该表位特异性T细胞活化。在一些情况中,该表位是与癌症相关的表位,且其中所述施用选择性增加对该癌症相关表位有特异性的T细胞的活性。在一些情况中,该免疫调节

多肽为抑制性多肽,且其中该多聚体多肽抑制该表位特异性T细胞的活性。在一些情况中,该表位为自体表位,且其中所述施用选择性抑制对该自体表位有特异性的T细胞的活性。

[0047] 本公开提供治疗个体的感染的方法,该方法包括向该个体施用有效量的a) 如上文或本文其他地方所述的多聚体多肽;或b) 一种或多种包含编码该多聚体多肽的核苷酸序列的重组表达载体;或c) 一种或多种包含编码该多聚体多肽的核苷酸序列的mRNA,其中该表位为病原体相关表位,其中该免疫调节多肽为活化多肽,且其中所述施用有效地选择性调节个体中病原体相关表位特异性T细胞的活性。在一些情况中,该病原体为病毒、细菌或原生动物。在一些情况中,该施用为皮下施用(即,该施用经由皮下施用进行)。在一些情况中,该施用为静脉内施用(即,该施用经由静脉内施用进行)。在一些情况中,该施用为肌肉内施用(即,该施用经由肌肉内施用进行)。在一些情况中,该施用为全身性施用。在一些情况中,该施用远离治疗部位(即,该施用经由皮下施用进行),该施用为局部施用(即,该施用经由皮下施用进行),该施用在治疗部位处或接近治疗部位。

[0048] 本公开提供一种组合物,其包含:a) 如上文或本文其他地方所述的多聚体多肽;以及b) 药学上可接受的赋形剂。

[0049] 本公开提供一种组合物,其包含:a) 如上文或本文其他地方所述的核酸或如上文或本文其他地方所述的重组表达载体;以及b) 药学上可接受的赋形剂。

[0050] 附图简述

[0051] 图1:SynTac:用于T细胞活化的人工免疫突触。左侧插图描绘用于T细胞活化的传统两信号假说。即,通过T细胞与抗原呈递细胞(APC)之间的独特TCR:MHC-表位相互作用进行的靶向T细胞接合,随后通过共刺激分子接合进行刺激或抑制。中间插图显示synTac分子的示意图,随后为synTac(右)的作用模式。类似于自然反应(左),synTac融合蛋白通过MHC-表位而允许高度特异性的细胞靶向作用。随后为T细胞调节结构域("MOD"),其经由共刺激分子接合来发挥作用,且可提供活化或抑制作用。这引发克隆而非全面性的T细胞反应。值得注意的是,MOD可以是任何已知的或经批准的抗体、抗体片段、共刺激分子或其他经文献验证的有效载荷(细胞因子、毒素等)以及新加入者。

[0052] 图2A-2C:SynTac Fc融合体构建。一种策略利用Fc融合体构建来增加相关产品的效价、稳定性和治疗窗。简单地说,该Fc区为天然共价二聚体,其通过两个相同的免疫球蛋白CH2-CH3结构域(称为Fc)的相互作用形成,并通过两个介于CH2结构域之间的二硫键(以两条细线显示)稳定化。图2A显示出单链肽MHC蛋白,其羧基端连接到IgG Fc区。为了引入替代的蛋白键合(诸如MOD),将该构建体拆分成相应的重链和轻链,并将肽和蛋白两者融合至各个末端。一种构建(图2B)导致肽的氨基端缔合至轻链(β 2微球蛋白,B2M),其后为轻链的羧基端延伸至MOD效应分子。在此情形中,重链(HLA-分子,HC)融合至Fc区。构建体通过二硫桥(标记为S-S)共价保持在一起。一种替代取向(图2C)将Fc的MOD氨基端与重链融合,而肽仍连接到B2M轻链。

[0053] 图3A-3B:两种基础synTac分子的总体设计。该构建体利用天然人B2M前导序列(LEADER)以允许有效分泌和ER加工,紧接在后为候选表位(标记为肽(PEPTIDE))。对于轻链键合(LC,图3A),这通过连接子L1与天然B2M偶联,而MOD通过连接子L2偶联。该完整盒通过猪捷申病毒-1(P2A)“自裂解”肽链接至另一B2M前导序列、MHC重链和IgG1 Fc结构域以允许每条链的化学计量表达。重链(HC,图3B)键合是类似的,然而,现在病毒P2A肽接续在B2M之

后,而MOD接续在第二前导肽之后。这两种构建体终止于8x His标签。

[0054] 图4:CRISPR/CAS介导内源性 β -2微球蛋白的敲除。设计针对内源性B2M的向导RNA,与编码CRISPR/CAS的质粒一起转染并将其培养三天。将培养后的细胞针对B2M进行表面染色,并通过荧光活化的细胞分选(FACS)进行反选(根据荧光损失进行分选)。回收分选出的细胞并进行两轮或更多轮的染色、反分选和回收(共3轮)以确保有效的敲除。经由FACS(如上所示)监测B2M的表面表达来检查最终汇集体的质量。

[0055] 图5A-5B:制备具有经工程改造的二硫键的synTac构建体并测试其活性。一个构建体(H236-L12,标记为synTac 18)被证明具高水平表达,第二个构建体(H237-L12,synTac 17)被证明具中度表达。使用dt-SCT二硫化物方案作为阳性对照(标记为synTac 2)。非还原PAGE表明形成了如预期的高分子量、经二硫键连接的部分(图5A)。将所有表达构建体规模放大成100ml、纯化并通过结合在HEK细胞(称为A6)表面上表达的同源TCR来测试活性,如通过FACS荧光所监测,表明具有正确的折叠和活性(图5B)。使用表达非同源TCR(称为AS01)的细胞作为阴性对照。

[0056] 图6A-6B:各种synTac蛋白融合体的表达。成功表达了连接synTac融合体的轻链(图6A),该synTac融合体具有各种靶向肽和具有PD-L1MOD结构域的HLA同种型,具体地讲1) HTLV-人HLA-A02、2) IGRP-鼠H2-Kd和3) TUM-鼠H2-Kd(图6B)(其为以IGRP为基础、具有各种MOD结构域的synTac融合体)、4) PD-L1的Ig可变结构域、5) 4-1BBL、6) 抗CD28单链Fv和7) B7-1W88A(图6C)(其为以IGRP为基础、具有各种MOD、以重链键合而表达的synTac融合体)、8) PD-L1和9) 抗CD28单链Fv。

[0057] 图7A-7B:TCR-synTac-PD1桥联:验证该synTac蛋白组分的完整性。使用表达同源TCR的HEK细胞(A6)作为阳性对照,生成表达非同源TCR(AS01)的细胞并与未经转导的亲代细胞一起作为阴性对照。以非荧光纯化的HTLV-PD-L1synTac变体攻击细胞并与其同源受体PD1(其融合至鼠IgG2a)一起孵育。使用经FITC标记的抗小鼠二抗检测该PD1-Fc融合体。图7A示出反应示意图,图7B示出FAC结果。如预期的那样,仅在以呈递具有PD-L1MOD的synTac的HTLV对同源(A6) HEK细胞系进行攻击时才观察到共定位荧光。值得注意的是,当对具有非同源TCR的HEK细胞或亲代细胞进行攻击时、当仅对FITC-PDL-Fc攻击时或当MOD不存在时并未观察到荧光。

[0058] 图8A-8D:作用中的SynTac:体外T细胞分析。在固定化的抗CD3抗体的存在下培养来自8.3转基因NOD小鼠的CD8+T细胞以刺激多克隆T细胞活化。以可溶形式的synTac IGRP-PD-L1(图8A)或synTac TUM-PD-L1(图8C)处理经刺激的培养物以检查具有任何抑制效应的抗原特异性。一种形式的无PD-L1的synTac IGRP(图8B)充当MOD结构域的效应子对照。在接种前,以羧基荧光素琥珀酰亚胺酯(CFSE)标记细胞以便监测经T细胞活化所诱导的细胞增殖的程度。第5天收获细胞并使用流式细胞术检查活力和增殖。还使用多重流式细胞术微珠分析检查了上清液中CD8+T细胞效应子细胞因子IFN γ 和TNF α 的表达。所检查的所有CD8+T细胞活化参数均以抗原特异性和效应子(即,MOD)结构域依赖性方式受到抑制(图8D)。

[0059] 图9A-9F提供synTac多肽的氨基酸序列和结构域结构。

[0060] 图10A-10C描绘用于4-1BBL三聚体表达的构建体。天然4-1BBL胞外域(残基50-254)的单体形式的图示(图10A),显示了膜近侧(Memb Prox,MP)和TNF同源性(TNF-H)结构域;(图10B) 4-1BBL二聚体synTac;以及(图10C) 4-1BBL synTac的全活性双三聚体形式,该

三聚体形式通过共表达传统的synTac构建体与不具有亲和标签的“游离”4-1BBL胞外域(残基50-254,图10A)而产生。所有构建体一起在哺乳动物细胞中表达时组装。通过Fc区进行纯化(蛋白A/G),随后进行尺寸排阻,从而允许4-1BBL三聚体synTac从游离BBL分离。

[0061] 图11A-11B.具有三聚体4-1BBL的synTac蛋白的多角度光散射(MALS)分析。(图11A)通过MALS鉴定的主要种类的分子量,显示了多个独立测量的实例。(图11B)来自synTac 40+51的MALS的代表性曲线,其具有相对高水平的光散射和低紫外(UV)吸收,反映出存在少量高分子量蛋白。低分子量缓冲组分导致折射率的巨大变化(正或负),而UV吸收无相关变化。

[0062] 图12.SynTac 4-1BBL受体结合。用重组人或小鼠4-1BB-Fc融合蛋白将蛋白A微珠包被至饱和,并用于结合具有4-1BB配体(二聚体和三聚体)的synTac构建体(作为共调节结构域),接着是对synTac重链同种型有特异性的荧光检测抗体。然后,通过高通量流式细胞术测量synTac 4-1BBL特异性结合到珠源性4-1BB的程度。使用此系统,探索了在synTac支架的背景下,4-1BBL对人和鼠4-1BB两者的交叉反应性程度和相对亲和力。具有4-1BBL的synTac经证实结合到同源受体,但不结合到“无受体”(被称为无MOD)的Fc结合微珠,表明为折叠良好且具有活性的蛋白试剂。值得注意的是,该三聚体以双重三聚体接合所预期的亲和力范围结合,而原始二聚体显示出结合亲和力降低10倍,且所有构建体在鼠与人受体之间发生交叉反应。

[0063] 图13.在固定化抗CD3抗体的存在下培养来自8.3转基因NOD小鼠的CD8⁺T细胞以刺激多克隆T细胞活化。将经刺激的培养物分别以可溶性形式的synTac TUM-41BBL(A)或synTac IGRP-41BBL(B和C)处理以检查任何刺激作用的抗原特异性。对照处理为单独的培养基(-CNTRL)或固定化的抗CD3(+CNTRL)对基准反应幅度。用羧基荧光素琥珀酰亚胺酯(CFSE)标记细胞以便监测由T细胞活化诱导的细胞增殖程度。4天后,收获细胞并使用流式细胞术检查活力和增殖。还使用多重流式细胞术微珠分析检查了上清液中CD8⁺T细胞效应子细胞因子IFN γ 和TNF α 的表达。检查的所有CD8⁺T细胞活化参数均以抗原特异性和效应子(即,MOD)结构域依赖方式被活化。

[0064] 图14.单剂量体内T细胞刺激分析。经腹膜内为NOD小鼠注射synTac IGRP-41BBL、synTac TUM-41BBL或PBS。注射后6天,处死小鼠并使用适当的肽-MHC五聚体染料,经由流式细胞术检查脾细胞的IGRP特异性CD8T细胞的相对频率。相对于对照,IGRP-41BBL处理与IGRP特异性CD8T细胞的频率高出很多相关,从而支持由单剂量引起的明显体内扩增。

[0065] 图15.多剂量体内T细胞刺激分析。在两周的期间内,经腹膜内为NOD小鼠注射三个synTac IGRP-41BBL、synTac TUM-41BBL或PBS剂量。注射后7天,处死小鼠并使用适当的肽-MHC五聚体染料,经由流式细胞术检查PBMC(来自血液)的IGRP-特异性CD8T细胞的相对频率。相对于对照,IGRP-41BBL处理与IGRP特异性CD8T细胞的频率高出很多相关,从而支持由多剂量引起的明显体内扩增,包括罕见的肿瘤特异性T细胞(TUM)。

[0066] 图16A-16B.4-1BBL三聚体表达的优化构建体的示意图。二硫键锁定(图16A,DL)和单链三聚体(图16B,SCT)。

[0067] 图17.SynTac 4-1BBL受体结合。用重组人或小鼠4-1BB-Fc融合蛋白将蛋白A微珠包被至饱和并用于结合具有4-1BB配体(二硫键锁定的三聚体(69、70和71)和单链三聚体(SCT))的synTac构建体(作为共调节结构域),接着是对synTac重链同种型有特异性的荧光

检测抗体。所显示的天然三聚体为结合对照(三聚体)。然后,通过高通量流式细胞术测量 synTac 4-1BBL 特异性结合珠源性4-1BB 的程度。具有4-1BBL的synTac经证实结合到同源受体,但不结合“无受体”(被称为无MOD)的Fc结合微珠,表明为折叠良好且具有活性的蛋白试剂。所有构建体在鼠与人受体之间发生交叉反应。

[0068] 图18.经优化的4-1BBL构建体的表达验证。通过共表达而产生的SynTac,其具有原始4-1BBL调节子(synTac40/51,无二硫键锁定,标记为“0”(用于表示原始));以及三个含有经工程改造的二硫键锁定从而限制三聚体构型的经优化的构建体。每个构建体中有两个天然残基被半胱氨酸残基取代(Q94C:P245C(在凝胶中标记为“DL1”)、Q94C:P242C“DL2”和Q89C:L115C“DL3”,分别称为synTac 69、70和71),其在人细胞中与具有该相同突变(分别称为98、99、100)的“游离”非标记形式共表达以允许在细胞中共价锁定。在非还原性SDS-PAGE分析中通过释放的(非共价结合的)“游离”4-1BBL的量来观察二硫化物键合程度。游离BBL将迁移到~20kDa (BOX),从而确认经工程改造的构建体的二硫键锁定。携带单链三聚体形式(SCT)的4-1BBL的SynTac还显示出以下亲和力和凝胶过滤纯化(标记为“SCT”)。通过多角度光散射(MALS)证实了准确的质量。

[0069] 图19A-19I.本公开的synTac构建体的实施方案的示意图。图19A-19C分别描绘相对于图2A-2C所述的构建体。在图19B和19C中,描绘了P2A未裂解的多肽(顶部),和描绘了经裂解的多肽(通过P2A介导的自裂解)(底部),其具有如图所示的由半胱氨酸取代(*)介导的二硫键(SS)。图19D-19F分别描绘上文相对于图8A-8C所述的构建体;在图19D-19F的各图中,P2A未裂解形式描绘于上方(顶部),P2A介导的自裂解多肽(底部)具有如图所示的由半胱氨酸取代(*)介导的二硫键(SS)。图19G描绘相对于图9B的synTac40构建体的一般化形式,图中示出了未裂解的(顶部)和自裂解的/二硫键键合的(底部)多肽。图19H描绘相对于图9C-9E的synTac69、synTac70和synTac71构建体的一般化形式,图中示出了未裂解的(顶部)和自裂解的/二硫键键合的(底部)多肽,还指出(*)4-1BBL结构域中另外的半胱氨酸取代。图19I描绘相对于图9F的synTac 4-1BBL单链三聚体(SCT)的一般化形式,图中示出了未裂解的(顶部)和自裂解的/二硫键键合的(底部)多肽。

[0070] 图20提供来自智人(Homo sapiens)(NP_004039.1;SEQ ID NO:78)、黑猩猩(Pan troglodytes)(NP_001009066.1;SEQ ID NO:79)、猕猴(Macaca mulatta)(NP_001040602.1;SEQ ID NO:80)、普通牛(Bos Taurus)(NP_776318.1;SEQ ID NO:81)和小家鼠(Mus musculus)(NP_033865.2;SEQ ID NO:82)的 β -2微球蛋白(B2M)前体(即,包括前导序列)的多个氨基酸序列比对。

[0071] 图21提供SEQ ID NO:6的构建体的结构域结构。

[0072] 图22提供SEQ ID NO:7的构建体的结构域结构。

[0073] 图23描绘体内施用synTac IGRP-PDL1、synTac TUM-PDL1或磷酸盐缓冲生理盐水(PBS)对IGRP特异性CD8⁺T细胞频率的影响。

[0074] 图24A-24C提供免疫球蛋白Fc多肽的氨基酸序列。

[0075] 图25A-25C提供人白细胞抗原(HLA) I类重链多肽的氨基酸序列。

[0076] 图26A-26B提供PD-L1多肽的氨基酸序列。

[0077] 图27提供4-1BBL多肽的氨基酸序列。

[0078] 图28提供ICOS-L多肽的氨基酸序列。

[0079] 图29提供OX40L多肽的氨基酸序列。

[0080] 图30提供PD-L2多肽的氨基酸序列。

[0081] 图31提供CD80 (B7-1) 多肽的氨基酸序列。

[0082] 图32提供CD86 (B7-2) 多肽的氨基酸序列。

[0083] 图33提供Fas配体 (FAS-L) 多肽的氨基酸序列。

[0084] 图34A-34H提供本公开的synTac构建体的实施方案的示意图,其中示出了由半胱氨酸取代(*)介导的二硫键(SS)。在这些实施方案中,二硫键在存在于单独的多肽中的MHC (例如HLA) 多肽之间形成。

[0085] 定义

[0086] 如本文所用的“前导序列”包括可由哺乳动物细胞处理的任何信号肽,包括人B2M前导序列。此类序列为本领域熟知的。

[0087] 除非另外具体指明,否则如本文关于例如元件A和元件B所用的“邻接”意指元件A与元件B相邻且结合至元件B,优选地,经由共价键。例如,对于邻接第二氨基酸序列的第一氨基酸序列而言,第一氨基酸序列的C端可通过肽键连接到第二氨基酸序列的N端。

[0088] 本文中术语“肽”、“多肽”和“蛋白”可互换使用,且指任何长度的聚合形式的氨基酸,其可包括编码和非编码的氨基酸、经化学或生物化学修饰或衍生的氨基酸以及具有经修饰的肽主链的多肽。该术语还包括具有共翻译(例如信号肽裂解)的多肽和该多肽的翻译后修饰,比如二硫键形成、糖基化、乙酰化、磷酸化、蛋白水解裂解等。此外,如本文所用的“多肽”是指包括修饰的蛋白,例如天然序列的缺失、添加和取代(通常为本领域的技术人员已知的保守性质的取代),只要该蛋白维持所需的活性即可。这些修饰可以为有意的(如通过定点诱变的)或可以为偶然的(诸如通过产生该蛋白的宿主的突变或由于PCR扩增或其他重组DNA方法产生的错误)。

[0089] 如本文所用的用于描述核酸分子的术语“重组”是指基因组、cDNA、病毒、半合成和/或合成来源的多核苷酸,由于该多核苷酸的起源或操纵,该多核苷酸不与其天然相关的所有或一部分多核苷酸序列相关。如本文关于蛋白或多肽所用的术语“重组”是指通过重组多核苷酸的表达而制备的多肽。如本文关于宿主细胞或病毒所用的术语“重组”是指其中已引入重组多核苷酸的宿主细胞或病毒。本文中关于物质(例如细胞、核酸、蛋白或载体)所用的术语“重组”还指已通过引入异源物质(例如细胞、核酸、蛋白或载体)而修饰的物质。

[0090] 本文中术语“多核苷酸”、“寡核苷酸”、“核酸”和“核酸分子”可互换使用以包括聚合形式的核苷酸,不论是核糖核苷酸还是脱氧核糖核苷酸。该术语仅指分子的一级结构。因此,该术语包括三链、双链和单链DNA,以及三链、双链和单链RNA。该术语还包括具有修饰的此类分子(诸如通过甲基化和/或通过加帽而修饰的)和未修饰形式的多核苷酸。更具体地讲,术语“多核苷酸”、“寡核苷酸”、“核酸”和“核酸分子”包括多聚脱氧核苷酸(含有2-脱氧-D-核糖),多聚核糖核苷酸(含有D-核糖),任何其他类型的为嘌呤或嘧啶碱基的N-或C-糖苷的多核苷酸,和含有非核苷酸主链、聚合物的其他聚合物,以及其他合成序列特异性核酸聚合物,前提条件是该聚合物含有核碱基,该核碱基的构型允许碱基配对和碱基堆积,诸如在DNA和RNA中所发现的。

[0091] 如本文所用的术语“载体”是指能够将核酸序列转移至靶细胞的媒介物。例如,载体可包含能够在靶细胞中表达的编码序列。如本文所用的“载体构建体”、“表达载体”和“基

“因转移载体”通常是指能够指导所关注基因的表达且可用于将所关注基因转移到靶细胞的任何核酸构建体。因此,该术语包括克隆和表达媒介物,以及整合载体和非整合载体。因此,载体能够将核酸序列转移到靶细胞,且在一些情况中,载体用于操纵核酸序列,例如重组核酸序列(即,用于制备重组核酸序列)等。出于本公开的目的,载体的实例包括但不限于质粒、噬菌体、转座子、粘粒、病毒等。

[0092] 如本文所用的“表达盒”包含能够指导任何RNA转录物(包括所关注的基因/编码序列以及非翻译的RNA)表达的任何核酸构建体。此类盒可被构建成“载体”、“载体构建体”、“表达载体”或“基因转移载体”以将该表达盒转移到靶细胞中。因此,该术语包括克隆和表达载体,以及病毒载体。表达盒的转录物可稳定或瞬时表达,且可从整合到宿主基因组(以靶向或非靶向方式)中的盒进行表达,或根据需保持未整合的。

[0093] “可操作地连接”是指并置,其中所描述的组分处于允许它们以其预期方式发挥作用的关系。例如,如果启动子影响编码序列的转录或表达,则该启动子可操作地连接到该编码序列。如本文所用的术语“异源启动子”和“异源控制区”是指在自然界中通常不与特定核酸相关联的启动子及其他控制区。例如,“对编码区为异源的转录控制区”是在自然界中通常不与该编码区相关联的转录控制区。

[0094] 如本文所用的术语“免疫性突触”或“免疫突触”通常是指介于适应性免疫反应的两个相互作用免疫细胞之间的天然界面,包括例如介于抗原呈递细胞(APC)或靶细胞与效应子细胞(例如淋巴细胞、效应T细胞、天然杀伤细胞等)之间的界面。介于APC与T细胞之间的免疫性突触通常通过T细胞抗原受体和主要组织相容性复合体分子之间的相互作用引发(例如,如Bromley等人,Annu Rev Immunol.2001;19:375-96中所述;其公开内容以引用方式整体并入本文)。

[0095] 如本文所用,关于核酸序列、蛋白或多肽所用的术语“异源的”意指这些分子并非天然存在于该异源核酸序列、蛋白或多肽所源自的细胞中。例如,被插入非人细胞的细胞中的编码人多肽的核酸序列在此特定背景中为异源核酸序列。虽然异源核酸可源自不同的生物体或动物物种,但是此类核酸不需要源自为异源的单独的生物物种。例如,在一些情况中,合成的核酸序列或由其编码的多肽对引入此核酸序列或由其编码的多肽的细胞而言可以是异源的,因为该细胞之前并未包含该合成的核酸。因此,合成的核酸序列或由其编码的多肽对人细胞而言可被认为是异源的,例如,即使该合成的核酸序列或由其编码的多肽中的一种或多种组分最初源自人细胞。

[0096] 如本文所用的“宿主细胞”是指体内或体外的真核细胞或来自以单细胞实体培养的多细胞生物体(例如细胞系)的细胞,该真核细胞可以为或已用作核酸(例如,包含编码本公开的多聚体多肽的核苷酸序列的表达载体)的接受者,且包括已通过该核酸遗传修饰的原始细胞的子代。应当理解的是,由于天然、偶然或有意的突变,单细胞的子代在形态或在基因组或全部DNA互补序列上不一定与原始亲代完全相同。“重组宿主细胞”(也称为“经遗传修饰的宿主细胞”)是其中已经引入异源核酸(例如表达载体)的宿主细胞。例如,经遗传修饰的真核宿主细胞因将异源核酸(例如,对该真核宿主细胞而言为外来的外源核酸,或通常不会在真核宿主细胞中找到的重组核酸)引入合适的真核宿主细胞而遗传修饰。

[0097] 在一些情况中,核酸或氨基酸序列(包括多肽和编码多肽的核酸)基于“序列相似性”或“序列同一性”(例如,与一个或多个参考序列相比)而被提及。在其他情况下,突变体

或变体序列可基于与一个或多个参考序列的比较而被提及。对于序列比较,通常一个序列作为参考序列,再将测试序列与其进行比较。当使用序列比较算法时,将测试和参考序列输入计算机中,必要时指定子序列坐标,并指定序列算法程序参数。然后,该序列比较算法基于指定的程序参数来计算该测试序列相对于参考序列的序列同一性百分比。

[0098] 当必要或需要时,可进行用于比较的序列最佳比对,例如通过Smith和Waterman的局部同源性算法(Adv. Appl. Math. 2:482 (1981), 其以引用方式并入本文)、通过Needleman和Wunsch的同源性比对算法(J. Mol. Biol. 48:443-53 (1970), 其以引用方式并入本文)、通过Pearson和Lipman的相似性搜索方法(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444-48 (1988), 其以引用方式并入本文)、通过计算机执行些算法(例如在Wisconsin Genetics软件包中的GAP、BESTFIT、FASTA和TFASTA, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.)或通过目视检查。(一般参见Ausubel等人(编), Current Protocols in Molecular Biology, 第4版, John Wiley and Sons, New York (1999))。

[0099] “T细胞”包括所有类型的表达CD3的免疫细胞,包括T辅助细胞(CD4⁺细胞)、细胞毒性T细胞(CD8⁺细胞)、T调节细胞(Treg)和NK-T细胞。

[0100] 本文中所用的术语“共刺激配体”包括在抗原呈递细胞(例如APC、树突细胞、B细胞等)上的分子,其特异性结合T细胞上的同源共刺激分子,从而在例如由TCR/CD3复合物与载有肽的MHC分子结合所提供的主信号之外,还提供介导T细胞反应的信号,该T细胞反应包括但不限于增殖、活化、分化等。共刺激配体可包括但不限于CD7、B7-1 (CD80)、B7-2 (CD86)、PD-L1、PD-L2、4-1BBL、OX40L和Fas配体(FasL)、诱导型共刺激配体(ICOS-L)、细胞间粘附分子(ICAM)、CD30L、CD40、CD70、CD83、HLA-G、MICA、MICB、HVEM、淋巴毒素B受体、3/ TR6、ILT3、ILT4、HVEM、结合Toll配体受体的激动剂或抗体以及特异性结合B7-H3的配体。除其他的以外,共刺激配体还涵盖特异性结合在T细胞上呈递的共刺激分子的抗体,诸如但不限于CD27、CD28、4-1BB、OX40、CD30、CD40、PD-1、ICOS、与淋巴细胞功能相关的抗原-1 (LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3和特异性结合CD83的配体。

[0101] 术语“纯化”、“分离”等是指从含有不希望的物质(例如污染物)的溶液中移出所需物质(例如重组蛋白)或从含有所需物质的溶液中除去不希望的物质,从而基本上只留下所需物质。在一些情况中,纯化的物质可基本上不含其他物质,例如污染物。如本文所用的纯化可指一系列不同的所产生的纯度,例如其中该纯化的物质占溶液中所有物质的80%以上,包括85%以上、90%以上、91%以上、92%以上、93%以上、94%以上、95%以上、96%以上、97%以上、98%以上、99%以上、99.5%以上、99.9%以上等。如本领域的技术人员将理解的是,一般而言,当确定物质的纯度时,不考虑溶液组分本身,例如水或缓冲液或盐。

[0102] 如本文所用的术语“治疗”等是指获得所需的药理学和/或生理学效果。就完全或部分预防疾病或其症状而言,该效果可以是预防性的和/或就部分或完全治愈疾病和/或归因于该疾病的不利影响而言,该效果可以为治疗性的。如本文所用的术语“治疗”涵盖在哺乳动物中(例如在人中)的任何疾病的治疗,且包括:(a) 预防疾病在可能易患该疾病,但尚未被诊断已患有该疾病的受试者中发生;(b) 抑制该疾病,即,阻止其发展;以及(c) 缓解该疾病,即,使该疾病消退。

[0103] 本文中可互换使用的术语“个体”、“受试者”、“宿主”和“患者”是指哺乳动物,包括但不限于鼠(例如大鼠、小鼠)、兔形目动物(例如兔子)、非人灵长类、人、犬、猫、有蹄动物

(例如马、牛、绵羊、猪、山羊)等。

[0104] “治疗有效量”或“有效量”是指一种药剂的量或两种药剂的组合量在施用给哺乳动物或其他受试者以用于治疗疾病时足以实现此类用于疾病的治疗。“治疗有效量”将根据该药剂、疾病及其严重性以及接受治疗的受试者的年龄、体重等而变化。

[0105] 在进一步描述本发明前,应当理解的是,本发明并不限于所描述的特定实施方案,因为这些实施方案当然可能会有变化。还应当理解的是,本文所用的术语仅用于描述特定实施方案,且无意进行限制,因为本发明的范围仅由所附权利要求书限定。

[0106] 当提供值的范围时,应当理解的是,除非上下文另有明确说明,否则在该范围的上限和下限之间的各居间值(到该下限单位的十分之一)和该陈述范围内的任何其他陈述的值或居间值均包括在本发明之内。这些较小范围的上限和下限可独立地包含在该较小的范围内,并且也包括在本发明内,受制于该陈述的范围中任何被具体排除的限值。当该陈述的范围包括一个或两个限值时,排除一个或两个那些被包括在内的限值的范围也包括在本发明中。

[0107] 除非另外定义,否则本文所用的所有技术和科学术语均具有与本发明所属领域的普通技术人员所普遍理解的相同含义。虽然也可使用与本文所述的类似或等同的任何方法和材料来实践或检验本发明,但现在描述优选的方法和材料。本文所提及的所有出版物均以引用方式并入本文,以公开和描述与该出版物所列出的相关的方法和/或材料。

[0108] 必须注意的是,除非上下文另有明确说明,否则如本文和所附权利要求中所用的单数形式“一个/种”和“该/所述”也包括复数指代。因此,例如,提及“一种多聚体多肽”也包括多种这样的多肽,而提及“该免疫调节多肽”也包括提及一种或多种免疫调节多肽及其本领域技术人员已知的等同物。要进一步指明的是,权利要求可拟定为排除任何任选的要素。因此,该陈述旨在作为与权利要求要素的叙述相关而使用诸如“单独地”、“仅”等排他性术语时的前置基础或使用“否定”限制时的前置基础。

[0109] 可以认识到,为了清楚起见而在单独实施方案的背景下描述的本发明的某些特征也可在单个实施方案中以组合方式提供。相反地,为了简单起见而在单个实施方案的背景下描述的本发明的各种特征也可分别提供或以任何合适的子组合提供。与本发明有关的实施方案的所有组合被明确涵盖在本发明中且在本文中公开,如同各个和每一组合被单独且明确地公开一样。此外,各种实施方案及其要素的所有子组合也明确涵盖在本发明中且在本文中公开,如同各个和每一子组合被单独且明确地在本文中公开一样。

[0110] 本文所讨论的公开案仅提供其先于本申请的申请日前的公开内容。本文没有任何内容可被解释为承认本发明没有权利因在先发明而先于此公开案。另外,所提供的公开日期可能不同于实际的公开日期,实际的公开日期可能需要独立地确认。

[0111] 发明详述

[0112] 本文描述重现传统免疫反应的新的基于蛋白的治疗平台,即用于T细胞活化的人工免疫突触(synTac)。一种新的融合蛋白,其将共刺激分子连接到MHC表位,以根据MOD分子部分允许精确的T细胞接合和克隆T细胞活化或抑制。

[0113] 多聚体多肽

[0114] 本公开提供多聚体(例如异源二聚体、异源三聚体)多肽。本公开提供本公开的多聚体多肽的多聚蛋白前体。本公开提供前体基因产物,例如本公开的多聚体多肽的多聚蛋

白前体,以及编码本公开的多聚体多肽的两条或更多条多肽链的mRNA基因产物。

[0115] 本发明还提供重组多肽构建体,其包含(i)结合至第一氨基酸连接子序列的候选表位肽,该第一氨基酸连接子序列邻接包含与人天然B2M肽序列相同的序列的氨基酸序列,该包含与人天然B2M肽序列相同的序列的氨基酸序列邻接第二氨基酸连接子序列,该第二氨基酸连接子序列邻接T细胞调节结构域肽,其中(i)通过一个或一个以上的二硫键结合到(ii)具有MHC重链序列的氨基酸序列,该具有MHC重链序列的氨基酸序列邻接第三氨基酸连接子序列,该第三氨基酸连接子序列邻接与免疫球蛋白Fc结构域相同的氨基酸序列。在一个实施方案中,该重组多肽构建体包含

[0116] LLFGYPVYVGC GSGGGSGGGGSIQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGE
RIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTTEKDEYACRVNHVTLSPKIVKWDRDMGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSF
TITAPKDLVVEYGSNVTMECRFPVERELDLLALVVYWEKEDEQVIQFVAGEEDLKPQHSNFRGRASLPKDQLKKG
NAALQITDVKLQDAGVYCCIIISYGGADYKRITLKVNPYRKINQRISVDPATSEHELICQAEGYPEAEVIWTNSDH
QPVSGKRSVTTSRTEGMLLNVTSSLRVNATANDVFYCTFWRSQPGQNHTAELIIPELPATHPPQNRTSGSGATNFS
LLKQAGDVEENPGPMSRSVALAVLALLSLSGLEAGSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFSDAAS
QRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRQVKAHSQTHRVDLGTLRGYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGS DWRFLRGYHQYAY
DGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRLYENGKETLQRTDAPKTHMTHHAV
SDHEATLRCWALSFPYAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDGTQKWA AVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPL
TLRWEPAAGGDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYT
QKSLSLSPGKGGSHHHHHHHH (SEQ ID NO:6)。

[0117] 本发明还提供重组多肽构建体,其包含(i)结合至第一氨基酸连接子序列的候选表位肽,该第一氨基酸连接子序列邻接包含与人天然B2M肽序列相同的序列的氨基酸序列,其中(i)通过一个或一个以上的二硫键结合到(ii) T细胞调节结构域肽,该T细胞调节结构域肽邻接第二氨基酸连接子序列,该第二氨基酸连接子序列邻接具有MHC重链序列的氨基酸序列,该具有MHC重链序列的氨基酸序列邻接第三氨基酸连接子序列,该第三氨基酸连接子序列邻接与免疫球蛋白Fc结构域相同的氨基酸序列。在一个实施方案中,该重组多肽构建体包含

[0118] LLFGYPVYVGC GSGGGSGGGGSIQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGE
RIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTTEKDEYACRVNHVTLSPKIVKWDRDMGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
SGGATNFSLLKQAGDVEENPGPMSRSVALAVLALLSLSGLEAFTITAPKDLVVEYGSNVTMECRFPVERELDLLA
LVVYWEKEDEQVIQFVAGEEDLKPQHSNFRGRASLPKDQLKGNAAALQITDVKLQDAGVYCCIIISYGGADYKRITL
KVNPYRKINQRISVDPATSEHELICQAEGYPEAEVIWTNSDHQPVSGKRSVTTSRTEGMLLNVTSSLRVNATAND
VFYCTFWRSQPGQNHTAELIIPELPATHPPQNRTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRF
IAVGYVDDTQFVRFSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRQVKAHSQTHRVDLGTLRGYNQSEAGSHTVQRM
YGC DVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRLYEN
GKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDGTQKWA AVVVP
SGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEPAAGGDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV
VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG

QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFCSCVMHEALHNYHTQKSLSLSPGKGGSHHHHHHHH (SEQ ID NO:7)。

[0119] 本发明还提供包含两个本文所述的重组多肽构建体的蛋白,该两个重组多肽构建体通过一个或多个介于相应免疫球蛋白Fc结构域之间的二硫键连接。

[0120] 本发明还提供包含两个本文所述的重组多肽构建体的蛋白,该两个重组多肽构建体通过一个或多个介于相应免疫球蛋白Fc结构域之间的二硫键连接。

[0121] 本发明还提供synTac平台:用于靶向T细胞活化的人工免疫突触。

[0122] 在一个实施方案中, β 2微球蛋白具有与人 β 2微球蛋白相同的序列。在一个实施方案中,组织相容性复合重链序列具有与人HLA-A序列相同的序列。在一个实施方案中,组织相容性复合体重链跨膜结构域具有与人主要组织相容性复合体I (MHC I) 重链跨膜结构域相同的序列。在一个实施方案中,组织相容性复合体重链跨膜结构域具有与人主要组织相容性复合体II (MHC II) 重链跨膜结构域相同的序列。

[0123] 本发明还提供包含多个构建体的组合物。

[0124] 在一个实施方案中,候选表位肽为8、9、10、11或12个氨基酸的肽。在一个实施方案中,候选表位肽为13、14、15、16或17个氨基酸的肽。在一个实施方案中,候选表位肽为九聚体(长度为9个氨基酸)。

[0125] 本公开提供包含两条或更多条(例如2、3、4或更多条)多肽链的多聚体多肽。在一些情况中,本公开的多聚体多肽包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) 表位; ii) 第一主要组织相容性复合体 (MHC) 多肽;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) 第二MHC多肽;和ii) 任选地免疫球蛋白 (Ig) Fc多肽或非Ig支架,其中该多聚体多肽包含一个或多个免疫调节结构域,其中该一个或多个免疫调节结构域:A) 位于第一多肽的C端; B) 位于第二多肽的N-端; C) 位于第二多肽的C端;或D) 位于第一多肽的C端和第二多肽的N端。

[0126] 在一些情况中,本公开的多聚体多肽包含第一多肽和第二多肽,其中该第一多肽按从氨基端(N端)至羧基端(C端)的顺序包含:a) 表位(例如T细胞表位); b) 第一主要组织相容性复合体 (MHC) 多肽和c) 免疫调节多肽;且其中该第二多肽按从N端至C端的顺序包含:a) 第二MHC多肽;和b) 免疫球蛋白 (Ig) Fc多肽。在其他情况中,本公开的多聚体多肽包含第一多肽和第二多肽,其中该第一多肽按从N端至C端的顺序包含:a) 表位(例如T细胞表位); 和b) 第一MHC多肽;且其中该第二多肽按从N端至C端的顺序包含:a) 免疫调节多肽;b) 第二MHC多肽;和c) Ig Fc多肽。在一些情况中,该第一和第二MHC多肽为MHC I类多肽;例如,在一些情况中,该第一MHC多肽为MHC I类多肽 β 2微球蛋白 (B2M) 多肽且该第二MHC多肽为MHC I类重链(H链)。在其他情况中,该第一和第二MHC多肽为MHC II类多肽;例如,在一些情况中,该第一MHC多肽为MHC II类 α -链多肽,且该第二MHC多肽为MHC II类 β -链多肽。在其他情况中,该第一多肽为MHC II类 β -链多肽,且该第二MHC多肽为MHC II类 α -链多肽。在一些情况中,该多聚体多肽包含两个或更多个免疫调节多肽。当本公开的多聚体多肽包含两个或更多个免疫调节多肽时,在一些情况中,该两个或更多个免疫调节多肽存在于相同多肽链中,且可以为串联的。当本公开的多聚体多肽包含两个或更多个免疫调节多肽时,在一些情况中,该两个或更多个免疫调节多肽存在于单独的多肽中。在一些情况中,本公开的多聚体多肽为异源二聚体。在一些情况中,本公开的多聚体多肽为三聚体多肽。

[0127] 在一些情况中,本公开的多聚体多肽包含:a)第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i)表位;和ii)第一MHC多肽;以及b)第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i)第二MHC多肽;和ii)Ig Fc多肽;以及iii)免疫调节结构域。在一些情况中,本公开的多聚体多肽包含:a)第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i)表位;和ii)第一MHC多肽;以及b)第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i)第二MHC多肽;和ii)免疫调节结构域。在一些情况中,本公开的多聚体多肽包含:a)第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i)表位;和ii)第一MHC多肽;以及b)第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i)免疫调节结构域;和ii)第二MHC多肽。在一些情况中,本公开的多聚体多肽包含:a)第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i)表位;ii)第一MHC多肽;和iii)免疫调节结构域;以及b)第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i)第二MHC多肽。在一些情况中,当本公开的多聚体多肽包含非Ig支架时,该非Ig支架为XTEN多肽、转铁蛋白多肽、Fc受体多肽、弹性蛋白样多肽、丝样多肽或丝-弹性蛋白样多肽。

[0128] 在一些情况中,本公开的多聚体多肽为单价的。在一些情况中,本公开的多聚体多肽为多价的。例如,根据存在于本公开的多聚体多肽中的Fc多肽,该多聚体多肽可以为同型二聚体,其中该多聚体多肽的两个分子存在于该同型二聚体中,其中该多聚体多肽的两个分子可以例如经由存在于两个分子中的Fc多肽由二硫键彼此连接。又如,本公开的多聚体多肽可包含该多聚体多肽的三、四或五个分子,其中该多聚体多肽的分子可以例如经由存在于该分子中的Fc多肽由二硫键彼此连接。

[0129] 连接子

[0130] 本公开的多聚体多肽可包含例如插入表位与MHC多肽之间、MHC多肽与免疫调节多肽之间或MHC多肽与Ig Fc多肽之间的连接子肽。

[0131] 合适的连接子(也称为“间隔子”)可容易地选择且可具有任何多种合适的长度,诸如从1个氨基酸(例如Gly)至20个氨基酸、从2个氨基酸至15个氨基酸、从3个氨基酸至12个氨基酸,包括4个氨基酸至10个氨基酸、5个氨基酸至9个氨基酸、6个氨基酸至8个氨基酸或7个氨基酸至8个氨基酸,且可以为1、2、3、4、5、6或7个氨基酸。

[0132] 示例性连接子包括甘氨酸聚合物($(G)_n$ 、甘氨酸-丝氨酸聚合物(包括,例如 $(GS)_n$ 、 $(GSGGS)_n$ (SEQ ID NO:8)和 $(GGGS)_n$ (SEQ ID NO:9),其中n为至少1的整数)、甘氨酸-丙氨酸聚合物、丙氨酸-丝氨酸聚合物和本领域中已知的其他柔性连接子。可使用甘氨酸和甘氨酸-丝氨酸聚合物;Gly和Ser两者均为相对非结构化的,因此可以作为组分之间的中性链。可使用甘氨酸聚合物;甘氨酸甚至比丙氨酸更明显接近phi-psi空间,且比具有较长侧链的残基受到的限制少得多(参见Scheraga, Rev. Computational Chem. 11173-142 (1992))。示例性连接子可包含包括但不限于GGSG (SEQ ID NO:10)、GGSGG (SEQ ID NO:11)、GSGSG (SEQ ID NO:12)、GSGGG (SEQ ID NO:13)、GGGSG (SEQ ID NO:14)、GSSSG (SEQ ID NO:15)等的氨基酸序列。

[0133] 在一些情况中,存在于本公开的多聚体多肽的第一多肽中的连接子多肽包括可与存在于本公开的多聚体多肽的第二多肽中的半胱氨酸残基形成二硫键的半胱氨酸残基。例如,在一些情况中,合适的连接子包含氨基酸序列GCGASGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:16)。

[0134] 表位

[0135] 存在于本公开的多聚体多肽中的表位可具有约4个氨基酸至约25个氨基酸的长

度,例如该表位可具有4个氨基酸(aa)至10aa、10aa至15aa、15aa至20aa或20aa至25aa的长度。例如,存在于本公开的多聚体多肽中的表位可具有4个氨基酸(aa)、5aa、6aa、7aa、8aa、9aa、10aa、11aa、12aa、13aa、14aa、15aa、16aa、17aa、18aa、19aa、20aa、21aa、22aa、23aa、24aa或25aa的长度。在一些情况中,存在于本公开的多聚体多肽中的表位具有5个氨基酸至10个氨基酸,例如5aa、6aa、7aa、8aa、9aa或10aa的长度。

[0136] 存在于本公开的多聚体多肽中的表位与T细胞特异性结合,即,该表位与表位特异性T细胞特异性结合。表位特异性T细胞结合具有参考氨基酸序列的表位,但基本上不结合与该参考氨基酸序列不同的表位。例如,表位特异性T细胞结合具有参考氨基酸序列的表位,如果结合与该参考氨基酸序列不同的表位的话则以低于 10^{-6} M、低于 10^{-5} M或低于 10^{-4} M的亲和力与之结合。表位特异性T细胞可以以至少 10^{-7} M、至少 10^{-8} M、至少 10^{-9} M或至少 10^{-10} M的亲和力结合其特异性表位。

[0137] 表位的非限制性实例包括例如人嗜T淋巴细胞病毒-1表位LLFGYPVYV (SEQ ID NO: 17);肿瘤表位KYQAVTTTL (SEQ ID NO:18);和胰岛特异性葡萄糖-6-磷酸酶催化亚基相关蛋白(IGRP)表位VYLKTNVFL (SEQ ID NO:19)或TYLKTNLFL (SEQ ID NO:20)。Yang等人(2006) J. Immunol. 176:2781。

[0138] MHC多肽

[0139] 如上所述,本公开的多聚体多肽包括MHC多肽。出于本公开的目的,术语“主要组织相容性复合体(MHC)多肽”意图包括各种物种的MHC多肽,包括人MHC(也称为人白细胞抗原(HLA))多肽、啮齿动物(例如小鼠、大鼠等)MHC多肽及其他哺乳动物物种(例如兔形目动物、非人灵长类、犬、猫、有蹄动物(例如马、牛、绵羊、山羊等)等的MHC多肽。术语“MHC多肽”意图包括MHC I类多肽(例如 β -2微球蛋白和MHC I类重链)和MHC II类多肽(例如MHC II类 α 多肽和MHC II类 β 多肽)。

[0140] 如上所述,在本公开的多聚体多肽的一些实施方案中,该第一和第二MHC多肽为MHC I类多肽;例如,在一些情况中,该第一MHC多肽为MHC I类 β 2微球蛋白(B2M)多肽,且该第二MHC多肽为MHC I类重链(H链)。在其他情况中,该第一和第二MHC多肽为MHC II类多肽;例如,在一些情况中,该第一MHC多肽为MHC II类 α 链多肽且该第二MHC多肽为MHC II类 β 链多肽。在其他情况中,该第一多肽为MHC II类 β 链多肽且该第二MHC多肽为MHC II类 α 链多肽。

[0141] 在一些情况中,本公开的多聚体多肽的MHC多肽为人MHC多肽,其中人MHC多肽也称为“人白细胞抗原”(“HLA”)多肽。在一些情况中,本公开的多聚体多肽的MHC多肽为I类HLA多肽,例如 β 2微球蛋白多肽或I类HLA重链多肽。I类HLA重链多肽包括HLA-A重链多肽、HLA-B重链多肽、HLA-C重链多肽、HLA-E重链多肽、HLA-F重链多肽和HLA-G重链多肽。在一些情况中,本公开的多聚体多肽的MHC多肽为II类HLA多肽,例如II类HLA α 链或II类HLA β 链。MHC II类多肽包括MHC II类DP α 和 β 多肽、DM α 和 β 多肽、DOA α 和 β 多肽、DOB α 和 β 多肽、DQ α 和 β 多肽和DR α 和 β 多肽。

[0142] 例如,本公开的多聚体多肽的MHC I类重链多肽可包含与图25A中所描绘的人HLA-A重链多肽的氨基酸序列的氨基酸25-365具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0143] 例如,本公开的多聚体多肽的MHC I类重链多肽可包含与下列人HLA-A重链氨基酸

序列的氨基酸序列的氨基酸25-365具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、在至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:GSHSMRYFFTSVSRPGRG EPRFIAVG YVDDTQFVRFDS DAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKVKASHQTHRVDLGT LRGYYNQSEAGSHT VQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRR YLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDGTQKQWAA VVVPSGQEQR YTCHVQHEGLPKPLTLRWE P (SEQ ID NO:5)。

[0144] 又如,本公开的多聚体多肽的MHC I类重链多肽可包含与图25B中描绘的人HLA-B重链多肽的氨基酸序列的氨基酸25-362具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0145] 又如,本公开的多聚体多肽的MHC I类重链多肽可包含与图25C中所描绘的人HLA-C重链多肽的氨基酸序列的氨基酸25-362具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0146] 又如,本公开的多聚体多肽的MHC I类重链多肽可包含与下列氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0147] GPHSLRYFVTAVSRPGLGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDS DADNPRFEPRAPWMEQEGPEYWEEQTQRAK SDEQWFRVSLRTAQRYYNQSKGGSHTFQRMFGCDVGSDWRLLRGYQQFAYDGRDYIALNEDLKTWTAADTAALITR RKWEQAGDAEYYRAYLEGECEVWLRRYLELGNETLLRTDSPKAHVITYHPRSQVDVTLRCWALGFYPADITLTWQLN GEDLTQDMELVETRPAGDGTQKQWAAVVVPLGKEQNYTCHVHHKGLPEPLTLRW (SEQ ID NO:22)。

