



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109997041 B

(45) 授权公告日 2022. 10. 28

(21) 申请号 201780048585.6

(22) 申请日 2017.06.12

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 109997041 A

(43) 申请公布日 2019.07.09

(30) 优先权数据
16173970.1 2016.06.10 EP
16173986.7 2016.06.10 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2019.02.01

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2017/064323 2017.06.12

(87) PCT国际申请的公布数据
W02017/212072 EN 2017.12.14

(73) 专利权人 歌德塔有限公司
地址 荷兰乌得勒支

(72) 发明人 于尔根·赫伯特·恩斯特·库巴尔

吉多·约里斯·扬·基尔克尔斯
若尔特·谢拜特延

(74) 专利代理机构 北京康信知识产权代理有限
责任公司 11240
专利代理师 张英 沈敬亭

(51) Int.Cl.
G01N 33/50 (2006.01)
C07K 14/725 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
A61K 47/68 (2006.01)
C12N 5/0783 (2006.01)
G01N 33/569 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

(56) 对比文件
US 2005249743 A1,2005.11.10
CN 101287754 A,2008.10.15
审查员 刘莉丹

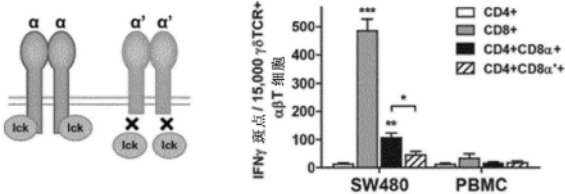
权利要求书1页 说明书63页
序列表117页 附图19页

(54) 发明名称

人白细胞抗原限制的 $\gamma \delta$ T细胞受体及其使用
方法

(57) 摘要

本文公开了治疗患有癌症的受试者的组合物和方法。该组合物和方法利用免疫响应细胞实现对肿瘤细胞的杀伤。



1. 一种包含 γ 5 δ 1T细胞受体的组合物,所述 γ 5 δ 1T细胞受体在HLA分子与靶细胞上的至少一个另外的HLA分子复合时选择性地结合所述靶细胞上的所述HLA分子或其部分,其中所述受体不结合未复合的HLA分子,其中所述HLA分子是HLA-A血清型或其变体,并且其中所述受体包含选自SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4的氨基酸19-309、SEQ ID NO:5的氨基酸21-293组成的组中的序列的序列。

2. 根据权利要求1所述的组合物,其中,至少两个HLA分子在所述靶细胞上复合在一起。

3. 根据权利要求1或2所述的组合物,其中,所述靶细胞是癌细胞。

4. 根据权利要求1所述的组合物,其中,所述复合不存在于相当的正常细胞上。

5. 根据权利要求1所述的组合物,其中,所述HLA-A血清型是HLA-A*24。

6. 根据权利要求3所述的组合物,其中,所述癌细胞异常表达所述HLA分子。

7. 根据权利要求5所述的组合物,其中,所述HLA-A*24是HLA-A*24:02。

8. 根据权利要求1所述的组合物,所述组合物是包含以下的药物组合物:

a. 权利要求1所述的组合物;和

b. 以下至少一种:赋形剂,稀释剂或载体。

9. 一种组合物,所述组合物包含含有权利要求1至7任一项中所限定的 γ 5 δ 1T细胞受体和/或编码所述 γ 5 δ 1T细胞受体的核酸分子的细胞。

10. 根据权利要求9所述的组合物,其中,所述细胞修饰为表达所述 γ 5 δ 1T细胞受体。

11. 根据权利要求10所述的组合物,其中,所述修饰包括使用选自慢病毒,逆转录病毒,腺病毒及它们的任何组合组成的组的病毒的转导。

12. 根据权利要求9所述的组合物,其中,所述细胞是T细胞。

13. 根据权利要求12所述的组合物,其中,所述细胞是 $\alpha\beta$ T细胞。

14. 根据权利要求1至13中任一项所述的组合物在制备用于治疗受试者的癌症的药剂中的用途,所述受试者的HLA分子或其部分复合至所述受试者的癌细胞上的至少另一个HLA分子。

15. 根据权利要求1至13中任一项所述的组合物在制备用于治疗包括异常HLA-A*24表达的疾病的药剂中的用途,其中,所述治疗包括给予结合HLA-A*24的至少一部分的第一治疗剂,和以下的至少一种:随后再次给予所述第一治疗剂,和给予第二治疗剂。

16. 根据权利要求14或15所述的用途,其中,所述组合物与至少一种另外的治疗剂组合给予至所述受试者。

17. 根据权利要求16所述的用途,其中,所述另外的治疗剂是细胞因子、化疗、放射或它们的组合中的至少一种。

18. 根据权利要求15所述的用途,其中,所述组合物至少部分改善受试者中的所述疾病。

人白细胞抗原限制的 $\gamma\delta$ T 细胞受体及其使用方法

[0001] 序列表

[0002] 本申请包含的序列表已经以 ASCII 格式电子提交, 并且以其全部内容通过引证结合于本文中。在 2017 年 6 月 9 日创建的所述 ASCII 拷贝命名为 51887-705_601_SL.txt, 且大小为 156,305 字节。

背景技术

[0003] 癌症对全球社会具有重大影响。2016 年, 仅在美国就诊断出据估计 1,685,210 例新的癌症, 并且将有 595,690 人死于这种疾病。根据肿瘤学实践杂志 (Journal of Oncology Practice (Erikson 2007)), 到 2020 年, 1820 万美国人, 约每 19 人中有 1 人将成为癌症患者或癌症幸存者, 高于 2005 年的 1170 万人 (每 26 人中 1 人)。

[0004] 鉴于癌症免疫疗法的强势的临床成功, $\gamma\delta$ -T 细胞已成为人们关注的焦点, 因为肿瘤浸润 $\gamma\delta$ -T 细胞是许多癌症类型的临床结果的主要预测因子。在临床前模型中已经测试了多种方法, 目前正在进行许多临床试验。尽管多次努力要将 $\gamma\delta$ -T 细胞带入临床, 但它们的使用在很大程度上是无效的。因此, 需要利用其抗肿瘤功效的新方式。

发明内容

[0005] 对于各种各样的癌症迫切需要进行替代的且有效的治疗。本发明解决了这种需要并且也提供了相关的优点。因此, 本发明公开了一种治疗方法。

[0006] 本文公开了一种包含多肽构建体的组合物, 该多肽构建体在 HLA 分子与靶细胞上的至少一种另外的 HLA 分子复合时会选择性地与靶细胞上的人白细胞抗原 (HLA) 分子或其部分复合, 其中多肽构建体不结合未复合的 HLA 分子。在某些情况下, 未复合的 HLA 分子是未与至少一种另外的 HLA 分子复合的 HLA 分子。在一些情况下, 多肽构建体在细胞上表达或人工合成。在一些情况下, HLA 分子可以是 HLA-A 血清型或其变体。在某些情况下, HLA-A 血清型可以是 HLA-A*24。HLA-A*24 可以是 HLA-A*24:02。在一些情况下, 由本文描述的多肽识别的 HLA 分子可以与多个 HLA 分子复合。在具体情况下, 复合的 HLA 分子可以可选地形成簇。多肽构建体可以结合至少一种共同受体。在一些情况下, 至少一种共同受体可以选自由以下组成的组: CD8, CD4, CD28, CCR 和 CXCR4。在一些情况下, 至少一种共同受体可以是 CD8。至少一种共同受体可以包含 CD8 α 或 CD8 β 中的至少一种。在一些情况下, 靶细胞可以是癌细胞。癌细胞可以异常表达 HLA 分子。异常表达可以包括靶细胞上的复合以及正常细胞上不存在的异常表达和复合。与相当的正常细胞上的非异常表达的 HLA 相比, 异常表达可以包括结构、移动性、柔性或区室化中的至少一种。复合可以通过流式细胞术或显微镜检测。与相当的正常细胞相比, 癌细胞可以过表达 HLA。过表达可以包括如流式细胞术检测的在癌细胞群体上约 1% 至约 100% 的表达。过表达可以包括通过免疫组织化学 (IHC) 分析对 HLA 分子的阳性检测。多肽构建体可以表达于免疫细胞上。免疫细胞可以来自骨髓或淋巴系。在某些情况下, 免疫细胞可以来自淋巴系。来自淋巴系的免疫细胞可以是自然杀伤 (NK) 细胞、B 细胞或 T 细胞中的至少一种。在一些情况下, 免疫细胞可以是多个 T 细胞。多个 T 细胞可以是工程化的 $\alpha\beta$

T细胞。在一些情况下,免疫细胞可以是病毒改造的而表达多肽构建体。在一些情况下,免疫细胞可以是非病毒改造的而表达多肽构建体。多肽构建体可以编码以下的至少一部分:T细胞受体(TCR),抗体,嵌合抗原受体(CAR),B细胞受体及它们的任何组合。在一些情况下,至少一部分TCR可以是工程化的TCR。TCR可以是 $\gamma\delta$ TCR。 $\gamma\delta$ TCR可以是 $\gamma 9\delta 2$ TCR或 $\gamma 5\delta 1$ TCR。 $\gamma\delta$ TCR对免疫细胞可以是外源性的。免疫细胞可以扩增。免疫细胞可以给予至对其有需要的受试者。对其有需要的受试者可以在给予免疫细胞之前接受淋巴细胞删除方案。淋巴细胞删除方案可以包括给予环磷酰胺、氟达拉滨、放疗或其组合。多肽构建体可以包含 γ -TCR多肽序列、 δ -TCR多肽序列、其变体和片段中的至少一种。多肽构建体可以包含选自表2和6中的列表的 γ -TCR多肽序列的CDR3区、选自表2和5中的列表的 δ -TCR多肽序列的CDR3区、其变体和片段。多肽构建体可以包含与选自SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4的氨基酸19-309、SEQ ID NO:5的氨基酸21-293、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6至SEQ ID NO:428组成的组的序列具有至少约80%,90%,95%,98%,至约99%序列一致性的序列。组合物可以与至少一种另外的治疗剂组合而给予至对其需要的受试者。组合物可以是药物组合物。

[0007] 本文公开了一种药物组合物,包含:权利要求1至39中任一项的组合物;和以下至少一种:赋形剂,稀释剂或载体。药物组合物可以以单位剂型给予。药物组合物可以是以片剂,液体,糖浆,口服制剂,静脉内制剂,鼻内制剂,皮下制剂,可吸入呼吸道制剂,栓剂及它们的任何组合的形式。药物组合物可以以输注的形式给予。在一些情况下,给予药物组合物会至少部分改善对其有需要的受试者中的疾病或病症。改善可以包括通过计算机断层扫描术(CT)扫描测量的肿瘤尺寸减小至少约30%。改善可以包括稳定肿瘤尺寸通过计算机断层扫描术(CT)扫描测量的肿瘤损伤直径的基线测量中所测量的小于10%的变化。

[0008] 本文公开了一种治疗对其有需要的受试者的方法,包括向受试者给予:有效量的包含多肽构建体的药物组合物,多肽构建体结合与至少一种另外的HLA分子复合的人白细胞抗原(HLA)分子,并且其中多肽构建体不结合未复合的HLA分子。在某些情况下,当HLA分子不与至少一种另外的HLA分子复合时,多肽构建体不会结合HLA分子。HLA分子可以是HLA-A血清型或其变体。HLA-A可以是HLA-A*24。HLA-A24可以是HLA-A*24:02。多肽构建体可以包含 γ -TCR多肽序列, δ -TCR多肽序列,其变体和片段中的至少一种。多肽构建体可以包含选自表2和6中的列表的 γ -TCR多肽序列的CDR3区、选自表2和5中的列表的 δ -TCR多肽序列的CDR3区、其变体和片段。多肽构建体可以包含与选自SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4的氨基酸19-309、SEQ ID NO:5的氨基酸21-293、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6至SEQ ID NO:428组成的组的序列中的序列具有至少约80%,90%,95%,98%,至约99%序列一致性的序列。在一些情况下,方法可以进一步包括向对其有需要的受试者给予细胞因子、化疗、放疗或其组合中的至少一种。细胞因子可以是白细胞介素-2。在一些情况下,化疗可以包含环磷酰胺或氟达拉滨中的至少一种。在一些情况下,多肽构建体可以是冻干的。在一些情况下,方法可以进一步包含佐剂、稀释剂、载体或它们的组合。

[0009] 本文公开了一种治疗包括异常HLA-A*24表达的疾病的方法,方法包括给予结合人白细胞抗原(HLA)-A*24的至少一部分的第一治疗剂,和以下至少一种:随后再次给予所述第一治疗剂,和给予第二种治疗剂。第一治疗剂可以包含至少一部分T细胞受体(TCR),抗体,嵌合抗原受体(CAR),B细胞受体及它们的任何组合。在某些情况下,至少一部分TCR可以

是 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR。TCR可以是 $\gamma\delta$ TCR。第一治疗剂可以是表达 $\gamma\delta$ TCR的工程化细胞。工程化细胞可以来自淋巴系或髓系。工程化细胞可以来自淋巴系并可以选自自然杀伤(NK)细胞,B细胞或T细胞。工程化细胞可以是T细胞。当HLA-A*24可以与至少一种另外的HLA分子复合时,第一治疗剂可以结合癌细胞。在一些情况下,再给予可以在给予第一治疗剂后约24小时至约1年进行。在一些情况下,方法可以进一步包括通过定量PCR(qPCR)或流式细胞术中的至少一种检测第一治疗剂的水平。第二种治疗剂可以选自由化学治疗剂,放射治疗剂或免疫治疗剂组成的组。第二种治疗剂可以是免疫治疗剂。

[0010] 本文公开了一种工程化细胞,包含:编码多肽构建体的基因组改变,多肽构建体在HLA分子与靶细胞上的至少一个另外的HLA分子复合时会选择性地结合所述靶细胞上的人白细胞抗原(HLA)分子或其部分,其中所述多肽构建体不结合未复合的HLA分子,或者在所述HLA分子不与至少一个另外的HLA分子复合时不会结合所述HLA分子。HLA可以包括I类,II类或其组合。HLA可以包含I类(HLA-I)。HLA-I可以包括HLA-A。HLA-A可以是HLA-A*24。HLA-A*24等位基因可以包括HLA-A*24:02。在一些情况下,基因组改变可以包括敲入,敲入包括所述多肽构建体的病毒引入。病毒引入可以包含选自由慢病毒、逆转录病毒、腺病毒及其任何组合组成的组的病毒。病毒引入可以包括逆转录病毒。在一些情况下,多肽构建体可以包含至少一种 $\gamma\delta$ TCR或其片段或变体。 $\gamma\delta$ TCR可以包含选自表2和6中的列表的 γ -TCR多肽序列、选自表2和5中的列表的 δ -TCR多肽序列的CDR3区,其变体和片段。多肽构建体可以在至少一种另外的肽和/或至少一种共同受体的存在下选择性结合靶细胞上的HLA。在一些情况下,至少一种共同受体可以选自由CD8,CD4,CD28,CCR和CXCR4组成的组。至少一种共同受体可以是CD8。至少一种共同受体可以是CD8 α 或CD8 β 中的至少一种。

[0011] 本文公开了包含权利要求72-86中任一项所述的工程化细胞的细胞群体。在一些情况下,约60%至约100%的工程化细胞可以表达多肽构建体。工程化细胞可以是多个 $\alpha\beta$ T细胞。细胞群体可以给予至对其有需要的受试者而控制、减少或消除癌症。在一些情况下,当细胞群体给予至对其有需要的受试者时,可以控制、减少或消除病毒感染。通过计算机断层扫描术(CT)扫描测量,给予工程化细胞可以有效降低肿瘤尺寸至少30%。给予可以有效稳定肿瘤尺寸,如肿瘤病变的直径的基线测量的小于10%的变化(如通过计算机断层扫描术(CT)扫描测量)测量的。在一些情况下,可以将约 5×10^4 至约 1×10^{12} 个细胞给予至对其有需要的受试者。在一些情况下,与未治疗的受试者相比,给予可以将对其有需要的受试者的寿命延长约1周至约50年。在一些情况下,工程化细胞可以通过抗体的结合而抑制。抗体的结合可以降低与给予工程化细胞相关的毒性。变体可以是人源化变体。在某些情况下,变体是scFv或scFab。

[0012] 本文公开了一种多核酸,其包含与编码SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4的氨基酸19-309、SEQ ID NO:5的氨基酸21-293、SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5中的至少一种的多肽序列的序列具有至少90%,95%,97%或99%的一致性的序列。

[0013] 本文公开了一种工程化细胞,其包含与SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4的氨基酸19-309和SEQ ID NO:5的氨基酸21-293、SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5中的至少一种至少95%,96%,97%,98%或99%一致性的受体序列。

[0014] 本文公开了一种工程化细胞,其包含具有与SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4的氨基酸19-309、SEQ ID NO:5的氨基酸21-293、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID

NO:6至SEQ ID NO:428中的至少一种具有至少95%,96%,97%,98%或99%的一致性的序列的受体的至少一部分。在某些情况下,工程化细胞可以扩增为工程化细胞群体。工程化细胞群体可以配制成药物组合物。

[0015] 本文公开了一种多肽,多肽在HLA分子与靶细胞上的至少一个另外的HLA分子复合时会选择性结合所述靶细胞上的人白细胞抗原(HLA)分子或其部分,其中所述多肽不结合未复合的HLA分子或在所述HLA分子未与至少一种另外的HLA分子复合时不会结合所述HLA分子。在一些情况下,HLA分子可以是HLA-A血清型或其变体,优选地HLA-A血清型可以是HLA-A*24,更优选地HLA-A*24可以是HLA-A*24:02。靶细胞可以是癌细胞,优选癌细胞可以异常表达HLA分子。在一些情况下,多肽可以是包含CDR3区的 δ T细胞受体链或其部分, δ T细胞受体链或其部分可以由氨基酸序列表示,该氨基酸序列包含与氨基酸序列SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5的氨基酸21-293、SEQ ID NO:5或SEQ ID NO:6至237中的任一种具有至少60%的序列一致性或相似性的氨基酸序列。在一些情况下,多肽可以是包含CDR3区的 γ T细胞受体链或其部分、由与氨基酸序列SEQ ID NO:2,SEQ ID NO:4的氨基酸19-309、SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:238至428中任一种具有至少60%序列一致性或相似性的氨基酸序列表示的 γ T细胞受体链或其部分。

[0016] 本文公开了一种T细胞受体(TCR),优选包含 δ T细胞受体链或其部分和 γ T细胞受体链或其部分的工程化TCR。

[0017] 本文公开了一种编码多肽或TCR的核酸分子。

[0018] 本文公开了一种包含核酸分子的核酸构建体。

[0019] 本文公开了一种包含核酸构建体的细胞。

[0020] 本文公开了一种用作药物的多肽,TCR,核酸分子,核酸构建体或细胞。

[0021] 本文公开了一种适用于用作对抗癌症或感染的药物的多肽、TCR、核酸分子、核酸构建体或细胞。

[0022] 本文公开了一种降低与给予工程化细胞或细胞相关的毒性的方法,包括向对其有需要的受试者给予至少一种抗体或其部分。在一些情况下,抗体可以是阻断抗体或中和抗体。抗体或其部分可以抑制工程化细胞或细胞与表达HLA-A*24:02的细胞的结合。表达HLA-A*24:02的细胞可以是癌细胞或相当的正常细胞中的至少一种。给予至少一种抗体或其部分可以降低对其有需要的受试者中细胞因子释放综合征(CRS)的水平。

[0023] 本文提供了具有稳健保质期的组合物和药物组合物。在一些情况下,含有至少一种本文描述的多肽或表达本文描述的多肽的细胞的本文描述的组合物或药物组合物储存于25℃或4℃的密封容器中,并且容器置于具有30%,40%,50%,60%,70%,75%,80%,90%或95%的相对湿度的气氛中。在1个月,2个月,3个月,6个月,1年,1.5年,2年,2.5年或3年后,如由标准方案测定的,组合物或药物组合物仍保留至少50%,60%,70%,80%或90%。

[0024] 通过引证的并入

[0025] 本文中的所有出版物、专利和专利申请引入作为参考的程度如同每个各个出版物、专利或专利申请都明确而各自指出结合于本文中作为参考。如果本文的术语与引入的参考文献中的术语之间存在冲突,则以本文中的术语为主。

附图说明

[0026] 在所附权利要求中具体阐述了本公开的新颖特征。通过参考以下详细描述将获得对本公开的特征和优点的更好理解,详细描述阐述了可以利用本公开的原理的举例说明性实施方式和附图,其中:

[0027] 图1A显示了ELISPOT试验的结果,其中本文描述的 $\gamma\delta$ -T细胞克隆与SW480、EBV-LCL和PBMC共培养。显示了IFN γ 点/15,000个 $\gamma\delta$ T细胞。图1B显示了与SW480、EBV-LCL和PBMC共培养的本文描述的模拟转导细胞和 $\gamma\delta$ -TCR细胞的ELISPOT试验的结果。显示了IFN γ 点/15,000个 $\gamma\delta$ T细胞。

[0028] 图2显示了ELISPOT试验的结果,其中本文描述的 $\gamma\delta$ -TCR细胞与LCL-TM、DAUDI、U266、OPM2和SW480肿瘤细胞系共培养。显示了IFN γ ELI点计数。

[0029] 图3A显示了IFN γ ELISA试验的结果,其中本文描述的 $\gamma\delta$ -TCR与COS7-A*02、COS7-A*24、K562-A*02、K562-A*24、K562-WT ATCC和PBMCs d206共培养。图3B显示了IFN γ ELISA试验的结果,其中本文描述的Cyto D预处理的 $\gamma\delta$ -TCR与COS7-A*02、COS7-A*24、K562-A*02、K562-A*24、K562-WT ATCC和PBMCs d206共培养。

[0030] 图4A显示了IFN γ ELISA试验的结果,其中本文描述的 $\gamma\delta$ -TCR与COS7-A*02、COS7-A*24、K562-A*02、K562-A*24、K562-WT ATCC和PBMCs d206共培养。图4B显示了IFN γ ELISA试验的结果,其中本文描述的 $\gamma\delta$ -TCR与固定靶: COS7-A*02、COS7-A*24、K562-A*02、K562-A*24、K562-WT ATCC和PBMCs d206共培养。

[0031] 图5显示了HLA-A*02:01 (SEQ ID NO:439) 和HLA-A*24:02 (SEQ ID NO:440) 之间的序列比对。

[0032] 图6A显示了HLA-A*02的结构。HLA-A*02以灰色表示。 β 2M以黄色显示,肽以黑色显示,而多态性以红色显示。图6B显示了HLA-A*02的结构。HLA-A*02以灰色显示。 β 2M显示为黄色,肽显示为黑色,而多态性显示为红色。

[0033] 图7A显示了HLA-A*02的结构。图7B显示了HLA-A*02的结构。

[0034] 图8A显示了采用FE-11样杂交瘤上清液的的阻断对本文描述的 $\gamma\delta$ TCR转导的T细胞对SW480和LCL-TM的识别的影响。图8B显示了采用FE-11样杂交瘤上清液的的阻断对 $\alpha\beta$ TCRT WT1转导的T细胞对负载WT1肽的SW480的识别的影响。图8C显示了LABScreen单抗原HLA I类珠与结合HLA的抗体温育,其中所述抗体由杂交瘤纯化,并且完全或部分结合HLA并结合次级 α -mIgG-PE,并且使用Luminex测量。

[0035] 图9显示了示例性筛选方法,其中分离的克隆产生特异性结合 $\gamma\delta$ TCR反应性肿瘤细胞或Daudi阴性对照的抗体。

[0036] 图10A显示了用本文描述的 $\gamma\delta$ TCR转导的T细胞通过具有不同HLA基因型的EBV-LCL和作为阴性对照的Daudi的活化。图10B显示了用 $\gamma\delta$ TCR FE11转导的T细胞通过HLA-A*24:02或HLA-A*02:01靶细胞的活化。图10C显示了HLA-A*24:02阳性靶细胞的 β 2 μ m KO对 $\gamma\delta$ TCR FE11转导的T细胞的活化的影响。图10D显示了用 $\gamma\delta$ TCR FE11转导的T细胞通过采用不同纯合或杂合HLA-A*24:02表达的EBV-LCL的活化。图10E显示了用本文的 $\gamma\delta$ TCR转导的T细胞通过未经处理或用莫能菌素(monensin)处理过夜的K562HLA-A*24:02细胞的活化。图10F显示了用本文的 $\gamma\delta$ TCR或TCR WT1 (对照) 转导的Jurma细胞通过LCL-TM或A2限制性WT1肽负载T2细胞的活化。通过结合于板的 α -CD3mAb克隆OKT-3的CD3交联用作阳性对照。

[0037] 图11显示识别的降低与 $\beta 2$ -微球蛋白($\beta 2$) KO的百分比相当。与对照相比,识别的LCL内($\beta 2\mu m$)的CRISPR/Cas9KO降低了对TEG011as的识别。

[0038] 图12A显示了本文描述的 $\gamma \delta$ TCR转导的T细胞在恶性细胞和健康T细胞上的活化。图12B显示了EBV转化并与本文描述的 $\gamma \delta$ TCR或模拟转导的T细胞共培养的健康供体B细胞。识别通过使用ELISA测量IFN γ 分泌评价。

[0039] 图13A显示了经由干扰素- γ 表达对采用本文描述的 $\gamma \delta$ TCR转导的T细胞通过HLA-A*24:03阳性或阴性靶细胞的活化。图13B显示了HLA-A*24:02 (SEQ ID NO:441), 02:01 (SEQ ID NO:442), 24:03 (SEQ ID NO:443) 和25:01 (SEQ ID NO:444) 与两个以红色表示的非同源氨基酸的比对。图13C显示了HLA-A*02:01和HLA-A24:02之间的差异,其绘制于HLA-A24:02 (pdb:3w19) 的结构上,HLA-A*24:02和HLA-A*24:03之间的两个非同源氨基酸显示于红色圆圈中。图13D显示了通过未负载的或负载有A*24限制的病毒肽NEF (134-10) 或CMV (pp65341-349) 的HLA-A*24:02转导TAP缺陷T2细胞对用本文描述的 $\gamma \delta$ TCR转导的T细胞的活化。图13E显示了与WT1TCR、NY-ES01TCR和TCR转导T细胞结合的WT1四聚体、NY-ES01五聚体和CMV五聚体。图13F显示了硼替佐米(bortezomib)处理HLA-A*24:02转导的靶细胞对 $\gamma \delta$ TCR转导的T细胞的活化的影响。图13G显示了通过流式细胞术FRET在HLA-A*24:02阳性识别和未识别的细胞上的同源二聚化的评价。图13H显示了用本文描述的 $\gamma \delta$ TCR或 $\alpha \beta$ TOWT1 (对照) 转导的T细胞通过HLA-A*24:02转导的COS-7和K562或HLA-A*02:01 (对照) 的活化。其中所指示的靶细胞在共培养之前进行了固定。在这种情况下所指示的靶细胞与WT1肽共培养。

[0040] 图14A显示了克隆FE11和 $\gamma \delta$ TCR转导的 $\alpha \beta$ T细胞上的CD8 α 或CD8表达。图14B显示了用本文中描述的 $\gamma \delta$ TCR转导的CD4 $^{+}$ 和CD8 $^{+}$ $\alpha \beta$ T细胞进行分选并与所指示靶细胞共培养。T细胞活化通过IFN γ ELISPOT进行评价。图14C显示了表达本文中描述的 $\gamma \delta$ TCR的CD4 $^{+}$ 和CD8 $^{+}$ $\alpha \beta$ T细胞与SW480靶细胞共培养,这正如(A)中那样但现在存在对照抗体或抗CD8 α 或CD8的阻断抗体。图14D显示了本文中描述的 $\gamma \delta$ TCR转导Jurma细胞通过CD69上调测量的HLA-A*24:02阳性和阴性靶细胞的活化。图14E显示了 $\alpha \beta$ TCR WT1转导Jurma细胞通过负载HLA-A*02限制性WT1肽的HLA-A*02:01阳性靶细胞的活化。通过孔板结合的 α -CD3mAb克隆OKT-3交联的CD3用作阳性对照物(D+E)。图14F显示了 $\alpha \beta$ T细胞用野生型CD8 α 或截短信号传导缺陷型CD8 α 变体(CD8 α')进行转导;与FE11 $\gamma \delta$ TCR一起,之后对CD4 $^{+}$, CD8 $^{+}$, CD4+CD8 α^{+} 和CD4+CD8 α' +T细胞群进行分选。通过使用ELISPOT测量IFN γ 分泌对健康PBMC和SW480和EBV-LCL肿瘤靶标的识别进行评价。

具体实施方式

[0041] 以下的描述和实施例详细举例说明本公开的实施方式。应该理解的是,本发明不限于本文的具体实施方式,而因此可以进行变化。本领域技术人员将认识到的是,本公开存在许多变化和修改,这些变化和修改都包含于其范围内。除非另有说明,否则任何实施方式都可以与任何其他实施方式组合。

[0042] 所有术语旨在理解为本领域技术人员将会对其的理解。除非另外定义,否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本公开所属领域的普通技术人员通常理解的含义相同的含义。

[0043] 如本文所用,除非另有说明,本文的一些发明实施方式设想了数值范围。本发明的

各个方面可以以范围形式呈现。应当理解的是,范围形式的描述仅仅是为了方便和简洁,而不应该被解释为对本发明范围的僵化限制。因此,应该将范围的描述当成已经具体公开了所有可能的子范围以及范围内的各个数值,如同明确写出一样。例如,如1至6的范围的描述应该认为具有具体公开的子范围,如1至3,1至4,1至5,2至4,2至6,3至6等,以及范围内的各个数,例如,1,2,3,4,5和6。无论范围的宽度如何,这都适用。当存在范围时,范围都包括范围的端点。

[0044] 以下定义是对本领域的补充,并涉及本申请,而不应归咎于任何相关或不相关的案例,例如,任何共同拥有的专利或申请。尽管与本文描述的那些类似或等同的任何方法和材料都可以用于测试本公开的实践中,但优选的材料和方法都在本文中进行了描述。因此,本文中使用的术语仅用于描述具体实施方式的目的,而非旨在是限制性的。

[0045] 定义

[0046] 如本文所用,除非另有说明,否则冠词“一个”除非另有明确规定意指一个或多个。

[0047] 如本文所用,除非另有说明,如“含有(contian)”,“含(contianing)”,“包括(include)”,“包含(including)”等术语都表示“包含”。

[0048] 本文使用的术语“活化”及其语法等同物可以是指细胞从休眠状态转变为活性状态的过程。这个过程可以包括对抗原的反应,迁移,和/或对功能活性状态的表型或遗传改变。

[0049] 如本文所用的“抗原”是指被抗原结合单元特异性识别和结合的物质。抗原可以包括肽,蛋白质,糖蛋白,多糖和脂质;其部分及其组合。“抗原”也可以是指引发免疫反应的分子。这种免疫反应可能涉及抗体产生,或特异性免疫活性细胞的活化,或这两者。技术人员将会理解的是,任何大分子,包括几乎所有蛋白质或肽,都可以用作抗原。

[0050] 本文使用的术语“自体的”及其语法等同物可以是指源自相同的存在。例如,样品(例如,细胞)可以被移除,处理,并在稍后的时间将其返回给相同的受试者(例如,患者)。自体过程有别于供体和受体是不同的受试者的同种异体过程。

[0051] 如在本说明书和权利要求中所使用的词语“包含(comprising)”(和任何形式的包含,例如,“包含(comprise)”和“包含(comprises)”),“具有(having)”(和任何形式的具有,例如,“具有(have)”和“具有(has)”),“包括(including)”(和任何形式的包括,如“包括(include)”和“包括(includes)”)或“含有(containing)”(和任何形式的含有,如“含有(contain)”和“含有(contains)”)都是包含性或开放性的,并不排除其他未列举的要素或方法步骤。据设想,本说明书中讨论的任何实施方式可以关于本发明的任何方法或组合物进行实施,反之亦然。此外,本发明的组合物可以用于实现本发明的方法。

[0052] 本文使用的术语“表位”及其语法等同物可以是指可以被抗体,B-细胞,T细胞或表达本文描述的多肽构建体的工程化细胞识别的抗原的片段的部件或一部分。例如,表位可以是被TCR识别的癌症表位,例如,本文描述的 $\gamma\delta$ TCR。抗原内的多个表位也可以被识别。表位也可以突变。

[0053] 本文使用的术语“工程化的”及其语法等同物可以是指核酸的一种或多种改变,例如,生物体基因组内的核酸或多肽的核酸。术语“工程化的”可以是指基因或多肽的改变,添加和/或缺失。工程化细胞也可以是指具有添加,缺失和/或改变的基因或多肽的细胞。

[0054] 本文使用的术语“细胞”或“工程化细胞”及其语法等同物可以是指人或非人动物

来源的细胞。工程化细胞也可以是指工程化效应细胞。在某些情况下,工程化细胞是指经工程改造而表达本文多肽构建体的效应细胞。

[0055] 本文使用的术语“良好生产规范”(GMP)及其语法等同物可以是指根据FDA的安全,有效或纯的产品。GMP有时也可称为“cGMP”。“c”代表“当前”。产品厂商可以采用最新的技术和系统,以符合GMP产品的法规。与研究背景相反,GMP相容性产品通常用于临床环境中。

[0056] 如本文所用的术语“转染”是指将外源性核酸引入真核细胞中。转染可以通过本领域已知的多种方法,包括磷酸钙-DNA共沉淀,DEAE-葡聚糖介导转染,聚凝胺(polybrene)介导转染,电穿孔,显微注射,脂质体融合,脂质转染,原生质体融合,逆转录病毒感染和基因枪(biolistic)完成。

[0057] 术语“稳定的转染”或“稳定地转染的”是指将外源性核酸、DNA或RNA引入和整合到转染的细胞的基因组中。术语“稳定的转染子”是指将外源性DNA稳定地整合到基因组DNA中的细胞。

[0058] 当核酸和/或核酸序列天然地或人工地从共同的祖核酸或核酸序列衍生时,它们是“同源的”。多种蛋白质(或多种多肽)和/或蛋白质(多肽)序列在其编码的DNA天然地或人工地衍生于共同的祖核酸或核酸序列时就是同源的。

[0059] 在本发明的上下文中,多肽由氨基酸序列表示。优选的多肽是 δ T细胞和/或 γ T细胞受体链或其部分,其介导如本文结束的抗肿瘤响应。在本发明的上下文中,核酸分子,作为编码这种 δ T细胞和/或 γ T细胞受体链或其部分的核酸分子,由编码这种多肽的核酸或核苷酸序列表示。核酸分子可以包含调节区。应该理解的是,通过给定的序列识别号(SEQ ID NO)在本文中确定的每个核酸分子或多肽或构建体并不限于所公开的这个具体序列。在整个本申请中,每当指代编码给定多肽的具体核苷酸序列SEQ ID NO(以SEQ ID NO:X为例)时,其可以用如下定义的同源核苷酸序列代替:i.包含与SEQ ID NO:X具有至少60%序列一致性或相似性的核苷酸序列的核苷酸序列;ii.其互补链与(i)的序列的核酸分子杂合的核苷酸序列;(iii).由于遗传密码的简并性,其序列与(i)或(ii)的核酸分子的序列不同的核苷酸序列;或,(iv)编码与核苷酸序列SEQ ID NO:X编码的氨基酸序列具有至少60%氨基酸一致性或相似性的氨基酸序列的核苷酸序列。在本申请中,每当提及特定的氨基酸序列SEQ ID NO(以SEQ ID NO:Y为例),可以将其替换为:包含与氨基酸序列SEQ ID NO:Y具有至少60%序列一致性或相似性的氨基酸序列的多肽。本文描述的每个核苷酸序列或氨基酸序列凭借其给定核苷酸序列或氨基酸序列的一致性 or 相似性百分比(至少60%) 在另一个优选实施方式中与给定的核苷酸或氨基酸序列分别具有至少65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,97%,98%,99%或更高的一致性 or 相似性。在优选的实施方式中,序列一致性 or 相似性通过比较本文指定的序列的全长进行确定。除非本文另有说明,否则与给定SEQ ID NO的一致性 or 相似性是指基于序列的全长(即在其整个长度内或作为整体)的一致性 or 相似性。

[0060] 同源分子可以称为同源物。例如,如本文描述的任何天然存在的蛋白质都可以通过任何可用的诱变方法修改。当表达时,这种诱变的核酸会编码与由原始核酸编码的蛋白质同源的多肽。同源性通常由两种或多种核酸或蛋白质(或其序列)之间的序列一致性推断。适用于建立同源性的序列之间的精确一致性百分比随所讨论的核酸和蛋白质而变化,但是通常使用少至25%的序列一致性来建立同源性。更高水平的序列一致性,例如,30%,

40%,50%,60%,70%,80%,90%,95%或99%或更高也可以用于建立同源性。本文涵盖了至少65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,97%,98%,99%或100%的一致性。

[0061] “序列一致性”在本文中定义为两个或更多个氨基酸(多肽或蛋白质)序列或两个或多个核酸(多核苷酸)序列之间的关系,如通过比较序列而确定。两个氨基酸或两个核酸序列之间的一致性优选通过评价它们在本文中确定的整个SEQ ID NO或其部分内的一致性来评价。其部分可以是指SEQ ID NO长度的至少50%,或至少60%,或至少70%,或至少80%,或至少90%。在本领域中,“一致性”还也是指氨基酸或核酸序列之间的序列相关程度,视情况而定,这通过这些序列的链之间的匹配度进行确定。两个氨基酸序列之间的“相似性”通过比较一种多肽的氨基酸序列及其保守氨基酸替代物与第二种多肽的序列而进行确定。“一致性”和“相似性”可以通过已知方法容易地计算,方法包括,但不限于Computational Molecular Biology,Lesk,A.M.,ed.,Oxford University Press,New York,1988;Biocomputing:Informatics and Genome Projects,Smith,D.W.,ed.,Academic Press,New York,1993;Computer Analysis of Sequence Data,Part I,Griffin,A.M.,and Griffin,H.G.,eds.,Humana Press,New Jersey,1994;Sequence Analysis in Molecular Biology,von Heine,G.,Academic Press,1987;和Sequence Analysis Primer,Gribskov,M.and Devereux,J.,eds.,M Stockton Press,New York,1991;和Carillo,H.,and Lipman,D.,SIAM J.Applied Math.,48:1073(1988)中描述的那些。用于确定一致性的优选方法设计为提供所测试序列之间的最大匹配。确定一致性和相似性的方法编码于公众可用的计算机程序中。确定两个序列之间的一致性和相似性的优选计算机程序方法包括,例如,GCG程序包(Devereux,J.,et al.,Nucleic Acids Research 12(1):387(1984)),BestFit,BLASTP,BLASTN和FASTA(Altschul,S.F.et al,J.Mol.Biol.215:403-410(1990))。BLAST X程序可以从NCBI和其他来源公开获得(BLAST Manual,Altschul,S.,et al,NCBI NLM NIH Bethesda,MD 20894;Altschul,S.,et al,J.Mol.Biol.215:403-410(1990))。众所周知的Smith Waterman算法也可以用于确定一致性。多肽序列比较的优选参数包括以下这些:算法:Needleman and Wunsch,J.Mol.Biol.48:443-453(1970);比较矩阵:BLOSSUM62,来自Hentikoff and Hentikoff,Proc.Natl.Acad.Sci.USA.89:10915-10919(1992);空位罚分:12;和空位长度罚分:4。用于这些参数的程序可以作为位于威斯康星州麦迪逊市的Genetics Computer Group的“Ogap”程序公开获得。上述参数是氨基酸比较的默认参数(并且没有对端隙的罚分)。用于核酸比较的优选参数包括以下:算法:Needleman and Wunsch,J.Mol.Biol.48:443-453(1970);比较矩阵:匹配=+10,不匹配=0;空位罚分:50;空位长度罚分:3。可以从威斯康星州麦迪逊市的Genetics Computer Group的Gap程序获得。以上提供的是核酸比较的默认参数。可选地,在确定氨基酸相似性程度时,技术人员还可以考虑所谓的“保守”氨基酸取代,这对于本领域技术人员而言是清楚的。保守氨基酸取代是指具有相似侧链的残基的可互换性。例如,具有脂族侧链的一组氨基酸是甘氨酸,丙氨酸,缬氨酸,亮氨酸和异亮氨酸。具有脂族-羟基侧链的一组氨基酸是丝氨酸和苏氨酸;具有含酰胺侧链的一组氨基酸是天冬酰胺和谷氨酰胺;具有芳族侧链的一组氨基酸是苯丙氨酸,酪氨酸和色氨酸;具有碱性侧链的一组氨基酸是赖氨酸,精氨酸和组氨酸;而具有含硫侧链的一组氨基酸是半胱氨酸和甲硫氨酸。优选的保守氨基酸取代组别是:缬氨酸-亮氨酸-异亮氨酸,苯丙氨酸-酪氨酸,赖氨酸-精氨酸,丙

氨酸-缬氨酸和天冬酰胺-谷氨酰胺。本文公开的氨基酸序列的取代变体是其中已除去所公开的序列中的至少一个残基并在其位置上插入不同残基的那些变体。优选氨基酸变化是保守的。每种天然存在的氨基酸的优选保守取代如下:Ala-Ser;Arg-Lys;Asn-Gln或His;Asp-Glu;Cys-Ser或Ala;Gln-Asn;Glu-Asp;Gly-Pro;His-Asn或Gln;Ile-Leu或Val;Leu-Ile或Val;Lys-Arg,Gln或Glu;Met-Leu或Ile;Phe-Met,Leu或Tyr;Ser-Thr;Thr-Ser;Trp-Tyr;Tyr-Trp或Phe;和Val-Ile或Leu。

[0062] 如本文所用的术语“编码…的核酸分子”,“编码…的DNA序列”和“编码…的DNA”是指沿着脱氧核糖核酸链的脱氧核糖核苷酸的顺序或序列。这些脱氧核糖核苷酸的顺序决定了多肽(蛋白质)链上氨基酸的顺序。因此核酸序列编码氨基酸序列。

[0063] 如本文所用的术语“受试者”是指任何动物,例如,哺乳动物或有袋动物。本发明的受试者包括,但不限于,人,非人灵长类动物(例如恒河猴或其他类型的猕猴),小鼠,猪,马,驴,牛,绵羊,大鼠和任何种类的家禽。

[0064] 本文使用的术语“受体”及其语法等同物可以是指接受疗法或治疗的人或非人动物。

[0065] 本文使用的术语“外周血淋巴细胞”(PBL)及其语法等同物可以是指在血液中循环的淋巴细胞(例如,外周血)。外周血淋巴细胞可以是指未定位于器官的淋巴细胞。外周血淋巴细胞可以包含T细胞,NK细胞,B-细胞或其任何组合。

[0066] 术语“免疫响应细胞”可以是指可以引发免疫响应的细胞,包括但不限于,T细胞,B-细胞和NKT细胞,其各自前体细胞及其后代。免疫响应细胞也可以是指淋巴或骨髓系的细胞。

[0067] 本文使用的术语“T细胞”及其语法等同物可以是指来自任何来源的T细胞。例如,T细胞可以是原代T细胞,例如,自体T细胞,细胞系等。T细胞也可以是人源或非人源的。

[0068] 本文使用的术语“T细胞活化”或“T细胞触发”及其语法等同物可以是指已被充分刺激而诱导可检测的细胞增殖、细胞因子产生和/或可检测的效应子功能的T细胞的状态。在一些情况下,“T细胞完全活化”可以类似于触发T细胞的细胞毒性。T细胞活化可以使用本领域已知的各种试验测量。所述试验可以是用于测量细胞因子分泌的ELISA,ELISPOT,用于测量细胞内细胞因子表达(CD107)的流式细胞术试验,用于测量增殖的流式细胞术试验法,以及用于测定靶细胞消除的细胞毒性试验(51Cr释放试验)。

[0069] 当用于指代核苷酸序列(序列表中的SEQ ID NO)时,术语“序列”及其语法等同物可以涵盖DNA或RNA,并可以是单链或双链的。核酸序列可以突变。核酸序列可以具有任何长度,例如,长度为2至1,000,000或更多个核苷酸(或其间或之上的任何整数值),例如,约100至约10,000个核苷酸或约200至约500个核苷酸。

[0070] 如本文中定义,多肽构建体优选是工程化的多肽或重组多肽,其通过标准分子生物学技术构建并且天然不存在。表述“多肽构建体”可以用词语多肽代替。

[0071] 当与整数结合使用时的词语“约”(约10)优选是指值可以是给定值10多或少1的值:约10优选表示9至11。当与数值(约10.6)结合使用时,词语“约”优选是指值可以是给定值10.6多或少值10.6的1%。

[0072] 在本发明的上下文中,提及的健康、正常或非癌性的或未感染的细胞是相比于患病、癌症、异常、恶性或感染细胞。每个术语健康、正常、非癌或未感染是同义词,并可以互换

使用。每个术语患病、异常都是同义词,并可以与癌性、恶性或感染互换。

[0073] 在本发明的上下文中,核酸或核酸序列或多肽或多肽序列或表位或表位序列的部件或片段或一部分是指其序列长度的至少50%,或至少60%,或至少70%,或至少80%,或至少90%。

[0074] 术语“载体”及其语法等同物可以是指物质的组合物,其包含分离的核酸并可以用于将分离的核酸递送至细胞的内部。本领域已知许多载体,包括但不限于,线性多核苷酸,与离子或两亲化合物缔合的多核苷酸,质粒和病毒。因此,术语“载体”包括自主复制的质粒或病毒。术语还应该解释为包括促进核酸转移到细胞中的非质粒和非病毒化合物,如例如,聚赖氨酸化合物,脂质体等。病毒载体的实例包括,但不限于,腺病毒载体,腺相关病毒载体,逆转录病毒载体等。

[0075] 靶向组合物及其使用方法

[0076] 本文公开了一种在细胞表面上检测到HLA受体时会介导抗肿瘤响应的人白细胞抗原(HLA)特异性受体组合物。在某些实施方式中,是一种包含多肽构建体的组合物,多肽构建体包含一种或多种HLA特异性受体,例如,可以介导抗肿瘤响应的 $\gamma\delta$ TCR片段或其变体。本文描述的多肽可以用于选择性结合构象受限的HLA分子。在具体的实施方式中,与非癌细胞上的相应HLA分子相比,本文描述的多肽构建体可以选择性地结合癌细胞上表达的HLA分子。本文描述的多肽构建体可以包含至少一种包含表2,表4和表5中任意之一中公开的序列或的受体其部分。在一些情况下,本文可以提供包含可以含有一种或多种HLA特异性受体,例如,可以介导抗肿瘤响应的 $\gamma\delta$ TCR片段或其变体的多肽构建体的组合物。本文公开的多肽可以用于选择性结合构象受限的HLA分子。例如,当HLA分子可以与靶细胞上的至少一种另外的HLA分子复合时,本文公开的多肽构建体可以选择性地结合靶细胞上的HLA分子或其部分。在一些情况下,多肽构建体不与未复合的HLA分子结合。在一些实施方式中,未复合的HLA分子是未与至少一种另外的HLA分子复合的HLA分子。多肽构建体可以在工程化细胞中表达或是合成的。

[0077] 在一些情况下,是一种制备表达包含本文描述的HLA受体的多肽构建体的工程化细胞的方法。例如,方法可以包括以下步骤:提供细胞;提供编码 $\gamma\delta$ TCR链或其片段或变体的核酸序列,将核酸序列引入细胞中而提供对HLA表现出特异性的具有 $\gamma\delta$ TCR受体、其片段或变体的工程化细胞。

[0078] 在一些实施方式中,是一种当HLA分子与靶细胞上的至少一种另外的HLA分子复合时选择性结合所述靶细胞上的所述HLA分子或其部分的多肽构建体。在一些情况下,多肽构建体不会与未与至少一种另外的HLA分子复合的HLA分子(在某些实施方式中也称为未复合的HLA分子)结合。在一些情况下,多肽构建体可以表达于工程化细胞中或是合成的。

[0079] 本文中公开的是由本文描述的多肽构建体所包含的各种形式的结合单元。例如,由本文描述的多肽构建体所包含的结合单元可以是 $\gamma\delta$ TCR,例如,包含表2,表4和表5中至少一个公开的序列。 $\gamma\delta$ TCR可以直接识别以完整蛋白质或非肽类化合物形式的抗原,与识别结合于主要组织相容性复合物分子(MHC)的肽抗原的 $\alpha\beta$ TCR不同。伽马-德尔塔T细胞($\gamma\delta$ T细胞)可以表达独特的T细胞受体(TCR),其在某些情况下由一个 γ 链和一个 δ 链组成。每个T细胞受体可以由一个 α 链和一个 β 链或一个 δ 和一个 γ 链组成的二聚体。在单个细胞中,T细胞受体基因座重排并按照 δ , γ , β 和 α 的顺序表达。 γ 基因座包括V(可变),J(连接)和C(恒

定) 区段。

[0080] 例如, 在一些情况下, $\gamma\delta$ T 细胞克隆可以识别 I 类或 II 类 MHC, 包括 HLA-DR7, HLA-A2, HLA-A*24 (参见 Spits et al, 1990, Cytotoxic activity and lymphokine production of T cell receptor (TCR) - $\alpha\beta^+$ and TCR- $\gamma\delta^+$ cytotoxic T lymphocyte (CTL) clones recognizing HLA-A2 and HLA-A2 mutants, The Journal of Immunology 144:4156-4162, 和 Ciccone et al., 1989, Specificity of human T lymphocytes expressing a γ/δ T cell antigen receptor. European Journal of Immunology 19:1267-1271)。然而, 与上述参考文献直接相反的是, 本文中描述的 $\gamma\delta$ T 细胞组合物会识别由恶性细胞而非健康对应细胞表达的 HLA-A*24:02, 并且识别可以通过细胞固定进行抑制, 这可能间接表明了识别期间的空间和构象变化, 这与 $\alpha\beta$ T 细胞的经典的异体-或肽-反应性不同。

[0081] 在本文描述的实施方式中, 多肽构建体包含可以靶向癌症的 $\gamma\delta$ TCR。各种可以用工程化 T 细胞, 包括 $\gamma\delta$ TCR 工程化的 T 细胞, 靶向的癌症的实例包括但不限于, 肝癌, 胃癌, 食道癌, 肺癌, 乳腺癌, 头颈癌, 卵巢癌, 肾癌, 膀胱癌, 宫颈癌, 胰腺癌, 脂肪肉瘤, 睾丸非精原细胞瘤性生殖细胞瘤, 黑素瘤, 腺瘤, 肾上腺癌, 神经鞘瘤, 恶性、纤维性组织细胞瘤或其任何组合。此外, 本文公开的免疫响应性细胞, 如本文公开的表达 $\gamma\delta$ TCR 的 T 细胞, 可以用于靶向卵巢癌, 胆管癌, 间皮瘤, 乳腺癌, 肺鳞状细胞癌, 宫颈上皮内瘤变, 宫颈鳞状细胞癌, 肝内和肝外癌, 胆囊癌, 浸润性导管癌, 透明细胞癌, 嗜酸细胞瘤, 乳头状癌, 腺癌, 乳头状癌和乳腺小叶和髓样癌。

[0082] 在一些情况下, $\gamma\delta$ TCR 可以靶向表达于肿瘤上的抗原或其部分, 如 HLA-A*24:02, 而不需要 HLA 处理和表达。本文描述的 $\gamma\delta$ TCR 可以结合种系编码的受体库。例如, $\gamma\delta$ TCR 可以识别并结合应激诱导的自身抗原, 脂质, 或可以由一些微生物如病毒分泌的或可能在肿瘤细胞中过量产生的焦磷酸盐。 $\gamma\delta$ TCR 可以另外结合细胞的表面表达蛋白或其部分。在一些情况下, $\gamma\delta$ TCR 还可以结合由于 DNA 损伤途径而可以表达的蛋白质或其部分。在一些情况下, 本文的 $\gamma\delta$ TCR 还可以结合在癌细胞上表达的脂质或其部分。

[0083] 在一些情况下, HLA-A*24:02 可以在癌上过表达, 并在正常组织上表达降低或不表达。在一些情况下, 癌症的特异性抗原及其表位可以用 $\gamma\delta$ TCR 或内源性或外源性 $\alpha\beta$ TCR 靶向。抗原可以衍生自多种肿瘤抗原如来自突变、共有肿瘤特异性抗原、分化抗原和在肿瘤中过表达的抗原所致的肿瘤的那些肿瘤抗原。

[0084] 在一些情况下, 肽可以是任何与 HLA 中的空间和/或构象变化 (靶构象, 缩写: T-构象) 如 HLA-A*24:02 组合的自身肽, 其可能不同于健康的、非应激的或非转化的细胞。在一些情况下, 癌细胞可以以 K-构象异常表达 HLA-A 蛋白。在一些情况下, HLA-A 的复合可以包括肿瘤细胞表面上的 HLA 分子簇聚。在一些情况下, 复合物包含 K-构象。当与相当的正常细胞如非肿瘤的相当细胞相比时, K 构象可以包括肿瘤细胞上的 HLA 分子的差异性特异性分布或差异性簇聚中的至少一种。

[0085] 在一些情况下, 本文提供的是一种确定可以与期望的抗原具有免疫反应性的抗原结合单元的方法。这种方法可以包括以下步骤: (a) 制备遗传多样性的抗原结合单元的库, 其中库可以包含至少一种主题的抗原结合单元; (b) 使抗原结合单元的库与期望的抗原接触; (c) 检测抗原结合单元和抗原之间的特异性结合, 从而确定可以与期望的抗原具有免疫反应性的抗原结合单元。

[0086] 通过免疫组织化学(IHC)分析和/或流式细胞术分析可以测定抗原或T-构象(两者都可以是靶或“靶标”)的组织表达。组织表达还可以通过定量PCT(qPCR)以拷贝数进行测量。在一些情况下,靶抗原可以表达于癌细胞的表面上。 $\gamma\delta$ TCR可以以非MHC限制方式靶向细胞表面抗原。过表达通过IHC,qPCR或流式细胞仪测量可以为或可以大约为1倍,2倍,3倍,4倍,5倍,6倍,7倍,8倍,9倍,10倍,20倍,30倍,40倍,50倍,60倍,70倍,80倍,90倍,或高达100倍的正常组织上的过表达。

