(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 107108744 B
(45)授权公告日 2020.09.25

(21)申请号 201580056515.6

(22)申请日 2015.08.19

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 107108744 A

(43)申请公布日 2017.08.29

(66)本国优先权数据
PCT/CN2014/084696 2014.08.19 CN
PCT/CN2014/090508 2014.11.06 CN

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2017.04.18

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2015/045898 2015.08.19

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2016/028896 EN 2016.02.25

(73)专利权人 诺华股份有限公司
地址 瑞士巴塞尔
专利权人 宾夕法尼亚大学托管会

(72)发明人 J·布罗格顿 S·吉尔 D·格拉斯 S·肯德利安 A·洛 J·曼尼克 M·米伦 L·墨菲 D·L·波特 M·鲁艾拉 Y·王 吴期隆 J·张

(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所 11247
代理人 胡志君 黄革生

(51)Int.Cl.
C12N 15/62(2006.01)
C07K 19/00(2006.01)
C12N 15/85(2006.01)
C12N 15/861(2006.01)
C12N 15/867(2006.01)
C12N 5/10(2006.01)
A61K 35/17(2015.01)
A61P 35/00(2006.01)
A61P 35/02(2006.01)

(56)对比文件
Gill Saar等.“Preclinical targeting of human acute myeloid leukemia and myeloablation using chimeric antigen receptor-modified T cells”.《Blood》.2014,第123卷(第15期),

M.Ruella等.“Anti-CD123 chimeric antigen receptor redirected T cells for relapsed B-cell acute lymphoblastic leukemia”.《Cytotherapy》.2014,第16卷(第4期),

审查员 董桂灵

权利要求书13页 说明书219页
序列表184页 附图91页

(54)发明名称

抗CD123嵌合抗原受体(CAR)用于癌症治疗

(57)摘要

本发明提供了治疗与表达CD123相关的疾病的组合物和方法。本发明还涉及对CD123特异的嵌合抗原受体(CAR)、编码其的载体和包含CD123 CAR的重组细胞。本发明还包括施用表达CAR的基因修饰细胞的方法,所述CAR包含CD123结合结构域。

CN 107108744 B

1.编码特异性结合CD123的嵌合抗原受体(CAR)的分离的核酸分子,其中CAR包含CD123结合结构域、跨膜结构域和胞内信号结构域,并且其中所述CD123结合结构域是scFv,其包含重链互补决定区1(HC CDR1)、重链互补决定区2(HC CDR2)、重链互补决定区3(HC CDR3),并包含轻链互补决定区1(LC CDR1)、轻链互补决定区2(LC CDR2)和轻链互补决定区3(LC CDR3),其中

(a)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据Kabat编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:486,491,496,501,506和511组成;

(b)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据Chothia编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:516,521,526,531,536和541组成;

(c)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据组合的Kabat和Chothia编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:334,362,390,418,446和474组成;

(d)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据Kabat编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:487,492,497,502,507和512组成;

(e)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据Chothia编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:517,522,527,532,537和542组成;

(f)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据组合的Kabat和Chothia编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:335,363,391,419,447和475组成;

(g)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据Kabat编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:488,493,498,503,508和513组成;

(h)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据Chothia编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:518,523,528,533,538和543组成;

(i)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据组合的Kabat和Chothia编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:337,364,392,420,448和476组成;

(j)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据Kabat编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:489,494,499,504,509和514组成;

(k)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据Chothia编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:519,524,529,534,539和544组成;或者

(l)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据组合的Kabat和Chothia编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:336,365,393,421,449和477组成。

2.根据权利要求1所述的分离的核酸分子,其中

(d)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据Kabat编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:487,492,497,502,507和512组成。

3.根据权利要求1所述的分离的核酸分子,其中

(e)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据Chothia编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:517,522,527,532,537和542组成。

4.根据权利要求1所述的分离的核酸分子,其中

(f)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据组合的Kabat和Chothia编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:335,363,391,419,447和475组成。

5.根据权利要求1所述的分离的核酸分子,其中所述核酸分子编码包含以下的CAR:

(i)SEQ ID NO:275,276,277,或278的轻链可变区的氨基酸序列;

(ii)SEQ ID NO:275,276,277,或278的轻链可变区的氨基酸序列的具有至少一个、两个或三个置换、但不多于10个置换的氨基酸序列;或

(iii)与SEQ ID NO:275,276,277,或278的轻链可变区的氨基酸序列具有99%同一性的氨基酸序列。

6.根据权利要求1所述的分离的核酸分子,其中所述核酸分子编码包含轻链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:276的CAR。

7.根据权利要求1所述的分离的核酸分子,其中所述核酸分子编码包含以下的CAR:

(i)SEQ ID NO:216,217,218,或219的重链可变区的氨基酸序列;

(ii)SEQ ID NO:216,217,218,或219重链可变区的氨基酸序列的具有至少一个、两个或三个置换、但不多于10个置换的氨基酸序列;或

(iii)与SEQ ID NO:216,217,218,或219重链可变区的氨基酸序列具有99%同一性的氨基酸序列。

8.根据权利要求1所述的分离的核酸分子,其中所述核酸分子编码包含重链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:217的CAR。

9.根据权利要求1所述的分离的核酸分子,其中CD123结合结构域包含:

(i)SEQ ID NO:480、483、485或478的氨基酸序列;

(ii)对SEQ ID NO:480、483、485或478的具有至少一个、两个或三个置换、但不多于10个置换的氨基酸序列;或

(iii)与SEQ ID NO:480、483、485或478具有99%同一性的氨基酸序列。

10.根据权利要求1所述的分离的核酸分子,其中CD123结合结构域包含SEQ ID NO:480的氨基酸序列。

11.根据权利要求1所述的分离的核酸分子,其中CD123结合结构域包含选自SEQ ID NO:479、481、482和484的核苷酸序列或与其具有99%同一性的核苷酸序列。

12.根据权利要求1所述的分离的核酸分子,其编码CAR,所述CAR包含

(a)(i)轻链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:276;

(ii)轻链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:276的具有至少一个、两个或三个置换、但不多于10个置换的氨基酸序列;或

(iii)与轻链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:276具有99%同一性的氨基酸序列;和

(b)(i)重链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:217;

(ii)重链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:217的具有至少一个、两个或三个置换、但不多于10个置换的氨基酸序列;或

(iii)与重链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:217具有99%同一性的氨基酸序列。

13.根据权利要求12所述的分离的核酸分子,其中所述核酸分子编码包含轻链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:276的CAR。

14.根据权利要求12所述的分离的核酸分子,其中所述核酸分子编码包含重链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:217的CAR。

15.根据权利要求1所述的分离的核酸分子,其编码包含以下的CAR:

(a)(i)SEQ ID NO:275的轻链可变区的氨基酸序列;

(ii)SEQ ID NO:275的轻链可变区的氨基酸序列的具有至少一个、两个或三个置换、但不多于10个置换的氨基酸序列;或

(iii)与SEQ ID NO:275的轻链可变区的氨基酸序列具有99%同一性的氨基酸序列;和

(b)(i)SEQ ID NO:216的重链可变区的氨基酸序列;

(ii)SEQ ID NO:216的重链可变区的氨基酸序列的具有至少一个、两个或三个置换、但不多于10个置换的氨基酸序列;或

(iii)与SEQ ID NO:216的重链可变区的氨基酸序列具有99%同一性的氨基酸序列。

16.根据权利要求15所述的分离的核酸分子,其中所述核酸分子编码包含轻链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:275的CAR。

17.根据权利要求15所述的分离的核酸分子,其中所述核酸分子编码包含重链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:216的CAR。

18.根据权利要求1所述的分离的核酸分子,其编码包含以下的CAR:

(a)(i)SEQ ID NO:277的轻链可变区的氨基酸序列;

(ii)SEQ ID NO:277的轻链可变区的氨基酸序列的具有至少一个、两个或三个置换、但不多于10个置换的氨基酸序列;或

(iii)与SEQ ID NO:277的轻链可变区的氨基酸序列具有99%同一性的氨基酸序列;和

(b)(i)SEQ ID NO:218的重链可变区的氨基酸序列;

(ii)SEQ ID NO:218的重链可变区的氨基酸序列的具有至少一个、两个或三个置换、但不多于10个置换的氨基酸序列;或

(iii)与SEQ ID NO:218的重链可变区的氨基酸序列具有99%同一性的氨基酸序列。

19.根据权利要求18所述的分离的核酸分子,其中所述核酸分子编码包含轻链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:277的CAR。

20.根据权利要求18所述的分离的核酸分子,其中所述核酸分子编码包含重链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:218的CAR。

21.根据权利要求1所述的分离的核酸分子,其编码包含以下的CAR:

(a)(i)SEQ ID NO:278的轻链可变区的氨基酸序列;

(ii)SEQ ID NO:278的轻链可变区的氨基酸序列的具有至少一个、两个或三个置换、但不多于10个置换的氨基酸序列;或

(iii)与SEQ ID NO:278的轻链可变区的氨基酸序列具有99%同一性的氨基酸序列;和

(b)(i)SEQ ID NO:219的重链可变区的氨基酸序列;

(ii)SEQ ID NO:219的重链可变区的氨基酸序列的具有至少一个、两个或三个置换、但不多于10个置换的氨基酸序列;或

(iii)与SEQ ID NO:219的重链可变区的氨基酸序列具有99%同一性的氨基酸序列。

22.根据权利要求21所述的分离的核酸分子,其中所述核酸分子编码包含轻链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:278的CAR。

23.根据权利要求21所述的分离的核酸分子,其中所述核酸分子编码包含重链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:219的CAR。

24.根据权利要求1所述的分离的核酸分子,其中所述CAR包括跨膜结构域,所述跨膜结构域包含选自以下蛋白质的跨膜结构域:T细胞受体的α、β或ζ链、CD28、CD3ε、CD45、CD4、

CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137和CD154。

25.根据权利要求1所述的分离的核酸分子，其中：

(i)跨膜结构域由SEQ ID NO:6的氨基酸序列组成、SEQ ID NO:6的氨基酸序列有至少一个、两个或三个置换、但不多于5个置换的氨基酸序列、或包含与SEQ ID NO:6的氨基酸序列具有99％同一性的氨基酸序列；或

(ii)编码跨膜结构域的核酸序列由SEQ ID NO:17的核苷酸序列组成或与其具有99％同一性的核苷酸序列。

26.根据权利要求1所述的分离的核酸分子，其中所述CD123结合结构域通过铰链区与跨膜结构域连接。

27.根据权利要求26所述的核酸分子，其中：

(i)铰链区由SEQ ID NO:2的氨基酸序列组成；或者其的有至少一个、两个或三个置换、但不多于5个置换的氨基酸序列；或者与其具有99％同一性的氨基酸序列；或

(ii)编码铰链区的核酸序列由SEQ ID NO:13的核苷酸序列组成或与其具有99％同一性的核苷酸序列。

28.根据权利要求1所述的分离的核酸分子，其中所述胞内信号结构域包含共刺激结构域，其是从选自以下的蛋白质获得的功能性信号结构域：MHC I类分子、TNF受体蛋白、免疫球蛋白样蛋白质、细胞因子受体、整联蛋白、淋巴细胞活化信号分子SLAM蛋白、活化NK细胞受体、BTLA、Toll配体受体、OX40、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CDS、ICAM-1、也称为CD11a/CD18的LFA-1、也称为4-1BB的CD137、B7-H3、CDS、ICAM-1、也称为ICOS的CD278、GITR、BAFFR、LIGHT、也称为HVEM的LIGHTR、KIRDS2、SLAMF7、也称为NKp80的KLRF1、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、也称为DNAM1的CD226、也称为SLAMF4的、CD244、2B4、CD84、也称为CD96的Tactile、CEACAM1、CRTAM、也称为Ly9的CD229、也称为CD160的BY55、PSGL1、也称为CD100的SEMA4D、CD69、也称为SLAMF6的NTB-A或Ly108、也称为SLAM的SLAMF1或CD150或IPO-3、也称为BLAME的SLAMF8、也称为SELPLG的CD162、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a和与CD83特异性结合的配体。

29.根据权利要求28所述的分离的核酸分子，其中所述共刺激结构域由SEQ ID NO:7的氨基酸序列组成、或SEQ ID NO:7的氨基酸序列的具有至少一个、两个或三个置换、但不多于5个置换的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:7的氨基酸序列具有99％同一性的氨基酸序列。

30.根据权利要求28所述的分离的核酸分子，其中编码共刺激结构域的核酸序列由SEQ ID NO:18的核苷酸序列组成或与其具有99％同一性的核苷酸序列。

31.根据权利要求1所述的分离的核酸分子，其中所述胞内信号结构域包含4-1BB的功能性信号结构域和/或CD3ζ的功能性信号结构域。

32.根据权利要求1所述的分离的核酸分子，其中所述胞内信号结构域由SEQ ID NO:7的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的氨基酸序列组成；或者SEQ ID NO:7的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的氨基酸序列的具有至少一个、两个或三个置换、但不多于5个置换的氨基酸序列；或者与SEQ ID NO:7的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:

9或SEQ ID NO:10的氨基酸序列具有99%同一性的氨基酸序列。

33.根据权利要求1所述的分离的核酸分子,其中所述胞内信号结构域由SEQ ID NO:7的氨基酸序列和SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的氨基酸序列组成,其中包含胞内信号结构域的序列在相同读框中并作为单条多肽链表达。

34.根据权利要求1所述的分离的核酸分子,其中编码胞内信号结构域的核酸序列由SEQ ID NO:18的核苷酸序列组成或与其具有99%同一性的核苷酸序列、和/或SEQ ID NO:20或SEQ ID NO:21的核苷酸序列或与其具有99%同一性的核苷酸序列。

35.根据权利要求1所述的分离的核酸分子,其还包含编码SEQ ID NO:1的氨基酸序列的前导序列。

36.根据权利要求1所述的分离的核酸分子,其编码CAR,所述CAR包含:

(i)任一SEQ ID NO:99、100、101或98的氨基酸序列;

(ii)对任一SEQ ID NO:99、100、101或98的具有至少一个、两个或三个置换、但不多于10个置换的氨基酸序列;或

(iii)与任一SEQ ID NO:99、100、101或98具有99%同一性的氨基酸序列。

37.根据权利要求1所述的分离的核酸分子,其编码CAR,所述CAR包含

(i)由SEQ ID NO:160或485的氨基酸序列组成的CD123结合结构域、由SEQ ID NO:2的氨基酸序列组成的铰链结构域、由SEQ ID NO:6的氨基酸序列组成的跨膜结构域、包含由SEQ ID NO:7的氨基酸序列组成的共刺激结构域的胞内信号结构域,且所述胞内信号结构域由SEQ ID NO:9的氨基酸序列组成;或

(ii)由SEQ ID NO:42的核苷酸序列编码的氨基酸序列。

38.根据权利要求1所述的分离的核酸分子,其包含任一SEQ ID NO:39、40、41或42的核苷酸序列或者与任一SEQ ID NO:39、40、41或42具有99%同一性的核苷酸序列。

39.分离的多肽分子,其由权利要求1-38中任一项所述的核酸分子编码。

40.分离的特异性结合CD123的嵌合抗原受体(CAR)多肽,其中CAR包含抗体或抗体片段,所述抗体或抗体片段包括CD123结合结构域、跨膜结构域和包含共刺激结构域和/或初级信号结构域的胞内信号结构域,并且其中所述CD123结合结构域是scFv,其包含重链互补决定区1(HC CDR1)、重链互补决定区2(HC CDR2)、重链互补决定区3(HC CDR3)、轻链互补决定区1(LC CDR1)、轻链互补决定区2(LC CDR2)和轻链互补决定区3(LC CDR3),其中

(a)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据Kabat编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:486,491,496,501,506和511组成;

(b)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据Chothia编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:516,521,526,531,536和541组成;

(c)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据组合的Kabat和Chothia编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:334,362,390,418,446和474组成;

(d)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据Kabat编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:487,492,497,502,507和512组成;

(e)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据Chothia编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:517,522,527,532,537和542组成;

(f)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据组合的

Kabat和Chothia编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:335,363,391,419,447和475组成;

(g)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据Kabat编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:488,493,498,503,508和513组成;

(h)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据Chothia编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:518,523,528,533,538和543组成;

(i)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据组合的Kabat和Chothia编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:337,364,392,420,448和476组成;

(j)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据Kabat编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:489,494,499,504,509和514组成;

(k)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据Chothia编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:519,524,529,534,539和544组成;或

(l)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据组合的Kabat和Chothia编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:336,365,393,421,449和477组成。

41.根据权利要求40所述的分离的CAR多肽,其包含:

(i)SEQ ID NO:275,276,277或278的轻链可变区的氨基酸序列;

(ii)SEQ ID NO:275,276,277或278的轻链可变区的氨基酸序列的具有至少一个、两个或三个置换、但不多于10个置换的氨基酸序列;或

(iii)与SEQ ID NO:275,276,277或278的轻链可变区的氨基酸序列具有99%同一性的氨基酸序列。

42.根据权利要求40所述的分离的CAR多肽,其包含:

(i)SEQ ID NO:216,217,218或219的重链可变区的氨基酸序列;

(ii)SEQ ID NO:216,217,218或219的重链可变区的氨基酸序列的具有至少一个、两个或三个置换、但不多于10个置换的氨基酸序列;或

(iii)与SEQ ID NO:216,217,218或219的重链可变区的氨基酸序列具有99%同一性的氨基酸序列。

43.根据权利要求40所述的分离的CAR多肽,其包含

(a)(i)轻链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:276;

(ii)轻链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:276的具有至少一个、两个或三个置换、但不多于10个置换的氨基酸序列;或

(iii)与轻链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:276具有99%同一性的氨基酸序列;和

(b)(i)重链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:217;

(ii)重链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:217的具有至少一个、两个或三个置换、但不多于10个置换的氨基酸序列;或

(iii)与重链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:217具有99%同一性的氨基酸序列。

44.根据权利要求43所述的分离的CAR多肽,其包含轻链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:276。

45.根据权利要求43所述的分离的CAR多肽,其包含重链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:217。

46.根据权利要求40所述的分离的CAR多肽,其包含:

(a)(i)轻链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:275；

(ii)轻链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:275的具有至少一个、两个或三个置换、但不多于10个置换的氨基酸序列；或

(iii)与轻链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:275具有99％同一性的氨基酸序列；和

(b)(i)重链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:216；

(ii)重链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:216的具有至少一个、两个或三个置换、但不多于10个置换的氨基酸序列；或

(iii)与重链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:216具有99％同一性的氨基酸序列。

47.根据权利要求46所述的分离的CAR多肽，其包含轻链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:275。

48.根据权利要求46所述的分离的CAR多肽，其包含重链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:216。

49.根据权利要求40所述的分离的CAR多肽，其包含：

(a)(i)轻链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:277；

(ii)轻链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:277的具有至少一个、两个或三个置换、但不多于10个置换的氨基酸序列；或

(iii)与轻链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:277具有99％同一性的氨基酸序列；和

(b)(i)重链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:218；

(ii)重链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:218的具有至少一个、两个或三个置换、但不多于10个置换的氨基酸序列；或

(iii)与重链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:218具有99％同一性的氨基酸序列。

50.根据权利要求49所述的CAR多肽，其包含轻链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:277。

51.根据权利要求49所述的CAR多肽，其包含重链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:218。

52.根据权利要求40所述的CAR多肽，其包含：

(a)(i)轻链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:278；

(ii)轻链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:278的具有至少一个、两个或三个置换、但不多于10个置换的氨基酸序列；或

(iii)与轻链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:278具有99％同一性的氨基酸序列；和

(b)(i)重链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:219；

(ii)重链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:219的具有至少一个、两个或三个置换、但不多于10个置换的氨基酸序列；或

(iii)与重链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:219具有99％同一性的氨基酸序列。

53.根据权利要求52所述的CAR多肽，其包含轻链可变区氨基酸序列SEQ IDNO:278。

54.根据权利要求52所述的CAR多肽，其包含重链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:219。

55.根据权利要求40所述的分离的CAR多肽，其包含：

(i)SEQ ID NO:480、483、485或478的氨基酸序列；

(ii)对SEQ ID NO:480、483、485或478的具有至少一个、两个或三个置换、但不多于10个置换的氨基酸序列；或

(iii)与SEQ ID NO:480、483、485或478具有99％同一性的氨基酸序列。

56.根据权利要求40所述的分离的CAR多肽，其中跨膜结构域包含来自蛋白质的跨膜结构域，所述蛋白质选自T细胞受体的α、β或ζ链、CD28、CD3ε、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137和CD154。

57.根据权利要求40所述的分离的CAR多肽，其中：

(i)跨膜结构域由SEQ ID NO:6的氨基酸序列组成，

(ii)跨膜结构域由SEQ ID NO:6的氨基酸序列的至少一个、两个或三个置换、但不多于5个置换组成，或

(iii)跨膜结构域由与SEQ ID NO:6的氨基酸序列具有99％同一性的序列组成。

58.根据权利要求40所述的分离的CAR多肽，其中CD123结合结构域通过铰链区与跨膜结构域连接。

59.根据权利要求58所述的分离的CAR多肽，其中铰链区由SEQ ID NO:2或与其具有99％同一性的序列组成。

60.根据权利要求40所述的分离的CAR多肽，其中共刺激结构域是从选自以下的蛋白质获得的功能性信号结构域：MHC I类分子、TNF受体蛋白、免疫球蛋白样蛋白质、细胞因子受体、整联蛋白、也称为淋巴细胞活化信号分子的SLAM蛋白、活化NK细胞受体、BTLA、Toll配体受体、OX40、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CDS、ICAM-1、也称为LFA-1的CD11a/CD18、也称为4-1BB的CD137、B7-H3、CDS、ICAM-1、也称为ICOS的CD278、GITR、BAFFR、LIGHT、也称为HVEM的LIGHTR、KIRDS2、SLAMF7、也称为NKp80的KLRF1、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、也称为DNAM1的CD226、也称为SLAMF4的CD244、2B4、CD84、也称为CD96的Tactile、CEACAM1、CRTAM、也称为Ly9的CD229、也称为CD160的BY55、PSGL1、也称为CD100的SEMA4D、CD69、也称为SLAMF6的NTB-A、Ly108、也称为SLAM的SLAMF1、CD150、IPO-3、也称为BLAME的SLAMF8、也称为SELPLG的CD162、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a和与CD83特异性结合的配体。

61.根据权利要求40所述的分离的CAR多肽，其中共刺激结构域由SEQ ID NO:7的氨基酸序列、或SEQ ID NO:7的氨基酸序列的具有至少一个、两个或三个置换、但不多于5个置换的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:7的氨基酸序列具有99％同一性的序列组成。

62.根据权利要求40所述的分离的CAR多肽，其中胞内信号结构域包含4-1BB的功能性信号结构域和/或CD3ζ的功能性信号结构域。

63.根据权利要求40所述的分离的CAR多肽，其中胞内信号结构域由SEQ ID NO:7的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的氨基酸序列组成；具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的氨基酸序列的至少一个、两个或三个置换、但不多于5个置换的氨基酸序列或与SEQ ID NO:7的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的氨基酸序列具有99％同一性的氨基酸序列。

64.根据权利要求40所述的分离的CAR多肽，其中胞内信号结构域由SEQ ID NO:7的氨基酸序列和SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的氨基酸序列组成，其中包含胞内信号结构域的氨基酸序列在相同读框中并作为单条多肽链表达。

65.根据权利要求40所述的分离的CAR多肽，其还包含前导序列，所述前导序列由SEQ

ID NO:1的氨基酸序列组成。

66.根据权利要求40所述的分离的CAR多肽,其包含:

(i)任一SEQ ID NO:99、100、101或98的氨基酸序列;

(ii)对任一SEQ ID NO:99、100、101或98的具有至少一个、两个或三个置换、但不多于10个置换的氨基酸序列;或

(iii)与任一SEQ ID NO:99、100、101或98具有99%同一性的氨基酸序列。

67.根据权利要求40所述的分离的CAR多肽,其中

(i)CD123结合结构域由SEQ ID NO:160或485的氨基酸序列组成,CAR多肽包含由SEQ ID NO:2的氨基酸序列组成的铰链结构域,跨膜结构域由SEQ ID NO:6的氨基酸序列组成、胞内信号结构域包含由SEQ ID NO:7的氨基酸序列组成的共刺激结构域,且所述胞内信号结构域由SEQ ID NO:9的氨基酸序列组成;或

(ii)CAR多肽包含由SEQ ID NO:42的核苷酸序列编码的氨基酸序列。

68.根据权利要求1-38中任一项所述的核酸分子,其是DNA分子、RNA分子或它们的组合。

69.根据权利要求68所述的核酸分子,其是编码权利要求39-67中任一项所述的CAR多肽的mRNA。

70.载体,其包含权利要求1-38中任一项所述的核酸分子、或编码权利要求39-67中任一项所述的CAR多肽的核酸,其中所述载体是DNA载体或RNA载体。

71.根据权利要求70所述的载体,其选自腺病毒载体和逆转录病毒载体。

72.根据权利要求70所述的载体,其是慢病毒载体。

73.根据权利要求70-72中任一项所述的载体,其还包含EF-1启动子,所述EF-1启动子由SEQ ID NO:11的序列组成。

74.免疫效应细胞,其包含权利要求1-38或68-69中任一项所述的核酸分子、权利要求39-67中任一项所述的CAR多肽、或权利要求70-73中任一项所述的载体。

75.制造免疫效应细胞的方法,包括用权利要求1-38或68-69中任一项所述的核酸分子、或权利要求70-73中任一项所述的载体引入免疫效应细胞。

76.产生细胞群体的方法,包括将RNA引入细胞中,其中所述RNA包含权利要求1-38或68-69中任一项所述的核酸分子、或编码权利要求39-67中任一项所述的CAR多肽的核酸。

77.免疫效应细胞群体的用途,用于制备在哺乳动物中提供抗表达CD123的肿瘤免疫的药物,其中所述细胞包含权利要求1-38中任一项所述的核酸分子或权利要求39-67中任一项所述的CAR多肽。

78.根据权利要求77所述的用途,其中细胞是自体T细胞或同种异体T细胞。

79.免疫效应细胞群体的用途,用于制备在哺乳动物中治疗患有与表达CD123相关的疾病的药物,其中所述细胞包含权利要求1-38或68-69中任一项所述的核酸分子或权利要求39-67中任一项所述的CAR多肽。

80.根据权利要求79所述的用途,其中与表达CD123相关的疾病是:

(i)癌症或恶性肿瘤,

(ii)癌前期疾病,或

(ii)与表达CD123相关的非癌症相关适应征。

81.根据权利要求79所述的用途，其中疾病是血液癌症或前白血病。

82.根据权利要求79所述的用途，其中所述疾病选自以下一种或多种：缩写为AML的急性髓性白血病、缩写为ALL的急性淋巴母细胞性白血病、B细胞幼淋巴细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、缩写为CML的慢性髓性白血病、毛细胞白血病、霍奇金淋巴瘤、组织细胞疾病、肥大细胞疾病、脊髓发育不良、脊髓发育不良综合征、骨髓增生性肿瘤、浆细胞性骨髓瘤、浆细胞样树突细胞肿瘤或它们的组合。

83.根据权利要求79所述的用途，其中所述疾病选自：也称为急性淋巴母细胞性B细胞白血病的、缩写为BALL的B细胞急性淋巴细胞性白血病；也称为急性淋巴母细胞性T细胞白血病的、缩写为TALL的T细胞急性淋巴细胞性白血病。

84.根据权利要求77所述的用途，其中免疫效应细胞群体与以下一种或多种药剂组合施用：

(i)增加包含CAR核酸或CAR多肽的细胞的功效的药剂；

(ii)改善与施用包含CAR核酸或CAR多肽的细胞相关的一种或多种副作用的药剂；或

(iii)治疗与CD123表达相关的疾病的药剂。

85.根据权利要求84所述的用途，其中所述改善与施用包含CAR核酸或CAR多肽的细胞相关的一种或多种副作用的药剂是IL-6抑制剂。

86.根据权利要求84所述的用途，其中所述改善与施用包含CAR核酸或CAR多肽的细胞相关的一种或多种副作用的药剂是托珠单抗。

87.根据权利要求77所述的用途，其中所述免疫效应细胞群体包含编码权利要求39-67中任一项所述的CAR多肽的mRNA。

88.根据权利要求77所述的用途，其中所述免疫效应细胞群体包含慢病毒载体，所述慢病毒载体包含权利要求1-38中任一项所述的核酸分子或编码权利要求39-67中任一项所述的CAR多肽的核酸分子。

89.根据权利要求77所述的用途，其中所述免疫效应细胞群体与第二治疗剂或操作组合施用，所述第二治疗剂或操作选自化疗、靶向抗癌疗法、溶瘤药物、细胞毒性剂、细胞因子、外科操作、放射操作、共刺激分子的激动剂、免疫检查点分子的抑制剂、疫苗或基于第二CAR的免疫疗法中的一种或多种。

90.根据权利要求77所述的用途，其中所述免疫效应细胞群体与共刺激分子的激动剂组合施用，所述共刺激分子的激动剂选自OX40、CD2、CD27、CDS、ICAM-1、也称为LFA-1的CD11a/CD18、也称为ICOS的CD278、也称为4-1BB的CD137、GITR、CD30、CD40、BAFFR、HVEM、CD7、LIGHT、NKG2C、SLAMF7、NKp80、CD160、B7-H3或CD83配体中的一种或多种。

91.根据权利要求77所述的用途，其中所述免疫效应细胞群体与免疫检查点分子的抑制剂组合施用，所述免疫检查点分子的抑制剂选自PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM-1、CEACAM-3、CEACAM-5、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、也称为B7-H3的CD276、也称为B7-H4的VTCN1、也称为HVEM的TNFRSF14或CD270、KIR、A2aR、MHC I类、MHC II类、GAL9、或腺苷中的一种或多种。

92.根据权利要求89所述的用途，其中所述免疫效应细胞群体与PD-1抑制剂、TIM-3抑制剂、CEACAM-1抑制剂或它们的组合进行组合施用。

93.根据权利要求92所述的用途，其中PD-1抑制剂和TIM-3抑制剂组合施用。

94.根据权利要求92所述的用途，其中TIM-3抑制剂和CEACAM-1抑制剂组合施用。

95.根据权利要求89-94中任一项所述的用途，其中激动剂或抑制剂是抗体分子。

96.根据权利要求95所述的用途，其中所述抗体分子是单特异性抗体分子或双特异性抗体分子。

97.根据权利要求77所述的用途，其中免疫效应细胞群体与CD19抑制剂组合施用。

98.根据权利要求97所述的用途，其中CD19抑制剂是表达CD19 CAR的细胞或抗CD19抗体分子。

99.根据权利要求79所述的用途，其中疾病是CD19阴性癌症，或者CD19阴性复发性癌症。

100.免疫效应细胞群体的用途，用于制备预防哺乳动物的CD19阴性疾病复发的药物，所述细胞包含权利要求1-38或68-69中任一项所述的核酸，或权利要求39-67中任一项所述的多肽。

101.根据权利要求100所述的用途，还包括施用CD19抑制剂。

102.根据权利要求101所述的用途，其中所述CD19抑制剂是表达CD19 CAR的细胞。

103.根据权利要求79所述的用途，其中疾病是白血病。

104.根据权利要求79所述的用途，其中疾病是急性淋巴母细胞性白血病、复发和难治性ALL或AML。

105.根据权利要求77所述的用途，其中免疫效应细胞群体表达CD19 CAR和CD123 CAR。

106.根据权利要求105所述的用途，其中CD19 CAR或CD123 CAR包含分开的胞内信号结构域，从而使得当CD19 CAR和CD123 CAR二者均结合靶细胞时，与CD19 CAR和CD123 CAR结合表达CD19或CD123之一的靶细胞时的活化相比，发生疫效应细胞群体的完全活化。

107.根据权利要求106所述的用途，其中所述靶细胞是靶CD19+CD123+细胞。

108.根据权利要求106所述的用途，其中所述靶细胞是B-ALL母细胞。

109.根据权利要求106所述的用途，其中CD123CAR包含共刺激结构域，并且CD19 CAR包含初级信号结构域。

110.根据权利要求109所述的用途，其中所述共刺激结构域是4-1BB信号结构域。

111.根据权利要求109所述的用途，其中所述初级信号结构域是CD3ζ信号结构域。

112.根据权利要求77所述的用途，还包括用，免疫效应细胞群体处理之后施用T细胞消耗剂，从而减少表达CD123CAR的细胞。

113.T细胞消耗剂的用途，用于制备在CAR疗法后减少表达CD123CAR的细胞的药物，其中在用免疫效应细胞群体处理哺乳动物之后，向哺乳动物施用所述T细胞消耗剂，其中所述细胞包含权利要求1-38或68-69中任一项所述的核酸分子或权利要求39-67中任一项所述的CAR多肽，从而减少表达CD123CAR的细胞。

114.根据权利要求112或113所述的用途，其中所述哺乳动物患有白血病。

115.根据权利要求114所述的用途，其中白血病是ALL或AML。

116.根据权利要求112或113所述的用途，其中T细胞消耗剂是CD52抑制剂。

117.根据权利要求116所述的用途，其中CD52抑制剂是抗CD52抗体分子。

118.根据权利要求117所述的用途，其中所述抗CD52抗体分子是阿仑单抗。

119.根据权利要求112或113所述的用途，其中免疫效应细胞群体表达CD123CAR多肽和

由T细胞消耗剂识别的靶蛋白。

120.根据权利要求119所述的用途,其中所述靶蛋白是CD20。

121.权利要求120所述的用途,其中T细胞消耗剂是抗CD20抗体。

122.权利要求121所述的用途,其中所述抗CD20抗体是利妥昔单抗。

123.根据权利要求119所述的用途,其中免疫效应细胞群体包含核酸,所述核酸包含CD123CAR核酸和编码靶蛋白的核酸。

124.根据权利要求1-38或68-69中任一项所述的分离的核酸分子,根据权利要求39-67中任一项所述的多肽,根据权利要求70-73中任一项所述的载体或根据权利要求74所述的细胞,其用作药物。

125.根据权利要求1-38或68-69中任一项所述的分离的核酸分子,根据权利要求39-67中任一项所述的多肽,根据权利要求70-73中任一项所述的载体或根据权利要求74所述的细胞,其用于制备治疗与CD123表达相关的疾病的药物。

126.根据权利要求1-38或68-69中任一项所述的分离的核酸分子,根据权利要求39-67中任一项所述的多肽,根据权利要求70-73中任一项所述的载体或根据权利要求74所述的细胞,其用于制备治疗癌症的药物。

127.根据权利要求125所述的分离的核酸分子、多肽、载体或细胞,其用于制备治疗与CD123表达相关的疾病的药物,其中所述疾病选自AML、ALL、B细胞幼淋巴细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、CML、毛细胞白血病、霍奇金淋巴瘤、肥大细胞疾病、脊髓发育不良综合征、骨髓增生性肿瘤、浆细胞性骨髓瘤、浆细胞样树突细胞肿瘤或它们的组合。

128.根据权利要求125所述的分离的核酸分子、多肽、载体或细胞,其用于制备治疗与CD123表达相关的疾病的药物,其中所述疾病选自B-ALL、T-ALL。

129.根据权利要求74所述的免疫效应细胞群体,其还表达嵌合分子,所述嵌合分子包含了包含抑制性分子的至少一部分的第一多肽,所述第一多肽与包含来自胞内信号结构域的正向信号的第二多肽缔合。

130.根据权利要求129所述的细胞,其中嵌合分子包含第一多肽和第二多肽,所述第一多肽包含PD1的至少一部分,所述第二多肽包含共刺激结构域和初级信号结构域。

131.根据权利要求84所述的用途,其中药剂是mTOR抑制剂并且向受试者施用免疫增强性的低剂量mTOR抑制剂。

132.根据权利要求131所述的用途,其中所述mTOR抑制剂是RAD001或雷帕霉素。

133.包含权利要求1-38或68-69中任一项所述的CAR核酸分子或权利要求39-67中任一项所述的多肽的细胞的用途,用于制备在细胞移植之前整备受试者的药物。

134.根据权利要求133所述的用途,其中细胞移植是造血干细胞移植或是骨髓移植。

135.根据权利要求77所述的用途,其中所述哺乳动物是人。

136.抗CD123的结合结构域,其是scFv,包含重链可变结构域序列和轻链可变结构域序列,所述重链可变结构域序列包含重链互补决定区1(HC CDR1)、重链互补决定区2(HC CDR2)、重链互补决定区3(HC CDR3),所述轻链可变结构域序列包含轻链互补决定区1(LC CDR1)、轻链互补决定区2(LC CDR2)、轻链互补决定区3(LC CDR3),其中

(a)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据Kabat编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:486,491,496,501,506和511组成;

(b)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据Chothia编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:516,521,526,531,536和541组成;

(c)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据组合的Kabat和Chothia编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:334,362,390,418,446和474组成;

(d)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据Kabat编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:487,492,497,502,507和512组成;

(e)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据Chothia编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:517,522,527,532,537和542组成;

(f)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据组合的Kabat和Chothia编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:335,363,391,419,447和475组成;

(g)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据Kabat编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:488,493,498,503,508和513组成;

(h)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据Chothia编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:518,523,528,533,538和543组成;

(i)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据组合的Kabat和Chothia编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:337,364,392,420,448和476组成;

(j)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据Kabat编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:489,494,499,504,509和514组成;

(k)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据Chothia编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:519,524,529,534,539和544组成;或

(l)所述HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2和LC CDR3序列根据组合的Kabat和Chothia编号方案分别由氨基酸序列SEQ ID NO:336,365,393,421,449和477组成。

137.根据权利要求136所述的抗CD123的结合结构域,其中

(i)CD123结合结构域由SEQ ID NO:160或485的氨基酸序列组成,CAR多肽包含由SEQ ID NO:2的氨基酸序列组成的铰链结构域,跨膜结构域由SEQ ID NO:6的氨基酸序列组成、胞内信号结构域包含由SEQ ID NO:7的氨基酸序列组成的共刺激结构域,且所述胞内信号结构域由SEQ ID NO:9的氨基酸序列组成;或

(ii)CAR多肽包含由SEQ ID NO:42的核苷酸序列编码的氨基酸序列。

138.产生体外转录的权利要求35的编码CD123 CAR的RNA的方法,包括对编码CD123 CAR的DNA序列体外转录。

139.根据权利要求138所述的方法,其中对编码CD123 CAR的DNA序列体外转录,获得的RNA包含5'帽和在100个和5000个腺苷之间的聚腺苷酸尾。

抗CD123嵌合抗原受体(CAR)用于癌症治疗

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求2014年8月19日的PCT申请号PCT/CN2014/084696和2014年11月6日的PCT申请号PCT/CN2014/090508的优先权。这些申请的每个申请的完整内容通过引用的方式并入本文。

[0003] 序列表

[0004] 本申请含有已经通过电子方式以ASCII格式提交并因而通过引用的方式完整并入的序列表。2015年8月18日创建的所述ASCII副本命名为N2067-7064WO5_SL.txt并且大小为625,588比特。

发明领域

[0005] 本发明总体上涉及经工程化以表达嵌合抗原受体(CAR)的免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)的用途,用于治疗与表达分化抗原簇123蛋白(CD123)相关的疾病。

[0006] 发明背景

[0007] 大多数急性髓性白血病(AML)患者使用标准疗法是不可治愈的(Mrozek等人,2012,J Clin Oncol,30:4515-23)并且那些复发性或难治性AML(RR-AML)患者具有特别不良的预后(Kern等人,2003,Blood 2003,101:64-70;Wheatley等人,1999,Br J Haematol,107:69-79)。

[0008] 遗传工程可以向T细胞赋予针对选择目标的特异性。T细胞可以用编码抗体单链可变片段(scFv)连同信号传导分子的遗传物质转导,因而利用互补决定区(CDR)以非MHC限制方式识别细胞表面抗原。这些细胞称作嵌合抗原受体(CAR)T细胞。靶向多种恶性肿瘤中至少20种不同表面分子的临床前尝试和临床尝试已经显示某种活性,然而这些尝试经常受输注的CAR T细胞产物的持久性低劣限制(Sadelain等人,2009,Curr Opin Immunol 2009,21:215-23)。在晚期CLL和ALL患者中采用抗CD19重定向的T细胞时取得的最近的成功(Porter等人,2011,N Engl J Med,365:725-33;Kalos等人,2011,Science Transl Med,3:95ra73;Grupp和Kalos,2013,N Engl J Med,368:1509-18)显示,这些细胞可以在单次输注后根除巨大肿瘤负荷,缓解作用迄今持续长达3年,从而强调了CAR T细胞疗法的巨大潜力。已经存在动物模型中靶向AML的少数临床前尝试(Marin等人,2010,Haematologica,95:2144-52;Tettamanti等人,2013,Br J Haematol,161:389-401)。尽管一项最近公开的小型临床试验显示,产生T细胞并将其输注至侵袭性恶性肿瘤患者是可行的(Ritchie等人,2013,Mol Ther,21:2122-9)。除基因修饰的T细胞上的嵌合抗原受体识别和摧毁靶向细胞的能力外,成功的治疗性T细胞疗法需要具有增殖和随时间推移持续存在的能力和进一步监测复发的能力。由于失能、抑制或衰竭,T细胞的效率可以是可变的,然而熟练执业者此时对这些性质仅具备有限的控制措施。为了有效,CAR转化的患者T细胞需要持续存在并维持响应于抗原而增殖的能力。已经显示ALL患者的T细胞表现可以用包含鼠scFv的CART19做到这一点(参见,例如,Grupp等人,NEJM 368:1509-1518(2013)。

[0009] 发明概述

[0010] 在第一方面，本发明表征了一种编码嵌合抗原受体(CAR)的分离核酸分子，其中CAR包含CD123结合结构域(例如，人或人源化CD123结合结构域)、跨膜结构域和胞内信号结构域(例如，包含共刺激结构域和/或初级信号结构域的胞内信号结构域)。在一个实施方案中，CAR包含本文所述的CD123结合结构域(例如，本文所述的人或人源化CD123结合结构域)、本文所述的跨膜结构域和本文所述的胞内信号结构域(例如，包含共刺激结构域和/或初级信号结构域的胞内信号结构域)。

[0011] 在一个实施方案中，编码的CD123结合结构域包含本文所述的CD123结合结构域的一个或多个(例如，全部三个)轻链互补决定区1(LC CDR1)、轻链互补决定区2(LC CDR2)和轻链互补决定区3(LC CDR3)、和/或本文所述的CD123结合结构域的一个或多个(例如，全部三个)重链互补决定区1(HC CDR1)、重链互补决定区2(HC CDR2)和重链互补决定区3(HC CDR3)，例如，包含一个或多个(例如，全部三个)LC CDR和一个或多个(例如，全部三个)HC CDR的CD123结合结构域。在一个实施方案中，编码的CD123结合结构域(例如，人或人源化CD123结合结构域)包含本文(例如，表2、6或表9中)所述的轻链可变区和/或本文(例如，表2、6或表9中)所述的重链可变区。在一个实施方案中，编码的CD123结合结构域是包含表2、6或表9的氨基酸序列的轻链和重链的scFv。在一个实施方案中，编码的CD123结合结构域(例如，scFv)包含轻链可变区，所述轻链可变区包含下述氨基酸序列，所述氨基酸序列具有至少一个、两个或三个在表2、6或表9中提供的轻链可变区的氨基酸序列的修饰(例如置换，例如，保守性置换)，但不多于30、20或10个修饰(例如置换，例如，保守性置换)，或包含与表2、6或表9的氨基酸序列具有95-99％同一性的序列；和/或重链可变区，所述重链可变区包含下述氨基酸序列，所述氨基酸序列具有至少一个、两个或三个在表2、6或表9中提供的重链可变区的氨基酸序列的修饰(例如置换，例如，保守性置换)，但不多于30、20或10个修饰(例如置换，例如，保守性置换)，或包含与表2、6或表9的氨基酸序列具有95-99％同一性的序列。

[0012] 在其他实施方案中，编码的CD123结合结构域包含表2、6或表9中列出的任何CD123重链结合结构域氨基酸序列的HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3。在实施方案中，CD123结合结构域还包含LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3。在实施方案中，CD123结合结构域包含表2、6或表9中列出的任何CD123轻链结合结构域氨基酸序列的LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3。

[0013] 在一些实施方案中，编码的CD123结合结构域包含表2或表9中列出的任何CD123轻链结合结构域氨基酸序列的LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3中的一者、两者或全部以及表2、6或表9中列出的任何CD123重链结合结构域氨基酸序列的HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3中的一者、两者或全部。

[0014] 在一个实施方案中，编码的CD123结合结构域包含选自SEQ ID NO:157-160、184-215、478、480、483和485的氨基酸序列。在一个实施方案中，编码的CD123结合结构域(例如，scFv)包含了具有SEQ ID NO:157-160、184-215、478、480、483和485的氨基酸序列的至少一个、两个或三个修饰(例如置换，例如，保守性置换)、但不多于30、20或10个修饰(例如置换，例如，保守性置换)的氨基酸序列或与SEQ ID NO:157-160、184-215、478、480、483和485的氨基酸序列具有95-99％同一性的序列。

[0015] 在另一个实施方案中，编码的CD123结合结构域包含重链可变区，所述重链可变区包含选自SEQ ID NO:216-219或243-274的氨基酸序列或SEQ ID NO:216-219或243-274的

具有至少一个、两个或三个修饰(例如置换,例如保守性置换)但不超过30、20或10个修饰(例如置换,例如保守性置换)的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:216-219或243-274具有95-99%同一性的序列。在另一个实施方案中,编码的CD123结合结构域包含重链可变区,所述重链可变区包含对应于SEQ ID NO:478、480、483或485的重链可变区的氨基酸序列、或SEQ ID NO:478、480、483或485的对应部分具有至少一个、两个或三个修饰(例如置换,例如保守性置换)但不超过30、20或10个修饰(例如置换,例如保守性置换)的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:478、480、483或485的对应部分具有95-99%同一性的序列。

[0016] 在另一个实施方案中,编码的CD123结合结构域包含轻链可变区,所述轻链可变区包含选自SEQ ID NO:275-278或302-333的氨基酸序列或SEQ ID NO:275-278或302-333的具有至少一个、两个或三个修饰(例如置换,例如保守性置换)但不超过30、20或10个修饰(例如置换,例如保守性置换)的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:275-278或302-333具有95-99%同一性的序列。在另一个实施方案中,编码的CD123结合结构域包含轻链可变区,所述轻链可变区包含对应于SEQ ID NO:478、480、483或485的轻链可变区的氨基酸序列、或SEQ ID NO:478、480、483或485的对应部分具有至少一个、两个或三个修饰(例如置换,例如保守性置换)但不超过30、20或10个修饰(例如置换,例如保守性置换)的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:478、480、483或485的对应部分具有95-99%同一性的序列。

[0017] 在一个实施方案中,编码scFv的核酸分子包含选自SEQ ID NO:479、481、482、484的核苷酸序列或与其具有95-99%同一性的序列。在一个实施方案中,核酸分子包含编码重链可变区和/或轻链可变区的核苷酸序列,其中所述核苷酸序列包含选自SEQ ID NO:479、481、482和484的核苷酸序列的部分、或与其具有95-99%同一性的序列,它们对应于重链可变区和/或轻链可变区。在一个实施方案中,核酸分子包含编码重链可变区和/或轻链可变区的核苷酸序列,其中编码的氨基酸序列选自SEQ ID NO:157-160、或与其具有95-99%同一性的序列。在一个实施方案中,核酸分子编码scFv,其包含选自SEQ ID NO:184-215的氨基酸序列、或与其具有95-99%同一性的序列。在一个实施方案中,核酸分子包含编码重链可变区和/或轻链可变区的序列,其中编码的氨基酸序列选自SEQ ID NO:184-215或与其具有95-99%同一性的序列。

[0018] 在一个实施方案中,编码的CD123结合结构域包含(Gly4-Ser)n接头,其中n是1、2、3、4、5或6、优选地3或4(SEQ ID NO:26)。scFv的轻链可变区和重链可变区可以例如处于以下任何取向:轻链可变区-接头-重链可变区或重链可变区-接头-轻链可变区。

[0019] 在一个实施方案中,编码的CAR包含跨膜结构域,所述跨膜结构域包含蛋白质(例如,本文所述的蛋白质,例如选自T细胞受体的α、β或ζ链、CD28、CD3ε、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137和CD154的蛋白质)的跨膜结构域。在一个实施方案中,编码的跨膜结构域包含SEQ ID NO:6的序列。在一个实施方案中,编码的跨膜结构域包含了包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的至少一个、两个或三个修饰、但不多于20、10或5个修饰的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:6的氨基酸序列具有95-99%同一性的序列。在一个实施方案中,编码跨膜结构域的核酸序列包含SEQ ID NO:17的核苷酸序列或与其具有95-99%同一性的序列。

[0020] 在一个实施方案中,编码的CD123结合结构域通过铰链区(例如,本文所述的铰链区)与跨膜结构域连接。在一个实施方案中,编码的铰链区包含SEQ ID NO:2或与其具有95-

99％同一性的序列。在一个实施方案中，编码铰链区的核酸序列包含SEQ ID NO:13的核苷酸序列或与其具有95-99％同一性的序列。

[0021] 在一个实施方案中，分离的核酸分子还包含了编码共刺激结构域(例如，本文所述的共刺激结构域)的序列。在实施方案中，胞内信号结构域包含共刺激结构域。在实施方案中，胞内信号结构域包含初级信号结构域。在实施方案中，胞内信号结构域包含共刺激结构域和初级信号结构域。

[0022] 在一个实施方案中，编码的共刺激结构域是来自例如本文所述的蛋白质，例如选自以下的蛋白质的功能性信号结构域：MHC I类分子、TNF受体蛋白、免疫球蛋白样蛋白质、细胞因子受体、整联蛋白、淋巴细胞活化信号分子(SLAM蛋白)、活化NK细胞受体、BTLA、Toll配体受体、OX40、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CDS、ICAM-1、LFA-1(CD11a/CD18)、4-1BB(CD137)、B7-H3、CDS、ICAM-1、ICOS(CD278)、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM(LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、CD69、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a和与CD83特异性结合的配体。

[0023] 在一个实施方案中，编码的4-1BB共刺激结构域包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列。在一个实施方案中，编码的共刺激结构域包含了具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的至少一个、两个或三个修饰、但不多于20、10或5个修饰的氨基酸序列或与SEQ ID NO:7的氨基酸序列具有95-99％同一性的序列。在一个实施方案中，编码共刺激结构域的核酸序列包含SEQ ID NO:18的核苷酸序列或与其具有95-99％同一性的序列。在另一个实施方案中，编码的CD28共刺激结构域包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列。在一个实施方案中，编码的共刺激结构域包含了具有SEQ ID NO:43的氨基酸序列的至少一个、两个或三个修饰、但不多于20、10或5个修饰的氨基酸序列或与SEQ ID NO:43的氨基酸序列具有95-99％同一性的序列。在一个实施方案中，编码CD28共刺激结构域的核酸序列包含SEQ ID NO:44的核苷酸序列或与其具有95-99％同一性的序列。在另一个实施方案中，编码的CD27共刺激结构域包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。在一个实施方案中，编码的共刺激结构域包含了具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的至少一个、两个或三个修饰、但不多于20、10或5个修饰的氨基酸序列或与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有95-99％同一性的序列。在一个实施方案中，编码CD27共刺激结构域的核酸序列包含SEQ ID NO:19的核苷酸序列或与其具有95-99％同一性的序列。在另一个实施方案中，编码的ICOS共刺激结构域包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列。在一个实施方案中，编码的ICOS共刺激结构域包含了具有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的至少一个、两个或三个修饰、但不多于20、10或5个修饰的氨基酸序列或与SEQ ID NO:45的氨基酸序列具有95-99％同一性的序列。在一个实施方案中，编码ICOS共刺激结构域的核酸序列包含SEQ ID NO:46的核苷酸序列或与其具有95-99％同一性的序列。

[0024] 在一个实施方案中，分离的核酸分子进一步包含编码胞内信号结构域的序列，例如编码如文中所述的胞内信号结构域。

[0025] 在一些实施方案中，编码的初级信号结构域包含CD3ζ的功能性信号结构域。在实施方案中，CD3ζ的功能性信号结构域包含SEQ ID NO:9(突变体CD3ζ)或SEQ ID NO:10(野生型人CD3ζ)的氨基酸序列或与其具有95-99％同一性的序列。

[0026] 在一个实施方案中，编码的胞内信号结构域包含4-1BB的功能性信号结构域和/或CD3ζ的功能性信号结构域。在一个实施方案中，编码的4-1BB胞内信号结构域包含SEQ ID NO:7的序列和/或SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的CD3ζ氨基酸序列。在一个实施方案中，胞内信号结构域包含了具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的氨基酸序列至少一个、两个或三个修饰、但不多于20、10或5个修饰的氨基酸序列或与SEQ ID NO:7的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的氨基酸序列具有95-99％同一性的序列。在一个实施方案中，编码的胞内信号结构域包含SEQ ID NO:7的序列和SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的序列，其中包含胞内信号结构域的序列在相同读框中并作为单条多肽链表达。在一个实施方案中，编码胞内信号结构域的核酸序列包含SEQ ID NO:18的核苷酸序列或与其具有95-99％同一性的序列、和/或SEQ ID NO:20或SEQ ID NO:21的CD3ζ核苷酸序列或与其具有95-99％同一性的序列。

[0027] 在一个实施方案中，编码的胞内信号结构域包含CD27的功能性信号结构域和/或CD3ζ的功能性信号结构域。在一个实施方案中，编码的CD27胞内信号结构域包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的CD3ζ氨基酸序列。在一个实施方案中，胞内信号结构域包含了具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的氨基酸序列至少一个、两个或三个修饰、但不多于20、10或5个修饰的氨基酸序列或与SEQ ID NO:8的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的氨基酸序列具有95-99％同一性的序列。在一个实施方案中，编码的胞内信号结构域包含SEQ ID NO:8的序列和SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的序列，其中包含胞内信号结构域的序列在相同读框中并作为单条多肽链表达。在一个实施方案中，编码CD27胞内信号结构域的核酸序列包含SEQ ID NO:19的核苷酸序列或与其具有95-99％同一性的序列、和/或SEQ ID NO:20或SEQ ID NO:21的CD3ζ核苷酸序列或与其具有95-99％同一性的序列。

[0028] 在一个实施方案中，编码的胞内信号结构域包含CD28的功能性信号结构域和/或CD3ζ的功能性信号结构域。在一个实施方案中，编码的CD28胞内信号结构域包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的CD3ζ氨基酸序列。在一个实施方案中，胞内信号结构域包含了具有SEQ ID NO:43的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的氨基酸序列至少一个、两个或三个修饰、但不多于20、10或5个修饰的氨基酸序列或与SEQ ID NO:43的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的氨基酸序列具有95-99％同一性的序列。在一个实施方案中，编码的胞内信号结构域包含SEQ ID NO:43的序列和SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的序列，其中包含胞内信号结构域的序列在相同读框中并作为单条多肽链表达。在一个实施方案中，编码CD28胞内信号结构域的核酸序列包含SEQ ID NO:44的核苷酸序列或与其具有95-99％同一性的序列、和/或SEQ ID NO:20或SEQ ID NO:21的CD3ζ核苷酸序列或与其具有95-99％同一性的序列。

[0029] 在一个实施方案中，编码的胞内信号结构域包含ICOS的功能性信号结构域和/或CD3ζ的功能性信号结构域。在一个实施方案中，编码的ICOS胞内信号结构域包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的CD3ζ氨基酸序列。在一个实施方

案中,胞内信号结构域包含了具有SEQ ID NO:45的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的氨基酸序列至少一个、两个或三个修饰、但不多于20、10或5个修饰的氨基酸序列或与SEQ ID NO:45的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的氨基酸序列具有95-99%同一性的序列。在一个实施方案中,编码的胞内信号结构域包含SEQ ID NO:45的序列和SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的序列,其中包含胞内信号结构域的序列在相同读框中并作为单条多肽链表达。在一个实施方案中,编码ICOS胞内信号结构域的核酸序列包含SEQ ID NO:46的核苷酸序列或与其具有95-99%同一性的序列、和/或SEQ ID NO:20或SEQ ID NO:21的CD3ζ核苷酸序列或与其具有95-99%同一性的序列。

[0030] 在另一个方面,本发明涉及编码CAR构建体的分离核酸分子,所述CAR构建体包含前导序列,例如,本文所述的前导序列,例如,SEQ ID NO:1的氨基酸序列;本文所述的CD123结合结构域,例如,包含本文所述的LC CDR1、LC CDR2、LC CDR3、HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3的CD123结合结构域,例如,表2、6或表9中描述的人或人源化CD123结合结构域),或与其具有95-99%同一性的序列;本文所述的铰链区,例如,包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的铰链区;本文所述的跨膜结构域,例如,包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的跨膜结构域;和胞内信号结构域,例如,本文所述的胞内信号结构域。在一个实施方案中,编码的胞内信号结构域包含共刺激结构域,例如,本文所述的共刺激结构域(例如,包含SEQ ID NO.:7的氨基酸序列的4-1BB共刺激结构域或包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CD27共刺激结构域),和/或初级信号结构域,例如,本文所述的初级信号结构域,(例如,包含SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的序列的CD3ζ刺激结构域)。在一个实施方案中,编码CAR构建体的分离核酸分子包括由SEQ ID NO:12的核酸序列编码的前导序列或与其具有95-99%同一性的序列。

[0031] 在一个实施方案中,分离的核酸分子包含这样的核酸(例如,由其组成),所述核酸编码SEQ ID NO:98,SEQ ID NO:99,SEQ ID NO:100,SEQ ID NO:101,SEQ ID NO:125,SEQ ID NO:126,SEQ ID NO:127,SEQ ID NO:128,SEQ ID NO:129,SEQ ID NO:130,SEQ ID NO:131,SEQ ID NO:132,SEQ ID NO:133,SEQ ID NO:134,SEQ ID NO:135,SEQ ID NO:136,SEQ ID NO:137,SEQ ID NO:138,SEQ ID NO:139,SEQ ID NO:140,SEQ ID NO:141,SEQ ID NO:142,SEQ ID NO:143,SEQ ID NO:144,SEQ ID NO:145,SEQ ID NO:146,SEQ ID NO:147,SEQ ID NO:148,SEQ ID NO:149,SEQ ID NO:150,SEQ ID NO:151,SEQ ID NO:152,SEQ ID NO:153,SEQ ID NO:154,SEQ ID NO:155或SEQ ID NO:156的CAR氨基酸序列;或具有SEQ ID NO:98,SEQ ID NO:99,SEQ ID NO:100,SEQ ID NO:101,SEQ ID NO:125,SEQ ID NO:126,SEQ ID NO:127,SEQ ID NO:128,SEQ ID NO:129,SEQ ID NO:130,SEQ ID NO:131,SEQ ID NO:132,SEQ ID NO:133,SEQ ID NO:134,SEQ ID NO:135,SEQ ID NO:136,SEQ ID NO:137,SEQ ID NO:138,SEQ ID NO:139,SEQ ID NO:140,SEQ ID NO:141,SEQ ID NO:142,SEQ ID NO:143,SEQ ID NO:144,SEQ ID NO:145,SEQ ID NO:146,SEQ ID NO:147,SEQ ID NO:148,SEQ ID NO:149,SEQ ID NO:150,SEQ ID NO:151,SEQ ID NO:152,SEQ ID NO:153,SEQ ID NO:154,SEQ ID NO:155或SEQ ID NO:156的一个、两个或三个修饰(例如置换,例如,保守性置换)、但不多于30、20或10个修饰(例如置换,例如,保守性置换)的氨基酸;或与SEQ ID NO:98,SEQ ID NO:99,SEQ ID NO:100,SEQ ID NO:101,SEQ ID NO:125,SEQ ID NO:126,SEQ ID NO:127,SEQ ID NO:128,SEQ ID NO:129,SEQ ID NO:130,SEQ ID NO:131,SEQ ID NO:132,SEQ ID NO:133,SEQ ID NO:134,SEQ ID NO:135,SEQ ID NO:136,SEQ ID NO:137,

SEQ ID NO:138,SEQ ID NO:139,SEQ ID NO:140,SEQ ID NO:141,SEQ ID NO:142,SEQ ID NO:143,SEQ ID NO:144,SEQ ID NO:145,SEQ ID NO:146,SEQ ID NO:147,SEQ ID NO:148,SEQ ID NO:149,SEQ ID NO:150,SEQ ID NO:151,SEQ ID NO:152,SEQ ID NO:153,SEQ ID NO:154,SEQ ID NO:155或SEQ ID NO:156的氨基酸序列具有85％、90％、95％、96％、97％、98％或99％同一性的氨基酸序列。

[0032] 在一个实施方案中,分离的核酸分子包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:39,SEQ ID NO:40,SEQ ID NO:41,SEQ ID NO:42,SEQ ID NO:66,SEQ ID NO:67,SEQ ID NO:68,SEQ ID NO:69,SEQ ID NO:70,SEQ ID NO:71,SEQ ID NO:72,SEQ ID NO:73,SEQ ID NO:74,SEQ ID NO:75,SEQ ID NO:76,SEQ ID NO:77,SEQ ID NO:78,SEQ ID NO:79,SEQ ID NO:80,SEQ ID NO:81,SEQ ID NO:82,SEQ ID NO:83,SEQ ID NO:84,SEQ ID NO:85,SEQ ID NO:86,SEQ ID NO:87,SEQ ID NO:88,SEQ ID NO:89,SEQ ID NO:90,SEQ ID NO:91,SEQ ID NO:92,SEQ ID NO:93,SEQ ID NO:94,SEQ ID NO:95,SEQ ID NO:96或SEQ ID NO:97的核酸序列或与SEQ ID NO:39,SEQ ID NO:40,SEQ ID NO:41,SEQ ID NO:42,SEQ ID NO:66,SEQ ID NO:67,SEQ ID NO:68,SEQ ID NO:69,SEQ ID NO:70,SEQ ID NO:71,SEQ ID NO:72,SEQ ID NO:73,SEQ ID NO:74,SEQ ID NO:75,SEQ ID NO:76,SEQ ID NO:77,SEQ ID NO:78,SEQ ID NO:79,SEQ ID NO:80,SEQ ID NO:81,SEQ ID NO:82,SEQ ID NO:83,SEQ ID NO:84,SEQ ID NO:85,SEQ ID NO:86,SEQ ID NO:87,SEQ ID NO:88,SEQ ID NO:89,SEQ ID NO:90,SEQ ID NO:91,SEQ ID NO:92,SEQ ID NO:93,SEQ ID NO:94,SEQ ID NO:95,SEQ ID NO:96或SEQ ID NO:97的核酸序列具有85％、90％、95％、96％、97％、98％或99％同一性的核酸序列。

[0033] 在一个方面,本发明涉及编码CD123结合结构域的分离核酸分子,其中CD123结合结构域包含本文所述的CD123结合结构域的一个或多个(例如,全部三个)轻链互补决定区1(LC CDR1)、轻链互补决定区2(LC CDR2)和轻链互补决定区3(LC CDR3)、和/或本文所述的CD123结合结构域的一个或多个(例如,全部三个)重链互补决定区1(HC CDR1)、重链互补决定区2(HC CDR2)和重链互补决定区3(HC CDR3),例如,包含一个或多个(例如,全部三个)LC CDR和一个或多个(例如,全部三个)HC CDR的人或人源化CD123结合结构域。

[0034] 在其他实施方案中,编码的CD123结合结构域包含表2、6或表9中列出的任何CD123重链结合结构域氨基酸序列的HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3。在实施方案中,CD123结合结构域还包含LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3。在实施方案中,CD123结合结构域包含表2、6或表9中列出的任何CD123轻链结合结构域氨基酸序列的LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3。

[0035] 在一些实施方案中,编码的CD123结合结构域包含了表2、6或表9中列出的任何CD123轻链结合结构域氨基酸序列的LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3中的一者、两者或全部以及表2、6或表9中列出的任何CD123重链结合结构域氨基酸序列的HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3中的一者、两者或全部。

[0036] 在一个实施方案中,编码的CD123结合结构域包含本文(例如,SEQ ID NO:275-278或302-333中)所述的轻链可变区和/或本文(例如,SEQ ID NO:216-219或243-274中)所述的重链可变区。在一个实施方案中,编码的CD123结合结构域是包含SEQ ID NO:157-160、184-215、478、480、483或485的氨基酸序列的轻链和重链的scFv。在一个实施方案中,CD123结合结构域(例如,scFv)包含:轻链可变区,所述轻链可变区包含下述氨基酸序列,所述氨基酸序列具有至少一个、两个或三个在SEQ ID NO:275-278或302-333中提供的轻链可变区

的氨基酸序列的修饰(例如置换,例如,保守性置换),但不多于30、20或10个修饰(例如置换),或包含与SEQ ID NO:275-278或302-333的氨基酸序列具有95-99%同一性的序列;和/或重链可变区,所述重链可变区包含下述氨基酸序列,所述氨基酸序列具有至少一个、两个或三个在SEQ ID NO:216-219或243-274中提供的重链可变区的氨基酸序列的修饰(例如置换,例如,保守性置换),但不多于30、20或10个修饰(例如置换,例如,保守性置换),或包含与SEQ ID NO:216-219或243-274的氨基酸序列具有95-99%同一性的序列。

[0037] 在一个实施方案中,编码的CD123结合结构域包含选自SEQ ID NO:157,SEQ ID NO:158,SEQ ID NO:159,SEQ ID NO:160,SEQ ID NO:184,SEQ ID NO:185,SEQ ID NO:186,SEQ ID NO:187,SEQ ID NO:188,SEQ ID NO:189,SEQ ID NO:190,SEQ ID NO:191,SEQ ID NO:192,SEQ ID NO:193,SEQ ID NO:194,SEQ ID NO:195,SEQ ID NO:196,SEQ ID NO:197,SEQ ID NO:198,SEQ ID NO:199,SEQ ID NO:200,SEQ ID NO:201,SEQ ID NO:202,SEQ ID NO:203,SEQ ID NO:204,SEQ ID NO:205,SEQ ID NO:206,SEQ ID NO:207,SEQ ID NO:208,SEQ ID NO:209,SEQ ID NO:210,SEQ ID NO:211,SEQ ID NO:212,SEQ ID NO:213,SEQ ID NO:214,SEQ ID NO:215,SEQ ID NO:478,SEQ ID NO:480,SEQ ID NO:483和SEQ ID NO:485的氨基酸序列或与其具有95-99%同一性的序列。在一个实施方案中,编码的CD123结合结构域是scFv,并且包含本文(例如,表2、6或9中)所述的氨基酸序列的轻链可变区经接头(例如,本文所述的接头)与包含本文(例如,表2、6或9中)所述的氨基酸序列的重链可变区连接。在一个实施方案中,编码的CD123结合结构域包含(Gly4-Ser)n接头,其中n是1、2、3、4、5或6、优选地4(SEQ ID NO:26)。scFv的轻链可变区和重链可变区可以例如处于以下任何取向:轻链可变区-接头-重链可变区或重链可变区-接头-轻链可变区。

[0038] 多肽

[0039] 在另一个方面,本发明涉及由核酸分子编码的分离的多肽分子。在一个实施方案中,分离的多肽分子包含选自SEQ ID NO:98,SEQ ID NO:99,SEQ ID NO:100,SEQ ID NO:101,SEQ ID NO:125,SEQ ID NO:126,SEQ ID NO:127,SEQ ID NO:128,SEQ ID NO:129,SEQ ID NO:130,SEQ ID NO:131,SEQ ID NO:132,SEQ ID NO:133,SEQ ID NO:134,SEQ ID NO:135,SEQ ID NO:136,SEQ ID NO:137,SEQ ID NO:138,SEQ ID NO:139,SEQ ID NO:140,SEQ ID NO:141,SEQ ID NO:142,SEQ ID NO:143,SEQ ID NO:144,SEQ ID NO:145,SEQ ID NO:146,SEQ ID NO:147,SEQ ID NO:148,SEQ ID NO:149,SEQ ID NO:150,SEQ ID NO:151,SEQ ID NO:152,SEQ ID NO:153,SEQ ID NO:154,SEQ ID NO:155,和SEQ ID NO:156的序列、或任意上述序列的具有至少一个、两个或三个修饰(例如置换,例如,保守性置换)但是不超过30、20、或10个修饰(例如置换,例如,保守性置换)的氨基酸序列、或与任意上述序列具有95-99%同一性的序列。

[0040] 在另一个方面,本发明涉及分离的嵌合抗原受体(CAR)分子(例如,多肽),其包含CD123结合结构域(例如,与CD123特异性结合的人或人源化抗体或抗体片段)、跨膜结构域和胞内信号结构域(例如,包含共刺激结构域和/或初级信号结构域的胞内信号结构域)。在一个实施方案中,该CAR包含抗体或抗体片段,所述抗体或抗体片段包括本文所述的CD123结合结构域(例如,如本文所述的与CD123特异性结合的人或人源化抗体或抗体片段)、本文所述的跨膜结构域和本文所述的胞内信号结构域(例如,包含本文所述的共刺激结构域和/或初级信号结构域的胞内信号结构域)。

[0041] 在一个实施方案中,CD123结合结构域包含本文所述的CD123结合结构域的一个或多个(例如,全部三个)轻链互补决定区1(LC CDR1)、轻链互补决定区2(LC CDR2)和轻链互补决定区3(LC CDR3)、和/或本文所述的CD123结合结构域的一个或多个(例如,全部三个)重链互补决定区1(HC CDR1)、重链互补决定区2(HC CDR2)和重链互补决定区3(HC CDR3),例如,包含一个或多个(例如,全部三个)LC CDR和一个或多个(例如,全部三个)HC CDR的CD123结合结构域。在一个实施方案中,CD123结合结构域包含本文(例如,表2、6或9中)所述的轻链可变区和/或本文(例如,表2、6或表9中)所述的重链可变区。在一个实施方案中,CD123结合结构域是包含表2、6或表9中列出的氨基酸序列的轻链和重链的scFv。在一个实施方案中,CD123结合结构域(例如,scFv)包含:轻链可变区,所述轻链可变区包含下述氨基酸序列,所述氨基酸序列具有至少一个、两个或三个在表2、6或表9中提供的轻链可变区的氨基酸序列的修饰(例如置换,例如,保守性置换),但不多于30、20或10个修饰(例如置换,例如,保守性置换),或包含与表2、6或表9中提供的氨基酸序列具有95-99%同一性的序列;和/或重链可变区,所述重链可变区包含下述氨基酸序列,所述氨基酸序列具有至少一个、两个或三个在表2、6或表9中提供的重链可变区的氨基酸序列的修饰(例如置换,例如,保守性置换),但不多于30、20或10个修饰(例如置换,例如,保守性置换),或包含与表2、6或表9中提供的氨基酸序列具有95-99%同一性的序列。

[0042] 在其他实施方案中,CD123结合结构域包含表2、6或表9中提供的任何CD123重链结合结构域氨基酸序列的HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3。在实施方案中,CD123结合结构域还包含LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3。在实施方案中,CD123结合结构域包含表2、6或表9中列出的任何CD123轻链结合结构域氨基酸序列的LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3。

[0043] 在一些实施方案中,CD123结合结构域包含表2、6或表9中列出的任何CD123轻链结合结构域氨基酸序列的LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3中的一者、两者或全部以及表2、6或表9中列出的任何CD123重链结合结构域氨基酸序列的HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3中的一者、两者或全部。

[0044] 在一个实施方案中,CD123结合结构域包含选自SEQ ID NO:157,SEQ ID NO:158,SEQ ID NO:159,SEQ ID NO:160,SEQ ID NO:184,SEQ ID NO:185,SEQ ID NO:186,SEQ ID NO:187,SEQ ID NO:188,SEQ ID NO:189,SEQ ID NO:190,SEQ ID NO:191,SEQ ID NO:192,SEQ ID NO:193,SEQ ID NO:194,SEQ ID NO:195,SEQ ID NO:196,SEQ ID NO:197,SEQ ID NO:198,SEQ ID NO:199,SEQ ID NO:200,SEQ ID NO:201,SEQ ID NO:202,SEQ ID NO:203,SEQ ID NO:204,SEQ ID NO:205,SEQ ID NO:206,SEQ ID NO:207,SEQ ID NO:208,SEQ ID NO:209,SEQ ID NO:210,SEQ ID NO:211,SEQ ID NO:212,SEQ ID NO:213,SEQ ID NO:214,SEQ ID NO:215,SEQ ID NO:478,SEQ ID NO:480,SEQ ID NO:483和SEQ ID NO:485的氨基酸序列;或相对于前述序列任一者具有至少一个、两个或三个修饰(例如置换,例如,保守性置换)、但不多于30、20或10个修饰(例如置换,例如,保守性置换)的氨基酸序列;或与其具有95-99%同一性的序列。在一个实施方案中,CD123结合结构域是scFv,并且包含本文(例如,表2、6或表9中)所述的氨基酸序列的轻链可变区经接头(例如,本文所述的接头)与包含本文(例如,表2、6或表9中)所述的氨基酸序列的重链可变区连接。在一个实施方案中,CD123结合结构域包含(Gly4-Ser)n接头,其中n是1、2、3、4、5或6、优选地4(SEQ ID NO:26)。scFv的轻链可变区和重链可变区可以例如处于以下任何取向:轻链可变区-接头-重链可变

区或重链可变区-接头-轻链可变区。

[0045] 在一个实施方案中，分离的CAR分子包含蛋白质(例如本文所述的蛋白质，例如选自T细胞受体的α、β或ζ链、CD28、CD3ε、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137和CD154)的跨膜结构域。在一个实施方案中，跨膜结构域包含SEQ ID NO:6的序列。在一个实施方案中，跨膜结构域包含具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的至少一个、两个或三个修饰(例如置换，例如，保守性置换)、但不多于20、10或5个修饰(例如置换，例如，保守性置换)的氨基酸序列或与SEQ ID NO:6的氨基酸序列具有95-99％同一性的序列。

[0046] 在一个实施方案中，CD123结合结构域通过铰链区(例如，本文所述的铰链区)与跨膜结构域连接。在一个实施方案中，编码的铰链区包含SEQ ID NO:2或与其具有95-99％同一性的序列。

[0047] 在一个实施方案中，分离的CAR分子还包含编码共刺激结构域(例如，本文所述的共刺激结构域)的序列。

[0048] 在一些实施方案中，分离的CAR分子的胞内信号结构域包含共刺激结构域。在实施方案中，分离的CAR分子的胞内信号结构域包含初级信号结构域。在实施方案中，分离的CAR分子的胞内信号结构域包含共刺激结构域和初级信号结构域。

[0049] 在一个实施方案中，共刺激结构域包含蛋白质的功能性信号结构域，所述蛋白质选自：MHC I类分子、TNF受体蛋白、免疫球蛋白样蛋白质、细胞因子受体、整联蛋白、淋巴细胞活化信号分子(SLAM蛋白)、活化NK细胞受体、BTLA、Toll配体受体、OX40、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CDS、ICAM-1、LFA-1(CD11a/CD18)、4-1BB(CD137)、B7-H3、CDS、ICAM-1、ICOS(CD278)、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM(LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、CD69、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a和与CD83特异性结合的配体。

[0050] 在一个实施方案中，4-1BB共刺激结构域包含SEQ ID NO:7的序列。在一个实施方案中，共刺激结构域包含具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的至少一个、两个或三个修饰(例如置换，例如，保守性置换)、但不多于20、10或5个修饰(例如置换，例如，保守性置换)的氨基酸序列或与SEQ ID NO:7的氨基酸序列具有95-99％同一性的序列。在另一个实施方案中，CD28共刺激结构域包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列。在一个实施方案中，该共刺激结构域包含了具有SEQ ID NO:43的氨基酸序列的至少一个、两个或三个修饰、但不多于20、10或5个修饰的氨基酸序列或与SEQ ID NO:43的氨基酸序列具有95-99％同一性的序列。在另一个实施方案中，CD27共刺激结构域包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。在一个实施方案中，该共刺激结构域包含了具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的至少一个、两个或三个修饰、但不多于20、10或5个修饰的氨基酸序列或与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有95-99％同一性的序列。在另一个实施方案中，ICOS的共刺激结构域包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列。在一个实

施方案中，该共刺激结构域包含具有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的至少一个、两个或三个修饰、但不多于20、10或5个修饰的氨基酸序列或与SEQ ID NO:45的氨基酸序列具有95-99％同一性的序列。

[0051] 在实施方案中，初级信号结构域包含CD3ζ的功能性信号结构域。在实施方案中，CD3ζ的功能性信号结构域包含SEQ ID NO:9(突变体CD3ζ)或SEQ ID NO:10(野生型人CD3ζ)或与其具有95-99％同一性的序列。

[0052] 在一个实施方案中，胞内信号结构域包含4-1BB的功能性信号结构域和/或CD3ζ的功能性信号结构域。在一个实施方案中，胞内信号结构域包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的氨基酸序列。在一个实施方案中，胞内信号结构域包含具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的序列至少一个、两个或三个修饰(例如置换，例如，保守性置换)、但不多于20、10或5个修饰(例如置换，例如，保守性置换)的氨基酸序列或与SEQ ID NO:7的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的氨基酸序列具有95-99％同一性的序列。在一个实施方案中，胞内信号结构域包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的氨基酸序列，其中包含胞内信号结构域的序列在相同读框中并作为单条多肽链表达。

[0053] 在一个实施方案中，胞内信号结构域包含CD27的功能性信号结构域和/或CD3ζ的功能性信号结构域。在一个实施方案中，CD27胞内信号结构域包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的CD3ζ氨基酸序列。在一个实施方案中，胞内信号结构域包含具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的氨基酸序列至少一个、两个或三个修饰、但不多于20、10或5个修饰的氨基酸序列或与SEQ ID NO:8的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的氨基酸序列具有95-99％同一性的序列。在一个实施方案中，胞内信号结构域包含SEQ ID NO:8的序列和SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的序列，其中包含胞内信号结构域的序列在相同读框中并作为单条多肽链表达。

[0054] 在一个实施方案中，胞内信号结构域包含CD28的功能性信号结构域和/或CD3ζ的功能性信号结构域。在一个实施方案中，编码的CD28胞内信号结构域包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的CD3ζ氨基酸序列。在一个实施方案中，胞内信号结构域包含具有SEQ ID NO:43的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的氨基酸序列至少一个、两个或三个修饰、但不多于20、10或5个修饰的氨基酸序列或与SEQ ID NO:43的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的氨基酸序列具有95-99％同一性的序列。在一个实施方案中，胞内信号结构域包含SEQ ID NO:43的序列和SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的序列，其中包含胞内信号结构域的序列在相同读框中并作为单条多肽链表达。

[0055] 在一个实施方案中，胞内信号结构域包含ICOS的功能性信号结构域和/或CD3ζ的功能性信号结构域。在一个实施方案中，ICOS胞内信号结构域包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的CD3ζ氨基酸序列。在一个实施方案中，胞内信号结构域包含了具有SEQ ID NO:45的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的氨基酸序列至少一个、两个或三个修饰、但不多于20、10或5个修饰的氨基酸序列或与SEQ ID NO:381的氨基酸序列和/或SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的氨基酸序列具有95-99％同一性的序列。在一个实施方案中，编码的胞内信号结构域包含SEQ ID NO:45的序列和SEQ ID

NO:9或SEQ ID NO:10的序列，其中包含胞内信号结构域的序列在相同读框中并作为单条多肽链表达。

[0056] 在一个实施方案中，分离的CAR分子还包含前导序列(例如，本文所述的前导序列)。在一个实施方案中，前导序列包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列或与SEQ ID NO:1的氨基酸序列具有95-99％同一性的序列。

[0057] 在另一个方面，本发明涉及分离的CAR分子，所述分离的CAR分子包含前导序列，例如，本文所述的前导序列(例如，SEQ ID NO:1的前导序列)或与其具有95-99％同一性的前导序列；本文所述的CD123结合结构域，例如，包含本文所述的LC CDR1、LC CDR2、LC CDR3、HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3的CD123结合结构域，例如，表2或6中描述的CD123结合结构域，或与其具有95-99％同一性的序列的CD123结合结构域；铰链区，例如，本文所述的铰链区，例如，SEQ ID NO:2的铰链区，或与其具有95-99％同一性的铰链区；跨膜结构域，例如，本文所述的跨膜结构域，例如，具有SEQ ID NO:6的序列或与其具有95-99％同一性的序列的跨膜结构域；胞内信号结构域，例如，本文所述的胞内信号结构域(例如，包含共刺激结构域和/或初级信号结构域的胞内信号结构域)。在一个实施方案中，胞内信号结构域包含共刺激结构域，例如，本文所述的共刺激结构域，例如，具有SEQ ID NO:7的序列或与其具有95-99％同一性的4-1BB共刺激结构域，和/或初级信号结构域(例如，本文所述的初级信号结构域，例如，具有SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的序列或与其具有95-99％同一性的CD3ζ刺激结构域)。在一个实施方案中，胞内信号结构域包含共刺激结构域，例如，本文所述的共刺激结构域，例如，具有SEQ ID NO:7的序列的4-1BB共刺激结构域，和/或初级信号结构域(例如，本文所述的初级信号结构域，例如，具有SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的序列的CD3ζ刺激结构域)。

[0058] 在一个实施方案中，分离的CAR分子包含(例如，由以下组成)SEQ ID NO:98,SEQ ID NO:99,SEQ ID NO:100,SEQ ID NO:101,SEQ ID NO:125,SEQ ID NO:126,SEQ ID NO:127,SEQ ID NO:128,SEQ ID NO:129,SEQ ID NO:130,SEQ ID NO:131,SEQ ID NO:132,SEQ ID NO:133,SEQ ID NO:134,SEQ ID NO:135,SEQ ID NO:136,SEQ ID NO:137,SEQ ID NO:138,SEQ ID NO:139,SEQ ID NO:140,SEQ ID NO:141,SEQ ID NO:142,SEQ ID NO:143,SEQ ID NO:144,SEQ ID NO:145,SEQ ID NO:146,SEQ ID NO:147,SEQ ID NO:148,SEQ ID NO:149,SEQ ID NO:150,SEQ ID NO:151,SEQ ID NO:152,SEQ ID NO:153,SEQ ID NO:154,SEQ ID NO:155和SEQ ID NO:156的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:98,SEQ ID NO:99,SEQ ID NO:100,SEQ ID NO:101,SEQ ID NO:125,SEQ ID NO:126,SEQ ID NO:127,SEQ ID NO:128,SEQ ID NO:129,SEQ ID NO:130,SEQ ID NO:131,SEQ ID NO:132,SEQ ID NO:133,SEQ ID NO:134,SEQ ID NO:135,SEQ ID NO:136,SEQ ID NO:137,SEQ ID NO:138,SEQ ID NO:139,SEQ ID NO:140,SEQ ID NO:141,SEQ ID NO:142,SEQ ID NO:143,SEQ ID NO:144,SEQ ID NO:145,SEQ ID NO:146,SEQ ID NO:147,SEQ ID NO:148,SEQ ID NO:149,SEQ ID NO:150,SEQ ID NO:151,SEQ ID NO:152,SEQ ID NO:153,SEQ ID NO:154,SEQ ID NO:155和SEQ ID NO:156的氨基酸序列具有至少1、2、3、4、5、10、15、20或30个修饰(例如置换，例如，保守性置换)、但不多于60、50或40个修饰(例如置换，例如，保守性置换)的氨基酸序列，或与SEQ ID NO:98,SEQ ID NO:99,SEQ ID NO:100,SEQ ID NO:101,SEQ ID NO:125,SEQ ID NO:126,SEQ ID NO:127,SEQ ID NO:128,SEQ ID NO:129,SEQ ID NO:130,SEQ ID NO:131,SEQ ID

NO:132,SEQ ID NO:133,SEQ ID NO:134,SEQ ID NO:135,SEQ ID NO:136,SEQ ID NO:137,SEQ ID NO:138,SEQ ID NO:139,SEQ ID NO:140,SEQ ID NO:141,SEQ ID NO:142,SEQ ID NO:143,SEQ ID NO:144,SEQ ID NO:145,SEQ ID NO:146,SEQ ID NO:147,SEQ ID NO:148,SEQ ID NO:149,SEQ ID NO:150,SEQ ID NO:151,SEQ ID NO:152,SEQ ID NO:153,SEQ ID NO:154,SEQ ID NO:155和SEQ ID NO:156的氨基酸序列具有85％、90％、95％、96％、97％、98％或99％同一性的氨基酸序列。

[0059] 在一个方面，本发明涉及CD123结合结构域，所述CD123结合结构域包含本文所述的CD123结合结构域的一个或多个(例如，全部三个)轻链互补决定区1(LC CDR1)、轻链互补决定区2(LC CDR2)和轻链互补决定区3(LC CDR3)、和/或本文所述的CD123结合结构域的一个或多个(例如，全部三个)重链互补决定区1(HC CDR1)、重链互补决定区2(HC CDR2)和重链互补决定区3(HC CDR3)，例如，包含一个或多个(例如，全部三个)LC CDR和一个或多个(例如，全部三个)HC CDR(例如，根据表3、7、10或12的一个、两个或三个HC CDR；和/或根据表4、8、11或13的一个、两个或三个LC CDR)的CD123结合结构域。

[0060] 在其他实施方案中，CD123结合结构域包含表2、6或表9中列出的任何CD123重链结合结构域氨基酸序列的HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3。在实施方案中，CD123结合结构域还包含LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3。在实施方案中，CD123结合结构域包含表2、6或表9中列出的任何CD123轻链结合结构域氨基酸序列的LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3。

[0061] 在一些实施方案中，CD123结合结构域包含了表2、6或表9中列出的任何CD123轻链结合结构域氨基酸序列的LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3中的一者、两者或全部以及表2、6或表9中列出的任何CD123重链结合结构域氨基酸序列的HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3中的一者、两者或全部。

[0062] 在一个实施方案中，CD123结合结构域包含本文(例如，SEQ ID NO:275-278或302-333中)所述的轻链可变区和/或本文(例如，SEQ ID NO:216-219或243-274中)所述的重链可变区。在一个实施方案中，CD123结合结构域是包含SEQ ID NO:157-160、184-215、478、480、483或485的氨基酸序列的轻链和重链的scFv。在一个实施方案中，CD123结合结构域(例如，scFv)包含：轻链可变区，所述轻链可变区包含下述氨基酸序列，所述氨基酸序列具有至少一个、两个或三个在SEQ ID NO:275-278或302-333中提供的轻链可变区的氨基酸序列的修饰(例如置换，例如，保守性置换)，但不多于30、20或10个修饰(例如置换，例如，保守性置换)，或包含与SEQ ID NO:275-278或302-333中的氨基酸序列具有95-99％同一性的序列；和/或重链可变区，所述重链可变区包含下述氨基酸序列，所述氨基酸序列具有至少一个、两个或三个在SEQ ID NO:216-219或243-274中提供的重链可变区的氨基酸序列的修饰(例如置换，例如，保守性置换)，但不多于30、20或10个修饰(例如置换，例如，保守性置换)，或包含与SEQ ID NO:216-219或243-274的氨基酸序列具有95-99％同一性的序列。

[0063] 在一个实施方案中，CD123结合结构域包含选自SEQ ID NO:157,SEQ ID NO:158,SEQ ID NO:159,SEQ ID NO:160,SEQ ID NO:184,SEQ ID NO:185,SEQ ID NO:186,SEQ ID NO:187,SEQ ID NO:188,SEQ ID NO:189,SEQ ID NO:190,SEQ ID NO:191,SEQ ID NO:192,SEQ ID NO:193,SEQ ID NO:194,SEQ ID NO:195,SEQ ID NO:196,SEQ ID NO:197,SEQ ID NO:198,SEQ ID NO:199,SEQ ID NO:200,SEQ ID NO:201,SEQ ID NO:202,SEQ ID NO:203,SEQ ID NO:204,SEQ ID NO:205,SEQ ID NO:206,SEQ ID NO:207,SEQ ID NO:208,SEQ ID

NO:209,SEQ ID NO:210,SEQ ID NO:211,SEQ ID NO:212,SEQ ID NO:213,SEQ ID NO:214,SEQ ID NO:215,SEQ ID NO:478,SEQ ID NO:480,SEQ ID NO:483和SEQ ID NO:485的序列或与其具有95-99％同一性的序列。在一个实施方案中,CD123结合结构域是scFv,并且包含本文(例如,表2、6或表9中)所述的氨基酸序列的轻链可变区经接头(例如,本文所述的接头)与包含本文(例如,表2、6或表9中)所述的氨基酸序列的重链可变区连接。在一个实施方案中,CD123结合结构域包含(Gly4-Ser)n接头,其中n是1、2、3、4、5或6、优选地4(SEQ ID NO:26)。scFv的轻链可变区和重链可变区可以例如处于以下任何取向:轻链可变区-接头-重链可变区或重链可变区-接头-轻链可变区。

[0064] 核酸、载体和细胞

[0065] 本文所述的核酸分子可以是DNA分子、RNA分子或其组合。在一个实施方案中,核酸分子是编码如本文所述的CAR多肽的mRNA。在其他实施方案中,核酸分子是包括任何前述核酸分子的载体。

[0066] 在另一个方面,本发明涉及一种载体,所述载体包含本文所述的核酸分子,例如,编码本文所述的CAR的核酸分子。在一个实施方案中,载体选自DNA分子或RNA分子(例如质粒、慢病毒载体、腺病毒载体或逆转录病毒载体)。

[0067] 在一个实施方案中,该载体是慢病毒载体。在一个实施方案中,载体还包含启动子。在一个实施方案中,启动子是EF-1启动子。在一个实施方案中,EF-1启动子包含SEQ ID NO:11的序列。在另一个实施方案中,启动子是PGK启动子,例如,如本文所述的截短的PGK启动子。

[0068] 在一个实施方案中,载体是体外转录的载体,例如,转录本文所述的核酸分子的RNA的载体。在一个实施方案中,载体中的核酸序列还包含聚腺苷酸尾,例如,本文所述的聚腺苷酸尾,(例如,包含约150个腺苷碱基的聚腺苷酸尾(SEQ ID NO:705))。在一个实施方案中,载体中的核酸序列还包含3'UTR,例如,本文所述的3'UTR,例如,包含至少一个衍生自人β-球蛋白的3'UTR的重复序列的3'UTR。在一个实施方案中,载体中的核酸序列还包含启动子,例如,T2A启动子。

[0069] 在另一个方面,本发明涉及一种细胞,所述细胞包含本文所述核酸分子或载体、或表达CAR的多肽。在一个实施方案中,细胞是本文所述的细胞,例如,免疫效应细胞(例如,人T细胞或NK细胞,例如,本文所述的人T细胞或NK细胞,或其细胞群)。在一些实施方案中,人T细胞是CD8+T细胞。在一个实施方案中,该细胞表达CAR核酸或多肽,或在某些点上表达CAR核酸或多肽(例如,瞬时表达的CAR分子)。

[0070] 在一些实施方案中,本文所述的细胞(例如,表达CAR的细胞)还可以表达另一种物质,例如,增强表达CAR的细胞活性的物质。例如,在一个实施方案中,该物质可以是包含抑制性分子或其结构域的嵌合分子。抑制性分子的例子包括PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM(例如,CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3(CD276)、B7-H4(VTCN1)、HVEM(TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I类、MHC II类、GAL9、腺苷和TGFR(例如TGFRβ),例如,如本文所述。在一个实施方案中,嵌合分子包含第一多肽(例如,抑制性分子),所述第一多肽与提供正向信号给细胞的第二多肽(例如,本文所述的胞内信号结构域)缔合。在一个实施方案中,该物质包含例如抑制性分子如PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM(例如,CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、

LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3(CD276)、B7-H4(VTCN1)、HVEM(TNFRSF14或CD270)、KIR,A2aR、MHC I类、MHC II类、GAL9、腺苷和TGFR(例如TGFRβ)或这些分子中任一者的片段(例如,这些分子中任一者的胞外结构域的至少一部分)的第一多肽和作为本文所述的胞内信号结构域(例如,包含共刺激结构域(例如,如本文所述的41BB、CD27或CD28)和/或初级信号结构域(例如,本文所述的CD3ζ信号结构域)的第二多肽。在一个实施方案中,该物质包含PD1或其片段(例如,PD1的胞外结构域的至少一部分)的第一多肽和本文所述的胞内信号结构域(例如,本文所述的CD28信号结构域和/或本文所述的CD3ζ信号结构域)的第二多肽。

[0071] 在另一个方面,本发明涉及一种产生细胞、例如免疫效应细胞的方法,所述方法包括用本文所述的核酸分子(例如,RNA分子,例如mRNA分子),或包含编码CAR(例如,本文所述的CAR)的核酸分子的载体引入,例如转导免疫效应细胞。

[0072] 本发明还提供一种产生细胞群体的方法(例如,瞬时表达外源RNA的RNA工程化细胞)。该方法包括将本文所述的RNA(例如,体外转录的RNA或合成的RNA;如本文所述编码CAR多肽的mRNA序列)引入细胞中。在实施方案中,RNA瞬时表达CAR多肽。在一个实施方案中,细胞是如本文所述的细胞,例如,免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞,或细胞群体)。

[0073] 治疗用途

[0074] 在另一个方面,本发明涉及一种在哺乳动物中提供抗肿瘤免疫的方法,所述方法包括向哺乳动物施用有效量的表达CAR分子的细胞,例如,表达本文所述的CAR分子的细胞。在一个实施方案中,细胞是自体免疫效应细胞,例如,T细胞或NK细胞。在一个实施方案中,细胞是同种异体免疫效应细胞,例如,T细胞或NK细胞。在一个实施方案中,哺乳动物是人,例如,血液癌症患者。

[0075] 在另一方面,本发明涉及一种治疗患有与表达CD123相关的疾病(例如,增生性疾病、癌前期疾病或与表达CD123相关的非癌症相关适应征)的哺乳动物的方法。所述方法包括向哺乳动物施用有效量的表达CAR分子(例如,本文所述的CAR分子)的细胞。在一个实施方案中,哺乳动物是人,例如,血液癌症患者。在一个实施方案中,疾病是本文所述的疾病。在一个实施方案中,与表达CD123相关的疾病是选自增生性疾病如癌症或恶性肿瘤;癌前期疾病如脊髓发育不良、脊髓发育不良综合征或白血病前期;或是与表达CD123相关的非癌症相关适应征。在一个实施方案中,疾病是血液癌症。在另一个实施方案中,所述疾病选自一种或多种急性白血病,包括但不限于急性髓性白血病(AML)、急性淋巴母细胞性白血病(ALL)、急性淋巴母细胞性B细胞白血病(B细胞急性淋巴细胞性白血病,BALL)和急性淋巴母细胞性T细胞白血病(T细胞急性淋巴细胞性白血病(TALL);脊髓发育不良综合征;骨髓增生性肿瘤;组织细胞疾病(例如,肥大细胞疾病或母细胞性浆细胞样树状细胞肿瘤);肥大细胞疾病,例如系统性肥大细胞增多症或肥大细胞白血病;慢性髓性白血病(CML);和浆母细胞样树突细胞瘤。在其它实施方案中,与CD123表达相关的疾病包括但不限于非典型性和/或非典型性癌症、恶性肿瘤、癌前病症或表达CD123的增殖性疾病;及其组合。

[0076] 在一个实施方案中,所述疾病选自急性髓性白血病(AML)、急性淋巴母细胞性白血病(ALL)、急性淋巴母细胞性B细胞白血病(B细胞急性淋巴细胞性白血病,BALL)、急性淋巴母细胞性T细胞白血病(T细胞急性淋巴细胞性白血病,TALL)、B细胞幼淋巴细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、慢性髓性白血病(CML)、毛细胞白血病、霍奇金淋巴瘤、肥大细胞疾

病、组织细胞疾病、脊髓发育不良综合征、骨髓增生性肿瘤、浆细胞性骨髓瘤、浆母细胞样树突细胞瘤或其组合中的一种或多种。在一个实施方案中，所述疾病是白血病，例如ALL(例如复发性和难治性ALL)或AML。在其他实施方案中，所述疾病是CD19阴性癌症，例如CD19阴性复发性癌症。

[0077] 在任何前述方法的一些实施方案中，细胞，例如免疫效应细胞的群体包含载体，例如慢病毒载体，其包含编码如本文所述的CAR多肽的核酸分子。

[0078] 在任何上述方法的其它实施方案中，细胞，例如免疫效应细胞的群体，包含编码如本文所述的CAR多肽的mRNA。在一个实施方案中，所述细胞是表达CAR的RNA-工程化细胞的群体，例如瞬时表达的细胞群体。

[0079] 在任何前述方法的一些实施方案中，所述方法还包括向哺乳动物(例如，患有癌症，例如本文所述的血液癌症(例如，AML或ALL)的哺乳动物)施用一个或多个剂量的细胞(例如，含有本文所述的CAR核酸或CAR多肽的免疫细胞))。在一些实施方案中，一个或多个剂量的CAR细胞(例如，CD123 CAR细胞)包含至少约1×10^6、5×10^6、1×10^7、2×10^7、5×10^7、1×10^8、2×10^8、5×10^8、1×10^9、2×10^9或5×10^9个细胞。

[0080] 在一个实施方案中，施用高达10、9、8、7、6、5、4、3或2个剂量的细胞。在其它实施方案中，向哺乳动物施用1、2、3、4、5或6个剂量的细胞，例如以一周、两周、三周、四周或更多周的治疗间隔。在一个实施方案中，在两周内施用多达6个剂量。剂量可以相同或不同。在一个实施方案中，开始施用较低剂量，然后施用一个或多个较高剂量。在一个示例性实施方案中，较低剂量为约1×10^5至1×10^9个细胞/kg、或1×10^6至1×10^8个细胞/kg；较高剂量为约2×10^5至2×10^9个细胞/kg或2×10^6至2×10^8个细胞/kg，然后是约4×10^5至4×10^9个细胞/kg、或4×10^6至4×10^8个细胞/kg的3-6个剂量。

[0081] 在一个实施方案中，在一种或多种淋巴细胞消耗疗法(例如淋巴细胞消耗化疗)之后施用一个或多个剂量的细胞。在一个实施方案中，淋巴细胞消耗疗法包括化疗(例如环磷酰胺)。

[0082] 在一个实施方案中，一个或多个剂量之后是细胞移植，例如同种异体造血干细胞移植。例如，同种异体造血干细胞移植发生在约20至约35天之间，例如约23至33天之间。

[0083] 在一些实施方案中，将细胞，例如免疫效应细胞的群体(例如，本文所述的表达CAR分子的细胞)与如本文所述的一种或多种治疗剂或方法组合施用。

[0084] 在一个实施方案中，将细胞，例如免疫效应细胞的群体(例如，本文所述的表达CAR分子的细胞)与增加表达CAR分子的细胞功效的试剂，例如本文所述的试剂组合施用。

[0085] 在一个实施方案中，细胞，例如免疫效应细胞的群体(例如，本文所述的表达CAR分子的细胞)与免疫增强性低剂量的mTOR抑制剂组合施用。尽管不希望受理论约束，据信用免疫增强性低剂量(例如，不足以完全抑制免疫系统，但足以改善免疫功能的剂量)治疗伴有PD-1阳性T细胞减少或PD-1阴性细胞增加。可以通过与表达PD-1配体(例如，PD-L1或PD-L2)的细胞结合，消耗PD-1阳性T细胞，但不消耗PD-1阴性T细胞。

[0086] 在一个实施方案中，这种方法可以用来优化本文所述的CAR细胞在受试者中的表现。尽管不希望受理论约束，据信在一个实施方案中，改善了内源性未修饰的免疫效应细胞(例如，T细胞)的表现。尽管不希望受理论约束，据信在一个实施方案中，改善了表达CD123 CAR的细胞的表现。在其他实施方案中，可以通过与下述量的mTOR抑制剂接触，离体处理已

经工程化或将会工程化以表达CAR的细胞(例如,T细胞),所述量增加PD1阴性免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)的数目或增加PD1阴性免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)/PD1阳性免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)的比率。

[0087] 在一个实施方案中,在施用本文所述的表达CAR的细胞(例如,T细胞或NK细胞)之前,启动免疫增强性低剂量的mTOR抑制剂(例如,变构抑制剂(例如,RAD001)或催化性抑制剂)的施用。在一个实施方案中,在足够时间的mTOR抑制剂或充分给予mTOR抑制剂后施用CAR细胞,从而PD1阴性免疫效应细胞(例如,T细胞)的水平或PD1阴性免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)/PD1阳性免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)的比率已经至少一过性增加。

[0088] 在一个实施方案中,在足够时间或在充分给予免疫增强性低剂量的mTOR抑制剂后收获待工程化以表达CAR的细胞,例如,免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞),从而受试者中的或从受试者收获的PD1阴性免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)的水平或PD1阴性免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)/PD1阳性免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)的比率已经至少一过性增加。

[0089] 在一个实施方案中,本发明提供mTOR抑制剂用于治疗受试者,其中所述mTOR抑制剂增强所述受试者的免疫应答,并且其中所述受试者已经接受、正在接受或将要接受表达如本文所述的CD123 CAR的免疫效应细胞。

[0090] 在另一个实施方案中,细胞,例如免疫效应细胞的群体(例如表达本文所述的CAR分子的细胞)与改善一种或多种副作用的物质(例如,本文所述的物质)组合施用,其中所述副作用与施用表达CAR分子的细胞相关。

[0091] 在一个实施方案中,细胞,例如免疫效应细胞的群体(例如表达本文所述的CAR分子的细胞)与治疗CD123相关疾病的物质(例如,本文所述的物质)组合施用。

[0092] 在一个实施方案中,将细胞,例如免疫效应细胞的群体(例如,表达本文所述的CAR分子的细胞)与选自以下的一种或多种第二治疗剂或方法组合施用:化疗、靶向抗癌治疗、溶瘤药物、细胞毒性剂、细胞因子、外科手术、放射方法、共刺激分子的激动剂、免疫检查点分子的抑制剂、疫苗或第二基于CAR的免疫治疗。

[0093] 在一个实施方案中,将细胞,例如免疫效应细胞的群体(例如,表达本文所述的CAR分子的细胞)与共刺激分子的激动剂组合施用,例如选自以下的一种或多种的共刺激分子的激动剂:MHC I类分子、TNF受体蛋白、免疫球蛋白样蛋白、细胞因子受体、整联蛋白、淋巴细胞活化信号分子(SLAM蛋白)、活化NK细胞受体、BTLA、Toll配体受体、OX40、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CDS、ICAM-1、LFA-1(CD11a/CD18)、4-1BB(CD137)、B7-H3、CDS、ICAM-1、ICOS(CD278)、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM(LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244,2B4)、CD84、CD96(Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、CD69、SLAMF6(NTB-A,Ly108)、SLAM(SLAMF1,CD150,IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a和特异性地结合CD83的配体。

[0094] 在其他实施方案中，将细胞，例如免疫效应细胞的群体(例如，表达本文所述的CAR分子的细胞)与免疫检查点分子的抑制剂组合施用，所述免疫检查点分子的抑制剂选自PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM(例如，CEACAM-1，CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3(CD276)、B7-H4(VTCN1)、HVEM(TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、I类MHC、II类MHC、GAL9、腺苷、TGFR(例如TGFRβ)或其组合中的一种或多种。

[0095] 在一个实施方案中，免疫检查点分子的抑制剂或共刺激分子的激动剂是抗体分子，例如单特异性抗体分子或双特异性抗体分子。例如，细胞，例如免疫效应细胞的群体，可以与PD-1抑制剂、TIM-3抑制剂、CEACAM-1抑制剂或其组合组合地施用。在一个实施方案中，PD-1抑制剂和TIM-3抑制剂组合施用。在其他实施方案中，TIM-3抑制剂和CEACAM-1抑制剂组合施用。

[0096] 在一些实施方案中，免疫检查点分子的抑制剂在施用细胞例如免疫效应细胞的群体之后施用，例如在施用细胞(例如免疫效应细胞的群体)约3-7天后施用。

[0097] 如本文实施例中所述，表达CAR123的免疫效应细胞已显示对CD19阴性复发(例如CD19阴性B-ALL)的有效治疗。不受理论的束缚，CAR123和CD19抑制的组合方法(例如表达CAR19的免疫效应细胞)可用于治疗CD19阳性疾病，同时阻止或预防抗原缺失复发。

[0098] 因此，在任何上述方法的其他实施方案中，细胞，例如免疫效应细胞的群体与CD19抑制剂(例如本文所述的CD19抑制剂)组合施用。

[0099] 在一些实施方案中，CD19抑制剂是CD19 CAR表达的细胞或抗CD19抗体分子。在一个实施方案中，疾病是白血病，例如ALL(例如复发性和难治性ALL)。在其他实施方案中，疾病是AML。在其他实施方案中，疾病是CD19阴性癌症，例如CD19阴性复发性癌症。

[0100] 备选地或与任何上述方法组合，提供了在哺乳动物(例如人)中预防CD19阴性复发的方法。该方法包括施用有效量的细胞，例如免疫效应细胞的群体(例如，表达本文所述的CAR分子的细胞)。在一些实施方案中，方法还包括施用CD19抑制剂，例如CD19 CAR表达的细胞。在一些实施方案中，疾病是白血病，例如急性淋巴母细胞性白血病(例如复发性和难治性ALL)或AML。

[0101] 在一些实施方案中，在施用CD19抑制剂之前、同时或一同、或之后施用细胞，例如免疫效应细胞的群体。在一个实施方案中，在施用CD19之后施用细胞，例如免疫效应细胞的群体。在其他实施方案中，细胞(例如免疫效应细胞的群体)与CD19抑制剂同时施用。

[0102] 在一些实施方案中，细胞(例如免疫效应细胞的群体)表达CD19 CAR和CD123 CAR(例如本文所述的CAR)。

[0103] 不希望受理论束缚，已经发现某些白血病细胞(例如，B-ALL母细胞)共表达CD19和CD123，而造血干细胞(HSC)通常是CD123阳性(CD123+)、但CD19阴性的(CD19-)。为了靶向共表达CD19和CD123的白血病细胞(例如，B-ALL母细胞)，同时不影响HSC，可以使用分拆的CAR，其中功能性胞内结构域在CAR19和CAR123之间是分开的。当靶细胞共表达CD19和CD123(例如，B-ALL母细胞)时，与表达CD19或CD123之一的细胞(例如HSC)相反，这种CAR分子将优先引起免疫细胞的完全激活。

[0104] 因此，在一些实施方案中，CD19 CAR或CD123 CAR包含分开的胞内信号结构域，使得与CD19 CAR和CD123 CAR结合表达CD19或CD123之一的靶细胞(例如，造血干细胞)时的活

化相比，当CD19 CAR和CD123 CAR都结合靶细胞时，发生细胞(例如免疫效应细胞的群体)的完全激活，例如靶CD19+CD123+细胞(例如，B-ALL母细胞)。在一个实施方案中，CD123 CAR包含共刺激结构域，例如4-1BB信号结构域，并且CD19 CAR包含初级信号结构域，例如CD3ζ信号结构域。在其他实施方案中，CD123 CAR包含包含初级信号结构域，例如CD3ζ信号结构域，以及CD19 CAR包含共刺激结构域，例如4-1BB信号结构域。CD123 CAR和CD19 CAR可以任选地连接到例如一个或多个肽切割位点，例如P2A。

[0105] 在其他实施方案中，本文公开的方法还包括在用细胞(例如，如本文所述的免疫效应细胞)治疗后施用T细胞消耗剂，从而减少(例如，消耗)CAR表达细胞(例如，CD123 CAR表达细胞)。此类T细胞消耗剂可用于有效消耗CAR表达细胞(例如，表达CD123CAR的细胞)以减轻毒性。

[0106] 例如，备选地或与本文公开的方法组合，公开了在CAR治疗(例如，本文公开的CAR123治疗)后减少(例如，消耗)CAR表达细胞的方法。该方法包括向哺乳动物施用减少(例如，消耗)CAR表达细胞的量的T细胞消耗剂。在一些实施方案中，在用细胞例如免疫效应细胞的群体(例如，表达CAR的细胞群体)处理哺乳动物后施用T细胞消耗剂，从而减少(例如消耗)细胞(例如，CAR-表达细胞)。

[0107] 在一些实施方案中，方法还包括将细胞例如造血干细胞或骨髓移植到哺乳动物中。

[0108] 在一些实施方案中，哺乳动物患有白血病，例如急性淋巴母细胞性白血病。

[0109] 在一些实施方案中，在施用细胞(例如本文所述的免疫效应细胞的群体)之后一、二、三、四或五周施用T细胞消耗剂。

[0110] 在一个实施方案中，T细胞消耗剂是例如通过诱导抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)和/或补体诱导的细胞死亡来消耗CAR表达细胞的物质。例如，本文所述的CAR表达细胞还可以表达被能够诱导细胞死亡的分子(例如ADCC或补体诱导的细胞死亡)识别的抗原(例如，靶抗原)。例如，本文所述的CAR表达细胞还可以表达能够被抗体或抗体片段靶向的靶蛋白(例如，受体)。这种靶蛋白的实例包括但不限于EpCAM、VEGFR、整联蛋白(例如，整联蛋白αvβ3、α4、αI3/4β3、α4β7、α5β1、αvβ3、αv)，TNF受体超家族成员(例如，TRAIL-R1，TRAIL-R2)、PDGF受体、干扰素受体、叶酸受体、GPNMB、ICAM-1、HLA-DR、CEA、CA-125、MUC1、TAG-72、IL-6受体、5T4、GD2、GD3、CD2、CD3、CD4、CD5、CD11、CD11a/LFA-1、CD15、CD18/ITGB2、CD19、CD20、CD22、CD23/IgE受体、CD25、CD28、CD30、CD33、CD38、CD40、CD41、CD62L、CD74、CD80、CD125、CD147/basigin、CD152/CTLA-4、CD154/CD40L、CD195/CCR5、CD319/SLAMF7和EGFR和它们的截短形式(例如保留一个或多个细胞外表位但缺乏一个或多个细胞质结构域内区域的形式)。

[0111] 在一些实施方案中，CAR表达细胞共表达CAR和靶蛋白，例如天然表达靶蛋白或被工程化以表达靶蛋白。例如，细胞，例如免疫效应细胞的群体，可以包括包含CAR核酸(例如，如本文所述的CAR核酸)和编码靶蛋白的核酸的核酸(例如载体)。

[0112] 在一个实施方案中，T细胞消耗剂是CD52抑制剂，例如抗CD52抗体分子，例如阿仑单抗(alemtuzumab)。

[0113] 在其他实施方案中，细胞，例如免疫效应细胞的群体表达如本文所述的CAR分子(例如CD123 CAR)和被T细胞消耗剂识别的靶蛋白。在一个实施方案中，靶蛋白是CD20。在靶

蛋白是CD20的实施方案中，T细胞消耗剂是抗CD20抗体，例如利妥昔单抗。

[0114] 在任何上述方法的另外的实施方案中，方法还包括将细胞例如造血干细胞或骨髓移植到哺乳动物中。

[0115] 在另一方面，本发明的特征在于在细胞移植之前调理哺乳动物的方法。该方法包括对哺乳动物施用有效量的包含如本文所述的CAR核酸或如本文所述的多肽的细胞。在一些实施方案中，细胞移植是干细胞移植，例如造血干细胞移植或骨髓移植。在其他实施方案中，在细胞移植之前调理受试者，包括减少受试者中表达CD123的细胞(例如表达CD123的正常细胞或表达CD123的癌细胞)的数目。

[0116] 在另一个方面，本发明涉及编码本发明CAR的分离核酸分子、本发明CAR的分离多肽分子、包含本发明CAR的载体，和包含本发明CAR的细胞，用作药物，例如，如本文所述(例如，用于治疗与CD123表达相关的疾病)。

[0117] 在另一个方面，本发明涉及用于治疗表达CD123的疾病(例如，如本文所述的表达CD123的疾病)的编码本发明CAR的分离核酸分子、本发明CAR的分离多肽分子、包含本发明CAR的载体和包含本发明CAR的细胞，例如，如本文所述。在某些实施方案中，所述疾病是血液癌症，例如，如本文所述。在一些实施方案中，所述疾病选自：急性白血病，包括但不限于急性髓性白血病(AML)、急性淋巴母细胞性白血病(ALL)、急性淋巴母细胞性B细胞白血病(B细胞急性淋巴细胞性白血病，BALL)、急性淋巴母细胞性T细胞白血病(T细胞急性淋巴细胞性白血病，TALL)、脊髓发育不良综合征、骨髓增生性肿瘤、组织细胞性疾病(例如肥大细胞疾病或母细胞性浆细胞样树状细胞肿瘤)；肥大细胞疾病，例如系统性肥大细胞增多症或肥大细胞白血病；慢性髓性白血病(CML)；或母细胞性浆细胞样树状细胞瘤。

[0118] 前述组合物和方法的额外特征和实施方案包括以下一者或多者：

[0119] 在某些实施方案中，CD123 CAR分子(例如，如本文所述的CD123 CAR核酸或CD123 CAR多肽)，或如本文所述的CD123结合结构域，包含表3中提供的1、2或3个来自重链可变区的CDR(例如，HC CDR1、HC CDR2和/或HC CDR3)；和/或表4中提供的1、2或3个来自轻链可变区的CDR(例如，LC CDR1、LC CDR2和/或LC CDR3)例如，表3或4中提供的CAR123-1、CAR123-2、CAR123-3、CAR123-4的1、2或3个HC CDR1、HC CDR2或HC CDR3，和/或1、2或3个LC CDR1、LC CDR2或LC CDR3)；或与前述任何序列基本上同一(例如，95-99％同一，或多至5、4、3、2或1个氨基酸变化，例如置换(例如，保守性置换))的序列。

[0120] 在某些实施方案中，CD123 CAR分子(例如，如本文所述的CD123 CAR核酸或CD123 CAR多肽)，或如本文所述的抗CD123抗原结合结构域，包含表10中提供的1、2或3个来自重链可变区的CDR(例如，HC CDR1、HC CDR2和/或HC CDR3)；和/或表11中提供的1、2或3个来自轻链可变区的CDR(例如，表10或11中提供的CAR123-1、CAR123-2、CAR123-3、CAR123-4的1、2或3个HC CDR1、HC CDR2或HC CDR3，和/或1、2或3个LC CDR1、LC CDR2或LC CDR3)；或与前述任何序列基本上同一(例如，95-99％同一，或多至5、4、3、2或1个氨基酸变化，例如置换(例如，保守性置换))的序列。

[0121] 在某些实施方案中，CD123 CAR分子或CD123抗原结合结构域包含表12中提供的1、2或3个来自重链可变区的CDR(例如，HCDR1、HCDR2和/或HCDR3)；和/或表13中提供的1、2或3个来自轻链可变区的CDR(例如，表12或13中提供的CAR123-1、CAR123-2、CAR123-3、CAR123-4的1、2或3个HC CDR1、HC CDR2或HC CDR3，和/或1、2或3个LC CDR1、LC CDR2或LC CDR3)；或

与前述任何序列基本上同一(例如,95-99%同一,或多至5、4、3、2或1个氨基酸变化,例如置换(例如,保守性置换))的序列。

[0122] 在某些实施方案中,CD123 CAR分子或CD123抗原结合结构域包括

[0123] (i)表2、6或表9中列出的任何CD123轻链结合结构域氨基酸序列的LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3,或表4、表8、表11或表13中的LC CDR。

[0124] (ii)表2、6或表9中列出的任何CD123重链结合结构域氨基酸序列的HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3,或表3、表7、表10或表12中的HC CDR。

[0125] 在某些实施方案中,CD123 CAR分子(例如,如本文所述的CD123 CAR核酸或CD123 CAR多肽)或如本文所述的抗CD123抗原结合结构域包括:

[0126] (1)选自以下之一的一个、两个或三个轻链(LC)CDR:

[0127] (i)CAR123-1的SEQ ID NO:418的LC CDR1、SEQ ID NO:446的LC CDR2和SEQ ID NO:474的LC CDR3;

[0128] (ii)CAR123-2的SEQ ID NO:419的LC CDR1、SEQ ID NO:447的LC CDR2和SEQ ID NO:475的LC CDR3;

[0129] (iii)CAR123-3的SEQ ID NO:420的LC CDR1、SEQ ID NO:448的LC CDR2和SEQ ID NO:476的LC CDR3;

[0130] (iv)CAR123-4的SEQ ID NO:421的LC CDR1、SEQ ID NO:449的LC CDR2和SEQ ID NO:477的LC CDR3;和/或

[0131] (2)选自以下之一的一个、两个或三个重链(HC)CDR:

[0132] (i)CAR123-1的SEQ ID NO:334的HC CDR1、SEQ ID NO:362的HC CDR2和SEQ ID NO:390的HC CDR3;

[0133] (ii)CAR123-2的SEQ ID NO:335的HC CDR1、SEQ ID NO:363的HC CDR2和SEQ ID NO:391的HC CDR3;

[0134] (iii)CAR123-3的SEQ ID NO:336的HC CDR1、SEQ ID NO:364的HC CDR2和SEQ ID NO:392的HC CDR3;