[0148] 本公开的多聚体多肽的 β 2微球蛋白(B2M)多肽可以为人B2M多肽、非人灵长类B2M多肽、鼠B2M多肽等。在一些情况中,B2M多肽包含与图20中所描绘的B2M氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0149] 在一些情况中,MHC多肽相对于参考MHC多肽(其中参考MHC多肽可以为野生型MHC多肽)包含单一氨基酸取代,其中该单一氨基酸取代以半胱氨酸(Cys)残基取代氨基酸。此类半胱氨酸残基当存在于本公开的多聚体多肽的第一多肽的MHC多肽中时可与存在于本公开的多聚体多肽的第二多肽链中的半胱氨酸残基形成二硫键。

[0150] 在一些情况中,本公开的多聚体多肽的第一多肽中的第一MHC多肽和/或本公开的多聚体多肽的第二多肽中的第二MHC多肽包括以半胱氨酸取代氨基酸的氨基酸取代,其中在第一MHC多肽中的经取代的半胱氨酸与在第二MHC多肽中的半胱氨酸形成二硫键,其中在第一MHC多肽中的半胱氨酸与在第二MHC多肽中的经取代的半胱氨酸形成二硫键或其中在第一MHC多肽中的经取代的半胱氨酸与在第二MHC多肽中的经取代的半胱氨酸形成二硫键。

[0151] 例如,在一些情况中,在HLA β 2-微球蛋白和HLA I类重链中的下列残基对之一被半胱氨酸取代:1) B2M残基12,HLA I类重链残基236;2) B2M残基12,HLA I类重链残基237;3) B2M残基8,HLA I类重链残基234;4) B2M残基10,HLA I类重链残基235;5) B2M残基24,HLA I类重链残基236;6) B2M残基28,HLA I类重链残基232;7) B2M残基98,HLA I类重链残基192;8) B2M残基99,HLA I类重链残基234;9) B2M残基3,HLA I类重链残基120;10) B2M残基31,HLA I类重链残基96;11) B2M残基53,HLA I类重链残基35;12) B2M残基60,HLA I类重链残基96;13) B2M残基60,HLA I类重链残基122;14) B2M残基63,HLA I类重链残基27;15) B2M残基

Arg3,HLA I类重链残基Gly120;16) B2M残基His31,HLA I类重链残基Gln96;17) B2M残基Asp53,HLA I类重链残基Arg35;18) B2M残基Trp60,HLA I类重链残基Gln96;19) B2M残基Trp60,HLA I类重链残基Asp122;20) B2M残基Tyr63,HLA I类重链残基Tyr27;21) B2M残基Lys6,HLA I类重链残基Glu232;22) B2M残基Gln8,HLA I类重链残基Arg234;23) B2M残基Tyr10,HLA I类重链残基Pro235;24) B2M残基Ser11,HLA I类重链残基Gln242;25) B2M残基Asn24,HLA I类重链残基Ala236;26) B2M残基Ser28,HLA I类重链残基Glu232;27) B2M残基Asp98,HLA I类重链残基His192;以及28) B2M残基Met99,HLA I类重链残基Arg234。MHC/HLA I类重链的氨基酸编号参考无信号肽的成熟MHC/HLA I类重链。例如,在图25A中所描绘的包括信号肽的氨基酸序列中,Gly120为Gly144;Gln96为Gln120;等等。

[0152] 免疫调节多肽

[0153] 本公开的多聚体多肽的免疫调节多肽可以为活化性免疫调节多肽或抑制性免疫调节多肽。在一些情况中,本公开的多聚体多肽包括单一免疫调节多肽。在一些情况中,本公开的多聚体多肽包括两个免疫调节多肽。在一些情况中,该两个免疫调节多肽在一条多肽链中串联。在一些情况中,该两个免疫调节多肽在单独的多肽链中。在一些情况中,该两个免疫调节多肽在单独的多肽链中且由二硫键彼此连接。

[0154] 在一些情况中,本公开的多聚体多肽的免疫调节多肽为T细胞调节多肽。在一些情况中,该T细胞调节多肽为刺激性(活化性)T细胞调节多肽。在一些情况中,该T细胞调节多肽为抑制性T细胞调节多肽。T细胞调节多肽可以为抗体、肽配体、T细胞共刺激性多肽、细胞因子或毒素。

[0155] 在一些情况中,本公开的多聚体多肽的免疫调节多肽为特异性结合在表位特异性T细胞表面上表达的共刺激性多肽的基于抗体或基于非抗体的识别部分。基于抗体的识别部分包括例如抗体;保留对抗原的特异性结合的抗体片段,包括但不限于Fab、Fv、单链Fv(scFv)和Fd片段;嵌合型抗体;人源化抗体;单链抗体(scAb)、单结构域抗体(dAb);单结构域重链抗体;单结构域轻链抗体;等等。合适的基于非抗体的识别部分包括例如亲和体;经工程改造的Kunitz结构域;单体(adnectin);抗运载蛋白(anticalin);适体(aptamer);经设计的锚蛋白(ankyrin)重复结构域(DARPin);富含半胱氨酸的多肽(例如富含半胱氨酸的打结素(knottin)肽)的结合位点;高亲和性多聚体(avimer);afflin;等等。基于抗体的或基于非抗体的识别部分特异性结合在表位特异性T细胞表面上表达的共刺激性多肽,其中此类共刺激性多肽包括但不限于CTLA4、PD1、ICOS、OX40、CD20和4-1BB。在表位特异性T细胞表面上表达的共刺激性多肽是本领域已知的。

[0156] 在一些情况中,本公开的多聚体多肽的免疫调节多肽为T细胞共刺激性多肽。在一些情况中,本公开的多聚体多肽的免疫调节多肽为T细胞共刺激性多肽且为肿瘤坏死因子(TNF)超家族的成员;例如FasL多肽、41BBL多肽、CD40多肽、OX40L多肽、CD30L多肽、CD70多肽等。在一些情况中,本公开的多聚体多肽的免疫调节多肽为T细胞共刺激性多肽且为免疫球蛋白(Ig)超家族的成员;例如CD7多肽、CD86多肽、ICAM多肽等。

[0157] 本公开的多聚体多肽的合适的免疫调节多肽包括但不限于CD80(B7-1)、CD86(B7-2)、4-1BBL、OX40L、ICOS-L、ICAM、PD-L1、FasL和PD-L2。本公开的多聚体多肽的合适的免疫调节多肽包括例如CD7、CD30L、CD40、CD70、CD83、HLA-G、MICA、MICB、HVEM、淋巴毒素β受体、3/TR6、ILT3、ILT4和HVEM。

[0158] 在一些情况中,本公开的多聚体多肽的T细胞调节多肽为PD-L1多肽。在一些情况中,本公开的多聚体多肽的PD-L1多肽包含与图26A或图26B中所描绘的PD-L1氨基酸序列的氨基酸19-290具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0159] 在一些情况中,本公开的多聚体多肽的T细胞调节多肽为4-1BBL多肽。在一些情况中,本公开的多聚体多肽的4-1BBL多肽包含与图27中所描绘的4-1BBL氨基酸序列的氨基酸50-254具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0160] 在一些情况中,本公开的多聚体多肽的T细胞调节多肽为ICOS-L多肽。在一些情况中,本公开的多聚体多肽的ICOS-L多肽包含与图28中所描绘的ICOS-L氨基酸序列的氨基酸19-302具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0161] 在一些情况中,本公开的多聚体多肽的T细胞调节多肽为OX40L多肽。在一些情况中,本公开的多聚体多肽的OX40L多肽包含与图29中所描绘的OX40L氨基酸序列的氨基酸1-183具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0162] 在一些情况中,本公开的多聚体多肽的T细胞调节多肽为PD-L2多肽。在一些情况中,本公开的多聚体多肽的PD-L2多肽包含与图30中所描绘的PD-L2氨基酸序列的氨基酸20-273具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0163] 在一些情况中,本公开的多聚体多肽的T细胞调节多肽为CD80 (B7-1) 多肽。在一些情况中,本公开的多聚体多肽的CD80多肽包含与图31中所描绘的CD80氨基酸序列的氨基酸35-288具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0164] 在一些情况中,本公开的多聚体多肽的T细胞调节多肽为CD86多肽。在一些情况中,本公开的多聚体多肽的CD86多肽包含与图32中所描绘的CD86氨基酸序列的氨基酸31-329具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0165] 在一些情况中,本公开的多聚体多肽的T细胞调节多肽为FasL多肽。在一些情况中,本公开的多聚体多肽的FasL多肽包含与图33中所描绘的FasL氨基酸序列的氨基酸1-281具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0166] 可用于本发明中的另外的T细胞调节结构域(MOD)包括天然存在的或合成的人基因产物(蛋白)、靶向人基因产物的亲和试剂(例如抗体、抗体片段、单链Fv、适体、纳米抗体),包括但不限于来自典型和非典型(例如FGF2、IL1、S100A4)分泌机制的所有分泌蛋白,和通过天然存在的基因编码的蛋白片段(单个或多个跨膜)或翻译后修饰(诸如GPI键合)而锚定的所有细胞表面蛋白的胞外结构域。靶向细胞表面聚糖或其他翻译后修饰(例如硫酸化)的任何天然存在的或合成的亲和试剂(例如抗体、抗体片段、单链Fv、适体、纳米抗体、凝集素(lectin)等)。实例包括但不限于TNF/TNFR家族的成员(OX40L、ICOSL、FASL、LTA、LTB

TRAIL、CD153、TNFSF9、RANKL、TWEAK、TNFSF13、TNFSF13b、TNFSF14、TNF SF15、TNFSF18、CD40LG、CD70) 或针对TN/TNFR家族成员的亲和试剂;免疫球蛋白超家族的成员(VISTA、PD1、PD-L1、PD-L2、B71、B72、CTLA4、CD28、TIM3、CD4、CD8、CD19、T细胞受体链、ICOS、ICOS配体、HHLA2、嗜乳脂蛋白(butyrophilin)、BTLA、B7-H3、B7-H4、CD3、CD79a、CD79b、IgSF CAMS(包括CD2、CD58、CD48、CD150、CD229、CD244、ICAM-1)、白细胞免疫球蛋白样受体(LILR)、杀伤细胞免疫球蛋白样受体(KIR))、凝集素超家族成员、选择素(selectin)、细胞因子/趋化因子和细胞因子/趋化因子受体、生长因子和生长因子受体、粘附分子(整合素、纤连蛋白、钙粘蛋白)或多跨整合膜蛋白(multi-spanintegral membrane protein)的胞外结构域或针对免疫球蛋白超家族和所列基因产物的亲和试剂。此外,这些基因产物的活性同系物/直系同源物包括但不限于病毒序列(例如CMV、EBV)、细菌序列、真菌序列、真核病原体(例如血吸虫属(Schistosoma)、疟原虫属(Plasmodium)、巴贝斯虫属(Babesia)、艾美球虫属(Eimeria)、泰勒虫属(Theileria)、弓形虫属(Toxoplasma)、内阿米巴属(Entamoeba)、利什曼原虫属(Leishmania)和锥虫属(Trypanosoma))以及哺乳动物来源的编码区。此外,MOD可包含靶向人基因产物的小分子药物。

[0167] Fc多肽

[0168] 本公开的多聚体多肽包含Fc多肽或其他合适的支架多肽。

[0169] 合适的支架多肽包括基于抗体的支架多肽和基于非抗体的支架。基于非抗体的支架包括例如白蛋白、XTEN(延伸的重组体)多肽、转铁蛋白、Fc受体多肽、弹性蛋白样多肽(参见例如Hassounah等人(2012)Methods Enzymol.502:215;例如包含(Val-Pro-Gly-X-Gly)的五肽重复单元的多肽,其中X为脯氨酸以外的任何氨基酸)、白蛋白结合多肽、丝样多肽(参见例如Valluzzi等人(2002)Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.357:165)、丝-弹性蛋白样多肽(SELP;参见,例如Megeed等人(2002)Adv Drug Deliv Rev.54:1075)等。合适的XTEN多肽包括例如公开于WO 2009/023270、WO 2010/091122、WO2007/103515、US 2010/0189682和US 2009/0092582中的那些;另见Schellenberger等人(2009)Nat Biotechnol.27:1186)。合适的白蛋白多肽包括例如人血清白蛋白。

[0170] 合适的支架多肽在一些情况中将为半衰期延长的多肽。因此,在一些情况中,相较于缺乏支架多肽的对照多聚体多肽,合适的支架多肽延长多聚体多肽的体内半衰期(例如血清半衰期)。例如,在一些情况中,相较于缺乏支架多肽的对照多聚体多肽,支架多肽使多聚体多肽的体内半衰期(例如血清半衰期)延长至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约50%、至少约2倍、至少约2.5倍、至少约5倍、至少约10倍、至少约25倍、至少约50倍、至少约100倍或超过100倍。例如,在一些情况中,相较于缺乏Fc多肽的对照多聚体多肽,Fc多肽使多聚体多肽的体内半衰期(例如血清半衰期)延长至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约50%、至少约2倍、至少约2.5倍、至少约5倍、至少约10倍、至少约25倍、至少约50倍、至少约100倍或超过100倍。

[0171] 本公开的多聚体多肽的Fc多肽可以为IgG1 Fc、IgG2 Fc、IgG3 Fc、IgG4 Fc等。在一些情况中,该Fc多肽包含与图24A-C中所描绘的Fc区的氨基酸序列具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况中,该Fc区包含与图24A中所描绘的人IgG1 Fc多肽具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、

至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况中,该Fc多肽包含与图24A中所描绘的人IgG2 Fc多肽具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列;例如,该Fc多肽包含与图24A中所描绘的人IgG2 Fc多肽的氨基酸99-325具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况中,该Fc多肽包含与图24A中所描绘的人IgG3 Fc多肽具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列;例如,该Fc多肽包含与图24A中所描绘的人IgG3 Fc多肽的氨基酸19-246具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况中,该Fc多肽包含与图24B中所描绘的人IgM Fc多肽具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列;例如,该Fc多肽包含与图24B中所描绘的人IgM Fc多肽的氨基酸1-276具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况中,该Fc多肽包含与图24C中所描绘的人IgA Fc多肽具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列;例如,该Fc多肽包含与图24C中所描绘的人IgA Fc多肽的氨基酸1-234具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0172] 另外的多肽

[0173] 本公开的多聚体多肽的多肽链可以包含除了上述的那些以外的一个或多个多肽。合适的另外的多肽包括表位标签和亲和性结构域。该一个或多个另外的多肽可包含在本公开的多聚体多肽的多肽链的N端、本公开的多聚体多肽的多肽链的C端或本公开的多聚体多肽的多肽链的内部。

[0174] 表位标签

[0175] 合适的表位标签包括但不限于血球凝集素(HA;例如YPYDVPDYA (SEQ ID NO:23); FLAG (例如DYKDDDDK (SEQ ID NO:24); c-myc (例如EQKLISEEDL;SEQ ID NO:25)等。

[0176] 亲和性结构域

[0177] 亲和性结构域包括可与结合伴侣(例如,诸如固定在固相载体上,用于鉴定或纯化的)相互作用的肽序列。编码多个连续的单一氨基酸(诸如组氨酸)的DNA序列当融合至该表达的蛋白时,可通过高亲和力结合至树脂柱(诸如镍琼脂糖)而用于单步骤纯化该重组蛋白。示例性亲和性结构域包括His5(HHHHH) (SEQ ID NO:26)、HisX6(HHHHHH) (SEQ ID NO:27)、C-myc (EQKLISEEDL) (SEQ ID NO:25)、Flag (DYKDDDDK) (SEQ ID NO:24)、StrepTag (WSHPQFEK) (SEQ ID NO:28)、血球凝集素,例如HA标签(YPYDVPDYA) (SEQ ID NO:23)、谷胱甘肽-S-转移酶(GST)、硫氧还蛋白、纤维素结合结构域、RYIRS (SEQ ID NO:30)、Phe-His-His-Thr (SEQ ID NO:31)、几丁质结合结构域、S-肽、T7肽、SH2结构域、C端RNA标签、WEAAAREACCRECCARA (SEQ ID NO:32)、金属结合结构域,例如锌结合结构域或钙结合结构

域,诸如来自钙结合蛋白的那些,例如钙调蛋白(calmodulin)、肌钙蛋白C(troponin C)、钙调磷酸酶B(calcineurin B)、肌球蛋白轻链(myosin light chain)、恢复蛋白(recoverin)、S-调节蛋白(S-modulin)、视锥蛋白(visinin)、VILIP、神经钙蛋白(neurocalcin)、海马钙蛋白(hippocalcin)、神经钙传感蛋白(frequenin)、钙收缩蛋白(caltractin)、钙蛋白酶大亚基(calpainlarge-subunit)、S100蛋白、小白蛋白(parvalbumin)、钙结合蛋白D9K(calbindin D9K)、钙结合蛋白D28K(calbindin D28K)和钙视网膜蛋白(calretinin)、内含肽(intein)、生物素(biotin)、链霉亲和素(streptavidin)、MyoD、Id、亮氨酸拉链序列(leucine zipper sequence)和麦芽糖结合蛋白(maltose binding protein)。

[0178] 修饰

[0179] 本公开的多聚体多肽可包括一个或多个共价连接到该多聚体多肽的非多肽部分。合适的非多肽部分包括例如生物相容性脂肪酸及其衍生物;羟烷基淀粉(HAS),例如羟乙基淀粉(HES);聚(乙二醇);透明质酸(HA);肝素前体(heparosan)聚合物(HEP);基于磷酸胆碱的聚合物;葡聚糖;聚唾液酸(PSA);等等。在一些情况中,与不包含该非多肽部分的对照多聚体多肽相比,该非多肽部分延长多聚体多肽的体内半衰期。

[0180] 在一些情况中,本公开的多聚体多肽包含可检测的标记。合适的可检测的标记包括放射性同位素,诸如 ^{123}I (碘)、 ^{18}F (氟)、 ^{99}Tc (锝)、 ^{111}In (铟)、 ^{67}Ga (镓)、放射活性Gd同位素(^{153}Gd);造影剂,诸如钆(Gd)、镓和铁;产生可检测的产物的酶(例如荧光素酶、 β -半乳糖苷酶、辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶等);荧光蛋白;生色蛋白,染料(例如异硫氰酸荧光素、若丹明、藻红蛋白等);发荧光金属,例如 ^{152}Eu 或其他镧系元素;化学发光化合物,例如鲁米诺(luminol)、异鲁米诺、吖啶盐等;生物发光化合物;等等。

[0181] 活性

[0182] 取决存在于本公开的多聚体多肽中的免疫调节(“MOD”)多肽的性质,该多聚体多肽可活化或抑制靶T细胞。本公开的多聚体多肽选择性地活化或抑制对该多聚体多肽中所存在的表位有特异性的靶T细胞。“靶T细胞”包括表位特异性 CD4^+ T细胞、抗原特异性 CD8^+ T细胞。在一些情况中,该靶 CD4^+ T细胞为辅助性T细胞(例如Th1、Th2或Th17细胞)。在一些情况中,该靶 CD4^+ T细胞为 $\text{CD4}^+/\text{CD25}^+/\text{FoxP3}^+$ 调节性T(Treg)细胞。在一些情况中,该靶T细胞为 CD8^+ T细胞且为细胞毒性T细胞。在一些情况中,该靶T细胞为记忆性T细胞,其可以为 CD4^+ T细胞或 CD8^+ T细胞,其中记忆性T细胞通常为 CD45RO^+ 。在一些情况中,该靶T细胞为NK-T细胞。

[0183] 在一些情况中,本公开的多聚体多肽增强T细胞归巢和运输。例如,在一些情况中,本公开的多聚体多肽当与靶T细胞接触时增加该靶T细胞外渗到治疗部位。在一些情况中,相较于未与多聚体多肽接触的靶T细胞的外渗水平,当本公开的多聚体多肽与靶T细胞接触时可使外渗到治疗部位的靶T细胞增加至少10%、至少15%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少75%、至少2倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少50倍、至少100倍或超过100倍。增加的外渗可增加在治疗部位的T细胞的数量。在一些情况中,本公开的多聚体多肽当与靶T细胞接触时可增加在治疗部位的T细胞的数量。

[0184] 在一些情况中,本公开的多聚体多肽增加靶T细胞对一种或多种蛋白的表达,该蛋白介导或调节靶T细胞对淋巴细胞的运输。例如,在一些情况中,本公开的多聚体多肽当与靶T细胞接触时增加在靶T细胞中的一种或多种粘附分子和/或趋化因子受体分子的水平。

例如,在一些情况中,与由未接触多聚体多肽的靶T细胞产生的粘附分子和/或趋化因子受体分子的水平相比较时,本公开的多聚体多肽当与靶T细胞接触时靶T细胞可使一种或多种粘附分子和/或趋化因子受体的表达增加至少2倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少50倍、至少100倍或超过100倍。粘附分子的实例包括由CD8T细胞产生的粘附分子,其中此类粘附分子的实例包括但不限于CD44、LFA-1和VLA-4。趋化因子受体的实例包括由CD8T细胞产生的趋化因子受体,其中此类趋化因子受体的实例包括但不限于CCR5、CCR7和CXCR3。

[0185] 在一些情况中,本公开的多聚体多肽导致能对先前经历的表位产生快速细胞毒性反应的记忆性T细胞的产生。例如,在一些情况中,本公开的多聚体多肽当与靶T细胞接触时导致产生包含0.5%或更多的抗原特异性T细胞汇集体的记忆性T细胞。例如,在一些情况中,本公开的多聚体多肽当与靶T细胞接触时导致产生包含0.5%或更多、1%或更多、2%或更多、3%或更多、4%或更多、5%或更多、10%或更多、15%或更多或20%或更多的抗原特异性T细胞汇集体的记忆性T细胞。记忆性T细胞的细胞表面标记物的实例为CD45RO。

[0186] 在一些情况中,本公开的多聚体多肽增加靶T细胞增殖。例如,在一些情况中,相较于未与多聚体多肽接触的靶T细胞的增殖,本公开的多聚体多肽当与靶T细胞接触时能使靶T细胞的增殖增加至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少75%、至少2倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少50倍、至少100倍或超过100倍。

[0187] 在一些情况中,本公开的多聚体多肽增加T细胞对靶细胞的细胞毒性活性。例如,在一些情况中,相较于未与多聚体多肽接触的T细胞对靶细胞的细胞毒性活性,本公开的多聚体多肽当与靶T细胞接触时可使T细胞对靶细胞的细胞毒性活性增加至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少75%、至少2倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少50倍、至少100倍或超过100倍。T细胞的靶包括被病毒感染的细胞、癌细胞等。

[0188] 在一些情况中,本公开的多聚体多肽增加靶T细胞产生细胞因子。例如,在一些情况中,相较于未与多聚体多肽接触的靶T细胞所产生的细胞因子的水平,本公开的多聚体多肽当与靶T细胞接触时使T细胞产生的细胞因子增加至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少75%、至少2倍、至少5倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少50倍、至少100倍或超过100倍。细胞因子的实例包括由Th1细胞产生的细胞因子,例如IL-2、IFN- γ 和TNF- α ;由Th17细胞产生的细胞因子,例如IL-17、IL-21和IL-22;由Treg细胞产生的细胞因子,例如TGF- β 、IL-35和IL-10。

[0189] 在一些情况中,本公开的多聚体多肽抑制靶T细胞产生细胞因子。例如,在一些情况中,相较于未与多聚体多肽接触的靶T细胞所产生的细胞因子的水平,本公开的多聚体多肽当与靶T细胞接触时抑制靶T细胞产生细胞因子达至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%或至少90%或超过90%。细胞因子的实例包括由Th2细胞产生的细胞因子,例如IL-4、IL-5、IL-6、IL-10和IL-13。

[0190] 示例性实施方案

[0191] 本公开的多聚体多肽的非限制性实例包括:

[0192] 1) 一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) T细胞表位;ii) MHC I类 β 2微球蛋白多肽;和iii) 4-BBL多肽;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) MHC I类重链多肽;和ii) Ig Fc多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽包含介于该表位与 β 2微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 β 2微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接;在这些实施方案的一些中,该MHC I类 β 2微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中,该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中,该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域;

[0193] 2) 一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) T细胞表位;ii) MHC I类 β 2微球蛋白多肽;和iii) PD-L1多肽;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) MHC I类重链多肽;和ii) Ig Fc多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽包含介于该表位与 β 2微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 β 2微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接;在这些实施方案的一些中,该MHC I类 β 2微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中,该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中,该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域;

[0194] 3) 一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) T细胞表位;ii) MHC I类 β 2微球蛋白多肽;和iii) ICOS-L多肽;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) MHC I类重链多肽;和ii) Ig Fc多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽包含介于该表位与 β 2微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 β 2微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接;在这些实施方案的一些中,该MHC I类 β 2微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中,该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中,该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域;

[0195] 4) 一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) T细胞表位;ii) MHC I类 β 2微球蛋白多肽;和iii) OX40L多肽;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) MHC I类重链多肽;和ii) Ig Fc多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽包含介于该表位与 β 2微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 β 2微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接;在这些实施方案的一些中,该MHC I类 β 2微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中,该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中,该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域;

[0196] 5) 一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) T细胞表位;ii) MHC I类 β 2微球蛋白多肽;和iii) CD80多肽;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) MHC I类重链多肽;和ii) Ig Fc多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽包含介于该表位与 β 2微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 β 2微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接;在这些实施方案的一些中,该MHC I类 β 2微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中,该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中,该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域;

[0197] 6) 一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) T细胞表位;ii) MHC I类 β 2微球蛋白多肽;和iii) CD86多肽;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) MHC I类重链多肽;和ii) Ig Fc多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽包含介于该表位与 β 2微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 β 2微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接;在这些实施方案的一些中,该MHC I类 β 2微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中,该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中,该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域;

[0198] 7) 一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) T细胞表位;ii) MHC I类 β 2微球蛋白多肽;和iii) PD-L2多肽;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) MHC I类重链多肽;和ii) Ig Fc多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽包含介于该表位与 β 2微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 β 2微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接;在这些实施方案的一些中,该MHC I类 β 2微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中,该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中,该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域;

[0199] 8) 一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) T细胞表位;和ii) MHC I类 β 2微球蛋白多肽;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) i) 4-BBL多肽;ii) MHC I类重链多肽;和iii) Ig Fc多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽包含介于该表位与 β 2微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 β 2微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接;在这些实施方案的一些中,该MHC I类 β 2微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中,该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中,该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域;

[0200] 9) 一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) T细胞表位;和ii) MHC I类 β 2微球蛋白多肽;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) i) PD-L1多肽;ii) MHC I类重链多肽;和iii) Ig Fc多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽包含介于该表位与 β 2微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 β 2微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接;在这些实施方案的一些中,该MHC I类 β 2微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中,该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中,该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域;

[0201] 10) 一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) T细胞表位;和ii) MHC I类 β 2微球蛋白多肽;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) i) ICOS-L多肽;ii) MHC I类重链多肽;和iii) Ig Fc多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽包含介于该表位与 β 2微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 β 2微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接;在这些实施方案的一些中,该MHC I类 β 2微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中,该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中,该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域;

[0202] 11) 一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) T细胞表位;和ii) MHC I类 β 2微球蛋白多肽;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) i) OX40L多肽;ii) MHC I类重链多肽;和iii) Ig Fc多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽包含介于该表位与 β 2微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 β 2微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接;在这些实施方案的一些中,该MHC I类 β 2微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中,该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中,该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域;

[0203] 12) 一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) T细胞表位;和ii) MHC I类 β 2微球蛋白多肽;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) i) CD80多肽;ii) MHC I类重链多肽;和iii) Ig Fc多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽包含介于该表位与 β 2微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 β 2微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接;在这些实施方案的一些中,该MHC I类 β 2微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中,该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中,该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域;

[0204] 13) 一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) T细胞表位;和ii) MHC I类 β 2微球蛋白多肽;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) i) CD86多肽;ii) MHC I类重链多肽;和iii) Ig Fc多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽包含介于该表位与 β 2微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 β 2微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接;在这些实施方案的一些中,该MHC I类 β 2微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中,该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中,该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域;

[0205] 14) 一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) T细胞表位;和ii) MHC I类 β 2微球蛋白多肽;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) i) PD-L2多肽;ii) MHC I类重链多肽;和iii) Ig Fc多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽包含介于该表位与 β 2微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 β 2微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接;在这些实施方案的一些中,该MHC I类 β 2微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中,该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中,该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域;

[0206] 15) 一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) T细胞表位;和ii) MHC I类 β 2微球蛋白多肽;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) i) FasL多肽;ii) MHC I类重链多肽;和iii) Ig Fc多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽包含介于该表位与 β 2微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 β 2微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接;在这些实施方案的一些中,该MHC I类 β 2微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中,该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中,该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域;

[0207] 16) 一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) T细胞表位;ii) MHC I类 β 2微球蛋白多肽;和iii) 两个串联的4-BBL多肽;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) MHC I类重链多肽;和ii) Ig Fc多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽包含介于该表位与 β 2微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 β 2微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接;在这些实施方案的一些中,该MHC I类 β 2微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中,该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中,该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域;

[0208] 17) 一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) T细胞表位;ii) MHC I类 β 2微球蛋白多肽;和iii) 两个串联的PD-L1多肽;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) MHC I类重链多肽;和ii) Ig Fc多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽包含介于该表位与 β 2微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 β 2微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接;在这些实施方案的一些中,该MHC I类 β 2微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中,该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中,该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域;

[0209] 18) 一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) T细胞表位;ii) MHC I类 β 2微球蛋白多肽;和iii) 两个串联的ICOS-L多肽;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) MHC I类重链多肽;和ii) Ig Fc多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽包含介于该表位与 β 2微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 β 2微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接;在这些实施方案的一些中,该MHC I类 β 2微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中,该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中,该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域;

[0210] 19) 一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) T细胞表位;ii) MHC I类 β 2微球蛋白多肽;和iii) 两个串联的OX40L多肽;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) MHC I类重链多肽;和ii) Ig Fc多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽包含介于该表位与 β 2微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 β 2微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接;在这些实施方案的一些中,该MHC I类 β 2微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中,该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中,该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域;

[0211] 20) 一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) T细胞表位;ii) MHC I类 β 2微球蛋白多肽;和iii) 两个串联的CD80多肽;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) MHC I类重链多肽;和ii) Ig Fc多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽包含介于该表位与 β 2微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 β 2微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接;在这些实施方案的一些中,该MHC I类 β 2微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中,该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中,该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域;

[0212] 21) 一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) T细胞表位;ii) MHC I类 β 2微球蛋白多肽;和iii) 两个串联的CD86多肽;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) MHC I类重链多肽;和ii) Ig Fc多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽包含介于该表位与 β 2微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 β 2微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接;在这些实施方案的一些中,该MHC I类 β 2微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中,该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中,该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域;

[0213] 22) 一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) T细胞表位;ii) MHC I类 β 2微球蛋白多肽;和iii) 两个串联的PD-L2多肽;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) MHC I类重链多肽;和ii) Ig Fc多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽包含介于该表位与 β 2微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 β 2微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接;在这些实施方案的一些中,该MHC I类 β 2微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中,该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中,该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域;

[0214] 23) 一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) T细胞表位;ii) MHC I类 β 2微球蛋白多肽;和iii) 两个串联的FasL多肽;以及b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) MHC I类重链多肽;和ii) Ig Fc多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽包含介于该表位与 β 2微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 β 2微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接;在这些实施方案的一些中,该MHC I类 β 2微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中,该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中,该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域;

[0215] 24) 一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) T细胞表位;ii) MHC I类 β 2微球蛋白多肽;和iii) 第一4-1BBL多肽;b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) MHC I类重链多肽;和ii) Ig Fc多肽;和c) 第三多肽,其包含第二4-1BBL多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接;且该第一多肽和第三多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽包含介于该表位与 β 2微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 β 2微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接;在这些实施方案的一些中,该MHC I类 β 2微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中,该第一多肽和第三多肽经由存在于(或经取代到)该第一和第二4-1BBL多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为

IgG2 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中,该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域;

[0216] 25) 一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) T细胞表位;ii) MHC I类 β 2微球蛋白多肽;和iii) 第一PD-L1多肽;b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) MHC I类重链多肽;和ii) Ig Fc多肽;和c) 第三多肽,其包含第二PD-L1多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接;且该第一多肽和第三多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽包含介于该表位与 β 2微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 β 2微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接;在这些实施方案的一些中,该MHC I类 β 2微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中,该第一多肽和第三多肽经由存在于(或经取代到)该第一和第二PD-L1多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中,该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域;

[0217] 26) 一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) T细胞表位;ii) MHC I类 β 2微球蛋白多肽;和iii) 第一ICOS-L多肽;b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) MHC I类重链多肽;和ii) Ig Fc多肽;和c) 第三多肽,其包含第二ICOS-L多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接;且该第一多肽和第三多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽包含介于该表位与 β 2微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 β 2微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接;在这些实施方案的一些中,该MHC I类 β 2微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中,该第一多肽和第三多肽经由存在于(或经取代到)该第一和第二ICOS-L多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中,该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域;

[0218] 27) 一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) T细胞表位;ii) MHC I类 β 2微球蛋白多肽;和iii) 第一OX40L多肽;b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) MHC I类重链多肽;和ii) Ig Fc多肽;和c) 第三多肽,其包含第二OX40L多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二

多肽由二硫键彼此连接；且该第一多肽和第三多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中，该第一多肽包含介于该表位与 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中，该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中，该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 $\beta 2$ 微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接；在这些实施方案的一些中，该MHC I类 $\beta 2$ 微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中，该第一多肽和第三多肽经由存在于(或经取代到)该第一和第二OX40L多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中，该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中，该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中，该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中，该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中，使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中，该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域；

[0219] 28) 一种多聚体多肽，其包含：a) 第一多肽，其按从N端至C端的顺序包含：i) T细胞表位；ii) MHC I类 $\beta 2$ 微球蛋白多肽；和iii) 第一CD80多肽；b) 第二多肽，其按从N端至C端的顺序包含：i) MHC I类重链多肽；和ii) Ig Fc多肽；和c) 第三多肽，其包含第二CD80多肽。在一些情况中，该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中，该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接；且该第一多肽和第三多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中，该第一多肽包含介于该表位与 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中，该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中，该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 $\beta 2$ 微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接；在这些实施方案的一些中，该MHC I类 $\beta 2$ 微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中，该第一多肽和第三多肽经由存在于(或经取代到)该第一和第二CD80多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中，该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中，该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中，该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中，该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中，使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中，该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域；

[0220] 29) 一种多聚体多肽，其包含：a) 第一多肽，其按从N端至C端的顺序包含：i) T细胞表位；ii) MHC I类 $\beta 2$ 微球蛋白多肽；和iii) 第一CD86多肽；b) 第二多肽，其按从N端至C端的顺序包含：i) MHC I类重链多肽；和ii) Ig Fc多肽；和c) 第三多肽，其包含第二CD86多肽。在一些情况中，该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中，该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接；且该第一多肽和第三多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中，该第一多肽包含介于该表位与 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中，该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中，该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 $\beta 2$ 微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接；在这些实施方案的一些中，该MHC I类 $\beta 2$ 微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中，该第一多肽和第三

多肽经由存在于(或经取代到)该第一和第二CD86多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中,该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域;

[0221] 30) 一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) T细胞表位;ii) MHC I类 β 2微球蛋白多肽;和iii) CD80多肽;b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) MHC I类重链多肽;和ii) Ig Fc多肽;和c) 第三多肽,其包含CD86多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接;且该第一多肽和第三多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽包含介于该表位与 β 2微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 β 2微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接;在这些实施方案的一些中,该MHC I类 β 2微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中,该第一多肽和第三多肽经由存在于(或经取代到)该CD80多肽和CD86多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中,该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域;

[0222] 31) 一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) T细胞表位;ii) MHC I类 β 2微球蛋白多肽;和iii) 第一PD-L2多肽;b) 第二多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) MHC I类重链多肽;和ii) Ig Fc多肽;和c) 第三多肽,其包含第二PD-L2多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接;且该第一多肽和第三多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽包含介于该表位与 β 2微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类 β 2微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接;在这些实施方案的一些中,该MHC I类 β 2微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中,该第一多肽和第三多肽经由存在于(或经取代到)该第一和第二PD-L2多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中,该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域;

[0223] 32) 一种多聚体多肽,其包含:a) 第一多肽,其按从N端至C端的顺序包含:i) T细胞表位;ii) MHC I类 β 2微球蛋白多肽;和iii) 第一FasL多肽;b) 第二多肽,其按从N端至C端的

顺序包含:i)MHC I类重链多肽;和ii) Ig Fc多肽;和c) 第三多肽,其包含第二FasL多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽由二硫键彼此连接;且该第一多肽和第三多肽由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽包含介于该表位与B2微球蛋白多肽之间的连接子多肽。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该连接子多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该第一多肽和第二多肽经由存在于该MHC I类B2微球蛋白多肽中的半胱氨酸残基和存在于该MHC I类重链多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接;在这些实施方案的一些中,该MHC I类B2微球蛋白多肽和/或MHC I类重链多肽包括氨基酸取代以提供参与该二硫键的半胱氨酸。在一些情况中,该第一多肽和第三多肽经由存在于(或经取代到)该第一和第二FasL多肽中的半胱氨酸残基由二硫键彼此连接。在一些情况中,该IgFc多肽为IgG1 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG2 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG3 Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,使用MHC II类多肽代替MHC I类多肽。在一些情况中,该多聚体多肽在Fc多肽的C端包含表位标签和/或亲和性结构域。

[0224] 多聚蛋白前体

[0225] 本发明提供一种如下所述的重组多肽,其包含与第一B2M前导序列相同的氨基酸序列,该与第一B2M前导序列相同的氨基酸序列邻接候选表位肽,该候选表位肽邻接第一氨基酸连接子序列,该第一氨基酸连接子序列邻接与人天然B2M肽序列相同的氨基酸序列,该与人天然B2M肽序列相同的氨基酸序列邻接第二氨基酸连接子序列,该第二氨基酸连接子序列邻接T细胞调节结构域肽序列,该T细胞调节结构域肽序列邻接第三氨基酸连接子,该第三氨基酸连接子邻接第二B2M前导序列,该第二B2M前导序列邻接与MHC重链相同的氨基酸序列,该与MHC重链相同的氨基酸序列邻接与免疫球蛋白Fc结构域相同的氨基酸序列。

[0226] 在一个实施方案中,该第一氨基酸可以为具有50个氨基酸或更少至最少具有5个氨基酸的任何氨基酸序列。在一个实施方案中,该第二氨基酸连接子可以为具有70个氨基酸或更少至最少具有5个氨基酸的任何氨基酸序列。在一个实施方案中,该第三氨基酸连接子可以为病毒2A肽或具有已知蛋白酶裂解能力的肽(例如,在非限制性实施方案中,弗林蛋白酶裂解位点、烟草蚀斑病毒[TEV]序列、Precision蛋白酶位点或凝血酶蛋白酶)。在一个实施方案中,该第一氨基酸包含GGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:1)。在一个实施方案中,该第二氨基酸连接子包含GGGSGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:2)。在一个实施方案中,该第三氨基酸连接子包含SGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO:3)。

[0227] 本发明还提供一种如下所述的重组多肽,其包含与第一B2M前导序列相同的氨基酸序列,该与第一B2M前导序列相同的氨基酸序列邻接候选表位肽,该候选表位肽邻接第一氨基酸连接子序列,该第一氨基酸连接子序列邻接与人天然B2M肽序列相同的氨基酸序列,该与人天然B2M肽序列相同的氨基酸序列邻接第二氨基酸连接子序列,该第二氨基酸连接子序列邻接第二B2M前导序列,该第二B2M前导序列邻接T细胞调控结构域肽序列,该T细胞调控结构域肽序列邻接第三氨基酸连接子序列,该第三氨基酸连接子序列邻接与MHC重链相同的氨基酸序列,该与MHC重链相同的氨基酸序列邻接与免疫球蛋白Fc结构域相同的氨基酸序列。

[0228] 连接子

[0229] 在一个实施方案中,该第一氨基酸可以为具有50个氨基酸或更少至最少具有5个氨基酸的任何氨基酸序列。在一个实施方案中,该第二氨基酸连接子可以为具有70个氨基酸或更少至最少具有5个氨基酸的任何氨基酸序列。在一个实施方案中,该第三氨基酸连接子可以为病毒2A肽或具有已知蛋白酶裂解能力的肽(例如,在非限制性实施方案中,弗林蛋白酶裂解位点、烟草蚀斑病毒[TEV]序列、Precision蛋白酶位点或凝血酶蛋白酶)。在一个实施方案中,该第一氨基酸包含GGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:1)。在一个实施方案中,该第二氨基酸连接子包含GGGSGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:2)。在一个实施方案中,该第三氨基酸连接子包含SGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO:3)。

[0230] 在该重组多肽的一个实施方案中,该第三氨基酸连接子为自裂解的。在该重组多肽的一个实施方案中,该第二氨基酸连接子为自裂解的。在该重组多肽的一个实施方案中,该自裂解肽为病毒2A肽或具有其序列。在一个实施方案中,该病毒2A肽为猪捷申病毒-1 (P2A)、口蹄疫病毒 (F2A)、明脉扁刺蛾β四体病毒 (Thosea asigna virus) (T2A)、马A型鼻炎病毒 (E2A) 或病毒性猪捷申病毒-1 (P2A) 肽或具有其中一者的序列。或者,这还可以作为两个完全除去该2A序列的单独质粒(或病毒)进行递送。

[0231] 可蛋白水解裂解的连接子可包括蛋白酶识别序列,该蛋白酶识别序列可被选自以下的蛋白酶识别:丙氨酸羧肽酶、蜜环菌虾红素 (Armillaria mellea astacin)、细菌亮氨酸氨基肽酶、癌促凝物质、组织蛋白酶B (cathepsin B)、梭菌蛋白酶 (clostripain)、胞浆丙氨酸氨基肽酶 (cytosol alanyl aminopeptidase)、弹性蛋白酶、内蛋白酶Arg-C、肠激酶、胃蛋白酶 (gastricsin)、明胶酶、Gly-X羧肽酶、甘氨酸内肽酶、人鼻病毒3C蛋白酶、皮蝇素C (hypodermin C)、IgA特异性丝氨酸内肽酶、亮氨酸氨基肽酶、亮氨酸内肽酶、lysC、溶酶体pro-X羧肽酶、赖氨酸氨基肽酶、甲硫氨酸氨基肽酶、粘细菌 (myxobacter)、苯乙肼裂解酶 (nardilysin)、胰内肽酶E、细小核糖核酸病毒内肽酶2A (picornain 2A)、细小核糖核酸病毒内肽酶3C、前内肽酶、脯氨酸氨基肽酶、前蛋白转化酶I、前蛋白转化酶II、russellysin、酵母胃蛋白酶 (saccharopepsin)、精液凝固蛋白酶 (semenogelase)、T-纤溶酶原激活物、凝血酶、组织激肽释放酶 (kallikrein)、烟草蚀斑病毒 (TEV)、批膜病毒素 (togavirin)、色氨酸氨基肽酶、U-纤溶酶原激活物、V8、蛇毒丝氨酸蛋白酶A (venombin A)、蛇毒丝氨酸蛋白酶AB和Xaa-Pro氨基肽酶。在一些情况中,该可蛋白水解裂解的连接子可包括可被宿主酶识别的蛋白酶识别序列,例如由该宿主细胞天然产生的酶。

[0232] 例如,该可蛋白水解裂解的连接子可包含基质金属蛋白酶裂解位点,例如用于选自以下的MMP的裂解位点:胶原蛋白酶-1、胶原蛋白酶-2和胶原蛋白酶-3 (MMP-1、MMP-8和MMP-13)、明胶酶A和B (MMP-2和-9)、溶基质素 (stromelysin) 1、2和3 (MMP-3、MMP-10和MMP-11)、基质溶解因子 (matrilysin) (MMP-7) 和膜金属蛋白酶 (MT1-MMP和MT2-MMP)。例如,MMP-9的裂解序列为Pro-X-X-Hy (其中X代表任意残基;Hy为疏水残基),例如Pro-X-X-Hy- (Ser/Thr),例如Pro-Leu/Gln-Gly-Met-Thr-Ser (SEQ ID NO:33) 或Pro-Leu/Gln-Gly-Met-Thr (SEQ ID NO:21)。蛋白酶裂解位点的另一实例为纤溶酶原激活物裂解位点,例如uPA或组织纤溶酶原激活物 (tPA) 裂解位点。uPA和tPA的裂解序列的具体实例包括含有Val-Gly-Arg的序列。可包含在可蛋白水解裂解的连接子中的蛋白酶裂解位点的另一实例为烟草蚀斑病毒 (TEV) 蛋白酶裂解位点,例如ENLYTQS (SEQ ID NO:34),其中该蛋白酶在谷氨酰胺和丝氨酸之间裂解。可包含在可蛋白水解裂解的连接子中的蛋白酶裂解位点的另一实例为肠激酶裂

解位点,例如DDDDK (SEQ ID NO:35),其中裂解发生在赖氨酸残基之后。可包含在可蛋白水解裂解的连接子中的蛋白酶裂解位点的另一实例为凝血酶裂解位点,例如LVPR (SEQ ID NO:36)。可包含在可蛋白水解裂解的连接子中的蛋白酶裂解位点的另一实例为弗林蛋白酶裂解位点,例如Arg-X-(Arg/Lys)-Arg,其中X为任何氨基酸。另外的包含蛋白酶裂解位点的合适连接子包括包含一个或多个下列氨基酸序列的连接子:LEVLFQGP (SEQ ID NO:37),被PreScission蛋白酶(一种融合蛋白,其包含人鼻病毒3C蛋白酶和谷胱甘肽-S-转移酶;Walker等人(1994)Biotechnol.12:601)裂解;凝血酶裂解位点,例如CGLVPAGSGP (SEQ ID NO:38);SLLKSRMVPNFN (SEQ ID NO:39)或SLLIARRMPNFN (SEQ ID NO:40),被组织蛋白酶B裂解;SKLVQASASGVN (SEQ ID NO:41)或SSYLKASDAPDN (SEQ ID NO:42),被埃-巴二氏病毒蛋白酶裂解;RPKPQQFFGLMN (SEQ ID NO:43),被MMP-3(溶基质素)裂解;SLRPLALWRSFN (SEQ ID NO:44),被MMP-7(基质溶解因子)裂解;SPQGIAGQRNFN (SEQ ID NO:45),被MMP-9裂解;DVDERDVRGFASFL (SEQ ID NO:46),被嗜热菌蛋白酶(thermolysin)样MMP裂解;SLPLGLWAPNFN (SEQ ID NO:47),被基质金属蛋白酶2(MMP-2)裂解;SLLIFRSWANFN (SEQ ID NO:48),被组织蛋白酶(cathespins)裂解;SGVVIATVIVIT (SEQ ID NO:49),被组织蛋白酶D裂解;SLGPQGIWGFN (SEQ ID NO:50),被基质金属蛋白酶1裂解(MMP-1);KKSPGRVVGGSV (SEQ ID NO:51),被尿激酶型纤溶酶原激活物裂解;PQGLLGAPGILG (SEQ ID NO:52),被1型膜基质金属蛋白酶(MT-MMP)裂解;HGPEGLRVGFYESDVMGRGHARLVHVEEPHT (SEQ ID NO:53),被溶基质素3(或MMP-11)、嗜热菌蛋白酶、成纤维细胞胶原蛋白酶和溶基质素-1裂解;GPQGLAGQRGIV (SEQ ID NO:54),被基质金属蛋白酶13(胶原蛋白酶-3)裂解;GGSGQRGRXALE (SEQ ID NO:55),被组织型纤溶酶原激活物裂解(tPA);SLSALLSSDIFN (SEQ ID NO:56),被人前列腺特异性抗原裂解;SLPRFKIIGGFN (SEQ ID NO:57),被激肽释放酶(hK3)裂解;SLLGIAPGNFN (SEQ ID NO:58),被中性粒细胞弹性蛋白酶裂解;和FFKNIVTPRTPP (SEQ ID NO:59),被钙蛋白酶(钙活化的中性蛋白酶)裂解。合适的可蛋白水解裂解的连接子的另外实例包括:1)ATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO:60);2)EGRGSLLTCGDVEENPGP (SEQ ID NO:61);3)QCTNYALLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO:62);和4)VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO:63)。合适的可蛋白水解裂解的连接子的另外实例包括:1)GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO:64);2)GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP (SEQ ID NO:65);3)GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO:66);和4)GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO:67)。

[0233] 合适的连接子的实例包括2A连接子(例如T2A)、2A样连接子或其功能等同物及其组合。在一些实施方案中,该连接子包括细小核糖核酸病毒2A样连接子,猪捷申病毒(P2A)、明脉扁刺蛾β四体病毒(T2A)的CHYSEL序列,及其组合、变体和功能等同物。在其他实施方案中,该连接子序列可包含Asp-Val/Ile-Glu-X-Asn-Pro-Gly^{2A}-Pro^{2B}基序,这导致介于2A甘氨酸与2B脯氨酸之间的裂解。出于本公开的目的,P2A(GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO:64))、T2A(GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP (SEQ ID NO:65))、E2A(GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO:66))和F2A(GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO:67))可被视为“蛋白水解裂解位点”或“核糖体跳跃信号”(CHYSEL)。参见例如Kim等人(2011)PLoS ONE 6:e18556。作为两条多肽链而产生编码多肽所依赖的机制可能为该连接子的自裂解、核糖体跳跃或翻译分流(translational shunting)。无论机制如何,本公开的多聚体多肽中的至少两条多肽链可使用P2A、T2A、E2A或F2A序列产生。合适的连接子包括包含诸如以下氨基酸序列的多