[0087] 抗原结合单元特异性结合至期望的抗原或靶的能力可以通过本领域已知的各种方法进行测试。参见Harlow and Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York; Gherardiet al. (1990) *J. Immunol. Meth.* 126:61-68。通常,通过免疫试验,例如,通过使所标记的抗原结合单元与固定于固体载体或底物上的抗原反应可以直接检测表现出期望的结合特异性的抗原结合单元。通常,抗原可以粘附的底物可以用在免疫试验期间表现出低水平非特异性结合的物质制成。示例性的固体载体可以由以下类型的材料中的一种或多种制成:塑料聚合物,玻璃,纤维素,硝基纤维素,半导体材料和金属。在一些实例中,底物可以是培养皿,色谱珠,磁珠等。

[0088] 对于此类固相试验,通过洗涤可以除去未反应的抗原结合单元。然而,在液相试验中,通过一些其他分离技术如过滤或层析,可以除去未反应的抗原结合单元。在将抗原与标记的抗原结合单元结合后,可以测定结合的标记的含量。这种技术的变体可以是竞争性试验,其中抗原可以与原始结合分子结合至饱和。当主题的抗原结合单元的群体可以引入至复合物中时,只有表现出更高结合亲和力的那些能够进行竞争,而因此保持与抗原结合。

[0089] 可替换地,通过细胞分选可以评价与给定抗原或给定靶标的特异性结合,细胞分选包括在待分选细胞上呈现期望的抗原,然后用可以与可检测试剂结合的抗原结合单元标记靶细胞,然后在细胞分选仪中分离标记的细胞和未标记的细胞。复杂的细胞分离方法可以是荧光激活细胞分选(FACS)。

[0090] 洗脱的抗原或靶结合单元的后续分析可以包括用于描绘轻链和重链的氨基酸序列的蛋白质测序。基于推导的氨基酸序列,然后可以通过重组克隆方法,包括PCR,库筛选,现有核酸数据库中的同源性搜索,或其任何组合,获得编码抗体多肽的cDNA。通常使用的数据库包括,但不限于,GenBank,EMBL,DDBJ,PDB,SWISS-PROT,EST,STS,GSS和HTGS。

[0091] 由于遗传密码的简并性,多肽构建体编码序列以及适合构建本文公开的多核苷酸和载体的序列的核苷酸可能存在相当大的变异。序列变体可以具有修改的DNA或氨基酸序列,一个或多个替代、缺失或添加,其净效应可以是保留期望的结合活性。例如,在不会改变编码的氨基酸或导致保守变化的编码区中可以作出各种替换。这些替换可以包括于本文中。保守氨基酸替换可以包括以下组内的替换:甘氨酸,丙氨酸;缬氨酸,异亮氨酸,亮氨酸;天冬氨酸,谷氨酸;天冬酰胺,谷氨酰胺;丝氨酸,苏氨酸;赖氨酸,精氨酸;和苯丙氨酸,酪氨酸。虽然保守替换可能不会有效地改变待生产的多肽中包含的一个或多个氨基酸残基,但替换可能不干扰要生产的得到的抗原结合单位的抗原结合活性。可能不改变编码的氨基酸残基的核苷酸替换可以用于优化不同系统中的基因表达。合适的替换对于本领域技术人员而言是已知的,并且例如,可以作出而反映表达系统中的优选密码子用途。在一些情况下,可以对结合单元进行改造而改变靶标的结合活性。

[0092] 在一些情况下,多肽构建体中的期望的结合单位可以是 $\alpha\beta$ TCR($\alpha\beta$ -TCR)。在一些实

施方式中,本文的多肽构建体包含的T细胞受体(TCR)由多个在T细胞的表面上配对而形成杂二聚体受体的链($\alpha\beta$ 或 $\gamma\delta$)构成。

[0093] $\alpha\beta$ TCR可以在体内的大多数T细胞上表达,并且可以已知会参与特异性MHC限制性抗原的识别。每个 α 和 β 链由两个结构域构成:恒定结构域(C),其将蛋白质锚定于细胞膜上并与CD3信号传导装置的不变亚单元结合;和可变结构域(V),其通过六个环提供抗原识别,称为互补决定区(CDR)。每个V结构域包括三个CDR;例如,CDR1,CDR2和CDR3,其中CDR3作为高变区。这些CDR与结合于由主要组织相容性复合物(pepMHC)编码的蛋白质的抗原肽之间形成的复合物(例如,HLA-A,HLA-B,HLA-C,HLA-DPA1,HLA-DPB1,HLA-DQA1,HLA-DQB1,HLA-DRA或HLA-DRB1复合物)相互作用。在一些情况下,恒定域进一步包括将恒定域连接到可变域的连接区。在一些情况下, β 链进一步包含短的多样性区域,其构成连接区的部分。

[0094] 在一些情况下, $\gamma\delta$ T细胞可以与不同于 $\alpha\beta$ T细胞的配体结合。例如, $\gamma\delta$ T细胞识别在某些情况下可能不会利用抗原处理,并且在某些情况下 $\gamma\delta$ T细胞可以直接识别蛋白质(Chien et al.,1996,Recognition by γ/δ T cells,Annual Review of Immunology 14: 511-532)。与 $\alpha\beta$ TCR相反, $\gamma\delta$ TCR由一条 γ 链和一条 δ 链构成。尽管 $\gamma\delta$ T细胞在体内远不如 $\alpha\beta$ T细胞丰富,但 $\gamma\delta$ T细胞会将有效的抗肿瘤效应子功能与识别广泛表达的肿瘤相关分子合并,而因此是癌症免疫治疗临床应用的强有力的候选者。大多数 $\gamma\delta$ T细胞以MHC独立的方式激活,并且不需要抗原处理,这与MHC限制的 $\alpha\beta$ T细胞相反。相反, $\gamma\delta$ T细胞依赖于与抗原呈递细胞的细胞-细胞接触,并直接识别完整蛋白质或非肽类化合物形式的抗原。通过靶细胞上的TCR介导抗原识别激活 $\gamma\delta$ T细胞可以导致细胞因子和趋化因子的产生以及靶细胞(例如,肿瘤细胞)的细胞溶解。

[0095] 在一些情况下,HLA-A*02和HLA-A*24之间的差异可以在于肽结合裂口(cleft), $\alpha 1$ 和 $\alpha 2$ 螺旋,或其组合。在一些情况下,可以改变的残基可以是HLA-A*02结构中的W107,A185,S207或其组合。在其他情况下,HLA-A*24蛋白可以分别在这些位置上具有G,P和G的替换。多态性可以存在于整个HLA-A*24蛋白中。例如,多态性可以在C-端,N-端或其组合上。

[0096] 在一些情况下,可以在HLA-A蛋白中绘制多态性。例如,HLA-A*02可以在 $\alpha 3$ 结构域上具有多态性。在某些情况下,多态性可能会对结合产生影响。在一些情况下,HLA-A蛋白上的多态性,如HLA-A*24,可以导致CD4相对于CD8结合位点的结合差异。

[0097] $V\gamma 9V\delta 2$ T细胞,人外周血中的主要 $\gamma\delta$ T细胞亚群,可以表达由 $V\gamma 9$ 和 $V\delta 2$ 链构成的 $\gamma\delta$ TCR,并被哺乳动物甲羟戊酸途径的中间体如焦磷酸异戊烯酯(IPP)或微生物2-C-甲基-D-赤藓糖醇4-磷酸酯(MEP)途径特异性激活。由于甲羟戊酸途径的失调或微生物感染,细胞内磷酸抗原(pAg)水平在肿瘤细胞中积累,允许 $V\gamma 9V\delta 2$ 细胞靶向转化或感染的细胞。类似地,通过用甲羟戊酸途径抑制剂如氨基双磷酸酯(ABP)处理细胞,可以在药理学上提高细胞内pAg水平,从而使细胞对 $V\gamma 9V\delta 2$ T细胞的识别敏化。在一些情况下, $V\gamma 5V\delta 1$ TCR可以用于本文提供的组合物中。

[0098] 任何 $V\gamma V\delta$ TCR,优选 $V\gamma 5V\delta 1$ TCR或其他 $V\delta 2^{neg}\gamma\delta$ TCR,都可以分离并引入T细胞,优选 $\alpha\beta$ T细胞中。在一些情况下, $\alpha\beta$ T细胞的内源性TCR仍然存在。在其他情况下,内源性 $\alpha\beta$ TCR在引入 $V\gamma 5V\delta 1$ TCR或其他 $V\delta 2^{neg}\gamma\delta$ TCR之前、同时或之后会发生基因组性破坏。

[0099] 在成人外周血中, $\gamma\delta$ T细胞亚群可以表达包含 $V\delta 2$ 和 $V\gamma 9$ 基因区段的TCR,并可以称为 $V\delta 2^{pos}\gamma\delta$ T细胞。相反,处于上皮组织中的 $\gamma\delta$ T细胞表达主要由与不同的 $V\gamma$ 链配对的V

$\delta 1$ 或 $V\delta 3$ 链组成的TCR,并且一定比例的这些 $\gamma\delta$ -T细胞则表达 $CD8\alpha\alpha$ 或 $CD8\alpha\beta$,其可以称为 $V\delta 2^{neg}\gamma\delta$ -T细胞。据证明, $CD8\alpha\alpha$ 或 $CD8\alpha\beta$ 可以对白血病反应性 $V\delta 1$ TCR发挥共同刺激作用(Scheper et al.,2013, $\gamma\delta$ T cells elicited by CMV reactivation after allo-SCT cross-recognize CMV and leukemia,Leukemia 27:1328-1338)。在某些情况下, $V\delta 2^{neg}\gamma\delta$ T细胞可以用作解决CMV感染和白血病的工具。在其他情况下, $CD8\alpha\alpha$ 、 $CD8\alpha\beta$ 或其他分子可以对由癌细胞表达的HLA-A*24具有反应性的 $\gamma\delta$ T细胞起共同刺激作用。

[0100] 在一些情况下,共同受体可以参与本文的多肽构建体的HLA相互作用。例如,共同受体可以补充或参与于HLA环境中或与HLA无关的TCR-肽结合。各种共同受体都可能涉及。例如,可以涉及 $CD8$ 、 $CD4$ 、 $CD28$ 、 CCR 和 $CXCR4$ 中的至少一种。 CD 受体可以是TCR-HLA相互作用共同受体。例如,当可以结合HLA-II类时, $CD4$ 作用为TCR的共同受体。当可以结合HLA-I类时, $CD8$ 作用为TCR的共同受体。具体地, $CD4$ 受体可以与HBA-II按照“棒上球”(“ball-on-stick”model)相互作用,其中Phe-43球拟合于保守的疏水性 $\alpha 2$ 和 $\beta 2$ 结构域残基中。在与II类结合期间, $CD4$ 保持独立结构并可能不与TCR受体形成任何键。在某些情况下,共同受体可以是 $CD8$,如 $CD8\alpha$ 。

[0101] 在一些情况下,可以产生可溶性结合单元并将其作为本文的多肽构建体的一部分包括在内。与抗体相比,TCR配体相互作用的亲和力可以相对较低。这种差异的原因之一可能是亲和力(avidity)。例如,抗体可以在一个分子上具有2个配体结合位点,导致结合增强。在一些情况下,抗体可以具有1至10个配体结合位点。例如,在到达期望的嵌合体之前可以产生并测试几种TCR-抗体嵌合体。例如, $\gamma\delta$ -可变结构域可以替换抗体的重链和轻链可变结构域。除了增强的结合之外,抗体的Fc结构域可以通过Fc γ -受体阳性免疫细胞和/或补充系统介导细胞毒性。在一些情况下,可以使用HEK293细胞产生TCR-抗体嵌合体,而随后使用蛋白A亲和色谱,随后尺寸排阻色谱进行纯化。嵌合体的正确折叠可以使用可以靶向 γ 和 δ 可变结构域的构象特异性抗体探测。嵌合体可以用于抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)和补体依赖性细胞毒性(CDC)的试验,以确定对HLA-A*24:02肿瘤细胞的功能效力。在进行体外试验后,可以在体外和/或体内测试TCR-抗体嵌合体的功能效力。

[0102] 在一些情况下,可溶形式的多肽构建体可以识别复合的HLA-A*24或其部分。多肽构建体可以包括各种形式的结合实体,如TCR,抗体,scFv,BCR或其任何组合。在一些情况下,可以生成至少一部分TCR,如 $V\gamma 9V\delta 2$ 或 $V\gamma 5V\delta 1$,并用于药物组合物中。可溶形式的 $V\gamma 9V\delta 2$ 或 $V\gamma 5V\delta 1$ 可以识别并结合复合的HLA-A。在一些情况下,可溶形式的 $V\gamma 9V\delta 2$ 或 $V\gamma 5V\delta 1$ 可以识别并结合肿瘤细胞上的复合HLA-A*24。在一些情况下,可溶形式的 $V\gamma 9V\delta 2$ 或 $V\gamma 5V\delta 1$ 可以识别并结合复合的HLA-A*24:02。与在相当的健康细胞上的非异常表达的HLA-A*24相比,可溶形式的多肽还可以识别并结合可能包含异常结构、异常移动性、异常柔性或异常区室化中的至少一种的HLA-A*24的异常表达。在一些情况下,复合可以包括HLA分子的簇聚。在一些情况下,复合物包含K-构象。当与相当的正常细胞相比时,K-构象可以包括所述HLA分子的差异性特异分布或差异性簇聚中的至少一种。在一些情况下,本文公开的组合物可以在K-构象中靶向并结合HLA-A*24:02。

[0103] 人白细胞抗原(HLA)

[0104] HLA-A属于HLA I类重链旁系同源物(paralogue)。该I类分子可以是杂二聚体,包括重链和轻链(β -2微球蛋白)。重链可以锚定于膜中。I类分子可以通过呈递衍生自内质网

腔的肽而在免疫系统中发挥作用。它们可以表达于几乎所有细胞中。重链可以为约45kDa，且其基因可以含有8个外显子。外显子1可以编码前导肽，外显子2和3可以编码 $\alpha 1$ 和 $\alpha 2$ 结构域，其都可以结合肽，外显子4可以编码 $\alpha 3$ 结构域，外显子5可以编码跨膜区，且外显子6和7可以编码细质尾区。外显子2和外显子3内的多态性可以负责每中1类分子的肽结合特异性。数百个HLA-A等位基因已经被描述。本文提供的多肽构建体包含，例如， $\gamma \delta$ TCR或其片段或变体，其具有可以引入细胞的预定义的特异性。在某些情况下， $\gamma \delta$ TCR可以特异于表1的HLA-A或其残基和/或其一种或多种多态。优选地， $\gamma \delta$ TCR可以特异于并结合SEQ ID NO:1的至少65%，70%，75%，80%，85%，90%，95%，97%，98%，99%或100%的一致性。

[0105] 表1:HLA-A

[0106]

SEQ ID NO:	缩写	名称	NCBI No: GRCh38.p 7	基因组序列
1	HLA-A	主要组织相容性复合物, I类, A	3105	GAGAAGCCAATCAGTGTCTCGTCGCGGTCTGTTCTAA AGTCCGCACGCACCCACCGGGACTCAGATTCTCCCCA GACGCCGAGGATGGCCGTCATGGCGCCCCGAACCCTC CTCCTGCTACTCTCGGGGGCCCTGGCCCTGACCCAGA CCTGGGCGGGTGAGTGCGGGGTCGGGAGGGAAACCG CCTCTGCGGGGAGAAGCAAGGGGCCCTCCTGGCGGG GGCGCAGGACCGGGGAGCCGCGCCGGGAGGAGGG TCGGGCAGGTCTCAGCCACTGCTCGCCCCAGGCTCC CACTCCATGAGGTATTTCTTCACATCCGTGTCCCGGCC CGGCCGCGGGGAGCCCCGCTTCATCGCCGTGGGCTAC GTGGACGACACGCAGTTCGTGCGGTTCGACAGCGAC GCCGCGAGCCAGAAGATGGAGCCGCGGGCGCCGTGG ATAGAGCAGGAGGGGCCGAGTATTGGGACCAGGAG

[0107]

				ACACGGAATATGAAGGCCCACTCACAGACTGACCGA GCGAACCTGGGGACCCTGCGCGGCTACTACAACCAG AGCGAGGACGGTGAGTGACCCCGGCCCGGGGCGCAG GTCACGACCCCTCATCCCCACGGACGGGCCAGGTCTG CCCACAGTCTCCGGGTCCGAGATCCACCCCGAAGCCG CGGGACTCCGAGACCCTTGTCGCGGAGAGGCCAG GCGCCTTTACCCGGTTTCATTTTCAGTTTAGGCCAAAA ATCCCCCGGGTTGGTCGGGGCGGGGCGGGGCTCGG GGGACTGGGCTGACCGCGGGGTCGGGGCCAGGTTCT CACACCATCCAGATAATGTATGGCTGCGACGTGGGGC CGGACGGGCGCTTCCTCCGCGGGTACCGGCAGGACG CCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAACGAGGA CCTGCGCTCTTGACCGCGGCGGACATGGCAGCTCAG ATCACCAAGCGCAAGTGGGAGGCGGTCCATGCGGCG GAGCAGCGGAGAGTCTACCTGGAGGGCCGGTGCGTG GACGGGCTCCGCAGATACCTGGAGAACGGGAAGGAG ACGCTGCAGCGCACGGGTACCAGGGGCCACGGGGCG CCTCCCTGATCGCCTATAGATCTCCCGGGCTGGCCTCC CACAAGGAGGGGAGACAATTGGGACCAACACTAGAA TATCACCTCCCTCTGGTCTGAGGGAGAGGAATCCT CCTGGGTTTCCAGATCCTGTACCAGAGAGTGACTCTG AGGTTCCGCCCTGCTCTCTGACACAATTAAGGGATAA AATCTCTGAAGGAGTGACGGGAAGACGATCCCTCGAA TACTGATGAGTGGTTCCTTTGACACCGGCAGCAGCC TTGGGCCCCGTGACTTTTCCTCTCAGGCCTTGTTCTCTG CTTACACTCAATGTGTGTGGGGGTCTGAGTCCAGCA CTTCTGAGTCTCTCAGCCTCCACTCAGGTCAGGACCA GAAGTCGCTGTTCCCTTCTCAGGGAATAGAAGATTATC CCAGGTGCCTGTGTCCAGGCTGGTGTCTGGGTTCTGT GCTCTCTTCCCCATCCCGGGTGTCTGTCCATTCTCAA GATGGCCACATGCGTGCTGGTGGAGTGTCATGACA GATGCAAAATGCCTGAATTTTCTGACTCTTCCCGTCAG ACCCCCCAAGACACATATGACCCACCACCCCATCTC TGACCATGAGGCCACCCTGAGGTGCTGGGCCCTGGGC TTCTACCCTGCGGAGATCACACTGACCTGGCAGCGGG ATGGGGAGGACCAGACCCAGGACACGGAGCTCGTGG AGACCAGGCCTGCAGGGGATGGAACCTTCCAGAAGT GGGCGGCTGTGGTGGTGCCTTCTGGAGAGGAGCAGA GATACACCTGCCATGTGCAGCATGAGGGTCTGCCCAA GCCCCTCACCTGAGATGGGGTAAGGAGGGAGATGG GGGTGTCATGTCTCTTAGGGAAAGCAGGAGCCTCTCT
--	--	--	--	---

[0108]

				GGAGACCTTTAGCAGGGTCAGGGCCCCTCACCTTCCC CTCTTTTCCCAGAGCTGTCTTCCCAGCCCACCATCCCC ATCGTGGGCATCATTGCTGGCCTGGTTCTCCTTGAGC TGTGATCACTGGAGCTGTGGTCGCTGCCGTGATGTGG AGGAGGAAGAGCTCAGGTGGAGAAGGGGTGAAGGG TGGGGTCTGAGATTCTTGTCTCACTGAGGGTTCCAA GCCCCAGCTAGAAATGTGCCCTGTCTCATTACTGGGA AGCACCTTCCACAATCATGGGCCGACCCAGCCTGGGC CCTGTGTGCCAGCACTTACTCTTTTGTAAGCACCTGT TAAAATGAAGGACAGATTTATCACCTTGATTACGGCG GTGATGGGACCTGATCCCAGCAGTCACAAGTCACAGG GGAAGGTCCCTGAGGACAGACCTCAGGAGGGCTATT GGTCCAGGACCCACACCTGCTTTCTTCATGTTTCCTGA TCCCCGCCCTGGGTCTGCAGTCACACATTTCTGGAAAC TTCTCTGGGGTCCAAGACTAGGAGGTTCCCTCTAGGAC CTTAAGGCCCTGGCTCCTTTCTGGTATCTCACAGGACA TTTTCTTCCCACAGATAGAAAAGGAGGGAGTTACACT CAGGCTGCAAGTAAGTATGAAGGAGGCTGATGCCTGA GGTCCTTGGGATATTGTGTTTGGGAGCCCATGGGGGA GCTCACCCACCCACAATTCTCTCTAGCCACATCTT CTGTGGGATCTGACCAGGTTCTGTTTTTGTCTACCCC AGGCAGTGACAGTGCCCAGGGCTCTGATGTGTCTCTC ACAGCTTGTAAGGTGAGAGCTTGAGAGGCCTGATGT GTGTTGGGTGTTGGGTGGAACAGTGGACACAGCTGT GCTATGGGGTTTCTTTGCGTTGGATGTATTGAGCATGC GATGGGCTGTTTAAGGTGTGACCCCTCACTGTGATGG ATATGAATTTGTTTCATGAATATTTTTTCTATAGTGTGA GACAGCTGCCTTGTGTGGGACTGAGAGGCAAGAGTT GTTCCCTGCCCTTCCCTTTGTGACTTGAAGAACCCTGA CTTTGTTTCTGCAAAGGCACCTGCATGTGTCTGTGTTT GTGTAGGCATAATGTGAGGAGGTGGGGAGAGCACCC CACCCCATGTCCACCATGACCCTCTTCCCACGCTGA CCTGTGCTCCCTCTCCAATCATCTTCTGTTCCAGAG AGGTGGGGCTGAGGTGTCTCCATCTCTGTCTCAACTT CATGGTGCCTGAGCTGTAACCTTCTTCCCTCCCTATTA AAATTAGAACCTGAGTATAAATTTACTTTCTCAAATTC TTGCCATGAGAGGTTGATGAGTTAATTAAAGGAGAAG ATTCCTAAAATTTGAGAGACAAAATTAATGGAACGCA TGAGAACCTTCCAGAGTCCA
--	--	--	--	--

[0109] 本文提供了包含 γ δ TCR或其片段或变体的多肽构建体,其可以结合HLA-A*24:02。在一些情况下,本文描述的 γ δ TCR或其片段或变体可以在工程化 α β T细胞中表达。在一些情况下,包含HLA限制的 γ δ TCR或其片段或变体的多肽构建体仅可以结合在癌症上表达的HLA而不结合在健康组织上表达的HLA。可以表达HLA-A的健康或正常组织可以是肾上腺,阑尾,骨髓,脑,结肠,十二指肠,子宫内膜,食道,脂肪,胆囊,心脏,肾脏,肝脏,肺,淋巴结,卵巢,胰腺,胎盘,前列腺,唾液腺,皮肤,小肠,脾,胃,睾丸,甲状腺,膀胱或它们的任何组合。在一些情况下,相对于其在健康组织上的表达,HLA-A蛋白可以在癌症上差异表达。在一些情况

下,癌症上的HLA-A表达可以是HLA-A的异常表达。与在相当的细胞上表达的HLA相比,异常表达可以包括在移动性、柔韧性、折叠和/或区室化方面的异常。例如,与非癌性的相当的细胞相比,癌细胞可以具有HLA-A的异常表达。异常表达可以包括可以影响TCR结合的癌细胞表面上HLA-A的移动性差异。类似的是,异常表达可以影响癌细胞上HLA蛋白如HLA-A的柔性。HLA-A在靶细胞上的异常表达可以产生在相当的细胞上可能不存在的独特结合位点或独特结合构象。本文公开的组合物可以包括工程化为利用异常HLA-A表达的多肽构建体,或表达此类多肽构建体的工程化细胞,以提供脱靶结合降低的肿瘤靶向疗法。

[0110] 在一些情况下,本文公开的多肽构建体可以包含可以特异于HLA-A和/或其在肿瘤上而不在健康组织上表达的一种或多种多态性的 γ δ TCR或其片段或变体。在一些情况下,本文公开的多肽构建体可以包含可以特异于HLA-A*24:02及其在肿瘤上而不在健康组织上表达的任何等位基因的 γ δ TCR或其片段或变体。在一些情况下,本文描述的多肽构建体可以特异于在肿瘤上而不在健康组织上表达的一种或多种HLA-A构型。在一些情况下,多肽构建体可以特异于在肿瘤上而不在健康组织上表达的HLA-A*24:02。多肽构建体可以识别并结合恶性转化的细胞。在一些情况下,恶性转化的细胞可以是HLA-A*24:02阳性的。在一些情况下, γ δ TCR结合HLA-A*24蛋白的CD8结合位点。在一些情况下,可以结合的残基可以是W107,A185,S207及其任何组合。在一些情况下,可以结合的残基可以是G,P和G及其任何组合。在某些情况下,可以结合HLA-A*24蛋白的C-端残基。在其他情况下,可以结合HLA-A*24蛋白的N-端残基。在一些情况下, γ δ TCR可以结合HLA-A*24蛋白的肽结合裂口。在一些情况下, γ δ TCR可以结合肽结合裂口的“A”口袋(pocket)。

[0111] 本文描述的多肽构建体可以包含至少一个受体链,受体链包含表2,表4,表5和表6中的任一种中公开的序列或其部分,或由其组成,或由其衍生。本文公开的可以是包含至少一个CDR的抗原结合单元,如 γ δ TCR或其部分。在一些方面中,抗原结合单元可以包含轻链CDR。轻链CDR可以是抗原结合单元的轻链的互补决定区。轻链CDR可以包含连续的氨基酸残基序列,或由非互补决定区如框架区分隔开的,并可选地侧接的两个或更多个连续的氨基酸残基序列。在一些实例中,轻链CDR包含两个或多个轻链CDR,其可以称为轻链CDR-1,CDR-2等。在一些方面中,抗原结合单元可以包含重链CDR。重链CDR可以是抗原结合单元重链的互补决定区。重链CDR可以包含连续的氨基酸残基序列,或由非互补决定区如框架区分隔开,并可选地侧接的两个或更多个连续的氨基酸残基序列。在一些实例中,重链CDR包含两个或多个重链CDR,其可以称为重链CDR-1,CDR-2等。在一些情况下,可以使用CDR3序列。本文公开的还可以是产生CDR3序列,如可以结合靶标的CDR3序列的方法。例如,可以产生FE11-样CDR3序列。FE11或FE11-样CDR3序列可以是结合HLA-A*24的抗体或其结合部分。FE11-样CDR3序列可以是与FE11多肽或编码的核酸分子分享至少一部分同源性的抗体或其结合部分。在一些情况下,FE11-样CDR3序列可能在构象,结合,氨基酸序列或一部分序列的差异上具有差异。参考FE11的活性在所述FE11或FE11-样CDR3序列中至少保留一定程度。参考FE11的活性可以是与HLA-A*24的结合。使用技术人员已知的技术可以对这种结合进行评价。在该上下文中,“至少一定程度”可以是指至少50%,至少60%,至少70%,至少80%,至少90%或至少100%或更多。FE11或FE11-样CDR3序列的另一种活性可以是抗肿瘤或抗癌或抗感染活性或反应。

[0112] 抗肿瘤响应可以通过使表达本文确定的 γ 和/或 δ 序列的T细胞与肿瘤细胞(即所

谓的工程化T细胞)接触而评价。对于技术人员而言显而易见的是,所用的所述T细胞还应表达 γ T细胞受体链,以评价 δ T细胞受体链的生物学相关性。换句话说, γ δ TCR优选在所述T细胞中表达, δ TCR是本文中确定的。可替换地, γ δ TCR优选在所述T细胞中表达, γ TCR是本文中确定的。可替换地, γ δ TCR优选在所述T细胞中表达,每个TCR链是本文中确定的。在优选的实施方式中,编码 δ T细胞(或 γ T细胞)受体链或其部分的核酸分子提供于表达载体中或提供于T细胞中的逆转录病毒或慢病毒载体中。T细胞可以在转移编码 δ T-和/或 γ T细胞受体链的核酸之前或之后扩增。优选地,扩增在转移后进行,使得需要转移的核酸的量尽可能低。所述T细胞的这种扩增可以通过在IL-2存在下用抗CD3/CD28Dynabeads刺激而进行。包含工程化 γ δ T细胞受体的扩增的细胞可以,例如,经由可选择的标记选择,并可以进一步选择为存在CD4抗原和CD8抗原的存在,例如使用如实施例中描述的MACS分离系统。随后使用如结合于本文中作为参考的文献Riddel and Greenberg,1990J Immunol Methods.128(2):189-201中描述的REP方案,或使用类似的其他扩增方法进行进一步扩增工程化T细胞。简而言之,扩增方法涉及使用针对T细胞活化分子的抗体,如TCR,CD3和CD28和/或饲养细胞和/或刺激细胞因子。表达 δ T细胞(或 γ T细胞)受体链的所述T细胞的抗肿瘤响应可以使用本领域技术人员已知的任何技术评价。 δ T细胞受体链可以是 δ 2-T细胞受体链。 γ T细胞受体链可以是 γ 9-T细胞受体链。确定抗肿瘤活性的步骤可以包括其中可以测定抗肿瘤效应的任何试验,如对肿瘤细胞分裂速率,即肿瘤细胞分裂的速度,细胞死亡,与肿瘤细胞的结合,产生细胞因子如IFN γ , IL-2或TNF α 的诱导具有影响。肿瘤细胞可以是任何种类的肿瘤细胞。例如,来自患者的原发性肿瘤细胞。肿瘤细胞可以是来自细胞系的肿瘤细胞,如名为Daudi,RPMI8226/S,OPM2,LME1,K562,Saos2,MZ1851RC,SCC9,Fadu,MDA-MB231,MCF7,BT549,SW480的实施例中所列出的细胞系,这在本领域中是众所周知的。肿瘤细胞系可以很容易从美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection)(ATCC,Manassas, Virginia)等获得。

[0113] 在一个优选的实施方式中,测定抗肿瘤响应包括使所述工程化T细胞与肿瘤细胞接触并测量其溶解肿瘤细胞和/或诱导产生细胞因子如IFN- γ , IL-2或TNF α 的能力。这种接触、培养或温育步骤可以具有10小时至1,2,3,4,5天的持续时间。溶解肿瘤细胞的能力包括提供固定量的与所述T细胞接触的肿瘤细胞,并在温育期后,计数活肿瘤细胞的数量。当培养步骤结束时活肿瘤细胞的数量小于培养步骤开始时初始肿瘤细胞数的90%,小于80%,小于70%,小于60%,小于50%,小于40%,小于30%,小于20%,小于10%时,可以确定或测定抗肿瘤响应。可替换地,当采用工程化T细胞的温育步骤结束时活肿瘤细胞的数量低于使用未采用确定为共有的序列工程化的T细胞的相似培养步骤结束时的肿瘤细胞数量时,可以确定或测定抗肿瘤响应。在该上下文中,低于可以是指至少低10%,至少低20%,至少低30%,至少低40%,至少低50%,至少低60%,至少低70%,至少低80%,至少低90%。

[0114] 除了在培养步骤结束时计数活肿瘤细胞数量之外或作为替代方案,还可以进行本领域技术人员已知的⁵¹铬释放试验。⁵¹铬释放量是已经溶解的细胞数量的量度。类似地,例如,经由抗体染色,表达的mRNA的ELISA和/或定量PCR,也可以测定细胞因子如IFN- γ , IL-2或TNF α 的产生或活化标志物的分泌或表达。用于检测细胞因子如IFN- γ , IL-2或TNF α 产生的分析测定法在商业上是广泛可获得的。当检测到细胞因子如IL-2, TNF α 或IFN γ 的产生时,所述T细胞称为表现出抗肿瘤响应。可替换地并优选的是,当在采用工程化T细胞的接触

步骤结束时产生的IFN γ , IL-2或TNF α 的量比肿瘤细胞与对照T细胞接触时产生的IFN γ IL-2或TNF α 的量更高(优选高至少10%,至少20%,至少30%,至少40%,至少50%,至少60%,至少70%,至少80%,至少90%,至少100%或更多)时,T细胞称为表现出抗肿瘤响应。对照T细胞不表达编码包含本文确定的 δ T细胞(或 γ T细胞)受体链的氨基酸的定义的核酸分子。抗肿瘤响应还可以通过在温育步骤结束时评价工程化T细胞与肿瘤细胞的结合测定。当在接触步骤结束时检测到工程化T细胞与肿瘤细胞的结合时,T细胞称为表现出抗肿瘤响应。可替换地并优选的是,当在接触步骤结束时T细胞的结合比对照T细胞(参见前面的定义)对相同肿瘤细胞结合的更高(优选高至少10%,至少20%,至少30%,至少40%,至少50%,至少60%,至少70%,至少80%,至少90%,至少100%或更高时,T细胞称为表现出抗肿瘤响应。接触步骤可以在磷酸抗原如帕米膦酸盐(pamidronate)的存在下进行。

[0115] 产生可以结合靶标的CDR序列的方法可以包括突变,替换,缺失,插入以及其他技术。例如,通过氨基酸替换可以产生FE11-样CDR3序列。可以替换任何数量的氨基酸。氨基酸替换可以包括约1至约1000个。可以替换1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,45,50,55,60,65,70,75,80,85,90,95,100,150,200,250,300,350,400,450,500,550,600,650,700,750,800,850,900,950个,或多达约1000个氨基酸。许多氨基酸替换也可以用以下方式定义:由于在所考虑的分子中每10,15,20,25个氨基酸存在至少1个替换的氨基酸,则至少具有至少1%,至少5%,至少10%,至少15%的替换氨基酸。

[0116] 氨基酸替换可以对CDR区具有各种作用。在某些情况下,替换或突变可以影响结构域的稳定性。在其他情况下,替换或突变可以影响表达水平。CDR区如CDR3的替换或突变可以影响结构。对CDR3区域的改变可以包括可变域,恒定域或其组合。在一些情况下,替换或突变可以影响配体结合。在J γ 1和/或J δ 1区段的至少一部分上可以进行替换,突变,缺失或插入。在一些情况下,替换或突变可以影响配体结合。替换,突变,缺失或插入可以在氨基酸序列的C端,N端或两端上进行。在一些情况下,突变的多肽或与参考多肽相比具有至少一个替换的多肽,所述突变多肽可以包括SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:428中的任一种。在优选的实施方式中,提供了由氨基酸序列表示的多肽,上述氨基酸序列包含与氨基酸序列SEQ ID NO:2,SEQ ID NO:3,SEQ ID NO:4的氨基酸19-309,SEQ ID NO:5的氨基酸21-293,SEQ ID NO:4,SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6至SEQ ID NO:428中的任一种至少60%的序列一致性或相似性。优选地,一致性至少为65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,97%,98%,99%或100%。

[0117] 在一些情况下,工程化的细胞可以包含由与SEQ ID NO:6至SEQ ID NO:428中的至少一种至少50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%或99%一致的序列编码的受体的至少一部分或一个部件。优选在整个长度上评价一致性。在一些情况下,在TCR的 γ 或 δ 链内可以发现突变序列。

[0118] 在本文公开的某些方法中, γ 9T细胞受体或 γ 9阴性 γ T细胞受体链的CDR3区和 δ 2T细胞受体或 δ 2阴性 δ T细胞受体链可以被修饰并合并而形成选择性结合本文公开的HLA构象的新 γ 9 δ 2TCR。在更优选的实施方式中,提供了包含CDR3区的 δ T细胞受体链或其部分,所述 δ T细胞受体链或其部分由氨基酸序列表示,所述氨基酸序列包含与氨基酸序列SEQ ID NO:6至237中任一种至少60%的序列一致性或相似性。优选地,一致性为至少65%,70%,

75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%或100%。在另一个更优选的实施方式中,提供了包含CDR3区的 γ T细胞受体链或其部分,所述 γ T细胞受体链或其部分由氨基酸序列表示,所述氨基酸序列包含与氨基酸序列SEQ ID NO:238至428中任一种至少60%的序列一致性或相似性。优选地,一致性为至少65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%或100%。

[0119] 在某些实施方式中,一种包含 γ 9阴性 γ T细胞受体链, δ 2T细胞受体和/或 δ 2阴性 δ T细胞受体链的多肽构建体。可以提供设计的 γ δ TCR并优选整合到T细胞中,其随后可以在细胞表面表达 γ δ TCR。因此,测定了CTE-工程化T细胞的抗肿瘤响应。按照这种方式,可以测试多种组合,并且对于每种组合,可以测定抗肿瘤响应。在测定抗肿瘤响应后,可以确定介导高活性抗肿瘤响应的 γ 9 δ 2T细胞受体。在本文公开的某些方法中,可以修饰和组合 γ 5T细胞受体链和 δ 1-T细胞受体链的CDR3区,而形成选择性结合本文公开的HLA构象的新 γ 5 δ 1TCR。在某些实施方式中是包含表2、4和5中的一个或多个中公开的 γ 5T细胞受体链和/或 δ 1T细胞受体链的多肽构建体。可以提供设计的 γ 5 δ 1TCR并优选整合到T细胞中,其随后在细胞表面表达 γ 5 δ 1TCR。因此,测定了CTE工程化T细胞的抗肿瘤响应。按照这种方式,可以测试多种组合,并且对于每种组合,可以测定肿瘤响应。在测定抗肿瘤响应后,可以确定介导高活性抗肿瘤响应的 γ 5 δ 1T细胞受体。因此,提供了TCR,优选工程化的TCR,其包含:包含CDR3区的 δ T细胞受体链或其部分,所述 δ T细胞受体链或其部分由氨基酸序列表示,所述氨基酸序列包含与氨基酸序列SEQ ID NO:3和6至237中任一种至少60%的序列一致性或相似性,以及包含CDR3区的 γ T细胞受体链或其部分,所述 γ T细胞受体链或其部分由氨基酸序列表示,所述氨基酸序列包含与氨基酸序列SEQ ID NO:2和238至428中任一种至少60%的序列一致性或相似性。优选地,一致性至少为65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%或100%。在本文公开的任何实施方式的一些方面,主题的抗原结合单元特异性结合至至少一部分HLA-A*24:02。如本文所用的HLA-A*24:02还可以是指直系同源物,同源物,密码子优化形式,截短形式,片段化形式,突变形式或已知的HLA-A*24:02序列的任何其他已知衍生物形式。例如,HLA-A*24:02可以是人HLA-A*24:02。HLA-A*24:02可以是鼠HLA-A*24:02。在某些情况下,MHC可以来自哺乳动物如黑猩猩,猪,大猩猩,鸡,牛,山羊等。

[0120] 在一些情况下, γ δ TCR可以包含约或10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%或高达100%的与来自表6的SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4的氨基酸19-309、SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:238-428的同源性。在一些情况下, γ δ TCR可以包含约10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%或高达100%的与来自表5的SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5的氨基酸21-293, SEQ ID NO:5或SEQ ID NO:6-237的同源性。在一些情况下, γ δ TCR可以包含SEQ ID NO:4的氨基酸19-309和SEQ ID NO:5的氨基酸21-293两者。在一些情况下, γ δ TCR可以包含来自表5和表6的序列。

[0121] 本文描述的多肽可以用于选择性结合构象受限的HLA分子。例如,与相当的细胞上的正常HLA分子相比,构象受限HLA分子可以包括具有异常构象的HLA、肿瘤细胞上表达的HLA。在具体的实施方式中,与非癌细胞上的相应HLA分子相比,本文描述的多肽构建体可以选择性地结合在癌细胞上表达的HLA分子。在一些情况下,与健康组织上表达的HLA相比,由

癌症表达的HLA可能在构象上是不同的。例如,恶性肿瘤可能导致HLA在肿瘤细胞表面上形成可以被 $\gamma\delta$ TCR识别的簇聚。肿瘤细胞上的簇聚可以诱导可以使其被 $\gamma\delta$ TCR检测到的HLA的构象变化。细胞表面上的簇聚可以包括至少两个HLA蛋白的接触。在一些情况下,簇聚可以包括至少两个彼此相邻的HLA蛋白。在一些情况下,簇聚可以通过细胞表面上的蛋白质密度测量。

[0122] 构象变化可以在HLA上产生未簇聚时可能不存在的新结合位点。在一些情况下,与未簇聚的蛋白质相比,簇聚的HLA蛋白质上可以存在1至100个新结合位点。在某些情况下,可以存在1,5,10,15,20,25,30,35,40,45,50,55,60,65,70,75,80,85,90,95,100个新结合位点。在一些情况下, $\gamma\delta$ TCR可以结合簇聚的HLA蛋白上的新结合位点。在一些情况下, $\gamma\delta$ TCR可以结合簇聚的HLA-A。在某些情况下, $\gamma\delta$ TCR可以结合簇聚的HLA-A*24。在一些情况下, $\gamma\delta$ TCR可以结合簇聚的HLA-A*24:02。

[0123] 在一些情况下,HLA簇聚可以呈现于肿瘤细胞的表面,其特征在于通过免疫金标记的抗原的扫描力显微镜检测的微米范围内的受体间距离。在某些情况下,电子显微镜可以用于检测和测量细胞表面上的HLA簇聚。在某些情况下,扫描力显微镜可以用于检测和测量簇聚。在一些情况下,可以在显微技术中使用30-和15-nm免疫金珠测量和检测簇聚。可以使用任何尺寸的珠,如直径约5nm,10nm,15nm,20nm,25nm,30nm,35nm,40nm,50nm,55nm,60nm,65nm,70nm,75nm,80nm,85nm,90nm,95nm或至多达100nm。在某些情况下,珠可以是基本上球形的。在一些情况下,HLA的簇聚可以通过由其空间分布与代表随机情况的泊松分布的偏差所检测的其中呈现的抗原、珠或肽的分布来检测。荧光共振能量转移(FRET)测量也可以用于显示HLA分子以另一层级的簇聚。例如,以约2-nm至10-nm的Förster距离范围为特征的FRET可以提供受体分子组织化的精细细节。在其他情况下,可以用于检测HLA簇的Förster距离范围可以为约0.5nm,1nm,1.5nm,2nm,2.5nm,3nm,3.5nm,4nm,4.5nm,5nm,5.5nm,6nm,6.5nm,7nm,7.5nm,8nm,8.5nm,9nm,9.5nm,10nm,10.5nm,11nm,11.5nm,12nm,12.5nm,13nm,13.5nm,14nm,14.5nm,15nm,15.5nm,16nm,16.5nm,17nm,17.5nm,18nm,18.5nm,19nm,19.5nm或至多达约20nm。

[0124] 细胞工程

[0125] 作为细胞工程过程或方法的一部分,可以从受试者获得免疫细胞的来源。免疫细胞可以来自骨髓或淋巴来源。在一些情况下,可以使用T细胞、B细胞或自然杀伤(K)细胞。T细胞也可以是细胞系,如SupT-1, Jurkat或Raji细胞或任何其他广泛可获得的细胞系。可以利用任何细胞类型,即原生细胞或任何其他细胞系。在一些情况下,可以设想表达T细胞受体的细胞,即在FACS分选中对 $\alpha\beta$ TCR呈阳性的细胞。而且,可以设想任何细胞或细胞群体,其在提供有 $\gamma\delta$ TCR时,能够形成功能性TCR复合物并发挥,例如,功能性细胞毒性响应和/或细胞因子产生。可以提供的细胞也可以是祖细胞,优选血液祖细胞如胸腺细胞或血液干细胞,在其提供有正确的刺激后可以发育成T细胞或工程化T细胞。因此,可以理解的是,向细胞提供 $\gamma\delta$ TCR可以包括提供祖细胞,为这些提供 $\gamma\delta$ TCR并刺激这些祖细胞而使这些发育成工程化的T细胞。

[0126] T细胞可以获自许多来源,包括外周血单核细胞(PBMC),骨髓,淋巴结组织,脐带血,胸腺组织,来自感染部位的组织,腹水,胸腔积液,脾组织和肿瘤。可以使用本领域可获得的任何数量的T细胞系。T细胞可以使用本领域技术人员已知的许多技术,如Ficoll™分

离,从由受试者收集的血液的单位中获得。在一些情况下,来自个体的循环血液的细胞通过血液成分分离(apheresis)获得。血液成分分离的产品通常包含淋巴细胞,包括T细胞,单核细胞,粒细胞,B细胞,其他有核白细胞,红细胞和血小板,在一个实施方式中,通过血液成分分离收集的细胞可以洗涤而去除血浆部分并将细胞置于合适的缓冲液或培养基中,用于后续处理步骤。在一些情况下,细胞用磷酸盐缓冲盐水(PBS)洗涤。在某些情况下,洗涤溶液可以不含钙并可以不含镁,或可以不含许多(如果不是全部)二价阳离子。洗涤步骤可以通过本领域技术人员已知的方法,如通过使用半自动“流通”离心机(例如,Cobe 2991细胞处理器,Baxter CytoMate或Haemonetics Cell Saver 5)根据厂商的说明完成。洗涤后,可以将分离的细胞再悬浮于各种生物相容性缓冲液,如例如,无Ca³⁺,无Mg²⁺的PBS,PlasmaLyte A,或者有或无缓冲剂的其它盐水溶液中。可替换地,可以除去血液成分分离样品的任何不期望的组分,并将细胞直接再悬浮于培养基中。在一些情况下,T细胞通过裂解红细胞并去除单核细胞,例如,通过PERCOLL™梯度离心或通过逆流离心淘析而从外周血淋巴细胞中分离。T细胞的具体亚群,如CD3⁺,CD28⁺,CD4⁺,CD8⁺,CD45RA⁺和CD45RO⁺T细胞可以通过阳性或阴性选择技术进一步分离。例如,在一个实施方式中,T细胞通过与抗-CD3/抗-CD28(即,3×28)结合的的珠如DYNABEADS®M-450 CD3/CD28T一起温育足够用于期望的T细胞的阳性选择的时间段而分离。在一个实施方式中,时间段为约30分钟。在某些情况下,时间段的范围为约30分钟到36小时或更长,以及其间的所有整数值。在一个进一步的实施方式中,时间段为至少1,2,3,4,5或6小时。在另一种情况下,时间段为约10小时至约24小时。在某些情况下,时间段可以为24小时。为了从患有白血病的患者中分离T细胞,使用更长的温育时间如24小时可以提高细胞产量。与其他细胞类型相比,在其中T细胞很少的任何情况下,可以使用更长的温育时间分离T细胞,如从肿瘤组织或从免疫受损个体中分离肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)。此外,使用更长的温育时间可以提高CD8⁺T细胞的捕获效率。因此,通过简单地缩短或延长T细胞与CD3/CD28珠结合的时间和/或通过增加或减少珠与T细胞的比例(如本文中进一步描述的),可以对于或针对培养开始时或过程的其它时间点优先选择T细胞亚群。此外,通过增加或减少珠或其他表面上的抗CD3和/或抗CD28抗体的比率,可以对于或针对培养开始时或过程中的其他时间点优先选择T细胞的亚群。本领域技术人员将认识到,在本发明的上下文中也可以使用多轮选择。

[0127] 在一些情况下,通过阴性选择富集T细胞群体可以采用对阴性选择的细胞特有的表面标志物的抗体组合而实现。一种方法可以是经由可以使用针对阴性选择的细胞上存在的细胞表面标志物的单克隆抗体的混合物的阴性磁免疫粘附或流式细胞术的细胞分选和/或选择。例如,为了通过阴性选择富集CD4⁺细胞,单克隆抗体混合物通常包括CD14,CD20,CD11b,CD16,HLA-DR和CD8的抗体。在某些实施方式中,可能期望的是,富集或阳性选择通常表达CD4⁺,CD25⁺,CD62L⁺,GITR⁺和FoxP3⁺的调节性T细胞。可替换地,在某些实施方式中,T调节细胞可以通过抗-CD25结合的珠或其他类似的选择方法去除。

[0128] 为了通过阳性或阴性选择分离所需的细胞群体,可以改变细胞和表面(例如,颗粒如珠)的浓度。在某些实施方式中,可以是期望的是,显著降低其中珠和细胞混合在一起的体积(即,增加细胞浓度),以确保细胞和珠的最大接触。例如,在一个实施方式中,可以使用20亿个细胞/ml的浓度。在一个实施方式中,可以使用10亿个细胞/ml的浓度。在另一个实施方式中,可以使用大于1亿个细胞/ml。在一个进一步的实施方式中,可以使用10,15,20,25,

30,35,40,45或50百万个细胞/ml的细胞浓度。在还有的另一个实施方式中,使用75,80,85,90,95或100百万个细胞/ml的细胞浓度。在进一步的实施方式中,可以使用125或150百万个细胞/ml的浓度。使用高浓度可能导致细胞产量增加,细胞活化和细胞扩增。用于刺激的T细胞也可以在洗涤步骤后冷冻。

[0129] 冷冻和随后的解冻步骤可以通过去除细胞群体中的粒细胞和一定程度的单核细胞而提供更均匀的产物。在可以去除血浆和血小板的洗涤步骤之后,细胞可以悬浮于冷冻溶液中,虽然许多冷冻溶液和参数是本领域是已知的并且可以在这种情况下是有用的,一种方法涉及使用含有20%DMSO和8%人血清白蛋白的PBS,或含有10%葡聚糖40和5%葡萄糖,20%人血清白蛋白和7.5%DMSO,或31.25%PlasmaLyte-A,31.25%葡萄糖5%,0.45%NaCl,10%葡聚糖40的培养基,或含有,例如,Hespan和PlasmaLyte-A的其他合适的细胞冷冻培养基,细胞随后可以以1°/分钟的速率冷冻至-80℃并储存于液氮储罐的气相中。可以使用其他受控冷冻的方法以及在-20℃或液氮中立即的非受控冷冻。在某些实施方式中,可以如本文将冷冻保存的细胞解冻和洗涤,并在活化之前使其在室温下静置1小时。

[0130] 还设想的是可以在可能需要本文描述的扩增细胞之前的时间段从受试者收集血液样品或血液成分分离产物。在一个实施方式中,血液样品或血液成分分离样品可以从普通健康的受试者中获取。在某些实施方式中,血液样品或血液成分分离样品可以从可能有发展疾病的风险但尚未发展疾病的通常健康受试者中获取,并可以分离和冷冻所感兴趣的细胞以供以后使用。在某些情况下,T细胞可以进行扩增,冷冻,并在以后使用。在一些情况下,在诊断为如本文描述的具体疾病之后不久但在任何治疗之前的从患者收集样品。在一些情况下,细胞可以在任何数量的相关治疗方式之前从来自受试者的血液样品或血液成分分离样品中分离,治疗方式包括但不限于,用药剂如那他珠单抗(natalizumab),依法利珠单抗(efalizumab),抗病毒剂,化疗,放疗,免疫抑制剂如环孢菌素(cyclosporin)、硫唑嘌呤(azathioprine),甲氨蝶呤(methotrexate),霉酚酸酯(mycophenolate)和FK506,抗体或其他免疫消除剂如CAMPATH,抗-CD3抗体,环磷酰胺(Cytoxan),氟达拉滨(fiudarabine),环孢菌素,FK506,雷帕霉素(rapamycin),霉酚酸,类固醇,FR901228和辐射的治疗。这些药物会抑制钙依赖性磷酸酶钙调神经磷酸酶(环孢菌素和FK506)或抑制对于生长因子诱导的信号传导重要的p70S6激酶(雷帕霉素)。

[0131] 在一些情况下,细胞可以对于患者进行分离并冷冻以供以后与骨髓或干细胞移植,使用化疗如氟达拉滨,外照射放疗(XRT),环磷酰胺或抗体如OKT3或CAMPATH的T细胞消融疗法(例如,之前,同时或之后)一起使用。在另一个实施方式中,细胞可以在B-细胞消融治疗之前分离出来,并可以冷冻以备后用于B-细胞消融疗法后的治疗,如与CD20反应的药剂,例如,美罗华(Rituxan)。

[0132] 在一些情况下,T细胞可以在治疗后直接从患者获得。在这方面,据观察,在某些癌症治疗之后,特别是用药物破坏免疫系统的治疗,在治疗后不久,患者从治疗中正常恢复期间,所获得的T细胞质量可能是最佳的,或其离体扩增的能力改善。同样的是,在使用本文描述的方法进行离体操作后,这些细胞可以处于用于增强的植入和体内扩增的优选的状态。因此,在本发明的上下文中,预期在该恢复期期间收集血细胞,包括T细胞,树突细胞或造血谱系的其他细胞。此外,在某些实施方式中,动员(mobilization)(例如,采用GM-CSF的动员)和调理方案可以用于在受试者中创造条件,其中可以有利于,尤其是在治疗后定义的时

间窗口内,特定细胞类型的再增殖,再循环,再生和/或扩增。说明性的细胞类型包括T细胞,B细胞,树突细胞和免疫系统的其他细胞。

[0133] 在分离细胞后,免疫细胞,例如T细胞可以通过与具有附着至其的刺激CD3TCR复合物相关信号的药物和刺激T细胞表面上的共刺激分子的配体的表面接触而扩增。具体而言,T细胞群体可以如本文描述的刺激,如通过与抗-CD3抗体或其抗原结合片段,或固定于表面上的抗-CD2抗体接触,或通过蛋白激酶C激活剂(例如,苔藓抑素)结合钙离子载体一起。为了共刺激T细胞表面上的辅助分子,使用结合辅助分子的配体。例如,在适于刺激T细胞增殖的条件下,T细胞群体可以与抗CD3抗体和抗CD28抗体接触,以刺激CD4⁺T细胞或CD8⁺T细胞,抗CD3抗体和抗CD28抗体的增殖。抗CD28抗体的实例包括9.3,B-T3,XR-CD28(Diacione,Besancon,France)可以用作本领域公知的其他方法(Berg et al,Transplant Proc.30(8):3975-3977,1998;Haanen et al,J.Exp.Med.190(9):13191328,1999;Garland et al,J.Immunol Meth.227(1-2):53-63,1999)。