[0135] (iv)CAR123-4的SEQ ID NO:337的HC CDR1、SEQ ID NO:365的HC CDR2和SEQ ID NO:393的HC CDR3。

[0136] 在某些实施方案中,CD123 CAR分子(例如,如本文所述的CD123 CAR核酸或CD123 CAR多肽)或如本文所述的抗CD123抗原结合结构域包括:

[0137] (1)选自以下之一的一个、两个或三个轻链(LC)CDR:

[0138] (i)CAR123-1的SEQ ID NO:501的LC CDR1、SEQ ID NO:506的LC CDR2和SEQ ID NO:511的LC CDR3;

[0139] (ii)CAR123-2的SEQ ID NO:502的LC CDR1、SEQ ID NO:507的LC CDR2和SEQ ID NO:512的LC CDR3;

[0140] (iii)CAR123-3的SEQ ID NO:503的LC CDR1、SEQ ID NO:508的LC CDR2和SEQ ID NO:513的LC CDR3;

[0141] (iv)CAR123-4的SEQ ID NO:504的LC CDR1、SEQ ID NO:509的LC CDR2和SEQ ID NO:514的LC CDR3;和/或

[0142] (2)选自以下之一的一个、两个或三个重链(HC)CDR:

[0143] (i)CAR123-1的SEQ ID NO:486的HC CDR1、SEQ ID NO:491的HC CDR2和SEQ ID NO:496的HC CDR3；

[0144] (ii)CAR123-2的SEQ ID NO:487的HC CDR1、SEQ ID NO:492的HC CDR2和SEQ ID NO:497的HC CDR3；

[0145] (iii)CAR123-3的SEQ ID NO:488的HC CDR1、SEQ ID NO:493的HC CDR2和SEQ ID NO:498的HC CDR3；

[0146] (iv)CAR123-4的SEQ ID NO:489的HC CDR1、SEQ ID NO:494的HC CDR2和SEQ ID NO:499的HC CDR3。

[0147] 在某些实施方案中,CD123 CAR分子(例如,如本文所述的CD123 CAR核酸或CD123 CAR多肽)或如本文所述的抗CD123抗原结合结构域包括：

[0148] (1)选自以下之一的一个、两个或三个轻链(LC)CDR：

[0149] (i)CAR123-1的SEQ ID NO:531的LC CDR1、SEQ ID NO:536的LC CDR2和SEQ ID NO:541的LC CDR3；

[0150] (ii)CAR123-2的SEQ ID NO:532的LC CDR1、SEQ ID NO:537的LC CDR2和SEQ ID NO:542的LC CDR3；

[0151] (iii)CAR123-3的SEQ ID NO:533的LC CDR1、SEQ ID NO:538的LC CDR2和SEQ ID NO:543的LC CDR3；

[0152] (iv)CAR123-4的SEQ ID NO:534的LC CDR1、SEQ ID NO:539的LC CDR2和SEQ ID NO:544的LC CDR3;和/或

[0153] (2)选自以下之一的一个、两个或三个重链(HC)CDR：

[0154] (i)CAR123-1的SEQ ID NO:516的HC CDR1、SEQ ID NO:521的HC CDR2和SEQ ID NO:526的HC CDR3；

[0155] (ii)CAR123-2的SEQ ID NO:517的HC CDR1、SEQ ID NO:522的HC CDR2和SEQ ID NO:527的HC CDR3；

[0156] (iii)CAR123-3的SEQ ID NO:518的HC CDR1、SEQ ID NO:523的HC CDR2和SEQ ID NO:528的HC CDR3；

[0157] (iv)CAR123-4的SEQ ID NO:519的HC CDR1、SEQ ID NO:524的HC CDR2和SEQ ID NO:529的HC CDR3。

[0158] 除非另外限定,否则本文中所用的全部技术与科学术语具有如本发明所属领域的普通技术人员通常理解的相同含义。尽管与本文所述的那些方法和材料相似或等同的方法和材料可以用于实施或检验本发明,然而现在描述合适的方法和材料。本文所提及的全部出版物、专利申请、专利和其他参考文献通过引用的方式完整地并入。此外,所述材料、方法和例子仅是说明性的并且不意在是限制性的。标题、副标题或编号或字母编号的要素,例如,(a)、b)、(i)等,仅为了易于阅读而展示。使用本文件中的标题或编号或字母编号的要素不要求步骤或要素按字母顺序进行并且该步骤或要素必然地彼此独立。本发明的其他特征、目的和优点将从本说明书及附图并且从权利要求书中显而易见。

[0159] 附图简述

[0160] 结合以下附图一起阅读时,将更好地理解本发明优选实施方案的以下详细描述。出于说明本发明的目的,图中显示了目前优选的实施方案。然而,应当理解本发明不限于图

中所示实施方案的精确安排和手段。

[0161] 图1显示了通过FACS评估的用抗CD123 CAR构建体转导的JNL细胞中CAR表达的图示，并报告为使用蛋白L作为检测试剂，显示高于未转导(CAR阴性)细胞中信号水平的信号的细胞百分比。

[0162] 图2包括图2A、2B和2C，显示了JNL细胞中CD123 CAR活性的图示。使用含有由NFAT启动子驱动的萤光素酶报告基因的Jurkat细胞系(称为JNL细胞)评估抗CD123 CAR构建体的活性。CAR活性测量为该NFAT驱动的报告基因的活性。

[0163] 图3显示原代T细胞中CD123 CAR表达的图示。通过使用蛋白L作为检测试剂，在BD LSRFortessa或BD-FACSCanto上的流式细胞术分析来测定(在细胞表面上表达抗CD123 CAR的)转导的细胞百分比及其相对荧光强度。来自该FACS的针对高于未染色细胞的信号的相对荧光强度的门控直方图显示了转导T细胞的百分比。转导导致一系列CAR阳性细胞，从12-42％。

[0164] 图4显示CD123-CART介导的细胞杀伤的图示。T细胞杀伤针对稳定表达萤光素酶的表达CD123的MOLM13急性髓性白血病细胞。未转导的T细胞用于测定非特异性背景杀伤水平。在效应细胞:靶细胞比率4:1和T细胞的2倍向下稀释物的范围内测量CART-CD123的溶细胞活性，其中效应细胞定义为表达抗CD123嵌合受体的T细胞。通过将合适数目的T细胞与恒定数目的靶细胞混合来开始测定。20小时后，使用EnVision仪器上的Bright-Glo™萤光素酶测定法测量萤光素酶信号。

[0165] 图5A和5B显示了使用CD123-CAR的T细胞的转导效率。图5A显示用1172和1176的T细胞的转导效率。图5B显示用CD123 CAR2-4的T细胞的转导效率。

[0166] 图6显示CD123 CAR 2-4和1172和1176的流式细胞术以确定CD4:CD8比率。

[0167] 图7(在图7-1、7-2和7-3中提供)显示了在暴露于CD123+肿瘤细胞后，CD123CAR 2-4和1172和1176的脱颗粒。

[0168] 图8显示了评估CART细胞(NVS 2-4、1172和1176克隆)对肿瘤靶细胞(MOLM14)的细胞毒性的萤光素酶测定法的图示。

[0169] 图9显示了注射表达萤光素酶的MOLM14细胞的NSG小鼠中，在第6天(在CART注射之前)和在第13天(注射NVS 2-4、1172或1176克隆6天后)或在第20天的肿瘤负荷比较。

[0170] 图10显示了霍奇金淋巴瘤细胞系HDLM-2中的CD30和CD123的表达。

[0171] 图11A和11B显示了通过检测dsRed(通过T2A共表达的CD123的替代标志物)，转导pELNS抗CD123-41BB-CD3ζ的T细胞中CD123 CAR的表达。通过流式细胞术检测dsRed。

[0172] 图12显示了4种霍奇金淋巴瘤细胞系(HDLM2、KMH2、L428、SUPHD1)，CD123+MOLM14(阳性对照)和A375(阴性对照)中CD123表达的Q-PCR。GUSB用作持家基因。Ct阈值为40。

[0173] 图13显示了IL3抗体对霍奇金淋巴瘤的体内模型的影响。用表达萤光素酶的HDLM-2细胞系移植过表达人细胞因子包括IL-3的NOD-SCID-γ链KO小鼠(NSG-S小鼠)。静脉内注射后，肿瘤细胞逐渐形成弥散的软组织块。中和性抗IL3抗体的连续注射减缓了肿瘤的生长。

[0174] 图14显示了CD107a脱颗粒测定法。在抗CD28、抗CD49d抗体和莫能菌素存在下，将未转染的T细胞(UTD)或CART123与HDLM-2(CD123+HL细胞系)以5个靶细胞对1个T细胞的比率孵育4小时。抗CD30 CAR T细胞用作另外的对照。CART123但不是UTD显示了增加的CD107a

脱颗粒，如通过流式细胞术检测到的。

[0175] 图15显示了图20所示的脱颗粒测定法的图示。

[0176] 图16证明表达CD123 CAR的T细胞显示了胞质内细胞因子产生(IL-2，TNF)的显著增加。

[0177] 图17证明CART123而不是UTD显示出剂量依赖性杀伤，如通过基于萤光素酶的24小时杀伤测定法中生物发光发射的减少所示。T细胞与萤光素酶+HDML-2细胞以不同比例(0.3:1-10:1)共孵育。

[0178] 图18显示了当在增殖测定法中与霍奇金淋巴瘤细胞系共培养时，CART123和CART30细胞、而不是UTD显示了稳健的增殖。在5天T细胞增殖测定法中，T细胞与HL细胞系(CD123+)或对照(Jurkat CD123-、MOLM-14 CD123+)或PMA/离子霉素(阳性对照)或细胞培养基(阴性对照)孵育。

[0179] 图19包括图19A、19B、19C和19D，显示了CART123诱导稳健产生IFNg(图19A)、IL-2(图19B)、TNFα(图19C)和MIP1b MFI(图19D)，显示了发光MFI。

[0180] 图20显示了霍奇金淋巴瘤的体内模型的示意图。将1百万个萤光素酶+HDLM-2细胞在第0天静脉内注射。然后进行所示的连续生物发光成像(BLI)以观察肿瘤水平。在第7天观察到低水平的肿瘤，随后在经过约6周肿瘤负荷逐渐增加，再现了人疾病的惰性。在第43天，当肿瘤负荷高于基线20倍时，用150万个CART123细胞或对照T细胞处理小鼠。

[0181] 图21显示了根据图28中的示意图，在注射CART123细胞、对照T细胞后的小鼠或未处理的小鼠中、在天数下检测HDLM-2的BLI。

[0182] 图22显示了根据图28所示的示意图处理的小鼠的存活，CART123在14天内诱导完全和持久根除扩散的肿瘤，导致6个月时100％无复发和100％总体存活。

[0183] 图23显示了通过流式细胞术在连续外周血采血中检测到的肿瘤消除和广泛的CAR T细胞扩增之间的关联。扩增的T细胞为约50％CD8和50％CD4细胞。随着肿瘤负荷减小，T细胞数随时间而收缩。

[0184] 图24是条形图，包括图24A、24B和24C，显示了当与靶细胞MOLM13、PL21和U87以指定比率培养时，表达CAR123构建体(CD123-2、CD123-3和CD123-4)的T细胞产生的细胞因子。图24A显示IL-2的产生；图24B显示IFN-γ的产生；和图24C显示TNF-α的产生。

[0185] 图25是条形图，其显示了当存在靶细胞MOLM13(其表达CD123)、K562-人CD123(其表达人CD123)或K562(其不表达CD123)时，培养慢病毒转导的表达CAR123-2(LV CAR123-2)或对照抗GH的T细胞的增殖能力。

[0186] 图26包括图26A、26B和26C，显示了慢病毒转导的表达CAR123 CAR(LV CAR123-2)或对照(抗GH)的T细胞或未转导的细胞(UTD)在各种靶细胞：效应细胞比率下杀死靶细胞的能力，其中靶细胞是表达CD123的MOLM13(图26A)或PL21(图26B)细胞，或CD123阴性的U87细胞(图26C)。

[0187] 图27是包括图27A和27B的图，显示了当在靶细胞MOLM13(其表达CD123)和U87(其不表达CD123)存在下培养时，表达CAR123(LV CAR123-2)或对照(抗GH)的慢病毒转导的T细胞产生的细胞因子的图。图27A显示IFNγ和TNFα的细胞因子产生；图27B显示IL-2的细胞因子产生。

[0188] 图28显示了霍奇金淋巴瘤的体内小鼠模型中的肿瘤负荷，其中对携带肿瘤的小鼠

施用表达各种CAR123构建体的T细胞:1172、1176、NVS2(本文也称为CAR123-2)、NVS3(本文也称为CAR123-3)和NVS4(本文也称为CAR123-4)。测量第6天、第14天、第20天和第27天的肿瘤负荷,并通过生物发光成像(BLI)测量和表示。

[0189] 图29显示了体内小鼠模型中的肿瘤负荷,其中对携带肿瘤的小鼠施用从慢病毒载体(CART123 LV)转导的表达CAR123-2的T细胞、作为RNA转导的CAR123-2(CART123 RNA(NVS))、和作为RNA转导的工具CAR123(CART123 RNA(Penn))。未转导的T细胞用作对照(UTD)。肿瘤负荷由生物发光成像(BLI)单位表示。

[0190] 图30包括图30A、30B、30C和30D,显示了体内小鼠模型中肿瘤的生物发光成像。图30A显示了施用未转导细胞的小鼠;图30B显示了施用表达RNA CAR123-2的T细胞的小鼠;图30C显示了施用慢病毒转导的表达CAR123-2的T细胞的小鼠;图30D显示了施用表达RNA工具CAR123的T细胞的小鼠。

[0191] 图31包括图31A、31B、31C、31D、31E和31F,显示了CART19治疗后CD123在CD19阴性B细胞急性淋巴细胞性白血病复发发生中高度表达。图31A显示了在42个复发/难治的ALL样品中CD123与CD19相比的表达。图31B显示了B-ALL母细胞(blast)中CD123和CD19的共表达。在母细胞(SSC低、单峰、活、CD45暗淡)上门控。图31C显示了白血病干细胞(LSC)的门控策略。CD123在该亚群中高度表达。图32D显示了CD123和CD19共表达和来自FISH分析的结果。图31E和31F显示了在基线或复发后CD19和CD123表达的比较。

[0192] 图32包括图32A、32B、32C、32D、32E和32F,显示了使用表达CD19 CAR(CAR19)或CD123 CAR(CAR123)的T细胞的各种体外测定的结果。图32A显示了CD19和CD123表达;图32B显示了CD107a脱颗粒测定;图32C显示了靶细胞杀伤的能力;图32D和E显示增殖能力;图32F显示了指定细胞因子的细胞因子产生。

[0193] 图33包括图33A、33B和33C,显示了表达CD19 CAR(CAR19)或CD123CAR(CAR123)的CART细胞在体内小鼠模型中具有抗肿瘤效果。图33A显示了由生物发光成像表示的肿瘤负荷;图33B显示了接受CART治疗的小鼠的总生存曲线;图33C显示了外周血中CART123细胞的扩增。

[0194] 图34包括图34A、34B、34C、34D、34E和34F,显示了CART123在抗原缺失复发的体内小鼠模型中是有活性的。图34A显示了实验方案;图34B显示了由生物发光成像所表示的疾病进展,对于CD19表达的基线和复发疾病(上图)和响应于CART19疗法治疗(下图);图34C显示了施用未转导的T细胞或CART19细胞的小鼠的生物发光图像;图34D显示了用CART19或CART123治疗的实验方案;图34E显示了疾病进展;图34F显示了经治疗的小鼠的总体存活。

[0195] 图35包括图35A、35B和35C,显示了异种移植小鼠的颅骨骨髓中的ALL-CART相互作用。图35A示出了实验方案;图35B显示了CART19细胞和CART123细胞的代表性多光子XY平面图像,所述细胞与被设计为表达CD19和CD123或单独表达CD123的ALL肿瘤相互作用(可移动细胞用虚线圈表示,非可移动细胞用箭头表示);图35C是显微镜图像的图形表示。

[0196] 图36包括图36A、36B和36C,显示了使用CART19和CART123预防CD19阴性的复发。图36A显示了实验方案;图36B显示了用未转导的T细胞(上图)、CART19(中图)或CART19和CART123的组合(下图)治疗的小鼠的疾病进展(由BLI表示肿瘤负荷);图36C显示了来自该实验的总体存活。

[0197] 图37包括图37A和37B,显示了表达CAR19和CAR123的T细胞(图37A)和脱颗粒测定

的结果(图37B)。

[0198] 图38包括图38A和38B,显示了ALL母细胞(blast)的特征。图38A显示了各种标志物CD19、CD123、CD10、CD34和CD20的表达;图38B显示了用于分选CD19-CD123+细胞的门控策略。

[0199] 图39包括图39A、39B、39C和39D,显示了CART123的抗白血病活性。图39A显示CD19和CD123在NALM6细胞上的表达;图39B显示了响应CART19或CART123治疗的肿瘤负荷(由BLI表示);图39C显示了施用CART19或CART123的小鼠的总体存活;和图39D显示了施用不同剂量的CART123的小鼠的总体存活。

[0200] 图40包括图40A和40B,显示了抗原缺失复发的体内模型的特征。图40A显示了在CD19阴性复发疾病中CD123的表达;图40B显示当与基线或复发细胞体外培养时CART19或CART123细胞的脱颗粒测定。

[0201] 图41包括图41A、41B和41C,显示了或在原代AML细胞上PD1L1的表达(图41A)、和在T细胞上PD1的表达(图41B)和TIM3的表达(图41C)。

[0202] 图42包括图42A、42B、42C和42D,显示了在CD8+T细胞上免疫检查点PD1(图42A)、TIM3(图42B)、LAG3(图42C)和CTLA4(图42D)的表达。

[0203] 图43显示了AML基线(左)和复发(右)样品上的TIM3表达的流式细胞术分析。

[0204] 图44显示了CART123治疗后与用未转导(UTD)细胞处理相比的肿瘤负荷(由生物发光成像表示,光子/秒)。

[0205] 图45显示了在CD123治疗后缓解或在复发后异种移植中T细胞上的TIM3和PD1的表达。

[0206] 图46包括图46A和46B,显示了与检查点抑制剂(例如PD1、TIM3的抑制剂,以及PD1和TIM3的抑制剂组合或TIM3和CEACAM-1的抑制剂的组合)共培养后来自复发小鼠的骨髓的特征。在PMA/IONO不存在(图46A)或存在(图46B)的情况下检测的表达GMCSF、IFNg、Ki67和MIP1b的T细胞的百分比。

[0207] 图47显示了用未转导的细胞和PD1抑制剂或TIM3抑制剂治疗的AML异种移植的实验方案。

[0208] 图48显示了图47所示实验的肿瘤负荷(由BLI表示,光子/秒)。

[0209] 图49显示了用CART123组合TIM3和/或PD1抑制剂治疗AML异种移植的实验方案。

[0210] 图50包括图50A、50B、50C和50D,显示了图49中所示的实验的肿瘤负荷(由BLI表示,光子/秒)。图50A将CART123与CART123和PD1抑制剂的组合进行了比较;图50B比较了CART123与CART123和PD1抑制剂和TIM3抑制剂的组合;图50C比较了CART123与CART123和TIM3抑制剂的组合,图50D显示了图50A-C中呈现的数据的代表性曲线。

[0211] 图51包括51A、51B、51C、51D和51E,显示了单个载体上的各种布局,例如,其中U6调节的shRNA位于EF1α调节的CAR编码元件上游或下游。在图51A和图51B绘制的示例性构建体中,通过处于相同方向的U6和EF1α启动子发生转录。在图51C和图51D绘制的示例性构建体中,通过处于不同方向的U6和EF1α启动子发生转录。在图51E中,shRNA(和相应U6启动子)在第一载体上,并且CAR(和相应的EF1α启动子)在第二载体上。

[0212] 图52描述了两个示例性RCAR布局的结构。抗原结合构件包含抗原结合结构域、跨膜结构域和开关结构域。胞内结合构件包含开关结构域、共刺激信号结构域和初级信号结

构域。这两个布局显示，本文所述的第一和第二开关结构域可以相对于抗原结合构件和胞内结合构件处于不同取向。本文进一步描述了其他RCAR布局。

[0213] 图53显示，在细胞培养系统中通过低剂量RAD001增强表达CAR的转导的T细胞增殖。将CART与Nalm-6细胞在不同浓度的RAD001存在下共培养。在共培养4天后评估CAR阳性CD3阳性T细胞(黑色)和总T细胞(灰色)的数目。

[0214] 图54描述了每日按0.3、1、3和10mg/kg(mpk)给予RAD001或给予运载体时NALM6-luc细胞的肿瘤生长量值。圆圈表示运载体；方块表示RAD001的10mg/kg剂量；三角形表示RAD001的3mg/kg剂量，倒三角形表示RAD001的1mg/kg剂量；并且菱形表示RAD001的0.3mg/kg剂量。

[0215] 图55包括图55A和图55B，显示药代动力学曲线，所述曲线显示携有NALM6肿瘤的NSG小鼠的血液中的RAD001量。图55A显示首剂RAD001后的第0日PK。图55B显示末剂RAD001后的第14日PK。菱形表示RAD001的10mg/kg剂量；方块表示RAD001的1mg/kg剂量；三角形表示RAD001的3mg/kg剂量；并且x表示RAD001的10mg/kg剂量。

[0216] 图56包括图56A和图56B，显示在给予或不给予RAD001的情况下，人源化CD19 CART细胞的体内增殖。每日低剂量的RAD001(0.003mg/kg)导致CAR T细胞增殖增强，高于huCAR19增殖的正常水平。图56A显示CD4+ CAR T细胞；图56B显示CD8+ CAR T细胞。圆圈表示PBS；方块表示huCTL019；三角形表示RAD001为3mg/kg的huCTL019；倒三角形表示RAD001为0.3mg/kg的huCTL019；菱形表示RAD001为0.03mg/kg的huCTL019；并且圆圈表示RAD001为0.003mg/kg的huCTL019。

[0217] 图57是用于在终止CART123活性的策略中表达CAR123和CD20的慢病毒载体的载体图，其中CAR123序列和CD20序列通过P2A序列连接。

[0218] 图58显示了与CART123 P2A CD20细胞相比的CART123细胞的CD107脱颗粒测定的结果。

[0219] 图59包括图59A、59B、59C和59D，显示了与CART123 P2A CD20细胞相比的CART123细胞产生的GM-CSF(图59A)、TNFα(图59B)、IFNγ(图59C)和IL-2(图59D)。

[0220] 图60显示了当以所示的效应细胞:靶细胞比率孵育时，CART123细胞与CART123 P2A CD20细胞相比的细胞毒性能力(由％特异性裂解表示)。

[0221] 图61包括图61A和61B，显示在CART123细胞(图61A)和CART123 P2A CD20细胞(图61B)上用指定剂量的利妥昔单抗处理后的T细胞消耗。

[0222] 图62显示在15％补体存在下用指定剂量的利妥昔单抗对CART123 P2A CD20细胞处理后的T细胞消耗。

[0223] 图63包括图63A和63B，证明了表达CAR19和CAR123的双CART细胞的策略。图63A是包含通过P2A序列连接的CAR19和CAR123的载体图。图63B显示了表达CAR19、CAR123(Q3)和表达CAR19(Q1)和CAR123(Q2)二者的细胞百分比。

[0224] 图64包括图64A和64B，证明了表达CAR19和CAR123的分拆的CART细胞策略。图64A是含有通过P2A序列连接的CAR19和CAR123的载体图。CAR19包括CD3ζ结构域，而CAR123包括4-1BB结构域。图64B显示了表达CAR19、CAR123(Q3)和表达CAR19(Q1)和CAR123(Q2)二者的细胞百分比。

[0225] 图65显示在原代HSC、AML和BPDCN样品上的CD123表达。

[0226] 图66包括图66A和66B，显示了当在表达CD123的靶细胞存在下以所示的效应细胞：靶比率孵育时，CART123克隆32716(图66A)和26292(图66A)的细胞毒性测定。

[0227] 图67显示了当与HSC孵育时，相比于BPDCN，CART123细胞的CD107脱颗粒测定。

[0228] 图68包括图68A和68B，显示了来自患有肥大细胞白血病/系统性肥大细胞增多症的患者血液的单个核细胞上的CD123表达，如通过同种型抗体作为对照(图68A)或CD123抗体(图68B)染色所检测的。

[0229] 图69包括图69A和69B，显示了CD107脱颗粒测定，其中CART123细胞单独与PMA和离子霉素培养(图69A)或与来自患有肥大细胞白血病/系统性肥大细胞增多症的患者血液的单个核细胞培养(图69B)。

[0230] 图70显示了在患有难治性或复发性AML的受试者中施用RNA CART123的临床研究中，受试者组1的实验方案。

[0231] 图71显示了在患有难治性或复发性AML的受试者中施用RNA CART123的临床研究中，受试者组2的实验方案。除了CART治疗之外，这些患者还接受一定剂量的淋巴减少的化疗。

[0232] 图72包括图72A、72B和72C，显示了在MOLM14异种移植模型中用慢病毒转导的CART123细胞治疗后，使用抗CD52抗体阿仑单抗(alemtuzumab)的T细胞消除的结果。在第1周给小鼠施用CART123细胞或未转导(UTD)的细胞。在第2周、第3周或第4周给接受CART123细胞的小鼠施用阿仑单抗，并评估肿瘤负荷，持续24周。在12周时引入“MOLM14”再攻击。图72A显示通过生物发光成像(光子/秒)检测的肿瘤负荷；图72B显示在外周血中检测到的CART细胞的百分比；图72C显示了总体生存。

[0233] 图73包括图73A和73B，显示了在儿科AML异种移植模型中用慢病毒转导的CART123细胞治疗后，使用阿仑单抗的T细胞消除的结果。在原代AML细胞植入(第0周)后6周，将CART123细胞或未转导(UTD)的细胞施用于小鼠。在第4周对接受CART123治疗的小鼠施用阿仑单抗。图73A显示通过生物发光成像(光子/秒)检测的肿瘤负荷；图73B显示在外周血中检测到的CART细胞的百分比。

[0234] 图74包括图74A和74B，显示了如图73中所进行的在CART123和阿仑单抗治疗后脾脏(图74A)和骨髓(图74B)中的AML细胞分析。

[0235] 图75显示了三种终止策略的比较：(1)通过阿仑单抗治疗的CART细胞消除；(2)T细胞中的CAR/CD20共表达和用利妥昔单抗消除；和(3)对AML异种移植模型的肿瘤负荷，用RNA电穿孔的CART细胞(由生物发光成像表示；光子/秒)。

[0236] 发明详述

[0237] 定义

[0238] 除非另外规定，否则本文中所用的全部术语及科学术语具有与本发明相关领域的技术人员通常理解的相同意义。

[0239] 术语“一个”和“一种”指该冠词的一个或多于一个(即，指至少一个)的语法对象。例如，“一个要素”意指一个要素或多于一个要素。

[0240] 当指可度量值如数量、时间持续期等时，术语“约”意在涵盖距指定值±20％的变动或在一些情况下±10％的变动或在一些情况下±5％的变动或在一些情况下±1％的变动或在一些情况下±0.1％的变动，因为这类变动适于开展所公开的方法。

[0241] 术语“嵌合抗原受体”或备选地“CAR”指至少包含胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和胞质信号结构域(本文也称作“胞内信号结构域”)的重组多肽构建体,所述胞质信号结构域包含从如下文定义的刺激分子衍生的功能性信号结构域。在一些实施方案中,CAR多肽构建体中的结构域处于相同的多肽链中,例如,包括嵌合融合蛋白。在一些实施方案中,CAR多肽构建体中的结构域彼此不邻接,例如,处于不同的多肽链中,例如,如在如本文所述的RCAR中提供。

[0242] 在一个方面,CAR的刺激分子是与T细胞受体复合物缔合的ζ链。在一个方面,胞质信号结构域包含初级信号结构域(例如,CD3-ζ的初级信号结构域)。在一个方面,胞质信号结构域还包含从至少一种如下文定义的共刺激分子衍生的一个或多个功能性信号结构域。在一个方面,共刺激分子选自4-1BB(即,CD137)、CD27、ICOS和/或CD28。在一个方面,CAR包含这样的嵌合融合蛋白,所述嵌合融合蛋白包含胞外抗原识别结构域、跨膜结构域和胞内信号结构域,所述胞内信号结构域包含从刺激分子衍生的功能性信号结构域。在一个方面,CAR包含这样的嵌合融合蛋白,所述嵌合融合蛋白包含胞外抗原识别结构域、跨膜结构域和胞内信号结构域,所述胞内信号结构域包含从共刺激分子衍生的功能性信号结构域和从刺激分子衍生的功能性信号结构域。在一个方面,CAR包含这样的嵌合融合蛋白,所述嵌合融合蛋白包含胞外抗原识别结构域、跨膜结构域和胞内信号结构域,所述胞内信号结构域包含两个从一种或多种共刺激分子衍生的功能性信号结构域和从刺激分子衍生的功能性信号结构域。在一个方面,CAR包含这样的嵌合融合蛋白,所述嵌合融合蛋白包含胞外抗原识别结构域、跨膜结构域和胞内信号结构域,所述胞内信号结构域包含至少两个从一种或多种共刺激分子衍生的功能性信号结构域和从刺激分子衍生的功能性信号结构域。在一个方面,CAR在CAR融合蛋白的氨基端(N-ter)包含任选的前导序列。在一个方面,CAR还在胞外抗原识别结构域的N末端包含前导序列,其中前导序列任选地在细胞加工和CAR定位至细胞膜期间从抗原识别结构域(例如,scFv)切下。

[0243] 包含抗原结合结构域(例如,scFv、单结构域抗体或TCR(例如,TCRα结合结构域或TCRβ结合结构域))的CAR也称作XCAR,所述抗原结合结构域特异性结合特异性肿瘤标志物X,其中X可以是如本文所述的肿瘤标志物。例如,包含特异性结合CD123的抗原结合结构域的CAR称作CD123 CAR。该CAR可以在任何细胞(例如,如本文所述的免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞))中表达。

[0244] 术语“信号结构域”指蛋白质的功能性部分,所述的功能性部分通过在细胞内部传输信息而发挥以下作用:通过产生第二信使或通过响应于这类信使作为效应子发挥功能,借助限定的信号传导途径调节细胞活性。

[0245] 如本文所用,术语“IL-3受体的α亚基”、“IL3Rα”、“CD123”、“IL3Rα链”和“IL3Rα亚基”可互换地指已知在白血病前体细胞上可检出的抗原决定簇。可以在公共数据库(如GenBank、UniProt和Swiss-Prot)中找到人和鼠氨基酸序列和核酸序列。例如,人IL3Rα的氨基酸序列可以在登录号NP 002174找到,并且编码人IL3Rα的核苷酸序列可以按登录号NM_005191找到。在一个方面,CAR的抗原结合部分识别并结合在CD123蛋白的胞外结构域内部的表位。在一个方面,CD123蛋白在癌细胞上表达。如本文所用,“CD123”包括这样的蛋白质,所述蛋白质包含全长野生型CD123的突变(例如,点突变)、片段、插入、缺失和剪接变体。

[0246] 如本文所用,术语“抗体”指衍生自与抗原特异性结合的免疫球蛋白分子的蛋白质

或多肽序列。抗体可以是多克隆或单克隆、多链或单链或完整的免疫球蛋白并且可以衍生自天然来源或衍生自重组来源。抗体可以是免疫球蛋白分子的四聚体。

[0247] 术语“抗体片段”指完整抗体或其重组变体的至少一个部分，并且指足以引起抗体片段对靶(如抗原)的识别和特异性结合的抗原结合结构域，例如，完整抗体的抗原确定性可变区。抗体片段的例子包括但不限于Fab、Fab'、F(ab')$_2$和Fv片段、scFv抗体片段、线性抗体、单结构域抗体如sdAb(VL或VH)、驼类(camelid)VHH结构域、和从抗体片段形成的多特异性抗体，如包含在铰链区由二硫键连接的两个Fab片段的双价片段，和抗体的分离的CDR或其他表位结合片段。也可以将抗原结合片段并入单结构域抗体、大抗体(maxibody)、微型抗体、纳米体、胞内抗体、双体抗体、三体抗体、四体抗体、v-NAR和双-scFv(参见，例如，Hollinger和Hudson,2005,Nature Biotechnology,23:1126-1136,2005)。也可以将抗原结合片段移植至基于多肽如纤连蛋白III型(Fn3)的支架中(参见美国专利号6,703,199,其描述纤连蛋白多肽微型抗体)。

[0248] 术语“scFv”指一种融合蛋白，其包含至少一个包含轻链可变区的抗体片段和至少一个包含重链可变区的抗体片段，其中轻链可变区和重链可变区借助柔性短多肽接头连续地连接，并且能够表达为单链多肽，并且其中scFv保留衍生它的完整抗体的特异性。除非另外指出，否则如本文所用，scFv可以具有按任何顺序(例如，相对于多肽的N末端和C末端)的VL可变区和VH可变区，scFv可以包含VL-接头-VH或可以包含VH-接头-VL。

[0249] 如本文所用，术语“互补决定区”或“CDR”指在抗体可变区内部赋予抗原特异性和结合亲和力的氨基酸序列。例如，在每个重链可变区中存在三种CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)并且在每个轻链可变区中存在三种CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)。可以使用多种熟知方案的任一者确定给定CDR的精确氨基酸序列界限，所述熟知方案包括由Kabat等人(1991)，”Sequences of Proteins of Immunological Interest”,第5版,Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD(“Kabat”编号方案)；Al-Lazikani等人,(1997)JMB273,927-948(“Chothia”编号方案)描述的那些或其组合。根据Kabat编号方案，在一些实施方案中，将重链可变结构域(VH)中的CDR氨基酸残基编号为31-35(HCDR1)、50-65(HCDR2)和95-102(HCDR3)；并且将在轻链可变结构域(VL)中的CDR氨基酸残基编号为24-34(LCDR1)、50-56(LCDR2)和89-97(LCDR3)。根据Chothia编号方案，在一些实施方案中，将VH中的CDR氨基酸编号为26-32(HCDR1)、52-56(HCDR2)和95-102(HCDR3)；并且将VL中的CDR氨基酸残基编号为26-32(LCDR1)、50-52(LCDR2)和91-96(LCDR3)。在组合的Kabat和Chothia编号方案中，在一些实施方案中，CDR对应于作为Kabat CDR、Chothia CDR或二者的部分的氨基酸残基。例如，在一些实施方案中，CDR对应于VH(例如，哺乳动物VH，例如，人VH)中的氨基酸残基26-35(HCDR1)、50-65(HCDR2)和99-102(HCDR3)以及VL(例如，哺乳动物VL，例如，人VL)中的氨基酸残基24-34(LCDR1)、50-56(LCDR2)和89-97(LCDR3)。

[0250] 包含抗体或其抗体片段的本发明CAR组合物的部分可以以多种形式存在，其中将抗原结合结构域表达为连续多肽链的部分，例如包括单结构域抗体片段(sdAb)、单链抗体(scFv)、和人源化或人抗体(Harlow等人,1999,引自:Using Antibodies:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory Press,NY;Harlow等人,1989,引自:Antibodies:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor,New York;Houston等人,1988,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879-5883;Bird等人,1988,Science 242:423-426)。在一个

方面，本发明CAR组合物的抗原结合结构域包含抗体片段。在又一个方面，CAR包含了包含scFv的抗体片段。

[0251] 如本文所用，术语“结合结构域”或“抗体分子”(本文中也称为“抗靶(例如CD123)结合结构域”)指包含至少一个免疫球蛋白可变结构域序列的蛋白质，例如，免疫球蛋白链或其片段。术语“结合结构域”或“抗体分子”涵盖抗体和抗体片段。在一个实施方案中，抗体分子是多特异性抗体分子，例如，它包含多个免疫球蛋白可变结构域序列，其中多个免疫球蛋白可变结构域序列的第一免疫球蛋白可变结构域序列具有针对第一表位的结合特异性并且多个免疫球蛋白可变结构域序列的第二免疫球蛋白可变结构域序列具有针对第二表位的结合特异性。在一个实施方案中，多特异性抗体分子是双特异性抗体分子。双特异性抗体对不多于两种抗原具有特异性。双特异性抗体分子以针对第一表位具有结合特异性的第一免疫球蛋白可变结构域序列和针对第二表位具有结合特异性的第二免疫球蛋白可变结构域序列为特征。

[0252] 术语“抗体重链”指以其天然存在构象在抗体分子中存在的两种类型多肽链中的较大者，其在正常情况下决定抗体所属的类别。

[0253] 术语“抗体轻链”指以其天然存在构象在抗体分子中存在的两种类型多肽链中的较小者。κ(κ)轻链和λ(λ)轻链指两个主要的抗体轻链同种型。

[0254] 术语“重组抗体”指使用重组DNA技术生成的抗体，例如，通过噬菌体或酵母表达系统表达的抗体。本术语应当还解释为意指已经通过合成编码抗体并且表达抗体蛋白的DNA分子或通过合成特定抗体的氨基酸序列而产生的抗体，其中已经使用本领域可获得的和熟知的重组DNA或氨基酸序列技术获得DNA或氨基酸序列。

[0255] 术语“抗原”或“Ag”指激发免疫应答的分子。这种免疫应答可以涉及抗体产生、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，任何大分子，实际上包括全部蛋白质或肽，均能充当抗原。另外，抗原可以衍生自重组DNA或基因组DNA。技术人员将会理解，包含编码蛋白质的核苷酸序列或部分核苷酸序列的任何DNA因此编码如本文所用本术语那样的“抗原”，其中所述蛋白质激发免疫应答。另外，本领域技术人员将会理解，抗原不必完全由基因的全长核苷酸序列编码。轻易显而易见的是，本发明包括但不限于使用多于一种基因的部分核苷酸序列并且这些核苷酸序列按多种组合布置以编码激发所需免疫应答的多肽。另外，技术人员将会理解，抗原完全不必要由“基因”编码。轻易显而易见的是，抗原可以合成生成或可以衍生自生物样品、或除多肽外还可能是大分子。这种生物样品可以包括但不限于具有其他生物学组分的组织样品、肿瘤样品、细胞或流体。

[0256] 术语“抗肿瘤作用”指可以通过多种手段展示的生物学效果，包括但不限于，例如，肿瘤体积减小、肿瘤细胞数目减少、转移灶数目减少、预期寿命增加、肿瘤细胞增殖减少、肿瘤细胞存活减少或与癌状况相关的多种生理症状改善。“抗肿瘤作用”也可以通过本发明的肽、多核苷酸、细胞和抗体防止肿瘤在首发位置出现的能力展示。

[0257] 术语“抗癌作用”指可以通过多种手段展示的生物学效果，包括但不限于，例如，肿瘤体积减小、癌细胞数目减少、转移灶数目减少、预期寿命增加、癌细胞增殖减少、癌细胞存活减少或与癌状况相关的多种生理症状改善。“抗癌作用”也可以通过肽、多核苷酸、细胞和抗体防止癌在首发位置出现的能力展示。

[0258] 术语“抗肿瘤作用”指可以通过多种手段展示的生物学效果，包括但不限于，例如，

肿瘤体积减小、肿瘤细胞数目减少、肿瘤细胞增殖减少或肿瘤细胞存活减少。

[0259] 术语“自体的”指这样的任何物质，所述物质从稍后将向个体再次引入所述物质的相同个体衍生。

[0260] 术语“同种异体的”指这样的任何物质，所述物质从与引入所述物质的个体相同的物种的不同动物衍生。当一个或多个基因座处的基因不相同时，两位或更多位个体据称彼此是同种异体的。在一些方面，来自相同物种的个体的同种异体物质可以在遗传上足够地不相似以发生抗原性相互作用。

[0261] 术语“异种的”指从不同物种的动物衍生的移植物。

[0262] 如本文所用的术语“单采血液成分术”指本领域认可的体外方法，借助所述方法，供体或患者的血液从供体或患者取出并且穿过这样的装置，所述装置分离选择的特定组分并将剩余部分返回供体或患者的循环，例如，通过再输血。因此，在“单采样品”的语境中，指使用单采血液成分术获得的样品。

[0263] 术语“组合”指在一个剂量单位形式中的固定组合或联合施用，其中本发明的化合物和组合配偶体(例如另一种如下解释的药物，也称作“治疗剂”或“辅剂”)可以在相同时间独立地施用或在各时间间隔内部分别施用，特别地其中这些时间区间允许联合配偶物显示合作性例如协同效应。单一组分可以在试剂盒中包装或独立包装。可以将组分中一者或两者(例如，粉末或液体)在施用之前重构或稀释到所需的剂量。如本文中所用的术语“共施用”或“组合施用”等意在涵盖施用选择的组合配偶体至有需要它的单一受试者(例如患者)，并且是意在包括其中药物不必然地通过相同施用途径或同时施用的治疗方案。如本文所用的术语“药物组合”意指因混合或合并多于一种有效成分产生的产品并且包括有效成分的固定组合和非固定组合。术语“固定组合”意指有效成分，例如本发明的化合物和组合配偶体，均以单一实体或剂量同时地施用至患者。术语“非固定组合”意指有效成分，例如本发明的化合物和组合配偶体，均作为独立实体同时、同步或无特定时间限制下依次施用至患者，其中这类施用在患者身体内提供治疗有效水平的两种化合物。后者还适用于鸡尾酒治疗，例如施用三种或更多种有效成分。

[0264] 术语“癌症”指异常细胞快速且失控生长为特征的疾病。癌细胞可以局部地或通过血流和淋巴系统扩散到身体其他部分。本文中描述了多种癌症的例子并且它们包括但不限于乳腺癌、前列腺癌、卵巢癌、宫颈癌、皮肤癌、胰腺癌、结直肠癌、肾癌、肝癌、脑癌、淋巴瘤、白血病、肺癌等。术语“肿瘤”和“癌症”在本文中互换地使用，例如，两种术语涵盖实体瘤和液体肿瘤，例如，弥散型或循环型肿瘤。如本文所用，术语“癌症”或“肿瘤”包括恶变前以及恶性癌症和肿瘤。

[0265] “从…衍生”如该术语在本文中所用那样，表示第一分子和第二分子之间的关系。它通常指在第一分子和第二分子之间的结构相似性并且不暗示或不包括对衍生自第二分子的第一分子的过程限制或来源限制。例如，在衍生自CD3ζ分子的胞内信号结构域情况下，胞内信号结构域保留足够的CD3ζ结构，从而具有需要的功能，即，在适宜条件下产生信号的能力。它不暗示或不包括限制产生胞内信号结构域的特定过程，例如，它不意指，为了提供胞内信号结构域，必须始于CD3ζ序列并删除不想要的序列，或赋予突变，以实现胞内信号结构域。

[0266] 如本文所用的短语“与表达CD123相关的疾病”包括但不限于与表达CD123相关的

疾病或与表达CD123(例如,野生型或突变CD123)的细胞相关的病状,包括例如增生性疾病,如癌症或恶性肿瘤;癌前期疾病如脊髓发育不良、脊髓发育不良综合征或白血病前期;或与表达CD123(例如,野生型或突变CD123)的细胞相关的非癌症相关适应征。在一个方面,与CD123(例如,野生型或突变CD123)表达相关的癌症是血液癌症。在一个方面,疾病包括AML、ALL、毛细胞白血病、幼淋巴细胞白血病、慢性髓性白血病(CML)、霍奇金淋巴瘤、母细胞性浆细胞样树突细胞肿瘤、淋巴细胞性B细胞白血病(B细胞急性淋巴细胞性白血病,BALL)、急性淋巴母细胞性T细胞白血病(T细胞急性淋巴细胞性白血病,TALL)、脊髓发育不良综合征、骨髓增生性肿瘤、组织细胞性病状(例如肥大细胞疾病或母细胞性浆细胞样树突细胞肿瘤)、肥大细胞疾病,例如,系统性肥大细胞增多症或肥大细胞白血病,等等。与CD123表达相关的其它疾病包括但不限于例如非典型和/或非经典癌症、恶性肿瘤、癌前病症或与CD123表达相关的增殖性疾病。还可以包括与CD123表达相关的非癌相关适应症。

[0267] 在一些实施方案中,表达肿瘤抗原(例如,CD123-或CD19-)的细胞表达或在任何时间表达过编码肿瘤抗原的mRNA。在一个实施方案中,表达肿瘤抗原(例如,CD123-或CD19-)的细胞产生肿瘤抗原蛋白(例如,野生型或突变体),并且肿瘤抗原蛋白可以按正常水平或减低的水平存在。在一个实施方案中,表达肿瘤抗原(例如,CD123-或CD19-)的细胞在一个时间点产生可检测水平的肿瘤抗原蛋白并且随后基本上不产生可检测的肿瘤抗原蛋白。

[0268] 术语“保守序列修饰”指未显著影响或改变含有氨基酸序列的抗体或抗体片段的结合特征的氨基酸修饰。这类种保守修饰包括氨基酸置换、添加和缺失。可以通过本领域已知的标准技术,如位点定向诱变和PCR介导的诱变向本发明的抗体或抗体片段引入修饰。保守性置换是氨基酸残基由具有相似侧链的氨基酸残基替换的氨基酸置换。已经在本领域中定义了具有相似侧链的氨基酸残基的家族。这些家族包括具有碱性侧链(例如,赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、酸性侧链(例如,天冬氨酸、谷氨酸)、不带电荷极性侧链(例如,甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸、色氨酸)、非极性侧链(例如,丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸)、β-侧链(例如,苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)和芳族侧链(例如,酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)的氨基酸。因而,可以将本发明CAR内部的一个或多个氨基酸残基替换为来自相同侧链家族的其他氨基酸残基,并且可以使用本文所述的功能测定法测试改变的CAR。

[0269] 术语“刺激”指由刺激分子(例如,TCR/CD3复合体)与其相应配体的结合所诱导的初次应答,所述初次应答因而介导信号转导事件,如,但不限于借助TCR/CD3复合体的信号转导。刺激可以介导某些分子改变的表达,如下调TGF-β和/或细胞骨架结构的再组织等。

[0270] 术语“刺激分子”指由提供初级胞质信号传导序列的T细胞表达的分子,所述的初级胞质信号传导序列在T细胞信号传导途径的至少某个方面以刺激性方式调节TCR复合体的初级活化。在一个方面,初级信号例如通过TCR/CD3复合体与载有肽的MHC分子的结合引发并且导致介导T细胞反应,包括但不限于增殖、活化、分化等。以刺激性方式发挥作用的初级胞质信号传导序列(也称作“初级信号结构域”)可以含有称作基于免疫受体酪氨酸的活化基序或ITAM的信号传导基序。含有在本发明中特别有用的ITAM的初级胞质信号传导序列的例子包括,但不限于衍生自TCRζ、FcRγ、FcRβ、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD5、CD22、CD79a、CD79b、CD278(也称作“ICOS”)、FcεRI、CD66d、DAP10和DAP12的那些。在本发明的具体CAR中,本发明的任一种或多种CAR中的胞内信号结构域包含胞内信号传导序列,例如,CD3-ζ的初

级信号传导序列。在本发明的具体CAR中，CD3-ζ的初级信号传导序列是作为SEQ ID NO:9提供的序列或来自非人类物种(例如，小鼠、啮齿类、猴、猿等)的等同残基。在本发明的具体CAR中，CD3-ζ的初级信号传导序列是在SEQ ID NO:10中提供的序列或来自非人类物种(例如，小鼠、啮齿类、猴、猿等)的等同残基。

[0271] 术语“抗原呈递细胞”或“APC”指在其表面上呈递与主要组织相容性复合体(MHC)复合的外来抗原的免疫系统细胞如佐细胞(例如，B细胞、树状细胞等)。T细胞可以使用其T细胞受体(TCR)识别这些复合物。APC加工抗原并将它们呈递至T细胞。

[0272] 如本文中所用那样，术语“胞内信号结构域”指分子的胞内部分。胞内信号结构域可以产生促进含CAR细胞(例如CART细胞或表达CAR的NK细胞)的免疫效应子功能的信号。例如在CART细胞或表达CAR的NK细胞中，免疫效应子功能的实例包括溶细胞活性和辅助活性，包括分泌细胞因子。在实施方案中，胞内信号结构域转导效应子功能信号并且指导细胞执行特化功能。尽管可以使用完整的胞内信号结构域，但在许多情况下不需要使用完整链。使用胞内信号结构域的截短部分到这样的程度，从而可以使用这种截短的部分替代完整链，只要它传导效应子功能信号即可。术语“胞内信号结构域”因此意在包括胞内信号结构域的足以传导效应子功能信号的任何截短部分。

[0273] 在一个实施方案中，胞内信号结构域可以包含初级胞内信号结构域。示例性初级胞内信号结构域包括从应答初级刺激或抗原依赖性刺激的分子衍生的那些结构域。在一个实施方案中，胞内信号结构域可以包含共刺激胞内结构域。示例性共刺激胞内信号结构域包括从应答共刺激信号或抗原非依赖性刺激的分子衍生的那些。例如，在表达CAR的免疫效应细胞(例如，CART细胞或表达CAR的NK细胞)的情况下，初级胞内信号结构域可以包含T细胞受体的胞质序列，并且共刺激胞内信号结构域可以包含来自共同受体或共刺激分子的胞质序列。

[0274] 初级胞内信号结构域可以包含称作基于免疫受体酪氨酸的活化基序或ITAM的信号传导基序。含有ITAM的初级胞质信号传导序列的例子包括但不限于衍生自CD3ζ、FcRγ、FcRβ、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD5、CD22、CD79a、CD79b、CD278(也称作“ICOS”)、FcεRI、CD66d、DAP10和DAP12的那些。

[0275] 术语“ζ”或备选地“ζ链”、“CD3-ζ”或“TCR-ζ”定义为作为GenBan登录号BAG36664.1提供的蛋白质或来自非人类物种(例如，小鼠、啮齿类、猴、猿等)的等同残基，并且“ζ刺激结构域”或备选地“CD3-ζ刺激结构域”或“TCR-ζ刺激结构域”定义为来自ζ链胞质结构域的氨基酸残基，所述氨基酸残基足以在功能上传播T细胞活化必需的初始信号。在一个方面，ζ的胞质结构域包含GenBank登录号BAG36664.1的残基52至残基164或作为其功能直向同源物的来自非人类物种(例如，小鼠、啮齿类、猴、猿等)的等同残基。在一个方面，“ζ刺激结构域”或“CD3-ζ刺激结构域”是作为SEQ ID NO:9提供的序列。在一个方面，“ζ刺激结构域”或“CD3-ζ刺激结构域”是作为SEQ ID NO:10提供的序列。

[0276] 术语“共刺激分子”指T细胞上与共刺激配体特异性结合，因而由T细胞介导共刺激反应(如但不限于增殖)的相应结合配偶体。共刺激分子是高效免疫应答要求的除抗原受体或其配体之外的细胞表面分子。共刺激分子包括但不限于：MHC I类分子、TNF受体蛋白、免疫球蛋白样蛋白质、细胞因子受体、整联蛋白、淋巴细胞活化信号分子(SLAM蛋白)、活化NK细胞受体、BTLA、Toll配体受体、OX40、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CDS、ICAM-1、LFA-1

(CD11a/CD18)、4-1BB(CD137)、B7-H3、CDS、ICAM-1、ICOS(CD278)、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM(LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、CD69、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a和与CD83特异性结合的配体。

[0277] 共刺激胞内信号结构域指共刺激分子的胞内部分。

[0278] 胞内信号结构域可以包含衍生它的分子的完整胞内部分或完整天然胞内信号结构域或其功能性片段。

[0279] 术语“4-1BB”指TNFR超家族成员,所述成员具有作为GenBank登录号AAA62478.2提供的氨基酸序列或来自非人类物种(例如,小鼠、啮齿类、猴、猿等)的等同残基;并且“4-1BB共刺激结构域”定义为GenBank登录号AAA62478.2的氨基酸残基214-255或来自非人类物种(例如,小鼠、啮齿类、猴、猿等)的等同残基。在一个方面,“4-1BB共刺激结构域”是作为SEQ ID NO:7提供的序列或来自非人类物种(例如,小鼠、啮齿类、猴、猿等)的等同残基。

[0280] 如该术语在本文中所用那样,术语“免疫效应细胞”指参与免疫应答,例如参与促进免疫效应子反应的细胞。免疫效应细胞的例子包括T细胞,例如,α/βT细胞和γ/δT细胞、B细胞、天然杀伤(NK)细胞、天然杀伤T(NKT)细胞、肥大细胞、和髓细胞衍生的吞噬细胞。

[0281] 如该术语在本文中所用那样,“免疫效应子功能或免疫效应子反应”指例如免疫效应细胞的增强或促进免疫攻击靶细胞的功能或应答。例如,免疫效应子功能或应答指促进杀伤靶细胞或抑制靶细胞生长或增殖的T细胞或NK细胞特性。在T细胞的情况下,初级刺激和共刺激是免疫效应子功能或应答的例子。

[0282] 术语“效应子功能”指细胞的特化功能。T细胞的效应子功能例如可以是溶细胞活性或辅助活性,包括分泌细胞因子。

[0283] 术语“编码”指多核苷酸如基因、cDNA或mRNA中特定核苷酸序列在生物学过程中充当合成具有定义的核苷酸序列(例如,rRNA、tRNA和mRNA)或定义的氨基酸序列的其他聚合物和大分子的模板的内在特性和因其产生的生物学特性。因此,如果与该基因相对应的mRNA的转录和翻译在细胞或其他生物系统中产生某蛋白质,则基因、cDNA或RNA编码该蛋白质。其核苷酸序列与mRNA序列相同并且通常在序列表中提供的编码链和作为基因或cDNA转录的模板使用的非编码链均可以称为编码该基因或cDNA的蛋白质或其他产物。

[0284] 除非另外说明,“编码氨基酸序列的核苷酸序列”包括彼此作为简并形式并编码相同氨基酸序列的全部核苷酸序列。短语编码蛋白质或RNA的“核苷酸序列”还可以包括内含子到这样的程度,从而编码蛋白质的核苷酸序列可以在某个形式中含有内含子。

[0285] 术语“有效量”或“治疗有效量”在本文中互换地使用并且指化合物、制剂、材料或组合物如本文所述那样有效实现特定生物学结果的量。

[0286] 术语”内源”指来自生物、细胞、组织或系统或在其内部产生的任何物质。

[0287] 术语”外源”指从生物、细胞、组织或系统外部引入或在其外部产生的任何物质。

[0288] 术语“表达”指受启动子驱动的特定核苷酸序列的转录和/或翻译。

[0289] 术语“转移载体”指物质组合物，所述物质组合物包含分离的核酸并且可以用来向细胞的内部递送分离的核酸。众多载体是本领域已知的，包括但不限于线性多核苷酸、与离子或两性化合物缔和的多核苷酸、质粒和病毒。因此，术语“转移载体”包括自主复制型质粒或病毒。该术语还应当解释成进一步包括促进核酸转移入细胞中的非质粒和非病毒化合物，例如，聚赖氨酸化合物、脂质体等。病毒转移载体的例子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、慢病毒载体等。

[0290] 术语“表达载体”指一种包含重组多核苷酸的载体，所述重组多核苷酸包含与待表达的核苷酸序列有效连接的表达控制序列。表达载体包含用于表达的足够顺式作用元件；其他表达用元件可以由宿主细胞或在体外表达系统中供应。表达载体包括本领域已知的全部那些表达载体，包括并入重组多核苷酸的粘粒、质粒(例如，裸露或含于脂质体中)和病毒(例如，慢病毒、逆转录病毒、腺病毒和腺相关病毒)。

[0291] 本文所用的术语“载体”是指可用于递送和/或表达核酸分子的任何载体。其可以是如本文所述的转移载体或表达载体。

[0292] 术语“慢病毒”指逆转录病毒科(Retroviridae)的一个属。慢病毒在逆转录病毒当中的独特之处在于能够感染非分裂性细胞；它们可以递送显著量的遗传信息至宿主细胞的DNA，从而它们是基因递送载体的最高效方法之一。HIV、SIV和FIV均是慢病毒的例子。

[0293] 术语“慢病毒载体”指从慢病毒基因组的至少一部分衍生的载体，尤其包括如Milone等人，Mol.Ther.17(8):1453-1464(2009)中提供的自我失活慢病毒载体。可以在临床使用的慢病毒载体的其他例子例如包括但不限于来自Oxford BioMedica的**LENTIVECTOR®**基因递送技术、来自Lentigen的LENTIMAX™载体系统等。非临床类型的慢病毒载体也是可获得的并且是本领域技术人员已知的。

[0294] 术语“同源的”或“同一性”指两个聚合物分子之间(例如，在两个核酸分子(如，两个DNA分子或两个RNA分子之间)或在两个多肽分子之间)的亚单位序列同一性。当这两个分子中的亚单位位置被相同单体性亚单位占据时，例如，若两个DNA分子的每个分子中的某位置被腺嘌呤占据，则它们在该位置是同源或同一的。两个序列之间的同一性直接随匹配位置或同源位置的数目而变化，例如，如果两个序列中一半位置(例如长度为10个亚单位的聚合物中的5个位置)是同源的，则这两个序列是50％同源的；如果90％的位置(例如10个位置中9个位置)是匹配或同源的，则这两个序列是90％同源的。

[0295] 非人类(例如，小鼠)抗体的“人源化”形式是含有从非人免疫球蛋白衍生的最少序列的嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白链或其片段(如抗体的Fv、Fab、Fab’、$F(ab')_2$或其他抗原结合子序列)。对大部分情况而言，人源化抗体及其抗体片段是这样的人免疫球蛋白(受者抗体或抗体片段)，其中来自所述受者的互补决定区(CDR)中的残基替换为来自非人类物种(供者抗体)如小鼠、大鼠或兔的具有所需特异性、亲和力和能力的CDR中的残基。在一些情况下，人免疫球蛋白的Fv构架区(FR)残基被相应的非人残基替换。另外，人源化抗体/抗体片段可以包含既不在受者抗体中又不在输入的CDR或构架序列中存在的残基。这些修饰可以进一步修正并优化抗体或抗体片段性能。通常，人源化抗体或其抗体片段基本上包含至少1个、并且一般2个可变结构域的全部，其中全部或基本上全部的CDR区与非人类免疫球蛋白的那些CDR区对应并且全部或显著部分的FR区是人免疫球蛋白序列的那些FR区。人源化抗体或抗体片段还可以包含至少部分免疫球蛋白恒定区(Fc)，通常是人免疫球蛋白的恒定

区。对于进一步细节，参见Jones等人，Nature，321:522-525，1986；Reichmann等人，Nature，332:323-329，1988；Presta，Curr.Op.Struct.Biol.，2:593-596，1992。

[0296] “完全人(fully human)”指免疫球蛋白，如抗体或抗体片段，其中整个分子是人来源的或由与抗体或免疫球蛋白的人类形式相同的氨基酸序列组成。

[0297] 术语“分离的”意指从天然状态改变或取出。例如，天然存在于活动物中的核酸或肽不是“分离的”，但是部分或完全与其天然状态的共存物质分离的相同核酸或肽是“分离的”。分离的核酸或蛋白质可以按基本上纯化的形式存在，或可以存在于非天然环境(例如宿主细胞)中。

[0298] 在本发明的上下文中，对常见的核酸碱基使用以下缩写。“A”指腺苷，“C”指胞嘧啶，“G”指鸟苷，“T”指胸苷和“U”指尿苷。

[0299] 术语“有效连接”或“转录性控制”指调节序列和异源核酸序列之间导致异源核酸序列表达的功能性连接。例如，当第一核酸序列置于与第二核酸序列的功能性关系中时，第一核酸序列与第二核酸序列有效连接。例如，如果启动子影响编码序列的转录或表达，则启动子与编码序列有效连接。有效连接的DNA序列可以彼此邻接并且，例如，在需要连接两个蛋白质编码区的情况下，处于相同的可读框中。

[0300] 术语免疫原性组合物的“肠胃外”施用例如包括皮下(s.c.)、静脉内(i.v.)、肌内(i.m.)或胸骨内注射、瘤内或输注技术。

[0301] 术语“核酸”、“多核苷酸”或“核酸分子”指脱氧核糖核酸(DNA)或核糖核酸(RNA)，或其DNA或RNA的组合，及其单链形式或双链形式的聚合物。术语“核酸”包括基因、cDNA或mRNA。在一个实施方案中，核酸分子是合成的(例如化学合成的)或重组的。除非特别限制，否则该术语包括含有天然核苷酸的类似物或衍生物的核酸，所述核酸具有与参考核酸相似的结合特性并且以与天然存在核苷酸相似的方式代谢。除非另外说明，特定核酸序列也内在包括其保守方式修饰的变体(例如简并密码子置换)、等位基因、直向同源物、SNP和互补序列，以及明确指出的序列。具体而言，可以通过产生其中一个或多个选择的(或全部)密码子的第三位置用混合型碱基和/或脱氧肌苷残基置换的序列，实现简并密码子置换(Batzer等人，Nucleic Acid Res.19:5081，(1991)；Ohtsuka等人，J.Biol.Chem.260:2605-2608，(1985)；和Rossolini等人，Mol.Cell.Probes 8:91-98，(1994))。

[0302] 术语“肽”、“多肽”和“蛋白质”互换使用并且指由通过肽键共价连接的氨基酸残基组成的化合物。蛋白质或肽必须含有至少两个氨基酸并且不限制可以构成蛋白质或肽的序列的最大氨基酸数。多肽包括包含通过肽键彼此连接的两个或更多个氨基酸的任何肽或蛋白质。如本文所用，本术语指短链，例如，所述短链还常见地在本领域称为肽、寡肽和寡聚体，并且还指较长链，所述较长链通常在本领域称为蛋白质，所述蛋白质存在许多类型。“多肽”例如包括多肽的生物学活性片段、基本上同源的多肽、寡肽、同二聚体、异二聚体、多肽变体、修饰的多肽、衍生物、类似物、融合蛋白等等。多肽包括天然肽、重组肽或其组合。

[0303] 术语“启动子”指由细胞合成装置或引入的合成装置识别、为启动多核苷酸序列特异性转录所需要的DNA序列。

[0304] 术语“启动子/调节序列”指表达与启动子/调节序列有效连接的基因产物所需要的核酸序列。在一些情况下，这个序列可以是核心启动子序列，并且在其他情况下，这个序列还可以包括对表达基因产物所需要的增强子序列和其他调节元件。启动子/调节序列可

以例如是以组织特异性方式表达基因产物的那种。

[0305] 术语“组成型”启动子指与编码或规定基因产物的多核苷酸有效连接时，引起基因产物在细胞中在细胞的大部分或全部生理状况下产生的核苷酸序列。

[0306] 术语“诱导型”启动子指与编码或规定基因产物的多核苷酸有效连接时，引起基因产物在细胞中基本上仅当细胞中存在对应于该启动子的诱导物时才产生的核苷酸序列。

[0307] 术语“组织特异性”启动子指与基因编码或规定的多核苷酸有效连接时，引起基因产物在细胞中基本上只有细胞是与该启动子相对应的组织型的细胞才产生的核苷酸序列。

[0308] 术语“癌相关抗原”或“肿瘤抗原”可互换地指这样的分子(一般是蛋白质、糖或脂质)，所述分子在癌细胞表面上完整表达或作为片段表达(例如，MHC/肽)并且可用于偏好地导引药剂至癌细胞。在一些实施方案中，肿瘤抗原是由正常细胞和癌细胞均表达的标志物，例如，谱系标志物，例如，B细胞上的CD19或CD123。在一些实施方案中，肿瘤抗原是与正常细胞相比在癌细胞中过量表达(例如，与正常细胞相比1倍过量表达、2倍过量表达、3倍或更多倍过量表达)的细胞表面分子。在一些实施方案中，肿瘤抗原是在癌细胞中不适宜合成的细胞表面分子，例如，与正常细胞上表达的分子相比含有缺失、添加或突变的分子。在一些实施方案中，肿瘤抗原将在癌细胞表面上完整地或作为片段(例如，MHC/肽)排他性表达并且在正常细胞表面上不合成或不表达。在一些实施方案中，本发明的CAR包括了包含与MHC呈递的肽结合的抗原结合结构域(例如，抗体或抗体片段)的CAR。通常地，衍生自内源蛋白的肽充填主要组织相容性复合物(MHC)I类分子的凹陷，并且由CD8+T淋巴细胞上的T细胞受体(TCR)识别。MHC I类复合物由全部有核细胞组成型表达。在癌中，病毒特异性和/或肿瘤特异性肽/MHC复合物代表独特类别的免疫疗法用细胞表面靶。已经描述了在人白细胞抗原(HLA)-A1或HLA-A2的背景下靶向从病毒或肿瘤抗原衍生的肽的TCR样抗体(参见，例如，Sastry等人，J Virol.2011 85(5):1935-1942;Sergeeva等人，Blood,2011 117(16):4262-4272;Verma等人，J Immunol 2010 184(4):2156-2165;Willemsen等人，Gene Ther 2001 8(21):1601-1608;Dao等人，Sci Transl Med 2013 5(176):176ra33;Tassev等人，Cancer Gene Ther 2012 19(2):84-100)。例如，可以从筛选文库，如人scFv噬菌体展示文库鉴定TCR样抗体。

[0309] 如scFv的上下文中所用的术语“柔性多肽接头”或“接头”指由氨基酸如甘氨酸和/或丝氨酸残基组成的肽接头，其中单独或组合使用所述肽接头以将可变重链区和可变轻链区连接在一起。在一个实施方案中，柔性多肽接头是Gly/Ser接头并且包含氨基酸序列(Gly-Gly-Gly-Ser)n(SEQ ID NO:38)，其中n是等于或大于1的正整数。例如，n＝1，n＝2，n＝3，n＝4，n＝5和n＝6，n＝7，n＝8，n＝9及n＝10。在一个实施方案中，柔性多肽接头包括但不限于(Gly4 Ser)4(SEQ ID NO:27)或(Gly4 Ser)3(SEQ ID NO:28)。在另一个实施方案中，接头包括(Gly2Ser)、(GlySer)或(Gly3Ser)(SEQ ID NO:29)的多个重复。本发明的范围内还包括通过引用的方式并入本文的WO 2012/138475中描述的接头。

[0310] 如本文所用，5’帽(也称作RNA帽、RNA 7-甲基鸟苷帽或RNA m^7G帽)是紧接在转录起始后添加至真核信使RNA“前端”或5’末端的修饰的鸟嘌呤核苷酸。5’帽由与第一个转录的核苷酸连接的端基组成。其存在对核糖体识别并保护免遭RNA酶作用至关重要。帽添加与转录偶联并且以共转录方式出现，从而每一者影响另一者。在转录起始后不久，正在合成的mRNA的5’末端被结合于RNA聚合酶的帽合成复合物结合。这种酶促复合物催化mRNA加帽需

要的化学反应。合成过程作为多步骤生物化学反应推进。可以修饰加帽部分以调节mRNA的功能，如其稳定性或翻译效率。

[0311] 如本文所用，“体外转录的RNA”指已经在体外合成的RNA，优选地mRNA。通常，体外转录的RNA从体外转录载体产生。体外转录载体包含用来产生体外转录的RNA的模板。

[0312] 如本文所用，“聚腺苷酸”是通过多聚腺苷化与mRNA连接的一系列腺苷。在瞬时表达构建体的优选实施方案中，聚腺苷酸数在50和5000之间(SEQ ID NO:30)、优选地大于64、更优选地大于100、最优选地大于300或400。可以化学或酶促地修饰聚腺苷酸序列以调节mRNA功能如定位、稳定性或翻译效率。

[0313] 如本文所用，“多聚腺苷化”指聚腺苷酰基部分或其修饰变体与信使RNA分子的共价连接。在真核生物中，大部分信使RNA(mRNA)分子在3’末端聚腺苷酸化。3’聚腺苷酸尾是通过酶(聚腺苷酸聚合酶)的作用添加至前mRNA的长腺嘌呤核苷酸序列(经常几百个)。在高等真核生物中，聚腺苷酸尾添加到含有特定序列(多聚腺苷化信号)的转录物上。聚腺苷酸尾和与之结合的蛋白质协助保护mRNA免遭核酸外切酶降解。多聚腺苷化还对转录终止、mRNA从胞核输出和翻译重要。多聚腺苷化在DNA转录成RNA后立即在胞核中发生，但额外地还可以稍后在细胞质中发生。在转录已经终止后，通过与RNA聚合酶结合的核酸内切酶复合体的作用而切割mRNA链。剪切位点通常以剪切位点附近存在碱基序列AAUAAA为特征。在已经剪切mRNA后，腺苷残基添加至剪切位点处的游离3’末端。

[0314] 如本文所用，“瞬时”指非整合的转基因表达数小时、数天或数周时间，其中表达时间段小于如果基因在宿主细胞中整合至基因组中或含于稳定质粒复制子内部时该基因表达的时间段。

[0315] 如本文所用，术语“治疗”、“疗法”和“治疗着”指减少或减轻增殖性疾病的进展、严重程度和/或持续时间或改善增殖性疾病的一种或多种症状(优选地，一种或多种可察觉症状)，其原因在于施用一种或多种疗法(例如，一个或多个治疗药，如本发明的CAR)。在具体实施方案中，术语“治疗”、“疗法”和“治疗着”指改善增殖性疾病的至少一个可度量的身体参数，如肿瘤生长，所述身体参数不必然地由患者可辨识。在其他实施方案中，术语“治疗”、“疗法”和“治疗着”指在身体上(例如通过稳定可察觉症状)、生理上(例如通过稳定身体参数)或这两方抑制增殖性疾病的进展。在其他实施方案中，术语“治疗”、“疗法”和“治疗着”指减少或稳定肿瘤尺寸或癌细胞计数。

[0316] 术语“信号转导途径”指在从细胞一个部分传播信号至细胞的另一个部分中发挥作用的多种信号转导分子之间的生物化学关系。短语“细胞表面受体”包括能够接收信号和跨细胞膜传输信号的分子和分子复合物。

[0317] 术语“受试者”意在包括其中可以激发免疫应答的活生物(例如，哺乳动物、人)。

[0318] 术语“基本上纯化的”细胞指基本上不含其他细胞类型的细胞。基本上纯化的细胞还指已经与其天然存在状态下通常与之结合的其他细胞类型分离的细胞。在一些情况下，基本上纯化的细胞群体指均一的细胞群体。在其他情况下，这个术语单纯地指已经与其天然状态下天然与它们结合的细胞分离的细胞。在一些方面，细胞是体外培养的。在其他方面，细胞不是体外培养的。

[0319] 如本文所用的术语“治疗性”意指治疗。通过获得减少、抑制、缓解或根除疾病状态获得治疗效果。

[0320] 如本文所用的术语“预防”意指预防或保护性治疗疾病或疾病状态。

[0321] 在本发明的上下文中，“肿瘤抗原”或“过度增殖性疾病抗原”或“与过度增殖性疾病相关的抗原”指具体过度增殖性疾病共有的抗原。在某些方面，本发明的过度增殖性疾病抗原衍生自癌，所述癌包括但不限于原发性或转移性黑素瘤、胸腺瘤、淋巴瘤、肉瘤、肺癌、肝癌、非霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、白血病、子宫癌、宫颈癌、膀胱癌、肾癌和腺癌如乳腺癌、前列腺癌、卵巢癌、胰腺癌等。

[0322] 术语“转染”或“转化”或“转导”指借以将外源核酸转移或引入宿主细胞的过程。“转染”或“转化”或“转导的”细胞是已经用外源核酸转染、转化或转导的细胞。细胞包括原代主题细胞和其后代。

[0323] 术语“特异性结合”指识别样品中存在的相应结合配偶体(例如，T细胞上存在的刺激分子和/或共刺激分子)蛋白质并与之结合的抗体或配体、但是所述抗体或配体基本上不识别或结合样品中其他分子。

[0324] 如本文所用，“可调节的嵌合抗原受体(RCAR)”指一组多肽，最简单的实施方案中一般指两种多肽，在免疫效应细胞中时，所述多肽为细胞提供针对靶细胞(一般是癌细胞)的特异性及提供可调节的胞内信号生成。在一些实施方案中，RCAR至少包含胞外抗原结合结构域、跨膜和胞质信号结构域(本文也称作“胞内信号结构域”)，所述胞质信号结构域包含从如本文在CAR分子背景下定义的刺激分子和/或共刺激分子衍生的功能性信号结构域。在一些实施方案中，RCAR中的该组多肽彼此不邻接，例如，处于不同的多肽链中。在一些实施方案中，RCAR包括二聚化开关，其中存在二聚化分子时，所述二聚化开关可以使多肽彼此偶联，例如，可以使抗原结合结构域与胞内信号结构域偶联。在一些实施方案中，RCAR在如本文所述的细胞(例如，免疫效应细胞)(例如，表达RCAR的细胞(本文也称作“RCARX细胞”)中表达。在一个实施方案中，RCARX细胞是T细胞并且称作RCART细胞。在一个实施方案中，RCARX细胞是NK细胞并且称作RCARN细胞。RCAR可以为表达RCAR的细胞提供针对靶细胞(一般是癌细胞)的特异性及提供可调节性胞内信号生成或增殖，所述多肽可以优化表达RCAR的细胞的免疫效应子特性。在实施方案中，RCAR细胞至少部分地依赖抗原结合结构域以提供针对靶细胞的特异性，所述靶细胞包含抗原结合结构域结合的抗原。

[0325] 如该术语在本文中所用那样，“膜锚定物”或“膜束缚结构域”指足以锚定胞外或胞内结构域至质膜的多肽或部分，例如，肉豆蔻酰基。

[0326] 如该术语在本文中所用那样，例如指RCAR时，“开关结构域”指存在二聚化分子时与另一个开关结构域缔合的实体，一般是基于多肽的实体。缔合导致与第一开关结构域连接(例如，融合)的第一实体和与第二开关结构域连接(例如，融合)的第二实体功能性偶联。第一开关结构域和第二开关结构域统称为二聚化开关。在实施方案中，第一开关结构域和第二开关结构域彼此相同，例如，它们是具有相同一级氨基酸序列的多肽并统称为同二聚化开关。在实施方案中，第一开关结构域和第二开关结构域彼此不同，例如，它们是具有不同一级氨基酸序列的多肽并统称为异二聚化开关。在实施方案中，开关是胞内的。在实施方案中，开关是胞外的。在实施方案中，开关结构域是基于多肽(例如，基于FKBP或FRB)的实体，并且二聚化分子是小分子，例如，雷帕霉素类似物(rapalogue)。在实施方案中，开关结构域是基于多肽的实体，例如，结合myc肽的scFv，并且二聚化分子是多肽、其片段、或多肽多聚体，例如，myc配体或与一个或多个myc scFv结合的myc配体多聚体。在实施方案中，开

关结构域是基于多肽的实体，例如，myc受体，并且二聚化分子是抗体或其片段，例如，myc抗体。

[0327] 如该术语在本文中所用那样，例如谈及RCAR时，“二聚化分子”指促进第一开关结构域与第二开关结构域缔合的实体。在实施方案中，二聚化分子不天然地出现在受试者中或不以将导致明显二聚化的浓度出现。在实施方案中，二聚化分子是小分子，例如，雷帕霉素或雷帕霉素类似物，例如RAD001。

[0328] 术语“生物等效的”指为产生与参比化合物的参比剂量或参比量(例如，RAD001)产生的效果等同的效果所需要的除参比化合物(例如，RAD001)之外的药剂量。在一个实施方案中，效果是mTOR抑制水平，例如，如通过P70 S6激酶抑制作用所测量，例如，如在体内或体外测定法中评价，例如，如通过本文所述的测定法(例如，Boulay测定法)所测量、或通过蛋白质印迹法测量磷酸化S6水平。在一个实施方案中，效果是PD-1阳性/PD-1阴性免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)的比率改变，如通过细胞分选法所测量。在一个实施方案中，mTOR抑制剂的生物等效量或剂量是实现与参比化合物的参比剂量或参比量相同的P70 S6激酶抑制水平的量或剂量。在一个实施方案中，mTOR抑制剂的生物等效量或剂量是实现与参比化合物的参比剂量或参比量相同的PD-1阳性/PD-1阴性免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)比率改变水平的量或剂量。

[0329] 联系mTOR抑制剂(例如，变构性mTOR抑制剂，例如，RAD001或雷帕霉素、或催化性mTOR抑制剂)使用时，术语“免疫增强性低剂量”指(例如，如通过抑制P70 S6激酶活性所测量)部分地但非完全抑制mTOR活性的mTOR抑制剂剂量。本文中讨论了用于(例如，通过抑制P70 S6激酶)评价mTOR活性的方法。该剂量不足以导致完全的免疫抑制，但是足以增强免疫应答。在一个实施方案中，mTOR抑制剂的免疫增强性低剂量导致PD-1阳性免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)的数目减少和/或PD-1阴性免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)的数目增加、或PD-1阴性T细胞/PD-1阳性免疫效应细胞，例如，T细胞或NK细胞)的比率增加。

[0330] 在一个实施方案中，mTOR抑制剂的免疫增强性低剂量导致原初免疫效应细胞，例如T细胞或NK细胞的数目增加。在一个实施方案中，mTOR抑制剂的免疫增强性低剂量导致以下一种或多种情况：

[0331] 以下一种或多种标志物的表达增加：例如，在记忆T细胞(例如，记忆T细胞前体)上的$CD62L^{高}$、$CD127^{高}$、$CD27^{+}$和BCL2；

[0332] 例如记忆T细胞(例如，记忆T细胞前体)上KLRG1的表达减少；和

[0333] 记忆T细胞前体的数目增加，所述记忆T细胞前体例如是具有以下特征的任一个特征或组合特征的细胞：$CD62L^{高}$增加、$CD127^{高}$增加、$CD27^{+}$增加、KLRG1减少和BCL2增加；

[0334] 其中例如，如与未处理的受试者相比，上文描述的任何变化出现，例如，至少暂时出现。

[0335] 如本文所用的“难治性”，指不响应于治疗的疾病，例如，癌症。在实施方案中，难治性癌症可以在治疗开始前或在治疗开始时抵抗治疗。在其他实施方案中，难治性癌症可以在治疗期间变得耐药。难治性癌症也称作耐药性癌症。

[0336] 如本文所用的“复发的”或“复发”指在改善或反应阶段后，例如，在某疗法(例如，癌疗法)的既往治疗后，疾病(例如，癌症)或疾病(如癌症)的体征和症状返回或复现。初始反应阶段可以涉及癌细胞水平降到某个阈值以下，例如，低于20％、1％、10％、5％、4％、

3%、2%或1%。复现可以涉及癌细胞水平升高到某个阈值以上，例如，高于20%、1%、10%、5%、4%、3%、2%或1%。例如，例如在B-ALL的情况下，复现可能涉及例如在完全反应后血液、骨髓中的母细胞再现(>5%)或任何髓外部位中的母细胞再现。在这种情况下，完全反应可能涉及<5%BM母细胞。更一般地，在一个实施方案中，反应(例如，完全反应或部分反应)可以涉及不存在可检测的MRD(最小残留疾病)。在一个实施方案中，初始反应阶段持续至少1、2、3、4、5或6天；至少1周、2周、3周或4周；至少1、2、3、4、6、8、10或12个月；或至少1年、2年、3年、4年或5年。

[0337] 在一些实施方案中，包括CD19抑制剂(例如CD19 CAR疗法)的疗法可能复发或难以治疗。复发或抗性可由CD19缺失(例如，抗原缺失突变)或降低CD19水平的其它CD19改变引起(例如，由CD19阴性克隆的克隆选择引起)。包含此类CD19缺失或改变的癌症在本文中称为“CD19阴性癌症”或“CD19阴性复发性癌症”)。应当理解，CD19阴性癌症不需要CD19的100%缺失，而是足以降低CD19疗法有效性的减少，使得癌症复发或变得难治。在一些实施方案中，CD19阴性癌症源自CD19 CAR疗法。

[0338] 范围：在本公开各处，本发明的多个方面可以按范围样式展示。应当理解，以范围样式描述仅出于方便和简洁目的并且不应当解释为刚性限制本发明的范围。因此，范围的描述应当视为具有具体公开的全部可能子范围以及该范围内部的各个数值。例如，范围如从1至6的描述应当视为具有具体公开的如下子范围，如从1至3、从1至4、从1至5、从2至4、从2至6、从3至6等，以及该范围内部的各个数值，例如，1、2、2.7、3、4、5、5.3和6。作为另一个例子，范围(如95-99%同一性)包括具有95%、96%、97%、98%或99%同一性的范围，并且包括子范围如96-99%、96-98%、96-97%、97-99%、97-98%和98-99%同一性。无论范围的宽度多大，这均适用。

[0339] 发明描述

[0340] 本文中提供了使用CD123嵌合抗原受体(CAR)治疗或预防疾病(如癌症)的物质组合物和使用方法。

[0341] 在一个方面，本发明提供众多嵌合抗原受体(CAR)，所述嵌合抗原受体包含经工程化与CD123蛋白或其片段特异性结合的抗体或抗体片段。在一个方面，本发明提供经工程化以表达CAR的细胞(例如，免疫效应细胞，例如，T细胞或NK细胞)，其中表达CAR的细胞(例如，“CART”或表达CAR的NK细胞)显示出抗肿瘤特性。在一个方面，细胞用CAR转化并且CAR的至少一部分在细胞表面上表达。在一些实施方案中，细胞(例如，免疫效应细胞，例如，T细胞或NK细胞)用编码CAR的病毒载体转导。在一些实施方案中，病毒载体是逆转录病毒载体。在一些实施方案中，病毒载体是慢病毒载体。在一些此类实施方案中，细胞可以稳定表达CAR。在另一个实施方案中，细胞(例如，免疫效应细胞，例如，T细胞或NK细胞)用编码CAR的核酸例如mRNA、cDNA、DNA转染。在一些此类实施方案中，细胞可以瞬时表达CAR。

[0342] 在一个方面，CAR的CD123结合结构域(例如，人或人源化CD123结合结构域)是scFv抗体片段。在一个方面，这类抗体片段是有功能的，因为它们保留等价的结合亲和力，例如，它们以可比的功效结合相同的抗原，它们是例如具有相同重链可变区和轻链可变区的IgG抗体。在一个方面，这类抗体片段是有功能的，因为它们提供生物学应答，所述生物学应答可以包括但不限于激活免疫应答、抑制源自其靶抗原的信号转导、抑制激酶活性等，如技术人员将会理解。

[0343] 在一些方面，本发明的抗体并入嵌合抗原受体(CAR)中。在一个方面，CAR包含本文中作为SEQ ID NOS:98-101和125-156提供的多肽序列。

[0344] 在一个方面，本发明CAR的CD123结合结构域(例如，人源化或人CD123结合结构域)部分由其序列已经过密码子优化以便在哺乳动物细胞中表达的转基因编码。在一个方面，本发明的完整CAR构建体由其整个序列已经过密码子优化以便在哺乳动物细胞中表达的转基因编码。密码子优化指以下发现：编码性DNA中同义密码子(即，编码相同氨基酸的密码子)出现的频率在不同物种中偏倚。这种密码子简并性允许相同多肽由多种核苷酸序列编码。多种密码子优化方法是本领域已知的，并且包括例如至少在美国专利号5,786,464和6,114,148中公开的方法。

[0345] 在一个方面，CAR的抗原结合结构域包含人CD123抗体或抗体片段。在一个方面，CAR的抗原结合结构域包含人源化CD123抗体或抗体片段。在一个方面，CAR的抗原结合结构域包含人CD123抗体片段，所述抗体片段包含scFv。在一个方面，CAR的抗原结合结构域是人CD123 scFv。在一个方面，CAR的抗原结合结构域包含人源化的CD123抗体片段，所述人源化的CD123抗体片段包含scFv。在一个方面，CAR的抗原结合结构域是人源化的CD123 scFv。

[0346] 在一个方面，CAR123结合结构域包含SEQ ID NO:157-160和184-215中提供的scFv部分。在一个方面，scFv部分是人的。在一个方面，人CAR123结合结构域包含SEQ ID NO:157-160中提供的scFv部分。在一个方面，人CD123结合结构域包含SEQ ID NO:157中提供的scFv部分。在一个方面，人CD123结合结构域包含SEQ ID NO:158中提供的scFv部分。在一个方面，人CD123结合结构域包含SEQ ID NO:159中提供的scFv部分。在一个方面，人CD123结合结构域包含SEQ ID NO:160中提供的scFv部分。在一个方面，人CD123结合结构域包含SEQ ID NO:478中提供的scFv部分。在一个方面，人CD123结合结构域包含SEQ ID NO:480中提供的scFv部分。在一个方面，人CD123结合结构域包含SEQ ID NO:483中提供的scFv部分。在一个方面，人CD123结合结构域包含SEQ ID NO:485中提供的scFv部分。

[0347] 在一个方面，scFv部分是人源化的。在一个方面，人源化CAR123结合结构域包含SEQ ID NO:184-215中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:184中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:185中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:186中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:187中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:188中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:189中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:190中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:191中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:192中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:193中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:194中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:195中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:196中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:197中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:198中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:199中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:200中提供的scFv

部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:201中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:202中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:203中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:204中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:205中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:206中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:207中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:208中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:209中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:210中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:211中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:212中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:213中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:214中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:215中提供的scFv部分。在一个方面，人源化CD123结合结构域包含SEQ ID NO:556-587中提供的scFv部分。

[0348] 另外，本发明提供CD123 CAR组合物和它们在治疗涉及表达CD123的细胞或组织的癌症或任何恶性肿瘤或自身免疫疾病等疾病的药物或方法中的用途。

[0349] 在一个方面，本发明CAR可以用来根除表达CD123的正常细胞，因而适于作为细胞移植之前的细胞整备疗法使用。在一个方面，表达CD123的正常细胞是表达CD123的髓样祖先细胞并且细胞移植是干细胞移植。

[0350] 在一个方面，本发明提供经工程化以表达本发明嵌合抗原受体(例如，表达CAR的免疫效应细胞，例如，CART或表达CAR的NK细胞)的细胞(例如，免疫效应细胞，例如，T细胞或NK细胞)，其中细胞(例如，“CART”)显示出抗肿瘤特性。因此，本发明提供了包含CD123结合结构域并经工程化入免疫效应细胞，例如，T细胞或NK细胞中的CD123-CAR和它们用于过继疗法的方法。

[0351] 在一个方面，CD123-CAR包含至少一个胞内结构域，例如，本文所述的胞内结构域，例如，选自CD137(4-1BB)信号结构域、CD28信号结构域、CD3ζ信号结构域及其任意组合的胞内结构域。在一个方面，CD123-CAR包含来自除CD137(4-1BB)或CD28之外的一个或多个共刺激分子的至少一个胞内信号结构域。

[0352] 嵌合抗原受体(CAR)

[0353] 本发明包括重组DNA构建体，所述重组DNA构建体包含编码CAR的序列，其中CAR包含特异性结合CD123或其片段，例如特异性结合人CD123的抗原结合结构域(例如抗体，抗体片段)，其中CD123结合结构域(例如，抗体或抗体片段)的序列是，例如与编码胞内信号结构域的核酸序列邻接并在相同的阅读框中。胞内信号结构域可以包含共刺激信号结构域和/或初级信号结构域，例如ζ链。共刺激信号结构域是指CAR的一部分，所述CAR的一部分包含共刺激分子的胞内结构域的至少一部分。

[0354] 在具体方面，本发明的CAR构建体包含了选自SEQ ID NO:157-160、184-215、478、480、483、485和556-587的scFv结构域，其中scFv可以前置有如SEQ ID NO:1中提供的任选前导序列并后跟有如SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3或SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5中提供的任选铰链序列、如SEQ ID NO:6中提供的跨膜区、包含SEQ ID NO:7或SEQ ID NO:8的胞内信

号结构域和包含SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的CD3ζ序列，例如，其中各结构域彼此邻接并处于相同的可读框以形成单个融合蛋白。在一些实施方案中，scFv结构域是选自SEQ ID NO:157-160、478、480、483和485的人scFv结构域。在一些实施方案中，scFv结构域是选自SEQ ID NO:184-215和556-587的人源化scFv结构域。本发明中还包括这样的核苷酸序列，所述核苷酸序列编码选自SEQ ID NO:157-160、184-215、478、480、483、485和556-587的scFv片段每者的多肽。本发明中还包括这样的核苷酸序列，所述核苷酸序列编码选自SEQ ID NO:157-160、184-215、478、480、483、485和556-587的scFv片段每一者和SEQ ID NO:1、2和6-9的结构域每一者的多肽，外加所编码的本发明CD123 CAR。

[0355] 在一个方面，示例性CD123 CAR构建体包含任选的前导序列、胞外抗原结合结构域、铰链、跨膜结构域和胞内刺激结构域。在一个方面，示例性CD123CAR构建体包含任选的前导序列、胞外抗原结合结构域、铰链、跨膜结构域、胞内共刺激结构域和胞内刺激结构域。

[0356] 在一些实施方案中，本文还将全长CD123 CAR序列作为SEQ ID NO:98-101和125-156提供，如表2或6中所示。

[0357] 将示例性前导序列作为SEQ ID NO:1提供。将示例性铰链/间隔序列作为SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3或SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5提供。将示例性跨膜结构域序列作为SEQ ID NO:6提供。将4-1BB蛋白的胞内信号结构域的示例性序列作为SEQ ID NO:7提供。将CD27的胞内信号结构域的示例性序列作为SEQ ID NO:8提供。将示例性CD3ζ结构域序列作为SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10提供。将CD28的胞内信号结构域的示例性序列作为SEQ ID NO:43提供。将ICOS的胞内信号结构域的示例性序列作为SEQ ID NO:45提供。

[0358] 在一个方面，本发明涵盖一种重组核酸构建体，其包含编码CAR的核酸分子，其中核酸分子包含编码(例如，本文所述的)CD123结合结构域的核酸序列，例如，所述核酸序列与编码胞内信号结构域的核酸序列邻接并处于与之相同的可读框内。在一个方面，人CD123结合结构域选自SEQ ID NO:157-160、184-215、478、480、483、485和556-587的一者或多者。在一些实施方案中，CD123结合结构域是选自SEQ ID NOS:157-160、478、480、483和485的人CD123结合结构域。在一些实施方案中，CD123结合结构域是选自SEQ ID NOS:184-215和556-587的人源化CD123结合结构域。在一个方面，CD123结合结构域是SEQ ID NO:157。在一个方面，CD123结合结构域是SEQ ID NO:158。在一个方面，CD123结合结构域是SEQ ID NO:159。在一个方面，CD123结合结构域是SEQ ID NO:160。在一个方面，CD123结合结构域是SEQ ID NO:184。在一个方面，CD123结合结构域是SEQ ID NO:185。在一个方面，CD123结合结构域是SEQ ID NO:186。在一个方面，CD123结合结构域是SEQ ID NO:187。在一个方面，CD123结合结构域是SEQ ID NO:188。在一个方面，CD123结合结构域是SEQ ID NO:189。在一个方面，CD123结合结构域是SEQ ID NO:190。在一个方面，CD123结合结构域是SEQ ID NO:191。在一个方面，CD123结合结构域是SEQ ID NO:192。在一个方面，CD123结合结构域是SEQ ID NO:193。在一个方面，CD123结合结构域是SEQ ID NO:194。在一个方面，CD123结合结构域是SEQ ID NO:195。在一个方面，CD123结合结构域是SEQ ID NO:196。在一个方面，CD123结合结构域是SEQ ID NO:197。在一个方面，CD123结合结构域是SEQ ID NO:198。在一个方面，CD123结合结构域是SEQ ID NO:199。在一个方面，CD123结合结构域是SEQ ID NO:200。在一个方面，CD123结合结构域是SEQ ID NO:201。在一个方面，CD123结合结构域是SEQ ID NO:202。在一个方面，CD123结合结构域是SEQ ID NO:203。在一个方面，CD123结合结构域是SEQ

ID NO:204。在一个方面,CD123结合结构域是SEQ ID NO:205。在一个方面,CD123结合结构域是SEQ ID NO:206。在一个方面,CD123结合结构域是SEQ ID NO:207。在一个方面,CD123结合结构域是SEQ ID NO:208。在一个方面,CD123结合结构域是SEQ ID NO:209。在一个方面,CD123结合结构域是SEQ ID NO:210。在一个方面,CD123结合结构域是SEQ ID NO:211。在一个方面,CD123结合结构域是SEQ ID NO:212。在一个方面,CD123结合结构域是SEQ ID NO:213。在一个方面,CD123结合结构域是SEQ ID NO:213。在一个方面,CD123结合结构域是SEQ ID NO:215。在一个方面,CD123结合结构域是SEQ ID NO:478。在一个方面,CD123结合结构域是SEQ ID NO:480。在一个方面,CD123结合结构域是SEQ ID NO:483。在一个方面,CD123结合结构域是SEQ ID NO:485。

[0359] 在一个方面,本发明涵盖一种重组核酸构建体,其包含编码CAR的核酸分子,其中核酸分子包含编码CD123结合结构域的核酸序列,其中该序列与编码胞内信号结构域的核酸序列邻接并处于与之相同的可读框内。可以在CAR中使用的示例性胞内信号结构域包括但不限于例如CD3-ζ、CD28、4-1BB、ICOS等中的一个或多个胞内信号结构域。在一些情况下,CAR可以包含CD3-ζ、CD28、4-1BB、ICOS等的任何组合。

[0360] 在一个方面,本发明CAR构建体的核酸序列选自SEQ ID NO:39-42和66-97的一者或多者。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:39。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:40。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:41。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:42。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:66。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:67。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:68。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:69。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:70。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:71。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:72。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:73。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:74。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:75。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:76。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:77。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:78。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:79。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:80。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:81。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:82。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:83。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:84。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:85。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:86。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:87。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:88。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:89。在一个方面,CAR构建体的核酸序列

包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:90。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:91。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:92。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:93。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:94。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:95。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:96。在一个方面,CAR构建体的核酸序列包含(例如,由以下组成)SEQ ID NO:97。可以使用本领域已知的重组方法获得编码所需分子的核酸序列,如,例如通过从表达该基因的细胞筛选文库、通过从已知包括该基因的载体衍生该基因、或通过使用标准技术从含有该基因的细胞和组织直接分离。备选地,可以合成地产生目的核酸,而非克隆。

[0361] 本发明包括表达可以直接转导入细胞中的CAR的逆转录病毒载体构建体和慢病毒载体构建体。

[0362] 本发明还包括可以直接转染至细胞中的RNA构建体。一种产生用于转染的mRNA的方法涉及用专门设计的引物体外转录(IVT)模板,随后添加聚腺苷酸,以产生含有3'和5'非翻译序列("UTR")、5'帽和/或内部核糖体进入位点(IRES)、待表达核酸和长度一般为50-2000个碱基的聚腺苷酸化尾(SEQ ID NO:35)的构建体。如此产生的RNA可以高效地转染不同种类的细胞。在一个实施方案中,模板包括CAR的序列。在一个实施方案中,将RNA CAR载体通过电穿孔转导至细胞中。

[0363] 抗原结合结构域

[0364] 在一个方面,发明的CAR包含靶特异性结合元件,另外称为抗原结合结构域。部分的选择取决于定义靶细胞表面的配体的类型和数目。例如,可以选择抗原结合结构域以识别充当靶细胞上与具体疾病状态相关的细胞表面标志物的配体。

[0365] 在一个方面,可以通过将特异性结合所需抗原的抗原结合结构域工程化入CAR中,将CAR介导的T细胞应答指向目的抗原。

[0366] 在一个方面,包含抗原结合结构域的CAR部分包含靶向CD123或其片段的抗原结合结构域。在一个方面,抗原结合结构域靶向人CD123或其片段。

[0367] 抗原结合结构域可以是与抗原结合的任何结构域,所述结构域包括但不限于单克隆抗体、多克隆抗体、重组抗体、人抗体、人源化抗体及其功能性片段,包括但不限于单一结构域抗体,如驼类衍生型纳米体的重链可变结构域(VH)、轻链可变结构域(VL)和可变结构域(VHH),以及本领域已知的作为抗原结合结构域发挥作用的备选支架,如重组纤连蛋白结构域等。在一些情况下,从将会最终使用CAR的相同物种衍生有益于抗原结合结构域。例如,对于人类中使用,包含抗体或抗体片段的抗原结合结构域的人残基或人源化残基可能有益于CAR的抗原结合结构域。

[0368] 在一些情况下,从将会最终使用CAR的相同物种衍生有益于抗原结合结构域。例如,对于人类中使用,包含抗体或抗体片段的抗原结合结构域的人残基或人源化残基可能有益于CAR的抗原结合结构域。因此,在一个方面,抗原结合结构域包含人抗体或抗体片段。在一个实施方案中,人CD123结合结构域包含本文所述的人CD123结合结构域的一个或多个(例如,全部三个)轻链互补决定区1(LC CDR1)、轻链互补决定区2(LC CDR2)和轻链互补决定区3(LC CDR3)、和/或本文所述的人CD123结合结构域的一个或多个(例如,全部三个)重

链互补决定区1(HC CDR1)、重链互补决定区2(HC CDR2)和重链互补决定区3(HC CDR3),例如,包含一个或多个(例如,全部三个)LC CDR和一个或多个(例如,全部三个)HC CDR的人CD123结合结构域。在一个实施方案中,人CD123结合结构域包含本文所述的人CD123结合结构域的一个或多个(例如,全部三个)重链互补决定区1(HC CDR1)、重链互补决定区2(HC CDR2)和重链互补决定区3(HC CDR3),例如,人CD123结合结构域具有两个可变重链区域,各自包含本文所述的HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3。在一个实施方案中,人CD123结合结构域包含本文(例如,表2或9中)所述的人轻链可变区和/或本文(例如,表2或9中)所述的人重链可变区。在一个实施方案中,人抗CD19结合结构域包含本文(例如,表2或9中)所述的人重链可变区,例如本文(例如,表2或9中)所述的至少两个人重链可变区。在一个实施方案中,CD123结合结构域是包含表2或9的氨基酸序列的轻链和重链的scFv。在一个实施方案中,CD123结合结构域(例如,scFv)包含轻链可变区,所述轻链可变区包含下述氨基酸序列,所述氨基酸序列具有至少一个、两个或三个表2或9中提供的轻链可变区的氨基酸序列的修饰(例如置换),但不多于30、20或10个修饰(例如置换),或包含与表2的氨基酸序列具有95-99%同一性的序列;和/或重链可变区,所述重链可变区包含下述氨基酸序列,所述氨基酸序列具有至少一个、两个或三个在表2或9中提供的重链可变区的氨基酸序列的修饰(例如置换),但不多于30、20或10个修饰(例如置换),或包含与表2或9的氨基酸序列具有95-99%同一性的序列。在一个实施方案中,人CD123结合结构域包含选自SEQ ID NO:157-160、478、480、483和485的序列或与其具有95-99%同一性的序列。在一个实施方案中,人CD123结合结构域是scFv,并且包含本文(例如,表2或9中)所述的氨基酸序列的轻链可变区经接头(例如,本文所述的接头)与包含本文(例如,表2中)所述的氨基酸序列的重链可变区连接。在一个实施方案中,人的CD123结合结构域包含(Gly4-Ser)n接头,其中n是1、2、3、4、5或6、优选地3或4(SEQ ID NO:26)。scFv的轻链可变区和重链可变区可以例如处于以下任何取向:轻链可变区-接头-重链可变区或重链可变区-接头-轻链可变区。

[0369] 在一些方面,非人抗体是人源化的,其中修饰抗体的特定序列或区域以增加与人中天然产生的抗体或其片段的相似性。因此,在一个方面,抗原结合结构域包含人源化抗体或抗体片段。在一个实施方案中,人源化CD123结合结构域包含本文所述的人源化CD123结合结构域的一个或多个(例如所有三个)轻链互补决定区1(LC CDR1)、轻链互补决定区2(LC CDR2)和轻链互补决定区3 CDR3),和/或一个或多个(例如所有三个)重链互补决定区1(HC CDR1)、重链互补决定区2(HC CDR2)和重链互补决定区3(HC CDR3),例如人源化CD123结合结构域包含一个或多个、例如全部三个LC CDR和一个或多个、例如全部三个HC CDR。在一个实施方案中,人源化CD123结合结构域包含本文所述的人源化CD123结合结构域的一个或多个(例如所有三个)重链互补决定区1(HC CDR1)、重链互补决定区2(HC CDR2)和重链互补决定区3 CDR3),例如人源化CD123结合结构域具有两个可变重链区,每个包含本文所述的HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3。在一个实施方案中,人源化CD123结合结构域包含本文所述的人源化轻链可变区(例如,表6中)和/或本文所述的人源化重链可变区(例如,表6中)。在一个实施方案中,人源化CD123结合结构域包含本文所述的人源化重链可变区(例如,表6中),例如本文所述的至少两个人源化重链可变区(例如,表6中)。在一个实施方案中,CD123结合结构域是scFv,其包含表6的氨基酸序列的轻链和重链。在一个实施方案中,CD123结合结构域(例如scFv)包含:轻链可变区,所述轻链可变区具有表4中提供的轻链可变区氨基酸序列的

至少一个、两个或三个修饰(例如置换)但不超过30、20或10个修饰(例如置换)的氨基酸序列,或与表6的氨基酸序列具有95-99%同一性的序列;和/或重链可变区,所述重链可变区包含具有表6中提供的重链可变区氨基酸序列的至少一个、两个或三个修饰(例如置换)但不超过30、20或10个修饰(例如置换)的氨基酸序列,或与表6的氨基酸序列具有95-99%同一性的序列。在一个实施方案中,人源化CD123结合结构域包含选自SEQ ID NO:184-215和302-333的序列,或与其具有95-99%同一性的序列。在一个实施方案中,人源化CD123结合结构域是scFv,并且包含本文所述(例如在表6中)的氨基酸序列的轻链可变区通过接头(例如本文所述的接头)连接于包含本文所述(例如在表6中)的氨基酸序列的重链可变区。在一个实施方案中,人源化的CD123结合结构域包含(Gly4-Ser)n接头,其中n是1、2、3、4、5或6、优选地3或4(SEQ ID NO:26)。scFv的轻链可变区和重链可变区可以例如处于以下任何取向:轻链可变区-接头-重链可变区或重链可变区-接头-轻链可变区。

[0370] 可以使用本领域已知的多种技术产生人源化抗体,所述技术包括但不限于CDR移植(参见,例如,欧洲专利号EP 239,400;国际公开号WO 91/09967;和美国专利号5,225,539、5,530,101和5,585,089,每份文献通过引用的方式完整并入本文)、镶饰或表面重塑(参见,例如,欧洲专利号EP 592,106和EP 519,596;Padlan,1991,Molecular Immunology,28(4/5):489-498;Studnicka等人,1994,Protein Engineering,7(6):805-814;和Roguska等人,1994,PNAS,91:969-973,每份文献通过引用的方式完整并入本文)、链改组(参见,例如,美国专利号5,565,332,所述文献通过引用的方式完整并入本文)和在例如以下文献中公开的技术:美国专利申请公开号US 2005/0042664、美国专利申请公开号US 2005/0048617、美国专利号6,407,213、美国专利号5,766,886、国际公开号WO 9317105、Tan等人,J.Immunol.,169:1119-25(2002)、Caldas等人,Protein Eng.,13(5):353-60(2000)、Morea等人,Methods,20(3):267-79(2000)、Baca等人,J.Biol.Chem.,272(16):10678-84(1997)、Roguska等人,Protein Eng.,9(10):895-904(1996)、Couto等人,Cancer Res.,55(23 Supp):5973s-5977s(1995)、Couto等人,Cancer Res.,55(8):1717-22(1995)、Sandhu J S,Gene,150(2):409-10(1994)和Pedersen等人,J.Mol.Biol.,235(3):959-73(1994),每份文献通过引用的方式完整并入本文。经常地,构架区中的构架残基将用来自CDR供体抗体的相应残基置换以改变、例如改善抗原结合。这些构架置换由本领域熟知的方法鉴定,例如,通过将CDR和构架残基的相互作用建模以鉴定对抗原结合重要的构架残基并且进行序列比较以鉴定特定位置处的不寻常构架残基。(参见,例如,Queen等人,美国专利号5,585,089;和Riechmann等人,1988,Nature,332:323,所述文献通过引用的方式完整并入本文)。

[0371] 人源化抗体或抗体片段具有留在其中的来自非人类来源的一个或多个氨基酸残基。这些非人氨基酸残基经常称作“输入”残基,它们一般取自“输入”可变结构域。如本文中提供,人源化抗体或抗体片段包含来自非人类免疫球蛋白分子和构架区的一个或多个CDR,其中包含构架的氨基酸残基完全或大部分衍生自人种系。用于抗体或抗体片段人源化的多项技术是本领域熟知并且可以基本上按照Winter和合作者(Jones等人,Nature,321:522-525(1986);Reichmann等人,Nature,332:323-327(1988);Verhoeyen等人,Science,239:1534-1536(1988))的方法,通过用啮齿类多个CDR或1个CDR序列置换相应的人抗体序列进行,即,CDR移植法(EP 239,400;PCT公开号WO 91/09967;和美国专利号4,816,567;6,331,415;5,225,539;5,530,101;5,585,089;6,548,640,所述文献的内容通过引用的方式完整

并入本文)。在这类人源化抗体和抗体片段中,基本上小于完整人可变结构域的区域已经由来自非人类物种的相应序列置换。人源化抗体往往是其中一些CDR残基并且可能地一些FR残基由来自啮齿动物抗体中类似位点的残基置换的人抗体。抗体和抗体片段的人源化也可以通过镶饰或表面重塑(EP 592,106;EP 519,596;Padlan,1991,Molecular Immunology,28(4/5):489-498;Studnicka等人,Protein Engineering,7(6):805-814(1994);和Roguska等人,PNAS,91:969-973(1994))或链改组(美国专利号5,565,332)实现,所述文献的内容通过引用的方式完整并入本文。

[0372] 选择待用于产生人源化抗体的人可变结构域(轻链和重链可变结构域)用于降低抗原性。根据所谓"最佳配合"方法,针对已知的人可变结构域序列的完整文库筛选啮齿动物抗体的可变结构域的序列。随后鉴定到与啮齿类序列最接近的人类序列并且接受它作为用于人源化抗体的人构架区(FR)(Sims等人,J.Immunol,151:2296(1993);Chothia等人,J.Mol.Biol.,196:901(1987),所述文献的内容通过引用的方式完整并入本文)。另一种方法使用从具有特定亚组轻链或重链的全部人类抗体的共有序列中衍生的特定构架。相同的框架可以用于几种不同的人源化抗体(参见,例如,Nicholson等人,Mol.Immun.34(16-17):1157-1165(1997);Carter等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,89:4285(1992);Presta等人,J.Immunol.,151:2623(1993),所述文献的内容通过引用的方式完整并入本文)。在一些实施方案中,重链可变区的构架区(例如,全部四个构架区)衍生自VH4_4-59种系序列。在一个实施方案中,构架区可以包含一个、两个、三个、四个或五个修饰,例如置换,例如来自相应鼠序列处的氨基酸。在一个实施方案中,轻链可变区的构架区(例如,全部四个构架区)衍生自VK3_1.25种系序列。在一个实施方案中,构架区可以包含一个、两个、三个、四个或五个修饰,例如置换,例如来自相应鼠序列处的氨基酸。

[0373] 在一些方面,包含抗体片段的本发明CAR组合物的部分是人源化的,保留对靶抗原的高亲和力和其他有利的生物学特性。根据本发明的一个方面,使用亲本序列和人源化序列的三维模型,通过分析亲本序列和多种构思性人源化产物的方法,制备人源化抗体和抗体片段。三维免疫球蛋白模型通常是可获得的并且是本领域技术人员熟悉的。说明并展示所选择候选免疫球蛋白序列的可能三维构象性结构的计算机程序是可获得的。对这些展示结果的检验允许分析残基在候选免疫球蛋白序列发挥作用中的可能角色,例如,分析影响候选免疫球蛋白结合靶抗原的能力的残基。以这种方式,可以从受体序列和输入序列选出并且组合FR残基,从而实现想要的抗体或抗体片段特征,如对靶抗原的亲和力增加。通常,CDR残基直接并且最基本上参与影响抗原结合作用。

[0374] 人源化抗体或抗体片段可以保留与(例如,在本发明中的)原始抗体相似的抗原特异性,结合人CD123或其片段的能力。在一些实施方案中,人源化抗体或抗体片段可以具有改善的与人CD123或其片段结合的亲和力和/或特异性。

[0375] 在一个方面,抗原结合结构域部分包含选自SEQ ID NO:157-160、184-215、478、480、483、485和556-587的一个或多个序列。在一个方面,包含人CD123结合结构域的CD123 CAR选自这样的一个或多个序列,所述序列选自SEQ ID NO:157-160、478、480、483和485。在一个方面,包含人源化CD123结合结构域的CD123 CAR选自这样的一个或多个序列,所述序列选自SEQ ID NO:184-215和556-587。

[0376] 在一个方面,CD123结合结构域以抗体或抗体片段的特定功能特征或特性表征。例

如,在一个方面,本发明CAR组合物的包含抗原结合结构域的部分特异性结合人CD123或其片段。在一个方面,本发明涉及包含抗体或抗体片段的抗原结合结构域,其中抗体结合结构域与CD123蛋白或其片段特异性结合,其中抗体或抗体片段包含了包括SEQ ID NO:157-160、184-215、478、480、483、485和556-587的氨基酸序列的可变轻链和/或可变重链。在一个方面,抗原结合结构域包含选自SEQ ID NO:157-160、184-215、478、480、483、485和556-587的scFv的氨基酸序列。在某些方面,scFv与前导序列邻接并处于与之相同的可读框内。在一个方面,前导序列是作为SEQ ID NO:1提供的多肽序列。

[0377] 在一个方面,CD123结合结构域是片段,例如,单链可变片段(scFv)。在一个方面,CD123结合结构域是Fv、Fab、$(Fab')_2$、或双功能(例如双特异性)杂合抗体(例如,Lanzavecchia等人,Eur.J.Immunol.17,105(1987))。在一个方面,本发明的抗体及其片段以野生型的或增强的亲和力结合CD123蛋白质或其片段。

[0378] 在一些情况下,人scFv可以从展示文库衍生。展示文库是一组实体;每种实体包含可及的多肽组分和编码或鉴定多肽组分的可回收组分。多肽组分如此变动,从而代表不同的氨基酸序列。多肽组分可以是任何长度,例如从三个氨基酸至超过300个氨基酸。展示文库实体可以包含多于一种多肽组分,例如,Fab的两条多肽链。在一个示例性实施方案中,展示文库可以用来鉴定人CD123结合结构域。在选择时,将每个文库成员的多肽组分用CD123或其片段探测,并且如果多肽组分与CD123结合,则鉴定到展示文库成员,一般通过在支持物上停留来鉴定。

[0379] 从支持物回收留下的展示文库成员并分析。分析可以包括扩增和在相似或不相似的条件下后续选择。例如,可以交替正向选择和负向选择。分析还可以包括测定多肽组分(即,抗CD123结合结构域)的氨基酸序列和纯化多肽组分供详细表征。

[0380] 多种模式可以用于展示文库。例子包括噬菌体展示。在噬菌体展示中,蛋白质组分一般与噬菌体外壳蛋白共价连接。因翻译编码与外壳蛋白融合的蛋白质组分的核酸产生键接。键接可以包括因抑制终止密码子而并入的柔性肽接头、蛋白酶位点或氨基酸。噬菌体展示例如在美国5,223,409;Smith(1985)Science 228:1315-1317;WO 92/18619;WO 91/17271;WO 92/20791;WO 92/15679;WO 93/01288;WO 92/01047;WO 92/09690;WO 90/02809;de Haard等人(1999)J.Biol.Chem 274:18218-30;Hoogenboom等人(1998)Immunotechnology4:1-20;Hoogenboom等人(2000)Immunol Today 2:371-8和Hoet等人(2005)Nat Biotechnol.23(3)344-8中描述。可以培育展示蛋白质组分的噬菌体并且使用噬菌体标准制备方法(例如PEG沉淀法)从生长培养基收获之。在选择各个展示噬菌体后,编码所选择蛋白质组分的核酸可以在扩增后从所选择的噬菌体感染的细胞分离或从噬菌体自身分离。可以挑出单集落或蚀斑,分离核酸并测序。

[0381] 其他展示模式包括基于细胞的展示(参见,例如,WO 03/029456)、蛋白质-核酸融合(参见,例如,US 6,207,446)、核糖体展示(参见,例如,Mattheakis等人,(1994)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 91:9022和Hanes等人,(2000)Nat Biotechnol.18:1287-92;Hanes等人,(2000)Methods Enzymol.328:404-30;和Schaffitzel等人,(1999)J Immunol Methods.231(1-2):119-35)和大肠杆菌周质展示((2005 Nov 22;PMID:16337958)。

[0382] 在一些情况下,可以根据方法本领域已知的方法制备scFv(参见,例如,Bird等人,(1988)Science 242:423-426和Huston等人,(1988)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879-

5883)。可以通过使用柔性多肽接头将VH区和VL区连接在一起产生scFv分子。ScFv分子包含长度和/或氨基酸组成优化的接头(例如,Ser-Gly接头)。接头长度可以大大影响scFv的可变区怎样折叠和相互作用。实际上,如果使用短多肽接头(例如,在5-10个氨基酸之间),则防止链内折叠。还需要链间折叠以使这两个可变区一起形成有功能的表位结合位点。关于接头取向和大小的例子,参见,例如,Hollinger等人,1993 Proc Natl Acad.Sci.U.S.A.90:6444-6448、美国专利公开号2005/0100543、2005/0175606、2007/0014794,和PCT公开号WO 2006/020258和WO 2007/024715,所述文献通过引用的方式并入本文。

[0383] scFv可以在其VL区和VH区之间包含至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50个或更多个氨基酸残基的接头。接头序列可以包含任何天然存在的氨基酸。在一些实施方案中,接头序列包含氨基酸甘氨酸和丝氨酸。在另一个实施方案中,接头序列包含成组的甘氨酸和丝氨酸重复序列如$(Gly_4Ser)_n$,其中n是等于或大于1的正整数(SEQ ID NO:25)。在一个实施方案中,接头可以是$(Gly4Ser)_4$(SEQ ID NO:27)或$(Gly4Ser)_3$(SEQ ID NO:28)。接头长度的变异性可以保留或增强活性,在活性研究中产生优越功效。

[0384] 示例性CD123 CAR构建体和抗原结合结构域

[0385] 本文中公开的示例性CD123 CAR构建体包含scFv(例如,如本文表2、6和9中公开的人scFv,任选地前置有任选的前导序列(例如,示例性前导氨基酸序列和核苷酸序列分别是SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:12)。在本文表2中提供人scFv片段的序列(SEQ ID NO:157-160的氨基酸序列)。在本文表9中提供无前导序列的人scFv片段的序列(核苷酸序列为SEQ ID NO:479、481、482和484,和氨基酸序列为SEQ ID NO:478、480、483和485)。CD123 CAR构建体还可以包括任选的铰链结构域,例如,CD8铰链结构域(例如,包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列或由SEQ ID NO:1的核酸序列编码);跨膜结构域,例如,CD8跨膜结构域(例如,包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列或由SEQ ID NO:17的核苷酸序列编码);胞内结构域,例如,4-1BB胞内结构域(例如,包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列或由SEQ ID NO:18的核苷酸序列编码);和功能性信号结构域,例如,CD3ζ结构域(例如,包含SEQ ID NO:9或10的氨基酸序列,或由SEQ ID NO:20或21的核苷酸序列编码)。在某些实施方案中,各结构域邻接并处于相同的可读框内,以形成单一融合蛋白。在其他实施方案中,各结构域处于分离的多肽中,例如,如处于如本文所述的RCAR分子中。

[0386] 在某些实施方案中,全长CD123 CAR分子包含表2、6或9中提供的CD123-1,CD123-2,CD123-3,CD123-4,hzCD123-1,hzCD123-2,hzCD123-3,hzCD123-4,hzCD123-5,hzCD123-6,hzCD123-7,hzCD123-8,hzCD123-9,hzCD123-10,hzCD123-11,hzCD123-12,hzCD123-13,hzCD123-14,hzCD123-15,hzCD123-16,hzCD123-17,hzCD123-18,hzCD123-19,hzCD123-20,hzCD123-21,hzCD123-22,hzCD123-23,hzCD123-24,hzCD123-25,hzCD123-26,hzCD123-27,hzCD123-28,hzCD123-29,hzCD123-30,hzCD123-31或hzCD123-32的氨基酸序列、或被核苷酸序列编码的氨基酸序列,或与其基本上同一(例如,95-99%)的序列。