肽:GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO:64)、GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP (SEQ ID NO:65)、GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO:66)、GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO:67) 或相对于SEQ ID NO:64-67所列的氨基酸序列具有1至5个氨基酸取代的氨基酸序列(例如,相对于SEQ ID NO:64-67所列的氨基酸序列具有1至5个保守型氨基酸取代的氨基酸序列)。合适的连接子包括包含诸如以下氨基酸序列的多肽:GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO:64)、GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP (SEQ ID NO:65)、GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO:66)、GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO:67) 或相对于SEQ ID NO:64-67所列的氨基酸序列具有1至10个氨基酸取代的氨基酸序列(例如,相对于SEQ ID NO:64-67所列的氨基酸序列具有1至10个保守型氨基酸取代的氨基酸序列)。

[0234] 表位

[0235] 在该重组多肽的一个实施方案中,该候选表位包含7-20个氨基酸。在该重组多肽的一个实施方案中,该表位肽为用于MHC I类的5-20个氨基酸。在一个实施方案中,该表位肽为用于MHC I类的8-11个氨基酸。在一个实施方案中,该表位肽为用于MHC II类的5-40个氨基酸。在一个实施方案中,该表位肽为用于MHC II类的13-17个氨基酸。在一个实施方案中,该表位肽为任何天然存在的或突变的人序列或为任何由病原体来源的序列。

[0236] MHC多肽

[0237] 在该重组多肽的一个实施方案中,该第一和/或第二B2M前导序列具有人B2M前导序列的序列。

[0238] 在一些情况中,前导肽包含与下列人B2M前导序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:MSRSVALAVLALLSLSGLEA (SEQ ID NO:68)。

[0239] 在一些情况中,如本文所述的B2M前导序列可以为哺乳动物B2M前导序列,包括但不限于例如人B2M前导序列、灵长类B2M前导序列、啮齿动物B2M前导序列等。在一些情况中,如本文所述的B2M前导序列包含与图20中所描绘的B2M前导序列之一具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0240] 在一个实施方案中,该B2M包含以下序列:

[0241] IQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYT EFTPTKDEYACRVNHVTLSPKIVKWDRDM (SEQ ID NO:4)。

[0242] 在一些情况中,B2M多肽包含与图20中所描绘的B2M氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%的序列同一性的氨基酸序列。

[0243] 在该重组多肽的一个实施方案中,该MHC重链为人MHC重链。在该重组多肽的一个实施方案中,该MHC重链为MHC I分子。示例性MHC I重链包括HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-E、HLA-F、HLA-G、HLA-K和HLA-L的 α 链。在该重组多肽的一个实施方案中,该MHC重链为HLA-A02:01。在一个实施方案中,该HLA为HLA-A02。在一个实施方案中,该HLA-A02包含以下序列:

[0244] GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRQVK AHSQTHRVDLGTLRGYNQSEAGSHTVQRM YGCDVGS DWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTK

HKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRLYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRD
GEDQTQDTELVETRPAGDGTQKWA AVVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEP (SEQ ID NO:5)。

[0245] 在该重组多肽的一个实施方案中,该MHC重链为MHC II分子。示例性MHC II重链包括HLA-D的那些重链。

[0246] 在该重组多肽的一个实施方案中,该重组多肽还在其人天然B2M肽序列及其重链序列中包含突变以便在B2M肽序列与重链序列之间实现二硫键。

[0247] 在该重组多肽的一个实施方案中,该重组多肽重链序列为HLA且该二硫键连接下列残基对之一:

[0248] B2M残基12,HLA残基236;

[0249] B2M残基12,HLA残基237;

[0250] B2M残基8,HLA残基234;

[0251] B2M残基10,HLA残基235;

[0252] B2M残基24,HLA残基236;

[0253] B2M残基28,HLA残基232;

[0254] B2M残基98,HLA残基192;

[0255] B2M残基99,HLA残基234;

[0256] B2M残基3,HLA残基120;

[0257] B2M残基31,HLA残基96;

[0258] B2M残基53,HLA残基35;

[0259] B2M残基60,HLA残基96;

[0260] B2M残基60,HLA残基122;

[0261] B2M残基63,HLA残基27;

[0262] B2M残基Arg3,HLA残基Gly120;

[0263] B2M残基His31,HLA残基Gln96;

[0264] B2M残基Asp53,HLA残基Arg35;

[0265] B2M残基Trp60,HLA残基Gln96;

[0266] B2M残基Trp60,HLA残基Asp122;

[0267] B2M残基Tyr63,HLA残基Tyr27;

[0268] B2M残基Lys6,HLA残基Glu232;

[0269] B2M残基Gln8,HLA残基Arg234;

[0270] B2M残基Tyr10,HLA残基Pro235;

[0271] B2M残基Ser11,HLA残基Gln242;

[0272] B2M残基Asn24,HLA残基Ala236;

[0273] B2M残基Ser28,HLA残基Glu232;

[0274] B2M残基Asp98,HLA残基His192;和

[0275] B2M残基Met99,HLA残基Arg234

[0276] (有关B2M和HLA序列,参见SEQ ID NO:4和5)。

[0277] 在该重组多肽的一个实施方案中,该重链序列为HLA且其中该二硫键连接下列残基对之一:

[0278] 第一连接子位置Gly2,重链(HLA)位置Tyr84;

[0279] 轻链(B2M)位置Arg12,HLA Ala236;和/或

[0280] B2M残基Arg12,HLA残基Gly237。

[0281] Fc多肽

[0282] 在该重组多肽的一个实施方案中,该免疫球蛋白Fc结构域为IgG Fc结构域。在该重组多肽的一个实施方案中,该免疫球蛋白Fc结构域为IgA Fc结构域。在该重组多肽的一个实施方案中,该免疫球蛋白Fc结构域为IgM Fc结构域。在该重组多肽的一个实施方案中,该免疫球蛋白Fc结构域为人免疫球蛋白Fc结构域。在该重组多肽的一个实施方案中,该免疫球蛋白Fc结构域为IgG1 Fc结构域。

[0283] 免疫调节多肽

[0284] 在该重组多肽的一个实施方案中,该T细胞调节结构域为抑制性结构域。

[0285] 在该重组多肽的一个实施方案中,该T细胞调节结构域为刺激性结构域。

[0286] 在该重组多肽的一个实施方案中,该T细胞调节结构域为抗体、抗体片段、肽配体、T细胞共刺激肽、细胞因子或毒素。

[0287] 在该重组多肽的一个实施方案中,该T细胞调节结构域包括PD-L1肽、PD-L1肽的Ig可变结构域,该T细胞调节结构域包含4-1BBL,该T细胞调节结构域包含B7-1W88A或该T细胞调节结构域包含抗CD28单链Fv。

[0288] 可用于本发明中的另外的T细胞调节结构域(MOD)包括天然存在的或合成的人基因产物(蛋白),靶向人基因产物的亲和试剂(例如抗体、抗体片段、单链Fv、适体、纳米抗体),包括但不限于来自典型和非典型(例如FGF2、IL1、S100A4)分泌机制的所有分泌蛋白,和通过天然存在的基因编码的蛋白片段(单个或多个跨膜)或翻译后修饰(诸如GPI键合)而锚定的所有细胞表面蛋白的胞外结构域。靶向细胞表面聚糖或其他翻译后修饰(例如硫酸化)的任何天然存在的或合成的亲和试剂(例如抗体、抗体片段、单链Fv、适体、纳米抗体、凝集素等)。实例包括但不限于TNF/TNFR家族的成员(0X40L、ICOSL、FASL、LTA、LTBTRAIL、CD153、TNFSF9、RANKL、TWEAK、TNFSF13、TNFSF13b、TNFSF14、TNFSF15、TNFSF18、CD40LG、CD70)或针对TN/TNFR家族成员的亲和试剂;免疫球蛋白超家族的成员(VISTA、PD1、PD-L1、PD-L2、B71、B72、CTLA4、CD28、TIM3、CD4、CD8、CD19、T细胞受体链、ICOS、ICOS配体、HHLA2、嗜乳脂蛋白、BTLA、B7-H3、B7-H4、CD3、CD79a、CD79b、IgSF CAMS(包括CD2、CD58、CD48、CD150、CD229、CD244、ICAM-1)、白细胞免疫球蛋白样受体(LILR)、杀伤细胞免疫球蛋白样受体(KIR))、凝集素超家族成员、选择素、细胞因子/趋化因子和细胞因子/趋化因子受体、生长因子和生长因子受体、粘附分子(整合素、纤连蛋白、钙粘蛋白)或多跨膜蛋白的胞外结构域或针对免疫球蛋白超家族和所列基因产物的亲和试剂。此外,这些基因产物的活性同系物/直系同源物包括但不限于病毒序列(例如CMV、EBV)、细菌序列、真菌序列、真核病原体(例如血吸虫属、疟原虫属、巴贝斯虫属、艾美球虫属、泰勒虫属、弓形虫属、内阿米巴属、利什曼原虫属和锥虫属)和哺乳动物来源的编码区。此外,MOD可包含靶向人基因产物的小分子药物。

[0289] 另外的多肽

[0290] 在该重组多肽的一个实施方案中,它们还包含邻接该重组多肽的C端的His-8标签。

[0291] 核酸

[0292] 本发明提供编码本文所述的任何重组多肽的核酸。在一个实施方案中,该核酸为DNA。在一个实施方案中,该核酸为cDNA。在一个实施方案中,该核酸为RNA。在一个实施方案中,该核酸为mRNA。

[0293] 在一个实施方案中,该重组核酸为载体。在一个实施方案中,该载体为病毒载体。在一个实施方案中,该病毒载体为慢病毒载体。

[0294] 本公开提供包含编码本公开的多聚体多肽的核苷酸序列的核酸。在一些情况中,本公开的多聚体多肽的各条多肽链在单独的核酸中编码。在一些情况中,本公开的多聚体多肽的所有多肽链在单个核酸中编码。在一些情况中,第一核酸包含编码本公开的多聚体多肽的第一多肽的核苷酸序列;而第二核酸包含编码本公开的多聚体多肽的第二多肽的核苷酸序列。在一些情况中,单个核酸包含编码本公开的多聚体多肽的第一多肽和本公开的多聚体多肽的第二多肽的核苷酸序列。在一些情况中,核酸包含编码如上述的多聚蛋白前体的核苷酸序列。

[0295] 编码多聚体多肽的各条多肽链的单独核酸

[0296] 本公开提供包含编码本公开的多聚体多肽的核苷酸序列的核酸。如上所述,在一些情况中,本公开的多聚体多肽的各条多肽链在单独核酸中编码。在一些情况中,编码本公开的多聚体多肽的单独多肽链的核苷酸序列可操作地连接到转录控制元件,例如启动子,诸如在真核细胞中起作用的启动子,其中该启动子可以为组成型启动子或诱导型启动子。

[0297] 本公开提供第一核酸和第二核酸,其中该第一核酸包含编码本公开的多聚体多肽的第一多肽的核苷酸序列,其中该第一多肽按从N端至C端的顺序包含:a)表位(例如T细胞表位);b)第一MHC多肽;和c)免疫调节多肽;且其中该第二核酸包含编码本公开的多聚体多肽的第二多肽的核苷酸序列,其中该第二多肽按从N端至C端的顺序包含:a)第二MHC多肽;以及b)Ig Fc多肽。合适的T细胞表位、MHC多肽、免疫调节多肽和Ig Fc多肽描述于上文中。在一些情况中,该编码第一和第二多肽的核苷酸序列可操作地连接到转录控制元件。在一些情况中,该转录控制元件为在真核细胞中起作用的启动子。在一些情况中,该核酸存在于单独的表达载体中。

[0298] 本公开提供第一核酸和第二核酸,其中该第一核酸包含编码本公开的多聚体多肽的第一多肽的核苷酸序列,其中该第一多肽按从N端至C端的顺序包含:a)表位(例如T细胞表位);b)第一MHC多肽;且其中该第二核酸包含编码本公开的多聚体多肽的第二多肽的核苷酸序列,其中该第二多肽按从N端至C端的顺序包含:a)免疫调节多肽;b)第二MHC多肽;和c)Ig Fc多肽。合适的T细胞表位、MHC多肽、免疫调节多肽和Ig Fc多肽描述于上文中。在一些情况中,该编码第一和第二多肽的核苷酸序列可操作地连接到转录控制元件。在一些情况中,该转录控制元件为在真核细胞中起作用的启动子。在一些情况中,该核酸存在于单独的表达载体中。

[0299] 编码存在于多聚体多肽中的两种或更多种多肽的核酸

[0300] 本公开提供包含编码至少本公开的多聚体多肽的第一多肽和第二多肽的核苷酸序列的核酸。在其中本公开的多聚体多肽包含第一、第二和第三多肽的一些情况中,该核酸包括编码第一、第二和第三多肽的核苷酸序列。在一些情况中,该编码本公开的多聚体多肽的第一多肽和第二多肽的核苷酸序列包括介于编码该第一多肽的核苷酸序列与编码该第

二多肽的核苷酸序列之间的可蛋白水解裂解的连接子。在一些情况中,该编码本公开的多聚体多肽的第一多肽和第二多肽的核苷酸序列包括介于编码该第一多肽的核苷酸序列与编码该第二多肽的核苷酸序列之间的内部核糖体进入位点(IRES)。在一些情况中,该编码本公开的多聚体多肽的第一多肽和第二多肽的核苷酸序列包括介于编码该第一多肽的核苷酸序列与编码该第二多肽的核苷酸序列之间的核糖体跳跃信号(或顺式作用水解酶元件,CHYSEL)。核酸的实例描述于下文中,其中可蛋白水解裂解的连接子在编码本公开的多聚体多肽的第一多肽和第二多肽的核苷酸序列之间提供;在这些实施方案的任一个中,可使用IRES或核糖体跳跃信号来代替编码该可蛋白水解裂解的连接子的核苷酸序列。

[0301] 在一些情况中,第一核酸(例如,重组表达载体、mRNA、病毒RNA等)包含编码本公开的多聚体多肽的第一多肽链的核苷酸序列;且第二核酸(例如,重组表达载体、mRNA、病毒RNA等)包含编码本公开的多聚体多肽的第二多肽链的核苷酸序列。在一些情况中,编码该第一多肽的核苷酸序列,和编码该第二多肽的第二核苷酸序列各自可操作地连接到转录控制元件,例如启动子,诸如在真核细胞中起作用的启动子,其中该启动子可以为组成型启动子或诱导型启动子。

[0302] 本公开提供包含编码重组多肽的核苷酸序列的核酸,其中该重组多肽按从N端至C端的顺序包含:a)表位(例如T细胞表位);b)第一MHC多肽;c)免疫调节多肽;d)可蛋白水解裂解的连接子;e)第二MHC多肽;和f)免疫球蛋白(Ig)Fc多肽。本公开提供包含编码重组多肽的核苷酸序列的核酸,其中该重组多肽按从N端至C端的顺序包含:a)第一前导肽;b)表位;c)第一MHC多肽;d)免疫调节多肽;e)可蛋白水解裂解的连接子;f)第二前导肽;g)第二MHC多肽;和h)Ig Fc多肽。本公开提供包含编码重组多肽的核苷酸序列的核酸,其中该重组多肽按从N端至C端的顺序包含:a)表位;b)第一MHC多肽;c)可蛋白水解裂解的连接子;d)免疫调节多肽;e)第二MHC多肽;和f)Ig Fc多肽。在一些情况中,该第一前导肽和第二前导肽为 β 2-M前导肽。在一些情况中,该核苷酸序列可操作地连接到转录控制元件。在一些情况中,该转录控制元件为可在真核细胞中起作用的启动子。

[0303] 合适的MHC多肽描述于上文中。在一些情况中,该第一MHC多肽为 β 2微球蛋白多肽;且其中该第二MHC多肽为MHC I类重链多肽。在一些情况中,该 β 2微球蛋白多肽包含与SEQ ID NO:4所列的氨基酸序列具有至少85%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况中,该MHC I类重链多肽为HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-E、HLA-F、HLA-G、HLA-K或HLA-L重链。在一些情况中,该MHC I类重链多肽包含与SEQ ID NO:5所列的氨基酸序列具有至少85%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况中,该第一MHC多肽为MHC II类 α 链多肽;且其中该第二MHC多肽为MHC II类 β 链多肽。

[0304] 合适的Fc多肽描述于上文中。在一些情况中,该Ig Fc多肽为IgG1 Fc多肽、IgG2 Fc多肽、IgG3 Fc多肽、IgG4 Fc多肽、IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况中,该Ig Fc多肽包含与图24A-24C中所描绘的氨基酸序列具有至少85%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0305] 合适的免疫调节多肽描述于上文中。在一些情况中,该免疫调节多肽选自:4-1BBL多肽、B7-1多肽;B7-2多肽、ICOS-L多肽、OX-40L多肽、CD80多肽、CD86多肽、PD-L1多肽、FasL多肽和PD-L2多肽。在一些情况中,该免疫调节多肽选自:CD7、CD30L、CD40、CD70、CD83、HLA-G、MICA、MICB、HVEM、淋巴毒素 β 受体、3/TR6、ILT3、ILT4和HVEM。

[0306] 合适的可蛋白水解裂解的连接子描述于上文中。在一些情况中,该可蛋白水解裂解的连接子包含选自以下的氨基酸序列:a) LEVLFQGP (SEQ ID NO:37);b) ENLYTQS (SEQ ID NO:34);c) DDDDK (SEQ ID NO:35);d) LVPR (SEQ ID NO:36);和e) GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO:64)。

[0307] 在一些情况中,该介于表位与第一MHC多肽之间的连接子包含第一Cys残基,该第二MHC多肽包含氨基酸取代以提供第二Cys残基,从而使该第一和第二Cys残基提供介于该连接子与第二MHC多肽之间的二硫键。在一些情况中,该第一MHC多肽包含氨基酸取代以提供第一Cys残基,而该第二MHC多肽包含氨基酸取代以提供第二Cys残基,从而使该第一Cys残基和第二Cys残基提供介于该第一MHC多肽与第二MHC多肽之间的二硫键。

[0308] 重组表达载体

[0309] 本公开提供包含本公开的核酸的重组表达载体。在一些情况中,该重组表达载体为非病毒载体。在一些实施方案中,该重组表达载体为病毒构建体,例如重组腺相关病毒构建体(参见例如美国专利第7,078,387号)、重组腺病毒构建体、重组慢病毒构建体、重组逆转录病毒构建体、非整合病毒载体等。

[0310] 合适的表达载体包括但不限于病毒载体(例如基于牛痘病毒、脊髓灰质炎病毒、腺病毒(参见例如Li等人,Invest Ophthalmol Vis Sci 35:2543-2549,1994;Borras等人,Gene Ther 6:515-524,1999;Li和Davidson,PNAS 92:7700-7704,1995;Sakamoto等人,Hum Gene Ther 5:1088-1097,1999;WO 94/12649,WO 93/03769;WO 93/19191;WO 94/28938;WO 95/11984和WO 95/00655);腺相关病毒(参见例如Ali等人,Hum Gene Ther 9:81-86,1998;Flannery等人,PNAS 94:69166921,1997;Bennett等人,Invest Ophthalmol Vis Sci 38:2857-2863,1997;Jomary等人,Gene Ther 4:683-690,1997;Rolling等人,Hum Gene Ther 10:641-648,1999;Ali等人,Hum Mol Genet 5:591-594,1996;Srivastava,在WO 93/09239中;Samulski等人,J. Vir. (1989) 63:3822-3828;Mendelson等人,Virol. (1988) 166:154-165和Flotte等人,PNAS (1993) 90:10613-10617);SV40;单纯疱疹病毒;人免疫缺陷病毒(参见例如Miyoshi等人,PNAS 94:10319-23,1997;Takahashi等人,J Virol 73:78127816,1999)的病毒载体);逆转录病毒载体(例如鼠白血病病毒、脾坏死病毒,和源自逆转录病毒(诸如劳氏肉瘤病毒(Rous Sarcoma Virus)、哈维肉瘤病毒(Harvey Sarcoma Virus)、禽白血病病毒(avian leukosis virus)、慢病毒、人免疫缺陷病毒、骨髓增生肉瘤病毒(myeloproliferative sarcoma virus)和乳腺肿瘤病毒)的载体);等等。

[0311] 许多合适的表达载体是本领域的技术人员已知的且许多可商购获得。以下载体以举例说明的方式提供;用于真核宿主细胞的:pXT1、pSG5 (Stratagene)、pSVK3、pBPV、pMSG和pSVLSV40 (Pharmacia)。然而,可使用任何其他载体只要其与宿主细胞相容即可。

[0312] 取决于所用的宿主/载体系统,可在表达载体中使用任何多种合适的转录和翻译控制元件,包括组成型和诱导型启动子、转录增强子元件、转录终止子等(参见例如Bitter等人(1987) Methods in Enzymology, 153:516-544)。

[0313] 在一些实施方案中,编码DNA靶向RNA和/或定点修饰多肽的核苷酸序列可操作地连接到控制元件,例如转录控制元件,诸如启动子。该转录控制元件可在真核细胞,例如哺乳动物细胞;或原核细胞(例如细菌或古细菌细胞)中起作用。在一些实施方案中,编码DNA靶向RNA和/或定点修饰多肽的核苷酸序列可操作地连接到允许编码DNA靶向RNA和/或定点

修饰多肽的核苷酸序列在原核和真核细胞中表达的多个控制元件。

[0314] 合适的真核启动子(在真核细胞中起作用的启动子)的非限制性实例包括来自巨细胞病毒(CMV)即刻早期、单纯疱疹病毒(HSV)胸苷激酶、早期和晚期SV40、来自逆转录病毒的长末端重复序列(LTR)和小鼠金属硫蛋白-I的那些启动子。适当的载体和启动子的选择完全在本领域普通技术人员的水平内。表达载体还可以含有用于翻译起始和转录终止子的核糖体结合位点。该表达载体还可以包括用于扩增表达的适当序列。

[0315] 经遗传修饰的宿主细胞

[0316] 本发明提供用编码本文所述的任何重组多肽的核酸转化的细胞。可以用编码任何重组多肽的核酸转化的细胞的实例包括经分离的哺乳动物细胞,包括但不限于人胚胎肾(HEK)、中国仓鼠卵巢(CHO)、NS0(鼠骨髓瘤)细胞、人羊水细胞(CAP、CAP-T)、酵母细胞(包括但不限于酿酒酵母(*S.cerevisiae*)、巴斯德毕赤酵母(*Pichia pastoris*))、植物细胞(包括但不限于烟草NT1、BY-2)、昆虫细胞(包括但不限于SF9、S2、SF21、Tni(例如High5))或细菌细胞(包括但不限于大肠杆菌(*E.coli*))。

[0317] 本公开提供经遗传修饰的宿主细胞,其中该宿主细胞经本公开的核酸遗传修饰。

[0318] 合适的宿主细胞包括真核细胞,诸如酵母细胞、昆虫细胞和哺乳动物细胞。在一些情况中,该宿主细胞为哺乳动物细胞系的细胞。合适的哺乳动物细胞系包括人细胞系、非人灵长类细胞系、啮齿动物(例如小鼠、大鼠)细胞系等。合适的哺乳动物细胞系包括但不限于HeLa细胞(例如美国典型培养物保藏中心(ATCC)编号CCL-2)、CHO细胞(例如ATCC编号CRL9618、CCL61、CRL9096)、293细胞(例如ATCC编号CRL-1573)、Vero细胞、NIH 3T3细胞(例如ATCC编号CRL-1658)、Huh-7细胞、BHK细胞(例如ATCC编号CCL10)、PC12细胞(ATCC编号CRL1721)、COS细胞、COS-7细胞(ATCC编号CRL1651)、RAT1细胞、小鼠L细胞(ATCC编号CCL1.3)、人胚胎肾(HEK)细胞(ATCC编号CRL1573)、HLHepG2细胞等。

[0319] 在一些情况中,该宿主细胞为已经过遗传修饰从而使其不会合成内源性MHC β 2-M的哺乳动物细胞。

[0320] 制备多聚体多肽的方法

[0321] 本公开提供制备本公开的多聚体多肽的方法。一般而言,该方法涉及:将通过包含编码多聚体多肽的核苷酸序列的重组表达载体进行了遗传修饰的宿主细胞在培养基中培养;以及从经遗传修饰的宿主细胞和/或培养基分离该多聚体多肽。通过包含编码多聚体多肽的核苷酸序列的重组表达载体进行遗传修饰的宿主细胞也称为“表达宿主”。如上所述,在一些情况中,本公开的多聚体多肽的各条多肽链在单独的重组表达载体中编码。在一些情况中,本公开的多聚体多肽的所有多肽链在单个重组表达载体中编码。

[0322] 可使用标准蛋白纯化法从该表达宿主细胞(例如从该表达宿主细胞的裂解物)和/或培养该宿主细胞的培养基分离多聚体多肽。

[0323] 例如,可制备表达宿主的裂解物并使用高效液相色谱(HPLC)、排阻色谱、凝胶电泳、亲和色谱或其他纯化技术纯化该裂解物。或者,当多聚体多肽从该表达宿主细胞分泌进培养基时,可使用HPLC、排阻色谱、凝胶电泳、亲和色谱或其他纯化技术从该培养基中纯化该多聚体多肽。在一些情况中,相对于与产物制备及其纯化方法有关的污染物,所用的组合物将包含至少80重量%、至少约85重量%、至少约95重量%或至少约99.5重量%的所需产物。该百分比可按总蛋白计。

[0324] 在例如其中该多聚体多肽包含亲和标签的一些情况中,该多聚体多肽可使用该亲和标签的固定化结合伴侣纯化。

[0325] 组合物

[0326] 本公开提供组合物,包括包含本公开的多聚体多肽的药物组合物。本公开提供组合物,包括包含本公开的核酸或重组表达载体的药物组合物。

[0327] 包含多聚体多肽的组合物

[0328] 除了本公开的多聚体多肽外,本公开的组合物还可以包含以下一者或多者:盐,例如NaCl、MgCl、KCl、MgSO₄等;缓冲剂,例如Tris缓冲液、N-(2-羟乙基)哌嗪-N'-(2-乙磺酸)(HEPES)、2-(N-吗啉代)乙磺酸(MES)、2-(N-吗啉代)乙磺酸钠盐(MES)、3-(N-吗啉代)丙磺酸(MOPS)、N-三[羟甲基]甲基-3-氨基丙磺酸(TAPS)等;增溶剂;洗涤剂,例如非离子型洗涤剂,诸如Tween-20等;蛋白酶抑制剂;甘油;等等。

[0329] 该组合物可包含药学上可接受的赋形剂,其中许多是本领域已知的且无需在本文中详细讨论。药学上可接受的赋形剂已充分描述于多种出版物中,包括例如“Remington: The Science and Practice of Pharmacy”,第19版(1995)或最新版,Mack Publishing Co;A.Gennaro(2000)“Remington:The Science and Practice of Pharmacy”,第20版,Lippincott,Williams&Wilkins;Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems(1999)H.C.Ansel等人,第7版,Lippincott,Williams&Wilkins;和Handbook of Pharmaceutical Excipients(2000)A.H.Kibbe等人,第3版,Amer.Pharmaceutical Assoc。

[0330] 药物组合物可包含本公开的多聚体多肽和药学上可接受的赋形剂。在一些情况中,主题药物组合物将适于施用给受试者,例如将为无菌的。例如,在一些实施方案中,主题药物组合物将适于施用给人受试者,例如其中该组合物为无菌的且不含可检测的热原和/或其他毒素。

[0331] 蛋白组合物可包含其他组分,诸如药品级甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、滑石、纤维素、葡萄糖、蔗糖、镁、碳酸盐等。该组合物可含有为了接近生理条件而需要的药学上可接受的辅助物质,诸如pH调节剂和缓冲剂、毒性调节剂等,例如醋酸钠、氯化钠、氯化钾、氯化钙、乳酸钠、盐酸盐、硫酸盐、溶剂化物(例如混合的离子性盐、水、有机物)、水合物(例如水)等。

[0332] 例如,组合物可以包括水溶液、粉末形式、颗粒、片剂、丸剂、栓剂、胶囊、混悬液、喷雾等。该组合物可根据下文描述的各种施用途径配制。

[0333] 当本公开的多聚体多肽以注射剂形式直接施用(例如经由皮下、腹膜内和/或静脉内)至组织内时,制剂可以以即用型剂型或非水性形式(例如可复溶的储存稳定的粉末)或水性形式(诸如由药学上可接的载体和赋形剂构成的液体)提供。还可提供含蛋白的制剂从而延长该主题蛋白在施用后的血清半衰期。例如,该蛋白可提供在脂质体制剂中,制备成胶体或其他用于延长血清半衰期的传统技术。多种方法可用于制备脂质体,如例如在Szoka等人1980Ann.Rev.Biophys.Bioeng.9:467、美国专利第4,235,871、4,501,728和4,837,028号中所描述的。该制剂还可以以控释或缓释形式提供。

[0334] 适于肠胃外施用的制剂的其他实例包括等渗无菌注射溶液、抗氧化剂、抑菌剂和使该制剂与预期的接受者的血液等渗的溶质、助悬剂、增溶剂、增稠剂、稳定剂和防腐剂。例如,主题药物组合物可存在于容器中,例如无菌容器,诸如注射器。该制剂可存在于单位剂

量或多剂量密封容器(诸如安瓿和小瓶中)且可储存在仅需在使用前不久添加无菌液态赋形剂(例如注射用水)的冷冻干燥(冻干)条件下。实时注射溶液和混悬液可从无菌粉末、颗粒和片剂制备。

[0335] 制剂中的本公开的多聚体多肽的浓度可以有很大的变化(例如,从少于约0.1重量%,通常为或至少为约2重量%至多达20重量%至50重量%或更多),且通常将主要基于流体体积、粘度和基于患者的因素根据所选的特定施用模式和患者需求来选择。

[0336] 本公开提供包含本公开的组合物(例如液体组合物)的容器。该容器可以为例如注射器、安瓿等。在一些情况中,该容器为无菌的。在一些情况中,该容器和组合物均为无菌的。

[0337] 包含核酸或重组表达载体的组合物

[0338] 本公开提供包含本公开的核酸或重组表达载体的组合物,例如药物组合物。多种药学上可接受的赋形剂是本领域已知的且无需在本文详细讨论。药学上可接受的赋形剂已详细描述于多种出版物中,包括例如A.Gennaro(2000)“Remington:The Science and Practice of Pharmacy”,第20版,Lippincott,Williams&Wilkins;Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems(1999)H.C.Ansel等人,第7版,Lippincott,Williams&Wilkins;和Handbook of Pharmaceutical Excipients(2000)A.H.Kibbe等人,第3版,Amer.Pharmaceutical Assoc。

[0339] 本公开的组合物可包括:a)主题核酸或重组表达载体;以及b)以下一者或多者:缓冲剂、表面活性剂、抗氧化剂、亲水性聚合物、糊精、螯合剂、助悬剂、增溶剂、增稠剂、稳定剂、抑菌剂、润湿剂和防腐剂。合适的缓冲剂包括但不限于(诸如N,N-双(2-羟乙基)-2-氨基乙磺酸(BES)、双(2-羟乙基)氨基-三(羟甲基)甲烷(BIS-Tris)、N-(2-羟乙基)哌嗪-N'3-丙磺酸(EPPS或HEPPS)、双甘氨酸、N-2-羟乙基哌嗪-N'-2-乙磺酸(HEPES)、3-(N-吗啉代)丙磺酸(MOPS)、哌嗪-N,N'-双(2-乙磺酸)(PIPES)、碳酸氢钠、3-(N-三(羟甲基)-甲基-氨基)-2-羟基-丙磺酸(TAPSO)、(N-三(羟甲基)甲基-2-氨基乙磺酸(TES)、N-三(羟甲基)甲基-甘氨酸(三甲基甘氨酸(Tricine))、三(羟甲基)-氨基甲烷(Tris)等)。合适的盐包括例如NaCl、MgCl₂、KCl、MgSO₄等。

[0340] 本公开的药物制剂可包含含量为约0.001%至约90%(w/w)的本公开的核酸或重组表达载体。在下文对制剂的说明中,将理解的是,“主题核酸或重组表达载体”包括本公开的核酸或重组表达载体。例如,在一些实施方案中,主题制剂包含本公开的核酸或重组表达载体。

[0341] 主题核酸或重组表达载体可与其他化合物或化合物的混合物配混、包封在胶囊中、偶联或以其他方式缔合;此类化合物可包括例如脂质体或受体靶向分子。主题核酸或重组表达载体可与一种或多种有助于摄取、分布和/或吸收的组分组合在制剂中。

[0342] 主题核酸或重组表达载体组合物可配制成许多可能的剂型中的任一种,诸如但不限于片剂、胶囊、凝胶胶囊、液体糖浆、软凝胶、栓剂和灌肠剂。主题核酸或重组表达载体组合物还可配制成在水性、非水性或混合介质中的混悬液。水性混悬液可进一步含有能增加该混悬液的粘度的物质,包括例如羧甲基纤维素钠、山梨糖醇和/或葡聚糖。该混悬液还可含有稳定剂。

[0343] 包含主题核酸或重组表达载体的制剂可以为脂质体制剂。如本文所用的术语“脂

质体”意指由排列成球形双层或双层的两亲性脂质所组成的囊泡。脂质体为单层或多层囊泡,其具有由亲脂性材料形成的膜和含有要递送的组合物水性内部。阳离子性脂质体为带正电荷的脂质体,其可与带负电荷的DNA分子相互作用以形成稳定的复合物。pH敏感性或带负电荷的脂质体据信将截留DNA,而非与其复合。阳离子型和非阳离子型脂质体均可用来递送主题核酸或重组表达载体。

[0344] 脂质体还包括“立体稳定化”的脂质体,如本文所用的该术语是指包含一种或多种专用脂质的脂质体,当该专用脂质并入脂质体时会导致循环寿命相对于缺乏此类专用脂质的脂质体延长。立体稳定化的脂质体的实例是其中脂质体的形成囊泡的脂质部分中有一部分包含一种或多种糖脂或由一种或多种亲水性聚合物(诸如聚乙二醇(PEG)部分)衍生的那些脂质体。脂质体及其用途进一步描述于美国专利第6,287,860号(其以引用方式整体并入本文)中。

[0345] 本公开的制剂和组合物还可包含表面活性剂。表面活性剂在药品、制剂和乳剂中的用途是本领域熟知的。表面活性剂及其用途进一步描述于美国专利第6,287,860号中。

[0346] 在一个实施方案中,包含各种渗透增强剂以实现核酸的有效递送。除了帮助非亲脂性药物扩散穿过细胞膜外,渗透增强剂还增强该亲脂性药物的渗透性。渗透增强剂可被分成属于五大类(即,表面活性剂、脂肪酸、胆汁盐、螯合剂和非螯合型非表面活性剂)之一。渗透增强剂及其用途进一步描述于美国专利第6,287,860号(其以引用方式整体并入本文)中。

[0347] 用于经口施用的组合物和制剂包括粉末或颗粒、微粒、纳米颗粒、在水或非水性介质中的混悬液或溶液、胶囊、凝胶胶囊、囊片、片剂或微型片剂。增稠剂、调味剂、稀释剂、乳化剂、分散助剂或粘合剂可能是所需的。合适的口服制剂包括其中将主题反义核酸与一种或多种渗透增强剂、表面活性剂和螯合剂一起施用的那些。合适的表面活性剂包括但不限于脂肪酸和/或其酯或盐、胆汁酸和/或其盐。合适的胆汁酸/盐和脂肪酸及其用途进一步描述于美国专利第6,287,860号中。渗透增强剂的组合也是合适的,例如脂肪酸/盐与胆汁酸/盐的组合。示例性的合适组合为月桂酸、癸酸和UDCA的钠盐。另外的渗透增强剂包括但不限于聚氧乙烯-9-月桂醚和聚氧乙烯-20-鲸蜡醚。合适的渗透增强剂还包括丙二醇、二甲亚砜、三乙醇胺、N,N-二甲基乙酰胺、N,N-二甲基甲酰胺、2-吡咯烷酮及其衍生物、四氢呋喃甲醇和AZONE™。

[0348] 调节T细胞活性的方法

[0349] 本发明还提供抑制识别表位肽的T细胞克隆的方法,其包括将该克隆的T细胞与有效抑制T细胞克隆的量的如本文所述的重组肽接触,其中该重组肽包含表位肽且包含为抑制性结构域的T细胞调节结构域。

[0350] 本发明还提供刺激识别表位肽的T细胞克隆的方法,其包括将该克隆的T细胞与有效刺激T细胞克隆的量的如本文所述的重组肽接触,其中该重组肽包含表位肽且包含为刺激性结构域的T细胞调节结构域。

[0351] 本公开提供选择性调节表位特异性T细胞的活性的方法,该方法包括将T细胞与本公开的多聚体多肽接触,其中将T细胞与本公开的多聚体多肽接触选择性调节该表位特异性T细胞的活性。在一些情况中,该接触在体外发生。在一些情况中,该接触在体内发生。在一些情况中,该接触离体发生。

[0352] 在例如其中靶T细胞为CD8⁺T细胞的一些情况中,该多聚体多肽包含I类MHC多肽(例如β2微球蛋白和I类MHC重链)。在例如其中靶T细胞为CD4⁺T细胞的一些情况中,该多聚体多肽包含II类MHC多肽(例如II类MHCα链;II类MHCβ链)。

[0353] 当本公开的多聚体多肽包括为活化多肽的免疫调节多肽时,将T细胞与该多聚体多肽接触活化该表位特异性T细胞。在一些情况中,该表位特异性T细胞为对在癌细胞上存在的表位有特异性的T细胞且将该表位特异性T细胞与该多聚体多肽接触会增加该T细胞对癌细胞的细胞毒性活性。在一些情况中,该表位特异性T细胞为对在癌细胞上存在的表位有特异性的T细胞且将该表位特异性T细胞与该多聚体多肽接触会增加该表位特异性T细胞的数量。

[0354] 在一些情况中,该表位特异性T细胞为对在被病毒感染的细胞上存在的表位有特异性的T细胞且将该表位特异性T细胞与该多聚体多肽接触会增加该T细胞对被病毒感染的细胞的细胞毒性活性。在一些情况中,该表位特异性T细胞为对在被病毒感染的细胞上存在的表位有特异性的T细胞且将该表位特异性T细胞与该多聚体多肽接触会增加该表位特异性T细胞的数量。

[0355] 当本公开的多聚体多肽包括为抑制性多肽的免疫调节多肽时,将T细胞与该多聚体多肽接触会抑制该表位特异性T细胞。在一些情况中,该表位特异性T细胞为对在自体抗原中存在的表位有特异性的自体反应性T细胞且该接触会减少自体反应性T细胞的数量。

[0356] 治疗方法

[0357] 本发明还提供通过抑制识别表位肽的自体反应性T细胞克隆来治疗自体免疫性疾病的方法,其包括将该克隆的T细胞与有效治疗自体免疫性疾病的如本文所述的重组肽接触,其中该重组肽包含该表位肽且包含为抑制性结构域的T细胞调节结构域。

[0358] 本发明还提供通过刺激识别在癌症上的表位肽的T细胞克隆来治疗癌症的方法,其包括将该克隆的T细胞与有效治疗癌症的量的如本文所述的重组肽接触,其中该重组肽包含该表位肽且包含为刺激性结构域的T细胞调节结构域。

[0359] 在一个实施方案中,经转化以表达本发明的重组多肽的细胞为分离出的悬浮适应性细胞。在多个所述分离出的悬浮适应性细胞或重组核酸的一个实施方案中,该核酸包含DNA。

[0360] 在一个实施方案中,该T细胞包含从受试者取得的外周T细胞。在一个实施方案中,该T细胞包含受试者体内的T细胞。在一个实施方案中,该T细胞包含受试者体内的外周T细胞。在本文的方法的一个实施方案中,该受试者为人。

[0361] 本发明提供选择性调节个体中的表位特异性T细胞的活性的方法,该方法包括向该个体施用有效选择性调节个体中表位特异性T细胞活性的量的本公开的多聚体多肽或一种或多种编码该多聚体多肽的核酸。在一些情况中,本公开的治疗方法包括向有此需要的个体施用一个或多个包含编码本公开的多聚体多肽的核苷酸序列的重组表达载体。在一些情况中,本公开的治疗方法包括向有此需要的个体施用一个或多个包含编码本公开的多聚体多肽的核苷酸序列的mRNA分子。在一些情况中,本公开的治疗方法包括向有此需要的个体施用本公开的多聚体多肽。

[0362] 本公开提供选择性调节个体中的表位特异性T细胞的活性的方法,该方法包括向该个体施用有效量的本公开的多聚体多肽或一个或多个包含编码该多聚体多肽的核苷酸

序列的核酸(例如表达载体;mRNA等),其中该多聚体多肽选择性调节个体中的表位特异性T细胞的活性。选择性调节表位特异性T细胞的活性可治疗个体的疾病或障碍。因此,本公开提供治疗方法,其包括向有此需要的个体施用有效量的本公开的多聚体多肽。

[0363] 在一些情况中,该免疫调节多肽为活化多肽且该多聚体多肽活化该表位特异性T细胞。在一些情况中,该表位是与癌症相关的表位,且该多聚体多肽增加对该与癌症相关的表位有特异性的T细胞的活性。

[0364] 本公开提供治疗个体的癌症的方法,该方法包括向该个体有效量的本公开的多聚体多肽或一个或多个包含编码该多聚体多肽的核苷酸序列的核酸(例如表达载体;mRNA等),其中该多聚体多肽包含为癌症表位的T细胞表位,且其中该多聚体多肽包含刺激性免疫调节多肽。在一些情况中,多聚体多肽的“有效量”是当以一个或多个剂量向有此需要的个体施用时减少该个体中的癌细胞数量的量。例如,在一些情况中,本公开的多聚体多肽的“有效量”是当以一个或多个剂量中向有此需要的个体施用时,相较于施用该多聚体多肽前或未施用该多聚体多肽的个体中的癌细胞数量而言,该多聚体多肽的量减少该个体中的癌细胞数量达至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%。在一些情况中,本公开的多聚体多肽的“有效量”是当以一个或多个剂量向有此需要的个体施用时,将该个体中的癌细胞数量减少至无法检测的水平。在一些情况中,本公开的多聚体多肽的“有效量”是当以一个或多个剂量向有此需要的个体施用时,减轻该个体中的肿瘤质量的量。例如,在一些情况中,本公开的多聚体多肽的“有效量”是当以一个或多个剂量向有此需要的个体施用时,相较于施用该多聚体多肽前或未施用该多聚体多肽的个体中的肿瘤质量而言,该多聚体多肽的量减轻该个体中的肿瘤质量达至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%。在一些情况中,本公开的多聚体多肽的“有效量”是当以一个或多个剂量向有此需要的个体施用时延长该个体的存活时间的量。例如,在一些情况中,本公开的多聚体多肽的“有效量”是当以一个或多个剂量向有此需要的个体施用时,相较于未施用该多聚体多肽的个体的预期存活时间而言,延长该个体的存活时间达至少1个月、至少2个月、至少3个月、3个月至6个月、6个月至1年、1年至2年、2年至5年、5年至10年或超过10年的量。

[0365] 在一些情况中,该表位特异性T细胞为对在被病毒感染的细胞上存在的表位有特异性的T细胞,且将该表位特异性T细胞与该多聚体多肽接触增加该T细胞对被病毒感染的细胞的细胞毒性活性。在一些情况中,该表位特异性T细胞为对在被病毒感染的细胞上存在的表位有特异性的T细胞,且将该表位特异性T细胞与该多聚体多肽接触增加该表位特异性T细胞的数量。

[0366] 因此,本公开提供治疗个体的病毒感染的方法,该方法包括向该个体施用有效量的本公开的多聚体多肽或一个或多个包含编码该多聚体多肽的核苷酸序列的核酸,其中该多聚体多肽包含为病毒表位的T细胞表位,且其中该多聚体多肽包含刺激性免疫调节多肽。在一些情况中,多聚体多肽的“有效量”是当以一个或多个剂量向有此需要的个体施用时减少该个体中的被病毒感染的细胞数量的量。例如,在一些情况中,本公开的多聚体多肽的“有效量”是当以一个或多个剂量向有此需要的个体施用时,相较于施用该多聚体多肽前或未施用该多聚体多肽的个体的被病毒感染的细胞数量而言,减少该个体中的被病毒感染的

细胞数量达至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%的量。在一些情况中,本公开的多聚体多肽的“有效量”是当以一个或多个剂量向有此需要的个体施用减少该个体中的被病毒感染的细胞数量达无法检测的水平

[0367] 因此,本公开提供治疗个体的感染的方法,该方法包括向该个体施用有效量的本公开的多聚体多肽或一个或多个包含编码该多聚体多肽的核苷酸序列的核酸,其中该多聚体多肽包含与病原体相关的表位的T细胞表位,且其中该多聚体多肽包含刺激性免疫调节多肽。在一些情况中,该多聚体多肽的“有效量”是当以一个或多个剂量向有此需要的个体施用减少该个体中的病原体数量的量。例如,在一些情况中,本公开的多聚体多肽的“有效量”是当以一个或多个剂量向有此需要的个体施用,相较于施用该多聚体多肽前或未施用该多聚体多肽的个体中的病原体数量而言,减少该个体中的病原体数量达至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%的量。在一些情况中,本公开的多聚体多肽的“有效量”是当以一个或多个剂量向有此需要的个体施用减少该个体中的病原体数量达无法检测的水平

[0368] 在一些情况中,该免疫调节多肽为抑制性多肽且该多聚体多肽抑制该抗原特异性T细胞的活性。在一些情况中,该表位为自体表位且该多聚体多肽选择性抑制对该自体表位有特异性的T细胞的活性。

[0369] 本公开提供治疗个体的自体免疫性疾病的方法,该方法包括向该个体施用有效量的本公开的多聚体多肽或一个或多个包含编码该多聚体多肽的核苷酸序列的核酸,其中该多聚体多肽包含为自体表位的T细胞表位,且其中该多聚体多肽包含抑制性免疫调节多肽。在一些情况中,多聚体多肽的“有效量”是当以一个或多个剂量向有此需要的个体施用,相较于施用该多聚体多肽前或未施用该多聚体多肽的个体中的自体反应性T细胞数量而言,减少该个体中的自体反应性T细胞数量达至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%的量。在一些情况中,本公开的多聚体多肽的“有效量”是当以一个或多个剂量向有此需要的个体施用减少该个体中的Th2细胞因子产生的量。在一些情况中,本发明的多聚体多肽的“有效量”是当以一个或多个剂量向有此需要的个体施用改善该受试者的一种或多种与自体免疫疾病相关的症状的量。

[0370] 如上文所指出的,在一些情况中,在执行主题治疗方法时,将本公开的多聚体多肽以多肽本身的形式施用给有此需要的受试者。在其他情况中,在执行主题治疗方法时,将一个或多个包含编码本公开的多聚体多肽的核苷酸序列的核酸施用给有此需要的受试者。因此,在其他情况中,将一个或多个本公开的核酸(例如一个或多个本公开的重组表达载体)施用给有此需要的受试者。

[0371] 制剂

[0372] 上文描述了合适的制剂,其中合适的制剂包含药学上可接受的赋形剂。在一些情况中,合适的制剂包含:a) 本公开的多聚体多肽;以及b) 药学上可接受的赋形剂。在一些情况中,合适的制剂包含:a) 核酸,其包含编码本公开的多聚体多肽的核苷酸序列;以及b) 药学上可接受的赋形剂;在一些情况中,该核酸为mRNA。在一些情况中,合适的制剂包含:a) 第

一核酸,其包含编码本公开的多聚体多肽的第一多肽的核苷酸序列;b)第二核酸,其包含编码本公开的多聚体多肽的第二多肽的核苷酸序列;和c)药学上可接受的赋形剂。在一些情况中,合适的制剂包含:a)重组表达载体,其包含编码本公开的多聚体多肽的核苷酸序列;以及b)药学上可接受的赋形剂。在一些情况中,合适的制剂包含:a)第一重组表达载体,其包含编码本公开的多聚体多肽的第一多肽的核苷酸序列;b)第二重组表达载体,其包含编码本公开的多聚体多肽的第二多肽的核苷酸序列;和c)药学上可接受的赋形剂。

[0373] 合适的药学上可接受的赋形剂描述于上文中。

[0374] 剂量

[0375] 合适的剂量可由主治医生或其他合格的医疗人员根据各种临床因素决定。如医学领域中所熟知的,用于任一患者的剂量取决于许多因素,包括患者体型、体表面积、年龄、待施用的特定多肽或核酸、患者的性别、施用时间和途径、一般健康状况及其他同时施用的药物。本公开的多聚体多肽的施用量可介于每次剂量1ng/kg体重至20mg/kg体重之间,例如介于0.1mg/kg体重至10mg/kg体重之间,例如介于0.5mg/kg体重至5mg/kg体重之间;然而,可以想到低于或高于此示例性范围的剂量,尤其是考虑到前述因素时。如果该方案为连续输注,则其也可在每分钟每千克体重1μg至10mg的范围内。

[0376] 在一些情况中,本公开的多聚体多肽的合适剂量为每千克体重0.01μg至100g、每千克体重0.1μg至10g、每千克体重1μg至1g、每千克体重10μg至100mg、每千克体重100μg至10mg或每千克体重100μg至1mg。本领域的普通技术人员可根据施用的药剂在体液或组织中所测得的停留时间和浓度来轻易地估算出给药的重复率。成功治疗之后,可能希望使患者经受维持疗法以防止疾病状态复发,其中本公开的多聚体多肽以下列范围内的维持剂量施用:每千克体重0.01μg至100g、每千克体重0.1μg至10g、每千克体重1μg至1g、每千克体重10μg至100mg、每千克体重100μg至10mg或每千克体重100μg至1mg。