[0134] 在某些实施方式中,可以通过不同方案提供T细胞的主刺激信号和共刺激信号。例如,提供每种信号的药剂可以在溶液中或结合至表面。当与表面结合时,药剂可以结合到同一表面(即,按照“顺式”形式)或结合于独立的表面(即,按照“反式”形式)。可替换地,药剂可以结合到表面而另一种药剂处于溶液中。在一个实施方式中,提供共刺激信号的药剂可以与细胞表面结合,并且提供主活化信号的药剂可以处于溶液中或结合于表面。在某些实施方式中,两种药剂都可以处于溶液中。在另一个实施方式中,药剂可以是可溶的形式,而然后交联至表面,如表达Fc受体的细胞或将与药物结合的抗体或其他结合剂。在这方面,参见,例如,美国专利申请公开No.20040101519和20060034810,其用于人工抗原呈递细胞(aAPC),其预期用于激活和扩增本发明的T细胞。

[0135] 在一些情况下,可以用于生长本文描述的细胞的培养基可以包括许多添加剂。在某些情况下,添加剂可以包括趋化因子,干扰素,白细胞介素,集落刺激因子或肿瘤坏死因子。在某些情况下,趋化因子起到引导细胞迁移的化学引诱物的作用,并分类为四个亚种:CXC,CC,CX3C和XC。示例性的趋化因子包括来自以下的趋化因子:CC亚种:CCL1,CCL2(MCP-1),CCL3,CCL4,CCL5(RANTES),CCL6,CCL7,CCL8,CCL9(或CCL10),CCL11,CCL12,CCL13,CCL14,CCL15,CCL16,CCL17,CCL18,CCL19,CCL20,CCL21,CCL22,CCL23,CCL24,CCL25,CCL26,CCL27和CCL28;CXC亚种:CXCL1,CXCL2,CXCL3,CXCL4,CXCL5,CXCL6,CXCL7,CXCL8,CXCL9,CXCL10,CXCL11,CXCL12,CXCL13,CXCL14,CXCL15,CXCL16和CXCL17;XC亚种:XCL1和XCL2;和CX3C亚种CX3CL1。干扰素(IFN)可以包括I型干扰素(例如,IFN- α ,IFN- β ,IFN- ϵ ,IFN- κ 和IFN- ω),II型干扰素(例如,IFN- γ)和III型干扰素。在一些实施方式中,IFN- α 进一步分为约13个亚型,包括IFNA1,IFNA2,IFNA4,IFNA5,IFNA6,IFNA7,IFNA8,IFNA10,IFNA13,IFNA14,IFNA16,IFNA17和IFNA21。白细胞介素可以由白细胞或白血细胞表达,并且它们促进T和B淋巴细胞和造血细胞的发育和分化。示例性的白细胞介素包括IL-1,IL-2,IL-3,IL-4,IL-5,IL-6,IL-7,IL-8(CXCL8),IL-9,IL-10,IL-11,IL-12,IL-13,IL-14,IL-15,IL-16,IL-17,IL-18,IL-19,IL-20,IL-21,IL-22,IL-23,IL-24,IL-25,IL-26,IL-27,IL-28,IL-29,IL-30,IL-31,IL-32,IL-33,IL-35和IL-36。在某些情况下,肿瘤坏死因子(TNF)可以引入培养基中。TNF可以是一组调节细胞凋亡的细胞因子。在某些情况下,TNF家族中约有19个成员,包括但不限于,TNF α ,淋巴毒素- α (LT- α),淋巴毒素- β (LT- β),T细胞抗

原gp39 (CD40L), CD27L, CD30L, FASL, 4-1BBL, OX40L和TNF相关凋亡诱导配体 (TRAIL)。集落刺激因子 (CSF) 可以是与造血干细胞表面上的受体蛋白相互作用的分泌的糖蛋白, 其随后调节细胞增殖以及向特定种类的血细胞的分化。在一些情况下, CSF包含巨噬细胞集落刺激因子, 粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF), 粒细胞集落刺激因子 (G-CSF) 或幼巨核细胞生成素 (promegapoietin)。

[0136] 在一些情况下, 编码 γ - δ TCR的多肽可以引入免疫细胞中。表达外源 γ - δ TCR的免疫细胞可以扩增。在一些情况下, 工程化免疫细胞的方法可以包括提供细胞并在细胞表面表达至少一种外源 γ - δ TCR。编码 γ - δ TCR的多核苷酸可以通过, 例如, 重组病毒载体 (例如, 逆转录病毒, 慢病毒, 腺病毒), 脂质体等引入细胞。例如, 瞬时转化方法可以包括, 例如, 显微注射, 电穿孔或粒子轰击。编码 γ - δ TCR的多核苷酸可以以病毒或非病毒方式引入。病毒方式引入可以利用逆转录病毒载体, 慢病毒载体, 腺病毒载体或其组合。

[0137] 本文还可以提供其中可以插入多核酸的载体。衍生自逆转录病毒如慢病毒的载体是实现长期基因转移的合适工具, 因为它们可以允许转基因长期、稳定整合及其在子细胞中的增殖。慢病毒载体相对于来自如鼠白血病病毒的逆转录病毒的载体具有额外的优势, 在于它们可以转导非增殖性细胞, 如肝细胞。它们还具有低免疫原性的附加优点。

[0138] 适用于本文中描述的方法和组合物的多核苷酸载体可以是良好生产规范 (GMP) 相容的载体。例如, GMP载体可以比非GMP载体更纯。在某些情况下, 纯度可以通过生物负载测量。例如, 生物负载可以是载体组合物中的需氧菌、厌氧菌、芽孢菌、真菌或其组合的存在或不存在。在某些情况下, 纯载体可以是低内毒素或无内毒素的。纯度也可以通过双链引物步移测序法测量。质粒一致性可以是确定载体纯度的来源。本发明的GMP载体可以比非GMP载体纯10%至99%。通过生物负载的存在、内毒素、测序或其组合测量的, GMP载体比非GMP载体纯10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%或99%。

[0139] 还可以提供的是编码 γ δ TCR的核酸序列。核酸可以是分离的核酸。可以编码 γ δ TCR的核酸可以是DNA或RNA形式。例如, 本文中可以提供的是编码 γ δ TCR的DNA载体。本文中还可以提供的是编码 γ δ TCR的DNA微环。在一些情况下, γ δ TCR可以是mRNA的形式。例如, 细胞可以用编码 γ δ TCR的mRNA电穿孔。核酸可以是双链或单链的。单链核酸可以是短线性DNA (狗骨 (doggy bone)) 载体。

[0140] 核酸可以克隆到许多类型的载体中。例如, 可以将核酸克隆到载体中, 载体包括, 但不限于, 质粒, 噬菌粒, 噬菌体衍生物, 动物病毒和粘粒。载体还可以包括表达载体, 复制载体, 探针生成载体和测序载体。此外, 可以以病毒载体的形式向细胞提供表达载体。病毒载体技术在本领域中是已知的, 并描述于, 例如, Sambrook et al, (2001, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York), 以及其他病毒学和分子生物学手册中。适用作载体的病毒包括, 但不限于, 逆转录病毒, 腺病毒, 腺相关病毒, 疱疹病毒和慢病毒。通常, 合适的载体含有在至少一种生物体中起作用的复制起点, 启动子序列, 方便的限制性内切核酸酶位点和一种或多种选择标记。许多基于病毒的系统已经开发用于将基因转移到哺乳动物细胞中。例如, 逆转录病毒为基因递送系统提供了方便的平台。可以使用本领域已知的技术将所选择的基因插入载体中并包装于逆转录病毒颗粒中。然后, 可以分离出重组病毒并在体内或体外递送至受试者的细胞中。许多逆转录病

毒系统在本领域中是已知的。在一些实施方式中,使用了腺病毒载体。许多腺病毒载体在本领域内是已知的。在一个实施方式中,使用了慢病毒载体。另外的启动子元件,例如,增强子,可以调节转录起始的频率。通常,这些位于起始位点上游30-110bp的区域,尽管最近已经证实许多启动子也包含起始位点下游的功能元件。启动子元件之间的间隔通常是柔性的,而使元件相对于彼此反转或移动时可以保持启动子功能。取决于启动子,各个元件可以协同或独立地发挥作用而激活转录。合适的启动子的一个实例可以是即刻早期巨细胞病毒(CMV)启动子序列。这种启动子序列是强组成型启动子序列,能够驱动与其操作连接的任何多核苷酸序列的高水平表达。合适的启动子的另一个实例是伸长生长因子-1a(EF-1a)。然而,也可以使用其他组成型启动子序列,包括但不限于猿猴病毒40(SV40)早期启动子,小鼠乳腺肿瘤病毒(MMTV),人免疫缺陷病毒(HIV)长末端重复序列(LTR)启动子,MoMuLV启动子,禽白血病毒启动子,爱泼斯坦-巴尔(Epstein-Barr)病毒即刻早期启动子,劳斯(Rous)肉瘤病毒启动子,以及人基因启动子,如但不限于,肌动蛋白启动子,肌球蛋白启动子,血红蛋白启动子和肌酸激酶启动子。此外,还设想了诱导型启动子。诱导型启动子可以提供能够启动多核苷酸序列表达的分子开关,当期望这种表达时其可以有效连接,或当不期望表达时关闭表达。诱导型启动子的实例包括,但不限于,甲硫氨酸启动子,糖皮质激素启动子,孕酮启动子和四环素启动子。为了评价 γ - δ 多肽或其部分的表达,要引入细胞中的表达载体还可以含有可选择的标记基因或报告子基因或两者,以便于从试图通过病毒载体转染或感染的细胞的群体中确定并选择出表达细胞,在其他方面,可选择标记可以在单独的DNA片段上携带并用于共转染程序。可选择标记和报告子基因都可以侧接合适的调节序列以使其可以在宿主细胞中表达。有用的可选择标记包括,例如,抗生素抗性基因,如新霉素,绿色荧光蛋白(GFP),eGFP,荧光素酶,GUS等。

[0141] 报告基因也用于确定潜在转染的细胞和评价调节序列的功能性。合适的报告基因可以包括编码荧光素酶、 β -半乳糖苷酶、氯霉素乙酰转移酶、分泌型碱性磷酸酶或绿色荧光蛋白基因的基因。合适的表达系统是公知的,并可以使用已知技术制备或商购获得。通常,具有显示报告子基因最高表达水平的最小5'侧接区的构建体被确定为启动子。此类启动子区域可以与报告子基因连接,并用于评价药物调节启动子驱动的转录的能力。将基因引入细胞并将其表达于细胞中的方法在本领域中是已知的。在表达载体的背景下,载体可以通过本领域的任何方法将载体容易地引入宿主细胞,例如,哺乳动物,细菌,酵母或昆虫细胞中。例如,通过物理、化学或生物方式可以将表达载体转移到宿主细胞中。用于将多核苷酸引入宿主细胞的物理方法包括磷酸钙沉淀,脂质转染,粒子轰击,显微注射,电穿孔等。产生包含载体和/或外源核酸的细胞的方法在本领域内是熟知的。参见,例如,Sambrook et al. (2001, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York)。将多核苷酸引入宿主细胞的方法可以是磷酸钙转染。用于将所关注的多核苷酸引入宿主细胞的生物学方法包括使用DNA和RNA载体。病毒载体,而尤其是逆转录病毒载体,已成为将基因插入哺乳动物如人细胞中的最广泛使用的方法。其他病毒载体可以衍生自慢病毒,痘病毒,单纯疱疹病毒I,腺病毒和腺相关病毒等。参见,例如,美国专利No. 5,350,674和5,585,362。

[0142] 在一些情况下,可以使用第一基因程序结束时的终止子序列。终止子序列可以确保转录在启动第二基因程序之前终止。例如,表达载体可以含有终止转录和稳定mRNA所必

需的序列。这些序列通常可以获自真核或病毒DNA或cDNA的5'和偶尔3'的非翻译区。这些区域可以含有mRNA的非翻译部分中转录为多腺苷酸化片段的核苷酸区段。包含表达载体的细胞在提供所需多肽在体内或体外表达的条件下生长。

[0143] 在一些情况下,间隔子序列可以用于由载体中的多核苷酸编码的第一多肽的末端。在其他情况下,间隔子序列可以用于载体中的第二基因的末端。在载体中的第一个基因和第二个基因之后也可以使用间隔子序列。

[0144] 这些载体可以用于表达由基因或所关注的基因的一部分编码的多肽。通过使用病毒或非病毒的任何方法可以将基因或部分基因插入。例如,方法可以是基于非病毒的技术。

[0145] 无论用于将外源核酸引入宿主细胞中还是以其他方式将细胞暴露于本文中描述的多肽构建体的方法,为了确认宿主细胞中重组DNA序列的存在,可以进行许多试验。此类试验包括,例如,本领域技术人员熟知的“分子生物学”试验,如Southern和Northern印迹法,RT-PCR和PCR;“生物化学”试验,如检测特定肽的存在或不存在,例如,通过免疫学手段(ELISA和Western印迹法)或通过本文的试验而确定落入本发明范围内的试剂。

[0146] 在一些情况下,外源受体,如 γ - δ TCR,可以以细胞群体的百分比表达。例如,群体中约10%,20%,25%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,99.5%,99.9%或100%的细胞可以表达 γ - δ TCR。通过流式细胞术分析可以测量外源性受体如 γ - δ TCR的表达。

[0147] 在一些情况下,可以非病毒地引入 γ - δ TCR。编码 γ - δ TCR的多核苷酸可以作为DNA或RNA引入。在一些情况下, γ - δ TCR可以作为DNA引入。在其他情况下, γ - δ TCR可以作为RNA引入。 γ - δ TCR可以作为mRNA引入。mRNA可以,例如,通过电穿孔直接引入细胞中。CytoPulse技术可以用于电穿孔。CytoPulse技术可以使用脉冲电场,以瞬时透化活细胞以递送材料,如 γ - δ TCR。该技术可以允许控制脉冲持续时间、强度以及脉冲之间的间隔。所有这些参数可以修改以达到高转染效率和最小死亡率的理想条件。在一些情况下,电穿孔脉冲电压可以改变而优化转染效率和/或细胞活力。在一些情况下,电穿孔脉冲的数量可以变化而优化转染效率和/或细胞活力。在一些情况下,电穿孔的起始细胞密度可以变化而优化转染效率和/或细胞活力。

[0148] 因此,提供了一种细胞,优选T细胞,更优选工程化T细胞,其包含或表达TCR,优选工程化的TCR,所述TCR或工程化的TCR包含:

[0149] -包含CDR3区的 δ T细胞受体链或其部分,所述 δ T细胞受体链或其部分由氨基酸序列表示,所述氨基酸序列包含与氨基酸序列SEQ ID NO:3和6至237中任一种至少60%的序列一致性或相似性,和/或

[0150] -包含CDR3区的 γ T细胞受体链或其部分,所述 δ T细胞受体链或其部分由氨基酸序列表示,所述氨基酸序列包含与氨基酸序列SEQ ID NO:2和238至428中任一种至少60%的序列一致性或相似性。优选一致性为至少65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,97%,98%,99%或100%。

[0151] 治疗

[0152] 有效的细胞过继免疫疗法(ACT)可以适用于治疗癌症(例如,转移性癌症)患者。在某些情况下,ACT也可以用于治疗病毒感染。本文描述的可以是治疗受体中的疾病(例如,癌症或病毒感染)的方法,包括将一种或多种表达外源性TCR如 γ - δ TCR的工程化T细胞植入受

体。在某些情况下,病毒感染可以导致癌症,如人乳头瘤病毒(HPV),巨细胞病毒(CMV),爱泼斯坦-巴尔病毒(EBV),乙型肝炎(HBV)和丙型肝炎(HCV),卡波氏肉瘤相关疱疹病毒(KSHV),人T淋巴营养病毒-1(HTLV),默克尔细胞多瘤病毒(MCV),人类免疫缺陷病毒(HIV),仅举几例。本文中描述的组合物可以用于治疗感染任何一种上述病毒感染的受试者。

[0153] 主题的抗HLA-A*24:02工程化T细胞可以配制成药物医药,并用于治疗对其有需要的,诊断患有疾病,例如癌症的人或哺乳动物。主题的抗HLA-A*24工程化T细胞可以配制成药物医药,并用于治疗对其有需要的,诊断患有病毒感染的人或哺乳动物。这些药物医药可以与一种或多种化学治疗剂或化学治疗化合物一起共给予至人或哺乳动物。术语“药物医药”可以用术语“药物组合物”或“医药”代替。

[0154] 工程化T细胞的群体,如经工程化为表达HLA-A*24:02特异性 $\gamma\delta$ TCR的 $\alpha\beta$ T细胞,可以使用本领域技术人员已知的技术配制而给予至受试者。包含工程化细胞群体的制剂可以包括一种或多种药用赋形剂。包含于制剂中的赋形剂具有不同的目的,这取决于,例如,所用T细胞的亚群和给予方式。通常使用的赋形剂的实例包括,但不限于:盐水,缓冲盐水,右旋糖,注射用水,甘油,乙醇及其组合,稳定剂,增溶剂和表面活性剂,缓冲剂和防腐剂,张度剂,填充剂和润滑剂。可以制备和培养包含工程化细胞群的制剂而不存在任何非人组分如动物血清。制剂可以包括一个工程化细胞群体,或多于一种,如两种,三种,四种,五种,六种或多种工程化细胞群体。例如,制剂可以包括一种工程化细胞群体,或多于一种,如两种,三种,四种,五种,六种或多种工程化细胞群体。例如,在细胞中可以表达一种以上的外源性受体。在其他情况下,各自表达不同的外源受体的两种细胞群体可以组合成单一制剂。

[0155] 本文描述的制剂可以受益于抗氧化剂,金属螯合剂,含硫醇化合物和其他一般性稳定剂。这种稳定剂的实例包括,但不限于:(a)约0.5%至约2%w/v甘油,(b)约0.1%至约1%w/v甲硫氨酸,(c)约0.1%至约2%w/v单硫代甘油,(d)约1mM至约10mM EDTA,(e)约0.01%至约2%w/v抗坏血酸,(f)0.003%至约0.02%w/v聚山梨醇酯80,(g)0.001%至约0.05%w/v聚山梨醇酯20,(h)精氨酸,(i)肝素,(j)硫酸葡聚糖,(k)环糊精,(l)戊聚糖多硫酸酯(盐)和其他类肝素,(m)二价阳离子如镁和锌;或(n)它们的组合。

[0156] 在一些情况下,可以使用粘合剂。粘合剂可以赋予内聚力性质,并包括,例如,海藻酸及其盐;纤维素衍生物如羧甲基纤维素,甲基纤维素(例如**Methocel®**),羟丙基甲基纤维素,羟乙基纤维素,羟丙基纤维素(例如,**Klucel®**),乙基纤维素(例如,**Ethocel®**)和微晶纤维素(例如,**Avicel®**);微晶葡萄糖;直链淀粉;硅酸镁铝;多糖酸;膨润土;明胶;聚乙烯吡咯烷酮/乙酸乙烯酯共聚物;交联聚维酮;聚维酮;淀粉;预胶化淀粉;黄蓍胶,糊精,糖,如蔗糖(如**Dipac®**),葡萄糖,右旋糖,糖蜜,甘露醇,山梨糖醇,木糖醇(例如,**Xylitab®**)和乳糖;天然或合成树胶如阿拉伯树胶,黄蓍胶,达瓦(ghatti)树胶,伊萨伯树皮(isapol husk)粘液,聚乙烯吡咯烷酮(例如,**Polyvidone®CL**,**Kollidon®CL**,**Polyplasdone®XL-10**),落叶松阿拉伯半乳聚糖,**Veegum®**,聚乙二醇,蜡,藻酸钠等。

[0157] “载体”或“载体材料”包括药学中任何常用的赋形剂,并应该基于与本文公开的化合物,如依鲁替尼和抗癌剂的化合物的相容性,以及期望的剂型的释放特性选择。示例性载体材料包括,例如,粘合剂,悬浮剂,崩解剂,填充剂,表面活性剂,增溶剂,稳定剂,润滑剂,润湿剂,稀释剂等。“药学上相容的载体材料”可以包括,但不限于,阿拉伯胶,明胶,胶体二

氧化硅,甘油磷酸钙,乳酸钙,麦芽糖糊精,甘油,硅酸镁,聚乙烯吡咯烷酮(PVP),胆固醇,胆固醇酯,酪蛋白酸钠,大豆卵磷脂,牛磺胆酸,磷脂酰胆碱,氯化钠,磷酸三钙,磷酸氢二钾,纤维素和纤维素缀合物,糖硬脂酰乳酸钠,角叉菜胶,单甘油酯,二甘油酯,预凝胶化淀粉等。参见,例如,Remington:The Science and Practice of Pharmacy,Nineteenth Ed (Easton,Pa.:Mack Publishing Company,1995);Hoover,John E.,Remington's Pharmaceutical Sciences,Mack Publishing Co.,Easton,Pennsylvania 1975; Liberman,H.A.和Lachman,L.,Eds.,Pharmaceutical Dosage Forms,Marcel Decker,New York,N.Y.,1980;和Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Seventh Ed. (Lippincott Williams&Wilkins 1999)。

[0158] “分散剂”和/或“粘度调节剂”包括通过液体介质或造粒方法或共混方法控制药物的扩散和均匀性的物质。在一些实施方式中,这些试剂还有助于涂层或溶蚀性骨架(eroding matrix)的有效性。示例性的扩散促进剂/分散剂包括,例如,亲水聚合物,电解质, **Tween®**60或80,PEG,聚乙烯吡咯烷酮(PVP;商品名为**Plasdone®**)和基于碳水化合物化合物的分散剂,如例如,羟丙基纤维素(例如,HPC,HPC-SL和HPC-L),羟丙基甲基纤维素(例如,HPMC K100,HPMC K4M,HPMC K15M和HPMC K100M),羧甲基纤维素钠,甲基纤维素,羟乙基纤维素,羟丙基纤维素,羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯,羟丙基甲基纤维素乙酸酯硬脂酸酯(HPMCAS),非晶纤维素,硅酸铝镁,三乙醇胺,聚乙烯醇(PVA),乙烯基吡咯烷酮/乙酸乙烯酯共聚物(S630),4-(1,1,3,3-四甲基丁基)-苯酚与环氧乙烷和甲醛的聚合物(也称为泰洛沙泊(tyloxapol)),泊洛沙姆(poloxamers)(例如,**PluronicF68®**, **F88®**和**F108®**,其是环氧乙烷和环氧丙烷的嵌段共聚物);和泊洛沙胺(poloxamine)(例如,**Tetronic 908®**,也称为Poloxamine **908®**,其是四环官能嵌段共聚物,衍生自环氧丙烷和环氧乙烷顺序加成到乙二胺(BASF Corporation,Parsippany,NJ)),聚乙烯吡咯烷酮K12,聚乙烯吡咯烷酮K17,聚乙烯吡咯烷酮K25,或聚乙烯吡咯烷酮K30,聚乙烯吡咯烷酮/乙酸乙烯酯共聚物(S-630),聚乙二醇,例如,聚乙二醇可以具有约300至约6000,或约3350至约4000,或约7000至约5400的分子量,羧甲基纤维素钠,甲基纤维素,聚山梨醇酯-80,海藻酸钠,树胶,如例如,黄蓍胶和阿拉伯树胶,瓜尔胶,黄原胶,包括黄原树胶,糖,纤维素,如例如,羧甲基纤维素钠,甲基纤维素,羧甲基纤维素钠,聚山梨醇酯-80,海藻酸钠,聚乙氧基化脱水山梨糖醇单月桂酸酯,聚乙氧基化脱水山梨糖醇单月桂酸酯,聚维酮,卡波姆,聚乙烯醇(PVA),藻酸盐,壳聚糖及它们的组合。增塑剂如纤维素或三乙基纤维素也可以用作分散剂。在脂质体分散体和自乳化分散体中特别有用的分散剂是二肉豆蔻酰基磷脂酰胆碱,来自蛋的天然磷脂酰胆碱,来自蛋的天然磷脂酰甘油,胆固醇和肉豆蔻酸异丙酯。

[0159] 使用本领域技术人员已知的模式和技术可以将包含工程化细胞的一个或多个群体的制剂给予至受试者。示例性的模式包括,但不限于,静脉内注射。其他模式包括,但不限于,肿瘤内,皮内,皮下(SC,sq,sub-Q,Hypo),肌肉内(i.m.),腹膜内(i.p.),动脉内,髓内,心内,关节内(关节),滑膜内(关节液区域),颅内,脊柱内和鞘内(脊髓液)。用于制剂灌注的肠胃外注射的任何已知装置可以用于实施这种给予。

[0160] 在一些情况下,向受试者给予约 5×10^{10} 个工程化T细胞。在一些实施方式中,约 5×10^{10} 个细胞可以代表给予至受试者的中值细胞量。在一些实施方式中,需要约 5×10^{10} 个细

胞以实现受试者的治疗反应。在一些实施方式中,至少约 1×10^6 个细胞,至少约 2×10^6 个细胞,至少约 3×10^6 个细胞,至少约 4×10^6 个细胞,至少约 5×10^6 个细胞,至少约 6×10^6 个细胞,至少约 7×10^6 个细胞,至少约 8×10^6 个细胞,至少约 9×10^6 个细胞,至少约 1×10^7 个细胞,至少约 2×10^7 个细胞,至少约 3×10^7 个细胞,至少约 4×10^7 个细胞,至少约 5×10^7 个细胞,至少约 6×10^7 个细胞,至少约 7×10^7 个细胞,在至少约 8×10^7 个细胞,至少约 9×10^7 个细胞,至少约 1×10^8 个细胞,至少约 2×10^8 个细胞,至少约 3×10^8 个细胞,至少约 4×10^8 个细胞,至少约 5×10^8 个细胞,至少约 6×10^8 个细胞,至少约 7×10^8 个细胞,至少约 8×10^8 个细胞,至少约 9×10^8 个细胞,至少约 1×10^9 个细胞,至少约 2×10^9 个细胞,至少约 3×10^9 个细胞,至少约 4×10^9 个细胞,至少约 5×10^9 个细胞,至少约 6×10^9 个细胞,至少约 7×10^9 个细胞,至少约 8×10^9 个细胞,至少约 9×10^9 个细胞,至少约 1×10^{10} 个细胞,至少约 2×10^{10} 个细胞,至少约 3×10^{10} 个细胞,至少约 4×10^{10} 个细胞,至少约 5×10^{10} 个细胞,至少约 6×10^{10} 个细胞,至少约 7×10^{10} 个细胞,至少约 8×10^{10} 个细胞,至少约 9×10^{10} 个细胞,至少约 1×10^{11} 个细胞,至少约 2×10^{11} 个细胞,至少约 3×10^{11} 个细胞,至少约 4×10^{11} 个细胞,至少约 5×10^{11} 个细胞,至少约 6×10^{11} 个细胞,至少约 7×10^{11} 个细胞,至少约 8×10^{11} 个细胞,至少约 9×10^{11} 个细胞,或至少约 1×10^{12} 个细胞。例如,可以向受试者给予约 5×10^{10} 个细胞。在另一个实施方式中,从 3×10^6 个细胞开始,可以将细胞扩增至约 5×10^{10} 个细胞并给予至受试者。在某些情况下,细胞扩增至足以用于治疗的数量。例如, 5×10^7 个细胞可以经受快速扩增而产生足够用于治疗用途的数量。在某些情况下,治疗用途的足够数量可以为 5×10^{10} 。可以输注任何数量的细胞用于治疗用途。例如,受试者可以输注有 1×10^6 至 5×10^{12} (包括端点) 的细胞数量。在一些实施方式中,计算实现治疗反应所必需的工程化细胞的量包括细胞的活力和/或 γ - δ TCR已整合到细胞,如 α -BT细胞的基因组中的效率。在一些实施方式中,为了实现受试者中的治疗反应,给予至受试者的细胞可以是活细胞。在一些实施方式中,为了在受试者中实现治疗反应,至少约95%,至少约90%,至少约85%,至少约80%,至少约75%,至少约70%,至少约65%,至少约60%,至少约55%,至少约50%,至少约45%,至少约40%,至少约35%,至少约30%,至少约25%,至少约20%,至少约15%,至少约10%的细胞是活细胞。在一些实施方式中,为了实现受试者的治疗反应,给予至受试者的细胞可以是已经成功整合到细胞的基因组中的一种或多种转基因的细胞。在一些实施方式中,为了在受试者中实现治疗反应,至少约95%,至少约90%,至少约85%,至少约80%,至少约75%,至少约70%,至少约65%,至少约60%,至少约55%,至少约50%,至少约45%,至少约40%,至少约35%,至少约30%,至少约25%,至少约20%,至少约15%,至少约10%的细胞具有成功整合到细胞的基因组中的一种或多种TCR。

[0161] 在一些情况下,受试者可以给予表达外源 γ - δ TCR的工程化T细胞,其中表达可以进行给予的外源 γ - δ TCR的工程化T细胞可以为约1至约35天龄。例如,给予的细胞可以为是1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34或至多达约40天龄。可以从刺激之时考虑工程化T细胞的年龄。可以从血液成分分离之时考虑工程化细胞的年龄。可以从转导之时考虑工程化细胞的年龄。在一些实施方式中,可以给予至受试者的工程化细胞为约10至约14或约20天龄。在一些情况下,工程化细胞的“年龄”可以通过端粒的长度确定。例如,“年轻”细胞可以具有比“耗尽”或“衰老”细胞更长的端粒长度。不受特定理论束缚,可以认为,免疫响应细胞会在培养基中每周

损失约0.8kb的估计端粒长度,并且年轻细胞培养物可以具有比约44天龄的免疫响应细胞长约1.4kb的端粒。不受特定理论的束缚,认为较长的端粒长度可能与患者中的阳性客观临床反应和体内细胞的持久性相关。

[0162] 在一些情况下,细胞从受试生物中分离,用核酸(例如,基因或cDNA)转染,并再次输注回受试者中。

[0163] 本文公开的方法可以包括移植。移植可以是指细胞产物,包括表达外源 $\gamma\delta$ TCR的T细胞的过继性移植。移植可以是自体移植,同种异体移植,异种移植或任何其他移植。例如,移植可以是异种移植。移植也可以是同种异体移植。

[0164] 在移植之前、之后和/或期间的细胞(例如,工程化细胞或工程化原代T细胞)可以是功能性的。例如,移植的细胞可以在移植后至少或至少约1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,40,50,60,70,80,90或100天是功能性的。移植的细胞可以在移植后至少或至少约1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11或12个月是功能性的。移植的细胞在移植后至少或至少约1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,15,20,25或30年可以是功能性的。在某些情况下,移植的细胞可以在至多接种者的一生中是功能性的。

[0165] 此外,移植的细胞可以发挥其正常预期功能的100%的功能。正常的预期功能可以通过将工程化细胞与非工程化对照细胞进行比较而测量。例如,细胞因子如IL-2的水平可以通过ELISA试验检测并在工程化群体和非工程化群体之间比较。移植的细胞可以发挥其正常预期功能的1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42,43,44,45,46,47,48,49,50,51,52,53,54,55,56,57,58,59,60,61,62,63,64,65,66,67,68,69,70,71,72,73,74,75,76,77,78,79,80,81,82,83,84,85,86,87,88,89,90,91,92,93,94,95,96,97,98或高达约100%。移植的细胞也可以发挥超过其正常预期功能的100%的功能。例如,移植的细胞可以发挥110,120,130,140,150,160,170,180,190,200,250,300,400,500,600,700,800,900,1000,或高达约5000%的正常预期功能。在某些情况下,发挥超出其正常预期功能的移植细胞可能具有超生理水平的细胞因子产生。在其他情况下,功能超过正常细胞的移植细胞可以具有增加的持久性或扩增。

[0166] 移植可以是任何类型的移植。位点可以包括,但不限于,肝包膜下空间,脾包膜下空间,肾包膜下空间,网膜,胃或肠粘膜下层,小肠血管段,静脉囊,睾丸,脑,脾或角膜。例如,移植可以是包膜移植。移植也可以是肌肉移植。移植可以是门脉内移植。在某些情况下,工程化细胞直接注射到肿瘤中。

[0167] 在一些情况下,受试者可以接受免疫抑制疗法。免疫抑制疗法可以伴随同种异体输注细胞产物。在其他情况下,可以进行免疫抑制以改善细胞产物如工程化T细胞的性能。

[0168] 在一些情况下,宿主淋巴细胞可以有助于工程化细胞的扩增。一方面,淋巴细胞可以为将到来的过继性转移细胞创造“空间”,并且在另一方面,其可以诱导它们的自平衡扩增。后一种效应可以有可能通过内源性调节T细胞的化学治疗性消融而介导,内源性调节T细胞通常可以分泌可以限制效应细胞,如工程化T细胞扩增的抑制性细胞因子(例如,TGF- β 和IL-10)。在某些情况下,淋巴细胞减少治疗与无淋巴细胞减少治疗的采用工程化细胞的治疗相比可以改善体内工程化T细胞的扩增约1倍,2倍,3倍,4倍,5倍,6倍,7倍,8倍,9倍,10倍,11倍,12倍,13倍,14倍,15倍,16倍,17倍,18倍,19倍或至多达20倍。

[0169] 另外,通常以有限的量存在的T细胞生长自平衡细胞因子,如IL-7和IL-15,可能由于竞争较少和淋巴细胞基质细胞的产生增加而变得容易获得。因此,在输注工程化细胞产物之前可以进行诱导淋巴细胞减少,以增加工程化细胞在治疗受试者中的功效。在一些情况下,与无淋巴细胞减少治疗的治疗相比,通过肿瘤减少或对照物测量,淋巴细胞减少治疗可以改善抗肿瘤功效约10%至约100%。例如,淋巴细胞减少治疗与无淋巴细胞减少治疗的治疗相比可以改善约10%,15%,20%,25%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%或至多达100%的抗肿瘤功效。

[0170] 抗HLA-A*24细胞可以与其他抗肿瘤剂,包括细胞毒性/抗肿瘤药剂和抗血管生成剂组合给予。

[0171] 在一些情况下,干扰 γ δ T细胞与其细胞配体之间的相互作用可以用于诊断和调节炎症性脱髓鞘病(参见Chien et al.,2005,US2005/0255105)。细胞配体可以包括非经典和经典MHC分子,非蛋白质配体等。本文描述的可以是破坏 γ δ T细胞与靶标如表达HLA-A*24的细胞之间的相互作用以减少治疗相关的毒性的方法。在一些情况下,用本文描述的组合物治疗的受试者可能产生毒性。有多种方式用于消除和清除已经给予至受试者的工程化细胞。例如,在一些情况下,可以引入抗体而结合于工程化细胞。抗体可以在给予后抑制多肽构建体的结合。例如,给予以降低与治疗相关的毒性的抗体可以是中和或阻断抗体。在其他情况下,可以进行非特异性免疫抑制或通过“自杀”或“消除”基因的选择性消除改性细胞而消除与治疗相关的毒性。例如,编码抗HLA-A*24的多核酸也可以编码自杀基因,如诱导型Fas或切冬酶9。降低毒性的方法可以包括给予抗体或其部分。在其他情况下,抗体可以结合细胞上的 γ δ TCR并抑制该细胞与靶标的结合。例如,通过给予可以结合细胞受体如FE11或FE11-样受体的抗体或其部分可以治疗疾病或感染。在一些情况下,抗体与受体的结合可以中和或阻断受体,并可以防止与受体与其配体结合相关的毒性。在一些情况下,受试者中的毒性可以是细胞因子释放综合征(CRS),B细胞再生障碍和肿瘤溶解综合征(TLS)中的至少一种。CRS可以通过与T细胞接合和增殖相关的细胞因子如IL-10,IL-6和IFN- γ 升高引起的炎症性症状水平检测。在大多数受试者中,CRS症状是轻微和类流感的,伴有发烧和肌痛。然而,一些受试者可能会经历严重的炎症综合征,包括血管渗漏,低血压,肺水肿和凝血病,导致多器官系统衰竭和死亡。在一些情况下,患有CRS的受试者也可能具有升高的IL-6。在一些情况下,可以给予抗IL-6治疗。

[0172] 可以使用多种方式评价过继性免疫疗法,如给予表达外源 γ δ TCR的工程化T细胞的功效。功效可以是指可以是控制、减少或消除肿瘤如HLA-A*24阳性肿瘤的程度的抗肿瘤功效。治疗功效还可以是指工程化细胞扩增,持久性,肿瘤靶向及其任何组合。

[0173] 在输注期间,输注后立即或输注后至多数年可以评价可以给予过继性细胞疗法如抗HLA-A*24T细胞疗法的受试者。例如,治疗的受试者可以返回诊所而评价约1天至受试者寿命的长度的期间。治疗的受试者可以在初始给予工程化细胞产品后1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42,43,44,45,46,47,48,49,50,60,70,80或至多多90年进行评价。在某些情况下,评价计划可以包括每日监测,每周监测,每月监测或年度监测。在某些情况下,按照临床指示可以更频繁地观察受试者。评价可以包括身体检查,化学评价,全血细胞计数,甲状腺面板,毒性评价,身体区域的计算机断层扫描术(CT)扫描,血液成分分离及其

任何组合。

[0174] 在一些情况下,在给予工程化细胞输注之前和之后约1至约10周可以进行血液成分分离。在其他时间点,通过使用Ficoll梯度上离心的纯化可以从全血中获得受试者的外周血淋巴细胞(PBL)。可以将外周血单核细胞(PBMC)的等份冷冻保存而用于细胞功能的免疫监测。在某些情况下,各种测试可以包括特异性溶解和细胞因子释放,代谢组学和生物能量研究(使用海马(Seahorse)),细胞因子产生的细胞内FACS,ELISA斑点试验和淋巴细胞亚群分析可以用于评价工程化细胞产品的免疫相关性。通常,在这些试验中约2至约3倍的差异可以指示真实的生物学差异。在一些情况下,当将工程化细胞与非工程化细胞进行比较时,体外试验活性的差异约1,1.5,2,2.5,3,3.5,4,4.5,至多达约5倍可以指示治疗功效。

[0175] 在一些情况下,使用工程化T细胞的过继免疫疗法通过计算机断层扫描术(CT)扫描或MRI测量的可以将肿瘤尺寸减小至少30%。工程化细胞治疗可以使肿瘤尺寸减少至少约5%,10%,15%,20%,25%,30%,35%,40%,45%,50%,55%,60%,65%,70%,75%,80%,85%,90%,95%或至多约100%。通过CT扫描测量的,工程化细胞治疗可以消除肿瘤。在一些情况下,通过计算机断层扫描术(CT)扫描测量的肿瘤病变直径的基线测量值的变化小于10%测量的,抗-HLA-A*24:02免疫响应细胞治疗可以稳定肿瘤肿瘤尺寸。例如,在给予抗HLA-A24:02免疫响应细胞后,肿瘤的尺寸可能不会扩大。在某些情况下,与治疗前测量值相比,稳定化可以认为是肿瘤尺寸变化小于10%,9%,8%,7%,6%,5%,4%,3%,2%或1%。

[0176] 在一些情况下,可以在受试者存活时间方面考虑抗HLA-A*24:02免疫响应细胞功效。例如,用抗HLA-A24免疫响应细胞如抗HLA-A24:02T细胞治疗的受试者可以比未治疗的受试者或用不同疗法治疗的受试者存活更长时间。

[0177] 可以使用通过修订的实体瘤疗效评价标准(RECIST)指南(版本1.1)提出的国际标准评估治疗反应。在RECIST标准中可以使用肿瘤病变的最大直径(一维测量)和恶性淋巴结情况下的最短直径的变化。例如,可测量的病变可以是那些可以在至少一个维度(要记录的最长直径)上通过胸部X射线精确测量>20mm,CT扫描>10mm或通过临床检查用卡钳测量>10mm的病变。为了被认为是病理上扩大和可测量的,当通过CT扫描评估时,淋巴结在短轴上可以>15mm。所有其他病变(或疾病部位),包括小病变(最长直径<10mm或病理性淋巴结,短轴≥10至<15mm),可以视为是不可测量的疾病。骨病变,软脑膜病,腹水,胸膜/心包积液,皮肤淋巴管炎/肺炎,炎症性乳腺疾病可以可视为不可测量。

[0178] 所有可测量的病变,每个器官最多2个病灶,总共5个病灶,代表所有涉及的器官,可以确定为目标病变并在基线处记录和测量。根据它们的大小(具有最长直径的病变)可以选择靶病变,代表所有涉及的器官,但另外应该是那些适合于可重复的重复测量的病灶。可能的情况是,有时候,最大的病变不适于可重复的测量,在这种情况下,应该选择可重复测量的下一个最大病变。可以计算所有目标病变的直径总和(非节结病变最长,节结病变的短轴)并报告为基线总和直径。如果总和中包括淋巴结,则只能将短轴添加到总和中。基线总和直径将用作参考,而进一步表征疾病的可测量维度中的任何客体肿瘤消退。

[0179] 在一些情况下,当临床损伤可以是表面的(例如,皮肤结节和可触知的淋巴结)并且使用卡尺(例如,皮肤结节)评价的直径约10mm时,可以认为临床损伤是可测量的。在不能使用卡尺测量病变的情况下,也可以使用CT扫描或MRI。在一些情况下,CT扫描可以产生约

5mm或更小的组织切片。在某些情况下,CT扫描可以具有5mm,4mm,3mm,2mm,1mm或0.5mm的扫描厚度。如果CT扫描具有切片厚度大于5mm,则可测量病变的最小尺寸可以是切片厚度的两倍。在一些情况下,还可以执行MRI而评价受试者。理想情况下,应该使用相同类型的扫描仪,并在确定治疗效果时,应该尽可能遵循先前扫描的图像采集协议。如果可能,应该使用屏气扫描技术进行身体扫描。在一些情况下,氟脱氧葡萄糖 (FDG) -阳离子发射断层扫描 (PET) 可以用于测量治疗功效。

[0180] 一旦评价受试者,可以将靶病变分组到稳定的疾病 (SD),进行性疾病 (PD),部分反应 (PR) 和/或完全反应 (CR) 中。SD可以被认为既没有足够的收缩率也没有资格获得PR,也没有足够的增加而获得PD的资格,以直径的最小总和作为参考。PD可以被认为是目标病变直径总和的至少20%的增加,以最小总和作为参考(如果可能是最小的,则可以包括基线总和)。在一些情况下,除了相对增加约20%之外,总和还必须表现出至少约5mm的绝对增加。PR可以是目标病变直径总和的至少约30%的减少,以直径的基线总和为参考。CR可以消除目标病变。

[0181] 试剂盒

[0182] 本文公开的可以是包含本文描述的多肽构建体的组合物的试剂盒。本文公开的还可以是用于治疗或预防癌症、病原体感染、免疫病症的试剂盒。包含本文描述的组合物的试剂盒可以用于治疗已经经受干细胞或实体器官移植的受试者。在一个实施方式中,试剂盒可以包括含有有效量的 γ - δ T细胞组合物的单位剂型的治疗或预防组合物。在一些实施方式中,试剂盒包含可以含有 γ - δ T细胞的治疗组合物的无菌容器;这种容器可以是盒子,安瓿,瓶,小瓶,管,袋,小袋,泡罩包装或本领域已知的其它合适的容器形式。这种容器可以由塑料,玻璃,层压纸,金属箔或适于盛装药物的其他材料制成。在一些情况下, γ - δ T细胞可以与将细胞给予至患有癌症、病原体感染、免疫病症或同种异体移植或具有发展癌症、病原体感染、免疫病症或同种异体移植风险的受试者的说明书一起提供。说明书通常可以包括关于组合物用于治疗或预防癌症、病原体感染、免疫病症的用法的消息。在一些情况下,试剂盒可以包括约 1×10^4 个细胞至约 1×10^{12} 个细胞。在一些情况下,试剂盒可以包括至少约 1×10^5 个细胞,至少约 1×10^6 个细胞,至少约 1×10^7 个细胞,至少约 4×10^7 细胞,至少约 5×10^7 个细胞,至少约 6×10^7 细胞,至少约 7×10^7 细胞,至少约 8×10^7 细胞,至少约 9×10^7 细胞,至少约 1×10^8 个细胞,至少约 2×10^8 细胞,至少约 3×10^8 细胞,至少约 4×10^8 细胞,至少约 5×10^8 个细胞,至少约 6×10^8 细胞,至少约 7×10^8 细胞,至少约 8×10^8 细胞,至少约 9×10^8 细胞,至少约 1×10^9 个细胞,至少约 2×10^9 细胞,至少约 3×10^9 细胞,至少约 4×10^9 细胞,至少约 5×10^9 个细胞,至少约 6×10^9 细胞,至少约 7×10^9 细胞,至少约 8×10^9 细胞,至少约 9×10^9 细胞,至少约 1×10^{10} 细胞,至少约 2×10^{10} 细胞,至少约 3×10^{10} 细胞,至少约 4×10^{10} 细胞,至少约 5×10^{10} 个细胞,至少约 6×10^{10} 个细胞,至少约 7×10^{10} 个细胞,至少约 8×10^{10} 细胞,至少约 9×10^{10} 个细胞,至少约 1×10^{11} 个细胞,至少约 2×10^{11} 个细胞,至少约 3×10^{11} 个细胞,至少约 4×10^{11} 个细胞,至少约 5×10^{11} 个细胞,至少约 6×10^{11} 个细胞,至少约 7×10^{11} 个细胞,至少约 8×10^{11} 个细胞,至少约 9×10^{11} 个细胞,或至少约 1×10^{12} 个细胞。例如,试剂盒中可以包含约 5×10^{10} 个细胞。在另一个实例中,试剂盒可以包含 3×10^6 个细胞;细胞可以扩增至约 5×10^{10} 个细胞并给予至受试者。

[0183] 在一些情况下,试剂盒可以包括同种异体细胞。在一些情况下,试剂盒可以包括可

以包含基因组修改的细胞。在一些情况下,试剂盒可以包含“现成”的细胞。在一些情况下,试剂盒可以包括可以扩增而用于临床使用的细胞。在一些情况下,试剂盒可以包含用于研究目的的内容物。

[0184] 在一些情况下,说明书包括以下之中的至少一种:治疗剂的描述;剂量方案和用于治疗或预防瘤形成、病原体感染、免疫紊乱或其症状的给予;注意事项;警告;适应症;禁忌症;药物过量信息;不良反应;动物药理学;临床研究;和/或参考。说明书可以直接印于容器上(当存在时),或作为应用于容器的标签,或作为在容器中或与容器一起提供的单独页,小册子,卡片或文件夹。在一些情况下,说明书会提供给予化学治疗剂之后至少约1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,或高达2天,3天,4天,5天,6天或7天给予 γ - δ T细胞的方案。在一些情况下,说明书会提供了在给予化学治疗剂后至少24小时给予 γ - δ T细胞的方案。工程化T细胞可以配制用于静脉注射。工程化T细胞可以配制用于输注。在某些情况下,试剂盒可以含有儿科剂量的产品。

[0185] 实施例

[0186] 通过参考以下实验实施例进一步详细描述本发明。这些实施例仅提供用于举例说明的目的,除非另有说明,否则并非限制性的。因此,本发明决不应解释为限于以下实施例,而是应该解释为包括由于本文提供的教导而变得显而易见的任何和所有变体。

[0187] 实施例1:逆转录病毒上清液的产生和验证

[0188] Phoenix Eco细胞系(美国典型培养物保藏中心SD3444),具有编码 γ δ TCR转基因的载体,产生假型瞬时上清液,用于转导PG13细胞(长臂猿白血病病毒假型包装细胞系;美国典型培养物保藏中心CRL-10686)。对具有独特型抗体的转导的PG13细胞通过FACS分析检测 γ δ TCR转基因。在单细胞克隆后,每种载体的最高滴度克隆用于建立主细胞库。临床使用的克隆仅在安全性测试和载体测序后释放;以确保没有产生具有复制能力的逆转录病毒。将最终的病毒上清液储存于-80℃并在临床释放前进行测试。病毒滴度范围为每毫升 6×10^5 至 1.6×10^6 个病毒颗粒。

[0189] 实施例2:细胞转导以表达外源性 γ 6TCR

[0190] 从LeukoPak中分离外周血单核细胞(PBMC)

[0191] 本文中使用了从正常外周血收集的LeukoPaks。用冷藏的1X PBS将血细胞稀释3:1。将稀释的血液滴加到50mL锥形瓶中的15mL LYMPHOPREP (Stem Cell Technologies)中。将细胞以 $400 \times G$ 无制动旋转25分钟。缓慢取出血沉棕黄层(buffy coat)并置于无菌锥形瓶中。用冷藏的1X PBS洗涤细胞并 $400 \times G$ 旋转10分钟。除去上清液,将细胞再悬浮于培养基中,计数并活冷冻于冷冻培养基(45mL热灭活的FBS和5mL DMSO)中。

[0192] 分离CD3+T细胞

[0193] 将PBMC解冻并在培养基(RPMI-1640(不含酚红),20%FBS(热灭活)和1X Gluta-MAX)中接种1至2小时。收集细胞并计数;将细胞密度调节至 5×10^7 个细胞/mL并转移至无菌的14mL聚苯乙烯圆底管中。使用EasySep Human CD3细胞分离试剂盒(Stem Cell Technologies),向细胞中加入50 μ L/mL的分离混合物(Isolation Cocktail)。通过移液将混合物混合并在室温下培养5分钟。培养后,将RapidSpheres涡旋30秒并以50 μ L/mL加入至样品中;通过移液混合。对于小于4mL的样品,混合物加满至5mL,或对于超过4mL的样品,混合物加满至10mL。无菌聚苯乙烯管加至“Big Easy”磁体;在室温下培养3分钟。将磁体和管

在一个连续运动中倒置,将富集的细胞悬浮液倾倒入新的无菌管中。

[0194] 激活和刺激CD⁺T细胞

[0195] 计数所分离的CD3⁺T细胞,并在24孔板中以 2×10^6 个细胞/mL的密度接种。使用dynamagnet采用含有0.2%BSA的1X PBS洗涤后,将Dynabeads Human T-Activator CD3/CD28珠(Gibco,Life Technologies)以3:1(珠:细胞)加入细胞中。以300IU/mL的浓度添加IL-2(Peprotech)。将细胞温育48小时,并随后使用dynamagnet移除珠。在电穿孔或核转染之前将细胞再培养6至12小时。

[0196] CD3⁺T细胞的逆转录病毒转导

[0197] 到第3天,将刺激的T细胞在用重组纤连蛋白片段(FN CH-296,Retronectin Takara)预涂覆的24-孔板中转导。在逆转录病毒转导后,在每周两次加入的rhIL-2(50至100U/mL)存在下体外扩增T细胞,而无需使用OKT3抗体的任何额外刺激。

[0198] 表2:本文描述的序列

[0199]

SEQ ID NO	构建体	序列
2	γ -TCR CDR	CATWDRPEIYYKKL F
3	δ -TCR CDR	CALGDSYGGGPLYTDKLIF
4	FE11 γ -TCR 包括信号肽。信号肽由氨基酸1-18 表达。表达于细胞上的功能蛋白质包含氨基酸 19-309	M G W A L L V L L A F L S P A S Q K S S N L E G G T K S V T R P T R S S A E I T C D L T V I N A F Y I H W Y L H Q E G K A P Q R L L Y Y D V S N S K D V L E S G L S P G K Y Y T H T P R R W S W I L I L R N L I E N D S G V Y Y C A T W D R P E I Y Y K K L F G S G T T L V V T D K Q L D A D V S P K P T I F L P S I A E T K L Q K A G T Y L C L L E K F F P D V I K I H W E E K K S N T I L G S Q E G N T M K T N D T Y M K F S W L T V P E K S L D K E H R C I V R H E N N K N G V D Q E I I F P P I K T D V I T M D P K D N C S K D A N D T L L L Q L T N T S A Y Y M Y L L L L L K S V V Y F A I I T C C L L R R T A F C C N G E K S
5	FE11 δ -TCR 包括信号肽。信号肽由氨基酸1-20 表达。表达于细胞上的功	M V F S S L L C V F V A F S Y S G S S V A Q K V T Q A Q S S V S M P V R K A V T L N C L Y E T S W W S Y Y I F W Y K Q L P S K E M I F L I R Q G S D E Q N A K S G R Y S V N F K K A A K S V A L T I S A L Q L E D S A K Y F C A L G D S Y G G G P L

[0200]	能蛋白质包含 氨基酸 21-293	YTDKLIFGKGTRVTVEPRSQP HTKPSVFVMKNGTNVACLVK EFYPKDIRINLVSSKKITEFDP AIVISPSGKYNAVKLGKYEDS NSVTC SVQH DNKTVHSTDFE VKTDSTDHV KPKETENTKQP SKSCHKPKAIVHTEKVNMMMS LTVLGLRMLFAKTVAVNFL L TAKLFFL
--------	----------------------	---

[0201] 实施例3:免疫表型分型

[0202] $\gamma\delta$ 改造的T淋巴细胞用针对CD3,CD4,CD8,CD62L,CD45RA,CD45RO,CCR7和CD28的单克隆抗体(Becton Dickinson)染色。我们使用配备4个荧光信号的滤光器组的FACScan流式细胞仪(Becton Dickinson)分析细胞。

[0203] 实施例4:细胞毒性试验

[0204] 收获靶肿瘤细胞,用50 μ Ci $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ 在37℃下标记60分钟,洗涤三次,并加入至不同数量的在96孔U形底微量滴定板中最终体积为150 μ l补充10%FBS的IMDM中的效应物抗FE11 $\gamma\delta$ 改造的T淋巴细胞中。使用表达FE11-K562(阳性对照)和K562(阴性对照)的肿瘤肿瘤细胞。在37℃和5%CO₂下温育靶细胞和效应细胞4或18小时后,收获25 μ l上清液并在发光计数器(Topcount-NXT;Packard Instrument Co.)中测量。如下计算三个孔的特异性溶解的平均百分比:特异性溶解=[(实验释放-自发释放)/(最大释放-自发释放)] \times 100。