[0387] 在某些实施方案中,CD123 CAR分子或CD123抗原结合结构域包含表2、6或9中提供的CD123-1,CD123-2,CD123-3,CD123-4,hzCD123-1,hzCD123-2,hzCD123-3,hzCD123-4,hzCD123-5,hzCD123-6,hzCD123-7,hzCD123-8,hzCD123-9,hzCD123-10,hzCD123-11,

hzCD123-12,hzCD123-13,hzCD123-14,hzCD123-15,hzCD123-16,hzCD123-17,hzCD123-18,hzCD123-19,hzCD123-20,hzCD123-21,hzCD123-22,hzCD123-23,hzCD123-24,hzCD123-25,hzCD123-26,hzCD123-27,hzCD123-28,hzCD123-29,hzCD123-30,hzCD123-31或hzCD123-32的scFv氨基酸序列;或包含CD123-1,CD123-2,CD123-3,CD123-4,hzCD123-1,hzCD123-2,hzCD123-3,hzCD123-4,hzCD123-5,hzCD123-6,hzCD123-7,hzCD123-8,hzCD123-9,hzCD123-10,hzCD123-11,hzCD123-12,hzCD123-13,hzCD123-14,hzCD123-15,hzCD123-16,hzCD123-17,hzCD123-18,hzCD123-19,hzCD123-20,hzCD123-21,hzCD123-22,hzCD123-23,hzCD123-24,hzCD123-25,hzCD123-26,hzCD123-27,hzCD123-28,hzCD123-29,hzCD123-30,hzCD123-31或hzCD123-32的scFv氨基酸序列、或被核苷酸序列编码的序列,或与前述任何序列基本上同一(例如,95-99%同一,或多至20、15、10、8、6、5、4、3、2或1个氨基酸变化)的序列。

[0388] 在某些实施方案中,CD123 CAR分子或CD123抗原结合结构域包含表2或6中提供的CD123-1,CD123-2,CD123-3,CD123-4,hzCD123-1,hzCD123-2,hzCD123-3,hzCD123-4,hzCD123-5,hzCD123-6,hzCD123-7,hzCD123-8,hzCD123-9,hzCD123-10,hzCD123-11,hzCD123-12,hzCD123-13,hzCD123-14,hzCD123-15,hzCD123-16,hzCD123-17,hzCD123-18,hzCD123-19,hzCD123-20,hzCD123-21,hzCD123-22,hzCD123-23,hzCD123-24,hzCD123-25,hzCD123-26,hzCD123-27,hzCD123-28,hzCD123-29,hzCD123-30,hzCD123-31或hzCD123-32的重链可变区和/或轻链可变区,或与前述任何序列基本上同一(例如,95-99%同一,或多至20、15、10、8、6、5、4、3、2或1个氨基酸变化)的序列。

[0389] 在某些实施方案中,CD123 CAR分子或CD123抗原结合结构域包含表3或7中提供的1、2或3个来自重链可变区的CDR(例如,HC CDR1,HC CDR2和/或HC CDR3);和/或表4或8中提供的1、2或3个来自CD123-1,CD123-2,CD123-3,CD123-4,hzCD123-1,hzCD123-2,hzCD123-3,hzCD123-4,hzCD123-5,hzCD123-6,hzCD123-7,hzCD123-8,hzCD123-9,hzCD123-10,hzCD123-11,hzCD123-12,hzCD123-13,hzCD123-14,hzCD123-15,hzCD123-16,hzCD123-17,hzCD123-18,hzCD123-19,hzCD123-20,hzCD123-21,hzCD123-22,hzCD123-23,hzCD123-24,hzCD123-25,hzCD123-26,hzCD123-27,hzCD123-28,hzCD123-29,hzCD123-30,hzCD123-31或hzCD123-32的轻链可变区的CDR(例如,LC CDR1、LC CDR2和/或LC CDR3);或与上述任何序列基本上同一(例如,95-99%同一,或多至5、4、3、2或1个氨基酸变化)的序列。

[0390] 在某些实施方案中,CD123 CAR分子或CD123抗原结合结构域包含表10中提供的1、2或3个来自重链可变区的CDR(例如,HC CDR1,HC CDR2和/或HC CDR3);和/或表11中提供的1、2或3个来自CD123-1,CD123-2,CD123-3,CD123-4,hzCD123-1,hzCD123-2,hzCD123-3,hzCD123-4,hzCD123-5,hzCD123-6,hzCD123-7,hzCD123-8,hzCD123-9,hzCD123-10,hzCD123-11,hzCD123-12,hzCD123-13,hzCD123-14,hzCD123-15,hzCD123-16,hzCD123-17,hzCD123-18,hzCD123-19,hzCD123-20,hzCD123-21,hzCD123-22,hzCD123-23,hzCD123-24,hzCD123-25,hzCD123-26,hzCD123-27,hzCD123-28,hzCD123-29,hzCD123-30,hzCD123-31和hzCD123-32的轻链可变区的CDR(例如,LC CDR1、LC CDR2和/或LC CDR3);或与上述任何序列基本上同一(例如,95-99%同一,或多至5、4、3、2或1个氨基酸变化)的序列。

[0391] 在某些实施方案中,CD123 CAR分子或CD123抗原结合结构域包含表12中提供的1、2或3个来自重链可变区的CDR(例如,HC CDR1,HC CDR2和/或HC CDR3);和/或表13中提供的

1、2或3个来自CD123-1,CD123-2,CD123-3,CD123-4,hzCD123-1,hzCD123-2,hzCD123-3,hzCD123-4,hzCD123-5,hzCD123-6,hzCD123-7,hzCD123-8,hzCD123-9,hzCD123-10,hzCD123-11,hzCD123-12,hzCD123-13,hzCD123-14,hzCD123-15,hzCD123-16,hzCD123-17,hzCD123-18,hzCD123-19,hzCD123-20,hzCD123-21,hzCD123-22,hzCD123-23,hzCD123-24,hzCD123-25,hzCD123-26,hzCD123-27,hzCD123-28,hzCD123-29,hzCD123-30,hzCD123-31或hzCD123-32的轻链可变区的CDR(例如,LCDR1、LCDR2和/或LCDR3);或与上述任何序列基本上同一(例如,95-99%同一,或多至5、4、3、2或1个氨基酸变化)的序列。

[0392] 在scFv结构域的CDR序列中,重链可变结构域的序列显示于表3、7、10和12,以及轻链可变结构域的序列显示于表4、8、11和13。"ID"代表每个CDR的相应SEQ ID NO。

[0393] 在表3、4、7和8中提供的CDR依据Kabat和Chothia编号方案的组合。

[0394] 表3.重链可变结构域CDR

[0395]

候选者	HCDR1	ID	HCDR2	ID	HCDR3	ID
CAR123-2	GYTFTGYYMH	335	WINPNSGGTNYAQKFQG	363	DMNILATVPFDI	391
CAR123-3	GYIFTGYYIH	337	WINPNSGGTNYAQKFQG	364	DMNILATVPFDI	392
CAR123-4	GYTFTGYYMH	336	WINPNSGGTNYAQKFQG	365	DMNILATVPFDI	393
CAR123-1	GYTFTDYYMH	334	WINPNSGDTNYAQKFQG	362	DMNILATVPFDI	390

[0396] 表4.轻链可变结构域CDR

[0397]

候选者	LCDR1	ID	LCDR2	ID	LCDR3	ID
CAR123-2	RASQSISSYLN	419	AAFSLQS	447	QQGDSVPLT	475
CAR123-3	RASQSISSYLN	420	AASSLQS	448	QQGDSVPLT	476
CAR123-4	RASQSISSYLN	421	AASSLQS	449	QQGDSVPLT	477
CAR123-1	RASQSISTYLN	418	AASSLQS	446	QQGDSVPLT	474

[0398] 表7:重链可变结构域CDR

[0399]

	HCDR1	ID	HCDR2	ID	HCDR3	ID
hzCAR123	GYTFTSYWMN	361	RIDPYDSETHYNQKFKD	389	GNWDDY	417

[0400] 表8.轻链可变结构域CDR

[0401]

	LCDR1	ID	LCDR2	ID	LCDR3	ID
hzCAR123	RASKSISKDLA	445	SGSTLQS	473	QQHNKYPYT	47

[0402] 表10:根据Kabat编号方案的重链可变结构域CDR(Kabat等人(1991),Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版,Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD)

[0403]

候选者	HCDR1	ID	HCDR2	ID	HCDR3	ID
CAR123-2	GYYMH	487	WINPNSGGTNYAQKFQG	492	DMNILATVPFDI	497
CAR123-3	GYYIH	488	WINPNSGGTNYAQKFQG	493	DMNILATVPFDI	498
CAR123-4	DYYMH	489	WINPNSGDTNYAQKFQG	494	DMNILATVPFDI	499
CAR123-1	GYYMH	486	WINPNSGGTNYAQKFQG	491	DMNILATVPFDI	496
hzCAR123-1	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500
hzCAR123-2	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500

hzCAR123-3	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500
hzCAR123-4	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500
hzCAR123-5	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500
hzCAR123-6	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500
hzCAR123-7	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500
hzCAR123-8	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500
hzCAR123-9	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500
hzCAR123-10	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500
hzCAR123-11	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500
hzCAR123-12	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500
hzCAR123-13	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500
hzCAR123-14	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500
hzCAR123-15	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500
hzCAR123-16	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500
hzCAR123-17	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500
hzCAR123-18	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500
hzCAR123-19	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500
hzCAR123-20	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500
hzCAR123-21	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500
hzCAR123-22	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500
hzCAR123-23	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500
hzCAR123-24	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500
hzCAR123-25	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500
hzCAR123-26	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500
hzCAR123-27	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500
hzCAR123-28	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500
hzCAR123-29	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500
hzCAR123-30	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500
hzCAR123-31	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500
hzCAR123-32	SYWMN	490	RIDPYDSETHYNQKFKD	495	GNWDDY	500

[0404] 表11:根据Kabat编号方案的轻链可变结构域CDR(Kabat等人(1991),Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版,Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD)

[0405]

候选者	LCDR1	ID	LCDR2	ID	LCDR3	ID
CAR123-2	RASQSISSYLN	502	AASSLQS	507	QQGDSVPLT	512
CAR123-3	RASQSISSYLN	503	AASSLQS	508	QQGDSVPLT	513

[0406]

CAR123-4	RASQSISSYLN	504	AASSLQS	509	QQGDSVPLT	514
CAR123-1	RASQSISTYLN	501	AAFSLQS	506	QQGDSVPLT	511
hzCAR123-1	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-2	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-3	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-4	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-5	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-6	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-7	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-8	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-10	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-10	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-11	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-12	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-13	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-14	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-15	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-16	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-17	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-18	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-19	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-20	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-21	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-22	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-23	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-24	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-25	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-26	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-27	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-28	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-29	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-30	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-31	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515
hzCAR123-32	RASKSISKDLA	505	SGSTLQS	510	QQHNKYPYT	515

[0407] 表12:根据Chothia编号方案的重链可变结构域CDR(Al-Lazikani等人,(1997)JMB 273,927-948)

[0408]

候选者	HCDR1	ID	HCDR2	ID	HCDR3	ID
CAR123-2	GYTFTGY	517	NPNSGG	522	DMNILATVPFDI	527
CAR123-3	GYIFTGY	518	NPNSGG	523	DMNILATVPFDI	528
CAR123-4	GYTFTDY	519	NPNSGD	524	DMNILATVPFDI	529
CAR123-1	GYTFTGY	516	NPNSGG	521	DMNILATVPFDI	526
hzCAR123-1	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530
hzCAR123-2	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530
hzCAR123-3	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530

[0409]

hzCAR123-4	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530
hzCAR123-5	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530
hzCAR123-6	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530
hzCAR123-7	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530
hzCAR123-8	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530
hzCAR123-9	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530
hzCAR123-10	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530
hzCAR123-11	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530
hzCAR123-12	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530
hzCAR123-13	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530
hzCAR123-14	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530
hzCAR123-15	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530
hzCAR123-16	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530
hzCAR123-17	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530
hzCAR123-18	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530
hzCAR123-19	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530
hzCAR123-20	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530
hzCAR123-21	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530
hzCAR123-22	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530
hzCAR123-23	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530
hzCAR123-24	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530
hzCAR123-25	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530
hzCAR123-26	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530
hzCAR123-27	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530
hzCAR123-28	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530
hzCAR123-29	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530
hzCAR123-30	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530
hzCAR123-31	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530
hzCAR123-32	GYTFTSY	520	DPYDSE	525	GNWDDY	530

[0410] 表13:根据Chothia编号方案的轻链可变结构域CDR(Al-Lazikani等人,(1997)JMB 273,927-948)

[0411]

候选者	LCDR1	ID	LCDR2	ID	LCDR3	ID
CAR123-2	SQSISSY	532	AAS	537	GDSVPL	542
CAR123-3	SQSISSY	533	AAS	538	GDSVPL	543
CAR123-4	SQSISSY	534	AAS	539	GDSVPL	544
CAR123-1	SQSISTY	531	AAF	536	GDSVPL	541
hzCAR123-1	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555
hzCAR123-2	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555
hzCAR123-3	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555
hzCAR123-4	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555
hzCAR123-5	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555
hzCAR123-6	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555
hzCAR123-7	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555
hzCAR123-8	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555

[0412]

hzCAR123-10	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555
hzCAR123-10	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555
hzCAR123-11	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555
hzCAR123-12	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555
hzCAR123-13	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555
hzCAR123-14	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555
hzCAR123-15	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555
hzCAR123-16	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555
hzCAR123-17	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555
hzCAR123-18	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555
hzCAR123-19	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555
hzCAR123-20	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555
hzCAR123-21	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555
hzCAR123-22	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555
hzCAR123-23	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555
hzCAR123-24	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555
hzCAR123-25	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555
hzCAR123-26	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555
hzCAR123-27	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555
hzCAR123-28	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555
hzCAR123-29	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555
hzCAR123-30	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555
hzCAR123-31	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555
hzCAR123-32	SKSISKD	535	SGS	540	HNKYPY	555

[0413] 在实施方案中,产生了CD123单链可变片段并克隆到具有胞内CD3ζ结构域和4-1BB的胞内共刺激结构域的慢病毒CAR表达载体中。示例性完全人CD123 scFv的名称示于表1中。示例性人源化CD123 scFv的名称示于表5中。

[0414] 表1:CAR-CD123构建体

[0415]

构建体ID	CAR别名
EBB-C1357-F11	CAR123-1
EBB-C1358-B10	CAR123-2
EBB-C1358-D5	CAR123-3
EBB-C1357-C4	CAR123-4

[0416] 表5:CAR-CD123构建体

[0417]

构建体 ID	CAR 别名
VH1_1-46_X_VK1_L8	hzCAR-1
VH1_1-46_X_VK3_L6	hzCAR-2
VH1_1-46_X_VK6_A14	hzCAR-3
VH1_1-46_X_VK4_B3	hzCAR-4
VK1_L8_X_VH1_1-46	hzCAR-5
VK3_L6_X_VH1_1-46	hzCAR-6
VK6_A14_X_VH1_1-46	hzCAR-7

[0418]

VK4_B3_X_VH1_1-46	hzCAR-8
VH7_7-4.1_X_VK1_L8	hzCAR-9
VH7_7-4.1_X_VK3_L6	hzCAR-10
VH7_7-4.1_X_VK6_A14	hzCAR-11
VH7_7-4.1_X_VK4_B3	hzCAR-12
VK1_L8_X_VH7_7-4.1	hzCAR-13
VK3_L6_X_VH7_7-4.1	hzCAR-14
VK6_A14_X_VH7_7-4.1	hzCAR-15
VK4_B3_X_VH7_7-4.1	hzCAR-16
VH5_5-A_X_VK1_L8	hzCAR-17
VH5_5-A_X_VK3_L6	hzCAR-18
VH5_5-A_X_VK6_A14	hzCAR-19
VH5_5-A_X_VK4_B3	hzCAR-20
VK1_L8_X_VH5_5-A	hzCAR-21
VK3_L6_X_VH5_5-A	hzCAR-22
VK6_A14_X_VH5_5-A	hzCAR-23
VK4_B3_X_VH5_5-A	hzCAR-24
VH3_3-74_X_VK1_L8	hzCAR-25
VH3_3-74_X_VK3_L6	hzCAR-26
VH3_3-74_X_VK6_A14	hzCAR-27
VH3_3-74_X_VK4_B3	hzCAR-28
VK1_L8_X_VH3_3-74	hzCAR-29
VK3_L6_X_VH3_3-74	hzCAR-30
VK6_A14_X_VH3_3-74	hzCAR-31
VK4_B3_X_VH3_3-74	hzCAR-32

[0419] 在实施方案中,VL和VH结构域在scFv中出现的顺序是变化的(即VL-VH或VH-VL取向),并且其中三个或四个拷贝的“G4S”(SEQ ID NO:25)亚基连接可变结构域以创建scFv结构域的整体,如表2、表6和表9中所示,其中每个亚基包含序列GGGGS(SEQ ID NO:25)(例如,$(G4S)_3$(SEQ ID NO:28)或$(G4S)_4$(SEQ ID NO:27)),。

[0420] CD123 scFv结构域和CD123 CAR分子的氨基酸和核酸序列提供于表2、表6和表9中。每种scFv的可变重链和可变轻链的氨基酸序列也提供于表2和表6中。应注意,具有前导序列(例如,SEQ ID NO:1的氨基酸序列或SEQ ID NO:12的核苷酸序列)的scFv片段(SEQ ID NO:157-160和184-215)和无前导序列的scFv片段(SEQ ID NO:478、480、483、485和556-587)也包括在本发明中。

[0421] 前导(氨基酸序列)(SEQ ID NO:1)

[0422] MALPVTALLLPLALLLHAARP

[0423] 前导(核酸序列)(SEQ ID NO:12)

[0424] ATGGCCCTGCCTGTGACAGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTGCTGCTGCATGCCGCTAGACCC

[0425] CD8铰链(氨基酸序列)(SEQ ID NO:2)

[0426] TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD

[0427] CD8铰链(核酸序列)(SEQ ID NO:13)

[0428] ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCACCATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCCCAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGAT

[0429] CD8跨膜(氨基酸序列)(SEQ ID NO:6)

[0430] IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC

[0431] CD8跨膜(核酸序列)(SEQ ID NO:17)

[0432] ATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCTTTACTGC

[0433] 4-1BB胞内结构域(氨基酸序列)(SEQ ID NO:7)

[0434] KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL

[0435] 4-1BB胞内结构域(核酸序列)(SEQ ID NO:18)

[0436] AAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTG

[0437] CD28胞内结构域(氨基酸序列)(SEQ ID NO:43)

[0438] RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS(SEQ ID NO:43)

[0439] CD28胞内结构域(核苷酸序列)(SEQ ID NO:44)

[0440] AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACATGACTCCCCGCCGCCCCGGGCCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCC(SEQ ID NO:44)

[0441] ICOS胞内结构域(氨基酸序列)(SEQ ID NO:45)

[0442] TKKKYSSSVHDPNGEYMFMRAVNTAKKSRLTDVTL(SEQ ID NO:45)

[0443] ICOS胞内结构域(核苷酸序列)(SEQ ID NO:46)

[0444] ACAAAAAAGAAGTATTCATCCAGTGTGCACGACCCTAACGGTGAATACATGTTCATGAGAGCAGTGAACACAGCCAAAAAATCCAGACTCACAGATGTGACCCTA(SEQ ID NO:46)

[0445] CD3ζ结构域(氨基酸序列)(SEQ ID NO:9)

[0446] RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

[0447] CD3ζ(核酸序列)(SEQ ID NO:20)

[0448] AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACAAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC

[0449] CD3ζ结构域(氨基酸序列;NCBI参考序列NM_000734.3)(SEQ ID NO:10)

[0450] RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

[0451] CD3ζ(核酸序列;NCBI参考序列NM_000734.3);(SEQ ID NO:21)

[0452] AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC

[0453] IgG4铰链(氨基酸序列)(SEQ ID NO:36)

[0454] ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL

SLSLGKM

[0455] IgG4铰链(核苷酸序列)(SEQ ID NO:37)

[0456] GAGAGCAAGTACGGCCCTCCCTGCCCCCCTTGCCCTGCCCCCGAGTTCCTGGGCGGACCCAGCGTGTTC
CTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTC
CCAGGAGGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCCGGG
AGGAGCAGTTCAATAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAA
TACAAGTGTAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCAGCAGCATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCG
GGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCCAAGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGA
AGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCC
CCTGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCCGGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAGGGCAA
CGTCTTTAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCTGGGCA
AGATG

[0457] 在实施方案中,表2和6中的这些克隆均含有源自CD3ζ链的共刺激结构域的信号结构域中的Q/K残基变化。

[0458] 表2.示例性CD123 CAR序列

[0459]

名称	SEQ ID	序列
CAR123-2 NT	40	atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccac gccgctcggccccaagtgcaactcgtccaaagcggagcggaagtcaagaaa cccggagcgagcgtgaaagtgtcctgcaaagcctccggctacacctttacg ggctactacatgcactgggtgcgccaggcaccaggacagggtcttgaatgg atgggatggatcaaccctaattcgggcggaactaactacgcacagaagttc caggggagagtgactctgactcgggatacctccatctcaactgtctacatg gaactctcccgcttgcggtcagatgatacggcagtgtactactgcgcccgc gacatgaatatcctggctaccgtgccgttcgacatctggggacaggggact atggttactgtctcatcgggcggtggaggttcaggaggaggcggctcggga ggcggaggttcggacattcagatgacccagtccccatcctctctgtcggcc agcgtcggagatagggtgaccattacctgtcgggcctcgcaaagcatctcc tcgtacctcaactggtatcagcaaaagccgggaaaggcgcctaagctgctg atctacgccgcttcgagcttgcaaagcggggtgccatccagattctcggga tcaggctcaggaaccgacttcaccctgaccgtgaacagcctccagccggag gactttgccacttactactgccagcagggagactccgtgccgcttactttc ggggggggtacccgcctggagatcaagaccactaccccagcaccgaggcca cccaccccggctcctaccatcgcctcccagcctctgtccctgcgtccggag gcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctg ctgctttcactcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctg ctgtacatctttaagcaacccttcatgaggcctgtgcagactactcaagag gaggacggctgttcatgccggttcccagaggaggaggaaggcggctgcgaa ctgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctacaagcagggg cagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacgac gtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgc agaaagaatccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatg gcagaagcctatagcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaa ggccacgacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctat gacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
CAR123-2 AA	99	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT GYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTLTRDTSISTVYM ELSRLRSDDTAVYYCARDMNILATVPFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTVNSLQPEDFATYYCQQGDSVPLTF GGGTRLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDF ACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQE EDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYD VLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
CAR123-2	158	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT

[0460]

scFv		GYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTLTRDTSISTVYM ELSRLRSDDTAVYYCARDMNILATVPFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTVNSLQPEDFATYYCQQGDSVPLTF GGGTRLEIK
CAR123-2 VH	217	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWI NPNSGGTNYAQKFQGRVTLTRDTSISTVYMELSRLRSDDTAVYYCARDMNI LATVPFDIWGQGTMVTVSS
CAR123-2 VL	276	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAA SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTVNSLQPEDFATYYCQQGDSVPLTFGGGT RLEIK
CAR123-3 NT	41	atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccac gccgctcggccccaagtccaactcgttcaatccggcgcagaagtcaagaag ccaggagcatcagtgaaagtgtcctgcaaagcctcaggctacatcttcacg ggatactacatccactgggtgcgccaggctccgggccagggccttgagtgg atgggctggatcaaccctaactctgggggaaccaactacgctcagaagttc caggggagggtcactatgactcgcgatacctccatctccactgcgtacatg gaactctcgggactgagatccgacgatcctgccgtgtactactgcgcccgg gacatgaacatcttggcgaccgtgccgtttgacatttggggacagggcacc ctcgtcactgtgtcgagcggtggaggaggctcgggggggtggcggatcagga gggggaggaagcgacatccagctgactcagagcccatcgtcgttgtccgcg tcggtgggggatagagtgaccattacttgccgcgccagccagagcatctca tcatatctgaattggtaccagcagaagcccggaaaggccccaaaactgctg atctacgctgcaagcagcctccaatcgggagtgccgtcacggttctccggg tccggttcgggaactgactttaccctgaccgtgaattcgctgcaaccggag gatttcgccacgtactactgtcagcaaggagactccgtgccgctgaccttc ggtggaggcaccaaggtcgaaatcaagaccactaccccagcaccgaggcca cccaccccggctcctaccatcgcctcccagcctctgtccctgcgtccggag gcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctg ctgctttcactcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctg ctgtacatctttaagcaacccttcatgaggcctgtgcagactactcaagag gaggacggctgttcatgccggttcccagaggaggaggaaggcggctgcgaa ctgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctacaagcagggg cagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacgac gtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgc agaaagaatccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatg gcagaagcctatagcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaa ggccacgacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctat gacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
CAR123-3 AA	100	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFT GYYIHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYM ELSGLRSDDPAVYYCARDMNILATVPFDIWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTVNSLQPEDFATYYCQQGDSVPLTF GGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDF ACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQE EDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYD VLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK

[0461]

		GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
CAR123-3 scFv	159	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFT GYYIHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYM ELSGLRSDDPAVYYCARDMNILATVPFDIWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTVNSLQPEDFATYYCQQGDSVPLTF GGGTKVEIK
CAR123-3 VH	218	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFTGYYIHWVRQAPGQGLEWMGWI NPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSGLRSDDPAVYYCARDMNI LATVPFDIWGQGTLVTVSS
CAR123-3 VL	277	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAA SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTVNSLQPEDFATYYCQQGDSVPLTFGGGT KVEIK
CAR123-4 NT	42	atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccac gccgctcggccccaagtccaactccaacagtcaggcgcagaagtgaaaaag agcggtgcatcggtgaaagtgtcatgcaaagcctcgggctacaccttcact gactactatatgcactggctgcggcaggcaccgggacagggacttgagtgg atgggatggatcaacccgaattcaggggacactaactacgcgcagaagttc cagggggagagtgaccctgacgagggacacctcaatttcgaccgtctacatg gaattgtcgcgcctgagatcggacgatactgctgtgtactactgtgcccgc gacatgaacatcctcgcgactgtgccttttgatatctggggacaggggact atggtcaccgtttcctccgcttccggtggcggaggctcgggaggccgggcc tccggtggaggaggcagcgacatccagatgactcagagcccttcctcgctg agcgcctcagtgggagatcgcgtgaccatcacttgccgggccagccagtcc atttcgtcctacctcaattggtaccagcagaagccgggaaaggcgcccaag ctcttgatctacgctgcgagctccctgcaaagcggggtgccgagccgattc tcgggttccggctcgggaaccgacttcactctgaccatctcatccctgcaa ccagaggactttgccacctactactgccaacaaggagattctgtcccactg acgttcggcggaggaaccaaggtcgaaatcaagaccactaccccagcaccg aggccacccacccccggctcctaccatcgcctcccagcctctgtccctgcgt ccggaggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtctt gacttcgcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggg gtcctgctgctttcactcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaag aagctgctgtacatctttaagcaacccttcatgaggcctgtgcagactact caagaggaggacggctgttcatgccggttcccagaggaggaggaaggcggc tgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctacaag caggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggag tacgacgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaag ccgcgcagaaagaatccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggat aagatggcagaagcctatagcgagattggtatgaaaggggaacgcagaaga ggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggac acctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
CAR123-4 AA	101	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQQSGAEVKKSGASVKVSCKASGYTFT DYYMHWLRQAPGQGLEWMGWINPNSGDTNYAQKFQGRVTLTRDTSISTVYM ELSRLRSDDTAVYYCARDMNILATVPFDIWGQGTMVTVSSASGGGGSGGRA SGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPK LLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGDSVPL TFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGL DFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCK

[0462]

CAR123-4 scFv	160	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQQSGAEVKKSGASVKVSCKASGYTFT DYYMHWLRQAPGQGLEWMGWINPNSGDTNYAQKFQGRVTLTRDTSISTVYM ELSRLRSDDTAVYYCARDMNILATVPFDIWGQGTMVTVSSASGGGGSGGRA SGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPK LLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGDSVPL TFGGGTKVEIK
CAR123-4 VH	219	QVQLQQSGAEVKKSGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWLRQAPGQGLEWMGWI NPNSGDTNYAQKFQGRVTLTRDTSISTVYMELSRLRSDDTAVYYCARDMNI LATVPFD**I**WGQGTMVTVSS
CAR123-4 VL	278	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAA SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGDSVPLTFGGGT KVEIK
CAR123-1 NT	39	atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccac gccgctcggccccaagtccaactcgtccagtcaggagcggaagtcaagaag cccggagcgtcagtcaaagtgtcatgcaaagcctcgggctacactttcact gggtactacatgcactgggtgcgccaggctccaggacagggactggaatgg atgggatggatcaacccgaactccggtggcaccaattacgcccagaagttc caggggagggtgaccatgactcgcgacacgtcgatcagcaccgcatacatg gagctgtcaagactccggtccgacgatactgccgtgtactactgcgcacgg gacatgaacattctggccaccgtgccttttgacatctggggtcagggaact atggttaccgtgtcctctggtggaggcggctccggcgggggggggaagcgga ggcggtggaagcgacattcagatgacccagtcgccttcatccctttcggcg agcgtgggagatcgcgtcactatcacttgtcgggcctcgcagtccatctcc acctacctcaattggtaccagcagaagccaggaaaagcaccgaatctgctg atctacgccgcgttttccttgcaatcgggagtgccaagcagattcagcgga tcgggatcaggcactgatttcaccctcaccatcaactcgctgcaaccggag gatttcgctacgtactattgccaacaaggagacagcgtgccgctcaccttc ggcggagggactaagctggaaatcaagaccactaccccagcaccgaggcca cccaccccggctcctaccatcgcctcccagcctctgtccctgcgtccggag gcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctg ctgctttcactcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctg ctgtacatctttaagcaacccttcatgaggcctgtgcagactactcaagag gaggacggctgttcatgccggttcccagaggaggaggaaggcggctgcgaa ctgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctacaagcagggg cagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacgac gtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgc agaaagaatccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatg gcagaagcctatagcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaa ggccacgacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctat gacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
CAR123-1 AA	98	malpvtalllplalllhaarpqvqlvqsgaevkkpgasvkvsckasgytft gyymhwvrqapgqglewmgwinpnsggtnyaqkfqgrvtmtrdtsistaym elsrlrsddtavyycardmnilatvpfdiwgqgtmvtvssggggsggggsg gggsdiqmtqspsslsasvgdrvtitcrasqsistylnwyqqkpgkapnll iyaafslqsgvpsrfsgsgsgtdftltinslqpedfatyycqqgdsvpltf gggtkleiktttpaprpptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldf acdiyiwaplagtcgvlllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqe edgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgqnqlynelnlgrreeyd

[0463]

		vldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgk ghdglyqglstatkdtydalhmqalppr
CAR123-1 scFv	157	malpvtalllplalllhaarpqvqlvqsgaevkkpgasvkvsckasgytft gyymhwvrqapgqglewmgwinpnsggtnyaqkfqgrvtmtrdtsistaym elsrlrsddtavyycardmnilatvpfdiwgqgtmvtvssggggsggggsg gggsdiqmtqspsslsasvgdrvtitcrasqsistylnwyqqkpgkapnll iyaafslqsgvpsrfsgsgsgtdftltinslqpedfatyycqqgdsvpltf gggtkleik
CAR123-1 VH	216	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWI NPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARDMNI LATVPFDIWGQGTMVTVSS
CAR123-1 VL	275	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISTYLNWYQQKPGKAPNLLIYAA FSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLQPEDFATYYCQQGDSVPLTFGGGT KLEIK

[0464] 表6:人源化CD123 CAR序列

[0465]

名称	SEQ ID	序列
hzCAR123-1 NT	66	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCCAAGTGCAGCTGGTCCAGTCGGGAGCCGAAGTCAAGAAGCCCGGCGCTAGCGTGAAAGT GTCCTGCAAAGCCTCCGGGTACACATTCACCTCCTACTGGATGAATTGGGTCAGACAGGCG CCCGGCCAGGGACTCGAGTGGATGGGAAGGATTGATCCTTACGACTCCGAAACCCATTACA ACCAGAAGTTCAAGGACCGCGTGACCATGACTGTGGATAAGTCCACTTCCACCGCTTACAT GGAGCTGTCCAGCCTGCGCTCCGAGGATACCGCAGTGTACTACTGCGCCCGGGGAAACTGG GACGACTATTGGGGACAGGGAACTACCGTGACCGTGTCAAGCGGGGGTGGCGGTAGCGGAG GAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCAGGGGGCGGAGGAAGCGACGTGCAGCTCACCCAGTC GCCCTCATTTCTGTCGGCCTCAGTGGGAGACAGAGTGACCATTACTTGTCGGGCCTCCAAG AGCATCTCCAAGGACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGAAAGGCGCCTAAGTTGCTCA TCTACTCGGGGTCGACCCTGCAATCTGGCGTGCCGTCCCGGTTCTCCGGTTCGGGAAGCGG TACCGAATTCACCCTTACTATCTCCTCCCTGCAACCGGAGGACTTCGCCACCTACTACTGC CAACAGCACAACAAGTACCCGTACACTTTCGGGGGTGGCACGAAGGTCGAAATCAAGACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123-1 AA	125	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQA PGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGNW DDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASK SISKDLAWYQQKPGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYC QQHNKYPYTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDF ACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPE EEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKN PQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
hzCAR123-1	184	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQA PGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGNW

[0466]

scFv		DDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASK SISKDLAWYQQKPGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYC QQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -1 VH	243	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYN QKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123 -1 VL	302	DVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSISKDLAWYQQKPGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSR FSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -2 NT	67	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCCAAGTGCAGCTGGTCCAGTCGGGAGCCGAAGTCAAGAAGCCCGGCGCTAGCGTGAAAGT GTCCTGCAAAGCCTCCGGGTACACATTCACCTCCTACTGGATGAATTGGGTCAGACAGGCG CCCGGCCAGGGACTCGAGTGGATGGGAAGGATTGATCCTTACGACTCCGAAACCCATTACA ACCAGAAGTTCAAGGACCGCGTGACCATGACTGTGGATAAGTCCACTTCCACCGCTTACAT GGAGCTGTCCAGCCTGCGCTCCGAGGATACCGCAGTGTACTACTGCGCCCGGGGAAACTGG GACGACTATTGGGGACAGGGAACTACCGTGACCGTGTCAAGCGGGGGTGGCGGTAGCGGAG GAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCAGGGGGCGGAGGAAGCGAAGTGGTGCTGACCCAGTC GCCCGCAACCCTCTCTCTGTCGCCGGGAGAACGCGCCACTCTTTCCTGTCGGGCGTCCAAG AGCATCTCAAAGGACCTCGCCTGGTACCAGCAGAAGCCTGGTCAAGCCCCGCGGCTGCTGA TCTACTCCGGCTCCACGCTGCAATCAGGAATCCCAGCCAGATTTTCCGGTTCGGGGTCGGG GACTGACTTCACCTTGACCATTAGCTCGCTGGAACCTGAGGACTTCGCCGTGTATTACTGC CAGCAGCACAACAAGTACCCGTACACCTTCGGAGGCGGTACTAAGGTCGAGATCAAGACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123 -2 AA	126	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQ APGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVVLTQSPATLSLSPGERATLSCR ASKSISKDLAWYQQKPGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123 -2 scFv	185	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQ APGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVVLTQSPATLSLSPGERATLSCR ASKSISKDLAWYQQKPGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -2 VH	244	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYN QKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123 -2 VL	303	EVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSISKDLAWYQQKPGQAPRLLIYSGSTLQSGIPAR FSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -3 NT	68	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCCAAGTGCAGCTGGTCCAGTCGGGAGCCGAAGTCAAGAAGCCCGGCGCTAGCGTGAAAGT GTCCTGCAAAGCCTCCGGGTACACATTCACCTCCTACTGGATGAATTGGGTCAGACAGGCG

[0467]

		CCCGGCCAGGGACTCGAGTGGATGGGAAGGATTGATCCTTACGACTCCGAAACCCATTACA ACCAGAAGTTCAAGGACCGCGTGACCATGACTGTGGATAAGTCCACTTCCACCGCTTACAT GGAGCTGTCCAGCCTGCGCTCCGAGGATACCGCAGTGTACTACTGCGCCCGGGGAAACTGG GACGACTATTGGGGACAGGGAACTACCGTGACCGTGTCAAGCGGGGGTGGCGGTAGCGGAG GAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCAGGGGGCGGAGGAAGCGACGTCGTGATGACCCAGTC ACCGGCATTCCTGTCCGTGACTCCCGGAGAAAAGGTCACGATTACTTGCCGGGCGTCCAAG AGCATCTCCAAGGACCTCGCCTGGTACCAACAGAAGCCGGACCAGGCCCCTAAGCTGTTGA TCTACTCGGGGTCCACCCTTCAATCGGGAGTGCCATCGCGGTTTAGCGGTTCGGGTTCTGG GACCGACTTCACTTTCACCATCTCCTCACTGGAAGCCGAGGATGCCGCCACTTACTACTGT CAGCAGCACAACAAGTATCCGTACACCTTCGGAGGCGGTACCAAAGTGGAGATCAAGACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123-3 AA	127	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQ APGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCR ASKSISKDLAWYQQKPDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAA TYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123-3 scFv	186	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQ APGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCR ASKSISKDLAWYQQKPDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAA TYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123-3 VH	245	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYN QKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123-3 VL	304	DVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCRASKSISKDLAWYQQKPDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSR FSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123-4 NT	69	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCCAAGTGCAGCTGGTCCAGTCGGGAGCCGAAGTCAAGAAGCCCGGCGCTAGCGTGAAAGT GTCCTGCAAAGCCTCCGGGTACACATTCACCTCCTACTGGATGAATTGGGTCAGACAGGCG CCCGGCCAGGGACTCGAGTGGATGGGAAGGATTGATCCTTACGACTCCGAAACCCATTACA ACCAGAAGTTCAAGGACCGCGTGACCATGACTGTGGATAAGTCCACTTCCACCGCTTACAT GGAGCTGTCCAGCCTGCGCTCCGAGGATACCGCAGTGTACTACTGCGCCCGGGGAAACTGG GACGACTATTGGGGACAGGGAACTACCGTGACCGTGTCAAGCGGGGGTGGCGGTAGCGGAG GAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCAGGGGGCGGAGGAAGCGACGTGGTCATGACTCAGTC CCCGGACTCACTCGCGGTGTCGCTTGGAGAGAGAGCGACCATCAACTGTCGGGCCTCAAAG AGCATCAGCAAGGACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCGGGACAGCCGCCAAAGCTGCTGA TCTACTCCGGGTCCACCTTGCAATCTGGTGTCCCTGACCGGTTCTCCGGTTCCGGGTCGGG TACCGACTTCACGCTCACTATTTCGTCGCTGCAAGCCGAAGATGTGGCCGTGTACTATTGC CAACAGCACAACAAGTACCCCTACACTTTTGGCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAGACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT

[0468]

		GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123 -4 AA	128	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQ APGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPDSLAVSLGERATINCR ASKSISKDLAWYQQKPGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123 -4 scFv	187	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQ APGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPDSLAVSLGERATINCR ASKSISKDLAWYQQKPGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -4 VH	246	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYN QKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123 -4 VL	305	DVVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSISKDLAWYQQKPGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDR FSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -5 NT	70	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCGACGTGCAGCTCACCCAGTCGCCCTCATTTCTGTCGGCCTCAGTGGGAGACAGAGTGAC CATTACTTGTCGGGCCTCCAAGAGCATCTCCAAGGACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCA GGAAAGGCGCCTAAGTTGCTCATCTACTCGGGGTCGACCCTGCAATCTGGCGTGCCGTCCC GGTTCTCCGGTTCGGGAAGCGGTACCGAATTCACCCTTACTATCTCCTCCCTGCAACCGGA GGACTTCGCCACCTACTACTGCCAACAGCACAACAAGTACCCGTACACTTTCGGGGGTGGC ACGAAGGTCGAAATCAAGGGGGGTGGCGGTAGCGGAGGAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCT CAGGGGGCGGAGGAAGCCAAGTGCAGCTGGTCCAGTCGGGAGCCGAAGTCAAGAAGCCCGG CGCTAGCGTGAAAGTGTCCTGCAAAGCCTCCGGGTACACATTCACCTCCTACTGGATGAAT TGGGTCAGACAGGCGCCCGGCCAGGGACTCGAGTGGATGGGAAGGATTGATCCTTACGACT CCGAAACCCATTACAACCAGAAGTTCAAGGACCGCGTGACCATGACTGTGGATAAGTCCAC TTCCACCGCTTACATGGAGCTGTCCAGCCTGCGCTCCGAGGATACCGCAGTGTACTACTGC GCCCGGGGAAACTGGGACGACTATTGGGGACAGGGAACTACCGTGACCGTGTCAAGCACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123	129	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSISKDLAWYQQK

[0469]

-5 AA		PGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123 -5 scFv	188	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSISKDLAWYQQK PGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123 -5 VH	247	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYN QKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123 -5 VL	306	DVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSISKDLAWYQQKPGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSR FSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -6 NT	71	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCGAAGTGGTGCTGACCCAGTCGCCCGCAACCCTCTCTCTGTCGCCGGGAGAACGCGCCAC TCTTTCCTGTCGGGCGTCCAAGAGCATCTCAAAGGACCTCGCCTGGTACCAGCAGAAGCCT GGTCAAGCCCCGCGGCTGCTGATCTACTCCGGCTCCACGCTGCAATCAGGAATCCCAGCCA GATTTTCCGGTTCGGGGTCGGGGACTGACTTCACCTTGACCATTAGCTCGCTGGAACCTGA GGACTTCGCCGTGTATTACTGCCAGCAGCACAACAAGTACCCGTACACCTTCGGAGGCGGT ACTAAGGTCGAGATCAAGGGGGGTGGCGGTAGCGGAGGAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCT CAGGGGGCGGAGGAAGCCAAGTGCAGCTGGTCCAGTCGGGAGCCGAAGTCAAGAAGCCCGG CGCTAGCGTGAAAGTGTCCTGCAAAGCCTCCGGGTACACATTCACCTCCTACTGGATGAAT TGGGTCAGACAGGCGCCCGGCCAGGGACTCGAGTGGATGGGAAGGATTGATCCTTACGACT CCGAAACCCATTACAACCAGAAGTTCAAGGACCGCGTGACCATGACTGTGGATAAGTCCAC TTCCACCGCTTACATGGAGCTGTCCAGCCTGCGCTCCGAGGATACCGCAGTGTACTACTGC GCCCGGGGAAACTGGGACGACTATTGGGGACAGGGAACTACCGTGACCGTGTCAAGCACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123 -6 AA	130	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSISKDLAWYQQK PGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123 -6	189	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSISKDLAWYQQK PGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY

[0470]

scFv		WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123 -6 VH	248	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYN QKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123 -6 VL	307	EVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSISKDLAWYQQKPGQAPRLLIYSGSTLQSGIPAR FSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -7 NT	72	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCGACGTCGTGATGACCCAGTCACCGGCATTCCTGTCCGTGACTCCCGGAGAAAAGGTCAC GATTACTTGCCGGGCGTCCAAGAGCATCTCCAAGGACCTCGCCTGGTACCAACAGAAGCCG GACCAGGCCCCTAAGCTGTTGATCTACTCGGGGTCCACCCTTCAATCGGGAGTGCCATCGC GGTTTAGCGGTTCGGGTTCTGGGACCGACTTCACTTTCACCATCTCCTCACTGGAAGCCGA GGATGCCGCCACTTACTACTGTCAGCAGCACAACAAGTATCCGTACACCTTCGGAGGCGGT ACCAAAGTGGAGATCAAGGGGGGTGGCGGTAGCGGAGGAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCT CAGGGGGCGGAGGAAGCCAAGTGCAGCTGGTCCAGTCGGGAGCCGAAGTCAAGAAGCCCGG CGCTAGCGTGAAAGTGTCCTGCAAAGCCTCCGGGTACACATTCACCTCCTACTGGATGAAT TGGGTCAGACAGGCGCCCGGCCAGGGACTCGAGTGGATGGGAAGGATTGATCCTTACGACT CCGAAACCCATTACAACCAGAAGTTCAAGGACCGCGTGACCATGACTGTGGATAAGTCCAC TTCCACCGCTTACATGGAGCTGTCCAGCCTGCGCTCCGAGGATACCGCAGTGTACTACTGC GCCCGGGGAAACTGGGACGACTATTGGGGACAGGGAACTACCGTGACCGTGTCAAGCACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123 -7 AA	131	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCRASKSISKDLAWYQQK PDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123 -7 scFv	190	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCRASKSISKDLAWYQQK PDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123 -7 VH	249	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYN QKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123 -7 VL	308	DVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCRASKSISKDLAWYQQKPDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSR FSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -8 NT	73	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCGACGTGGTCATGACTCAGTCCCCGGACTCACTCGCGGTGTCGCTTGGAGAGAGAGCGAC CATCAACTGTCGGGCCTCAAAGAGCATCAGCAAGGACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCG GGACAGCCGCCAAAGCTGCTGATCTACTCCGGGTCCACCTTGCAATCTGGTGTCCCTGACC

[0471]

		GGTTCTCCGGTTCCGGGTCGGGTACCGACTTCACGCTCACTATTTCGTCGCTGCAAGCCGA AGATGTGGCCGTGTACTATTGCCAACAGCACAACAAGTACCCCTACACTTTTGGCGGAGGC ACCAAGGTGGAAATCAAGGGGGGTGGCGGTAGCGGAGGAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCT CAGGGGGCGGAGGAAGCCAAGTGCAGCTGGTCCAGTCGGGAGCCGAAGTCAAGAAGCCCGG CGCTAGCGTGAAAGTGTCCTGCAAAGCCTCCGGGTACACATTCACCTCCTACTGGATGAAT TGGGTCAGACAGGCGCCCGGCCAGGGACTCGAGTGGATGGGAAGGATTGATCCTTACGACT CCGAAACCCATTACAACCAGAAGTTCAAGGACCGCGTGACCATGACTGTGGATAAGTCCAC TTCCACCGCTTACATGGAGCTGTCCAGCCTGCGCTCCGAGGATACCGCAGTGTACTACTGC GCCCGGGGAAACTGGGACGACTATTGGGGACAGGGAACTACCGTGACCGTGTCAAGCACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123-8 AA	132	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSISKDLAWYQQK PGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123-8 scFv	191	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSISKDLAWYQQK PGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123-8 VH	250	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYN QKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123-8 VL	309	DVVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSISKDLAWYQQKPGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDR FSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123-9 NT	74	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCCAAGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCAGCGAACTGAAGAAGCCCGGAGCCTCCGTCAAAGT GTCCTGCAAAGCCTCGGGATACACCTTCACCTCCTACTGGATGAACTGGGTCCGCCAGGCA CCTGGACAGGGGCTGGAGTGGATGGGAAGGATCGATCCCTACGATTCCGAAACCCATTACA ATCAGAAGTTCAAGGACCGGTTTGTGTTCTCCGTGGACAAGTCCGTGTCCACCGCCTACCT CCAAATTAGCAGCCTGAAGGCGGAGGATACAGCTGTCTACTACTGCGCTCGCGGAAACTGG GATGACTATTGGGGCCAGGGAACTACCGTGACTGTGTCCTCCGGGGGTGGCGGTAGCGGAG GAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCAGGGGGCGGAGGAAGCGACGTGCAGCTCACCCAGTC GCCCTCATTTCTGTCGGCCTCAGTGGGAGACAGAGTGACCATTACTTGTCGGGCCTCCAAG AGCATCTCCAAGGACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGAAAGGCGCCTAAGTTGCTCA TCTACTCGGGGTCGACCCTGCAATCTGGCGTGCCGTCCCGGTTCTCCGGTTCGGGAAGCGG TACCGAATTCACCCTTACTATCTCCTCCCTGCAACCGGAGGACTTCGCCACCTACTACTGC CAACAGCACAACAAGTACCCGTACACTTTCGGGGGTGGCACGAAGGTCGAAATCAAGACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc

[0472]

		gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123-9 AA	133	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQ APGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCR ASKSISKDLAWYQQKPGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFA TYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123-9 scFv	192	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQ APGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCR ASKSISKDLAWYQQKPGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFA TYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123-9 VH	251	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYN QKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123-10 VL	310	DVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSISKDLAWYQQKPGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSR FSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123-10 NT	75	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCCAAGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCAGCGAACTGAAGAAGCCCGGAGCCTCCGTCAAAGT GTCCTGCAAAGCCTCGGGATACACCTTCACCTCCTACTGGATGAACTGGGTCCGCCAGGCA CCTGGACAGGGGCTGGAGTGGATGGGAAGGATCGATCCCTACGATTCCGAAACCCATTACA ATCAGAAGTTCAAGGACCGGTTTGTGTTCTCCGTGGACAAGTCCGTGTCCACCGCCTACCT CCAAATTAGCAGCCTGAAGGCGGAGGATACAGCTGTCTACTACTGCGCTCGCGGAAACTGG GATGACTATTGGGGCCAGGGAACTACCGTGACTGTGTCCTCCGGGGGTGGCGGTAGCGGAG GAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCAGGGGGCGGAGGAAGCGAAGTGGTGCTGACCCAGTC GCCCGCAACCCTCTCTCTGTCGCCGGGAGAACGCGCCACTCTTTCCTGTCGGGCGTCCAAG AGCATCTCAAAGGACCTCGCCTGGTACCAGCAGAAGCCTGGTCAAGCCCCGCGGCTGCTGA TCTACTCCGGCTCCACGCTGCAATCAGGAATCCCAGCCAGATTTTCCGGTTCGGGGTCGGG GACTGACTTCACCTTGACCATTAGCTCGCTGGAACCTGAGGACTTCGCCGTGTATTACTGC CAGCAGCACAACAAGTACCCGTACACCTTCGGAGGCGGTACTAAGGTCGAGATCAAGACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123	134	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQ APGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARG

[0473]

-10 AA		NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVVLTQSPATLSLSPGERATLSCR ASKSISKDLAWYQQKPGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123 -10 scFv	193	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQ APGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVVLTQSPATLSLSPGERATLSCR ASKSISKDLAWYQQKPGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -10 VH	252	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYN QKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123 -10 VL	311	EVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSISKDLAWYQQKPGQAPRLLIYSGSTLQSGIPAR FSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -11 NT	76	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCCAAGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCAGCGAACTGAAGAAGCCCGGAGCCTCCGTCAAAGT GTCCTGCAAAGCCTCGGGATACACCTTCACCTCCTACTGGATGAACTGGGTCCGCCAGGCA CCTGGACAGGGGCTGGAGTGGATGGGAAGGATCGATCCCTACGATTCCGAAACCCATTACA ATCAGAAGTTCAAGGACCGGTTTGTGTTCTCCGTGGACAAGTCCGTGTCCACCGCCTACCT CCAAATTAGCAGCCTGAAGGCGGAGGATACAGCTGTCTACTACTGCGCTCGCGGAAACTGG GATGACTATTGGGGCCAGGGAACTACCGTGACTGTGTCCTCCGGGGGTGGCGGTAGCGGAG GAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCAGGGGGCGGAGGAAGCGACGTCGTGATGACCCAGTC ACCGGCATTCCTGTCCGTGACTCCCGGAGAAAAGGTCACGATTACTTGCCGGGCGTCCAAG AGCATCTCCAAGGACCTCGCCTGGTACCAACAGAAGCCGGACCAGGCCCCTAAGCTGTTGA TCTACTCGGGGTCCACCCTTCAATCGGGAGTGCCATCGCGGTTTAGCGGTTCGGGTTCTGG GACCGACTTCACTTTCACCATCTCCTCACTGGAAGCCGAGGATGCCGCCACTTACTACTGT CAGCAGCACAACAAGTATCCGTACACCTTCGGAGGCGGTACCAAAGTGGAGATCAAGACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123 -11 AA	135	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQ APGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCR ASKSISKDLAWYQQKPDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAA TYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123 -11 scFv	194	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQ APGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCR ASKSISKDLAWYQQKPDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAA

[0474]

		TYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -11 VH	253	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYN QKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123 -11 VL	312	DVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCRASKSISKDLAWYQQKPDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSR FSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -12 NT	77	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCCAAGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCAGCGAACTGAAGAAGCCCGGAGCCTCCGTCAAAGT GTCCTGCAAAGCCTCGGGATACACCTTCACCTCCTACTGGATGAACTGGGTCCGCCAGGCA CCTGGACAGGGGCTGGAGTGGATGGGAAGGATCGATCCCTACGATTCCGAAACCCATTACA ATCAGAAGTTCAAGGACCGGTTTGTGTTCTCCGTGGACAAGTCCGTGTCCACCGCCTACCT CCAAATTAGCAGCCTGAAGGCGGAGGATACAGCTGTCTACTACTGCGCTCGCGGAAACTGG GATGACTATTGGGGCCAGGGAACTACCGTGACTGTGTCCTCCGGGGGTGGCGGTAGCGGAG GAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCAGGGGGCGGAGGAAGCGACGTGGTCATGACTCAGTC CCCGGACTCACTCGCGGTGTCGCTTGGAGAGAGAGCGACCATCAACTGTCGGGCCTCAAAG AGCATCAGCAAGGACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCGGGACAGCCGCCAAAGCTGCTGA TCTACTCCGGGTCCACCTTGCAATCTGGTGTCCCTGACCGGTTCTCCGGTTCCGGGTCGGG TACCGACTTCACGCTCACTATTTCGTCGCTGCAAGCCGAAGATGTGGCCGTGTACTATTGC CAACAGCACAACAAGTACCCCTACACTTTTGGCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAGACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123 -12 AA	136	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQ APGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPDSLAVSLGERATINCR ASKSISKDLAWYQQKPGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123 -12 scFv	195	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQ APGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPDSLAVSLGERATINCR ASKSISKDLAWYQQKPGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -12 VH	254	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYN QKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123 -12 VL	313	DVVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSISKDLAWYQQKPGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDR FSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -13 NT	78	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCGACGTGCAGCTCACCCAGTCGCCCTCATTTCTGTCGGCCTCAGTGGGAGACAGAGTGAC CATTACTTGTCGGGCCTCCAAGAGCATCTCCAAGGACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCA GGAAAGGCGCCTAAGTTGCTCATCTACTCGGGGTCGACCCTGCAATCTGGCGTGCCGTCCC GGTTCTCCGGTTCGGGAAGCGGTACCGAATTCACCCTTACTATCTCCTCCCTGCAACCGGA

[0475]

		GGACTTCGCCACCTACTACTGCCAACAGCACAACAAGTACCCGTACACTTTCGGGGGTGGC ACGAAGGTCGAAATCAAGGGGGGTGGCGGTAGCGGAGGAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCT CAGGGGGCGGAGGAAGCCAAGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCAGCGAACTGAAGAAGCCCGG AGCCTCCGTCAAAGTGTCCTGCAAAGCCTCGGGATACACCTTCACCTCCTACTGGATGAAC TGGGTCCGCCAGGCACCTGGACAGGGGCTGGAGTGGATGGGAAGGATCGATCCCTACGATT CCGAAACCCATTACAATCAGAAGTTCAAGGACCGGTTTGTGTTCTCCGTGGACAAGTCCGT GTCCACCGCCTACCTCCAAATTAGCAGCCTGAAGGCGGAGGATACAGCTGTCTACTACTGC GCTCGCGGAAACTGGGATGACTATTGGGGCCAGGGAACTACCGTGACTGTGTCCTCCACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123-13 AA	137	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSISKDLAWYQQK PGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSY WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123-13 scFv	196	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSISKDLAWYQQK PGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSY WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123-13 VH	255	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYN QKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123-13 VL	314	DVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSISKDLAWYQQKPGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSR FSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123-14 NT	79	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCGAAGTGGTGCTGACCCAGTCGCCCGCAACCCTCTCTCTGTCGCCGGGAGAACGCGCCAC TCTTTCCTGTCGGGCGTCCAAGAGCATCTCAAAGGACCTCGCCTGGTACCAGCAGAAGCCT GGTCAAGCCCCGCGGCTGCTGATCTACTCCGGCTCCACGCTGCAATCAGGAATCCCAGCCA GATTTTCCGGTTCGGGGTCGGGGACTGACTTCACCTTGACCATTAGCTCGCTGGAACCTGA GGACTTCGCCGTGTATTACTGCCAGCAGCACAACAAGTACCCGTACACCTTCGGAGGCGGT ACTAAGGTCGAGATCAAGGGGGGTGGCGGTAGCGGAGGAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCT CAGGGGGCGGAGGAAGCCAAGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCAGCGAACTGAAGAAGCCCGG AGCCTCCGTCAAAGTGTCCTGCAAAGCCTCGGGATACACCTTCACCTCCTACTGGATGAAC TGGGTCCGCCAGGCACCTGGACAGGGGCTGGAGTGGATGGGAAGGATCGATCCCTACGATT CCGAAACCCATTACAATCAGAAGTTCAAGGACCGGTTTGTGTTCTCCGTGGACAAGTCCGT GTCCACCGCCTACCTCCAAATTAGCAGCCTGAAGGCGGAGGATACAGCTGTCTACTACTGC GCTCGCGGAAACTGGGATGACTATTGGGGCCAGGGAACTACCGTGACTGTGTCCTCCACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac

[0476]

		tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123-14 AA	138	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSISKDLAWYQQK PGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSY WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123-14 scFv	197	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSISKDLAWYQQK PGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSY WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123-14 VH	256	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYN QKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123-14 VL	315	EVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSISKDLAWYQQKPGQAPRLLIYSGSTLQSGIPAR FSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123-15 NT	80	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCGACGTCGTGATGACCCAGTCACCGGCATTCCTGTCCGTGACTCCCGGAGAAAAGGTCAC GATTACTTGCCGGGCGTCCAAGAGCATCTCCAAGGACCTCGCCTGGTACCAACAGAAGCCG GACCAGGCCCCTAAGCTGTTGATCTACTCGGGGTCCACCCTTCAATCGGGAGTGCCATCGC GGTTTAGCGGTTCGGGTTCTGGGACCGACTTCACTTTCACCATCTCCTCACTGGAAGCCGA GGATGCCGCCACTTACTACTGTCAGCAGCACAACAAGTATCCGTACACCTTCGGAGGCGGT ACCAAAGTGGAGATCAAGGGGGGTGGCGGTAGCGGAGGAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCT CAGGGGGCGGAGGAAGCCAAGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCAGCGAACTGAAGAAGCCCGG AGCCTCCGTCAAAGTGTCCTGCAAAGCCTCGGGATACACCTTCACCTCCTACTGGATGAAC TGGGTCCGCCAGGCACCTGGACAGGGGCTGGAGTGGATGGGAAGGATCGATCCCTACGATT CCGAAACCCATTACAATCAGAAGTTCAAGGACCGGTTTGTGTTCTCCGTGGACAAGTCCGT GTCCACCGCCTACCTCCAAATTAGCAGCCTGAAGGCGGAGGATACAGCTGTCTACTACTGC GCTCGCGGAAACTGGGATGACTATTGGGGCCAGGGAACTACCGTGACTGTGTCCTCCACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123-15 AA	139	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCRASKSISKDLAWYQQK PDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSY

[0477]

		WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123-15 scFv	198	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCRASKSISKDLAWYQQK PDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSY WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123-15 VH	257	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYN QKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123-15 VL	316	DVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCRASKSISKDLAWYQQKPDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSR FSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123-16 NT	81	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCGACGTGGTCATGACTCAGTCCCCGGACTCACTCGCGGTGTCGCTTGGAGAGAGAGCGAC CATCAACTGTCGGGCCTCAAAGAGCATCAGCAAGGACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCG GGACAGCCGCCAAAGCTGCTGATCTACTCCGGGTCCACCTTGCAATCTGGTGTCCCTGACC GGTTCTCCGGTTCCGGGTCGGGTACCGACTTCACGCTCACTATTTCGTCGCTGCAAGCCGA AGATGTGGCCGTGTACTATTGCCAACAGCACAACAAGTACCCCTACACTTTTGGCGGAGGC ACCAAGGTGGAAATCAAGGGGGGTGGCGGTAGCGGAGGAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCT CAGGGGGCGGAGGAAGCCAAGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCAGCGAACTGAAGAAGCCCGG AGCCTCCGTCAAAGTGTCCTGCAAAGCCTCGGGATACACCTTCACCTCCTACTGGATGAAC TGGGTCCGCCAGGCACCTGGACAGGGGCTGGAGTGGATGGGAAGGATCGATCCCTACGATT CCGAAACCCATTACAATCAGAAGTTCAAGGACCGGTTTGTGTTCTCCGTGGACAAGTCCGT GTCCACCGCCTACCTCCAAATTAGCAGCCTGAAGGCGGAGGATACAGCTGTCTACTACTGC GCTCGCGGAAACTGGGATGACTATTGGGGCCAGGGAACTACCGTGACTGTGTCCTCCACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123-16 AA	140	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSISKDLAWYQQK PGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSY WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123-16 scFv	199	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSISKDLAWYQQK PGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSY WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS

[0478]

hzCAR123-16 VH	258	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYN QKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123-16 VL	317	DVVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSISKDLAWYQQKPGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDR FSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123-17 NT	82	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCGAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCCGAGGTCAAGAAGCCTGGAGAATCCCTGAGGAT CAGCTGCAAAGGCAGCGGGTATACCTTCACCTCCTACTGGATGAATTGGGTCCGCCAGATG CCCGGAAAAGGCCTGGAGTGGATGGGACGGATTGACCCCTACGACTCGGAAACCCATTACA ACCAGAAGTTCAAGGATCACGTGACCATCTCCGTGGACAAGTCCATTTCCACTGCGTACCT CCAGTGGTCAAGCCTGAAGGCCTCCGACACTGCTATGTACTACTGCGCACGCGGAAACTGG GATGATTACTGGGGACAGGGAACAACCGTGACTGTGTCCTCCGGGGGTGGCGGTAGCGGAG GAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCAGGGGGCGGAGGAAGCGACGTGCAGCTCACCCAGTC GCCCTCATTTCTGTCGGCCTCAGTGGGAGACAGAGTGACCATTACTTGTCGGGCCTCCAAG AGCATCTCCAAGGACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGAAAGGCGCCTAAGTTGCTCA TCTACTCGGGGTCGACCCTGCAATCTGGCGTGCCGTCCCGGTTCTCCGGTTCGGGAAGCGG TACCGAATTCACCCTTACTATCTCCTCCCTGCAACCGGAGGACTTCGCCACCTACTACTGC CAACAGCACAACAAGTACCCGTACACTTTCGGGGGTGGCACGAAGGTCGAAATCAAGACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123-17 AA	141	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSYWMNWVRQ MPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCR ASKSISKDLAWYQQKPGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFA TYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123-17 scFv	200	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSYWMNWVRQ MPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCR ASKSISKDLAWYQQKPGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFA TYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123-17 VH	259	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSYWMNWVRQMPGKGLEWMGRIDPYDSETHYN QKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123-17 VL	318	DVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSISKDLAWYQQKPGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSR FSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123-18 NT	83	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCGAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCCGAGGTCAAGAAGCCTGGAGAATCCCTGAGGAT CAGCTGCAAAGGCAGCGGGTATACCTTCACCTCCTACTGGATGAATTGGGTCCGCCAGATG CCCGGAAAAGGCCTGGAGTGGATGGGACGGATTGACCCCTACGACTCGGAAACCCATTACA ACCAGAAGTTCAAGGATCACGTGACCATCTCCGTGGACAAGTCCATTTCCACTGCGTACCT CCAGTGGTCAAGCCTGAAGGCCTCCGACACTGCTATGTACTACTGCGCACGCGGAAACTGG

[0479]

		GATGATTACTGGGGACAGGGAACAACCGTGACTGTGTCCTCCGGGGGTGGCGGTAGCGGAG GAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCAGGGGGCGGAGGAAGCGAAGTGGTGCTGACCCAGTC GCCCGCAACCCTCTCTCTGTCGCCGGGAGAACGCGCCACTCTTTCCTGTCGGGCGTCCAAG AGCATCTCAAAGGACCTCGCCTGGTACCAGCAGAAGCCTGGTCAAGCCCCGCGGCTGCTGA TCTACTCCGGCTCCACGCTGCAATCAGGAATCCCAGCCAGATTTTCCGGTTCGGGGTCGGG GACTGACTTCACCTTGACCATTAGCTCGCTGGAACCTGAGGACTTCGCCGTGTATTACTGC CAGCAGCACAACAAGTACCCGTACACCTTCGGAGGCGGTACTAAGGTCGAGATCAAGACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123-18 AA	142	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSYWMNWVRQ MPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVVLTQSPATLSLSPGERATLSCR ASKSISKDLAWYQQKPGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123-18 scFv	201	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSYWMNWVRQ MPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVVLTQSPATLSLSPGERATLSCR ASKSISKDLAWYQQKPGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123-18 VH	260	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSYWMNWVRQMPGKGLEWMGRIDPYDSETHYN QKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123-18 VL	319	EVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSISKDLAWYQQKPGQAPRLLIYSGSTLQSGIPAR FSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123-19 NT	84	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCGAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCCGAGGTCAAGAAGCCTGGAGAATCCCTGAGGAT CAGCTGCAAAGGCAGCGGGTATACCTTCACCTCCTACTGGATGAATTGGGTCCGCCAGATG CCCGGAAAAGGCCTGGAGTGGATGGGACGGATTGACCCCTACGACTCGGAAACCCATTACA ACCAGAAGTTCAAGGATCACGTGACCATCTCCGTGGACAAGTCCATTTCCACTGCGTACCT CCAGTGGTCAAGCCTGAAGGCCTCCGACACTGCTATGTACTACTGCGCACGCGGAAACTGG GATGATTACTGGGGACAGGGAACAACCGTGACTGTGTCCTCCGGGGGTGGCGGTAGCGGAG GAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCAGGGGGCGGAGGAAGCGACGTCGTGATGACCCAGTC ACCGGCATTCCTGTCCGTGACTCCCGGAGAAAAGGTCACGATTACTTGCCGGGCGTCCAAG AGCATCTCCAAGGACCTCGCCTGGTACCAACAGAAGCCGGACCAGGCCCCTAAGCTGTTGA TCTACTCGGGGTCCACCCTTCAATCGGGAGTGCCATCGCGGTTTAGCGGTTCGGGTTCTGG GACCGACTTCACTTTCACCATCTCCTCACTGGAAGCCGAGGATGCCGCCACTTACTACTGT CAGCAGCACAACAAGTATCCGTACACCTTCGGAGGCGGTACCAAAGTGGAGATCAAGACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc

		cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123 -19 AA	143	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSYWMNWVRQ MPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCR ASKSISKDLAWYQQKPDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAA TYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123 -19 scFv	202	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSYWMNWVRQ MPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCR ASKSISKDLAWYQQKPDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAA TYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -19 VH	261	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSYWMNWVRQMPGKGLEWMGRIDPYDSETHYN QKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123 -19 VL	320	DVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCRASKSISKDLAWYQQKPDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSR FSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -20 NT	85	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCGAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCCGAGGTCAAGAAGCCTGGAGAATCCCTGAGGAT CAGCTGCAAAGGCAGCGGGTATACCTTCACCTCCTACTGGATGAATTGGGTCCGCCAGATG CCCGGAAAAGGCCTGGAGTGGATGGGACGGATTGACCCCTACGACTCGGAAACCCATTACA ACCAGAAGTTCAAGGATCACGTGACCATCTCCGTGGACAAGTCCATTTCCACTGCGTACCT CCAGTGGTCAAGCCTGAAGGCCTCCGACACTGCTATGTACTACTGCGCACGCGGAAACTGG GATGATTACTGGGGACAGGGAACAACCGTGACTGTGTCCTCCGGGGGTGGCGGTAGCGGAG GAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCAGGGGGCGGAGGAAGCGACGTGGTCATGACTCAGTC CCCGGACTCACTCGCGGTGTCGCTTGGAGAGAGAGCGACCATCAACTGTCGGGCCTCAAAG AGCATCAGCAAGGACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCGGGACAGCCGCCAAAGCTGCTGA TCTACTCCGGGTCCACCTTGCAATCTGGTGTCCCTGACCGGTTCTCCGGTTCCGGGTCGGG TACCGACTTCACGCTCACTATTTCGTCGCTGCAAGCCGAAGATGTGGCCGTGTACTATTGC CAACAGCACAACAAGTACCCCTACACTTTTGGCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAGACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123 -20 AA	144	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSYWMNWVRQ MPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPDSLAVSLGERATINCR ASKSISKDLAWYQQKPGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA

[0480]

[0481]

		VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123 -20 scFv	203	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSYWMNWVRQ MPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPDSLAVSLGERATINCR ASKSISKDLAWYQQKPGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -20 VH	262	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSYWMNWVRQMPGKGLEWMGRIDPYDSETHYN QKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123 -20 VL	321	DVVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSISKDLAWYQQKPGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDR FSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -21 NT	86	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCGACGTGCAGCTCACCCAGTCGCCCTCATTTCTGTCGGCCTCAGTGGGAGACAGAGTGAC CATTACTTGTCGGGCCTCCAAGAGCATCTCCAAGGACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCA GGAAAGGCGCCTAAGTTGCTCATCTACTCGGGGTCGACCCTGCAATCTGGCGTGCCGTCCC GGTTCTCCGGTTCGGGAAGCGGTACCGAATTCACCCTTACTATCTCCTCCCTGCAACCGGA GGACTTCGCCACCTACTACTGCCAACAGCACAACAAGTACCCGTACACTTTCGGGGGTGGC ACGAAGGTCGAAATCAAGGGGGGTGGCGGTAGCGGAGGAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCT CAGGGGGCGGAGGAAGCGAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCCGAGGTCAAGAAGCCTGG AGAATCCCTGAGGATCAGCTGCAAAGGCAGCGGGTATACCTTCACCTCCTACTGGATGAAT TGGGTCCGCCAGATGCCCGGAAAAGGCCTGGAGTGGATGGGACGGATTGACCCCTACGACT CGGAAACCCATTACAACCAGAAGTTCAAGGATCACGTGACCATCTCCGTGGACAAGTCCAT TTCCACTGCGTACCTCCAGTGGTCAAGCCTGAAGGCCTCCGACACTGCTATGTACTACTGC GCACGCGGAAACTGGGATGATTACTGGGGACAGGGAACAACCGTGACTGTGTCCTCCACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123 -21 AA	145	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSISKDLAWYQQK PGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSY WMNWVRQMPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTA MYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123 -21 scFv	204	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSISKDLAWYQQK PGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSY WMNWVRQMPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTA MYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123	263	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSYWMNWVRQMPGKGLEWMGRIDPYDSETHYN

[0482]

-21 VH		QKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123 -21 VL	322	DVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSISKDLAWYQQKPGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSR FSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -22 NT	87	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCGAAGTGGTGCTGACCCAGTCGCCCGCAACCCTCTCTCTGTCGCCGGGAGAACGCGCCAC TCTTTCCTGTCGGGCGTCCAAGAGCATCTCAAAGGACCTCGCCTGGTACCAGCAGAAGCCT GGTCAAGCCCCGCGGCTGCTGATCTACTCCGGCTCCACGCTGCAATCAGGAATCCCAGCCA GATTTTCCGGTTCGGGGTCGGGGACTGACTTCACCTTGACCATTAGCTCGCTGGAACCTGA GGACTTCGCCGTGTATTACTGCCAGCAGCACAACAAGTACCCGTACACCTTCGGAGGCGGT ACTAAGGTCGAGATCAAGGGGGGTGGCGGTAGCGGAGGAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCT CAGGGGGCGGAGGAAGCGAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCCGAGGTCAAGAAGCCTGG AGAATCCCTGAGGATCAGCTGCAAAGGCAGCGGGTATACCTTCACCTCCTACTGGATGAAT TGGGTCCGCCAGATGCCCGGAAAAGGCCTGGAGTGGATGGGACGGATTGACCCCTACGACT CGGAAACCCATTACAACCAGAAGTTCAAGGATCACGTGACCATCTCCGTGGACAAGTCCAT TTCCACTGCGTACCTCCAGTGGTCAAGCCTGAAGGCCTCCGACACTGCTATGTACTACTGC GCACGCGGAAACTGGGATGATTACTGGGGACAGGGAACAACCGTGACTGTGTCCTCCACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123 -22 AA	146	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSISKDLAWYQQK PGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSY WMNWVRQMPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTA MYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123 -22 scFv	205	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSISKDLAWYQQK PGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSY WMNWVRQMPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTA MYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123 -22 VH	264	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSYWMNWVRQMPGKGLEWMGRIDPYDSETHYN QKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123 -22 VL	323	EVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSISKDLAWYQQKPGQAPRLLIYSGSTLQSGIPAR FSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -23 NT	88	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCGACGTCGTGATGACCCAGTCACCGGCATTCCTGTCCGTGACTCCCGGAGAAAAGGTCAC GATTACTTGCCGGGCGTCCAAGAGCATCTCCAAGGACCTCGCCTGGTACCAACAGAAGCCG GACCAGGCCCCTAAGCTGTTGATCTACTCGGGGTCCACCCTTCAATCGGGAGTGCCATCGC GGTTTAGCGGTTCGGGTTCTGGGACCGACTTCACTTTCACCATCTCCTCACTGGAAGCCGA GGATGCCGCCACTTACTACTGTCAGCAGCACAACAAGTATCCGTACACCTTCGGAGGCGGT ACCAAAGTGGAGATCAAGGGGGGTGGCGGTAGCGGAGGAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCT

[0483]

		CAGGGGGCGGAGGAAGCGAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCCGAGGTCAAGAAGCCTGG AGAATCCCTGAGGATCAGCTGCAAAGGCAGCGGGTATACCTTCACCTCCTACTGGATGAAT TGGGTCCGCCAGATGCCCGGAAAAGGCCTGGAGTGGATGGGACGGATTGACCCCTACGACT CGGAAACCCATTACAACCAGAAGTTCAAGGATCACGTGACCATCTCCGTGGACAAGTCCAT TTCCACTGCGTACCTCCAGTGGTCAAGCCTGAAGGCCTCCGACACTGCTATGTACTACTGC GCACGCGGAAACTGGGATGATTACTGGGGACAGGGAACAACCGTGACTGTGTCCTCCACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123 -23 AA	147	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCRASKSISKDLAWYQQK PDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSY WMNWVRQMPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTA MYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123 -23 scFv	206	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCRASKSISKDLAWYQQK PDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSY WMNWVRQMPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTA MYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123 -23 VH	265	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSYWMNWVRQMPGKGLEWMGRIDPYDSETHYN QKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123 -23 VL	324	DVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCRASKSISKDLAWYQQKPDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSR FSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -24 NT	89	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCGACGTGGTCATGACTCAGTCCCCGGACTCACTCGCGGTGTCGCTTGGAGAGAGAGCGAC CATCAACTGTCGGGCCTCAAAGAGCATCAGCAAGGACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCG GGACAGCCGCCAAAGCTGCTGATCTACTCCGGGTCCACCTTGCAATCTGGTGTCCCTGACC GGTTCTCCGGTTCCGGGTCGGGTACCGACTTCACGCTCACTATTTCGTCGCTGCAAGCCGA AGATGTGGCCGTGTACTATTGCCAACAGCACAACAAGTACCCCTACACTTTTGGCGGAGGC ACCAAGGTGGAAATCAAGGGGGGTGGCGGTAGCGGAGGAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCT CAGGGGGCGGAGGAAGCGAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCCGAGGTCAAGAAGCCTGG AGAATCCCTGAGGATCAGCTGCAAAGGCAGCGGGTATACCTTCACCTCCTACTGGATGAAT TGGGTCCGCCAGATGCCCGGAAAAGGCCTGGAGTGGATGGGACGGATTGACCCCTACGACT CGGAAACCCATTACAACCAGAAGTTCAAGGATCACGTGACCATCTCCGTGGACAAGTCCAT TTCCACTGCGTACCTCCAGTGGTCAAGCCTGAAGGCCTCCGACACTGCTATGTACTACTGC GCACGCGGAAACTGGGATGATTACTGGGGACAGGGAACAACCGTGACTGTGTCCTCCACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag

		gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123 -24 AA	148	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSISKDLAWYQQK PGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSY WMNWVRQMPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTA MYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123 -24 scFv	207	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSISKDLAWYQQK PGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSY WMNWVRQMPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTA MYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123 -24 VH	266	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSYWMNWVRQMPGKGLEWMGRIDPYDSETHYN QKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123 -24 VL	325	DVVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSISKDLAWYQQKPGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDR FSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -25 NT	90	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCGAAGTGCAGCTCGTCGAGAGCGGAGGGGGACTGGTGCAGCCCGGAGGAAGCCTGAGGCT GTCCTGCGCTGCCTCCGGCTACACCTTCACCTCCTACTGGATGAACTGGGTCAGACAGGCA CCTGGAAAGGGACTGGTCTGGGTGTCGCGCATTGACCCCTACGACTCCGAAACCCATTACA ATCAGAAATTCAAGGACCGCTTCACCATCTCCGTGGACAAAGCCAAGAGCACCGCGTACCT CCAAATGAACTCCCTGCGCGCTGAGGATACAGCAGTGTACTATTGCGCCCGGGGAAACTGG GATGATTACTGGGGCCAGGGAACTACTGTGACTGTGTCATCCGGGGGTGGCGGTAGCGGAG GAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCAGGGGGCGGAGGAAGCGACGTGCAGCTCACCCAGTC GCCCTCATTTCTGTCGGCCTCAGTGGGAGACAGAGTGACCATTACTTGTCGGGCCTCCAAG AGCATCTCCAAGGACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGAAAGGCGCCTAAGTTGCTCA TCTACTCGGGGTCGACCCTGCAATCTGGCGTGCCGTCCCGGTTCTCCGGTTCGGGAAGCGG TACCGAATTCACCCTTACTATCTCCTCCCTGCAACCGGAGGACTTCGCCACCTACTACTGC CAACAGCACAACAAGTACCCGTACACTTTCGGGGGTGGCACGAAGGTCGAAATCAAGACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123 -25 AA	149	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMNWVRQ APGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCR ASKSISKDLAWYQQKPGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFA TYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT

[0484]

[0485]

		RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123 -25 scFv	208	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMNWVRQ APGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCR ASKSISKDLAWYQQKPGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFA TYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -25 VH	267	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMNWVRQAPGKGLVWVSRIDPYDSETHYN QKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123 -25 VL	326	DVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSISKDLAWYQQKPGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSR FSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -26 NT	91	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCGAAGTGCAGCTCGTCGAGAGCGGAGGGGGACTGGTGCAGCCCGGAGGAAGCCTGAGGCT GTCCTGCGCTGCCTCCGGCTACACCTTCACCTCCTACTGGATGAACTGGGTCAGACAGGCA CCTGGAAAGGGACTGGTCTGGGTGTCGCGCATTGACCCCTACGACTCCGAAACCCATTACA ATCAGAAATTCAAGGACCGCTTCACCATCTCCGTGGACAAAGCCAAGAGCACCGCGTACCT CCAAATGAACTCCCTGCGCGCTGAGGATACAGCAGTGTACTATTGCGCCCGGGGAAACTGG GATGATTACTGGGGCCAGGGAACTACTGTGACTGTGTCATCCGGGGGTGGCGGTAGCGGAG GAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCAGGGGGCGGAGGAAGCGAAGTGGTGCTGACCCAGTC GCCCGCAACCCTCTCTCTGTCGCCGGGAGAACGCGCCACTCTTTCCTGTCGGGCGTCCAAG AGCATCTCAAAGGACCTCGCCTGGTACCAGCAGAAGCCTGGTCAAGCCCCGCGGCTGCTGA TCTACTCCGGCTCCACGCTGCAATCAGGAATCCCAGCCAGATTTTCCGGTTCGGGGTCGGG GACTGACTTCACCTTGACCATTAGCTCGCTGGAACCTGAGGACTTCGCCGTGTATTACTGC CAGCAGCACAACAAGTACCCGTACACCTTCGGAGGCGGTACTAAGGTCGAGATCAAGACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123 -26 AA	150	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMNWVRQ APGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVVLTQSPATLSLSPGERATLSCR ASKSISKDLAWYQQKPGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123 -26 scFv	209	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMNWVRQ APGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVVLTQSPATLSLSPGERATLSCR ASKSISKDLAWYQQKPGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123	268	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMNWVRQAPGKGLVWVSRIDPYDSETHYN QKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS

[0486]

-26 VH		
hzCAR123 -26 VL	327	EVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSISKDLAWYQQKPGQAPRLLIYSGSTLQSGIPAR FSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -27 NT	92	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCGAAGTGCAGCTCGTCGAGAGCGGAGGGGGACTGGTGCAGCCCGGAGGAAGCCTGAGGCT GTCCTGCGCTGCCTCCGGCTACACCTTCACCTCCTACTGGATGAACTGGGTCAGACAGGCA CCTGGAAAGGGACTGGTCTGGGTGTCGCGCATTGACCCCTACGACTCCGAAACCCATTACA ATCAGAAATTCAAGGACCGCTTCACCATCTCCGTGGACAAAGCCAAGAGCACCGCGTACCT CCAAATGAACTCCCTGCGCGCTGAGGATACAGCAGTGTACTATTGCGCCCGGGGAAACTGG GATGATTACTGGGGCCAGGGAACTACTGTGACTGTGTCATCCGGGGGTGGCGGTAGCGGAG GAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCAGGGGGCGGAGGAAGCGACGTCGTGATGACCCAGTC ACCGGCATTCCTGTCCGTGACTCCCGGAGAAAAGGTCACGATTACTTGCCGGGCGTCCAAG AGCATCTCCAAGGACCTCGCCTGGTACCAACAGAAGCCGGACCAGGCCCCTAAGCTGTTGA TCTACTCGGGGTCCACCCTTCAATCGGGAGTGCCATCGCGGTTTAGCGGTTCGGGTTCTGG GACCGACTTCACTTTCACCATCTCCTCACTGGAAGCCGAGGATGCCGCCACTTACTACTGT CAGCAGCACAACAAGTATCCGTACACCTTCGGAGGCGGTACCAAAGTGGAGATCAAGACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123 -27 AA	151	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMNWVRQ APGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCR ASKSISKDLAWYQQKPDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAA TYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123 -27 scFv	210	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMNWVRQ APGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCR ASKSISKDLAWYQQKPDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAA TYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -27 VH	269	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMNWVRQAPGKGLVWVSRIDPYDSETHYN QKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123 -27 VL	328	DVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCRASKSISKDLAWYQQKPDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSR FSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -28 NT	93	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCGAAGTGCAGCTCGTCGAGAGCGGAGGGGGACTGGTGCAGCCCGGAGGAAGCCTGAGGCT GTCCTGCGCTGCCTCCGGCTACACCTTCACCTCCTACTGGATGAACTGGGTCAGACAGGCA CCTGGAAAGGGACTGGTCTGGGTGTCGCGCATTGACCCCTACGACTCCGAAACCCATTACA ATCAGAAATTCAAGGACCGCTTCACCATCTCCGTGGACAAAGCCAAGAGCACCGCGTACCT CCAAATGAACTCCCTGCGCGCTGAGGATACAGCAGTGTACTATTGCGCCCGGGGAAACTGG GATGATTACTGGGGCCAGGGAACTACTGTGACTGTGTCATCCGGGGGTGGCGGTAGCGGAG

[0487]

		GAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCAGGGGGCGGAGGAAGCGACGTGGTCATGACTCAGTC CCCGGACTCACTCGCGGTGTCGCTTGGAGAGAGAGCGACCATCAACTGTCGGGCCTCAAAG AGCATCAGCAAGGACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCGGGACAGCCGCCAAAGCTGCTGA TCTACTCCGGGTCCACCTTGCAATCTGGTGTCCCTGACCGGTTCTCCGGTTCCGGGTCGGG TACCGACTTCACGCTCACTATTTCGTCGCTGCAAGCCGAAGATGTGGCCGTGTACTATTGC CAACAGCACAACAAGTACCCCTACACTTTTGGCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAGACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123 -28 AA	152	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMNWVRQ APGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPDSLAVSLGERATINCR ASKSISKDLAWYQQKPGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123 -28 scFv	211	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMNWVRQ APGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPDSLAVSLGERATINCR ASKSISKDLAWYQQKPGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -28 VH	270	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMNWVRQAPGKGLVWVSRIDPYDSETHYN QKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123 -28 VL	329	DVVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSISKDLAWYQQKPGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDR FSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -29 NT	94	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCGACGTGCAGCTCACCCAGTCGCCCTCATTTCTGTCGGCCTCAGTGGGAGACAGAGTGAC CATTACTTGTCGGGCCTCCAAGAGCATCTCCAAGGACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCA GGAAAGGCGCCTAAGTTGCTCATCTACTCGGGGTCGACCCTGCAATCTGGCGTGCCGTCCC GGTTCTCCGGTTCGGGAAGCGGTACCGAATTCACCCTTACTATCTCCTCCCTGCAACCGGA GGACTTCGCCACCTACTACTGCCAACAGCACAACAAGTACCCGTACACTTTCGGGGGTGGC ACGAAGGTCGAAATCAAGGGGGGTGGCGGTAGCGGAGGAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCT CAGGGGGCGGAGGAAGCGAAGTGCAGCTCGTCGAGAGCGGAGGGGGACTGGTGCAGCCCGG AGGAAGCCTGAGGCTGTCCTGCGCTGCCTCCGGCTACACCTTCACCTCCTACTGGATGAAC TGGGTCAGACAGGCACCTGGAAAGGGACTGGTCTGGGTGTCGCGCATTGACCCCTACGACT CCGAAACCCATTACAATCAGAAATTCAAGGACCGCTTCACCATCTCCGTGGACAAAGCCAA GAGCACCGCGTACCTCCAAATGAACTCCCTGCGCGCTGAGGATACAGCAGTGTACTATTGC GCCCGGGGAAACTGGGATGATTACTGGGGCCAGGGAACTACTGTGACTGTGTCATCCACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag

		gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123 -29 AA	153	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSISKDLAWYQQK PGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSY WMNWVRQAPGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123 -29 scFv	212	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSISKDLAWYQQK PGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSY WMNWVRQAPGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123 -29 VH	271	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMNWVRQAPGKGLVWVSRIDPYDSETHYN QKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123 -29 VL	330	DVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSISKDLAWYQQKPGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSR FSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -30 NT	95	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCGAAGTGGTGCTGACCCAGTCGCCCGCAACCCTCTCTCTGTCGCCGGGAGAACGCGCCAC TCTTTCCTGTCGGGCGTCCAAGAGCATCTCAAAGGACCTCGCCTGGTACCAGCAGAAGCCT GGTCAAGCCCCGCGGCTGCTGATCTACTCCGGCTCCACGCTGCAATCAGGAATCCCAGCCA GATTTTCCGGTTCGGGGTCGGGGACTGACTTCACCTTGACCATTAGCTCGCTGGAACCTGA GGACTTCGCCGTGTATTACTGCCAGCAGCACAACAAGTACCCGTACACCTTCGGAGGCGGT ACTAAGGTCGAGATCAAGGGGGGTGGCGGTAGCGGAGGAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCT CAGGGGGCGGAGGAAGCGAAGTGCAGCTCGTCGAGAGCGGAGGGGGACTGGTGCAGCCCGG AGGAAGCCTGAGGCTGTCCTGCGCTGCCTCCGGCTACACCTTCACCTCCTACTGGATGAACC TGGGTCAGACAGGCACCTGGAAAGGGACTGGTCTGGGTGTCGCGCATTGACCCCTACGACT CCGAAACCCATTACAATCAGAAATTCAAGGACCGCTTCACCATCTCCGTGGACAAAGCCAA GAGCACCGCGTACCTCCAAATGAACTCCCTGCGCGCTGAGGATACAGCAGTGTACTATTGC GCCCGGGGAAACTGGGATGATTACTGGGGCCAGGGAACTACTGTGACTGTGTCATCCACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123 -30 AA	154	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSISKDLAWYQQK PGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSY WMNWVRQAPGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT

[0488]

[0489]

		RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123 -30 scFv	213	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSISKDLAWYQQK PGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSY WMNWVRQAPGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123 -30 VH	272	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMNWVRQAPGKGLVWVSRIDPYDSETHYN QKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123 -30 VL	331	EVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSISKDLAWYQQKPGQAPRLLIYSGSTLQSGIPAR FSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -31 NT	96	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCGACGTCGTGATGACCCAGTCACCGGCATTCCTGTCCGTGACTCCCGGAGAAAAGGTCAC GATTACTTGCCGGGCGTCCAAGAGCATCTCCAAGGACCTCGCCTGGTACCAACAGAAGCCG GACCAGGCCCCTAAGCTGTTGATCTACTCGGGGTCCACCCTTCAATCGGGAGTGCCATCGC GGTTTAGCGGTTCGGGTTCTGGGACCGACTTCACTTTCACCATCTCCTCACTGGAAGCCGA GGATGCCGCCACTTACTACTGTCAGCAGCACAACAAGTATCCGTACACCTTCGGAGGCGGT ACCAAAGTGGAGATCAAGGGGGGTGGCGGTAGCGGAGGAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCT CAGGGGGCGGAGGAAGCGAAGTGCAGCTCGTCGAGAGCGGAGGGGGACTGGTGCAGCCCGG AGGAAGCCTGAGGCTGTCCTGCGCTGCCTCCGGCTACACCTTCACCTCCTACTGGATGAACT TGGGTCAGACAGGCACCTGGAAAGGGACTGGTCTGGGTGTCGCGCATTGACCCCTACGACT CCGAAACCCATTACAATCAGAAATTCAAGGACCGCTTCACCATCTCCGTGGACAAAGCCAA GAGCACCGCGTACCTCCAAATGAACTCCCTGCGCGCTGAGGATACAGCAGTGTACTATTGC GCCCGGGGAAACTGGGATGATTACTGGGGCCAGGGAACTACTGTGACTGTGTCATCCACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123 -31 AA	155	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCRASKSISKDLAWYQQK PDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSY WMNWVRQAPGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123 -31 scFv	214	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCRASKSISKDLAWYQQK PDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSY WMNWVRQAPGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123	273	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMNWVRQAPGKGLVWVSRIDPYDSETHYN QKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS

[0490]

-31 VH		
hzCAR123 -31 VL	332	DVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCRASKSISKDLAWYQQKPDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSR FSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123 -32 NT	97	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGC CCGACGTGGTCATGACTCAGTCCCCGGACTCACTCGCGGTGTCGCTTGGAGAGAGAGCGAC CATCAACTGTCGGGCCTCAAAGAGCATCAGCAAGGACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCG GGACAGCCGCCAAAGCTGCTGATCTACTCCGGGTCCACCTTGCAATCTGGTGTCCCTGACC GGTTCTCCGGTTCCGGGTCGGGTACCGACTTCACGCTCACTATTTCGTCGCTGCAAGCCGA AGATGTGGCCGTGTACTATTGCCAACAGCACAACAAGTACCCCTACACTTTTGGCGGAGGC ACCAAGGTGGAAATCAAGGGGGGTGGCGGTAGCGGAGGAGGGGGCTCCGGCGGCGGCGGCT CAGGGGGCGGAGGAAGCGAAGTGCAGCTCGTCGAGAGCGGAGGGGGACTGGTGCAGCCCGG AGGAAGCCTGAGGCTGTCCTGCGCTGCCTCCGGCTACACCTTCACCTCCTACTGGATGAAC TGGGTCAGACAGGCACCTGGAAAGGGACTGGTCTGGGTGTCGCGCATTGACCCCTACGACT CCGAAACCCATTACAATCAGAAATTCAAGGACCGCTTCACCATCTCCGTGGACAAAGCCAA GAGCACCGCGTACCTCCAAATGAACTCCCTGCGCGCTGAGGATACAGCAGTGTACTATTGC GCCCGGGGAAACTGGGATGATTACTGGGGCCAGGGAACTACTGTGACTGTGTCATCCACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCT GCGTCCGGAggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcac tcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacga cgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaat ccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
hzCAR123 -32 AA	156	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSISKDLAWYQQK PGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSY WMNWVRQAPGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
hzCAR123 -32 scFv	215	MALPVTALLLPLALLLHAARPDVVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSISKDLAWYQQK PGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSY WMNWVRQAPGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123 -32 VH	274	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMNWVRQAPGKGLVWVSRIDPYDSETHYN QKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123 -32 VL	333	DVVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSISKDLAWYQQKPGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDR FSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK

[0491] 在实施方案中,本文所述的CAR分子包含特异性结合CD123的scFv,且不含前导序列,例如氨基酸序列SEQ ID NO:1。下表9提供了CD123 scFv序列的氨基酸和核苷酸序列,其不含有前导序列SEQ ID NO:1。

[0492] 表9.CD123 CAR scFv序列

[0493]

名称	SEQ ID	序列
CAR123-2 scFv - NT	479	CAAGTGCAACTCGTCCAAAGCGGAGCGGAAGTCAAGAAACCCGGAGCGAGCGTGAAAGTG TCCTGCAAAGCCTCCGGCTACACCTTTACGGGCTACTACATGCACTGGGTGCGCCAGGCA CCAGGACAGGGTCTTGAATGGATGGGATGGATCAACCCTAATTCGGGCGGAACTAACTAC GCACAGAAGTTCCAGGGGAGAGTGACTCTGACTCGGGATACCTCCATCTCAACTGTCTAC ATGGAACTCTCCCGCTTGCGGTCAGATGATACGGCAGTGTACTACTGCGCCCGCGACATG AATATCCTGGCTACCGTGCCGTTCGACATCTGGGGACAGGGGACTATGGTTACTGTCTCA TCGGGCGGTGGAGGTTCAGGAGGAGGCGGCTCGGGAGGCGGAGGTTCGGACATTCAGATG ACCCAGTCCCCATCCTCTCTGTCGGCCAGCGTCGGAGATAGGGTGACCATTACCTGTCGG GCCTCGCAAAGCATCTCCTCGTACCTCAACTGGTATCAGCAAAAGCCGGGAAAGGCGCCT AAGCTGCTGATCTACGCCGCTTCGAGCTTGCAAAGCGGGGTGCCATCCAGATTCTCGGGA TCAGGCTCAGGAACCGACTTCACCCTGACCGTGAACAGCCTCCAGCCGGAGGACTTTGCC ACTTACTACTGCCAGCAGGGAGACTCCGTGCCGCTTACTTTCGGGGGGGGTACCCGCCTG GAGATCAAG
CAR123-2 scFv - AA	480	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNY AQKFQGRVTLTRDTSISTVYMELSRLRSDDTAVYYCARDMNILATVPFDIWGQGTMVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAP KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTVNSLQPEDFATYYCQQGDSVPLTFGGGTRL EIK
CAR123-2 无 ORF NT	481	atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccgctcggccccaagtgcaactcgtccaaagcgg agcggaagtcaagaaacccggagcgagcgtgaaagtgtcctgcaaagcctccggctacaccttacgggctactacatgcactg ggtgcgccaggcaccaggacagggtcttgaatggatgggatggatcaaccctaattcgggcggaactaactacgcacagaagtt ccaggggagagtgactctgactcgggatacctccatctcaactgtctacatggaactctcccgcttgcggtcagatgatacggcag tgtactactgcgcccgcgacatgaatatcctggctaccgtgccgttcgacatctggggacaggggactatggttactgtctcatcgg gcggtggaggttcaggaggaggcggctcgggaggcggaggttcggacattcagatgacccagtccccatcctctctgtcggcc agcgtcggagatagggtgaccattacctgtcgggcctcgcaaagcatctcctcgtacctcaactggtatcagcaaaagccgggaa aggcgcctaagctgctgatctacgccgcttcgagcttgcaaagcggggtgccatccagattctcgggatcaggctcaggaaccg acttcaccctgaccgtgaacagcctccagccggaggactttgccacttactactgccagcagggagactccgtgccgcttactttc ggggggggtacccgcctggagatcaagaccactaccccagcaccgaggccacccaccccggctcctaccatcgcctcccagc ctctgtccctgcgtccggaggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcataccccggggtcttgacttcgcctgcgatatctac atttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcactcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgct gtacatctttaagcaaccccttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcttgccggttcccagaggaggagg aaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagacgctccagcctacaagcaggggcagaaccagctctacaa cgaactcaatcttggtcggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagcc gcgcagaaagaatccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgagattggtatga aaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctc ttcacatgcaggccctgccgcctcggtaagtcgacagctcgctttcttgctgtccaatttctattaaaggttcctttgttccctaagtcca actactaaactgggggatattatgaagggccttgagcatctggattctgcctaataaaaaacatttattttcattgctgcgtcgagagct cgctttcttgctgtccaatttctattaaaggttcctttgttccctaagtccaactactaaactgggggatattatgaagggccttgagcat ctggattctgcctaataaaaaacatttattttcattgctgcctcgacgaattc
CAR123-3 scFv - NT	482	CAAGTCCAACTCGTTCAATCCGGCGCAGAAGTCAAGAAGCCAGGAGCATCAGTGAAAGTG TCCTGCAAAGCCTCAGGCTACATCTTCACGGGATACTACATCCACTGGGTGCGCCAGGCT CCGGGCCAGGGCCTTGAGTGGATGGGCTGGATCAACCCTAACTCTGGGGGAACCAACTAC GCTCAGAAGTTCCAGGGGAGGGTCACTATGACTCGCGATACCTCCATCTCCACTGCGTAC ATGGAACTCTCGGGACTGAGATCCGACGATCCTGCCGTGTACTACTGCGCCCGGGACATG AACATCTTGGCGACCGTGCCGTTTGACATTTGGGGACAGGGCACCCTCGTCACTGTGTCG AGCGGTGGAGGAGGCTCGGGGGGTGGCGGATCAGGAGGGGGAGGAAGCGACATCCAGCTG ACTCAGAGCCCATCGTCGTTGTCCGCGTCGGTGGGGGATAGAGTGACCATTACTTGCCGC GCCAGCCAGAGCATCTCATCATATCTGAATTGGTACCAGCAGAAGCCCGGAAAGGCCCCA AAACTGCTGATCTACGCTGCAAGCAGCCTCCAATCGGGAGTGCCGTCACGGTTCTCCGGG TCCGGTTCGGGAACTGACTTTACCCTGACCGTGAATTCGCTGCAACCGGAGGATTTCGCC ACGTACTACTGTCAGCAAGGAGACTCCGTGCCGCTGACCTTCGGTGGAGGCACCAAGGTC GAAATCAAG

[0494]

CAR123-3 scFv - AA	483	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFTGYYIHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNY AQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSGLRSDDPAVYYCARDMNILATVPFDIWGQGTLVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAP KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTVNSLQPEDFATYYCQQGDSVPLTFGGGTKV EIK
CAR123-4 scFv - NT	484	CAAGTCCAACTCCAACAGTCAGGCGCAGAAGTGAAAAAGAGCGGTGCATCGGTGAAAGTG TCATGCAAAGCCTCGGGCTACACCTTCACTGACTACTATATGCACTGGCTGCGGCAGGCA CCGGGACAGGGACTTGAGTGGATGGGATGGATCAACCCGAATTCAGGGGACACTAACTAC GCGCAGAAGTTCCAGGGGAGAGTGACCCTGACGAGGGACACCTCAATTTCGACCGTCTAC ATGGAATTGTCGCGCCTGAGATCGGACGATACTGCTGTGTACTACTGTGCCCGCGACATG AACATCCTCGCGACTGTGCCTTTTGATATCTGGGGACAGGGGACTATGGTCACCGTTTCC TCCGCTTCCGGTGGCGGAGGCTCGGGAGGCCGGGCCTCCGGTGGAGGAGGCAGCGACATC CAGATGACTCAGAGCCCTTCCTCGCTGAGCGCCTCAGTGGGAGATCGCGTGACCATCACT TGCCGGGCCAGCCAGTCCATTTCGTCCTACCTCAATTGGTACCAGCAGAAGCCGGGAAAG GCGCCCAAGCTCTTGATCTACGCTGCGAGCTCCCTGCAAAGCGGGGTGCCGAGCCGATTC TCGGGTTCCGGCTCGGGAACCGACTTCACTCTGACCATCTCATCCCTGCAACCAGAGGAC TTTGCCACCTACTACTGCCAACAAGGAGATTCTGTCCCACTGACGTTCGGCGGAGGAACC AAGGTCGAAATCAAG
CAR123-4 scFv - AA	485	QVQLQQSGAEVKKSGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWLRQAPGQGLEWMGWINPNSGDTNY AQKFQGRVTLTRDTSISTVYMELSRLRSDDTAVYYCARDMNILATVPFDIWGQGTMVTVS SASGGGGSGGRASGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGDSVPLTFGGGT KVEIK
CAR123-1 scFv - AA	478	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNY AQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARDMNILATVPFDIWGQGTMVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISTYLNWYQQKPGKAP NLLIYAAFSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLQPEDFATYYCQQGDSVPLTFGGGTKL EIK
hzCAR123-1 scFv	556	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHY NQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSDVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSISKDLAWYQQKPGKAPK LLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNKYPYTFGGGTKVE IK
hzCAR123-2 scFv	557	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQ APGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVVLTQSPATLSLSPGERATLSCR ASKSISKDLAWYQQKPGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123-3 scFv	558	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQ APGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCR ASKSISKDLAWYQQKPDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAA TYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123-4 scFv	559	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQ APGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPDSLAVSLGERATINCR ASKSISKDLAWYQQKPGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123-5 scFv	560	DVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSISKDLAWYQQK PGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS

[0495]

hzCAR123-6 scFv	561	EVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSISKDLAWYQQK PGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123-7 scFv	562	DVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCRASKSISKDLAWYQQK PDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123-8 scFv	563	DVVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSISKDLAWYQQK PGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123-9 scFv	564	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQ APGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCR ASKSISKDLAWYQQKPGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFA TYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123-10 scFv	565	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQ APGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVVLTQSPATLSLSPGERATLSCR ASKSISKDLAWYQQKPGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123-11 scFv	566	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQ APGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCR ASKSISKDLAWYQQKPDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAA TYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123-12 scFv	567	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMNWVRQ APGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPDSLAVSLGERATINCR ASKSISKDLAWYQQKPGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123-13 scFv	568	DVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSISKDLAWYQQK PGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSY WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123-14 scFv	569	EVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSISKDLAWYQQK PGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSY WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123-15 scFv	570	DVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCRASKSISKDLAWYQQK PDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSY WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123-16 scFv	571	DVVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSISKDLAWYQQK PGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSY

[0496]

		WMNWVRQAPGQGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDRFVFSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123-17 scFv	572	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSYWMNWVRQ MPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCR ASKSISKDLAWYQQKPGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFA TYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123-18 scFv	573	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSYWMNWVRQ MPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVVLTQSPATLSLSPGERATLSCR ASKSISKDLAWYQQKPGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123-19 scFv	574	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSYWMNWVRQ MPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCR ASKSISKDLAWYQQKPDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAA TYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123-20 scFv	575	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSYWMNWVRQ MPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPDSLAVSLGERATINCR ASKSISKDLAWYQQKPGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123-21 scFv	576	DVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSISKDLAWYQQK PGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSY WMNWVRQMPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTA MYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123-22 scFv	577	EVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSISKDLAWYQQK PGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSY WMNWVRQMPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTA MYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123-23 scFv	578	DVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCRASKSISKDLAWYQQK PDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSY WMNWVRQMPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTA MYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123-24 scFv	579	DVVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSISKDLAWYQQK PGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSY WMNWVRQMPGKGLEWMGRIDPYDSETHYNQKFKDHVTISVDKSISTAYLQWSSLKASDTA MYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123-25 scFv	580	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMNWVRQ APGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCR ASKSISKDLAWYQQKPGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFA TYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123-26 scFv	581	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMNWVRQ APGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVVLTQSPATLSLSPGERATLSCR ASKSISKDLAWYQQKPGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123-2	582	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMNWVRQ

[0497]

7 scFv		APGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCR ASKSISKDLAWYQQKPDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAA TYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123-28 scFv	583	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYWMNWVRQ APGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARG NWDDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPDSLAVSLGERATINCR ASKSISKDLAWYQQKPGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA VYYCQQHNKYPYTFGGGTKVEIK
hzCAR123-29 scFv	584	DVQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSISKDLAWYQQK PGKAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSY WMNWVRQAPGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123-30 scFv	585	EVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSISKDLAWYQQK PGQAPRLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSY WMNWVRQAPGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123-31 scFv	586	DVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCRASKSISKDLAWYQQK PDQAPKLLIYSGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSY WMNWVRQAPGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS
hzCAR123-32 scFv	587	DVVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSISKDLAWYQQK PGQPPKLLIYSGSTLQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHNKYPYTFG GGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSY WMNWVRQAPGKGLVWVSRIDPYDSETHYNQKFKDRFTISVDKAKSTAYLQMNSLRAEDTA VYYCARGNWDDYWGQGTTVTVSS

[0498] 在实施方案中,然后将CAR scFv片段克隆到慢病毒载体中,以在单个编码框中产生全长CAR构建体,并使用EF1α启动子进行表达(SEQ ID NO:11)。

[0499] EF1α启动子

[0500] CGTGAGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAG GGGTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGC CTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGC CGCCAGAACACAGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTTGCGTGCCTT GAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCCCGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAGG CCTTGCGCTTAAGGAGCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCGCCGCGTGCGAAT CTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTCGATAAGTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGA CGCTTTTTTTCTGGCAAGATAGTCTTGTAAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTCGGTTTTTGGGGCCGCG GGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCGCACATGTTCGGCGAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGG ACGGGGGTAGTCTCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCCGTGTATCGCCCCGCCCTGGGCGG CAAGGCTGGCCCGGTCGGCACCAGTTGCGTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAAA TGGAGGACGCGGCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAAAAGGGCCTTTCCGTCCTCAGCCGT CGCTTCATGTGACTCCACGGAGTACCGGGCGCCGTCCAGGCACCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTCGT CTTTAGGTTGGGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTGGGTGGAGACTGAAGTTAGGCCAGCT TGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAATTTGCCCTTTTTGAGTTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGT GGTTCAAAGTTTTTTTCTTCCATTTCAGGTGTCGTGA

[0501] Gly/Ser(SEQ ID NO:25)

[0502] GGGGS

[0503] Gly/Ser(SEQ ID NO:26):该序列可以包含1-6个"Gly Gly Gly Gly Ser"重复单元

[0504] GGGGSGGGGS GGGGSGGGGS GGGGSGGGGS

[0505] Gly/Ser(SEQ ID NO:27)

[0506] GGGGSGGGGS GGGGSGGGGS

[0507] Gly/Ser(SEQ ID NO:28)

[0508] GGGGSGGGGS GGGGS

[0509] Gly/Ser(SEQ ID NO:29)

[0510] GGGS

[0511] PolyA:$(A)_{5000}$(SEQ ID NO:30)

[0512] 该序列可以包含50-5000个腺嘌呤。

[0513] PolyA:$(T)_{100}$(SEQ ID NO:31)

[0514] PolyA:$(T)_{5000}$(SEQ ID NO:32)

[0515] 该序列可以包含50-5000个胸腺嘧啶。

[0516] PolyA:$(A)_{5000}$(SEQ ID NO:33)

[0517] 该序列可以包含100-5000个腺嘌呤。

[0518] PolyA:$(A)_{400}$(SEQ ID NO:34)

[0519] 该序列可以包含100-400个腺嘌呤。

[0520] PolyA:$(A)_{2000}$(SEQ ID NO:35)

[0521] 该序列可以包含50-2000个腺嘌呤。

[0522] Gly/Ser(SEQ ID NO:709):该序列可以包含1-10个"Gly Gly Gly Ser"重复单元

[0523] GGGSGGGSGG GSGGGSGGGS GGGSGGGSGG GSGGGSGGGS

[0524] 可以将CAR scFv片段克隆至慢病毒载体中以在单个编码框中产生全长CAR构建体,并用EF1α启动子用于表达(SEQ ID NO:11)。

[0525] CAR构建体可以包含具有以下一个或多个序列的Gly/Ser接头:GGGGS(SEQ ID NO:25);包含1-6个"Gly Gly Gly Gly Ser"重复单元,例如GGGGSGGGGS GGGGSGGGGS GGGGSGGGGS(SEQ ID NO:26);GGGGSGGGGS GGGGSGGGGS(SEQ ID NO:27);GGGGSGGGGS GGGGS(SEQ ID NO:28);GGGS(SEQ ID NO:29);或包含1-10个"Gly Gly Gly Ser"重复单元,例如GGGSGGGSGG GSGGGSGGGS GGGSGGGSGG GSGGGSGGGS(SEQ ID NO:709)。在实施方案中,CAR构建体包含聚腺苷酸序列,例如,包含50-5000个或100-5000个腺嘌呤的序列(例如,SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34或SEQ ID NO:35),或包含50-5000个胸腺嘧啶的序列(例如,SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32)。备选地,CAR构建体可以例如包含接头,所述接头包括序列GSTSGSGKPGSGEGSTKG(SEQ ID NO:704)。

[0526] 双特异性CAR

[0527] 在一个实施方案中,多特异性抗体分子是双特异性抗体分子。双特异性抗体对不多于两种抗原具有特异性。双特异性抗体分子以针对第一表位具有结合特异性的第一免疫球蛋白可变结构域序列和针对第二表位具有结合特异性的第二免疫球蛋白可变结构域序列为特征。在一个实施方案中,第一和第二表位在相同抗原(例如,相同蛋白质(或多聚体蛋

白的亚基))上。在一个实施方案中,第一和第二表位重叠。在一个实施方案中,第一和第二表位不重叠。在一个实施方案中,第一和第二表位在不同抗原(例如,不同蛋白质(或多聚体蛋白的不同亚基))上。在一个实施方案中,双特异性抗体分子包含针对第一表位具有结合特异性的重链可变结构域序列和轻链可变结构域序以及针对第二表位具有结合特异性的重链可变结构域序列和轻链可变结构域序列。在一个实施方案中双特异性抗体分子包含针对第一表位具有结合特异性的半部分抗体和针对第二表位具有结合特异性的半部分抗体。在一个实施方案中双特异性抗体分子包含针对第一表位具有结合特异性的半部分抗体或其片段和针对第二表位具有结合特异性的半部分抗体或其片段。在一个实施方案中双特异性抗体分子包含针对第一表位具有结合特异性的scFv或其片段和针对第二表位具有结合特异性的scFv或其片段。

[0528] 在某些实施方案中,抗体分子是多特异性(例如,双特异性或三特异性)抗体分子。产生双特异性或异二聚抗体分子的方案是本领域已知的;包括但不限于,例如,“结在扣中”方案,例如在US 5731168中描述;静电导引Fc配对,例如,如WO 09/089004、WO 06/106905和WO 2010/129304中所述;链交换工程化的结构域(种子)异二聚体形成,例如,如WO 07/110205中所述;Fab臂交换,例如,如WO 08/119353、WO 2011/131746和WO 2013/060867中所述;双抗体缀合物,例如,使用具有胺反应基团和硫氢基反应基团的异双官能试剂,通过抗体交联以产生双特异性结构,例如,如US 4433059中所述;通过以下方式产生的双特异性抗体决定簇:借助两条重链之间二硫键的还原和氧化循环重组来自不同抗体的半部分抗体(重链-轻链对或Fab),例如,如US 4444878中所述;三功能抗体,例如,通过巯基反应基团交联的三个Fab片段,例如,如US 5273743中所述;生物合成的结合蛋白,例如,通过C末端尾部、优选地通过二硫键或胺反应性化学交联作用交联的一对scFvs,例如,如US 5534254中所述;双功能抗体,例如,通过已经替换恒定结构域的亮氨酸拉链(例如,c-fos和c-jun)二聚化的具有不同结合特异性的Fab片段,例如,如US 5582996中所述;双特异性和寡特异性单价和寡价受体,例如,经一种抗体的CH1区和另一种抗体的VH区(一般具有缔合的轻链)之间的多肽间隔序列连接的两种抗体(两个Fab片段)的VH-CH1区域,例如,如US 5591828中所述;双特异性DNA-抗体缀合物,例如,通过双链DNA片段交联抗体或Fab片段,例如,如US 5635602中所述;双特异性融合蛋白,例如,在两个scFv和完整恒定区域之间具有亲水螺旋肽接头的含有两个scFv的表达构建体,例如,如US 5637481中所述;多价和多特异性结合蛋白,例如,多肽的二聚体,所述多肽具有第一结构域连同Ig重链可变区的结合区和第二结构域连同Ig轻链可变区的结合区,总体上称作双体抗体(还涵盖产生双特异性、三特异性或四特异性分子的高级结构),例如,如US 583724中所述2;VL链和VH链连接的迷你抗体构建体,所述VL链和VH链还借助肽间隔序列连接至抗体铰链区和CH3区,所述迷你抗体构建体可以二聚化以形成双特异性/多价分子,例如,如US 5837821中所述;在任一个方向与短肽接头(例如,5或10个氨基酸)连接或根本没有接头的VH结构域和VL结构域,所述VH结构域和VL结构域可以形成二聚体以形成双特异性双体抗体;三聚体和四聚体,例如,如US 5844094中所述;一系列通过肽键以可交联基团在C末端连接的VH结构域(或家族成员中的VL结构域),所述结构域进一步与VL结构域缔合以形成一系列FV(或scFv),例如,如US 5864019中所述;和将VH结构域和VL结构域均通过肽接头连接的单一链结合多肽借助非共价交联或化学交联并入多价结构以使用scFV或双体抗体类型样式,形成例如同源双价、异源双价、三价和四价

结构，例如，如US 5869620中所述。额外的示例性多特异性和双特异性分子和产生这些分子的方法存在于例如以下申请中：US 5910573、US 5932448、US 5959083、US 5989830、US 6005079、US 6239259、US 6294353、US 6333396、US 6476198、US 6511663、US 6670453、US 6743896、US 6809185、US 6833441、US 7129330、US 7183076、US 7521056、US 7527787、US 7534866、US 7612181、US 2002004587 A1、US 2002076406 A1、US 2002103345 A1、US 2003207346 A1、US 2003211078 A1、US 2004219643 A1、US 2004220388 A1、US 2004242847 A1、US 2005003403 A1、US 2005004352 A1、US 2005069552 A1、US 2005079170 A1、US 2005100543 A1、US 2005136049 A1、US 2005136051 A1、US 2005163782 A1、US 2005266425 A1、US 2006083747 A1、US 2006120960 A1、US 2006204493 A1、US 2006263367 A1、US 2007004909 A1、US 2007087381 A1、US 2007128150 A1、US 2007141049 A1、US 2007154901 A1、US 2007274985 A1、US 2008050370 A1、US 2008069820 A1、US 2008152645 A1、US 2008171855 A1、US 2008241884 A1、US 2008254512 A1、US 2008260738 A1、US 2009130106 A1、US 2009148905 A1、US 2009155275 A1、US 2009162359 A1、US 2009162360 A1、US 2009175851 A1、US 2009175867 A1、US 2009232811 A1、US 2009234105 A1、US 2009263392 A1、US 2009274649 A1、EP 346087 A2、WO 0006605 A2、WO 02072635 A2、WO 04081051 A1、WO 06020258 A2、WO 2007044887 A2、WO 2007095338 A2、WO 2007137760 A2、WO 2008119353 A1、WO 2009021754 A2、WO 2009068630 A1、WO 9103493 A1、WO 9323537 A1、WO 9409131 A1、WO 9412625 A2、WO 9509917 A1、WO 9637621 A2、WO 9964460 A1。上文所提及申请的内容是通过引用的方式完整地并入本文。

[0529] 在双特异性抗体分子的每个抗体或抗体片段(例如，scFv)内部，VH可以是在VL的上游或下游。在一些实施方案中，上游抗体或抗体片段(例如，scFv)按照其VH(VH_1)位于其VL(VL_1)上游时布置并且下游抗体或抗体片段(例如，scFv)按照其VL(VL_2)位于其VH(VH_2)上游时布置，从而总体双特异性抗体分子具有布局VH_1-VL_1-VL_2-VH_2。在其他实施方案中，上游抗体或抗体片段(例如，scFv)按照其VL(VL_1)位于其VH(VH_1)上游时布置并且下游抗体或抗体片段(例如，scFv)按照其VH(VH_2)位于其VL(VL_2)上游时布置，从而总体双特异性抗体分子具有布局VL_1-VH_1-VH_2-VL_2。任选地，接头布置在两个抗体或抗体片段(例如，scFv)之间，例如，如果将构建体布置为VH_1-VL_1-VL_2-VH_2，则布置在VL_1和VL_2之间，或如果将构建体布置为VL_1-VH_1-VH_2-VL_2，则布置在VH_1和VH_2之间。接头可以是如本文所述的接头，例如，$(Gly_4\text{-}Ser)_n$接头，其中n是1、2、3、4、5或6、优选地4(SEQ ID NO:64)。通常，在两个scFv之间的接头应当足够长，以避免两个scFv的结构域之间错误配对。任选地，接头布置在第一scFv的VL和VH之间。任选地，接头布置在第二scFv的VL和VH之间。在具有多个接头的构建体中，任何两个或更多个接头可以是相同或不同的。因此，在一些实施方案中，双特异性CAR在如本文所述的布局中包含VL、VH和任选地一个或多个接头。

[0530] 在一个方面，双特异性抗体分子以第一免疫球蛋白可变结构域序列(例如，scFv)和第二免疫球蛋白可变结构域序列为特征，所述的第一免疫球蛋白可变结构域序列对CD123具有结合特异性，例如包含如本文所述(例如，如表2、表6或表9中所述)的scFv，或包含来自本文所述的CD123 scFv的轻链CDR和/或重链CDR，所述第二免疫球蛋白可变结构域序列对不同抗原上的第二表位具有结合特异性。在一些方面，第二免疫球蛋白可变结构域