[0377] 技术人员将容易地认识到剂量水平可随着特定的多聚体多肽、症状的严重程度和受试者对副作用的敏感性而变化。给定的化合物的优选剂量可由本领域的技术人员通过多种方式容易地确定。

[0378] 在一些实施方案中,施用多个剂量的本公开的多聚体多肽、本公开的核酸或本公开的重组表达载体。本公开的多聚体多肽、本公开的核酸或本公开的重组表达载体的施用频率可根据多种因素中的任一种变化,例如症状的严重程度等。例如,在一些实施方案中,本公开的多聚体多肽、本公开的核酸或本公开的重组表达载体每月施用一次、每月施用两次、每月施用三次、隔周施用一次(qow)、每周施用一次(qw)、每周施用两次(biw)、每周施用三次(tiw)、每周施用四次、每周施用五次、每周施用六次、每隔一日施用一次(qod)、每日施用一次(qd)、每日施用两次(qid)或每日施用三次(tid)。

[0379] 本公开的多聚体多肽、本公开的核酸或本公开的重组表达载体的施用持续期间(例如本公开的多聚体多肽、本公开的核酸或本公开的重组表达载体的施用周期)可根据多种因素(例如患者的反应等)中的任一种变化。例如,本公开的多聚体多肽、本公开的核酸或本公开的重组表达载体的施用周期可以为约一天至约一周、约二周至约四周、约一个月至约两个月、约两个月至约四个月、约四个月至约六个月、约六个月至约八个月、约八个月至约1年、约1年至约2年或约2年至约4年或更长的时间。

[0380] 施用途径

[0381] 使用任何可用的适于递送药物的方法和途径向个体施用活性剂(本公开的多聚体多肽、本公开的核酸或本公开的重组表达载体),包括体内和体外方法,以及全身和局部施用途径。

[0382] 常规和药学上可接受的施用途径包括肿瘤内、肿瘤周围、肌内、气管内、颅内、皮下、皮内、局部施加、静脉内、动脉内、直肠、鼻、口以及其他肠内和肠胃外施用途径。如果需要,可组合多种施用途径或根据多聚体多肽和/或期望的效果加以调整。本公开的多聚体多肽、本公开的核酸或重组表达载体可以按单个剂量或多个剂量施用。

[0383] 在一些实施方案中,本公开的多聚体多肽、本公开的核酸或本公开的重组表达载体经静脉内施用。在一些实施方案中,本公开的多聚体多肽、本公开的核酸或本公开的重组表达载体经肌内施用。在一些实施方案中,本公开的多聚体多肽、本公开的核酸或本公开的重组表达载体经局部施用。在一些实施方案中,本公开的多聚体多肽、本公开的核酸或本公开的重组表达载体经肿瘤内施用。在一些实施方案中,本公开的多聚体多肽、本公开的核酸或本公开的重组表达载体经肿瘤周围施用。在一些实施方案中,本公开的多聚体多肽、本公开的核酸或本公开的重组表达载体经颅内施用。在一些实施方案中,本公开的多聚体多肽、本公开的核酸或本公开的重组表达载体经皮下施用。

[0384] 在一些实施方案中,本公开的多聚体多肽经静脉内施用。在一些实施方案中,本公开的多聚体多肽经肌内施用。在一些实施方案中,本公开的多聚体多肽经局部施用。在一些实施方案中,本公开的多聚体多肽经肿瘤内施用。在一些实施方案中,本公开的多聚体多肽经肿瘤周围施用。在一些实施方案中,本公开的多聚体多肽经颅内施用。在一些实施方案中,本公开的多聚体多肽经皮下施用。

[0385] 本公开的多聚体多肽、本公开的核酸或本公开的重组表达载体可使用任何可用的适于递送常规药物的常规方法和途径(包括全身性或局部途径)施用给宿主。一般而言,本发明所考虑的施用途径包括但不限于肠内、肠胃外或吸入途径。

[0386] 除了吸入施用外的肠胃外施用途径包括但不限于局部、经皮、皮下、肌内、眼眶内、囊内、脊柱内、胸骨内、肿瘤内、肿瘤周围和静脉内途径,即,除了通过消化道外的任何其他施用途径。可进行肠胃外施用以实现全身或局部递送本公开的多聚体多肽、本公开的核酸或本公开的重组表达载体。当需要全身递送时,施用通常涉及侵入性或全身吸收性局部或粘膜施用药物制剂。

[0387] 适合治疗的受试者

[0388] 适合用本公开方法治疗的受试者包括患有癌症的个体,包括已被诊断为患有癌症的个体、已接受癌症治疗但对该治疗没有反应的个体和已接受癌症治疗且最初有反应但随后变成对该治疗而言为难治的个体。适合用本公开方法治疗的受试者包括具有感染的个体(例如被病原体感染,诸如细菌、病毒、原生动物等),包括被诊断为具有感染的个体、已接受感染治疗但对该治疗没有反应的个体。适合用本公开方法治疗的受试者包括具有细菌感染的受试者,包括被诊断为具有细菌感染的个体和已接受细菌感染治疗但对该治疗没有反应的个体。适合用本公开方法治疗的受试者包括具有病毒感染的受试者,包括被诊断为具有病毒感染的个体和已接受病毒感染治疗但对该治疗没有反应的个体。适合用本公开方法治疗的受试者包括具有自体免疫性疾病的个体,包括被诊断为具有自体免疫性疾病的个体、已接受自体免疫性疾病治疗但对该治疗没有反应的个体。

[0389] 除非本文中另外指明或与上下文明显矛盾,否则本文所述的各种要素的所有组合都在本发明的范围内。

[0390] 从下文中的实验细节将更好地了解本发明。然而,本领域的技术人员将容易地认识到所讨论的具体方法和结果仅用于举例说明本发明,之后的权利要求将更完整地描述本发明。

实施例

[0391] 提出以下实施例以便为本领域的普通技术人员提供如何实施和使用本发明的完整公开和描述,且无意限制发明人所看待的发明范围,也无意表示以下实验是所进行的全部或仅有的实验。关于所用的数字(例如量、温度等)已努力确保准确性,但仍应考虑到一些实验误差和偏差。除非另外指明,否则份数为重量份,分子量为重均分子量,温度为摄氏度且压力为大气压或接近大气压。可使用标准缩写,例如bp,碱基对;kb,千碱基;pl,皮升;s或sec,秒;min,分钟;h或hr,小时;aa,氨基酸;kb,千碱基;bp,碱基对;nt,核苷酸;i.m.,肌内(肌内地);i.p.,腹膜内(腹膜内地);s.c.,皮下(皮下地)等。

[0392] 实施例1:SYNTAC异二聚体的生成

[0393] 本公开的多个方面涉及新的基于蛋白的治疗平台“synTac”,其模拟免疫突触的相互作用特异性和调节信号。SynTac是一种融合蛋白,其将共刺激分子连接到MHC-表位以允许精确的T细胞接合和克隆T细胞活化或抑制(图1),这是身体自然反应的可溶形式。以此方式,synTac结合最佳的表位、双特异性抗体、可溶性共刺激分子和ADC。SynTac允许高度特异性细胞通过MHC-表位发挥靶向作用,而“单链融合体”设计则不允许游离表位的交叉呈递(图2A-2C)。T细胞调节结构域(本文中或者被称为“MOD”)还经共价连接,其根据共刺激接合的性质而引起活化或抑制。这引起抗原特异性而非全面的T细胞反应。值得注意的,该MOD可包括任何已知的抗体、抗体片段、共刺激分子或其他经文献验证的有效载荷(细胞因子、毒素等)且不需要经内化以对T细胞产生影响。此外,两个靶存在于同一细胞的表面上,从而消除了传统双特异性抗体的“间隔问题”。

[0394] 在一个实施方案中,该策略利用Fc-融合体构造(图2A-2C示出了非限制性实例)以增加相关产品的效价、稳定性和治疗窗。简单地说,Fc区为天然共价同型二聚体并通过如图2A-2C中以两条细线示出的两个二硫键稳定化。已知Fc结构域的存在通过延长血浆半衰期来延长治疗活性,这归因于其与新生儿Fc受体的相互作用以及较大尺寸的二价分子更慢的肾脏清除[23,24]。从生物物理角度来看,Fc结构域独立地折叠并可改善伴侣分子在体外和体内的溶解度和稳定性[25],且Fc区允许在制备期间通过蛋白-A/G亲和色谱进行简单低成本的纯化[26]。图2A显示单链肽MHC蛋白(单链三聚体[27]),其羧基端连接到IgG Fc区。如所描绘的,这些单链构造在通过替代的蛋白键合(诸如MOD)延伸系统的能力方面受到限制。具体地说,键合优选地限制在MHC的C端区,如图2A中以虚线描绘的(其在本文中称为直接键合)。可使用MHC I或MHC II分子。使用直接键合方法来表达构建体高度依赖于所用的MOD。本文中所公开的对此情况的解决方案是将该构建体分成相应的重链和轻链并将肽和蛋白两者融合至不同端(图2B和图2C)。一种构造导致肽的氨基端缔合至轻链(β 2微球蛋白),接着该轻链的羧基端延伸至MOD效应分子(图2B)。在此情形中,该重链(HLA-分子)融合至Fc区。在制备过程中,所有组分在真核细胞(例如HEK、CHO)内缔合并自行组装。构建体通过二

硫桥共价保持在一起。一种替代的取向(图2C)将Fc的MOD氨基端融合至重链,而肽仍连接到B2M轻链。同样,所有组分自行组装并通过二硫键形成稳定的共价相互作用。传统的双特异性抗体往往试图通过将一个氨基端Fc有效载荷与一个羧基端Fc有效载荷二聚化来桥联两个细胞。相反的是,本文所公开的构造使两个不同的蛋白有效载荷(MHC表位靶向机制和MOD效应子)朝向同一细胞的表面,类似于在传统抗体内发现的CH1-轻链相互作用。此外,使用Fc融合体可通过突变来调节对Fc受体的结合亲和力而允许相关效应子功能(诸如抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)、补体依赖性细胞毒性(CDC)或吞噬作用)的自定义接合[28]。

[0395] 图3A-3B中呈现两个基本synTac分子的设计。简单地说,该构建体利用天然人B2M前导序列以允许有效分泌和ER加工,紧接着,其后为候选表位(标记为肽)。一旦在ER中后,前导序列就被完全除去并允许肽呈递在MHC结合袋中。对于“轻链”键合(LC,图3A),这通过连接子L1与天然B2M偶联,并通过连接子L2与MOD偶联。该完整的盒通过猪捷申病毒-1(P2A)“自裂解”肽而连接至另一B2M前导序列、MHC重链(例如实施例中的HLA-A02:01或鼠H-2Kd)和Fc结构域(人IgG1或鼠IgG2a)以允许每条链的化学计量表达。选择P2A肽是因为据报导其对所有在哺乳动物细胞中表达的病毒2A肽具有最高的“裂解”效率[29]。“重链”(HC,图3B)键合是类似的,然而,现在病毒P2A肽在B2M之后,而MOD在第二前导肽之后,从而导致图2C中所示的蛋白构建体。两种构建体均可终止于8x His标签以易于纯化。

[0396] 特化的表达细胞:虽然由于P2A键合而使两条链表达且共定位至ER,但是存在对来自该表达宿主(悬浮适应的HEK293细胞)的内源性B2M可能超过该重组形式的一些顾虑,因为HEK293细胞天然表达HLA和B2M分子。这将导致稳定性降低(例如,表现在总产率降低)或令人非常不满意的异源蛋白样品。为了避免此复杂情况,利用CRISPR/CAS系统以从HEK细胞汇集体敲除天然B2M[30]。简单地说,设计针对内源性B2M的向导RNA,与编码CRISPR/CAS的质粒一起转染并将其培养三天。将培养的细胞针对抗B2M进行表面染色并通过荧光活化的细胞分选(FACS)进行反选(根据荧光损失分选)。回收分选出的细胞并进行两轮或更多轮的染色、反选和回收(共三轮)以确保有效(~100%)敲除。如图4中所示,经由FACS监测B2M的表面表达来检查最终汇集体的质量,结果表明该内源性B2M已被完全除去。然后,进行利用下一代测序的实验,以在基因组层水平上量化敲除百分比。使用所产生的HEK-293-B2M-KO系(称为HEK-KO)进行所有后续实验。

[0397] 经工程改造的二硫键:为了增加蛋白的稳定性和避免与可能的肽转移至细胞MHC分子相关的复杂情况(交叉呈递)和B2M释放,通常采用单链构建体[27,31]。然而,这些单链构造(图2A所示)在通过替代蛋白键合(诸如MOD)来延伸系统的能力方面受到限制。一种解决方案是类似于之前的努力将该构建体拆分成相应的重链和轻链[32],但现在如所述的那样将肽和蛋白两者融合至不同端(图2B和2C)。然而,在最终构建体中,为了保留由传统单链系统提供的稳定性,研究了对介于该重链与轻链之间的工程改造二硫桥的选择(如图2中所示的S-S),如同在二硫键捕获的单链三聚体[dt-SCT]中所见的那样[33]。值得注意的是,因为开始制备synTac时试图利用dt-SCT二硫键方案导致了低表达水平,且这进一步取决于所呈递的肽,所以dt-SCT二硫键构型被认为不适用于拆分的蛋白系统。因此,试图鉴定替代位置以将二硫桥工程改造成更适于拆分的蛋白系统,诸如synTac。从轻链选出两个位置(2, 12),其各具有一个二硫键可能以用于重链中的两个位置(从PDB 2X4R的分析中分别为119、

120和236、237)。值得注意的是,这些位置为高度保守的残基,已知不会与肽结合槽[34]、TCR复合物[35]或CD8辅受体[36]相互作用。一个构建体(H236-L12,其中H是指重链位置而L是指轻链,在图5A-5B中标记为synTac 18)被证明具有高水平表达,第二构建体(H237-L12,在图5A-5B中标记为synTac 17)被证明具有中度表达。使用该dt-SCT二硫键方案作为阳性对照(标记为synTac 2)。如通过非还原性PAGE凝胶所见,形成了高分子量部分,这表明形成了稳定的二硫键(图5A)。将所有表达构建体的规模放大成100ml,纯化并通过在HEK细胞(称为HEK-A6)表面上表达的同源TCR的结合来测试活性,如通过FACS荧光所监测,结果表明具有正确的折叠和活性(图5B)。使用表达非同源TCR的细胞(称为HEK-AS01)作为阴性对照。产生了仅带有C端8X His标签(单价)的另外的构建体。

[0398] SynTac对照:之前的工作专注于自体免疫性糖尿病[37]和疾病相关模型系统,具体地讲,已使用从非肥胖型糖尿病(NOD)小鼠的胰岛中分离出的自体反应性CD8+8.3T细胞。基于此工作,产生了带有由小鼠I类H-2Kd等位基因(称为IGRP)呈递的、已知与8.3T细胞相互作用的肽的synTac构建体,该肽由胰岛特异性葡萄糖-6-磷酸酶催化亚基相关蛋白的残基206至214(IGRP206-214)构成。以相同方式(例如小鼠H-2Kd呈递)制备了呈递源自肿瘤的、不会被8.3T细胞识别的肽(KYQAVTTTL,SEQ ID NO:18)的对照synTac,并命名为TUM。为了确定该系统可以耐受多个HLA等位基因(例如鼠H-2Kd、人HLA-A02等)的程度,构建了具有之前验证的人HLA-A02限制性表位(人嗜T细胞淋巴病毒,Tax 11-19)的第三synTac变体,并称为HTLV。为了实现靶向T细胞耗尽,初始synTac构建体使用了轻链键合形式并携带PD-L1MOD结构域(在图2B中示意性示出)。各synTac变体(IGRP、TUM和HTLV)在HEK-K0细胞中显示出阳性表达谱,非还原性SDS-page结果显示于图6A中。为了检查该表达系统的大致情况,探索了以IGRP为基础、具有变体MOD结构域的synTac构建体,包括两个用于T细胞刺激的MOD(即,人源化抗CD28单链Fv和TNF配体4-1BBL的胞外结构域),以及另外两个允许T细胞抑制的MOD(B7-1的单点突变体[W88A],已知仅结合CTLA4[38];和PD-L1的截短变体[只有Ig可变结构域])。所有构建体均在HEK-K0细胞中表达良好,图6B。进一步探索了利用重链键合形式的synTac蛋白的表达能力(在图2C中示意性示出)。为此,使用IGRP表位作为靶向肽并使用PD-L1或人源化抗CD28scFv作为MOD,结果在HEK-K0细胞中再次显示出阳性表达谱(图6C)。接着,以1L或更大的规模制备了这些蛋白并在无内毒素的环境中通过Ni²⁺IMAC和尺寸排阻纯化成均质。在T细胞增殖分析中使用所有IGRP和TUM构建体,在下列TCR-synTac-PD1桥联实验中使用HTLV构建体。

[0399] TCR-synTac-PD1桥联:虽然在尺寸排阻后的溶液概况指示良好的蛋白折叠,但是希望在活性分析中使用这些试剂前先验证各synTac组分(MHC-表位靶向机制和MOD两者)的完整性。使用先前描述的HEK-A6细胞作为阳性对照,生成表达非同源TCR的细胞(AS01,对HLA-A0201限制性埃-巴二氏病毒表位具有反应性),与未经转导的亲代细胞一起作为阴性对照(分别称为HEK-AS01和亲代(PARENTAL))。通过mCerulean荧光(TCR融合报告子)和TCR信号转导复合物(CD3 ϵ 表达代替物)的表面染色确认了TCR表达。用无荧光的纯化HTLV-PD-L1synTac变体攻击HEK-A6细胞,并与其同源受体PD1(融合至鼠IgG2a)一起孵育。使用经FITC标记的抗小鼠二抗检测该PD-1-Fc融合体。FITC荧光(即,“桥联”)取决于同源TCR表面表达(如图7A-7B中所示)。尤其是,当对具有非同源TCR的HEK细胞或亲代细胞(HEK-AS01, PARENTAL)进行攻击时、当仅对FITC-PDL-Fc攻击时或当MOD不存在时,并未观察到FITC荧

光。

[0400] 作用中的SynTac:T细胞分析。作为synTac平台的靶向力的概念验证,在T细胞抑制分析中测试了抑制性synTac构建体。假设融合至PD-L1的synTac IGRP的轻链形式将特异性抑制IGRP206-214特异性T细胞。从非肥胖型糖尿病转基因小鼠纯化了用于8.3T细胞受体的CD8⁺脾细胞。该脾细胞亚群主要含有CD8⁺T细胞,该CD8⁺T细胞对H-2Kd背景下的IGRP206-214肽有特异性。然后,在固定化的抗CD3抗体的存在下培养这些CD8⁺T细胞(该处理已知可刺激多克隆T细胞活化),并用可溶形式的synTac IGRP-PD-L1或synTacTUM-PD-L1处理经刺激的培养物以检查具有任何抑制作用的抗原特异性。以不含PD-L1的synTac IGRP形式作为用于MOD结构域的效应子对照。在接种前,用羧基荧光素琥珀酰亚胺酯(CFSE)(一种荧光胞浆染料,其强度在每次细胞分裂时减半)标记细胞以便监测经T细胞活化诱导的细胞增殖的程度。培养5天后,收获细胞并使用流式细胞术检测活力和增殖。还使用多重流式细胞术微珠分析检查上清液中CD8⁺T细胞效应子细胞因子IFN γ 和TNF α 的表达。如图8A-8D中所示,所有检查的CD8⁺T细胞活化参数均以抗原特异性和效应子(即,MOD)结构域依赖性方式受到抑制。即,相对于TUM-PD-L1synTac或IGRP-(无PD-L1)而言,IGRP-PD-L1synTac受到高度抑制,表面synTac的活性依赖于肽-MHC和MOD结构域两者(图8D)。SynTac能够抑制IFN γ 分泌达到约100倍并导致绝大多数细胞死亡,表明具有PDL1作为MOD结构域的synTac能够在功能上进行抑制并消除靶向特异性。

[0401] 亲和力减弱:使用PD-L/PDL-1系统作为调节结构域的可能问题在于PD-L1具有结合一个以上受体的潜力,且伴随下游信号转导的差异。已证实,PD-L1可同时结合B7-1和PD-1。当作为独立的Fc融合体进行测试时,为了避免脱靶结合的复杂情况,可以使用仅结合所需靶标PD-1(例如,具体地说,G119D和G119R及其他本文中所讨论的)但同时保留其T细胞抑制潜力的单点突变体。值得注意的是,单独的突变PD-L1Fc融合体可以是用于免疫调节的有用试剂。在synTac的背景下,这些突变体提供一系列的PD-1结合亲和力。已制备了具有G119D和G119R突变体的基于IGRP的synTac融合蛋白。

[0402] 模块化设计:可溶性单价MHC分子对其同源T细胞受体具有固有的低亲和力,因此不曾作为用于诊断或治疗的有用试剂。虽然二聚体MHC复合物已用于各种系统以将抗原特异性T细胞可视化[39],但是常使用较高亲合力的MHC四聚体和较高级的多聚体[40]。从目前的工作可清楚地知道,目前的二聚体synTac构造使折叠良好的蛋白高度表达并引发靶向T细胞反应,然而,在所选的情况中,可能希望通过增加效价来增强T细胞靶向潜力而扩展该synTac技术。为此,再次设计具有IGRP靶向机制的synTac变体,在IgA和IgM Fc区的背景下,以PD-L1MOD作为轻链键合。通过二硫桥与J链共价缔合,IgA和IgM骨架可分别允许基于四聚体和十聚体的呈递。生成慢病毒,转导HEK-KO细胞并测试其表达,结果支持具有表达这些试剂的初步能力。如果需要,可将MOD直接连接到J-链成为N端、C端或双融合体,以改变MOD对靶向分子的效价。此外,由于该synTac构型的灵活性,通过使用双重链/轻链键合,可同时呈递多个肽表位或MOD(例如,三特异性)。此外,其他MOD包括但不限于用于活化的4-1BBL和抗CD28以及用于抑制的B7W。所选的构建体可利用另外的靶向表位。另外,可使用具有较高效价的synTac变体(IgA和IgM)以及所描述的非化学计量连接的MOD(例如J-链键合)。

[0403] 实施例2:三聚体SYNTAC多肽的生成

[0404] 刺激性MOD(4-1BBL)受体三聚体表达:生成具有活性4-1BBL的synTac的最初努力

利用轻链键合变体(图3A)。这以单转染形式(所有片段在单一质粒上编码)表达,由病毒P2A序列分裂并导致高度表达的折叠良好的蛋白(图6B,泳道5)。凝胶过滤谱结合多角度光散射(MALS)数据表明该初始形式为折叠良好的二聚体(如图10B、图9B中所示)。已观察到,4-1BBL(TNF家族配体)需要三聚化(例如相同蛋白的三个拷贝,同质三聚体)以完全活化。为了实现三聚化,将具有4-1BBL的synTac构建体连同“游离”4-1BBL(不具有亲和标签的单独的4-1BBL[残基50-254,包括膜近侧和TNF同源结构域,图10A;图9A])在相同细胞中表达(例如共表达)以允许天然组装和三聚化,如图10C中所示(原始synTac构建体以黑色表示,游离BBL以灰色表示)(共表达图9A和图9B构建体)。凝胶过滤色谱结合多角度光散射(MALS)数据支持该新形式为所需的三聚体(图11A-11B,标记为synTac编号40+51)。如下所述(MOD优化),可将该4-1BBL构建体进一步优化以进一步改善表达和纯化谱并增加稳定性和再现性。

[0405] 刺激性MOD受体结合和人/鼠交叉反应:虽然尺寸排阻之后的溶液概况指示良好折叠的蛋白,但是希望在活性分析中使用这些试剂前先验证各synTac组分(MHC-表位靶向机制和MOD两者)的完整性。该特定靶向机制(在鼠Kd的背景下为IGRP肽)已得到充分验证(图7A-7B),因而进一步研究4-1BBL受体结合的程度。为此,用重组人或小鼠4-1BB-Fc融合蛋白(来自商业来源)将蛋白A微珠包被至饱和。然后,使用经4-1BB包被的微珠来结合具有4-1BB配体(二聚体和三聚体形式)的synTac构建体(作为共调节结构域),接着为对synTac重链同种型有特异性的荧光检测抗体。然后,通过高通量流式细胞术测量synTac 4-1BBL特异性结合珠源性4-1BB的程度。使用该系统,探索了在synTac支架的背景下,4-1BBL对人和鼠4-1BB两者的交叉反应程度和相对亲和力。已证实,具有4-1BBL的synTac(称为三聚体、二聚体)结合同源受体,但不结合“无受体”(被称为无MOD)的Fc结合微珠,表明为折叠良好且具有活性的蛋白试剂(图12)。此外,该三聚体以双重三聚体与原始二聚体接合的预期亲和力范围结合,显示出结合亲和力降低10倍,再次支持二聚体呈递。使用无MOD的synTac(标记为无MOD)作为阴性对照,显示出不结合4-1BBL受体。值得注意的是,所有构建体均结合鼠和人受体(交叉反应),因此将允许直接扩展至鼠体内试验。

[0406] 体外T细胞刺激分析:为了测试4-1BBL synTac的活性,首先从8.3TCR转基因NOD小鼠纯化CD8脾细胞并以CFSE进行荧光标记以在体外用可溶性IGRP-4-1BBL synTac(二聚体和三聚体)或可溶性TUM-41BBL synTac(图13)处理前跟踪增殖情况。对照处理为单独的培养基或固定化的抗CD3。培养4天后,通过FACS检查细胞的活力(DAPI排除)和增殖(CFSE稀释)。通过流式细胞术ELISA来检查上清液的IFN γ 和TNF α 水平。如在syntac-PDL1的情况中(图8A-8D),snytac-41BBL的体外活性为高度抗原特异性的,这导致在syntacIGRP-41BBL的情况中,相对于TUM-41BBL而言,具有高得多的活力、增殖和细胞因子释放。如预期的那样,三聚体4-1BBL对完全的活性(例如增殖、活力和细胞因子释放)是必要的。此外,对IGRP-41BBL的反应优于固定化的抗CD3基准,表明该可溶性syntac-41BBL可介导高度T细胞活化。本文所述的所有进一步的相关实验均采用三聚体syntac-41BBL。

[0407] 体内T细胞刺激-单剂量:进一步检查了synTac-41BBL是否能在体内对T细胞活化发挥类似的作用。用Syntac IGRP-41BBL相对于synTac TUM-41BBL处理NOD小鼠,并测定脾脏中IGRP特异性CD8⁺T细胞的频率。不同于TCR转基因NOD小鼠(其中大多数T细胞具有确定的克隆型),标准NOD小鼠具有高度多样性的TCR组库,且更近似“天然”的免疫组库。经腹膜内为NOD小鼠注射synTacIGRP-41BBL、synTac TUM-41BBL或PBS,在注射后6天处死。然后,使

用适当的肽-MHC五聚体染料,经由流式细胞术检查脾细胞的IGRP特异性CD8T细胞的相对频率。相对于对照,IGRP-41BBL处理与IGRP特异性CD8T细胞的频率高出许多相关。此外,在体内扩增的IGRP特异性细胞当在体外重新刺激时能够产生IFN γ 。这些结果支持synTac-41BBL以抗原特异性方式扩增功能性CD8效应T细胞的能力(图14)。

[0408] 体内T细胞刺激-多剂量:检查改变的处理方案对体内T细胞活化的影响,尤其注意已建立的肿瘤抗原,即“TUM”九聚体肽。在两周的周期中,使用三个剂量(相较于先前的单剂量)的synTacIGRP-41BBL相对于synTac TUM-41BBL处理NOD小鼠。测定IGRP特异性或TUM特异性CD8T细胞的频率。经腹膜内为NOD小鼠注射SynTac IGRP-41BBL、synTac TUM-41BBL或PBS,在注射后7天处死。然后,使用适当的肽-MHC五聚体染料,经由流式细胞术检查血液(PBMC)和脾细胞的IGRP特异性或TUM特异性CD8T细胞的相对频率。同样地,相对于不相关的抗原和PBS对照,IGRP-41BBL处理与IGRP特异性CD8T细胞的频率高出许多相关,而TUM-41BBL处理与TUM特异性CD8T细胞的频率高出许多相关(图15)。类似的模式在脾脏中观察到。这些结果支持多剂量synTac-41BBL方案以抗原特异性方式扩增功能性CD8效应T细胞的能力,包括抗原特异性扩增罕见的肿瘤特异性T细胞。

[0409] 体内T细胞抑制:经腹膜内为非肥胖型糖尿病(NOD)小鼠注射synTac IGRP-PDL1、synTac TUM-PDL1或PBS。在注射后6天,分离出胰脏并使用适当的肽-MHC五聚体染料,经由流式细胞术检查胰脏细胞的IGRP特异性CD8⁺T细胞的相对频率。如图23所示,与对照经synTac TUM-PDL1处理和经PBS处理的小鼠相比,IGRP-PDL1处理与IGRP特异性CD8⁺T细胞的频率低许多相关。这些数据证明了在单剂量synTac后的抗原特异性体内耗尽。

[0410] MOD优化:在实验过程中,观察到大部分靶蛋白(4-1BBL三聚体型synTac)在尺寸排阻色谱中展示出高级多聚体的特性且会随时间降解,这可能通过“游离”BBL的释放/交换而进行。因此,寻求稳定性增加且易于制备的4-1BBL骨架,其中重点在于4-1BBL的共价组装。为此,探索了在4-1BBL的TNF同源结构域内使用经工程改造的二硫键(图16A;二硫键以箭头指示;图9C-9E)。从X射线结构(PDB2X29)的分析中,选择三对可能具有二硫键潜力且不太可能干扰受体结合的可能的残基。各构建体中的两个天然残基被半胱氨酸残基取代(Q94C:P245C、Q94C:P242C和Q89C:L115C,分别称为synTac 69、70和71),在人细胞中与具有该相同突变(分别称为98、99、100)的“游离”非标记形式共表达以允许共价锁定,并通过非还原性SDS-PAGE分析来观察二硫键键合程度(图18;下列共表达构建体称为DL1(二硫键锁定-1, synTac69/98)、DL2(70/99)和DL3(71/100))。所有三种构建体均表达良好,允许二硫键锁定(图18)并结合到受体(图17)。虽然synTac-4-1BBL的这些共价“二硫键锁定”变体解决了所讨论的稳定性问题,但仍需要共表达“游离”BBL(共表达)以允许三聚化,这可使得刺激性synTac的产生和生物制造变得复杂。据发现,该障碍的一种解决方案是将4-1BBL TNF同源结构域作为单一连续构建体表达,该构建体被称为单链三聚体(4-1BBL-SCT,图16B;图9F)。具体而言,通过两个(G4S)₅连接子序列将4-1BBL残基80-246(仅TNF同源结构域)的三个拷贝共价保持在一起(图16B,连接子以曲线示出;图9F)。表达和凝胶过滤加上多角度光散射(MALS)数据支持该新形式为所需的共价单链三聚体(图18)且与4-1 BBL受体结合良好(图17)。

[0411] 尽管本发明已参考其具体实施方案进行了描述,但是本领域的技术人员应当理解,在不偏离本发明的实质和范围的情况下,可作出各种改变并且可以代入等效形式。此

外,可作出许多修改以使特定情形、材料、物质组合物、方法、方法步骤适应本发明的目的、精神和范围。所有此类修改均意在包括在本文所附的权利要求内。

[0412] 参考文献

[0413] 1.Kling,(2009) Nature Biotechnology,2009.27:11-12;2.Wollheim(2002) Expert Opinion in Investigational Drugs,11(7):947-953.;3.Mansh(2011) Yale J Biol Med,84(4):381-389;4.Scarpati et al(2014) OncoTargets and Therapy 7:203-209;5.Rhodes(2007) Alimentary Pharmacology&Therapeutics.27(1):19-30;6.Amos et al.(2011) Blood.118(3):499-509;7.Hodi et al.(2010) New England Journal of Medicine.363:p.711-723;8.Goldberg(2011) Cancer Immunology and Immunotherapy 344:269-278;9.Kwon(2012) Molecular Cancer Therapeutics,11:1062-1070;10.Vitale et al.(2012) Clinical Cancer Research 18(14):3812-3812;11.Ngiow et al.(2011) Cancer Research,71(10):1-12;12.Robins et al.(2010)) Sci Transl Med,2(47):47ra64;13.Reichert(2011) MAbs,2011.3(5):415-416;14.Weiner(2010) Nature Reviews Immunology 10:317-327;15.Senter(2013) Annual Review of Medicine,64:15-29;16.Chames(2009) MAbs 1:539-547;17.Jakobsen(2013) OncoImmunology,2(2):e22891;18.Sharma,et al.(2014) Immunologic Research,58(1):132-138;19.Wu et al.(2007) Nature Biotechnology,25:1290-1297;20.Dimasi et al.(2009) Journal of Molecular Biology,393(3):672-692;21.Grupp,(2011) Cancer Immunology and Immunotherapy,244:149172;22.Xu(2014) Cancer Letters,343(2):172-178;23.Suzuki et al.(2010) Journal of Immunology,184(4):1968-1976;24.Sun(2014) Journal of Pharmaceutical Sciences 103(1):53-64;25.Lo et al.(1998) Protein Engineering 11(6):495-500;26.Flanagan et al.(2007) Methods in Molecular Biology 378:33-52;27.Yu et al.(2002) Journal of Immunology 168(7):3145-4149;28.Hezareh(2001) Journal of Virology 75(24):12161-12168;29.Kim et al.(2011) PlosOne 6(4):e18556;30.Yan et al(2014) Methods in Molecular Biology 1114:245-267;31.Kim et al.(2010) Journal of Immunology 184:4423-4430;32.Kozono et al.(1994) Nature 369:151-154;33.Truscott et al.(2007) Journal of Immunology 178:6280-6289;34.Kellenberger(2005) Journal of Immunology 175:3819-3825;35.Marrack et al.(2008) Annual Reviews of Immunology 26:171-203;36.Wang and Margulies(2009) Journal of Immunology 183(4):2554-2564;37.Samanta et al.(2011).Proc Natl Acad Sci USA,108(33):13682-13687;38.Zheng et al.(1998) Proc Natl Acad Sci USA,95:6284-6289;39.

[0414] Schneck,J.P.,Slansky,J.,O'Herrin,S.,Greten,T.F.,Use of MHC-Ig dimers for visualizing antigen specific T cells.Current Protocol in Immunology,1999:p.173;40.Altman,et al.(1996) Science,274:94-96.

- [0001] 序列表
- [0002] <110> R·D·塞戴尔第三
- [0003] R·J·查帕罗
- [0004] B·S·希勒里希
- [0005] S·J·加福斯
- [0006] S·C·阿尔莫
- [0007] <120> SYNTAC多肽及其用途
- [0008] <130> 96700/2236
- [0009] <150> 62/013715
- [0010] <151> 2014-06-18
- [0011] <160> 102
- [0012] <170> PatentIn 3.5版
- [0013] <210> 1
- [0014] <211> 15
- [0015] <212> PRT
- [0016] <213> 人工序列
- [0017] <220>
- [0018] <223> 合成序列
- [0019] <400> 1
- [0020] Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
- [0021] 1 5 10 15
- [0022] <210> 2
- [0023] <211> 20
- [0024] <212> PRT
- [0025] <213> 人工序列
- [0026] <220>
- [0027] <223> 合成序列
- [0028] <400> 2
- [0029] Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
- [0030] 1 5 10 15
- [0031] Gly Gly Gly Ser
- [0032] 20
- [0033] <210> 3
- [0034] <211> 23
- [0035] <212> PRT
- [0036] <213> 人工序列
- [0037] <220>
- [0038] <223> 合成序列

[0039]	<400> 3
[0040]	Ser Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp
[0041]	1 5 10 15
[0042]	Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
[0043]	20
[0044]	<210> 4
[0045]	<211> 99
[0046]	<212> PRT
[0047]	<213> 人工序列
[0048]	<220>
[0049]	<223> 合成序列
[0050]	<400> 4
[0051]	Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Arg His Pro Ala Glu
[0052]	1 5 10 15
[0053]	Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser Gly Phe His Pro
[0054]	20 25 30
[0055]	Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu Arg Ile Glu Lys
[0056]	35 40 45
[0057]	Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Leu
[0058]	50 55 60
[0059]	Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Lys Asp Glu Tyr Ala Cys
[0060]	65 70 75 80
[0061]	Arg Val Asn His Val Thr Leu Ser Gln Pro Lys Ile Val Lys Trp Asp
[0062]	85 90 95
[0063]	Arg Asp Met
[0064]	<210> 5
[0065]	<211> 276
[0066]	<212> PRT
[0067]	<213> 人工序列
[0068]	<220>
[0069]	<223> 合成序列
[0070]	<400> 5
[0071]	Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Phe Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly
[0072]	1 5 10 15
[0073]	Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln
[0074]	20 25 30
[0075]	Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser Gln Arg Met Glu Pro Arg
[0076]	35 40 45
[0077]	Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Asp Gly Glu Thr

[0078]	50	55	60
[0079]	Arg Lys Val Lys Ala His Ser Gln Thr His Arg Val Asp Leu Gly Thr		
[0080]	65	70	75
[0081]	Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser Glu Ala Gly Ser His Thr Val Gln		80
[0082]	85	90	95
[0083]	Arg Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Phe Leu Arg Gly		
[0084]	100	105	110
[0085]	Tyr His Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Lys Glu		
[0086]	115	120	125
[0087]	Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met Ala Ala Gln Thr Thr Lys		
[0088]	130	135	140
[0089]	His Lys Trp Glu Ala Ala His Val Ala Glu Gln Leu Arg Ala Tyr Leu		
[0090]	145	150	155
[0091]	Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys		160
[0092]	165	170	175
[0093]	Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Ala Pro Lys Thr His Met Thr His His		
[0094]	180	185	190
[0095]	Ala Val Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Ser Phe		
[0096]	195	200	205
[0097]	Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln		
[0098]	210	215	220
[0099]	Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr		
[0100]	225	230	235
[0101]	Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Ser Gly Gln Glu Gln Arg		240
[0102]	245	250	255
[0103]	Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu		
[0104]	260	265	270
[0105]	Arg Trp Glu Pro		
[0106]	275		
[0107]	<210> 6		
[0108]	<211> 925		
[0109]	<212> PRT		
[0110]	<213> 人工序列		
[0111]	<220>		
[0112]	<223> 合成序列		
[0113]	<400> 6		
[0114]	Leu Leu Phe Gly Tyr Pro Val Tyr Val Gly Cys Gly Gly Ser Gly Gly		
[0115]	1	5	10
[0116]	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln		15

[0117]		20		25		30											
[0118]	Val	Tyr	Ser	Arg	His	Pro	Ala	Glu	Asn	Gly	Lys	Ser	Asn	Phe	Leu	Asn	
[0119]			35					40					45				
[0120]	Cys	Tyr	Val	Ser	Gly	Phe	His	Pro	Ser	Asp	Ile	Glu	Val	Asp	Leu	Leu	
[0121]			50				55					60					
[0122]	Lys	Asn	Gly	Glu	Arg	Ile	Glu	Lys	Val	Glu	His	Ser	Asp	Leu	Ser	Phe	
[0123]	65					70				75						80	
[0124]	Ser	Lys	Asp	Trp	Ser	Phe	Tyr	Leu	Leu	Tyr	Tyr	Thr	Glu	Phe	Thr	Pro	
[0125]				85					90				95				
[0126]	Thr	Glu	Lys	Asp	Glu	Tyr	Ala	Cys	Arg	Val	Asn	His	Val	Thr	Leu	Ser	
[0127]				100				105				110					
[0128]	Gln	Pro	Lys	Ile	Val	Lys	Trp	Asp	Arg	Asp	Met	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	
[0129]			115				120				125						
[0130]	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Phe	
[0131]			130				135				140						
[0132]	Thr	Ile	Thr	Ala	Pro	Lys	Asp	Leu	Tyr	Val	Val	Glu	Tyr	Gly	Ser	Asn	
[0133]	145					150				155						160	
[0134]	Val	Thr	Met	Glu	Cys	Arg	Phe	Pro	Val	Glu	Arg	Glu	Leu	Asp	Leu	Leu	
[0135]				165				170				175					
[0136]	Ala	Leu	Val	Val	Tyr	Trp	Glu	Lys	Glu	Asp	Glu	Gln	Val	Ile	Gln	Phe	
[0137]			180					185				190					
[0138]	Val	Ala	Gly	Glu	Glu	Asp	Leu	Lys	Pro	Gln	His	Ser	Asn	Phe	Arg	Gly	
[0139]			195				200				205						
[0140]	Arg	Ala	Ser	Leu	Pro	Lys	Asp	Gln	Leu	Leu	Lys	Gly	Asn	Ala	Ala	Leu	
[0141]		210					215				220						
[0142]	Gln	Ile	Thr	Asp	Val	Lys	Leu	Gln	Asp	Ala	Gly	Val	Tyr	Cys	Cys	Ile	
[0143]	225					230					235					240	
[0144]	Ile	Ser	Tyr	Gly	Gly	Ala	Asp	Tyr	Lys	Arg	Ile	Thr	Leu	Lys	Val	Asn	
[0145]				245					250			255					
[0146]	Ala	Pro	Tyr	Arg	Lys	Ile	Asn	Gln	Arg	Ile	Ser	Val	Asp	Pro	Ala	Thr	
[0147]			260					265				270					
[0148]	Ser	Glu	His	Glu	Leu	Ile	Cys	Gln	Ala	Glu	Gly	Tyr	Pro	Glu	Ala	Glu	
[0149]			275					280				285					
[0150]	Val	Ile	Trp	Thr	Asn	Ser	Asp	His	Gln	Pro	Val	Ser	Gly	Lys	Arg	Ser	
[0151]		290					295				300						
[0152]	Val	Thr	Thr	Ser	Arg	Thr	Glu	Gly	Met	Leu	Leu	Asn	Val	Thr	Ser	Ser	
[0153]	305					310					315					320	
[0154]	Leu	Arg	Val	Asn	Ala	Thr	Ala	Asn	Asp	Val	Phe	Tyr	Cys	Thr	Phe	Trp	
[0155]				325					330				335				

[0156]	Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asn His Thr Ala Glu Leu Ile Ile Pro Glu
[0157]	340 345 350
[0158]	Leu Pro Ala Thr His Pro Pro Gln Asn Arg Thr Ser Gly Ser Gly Ala
[0159]	355 360 365
[0160]	Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro
[0161]	370 375 380
[0162]	Gly Pro Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser
[0163]	385 390 395 400
[0164]	Leu Ser Gly Leu Glu Ala Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Phe Thr
[0165]	405 410 415
[0166]	Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly
[0167]	420 425 430
[0168]	Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser
[0169]	435 440 445
[0170]	Gln Arg Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu
[0171]	450 455 460
[0172]	Tyr Trp Asp Gly Glu Thr Arg Lys Val Lys Ala His Ser Gln Thr His
[0173]	465 470 475 480
[0174]	Arg Val Asp Leu Gly Thr Leu Arg Gly Cys Tyr Asn Gln Ser Glu Ala
[0175]	485 490 495
[0176]	Gly Ser His Thr Val Gln Arg Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp
[0177]	500 505 510
[0178]	Trp Arg Phe Leu Arg Gly Tyr His Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly Lys Asp
[0179]	515 520 525
[0180]	Tyr Ile Ala Leu Lys Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met
[0181]	530 535 540
[0182]	Ala Ala Gln Thr Thr Lys His Lys Trp Glu Ala Ala His Val Ala Glu
[0183]	545 550 555 560
[0184]	Gln Leu Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg
[0185]	565 570 575
[0186]	Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Ala Pro Lys
[0187]	580 585 590
[0188]	Thr His Met Thr His His Ala Val Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg
[0189]	595 600 605
[0190]	Cys Trp Ala Leu Ser Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln
[0191]	610 615 620
[0192]	Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg
[0193]	625 630 635 640
[0194]	Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro

[0195]					645					650						655
[0196]	Ser	Gly	Gln	Glu	Gln	Arg	Tyr	Thr	Cys	His	Val	Gln	His	Glu	Gly	Leu
[0197]					660					665						670
[0198]	Pro	Lys	Pro	Leu	Thr	Leu	Arg	Trp	Glu	Pro	Ala	Ala	Ala	Gly	Gly	Asp
[0199]					675					680						685
[0200]	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly
[0201]					690					695						700
[0202]	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile
[0203]	705						710					715				720
[0204]	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu
[0205]					725					730						735
[0206]	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His
[0207]					740					745						750
[0208]	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg
[0209]					755					760						765
[0210]	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys
[0211]					770					775						780
[0212]	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu
[0213]	785						790				795					800
[0214]	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr
[0215]					805					810						815
[0216]	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu
[0217]					820					825						830
[0218]	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp
[0219]					835					840						845
[0220]	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val
[0221]					850					855						860
[0222]	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp
[0223]	865						870				875					880
[0224]	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His
[0225]					885					890						895
[0226]	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro
[0227]					900					905						910
[0228]	Gly	Lys	Gly	Gly	Ser	His	His	His	His	His	His	His	His			
[0229]					915					920						925
[0230]	<210> 7															
[0231]	<211> 945															
[0232]	<212> PRT															
[0233]	<213> 人工序列															

[0234]	<220>	
[0235]	<223> 合成序列	
[0236]	<400> 7	
[0237]	Leu Leu Phe Gly Tyr Pro Val Tyr Val Gly Cys Gly Gly Ser Gly Gly	
[0238]	1 5 10 15	
[0239]	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln	
[0240]	20 25 30	
[0241]	Val Tyr Ser Arg His Pro Ala Glu Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn	
[0242]	35 40 45	
[0243]	Cys Tyr Val Ser Gly Phe His Pro Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu	
[0244]	50 55 60	
[0245]	Lys Asn Gly Glu Arg Ile Glu Lys Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe	
[0246]	65 70 75 80	
[0247]	Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Leu Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro	
[0248]	85 90 95	
[0249]	Thr Glu Lys Asp Glu Tyr Ala Cys Arg Val Asn His Val Thr Leu Ser	
[0250]	100 105 110	
[0251]	Gln Pro Lys Ile Val Lys Trp Asp Arg Asp Met Gly Gly Gly Gly Ser	
[0252]	115 120 125	
[0253]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser	
[0254]	130 135 140	
[0255]	Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val	
[0256]	145 150 155 160	
[0257]	Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu	
[0258]	165 170 175	
[0259]	Ala Leu Leu Ser Leu Ser Gly Leu Glu Ala Phe Thr Ile Thr Ala Pro	
[0260]	180 185 190	
[0261]	Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr Gly Ser Asn Val Thr Met Glu Cys	
[0262]	195 200 205	
[0263]	Arg Phe Pro Val Glu Arg Glu Leu Asp Leu Leu Ala Leu Val Val Tyr	
[0264]	210 215 220	
[0265]	Trp Glu Lys Glu Asp Glu Gln Val Ile Gln Phe Val Ala Gly Glu Glu	
[0266]	225 230 235 240	
[0267]	Asp Leu Lys Pro Gln His Ser Asn Phe Arg Gly Arg Ala Ser Leu Pro	
[0268]	245 250 255	
[0269]	Lys Asp Gln Leu Leu Lys Gly Asn Ala Ala Leu Gln Ile Thr Asp Val	
[0270]	260 265 270	
[0271]	Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr Cys Cys Ile Ile Ser Tyr Gly Gly	
[0272]	275 280 285	

[0273]	Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Leu Lys Val Asn Ala Pro Tyr Arg Lys
[0274]	290 295 300
[0275]	Ile Asn Gln Arg Ile Ser Val Asp Pro Ala Thr Ser Glu His Glu Leu
[0276]	305 310 315 320
[0277]	Ile Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro Glu Ala Glu Val Ile Trp Thr Asn
[0278]	325 330 335
[0279]	Ser Asp His Gln Pro Val Ser Gly Lys Arg Ser Val Thr Thr Ser Arg
[0280]	340 345 350
[0281]	Thr Glu Gly Met Leu Leu Asn Val Thr Ser Ser Leu Arg Val Asn Ala
[0282]	355 360 365
[0283]	Thr Ala Asn Asp Val Phe Tyr Cys Thr Phe Trp Arg Ser Gln Pro Gly
[0284]	370 375 380
[0285]	Gln Asn His Thr Ala Glu Leu Ile Ile Pro Glu Leu Pro Ala Thr His
[0286]	385 390 395 400
[0287]	Pro Pro Gln Asn Arg Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[0288]	405 410 415
[0289]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser His Ser Met Arg
[0290]	420 425 430
[0291]	Tyr Phe Phe Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe
[0292]	435 440 445
[0293]	Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser
[0294]	450 455 460
[0295]	Asp Ala Ala Ser Gln Arg Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln
[0296]	465 470 475 480
[0297]	Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Asp Gly Glu Thr Arg Lys Val Lys Ala His
[0298]	485 490 495
[0299]	Ser Gln Thr His Arg Val Asp Leu Gly Thr Leu Arg Gly Cys Tyr Asn
[0300]	500 505 510
[0301]	Gln Ser Glu Ala Gly Ser His Thr Val Gln Arg Met Tyr Gly Cys Asp
[0302]	515 520 525
[0303]	Val Gly Ser Asp Trp Arg Phe Leu Arg Gly Tyr His Gln Tyr Ala Tyr
[0304]	530 535 540
[0305]	Asp Gly Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Lys Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr
[0306]	545 550 555 560
[0307]	Ala Ala Asp Met Ala Ala Gln Thr Thr Lys His Lys Trp Glu Ala Ala
[0308]	565 570 575
[0309]	His Val Ala Glu Gln Leu Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu
[0310]	580 585 590
[0311]	Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Thr