[0205] 实施例5:增殖试验

[0206] 通过羧基荧光素琥珀酰亚胺酯稀释试验测定暴露于靶细胞(FE11-K562,FE11+)或对照细胞(K562,FE11-)后的抗FE11T细胞的增殖。

[0207] 转导后一个星期,用1.5 μ mol/L羧基荧光素二乙酸琥珀酰亚胺酯(CFSE; Invitrogen)标记对照T淋巴细胞和抗FE11 $\alpha\beta$ T细胞,并以效应物/靶标(E:T)比率5:1接种照射的肿瘤靶标(FE11-K562和K562)。在共培养的第4天通过流式细胞术对CD4+和CD8+T细胞测量CFSE稀释度。

[0208] 实施例6:包含结合本文描述的HLA构象的多肽构建体的T细胞克隆的产生

[0209] 使用TCR γ/δ +T细胞分离MACS试剂盒(Miltenyi Biotec)从健康供体PBMC中分离出大量 $\gamma\delta$ T细胞,并使用先前描述的快速扩增方案(Riddell SR,Greenberg PD.The use of anti-CD3and anti-CD28monoclonal antibodies to clone and expand human antigen-specific T cells.J Immunol Methods.1990;128(2):189-201)进行扩增。简而言之,用1 μ g/ml PHA-L(Sigma-Aldrich),50U/mL IL-2(ovartis Pharma),5ng/mL IL-15(R&D Systems)以及辐照的异源PBMC、Daudi和EBV-LCL刺激 $\gamma\delta$ T细胞两周。每周加入两次新鲜的IL-2。 $\gamma\delta$ T细胞克隆通过限制性稀释从大量 $\gamma\delta$ T细胞产生,并使用快速扩增方案每双周扩增。

[0210] 本文描述的 $\gamma\delta$ TCR的克隆

[0211] 使用Nucleospin RNA-II试剂盒(Macherey-Nagel)分离期望的 $\gamma\delta$ T细胞克隆的总

RNA,并使用SuperScript-II逆转录酶(Invitrogen)逆转录。TCR γ 和 δ 链使用V δ 1 (5'-GATCAAGTGTGGCCAGAAAG-3') (SEQ ID NO.429)和V γ 2-5 (5'-CTGCCAGTCAGAAATCTTCC-3') (SEQ ID NO.430)正义引物,以及C δ (5'-TTCACCAGACAAGCGACA-3') (SEQ ID NO.431)和C γ (5'-GGGGAAACATCTGCATCA-3') (SEQ ID NO.432)反义引物通过PCR扩增。对PCR产物测序,随后由Geneart® (Life Technologies)合成期望的 $\gamma\delta$ TCR的密码子优化序列,并亚克隆到逆转录病毒pBullet载体中。

[0212] TCR和HLA的逆转录病毒转导

[0213] 将本文描述的V γ δ V δ 1-TCR克隆和HLA-A*0201限制的WT1 126-134特异性 $\alpha\beta$ TCR转导到 $\alpha\beta$ T细胞中。简而言之,将Phoenix-Ampho包装细胞采用gag-pol (pH Γ Γ 60)、env (pCOLT-GALV)和含有TCR γ/β -链-IRES-新霉素或TCR δ/α -链-IRES-嘌呤霉素(pBullet逆转录病毒构建体,使用Fugene-HD (Promega)转染。在50U/mL IL-2和4 μ g/mL聚凝胺(Sigma-Aldrich)存在下,在48小时内用病毒上清液两次转导用 α -CD3 (30ng/mL) (克隆OKT3, Janssen-Cilag)和IL-2 (50U/mL)预活化的PBMC。通过用 α -CD3/CD28Dynabeads (0.5×10^6 个珠/ 10^6 个细胞) (Invitrogen)和IL-2 (50U/mL)刺激而扩增转导的T细胞,并用800 μ g/mL遗传霉素(Gibco)和5 μ g/mL嘌呤霉素(Sigma-Aldrich)选择一周。使用CD4-微珠(Miltenyi Biotec)通过MACS分选分离CD4+TCR转导的T细胞。转导后,每两周用1 μ g/mL PHA-L (Sigma-Aldrich), 50U/mL IL-2 (ovartis Pharma), 5ng/mL IL-15 (R&D Systems)和照射的异源PBMC、Daudi和LCL-TM细胞刺激转导的T细胞。每周加入两次新鲜的IL-2。在所指示的情况下,使用FACS Aria II (BD)流式细胞术将CD4+, CD8+, CD4+CD8 $\alpha\alpha$ 和CD4+CD8 α +TCR-转导的T细胞分选至>99%纯度。选择后,使用快速扩增方案每两周刺激TCR转导的T细胞。使用两种不同的抗-CD8 α 抗体克隆(克隆RPA-T8和G42-8)通过流式细胞术测量CD8 α 突变体的表达水平。通过流式细胞术常规评价转基因TCR表达和CD4+群体的纯度。

[0214] 流式细胞术

[0215] 用于流式细胞术的抗体包括: $\gamma\delta$ TCR-PE (克隆IMMU510, Beckman Coulter), CD4-PE-Cy7 (克隆RPA-T4, BD), CD8 α -APC (克隆RPA-T8, BD), CD8 α -PerCP-Cy5.5 (克隆RPA-T8, Biolegend), CD8 α -FITC (克隆G42-8, BD)和CD8 $\alpha\beta$ -PE (克隆2ST8.5H7, BD)。NY-ES01 (HLA-A*02:0SLLMWITQV) (SEQ ID NO:433) R-PE标记的Pro5MHC五聚体 (Proimmune)和CMV (HLA-A*24:02QYDPVAALF) (SEQ ID NO:434) R-PE标记的Pro5MHC五聚体 (Proimmune)根据厂商的说明书使用。样品用FACSCanto-II和LSRFortessa细胞计数器 (BD)测定,并用FACSDiva软件 (BD)分析。

[0216] 实施例7:HLA单克隆抗体的产生

[0217] 通过用SW480和LCL-TM对C57BL/6小鼠的免疫而产生单克隆抗体 (mAb),之后进行脾细胞的标准融合而产生杂交瘤。通过两次有限稀释的克隆而实现单克隆性,之后使用 α -mLgG1APC (Pierce), α -mIgG2b RPE (Jackson), α -mIgG2c dylight 405 (Jackson)和 α -mIgG3PerCP (Jackson)通过流式细胞术测定同种型检测。为了产生mAb,将杂交瘤在无血清杂交瘤培养基中培养约 5×10^5 至约 8×10^5 个细胞/mL达1周。mAb按照厂商的说明书,使用蛋白G HP SpinTrap柱 (GE healthcare)纯化。

[0218] 蛋白质分离和消化

[0219] 将样品在4%至12%Bis-Tris ID SDS-PAGE凝胶 (BioRad)上运行2.5小时,并用胶

体考马斯染料G-250 (Gel Code Blue Stain Reagent, Thermo Scientific) 染色。将泳道切成三条带, 用6.5mM二硫苏糖醇 (DTT) 在60℃下处理1h用于还原, 并用54mM碘乙酰胺处理30分钟用于烷基化。用胰蛋白酶 (Promega) 在37℃下消化蛋白质过夜。肽用100%乙腈提取并在真空浓缩器中干燥。

[0220] 质谱分析: RP-nanoLC-MS/MS

[0221] 将样品在10%甲酸中重构并在连接于以反相 (C18) 操作的, 配备有Reprosil pur C18捕获柱 (100 μ m \times 2cm, 3 μ m) 和Poroshell 120EC C18 (Agilent Technologies) 分析柱 (75 μ m \times 50cm, 2.7 μ m) 的Agilent 1290Infinity系统 (Agilent Technologies) 的Orbitrap Q-Exactive Plus (ThermoFisher Scientific, Bremen) 上通过nano-LC-MS/MS分析。用100%溶剂A (0.1%FA水溶液) 捕获10分钟后, 将肽用由35分钟从13%到40%和3分钟从40%到100%溶剂B (0.1%FA, 80%ACN) 的梯度洗脱。Q-Exactive Plus使用以下设置在数据依赖性采集模式下运行: 全扫描自动增益控制 (AGC) 目标3e6, 分辨率35000; 扫描范围375-1600m/z; Orbitrap全扫描最大注入时间10ms; MS2扫描AGC目标5e4, 分辨率17500; 最大注入120毫秒; 归一化碰撞能量25; 动态排除时间10s; 隔离窗口1.5m/z; 每次完整扫描10次MS2扫描。

[0222] 质谱数据分析

[0223] 使用Proteome Discoverer 1.4 (版本1.4.1.14, Thermo Scientific, Bremen, Germany) 处理原始文件。将每个样品的3个条带的原始文件合并并在针对Uniprot数据库 (Homo Sapiens, 2015年4月) 的一次搜索中。使用以下参数: 将半胱氨酸的脲基甲基化设定为固定修饰, 并将甲硫氨酸的氧化设定为可变修饰。胰蛋白酶被指定为酶, 允许至多两次错过切割。使用0.01的错误发现率。将Proteome Discoverer处理的数据集提交给亲和纯化污染物库 (Contaminant Repository for Affinity Purification (CRAPome)), 并且确定的蛋白质通过相互作用组显著性分析 (SAINT) 和折叠变化评分FC-A或FC-B分选。所使用的对照物取自每种细胞系中用非特异性抗体进行的对照免疫沉淀。SAINT概率大于0.9的蛋白质被认为是高得分相互作用。最佳相互作用者的最后选择基于细胞系对特异性抗体的已知反应 (Mellacheruvu D, Wright Z, Couzens AL, Lambert JP, St-Denis NA, Li T, et al. The CRAPome: a contaminant repository for affinity purification-mass spectrometry data. Nat Methods. 2013; 10 (8): 730-6.)。

[0224] 实施例8: 抗HLA-A*24:02工程化 α β T细胞的临床扩增

[0225] 为了产生大量转导的T细胞, 使用快速扩增方案 (REP) 诱导细胞增殖。在用于REP之前, T细胞在具有抗CD3, 抗CD28和IL-2的培养基中开始, 并在培养起始后第二天转导, 如上详细描述的。细胞在75cm²烧瓶中以37℃和5%CO₂下培养。计数细胞并以0.5 \times 10⁶个细胞/mL的浓度每2天再悬浮于含有300IU/mL IL-2的新鲜T细胞培养基中, 而其余时间将它们保持于培养基中。

[0226] 实施例9: ELISPOT试验

[0227] 在 α β T细胞中引入本文描述的 γ δ TCR重建肿瘤细胞识别。

[0228] 为了分析由肿瘤细胞特异性触发的抗原特异性响应, 首先通过ELISPOT试验测试 γ δ TCR工程化T细胞或模拟转导的T细胞针对DAUDI、SW480、EBV-LCL或PBMC细胞的特异性IFN- γ 释放。简言之, 将15,000个FE11TCR转导的或模拟转导的T细胞和50,000个靶细胞 (比率=0.3:1) 在预涂有 α -IFN γ 抗体 (克隆1-D1K) (Mabtech) 的硝酸纤维素基底的96孔板

(Millipore) 中共培养18小时。洗涤板并与第二生物素化的抗IFN γ 抗体(克隆7-B6-1)(Mabtech)一起温育,然后与链霉亲和素-HRP(Mabtech)温育。用TMB底物(Sanquin)可视化IFN γ 斑点,并使用ELISPOT分析软件(Aelvis)定量斑点数。在用肿瘤细胞培养后, γ δ TCR工程化T细胞以抗原特异性方式分泌了大量IFN- γ 细胞因子,图1A和图1B。结果表明, γ δ TCR工程化T细胞可以以特异性方式杀死肿瘤细胞。

[0229] 为了测试WT1 α TCR转导的T细胞的刺激,用10 μ M WT1 126-134(RMFPNAPYL)(SEQ ID NO:435)肽脉冲HLA-A2+细胞系T2、SW480和K562HLA-A*02:01。

[0230] HLA-A*24:02依赖性肿瘤细胞识别

[0231] 为了分析由肿瘤细胞特异性触发的HLA-A*24:02特异性响应,通过ELISPOT试验测试 γ δ TCR工程化T细胞针对LCL-TM、DAUDI、U2660PM2或SW480的特异性IFN- γ 释放。在与肿瘤细胞温育后, γ δ TCR工程化T细胞以HLA-A*24:02特异性方式分泌了大量的IFN- γ 细胞因子,图2和表3。结果表明, γ δ TCR工程化T细胞能够杀伤HLA-A*24:02阳性肿瘤细胞。

[0232] 表3.各种细胞系上的HLA-A表达

细胞系	IFN γ	杀伤	HLA-A	HLA-A
LCL-18	否	ND	A*0201	A*24:03
LCL-22	是	ND	A*2402	A*0101
LCL-48	否	ND	A*2902	A*0201
LCL-66	否	ND	A*0201	A*0201
LCL-68	否	ND	A*0201	A*0201
LCL-69	是	ND	A*2402	A*0201
LCL-71	否	ND	A*2501	A*1101
LCL-82	是	ND	A*0301	A*2402
LCL-86	否	ND	A*0301	A*0301
LCL-87	是	ND	A*0101	A*2402
LCL-89	是	ND	A*2402	A*2402
LCL-93	是	是	A*2402	A*2501
LCL-TM	是	是	A*24:02:01:01	A*03:01:01:01
SW480	是	是	A*02:01:01:01	A*24:02:01:01
Daudi	否	否	-	-
K562	否	ND	-	-
Hep-2	否	否	A*68:02:01:01	
HepG2	是	是	A*24	A*02
MZ1851RC	否	否		
HeLa	否	ND		
Cal27	否	否		

[0233]

细胞系	IFN γ	杀伤	HLA-A	HLA-A
T2	ND	否		
HEK293FT	ND	否	A*03:01	A*02:01
COS-7 Trans.	是	ND	A*24:02	
[0234] COS-7 Trans.	否	ND	A*02	
K562 Trans.	是	ND	A*24:02	
K562 Trans.	否	ND	A*02	
OPM2	是	ND	A*24:02:01:01	A*24:02:01:01
U266	否	ND	A*02+	A*24-

[0235] 实施例10:ELISA试验

[0236] 阻断肌动蛋白聚合阻断COS7HLA-A*24:02靶细胞识别

[0237] 为了评价靶肿瘤细胞的识别是否经由肿瘤细胞表面上的HLA-A*24:02簇聚介导,进行肌动蛋白聚合阻断试验。肿瘤细胞COS7-A*02,COS7-A*24,K562-A*02,K562-A*24,K562-WT和PBMC用细胞松弛素D(CytoD),广泛使用的肌动蛋白动力学抑制剂处理,之后与 $\gamma\delta$ TCR-FE11温育。结果表明阻断肌动蛋白聚合阻断了通过 $\gamma\delta$ TCR-FE11的COS7识别,图3A和图3B。

[0238] 靶细胞的多聚甲醛固定抑制识别

[0239] 为了评价靶肿瘤细胞的识别是否经由肿瘤细胞表面上的HLA-A*24:02簇聚介导,在共培养试验之前进行肿瘤细胞的多聚甲醛固定。在与 $\gamma\delta$ TCR-FE11温育之前,用多聚甲醛处理肿瘤细胞COS7-A*02,COS7-A*24,K562-A*02,K562-A*24,K562-WT和PBMC。结果表明,在用 $\gamma\delta$ TCR-FE11共培养之前固定肿瘤细胞抑制通过 $\gamma\delta$ TCR-FE11的识别,图4A和图4B。

[0240] 实施例11:表达本文描述的多肽构建体的工程化细胞的临床给予和评价

[0241] 具有可评价癌症的患者经受血液成分分离术而分离外周血单核细胞。分离淋巴细胞,用包含本文描述的TCR的多肽构建体病毒转导,扩增,并取等份用于免疫学测试。在T细胞给予之前的第-7和-6天,患者以在1小时中经受60mg/kg/天 \times 2天环磷酰胺的预备疗法。在细胞给予前第-7和-3天,患者进行在30分钟内经受每天氟达拉滨25mg/m²/天IVPB的预备疗法,持续5天。在预备疗法期间,患者进行每日全血细胞计数(CBC)测试。

[0242] 在I期研究的第一部分中,每组使用一名患者开始剂量递增,以每位患者10⁹个工程化T细胞开始。各个患者以半对数增量进行治疗。因此,将使用以下剂量:10⁹个细胞,3 \times 10⁹个细胞,10¹⁰个细胞,3 \times 10¹⁰个细胞和高达1 \times 10¹¹个细胞。表达本文描述的多肽构建体的自体T细胞经由未过滤的导管在20至30分钟内静脉内给予。

[0243] 在给予细胞产品后6周,所有患者返回诊所进行评价。

[0244] 实施例12:定量PCR

[0245] 通过检测在T细胞输注之前和之后的不同时间点收集的PBMC中的 $\gamma\delta$ TCR转基因,使用Q-PCR定量 $\gamma\delta$ 改造的T淋巴细胞的逆转录病毒整合体。在用QIAamp DNA Blood Mini Kit(Qiagen)提取DNA后,使用ABI PRISM 7900HT序列检测系统(Applied Biosystems),用引物和对 $\gamma\delta$ TPv转基因特异性的TaqMan探针(Applied Biosystems)一式三份扩增DNA。基线范围设定于循环6至15,阈值比基线荧光高10SDs。为了产生DNA标准,使用了编码 $\gamma\delta$ TCR

转基因盒的DNA质粒的系列稀释液。

[0246] 实施例13:肿瘤簇聚检测

[0247] 在用0.5%多聚甲醛在4℃下温和固定1小时之前或之后,标记新鲜收获的肿瘤细胞。将细胞悬浮液在磷酸盐缓冲盐水(PBS,pH 7.4)中洗涤两次后,细胞颗粒再悬浮于100μl PBS中,并用100μg/ml的FITC-或TRITC结合的mAb在4℃下温育40分钟。在免疫金标记之前使用FITC结合抗体作为第一抗体,适用于检查抗体结合。将标记的细胞在冷PBS中洗涤两次并在此制备时间点固定。为了扫描力显微镜(SFM)和透射电子显微镜(TEM)测量,将细胞悬浮液与分别携带针对IgG Fc的多克隆山羊抗小鼠抗体和整个分子的10μl的AurogamigG-30(Amersham;直径,30±3nm)或10μl的金标记的山羊抗鼠-Ig(Sigma Aldrich;直径,15μm±2nm)进一步温育。在一些实验中,也可以使用针对IgG Fc的Aurogamig G-15(Amersham;直径,15±1nm)。在冰上温育40分钟后,洗涤细胞并在4℃下储存。在施加第二mAb和第二金珠之前,通过大量添加小鼠IgG中和金珠的过量化合价。通过测试每种施加的抗体的Fab片段,排除了通过采用二价抗体的标记过程的受体人工簇聚的可能性。此外,在标记之前或之后将细胞固定于0.5%多聚甲醛中不会影响结果。

[0248] 实施例14:流式细胞计数能量转移测量

[0249] 为了研究HLA的二聚化,细胞分别用Alexa594结合的α-HLA-A(供体)和Alexa647结合的α-HLA-A(受体)标记。使用FACS LSRFortessa流式细胞仪(BD)测量供体荧光,其中双标记的健康样品的供体荧光与双标记的恶性样品的供体荧光比较。FRET效率由受体存在下供体荧光的减少分数计算。FRET效率采用根据Sebestyen及同事(Sebestyen Z,Nagy P,Horvath G,Vamosi G,Debets R,Gratama JW,et al.Long wavelength fluorophores and cell-by-cell correction for autofluorescence significantly improves the accuracy of flow cytometric energy transfer measurements on a dual-laser benchtop flow cytometer.Cytometry.2002;48(3):124-35.)的方程计算,其中供体荧光在488nm激发并在576±26nm处检测,受体荧光在635nm激发在780±60nm处检测,而FRET强度在488nm处激发并在780±60nm处检测。由未标记的和单标记的细胞测量的数据获得不同荧光通道之间光谱重叠的校正因子。

[0250] 实施例15:CRISPR基因组编辑

[0251] 使用具有含有β2m的慢病毒构建体(Sigma-Aldrich)的Fugene-HD(Promega),连同慢病毒辅助构建体VSVG和pspax2一起转染HEK293FT细胞。用病毒上清液转导LCL-TM细胞,通过流式细胞术确认敲低。gRNA序列的β2m基因特异性区(GAGTAGCGCGAGCACAGCTA)(SEQ ID NO:436)由来自Zhang lab(<http://crispr.mit.edu/>)的CRISPR设计工具进行设计。作为对照gRNA,靶向了eGFP基因(GGAGCGCACCATCTTCTTCA)(SEQ ID NO:437)。

[0252] 实施例16:γδTCR样抗体和经典HLA分子的作用

[0253] 为了确定TCR配体,产生TCR样抗体,即,识别与γδTCR相同的表位的抗体,并用于通过免疫沉淀和质谱确定配体。为了产生这些抗体,C57BL/6小鼠采用通过γδTCR识别的完整细胞系SW480和LCL-TM免疫,之后通过将小鼠B细胞与骨髓瘤细胞融合而产生杂交瘤。通过有限稀释克隆这些杂交瘤,从其中分离出克隆体,其产生在抗体结合筛选中特异性结合γδTCR反应性肿瘤细胞的抗体(图8A)。为了进一步确定抗体的配体特异性,将γδTCR-靶标SW480和LCL-TM与杂交瘤上清液预温育,并随后用于共培养物中而刺激TEG011.13种抗体

(或杂交瘤上清液)基本上阻断了TEG011的活化,而至少两个克隆体部分抑制了SW480的识别而未抑制LCL-TM的识别,如通过IFN γ ELISpot测量的(图8A)。这些数据表明,多种产生的抗体能够部分或完全阻止 γ δ TCR与其配体的结合。相反,没有杂交瘤产生可以阻断WT1TCR转导的 $\alpha\beta$ T细胞对WT1RMFPNAPYL (SEQ ID NO:435) (0201) 肽负载的SW480的识别的抗体(图8B),表明没有经由对,例如,通常T细胞活化所需的粘附分子的结合而诱导的阻断。由杂交瘤,选择出完全阻断活性的抗体和部分阻断活性的抗体用于抗体生成和纯化。这些纯化的抗体与链霉亲和素珠结合,随后用于SW480或LCL-TM细胞的细胞溶解物中的配体-免疫沉淀。在确定一组主要是MHC I类分子(表4)时采用两种抗体的质谱分析表明,与一般假设相反,经典HLA分子参与了肿瘤细胞的这种特定 γ δ TCR的识别。为了证实产生的抗体对经典HLA具有特异性,我们将LABScreen单抗原HLAI类珠与选择的抗体一起温育,并测量Luminex上的珠以确定HLA-特异性。图8C表明,完全阻断本文描述的多肽的结合的抗体具有受限于亚组HLA-A等位基因的反应活性,而部分阻断抗体则对存在于LABScreen珠上的所有HLAI类具有更广泛的特异性。

[0254] 表4:采用抗体的免疫沉淀表明HLA分子是配体的一部分。

样品	登记 ID	基因	样品	登记 ID	基因
			样品	登记 ID	基因
LCL-12	P30498	HLA-B	SW-12	P05534	HLA-A
LCL-12	Q29963	HLA-C	SW-12	P01892	HLA-A
LCL-12	P04439	HLA-A	SW-12	P10321	HLA-C
LCL-12	P30508	HLA-C	SW-12	P01889	HLA-B
LCL-12	Q95604	HLA-C	SW-12	P18464	HLA-B
LCL-12	P30499	HLA-C	SW-12	Q95604	HLA-C
LCL-12	P05534	HLA-A	SW-12	P04222	HLA-C
LCL-12	P18463	HLA-B	SW-12	P17693	HLA-G
[0255] LCL-12	P04222	HLA-C	SW-12	P30511	HLA-F
LCL-12	P01892	HLA-A	SW-12	P16403	HIST1H1C
LCL-12	P61769	B2M	SW-12	P10412	HIST1H1E
LCL-12	P30511	HLA-F	SW-6	P05534	HLA-A
LCL-6	P05534	HLA-A			
LCL-6	P01892	HLA-A			
LCL-6	P04439	HLA-A			
LCL-6	Q95604	HLA-C			
LCL-6	P30508	HLA-C			
LCL-6	Q29963	HLA-C			

[0256] 通过包含 γ δ TCR的本文描述的多肽构建体的靶细胞识别取决于HLA-A*24:02。

[0257] 为了进一步缩小由本文描述的 γ δ TCR识别的HLA类型,从具有各种HLA单倍型的几个家族谱系中获得大量EBV转化的B细胞系(EBV-LCL)。将TEG011与7种不同的CEPH EBV-LCL共温育,覆盖由LABScreen珠(图8C),Daudi和LCL-TM表明的多种可能的HLA分子,并且通过

测量IFN γ -释放而评价反应性。将TEG011的反应性与不同HLA类型关联,表明HLA-A*24:02单倍型而不是HLA-A*02:01或HLA-A*03:01(图10A)参与识别。

[0258] 为了正式确认HLA-A*24:02介导的识别,我们以逆转录病毒将HLA-A*24:02或HLA-A*02:01(对照)引入HLA阴性细胞系COS-7(非洲绿猴肾成纤维细胞样)和K562(淋巴瘤母细胞慢性粒细胞白血病)中。在两种细胞系中,引入HLA-A*24:02而不引入HLA-A*02:01,导致TEG011的显著活化(图10B)。反之亦然,识别的LCL内的 β 2-微球蛋白(β 2m)的部分CRISPR/Cas9K0(图11)如预期的降低了TEG011的活化(图10C)。重新引入 β 2m导致靶细胞识别的重建,证实了观察到的效果不是由脱靶的CRISPR/Cas9K0引起的。

[0259] 为了测试配体的密度是否对通过本文描述的 γ δ TCR对靶标的识别是重要的,我们比较了TEG011针对对于HLA-A*24:02纯合或杂合的LCL细胞系的活性。根据细胞表面配体密度增强功能亲和力的假设,实际上观察到了TEG001针对对于HLA-A*24:02纯合的细胞系更高的反应性(图10D)。此外,由莫能素(monesin)降低HLA表达降低了HLA表达和靶标的识别(图10E)。据报道,由于因为引入的 γ δ TCR的优势所致的内源性 α β TCR下调,TEGs失去同种异体反应性。然而,为了在TEG格式内正式排除内源性 α β TCR的任何活性,我们将本文描述的 γ δ TCR或WT1或TCR(对照)引入到TCR β 阴性Jurma细胞系中。然后将转导的Jurma细胞与加载WT1肽的T2或LCL-TM肿瘤细胞系共温育,其中T细胞的靶特异性活化通过流式细胞术测量T细胞上的活化标记CD69而确定。如所预期的, γ δ TCR转导的Jurmas仅被表达HLA-A*24:02的LCL-TM活化,而WT1 α β TCR转导的Jurmas仅被装载WT1的T2细胞活化(图10F)。总之,通过 γ δ TCR FE11的靶细胞识别严重依赖于HLA-A*24:02。

[0260] 实施例17:包含本文描述的 γ STCR的多肽构建体选择性识别恶性而非健康细胞中表达的HLA-A*24:02

[0261] 为了评价识别是否受限于HLA-A*24:02,将阳性转化的细胞TEG011与对HLA-A*24:02阳性或阴性的健康原生T细胞共温育。与HLA-A*24:02阳性COS-7或K562肿瘤细胞相反,即使当它们对HLA-A*24:02阳性时,TEG011也不识别健康原生细胞(图12A)。此外,通过使用EBV转化永生化的HLA-A*24:02阳性B细胞会显著激活TEG011,而相同供体的未转化的PBMC并不被识别,表明除了HLA-A*24:02等位基因的表达之外,恶性转化对于本文描述的 γ δ TCR的活化是必需的(图12B)。

[0262] 包含本文描述的 γ δ TCR的多肽构建体的结合位点

[0263] 为了进一步描绘归类于不同HLA超型以及具有与HLA-A*24:02更多同源性的HLA型的HLA-A*24:02和HLA-A*02:01之间的多肽结构非同源性的推定结合位点,利用了TEG011针对来自涵盖这些不同HLA类型的CEPH库中的一系列EBV-LCL的功能活性(图13A)。观察到了针对HLA-A*24:02阳性细胞的反应活性,而未观察到针对强同源性的HLA-A*24:03EBV-LCL-71的反应活性。序列比对(图14B)表明,位置168和169的 α 2螺旋上的两个氨基酸(分别为天冬酰胺和甘氨酸)用于TEG011对HLA-A*24:02的识别。位置168和169处的推定结合位点的结构分析指示非常接近肽结合沟(图14C)。HLA-A*24:02和HLA-A*02:01之间的序列比对如图5中所示。

[0264] 肽在通过包含本文描述的 γ δ TCR的多肽构建体的HLA-A*24:02识别中的参与

[0265] 由于推定的结合位点与肽结合沟非常接近(图13C),对肽在通过本文的 γ δ TCR的HLA-A*24:02识别中的作用进行了评价。TAP缺陷型细胞系T2用载有或不载有RYPLTFGWCF

(SEQ ID NO:438) (24:02) 和RMFPNAPYL (SEQ ID NO:435) (02:01) 肽的HLA-A*24:02和HLA-A*02:01 (对照物) 进行转导。为了证实肽成功负载HLA,评价了T2细胞表面上HLA的稳定作用,并载有或未载有T2的转染物与TEG011共培养。尽管病毒肽可以稳定HLA的事实,正如由增加的HLAMFI所示,FE11TCR T细胞不对未负载或负载的HLA-A*24:02转导T2细胞发生反应(图14D),表明HLA-A*24:02的单独存在是不够的,而是内源呈递的肽或肽组的递呈可能是建立反应活性的关键。为了证实本文的 $\gamma\delta$ TCR的HLA-A*24:02结合可以通过其他肽增强的假设,将TEG011与CMV pp65HLA-A*24:02限制性五聚体进行共培养。尽管具有其各自的四聚体或五聚体的对照物,WT1 α TCR-和NY-ESO-1 α TCR-转导的T细胞染色呈阳性(图13E),但TEG011并未单独被HLA-A*24:02限制性五聚体染色。

[0266] 为了进一步揭示内源加工的肽对细胞肽加工机制的反应性有用,通过抑制蛋白酶体就阻碍了机制。为了实现此目的,我们用蛋白酶体抑制剂硼替佐米(Bortezomib)预处理所识别的细胞,并评价了对TCR T细胞反应或性的影响。硼替佐米处理导致HLA-A*24:02转导的COS-7和K562的识别显著降低(图13F),这并非是由HLA-ABC MFI测量的HLA表达降低所致。

[0267] 作为识别因素的区室化

[0268] 正如前,使用流式细胞术进行福斯特共振能量转移(FRET)。FRET数据表明,HLA在未识别的细胞如PBMC上进行了同型二聚,而在HLA-A24:02阳性K562上未观察到同型二聚(图13G)。为了正式测试HLA-A24:02的膜迁移性是通过 $\gamma\delta$ TCR-HLA而不是 α TCR-HLA的识别的关键,我们评价了靶细胞的多聚甲醛固定的效果。尽管WT1 α TCR转导的T细胞和WT1肽负载的靶细胞的识别不受固定作用的影响,但通过TEG011细胞和HLA-A*24:02转导靶细胞的相互作用被完全消除,表明区室化存在差异。(图13H)。

[0269] 实施例18:本文描述的 $\gamma\delta$ TCR选择性识别在恶性而非健康细胞中表达的HLA-A*24:02

[0270] 为了揭示 $\gamma\delta$ TCR-HLA相互作用与经典HLA- α TCR相互作用显著不同,评价了共受体的潜在作用。由于HLA-1限制,一个候选者是CD8 $\alpha\alpha$ 。首先,确定与先前报道(图14A)一致的原始克隆体的CD8表达。与SW480、LCL-TM或PBMC(对照物)共培养之前,通过关于CD4和CD8表达分选 $\gamma\delta$ TCR转导的 α BT细胞, $\gamma\delta$ TCR转导的T细胞取决于CD8的共表达,如同原始克隆体一样(图14B)。与FE11 $\gamma\delta$ TCR细胞克隆相反,大多数 α BT细胞会表达CD8作为CD8 α 和CD8 β 的杂二聚体用于提供共刺激。通过使用CD8 α 或CD8 β 链的阻断抗体评价了CD8 $\alpha\beta$ 杂二聚体对 $\gamma\delta$ TCR转导T细胞的作用。不仅CD8 α 而且CD8 β 阻断抗体都完全抑制SW480的识别(图14C),表明CD8 $\alpha\alpha$ 或CD8 $\alpha\beta$ 对识别非常有益。

[0271] 通过比较表达本文的 $\gamma\delta$ TCR(图14D)或 α TCRT WT1(对照,图14E)的CD8阳性和CD8阴性Jurma细胞,也证实了这些数据。为了共刺激MHC I类限制的 α TCR,CD8 α 可以发挥两种不同的作用;它可作为稳定TCR-MHC相互作用的粘附分子,并且它可以通过经由LCK的信号传导而发挥活化作用。为了研究CD8 $\alpha\alpha$ 对 $\gamma\delta$ TCR FE11转导T细胞的作用,产生了由于其结合LCK失能所致的信号传导缺陷的CD8 α 截短变体。在将本文的 $\gamma\delta$ TCR和截短CD8 α (CD8 α')都引入 α BT细胞后,我们将它们与SW480共培养。相比于CD8 α 野生型变体,观察到CD8 α' 变体的IFN γ 斑点量的减少(图14F),表明CD8 $\alpha\alpha$ 确实起到共刺激作用。

[0272] 实施例19:本文描述的多肽的相关序列

[0273] 为了产生可以用于选择性结合所需HLA构象的本文多肽的其他序列,通过重叠延伸PCR, Ho, S.N., et al., Site-directed mutagenesis by overlap extension using the polymerase chain reaction. Gene, 1989. 77 (1): p. 51-9., 或全质粒诱变, Miyazaki, K., MEG AWHOP cloning: a method of creating random mutagenesis libraries via megaprimer PCR of whole plasmids. Methods Enzymol, 201 1. 498: p. 399-406, 使用校正聚合酶 (proofreading polymerase) (Phusion; Bioke), 进行定点诱变 (Site-directed mutagenesis)。在CDR3 γ 和CDR3 δ 区域, 包括整个J γ 1和J δ 1区段上, 都进行了突变。将突变的 γ -或 δ -TCR链连接到逆转录病毒载体pBullet中并进行了测序。

[0274] 表5: 用于本文描述的多肽中的 δ TCR功能区序列

[0275]

SEQ ID NO:	多肽序列
6	CALGDSYGGGPLYTDKLIF
7	CALGESYGGGPLYTDKLIF
8	CALGNSYGGGPLYTDKLIF
9	CALGQSYGGGPLYTDKLIF
10	CALGDTYGGGPLYTDKLIF
11	CALGETYGGGPLYTDKLIF
12	CALGNTYGGGPLYTDKLIF
13	CALGQTYGGGPLYTDKLIF
14	CALGDSFGGGPLYTDKLIF
15	CALGESFGGGPLYTDKLIF
16	CALGNSFGGGPLYTDKLIF

[0276]

SEQ ID NO:	多肽序列
17	CALGQSFGGGPLYTDKLIF
18	CALGDTFGGGPLYTDKLIF
19	CALGETFGGGPLYTDKLIF
20	CALGNTFGGGPLYTDKLIF
21	CALGQTFGGGPLYTDKLIF
22	CALGDSYAGGPLYTDKLIF
23	CALGESYAGGPLYTDKLIF
24	CALGNSYAGGPLYTDKLIF
25	CALGQSYAGGPLYTDKLIF
26	CALGDTYAGGPLYTDKLIF
27	CALGETYAGGPLYTDKLIF
28	CALGNTYAGGPLYTDKLIF
29	CALGQTYAGGPLYTDKLIF
30	CALGDSYGAGPLYTDKLIF
31	CALGESYGAGPLYTDKLIF
32	CALGNSYGAGPLYTDKLIF
33	CALGQSYGAGPLYTDKLIF
34	CALGDTYGAGPLYTDKLIF
35	CALGETYGAGPLYTDKLIF
36	CALGNTYGAGPLYTDKLIF
37	CALGQTYGAGPLYTDKLIF
38	CALGDSYGGAPLYTDKLIF
39	CALGESYGGAPLYTDKLIF
40	CALGNSYGGAPLYTDKLIF
41	CALGQSYGGAPLYTDKLIF
42	CALGDTYGGAPLYTDKLIF
43	CALGETYGGAPLYTDKLIF
44	CALGNTYGGAPLYTDKLIF
45	CALGQTYGGAPLYTDKLIF
46	CALGDSYGGGPIYTDKLIF

[0277]

SEQ ID NO:	Polypeptide Sequence
47	CALGESYGGGPIYTDKLIF
48	CALGNSYGGGPIYTDKLIF
49	CALGQSYGGGPIYTDKLIF
50	CALGDTYGGGPIYTDKLIF
51	CALGETYGGGPIYTDKLIF
52	CALGNTYGGGPIYTDKLIF
53	CALGQTYGGGPIYTDKLIF
54	CALGDSFGGGPIYTDKLIF
55	CALGESFGGGPIYTDKLIF
56	CALGNSFGGGPIYTDKLIF
57	CALGQSFGGGPIYTDKLIF
58	CALGDSYGGGPLFTDKLIF
59	CALGESYGGGPLFTDKLIF
60	CALGNSYGGGPLFTDKLIF
61	CALGQSYGGGPLFTDKLIF
62	CALGDTYGGGPLFTDKLIF
63	CALGETYGGGPLFTDKLIF
64	CALGNTYGGGPLFTDKLIF
65	CALGQTYGGGPLFTDKLIF
66	CALGDSFGGGPLFTDKLIF
67	CALGESFGGGPLFTDKLIF
68	CALGNSFGGGPLFTDKLIF
69	CALGQSFGGGPLFTDKLIF
70	CALGDSYGGGPIYSDKLIF
71	CALGESYGGGPIYSDKLIF
72	CALGNSYGGGPIYSDKLIF
73	CALGQSYGGGPIYSDKLIF
74	CALGDTYGGGPIYSDKLIF
75	CALGETYGGGPIYSDKLIF
76	CALGNTYGGGPIYSDKLIF

[0278]

SEQ ID NO:	多肽序列
77	CALGQTYGGGPIYSDKLIF
78	CALGDSFGGGPIYSDKLIF
79	CALGESFGGGPIYSDKLIF
80	CALGNSFGGGPIYSDKLIF
81	CALGQSFGGGPIYSDKLIF
82	CALGDSYGGGPIYSDKLIF
83	CALGESYGGGPIYSDKLIF
84	CALGNSYGGGPIYSDKLIF
85	CALGQSYGGGPIYSDKLIF
86	CALGDTYGGGPIYSDKLIF
87	CALGETYGGGPIYSDKLIF
88	CALGNTYGGGPIYSDKLIF
89	CALGQTYGGGPIYSDKLIF
90	CALGDSFGGGPIYSDKLIF
91	CALGESFGGGPIYSDKLIF
92	CALGNSFGGGPIYSDKLIF
93	CALGQSFGGGPIYSDKLIF
94	CALGDSYGGGPIYTEKLIF
95	CALGESYGGGPIYTEKLIF
96	CALGNSYGGGPIYTEKLIF
97	CALGQSYGGGPIYTEKLIF
98	CALGDTYGGGPIYTEKLIF
99	CALGETYGGGPIYTEKLIF
100	CALGNTYGGGPIYTEKLIF
101	CALGQTYGGGPIYTEKLIF
102	CALGDSFGGGPIYTEKLIF
103	CALGESFGGGPIYTEKLIF
104	CALGNSFGGGPIYTEKLIF
105	CALGQSFGGGPIYTEKLIF
106	CALGDSYGGGPIYTEKLIF

[0279]

SEQ ID NO:	多肽序列
107	CALGESYGGGPLFTEKLIF
108	CALGNSYGGGPLFTEKLIF
109	CALGQSYGGGPLFTEKLIF
110	CALGDTYGGGPLFTEKLIF
111	CALGETYGGGPLFTEKLIF
112	CALGNTYGGGPLFTEKLIF
113	CALGQTYGGGPLFTEKLIF
114	CALGDSFGGGPLFTEKLIF
115	CALGESFGGGPLFTEKLIF
116	CALGNSFGGGPLFTEKLIF
117	CALGQSFGGGPLFTEKLIF
118	CALGDSYGGGPIYTNKLIF
119	CALGESYGGGPIYTNKLIF
120	CALGNSYGGGPIYTNKLIF
121	CALGQSYGGGPIYTNKLIF
122	CALGDTYGGGPIYTNKLIF
123	CALGETYGGGPIYTNKLIF
124	CALGNTYGGGPIYTNKLIF
125	CALGQTYGGGPIYTNKLIF
126	CALGDSFGGGPIYTNKLIF
127	CALGESFGGGPIYTNKLIF
128	CALGNSFGGGPIYTNKLIF
129	CALGQSFGGGPIYTNKLIF
130	CALGDSYGGGPLFTNKLIF
131	CALGESYGGGPLFTNKLIF
132	CALGNSYGGGPLFTNKLIF
133	CALGQSYGGGPLFTNKLIF
134	CALGDTYGGGPLFTNKLIF
135	CALGETYGGGPLFTNKLIF
136	CALGNTYGGGPLFTNKLIF

[0280]

SEQ ID NO:	多肽序列
137	CALGQTYGGGPLFTNKLIF
138	CALGDSFGGGPLFTNKLIF
139	CALGESFGGGPLFTNKLIF
140	CALGNSFGGGPLFTNKLIF
141	CALGQSFGGGPLFTNKLIF
142	CALGDSYGGGPIYSEKLIF
143	CALGESYGGGPIYSEKLIF
144	CALGNSYGGGPIYSEKLIF
145	CALGQSYGGGPIYSEKLIF
146	CALGDTYGGGPIYSEKLIF
147	CALGETYGGGPIYSEKLIF
148	CALGNTYGGGPIYSEKLIF
149	CALGQTYGGGPIYSEKLIF
150	CALGDSFGGGPIYSEKLIF
151	CALGESFGGGPIYSEKLIF
152	CALGNSFGGGPIYSEKLIF
153	CALGQSFGGGPIYSEKLIF
154	CALGDSYGGGPLFSEKLIF
155	CALGESYGGGPLFSEKLIF
156	CALGNSYGGGPLFSEKLIF
157	CALGQSYGGGPLFSEKLIF
158	CALGDTYGGGPLFSEKLIF
159	CALGETYGGGPLFSEKLIF
160	CALGNTYGGGPLFSEKLIF
161	CALGQTYGGGPLFSEKLIF
162	CALGDSFGGGPLFSEKLIF
163	CALGESFGGGPLFSEKLIF
164	CALGNSFGGGPLFSEKLIF
165	CALGQSFGGGPLFSEKLIF
166	CALGDSYGGGPIYSNKLIF

[0281]

SEQ ID NO:	多肽序列
167	CALGESYGGGPIYSNKLIF
168	CALGNSYGGGPIYSNKLIF
169	CALGQSYGGGPIYSNKLIF
170	CALGDTYGGGPIYSNKLIF
171	CALGETYGGGPIYSNKLIF
172	CALGNTYGGGPIYSNKLIF
173	CALGQTYGGGPIYSNKLIF
174	CALGDSFGGGPIYSNKLIF
175	CALGESFGGGPIYSNKLIF
176	CALGNSFGGGPIYSNKLIF
177	CALGQSFGGGPIYSNKLIF
178	CALGDSYGGGPLFSNKLIF
179	CALGESYGGGPLFSNKLIF
180	CALGNSYGGGPLFSNKLIF
181	CALGQSYGGGPLFSNKLIF
182	CALGDTYGGGPLFSNKLIF
183	CALGETYGGGPLFSNKLIF
184	CALGNTYGGGPLFSNKLIF
185	CALGQTYGGGPLFSNKLIF
186	CALGDSFGGGPLFSNKLIF
187	CALGESFGGGPLFSNKLIF
188	CALGNSFGGGPLFSNKLIF
189	CALGQSFGGGPLFSNKLIF
190	CALGDSYGGGPIYTDRILF
191	CALGESYGGGPIYTDRILF
192	CALGNSYGGGPIYTDRILF
193	CALGQSYGGGPIYTDRILF
194	CALGDTYGGGPIYTDRILF
195	CALGETYGGGPIYTDRILF
196	CALGNTYGGGPIYTDRILF

[0282]

SEQ ID NO:	多肽序列
197	CALGQTYGGGPIYTDRLIF
198	CALGDSFSGGPIYTDRLIF
199	CALGESFSGGPIYTDRLIF
200	CALGNSFSGGPIYTDRLIF
201	CALGQSFGGPIYTDRLIF
202	CALGDSYGGGPLFTDRLIF
203	CALGESYGGGPLFTDRLIF
204	CALGNSYGGGPLFTDRLIF
205	CALGQSYGGGPLFTDRLIF
206	CALGDTYGGGPLFTDRLIF
207	CALGETYGGGPLFTDRLIF
208	CALGNTYGGGPLFTDRLIF
209	CALGQTYGGGPLFTDRLIF
210	CALGDSFSGGPLFTDRLIF
211	CALGESFSGGPLFTDRLIF
212	CALGNSFSGGPLFTDRLIF
213	CALGQSFGGPLFTDRLIF
214	CALGDSYGGGPIYSDRLIF
215	CALGESYGGGPIYSDRLIF
216	CALGNSYGGGPIYSDRLIF
217	CALGQSYGGGPIYSDRLIF
218	CALGDTYGGGPIYSDRLIF
219	CALGETYGGGPIYSDRLIF
220	CALGNTYGGGPIYSDRLIF
221	CALGQTYGGGPIYSDRLIF
222	CALGDSFSGGPIYSDRLIF
223	CALGESFSGGPIYSDRLIF
224	CALGNSFSGGPIYSDRLIF
225	CALGQSFGGPIYSDRLIF
226	CALGDSYGGGPLFSDRLIF

[0283]

SEQ ID NO:	多肽序列
227	CALGESYGGGPLFSDRLIF
228	CALGNSYGGGPLFSDRLIF
229	CALGQSYGGGPLFSDRLIF
230	CALGDTYGGGPLFSDRLIF
231	CALGETYGGGPLFSDRLIF
232	CALGNTYGGGPLFSDRLIF
233	CALGQTYGGGPLFSDRLIF
234	CALGDSFGGGPLFSDRLIF
235	CALGESFGGGPLFSDRLIF
236	CALGNSFGGGPLFSDRLIF
237	CALGQSFGGGPLFSDRLIF

[0284] 表6:用于本文中描述的多肽的 γ TCR功能区序列

[0285]

SEQ ID NO:	突变体 (FE11 γ)
238	CATWDRPEIYYKKLF
239	CATWERPEIYYKKLF
240	CATWNRPEIYYKKLF
241	CATWQRPEIYYKKLF
242	CATWDKPEIYYKKLF
243	CATWEKPEIYYKKLF
244	CATWNKPEIYYKKLF
245	CATWQKPEIYYKKLF
246	CATWDRPDIYYKKLF
247	CATWERPDIYYKKLF
248	CATWNRPDIYYKKLF
249	CATWQRPDIYYKKLF
250	CATWDKPDIYYKKLF
251	CATWEKPDIYYKKLF
252	CATWNKPDIYYKKLF
253	CATWQKPDIYYKKLF

[0286]

SEQ ID NO:	突变体 (FE11 γ)
254	CATWDRPNIYYKKLF
255	CATWERPNIYYKKLF
256	CATWNRPNIIYYKKLF
257	CATWQRPNIYYKKLF
258	CATWDKPNIIYYKKLF
259	CATWEKPNIIYYKKLF
260	CATWNKPNIIYYKKLF
261	CATWQKPNIIYYKKLF
262	CATWDRPQIYYKKLF
263	CATWERPQIYYKKLF
264	CATWNRPQIYYKKLF
265	CATWQRPQIYYKKLF
266	CATWDKPQIYYKKLF
267	CATWEKPQIYYKKLF
268	CATWNKPQIYYKKLF
269	CATWQKPQIYYKKLF
270	CATWDRPELYYKKLF
271	CATWERPELYYKKLF
272	CATWNRPELYYKKLF
273	CATWQRPELYYKKLF
274	CATWDKPELYYKKLF
275	CATWEKPELYYKKLF
276	CATWNKPELYYKKLF
277	CATWQKPELYYKKLF
278	CATWDRPDLYYKKLF
279	CATWERPDLYYKKLF
280	CATWNRPDLYYKKLF
281	CATWQRPDLYYKKLF
282	CATWDKPDLYYKKLF
283	CATWEKPDLYYKKLF

[0287]

SEQ ID NO:	突变体 (FE11 γ)
284	CATWNKPDLYYKKLF
285	CATWQKPDLYYKKLF
286	CATWDRPNLYYKKLF
287	CATWERPNLYYKKLF
288	CATWNRPNLYYKKLF
289	CATWQRPNLYYKKLF
290	CATWDKPNLYYKKLF
291	CATWEKPNLYYKKLF
292	CATWNKPNLYYKKLF
293	CATWQKPNLYYKKLF
294	CATWDRPQLYYKKLF
295	CATWERPQLYYKKLF
296	CATWNRPQLYYKKLF
297	CATWQRPQLYYKKLF
298	CATWDKPQLYYKKLF
299	CATWEKPQLYYKKLF
300	CATWNKPQLYYKKLF
301	CATWQKPQLYYKKLF
302	CATWDRPEIFYKKLF
303	CATWERPEIFYKKLF
304	CATWNRPEIFYKKLF
305	CATWQRPEIFYKKLF
306	CATWDKPEIFYKKLF
307	CATWEKPEIFYKKLF
308	CATWNKPEIFYKKLF
309	CATWQKPEIFYKKLF
310	CATWDRPDIFYKKLF
311	CATWERPDIFYKKLF
312	CATWNRPDIFYKKLF
313	CATWQRPDIFYKKLF

[0288]

SEQ ID NO:	突变体 (FE11 γ)
314	CATWDKPDIFYKKLF
315	CATWEKPDIFYKKLF
316	CATWNKPDIFYKKLF
317	CATWQKPDIFYKKLF
318	CATWDRPNIFYKKLF
319	CATWERPNIFYKKLF
320	CATWNRPNIFYKKLF
321	CATWQRPNIFYKKLF
322	CATWDKPNIFYKKLF
323	CATWEKPNIFYKKLF
324	CATWNKPNIFYKKLF
325	CATWQKPNIFYKKLF
326	CATWDRPQIFYKKLF
327	CATWERPQIFYKKLF
328	CATWNRQPIFYKKLF
329	CATWQRPQIFYKKLF
330	CATWDKPQIFYKKLF
331	CATWEKPQIFYKKLF
332	CATWNKPQIFYKKLF
333	CATWQKPQIFYKKLF
334	CATWDRPELFYKKLF
335	CATWERPELFYKKLF
336	CATWNRPELFYKKLF
337	CATWQRPELFYKKLF
338	CATWDKPELFYKKLF
339	CATWEKPELFYKKLF
340	CATWNKPELFYKKLF
341	CATWQKPELFYKKLF
342	CATWDRPDLFYKKLF
343	CATWERPDLFYKKLF

[0289]

SEQ ID NO:	突变体 (FE11 γ)
344	CATWNRPDIFYKKLF
345	CATWQRPDIFYKKLF
346	CATWDKPDIFYKKLF
347	CATWEKPDIFYKKLF
348	CATWNKPDIFYKKLF
349	CATWQKPDIFYKKLF
350	CATWDRPNIFYKKLF
351	CATWERPNIFYKKLF
352	CATWNRPNIFYKKLF
353	CATWQRPNIFYKKLF
354	CATWDKPNIFYKKLF
355	CATWEKPNIFYKKLF
356	CATWNKPNIFYKKLF
357	CATWQKPNIFYKKLF
358	CATWDRPQLFYKKLF
359	CATWERPQLFYKKLF
360	CATWNRPQLFYKKLF
361	CATWQRPQLFYKKLF
362	CATWDKPQLFYKKLF
363	CATWEKPQLFYKKLF
364	CATWNKPQLFYKKLF
365	CATWQKPQLFYKKLF
366	CATWERPEVFYKKLF
367	CATWNRPEVFYKKLF
368	CATWQRPEVFYKKLF
369	CATWDKPEVFYKKLF
370	CATWEKPEVFYKKLF
371	CATWNKPEVFYKKLF
372	CATWQKPEVFYKKLF
373	CATWDRPDVFYKKLF

[0290]

SEQ ID NO:	突变体 (FE11 γ)
374	CATWERPDVFYKKLF
375	CATWNRPDVFYKKLF
376	CATWQRPDVFYKKLF
377	CATWDKPDVFYKKLF
378	CATWEKPDVFYKKLF
379	CATWNKPDVFYKKLF
380	CATWQKPDVFYKKLF
381	CATWDRPNVFYKKLF
382	CATWERPNVFYKKLF
383	CATWNRPNVFYKKLF
384	CATWQRPNVFYKKLF
385	CATWDKPNVFYKKLF
386	CATWEKPNVFYKKLF
387	CATWNKPNVFYKKLF
388	CATWQKPNVFYKKLF
389	CATWDRPQVFYKKLF
390	CATWERPQVFYKKLF
391	CATWNRPQVFYKKLF
392	CATWQRPQVFYKKLF
393	CATWDKPQVFYKKLF
394	CATWEKPQVFYKKLF
395	CATWNKPQVFYKKLF
396	CATWQKPQVFYKKLF
397	CATWERPEVYYKKLF
398	CATWNRPEVYYKKLF
399	CATWQRPEVYYKKLF
400	CATWDKPEVYYKKLF
401	CATWEKPEVYYKKLF
402	CATWNKPEVYYKKLF
403	CATWQKPEVYYKKLF

[0291]

SEQ ID NO:	突变体 (FE11 γ)
404	CATWDRPDVYYKKLF
405	CATWERPDVYYKKLF
406	CATWNRPDVYYKKLF
407	CATWQRPDVYYKKLF
408	CATWDKPDVYYKKLF
409	CATWEKPDVYYKKLF
410	CATWNKPDVYYKKLF
411	CATWQKPDVYYKKLF
412	CATWDRPNVYYKKLF
413	CATWERPNVYYKKLF
414	CATWNRPNVYYKKLF
415	CATWQRPNVYYKKLF
416	CATWDKPNVYYKKLF
417	CATWEKPNVYYKKLF
418	CATWNKPNVYYKKLF
419	CATWQKPNVYYKKLF
420	CATWDRPQVYYKKLF
421	CATWERPQVYYKKLF
422	CATWNRPQVYYKKLF
423	CATWQRPQVYYKKLF
424	CATWDKPQVYYKKLF
425	CATWEKPQVYYKKLF
426	CATWNKPQVYYKKLF
427	CATWQKPQVYYKKLF
428	ATWDRPEIYYKKL