序列对AML细胞上表达的抗原(例如,除CD123之外的抗原)具有结合特异性。例如,第二免疫球蛋白可变结构域序列对CCL-1具有结合特异性。作为另一个例子,第二免疫球蛋白可变结构域序列对CD33具有结合特异性。作为另一个例子,第二免疫球蛋白可变结构域序列对CD34具有结合特异性。作为另一个例子,第二免疫球蛋白可变结构域序列对FLT3具有结合特异性。例如,第二免疫球蛋白可变结构域序列对叶酸受体β具有结合特异性。在一些方面,第二免疫球蛋白可变结构域序列对B细胞上表达的抗原(例如,CD19、CD20、CD22或ROR1)具有结合特异性。

[0531] 嵌合TCR

[0532] 在一个方面,可以将本发明的CD123抗体和抗体片段(例如,在表2、6或9中公开的那些)移植到T细胞受体("TCR")链(例如,TCRα或TCRβ链)的一个或多个恒定结构域,以产生与CD123特异性结合的嵌合TCR。不受理论约束,认为一旦结合抗原,嵌合TCR将通过TCR复合体发送信号。例如,可以将如本文中公开的CD123 scFv移植至恒定结构域,例如,TCR链(例如,TCRα链和/或TCRβ链)的胞外恒定结构域、跨膜结构域和胞质结构域的至少一部分。作为另一个例子,CD123抗体片段,例如,如本文所述的VL结构域,可以移植至TCRα链的恒定结构域,并且CD123抗体片段,例如,如本文所述的VH结构域,可以移植至TCRβ链的恒定结构域(或备选地,VL结构域可以移植至TCRβ链的恒定结构域并且VH结构域可以移植至TCRα链)。作为另一个例子,CD123抗体或抗体片段的CDR(例如,如表3、4、5、6、7、8、10、11、12或13中所述的CD123抗体或抗体片段的CDR)可以移植至TCRα和/或β链中,以产生与CD123特异性结合的嵌合TCR。例如,本文公开的LCDR可以移植至TCRα链的可变结构域中并且本文公开的HCDR可以移植至TCRβ链的可变结构域,或反之亦然。这类嵌合TCR可以通过本领域已知的方法产生(例如,Willemsen RA等人,Gene Therapy 2000;7:1369-1377;Zhang T等人,Cancer Gene Ther 2004;11:487-496;Aggen等人,Gene Ther.2012Apr;19(4):365-74)。

[0533] 稳定性和突变

[0534] CD123结合结构域(例如,scFv分子(例如,可溶性scFv))的稳定性可以参照常规对照scFv分子或全长抗体的生物物理特性(例如,热稳定性)来评价。在一个实施方案中,人scFv在所述测定法中具有比对照结合分子(例如常规scFv分子)高约0.1、约0.25、约0.5、约0.75、约1、约1.25、约1.5、约1.75、约2、约2.5、约3、约3.5、约4、约4.5、约5、约5.5、约6、约6.5、约7、约7.5、约8、约8.5、约9、约9.5、约10摄氏度、约11摄氏度、约12摄氏度、约13摄氏度、约14摄氏度或约15摄氏度的热稳定性。

[0535] 随后将CD123结合结构域(例如,scFv)的改善的热稳定性赋予整个CART123构建体,导致CART123构建体的治疗性特性改善。与常规抗体相比,可以改善CD123结合结构域(例如,scFv)的热稳定性至少约2℃或3℃。在一个实施方案中,与常规抗体相比,CD123结合结构域(例如,scFv)具有1℃的热稳定性改善。在另一个实施方案中,与常规抗体相比,CD123结合结构域(例如,scFv)具有2℃的热稳定性改善。在另一个实施方案中,与常规抗体相比,scFv具有4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15℃改善的热稳定性。可以例如在本文公开的scFv分子和全长抗体之间进比行较。可以使用本领域已知的方法测量热稳定性。例如,在一个实施方案中,可以测量Tm。下文更详细地描述用于测量Tm的方法和确定蛋白质稳定性的其他方法。

[0536] ScFv中的突变改变scFv的稳定性并且改善scFv和CART123构建体的总体稳定性。

使用测量如Tm、温度变性和温度聚集，测定人源化或人scFv的稳定性。

[0537] 可以使用实施例中描述的测定法确定突变scFv的结合能力。

[0538] 在一个实施方案中，CD123结合结构域(例如，scFv)包含至少一个突变，从而突变的scFv赋予CART123构建体改善的稳定性。在另一个实施方案中，CD123结合结构域(例如，scFv)包含源自人源化过程的至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个突变，从而突变的scFv赋予CART123构建体改善的稳定性。

[0539] 评价蛋白质稳定性的方法

[0540] 可以例如使用下文描述的方法，评估抗原结合结构域的稳定性。这类方法允许确定多个热解折叠转变，其中最不稳定的结构域首先解折叠或限制协同解折叠的多结构域单元(例如，显示单一解折叠转变的多结构域蛋白质)的总体稳定阈值。可以按许多额外的方式鉴定最不稳定的结构域。可以进行诱变以探测哪个结构域限制总体稳定性。另外，可以在这样的条件下借助DSC或其他光谱方法确定多结构域蛋白质的蛋白酶抗性，其中已知最不稳定结构域内在解折叠(Fontana等人，(1997)Fold.Des.,2:R17-26;Dimasi等人，(2009)J.Mol.Biol.393:672-692)。一旦鉴定到最不稳定的结构域，可以使用编码这种结构域(或其部分)的序列作为所述方法中的测试序列。

[0541] a)热稳定性

[0542] 可以使用本领域已知的许多非限制性生物物理或生物化学技术分析组合物的热稳定性。在某些实施方案中，通过分析光谱法评价热稳定性。

[0543] 一个示例性分析光谱方法是差示扫描量热法(DSC)。DSC采用对伴随大多蛋白质或蛋白质结构域解折叠的热吸收敏感的量热器(见，例如Sanchez-Ruiz等人，Biochemistry,27:1648-52,1988)。为了确定蛋白质的热稳定性，将蛋白质的样品插入量热器中并将温度升高直至Fab或scFv解折叠。蛋白质解折叠的温度表示总体蛋白质稳定性。

[0544] 另一个示例性分析光谱法方法是圆二色性(CD)光谱法。CD光谱法测量组合物随温度增加而变化的光学活性。圆二色性(CD)光谱法测量相对于右旋偏振光而言左旋偏振光吸收的差异，所述差异因结构非对称性所致。无序或解折叠的结构产生与有序或折叠的结构非常不同的CD光谱。CD光谱反映蛋白质对增加温度的变性效应的灵敏度并且因此表示蛋白质的热稳定性(见van Mierlo和Steemsma,J.Biotechnol.,79(3):281-98,2000)。

[0545] 用于测量热稳定性的另一个示例性分析光谱方法是荧光发射光谱法(见上文van Mierlo和Steemsma)。用于测量热稳定性的又一个示例性分析光谱方法是核磁共振(NMR)光谱(见，例如上文van Mierlo和Steemsma)。

[0546] 可以生物化学方式测量组合物的热稳定性。用于评估热稳定性的示例性生物化学方法是热攻击测定法。在“热攻击测定法”中，组合物经受一系列升高的温度持续一组时间段。例如，在一个实施方案中，受试scFv分子或包含scFv分子的分子经受一系列增加的温度持续例如1-1.5小时。随后通过有关的生物化学测定法分析蛋白质的活性。例如，如果该蛋白质是结合蛋白(例如scFv或含有scFv的多肽)，则可以通过功能性或定量性ELISA确定结合蛋白的结合活性。

[0547] 这种测定法可以按高通量样式进行并且实施例中公开了使用大肠杆菌和高通量筛选的那些。可以使用本领域已知的方法产生CD123结合结构域(例如，scFv变体)的文库。可以诱导CD123结合结构域(例如，scFv)表达并且可以对CD123结合结构域(例如，scFv)进

行热攻击。可以对攻击的受试样品测定结合作用，并且可以将那些稳定的CD123结合结构域(例如，scFv)放大并进一步表征。

[0548] 通过使用前述任一项技术(例如分析光谱技术)测量组合物的熔融温度(Tm)，评价热稳定性。熔融温度是在热转变曲线中点处的温度，其中组合物的50％分子处于折叠状态(参见，例如，Dimasi等人，(2009)J.Mol Biol.393:672-692)。在一个实施方案中，CD123结合结构域(例如，scFv)的Tm值是约40℃、41℃、42℃、43℃、44℃、45℃、46℃、47℃、48℃、49℃、50℃、51℃、52℃、53℃、54℃、55℃、56℃、57℃、58℃、59℃、60℃、61℃、62℃、63℃、64℃、65℃、66℃、67℃、68℃、69℃、70℃、71℃、72℃、73℃、74℃、75℃、76℃、77℃、78℃、79℃、80℃、81℃、82℃、83℃、84℃、85℃、86℃、87℃、88℃、89℃、90℃、91℃、92℃、93℃、94℃、95℃、96℃、97℃、98℃、99℃、100℃。在一个实施方案中，IgG的Tm值是约40℃、41℃、42℃、43℃、44℃、45℃、46℃、47℃、48℃、49℃、50℃、51℃、52℃、53℃、54℃、55℃、56℃、57℃、58℃、59℃、60℃、61℃、62℃、63℃、64℃、65℃、66℃、67℃、68℃、69℃、70℃、71℃、72℃、73℃、74℃、75℃、76℃、77℃、78℃、79℃、80℃、81℃、82℃、83℃、84℃、85℃、86℃、87℃、88℃、89℃、90℃、91℃、92℃、93℃、94℃、95℃、96℃、97℃、98℃、99℃、100℃。在一个实施方案中，多价抗体的Tm值是约40℃、41℃、42℃、43℃、44℃、45℃、46℃、47℃、48℃、49℃、50℃、51℃、52℃、53℃、54℃、55℃、56℃、57℃、58℃、59℃、60℃、61℃、62℃、63℃、64℃、65℃、66℃、67℃、68℃、69℃、70℃、71℃、72℃、73℃、74℃、75℃、76℃、77℃、78℃、79℃、80℃、81℃、82℃、83℃、84℃、85℃、86℃、87℃、88℃、89℃、90℃、91℃、92℃、93℃、94℃、95℃、96℃、97℃、98℃、99℃、100℃。

[0549] 还通过使用分析性量热技术(例如DSC)测量组合物的比热或热容(Cp)评价热稳定性。组合物的比热是为升高1摩尔水的温度1℃所需要的能量(例如以kcal/mol为单位)。大的Cp是变性或无活性蛋白质组合物的标志。通过确定组合物在其热转变之前和之后的比热来测量组合物的热容(ΔCp)变化。还可以通过测量或确定热动力稳定性的其他参数(包括解折叠Gibbs自由能(ΔG)、解折叠焓(ΔH)或解折叠熵(ΔS))评价热稳定性。一种或多种上述生物化学测定法(例如热攻击测定法)用来确定50％组合物保留其活性(例如结合活性)的温度(即T_C值)。

[0550] 此外，与未突变的CD123结合结构域(例如，scFv)相比，对CD123结合结构域(例如，scFv)的突变改变CD123结合结构域(例如，scFv)的热稳定性。当人源化或人CD123结合结构域(例如，scFv)并入CART123构建体时，CD123结合结构域(例如，人源化或人scFv)向整个CD123 CART构建体赋予热稳定性。在一个实施方案中，CD123结合结构域(例如，scFv)包含向CD123结合结构域(例如，scFv)赋予热稳定性的单突变。在另一个实施方案中，CD123结合结构域(例如，scFv)包含向CD123结合结构域(例如，scFv)赋予热稳定性的多突变。在一个实施方案中，CD123结合结构域(例如，scFv)中的多突变对CD123结合结构域(例如，scFv)的热稳定性具有加合效应。

[0551] b)聚集％

[0552] 可以通过测量其聚集倾向性确定组合物的稳定性。可以通过许多非限制性生物化学或生物物理技术测量聚集。例如，可以使用色谱(例如大小排阻色谱(SEC))评价组合物的聚集。SEC基于大小分离分子。柱用高分子凝胶的半固态珠填充，所述高分子凝胶允许离子和小分子进入其内部，但是不允许大实体进入其内部。将蛋白质组合物施加至柱顶部时，紧

凑的折叠蛋白质(即未聚集的蛋白质)分布遍及蛋白质大聚集物可用的较大溶剂体积。因此,大聚集物更快速地移动穿过该柱,并且以这种方式,混合物可以分离或分级成为其组分。当每种级分从凝胶洗脱时,可以分别对其定量(例如通过光散射)。因此,可以通过比较级分的浓度与施加至凝胶的蛋白质的总浓度确定组合物的聚集%。稳定组合物作为基本上单一级分从柱洗脱并且作为基本上单一峰出现在洗脱曲线或色谱图中。

[0553] c)结合亲和力

[0554] 可以通过确定其靶结合亲和力评估组合物的稳定性。用于确定结合亲和力的广泛类型方法是本领域已知的。一种用于确定结合亲和力的示例性方法采用表面等离子体共振。表面等离子体共振是允许通过(例如使用BIAcore系统(Pharmacia Biosensor AB,Uppsala,Sweden and Piscataway,N.J.))检测生物传感器基质内部蛋白质浓度的改变来分析实时生物特异性相互作用的光学现象。关于进一步的描述,参见Jonsson,U.等人,(1993)Ann.Biol.Clin.51:19-26;Jonsson,U.,i(1991)Biotechniques 11:620-627;Johnsson,B.等人,(1995)J.Mol.Recognit.8:125-131以及Johnnson,B.等人,(1991)Anal.Biochem.198:268-277。

[0555] 在一个方面,CAR的抗原结合结构域包含与本文所述的抗原结合结构域氨基酸序列同源的氨基酸序列,并且抗原结合结构域保留本文所述的CD123抗体片段的所需功能特性。在一个具体方面中,本发明的CAR组合物包含抗体片段。在又一个方面,该抗体片段包含scFv。

[0556] 在多个方面,可以通过修饰在一个或两个可变区(例如,VH和/或VL)内部,例如,一种或多种CDR区内部和/或一个或多个构架区内部的一个或多个氨基酸,将CAR的抗原结合结构域工程化。在一个具体方面中,本发明的CAR组合物包含抗体片段。在又一个方面,该抗体片段包含scFv。

[0557] 本领域普通技术人员将理解,本发明的抗体或抗体片段还可以如此修饰,从而它们在氨基酸序列方面变动(例如,不同于野生型),但是在所需的活性方面不变动。例如,可以对蛋白质进行导致“非必需”氨基酸残基处氨基酸置换的额外核苷酸置换。例如,可以将分子中的非必需氨基酸残基替换为来自相同侧链家族的另一个氨基酸残基。在另一个实施方案中,可以将一个氨基酸片段替换为结构上相似的片段,所述的片段在侧链家族成员的顺序和组成方面中不同,例如,可以进行保守性置换,其中将氨基酸残基替换为具有相似侧链的氨基酸残基。

[0558] 本领域中已经定义了具有相似侧链的氨基酸残基家族,所述侧链包括碱性侧链(例如赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、酸性侧链(例如,天冬氨酸、谷氨酸)、不带电荷极性侧链(例如,甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸)、非极性侧链(例如,丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸、色氨酸)、β分枝侧链(例如,苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)和芳族侧链(例如,酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。

[0559] 在两个或更多个核酸序列或多肽序列的上下文中,同一性百分数指相同的两个或更多个序列。如果在比较窗口或指定区域范围内为最大对应性而进行比较和比对时,如使用以下序列比较算法之一或通过手工比对和目视审查所测量,两个序列具有指定百分数的相同氨基酸残基或核苷酸(例如,在指定区域范围内或当未指定时在整个序列范围内60%同一性,任选地70%、71%。72%。73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、

82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％同一性)，则这两个序列是“基本上同一的”。任选地，同一性存在于长度至少约50个核苷酸(或10个氨基酸)的区域内，或更优选地在长度100到500或1000或更多个核苷酸(或20、50、200或更多个氨基酸)的区域内。

[0560] 对于序列比较，一般地一个序列充当与受试序列比较的参考序列。当使用序列比较算法时，将受试序列和参考序列输入计算机，如果需要，指定子序列坐标，并指定序列算法程序参数。可以使用默认程序参数或可以指定备选参数。基于程序参数，序列比较算法随后相对于参考序列计算受试序列的序列同一性百分数。用于比对序列以比较的方法是本领域熟知的。用于比较的最佳序列比对可以按如下方式进行，例如通过Smith和Waterman，(1970)Adv.Appl.Math.2:482c的局部同源性算法、通过Needleman和Wunsch(1970)J.Mol.Biol.48:443的同源性比对算法、通过Pearson和Lipman，(1988)Proc.Nat’l.Acad.Sci.USA 85:2444的相似性搜索方法、通过这些算法的计算机化执行(Wisconsin Genetics软件包，Genetics Computer Group，575 Science Dr.，Madison，WI中的GAP、BESTFIT、FASTA和TFASTA)或通过手工比对和目视审查(见，例如，Brent等人，(2003)Current Protocols in Molecular Biology)。

[0561] 适用于确定序列同一性和序列相似性百分数的两个算法例子是BLAST算法和BLAST 2.0算法，它们分别在Altschul等人，(1977)Nuc.Acids Res.25:3389-3402；和Altschul等人，(1990)J.Mol.Biol.215:403-410(1990)中描述。用于进行BLAST分析的软件是通过国家生物技术信息中心可公开获得的。

[0562] 还可以使用PAM120权重余数表、空位长度罚分12，空位罚分4，利用已经并入ALIGN程序(2.0版)的E.Meyers和W.Miller算法，(1988)Comput.Appl.Biosci.4:11-17)确定两个氨基酸序列之间的同一性百分数。此外，可以使用已经集成至GCG软件包的GAP程序中的Needlema和Wunsch(1970)J.Mol.Biol.48:444-453)算法(在www.gcg.com可获得)，使用Blossom 62矩阵或PAM250矩阵和空位权重16、14、12、10、8、6或4和长度权重1、2、3、4、5或6，确定两个氨基酸序列之间的同一性百分数。

[0563] 在一个方面，本发明构思了产生功能上等同分子的起始抗体或片段(例如，scFv)氨基酸序列修饰。例如，可以修饰CAR中包含的CD123结合结构域(例如，scFv)的VH或VL，以保留与CD123结合结构域(例如，scFv)的起始VH或VL构架区至少约70％、71％。72％、73％、74％、75％、76％、77％、78％、79％、80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％的同一性。本发明构思了修饰完整CAR构建体，例如，在CAR构建体的多个结构域的一种或多种氨基酸序列中修饰，旨在产生功能上等同的分子。可以修饰CAR构建体以保留起始CAR构建体的至少约70％、71％。72％。73％、74％、75％、76％、77％、78％、79％、80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％同一性。

[0564] 跨膜结构域

[0565] 就跨膜结构域而言，在多种实施方案中，CAR可以设计成包含与CAR的胞外结构域连接的跨膜结构域。跨膜结构域可以包括一个或多个与跨膜区毗邻的额外氨基酸，例如，一个或多个与衍生跨膜区的蛋白质的胞外区相关的氨基酸(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个直至15个胞外区氨基酸)和/或一个或多个与衍生跨膜蛋白的蛋白质的胞内区相关的氨基

酸(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个至多15个胞内区氨基酸)。在一个方面,跨膜结构域是与所用CAR的其他结构域之一缔合的结构域。在一些情况下,可以选择或通过氨基酸置换修饰跨膜结构域,以避免这类结构域与相同或不同表面膜蛋白的跨膜结构域结合,例如,以最大限度减少与受体复合体的其他构件的相互作用。在一个方面,跨膜结构域能够与表达CAR的细胞(例如,CART细胞)细胞表面上的另一个CAR同型二聚化。在一个不同方面,可以修饰或置换跨膜结构域的氨基酸序列,从而最小化与表达CAR的相同细胞(例如,CART细胞)中存在的天然结合配偶体的结合结构域相互作用。

[0566] 跨膜结构域可以衍生自天然来源或重组来源。在来源是天然的情况下,结构域可以衍生自任何膜结合蛋白或跨膜蛋白。在一个方面,每当CAR已经与靶结合时,跨膜结构域就能够向胞内结构域发送信号。在本发明中特别有用的跨膜结构域可以包含例如以下蛋白质的跨膜结构域:T细胞受体的α、β或ζ链、CD28、CD3ε、CD45、CD4、CD5、CD8(例如,CD8α,CD8β)、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154。在一些实施方案中,跨膜结构域可以包括至少例如以下蛋白质的跨膜区:KIRDS2、OX40、CD2、CD27、LFA-1(CD11a、CD18)、ICOS(CD278)、4-1BB(CD137)、GITR、CD40、BAFFR、HVEM(LIGHTR)、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD160、CD19、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA1、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、TNFR2、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、PAG/Cbp、NKG2D、NKG2C和CD19。

[0567] 在一些情况下,跨膜结构域可以借助铰链(例如,来自人蛋白质的铰链)与CAR的胞外区连接(例如,CAR的抗原结合结构域)。例如,在一个实施方案中,铰链可以是人Ig(免疫球蛋白)铰链,例如,IgG4铰链,或CD8a铰链。在一个实施方案中,铰链或间隔序列包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列(例如,由其组成)。在一个方面,跨膜结构域包含SEQ ID NO:6的跨膜结构域(例如,由其组成)。

[0568] 在一个方面,铰链或间隔序列包含IgG4铰链。例如,在一个实施方案中,铰链或间隔序列包含具有以下氨基酸序列的铰链:ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGKM(SEQ ID NO:3)。在一些实施方案中,铰链或间隔序列包含由以下核苷酸序列编码的铰链:GAGAGCAAGTACGGCCCTCCCTGCCCCCCTTGCCCTGCCCCCGAGTTCCTGGGCGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGAGGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCCGGGAGGAGCAGTTCAATAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGTAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCAGCAGCATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCCAAGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCCGGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAGGGCAACGTCTTTAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAA

CCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCTGGGCAAGATG(SEQ ID NO:14).

[0569] 在一个方面,铰链或间隔序列包含IgD铰链。例如,在一个实施方案中,铰链或间隔序列包含具有以下氨基酸序列的铰链:RWPESPKAQASSVPTAQPQAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGEEKKKEKEKEEQEERETKTPECPSHTQPLGVYLLTPAVQDLWLRDKATFTCFVVGSDLKDAHLTWEVAGKVPTGGVEEGLLERHSNGSQSQHSRLTLPRSLWNAGTSVTCTLNHPSLPPQRLMALREPAAQAPVKLSLNLLASSDPPEAASWLLCEVSGFSPPNILLMWLEDQREVNTSGFAPARPPPQPGSTTFWAWSVLRVPAPPSPQPATYTCVVSHEDSRTLLNASRSLEVSYVTDH(SEQ ID NO:4)。在一些实施方案中,铰链或间隔序列包含由以下核苷酸序列编码的铰链:AGGTGGCCCGAAAGTCCCAAGGCCCAGGCATCTAGTGTTCCTACTGCACAGCCCCAGGCAGAAGGCAGCCTAGCCAAAGCTACTACTGCACCTGCCACTACGCGCAATACTGGCCGTGGCGGGGAGGAGAAGAAAAAGGAGAAAGAGAAAGAAGAACAGGAAGAGAGGGAGACCAAGACCCCTGAATGTCCATCCCATACCCAGCCGCTGGGCGTCTATCTCTTGACTCCCGCAGTACAGGACTTGTGGCTTAGAGATAAGGCCACCTTTACATGTTTCGTCGTGGGCTCTGACCTGAAGGATGCCCATTTGACTTGGGAGGTTGCCGGAAAGGTACCCACAGGGGGGGTTGAGGAAGGGTTGCTGGAGCGCCATTCCAATGGCTCTCAGAGCCAGCACTCAAGACTCACCCTTCCGAGATCCCTGTGGAACGCCGGGACCTCTGTCACATGTACTCTAAATCATCCTAGCCTGCCCCCACAGCGTCTGATGGCCCTTAGAGAGCCAGCCGCCCAGGCACCAGTTAAGCTTAGCCTGAATCTGCTCGCCAGTAGTGATCCCCCAGAGGCCGCCAGCTGGCTCTTATGCGAAGTGTCCGGCTTTAGCCCGCCCAACATCTTGCTCATGTGGCTGGAGGACCAGCGAGAAGTGAACACCAGCGGCTTCGCTCCAGCCCGGCCCCCACCCCAGCCGGGTTCTACCACATTCTGGGCCTGGAGTGTCTTAAGGGTCCCAGCACCACCTAGCCCCCAGCCAGCCACATACACCTGTGTTGTGTCCCATGAAGATAGCAGGACCCTGCTAAATGCTTCTAGGAGTCTGGAGGTTTCCTACGTGACTGACCATT(SEQ ID NO:15)。

[0570] 在一个方面,跨膜结构域可以是重组的,在这种情况下,它将包含优势疏水的残基如亮氨酸和缬氨酸。在一个方面,苯丙氨酸、色氨酸和缬氨酸三联体可以在重组跨膜结构域的每个末端存在。

[0571] 任选地,2和10个氨基酸长度之间的短寡肽接头或多肽接头可以在CAR的跨膜结构域和胞质区域之间形成键接。甘氨酸-丝氨酸双联体提供特别合适的接头。例如,在一个方面,接头包含GGGGSGGGGS的氨基酸序列(SEQ ID NO:5)。在一些实施方案中,接头由GGTGGCGGAGGTTCTGGAGGTGGAGGTTCC的核苷酸序列(SEQ ID NO:16)编码。

[0572] 在一个方面,铰链或间隔序列包含KIR2DS2铰链。

[0573] 胞质结构域

[0574] 本发明CAR的胞质结构域或区域包含胞内信号结构域。胞内信号结构域能够活化其中已经引入CAR的免疫细胞的至少一个正常效应子功能。

[0575] 用于本发明CAR中的胞内信号结构域的例子包括协同发挥作用以在抗原受体接合后启动信号转导的T细胞受体(TCR)和共受体的胞质序列,以及这些序列的任何衍生物或变体和具有相同功能性能力的任何重组序列。

[0576] 已知单独通过TCR生成的信号不足以完全活化T细胞并且还需要次级和/或共刺激信号。因此,据称T细胞活化可以由两类不同的胞质信号传导序列介导:通过TCR启动抗原依赖性初级活化的那些序列(初级胞内信号结构域)和以抗原非依赖性方式发挥作用以提供次级或共刺激信号的那些序列(次级胞质结构域,例如,共刺激结构域)。

[0577] 初级信号结构域以刺激性方式或以抑制性方式调节TCR复合物的初级活化。以刺激性方式发挥作用的初级胞内信号结构域可以含有称作基于免疫受体酪氨酸的活化基序

或ITAM的信号传导基序。

[0578] 含有在本发明中特别有用的ITAM的初级胞质信号传导序列的例子包括TCRζ、FcRγ、FcRβ、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD5、CD22、CD79a、CD79b、CD278(也称作“ICOS”)、FcεRI、DAP10、DAP12和CD66d的那些。在一个实施方案中,本发明的CAR包含胞内信号结构域,例如,CD3-ζ的初级信号结构域。

[0579] 在一个实施方案中,初级信号结构域包含修饰的ITAM结构域,例如,如与天然ITAM结构域相比活性改变(例如,增加或减少)的突变ITAM结构域。在一个实施方案中,初级信号结构域包含了含有修饰的ITAM的初级胞内信号结构域,例如,含有优化和/或截短的ITAM的初级胞内信号结构域。在一个实施方案中,初级信号结构域包含一个、两个、三个、四个或更多个ITAM基序。

[0580] 含有在本发明中特别有用的初级胞内信号结构域的分子的其他例子包括DAP10、DAP12和CD32的那些分子。

[0581] CAR的胞内信号结构域可以本身包含初级信号结构域,例如,CD3-ζ信号结构域,或它可以与本发明CAR背景下有用的任何其他所需的胞内信号结构域组合。例如,CAR的胞内信号结构域可以包含初级信号结构域(例如,CD3-ζ链部分)和共刺激信号结构域。共刺激信号结构域指包含共刺激分子的胞内结构域的CAR部分。共刺激分子是除抗原受体或其配体之外淋巴细胞对抗原作出有效反应所需要的细胞表面分子。这类分子的例子包括MHC I类分子、TNF受体蛋白、免疫球蛋白样蛋白质、细胞因子受体、整联蛋白、淋巴细胞活化信号分子(SLAM蛋白)、活化NK细胞受体、BTLA、Toll配体受体、OX40、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CDS、ICAM-1、LFA-1(CD11a/CD18)、4-1BB(CD137)、B7-H3、CDS、ICAM-1、ICOS(CD278)、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM(LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、CD69、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a和与CD83特异性结合的配体。例如,CD27共刺激作用已经证实在体外增强人CART细胞的扩充、效应子功能和存活并且在体内增进人T细胞留存和抗肿瘤活性(Song等人,Blood.2012;119(3):696-706)。

[0582] 在本发明CAR的胞质部分内部的胞内信号传导序列可以彼此按随机顺序或指定顺序连接。任选地,例如2个和10个氨基酸(例如,2、3、4、5、6、7、8、9或10个氨基酸)长度之间的短寡肽接头或多肽接头可以在胞内信号传导序列之间形成键接。在一个实施方案中,甘氨酸-丝氨酸双联体可以用作合适的接头。在一个实施方案中,单个氨基酸,例如,丙氨酸、甘氨酸,可以用作合适的接头。

[0583] 在一个方面,胞内信号结构域设计成包含两个或更多个(例如,2、3、4、5或更多个)共刺激信号结构域。在一个实施方案中,两个或更多个(例如,2、3、4、5或更多个)共刺激信号结构域由接头分子(例如,本文所述的接头分子)分开。在一个实施方案中,胞内信号结构域包含两个共刺激信号结构域。在一些实施方案中,接头分子是甘氨酸残基。在一些实施方

案中,接头是丙氨酸残基。

[0584] 在一个方面,胞内信号结构域设计成包含CD3-ζ的信号结构域和CD28的信号结构域。在一个方面,胞内信号结构域设计成包含CD3-ζ的信号结构域和4-1BB的信号结构域。在一个方面,4-1BB的信号结构域是SEQ ID NO:7的信号结构域。在一个方面,CD3-ζ的信号结构域是SEQ ID NO:9(突变CD3-ζ)或SEQ ID NO:10(野生型人CD3-ζ)的信号结构域。

[0585] 在一个方面,胞内信号结构域设计成包含CD3-ζ的信号结构域和CD27的信号结构域。在一个方面,CD27的信号结构域包含QRRKYRSNKGESPVEPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP(SE Q ID NO:8)。在一个方面,CD27的信号结构域由AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACATGACTCCCCGCCGCCCCGGGCCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCC(SEQ ID NO:19)的核酸序列编码。

[0586] 在一个方面,CD27的信号结构域包含QRRKYRSNKGESPVEPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP(SE Q ID NO:8)的氨基酸序列。在一个方面,CD27的信号结构域由AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACATGACTCCCCGCCGCCCCGGGCCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCC(SEQ ID NO:19)的核酸序列编码。

[0587] 在一个方面,胞内信号结构域设计成包含CD3-ζ的信号结构域和CD28的信号结构域。在一个方面,CD28的信号结构域包含SEQ ID NO:379的氨基酸序列。在一个方面,CD28的信号结构域由SEQ ID NO:380的核酸序列编码。

[0588] 在一个方面,胞内信号结构域设计成包含CD3-ζ的信号结构域和ICOS的信号结构域。在一个方面,CD28的信号结构域包含SEQ ID NO:381的氨基酸序列。在一个方面,ICOS的信号结构域由SEQ ID NO:382的核酸序列编码。

[0589] 在一个方面,本文所述的表达CAR的细胞还可以包含例如针对相同靶(CD123)或不同靶(例如,CD19、CD33、CLL-1、CD34、FLT3,或叶酸受体β)的第二CAR,例如,包含不同抗原结合结构域的第二CAR。在一个实施方案中,第二CAR包含针对急性髓性白血病细胞上表达的靶(例如,CD19、CD33、CLL-1、CD34、FLT3或叶酸受体β)的抗原结合结构域。在一个实施方案中,表达CAR的细胞包含第一CAR,所述第一CAR靶向第一抗原并且包含了具有共刺激信号结构域但没有初级信号结构域的胞内信号结构域,和第二CAR,所述第二CAR靶向第二个不同的抗原并且包含了具有初级信号结构域但没有共刺激信号结构域的胞内信号结构域。尽管不希望受理论约束,将共刺激信号结构域(例如,4-1BB、CD28、CD27、ICOS或OX-40)安置到第一CAR上,和将初级信号结构域(例如,CD3ζ)安置在第二CAR上能限制CAR的活性至表达两种靶的细胞。在一个实施方案中,表达CAR的细胞包含第一CD123 CAR,所述第一CD123 CAR包含CD123结合结构域、跨膜结构域和共刺激结构域,和第二CAR,所述第二CAR靶向除CD123之外的抗原(例如,AML细胞上表达的抗原,例如,CD19、CD33、CLL-1、CD34、FLT3或叶酸受体β)并包含抗原结合结构域、跨膜结构域和初级信号结构域。在另一个实施方案中,表达CAR的细胞包含第一CD123CAR,所述第一CD123 CAR包含CD123结合结构域、跨膜结构域和初级信号结构域,和第二CAR,所述第二CAR靶向除CD123之外的抗原(例如,AML细胞上表达的抗原,例如,CD19、CD33、CLL-1、CD34、FLT3或叶酸受体β)并包含针对该抗原的抗原结合结构域、跨膜结构域和共刺激信号结构域。

[0590] 在一个实施方案中,表达CAR的细胞包含本文所述的CD123 CAR和抑制性CAR。在一个实施方案中,抑制性CAR包含这样的抗原结合结构域,所述抗原结合结构域结合正常细胞

上存在、但癌细胞上不存在的抗原，例如，也表达CD123的正常细胞。在一个实施方案中，抑制性CAR包含抑制性分子的抗原结合结构域、跨膜结构域和胞内结构域。例如，抑制性CAR的胞内结构域可以是PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM(例如、CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3(CD276)、B7-H4(VTCN1)、HVEM(TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I类、MHC II类、GAL9、腺苷和TGFR(例如TGFRβ)的胞内结构域。

[0591] 在一个实施方案中，当表达CAR的细胞包含两种或更多种不同CAR时，不同CAR的抗原结合结构域可以是这样的，从而抗原结合结构域彼此不相互作用。例如，表达第一和第二CAR的细胞可以具有第一CAR的抗原结合结构域，例如，作为不与第二CAR的抗原结合结构域形成缔合的片段(例如，scFv)，例如，第二CAR的抗原结合结构域是VHH。

[0592] 在一些实施方案中，抗原结合结构域包含单结构域抗原结合(SDAB)分子，包括其互补决定区是单结构域多肽组成部分的分子。例子包括但不限于重链可变结构域、天然缺少轻链的结合分子、衍生自常规四链抗体的单结构域、工程化结构域和除衍生自抗体的那些之外的单结构域支架。SDAB分子可以是现有技术的任何分子，或将来的任何单结构域分子。SDAB分子可以衍生自任何物种，包括但不限于小鼠、人、骆驼、羊驼、七鳃鳗、鱼、鲨鱼、山羊、兔和牛。这个术语还包括来自骆驼属(Camelidae)和鲨鱼之外的物种中的天然存在的单结构域抗体分子。

[0593] 在一个方面，SDAB分子可以衍生自鱼类中存在的免疫球蛋白的可变区，如，例如，从鲨鱼血清中存在的称作新抗原受体(NAR)的免疫球蛋白同种型衍生的那种可变区。产生从NAR可变区衍生的单结构域分子(“IgNAR”)的方法在WO 03/014161和Streltsov(2005)Protein Sci.14:2901-2909中描述。

[0594] 根据另一个方面，SDAB分子是天然存在的单结构域抗原结合分子，称作缺少轻链的重链。这类单结构域分子例如在WO 9404678和Hamers-Casterman,C.等人,(1993)Nature 363:446-448中公开。出于清晰原因，从天然缺少轻链的重链分子衍生的这种可变结构域在本文中称作VHH或纳米体以将它与四链免疫球蛋白的常规VH区分。这种VHH分子可以衍生自骆驼属(Camelidae)物种，例如骆驼、羊驼、单峰驼、驼羊和原驼。除骆驼属之外的其他物种可以产生天然缺少轻链的重链分子;这类VHH处于本发明的范围内。

[0595] SDAB分子可以是重组的、CDR移植的、人源化、骆驼化、去免疫化和/或在体外生成(例如，通过噬菌体展示法选择)。

[0596] 也已经发现，可能不想要具有多个膜嵌入型嵌合受体的细胞，所述嵌合膜嵌入型受体包含在受体的抗原结合结构域之间相互作用的抗原结合结构域，例如，原因在于它抑制一个或多个抗原结合结构域与其相应抗原结合的能力。因此，本文公开了具有第一和第二非天然存在的膜嵌入型嵌合受体的细胞，所述膜嵌入型嵌合受体包含使这类相互作用最小化的抗原结合结构域。本文还公开了编码第一和第二非天然存在的膜嵌入型嵌合受体的核酸，所述膜嵌入型嵌合受体包含使这类相互作用最小化的抗原结合结构域。以及产生和使用这类细胞和核酸的方法。在一个实施方案中，所述第一和所述第二非天然存在的膜嵌入型嵌合受体之一的抗原结合结构域包含scFv，并且另一者包含单一VH结构域，例如，骆类、鲨鱼或七鳃鳗单一VH结构域，或从人或小鼠序列衍生的单一VH结构域。

[0597] 在一些实施方案中，要求保护的发明包含第一和第二CAR，其中所述第一CAR和所

述第二CAR之一的抗原结合结构域不包含可变轻链结构域和可变重链结构域。在一些实施方案中，所述第一CAR和所述第二CAR之一的抗原结合结构域是scFv，并且另一者不是scFv。在一些实施方案中，所述第一CAR和所述第二CAR之一的抗原结合结构域包含单一VH结构域，例如，驼类、鲨鱼或七鳃鳗单一VH结构域，或从人或小鼠序列衍生的单一VH结构域。在一些实施方案中，所述第一CAR和所述第二CAR之一的抗原结合结构域包含纳米体。在一些实施方案中，所述第一CAR和所述第二CAR之一的抗原结合结构域包含驼类VHH结构域。

[0598] 在一些实施方案中，所述第一CAR和所述第二CAR之一的抗原结合结构域包含scFv，并且另一者包含单一VH结构域，例如，驼类、鲨鱼或七鳃鳗单一VH结构域，或从人或小鼠序列衍生的单一VH结构域。在一些实施方案中，所述第一CAR和所述第二CAR之一的抗原结合结构域包含scFv，并且另一者包含纳米体。在一些实施方案中，所述第一CAR和所述第二CAR之一的抗原结合结构域包含scFv，并且另一者包含驼类VHH结构域。

[0599] 在一些实施方案中，当在细胞表面上存在时，所述第一CAR的抗原结合结构域与其相应抗原的结合基本上不因所述第二CAR的存在而降低。在一些实施方案中，所述第一CAR的抗原结合结构域与其相应抗原在所述第二CAR存在的结合是所述第一CAR的抗原结合结构域与其相应抗原在所述第二CAR不存在下的结合的85％、90％、95％、96％、97％、98％或99％。

[0600] 在一些实施方案中，在细胞表面上存在时，所述第一CAR的抗原结合结构域和所述第二CAR的抗原结合结构域彼此比二种抗原结合结构域均为scFv抗原结合结构域时缔合更小。在一些实施方案中，所述第一CAR的抗原结合结构域和所述第二CAR的抗原结合结构域彼此比二种抗原结合结构域均为scFv抗原结合结构域时缔合小85％、90％、95％、96％、97％、98％或99％。

[0601] 在另一个方面，本文所述的表达CAR的细胞还可以表达另一种物质，例如，增强表达CAR的细胞活性的物质。例如，在一个实施方案中，该物质可以是对抑制性分子抑制的物质。在一些实施方案中，抑制性分子(例如，PD1)可以降低表达CAR的细胞发动免疫效应子反应的能力。抑制性分子的例子包括PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM(例如，CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIG、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3(CD276)、B7-H4(VTCN1)、HVEM(TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I类、MHC II类、GAL9、腺苷和TGFR(TGFRβ)。在一个实施方案中，对抑制性分子抑制的物质例如是本文所述的分子，例如，是这样的物质，所述物质包含第一多肽(例如，抑制性分子)，所述第一多肽与提供正向信号给细胞的第二多肽(例如，本文所述的胞内信号结构域)缔合。在一个实施方案中，该物质包含例如抑制性分子如PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM(例如，CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA，BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160，2B4、CD80、CD86，B7-H3(CD276)、B7-H4(VTCN1)、HVEM(TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I类，MHC II类、GAL9、腺苷和TGFR(TGFRβ)或这些分子中任一者的片段(例如，这些分子中任一者的胞外结构域的至少一部分)的第一多肽和作为本文所述的胞内信号结构域(例如，包含共刺激结构域(例如，如本文所述的41BB、CD27或CD28)和/或初级信号结构域(例如，本文所述的CD3ζ信号结构域)的第二多肽。在一个实施方案中，该物质包含PD1或其片段(例如，PD1的胞外结构域的至少一部分)的第一多肽和本文所述的胞内信号结构域(例如，本文所述的CD28信号结构域和/或本文所述的CD3ζ信号结构域)的第二多肽。在实施方案中，本文所述的表达CAR的细胞

包含转换开关共刺激受体，例如，如通过引用的方式完整并入本文的WO 2013/019615中所述。PD1是受体CD28家族的抑制性成员，所述家族还包括CD28、CTLA-4、ICOS和BTLA。PD-1在活化的B细胞、T细胞和髓样细胞上表达(Agata等人，1996 Int.Immunol 8:765-75)。已经显示与PD1结合时，PD1、PD-L1和PD-L2的两种配体下调T细胞活化(Freeman等人，2000J Exp Med 192:1027-34;Latchman等人，2001Nat Immunol 2:261-8;Carter等人，2002Eur J Immunol 32:634-43)。PD-L1在人类癌症中丰富(Dong等人，2003 J Mol Med 81:281-7;Blank等人，2005 Cancer Immunol.Immunother 54:307-314;Konishi等人，2004Clin Cancer Res 10:5094)。可以通过抑制PD1与PD-L1的局部相互作用，逆转免疫抑制作用。

[0602] 在一个实施方案中，该物质包含抑制性分子(例如，程序性死亡1(PD1))的胞外结构域(ECD)，可以与跨膜结构域和胞内信号结构域如41BB和CD3ζ融合(本文也称作PD1 CAR)。在一个实施方案中，与本文所述的CD123 CAR组合使用时，PD1 CAR改善表达CAR的细胞(例如，T细胞或NK细胞)的持久性。在一个实施方案中，CAR是PD1 CAR，其包含如SEQ ID NO:24中加下划线所示的PD1胞外结构域。在一个实施方案中，PD1 CAR包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列。

[0603] Malpvtalllplalllhaarppgwfldspdrpwnpptfspallvvtegdnatftcsfsntsesfvlnwyrmspsnqtdklaafpedrsqpgqdcrfrvtqlpngrdfhmsvvrarrndsgtylcgaislapkaqikeslraelrvterraevptahpspsprpagqfqtlvtttpaprpptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdtydalhmqalppr(SEQ ID NO:24)。

[0604] 在一个实施方案中，PD1 CAR包含下文提供的氨基酸序列(SEQ ID NO:22)。

[0605] pgwfldspdrpwnpptfspallvvtegdnatftcsfsntsesfvlnwyrmspsnqtdklaafpedrsqpgqdcrfrvtqlpngrdfhmsvvrarrndsgtylcgaislapkaqikeslraelrvterraevptahpspsprpagqfqtlvtttpaprpptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdtydalhmqalppr(SEQ ID NO:22)。

[0606] 在一个实施方案中，该物质包含编码PD1 CAR的核酸序列(例如，本文所述的PD1 CAR)。在一个实施方案中，下文显示了PD1 CAR的核酸序列，下文在SEQ ID NO:23中将PD1ECD加下划线

[0607] atggccctccctgtcactgccctgcttctcccctcgcactcctgctccacgccgctagaccacccggatggtttctggactctccggatcgcccgtggaatcccccaaccttctcaccggcactcttggttgtgactgagggcgataatgcgaccttcacgtgctcgttctccaacacctccgaatcattcgtgctgaactggtaccgcatgagcccgtcaaaccagaccgacaagctcgccgcgtttccggaagatcggtcgcaaccgggacaggattgtcggttccgcgtgactcaactgccgaatggcagagacttccacatgagcgtggtccgcgctaggcgaaacgactccgggacctacctgtgcggagccatctcgctggcgcctaaggcccaaatcaaagagagcttgagggccgaactgagagtgaccgagcgcagagctgaggtgccaactgcacatccatccccatcgcctcggcctgcggggcagtttcagaccctggtcacgaccactccggcgccgcgcccaccgactccggccccaactatcgcgagccagcccctgtcgctgaggccggaagcatgccgccctgccgccggaggtgctgtgcatacccggggattggacttcgcatgcgacatctacatttgggctcctctcgccggaa

cttgtggcgtgctccttctgtccctggtcatcaccctgtactgcaagcggggtcggaaaaagcttctgtacatttt caagcagcccttcatgaggcccgtgcaaaccacccaggaggaggacggttgctcctgccggttccccgaagaggaa gaaggaggttgcgagctgcgcgtgaagttctcccggagcgccgacgcccccgcctataagcagggccagaaccagc tgtacaacgaactgaacctgggacggcgggaagagtacgatgtgctggacaagcggcgcggccgggaccccgaaat gggcgggaagcctagaagaaagaaccctcaggaaggcctgtataacgagctgcagaaggacaagatggccgaggcc tactccgaaattgggatgaagggagagcggcggaggggaaaggggcacgacggcctgtaccaaggactgtccaccg ccaccaaggacacatacgatgccctgcacatgcaggcccttcccccctcgc(SEQ ID NO:23)。

[0608] 在另一个方面,本发明提供表达CAR的细胞(例如,CART细胞或表达CAR的NK细胞)的群体。在一些实施方案中,表达CAR的细胞群体包含表达不同CAR的细胞的混合物。例如,在一个实施方案中,表达CAR的细胞(例如,CART细胞或表达CAR的NK细胞)的群体可以包含表达具有本文所述的CD123结合结构域的CAR的第一细胞和表达具有不同CD123结合结构域(例如,与在第一细胞表达的CAR中的CD123结合结构域不同的本文所述的CD123结合结构域)的CAR的第二细胞。作为另一个例子,表达CAR的细胞的群体可以包含表达下述CAR的第一细胞,所述CAR包含(例如,如本文所述的)CD123结合结构域,和表达下述CAR的第二细胞,所述CAR包含针对除CD123以外的靶(例如,CD33、CD34、CLL-1、FLT3或叶酸受体β)的抗原结合结构域。在一个实施方案中,表达CAR的细胞的群体包含例如表达下述CAR的第一细胞,所述CAR包含初级胞内信号结构域,和表达下述CAR的第二细胞,所述CAR包含次级信号结构域,例如,共刺激信号结构域。

[0609] 在另一个方面,本发明提供细胞群体,其中,群体中的至少一个细胞表达具有本文所述的CD123结合结构域的CAR,和表达另一种物质(例如,增强表达CAR的细胞活性的物质)的第二细胞。例如,在一个实施方案中,该物质可以是对抑制性分子抑制的物质。在一些实施方案中,抑制性分子例如可以降低表达CAR的细胞发动免疫效应子反应的能力。抑制性分子的例子包括PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM(例如,CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIG、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3(CD276)、B7-H4(VTCN1)、HVEM(TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I类、MHC II类、GAL9、腺苷和TGFR(例如TGFRβ)。在一个实施方案中,对抑制性分子抑制的物质例如是本文描述的分子,例如包含第一多肽(例如,抑制性分子)的物质,所述第一多肽与提供正向信号给细胞的第二多肽(例如,本文所述的胞内信号结构域)缔合。在一个实施方案中,该物质包含例如抑制性分子如PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM(例如,CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA,BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160,2B4、CD80、CD86,B7-H3(CD276)、B7-H4(VTCN1)、HVEM(TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I类,MHC II类、GAL9、腺苷和TGFR(例如TGFRβ)或这些分子中任一者的片段(例如,这些分子中任一者的胞外结构域的至少一部分)的第一多肽和作为本文所述的胞内信号结构域(例如,包含共刺激结构域(例如,如本文所述的41BB、CD27或CD28)和/或初级信号结构域(例如,本文所述的CD3ζ信号结构域)的第二多肽。在一个实施方案中,该物质包含PD1或其片段(例如,PD1的胞外结构域的至少一部分)的第一多肽和本文所述的胞内信号结构域(例如,本文所述的CD28信号结构域和/或本文所述的CD3ζ信号结构域)的第二多肽。

[0610] 在一个方面,本发明提供多种方法,所述方法包括施用与另一个物质(例如,激酶抑制剂,如本文所述的激酶抑制剂)组合的表达CAR的细胞(例如,CART细胞或表达CAR的NK

细胞)的群体,例如,表达不同CAR的细胞的混合物。在另一个方面,本发明提供了这样的方法,所述方法施用与另一个物质(例如,激酶抑制剂,如本文所述的激酶抑制剂)组合的细胞群体,其中该群体中的至少一个细胞表达具有如本文所述的抗癌相关性抗原结合结构域的CAR,和表达另一种物质(例如,增强表达CAR的细胞活性的物质)的第二细胞。

[0611] 天然杀伤细胞受体(NKR)CAR

[0612] 在一个实施方案中,本文所述的CAR分子包含天然杀伤细胞受体(NKR)的一种或多种组分,因而形成NKR-CAR。NKR组分可以是来自以下任何天然杀伤细胞受体的跨膜结构域、铰链结构域或胞质结构域:杀伤细胞免疫球蛋白样受体(KIR),例如KIR2DL1、KIR2DL2/L3、KIR2DL4、KIR2DL5A、KIR2DL5B、KIR2DS1、KIR2DS2、KIR2DS3、KIR2DS4、DIR2DS5、KIR3DL1/S1、KIR3DL2、KIR3DL3、KIR2DP1和KIR3DP1;天然细胞毒性受体(NCR),例如,NKp30、NKp44、NKp46;免疫细胞受体的信号传导淋巴细胞活化分子(SLAM)家族,例如,CD48、CD229、2B4、CD84、NTB-A、CRA、BLAME和CD2F-10;Fc受体(FcR),例如,CD16、和CD64;和Ly49受体,例如,LY49A、LY49C。本文所述的NKR-CAR分子可以与衔接子分子或胞内信号结构域(例如,DAP12)相互作用。国际公开号WO2014/145252中描述了包含NKR组分的CAR分子的示例性布局和序列,所述文献的内容因而通过引用的方式完整并入。

[0613] 分拆的CAR(split CAR)

[0614] 在一些实施方案中,表达CAR的细胞使用分拆的CAR。分拆的CAR方法在出版物WO2014/055442和WO2014/055657中更详细地描述,其通过引用并入本文。简言之,分拆的CAR系统包含表达第一CAR的细胞,所述第一CAR具有第一抗原结合结构域和共刺激结构域(例如,41BB),并且所述细胞还表达第二CAR,所述第二CAR具有第二抗原结合结构域和胞内信号结构域(例如,CD3ζ)。当细胞遇到第一抗原时,共刺激结构域被激活,并且细胞增殖。当细胞遇到第二抗原时,细胞内信号结构域被激活,细胞杀伤活性开始。因此,表达CAR的细胞仅在两种抗原的存在下完全活化。在实施方案中,第一抗原结合结构域识别CD123,例如包含本文所述的抗原结合结构域,以及第二抗原结合结构域识别在急性髓性白血病细胞例如CLL-1、CD33、CD34、FLT3或叶酸受体β上表达的抗原。在实施方案中,第一抗原结合结构域识别CD123,例如包含本文所述的抗原结合结构域,以及第二抗原结合结构域识别在B细胞上表达的抗原例如CD19、CD20、CD22或ROR1。

[0615] 调节嵌合抗原受体的策略

[0616] 存在可以调节CAR活性的许多方式。在一些实施方案中,其中CAR活性可以控制的可调节性CAR(RCAR)是优化CAR疗法的安全性和疗效需要的。例如,使用例如与二聚化结构域融合的胱天蛋白酶诱导凋亡(参见,例如,Di等人,N Engl.J.Med.2011Nov.3;365(18):1673-1683)可以用作本发明CAR治疗中的安全开关。在另一个例子中,当施用导致胱天蛋白酶-9激活和细胞凋亡的二聚化药物(例如,rimiducid(也称作AP1903(Bellicum Pharmaceuticals)或AP20187(Ariad))时,表达CAR的细胞也可以表达诱导型胱天蛋白酶-9(iCaspase-9)分子。iCaspase-9分子含有在CID存在下介导二聚化的二聚化过程化学诱导物(CID)结构域。这导致表达CAR的细胞诱导性消耗和选择性消耗。在一些情况下,iCaspase-9分子由独立于CAR编码载体的核酸分子编码。在一些情况下,iCaspase-9分子由与CAR编码载体相同的核酸分子编码。iCaspase-9可以提供安全开关以避免表达CAR的细胞的任何毒性。参见,例如,Song等人,Cancer Gene Ther.2008;15(10):667-75;临床试验识

别号NCT02107963;和Di Stasi等人,N.Engl.J.Med.2011;365:1673-83。

[0617] 调节本发明CAR疗法的备选策略包括利用小分子或抗体,所述小分子或抗体失活或关闭CAR活性,例如,通过消除表达CAR的细胞,例如,通过诱导抗体依赖的细胞介导细胞毒性(ADCC)实施。例如,本文所述的表达CAR的细胞还可以表达由能够诱导细胞死亡(例如,ADCC或补体诱导的细胞死亡)的分子识别的抗原。例如,本文所述的表达CAR的细胞还可以表达能够被抗体或抗体片段靶向的受体。这类受体的例子包括EPCAM、VEGFR、整联蛋白(例如,整联蛋白αvβ3、α4、αI3/4β3、α4β7、α5β1、αvβ3、αv)、TNF受体超家族成员(例如,TRAIL-R1、TRAIL-R2)、PDGF受体、干扰素受体、叶酸受体、GPNMB、ICAM-1、HLA-DR、CEA、CA-125、MUC1、TAG-72、IL-6受体、5T4、GD2、GD、CD2、CD3、CD4、CD5、CD11、CD11a/LFA-1、CD15、CD18/ITGB2、CD19、CD20、CD22、CD23/lgE受体、CD25、CD28、CD30、CD33、CD38、CD40、CD41、CD44、CD51、CD52、CD62L、CD74、CD80、CD125、CD147/basigin、CD152/CTLA-4、CD154/CD40L、CD195/CCR5、CD319/SLAMF7和EGFR及其截短形式(例如,保留一个或多个胞外表位但缺少胞质结构域内部一个或多个区域的形式)。

[0618] 例如,本文所述的表达CAR的细胞还可以表达截短的表皮生长因子受体(EGFR),所述截短的表皮生长因子受体缺少信号传导能力,但是保留由能够诱导ADCC的分子(例如,西妥昔单抗(**ERBITUX®**))识别的表位,从而西妥昔单抗的施用引起ADCC和表达CAR的细胞后续消耗(参见,例如,WO 2011/056894,和Jonnalagadd等人,Gene Ther.2013;20(8)853-860)。另一种策略包括在本文所述的表达CAR的细胞中表达合并来自CD32抗原和CD20抗原的靶表位的高度紧凑型标志物/自杀基因,所述的高度紧凑型标志物/自杀基因表达物结合利妥昔单抗,导致表达CAR的细胞选择性消耗,例如,通过ADCC做到(参见,例如,Philip等人,Blood.2014;124(8)1277-1287)。用于消耗本文所述的表达CAR的细胞的其他方法包括施用CAMPATH,一种选择性结合并靶向成熟淋巴细胞(例如,表达CAR的细胞)以破坏(例如,通过诱导ADCC进行破坏)的单克隆抗CD52抗体。在其他实施方案中,可以使用CAR配体(例如,抗独特型抗体)选择性地靶向表达CAR的细胞。在一些实施方案中,抗独特型抗体可以造成效应细胞活性,例如ADCC或ADC活性,因而减少表达CAR的细胞的数目。在其他实施方案中,CAR配体,例如,抗独特型抗体,可以偶联至诱导细胞杀伤的物质(例如,毒素),因而减少表达CAR的细胞的数目。备选地,CAR分子本身可以如此设置,从而可以调节活性,例如,开启和关闭,如下文描述。

[0619] 在其他实施方案中,本文所述的表达CAR的细胞还可以表达由T细胞消耗剂识别的靶蛋白。在一个实施方案中,靶蛋白是CD20,T细胞消耗剂是抗CD20抗体,例如利妥昔单抗。在这样的实施方案中,一旦需要减少或消除表达CAR的细胞,例如以减轻CAR诱导的毒性,就施用T细胞消耗剂。在其他实施方案中,T细胞消耗剂是如本文实施例中所述的抗CD52抗体,例如阿仑单抗。

[0620] 在其他实施方案中,RCAR包含一组多肽,在最简单的实施方案中一般两种多肽,其中本文所述的标准CAR的组件(例如,抗原结合结构域和胞内信号结构域)分配在分离的多肽或构件上。在一些实施方案中,该组多肽包括二聚化开关,其中存在二聚化分子时,所述二聚化开关可以使多肽彼此偶联,例如,可以使抗原结合结构域与胞内信号结构域偶联。本文中和国际公开号WO 2015/090229中提供对这类调节型CAR的额外描述和示例性布局,所述文献因而通过引用的方式完整地并入。

[0621] 在一个方面中，RCAR包含两种多肽或构件：1)包含胞内信号结构域(例如，本文所述的初级胞内信号结构域)和第一开关结构域的胞内信号传导构件；2)包含如本文所述的(例如特异性结合本文所述的肿瘤抗原的)抗原结合结构域和第二开关结构域的抗原结合构件。任选地，RCAR包含本文所述的跨膜结构域。在一个实施方案中，可以在胞内信号传导构件上、抗原结合构件上或在这两者上设置跨膜结构域。(除非另外说明，否则本文中描述RCAR的构件或元件时，该顺序可以是如所提供的那样，但是也可以包括其他顺序)。换而言之，在一个实施方案中，顺序如文本中所述那样，但是在其他实施方案中，顺序可以是不同的。例如，在跨膜区一侧上的各元件顺序可以与例子不同，例如，开关结构域相对于胞内信号结构域的安置可以是不同的，例如，是反向的。

[0622] 在一个实施方案中，第一开关结构域和第二开关结构域可以形成胞内或胞外二聚化开关。在一个实施方案中，二聚化开关可以是同型二聚化开关，例如，其中第一开关结构域和第二开关结构域是相同的，或异二聚化开关，例如，其中第一开关结构域和第二开关结构域彼此不同。

[0623] 在实施方案中，RCAR可以包含“多重开关”。多重开关可以包含异二聚化开关结构域或同型二聚化开关结构域。多重开关在第一构件(例如，抗原结合构件)和第二构件(例如，胞内信号传导构件)上独立地包含多个例如，2、3、4、5、6、7、8、9、或10个开关结构域。在一个实施方案中，第一构件可以包含多个第一开关结构域，例如，基于FKBP的开关结构域，并且第二构件可以包含多个第二开关结构域，例如，基于FRB的开关结构域。在一个实施方案中，第一构件可以包含第一开关结构域和第二开关结构域，例如，基于FKBP的开关结构域和基于FRB的开关结构域，并且第二构件可以包含第一开关结构域和第二开关结构域，例如，基于FKBP的开关结构域和基于FRB的开关结构域。

[0624] 在一个实施方案中，胞内信号传导构件包含一个或多个胞内信号结构域(例如，初级胞内信号结构域和一个或多个共刺激信号结构域)。

[0625] 在一个实施方案中，抗原结合构件可以包含一个或多个胞内信号结构域，例如，一个或多个共刺激信号结构域。在一个实施方案中，抗原结合构件包含多个，例如，2个或3个本文所述的共刺激信号结构域，例如，选自4-1BB、CD28、CD27、ICOS和OX40的共刺激信号结构域，并且在多个实施方案中，不包含初级胞内信号结构域。在一个实施方案中，抗原结合构件从胞外至胞内方向包含以下共刺激信号结构域：4-1BB-CD27；4-1BB-CD27；CD27-4-1BB；4-1BB-CD28；CD28-4-1BB；OX40-CD28；CD28-OX40；CD28-4-1BB；或4-1BB-CD28。在这类实施方案中，胞内结合构件包含CD3ζ结构域。在这样一个实施方案中，RCAR包含(1)抗原结合构件，所述抗原结合构件包含抗原结合结构域、跨膜结构域和两个共刺激结构域和第一开关结构域；和(2)胞内信号结构域，所述胞内信号结构域包含跨膜结构域或膜束缚结构域和至少一个初级胞内信号结构域和第二开关结构域。

[0626] 一个实施方案提供了其中抗原结合构件未束缚于CAR细胞表面的RCAR。这允许具有胞内信号传导构件的细胞在不用编码抗原结合构件的序列转化细胞的情况下便利地与一个或多个抗原结合结构域配对。在这类实施方案中，RCAR包含：1)胞内信号传导构件，所述胞内信号传导构件包含：第一开关结构域、跨膜结构域、胞内信号结构域(例如，初级胞内信号结构域)和第一开关结构域；和2)抗原结合构件，所述抗原结合构件包含：抗原结合结构域和第二开关结构域，其中抗原结合构件不包含跨膜结构域或膜束缚结构域并且任选地

不包含胞内信号结构域。在一些实施方案中,RCAR还可以包含3)第二抗原结合构件,所述第二抗原结合构件包含第二抗原结合结构域,例如,结合被抗原结合结构域结合的不同抗原的第二抗原结合结构域;和第二开关结构域。

[0627] 本文中还提供其中抗原结合构件包含双特异性激活和靶向能力的RCAR。在这个实施方案中,抗原结合构件可以包含多个,例如,2、3、4、或5个抗原结合结构域,例如,scFv,其中每种抗原结合结构域结合至靶抗原,例如不同的抗原或相同的抗原,例如,相同抗原上的相同或不同表位。在一个实施方案中,多个抗原结合结构域串联,并且任选地,接头或铰链区布置在每个抗原结合结构域之间。本文中描述了合适的接头和铰链区。

[0628] 一个实施方案提供了具有允许增殖变换的布局的RCAR。在这个实施方案中,该RCAR包含:1)胞内信号传导构件,所述胞内信号传导构件包含:任选地,跨膜结构域或膜束缚结构域;一种或多种(例如,选自4-1BB、CD28、CD27、ICOS和OX40的)共刺激信号结构域,以及开关结构域;和2)抗原结合构件,所述抗原结合构件包含:抗原结合结构域、跨膜结构域和初级胞内信号结构域(例如,CD3ζ结构域),其中抗原结合构件不包含开关结构域或不包含与胞内信号传导构件上开关结构域二聚化的开关结构域。在一个实施方案中,抗原结合构件不包含共刺激信号结构域。在一个实施方案中,胞内信号传导构件包含来自同型二聚化开关的开关结构域。在一个实施方案中,胞内信号传导构件包含异二聚化开关的第一开关结构域,并且RCAR包含第二胞内信号传导构件,所述第二胞内信号传导构件包含异二聚化开关的第二开关结构域。在这类实施方案中,第二胞内信号传导构件包含与胞内信号传导构件相同的胞内信号结构域。在一个实施方案中,二聚化开关是胞内的。在一个实施方案中,二聚化开关是胞外的。

[0629] 在本文描述的任何RCAR布局中,第一开关结构域和第二开关结构域包含如本文所述的基于FKBP-FRB的开关。

[0630] 本文中还提供包含本文所述的RCAR的细胞。经工程化以表达RCAR的任何细胞可以用作RCARX细胞。在一个实施方案中,RCARX细胞是T细胞并且称作RCART细胞。在一个实施方案中,RCARX细胞是NK细胞并且称作RCARN细胞。

[0631] 本文中还提供包含编码RCAR的序列的核酸和载体。编码RCAR的多种元件的序列可以设置在相同的核酸分子上,例如,相同的质粒或载体,例如,病毒载体,例如,慢病毒载体。在一个实施方案中,(i)编码抗原结合构件的序列和(ii)编码胞内信号传导构件的序列可以存在于相同的核酸(例如,载体)上。可以例如通过使用独立的启动子,或通过使用双顺反子转录产物(通过切割单一翻译产物或通过翻译两种独立的蛋白质产物,所述双顺反子转录产物可以导致产生两种蛋白质)实现相应蛋白质的产生。在一个实施方案中,编码可切割肽的序列(例如,P2A或F2A序列)布置在(i)和(ii)之间。在一个实施方案中,编码IRES(例如,EMCV或EV71 IRES)的序列布置在(i)和(ii)之间。在这些实施方案中,(i)和(ii)转录为单个RNA。在一个实施方案中,第一启动子与(i)有效连接并且第二启动子与(ii)有效连接,从而(i)和(ii)转录为独立的mRNA。

[0632] 备选地,编码RCAR的多种元件的序列可以设置在不同的核酸分子上,例如,不同的质粒或载体,例如,病毒载体,例如,慢病毒载体。例如,(i)编码抗原结合构件的序列可以存在于第一核酸(例如,第一载体)上,并且(ii)编码胞内信号传导构件的序列可以存在于第二核酸(例如,第二载体)上。

[0633] 二聚化开关

[0634] 二聚化开关可以是非共价或共价的。在非共价二聚化开关中，二聚化分子促进各开关结构域之间的非共价相互作用。在共价二聚化开关中，二聚化分子促进各开关结构域之间的共价相互作用。

[0635] 在一个实施方案中，RCAR包含基于FKBP/FRAP或基于FKBP/FRB的二聚化开关。FKBP12(FKBP、或FK506结合蛋白)是充当天然产物免疫抑制药物雷帕霉素的初始胞内靶的丰富胞质蛋白。雷帕霉素与FKBP结合并且与大PI3K同源物FRAP(RAFT、mTOR)结合。FRB是FRAP的93氨基酸部分，所述部分足以结合FKBP-雷帕霉素复合物(Chen,J.,Zheng,X.F.,Brown,E.J.和Schreiber,S.L.(1995)Identification of an 11-kDa FKBP12-rapamycin-binding domain within the 289-kDa FKBP12-rapamycin-associated protein and characterization of a critical serine residue.Proc Natl Acad Sci U S A 92:4947-51)。

[0636] 在实施方案中，基于FKBP/FRAP(例如，基于FKBP/FRB)的开关可以使用二聚化分子，例如，雷帕霉素或雷帕霉素类似物。

[0637] FKBP的氨基酸序列如下：

[0638] DVPDYASLGGPSSPKKKRKVSRGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFKFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLETSY(SEQ ID NO:588)。

[0639] 在实施方案中，FKBP开关结构域可以包含具有在雷帕霉素或雷帕霉素类似物存在下与FRB或其片段或类似物结合的能力的FKBP片段，例如，SEQ ID NO:588中的下列部分，其是：

[0640] VQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFKFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLETS(SEQ ID NO:589)。

[0641] FRB的氨基酸序列如下：

[0642] ILWHEMWHEG LEEASRLYFG ERNVKGMFEV LEPLHAMMER GPQTLKETSF NQAYGRDLME AQEWCRKYMK SGNVKDLTQA WDLYYHVFRR ISK(SEQ ID NO:590)

[0643] 如该术语在本文中所用那样，“基于FKBP/FRAP(例如，基于FKBP/FRB)的开关”指包含第一开关结构域和第二开关结构域的二聚化开关，所述第一开关结构域包含了具有在雷帕霉素或雷帕霉素类似物(例如，RAD001)存在下与FRB或其片段或类似物结合的能力的FKBP片段或其类似物并且与SEQ ID NO:54或55的FKBP序列具有至少70％、75％、80％、85％、90％、95％、96％、97％、98％或99％同一性或差异不多于30、25、20、15、10、5、4、3、2或1个氨基酸残基；所述第二开关结构域包含了具有在雷帕霉素或雷帕霉素类似物存在下与FRB或片段或其类似物结合的能力的FRB片段或其类似物并且与SEQ ID NO:56的FRB序列具有至少70％、75％、80％、85％、90％、95％、96％、97％、98％或99％同一性或差异不多于30、25、20、15、10、5、4、3、2或1个氨基酸残基。在一个实施方案中，本文所述的RCAR包含含有在SEQ ID NO:588(或SEQ ID NO:589)中公开的氨基酸残基的一个开关结构域和含有在SEQ ID NO:590中公开的氨基酸残基的一个开关结构域。

[0644] 在实施方案中，FKBP/FRB二聚化开关包含修饰的FRB开关结构域，所述修饰的FRB开关结构域显示出改变(例如，增强)基于FRB的开关结构域(例如，修饰的FRB开关结构域、

基于FKBP的开关结构域)和二聚化分子(例如,雷帕霉素或雷帕霉素类似物,例如,RAD001)之间的复合物形成。在一个实施方案中,修饰的FRB开关结构域包含一个或多个突变,例如,2、3、4、5、6、7、8、9、10个或更多个选自氨基酸位置L2031、E2032、S2035、R2036、F2039、G2040、T2098、W2101、D2102、Y2105和F2108处的突变,其中野生型氨基酸突变成任何其他天然存在的氨基酸。在一个实施方案中,突变FRB包含在E2032处的突变,其中E2032突变成苯丙氨酸(E2032F)、甲硫氨酸(E2032M)、精氨酸(E2032R)、缬氨酸(E2032V)、酪氨酸(E2032Y)、异亮氨酸(E2032I)(例如,SEQ ID NO:591)或亮氨酸(E2032L)(例如,SEQ ID NO:592)。在一个实施方案中,突变FRB包含在T2098处的突变,其中T2098突变成苯丙氨酸(T2098F)或亮氨酸(T2098L),例如,SEQ ID NO:593。在一个实施方案中,突变FRB包含在E2032处和T2098处的突变,其中E2032突变成任何氨基酸并且其中T2098突变成任何氨基酸,例如,SEQ ID NO:594。在一个实施方案中,突变FRB包含E2032I和T2098L突变,例如,SEQ ID NO:595。在一个实施方案中,突变FRB包含E2032L和T2098L突变,例如,SEQ ID NO:596。

[0645] 表14.具有增加的二聚化分子亲和力的示例性突变FRB。

[0646]

FRB 突变体	氨基酸序列	SEQ ID NO:
E2032I 突变体	ILWHEMWHEGLIEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAY GRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYYHVFRRISKTS	591
E2032L 突变体	ILWHEMWHEGLLEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAY GRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYYHVFRRISKTS	592
T2098L 突变体	ILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAY GRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISKTS	593
E2032, T2098 突变体	ILWHEMWHEGL**X**EASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAY GRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDL**X**QAWDLYYHVFRRISKTS	594
E2032I, T2098L 突变体	ILWHEMWHEGLIEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAY GRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISKTS	595
E2032L, T2098L 突变体	ILWHEMWHEGLLEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAY GRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISKTS	596

[0647] 其他合适的二聚化开关包括基于GyrB-GyrB的二聚化开关、基于赤霉素的二聚化开关、标签/结合物二聚化开关和halo-标签/snap-标签二聚化开关。按照本文提供的指南,这类开关和有关的二聚化分子将是普通技术人员显而易见的。

[0648] 二聚化分子

[0649] 开关结构域之间的缔合由二聚化分子引发。在二聚化分子存在下,开关结构域之间的相互作用或缔合允许与第一开关结构域缔合(例如,融合)的多肽和与第二开关结构域缔合(例如,融合)的多肽之间的信号转导。在非限制水平的二聚化分子存在下,信号转导增加了1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、5、10、50、100倍,例如,如本文所述的系统中测量。

[0650] 雷帕霉素和雷帕霉素类似物(有时称作雷帕类似物),例如RAD001,可以用作本文所述的基于FKBP/FRB的二聚化开关中的二聚化分子。在一个实施方案中二聚化分子可以选自雷帕霉素(西罗莫司(sirolimus))、RAD001(依维莫司)、佐他莫司(zotarolimus)、坦罗莫司、AP-23573(地磷莫司)、百奥莫司(biolimus)和AP21967。适合随基于FKBP/FRB的二聚化开关使用的额外雷帕霉素类似物进一步在名为“联合疗法”的部分中或在名为“与低剂量的mTOR抑制剂联用”的子部分中描述。

[0651] CAR与趋化因子受体的共表达

[0652] 在实施方案中，本文所述的表达CAR的细胞进一步包含趋化因子受体分子。趋化因子受体CCR2b或CXCR2在T细胞中的转基因表达增强向CCL2-或CXCL1分泌性实体瘤(包括黑素瘤和成神经细胞瘤)的运输(Craddock等人，J Immunother.20100ct;33(8):780-8and Kershaw等人，Hum Gene Ther.2002Nov 1;13(16):1971-80)。因此，不希望受理论束缚，据信在表达CAR的细胞中表达的识别由肿瘤(例如实体瘤)分泌的趋化因子的趋化因子受体，可以改善表达CAR的细胞归巢到肿瘤，促进表达CAR的细胞对肿瘤的浸润，并增强表达CAR的细胞的抗肿瘤功效。趋化因子受体分子可以包含天然存在的或重组的趋化因子受体或其趋化因子结合片段。适于在本文所述的表达CAR的细胞中表达的趋化因子受体分子包括CXC趋化因子受体(例如CXCR1、CXCR2、CXCR3、CXCR4、CXCR5、CXCR6或CXCR7)、CC趋化因子受体(例如CCR1、CCR2、CCR3、CCR4、CCR5、CCR6、CCR7、CCR8、CCR9、CCR10或CCR11)、CX3C趋化因子受体(例如CX3CR1)、XC趋化因子受体(例如XCR1)或其趋化因子结合片段。在一个实施方案中，用本文所述的CAR待表达的趋化因子受体分子基于肿瘤分泌的趋化因子来选择。在一个实施方案中，本文所述的表达CAR的细胞进一步包含，例如，表达CCR2b受体或CXCR2受体。在一个实施方案中，本文所述的CAR和趋化因子受体分子在相同的载体上或在两种不同的载体上。在本文所述的CAR和趋化因子受体分子在相同载体上的实施方案中，CAR和趋化因子受体分子各自在两种不同启动子的控制下或在相同启动子的控制下。

[0653] RNA转染

[0654] 本文公开了用于产生体外转录的RNA CAR的方法。本发明还包括可以直接转染至细胞中的编码CAR的RNA构建体。一种产生用于转染的mRNA的方法可以涉及用专门设计的引物体外转录(IVT)模板，随后添加聚腺苷酸，以产生含有3’和5’非翻译序列(“UTR”)、5’帽和/或内部核糖体进入位点(IRES)、待表达核酸和聚腺苷酸化尾的构建体，长度一般为50-2000个碱基(SEQ ID NO:35)。如此产生的RNA可以高效地转染不同种类的细胞。在一个方面，模板包括用于CAR的序列。

[0655] 在一个方面，CD123 CAR由信使RNA(mRNA)编码。在一个方面，将编码CD123 CAR的mRNA引入T细胞，以产生CAR T细胞。

[0656] 在一个实施方案中，可以将体外转录的RNA CAR作为瞬时转染的形式引入细胞。使用聚合酶链反应(PCR)生成的模板，通过体外转录产生RNA。来自任何来源的目的DNA可以直接通过PCR转化成模板，以使用适宜引物和RNA聚合酶，体外合成mRNA。DNA的来源可以例如是基因组DNA、质粒DNA、噬菌体DNA、cDNA、合成的DNA序列或任何其他适宜的DNA来源。用于体外转录的目的模板是本发明的CAR。例如，用于RNA CAR的模板包含胞外区，所述胞外区包含抗肿瘤抗体的单链可变结构域；铰链区、跨膜结构域(例如，CD8a的跨膜结构域)；和包含胞内信号结构域(例如，包含CD3-ζ的信号结构域和4-1BB的信号结构域)的胞质区。

[0657] 在一个实施方案中，待用于PCR的DNA含有可读框。DNA可以来自源于生物基因组的天然存在的DNA序列。在一个实施方案中，核酸可以包括5’非翻译区和/或3’非翻译区(UTR)的一些或全部。核酸可以包括外显子和内含子。在一个实施方案中，待用于PCR的DNA是人类核酸序列。在另一个实施方案中，待用于PCR的DNA是人类核酸序列，包括5’UTR和3’UTR。DNA可以备选地是正常情况下在天然存在的生物中不表达的人工DNA序列。示例性人工DNA序列是含有各基因部分的人工DNA序列，其中所述的各基因部分连接在一起以形成编码融合蛋白的可读框。连接在一起的各DNA部分可以来自单种生物或来自多于一种生物。

[0658] PCR用来产生模板以便体外转录用于转染的mRNA。用于开展PCR的方法是本领域熟知的。用于PCR中的引物设计成具有与待用作PCR模板的DNA的区域基本上互补的区域。如本文所用，“基本上互补”，指其中引物序列中的大部分或全部碱基互补或一个或多个碱基是非互补或错配的核苷酸序列。基本上互补的序列能够在用于PCR的复性条件下与预期的DNA靶复性或杂交。引物可以设计成与DNA模板的任何部分基本上互补。例如，引物可以设计成扩增正常情况下在细胞中转录的核酸部分(可读框)，包括5’和3’UTR。引物也可以设计成扩增编码特定目的结构域的核酸部分。在一个实施方案中，引物是设计成扩增人cDNA的编码区，包括全部或部分的5’和3’UTR。用于PCR的引物可以通过本领域熟知的合成方法产生。“正向引物”是这样的引物，其含有与DNA模板上待扩增的DNA序列上游的核苷酸基本上互补的核苷酸区域。“上游”在本文中用来指相对于编码链的对待扩增的DNA序列而言5’的位置。“反向引物”是这样的引物，其含有与DNA模板上待扩增的DNA序列下游的双链DNA模板基本上互补的核苷酸区域。“下游”在本文中用来指相对于编码链的对待扩增的DNA序列而言3’的位置。

[0659] 用于PCR的任何DNA聚合酶可以用在本文中公开的方法中。从众多来源可商业获得试剂和聚合酶。

[0660] 也可以使用具有促进稳定性和/或翻译效率的能力的化学结构物。RNA优选地具有5’UTR和3’UTR。在一个实施方案中，5’UTR长度在1个和3000个核苷酸之间。待添加至编码区的5’UTR和3’UTR序列的长度可以通过不同方法改变，所述方法包括但不限于设计与UTR的不同区域复性的PCR用引物。使用这种方法，本领域普通技术人员可以调节为转染转录的RNA后实现最佳翻译效率所需要的5’UTR和3’UTR长度。

[0661] 5’UTR和3’UTR可以是目的核酸的天然存在的、内源5’UTR和3’UTR。备选地，相对于目的核酸并非内源的UTR序列可以通过将该UTR序列并入正向引物和反向引物中或通过对模板的任何其他修饰进行添加。使用相对于目的核酸并非内源的UTR序列可以用于调节RNA的稳定性和/或翻译效率。例如，已知3’UTR序列中的AU丰富元件可以降低mRNA的稳定性。因此，基于本领域熟知的UTR特性，可以选择或设计3’UTR以增加转录的RNA的稳定性。

[0662] 在一个实施方案中，5’UTR可以含有内源核酸的Kozak序列。备选地，当通过如上文所述的PCR添加相对于目的核酸并非内源的5’UTR时，可以通过添加5’UTR序列再设计共有Kozak序列。Kozak序列可以增加某些RNA转录物的翻译效率、但似乎不是令全部RNA有效翻译需要的。本领域已知许多mRNA需要Kozak序列。在其他实施方案中，5’UTR可以是其RNA基因组在细胞中稳定的RNA病毒的5’ UTR。在其他实施方案中，多种核苷酸类似物可以用于3’或5’UTR中，以阻碍核酸外切酶降解mRNA。

[0663] 为了能够在不需要基因克隆的情况下从DNA模板合成RNA，转录启动子应当在待转录序列上游与DNA模板连接。当作为RNA聚合酶启动子发挥作用的序列添加至正向引物的5’末端时，RNA聚合酶启动子并入待转录的可读框上游的PCR产物中。在一个优选的实施方案中，启动子是T7聚合酶启动子，如本文他处描述。其他有用的启动子包括但不限于T3 RNA聚合酶启动子和SP6 RNA聚合酶启动子。T7、T3和SP6启动子的共有核苷酸序列是本领域已知的。

[0664] 在一个优选实施方案中，mRNA在5’末端和3’聚腺苷酸尾均具有决定在细胞中核糖体结合、翻译起始和mRNA稳定性的帽。在环状DNA模板，例如，质粒DNA上，RNA聚合酶产生不

适于真核细胞中表达的长连环体产物。在3'UTR末端线性化的质粒DNA的转录产生在真核转染中并非有效的大小正常的mRNA,即便转录后它发生聚腺苷酸化。

[0665] 在线性DNA模板上,噬菌体T7 RNA聚合酶可以越过模板的最后碱基延伸转录物的3'末端(Schenborn和Mierendorf,Nuc Acids Res.,13:6223-36(1985);Nacheva和Berzal-Herranz,Eur.J.Biochem.,270:1485-65(2003)。

[0666] 整合polyA/T片段至DNA模板中的常规方法是分子克隆。但是,整合入质粒DNA的polyA/T序列可能造成质粒不稳定性,这是为何从细菌细胞获得的质粒DNA模板经常遭受缺失和其他畸变的高度污染的原因。这使得克隆方法不仅繁琐和费时,而且经常不可靠。这是为何迫切需要以下方法的原因:允许在不进行高度希望的克隆情况下构建带polyA/T 3'片段的DNA模板。

[0667] 通过使用含有聚胸苷酸尾(如100T尾(SEQ ID NO:31)(大小可以是50-5000T(SEQ ID NO:32))的反向引物或在PCR后通过任何其他方法(包括但不限于DNA连接或体外重组),可以在PCR期间产生转录用DNA模板的polyA/T区段。聚腺苷酸尾还向RNA提供稳定性并减少它们的降解。通常,聚腺苷酸尾的长度与转录的RNA的稳定性正相关。在一个实施方案中,聚腺苷酸尾在100个和5000个腺苷之间(SEQ ID NO:33)。

[0668] RNA的聚腺苷酸尾可以在体外转录后利用聚腺苷酸聚合酶(如大肠杆菌聚腺苷酸聚合酶(E-PAP))进一步延长。在一个实施方案中,聚腺苷酸尾的长度从100个核苷酸增加至300个和400个核苷酸之间(SEQ ID NO:34)导致RNA的翻译效率增加约两倍。另外,接合不同化学基团至3'末端可以增加mRNA稳定性。这种接合可以含有修饰/人工的核苷酸、适配体和其他化合物。例如,ATP类似物可以使用聚腺苷酸聚合酶并入聚腺苷酸尾中。ATP类似物还可以增加RNA的稳定性。

[0669] 5'帽也向RNA分子提供稳定性。在一个优选实施方案中,通过本文所公开的方法产生的RNA包含5'帽。使用本领域已知和本文所述的技术提供5'帽(Cougot等人,Trends in Biochem.Sci.,29:436-444(2001);Stepinski等人,RNA,7:1468-95(2001);Elango等人,Biochim.Biophys.Res.Commun.,330:958-966(2005))。

[0670] 通过本文所公开的方法产生的RNA还可以含有内部核糖体进入位点(IRES)序列。IRES序列可以是任何病毒序列、染色体序列或人工设计的序列,所述序列启动帽非依赖性核糖体结合至mRNA并促进翻译的起始。可以包含适于细胞电穿孔的任何溶质,所述溶质可以含有促进细胞通透性和生存力的因子,如糖、肽、脂质、蛋白质、抗氧化剂和表面活性剂。

[0671] 可以使用众多不同方法的任一方法,将RNA引入靶细胞中,例如包括但不限于以下的市售方法:电穿孔法(Amaxa Nucleofector-II(Amaxa Biosystems,Cologne,德国))、(ECM 830(BTX)(Harvard Instruments,Boston,Mass.)或Gene Pulser II(BioRad,Denver,Colo.)、Multiporator(Eppendort,Hamburg德国)、使用脂转染的阳离子脂质体介导转染法、聚合物包囊化法、肽介导的转染法或生物射弹粒子递送系统如"基因枪"(参见,例如,Nishikawa等人,Hum Gene Ther.,12(8):861-70(2001)。

[0672] 非病毒递送方法

[0673] 在一些方面,可以用非病毒方法来递送编码本文所述的CAR的核酸至细胞或组织或受试者中。

[0674] 在一些实施方案中,非病毒方法包括利用转座子(也称作转座元件)。在一些实施

方案中,转座子是可以将本身插入基因组中的某位置处的一段DNA,例如,能够自我复制并将其拷贝插入基因组中的一段DNA或可以是从较长核酸剪切出来并插入基因组中的另一个位置的一段DNA。例如,转座子包含由反向重复序列组成的DNA序列,所述反向重复序列在用于换位的基因旁侧分布。

[0675] 使用转座子递送核酸的示例性方法包括睡美人转座子系统(SBTS)和piggyBac(PB)转座子系统。参见,例如,Aronovich等人,Hum.Mol.Genet.20.R1(2011):R14-20;Singh等人,Cancer Res.15(2008):2961-2971;Huang等人,Mol.Ther.16(2008):580-589;Grabundzija等人,Mol.Ther.18(2010):1200-1209;Kebriaei等人,Blood.122.21(2013):166;Williams.Molecular Therapy 16.9(2008):1515-16;Bell等人,Nat.Protoc.2.12(2007):3153-65;和Ding等人,Cell.122.3(2005):473-83,所述文献均通过引用的方式并入本文。

[0676] SBTS包括两个组分:1)含有转基因的转座子和2)转座酶来源。转座酶可以令转座子从载体质粒(或其他供体DNA)转置到靶DNA,如宿主细胞染色体/基因组。例如,转座酶与载体质粒/供体DNA结合,从质粒切下转座子(包含转基因))并将它插入宿主细胞的基因组中。参见,例如,Aronovich等人,上文。

[0677] 示例性转座子包括基于pT2的转座子。参见,例如,Grabundzija等人,Nucleic Acids Res.41.3(2013):1829-47;和Singh等人,Cancer Res.68.8(2008):2961-2971,所述文献均通过引用的方式并入本文。示例性转座酶包括Tc1/水手型转座酶,例如,SB10转座酶或SB11转座酶(可以例如从巨细胞病毒启动子表达的过度活跃性转座酶)。参见,例如,Aronovich等人;Kebriaei等人;和Grabundzija等人,所述文献均通过引用的方式并入本文。

[0678] SBTS的使用允许高效整合和表达转基因,例如,编码本文所述CAR的核酸。本文中提供例如使用转座子系统如SBTS,产生稳定表达本文所述CAR的细胞(例如,T细胞或NK细胞)的方法。

[0679] 根据本文所述的方法,在一些实施方案中,将一种或多种含有SBTS组分的核酸(例如,质粒)递送至细胞(例如,T细胞或NK细胞)。例如,通过标准核酸(例如,质粒DNA)递送方法(例如,本文所述的方法,例如,电穿孔法、转染法或脂转染法)递送核酸。在一些实施方案中,核酸含有包含转基因(例如,编码本文所述CAR的核酸)的转座子。在一些实施方案中,核酸含有包含转基因(例如,编码本文所述CAR的核酸)的转座子以及编码转座酶的核酸序列。在其他实施方案中,向系统(例如,双质粒系统)提供两种核酸,例如,其中第一质粒含有包含转基因的转座子和第二质粒含有编码转座酶的核酸序列。例如,将第一核酸和第二核酸共递送入宿主细胞中。

[0680] 在一些实施方案中,通过使用采取SBTS的基因插入法和采取核酸酶(例如,锌指核酸酶(ZFN)、转录激活物样效应核酸酶(TALEN)、CRISPR/Cas系统或工程化大范围核酸酶(meganucleases)再工程化的归巢核酸内切酶)的遗传编辑法的组合,生成表达本文所述CAR的细胞(例如,T细胞或NK细胞)。

[0681] 在一些实施方案中,非病毒递送方法的使用允许再编程细胞(例如,T细胞或NK细胞)和直接输注细胞至受试者中。非病毒载体的优点包括但不限于便利和成本相对低地产生满足患者群体、储存期间稳定性和缺少免疫原性所要求的足够量。

[0682] 编码CAR的核酸构建体

[0683] 本发明还提供编码一种或多种本文所述的CAR构建体的核酸分子。在一个方面，核酸分子作为信使RNA转录物提供。在一个方面，核酸分子作为DNA构建体提供。

[0684] 因此，在一个方面，本发明涉及编码嵌合抗原受体(CAR)的分离的核酸分子，其中CAR包含CD123结合结构域(例如，人源化或人CD123结合结构域)、跨膜结构域和胞内信号结构域，所述胞内信号结构域包含刺激结构域(例如，共刺激信号结构域)和/或初级信号结构域(例如，ζ链)。在一个实施方案中，CD123结合结构域是本文所述的CD123结合结构域，例如，包含选自SEQ ID NO:157-160、184-215、478、480、483、485和556-587的序列或与其具有95-99％同一性的序列的CD123结合结构域。在一个实施方案中，CD123结合结构域包含人CD123结合结构域，所述人CD123结合结构域包含选自SEQ ID NO:157-160、478、480、483和485的序列。在一个实施方案中，CD123结合结构域包含人源化CD123结合结构域，所述人源化CD123结合结构域包含选自SEQ ID NO:184-215和556-587的序列。在一个实施方案中，跨膜结构域是蛋白质的跨膜结构域，所述蛋白质例如在本文描述，例如，选自T细胞受体的α、β或ζ链、CD28、CD3ε、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137和CD154。在一个实施方案中，跨膜结构域包含SEQ ID NO:6的序列或与其具有95-99％同一性的序列。在一个实施方案中，CD123结合结构域通过铰链区(例如，本文所述的铰链区)与跨膜结构域连接。在一个实施方案中，铰链区包含SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3或SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5或与其具有95-99％同一性的序列。在一个实施方案中，分离的核酸分子还包含编码共刺激结构域的序列。在一个实施方案中，共刺激结构域是蛋白质的功能性信号结构域，所述蛋白质例如在本文描述，例如，选自：MHC I类分子、TNF受体蛋白、免疫球蛋白样蛋白质、细胞因子受体、整联蛋白、淋巴细胞活化信号分子(SLAM蛋白)、活化NK细胞受体、BTLA、Toll配体受体、OX40、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CDS、ICAM-1、LFA-1(CD11a/CD18)、4-1BB(CD137)、B7-H3、CDS、ICAM-1、ICOS(CD278)、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM(LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、CD69、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a和与CD83特异性结合的配体。

[0685] 在一个实施方案中，共刺激结构域包含SEQ ID NO:7的序列或与其具有95-99％同一性的序列。在一个实施方案中，胞内信号结构域包含4-1BB的功能性信号结构域和CD3ζ的功能性信号结构域。在一个实施方案中，胞内信号结构域包含SEQ ID NO:7或SEQ ID NO:8的序列或与其具有95-99％同一性的序列和SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的序列或与其具有95-99％同一性的序列，其中包含胞内信号结构域的序列在相同读框中并作为单条多肽链表达。

[0686] 在另一个方面，本发明涉及编码CAR构建体的分离的核酸分子，所述CAR构建体包含SEQ ID NO:1的前导序列、具有选自SEQ ID NO:157-160、184-215、478、480、483、485和556-587的序列(或与其具有95-99％同一性的序列)的scFv结构域、具有SEQ ID NO:2或SEQ

ID NO:3或SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的序列(或与其具有95-99%同一性的序列)的铰链区、具有SEQ ID NO:6的序列(或与其具有95-99%同一性的序列)的跨膜结构域、具有SEQ ID NO:7的序列的4-1BB共刺激结构域或具有SEQ ID NO:8的序列(或与其具有95-99%同一性的序列)的CD27共刺激结构域或具有SEQ ID NO:43的序列(或与其具有95-99%同一性的序列)的CD28共刺激结构域或具有SEQ ID NO:45的序列(或与其具有95-99%同一性的序列)的ICOS共刺激结构域,和具有SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的序列(或与其具有95-99%同一性的序列)的CD3ζ刺激结构域。

[0687] 在另一个方面,本发明涉及由该核酸分子编码的分离的多肽分子。在一个实施方案中,分离的多肽分子包含选自SEQ ID NO:98-101和125-156的序列或与其具有95-99%同一性的序列。

[0688] 在另一个方面,本发明涉及编码嵌合抗原受体(CAR)分子的核酸分子,所述嵌合抗原受体分子包含CD123结合结构域、跨膜结构域和包含刺激结构域的胞内信号结构域,并且其中所述CD123结合结构域包含选自SEQ ID NO:157-160、184-215、478、480、483、485和556-587的序列或与其具有95-99%同一性的序列。在一个实施方案中,CD123结合结构域包含人CD123结合结构域,所述人CD123结合结构域包含选自SEQ ID NO:157-160、478、480、483和485的序列或与其具有95-99%同一性的序列。在一个实施方案中,CD123结合结构域包含人源化CD123结合结构域,所述人源化CD123结合结构域包含选自SEQ ID NO:184-215和556-587的序列或与其具有95-99%同一性的序列。

[0689] 在一个实施方案中,编码的CAR分子还包含编码共刺激结构域的序列。在一个实施方案中,共刺激结构域是蛋白质的功能性信号结构域,所述蛋白质选自:MHC I类分子、TNF受体蛋白、免疫球蛋白样蛋白质、细胞因子受体、整联蛋白、淋巴细胞活化信号分子(SLAM蛋白)、活化NK细胞受体、BTLA、Toll配体受体、OX40、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CDS、ICAM-1、LFA-1(CD11a/CD18)、4-1BB(CD137)、B7-H3、CDS、ICAM-1、ICOS(CD278)、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM(LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、CD69、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a和与CD83特异性结合的配体。在一个实施方案中,共刺激结构域包含SEQ ID NO:7的序列。

[0690] 在一个实施方案中,跨膜结构域是蛋白质的跨膜结构域、所述蛋白质选自T细胞受体的α、β或ζ链、CD28、CD3ε、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154、MHC I类分子、TNF受体蛋白、免疫球蛋白样蛋白、细胞因子受体、整联蛋白、信号传导淋巴细胞活化分子(SLAM蛋白)、活化NK细胞受体、BTLA、Toll配体受体、OX40、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CDS、ICAM-1、LFA-1(CD11a/CD18)、4-1BB(CD137)、B7-H3、CDS、ICAM-1、ICOS(CD278)、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM(LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、

CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、CD69、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a、和特异性结合CD83的配体。

[0691] 在一个实施方案中,跨膜结构域包含SEQ ID NO:6的序列。在一个实施方案中,胞内信号结构域包含4-1BB的功能性信号结构域和ζ的功能性信号结构域。在一个实施方案中,胞内信号结构域包含SEQ ID NO:7的序列和SEQ ID NO:9的序列,其中包含胞内信号结构域的序列在相同读框中并作为单条多肽链表达。在一个实施方案中,CD123结合结构域通过铰链区与跨膜结构域连接。在一个实施方案中,铰链区包含SEQ ID NO:2。在一个实施方案中,铰链区包含SEQ ID NO:3或SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5。

[0692] 在另一个方面,本发明涉及编码的CAR分子,所述CAR分子包含SEQ ID NO:1的前导序列、具有选自SEQ ID NO:157-160、184-215、478、480、483、485、556-587的序列或与其具有95-99%同一性的序列的scFv结构域、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3或SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的铰链区、具有SEQ ID NO:6的序列的跨膜结构域、具有SEQ ID NO:7的序列的4-1BB共刺激结构域或具有SEQ ID NO:8的序列的CD27共刺激结构域、或具有SEQ ID NO:43的序列的CD28共刺激结构域、或具有SEQ ID NO:45的序列的ICOS共刺激结构域,和具有SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:10的序列的CD3ζ刺激结构域。在一个实施方案中,编码的CAR分子包含选自SEQ ID NO:98-101和125-156的序列或与其具有95-99%同一性的序列。

[0693] 可以使用本领域已知的重组方法获得编码所需分子的核酸序列,如,例如通过从表达该基因的细胞筛选文库、通过从已知包括该基因的载体衍生该基因、或通过使用标准技术从含有该基因的细胞和组织直接分离。备选地,可以合成地产生目的基因,而非克隆地产生。

[0694] 本发明还提供插入了本发明DNA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,因为它们允许转基因的长期、稳定整合和其在子代细胞中增殖。慢病毒载体具有胜过衍生自癌-逆转录病毒(如鼠白血病病毒)的载体的附加优点,因为它们可以转导非增殖性细胞,如肝细胞。它们还具有附加的低免疫原性优点。逆转录病毒载体也可以例如是γ逆转录病毒载体。γ逆转录病毒载体可以例如包含启动子、包装信号(ψ)、引物结合位点(PBS)、一个或多个(例如,两个)长末端重复序列(LTR)和目的转基因,例如,编码CAR的基因。γ逆转录病毒载体可以缺少病毒结构性基因如gag、pol和env。示例性γ逆转录病毒载体包括鼠白血病病毒(MLV)、脾病灶形成病毒(SFFV)和骨髓增生性肉瘤病毒(MPSV)和从它们衍生的载体。其他γ逆转录病毒载体例如在Tobias Maetzig等人,“Gammaretroviral Vectors:Biology,Technology and Application”Viruses.2011Jun;3(6):677-713中描述。

[0695] 在另一个实施方案中,包含编码本发明所需的CAR的核酸的载体是腺病毒载体(A5/35)。在另一个实施方案中,可以使用转座子如睡美人、crisper、CAS9和锌指核酸酶完成编码CAR的核酸的表达。参见下文June等人,2009 Nature Reviews Immunology 9.10:704-716,所述文献通过引用的方式并入本文。

[0696] 简言之,一般通过将编码CAR多肽或其部分的核酸有效连接至启动子并将构建体

并入表达载体中，实现编码CAR的天然或合成的核酸的表达。载体可以适合在真核生物中复制和整合。常见的克隆载体含有用于调节所需核酸序列的表达的转录和翻译终止子、起始序列和启动子。

[0697] 使用标准基因递送方案，本发明的表达构建体也可以用于核酸免疫和基因治疗。用于基因递送的方法是本领域已知的。参见，例如，美国专利号5,399,346、5,580,859、5,589,466，所述文献通过引用的方式完整并入本文。在另一个实施方案中，本发明提供基因治疗载体。

[0698] 可以将核酸克隆入众多类型的载体中。例如，可以将核酸克隆入包括但不限于质粒、噬菌粒、噬菌体衍生物、动物病毒和粘粒的载体中。特别有兴趣的载体包括表达载体、复制载体、探针生成载体和测序载体。

[0699] 另外，可以将表达载体以病毒载体的形式向细胞提供。病毒载体技术是本领域熟知的并且例如在Sambrook等人，2012，MOLECULAR CLONING:A LABORATORY MANUAL，第1-4卷，Cold Spring Harbor Press，NY)中及在其他病毒学和分子生物学手册中描述。可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中有功能的复制起点、启动子序列、便利的限制性核酸内切酶位点和一种或多种选择标记(例如，WO 01/96584;WO 01/29058;和美国专利号6,326,193)。

[0700] 已经开发了众多基于病毒的系统用于转移基因至哺乳动物细胞中。例如，逆转录病毒提供了用于基因递送系统的便利平台。可以使用本领域已知的技术，将选择的基因插入载体并且包装在逆转录病毒粒子中。随后可以分离重组病毒并将其在体内或离体递送至受试者的细胞。众多逆转录病毒系统是本领域已知的。在一些实施方案中，使用腺病毒载体。众多腺病毒载体是本领域已知的。在一个实施方案中，使用慢病毒载体。

[0701] 额外的启动子元件(例如，增强子)调节转录起始的频率。一般地，这些位于起始位点上游30-110bp的区域内，不过已经显示众多启动子也在起始位点下游含有功能性元件。启动子元件之间的间距往往灵活，从而当各元件反转或相对于彼此移动时，启动子功能保留。在胸苷激酶(tk)启动子中，在活性开始下降前，启动子元件之间的间距可以增加至相隔50bp。取决于启动子，各个元件似乎可以协同或独立地发挥作用以激活转录。

[0702] 能够在哺乳动物T细胞中表达CAR转基因的启动子的例子是EF1a启动子。天然EF1a启动子驱动延伸因子-1复合体的α亚基表达，所述α亚基负责酶促递送氨酰基tRNA至核糖体。已经在哺乳动物表达质粒中广泛使用了EF1a启动子并且已经显示有效驱动从克隆至慢病毒载体中的转基因表达CAR。参见，例如，Milone等人，Mol.Ther.17(8):1453-1464(2009)。在一个方面，EF1a启动子包含作为SEQ ID NO:11提供的序列。

[0703] 启动子的另一个例子是立即早期巨细胞病毒(CMV)启动子序列。这个启动子序列是能够驱动与之有效连接的任何多核苷酸序列高水平表达的组成型强启动子序列。但是，也可以使用其他组成型启动子序列，所述其他组成型启动子序列包括但不限于猴病毒40(SV40)早期启动子、小鼠乳腺瘤病毒(MMTV)、人类免疫缺陷病毒(HIV)长末端重复序列(LTR)启动子、MoMuLV启动子、鸟类白血病病毒启动子、埃巴病毒立即早期启动子、劳斯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、延伸因子-1α启动子、血红蛋白启动子和肌酸激酶启动子。另外，本发明不应当限于使用组成型启动子。还构思了诱导型启动子作为本发明的部分。诱导型启动子的使用提供了一种分子开关，所

述分子开关能够在需要这类表达时启动与之有效连接的多核苷酸序列表达或在不需要这类表达时关闭表达。诱导型启动子的例子包括但不限于金属硫蛋白启动子、糖皮质激素启动子、孕酮启动子和四环素启动子。

[0704] 启动子的另一个例子是磷酸甘油酸激酶(PGK)启动子。在实施方案中，可能需要截短的PGK启动子(例如，与野生型PGK启动子序列相比时具有一个或多个，例如1、2、5、10、100、200、300或400个核苷酸缺失的PGK启动子)。下文提供了示例性PGK启动子的核苷酸序列。

[0705] WT PGK启动子

[0706] ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACGTC
TTACGCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGCGGAGGGCGTGGCGGGGAAGGGC
CGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATAACCGGTGTCGGGTAGCGCCAGCCGCGCGACGGTAACGAG
GGACCGCGACAGGCAGACGCTCCCATGATCACTCTGCACGCCGAAGGCAAATAGTGCAGGCCGTGCGGCGCTTGGCG
TTCCTTGGAAGGGCTGAATCCCCGCCTCGTCCTTCGCAGCGGCCCCCCGGGTGTTCCCATCGCCGCTTCTAGGCCCA
CTGCGACGCTTGCCTGCACTTCTTACACGCTCTGGGTCCCAGCCGCGGCGACGCAAAGGGCCTTGGTGCGGGTCTCG
TCGGCGCAGGGACGCGTTTGGGTCCCGACGGAACCTTTTCCGCGTTGGGGTTGGGGCACCATAAGCT

[0707] (SEQ ID NO:597)

[0708] 示例性截短的PGK启动子:

[0709] PGK100:

[0710] ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACGTC
TTACGCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTG

[0711] (SEQ ID NO:598)

[0712] PGK200:

[0713] ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACGTC
TTACGCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGCGGAGGGCGTGGCGGGGAAGGGC
CGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATAACCGGTGTCGGGTAGCGCCAGCCGCGCGACGGTAACG

[0714] (SEQ ID NO:599)

[0715] PGK300:

[0716] ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACGTC
TTACGCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGCGGAGGGCGTGGCGGGGAAGGGC
CGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATAACCGGTGTCGGGTAGCGCCAGCCGCGCGACGGTAACGAG
GGACCGCGACAGGCAGACGCTCCCATGATCACTCTGCACGCCGAAGGCAAATAGTGCAGGCCGTGCGGCGCTTGGCG
TTCCTTGGAAGGGCTGAATCCCCG

[0717] (SEQ ID NO:600)

[0718] PGK400:

[0719] ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACGTC
TTACGCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGCGGAGGGCGTGGCGGGGAAGGGC
CGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATAACCGGTGTCGGGTAGCGCCAGCCGCGCGACGGTAACGAG
GGACCGCGACAGGCAGACGCTCCCATGATCACTCTGCACGCCGAAGGCAAATAGTGCAGGCCGTGCGGCGCTTGGCG
TTCCTTGGAAGGGCTGAATCCCCGCCTCGTCCTTCGCAGCGGCCCCCCGGGTGTTCCCATCGCCGCTTCTAGGCCCA

CTGCGACGCTTGCCTGCACTTCTTACACGCTCTGGGTCCCAGCCG

[0720] (SEQ ID NO:601)

[0721] 载体还可以例如包括促进分泌的信号序列、多聚腺苷化信号和转录终止子(例如，来自牛生长激素(BGH)基因)、允许附加体型复制和在原核生物中复制的元件(例如SV40复制起点和ColE1或本领域已知的其他元件)和/或允许选择的元件(例如，氨苄青霉素耐药基因和/或zeocin标记)。

[0722] 为了评估CAR多肽或其部分的表达，待引入细胞中的表达载体还可以含有选择标记基因或报道基因或这两者以促进从寻求用病毒载体转染或感染的细胞群体鉴定和选择出现表达的细胞。在其他方面，选择标记可以在一种独立的DNA片段上携带并且在共转染法中使用。选择标记和报道基因可以旁侧分布有能够在宿主细胞中实现表达的适宜调节序列。有用的选择标记例如包括抗生素耐药性基因，如neo等。

[0723] 报道基因用于鉴定潜在转染的细胞及评价调节序列的功能。通常，报道基因是这样的基因，所述基因不存在于接受生物或组织中或不由接受生物或组织表达并且编码其表达由某种轻易可检测特性(例如，酶活性)展示的多肽。在DNA已经引入接受细胞之后的合适时间测定报道基因的表达。合适的报道基因可以包括编码萤光素酶、β-半乳糖苷酶、氯霉素乙酰基转移酶、分泌型碱性磷酸酶的基因或绿色荧光蛋白基因(例如，Ui-Tei等人，2000 FEBS Letters 479:79-82)。合适的表达系统是熟知的并且可以使用已知技术制备或商业地获得。通常，将显示最高报道基因表达水平的具有最少5'侧翼区的构建体鉴定为启动子。这类启动子区可以与报道基因连接并用来评价多种物质调节启动子驱动型转录的能力。

[0724] 在一个实施方案中，载体还可以包含编码第二CAR的核酸。在一个实施方案中，第二CAR包含针对急性髓性白血病细胞上表达的靶(例如，CD33、CD34、CLL-1、FLT3或叶酸受体β)的抗原结合结构域。在一个实施方案中，载体包含编码第一CAR的核酸序列，所述第一CAR靶向第一抗原并且包含了具有共刺激信号结构域但没有初级信号结构域的胞内信号结构域，和编码第二CAR的核酸序列，所述第二CAR靶向第二个不同的抗原并且包含了具有初级信号结构域但没有共刺激信号结构域的胞内信号结构域。在一个实施方案中，载体包含编码第一CD123 CAR的核酸，所述第一CD123 CAR包含CD123结合结构域、跨膜结构域和共刺激结构域，和编码第二CAR的核酸，所述第二CAR靶向除CD123之外的抗原(例如，AML细胞上表达的抗原，例如，CD33、CD34、CLL-1、FLT3或叶酸受体β)并包含抗原结合结构域、跨膜结构域和初级信号结构域。在另一个实施方案中，载体包含编码第一CD123 CAR的核酸，所述第一CD123 CAR包含CD123结合结构域、跨膜结构域和初级信号结构域，和编码第二CAR的核酸，所述第二CAR靶向除CD123之外的抗原(例如，AML细胞上表达的抗原，例如，CD33、CLL-1、CD34、FLT3或叶酸受体β)并包含针对该抗原的抗原结合结构域、跨膜结构域和共刺激信号结构域。

[0725] 在一个实施方案中，载体包含编码本文所述的CD123 CAR的核酸和编码抑制性CAR的核酸。在一个实施方案中，抑制性CAR包含这样的抗原结合结构域，所述抗原结合结构域结合正常细胞上存在、但癌细胞上不存在的抗原，例如，还表达CD123的正常细胞。在一个实施方案中，抑制性CAR包含抑制性分子的抗原结合结构域、跨膜结构域和胞内结构域。例如，抑制性CAR的胞内结构域可以是PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM(例如、CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3

(CD276)、B7-H4(VTCN1)、HVEM(TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I类、MHC II类、GAL9、腺苷和TGFRβ的胞内结构域。

[0726] 在实施方案中，载体可以包含两个或更多个核酸序列，所述核酸序列编码一种CAR，例如，本文所述的CD123 CAR，和第二CAR，例如，抑制性CAR或与除CD123之外的抗原(例如，AML细胞上表达的抗原，例如，CLL-1、CD33、CD34、FLT3或叶酸受体β)特异性结合的CAR。在这类实施方案中，编码CAR的两个或更多个核酸序列由单一核酸分子在相同读框中编码并且作为单条多肽链编码。在这个方面，两个或更多个CAR，可以例如由一个或多个肽剪切位点(例如，自剪切位点或胞内蛋白酶的底物)分隔。肽剪切位点的例子包括以下序列，其中GSG残基是任选的：

[0727] T2A:(GSG)EGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:602)

[0728] P2A:(GSG)ATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:603)

[0729] E2A:(GSG)QCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:604)

[0730] F2A:(GSG)VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:605)

[0731] 向细胞引入基因并表达基因的方法是本领域已知的。在表达载体的情况下，载体可以通过本领域的任何方法轻易地引入宿主细胞(例如，哺乳动物细胞、细菌细胞、酵母细胞或昆虫细胞)中。例如，表达载体可以通过物理手段、化学手段或生物学手段转移至宿主细胞中。

[0732] 用于引入多核苷酸至宿主细胞中的物理方法包括磷酸钙沉淀法、脂转染法、粒子轰击法、微量注射法、电穿孔法等。用于产生包含载体和/或外源核酸的细胞的方法是本领域熟知的。参见，例如，Sambrook等人，2012，MOLECULAR CLONING:A LABORATORY MANUAL，第1-4卷，Cold Spring Harbor Press，NY)。用于引入多核苷酸至宿主细胞中的优选方法是磷酸钙转染法。

[0733] 用于引入目的多核苷酸至宿主细胞中的生物学方法包括使用DNA载体和RNA载体。病毒载体和尤其逆转录病毒载体已经变成使用最广泛的将基因插入哺乳动物(例如，人)细胞的方法。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，美国专利号5,350,674和5,585,362。

[0734] 用于引入多核苷酸至宿主细胞中的化学手段包括胶态分散体系，如大分子复合物、纳米囊、微球、珠和基于脂质的系统，包括水包油乳液、胶束、混合胶束和脂质体。用作体外和体内递送运载体的示例性胶态体系是脂质体(例如，人工膜囊泡)。现有定向递送核酸的其他方法是可获得的，如用靶向的纳米粒子或其他合适的亚微米尺度递送系统递送多核苷酸。

[0735] 在利用非病毒递送系统的情况下，示例性递送运载体是脂质体。构思使用脂质制剂以引入核酸至宿主细胞中(体外，离体或体内)。在另一个方面，核酸可以与脂质结合。与脂质结合的核酸可以包封于脂质体的水质内部、散布在脂质体的脂质双层内部、借助与脂质体和寡核苷酸均结合的连接分子与脂质体连接、包埋于脂质体中、与脂质体复合、分散于含有脂质的溶液中、与脂质混合、与脂质组合、作为混悬液含于脂质中、含于胶束中或与胶束复合或与脂质结合。与脂质、脂质/DNA或脂质/表达载体结合的组合物不限于溶液中的任何特定结构。例如，它们可以双层结构存在、作为胶束存在或以“塌陷”结构存在。它们还可以简单地散布在溶液中，可能形成大小或形状不均一的聚集物。脂质是脂肪性物质，其可以

是天然存在的脂质或合成的脂质。例如，脂质包括天然出现在细胞质中的脂肪滴以及含有长链脂族烃及其衍生物如脂肪酸、醇类、胺、氨基醇类和醛的化合物类。

[0736] 适合使用的脂质可以从商业来源获得。例如，二肉豆蔻基磷脂酰胆碱(“DMPC”)可以从Sigma,St.Louis,MO获得；二鲸蜡醇磷酸酯(“DCP”)可以从K&K Laboratories获得(Plainview、NY)；胆固醇(“Choi”)可以从Calbiochem-Behring获得；二肉豆蔻基磷脂酰甘油(“DMPG”)和其他脂质可以从Avanti Polar Lipids,Inc.(Birmingham,AL.)获得。脂质在氯仿或氯仿/甲醇中的母液可以贮存在约-20℃。使用氯仿作为唯一溶剂，因为它比甲醇更易蒸发。“脂质体”是类属术语，其涵盖通过产生封闭的脂质双层或聚集物所形成的多种单一和多层脂质载体。脂质体可以表征为具有磷脂双层膜和内部水介质的囊泡结构。多层脂质体具有水介质分隔的多个脂质层。当磷脂在过量水溶液中悬浮时，它们自发形成。脂质组分在形成封闭结构前发生自我重排并在脂质双层之间夹带水和溶解的溶质(Ghosh等人，1991 Glycobiology 5:505-10)。但是，还涵盖在溶液中具有与正常囊泡结构不同的结构的组合物。例如，脂质可以采取胶束结构或仅作为脂质分子的非均匀聚集物存在。还构思了脂质转染胺(lipofectamine)-核酸复合物。

[0737] 无论该方法是否用来引入外源核酸至宿主细胞中或使细胞暴露于本发明的抑制剂，为了证实宿主细胞中重组DNA序列的存在，可以进行多种测定法。这类测定法例如包括本领域技术人员熟知的“分子生物学测定法”，如DNA印迹和RNA印迹法、RT-PCR和PCR；“生物化学”测定法，如检测特定肽的存在或不存在，例如，通过免疫手段(ELISA法和蛋白质印迹法)或通过本文所述测定法鉴定属于本发明范围内的物质。

[0738] 本发明还提供一种载体，所述载体包含编码CAR的核酸分子。在一个方面，可以将CAR载体直接转导入细胞，例如，免疫效应细胞，例如，T细胞或NK细胞。在一个方面，载体是克隆载体或表达载体，例如，载体，包括但不限于一种或多种质粒(例如，表达质粒、克隆载体、微环、微载体、双微小染色体)、逆转录病毒构建体和慢病毒载体构建体。在一个方面，载体能够在哺乳动物免疫效应细胞(例如哺乳动物T细胞或哺乳动物NK细胞)中表达CAR构建体。在一个方面，哺乳动物T细胞是人T细胞。

[0739] 细胞来源

[0740] 在扩充和基因修饰或其他修饰之前，细胞来源(例如，免疫效应细胞，例如，T细胞或NK细胞)从受试者获得。术语“受试者”意在包括可以激发免疫应答的活生物(例如，哺乳动物)。受试者的例子包括人、犬、猫、小鼠、大鼠及其转基因物种。可以从众多来源获得T细胞，包括外周血单个核细胞、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。

[0741] 在本发明的某些方面，可以使用本领域可获得的任何数目的免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)系。在本发明的某些方面，可以使用技术人员已知的任何种类的技术(如Ficoll™分离法)，从采集自受试者的血液成分中获得T细胞。在一个优选的方面，通过单采血液成分术获得来自个体循环血液的细胞。单采产物一般含有淋巴细胞，包括T细胞、单核细胞、粒细胞、B细胞、其他有核的白细胞、红细胞和血小板。在一个方面，可以洗涤通过单采血液成分术采集的细胞，以除去血浆级分并且以在用于后续加工步骤的适宜缓冲液或培养基中放置细胞。在本发明的一个方面，用磷酸盐缓冲盐水(PBS)洗涤细胞。在一个备选方面，洗涤液缺少钙并且可以缺少镁或可以缺少许多(若非全部)二价阳离子。

[0742] 在钙不存在情况下的初始活化步骤可以导致放大的活化。如本领域普通技术人员将轻易领会，可以通过本领域技术人员已知的方法，如根据制造商说明通过使用半自动化“通流”离心机(例如，Cobe 2991细胞处理器、Baxter CytoMate、或Haemonetics Cell Saver 5)，完成洗涤步骤。在洗涤后，细胞可以重悬于多种生物相容缓冲液中，如，例如，无Ca、无Mg的PBS、PlasmaLyte A或含有或没有缓冲剂的其他盐水溶液。备选地，可以移除单采样品的不想要组分并且将细胞直接重悬于培养基中。

[0743] 认识到本申请的方法可以利用包含5％或更少(例如2％)人AB血清的培养基条件，并且利用已知的培养基条件和组合，例如，在Smith等人，“Ex vivo expansion of human T cells for adoptive immunotherapy using the novel Xeno-free CTS Immune Cell Serum Replacement”Clinical&Translational Immunology(2015)4,e31;doi:10.1038/cti.2014.31中描述的那些。