[0312]	595	600	605
[0313]	Asp Ala Pro Lys Thr His Met Thr His His Ala Val Ser Asp His Glu		
[0314]	610	615	620
[0315]	Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Ser Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr		
[0316]	625	630	635
[0317]	Leu Thr Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu		
[0318]	645	650	655
[0319]	Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala		
[0320]	660	665	670
[0321]	Val Val Val Pro Ser Gly Gln Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln		
[0322]	675	680	685
[0323]	His Glu Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu Arg Trp Glu Pro Ala Ala		
[0324]	690	695	700
[0325]	Ala Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu		
[0326]	705	710	715
[0327]	Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp		
[0328]	725	730	735
[0329]	Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp		
[0330]	740	745	750
[0331]	Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly		
[0332]	755	760	765
[0333]	Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn		
[0334]	770	775	780
[0335]	Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp		
[0336]	785	790	795
[0337]	Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro		
[0338]	805	810	815
[0339]	Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu		
[0340]	820	825	830
[0341]	Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn		
[0342]	835	840	845
[0343]	Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile		
[0344]	850	855	860
[0345]	Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr		
[0346]	865	870	875
[0347]	Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys		
[0348]	885	890	895
[0349]	Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys		
[0350]	900	905	910

[0351] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 [0352] 915 920 925
 [0353] Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Ser His His His His His His His
 [0354] 930 935 940
 [0355] His
 [0356] 945
 [0357] <210> 8
 [0358] <211> 5
 [0359] <212> PRT
 [0360] <213> 人工序列
 [0361] <220>
 [0362] <223> 合成序列
 [0363] <220>
 [0364] <221> REPEAT
 [0365] <222> (1) .. (5)
 [0366] <223> 重复n次,其中n为至少1的整数
 [0367] <400> 8
 [0368] Gly Ser Gly Gly Ser
 [0369] 1 5
 [0370] <210> 9
 [0371] <211> 4
 [0372] <212> PRT
 [0373] <213> 人工序列
 [0374] <220>
 [0375] <223> 合成序列
 [0376] <220>
 [0377] <221> REPEAT
 [0378] <222> (1) .. (4)
 [0379] <223> 重复n次,其中n为至少1的整数
 [0380] <400> 9
 [0381] Gly Gly Gly Ser
 [0382] 1
 [0383] <210> 10
 [0384] <211> 4
 [0385] <212> PRT
 [0386] <213> 人工序列
 [0387] <220>
 [0388] <223> 合成序列
 [0389] <400> 10

[0390] Gly Gly Ser Gly
[0391] 1
[0392] <210> 11
[0393] <211> 5
[0394] <212> PRT
[0395] <213> 人工序列
[0396] <220>
[0397] <223> 合成序列
[0398] <400> 11
[0399] Gly Gly Ser Gly Gly
[0400] 1 5
[0401] <210> 12
[0402] <211> 5
[0403] <212> PRT
[0404] <213> 人工序列
[0405] <220>
[0406] <223> 合成序列
[0407] <400> 12
[0408] Gly Ser Gly Ser Gly
[0409] 1 5
[0410] <210> 13
[0411] <211> 5
[0412] <212> PRT
[0413] <213> 人工序列
[0414] <220>
[0415] <223> 合成序列
[0416] <400> 13
[0417] Gly Ser Gly Gly Gly
[0418] 1 5
[0419] <210> 14
[0420] <211> 5
[0421] <212> PRT
[0422] <213> 人工序列
[0423] <220>
[0424] <223> 合成序列
[0425] <400> 14
[0426] Gly Gly Gly Ser Gly
[0427] 1 5
[0428] <210> 15

[0429]	<211> 5
[0430]	<212> PRT
[0431]	<213> 人工序列
[0432]	<220>
[0433]	<223> 合成序列
[0434]	<400> 15
[0435]	Gly Ser Ser Ser Gly
[0436]	1 5
[0437]	<210> 16
[0438]	<211> 15
[0439]	<212> PRT
[0440]	<213> 人工序列
[0441]	<220>
[0442]	<223> 合成序列
[0443]	<400> 16
[0444]	Gly Cys Gly Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[0445]	1 5 10 15
[0446]	<210> 17
[0447]	<211> 9
[0448]	<212> PRT
[0449]	<213> 人工序列
[0450]	<220>
[0451]	<223> 合成序列
[0452]	<400> 17
[0453]	Leu Leu Phe Gly Tyr Pro Val Tyr Val
[0454]	1 5
[0455]	<210> 18
[0456]	<211> 9
[0457]	<212> PRT
[0458]	<213> 人工序列
[0459]	<220>
[0460]	<223> 合成序列
[0461]	<400> 18
[0462]	Lys Tyr Gln Ala Val Thr Thr Thr Leu
[0463]	1 5
[0464]	<210> 19
[0465]	<211> 9
[0466]	<212> PRT
[0467]	<213> 人工序列

[0468] <220>
 [0469] <223> 合成序列
 [0470] <400> 19
 [0471] Val Tyr Leu Lys Thr Asn Val Phe Leu
 [0472] 1 5
 [0473] <210> 20
 [0474] <211> 9
 [0475] <212> PRT
 [0476] <213> 人工序列
 [0477] <220>
 [0478] <223> 合成序列
 [0479] <400> 20
 [0480] Thr Tyr Leu Lys Thr Asn Leu Phe Leu
 [0481] 1 5
 [0482] <210> 21
 [0483] <211> 5
 [0484] <212> PRT
 [0485] <213> 人工序列
 [0486] <220>
 [0487] <223> 合成序列
 [0488] <220>
 [0489] <221> MISC_FEATURE
 [0490] <222> (2) .. (2)
 [0491] <223> X可以为L或Q
 [0492] <400> 21
 [0493] Pro Xaa Gly Met Thr
 [0494] 1 5
 [0495] <210> 22
 [0496] <211> 274
 [0497] <212> PRT
 [0498] <213> 人工序列
 [0499] <220>
 [0500] <223> 合成序列
 [0501] <400> 22
 [0502] Gly Pro His Ser Leu Arg Tyr Phe Val Thr Ala Val Ser Arg Pro Gly
 [0503] 1 5 10 15
 [0504] Leu Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln
 [0505] 20 25 30
 [0506] Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Asp Asn Pro Arg Phe Glu Pro Arg

[0507]	35	40	45
[0508]	Ala Pro Trp Met Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Glu Glu Gln Thr		
[0509]	50	55	60
[0510]	Gln Arg Ala Lys Ser Asp Glu Gln Trp Phe Arg Val Ser Leu Arg Thr		
[0511]	65	70	75
[0512]	Ala Gln Arg Tyr Tyr Asn Gln Ser Lys Gly Gly Ser His Thr Phe Gln		
[0513]	85	90	95
[0514]	Arg Met Phe Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Leu Leu Arg Gly		
[0515]	100	105	110
[0516]	Tyr Gln Gln Phe Ala Tyr Asp Gly Arg Asp Tyr Ile Ala Leu Asn Glu		
[0517]	115	120	125
[0518]	Asp Leu Lys Thr Trp Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Leu Ile Thr Arg		
[0519]	130	135	140
[0520]	Arg Lys Trp Glu Gln Ala Gly Asp Ala Glu Tyr Tyr Arg Ala Tyr Leu		
[0521]	145	150	155
[0522]	Glu Gly Glu Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Leu Gly Asn		
[0523]	165	170	175
[0524]	Glu Thr Leu Leu Arg Thr Asp Ser Pro Lys Ala His Val Thr Tyr His		
[0525]	180	185	190
[0526]	Pro Arg Ser Gln Val Asp Val Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe		
[0527]	195	200	205
[0528]	Tyr Pro Ala Asp Ile Thr Leu Thr Trp Gln Leu Asn Gly Glu Asp Leu		
[0529]	210	215	220
[0530]	Thr Gln Asp Met Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr		
[0531]	225	230	235
[0532]	Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Leu Gly Lys Glu Gln Asn		
[0533]	245	250	255
[0534]	Tyr Thr Cys His Val His His Lys Gly Leu Pro Glu Pro Leu Thr Leu		
[0535]	260	265	270
[0536]	Arg Trp		
[0537]	<210> 23		
[0538]	<211> 9		
[0539]	<212> PRT		
[0540]	<213> 人工序列		
[0541]	<220>		
[0542]	<223> 合成序列		
[0543]	<400> 23		
[0544]	Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala		
[0545]	1	5	

[0546] <210> 24
[0547] <211> 8
[0548] <212> PRT
[0549] <213> 人工序列
[0550] <220>
[0551] <223> 合成序列
[0552] <400> 24
[0553] Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
[0554] 1 5
[0555] <210> 25
[0556] <211> 10
[0557] <212> PRT
[0558] <213> 人工序列
[0559] <220>
[0560] <223> 合成序列
[0561] <400> 25
[0562] Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
[0563] 1 5 10
[0564] <210> 26
[0565] <211> 5
[0566] <212> PRT
[0567] <213> 人工序列
[0568] <220>
[0569] <223> 合成序列
[0570] <400> 26
[0571] His His His His His
[0572] 1 5
[0573] <210> 27
[0574] <211> 6
[0575] <212> PRT
[0576] <213> 人工序列
[0577] <220>
[0578] <223> 合成序列
[0579] <400> 27
[0580] His His His His His His
[0581] 1 5
[0582] <210> 28
[0583] <211> 8
[0584] <212> PRT

[0585] <213> 人工序列
[0586] <220>
[0587] <223> 合成序列
[0588] <400> 28
[0589] Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
[0590] 1 5
[0591] <210> 29
[0592] <211> 9
[0593] <212> PRT
[0594] <213> 人工序列
[0595] <220>
[0596] <223> 合成序列
[0597] <400> 29
[0598] Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala
[0599] 1 5
[0600] <210> 30
[0601] <211> 5
[0602] <212> PRT
[0603] <213> 人工序列
[0604] <220>
[0605] <223> 合成序列
[0606] <400> 30
[0607] Arg Tyr Ile Arg Ser
[0608] 1 5
[0609] <210> 31
[0610] <211> 4
[0611] <212> PRT
[0612] <213> 人工序列
[0613] <220>
[0614] <223> 合成序列
[0615] <400> 31
[0616] Phe His His Thr
[0617] 1
[0618] <210> 32
[0619] <211> 17
[0620] <212> PRT
[0621] <213> 人工序列
[0622] <220>
[0623] <223> 合成序列

[0624]	<400> 32
[0625]	Trp Glu Ala Ala Ala Arg Glu Ala Cys Cys Arg Glu Cys Cys Ala Arg
[0626]	1 5 10 15
[0627]	Ala
[0628]	<210> 33
[0629]	<211> 6
[0630]	<212> PRT
[0631]	<213> 人工序列
[0632]	<220>
[0633]	<223> 合成序列
[0634]	<220>
[0635]	<221> SITE
[0636]	<222> (2) .. (2)
[0637]	<223> X可以为L或Q
[0638]	<400> 33
[0639]	Pro Xaa Gly Met Thr Ser
[0640]	1 5
[0641]	<210> 34
[0642]	<211> 7
[0643]	<212> PRT
[0644]	<213> 人工序列
[0645]	<220>
[0646]	<223> 合成序列
[0647]	<400> 34
[0648]	Glu Asn Leu Tyr Thr Gln Ser
[0649]	1 5
[0650]	<210> 35
[0651]	<211> 5
[0652]	<212> PRT
[0653]	<213> 人工序列
[0654]	<220>
[0655]	<223> 合成序列
[0656]	<400> 35
[0657]	Asp Asp Asp Asp Lys
[0658]	1 5
[0659]	<210> 36
[0660]	<211> 4
[0661]	<212> PRT
[0662]	<213> 人工序列

[0663] <220>
[0664] <223> 合成序列
[0665] <400> 36
[0666] Leu Val Pro Arg
[0667] 1
[0668] <210> 37
[0669] <211> 8
[0670] <212> PRT
[0671] <213> 人工序列
[0672] <220>
[0673] <223> 合成序列
[0674] <400> 37
[0675] Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro
[0676] 1 5
[0677] <210> 38
[0678] <211> 10
[0679] <212> PRT
[0680] <213> 人工序列
[0681] <220>
[0682] <223> 合成序列
[0683] <400> 38
[0684] Cys Gly Leu Val Pro Ala Gly Ser Gly Pro
[0685] 1 5 10
[0686] <210> 39
[0687] <211> 12
[0688] <212> PRT
[0689] <213> 人工序列
[0690] <220>
[0691] <223> 合成序列
[0692] <400> 39
[0693] Ser Leu Leu Lys Ser Arg Met Val Pro Asn Phe Asn
[0694] 1 5 10
[0695] <210> 40
[0696] <211> 12
[0697] <212> PRT
[0698] <213> 人工序列
[0699] <220>
[0700] <223> 合成序列
[0701] <400> 40

[0702]	Ser Leu Leu Ile Ala Arg Arg Met Pro Asn Phe Asn
[0703]	1 5 10
[0704]	<210> 41
[0705]	<211> 12
[0706]	<212> PRT
[0707]	<213> 人工序列
[0708]	<220>
[0709]	<223> 合成序列
[0710]	<400> 41
[0711]	Ser Lys Leu Val Gln Ala Ser Ala Ser Gly Val Asn
[0712]	1 5 10
[0713]	<210> 42
[0714]	<211> 12
[0715]	<212> PRT
[0716]	<213> 人工序列
[0717]	<220>
[0718]	<223> 合成序列
[0719]	<400> 42
[0720]	Ser Ser Tyr Leu Lys Ala Ser Asp Ala Pro Asp Asn
[0721]	1 5 10
[0722]	<210> 43
[0723]	<211> 12
[0724]	<212> PRT
[0725]	<213> 人工序列
[0726]	<220>
[0727]	<223> 合成序列
[0728]	<400> 43
[0729]	Arg Pro Lys Pro Gln Gln Phe Phe Gly Leu Met Asn
[0730]	1 5 10
[0731]	<210> 44
[0732]	<211> 12
[0733]	<212> PRT
[0734]	<213> 人工序列
[0735]	<220>
[0736]	<223> 合成序列
[0737]	<400> 44
[0738]	Ser Leu Arg Pro Leu Ala Leu Trp Arg Ser Phe Asn
[0739]	1 5 10
[0740]	<210> 45

[0741]	<211>	12
[0742]	<212>	PRT
[0743]	<213>	人工序列
[0744]	<220>	
[0745]	<223>	合成序列
[0746]	<400>	45
[0747]	Ser Pro Gln Gly Ile Ala Gly Gln Arg Asn Phe Asn	
[0748]	1	5 10
[0749]	<210>	46
[0750]	<211>	14
[0751]	<212>	PRT
[0752]	<213>	人工序列
[0753]	<220>	
[0754]	<223>	合成序列
[0755]	<400>	46
[0756]	Asp Val Asp Glu Arg Asp Val Arg Gly Phe Ala Ser Phe Leu	
[0757]	1	5 10
[0758]	<210>	47
[0759]	<211>	12
[0760]	<212>	PRT
[0761]	<213>	人工序列
[0762]	<220>	
[0763]	<223>	合成序列
[0764]	<400>	47
[0765]	Ser Leu Pro Leu Gly Leu Trp Ala Pro Asn Phe Asn	
[0766]	1	5 10
[0767]	<210>	48
[0768]	<211>	12
[0769]	<212>	PRT
[0770]	<213>	人工序列
[0771]	<220>	
[0772]	<223>	合成序列
[0773]	<400>	48
[0774]	Ser Leu Leu Ile Phe Arg Ser Trp Ala Asn Phe Asn	
[0775]	1	5 10
[0776]	<210>	49
[0777]	<211>	12
[0778]	<212>	PRT
[0779]	<213>	人工序列

[0780] <220>
 [0781] <223> 合成序列
 [0782] <400> 49
 [0783] Ser Gly Val Val Ile Ala Thr Val Ile Val Ile Thr
 [0784] 1 5 10
 [0785] <210> 50
 [0786] <211> 12
 [0787] <212> PRT
 [0788] <213> 人工序列
 [0789] <220>
 [0790] <223> 合成序列
 [0791] <400> 50
 [0792] Ser Leu Gly Pro Gln Gly Ile Trp Gly Gln Phe Asn
 [0793] 1 5 10
 [0794] <210> 51
 [0795] <211> 12
 [0796] <212> PRT
 [0797] <213> 人工序列
 [0798] <220>
 [0799] <223> 合成序列
 [0800] <400> 51
 [0801] Lys Lys Ser Pro Gly Arg Val Val Gly Gly Ser Val
 [0802] 1 5 10
 [0803] <210> 52
 [0804] <211> 12
 [0805] <212> PRT
 [0806] <213> 人工序列
 [0807] <220>
 [0808] <223> 合成序列
 [0809] <400> 52
 [0810] Pro Gln Gly Leu Leu Gly Ala Pro Gly Ile Leu Gly
 [0811] 1 5 10
 [0812] <210> 53
 [0813] <211> 31
 [0814] <212> PRT
 [0815] <213> 人工序列
 [0816] <220>
 [0817] <223> 合成序列
 [0818] <400> 53

[0819]	His Gly Pro Glu Gly Leu Arg Val Gly Phe Tyr Glu Ser Asp Val Met
[0820]	1 5 10 15
[0821]	Gly Arg Gly His Ala Arg Leu Val His Val Glu Glu Pro His Thr
[0822]	20 25 30
[0823]	<210> 54
[0824]	<211> 12
[0825]	<212> PRT
[0826]	<213> 人工序列
[0827]	<220>
[0828]	<223> 合成序列
[0829]	<400> 54
[0830]	Gly Pro Gln Gly Leu Ala Gly Gln Arg Gly Ile Val
[0831]	1 5 10
[0832]	<210> 55
[0833]	<211> 12
[0834]	<212> PRT
[0835]	<213> 人工序列
[0836]	<220>
[0837]	<223> 合成序列
[0838]	<400> 55
[0839]	Gly Gly Ser Gly Gln Arg Gly Arg Lys Ala Leu Glu
[0840]	1 5 10
[0841]	<210> 56
[0842]	<211> 12
[0843]	<212> PRT
[0844]	<213> 人工序列
[0845]	<220>
[0846]	<223> 合成序列
[0847]	<400> 56
[0848]	Ser Leu Ser Ala Leu Leu Ser Ser Asp Ile Phe Asn
[0849]	1 5 10
[0850]	<210> 57
[0851]	<211> 12
[0852]	<212> PRT
[0853]	<213> 人工序列
[0854]	<220>
[0855]	<223> 合成序列
[0856]	<400> 57
[0857]	Ser Leu Pro Arg Phe Lys Ile Ile Gly Gly Phe Asn

[0858]	1	5	10
[0859]	<210> 58		
[0860]	<211> 12		
[0861]	<212> PRT		
[0862]	<213> 人工序列		
[0863]	<220>		
[0864]	<223> 合成序列		
[0865]	<400> 58		
[0866]	Ser Leu Leu Gly Ile Ala Val Pro Gly Asn Phe Asn		
[0867]	1	5	10
[0868]	<210> 59		
[0869]	<211> 12		
[0870]	<212> PRT		
[0871]	<213> 人工序列		
[0872]	<220>		
[0873]	<223> 合成序列		
[0874]	<400> 59		
[0875]	Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg Thr Pro Pro		
[0876]	1	5	10
[0877]	<210> 60		
[0878]	<211> 19		
[0879]	<212> PRT		
[0880]	<213> 人工序列		
[0881]	<220>		
[0882]	<223> 合成序列		
[0883]	<400> 60		
[0884]	Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn		
[0885]	1	5	10 15
[0886]	Pro Gly Pro		
[0887]	<210> 61		
[0888]	<211> 18		
[0889]	<212> PRT		
[0890]	<213> 人工序列		
[0891]	<220>		
[0892]	<223> 合成序列		
[0893]	<400> 61		
[0894]	Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro		
[0895]	1	5	10 15
[0896]	Gly Pro		

[0897]	<210> 62
[0898]	<211> 20
[0899]	<212> PRT
[0900]	<213> 人工序列
[0901]	<220>
[0902]	<223> 合成序列
[0903]	<400> 62
[0904]	Gln Cys Thr Asn Tyr Ala Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser
[0905]	1 5 10 15
[0906]	Asn Pro Gly Pro
[0907]	20
[0908]	<210> 63
[0909]	<211> 22
[0910]	<212> PRT
[0911]	<213> 人工序列
[0912]	<220>
[0913]	<223> 合成序列
[0914]	<400> 63
[0915]	Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val
[0916]	1 5 10 15
[0917]	Glu Ser Asn Pro Gly Pro
[0918]	20
[0919]	<210> 64
[0920]	<211> 22
[0921]	<212> PRT
[0922]	<213> 人工序列
[0923]	<220>
[0924]	<223> 合成序列
[0925]	<400> 64
[0926]	Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val
[0927]	1 5 10 15
[0928]	Glu Glu Asn Pro Gly Pro
[0929]	20
[0930]	<210> 65
[0931]	<211> 21
[0932]	<212> PRT
[0933]	<213> 人工序列
[0934]	<220>
[0935]	<223> 合成序列

[0936]	<400> 65
[0937]	Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu
[0938]	1 5 10 15
[0939]	Glu Asn Pro Gly Pro
[0940]	20
[0941]	<210> 66
[0942]	<211> 23
[0943]	<212> PRT
[0944]	<213> 人工序列
[0945]	<220>
[0946]	<223> 合成序列
[0947]	<400> 66
[0948]	Gly Ser Gly Gln Cys Thr Asn Tyr Ala Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp
[0949]	1 5 10 15
[0950]	Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro
[0951]	20
[0952]	<210> 67
[0953]	<211> 25
[0954]	<212> PRT
[0955]	<213> 人工序列
[0956]	<220>
[0957]	<223> 合成序列
[0958]	<400> 67
[0959]	Gly Ser Gly Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala
[0960]	1 5 10 15
[0961]	Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro
[0962]	20 25
[0963]	<210> 68
[0964]	<211> 20
[0965]	<212> PRT
[0966]	<213> 智人
[0967]	<400> 68
[0968]	Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser
[0969]	1 5 10 15
[0970]	Gly Leu Glu Ala
[0971]	20
[0972]	<210> 69
[0973]	<211> 225
[0974]	<212> PRT

[0975]	<213>	人工序列
[0976]	<220>	
[0977]	<223>	合成多肽
[0978]	<400>	69
[0979]	Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser	
[0980]	1 5 10 15	
[0981]	Gly Leu Glu Ala Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser	
[0982]	20 25 30	
[0983]	Pro Gly Ser Ala Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser	
[0984]	35 40 45	
[0985]	Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala	
[0986]	50 55 60	
[0987]	Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp	
[0988]	65 70 75 80	
[0989]	Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser	
[0990]	85 90 95	
[0991]	Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr	
[0992]	100 105 110	
[0993]	Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly	
[0994]	115 120 125	
[0995]	Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala	
[0996]	130 135 140	
[0997]	Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser	
[0998]	145 150 155 160	
[0999]	Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His	
[1000]	165 170 175	
[1001]	Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg	
[1002]	180 185 190	
[1003]	Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu	
[1004]	195 200 205	
[1005]	Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser	
[1006]	210 215 220	
[1007]	Glu	
[1008]	225	
[1009]	<210>	70
[1010]	<211>	939
[1011]	<212>	PRT
[1012]	<213>	人工序列
[1013]	<220>	

[1014]	<223> 合成多肽															
[1015]	<400> 70															
[1016]	Met	Ser	Arg	Ser	Val	Ala	Leu	Ala	Val	Leu	Ala	Leu	Leu	Ser	Leu	Ser
[1017]	1				5					10				15		
[1018]	Gly	Leu	Glu	Ala	Val	Tyr	Leu	Lys	Thr	Asn	Val	Phe	Leu	Gly	Cys	Gly
[1019]					20					25				30		
[1020]	Ala	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Met	Ile	Gln	Lys
[1021]					35					40				45		
[1022]	Thr	Pro	Gln	Ile	Gln	Val	Tyr	Ser	Arg	His	Pro	Pro	Glu	Asn	Gly	Lys
[1023]					50					55				60		
[1024]	Pro	Asn	Ile	Leu	Asn	Cys	Tyr	Val	Thr	Gln	Phe	His	Pro	Pro	His	Ile
[1025]	65									70				75		80
[1026]	Glu	Ile	Gln	Met	Leu	Lys	Asn	Gly	Lys	Lys	Ile	Pro	Lys	Val	Glu	Met
[1027]					85					90				95		
[1028]	Ser	Asp	Met	Ser	Phe	Ser	Lys	Asp	Trp	Ser	Phe	Tyr	Ile	Leu	Ala	His
[1029]					100					105				110		
[1030]	Thr	Glu	Phe	Thr	Pro	Thr	Glu	Thr	Asp	Thr	Tyr	Ala	Cys	Arg	Val	Lys
[1031]					115					120				125		
[1032]	His	Ala	Ser	Met	Ala	Glu	Pro	Lys	Thr	Val	Tyr	Trp	Asp	Arg	Asp	Met
[1033]					130					135				140		
[1034]	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly
[1035]	145									150				155		160
[1036]	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ala	Cys	Pro	Trp	Ala	Val	Ser
[1037]					165					170				175		
[1038]	Gly	Ala	Arg	Ala	Ser	Pro	Gly	Ser	Ala	Ala	Ser	Pro	Arg	Leu	Arg	Glu
[1039]					180					185				190		
[1040]	Gly	Pro	Glu	Leu	Ser	Pro	Asp	Asp	Pro	Ala	Gly	Leu	Leu	Asp	Leu	Arg
[1041]					195					200				205		
[1042]	Gln	Gly	Met	Phe	Ala	Gln	Leu	Val	Ala	Gln	Asn	Val	Leu	Leu	Ile	Asp
[1043]					210					215				220		
[1044]	Gly	Pro	Leu	Ser	Trp	Tyr	Ser	Asp	Pro	Gly	Leu	Ala	Gly	Val	Ser	Leu
[1045]	225									230				235		240
[1046]	Thr	Gly	Gly	Leu	Ser	Tyr	Lys	Glu	Asp	Thr	Lys	Glu	Leu	Val	Val	Ala
[1047]					245					250				255		
[1048]	Lys	Ala	Gly	Val	Tyr	Tyr	Val	Phe	Phe	Gln	Leu	Glu	Leu	Arg	Arg	Val
[1049]					260					265				270		
[1050]	Val	Ala	Gly	Glu	Gly	Ser	Gly	Ser	Val	Ser	Leu	Ala	Leu	His	Leu	Gln
[1051]					275					280				285		
[1052]	Pro	Leu	Arg	Ser	Ala	Ala	Gly	Ala	Ala	Ala	Leu	Ala	Leu	Thr	Val	Asp

[1053]	290	295	300
[1054]	Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln		
[1055]	305	310	315
[1056]	Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu		
[1057]	325	330	335
[1058]	His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala		
[1059]	340	345	350
[1060]	Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu		
[1061]	355	360	365
[1062]	Pro Ser Pro Arg Ser Glu Ser Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu		
[1063]	370	375	380
[1064]	Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ser Arg		
[1065]	385	390	395
[1066]	Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser Gly Leu Glu		
[1067]	405	410	415
[1068]	Ala Gly Pro His Ser Leu Arg Tyr Phe Val Thr Ala Val Ser Arg Pro		
[1069]	420	425	430
[1070]	Gly Leu Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr		
[1071]	435	440	445
[1072]	Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Asp Asn Pro Arg Phe Glu Pro		
[1073]	450	455	460
[1074]	Arg Ala Pro Trp Met Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Glu Glu Gln		
[1075]	465	470	475
[1076]	Thr Gln Arg Ala Lys Ser Asp Glu Gln Trp Phe Arg Val Ser Leu Arg		
[1077]	485	490	495
[1078]	Thr Ala Gln Arg Cys Tyr Asn Gln Ser Lys Gly Gly Ser His Thr Phe		
[1079]	500	505	510
[1080]	Gln Arg Met Phe Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Leu Leu Arg		
[1081]	515	520	525
[1082]	Gly Tyr Gln Gln Phe Ala Tyr Asp Gly Arg Asp Tyr Ile Ala Leu Asn		
[1083]	530	535	540
[1084]	Glu Asp Leu Lys Thr Trp Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Leu Ile Thr		
[1085]	545	550	555
[1086]	Arg Arg Lys Trp Glu Gln Ala Gly Asp Ala Glu Tyr Tyr Arg Ala Tyr		
[1087]	565	570	575
[1088]	Leu Glu Gly Glu Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Leu Gly		
[1089]	580	585	590
[1090]	Asn Glu Thr Leu Leu Arg Thr Asp Ser Pro Lys Ala His Val Thr Tyr		
[1091]	595	600	605

[1092]	His	Pro	Arg	Ser	Gln	Val	Asp	Val	Thr	Leu	Arg	Cys	Trp	Ala	Leu	Gly
[1093]	610						615					620				
[1094]	Phe	Tyr	Pro	Ala	Asp	Ile	Thr	Leu	Thr	Trp	Gln	Leu	Asn	Gly	Glu	Asp
[1095]	625					630					635				640	
[1096]	Leu	Thr	Gln	Asp	Met	Glu	Leu	Val	Glu	Thr	Arg	Pro	Ala	Gly	Asp	Gly
[1097]					645					650					655	
[1098]	Thr	Phe	Gln	Lys	Trp	Ala	Ala	Val	Val	Val	Pro	Leu	Gly	Lys	Glu	Gln
[1099]				660					665					670		
[1100]	Asn	Tyr	Thr	Cys	His	Val	His	His	Lys	Gly	Leu	Pro	Glu	Pro	Leu	Thr
[1101]			675						680					685		
[1102]	Leu	Arg	Trp	Ala	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Arg	Gly	Pro	Thr	Ile	Lys	Pro
[1103]	690						695					700				
[1104]	Cys	Pro	Pro	Cys	Lys	Cys	Pro	Ala	Pro	Asn	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser
[1105]	705					710					715				720	
[1106]	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Lys	Ile	Lys	Asp	Val	Leu	Met	Ile	Ser	Leu
[1107]					725					730					735	
[1108]	Ser	Pro	Ile	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Glu	Asp	Asp	Pro
[1109]				740					745					750		
[1110]	Asp	Val	Gln	Ile	Ser	Trp	Phe	Val	Asn	Asn	Val	Glu	Val	His	Thr	Ala
[1111]			755						760					765		
[1112]	Gln	Thr	Gln	Thr	His	Arg	Glu	Asp	Tyr	Asn	Ser	Thr	Leu	Arg	Val	Val
[1113]	770						775						780			
[1114]	Ser	Ala	Leu	Pro	Ile	Gln	His	Gln	Asp	Trp	Met	Ser	Gly	Lys	Glu	Phe
[1115]	785					790					795				800	
[1116]	Lys	Cys	Lys	Val	Asn	Asn	Lys	Asp	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Arg	Thr
[1117]				805					810					815		
[1118]	Ile	Ser	Lys	Pro	Lys	Gly	Ser	Val	Arg	Ala	Pro	Gln	Val	Tyr	Val	Leu
[1119]				820					825					830		
[1120]	Pro	Pro	Pro	Glu	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Lys	Gln	Val	Thr	Leu	Thr	Cys
[1121]			835					840						845		
[1122]	Met	Val	Thr	Asp	Phe	Met	Pro	Glu	Asp	Ile	Tyr	Val	Glu	Trp	Thr	Asn
[1123]	850						855						860			
[1124]	Asn	Gly	Lys	Thr	Glu	Leu	Asn	Tyr	Lys	Asn	Thr	Glu	Pro	Val	Leu	Asp
[1125]	865					870					875				880	
[1126]	Ser	Asp	Gly	Ser	Tyr	Phe	Met	Tyr	Ser	Lys	Leu	Arg	Val	Glu	Lys	Lys
[1127]				885					890					895		
[1128]	Asn	Trp	Val	Glu	Arg	Asn	Ser	Tyr	Ser	Cys	Ser	Val	Val	His	Glu	Gly
[1129]				900					905					910		
[1130]	Leu	His	Asn	His	His	Thr	Thr	Lys	Ser	Phe	Ser	Arg	Thr	Pro	Gly	Lys

[1131]	915	920	925
[1132]	Gly Gly Ser His His His His His His His His		
[1133]	930	935	
[1134]	<210> 71		
[1135]	<211> 939		
[1136]	<212> PRT		
[1137]	<213> 人工序列		
[1138]	<220>		
[1139]	<223> 合成多肽		
[1140]	<400> 71		
[1141]	Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser		
[1142]	1 5 10 15		
[1143]	Gly Leu Glu Ala Val Tyr Leu Lys Thr Asn Val Phe Leu Gly Cys Gly		
[1144]	20 25 30		
[1145]	Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met Ile Gln Lys		
[1146]	35 40 45		
[1147]	Thr Pro Gln Ile Gln Val Tyr Ser Arg His Pro Pro Glu Asn Gly Lys		
[1148]	50 55 60		
[1149]	Pro Asn Ile Leu Asn Cys Tyr Val Thr Gln Phe His Pro Pro His Ile		
[1150]	65 70 75 80		
[1151]	Glu Ile Gln Met Leu Lys Asn Gly Lys Lys Ile Pro Lys Val Glu Met		
[1152]	85 90 95		
[1153]	Ser Asp Met Ser Phe Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Ile Leu Ala His		
[1154]	100 105 110		
[1155]	Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Thr Asp Thr Tyr Ala Cys Arg Val Lys		
[1156]	115 120 125		
[1157]	His Ala Ser Met Ala Glu Pro Lys Thr Val Tyr Trp Asp Arg Asp Met		
[1158]	130 135 140		
[1159]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly		
[1160]	145 150 155 160		
[1161]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser		
[1162]	165 170 175		
[1163]	Gly Ala Arg Ala Ser Pro Gly Ser Ala Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu		
[1164]	180 185 190		
[1165]	Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg		
[1166]	195 200 205		
[1167]	Gln Gly Met Phe Ala Cys Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp		
[1168]	210 215 220		
[1169]	Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu		

[1170]	225	230	235	240
[1171]	Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala			
[1172]		245	250	255
[1173]	Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val			
[1174]		260	265	270
[1175]	Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln			
[1176]		275	280	285
[1177]	Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp			
[1178]		290	295	300
[1179]	Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln			
[1180]	305	310	315	320
[1181]	Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu			
[1182]		325	330	335
[1183]	His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala			
[1184]		340	345	350
[1185]	Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Cys Ala Gly Leu			
[1186]		355	360	365
[1187]	Pro Ser Pro Arg Ser Glu Ser Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu			
[1188]		370	375	380
[1189]	Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ser Arg			
[1190]	385	390	395	400
[1191]	Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser Gly Leu Glu			
[1192]		405	410	415
[1193]	Ala Gly Pro His Ser Leu Arg Tyr Phe Val Thr Ala Val Ser Arg Pro			
[1194]		420	425	430
[1195]	Gly Leu Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr			
[1196]		435	440	445
[1197]	Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Asp Asn Pro Arg Phe Glu Pro			
[1198]		450	455	460
[1199]	Arg Ala Pro Trp Met Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Glu Glu Gln			
[1200]	465	470	475	480
[1201]	Thr Gln Arg Ala Lys Ser Asp Glu Gln Trp Phe Arg Val Ser Leu Arg			
[1202]		485	490	495
[1203]	Thr Ala Gln Arg Cys Tyr Asn Gln Ser Lys Gly Gly Ser His Thr Phe			
[1204]		500	505	510
[1205]	Gln Arg Met Phe Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Leu Leu Arg			
[1206]		515	520	525
[1207]	Gly Tyr Gln Gln Phe Ala Tyr Asp Gly Arg Asp Tyr Ile Ala Leu Asn			
[1208]		530	535	540

[1209]	Glu Asp Leu Lys Thr Trp Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Leu Ile Thr
[1210]	545 550 555 560
[1211]	Arg Arg Lys Trp Glu Gln Ala Gly Asp Ala Glu Tyr Tyr Arg Ala Tyr
[1212]	565 570 575
[1213]	Leu Glu Gly Glu Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Leu Gly
[1214]	580 585 590
[1215]	Asn Glu Thr Leu Leu Arg Thr Asp Ser Pro Lys Ala His Val Thr Tyr
[1216]	595 600 605
[1217]	His Pro Arg Ser Gln Val Asp Val Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly
[1218]	610 615 620
[1219]	Phe Tyr Pro Ala Asp Ile Thr Leu Thr Trp Gln Leu Asn Gly Glu Asp
[1220]	625 630 635 640
[1221]	Leu Thr Gln Asp Met Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly
[1222]	645 650 655
[1223]	Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Leu Gly Lys Glu Gln
[1224]	660 665 670
[1225]	Asn Tyr Thr Cys His Val His His Lys Gly Leu Pro Glu Pro Leu Thr
[1226]	675 680 685
[1227]	Leu Arg Trp Ala Ala Ala Gly Gly Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro
[1228]	690 695 700
[1229]	Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser
[1230]	705 710 715 720
[1231]	Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu
[1232]	725 730 735
[1233]	Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro
[1234]	740 745 750
[1235]	Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala
[1236]	755 760 765
[1237]	Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val
[1238]	770 775 780
[1239]	Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe
[1240]	785 790 795 800
[1241]	Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr
[1242]	805 810 815
[1243]	Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu
[1244]	820 825 830
[1245]	Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys
[1246]	835 840 845
[1247]	Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn

[1248]	850	855	860
[1249]	Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp		
[1250]	865	870	875
[1251]	Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys		880
[1252]		885	890
[1253]	Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly		895
[1254]		900	905
[1255]	Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys		910
[1256]		915	920
[1257]	Gly Gly Ser His His His His His His His His		925
[1258]		930	935
[1259]	<210> 72		
[1260]	<211> 225		
[1261]	<212> PRT		
[1262]	<213> 人工序列		
[1263]	<220>		
[1264]	<223> 合成多肽		
[1265]	<400> 72		
[1266]	Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser		
[1267]	1	5	10
[1268]	Gly Leu Glu Ala Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser		15
[1269]		20	25
[1270]	Pro Gly Ser Ala Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser		30
[1271]		35	40
[1272]	Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala		45
[1273]		50	55
[1274]	Cys Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp		60
[1275]	65	70	75
[1276]	Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser		80
[1277]		85	90
[1278]	Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr		95
[1279]		100	105
[1280]	Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly		110
[1281]		115	120
[1282]	Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala		125
[1283]		130	135
[1284]	Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser		140
[1285]	145	150	155
[1286]	Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His		160

[1287]	165								170					175				
[1288]	Leu	Ser	Ala	Gly	Gln	Arg	Leu	Gly	Val	His	Leu	His	Thr	Glu	Ala	Arg		
[1289]	180								185					190				
[1290]	Ala	Arg	His	Ala	Trp	Gln	Leu	Thr	Gln	Gly	Ala	Thr	Val	Leu	Gly	Leu		
[1291]	195								200					205				
[1292]	Phe	Arg	Val	Thr	Pro	Glu	Ile	Cys	Ala	Gly	Leu	Pro	Ser	Pro	Arg	Ser		
[1293]	210								215					220				
[1294]	Glu																	
[1295]	225																	
[1296]	<210> 73																	
[1297]	<211> 939																	
[1298]	<212> PRT																	
[1299]	<213> 人工序列																	
[1300]	<220>																	
[1301]	<223> 合成多肽																	
[1302]	<400> 73																	
[1303]	Met	Ser	Arg	Ser	Val	Ala	Leu	Ala	Val	Leu	Ala	Leu	Leu	Ser	Leu	Ser		
[1304]	1 5 10 15																	
[1305]	Gly	Leu	Glu	Ala	Val	Tyr	Leu	Lys	Thr	Asn	Val	Phe	Leu	Gly	Cys	Gly		
[1306]	20 25 30																	
[1307]	Ala	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Met	Ile	Gln	Lys		
[1308]	35 40 45																	
[1309]	Thr	Pro	Gln	Ile	Gln	Val	Tyr	Ser	Arg	His	Pro	Pro	Glu	Asn	Gly	Lys		
[1310]	50 55 60																	
[1311]	Pro	Asn	Ile	Leu	Asn	Cys	Tyr	Val	Thr	Gln	Phe	His	Pro	Pro	His	Ile		
[1312]	65 70 75 80																	
[1313]	Glu	Ile	Gln	Met	Leu	Lys	Asn	Gly	Lys	Lys	Ile	Pro	Lys	Val	Glu	Met		
[1314]	85 90 95																	
[1315]	Ser	Asp	Met	Ser	Phe	Ser	Lys	Asp	Trp	Ser	Phe	Tyr	Ile	Leu	Ala	His		
[1316]	100 105 110																	
[1317]	Thr	Glu	Phe	Thr	Pro	Thr	Glu	Thr	Asp	Thr	Tyr	Ala	Cys	Arg	Val	Lys		
[1318]	115 120 125																	
[1319]	His	Ala	Ser	Met	Ala	Glu	Pro	Lys	Thr	Val	Tyr	Trp	Asp	Arg	Asp	Met		
[1320]	130 135 140																	
[1321]	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly		
[1322]	145 150 155 160																	
[1323]	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ala	Cys	Pro	Trp	Ala	Val	Ser		
[1324]	165 170 175																	
[1325]	Gly	Ala	Arg	Ala	Ser	Pro	Gly	Ser	Ala	Ala	Ser	Pro	Arg	Leu	Arg	Glu		

[1326]	180							185							190													
[1327]	Gly	Pro	Glu	Leu	Ser	Pro	Asp	Asp	Pro	Ala	Gly	Leu	Leu	Asp	Leu	Arg												
[1328]	195							200							205													
[1329]	Gln	Gly	Met	Phe	Ala	Cys	Leu	Val	Ala	Gln	Asn	Val	Leu	Leu	Ile	Asp												
[1330]	210							215							220													
[1331]	Gly	Pro	Leu	Ser	Trp	Tyr	Ser	Asp	Pro	Gly	Leu	Ala	Gly	Val	Ser	Leu												
[1332]	225							230							235							240						
[1333]	Thr	Gly	Gly	Leu	Ser	Tyr	Lys	Glu	Asp	Thr	Lys	Glu	Leu	Val	Val	Ala												
[1334]	245							250							255													
[1335]	Lys	Ala	Gly	Val	Tyr	Tyr	Val	Phe	Phe	Gln	Leu	Glu	Leu	Arg	Arg	Val												
[1336]	260							265							270													
[1337]	Val	Ala	Gly	Glu	Gly	Ser	Gly	Ser	Val	Ser	Leu	Ala	Leu	His	Leu	Gln												
[1338]	275							280							285													
[1339]	Pro	Leu	Arg	Ser	Ala	Ala	Gly	Ala	Ala	Ala	Leu	Ala	Leu	Thr	Val	Asp												
[1340]	290							295							300													
[1341]	Leu	Pro	Pro	Ala	Ser	Ser	Glu	Ala	Arg	Asn	Ser	Ala	Phe	Gly	Phe	Gln												
[1342]	305							310							315							320						
[1343]	Gly	Arg	Leu	Leu	His	Leu	Ser	Ala	Gly	Gln	Arg	Leu	Gly	Val	His	Leu												
[1344]	325							330							335													
[1345]	His	Thr	Glu	Ala	Arg	Ala	Arg	His	Ala	Trp	Gln	Leu	Thr	Gln	Gly	Ala												
[1346]	340							345							350													
[1347]	Thr	Val	Leu	Gly	Leu	Phe	Arg	Val	Thr	Cys	Glu	Ile	Pro	Ala	Gly	Leu												
[1348]	355							360							365													
[1349]	Pro	Ser	Pro	Arg	Ser	Glu	Ser	Gly	Ser	Gly	Ala	Thr	Asn	Phe	Ser	Leu												
[1350]	370							375							380													
[1351]	Leu	Lys	Gln	Ala	Gly	Asp	Val	Glu	Glu	Asn	Pro	Gly	Pro	Met	Ser	Arg												
[1352]	385							390							395							400						
[1353]	Ser	Val	Ala	Leu	Ala	Val	Leu	Ala	Leu	Leu	Ser	Leu	Ser	Gly	Leu	Glu												
[1354]	405							410							415													
[1355]	Ala	Gly	Pro	His	Ser	Leu	Arg	Tyr	Phe	Val	Thr	Ala	Val	Ser	Arg	Pro												
[1356]	420							425							430													
[1357]	Gly	Leu	Gly	Glu	Pro	Arg	Phe	Ile	Ala	Val	Gly	Tyr	Val	Asp	Asp	Thr												
[1358]	435							440							445													
[1359]	Gln	Phe	Val	Arg	Phe	Asp	Ser	Asp	Ala	Asp	Asn	Pro	Arg	Phe	Glu	Pro												
[1360]	450							455							460													
[1361]	Arg	Ala	Pro	Trp	Met	Glu	Gln	Glu	Gly	Pro	Glu	Tyr	Trp	Glu	Glu	Gln												
[1362]	465							470							475							480						
[1363]	Thr	Gln	Arg	Ala	Lys	Ser	Asp	Glu	Gln	Trp	Phe	Arg	Val	Ser	Leu	Arg												
[1364]	485							490							495													

[1365]	Thr	Ala	Gln	Arg	Cys	Tyr	Asn	Gln	Ser	Lys	Gly	Gly	Ser	His	Thr	Phe
[1366]				500					505					510		
[1367]	Gln	Arg	Met	Phe	Gly	Cys	Asp	Val	Gly	Ser	Asp	Trp	Arg	Leu	Leu	Arg
[1368]			515					520					525			
[1369]	Gly	Tyr	Gln	Gln	Phe	Ala	Tyr	Asp	Gly	Arg	Asp	Tyr	Ile	Ala	Leu	Asn
[1370]		530						535					540			
[1371]	Glu	Asp	Leu	Lys	Thr	Trp	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Ala	Leu	Ile	Thr
[1372]	545					550					555					560
[1373]	Arg	Arg	Lys	Trp	Glu	Gln	Ala	Gly	Asp	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Arg	Ala	Tyr
[1374]				565						570					575	
[1375]	Leu	Glu	Gly	Glu	Cys	Val	Glu	Trp	Leu	Arg	Arg	Tyr	Leu	Glu	Leu	Gly
[1376]			580						585					590		
[1377]	Asn	Glu	Thr	Leu	Leu	Arg	Thr	Asp	Ser	Pro	Lys	Ala	His	Val	Thr	Tyr
[1378]		595						600						605		
[1379]	His	Pro	Arg	Ser	Gln	Val	Asp	Val	Thr	Leu	Arg	Cys	Trp	Ala	Leu	Gly
[1380]		610						615					620			
[1381]	Phe	Tyr	Pro	Ala	Asp	Ile	Thr	Leu	Thr	Trp	Gln	Leu	Asn	Gly	Glu	Asp
[1382]	625					630					635					640
[1383]	Leu	Thr	Gln	Asp	Met	Glu	Leu	Val	Glu	Thr	Arg	Pro	Ala	Gly	Asp	Gly
[1384]				645						650					655	
[1385]	Thr	Phe	Gln	Lys	Trp	Ala	Ala	Val	Val	Val	Pro	Leu	Gly	Lys	Glu	Gln
[1386]			660						665						670	
[1387]	Asn	Tyr	Thr	Cys	His	Val	His	His	Lys	Gly	Leu	Pro	Glu	Pro	Leu	Thr
[1388]		675						680						685		
[1389]	Leu	Arg	Trp	Ala	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Arg	Gly	Pro	Thr	Ile	Lys	Pro
[1390]		690					695						700			
[1391]	Cys	Pro	Pro	Cys	Lys	Cys	Pro	Ala	Pro	Asn	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser
[1392]	705					710					715					720
[1393]	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Lys	Ile	Lys	Asp	Val	Leu	Met	Ile	Ser	Leu
[1394]				725						730					735	
[1395]	Ser	Pro	Ile	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Glu	Asp	Asp	Pro
[1396]			740						745					750		
[1397]	Asp	Val	Gln	Ile	Ser	Trp	Phe	Val	Asn	Asn	Val	Glu	Val	His	Thr	Ala
[1398]			755						760					765		
[1399]	Gln	Thr	Gln	Thr	His	Arg	Glu	Asp	Tyr	Asn	Ser	Thr	Leu	Arg	Val	Val
[1400]		770						775						780		
[1401]	Ser	Ala	Leu	Pro	Ile	Gln	His	Gln	Asp	Trp	Met	Ser	Gly	Lys	Glu	Phe
[1402]	785					790					795					800
[1403]	Lys	Cys	Lys	Val	Asn	Asn	Lys	Asp	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Arg	Thr

[1404]					805				810				815			
[1405]	Ile	Ser	Lys	Pro	Lys	Gly	Ser	Val	Arg	Ala	Pro	Gln	Val	Tyr	Val	Leu
[1406]					820				825				830			
[1407]	Pro	Pro	Pro	Glu	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Lys	Gln	Val	Thr	Leu	Thr	Cys
[1408]					835				840				845			
[1409]	Met	Val	Thr	Asp	Phe	Met	Pro	Glu	Asp	Ile	Tyr	Val	Glu	Trp	Thr	Asn
[1410]					850				855				860			
[1411]	Asn	Gly	Lys	Thr	Glu	Leu	Asn	Tyr	Lys	Asn	Thr	Glu	Pro	Val	Leu	Asp
[1412]	865				870				875				880			
[1413]	Ser	Asp	Gly	Ser	Tyr	Phe	Met	Tyr	Ser	Lys	Leu	Arg	Val	Glu	Lys	Lys
[1414]					885				890				895			
[1415]	Asn	Trp	Val	Glu	Arg	Asn	Ser	Tyr	Ser	Cys	Ser	Val	Val	His	Glu	Gly
[1416]					900				905				910			
[1417]	Leu	His	Asn	His	His	Thr	Thr	Lys	Ser	Phe	Ser	Arg	Thr	Pro	Gly	Lys
[1418]					915				920				925			
[1419]	Gly	Gly	Ser	His	His	His	His	His	His	His	His					
[1420]					930				935							
[1421]	<210> 74															
[1422]	<211> 225															
[1423]	<212> PRT															
[1424]	<213> 人工序列															
[1425]	<220>															
[1426]	<223> 合成多肽															
[1427]	<400> 74															
[1428]	Met	Ser	Arg	Ser	Val	Ala	Leu	Ala	Val	Leu	Ala	Leu	Leu	Ser	Leu	Ser
[1429]	1															