[0292] 实施例20:实体或血液恶性肿瘤的鼠模型

[0293] NOD.Cg-Prkcd^{scid} IL2rg^{tm1wj1}/SzJ (NSG) 小鼠获自Jackson实验室 (Bar Harbor, ME, USA) 而NOD.Cg-Prkdc I12rg Tg (HLA-A24) 3Dvs/Sz (NSG-A24) 小鼠由Leonard D. Shultz (Jackson实验室) 友情提供。所有小鼠都饲养于乌特勒支大学 (Utrecht University) 中心动物设施 (Central Animal Facility) 的无特异性病原 (SPF) 育种单元中。在获得当地伦理委员会的许可后并根据荷兰现行动物实验法律, 根据研究所准则进行实验。小鼠接受亚致死全身照射, 然后注射人血液肿瘤细胞或植入人实体瘤细胞, 之后用TEG或Mock TCR转导的T细胞对其处理。通过生物发光成像在体内可视化荧光素酶阳性肿瘤。小鼠在接受i.p.注射荧光素 (Promega) 之前用异氟烷麻醉。生物发光图像通过使用由Photo Vision软件控制并用M³Vision软件分析 (均来自Photon Imager; Biospace Laboratory, Paris, France) 的第三代冷却GaAs增强电荷耦合设备相机采集。与Mock TCR T细胞相比, 肿瘤生长、无肿瘤存活和总体存活用于评价TEG抗肿瘤活性。通过流式细胞术每周测量外周血中的TEG持久性。每周两次对临床症状进行评分, 包括体重测量。在达到预定义的人类点或实验结束的情况下,

对小鼠实施安乐死以进行尸检和病理学筛查。

[0294] 实施例21:V δ 1 γ δ TCR库生成

[0295] 使用RNeasy试剂盒 (Qiagen) 从通过来自健康供体的PBMC的MACS分离获得的 γ δ T 细胞中提取RNA。 δ TCR和 γ TCR的特异性cDNA采用 Superscript® II 逆转录酶 (Thermo fisher) 使用在 δ TCR或 γ TCR的3'恒定区的特异性引物合成。V δ 1TCR DNA使用V δ 1基因特异性5'引物和3'恒定区引物扩增。在与 δ TCR基因相同的启动子之下,将该DNA连接到含有嘌呤霉素抗性基因的逆转录病毒表达质粒中。对于 δ TCR基因实施了类似的策略。V γ 2/4、V γ 3/5 和V γ 8的基因特异性5'引物和3'恒定区引物用于扩增这些 γ TCR基因。在与 γ TCR基因相同的启动子之下,将PCR产物连接到含有新霉素抗性基因的逆转录病毒表达质粒中。使用热休克方案将连接混合物用于转化感受态大肠杆菌DH5 α 细胞。转化的大肠杆菌用于接种过夜培养物而提取质粒DNA。

[0296] 使用V δ 1-V γ TCR库转导Jurkat细胞

[0297] Phoenix amphi细胞用含有V δ 1TCR基因和V γ 基因的逆转录病毒表达质粒以及逆转录病毒辅助质粒pHit60和pColtGalV进行转染。转染后48小时,含病毒培养基用于转导Jurkat细胞。此过程再次重复。使用800 μ g/mL G418和1 μ g/mL嘌呤霉素选择成功转导的Jurkat细胞。完成另外的 γ δ TCR MACS分离以包括表达配对 γ 和 δ TCR链的Jurkat细胞。

[0298] 筛选K562-HLA-A*24:02反应性V δ 1 γ δ TCR

[0299] 将用V δ 1 γ δ TCR库转导的Jurkat细胞与K562细胞一起以1:3的比率培养过夜。细胞用抗CD69-APC和抗CD3-PE进行染色,并使用流式细胞术分选。将所分选的未活化Jurkat细胞 (CD3⁺CD69⁻) 静置并扩增一周,然后用HLA-A*24:02转导K562细胞进行过夜刺激。细胞再次用抗CD69-APC染色,并且在96-孔板中对抗CD3-PE和CD3⁺CD69⁺细胞进行单细胞分选。再次评价V δ 1 γ δ TCR Jurkat克隆体对K562-HLA-A*24:02的反应活性和对K562细胞的非反应活性。对真正K562-HLA-A*24:02反应活性V δ 1 γ δ TCR Jurkat克隆体进行测序而确定 γ 和 δ TCR序列。

[0300] 实施例22:稳定性测试:

[0301] 将含有至少一种本文多肽的本文组合物或药物组合物或细胞如表达本文多肽的工程化细胞储存于25℃或4℃的密封容器中并将容器放置于具有30%,40%,50%,60%,70%,75%,80%,90%或95%相对湿度的气氛中。在1个月,2个月,3个月,6个月,1年,1.5年,2年,2.5年或3年后,通过标准方案测定,药物组合物应该保持至少50%,60%,70%,80%或90%。

[0302] 虽然本文已经展示和描述了本发明的具体实施方式,但对于本领域技术人员显而易见的是,这些实施方式仅以举例说明的方式提供。现在对于本领域技术人员而言在不脱离本发明的情况下将会想到许多变体、变化和替代。应该理解的是,本文的本发明实施方式的各种替代方案都可以用于实施本发明。以下权利要求旨在界定本发明的范围,并且由此涵盖这些权利要求及其等同物范围内的方法和结构。

[0001]	序列表
[0002]	<110> UMC乌得勒支控股有限公司
[0003]	<120> 人白细胞抗原限制的 δ T细胞受体及其使用方法
[0004]	<130> P6068644PCT
[0005]	<150> EP 16173986.7
[0006]	<151> 2016-06-10
[0007]	<150> EP 16173970.1
[0008]	<151> 2016-06-10
[0009]	<160> 444
[0010]	<170> PatentIn version 3.5
[0011]	<210> 1
[0012]	<211> 3416
[0013]	<212> DNA
[0014]	<213> 智人
[0015]	<400> 1
[0016]	gagaagccaa tcagtgtcgt cgcggtcgt gttctaaagt ccgcacgcac ccaccgggac 60
[0017]	tcagattctc cccagacgcc gaggatggcc gtcattggcg cccgaaccct cctcctgcta 120
[0018]	ctctcggggg ccctggccct gaccagacc tgggcgggtg agtgcgggtg cgggagggaa 180
[0019]	accgcctctg cggggagaag caaggggccc tcctggcggg ggcgaggac cgggggagcc 240
[0020]	gcgccgggag gagggtcggg caggtctcag cactgtctg ccccaggct cccactccat 300
[0021]	gaggtatttc ttcacatccg tgccccggcc cggccgcggg gageccccgt tcctgcctg 360
[0022]	gggctacgtg gacgacacgc agttcgtgct gttcgacagc gacgccgcga gccagaagat 420
[0023]	ggagccgcgg gcgccgtgga tagagcagga ggggccggag tattgggacc aggagacacg 480
[0024]	gaatatgaag gccactcac agactgaccg agcgaacctg gggaccctgc gcggctacta 540
[0025]	caaccagagc gaggacggtg agtgaccccg gcccgggcg caggtcacga cccctcatcc 600
[0026]	cccacggacg ggccaggctg cccacagtct ccgggtccga gatccacccc gaagccgcgg 660
[0027]	gactccgaga cccttgctcc gggagaggcc caggcgcctt taccgggttt cattttcagt 720
[0028]	ttagccaaa aatcccccg ggttggtcgg gcggggcggg ggctcggggg actgggctga 780
[0029]	ccgcggggtc ggggccaggt tctcacacca tccagataat gtatggctgc gacgtggggc 840
[0030]	cggacgggag cttctccgc gggtagccgc aggacgcta cgacggcaag gattacatcg 900
[0031]	ccctgaacga ggacctgcgc tcttgaccg cggcgacat ggcagctcag atcaccaagc 960
[0032]	gcaagtggga ggcggtccat gcggcgagc agcgagagt ctacctggag ggccggtgct 1020
[0033]	tggacgggct ccgcagatac ctggagaacg ggaaggagac gctgcagcgc acgggtacca 1080
[0034]	ggggccacgg ggccctccc tgatgccta tagatctccc gggtggcct cccacaagga 1140
[0035]	ggggagacaa ttgggaccaa cactagaata tcacctccc tctggtcctg agggagagga 1200
[0036]	atcctcctgg gtttcagat cctgtaccag agagtgactc tgaggttccg ccctgctctc 1260
[0037]	tgacacaatt aagggataaa atctctgaag gaggtagcgg aagacgatcc ctcgaatact 1320
[0038]	gatgagtggg tcccttgac accggcagca gccttgggccc cgtgactttt cctctcagc 1380
[0039]	cttggtctct gttcacact caatgtgtgt ggggtctga gtccagcact tctgagtctc 1440
[0040]	tcagcctcca ctcaggctcag gaccagaagt cgctgttccc ttctcaggga atagaagatt 1500
[0041]	atcccagggtg cctgtgtcca ggctggtgtc tgggttctgt gctctcttcc ccatcccggg 1560

[0042]	tgctctgtcc attctcaaga tggccacatg cgtgctgggtg gagtgtccca tgacagatgc	1620
[0043]	aaaatgcctg aattttctga ctcttcccgt cagaccccc caagacacat atgaccacc	1680
[0044]	accccatctc tgaccatgag gccaccctga ggtgctgggc cctgggcttc taccctgcgg	1740
[0045]	agatcacact gacctggcag cgggatgggg aggaccagac ccaggacacg gagctcgtgg	1800
[0046]	agaccaggcc tgcaggggat ggaaccttcc agaagtgggc ggctgtgggtg gtgccttctg	1860
[0047]	gagaggagca gagatacacc tgccatgtgc agcatgaggg tctgcccag cccctcacc	1920
[0048]	tgagatgggg taaggaggga gatgggggtg tcatgtctct tagggaaagc aggagcctct	1980
[0049]	ctggagacct ttagcagggt cagggccct caccctcccc tcttttcca gagctgtctt	2040
[0050]	cccagccac catcccatc gtgggcatca ttgctggcct ggttctcctt ggagctgtga	2100
[0051]	tactggagc tgtggtcgct gccgtgatgt ggaggaggaa gagctcaggt ggagaagggg	2160
[0052]	tgaagggtgg ggtctgagat ttcttctc actgagggtt ccaagccca gctagaaatg	2220
[0053]	tgccctgtct cattactggg aagcacctc cacaatcatg ggccgacca gcctgggccc	2280
[0054]	tgtgtgccag cacttactct tttgtaaagc acctgttaa atgaaggaca gatttatcac	2340
[0055]	cttgattacg gcggtgatgg gacctgatcc cagcagtcac aagtcacagg ggaaggtccc	2400
[0056]	tgaggacaga cctcaggagg gctattggtc caggaccac acctgccttc tcatgtttc	2460
[0057]	ctgatccgc cctgggtctg cagtcacaca tttctggaaa cttctctggg gtccaagact	2520
[0058]	aggaggttcc tctaggacct taaggccctg gctccttctt ggtatctcac aggacatttt	2580
[0059]	cttccacag atagaaaagg agggagtac actcaggctg caagtaagta tgaaggaggc	2640
[0060]	tgatgcctga ggtccttggg atattgtgtt tgggagcca tgggggagct caccacccc	2700
[0061]	acaattctc ctctagccac atcttctgtg ggatctgacc aggttctgtt tttgttctac	2760
[0062]	cccaggcagt gacagtgcc agggctctga tgtgtctctc acagcttgta aaggtgagag	2820
[0063]	cttgaggggc ctgatgtgtg ttgggtgtg ggtggaacag tggacacagc tgtgtctatg	2880
[0064]	ggtttctttg cgttggtatg attgagcatg cgatgggctg ttttaagggtg gaccctcac	2940
[0065]	tgtgatggat atgaatttgt tcatgaatat tttttctat agtgtgagac agctgccttg	3000
[0066]	tgtgggactg agaggcaaga gttgttcctg ccttccctt tgtacttga agaacctga	3060
[0067]	ctttgtttct gcaaaggcac ctgcatgtgt ctgtgttcgt gtaggcataa tgtgaggagg	3120
[0068]	tggggagagc accccacccc catgtccacc atgacctct tccacgctg acctgtgctc	3180
[0069]	cctctccaat catcttccct gttccagaga ggtggggctg aggtgtctcc atctctgtct	3240
[0070]	caacttcatg gtgcactgag ctgtaactc ttccttcct attaaaatta gaacctgagt	3300
[0071]	ataaatttac tttctcaaat tcttgccatg agaggttgat gagttaatta aaggagaaga	3360
[0072]	ttcctaaaat ttgagagaca aaattaatgg aacgcatgag aaccttcag agtcca	3416
[0073]	<210> 2	
[0074]	<211> 15	
[0075]	<212> PRT	
[0076]	<213> 人工序列	
[0077]	<220>	
[0078]	<221> 来源	
[0079]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”	
[0080]	<400> 2	
[0081]	Cys Ala Thr Trp Asp Arg Pro Glu Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[0082]	1 5 10 15	
[0083]	<210> 3	

[0084]	<211> 19
[0085]	<212> PRT
[0086]	<213> 人工序列
[0087]	<220>
[0088]	<221> 来源
[0089]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0090]	<400> 3
[0091]	Cys Ala Leu Gly Asp Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys
[0092]	1 5 10 15
[0093]	Leu Ile Phe
[0094]	<210> 4
[0095]	<211> 309
[0096]	<212> PRT
[0097]	<213> 人工序列
[0098]	<220>
[0099]	<221> 来源
[0100]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成多肽”
[0101]	<400> 4
[0102]	Met Gly Trp Ala Leu Leu Val Leu Leu Ala Phe Leu Ser Pro Ala Ser
[0103]	1 5 10 15
[0104]	Gln Lys Ser Ser Asn Leu Glu Gly Gly Thr Lys Ser Val Thr Arg Pro
[0105]	20 25 30
[0106]	Thr Arg Ser Ser Ala Glu Ile Thr Cys Asp Leu Thr Val Ile Asn Ala
[0107]	35 40 45
[0108]	Phe Tyr Ile His Trp Tyr Leu His Gln Glu Gly Lys Ala Pro Gln Arg
[0109]	50 55 60
[0110]	Leu Leu Tyr Tyr Asp Val Ser Asn Ser Lys Asp Val Leu Glu Ser Gly
[0111]	65 70 75 80
[0112]	Leu Ser Pro Gly Lys Tyr Tyr Thr His Thr Pro Arg Arg Trp Ser Trp
[0113]	85 90 95
[0114]	Ile Leu Ile Leu Arg Asn Leu Ile Glu Asn Asp Ser Gly Val Tyr Tyr
[0115]	100 105 110
[0116]	Cys Ala Thr Trp Asp Arg Pro Glu Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe Gly
[0117]	115 120 125
[0118]	Ser Gly Thr Thr Leu Val Val Thr Asp Lys Gln Leu Asp Ala Asp Val
[0119]	130 135 140
[0120]	Ser Pro Lys Pro Thr Ile Phe Leu Pro Ser Ile Ala Glu Thr Lys Leu
[0121]	145 150 155 160
[0122]	Gln Lys Ala Gly Thr Tyr Leu Cys Leu Leu Glu Lys Phe Phe Pro Asp
[0123]	165 170 175
[0124]	Val Ile Lys Ile His Trp Glu Glu Lys Lys Ser Asn Thr Ile Leu Gly
[0125]	180 185 190

[0126]	Ser Gln Glu Gly Asn Thr Met Lys Thr Asn Asp Thr Tyr Met Lys Phe		
[0127]	195	200	205
[0128]	Ser Trp Leu Thr Val Pro Glu Lys Ser Leu Asp Lys Glu His Arg Cys		
[0129]	210	215	220
[0130]	Ile Val Arg His Glu Asn Asn Lys Asn Gly Val Asp Gln Glu Ile Ile		
[0131]	225	230	235 240
[0132]	Phe Pro Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr Met Asp Pro Lys Asp Asn		
[0133]	245	250	255
[0134]	Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu Leu Gln Leu Thr Asn Thr		
[0135]	260	265	270
[0136]	Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr		
[0137]	275	280	285
[0138]	Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe Cys Cys		
[0139]	290	295	300
[0140]	Asn Gly Glu Lys Ser		
[0141]	305		
[0142]	<210> 5		
[0143]	<211> 293		
[0144]	<212> PRT		
[0145]	<213> 人工序列		
[0146]	<220>		
[0147]	<221> 来源		
[0148]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成多肽”		
[0149]	<400> 5		
[0150]	Met Val Phe Ser Ser Leu Leu Cys Val Phe Val Ala Phe Ser Tyr Ser		
[0151]	1	5	10 15
[0152]	Gly Ser Ser Val Ala Gln Lys Val Thr Gln Ala Gln Ser Ser Val Ser		
[0153]	20	25	30
[0154]	Met Pro Val Arg Lys Ala Val Thr Leu Asn Cys Leu Tyr Glu Thr Ser		
[0155]	35	40	45
[0156]	Trp Trp Ser Tyr Tyr Ile Phe Trp Tyr Lys Gln Leu Pro Ser Lys Glu		
[0157]	50	55	60
[0158]	Met Ile Phe Leu Ile Arg Gln Gly Ser Asp Glu Gln Asn Ala Lys Ser		
[0159]	65	70	75 80
[0160]	Gly Arg Tyr Ser Val Asn Phe Lys Lys Ala Ala Lys Ser Val Ala Leu		
[0161]	85	90	95
[0162]	Thr Ile Ser Ala Leu Gln Leu Glu Asp Ser Ala Lys Tyr Phe Cys Ala		
[0163]	100	105	110
[0164]	Leu Gly Asp Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys Leu Ile		
[0165]	115	120	125
[0166]	Phe Gly Lys Gly Thr Arg Val Thr Val Glu Pro Arg Ser Gln Pro His		
[0167]	130	135	140

[0168]	Thr Lys Pro Ser Val Phe Val Met Lys Asn Gly Thr Asn Val Ala Cys
[0169]	145 150 155 160
[0170]	Leu Val Lys Glu Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Arg Ile Asn Leu Val Ser
[0171]	165 170 175
[0172]	Ser Lys Lys Ile Thr Glu Phe Asp Pro Ala Ile Val Ile Ser Pro Ser
[0173]	180 185 190
[0174]	Gly Lys Tyr Asn Ala Val Lys Leu Gly Lys Tyr Glu Asp Ser Asn Ser
[0175]	195 200 205
[0176]	Val Thr Cys Ser Val Gln His Asp Asn Lys Thr Val His Ser Thr Asp
[0177]	210 215 220
[0178]	Phe Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr
[0179]	225 230 235 240
[0180]	Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile
[0181]	245 250 255
[0182]	Val His Thr Glu Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu
[0183]	260 265 270
[0184]	Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala
[0185]	275 280 285
[0186]	Lys Leu Phe Phe Leu
[0187]	290
[0188]	<210> 6
[0189]	<211> 19
[0190]	<212> PRT
[0191]	<213> 人工序列
[0192]	<220>
[0193]	<221> 来源
[0194]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0195]	<400> 6
[0196]	Cys Ala Leu Gly Asp Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys
[0197]	1 5 10 15
[0198]	Leu Ile Phe
[0199]	<210> 7
[0200]	<211> 19
[0201]	<212> PRT
[0202]	<213> 人工序列
[0203]	<220>
[0204]	<221> 来源
[0205]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0206]	<400> 7
[0207]	Cys Ala Leu Gly Glu Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys
[0208]	1 5 10 15
[0209]	Leu Ile Phe

[0210]	<210> 8
[0211]	<211> 19
[0212]	<212> PRT
[0213]	<213> 人工序列
[0214]	<220>
[0215]	<221> 来源
[0216]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0217]	<400> 8
[0218]	Cys Ala Leu Gly Asn Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys
[0219]	1 5 10 15
[0220]	Leu Ile Phe
[0221]	<210> 9
[0222]	<211> 19
[0223]	<212> PRT
[0224]	<213> 人工序列
[0225]	<220>
[0226]	<221> 来源
[0227]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0228]	<400> 9
[0229]	Cys Ala Leu Gly Gln Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys
[0230]	1 5 10 15
[0231]	Leu Ile Phe
[0232]	<210> 10
[0233]	<211> 19
[0234]	<212> PRT
[0235]	<213> 人工序列
[0236]	<220>
[0237]	<221> 来源
[0238]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0239]	<400> 10
[0240]	Cys Ala Leu Gly Asp Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys
[0241]	1 5 10 15
[0242]	Leu Ile Phe
[0243]	<210> 11
[0244]	<211> 19
[0245]	<212> PRT
[0246]	<213> 人工序列
[0247]	<220>
[0248]	<221> 来源
[0249]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0250]	<400> 11
[0251]	Cys Ala Leu Gly Glu Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys

[0252]	1	5	10	15
[0253]	Leu Ile Phe			
[0254]	<210> 12			
[0255]	<211> 19			
[0256]	<212> PRT			
[0257]	<213> 人工序列			
[0258]	<220>			
[0259]	<221> 来源			
[0260]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”			
[0261]	<400> 12			
[0262]	Cys Ala Leu Gly Asn Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys			
[0263]	1	5	10	15
[0264]	Leu Ile Phe			
[0265]	<210> 13			
[0266]	<211> 19			
[0267]	<212> PRT			
[0268]	<213> 人工序列			
[0269]	<220>			
[0270]	<221> 来源			
[0271]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”			
[0272]	<400> 13			
[0273]	Cys Ala Leu Gly Gln Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys			
[0274]	1	5	10	15
[0275]	Leu Ile Phe			
[0276]	<210> 14			
[0277]	<211> 19			
[0278]	<212> PRT			
[0279]	<213> 人工序列			
[0280]	<220>			
[0281]	<221> 来源			
[0282]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”			
[0283]	<400> 14			
[0284]	Cys Ala Leu Gly Asp Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys			
[0285]	1	5	10	15
[0286]	Leu Ile Phe			
[0287]	<210> 15			
[0288]	<211> 19			
[0289]	<212> PRT			
[0290]	<213> 人工序列			
[0291]	<220>			
[0292]	<221> 来源			
[0293]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”			

[0294]	<400> 15
[0295]	Cys Ala Leu Gly Glu Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys
[0296]	1 5 10 15
[0297]	Leu Ile Phe
[0298]	<210> 16
[0299]	<211> 19
[0300]	<212> PRT
[0301]	<213> 人工序列
[0302]	<220>
[0303]	<221> 来源
[0304]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0305]	<400> 16
[0306]	Cys Ala Leu Gly Asn Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys
[0307]	1 5 10 15
[0308]	Leu Ile Phe
[0309]	<210> 17
[0310]	<211> 19
[0311]	<212> PRT
[0312]	<213> 人工序列
[0313]	<220>
[0314]	<221> 来源
[0315]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0316]	<400> 17
[0317]	Cys Ala Leu Gly Gln Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys
[0318]	1 5 10 15
[0319]	Leu Ile Phe
[0320]	<210> 18
[0321]	<211> 19
[0322]	<212> PRT
[0323]	<213> 人工序列
[0324]	<220>
[0325]	<221> 来源
[0326]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0327]	<400> 18
[0328]	Cys Ala Leu Gly Asp Thr Phe Gly Gly Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys
[0329]	1 5 10 15
[0330]	Leu Ile Phe
[0331]	<210> 19
[0332]	<211> 19
[0333]	<212> PRT
[0334]	<213> 人工序列
[0335]	<220>

[0336]	<221>	来源
[0337]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0338]	<400>	19
[0339]	Cys Ala Leu Gly Glu Thr Phe Gly Gly Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys	
[0340]	1	5 10 15
[0341]	Leu Ile Phe	
[0342]	<210>	20
[0343]	<211>	19
[0344]	<212>	PRT
[0345]	<213>	人工序列
[0346]	<220>	
[0347]	<221>	来源
[0348]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0349]	<400>	20
[0350]	Cys Ala Leu Gly Asn Thr Phe Gly Gly Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys	
[0351]	1	5 10 15
[0352]	Leu Ile Phe	
[0353]	<210>	21
[0354]	<211>	19
[0355]	<212>	PRT
[0356]	<213>	人工序列
[0357]	<220>	
[0358]	<221>	来源
[0359]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0360]	<400>	21
[0361]	Cys Ala Leu Gly Gln Thr Phe Gly Gly Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys	
[0362]	1	5 10 15
[0363]	Leu Ile Phe	
[0364]	<210>	22
[0365]	<211>	19
[0366]	<212>	PRT
[0367]	<213>	人工序列
[0368]	<220>	
[0369]	<221>	来源
[0370]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0371]	<400>	22
[0372]	Cys Ala Leu Gly Asp Ser Tyr Ala Gly Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys	
[0373]	1	5 10 15
[0374]	Leu Ile Phe	
[0375]	<210>	23
[0376]	<211>	19
[0377]	<212>	PRT

[0378]	<213>	人工序列
[0379]	<220>	
[0380]	<221>	来源
[0381]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0382]	<400>	23
[0383]	Cys Ala Leu Gly Glu Ser Tyr Ala Gly Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys	
[0384]	1	5 10 15
[0385]	Leu Ile Phe	
[0386]	<210>	24
[0387]	<211>	19
[0388]	<212>	PRT
[0389]	<213>	人工序列
[0390]	<220>	
[0391]	<221>	来源
[0392]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0393]	<400>	24
[0394]	Cys Ala Leu Gly Asn Ser Tyr Ala Gly Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys	
[0395]	1	5 10 15
[0396]	Leu Ile Phe	
[0397]	<210>	25
[0398]	<211>	19
[0399]	<212>	PRT
[0400]	<213>	人工序列
[0401]	<220>	
[0402]	<221>	来源
[0403]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0404]	<400>	25
[0405]	Cys Ala Leu Gly Gln Ser Tyr Ala Gly Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys	
[0406]	1	5 10 15
[0407]	Leu Ile Phe	
[0408]	<210>	26
[0409]	<211>	19
[0410]	<212>	PRT
[0411]	<213>	人工序列
[0412]	<220>	
[0413]	<221>	来源
[0414]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0415]	<400>	26
[0416]	Cys Ala Leu Gly Asp Thr Tyr Ala Gly Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys	
[0417]	1	5 10 15
[0418]	Leu Ile Phe	
[0419]	<210>	27

[0420]	<211>	19
[0421]	<212>	PRT
[0422]	<213>	人工序列
[0423]	<220>	
[0424]	<221>	来源
[0425]	<223>	/注释=“人工序列的描述：合成肽”
[0426]	<400>	27
[0427]	Cys Ala Leu Gly Glu Thr Tyr Ala Gly Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys	
[0428]	1 5 10 15	
[0429]	Leu Ile Phe	
[0430]	<210>	28
[0431]	<211>	19
[0432]	<212>	PRT
[0433]	<213>	人工序列
[0434]	<220>	
[0435]	<221>	来源
[0436]	<223>	/注释=“人工序列的描述：合成肽”
[0437]	<400>	28
[0438]	Cys Ala Leu Gly Asn Thr Tyr Ala Gly Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys	
[0439]	1 5 10 15	
[0440]	Leu Ile Phe	
[0441]	<210>	29
[0442]	<211>	19
[0443]	<212>	PRT
[0444]	<213>	人工序列
[0445]	<220>	
[0446]	<221>	来源
[0447]	<223>	/注释=“人工序列的描述：合成肽”
[0448]	<400>	29
[0449]	Cys Ala Leu Gly Gln Thr Tyr Ala Gly Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys	
[0450]	1 5 10 15	
[0451]	Leu Ile Phe	
[0452]	<210>	30
[0453]	<211>	19
[0454]	<212>	PRT
[0455]	<213>	人工序列
[0456]	<220>	
[0457]	<221>	来源
[0458]	<223>	/注释=“人工序列的描述：合成肽”
[0459]	<400>	30
[0460]	CysAla Leu Gly Asp Ser Tyr Gly Ala Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys	
[0461]	1 5 10 15	

[0462] Leu Ile Phe
[0463] <210> 31
[0464] <211> 19
[0465] <212> PRT
[0466] <213> 人工序列
[0467] <220>
[0468] <221> 来源
[0469] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0470] <400> 31
[0471] Cys Ala Leu Gly Glu Ser Tyr Gly Ala Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys
[0472] 1 5 10 15
[0473] Leu Ile Phe
[0474] <210> 32
[0475] <211> 19
[0476] <212> PRT
[0477] <213> 人工序列
[0478] <220>
[0479] <221> 来源
[0480] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0481] <400> 32
[0482] Cys Ala Leu Gly Asn Ser Tyr Gly Ala Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys
[0483] 1 5 10 15
[0484] Leu Ile Phe
[0485] <210> 33
[0486] <211> 19
[0487] <212> PRT
[0488] <213> 人工序列
[0489] <220>
[0490] <221> 来源
[0491] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0492] <400> 33
[0493] Cys Ala Leu Gly Gln Ser Tyr Gly Ala Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys
[0494] 1 5 10 15
[0495] Leu Ile Phe
[0496] <210> 34
[0497] <211> 19
[0498] <212> PRT
[0499] <213> 人工序列
[0500] <220>
[0501] <221> 来源
[0502] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0503] <400> 34

[0504]	Cys Ala Leu Gly Asp Thr Tyr Gly Ala Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys
[0505]	1 5 10 15
[0506]	Leu Ile Phe
[0507]	<210> 35
[0508]	<211> 19
[0509]	<212> PRT
[0510]	<213> 人工序列
[0511]	<220>
[0512]	<221> 来源
[0513]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0514]	<400> 35
[0515]	Cys Ala Leu Gly Glu Thr Tyr Gly Ala Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys
[0516]	1 5 10 15
[0517]	Leu Ile Phe
[0518]	<210> 36
[0519]	<211> 19
[0520]	<212> PRT
[0521]	<213> 人工序列
[0522]	<220>
[0523]	<221> 来源
[0524]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0525]	<400> 36
[0526]	Cys Ala Leu Gly Asn Thr Tyr Gly Ala Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys
[0527]	1 5 10 15
[0528]	Leu Ile Phe
[0529]	<210> 37
[0530]	<211> 19
[0531]	<212> PRT
[0532]	<213> 人工序列
[0533]	<220>
[0534]	<221> 来源
[0535]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0536]	<400> 37
[0537]	Cys Ala Leu Gly Gln Thr Tyr Gly Ala Gly Pro Leu Tyr Thr Asp Lys
[0538]	1 5 10 15
[0539]	Leu Ile Phe
[0540]	<210> 38
[0541]	<211> 19
[0542]	<212> PRT
[0543]	<213> 人工序列
[0544]	<220>
[0545]	<221> 来源

[0546] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0547] <400> 38
[0548] Cys Ala Leu Gly Asp Ser Tyr Gly Gly Ala Pro Leu Tyr Thr Asp Lys
[0549] 1 5 10 15
[0550] Leu Ile Phe
[0551] <210> 39
[0552] <211> 19
[0553] <212> PRT
[0554] <213> 人工序列
[0555] <220>
[0556] <221> 来源
[0557] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0558] <400> 39
[0559] Cys Ala Leu Gly Glu Ser Tyr Gly Gly Ala Pro Leu Tyr Thr Asp Lys
[0560] 1 5 10 15
[0561] Leu Ile Phe
[0562] <210> 40
[0563] <211> 19
[0564] <212> PRT
[0565] <213> 人工序列
[0566] <220>
[0567] <221> 来源
[0568] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0569] <400> 40
[0570] Cys Ala Leu Gly Asn Ser Tyr Gly Gly Ala Pro Leu Tyr Thr Asp Lys
[0571] 1 5 10 15
[0572] Leu Ile Phe
[0573] <210> 41
[0574] <211> 19
[0575] <212> PRT
[0576] <213> 人工序列
[0577] <220>
[0578] <221> 来源
[0579] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0580] <400> 41
[0581] Cys Ala Leu Gly Gln Ser Tyr Gly Gly Ala Pro Leu Tyr Thr Asp Lys
[0582] 1 5 10 15
[0583] Leu Ile Phe
[0584] <210> 42
[0585] <211> 19
[0586] <212> PRT
[0587] <213> 人工序列

[0588]	<220>
[0589]	<221> 来源
[0590]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0591]	<400> 42
[0592]	Cys Ala Leu Gly Asp Thr Tyr Gly Gly Ala Pro Leu Tyr Thr Asp Lys
[0593]	1 5 10 15
[0594]	Leu Ile Phe
[0595]	<210> 43
[0596]	<211> 19
[0597]	<212> PRT
[0598]	<213> 人工序列
[0599]	<220>
[0600]	<221> 来源
[0601]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0602]	<400> 43
[0603]	Cys Ala Leu Gly Glu Thr Tyr Gly Gly Ala Pro Leu Tyr Thr Asp Lys
[0604]	1 5 10 15
[0605]	Leu Ile Phe
[0606]	<210> 44
[0607]	<211> 19
[0608]	<212> PRT
[0609]	<213> 人工序列
[0610]	<220>
[0611]	<221> 来源
[0612]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0613]	<400> 44
[0614]	Cys Ala Leu Gly Asn Thr Tyr Gly Gly Ala Pro Leu Tyr Thr Asp Lys
[0615]	1 5 10 15
[0616]	Leu Ile Phe
[0617]	<210> 45
[0618]	<211> 19
[0619]	<212> PRT
[0620]	<213> 人工序列
[0621]	<220>
[0622]	<221> 来源
[0623]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0624]	<400> 45
[0625]	Cys Ala Leu Gly Gln Thr Tyr Gly Gly Ala Pro Leu Tyr Thr Asp Lys
[0626]	1 5 10 15
[0627]	Leu Ile Phe
[0628]	<210> 46
[0629]	<211> 19

[0630]	<212>	PRT
[0631]	<213>	人工序列
[0632]	<220>	
[0633]	<221>	来源
[0634]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0635]	<400>	46
[0636]	Cys Ala Leu Gly Asp Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asp Lys	
[0637]	1	5 10 15
[0638]	Leu Ile Phe	
[0639]	<210>	47
[0640]	<211>	19
[0641]	<212>	PRT
[0642]	<213>	人工序列
[0643]	<220>	
[0644]	<221>	来源
[0645]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0646]	<400>	47
[0647]	Cys Ala Leu Gly Glu Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asp Lys	
[0648]	1	5 10 15
[0649]	Leu Ile Phe	
[0650]	<210>	48
[0651]	<211>	19
[0652]	<212>	PRT
[0653]	<213>	人工序列
[0654]	<220>	
[0655]	<221>	来源
[0656]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0657]	<400>	48
[0658]	Cys Ala Leu Gly Asn Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asp Lys	
[0659]	1	5 10 15
[0660]	Leu Ile Phe	
[0661]	<210>	49
[0662]	<211>	19
[0663]	<212>	PRT
[0664]	<213>	人工序列
[0665]	<220>	
[0666]	<221>	来源
[0667]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0668]	<400>	49
[0669]	Cys Ala Leu Gly Gln Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asp Lys	
[0670]	1	5 10 15
[0671]	Leu Ile Phe	

[0672]	<210>	50
[0673]	<211>	19
[0674]	<212>	PRT
[0675]	<213>	人工序列
[0676]	<220>	
[0677]	<221>	来源
[0678]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0679]	<400>	50
[0680]	Cys Ala Leu Gly Asp Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asp Lys	
[0681]	1 5 10 15	
[0682]	Leu Ile Phe	
[0683]	<210>	51
[0684]	<211>	19
[0685]	<212>	PRT
[0686]	<213>	人工序列
[0687]	<220>	
[0688]	<221>	来源
[0689]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0690]	<400>	51
[0691]	Cys Ala Leu Gly Glu Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asp Lys	
[0692]	1 5 10 15	
[0693]	Leu Ile Phe	
[0694]	<210>	52
[0695]	<211>	19
[0696]	<212>	PRT
[0697]	<213>	人工序列
[0698]	<220>	
[0699]	<221>	来源
[0700]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0701]	<400>	52
[0702]	Cys Ala Leu Gly Asn Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asp Lys	
[0703]	1 5 10 15	
[0704]	Leu Ile Phe	
[0705]	<210>	53
[0706]	<211>	19
[0707]	<212>	PRT
[0708]	<213>	人工序列
[0709]	<220>	
[0710]	<221>	来源
[0711]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0712]	<400>	53
[0713]	Cys Ala Leu Gly Gln Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asp Lys	

[0714]	1	5	10	15
[0715]	Leu Ile Phe			
[0716]	<210> 54			
[0717]	<211> 19			
[0718]	<212> PRT			
[0719]	<213> 人工序列			
[0720]	<220>			
[0721]	<221> 来源			
[0722]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”			
[0723]	<400> 54			
[0724]	Cys Ala Leu Gly Asp Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asp Lys			
[0725]	1	5	10	15
[0726]	Leu Ile Phe			
[0727]	<210> 55			
[0728]	<211> 19			
[0729]	<212> PRT			
[0730]	<213> 人工序列			
[0731]	<220>			
[0732]	<221> 来源			
[0733]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”			
[0734]	<400> 55			
[0735]	Cys Ala Leu Gly Glu Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asp Lys			
[0736]	1	5	10	15
[0737]	Leu Ile Phe			
[0738]	<210> 56			
[0739]	<211> 19			
[0740]	<212> PRT			
[0741]	<213> 人工序列			
[0742]	<220>			
[0743]	<221> 来源			
[0744]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”			
[0745]	<400> 56			
[0746]	Cys Ala Leu Gly Asn Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asp Lys			
[0747]	1	5	10	15
[0748]	Leu Ile Phe			
[0749]	<210> 57			
[0750]	<211> 19			
[0751]	<212> PRT			
[0752]	<213> 人工序列			
[0753]	<220>			
[0754]	<221> 来源			
[0755]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”			

[0756]	<400> 57
[0757]	Cys Ala Leu Gly Gln Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asp Lys
[0758]	1 5 10 15
[0759]	Leu Ile Phe
[0760]	<210> 58
[0761]	<211> 19
[0762]	<212> PRT
[0763]	<213> 人工序列
[0764]	<220>
[0765]	<221> 来源
[0766]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0767]	<400> 58
[0768]	Cys Ala Leu Gly Asp Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asp Lys
[0769]	1 5 10 15
[0770]	Leu Ile Phe
[0771]	<210> 59
[0772]	<211> 19
[0773]	<212> PRT
[0774]	<213> 人工序列
[0775]	<220>
[0776]	<221> 来源
[0777]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0778]	<400> 59
[0779]	Cys Ala Leu Gly Glu Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asp Lys
[0780]	1 5 10 15
[0781]	Leu Ile Phe
[0782]	<210> 60
[0783]	<211> 19
[0784]	<212> PRT
[0785]	<213> 人工序列
[0786]	<220>
[0787]	<221> 来源
[0788]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0789]	<400> 60
[0790]	Cys Ala Leu Gly Asn Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asp Lys
[0791]	1 5 10 15
[0792]	Leu Ile Phe
[0793]	<210> 61
[0794]	<211> 19
[0795]	<212> PRT
[0796]	<213> 人工序列
[0797]	<220>

[0798] <221> 来源
[0799] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0800] <400> 61
[0801] Cys Ala Leu Gly Gln Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asp Lys
[0802] 1 5 10 15
[0803] Leu Ile Phe
[0804] <210> 62
[0805] <211> 19
[0806] <212> PRT
[0807] <213> 人工序列
[0808] <220>
[0809] <221> 来源
[0810] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0811] <400> 62
[0812] Cys Ala Leu Gly Asp Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asp Lys
[0813] 1 5 10 15
[0814] Leu Ile Phe
[0815] <210> 63
[0816] <211> 19
[0817] <212> PRT
[0818] <213> 人工序列
[0819] <220>
[0820] <221> 来源
[0821] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0822] <400> 63
[0823] Cys Ala Leu Gly Glu Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asp Lys
[0824] 1 5 10 15
[0825] Leu Ile Phe
[0826] <210> 64
[0827] <211> 19
[0828] <212> PRT
[0829] <213> 人工序列
[0830] <220>
[0831] <221> 来源
[0832] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0833] <400> 64
[0834] Cys Ala Leu Gly Asn Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asp Lys
[0835] 1 5 10 15
[0836] Leu Ile Phe
[0837] <210> 65
[0838] <211> 19
[0839] <212> PRT

[0840]	<213>	人工序列
[0841]	<220>	
[0842]	<221>	来源
[0843]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0844]	<400>	65
[0845]	Cys Ala Leu Gly Gln Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asp Lys	
[0846]	1	5 10 15
[0847]	Leu Ile Phe	
[0848]	<210>	66
[0849]	<211>	19
[0850]	<212>	PRT
[0851]	<213>	人工序列
[0852]	<220>	
[0853]	<221>	来源
[0854]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0855]	<400>	66
[0856]	Cys Ala Leu Gly Asp Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asp Lys	
[0857]	1	5 10 15
[0858]	Leu Ile Phe	
[0859]	<210>	67
[0860]	<211>	19
[0861]	<212>	PRT
[0862]	<213>	人工序列
[0863]	<220>	
[0864]	<221>	来源
[0865]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0866]	<400>	67
[0867]	Cys Ala Leu Gly Glu Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asp Lys	
[0868]	1	5 10 15
[0869]	Leu Ile Phe	
[0870]	<210>	68
[0871]	<211>	19
[0872]	<212>	PRT
[0873]	<213>	人工序列
[0874]	<220>	
[0875]	<221>	来源
[0876]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0877]	<400>	68
[0878]	Cys Ala Leu Gly Asn Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asp Lys	
[0879]	1	5 10 15
[0880]	Leu Ile Phe	
[0881]	<210>	69

[0882]	<211>	19
[0883]	<212>	PRT
[0884]	<213>	人工序列
[0885]	<220>	
[0886]	<221>	来源
[0887]	<223>	/注释=“人工序列的描述：合成肽”
[0888]	<400>	69
[0889]	Cys Ala Leu Gly Gln Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asp Lys	
[0890]	1 5 10 15	
[0891]	Leu Ile Phe	
[0892]	<210>	70
[0893]	<211>	19
[0894]	<212>	PRT
[0895]	<213>	人工序列
[0896]	<220>	
[0897]	<221>	来源
[0898]	<223>	/注释=“人工序列的描述：合成肽”
[0899]	<400>	70
[0900]	Cys Ala Leu Gly Asp Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asp Lys	
[0901]	1 5 10 15	
[0902]	Leu Ile Phe	
[0903]	<210>	71
[0904]	<211>	19
[0905]	<212>	PRT
[0906]	<213>	人工序列
[0907]	<220>	
[0908]	<221>	来源
[0909]	<223>	/注释=“人工序列的描述：合成肽”
[0910]	<400>	71
[0911]	Cys Ala Leu Gly Glu Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asp Lys	
[0912]	1 5 10 15	
[0913]	Leu Ile Phe	
[0914]	<210>	72
[0915]	<211>	19
[0916]	<212>	PRT
[0917]	<213>	人工序列
[0918]	<220>	
[0919]	<221>	来源
[0920]	<223>	/注释=“人工序列的描述：合成肽”
[0921]	<400>	72
[0922]	CysAla Leu Gly Asn Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asp Lys	
[0923]	1 5 10 15	

[0924] Leu Ile Phe
[0925] <210> 73
[0926] <211> 19
[0927] <212> PRT
[0928] <213> 人工序列
[0929] <220>
[0930] <221> 来源
[0931] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0932] <400> 73
[0933] Cys Ala Leu Gly Gln Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asp Lys
[0934] 1 5 10 15
[0935] Leu Ile Phe
[0936] <210> 74
[0937] <211> 19
[0938] <212> PRT
[0939] <213> 人工序列
[0940] <220>
[0941] <221> 来源
[0942] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0943] <400> 74
[0944] Cys Ala Leu Gly Asp Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asp Lys
[0945] 1 5 10 15
[0946] Leu Ile Phe
[0947] <210> 75
[0948] <211> 19
[0949] <212> PRT
[0950] <213> 人工序列
[0951] <220>
[0952] <221> 来源
[0953] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0954] <400> 75
[0955] Cys Ala Leu Gly Glu Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asp Lys
[0956] 1 5 10 15
[0957] Leu Ile Phe
[0958] <210> 76
[0959] <211> 19
[0960] <212> PRT
[0961] <213> 人工序列
[0962] <220>
[0963] <221> 来源
[0964] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0965] <400> 76

[0966]	Cys Ala Leu Gly Asn Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asp Lys
[0967]	1 5 10 15
[0968]	Leu Ile Phe
[0969]	<210> 77
[0970]	<211> 19
[0971]	<212> PRT
[0972]	<213> 人工序列
[0973]	<220>
[0974]	<221> 来源
[0975]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0976]	<400> 77
[0977]	Cys Ala Leu Gly Gln Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asp Lys
[0978]	1 5 10 15
[0979]	Leu Ile Phe
[0980]	<210> 78
[0981]	<211> 19
[0982]	<212> PRT
[0983]	<213> 人工序列
[0984]	<220>
[0985]	<221> 来源
[0986]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0987]	<400> 78
[0988]	Cys Ala Leu Gly Asp Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asp Lys
[0989]	1 5 10 15
[0990]	Leu Ile Phe
[0991]	<210> 79
[0992]	<211> 19
[0993]	<212> PRT
[0994]	<213> 人工序列
[0995]	<220>
[0996]	<221> 来源
[0997]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[0998]	<400> 79
[0999]	Cys Ala Leu Gly Glu Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asp Lys
[1000]	1 5 10 15
[1001]	Leu Ile Phe
[1002]	<210> 80
[1003]	<211> 19
[1004]	<212> PRT
[1005]	<213> 人工序列
[1006]	<220>
[1007]	<221> 来源

[1008]	<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”
[1009]	<400> 80
[1010]	Cys Ala Leu Gly Asn Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asp Lys
[1011]	1 5 10 15
[1012]	Leu Ile Phe
[1013]	<210> 81
[1014]	<211> 19
[1015]	<212> PRT
[1016]	<213> 人工序列
[1017]	<220>
[1018]	<221> 来源
[1019]	<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”
[1020]	<400> 81
[1021]	Cys Ala Leu Gly Gln Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asp Lys
[1022]	1 5 10 15
[1023]	Leu Ile Phe
[1024]	<210> 82
[1025]	<211> 19
[1026]	<212> PRT
[1027]	<213> 人工序列
[1028]	<220>
[1029]	<221> 来源
[1030]	<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”
[1031]	<400> 82
[1032]	Cys Ala Leu Gly Asp Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asp Lys
[1033]	1 5 10 15
[1034]	Leu Ile Phe
[1035]	<210> 83
[1036]	<211> 19
[1037]	<212> PRT
[1038]	<213> 人工序列
[1039]	<220>
[1040]	<221> 来源
[1041]	<223> /注释=“人工序列的描述：合成肽”
[1042]	<400> 83
[1043]	Cys Ala Leu Gly Glu Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asp Lys
[1044]	1 5 10 15
[1045]	Leu Ile Phe
[1046]	<210> 84
[1047]	<211> 19
[1048]	<212> PRT
[1049]	<213> 人工序列

[1050] <220>
 [1051] <221> 来源
 [1052] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
 [1053] <400> 84
 [1054] Cys Ala Leu Gly Asn Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asp Lys
 [1055] 1 5 10 15
 [1056] Leu Ile Phe
 [1057] <210> 85
 [1058] <211> 19
 [1059] <212> PRT
 [1060] <213> 人工序列
 [1061] <220>
 [1062] <221> 来源
 [1063] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
 [1064] <400> 85
 [1065] Cys Ala Leu Gly Gln Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asp Lys
 [1066] 1 5 10 15
 [1067] Leu Ile Phe
 [1068] <210> 86
 [1069] <211> 19
 [1070] <212> PRT
 [1071] <213> 人工序列
 [1072] <220>
 [1073] <221> 来源
 [1074] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
 [1075] <400> 86
 [1076] Cys Ala Leu Gly Asp Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asp Lys
 [1077] 1 5 10 15
 [1078] Leu Ile Phe
 [1079] <210> 87
 [1080] <211> 19
 [1081] <212> PRT
 [1082] <213> 人工序列
 [1083] <220>
 [1084] <221> 来源
 [1085] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
 [1086] <400> 87
 [1087] Cys Ala Leu Gly Glu Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asp Lys
 [1088] 1 5 10 15
 [1089] Leu Ile Phe
 [1090] <210> 88
 [1091] <211> 19

[1092]	<212>	PRT
[1093]	<213>	人工序列
[1094]	<220>	
[1095]	<221>	来源
[1096]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1097]	<400>	88
[1098]	Cys Ala Leu Gly Asn Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asp Lys	
[1099]	1	5 10 15
[1100]	Leu Ile Phe	
[1101]	<210>	89
[1102]	<211>	19
[1103]	<212>	PRT
[1104]	<213>	人工序列
[1105]	<220>	
[1106]	<221>	来源
[1107]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1108]	<400>	89
[1109]	Cys Ala Leu Gly Gln Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asp Lys	
[1110]	1	5 10 15
[1111]	Leu Ile Phe	
[1112]	<210>	90
[1113]	<211>	19
[1114]	<212>	PRT
[1115]	<213>	人工序列
[1116]	<220>	
[1117]	<221>	来源
[1118]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1119]	<400>	90
[1120]	Cys Ala Leu Gly Asp Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asp Lys	
[1121]	1	5 10 15
[1122]	Leu Ile Phe	
[1123]	<210>	91
[1124]	<211>	19
[1125]	<212>	PRT
[1126]	<213>	人工序列
[1127]	<220>	
[1128]	<221>	来源
[1129]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1130]	<400>	91
[1131]	Cys Ala Leu Gly Glu Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asp Lys	
[1132]	1	5 10 15
[1133]	Leu Ile Phe	

[1134]	<210>	92
[1135]	<211>	19
[1136]	<212>	PRT
[1137]	<213>	人工序列
[1138]	<220>	
[1139]	<221>	来源
[1140]	<223>	/注释=“人工序列的描述：合成肽”
[1141]	<400>	92
[1142]	Cys Ala Leu Gly Asn Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asp Lys	
[1143]	1 5 10 15	
[1144]	Leu Ile Phe	
[1145]	<210>	93
[1146]	<211>	19
[1147]	<212>	PRT
[1148]	<213>	人工序列
[1149]	<220>	
[1150]	<221>	来源
[1151]	<223>	/注释=“人工序列的描述：合成肽”
[1152]	<400>	93
[1153]	Cys Ala Leu Gly Gln Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asp Lys	
[1154]	1 5 10 15	
[1155]	Leu Ile Phe	
[1156]	<210>	94
[1157]	<211>	19
[1158]	<212>	PRT
[1159]	<213>	人工序列
[1160]	<220>	
[1161]	<221>	来源
[1162]	<223>	/注释=“人工序列的描述：合成肽”
[1163]	<400>	94
[1164]	Cys Ala Leu Gly Asp Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Glu Lys	
[1165]	1 5 10 15	
[1166]	Leu Ile Phe	
[1167]	<210>	95
[1168]	<211>	19
[1169]	<212>	PRT
[1170]	<213>	人工序列
[1171]	<220>	
[1172]	<221>	来源
[1173]	<223>	/注释=“人工序列的描述：合成肽”
[1174]	<400>	95
[1175]	Cys Ala Leu Gly Glu Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Glu Lys	

[1176]	1	5	10	15
[1177]	Leu Ile Phe			
[1178]	<210> 96			
[1179]	<211> 19			
[1180]	<212> PRT			
[1181]	<213> 人工序列			
[1182]	<220>			
[1183]	<221> 来源			
[1184]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”			
[1185]	<400> 96			
[1186]	Cys Ala Leu Gly Asn Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Glu Lys			
[1187]	1	5	10	15
[1188]	Leu Ile Phe			
[1189]	<210> 97			
[1190]	<211> 19			
[1191]	<212> PRT			
[1192]	<213> 人工序列			
[1193]	<220>			
[1194]	<221> 来源			
[1195]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”			
[1196]	<400> 97			
[1197]	Cys Ala Leu Gly Gln Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Glu Lys			
[1198]	1	5	10	15
[1199]	Leu Ile Phe			
[1200]	<210> 98			
[1201]	<211> 19			
[1202]	<212> PRT			
[1203]	<213> 人工序列			
[1204]	<220>			
[1205]	<221> 来源			
[1206]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”			
[1207]	<400> 98			
[1208]	Cys Ala Leu Gly Asp Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Glu Lys			
[1209]	1	5	10	15
[1210]	Leu Ile Phe			
[1211]	<210> 99			
[1212]	<211> 19			
[1213]	<212> PRT			
[1214]	<213> 人工序列			
[1215]	<220>			
[1216]	<221> 来源			
[1217]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”			

[1218]	<400> 99
[1219]	Cys Ala Leu Gly Glu Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Glu Lys
[1220]	1 5 10 15
[1221]	Leu Ile Phe
[1222]	<210> 100
[1223]	<211> 19
[1224]	<212> PRT
[1225]	<213> 人工序列
[1226]	<220>
[1227]	<221> 来源
[1228]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1229]	<400> 100
[1230]	Cys Ala Leu Gly Asn Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Glu Lys
[1231]	1 5 10 15
[1232]	Leu Ile Phe
[1233]	<210> 101
[1234]	<211> 19
[1235]	<212> PRT
[1236]	<213> 人工序列
[1237]	<220>
[1238]	<221> 来源
[1239]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1240]	<400> 101
[1241]	Cys Ala Leu Gly Gln Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Glu Lys
[1242]	1 5 10 15
[1243]	Leu Ile Phe
[1244]	<210> 102
[1245]	<211> 19
[1246]	<212> PRT
[1247]	<213> 人工序列
[1248]	<220>
[1249]	<221> 来源
[1250]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1251]	<400> 102
[1252]	Cys Ala Leu Gly Asp Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Glu Lys
[1253]	1 5 10 15
[1254]	Leu Ile Phe
[1255]	<210> 103
[1256]	<211> 19
[1257]	<212> PRT
[1258]	<213> 人工序列
[1259]	<220>