[0744] 在一个方面，通过裂解红细胞和消耗单核细胞，例如，通过经PERCOLL™梯度离心或通过逆流离心淘析，从外周血淋巴细胞分离T细胞。可以通过正向或负向选择技术进一步分离特定的T细胞亚群，如CD3+、CD28+、CD4+、CD8+、CD45RA+和CD45RO+T细胞。例如，在一个方面，通过与抗CD3/抗CD28(例如，3x28)缀合的珠(如DYNABEADS® M-450 CD3/CD28T)温育一段足够正向选择所需T细胞的时间，分离T细胞。在一个方面，该时间段是约30分钟。在又一个方面，该时间段范围从30分钟至36小时或更长和二者之间的全部整数值。在又一个方面，该时间段是至少1、2、3、4、5或6小时。在又一个优选的方面，该时间段是10至24小时。在一个方面，温育时间时段是24小时。较长的温育时间可以用来在其中如与其他细胞类型相比存在少量T细胞的任何情况下分离T细胞，如用于从肿瘤组织或从免疫受损个体分离肿瘤浸润型淋巴细胞(TIL)。另外，使用较长的温育时间可以增加捕获CD8+T细胞的效率。因此，通过简单地缩短或延长该时间，允许T细胞与CD3/CD28珠结合和/或通过增加或减少珠对T细胞的比率(如本文进一步所述那样)，可以在培养伊始或在培养过程期间的其他时间点偏好地选择T细胞亚群。额外地，通过增加或减少珠或其他表面上抗CD3和/或抗CD28抗体的比率，可以在培养伊始或在其他所需的时间点偏好地选择T细胞亚群。技术人员将认识到，也可以在本发明的背景下使用多轮选择。在某些方面，可能想要在活化和扩充过程中执行选择程序并且使用“未选择的”细胞。“未选择的”细胞也可以接受进一步轮次的选择。

[0745] 可以用抗体的组合，通过负选择过程完成T细胞群体的富集，其中所述抗体针对负向选择的细胞独有的表面标志物。一种方法是借助负向磁力免疫粘附法或流式细胞术分选和/或选择细胞，所述负向磁力免疫粘附法或流式细胞术使用针对负向选择的细胞上存在的细胞表面标志物的单克隆抗体混合物。例如，为了通过负向选择富集CD4+细胞，单克隆抗体混合物一般包含针对CD14、CD20、CD11b、CD16、HLA-DR和CD8的抗体。在某些方面，可能想要富集或正向选择一般表达CD4+、CD25+、CD62Lhi、GITR+和FoxP3+的调节性T细胞。备选地，在某些方面，通过抗C25缀合的珠或其他相似的选择方法消耗调节性T细胞。

[0746] 本文所述的方法可以包括例如使用(例如，本文所述的)负选择技术，选择特定免疫效应细胞(例如，T细胞)亚群，所述亚群是调节性T细胞消耗的群体、CD25+消耗的细胞。优选地，调节性T细胞消耗的细胞群体含有少于30％、25％、20％、15％、10％、5％、4％、3％、2％、1％的CD25+细胞。

[0747] 在一个实施方案中，使用抗CD25抗体或其片段或CD25结合配体(IL-2)从群体移除

调节性T细胞，例如，CD25+T细胞。在一个实施方案中，抗CD25抗体或其片段或CD25-结合配体与基材(例如，珠)缀合、或包被在基材(例如，珠)上。在一个实施方案中，抗CD25抗体或其片段与如本文所述的基材缀合。

[0748] 在一个实施方案中，使用来自Miltenyi™的CD25消耗试剂从群体移除调节性T细胞，例如，CD25+T细胞。在一个实施方案中，细胞对CD25消耗试剂的比率是1e7个细胞对20uL、或1e7个细胞对15uL、或1e7个细胞对10uL、或1e7个细胞对5uL、或1e7个细胞对2.5uL、或1e7个细胞对1.25uL CD25消耗试剂。在一个实施方案中，例如，对于消耗调节性T细胞，例如，CD25+而言，使用大于500百万个细胞/ml。在又一个方面，使用600、700、800、或900百万个细胞/ml的细胞浓度。

[0749] 在一个实施方案中，待消耗的免疫效应细胞群体包含约6x 10^9个CD25+T细胞。在其他方面，待消耗的免疫效应细胞群体包含约1x 10^9个至1x 10^{10}个CD25+T细胞和二者之间任何整数值的CD25+T细胞。在一个实施方案中，所产生的调节性T细胞消耗群体具有2x 10^9个调节性T细胞，例如，CD25+细胞、或更少(例如，1x 10^9、5x 10^8、1x 10^8、5x 10^7、1x 10^7个或更少CD25+细胞)。

[0750] 在一个实施方案中，使用具有消耗管路套件，例如，管路162-01的CliniMAC系统，从群体移除调节性T细胞，例如，CD25+细胞。在一个实施方案中，CliniMAC系统在消耗设定(如，例如，DEPLETION2.1)上运行。

[0751] 不希望受具体理论约束，在单采血液成分术之前或在产生表达CAR的细胞产物期间降低受试者中免疫细胞的负向调节物水平(例如，减少不想要的免疫细胞(例如，T_{REG}细胞)的数目)可以降低受试者复发风险。例如，消耗T_{REG}细胞的方法是本领域已知的。减少T_{REG}细胞的方法包括但不限于环磷酰胺、抗GITR抗体(本文所述的抗GITR抗体)、CD25消耗、及其组合。

[0752] 在一些实施方案中，生产方法包括在产生表达CAR的细胞之前(例如，消耗)减少T_{REG}细胞的数目。例如，生产方法包括使样品(例如，单采样品)与抗GITR抗体和/或抗CD25抗体(或其片段、或CD25-结合配体)接触，例如，以在产生表达CAR的细胞(例如，T细胞、NK细胞)产物之前消耗T_{REG}细胞。

[0753] 在一个实施方案中，在采集细胞以产生表达CAR的细胞产物之前，将受试者用减少T_{REG}细胞的一种或多种疗法预治疗，因而相对于表达CAR的细胞治疗，降低受试者复发风险。在一个实施方案中，减少T_{REG}细胞的方法包括但不限于向受试者施用以下一种或多种：环磷酰胺、抗GITR抗体、CD25消耗或其组合。施用环磷酰胺、抗GITR抗体、CD25消耗或其组合中一者或多者可以在输注表达CAR的细胞产物之前、其期间或之后进行。

[0754] 在一个实施方案中，在采集细胞以产生表达CAR的细胞产物之前，将受试者用环磷酰胺预治疗，因而相对于表达CAR的细胞治疗，降低受试者复发风险。在一个实施方案中，在采集细胞以产生表达CAR的细胞产物之前，将受试者用抗GITR抗体预治疗，因而相对于表达CAR的细胞治疗，降低受试者复发风险。

[0755] 在一个实施方案中，待移除的细胞群体既不是调节性T细胞，也不是肿瘤细胞，而是不利影响CART细胞的扩充和/或功能的细胞，例如，表达CD14、CD11b、CD33、CD15或由潜在免疫阻抑性细胞表达的其他标记的细胞。在一个实施方案中，构思了将这类细胞与调节性T细胞和/或肿瘤细胞同时、或在所述消耗后或按另一个顺序移除。

[0756] 本文所述的方法可以包括多于一个选择步骤，例如，多于一个消耗步骤。可以例如用抗体的组合，通过负选择过程完成T细胞群体的富集，其中所述抗体针对负向选择的细胞独有的表面标志物。一种方法是借助负向磁力免疫粘附法或流式细胞术分选和/或选择细胞，所述负向磁力免疫粘附法或流式细胞术使用针对负向选择的细胞上存在的细胞表面标志物的单克隆抗体混合物。例如，为了通过负向选择富集CD4+细胞，单克隆抗体混合物可以包含针对CD14、CD20、CD11b、CD16、HLA-DR和CD8的抗体。

[0757] 本文所述的方法还可以包括从表达肿瘤抗原(例如，不包含CD25的肿瘤抗原，例如，CD19、CD30、CD38、CD123、CD20、CD14或CD11b)的群体移除细胞，旨在因而提供适于表达CAR(例如，本文所述的CAR)的调节性T细胞消耗(例如，CD25+消耗的细胞和肿瘤抗原消耗的细胞)的群体。在一个实施方案中，将表达肿瘤抗原的细胞与调节性T细胞(例如，CD25+细胞)同时移除。例如，抗CD25抗体或其片段和抗肿瘤抗原抗体或其片段可以连接至能用来移除细胞的相同基材(例如，珠)，或抗CD25抗体或其片段或者抗肿瘤抗原抗体或其片段可以连接至分立的珠，其混合物可以用来移除细胞。在其他实施方案中，移除调节性T细胞(例如，CD25+细胞)和移除表达肿瘤抗原的细胞是依次进行的，并且可以例如按任何顺序进行。

[0758] 还提供这些方法，所述方法包括从群体移除表达检查点抑制物(例如，本文所述的检查点抑制物)的细胞，例如，PD1+细胞、LAG3+细胞和TIM3+细胞中的一者或多者，因而提供调节性T细胞消耗(例如，CD25+消耗的细胞)和检查点抑制物消耗的细胞(例如，PD1+、LAG3+和/或TIM3+消耗的细胞)的群体。示例性检查点抑制物包括B7-H1、B7-1、CD160、P1H、2B4、PD1、TIM3、CEACAM(例如，CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG3、TIGIT、CTLA-4、BTLA和LAIR1。在一个实施方案中，将表达检查点抑制物的细胞与调节性T细胞(例如，CD25+细胞)同时移除。例如，抗CD25抗体或其片段和抗检查点抑制物抗体或其片段可以连接至可以用来移除细胞的相同珠，或抗CD25抗体或其片段或者抗检查点抑制物抗体或其片段可以连接至分立的珠，其混合物可以用来移除细胞。在其他实施方案中，移除调节性T细胞(例如，CD25+细胞)和移除表达检查点抑制物的细胞是依次进行的，并且可以例如按任何顺序进行。

[0759] 在一个实施方案中，可以选择表达以下一者或多者的T细胞群体：IFN-γ、TNFα、IL-17A、IL-2、IL-3、IL-4、GM-CSF、IL-10、IL-13、粒酶B和穿孔素、或其他适宜的分子，例如，其他细胞因子。可以例如通过PCT公开号WO2013/126712中描述的方法，确定用于筛选细胞表达的方法。

[0760] 为了通过正向或负向选择分离所需的细胞群体，细胞和表面(例如粒子，如珠)的浓度可以变动。在某些方面，可能想要明显减少其中珠和细胞混合在一起的体积(例如，增加细胞浓度)以确保细胞和珠最大限度接触。例如，在一个方面，使用20亿个细胞/ml的浓度。在一个方面，使用10亿个细胞/ml的浓度。在又一个方面，使用大于1亿个细胞/ml。在又一个方面，使用1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5或5千万个细胞/ml的细胞浓度。在又一个方面，使用75、80、85、90、95或100百万个细胞/ml细胞浓度。在其他方面，可以使用1.25亿或1.5亿个细胞/ml的浓度。使用高浓度可以导致增加的细胞产量、细胞活化和细胞扩充。另外，使用高细胞浓度允许更高效地捕获可能微弱表达目的靶抗原的细胞(如CD28阴性T细胞)、或来自其中存在许多肿瘤细胞的样品(例如，白血病血液、肿瘤组织等)中的细胞。这类细胞群体可能具有治疗价值并且将希望获得。例如，使用高浓度的细胞允许更高效地选择正常情况

下具有更弱CD28表达的CD8+T细胞。

[0761] 在一个相关方面，可能想要使用较低的细胞浓度。通过大幅度稀释T细胞和表面(例如粒子，如珠)的混合物，粒子和细胞之间的相互作用最小化。这选出表达高量待与粒子结合的所需抗原的细胞。例如，CD4+T细胞表达较高水平的CD28并且在稀释的浓度比CD8+T细胞更高效地被捕获。在一个方面，使用的细胞浓度是5x 10e6/ml。在其他方面，所用的浓度可以是约1x 10^5/ml至1x 10^6/ml和其间的任何整数值。

[0762] 在其他方面，可以将细胞在2-10℃或在室温在摇床上按不同的速度温育长度不同的时间。

[0763] 用于刺激的T细胞也可以在洗涤步骤后冷冻。不希望受理论约束，通过移除细胞群体中的粒细胞和一定程度移除单核细胞，冷冻和后续解冻步骤提供更均匀的产物。在移除血浆和血小板的洗涤步骤后，细胞可以悬浮于冷冻液中。尽管许多冷冻液和参数是本领域已知的并且将用于这种环境下，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％右旋糖、20％人血清白蛋白和7.5％DMSO、或31.25％Plasmalyte-A、31.25％右旋糖5％、0.45％NaCl、10％葡聚糖40和5％右旋糖、20％人血清白蛋白和7.5％DMSO的培养基或例如含有Hespan和PlasmaLyte A的其他合适的无细胞培养基，细胞随后以1°/分钟的速率冷冻至-80℃并且存储在液氮储罐的蒸气相中。也可以使用其他受控冷冻方法，以及立即在-20℃或在液氮中不受控冷冻。

[0764] 在某些方面，将冻存的细胞如本文所述那样解冻和洗涤并允许在室温静置1小时，之后使用本发明的方法激活。

[0765] 在本发明上下文中还构思了在可能需要如本文所述的已扩充细胞时之前的某个时间段从受试者采集血液样品或单采产物。就此而论，待扩充的细胞来源可以在需要的任何时间点采集，并且所需的细胞(如免疫效应细胞，例如，T细胞或NK细胞)可以分离并冷冻供稍后用于将从细胞疗法(例如，T细胞疗法)获益的任何种类的疾病或病状(如本文所述的那些)的T细胞疗法中。在一个方面，血液样品或单采物取自总体上健康的受试者。在某些方面，血液样品或单采物取自总体上健康的受试者，所述受试者面临形成疾病的风险、但是尚未形成疾病，并且将目的细胞分离并冷冻供稍后使用。在某些方面，可以将免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)扩充、冷冻并在稍后时间使用。在某些方面，样品从诊断如本文所述的特定疾病后不久、但在任何治疗之前的患者采集。在又一个方面，在任何数目的相关治疗模式之前，从受试者的血液样品或单采物分离细胞，所述的治疗模式包括但不限于药物治疗，如那他珠单抗、依法珠单抗、抗病毒药、化疗、辐射、免疫抑制剂如环孢菌素、硫唑嘌呤、甲氨蝶呤、霉酚酸盐和FK506、抗体、或其他免疫消耗剂如CAMPATH、抗CD3抗体、环磷氮芥、氟达拉滨、环孢菌素、FK506、雷帕霉素、霉酚酸、类固醇、FR901228和照射。

[0766] 在本发明的又一个方面，在留给受试者有功能的T细胞的治疗后马上从患者获得T细胞。在这个方面，已经观察到在某些癌症治疗、尤其用损伤免疫系统的药物治疗后，在治疗后不久在患者正常情况下将从治疗中恢复的时间期间，获得的T细胞的质量可能就其离体扩充能力而言最佳或改善。同样地，在使用本文所述的方法离体操作后，这些细胞可以处于移植和体内扩充增强的优选状态。因此，在本发明上下文中构思了，在这个恢复期期间采集血细胞，包括T细胞、树状细胞或造血谱系的其他细胞。另外，在某些方面，动员(例如，用GM-CSF动员)和整备方案可以用来在受试者中产生这样的条件，其中有利于特定细胞类型

再增殖、再循环、再生和/或扩充，特别在治疗后的限定时间窗口期间有利。示意性的细胞类型包括T细胞、B细胞、树状细胞和免疫系统的其他细胞。

[0767] 在一个实施方案中，表达CAR分子(例如，本文所述的CAR分子)的免疫效应细胞从已经接受免疫增强性低剂量的mTOR抑制剂的受试者获得。在一个实施方案中，在足够时间的mTOR抑制剂后或在充分给予免疫增强性低剂量的mTOR抑制剂后收获待工程化以表达CAR的免疫效应细胞(例如，T细胞)群体，从而受试者中的或从受试者收获的PD1阴性免疫效应细胞(例如，T细胞)的水平或PD1阴性免疫效应细胞(例如，T细胞)/PD1阳性免疫效应细胞(例如，T细胞)的比率已经至少一过性增加。

[0768] 在其他实施方案中，可以通过与下述量的mTOR抑制剂接触，离体处理已经工程化或将会工程化以表达CAR的免疫效应细胞(例如，T细胞)群体，所述量增加PD1阴性免疫效应细胞(例如，T细胞)数目或增加PD1阴性免疫效应细胞(例如，T细胞)/PD1阳性免疫效应细胞(例如，T细胞)的比率。

[0769] 在一个实施方案中，T细胞群体是二酰甘油激酶(DGK)缺陷的。DGK缺陷性细胞包括不表达DGK RNA或蛋白质或具有降低或抑制的DGK活性的细胞。可以通过遗传方法产生DGK缺陷性细胞，例如，施用减少或阻止DGK表达的RNA干扰剂(例如，siRNA、shRNA、miRNA)。备选地，可以通过用本文所述的DGK抑制剂处理，产生DGK缺陷性细胞。

[0770] 在一个实施方案中，T细胞群体是Ikaros缺陷的。Ikaro缺陷性细胞包括不表达Ikaros RNA或蛋白质或具有降低或抑制的Ikaro活性的细胞，可以通过遗传方法产生Ikaro缺陷性细胞，例如，施用减少或阻止Ikaro表达的RNA干扰剂(例如，siRNA、shRNA、miRNA)。备选地，可以通过用Ikaros抑制剂(例如，来那度胺)处理，产生Ikaros缺陷性细胞。

[0771] 在实施方案中，T细胞群体是DGK缺陷的和Ikaros缺陷的，例如，不表达DGK和Ikaros、或具有减少或抑制的DGK活性和Ikaros活性。这类DGK和Ikaros缺陷性细胞可以通过本文所述的任何方法产生。

[0772] 在一个实施方案中，从受试者获得NK细胞。在另一个实施方案中，NK细胞是NK细胞系，例如，NK-92细胞系(Conkwest)。

[0773] 同种异体(allogeneic)CAR免疫效应细胞

[0774] 在本文所述的实施方案中，免疫效应细胞可以是同种异体免疫效应细胞，例如，T细胞或NK细胞。例如，细胞可以是同种异体T细胞，例如，缺少功能性T细胞受体(TCR)和/或人白细胞抗原(HLA)(例如，HLA I类和/或HLA II类)表达的同种异体T细胞。

[0775] 缺少功能性TCR的T细胞可以例如经工程化，从而它在其表面上不表达任何功能性TCR；经工程化，从而它不表达构成功能性TCR的一个或多个亚基(例如，经工程化，从而它不表达或显示出减少表达的TCRα、TCRβ、TCRγ、TCRδ、TCRε和/或TCRζ)；或经工程化，从而它在其表面上产生非常少的功能性TCR。备选地，T细胞可以表达大幅度受损的TCR，例如，通过表达突变或截短形式的一个或多个TCR亚基。术语“大幅度受损的TCR”意指这种TCR将不在宿主中激发不良免疫反应。

[0776] 本文所述的T细胞例如可以如此工程化，从而它不在其表面上表达功能性HLA。例如，本文所述的T细胞可以如此工程化，从而HLA(例如，HLA I类和/或HLA II类)的细胞表面表达下调。在一些方面，可以通过减少或消除β-2微球蛋白(B2M)表达实现HLA的下调。

[0777] 在一些实施方案中，T细胞可以缺少功能性TCR和功能性HLA，例如，HLA I类和/或

HLA II类。

[0778] 可以通过任何合适的手段(包括敲除或敲低TCR或HLA的一个或多个亚基),获得缺少功能性TCR和/或HLA表达的修饰的T细胞。例如,T细胞可以包括使用siRNA、shRNA、成簇规律间隔的短回文重复序列(CRISPR)、转录激活物样效应子核酸酶(TALEN)或锌指核酸内切酶(ZFN)敲低的TCR和/或HLA。

[0779] 在一些实施方案中,同种异体细胞可以是不表达或以低水平表达抑制性分子的细胞,例如通过本文所述的任何方法。例如,细胞可以是不表达或以低水平表达抑制性分子的细胞,例如,可以降低表达CAR的细胞发动免疫效应子反应的能力的细胞。抑制性分子的例子包括PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM(例如,CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIG、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3(CD276)、B7-H4(VTCN1)、HVEM(TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I类、MHC II类、GAL9、腺苷和TGFRβ。对抑制性分子的抑制(例如,通过在DNA、RNA或蛋白质水平抑制)可以优化表达CAR的细胞性能。在实施方案中,可以使用抑制性核酸,例如,抑制性核酸,例如,dsRNA,例如,siRNA或shRNA、成簇规律间隔的短回文重复序列(CRISPR)、转录激活物样效应子核酸酶(TALEN)或锌指核酸内切酶(ZFN),例如,如本文所述。

[0780] 抑制TCR或HLA的siRNA和shRNA

[0781] 在一些实施方案中,可以在细胞中使用siRNA或shRNA抑制TCR表达和/或HLA表达,所述的siRNA或shRNA靶向编码TCR和/或HLA和/或本文所述的抑制性分子(例如,PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM(例如、CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3(CD276)、B7-H4(VTCN1)、HVEM(TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I类、MHC II类、GAL9、腺苷和TGFRβ)的核酸。

[0782] 可以使用任何常规表达系统(例如,如慢病毒表达系统)实现在T细胞中表达siRNA和shRNA。

[0783] 下调TCR的一种或多种组分表达的示例性shRNA例如在美国公开号2012/0321667中描述。下调HLA I类基因和/或HLA II类基因表达的示例性siRNA和shRNA例如在美国公开号US 2007/0036773中描述。

[0784] 抑制TCR或HLA的CRISPR

[0785] 如本文所用的“CRISPR”或“针对TCR和/或HLA的CRISPR”或“抑制TCR和/或HLA的CRISPR”指一组成簇规律间隔的短回文重复序列或一个包括这种重复序列组的系统。如本文所用,“Cas”指CRISPR相关蛋白。CRISPR/Cas”系统指衍生自CRISPR和Cas的系统,所述系统可以用来沉默或突变TCR和/或HLA基因和/或本文所述的抑制性分子(例如,PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM(例如,CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3(CD276)、B7-H4(VTCN1)、HVEM(TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I类、MHC II类、GAL9、腺苷和TGFRβ)。

[0786] 在大约40％测序的真细菌基因组和90％测序的古细菌中找到了天然存在的CRISPR/Cas系统。Grissa等人(2007)BMC Bioinformatics 8:172。这种系统是一个类型的原核免疫系统,其赋予对外来遗传元件如质粒和噬菌体的抵抗性并提供一种形式的获得免疫力。Barrangou等人(2007)Science 315:1709-1712;Marragini等人(2008)Science 322:1843-1845。

[0787] 已经修饰CRISPR/Cas系统用于真核生物如小鼠或灵长类中的基因编辑(沉默、增强或改变特定基因)。Wiedenheft等人(2012)Nature 482:331-8。通过向真核细胞引入含有特别设计的CRISPR和一个或多个适宜Cas的质粒,实现这一点。

[0788] CRISPR序列,有时称作CRISPR基因座,包含交替的重复序列和间隔序列。在天然存在的CRISPR中,间隔序列通常包含相对于细菌为外来的序列如质粒或噬菌体序列;在TCR和/或HLA CRISPR/Cas系统中,间隔序列衍生自TCR或HLA基因序列。

[0789] 来自CRISPR基因座的RNA组成型表达并由Cas蛋白加工成小RNA。这些包含旁侧分布有重复序列的间隔序列。RNA引导其他Cas蛋白在RNA或DNA水平沉默外源性遗传元件。Horvath等人(2010)Science 327:167-170;Makarova等人(2006)Biology Direct 1:7。间隔序列因此充当RNA分子的模板,类似于siRNA。Pennisi(2013)Science 341:833-836。

[0790] 由于这些天然出现在许多不同类型的细菌中,CRISPR的确切布局和Cas基因及产物的结构、功能和数目或多或少地在物种之间不同。Haft等人(2005)PLoS Comput.Biol.1:e60;Kunin等人(2007)Genome Biol.8:R61;Mojica等人(2005)J.Mol.Evol.60:174-182;Bolotin等人(2005)Microbiol.151:2551-2561;Pourcel等人(2005)Microbiol.151:653-663;和Stern等人(2010)Trends.Genet.28:335-340。例如,Cse(Cas亚型,大肠杆菌)蛋白(例如,CasA)形成将CRISPR RNA转录物加工成Cascade保留的间隔序列-重复单元的功能复合体Cascade。Brouns等人(2008)Science 321:960-964。在其他原核生物中,Cas6加工CRISPR转录物。在大肠杆菌中基于CRISPR的噬菌体失活需要Cascade和Cas3,但不需要Cas1或Cas2。激烈火球菌(Pyrococcus furiosus)和其他原核生物中的Cmr(Cas RAMP模块)蛋白与识别并切割互补靶RNA的小CRISPR RNA形成功能性复合体。更简单的CRISPR系统依赖于Cas9蛋白,所述蛋白是具有两个有效剪切位点(双螺旋的每条链各一个)的核酸酶。Cas9和修饰的CRISPR基因座RNA组合可以用于编辑基因的系统中。Pennisi(2013)Science 341:833-836。

[0791] CRISPR/Cas系统因此可以用来编辑TCR和/或HLA基因(添加或缺失碱基对)、或引起过早停止,这因此减少TCR和/或HLA的表达。CRISPR/Cas系统可以备选地如同RNA干扰那样使用,以可逆方式关闭TCR和/或HLA基因。在哺乳动物细胞中,例如,RNA可以引导Cas蛋白质至TCR和/或HLA启动子,在空间上阻断RNA聚合酶。

[0792] 使用本领域已知的技术,可以生成抑制TCR和/或HLA的人工CRISPR/Cas系统,例如,美国公开号20140068797和Cong(2013)Science 339:819-823中描述的那种。也可以生成本领域已知的抑制TCR和/或HLA的其他人工CRISPR/Cas系统,例如,在Tsai(2014)Nature Biotechnol.,32:6 569-576;美国专利号8,871,445;8,865,406;8,795,965;8,771,945和8,697,359中描述的那种。

[0793] 抑制TCR和/或HLA的TALEN

[0794] “TALEN”或“针对HLA和/或TCR的TALEN”或“抑制HLA和/或TCR的TALEN”指转录激活物样效应核酸酶,一种可以用来编辑HLA和/或TCR基因和/或本文所述的抑制性分子(例如,PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM(例如,CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3(CD276)、B7-H4(VTCN1)、HVEM(TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I类、MHC II类、GAL9、腺苷和TGFRβ)的人工核酸酶。

[0795] 通过TAL效应子DNA结合结构域融合于DNA切割结构域,人工产生TALEN。转录激活

物样效应(TALEs)可以经工程化以结合任何目的DNA序列,包括HLA或TCR基因的一部分。通过工程化的TALE与DNA切割结构域组合,可以产生对任何目的DNA序列(包括HLA或TCR序列)特异的限制性酶。随后可以将这些酶引入细胞中,在那里,它们可以用于基因组编辑。Boch(2011)Nature Biotech.29:135-6;和Boch等人(2009)Science 326:1509-12;Moscou等人(2009)Science 326:3501。

[0796] TALE是黄单胞菌属(Xanthomonas)细菌分泌的蛋白质。DNA结合结构域含有重复的高度保守的33-34氨基酸序列,第12和第13氨基酸例外。这两个位置高度可变,显示与特异性核苷酸识别的强相关性。它们因此可以经工程化以结合至目的DNA序列。

[0797] 为了产生TALEN,将TALE蛋白与核酸酶(N)融合,所述核酸酶是野生型或突变型FokI核酸内切酶。已经对FokI产生几种突变以便其用于TALEN中;这些突变例如改善切割特异性或活性。Cermak等人(2011)Nucl.Acids Res.39:e82;Miller等人(2011)Nature Biotech.29:143-8;Hockemeyer等人(2011)Nature Biotech.29:731-734;Wood等人(2011)Science 333:307;Doyon等人(2010)Nature Methods 8:74-79;Szczepek等人(2007)Nature Biotech.25:786-793;和Guo等人(2010)J.Mol.Biol.200:96。

[0798] FokI结构域作为二聚体发挥作用,因而需要取向和间距正确的对靶基因组中位点具有独特DNA结合结构域的两个构建体。TALE DNA结合结构域和FokI切割结构域之间的氨基酸残基数和两个独立TALEN结合位点之间的碱基数目似乎均是实现高水平活性的重要参数。Miller等人,(2011)Nature Biotech.29:143-8。

[0799] HLA或TCR TALEN可以在细胞内部使用以产生双链断口(DSB)。如果修复机制借助非同源末端接合不当地修复断口,则可以在断口位点处引入突变。例如,不当修复可以引入移码突变。备选地,可以将外来DNA随TALEN一起引入细胞中;取决于外来DNA的序列和染色体序列,这种方法可以用来纠正HLA或TCR基因中的缺陷或向wt HLA或TCR基因中引入这种缺陷,因此减少HLA或TCR的表达。

[0800] 可以使用本领域已知的任何方法(包括使用模块化组件的多种方案),构建对HLA或TCR中的序列特异的TALEN。Zhang等人(2011)Nature Biotech.29:149-53;Geibler等人(2011)PLoS ONE 6:e19509。

[0801] 抑制HLA和/或TCR的锌指核酸酶

[0802] “ZFN”或“锌指核酸酶”或“针对HLA和/或TCR的ZFN”或“抑制HLA和/或TCR的ZFN”指锌指核酸酶,它是一种可以用来编辑HLA和/或TCR基因和/或本文所述的抑制性分子(例如,PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM(例如,CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3(CD276)、B7-H4(VTCN1)、HVEM(TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I类、MHC II类、GAL9、腺苷和TGFRβ)的人工核酸酶。

[0803] 如同TALEN,ZFN包含与DNA结合结构域融合的FokI核酸酶结构域(或其衍生物)。在ZFN的情况下,DNA结合结构域包含一个或多个锌指。Carroll等人(2011)Genetics Society of America 188:773-782;和Kim等人(1996)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 93:1156-1160。

[0804] 锌指是由一个或多个锌离子稳定化的小蛋白结构性基序。锌指可以例如包含Cys_2His_2,并且可以识别大约3bp序列。可以组合特异性已知的多种锌指以产生识别约6、9、12、15或18bp序列的多指状物多肽。多种选择和模块化装配技术可用于产生识别特定序列的锌指(及其组合),包括噬菌体展示、酵母单杂交系统、细菌单杂交和双杂交系统和哺乳动

物细胞。

[0805] 如同TALEN,ZFN必须二聚化以切割DNA。因此,需要一对ZFN以靶向非回文性DNA位点。两个独立ZFN必须结合DNA的对侧链,其核酸酶恰当地间隔分开。Bitinaite等人,(1998)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 95:10570-5。

[0806] 还如同TALEN,ZFN可以在DNA中产生双链断口,后者若如果不当地修复则可以产生移码突变、导致细胞中HLA和/或TCR的表达和量减少。ZFN也可以随同源重组一起用于在HLA或TCR基因中突变。

[0807] 可以使用本领域已知的任何方法,构建对HLA/或TCR中的序列特异的ZFN。Cathomen等人(2008)Mol.Ther.16:1200-7;Guo等人(2010)J.Mol.Biol.400:96;美国专利公开2011/0158957;和美国专利公开2012/0060230。

[0808] 端粒酶表达

[0809] 尽管不希望受任何具体理论约束,在一些实施方案中,治疗性T细胞在患者中具有短期留存,原因在于T细胞中端粒缩短;因此,用端粒酶基因转染可以延长T细胞的端粒并改善T细胞在患者中的持久性。参见Carl June,"Adoptive T cell therapy for cancer in the clinic",Journal of Clinical Investigation,117:1466-1476(2007)。因此,在一个实施方案中,免疫效应细胞(例如,T细胞)异位表达端粒酶亚基,例如,端粒酶的催化性亚基(例如,TERT,例如,hTERT)。在一些方面,本公开提供一种产生表达CAR的细胞的方法,包括使细胞与编码端粒酶亚基(例如,端粒酶的催化性亚基(例如,TERT,例如,hTERT))的核酸接触。细胞可以在接触编码CAR的构建体之前、与之同时或之后与该核酸接触。

[0810] 在一个方面,本公开以一种产生免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)群体的方法为特征。在一个实施方案中,该方法包括:提供免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)群体、使免疫效应细胞群体与编码CAR的核酸接触;和使免疫效应细胞群体与编码端粒酶亚基(例如,hTERT)的核酸在允许CAR和端粒酶表达的条件下接触。

[0811] 在一个实施方案中,编码端粒酶亚基的核酸是DNA。在一个实施方案中,编码端粒酶亚基的核酸包含能够驱动端粒酶亚基表达的启动子。

[0812] 在一个实施方案中,hTERT具有如下的GenBank蛋白质IDAAC51724.1的氨基酸序列(Meyerson等人,"hEST2,the Putative Human Telomerase Catalytic Subunit Gene,Is Up-Regulated in Tumor Cells and during Immortalization"Cell第90卷,第4期,1997年8月22日,第785-795页):

[0813] MPRAPRCRAVRSLLRSHYREVLPLATFVRRLGPQGWRLVQRGDPAAFRALVAQCLVCVPWDARPPPAAPSFRQVSCLKELVARVLQRLCERGAKNVLAFGFALLDGARGGPPEAFTTSVRSYLPNTVTDALRGSGAWGLLLRRVGDDVLVHLLARCALFVLVAPSCAYQVCGPPLYQLGAATQARPPPHASGPRRRLGCERAWNHSVREAGVPLGLPAPGARRRGGSASRSLPLPKRPRRGAAPEPERTPVGQGSWAHPGRTRGPSDRGFCVVSPARPAEEATSLEGALSGTRHSHPSVGRQHHAGPPSTSRPPRPWDTPCPPVYAETKHFLYSSGDKEQLRPSFLLSSLRPSLTGARRLVETIFLGSRPWMPGTPRRLPRLPQRYWQMRPLFLELLGNHAQCPYGVLLKTHCPLRAAVTPAAGVCAREKPQGSVAAPEEEDTDPRRLVQLLRQHSSPWQVYGFVRACLRRLVPPGLWGSRHNERRFLRNTKKFISLGKHAKLSLQELTWKMSVRGCAWLRRSPGVGCVPAAEHRLREEILAKFLHWLMSVYVVELLRSFFYVTETTFQKNRLFFYRKSVWSKLQSIGIRQHLKRVQLRELSEAEVRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLRPIVNMDYVVGARTFRREKRAERLTSRVKALFSVLNYERARRPGLLGASVLGLDDIHRAWRTFVLRVRAQDPPPELYFVKVDVTGAYDTIPQDRLTEVIASIIKPQNTYCVRRYAVVQKAAH

GHVRKAFKSHVSTLTDLQPYMRQFVAHLQETSPLRDAVVIEQSSSLNEASSGLFDVFLRFMCHHAVRIRGKSYVQC
QGIPQGSILSTLLCSLCYGDMENKLFAGIRRDGLLLRLVDDFLLVTPHLTHAKTFLRTLVRGVPEYGCVVNLRKTV
VNFPVEDEALGGTAFVQMPAHGLFPWCGLLLDTRTLEVQSDYSSYARTSIRASLTFNRGFKAGRNMRRKLFGVLRL
KCHSLFLDLQVNSLQTVCTNIYKILLLQAYRFHACVLQLPFHQQVWKNPTFFLRVISDTASLCYSILKAKNAGMSL
GAKGAAGPLPSEAVQWLCHQAFLLKLTRHRVTYVPLLGSLRTAQTQLSRKLPGTTLTALEAAANPALPSDFKTILD
(SEQ ID NO:606)

[0814] 在一个实施方案中,hTERT具有与SEQ ID NO:606的序列至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一的序列。在一个实施方案中,hTERT具有SEQ ID NO:606的序列。在一个实施方案中,hTERT在N末端、C末端或这两者处包含缺失(例如,不多于5、10、15、20、或30个氨基酸的缺失)。在一个实施方案中,hTERT在N末端、C末端或这两者处包含转基因氨基酸序列(例如,不多于5、10、15、20、或30个氨基酸的转基因氨基酸序列)。

[0815] 在一个实施方案中,hTERT由如下的GenBank登录号AF018167的核酸序列(Meyerson等人,"hEST2,the Putative Human Telomerase Catalytic Subunit Gene,Is Up-Regulated in Tumor Cells and during Immortalization"Cell第90卷,第4期,1997年8月22日,第785-795页)编码:

1 caggcagcgt ggtcctgctg cgcacgtggg aagccctggc cccggccacc cccgcgatgc

[0816] 61 cgcgcgctcc ccgctgccga gccgtgcgct ccctgctgcg cagccactac cgcgaggtgc

121 tgccgctggc cacgttcgtg cggcgcctgg ggccccaggg ctggcggctg gtgcagcgcg

181 gggacccggc ggctttccgc gcgctggtgg cccagtgcct ggtgtgcgtg ccctgggacg
241 cacggccgcc ccccgccgcc ccctccttcc gccaggtgtc ctgcctgaag gagctggtgg
301 cccgagtgct gcagaggctg tgcgagcgcg gcgcgaagaa cgtgctggcc ttcggcttcg
361 cgctgctgga cggggcccgc gggggccccc ccgaggcctt caccaccagc gtgcgcagct
421 acctgcccaa cacggtgacc gacgcactgc gggggagcgg ggcgtggggg ctgctgttgc
481 gccgcgtggg cgacgacgtg ctggttcacc tgctggcacg ctgcgcgctc tttgtgctgg
541 tggctcccag ctgcgcctac caggtgtgcg ggccgccgct gtaccagctc ggcgctgcca
601 ctcaggcccg gcccccgcca cacgctagtg gaccccgaag gcgtctggga tgcgaacggg
661 cctggaacca tagcgtcagg gaggccgggg tccccctggg cctgccagcc ccgggtgcga
721 ggaggcgcgg gggcagtgcc agccgaagtc tgccgttgcc caagaggccc aggcgtggcg
781 ctgcccctga gccggagcgg acgcccgttg ggcaggggtc ctgggcccac ccgggcagga
841 cgcgtggacc gagtgaccgt ggtttctgtg tggtgtcacc tgccagaccc gccgaagaag
901 ccacctcttt ggagggtgcg ctctctggca cgcgccactc ccacccatcc gtgggccgcc
961 agcaccacgc gggccccccа tccacatcgc ggccaccacg tccctgggac acgccttgtc
1021 ccccggtgta cgccgagacc aagcacttcc tctactcctc aggcgacaag gagcagctgc
1081 ggccctcctt cctactcagc tctctgaggc ccagcctgac tggcgctcgg aggctcgtgg
1141 agaccatctt tctgggttcc aggccctgga tgccagggac tccccgcagg ttgccccgcc
[0817]
1201 tgccccagcg ctactggcaa atgcggcccc tgtttctgga gctgcttggg aaccacgcgc
1261 agtgccccta cggggtgctc ctcaagacgc actgcccgct gcgagctgcg gtcaccccag
1321 cagccggtgt ctgtgcccgg gagaagcccc agggctctgt ggcggccccc gaggaggagg
1381 acacagaccc ccgtcgcctg gtgcagctgc tccgccagca cagcagcccc tggcaggtgt
1441 acggcttcgt gcgggcctgc ctgcgccggc tggtgccccc aggcctctgg ggctccaggc
1501 acaacgaacg ccgcttcctc aggaacacca agaagttcat ctccctgggg aagcatgcca
1561 agctctcgct gcaggagctg acgtggaaga tgagcgtgcg gggctgcgct tggctgcgca
1621 ggagcccagg ggttggctgt gttccggccg cagagcaccg tctgcgtgag gagatcctgg
1681 ccaagttcct gcactggctg atgagtgtgt acgtcgtcga gctgctcagg tctttctttt
1741 atgtcacgga gaccacgttt caaaagaaca ggctcttttt ctaccggaag agtgtctgga
1801 gcaagttgca aagcattgga atcagacagc acttgaagag ggtgcagctg cgggagctgt
1861 cggaagcaga ggtcaggcag catcgggaag ccaggcccgc cctgctgacg tccagactcc
1921 gcttcatccc caagcctgac gggctgcggc cgattgtgaa catggactac gtcgtgggag
1981 ccagaacgtt ccgcagagaa aagagggccg agcgtctcac ctcgagggtg aaggcactgt
2041 tcagcgtgct caactacgag cgggcgcggc gccccggcct cctgggcgcc tctgtgctgg
2101 gcctggacga tatccacagg gcctggcgca ccttcgtgct gcgtgtgcgg gcccaggacc
2161 cgccgcctga gctgtacttt gtcaaggtgg atgtgacggg cgcgtacgac accatccccc

2221 aggacaggct cacggaggtc atcgccagca tcatcaaacc ccagaacacg tactgcgtgc

2281 gtcggtatgc cgtggtccag aaggccgccc atgggcacgt ccgcaaggcc ttcaagagcc

2341 acgtctctac cttgacagac ctccagccgt acatgcgaca gttcgtggct cacctgcagg

2401 agaccagccc gctgagggat gccgtcgtca tcgagcagag ctcctccctg aatgaggcca

2461 gcagtggcct cttcgacgtc ttcctacgct tcatgtgcca ccacgccgtg cgcatcaggg

2521 gcaagtccta cgtccagtgc caggggatcc cgcagggctc catcctctcc acgctgctct

2581 gcagcctgtg ctacggcgac atggagaaca agctgtttgc ggggattcgg cgggacgggc

2641 tgctcctgcg tttggtggat gatttcttgt tggtgacacc tcacctcacc cacgcgaaaa

2701 ccttcctcag gaccctggtc cgaggtgtcc ctgagtatgg ctgcgtggtg aacttgcgga

2761 agacagtggt gaacttccct gtagaagacg aggccctggg tggcacggct tttgttcaga

2821 tgccggccca cggcctattc ccctggtgcg gcctgctgct ggatacccgg accctggagg

2881 tgcagagcga ctactccagc tatgcccgga cctccatcag agccagtctc accttcaacc

2941 gcggcttcaa ggctgggagg aacatgcgtc gcaaactctt tggggtcttg cggctgaagt

3001 gtcacagcct gtttctggat ttgcaggtga acagcctcca gacggtgtgc accaacatct

3061 acaagatcct cctgctgcag gcgtacaggt ttcacgcatg tgtgctgcag ctcccatttc

[0818] 3121 atcagcaagt ttggaagaac cccacatttt tcctgcgcgt catctctgac acggcctccc

3181 tctgctactc catcctgaaa gccaagaacg cagggatgtc gctgggggcc aagggcgccg

3241 ccggccctct gccctccgag gccgtgcagt ggctgtgcca ccaagcattc ctgctcaagc

3301 tgactcgaca ccgtgtcacc tacgtgccac tcctggggtc actcaggaca gcccagacgc

3361 agctgagtcg gaagctcccg gggacgacgc tgactgccct ggaggccgca gccaacccgg

3421 cactgccctc agacttcaag accatcctgg actgatggcc acccgcccac agccaggccg

3481 agagcagaca ccagcagccc tgtcacgccg ggctctacgt cccagggagg gaggggcggc

3541 ccacacccag gcccgcaccg ctgggagtct gaggcctgag tgagtgtttg gccgaggcct

3601 gcatgtccgg ctgaaggctg agtgtccggc tgaggcctga gcgagtgtcc agccaagggc

3661 tgagtgtcca gcacacctgc cgtcttcact tccccacagg ctggcgctcg gctccacccc

3721 agggccagct tttcctcacc aggagcccgg cttccactcc ccacatagga atagtccatc

3781 cccagattcg ccattgttca cccctcgccc tgccctcctt tgccttccac ccccaccatc

3841 caggtggaga ccctgagaag gaccctggga gctctgggaa tttggagtga ccaaaggtgt

3901 gccctgtaca caggcgagga ccctgcacct ggatgggggt ccctgtgggt caaattgggg

3961 ggaggtgctg tgggagtaaa atactgaata tatgagtttt tcagttttga aaaaaaaaaa

4021 aaaaaaa (SEQ ID NO: 607)

[0819] 在一个实施方案中,hTERT由下述核酸编码,所述核酸具有与SEQ ID NO:607的序列至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一的序列。在一个实施方案中,hTERT由SEQ ID NO:607的核酸编码。

[0820] 活化和扩充细胞

[0821] 可以通常使用如在例如以下文献中所述的方法活化和扩充细胞:美国专利6,352,694;6,534,055;6,905,680;6,692,964;5,858,358;6,887,466;6,905,681;7,144,575;7,067,318;7,172,869;7,232,566;7,175,843;5,883,223;6,905,874;6,797,514;6,867,041;和美国专利申请公开号20060121005。

[0822] 通常,可以通过与下述表面接触,扩充本发明的T细胞,所述表面已经与刺激CD3/TCR复合物相关的信号的物质和刺激T细胞表面上共刺激分子的配体连接。特别地,可以如本文所述那样,如通过接触于固定在表面上的抗CD3抗体或其抗原结合片段或抗CD2抗体,或通过接触于蛋白激酶C激活物(例如,草苔虫内酯)连同钙离子载体,刺激T细胞群体。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,T细胞群体可以在适于刺激T细胞增殖的条件下与抗CD3抗体和抗CD28抗体接触。为了刺激CD4+T细胞或CD8+T细胞增殖,可以使用抗CD3抗体和抗CD28抗体。抗CD28抗体的例子包括9.3、B-T3、XR-CD28(Diaclone,**Besançon,**France),可以如本领域共知的其他方法可能那样使用(Berg等人,Transplant Proc.30(8):3975-3977,1998;Haanen等人,J.Exp.Med.190(9):13191328,1999;Garland等人,J.Immunol Meth.227(1-2):53-63,1999)。

[0823] 在某些方面,T细胞的初级刺激信号和共刺激信号可以由不同方案提供。例如,提供每种信号的物质可以处于溶液中或与表面偶联。与表面偶联时,物质可以与相同表面(即,处于“顺式”形式)偶联或与分立的表面偶联(即,处于“反式”形式)。备选地,一个物质可以与表面偶联并且另一种物质处于溶液中。在一个方面,提供共刺激信号的物质与细胞表面结合并且提供初级激活信号的物质处于溶液中或与表面偶联。在某些方面,两种物质均可以处于溶液中。在一个方面,物质可以处于可溶性形式,并且随后交联至表面,如表达将会与该物质结合的Fc受体或抗体或其他结合物的细胞。在这个方面,本发明构思了用于活化和扩充T细胞的人工抗原呈递细胞(aAPC),参见例如,美国专利申请公开号20040101519和20060034810。

[0824] 在一个方面,两种物质固定在珠上,其中它们固定在相同的珠上,即,“顺式”,或固定至分立的珠上,即,“反式”。例如,提供初级活化信号的物质是抗CD3抗体或其抗原结合片段并且提供共刺激信号的物质是抗CD28抗体或其抗原结合片段;并且两种物质均以等同的分子数量共同固定至相同珠上。在一个方面,对于CD4+T细胞扩充和T细胞生长,使用与珠结合的每种抗体的1:1比率。在本发明的某些方面,如此使用与珠结合的抗CD3:CD28抗体的比率,从而如与使用比率1:1时观察到的扩充相比,观察到T细胞扩充增加。在一个特定方面中,如与使用比率1:1时观察到的扩充相比,观察到约1倍至约3倍的增加。在一个方面,与珠结合的CD3:CD28抗体的比率是从100:1至1:100和其间的全部整数值。在本发明的一个方面,比抗CD3抗体更多的抗CD28抗体与粒子结合,即,CD3:CD28的比率小于1。在本发明的某些方面,与珠结合的抗CD28抗体对抗CD3抗体的比率大于2:1。在一个特定的方面中,使用1:100与珠结合的CD3:CD28抗体比率。在一个方面,使用1:75与珠结合的CD3:CD28抗体比率。在又一个方面,使用1:50与珠结合的CD3:CD28抗体比率。在一个方面,使用1:30与珠结合的CD3:CD28抗体比率。在一个优选的方面,使用1:10与珠结合的CD3:CD28抗体比率。在一个方面,使用1:3与珠结合的CD3:CD28抗体比率。在又一个方面,使用3:1与珠结合的CD3:CD28抗体比率。

[0825] 粒子对细胞比率1:500至500:1和其间任何整数值可以用来刺激T细胞或其他靶细胞。如本领域普通技术人员可以轻易地领会,粒子对细胞的比率可以取决于相对于靶细胞的粒度。例如,小规格珠仅能结合一些细胞,而较大的珠能结合许多细胞。在某些方面,细胞对粒子的比率范围从1:100至100:1和其间的任何整数值,并且在其他方面中,该比率包含1:9至9:1和其间的任何整数值、也可以用来刺激T细胞。导致刺激T细胞的抗CD3偶联粒子和抗CD28偶联粒子对T细胞的比率可以如上文所示变动,然而某些优选的值包括1:100、1:50、1:40、1:30、1:20、1:10、1:9、1:8、1:7、1:6、1:5、1:4、1:3、1:2、1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1和15:1,一个优选的比率是每个T细胞至少1:1粒子。在一个方面,使用1:1或更小的粒子对细胞比率。在一个特定方面,优选的粒子:细胞比率是1:5。在其他方面,粒子:细胞比率可以根据刺激的日期变动。例如,在一个方面,粒子:细胞比率在第1天是1:1至10:1,并且此后每日或每隔1日添加额外粒子至细胞持续多达10天,按1:1至1:10的最终比率(基于添加日时的细胞计数)添加。在一个特定方面,粒子:细胞比率在第1刺激日是1:1并且在第三刺激日和第五刺激日调节至1:5。在一个方面,基于每日或每隔1日添加粒子至第1刺激日时最终比率1:1,并且在第三刺激日和第五刺激日添加粒子至最终比率1:5。在一个方面,粒子:细胞比率在第1刺激日是2:1并且在第三刺激日和第五刺激日调节至1:10。在一个方面,基于每日或每隔1日添加粒子至第1刺激日时最终比率1:1,并且在第三刺激日和第五刺激日添加粒子至最终比率1:10。本领域技术人员将理解,多种其他比率可以在本发明中适用。特别地,比率将根据粒度和细胞尺寸和类型变动。在一个方面,使用的最常见比率在第1天接近1:1、2:1和3:1。

[0826] 在本发明的其他方面,将细胞(如T细胞)与物质包被的珠组合,随后分离珠和细胞,并且随后培养细胞。在备选方面,在培养之前,不分离物质包被的珠珠和细胞,而是在一起培养。在又一个方面,首先通过应用某种力(如磁力)浓缩珠和细胞、导致细胞表面标志物的连接增加,因而诱导细胞刺激作用。

[0827] 例如,可以通过使得与抗CD3和抗CD28连接的顺磁珠(3x28珠)接触T细胞,连接细胞表面蛋白。在一个方面,将细胞(例如,10^4个至10^9个T细胞)和珠(例如,**DYNABEADS®** M-450 CD3/CD28T顺磁珠按比率1:1)在缓冲液例如PBS(不含二价阳离子如钙和镁)中合并。再次,本领域普通技术人员可以轻易地领会,可以使用任何细胞浓度。例如,靶细胞可能在样品中非常稀少并仅占样品的0.01%或整个样品(即,100%)可能包含目的靶细胞。因此,任何细胞数目均属于本发明上下文的范围内。在某些方面,可能想要明显减少粒子和细胞混合在一起的体积(即,增加细胞浓度)以确保细胞和粒子最大限度接触。例如,在一个方面,使用约100亿个细胞/ml、90亿/ml、80亿/ml、70亿/ml、60亿/ml、50亿/ml、或20亿个细胞/ml的浓度。在一个方面,使用大于1亿个细胞/ml。在又一个方面,使用1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5或5千万个细胞/ml的细胞浓度。在又一个方面,使用75、80、85、90、95或100百万个细胞/ml细胞浓度。在其他方面,可以使用1.25亿或1.5亿个细胞/ml的浓度。使用高浓度可以导致增加的细胞产量、细胞活化和细胞扩充。另外,使用高细胞浓度允许更高效地捕获可能微弱表达目的靶抗原的细胞,如CD28阴性T细胞。在某些方面,这类细胞群体可能具有治疗价值并且将希望获得。例如,使用高浓度的细胞允许更高效地选择正常情况下较弱CD28表达的CD8+T细胞。

[0828] 在一个实施方案中,扩充用编码CAR(例如,本文所述的CAR)的核酸转导的细胞,例

如，通过本文所述的方法扩充。在一个实施方案中，将细胞在培养下扩充几小时(例如，约2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、18、21小时)至约14天(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14天)。在一个实施方案中，将细胞扩充4至9天时间。在一个实施方案中，将细胞扩充8天或更短(例如，7、6或5天)时间。在一个实施方案中，将细胞(例如，本文所述的CD123 CAR细胞)在培养下扩充5天并且所产生的细胞比相同培养条件下培养扩充9天的相同细胞更有效力。效力可以例如由多种T细胞功能例如增殖、靶细胞杀伤作用、细胞因子产生、活化、移行、或其组合定义。在一个实施方案中，与相同培养条件下培养扩充9天的相同细胞相比，在培养下扩充5天的细胞(例如，本文所述的CD123 CAR细胞)显示在抗原刺激时细胞倍增作用增长至少1、2、3或4倍。在一个实施方案中，将表达本文所述的CD123 CAR的细胞在培养下扩充5天，并且与相同培养条件下培养扩充9天的相同细胞相比，所产生的细胞显示出更高的促炎细胞因子产量，例如，更高的IFN-γ水平和/或GM-CSF水平。在一个实施方案中，与相同培养条件下培养扩充9天的相同细胞相比，在培养下扩充5天的细胞(例如，本文所述的CD123 CAR细胞)显示以pg/ml计的促炎细胞因子产量(例如，IFN-γ水平和/或GM-CSF水平)增长至少1、2、3、4、5、10倍或更多。

[0829] 在本发明的一个方面，可以将混合物培养几小时(约3小时)至约14天或期间的任何小时整数值。在一个方面，可以将混合物培养21天。在本发明的一个方面，将珠和T细胞在一起培养约8天。在一个方面，将珠和T细胞在一起培养2-3天。也可能需要几轮刺激，从而T细胞培养时间可以是60天或更长。适于T细胞培养的条件包括适宜的培养基(例如，极限基本培养基或RPMI培养基1640或X-vivo15，(Lonza))，所述培养基可以含有增殖和生存力必需的因子，包括血清(例如，胎牛血清或人血清)、白介素-2(IL-2)、胰岛素、IFN-γ、IL-4、IL-7、GM-CSF、IL-10、IL-12、IL-15、TGFβ和TNF-α或技术人员已知的用于细胞生长的任何其他添加物。用于细胞生长的其他添加物包括但不限于表面活性剂、血浆蛋白粉(plasmanate)和还原剂如N-乙酰-半胱氨酸和2-巯基乙醇。培养基可以包括RPMI1640、AIM-V、DMEM、MEM、α-MEM、F-12、X-Vivo15和X-Vivo20、Optimizer，连同添加的氨基酸、丙酮酸钠和维生素，无血清或补充有足以生长和扩充T细胞的适宜量的血清(或血浆)或限定的成组激素和/或某种量的细胞因子。抗生素，例如，青霉素和链霉素仅包含于实验性培养物中，不包含于待输注入受试者的细胞培养物中。将靶细胞在支持生长所必需的条件下维持，例如，适宜的温度(例如，37℃)和气氛(例如，空气外加5％CO_2)。

[0830] 在一个实施方案中，将细胞在适宜的培养基(例如，本文所述的培养基)中扩充，所述培养基包括导致细胞在14天扩充时间内增加至少200倍(例如，200倍、250倍、300倍、350倍)(例如，如通过本文所述的方法(如流式细胞术)所测量)的一种或多种白介素。在一个实施方案中，将细胞在IL-15和/或IL-7(例如，IL-15和IL-7)存在下扩充。

[0831] 在实施方案中，本文所述的方法(例如，生产表达CAR的细胞的方法)包括例如使用抗CD25抗体或其片段或CD25结合配体IL-2，从细胞群体移除调节性T细胞，例如，CD25+T细胞。本文中描述了从细胞群体移除调节性T细胞(例如，CD25+T细胞)的方法。在实施方案中，方法(例如，生产方法)还包括：使细胞群体(例如，其中调节性T细胞(如CD25+T细胞)已经消耗的细胞群体；或先前已经接触过抗CD25抗体、其片段或CD25结合配体的细胞群体)与IL-15和/或IL-7接触。例如，将细胞群体(例如，先前已经接触过抗CD25抗体、其片段或CD25结合配体的细胞群体)在IL-15和/或IL-7存在下扩充。

[0832] 在一些实施方案中，本文所述的表达CAR的细胞与组合物在产生表达CAR的细胞期间(例如，离体)接触，所述组合物包含白介素-15(IL-15)多肽、白介素-15受体α(IL-15Ra)多肽或IL-15多肽和IL-15Ra多肽(例如，hetIL-15)的组合。在实施方案中，本文所述的表达CAR的细胞与包含IL-15多肽的组合物在产生表达CAR的细胞期间(例如，离体)接触。在实施方案中，本文所述的表达CAR的细胞与包含IL-15多肽和IL-15 Ra多肽二者组合的组合物在产生表达CAR的细胞期间(例如，离体)接触。在实施方案中，本文所述的表达CAR的细胞与包含hetIL-15的组合物在产生表达CAR的细胞期间(例如，离体)接触。

[0833] 在一个实施方案中，本文所述的表达CAR的细胞与包含hetIL-15的组合物在离体扩充期间接触。在一个实施方案中，本文所述的表达CAR的细胞与包含IL-15多肽的组合物在离体扩充期间接触。在一个实施方案中，本文所述的表达CAR的细胞与包含IL-15多肽和IL-15Ra多肽二者的组合物在离体扩充期间接触。在一个实施方案中，接触过程导致淋巴细胞亚群(例如，CD8+T细胞)存活和增殖。

[0834] 已经暴露于变动的刺激时间的T细胞可以显示出不同的特征。例如，常见的血液或单采外周血单个核细胞产物具有比细胞毒T细胞或阻抑T细胞群体(TC、CD8+)更大的辅助T细胞群体(TH、CD4+)。通过刺激CD3和CD28受体离体扩充T细胞产生了约第8-9天之前由TH细胞优势组成的T细胞群体，而约第8-9天之后，T细胞群体包含增加的更大的TC细胞群体。因此，取决于治疗目的，向受试者输注优势包含TH细胞的T细胞群体可能是有利的。类似地，如果已经分离TC细胞的抗原特异性亚群，可能有益的是更大程度地扩充这个亚群。

[0835] 另外，除CD4和CD8标志物之外，其他表型标志物也显著地变动，但是在细胞扩充过程期间大多可重复地变动。因此，这种重现性使得为特定目的而调整活化的T细胞产物的能力成为可能。

[0836] 一旦构建了CD123 CAR，则各种测定法可以用来评价分子的活性，如但不限于抗原刺激后扩充T细胞的能力、在再次刺激不存在的情况下维持T细胞扩充的能力和适宜的体外模型和动物模型中的抗癌活性。下文进一步详细描述评价CD123 CAR的作用的测定法。

[0837] 原代T细胞中CAR表达的蛋白质印迹分析可以用来检测单体和二聚体的存在。参见，例如，Milone等人，Molecular Therapy 17(8):1453-1464(2009)。非常简要地，将表达CAR的T细胞(CD4$^+$ T细胞和CD8+T细胞的1:1混合物)在体外扩充多于10天，随后裂解和在还原条件下进行SDS-PAGE。使用针对TCR-ζ链的抗体，通过蛋白质印迹法检测含有全长TCR-ζ胞质结构域和内源TCR-ζ链的CAR。相同T细胞亚群用于非还原性条件下的SDS-PAGE分析以允许评价共价二聚体形成。

[0838] 可以通过流式细胞术测量在抗原刺激后CAR+T细胞的体外扩充。例如，CD4$^+$ T细胞和CD8+T细胞的混合物用αCD3/αCD28aAPC刺激，随后用在待分析的启动子控制下表达GFP的慢病毒载体转导。示例性启动子包括CMV IE基因启动子、EF-1α启动子、遍在蛋白C启动子或磷酸甘油激酶(PGK)启动子。在培养第6日通过流式细胞术评价CD4$^+$和/或CD8+T细胞亚群中的GFP荧光。参见，例如，Milone等人，Molecular Therapy 17(8):1453-1464(2009)。备选地，CD4$^+$ T细胞和CD8+T细胞的混合物在第0天用αCD3/αCD28包被的磁珠刺激并且使用双顺反子慢病毒载体在第1天用CAR转导，其中所述双顺反子慢病毒载体使用2A核糖体跳跃序列表达CAR连同eGFP。在洗涤后，将培养物用CD19$^+$ K562细胞(K562-CD19)、野生型K562细胞(K562野生型)或表达hCD32和4-1BBL的K562细胞在抗CD3和抗CD28抗体(K562-BBL-3/28)存

在下再刺激。每隔1日按100IU/ml添加外源IL-2至培养物。使用基于珠的计数法，通过流式细胞术计数GFP$^+$T细胞。参见，例如，Milone等人，Molecular Therapy 17(8):1453-1464(2009)。可以使用抗CD123T细胞(参见，例如，Gill等人，Blood 2014;123:2343)或用抗CD123 CAR T细胞进行相似的测定法。

[0839] 也可以测量在再次刺激不存在的情况下维持的CAR+T细胞扩充。参见，例如，Milone等人，Molecular Therapy 17(8):1453-1464(2009)。简而言之，在第0天用αCD3/αCD28包被的磁珠刺激并在第1天用所示CAR转导后，在培养第8天使用库尔特粒度分析仪III粒子计数器Nexcelom Cellometer Vision或Millipore Scepter测量平均T细胞容积(fl)。

[0840] 也可以用动物模型来测量CART活性。例如，可以使用在免疫缺陷性小鼠中利用人CD19特异性CAR$^+$ T细胞处理原代人前B ALL的异种移植模型。参见，例如，Milone等人，Molecular Therapy 17(8):1453-1464(2009)。非常简短地，在建立ALL后，将小鼠随机分配至治疗组。将不同数目的αCD19-ζ工程化T细胞和αCD19-BB-ζ工程化T细胞按1:1比率共注射至携带B-ALL的NOD-SCID-$\gamma^{-/-}$小鼠中。在注射T细胞后的多个时间评价来自小鼠的脾DNA中αCD19-ζ载体和αCD19-BB-ζ载体的拷贝数。按每周一次间隔评估动物的白血病。在用αCD19-ζCAR+T细胞或模拟转导的T细胞注射的小鼠中测量外周血CD19$^+$ B-ALL母细胞计数。使用对数秩检验，比较各组的生存曲线。此外，也可以分析NOD-SCID-$\gamma^{-/-}$小鼠中注射T细胞后4周的外周血CD4$^+$和CD8$^+$ T细胞绝对计数。对小鼠注射白血病细胞并且3周后注射经工程化以通过双顺反子慢病毒载体表达CAR的T细胞，所述双顺反子慢病毒载体编码与eGFP连接的CAR。通过注射之前与模拟转导的细胞混合，将T细胞对45-50％输入的GFP$^+$ T细胞归一化，并且通过流式细胞术证实。按1周间隔评估动物的白血病。使用对数秩检验，比较各CAR$^+$ T细胞组的生存曲线。可以用CD123 CART进行相似实验。

[0841] 可以评价剂量依赖性CAR治疗反应。参见，例如，Milone等人，Molecular Therapy 17(8):1453-1464(2009)。例如，在第21日注射了CAR T细胞、等同数目的模拟转导的T细胞或未注射过T细胞的小鼠中建立白血病后35-70天，获得外周血。来自每个组的小鼠随机采血以测定外周血CD19$^+$ ALL母细胞计数并且随后在第35和第49日杀死。在第57和第70天评价剩余动物。可以用CD123 CART进行相似实验。

[0842] 先前已经描述了细胞增殖和细胞因子产生的评估，例如，在Milone等人，Molecular Therapy 17(8):1453-1464(2009)处描述。简而言之，在微量滴定板中通过将洗涤的T细胞与表达CD19(K19)的K562细胞或表达CD32和CD137的K562细胞(KT32-BBL)按T细胞:K562最终比率2:1混合，评估CAR介导的增殖。K562细胞在使用之前用γ-辐射照射。将抗CD3(克隆OKT3)单克隆抗体和抗CD28(克隆9.3)单克隆抗体添加至培养物，以KT32-BBL细胞充当刺激T细胞增殖的阳性对照，因为这些信号支持CD8+T细胞离体长期扩充。如制造商所描述那样使用CountBright™荧光珠(Invitrogen,Carlsbad,CA)和流式细胞术，计数培养物中的T细胞。使用T细胞依据GFP表达鉴定CAR$^+$ T细胞，其中所述T细胞用表达eGFP-2A连接的CAR的慢病毒载体工程化。对于不表达GFP的CAR$^+$ T细胞，用生物素酰化的重组CD123蛋白和第二抗生物素蛋白-PE缀合物检测CAR$^+$ T细胞。还同时用特异性单克隆抗体(BD Biosciences)检测T细胞上的CD4$^+$表达和CD8$^+$表达。根据制造商的说明，使用人TH1/TH2细胞因子细胞计数珠阵列试剂盒(BD Biosciences,San Diego,CA)，或者使用Luminex30-plex试剂盒(Invitrogen)，对再次刺激后24小时收集的上清液进行细胞因子测量。使用BD

Fortess流式细胞仪评估荧光并且根据制造商的说明分析数据。可以用CD123CART进行相似实验。

[0843] 可以用标准^{51}Cr-释放测定法评估细胞毒性。参见，例如，Milone等人，Molecular Therapy 17(8):1453-1464(2009)。简而言之，将靶细胞(K562系和原代前B-ALL细胞)在37℃用^{51}Cr(作为$NaCrO_4$，New England Nuclear，Boston，MA)加载2小时伴以频繁搅拌，在完全RPMI中洗涤2次并置于微量滴定板中。在孔中，将效应T细胞与靶细胞在完全RPMI中按不同的效应细胞:靶细胞比率(E:T)混合。还制备仅含有培养基(自发释放，SR)或1％triton-X100去垢剂溶液(总释放，TR)的额外孔。在37℃温育4小时后，从每个孔收获上清液。随后使用γ粒子计数器(Packard Instrument Co.，Waltham，MA)测量释放的^{51}Cr。每条件按至少三次重复进行并且使用下式计算裂解百分数:裂解％＝(ER-SR)/(TR-SR)，其中ER代表每种实验条件的^{51}Cr平均释放。

[0844] 可以用成像技术来评价携瘤动物模型中CAR的特异性转运和增殖。已经描述了此类测定法，例如，在Barrett等人，Human Gene Therapy 22:1575-1586(2011)中描述。简而言之，对NOD/SCID/$\gamma c^{-/-}$(NSG)小鼠静脉内注射Nalm-6细胞，7天后，以CAR构建体电穿孔后4小时，静脉内注射T细胞。T细胞用表达萤火虫萤光素酶的慢病毒构建体稳定转染并且对小鼠的生物发光成像。备选地，可以如下测量Nalm-6异种移植模型中单次注射CAR^+ T细胞的治疗功效和特异性:对NSG小鼠注射经转导以稳定表达萤火虫萤光素酶的Nalm-6，7天后，随后单次尾静脉内注射以CD123 CAR电穿孔的T细胞。在注射后的各种时间点对动物成像。例如，可以在第5日(处理前2天)和第8日(CAR^+ PBL后24小时)生成代表性小鼠中萤火虫萤光素酶阳性白血病的光子密度热图。

[0845] 其他测定法，包括在本文实施例部分中描述的那些以及本领域已知的那些，也可以用来评价本发明CD123 CAR构建体。

[0846] 备选地或联合本文所公开的方法，公开了涉及使用CAR配体的以下一项或多项的方法和组合物:检测和/或定量表达CAR的细胞(例如，体外或体内(例如，临床监测))；免疫细胞扩充和/或活化；和/或CAR-特异性选择。在一个示例性实施方案中，CAR配体是与CAR分子结合的抗体，例如，与CAR的胞外抗原结合结构域结合的抗体(例如，与抗原结合结构域结合的抗体，例如，抗独特型抗体；或与胞外结合结构域的恒定区结合的抗体)。在其他实施方案中，CAR配体是CAR抗原分子(例如，如本文所述的CAR抗原分子)。

[0847] 在一个方面，公开了一种用于检测和/或定量表达CAR的细胞的方法。例如，CAR配体可以用来在体外或在体内检测和/或定量表达CAR的细胞(例如，临床监测患者中表达CAR的细胞或向患者给药)。该方法包括:

[0848] 提供CAR配体(任选地，标记的CAR配体，例如，包含标签、珠、放射性或荧光标记的CAR配体)；

[0849] 获得表达CAR的细胞(例如，获得含有表达CAR的细胞的样品，如制造样品或临床样品)；

[0850] 使表达CAR的细胞与CAR配体在发生结合的条件下接触，因而检测存在的表达CAR的细胞的水平(例如，量)。可以使用标准技术如FACS、ELISA等，检测表达CAR的细胞与CAR配体的结合。

[0851] 在另一个方面，公开了一种扩充和/或活化细胞(例如，免疫效应细胞)的方法。该

方法包括：

[0852] 提供表达CAR的细胞(例如,第一表达CAR的细胞或瞬时表达CAR的细胞)；

[0853] 使所述表达CAR的细胞与CAR配体(例如,如本文所述的CAR配体)在其中发生免疫细胞扩充和/或增殖的条件下接触,因而产生活化和/或扩充的细胞群体。

[0854] 在某些实施方案中,CAR配体在(例如,固定至或接合至)底物(例如,非天然存在的底物)上存在。在一些实施方案中,底物是非细胞底物。非细胞底物可以是选自例如平板(例如,微量滴定板)、膜(例如,硝酸纤维素膜)、基质、芯片或珠的固相支持物。在实施方案中,CAR配体在底物中(例如,在底物表面上)存在。CAR配体可以共价或非共价地固定、连接或接合(例如,交联)至底物。在一个实施方案中,CAR配体连接(例如,共价连接至)珠。在前述实施方案中,可以在体外或离体扩充免疫细胞群体。这种方法可以还包括在CAR分子的配体存在下培养免疫细胞群体,例如,使用本文所述的任何方法培养。

[0855] 在其他实施方案中,扩充和/或活化细胞的方法还包括添加第二种刺激分子,例如,CD28。例如,CAR配体和第二种刺激分子可以固定至底物,例如,一个或多个珠,因而提供增加的细胞扩充和/或活化。

[0856] 在又一个方面,提供一种用于选择或富集表达CAR的细胞的方法。该方法包括使表达CAR的细胞与如本文所述的CAR配体接触;并且基于CAR配体的结合作用选择细胞。

[0857] 在另外的其他实施方案中,提供一种用于消耗、减少和/或杀伤表达CAR的细胞的方法。该方法包括使表达CAR的细胞与如本文所述的CAR配体接触;并且基于CAR配体的结合作用靶向细胞,因而减少表达CAR的细胞的数目和/或杀伤表达CAR的细胞。在一个实施方案中,CAR配体偶联至毒性物质(例如,毒素或细胞消融药物)。在另一个实施方案中,抗独特型抗体可以造成效应细胞活性,例如,ADCC或ADC活性。

[0858] 可以在本文所公开的方法中使用的示例性抗CAR抗体例如在WO 2014/190273中并由Jen等人,“Chimeric Antigen Receptor(CAR)-Specific Monoclonal Antibody to Detect CD19-Specific T cells in Clinical Trials”,PLOS March 2013 8:3e57838描述,所述文献的内容通过引用的方式并入。在一个实施方案中,抗独特型抗体分子识别抗CD19抗体分子,例如,抗CD19 scFv。例如,抗独特型抗体分子可以竞争与Jena等人,PLOS March 2013 8:3e57838中描述的CD19-特异性CAR mAb克隆第136.20.1号结合;可以具有与CD19-特异性CAR mAb克隆第136.20.1号相同的CDR(例如使用Kabat定义、Chothi定义或Kabat定义和Chothia定义的组合时,VH CDR1、VH CDR2、CHCDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3中一者或多者(例如,全部));可以具有如CD19-特异性CAR mAb克隆第136.20.1号那样的一个或多个(例如,2个)可变区,或可以包含CD19-特异性CAR mAb克隆第136.20.1号。在一些实施方案中,根据Jena等人中描述的一种方法制备抗独特型抗体。在另一个实施方案中,抗独特型抗体分子是在WO 2014/190273中描述的抗独特型抗体分子。在一些实施方案中,抗独特型抗体分子具有与WO 2014/190273的抗体分子如136.20.1相同的CDR(例如,VH CDR1、VH CDR2、CHCDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3中一者或多者(例如,全部));可以具有WO 2014/190273的抗体分子的一个或多个(例如,2个)可变区,或可以包含WO 2014/190273的抗体分子如136.20.1。在其他实施方案中,抗CAR抗体与(例如,如WO 2014/190273中所述的)CAR分子的胞外结合结构域的恒定区结合。在一些实施方案中,抗CAR抗体与CAR分子的胞外结合结构域的恒定区(例如,重链恒定区(例如,CH2-CH3铰链区)或轻链恒定区)结合。

例如，在一些实施方案中，抗CAR抗体竞争与WO 2014/190273中描述的2D3单克隆抗体的结合，具有与2D3相同的CDR(例如，VH CDR1、VH CDR2、CHCDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3中一者或多者(例如，全部))，或具有2D3的一个或多个(例如，2个)可变区，或包含如WO 2014/190273中所述的2D3。

[0859] 在一些方面和实施方案中，本文的组合物和方法针对特定T细胞亚群而优化，例如，如2014年7月31日提交的美国系列号62/031,699中所述，所述文献的内容通过引用的方式完整并入本文。在一些实施方案中，与对照T细胞(例如，表达相同构建体的不同类型(例如，$CD8^+$或$CD4^+$)的T细胞)相比，优化的T细胞亚群显示增强的持久性。

[0860] 在一些实施方案中，$CD4^+$ T细胞包含本文所述的CAR，所述CAR包含适于$CD4^+$ T细胞(例如，针对其而优化，例如，在其中导致增强的持久性)的胞内信号结构域，例如，ICOS结构域。在一些实施方案中，$CD8^+$ T细胞包含本文所述的CAR，所述CAR包含适于$CD8^+$ T细胞(例如，针对其而优化，例如，导致其增强的持久性)的胞内信号结构域，例如，4-1BB结构域、CD28结构域或除ICOS结构域之外的另一种共刺激结构域。在一些实施方案中，本文所述的CAR包含本文所述的抗原结合结构域，例如，包含特异性结合CD123的抗原结合结构域的CAR，例如，表2或表6的CAR。

[0861] 在一个方面，本文中描述了一种治疗受试者(例如，患有癌症的受试者)的方法。该方法包括向所述受试者施用有效量的：

[0862] 1)包含CAR的$CD4^+$ T细胞(CAR^{CD4+})

[0863] 所述CAR包含：

[0864] 抗原结合结构域，例如，本文所述的抗原结合结构域，例如，特异性结合CD123的抗原结合结构域，例如，表2、表6或表9的抗原结合结构域；

[0865] 跨膜结构域；和

[0866] 胞内信号结构域，例如，第一共刺激结构域，例如，ICOS结构域；和

[0867] 2)包含CAR的$CD8^+$ T细胞(CAR^{CD8+})，所述CAR包含：

[0868] 抗原结合结构域，例如，本文所述的抗原结合结构域，例如，特异性结合CD123的抗原结合结构域，例如，表2、表6或表9的抗原结合结构域；

[0869] 跨膜结构域；和

[0870] 胞内信号结构域，例如，第二种共刺激结构域，例如，4-1BB结构域、CD28结构域、或除ICOS结构域之外的另一种共刺激结构域；

[0871] 其中CAR^{CD4+}和CAR^{CD8+}彼此不同。

[0872] 任选地，该方法还包括施用：

[0873] 3)包含CAR的第二种CD8+T细胞(第二CAR^{CD8+})，所述CAR包含：

[0874] 抗原结合结构域，例如，本文所述的抗原结合结构域，例如，与CD123特异性结合的抗原结合结构域，例如，表2、表6或表9的抗原结合结构域；

[0875] 跨膜结构域；和

[0876] 胞内信号结构域，其中第二CAR^{CD8+}包含在CAR^{CD8+}上不存在的胞内信号结构域，例如，共刺激信号结构域，并且任选地，不包含ICOS信号结构域。

[0877] 治疗性应用

[0878] CD123相关的疾病和/或病症

[0879] 本发明尤其提供了用于治疗与表达CD123相关的疾病或与表达CD123的细胞相关的病状，例如，包括增生性疾病如癌症或恶性肿瘤或癌前期疾病如脊髓发育不良、脊髓发育不良综合征或白血病前期；或与表达CD123的细胞相关的非癌症相关适应征的组合物和方法，在一个方面，与表达CD123相关的癌症是血液癌症。在一个方面，血液癌症包括但不限于AML、脊髓发育不良综合征、ALL、慢性髓样白血病、母细胞性浆细胞样树状细胞肿瘤、骨髓增生性肿瘤、霍奇金淋巴瘤等。另外，与表达CD123相关的其他疾病例如包括但不限于与表达CD123相关的非典型和/或非经典癌症、恶性肿瘤、癌前期疾病或增生性疾病。也可以包括与表达CD123相关的非癌症相关适应征。

[0880] 在一个方面，本发明提供用于治疗与表达CD123相关的疾病的方法。在一个方面，本发明提供用于治疗其中部分肿瘤为CD123阴性且部分肿瘤为CD123阳性的疾病的方法。例如，本发明的CAR可用于治疗已经就与CD123表达升高相关的疾病而接受治疗的受试者，其中已经就与CD123水平升高而接受治疗的受试者显示出与CD123水平升高相关的疾病。在实施方案中，本发明的CAR可用于治疗已经就与CD123表达相关的疾病而接受治疗的受试者，其中已经接受与CD123表达相关的治疗的受试者显示出与CD123表达相关的疾病。

[0881] 在一个方面，本发明涉及一种载体，所述载体包含与启动子有效连接的CD123 CAR，用于在哺乳动物免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)中表达。在一个方面，本发明提供表达CD123 CAR的重组T细胞用于治疗表达CD123的肿瘤，其中表达CD123 CAR的重组免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)称作表达CD123 CAR的细胞(例如，CD123 CART或表达CD123 CAR的NK细胞)。在一个方面，本发明的CD123 CART能够使肿瘤细胞与本发明的至少一种在其表面上表达的CD123 CAR如此接触，从而表达CAR的细胞(例如，CD123 CART或表达CD123 CAR的NK细胞)靶向肿瘤细胞并且抑制肿瘤的生长。

[0882] 在一个方面，本发明涉及一种抑制表达CD123的肿瘤细胞生长的方法，所述方法包括使肿瘤细胞与本发明的表达CD123 CAR的细胞(例如，CD123 CART或表达CD123 CAR的NK细胞)接触，从而表达CAR的细胞(例如，CD123 CART或表达CD123 CAR的NK细胞)响应于抗原而活化并靶向癌细胞，其中抑制了肿瘤的生长。

[0883] 在一个方面，本发明涉及一种治疗受试者中癌症的方法。该方法包括向受试者如此施用本发明的表达CD123 CAR的细胞(例如，CD123 CART或表达CD123 CAR的NK细胞)，从而治疗受试者中的癌症。通过本发明的表达CD123 CAR的细胞(例如，CD123 CART或表达CD123 CAR的NK细胞)可治疗的癌症的例子是与表达CD123相关的癌症。通过本发明的表达CD123 CAR的细胞(例如、CD123 CART或表达CD123 CAR的NK细胞)可治疗的癌症的例子包括但不限于AML、霍奇金淋巴瘤、脊髓发育不良综合征、慢性髓样白血病和其他骨髓增生性肿瘤、或母细胞性浆细胞样树状细胞肿瘤等。

[0884] 本发明包括一个类型的细胞疗法，其中免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)经基因修饰以表达嵌合抗原受体(CAR)并且将表达CD123 CAR的细胞(例如，CD123 CART或表达CD123 CAR的NK细胞)输注至有需求的接受者。输注的细胞能够杀伤接受者中的肿瘤细胞。不同于抗体疗法，CAR修饰的免疫效应细胞(例如，CAR修饰的T细胞或CAR修饰的NK细胞)能够在体内复制，产生可以导致持久肿瘤控制的长期持久性。在多个方面，在施用免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)至患者后，向患者施用的免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)或其后代持续存在于患者中至少4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、

12个月、13个月、14个月、15个月、16个月、17个月、18个月、19个月、20个月、21个月、22个月、23个月、2年、3年、4年或5年。

[0885] 本发明还包括一个类型的细胞疗法，其中免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)经修饰(例如，由体外转录的RNA修饰)以瞬时表达嵌合抗原受体(CAR)并且将表达CAR的细胞(例如，CAR T细胞或CAR NK细胞)输注至有需求的接受者。输注的细胞能够杀伤接受者中的肿瘤细胞。因此，在多个方面，在施用免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)至患者后，向患者施用的免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)存在少于1个月，例如，3周、2周、1周。

[0886] 不希望受任何具体理论约束，由CAR修饰的免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)激发的抗肿瘤免疫应答可以是主动或被动免疫应答、或备选地可以归因于直接与间接免疫应答。在一个方面，CAR转导的免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)显示出响应于表达CD123的人癌细胞的特异性促炎细胞因子分泌和强力溶细胞活性，抵抗可溶性CD123抑制，介导旁观者杀伤作用并介导已建立的人肿瘤消退。例如，在表达CD123的肿瘤的内部不均一视野内部抗原较少的肿瘤细胞可能易遭CD123重定向的免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)的间接破坏，其中所述CD123重定向的免疫效应细胞事先已经针对毗邻的抗原阳性癌细胞反应。

[0887] 在一个方面，本发明的全人CAR修饰的免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)可以是在哺乳动物中用于离体免疫和/或体内治疗的一种疫苗。在一个方面，哺乳动物是人。

[0888] 对于离体免疫，在施用细胞(例如，T细胞或NK细胞)至哺乳动物之前在体外进行至少一种以下操作：i)扩充细胞、ii)引入编码CAR的核酸至细胞或iii)冷冻保存细胞。

[0889] 离体程序是本领域熟知的并且在下文更充分地讨论。简而言之，将细胞从哺乳动物(例如，人)分离并用本文公开的表达CAR的载体进行基因修饰(即，在体外转导或转染)。可以将CAR修饰的细胞施用至哺乳动物接受者以提供治疗益处。哺乳动物接受者可以是人并且CAR修饰的细胞可以相对于接受者是自体的。备选地，细胞可以相对于接受者是同种异体的、同基因的或异种的。

[0890] 离体扩充造血干细胞和祖先细胞的方法在通过引用的方式并入本文的美国专利号5,199,942中描述，可以应用于本发明的细胞。其他合适的方法是本领域已知的，因此，本发明不限于离体扩充细胞的任何具体方法。简而言之，T细胞的离体培养和扩充包括：(1)从外周血收获物或骨髓外植体采集来自哺乳动物的CD34+造血干细胞和祖先细胞；和(2)离体扩充这类细胞。除美国专利号5,199,942中描述的细胞生长因子之外，其他因子如flt3-L、IL-1、IL-3和c-kit配体也可以用于细胞的培养和扩充。

[0891] 就离体免疫而言除使用基于细胞的疫苗之外，本发明还提供用于体内免疫以激发患者中针对抗原的免疫应答的组合物和方法。

[0892] 通常，如本文所述的细胞活化和扩充可以用于治疗和预防在免疫受损的个体中出现的疾病。特别地，本发明的CAR修饰的免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)用于治疗与表达CD123相关的疾病、病症和病状。在某些方面，本发明的细胞用于治疗面临形成与表达CD123相关的疾病、病症和病状的风险的患者。因此，本发明提供用于治疗或预防与表达CD123相关的疾病、病症和病状的方法，所述方法包括向有需求的受试者施用治疗有效量的本发明的CAR修饰的免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)。

[0893] 在一个方面，本发明表达CAR的细胞(CART细胞或表达CAR的NK细胞)可以用来治疗

增生性疾病如癌症或恶性肿瘤或癌前期疾病如脊髓发育不良、脊髓发育不良综合征或白血病前期。在一个方面，与表达CD123相关的癌症是血液癌症、白血病前期、过度增殖性疾病、增生或发育异常，其以细胞异常生长为特征。

[0894] 在一个方面，本发明表达CAR的细胞(CART细胞或表达CAR的NK细胞)用来治疗癌症，其中癌症是血液癌症。血液癌症疾病是多种类型侵袭血液、骨髓和淋巴系统的癌症如白血病和恶性淋巴细胞增生性疾病。

[0895] 在一个方面，本发明的组合物和表达CAR的细胞(CART细胞或表达CAR的NK细胞)特别地可用于治疗髓样白血病、AML及其亚型、慢性髓样白血病(CML)、脊髓发育不良综合征(MDS)、骨髓增生性肿瘤(MPN)、组织细胞疾病和肥大细胞疾病。

[0896] 白血病可以划分成急性白血病和慢性白血病。急性白血病可以进一步划分为急性髓细胞白血病(AML)和急性淋巴样白血病(ALL)。慢性白血病包括慢性髓性白血病(CML)和慢性淋巴样白血病(CLL)。其他相关的疾病包括脊髓发育不良综合征(MDS，以前称作“白血病前期”)，其是依据髓样血细胞无效产生(或发育异常(dysplasia))而统一的血液疾病的多样性集合，和转化成AML的风险。

[0897] 淋巴瘤是一组从淋巴细胞形成的血细胞肿瘤。示例性淋巴瘤包括非霍奇金淋巴瘤和霍奇金淋巴瘤。

[0898] 在AML中，异常分化的长寿命髓样祖先细胞的恶变和失控增殖导致高循环数目的不成熟血液形式和恶性细胞替换正常骨髓。症状包括疲乏、脸色苍白、易淤紫和出血、发热和感染；白血病浸润的症状存在于仅约5％患者中(经常作为皮肤表现)。检验外周血涂片和骨髓具有诊断意义。现有治疗包括实现缓解的诱导化疗和避免复发的缓解后化疗(伴以或不伴以干细胞移植)。

[0899] AML具有彼此通过形态、免疫表型和细胞化学区分的众多亚型。基于优势细胞类型，描述了五个类型，包括髓样型、髓样单核细胞型、单核细胞型、红细胞样型和巨核细胞型。

[0900] 缓解诱导率是50％至85％。长期无疾病生存据报道在20％至40％患者中出现并且在用干细胞移植治疗的较年轻患者中增加至40％至50％。

[0901] 预后因素有助于确定治疗方案和强度；通常对具有强烈不良预后特征的患者给予更强烈形式的疗法，原因是认为潜在益处证明治疗毒性增加有理。最重要的预后因素是白血病细胞核型；有利的核型包括t(15;17)、t(8;21)和inv16(p13;q22)。不利因素包括递增的年龄、先前脊髓发育不良期、继发性白血病、WBC计数高和不存在Auer小体(Auer rods)。

[0902] 初始疗法尝试诱导缓解并且与ALL差异最大，因为AML对更少的药物做出反应。基础诱导治疗方案包括阿糖胞苷连续静脉内输注或大剂量5至7天；在这个时间期间静脉给予佐柔比星或伊达比星3天。一些方案包括6-硫鸟嘌呤、依托泊苷、长春新碱和泼尼松，但是不清楚它们的贡献。治疗通常导致明显的骨髓抑制，伴随感染或出血；在骨髓恢复之前存在明显的延迟时间。在这个时间期间，细心的预防性和支持性护理至关重要。

[0903] 慢性骨髓性(或髓样)白血病(CML)也称作慢性粒细胞白血病，并且表征为一种白细胞癌。常见的CML治疗方案包括Bcr-Abl酪氨酸激酶抑制剂伊马替尼(GLEEVEC®)、达沙替尼和尼洛替尼。Bcr-Abl酪氨酸激酶抑制剂特别可用于具有费城染色体易位的CML患者。

[0904] 脊髓发育不良综合征(MDS)是以杂乱和无效的造血或血液产生为特征的血液学医学疾病。因此,血液形成细胞的数目和质量不可逆地下降。一些MDS患者可能形成重度贫血,而其他患者无症状。MDS的分类方案是本领域已知的,具有指定特定血细胞类型(例如,成髓细胞、单核细胞和红细胞前体)的比率或频率的标准。MDS包括难治性贫血、难治性贫血伴环形铁粒幼红细胞(ring sideroblast)、难治性贫血伴过量母细胞、难治性贫血伴转化下的过量母细胞、慢性骨髓-单核细胞白血病(CML)。

[0905] MDS的治疗随症状的严重程度变动。针对出现重度症状的患者的激进治疗形式包括骨髓移植和采用血液制品支持(例如,输血)和造血生长因子(例如,促红细胞生成素)的支持疗法。其他药物频繁地用来治疗MDS:5-氮杂胞苷、地西他滨和来那度胺。在一些情况下,也可以施用铁螯合剂去铁胺**(Desferal®)**和地拉罗司**(Exjade®)**。

[0906] 在另一个实施方案中,本发明表达CAR的细胞(例如,CART细胞或表达CAR的NK细胞)用来治疗伴白血病干细胞的癌症或白血病。例如,白血病干细胞是$CD34^+/CD38^-$白血病细胞。

[0907] 本发明尤其提供了用于治疗癌症的组合物和方法。在一个方面,癌症是血液癌症,包括但不限于白血病(如急性髓细胞白血病、慢性髓性白血病、急性淋巴样白血病、慢性淋巴样白血病和脊髓发育不良综合征)和恶性淋巴细胞增生性疾病,包括淋巴瘤(如多发性骨髓瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、Burkitt淋巴瘤和小细胞-滤泡淋巴瘤和大细胞-滤泡淋巴瘤)。

[0908] 在一个方面,本发明表达CAR的细胞(例如,CART细胞或表达CAR的NK细胞)可以用来治疗其他癌症和恶性肿瘤,如,但不限于,例如,急性白血病,包括但不限于例如B细胞急性淋巴样白血病(“B-ALL”)、T细胞急性淋巴样白血病(“T-ALL”)、急性淋巴样白血病(ALL);一种或多种慢性白血病,包括但不限于,例如,慢性髓性白血病(CML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL);额外的血液癌症或血液疾病,包括但不限于,例如,B细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树状细胞肿瘤、Burkitt淋巴瘤、弥散性大B细胞淋巴瘤、滤泡淋巴瘤、多毛细胞白血病、小细胞或大细胞滤泡淋巴瘤、恶性淋巴细胞增生性疾病、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、脊髓发育不良和脊髓发育不良综合征、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、浆母细胞淋巴瘤、浆细胞样树状细胞肿瘤、Waldenstrom巨球蛋白血症和作为依据髓样血细胞无效产生(或发育异常)联合的多样性血液疾病集合的“白血病前期”等。本发明的CAR修饰的免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)可以单独施用或作为药物组合物与稀释剂和/或与其他组分如IL-2或其他细胞因子或细胞群体组合施用。

[0909] 本发明还提供用于抑制表达CD123的细胞群体增殖或减少表达CD123的细胞群体的方法,所述方法包括:使包含表达CD123的细胞的细胞群体与结合至该表达CD123的细胞的本发明表达CAR的细胞(例如,CD123 CART细胞或表达CD123 CAR的NK细胞)接触。在一个具体方面,本发明提供用于抑制表达CD123的癌细胞群体增殖或减少表达CD123的癌细胞群体的方法,所述方法包括:使表达CD123的癌细胞的细胞群体与结合至该表达CD123的细胞的本发明表达CAR的细胞(例如,CD123 CAR T细胞或表达CD123 CAR的NK细胞)接触。在一个方面,本发明提供用于抑制表达CD123的癌细胞群体增殖或减少表达CD123的癌细胞群体的方法,所述方法包括:使表达CD123的癌细胞的细胞群体与结合至该表达CD123的细胞的本发明表达CAR的细胞(例如,CD123 CAR T细胞或表达CD123 CAR的NK细胞)接触。在某些方

面，在患有髓样白血病或与表达CD123的细胞相关的另一种癌的受试者或前述癌的动物模型中，相对于阴性对照，本发明的表达CAR的细胞(例如，CD123 CART细胞或表达CD123 CAR的NK细胞减少细胞和/或癌细胞的量、数目、数量或百分数至少25％、至少30％、至少40％、至少50％、至少65％、至少75％、至少85％、至少95％、或至少99％。在一个方面，受试者是人。

[0910] 本发明还提供用于预防、治疗和/或管理与表达CD123的细胞相关的疾病(例如，表达CD123的血液癌症或非典型癌)的方法，所述方法包括：向有需求的受试者施用与表达CD123的细胞结合的本发明表达CAR的细胞(例如，CD123 CART细胞或表达CD123 CAR的NK细胞)。在一个方面，受试者是人。与表达CD123的细胞相关的病症的非限制性例子包括自身免疫疾病(如狼疮)、炎性疾病(如变态反应和哮喘)和癌症(如表达CD123的血液癌症或非典型癌)。

[0911] 本发明还提供用于预防、治疗和/或管理与表达CD123的细胞相关的疾病的方法，所述方法包括：向有需求的受试者施用与表达CD123的细胞结合的本发明表达CAR的细胞(例如，CD123 CART细胞或表达CD123 CAR的NK细胞)。在一个方面，受试者是人。

[0912] 本发明提供用于防止与表达CD123的细胞相关的癌复发的方法，所述方法包括：向有需求的受试者施用与表达CD123的细胞结合的本发明表达CAR的细胞(例如，CD123 CART细胞或表达CD123 CAR的NK细胞)。在一个方面，该方法包括与有效量的另一种治疗组合向有需求的受试者施用有效量的本文所述的表达CAR的细胞(例如，CD123 CART细胞或表达CD123 CAR的NK细胞)，所述细胞与表达CD123的细胞结合。

[0913] 骨髓消融术

[0914] 在一个方面，本发明提供了用于骨髓消融的组合物和方法。例如，在一个方面，本发明提供了用于根除受试者中现有骨髓的至少一部分的组合物和方法。本文描述了在某些情况下，包含本发明的CD123 CAR的CART123细胞根除CD123阳性骨髓髓样祖细胞。

[0915] 在一个方面，本发明提供了一种骨髓消融的方法，该方法包括将本发明的表达CAR的细胞(例如，CD123 CART细胞或表达CD123 CAR的NK细胞)施用于需要骨髓消融的受试者。例如，本发明的方法可用于根除受试者的一些或全部现有骨髓，所述受试者患有疾病或疾患，其中骨髓移植或骨髓修复是有益的治疗策略。在一个方面，在骨髓移植之前在受试者中进行本发明的骨髓消融方法，包括本文其他地方描述的施用表达CAR的细胞(例如，CD123 CART细胞或表达CD123 CAR的NK细胞)。因此，在一个方面，本发明的方法提供了在骨髓或干细胞移植之前的细胞调理方案。在一个方面，骨髓移植包括干细胞的移植。骨髓移植可以包括自体或同种异体细胞的移植。

[0916] 本发明提供了治疗疾病或疾患的方法，该方法包括施用本发明的CAR表达细胞(例如，CD123 CART细胞或表达CD123 CAR的NK细胞)，以根除至少一部分现有骨髓。该方法可以用作治疗任何其中骨髓移植是有益的疾病或疾患的至少一部分治疗方案。也就是说，本发明的方法可以用于需要骨髓移植的任何受试者。在一个方面，包括施用表达CAR的细胞(例如，CD123 CART细胞或表达CD123 CAR的NK细胞)的骨髓消融可用于治疗AML。在某些方面，通过本发明方法的骨髓消融可用于治疗血液癌症、实体瘤、血液病、代谢紊乱、HIV、HTLV、溶酶体贮积病症和免疫缺陷。

[0917] 本文公开的组合物和方法可用于根除至少一部分现有骨髓以治疗血液癌症，包括

但不限于白血病、淋巴瘤、骨髓瘤、ALL、AML、CLL、CML、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、和多发性骨髓瘤。

[0918] 本文公开的组合物和方法可用于治疗血液疾病，包括但不限于脊髓发育不良、贫血、阵发性夜间血红蛋白尿、再生障碍性贫血、获得性纯红细胞性贫血、戴-布(Diamon-Blackfan)贫血、范可尼贫血、血细胞减少、巨核细胞性血小板减少症、骨髓增生性疾病、真性红细胞增多症、原发性血小板增多症、骨髓纤维化、血红蛋白病、镰状细胞病、β地中海贫血症等。

[0919] 本文公开的组合物和方法可用于治疗溶酶体贮积病症，包括但不限于脂沉积症、鞘磷脂沉积症、脑白质营养不良、粘多糖病、糖蛋白病、婴儿神经元蜡样脂褐质病、詹-比(Jansky-Bielschowsky)病、尼曼-皮克病、戈谢病、肾上腺脑白质营养不良、白细胞增多症、克拉伯病、赫尔勒综合征、沙伊综合征、赫尔勒-舍伊综合征、猎人综合征、桑菲利波综合征、莫尔基奥综合征、马-拉(Maroteaux-Lamy)综合征、斯来综合征、粘脂沉积症、岩藻糖脂病、天冬氨酰葡萄糖尿、α-甘露糖苷病和沃尔曼病。

[0920] 本文公开的组合物和方法可用于治疗免疫缺陷，包括但不限于T细胞缺陷、组合的T细胞和B细胞缺陷、吞噬细胞病症、免疫失调疾病、先天免疫缺陷、共济失调毛细血管扩张症、迪乔治综合征、严重联合免疫缺陷(SCID)、维-奥(Wiskott-Aldrich)综合征、科斯特曼综合征、施-戴(Shwachman-Diamond)综合征、格里瑟里综合征和NF-κB必需调节物(NEMO)缺陷。

[0921] 在一个方面，本发明提供了治疗癌症的方法，其包括骨髓调理，其中受试者骨髓的至少一部分被表达CAR的细胞(例如，CD123 CART细胞或表达CD123 CAR的NK细胞)根除。例如，在某些情况下，受试者的骨髓包含可被表达CAR的细胞(例如，CD123 CART细胞或表达CD123 CAR的NK细胞)的活性靶向和消除的恶性前体细胞。在一个方面，骨髓调理疗法包括在根除天然骨髓后向受试者施用骨髓或干细胞移植物。在一个方面，骨髓修复疗法与一种或多种其它抗癌疗法组合，包括但不限于抗肿瘤CAR疗法、化疗、放射等。

[0922] 在一个方面，在输注骨髓或干细胞移植之前可能需要根除已施用的表达CAR的细胞(例如，CD123 CART细胞或表达CD123 CAR的NK细胞)。可以使用任何合适的策略或治疗来完成表达CAR的细胞(例如，CD123 CART细胞或表达CD123 CAR的NK细胞)的根除，包括但不限于使用自杀基因、使用RNA编码的CAR的有限CAR持续性、或包括抗体或化学疗法的抗T细胞模式。

[0923] 联合疗法

[0924] 本文所述的表达CAR的细胞可以与其他已知药物和疗法组合使用。如本文所用，“组合”施用意指，在受试者罹患病症期间向受试者递送两种或更多种不同治疗，例如，在受试者已经诊断患有该病症后并且在该病症已经治愈或消除或治疗已经出于其他原因而停止之前，递送两种或更多种治疗。在一些实施方案中，当开始递送第二治疗时，一种治疗的递送仍然正在进行，从而就施用而言存在重叠。这有时在本文中称作“同时”或“同步递送”。在其他实施方案中，一种治疗的递送在开始递送第二种治疗前结束。在任一种情况的一些实施方案中，治疗因为联合施用而更有效。例如，第二治疗是更有效的，例如，在第二治疗较少时观察到等同作用，或第二治疗减少症状到更大程度，大于如果第二治疗在第一治疗不存在时施用所见的程度、或采用第一治疗时观察到类似的情况。在一些实施方案中，如此递

送，从而与该病症相关的症状或其他参数的减少大于一种治疗在另一种治疗不存在下递送情况下将会观察到的减少。两种治疗药的效果可以部分加合、完全加合或超过加合。递送可以是这样的，从而当递送第二治疗药时，仍然可检测第一治疗药的效果。

[0925] 本文所述的表达CAR的细胞和至少一种额外的治疗药可以在相同的组合物中或在分立的组合物中同时施用或依次施用。对于依次施用，本文所述的表达CAR的细胞可以首先施用并且额外的药物可以接着施用，或施用顺序可以相反。

[0926] CAR疗法和/或其他治疗药、操作或模式可以在活动性疾病时间期间或在缓解或活动度更小的疾病时间期间施用。CAR疗法可以在其他治疗前、与该治疗同时、治疗后或在疾病缓解期间施用。

[0927] 当组合施用时，CAR疗法和额外的药物(例如，第二或第三药物)或前者全部可以按这样的量或剂量施用，所述量或剂量高于、低于或等于单独(例如，作为单药疗法)使用的每种药物的量或剂量。在某些实施方案中，CAR疗法、额外的药物(例如，第二或第三药物)或前者全部的施用量或剂量比单独(例如，作为单药疗法)使用的每种药物的量或剂量低(例如，低至少20％、至少30％、至少40％或至少50％)。在其他实施方案中，产生所需作用(例如，治疗癌症)的CAR治疗、额外药物(例如，第二或第三药物)或前者全部的量或剂量比实现相同治疗作用所需要的单独(例如，作为单药疗法)使用的每种药物的量或剂量低(例如，低至少20％、至少30％、至少40％或至少50％)。

[0928] 在其他方面，本文所述的表达CAR的细胞可以用在治疗方案中与手术、细胞因子、放射、或化疗如环磷酰胺、氟达拉滨、组蛋白脱乙酰酶抑制剂、脱甲基剂或肽疫苗(如Izumoto等人，2008J Neurosurg 108:963-971中描述的那种)组合使用。

[0929] 在某些情况下，本发明的化合物与其他治疗药如其他抗癌药、抗过敏药、抗恶心药(或镇吐药)、镇痛药、细胞保护药及其组合来组合。

[0930] 在一个实施方案中，本文所述的表达CAR的细胞可以与化疗药组合使用。示例性化疗药包括蒽环类(例如，多柔比星(例如，脂质体多柔比星))、长春碱类生物碱(例如，长春碱、长春新碱、长春地辛、长春瑞滨)、烷基化剂(例如，环磷酰胺、达卡巴嗪、美法仑、异环磷酰胺、替莫唑胺)、免疫细胞抗体(例如，alemtuzamab、吉妥珠单抗、利妥昔单抗、奥法木单抗(ofatumumab)、托西莫单抗(tositumomab)、贝伦妥单抗(brentuximab))、抗代谢物(包括例如叶酸拮抗剂、嘧啶类似物、嘌呤类似物和腺苷脱氨酶抑制剂(例如，氟达拉滨))、mTOR抑制剂、TNFR糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白(GITR)激动剂；蛋白酶体抑制剂(例如，阿克拉霉素A、胶霉毒素或硼替佐米)、免疫调节剂如沙立度胺或沙利度胺衍生物(例如，来那度胺)。

[0931] 考虑用于联合疗法的一般化疗药包括阿那曲唑(Arimidex®)、比卡鲁胺(Casodex®)、硫酸博来霉素(Blenoxane®)、白消安(Myleran®)、白消安注射剂(Busulfex®)、卡培他滨(Xeloda®)、N4-戊氧羰基-5-脱氧-5-氟胞苷、卡铂(Paraplatin®)、卡莫司汀(BiCNU®)、苯丁酸氮芥(Leukeran®)、顺铂(Platinol®)、克拉立滨(Leustatin®)、环磷酰胺(Cytoxan®或Neosar®)、阿糖胞苷、嘧啶阿糖甙(Cytosar-U®)、阿糖胞苷脂质体注射剂(DepoCyt®)、达卡巴嗪(DTIC-Dome®)、更生霉素(dactinomycin)(放线菌素D，Cosmegan)、盐酸佐柔比星(Cerubidine®)、柠檬酸佐柔比星脂质体注射剂

(DaunoXome®)、地塞米松、多西紫杉醇(Taxotere®)、盐酸多柔比星(阿霉素®，Rubex®)、依托泊苷(Vepesid®)、磷酸氟达拉滨(Fludara®)、5-氟尿嘧啶(Adrucil®、Efudex®)、氟他胺(Eulexin®)、替扎他滨(tezacitibine)、吉西他滨(difluorodeoxycitidine)、羟基脲(Hydrea®)、伊达比星(Idamycin®)、异环磷酰胺(IFEX®)、伊立替康(Camptosar®)、L-天冬酰胺酶(ELSPAR®)、甲酰四氢叶酸钙、美法仑(Alkeran®)、6-巯基嘌呤(Purinethol®)、甲氨蝶呤(Folex®)、米托蒽醌(米托蒽醌)、米罗他(mylotarg)、紫杉醇(Taxol®)、phoenix(钇90/MX-DTPA)、喷司他丁、聚苯丙生20连同卡莫司汀植入物(Gliadel®)、柠檬酸他莫昔芬(Nolvadex®)、替尼泊苷(Vumon®)、6-硫鸟嘌呤、塞替派、替拉扎明(Tirazone®)、注射用盐酸拓扑替康(Hycamptin®)、长春碱(Velban®)、长春新碱(Oncovin®)和长春瑞滨(Navelbine®)。

[0932] 与本发明化合物组合的特定意义的抗癌药包括:蒽环类;烷基化剂;抗代谢物;抑制钙依赖性磷酸酶钙调磷酸酶或p70S6激酶FK506)或抑制p70S6激酶的药物;mTOR抑制剂;免疫调节剂;蒽环类;长春花生物碱类;蛋白酶体抑制剂;GITR激动剂;蛋白酪氨酸磷酸酶抑制剂;CDK激酶抑制剂;BTK抑制剂;MKN激酶抑制剂;DGK激酶抑制剂;或溶瘤性病毒。

[0933] 示例性抗代谢物包括但不限于嘧啶类似物、嘌呤类似物和腺苷脱氨酶抑制剂):甲氨蝶呤(Rheumatrex®、Trexall®)、5-氟尿嘧啶(Adrucil®、Efudex®、Fluoroplex®)、氟尿苷(FUDF®)、阿糖胞苷(Cytosar-U®、Tarabine PFS)、6-巯基嘌呤(Puri-Nethol®)、6-硫鸟嘌呤(硫鸟嘌呤Tabloid®)、磷酸氟达拉滨(Fludara®)、喷司他丁(Nipent®)、培美曲塞(Alimta®)、雷替曲塞(Tomudex®)、克拉屈滨(Leustatin®)、氯法拉滨(Clofarex®、Clolar®)、阿扎胞苷(Vidaza®)、地西他滨和吉西他滨(Gemzar®)。优选的抗代谢物包括阿糖胞苷、氯法拉滨和氟达拉滨。

[0934] 示例性烷基化剂包括但不限于氮芥类、环乙亚胺衍生物类、烷基磺酸酯类、亚硝基脲类和三氮烯类):尿嘧啶氮芥(Aminouracil Mustard®、Chlorethaminacil®、Demethyldopan®、Desmethyldopan®、Haemanthamine®、Nordopan®、尿嘧啶氮芥、Uracillost®、Uracilmostaza®、Uramustin®、乌拉莫司汀®)、chlormethine(Mustargen®)、环磷酰胺(Cytoxan®、Neosar®、Clafen®、Endoxan®、Procytox®、Revimmune™)、异环磷酰胺(Mitoxana®)、美法仑(Alkeran®)、苯丁酸氮芥(Leukeran®)、哌泊溴烷(Amedel®、Vercyte®)、三亚乙基蜜胺(Hemel®、Hexalen®、Hexastat®)、三乙烯硫代磷酰胺、替莫唑胺(Temodar®)、塞替派(Thioplex®)、白消安(Busilvex®、Myleran®)、卡莫司汀(BiCNU®)、罗莫司汀(CeeNU®)、链佐星(Zanosar®)和达卡巴嗪(DTIC-Dome®)。额外的示例性烷基化

剂包括但不限于奥沙利铂(Eloxatin®);替莫唑胺(Temodar®和Temodal®);更生霉素(dactinomycin)(也称作放线菌素-D、Cosmegen®);美法仑(也称作L-PAM、L-沙可来新和苯丙氨酸氮芥、Alkeran®);六甲蜜胺(Altretamine)(也称作六甲基三聚氰胺(HMM)、Hexalen®);卡莫司汀(BiCNU®);苯达莫司汀(Treanda®);白消安(Busulfex®和Myleran®);卡铂(Paraplatin®);罗莫司汀(也称作CCNU、CeeNU®);顺铂(也称作CDDP、Platinol®和Platinol®-AQ);苯丁酸氮芥(Leukeran®);环磷酰胺(Cytoxan®和Neosar®);达卡巴嗪(也称作DTIC、DIC和咪唑甲酰胺、DTIC-Dome®);六甲蜜胺(Altretamine)(也称作六甲基三聚氰胺(HMM)、Hexalen®);异环磷酰胺(Ifex®);Prednumustine;丙卡巴肼(Matulane®);二氯甲二乙胺(也称作氮芥、氮氯嗪和盐酸氮芥、Mustargen®);链佐星(Zanosar®);塞替派(也称作thiophosphoamide、TESPA和TSPA、Thioplex®);环磷酰胺(Endoxan®、Cytoxan®、Neosar®、Procytox®、Revimmune®);和苯达莫司汀HCl(Treanda®)。

[0935] 在实施方案中,将本文所述的表达CAR的细胞与氟达拉滨、环磷酰胺和/或利妥昔单抗组合施用至受试者。在实施方案中,将本文所述的表达CAR的细胞与氟达拉滨、环磷酰胺和利妥昔单抗(FCR)组合施用至受试者。在实施方案中,受试者患有CLL。例如,受试者第17染色体短臂中具有缺失(del(17p)(例如,在白血病细胞中)。在其他实例中,受试者没有del(17p)。在实施方案中,受试者包含在免疫球蛋白重链可变区(IgV_H)基因中包含突变的白血病细胞。在其他实施方案中,受试者不包含在免疫球蛋白重链可变区(IgV_H)基因中包含突变的白血病细胞。在实施方案中,氟达拉滨按以下剂量施用:约10-50mg/m^2(例如,约10-15、15-20、20-25、25-30、30-35、35-40、40-45或45-50mg/m^2),例如,静脉内施用。在实施方案中,环磷酰胺按以下剂量施用:约200-300mg/m^2(例如,约200-225、225-250、250-275、或275-300mg/m^2),例如,静脉内施用。在实施方案中,利妥昔单抗按以下剂量施用:约400-600mg/m^2(例如,400-450、450-500、500-550或550-600mg/m^2),例如,静脉内施用。

[0936] 在实施方案中,将本文所述的表达CAR的细胞与苯达莫司汀和利妥昔单抗组合施用至受试者。在实施方案中,受试者患有CLL。例如,受试者第17染色体短臂中具有缺失(del(17p)(例如,在白血病细胞中)。在其他实例中,受试者没有del(17p)。在实施方案中,受试者包含在免疫球蛋白重链可变区(IgV_H)基因中包含突变的白血病细胞。在其他实施方案中,受试者不包含在免疫球蛋白重链可变区(IgV_H)基因中包含突变的白血病细胞。在实施方案中,苯达莫司汀按以下剂量施用:约70-110mg/m^2(例如,70-80、80-90、90-100或100-110mg/m^2),例如,静脉内施用。在实施方案中,利妥昔单抗按以下剂量施用:约400-600mg/m^2(例如,400-450、450-500、500-550或550-600mg/m^2),例如,静脉内施用。

[0937] 在实施方案中,将本文所述的表达CAR的细胞与利妥昔单抗、环磷酰胺、多柔比星、长春新碱和/或皮质类固醇(例如,泼尼松)组合施用至受试者。在实施方案中,将本文所述的表达CAR的细胞与利妥昔单抗、环磷酰胺、多柔比星、长春新碱和泼尼松(R-CHOP)组合施用至受试者。在实施方案中,受试者患有弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)。在实施方案中,受试者具有非大型局限阶段DLBCL(例如,包括患有小于7cm大小/直径的肿瘤)。在实施方案

中，受试者用与R-CHOP组合的照射治疗。例如，向受试者施用R-CHOP(例如，1-6个周期，例如，1、2、3、4、5或6个周期的R-CHOP)，随后照射。在一些情况下，在照射后向受试者施用R-CHOP(例如，1-6个周期，例如，1、2、3、4、5或6个周期的R-CHOP)。

[0938] 在实施方案中，将本文所述的表达CAR的细胞与依托泊苷、泼尼松、长春新碱、环磷酰胺、多柔比星和/或利妥昔单抗组合施用至受试者。在实施方案中，将本文所述的表达CAR的细胞与依托泊苷、泼尼松、长春新碱、环磷酰胺、多柔比星和利妥昔单抗(EPOCH-R)组合施用至受试者。在实施方案中，将本文所述的表达CAR的细胞与调整剂量的EPOCH-R(DA-EPOCH-R)组合施用至受试者。在实施方案中，受试者患有B细胞淋巴瘤，例如，Myc-重排的侵袭性B细胞淋巴瘤。

[0939] 在实施方案中，将本文所述的表达CAR的细胞与利妥昔单抗和/或来那度胺组合施用至受试者。来那度胺((RS)-3-(4-氨基-1-氧代1,3-二氢-2H-异吲哚-2-基)哌啶-2,6-二酮)是免疫调节剂。在实施方案中，将本文所述的表达CAR的细胞与利妥昔单抗和来那度胺组合施用至受试者。在实施方案中，受试者患有滤泡淋巴瘤(FL)或套细胞淋巴瘤(MCL)。在实施方案中，受试者患有FL并且先前尚未用癌疗法治疗过。在实施方案中，来那度胺按以下剂量施用：约10-20mg(例如，10-15或15-20mg)，例如，每日一次。在实施方案中，利妥昔单抗按以下剂量施用：约350-550mg/m^2(例如，350-375、375-400、400-425、425-450、450-475、或475-500mg/m^2)，例如，静脉内施用。

[0940] 示例性mTOR抑制剂例如包括坦罗莫司；地磷莫司(正式地称作deferolimus，(1R,2R,4S)-4-[(2R)-2[(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28Z,30S,32S,35R)-1,18-二羟-19,30-二甲氧基-15,17,21,23,29,35-六甲基-2,3,10,14,20-五氧代-11,36-二氧杂-4-氮杂三环并[30.3.1.$0^{4,9}$]三十七碳-16,24,26,28-四烯-12-基]丙基]-2-甲氧环己基二甲基次膦酸酯，也称作AP23573和MK8669，并且在PCT公开号WO 03/064383中描述)；依维莫司(**Afinitor®**或RAD001)；雷帕霉素(AY22989，**Sirolimus®**)；Simapimod(CAS164301-51-3)；emsirolimus，(5-{2,4-双[(3S)-3-甲基吗啉-4-基]吡啶并[2,3-d]嘧啶-7-基}-2-甲氧苯基)甲醇(AZD8055)；2-氨基-8-[反-4-(2-羟乙氧基)环己基]-6-(6-甲氧基-3-吡啶基)-4-甲基-吡啶并[2,3-d]嘧啶-7(8H)-酮(PF04691502，CAS1013101-36-4)；和N^2-[1,4-二氧待-[[4-(4-氧代-8-苯基-4H-1-苯并吡喃-2基)吗啉鎓-4-基]甲氧基]丁基]-L-精氨酰甘氨酰-L-α-天冬氨酰L-丝氨酸(SEQ ID NO:378)，内盐(SF1126，CAS936487-67-1)和XL765。

[0941] 示例性免疫调节剂例如包括阿夫土珠单抗(afutuzumab)(从**Roche®**可获得))；PEG化非格司亭**(Neulasta®)**；来那度胺(CC-5013、雷利米得**(Revlimid)®**)；沙立度胺**(Thalomid®)**、actimid(CC4047)；和IRX-2(包含白介素1、白介素2和干扰素γ的人细胞因子的混合物，CAS951209-71-5，从IRX Therapeutics可获得)。

[0942] 示例性蒽环类例如包括多柔比星(阿霉素和**Rubex®**)；博来霉素**(lenoxane®)**；佐柔比星(盐酸佐柔比星、柔红霉素和盐酸红比霉素(rubidomycin)、**Cerubidine®**)；脂质体佐柔比星(柠檬酸佐柔比星脂质体、**DaunoXome®**)；米托蒽醌(DHAD、**Novantrone®**)；表柔比星(Ellence™)；伊达比星(**Idamycin®**、Idamycin **PFS®**)；丝裂霉素C

(Mutamycin®);格尔德霉素;除莠霉素;近灰霉素(ravidomycin);和去乙酰近灰霉素(desacetylravidomycin)。

[0943] 示例性长春碱类生物碱例如包括酒石酸长春瑞滨(Navelbine®)、长春新碱(Oncovin®)和长春地辛(Eldisine®));长春碱(也称作硫酸长春碱、长春花碱和VLB、Alkaban-AQ®和Velban®);和长春瑞滨(Navelbine®)。

[0944] 示例性蛋白酶体抑制剂包括硼替佐米(Velcade®);卡非佐米(PX-171-007、(S)-4-甲基-N-((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基环氧乙烷-2-基)-1-氧代戊-2-基)氨基)-1-氧代-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-吗啉代)-4-苯基丁酰氨基)-戊酰胺);marizomib(NPI-0052);枸橼酸艾沙佐米(ixazomib citrate)(MLN-9708);delanzomib(CEP-18770);和O-甲基-N-[(2-甲基-5-噻唑基)羰基]-L-丝氨酰-O-甲基-N-[(1S)-2-[(2R)-2-甲基-2-环氧乙烷基]-2-氧代-1-(苯基甲基)乙基-L-丝氨酰胺(ONX-0912)。