[1443]	115	120	125
[1444]	Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala		
[1445]	130	135	140
[1446]	Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser		
[1447]	145	150	155
[1448]	Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His		
[1449]	165	170	175
[1450]	Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg		
[1451]	180	185	190
[1452]	Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu		
[1453]	195	200	205
[1454]	Phe Arg Val Thr Cys Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser		
[1455]	210	215	220
[1456]	Glu		
[1457]	225		
[1458]	<210> 75		
[1459]	<211> 939		
[1460]	<212> PRT		
[1461]	<213> 人工序列		
[1462]	<220>		
[1463]	<223> 合成多肽		
[1464]	<400> 75		
[1465]	Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser		
[1466]	1	5	10
[1467]	Gly Leu Glu Ala Val Tyr Leu Lys Thr Asn Val Phe Leu Gly Cys Gly		
[1468]	20	25	30
[1469]	Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met Ile Gln Lys		
[1470]	35	40	45
[1471]	Thr Pro Gln Ile Gln Val Tyr Ser Arg His Pro Pro Glu Asn Gly Lys		
[1472]	50	55	60
[1473]	Pro Asn Ile Leu Asn Cys Tyr Val Thr Gln Phe His Pro Pro His Ile		
[1474]	65	70	75
[1475]	Glu Ile Gln Met Leu Lys Asn Gly Lys Lys Ile Pro Lys Val Glu Met		
[1476]	85	90	95
[1477]	Ser Asp Met Ser Phe Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Ile Leu Ala His		
[1478]	100	105	110
[1479]	Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Thr Asp Thr Tyr Ala Cys Arg Val Lys		
[1480]	115	120	125
[1481]	His Ala Ser Met Ala Glu Pro Lys Thr Val Tyr Trp Asp Arg Asp Met		

[1482]	130	135	140
[1483]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly		
[1484]	145	150	155
[1485]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser		
[1486]	165	170	175
[1487]	Gly Ala Arg Ala Ser Pro Gly Ser Ala Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu		
[1488]	180	185	190
[1489]	Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg		
[1490]	195	200	205
[1491]	Cys Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp		
[1492]	210	215	220
[1493]	Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Cys Ala Gly Val Ser Leu		
[1494]	225	230	235
[1495]	Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala		
[1496]	245	250	255
[1497]	Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val		
[1498]	260	265	270
[1499]	Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln		
[1500]	275	280	285
[1501]	Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp		
[1502]	290	295	300
[1503]	Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln		
[1504]	305	310	315
[1505]	Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu		
[1506]	325	330	335
[1507]	His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala		
[1508]	340	345	350
[1509]	Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Cys Ala Gly Leu		
[1510]	355	360	365
[1511]	Pro Ser Pro Arg Ser Glu Ser Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu		
[1512]	370	375	380
[1513]	Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ser Arg		
[1514]	385	390	395
[1515]	Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser Gly Leu Glu		
[1516]	405	410	415
[1517]	Ala Gly Pro His Ser Leu Arg Tyr Phe Val Thr Ala Val Ser Arg Pro		
[1518]	420	425	430
[1519]	Gly Leu Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr		
[1520]	435	440	445

[1521]	Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Asp Asn Pro Arg Phe Glu Pro
[1522]	450 455 460
[1523]	Arg Ala Pro Trp Met Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Glu Glu Gln
[1524]	465 470 475 480
[1525]	Thr Gln Arg Ala Lys Ser Asp Glu Gln Trp Phe Arg Val Ser Leu Arg
[1526]	485 490 495
[1527]	Thr Ala Gln Arg Cys Tyr Asn Gln Ser Lys Gly Gly Ser His Thr Phe
[1528]	500 505 510
[1529]	Gln Arg Met Phe Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Leu Leu Arg
[1530]	515 520 525
[1531]	Gly Tyr Gln Gln Phe Ala Tyr Asp Gly Arg Asp Tyr Ile Ala Leu Asn
[1532]	530 535 540
[1533]	Glu Asp Leu Lys Thr Trp Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Leu Ile Thr
[1534]	545 550 555 560
[1535]	Arg Arg Lys Trp Glu Gln Ala Gly Asp Ala Glu Tyr Tyr Arg Ala Tyr
[1536]	565 570 575
[1537]	Leu Glu Gly Glu Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Leu Gly
[1538]	580 585 590
[1539]	Asn Glu Thr Leu Leu Arg Thr Asp Ser Pro Lys Ala His Val Thr Tyr
[1540]	595 600 605
[1541]	His Pro Arg Ser Gln Val Asp Val Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly
[1542]	610 615 620
[1543]	Phe Tyr Pro Ala Asp Ile Thr Leu Thr Trp Gln Leu Asn Gly Glu Asp
[1544]	625 630 635 640
[1545]	Leu Thr Gln Asp Met Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly
[1546]	645 650 655
[1547]	Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Leu Gly Lys Glu Gln
[1548]	660 665 670
[1549]	Asn Tyr Thr Cys His Val His His Lys Gly Leu Pro Glu Pro Leu Thr
[1550]	675 680 685
[1551]	Leu Arg Trp Ala Ala Ala Gly Gly Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro
[1552]	690 695 700
[1553]	Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser
[1554]	705 710 715 720
[1555]	Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu
[1556]	725 730 735
[1557]	Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro
[1558]	740 745 750
[1559]	Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala

[1560]	755	760	765
[1561]	Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val		
[1562]	770	775	780
[1563]	Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe		
[1564]	785	790	795
[1565]	Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr		
[1566]	805	810	815
[1567]	Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu		
[1568]	820	825	830
[1569]	Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys		
[1570]	835	840	845
[1571]	Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn		
[1572]	850	855	860
[1573]	Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp		
[1574]	865	870	875
[1575]	Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys		
[1576]	885	890	895
[1577]	Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly		
[1578]	900	905	910
[1579]	Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys		
[1580]	915	920	925
[1581]	Gly Gly Ser His His His His His His His His		
[1582]	930	935	
[1583]	<210> 76		
[1584]	<211> 225		
[1585]	<212> PRT		
[1586]	<213> 人工序列		
[1587]	<220>		
[1588]	<223> 合成多肽		
[1589]	<400> 76		
[1590]	Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser		
[1591]	1	5	10
[1592]	Gly Leu Glu Ala Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser		
[1593]	20	25	30
[1594]	Pro Gly Ser Ala Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser		
[1595]	35	40	45
[1596]	Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Cys Gly Met Phe Ala		
[1597]	50	55	60
[1598]	Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp		

[1599]	65	70	75	80
[1600]	Tyr Ser Asp Pro Gly Cys Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser			
[1601]	85	90	95	
[1602]	Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr			
[1603]	100	105	110	
[1604]	Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly			
[1605]	115	120	125	
[1606]	Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala			
[1607]	130	135	140	
[1608]	Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser			
[1609]	145	150	155	160
[1610]	Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His			
[1611]	165	170	175	
[1612]	Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg			
[1613]	180	185	190	
[1614]	Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu			
[1615]	195	200	205	
[1616]	Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Cys Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser			
[1617]	210	215	220	
[1618]	Glu			
[1619]	225			
[1620]	<210> 77			
[1621]	<211> 1285			
[1622]	<212> PRT			
[1623]	<213> 人工序列			
[1624]	<220>			
[1625]	<223> 合成多肽			
[1626]	<400> 77			
[1627]	Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser			
[1628]	1	5	10	15
[1629]	Gly Leu Glu Ala Val Tyr Leu Lys Thr Asn Val Phe Leu Gly Cys Gly			
[1630]	20	25	30	
[1631]	Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met Ile Gln Lys			
[1632]	35	40	45	
[1633]	Thr Pro Gln Ile Gln Val Tyr Ser Arg His Pro Pro Glu Asn Gly Lys			
[1634]	50	55	60	
[1635]	Pro Asn Ile Leu Asn Cys Tyr Val Thr Gln Phe His Pro Pro His Ile			
[1636]	65	70	75	80
[1637]	Glu Ile Gln Met Leu Lys Asn Gly Lys Lys Ile Pro Lys Val Glu Met			

[1638]					85					90					95		
[1639]	Ser	Asp	Met	Ser	Phe	Ser	Lys	Asp	Trp	Ser	Phe	Tyr	Ile	Leu	Ala	His	
[1640]					100					105					110		
[1641]	Thr	Glu	Phe	Thr	Pro	Thr	Glu	Thr	Asp	Thr	Tyr	Ala	Cys	Arg	Val	Lys	
[1642]					115					120					125		
[1643]	His	Ala	Ser	Met	Ala	Glu	Pro	Lys	Thr	Val	Tyr	Trp	Asp	Arg	Asp	Met	
[1644]					130					135					140		
[1645]	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	
[1646]					145					150					155		160
[1647]	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Pro	Ala	Gly	Leu	Leu	Asp	
[1648]					165					170					175		
[1649]	Leu	Arg	Gln	Gly	Met	Phe	Ala	Gln	Leu	Val	Ala	Gln	Asn	Val	Leu	Leu	
[1650]					180					185					190		
[1651]	Ile	Asp	Gly	Pro	Leu	Ser	Trp	Tyr	Ser	Asp	Pro	Gly	Leu	Ala	Gly	Val	
[1652]					195					200					205		
[1653]	Ser	Leu	Thr	Gly	Gly	Leu	Ser	Tyr	Lys	Glu	Asp	Thr	Lys	Glu	Leu	Val	
[1654]					210					215					220		
[1655]	Val	Ala	Lys	Ala	Gly	Val	Tyr	Tyr	Val	Phe	Phe	Gln	Leu	Glu	Leu	Arg	
[1656]					225					230					235		240
[1657]	Arg	Val	Val	Ala	Gly	Glu	Gly	Ser	Gly	Ser	Val	Ser	Leu	Ala	Leu	His	
[1658]					245					250					255		
[1659]	Leu	Gln	Pro	Leu	Arg	Ser	Ala	Ala	Gly	Ala	Ala	Ala	Leu	Ala	Leu	Thr	
[1660]					260					265					270		
[1661]	Val	Asp	Leu	Pro	Pro	Ala	Ser	Ser	Glu	Ala	Arg	Asn	Ser	Ala	Phe	Gly	
[1662]					275					280					285		
[1663]	Phe	Gln	Gly	Arg	Leu	Leu	His	Leu	Ser	Ala	Gly	Gln	Arg	Leu	Gly	Val	
[1664]					290					295					300		
[1665]	His	Leu	His	Thr	Glu	Ala	Arg	Ala	Arg	His	Ala	Trp	Gln	Leu	Thr	Gln	
[1666]					305					310					315		320
[1667]	Gly	Ala	Thr	Val	Leu	Gly	Leu	Phe	Arg	Val	Thr	Pro	Glu	Ile	Pro	Ala	
[1668]					325					330					335		
[1669]	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	
[1670]					340					345					350		
[1671]	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Pro	Ala	Gly	Leu	Leu	Asp	
[1672]					355					360					365		
[1673]	Leu	Arg	Gln	Gly	Met	Phe	Ala	Gln	Leu	Val	Ala	Gln	Asn	Val	Leu	Leu	
[1674]					370					375					380		
[1675]	Ile	Asp	Gly	Pro	Leu	Ser	Trp	Tyr	Ser	Asp	Pro	Gly	Leu	Ala	Gly	Val	
[1676]					385					390					395		400

[1677]	Ser	Leu	Thr	Gly	Gly	Leu	Ser	Tyr	Lys	Glu	Asp	Thr	Lys	Glu	Leu	Val
[1678]					405					410					415	
[1679]	Val	Ala	Lys	Ala	Gly	Val	Tyr	Tyr	Val	Phe	Phe	Gln	Leu	Glu	Leu	Arg
[1680]					420					425					430	
[1681]	Arg	Val	Val	Ala	Gly	Glu	Gly	Ser	Gly	Ser	Val	Ser	Leu	Ala	Leu	His
[1682]					435					440					445	
[1683]	Leu	Gln	Pro	Leu	Arg	Ser	Ala	Ala	Gly	Ala	Ala	Ala	Leu	Ala	Leu	Thr
[1684]					450					455					460	
[1685]	Val	Asp	Leu	Pro	Pro	Ala	Ser	Ser	Glu	Ala	Arg	Asn	Ser	Ala	Phe	Gly
[1686]	465									470					475	480
[1687]	Phe	Gln	Gly	Arg	Leu	Leu	His	Leu	Ser	Ala	Gly	Gln	Arg	Leu	Gly	Val
[1688]					485						490					495
[1689]	His	Leu	His	Thr	Glu	Ala	Arg	Ala	Arg	His	Ala	Trp	Gln	Leu	Thr	Gln
[1690]					500					505					510	
[1691]	Gly	Ala	Thr	Val	Leu	Gly	Leu	Phe	Arg	Val	Thr	Pro	Glu	Ile	Pro	Ala
[1692]					515					520					525	
[1693]	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly
[1694]					530					535					540	
[1695]	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Pro	Ala	Gly	Leu	Leu	Asp
[1696]	545									550					555	560
[1697]	Leu	Arg	Gln	Gly	Met	Phe	Ala	Gln	Leu	Val	Ala	Gln	Asn	Val	Leu	Leu
[1698]					565					570					575	
[1699]	Ile	Asp	Gly	Pro	Leu	Ser	Trp	Tyr	Ser	Asp	Pro	Gly	Leu	Ala	Gly	Val
[1700]					580					585					590	
[1701]	Ser	Leu	Thr	Gly	Gly	Leu	Ser	Tyr	Lys	Glu	Asp	Thr	Lys	Glu	Leu	Val
[1702]					595					600					605	
[1703]	Val	Ala	Lys	Ala	Gly	Val	Tyr	Tyr	Val	Phe	Phe	Gln	Leu	Glu	Leu	Arg
[1704]					610					615					620	
[1705]	Arg	Val	Val	Ala	Gly	Glu	Gly	Ser	Gly	Ser	Val	Ser	Leu	Ala	Leu	His
[1706]	625									630					635	640
[1707]	Leu	Gln	Pro	Leu	Arg	Ser	Ala	Ala	Gly	Ala	Ala	Ala	Leu	Ala	Leu	Thr
[1708]					645					650					655	
[1709]	Val	Asp	Leu	Pro	Pro	Ala	Ser	Ser	Glu	Ala	Arg	Asn	Ser	Ala	Phe	Gly
[1710]					660					665					670	
[1711]	Phe	Gln	Gly	Arg	Leu	Leu	His	Leu	Ser	Ala	Gly	Gln	Arg	Leu	Gly	Val
[1712]					675					680					685	
[1713]	His	Leu	His	Thr	Glu	Ala	Arg	Ala	Arg	His	Ala	Trp	Gln	Leu	Thr	Gln
[1714]					690					695					700	
[1715]	Gly	Ala	Thr	Val	Leu	Gly	Leu	Phe	Arg	Val	Thr	Pro	Glu	Ile	Pro	Ala

[1716]	705	710	715	720
[1717]	Ser Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp			
[1718]		725	730	735
[1719]	Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val			
[1720]		740	745	750
[1721]	Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser Gly Leu Glu Ala Gly Pro His Ser Leu			
[1722]		755	760	765
[1723]	Arg Tyr Phe Val Thr Ala Val Ser Arg Pro Gly Leu Gly Glu Pro Arg			
[1724]		770	775	780
[1725]	Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp			
[1726]	785	790	795	800
[1727]	Ser Asp Ala Asp Asn Pro Arg Phe Glu Pro Arg Ala Pro Trp Met Glu			
[1728]		805	810	815
[1729]	Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Glu Glu Gln Thr Gln Arg Ala Lys Ser			
[1730]		820	825	830
[1731]	Asp Glu Gln Trp Phe Arg Val Ser Leu Arg Thr Ala Gln Arg Cys Tyr			
[1732]		835	840	845
[1733]	Asn Gln Ser Lys Gly Gly Ser His Thr Phe Gln Arg Met Phe Gly Cys			
[1734]		850	855	860
[1735]	Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Leu Leu Arg Gly Tyr Gln Gln Phe Ala			
[1736]	865	870	875	880
[1737]	Tyr Asp Gly Arg Asp Tyr Ile Ala Leu Asn Glu Asp Leu Lys Thr Trp			
[1738]		885	890	895
[1739]	Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Leu Ile Thr Arg Arg Lys Trp Glu Gln			
[1740]		900	905	910
[1741]	Ala Gly Asp Ala Glu Tyr Tyr Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Glu Cys Val			
[1742]		915	920	925
[1743]	Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Leu Gly Asn Glu Thr Leu Leu Arg			
[1744]		930	935	940
[1745]	Thr Asp Ser Pro Lys Ala His Val Thr Tyr His Pro Arg Ser Gln Val			
[1746]	945	950	955	960
[1747]	Asp Val Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Asp Ile			
[1748]		965	970	975
[1749]	Thr Leu Thr Trp Gln Leu Asn Gly Glu Asp Leu Thr Gln Asp Met Glu			
[1750]		980	985	990
[1751]	Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala			
[1752]		995	1000	1005
[1753]	Ala Val Val Val Pro Leu Gly Lys Glu Gln Asn Tyr Thr Cys His			
[1754]		1010	1015	1020

[1755]	Val His His Lys Gly Leu Pro Glu Pro Leu Thr Leu Arg Trp Ala
[1756]	1025 1030 1035
[1757]	Ala Ala Gly Gly Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro
[1758]	1040 1045 1050
[1759]	Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
[1760]	1055 1060 1065
[1761]	Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser
[1762]	1070 1075 1080
[1763]	Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro
[1764]	1085 1090 1095
[1765]	Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr
[1766]	1100 1105 1110
[1767]	Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg
[1768]	1115 1120 1125
[1769]	Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly
[1770]	1130 1135 1140
[1771]	Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro
[1772]	1145 1150 1155
[1773]	Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro
[1774]	1160 1165 1170
[1775]	Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys
[1776]	1175 1180 1185
[1777]	Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp
[1778]	1190 1195 1200
[1779]	Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr
[1780]	1205 1210 1215
[1781]	Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met
[1782]	1220 1225 1230
[1783]	Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn
[1784]	1235 1240 1245
[1785]	Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His
[1786]	1250 1255 1260
[1787]	Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys Gly Gly Ser His
[1788]	1265 1270 1275
[1789]	His His His His His His His
[1790]	1280 1285
[1791]	<210> 78
[1792]	<211> 119
[1793]	<212> PRT

[1794]	<213> 智人															
[1795]	<400> 78															
[1796]	Met	Ser	Arg	Ser	Val	Ala	Leu	Ala	Val	Leu	Ala	Leu	Leu	Ser	Leu	Ser
[1797]	1				5					10					15	
[1798]	Gly	Leu	Glu	Ala	Ile	Gln	Arg	Thr	Pro	Lys	Ile	Gln	Val	Tyr	Ser	Arg
[1799]					20					25					30	
[1800]	His	Pro	Ala	Glu	Asn	Gly	Lys	Ser	Asn	Phe	Leu	Asn	Cys	Tyr	Val	Ser
[1801]					35					40					45	
[1802]	Gly	Phe	His	Pro	Ser	Asp	Ile	Glu	Val	Asp	Leu	Leu	Lys	Asn	Gly	Glu
[1803]					50					55					60	
[1804]	Arg	Ile	Glu	Lys	Val	Glu	His	Ser	Asp	Leu	Ser	Phe	Ser	Lys	Asp	Trp
[1805]	65					70					75					80
[1806]	Ser	Phe	Tyr	Leu	Leu	Tyr	Tyr	Thr	Glu	Phe	Thr	Pro	Thr	Glu	Lys	Asp
[1807]						85					90					95
[1808]	Glu	Tyr	Ala	Cys	Arg	Val	Asn	His	Val	Thr	Leu	Ser	Gln	Pro	Lys	Ile
[1809]						100					105					110
[1810]	Val	Lys	Trp	Asp	Arg	Asp	Met									
[1811]																115
[1812]	<210> 79															
[1813]	<211> 119															
[1814]	<212> PRT															
[1815]	<213> 黑猩猩															
[1816]	<400> 79															
[1817]	Met	Ser	Arg	Ser	Val	Ala	Leu	Ala	Val	Leu	Ala	Leu	Leu	Ser	Leu	Ser
[1818]	1				5					10					15	
[1819]	Gly	Leu	Glu	Ala	Ile	Gln	Arg	Thr	Pro	Lys	Ile	Gln	Val	Tyr	Ser	Arg
[1820]					20					25					30	
[1821]	His	Pro	Ala	Glu	Asn	Gly	Lys	Ser	Asn	Phe	Leu	Asn	Cys	Tyr	Val	Ser
[1822]					35					40					45	
[1823]	Gly	Phe	His	Pro	Ser	Asp	Ile	Glu	Val	Asp	Leu	Leu	Lys	Asn	Gly	Glu
[1824]					50					55					60	
[1825]	Arg	Ile	Glu	Lys	Val	Glu	His	Ser	Asp	Leu	Ser	Phe	Ser	Lys	Asp	Trp
[1826]	65					70					75					80
[1827]	Ser	Phe	Tyr	Leu	Leu	Tyr	Tyr	Thr	Glu	Phe	Thr	Pro	Thr	Glu	Lys	Asp
[1828]						85					90					95
[1829]	Glu	Tyr	Ala	Cys	Arg	Val	Asn	His	Val	Thr	Leu	Ser	Gln	Pro	Lys	Ile
[1830]						100					105					110
[1831]	Val	Lys	Trp	Asp	Arg	Asp	Met									
[1832]																115

[1833]	<210>	80															
[1834]	<211>	119															
[1835]	<212>	PRT															
[1836]	<213>	猕猴															
[1837]	<400>	80															
[1838]	Met	Ser	Arg	Ser	Val	Ala	Leu	Ala	Val	Leu	Ala	Leu	Leu	Ser	Leu	Ser	
[1839]	1				5					10					15		
[1840]	Gly	Leu	Glu	Ala	Ile	Gln	Arg	Thr	Pro	Lys	Ile	Gln	Val	Tyr	Ser	Arg	
[1841]				20					25					30			
[1842]	His	Pro	Pro	Glu	Asn	Gly	Lys	Pro	Asn	Phe	Leu	Asn	Cys	Tyr	Val	Ser	
[1843]				35					40				45				
[1844]	Gly	Phe	His	Pro	Ser	Asp	Ile	Glu	Val	Asp	Leu	Leu	Lys	Asn	Gly	Glu	
[1845]		50					55				60						
[1846]	Lys	Met	Gly	Lys	Val	Glu	His	Ser	Asp	Leu	Ser	Phe	Ser	Lys	Asp	Trp	
[1847]	65					70				75						80	
[1848]	Ser	Phe	Tyr	Leu	Leu	Tyr	Tyr	Thr	Glu	Phe	Thr	Pro	Asn	Glu	Lys	Asp	
[1849]				85					90					95			
[1850]	Glu	Tyr	Ala	Cys	Arg	Val	Asn	His	Val	Thr	Leu	Ser	Gly	Pro	Arg	Thr	
[1851]				100					105					110			
[1852]	Val	Lys	Trp	Asp	Arg	Asp	Met										
[1853]				115													
[1854]	<210>	81															
[1855]	<211>	118															
[1856]	<212>	PRT															
[1857]	<213>	牛															
[1858]	<400>	81															
[1859]	Met	Ala	Arg	Phe	Val	Ala	Leu	Val	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Ser	Leu	Ser	
[1860]	1				5					10					15		
[1861]	Gly	Leu	Asp	Ala	Ile	Gln	Arg	Pro	Pro	Lys	Ile	Gln	Val	Tyr	Ser	Arg	
[1862]				20					25					30			
[1863]	His	Pro	Pro	Glu	Asp	Gly	Lys	Pro	Asn	Tyr	Leu	Asn	Cys	Tyr	Val	Tyr	
[1864]				35					40				45				
[1865]	Gly	Phe	His	Pro	Pro	Gln	Ile	Glu	Ile	Asp	Leu	Leu	Lys	Asn	Gly	Glu	
[1866]		50					55				60						
[1867]	Lys	Ile	Lys	Ser	Glu	Gln	Ser	Asp	Leu	Ser	Phe	Ser	Lys	Asp	Trp	Ser	
[1868]	65					70				75						80	
[1869]	Phe	Tyr	Leu	Leu	Ser	His	Ala	Glu	Phe	Thr	Pro	Asn	Ser	Lys	Asp	Gln	
[1870]				85					90					95			
[1871]	Tyr	Ser	Cys	Arg	Val	Lys	His	Val	Thr	Leu	Glu	Gln	Pro	Arg	Ile	Val	

[1872]		100		105		110
[1873]	Lys Trp Asp Arg Asp Leu					
[1874]		115				
[1875]	<210> 82					
[1876]	<211> 119					
[1877]	<212> PRT					
[1878]	<213> 小家鼠					
[1879]	<400> 82					
[1880]	Met Ala Arg Ser Val Thr Leu Val Phe Leu Val Leu Val Ser Leu Thr					
[1881]	1	5		10		15
[1882]	Gly Leu Tyr Ala Ile Gln Lys Thr Pro Gln Ile Gln Val Tyr Ser Arg					
[1883]		20		25		30
[1884]	His Pro Pro Glu Asn Gly Lys Pro Asn Ile Leu Asn Cys Tyr Val Thr					
[1885]		35		40		45
[1886]	Gln Phe His Pro Pro His Ile Glu Ile Gln Met Leu Lys Asn Gly Lys					
[1887]		50		55		60
[1888]	Lys Ile Pro Lys Val Glu Met Ser Asp Met Ser Phe Ser Lys Asp Trp					
[1889]	65	70		75		80
[1890]	Ser Phe Tyr Ile Leu Ala His Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Thr Asp					
[1891]		85		90		95
[1892]	Thr Tyr Ala Cys Arg Val Lys His Ala Ser Met Ala Glu Pro Lys Thr					
[1893]		100		105		110
[1894]	Val Tyr Trp Asp Arg Asp Met					
[1895]		115				
[1896]	<210> 83					
[1897]	<211> 227					
[1898]	<212> PRT					
[1899]	<213> 智人					
[1900]	<400> 83					
[1901]	Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly					
[1902]	1	5		10		15
[1903]	Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met					
[1904]		20		25		30
[1905]	Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His					
[1906]		35		40		45
[1907]	Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val					
[1908]		50		55		60
[1909]	His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr					
[1910]	65	70		75		80

[1911]	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
[1912]					85					90					95	
[1913]	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile
[1914]					100					105					110	
[1915]	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val
[1916]					115					120					125	
[1917]	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser
[1918]					130					135				140		
[1919]	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu
[1920]	145					150					155					160
[1921]	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro
[1922]					165					170						175
[1923]	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val
[1924]					180					185					190	
[1925]	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
[1926]					195					200				205		
[1927]	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
[1928]					210					215				220		
[1929]	Pro	Gly	Lys													
[1930]	225															
[1931]	<210>	84														
[1932]	<211>	325														
[1933]	<212>	PRT														
[1934]	<213>	智人														
[1935]	<400>	84														
[1936]	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser
[1937]	1				5					10					15	
[1938]	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe
[1939]					20					25				30		
[1940]	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly
[1941]					35					40				45		
[1942]	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu
[1943]					50					55				60		
[1944]	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr
[1945]	65					70					75					80
[1946]	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr
[1947]					85					90					95	
[1948]	Val	Glu	Arg	Lys	Cys	Cys	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro
[1949]					100					105					110	

[1950]	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr
[1951]			115					120					125			
[1952]	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val
[1953]		130						135					140			
[1954]	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val
[1955]	145					150					155					160
[1956]	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser
[1957]					165					170					175	
[1958]	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu
[1959]				180					185					190		
[1960]	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala
[1961]			195					200					205			
[1962]	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro
[1963]		210						215				220				
[1964]	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln
[1965]	225					230					235					240
[1966]	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala
[1967]					245					250					255	
[1968]	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr
[1969]				260					265					270		
[1970]	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu
[1971]			275					280					285			
[1972]	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser
[1973]		290						295				300				
[1974]	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser
[1975]	305					310					315					320
[1976]	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys											
[1977]					325											
[1978]	<210>	85														
[1979]	<211>	246														
[1980]	<212>	PRT														
[1981]	<213>	智人														
[1982]	<400>	85														
[1983]	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Leu	Lys	Thr
[1984]	1				5					10					15	
[1985]	Pro	Leu	Gly	Asp	Thr	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu
[1986]				20					25					30		
[1987]	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp
[1988]			35					40					45			

[1989]	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp
[1990]	50						55					60				
[1991]	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly
[1992]	65					70					75					80
[1993]	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn
[1994]					85					90					95	
[1995]	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp
[1996]					100					105					110	
[1997]	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro
[1998]					115					120					125	
[1999]	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu
[2000]					130					135					140	
[2001]	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn
[2002]	145					150					155					160
[2003]	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile
[2004]					165						170					175
[2005]	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr
[2006]					180						185				190	
[2007]	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys
[2008]					195					200					205	
[2009]	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys
[2010]					210					215					220	
[2011]	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu
[2012]	225					230					235					240
[2013]	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys										
[2014]					245											
[2015]	<210>	86														
[2016]	<211>	383														
[2017]	<212>	PRT														
[2018]	<213>	智人														
[2019]	<400>	86														
[2020]	Pro	Thr	Lys	Ala	Pro	Asp	Val	Phe	Pro	Ile	Ile	Ser	Gly	Cys	Arg	His
[2021]	1				5					10					15	
[2022]	Pro	Lys	Asp	Asn	Ser	Pro	Val	Val	Leu	Ala	Cys	Leu	Ile	Thr	Gly	Tyr
[2023]					20					25					30	
[2024]	His	Pro	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Thr	Trp	Tyr	Met	Gly	Thr	Gln	Ser	Gln
[2025]					35					40				45		
[2026]	Pro	Gln	Arg	Thr	Phe	Pro	Glu	Ile	Gln	Arg	Arg	Asp	Ser	Tyr	Tyr	Met
[2027]					50					55				60		

[2028]	Thr	Ser	Ser	Gln	Leu	Ser	Thr	Pro	Leu	Gln	Gln	Trp	Arg	Gln	Gly	Glu
[2029]	65					70				75						80
[2030]	Tyr	Lys	Cys	Val	Val	Gln	His	Thr	Ala	Ser	Lys	Ser	Lys	Lys	Glu	Ile
[2031]					85					90					95	
[2032]	Phe	Arg	Trp	Pro	Glu	Ser	Pro	Lys	Ala	Gln	Ala	Ser	Ser	Val	Pro	Thr
[2033]				100					105					110		
[2034]	Ala	Gln	Pro	Gln	Ala	Glu	Gly	Ser	Leu	Ala	Lys	Ala	Thr	Thr	Ala	Pro
[2035]			115					120					125			
[2036]	Ala	Thr	Thr	Arg	Asn	Thr	Gly	Arg	Gly	Gly	Glu	Glu	Lys	Lys	Lys	Glu
[2037]		130					135					140				
[2038]	Lys	Glu	Lys	Glu	Glu	Gln	Glu	Glu	Arg	Glu	Thr	Lys	Thr	Pro	Glu	Cys
[2039]	145					150				155						160
[2040]	Pro	Ser	His	Thr	Gln	Pro	Leu	Gly	Val	Tyr	Leu	Leu	Thr	Pro	Ala	Val
[2041]					165					170						175
[2042]	Gln	Asp	Leu	Trp	Leu	Arg	Asp	Lys	Ala	Thr	Phe	Thr	Cys	Phe	Val	Val
[2043]				180					185					190		
[2044]	Gly	Ser	Asp	Leu	Lys	Asp	Ala	His	Leu	Thr	Trp	Glu	Val	Ala	Gly	Lys
[2045]			195					200					205			
[2046]	Val	Pro	Thr	Gly	Gly	Val	Glu	Glu	Gly	Leu	Leu	Glu	Arg	His	Ser	Asn
[2047]		210					215					220				
[2048]	Gly	Ser	Gln	Ser	Gln	His	Ser	Arg	Leu	Thr	Leu	Pro	Arg	Ser	Leu	Trp
[2049]	225					230				235						240
[2050]	Asn	Ala	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Cys	Thr	Leu	Asn	His	Pro	Ser	Leu	Pro
[2051]				245					250					255		
[2052]	Pro	Gln	Arg	Leu	Met	Ala	Leu	Arg	Glu	Pro	Ala	Ala	Gln	Ala	Pro	Val
[2053]			260						265				270			
[2054]	Lys	Leu	Ser	Leu	Asn	Leu	Leu	Ala	Ser	Ser	Asp	Pro	Pro	Glu	Ala	Ala
[2055]			275					280				285				
[2056]	Ser	Trp	Leu	Leu	Cys	Glu	Val	Ser	Gly	Phe	Ser	Pro	Pro	Asn	Ile	Leu
[2057]		290					295				300					
[2058]	Leu	Met	Trp	Leu	Glu	Asp	Gln	Arg	Glu	Val	Asn	Thr	Ser	Gly	Phe	Ala
[2059]	305					310				315						320
[2060]	Pro	Ala	Arg	Pro	Pro	Pro	Gln	Pro	Arg	Ser	Thr	Thr	Phe	Trp	Ala	Trp
[2061]				325					330					335		
[2062]	Ser	Val	Leu	Arg	Val	Pro	Ala	Pro	Pro	Ser	Pro	Gln	Pro	Ala	Thr	Tyr
[2063]			340						345				350			
[2064]	Thr	Cys	Val	Val	Ser	His	Glu	Asp	Ser	Arg	Thr	Leu	Leu	Asn	Ala	Ser
[2065]			355					360				365				
[2066]	Arg	Ser	Leu	Glu	Val	Ser	Tyr	Val	Thr	Asp	His	Gly	Pro	Met	Lys	

[2067]	370	375	380
[2068]	<210> 87		
[2069]	<211> 276		
[2070]	<212> PRT		
[2071]	<213> 智人		
[2072]	<400> 87		
[2073]	Val Thr Ser Thr Leu Thr Ile Lys Glx Ser Asp Trp Leu Gly Glu Ser		
[2074]	1 5 10 15		
[2075]	Met Phe Thr Cys Arg Val Asp His Arg Gly Leu Thr Phe Gln Gln Asn		
[2076]	20 25 30		
[2077]	Ala Ser Ser Met Cys Val Pro Asp Gln Asp Thr Ala Ile Arg Val Phe		
[2078]	35 40 45		
[2079]	Ala Ile Pro Pro Ser Phe Ala Ser Ile Phe Leu Thr Lys Ser Thr Lys		
[2080]	50 55 60		
[2081]	Leu Thr Cys Leu Val Thr Asp Leu Thr Thr Tyr Asx Ser Val Thr Ile		
[2082]	65 70 75 80		
[2083]	Ser Trp Thr Arg Glu Glu Asn Gly Ala Val Lys Thr His Thr Asn Ile		
[2084]	85 90 95		
[2085]	Ser Glu Ser His Pro Asn Ala Thr Phe Ser Ala Val Gly Glu Ala Ser		
[2086]	100 105 110		
[2087]	Ile Cys Glu Asp Asx Asp Trp Ser Gly Glu Arg Phe Thr Cys Thr Val		
[2088]	115 120 125		
[2089]	Thr His Thr Asp Leu Pro Ser Pro Leu Lys Gln Thr Ile Ser Arg Pro		
[2090]	130 135 140		
[2091]	Lys Gly Val Ala Leu His Arg Pro Asx Val Tyr Leu Leu Pro Pro Ala		
[2092]	145 150 155 160		
[2093]	Arg Glx Glx Leu Asn Leu Arg Glu Ser Ala Thr Ile Thr Cys Leu Val		
[2094]	165 170 175		
[2095]	Thr Gly Phe Ser Pro Ala Asp Val Phe Val Glu Trp Met Gln Arg Gly		
[2096]	180 185 190		
[2097]	Glu Pro Leu Ser Pro Gln Lys Tyr Val Thr Ser Ala Pro Met Pro Glu		
[2098]	195 200 205		
[2099]	Pro Gln Ala Pro Gly Arg Tyr Phe Ala His Ser Ile Leu Thr Val Ser		
[2100]	210 215 220		
[2101]	Glu Glu Glu Trp Asn Thr Gly Gly Thr Tyr Thr Cys Val Val Ala His		
[2102]	225 230 235 240		
[2103]	Glu Ala Leu Pro Asn Arg Val Thr Glu Arg Thr Val Asp Lys Ser Thr		
[2104]	245 250 255		
[2105]	Gly Lys Pro Thr Leu Tyr Asn Val Ser Leu Val Met Ser Asp Thr Ala		

[2106]		260		265		270
[2107]	Gly Thr Cys Tyr					
[2108]		275				
[2109]	<210> 88					
[2110]	<211> 353					
[2111]	<212> PRT					
[2112]	<213> 智人					
[2113]	<400> 88					
[2114]	Ala Ser Pro Thr Ser Pro Lys Val Phe Pro Leu Ser Leu Cys Ser Thr					
[2115]	1	5		10		15
[2116]	Gln Pro Asp Gly Asn Val Val Ile Ala Cys Leu Val Gln Gly Phe Phe					
[2117]		20		25		30
[2118]	Pro Gln Glu Pro Leu Ser Val Thr Trp Ser Glu Ser Gly Gln Gly Val					
[2119]		35		40		45
[2120]	Thr Ala Arg Asn Phe Pro Pro Ser Gln Asp Ala Ser Gly Asp Leu Tyr					
[2121]		50		55		60
[2122]	Thr Thr Ser Ser Gln Leu Thr Leu Pro Ala Thr Gln Cys Leu Ala Gly					
[2123]	65		70		75	80
[2124]	Lys Ser Val Thr Cys His Val Lys His Tyr Thr Asn Pro Ser Gln Asp					
[2125]		85		90		95
[2126]	Val Thr Val Pro Cys Pro Val Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro					
[2127]		100		105		110
[2128]	Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro Ser Cys Cys His Pro Arg Leu Ser					
[2129]		115		120		125
[2130]	Leu His Arg Pro Ala Leu Glu Asp Leu Leu Leu Gly Ser Glu Ala Asn					
[2131]		130		135		140
[2132]	Leu Thr Cys Thr Leu Thr Gly Leu Arg Asp Ala Ser Gly Val Thr Phe					
[2133]	145		150		155	160
[2134]	Thr Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Ser Ala Val Gln Gly Pro Pro Glu					
[2135]		165		170		175
[2136]	Arg Asp Leu Cys Gly Cys Tyr Ser Val Ser Ser Val Leu Pro Gly Cys					
[2137]		180		185		190
[2138]	Ala Glu Pro Trp Asn His Gly Lys Thr Phe Thr Cys Thr Ala Ala Tyr					
[2139]		195		200		205
[2140]	Pro Glu Ser Lys Thr Pro Leu Thr Ala Thr Leu Ser Lys Ser Gly Asn					
[2141]		210		215		220
[2142]	Thr Phe Arg Pro Glu Val His Leu Leu Pro Pro Pro Ser Glu Glu Leu					
[2143]	225		230		235	240
[2144]	Ala Leu Asn Glu Leu Val Thr Leu Thr Cys Leu Ala Arg Gly Phe Ser					

[2145]		245		250		255
[2146]	Pro Lys Asp Val Leu Val Arg Trp Leu Gln Gly Ser Gln Glu Leu Pro					
[2147]		260		265		270
[2148]	Arg Glu Lys Tyr Leu Thr Trp Ala Ser Arg Gln Glu Pro Ser Gln Gly					
[2149]		275		280		285
[2150]	Thr Thr Thr Phe Ala Val Thr Ser Ile Leu Arg Val Ala Ala Glu Asp					
[2151]		290		295		300
[2152]	Trp Lys Lys Gly Asp Thr Phe Ser Cys Met Val Gly His Glu Ala Leu					
[2153]	305		310		315	320
[2154]	Pro Leu Ala Phe Thr Gln Lys Thr Ile Asp Arg Leu Ala Gly Lys Pro					
[2155]		325		330		335
[2156]	Thr His Val Asn Val Ser Val Val Met Ala Glu Val Asp Gly Thr Cys					
[2157]		340		345		350
[2158]	Tyr					
[2159]	<210> 89					
[2160]	<211> 222					
[2161]	<212> PRT					
[2162]	<213> 智人					
[2163]	<400> 89					
[2164]	Ala Asp Pro Cys Asp Ser Asn Pro Arg Gly Val Ser Ala Tyr Leu Ser					
[2165]	1	5		10		15
[2166]	Arg Pro Ser Pro Phe Asp Leu Phe Ile Arg Lys Ser Pro Thr Ile Thr					
[2167]		20		25		30
[2168]	Cys Leu Val Val Asp Leu Ala Pro Ser Lys Gly Thr Val Asn Leu Thr					
[2169]		35		40		45
[2170]	Trp Ser Arg Ala Ser Gly Lys Pro Val Asn His Ser Thr Arg Lys Glu					
[2171]	50		55		60	
[2172]	Glu Lys Gln Arg Asn Gly Thr Leu Thr Val Thr Ser Thr Leu Pro Val					
[2173]	65		70		75	80
[2174]	Gly Thr Arg Asp Trp Ile Glu Gly Glu Thr Tyr Gln Cys Arg Val Thr					
[2175]		85		90		95
[2176]	His Pro His Leu Pro Arg Ala Leu Met Arg Ser Thr Thr Lys Thr Ser					
[2177]		100		105		110
[2178]	Gly Pro Arg Ala Ala Pro Glu Val Tyr Ala Phe Ala Thr Pro Glu Trp					
[2179]		115		120		125
[2180]	Pro Gly Ser Arg Asp Lys Arg Thr Leu Ala Cys Leu Ile Gln Asn Phe					
[2181]	130		135		140	
[2182]	Met Pro Glu Asp Ile Ser Val Gln Trp Leu His Asn Glu Val Gln Leu					
[2183]	145		150		155	160

[2184]	Pro	Asp	Ala	Arg	His	Ser	Thr	Thr	Gln	Pro	Arg	Lys	Thr	Lys	Gly	Ser
[2185]					165				170						175	
[2186]	Gly	Phe	Phe	Val	Phe	Ser	Arg	Leu	Glu	Val	Thr	Arg	Ala	Glu	Trp	Glu
[2187]				180					185						190	
[2188]	Gln	Lys	Asp	Glu	Phe	Ile	Cys	Arg	Ala	Val	His	Glu	Ala	Ala	Ser	Pro
[2189]			195					200					205			
[2190]	Ser	Gln	Thr	Val	Gln	Arg	Ala	Val	Ser	Val	Asn	Pro	Gly	Lys		
[2191]		210					215					220				
[2192]	<210> 90															
[2193]	<211> 327															
[2194]	<212> PRT															
[2195]	<213> 智人															
[2196]	<400> 90															
[2197]	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg
[2198]	1				5				10						15	
[2199]	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
[2200]				20					25					30		
[2201]	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
[2202]				35					40					45		
[2203]	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
[2204]		50					55						60			
[2205]	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr
[2206]	65					70				75						80
[2207]	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
[2208]				85					90						95	
[2209]	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Ser	Cys	Pro	Ala	Pro
[2210]				100					105						110	
[2211]	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys
[2212]				115					120					125		
[2213]	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val
[2214]		130						135					140			
[2215]	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp
[2216]	145					150					155					160
[2217]	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe
[2218]				165						170						175
[2219]	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp
[2220]				180						185					190	
[2221]	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu
[2222]				195					200					205		

[2223]	Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
[2224]	210 215 220
[2225]	Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
[2226]	225 230 235 240
[2227]	Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
[2228]	245 250 255
[2229]	Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
[2230]	260 265 270
[2231]	Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
[2232]	275 280 285
[2233]	Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
[2234]	290 295 300
[2235]	Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
[2236]	305 310 315 320
[2237]	Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
[2238]	325
[2239]	<210> 91
[2240]	<211> 365
[2241]	<212> PRT
[2242]	<213> 智人
[2243]	<400> 91
[2244]	Met Ala Val Met Ala Pro Arg Thr Leu Leu Leu Leu Ser Gly Ala
[2245]	1 5 10 15
[2246]	Leu Ala Leu Thr Gln Thr Trp Ala Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe
[2247]	20 25 30
[2248]	Phe Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala
[2249]	35 40 45
[2250]	Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala
[2251]	50 55 60
[2252]	Ala Ser Gln Lys Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly
[2253]	65 70 75 80
[2254]	Pro Glu Tyr Trp Asp Gln Glu Thr Arg Asn Met Lys Ala His Ser Gln
[2255]	85 90 95
[2256]	Thr Asp Arg Ala Asn Leu Gly Thr Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser
[2257]	100 105 110
[2258]	Glu Asp Gly Ser His Thr Ile Gln Ile Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly
[2259]	115 120 125
[2260]	Pro Asp Gly Arg Phe Leu Arg Gly Tyr Arg Gln Asp Ala Tyr Asp Gly
[2261]	130 135 140

[2262]	Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Asn Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala		
[2263]	145	150	155 160
[2264]	Asp Met Ala Ala Gln Ile Thr Lys Arg Lys Trp Glu Ala Val His Ala		
[2265]		165	170 175
[2266]	Ala Glu Gln Arg Arg Val Tyr Leu Glu Gly Arg Cys Val Asp Gly Leu		
[2267]		180	185 190
[2268]	Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Pro		
[2269]		195	200 205
[2270]	Pro Lys Thr His Met Thr His His Pro Ile Ser Asp His Glu Ala Thr		
[2271]		210	215 220
[2272]	Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr		
[2273]	225	230	235 240
[2274]	Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu		
[2275]		245	250 255
[2276]	Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val		
[2277]		260	265 270
[2278]	Val Pro Ser Gly Glu Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu		
[2279]		275	280 285
[2280]	Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu Arg Trp Glu Leu Ser Ser Gln Pro		
[2281]		290	295 300
[2282]	Thr Ile Pro Ile Val Gly Ile Ile Ala Gly Leu Val Leu Leu Gly Ala		
[2283]	305	310	315 320
[2284]	Val Ile Thr Gly Ala Val Val Ala Ala Val Met Trp Arg Arg Lys Ser		
[2285]		325	330 335
[2286]	Ser Asp Arg Lys Gly Gly Ser Tyr Thr Gln Ala Ala Ser Ser Asp Ser		
[2287]		340	345 350
[2288]	Ala Gln Gly Ser Asp Val Ser Leu Thr Ala Cys Lys Val		
[2289]		355	360 365
[2290]	<210> 92		
[2291]	<211> 362		
[2292]	<212> PRT		
[2293]	<213> 智人		
[2294]	<400> 92		
[2295]	Met Leu Val Met Ala Pro Arg Thr Val Leu Leu Leu Leu Ser Ala Ala		
[2296]	1	5	10 15
[2297]	Leu Ala Leu Thr Glu Thr Trp Ala Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe		
[2298]		20	25 30
[2299]	Tyr Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ser		
[2300]		35	40 45

[2301]	Val	Gly	Tyr	Val	Asp	Asp	Thr	Gln	Phe	Val	Arg	Phe	Asp	Ser	Asp	Ala
[2302]	50						55					60				
[2303]	Ala	Ser	Pro	Arg	Glu	Glu	Pro	Arg	Ala	Pro	Trp	Ile	Glu	Gln	Glu	Gly
[2304]	65					70					75				80	
[2305]	Pro	Glu	Tyr	Trp	Asp	Arg	Asn	Thr	Gln	Ile	Tyr	Lys	Ala	Gln	Ala	Gln
[2306]					85					90					95	
[2307]	Thr	Asp	Arg	Glu	Ser	Leu	Arg	Asn	Leu	Arg	Gly	Tyr	Tyr	Asn	Gln	Ser
[2308]				100					105					110		
[2309]	Glu	Ala	Gly	Ser	His	Thr	Leu	Gln	Ser	Met	Tyr	Gly	Cys	Asp	Val	Gly
[2310]			115					120					125			
[2311]	Pro	Asp	Gly	Arg	Leu	Leu	Arg	Gly	His	Asp	Gln	Tyr	Ala	Tyr	Asp	Gly
[2312]		130					135					140				
[2313]	Lys	Asp	Tyr	Ile	Ala	Leu	Asn	Glu	Asp	Leu	Arg	Ser	Trp	Thr	Ala	Ala
[2314]	145					150					155					160
[2315]	Asp	Thr	Ala	Ala	Gln	Ile	Thr	Gln	Arg	Lys	Trp	Glu	Ala	Ala	Arg	Glu
[2316]					165					170					175	
[2317]	Ala	Glu	Gln	Arg	Arg	Ala	Tyr	Leu	Glu	Gly	Glu	Cys	Val	Glu	Trp	Leu
[2318]				180					185					190		
[2319]	Arg	Arg	Tyr	Leu	Glu	Asn	Gly	Lys	Asp	Lys	Leu	Glu	Arg	Ala	Asp	Pro
[2320]			195					200					205			
[2321]	Pro	Lys	Thr	His	Val	Thr	His	His	Pro	Ile	Ser	Asp	His	Glu	Ala	Thr
[2322]		210					215					220				
[2323]	Leu	Arg	Cys	Trp	Ala	Leu	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ala	Glu	Ile	Thr	Leu	Thr
[2324]	225					230					235					240
[2325]	Trp	Gln	Arg	Asp	Gly	Glu	Asp	Gln	Thr	Gln	Asp	Thr	Glu	Leu	Val	Glu
[2326]					245					250					255	
[2327]	Thr	Arg	Pro	Ala	Gly	Asp	Arg	Thr	Phe	Gln	Lys	Trp	Ala	Ala	Val	Val
[2328]				260					265					270		
[2329]	Val	Pro	Ser	Gly	Glu	Glu	Gln	Arg	Tyr	Thr	Cys	His	Val	Gln	His	Glu
[2330]			275					280					285			
[2331]	Gly	Leu	Pro	Lys	Pro	Leu	Thr	Leu	Arg	Trp	Glu	Pro	Ser	Ser	Gln	Ser
[2332]		290					295					300				
[2333]	Thr	Val	Pro	Ile	Val	Gly	Ile	Val	Ala	Gly	Leu	Ala	Val	Leu	Ala	Val
[2334]	305					310					315					320
[2335]	Val	Val	Ile	Gly	Ala	Val	Val	Ala	Ala	Val	Met	Cys	Arg	Arg	Lys	Ser
[2336]					325					330					335	
[2337]	Ser	Gly	Gly	Lys	Gly	Gly	Ser	Tyr	Ser	Gln	Ala	Ala	Cys	Ser	Asp	Ser
[2338]				340					345				350			
[2339]	Ala	Gln	Gly	Ser	Asp	Val	Ser	Leu	Thr	Ala						