[1260]	<221>	来源
[1261]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1262]	<400>	103
[1263]	Cys Ala Leu Gly Glu Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Glu Lys	
[1264]	1	5 10 15
[1265]	Leu Ile Phe	
[1266]	<210>	104
[1267]	<211>	19
[1268]	<212>	PRT
[1269]	<213>	人工序列
[1270]	<220>	
[1271]	<221>	来源
[1272]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1273]	<400>	104
[1274]	Cys Ala Leu Gly Asn Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Glu Lys	
[1275]	1	5 10 15
[1276]	Leu Ile Phe	
[1277]	<210>	105
[1278]	<211>	19
[1279]	<212>	PRT
[1280]	<213>	人工序列
[1281]	<220>	
[1282]	<221>	来源
[1283]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1284]	<400>	105
[1285]	Cys Ala Leu Gly Gln Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Glu Lys	
[1286]	1	5 10 15
[1287]	Leu Ile Phe	
[1288]	<210>	106
[1289]	<211>	19
[1290]	<212>	PRT
[1291]	<213>	人工序列
[1292]	<220>	
[1293]	<221>	来源
[1294]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1295]	<400>	106
[1296]	Cys Ala Leu Gly Asp Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Glu Lys	
[1297]	1	5 10 15
[1298]	Leu Ile Phe	
[1299]	<210>	107
[1300]	<211>	19
[1301]	<212>	PRT

[1302]	<213>	人工序列
[1303]	<220>	
[1304]	<221>	来源
[1305]	<223>	/注释="人工序列的描述:合成肽"
[1306]	<400>	107
[1307]	Cys Ala Leu Gly Glu Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Glu Lys	
[1308]	1	5 10 15
[1309]	Leu Ile Phe	
[1310]	<210>	108
[1311]	<211>	19
[1312]	<212>	PRT
[1313]	<213>	人工序列
[1314]	<220>	
[1315]	<221>	来源
[1316]	<223>	/注释="人工序列的描述:合成肽"
[1317]	<400>	108
[1318]	Cys Ala Leu Gly Asn Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Glu Lys	
[1319]	1	5 10 15
[1320]	Leu Ile Phe	
[1321]	<210>	109
[1322]	<211>	19
[1323]	<212>	PRT
[1324]	<213>	人工序列
[1325]	<220>	
[1326]	<221>	来源
[1327]	<223>	/注释="人工序列的描述:合成肽"
[1328]	<400>	109
[1329]	Cys Ala Leu Gly Gln Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Glu Lys	
[1330]	1	5 10 15
[1331]	Leu Ile Phe	
[1332]	<210>	110
[1333]	<211>	19
[1334]	<212>	PRT
[1335]	<213>	人工序列
[1336]	<220>	
[1337]	<221>	来源
[1338]	<223>	/注释="人工序列的描述:合成肽"
[1339]	<400>	110
[1340]	Cys Ala Leu Gly Asp Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Glu Lys	
[1341]	1	5 10 15
[1342]	Leu Ile Phe	
[1343]	<210>	111

[1344]	<211>	19
[1345]	<212>	PRT
[1346]	<213>	人工序列
[1347]	<220>	
[1348]	<221>	来源
[1349]	<223>	/注释=“人工序列的描述：合成肽”
[1350]	<400>	111
[1351]	Cys Ala Leu Gly Glu Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Glu Lys	
[1352]	1 5 10 15	
[1353]	Leu Ile Phe	
[1354]	<210>	112
[1355]	<211>	19
[1356]	<212>	PRT
[1357]	<213>	人工序列
[1358]	<220>	
[1359]	<221>	来源
[1360]	<223>	/注释=“人工序列的描述：合成肽”
[1361]	<400>	112
[1362]	Cys Ala Leu Gly Asn Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Glu Lys	
[1363]	1 5 10 15	
[1364]	Leu Ile Phe	
[1365]	<210>	113
[1366]	<211>	19
[1367]	<212>	PRT
[1368]	<213>	人工序列
[1369]	<220>	
[1370]	<221>	来源
[1371]	<223>	/注释=“人工序列的描述：合成肽”
[1372]	<400>	113
[1373]	Cys Ala Leu Gly Gln Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Glu Lys	
[1374]	1 5 10 15	
[1375]	Leu Ile Phe	
[1376]	<210>	114
[1377]	<211>	19
[1378]	<212>	PRT
[1379]	<213>	人工序列
[1380]	<220>	
[1381]	<221>	来源
[1382]	<223>	/注释=“人工序列的描述：合成肽”
[1383]	<400>	114
[1384]	CysAla Leu Gly Asp Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Glu Lys	
[1385]	1 5 10 15	

[1386]	Leu Ile Phe
[1387]	<210> 115
[1388]	<211> 19
[1389]	<212> PRT
[1390]	<213> 人工序列
[1391]	<220>
[1392]	<221> 来源
[1393]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1394]	<400> 115
[1395]	Cys Ala Leu Gly Glu Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Glu Lys
[1396]	1 5 10 15
[1397]	Leu Ile Phe
[1398]	<210> 116
[1399]	<211> 19
[1400]	<212> PRT
[1401]	<213> 人工序列
[1402]	<220>
[1403]	<221> 来源
[1404]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1405]	<400> 116
[1406]	Cys Ala Leu Gly Asn Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Glu Lys
[1407]	1 5 10 15
[1408]	Leu Ile Phe
[1409]	<210> 117
[1410]	<211> 19
[1411]	<212> PRT
[1412]	<213> 人工序列
[1413]	<220>
[1414]	<221> 来源
[1415]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1416]	<400> 117
[1417]	Cys Ala Leu Gly Gln Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Glu Lys
[1418]	1 5 10 15
[1419]	Leu Ile Phe
[1420]	<210> 118
[1421]	<211> 19
[1422]	<212> PRT
[1423]	<213> 人工序列
[1424]	<220>
[1425]	<221> 来源
[1426]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1427]	<400> 118

[1428]	Cys Ala Leu Gly Asp Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asn Lys
[1429]	1 5 10 15
[1430]	Leu Ile Phe
[1431]	<210> 119
[1432]	<211> 19
[1433]	<212> PRT
[1434]	<213> 人工序列
[1435]	<220>
[1436]	<221> 来源
[1437]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1438]	<400> 119
[1439]	Cys Ala Leu Gly Glu Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asn Lys
[1440]	1 5 10 15
[1441]	Leu Ile Phe
[1442]	<210> 120
[1443]	<211> 19
[1444]	<212> PRT
[1445]	<213> 人工序列
[1446]	<220>
[1447]	<221> 来源
[1448]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1449]	<400> 120
[1450]	Cys Ala Leu Gly Asn Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asn Lys
[1451]	1 5 10 15
[1452]	Leu Ile Phe
[1453]	<210> 121
[1454]	<211> 19
[1455]	<212> PRT
[1456]	<213> 人工序列
[1457]	<220>
[1458]	<221> 来源
[1459]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1460]	<400> 121
[1461]	Cys Ala Leu Gly Gln Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asn Lys
[1462]	1 5 10 15
[1463]	Leu Ile Phe
[1464]	<210> 122
[1465]	<211> 19
[1466]	<212> PRT
[1467]	<213> 人工序列
[1468]	<220>
[1469]	<221> 来源

- [1470] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
- [1471] <400> 122
- [1472] Cys Ala Leu Gly Asp Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asn Lys
- [1473] 1 5 10 15
- [1474] Leu Ile Phe
- [1475] <210> 123
- [1476] <211> 19
- [1477] <212> PRT
- [1478] <213> 人工序列
- [1479] <220>
- [1480] <221> 来源
- [1481] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
- [1482] <400> 123
- [1483] Cys Ala Leu Gly Glu Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asn Lys
- [1484] 1 5 10 15
- [1485] Leu Ile Phe
- [1486] <210> 124
- [1487] <211> 19
- [1488] <212> PRT
- [1489] <213> 人工序列
- [1490] <220>
- [1491] <221> 来源
- [1492] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
- [1493] <400> 124
- [1494] Cys Ala Leu Gly Asn Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asn Lys
- [1495] 1 5 10 15
- [1496] Leu Ile Phe
- [1497] <210> 125
- [1498] <211> 19
- [1499] <212> PRT
- [1500] <213> 人工序列
- [1501] <220>
- [1502] <221> 来源
- [1503] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
- [1504] <400> 125
- [1505] Cys Ala Leu Gly Gln Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asn Lys
- [1506] 1 5 10 15
- [1507] Leu Ile Phe
- [1508] <210> 126
- [1509] <211> 19
- [1510] <212> PRT
- [1511] <213> 人工序列

[1512]	<220>
[1513]	<221> 来源
[1514]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1515]	<400> 126
[1516]	Cys Ala Leu Gly Asp Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asn Lys
[1517]	1 5 10 15
[1518]	Leu Ile Phe
[1519]	<210> 127
[1520]	<211> 19
[1521]	<212> PRT
[1522]	<213> 人工序列
[1523]	<220>
[1524]	<221> 来源
[1525]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1526]	<400> 127
[1527]	Cys Ala Leu Gly Glu Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asn Lys
[1528]	1 5 10 15
[1529]	Leu Ile Phe
[1530]	<210> 128
[1531]	<211> 19
[1532]	<212> PRT
[1533]	<213> 人工序列
[1534]	<220>
[1535]	<221> 来源
[1536]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1537]	<400> 128
[1538]	Cys Ala Leu Gly Asn Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asn Lys
[1539]	1 5 10 15
[1540]	Leu Ile Phe
[1541]	<210> 129
[1542]	<211> 19
[1543]	<212> PRT
[1544]	<213> 人工序列
[1545]	<220>
[1546]	<221> 来源
[1547]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1548]	<400> 129
[1549]	Cys Ala Leu Gly Gln Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asn Lys
[1550]	1 5 10 15
[1551]	Leu Ile Phe
[1552]	<210> 130
[1553]	<211> 19

[1554]	<212>	PRT
[1555]	<213>	人工序列
[1556]	<220>	
[1557]	<221>	来源
[1558]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1559]	<400>	130
[1560]	Cys Ala Leu Gly Asp Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asn Lys	
[1561]	1	5 10 15
[1562]	Leu Ile Phe	
[1563]	<210>	131
[1564]	<211>	19
[1565]	<212>	PRT
[1566]	<213>	人工序列
[1567]	<220>	
[1568]	<221>	来源
[1569]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1570]	<400>	131
[1571]	Cys Ala Leu Gly Glu Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asn Lys	
[1572]	1	5 10 15
[1573]	Leu Ile Phe	
[1574]	<210>	132
[1575]	<211>	19
[1576]	<212>	PRT
[1577]	<213>	人工序列
[1578]	<220>	
[1579]	<221>	来源
[1580]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1581]	<400>	132
[1582]	Cys Ala Leu Gly Asn Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asn Lys	
[1583]	1	5 10 15
[1584]	Leu Ile Phe	
[1585]	<210>	133
[1586]	<211>	19
[1587]	<212>	PRT
[1588]	<213>	人工序列
[1589]	<220>	
[1590]	<221>	来源
[1591]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1592]	<400>	133
[1593]	Cys Ala Leu Gly Gln Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asn Lys	
[1594]	1	5 10 15
[1595]	Leu Ile Phe	

[1596]	<210>	134		
[1597]	<211>	19		
[1598]	<212>	PRT		
[1599]	<213>	人工序列		
[1600]	<220>			
[1601]	<221>	来源		
[1602]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”		
[1603]	<400>	134		
[1604]	Cys Ala Leu Gly Asp Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asn Lys			
[1605]	1	5	10	15
[1606]	Leu Ile Phe			
[1607]	<210>	135		
[1608]	<211>	19		
[1609]	<212>	PRT		
[1610]	<213>	人工序列		
[1611]	<220>			
[1612]	<221>	来源		
[1613]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”		
[1614]	<400>	135		
[1615]	Cys Ala Leu Gly Glu Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asn Lys			
[1616]	1	5	10	15
[1617]	Leu Ile Phe			
[1618]	<210>	136		
[1619]	<211>	19		
[1620]	<212>	PRT		
[1621]	<213>	人工序列		
[1622]	<220>			
[1623]	<221>	来源		
[1624]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”		
[1625]	<400>	136		
[1626]	Cys Ala Leu Gly Asn Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asn Lys			
[1627]	1	5	10	15
[1628]	Leu Ile Phe			
[1629]	<210>	137		
[1630]	<211>	19		
[1631]	<212>	PRT		
[1632]	<213>	人工序列		
[1633]	<220>			
[1634]	<221>	来源		
[1635]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”		
[1636]	<400>	137		
[1637]	Cys Ala Leu Gly Gln Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asn Lys			

[1638]	1	5	10	15
[1639]	Leu Ile Phe			
[1640]	<210> 138			
[1641]	<211> 19			
[1642]	<212> PRT			
[1643]	<213> 人工序列			
[1644]	<220>			
[1645]	<221> 来源			
[1646]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”			
[1647]	<400> 138			
[1648]	Cys Ala Leu Gly Asp Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asn Lys			
[1649]	1	5	10	15
[1650]	Leu Ile Phe			
[1651]	<210> 139			
[1652]	<211> 19			
[1653]	<212> PRT			
[1654]	<213> 人工序列			
[1655]	<220>			
[1656]	<221> 来源			
[1657]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”			
[1658]	<400> 139			
[1659]	Cys Ala Leu Gly Glu Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asn Lys			
[1660]	1	5	10	15
[1661]	Leu Ile Phe			
[1662]	<210> 140			
[1663]	<211> 19			
[1664]	<212> PRT			
[1665]	<213> 人工序列			
[1666]	<220>			
[1667]	<221> 来源			
[1668]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”			
[1669]	<400> 140			
[1670]	Cys Ala Leu Gly Asn Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asn Lys			
[1671]	1	5	10	15
[1672]	Leu Ile Phe			
[1673]	<210> 141			
[1674]	<211> 19			
[1675]	<212> PRT			
[1676]	<213> 人工序列			
[1677]	<220>			
[1678]	<221> 来源			
[1679]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”			

[1680]	<400> 141
[1681]	Cys Ala Leu Gly Gln Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asn Lys
[1682]	1 5 10 15
[1683]	Leu Ile Phe
[1684]	<210> 142
[1685]	<211> 19
[1686]	<212> PRT
[1687]	<213> 人工序列
[1688]	<220>
[1689]	<221> 来源
[1690]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1691]	<400> 142
[1692]	Cys Ala Leu Gly Asp Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Glu Lys
[1693]	1 5 10 15
[1694]	Leu Ile Phe
[1695]	<210> 143
[1696]	<211> 19
[1697]	<212> PRT
[1698]	<213> 人工序列
[1699]	<220>
[1700]	<221> 来源
[1701]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1702]	<400> 143
[1703]	Cys Ala Leu Gly Glu Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Glu Lys
[1704]	1 5 10 15
[1705]	Leu Ile Phe
[1706]	<210> 144
[1707]	<211> 19
[1708]	<212> PRT
[1709]	<213> 人工序列
[1710]	<220>
[1711]	<221> 来源
[1712]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1713]	<400> 144
[1714]	Cys Ala Leu Gly Asn Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Glu Lys
[1715]	1 5 10 15
[1716]	Leu Ile Phe
[1717]	<210> 145
[1718]	<211> 19
[1719]	<212> PRT
[1720]	<213> 人工序列
[1721]	<220>

[1722]	<221>	来源
[1723]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1724]	<400>	145
[1725]	Cys Ala Leu Gly Gln Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Glu Lys	
[1726]	1	5 10 15
[1727]	Leu Ile Phe	
[1728]	<210>	146
[1729]	<211>	19
[1730]	<212>	PRT
[1731]	<213>	人工序列
[1732]	<220>	
[1733]	<221>	来源
[1734]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1735]	<400>	146
[1736]	Cys Ala Leu Gly Asp Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Glu Lys	
[1737]	1	5 10 15
[1738]	Leu Ile Phe	
[1739]	<210>	147
[1740]	<211>	19
[1741]	<212>	PRT
[1742]	<213>	人工序列
[1743]	<220>	
[1744]	<221>	来源
[1745]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1746]	<400>	147
[1747]	Cys Ala Leu Gly Glu Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Glu Lys	
[1748]	1	5 10 15
[1749]	Leu Ile Phe	
[1750]	<210>	148
[1751]	<211>	19
[1752]	<212>	PRT
[1753]	<213>	人工序列
[1754]	<220>	
[1755]	<221>	来源
[1756]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1757]	<400>	148
[1758]	Cys Ala Leu Gly Asn Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Glu Lys	
[1759]	1	5 10 15
[1760]	Leu Ile Phe	
[1761]	<210>	149
[1762]	<211>	19
[1763]	<212>	PRT

[1764]	<213>	人工序列
[1765]	<220>	
[1766]	<221>	来源
[1767]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1768]	<400>	149
[1769]	Cys Ala Leu Gly Gln Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Glu Lys	
[1770]	1	5 10 15
[1771]	Leu Ile Phe	
[1772]	<210>	150
[1773]	<211>	19
[1774]	<212>	PRT
[1775]	<213>	人工序列
[1776]	<220>	
[1777]	<221>	来源
[1778]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1779]	<400>	150
[1780]	Cys Ala Leu Gly Asp Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Glu Lys	
[1781]	1	5 10 15
[1782]	Leu Ile Phe	
[1783]	<210>	151
[1784]	<211>	19
[1785]	<212>	PRT
[1786]	<213>	人工序列
[1787]	<220>	
[1788]	<221>	来源
[1789]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1790]	<400>	151
[1791]	Cys Ala Leu Gly Glu Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Glu Lys	
[1792]	1	5 10 15
[1793]	Leu Ile Phe	
[1794]	<210>	152
[1795]	<211>	19
[1796]	<212>	PRT
[1797]	<213>	人工序列
[1798]	<220>	
[1799]	<221>	来源
[1800]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1801]	<400>	152
[1802]	Cys Ala Leu Gly Asn Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Glu Lys	
[1803]	1	5 10 15
[1804]	Leu Ile Phe	
[1805]	<210>	153

[1806]	<211>	19		
[1807]	<212>	PRT		
[1808]	<213>	人工序列		
[1809]	<220>			
[1810]	<221>	来源		
[1811]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”		
[1812]	<400>	153		
[1813]		Cys Ala Leu Gly Gln Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Glu Lys		
[1814]	1	5	10	15
[1815]		Leu Ile Phe		
[1816]	<210>	154		
[1817]	<211>	19		
[1818]	<212>	PRT		
[1819]	<213>	人工序列		
[1820]	<220>			
[1821]	<221>	来源		
[1822]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”		
[1823]	<400>	154		
[1824]		Cys Ala Leu Gly Asp Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Glu Lys		
[1825]	1	5	10	15
[1826]		Leu Ile Phe		
[1827]	<210>	155		
[1828]	<211>	19		
[1829]	<212>	PRT		
[1830]	<213>	人工序列		
[1831]	<220>			
[1832]	<221>	来源		
[1833]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”		
[1834]	<400>	155		
[1835]		Cys Ala Leu Gly Glu Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Glu Lys		
[1836]	1	5	10	15
[1837]		Leu Ile Phe		
[1838]	<210>	156		
[1839]	<211>	19		
[1840]	<212>	PRT		
[1841]	<213>	人工序列		
[1842]	<220>			
[1843]	<221>	来源		
[1844]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”		
[1845]	<400>	156		
[1846]		Cys Ala Leu Gly Asn Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Glu Lys		
[1847]	1	5	10	15

[1848]	Leu Ile Phe
[1849]	<210> 157
[1850]	<211> 19
[1851]	<212> PRT
[1852]	<213> 人工序列
[1853]	<220>
[1854]	<221> 来源
[1855]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1856]	<400> 157
[1857]	Cys Ala Leu Gly Gln Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Glu Lys
[1858]	1 5 10 15
[1859]	Leu Ile Phe
[1860]	<210> 158
[1861]	<211> 19
[1862]	<212> PRT
[1863]	<213> 人工序列
[1864]	<220>
[1865]	<221> 来源
[1866]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1867]	<400> 158
[1868]	Cys Ala Leu Gly Asp Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Glu Lys
[1869]	1 5 10 15
[1870]	Leu Ile Phe
[1871]	<210> 159
[1872]	<211> 19
[1873]	<212> PRT
[1874]	<213> 人工序列
[1875]	<220>
[1876]	<221> 来源
[1877]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1878]	<400> 159
[1879]	Cys Ala Leu Gly Glu Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Glu Lys
[1880]	1 5 10 15
[1881]	Leu Ile Phe
[1882]	<210> 160
[1883]	<211> 19
[1884]	<212> PRT
[1885]	<213> 人工序列
[1886]	<220>
[1887]	<221> 来源
[1888]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1889]	<400> 160

[1890]	Cys Ala Leu Gly Asn Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Glu Lys
[1891]	1 5 10 15
[1892]	Leu Ile Phe
[1893]	<210> 161
[1894]	<211> 19
[1895]	<212> PRT
[1896]	<213> 人工序列
[1897]	<220>
[1898]	<221> 来源
[1899]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1900]	<400> 161
[1901]	Cys Ala Leu Gly Gln Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Glu Lys
[1902]	1 5 10 15
[1903]	Leu Ile Phe
[1904]	<210> 162
[1905]	<211> 19
[1906]	<212> PRT
[1907]	<213> 人工序列
[1908]	<220>
[1909]	<221> 来源
[1910]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1911]	<400> 162
[1912]	Cys Ala Leu Gly Asp Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Glu Lys
[1913]	1 5 10 15
[1914]	Leu Ile Phe
[1915]	<210> 163
[1916]	<211> 19
[1917]	<212> PRT
[1918]	<213> 人工序列
[1919]	<220>
[1920]	<221> 来源
[1921]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1922]	<400> 163
[1923]	Cys Ala Leu Gly Glu Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Glu Lys
[1924]	1 5 10 15
[1925]	Leu Ile Phe
[1926]	<210> 164
[1927]	<211> 19
[1928]	<212> PRT
[1929]	<213> 人工序列
[1930]	<220>
[1931]	<221> 来源

- [1932] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
- [1933] <400> 164
- [1934] Cys Ala Leu Gly Asn Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Glu Lys
- [1935] 1 5 10 15
- [1936] Leu Ile Phe
- [1937] <210> 165
- [1938] <211> 19
- [1939] <212> PRT
- [1940] <213> 人工序列
- [1941] <220>
- [1942] <221> 来源
- [1943] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
- [1944] <400> 165
- [1945] Cys Ala Leu Gly Gln Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Glu Lys
- [1946] 1 5 10 15
- [1947] Leu Ile Phe
- [1948] <210> 166
- [1949] <211> 19
- [1950] <212> PRT
- [1951] <213> 人工序列
- [1952] <220>
- [1953] <221> 来源
- [1954] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
- [1955] <400> 166
- [1956] Cys Ala Leu Gly Asp Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asn Lys
- [1957] 1 5 10 15
- [1958] Leu Ile Phe
- [1959] <210> 167
- [1960] <211> 19
- [1961] <212> PRT
- [1962] <213> 人工序列
- [1963] <220>
- [1964] <221> 来源
- [1965] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
- [1966] <400> 167
- [1967] Cys Ala Leu Gly Glu Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asn Lys
- [1968] 1 5 10 15
- [1969] Leu Ile Phe
- [1970] <210> 168
- [1971] <211> 19
- [1972] <212> PRT
- [1973] <213> 人工序列

[1974]	<220>
[1975]	<221> 来源
[1976]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1977]	<400> 168
[1978]	Cys Ala Leu Gly Asn Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asn Lys
[1979]	1 5 10 15
[1980]	Leu Ile Phe
[1981]	<210> 169
[1982]	<211> 19
[1983]	<212> PRT
[1984]	<213> 人工序列
[1985]	<220>
[1986]	<221> 来源
[1987]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1988]	<400> 169
[1989]	Cys Ala Leu Gly Gln Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asn Lys
[1990]	1 5 10 15
[1991]	Leu Ile Phe
[1992]	<210> 170
[1993]	<211> 19
[1994]	<212> PRT
[1995]	<213> 人工序列
[1996]	<220>
[1997]	<221> 来源
[1998]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[1999]	<400> 170
[2000]	Cys Ala Leu Gly Asp Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asn Lys
[2001]	1 5 10 15
[2002]	Leu Ile Phe
[2003]	<210> 171
[2004]	<211> 19
[2005]	<212> PRT
[2006]	<213> 人工序列
[2007]	<220>
[2008]	<221> 来源
[2009]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2010]	<400> 171
[2011]	Cys Ala Leu Gly Glu Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asn Lys
[2012]	1 5 10 15
[2013]	Leu Ile Phe
[2014]	<210> 172
[2015]	<211> 19

[2016]	<212>	PRT
[2017]	<213>	人工序列
[2018]	<220>	
[2019]	<221>	来源
[2020]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2021]	<400>	172
[2022]	Cys Ala Leu Gly Asn Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asn Lys	
[2023]	1	5 10 15
[2024]	Leu Ile Phe	
[2025]	<210>	173
[2026]	<211>	19
[2027]	<212>	PRT
[2028]	<213>	人工序列
[2029]	<220>	
[2030]	<221>	来源
[2031]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2032]	<400>	173
[2033]	Cys Ala Leu Gly Gln Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asn Lys	
[2034]	1	5 10 15
[2035]	Leu Ile Phe	
[2036]	<210>	174
[2037]	<211>	19
[2038]	<212>	PRT
[2039]	<213>	人工序列
[2040]	<220>	
[2041]	<221>	来源
[2042]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2043]	<400>	174
[2044]	Cys Ala Leu Gly Asp Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asn Lys	
[2045]	1	5 10 15
[2046]	Leu Ile Phe	
[2047]	<210>	175
[2048]	<211>	19
[2049]	<212>	PRT
[2050]	<213>	人工序列
[2051]	<220>	
[2052]	<221>	来源
[2053]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2054]	<400>	175
[2055]	Cys Ala Leu Gly Glu Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asn Lys	
[2056]	1	5 10 15
[2057]	Leu Ile Phe	

[2058]	<210>	176		
[2059]	<211>	19		
[2060]	<212>	PRT		
[2061]	<213>	人工序列		
[2062]	<220>			
[2063]	<221>	来源		
[2064]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”		
[2065]	<400>	176		
[2066]	Cys Ala Leu Gly Asn Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asn Lys			
[2067]	1	5	10	15
[2068]	Leu Ile Phe			
[2069]	<210>	177		
[2070]	<211>	19		
[2071]	<212>	PRT		
[2072]	<213>	人工序列		
[2073]	<220>			
[2074]	<221>	来源		
[2075]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”		
[2076]	<400>	177		
[2077]	Cys Ala Leu Gly Gln Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asn Lys			
[2078]	1	5	10	15
[2079]	Leu Ile Phe			
[2080]	<210>	178		
[2081]	<211>	19		
[2082]	<212>	PRT		
[2083]	<213>	人工序列		
[2084]	<220>			
[2085]	<221>	来源		
[2086]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”		
[2087]	<400>	178		
[2088]	Cys Ala Leu Gly Asp Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asn Lys			
[2089]	1	5	10	15
[2090]	Leu Ile Phe			
[2091]	<210>	179		
[2092]	<211>	19		
[2093]	<212>	PRT		
[2094]	<213>	人工序列		
[2095]	<220>			
[2096]	<221>	来源		
[2097]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”		
[2098]	<400>	179		
[2099]	Cys Ala Leu Gly Glu Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asn Lys			

[2100]	1	5	10	15
[2101]	Leu Ile Phe			
[2102]	<210> 180			
[2103]	<211> 19			
[2104]	<212> PRT			
[2105]	<213> 人工序列			
[2106]	<220>			
[2107]	<221> 来源			
[2108]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”			
[2109]	<400> 180			
[2110]	Cys Ala Leu Gly Asn Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asn Lys			
[2111]	1	5	10	15
[2112]	Leu Ile Phe			
[2113]	<210> 181			
[2114]	<211> 19			
[2115]	<212> PRT			
[2116]	<213> 人工序列			
[2117]	<220>			
[2118]	<221> 来源			
[2119]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”			
[2120]	<400> 181			
[2121]	Cys Ala Leu Gly Gln Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asn Lys			
[2122]	1	5	10	15
[2123]	Leu Ile Phe			
[2124]	<210> 182			
[2125]	<211> 19			
[2126]	<212> PRT			
[2127]	<213> 人工序列			
[2128]	<220>			
[2129]	<221> 来源			
[2130]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”			
[2131]	<400> 182			
[2132]	Cys Ala Leu Gly Asp Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asn Lys			
[2133]	1	5	10	15
[2134]	Leu Ile Phe			
[2135]	<210> 183			
[2136]	<211> 19			
[2137]	<212> PRT			
[2138]	<213> 人工序列			
[2139]	<220>			
[2140]	<221> 来源			
[2141]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”			

[2142]	<400> 183
[2143]	Cys Ala Leu Gly Glu Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asn Lys
[2144]	1 5 10 15
[2145]	Leu Ile Phe
[2146]	<210> 184
[2147]	<211> 19
[2148]	<212> PRT
[2149]	<213> 人工序列
[2150]	<220>
[2151]	<221> 来源
[2152]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2153]	<400> 184
[2154]	Cys Ala Leu Gly Asn Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asn Lys
[2155]	1 5 10 15
[2156]	Leu Ile Phe
[2157]	<210> 185
[2158]	<211> 19
[2159]	<212> PRT
[2160]	<213> 人工序列
[2161]	<220>
[2162]	<221> 来源
[2163]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2164]	<400> 185
[2165]	Cys Ala Leu Gly Gln Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asn Lys
[2166]	1 5 10 15
[2167]	Leu Ile Phe
[2168]	<210> 186
[2169]	<211> 19
[2170]	<212> PRT
[2171]	<213> 人工序列
[2172]	<220>
[2173]	<221> 来源
[2174]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2175]	<400> 186
[2176]	Cys Ala Leu Gly Asp Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asn Lys
[2177]	1 5 10 15
[2178]	Leu Ile Phe
[2179]	<210> 187
[2180]	<211> 19
[2181]	<212> PRT
[2182]	<213> 人工序列
[2183]	<220>

[2184] <221> 来源
[2185] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2186] <400> 187
[2187] Cys Ala Leu Gly Glu Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asn Lys
[2188] 1 5 10 15
[2189] Leu Ile Phe
[2190] <210> 188
[2191] <211> 19
[2192] <212> PRT
[2193] <213> 人工序列
[2194] <220>
[2195] <221> 来源
[2196] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2197] <400> 188
[2198] Cys Ala Leu Gly Asn Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asn Lys
[2199] 1 5 10 15
[2200] Leu Ile Phe
[2201] <210> 189
[2202] <211> 19
[2203] <212> PRT
[2204] <213> 人工序列
[2205] <220>
[2206] <221> 来源
[2207] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2208] <400> 189
[2209] Cys Ala Leu Gly Gln Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asn Lys
[2210] 1 5 10 15
[2211] Leu Ile Phe
[2212] <210> 190
[2213] <211> 19
[2214] <212> PRT
[2215] <213> 人工序列
[2216] <220>
[2217] <221> 来源
[2218] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2219] <400> 190
[2220] Cys Ala Leu Gly Asp Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asp Arg
[2221] 1 5 10 15
[2222] Leu Ile Phe
[2223] <210> 191
[2224] <211> 19
[2225] <212> PRT

[2226]	<213>	人工序列
[2227]	<220>	
[2228]	<221>	来源
[2229]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2230]	<400>	191
[2231]	Cys Ala Leu Gly Glu Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asp Arg	
[2232]	1	5 10 15
[2233]	Leu Ile Phe	
[2234]	<210>	192
[2235]	<211>	19
[2236]	<212>	PRT
[2237]	<213>	人工序列
[2238]	<220>	
[2239]	<221>	来源
[2240]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2241]	<400>	192
[2242]	Cys Ala Leu Gly Asn Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asp Arg	
[2243]	1	5 10 15
[2244]	Leu Ile Phe	
[2245]	<210>	193
[2246]	<211>	19
[2247]	<212>	PRT
[2248]	<213>	人工序列
[2249]	<220>	
[2250]	<221>	来源
[2251]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2252]	<400>	193
[2253]	Cys Ala Leu Gly Gln Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asp Arg	
[2254]	1	5 10 15
[2255]	Leu Ile Phe	
[2256]	<210>	194
[2257]	<211>	19
[2258]	<212>	PRT
[2259]	<213>	人工序列
[2260]	<220>	
[2261]	<221>	来源
[2262]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2263]	<400>	194
[2264]	Cys Ala Leu Gly Asp Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asp Arg	
[2265]	1	5 10 15
[2266]	Leu Ile Phe	
[2267]	<210>	195

[2268]	<211>	19
[2269]	<212>	PRT
[2270]	<213>	人工序列
[2271]	<220>	
[2272]	<221>	来源
[2273]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2274]	<400>	195
[2275]	Cys Ala Leu Gly Glu Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asp Arg	
[2276]	1 5 10 15	
[2277]	Leu Ile Phe	
[2278]	<210>	196
[2279]	<211>	19
[2280]	<212>	PRT
[2281]	<213>	人工序列
[2282]	<220>	
[2283]	<221>	来源
[2284]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2285]	<400>	196
[2286]	Cys Ala Leu Gly Asn Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asp Arg	
[2287]	1 5 10 15	
[2288]	Leu Ile Phe	
[2289]	<210>	197
[2290]	<211>	19
[2291]	<212>	PRT
[2292]	<213>	人工序列
[2293]	<220>	
[2294]	<221>	来源
[2295]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2296]	<400>	197
[2297]	Cys Ala Leu Gly Gln Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asp Arg	
[2298]	1 5 10 15	
[2299]	Leu Ile Phe	
[2300]	<210>	198
[2301]	<211>	19
[2302]	<212>	PRT
[2303]	<213>	人工序列
[2304]	<220>	
[2305]	<221>	来源
[2306]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2307]	<400>	198
[2308]	CysAla Leu Gly Asp Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asp Arg	
[2309]	1 5 10 15	

- [2310] Leu Ile Phe
[2311] <210> 199
[2312] <211> 19
[2313] <212> PRT
[2314] <213> 人工序列
[2315] <220>
[2316] <221> 来源
[2317] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2318] <400> 199
[2319] Cys Ala Leu Gly Glu Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asp Arg
[2320] 1 5 10 15
[2321] Leu Ile Phe
[2322] <210> 200
[2323] <211> 19
[2324] <212> PRT
[2325] <213> 人工序列
[2326] <220>
[2327] <221> 来源
[2328] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2329] <400> 200
[2330] Cys Ala Leu Gly Asn Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asp Arg
[2331] 1 5 10 15
[2332] Leu Ile Phe
[2333] <210> 201
[2334] <211> 19
[2335] <212> PRT
[2336] <213> 人工序列
[2337] <220>
[2338] <221> 来源
[2339] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2340] <400> 201
[2341] Cys Ala Leu Gly Gln Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Thr Asp Arg
[2342] 1 5 10 15
[2343] Leu Ile Phe
[2344] <210> 202
[2345] <211> 19
[2346] <212> PRT
[2347] <213> 人工序列
[2348] <220>
[2349] <221> 来源
[2350] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2351] <400> 202

[2352]	Cys Ala Leu Gly Asp Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asp Arg
[2353]	1 5 10 15
[2354]	Leu Ile Phe
[2355]	<210> 203
[2356]	<211> 19
[2357]	<212> PRT
[2358]	<213> 人工序列
[2359]	<220>
[2360]	<221> 来源
[2361]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2362]	<400> 203
[2363]	Cys Ala Leu Gly Glu Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asp Arg
[2364]	1 5 10 15
[2365]	Leu Ile Phe
[2366]	<210> 204
[2367]	<211> 19
[2368]	<212> PRT
[2369]	<213> 人工序列
[2370]	<220>
[2371]	<221> 来源
[2372]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2373]	<400> 204
[2374]	Cys Ala Leu Gly Asn Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asp Arg
[2375]	1 5 10 15
[2376]	Leu Ile Phe
[2377]	<210> 205
[2378]	<211> 19
[2379]	<212> PRT
[2380]	<213> 人工序列
[2381]	<220>
[2382]	<221> 来源
[2383]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2384]	<400> 205
[2385]	Cys Ala Leu Gly Gln Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asp Arg
[2386]	1 5 10 15
[2387]	Leu Ile Phe
[2388]	<210> 206
[2389]	<211> 19
[2390]	<212> PRT
[2391]	<213> 人工序列
[2392]	<220>
[2393]	<221> 来源

- [2394] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
- [2395] <400> 206
- [2396] Cys Ala Leu Gly Asp Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asp Arg
- [2397] 1 5 10 15
- [2398] Leu Ile Phe
- [2399] <210> 207
- [2400] <211> 19
- [2401] <212> PRT
- [2402] <213> 人工序列
- [2403] <220>
- [2404] <221> 来源
- [2405] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
- [2406] <400> 207
- [2407] Cys Ala Leu Gly Glu Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asp Arg
- [2408] 1 5 10 15
- [2409] Leu Ile Phe
- [2410] <210> 208
- [2411] <211> 19
- [2412] <212> PRT
- [2413] <213> 人工序列
- [2414] <220>
- [2415] <221> 来源
- [2416] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
- [2417] <400> 208
- [2418] Cys Ala Leu Gly Asn Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asp Arg
- [2419] 1 5 10 15
- [2420] Leu Ile Phe
- [2421] <210> 209
- [2422] <211> 19
- [2423] <212> PRT
- [2424] <213> 人工序列
- [2425] <220>
- [2426] <221> 来源
- [2427] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
- [2428] <400> 209
- [2429] Cys Ala Leu Gly Gln Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asp Arg
- [2430] 1 5 10 15
- [2431] Leu Ile Phe
- [2432] <210> 210
- [2433] <211> 19
- [2434] <212> PRT
- [2435] <213> 人工序列

- [2436] <220>
[2437] <221> 来源
[2438] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2439] <400> 210
[2440] Cys Ala Leu Gly Asp Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asp Arg
[2441] 1 5 10 15
[2442] Leu Ile Phe
[2443] <210> 211
[2444] <211> 19
[2445] <212> PRT
[2446] <213> 人工序列
[2447] <220>
[2448] <221> 来源
[2449] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2450] <400> 211
[2451] Cys Ala Leu Gly Glu Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asp Arg
[2452] 1 5 10 15
[2453] Leu Ile Phe
[2454] <210> 212
[2455] <211> 19
[2456] <212> PRT
[2457] <213> 人工序列
[2458] <220>
[2459] <221> 来源
[2460] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2461] <400> 212
[2462] Cys Ala Leu Gly Asn Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asp Arg
[2463] 1 5 10 15
[2464] Leu Ile Phe
[2465] <210> 213
[2466] <211> 19
[2467] <212> PRT
[2468] <213> 人工序列
[2469] <220>
[2470] <221> 来源
[2471] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2472] <400> 213
[2473] Cys Ala Leu Gly Gln Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Thr Asp Arg
[2474] 1 5 10 15
[2475] Leu Ile Phe
[2476] <210> 214
[2477] <211> 19

[2478]	<212>	PRT
[2479]	<213>	人工序列
[2480]	<220>	
[2481]	<221>	来源
[2482]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2483]	<400>	214
[2484]	Cys Ala Leu Gly Asp Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asp Arg	
[2485]	1	5 10 15
[2486]	Leu Ile Phe	
[2487]	<210>	215
[2488]	<211>	19
[2489]	<212>	PRT
[2490]	<213>	人工序列
[2491]	<220>	
[2492]	<221>	来源
[2493]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2494]	<400>	215
[2495]	Cys Ala Leu Gly Glu Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asp Arg	
[2496]	1	5 10 15
[2497]	Leu Ile Phe	
[2498]	<210>	216
[2499]	<211>	19
[2500]	<212>	PRT
[2501]	<213>	人工序列
[2502]	<220>	
[2503]	<221>	来源
[2504]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2505]	<400>	216
[2506]	Cys Ala Leu Gly Asn Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asp Arg	
[2507]	1	5 10 15
[2508]	Leu Ile Phe	
[2509]	<210>	217
[2510]	<211>	19
[2511]	<212>	PRT
[2512]	<213>	人工序列
[2513]	<220>	
[2514]	<221>	来源
[2515]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2516]	<400>	217
[2517]	Cys Ala Leu Gly Gln Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asp Arg	
[2518]	1	5 10 15
[2519]	Leu Ile Phe	

[2520]	<210>	218		
[2521]	<211>	19		
[2522]	<212>	PRT		
[2523]	<213>	人工序列		
[2524]	<220>			
[2525]	<221>	来源		
[2526]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”		
[2527]	<400>	218		
[2528]	Cys Ala Leu Gly Asp Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asp Arg			
[2529]	1	5	10	15
[2530]	Leu Ile Phe			
[2531]	<210>	219		
[2532]	<211>	19		
[2533]	<212>	PRT		
[2534]	<213>	人工序列		
[2535]	<220>			
[2536]	<221>	来源		
[2537]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”		
[2538]	<400>	219		
[2539]	Cys Ala Leu Gly Glu Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asp Arg			
[2540]	1	5	10	15
[2541]	Leu Ile Phe			
[2542]	<210>	220		
[2543]	<211>	19		
[2544]	<212>	PRT		
[2545]	<213>	人工序列		
[2546]	<220>			
[2547]	<221>	来源		
[2548]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”		
[2549]	<400>	220		
[2550]	Cys Ala Leu Gly Asn Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asp Arg			
[2551]	1	5	10	15
[2552]	Leu Ile Phe			
[2553]	<210>	221		
[2554]	<211>	19		
[2555]	<212>	PRT		
[2556]	<213>	人工序列		
[2557]	<220>			
[2558]	<221>	来源		
[2559]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”		
[2560]	<400>	221		
[2561]	Cys Ala Leu Gly Gln Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asp Arg			

[2562]	1	5	10	15
[2563]	Leu Ile Phe			
[2564]	<210> 222			
[2565]	<211> 19			
[2566]	<212> PRT			
[2567]	<213> 人工序列			
[2568]	<220>			
[2569]	<221> 来源			
[2570]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”			
[2571]	<400> 222			
[2572]	Cys Ala Leu Gly Asp Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asp Arg			
[2573]	1	5	10	15
[2574]	Leu Ile Phe			
[2575]	<210> 223			
[2576]	<211> 19			
[2577]	<212> PRT			
[2578]	<213> 人工序列			
[2579]	<220>			
[2580]	<221> 来源			
[2581]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”			
[2582]	<400> 223			
[2583]	Cys Ala Leu Gly Glu Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asp Arg			
[2584]	1	5	10	15
[2585]	Leu Ile Phe			
[2586]	<210> 224			
[2587]	<211> 19			
[2588]	<212> PRT			
[2589]	<213> 人工序列			
[2590]	<220>			
[2591]	<221> 来源			
[2592]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”			
[2593]	<400> 224			
[2594]	Cys Ala Leu Gly Asn Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asp Arg			
[2595]	1	5	10	15
[2596]	Leu Ile Phe			
[2597]	<210> 225			
[2598]	<211> 19			
[2599]	<212> PRT			
[2600]	<213> 人工序列			
[2601]	<220>			
[2602]	<221> 来源			
[2603]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”			

[2604]	<400> 225
[2605]	Cys Ala Leu Gly Gln Ser Phe Gly Gly Gly Pro Ile Tyr Ser Asp Arg
[2606]	1 5 10 15
[2607]	Leu Ile Phe
[2608]	<210> 226
[2609]	<211> 19
[2610]	<212> PRT
[2611]	<213> 人工序列
[2612]	<220>
[2613]	<221> 来源
[2614]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2615]	<400> 226
[2616]	Cys Ala Leu Gly Asp Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asp Arg
[2617]	1 5 10 15
[2618]	Leu Ile Phe
[2619]	<210> 227
[2620]	<211> 19
[2621]	<212> PRT
[2622]	<213> 人工序列
[2623]	<220>
[2624]	<221> 来源
[2625]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2626]	<400> 227
[2627]	Cys Ala Leu Gly Glu Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asp Arg
[2628]	1 5 10 15
[2629]	Leu Ile Phe
[2630]	<210> 228
[2631]	<211> 19
[2632]	<212> PRT
[2633]	<213> 人工序列
[2634]	<220>
[2635]	<221> 来源
[2636]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2637]	<400> 228
[2638]	Cys Ala Leu Gly Asn Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asp Arg
[2639]	1 5 10 15
[2640]	Leu Ile Phe
[2641]	<210> 229
[2642]	<211> 19
[2643]	<212> PRT
[2644]	<213> 人工序列
[2645]	<220>

[2646]	<221>	来源
[2647]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2648]	<400>	229
[2649]	Cys Ala Leu Gly Gln Ser Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asp Arg	
[2650]	1	5 10 15
[2651]	Leu Ile Phe	
[2652]	<210>	230
[2653]	<211>	19
[2654]	<212>	PRT
[2655]	<213>	人工序列
[2656]	<220>	
[2657]	<221>	来源
[2658]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2659]	<400>	230
[2660]	Cys Ala Leu Gly Asp Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asp Arg	
[2661]	1	5 10 15
[2662]	Leu Ile Phe	
[2663]	<210>	231
[2664]	<211>	19
[2665]	<212>	PRT
[2666]	<213>	人工序列
[2667]	<220>	
[2668]	<221>	来源
[2669]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2670]	<400>	231
[2671]	Cys Ala Leu Gly Glu Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asp Arg	
[2672]	1	5 10 15
[2673]	Leu Ile Phe	
[2674]	<210>	232
[2675]	<211>	19
[2676]	<212>	PRT
[2677]	<213>	人工序列
[2678]	<220>	
[2679]	<221>	来源
[2680]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2681]	<400>	232
[2682]	Cys Ala Leu Gly Asn Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asp Arg	
[2683]	1	5 10 15
[2684]	Leu Ile Phe	
[2685]	<210>	233
[2686]	<211>	19
[2687]	<212>	PRT

[2688]	<213>	人工序列
[2689]	<220>	
[2690]	<221>	来源
[2691]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2692]	<400>	233
[2693]	Cys Ala Leu Gly Gln Thr Tyr Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asp Arg	
[2694]	1	5 10 15
[2695]	Leu Ile Phe	
[2696]	<210>	234
[2697]	<211>	19
[2698]	<212>	PRT
[2699]	<213>	人工序列
[2700]	<220>	
[2701]	<221>	来源
[2702]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2703]	<400>	234
[2704]	Cys Ala Leu Gly Asp Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asp Arg	
[2705]	1	5 10 15
[2706]	Leu Ile Phe	
[2707]	<210>	235
[2708]	<211>	19
[2709]	<212>	PRT
[2710]	<213>	人工序列
[2711]	<220>	
[2712]	<221>	来源
[2713]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2714]	<400>	235
[2715]	Cys Ala Leu Gly Glu Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asp Arg	
[2716]	1	5 10 15
[2717]	Leu Ile Phe	
[2718]	<210>	236
[2719]	<211>	19
[2720]	<212>	PRT
[2721]	<213>	人工序列
[2722]	<220>	
[2723]	<221>	来源
[2724]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2725]	<400>	236
[2726]	Cys Ala Leu Gly Asn Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asp Arg	
[2727]	1	5 10 15
[2728]	Leu Ile Phe	
[2729]	<210>	237

[2730]	<211>	19
[2731]	<212>	PRT
[2732]	<213>	人工序列
[2733]	<220>	
[2734]	<221>	来源
[2735]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2736]	<400>	237
[2737]	Cys Ala Leu Gly Gln Ser Phe Gly Gly Gly Pro Leu Phe Ser Asp Arg	
[2738]	1 5 10 15	
[2739]	Leu Ile Phe	
[2740]	<210>	238
[2741]	<211>	15
[2742]	<212>	PRT
[2743]	<213>	人工序列
[2744]	<220>	
[2745]	<221>	来源
[2746]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2747]	<400>	238
[2748]	Cys Ala Thr Trp Asp Arg Pro Glu Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[2749]	1 5 10 15	
[2750]	<210>	239
[2751]	<211>	15
[2752]	<212>	PRT
[2753]	<213>	人工序列
[2754]	<220>	
[2755]	<221>	来源
[2756]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2757]	<400>	239
[2758]	Cys Ala Thr Trp Glu Arg Pro Glu Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[2759]	1 5 10 15	
[2760]	<210>	240
[2761]	<211>	15
[2762]	<212>	PRT
[2763]	<213>	人工序列
[2764]	<220>	
[2765]	<221>	来源
[2766]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2767]	<400>	240
[2768]	Cys Ala Thr Trp Asn Arg Pro Glu Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[2769]	1 5 10 15	
[2770]	<210>	241
[2771]	<211>	15

[2772]	<212>	PRT
[2773]	<213>	人工序列
[2774]	<220>	
[2775]	<221>	来源
[2776]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2777]	<400>	241
[2778]	Cys Ala Thr Trp Gln Arg Pro Glu Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[2779]	1	5 10 15
[2780]	<210>	242
[2781]	<211>	15
[2782]	<212>	PRT
[2783]	<213>	人工序列
[2784]	<220>	
[2785]	<221>	来源
[2786]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2787]	<400>	242
[2788]	Cys Ala Thr Trp Asp Lys Pro Glu Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[2789]	1	5 10 15
[2790]	<210>	243
[2791]	<211>	15
[2792]	<212>	PRT
[2793]	<213>	人工序列
[2794]	<220>	
[2795]	<221>	来源
[2796]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2797]	<400>	243
[2798]	Cys Ala Thr Trp Glu Lys Pro Glu Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[2799]	1	5 10 15
[2800]	<210>	244
[2801]	<211>	15
[2802]	<212>	PRT
[2803]	<213>	人工序列
[2804]	<220>	
[2805]	<221>	来源
[2806]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2807]	<400>	244
[2808]	Cys Ala Thr Trp Asn Lys Pro Glu Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[2809]	1	5 10 15
[2810]	<210>	245
[2811]	<211>	15
[2812]	<212>	PRT
[2813]	<213>	人工序列

[2814]	<220>
[2815]	<221> 来源
[2816]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2817]	<400> 245
[2818]	Cys Ala Thr Trp Gln Lys Pro Glu Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[2819]	1 5 10 15
[2820]	<210> 246
[2821]	<211> 15
[2822]	<212> PRT
[2823]	<213> 人工序列
[2824]	<220>
[2825]	<221> 来源
[2826]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2827]	<400> 246
[2828]	Cys Ala Thr Trp Asp Arg Pro Asp Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[2829]	1 5 10 15
[2830]	<210> 247
[2831]	<211> 15
[2832]	<212> PRT
[2833]	<213> 人工序列
[2834]	<220>
[2835]	<221> 来源
[2836]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2837]	<400> 247
[2838]	Cys Ala Thr Trp Glu Arg Pro Asp Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[2839]	1 5 10 15
[2840]	<210> 248
[2841]	<211> 15
[2842]	<212> PRT
[2843]	<213> 人工序列
[2844]	<220>
[2845]	<221> 来源
[2846]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2847]	<400> 248
[2848]	Cys Ala Thr Trp Asn Arg Pro Asp Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[2849]	1 5 10 15
[2850]	<210> 249
[2851]	<211> 15
[2852]	<212> PRT
[2853]	<213> 人工序列
[2854]	<220>
[2855]	<221> 来源

[2856]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2857]	<400> 249
[2858]	Cys Ala Thr Trp Gln Arg Pro Asp Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[2859]	1 5 10 15
[2860]	<210> 250
[2861]	<211> 15
[2862]	<212> PRT
[2863]	<213> 人工序列
[2864]	<220>
[2865]	<221> 来源
[2866]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2867]	<400> 250
[2868]	Cys Ala Thr Trp Asp Lys Pro Asp Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[2869]	1 5 10 15
[2870]	<210> 251
[2871]	<211> 15
[2872]	<212> PRT
[2873]	<213> 人工序列
[2874]	<220>
[2875]	<221> 来源
[2876]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2877]	<400> 251
[2878]	Cys Ala Thr Trp Glu Lys Pro Asp Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[2879]	1 5 10 15
[2880]	<210> 252
[2881]	<211> 15
[2882]	<212> PRT
[2883]	<213> 人工序列
[2884]	<220>
[2885]	<221> 来源
[2886]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2887]	<400> 252
[2888]	Cys Ala Thr Trp Asn Lys Pro Asp Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[2889]	1 5 10 15
[2890]	<210> 253
[2891]	<211> 15
[2892]	<212> PRT
[2893]	<213> 人工序列
[2894]	<220>
[2895]	<221> 来源
[2896]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2897]	<400> 253

[2898]	Cys Ala Thr Trp Gln Lys Pro Asp Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[2899]	1 5 10 15
[2900]	<210> 254
[2901]	<211> 15
[2902]	<212> PRT
[2903]	<213> 人工序列
[2904]	<220>
[2905]	<221> 来源
[2906]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2907]	<400> 254
[2908]	Cys Ala Thr Trp Asp Arg Pro Asn Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[2909]	1 5 10 15
[2910]	<210> 255
[2911]	<211> 15
[2912]	<212> PRT
[2913]	<213> 人工序列
[2914]	<220>
[2915]	<221> 来源
[2916]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2917]	<400> 255
[2918]	Cys Ala Thr Trp Glu Arg Pro Asn Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[2919]	1 5 10 15
[2920]	<210> 256
[2921]	<211> 15
[2922]	<212> PRT
[2923]	<213> 人工序列
[2924]	<220>
[2925]	<221> 来源
[2926]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2927]	<400> 256
[2928]	Cys Ala Thr Trp Asn Arg Pro Asn Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[2929]	1 5 10 15
[2930]	<210> 257
[2931]	<211> 15
[2932]	<212> PRT
[2933]	<213> 人工序列
[2934]	<220>
[2935]	<221> 来源
[2936]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2937]	<400> 257
[2938]	Cys Ala Thr Trp Gln Arg Pro Asn Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[2939]	1 5 10 15

[2940]	<210>	258
[2941]	<211>	15
[2942]	<212>	PRT
[2943]	<213>	人工序列
[2944]	<220>	
[2945]	<221>	来源
[2946]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2947]	<400>	258
[2948]	Cys Ala Thr Trp Asp Lys Pro Asn Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[2949]	1 5 10 15	
[2950]	<210>	259
[2951]	<211>	15
[2952]	<212>	PRT
[2953]	<213>	人工序列
[2954]	<220>	
[2955]	<221>	来源
[2956]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2957]	<400>	259
[2958]	Cys Ala Thr Trp Glu Lys Pro Asn Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[2959]	1 5 10 15	
[2960]	<210>	260
[2961]	<211>	15
[2962]	<212>	PRT
[2963]	<213>	人工序列
[2964]	<220>	
[2965]	<221>	来源
[2966]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2967]	<400>	260
[2968]	Cys Ala Thr Trp Asn Lys Pro Asn Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[2969]	1 5 10 15	
[2970]	<210>	261
[2971]	<211>	15
[2972]	<212>	PRT
[2973]	<213>	人工序列
[2974]	<220>	
[2975]	<221>	来源
[2976]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2977]	<400>	261
[2978]	Cys Ala Thr Trp Gln Lys Pro Asn Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[2979]	1 5 10 15	
[2980]	<210>	262
[2981]	<211>	15