[0945] 在实施方案中,将本文所述的表达CAR的细胞与贝伦妥单抗(brentuximab)组合施用至受试者。贝伦妥单抗是抗CD30抗体和单甲基澳瑞司他汀E的抗体-药物缀合物。在实施方案中,受试者患有霍奇金淋巴瘤(HL),例如,复发性或难治性HL。在实施方案中,受试者包含CD30+ HL。在实施方案中,受试者已经接受过自体干细胞移植(ASCT)。在实施方案中,受试者尚未接受ASCT。在实施方案中,贝伦妥单抗按以下剂量施用:约1-3mg/kg(例如,约1-1.5、1.5-2、2-2.5、或2.5-3mg/kg),例如,静脉内施用,例如,每3周施用一次。

[0946] 在实施方案中,将本文所述的表达CAR的细胞与贝伦妥单抗和达卡巴嗪组合或与贝伦妥单抗和苯达莫司汀组合施用至受试者。达卡巴嗪是化学名称为5-(3,3-二甲基-1-三氮烯基)咪唑-4-甲酰胺的烷基化剂。苯达莫司汀是化学名称为4-[5-[双(2-氯乙基)氨基]-1-甲基苯并咪唑-2-基]丁酸的烷基化剂。在实施方案中,受试者患有霍奇金淋巴瘤(HL)。在实施方案中,受试者先前尚未用癌疗法治疗过。在实施方案中,受试者是至少60岁,例如,60、65、70、75、80、85岁或更老。在实施方案中,达卡巴嗪按以下剂量施用:约300-450mg/m^2(例如,约300-325、325-350、350-375、375-400、400-425或425-450mg/m^2),例如,静脉内施用。在实施方案中,苯达莫司汀按以下剂量施用:约75-125mg/m^2(例如,75-100或100-125mg/m^2,例如,约90mg/m^2),例如,静脉内施用。在实施方案中,贝伦妥单抗按以下剂量施用:约1-3mg/kg(例如,约1-1.5、1.5-2、2-2.5、或2.5-3mg/kg),例如,静脉内施用,例如,每3周施用一次。

[0947] 在一些实施方案中,将本文所述的表达CAR的细胞与CD20抑制剂,例如,抗CD20抗体(例如,抗CD20特异性抗体或双特异性抗体)或其片段组合施用至受试者。示例性抗CD20抗体包括但不限于利妥昔单抗、奥法木单抗、奥瑞珠单抗(ocrelizumab)、维妥珠单抗、obinutuzumab、TRU-015(Trubion Pharmaceuticals)、ocaratuzumab和Pro131921(Genentech)。参见,例如,Lim等人,Haematologica.95.1(2010):135-43。

[0948] 在一些实施方案中,抗CD20抗体包括利妥昔单抗。利妥昔单抗是与CD20结合和造成CD20表达细胞的细胞裂解的嵌合小鼠/人单克隆抗体IgG1κ,例如,如www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2010/103705s5311lbl.pdf中所述。在实施方案中,将本文所述的表达CAR的细胞与利妥昔单抗组合施用至受试者。在实施方案

中，受试者患有CLL或SLL。

[0949] 在一些实施方案中，将利妥昔单抗静脉内施用，例如，作为静脉内输注施用。例如，每次输注提供约500-2000mg(例如，约500-550、550-600、600-650、650-700、700-750、750-800、800-850、850-900、900-950、950-1000、1000-1100、1100-1200、1200-1300、1300-1400、1400-1500、1500-1600、1600-1700、1700-1800、1800-1900、或1900-2000mg)利妥昔单抗。在一些实施方案中，利妥昔单抗按以下剂量施用：150mg/m^2至750mg/m^2，例如，约150-175mg/m^2、175-200mg/m^2、200-225mg/m^2、225-250mg/m^2、250-300mg/m^2、300-325mg/m^2、325-350mg/m^2、350-375mg/m^2、375-400mg/m^2、400-425mg/m^2、425-450mg/m^2、450-475mg/m^2、475-500mg/m^2、500-525mg/m^2、525-550mg/m^2、550-575mg/m^2、575-600mg/m^2、600-625mg/m^2、625-650mg/m^2、650-675mg/m^2或675-700mg/m^2，其中m^2表示受试者的体表面积。在一些实施方案中，利妥昔单抗按至少4天(例如，4、7、14、21、28、35天或更长)的给药间隔施用。例如，利妥昔单抗按至少0.5周(例如，0.5、1、2、3、4、5、6、7、8周或更长)的给药间隔施用。在一些实施方案中，利妥昔单抗按本文所述的剂量和给药间隔施用一段时间，例如，至少2周，例如，至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20周或更长时间。例如，利妥昔单抗按本文所述的剂量和给药间隔施用每个治疗周期总计至少4个剂量(例如，每个治疗周期至少4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16个或更多个剂量)。

[0950] 在一些实施方案中，抗CD20抗体包含奥法木单抗。奥法木单抗是分子量大约149kDa的抗CD20IgG1κ人单克隆抗体。例如，奥法木单抗使用转基因小鼠和杂交瘤技术生成并且从重组鼠细胞系(NS0)表达及纯化。参见，例如，www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2009/125326lbl.pdf；和临床试验识别号NCT01363128、NCT01515176、NCT01626352和NCT01397591。在实施方案中，将本文所述的表达CAR的细胞与奥法木单抗组合施用至受试者。在实施方案中，受试者患有CLL或SLL。

[0951] 在一些实施方案中，将奥法木单抗作为静脉内输注施用。例如，每次输注提供约150-3000mg(例如，约150-200、200-250、250-300、300-350、350-400、400-450、450-500、500-550、550-600、600-650、650-700、700-750、750-800、800-850、850-900、900-950、950-1000、1000-1200、1200-1400、1400-1600、1600-1800、1800-2000、2000-2200、2200-2400、2400-2600、2600-2800或2800-3000mg)奥法木单抗。在实施方案中，奥法木单抗按起始剂量约300mg、随后2000mg施用，例如，施用约11个剂量，例如，施用24周。在一些实施方案中，奥法木单抗按至少4天(例如，4、7、14、21、28、35天或更长)的给药间隔施用。例如，奥法木单抗按以下给药间隔施用：至少1周，例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、24、26、28、20、22、24、26、28、30周或更长时间。在一些实施方案中，奥法木单抗抗按本文所述的剂量和给药间隔施用一段时间，例如，至少1周，例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、22、24、26、28、30、40、50、60周或更长时间，或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12个月或更长时间，或1、2、3、4、5年或更长时间。例如，奥法木单抗按本文所述的剂量和给药间隔施用每个治疗周期总计至少2个剂量(例如，每个治疗周期至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、18、20个或更多个剂量)。

[0952] 在一些情况下，抗CD20抗体包括奥瑞珠单抗。奥瑞珠单抗是人源化抗CD20单克隆抗体，例如，如临床试验识别号NCT00077870、NCT01412333、NCT00779220、NCT00673920、NCT01194570和Kappos等人，Lancet.19.378(2011):1779-87中所述。

[0953] 在一些情况下，抗CD20抗体包括维妥珠单抗。维妥珠单抗是针对CD20的人源化单克隆抗体。参见，例如，临床试验识别号NCT00547066、NCT00546793、NCT01101581和Goldenberg等人,Leuk Lymphoma.51(5)(2010):747-55。

[0954] 在一些情况下，抗CD20抗体包括GA101。GA101(也称作obinutuzumab或RO5072759)是人源化和糖工程化的抗CD20单克隆抗体。参见，例如，Robak.Curr.Opin.Investig.Drugs.10.6(2009):588-96:588-96;临床试验识别号:NCT01995669、NCT01889797、NCT02229422和NCT01414205;和www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/125486s000lbl.pdf。

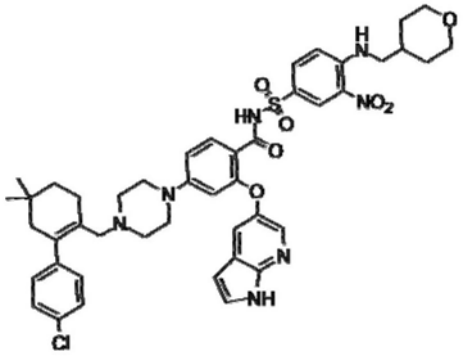
[0955] 在一些情况下，抗CD20抗体包括AME-133v。AME-133v(也称作LY2469298或ocaratuzumab)是针对的CD20的人源化IgG1单克隆抗体，与利妥昔单抗相比，所述单克隆抗体具有增加的FcγRIIIa受体亲和力和增强的抗体依赖性细胞毒作用(ADCC)活性。参见，例如，Robak等人,BioDrugs 25.1(2011):13-25;和Forero-Torres等人,Clin Cancer Res.18.5(2012):1395-403。

[0956] 在一些情况下，抗CD20抗体包括PRO131921。PRO131921是与利妥昔单抗相比，经工程化以具有更好的FcγRIIIa结合作用和增强的ADCC的人源化抗CD20单克隆抗体。参见，例如，Robak等人,BioDrugs 25.1(2011):13-25;和Casulo等人,Clin Immunol.154.1(2014):37-46;和临床试验识别号NCT00452127。

[0957] 在一些情况下，抗CD20抗体包括TRU-015。TRU-015是从针对CD20的抗体的结构域衍生的抗CD20融合蛋白。TRU-015比单克隆抗体小，但是保留Fc介导的效应子功能。参见，例如，Robak等人,BioDrugs 25.1(2011):13-25。TRU-015含有与人IgG1铰链区连接的抗CD20单链可变片段(scFv)、CH2和CH3结构域，但是缺少CH1结构域和CL结构域。

[0958] 在一些实施方案中，本文所述的抗CD20抗体缀合于或结合至治疗药，例如，本文所述的化疗药(例如，环磷氮芥、氟达拉滨、组蛋白脱乙酰酶抑制剂、去甲基化剂、肽疫苗、抗肿瘤抗生素、酪氨酸激酶抑制剂、烷基化剂、抗微管或抗有丝分裂剂)、抗过敏药、抗恶心药(或镇吐药)、止疼药或细胞保护药。

[0959] 在实施方案中，将本文所述的表达CAR的细胞与B细胞淋巴瘤2(BCL-2)抑制剂(例如，venetoclax，也称作ABT-199或GDC-0199)和/或利妥昔单抗组合施用至受试者。在实施方案中，将本文所述的表达CAR的细胞与venetoclax和利妥昔单抗组合施用至受试者。Venetoclax是抑制抗凋亡蛋白BCL-2的小分子。下文显示venetoclax(4-(4-{[2-(4-氯苯基)-4.4-二甲基环己-1-烯-1-基]甲基}哌嗪-1-基)-N-({3-硝基-4-[(四氢-2H-吡喃-4-基甲基)氨基]苯基}磺酰基)-2-(1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基氧)苯甲酰胺)的结构。

[0960] 

[0961] 在实施方案中，受试者患有CLL。在实施方案中，受试者患有复发性CLL，例如，先前已经向受试者施用癌疗法。在实施方案中，venetoclax按以下剂量施用：约15-600mg(例如，15-20、20-50、50-75、75-100、100-200、200-300、300-400、400-500或500-600mg)，例如，每日一次施用。在实施方案中，利妥昔单抗按以下剂量施用：约350-550mg/m^2(例如，350-375、375-400、400-425、425-450、450-475、或475-500mg/m^2)，例如，静脉内施用，例如，每月一次施用。

[0962] 在一些实施方案中，将本文所述的表达CAR的细胞与溶瘤性病毒组合施用。在实施方案中，溶瘤性病毒能够在癌细胞中选择性复制并且触发癌细胞死亡或延缓其生长。在一些情况下，溶瘤性病毒对非癌细胞无影响或影响最小。溶瘤性病毒包括但不限于溶瘤性腺病毒、溶瘤性单纯疱疹病毒、溶瘤性逆转录病毒、溶瘤性细小病毒、溶瘤性痘苗病毒、溶瘤性辛德比斯病毒、溶瘤性流感病毒、或溶瘤性RNA病毒(例如，溶瘤性呼肠孤病毒、溶瘤性新城疫病毒(NDV)，溶瘤性麻疹病毒或溶瘤性水泡性口炎病毒(VSV))。

[0963] 在一些实施方案中，溶瘤性病毒是US2010/0178684 A1中描述的病毒，例如，重组溶瘤性病毒，所述文献通过引用的方式完整并入本文。在一些实施方案中，重组溶瘤性病毒包含编码免疫应答或炎症反应抑制剂的核酸序列(例如，异源核酸序列)，例如，如US2010/0178684 A1中所述，所述文献通过引用的方式完整并入本文。在实施方案中，重组溶瘤性病毒，例如，溶瘤性ND，包含促凋亡蛋白(例如，凋亡素)、细胞因子(例如，GM-CSF、干扰素-γ、白介素-2(IL-2)、肿瘤坏死因子-α)、免疫球蛋白(例如，针对ED-B纤连蛋白的抗体)、肿瘤相关抗原、双特异性衔接头蛋白(例如，针对NDV HN蛋白和T细胞共刺激受体，如CD3或CD28的双特异性抗体或抗体片段；或人IL-2和针对NDV HN蛋白的单链抗体之间的融合蛋白)。参见，例如，Zamarin等人，Future Microbiol.7.3(2012):347-67，所述文献通过引用的方式完整并入本文。在一些实施方案中，溶瘤性病毒是US 8591881 B2、US 2012/0122185 A1或US 2014/0271677 A1中描述的嵌合溶瘤性NDV，所述文献各自通过引用的方式并入本文完整地。

[0964] 在一些实施方案中，溶瘤性病毒包含条件复制型腺病毒(CRA)，其设计成完全在癌细胞中复制。参见，例如，Alemany等人，Nature Biotechnol.18(2000):723-27。在一些实施方案中，溶瘤性腺病毒包括在Alemany等人的第725页上的表1中描述的那种，所述文献通过引用的方式完整并入本文。

[0965] 示例性溶瘤性病毒包括但不限于以下病毒：

[0966] 组B溶瘤性腺病毒(ColoAd1)(PsiOxus Therapeutics Ltd.)(参见，例如，临床试验识别号:NCT02053220)；

[0967] ONCOS-102(以前称为CGTG-102)，其是包含粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)的腺病毒(Oncos Therapeutics)(参见，例如，临床试验识别号:NCT01598129)；

[0968] VCN-01，其是编码人PH20透明质酸酶的基因修饰型溶瘤性人腺病毒(VCN Biosciences,S.L.)(参见，例如，临床试验识别号:NCT02045602和NCT02045589)；

[0969] 条件复制型腺病毒ICOVIR-5，其是从野生型人腺病毒血清型5(Had5)衍生病毒，已经被修饰成在癌细胞中选择性复制，具有失调节的视网膜母细胞瘤/E2F途径(Institut Català d'Oncologia)(参见，例如，临床试验识别号:NCT01864759)；

[0970] Celyvir，其包含经溶瘤性腺病毒ICOVIR5感染的骨髓衍生的自体间充质干细胞

(MSC)(Hospital Infantil Universitario Niño Jesús,Madrid,Spain/Ramon Alemany)(参见,例如,临床试验识别号:NCT01844661);

[0971] CG0070,其是条件复制型溶瘤性血清型5腺病毒(Ad5),其中人E2F-1启动子驱动必需E1α病毒基因的表达,因而限制病毒复制和对Rb途径-缺陷肿瘤细胞的细胞毒性(Cold Genesys,Inc.)(参见,例如,临床试验识别号:NCT02143804);或

[0972] DNX-2401(以前称为Δ-24-RGD),其是这样的腺病毒,所述腺病毒已经过工程化以在视网膜母细胞瘤(Rb)途径缺陷性细胞中选择性复制并更高效地感染表达某些RGD结合性整联蛋白的细胞(Clinica Universidad de Navarra,Universidad de Navarra/DNAtrix,Inc.)(参见,例如,临床试验识别号:NCT01956734)。

[0973] 在一些实施方案中,将本文所述的溶瘤性病毒通过注射,例如皮下、动脉内、静脉内、肌内、鞘内或腹膜内注射施用。在实施方案中,将本文所述的溶瘤性病毒按瘤内、经皮、经粘膜、口服、鼻内方式或通过肺施用法施用。

[0974] 在一个实施方案中,将本文所述的表达CAR的细胞与减少Treg细胞群体的分子组合施用至受试者。减少Treg细胞数目(例如,消耗Treg细胞)的方法是本领域已知的并且包括例如CD25消耗法、施用环磷酰胺、调节GITR功能。不希望受理论约束,认为在单采血液成分术之前或在施用本文所述的表达CAR的细胞之前,减少受试者中Treg细胞的数目减少了肿瘤微环境中不想要的免疫细胞(例如,Treg)的数目并降低受试者的复发风险。

[0975] 在一个实施方案中,将本文所述的表达CAR的细胞与靶向GITR和/或调节GITR功能的分子组合施用至受试者,其中所述靶向GITR和/或调节GITR功能的分子是例如GITR激动剂和/或消耗调节性T细胞(Treg)的GITR抗体。在实施方案中,将本文所述的表达CAR的细胞与环磷酰胺组合施用至受试者。在一个实施方案中,将GITR结合分子和/或调节GITR功能的分子(例如,GITR激动剂和/或消耗Treg的GITR抗体)在施用表达CAR的细胞之前施用。例如,在一个实施方案中,GITR激动剂可以在细胞的单采血液成分术之前施用。在实施方案中,将环磷酰胺在施用(例如,输注或回输)表达CAR的细胞之前或在细胞的单采血液成分术之前施用至受试者。在实施方案中,将环磷酰胺和抗GITR抗体在施用(例如,输注或回输)表达CAR的细胞之前或在细胞的单采血液成分术之前施用至受试者。在一个实施方案中,受试者患有癌症(例如,实体癌或血液癌症如ALL或CLL)。在一个实施方案中,受试者患有CLL。在实施方案中,受试者患有ALL。在实施方案中,受试者患有实体癌,例如,本文所述的实体癌。示例性GITR激动物例如包括GITR融合蛋白和抗GITR抗体(例如,双价抗GITR抗体),如,例如,以下文献中描述的GITR融合蛋白;美国专利号6,111,090、欧洲专利号090505B1、美国专利号8,586,023、PCT公开号WO 2010/003118和2011/090754,或例如以下文献中描述的抗GITR抗体:美国专利号7,025,962、欧洲专利号1947183B1、美国专利号7,812,135、美国专利号8,388,967、美国专利号8,591,886、欧洲专利号EP 1866339、PCT公开号WO 2011/028683、PCT公开号WO 2013/039954、PCT公开号WO 2005/007190、PCT公开号WO 2007/133822、PCT 公开号WO 2005/055808、PCT公开号WO 99/40196、PCT公开号WO 2001/03720、PCT公开号WO 99/20758、PCT公开号WO 2006/083289、PCT公开号WO 2005/115451、美国专利号7,618,632和PCT公开号WO 2011/051726。

[0976] 在一个实施方案中,本文所述的表达CAR的细胞与GITR激动剂(例如,本文所述的GITR激动剂)组合施用至受试者。在一个实施方案中,将GITR激动剂在表达CAR的细胞之前

施用。例如，在一个实施方案中，GITR激动剂可以在细胞的单采血液成分术之前施用。

[0977] 在一个实施方案中，将本文所述的表达CAR的细胞与mTOR抑制剂(例如，本文所述的mTOR抑制剂，例如，雷帕霉素类似物(rapalog)如依维莫司)组合施用至受试者。在一个实施方案中，将mTOR抑制剂在表达CAR的细胞之前施用。例如，在一个实施方案中，mTOR抑制剂可以在细胞的单采血液成分术之前施用。

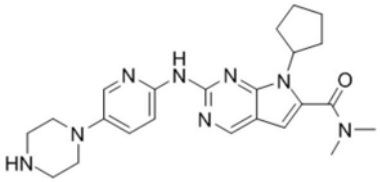
[0978] 在一个实施方案中，将本文所述的表达CAR的细胞与蛋白质酪氨酸磷酸酶抑制剂(例如，本文所述的蛋白质酪氨酸磷酸酶抑制剂)组合施用至受试者。在一个实施方案中，蛋白质酪氨酸磷酸酶抑制剂是SHP-1抑制剂，例如，本文所述的SHP-1抑制剂，如，例如，葡萄糖酸锑盐。在一个实施方案中，蛋白质酪氨酸磷酸酶抑制剂是SHP-2抑制剂。

[0979] 在一个实施方案中，本文所述的表达CAR的细胞可以与激酶抑制剂组合使用。在一个实施方案中，激酶抑制剂是CDK4抑制剂(例如，本文所述的CDK4抑制剂，例如，CD4/6抑制剂，如，例如，6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-2-(5-哌嗪-1-基-吡啶-2-基氨基)-8H-吡啶并[2,3-d]嘧啶-7-酮盐酸盐(也称作帕布昔利布或PD0332991)。在一个实施方案中，激酶抑制剂是BTK抑制剂，例如，本文所述的BTK抑制剂，如，例如，依鲁替尼。在一个实施方案中，激酶抑制剂是mTOR抑制剂，例如，本文所述的mTOR抑制剂，如，例如，雷帕霉素、雷帕霉素类似物、OSI-027。mTOR抑制剂可以例如是mTORC1抑制剂和/或mTORC2抑制剂，例如，本文所述的mTORC1抑制剂和/或mTORC2抑制剂。在一个实施方案中，激酶抑制剂是MNK抑制剂，例如，本文所述的MNK抑制剂，如，例如，4-氨基-5-(4-氟苯胺基)-吡唑并[3,4-d]嘧啶。MNK抑制剂可以例如是MNK1a、MNK1b、MNK2a和/或MNK2b抑制剂。在一个实施方案中，激酶抑制剂是DGK抑制剂，例如，本文所述的DGK抑制剂，如，例如，DGKinh1(D5919)或DGKinh2(D5794)。在一个实施方案中，激酶抑制剂是选自以下的CDK4抑制剂:aloisine A;夫拉平度(flavopiridol)或HMR-1275、2-(2-氯苯基)-5,7-二羟基-8-[(3S,4R)-3-羟-1-甲基-4-哌啶基]-4-色烯酮;克里唑替尼(PF-02341066);2-(2-氯苯基)-5,7-二羟基-8-[(2R,3S)-2-(羟甲基)-1-甲基-3-吡咯烷基]-4H-1-苯并吡喃-4-酮，盐酸盐(P276-00);1-甲基-5-[[2-[5-(三氟甲基)-1H-咪唑-2-基]-4-吡啶基]氧]-N-[4-(三氟甲基)苯基]-1H-苯并咪唑-2-胺(RAF265);indisulam(E7070);roscovitine(CYC202);帕布昔利布(PD0332991);dinaciclib(SCH727965);N-[5-[[(5-叔丁基噁唑-2-基)甲基]硫代]噻唑-2-基]哌啶-4-甲酰胺(BMS387032);4-[[9-氯-7-(2,6-二氟苯基)-5H-嘧啶并[5,4-d][2]苯并吖庚因-2-基]氨基]-苯甲酸(MLN8054);5-[3-(4,6-二氟-1H-苯并咪唑-2-基)-1H-吲唑-5-基]-N-乙基-4-甲基-3-吡啶甲胺(AG-024322);4-(2,6-二氯苯甲酰氨基)-1H-吡唑-3-羧酸N-(哌啶-4-基)酰胺(AT7519);4-[2-甲基-1-(1-甲基乙基)-1H-咪唑-5-基]-N-[4-(甲磺酰基)苯基]-2-嘧啶胺(AZD5438)和XL281(BMS908662)。

[0980] 在一个实施方案中，激酶抑制剂是CDK4抑制剂，例如，帕布昔利布(palbociclib)(PD0332991)，并且帕布昔利布以约50mg、60mg、70mg、75mg、80mg、90mg、100mg、105mg、110mg、115mg、120mg、125mg、130mg、135mg(例如，75mg、100mg或125mg)的剂量每日施用一段时间，例如，每日施用持续28天周期的14-21天，或每日施用持续21天周期的7-12天。在一个实施方案中，施用1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个周期的帕布昔利布。

[0981] 在实施方案中，将本文所述的表达CAR的细胞与细胞周期蛋白依赖性激酶(CDK)4或6抑制剂(例如，本文所述的CDK4抑制剂或CDK6抑制剂)组合施用至受试者。在实施方案

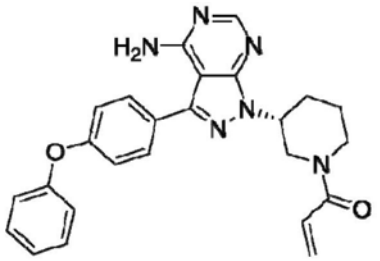
中，将本文所述的表达CAR的细胞与CDK4/6抑制剂(例如，靶向CDK4和CDK6二者的抑制剂)(例如，本文所述的CDK4/6抑制剂)组合施用至受试者。在一个实施方案中，受试者患有MCL。MCL是对目前可用疗法响应不良(即，基本上不可治愈)的侵袭性癌症。在许多MCL病例中，细胞周期蛋白D1(CDK4/6的调节蛋白)在MCL细胞中表达(例如，归因于涉及免疫球蛋白基因和细胞周期蛋白D1基因的染色体易位)。因此，在不受理论约束的情况下，认为MCL细胞对CDK4/6抑制作用高度敏感，特异性高(即，对正常免疫细胞的影响最小)。CDK4/6抑制剂单独具有治疗MCL的一些功效，但是仅实现部分缓解，复发率高。示例性CDK4/6抑制剂是下文显示其结构的LEE011(也称作ribociclib)。

[0982] 

[0983] 不受理论约束，认为联合CDK4/6抑制剂(例如，本文所述的LEE011或其他CDK4/6抑制剂)施用本文所述的表达CAR的细胞可以实现更高的反应性，例如，与仅施用CDK4/6抑制剂相比，例如，缓解率更高和/或复发率更低。

[0984] 在一个实施方案中，激酶抑制剂是选自以下的BTK抑制剂：依鲁替尼(PCI-32765)；GDC-0834；RN-486；CGI-560；CGI-1764；HM-71224；CC-292；ONO-4059；CNX-774；和LFM-A13。在一个优选实施方案中，BTK抑制剂不减少或不抑制白介素-2诱导型激酶(ITK)的激酶活性，并且选自GDC-0834；RN-486；CGI-560；CGI-1764；HM-71224；CC-292；ONO-4059；CNX-774；和LFM-A13。

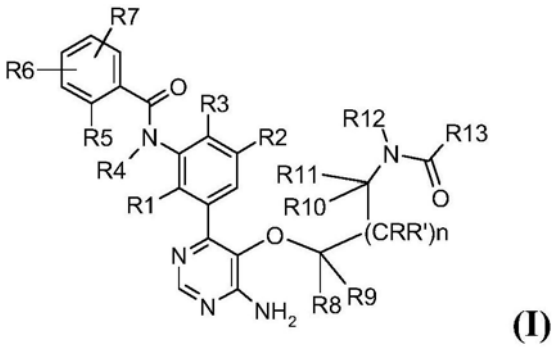
[0985] 在一个实施方案中，激酶抑制剂是BTK抑制剂，例如，依鲁替尼(PCI-32765)。在实施方案中，将本文所述的表达CAR的细胞与BTK抑制剂(例如，依鲁替尼)组合施用至受试者。在实施方案中，将本文所述的表达CAR的细胞与依鲁替尼(也称作PCI-32765)组合施用至受试者。下文显示依鲁替尼(1-[(3R)-3-[4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基]哌啶-1-基]丙-2-烯-1-酮)的结构。

[0986] 

[0987] 在实施方案中，受试者患有CLL、套细胞淋巴瘤(MCL)或小淋巴细胞淋巴瘤(SLL)。例如，受试者在第17染色体短臂中具有缺失(del(17p)(例如，在白血病细胞中)。在其他实例中，受试者没有del(17p)。在实施方案中，受试者患有复发的CLL或SLL，例如，先前已经向受试者施用过一种癌疗法(例如，先前施用过一次、两次、三次或四次既往癌疗法)。在实施方案中，受试者患有难治性CLL或SLL。在其他实施方案中，受试者患有滤泡淋巴瘤，例如，复发性或难治性滤泡淋巴瘤。在实施方案中，依鲁替尼按以下剂量施用：约300-600mg/天(例如，约300-350、350-400、400-450、450-500、500-550或550-600mg/天，例如，约420mg/天或约560mg/天)，例如，口服施用。在实施方案中，依鲁替尼以约250mg、300mg、350mg、400mg、

420mg、440mg、460mg、480mg、500mg、520mg、540mg、560mg、580mg、600mg(例如,250mg、420mg或560mg)的剂量每日施用一段时间,例如,每日施用持续21天周期,或每日施用持续28天周期。在一个实施方案中,施用1、2、3、4、5,6、7、8、9、10、11、12或更多个周期的依鲁替尼。在一些实施方案中,依鲁替尼与利妥昔单抗组合施用。参见,例如,Burger等人,(2013)Ibrutinib In Combination With Rituximab(iR)Is Well Tolerated and Induces a High Rate Of Durable Remissions In Patients With High-Risk Chronic Lymphocytic Leukemia(CLL):New,Updated Results Of a Phase II Trial In 40Patients,摘要675,在第55届ASH Annual Meeting and Exposition,New Orleans,LA 7-10Dec提供。不受理论约束,认为添加依鲁替尼增强了T细胞增殖性反应并且可以将T细胞从辅助T-2(Th2)表型转变成辅助T-1(Th1)表型。Th1和Th2是辅助T细胞表型,其中Th1与Th2指导不同的免疫应答途径。Th1表型与促炎反应相关,例如,用于杀伤细胞,如胞内病原体/病毒或癌细胞,或使自身免疫反应永续。Th2表型与嗜酸性粒细胞积累和抗炎反应相关。

[0988] 在本文方法、用途和组合物的一些实施方案中,BTK抑制剂是国际申请WO/2015/079417中描述的BTK抑制剂,所述文献通过引用的方式完整并入本文。例如,在一些实施方案中,BTK抑制剂是一种式(I)化合物或其可药用盐;

[0989] 

(I)

[0990] 其中,

[0991] R1是氢、任选地被羟基取代的C1-C6烷基;

[0992] R2是氢或卤素;

[0993] R3是氢或卤素;

[0994] R4是氢;

[0995] R5是氢或卤素;

[0996] 或R4和R5彼此连接并代表键、-CH2-、-CH2-CH2-、-CH=CH-,-CH=CH-CH2-;-CH2-CH=CH-;或-CH2-CH2-CH2-;

[0997] R6和R7彼此独立地代表H、任选地被羟基取代的C1-C6烷基、任选地被卤素或羟基取代的C3-C6环烷基或卤素;

[0998] R8、R9、R,R',R10和R11彼此独立地代表H或任选地被C1-C6烷氧基取代的C1-C6烷基;或R8、R9、R、R'、R10和R11的任意两者连同与它们结合的碳原子可以形成3-6元饱和碳环;

[0999] R12是氢或任选地被卤素或C1-C6烷氧基取代的C1-C6烷基;

[1000] 或R12和以下任一者:R8、R9、R、R'、R10或R11连同与它们结合的原子可以形成4、5、6或7元氮杂环,所述环可以任选地被卤素、氰基、羟基、C1-C6烷基或C1-C6烷氧基取代;

[1001] n是0或1;并且

[1002] R13是任选地被C1-C6烷基、C1-C6烷氧基或N,N-二-C1-C6烷氨基取代的C2-C6链烯基;任选地被C1-C6烷基或C1-C6烷氧基取代的C2-C6炔基;或任选地被C1-C6烷基取代的氧化C2-C6烯(C2-C6alkylenyl oxide)。

[1003] 在一些实施方案中,式I的BTK抑制剂选自:N-(3-(5-((1-丙烯酰氧吖丁啶-3-基)氧基)-6-氨基嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;((E)-N-(3-(6-氨基-5-((1-(丁-2-烯酰)吖丁啶-3-基)氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;N-(3-(6-氨基-5-((1-丙炔酰吖丁啶-3-基)氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;N-(3-(6-氨基-5-((1-(丁-2-炔酰吖丁啶-3-基)氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;N-(3-(5-((1-丙烯酰氧哌啶-4-基)氧基)-6-氨基嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;N-(3-(6-氨基-5-(2-(N-甲基丙烯酰氨基)乙氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;((E)-N-(3-(6-氨基-5-(2-(N-甲基丁-2-烯氨基)乙氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;N-(3-(6-氨基-5-(2-(N-甲基丙炔氨基)乙氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;((E)-N-(3-(6-氨基-5-(2-(4-甲氧基-N-甲基丁-2-烯氨基)乙氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;N-(3-(6-氨基-5-(2-(N-甲基丁-2-炔氨基)乙氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;N-(2-((4-氨基-6-(3-(4-环丙基-2-氟苯甲酰胺)-5-氟-2-甲基苯基)嘧啶-5-基)氧基)乙基)-N-甲基环氧乙烷-2-甲酰胺;N-(2-((4-氨基-6-(3-(6-环丙基-8-氟-1-氧代异喹啉-2(1H)-基)苯基)嘧啶-5-基)氧基)乙基)-N-甲基丙烯酰胺;N-(3-(5-(2-丙烯酰胺乙氧基)-6-氨基嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;N-(3-(6-氨基-5-(2-(N-乙基丙烯酰胺)乙氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;N-(3-(6-氨基-5-(2-(N-(2-氟乙基)丙烯酰胺)乙氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;N-(3-(5-((1-丙烯酰胺环丙基)甲氧基)-6-氨基嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;((S)-N-(3-(5-(2-丙烯酰胺丙氧基)-6-氨基嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;((S)-N-(3-(6-氨基-5-(2-(丁-2-炔氨基)丙氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;((S)-N-(3-(6-氨基-5-(2-(N-甲基丙烯酰氨基)丙氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;((S)-N-(3-(6-氨基-5-(2-(N-甲基丁-2-炔氨基)丙氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;N-(3-(6-氨基-5-(3-(N-甲基丙烯酰氨基)丙氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;((S)-N-(3-(5-((1-丙烯酰氧吡咯烷-2-基)甲氧基)-6-氨基嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;((S)-N-(3-(6-氨基-5-((1-(丁-2-炔酰吡咯烷-2-基)甲氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;((S)-2-(3-(5-((1-丙烯酰氧吡咯烷-2-基)甲氧基)-6-氨基嘧啶-4-基)-5-氟-2-(羟甲基)苯基)-6-环丙基-3,4-二氢异喹啉-1(2H)-酮;N-(2-((4-氨基-6-(3-(6-环丙基-1-氧代-3,4-二氢异喹啉-2(1H)-基)-5-氟-2-(羟甲基)苯基)嘧啶-5-基)氧基)乙基)-N-甲基丙烯酰胺;N-(3-(5-(((2S,4R)-1-丙烯酰氧-4-甲氧基吡咯烷-2-基)甲氧基)-6-氨基嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;N-(3-(6-氨基-5-(((2S,4R)-1-(丁-2-炔酰-4-甲氧基吡咯烷-2-基)甲氧基)嘧啶-4-

基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;2-(3-(5-(((2S,4R)-1-丙烯酰氧-4-甲氧基吡咯烷-2-基)甲氧基)-6-氨基嘧啶-4-基)-5-氟-2-(羟甲基)苯基)-6-环丙基-3,4-二氢异喹啉-1(2H)-酮;N-(3-(5-(((2S,4S)-1-丙烯酰氧-4-甲氧基吡咯烷-2-基)甲氧基)-6-氨基嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;N-(3-(6-氨基-5-(((2S,4S)-1-(丁-2-炔酰-4-甲氧基吡咯烷-2-基)甲氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;N-(3-(5-(((2S,4R)-1-丙烯酰氧-4-氟吡咯烷-2-基)甲氧基)-6-氨基嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;N-(3-(6-氨基-5-(((2S,4R)-1-(丁-2-炔酰-4-氟吡咯烷-2-基)甲氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;((S)-N-(3-(5-((1-丙烯酰氧吖丁啶-2-基)甲氧基)-6-氨基嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;((S)-N-(3-(6-氨基-5-((1-丙炔酰吖丁啶-2-基)甲氧基)嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;((S)-2-(3-(5-((1-丙烯酰氧吖丁啶-2-基)甲氧基)-6-氨基嘧啶-4-基)-5-氟-2-(羟甲基)苯基)-6-环丙基-3,4-二氢异喹啉-1(2H)-酮;((R)-N-(3-(5-((1-丙烯酰氧吖丁啶-2-基)甲氧基)-6-氨基嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;((R)-N-(3-(5-((1-丙烯酰氧哌啶-3-基)甲氧基)-6-氨基嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;N-(3-(5-(((2R,3S)-1-丙烯酰氧-3-甲氧基吡咯烷-2-基)甲氧基)-6-氨基嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;N-(3-(5-(((2S,4R)-1-丙烯酰氧-4-氰吡咯烷-2-基)甲氧基)-6-氨基嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺;或N-(3-(5-(((2S,4S)-1-丙烯酰氧-4-氰吡咯烷-2-基)甲氧基)-6-氨基嘧啶-4-基)-5-氟-2-甲基苯基)-4-环丙基-2-氟苯甲酰胺。

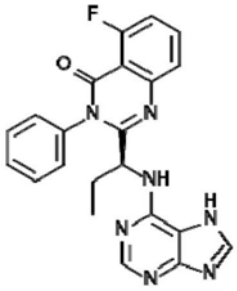
[1004] 除非另外提供,否则上文在描述式I的BTK抑制剂中所用的化学术语根据如国际申请WO/2015/079417中所述的其意思使用,所述文献通过引用的方式完整并入本文。

[1005] 在一个实施方案中,激酶抑制剂是选自以下的mTOR抑制剂:坦罗莫司;地磷莫司((1R,2R,4S)-4-[(2R)-2[(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28Z,30S,32S,35R)-1,18-二羟-19,30-二甲氧基-15,17,21,23,29,35-六甲基-2,3,10,14,20-五氧代-11,36-二氧杂-4-氮杂三环并[30.3.1.$0^{4,9}$]三十七碳-16,24,26,28-四烯-12-基]丙基]-2-甲氧环己基二甲基次膦酸酯,也称作AP23573和MK8669;依维莫司(RAD001);雷帕霉素(AY22989);塞马莫德(simapimod);(5-{2,4-双[(3S)-3-甲基吗啉-4-基]吡啶并[2,3-d]嘧啶-7-基}-2-甲氧苯基)甲醇(AZD8055);2-氨基-8-[反-4-(2-羟乙氧基)环己基]-6-(6-甲氧基-3-吡啶基)-4-甲基-吡啶并[2,3-d]嘧啶-7(8H)-酮(PF04691502);和N^2-[1,4-二氧代-4-[[4-(4-氧代-8-苯基-4H-1-苯并吡喃-2-基)吗啉鎓-4-基]]甲氧基]丁基]-L-精氨酰甘氨酰-L-α-天冬氨酰L-丝氨酸-(SEQ ID NO:706),内盐(SF1126);和XL765。

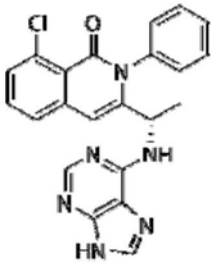
[1006] 在一个实施方案中,激酶抑制剂是mTOR抑制剂,例如,雷帕霉素,并且雷帕霉素以约3mg、4mg、5mg、6mg、7mg、8mg、9mg、10mg(例如,6mg)的剂量每日施用一段时间,例如,每日施用持续21天周期,或每日施用持续28天周期。在一个实施方案中,施用1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个周期的雷帕霉素。在一个实施方案中,激酶抑制剂是mTOR抑制剂,例如,依维莫司,并且依维莫司以约2mg、2.5mg、3mg、4mg、5mg、6mg、7mg、8mg、9mg、10mg、11mg、12mg、13mg、14mg、15mg(例如,10mg)的剂量每日施用一段时间,例如,每日施用持续28天周期。在一个实施方案中,施用1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个周期的依维莫司。

[1007] 在一个实施方案中，激酶抑制剂是选自以下的MNK抑制剂：CGP052088；4-氨基-3-(对-氟苯基氨基)-吡唑并[3,4-d]嘧啶(CGP57380)；尾孢酰胺；ETC-1780445-2；和4-氨基-5-(4-氟苯胺基)-吡唑并[3,4-d]嘧啶。

[1008] 在实施方案中，将本文所述的表达CAR的细胞与磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)抑制剂(例如，本文所述的PI3K抑制剂，例如，吉利德(idelalisib)或duvelisib)和/或利妥昔单抗组合施用至受试者。在实施方案中，将本文所述的表达CAR的细胞与吉利德和利妥昔单抗组合施用至受试者。在实施方案中，将本文所述的表达CAR的细胞与duvelisib和利妥昔单抗组合施用至受试者。吉利德(也称作GS-1101或CAL-101；Gilead)是阻断PI3Kδ同工型的小分子。下文显示吉利德(5-氟-3-苯基-2-[(1S)-1-(7H-嘌呤-6-基氨基)丙基]-4(3H)-喹唑啉酮)的结构。

[1009] 

[1010] Duvelisib(也称作IPI-145；Infinity Pharmaceuticals and Abbvie)是阻断PI3K-δ，γ的小分子。下文显示duvelisib的结构(8-氯-2-苯基-3-[(1S)-1-(9H-嘌呤-6-基氨基)乙基]-1(2H)-异喹啉酮)。

[1011] 

[1012] 在实施方案中，受试者患有CLL。在实施方案中，受试者患有复发的CLL，例如，先前已经向受试者施用过癌疗法(例如，先前施用过抗CD20抗体或先前施用过依鲁替尼)。例如，受试者在第17染色体短臂中具有缺失(del(17p)(例如，在白血病细胞中)。在其他实例中，受试者没有del(17p)。在实施方案中，受试者包含在免疫球蛋白重链可变区(IgV_H)基因中包含突变的白血病细胞。在其他实施方案中，受试者不包含在免疫球蛋白重链可变区(IgV_H)基因中包含突变的白血病细胞。在实施方案中，受试者在第11染色体长臂中具有缺失(del(11q))。在其他实施方案中，受试者没有del(11q)。在实施方案中，吉利德按以下剂量施用：约100-400mg(例如，100-125、125-150、150-175、175-200、200-225、225-250、250-275、275-300、325-350、350-375、或375-400mg)，例如，BID施用。在实施方案中，duvelisib按以下剂量施用：约15-100mg(例如，约15-25、25-50、50-75、或75-100mg)，例如，一日2次施用。在实施方案中，利妥昔单抗按以下剂量施用：约350-550mg/m^2(例如，350-375、375-400、400-425、425-450、450-475、或475-500mg/m^2)，例如，静脉内施用。

[1013] 在一个实施方案中，激酶抑制剂是选自以下的磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)和mTOR的双重抑制剂：2-氨基-8-[反-4-(2-羟乙氧基)环己基]-6-(6-甲氧基-3-吡啶基)-4-甲基-吡

啶并[2,3-d]嘧啶-7(8H)-酮(PF-04691502);N-[4-[[4-(二甲基氨基)-1-哌啶基]羰基]苯基]-N'-[4-(4,6-二-4-吗啉基-1,3,5-三嗪-2-基)苯基]脲(PF-05212384,PKI-587);2-甲基-2-{4-[3-甲基-2-氧代-8-(喹啉-3-基)-2,3-二氢-1H-咪唑并[4,5-c]喹啉-1-基]苯基}丙腈(BEZ-235);apitolisib(GDC-0980,RG7422);2,4-二氟-N-{2-(甲氧基)-5-[4-(4-哒嗪基)-6-喹啉基]-3-吡啶基}苯磺酰胺(GSK2126458);8-(6-甲氧基-3-基)-3-甲基-1-(4-(哌嗪-1-基)-3-(三氟甲基)苯基)-1H-咪唑并[4,5-c]喹啉-2(3H)-酮马来酸(NVP-BGT226);3-[4-(4-吗啉基吡啶并[3',2':4,5]呋喃并[3,2-d]嘧啶-2-基]酚(PI-103);5-(9-异丙基-8-甲基-2-吗啉代-9H-嘌呤-6-基)嘧啶-2-胺(VS-5584,SB2343);和N-[2-[(3,5-二甲氧苯基)氨基]喹噁啉-3-基]-4-[(4-甲基-3-甲氧苯基)羰基]氨基苯磺酰胺(XL765)。

[1014] 在实施方案中,将本文所述的表达CAR的细胞与间变性淋巴瘤激酶(ALK)抑制剂组合施用至受试者。示例性ALK激酶抑制剂包括但不限于克里唑替尼(Pfizer)、色瑞替尼(Novartis)、艾乐替尼(alectinib)(Chugai)、brigatinib(也称作AP26113;Ariad)、entrectinib(Ignyta)、PF-06463922(Pfizer)、TSR-011(Tesaro)(参见,例如,临床试验识别号NCT02048488)、CEP-37440(Teva)和X-396(Xcovery)。在一些实施方案中,受试者患有实体癌,例如,本文所述的实体癌,例如,肺癌。

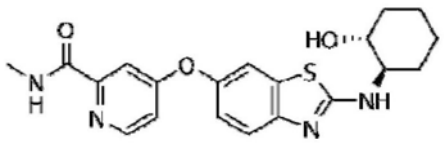
[1015] 克里唑替尼的化学名称是3-[(1R)-1-(2,6-二氯-3-氟苯基)乙氧基]-5-(1-哌啶-4-基吡唑-4-基)吡啶-2-胺。色瑞替尼的化学名称是5-氯-N^2-[2-异丙氧基-5-甲基-4-(4-哌啶基)苯基]-N^4-[2-(异丙基磺酰基)苯基]-2,4-嘧啶二胺。艾乐替尼的化学名称是9-乙基-6.6-二甲基-8-(4-吗啉代哌啶-1-基)-11-氧代-6,11-二氢-5H-苯并[b]咔唑-3-甲腈。brigatinib的化学名称是5-氯-N^2-{4-[4-(二甲基氨基)-1-哌啶基]-2-甲氧苯基}-N^4-[2-(二甲基氧磷基)苯基]-2,4-嘧啶。entrectinib的化学名称是N-(5-(3,5-二氟苄基)-1H-吲唑-3-基)-4-(4-甲基哌嗪-1-基)-2-((四氢-2H-吡喃-4-基)氨基)苯甲酰胺。PF-06463922的化学名称是(10R)-7-氨基-12-氟-2,10,16-三甲基-15-氧代-10,15,16,17-四氢-2H-8,4-(甲桥)吡唑并[4,3-h][2,5,11]-苯并噁二氮杂十四(熳)环-3-甲腈。CEP-37440的化学结构是(S)-2-((5-氯-2-((6-(4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基)-1-甲氧基-6,7,8,9-四氢-5H-苯并[7]环庚烯-2-基)氨基)嘧啶-4-基)氨基)-N-甲基苯甲酰胺。X-396的化学名称是(R)-6-氨基-5-(1-(2,6-二氯-3-氟苯基)乙氧基)-N-(4-(4-甲基哌嗪-1-羰基)苯基)哒嗪-3-甲酰胺。

[1016] 也可以使用抑制钙依赖性磷酸酶一钙调磷酸酶的药物(环孢菌素和FK506)或抑制对生长因子诱导的信号传导重要的p70 S6激酶的药物(雷帕霉素)(Liu等人,Cell 66:807-815,1991;Henderson等人,Immun.73:316-321,1991;Bierer等人,Curr.Opin.Immun.5:763-773,1993)。在又一个方面,本发明的细胞组合物可以连同骨髓移植、使用化疗药如氟达拉滨的T细胞消融疗法、外照射放射疗法(XRT)、环磷酰胺和/或抗体如OKT3或CAMPATH一起(例如,在其之前、同时或在其后)施用至受试者。在一个方面,将本发明的细胞组合物在B细胞消融疗法如与CD20反应的药物(例如,Rituxan)后施用。例如,在一个实施方案中,受试者可以接受高剂量化疗标准治疗,随后进行外周血干细胞移植。在某些实施方案中,在移植后,受试者接受扩充的本发明免疫细胞输注。在一个额外的实施方案中,将扩充的细胞在手术前或在之后施用。

[1017] 在实施方案中,将本文所述的表达CAR的细胞与吲哚胺2,3-双加氧酶(IDO)抑制剂

组合施用至受试者。IDO是催化氨基酸L-色氨酸降解成犬尿氨酸的酶。许多癌过量表达IDO，例如，前列腺癌、结直肠癌、胰腺癌、颈癌、胃癌、卵巢癌、头癌和肺癌。pDC、巨噬细胞和树状细胞(DC)可以表达IDO。不受理论约束，认为(例如，IDO催化的)L-色氨酸减少通过诱导T细胞失能和凋亡而产生免疫抑制环境。因此，在不受理论约束的情况下，认为IDO抑制剂可以增强本文所述的表达CAR的细胞的效能，例如，通过减少对表达CAR的免疫细胞的抑制或减少其死亡。在实施方案中，受试者患有实体瘤，例如，本文所述的实体瘤，例如，前列腺癌、结直肠癌、胰腺癌、颈癌、胃癌、卵巢癌、头癌或肺癌。示例性IDO抑制剂包括但不限于1-甲基-色氨酸、indoximod(NewLink Genetics)(参见，例如，临床试验识别号NCT01191216；NCT01792050)和INCB024360(Incyte Corp.)(参见，例如，临床试验识别号NCT01604889；NCT01685255)。

[1018] 在实施方案中，将本文所述的表达CAR的细胞与髓样衍生的阻抑细胞的调节物(MDSC)组合施用至受试者。MDSC在许多实体瘤的周围及其肿瘤部位积累。这些细胞抑制T细胞反应，因而妨碍表达CAR的细胞疗法的效能。不受理论约束，认为施用MDSC调节物增强本文所述的表达CAR的细胞的效能。在一个实施方案中，受试者患有实体瘤，例如，本文所述的实体瘤，例如，胶质母细胞瘤。示例性MDSC调节物包括但不限于MCS110和BLZ945。MCS110是针对巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)的单克隆抗体(mAb)。参见，例如，临床试验识别号NCT00757757。BLZ945是集落刺激因子1受体(CSF1R)的小分子抑制剂。参见，例如，Pyonteck等人，Nat.Med.19(2013):1264-72。下文显示BLZ945的结构。

[1019] 

[1020] 在实施方案中，将本文所述的表达CAR的细胞与抑制或降低免疫抑制性浆细胞活性的物质组合施用于受试者。已经显示免疫抑制性浆细胞阻碍T细胞依赖性免疫原性化疗，例如奥沙利铂(Shalapour等人，Nature 2015,521:94-101)。在一个实施方案中，免疫抑制性浆细胞可以表达IgA、白细胞介素(IL)-10和PD-L1中的一种或多种。在一个实施方案中，所述物质是表达CD19 CAR的细胞或表达BCMA CAR的细胞。

[1021] 在一些实施方案中，将本文所述的表达CAR的细胞与白介素-15(IL-15)多肽、白介素-15受体α(IL-15Ra)多肽或IL-15多肽和IL-15Ra多肽(例如，hetIL-15(Admune Therapeutics,LLC))二者的组合进行组合施用至受试者。hetIL-15是IL-15和IL-15Ra的异二聚非共价复合物。hetIL-15例如在美国8,124,084、美国2012/0177598、美国2009/0082299、美国2012/0141413和美国2011/0081311中描述，所述文献通过引用的方式并入本文。在实施方案中，皮下施用het-IL-15。在实施方案中，受试者患有癌症，例如，实体癌，例如，黑素瘤或结肠癌。在实施方案中，受试者患有转移性癌症。

[1022] 在实施方案中，向患有本文所述的疾病(例如，血液疾病，例如，AML或MDS)的受试者施用与药物(例如细胞毒药物或化疗药、生物治疗药(例如，抗体，例如，单克隆抗体或细胞治疗药)或抑制剂(例如，激酶抑制剂))组合的本文所述的表达CAR的细胞。在实施方案中，向受试者施用与细胞毒药物(例如、CPX-351(Celator Pharmaceuticals)、阿糖胞苷、佐柔比星、vosaroxin(Sunesis Pharmaceuticals)、sapacitabine(Cyclacel Pharmaceuticals)、伊达比星、或米托蒽醌)组合的本文所述的表达CAR的细胞。CPX-351是

按5:1摩尔比包含阿糖胞苷和佐柔比星的脂质体制剂。在实施方案中,向受试者施用与低甲基化药物(例如,DNA甲基转移酶抑制剂,例如,阿扎胞苷或地西他滨)组合的本文所述的表达CAR的细胞。在实施方案中,向受试者施用与生物治疗药(例如,抗体或细胞治疗药,例如,225Ac-林妥珠单抗(lintuzumab)(Actimab-A;Actinium Pharmaceuticals)、IPH2102(Innate Pharma/Bristol Myers Squibb),SGN-CD33A(Seattle Genetics)或吉妥珠单抗奥加米星(Mylotarg;Pfizer))组合的本文所述的表达CAR的细胞。SGN-CD33A是包含与抗CD33抗体连接的吡咯并苯二氮卓二聚体的抗体-药物缀合物(ADC)。Actimab-A是用锕标记的抗CD33抗体(林妥珠单抗(lintuzumab))。IPH2102是靶向杀伤免疫球蛋白样受体(KIR)的单克隆抗体。在实施方案中,向受试者施用与FLT3抑制剂(例如,索拉非尼(Bayer)、米哚妥林(midostaurin)(Novartis)、奎扎替尼(quizartinib)(Daiichi Sankyo)、crenolanib(Arog Pharmaceuticals)、PLX3397(Daiichi Sankyo)、AKN-028(Akinion Pharmaceuticals)或ASP2215(Astellas))组合的本文所述的表达CAR的细胞。在实施方案中,向受试者施用与异柠檬酸脱氢酶(IDH)抑制剂(例如,AG-221(Celgene/Agios)或AG-120(Agios/Celgene))组合的本文所述的表达CAR的细胞。在实施方案中,向受试者施用与细胞周期调节物(例如,polo样激酶1(Plk1)的抑制剂,例如,volasertib(Boehringer Ingelheim);或细胞周期蛋白依赖性激酶9(Cdk9)的抑制剂(例如,阿伏西地(Tolero Pharmaceuticals/Sanofi Aventis))组合的本文所述的表达CAR的细胞。在实施方案中,向受试者施用与B细胞受体信号传导网络抑制剂(例如,B细胞淋巴瘤2(Bcl-2)的抑制剂,例如,venetoclax(Abbvie/Roche);或Bruton酪氨酸激酶(Btk)的抑制剂,例如,依鲁替尼(Pharmacyclics/Johnson&Johnson Janssen Pharmaceutical))组合的本文所述的表达CAR的细胞。在实施方案中,向受试者施用与M1氨基肽酶抑制剂(例如,tosedostat(CTI BioPharma/Vernalis));组蛋白脱乙酰基酶(HDAC)抑制剂(例如,pracinostat(MEI Pharma));多重激酶抑制剂(例如,rigosertib(Onconova Therapeutics/Baxter/SymBio));或肽CXCR4反向激动剂(例如,BL-8040(BioLineRx))组合的本文所述的表达CAR的细胞。在实施方案中,向受试者施用与靶向除CD123之外抗原(例如,CLL-1、BCMA、CD33、CD19、FLT-3或叶酸受体β)的表达CAR的细胞组合的靶向CD123的表达CAR的细胞。

[1023] 在另一个实施方案中,受试者在移植细胞(例如,同种异体干细胞移植物)前接受本发明的表达CD123 CAR的细胞组合物的输注。在优选的实施方案中,表达CD123-CAR的细胞瞬时表达CD123 CAR,例如,通过mRNA CD123 CAR的电穿孔,由此在输注供体干细胞之前终止CD123的表达以避免植入失败。

[1024] 一些患者可能在施用期间或之后对本发明的化合物和/或其他抗癌药出现过敏反应;因此,经常施用抗过敏药以最大限度减少过敏反应的风险。合适的抗过敏药包括皮质类固醇类,如地塞米松(例如,**Decadron®**)、倍氯米松(例如,**Beclovent®**)、氢化可的松(也称作可的松、氢化可的松琥珀酸钠、氢化可的松磷酸钠,并且以商品名称**Ala-Cort®**、磷酸氢化可的松,**Solu-Cortef®**;Hydrocort **Acetate®** 和**Lanacort®** 出售)、泼尼松龙(prednisolone)(以商品名称**Delta-Cortel®**、**Orapred®**、**Pediapred®** 和**Prelone®**出售)、泼尼松(以商品名称**Deltasone®**、Liquid**Red®**、**Meticorten®**和**Orasone®**出售)、甲基泼尼松龙(也称作6-甲基泼尼松龙、醋酸甲泼尼龙、甲泼尼龙琥珀酸

钠,以商品名称**Duralone®、Medralone®、Medrol®、M-Prednisol®**和**Solu-Medrol®**出售);抗组胺药,如苯海拉明(例如,**Benadryl®**)、安泰乐和赛庚啶;及支气管扩张药,如β-肾上腺素能药受体激动剂、沙丁胺醇(albuterol)(例如,**Proventil®**)以及特布他林**(Brethine®)**。

[1025] 一些患者可能在施用本发明化合物和/或其他抗癌药期间和之后出现恶心;因此,使用镇吐药防止恶心(反胃)和呕吐。合适的镇吐药包括阿瑞吡坦**(Emend®)**、昂丹司琼**(Zofran®)**、HCl格拉司琼**(Kytril®)**、劳拉西泮**(Ativan®)**、地塞米松**(Decadron®)**、乙二磺酸**(Compazine®)**、卡索匹坦(**Rezonic®**和**Zunrisa®**)及其组合。

[1026] 在治疗阶段期间,经常开具减轻疼痛体验的药物以令患者更舒适。经常使用常见的非处方镇痛药,如**Tylenol®**。然而、阿片类镇痛药物如氢可酮/扑热息痛(paracetamol)或氢可酮/对乙酰氨基酚(例如,**Vicodin®**)、吗啡(例如,**Astramorph®**或**Avinza®**)、羟考酮(例如,**OxyContin®**或**Percocet®**)、盐酸羟吗啡酮**(Opana®)**和芬太尼(例如,**Duragesic®**)也可用于中度或重度疼痛。

[1027] 为了努力保护正常细胞免受治疗毒性并限制器官毒性,细胞保护药(如神经保护药,自由基清除剂,心脏保护剂(cardioprotectors),蒽环类溢出中和剂,营养剂等)可以作为辅助疗法使用。合适的细胞保护药包括氨磷汀**(Ethyol®)**、谷氨酰胺、地美司钠(dimesna)**(Tavocept®)**、美司钠(mesna)**(Mesnex®)**、右雷佐生(**Zinecard®**或**Totect®**)、扎利罗登**(Xaprila®)**和亚叶酸(leucovovin)(也称作钙亚叶酸(leucovovin)、嗜橙菌因子和亚叶酸)。

[1028] 通过代码、通用名或商标标识的活性化合物的结构可以取自标准概要“默克索引”实际版或取自数据库,例如国际专利(例如IMS World Publications)。

[1029] 可以与本发明化合物组合使用的上文提到的化合物可以如本领域(如上文援引的文件中)所述那样制备并作施用。

[1030] 在一个实施方案中,本发明提供了包含本发明的至少一种化合物(例如,本发明化合物)或其可药用盐连同适于单独或与其他抗癌药一起施用至人类或动物受试者的可药用载体的药物组合物。

[1031] 在一个实施方案中,本发明提供治疗患有细胞增生性疾病,如癌症的人类或动物受试者的方法。本发明提供治疗需要这种治疗的人或动物受试者的方法,所述方法包括向受试者单独或与其他抗癌药一起施用治疗有效量的本发明的化合物(例如,本发明化合物)或其可药用盐。

[1032] 特别地,各组合物将作为联合疗法配制在一起施用或分别地施用。

[1033] 在联合疗法中,本发明的化合物和其他抗癌药可以同时、同步或无特定时间限制下依次施用,其中这类施用在患者身体内提供治疗有效水平的两种化合物。

[1034] 在一个优选的实施方案中,本发明的化合物和其他抗癌药通常以任何顺序通过输注或口服依次施用。给药方案可以取决于疾病阶段、患者的身体健康状况、各个药物的安全

特征和各个药物的耐受性以及施用该组合的主治医生和医疗执业者熟知的其他标准。本发明的化合物和其他抗癌药可以彼此间隔数分钟、数小时、数天或甚至数周施用，这取决于正在用于治疗的特定周期。此外，该周期可能包括在治疗周期期间将一种药物比另一种更经常地施用及每次施用药物时以不同剂量施用。

[1035] 在本发明的另一个方面，提供试剂盒，所述试剂盒包括本发明的一种或多种化合物和如本文中公开的组合配偶体。代表性试剂盒包括(a)本发明的化合物或其可药用盐，(b)至少一种组合配偶体，例如，如上文所示，因而这类试剂盒可以包含包装插页或其他标示，包括施用说明。

[1036] 本发明的化合物也可以与已知的治疗方法组合用来例如有助于施用激素或尤其放疗。本发明的化合物尤其可以作为放射增敏剂使用，特别用于治疗对放疗法显示低劣敏感性的肿瘤。

[1037] 在一个实施方案中，可以向受试者施用减少或改善与施用表达CAR的细胞相关的副作用的药物。与施用表达CAR的细胞相关的副作用包括但不限于CRS和嗜血细胞性淋巴组织细胞增多症(HLH)，又称作巨噬细胞活化综合征(MAS)。CRS的症状包括高热、恶心、一过性低血压、缺氧等。CRS可以包括临床体征和症状如发热、疲乏、厌食、肌痛、关节痛、恶心、呕吐和头痛。CRS可以包括临床皮肤体征和症状如皮疹。CRS可以包括胃肠道临床体征和症状如恶心、呕吐和腹泻。CRS可以包括呼吸系统临床体征和症状如呼吸急促和低血氧症。CRS可以包括心血管临床体征和症状，如心动过速、脉压加宽、低血压、心输出量增加(早期)和心输出量可能削弱(晚期)。CRS可以包括凝血临床体征和症状，如升高的d-二聚体、低纤维蛋白原血症，伴以或不伴以出血。CRS可以包括肾临床体征和症状如氮质血症。CRS可以包括肝临床体征和症状，如转氨酶升高和高胆红素血症。CRS可以包括神经系统临床体征和症状，如头痛、精神状态改变、意识模糊、谵妄、找词困难或明显失语症、幻觉、颤抖、辨距障碍、步态改变和发作。

[1038] 因此，本文所述的方法可以包括施用本文所述的表达CAR的细胞至受试者并且进一步施用一种或多种药物以管理因表达CAR的细胞治疗产生的可溶性因子水平升高。在一个实施方案中，受试者中升高的可溶性因子是IFN-γ、TNFα、IL-2和IL-6中的一者或多者。在一个实施方案中，受试者中升高的因子是IL-1、GM-CSF、IL-10、IL-8、IL-5和fraktalkine中的一者或多者。因此，施用以治疗这种副作用的药物可以是中和这些可溶性因子中一者或多者的药物。在一个实施方案中，中和这些可溶性形式的一者或多者的药物是抗体或抗原结合片段。这类药物的例子包括但不限于类固醇(例如，皮质类固醇)、TNFα的抑制剂和IL-6的抑制剂。TNFα抑制剂的例子是抗TNFα抗体分子，如，英夫单抗(infliximab)、阿达木单抗(adalimumab)、聚乙二醇赛妥珠单抗(certolizumab pegol)和戈利木单抗(golimumab)。TNFα抑制剂的另一个例子是融合蛋白如entanercept。TNFα的小分子抑制剂包括但不限于黄嘌呤衍生物(例如己酮可可碱)和安非他酮。IL-6抑制剂的例子是抗IL-6抗体分子如托珠单抗(tocilizumab)(toc)、sarilumab、elsilimomab、CNTO328、ALD518/BMS-945429、CNTO136、CPSI-2364、CDP6038、VX30、ARGX-109、FE301和FM101。在一个实施方案中，抗IL-6抗体分子是托珠单抗。基于IL-1R的抑制剂的例子是阿那白滞素。

[1039] 在一些实施方案中，向受试者施用皮质类固醇，如，例如，甲基泼尼松龙、氢化可的松等。

[1040] 在一些实施方案中，向受试者施用血管加压剂，如，例如，去甲肾上腺素、多巴胺、去氧肾上腺素、肾上腺素、加压素或其组合。

[1041] 在一个实施方案中，可以向受试者施用退热药。在一个实施方案中，可以向受试者施用镇痛药。

[1042] 在一个实施方案中，可以向受试者施用增强表达CAR的细胞活性的物质。例如，在一个实施方案中，药物可以是抑制抑制性分子的药物，例如，药物是检查点抑制物。在一些实施方案中，抑制性分子(例如，程序性死亡1(PD1))可以降低表达CAR的细胞发动免疫效应子反应的能力。抑制性分子的例子包括PD1、PD-L1、CTLA4、TIM3、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4和TGFRβ。对抑制性分子的抑制(例如，通过在DNA、RNA或蛋白质水平抑制)可以优化表达CAR的细胞性能。在实施方案中，例如，如本文所述，抑制性核酸(例如，抑制性核酸，例如，dsRNA，例如，siRNA或shRNA)、成簇规律间隔的短回文重复序列(CRISPR)、转录激活物样效应子核酸酶(TALEN)或锌指核酸内切酶(ZFN)可以用来在表达CAR的细胞中抑制抑制性分子的表达。在一个实施方案中，抑制剂是shRNA。在一个实施方案中，抑制表达CAR的细胞内部的抑制性分子。在这些实施方案中，对抑制性分子表达抑制的dsRNA分子与编码CAR的组分(例如，全部组分)的核酸连接。

[1043] 在一个实施方案中，编码dsRNA分子(其抑制调节或调控(例如，抑制)T细胞功能的分子表达)的核酸分子有效连接至启动子，例如，H1-或U6-衍生的启动子，从而抑制调节或调控(例如，抑制)T细胞功能的分子表达的dsRNA分子表达，例如，在表达CAR的细胞内部表达。参见，例如Tiscornia G.,“Development of Lentiviral Vectors Expressing siRNA,”第3章，引自Gene Transfer:Delivery and Expression of DNA and RNA(编者Friedmann和Rossi).Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,NY,USA,2007;Brummelkamp TR等人,(2002)Science 296:550-553;Miyagishi M等人,(2002)Nat.Biotechnol.19:497-500。在一个实施方案中，编码dsRNA分子(其抑制调节或调控(例如，抑制)T细胞功能的分子表达)的核酸分子存在于相同的载体(例如，慢病毒载体)上，所述载体包含编码CAR组分(例如，其全部组分)的核酸分子。在这种实施方案中，编码dsRNA分子(其抑制调节或调控(例如，抑制)T细胞功能的分子表达)的核酸分子相对于编码CAR组分(例如，其全部组分)的核酸的5’或3’位于载体(例如，慢病毒载体)上。编码dsRNA分子(其抑制调节或调控(例如，抑制)T细胞功能的分子表达)的核酸分子可以按照编码CAR组分(例如，其全部组分)的核酸相同或不同的方向转录。

[1044] 在一个实施方案中，编码dsRNA分子(其抑制调节或调控(例如，抑制)T细胞功能的分子表达)的核酸分子存在于除包含编码CAR组分(例如，其全部组分)的核酸分子的载体之外的载体上。在一个实施方案中，编码dsRNA分子(其抑制调节或调控(例如，抑制)T细胞功能的分子表达)的核酸分子在表达CAR的细胞内部瞬时表达。在一个实施方案中，编码dsRNA分子(其抑制调节或调控(例如，抑制)T细胞功能的分子表达)的核酸分子是稳定整合入表达CAR的细胞的基因组中。图51A-51E描述了载体的例子，所述载体表达CAR组分(例如，其全部组分)和抑制调节或调控(例如，抑制)T细胞功能的分子表达的dsRNA分子。

[1045] 下文提供可用于抑制调节或调控(例如，抑制)T细胞功能的分子表达的dsRNA分子的例子，其中调节或调控(例如，抑制)T细胞功能的分子是PD-1。

[1046] 在下表16中提供PDCD1(PD1)RNAi剂(从小鼠PDCD1基因序列NM_008798.2中其位置

衍生)的名称,以及代表DNA序列的SEQ ID NO:216-263。该表中有义(S)序列和反义(AS)序列均作为19聚序列和21聚序列呈现。还指出,位置(PoS,例如,176)从小鼠PDCD1基因序列NM_008798.2中的位置编号衍生。SEQ ID NO以12个组显示,所述组对应于“有义19”SEQ ID NO:608-619;“有义21”SEQ ID NO:620-631;“反义21”SEQ ID NO:632-643;“反义19”SEQ ID NO:644-655。

[1047] 表16.小鼠PDCD1(PD1)shRNA序列

[1048]

在NM_008798.2上的位置	靶区域	有义19	有义21	反义21	反义19
176	CDS	GGAGGTCCCTCACCTTCTA (SEQ ID NO: 608)	CTGGAGGTCCCTCACCTTCTA (SEQ ID NO: 620)	TAGAAGGTGAGGGACCTCCAG (SEQ ID NO: 632)	TAGAAGGTGAGGGACCTCC (SEQ ID NO: 644)
260	CDS	CGGAGGATCTTATGCTGAA (SEQ ID NO: 609)	GTCGGAGGATCTTATGCTGAA (SEQ ID NO: 621)	TTCAGCATAAGATCCTCCGAC (SEQ ID NO: 633)	TTCAGCATAAGATCCTCCG (SEQ ID NO: 645)
359	CDS	CCCGCTTCCAGATCATACA (SEQ ID NO: 610)	TGCCCGCTTCCAGATCATACA (SEQ ID NO: 622)	TGTATGATCTGGAAGCGGGCA (SEQ ID NO: 634)	TGTATGATCTGGAAGCGGG (SEQ ID NO: 646)
528	CDS	GGAGACCTCAACAAGATAT (SEQ ID NO: 611)	CTGGAGACCTCAACAAGATAT (SEQ ID NO: 623)	ATATCTTGTTGAGGTCTCCAG (SEQ ID NO: 635)	ATATCTTGTTGAGGTCTCC (SEQ ID NO: 647)
581	CDS	AAGGCATGGTCATTGGTAT (SEQ ID NO: 612)	TCAAGGCATGGTCATTGGTAT (SEQ ID NO: 624)	ATACCAATGACCATGCCTTGA (SEQ ID NO: 636)	ATACCAATGACCATGCCTT (SEQ ID NO: 648)
584	CDS	GCATGGTCATTGGTATCAT (SEQ ID NO: 613)	AGGCATGGTCATTGGTATCAT (SEQ ID NO: 625)	ATGATACCAATGACCATGCCT (SEQ ID NO: 637)	ATGATACCAATGACCATGC (SEQ ID NO: 649)
588	CDS	GGTCATTGGTATCATGAGT (SEQ ID NO: 614)	ATGGTCATTGGTATCATGAGT (SEQ ID NO: 626)	ATGGTCATTGGTATCATGAGT (SEQ ID NO: 638)	ATGGTCATTGGTATCATGA (SEQ ID NO: 650)
609	CDS	CCTAGTGGGTATCCCTGTA (SEQ ID NO: 615)	GCCCTAGTGGGTATCCCTGTA (SEQ ID NO: 627)	GCCCTAGTGGGTATCCCTGTA (SEQ ID NO: 639)	GCCCTAGTGGGTATCCCTG (SEQ ID NO: 651)
919	CDS	GAGGATGGACATTGTTCTT (SEQ ID NO: 616)	ATGAGGATGGACATTGTTCTT (SEQ ID NO: 628)	ATGAGGATGGACATTGTTCTT (SEQ ID NO: 640)	ATGAGGATGGACATTGTTC (SEQ ID NO: 652)
1021	3’UTR	GCATGCAGGCTACAGTTCA (SEQ ID NO: 617)	GAGCATGCAGGCTACAGTTCA (SEQ ID NO: 629)	GAGCATGCAGGCTACAGTTCA (SEQ ID NO: 641)	GAGCATGCAGGCTACAGTT (SEQ ID NO: 653)
1097	3’UTR	CCAGCACATGCACTGTTGA (SEQ ID NO: 618)	TTCCAGCACATGCACTGTTGA (SEQ ID NO: 630)	TTCCAGCACATGCACTGTTGA (SEQ ID NO: 642)	TTCCAGCACATGCACTGTT (SEQ ID NO: 654)
1101	3’UTR	CACATGCACTGTTGAGTGA (SEQ ID NO: 619)	AGCACATGCACTGTTGAGTGA (SEQ ID NO: 631)	AGCACATGCACTGTTGAGTGA (SEQ ID NO: 643)	AGCACATGCACTGTTGAGT (SEQ ID NO: 655)

[1049] 在下表17中提供PDCD1(PD1)RNAi剂(衍生自它们在人PDCD1基因序列中的位置)的名称,以及代表DNA序列的SEQ ID NO:264-311。有义(S)序列和反义(AS)序列均作为19聚序列和21聚序列呈现。SEQ ID NO以12个组显示,所述组对应于“有义19”SEQ ID NO:656-667;“有义21”SEQ ID NO:668-679;“反义21”SEQ ID NO:680-691;“反义19”SEQ ID NO:692-703。

[1050] 表17.人PDCD1(PD1)shRNA序列

[1051]

在NM_005018.2上的位置	靶区域	有义19	反义19	有义21	反义21
145	CDS	GGCCAGGATGGTTCTTAGA (SEQ ID NO: 656)	TCTAAGAACCATCCTGGCC (SEQ ID NO: 668)	GCGGCCAGGATGGTTCTTAGA (SEQ ID NO: 680)	TCTAAGAACCATCCTGGCCGC (SEQ ID NO: 692)
271	CDS	GCTTCGTGCTAAACTGGTA (SEQ ID NO: 657)	TACCAGTTTAGCACGAAGC (SEQ ID NO: 669)	GAGCTTCGTGCTAAACTGGTA (SEQ ID NO: 681)	TACCAGTTTAGCACGAAGCTC (SEQ ID NO: 693)
393	CDS	GGGCGTGACTTCCACATGA (SEQ ID NO: 658)	TCATGTGGAAGTCACGCCC (SEQ ID NO: 670)	ACGGGCGTGACTTCCACATGA (SEQ ID NO: 682)	TCATGTGGAAGTCACGCCCGT (SEQ ID NO: 694)
1497	3'UTR	CAGGCCTAGAGAAGTTTCA (SEQ ID NO: 659)	TGAAACTTCTCTAGGCCTG (SEQ ID NO: 671)	TGCAGGCCTAGAGAAGTTTCA (SEQ ID NO: 683)	TGAAACTTCTCTAGGCCTGCA (SEQ ID NO: 695)
1863	3'UTR	CTTGGAACCCATTCCTGAA (SEQ ID NO: 660)	TTCAGGAATGGGTTCCAAG (SEQ ID NO: 672)	TCCTTGGAACCCATTCCTGAA (SEQ ID NO: 684)	TTCAGGAATGGGTTCCAAGGA (SEQ ID NO: 696)
1866	3'UTR	GGAACCCATTCCTGAAATT (SEQ ID NO: 661)	AATTTCAGGAATGGGTTCC (SEQ ID NO: 673)	TTGGAACCCATTCCTGAAATT (SEQ ID NO: 685)	AATTTCAGGAATGGGTTCCAA (SEQ ID NO: 697)
1867	3'UTR	GAACCCATTCCTGAAATTA (SEQ ID NO: 662)	TAATTTCAGGAATGGGTTC (SEQ ID NO: 674)	TGGAACCCATTCCTGAAATTA (SEQ ID NO: 686)	TAATTTCAGGAATGGGTTCCA (SEQ ID NO: 698)
1868	3'UTR	AACCCATTCCTGAAATTAT (SEQ ID NO: 663)	ATAATTTCAGGAATGGGTT (SEQ ID NO: 675)	GGAACCCATTCCTGAAATTAT (SEQ ID NO: 687)	ATAATTTCAGGAATGGGTTCC (SEQ ID NO:699)
1869	3'UTR	ACCCATTCCTGAAATTATT (SEQ ID NO: 664)	AATAATTTCAGGAATGGGT (SEQ ID NO: 676)	GAACCCATTCCTGAAATTATT (SEQ ID NO: 688)	AATAATTTCAGGAATGGGTTC (SEQ ID NO: 700)
1870	3'UTR	CCCATTCCTGAAATTATTT (SEQ ID NO: 665)	AAATAATTTCAGGAATGGG (SEQ ID NO: 677)	AACCCATTCCTGAAATTATTT (SEQ ID NO: 689)	AAATAATTTCAGGAATGGGTT (SEQ ID NO: 701)
2079	3'UTR	CTGTGGTTCTATTATATTA (SEQ ID NO: 666)	TAATATAATAGAACCACAG (SEQ ID NO: 678)	CCCTGTGGTTCTATTATATTA (SEQ ID NO: 690)	TAATATAATAGAACCACAGGG (SEQ ID NO: 702)
2109	3'UTR	AAATATGAGAGCATGCTAA (SEQ ID NO: 667)	TTAGCATGCTCTCATATTT (SEQ ID NO: 679)	TTAAATATGAGAGCATGCTAA (SEQ ID NO: 691)	TTAGCATGCTCTCATATTTAA (SEQ ID NO: 703)

[1052] 在一个实施方案中,抑制性信号的抑制剂可以例如是与抑制性分子结合的抗体或抗体片段。例如,物质可以是与PD1、PD-L1、PD-L2或CTLA4结合的抗体或抗体片段(例如,伊匹木单抗(也称作MDX-010和MDX-101并且作为**Yervoy®**销售;Bristol-Myers Squibb;曲美木单抗(tremelimumab)(从Pfizer可获得的IgG2单克隆抗体,以前称作ticilimumab、CP-675206))。在一个实施方案中,物质是与TIM3结合的抗体或抗体片段。在一个实施方案中,物质是与LAG3结合的抗体或抗体片段。在实施方案中,增强表达CAR的细胞活性的药物(例如,抑制性分子的抑制剂)与同种异体CAR(例如,本文所述(例如,在本文的"同种异体CAR"部分中描述)的同种异体CAR)组合施用。

[1053] PD-1是受体CD28家族的抑制性成员,所述家族还包括CD28、CTLA-4、ICOS和BTLA。PD-1在活化的B细胞、T细胞和髓样细胞上表达(Agata等人,1996Int.Immunol 8:765-75)。已经显示与PD-1结合时,PD-1的两种配体PD-L1和PD-L2下调T细胞活化(Freeman等人,2000J Exp Med 192:1027-34;Latchman等人,2001Nat Immunol 2:261-8;Carter等人,2002Eur J Immunol 32:634-43)。PD-L1在人类癌症中丰富(Dong等人,2003J Mol Med 81:281-7;Blank等人,2005Cancer Immunol.Immunother 54:307-314;Konishi等人,2004Clin

Cancer Res 10:5094)。可以通过抑制PD-1与PD-L1的局部相互作用,逆转免疫抑制作用。

[1054] PD-1、PD-L1和PD-L2的抗体、抗体片段和其他抑制剂是本领域可获得的并且可以与本文所述的本发明的CAR组合使用。例如,纳武单抗(nivolumab)(也称作BMS-936558或MDX1106;Bristol-Myers Squibb)是特异性阻断PD-1的全人IgG4单克隆抗体。与PD-1特异性结合的纳武单抗(克隆5C4)和其他人单克隆抗体在US 8,008,449和WO 2006/121168中公开。Pidilizumab(CT-011;Cure Tech)是与PD-1结合的人源化IgG1k单克隆抗体。WO 2009/101611中公开了Pidilizumab和其他人源化抗PD-1单克隆抗体。Pembrolizumab(以前称为lambrolizumab,也称作MK03475;Merck)是与PD-1结合的人源化IgG4单克隆抗体。Pembrolizumab和其他人源化抗PD-1抗体在US 8,354,509和WO 2009/114335中公开。MEDI4736(Medimmune)是结合PDL1的人单克隆抗体,其抑制配体与PD1的相互作用。MDPL3280A(Genentech/Roche)是与PD-L1结合的人Fc优化IgG1单克隆抗体。针对PD-L1的MDPL3280A和其他人单克隆抗体在美国专利号7,943,743和美国公开号20120039906中公开。其他抗PD-L1结合剂包括YW243.55.S70(重链可变区和轻链可变区在WO 2010/077634的SEQ ID NO:20和21中显示)和MDX-1 105(也称作BMS-936559和例如WO 2007/005874中公开的抗PD-L1结合物)。AMP-224(B7-DCIg;Amplimmune;例如,在WO 2010/027827和WO 2011/066342中公开)是阻断PD-1和B7-H1之间相互作用的PD-L2Fc融合可溶性受体。其他抗PD-1抗体包括AMP514(Amplimmune)等,例如,US 8,609,089、US 2010028330和/或US 20120114649中公开的抗PD-1抗体。

[1055] 在一个实施方案中,抗PD-1抗体或其片段是如在题为“Antibody Molecules to PD-1and Uses Thereof”的US 2015/0210769中描述的抗PD-1抗体分子,通过引用整体并入本文。在一个实施方案中,抗PD-1抗体分子包含来自选自以下任一的抗体的重链可变区和轻链可变区的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR(或集合所有CDR):BAP049-hum01、BAP049-hum02、BAP049-hum03、BAP049-hum04、BAP049-hum05、BAP049-hum06、BAP049-hum07、BAP049-hum08、BAP049-hum09、BAP049-hum10、BAP049-hum11、BAP049-hum12、BAP049-hum13、BAP049-hum14、BAP049-hum15、BAP049-hum16、BAP049-Clone-A、BAP049-Clone-B、BAP049-Clone-C、BAP049-Clone-D或BAP049-Clone-E;或如在US2015/0210769的表1中所述,或由表1中的核苷酸序列编码的序列,或与任何上述序列基本上同一的序列(例如至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更高同一性);或紧密相关的CDR,例如同一或具有至少一个氨基酸改变、但不超过两个、三个或四个改变(例如置换、缺失或插入,例如保守置换)的CDR。

[1056] 在另一个实施方案中,抗PD-1抗体分子包含来自本文所述抗体(例如选自以下任意的抗体)的至少一个、两个、三个或四个可变区:BAP049-hum01、BAP049-hum02、BAP049-hum03、BAP049-hum04、BAP049-hum05、BAP049-hum06、BAP049-hum07、BAP049-hum08、BAP049-hum09、BAP049-hum10、BAP049-hum11、BAP049-hum12、BAP049-hum13、BAP049-hum14、BAP049-hum15、BAP049-hum16、BAP049-Clone-A、BAP049-Clone-B、BAP049-Clone-C、BAP049-Clone-D或BAP049-Clone-E;或如在US 2015/0210769的表1中所述,或由表1中的核苷酸序列编码的序列,或与任何上述序列基本上同一的序列(例如至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更高同一性)。

[1057] TIM3(T细胞免疫球蛋白-3)也负向调节T细胞功能,特别在IFN-g分泌的CD4+辅助T

细胞1和CD8+T细胞毒性1细胞中，并且在T细胞消耗中发挥至关重要的作用。抑制TIM3和其配体(例如，半乳糖凝集素-9(Gal9)、磷脂酰丝氨酸(PS)和HMGB1)之间的相互作用可以增加免疫应答。TIM3和其配体的抗体、抗体片段和其他抑制剂是本领域可获得的并且可以与本文所述的CD19 CAR组合使用。例如，靶向TIM3的抗体、抗体片段、小分子或肽抑制剂与TIM3的IgV结构域结合以抑制与其配体的相互作用。抑制TIM3的抗体和肽在WO 2013/006490和US 20100247521中公开。其他抗TIM3抗体包括RMT3-23的人源化形式(Ngiow等人，2011，Cancer Res，71:3540-3551中公开)和克隆8B.2C12(Monney等人，2002，Nature，415:536-541中公开)。抑制TIM3和PD-1的双特异性抗体在US 20130156774中公开。

[1058] 在一个实施方案中，抗TIM3抗体或其片段是如在题为“Antibody Molecules to TIM3and Uses Thereof”的US 2015/0218274中描述的抗TIM3抗体分子，通过引用整体并入本文。在一个实施方案中，抗TIM3抗体分子包含来自选自以下任一的抗体的重链可变区和轻链可变区的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR(或集合所有CDR)：ABTIM3、ABTIM3-hum01、ABTIM3-hum02、ABTIM3-hum03、ABTIM3-hum04、ABTIM3-hum05、ABTIM3-hum06、ABTIM3-hum07、ABTIM3-hum08、ABTIM3-hum09、ABTIM3-hum10、ABTIM3-hum11、ABTIM3-hum12、ABTIM3-hum13、ABTIM3-hum14、ABTIM3-hum15、ABTIM3-hum16、ABTIM3-hum17、ABTIM3-hum18、ABTIM3-hum19、ABTIM3-hum20、ABTIM3-hum21、ABTIM3-hum22、ABTIM3-hum23；或如在US2015/0218274的表1-4中所述，或由表1-4中的核苷酸序列编码的序列，或与任何上述序列基本上同一的序列(例如至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更高同一性)；或紧密相关的CDR，例如相同或具有至少一个氨基酸改变、但不超过两个、三个或四个改变(例如置换、缺失或插入，例如保守置换)的CDR。

[1059] 在另一个实施方案中，抗TIM3抗体分子包含来自本文所述抗体(例如选自以下任意的抗体)的至少一个、两个、三个或四个可变区：ABTIM3、ABTIM3-hum01、ABTIM3-hum02、ABTIM3-hum03、ABTIM3-hum04、ABTIM3-hum05、ABTIM3-hum06、ABTIM3-hum07、ABTIM3-hum08、ABTIM3-hum09、ABTIM3-hum10、ABTIM3-hum11、ABTIM3-hum12、ABTIM3-hum13、ABTIM3-hum14、ABTIM3-hum15、ABTIM3-hum16、ABTIM3-hum17、ABTIM3-hum18、ABTIM3-hum19、ABTIM3-hum20、ABTIM3-hum21、ABTIM3-hum22、ABTIM3-hum23；或如在US2015/0218274的表1-4中所述，或由表1-4中的核苷酸序列编码的序列，或与任何上述序列基本上同一的序列(例如至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更高同一性)。

[1060] 在其他实施方案中，增强表达CAR的细胞活性的物质是CEACAM抑制剂(例如，CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5抑制剂)。在一个实施方案中，CEACAM的抑制剂是抗CEACAM抗体分子。示例性抗CEACAM-1抗体在WO 2010/125571、WO 2013/082366、WO 2014/059251和WO 2014/022332中描述，例如，单克隆抗体34B1、26H7和5F4；或其重组形式，例如，如US 2004/0047858、US7,132,255和WO 99/052552中所述。在其他实施方案中，抗CEACAM抗体与CEACAM-5结合，如Zheng等人，PLoS One.2010 Sep 2;5(9).pii:e12529(DOI:10:1371/journal.pone.0021146)中所述，或与CEACAM-1和CEACAM-5交叉反应，例如，如WO 2013/054331和US 2014/0271618中所述。

[1061] 不希望受理论约束，认为癌胚抗原细胞黏附分子(CEACAM)(如CEACAM-1和CEACAM-5)至少部分地介导对抗肿瘤免疫应答的抑制(参见，例如，Markel等人，J Immunol.2002Mar 15;168(6):2803-10；Markel等人，J Immunol.2006Nov 1;177(9):6062-71；Markel等人，

Immunology.2009Feb;126(2):186-200;Markel等人,Cancer Immunol Immunother.2010Feb;59(2):215-30;Ortenberg等人,Mol Cancer Ther.2012Jun;11(6):1300-10;Stern等人,J Immunol.2005Jun 1;174(11):6692-701;Zheng等人,PLoS One.2010 Sep 2;5(9).pii:e12529)。例如,已经将CEACAM-1描述为TIM-3的异嗜性配体及在TIM-3介导的T细胞耐受性和消耗中发挥作用(参见,例如,WO 2014/022332;Huang等人,(2014)Nature doi:10.1038/nature13848)。在实施方案中,共同阻断CEACAM-1和TIM-3已经显示在异种移植结直肠癌模型中增强抗肿瘤免疫应答(参见,例如,WO 2014/022332;Huang等人,(2014),上文)。在其他实施方案中,共同阻断CEACAM-1和PD-1降低T细胞耐受性,例如,如WO2014/059251中所述那样。因此,CEACAM抑制剂可以与本文所述的其他免疫调节剂(例如,抗PD-1和/或抗TIM-3抑制物)一起使用,以增强针对癌(例如,黑素瘤、肺癌(例如,NSCLC)、膀胱癌、结肠癌、卵巢癌以及如本文所述的其他癌)的免疫应答。

[1062] LAG3(淋巴细胞活化基因-3或CD223)是在活化的T细胞和B细胞上表达的细胞表面分子,其中已经显示所述细胞表面分子在CD8+T细胞消耗中发挥作用。LAG3和其配体的抗体、抗体片段和其他抑制剂是本领域可获得的并且可以与本文所述的CD19 CAR组合使用。例如,BMS-986016(Bristol-Myers Squib)是靶向LAG3的单克隆抗体。IMP701(Immutep)是拮抗剂LAG3抗体并且IMP731(Immutep和GlaxoSmithKline)是消耗性LAG3抗体。其他LAG3抑制剂包括IMP321(Immutep),所述IMP321是LAG3的可溶性部分和与MHC II类分子结合并激活抗原呈递细胞(APC)的Ig的重组融合蛋白。其他抗体例如在WO 2010/019570中公开。

[1063] 在一些实施方案中,增强表达CAR的细胞活性的物质可以例如是包含第一结构域和第二结构域的融合蛋白,其中第一结构域是抑制性分子或其片段,并且第二结构域是与正向信号相关的多肽,例如,包含如本文所述的胞内信号结构域的多肽。在一些实施方案中,与正向信号相关的多肽可以包含CD28、CD27、ICOS的共刺激结构域,例如,CD28、CD27和/或ICOS的胞内信号结构域和/或(例如,本文所述的)(例如,CD3ζ的)初级信号结构域。在一个实施方案中,融合蛋白是由表达CAR的相同细胞表达。在另一个实施方案中,融合蛋白由不表达CD123 CAR的细胞(例如,T细胞)表达。

[1064] 在一个实施方案中,增强本文所述的表达CAR的细胞活性的物质是miR-17-92。

[1065] 在一个实施方案中,增强本文所述的CAR活性的物质是细胞因子。细胞因子具有与T细胞扩充、分化、存活和稳态相关的重要功能。可以对接受本文所述的表达CAR的细胞的受试者施用的细胞因子包括:IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15、IL-18和IL-21或其组合。在优选的实施方案中,施用的细胞因子是IL-7、IL-15、或IL-21或其组合。细胞因子可以一天一次或一天超过一次施用,例如,一天2次、一天3次、或一天4次。可以将细胞因子施用多于一天,例如将细胞因子施用2天、3天、4天、5天、6天、1周、2周、3周或4周。例如,将细胞因子一天一次施用7天。

[1066] 在实施方案中,细胞因子与表达CAR的T细胞组合施用。细胞因子可以与表达CAR的T细胞同时或同步施用,例如,在同一天施用。细胞因子可以配制在与表达CAR的T细胞相同的药物组合物中,或可以配制在分离的药物组合物中。备选地,细胞因子可以在施用表达CAR的T细胞后不久施用,例如,在施用表达CAR的T细胞后1天、2天、3天、4天、5天、6天或7天施用。在细胞因子按进行超过一天的给药方案施用的实施方案中,细胞因子给药方案的第1天可以在与施用表达CAR的T细胞的同一天、或细胞因子给药方案的第1天可以是在施用表

达CAR的T细胞后的1天、2天、3天、4天、5天、6天或7天。在一个实施方案中，在第1天，将表达CAR的T细胞施用至受试者并且在第2天，将细胞因子一天一次施用接下来的7天。在一个优选实施方案中，与表达CAR的T细胞组合施用的细胞因子是IL-7、IL-15或IL-21。

[1067] 在其他实施方案中，将细胞因子在施用表达CAR的细胞后一段时间施用，例如，在施用表达CAR的细胞后至少2周、3周、4周、6周、8周、10周、12周、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、或1年或更长时间施用。在一个实施方案中，将细胞因子在评估受试者对表达CAR的细胞的反应后施用。例如，根据本文所述的剂量和治疗方案，向受试者施用表达CAR的细胞。在施用表达CAR的细胞后2周、3周、4周、6周、8周、10周、12周、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、或1年或更长时间，使用本文所述的任何方法，评估受试者对表达CAR的细胞疗法的反应，包括对肿瘤生长的抑制、减少循环的肿瘤细胞、或肿瘤消退。可以向针对表达CAR的细胞疗法未显示出足够反应的受试者施用细胞因子。施用细胞因子至针对表达CAR的细胞疗法具有次优反应的受试者改善了表达CAR的细胞的功效或抗癌活性。在一个优选实施方案中，在施用表达CAR的细胞后施用的细胞因子是IL-7。

[1068] 与CD19抑制剂的组合

[1069] 本文公开的方法和组合物可以与CD19抑制剂组合使用。在一些实施方案中，同时或一同或相继施用含有CD123CAR的细胞和CD19抑制剂(例如，表达结合CD19的CAR分子(例如结合本文所述的结合CD19的CAR分子)的一种或多种细胞)。

[1070] 在一些实施方案中，将含有CD123CAR的细胞和CD19抑制剂同时或一同地输注到受试者中，例如在相同的输注体积中混合。例如，将含有CD123CAR的细胞群体和含有CD19CAR的细胞混合在一起。备选地，施用共表达CD123CAR和CD19CAR的细胞群体。在其它实施方案中，同时施用包括例如在预定时间间隔内(例如，彼此间隔在15、30或45分钟内)分别施用含CD123CAR的细胞和CD19抑制剂。

[1071] 在一些实施方案中，含有CD123 CAR的细胞的起始和CD19抑制剂的起始彼此在1、2、3、4、6、12、18或24小时内，或彼此在1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、60、80或100天内。在一些实施方案中，含有CD123CAR的细胞递送的结束和CD19抑制剂递送的结束彼此在1、2、3、4、6、12、18或24小时内，或彼此在1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、60、80或100天内。在一些实施方案中，在含有CD123 CAR的细胞递送(例如输注)和CD19抑制剂递送(例如输注)的结束之间施用方面的重叠是至少1、2、3、4、5、10、15、20、25、30分钟。在一个实施方案中，在含有CD123 CAR的细胞之前施用CD19抑制剂。在其他实施方案中，在CD19抑制剂之前施用含有CD123 CAR的细胞。

[1072] 在一些实施方案中，在受试者中存在CD19抑制剂(例如，表达CD19 CAR分子的一种或多种细胞)(例如，经历扩充的细胞)的同时施用含有CD123 CAR的细胞。在其它实施方案中，在受试者中存在含有CD123 CAR的细胞(例如，经历扩充的细胞)的同时施用CD19抑制剂(例如，表达CD19 CAR分子的一种或多种细胞)。

[1073] CD19抑制剂包括但不限于表达CD19 CAR的细胞，例如CD19 CART细胞或抗CD19抗体(例如抗CD19单或双特异性抗体)或其片段或缀合物。

[1074] 在一个实施方案中，将本文所述的表达CAR的细胞与CD19 CAR细胞(例如CART细胞)(例如，CTL019，例如，如WO2012/079000中所述，其通过引用并入本文)组合施用给受试

者。

[1075] 在其它实施方案中，将本文所述的表达CAR的细胞与CD19 CAR细胞(例如CART细胞)组合施用于受试者，所述CD19 CAR细胞包含如WO2014/153270中所述的人源化抗原结合结构域(例如WO2014/153270的表3)，通过引用并入本文。

[1076] CD19抑制剂(例如，第一表达CD19 CAR的细胞)和第二表达CD123 CAR的细胞可以由相同的细胞类型或不同的类型表达。例如，在一些实施方案中，表达CD19 CAR的细胞是CD4 +T细胞，表达CD123 CAR的细胞是CD8+T细胞，或者表达CD19 CAR的细胞是CD8+T细胞，表达CD123 CAR的细胞是CD4 +T细胞。在其他实施方案中，表达CD19 CAR的细胞是T细胞，表达CD123 CAR的细胞是NK细胞，或者表达CD19 CAR的细胞是NK细胞，表达CD123 CAR的细胞是T细胞。在其他实施方案中，表达CD19 CAR的细胞和表达CD123 CAR的细胞都是NK细胞或都是T细胞，例如都是CD4 +T细胞，或都是CD8+T细胞。在其他实施方案中，单个细胞表达CD19 CAR和CD123 CAR，并且该细胞是例如NK细胞或T细胞，例如CD4 +T细胞或CD8+T细胞。

[1077] 第一CAR和第二CAR可以包含相同或不同的胞内信号结构域。例如，在一些实施方案中，CD19 CAR包含CD3ζ信号结构域，CD123 CAR包含共刺激结构域，例如41BB、CD27或CD28共刺激结构域，而在一些实施方案中，CD19 CAR包含共刺激结构域，例如，41BB、CD27或CD28共刺激结构域，并且CD123 CAR包含CD3ζ信号结构域。在其它实施方案中，CD19 CAR和CD123 CAR的每一个包含相同类型的初级信号结构域，例如CD3ζ信号结构域，但是CD19 CAR和CD123 CAR包含不同的共刺激结构域，例如(1)CD19 CAR包含41BB共刺激结构域，CD123 CAR包含不同的共刺激结构域，例如CD27共刺激结构域，(2)CD19 CAR包含CD27共刺激结构域，CD123 CAR包含不同的共刺激结构域，例如41BB共刺激结构域，3)CD19 CAR包含41BB共刺激结构域，CD123 CAR包含CD28共刺激结构域，(4)CD19 CAR包含CD28共刺激结构域，CD123 CAR包含不同的共刺激结构域，例如41BB共刺激结构域，(5)CD19 CAR包含CD27共刺激结构域，CD123 CAR包含CD28共刺激结构域，或(6)CD19 CAR包含CD28共刺激结构域，CD123 CAR包含CD27共刺激结构域。在另一个实施方案中，细胞包含CAR，所述CAR包含CD19抗原结合结构域和CD123抗原结合结构域，例如双特异性抗体。

[1078] 在实施方案中，受试者患有急性髓性白血病(AML)，例如CD19阳性AML或CD19阴性AML。在实施方案中，受试者患有CD19+淋巴瘤，例如CD19+非霍奇金淋巴瘤(NHL)、CD19+FL或CD19+DLBCL。在实施方案中，受试者患有复发性或难治性CD19+淋巴瘤。在实施方案中，在施用(例如输注)CD19 CART细胞之前、同时或之后向受试者施用淋巴细胞消耗化疗。在一个实例中，在施用CD19 CART细胞之前向受试者施用淋巴细胞消耗化疗。例如，淋巴细胞消耗化疗在CD19 CART细胞输注之前1-4天(例如，1、2、3或4天)结束。在实施方案中，施用多剂量的CD19 CART细胞，例如，如本文所述。例如，单剂量包含约5×10^8个CD19 CART细胞。在实施方案中，在施用(例如输注)本文所述的表达CAR的细胞(例如非表达CD19 CAR的细胞)之前、同时或之后向受试者施用淋巴细胞消耗化疗。在实施方案中，在施用(例如输注)非表达CD19 CAR的细胞(例如本文所述的非表达CD19 CAR的细胞)之前、同时或之后向受试者施用CD19 CART。

[1079] 在一些实施方案中，将本文所述的表达CAR的细胞与表达CD19 CAR的细胞(例如CTL019，例如，如WO2012/079000中所述，通过引用并入本文)组合施用于受试者，用于治疗与CD123表达相关的疾病，例如，本文所述的癌症。不受理论的束缚，据信表达CD19 CAR的细

胞与表达CAR的细胞组合施用，通过靶向早期谱系癌细胞(例如癌症干细胞)、调节免疫应答、消耗调节性B细胞和/或改善肿瘤微环境来改善本文所述的表达CAR的细胞的功效。例如，表达CD19 CAR的细胞靶向表达早期谱系标志物的癌细胞，例如癌干细胞和表达CD19的细胞，而本文所述的表达CAR的细胞靶向表达晚期谱系标志物(例如CD123)的癌细胞。该预调节方法可以改善本文所述的表达CAR的细胞的功效。在这样的实施方案中，在施用(例如输注)本文所述的表达CAR的细胞之前、同时或之后施用表达CD19 CAR的细胞。

[1080] 在实施方案中，本文所述的表达CAR的细胞还表达靶向CD19的CAR，例如CD19 CAR。在一个实施方案中，将表达本文所述的CAR和CD19 CAR的细胞施用于受试者，用于治疗本文所述的癌症，例如AML。在一个实施方案中，一种或两种CAR分子的配置包括初级胞内信号结构域和共刺激信号结构域。在另一个实施方案中，CAR分子之一或两者的配置包括初级胞内信号结构域和两个或多个，例如2、3、4或5个或更多个共刺激信号结构域。在这样的实施方案中，本文所述的CAR分子和CD19 CAR可以具有相同或不同的初级胞内信号结构域、相同或不同的共刺激信号结构域、或相同数目或不同数目的共刺激信号结构域。备选地，本文所述的CAR和CD19 CAR配置为分拆的CAR，其中CAR分子之一包含抗原结合结构域和共刺激结构域(例如，4-1BB)，而另一CAR分子包含抗原结合结构域和初级胞内信号结构域(例如，CD3ζ)。

[1081] 在一个实施方案中，本文所述的CAR和第二CAR，例如CD19 CAR，在相同的载体上或在两个不同的载体上。在本文所述的CAR和第二CAR例如CD19 CAR在相同载体上的实施方案中，编码本文所述的CAR和第二CAR(例如CD19 CAR)的核酸序列在相同的框架中，通过一个或多个肽切割位点，例如P2A分开。

[1082] 在其它实施方案中，本文公开的表达CAR的细胞与抗CD19抗体抑制剂组合施用。在一个实施方案中，抗CD19抗体是如WO2014/153270(例如WO2014/153270的表3)中所述的人源化抗原结合结构域，其通过引用并入本文，或其缀合物。其它示例性抗CD19抗体或其片段或缀合物包括但不限于博纳吐单抗、SAR3419(Sanofi)、MEDI-551(MedImmune LLC)、Combotox、DT2219ARL(Masonic Cancer Center)、MOR-208(也称为XmAb-5574;MorphoSys)、XmAb-5871(Xencor)、MDX-1342(Bristol-Myers Squibb)、SGN-CD19A(Seattle Genetics)和AFM11(Affimed Therapeutics)。参见，例如，Hammer.MAbs.4.5(2012):571-77。博纳吐单抗是双特异性抗体，其由两个scFv组成，一个scFv结合CD19和一个scFv结合CD3。博纳吐单抗指导T细胞攻击癌细胞。参见，例如，Hammer等人;Clinical Trial Identifier No.NCT00274742and NCT01209286。MEDI-551是人源化抗CD19抗体，其具有被改造的Fc以具有增强的抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)。参见，例如，Hammer等人;和Clinical Trial Identifier No.NCT01957579。Combotox是结合CD19和CD22的免疫毒素的混合物。免疫毒素由scFv抗体片段融合至去糖基化的蓖麻毒蛋白A链组成。参见，例如，Hammer等人;和Herrera等人J.Pediatr.Hematol.Oncol.31.12(2009):936-41;Schindler等人Br.J.Haematol.154.4(2011):471-6。DT2219ARL是靶向CD19和CD22的双特异性免疫毒素，其包含两个scFv和截短的白喉毒素。参见，例如，Hammer等人;和Clinical Trial Identifier No.NCT00889408。SGN-CD19A是抗体-药物缀合物(ADC)，其由抗CD19人源化单克隆抗体连接合成的细胞毒性细胞杀伤物质，单甲基auristatin F(MMAF)组成。参见，例如，Hammer等人;和Clinical Trial Identifier Nos.NCT01786096和NCT01786135。

SAR3419是抗CD19抗体-药物缀合物(ADC),其包含通过可切割接头与美登素衍生物缀合的抗CD19人源化单克隆抗体。参见,例如,Younes等人J.Clin.Oncol.30.2(2012):2776-82;Hammer等人;Clinical Trial Identifier No.NCT00549185;和Blanc等人Clin Cancer Res.2011;17:6448-58。XmAb-5871是Fc工程化的、人源化的抗CD19抗体。参见,例如,Hammer等人。MDX-1342是具有增强的ADCC的人Fc-工程化的抗CD19抗体。参见,例如,Hammer等人。在实施方案中,抗体分子是双特异性抗CD19和抗CD3分子。例如,AFM11是靶向CD19和CD3的双特异性抗体。参见,例如,Hammer等人;和Clinical Trial Identifier No.NCT02106091。在一些实施方案中,本文所述的抗CD19抗体与治疗剂缀合或以其它方式结合,所述治疗剂,例如化疗剂、肽疫苗(如在Izumoto等人2008J Neurosurg 108:963-971中所述的)、免疫抑制剂、或免疫消融剂,例如环孢菌素、硫唑嘌呤、甲氨蝶呤、霉酚酸酯、FK506、CAMPATH、抗CD3抗体、细胞毒素、氟达拉滨、雷帕霉素、麦考酚酸、类固醇、FR901228或细胞因子。

[1083] 与低剂量的mTOR抑制剂组合

[1084] 本文所述的方法使用免疫增强性低剂量的mTOR抑制剂,例如,变构性mTOR抑制剂,包含雷帕霉素类似物如RAD001。施用免疫增强性低剂量的mTOR抑制剂(例如,该剂量不足以完全抑制免疫系统,但足以改善免疫功能)可以优化受试者中免疫效应细胞(例如,T细胞或表达CAR的细胞)的性能。美国专利申请号2015/01240036中描述了用于测量mTOR抑制作用的方法、剂量、治疗方案和合适的药物组合物,所述文献因而通过引用的方式并入。

[1085] 在一个实施方案中,施用免疫增强性低剂量的mTOR抑制剂可以导致以下一个或多个结果:

[1086] i)PD-1阳性免疫效应细胞数目减少;

[1087] ii)PD-1阴性免疫效应细胞数目增加;

[1088] iii)PD-1阴性免疫效应细胞/PD-1阳性免疫效应细胞的比率增加;

[1089] iv)原初T细胞数目增加;

[1090] v)以下一种或多种标记物的表达增加:例如,在记忆T细胞(例如,记忆T细胞前体)上的$CD62L^{高}$、$CD127^{高}$、$CD27^{+}$和BCL2;

[1091] vi)记忆T细胞(例如,记忆T细胞前体)上KLRG1的表达减少;或

[1092] vii)记忆T细胞前体的数目增加,所述记忆T细胞前体例如是具有以下特征的任一个或其组合的细胞:$CD62L^{高}$增加、$CD127^{高}$增加、$CD27^{+}$增加、KLRG1减少和BCL2增加;

[1093] 并且其中例如,如与未治疗的受试者相比,前述任一项例如i)、ii)、iii)、iv)、v)、vi)或vii)的变化出现,例如,至少暂时出现。

[1094] 在另一个实施方案中,例如,如与未处理的表达CAR的细胞或未治疗的受试者相比,施用免疫增强性低剂量的mTOR抑制剂导致(例如,在培养物中或在受试者中)表达CAR的细胞的增殖增加或延长。在实施方案中,增加的增殖与表达CAR的细胞的数目增加相关。实施例9和10中描述了用于测量增加或延长的增殖的方法。在另一个实施方案中,例如,如与未处理的表达CAR的细胞或未治疗的受试者相比,施用免疫增强性低剂量的mTOR抑制剂导致(例如,在培养物中或在受试者中)表达CAR的细胞增加癌细胞杀伤作用。在实施方案中,增加的癌细胞杀伤作用与肿瘤体积缩减相关。实施例2中描述了用于测量增加的癌细胞杀伤作用的方法。

[1095] 在一个实施方案中,表达CAR分子(例如,本文所述的CAR分子)的细胞与免疫增强

性低剂量的mTOR抑制剂(例如,变构性mTOR抑制剂,例如,RAD001或催化性mTOR抑制剂)组合施用。例如,施用免疫增强性低剂量的mTOR抑制剂可以在施用本文所述的表达CAR的细胞之前启动;在施用本文所述的表达CAR的细胞之前完成;与施用本文所述的表达CAR的细胞同时启动;与施用本文所述的表达CAR的细胞重叠;或在施用本文所述的表达CAR的细胞后继续。

[1096] 备选地或额外地,施用免疫增强性低剂量的mTOR抑制剂可以优化待工程化以表达本文所述的CAR分子的免疫效应细胞。在这类实施方案中,从受试者收获待工程化以表达本文所述的CAR分子的免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞))之前,启动或完成了免疫增强性低剂量的mTOR抑制剂(例如,变构抑制剂(例如,RAD001)或催化性抑制剂)的施用。

[1097] 在另一个实施方案中,待工程化以表达本文所述的CAR分子的免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞),例如,从受试者收获后,或表达CAR的免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞),例如,在施用至受试者之前,可以在存在免疫增强性低剂量的mTOR抑制剂时培养。

[1098] 在一个实施方案中,向受试者施用免疫增强性低剂量的mTOR抑制剂包括例如,每周一次,例如,在速释剂型中施用0.1至20、0.5至10、2.5至7.5、3至6或约5mg RAD001,或其生物等效剂量。在一个实施方案中,向受试者施用免疫增强性低剂量的mTOR抑制剂包括例如每周一次,例如,在缓释剂型中施用0.3至60、1.5至30、7.5至22.5、9至18或约15mg RAD001,或其生物等效剂量。

[1099] 在一个实施方案中,mTOR抑制剂的剂量与至少5%但是不多于90%、至少10%但是不多于90%、至少15%但是不多于90%、至少20%但是不多于90%、至少30%但是不多于90%、至少40%但是不多于90%、至少50%但是不多于90%、至少60%但是不多于90%、至少70%但是不多于90%、至少5%但是不多于80%、至少10%但是不多于80%、至少15%但是不多于80%、至少20%但是不多于80%、至少30%但是不多于80%、至少40%但是不多于80%、至少50%但是不多于80%、至少60%但是不多于80%、至少5%但是不多于70%、至少10%但是不多于70%、至少15%但是不多于70%、至少20%但是不多于70%、至少30%但是不多于70%、至少40%但是不多于70%、至少50%但是不多于70%、至少5%但是不多于60%、至少10%但是不多于60%、至少15%但是不多于60%、至少20%但是不多于60%、至少30%但是不多于60%、至少40%但是不多于60%、至少5%但是不多于50%、至少10%但是不多于50%、至少15%但是不多于50%、至少20%但是不多于50%、至少30%但是不多于50%、至少40%但是不多于50%、至少5%但是不多于40%、至少10%但是不多于40%、至少15%但是不多于40%、至少20%但是不多于40%、至少30%但是不多于40%、至少35%但是不多于40%、至少5%但是不多于30%、至少10%但是不多于30%、至少15%但是不多于30%、至少20%但是不多于30%、或至少25%但是不多于30%的mTOR抑制作用相关或提供这种mTOR抑制作用。

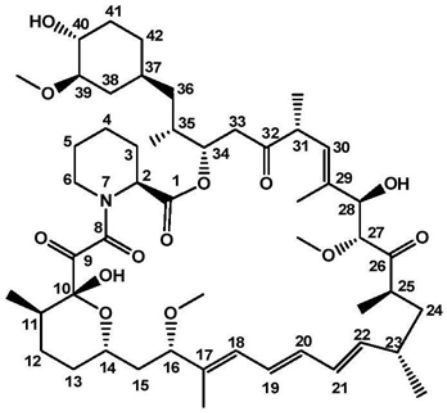
[1100] mTOR抑制作用的程度可以表述为或对应于P70 S6激酶抑制作用的程度,例如,mTOR抑制作用的程度可以通过P70 S6激酶活性下降的水平(例如,通过P70 S6激酶底物的磷酸化下降)来确定。可以通过多种方法评价mTOR抑制作用的水平,如通过Boulay测定法测量P70S6激酶活性,如美国专利申请号2015/01240036中描述,所述文献因而通过引用的方式并入,或如美国专利号7,727,950中描述,所述文献因而通过引用的方式并入;通过蛋白质印迹法测量磷酸化S6的水平;或评价PD1阴性免疫效应细胞对PD1阳性免疫效应细胞比率

的变化。

[1101] 如本文所用，术语“mTOR抑制剂”指在细胞中抑制mTOR激酶的化合物或配体、或其可药用盐。在一个实施方案中，mTOR抑制剂是变构抑制剂。变构性mTOR抑制剂包括中性三环状化合物雷帕霉素(西罗莫司(sirolimus))、雷帕霉素相关化合物，所述雷帕霉素相关化合是与雷帕霉素具有结构和功能相似性的化合物，例如包括雷帕霉素衍生物、雷帕霉素类似物(也称作雷帕类似物)和抑制mTOR活性的其他大环内酯类化合物。在一个实施方案中，mTOR抑制剂是催化性抑制剂。

[1102] 雷帕霉素是吸水链霉菌(Streptomyces hygroscopicus)产生的已知大环内酯类抗生素，其具有式A中所示的结构。

[1103]



(A)

[1104] 参见例如McAlpine,J.B.,等人,J.Antibiotics(1991)44:688;Schreiber,S.L.等人,J.Am.Chem.Soc.(1991)113:7433;美国专利号3,929,992。存在针对雷帕霉素提出的多种编号方案。为避免混淆，当本文中命名特定雷帕霉素类似物时，参考使用式A编号方案的雷帕霉素给出名称。

[1105] 可用于本发明中的雷帕霉素类似物例如是O-取代的类似物，其中雷帕霉素的环己基环上的羟基由其中R_1是羟烷基、羟烷氧基烷基、酰氨基烷基或氨烷基的OR_1替换；例如，如US 5,665,772和WO 94/09010中所述的RAD001，也称作依维莫司，所述每篇文献的内容通过引用的方式并入。

[1106] 其他合适的雷帕霉素类似物包括在26-或28-位置处取代的那些。雷帕霉素类似物可以是上文提到的类似物的差向异构体，特别地，在位置40、28或26取代的类似物的差向异构体，并且可以任选地进一步氢化，例如，如US6,015,815、WO 95/14023和WO 99/15530中所述，所述文献的内容通过引用的方式并入，例如ABT578，也称作佐他莫司或在US 7,091,213、WO 98/02441和WO 01/14387中描述的雷帕霉素类似物，所述文献的内容通过引用的方式并入，例如，AP23573，也称作地磷莫司。

[1107] 来自US 5,665,772的适用于本发明中的雷帕霉素类似物的例子包括但不限于40-O-苄基-雷帕霉素、40-O-(4’-羟甲基)苄基-雷帕霉素、40-O-[4’-(1,2-二羟乙基)]苄基-雷帕霉素、40-O-烯丙基-雷帕霉素、40-O-[3’-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4(S)-基)-丙-2’-烯-1’-基]-雷帕霉素、(2’E,4’S)-40-O-(4’,5’-二羟戊-2’-烯-1’-基)-雷帕霉素、40-O-(2-羟)乙氧羰基甲基-雷帕霉素、40-O-(2-羟)乙基-雷帕霉素、40-O-(3-羟)丙基-雷帕霉素、40-O-(6-羟)己基-雷帕霉素、40-O-[2-(2-羟)乙氧基]乙基-雷帕霉素、40-O-[(3S)-2,

2-二甲基二氧戊环-3-基]甲基-雷帕霉素、40-O-[(2S)-2,3-二羟丙-1-基]-雷帕霉素、40-O-(2-乙酰氧)乙基-雷帕霉素、40-O-(2-尼克酰基氧)乙基-雷帕霉素、40-O-[2-(N-吗啉代)乙酰氧]乙基-雷帕霉素、40-O-(2-N-咪唑基乙酰氧)乙基-雷帕霉素、40-O-[2-(N-甲基-N'-哌嗪基)乙酰氧]乙基-雷帕霉素、39-O-去甲基-39,40-O,O-亚乙基-雷帕霉素、(26R)-26-二氢-40-O-(2-羟)乙基-雷帕霉素、40-O-(2-氨基乙基)-雷帕霉素、40-O-(2-乙酰氨基乙基)-雷帕霉素、40-O-(2-尼克酰胺基乙基)氨基甲酸)-雷帕霉素、40-O-(2-(N-甲基咪唑-2'-基乙氧羰基酰胺基)乙基)-雷帕霉素、40-O-(2-乙氧羰基氨基乙基)-雷帕霉素、40-O-(2-甲苯基亚磺酰氨基乙基)-雷帕霉素和40-O-[2-(4',5'-二羰乙氧基-1',2',3'-三唑-1'-基)-乙基]-雷帕霉素。

[1108] 可用于本发明中的其他雷帕霉素类似物是这些类似物,其中雷帕霉素的环己基环上的羟基和/或在28位置处的羟基替换为羟基酯基团,例如,US RE44,768中存在的雷帕霉素类似物,例如坦罗莫司。

[1109] 可用于前述发明中的其他雷帕霉素类似物包括那些类似物,其中在16位置处的甲氧基替换为另一个取代基,优选地(任选地羟基取代的)炔氧基、苄基、邻甲氧苄基或氯苄基和/或其中删除在39位置处的甲氧基连同39碳,从而雷帕霉素的环己基环变成缺少39位置甲氧基的环戊基环;例如,如WO 95/16691和WO 96/41807中所述,所述文献的内容通过引用的方式并入。可以进一步修饰类似物,从而在雷帕霉素的40位置处的羟基被烷基化和/或32-羰基被还原。