[2340]	355	360
[2341]	<210> 93	
[2342]	<211> 366	
[2343]	<212> PRT	
[2344]	<213> 智人	
[2345]	<400> 93	
[2346]	Met Arg Val Met Ala Pro Arg Ala Leu Leu Leu Leu Leu Ser Gly Gly	
[2347]	1 5 10 15	
[2348]	Leu Ala Leu Thr Glu Thr Trp Ala Cys Ser His Ser Met Arg Tyr Phe	
[2349]	20 25 30	
[2350]	Asp Thr Ala Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ser	
[2351]	35 40 45	
[2352]	Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala	
[2353]	50 55 60	
[2354]	Ala Ser Pro Arg Gly Glu Pro Arg Ala Pro Trp Val Glu Gln Glu Gly	
[2355]	65 70 75 80	
[2356]	Pro Glu Tyr Trp Asp Arg Glu Thr Gln Asn Tyr Lys Arg Gln Ala Gln	
[2357]	85 90 95	
[2358]	Ala Asp Arg Val Ser Leu Arg Asn Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser	
[2359]	100 105 110	
[2360]	Glu Asp Gly Ser His Thr Leu Gln Arg Met Tyr Gly Cys Asp Leu Gly	
[2361]	115 120 125	
[2362]	Pro Asp Gly Arg Leu Leu Arg Gly Tyr Asp Gln Ser Ala Tyr Asp Gly	
[2363]	130 135 140	
[2364]	Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Asn Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala	
[2365]	145 150 155 160	
[2366]	Asp Thr Ala Ala Gln Ile Thr Gln Arg Lys Leu Glu Ala Ala Arg Ala	
[2367]	165 170 175	
[2368]	Ala Glu Gln Leu Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu	
[2369]	180 185 190	
[2370]	Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Ala Glu Pro	
[2371]	195 200 205	
[2372]	Pro Lys Thr His Val Thr His His Pro Leu Ser Asp His Glu Ala Thr	
[2373]	210 215 220	
[2374]	Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr	
[2375]	225 230 235 240	
[2376]	Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu	
[2377]	245 250 255	
[2378]	Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val	

[2379]	260	265	270
[2380]	Val Pro Ser Gly Gln Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Met Gln His Glu		
[2381]	275	280	285
[2382]	Gly Leu Gln Glu Pro Leu Thr Leu Ser Trp Glu Pro Ser Ser Gln Pro		
[2383]	290	295	300
[2384]	Thr Ile Pro Ile Met Gly Ile Val Ala Gly Leu Ala Val Leu Val Val		
[2385]	305	310	315
[2386]	Leu Ala Val Leu Gly Ala Val Val Thr Ala Met Met Cys Arg Arg Lys		
[2387]	325	330	335
[2388]	Ser Ser Gly Gly Lys Gly Gly Ser Cys Ser Gln Ala Ala Cys Ser Asn		
[2389]	340	345	350
[2390]	Ser Ala Gln Gly Ser Asp Glu Ser Leu Ile Thr Cys Lys Ala		
[2391]	355	360	365
[2392]	<210> 94		
[2393]	<211> 290		
[2394]	<212> PRT		
[2395]	<213> 智人		
[2396]	<400> 94		
[2397]	Met Arg Ile Phe Ala Gly Ile Ile Phe Thr Ala Cys Cys His Leu Leu		
[2398]	1	5	10
[2399]	Arg Ala Phe Thr Ile Thr Ala Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr		
[2400]	20	25	30
[2401]	Gly Ser Asn Val Thr Met Glu Cys Arg Phe Pro Val Glu Arg Glu Leu		
[2402]	35	40	45
[2403]	Asp Leu Leu Ala Leu Val Val Tyr Trp Glu Lys Glu Asp Glu Gln Val		
[2404]	50	55	60
[2405]	Ile Gln Phe Val Ala Gly Glu Glu Asp Leu Lys Pro Gln His Ser Asn		
[2406]	65	70	75
[2407]	Phe Arg Gly Arg Ala Ser Leu Pro Lys Asp Gln Leu Leu Lys Gly Asn		
[2408]	85	90	95
[2409]	Ala Ala Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr		
[2410]	100	105	110
[2411]	Cys Cys Ile Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Leu		
[2412]	115	120	125
[2413]	Lys Val Asn Ala Pro Tyr Arg Lys Ile Asn Gln Arg Ile Ser Val Asp		
[2414]	130	135	140
[2415]	Pro Ala Thr Ser Glu His Glu Leu Ile Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro		
[2416]	145	150	155
[2417]	Glu Ala Glu Val Ile Trp Thr Asn Ser Asp His Gln Pro Val Ser Gly		

[2418]	165								170				175				
[2419]	Lys	Arg	Ser	Val	Thr	Thr	Ser	Arg	Thr	Glu	Gly	Met	Leu	Leu	Asn	Val	
[2420]	180								185				190				
[2421]	Thr	Ser	Ser	Leu	Arg	Val	Asn	Ala	Thr	Ala	Asn	Asp	Val	Phe	Tyr	Cys	
[2422]	195								200				205				
[2423]	Thr	Phe	Trp	Arg	Ser	Gln	Pro	Gly	Gln	Asn	His	Thr	Ala	Glu	Leu	Ile	
[2424]	210								215				220				
[2425]	Ile	Pro	Glu	Leu	Pro	Ala	Thr	His	Pro	Pro	Gln	Asn	Arg	Thr	His	Trp	
[2426]	225	230								235				240			
[2427]	Val	Leu	Leu	Gly	Ser	Ile	Leu	Leu	Phe	Leu	Ile	Val	Val	Ser	Thr	Val	
[2428]	245								250				255				
[2429]	Leu	Leu	Phe	Leu	Arg	Lys	Gln	Val	Arg	Met	Leu	Asp	Val	Glu	Lys	Cys	
[2430]	260								265				270				
[2431]	Gly	Val	Glu	Asp	Thr	Ser	Ser	Lys	Asn	Arg	Asn	Asp	Thr	Gln	Phe	Glu	
[2432]	275								280				285				
[2433]	Glu	Thr															
[2434]	290																
[2435]	<210> 95																
[2436]	<211> 290																
[2437]	<212> PRT																
[2438]	<213> 智人																
[2439]	<400> 95																
[2440]	Met	Arg	Ile	Phe	Ala	Val	Phe	Ile	Phe	Met	Thr	Tyr	Trp	His	Leu	Leu	
[2441]	1	5								10				15			
[2442]	Asn	Ala	Phe	Thr	Val	Thr	Val	Pro	Lys	Asp	Leu	Tyr	Val	Val	Glu	Tyr	
[2443]	20								25				30				
[2444]	Gly	Ser	Asn	Met	Thr	Ile	Glu	Cys	Lys	Phe	Pro	Val	Glu	Lys	Gln	Leu	
[2445]	35								40				45				
[2446]	Asp	Leu	Ala	Ala	Leu	Ile	Val	Tyr	Trp	Glu	Met	Glu	Asp	Lys	Asn	Ile	
[2447]	50								55				60				
[2448]	Ile	Gln	Phe	Val	His	Gly	Glu	Glu	Asp	Leu	Lys	Val	Gln	His	Ser	Ser	
[2449]	65	70								75				80			
[2450]	Tyr	Arg	Gln	Arg	Ala	Arg	Leu	Leu	Lys	Asp	Gln	Leu	Ser	Leu	Gly	Asn	
[2451]	85								90				95				
[2452]	Ala	Ala	Leu	Gln	Ile	Thr	Asp	Val	Lys	Leu	Gln	Asp	Ala	Gly	Val	Tyr	
[2453]	100								105				110				
[2454]	Arg	Cys	Met	Ile	Ser	Tyr	Gly	Gly	Ala	Asp	Tyr	Lys	Arg	Ile	Thr	Val	
[2455]	115								120				125				
[2456]	Lys	Val	Asn	Ala	Pro	Tyr	Asn	Lys	Ile	Asn	Gln	Arg	Ile	Leu	Val	Val	

[2457]	130	135	140
[2458]	Asp Pro Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr		
[2459]	145	150	155
[2460]	Pro Lys Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser		
[2461]	165	170	175
[2462]	Gly Lys Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn		
[2463]	180	185	190
[2464]	Val Thr Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr		
[2465]	195	200	205
[2466]	Cys Thr Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu		
[2467]	210	215	220
[2468]	Val Ile Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg Thr His		
[2469]	225	230	235
[2470]	Leu Val Ile Leu Gly Ala Ile Leu Leu Cys Leu Gly Val Ala Leu Thr		
[2471]	245	250	255
[2472]	Phe Ile Phe Arg Leu Arg Lys Gly Arg Met Met Asp Val Lys Lys Cys		
[2473]	260	265	270
[2474]	Gly Ile Gln Asp Thr Asn Ser Lys Lys Gln Ser Asp Thr His Leu Glu		
[2475]	275	280	285
[2476]	Glu Thr		
[2477]	290		
[2478]	<210> 96		
[2479]	<211> 254		
[2480]	<212> PRT		
[2481]	<213> 智人		
[2482]	<400> 96		
[2483]	Met Glu Tyr Ala Ser Asp Ala Ser Leu Asp Pro Glu Ala Pro Trp Pro		
[2484]	1	5	10
[2485]	Pro Ala Pro Arg Ala Arg Ala Cys Arg Val Leu Pro Trp Ala Leu Val		
[2486]	20	25	30
[2487]	Ala Gly Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ala Ala Ala Cys Ala Val Phe		
[2488]	35	40	45
[2489]	Leu Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser Pro Gly Ser		
[2490]	50	55	60
[2491]	Ala Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp		
[2492]	65	70	75
[2493]	Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val		
[2494]	85	90	95
[2495]	Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp		

[2496]	100	105	110
[2497]	Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu		
[2498]	115	120	125
[2499]	Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe		
[2500]	130	135	140
[2501]	Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser		
[2502]	145	150	155
[2503]	Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala		
[2504]	165	170	175
[2505]	Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala		
[2506]	180	185	190
[2507]	Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala		
[2508]	195	200	205
[2509]	Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His		
[2510]	210	215	220
[2511]	Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val		
[2512]	225	230	235
[2513]	Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu		
[2514]	245	250	
[2515]	<210> 97		
[2516]	<211> 302		
[2517]	<212> PRT		
[2518]	<213> 智人		
[2519]	<400> 97		
[2520]	Met Arg Leu Gly Ser Pro Gly Leu Leu Phe Leu Leu Phe Ser Ser Leu		
[2521]	1	5	10
[2522]	Arg Ala Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp		
[2523]	20	25	30
[2524]	Val Glu Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn		
[2525]	35	40	45
[2526]	Asp Val Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr		
[2527]	50	55	60
[2528]	Tyr His Ile Pro Gln Asn Ser Ser Leu Glu Asn Val Asp Ser Arg Tyr		
[2529]	65	70	75
[2530]	Arg Asn Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe		
[2531]	85	90	95
[2532]	Ser Leu Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His		
[2533]	100	105	110
[2534]	Cys Leu Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val		

[2535]	115	120	125
[2536]	Glu Val Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser		
[2537]	130	135	140
[2538]	Ala Pro His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser		
[2539]	145	150	155
[2540]	Ile Asn Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp		
[2541]	165	170	175
[2542]	Asn Ser Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn		
[2543]	180	185	190
[2544]	Met Arg Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr		
[2545]	195	200	205
[2546]	Pro Ser Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln		
[2547]	210	215	220
[2548]	Asn Leu Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp		
[2549]	225	230	235
[2550]	Lys Ile Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr		
[2551]	245	250	255
[2552]	Trp Ser Ile Leu Ala Val Leu Cys Leu Leu Val Val Val Ala Val Ala		
[2553]	260	265	270
[2554]	Ile Gly Trp Val Cys Arg Asp Arg Cys Leu Gln His Ser Tyr Ala Gly		
[2555]	275	280	285
[2556]	Ala Trp Ala Val Ser Pro Glu Thr Glu Leu Thr Gly His Val		
[2557]	290	295	300
[2558]	<210> 98		
[2559]	<211> 183		
[2560]	<212> PRT		
[2561]	<213> 智人		
[2562]	<400> 98		
[2563]	Met Glu Arg Val Gln Pro Leu Glu Glu Asn Val Gly Asn Ala Ala Arg		
[2564]	1	5	10
[2565]	Pro Arg Phe Glu Arg Asn Lys Leu Leu Leu Val Ala Ser Val Ile Gln		
[2566]	20	25	30
[2567]	Gly Leu Gly Leu Leu Leu Cys Phe Thr Tyr Ile Cys Leu His Phe Ser		
[2568]	35	40	45
[2569]	Ala Leu Gln Val Ser His Arg Tyr Pro Arg Ile Gln Ser Ile Lys Val		
[2570]	50	55	60
[2571]	Gln Phe Thr Glu Tyr Lys Lys Glu Lys Gly Phe Ile Leu Thr Ser Gln		
[2572]	65	70	75
[2573]	Lys Glu Asp Glu Ile Met Lys Val Gln Asn Asn Ser Val Ile Ile Asn		

[2574]					85					90					95				
[2575]	Cys	Asp	Gly	Phe	Tyr	Leu	Ile	Ser	Leu	Lys	Gly	Tyr	Phe	Ser	Gln	Glu			
[2576]						100					105				110				
[2577]	Val	Asn	Ile	Ser	Leu	His	Tyr	Gln	Lys	Asp	Glu	Glu	Pro	Leu	Phe	Gln			
[2578]						115					120				125				
[2579]	Leu	Lys	Lys	Val	Arg	Ser	Val	Asn	Ser	Leu	Met	Val	Ala	Ser	Leu	Thr			
[2580]						130					135				140				
[2581]	Tyr	Lys	Asp	Lys	Val	Tyr	Leu	Asn	Val	Thr	Thr	Asp	Asn	Thr	Ser	Leu			
[2582]	145						150					155				160			
[2583]	Asp	Asp	Phe	His	Val	Asn	Gly	Gly	Glu	Leu	Ile	Leu	Ile	His	Gln	Asn			
[2584]						165					170				175				
[2585]	Pro	Gly	Glu	Phe	Cys	Val	Leu												
[2586]						180													
[2587]	<210>	99																	
[2588]	<211>	273																	
[2589]	<212>	PRT																	
[2590]	<213>	智人																	
[2591]	<400>	99																	
[2592]	Met	Ile	Phe	Leu	Leu	Leu	Met	Leu	Ser	Leu	Glu	Leu	Gln	Leu	His	Gln			
[2593]	1					5					10				15				
[2594]	Ile	Ala	Ala	Leu	Phe	Thr	Val	Thr	Val	Pro	Lys	Glu	Leu	Tyr	Ile	Ile			
[2595]						20					25				30				
[2596]	Glu	His	Gly	Ser	Asn	Val	Thr	Leu	Glu	Cys	Asn	Phe	Asp	Thr	Gly	Ser			
[2597]						35					40				45				
[2598]	His	Val	Asn	Leu	Gly	Ala	Ile	Thr	Ala	Ser	Leu	Gln	Lys	Val	Glu	Asn			
[2599]						50					55				60				
[2600]	Asp	Thr	Ser	Pro	His	Arg	Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Leu	Glu	Glu	Gln	Leu			
[2601]	65						70				75				80				
[2602]	Pro	Leu	Gly	Lys	Ala	Ser	Phe	His	Ile	Pro	Gln	Val	Gln	Val	Arg	Asp			
[2603]						85					90				95				
[2604]	Glu	Gly	Gln	Tyr	Gln	Cys	Ile	Ile	Ile	Tyr	Gly	Val	Ala	Trp	Asp	Tyr			
[2605]						100					105				110				
[2606]	Lys	Tyr	Leu	Thr	Leu	Lys	Val	Lys	Ala	Ser	Tyr	Arg	Lys	Ile	Asn	Thr			
[2607]						115					120				125				
[2608]	His	Ile	Leu	Lys	Val	Pro	Glu	Thr	Asp	Glu	Val	Glu	Leu	Thr	Cys	Gln			
[2609]						130					135				140				
[2610]	Ala	Thr	Gly	Tyr	Pro	Leu	Ala	Glu	Val	Ser	Trp	Pro	Asn	Val	Ser	Val			
[2611]	145						150				155				160				
[2612]	Pro	Ala	Asn	Thr	Ser	His	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Gly	Leu	Tyr	Gln	Val			

[2613]					165					170						175
[2614]	Thr	Ser	Val	Leu	Arg	Leu	Lys	Pro	Pro	Pro	Gly	Arg	Asn	Phe	Ser	Cys
[2615]					180					185						190
[2616]	Val	Phe	Trp	Asn	Thr	His	Val	Arg	Glu	Leu	Thr	Leu	Ala	Ser	Ile	Asp
[2617]					195					200						205
[2618]	Leu	Gln	Ser	Gln	Met	Glu	Pro	Arg	Thr	His	Pro	Thr	Trp	Leu	Leu	His
[2619]					210					215						220
[2620]	Ile	Phe	Ile	Pro	Phe	Cys	Ile	Ile	Ala	Phe	Ile	Phe	Ile	Ala	Thr	Val
[2621]					225					230						240
[2622]	Ile	Ala	Leu	Arg	Lys	Gln	Leu	Cys	Gln	Lys	Leu	Tyr	Ser	Ser	Lys	Asp
[2623]					245					250						255
[2624]	Thr	Thr	Lys	Arg	Pro	Val	Thr	Thr	Thr	Lys	Arg	Glu	Val	Asn	Ser	Ala
[2625]					260					265						270
[2626]	Ile															
[2627]	<210>	100														
[2628]	<211>	288														
[2629]	<212>	PRT														
[2630]	<213>	智人														
[2631]	<400>	100														
[2632]	Met	Gly	His	Thr	Arg	Arg	Gln	Gly	Thr	Ser	Pro	Ser	Lys	Cys	Pro	Tyr
[2633]	1				5					10					15	
[2634]	Leu	Asn	Phe	Phe	Gln	Leu	Leu	Val	Leu	Ala	Gly	Leu	Ser	His	Phe	Cys
[2635]					20					25					30	
[2636]	Ser	Gly	Val	Ile	His	Val	Thr	Lys	Glu	Val	Lys	Glu	Val	Ala	Thr	Leu
[2637]					35					40					45	
[2638]	Ser	Cys	Gly	His	Asn	Val	Ser	Val	Glu	Glu	Leu	Ala	Gln	Thr	Arg	Ile
[2639]					50					55					60	
[2640]	Tyr	Trp	Gln	Lys	Glu	Lys	Lys	Met	Val	Leu	Thr	Met	Met	Ser	Gly	Asp
[2641]	65									70					75	80
[2642]	Met	Asn	Ile	Trp	Pro	Glu	Tyr	Lys	Asn	Arg	Thr	Ile	Phe	Asp	Ile	Thr
[2643]					85					90					95	
[2644]	Asn	Asn	Leu	Ser	Ile	Val	Ile	Leu	Ala	Leu	Arg	Pro	Ser	Asp	Glu	Gly
[2645]					100					105					110	
[2646]	Thr	Tyr	Glu	Cys	Val	Val	Leu	Lys	Tyr	Glu	Lys	Asp	Ala	Phe	Lys	Arg
[2647]					115					120					125	
[2648]	Glu	His	Leu	Ala	Glu	Val	Thr	Leu	Ser	Val	Lys	Ala	Asp	Phe	Pro	Thr
[2649]					130					135					140	
[2650]	Pro	Ser	Ile	Ser	Asp	Phe	Glu	Ile	Pro	Thr	Ser	Asn	Ile	Arg	Arg	Ile
[2651]	145									150					155	160

[2652]	Ile Cys Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu
[2653]	165 170 175
[2654]	Glu Asn Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp
[2655]	180 185 190
[2656]	Pro Glu Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met
[2657]	195 200 205
[2658]	Thr Thr Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg
[2659]	210 215 220
[2660]	Val Asn Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro
[2661]	225 230 235 240
[2662]	Asp Asn Leu Leu Pro Ser Trp Ala Ile Thr Leu Ile Ser Val Asn Gly
[2663]	245 250 255
[2664]	Ile Phe Val Ile Cys Cys Leu Thr Tyr Cys Phe Ala Pro Arg Cys Arg
[2665]	260 265 270
[2666]	Glu Arg Arg Arg Asn Glu Arg Leu Arg Arg Glu Ser Val Arg Pro Val
[2667]	275 280 285
[2668]	<210> 101
[2669]	<211> 329
[2670]	<212> PRT
[2671]	<213> 智人
[2672]	<400> 101
[2673]	Met Asp Pro Gln Cys Thr Met Gly Leu Ser Asn Ile Leu Phe Val Met
[2674]	1 5 10 15
[2675]	Ala Phe Leu Leu Ser Gly Ala Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe
[2676]	20 25 30
[2677]	Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Gln
[2678]	35 40 45
[2679]	Ser Leu Ser Glu Leu Val Val Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val
[2680]	50 55 60
[2681]	Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly Lys Glu Lys Phe Asp Ser Val His Ser
[2682]	65 70 75 80
[2683]	Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg
[2684]	85 90 95
[2685]	Leu His Asn Leu Gln Ile Lys Asp Lys Gly Leu Tyr Gln Cys Ile Ile
[2686]	100 105 110
[2687]	His His Lys Lys Pro Thr Gly Met Ile Arg Ile His Gln Met Asn Ser
[2688]	115 120 125
[2689]	Glu Leu Ser Val Leu Ala Asn Phe Ser Gln Pro Glu Ile Val Pro Ile
[2690]	130 135 140

[2691]	Ser Asn Ile Thr Glu Asn Val Tyr Ile Asn Leu Thr Cys Ser Ser Ile		
[2692]	145	150	155 160
[2693]	His Gly Tyr Pro Glu Pro Lys Lys Met Ser Val Leu Leu Arg Thr Lys		
[2694]		165	170 175
[2695]	Asn Ser Thr Ile Glu Tyr Asp Gly Ile Met Gln Lys Ser Gln Asp Asn		
[2696]		180	185 190
[2697]	Val Thr Glu Leu Tyr Asp Val Ser Ile Ser Leu Ser Val Ser Phe Pro		
[2698]		195	200 205
[2699]	Asp Val Thr Ser Asn Met Thr Ile Phe Cys Ile Leu Glu Thr Asp Lys		
[2700]		210	215 220
[2701]	Thr Arg Leu Leu Ser Ser Pro Phe Ser Ile Glu Leu Glu Asp Pro Gln		
[2702]		225	230 235 240
[2703]	Pro Pro Pro Asp His Ile Pro Trp Ile Thr Ala Val Leu Pro Thr Val		
[2704]		245	250 255
[2705]	Ile Ile Cys Val Met Val Phe Cys Leu Ile Leu Trp Lys Trp Lys Lys		
[2706]		260	265 270
[2707]	Lys Lys Arg Pro Arg Asn Ser Tyr Lys Cys Gly Thr Asn Thr Met Glu		
[2708]		275	280 285
[2709]	Arg Glu Glu Ser Glu Gln Thr Lys Lys Arg Glu Lys Ile His Ile Pro		
[2710]		290	295 300
[2711]	Glu Arg Ser Asp Glu Ala Gln Arg Val Phe Lys Ser Ser Lys Thr Ser		
[2712]		305	310 315 320
[2713]	Ser Cys Asp Lys Ser Asp Thr Cys Phe		
[2714]		325	
[2715]	<210>	102	
[2716]	<211>	281	
[2717]	<212>	PRT	
[2718]	<213>	智人	
[2719]	<400>	102	
[2720]	Met Gln Gln Pro Phe Asn Tyr Pro Tyr Pro Gln Ile Tyr Trp Val Asp		
[2721]	1	5	10 15
[2722]	Ser Ser Ala Ser Ser Pro Trp Ala Pro Pro Gly Thr Val Leu Pro Cys		
[2723]		20	25 30
[2724]	Pro Thr Ser Val Pro Arg Arg Pro Gly Gln Arg Arg Pro Pro Pro Pro		
[2725]		35	40 45
[2726]	Pro Pro Pro Pro Pro Leu Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Leu Pro		
[2727]		50	55 60
[2728]	Pro Leu Pro Leu Pro Pro Leu Lys Lys Arg Gly Asn His Ser Thr Gly		
[2729]		65	70 75 80

[2730]	Leu Cys Leu Leu Val Met Phe Phe Met Val Leu Val Ala Leu Val Gly
[2731]	85 90 95
[2732]	Leu Gly Leu Gly Met Phe Gln Leu Phe His Leu Gln Lys Glu Leu Ala
[2733]	100 105 110
[2734]	Glu Leu Arg Glu Ser Thr Ser Gln Met His Thr Ala Ser Ser Leu Glu
[2735]	115 120 125
[2736]	Lys Gln Ile Gly His Pro Ser Pro Pro Pro Glu Lys Lys Glu Leu Arg
[2737]	130 135 140
[2738]	Lys Val Ala His Leu Thr Gly Lys Ser Asn Ser Arg Ser Met Pro Leu
[2739]	145 150 155 160
[2740]	Glu Trp Glu Asp Thr Tyr Gly Ile Val Leu Leu Ser Gly Val Lys Tyr
[2741]	165 170 175
[2742]	Lys Lys Gly Gly Leu Val Ile Asn Glu Thr Gly Leu Tyr Phe Val Tyr
[2743]	180 185 190
[2744]	Ser Lys Val Tyr Phe Arg Gly Gln Ser Cys Asn Asn Leu Pro Leu Ser
[2745]	195 200 205
[2746]	His Lys Val Tyr Met Arg Asn Ser Lys Tyr Pro Gln Asp Leu Val Met
[2747]	210 215 220
[2748]	Met Glu Gly Lys Met Met Ser Tyr Cys Thr Thr Gly Gln Met Trp Ala
[2749]	225 230 235 240
[2750]	Arg Ser Ser Tyr Leu Gly Ala Val Phe Asn Leu Thr Ser Ala Asp His
[2751]	245 250 255
[2752]	Leu Tyr Val Asn Val Ser Glu Leu Ser Leu Val Asn Phe Glu Glu Ser
[2753]	260 265 270
[2754]	Gln Thr Phe Phe Gly Leu Tyr Lys Leu
[2755]	275 280

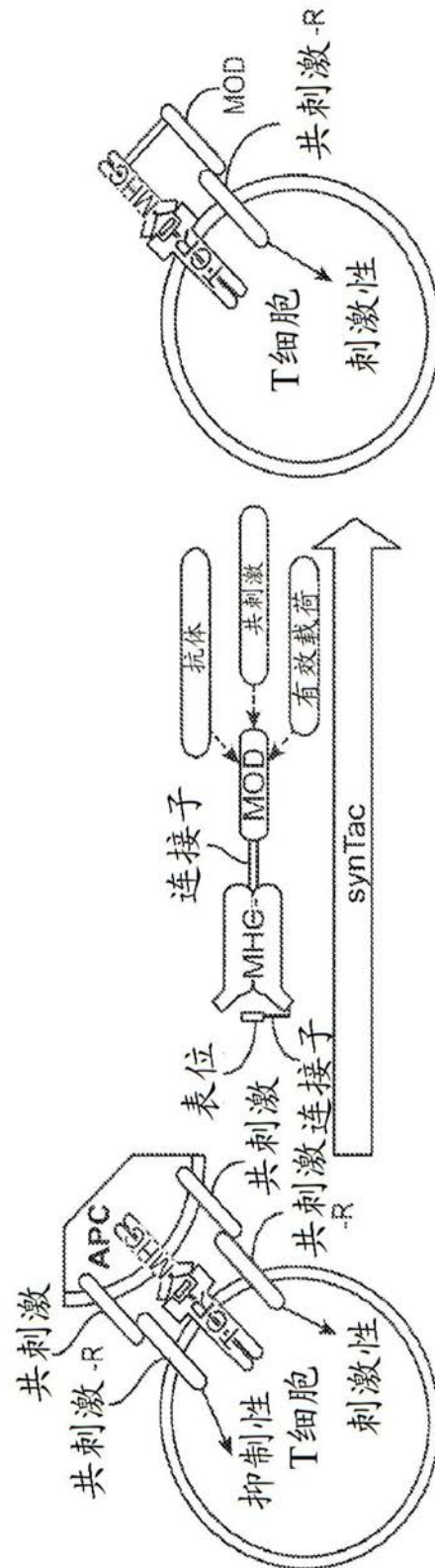


图1

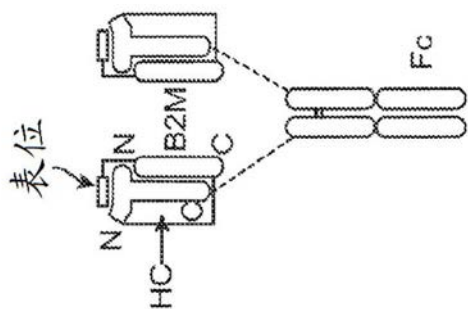


图2A

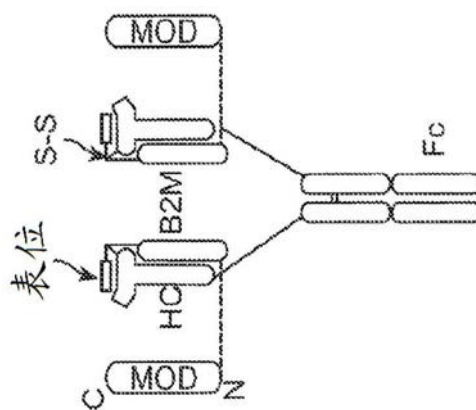


图2B

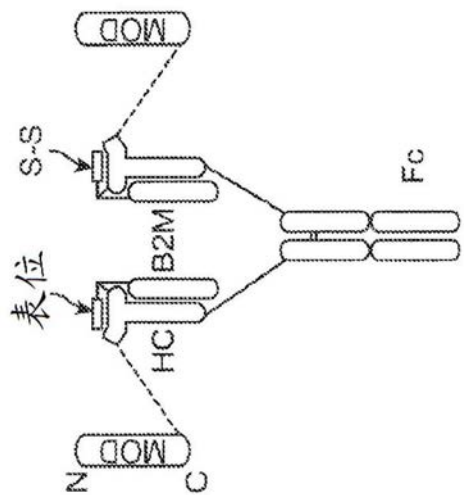


图2C

轻链 (LC)

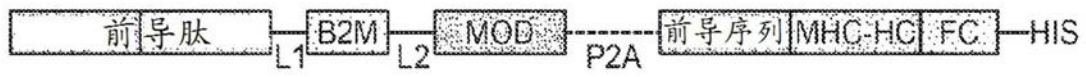


图3A

重链 (LC)

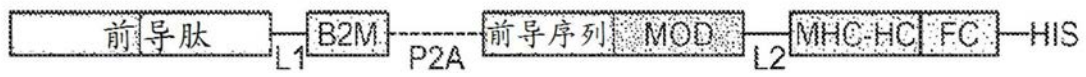


图3B

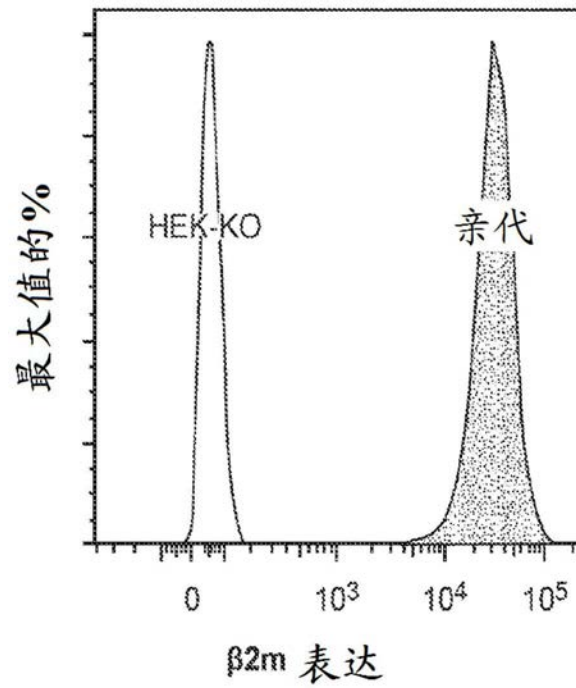


图4

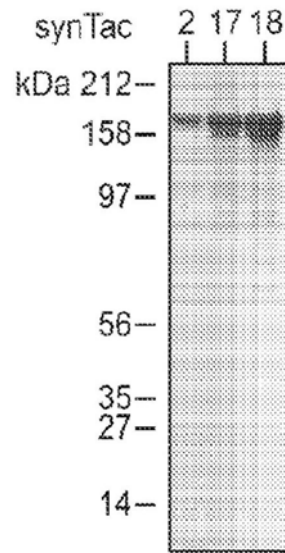


图5A

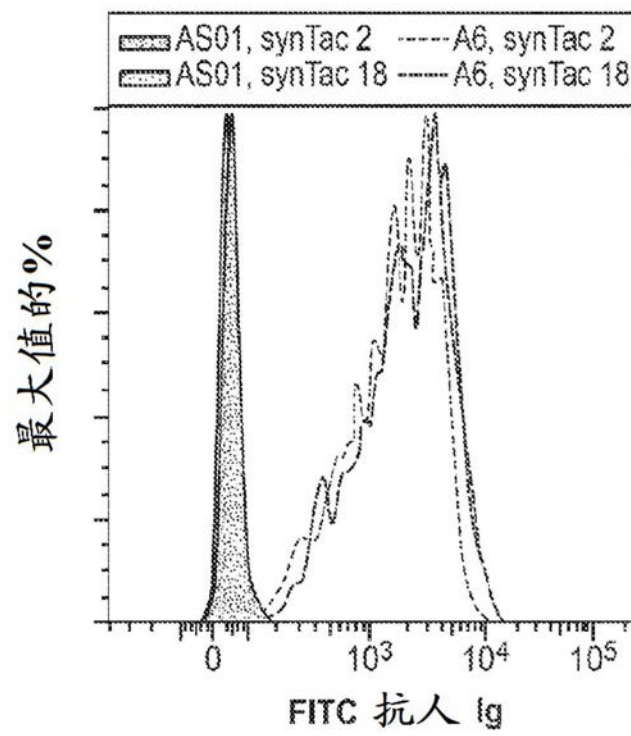


图5B

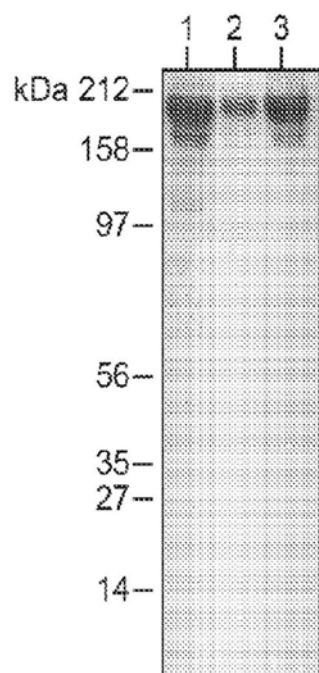


图6A

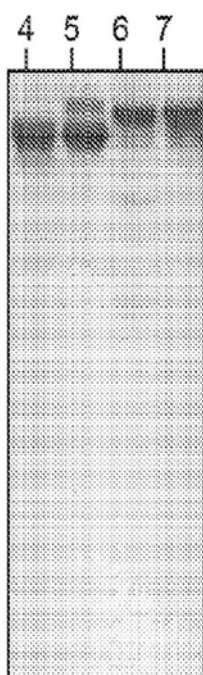


图6B

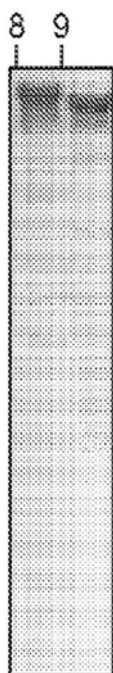


图6C

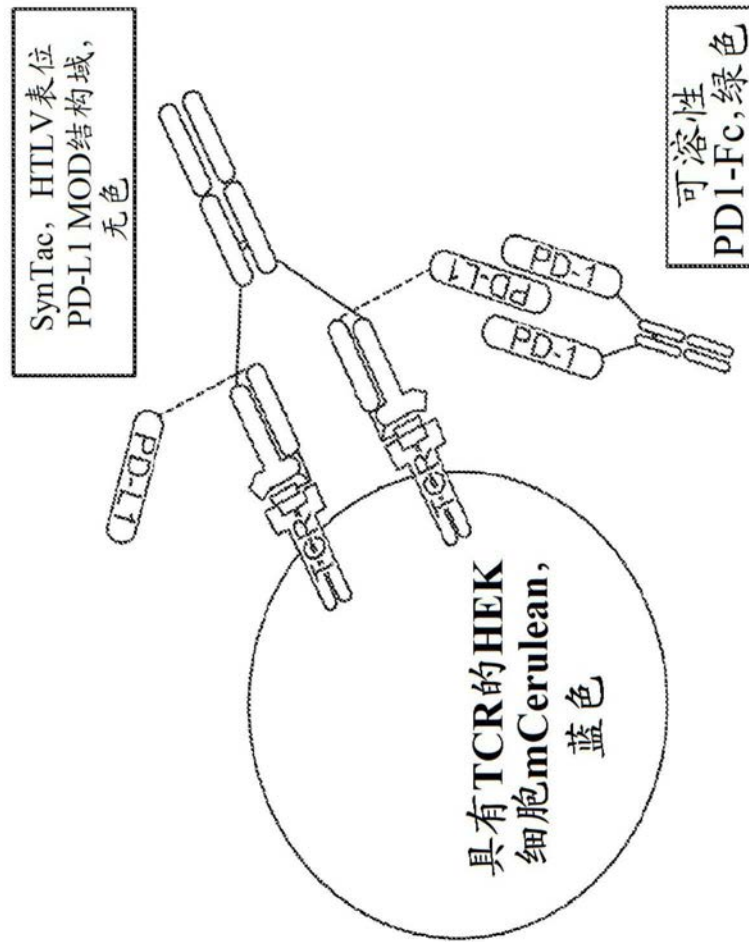


图7A

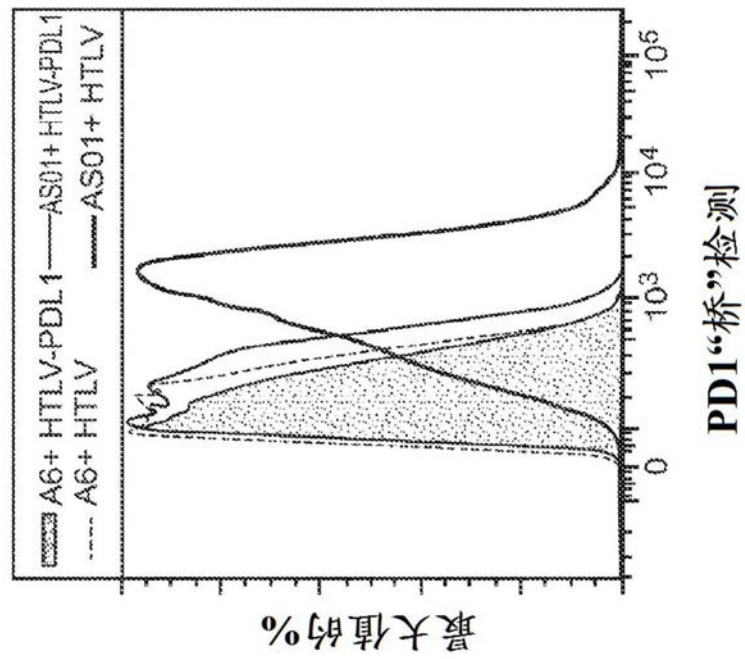


图7B

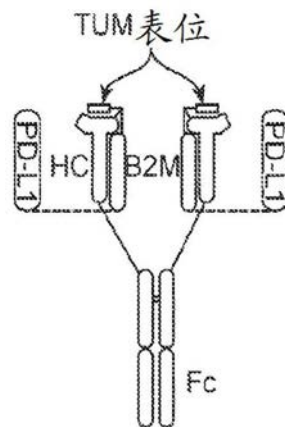


图8A

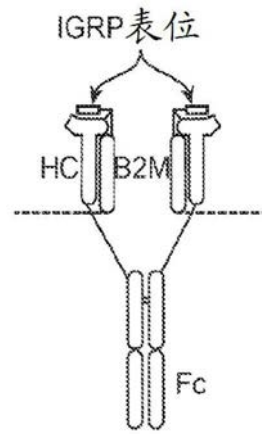


图8B

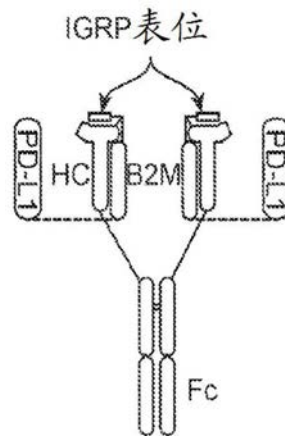


图8C

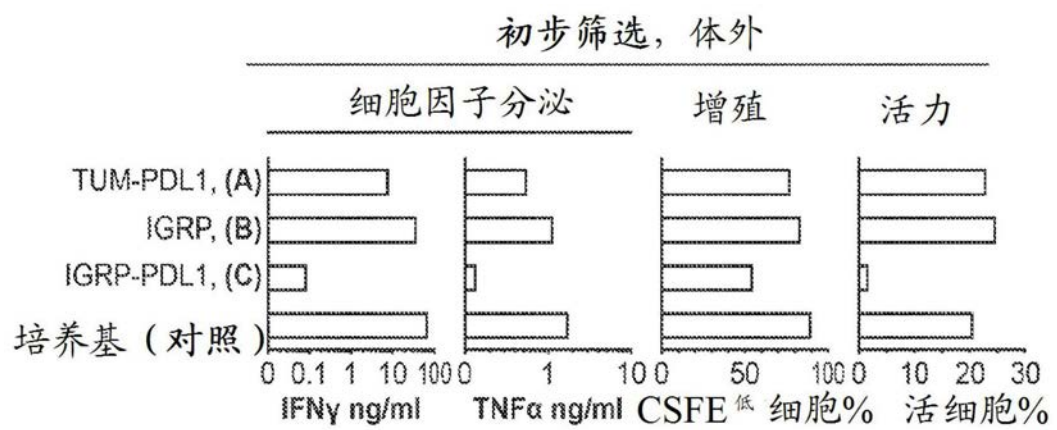


图8D

synTac 51 – 游离 BBL (SEQ ID NO:69)

MSRSVALAVLALLSLGLEAACPWAVSGARASPGSAASPRRLREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLIDGPILSWYSDPGLAGVSLTGGL
SVKEDTKELVWAKAGVYYVFFQLELRVAVAGEGSGSVSLAHLQPLRSAAGAAALATVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLLHTEA
RARHAWQLTQGATVILGLFRVTPEIPAGLPSRSE

粗体: β -2-微球蛋白前导肽

粗斜体: 人4-1BBL, 残基50-254 (完整胞外域)

图9A

synTac 70 -在残基Q94C与P242C之间形成的二硫桥(SEQ ID NO:73)

MSRSVALAVLALLSLSGLEAVYLKTNVFLGcGASGGGGGGGMIQKTPQIQVYSRHPPENGKPNILNCYVTFHPPHIEIQMLKNGKKIPKVMESD
MSFSKDWFSYILAHTEFTPTETDYACRVKHAHMAEPKTVYWRDMGGGGGGGGGGGACPWAVSGARASPGSAASPRRLREG
PELSPDDPAGLLDLRQGMFACLV AQNVLLIDGGLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYVFFQLELRVAVAGSGSVSLALHLQP
LRSAAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFGQRLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGLFRVTcEIPAGLPSPSESGGATNESLL
KQAGDVEENPGPMMSRSVALAVLALLSLSGLEAGPHSLRYEVTAVSRPGLGEPRIAGVYVDDTQFVRFDSDADNPRFEPRAPWMEQEGPEY
WEEQTORAKSDEQWFRVSLRTAQRcYNSQSGSHTTFORMEGCDVGSQDWRLLRGYQOFAAYDGRDYIALNEDLKTWTAADTAALITRRKW
EQAGDAEYRYRAYLEGECEVWLRRLRYLELGNETLRTDPSKAHVITYHPRSOVDVTLRCWALGEYPADITLTWQINGEDLTQDMELVETRPA
GDGTFQKWA AAVVVPGLKEQNYTCHVHHKGLPEPLTLRWAAAAGGPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVEIPEPKIKDVLMSLSPIVTCVVVD
VSEDDPDVQISWFEVNNVEVHTAQQTTHREDYNSTLRVVSALPIOHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVVVLPPEFEEMT
KKQVTLTCMVTDEMPEDIYVETWNNKGKTELNVKNTPEVLDSGSPYEMYSKLRVEKKNWVERNYSYSCSVVHGLHNHHHTTKSESRTPGKGGSHH
HHHHHH

粗体: β -2-微球蛋白前导肽

下划线:靶向表位(IGRP), TUM对照肽为KYQAVTTTL (SEQ ID NO:18)

斜体: 鼠 β -2-微球蛋白

粗斜体: 二硫键锁定的(DL)-人4-IBBL, 残基50-254 (完整胞外域), Q94C-P245C双突变体-
突变以小写显示

下划线斜体:病毒P2A序列

粗体下划线:鼠HLA重链(H-2 K^d)

粗斜体下划线:鼠IgG2a Fc, 然后是8x HIS标签

Y84C突变(小写)

通过游离-DL-4-IBBL与具有相同突变的synTac的共表达而形成的二硫键锁定的(DL)三聚体(SEQ ID NO:74)

MSRSVALAVLALLSLSGLEAACPWAVSGARASPGSAASPRRLREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFACLV AQNVLLIDGGLSWYSDPGLAGVSLTGGL
SYKEDTKELVVAKAGVYVFFQLELRVAVAGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFGQRLHLSAGQRLGVHLHTEA
RARHAWQLTQGATVLGLFRVTcEIPAGLPSPRSE

图9D

4- 1BBL

膜近侧 TNF同源性

图10A

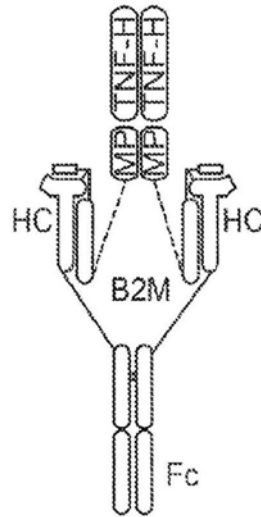


图10B

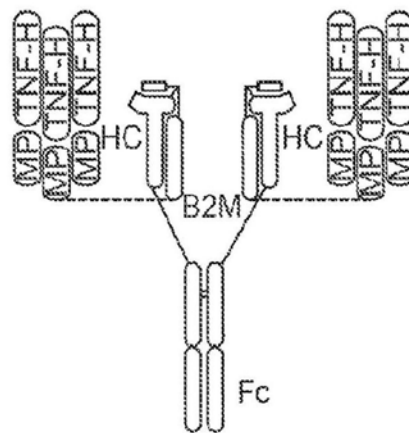


图10C

Syntac #	分子量 (kDa $\pm$ %)
40+51	236.2 ($\pm$ 4.9%)
40+51	257.9 ($\pm$ 0.5%)