[2982]	<212>	PRT
[2983]	<213>	人工序列
[2984]	<220>	
[2985]	<221>	来源
[2986]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2987]	<400>	262
[2988]	Cys Ala Thr Trp Asp Arg Pro Gln Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[2989]	1	5 10 15
[2990]	<210>	263
[2991]	<211>	15
[2992]	<212>	PRT
[2993]	<213>	人工序列
[2994]	<220>	
[2995]	<221>	来源
[2996]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[2997]	<400>	263
[2998]	Cys Ala Thr Trp Glu Arg Pro Gln Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[2999]	1	5 10 15
[3000]	<210>	264
[3001]	<211>	15
[3002]	<212>	PRT
[3003]	<213>	人工序列
[3004]	<220>	
[3005]	<221>	来源
[3006]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3007]	<400>	264
[3008]	Cys Ala Thr Trp Asn Arg Pro Gln Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3009]	1	5 10 15
[3010]	<210>	265
[3011]	<211>	15
[3012]	<212>	PRT
[3013]	<213>	人工序列
[3014]	<220>	
[3015]	<221>	来源
[3016]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3017]	<400>	265
[3018]	Cys Ala Thr Trp Gln Arg Pro Gln Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3019]	1	5 10 15
[3020]	<210>	266
[3021]	<211>	15
[3022]	<212>	PRT
[3023]	<213>	人工序列

[3024]	<220>
[3025]	<221> 来源
[3026]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3027]	<400> 266
[3028]	Cys Ala Thr Trp Asp Lys Pro Gln Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[3029]	1 5 10 15
[3030]	<210> 267
[3031]	<211> 15
[3032]	<212> PRT
[3033]	<213> 人工序列
[3034]	<220>
[3035]	<221> 来源
[3036]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3037]	<400> 267
[3038]	Cys Ala Thr Trp Glu Lys Pro Gln Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[3039]	1 5 10 15
[3040]	<210> 268
[3041]	<211> 15
[3042]	<212> PRT
[3043]	<213> 人工序列
[3044]	<220>
[3045]	<221> 来源
[3046]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3047]	<400> 268
[3048]	Cys Ala Thr Trp Asn Lys Pro Gln Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[3049]	1 5 10 15
[3050]	<210> 269
[3051]	<211> 15
[3052]	<212> PRT
[3053]	<213> 人工序列
[3054]	<220>
[3055]	<221> 来源
[3056]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3057]	<400> 269
[3058]	Cys Ala Thr Trp Gln Lys Pro Gln Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[3059]	1 5 10 15
[3060]	<210> 270
[3061]	<211> 15
[3062]	<212> PRT
[3063]	<213> 人工序列
[3064]	<220>
[3065]	<221> 来源

[3066]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3067]	<400> 270
[3068]	Cys Ala Thr Trp Asp Arg Pro Glu Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[3069]	1 5 10 15
[3070]	<210> 271
[3071]	<211> 15
[3072]	<212> PRT
[3073]	<213> 人工序列
[3074]	<220>
[3075]	<221> 来源
[3076]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3077]	<400> 271
[3078]	Cys Ala Thr Trp Glu Arg Pro Glu Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[3079]	1 5 10 15
[3080]	<210> 272
[3081]	<211> 15
[3082]	<212> PRT
[3083]	<213> 人工序列
[3084]	<220>
[3085]	<221> 来源
[3086]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3087]	<400> 272
[3088]	Cys Ala Thr Trp Asn Arg Pro Glu Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[3089]	1 5 10 15
[3090]	<210> 273
[3091]	<211> 15
[3092]	<212> PRT
[3093]	<213> 人工序列
[3094]	<220>
[3095]	<221> 来源
[3096]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3097]	<400> 273
[3098]	Cys Ala Thr Trp Gln Arg Pro Glu Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[3099]	1 5 10 15
[3100]	<210> 274
[3101]	<211> 15
[3102]	<212> PRT
[3103]	<213> 人工序列
[3104]	<220>
[3105]	<221> 来源
[3106]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3107]	<400> 274

[3108]	Cys Ala Thr Trp Asp Lys Pro Glu Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[3109]	1 5 10 15
[3110]	<210> 275
[3111]	<211> 15
[3112]	<212> PRT
[3113]	<213> 人工序列
[3114]	<220>
[3115]	<221> 来源
[3116]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3117]	<400> 275
[3118]	Cys Ala Thr Trp Glu Lys Pro Glu Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[3119]	1 5 10 15
[3120]	<210> 276
[3121]	<211> 15
[3122]	<212> PRT
[3123]	<213> 人工序列
[3124]	<220>
[3125]	<221> 来源
[3126]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3127]	<400> 276
[3128]	Cys Ala Thr Trp Asn Lys Pro Glu Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[3129]	1 5 10 15
[3130]	<210> 277
[3131]	<211> 15
[3132]	<212> PRT
[3133]	<213> 人工序列
[3134]	<220>
[3135]	<221> 来源
[3136]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3137]	<400> 277
[3138]	Cys Ala Thr Trp Gln Lys Pro Glu Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[3139]	1 5 10 15
[3140]	<210> 278
[3141]	<211> 15
[3142]	<212> PRT
[3143]	<213> 人工序列
[3144]	<220>
[3145]	<221> 来源
[3146]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3147]	<400> 278
[3148]	Cys Ala Thr Trp Asp Arg Pro Asp Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[3149]	1 5 10 15

[3150]	<210>	279
[3151]	<211>	15
[3152]	<212>	PRT
[3153]	<213>	人工序列
[3154]	<220>	
[3155]	<221>	来源
[3156]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3157]	<400>	279
[3158]	Cys Ala Thr Trp Glu Arg Pro Asp Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3159]	1 5 10 15	
[3160]	<210>	280
[3161]	<211>	15
[3162]	<212>	PRT
[3163]	<213>	人工序列
[3164]	<220>	
[3165]	<221>	来源
[3166]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3167]	<400>	280
[3168]	Cys Ala Thr Trp Asn Arg Pro Asp Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3169]	1 5 10 15	
[3170]	<210>	281
[3171]	<211>	15
[3172]	<212>	PRT
[3173]	<213>	人工序列
[3174]	<220>	
[3175]	<221>	来源
[3176]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3177]	<400>	281
[3178]	Cys Ala Thr Trp Gln Arg Pro Asp Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3179]	1 5 10 15	
[3180]	<210>	282
[3181]	<211>	15
[3182]	<212>	PRT
[3183]	<213>	人工序列
[3184]	<220>	
[3185]	<221>	来源
[3186]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3187]	<400>	282
[3188]	Cys Ala Thr Trp Asp Lys Pro Asp Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3189]	1 5 10 15	
[3190]	<210>	283
[3191]	<211>	15

[3192]	<212>	PRT
[3193]	<213>	人工序列
[3194]	<220>	
[3195]	<221>	来源
[3196]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3197]	<400>	283
[3198]	Cys Ala Thr Trp Glu Lys Pro Asp Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3199]	1	5 10 15
[3200]	<210>	284
[3201]	<211>	15
[3202]	<212>	PRT
[3203]	<213>	人工序列
[3204]	<220>	
[3205]	<221>	来源
[3206]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3207]	<400>	284
[3208]	Cys Ala Thr Trp Asn Lys Pro Asp Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3209]	1	5 10 15
[3210]	<210>	285
[3211]	<211>	15
[3212]	<212>	PRT
[3213]	<213>	人工序列
[3214]	<220>	
[3215]	<221>	来源
[3216]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3217]	<400>	285
[3218]	Cys Ala Thr Trp Gln Lys Pro Asp Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3219]	1	5 10 15
[3220]	<210>	286
[3221]	<211>	15
[3222]	<212>	PRT
[3223]	<213>	人工序列
[3224]	<220>	
[3225]	<221>	来源
[3226]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3227]	<400>	286
[3228]	Cys Ala Thr Trp Asp Arg Pro Asn Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3229]	1	5 10 15
[3230]	<210>	287
[3231]	<211>	15
[3232]	<212>	PRT
[3233]	<213>	人工序列

[3234]	<220>
[3235]	<221> 来源
[3236]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3237]	<400> 287
[3238]	Cys Ala Thr Trp Glu Arg Pro Asn Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[3239]	1 5 10 15
[3240]	<210> 288
[3241]	<211> 15
[3242]	<212> PRT
[3243]	<213> 人工序列
[3244]	<220>
[3245]	<221> 来源
[3246]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3247]	<400> 288
[3248]	Cys Ala Thr Trp Asn Arg Pro Asn Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[3249]	1 5 10 15
[3250]	<210> 289
[3251]	<211> 15
[3252]	<212> PRT
[3253]	<213> 人工序列
[3254]	<220>
[3255]	<221> 来源
[3256]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3257]	<400> 289
[3258]	Cys Ala Thr Trp Gln Arg Pro Asn Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[3259]	1 5 10 15
[3260]	<210> 290
[3261]	<211> 15
[3262]	<212> PRT
[3263]	<213> 人工序列
[3264]	<220>
[3265]	<221> 来源
[3266]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3267]	<400> 290
[3268]	Cys Ala Thr Trp Asp Lys Pro Asn Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[3269]	1 5 10 15
[3270]	<210> 291
[3271]	<211> 15
[3272]	<212> PRT
[3273]	<213> 人工序列
[3274]	<220>
[3275]	<221> 来源

[3276]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3277]	<400> 291
[3278]	Cys Ala Thr Trp Glu Lys Pro Asn Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[3279]	1 5 10 15
[3280]	<210> 292
[3281]	<211> 15
[3282]	<212> PRT
[3283]	<213> 人工序列
[3284]	<220>
[3285]	<221> 来源
[3286]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3287]	<400> 292
[3288]	Cys Ala Thr Trp Asn Lys Pro Asn Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[3289]	1 5 10 15
[3290]	<210> 293
[3291]	<211> 15
[3292]	<212> PRT
[3293]	<213> 人工序列
[3294]	<220>
[3295]	<221> 来源
[3296]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3297]	<400> 293
[3298]	Cys Ala Thr Trp Gln Lys Pro Asn Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[3299]	1 5 10 15
[3300]	<210> 294
[3301]	<211> 15
[3302]	<212> PRT
[3303]	<213> 人工序列
[3304]	<220>
[3305]	<221> 来源
[3306]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3307]	<400> 294
[3308]	Cys Ala Thr Trp Asp Arg Pro Gln Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[3309]	1 5 10 15
[3310]	<210> 295
[3311]	<211> 15
[3312]	<212> PRT
[3313]	<213> 人工序列
[3314]	<220>
[3315]	<221> 来源
[3316]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3317]	<400> 295

[3318]	Cys Ala Thr Trp Glu Arg Pro Gln Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[3319]	1 5 10 15
[3320]	<210> 296
[3321]	<211> 15
[3322]	<212> PRT
[3323]	<213> 人工序列
[3324]	<220>
[3325]	<221> 来源
[3326]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3327]	<400> 296
[3328]	Cys Ala Thr Trp Asn Arg Pro Gln Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[3329]	1 5 10 15
[3330]	<210> 297
[3331]	<211> 15
[3332]	<212> PRT
[3333]	<213> 人工序列
[3334]	<220>
[3335]	<221> 来源
[3336]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3337]	<400> 297
[3338]	Cys Ala Thr Trp Gln Arg Pro Gln Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[3339]	1 5 10 15
[3340]	<210> 298
[3341]	<211> 15
[3342]	<212> PRT
[3343]	<213> 人工序列
[3344]	<220>
[3345]	<221> 来源
[3346]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3347]	<400> 298
[3348]	Cys Ala Thr Trp Asp Lys Pro Gln Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[3349]	1 5 10 15
[3350]	<210> 299
[3351]	<211> 15
[3352]	<212> PRT
[3353]	<213> 人工序列
[3354]	<220>
[3355]	<221> 来源
[3356]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3357]	<400> 299
[3358]	Cys Ala Thr Trp Glu Lys Pro Gln Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[3359]	1 5 10 15

[3360]	<210>	300
[3361]	<211>	15
[3362]	<212>	PRT
[3363]	<213>	人工序列
[3364]	<220>	
[3365]	<221>	来源
[3366]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3367]	<400>	300
[3368]	Cys Ala Thr Trp Asn Lys Pro Gln Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3369]	1 5 10 15	
[3370]	<210>	301
[3371]	<211>	15
[3372]	<212>	PRT
[3373]	<213>	人工序列
[3374]	<220>	
[3375]	<221>	来源
[3376]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3377]	<400>	301
[3378]	Cys Ala Thr Trp Gln Lys Pro Gln Leu Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3379]	1 5 10 15	
[3380]	<210>	302
[3381]	<211>	15
[3382]	<212>	PRT
[3383]	<213>	人工序列
[3384]	<220>	
[3385]	<221>	来源
[3386]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3387]	<400>	302
[3388]	Cys Ala Thr Trp Asp Arg Pro Glu Ile Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3389]	1 5 10 15	
[3390]	<210>	303
[3391]	<211>	15
[3392]	<212>	PRT
[3393]	<213>	人工序列
[3394]	<220>	
[3395]	<221>	来源
[3396]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3397]	<400>	303
[3398]	Cys Ala Thr Trp Glu Arg Pro Glu Ile Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3399]	1 5 10 15	
[3400]	<210>	304
[3401]	<211>	15

[3402]	<212>	PRT
[3403]	<213>	人工序列
[3404]	<220>	
[3405]	<221>	来源
[3406]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3407]	<400>	304
[3408]	Cys Ala Thr Trp Asn Arg Pro Glu Ile Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3409]	1	5 10 15
[3410]	<210>	305
[3411]	<211>	15
[3412]	<212>	PRT
[3413]	<213>	人工序列
[3414]	<220>	
[3415]	<221>	来源
[3416]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3417]	<400>	305
[3418]	Cys Ala Thr Trp Gln Arg Pro Glu Ile Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3419]	1	5 10 15
[3420]	<210>	306
[3421]	<211>	15
[3422]	<212>	PRT
[3423]	<213>	人工序列
[3424]	<220>	
[3425]	<221>	来源
[3426]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3427]	<400>	306
[3428]	Cys Ala Thr Trp Asp Lys Pro Glu Ile Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3429]	1	5 10 15
[3430]	<210>	307
[3431]	<211>	15
[3432]	<212>	PRT
[3433]	<213>	人工序列
[3434]	<220>	
[3435]	<221>	来源
[3436]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3437]	<400>	307
[3438]	Cys Ala Thr Trp Glu Lys Pro Glu Ile Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3439]	1	5 10 15
[3440]	<210>	308
[3441]	<211>	15
[3442]	<212>	PRT
[3443]	<213>	人工序列

[3444]	<220>
[3445]	<221> 来源
[3446]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3447]	<400> 308
[3448]	Cys Ala Thr Trp Asn Lys Pro Glu Ile Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3449]	1 5 10 15
[3450]	<210> 309
[3451]	<211> 15
[3452]	<212> PRT
[3453]	<213> 人工序列
[3454]	<220>
[3455]	<221> 来源
[3456]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3457]	<400> 309
[3458]	Cys Ala Thr Trp Gln Lys Pro Glu Ile Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3459]	1 5 10 15
[3460]	<210> 310
[3461]	<211> 15
[3462]	<212> PRT
[3463]	<213> 人工序列
[3464]	<220>
[3465]	<221> 来源
[3466]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3467]	<400> 310
[3468]	Cys Ala Thr Trp Asp Arg Pro Asp Ile Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3469]	1 5 10 15
[3470]	<210> 311
[3471]	<211> 15
[3472]	<212> PRT
[3473]	<213> 人工序列
[3474]	<220>
[3475]	<221> 来源
[3476]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3477]	<400> 311
[3478]	Cys Ala Thr Trp Glu Arg Pro Asp Ile Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3479]	1 5 10 15
[3480]	<210> 312
[3481]	<211> 15
[3482]	<212> PRT
[3483]	<213> 人工序列
[3484]	<220>
[3485]	<221> 来源

[3486]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3487]	<400> 312
[3488]	Cys Ala Thr Trp Asn Arg Pro Asp Ile Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3489]	1 5 10 15
[3490]	<210> 313
[3491]	<211> 15
[3492]	<212> PRT
[3493]	<213> 人工序列
[3494]	<220>
[3495]	<221> 来源
[3496]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3497]	<400> 313
[3498]	Cys Ala Thr Trp Gln Arg Pro Asp Ile Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3499]	1 5 10 15
[3500]	<210> 314
[3501]	<211> 15
[3502]	<212> PRT
[3503]	<213> 人工序列
[3504]	<220>
[3505]	<221> 来源
[3506]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3507]	<400> 314
[3508]	Cys Ala Thr Trp Asp Lys Pro Asp Ile Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3509]	1 5 10 15
[3510]	<210> 315
[3511]	<211> 15
[3512]	<212> PRT
[3513]	<213> 人工序列
[3514]	<220>
[3515]	<221> 来源
[3516]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3517]	<400> 315
[3518]	Cys Ala Thr Trp Glu Lys Pro Asp Ile Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3519]	1 5 10 15
[3520]	<210> 316
[3521]	<211> 15
[3522]	<212> PRT
[3523]	<213> 人工序列
[3524]	<220>
[3525]	<221> 来源
[3526]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3527]	<400> 316

[3528]	Cys Ala Thr Trp Asn Lys Pro Asp Ile Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3529]	1 5 10 15
[3530]	<210> 317
[3531]	<211> 15
[3532]	<212> PRT
[3533]	<213> 人工序列
[3534]	<220>
[3535]	<221> 来源
[3536]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3537]	<400> 317
[3538]	Cys Ala Thr Trp Gln Lys Pro Asp Ile Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3539]	1 5 10 15
[3540]	<210> 318
[3541]	<211> 15
[3542]	<212> PRT
[3543]	<213> 人工序列
[3544]	<220>
[3545]	<221> 来源
[3546]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3547]	<400> 318
[3548]	Cys Ala Thr Trp Asp Arg Pro Asn Ile Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3549]	1 5 10 15
[3550]	<210> 319
[3551]	<211> 15
[3552]	<212> PRT
[3553]	<213> 人工序列
[3554]	<220>
[3555]	<221> 来源
[3556]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3557]	<400> 319
[3558]	Cys Ala Thr Trp Glu Arg Pro Asn Ile Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3559]	1 5 10 15
[3560]	<210> 320
[3561]	<211> 15
[3562]	<212> PRT
[3563]	<213> 人工序列
[3564]	<220>
[3565]	<221> 来源
[3566]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3567]	<400> 320
[3568]	Cys Ala Thr Trp Asn Arg Pro Asn Ile Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3569]	1 5 10 15

[3570]	<210>	321		
[3571]	<211>	15		
[3572]	<212>	PRT		
[3573]	<213>	人工序列		
[3574]	<220>			
[3575]	<221>	来源		
[3576]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”		
[3577]	<400>	321		
[3578]	Cys	Ala	Thr	Trp
[3579]	1		5	10
[3580]	<210>	322		
[3581]	<211>	15		
[3582]	<212>	PRT		
[3583]	<213>	人工序列		
[3584]	<220>			
[3585]	<221>	来源		
[3586]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”		
[3587]	<400>	322		
[3588]	Cys	Ala	Thr	Trp
[3589]	1		5	10
[3590]	<210>	323		
[3591]	<211>	15		
[3592]	<212>	PRT		
[3593]	<213>	人工序列		
[3594]	<220>			
[3595]	<221>	来源		
[3596]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”		
[3597]	<400>	323		
[3598]	Cys	Ala	Thr	Trp
[3599]	1		5	10
[3600]	<210>	324		
[3601]	<211>	15		
[3602]	<212>	PRT		
[3603]	<213>	人工序列		
[3604]	<220>			
[3605]	<221>	来源		
[3606]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”		
[3607]	<400>	324		
[3608]	Cys	Ala	Thr	Trp
[3609]	1		5	10
[3610]	<210>	325		
[3611]	<211>	15		

[3612]	<212>	PRT
[3613]	<213>	人工序列
[3614]	<220>	
[3615]	<221>	来源
[3616]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3617]	<400>	325
[3618]	Cys Ala Thr Trp Gln Lys Pro Asn Ile Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3619]	1	5 10 15
[3620]	<210>	326
[3621]	<211>	15
[3622]	<212>	PRT
[3623]	<213>	人工序列
[3624]	<220>	
[3625]	<221>	来源
[3626]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3627]	<400>	326
[3628]	Cys Ala Thr Trp Asp Arg Pro Gln Ile Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3629]	1	5 10 15
[3630]	<210>	327
[3631]	<211>	15
[3632]	<212>	PRT
[3633]	<213>	人工序列
[3634]	<220>	
[3635]	<221>	来源
[3636]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3637]	<400>	327
[3638]	Cys Ala Thr Trp Glu Arg Pro Gln Ile Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3639]	1	5 10 15
[3640]	<210>	328
[3641]	<211>	15
[3642]	<212>	PRT
[3643]	<213>	人工序列
[3644]	<220>	
[3645]	<221>	来源
[3646]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3647]	<400>	328
[3648]	Cys Ala Thr Trp Asn Arg Pro Gln Ile Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3649]	1	5 10 15
[3650]	<210>	329
[3651]	<211>	15
[3652]	<212>	PRT
[3653]	<213>	人工序列

[3654]	<220>
[3655]	<221> 来源
[3656]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3657]	<400> 329
[3658]	Cys Ala Thr Trp Gln Arg Pro Gln Ile Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3659]	1 5 10 15
[3660]	<210> 330
[3661]	<211> 15
[3662]	<212> PRT
[3663]	<213> 人工序列
[3664]	<220>
[3665]	<221> 来源
[3666]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3667]	<400> 330
[3668]	Cys Ala Thr Trp Asp Lys Pro Gln Ile Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3669]	1 5 10 15
[3670]	<210> 331
[3671]	<211> 15
[3672]	<212> PRT
[3673]	<213> 人工序列
[3674]	<220>
[3675]	<221> 来源
[3676]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3677]	<400> 331
[3678]	Cys Ala Thr Trp Glu Lys Pro Gln Ile Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3679]	1 5 10 15
[3680]	<210> 332
[3681]	<211> 15
[3682]	<212> PRT
[3683]	<213> 人工序列
[3684]	<220>
[3685]	<221> 来源
[3686]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3687]	<400> 332
[3688]	Cys Ala Thr Trp Asn Lys Pro Gln Ile Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3689]	1 5 10 15
[3690]	<210> 333
[3691]	<211> 15
[3692]	<212> PRT
[3693]	<213> 人工序列
[3694]	<220>
[3695]	<221> 来源

[3738]	Cys Ala Thr Trp Gln Arg Pro Glu Leu Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3739]	1 5 10 15
[3740]	<210> 338
[3741]	<211> 15
[3742]	<212> PRT
[3743]	<213> 人工序列
[3744]	<220>
[3745]	<221> 来源
[3746]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3747]	<400> 338
[3748]	Cys Ala Thr Trp Asp Lys Pro Glu Leu Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3749]	1 5 10 15
[3750]	<210> 339
[3751]	<211> 15
[3752]	<212> PRT
[3753]	<213> 人工序列
[3754]	<220>
[3755]	<221> 来源
[3756]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3757]	<400> 339
[3758]	Cys Ala Thr Trp Glu Lys Pro Glu Leu Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3759]	1 5 10 15
[3760]	<210> 340
[3761]	<211> 15
[3762]	<212> PRT
[3763]	<213> 人工序列
[3764]	<220>
[3765]	<221> 来源
[3766]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3767]	<400> 340
[3768]	Cys Ala Thr Trp Asn Lys Pro Glu Leu Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3769]	1 5 10 15
[3770]	<210> 341
[3771]	<211> 15
[3772]	<212> PRT
[3773]	<213> 人工序列
[3774]	<220>
[3775]	<221> 来源
[3776]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3777]	<400> 341
[3778]	Cys Ala Thr Trp Gln Lys Pro Glu Leu Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3779]	1 5 10 15

[3780]	<210>	342
[3781]	<211>	15
[3782]	<212>	PRT
[3783]	<213>	人工序列
[3784]	<220>	
[3785]	<221>	来源
[3786]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3787]	<400>	342
[3788]	Cys Ala Thr Trp Asp Arg Pro Asp Leu Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3789]	1 5 10 15	
[3790]	<210>	343
[3791]	<211>	15
[3792]	<212>	PRT
[3793]	<213>	人工序列
[3794]	<220>	
[3795]	<221>	来源
[3796]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3797]	<400>	343
[3798]	Cys Ala Thr Trp Glu Arg Pro Asp Leu Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3799]	1 5 10 15	
[3800]	<210>	344
[3801]	<211>	15
[3802]	<212>	PRT
[3803]	<213>	人工序列
[3804]	<220>	
[3805]	<221>	来源
[3806]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3807]	<400>	344
[3808]	Cys Ala Thr Trp Asn Arg Pro Asp Leu Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3809]	1 5 10 15	
[3810]	<210>	345
[3811]	<211>	15
[3812]	<212>	PRT
[3813]	<213>	人工序列
[3814]	<220>	
[3815]	<221>	来源
[3816]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3817]	<400>	345
[3818]	Cys Ala Thr Trp Gln Arg Pro Asp Leu Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3819]	1 5 10 15	
[3820]	<210>	346
[3821]	<211>	15

[3822]	<212>	PRT
[3823]	<213>	人工序列
[3824]	<220>	
[3825]	<221>	来源
[3826]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3827]	<400>	346
[3828]	Cys Ala Thr Trp Asp Lys Pro Asp Leu Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3829]	1	5 10 15
[3830]	<210>	347
[3831]	<211>	15
[3832]	<212>	PRT
[3833]	<213>	人工序列
[3834]	<220>	
[3835]	<221>	来源
[3836]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3837]	<400>	347
[3838]	Cys Ala Thr Trp Glu Lys Pro Asp Leu Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3839]	1	5 10 15
[3840]	<210>	348
[3841]	<211>	15
[3842]	<212>	PRT
[3843]	<213>	人工序列
[3844]	<220>	
[3845]	<221>	来源
[3846]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3847]	<400>	348
[3848]	Cys Ala Thr Trp Asn Lys Pro Asp Leu Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3849]	1	5 10 15
[3850]	<210>	349
[3851]	<211>	15
[3852]	<212>	PRT
[3853]	<213>	人工序列
[3854]	<220>	
[3855]	<221>	来源
[3856]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3857]	<400>	349
[3858]	Cys Ala Thr Trp Gln Lys Pro Asp Leu Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3859]	1	5 10 15
[3860]	<210>	350
[3861]	<211>	15
[3862]	<212>	PRT
[3863]	<213>	人工序列

[3864]	<220>
[3865]	<221> 来源
[3866]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3867]	<400> 350
[3868]	Cys Ala Thr Trp Asp Arg Pro Asn Leu Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3869]	1 5 10 15
[3870]	<210> 351
[3871]	<211> 15
[3872]	<212> PRT
[3873]	<213> 人工序列
[3874]	<220>
[3875]	<221> 来源
[3876]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3877]	<400> 351
[3878]	Cys Ala Thr Trp Glu Arg Pro Asn Leu Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3879]	1 5 10 15
[3880]	<210> 352
[3881]	<211> 15
[3882]	<212> PRT
[3883]	<213> 人工序列
[3884]	<220>
[3885]	<221> 来源
[3886]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3887]	<400> 352
[3888]	Cys Ala Thr Trp Asn Arg Pro Asn Leu Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3889]	1 5 10 15
[3890]	<210> 353
[3891]	<211> 15
[3892]	<212> PRT
[3893]	<213> 人工序列
[3894]	<220>
[3895]	<221> 来源
[3896]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3897]	<400> 353
[3898]	Cys Ala Thr Trp Gln Arg Pro Asn Leu Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3899]	1 5 10 15
[3900]	<210> 354
[3901]	<211> 15
[3902]	<212> PRT
[3903]	<213> 人工序列
[3904]	<220>
[3905]	<221> 来源

[3906]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3907]	<400> 354
[3908]	Cys Ala Thr Trp Asp Lys Pro Asn Leu Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3909]	1 5 10 15
[3910]	<210> 355
[3911]	<211> 15
[3912]	<212> PRT
[3913]	<213> 人工序列
[3914]	<220>
[3915]	<221> 来源
[3916]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3917]	<400> 355
[3918]	Cys Ala Thr Trp Glu Lys Pro Asn Leu Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3919]	1 5 10 15
[3920]	<210> 356
[3921]	<211> 15
[3922]	<212> PRT
[3923]	<213> 人工序列
[3924]	<220>
[3925]	<221> 来源
[3926]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3927]	<400> 356
[3928]	Cys Ala Thr Trp Asn Lys Pro Asn Leu Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3929]	1 5 10 15
[3930]	<210> 357
[3931]	<211> 15
[3932]	<212> PRT
[3933]	<213> 人工序列
[3934]	<220>
[3935]	<221> 来源
[3936]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3937]	<400> 357
[3938]	Cys Ala Thr Trp Gln Lys Pro Asn Leu Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3939]	1 5 10 15
[3940]	<210> 358
[3941]	<211> 15
[3942]	<212> PRT
[3943]	<213> 人工序列
[3944]	<220>
[3945]	<221> 来源
[3946]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3947]	<400> 358

[3948]	Cys Ala Thr Trp Asp Arg Pro Gln Leu Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3949]	1 5 10 15
[3950]	<210> 359
[3951]	<211> 15
[3952]	<212> PRT
[3953]	<213> 人工序列
[3954]	<220>
[3955]	<221> 来源
[3956]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3957]	<400> 359
[3958]	Cys Ala Thr Trp Glu Arg Pro Gln Leu Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3959]	1 5 10 15
[3960]	<210> 360
[3961]	<211> 15
[3962]	<212> PRT
[3963]	<213> 人工序列
[3964]	<220>
[3965]	<221> 来源
[3966]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3967]	<400> 360
[3968]	Cys Ala Thr Trp Asn Arg Pro Gln Leu Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3969]	1 5 10 15
[3970]	<210> 361
[3971]	<211> 15
[3972]	<212> PRT
[3973]	<213> 人工序列
[3974]	<220>
[3975]	<221> 来源
[3976]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3977]	<400> 361
[3978]	Cys Ala Thr Trp Gln Arg Pro Gln Leu Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3979]	1 5 10 15
[3980]	<210> 362
[3981]	<211> 15
[3982]	<212> PRT
[3983]	<213> 人工序列
[3984]	<220>
[3985]	<221> 来源
[3986]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3987]	<400> 362
[3988]	Cys Ala Thr Trp Asp Lys Pro Gln Leu Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[3989]	1 5 10 15

[3990]	<210>	363
[3991]	<211>	15
[3992]	<212>	PRT
[3993]	<213>	人工序列
[3994]	<220>	
[3995]	<221>	来源
[3996]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[3997]	<400>	363
[3998]	Cys Ala Thr Trp Glu Lys Pro Gln Leu Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[3999]	1 5 10 15	
[4000]	<210>	364
[4001]	<211>	15
[4002]	<212>	PRT
[4003]	<213>	人工序列
[4004]	<220>	
[4005]	<221>	来源
[4006]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4007]	<400>	364
[4008]	Cys Ala Thr Trp Asn Lys Pro Gln Leu Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[4009]	1 5 10 15	
[4010]	<210>	365
[4011]	<211>	15
[4012]	<212>	PRT
[4013]	<213>	人工序列
[4014]	<220>	
[4015]	<221>	来源
[4016]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4017]	<400>	365
[4018]	Cys Ala Thr Trp Gln Lys Pro Gln Leu Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[4019]	1 5 10 15	
[4020]	<210>	366
[4021]	<211>	15
[4022]	<212>	PRT
[4023]	<213>	人工序列
[4024]	<220>	
[4025]	<221>	来源
[4026]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4027]	<400>	366
[4028]	Cys Ala Thr Trp Glu Arg Pro Glu Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[4029]	1 5 10 15	
[4030]	<210>	367
[4031]	<211>	15

[4032]	<212>	PRT
[4033]	<213>	人工序列
[4034]	<220>	
[4035]	<221>	来源
[4036]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4037]	<400>	367
[4038]	Cys Ala Thr Trp Asn Arg Pro Glu Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[4039]	1	5 10 15
[4040]	<210>	368
[4041]	<211>	15
[4042]	<212>	PRT
[4043]	<213>	人工序列
[4044]	<220>	
[4045]	<221>	来源
[4046]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4047]	<400>	368
[4048]	Cys Ala Thr Trp Gln Arg Pro Glu Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[4049]	1	5 10 15
[4050]	<210>	369
[4051]	<211>	15
[4052]	<212>	PRT
[4053]	<213>	人工序列
[4054]	<220>	
[4055]	<221>	来源
[4056]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4057]	<400>	369
[4058]	Cys Ala Thr Trp Asp Lys Pro Glu Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[4059]	1	5 10 15
[4060]	<210>	370
[4061]	<211>	15
[4062]	<212>	PRT
[4063]	<213>	人工序列
[4064]	<220>	
[4065]	<221>	来源
[4066]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4067]	<400>	370
[4068]	Cys Ala Thr Trp Glu Lys Pro Glu Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[4069]	1	5 10 15
[4070]	<210>	371
[4071]	<211>	15
[4072]	<212>	PRT
[4073]	<213>	人工序列

[4074]	<220>
[4075]	<221> 来源
[4076]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4077]	<400> 371
[4078]	Cys Ala Thr Trp Asn Lys Pro Glu Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[4079]	1 5 10 15
[4080]	<210> 372
[4081]	<211> 15
[4082]	<212> PRT
[4083]	<213> 人工序列
[4084]	<220>
[4085]	<221> 来源
[4086]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4087]	<400> 372
[4088]	Cys Ala Thr Trp Gln Lys Pro Glu Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[4089]	1 5 10 15
[4090]	<210> 373
[4091]	<211> 15
[4092]	<212> PRT
[4093]	<213> 人工序列
[4094]	<220>
[4095]	<221> 来源
[4096]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4097]	<400> 373
[4098]	Cys Ala Thr Trp Asp Arg Pro Asp Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[4099]	1 5 10 15
[4100]	<210> 374
[4101]	<211> 15
[4102]	<212> PRT
[4103]	<213> 人工序列
[4104]	<220>
[4105]	<221> 来源
[4106]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4107]	<400> 374
[4108]	Cys Ala Thr Trp Glu Arg Pro Asp Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[4109]	1 5 10 15
[4110]	<210> 375
[4111]	<211> 15
[4112]	<212> PRT
[4113]	<213> 人工序列
[4114]	<220>
[4115]	<221> 来源

[4116]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4117]	<400> 375
[4118]	Cys Ala Thr Trp Asn Arg Pro Asp Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[4119]	1 5 10 15
[4120]	<210> 376
[4121]	<211> 15
[4122]	<212> PRT
[4123]	<213> 人工序列
[4124]	<220>
[4125]	<221> 来源
[4126]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4127]	<400> 376
[4128]	Cys Ala Thr Trp Gln Arg Pro Asp Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[4129]	1 5 10 15
[4130]	<210> 377
[4131]	<211> 15
[4132]	<212> PRT
[4133]	<213> 人工序列
[4134]	<220>
[4135]	<221> 来源
[4136]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4137]	<400> 377
[4138]	Cys Ala Thr Trp Asp Lys Pro Asp Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[4139]	1 5 10 15
[4140]	<210> 378
[4141]	<211> 15
[4142]	<212> PRT
[4143]	<213> 人工序列
[4144]	<220>
[4145]	<221> 来源
[4146]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4147]	<400> 378
[4148]	Cys Ala Thr Trp Glu Lys Pro Asp Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[4149]	1 5 10 15
[4150]	<210> 379
[4151]	<211> 15
[4152]	<212> PRT
[4153]	<213> 人工序列
[4154]	<220>
[4155]	<221> 来源
[4156]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4157]	<400> 379

[4158]	Cys Ala Thr Trp Asn Lys Pro Asp Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[4159]	1 5 10 15
[4160]	<210> 380
[4161]	<211> 15
[4162]	<212> PRT
[4163]	<213> 人工序列
[4164]	<220>
[4165]	<221> 来源
[4166]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4167]	<400> 380
[4168]	Cys Ala Thr Trp Gln Lys Pro Asp Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[4169]	1 5 10 15
[4170]	<210> 381
[4171]	<211> 15
[4172]	<212> PRT
[4173]	<213> 人工序列
[4174]	<220>
[4175]	<221> 来源
[4176]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4177]	<400> 381
[4178]	Cys Ala Thr Trp Asp Arg Pro Asn Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[4179]	1 5 10 15
[4180]	<210> 382
[4181]	<211> 15
[4182]	<212> PRT
[4183]	<213> 人工序列
[4184]	<220>
[4185]	<221> 来源
[4186]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4187]	<400> 382
[4188]	Cys Ala Thr Trp Glu Arg Pro Asn Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[4189]	1 5 10 15
[4190]	<210> 383
[4191]	<211> 15
[4192]	<212> PRT
[4193]	<213> 人工序列
[4194]	<220>
[4195]	<221> 来源
[4196]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4197]	<400> 383
[4198]	Cys Ala Thr Trp Asn Arg Pro Asn Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[4199]	1 5 10 15

[4200]	<210>	384
[4201]	<211>	15
[4202]	<212>	PRT
[4203]	<213>	人工序列
[4204]	<220>	
[4205]	<221>	来源
[4206]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4207]	<400>	384
[4208]	Cys Ala Thr Trp Gln Arg Pro Asn Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[4209]	1 5 10 15	
[4210]	<210>	385
[4211]	<211>	15
[4212]	<212>	PRT
[4213]	<213>	人工序列
[4214]	<220>	
[4215]	<221>	来源
[4216]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4217]	<400>	385
[4218]	Cys Ala Thr Trp Asp Lys Pro Asn Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[4219]	1 5 10 15	
[4220]	<210>	386
[4221]	<211>	15
[4222]	<212>	PRT
[4223]	<213>	人工序列
[4224]	<220>	
[4225]	<221>	来源
[4226]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4227]	<400>	386
[4228]	Cys Ala Thr Trp Glu Lys Pro Asn Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[4229]	1 5 10 15	
[4230]	<210>	387
[4231]	<211>	15
[4232]	<212>	PRT
[4233]	<213>	人工序列
[4234]	<220>	
[4235]	<221>	来源
[4236]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4237]	<400>	387
[4238]	Cys Ala Thr Trp Asn Lys Pro Asn Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[4239]	1 5 10 15	
[4240]	<210>	388
[4241]	<211>	15

[4242]	<212>	PRT
[4243]	<213>	人工序列
[4244]	<220>	
[4245]	<221>	来源
[4246]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4247]	<400>	388
[4248]	Cys Ala Thr Trp Gln Lys Pro Asn Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[4249]	1	5 10 15
[4250]	<210>	389
[4251]	<211>	15
[4252]	<212>	PRT
[4253]	<213>	人工序列
[4254]	<220>	
[4255]	<221>	来源
[4256]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4257]	<400>	389
[4258]	Cys Ala Thr Trp Asp Arg Pro Gln Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[4259]	1	5 10 15
[4260]	<210>	390
[4261]	<211>	15
[4262]	<212>	PRT
[4263]	<213>	人工序列
[4264]	<220>	
[4265]	<221>	来源
[4266]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4267]	<400>	390
[4268]	Cys Ala Thr Trp Glu Arg Pro Gln Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[4269]	1	5 10 15
[4270]	<210>	391
[4271]	<211>	15
[4272]	<212>	PRT
[4273]	<213>	人工序列
[4274]	<220>	
[4275]	<221>	来源
[4276]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4277]	<400>	391
[4278]	Cys Ala Thr Trp Asn Arg Pro Gln Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe	
[4279]	1	5 10 15
[4280]	<210>	392
[4281]	<211>	15
[4282]	<212>	PRT
[4283]	<213>	人工序列

[4284]	<220>
[4285]	<221> 来源
[4286]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4287]	<400> 392
[4288]	Cys Ala Thr Trp Gln Arg Pro Gln Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[4289]	1 5 10 15
[4290]	<210> 393
[4291]	<211> 15
[4292]	<212> PRT
[4293]	<213> 人工序列
[4294]	<220>
[4295]	<221> 来源
[4296]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4297]	<400> 393
[4298]	Cys Ala Thr Trp Asp Lys Pro Gln Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[4299]	1 5 10 15
[4300]	<210> 394
[4301]	<211> 15
[4302]	<212> PRT
[4303]	<213> 人工序列
[4304]	<220>
[4305]	<221> 来源
[4306]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4307]	<400> 394
[4308]	Cys Ala Thr Trp Glu Lys Pro Gln Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[4309]	1 5 10 15
[4310]	<210> 395
[4311]	<211> 15
[4312]	<212> PRT
[4313]	<213> 人工序列
[4314]	<220>
[4315]	<221> 来源
[4316]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4317]	<400> 395
[4318]	Cys Ala Thr Trp Asn Lys Pro Gln Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[4319]	1 5 10 15
[4320]	<210> 396
[4321]	<211> 15
[4322]	<212> PRT
[4323]	<213> 人工序列
[4324]	<220>
[4325]	<221> 来源

[4326]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4327]	<400> 396
[4328]	Cys Ala Thr Trp Gln Lys Pro Gln Val Phe Tyr Lys Lys Leu Phe
[4329]	1 5 10 15
[4330]	<210> 397
[4331]	<211> 15
[4332]	<212> PRT
[4333]	<213> 人工序列
[4334]	<220>
[4335]	<221> 来源
[4336]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4337]	<400> 397
[4338]	Cys Ala Thr Trp Glu Arg Pro Glu Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[4339]	1 5 10 15
[4340]	<210> 398
[4341]	<211> 15
[4342]	<212> PRT
[4343]	<213> 人工序列
[4344]	<220>
[4345]	<221> 来源
[4346]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4347]	<400> 398
[4348]	Cys Ala Thr Trp Asn Arg Pro Glu Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[4349]	1 5 10 15
[4350]	<210> 399
[4351]	<211> 15
[4352]	<212> PRT
[4353]	<213> 人工序列
[4354]	<220>
[4355]	<221> 来源
[4356]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4357]	<400> 399
[4358]	Cys Ala Thr Trp Gln Arg Pro Glu Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[4359]	1 5 10 15
[4360]	<210> 400
[4361]	<211> 15
[4362]	<212> PRT
[4363]	<213> 人工序列
[4364]	<220>
[4365]	<221> 来源
[4366]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4367]	<400> 400

[4368]	Cys Ala Thr Trp Asp Lys Pro Glu Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[4369]	1 5 10 15
[4370]	<210> 401
[4371]	<211> 15
[4372]	<212> PRT
[4373]	<213> 人工序列
[4374]	<220>
[4375]	<221> 来源
[4376]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4377]	<400> 401
[4378]	Cys Ala Thr Trp Glu Lys Pro Glu Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[4379]	1 5 10 15
[4380]	<210> 402
[4381]	<211> 15
[4382]	<212> PRT
[4383]	<213> 人工序列
[4384]	<220>
[4385]	<221> 来源
[4386]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4387]	<400> 402
[4388]	Cys Ala Thr Trp Asn Lys Pro Glu Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[4389]	1 5 10 15
[4390]	<210> 403
[4391]	<211> 15
[4392]	<212> PRT
[4393]	<213> 人工序列
[4394]	<220>
[4395]	<221> 来源
[4396]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4397]	<400> 403
[4398]	Cys Ala Thr Trp Gln Lys Pro Glu Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[4399]	1 5 10 15
[4400]	<210> 404
[4401]	<211> 15
[4402]	<212> PRT
[4403]	<213> 人工序列
[4404]	<220>
[4405]	<221> 来源
[4406]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4407]	<400> 404
[4408]	Cys Ala Thr Trp Asp Arg Pro Asp Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[4409]	1 5 10 15

[4410]	<210>	405
[4411]	<211>	15
[4412]	<212>	PRT
[4413]	<213>	人工序列
[4414]	<220>	
[4415]	<221>	来源
[4416]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4417]	<400>	405
[4418]	Cys Ala Thr Trp Glu Arg Pro Asp Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[4419]	1 5 10 15	
[4420]	<210>	406
[4421]	<211>	15
[4422]	<212>	PRT
[4423]	<213>	人工序列
[4424]	<220>	
[4425]	<221>	来源
[4426]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4427]	<400>	406
[4428]	Cys Ala Thr Trp Asn Arg Pro Asp Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[4429]	1 5 10 15	
[4430]	<210>	407
[4431]	<211>	15
[4432]	<212>	PRT
[4433]	<213>	人工序列
[4434]	<220>	
[4435]	<221>	来源
[4436]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4437]	<400>	407
[4438]	Cys Ala Thr Trp Gln Arg Pro Asp Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[4439]	1 5 10 15	
[4440]	<210>	408
[4441]	<211>	15
[4442]	<212>	PRT
[4443]	<213>	人工序列
[4444]	<220>	
[4445]	<221>	来源
[4446]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4447]	<400>	408
[4448]	Cys Ala Thr Trp Asp Lys Pro Asp Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[4449]	1 5 10 15	
[4450]	<210>	409
[4451]	<211>	15

[4452]	<212>	PRT
[4453]	<213>	人工序列
[4454]	<220>	
[4455]	<221>	来源
[4456]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4457]	<400>	409
[4458]	Cys Ala Thr Trp Glu Lys Pro Asp Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[4459]	1	5 10 15
[4460]	<210>	410
[4461]	<211>	15
[4462]	<212>	PRT
[4463]	<213>	人工序列
[4464]	<220>	
[4465]	<221>	来源
[4466]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4467]	<400>	410
[4468]	Cys Ala Thr Trp Asn Lys Pro Asp Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[4469]	1	5 10 15
[4470]	<210>	411
[4471]	<211>	15
[4472]	<212>	PRT
[4473]	<213>	人工序列
[4474]	<220>	
[4475]	<221>	来源
[4476]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4477]	<400>	411
[4478]	Cys Ala Thr Trp Gln Lys Pro Asp Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[4479]	1	5 10 15
[4480]	<210>	412
[4481]	<211>	15
[4482]	<212>	PRT
[4483]	<213>	人工序列
[4484]	<220>	
[4485]	<221>	来源
[4486]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4487]	<400>	412
[4488]	Cys Ala Thr Trp Asp Arg Pro Asn Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[4489]	1	5 10 15
[4490]	<210>	413
[4491]	<211>	15
[4492]	<212>	PRT
[4493]	<213>	人工序列

[4494]	<220>
[4495]	<221> 来源
[4496]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4497]	<400> 413
[4498]	Cys Ala Thr Trp Glu Arg Pro Asn Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[4499]	1 5 10 15
[4500]	<210> 414
[4501]	<211> 15
[4502]	<212> PRT
[4503]	<213> 人工序列
[4504]	<220>
[4505]	<221> 来源
[4506]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4507]	<400> 414
[4508]	Cys Ala Thr Trp Asn Arg Pro Asn Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[4509]	1 5 10 15
[4510]	<210> 415
[4511]	<211> 15
[4512]	<212> PRT
[4513]	<213> 人工序列
[4514]	<220>
[4515]	<221> 来源
[4516]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4517]	<400> 415
[4518]	Cys Ala Thr Trp Gln Arg Pro Asn Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[4519]	1 5 10 15
[4520]	<210> 416
[4521]	<211> 15
[4522]	<212> PRT
[4523]	<213> 人工序列
[4524]	<220>
[4525]	<221> 来源
[4526]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4527]	<400> 416
[4528]	Cys Ala Thr Trp Asp Lys Pro Asn Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[4529]	1 5 10 15
[4530]	<210> 417
[4531]	<211> 15
[4532]	<212> PRT
[4533]	<213> 人工序列
[4534]	<220>
[4535]	<221> 来源

[4536]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4537]	<400> 417
[4538]	Cys Ala Thr Trp Glu Lys Pro Asn Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[4539]	1 5 10 15
[4540]	<210> 418
[4541]	<211> 15
[4542]	<212> PRT
[4543]	<213> 人工序列
[4544]	<220>
[4545]	<221> 来源
[4546]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4547]	<400> 418
[4548]	Cys Ala Thr Trp Asn Lys Pro Asn Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[4549]	1 5 10 15
[4550]	<210> 419
[4551]	<211> 15
[4552]	<212> PRT
[4553]	<213> 人工序列
[4554]	<220>
[4555]	<221> 来源
[4556]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4557]	<400> 419
[4558]	Cys Ala Thr Trp Gln Lys Pro Asn Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[4559]	1 5 10 15
[4560]	<210> 420
[4561]	<211> 15
[4562]	<212> PRT
[4563]	<213> 人工序列
[4564]	<220>
[4565]	<221> 来源
[4566]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4567]	<400> 420
[4568]	Cys Ala Thr Trp Asp Arg Pro Gln Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[4569]	1 5 10 15
[4570]	<210> 421
[4571]	<211> 15
[4572]	<212> PRT
[4573]	<213> 人工序列
[4574]	<220>
[4575]	<221> 来源
[4576]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4577]	<400> 421

[4578]	Cys Ala Thr Trp Glu Arg Pro Gln Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[4579]	1 5 10 15
[4580]	<210> 422
[4581]	<211> 15
[4582]	<212> PRT
[4583]	<213> 人工序列
[4584]	<220>
[4585]	<221> 来源
[4586]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4587]	<400> 422
[4588]	Cys Ala Thr Trp Asn Arg Pro Gln Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[4589]	1 5 10 15
[4590]	<210> 423
[4591]	<211> 15
[4592]	<212> PRT
[4593]	<213> 人工序列
[4594]	<220>
[4595]	<221> 来源
[4596]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4597]	<400> 423
[4598]	Cys Ala Thr Trp Gln Arg Pro Gln Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[4599]	1 5 10 15
[4600]	<210> 424
[4601]	<211> 15
[4602]	<212> PRT
[4603]	<213> 人工序列
[4604]	<220>
[4605]	<221> 来源
[4606]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4607]	<400> 424
[4608]	Cys Ala Thr Trp Asp Lys Pro Gln Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[4609]	1 5 10 15
[4610]	<210> 425
[4611]	<211> 15
[4612]	<212> PRT
[4613]	<213> 人工序列
[4614]	<220>
[4615]	<221> 来源
[4616]	<223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4617]	<400> 425
[4618]	Cys Ala Thr Trp Glu Lys Pro Gln Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe
[4619]	1 5 10 15

[4620]	<210>	426
[4621]	<211>	15
[4622]	<212>	PRT
[4623]	<213>	人工序列
[4624]	<220>	
[4625]	<221>	来源
[4626]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4627]	<400>	426
[4628]	Cys Ala Thr Trp Asn Lys Pro Gln Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[4629]	1 5 10 15	
[4630]	<210>	427
[4631]	<211>	15
[4632]	<212>	PRT
[4633]	<213>	人工序列
[4634]	<220>	
[4635]	<221>	来源
[4636]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4637]	<400>	427
[4638]	Cys Ala Thr Trp Gln Lys Pro Gln Val Tyr Tyr Lys Lys Leu Phe	
[4639]	1 5 10 15	
[4640]	<210>	428
[4641]	<211>	13
[4642]	<212>	PRT
[4643]	<213>	人工序列
[4644]	<220>	
[4645]	<221>	来源
[4646]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4647]	<400>	428
[4648]	Ala Thr Trp Asp Arg Pro Glu Ile Tyr Tyr Lys Lys Leu	
[4649]	1 5 10	
[4650]	<210>	429
[4651]	<211>	20
[4652]	<212>	DNA
[4653]	<213>	人工序列
[4654]	<220>	
[4655]	<221>	来源
[4656]	<223>	/注释=“人工序列的描述:合成引物”
[4657]	<400>	429
[4658]	gatcaagtgt ggcccagaag	20
[4659]	<210>	430
[4660]	<211>	20
[4661]	<212>	DNA

- [4662] <213> 人工序列
[4663] <220>
[4664] <221> 来源
[4665] <223> /注释=“人工序列的描述:合成引物”
[4666] <400> 430
[4667] ctgccagtca gaaatcttcc 20
[4668] <210> 431
[4669] <211> 18
[4670] <212> DNA
[4671] <213> 人工序列
[4672] <220>
[4673] <221> 来源
[4674] <223> /注释=“人工序列的描述:合成引物”
[4675] <400> 431
[4676] ttcaccagac aagcgaca 18
[4677] <210> 432
[4678] <211> 18
[4679] <212> DNA
[4680] <213> 人工序列
[4681] <220>
[4682] <221> 来源
[4683] <223> /注释=“人工序列的描述:合成引物”
[4684] <400> 432
[4685] ggggaaacat ctgcatca 18
[4686] <210> 433
[4687] <211> 9
[4688] <212> PRT
[4689] <213> 人工序列
[4690] <220>
[4691] <221> 来源
[4692] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4693] <400> 433
[4694] Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr Gln Val
[4695] 1 5
[4696] <210> 434
[4697] <211> 9
[4698] <212> PRT
[4699] <213> 人工序列
[4700] <220>
[4701] <221> 来源
[4702] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
[4703] <400> 434

[4704] Gln Tyr Asp Pro Val Ala Ala Leu Phe
 [4705] 1 5
 [4706] <210> 435
 [4707] <211> 9
 [4708] <212> PRT
 [4709] <213> 智人
 [4710] <400> 435
 [4711] Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu
 [4712] 1 5
 [4713] <210> 436
 [4714] <211> 20
 [4715] <212> DNA
 [4716] <213> 人工序列
 [4717] <220>
 [4718] <221> 来源
 [4719] <223> /注释=“人工序列的描述:合成寡核苷酸”
 [4720] <400> 436
 [4721] gagtagcgcg agcacagcta 20
 [4722] <210> 437
 [4723] <211> 20
 [4724] <212> DNA
 [4725] <213> 人工序列
 [4726] <220>
 [4727] <221> 来源
 [4728] <223> /注释=“人工序列的描述:合成寡核苷酸”
 [4729] <400> 437
 [4730] ggagcgcacc atcttcttca 20
 [4731] <210> 438
 [4732] <211> 10
 [4733] <212> PRT
 [4734] <213> 人工序列
 [4735] <220>
 [4736] <221> 来源
 [4737] <223> /注释=“人工序列的描述:合成肽”
 [4738] <400> 438
 [4739] Arg Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Trp Cys Phe
 [4740] 1 5 10
 [4741] <210> 439
 [4742] <211> 350
 [4743] <212> PRT
 [4744] <213> 智人
 [4745] <400> 439