[1110] 来自WO 95/16691的雷帕霉素类似物包括但不限于16-去甲氧基-16-(戊-2-炔基)氧-雷帕霉素、16-去甲氧基-16-(丁-2-炔基)氧-雷帕霉素、16-去甲氧基-16-(炔丙基)氧-雷帕霉素、16-去甲氧基-16-(4-羟-丁-2-炔基)氧-雷帕霉素、16-去甲氧基-16-苄氧基-40-O-(2-羟乙基)-雷帕霉素、16-去甲氧基-16-苄氧基-雷帕霉素、16-去甲氧基-16-邻-甲氧苄基-雷帕霉素、16-去甲氧基-40-O-(2-甲氧乙基)-16-戊-2-炔基)氧-雷帕霉素、39-去甲氧基-40-去氧-39-甲酰基-42-去甲-雷帕霉素、39-去甲氧基-40-去氧-39-羟甲基-42-去甲-雷帕霉素、39-去甲氧基-40-去氧-39-羧基-42-去甲-雷帕霉素、39-去甲氧基-40-去氧-39-(4-甲基-哌嗪-1-基)羰基-42-去甲-雷帕霉素、39-去甲氧基-40-去氧-39-(吗啉-4-基)羰基-42-去甲-雷帕霉素、39-去甲氧基-40-去氧-39-[N-甲基,N-(2-吡啶-2-基-乙基)]氨甲酰基-42-去甲-雷帕霉素和39-去甲氧基-40-去氧-39-(对甲苯磺酰腙甲基)-42-去甲-雷帕霉素。

[1111] 来自WO 96/41807的雷帕霉素类似物包括但不限于32-去氧-雷帕霉素、16-O-戊-2-炔基-32-去氧-雷帕霉素、16-O-戊-2-炔基-32-去氧-40-O-(2-羟-乙基)-雷帕霉素、16-O-戊-2-炔基-32-(S)-二氢-40-O-(2-羟乙基)-雷帕霉素、32(S)-二氢-40-O-(2-甲氧基)乙基-雷帕霉素和32(S)-二氢-40-O-(2-羟乙基)-雷帕霉素。

[1112] 另一个合适的雷帕霉素类似物是如US 2005/0101624中所述的吒他莫司,所述文献的内容通过引用的方式并入。

[1113] RAD001,另外称作依维莫司**(Afinitor®)**,具有化学名称(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28E,30S,32S,35R)-1,18-二羟-12-{(1R)-2-[(1S,3R,4R)-4-(2-羟乙氧基)-3-甲氧基环己基]-1-甲基乙基}-19,30-二甲氧基-15,17,21,23,29,35-六甲基-11,36-二氧杂-4-氮杂-三环并[30.3.1.04,9]三十七碳-16,24,26,28-四烯-2,3,10,

14,20-五酮。

[1114] 变构性mTOR抑制剂的其他例子包括西罗莫司(sirolimus)(雷帕霉素、AY-22989)、40-[3-羟-2-(羟甲基)-2-甲基丙酸酯]-雷帕霉素(也称作坦罗莫司或CCI-779)和地磷莫司(AP-23573/MK-8669)。变构性mTOR抑制剂的其他例子包括佐他莫司(ABT578)和呫他莫司。

[1115] 备选地或额外地,已经发现ATP-竞争性催化性mTOR抑制剂直接靶向mTOR激酶结构域并靶向mTORC1和mTORC2二者。也有比这类变构性mTOR抑制剂如雷帕霉素更有效的mTORC1抑制剂,因为它们调节雷帕霉素耐药性mTORC1输出,如4EBP1-T37/46磷酸化和帽依赖性翻译。

[1116] 催化性抑制剂包括:BEZ235或2-甲基-2-[4-(3-甲基-2-氧代-8-喹啉-3-基-2,3-二氢-咪唑并[4,5-c]喹啉-1-基)-苯基]-丙腈或单甲苯磺酸盐形式(BEZ235的合成在WO 2006/122806中描述;CCG168(另外称作AZD-8055,Chresta,C.M.等人,Cancer Res,2010,70(1),288-298);其具有化学名称{5-[2,4-双-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-吡啶并[2,3d]嘧啶-7-基]-2-甲氧基-苯基}-甲醇;3-[2,4-双[(3S)-3-甲基吗啉-4-基]吡啶并[2,3-d]嘧啶-7-基]-N-甲基苯甲酰胺(WO 09104019);3-(2-氨基苯并[d]噁唑-5-基)-1-异丙基-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶-4-胺(WO 10051043和WO 2013023184);A N-(3-(N-(3-((3,5-二甲氧苯基)氨基)喹噁啉-2-基)氨磺酰)苯基)-3-甲氧基-4-甲基苯甲酰胺(WO 07044729和WO 12006552);PKI-587(Venkatesan,A.M.,J.Med.Chem.,2010,53,2636-2645),其具有化学名称1-[4-[4-(二甲基氨基)哌啶-1-羰基]苯基]-3-[4-(4,6-二吗啉代-1,3,5-三嗪-2-基)苯基]脲;GSK-2126458(ACS Med.Chem.Lett.,2010,1,39-43),其具有化学名称2,4-二氟-N-{2-甲氧基-5-[4-(4-哒嗪基)-6-喹啉基]-3-吡啶基}苯磺酰胺;5-(9-异丙基-8-甲基-2-吗啉代-9H-嘌呤-6-基)嘧啶-2-胺(WO 10114484);和(E)-N-(8-(6-氨基-5-(三氟甲基)吡啶-3-基)-1-(6-(2-氰丙-2-基)吡啶-3-基)-3-甲基-1H-咪唑并[4,5-c]喹啉-2(3H)-亚基)单氰胺(WO 12007926)。

[1117] 催化性mTOR抑制剂的其他例子包括8-(6-甲氧基-吡啶-3-基)-3-甲基-1-(4-哌嗪-1-基-3-三氟甲基-苯基)-1,3-二氢-咪唑并[4,5-c]喹啉-2-酮(WO 2006/122806)和Ku-0063794(Garcia-Martinez JM等人,Biochem J.,2009,421(1),29-42)。Ku-0063794是雷帕霉素的哺乳动物靶(mTOR)的特异性抑制剂。WYE-354是催化性mTOR抑制剂的另一个例子(Yu K等人,(2009).Biochemical,Cellular,and In vivo Activity of Novel ATP-Competitive and Selective Inhibitors of the Mammalian Target of Rapamycin.Cancer Res.69(15):6232-6240)。

[1118] 根据本发明可用的mTOR抑制剂还包括前述任一者的前药、衍生物、可药用盐或其类似物。

[1119] 可以配制mTOR抑制剂,如RAD001,以基于本文所述的特定剂量,基于本领域充分建立的方法递送。特别地,美国专利号6,004,973(通过引用的方式并入本文)提供了随本文所述的mTOR抑制剂可用的制剂的例子。

[1120] 评价CAR有效性或样品适宜性的方法和生物标志物

[1121] 在另一个方面,本发明的特征在于一种评价或监测表达CAR的细胞疗法(例如,CD123 CAR疗法)在受试者(例如,患有癌症(例如,血液癌症)的受试者)中的有效性或CAR疗法(例如,CD123 CAR疗法)用样品的适宜性(例如,单采样品)的方法。该方法包括获得CAR疗

法有效性或样品适宜性的值，其中所述值表示表达CAR的细胞疗法的有效性或适宜性。

[1122] 在实施方案中，CAR疗法有效性或样品适宜性的值包括测量以下一项、两项、三项、四项、五项、六项或更多项(全部项)：

[1123] (i)样品(例如，单采样品或生产的表达CAR的细胞产物样品)中以下一者、两者、三者或更多者(例如，全部)的水平或活性：静息型T_{EFF}细胞、静息型T_{REG}细胞、较年轻的T细胞(例如，较年轻的的CD4细胞或CD8细胞、或γ/δT细胞)或早期记忆T细胞或它们的组合；

[1124] (ii)样品(例如，单采样品或生产的表达CAR的细胞产物样品)中以下一者、两者、三者或更多者(例如，全部)的水平或活性：活化型T_{EFF}细胞、活化型T_{REG}细胞、较年老的T细胞(例如，较年老的CD4细胞或CD8细胞)或晚期记忆T细胞或其组合；

[1125] (iii)样品(例如，单采样品或生产的表达CAR的细胞产物样品)中免疫细胞消耗标志物，例如，一种、两种或更多种免疫检查点抑制物(例如，PD-1、PD-L1、TIM-3和/或LAG-3)的水平或活性。在一个实施方案中，免疫细胞具有消耗表型，例如，共表达至少两个消耗标志物，例如，共表达PD-1和TIM-3。在其他实施方案中，免疫细胞具有消耗表型，例如，共表达至少两个消耗标志物，例如，共表达PD-1和LAG-3。

[1126] (iv)样品(例如，单采样品或生产的表达CAR的细胞产物样品)中CD27和/或CD45RO-(例如，CD27+CD45RO-)免疫效应细胞例如在CD4+或CD8+T细胞群体中的水平或活性；

[1127] (v)1、2、3、4、5、10、20或更多种选自CCL20、IL-17a和/或IL-6、PD-1、PD-L1、LAG-3、TIM-3、CD57、CD27、CD122、CD62L、KLRG1的生物标记物的水平或活性；

[1128] (vi)表达CAR的细胞产物样品(例如，表达CD123的细胞产物样品)中的细胞因子水平或活性(例如，细胞因子库的质量)；或

[1129] (vii)生产的表达CAR的细胞产物样品中表达CAR的细胞的转导效率。

[1130] 在本文所公开的任何方法的一些实施方案中，表达CAR的细胞疗法包含多个表达CAR的免疫效应细胞(例如，群体)，例如，多个T细胞或NK细胞(例如，群体)，或其组合。在一个实施方案中，表达CAR的细胞疗法是CD123 CAR疗法。

[1131] 在本文所公开的任何方法的一些实施方案中，(i)-(vii)中一者或多者的测量从获自受试者的单采样品获得。可以在输注或回输之前评价单采样品。

[1132] 在本文所公开的任何方法的一些实施方案中，(i)-(vii)中一者或多者的测量从生产的表达CAR的细胞产物样品(例如，表达CD123 CAR的细胞产物样品)获得。可以在输注或回输之前评价生产的表达CAR的细胞产物。

[1133] 在本文所公开的任何方法的一些实施方案中，在接受表达CAR的细胞疗法之前、接受期间或接受之后评价受试者。

[1134] 在本文所公开的任何方法的一些实施方案中，(i)-(vii)中一者或多者的测量评价了一种或多种基因表达、流式细胞术或蛋白质表达的特征。

[1135] 在本文所公开的任何方法的一些实施方案中，该方法还包括基于(i)-(vii)中一者或多者的测量，将受试者鉴定为反应者、非反应者、复发者或非复发者。

[1136] 在本文所公开的任何方法的一些实施方案中，如与非反应者相比，反应者(例如，完全反应者)具有或经鉴定为具有GZMK、PPF1BP2或原初T细胞中一者、两者或更多者(全部)的更高水平或活性。

[1137] 在本文所公开的任何方法的一些实施方案中，如与反应者相比，非反应者具有或经鉴定为具有IL22、IL-2RA、IL-21、IRF8、IL8、CCL17、CCL22、效应T细胞或调节性T细胞中一者、两者、三者、四者、五者、六者、七者、或更多者(例如，全部)的更高水平或活性。

[1138] 在一个实施方案中，复发者是这样的患者，所述患者与非复发者相比具有或经鉴定为具有增加的以下一个或多个(例如，2、3、4个或全部)基因表达水平：MIR199A1、MIR1203、uc021ovp、ITM2C和HLA-DQB1和/或与非复发者相比具有或经鉴定为具有减少的以下一个或多个(例如，2、3、4、5、6、7、8、9、10、11个或全部)基因表达水平：PPIAL4D、TTTY10、TXLNG2P、MIR4650-1、KDM5D、USP9Y、PRKY、RPS4Y2、RPS4Y1、NCRNA00185、SULT1E1和EIF1AY。

[1139] 在本文所公开的任何方法的一些实施方案中，与参比值(例如，非反应者CD8+T细胞百分数)相比，完全反应者具有或经鉴定为具有更大(例如，统计显著更大)的CD8+T细胞百分数。

[1140] 在本文所公开的任何方法的一些实施方案中，与参比值(例如，非反应者CD27+CD45RO-免疫效应细胞数目)相比，完全反应者具有或经鉴定为具有例如在CD8+群体中更大的CD27+ CD45RO-免疫效应细胞百分数。

[1141] 在本文所公开的任何方法的一些实施方案中，与参比值(例如，非反应者CD4+T细胞百分数)相比，完全反应者或部分反应者具有或经鉴定为具有更大(例如，统计显著更大)的CD4+T细胞百分数。

[1142] 在本文所公开的任何方法的一些实施方案中，与参比值(例如，非反应者的静息型T_{EFF}细胞、静息型T_{REG}细胞、较年轻的T细胞(例如，较年轻的的CD4细胞或CD8细胞)或早期记忆T细胞数目)相比，完全反应者具有或经鉴定为具有以下一者、两者、三者或更多者(例如，全部)的更大百分数：静息型T_{EFF}细胞、静息型T_{REG}细胞、较年轻的T细胞(例如，较年轻的的CD4细胞或CD8细胞、或γ/δT细胞)或早期记忆T细胞或它们的组合；

[1143] 在本文所公开的任何方法的一些实施方案中，与参比值(例如，反应者的活化型T_{EFF}细胞、活化型T_{REG}细胞、较年老的T细胞(例如，较年老的CD4细胞或CD8细胞)或晚期记忆T细胞数目)相比，非反应者具有或经鉴定为具有以下一者、两者、三者或更多者(例如，全部)的更大百分数：活化型T_{EFF}细胞、活化型T_{REG}细胞、较年老的T细胞(例如，较年老的CD4细胞或CD8细胞)或晚期记忆T细胞或它们的组合。

[1144] 在本文所公开的任何方法的一些实施方案中，非反应者具有或经鉴定为具有更大百分数的免疫细胞消耗标志物，例如，一种、两种或更多种免疫检查点抑制物(例如，PD-1、PD-L1、TIM-3和/或LAG-3)。在一个实施方案中，与来自反应者的表达PD-1或LAG-3的免疫效应细胞的百分数相比，非反应者具有或经鉴定为具有更大的表达PD-1，PD-L1，或LAG-3的免疫效应细胞(例如，CD4+T细胞和/或CD8+T细胞)(例如，表达CAR的CD4+细胞和/或CD8+T细胞)的百分数。

[1145] 在一个实施方案中，非反应者具有或经鉴定为具有更大的具有消耗表型的免疫细胞(例如，共表达至少两种消耗标志物(例如，共表达PD-1、PD-L1和/或TIM-3)的免疫细胞)的百分数。在其他实施方案中，非反应者具有或经鉴定为具有更大的具有消耗表型的免疫细胞(例如，共表达至少两种消耗标志物(例如，共表达PD-1和LAG-3)的免疫细胞)的百分数。

[1146] 在本文所公开的任何方法的一些实施方案中，与表达CAR的细胞疗法的反应者(例

如,完全反应者)相比,非反应者在表达CAR的细胞群体(例如,CD123 CAR+细胞群体)中具有或经鉴定为具有更大的PD-1/PD-L1+/LAG-3+细胞百分数。

[1147] 在本文所公开的任何方法的一些实施方案中,部分反应者在表达CAR的细胞群体(例如,CD123 CAR+细胞群体)中具有或经鉴定为具有比反应者更高的PD-1/PD-L1+/LAG-3+细胞百分数。

[1148] 在本文所公开的任何方法的一些实施方案中,非反应者在表达CAR的细胞群体(例如,CD123 CAR+细胞群体)中具有或经鉴定为具有PD1/PD-L1+ CAR+消耗表型和LAG3的共表达。

[1149] 在本文所公开的任何方法的一些实施方案中,与反应者(例如,完全反应者)相比,非反应者在表达CAR的细胞群体(例如,CD123 CAR+细胞群体)中具有或经鉴定为具有更大的PD-1/PD-L1+/TIM-3+细胞百分数。

[1150] 在本文所公开的任何方法的一些实施方案中,部分反应者在表达CAR的细胞群体(例如,CD123 CAR+细胞群体)中具有或经鉴定为具有比反应者更高的PD-1/PD-L1+/TIM-3+细胞百分数。

[1151] 在本文所公开的任何方法的一些实施方案中,单采样品中存在的CD8+ CD27+ CD45RO-T细胞是受试者对表达CAR的细胞疗法(例如,CD123 CAR疗法)反应的阳性预测指标。

[1152] 在本文所公开的任何方法的一些实施方案中,单采样品中PD1+ CAR+和LAG3+或TIM3+T细胞的高百分数是受试者对表达CAR的细胞疗法(例如,CD123 CAR疗法)反应的不良预后预测指标。

[1153] 在本文所公开的任何方法的一些实施方案中,反应者(例如,完全或部分反应者)具有以下一项、两项、三项或更多项(或全部)特征:

[1154] (i)与参比值(例如,非反应者CD27+免疫效应细胞数目)相比,具有更大的CD27+免疫效应细胞数目;

[1155] (ii)与参比值(例如,非反应者CD8+T细胞数目)相比,具有更大的CD8+T细胞数目;

[1156] (iii)与参比值相比(例如,非反应者的表达一种或多种检查点抑制物的免疫细胞数目),具有较低数目的表达一种或多种检查点抑制物(例如,选自PD-1、PD-L1、LAG-3、TIM-3或KLRG-1,或它们的组合的检查点抑制物)的免疫细胞;或

[1157] (iv)与参比值(例如,非反应者的静息型T_{EFF}细胞、静息型T_{REG}细胞、原初CD4细胞、未刺激的记忆细胞或早期记忆T细胞数目)相比,具有以下一者、两者、三者或更多者(例如,全部)的更大百分数:静息型T_{EFF}细胞、静息型T_{REG}细胞、原初CD4细胞、未刺激的记忆细胞或早期记忆T细胞或其组合。

[1158] 在本文所公开的任何方法的一些实施方案中,(vi)的细胞因子水平或活性选自细胞因子CCL20/MIP3a、IL17A、IL6、GM-CSF、IFNγ、IL10、IL13、IL2、IL21、IL4、IL5、IL9或TNFα或其组合中的一者、两者、三者、四者、五者、六者、七者、八者或更多者(例如,全部)。细胞因子可以选自IL-17a、CCL20、IL2、IL6或TNFα中的一者、两者、三者、四者或更多者(例如,全部)。在一个实施方案中,增加的细胞因子水平或活性选自IL-17a和CCL20中的一者或两者,表示反应性增加或复发减少。

[1159] 在本文所公开的任何方法的一些实施方案中,在(vii)中15%或更高的转导效率

表示反应性增加或复发减少。

[1160] 在本文所公开的任何方法的一些实施方案中，在(vii)中小于15％的转导效率表示反应性减少或复发增加。

[1161] 在实施方案中，可以根据临床标准进一步评价借助本文方法鉴定的反应者、非反应者、复发者或非复发者。例如，完全反应者具有或经鉴定为对治疗显示出完全反应(例如，完全缓解)的患有疾病(例如，癌症)的受试者。如本文所述，可以例如使用NCCN指南®或Cheson等人，J Clin Oncol 17:1244(1999)和Cheson等人，“Revised Response Criteria for Malignant Lymphoma”，J Clin Oncol 25:579-586(2007)(所述两份文献均通过引用的方式完整并入本文)，鉴定完全反应。部分反应者具有或经鉴定为对治疗显示出部分反应(例如，部分缓解)的患有疾病(例如，癌症)的受试者。可以例如，使用NCCN指南®或如本文所述的Cheson标准鉴定部分反应。非反应者具有或经鉴定为患有对治疗不显示出反应的患有疾病(例如，癌症)的受试者，例如，该患者具有稳定病情或进行性病情。可以例如，使用NCCN指南®或如本文所述的Cheson标准鉴定非反应者。

[1162] 备选地或与本文所公开的方法组合时，响应于所述值，进行以下一项、两项、三项、四项或更多项：

[1163] 例如向反应者或非复发者实施表达CAR的细胞疗法；

[1164] 实施改变给药的表达CAR的细胞疗法；

[1165] 改变表达CAR的细胞疗法的方案或时间过程；

[1166] 例如向非反应者或部分反应者施用与表达CAR的细胞疗法(例如，检查点抑制物，例如，本文所述的检查点抑制物)组合的额外药物；

[1167] 向非反应者或部分反应者实施在表达CAR的细胞疗法治疗之前增加受试者中较年轻的T细胞数目的疗法；

[1168] 例如，针对鉴定为非反应者或部分反应者的受试者，调整表达CAR的细胞疗法的生产工艺，例如，在引入编码CAR的核酸之前富集较年轻的T细胞，或增加转导效率；

[1169] 例如，针对非反应者或部分反应者或复发者，实施替代疗法；或

[1170] 如果受试者是或经鉴定为非反应者或复发者，减少T_{REG}细胞群体和/或T_{REG}基因特征标识，例如，通过一种或多种CD25消耗，施用环磷酰胺、抗GITR抗体或其组合做到。

[1171] 在某些实施方案中，用抗GITR抗体预治疗受试者。在某个实施方案中，在输注或回输之前用抗GITR抗体治疗受试者。

[1172] 生物聚合物递送方法

[1173] 在一些实施方案中，一种或多种如本文中公开的表达CAR的细胞可以通过生物聚合物支架，例如，生物聚合物植入物施用或递送至受试者。生物聚合物支架可以支持或增强本文所述的表达CAR的细胞的递送、扩充和/或分散。生物聚合物支架包含可以是天然存在或合成的生物相容性(例如，基本上不诱导炎性反应或免疫应答)和/或生物可降解性聚合物。

[1174] 合适的生物聚合物的例子包括但不限于单独或按任何浓度和以任何比率与任何其他聚合物组分组合的琼脂、琼脂糖、藻酸盐、藻酸盐/磷酸钙粘固剂(CPC)、β-半乳糖苷酶(β-GAL)、(1,2,3,4,6-五乙酰a-D-半乳糖)、纤维素、壳多糖、壳聚糖、胶原蛋白、弹性蛋白、

明胶、透明质酸胶原蛋白、羟基磷灰石、聚(3-羟丁酸酯-共-3-羟-己酸酯)(PHBHHx)、聚(丙交酯)、聚(己内酯)(PCL)、聚(丙交酯-共-乙交酯)(PLG)、聚环氧乙烷(PEO)、聚(乳酸-共-乙醇酸)(PLGA)、聚环氧丙烷(PPO)、聚乙烯醇)(PVA)、丝、大豆蛋白和大豆蛋白分离物。可以用促进黏附或移行促进的分子(例如,与淋巴细胞的胶原蛋白受体结合的胶原蛋白拟似肽和/或增强待递送细胞的递送、扩充或功能(例如,抗癌活性)的刺激分子)增强或修饰生物聚合物。生物聚合物支架可以是可注射物,例如,凝胶或半固体,或固态组合物。

[1175] 在一些实施方案中,将本文所述的表达CAR的细胞铺种到生物聚合物支架上,之后递送至受试者。在实施方案中,生物聚合物支架还包含本文所述的一种或多种额外治疗药(例如,另一表达CAR的细胞、抗体、或小分子)或增强表达CAR的细胞活性的物质,例如,掺入支架的生物聚合物或与支架的生物聚合物缀合。在实施方案中,将生物聚合物支架在肿瘤处或在足以介导抗肿瘤作用的肿瘤附近注射(例如,瘤内注射)或手术植入。生物聚合物组合物和用于递送它们的方法的额外例子在Stephan等人,Nature Biotechnology,2015,33:97-101;和WO 2014/110591中描述。

[1176] 药物组合物和治疗

[1177] 本发明的药物组合物可以包含与一种或多种药学或生理学可接受载体、稀释剂或赋形剂组合的如本文所述的表达CAR的细胞,例如,多种表达CAR的细胞。这类组合物可以包含缓冲液如中性缓冲盐水、磷酸盐缓冲盐水等;糖如葡萄糖、甘露糖、蔗糖或葡聚糖、甘露醇;蛋白质;多肽或氨基酸如甘氨酸;抗氧化剂;螯合剂如EDTA或谷胱甘肽;佐剂(例如,氢氧化铝);和防腐剂。在一个方面,配制本发明的组合物以便静脉内施用。

[1178] 本发明的药物组合物可以按适于待治疗(或预防)疾病的方式施用。施用的量和频率将由这类因素决定,如患者的状况和患者疾病的类型和严重性,不过适宜的剂量可以通过临床试验确定。

[1179] 在一个实施方案中,药物组合物基本上不含(例如,不存在)可检测水平的杂质,例如,所述杂质选自内毒素、支原体(Mycoplasma)、有复制能力的慢病毒(RCL)、p24、VSV-G核酸、HIV gag、残余抗CD3/抗CD28包被的珠、小鼠抗体、汇集的人血清、牛血清白蛋白、牛血清、培养基组分、载体包装细胞或质粒组分、细菌和真菌。在一个实施方案中,细菌是选自以下的至少一种:粪产碱杆菌(Alcaligenes faecalis)、白假丝酵母(Candida albicans)、大肠杆菌(Escherichia coli)、流感嗜血杆菌(Haemophilus influenza)、脑膜炎奈瑟球菌(Neisseria meningitides)、铜绿假单胞菌(Pseudomonas aeruginosa)、金黄色葡萄球菌(Staphylococcus aureus)、肺炎链球菌(Streptococcus pneumonia)和化脓性链球菌(Streptococcus pyogenes)A群。

[1180] 当指出“免疫有效量”、“抗肿瘤有效量”、“肿瘤抑制有效量”或“治疗量”时,待施用的本发明组合物的精确量可以由医师在考虑年龄、体重、肿瘤尺寸、感染或转移程度和患者(受试者)状况的个体差异时确定。通常可以声称,本文所述的包含T细胞的药物组合物可以按10^4至10^9个细胞/kg体重,在一些情况下10^5至10^6个细胞/kg体重(包括这些范围内部的全部整数值)的剂量施用。也可以按这些剂量施用T细胞组合物多次。细胞可以通过使用免疫疗法中公知的输注技术施用(参见,例如,Rosenberg等人,New Eng.J.of Med.319:1676,1988)。

[1181] 在一些实施方案中,CAR细胞(例如,CD123 CAR细胞)的剂量包含约$1x10^6$、1.1x

10^6、2x 10^6、3.6x 10^6、5x 10^6、1x 10^7、1.8x 10^7、2x 10^7、5x 10^7、1x 10^8、2x 10^8或5x 10^8个细胞/kg。在一些实施方案中，CAR细胞(例如，CD123CAR细胞)的剂量包含至少约1x 10^6、1.1x 10^6、2x 10^6、3.6x 10^6、5x 10^6、1x10^7、1.8x 10^7、2x 10^7、5x 10^7、1x 10^8、2x 10^8或5x 10^8个细胞/kg。在一些实施方案中，CAR细胞(例如，CD123 CAR细胞)的剂量包含多至约1x 10^6、1.1x 10^6、2x 10^6、3.6x 10^6、5x 10^6、1x 10^7、1.8x 10^7、2x 10^7、5x 10^7、1x 10^8、2x 10^8或5x 10^8个细胞/kg。在一些实施方案中，CAR细胞(例如，CD123 CAR细胞)的剂量包含约1.1×10^6-1.8×10^7个细胞/kg。在一些实施方案中，CAR细胞(例如，CD123 CAR细胞)的剂量包含约1x 10^7、2x 10^7、5x 10^7、1x 10^8、2x 10^8、5x 10^8、1x 10^9、2x 10^9或5x 10^9个细胞。在一些实施方案中，CAR细胞(例如，CD123 CAR细胞)的剂量包含至少约1x 10^7、2x 10^7、5x 10^7、1x 10^8、2x 10^8、5x 10^8、1x 10^9、2x 10^9或5x 10^9个细胞。在一些实施方案中，CAR细胞(例如，CD123 CAR细胞)的剂量包含多至约1x 10^7、2x 10^7、5x 10^7、1x 10^8、2x 10^8、5x 10^8、1x 10^9、2x 10^9或5x 10^9个细胞。

[1182] 细胞可以通过使用免疫疗法中公知的输注技术施用(参见，例如，Rosenberg等人，New Eng.J.of Med.319:1676,1988)。

[1183] 在某些方面，可以需要施用活化的T细胞至受试者并且随后接着回抽血液(或进行单采血液成分术)，根据本发明活化来自其中的T细胞并向患者回输这些活化和扩充的T细胞。这个过程可以每数周实施多次。在某些方面，可以活化来自10cc至400cc抽血的T细胞。在某些方面，活化来自20cc、30cc、40cc、50cc、60cc、70cc、80cc、90cc或100cc抽血的T细胞。

[1184] 施用受试者的组合物可以按任何便利方式实施，包括气溶胶吸入、注射、摄入、输血、植入或移植。本文所述的组合物可以经动脉、皮下、真皮内、瘤内、淋巴结内、髓内、肌内、通过静脉内(i.v.)注射、或腹腔内施用至患者。在一个方面，通过真皮内或皮下注射向患者施用本发明的表达CAR的细胞(例如T细胞或NK细胞)的组合物。在一个方面，通过静脉内注射施用本发明表达CAR的细胞(例如，T细胞或NK细胞)组合物。可以将表达CAR的细胞(例如，T细胞或NK细胞)的组合物直接注射至肿瘤、淋巴结或感染部位中。

[1185] 在一个特定的示例性方面，受试者可以接受白细胞去除术，其中将白细胞收集、富集或离体消耗以选择和/或分离目的细胞，例如，免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)。可以通过本领域已知的方法扩充和处理这些免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)分离物，从而可以引入本发明的一个或多个CAR构建体，因而产生本发明表达CAR的细胞(例如，CAR T细胞或表达CAR的NK细胞)。有需求的受试者可以随后接受高剂量化疗的标准治疗，接着进行外周血干细胞移植。在某些方面，在移植后或与移植同时地，受试者接受扩充的本发明表达CAR的细胞(例如，CAR T细胞或表达CAR的NK细胞)的输注。在一个额外的方面，将扩充的细胞在手术前或在之后施用。

[1186] 待施用至患者的上述疗法的剂量将随正在治疗的病症的确切性质和治疗的接受者变动。可以根据本领域接受的惯例进行人类施用剂量的放大。对于成年患者，CAMPATH的剂量例如通常将在1至约100mg范围内，通常每日施用1天和30天之间的时间。优选的每日剂量是1至10mg每日，不过在一些情况下，使用多达每日40mg的更大剂量(美国专利号6,120,766中所述)。

[1187] 在一个实施方案中，将CAR引入免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)中，例如，使用体外转录引入，并且受试者(例如，人)接受初始施用本发明的表达CAR的细胞(例如，CAR

T细胞或表达CAR的NK细胞)以及一次或多次后续施用本发明的表达CAR的细胞(例如,CAR T细胞或表达CAR的NK细胞),其中一次或多次后续施用是先前施用后少于15天,例如,14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3或2天施用。在一个实施方案中,将本发明的表达CAR的细胞(例如,CAR T细胞或表达CAR的NK细胞)每周多于一次施用至受试者(例如,人),例如,将本发明表达CAR的细胞(例如,CAR T细胞或表达CAR的NK细胞)每周2、3、或4次施用。在一个实施方案中,受试者(例如,人类受试者)每周接受表达CAR的细胞(例如,CAR T细胞或表达CAR的NK细胞)的多于一次的施用(例如,每周2、3或4次施用)(本文也称作一个周期),随后一周不施用表达CAR的细胞(例如,CAR T细胞或表达CAR的NK细胞),并且随后将表达CAR的细胞(例如,CAR T细胞或表达CAR的NK细胞)一次或多次额外施用(例如,每周多于一次施用表达CAR的细胞(例如,CAR T细胞或表达CAR的NK细胞))施用至受试者。在另一个实施方案中,受试者(例如,人类受试者)接受多于一个周期的表达CAR的细胞(例如,CAR T细胞或表达CAR的NK细胞)并且每个周期之间的时间少于10、9、8、7、6、5、4或3天。在一个实施方案中,表达CAR的细胞(例如,CAR T细胞或表达CAR的NK细胞)每隔1日施用,每周施用3次。在一个实施方案中,将本发明的表达CAR的细胞(例如,CAR T细胞或表达CAR的NK细胞)施用至少二、三、四、五、六、七、八或更多周。

[1188] 在一个方面,使用慢病毒载体(如慢病毒)生成表达CD123 CAR的细胞(例如,CAR T细胞或表达CAR的NK细胞)。以这种方式生成的表达CAR的细胞(例如,CAR T细胞或表达CAR的NK细胞)具有稳定的CAR表达。

[1189] 在一个方面,使用病毒载体(如γ逆转录病毒载体,例如,本文所述的γ逆转录病毒载体)生成表达CAR的细胞,例如,CART或表达CAR的NK细胞。使用这些载体生成的表达CAR的细胞,例如CART或表达CAR的NK细胞可以具有稳定的CAR表达。

[1190] 在一个方面,表达CAR的细胞(例如,CAR T细胞或表达CAR的NK细胞)在转导后瞬时表达CAR载体4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15天。可以通过递送RNA CAR载体实现CAR的瞬时表达。在一个方面,将CAR RNA通过电穿孔法转导入细胞(例如,T细胞或NK细胞)中。

[1191] 使用瞬时表达CAR的细胞(例如,CAR T细胞或表达CAR的NK细胞)(尤其用携带鼠scFv的CAR)治疗的患者中可出现的潜在问题是多次治疗后的变态反应。

[1192] 在不受这个理论约束的情况下,认为这种变态反应可能由患者形成抗CAR体液应答(即,具有抗IgE同种型的抗CAR抗体)引起。认为当存在10至14天抗原暴露间断期的情况下,产生抗体的患者细胞发生从(不引起变态反应的)IgG同种型至IgE同种型的类别转换。

[1193] 如果患者在短暂CAR疗法(如由RNA转导产生的那些)过程期间面临产生抗CAR抗体反应的高风险,表达CAR的细胞(例如,CAR T细胞或表达CAR的NK细胞)输注间断期不应当持续超过10至14天。

实施例

[1194] 通过参考以下实验实施例进一步详述本发明。除非另外说明,否则仅出于说明目的提供这些实施例并且它们不意在起到限制作用。因此,本发明无论如何不应当解释为受以下实施例限制,反而应当解释为涵盖因本文提供的教授内容变得显而易见的任何和全部变型。

[1195] 在不进一步描述的情况下,认为使用前文描述和以下示意性实施例,本领域普通

技术人员可以制得并利用本发明的化合物并实施要求保护的方法。以下工作实施例具体地指出本发明的多个方面并且不得解释为以任何方式限制本公开的剩余部分。

[1196] 实施例1:人CAR构建体

[1197] 分离完全人抗CD123单链可变片段。将抗CD123 ScFv克隆到具有CD3ζ链和4-1BB共刺激分子的慢病毒CAR表达载体中。通过在STBL3细胞中的细菌转化扩增含有CAR的质粒(“发明详述”中提供的表1),随后使用无内毒素的Qiagen Plasmid Maki试剂盒的Maxiprep。使用标准技术在293T细胞中产生慢病毒上清液。

[1198] VL和VH结构域在scFv中出现的顺序是不同的(即,VL-VH或VH-VL取向),并且其中三个或四个拷贝的“G4S”(SEQ ID NO:25)亚单位,其中每个亚单位包含序列GGGGS(SEQ ID NO:25)(例如,$(G4S)_3$(SEQ ID NO:28)或$(G4S)_4$(SEQ ID NO:27)),连接可变结构域以产生整个scFv结构域,如表2(在“发明详述”中提供)所示。

[1199] CAR构建体的序列及其结构域序列在“发明详述”中列出。人CAR构建体的分析如在例如实施例2、3和6中所描述的进行。

[1200] 实施例2:具有人scFv的CART的分析和体外活性

[1201] 使用含有由NFAT启动子驱动的萤光素酶报告基因的Jurkat细胞系(称为JNL细胞)评估人抗CD123 CAR构建体的活性。测量本文所述的四个人CAR构建体(CD123 CAR1-4)和鼠CD123 CAR构建体1172和1176的CD123 CAR活性。以下提供1172和1176构建体的氨基酸序列,并进一步描述和表征在PCT/US2014/017328中。

[1202] 1172构建体:CD123 4-1BBCD3z-CAR(氨基酸序列)(SEQ ID NO:707)

[1203] MALPVTALLLPLALLLHAARPGSDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDNYGNTFMHWYQQKPGQPPKLLIYRASNLESGIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEADDVATYYCQQSNEDPPTFGAGTKLELKGGGGSGGGGSSGGGSQIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYIFTNYGMNWVKQAPGKSFKWMGWINTYTGESTYSADFKGRFAFSLETSASTAYLHINDLKNEDTATYFCARSGGYDPMDYWGQGTSVTVSSASSGTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

[1204] 1176构建体:CD123 4-1BBCD3z-CAR(26292)(氨基酸序列)(SEQ ID NO:708)

[1205] MALPVTALLLPLALLLHAARPGSDVQITQSPSYLAASPGETITINCRASKSISKDLAWYQEKPGKTNKLLIYSGSTLQSGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAMYYCQQHNKYPYTFGGGTKLEIKGGGGSGGGGSSGGGSQVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWMNWVKQRPDQGLEWIGRIDPYDSETHYNQKFKDKAILTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGNWDDYWGQGTTLTVSSASSGTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

[1206] CAR活性测量为该NFAT驱动的报告基因的活化。将含有CART构建体的慢病毒上清液加入到JNL细胞中用于转导。转导后4-6天,通过如下所述的FACS评估JNL细胞的CAR表达,或者将转导后的JNL细胞与靶阳性细胞系(MOLM3,工程化为表达CD123的K562细胞(CD123-K562))或靶阴性细胞系(K562)以效应细胞(JNL)对靶细胞系(E:T)的比率为3:1混合,以触发活化(图1)。在共孵育20小时后,使用EnVision仪器上的Bright-Glo™萤光素酶测定法测

量萤光素酶信号，如图2所示。

[1207] 基于在对表达CD123的(“CD123+)的靶的应答中，CD123 CAR转导的T细胞(“CART-CD123”或“CART-CD123T细胞”)的效应T细胞应答的数量和质量，选择最优的抗CD123 CAR构建体。效应T细胞应答包括但不限于细胞扩充、增殖、倍增、细胞因子产生和靶细胞杀伤或溶细胞活性(脱颗粒)。

[1208] CART-CD123的产生

[1209] 使用编码人scFv的慢病毒转移载体来产生包装在VSVg假型的慢病毒颗粒中的基因组物质。将慢病毒转移载体DNA与三种包装组分VSVg、gag/pol和rev以及脂质转染胺试剂混合，以将它们一起转染到Lenti-X 293T细胞(Clontech)中。

[1210] 30小时后，收集培养基，过滤并在-80℃保存。通过以来自正常单采血供体(apheresed donor)的血液开始产生治疗性CART-CD123，其中通过负选择T细胞、CD4+和CD8+淋巴细胞获得这些供体的原初T细胞。这些细胞在RPMI 1640中，10％热灭活的胎牛血清(FCS)、2mM L-谷氨酰胺、1×青霉素/链霉素、100μM非必需氨基酸、1mM丙酮酸钠、10mM Hepes和55μM 2-巯基乙醇在37℃、5％CO_2下，由CD3×28珠(**Dynabeads®** Human T-Expander CD3/CD28,Invitrogen)以1:3的比率活化。T细胞以1×10^6个T细胞在24孔板、每孔0.5mL培养基中培养。24小时后，将T细胞母细胞化(blasting)，并加入0.5mL病毒上清液。然后T细胞开始以对数生长模式分裂，通过测量每mL的细胞计数来监测T细胞的分裂，并且每两天将T细胞在新鲜培养基中稀释。由于T细胞在约10天后开始静止，对数生长减弱。减慢生长速率和T细胞大小接近～300fl的组合确定了被冷冻保存用于以后分析的T细胞状态。

[1211] 在冷冻保存之前，使用蛋白L作为检测试剂，通过在BD LSRFortessa或BD-FACSCanto上的流式细胞术分析来测定转导的细胞百分比(在细胞表面上表达抗CD123 CAR)及它们的相对荧光强度。来自该FACS的针对未染色细胞上方的信号的相对荧光强度的门控直方图显示了转导的T细胞的百分比。转导导致CART阳性细胞的范围为12-42％，如图2所示。

[1212] 评估CART-CD123重定向T细胞的溶细胞活性

[1213] 为了评估CART-CD123T细胞杀伤表达靶的细胞的功能性能力，将细胞解冻并允许过夜恢复。

[1214] T细胞杀伤针对稳定表达萤光素酶的表达CD123的MOLM13急性髓性白血病细胞系。未转导的T细胞用于测定非特异性背景杀伤水平。CART-CD123的溶细胞活性测量为效应细胞:靶细胞比率为4:1和2倍向下稀释T细胞的滴度，其中效应细胞定义为表达抗CD123嵌合受体的T细胞。通过将合适数量的T细胞与恒定数目的靶细胞混合来开始测定。20小时后，使用EnVision仪器上的Bright-Glo™萤光素酶测定法测量萤光素酶信号。随着表达CD123-CART的细胞与未转导的T细胞比率的增加，CD123细胞的杀伤也类似地增加。本文提供的数据表明，表达CD123的那些细胞仅被表达CD123-CART的细胞破坏，而不被未转导的T细胞破坏。图3。

[1215] 细胞因子产生

[1216] 为了测量CD123 CART细胞的细胞因子产生，解冻表达CD123-2、CD123-3或CD123-4的细胞，并使其过夜恢复。使用表达同种型对照(称为“同种型”)的T细胞作为背景T细胞效应的非特异性对照。T细胞针对MOLM13、PL21或U87细胞(称为靶细胞)。如所述，该测定法测

试效应细胞:靶比率为1.25:1或20:1,其中效应细胞定义为表达CD123 CAR的T细胞。细胞混合后,运行该测定法24小时,移走培养基用于分析细胞因子IL-2(图24A)、IFN-γ(图24B)和TNF-α(图24C)时,使用用于人细胞因子检测的CBA-Flex试剂盒。当表达CD123 CAR的T细胞与表达CD123的癌细胞培养时,所有CD123-CART响应表达靶的细胞产生细胞因子。

[1217] 实施例3:AML中的CART123

[1218] T细胞转导

[1219] 选择人抗人CD123克隆NVS2(表达CAR123-2)、NVS3(表达CAR123-3)、NVS4(表达CAR123-4)用于进一步研究。这些克隆都对食蟹猴CD123具有交叉反应性。将它们的活性与小鼠克隆1172和1176进行比较,所述的小鼠克隆1172和1176包含轻链至重链方向的VH和VL结构域与CD8铰链结构域、CD8跨膜结构域和41BB-共刺激结构域。1176也对食蟹猴CD123交叉反应。1172不是。

[1220] 将质粒转化到感受态细胞中,在500cc肉汤中生长,通过大量制备分离,并使用标准方法转导到293T细胞中。在24和48小时收集慢病毒上清液,使用超速离心浓缩,并冷冻。

[1221] 在SupT1细胞上滴定慢病毒,并在MOI为3时确定适当量的病毒用于原代T细胞转导。使用抗CD3/CD28珠(Dynal,Invitrogen)和白细胞介素-2100U/ml刺激原代正常供体CD4+CD8细胞6天,然后脱珠,并冷冻一次。T细胞的细胞体积减小至<300fL(约10-12天后)。

[1222] 所有克隆的T细胞转导效率几乎为100%(图5A和5B)。在NVS克隆中CD4:CD8比率为约1:1,在1172和1176克隆中为3:2(图6)。

[1223] 脱颗粒

[1224] 为了评估脱颗粒,将CART细胞(NVS 2-4、1172和1176克隆)解冻,在T细胞培养基中以$2e^6$个细胞/ml的浓度静置过夜。然后计数细胞,并在第二天以$1e^6$个细胞/ml重悬。将肿瘤靶细胞(TCM、PMA/iono、MOLM14或JURKAT)以$5e^6$个细胞/ml重悬。将细胞以$1e^5$T细胞:$5e^5$肿瘤细胞的比率在48孔板中铺板,并在抗CD107a PECy7、抗CD49d纯化的和抗CD28纯化的抗体存在下孵育2小时。然后收获细胞,用抗CD3 APC染色,并使用BD LSR Fortessa获取(图7)。

[1225] 在图7各图的右上象限中指示T细胞脱颗粒。本文呈现的结果显示CD123+靶的类似T细胞识别,其通过在2小时体外测定期间的类似脱颗粒表现。C1176具有65%的较差脱颗粒,相比之下在其他克隆中约为80%。

[1226] 细胞毒性

[1227] 为了评估细胞毒性,将CART细胞(NVS 2-4、1172和1176克隆)解冻,并以$2e^6$个细胞/ml在T细胞培养基中静置过夜。计数细胞并在第二天以$1e^6$个细胞/ml重悬。将肿瘤靶细胞(MOLM14)以$1e^6$个细胞/ml重悬。将细胞以递减的E:T比率铺板在黑色、平底96孔板中,如所示(图8),一式两份。孵育20小时后,加入萤光素并对板进行成像以测定光子通量作为残余活细胞的量度。在20小时、在最大效应细胞:靶比率时,MOLM14细胞的杀伤在所有克隆之间是相当的。

[1228] 体内小鼠模型

[1229] NSG小鼠在D0静脉内注射表达萤光素酶的$1e^6$个MOLM14细胞。在D6对小鼠的肿瘤负荷成像(IVIS Spectrum)并随机分入治疗组。将具有最低肿瘤负荷的小鼠分配到对照组(未转导的T细胞,UTD)。在D7静脉内注射CART细胞(NVS 2-4、1172和1176克隆)或对照T细胞(1e6)。来自D13进行的成像数据显示在图9中。注射后6天,所有抗CD123构建体提供相等的

抗肿瘤效果,与体外数据一致。

[1230] 实施例4:人源化CAR构建体

[1231] 产生基于鼠1176的人源化抗CD123单链可变片段(scFv),其与食蟹猴CD123交叉反应,并克隆到具有胞内CD3ζ链和4-1BB的胞内共刺激结构域的慢病毒表达载体中,给出在表5中描述的名称(在"发明详述"中提供)。

[1232] VL和VH结构域在scFv中出现的顺序是不同的(即,VL-VH或VH-VL取向),并且其中三个或四个拷贝的"G4S"(SEQ ID NO:25)亚单位,其中每个亚单位包含序列GGGGS(SEQ ID NO:25)(例如,$(G4S)_3$(SEQ ID NO:28)或$(G4S)_4$(SEQ ID NO:27)),连接可变结构域以产生整个scFv结构域,如表6(在"发明详述"中提供)所示。

[1233] 人源化scFv片段(SEQ ID NO:184-215)CAR的序列在本文的表6中提供。这些克隆均含有源自CD3ζ链的共刺激结构域的信号结构域中的Q/K残基变化。然后将CAR scFv片段克隆到慢病毒载体中,以在单个编码框架中产生全长CAR构建体,并使用EF1α启动子用于表达(SEQ ID NO:11)。

[1234] 实施例5:霍奇金淋巴瘤中的CART123

[1235] 通过流式细胞术已知CD123在约50%的经典霍奇金淋巴瘤(HL)中表达。已知对霍奇金淋巴瘤细胞系培养物外源施用IL3促进生长,并且能够通过血清剥夺部分地拯救细胞凋亡。已知SL-401对CD123(IL-3Ra)的抑制降低了CD123++HL细胞系(HDLM-2,L428)的存活力。

[1236] 通过免疫组织化学分析了8例HL患者的CD123表达。如表15所示,4/8样品在Reed-Sternberg细胞和/或微环境的免疫细胞中显示阳性。

[1237] 表15:在8个HL标本中通过IHC的靶表达

[1238]

UPN	CD30	CD123
11-978	+	-
11-33317	+	-
13-4203	+	-(组织细胞+)
11-20838	+	+
11-4623	+	-
11-17638D/E	+	+(亚组)
13-14768	+	+

[1239] 流式细胞术显示了在众所周知的霍奇金淋巴瘤细胞系HDLM-2中CD30和CD123的表达(图10)。B细胞标志物CD19和CD20缺失。

[1240] 下面的实验使用pELNS抗CD123-41BB-CD3ζ(CAR123)质粒DNA,其具有轻链至重链或重链至轻链取向的小鼠抗人CD123 scFv。T细胞获自正常供体(ND052,Human Immunology Core),使用CD3/CD28磁珠(Invitrogen)扩充,并在第2天用CAR123慢病毒转导。在第6天,通过检测dsRed(通过T2A共表达的CD123的替代标志物)检测CD123。通过流式细胞术检测dsRed(图11A-B)。

[1241] 然后对4个霍奇金淋巴瘤细胞系(HDLM2、KMH2、L428、SUPHD1)、CD123+MOLM14(阳性对照)和A375(阴性对照)中的CD123表达进行Q-PCR。CD123在所有霍奇金淋巴瘤细胞系中表达(图12)。GUSB用作持家基因。Ct阈值为40。

[1242] IL-3在促进HL细胞生长中的作用

[1243] 由于CD123是IL3受体α链和IL-3在造血生长和分化中具有重要作用,因此研究了IL3信号传导在霍奇金淋巴瘤细胞系的生长中是否重要。用表达萤光素酶的HDLM-2细胞系移植到过表达人细胞因子(包括IL-3)的NOD-SCID-γ链KO小鼠(NSG-S小鼠)。静脉内注射后,肿瘤细胞逐渐形成弥散的软组织块。中和性抗IL3抗体的连续注射减缓了肿瘤的生长。本文提供的结果表明CD123可以是霍奇金淋巴瘤中特别相关的靶标。肿瘤负荷由BLI显示(图13)。

[1244] CD107a脱颗粒测定法

[1245] 在抗CD28、抗CD49d抗体和莫能菌素存在下,将未转导的T细胞(UTD)或CART123与HDLM-2(CD123+HL细胞系)以5个靶细胞对1个T细胞的比率孵育4小时。抗CD30 CAR T细胞用作另外的对照。

[1246] 通过流式细胞术检测到CART123而不是UTD显示增加CD107a脱颗粒(图14和15)。此外,CART123显示胞内细胞因子产生(IL-2、TNF)的显著增加(图16)。

[1247] CART123杀伤HDLM-2细胞

[1248] 进行基于萤光素酶的24小时杀伤测定。T细胞与萤光素酶+HDML-2细胞以不同比率(0.3:1－10:1)共孵育。如生物发光发射中的减少所示,CART123而不是UTD显示剂量依赖性杀伤。有趣的是,CD30特异性CAR T细胞显示最小活性(图17)。

[1249] 在HL细胞系的存在下的CART123增殖

[1250] 在5天T细胞增殖测定中,将T细胞与HL细胞系(CD123+)或对照(Jurkat CD123-,MOLM-14CD123+)或PMA/离子霉素(阳性对照)或细胞培养基(阴性对照)孵育。当与HL细胞系共培养时,CART123和CART30细胞而不是UTD显示出稳健的增殖(图18)。

[1251] 72小时后收集来自增殖测定的上清液,通过Luminex测定分析30种细胞因子的存在。CART123显示出多种细胞因子的稳健产生(IFNg、IL-2、TNFa和MIP1b luminex MFI分别显示在图19A-19D中)。

[1252] CART123抗霍奇金淋巴瘤细胞系(HDLM-2)的体内功效

[1253] 为了证实本文提供的体外数据,开发了体内模型。在第0天将1百万个萤光素酶+HDLM-2细胞静脉内注射。然后进行所示的连续生物发光成像(BLI)以观察肿瘤水平(图20)。在第7天观察到低水平的肿瘤,然后在约6周的期间肿瘤负荷逐渐增加,再现惰性性质的人类疾病。在第43天,当肿瘤负荷高于基线20倍时,用150万个CART123细胞或对照T细胞处理小鼠。

[1254] CART123在14天内诱导完全和持久地根除播散的肿瘤,导致6个月时100％无复发和100％总生存(图21和22)。

[1255] 如在连续外周血采血中通过流式细胞术检测的那样,肿瘤消除与大量CAR T细胞扩充相关(图23)。扩充的T细胞为约50％CD8和50％CD4细胞。随着肿瘤负荷减少,T细胞数随时间而回缩。

[1256] 实施例6:CD123-2 CAR的另外的特征

[1257] 进行另外的体外测定以评价慢病毒转导的表达CAR123-2构建体的原代T细胞(本文也称为LV CAR123-2)。将表达CAR的T细胞(LV CAR123-2)与表达针对巨细胞病毒(hCMV)糖蛋白H(gH)的scFv的T细胞(本文称为抗GH)(作为阴性对照)进行比较。体外测定的关键包

括细胞因子产生、增殖和细胞杀伤测定。通过将T细胞(LV CAR123-2或抗GH)与表达CD123的(抗原+)细胞系(例如表达人CD123的MOLM13或K562)、或CD123阴性(抗原-)对照细胞系(例如K562)孵育进行增殖测定。使T细胞生长4天。如图25所示,当在表达CD123的细胞存在下培养时,与阴性对照相比,表达CAR的细胞呈现稳健的增殖。

[1258] 表达CAR123-2的T细胞杀伤靶细胞的能力测量为效应细胞:靶细胞比率范围为1:20和2倍稀释至1:0.3125的滴度。测试的靶细胞是稳定表达萤光素酶的表达CD123的MOLM13细胞系、稳定表达萤光素酶的PL21细胞和稳定表达萤光素酶的U87细胞。如图26A和26B所示,表达CD123-CAR的细胞显示靶向杀伤表达CD123的癌细胞(MOLM13和PL21),而阴性对照(表达抗GH的细胞)和未转导细胞(UTD)没有显示靶向杀伤。在图26C中,UTD、阴性对照(抗GH)和表达CD123 CAR的细胞没有呈现U87细胞(其不表达CD123)的特异性杀伤。

[1259] 通过分析来自含有T细胞(表达CAR123-2或抗GH)与抗原阳性(MOLM13)或抗原阴性(U87)细胞的共培养物的上清液,进行细胞因子产生的测定。CD123-CAR T细胞显示稳健的细胞因子IFN-γ(图27A)和IL-2(图27B)产生。

[1260] 实施例7:抗CD123和抗CD19 CAR T细胞的组合用于治疗和预防抗原缺失复发

[1261] 化疗难治性或复发性(r/r)B细胞急性淋巴母细胞白血病(B-ALL)与不良预后相关,但如最近证实的,其仍保留了对免疫系统的敏感。特别地,抗CD19嵌合抗原受体T细胞(CART19,CTL019)和双特异性抗CD19/CD3抗体(博纳吐单抗(blinatumomab))在该患者群体中产生45-90%的前所未有的完全反应率。这两种方法重新导向自体T细胞以识别表达CD19的细胞。博纳吐单抗使用双特异性构建体的连续长期输注,所述双特异性构建体组合抗CD19单链可变片段(scFv)与抗CD3 scFv;在CART19的情况下,T细胞被遗传修饰以表达融合至具有内在的共刺激结构域的T细胞受体信号传导的抗CD19scFv。最近的一项研究显示,90%用CTL019治疗的r/r B-ALL患者达到完全缓解(CR),在6个月的总生存(OS)为78%。在患有其他B细胞肿瘤的患者中也获得了CART19的令人鼓舞的结果,例如慢性淋巴细胞性白血病和非霍奇金淋巴瘤。

[1262] 然而,用CART19或博纳吐单抗治疗的患者亚组发生复发,且这些复发的显著一部分的特征在于缺失CD19。在B-ALL中,在CART19或博纳吐单抗治疗后10-20%的患者中报道了CD19阴性复发,这在其他治疗的设置中没被描述;在博纳吐单抗后总共约30%的复发和在CART19后多至50%的复发是CD19阴性的。CD19是从B细胞发育的最早期到成熟B细胞表达的原型B细胞标志物。CD19在B细胞生物学中起重要作用,因为CD19缺陷的B细胞表现出选择性生长缺陷。因此,CD19的缺乏在B-ALL中是非常不寻常的发现,并且在强有效的CD19定向免疫疗法之前仅在罕见的患者中报道。目前正在研究抗原缺失的可能机制,并且很可能是由这些强大的抗CD19物质对白血病亚克隆的选择性压力引起的。由于FDA最近批准了博纳吐单抗以及由于对CTL019的突破性状态,有可能用这些试剂治疗增加r/r B-ALL患者数目。因此,需要新的有效策略以便能够治疗在CART19或博纳吐单抗后将具有CD19阴性母细胞复发的那些患者。理想地,新方法不仅治疗具有活性抗原-缺失复发的患者,而且如果预先使用,可能潜在地防止它们的发生。

[1263] 白细胞介素3受体α(或CD123)参与造血,并已显示在几种血液肿瘤中表达,包括急性髓性白血病(AML)、急性淋巴性白血病(ALL)、浆细胞样树突细胞瘤、毛细胞白血病和霍奇金淋巴瘤。与谱系相关的表面抗原如CD33(髓样)或CD19(B-淋巴样)不同,CD123在造血祖细

胞上分级表达，在AML中CD123在参与对化疗的抗性和初始治疗后的复发的白血病干细胞上表达。由于这些特征，CD123对靶向治疗产生了很大的兴趣，正在开发多种试剂，如IL3-白喉毒素融合蛋白(SL-401、DT388IL3)、裸抗CD123单克隆抗体(CSL-360、CSL-362)、抗体-药物缀合物、双特异性抗体或CD3Fv-IL3融合构建体，以及最近的抗CD123嵌合抗原受体T细胞。这些方法中的一些目前正在临床试验中得到验证，并且将在接下来的几年中会在临床中测试更多疗法。用嵌合抗原受体T细胞(CART123)靶向CD123可以导致在人原发性AML异种移植中的深度和长期反应，并且可以建立抗白血病T细胞记忆。在这里，CD123在CD19定向疗法后发生的CD19阴性B-ALL复发中表达，并且CAR-123T细胞与CART19(CTL019)组合是用于治疗和预防B-ALL异种移植中的抗原缺失复发的有效疗法。

[1264] 材料和方法

[1265] 细胞系和原代样品：细胞系最初获自ATCC(Manassas，VA)(K-562)或DSMZ(Braunschweig，德国)(MOLM-14和NALM-6)。测试所有细胞系的支原体污染的存在(MycoAlert™支原体检测试剂盒，LT07-318，Lonza，Basel，Switzerland)。对于一些实验，用萤火虫萤光素酶/eGFP转导细胞系，然后分选以获得>99％的阳性群体。萤光素酶阳性K-562细胞系也用截短的CD19或截短的CD123转导以获得不表达二者、仅表达CD19或仅表达CD123的细胞系。MOLM-14和K562用作对照，如相关图中所示。将细胞系在补充有10％胎牛血清(FBS，Gemini，100-106，West Sacramento，CA)和50UI/ml青霉素/链霉素(Gibco，Life Technologies，15070-063)的RPMI培养基1640(Gibco，11875-085，LifeTechnologies，Grand Island，NY)中培养维持。去除鉴定(De-identified)的原代人ALL骨髓(BM)和外周血(PB)标本在机构审查委员会(IRB)-协议下获自宾夕法尼亚大学/费城儿童医院的临床实践，购买自宾夕法尼亚大学的干细胞和异种移植物中心或来自当前CTL019临床试验的研究样品(宾夕法尼亚大学的翻译和相关研究实验室)。对于所有功能研究，原代细胞在实验前至少12小时解冻，并在37℃静置。

[1266] 原代B-ALL母细胞的体内扩增：方法公开在D.M.Barrett，A.E.Seif，C.Carpenito，D.T.Teachey，J.D.Fish，C.H.June，S.A.Grupp，G.S.Reid，Noninvasive bioluminescent imaging of primary patient acute lymphoblastic leukemia:a strategy for preclinical modeling.Blood 118，e112-117(2011)中。

[1267] 荧光原位杂交(FISH)和免疫组化：根据标准方法进行FISH分析和免疫组织化学，如(M.A.Belaud-Rotureau，M.Parrens，P.Dubus，J.C.Garroste，A.de Mascarel，J.P.Merlio，A comparative analysis of FISH，RT-PCR，PCR，and immunohistochemistry for the diagnosis of mantle cell lymphomas.Modern pathology:an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology，Inc 15，517-525(2002))所述。根据标准方法进行FISH分析。简言之，将收获的ALL细胞悬浮在固定剂(乙酸和甲醇)中，沉积在载玻片上，并使其干燥。将双色基因融合探针BCR/ABL(Abbott Molecular)应用于杂交缓冲液中。将载玻片盖上盖子，密封，并在37℃下放置在HYBrite室内6小时。除去密封剂和盖玻片后，将载玻片洗涤两次，印迹，干燥并用DAPI复染色。在荧光显微镜下检查载玻片，在每个样品中评价最少200个核。

[1268] CAR构建体和CAR T细胞的产生：如前所述产生鼠抗CD19嵌合抗原受体(CD8铰链，4-1BB共刺激结构域和CD3ζ信号结构域)。(Milone等人，Molecular therapy:the Journal

of the American Society of Gene Therapy 17,1453-1464(2009)和Imai等人,Leukemia 18,676-684(2004))。这是目前在宾夕法尼亚大学的CTL019临床试验中使用的相同构建体。对于CAR123scFv,使用抗CD123(1172构建体(SEQ ID NO:707,如PCT/US2014/017328中所述),其是CAR19的相同骨架构建体。如前所述进行表达CAR的T细胞的产生(Gill等人,Blood 123,2343-2354(2014))。正常供体CD4和CD8T细胞或PB单个核细胞(PBMC)获自宾夕法尼亚大学的人免疫中心。将T细胞以1×10^6/ml铺板,其中CD4:CD8比率为1:1,在X-vivo 15培养基(Lonza,04-418Q)中扩充,该培养基补充有人AB血清5%(Gemini,100-512)、青霉素/链霉素(Gibco,15070063)和Glutamax(Gibco,35050061),使用在培养的第1天加入并且在第6天去除的抗CD3/CD28Dynabeads(Life Technologies,11161D)。在第2天用慢病毒转导T细胞。在培养中扩充T细胞持续8-15天,然后当中位值细胞体积低于300fl时收获细胞。然后将T细胞冷冻保存在含有10%DMSO的FBS中用于将来的实验。在所有实验之前,将T细胞解冻并在37℃静置过夜

[1269] 多参数流式细胞术:如先前所述进行流式细胞术(Kenderian,等人,Leukemia,(2015))。抗人抗体购自Biolegend,eBioscience或Becton Dickinson。从体外培养物或从动物中分离细胞,在补充有2%胎牛血清的PBS中洗涤一次,并在室温下染色15分钟。对于细胞数定量,根据制造商的说明书使用Countbright(Invitrogen)珠。在所有分析中,基于正向对侧向散射特征对感兴趣的群体进行门控,随后进行单重门控,使用Live Dead Fixable Aqua(Invitrogen)门控活细胞。包括时间门控用于质量控制。如前所述,使用抗独特型抗体检测CAR19的表面表达。使用山羊抗小鼠抗体(Jackson Laboratories)或CD123-Fc/His(Sino Biologicals)和抗His-APC(R&D)或PE(AbCam)进行CAR123的检测。在四激光Fortessa-LSR II细胞计数器(Becton-Dickinson)上进行流式细胞术,并用FlowJo X 10.0.7r2(Tree Star)分析。

[1270] 体外T细胞效应功能测定:如前所述进行脱颗粒、CFSE增殖、细胞毒性测定和细胞因子测量。(Gill等人,Blood 123,2343-2354(2014)和Kalos等人,Science translational medicine 3,95ra73(2011))。

[1271] 脱颗粒测定:简言之,将T细胞与靶细胞以1:5的比率在T细胞培养基中孵育。向共培养物中加入抗CD107a-PECY7(Biolegend)、抗CD28(BD Biosciences)、抗CD49d(BD Biosciences)抗体和莫能菌素(BD Biosciences)。4小时后,收获细胞并对CAR表达染色,CD3、CD8和Live Dead aqua染色(Invitrogen)。将细胞固定并透化(Invitrogen Fix/Perm缓冲液),然后进行细胞内染色以检测多种细胞因子(IFN、TNFα、IL-2、GM-CSF、MIP1β)。

[1272] 增殖测定:洗涤T细胞并以1×10^7个/ml重悬于100μl PBS中,并在37℃用100μl CFSE 2.5uM(Invitrogen)染色5分钟。然后用冷的培养基淬灭反应,并将细胞洗涤三次。以100Gy的剂量照射靶。T细胞与经照射的靶细胞以1:1的比率孵育120小时,在24小时加入培养基。然后收获细胞,对CD3、CAR和Live Dead aqua(Invitrogen)染色,在流式细胞术分析之前加入Countbright珠(Invitrogen),用于绝对定量。

[1273] 细胞毒性测定:如前所述,将萤光素酶/eGFP+细胞系用于细胞毒性测定。简言之,将靶与效应T细胞以指定的比率孵育24小时。通过在Xenogen IVIS-200光谱照相机上的生物发光成像计算杀伤。

[1274] 细胞因子测量:效应细胞和靶细胞以1:1的比率在T细胞培养基中共孵育24。收获

上清液，并根据制造商的方案(Invitrogen)通过30-plex Luminex阵列(Luminex Corp，FLEXMAP 3D)分析。

[1275] 动物实验：如前所述进行体内实验。(Kenderian，等人，Leukemia，(2015))。使用的异种移植模型的模式在相关图、结果中详细讨论。最初从Jackson Laboratories获得的NOD-SCID-γ链-/-(NSG)购自宾夕法尼亚大学的干细胞和异种移植中心。所有实验根据遵循动物管理和使用委员会机构(IACUC)批准的方案(#803230)进行，该委员会机构遵循NIH对实验室动物管理和使用的指南。将细胞(白血病细胞系或T细胞)以指定浓度在200μl PBS中注射到小鼠的尾静脉中。使用Xenogen IVIS-200光谱照相机进行生物发光成像，并用LivingImage软件v.4.3.1(Caliper LifeSciences)分析。在实验结束时或当它们根据IACUC方案满足预先指定的终点时，对动物实施安乐死。

[1276] 多光子显微镜：将小鼠麻醉并维持在37℃的核心温度。去除头皮并固定颅骨后，对骨髓进行成像。使用配备有皮秒激光器(Coherent)的Leica SP5 2光子显微镜系统(Leica Microsystems)进行成像。每次成像采集持续20分钟，然后评估小鼠镇静状态。使用850nm的激光激发CellTrace Violet、GFP和CellTrace Orange(或TRITC)。使用20x水浸透镜获得图像。使用Volocity软件(PerkinElmer)分析所得图像。

[1277] 统计分析：使用用于Windows的版本6.04(La Jolla，CA)的GraphPad Prism 6，如所指示的进行所有统计。使用学生t检验比较两组；在比较多个组的分析中，进行用于多重比较的单因素方差分析(ANOVA)，并带有Holm-Sida校正。当在多个时间点/比率比较多个组时，对于每个时间点/比率使用学生t检验或ANOVA。使用对数秩检验比较存活曲线。在图中，星号用于表示p值(*＝<0.05，**＝<0.01，***＝<0.001，****＝<0.0001)，并且“ns”表示“不显著”(p>0.05)。对于每个实验，统计的更多细节在图例中列出。

[1278] 结果

[1279] CD123在B-ALL中、在白血病干细胞中和在CD19阴性复发中表达

[1280] 为了评价CD123在B细胞急性淋巴细胞性白血病中的表达，分析了来自成人和儿科ALL患者的42个样品，包括我们目前的CTL019临床试验中招募的14个受试者。如图31A、31B和38A所示，CD123在大多数ALL母细胞的表面上高度且均匀地表达，代表了靶向治疗的理想候选。此外，还发现CD123在推定的鉴定为CD34+CD38-的白血病干细胞(LSC)中表达(图31C)。在一些B-ALL患者中可以鉴定到CD19阴性母细胞的小亚组，并且如果这些细胞含有具有恶性表型的细胞，则这些细胞可有助于抗原缺失复发。为了评价CD19阴性亚组中疾病的存在，对来自费城染色体阳性B-ALL大群体的CD19-CD123+细胞进行分选(CD45暗淡，门控策略如图38B所示)。发现这些细胞对于BCR-ABL易位是克隆的，尽管以比CD19+母细胞更低的频率(图31D)。该发现表明，单独靶向CD19，在一些情况下可导致源自CD19-CD123+细胞的亚克隆复发。此外，这一发现表明，靶向CD123可以通过消除LSC和可能的CD19阴性白血病克隆导致更深的反应。

[1281] 最后，在具有CD19缺失的CTL019后复发的B-ALL患者的样品中也评估了CD123的表达。重要的是，与CD19的完全缺失相反，大多数患者在复发时维持CD123表达(图31E、31F和38C)。这些发现表明CD123代表靶向CART19或博纳吐单抗之后出现的CD19阴性ALL母细胞的理想标志物。

[1282] 抗CD123嵌合抗原受体T细胞在体外和体内是活性抗人B-ALL的

[1283] 产生抗CD123嵌合抗原受体T细胞(CART123)(37),其转导慢病毒并用抗CD3/CD28磁珠扩充。如本文所述评价CART123抗B急性淋巴母细胞性白血病的体外和体内活性。

[1284] 使用CD19++和CD123+的B-ALL细胞系NALM-6(图32A和39A)和原代B-ALL样品。当T细胞与NALM-6或原代ALL共培养时,CART123和CART19之间的头对头体外比较显示相似的CD107a脱颗粒速率(图32B)。CART123也能以剂量依赖性方式杀伤NALM-6细胞,具有与CART19相似的效率(图32C)。在更长期的实验中,当与NALM-6或原代ALL共培养3-5天时,CART123增殖(图32D和32E)并产生多种细胞因子(图32F)。这些结果表明CART123表现出与CART-19等同的针对多种B-ALL靶的效力。

[1285] 为了在体内模型中证实这些数据,使用原发性ALL模型。在该模型中,从B-ALL患者获得的原代母细胞在NOD-SCID-γ链敲除(NSG)小鼠中传代,并用包含eGFP和叩头甲虫萤光素酶(GFP/Luc)的报告基因构建体转导。NSG小鼠静脉内注射GFP/Luc+原代ALL母细胞(JH331、CD19+、CD123+、添加表型),并且在移植后,将小鼠随机化以接受CART19、CART123或对照未转导的T细胞(UTD)。用对照T细胞处理的小鼠迅速死于疾病,而用CART19或CART123处理的小鼠显示肿瘤消除和长期存活(图33A和33B)。与对照T细胞相比,CAR123T细胞在小鼠的外周血(PB)中显著扩充,并表达高水平的CAR123(图33C)。CART123的抗白血病活性是特异性的,并且基于对母细胞表面上的CD123的识别,当我们用CD123-CD19+白血病(AV576)移植小鼠时,仅CART19显示抗白血病活性,而CART123与对照UTD相比没有作用(图39B和39C)。

[1286] 为了检测CART123剂量和抗肿瘤活性的可能相关性,开发了携带高白血病负荷小鼠的体内模型(使用NALM-6细胞系)。在该模型中,CART123的标准剂量(2百万CAR+细胞)不能清除肿瘤。这些小鼠注射不同剂量的CART123(一百二十五万、2百万和5百万CAR+细胞),观察到剂量相关的抗白血病活性(图39D)。

[1287] CART123而不是CART19在抗原缺失复发的新型临床前模型中是高度活性的

[1288] 为了测试靶向CD19阴性复发的新策略,开发了抗原缺失复发的新体内模型。当疾病是CD19++和CD123+时,以及当患者发展成CD19阴性疾病时在CTL019之后的复发时(CD123仍表达,图40A),收集基线处(在CTL019治疗之前)获自我们CTL019临床试验之一中募集的患者(CHP101)的B细胞母细胞。然后在NSG小鼠中扩充母细胞,并对基线疾病(CD19+)转导叩头甲虫绿色萤光素酶(CBG)或对复发(CD19-)转导叩头甲虫红色萤光素酶(CBR)(参见方法部分)。重要的是,在体内扩充期间,母细胞保留B细胞识别标志物而不是CD19(数据未显示)。在第一个实验中,NSG小鼠移植基线疾病CD19+(CBG,绿色)或CD19阴性(CBR,红色)白血病。将两组随机化以接受CART19或对照T细胞(UTD)(图34A)。如图34B所示,在两组中,用UTD处理的小鼠显示基线和复发疾病的快速进展,不依赖于CD19的表达。相反,在用CART19处理的小鼠组中,仅移植基线疾病(CD19阳性)的小鼠对CART19治疗有反应,而移植复发疾病(CD19阴性)的小鼠如预期显示出不应性。这也在体外的CD107a脱颗粒测定中再现(图40B)。为了在体内模拟表达CD19或缺乏CD19的不同克隆的存在,NSG小鼠移植1:1的基线和复发疾病的混合物;在第8天,将小鼠随机化以接受CART19或对照T细胞。用生物发光成像监测肿瘤负荷,该生物发光成像能够区分体内的CD19+(CBG,绿色)/CD19-(CBR,红色)白血病相对生长。如图43C所示,在接受UTD的小鼠中,在第6天存在的CD19+(绿色)和CD19-(红色)白血病在第11天类似地增加,而在用CART19处理的小鼠中,基线疾病(绿色)完全清除,而复发性疾

病(红色)显示进展。

[1289] 使用这种独特的原代CD19阴性B-ALL和CART19衰竭的异种移植模型来评价CART123在治疗抗原缺失复发中的作用。将原代CD19阴性母细胞(CBR阳性)注射到NSG小鼠中(图34D),并将小鼠随机化以接受CART19、CART123或对照T细胞。CART19和对照T细胞显示完全缺乏抗肿瘤活性,而CART123导致在这些小鼠中完全根除疾病和长期存活(图34E和34F)。事实上,在CART19难治的原发性B-ALL的临床前模型中,新的CART123能够根除疾病并赋予长期存活。

[1290] 为了理解CART19和CART123在单细胞水平的体内模型中的差异行为,通过将差异标记的CART19(CellTrace Violet,蓝色)和CART123(CellTracker Orange或TRITC)的混合物注射到携带CD19阳性原代母细胞(GFP)或CD19阴性复发性母细胞(GFP)的小鼠进行一系列实验,在注射后大约24小时使用颅骨骨髓的活体2光子显微镜追踪它们的行为(实验方案,图35A)。这些研究表明CART19和CART123运送到含有白血病的骨髓空间,并且CART细胞识别与运动性阻滞相关的同源抗原。具体地,在移植基线CD19+ CD123+白血病的小鼠中,发现62.9%+/- 3.8的CART19和81.1%+/- 1.2的CART123停滞在与母细胞相邻的圆形形态,而在移植有复发CD19-CD123+白血病的小鼠中,仅CART123细胞在肿瘤细胞旁被阻滞(CART123 80.9%+/- 5.1对CART19 12.4%+/- 2.2)(图35B和35C)。这些发现表明,在CD19阴性复发ALL中,仅CART123能够与白血病细胞(GFP)建立生产性突触并因此降低它们的运动性,而CART19细胞继续取样并在环境中移动而不识别白血病母细胞。

[1291] CART123和CART19的组合能够预防CD19阴性复发

[1292] 证明CART123有效治疗在CART19抗性的临床前模型中在CD19定向疗法后发生的CD19阴性复发。然而,组合方法可以治疗活动性CD19阳性疾病,同时防止抗原缺失复发。为了验证这个假设,通过将原发性CD19-和CD19+疾病一起注射到NSG小鼠中来模拟具有CD19阴性逃避潜力的B-ALL出现的临床问题。然后将小鼠随机化以接受相同总剂量T细胞的对照T细胞(UTD)、CART19或CART19和CART123的组合(图36A)。如图36B所示,用对照T细胞治疗的小鼠具有两种白血病克隆的进展,CART19显示主要是CD19阴性疾病(红色)的快速进展。相反,用CART123和CART19的组合处理的小鼠显示出疾病的清除和改善的总体存活,如图36C所示。在实验结束时处死的小鼠的分析显示在合并的CAR T细胞组中没有残余白血病的迹象。相反,CART19单一疗法后具有进行性疾病的小鼠保留了预期的CD19阴性表型(图36D)。

[1293] 最后,用2种慢病毒转导T细胞,一种携带CAR19和另一种携带CAR123,以开发能够被CD19和/或CD123激活的CART。如图37A所示,检测到四种不同转导的T细胞亚组:CAR19和CAR123双阴性、CAR19单阳性、CAR123单阳性和双阳性CAR19/CAR123T细胞。对这四个亚组进行分选并且针对K562-WT、K562 CD19+或K562 CD123+测试其功能性和特异性。图37B显示了CD107a脱颗粒测定的结果,其中单个阳性亚组响应于它们的特异性靶标,而只有双阳性群体能够在表达CD19和CD123两者的K562存在下脱颗粒。此外,与等量的单刺激CART细胞相比,双重刺激的CART细胞对双阳性靶标表现出更强的细胞毒性,表明通过使用由两种不同抗原触发的CAR,潜在地增加功效(图37C)。

[1294] 讨论

[1295] CD19定向免疫治疗正在改变复发和难治性急性淋巴母细胞性白血病治疗的范例。之前具有不良结果的患者现在具有实现完全反应和长期疾病缓解的现实潜能。然而,如在

某些情况下对于用其它形式的有效靶向疗法处理的白血病所示，白血病细胞能够产生导致抗性和复发的抗原缺失突变。在CART19的情况下，观察到两种主要的复发模式。CART19早期缺失而不能持续的患者具有原始克隆复发的风险；实际上，最小的残留疾病分析表明可能需要1-6个月的持续的CART活性以完全根除恶性肿瘤。相反，约50％的复发发生在尽管CART19持续存在并且特征在于发生CD19阴性的白血病。后一种观察结果表明CART19具有强的选择性压力。值得注意的是，CD19阴性复发也发生在博纳吐单抗治疗后，虽然这些代表了少量的复发发生，这可以说是不太有效的治疗。(5)有多种潜在的发展成CD19阴性疾病的机制。其中之一是以非常低的频率存在于基线的CD19阴性克隆的选择和相对生存优势，并且这最初被认为是导致CD19阴性复发的最可能的因素。最近，其他机制，如CD19剪接的失调也被认为是重要的。在这里首次显示，B-ALL中罕见的CD19-ve母细胞可以包含在更常见的CD19阳性白血病母细胞中发现的标志性细胞遗传学异常，证实这是CD19阴性复发的潜在机制。我们通过证明CD123+CD19-ve母细胞可以植入免疫缺陷小鼠中证实了这些发现，表明CD123可以是B-ALL中白血病干细胞的标志物，如其在AML中。

[1296] 这项研究的目的是定义新的策略以治疗CD19定向疗法后具有抗原缺失的患者复发。CD123在大多数B-ALL中高度表达，并且特别是CD123在CD19阴性疾病复发的患者中保持表达。这证明了CD19-CD123+群体中存在克隆白血病细胞，表明靶向CD123与CART19组合可以增加消除由于CART19压力下的选择性优势而可以增殖的亚克隆的可能性。CD123先前已经被验证为AML中白血病干细胞的标志物。在这里，显示CD123在ALL中的免疫表型定义的白血病干细胞(LSC)中表达，提高了靶向LSC上的CD123的可能性，可以促进ALL的根除。

[1297] 为了研究CART123在抗原缺失复发中的作用，从来自注册在宾夕法尼亚大学/费城儿童医院的CTL019试验之一的B-ALL患者(CHP101)的原代母细胞开发了CD19阴性复发的新型异种移植模型。该患者在基线时具有经典的CD19+ CD123+表型，但随后在用CART19治疗后复发，患有CD19-CD123+疾病。使用该模型，证明CART123可以根除复发性疾病，并且与CART19组合可以预防抗原缺失复发。这是在临床相关的源自患者的模型中首次证明双CART组合。此外，通过使用活体成像，显示CART细胞在静脉内注射后不到24小时内进入骨髓，寻找其靶标，并减慢以与同源的带有抗原的细胞相互作用。此外，显示双信号传导CART123/19比单独的CART或两个CAR的合并更有效，这与之前公布的结果一致。

[1298] 以前，显示抗CD123嵌合抗原受体用于治疗急性髓性白血病的临床前功效。由于CART123识别造血干细胞和祖细胞上的CD123而引起造血毒性，这是临床转换(translation)的主要潜在挑战，因为深刻的干细胞毒性可导致永久性骨髓消融。据推测，为了使造血毒性最小化，仅在CD19和CD123同时共同结合时才激活T细胞的新构建体可以消除这种造血毒性。在这里，发现接收来自CD19识别的激活信号和来自CD123识别的刺激信号的CART细胞可以杀伤B-ALL细胞以及避免我们先前描述的深刻的造血毒性。尽管这个概念以前是使用CD19/PSMA识别的人工系统公开的，但是该临床相关构建体在该领域中代表重大进步，其具有相对清楚的临床转换途径。值得注意的是，尽管这样的双CAR设计可能与降低的毒性相关联，但是通过使CAR识别更多而不是较少的限制性，可能留下未解决的抗原缺失复发的问题。然而，如果CD123的靶向成功地根除ALL干细胞，这种方法可以是安全和有效的。

[1299] 总之，这里证实的是通过靶向CD123治疗B-ALL的新的和有效的策略。该方法是特

别有吸引力的，因为CD123在患有B-ALL的一些患者中在罕见的CD19阴性恶性细胞中表达，并且保留在CD19定向免疫疗法后发生的抗原缺失复发中。此外，CART19与CART123的组合可以预防CD19阴性复发的发生。

[1300] 实施例8：与检查点抑制剂组合增强CART功能和治疗指数

[1301] 嵌合抗原受体T细胞(CART)疗法在过去几年中已经发展成为血液恶性肿瘤中强大的和潜在的治疗性疗法。CD19定向的CART细胞已在急性淋巴母细胞性白血病中导致令人印象深刻的～90％的完全响应率，其对于大多数患者是持久的。然而，其他恶性肿瘤如慢性淋巴细胞性白血病的总体响应率约为50％。这可能部分与白血病细胞诱导的CART消耗和功能障碍有关。在该实施例中，在血液恶性肿瘤中评价了抑制性受体/途径在诱导CART细胞功能障碍和消耗中的作用。

[1302] 作为肿瘤模型，用CD33或CD123定向的CART细胞(包含41BB和CD3z刺激结构域和慢病毒载体，1172构建体(SEQ ID NO:707))处理急性髓性白血病(AML)细胞系(MOLM14)和原发性AML样品。

[1303] 原代AML样品或MOLM14细胞系与CD33或CD123定向的CART的孵育导致在孵育24小时后肿瘤细胞上的PDL1显著上调(第0天为0％，第1天为80％，P<0.001)，共培养后3-7天T细胞上的PD1和TIM3上调(表达PD1的T细胞在第0天为8％，在第3天为43％，P＝0.03；并且表达TIM3的T细胞在第0天为13％，在第3天为71％，p＝0.001，图41A、41B和41C)。进一步的流式细胞术分析证明在CD8+T细胞(图42A、42B、42C和42D)和CD4+T细胞中检查点抑制剂PD1、TIM3和另外的检查点抑制剂LAG3和CTLA4上调。重要的是，在暴露于靶细胞(原代AML或MOLM14细胞)后3-7天之间观察到最大表达。

[1304] 对于体内实验，用MOLM14细胞系移植NSG(NOD-SCID-$g^{-/-}$)小鼠。用亚优化剂量的CD33或CD123 CART处理这些AML异种移植物导致初始抗肿瘤反应，随后在40-60％的小鼠中发生疾病复发(图44)。

[1305] 从这些小鼠的骨髓中分离T细胞，并分析抑制性受体的差异表达。与从CART细胞治疗后缓解的小鼠中分离的T细胞相比，从具有复发性疾病的小鼠分离的T细胞上的PD1和TIM-3受体的上调显著增加(图43和45)。

[1306] 接下来，研究了添加检查点抑制剂在CART细胞治疗后改善离体T细胞功能的作用。将从CART细胞治疗后复发的小鼠骨髓中分离的T细胞在肿瘤存在下与PD-1抑制剂(BioXcell，目录号为BE0193，克隆#为J110)、TIM3抑制剂(Biolegend，克隆F38-2E2，目录号345010)、CEACAM抑制剂(Sigma-Aldrich，目录号SAB1403604-100UG)共同孵育，或与PD1和TIM3抑制剂的组合、或PD1和CEACAM1抑制剂的组合共同孵育。施用10ug/ml浓度的检验点抑制剂。如在检查点抑制剂存在下，通过细胞因子产生(例如IFN-γ)和Ki-67增殖标志物所测量的，CART细胞效应功能有所改善。当PD1和TIM3抑制剂组合时，CART细胞效应功能的改善更显著(图46A和46B)。

[1307] 最后，测试了组合检查点抑制剂与CART是否会改善抗肿瘤活性，例如增强治疗指数和预防在AML异种移植中的复发。在该方法中，用次优剂量的CD33或CD123定向CART或用对照未转导的T细胞(UTD)、在具有或不具有检验点抑制剂的不同组合时治疗MOLM14异种移植物。NSG小鼠移植MOLM14AML细胞系。通过生物发光成像证实移植。然后用次优剂量(0.25-0.5×10^{6}总T细胞I.V)的CD33或CD123定向CART或用对照未转导的T细胞(UTD)处理AML异

种移植物。小鼠在T细胞后第3、6、9和12天也接受PD-1阻断、TIM3阻断或两者的组合。然后对小鼠进行连续成像以评估疾病负荷。实验模式总结在图47和49中。

[1308] 向未转导的T细胞添加检查点抑制剂不会导致抗白血病效果(图48)。然而,加入PD1或TIM3阻断导致协同的抗肿瘤活性,如图50A、50B、50C和50D所示。持久的完全响应率如下:对于单独用CART123治疗为45%(图50A、50B和50C),对于用CART123+PD1抑制治疗为80%(图50A),对于用CART123+TIM3抑制治疗为100%(图50B),和对于用CART123+PD1和TIM3抑制治疗为80%(图50C)。

[1309] 因此,使用CART123与检查点抑制剂组合的治疗导致比当施用CART123时观察到的抗肿瘤效果更强的抗肿瘤活性,组合了当单独施用任何检查点抑制剂时观察到的抗肿瘤效果。这些结果表明PD1和TIM3途径参与AML中的CART消耗和功能障碍。检查点抑制剂与CART细胞的组合可以导致AML和其他血液恶性肿瘤中增强的功能。

[1310] 实施例9:低剂量RAD001在细胞培养模型中刺激CART增殖

[1311] 通过在不同浓度的RAD001存在下将表达CART的细胞与靶细胞共培养来评价低剂量RAD001对体外CAR T细胞增殖的作用。

[1312] 材料和方法

[1313] CAR转导的T细胞的产生

[1314] 使用人源化的抗人CD19 CAR(huCART19)慢病毒转移载体来产生包装到VSVg假型慢病毒颗粒中的基因组材料。人源化的抗人CD19 CAR(huCART19)的氨基酸和核苷酸序列是在2014年3月15日提交的PCT公开WO2014/153270中描述的CAR 1,ID 104875,并且在其中称为SEQ ID NO.85和31。

[1315] 将慢病毒转移载体DNA与三种包装组分VSVg env、gag/pol和rev并组合脂质转染胺试剂混合,以转染Lenti-X 293T细胞。在24小时和30小时后更换培养基,之后收集含病毒的培养基,过滤并在-80℃下保存。通过转导新鲜或冷冻的原初T细胞产生CART,所述原初T细胞通过对健康供体血液或leukopak的负磁选择而获得。通过与抗CD3/抗CD28珠孵育24小时来活化T细胞,之后将病毒上清液或浓缩的病毒(分别为MOI=2或10)加入到培养物中。使修饰的T细胞扩充约10天。在第7天和第9天之间通过流式细胞术分析来测定转导的(在细胞表面上表达CAR的)细胞百分比和CAR表达水平(相对荧光强度,Geo Mean)。减慢生长速率和T细胞大小接近~350fL的组合确定待冷冻保存用于以后分析的T细胞状态。

[1316] 评估CART的增殖

[1317] 为了评价CART的功能,将T细胞冻融并计数,并通过Cellometer评估存活力。用未转导的T细胞(UTD)归一化每种培养物中的CAR阳性细胞的数量。在从50nM开始的RAD001滴定中测试RAD001对CART的影响。在所有共培养实验中使用的靶细胞系是Nalm-6,其是表达CD19并转导以表达萤光素酶的人前B细胞急性淋巴细胞性白血病(ALL)细胞系。

[1318] 为了测量CART的增殖,将T细胞与靶细胞以1:1的比率培养。当针对CD3、CD4、CD8和CAR表达进行细胞染色时,测定进行4天。通过使用计数珠作为参考的流式细胞术评估T细胞的数量。

[1319] 结果

[1320] 在4天共培养测定中测试CART细胞的增殖能力。在用Nalm-6培养CAR-转导和未转导的T细胞后,评估CAR阳性CD3阳性T细胞(深色柱)和总CD3阳性T细胞(浅色柱)的数量(图

53)。当在少于0.016nM的RAD001存在下培养时，huCART19细胞扩充，在较高浓度的化合物下扩充程度较小。重要的是，在0.0032和0.016nM RAD001时，增殖高于在不添加RAD001的情况下观察到的增殖。未转导的T细胞(UTD)没有显示可检测的扩充。

[1321] 实施例10：低剂量RAD001在体内刺激CART扩充

[1322] 该实施例评价了用不同浓度的RAD001在体内增殖huCAR19细胞的能力。

[1323] 材料和方法：

[1324] NALM6-luc细胞：从患有复发性ALL的患者的外周血开发出NALM6人急性淋巴母细胞性白血病(ALL)细胞系。然后用萤火虫萤光素酶标记细胞。这些悬浮细胞在补充有10％热灭活的胎牛血清的RPMI中生长。

[1325] 小鼠：从Jackson Laboratory(储存编号005557)接收6周龄的NSG(NOD.Cg-Prkdc^{scid}Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ)小鼠。

[1326] 肿瘤移植：使NALM6-luc细胞在补充有10％热灭活的胎牛血清的RPMI中在体外生长和扩充。然后将细胞转移到15ml锥形管中，并用冷无菌PBS洗涤两次。然后计数NALM6-luc细胞，并以10×10^{6}个细胞/毫升PBS的浓度重悬。将细胞置于冰上并立即(在1小时内)植入小鼠中。通过尾静脉以100μl体积静脉内注射NALM6-luc细胞，每只小鼠总共注射1×10^{6}个细胞。

[1327] 施用CAR T细胞：在肿瘤植入7天后给小鼠施用5×10 ^{6}CAR T细胞。将细胞在摄氏37℃水浴中部分冻融，然后通过向含有细胞的管中加入1ml冷的无菌PBS完全冻融。将冻融的细胞转移至15ml falcon管中，并用PBS调整至最终体积为10ml。将细胞以1000rpm洗涤两次，每次10分钟，然后在血细胞计数器上计数。然后将T细胞以50×10^{6}CAR T细胞/ml冷PBS的浓度重悬，并保持在冰上直到施用给小鼠。通过尾静脉给小鼠静脉内注射100μl CAR T细胞，每只小鼠剂量为5×10^{6}个CAR T细胞。每组8只小鼠用100μl PBS单独(PBS)或人源化CD19 CAR T细胞处理。

[1328] RAD001给药：配制50mg的浓缩微乳液(等于1mg RAD001)，然后在给药时重悬于D5W(5％葡萄糖水溶液)中。小鼠每天口服给予(通过口服管饲)200μl所需剂量的RAD001。

[1329] PK分析：在肿瘤植入后7天开始小鼠每天给药RAD001。给药组如下：0.3mg/kg、1mg/kg、3mg/kg和10mg/kg。在第0天和第14天在RAD001的第一次和最后一次剂量后对小鼠采血，在以下时间点用于PK分析：15分钟、30分钟、1小时、2小时、4小时、8小时、12小时和24小时。

[1330] 结果：

[1331] 在具有NALM6-luc肿瘤的NSG小鼠中测试RAD001的扩充和药代动力学。每天单独口服给予RAD001对NALM6-luc肿瘤的生长没有影响(图54)。RAD001的药代动力学分析显示其在荷瘤小鼠的血液中相当稳定(图55A和55B)。在第0天和第14天的PK分析显示，在测试的最低剂量(0.3mg/kg)给药后，即使在给药后24小时，血液中RAD001的浓度也高于10nm。

[1332] 基于这些剂量，与和不与RAD001一起给予huCAR19 CAR T细胞以测定这些细胞的增殖能力。使用的最高剂量为3mg/kg，其基于给药后24小时的血液中RAD001的水平。由于RAD001的最终剂量24小时后RAD001的浓度高于10nM，在使用CAR T细胞的体内研究中使用几种较低剂量的RAD001。在开始每日口服RAD001给药的前一天，静脉内施用CAR T细胞。通过FACS监测小鼠的T细胞扩充。

[1333] 最低剂量的RAD001显示CAR T细胞的增殖增强(图56)。对于CD4$^+$ CAR T细胞，这种

增强的增殖比$CD8^+$ CAR T细胞更加明显和延长。然而,对于$CD8^+$ CAR T细胞,在CAR T细胞给药后的早期时间点可以看到增强的增殖。在实施方案中,RNA CART细胞也可以与检查点抑制剂组合使用。

[1334] 实施例11:CART123终止策略的体外表征

[1335] 终止策略对于使CART123疗法的毒性最小化具有特别的意义。用于减少CART123活性的一种策略涉及通过共表达CAR123与CD20并使用抗CD20抗体利妥昔单抗以靶向CART123细胞进行破坏,来消除表达CD123 CAR的T细胞。在该实施例中,产生共表达CD20的CART123细胞,并且通过各种体外测定法,如脱颗粒和细胞因子生产能力来表征。

[1336] 构建用于表达CD123 CAR和CD20的表达载体。载体图谱显示于图57中。NVS2 CAR123(本文也称为CAR123-2)包含针对CD123的人源化单链可变片段、CD8铰链、CD8跨膜结构域、41BB和CD3刺激结构域。NVS2 CAR123在EF1α启动子下并且与具有P2A蛋白的完整CD20分子可操作地连接。仅表达CAR123的细胞在本文中称为CART123细胞,且共表达CAR123和CD20的细胞在本文中称为CART123P2ACD20细胞。

[1337] 对于CD107脱颗粒测定,CART123和CART123P2A CD20细胞在CD28、CD49d共刺激分子和莫能菌素存在下单独培养、与CD123阳性细胞系MOLM14培养、与CD123阴性对照细胞系Jurkat培养,和与PMA/离子霉素作为阳性对照培养。在孵育4小时后通过流式细胞术测量CD107a。CART123 P2A CD20细胞响应于CD123阳性靶而经历强的特异性CD107a脱颗粒,类似于CART123细胞(图58),由此证明引入CD20分子不会不利地影响CART123细胞的脱颗粒。

[1338] 还评估了CART123P2A CD20细胞的细胞因子产生。CART123和CART123P2A CD20细胞在CD28、CD49d共刺激分子和莫能菌素存在下单独培养、与CD123阳性细胞系MOLM14培养、与CD123阴性对照细胞系Jurkat培养,和与PMA/离子霉素作为阳性对照培养。在4小时后收获细胞、固定并透化、对细胞因子GM-CSF、TNFα、IFNγ或IL-2染色,并进行流式细胞术分析。来自这些测定的结果证实,大多数CART123 P2A CD20细胞响应CD123阳性靶标,产生GM-CSF(图59A)、TNFα(图59B)、IFNγ(图59C)和IL-2(图59D),类似于CART123细胞。

[1339] 在细胞毒性测定中,将CART123和CART123P2A CD20细胞与MOLM14-luc以所示的不同E:T比率孵育24小时,然后进行生物发光成像作为残余活细胞的测量。结果显示CART123 P2A CD20细胞导致对CD123阳性靶标MOLM14的特异性杀伤,这与CART123细胞相当(图60)。

[1340] 接下来评估对于CART123 P2A CD20细胞的利妥昔单抗介导的细胞毒性。CART123和CART123 P2A CD20与不同浓度,0μg/ml、1μg/ml、10μg/ml和100μg/ml的利妥昔单抗孵育。在0、4、12和48小时收获细胞,并对CD3染色。计算T细胞消耗的百分比。利妥昔单抗在100μg/ml的浓度下以及孵育48小时后、在CART123P2A CD20细胞(图61B)而不是CART123细胞(图61A)中,导致直接的细胞毒性。

[1341] 研究了介导CART123P2ACD20细胞消耗的机制。CART123 P2A CD20细胞与不同浓度0μg/ml、1μg/ml、10μg/ml和100μg/ml的利妥昔单抗在15%兔补体的存在下孵育。如图62所示,1ug/ml或10ug/ml利妥昔单抗在孵育12小时后导致大多数CART123 P2A CD20细胞的消耗。100ug/ml利妥昔单抗在孵育4小时后导致大多数CART123 P2A CD20细胞的消耗。由补体依赖性细胞毒性介导了CART123 P2A CD20细胞消耗。

[1342] 实施例12:CD123 CART的有效终止策略

[1343] 许多患有急性髓性白血病(AML)复发或当前的治疗方式不能治愈的儿童和成人,

突出了对替代疗法的需要。靶向CD123的嵌合抗原受体T细胞(CART123)已经显示出在人AML的鼠异种移植模型中有效的抗白血病的活性。然而,CART123治疗正常人造血细胞植入的小鼠导致深刻的骨髓消融,引起对可能用这些疗法治疗的AML患者中严重血液毒性的关注。在这里,评估了CART123诱导的AML根除后的T细胞缺失是否可以最小化这种旁观者毒性,而不损害白血病控制,从而增加抗AML CAR T细胞免疫治疗的治疗窗口。

[1344] 方法

[1345] 检查了人AML异种移植模型中的三种终止策略:(1)用抗CD123-41BB-CD3ζCART123慢病毒转导的$1x10^5$-$1x10^6$个T细胞处理后,用抗CD52抗体阿仑单抗进行的T细胞消融,(2)用经工程化以共表达CD20的1×10^5-1×10^6个CART123(CART123/CD20)处理后,用抗CD20抗体利妥昔单抗进行的T细胞消融,和(3)用"可生物降解的"抗CD123 mRNA电穿孔的CAR T细胞(RNA-CART123)处理。用如上所述的CD123重定向的CAR T细胞处理用表达萤光素酶的人AML细胞系(MOLM14、MOLM13、U937)或原代AML标本(n=3)移植的小鼠。用于该实验的CD123 CAR构建体是1172构建体(SEQ ID NO:707),并在第1周施用给小鼠。对于T细胞消耗的研究,将阿仑单抗1或5mg/kg在第2周、第3周或第4周(例如,CART123后1、2或3周)腹膜内注射(IP),以确定T细胞消融的最佳剂量和时间。在随后的研究中,在CART123/CD20 4周后IP注射利妥昔单抗10mg/kg,或在AML植入后第5、9和16天静脉内注射1×10^7个RNA-CART123。之后每周对小鼠进行生物发光成像和/或血液、脾和/或骨髓的定量流式细胞术分析。

[1346] 结果

[1347] CD123+AML异种移植物的CART123治疗在体内诱导明显的T细胞扩充和白血病根除,导致长期的动物存活($p<0.0001$,相对于未转导的T细胞处理的对照)。观察到最小的异种移植物抗宿主作用。

[1348] 在异种移植物模型中通过阿仑单抗施用连续消融CART123的结果显示在图72A中。也在相应的时间点进行CART123细胞的定量(图72B),并且显示单剂量的阿仑单抗快速消除CART123细胞。一个剂量的阿仑单抗在所有测试的模型中快速消除T细胞,在第4周(例如,CART123后3周)最佳功效为施用5mg/kg。总体存活的分析显示在图72C中,表明在第3周或第4周接受阿仑单抗的小鼠与在第2周接受阿仑单抗的小鼠相比显示改善的存活。

[1349] 在CART123/CD20以与CART123相似的动力学根除AML,在CART123/CD20输注后4周,1个剂量的利妥昔单抗快速消除T细胞,同时保持白血病缓解。具有CART123-或CART123/CD20-诱导的AML缓解的小鼠在施用阿仑单抗或利妥昔单抗时保持无白血病≥12周(图72A),动物存活与CD123重定向的CAR T细胞治疗的小鼠(其不经历T细胞消耗)没有差异($p=1.00$)。相反,在早期阿仑单抗施用时具有残留AML的CART123处理的小鼠经历了快速的AML进展,与有效的先前T细胞消除一致(图72A)。

[1350] 此外,先前用阿仑单抗或利妥昔单抗消融T细胞的动物的AML再攻击("复发")导致快速AML增殖,而没有T细胞再出现,证实了T细胞消耗的完全性。未消融的小鼠显示CAR T细胞再扩充,抵抗CD123+再攻击($p<0.0001$)(图72A)。

[1351] 也在第二个体内模型中检查阿仑单抗治疗,该模型是来自儿科患者的异种移植模型。在该模型中,向小鼠注射AML290细胞。在AML植入6周后,向小鼠施用盐水、未转导的T细胞或CART123细胞(在第0周表示)。在第4周时,将阿仑单抗以5mg/kg施用给接受CART123细胞的小鼠亚组。阿仑单抗治疗显示完全消除外周血中的CART123 T细胞(图73B)。肿瘤进展

的分析显示接受CART123的小鼠在CART123治疗后直至8周显示出缓解。在第4周接受阿仑单抗治疗和CART123细胞消融的小鼠保持缓解(图73A)。在CART123施用后通过流式细胞术测定存在于异种移植物不同器官中的AML的分析。用CART123细胞的治疗导致脾脏(图74A)和骨髓(图74B)中AML细胞的消融。在CART123施用4周后用阿仑单抗的治疗保持缓解,如通过在脾脏(图74A)和骨髓(图74B)中持续的AML细胞消融所证明的。

[1352] RNA-CART123最快速地消除AML并促进长期动物存活,尽管RNA-CART123预期在体内比CART123或CART123/CD20更短的持久性。单独的阿仑单抗或利妥昔单抗相对于仅AML的对照不在非CART123处理的异种移植模型中抑制AML增殖(p=1.00)。

[1353] 图75中示出了在该示例中描述的三种终止方法的比较。

[1354] 结论:

[1355] 阿仑单抗和利妥昔单抗在人AML异种移植模型中完全消除CD123重定向的CAR T细胞。持续白血病缓解需要CART123或CART123/CD20持续4周,之后分别通过CART123后或CART123/CD20后的阿仑单抗5mg/kg或利妥昔单抗10mg/kg终止T细胞。正在进行的研究调查了在其他原发性AML异种移植模型和其他抗AML CAR T细胞免疫疗法中的T细胞消除的功效。这些T细胞终止策略可以增加CAR T细胞疗法在AML患者中的功效,特别是在潜在的造血干细胞移植之前。

[1356] 实施例13:CAR19和CAR123组合

[1357] 大多数B急性淋巴母细胞性白血病(B-ALL)母细胞共表达CD19和CD123。同时靶向两种抗原可以导致增加的抗肿瘤活性和降低复发率。如实施例8所述,CAR19和CAR123的组合具有增加的治疗功效。在该实施例中,研究了用于施用CAR19和CAR123组合的不同构建体。

[1358] 施用CAR19和CAR123组合的一种策略是通过双CART,其中T细胞表达CAR19和CAR123构建体。构建携带CAR19和CAR123序列的单一慢病毒载体(而不是2个分别的载体)以促进临床使用的双CART生产(图63A)。该慢病毒构建体包括EF1启动子下通过P2A结构域连接的CAR19和CAR123。T细胞用慢病毒构建体转导,培养6天,然后用CD19scFv特异性抗体和CD123-His肽和抗His-PE抗体染色,用于流式细胞术分析。结果显示检测到表达CAR19和CAR123的T细胞(图63B)。

[1359] 在另一策略中,使用分拆的CAR策略来表达CAR19和CAR123。在该策略中,构建载体,其中包含共刺激结构域4-1BB的CAR123通过P2A结构域连接到包含初级信号结构域CD3ζ的CAR19(图64A)。具体地,CAR123包含CD123 scFv、CD8铰链和CD8跨膜结构域和4-1BB结构域。CAR19包含CD19scFv、CD8铰链和CD8跨膜结构域和CD3ζ结构域。在该策略中,仅通过CAR的各个scFv部分识别CD19和CD123将导致分拆的CART细胞的活化。T细胞用慢病毒构建体转导,培养6天,然后用CD19scFv特异性抗体和CD123-His肽和抗His-PE抗体染色,用于流式细胞术分析。结果显示检测到表达CAR19和CAR123的T细胞(图64B)。

[1360] 实施例14:CD123 CART治疗组织细胞疾病

[1361] CD123 CART治疗可用于组织细胞疾病,如BPDCN或肥大细胞疾病。在该实施例中,进行实验以评价在母细胞性浆细胞样树状细胞肿瘤(BPDCN)和肥大细胞疾病(如系统性肥大细胞增多症和肥大细胞白血病)背景下的CART123功能。

[1362] BPDCN是从pDC的前体产生的罕见和侵袭性血液肿瘤,归类为组织细胞/树突细胞

肿瘤。所有BPDCN表达CD123。CD123似乎对于BPDCN存活是关键的，因为BPDCN母细胞需要IL-3以成功的离体繁殖。尽管最初对化疗的反应率很高，但长期生存通常非常差，中位生存期为9-13个月，与初始呈递无关。

[1363] 通过流式细胞术在造血干细胞(HSC)、急性髓性白血病细胞系(AML)或两种不同的BPDCN上测定CD123表达。指示了中位值荧光强度。CD123在AML、正常骨髓CD34+细胞和两种情况下的BPDCN上的表达显示在图65中。这些数据表明，与正常骨髓相比，CD123在BPDCN上表达高10-20倍。

[1364] 使用备选的抗CD123克隆(32716(本文也称为1172构建体)和26292(本文也称为1176构建体)产生额外的CART123构建体，在PCT/US2014/017328中描述和表征了这两种构建体。类似于实施例2或3中所述进行细胞杀伤测定。克隆26292导致与阳性对照AML或BPDCN相比降低的正常CD34细胞的杀伤，表明其适宜产生具有减弱活性的CART-123，这可能产生增强的治疗窗口(图66B)。相反地，克隆32716显示类似的CD34细胞和BPDCN的杀伤(图66A)。

[1365] 类似于实施例2或3中所述进行T细胞功能的敏感性分析，如脱颗粒和细胞因子产生。将克隆26292 CART123与CD34+HSC(图67，顶行)或BPDCN(图67，底行)孵育4小时。评估CD107脱颗粒。来自脱颗粒测定的结果显示，克隆26292的效应功能仍然可以由CD34+ HSC触发(图67，顶行)。

[1366] 肥大细胞疾病，包括系统性肥大细胞增多症和肥大细胞白血病，是与不良预后相关的罕见的组织细胞恶性肿瘤。肥大细胞高水平表达CD123，因此可用CART123治疗肥大细胞疾病。

[1367] 进行了对肥大细胞疾病的CD123表达的分析。用活/死Aqua(live/dead aqua)(LDAQ，图68A和68B中的x轴)和同种型(图68A)或CD123 PE(图68B)染色来自患有肥大细胞白血病/系统性肥大细胞增多症患者的血液的单个核细胞。大多数SM细胞表达CD123。

[1368] 在肥大细胞白血病细胞存在下进行CD107脱颗粒测定以评估CART123活性。在抗CD107a抗体存在下，CART123细胞单独培养、与PMA和离子霉素(图69A)或与来自患有肥大细胞白血病/系统性肥大细胞增多症的患者的血液中的单个核细胞(图69B)培养2小时。使用抗CD3门控T细胞。使用单独的CART123管对CD107a阳性进行门控。CART123对SM细胞的响应等同于用阳性对照PMA+离子霉素产生的响应。

[1369] 实施例15:CART123对肿瘤微环境的影响

[1370] 在该实施例中，进行测定以测试表达CD123 CAR的细胞对肿瘤微环境的影响。这些测定可用于评价CART123对霍奇金淋巴瘤的肿瘤微环境的影响。

[1371] 进行第一测定以确定恶性细胞(例如霍奇金淋巴瘤细胞(HL细胞))是否导致肿瘤微环境中的细胞(例如单核细胞)中的免疫抑制表型。单核细胞和HL细胞在包含上室和下室的Transwell板中生长。单核细胞和恶性细胞以以下构造培养：(1)单核细胞在一个室例如下室中生长，HL细胞在另一个室例如上室中生长，(2)单核细胞和HL细胞一起在Transwell板的同一侧生长，或(3)单核细胞单独生长(对照)。将细胞培养所需的时间，然后收获细胞用于流式细胞术分析或实时定量PCR，以通过评估标志物如CD14和HLADR的水平来检测单核细胞表型，例如免疫抑制表型。

[1372] 进行第二测定以确定免疫抑制性肿瘤微环境细胞(例如单核细胞)是否可抑制由CART细胞介导的抗肿瘤T细胞免疫。可以两种不同的方式进行该测定，如果怀疑抗肿瘤T细

胞免疫的抑制是通过可溶性因子，则使用Transwell板，或者如果怀疑抗肿瘤T细胞免疫的抑制是接触介导的，则使用标准细胞培养容器。对于其中抗肿瘤T细胞免疫的抑制可以通过可溶性因子的测定，细胞在包含上室和下室的Transwell板中生长。细胞以以下构造培养：(1)HL细胞在一个室中(例如上室)和CART19细胞和表达CD19的肿瘤细胞(例如B细胞肿瘤)在另一个室中，例如，下室；(2)单核细胞在一个室中，例如上室，且CART19细胞和表达CD19的肿瘤细胞(例如B细胞肿瘤)在另一个室中；和(3)HL细胞和单核细胞在一个室中，例如上室，和CART19细胞和表达CD19的肿瘤细胞(例如B细胞肿瘤)在另一个室中。对于其中抗肿瘤T细胞免疫的抑制可以是接触介导的测定，细胞以以下构造培养：(1)HL细胞、CART19细胞和表达CD19的肿瘤细胞；(2)单核细胞、CART19细胞和表达CD19的肿瘤细胞；和(3)HL细胞、单核细胞、CART19细胞和表达CD19的肿瘤细胞。将细胞培养所需的时间段，然后评估CART19功能。评估CART19功能的测定包括增殖和杀伤测定，例如，如实施例2和3中所述。

[1373] 进行第三个测定以确定CART123靶向肿瘤微环境中的免疫抑制细胞。可以两种不同的方式进行该测定:如果怀疑抗肿瘤T细胞免疫的抑制是通过可溶性因子，则使用Transwell板，或者如果怀疑抗肿瘤T细胞免疫的抑制是接触介导的，则使用标准细胞培养容器。对于其中抗肿瘤T细胞免疫的抑制可以通过可溶性因子的测定，细胞在包含上室和下室的Transwell板中生长。细胞培养在针对上述第二个测定的三种Transwell板构造中，且另外，培养在包括CART123细胞的以下构造中：(4)HL细胞和CART123细胞在一个室中，例如上室，CART19细胞和CD19+ CD123-肿瘤细胞(例如B细胞肿瘤)在另一个室中，例如下室；(5)单核细胞和CART123细胞在一个室中，例如上室，CART19细胞和CD19+CD 123-肿瘤细胞(例如B细胞肿瘤)在另一个室中；和(6)HL细胞、单核细胞和CART123细胞在一个室中，例如上室，且CART19细胞和CD19+CD123-肿瘤细胞(例如B细胞肿瘤)在另一个室中。对于其中抗肿瘤T细胞免疫的抑制可以是接触介导的测定，将细胞培养在针对上述第二个测定的三种标准细胞培养容器中，且此外，培养在包括CART123细胞的以下构造中：(4)HL细胞、CART19细胞、CART123细胞和CD19+CD123-肿瘤细胞；(5)单核细胞、CART19细胞、CART123细胞和CD19+CD123-肿瘤细胞；和(6)HL细胞、单核细胞、CART19细胞、CART123细胞和CD19+CD123-肿瘤细胞。将细胞培养所需的时间段，然后评估CART19功能。评估CART19功能的测定包括增殖和杀伤测定，例如，如实施例2和3所述。

[1374] 实施例16:RNA CART123在难治性或复发性AML中的临床研究

[1375] 该研究解决了在急性髓性白血病(AML)受试者中静脉内施用RNA电穿孔表达抗CD123嵌合抗原受体的自体T细胞(表达串联TCRζ和4-1BB(TCRζ/4-1BB)共刺激结构域)(称为“RNA CART123”)的可行性、安全性和功效。本研究评估15名受试者。可评估的受试者是接受至少一个剂量的RNA CART123细胞的受试者。活性方案干预的持续时间是从筛选受访起约2个月。在第一次输注后跟踪受试者6个月。

[1376] 本研究的主要目的是通过记录不良事件的频率和严重程度来评估AML受试者中RNA CART123的安全性，包括但不限于估计CRS(细胞因子释放综合征)和MAS(巨噬细胞活化综合征)的频率。本研究的次要目的包括：(1)确定RNA CART123细胞的持续性和运输；(2)通过测量外周血和骨髓中母细胞计数的减少来估计至少1个剂量的RNA CART123细胞在AML受试者中的功效；(3)通过测量在28+/-5天的总响应率(ORR)估计至少1个剂量的RNA CART123细胞在AML受试者中的功效，其使用(i)标准形态完全反应标准(恶性母细胞<5％，有计数恢

复),(ii)恶性母细胞<5%,无计数恢复,和(iii)最小残留疾病评估;(4)确定所有受试者的总体存活(OS)和无进展生存(PFS)和死亡原因,直到RNA CART123细胞输注后6个月;(5)确定响应受试者的响应持续时间(DOR),直到RNA CART123细胞输注后6个月;和(6)确定进行同种异体HCT(或第二同种异体HCT)的受试者的百分比。

[1377] 合格的受试者是18岁以上的患有AML或脊髓发育不良综合征的男性或女性,使用当前可用的治疗没有可用的治愈性治疗选择。具有继发或之后的复发、任何对挽救难治性的复发或在至少两条线的治疗后具有持续性疾病的受试者。受试者必须在筛选前2周内在骨髓抽吸物或活组织检查中具有>5%母细胞的可评估疾病或髓外疾病(禁止CNS参与)。

[1378] 在2周内用IV施用RNA抗CD123 CAR T细胞治疗受试者总共多达6个剂量。根据受试者体重采用受试者内剂量递增给药。受试者被分成两组。组1包括接受RNA CART123细胞的前3个受试者,和接受3个递增剂量的RNA CART123细胞,在输注之前没有淋巴细胞消耗化疗(图70)。组2包括研究中剩余的12个受试者,并以递增的剂量接受多达六个IV剂量的RNA CART123细胞(图71)。在第一次CART123细胞输注前(如果ALC>500/uL),可以对组2进行淋巴细胞消耗化疗4天(+/-1天)。可以在第四剂量的RNA CART123细胞之前(如果ALC>500/uL)重复淋巴细胞消耗化疗。淋巴细胞消耗化疗包括单剂量的环磷酰胺($1mg/m^2$)。RNA CART123治疗方案中的淋巴细胞消耗化疗剂量设计为通过增强内稳态空间来增加随后T细胞剂量的移植。

[1379] 以重量计的CART细胞的剂量在下表中提供:

[1380]

受试者重量	剂量1	剂量2	剂量3-6	总CAR+细胞
<100kg	$1x10^6$/kg	$2x10^6$/kg	$4x10^6$/kg	$1.9x10^7$/kg
≥100kg	$1x10^8$	$2x10^8$	$4x10^8$	$1.9x10^9$

[1381] 用于给药的重量可以是在单采程序之前获得的重量。细胞数目基于通过流式细胞术测定的具有CAR表达的CAR+细胞。对于受试者体重变化,不改变剂量。所示剂量为+/-20%以解释制造变异性。

[1382] 下面提供了样品RNA CART123施用方案:

[1383]

第0天输注发生在:	随后输注的研究天	如果给环磷酰胺,环磷酰胺中间治疗的研究天(组2)
周一	D2, D4, D9*, D11*, D14*	D7
	D2, D4, D7*, D9*, D11*	无
周三	D2, D5, D9*, D12*, D14*	D7
	D2, D5, D7*, D9*, D11*	无
周五	D3, D5, D10*, D12*, D14*	D7
	D3, D5, D7*, D10*, D12*	无
*仅对组2的受试者输注		

[1384] 将根据AML的护理临床实践标准进行基线和随后的肿瘤评估。如果受试者的最后

一次骨髓在第一次环磷酰胺剂量之前超过2周进行，则可以进行基线AML骨髓评估。受试者将在第16+/-2天(或在接受最后一次RNA CART123输注的7天内)、第28+/-5天和在第3和6个月时对于白血病响应进行骨髓评估(对于未进行到alloHCT的受试者)。在TCSL研究实验室通过适当的测试来确定CART细胞水平和细胞因子。疾病响应定义可以作为AML的标准。

[1385] 具有脊髓发育不良的所有受试者在D28+/-5(或最后一次T细胞输注后14天，以先发生者为准)将经历同种异体造血细胞移植(alloHCT)作为挽救策略。因此，所有受试者应具有之前鉴定的干细胞供体。脊髓发育不良定义为与该年龄正常的相比细胞构成上降低>75％，结合ANC<0.5k/ul或血小板<50k/ul。