图11A

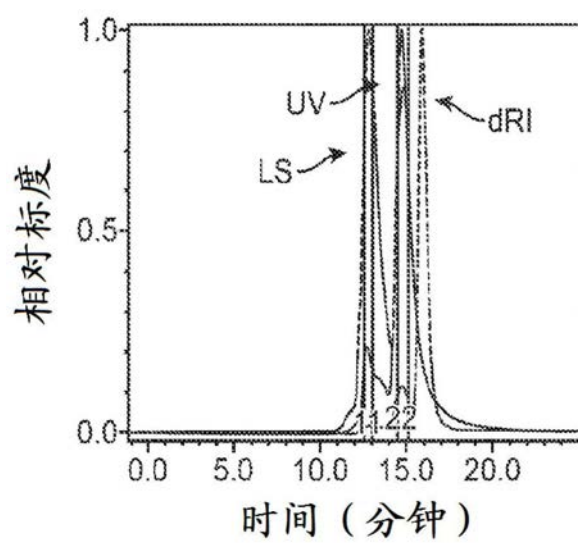


图11B

synTac 4-BBL变体，微珠结合

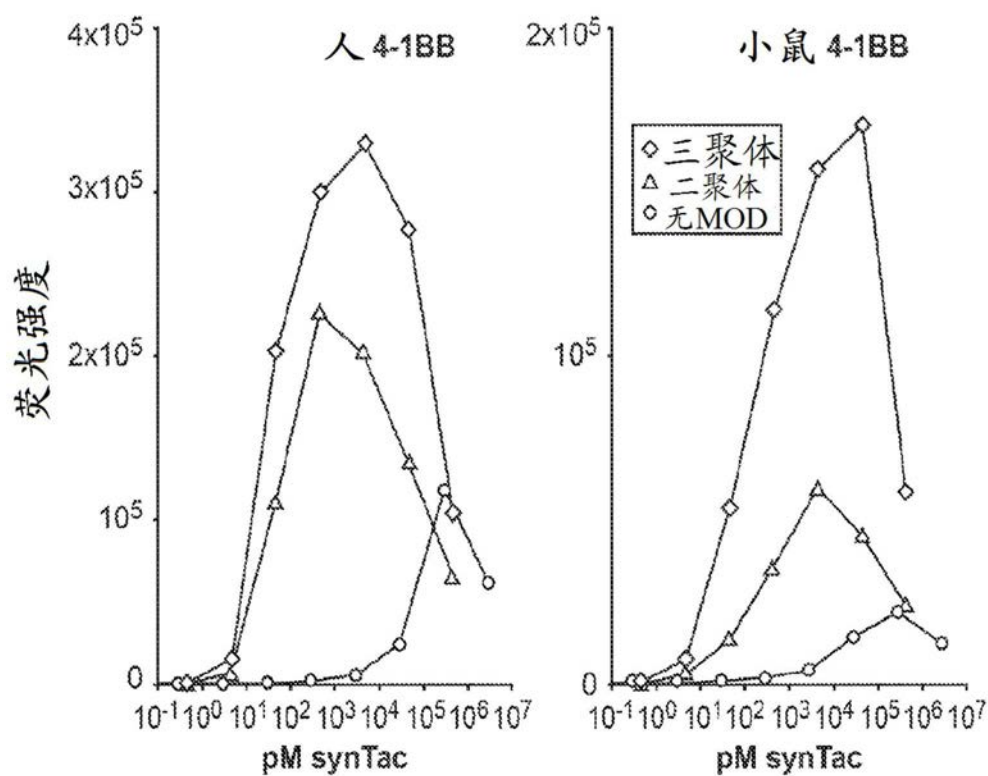


图12

初步筛选，体外

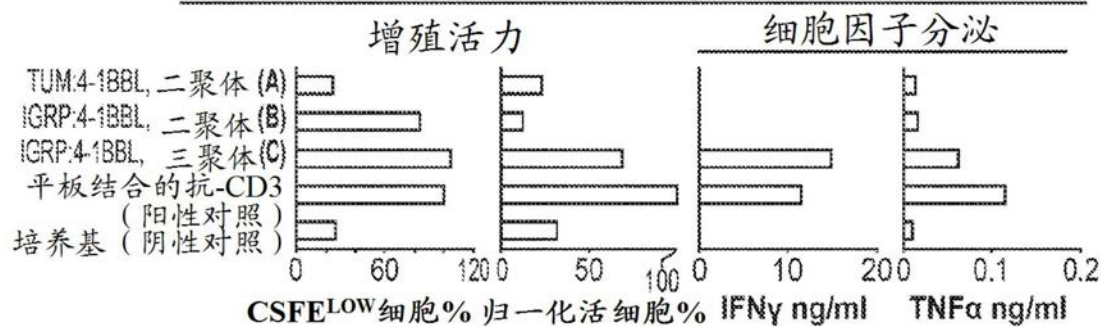


图13

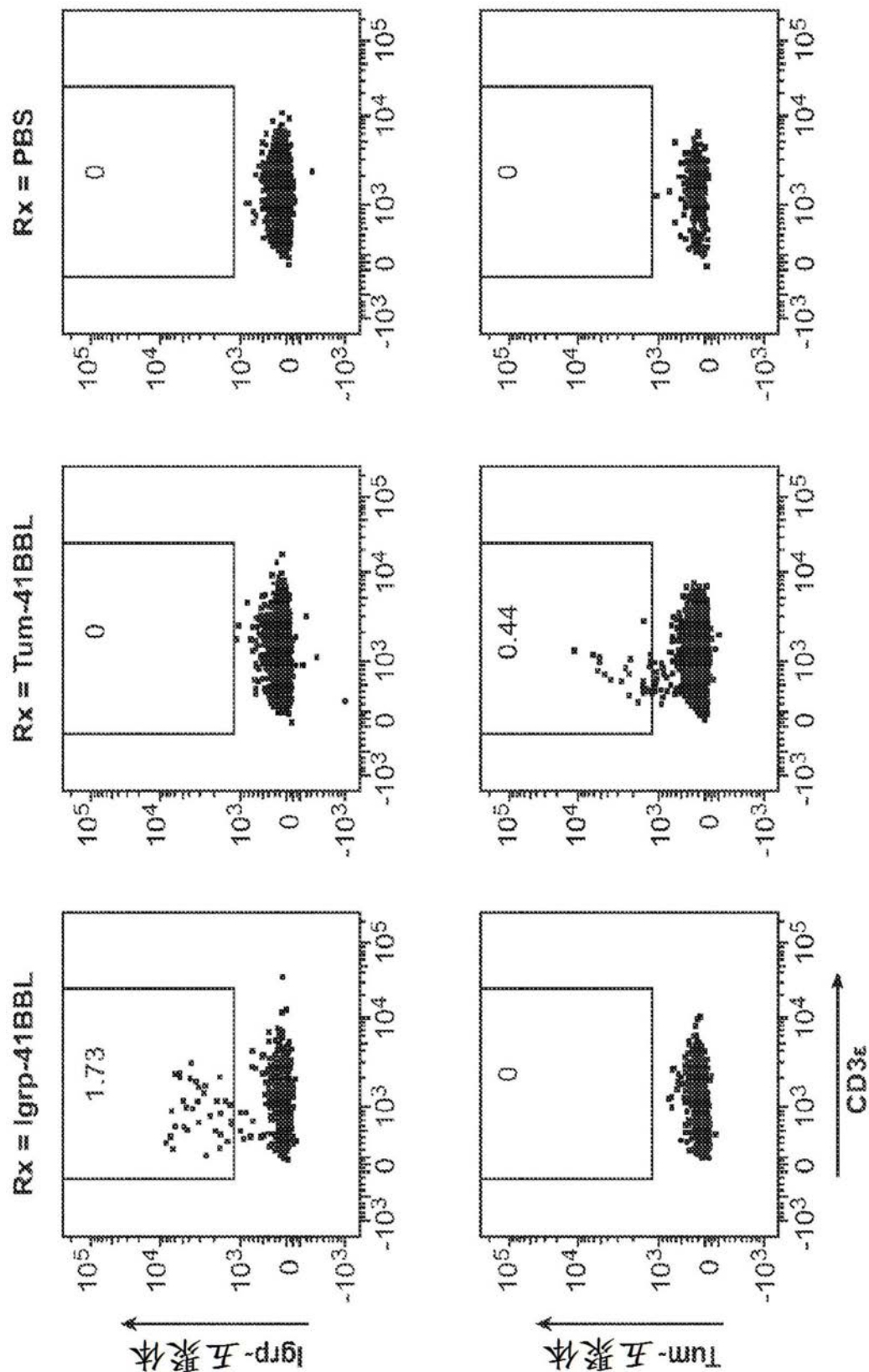


图15

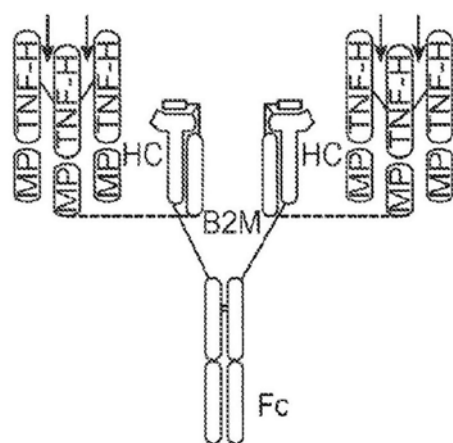


图16A

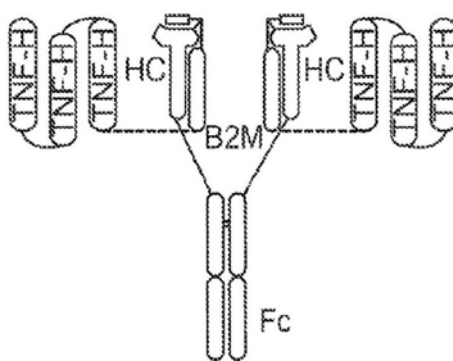


图16B

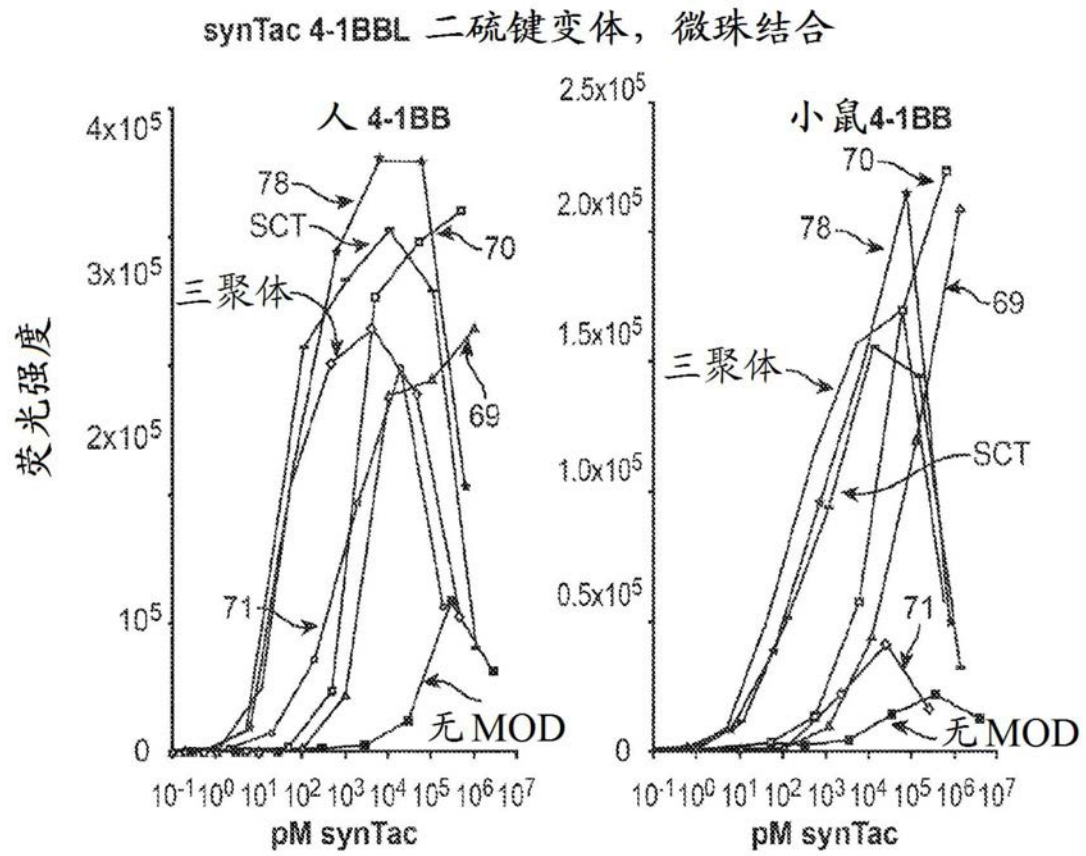


图17

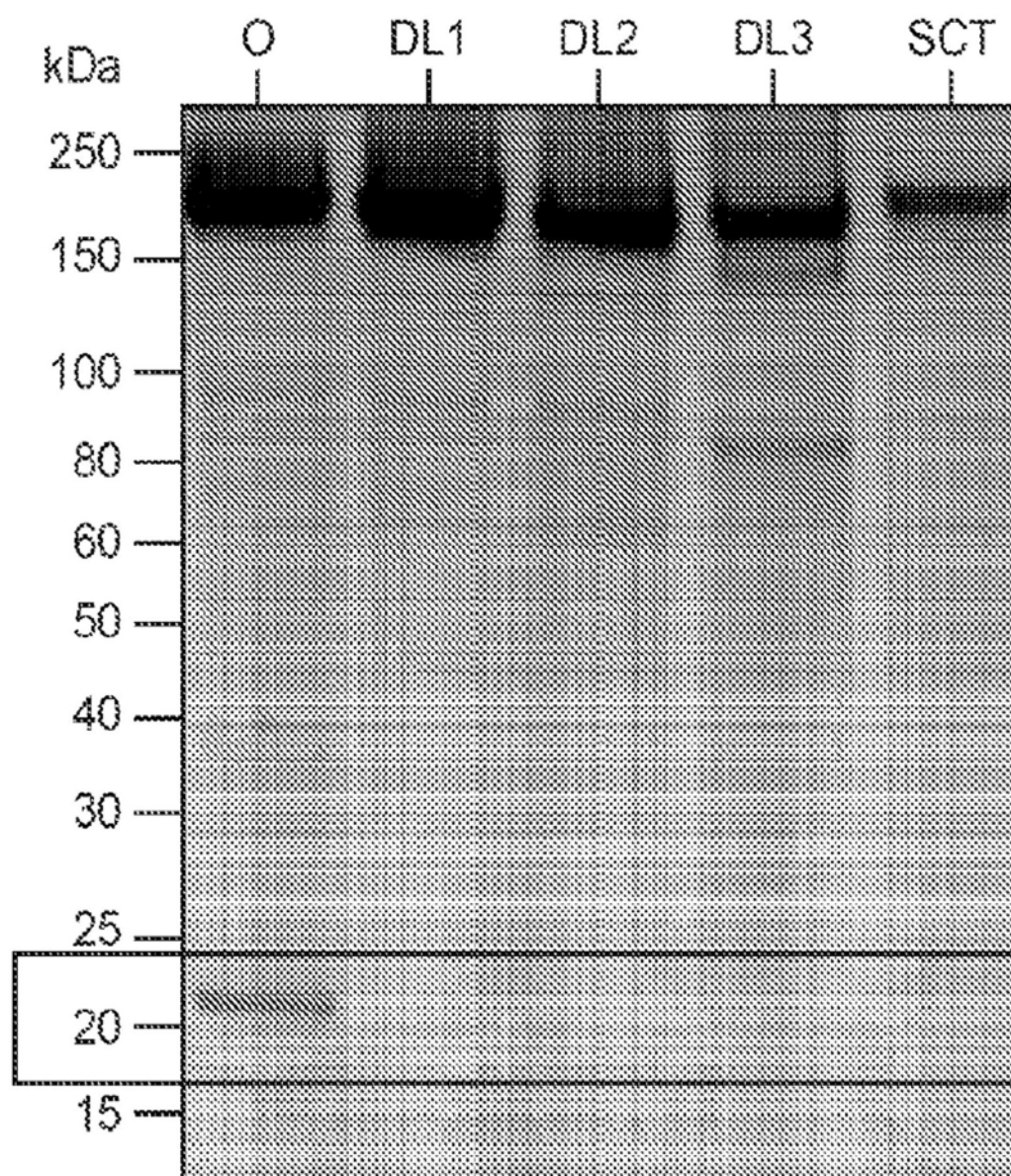


图18



图19A

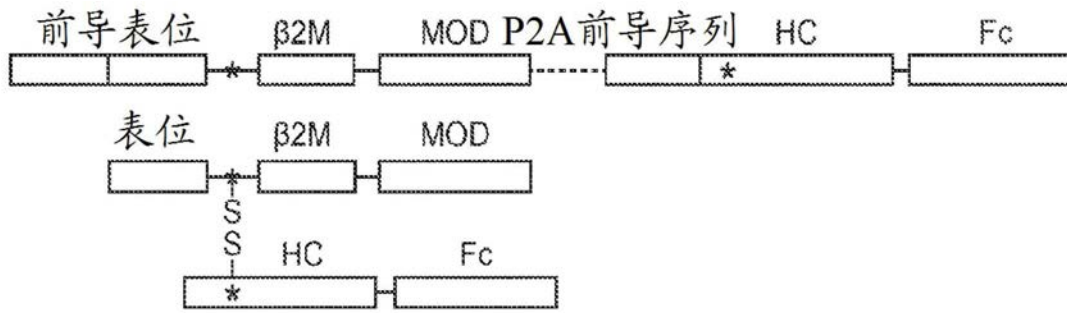


图19B

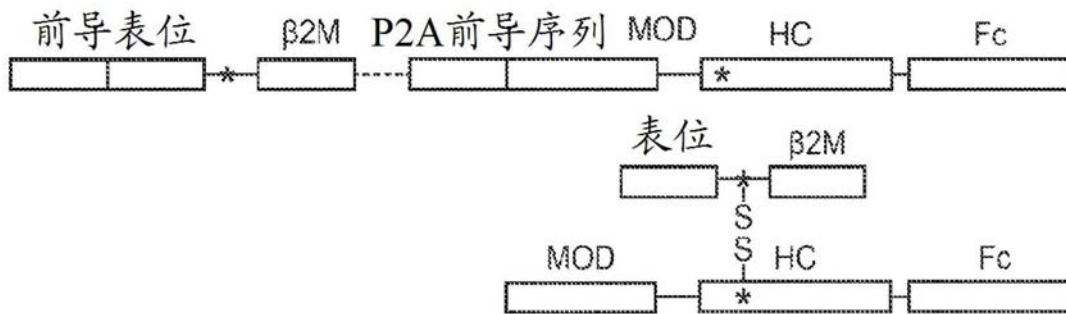


图19C

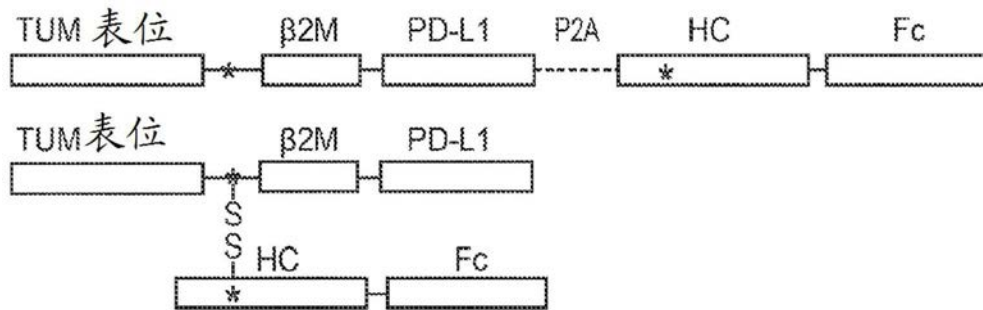


图19D

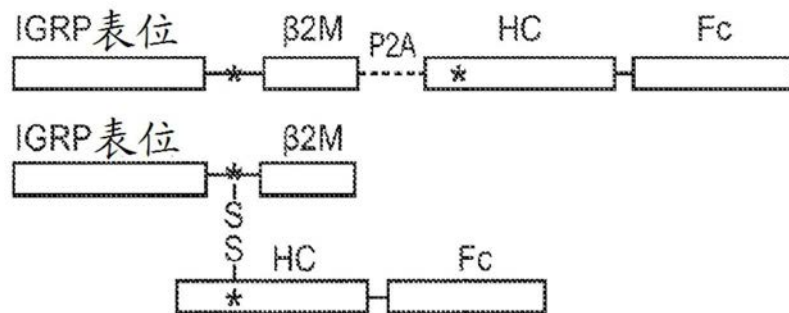


图19E

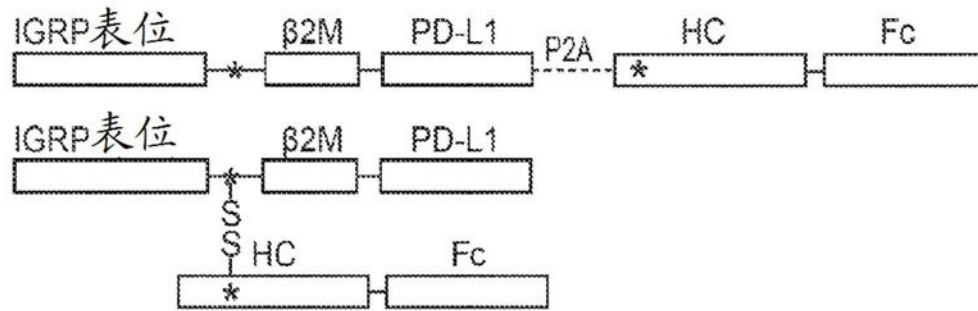


图19F

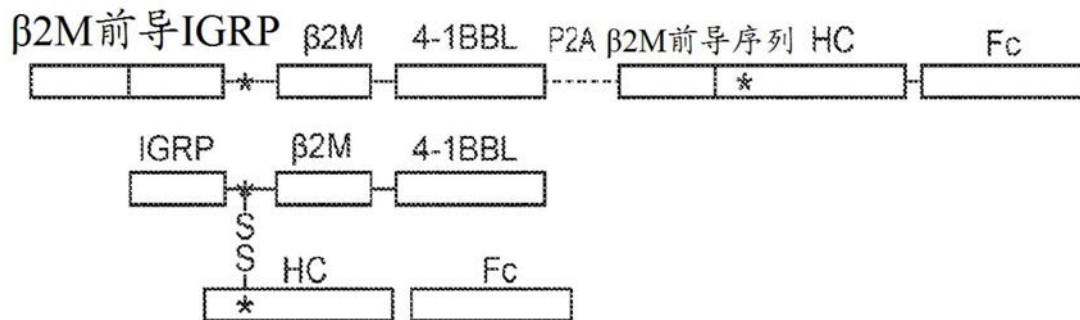


图19G

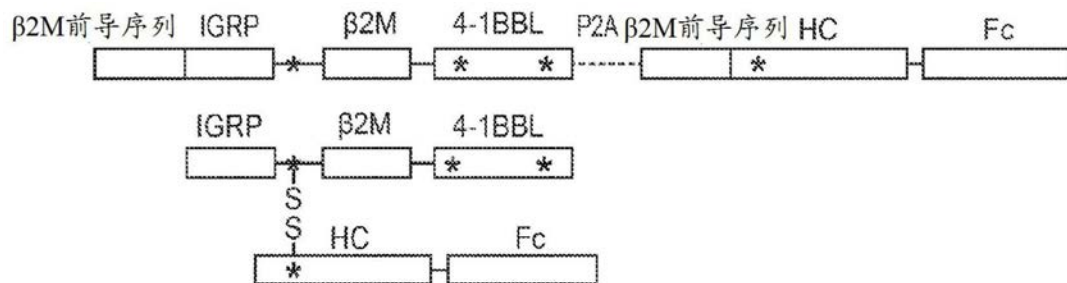


图19H

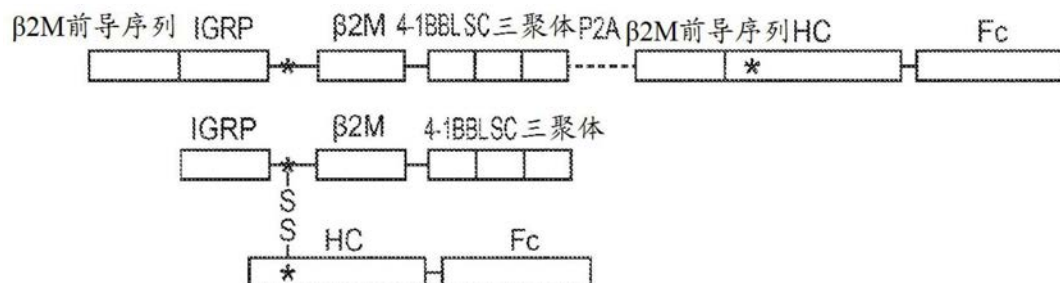


图19I

```

NP_004039.1      MSRSVALAVLALLSLSGLEAIQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHFSDIEVDLL 60
NP_001009066.1  MSRSVALAVLALLSLSGLEAIQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHFSDIEVDLL 60
NP_001040602.1  MSRSVALAVLALLSLSGLEAIQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHFSDIEVDLL 60
NP_776318.1      MARFVALVLLGLSLSGLOAIQRFPKIQVYSRHPPEDEGKPNFLNCYVYGFHPQI6IDLL 60
NP_033865.2      MARSVTLVFLVLSLTGLYAIQKTFPIQIQVYSRHPPEENGKPNILNCYVTQFPHFPIEQML 60
                  *: * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * :
NP_004039.1      KNGERIEKVEHSDLSFSKQWSFYLLYYTEFTPTKEDEYACRVNHVTLSQPKIVKWDRLM 119 (SEQ ID NO:76)
NP_001009066.1  KNGERIEKVEHSDLSFSKQWSFYLLYYTEFTPTKEDEYACRVNHVTLSQPKIVKWDRLM 119 (SEQ ID NO:79)
NP_001040602.1  KNGEKMGKVEHSDLSFSKQWSFYLLYYTEFTPTNEKDEYACRVNHVTLSGPNIVKWDRLM 119 (SEQ ID NO:80)
NP_776318.1      KNGEKI-KSEQSLSFSKQWSFYLLSHAEFTPTNSKQYSCRVKHVTLEQPRIVKWDRL 118 (SEQ ID NO:81)
NP_033865.2      KNGKKIPKVEHSDLSFSKQWSFYLLAHTFTPTETIDTYACRVKHSMAEPKIVYWDRLM 118 (SEQ ID NO:82)
                  *: * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * :

```

图20

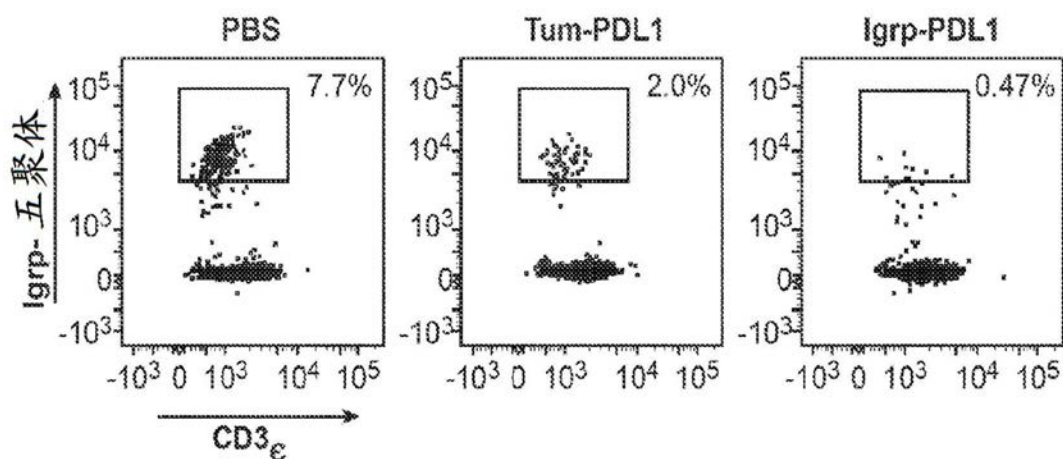


图23

GenBank 3S7G_A

智人 IgG1 Fc (SEQ ID NO:83)

227 aa

```

1 dkthtcppcp apellggpsv flfppkpkdt lmsrtpevt cvvvdvshed pevknwyvd
61 gvevhnaatk preeqynsty rvsvltvlh qdwlngkeyk ckvsnkappa piektiskak
121 gqprepvyt lpsrdeltk nqvsitclvk gfypsdiave wesngqpenn ykttppvlds
181 dgsfflyskl tvdksrwqgg nvfscsvmhe alhnhytqks lslspgk

```

GenBank AAN76044

智人 IgG2 Fc (氨基酸 99-325) (SEQ ID NO:84)

227 aa

```

1 stkgpsvfpl apcsrstsaa taalgclvkd yfpepvtvsw nsgaltsgvh tfpavilqssg
61 lyslssvvtv pssnfgtqty tcnvdhkpns tkvdktrerk ccvecppcpa ppvagpsvfl
121 fppkpkdtlm isrtpevtcv vdvshedpe vqfnwyvdgv evhnaatkpr eeefnstfrv
181 vsvltvvhqd wlngkeykck vsnkglpapi ektisktkgg prepqvytlp psreemtknq
241 vsitclvkgl ypsdiavewe sngqpennyt ttpmldsdg sfflyskltv dksrwqqgnv
301 fscsvmheal hnhytqksls lspgk

```

GenBank AAW65947

智人 IgG3 Fc (氨基酸 19-246) (SEQ ID NO:85)

238 aa

```

1 hkpsntkvdk rvelktplgd tthtcppcpa pellggpsvf lfppkpkdtl misrtpevtc
61 vvvdvshedp evknwyvdg vevhnaatkp reeqynstyr vsvltvlh qdwlngkeykc
121 kvsnkappa iektiskakg qprepvytl ppsrdeltkn qvsitclvk gfypsdiavew
181 esngqpenny kttppvlds dgsfflyskl tvdksrwqqgn vscsvmhea lnhytqksl
241 slspgk

```

图24A

GenBank AAA52770

智人 IgD Fc(氨基酸 162-383) (SEQ ID NO:86)

222 aa

```

1 ptkapdvfpf isgorhpkdn spvvlacit gyhptsvtvt wmgtsqspq rtfpeigrd
61 syymtssqls tplqqrqge ykcvvghtas kskkeifrwf espkagassv ptaqpqaegs
121 lakattapat trntgrggee kkkkekakeeq eeretktpec pshtqplgvy lltpavqdlw
181 lrdkatftcf vvgcdlkdah ltwevagkvp tggveeglle rshngsqsqh srltlprslw
241 nagtsvtctl nhpslppqrl malrepaaqa pvklslalla ssdppeaasw llcevggfsp
301 pnillmwled grevntsgfa parppqprrs ttfwawsvlr vpappspqpa tytcvvhed
361 srltlnasrs levsyvtchg pmk

```

GenBank 0308221A

智人 IgM Fc (SEQ ID NO:87)

276 aa

```

1 vtstltikzs dwlgesmftc rvdhrgltfq qnassmcvdp qdtairvfai ppsfasiflt
61 kskltclvt dlttybsvti swtreengav kthtnisesh pnatfsavge asicedbdws
121 gerftctvth tdlpsplkqt isrpkgvalh rpbvylppa rzzlnlresa titclvtgfs
181 padvfvevmq rgeplspgzy vtsapmpepq apgryfahsi ltvseeewnt ggtytcvvhah
241 ealpnrvter tvdkstgkpt lynvslvmsd tagtcy

```

图24B

GenBank P01876

智人 IgA Fc(氨基酸 120-353) (SEQ ID NO:88)

234 aa

```

1 asptspkvfp lsicstgpdg nvviacivgg ffpqgeplsvt wsesgggvta rnfppsqdas
61 gdltytssql tlpatqclag ksvtchvkhy tnpqsdvtp cpvpstptpt spstptptspg
121 scchprlsih rpaedlllg seanltclt glrdasgvtf twtpssgksa vggppperdic
181 gcysvssvlp gcaepwnhgk tftctaaype sktpltatls ksgntfirpev hllpppseel
241 alnelvtltc largfspkdv lvrwlqgsge lprekyltwa srqepsqgtt tfavtsilrv
301 aaedwkkgt fscmvghcal plaftqktid rlagkpthvn vsvmaevdg tcy

```

GenBank IF6A_B

智人 IgE Fc(氨基酸 6-222) (SEQ ID NO:89)

212 aa

```

1 adpcdsnprg vsaylsrpsp fdlfirskpt itclvvdlap skgtvnltws rasgkpvnhs
61 trkeekqrng tltvtstlpv gtrdwiegt yqcrvthphl pralmrsttk tsqpraapev
121 yafatpewpg srskrtlacl ignfmpedis vqwlhnevql pdarhsttqp rktkgsgffv
181 fsrlevtrae weqkdeflcr avheaaaspsq tvqravsvnp gk

```

GenBank P01861

智人 IgG4 Fc(氨基酸 100-327) (SEQ ID NO:90)

228 aa

```

1 astkgpsvfp lapcsrstse staalgclvk dyfpepvtvs wnsqaltsgv htfpavlqss
61 glyslssvvt vpssslgtkt ytcnvdkhps ntkvdkrves kyggppcpssp afefflggsv
121 flfpkpdkdt lmsrtpevt cvvvdvsqgd pevqfnwyvd gvevhnaktk preeqfnsty
181 rrvsvltvlh qdwingkeyk ckvsnkglps siektiskak ggprepqvyt lppsqeemtk
241 ngvslitclvk gfypsdiave wesngqpenn ykttppvlts dgsfflysr ltvdksrwqeg
301 nvfscsvmbe alhnhytqks lsllslgk

```

图24C

智人

GenBank NP_001229687

HLA-A

氨基酸 25-365 (SEQ ID NO:91)

```

1  mavmaprtll lllsgalalt qtwagshsmr yfftsvsrpg rgeprfiavg yvddtqfvrf
61 dsdaasqkme prapwieqeg peywdqetrn mkahsqtdra nlgtlrgyyn qsedgshti
121 imygcdivgpd grflrgyrqd aydgkdyial nedlrswwta dtaaqitqrk weavhaaeqr
181 rvylegrcvd glrrylengk etlqgrtdppk thmthhpisd heatlrcwal gfypaeitlt
241 wqrdgedqtg dtelvetrpa gdgtfkwaa vvvpsgeeqr ytchvqhegl pkpltlrwl
301 ssqptipivg iiaglvllga vitgavvaav mwrrkssdrk ggsytqaass dsaggsdvs
361 tackv

```

图25A

智人

GenBank NP_005505

HLA-B

氨基酸 25-362 (SEQ ID NO:92)

```

1  mlvmaprtvl lllsaalalt etwagshsmr yfytsvsrpg rgeprfisvg yvddtqfvrf
61 dsdaaspre prapwieqeg peywdntqi ykaqaqtdre slrnlrgyyn qseagshti
121 smygcdivgpd grllrghdgy aydgkdyial nedlrswwta dtaaqitqrk weaareaeqr
181 raylegcve wlrrylengk dkleradppk thvthhpisd heatlrcwal gfypaeitlt
241 wqrdgedqtg dtelvetrpa gdrtfkwaa vvvpsgeeqr ytchvqhegl pkpltlrwep
301 ssqstvpivg ivaglavlav vvigavvaav mcrkssggk ggsysqaacs dsaggsdvs
361 ta

```

图25B

智人

GenBank NP_001229971

HLA-C

氨基酸 25-366 (SEQ ID NO:93)

```

1  mrvmaprall lllsgglalt etwacshsmr yfdtavsrpg rgeprfisvg yvddtqfvrf
61 dsdaasprge prapwveqeg peywdretqn ykrqaqadv slrnlrgyyn qsedgshti
121 rmygcdlgpd grllrgyqds aydgkdyial nedlrswwta dtaaqitqrk leaaraaeql
181 raylegtcve wlrrylengk etlqraepk thvthhpisd heatlrcwal gfypaeitlt
241 wqrdgedqtg dtelvetrpa gdgtfkwaa vvvpsgqeqr ytchmqhegl qepltlswep
301 ssqptipimg ivaglavlv lavlgavvta mmcrkssgg kggscsqaac snsaggsdes
361 litcka

```

图25C

PD-L1

小家鼠

NP_068693

氨基酸 19-290 (SEQ ID NO:94)

```

1  mrifagiift acchllraft itapkdlyvv eygsnvtmec rfpvereldl lalvvyweke
61  deqvlfvav eedlqpghsn frgraslpkd qlkgnaalq itdvklqdag vycciisyyg
121  adykritlqv napyrkingr isvdpatseh elicqaegyp eaeviwtnsd hqpvsgrsv
181  ttsrtegmll nvtsslrva tandvfycf wrsqpgqht aeliipelpa thppqnrthw
241  vllgsillfl ivvstvlfl rkqvrmlde kcgvedtssk nrndtqfeet

```

图26A

PD-L1

智人

NP_054852

氨基酸 19-290 (SEQ ID NO:95)

```

1  mrifavfifm tywhllnaft vtvpkdlyvv eygsnmtiec kfpvekqldl aalivyweme
61  dknliqfvhg eedlqvghss yrqrarlikd qlslgnaalq itdvklqdag vyrcmisyyg
121  adykritvkv napyrkingr ilvvdptse heltcgaegy pkaeviwtns dhqvlsgktt
181  tttskreekl fntstlrin tttneifyct frldpeenh taelvipalp lahppnerth
241  lvilgaillc lgvaltffir lrkgrmmdvk kcgldtnsk kgsdthleet

```

图26B

4-1-BBL

智人

GenBank NP_003802

氨基酸 50-254 = 胞外域 (SEQ ID NO:96)

```

1  meyasdasld peapwppapr aracrviwa lvagllllll laaacavfla cpwavsgara
61  spgsaasprl regpelspdd paglldlrqg mfaqlvaqnv lldgplswy sdpglagvsi
121  tgglsykedt kelvvakagv yyvffglelr rvvagegsgs vslahlqpl rsaagaaala
181  ltvdlppass earnsafgfg grllhlsagq rlgvhlhtea rarhawltg gatvlgifrv
241  tpeipaglps prse

```

图27

智人

ICOS-L

GenBank NP_056074

氨基酸 19-302 (SEQ ID NO:97)

```

1 mrlgspglif llfsslract qekevramvg sdvelscacp egsrfdlndv yvywqtsek
61 tvvtyhipqn sslenvdsry rnralmspag mlrgdfslrl fnvtpqdeqk fhclvlsgsl
121 gfqevlsvev tlhvaanfsv pvvsaphsps qdeltftcts ingyprpnvy winktdnsll
181 dqalqndtvf lnmrglydvv svlriartps vnigccienv llqqnlvtgs qtgndigerd
241 kitenpvstg eknaatwsil avlcillvva vaigwvdrdr clqhsyagaw avspeteltg
301 hv

```

图28

智人

GenBank NP_003317

OX4L (SEQ ID NO:98)

```

1 mervqpleen vgnaarprfe rnklllvasv iqglglillcf tyiclhfsal qvshrypriq
61 sikvqfteyk kekfgiltsq kedeimkvqn nsviincdgi yllslkgyfs qevnlshyq
121 kdeepflqkl kvrsvnslmv asltykdkvy lnttdntsl ddfhvnggel ilihqnpgef
181 cvl

```

图29

智人

GenBank NP_079515

PD-L2

氨基酸 20-273 (SEQ ID NO:99)

```

1 miflllmlsl elqlhqiaal ftvtvpkely iiehgsnvtl ecnfdtgshv nlgaitaslq
61 kvenrtsphr eratllleeql plgkasfhip qvqvrdeggy qciliygvaw dykyltlkvk
121 asyrkinthi lkvpctdeve ltcqatgypl aevswpnvsv pantshtsrtp eglyqvtsvl
181 rlkpppggrnf scvfwnthvr eltlasidlq sqmeptrthpt wllhifipfc iiafifiatv
241 ialrkqlcqk lysskdttkr pvtttkrevn sai

```

图30

智人

GenBank NP_005182

CD80 (B7-1)

氨基酸 35-288 (SEQ ID NO:100)

```

1  mghtrrqgts pskcpylnff qllvlaglsh fcsgvihvtk evkevatlsc ghnvsveela
61  qtriywqkek kmvltmasgd mniwpeyknr tifoldnnls ivilalrpsd egtyecvvlk
121 yekdafkreh laevtlsvka dfptpsisdf eiptsnirri icstsggfpe phlswlengi
181 elnainttvs qdpetelyav sskldfnmtt nhsfmcliky ghhrvnqtfn wnttkqehfp
241 dnllpswait lisvngifvi ccltycfapr crerrrnerl rresvrpv

```

图31

智人

GenBank NP_787058

CD86 (B7-2)

氨基酸 31-329 (SEQ ID NO:101)

```

1  mdpqctmgls nilfvmafl1 sgaaplkiqa yfnetadlpc qfansqnqsl selvvfwqdg
61  enlvtnevy1 gkekfdsvhs kymgrtsfds dswtlrlhnl qikdkglyqc iihhkkptgm
121 irihqmnsel svlanfsqpe ivpisniten vyinltcssi hgypepkkms vllrtknsti
181 eydgimqksq dnytelydvs islsvsfpdv tsnmtifcil etdktrllss pfsielelpg
241 pppdhipwit avlptviicv mvfclilwkw kkkkrprnsy kcgntnmere eseqtkkrek
301 ihipersdea qrvfksskts scdksdtcf

```

图32

Fas 配体 (FasL)

智人

GenBank NP_000630

氨基酸 1-281 (SEQ ID NO:102)

```

1  mqqpfnypyp qiywvdssas spwappgtvl pcptsvprp qrrppppppp ppplpppppp
61  ppplppplpp lkkrgnhstg lcilvmffmv lvalvglglg mqlfhlqke laelrestsq
121 mhtasslekq ighpspppek kelrkvahgksnsrsmpl ewedtygivil lsgvkykkgg
181 lvinetglyf vyskvyfrgq scnnlplshk vymrnskypq dlvmnegkmm sycttgqmw
241 rssylgavfn ltsadhlyvn vselslvnfe esqtfqglyk 1

```

图33

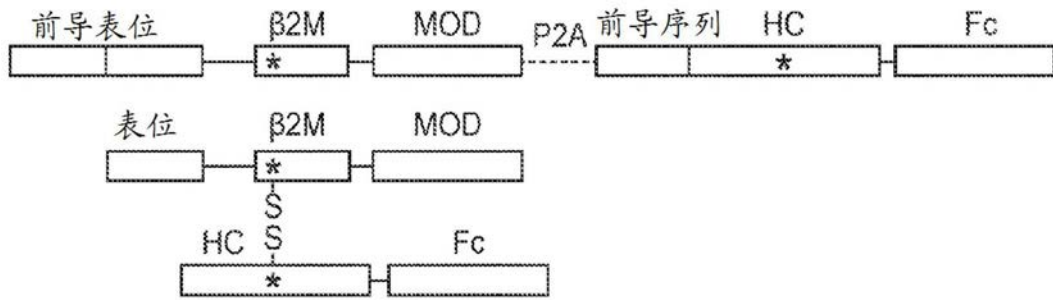


图34A

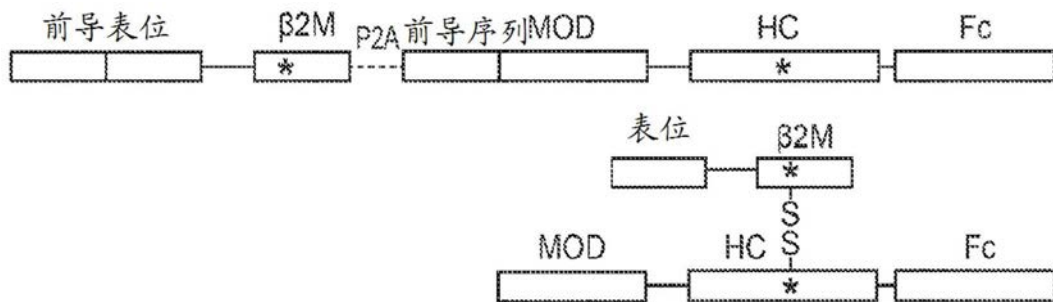


图34B

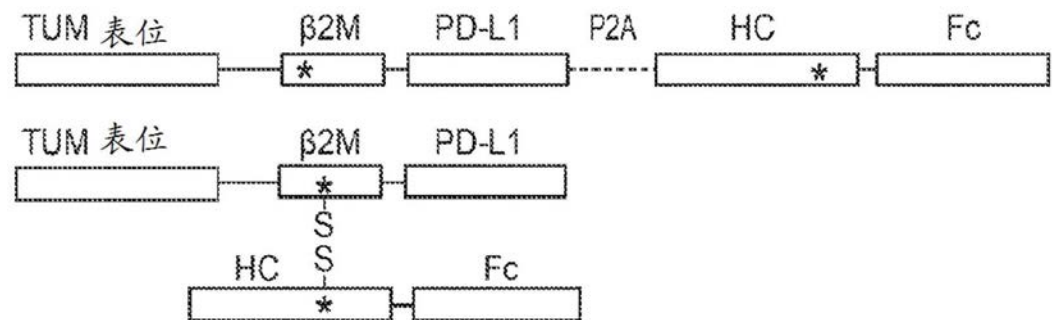


图34C

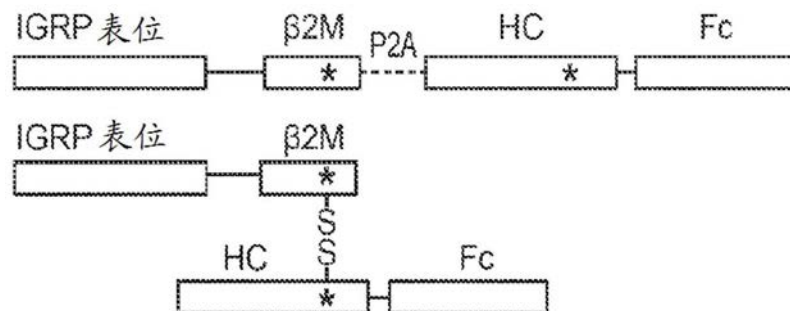


图34D

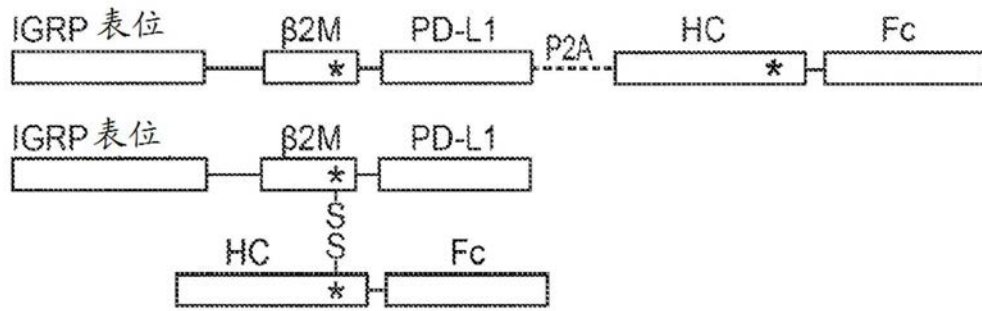


图34E

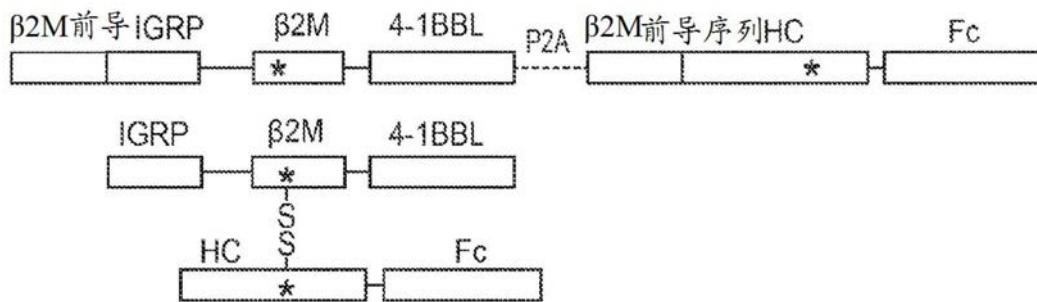


图34F

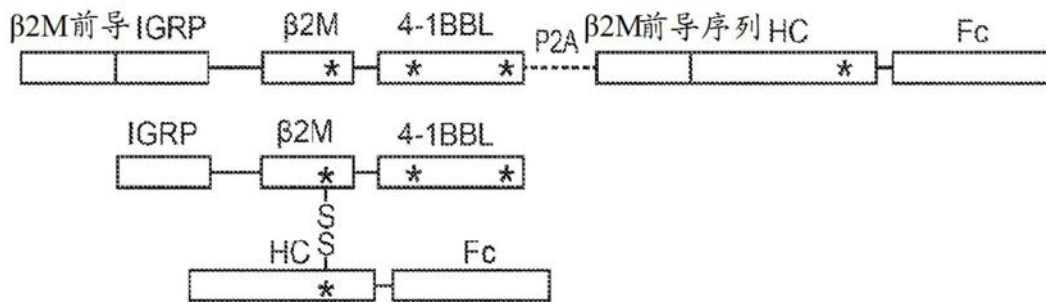


图34G

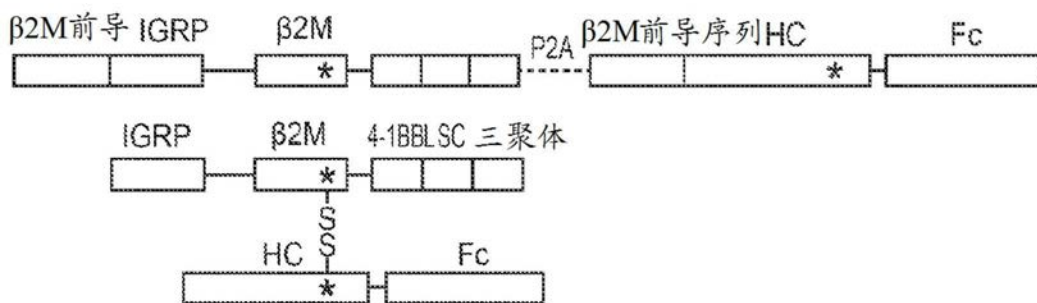


图34H