[4746]	Met	Ala	Val	Met	Ala	Pro	Arg	Thr	Leu	Val	Leu	Leu	Leu	Ser	Gly	Ala
[4747]	1			5					10					15		
[4748]	Leu	Ala	Leu	Thr	Gln	Thr	Trp	Ala	Gly	Ser	His	Ser	Met	Arg	Tyr	Phe
[4749]				20					25					30		
[4750]	Phe	Thr	Ser	Val	Ser	Arg	Pro	Gly	Arg	Gly	Glu	Pro	Arg	Phe	Ile	Ala
[4751]				35					40					45		
[4752]	Val	Gly	Tyr	Val	Asp	Asp	Thr	Gln	Phe	Val	Arg	Phe	Asp	Ser	Asp	Ala
[4753]				50					55					60		
[4754]	Ala	Ser	Gln	Arg	Met	Glu	Pro	Arg	Ala	Pro	Trp	Ile	Glu	Gln	Glu	Gly
[4755]	65					70					75				80	
[4756]	Pro	Glu	Tyr	Trp	Asp	Gly	Glu	Thr	Arg	Lys	Val	Lys	Ala	His	Ser	Gln
[4757]						85				90					95	
[4758]	Thr	His	Arg	Val	Asp	Leu	Gly	Thr	Leu	Arg	Gly	Tyr	Tyr	Asn	Gln	Ser
[4759]						100				105					110	
[4760]	Glu	Ala	Gly	Ser	His	Thr	Val	Gln	Arg	Met	Tyr	Gly	Cys	Asp	Val	Gly
[4761]						115				120				125		
[4762]	Ser	Asp	Trp	Arg	Phe	Leu	Arg	Gly	Tyr	His	Gln	Tyr	Ala	Tyr	Asp	Gly
[4763]						130				135				140		
[4764]	Lys	Asp	Tyr	Ile	Ala	Leu	Lys	Glu	Asp	Leu	Arg	Ser	Trp	Thr	Ala	Ala
[4765]	145					150					155				160	
[4766]	Asp	Met	Ala	Ala	Gln	Thr	Thr	Lys	His	Lys	Trp	Glu	Ala	Ala	His	Val
[4767]						165				170					175	
[4768]	Ala	Glu	Gln	Leu	Arg	Ala	Tyr	Leu	Glu	Gly	Thr	Cys	Val	Glu	Trp	Leu
[4769]						180				185				190		
[4770]	Arg	Arg	Tyr	Leu	Glu	Asn	Gly	Lys	Glu	Thr	Leu	Gln	Arg	Thr	Asp	Ala
[4771]						195				200				205		
[4772]	Pro	Lys	Thr	His	Met	Thr	His	His	Ala	Val	Ser	Asp	His	Glu	Ala	Thr
[4773]						210				215				220		
[4774]	Leu	Arg	Cys	Trp	Ala	Leu	Ser	Phe	Tyr	Pro	Ala	Glu	Ile	Thr	Leu	Thr
[4775]	225					230					235				240	
[4776]	Trp	Gln	Arg	Asp	Gly	Glu	Asp	Gln	Thr	Gln	Asp	Thr	Glu	Leu	Val	Glu
[4777]						245				250				255		
[4778]	Thr	Arg	Pro	Ala	Gly	Asp	Gly	Thr	Phe	Gln	Lys	Trp	Ala	Ala	Val	Val
[4779]						260				265				270		
[4780]	Val	Pro	Ser	Gly	Gln	Glu	Gln	Arg	Tyr	Thr	Cys	His	Val	Gln	His	Glu
[4781]						275				280				285		
[4782]	Gly	Leu	Pro	Lys	Pro	Leu	Thr	Leu	Arg	Trp	Glu	Pro	Ser	Ser	Gln	Pro
[4783]						290				295				300		
[4784]	Thr	Ile	Pro	Ile	Val	Gly	Ile	Ile	Ala	Gly	Leu	Val	Leu	Phe	Gly	Ala
[4785]	305					310					315				320	
[4786]	Val	Ile	Thr	Gly	Ala	Val	Val	Ala	Ala	Val	Met	Trp	Arg	Arg	Lys	Ser
[4787]						325				330				335		

[4788]	Ser Asp Arg Lys Gly Gly Ser Tyr Ser Gln Ala Ala Ser Ser
[4789]	340 345 350
[4790]	<210> 440
[4791]	<211> 350
[4792]	<212> PRT
[4793]	<213> 智人
[4794]	<400> 440
[4795]	Met Ala Val Met Ala Pro Arg Thr Leu Val Leu Leu Leu Ser Gly Ala
[4796]	1 5 10 15
[4797]	Leu Ala Leu Thr Gln Thr Trp Ala Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe
[4798]	20 25 30
[4799]	Ser Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala
[4800]	35 40 45
[4801]	Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala
[4802]	50 55 60
[4803]	Ala Ser Gln Arg Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly
[4804]	65 70 75 80
[4805]	Pro Glu Tyr Trp Asp Glu Glu Thr Gly Lys Val Lys Ala His Ser Gln
[4806]	85 90 95
[4807]	Thr Asp Arg Glu Asn Leu Arg Ile Ala Leu Arg Tyr Tyr Asn Gln Ser
[4808]	100 105 110
[4809]	Glu Ala Gly Ser His Thr Leu Gln Met Met Phe Gly Cys Asp Val Gly
[4810]	115 120 125
[4811]	Ser Asp Gly Arg Phe Leu Arg Gly Tyr His Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly
[4812]	130 135 140
[4813]	Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Lys Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala
[4814]	145 150 155 160
[4815]	Asp Met Ala Ala Gln Ile Thr Lys Arg Lys Trp Glu Ala Ala His Val
[4816]	165 170 175
[4817]	Ala Glu Gln Gln Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Asp Gly Leu
[4818]	180 185 190
[4819]	Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Pro
[4820]	195 200 205
[4821]	Pro Lys Thr His Met Thr His His Pro Ile Ser Asp His Glu Ala Thr
[4822]	210 215 220
[4823]	Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr
[4824]	225 230 235 240
[4825]	Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu
[4826]	245 250 255
[4827]	Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val
[4828]	260 265 270
[4829]	Val Pro Ser Gly Glu Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu

[4830]	275	280	285
[4831]	Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu Arg Trp Glu Pro Ser Ser Gln Pro		
[4832]	290	295	300
[4833]	Thr Val Pro Ile Val Gly Ile Ile Ala Gly Leu Val Leu Leu Gly Ala		
[4834]	305	310	315 320
[4835]	Val Ile Thr Gly Ala Val Val Ala Ala Val Met Trp Arg Arg Asn Ser		
[4836]	325	330	335
[4837]	Ser Asp Arg Lys Gly Gly Ser Tyr Ser Gln Ala Ala Ser Ser		
[4838]	340	345	350
[4839]	<210> 441		
[4840]	<211> 30		
[4841]	<212> PRT		
[4842]	<213> 智人		
[4843]	<400> 441		
[4844]	His Val Ala Glu Gln Gln Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Asp		
[4845]	1 5 10 15		
[4846]	Gly Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln		
[4847]	20 25 30		
[4848]	<210> 442		
[4849]	<211> 30		
[4850]	<212> PRT		
[4851]	<213> 智人		
[4852]	<400> 442		
[4853]	His Val Ala Glu Gln Leu Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu		
[4854]	1 5 10 15		
[4855]	Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln		
[4856]	20 25 30		
[4857]	<210> 443		
[4858]	<211> 30		
[4859]	<212> PRT		
[4860]	<213> 智人		
[4861]	<400> 443		
[4862]	His Val Ala Glu Gln Gln Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu		
[4863]	1 5 10 15		
[4864]	Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln		
[4865]	20 25 30		
[4866]	<210> 444		
[4867]	<211> 30		
[4868]	<212> PRT		
[4869]	<213> 智人		
[4870]	<400> 444		
[4871]	His Glu Ala Glu Gln Trp Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Arg Cys Val Glu		

[4872]	1			5					10					15
[4873]	Trp	Leu	Arg	Arg	Tyr	Leu	Glu	Asn	Gly	Lys	Glu	Thr	Leu	Gln
[4874]				20					25					30

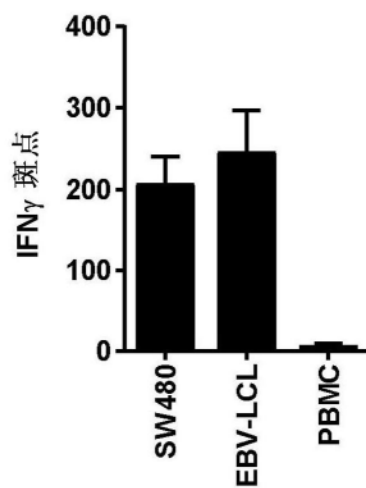


图1A

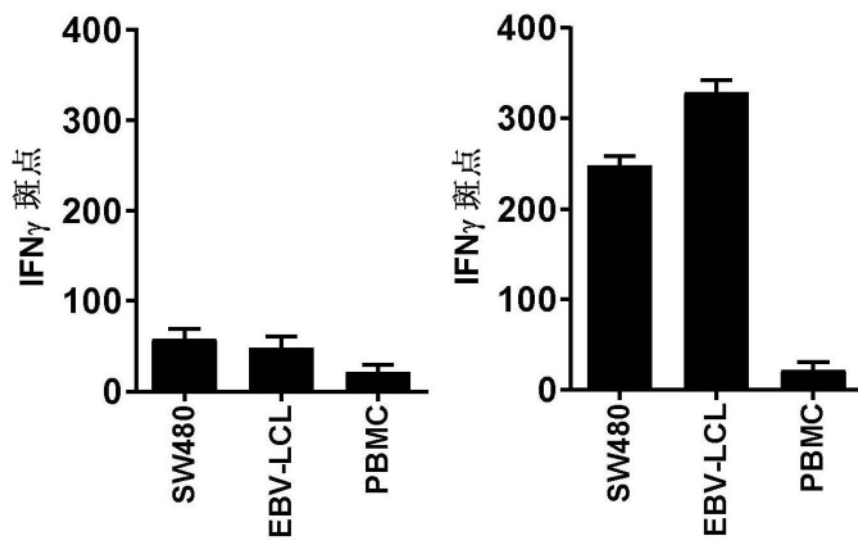


图1B

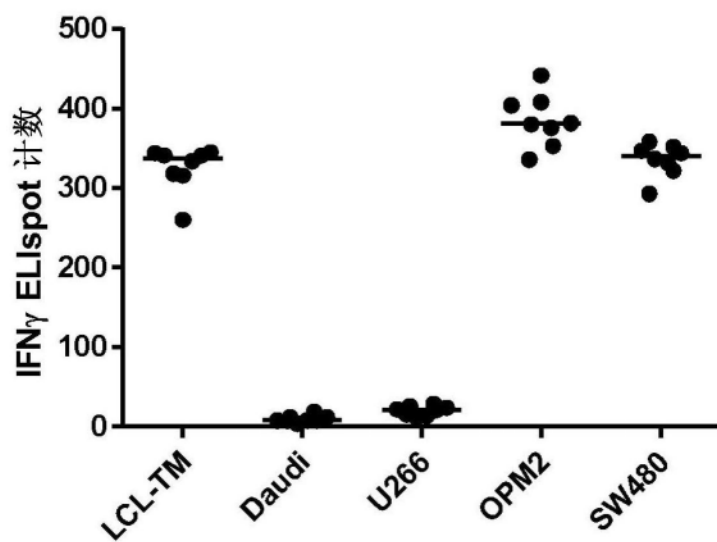


图2

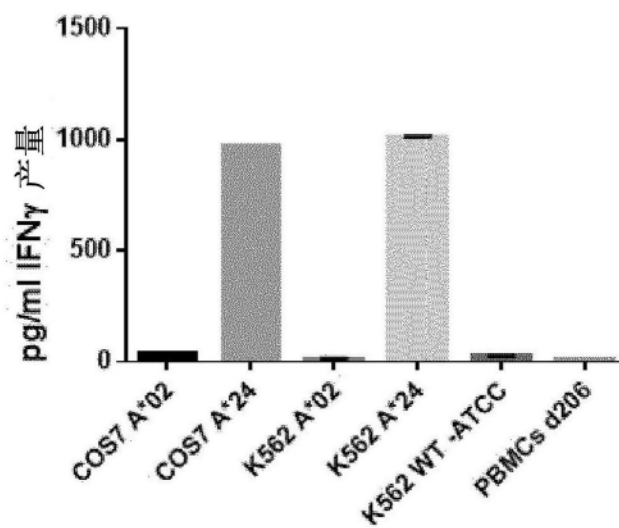


图3A

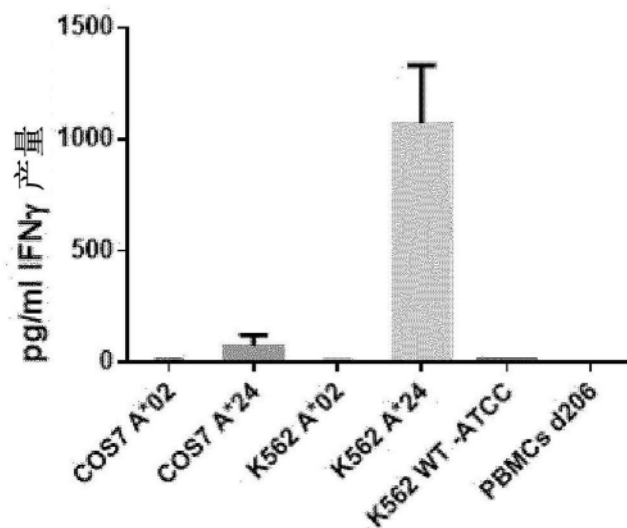


图3B

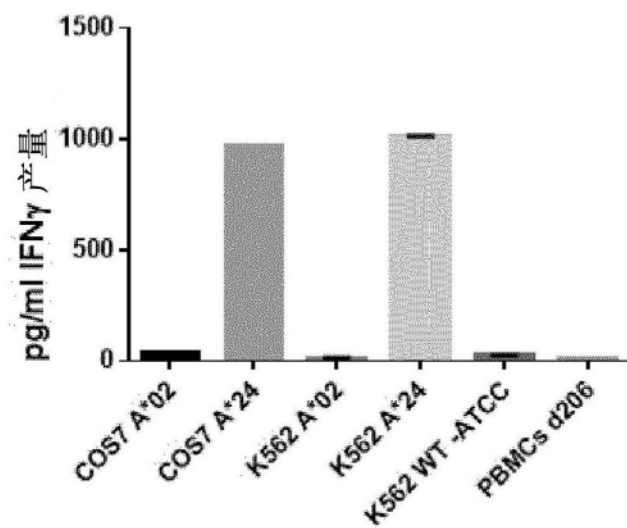


图4A

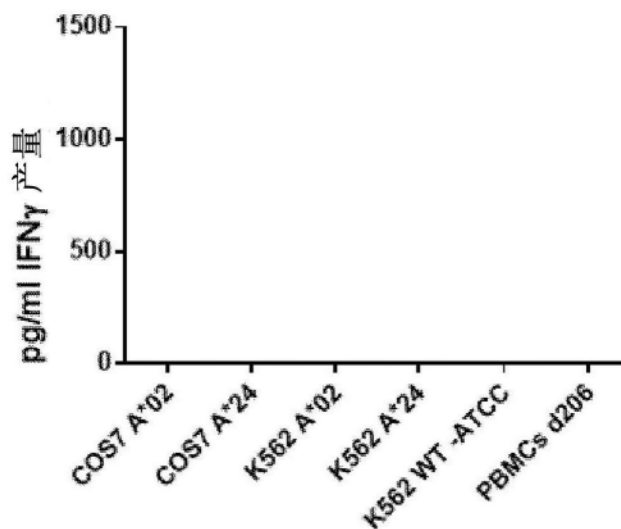


图4B

CLUSTAL W (1.83) 多序列比对

```

HLA_A02      MAVMAPRTLVLVLLLSGALALTQTWAGSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG
HLA_A24      MAVMAPRTLVLVLLLSGALALTQTWAGSHSMRYFSTSVSRPGRGEPRFIAVG
*****

HLA_A02      YVDDTQFVRFDSDAASQRMETPRAPWIEQEGPEYWDGETRKVKAHSQTHRV
HLA_A24      YVDDTQFVRFDSDAASQRMETPRAPWIEQEGPEYWDEETGKVKAHSQTDRE
*****

HLA_A02      DLGTLRGYYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGS DWRFLRGYHQYAYDGKDYIAL
HLA_A24      NLRIALRYYNQSEAGSHTLQMMFGCDVGS DGRFLRGYHQYAYDGKDYIAL
*:*****:

HLA_A02      KEDLRSWTAADMAAQITKRKWEAAHVAEQRAYLEGTCVEWLRRLRYLENGK
HLA_A24      KEDLRSWTAADMAAQITKRKWEAAHVAEQRAYLEGTCVDGLRLRYLENGK
*****

HLA_A02      ETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYPAEITLTWQRDGEDQTQ
HLA_A24      ETLQRTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQ
*****

HLA_A02      DTELVETRPAGDGTGFKWA AVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEPL
HLA_A24      DTELVETRPAGDGTGFKWA AVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEPL
*****

HLA_A02      SSQPTIPIVGIIAGLVLF GAVITGAVVA AVMMWRKSSDRKGGSYSQAASS
HLA_A24      SSQPTVPIVGIIAGLVLL GAVITGAVVA AVMMWRNNSDRKGGSYSQAASS
*****

```

图5

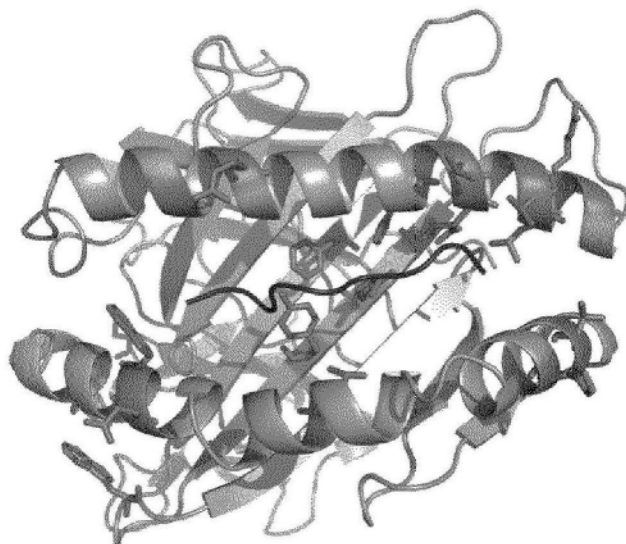


图6A

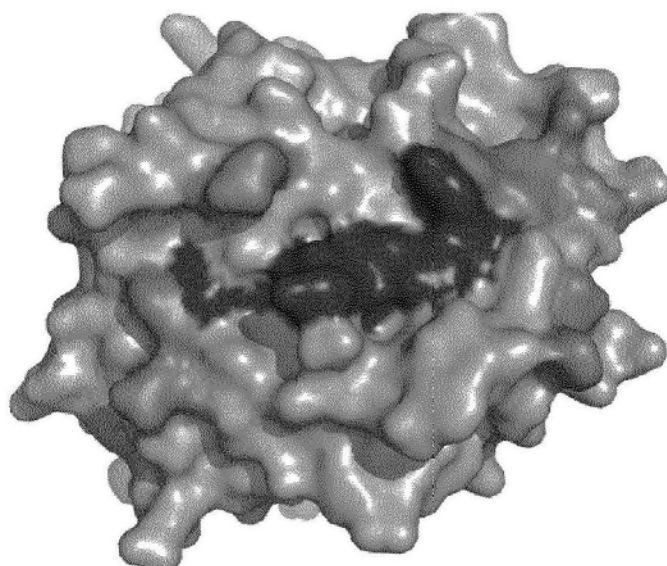


图6B

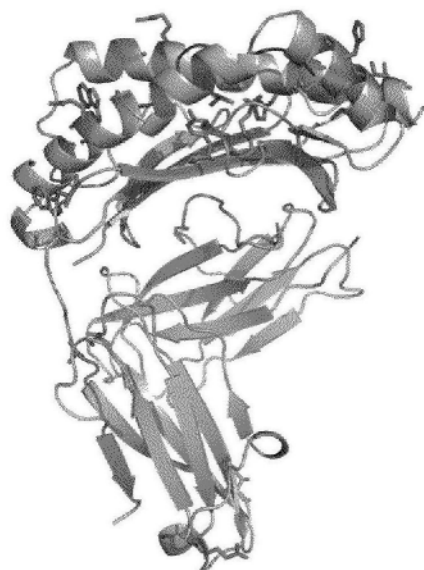


图7A



图7B

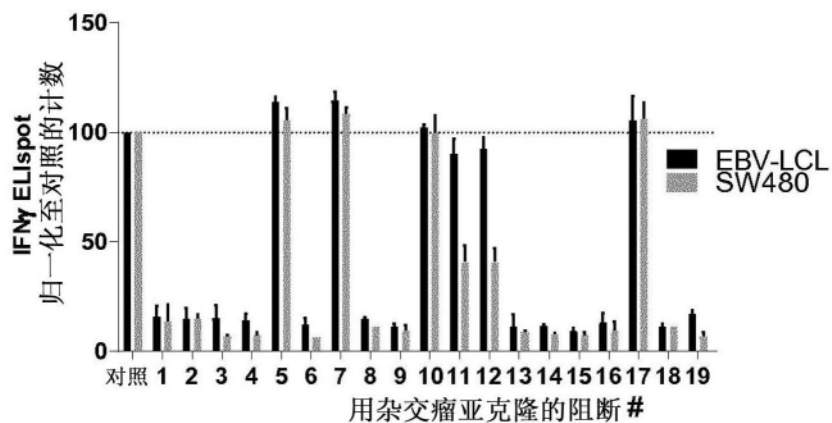


图8A

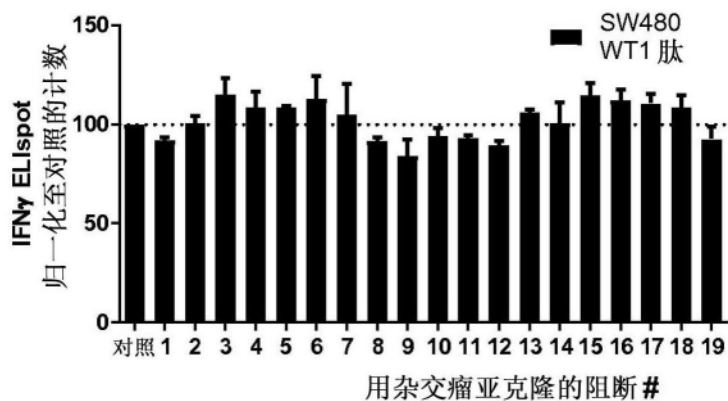


图8B

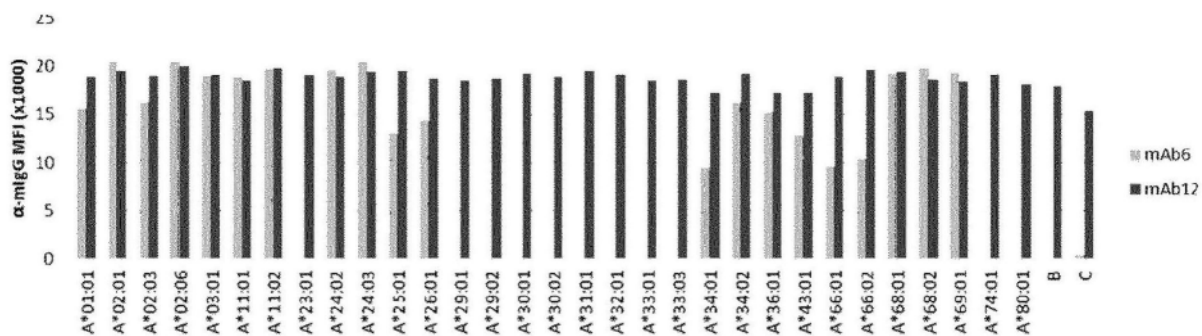


图8C

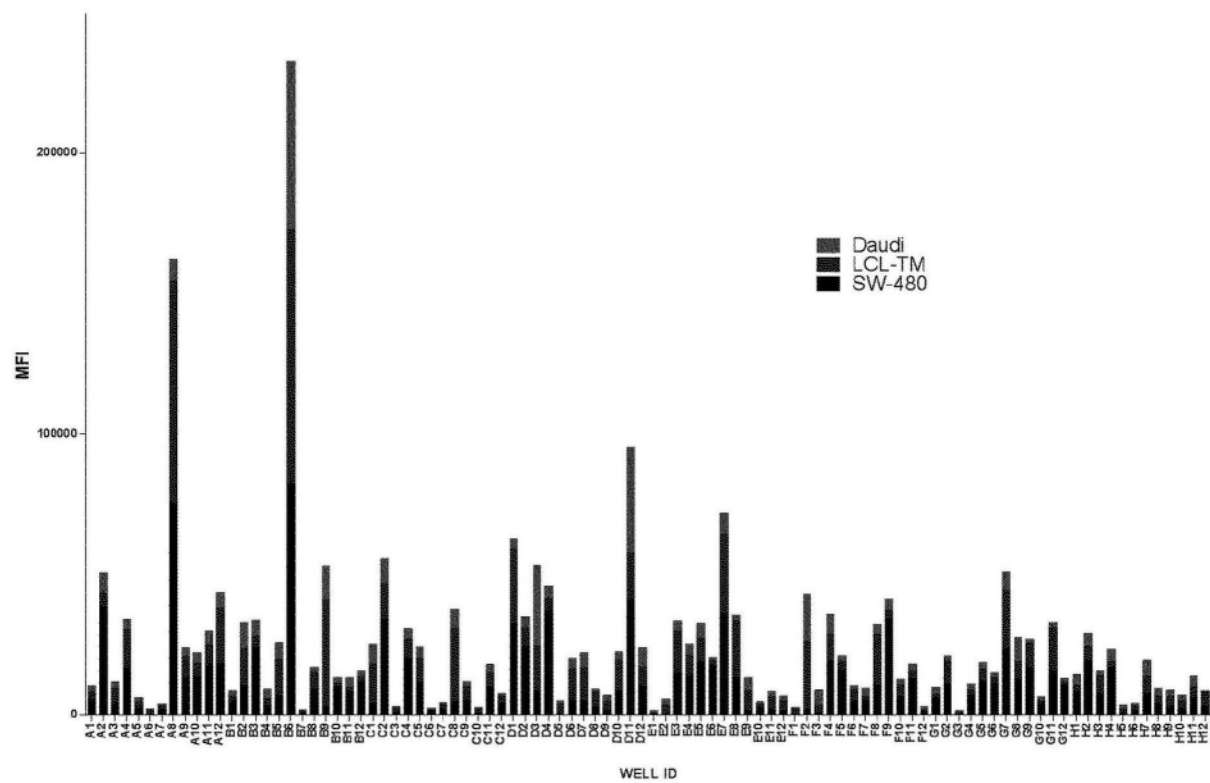


图9

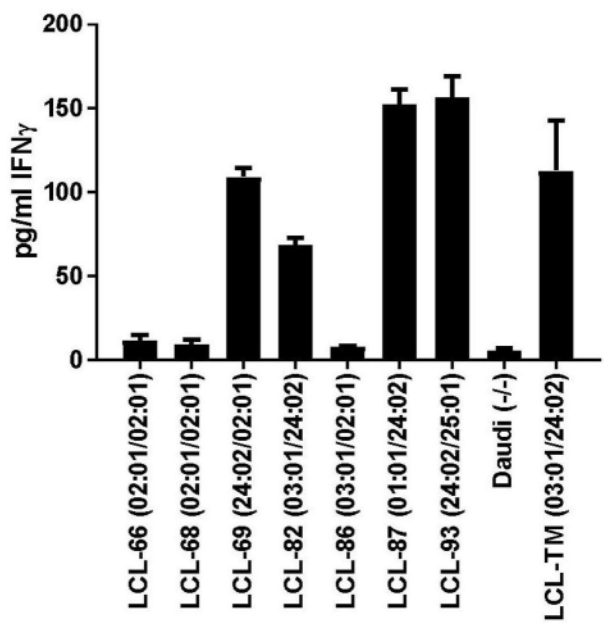


图10A

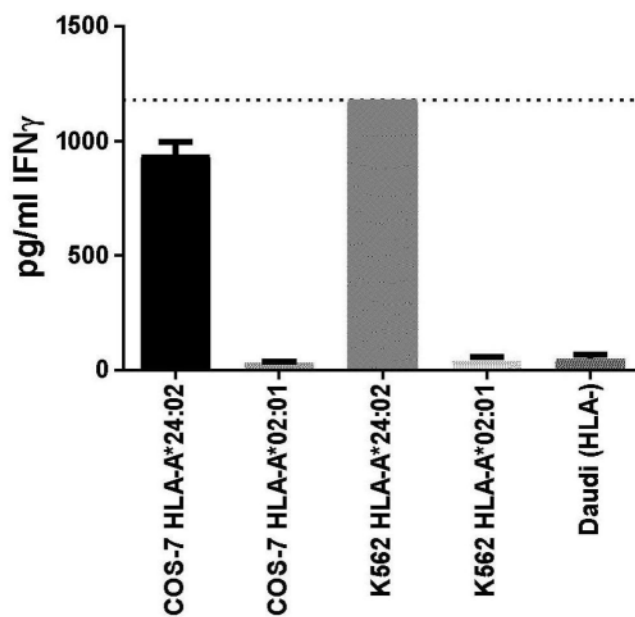


图10B

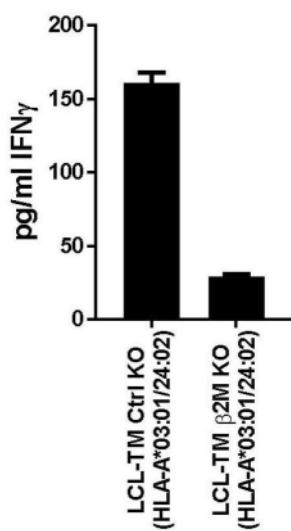


图10C

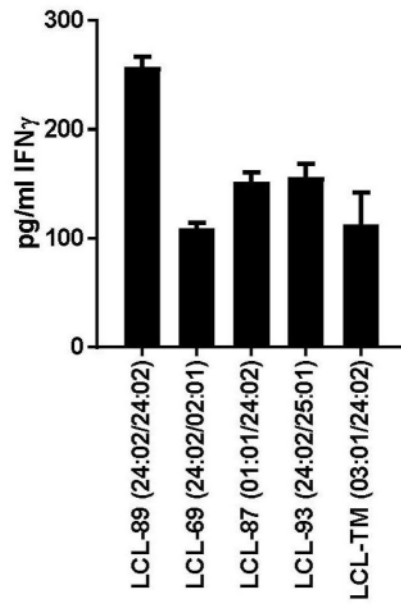


图10D

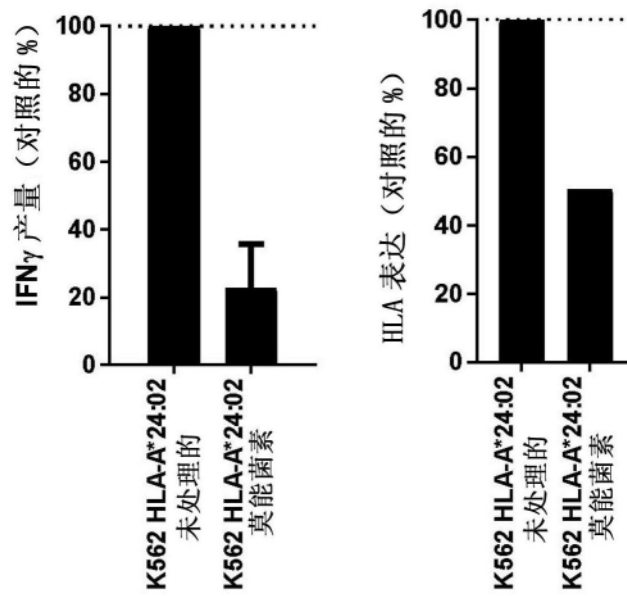


图10E

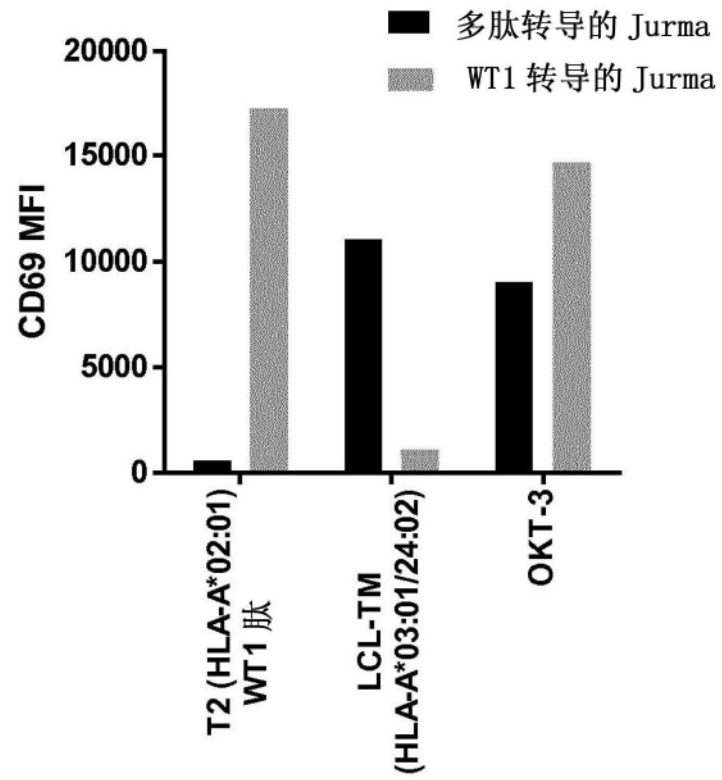


图10F

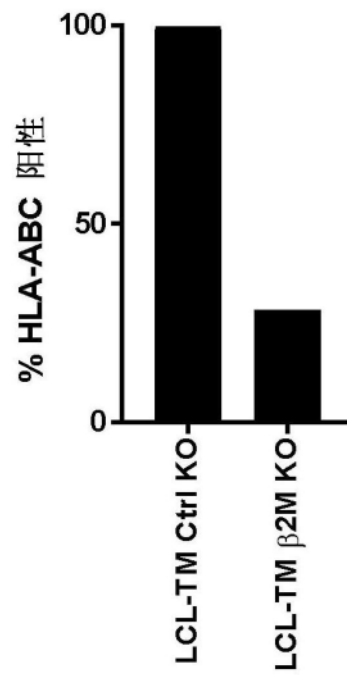


图11

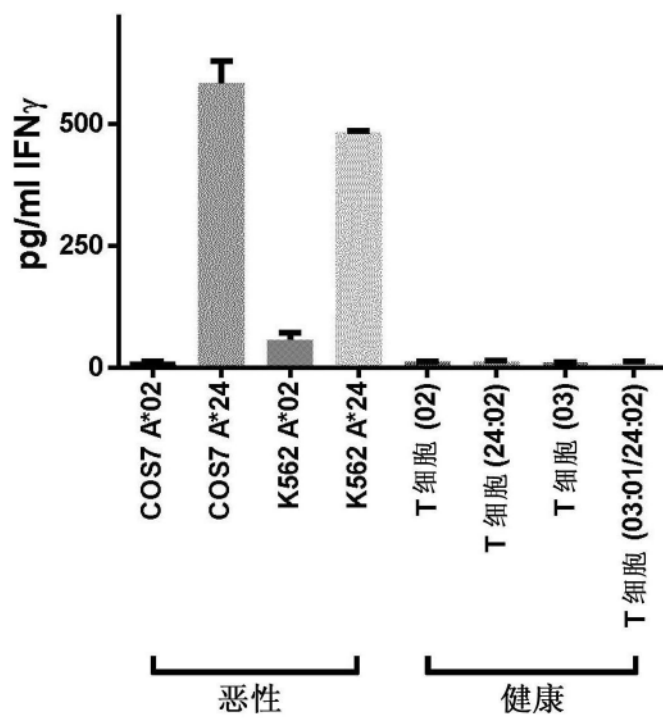


图12A

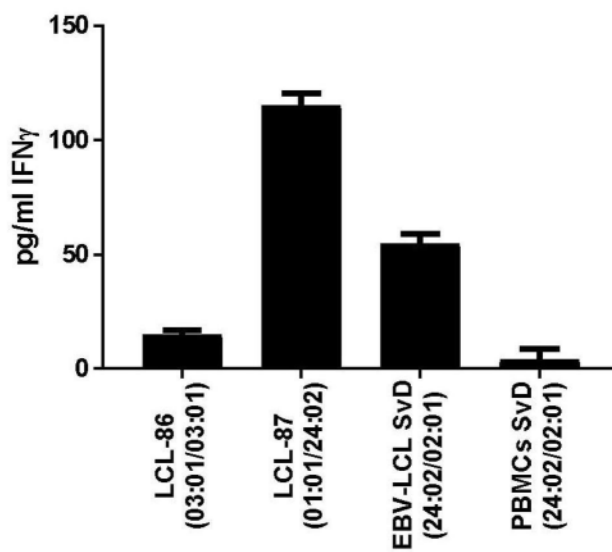


图12B

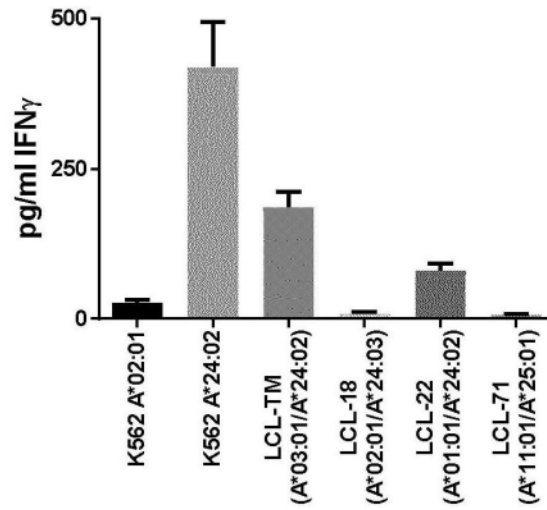


图13A

AA 位置	160	170
180		
A*24:02:01:01	HVAEQQRAYL EGTCV DG LRR	YLENGKETLQ
A*02:01:01:01	-----L-----	-----EW-----
A*24:03:01:01	-----	-----EW-----
A*25:01:01	-E---W----	--R--EW----

图13B

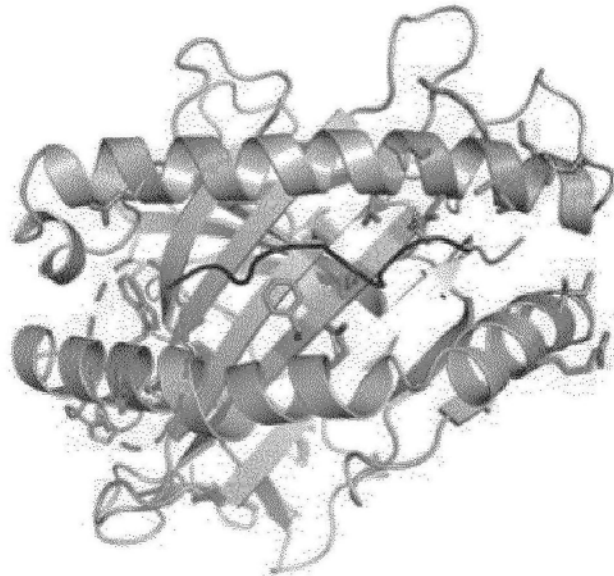


图13C

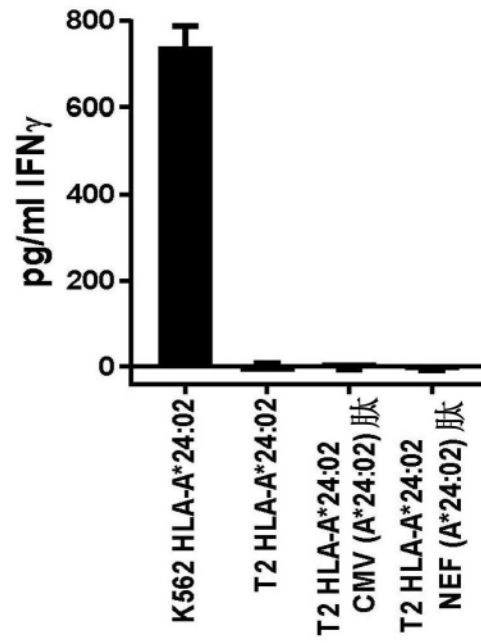


图13D

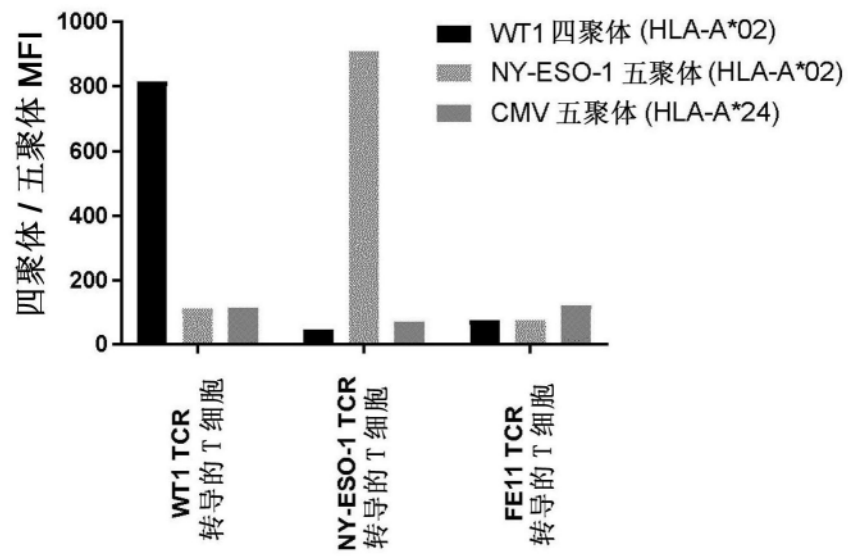


图13E

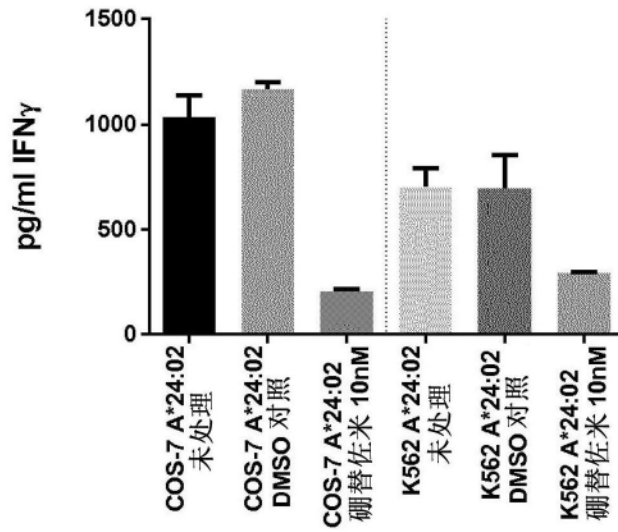


图13F

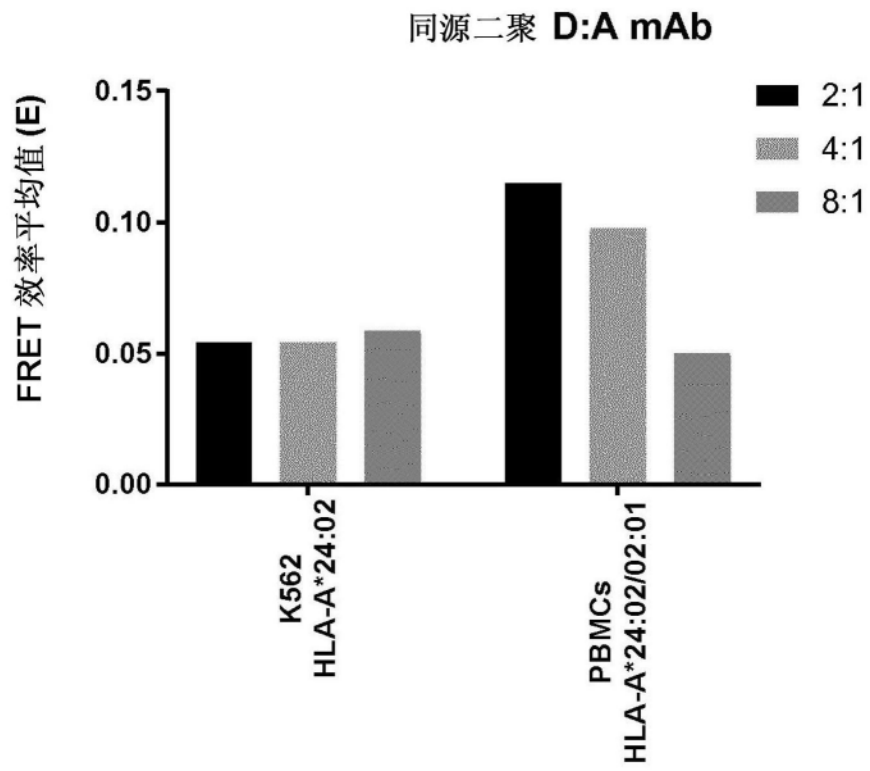


图13G

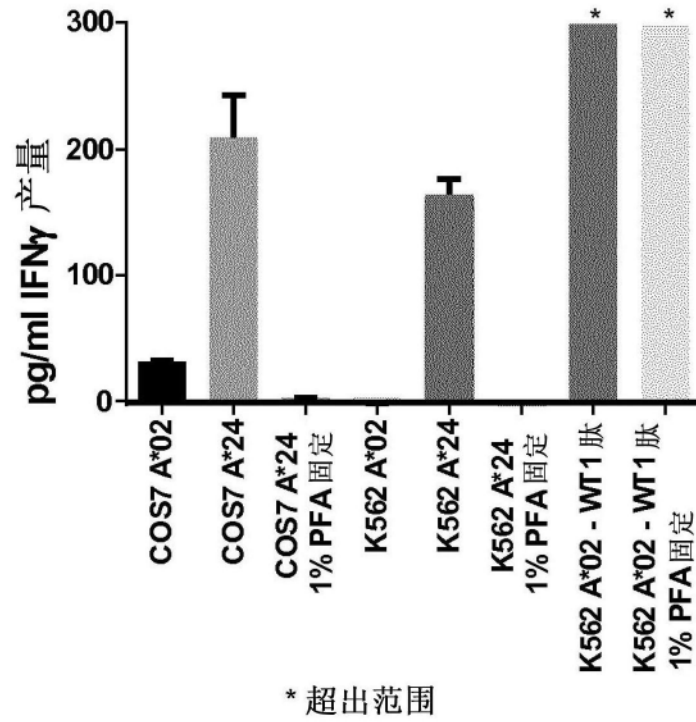


图13H

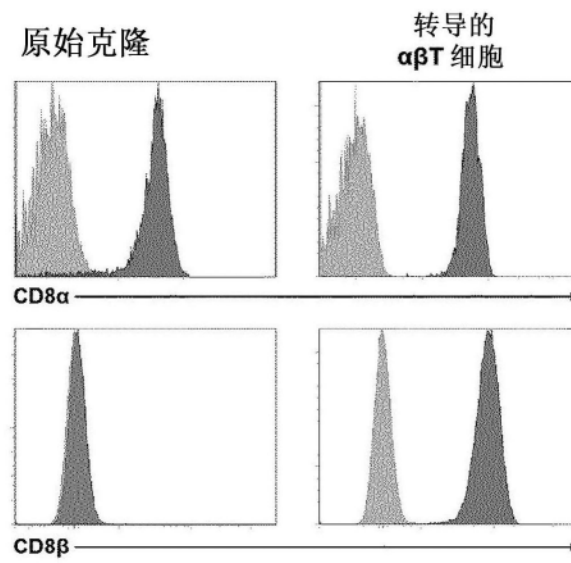


图14A

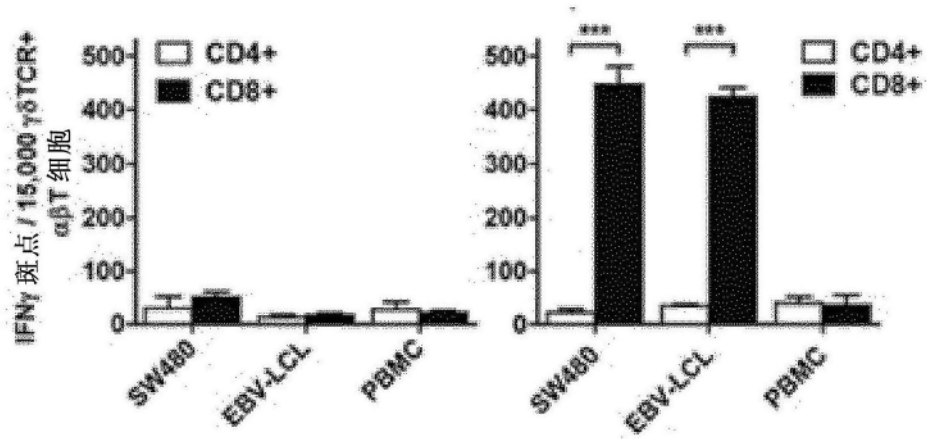


图14B

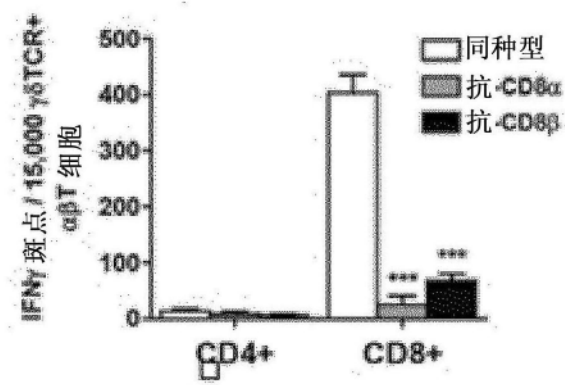


图14C

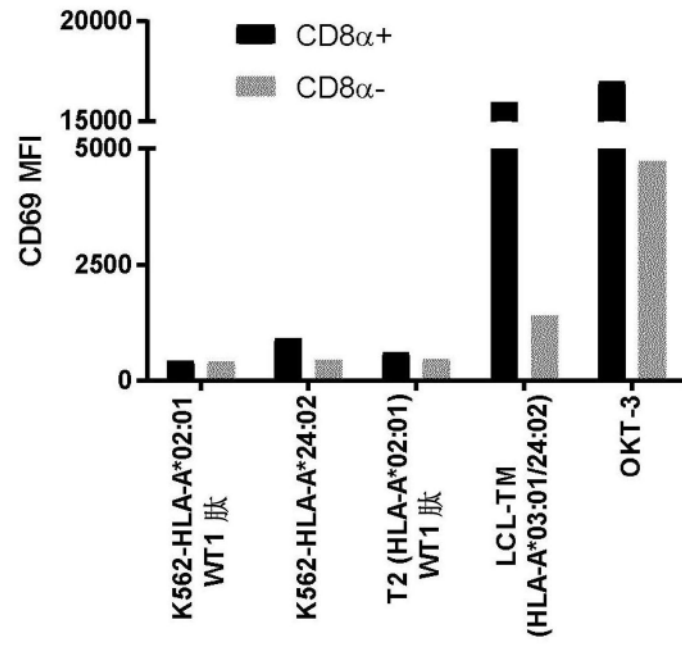


图14D

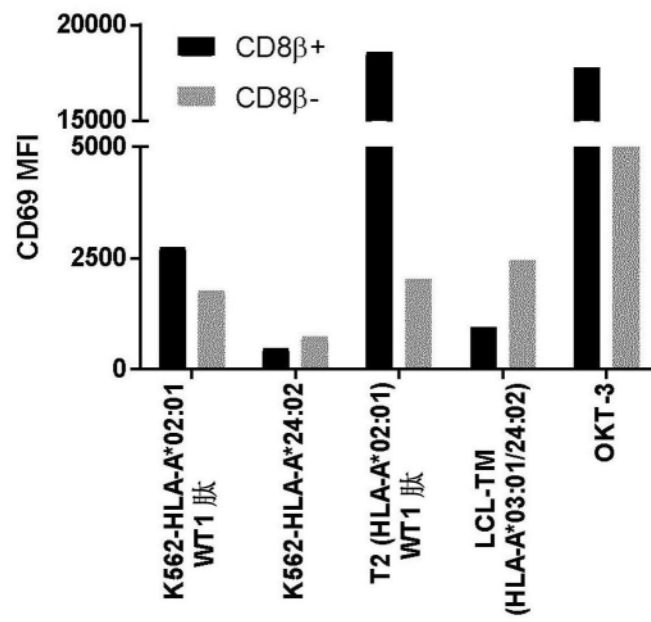


图14E

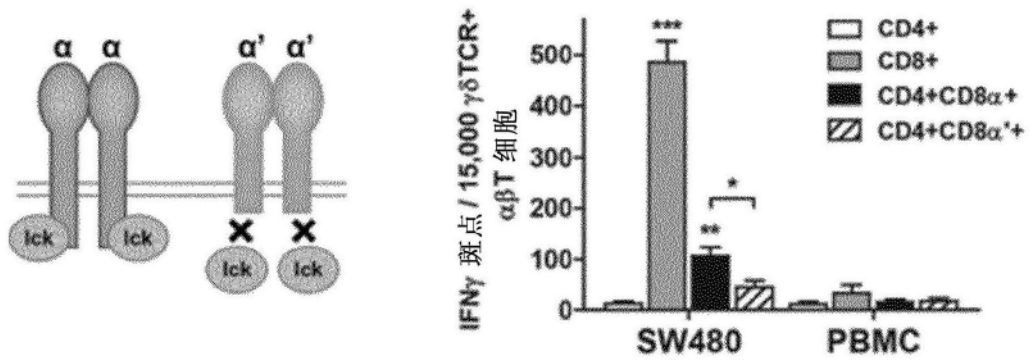


图14F