[1386] 治疗限制性毒性(TLT)定义为可以、可能或明确与T细胞输注相关的任何意外事件，包括非血液3级或更高级不良事件和任何3级或更高级超敏反应和自身免疫反应，如在第5.5节中定义的。以下事件不包括TLT：发热和感染、任何级别的血细胞减少、肿瘤溶解综合征、细胞因子释放综合征或在七天内定为2级或更低级别的任何代谢或实验室异常。

[1387] 在开始第一剂量的RNA CART123细胞时开始不良事件报告，并且将持续到第4个月或直到针对HCT或另一替代疗法的调理启动，以先发生者为准。受试者可以连续重新评估急性和累积毒性的证据。

[1388] 等同物

[1389] 本文引用的每份和每项专利、专利申请和出版物的公开内容因此通过引用的方式完整并入本文。尽管本发明已经参考具体方面公开，但显而易见本发明的其他方面和变型可以由本领域其他技术人员构思，而不脱离本发明的真实精神和范围。所附权利要求意在解释成包括全部此类方面和等同变型。

序列表

<110> 诺华股份有限公司
宾夕法尼亚大学托管会
<120> 抗 CD123 嵌合抗原受体(CAR)用于癌症治疗
<130> N2067-7064WO5
<140>
<141>
<150> PCT/CN2014/090508
<151> 2014-11-06
<150> PCT/CN2014/084696
<151> 2014-08-19
<160> 709
<170> PatentIn 版本 3.5
<210> 1
<211> 21
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)
<400> 1

Met	Ala	Leu	Pro	Val	Thr	Ala	Leu	Leu	Leu	Pro	Leu	Ala	Leu	Leu	Leu
1				5					10					15	
His	Ala	Ala	Arg	Pro											
				20											

<210> 2
<211> 45
<212> PRT
<213> 智人
<400> 2

Thr	Thr	Thr	Pro	Ala	Pro	Arg	Pro	Pro	Thr	Pro	Ala	Pro	Thr	Ile	Ala
1				5					10					15	
Ser	Gln	Pro	Leu	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Ala	Cys	Arg	Pro	Ala	Ala	Gly
			20					25					30		
Gly	Ala	Val	His	Thr	Arg	Gly	Leu	Asp	Phe	Ala	Cys	Asp			
		35					40					45			

<210> 3
[0001] <211> 230
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
多肽"
<400> 3

Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe
1				5					10					15	
Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr
			20					25					30		
Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val
		35					40					45			
Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val
	50					55					60				
Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser
65					70					75					80
Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu
				85					90					95	
Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser
			100					105					110		
Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro
		115					120					125			
Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln
	130					135					140				
Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala
145					150					155					160
Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr
				165					170					175	
Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu
			180					185					190		
Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser
		195					200					205			

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
210 215 220
Leu Ser Leu Gly Lys Met
225 230
<210> 4
<211> 282
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 4
Arg Trp Pro Glu Ser Pro Lys Ala Gln Ala Ser Ser Val Pro Thr Ala
1 5 10 15
Gln Pro Gln Ala Glu Gly Ser Leu Ala Lys Ala Thr Thr Ala Pro Ala
20 25 30
Thr Thr Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys Glu Lys
35 40 45
Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys Pro
50 55 60
Ser His Thr Gln Pro Leu Gly Val Tyr Leu Leu Thr Pro Ala Val Gln
65 70 75 80
Asp Leu Trp Leu Arg Asp Lys Ala Thr Phe Thr Cys Phe Val Val Gly
85 90 95
Ser Asp Leu Lys Asp Ala His Leu Thr Trp Glu Val Ala Gly Lys Val
100 105 110
Pro Thr Gly Gly Val Glu Glu Gly Leu Leu Glu Arg His Ser Asn Gly
115 120 125
Ser Gln Ser Gln His Ser Arg Leu Thr Leu Pro Arg Ser Leu Trp Asn
130 135 140
Ala Gly Thr Ser Val Thr Cys Thr Leu Asn His Pro Ser Leu Pro Pro
145 150 155 160
Gln Arg Leu Met Ala Leu Arg Glu Pro Ala Ala Gln Ala Pro Val Lys
[0002] 165 170 175
Leu Ser Leu Asn Leu Leu Ala Ser Ser Asp Pro Pro Glu Ala Ala Ser
180 185 190
Trp Leu Leu Cys Glu Val Ser Gly Phe Ser Pro Pro Asn Ile Leu Leu
195 200 205
Met Trp Leu Glu Asp Gln Arg Glu Val Asn Thr Ser Gly Phe Ala Pro
210 215 220
Ala Arg Pro Pro Pro Gln Pro Gly Ser Thr Thr Phe Trp Ala Trp Ser
225 230 235 240
Val Leu Arg Val Pro Ala Pro Pro Ser Pro Gln Pro Ala Thr Tyr Thr
245 250 255
Cys Val Val Ser His Glu Asp Ser Arg Thr Leu Leu Asn Ala Ser Arg
260 265 270
Ser Leu Glu Val Ser Tyr Val Thr Asp His
275 280
<210> 5
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的肽"
<400> 5
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10
<210> 6
<211> 24
<212> PRT
<213> 智人
<400> 6
Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu
1 5 10 15
Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys
20

<210> 7
<211> 42
<212> PRT
<213> 智人
<400> 7
Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
1 5 10 15
Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
20 25 30
Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
35 40
<210> 8
<211> 48
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 8
Gln Arg Arg Lys Tyr Arg Ser Asn Lys Gly Glu Ser Pro Val Glu Pro
1 5 10 15
Ala Glu Pro Cys Arg Tyr Ser Cys Pro Arg Glu Glu Glu Gly Ser Thr
20 25 30
Ile Pro Ile Gln Glu Asp Tyr Arg Lys Pro Glu Pro Ala Cys Ser Pro
35 40 45
<210> 9
<211> 112
<212> PRT
<213> 智人
<400> 9
Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly
1 5 10 15
Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
20 25 30
Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
35 40 45
Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
50 55 60
Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
65 70 75 80
Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
85 90 95
Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
100 105 110
<210> 10
<211> 112
<212> PRT
<213> 智人
<400> 10
Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
1 5 10 15
Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
20 25 30
Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
35 40 45
Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
50 55 60
Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
65 70 75 80
Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
85 90 95
Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
100 105 110
<210> 11
<211> 1184
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

[0003]

<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 11
cgtgaggctc cggtgcccgt cagtgggcag agcgcacatc gcccacagtc cccgagaagt 60
tgggggagg ggtcggcaat tgaaccggtg cctagagaag gtggcgcggg gtaaactggg 120
aaagtgatgt cgtgtactgg ctccgccttt ttcccgaggg tgggggagaa ccgtatataa 180
gtgcagtagt cgccgtgaac gttcttttc gcaacgggtt tgccgccaga acacaggtaa 240
gtgccgtgtg tggttcccgc gggcctggcc tctttacggg ttatggccct tgcgtgcctt 300
gaattacttc cacctggctg cagtacgtga ttcttgatcc cgagcttcgg gttggaagtg 360
ggtgggagag ttcgaggcct tgcgcttaag gagccccttc gcctcgtgct tgagttgagg 420
cctggcctgg gcgctggggc cgccgcgtgc gaatctggtg gcaccttcgc gcctgtctcg 480
ctgctttcga taagtctcta gccatttaaa atttttgatg acctgctgcg acgcttttt 540
tctggcaaga tagtcttgta aatgcgggcc aagatctgca cactggtatt tcggtttttg 600
gggccgcggg cggcgacggg gcccgtgcgt cccagcgcac atgttcggcg aggcggggcc 660
tgcgagcgcg gccaccgaga atcggacggg ggtagtctca agctggccgg cctgctctgg 720
tgcctggcct cgcgccgccg tgtatcgccc cgccctgggc ggcaaggctg gcccggtcgg 780
caccagttgc gtgagcggaa agatggccgc ttcccggccc tgctgcaggg agctcaaaat 840
ggaggacgcg gcgctcggga gagcgggcgg gtgagtcacc cacacaaagg aaaagggcct 900
ttccgtcctc agccgtcgct tcatgtgact ccacggagta ccgggcgccg tccaggcacc 960
tcgattagtt ctcgagcttt tggagtacgt cgtctttagg ttgggggggag gggttttatg 1020
cgatggagtt tccccacact gagtgggtgg agactgaagt taggccagct tggcacttga 1080
tgtaattctc cttggaattt gccctttttg agtttggatc ttggttcatt ctcaagcctc 1140
agacagtggt tcaaagtttt tttcttccat ttcaggtgtc gtga 1184
<210> 12
<211> 63
<212> DNA
<213> 智人
<400> 12
atggccctgc ctgtgacagc cctgctgctg cctctggctc tgctgctgca tgccgctaga 60
ccc 63
<210> 13
<211> 135
<212> DNA
[0004] <213> 智人
<400> 13
accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca ccggcgccca ccatcgcgtc gcagcccctg 60
tccctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg gcgggggcgc cagtgcacac gaggggctg 120
gacttcgcct gtgat 135
<210> 14
<211> 690
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 14
gagagcaagt acggccctcc ctgccccct tgccctgccc ccgagttcct gggcggaccc 60
agcgtgttcc tgttcccccc caagcccaag gacaccctga tgatcagccg gacccccgag 120
gtgacctgtg tggtggtgga cgtgtcccag gaggaccccg aggtccagtt caactggtac 180
gtggacggcg tggaggtgca caacgccaag accaagcccc gggaggagca gttcaatagc 240
acctaccggg tggtgtccgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggaa 300
tacaagtgta aggtgtccaa caagggcctg cccagcagca tcgagaaaac catcagcaag 360
gccaagggcc agcctcggga gccccaggtg tacaccctgc cccctagcca agaggagatg 420
accaagaacc aggtgtccct gacctgcctg gtgaagggct tctaccccag cgacatcgcc 480
gtggagtggg agagcaacgg ccagcccgag aacaactaca agaccacccc ccctgtgctg 540
gacagcgacg gcagcttctt cctgtacagc cggctgaccg tggacaagag ccggtggcag 600
gagggcaacg tctttagctg ctccgtgatg cacgaggccc tgcacaacca ctacacccag 660
aagagcctga gcctgtccct gggcaagatg 690
<210> 15
<211> 847
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 15

aggtggcccg aaagtcccaa ggcccaggca tctagtgttc ctactgcaca gccccaggca 60
gaaggcagcc tagccaaagc tactactgca cctgccacta cgcgcaatac tggccgtggc 120
ggggaggaga agaaaaagga gaaagagaaa gaagaacagg aagagaggga gaccaagacc 180
cctgaatgtc catcccatac ccagccgctg ggcgtctatc tcttgactcc cgcagtacag 240
gacttgtggc ttagagataa ggccaccttt acatgtttcg tcgtgggctc tgacctgaag 300
gatgcccatt tgacttggga ggttgccgga aaggtaccca cagggggggt tgaggaaggg 360
ttgctggagc gccattccaa tggctctcag agccagcact caagactcac ccttccgaga 420
tccctgtgga acgccgggac ctctgtcaca tgtactctaa atcatcctag cctgccccca 480
cagcgtctga tggcccttag agagccagcc gcccaggcac cagttaagct tagcctgaat 540
ctgctcgcca gtagtgatcc cccagaggcc gccagctggc tcttatgcga agtgtccggc 600
tttagcccgc ccaacatctt gctcatgtgg ctggaggacc agcgagaagt gaacaccagc 660
ggcttcgctc cagcccggcc cccaccccag ccgggttcta ccacattctg ggcctggagt 720
gtcttaaggg tcccagcacc acctagcccc cagccagcca catacacctg tgttgtgtcc 780
catgaagata gcaggaccct gctaaatgct tctaggagtc tggaggtttc ctacgtgact 840
gaccatt 847

<210> 16
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
寡核苷酸"
<400> 16
ggtggcggag gttctggagg tggaggttcc 30

<210> 17
<211> 72
<212> DNA
<213> 智人
<400> 17
atctacatct gggcgccctt ggccgggact tgtggggtcc ttctcctgtc actggttatc 60
acccttact gc 72

<210> 18
<211> 126
[0005] <212> DNA
<213> 智人
<400> 18
aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacaac catttatgag accagtacaa 60
actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt 120
gaactg 126

<210> 19
<211> 123
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 19
aggagtaaga ggagcaggct cctgcacagt gactacatga acatgactcc ccgccgcccc 60
gggcccaccc gcaagcatta ccagccctat gccccaccac gcgacttcgc agcctatcgc 120
tcc 123

<210> 20
<211> 336
<212> DNA
<213> 智人
<400> 20
agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtaca agcagggcca gaaccagctc 60
tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc 120
cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180
gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240
cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300
tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc 336

<210> 21
<211> 336
<212> DNA
<213> 智人
<400> 21
agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc 60

tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc 120
cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180
gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240
cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300
tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc 336

<210> 22
<211> 373
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 22

Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp Asn Pro Pro Thr
1 5 10 15
Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp Asn Ala Thr Phe
20 25 30
Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val Leu Asn Trp Tyr
35 40 45
Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala Ala Phe Pro Glu
50 55 60
Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg Val Thr Gln Leu
65 70 75 80
Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg Ala Arg Arg Asn
85 90 95
Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu Ala Pro Lys Ala
100 105 110
Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val Thr Glu Arg Arg
115 120 125
Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Gly
130 135 140
Gln Phe Gln Thr Leu Val Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr
145 150 155 160

[0006]

Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala
165 170 175
Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe
180 185 190
Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val
195 200 205
Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys
210 215 220
Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr
225 230 235 240
Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu
245 250 255
Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro
260 265 270
Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly
275 280 285
Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro
290 295 300
Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr
305 310 315 320
Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly
325 330 335
Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln
340 345 350
Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln
355 360 365
Ala Leu Pro Pro Arg
370

<210> 23
<211> 1182
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的

多核苷酸"

<400> 23

atggccctcc ctgtcactgc cctgcttctc cccctcgcac tcctgctcca cgccgctaga 60
ccacccggat ggtttctgga ctctccggat cgcccgtgga atcccccaac cttctcaccg 120
gcactcttgg ttgtgactga gggcgataat gcgaccttca cgtgctcgtt ctccaacacc 180
tccgaatcat tcgtgctgaa ctggtaccgc atgagcccgt caaaccagac cgacaagctc 240
gccgcgtttc cggaagatcg gtcgcaaccg ggacaggatt gtcggttccg cgtgactcaa 300
ctgccgaatg gcagagactt ccacatgagc gtggtccgcg ctaggcgaaa cgactccggg 360
acctacctgt gcggagccat ctcgctggcg cctaaggccc aaatcaaaga gagcttgagg 420
gccgaactga gagtgaccga gcgcagagct gaggtgccaa ctgcacatcc atccccatcg 480
cctcggcctg cggggcagtt tcagaccctg gtcacgacca ctccggcgcc gcgcccaccg 540
actccggccc caactatcgc gagccagccc ctgtcgctga ggccggaagc atgccgccct 600
gccgccggag gtgctgtgca tacccgggga ttggacttcg catgcgacat ctacatttgg 660
gctcctctcg ccggaacttg tggcgtgctc cttctgtccc tggtcatcac cctgtactgc 720
aagcggggtc ggaaaaagct tctgtacatt ttcaagcagc ccttcatgag gcccgtgcaa 780
accacccagg aggaggacgg ttgctcctgc cggttccccg aagaggaaga aggaggttgc 840
gagctgcgcg tgaagttctc ccggagcgcc gacgcccccg cctataagca gggccagaac 900
cagctgtaca acgaactgaa cctgggacgg cgggaagagt acgatgtgct ggacaagcgg 960
cgcggccggg accccgaaat gggcgggaag cctagaagaa agaaccctca ggaaggcctg 1020
tataacgagc tgcagaagga caagatggcc gaggcctact ccgaaattgg gatgaaggga 1080
gagcggcgga ggggaaaggg gcacgacggc ctgtaccaag gactgtccac cgccaccaag 1140
gacacatacg atgccctgca catgcaggcc cttcccctc gc 1182

<210> 24
<211> 394
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"

<400> 24

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro
20 25 30
Trp Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly
35 40 45
Asp Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe
50 55 60
Val Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu
65 70 75 80
Ala Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe
85 90 95
Arg Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val
100 105 110
Arg Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser
115 120 125
Leu Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg
130 135 140
Val Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser
145 150 155 160
Pro Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln Thr Leu Val Thr Thr Thr Pro Ala
165 170 175
Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser
180 185 190
Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr
195 200 205
Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala
210 215 220
Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys
225 230 235 240
Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
245 250 255
Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
260 265 270
Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg
275 280 285
Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
290 295 300

[0007]

Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
305 310 315 320
Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
325 330 335
Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala
340 345 350
Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
355 360 365
Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
370 375 380
Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
385 390

<210> 25
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的肽"
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(5)
<223> /注解="参见所递交说明书的发明详述中替代和优选的实施方案"
<400> 25
Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 26
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"

[0008]

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(30)
<223> /注解="这个序列可以包含1—6个"Gly Gly Gly Gly Ser"
重复单位"
<400> 26
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25 30

<210> 27
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
肽"
<400> 27
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15
Gly Gly Gly Ser
20

<210> 28
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
肽"
<400> 28
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 29

<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
肽"
<400> 29
Gly Gly Gly Ser
1
<210> 30
<211> 5000
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(5000)
<223> /注解="这个序列可以包含 50-5000 个核苷酸"
<400> 30

[0009]

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 60
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 120
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 180
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 240
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 300
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 360
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 420
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 480
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 540
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 600
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 660
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 720
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 780
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 840
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 900
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 960
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1020
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1080

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1140
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1200
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1260
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1320
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1380
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1440
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1500
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1560
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1620
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1680
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1740
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1800
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1860
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1920
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1980
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2040
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2100
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2160
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2220
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2280
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2340
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2400
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2460
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2520
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2580
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2640
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2700

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2760
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2820
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2880
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2940
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3000
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3060
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3120
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3180
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3240
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3300
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3360
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3420
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3480
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3540
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3600
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3660
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3720
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3780
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3840
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3900
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3960
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4020
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4080
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4140
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4200
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4260
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4320
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4380
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4440
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4500
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4560
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4620
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4680
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4740

[0010] aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4800
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4860
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4920
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4980
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 5000

<210> 31
<211> 100
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 31
ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 60
ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 100

<210> 32
<211> 5000
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(5000)
<223> /注解="这个序列可以包含 50-5000 个核苷酸"
<400> 32
ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 60
ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 120
ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 180
ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 240
ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 300
ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt ttttttttt 360

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 420
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 480
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 540
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 600
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 660
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 720
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 780
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 840
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 900
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 960
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1020
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1080
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1140
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1200
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1260
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1320
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1380
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1440
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1500
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1560
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1620
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1680
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1740
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1800
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1860
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1920
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1980
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2040
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2100
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2160
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2220
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2280
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2340
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2400
[0011] ttttttttttt ttttttttttt ttttttttttt ttttttttttt ttttttttttt ttttttttttt 2460
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2520
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2580
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2640
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2700
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2760
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2820
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2880
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2940
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3000
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3060
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3120
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3180
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3240
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3300
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3360
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3420
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3480
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3540
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3600
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3660
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3720
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3780
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3840
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3900
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3960
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4020
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4080
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4140
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4200
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4260
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4320
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4380
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4440
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4500

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4560
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4620
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4680
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4740
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4800
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4860
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4920
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4980
tttttttttt tttttttttt 5000

<210> 33
<211> 5000
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(5000)
<223> /注解="这个序列可以包含 100-5000 个核苷酸"
<400> 33

[0012]

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 60
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 120
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 180
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 240
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 300
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 360
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 420
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 480
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 540
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 600
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 660
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 720
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 780
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 840
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 900
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 960
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1020
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1080
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1140
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1200
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1260
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1320
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1380
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1440
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1500
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1560
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1620
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1680
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1740
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1800
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1860
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1920
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1980
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2040
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2100
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2160
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2220
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2280
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2340
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2400
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2460
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2520
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2580
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2640
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2700
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2760
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2820

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2880
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2940
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3000
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3060
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3120
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3180
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3240
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3300
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3360
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3420
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3480
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3540
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3600
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3660
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3720
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3780
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3840
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3900
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3960
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4020
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4080
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4140
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4200
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4260
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4320
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4380
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4440
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4500
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4560
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4620
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4680
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4740
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4800
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4860

[0013] aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4920
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4980
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 5000

<210> 34
<211> 400
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(400)
<223> /注解="这个序列可以包含 100-400 个核苷酸"
<400> 34
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 60
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 120
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 180
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 240
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 300
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 360
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 400

<210> 35
<211> 2000
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(2000)
<223> /注解="这个序列可以包含 50-2000 个核苷酸"

<400> 35

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 60
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 120
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 180
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 240
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 300
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 360
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 420
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 480
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 540
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 600
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 660
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 720
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 780
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 840
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 900
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 960
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1020
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1080
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1140
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1200
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1260
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1320
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1380
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1440
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1500
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1560
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1620
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1680
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1740
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1800
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1860
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1920
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1980

[0014] aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2000

<210> 36
<211> 230
<212> PRT
<213> 智人
<400> 36

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
1 5 10 15
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
20 25 30
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
35 40 45
Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
50 55 60
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
65 70 75 80
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
85 90 95
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
100 105 110
Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
115 120 125
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
130 135 140
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
145 150 155 160
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
165 170 175
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
180 185 190
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
195 200 205
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
210 215 220
Leu Ser Leu Gly Lys Met

225 230

<210> 37
<211> 690
<212> DNA
<213> 智人
<400> 37
gagagcaagt acggccctcc ctgcccccct tgccctgccc ccgagttcct gggcggaccc 60
agcgtgttcc tgttcccccc caagcccaag gacaccctga tgatcagccg gacccccgag 120
gtgacctgtg tggtggtgga cgtgtcccag gaggaccccg aggtccagtt caactggtac 180
gtggacggcg tggaggtgca caacgccaag accaagcccc gggaggagca gttcaatagc 240
acctaccggg tggtgtccgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggaa 300
tacaagtgta aggtgtccaa caagggcctg cccagcagca tcgagaaaac catcagcaag 360
gccaagggcc agcctcggga gccccaggtg tacaccctgc cccctagcca agaggagatg 420
accaagaacc aggtgtccct gacctgcctg gtgaagggct tctaccccag cgacatcgcc 480
gtggagtggg agagcaacgg ccagcccgag aacaactaca agaccacccc ccctgtgctg 540
gacagcgacg gcagcttctt cctgtacagc cggctgaccg tggacaagag ccggtggcag 600
gagggcaacg tctttagctg ctccgtgatg cacgaggccc tgcacaacca ctacacccag 660
aagagcctga gcctgtccct gggcaagatg 690

<210> 38
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
肽"
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(4)
<223> /注解="参见所递交说明书的发明详述中
替代和优选的实施方案"
<400> 38
Gly Gly Gly Ser
1

[0015]

<210> 39
<211> 1461
<212> DNA
<213> 智人
<400> 39
atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
ccccaagtcc aactcgtcca gtcaggagcg gaagtcaaga agcccggagc gtcagtcaaa 120
gtgtcatgca aagcctcggg ctacactttc actgggtact acatgcactg ggtgcgccag 180
gctccaggac agggactgga atggatggga tggatcaacc cgaactccgg tggcaccaat 240
tacgcccaga agttccaggg gagggtgacc atgactcgcg acacgtcgat cagcaccgca 300
tacatggagc tgtcaagact ccggtccgac gatactgccg tgtactactg cgcacgggac 360
atgaacattc tggccaccgt gccttttgac atctggggtc agggaactat ggttaccgtg 420
tcctctggtg gaggcggctc cggcgggggg ggaagcggag gcggtggaag cgacattcag 480
atgacccagt cgccttcatc cctttcggcg agcgtgggag atcgcgtcac tatcacttgt 540
cgggcctcgc agtccatctc cacctacctc aattggtacc agcagaagcc aggaaaagca 600
ccgaatctgc tgatctacgc cgcgttttcc ttgcaatcgg gagtgccaag cagattcagc 660
ggatcgggat caggcactga tttcaccctc accatcaact cgctgcaacc ggaggatttc 720
gctacgtact attgccaaca aggagacagc gtgccgctca ccttcggcgg agggactaag 780
ctggaaatca agaccactac cccagcaccg aggccaccca ccccggctcc taccatcgcc 840
tcccagcctc tgtccctgcg tccggaggca tgtagacccg cagctggtgg ggccgtgcat 900
acccggggtc ttgacttcgc ctgcgatatc tacatttggg cccctctggc tggtacttgc 960
ggggtcctgc tgctttcact cgtgatcact ctttactgta agcgcggtcg gaagaagctg 1020
ctgtacatct ttaagcaacc cttcatgagg cctgtgcaga ctactcaaga ggaggacggc 1080
tgttcatgcc ggttcccaga ggaggaggaa ggcggctgcg aactgcgcgt gaaattcagc 1140
cgcagcgcag atgctccagc ctacaagcag gggcagaacc agctctacaa cgaactcaat 1200
cttggtcgga gagaggagta cgacgtgctg gacaagcgga gaggacggga cccagaaatg 1260
ggcgggaagc cgcgcagaaa gaatccccaa gagggcctgt acaacgagct ccaaaaggat 1320
aagatggcag aagcctatag cgagattggt atgaaagggg aacgcagaag aggcaaaggc 1380
cacgacggac tgtaccaggg actcagcacc gccaccaagg acacctatga cgctcttcac 1440
atgcaggccc tgccgcctcg g 1461

<210> 40
<211> 1461
<212> DNA
<213> 智人
<400> 40

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
ccccaagtgc aactcgtcca aagcggagcg gaagtcaaga aacccggagc gagcgtgaaa 120
gtgtcctgca aagcctccgg ctacaccttt acgggctact acatgcactg ggtgcgccag 180
gcaccaggac agggtcttga atggatggga tggatcaacc ctaattcggg cggaactaac 240
tacgcacaga agttccaggg gagagtgact ctgactcggg atacctccat ctcaactgtc 300
tacatggaac tctcccgctt gcggtcagat gatacggcag tgtactactg cgcccgcgac 360
atgaatatcc tggctaccgt gccgttcgac atctggggac aggggactat ggttactgtc 420
tcatcgggcg gtggaggttc aggaggaggc ggctcgggag gcggaggttc ggacattcag 480
atgacccagt ccccatcctc tctgtcggcc agcgtcggag atagggtgac cattacctgt 540
cgggcctcgc aaagcatctc ctcgtacctc aactggtatc agcaaaagcc gggaaaggcg 600
cctaagctgc tgatctacgc cgcttcgagc ttgcaaagcg gggtgccatc cagattctcg 660
ggatcaggct caggaaccga cttcaccctg accgtgaaca gcctccagcc ggaggacttt 720
gccacttact actgccagca gggagactcc gtgccgctta ctttcggggg gggtacccgc 780
ctggagatca agaccactac cccagcaccg aggccaccca ccccggctcc taccatcgcc 840
tcccagcctc tgtccctgcg tccggaggca tgtagacccg cagctggtgg ggccgtgcat 900
acccggggtc ttgacttcgc ctgcgatatc tacatttggg cccctctggc tggtacttgc 960
ggggtcctgc tgctttcact cgtgatcact ctttactgta agcgcggtcg gaagaagctg 1020
ctgtacatct ttaagcaacc cttcatgagg cctgtgcaga ctactcaaga ggaggacggc 1080
tgttcatgcc ggttcccaga ggaggaggaa ggcggctgcg aactgcgcgt gaaattcagc 1140
cgcagcgcag atgctccagc ctacaagcag gggcagaacc agctctacaa cgaactcaat 1200
cttggtcgga gagaggagta cgacgtgctg gacaagcgga gaggacggga cccagaaatg 1260
ggcgggaagc cgcgcagaaa gaatccccaa gagggcctgt acaacgagct ccaaaaggat 1320
aagatggcag aagcctatag cgagattggt atgaaagggg aacgcagaag aggcaaaggc 1380
cacgacggac tgtaccaggg actcagcacc gccaccaagg acacctatga cgctcttcac 1440
atgcaggccc tgccgcctcg g 1461
<210> 41
<211> 1461
<212> DNA
<213> 智人
<400> 41
atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
ccccaagtcc aactcgttca atccggcgca gaagtcaaga agccaggagc atcagtgaaa 120
gtgtcctgca aagcctcagg ctacatcttc acgggatact acatccactg ggtgcgccag 180
gctccgggcc agggccttga gtggatgggc tggatcaacc ctaactctgg gggaaccaac 240
[0016] tacgctcaga agttccaggg gagggtcact atgactcgcg atacctccat ctccactgcg 300
tacatggaac tctcgggact gagatccgac gatcctgccg tgtactactg cgcccgggac 360
atgaacatct tggcgaccgt gccgtttgac atttggggac agggcaccct cgtcactgtg 420
tcgagcggtg gaggaggctc gggggtggc ggatcaggag ggggaggaag cgacatccag 480
ctgactcaga gcccatcgtc gttgtccgcg tcggtggggg atagagtgac cattacttgc 540
cgcgccagcc agagcatctc atcatatctg aattggtacc agcagaagcc cggaaaggcc 600
ccaaaactgc tgatctacgc tgcaagcagc ctccaatcgg gagtgccgtc acggttctcc 660
gggtccggtt cgggaactga ctttaccctg accgtgaatt cgctgcaacc ggaggatttc 720
gccacgtact actgtcagca aggagactcc gtgccgctga ccttcggtgg aggcaccaag 780
gtcgaaatca agaccactac cccagcaccg aggccaccca ccccggctcc taccatcgcc 840
tcccagcctc tgtccctgcg tccggaggca tgtagacccg cagctggtgg ggccgtgcat 900
acccggggtc ttgacttcgc ctgcgatatc tacatttggg cccctctggc tggtacttgc 960
ggggtcctgc tgctttcact cgtgatcact ctttactgta agcgcggtcg gaagaagctg 1020
ctgtacatct ttaagcaacc cttcatgagg cctgtgcaga ctactcaaga ggaggacggc 1080
tgttcatgcc ggttcccaga ggaggaggaa ggcggctgcg aactgcgcgt gaaattcagc 1140
cgcagcgcag atgctccagc ctacaagcag gggcagaacc agctctacaa cgaactcaat 1200
cttggtcgga gagaggagta cgacgtgctg gacaagcgga gaggacggga cccagaaatg 1260
ggcgggaagc cgcgcagaaa gaatccccaa gagggcctgt acaacgagct ccaaaaggat 1320
aagatggcag aagcctatag cgagattggt atgaaagggg aacgcagaag aggcaaaggc 1380
cacgacggac tgtaccaggg actcagcacc gccaccaagg acacctatga cgctcttcac 1440
atgcaggccc tgccgcctcg g 1461
<210> 42
<211> 1467
<212> DNA
<213> 智人
<400> 42
atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
ccccaagtcc aactccaaca gtcaggcgca gaagtgaaaa agagcggtgc atcggtgaaa 120
gtgtcatgca aagcctcggg ctacaccttc actgactact atatgcactg gctgcggcag 180
gcaccgggac agggacttga gtggatggga tggatcaacc cgaattcagg ggacactaac 240
tacgcgcaga agttccaggg gagagtgacc ctgacgaggg acacctcaat ttcgaccgtc 300
tacatggaat tgtcgcgcct gagatcggac gatactgctg tgtactactg tgcccgcgac 360
atgaacatcc tcgcgactgt gccttttgat atctggggac aggggactat ggtcaccgtt 420

tcctccgctt ccggtggcgg aggctcggga ggccgggcct ccggtggagg aggcagcgac 480

atccagatga ctcagagccc ttcctcgctg agcgcctcag tgggagatcg cgtgaccatc 540
acttgccggg ccagccagtc catttcgtcc tacctcaatt ggtaccagca gaagccggga 600
aaggcgccca agctcttgat ctacgctgcg agctccctgc aaagcggggt gccgagccga 660
ttctcgggtt ccggctcggg aaccgacttc actctgacca tctcatccct gcaaccagag 720
gactttgcca cctactactg ccaacaagga gattctgtcc cactgacgtt cggcggagga 780
accaaggtcg aaatcaagac cactacccca gcaccgaggc cacccacccc ggctcctacc 840
atcgcctccc agcctctgtc cctgcgtccg gaggcatgta gacccgcagc tggtggggcc 900
gtgcataccc ggggtcttga cttcgcctgc gatatctaca tttgggcccc tctggctggt 960
acttgcgggg tcctgctgct ttcactcgtg atcactcttt actgtaagcg cggtcggaag 1020
aagctgctgt acatctttaa gcaacccttc atgaggcctg tgcagactac tcaagaggag 1080
gacggctgtt catgccggtt cccagaggag gaggaaggcg gctgcgaact gcgcgtgaaa 1140
ttcagccgca gcgcagatgc tccagcctac aagcaggggc agaaccagct ctacaacgaa 1200
ctcaatcttg gtcggagaga ggagtacgac gtgctggaca agcggagagg acgggaccca 1260
gaaatgggcg ggaagccgcg cagaaagaat ccccaagagg gcctgtacaa cgagctccaa 1320
aaggataaga tggcagaagc ctatagcgag attggtatga aaggggaacg cagaagaggc 1380
aaaggccacg acggactgta ccagggactc agcaccgcca ccaaggacac ctatgacgct 1440
cttcacatgc aggccctgcc gcctcgg 1467

<210> 43
<211> 41
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 43

Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr
1 5 10 15
Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro
20 25 30
Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
35 40

<210> 44
<211> 123
[0017] <212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 44

aggagtaaga ggagcaggct cctgcacagt gactacatga acatgactcc ccgccgcccc 60
gggcccaccc gcaagcatta ccagccctat gccccaccac gcgacttcgc agcctatcgc 120
tcc 123

<210> 45
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 45

Thr Lys Lys Lys Tyr Ser Ser Ser Val His Asp Pro Asn Gly Glu Tyr
1 5 10 15
Met Phe Met Arg Ala Val Asn Thr Ala Lys Lys Ser Arg Leu Thr Asp
20 25 30
Val Thr Leu
35

<210> 46
<211> 105
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 46

acaaaaaaga agtattcatc cagtgtgcac gaccctaacg gtgaatacat gttcatgaga 60

gcagtgaaca cagccaaaaa atccagactc acagatgtga cccta 105

<210> 47
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
肽"
<400> 47
Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr
1 5
<210> 48
<211> 134
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
多核苷酸"
<400> 48
accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca ccggcgccca ccatcgcgtc gcagcccctg 60
tccctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg gcgggggcgc cagtgcacac gagggggctg 120
gacttcgcct gtga 134
<210> 49
<400> 49
000
<210> 50
<400> 50
000
<210> 51
<400> 51
000
<210> 52
[0018] <400> 52
000
<210> 53
<400> 53
000
<210> 54
<400> 54
000
<210> 55
<400> 55
000
<210> 56
<400> 56
000
<210> 57
<400> 57
000

<210> 58
<400> 58
000
<210> 59
<400> 59
000
<210> 60
<400> 60
000
<210> 61
<400> 61
000
<210> 62
<400> 62
000
<210> 63
<400> 63

000
<210> 64
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(30)
<223> /注解="这个序列可以包含1－6个"Gly Gly Gly Gly Ser"
重复单位"
<400> 64
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25 30
<210> 65

<400> 65
000
<210> 66
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 66

[0019]

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
ccccaagtgc agctggtcca gtcgggagcc gaagtcaaga agcccggcgc tagcgtgaaa 120
gtgtcctgca aagcctccgg gtacacattc acctcctact ggatgaattg ggtcagacag 180
gcgcccggcc agggactcga gtggatggga aggattgatc cttacgactc cgaaacccat 240
tacaaccaga agttcaagga ccgcgtgacc atgactgtgg ataagtccac ttccaccgct 300
tacatggagc tgtccagcct gcgctccgag gataccgcag tgtactactg cgcccgggga 360
aactgggacg actattgggg acagggaact accgtgaccg tgtcaagcgg gggtggcggt 420
agcggaggag ggggctccgg cggcggcggc tcaggggcgc gaggaagcga cgtgcagctc 480
acccagtcgc cctcatttct gtcggcctca gtgggagaca gagtgaccat tacttgtcgg 540
gcctccaaga gcatctccaa ggacctggcc tggtatcagc agaagccagg aaaggcgcct 600
aagttgctca tctactcggg gtcgaccctg caatctggcg tgccgtcccg gttctccggt 660
tcgggaagcg gtaccgaatt cacccttact atctcctccc tgcaaccgga ggacttcgcc 720
acctactact gccaacagca caacaagtac ccgtacactt tcgggggtgg cacgaaggtc 780
gaaatcaaga ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900
cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960
gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458
<210> 67
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 67
atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
ccccaagtgc agctggtcca gtcgggagcc gaagtcaaga agcccggcgc tagcgtgaaa 120
gtgtcctgca aagcctccgg gtacacattc acctcctact ggatgaattg ggtcagacag 180

gcgcccggcc agggactcga gtggatggga aggattgatc cttacgactc cgaaacccat 240
tacaaccaga agttcaagga ccgcgtgacc atgactgtgg ataagtccac ttccaccgct 300
tacatggagc tgtccagcct gcgctccgag gataccgcag tgtactactg cgcccgggga 360
aactgggacg actattgggg acagggaact accgtgaccg tgtcaagcgg gggtggcggt 420
agcggaggag ggggctccgg cggcggcggc tcagggggcg gaggaagcga agtggtgctg 480
acccagtcgc ccgcaaccct ctctctgtcg ccgggagaac gcgccactct ttcctgtcgg 540
gcgtccaaga gcatctcaaa ggacctcgcc tggtaccagc agaagcctgg tcaagccccg 600
cggctgctga tctactccgg ctccacgctg caatcaggaa tcccagccag attttccggt 660
tcggggtcgg ggactgactt caccttgacc attagctcgc tggaacctga ggacttcgcc 720
gtgtattact gccagcagca caacaagtac ccgtacacct tcggaggcgg tactaaggtc 780
gagatcaaga ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900
cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960
gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 68
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 68

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
ccccaagtgc agctggtcca gtcgggagcc gaagtcaaga agcccggcgc tagcgtgaaa 120
gtgtcctgca aagcctccgg gtacacattc acctcctact ggatgaattg ggtcagacag 180

[0020]

gcgcccggcc agggactcga gtggatggga aggattgatc cttacgactc cgaaacccat 240
tacaaccaga agttcaagga ccgcgtgacc atgactgtgg ataagtccac ttccaccgct 300
tacatggagc tgtccagcct gcgctccgag gataccgcag tgtactactg cgcccgggga 360
aactgggacg actattgggg acagggaact accgtgaccg tgtcaagcgg gggtggcggt 420
agcggaggag ggggctccgg cggcggcggc tcagggggcg gaggaagcga cgtcgtgatg 480
acccagtcac cggcattcct gtccgtgact cccggagaaa aggtcacgat tacttgccgg 540
gcgtccaaga gcatctccaa ggacctcgcc tggtaccaac agaagccgga ccaggccccc 600
aagctgttga tctactcggg gtccaccctt caatcgggag tgccatcgcg gtttagcggt 660
tcgggttctg ggaccgactt cactttcacc atctcctcac tggaagccga ggatgccgcc 720
acttactact gtcagcagca caacaagtat ccgtacacct tcggaggcgg taccaaagtg 780
gagatcaaga ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900
cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960
gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 69
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 69

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
ccccaagtgc agctggtcca gtcgggagcc gaagtcaaga agcccggcgc tagcgtgaaa 120
gtgtcctgca aagcctccgg gtacacattc acctcctact ggatgaattg ggtcagacag 180
gcgcccggcc agggactcga gtggatggga aggattgatc cttacgactc cgaaacccat 240

tacaaccaga agttcaagga ccgcgtgacc atgactgtgg ataagtccac ttccaccgct 300
tacatggagc tgtccagcct gcgctccgag gataccgcag tgtactactg cgcccgggga 360
aactgggacg actattgggg acagggaact accgtgaccg tgtcaagcgg gggtggcggt 420
agcggaggag ggggctccgg cggcggcggc tcagggggcg gaggaagcga cgtggtcatg 480
actcagtccc cggactcact cgcggtgtcg cttggagaga gagcgaccat caactgtcgg 540
gcctcaaaga gcatcagcaa ggacctggcc tggtaccagc agaagccggg acagccgcca 600
aagctgctga tctactccgg gtccaccttg caatctggtg tccctgaccg gttctccggt 660
tccgggtcgg gtaccgactt cacgctcact atttcgtcgc tgcaagccga agatgtggcc 720
gtgtactatt gccaacagca caacaagtac ccctacactt ttggcggagg caccaaggtg 780
gaaatcaaga ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900
cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960
gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 70
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 70

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
cccgacgtgc agctcaccca gtcgccctca tttctgtcgg cctcagtggg agacagagtg 120
accattactt gtcgggcctc caagagcatc tccaaggacc tggcctggta tcagcagaag 180
ccaggaaagg cgcctaagtt gctcatctac tcggggtcga ccctgcaatc tggcgtgccg 240
[0021] tcccggttct ccggttcggg aagcggtacc gaattcaccc ttactatctc ctccctgcaa 300
ccggaggact tcgccaccta ctactgccaa cagcacaaca agtacccgta cactttcggg 360
ggtggcacga aggtcgaaat caaggggggt ggcggtagcg gaggaggggg ctccggcggc 420
ggcggctcag ggggcggagg aagccaagtg cagctggtcc agtcgggagc cgaagtcaag 480
aagcccggcg ctagcgtgaa agtgtcctgc aaagcctccg ggtacacatt cacctcctac 540
tggatgaatt gggtcagaca ggcgcccggc cagggactcg agtggatggg aaggattgat 600
ccttacgact ccgaaaccca ttacaaccag aagttcaagg accgcgtgac catgactgtg 660
gataagtcca cttccaccgc ttacatggag ctgtccagcc tgcgctccga ggataccgca 720
gtgtactact gcgcccgggg aaactgggac gactattggg gacagggaac taccgtgacc 780
gtgtcaagca ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900
cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960
gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 71
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 71

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
cccgaagtgg tgctgaccca gtcgcccgca accctctctc tgtcgccggg agaacgcgcc 120
actctttcct gtcgggcgtc caagagcatc tcaaaggacc tcgcctggta ccagcagaag 180
cctggtcaag ccccgcggct gctgatctac tccggctcca cgctgcaatc aggaatccca 240
gccagatttt ccggttcggg gtcggggact gacttcacct tgaccattag ctcgctggaa 300

cctgaggact tcgccgtgta ttactgccag cagcacaaca agtacccgta caccttcgga 360
ggcggtacta aggtcgagat caaggggggt ggcggtagcg gaggaggggg ctccggcggc 420
ggcggctcag ggggcggagg aagccaagtg cagctggtcc agtcgggagc cgaagtcaag 480
aagcccggcg ctagcgtgaa agtgtcctgc aaagcctccg ggtacacatt cacctcctac 540
tggatgaatt gggtcagaca ggcgcccggc cagggactcg agtggatggg aaggattgat 600
ccttacgact ccgaaaccca ttacaaccag aagttcaagg accgcgtgac catgactgtg 660
gataagtcca cttccaccgc ttacatggag ctgtccagcc tgcgctccga ggataccgca 720
gtgtactact gcgcccgggg aaactgggac gactattggg gacagggaac taccgtgacc 780
gtgtcaagca ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900
cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960
gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 72
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 72

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
cccgacgtcg tgatgaccca gtcaccggca ttcctgtccg tgactcccgg agaaaaggtc 120
acgattactt gccgggcgtc caagagcatc tccaaggacc tcgcctggta ccaacagaag 180
ccggaccagg cccctaagct gttgatctac tcggggtcca cccttcaatc gggagtgcca 240
tcgcggttta gcggttcggg ttctgggacc gacttcactt tcaccatctc ctcactggaa 300
[0022] gccgaggatg ccgccactta ctactgtcag cagcacaaca agtatccgta caccttcgga 360
ggcggtacca aagtggagat caaggggggt ggcggtagcg gaggagggg ctccggcggc 420
ggcggctcag ggggcggagg aagccaagtg cagctggtcc agtcgggagc cgaagtcaag 480
aagcccggcg ctagcgtgaa agtgtcctgc aaagcctccg ggtacacatt cacctcctac 540
tggatgaatt gggtcagaca ggcgcccggc cagggactcg agtggatggg aaggattgat 600
ccttacgact ccgaaaccca ttacaaccag aagttcaagg accgcgtgac catgactgtg 660
gataagtcca cttccaccgc ttacatggag ctgtccagcc tgcgctccga ggataccgca 720
gtgtactact gcgcccgggg aaactgggac gactattggg gacagggaac taccgtgacc 780
gtgtcaagca ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900
cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960
gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 73
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 73

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
cccgacgtgg tcatgactca gtccccggac tcactcgcgg tgtcgcttgg agagagagcg 120
accatcaact gtcgggcctc aaagagcatc agcaaggacc tggcctggta ccagcagaag 180
ccgggacagc cgccaaagct gctgatctac tccgggtcca ccttgcaatc tggtgtccct 240
gaccggttct ccggttccgg gtcgggtacc gacttcacgc tcactatttc gtcgctgcaa 300
gccgaagatg tggccgtgta ctattgccaa cagcacaaca agtaccccta cacttttggc 360

ggaggcacca aggtggaaat caaggggggt ggcggtagcg gaggaggggg ctccggcggc 420
ggcggctcag ggggcggagg aagccaagtg cagctggtcc agtcgggagc cgaagtcaag 480
aagcccggcg ctagcgtgaa agtgtcctgc aaagcctccg ggtacacatt cacctcctac 540
tggatgaatt gggtcagaca ggcgcccggc cagggactcg agtggatggg aaggattgat 600
ccttacgact ccgaaaccca ttacaaccag aagttcaagg accgcgtgac catgactgtg 660
gataagtcca cttccaccgc ttacatggag ctgtccagcc tgcgctccga ggataccgca 720
gtgtactact gcgcccgggg aaactgggac gactattggg gacagggaac taccgtgacc 780
gtgtcaagca ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900
cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960
gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 74
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 74

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
ccccaagtgc agctggtgca gtcaggcagc gaactgaaga agcccggagc ctccgtcaaa 120
gtgtcctgca aagcctcggg atacaccttc acctcctact ggatgaactg ggtccgccag 180
gcacctggac aggggctgga gtggatggga aggatcgatc cctacgattc cgaaacccat 240
tacaatcaga agttcaagga ccggtttgtg ttctccgtgg acaagtccgt gtccaccgcc 300
tacctccaaa ttagcagcct gaaggcggag gatacagctg tctactactg cgctcgcgga 360
[0023] aactgggatg actattgggg ccagggaact accgtgactg tgtcctccgg gggtggcggt 420
agcggaggag ggggctccgg cggcggcggc tcagggggcg gaggaagcga cgtgcagctc 480
acccagtcgc cctcatttct gtcggcctca gtgggagaca gagtgaccat tacttgtcgg 540
gcctccaaga gcatctccaa ggacctggcc tggtatcagc agaagccagg aaaggcgcct 600
aagttgctca tctactcggg gtcgaccctg caatctggcg tgccgtcccg gttctccggt 660
tcgggaagcg gtaccgaatt cacccttact atctcctccc tgcaaccgga ggacttcgcc 720
acctactact gccaacagca caacaagtac ccgtacactt tcgggggtgg cacgaaggtc 780
gaaatcaaga ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900
cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960
gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 75
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 75

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
ccccaagtgc agctggtgca gtcaggcagc gaactgaaga agcccggagc ctccgtcaaa 120
gtgtcctgca aagcctcggg atacaccttc acctcctact ggatgaactg ggtccgccag 180
gcacctggac aggggctgga gtggatggga aggatcgatc cctacgattc cgaaacccat 240
tacaatcaga agttcaagga ccggtttgtg ttctccgtgg acaagtccgt gtccaccgcc 300
tacctccaaa ttagcagcct gaaggcggag gatacagctg tctactactg cgctcgcgga 360
aactgggatg actattgggg ccagggaact accgtgactg tgtcctccgg gggtggcggt 420

agcggaggag ggggctccgg cggcggcggc tcaggggcg gaggaagcga agtggtgctg 480
acccagtcgc ccgcaaccct ctctctgtcg ccgggagaac gcgccactct ttcctgtcgg 540
gcgtccaaga gcatctcaaa ggacctcgcc tggtaccagc agaagcctgg tcaagccccg 600
cggctgctga tctactccgg ctccacgctg caatcaggaa tcccagccag attttccggt 660
tcggggtcgg ggactgactt caccttgacc attagctcgc tggaacctga ggacttcgcc 720
gtgtattact gccagcagca caacaagtac ccgtacacct tcggaggcgg tactaaggtc 780
gagatcaaga ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900
cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960
gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 76
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 76

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
ccccaagtgc agctggtgca gtcaggcagc gaactgaaga agcccggagc ctccgtcaaa 120
gtgtcctgca aagcctcggg atacaccttc acctcctact ggatgaactg ggtccgccag 180
gcacctggac aggggctgga gtggatggga aggatcgatc cctacgattc cgaaacccat 240
tacaatcaga agttcaagga ccggtttgtg ttctccgtgg acaagtccgt gtccaccgcc 300
tacctccaaa ttagcagcct gaaggcggag gatacagctg tctactactg cgctcgcgga 360
aactgggatg actattgggg ccagggaact accgtgactg tgtcctccgg gggtggcggt 420
[0024] agcggaggag ggggctccgg cggcggcggc tcaggggcg gaggaagcga cgtcgtgatg 480
acccagtcac cggcattcct gtccgtgact cccggagaaa aggtcacgat tacttgccgg 540
gcgtccaaga gcatctccaa ggacctcgcc tggtaccaac agaagccgga ccaggccct 600
aagctgttga tctactcggg gtccaccctt caatcgggag tgccatcgcg gtttagcggt 660
tcgggttctg ggaccgactt cactttcacc atctcctcac tggaagccga ggatgccgcc 720
acttactact gtcagcagca caacaagtat ccgtacacct tcggaggcgg taccaaagtg 780
gagatcaaga ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900
cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960
gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 77
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 77

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
ccccaagtgc agctggtgca gtcaggcagc gaactgaaga agcccggagc ctccgtcaaa 120
gtgtcctgca aagcctcggg atacaccttc acctcctact ggatgaactg ggtccgccag 180
gcacctggac aggggctgga gtggatggga aggatcgatc cctacgattc cgaaacccat 240
tacaatcaga agttcaagga ccggtttgtg ttctccgtgg acaagtccgt gtccaccgcc 300
tacctccaaa ttagcagcct gaaggcggag gatacagctg tctactactg cgctcgcgga 360
aactgggatg actattgggg ccagggaact accgtgactg tgtcctccgg gggtggcggt 420
agcggaggag ggggctccgg cggcggcggc tcaggggcg gaggaagcga cgtggtcatg 480

actcagtccc cggactcact cgcggtgtcg cttggagaga gagcgaccat caactgtcgg 540
gcctcaaaga gcatcagcaa ggacctggcc tggtaccagc agaagccggg acagccgcca 600
aagctgctga tctactccgg gtccaccttg caatctggtg tccctgaccg gttctccggt 660
tccgggtcgg gtaccgactt cacgctcact atttcgtcgc tgcaagccga agatgtggcc 720
gtgtactatt gccaacagca caacaagtac ccctacactt ttggcggagg caccaaggtg 780
gaaatcaaga ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900
cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960
gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 78
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 78

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
cccgacgtgc agctcaccca gtcgccctca tttctgtcgg cctcagtggg agacagagtg 120
accattactt gtcgggcctc caagagcatc tccaaggacc tggcctggta tcagcagaag 180
ccaggaaagg cgcctaagtt gctcatctac tcggggtcga ccctgcaatc tggcgtgccg 240
tcccggttct ccggttcggg aagcggtacc gaattcaccc ttactatctc ctccctgcaa 300
ccggaggact tcgccaccta ctactgccaa cagcacaaca agtacccgta cactttcggg 360
ggtggcacga aggtcgaaat caaggggggt ggcggtagcg gaggaggggg ctccggcggc 420
ggcggctcag ggggcggagg aagccaagtg cagctggtgc agtcaggcag cgaactgaag 480
[0025] aagcccggag cctccgtcaa agtgtcctgc aaagcctcgg gatacacctt cacctcctac 540
tggatgaact gggtccgcca ggcacctgga caggggctgg agtggatggg aaggatcgat 600
ccctacgatt ccgaaaccca ttacaatcag aagttcaagg accggtttgt gttctccgtg 660
gacaagtccg tgtccaccgc ctacctccaa attagcagcc tgaaggcgga ggatacagct 720
gtctactact gcgctcgcgg aaactgggat gactattggg gccagggaac taccgtgact 780
gtgtcctcca ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900
cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960
gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 79
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 79

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
cccgaagtgg tgctgaccca gtcgcccgca accctctctc tgtcgccggg agaacgcgcc 120
actctttcct gtcgggcgtc caagagcatc tcaaaggacc tcgcctggta ccagcagaag 180
cctggtcaag ccccgcggct gctgatctac tccggctcca cgctgcaatc aggaatccca 240
gccagatttt ccggttcggg gtcggggact gacttcacct tgaccattag ctcgctggaa 300
cctgaggact tcgccgtgta ttactgccag cagcacaaca agtacccgta caccttcgga 360
ggcggtacta aggtcgagat caaggggggt ggcggtagcg gaggaggggg ctccggcggc 420
ggcggctcag ggggcggagg aagccaagtg cagctggtgc agtcaggcag cgaactgaag 480
aagcccggag cctccgtcaa agtgtcctgc aaagcctcgg gatacacctt cacctcctac 540

tggatgaact gggtccgcca ggcacctgga caggggctgg agtggatggg aaggatcgat 600
ccctacgatt ccgaaaccca ttacaatcag aagttcaagg accggtttgt gttctccgtg 660
gacaagtccg tgtccaccgc ctacctccaa attagcagcc tgaaggcgga ggatacagct 720
gtctactact gcgctcgcgg aaactgggat gactattggg gccagggaac taccgtgact 780
gtgtcctcca ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900
cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960
gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 80
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 80

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
cccgacgtcg tgatgaccca gtcaccggca ttcctgtccg tgactcccgg agaaaaggtc 120
acgattactt gccgggcgtc caagagcatc tccaaggacc tcgcctggta ccaacagaag 180
ccggaccagg cccctaagct gttgatctac tcggggtcca cccttcaatc gggagtgcca 240
tcgcggttta gcggttcggg ttctgggacc gacttcactt tcaccatctc ctcactggaa 300
gccgaggatg ccgccactta ctactgtcag cagcacaaca agtatccgta caccttcgga 360
ggcggtacca aagtggagat caaggggggt ggcggtagcg gaggaggggg ctccggcggc 420
ggcggctcag ggggcggagg aagccaagtg cagctggtgc agtcaggcag cgaactgaag 480
aagcccggag cctccgtcaa agtgtcctgc aaagcctcgg gatacacctt cacctcctac 540

[0026] tggatgaact gggtccgcca ggcacctgga caggggctgg agtggatggg aaggatcgat 600
ccctacgatt ccgaaaccca ttacaatcag aagttcaagg accggtttgt gttctccgtg 660
gacaagtccg tgtccaccgc ctacctccaa attagcagcc tgaaggcgga ggatacagct 720
gtctactact gcgctcgcgg aaactgggat gactattggg gccagggaac taccgtgact 780
gtgtcctcca ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900
cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960
gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 81
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 81

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
cccgacgtgg tcatgactca gtccccggac tcactcgcgg tgtcgcttgg agagagagcg 120
accatcaact gtcgggcctc aaagagcatc agcaaggacc tggcctggta ccagcagaag 180
ccgggacagc cgccaaagct gctgatctac tccgggtcca ccttgcaatc tggtgtccct 240
gaccggttct ccggttccgg gtcgggtacc gacttcacgc tcactatttc gtcgctgcaa 300
gccgaagatg tggccgtgta ctattgccaa cagcacaaca agtaccccta cacttttggc 360
ggaggcacca aggtggaaat caaggggggt ggcggtagcg gaggaggggg ctccggcggc 420
ggcggctcag ggggcggagg aagccaagtg cagctggtgc agtcaggcag cgaactgaag 480
aagcccggag cctccgtcaa agtgtcctgc aaagcctcgg gatacacctt cacctcctac 540
tggatgaact gggtccgcca ggcacctgga caggggctgg agtggatggg aaggatcgat 600

ccctacgatt ccgaaaccca ttacaatcag aagttcaagg accggtttgt gttctccgtg 660
gacaagtccg tgtccaccgc ctacctccaa attagcagcc tgaaggcgga ggatacagct 720
gtctactact gcgctcgcgg aaactgggat gactattggg gccagggaac taccgtgact 780
gtgtcctcca ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900
cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960
gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 82
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 82

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
cccgaggtgc agctggtgca gagcggagcc gaggtcaaga agcctggaga atccctgagg 120
atcagctgca aaggcagcgg gtataccttc acctcctact ggatgaattg ggtccgccag 180
atgcccggaa aaggcctgga gtggatggga cggattgacc cctacgactc ggaaacccat 240
tacaaccaga agttcaagga tcacgtgacc atctccgtgg acaagtccat ttccactgcg 300
tacctccagt ggtcaagcct gaaggcctcc gacactgcta tgtactactg cgcacgcgga 360
aactgggatg attactgggg acagggaaca accgtgactg tgtcctccgg gggtggcggt 420
agcggaggag ggggctccgg cggcggcggc tcagggggcg gaggaagcga cgtgcagctc 480
acccagtcgc cctcatttct gtcggcctca gtgggagaca gagtgaccat tacttgtcgg 540
gcctccaaga gcatctccaa ggacctggcc tggtatcagc agaagccagg aaaggcgcct 600
[0027] aagttgctca tctactcggg gtcgaccctg caatctggcg tgccgtcccg gttctccggt 660
tcgggaagcg gtaccgaatt caccccttact atctcctccc tgcaaccgga ggacttcgcc 720
acctactact gccaacagca caacaagtac ccgtacactt tcgggggtgg cacgaaggtc 780
gaaatcaaga ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900
cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960
gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 83
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 83

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
cccgaggtgc agctggtgca gagcggagcc gaggtcaaga agcctggaga atccctgagg 120
atcagctgca aaggcagcgg gtataccttc acctcctact ggatgaattg ggtccgccag 180
atgcccggaa aaggcctgga gtggatggga cggattgacc cctacgactc ggaaacccat 240
tacaaccaga agttcaagga tcacgtgacc atctccgtgg acaagtccat ttccactgcg 300
tacctccagt ggtcaagcct gaaggcctcc gacactgcta tgtactactg cgcacgcgga 360
aactgggatg attactgggg acagggaaca accgtgactg tgtcctccgg gggtggcggt 420
agcggaggag ggggctccgg cggcggcggc tcagggggcg gaggaagcga agtggtgctg 480
acccagtcgc ccgcaaccct ctctctgtcg ccgggagaac gcgccactct ttcctgtcgg 540
gcgtccaaga gcatctcaaa ggacctcgcc tggtaccagc agaagcctgg tcaagccccg 600
cggctgctga tctactccgg ctccacgctg caatcaggaa tcccagccag attttccggt 660

tcggggtcgg ggactgactt caccttgacc attagctcgc tggaacctga ggacttcgcc 720
gtgtattact gccagcagca caacaagtac ccgtacacct tcggaggcgg tactaaggtc 780
gagatcaaga ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900
cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960
gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 84
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 84

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
cccgaggtgc agctggtgca gagcggagcc gaggtcaaga agcctggaga atccctgagg 120
atcagctgca aaggcagcgg gtataccttc acctcctact ggatgaattg ggtccgccag 180
atgcccggaa aaggcctgga gtggatggga cggattgacc cctacgactc ggaaacccat 240
tacaaccaga agttcaagga tcacgtgacc atctccgtgg acaagtccat ttccactgcg 300
tacctccagt ggtcaagcct gaaggcctcc gacactgcta tgtactactg cgcacgcgga 360
aactgggatg attactgggg acagggaaca accgtgactg tgtcctccgg gggtggcggt 420
agcggaggag ggggctccgg cggcggcggc tcagggggcg gaggaagcga cgtcgtgatg 480
acccagtcac cggcattcct gtccgtgact cccggagaaa aggtcacgat tacttgccgg 540
gcgtccaaga gcatctccaa ggacctcgcc tggtaccaac agaagccgga ccaggccct 600
aagctgttga tctactcggg gtccaccctt caatcgggag tgccatcgcg gtttagcggt 660
[0028] tcgggttctg ggaccgactt cactttcacc atctcctcac tggaagccga ggatgccgcc 720
acttactact gtcagcagca caacaagtat ccgtacacct tcggaggcgg taccaaagtg 780
gagatcaaga ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900
cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960
gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 85
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 85

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
cccgaggtgc agctggtgca gagcggagcc gaggtcaaga agcctggaga atccctgagg 120
atcagctgca aaggcagcgg gtataccttc acctcctact ggatgaattg ggtccgccag 180
atgcccggaa aaggcctgga gtggatggga cggattgacc cctacgactc ggaaacccat 240
tacaaccaga agttcaagga tcacgtgacc atctccgtgg acaagtccat ttccactgcg 300
tacctccagt ggtcaagcct gaaggcctcc gacactgcta tgtactactg cgcacgcgga 360
aactgggatg attactgggg acagggaaca accgtgactg tgtcctccgg gggtggcggt 420
agcggaggag ggggctccgg cggcggcggc tcagggggcg gaggaagcga cgtggtcatg 480
actcagtccc cggactcact cgcggtgtcg cttggagaga gagcgaccat caactgtcgg 540
gcctcaaaga gcatcagcaa ggacctggcc tggtaccagc agaagccggg acagccgcca 600
aagctgctga tctactccgg gtccaccttg caatctggtg tccctgaccg gttctccggt 660
tccgggtcgg gtaccgactt cacgctcact atttcgtcgc tgcaagccga agatgtggcc 720

gtgtactatt gccaacagca caacaagtac ccctacactt ttggcggagg caccaaggtg 780
gaaatcaaga ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900
cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960
gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 86
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 86

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
cccgacgtgc agctcaccca gtcgccctca tttctgtcgg cctcagtggg agacagagtg 120
accattactt gtcgggcctc caagagcatc tccaaggacc tggcctggta tcagcagaag 180
ccaggaaagg cgcctaagtt gctcatctac tcggggtcga ccctgcaatc tggcgtgccg 240
tcccggttct ccggttcggg aagcggtacc gaattcaccc ttactatctc ctccctgcaa 300
ccggaggact tcgccaccta ctactgccaa cagcacaaca agtacccgta cactttcggg 360
ggtggcacga aggtcgaaat caaggggggt ggcggtagcg gaggaggggg ctccggcggc 420
ggcggctcag ggggcggagg aagcgaggtg cagctggtgc agagcggagc cgaggtcaag 480
aagcctggag aatccctgag gatcagctgc aaaggcagcg ggtatacctt cacctcctac 540
tggatgaatt gggtccgcca gatgcccgga aaaggcctgg agtggatggg acggattgac 600
ccctacgact cggaaaccca ttacaaccag aagttcaagg atcacgtgac catctccgtg 660
gacaagtcca tttccactgc gtacctccag tggtcaagcc tgaaggcctc cgacactgct 720
[0029] atgtactact gcgcacgcgg aaactgggat gattactggg gacagggaac aaccgtgact 780
gtgtcctcca ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900
cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960
gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 87
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 87

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
cccgaagtgg tgctgaccca gtcgcccgca accctctctc tgtcgccggg agaacgcgcc 120
actctttcct gtcgggcgtc caagagcatc tcaaaggacc tcgcctggta ccagcagaag 180
cctggtcaag ccccgcggct gctgatctac tccggctcca cgctgcaatc aggaatccca 240
gccagatttt ccggttcggg gtcggggact gacttcacct tgaccattag ctcgctggaa 300
cctgaggact tcgccgtgta ttactgccag cagcacaaca agtacccgta caccttcgga 360
ggcggtacta aggtcgagat caaggggggt ggcggtagcg gaggaggggg ctccggcggc 420
ggcggctcag ggggcggagg aagcgaggtg cagctggtgc agagcggagc cgaggtcaag 480
aagcctggag aatccctgag gatcagctgc aaaggcagcg ggtatacctt cacctcctac 540
tggatgaatt gggtccgcca gatgcccgga aaaggcctgg agtggatggg acggattgac 600
ccctacgact cggaaaccca ttacaaccag aagttcaagg atcacgtgac catctccgtg 660
gacaagtcca tttccactgc gtacctccag tggtcaagcc tgaaggcctc cgacactgct 720
atgtactact gcgcacgcgg aaactgggat gattactggg gacagggaac aaccgtgact 780

gtgtcctcca ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900
cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960
gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 88
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 88

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
cccgacgtcg tgatgaccca gtcaccggca ttcctgtccg tgactcccgg agaaaaggtc 120
acgattactt gccgggcgtc caagagcatc tccaaggacc tcgcctggta ccaacagaag 180
ccggaccagg cccctaagct gttgatctac tcggggtcca cccttcaatc gggagtgcca 240
tcgcggttta gcggttcggg ttctgggacc gacttcactt tcaccatctc ctcactggaa 300
gccgaggatg ccgccactta ctactgtcag cagcacaaca agtatccgta caccttcgga 360
ggcggtacca aagtggagat caaggggggt ggcggtagcg gaggaggggg ctccggcggc 420
ggcggctcag ggggcggagg aagcgaggtg cagctggtgc agagcggagc cgaggtcaag 480
aagcctggag aatccctgag gatcagctgc aaaggcagcg ggtatacctt cacctcctac 540
tggatgaatt gggtccgcca gatgcccgga aaaggcctgg agtggatggg acggattgac 600
ccctacgact cggaaaccca ttacaaccag aagttcaagg atcacgtgac catctccgtg 660
gacaagtcca tttccactgc gtacctccag tggtcaagcc tgaaggcctc cgacactgct 720
atgtactact gcgcacgcgg aaactgggat gattactggg gacagggaac aaccgtgact 780

[0030] gtgtcctcca ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900
cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960
gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 89
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 89

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
cccgacgtgg tcatgactca gtccccggac tcactcgcgg tgtcgcttgg agagagagcg 120
accatcaact gtcgggcctc aaagagcatc agcaaggacc tggcctggta ccagcagaag 180
ccgggacagc cgccaaagct gctgatctac tccgggtcca ccttgcaatc tggtgtccct 240
gaccggttct ccggttccgg gtcgggtacc gacttcacgc tcactatttc gtcgctgcaa 300
gccgaagatg tggccgtgta ctattgccaa cagcacaaca agtaccccta cacttttggc 360
ggaggcacca aggtggaaat caaggggggt ggcggtagcg gaggaggggg ctccggcggc 420
ggcggctcag ggggcggagg aagcgaggtg cagctggtgc agagcggagc cgaggtcaag 480
aagcctggag aatccctgag gatcagctgc aaaggcagcg ggtatacctt cacctcctac 540
tggatgaatt gggtccgcca gatgcccgga aaaggcctgg agtggatggg acggattgac 600
ccctacgact cggaaaccca ttacaaccag aagttcaagg atcacgtgac catctccgtg 660
gacaagtcca tttccactgc gtacctccag tggtcaagcc tgaaggcctc cgacactgct 720
atgtactact gcgcacgcgg aaactgggat gattactggg gacagggaac aaccgtgact 780
gtgtcctcca ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840

cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900
cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960
gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 90
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 90

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
cccgaagtgc agctcgtcga gagcggaggg ggactggtgc agcccggagg aagcctgagg 120
ctgtcctgcg ctgcctccgg ctacaccttc acctcctact ggatgaactg ggtcagacag 180
gcacctggaa agggactggt ctgggtgtcg cgcattgacc cctacgactc cgaaacccat 240
tacaatcaga aattcaagga ccgcttcacc atctccgtgg acaaagccaa gagcaccgcg 300
tacctccaaa tgaactccct gcgcgctgag gatacagcag tgtactattg cgcccgggga 360
aactgggatg attactgggg ccagggaact actgtgactg tgtcatccgg gggtggcggt 420
agcggaggag ggggctccgg cggcggcggc tcaggggcg gaggaagcga cgtgcagctc 480
acccagtcgc cctcatttct gtcggcctca gtgggagaca gagtgaccat tacttgtcgg 540
gcctccaaga gcatctccaa ggacctggcc tggtatcagc agaagccagg aaaggcgcct 600
aagttgctca tctactcggg gtcgaccctg caatctggcg tgccgtcccg gttctccggt 660
tcgggaagcg gtaccgaatt cacccttact atctcctccc tgcaaccgga ggacttcgcc 720
acctactact gccaacagca caacaagtac ccgtacactt tcgggggtgg cacgaaggtc 780
gaaatcaaga ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
[0031] cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900
cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960
gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 91
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 91

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
cccgaagtgc agctcgtcga gagcggaggg ggactggtgc agcccggagg aagcctgagg 120
ctgtcctgcg ctgcctccgg ctacaccttc acctcctact ggatgaactg ggtcagacag 180
gcacctggaa agggactggt ctgggtgtcg cgcattgacc cctacgactc cgaaacccat 240
tacaatcaga aattcaagga ccgcttcacc atctccgtgg acaaagccaa gagcaccgcg 300
tacctccaaa tgaactccct gcgcgctgag gatacagcag tgtactattg cgcccgggga 360
aactgggatg attactgggg ccagggaact actgtgactg tgtcatccgg gggtggcggt 420
agcggaggag ggggctccgg cggcggcggc tcaggggcg gaggaagcga agtggtgctg 480
acccagtcgc ccgcaaccct ctctctgtcg ccgggagaac gcgccactct ttcctgtcgg 540
gcgtccaaga gcatctcaaa ggacctcgcc tggtaccagc agaagcctgg tcaagccccg 600
cggctgctga tctactccgg ctccacgctg caatcaggaa tcccagccag attttccggt 660
tcggggtcgg ggactgactt caccttgacc attagctcgc tggaacctga ggacttcgcc 720
gtgtattact gccagcagca caacaagtac ccgtacacct tcggaggcgg tactaaggtc 780
gagatcaaga ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900

cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960
gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 92
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 92

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
cccgaagtgc agctcgtcga gagcggaggg ggactggtgc agcccggagg aagcctgagg 120
ctgtcctgcg ctgcctccgg ctacaccttc acctcctact ggatgaactg ggtcagacag 180
gcacctggaa agggactggt ctgggtgtcg cgcattgacc cctacgactc cgaaacccat 240
tacaatcaga aattcaagga ccgcttcacc atctccgtgg acaaagccaa gagcaccgcg 300
tacctccaaa tgaactccct gcgcgctgag gatacagcag tgtactattg cgcccgggga 360
aactgggatg attactgggg ccagggaact actgtgactg tgtcatccgg gggtggcggt 420
agcggaggag ggggctccgg cggcggcggc tcagggggcg gaggaagcga cgtcgtgatg 480
acccagtcac cggcattcct gtccgtgact cccggagaaa aggtcacgat tacttgccgg 540
gcgtccaaga gcatctccaa ggacctcgcc tggtaccaac agaagccgga ccaggccct 600
aagctgttga tctactcggg gtccaccctt caatcgggag tgccatcgcg gtttagcggt 660
tcgggttctg ggaccgactt cactttcacc atctcctcac tggaagccga ggatgccgcc 720
acttactact gtcagcagca caacaagtat ccgtacacct tcggaggcgg taccaaagtg 780
gagatcaaga ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900

[0032]

cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960
gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 93
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 93

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
cccgaagtgc agctcgtcga gagcggaggg ggactggtgc agcccggagg aagcctgagg 120
ctgtcctgcg ctgcctccgg ctacaccttc acctcctact ggatgaactg ggtcagacag 180
gcacctggaa agggactggt ctgggtgtcg cgcattgacc cctacgactc cgaaacccat 240
tacaatcaga aattcaagga ccgcttcacc atctccgtgg acaaagccaa gagcaccgcg 300
tacctccaaa tgaactccct gcgcgctgag gatacagcag tgtactattg cgcccgggga 360
aactgggatg attactgggg ccagggaact actgtgactg tgtcatccgg gggtggcggt 420
agcggaggag ggggctccgg cggcggcggc tcagggggcg gaggaagcga cgtggtcatg 480
actcagtccc cggactcact cgcggtgtcg cttggagaga gagcgaccat caactgtcgg 540
gcctcaaaga gcatcagcaa ggacctggcc tggtaccagc agaagccggg acagccgcca 600
aagctgctga tctactccgg gtccaccttg caatctggtg tccctgaccg gttctccggt 660
tccgggtcgg gtaccgactt cacgctcact atttcgtcgc tgcaagccga agatgtggcc 720
gtgtactatt gccaacagca caacaagtac ccctacactt ttggcggagg caccaaggtg 780
gaaatcaaga ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900
cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960

gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 94
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 94

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
cccgacgtgc agctcaccca gtcgccctca tttctgtcgg cctcagtggg agacagagtg 120
accattactt gtcgggcctc caagagcatc tccaaggacc tggcctggta tcagcagaag 180
ccaggaaagg cgcctaagtt gctcatctac tcggggtcga ccctgcaatc tggcgtgccg 240
tcccggttct ccggttcggg aagcggtacc gaattcaccc ttactatctc ctccctgcaa 300
ccggaggact tcgccaccta ctactgccaa cagcacaaca agtacccgta cactttcggg 360
ggtggcacga aggtcgaaat caaggggggt ggcggtagcg gaggaggggg ctccggcggc 420
ggcggctcag ggggcggagg aagcgaagtg cagctcgtcg agagcggagg gggactggtg 480
cagcccggag gaagcctgag gctgtcctgc gctgcctccg gctacacctt cacctcctac 540
tggatgaact gggtcagaca ggcacctgga aagggactgg tctgggtgtc gcgcattgac 600
ccctacgact ccgaaaccca ttacaatcag aaattcaagg accgcttcac catctccgtg 660
gacaaagcca agagcaccgc gtacctccaa atgaactccc tgcgcgctga ggatacagca 720
gtgtactatt gcgcccgggg aaactgggat gattactggg gccagggaac tactgtgact 780
gtgtcatcca ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900
cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960

[0033]

gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 95
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 95

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
cccgaagtgg tgctgaccca gtcgcccgca accctctctc tgtcgccggg agaacgcgcc 120
actctttcct gtcgggcgtc caagagcatc tcaaaggacc tcgcctggta ccagcagaag 180
cctggtcaag ccccgcggct gctgatctac tccggctcca cgctgcaatc aggaatccca 240
gccagatttt ccggttcggg gtcggggact gacttcacct tgaccattag ctcgctggaa 300
cctgaggact tcgccgtgta ttactgccag cagcacaaca agtacccgta caccttcgga 360
ggcggtacta aggtcgagat caaggggggt ggcggtagcg gaggaggggg ctccggcggc 420
ggcggctcag ggggcggagg aagcgaagtg cagctcgtcg agagcggagg gggactggtg 480
cagcccggag gaagcctgag gctgtcctgc gctgcctccg gctacacctt cacctcctac 540
tggatgaact gggtcagaca ggcacctgga aagggactgg tctgggtgtc gcgcattgac 600
ccctacgact ccgaaaccca ttacaatcag aaattcaagg accgcttcac catctccgtg 660
gacaaagcca agagcaccgc gtacctccaa atgaactccc tgcgcgctga ggatacagca 720
gtgtactatt gcgcccgggg aaactgggat gattactggg gccagggaac tactgtgact 780
gtgtcatcca ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900
cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960
gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020

tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 96
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 96
atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
cccgacgtcg tgatgaccca gtcaccggca ttcctgtccg tgactcccgg agaaaaggtc 120
acgattactt gccgggcgtc caagagcatc tccaaggacc tcgcctggta ccaacagaag 180
ccggaccagg cccctaagct gttgatctac tcggggtcca cccttcaatc gggagtgcca 240
tcgcggttta gcggttcggg ttctgggacc gacttcactt tcaccatctc ctcactggaa 300
gccgaggatg ccgccactta ctactgtcag cagcacaaca agtatccgta caccttcgga 360
ggcggtacca aagtggagat caaggggggt ggcggtagcg gaggaggggg ctccggcggc 420
ggcggctcag ggggcggagg aagcgaagtg cagctcgtcg agagcggagg gggactggtg 480
cagcccggag gaagcctgag gctgtcctgc gctgcctccg gctacacctt cacctcctac 540
tggatgaact gggtcagaca ggcacctgga aagggactgg tctgggtgtc gcgcattgac 600
ccctacgact ccgaaaccca ttacaatcag aaattcaagg accgcttcac catctccgtg 660
gacaaagcca agagcaccgc gtacctccaa atgaactccc tgcgcgctga ggatacagca 720
gtgtactatt gcgcccgggg aaactgggat gattactggg gccagggaac tactgtgact 780
gtgtcatcca ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900
cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960
gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020

[0034] tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080
tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 97
<211> 1458
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 97
atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
cccgacgtgg tcatgactca gtccccggac tcactcgcgg tgtcgcttgg agagagagcg 120
accatcaact gtcgggcctc aaagagcatc agcaaggacc tggcctggta ccagcagaag 180
ccgggacagc cgccaaagct gctgatctac tccgggtcca ccttgcaatc tggtgtccct 240
gaccggttct ccggttccgg gtcgggtacc gacttcacgc tcactatttc gtcgctgcaa 300
gccgaagatg tggccgtgta ctattgccaa cagcacaaca agtaccccta cacttttggc 360
ggaggcacca aggtggaaat caaggggggt ggcggtagcg gaggaggggg ctccggcggc 420
ggcggctcag ggggcggagg aagcgaagtg cagctcgtcg agagcggagg gggactggtg 480
cagcccggag gaagcctgag gctgtcctgc gctgcctccg gctacacctt cacctcctac 540
tggatgaact gggtcagaca ggcacctgga aagggactgg tctgggtgtc gcgcattgac 600
ccctacgact ccgaaaccca ttacaatcag aaattcaagg accgcttcac catctccgtg 660
gacaaagcca agagcaccgc gtacctccaa atgaactccc tgcgcgctga ggatacagca 720
gtgtactatt gcgcccgggg aaactgggat gattactggg gccagggaac tactgtgact 780
gtgtcatcca ccactacccc agcaccgagg ccacccaccc cggctcctac catcgcctcc 840
cagcctctgt ccctgcgtcc ggaggcatgt agacccgcag ctggtggggc cgtgcatacc 900
cggggtcttg acttcgcctg cgatatctac atttgggccc ctctggctgg tacttgcggg 960
gtcctgctgc tttcactcgt gatcactctt tactgtaagc gcggtcggaa gaagctgctg 1020
tacatcttta agcaaccctt catgaggcct gtgcagacta ctcaagagga ggacggctgt 1080

tcatgccggt tcccagagga ggaggaaggc ggctgcgaac tgcgcgtgaa attcagccgc 1140
agcgcagatg ctccagccta caagcagggg cagaaccagc tctacaacga actcaatctt 1200
ggtcggagag aggagtacga cgtgctggac aagcggagag gacgggaccc agaaatgggc 1260
gggaagccgc gcagaaagaa tccccaagag ggcctgtaca acgagctcca aaaggataag 1320
atggcagaag cctatagcga gattggtatg aaaggggaac gcagaagagg caaaggccac 1380
gacggactgt accagggact cagcaccgcc accaaggaca cctatgacgc tcttcacatg 1440
caggccctgc cgcctcgg 1458

<210> 98
<211> 487
<212> PRT
<213> 智人
<400> 98

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60
Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn
65 70 75 80
Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser
85 90 95
Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Met Asn Ile Leu Ala Thr Val Pro
115 120 125
Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
130 135 140
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln
145 150 155 160
Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val
165 170 175
[0035] Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Tyr Leu Asn Trp
180 185 190
Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Ala Ala
195 200 205
Phe Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
210 215 220
Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe
225 230 235 240
Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asp Ser Val Pro Leu Thr Phe Gly
245 250 255
Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro
260 265 270
Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro
275 280 285
Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu
290 295 300
Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys
305 310 315 320
Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly
325 330 335
Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val
340 345 350
Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu
355 360 365
Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp
370 375 380
Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn
385 390 395 400
Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg
405 410 415
Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly
420 425 430
Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu
435 440 445
Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu

450 455 460
Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His
465 470 475 480
Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 99
<211> 487
<212> PRT
<213> 智人
<400> 99
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60
Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn
65 70 75 80
Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser
85 90 95
Ile Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Met Asn Ile Leu Ala Thr Val Pro
115 120 125
Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
130 135 140
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln
145 150 155 160
Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val
165 170 175
Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp
180 185 190
[0036] Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala
195 200 205
Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
210 215 220
Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Val Asn Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe
225 230 235 240
Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asp Ser Val Pro Leu Thr Phe Gly
245 250 255
Gly Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro
260 265 270
Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro
275 280 285
Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu
290 295 300
Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys
305 310 315 320
Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly
325 330 335
Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val
340 345 350
Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu
355 360 365
Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp
370 375 380
Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn
385 390 395 400
Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg
405 410 415
Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly
420 425 430
Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu
435 440 445
Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu
450 455 460
Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His

465 470 475 480
Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 100
<211> 487
<212> PRT
<213> 智人
<400> 100

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45
Ile Phe Thr Gly Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60
Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn
65 70 75 80
Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser
85 90 95
Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Gly Leu Arg Ser Asp Asp Pro
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Met Asn Ile Leu Ala Thr Val Pro
115 120 125
Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
130 135 140
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln
145 150 155 160
Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val
165 170 175
Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp
180 185 190
Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala
195 200 205

[0037]

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

485

<210> 101
<211> 336
<212> PRT
<213> 智人
<400> 101

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30
Lys Lys Ser Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60
Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Asp Thr Asn
65 70 75 80
Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser
85 90 95
Ile Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Met Asn Ile Leu Ala Thr Val Pro
115 120 125
Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
130 135 140
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Arg Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp
145 150 155 160
Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp
165 170 175
Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu
180 185 190
Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
195 200 205
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
210 215 220

[0038]

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
225 230 235 240
Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asp Ser Val Pro Leu Thr
245 250 255
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro
260 265 270
Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu
275 280 285
Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg
290 295 300
Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly
305 310 315 320
Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys
325 330 335

<210> 102
<400> 102
000
<210> 103
<400> 103
000
<210> 104
<400> 104
000
<210> 105
<400> 105
000
<210> 106
<400> 106
000
<210> 107
<400> 107
000
<210> 108
<400> 108
000

[0039]

<210> 109
<400> 109
000
<210> 110
<400> 110
000
<210> 111
<400> 111
000
<210> 112
<400> 112
000
<210> 113
<400> 113
000
<210> 114
<400> 114
000
<210> 115
<400> 115
000
<210> 116
<400> 116
000
<210> 117
<400> 117
000
<210> 118
<400> 118
000
<210> 119
<400> 119
000
<210> 120
<400> 120
000
<210> 121
<400> 121
000
<210> 122
<400> 122
000
<210> 123
<400> 123
000
<210> 124
<400> 124
000
<210> 125
<211> 486
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 125

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
            20                  25                  30
Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
        35                  40                  45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
    50                  55                  60
Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65                  70                  75                  80
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser
                85                  90                  95
```

Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Gln Leu
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
165 170 175
Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205
Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
225 230 235 240
Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
260 265 270
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
275 280 285
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
290 295 300
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
305 310 315 320
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
325 330 335
Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
340 345 350
Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
355 360 365

[0040]

Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
370 375 380
Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
385 390 395 400
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
405 410 415
Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
420 425 430
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
435 440 445
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
450 455 460
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
465 470 475 480
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 126
<211> 486
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 126
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60
Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80

Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser
85 90 95
Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Val Leu
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr
165 170 175
Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190
Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205
Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
260 265 270
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
275 280 285
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
290 295 300
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
305 310 315 320
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
325 330 335
Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
340 345 350

[0041]

Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
355 360 365
Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
370 375 380
Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
385 390 395 400
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
405 410 415
Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
420 425 430
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
435 440 445
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
450 455 460
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
465 470 475 480
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 127
<211> 486
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 127

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60

Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser
85 90 95
Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly Glu Lys Val Thr
165 170 175
Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190
Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205
Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala
225 230 235 240
Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
260 265 270
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
275 280 285
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
290 295 300
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
305 310 315 320
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
325 330 335

[0042]

Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
340 345 350
Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
355 360 365
Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
370 375 380
Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
385 390 395 400
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
405 410 415
Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
420 425 430
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
435 440 445
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
450 455 460
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
465 470 475 480
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 128
<211> 486
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 128
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45

Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60
Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser
85 90 95
Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr
165 170 175
Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190
Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205
Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
260 265 270
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
275 280 285
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
290 295 300
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
305 310 315 320

[0043]

Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
325 330 335
Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
340 345 350
Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
355 360 365
Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
370 375 380
Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
385 390 395 400
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
405 410 415
Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
420 425 430
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
435 440 445
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
450 455 460
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
465 470 475 480
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 129
<211> 486
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 129
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Asp Val Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu
20 25 30

Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
50 55 60
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
65 70 75 80
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile
85 90 95
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His
100 105 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
145 150 155 160
Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
165 170 175
Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
180 185 190
Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
195 200 205
Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Thr
210 215 220
Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
260 265 270
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
275 280 285
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
290 295 300

[0044]

Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
305 310 315 320
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
325 330 335
Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
340 345 350
Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
355 360 365
Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
370 375 380
Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
385 390 395 400
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
405 410 415
Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
420 425 430
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
435 440 445
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
450 455 460
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
465 470 475 480
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 130
<211> 486
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 130
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

```
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu
                20                  25                  30
Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys
            35                  40                  45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
        50                  55                  60
Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro
65                  70                  75                  80
Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
                85                  90                  95
Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His
            100                 105                 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
        115                 120                 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
    130                 135                 140
Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
145                 150                 155                 160
Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
                165                 170                 175
Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
            180                 185                 190
Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
        195                 200                 205
Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Thr
    210                 215                 220
Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
225                 230                 235                 240
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
                245                 250                 255
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
            260                 265                 270
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
        275                 280                 285
```

[0045]

```
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
    290                 295                 300
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
305                 310                 315                 320
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
                325                 330                 335
Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
            340                 345                 350
Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
        355                 360                 365
Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
    370                 375                 380
Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
385                 390                 395                 400
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
                405                 410                 415
Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
            420                 425                 430
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
        435                 440                 445
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
    450                 455                 460
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
465                 470                 475                 480
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
                485
<210> 131
<211> 486
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
      多肽"
<400> 131
```

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu
20 25 30
Ser Val Thr Pro Gly Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala
50 55 60
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
65 70 75 80
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile
85 90 95
Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His
100 105 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
145 150 155 160
Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
165 170 175
Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
180 185 190
Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
195 200 205
Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Thr
210 215 220
Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
260 265 270

[0046]

Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
275 280 285
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
290 295 300
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
305 310 315 320
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
325 330 335
Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
340 345 350
Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
355 360 365
Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
370 375 380
Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
385 390 395 400
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
405 410 415
Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
420 425 430
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
435 440 445
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
450 455 460
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
465 470 475 480
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 132
<211> 486
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的

多肽"

<400> 132

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu
20 25 30
Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro
50 55 60
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
65 70 75 80
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
85 90 95
Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His
100 105 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
145 150 155 160
Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
165 170 175
Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
180 185 190
Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
195 200 205
Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Thr
210 215 220
Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255

[0047]

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

<210> 133
<211> 486
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 133
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60
Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser
85 90 95
Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Gln Leu
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
165 170 175
Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205
Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
225 230 235 240
[0048] Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
260 265 270
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
275 280 285
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
290 295 300
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
305 310 315 320
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
325 330 335
Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
340 345 350
Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
355 360 365
Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
370 375 380
Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
385 390 395 400
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
405 410 415
Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
420 425 430
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
435 440 445
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
450 455 460
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
465 470 475 480
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485
<210> 134
<211> 486
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 134

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu
            20                  25                  30
Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
        35                  40                  45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
    50                  55                  60
Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65                  70                  75                  80
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser
                85                  90                  95
Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr
            100                 105                 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
        115                 120                 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
    130                 135                 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Val Leu
145                 150                 155                 160
Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr
                165                 170                 175
Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
            180                 185                 190
Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
        195                 200                 205
Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
    210                 215                 220
Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala
225                 230                 235                 240
Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
                245                 250                 255
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
            260                 265                 270
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
        275                 280                 285
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
    290                 295                 300
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
305                 310                 315                 320
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
                325                 330                 335
Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
            340                 345                 350
Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
        355                 360                 365
Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
    370                 375                 380
Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
385                 390                 395                 400
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
                405                 410                 415
Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
            420                 425                 430
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
        435                 440                 445
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
    450                 455                 460
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
465                 470                 475                 480
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
                485
```

<210> 135

[0049]

<211> 486
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 135

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60
Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser
85 90 95
Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly Glu Lys Val Thr
165 170 175
Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190
Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205

[0050]

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

485

<210> 136
<211> 486
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 136

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60
Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser
85 90 95
Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr
165 170 175
Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190

[0051]

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

465 470 475 480
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 137
<211> 486
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 137

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Asp Val Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu
20 25 30
Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
50 55 60
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
65 70 75 80
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile
85 90 95
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His
100 105 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys
145 150 155 160
Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
165 170 175
[0052] Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
180 185 190
Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
195 200 205
Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser Val
210 215 220
Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
260 265 270
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
275 280 285
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
290 295 300
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
305 310 315 320
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
325 330 335
Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
340 345 350
Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
355 360 365
Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
370 375 380
Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
385 390 395 400
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
405 410 415
Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
420 425 430
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
435 440 445
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr

450 455 460
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
465 470 475 480
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 138
<211> 486
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 138
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu
20 25 30
Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
50 55 60
Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro
65 70 75 80
Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
85 90 95
Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His
100 105 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys
145 150 155 160
[0053] Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
165 170 175
Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
180 185 190
Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
195 200 205
Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser Val
210 215 220
Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
260 265 270
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
275 280 285
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
290 295 300
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
305 310 315 320
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
325 330 335
Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
340 345 350
Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
355 360 365
Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
370 375 380
Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
385 390 395 400
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
405 410 415
Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
420 425 430
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile

435 440 445
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
450 455 460
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
465 470 475 480
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 139
<211> 486
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 139

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu
20 25 30
Ser Val Thr Pro Gly Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala
50 55 60
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
65 70 75 80
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile
85 90 95
Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His
100 105 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140

[0054]

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

420 425 430
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
435 440 445
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
450 455 460
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
465 470 475 480
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 140
<211> 486
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 140
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu
20 25 30
Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro
50 55 60
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
65 70 75 80
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
85 90 95
Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His
100 105 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
[0055] Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys
145 150 155 160
Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
165 170 175
Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
180 185 190
Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
195 200 205
Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser Val
210 215 220
Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
260 265 270
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
275 280 285
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
290 295 300
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
305 310 315 320
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
325 330 335
Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
340 345 350
Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
355 360 365
Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
370 375 380
Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
385 390 395 400
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp

405 410 415
Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
420 425 430
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
435 440 445
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
450 455 460
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
465 470 475 480
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 141
<211> 486
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 141
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys
50 55 60
Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser
85 90 95
Ile Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr
100 105 110
[0056] Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Gln Leu
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
165 170 175
Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205
Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
225 230 235 240
Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
260 265 270
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
275 280 285
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
290 295 300
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
305 310 315 320
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
325 330 335
Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
340 345 350
Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
355 360 365
Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
370 375 380
Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu

385 390 395 400
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
405 410 415
Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
420 425 430
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
435 440 445
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
450 455 460
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
465 470 475 480
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 142
<211> 486
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 142
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys
50 55 60
Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser
85 90 95
[0057] Ile Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr
100 105 110
Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Val Leu
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr
165 170 175
Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190
Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205
Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
260 265 270
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
275 280 285
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
290 295 300
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
305 310 315 320
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
325 330 335
Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
340 345 350
Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
355 360 365
Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala

370 375 380
Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
385 390 395 400
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
405 410 415
Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
420 425 430
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
435 440 445
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
450 455 460
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
465 470 475 480
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 143
<211> 486
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 143
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys
50 55 60
Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80
[0058] Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser
85 90 95
Ile Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr
100 105 110
Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly Glu Lys Val Thr
165 170 175
Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190
Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205
Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala
225 230 235 240
Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
260 265 270
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
275 280 285
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
290 295 300
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
305 310 315 320
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
325 330 335
Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
340 345 350
Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu

355 360 365
Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
370 375 380
Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
385 390 395 400
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
405 410 415
Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
420 425 430
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
435 440 445
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
450 455 460
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
465 470 475 480
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 144
<211> 486
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 144
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys
50 55 60
[0059] Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser
85 90 95
Ile Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr
100 105 110
Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr
165 170 175
Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190
Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205
Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
260 265 270
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
275 280 285
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
290 295 300
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
305 310 315 320
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
325 330 335
Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln

340 345 350
Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
355 360 365
Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
370 375 380
Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
385 390 395 400
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
405 410 415
Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
420 425 430
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
435 440 445
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
450 455 460
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
465 470 475 480
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 145
<211> 486
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 145

[0060]
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Asp Val Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu
20 25 30
Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
50 55 60
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
65 70 75 80
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile
85 90 95
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His
100 105 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
145 150 155 160
Lys Pro Gly Glu Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr
165 170 175
Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly
180 185 190
Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
195 200 205
Asn Gln Lys Phe Lys Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Ile
210 215 220
Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala
225 230 235 240
Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
260 265 270
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
275 280 285
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
290 295 300
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
305 310 315 320
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg

325 330 335
Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
340 345 350
Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
355 360 365
Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
370 375 380
Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
385 390 395 400
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
405 410 415
Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
420 425 430
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
435 440 445
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
450 455 460
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
465 470 475 480
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 146
<211> 486
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 146
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu
20 25 30

[0061]

Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
50 55 60
Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro
65 70 75 80
Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
85 90 95
Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His
100 105 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
145 150 155 160
Lys Pro Gly Glu Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr
165 170 175
Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly
180 185 190
Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
195 200 205
Asn Gln Lys Phe Lys Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Ile
210 215 220
Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala
225 230 235 240
Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
260 265 270
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
275 280 285
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
290 295 300
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly

305 310 315 320
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
325 330 335
Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
340 345 350
Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
355 360 365
Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
370 375 380
Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
385 390 395 400
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
405 410 415
Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
420 425 430
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
435 440 445
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
450 455 460
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
465 470 475 480
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 147
<211> 486
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 147
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
[0062] His Ala Ala Arg Pro Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu
20 25 30
Ser Val Thr Pro Gly Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala
50 55 60
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
65 70 75 80
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile
85 90 95
Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His
100 105 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
145 150 155 160
Lys Pro Gly Glu Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr
165 170 175
Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly
180 185 190
Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
195 200 205
Asn Gln Lys Phe Lys Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Ile
210 215 220
Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala
225 230 235 240
Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
260 265 270
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
275 280 285
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp

290 295 300
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
305 310 315 320
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
325 330 335
Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
340 345 350
Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
355 360 365
Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
370 375 380
Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
385 390 395 400
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
405 410 415
Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
420 425 430
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
435 440 445
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
450 455 460
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
465 470 475 480
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 148
<211> 486
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 148

[0063]
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu
20 25 30
Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro
50 55 60
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
65 70 75 80
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
85 90 95
Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His
100 105 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
145 150 155 160
Lys Pro Gly Glu Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr
165 170 175
Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly
180 185 190
Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
195 200 205
Asn Gln Lys Phe Lys Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Ile
210 215 220
Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala
225 230 235 240
Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
260 265 270
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu

275 280 285
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
290 295 300
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
305 310 315 320
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
325 330 335
Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
340 345 350
Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
355 360 365
Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
370 375 380
Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
385 390 395 400
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
405 410 415
Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
420 425 430
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
435 440 445
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
450 455 460
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
465 470 475 480
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 149
<211> 486
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"

[0064]

<400> 149
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Gly Leu Val Trp Val Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala
85 90 95
Lys Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Gln Leu
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
165 170 175
Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205
Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
225 230 235 240
Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro

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

<210> 150
<211> 486
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
[0065] <221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 150
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Gly Leu Val Trp Val Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala
85 90 95
Lys Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Val Leu
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr
165 170 175
Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190
Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205
Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly

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

<210> 151
<211> 486
<212> PRT
[0066] <213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 151
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Gly Leu Val Trp Val Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala
85 90 95
Lys Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly Glu Lys Val Thr
165 170 175
Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190
Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205
Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala

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

<210> 152
[0067] <211> 486
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 152
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Gly Leu Val Trp Val Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala
85 90 95
Lys Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr
165 170 175
Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190
Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205
Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly

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

[0068]

<210> 153
<211> 486
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 153
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Asp Val Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu
20 25 30
Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
50 55 60
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
65 70 75 80
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile
85 90 95
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His
100 105 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
145 150 155 160
Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr
165 170 175
Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
180 185 190
Leu Val Trp Val Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr

195 200 205
Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala Lys
210 215 220
Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
260 265 270
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
275 280 285
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
290 295 300
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
305 310 315 320
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
325 330 335
Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
340 345 350
Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
355 360 365
Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
370 375 380
Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
385 390 395 400
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
405 410 415
Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
420 425 430
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
435 440 445
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
450 455 460
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
[0069] 465 470 475 480
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 154
<211> 486
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 154
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu
20 25 30
Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
50 55 60
Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro
65 70 75 80
Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
85 90 95
Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His
100 105 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
145 150 155 160
Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr
165 170 175
Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly

[0070]

```
            180                 185                 190
Leu Val Trp Val Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
        195                 200                 205
Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala Lys
    210                 215                 220
Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
225                 230                 235                 240
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
                245                 250                 255
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
            260                 265                 270
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
        275                 280                 285
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
    290                 295                 300
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
305                 310                 315                 320
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
                325                 330                 335
Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
            340                 345                 350
Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
        355                 360                 365
Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
    370                 375                 380
Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
385                 390                 395                 400
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
                405                 410                 415
Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
            420                 425                 430
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
        435                 440                 445
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
    450                 455                 460
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
465                 470                 475                 480
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
                485
<210> 155
<211> 486
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
      多肽"
<400> 155
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1               5                   10                  15
His Ala Ala Arg Pro Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu
            20                  25                  30
Ser Val Thr Pro Gly Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys
        35                  40                  45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala
    50                  55                  60
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
65                  70                  75                  80
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile
                85                  90                  95
Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His
            100                 105                 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
        115                 120                 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
    130                 135                 140
Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
145                 150                 155                 160
Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr
```

165 170 175
Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
180 185 190
Leu Val Trp Val Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
195 200 205
Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala Lys
210 215 220
Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
260 265 270
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
275 280 285
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
290 295 300
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
305 310 315 320
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
325 330 335
Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
340 345 350
Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
355 360 365
Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
370 375 380
Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
385 390 395 400
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
405 410 415
Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
420 425 430
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
435 440 445
[0071]
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
450 455 460
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
465 470 475 480
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 156
<211> 486
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 156
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu
20 25 30
Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro
50 55 60
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
65 70 75 80
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
85 90 95
Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His
100 105 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val

[0072]

145 150 155 160
Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr
165 170 175
Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
180 185 190
Leu Val Trp Val Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
195 200 205
Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala Lys
210 215 220
Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
260 265 270
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
275 280 285
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
290 295 300
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
305 310 315 320
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
325 330 335
Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
340 345 350
Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
355 360 365
Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
370 375 380
Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
385 390 395 400
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
405 410 415
Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
420 425 430
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
435 440 445
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
450 455 460
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
465 470 475 480
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 157
<211> 264
<212> PRT
<213> 智人
<400> 157

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60
Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn
65 70 75 80
Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser
85 90 95
Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr
100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Met Asn Ile Leu Ala Thr Val Pro
115 120 125
Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
130 135 140
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln
145 150 155 160

Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val
165 170 175
Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Tyr Leu Asn Trp
180 185 190
Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Ala Ala
195 200 205
Phe Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
210 215 220
Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe
225 230 235 240
Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asp Ser Val Pro Leu Thr Phe Gly
245 250 255
Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
260

<210> 158
<211> 264
<212> PRT
<213> 智人
<400> 158

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60
Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn
65 70 75 80
Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser
85 90 95
Ile Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Met Asn Ile Leu Ala Thr Val Pro
115 120 125
Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
130 135 140
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln
145 150 155 160
Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val
165 170 175
Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp
180 185 190
Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala
195 200 205
Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
210 215 220
Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Val Asn Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe
225 230 235 240
Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asp Ser Val Pro Leu Thr Phe Gly
245 250 255
Gly Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
260

<210> 159
<211> 264
<212> PRT
<213> 智人
<400> 159

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45
Ile Phe Thr Gly Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60
Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn
65 70 75 80
Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser

[0073]

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

<210> 160
<211> 266
<212> PRT
<213> 智人
<400> 160
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30
Lys Lys Ser Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45

[0074]

Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60
Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Asp Thr Asn
65 70 75 80
Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser
85 90 95
Ile Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Met Asn Ile Leu Ala Thr Val Pro
115 120 125
Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
130 135 140
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Arg Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp
145 150 155 160
Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp
165 170 175
Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu
180 185 190
Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
195 200 205
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
210 215 220
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
225 230 235 240
Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asp Ser Val Pro Leu Thr
245 250 255
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
260 265

<210> 161
<400> 161
000
<210> 162
<400> 162
000
<210> 163

<400> 163
000
<210> 164
<400> 164
000
<210> 165
<400> 165
000
<210> 166
<400> 166
000
<210> 167
<400> 167
000
<210> 168
<400> 168
000
<210> 169
<400> 169
000
<210> 170
<400> 170
000
<210> 171
<400> 171
000
<210> 172
<400> 172
000
<210> 173
<400> 173
000
<210> 174
<400> 174

[0075] 000
<210> 175
<400> 175
000
<210> 176
<400> 176
000
<210> 177
<400> 177
000
<210> 178
<400> 178
000
<210> 179
<400> 179
000
<210> 180
<400> 180
000
<210> 181
<400> 181
000
<210> 182

<400> 182
000
<210> 183
<400> 183
000
<210> 184
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源

<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 184
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60
Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser
85 90 95
Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Gln Leu
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
165 170 175
Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205
Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
225 230 235 240
Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
260

[0076]

<210> 185
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 185
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60
Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser
85 90 95
Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Val Leu
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr
165 170 175
Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr

180 185 190
Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205
Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
260

<210> 186
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 186
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60
Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser
85 90 95
Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr
100 105 110

[0077]

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

<210> 187
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 187
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45

```
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
    50                  55                  60
Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65                  70                  75                  80
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser
                85                  90                  95
Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr
            100                 105                 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
        115                 120                 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
    130                 135                 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met
145                 150                 155                 160
Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr
                165                 170                 175
Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
            180                 185                 190
Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
        195                 200                 205
Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
    210                 215                 220
Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala
225                 230                 235                 240
Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
                245                 250                 255
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            260
<210> 188
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
      多肽"
<400> 188
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1               5                   10                  15
His Ala Ala Arg Pro Asp Val Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu
            20                  25                  30
Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys
        35                  40                  45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
    50                  55                  60
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
65                  70                  75                  80
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile
                85                  90                  95
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His
            100                 105                 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
        115                 120                 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
    130                 135                 140
Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
145                 150                 155                 160
Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
                165                 170                 175
Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
            180                 185                 190
Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
        195                 200                 205
Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Thr
    210                 215                 220
Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
225                 230                 235                 240
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
                245                 250                 255
```

[0078]

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
260

<210> 189
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 189

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu
20 25 30
Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
50 55 60
Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro
65 70 75 80
Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
85 90 95
Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His
100 105 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
145 150 155 160
Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
165 170 175
Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
180 185 190
Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
195 200 205
Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Thr
210 215 220
Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
260

[0079]

<210> 190
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 190

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu
20 25 30
Ser Val Thr Pro Gly Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala
50 55 60
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
65 70 75 80
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile
85 90 95
Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His
100 105 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

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

<210> 191
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 191
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu
20 25 30
Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45
[0080] Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro
50 55 60
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
65 70 75 80
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
85 90 95
Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His
100 105 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
145 150 155 160
Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
165 170 175
Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
180 185 190
Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
195 200 205
Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Thr
210 215 220
Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
260

<210> 192
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的

多肽"
<400> 192
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60
Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser
85 90 95
Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Gln Leu
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
165 170 175
Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205
Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
225 230 235 240
Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255

[0081] Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
260

<210> 193
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 193
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60
Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser
85 90 95
Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Val Leu
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr
165 170 175
Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190

Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205
Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
260

<210> 194
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 194
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60
Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser
85 90 95
Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly Glu Lys Val Thr
165 170 175
Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190
Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205
Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala
225 230 235 240
Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
260

<210> 195
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 195
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln

[0082]

50 55 60
Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser
85 90 95
Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr
165 170 175
Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190
Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205
Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
260

<210> 196
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"

[0083]

<400> 196
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Asp Val Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu
20 25 30
Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
50 55 60
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
65 70 75 80
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile
85 90 95
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His
100 105 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys
145 150 155 160
Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
165 170 175
Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
180 185 190
Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
195 200 205
Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser Val
210 215 220
Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

260

<210> 197
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 197

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu
20 25 30
Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
50 55 60
Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro
65 70 75 80
Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
85 90 95
Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His
100 105 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys
145 150 155 160
Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
165 170 175
Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
180 185 190

[0084]

Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
195 200 205
Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser Val
210 215 220
Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
260

<210> 198
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 198

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu
20 25 30
Ser Val Thr Pro Gly Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala
50 55 60
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
65 70 75 80
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile
85 90 95
Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His
100 105 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125

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

<210> 199
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"

<400> 199
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu
20 25 30
Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro
50 55 60

[0085]

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
65 70 75 80
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
85 90 95
Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His
100 105 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys
145 150 155 160
Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
165 170 175
Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
180 185 190
Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
195 200 205
Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser Val
210 215 220
Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
260

<210> 200
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"

<400> 200
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys
50 55 60
Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser
85 90 95
Ile Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr
100 105 110
Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Gln Leu
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
165 170 175
Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205
Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
225 230 235 240
Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
260

[0086]

<210> 201
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 201
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys
50 55 60
Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser
85 90 95
Ile Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr
100 105 110
Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Val Leu
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr
165 170 175
Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190
Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser

195 200 205
Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
260

<210> 202
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 202
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys
50 55 60
Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser
85 90 95
Ile Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr
100 105 110
Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
[0087] Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly Glu Lys Val Thr
165 170 175
Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190
Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205
Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala
225 230 235 240
Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
260

<210> 203
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 203
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
20 25 30
Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys
50 55 60

Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser
85 90 95
Ile Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr
100 105 110
Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr
165 170 175
Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190
Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205
Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
260

<210> 204
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"

[0088] <400> 204
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Asp Val Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu
20 25 30
Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
50 55 60
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
65 70 75 80
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile
85 90 95
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His
100 105 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
145 150 155 160
Lys Pro Gly Glu Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr
165 170 175
Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly
180 185 190
Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
195 200 205
Asn Gln Lys Phe Lys Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Ile
210 215 220
Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala
225 230 235 240
Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
260

<210> 205
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 205

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu
            20                  25                  30
Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys
        35                  40                  45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
    50                  55                  60
Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro
65                  70                  75                  80
Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
                85                  90                  95
Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His
            100                 105                 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
        115                 120                 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
    130                 135                 140
Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
145                 150                 155                 160
Lys Pro Gly Glu Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr
                165                 170                 175
Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly
            180                 185                 190
Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
        195                 200                 205
Asn Gln Lys Phe Lys Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Ile
    210                 215                 220
Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala
225                 230                 235                 240
Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
                245                 250                 255
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
            260
```

[0089]

<210> 206
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 206

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu
            20                  25                  30
Ser Val Thr Pro Gly Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys
        35                  40                  45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala
    50                  55                  60
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
65                  70                  75                  80
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile
                85                  90                  95
Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His
            100                 105                 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
        115                 120                 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
```

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

<210> 207
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 207
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu
20 25 30
Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro
50 55 60
[0090] Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
65 70 75 80
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
85 90 95
Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His
100 105 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
145 150 155 160
Lys Pro Gly Glu Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr
165 170 175
Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly
180 185 190
Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
195 200 205
Asn Gln Lys Phe Lys Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Ile
210 215 220
Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala
225 230 235 240
Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
260

<210> 208
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 208

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Gly Leu Val Trp Val Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala
85 90 95
Lys Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Gln Leu
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
165 170 175
Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205
Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
225 230 235 240
Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
260

[0091] <210> 209
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 209
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Gly Leu Val Trp Val Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala
85 90 95
Lys Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Val Leu
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr
165 170 175
Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190
Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205

Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
260

<210> 210
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 210
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Gly Leu Val Trp Val Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His
65 70 75 80
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala
85 90 95
Lys Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
[0092]
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly Glu Lys Val Thr
165 170 175
Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190
Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205
Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala
225 230 235 240
Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
260

<210> 211
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 211
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr
35 40 45
Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Gly Leu Val Trp Val Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His

65 70 75 80
Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala
85 90 95
Lys Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr
165 170 175
Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr
180 185 190
Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser
195 200 205
Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
245 250 255
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
260

<210> 212
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 212

[0093]
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Asp Val Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu
20 25 30
Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
50 55 60
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
65 70 75 80
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile
85 90 95
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His
100 105 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
145 150 155 160
Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr
165 170 175
Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
180 185 190
Leu Val Trp Val Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
195 200 205
Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala Lys
210 215 220
Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
260

<210> 213

<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 213

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu
            20                  25                  30
Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys
        35                  40                  45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
    50                  55                  60
Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro
65                  70                  75                  80
Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
                85                  90                  95
Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His
            100                 105                 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
        115                 120                 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
    130                 135                 140
Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
145                 150                 155                 160
Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr
                165                 170                 175
Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
            180                 185                 190
Leu Val Trp Val Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
        195                 200                 205
```

[0094]

```
Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala Lys
    210                 215                 220
Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
225                 230                 235                 240
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
                245                 250                 255
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
            260
```

<210> 214
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 214

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu
            20                  25                  30
Ser Val Thr Pro Gly Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys
        35                  40                  45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala
    50                  55                  60
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
65                  70                  75                  80
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile
                85                  90                  95
Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His
            100                 105                 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
        115                 120                 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
    130                 135                 140
```

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
145 150 155 160
Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr
165 170 175
Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
180 185 190
Leu Val Trp Val Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
195 200 205
Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala Lys
210 215 220
Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
260

<210> 215
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 215
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu
20 25 30
Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys
35 40 45
Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro
50 55 60
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
65 70 75 80
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
85 90 95
Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His
100 105 110
Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
145 150 155 160
Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr
165 170 175
Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
180 185 190
Leu Val Trp Val Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr
195 200 205
Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala Lys
210 215 220
Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
225 230 235 240
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
260

<210> 216
<211> 121
<212> PRT
<213> 智人
<400> 216
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

[0095]

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

<210> 217
<211> 121
<212> PRT
<213> 智人
<400> 217
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Met Asn Ile Leu Ala Thr Val Pro Phe Asp Ile Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 218
<211> 121
[0096] <212> PRT
<213> 智人

<400> 218
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Gly Tyr
20 25 30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Gly Leu Arg Ser Asp Asp Pro Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Met Asn Ile Leu Ala Thr Val Pro Phe Asp Ile Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 219
<211> 121
<212> PRT
<213> 智人
<400> 219
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Ser Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met His Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Met Asn Ile Leu Ala Thr Val Pro Phe Asp Ile Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 220
<400> 220
000

<210> 221
<400> 221
000

<210> 222
<400> 222
000

<210> 223
<400> 223
000

<210> 224
<400> 224
000

<210> 225
<400> 225
000

<210> 226
<400> 226
000

<210> 227
<400> 227
000

<210> 228
<400> 228
000

[0097]

<210> 229
<400> 229
000

<210> 230
<400> 230
000

<210> 231
<400> 231
000

<210> 232
<400> 232
000

<210> 233
<400> 233
000

<210> 234
<400> 234
000

<210> 235
<400> 235
000

<210> 236
<400> 236
000

<210> 237
<400> 237
000

<210> 238
<400> 238
000

<210> 239
<400> 239
000

<210> 240
<400> 240
000

<210> 241
<400> 241
000
<210> 242
<400> 242
000
<210> 243
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 243

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
            100                 105                 110
Val Ser Ser
        115
```

<210> 244
<211> 115
<212> PRT
[0098] <213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 244

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
            100                 105                 110
Val Ser Ser
        115
```

<210> 245
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 245

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30
```

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

<210> 246
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 246
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

[0099]

<210> 247
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 247
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 248
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的

多肽"
<400> 248
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115
<210> 249
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 249
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115
<210> 250
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 250
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115
<210> 251

[0100]

<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 251
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115
<210> 252
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 252
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115
<210> 253
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 253
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

[0101]

85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115
<210> 254
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 254
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115
<210> 255
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
[0102] <220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 255
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115
<210> 256
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 256
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115
<210> 257
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
多肽"
<400> 257
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110

[0103]

Val Ser Ser
115
<210> 258
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
多肽"
<400> 258
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115
<210> 259
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
多肽"

<400> 259
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115
<210> 260
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 260
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
[0104] Lys Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115
<210> 261
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 261
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115
<210> 262
<211> 115

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 262
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115
<210> 263
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 263
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

[0105]

Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115
<210> 264
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 264
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115
<210> 265
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 265
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115
<210> 266
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
[0106] <221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 266
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115
<210> 267
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 267
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Val
35 40 45

Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115
<210> 268
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 268
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Val
35 40 45
Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

[0107]

<210> 269
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 269
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Val
35 40 45
Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115
<210> 270
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 270

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Val
35 40 45
Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 271
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"

<400> 271
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Val
35 40 45
Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

[0108]

<210> 272
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"

<400> 272
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Val
35 40 45
Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 273
<211> 115
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 273
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Val
35 40 45
Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115
<210> 274
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 274
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Val
35 40 45
Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115
<210> 275
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人
<400> 275
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Phe Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asp Ser Val Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105
<210> 276
<211> 107
<212> PRT

[0109]

<213> 智人
<400> 276
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Val Asn Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asp Ser Val Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105
<210> 277
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人
<400> 277
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Val Asn Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asp Ser Val Pro Leu
85 90 95
[0110] Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105
<210> 278
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人
<400> 278
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asp Ser Val Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105
<210> 279
<400> 279
000
<210> 280
<400> 280
000
<210> 281
<400> 281
000
<210> 282
<400> 282
000
<210> 283
<400> 283

000
<210> 284
<400> 284
000
<210> 285
<400> 285
000
<210> 286
<400> 286
000
<210> 287
<400> 287
000
<210> 288
<400> 288
000
<210> 289
<400> 289
000
<210> 290
<400> 290
000
<210> 291
<400> 291
000
<210> 292
<400> 292
000
<210> 293
<400> 293
000
<210> 294
<400> 294
000

[0111]

<210> 295
<400> 295
000
<210> 296
<400> 296
000
<210> 297
<400> 297
000
<210> 298
<400> 298
000
<210> 299
<400> 299
000
<210> 300
<400> 300
000
<210> 301
<400> 301
000
<210> 302
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 302

```
Asp Val Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
            20                  25                  30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
```

35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 303
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 303
Glu Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 304
<211> 107
[0112] <212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 304
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80
Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 305
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 305
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 306
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 306
Asp Val Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 307
<211> 107
[0113] <212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 307
Glu Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 308
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 308
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80
Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 309
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 309
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 310
<211> 107
[0114] <212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 310
Asp Val Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 311
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 311
Glu Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 312
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 312
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80
Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 313
<211> 107
[0115] <212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 313
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 314
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 314
Asp Val Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 315
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 315
Glu Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 316
<211> 107
[0116] <212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 316
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80
Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 317
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 317
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 318
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 318
Asp Val Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 319
<211> 107
[0117] <212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 319
Glu Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 320
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 320
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80
Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 321
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 321
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 322
<211> 107
[0118] <212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 322
Asp Val Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 323
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 323
Glu Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 324
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 324
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80
Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 325
<211> 107
[0119] <212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 325
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 326
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 326
Asp Val Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 327
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 327
Glu Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 328
<211> 107
[0120] <212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 328
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80
Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 329
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 329
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 330
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 330
Asp Val Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 331
<211> 107
[0121] <212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 331
Glu Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 332
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 332
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80
Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 333
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的多肽"
<400> 333
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 334
<211> 10
[0122] <212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 334
Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His
1 5 10

<210> 335
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 335
Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His
1 5 10

<210> 336
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 336
Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His
1 5 10

<210> 337
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的肽"
<400> 337
Gly Tyr Ile Phe Thr Gly Tyr Tyr Ile His
1 5 10
<210> 338
<400> 338
000
<210> 339
<400> 339
000
<210> 340
<400> 340
000
<210> 341
<400> 341
000
<210> 342
<400> 342
000
<210> 343
<400> 343
000
<210> 344
<400> 344
000
<210> 345
<400> 345
000
<210> 346
<400> 346
000

[0123]

<210> 347
<400> 347
000
<210> 348
<400> 348
000
<210> 349
<400> 349
000
<210> 350
<400> 350
000
<210> 351
<400> 351
000
<210> 352
<400> 352
000
<210> 353
<400> 353
000
<210> 354
<400> 354
000
<210> 355
<400> 355
000
<210> 356
<400> 356
000
<210> 357
<400> 357
000
<210> 358
<400> 358

000
<210> 359
<400> 359
000
<210> 360
<400> 360
000
<210> 361
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
肽"
<400> 361
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn
1 5 10
<210> 362
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
肽"
<400> 362
Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 363
<211> 17
<212> PRT
[0124] <213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
肽"
<400> 363
Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 364
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
肽"
<400> 364
Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 365
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
肽"
<400> 365
Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 366
<400> 366
000
<210> 367
<400> 367
000
<210> 368
<400> 368
000
<210> 369
<400> 369
000
<210> 370
<400> 370
000
<210> 371
<400> 371
000
<210> 372
<400> 372
000
<210> 373
<400> 373
000
<210> 374
<400> 374
000
<210> 375
<400> 375
000
<210> 376
<400> 376
000
[0125] <210> 377
<400> 377
000
<210> 378
<400> 378
000
<210> 379
<400> 379
000
<210> 380
<400> 380
000
<210> 381
<400> 381
000
<210> 382
<400> 382
000
<210> 383
<400> 383
000
<210> 384
<400> 384
000
<210> 385
<400> 385
000
<210> 386
<400> 386
000
<210> 387
<400> 387
000
<210> 388
<400> 388

000
<210> 389
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
肽"
<400> 389
Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15
Asp

<210> 390
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
肽"
<400> 390
Asp Met Asn Ile Leu Ala Thr Val Pro Phe Asp Ile
1 5 10
<210> 391
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
肽"
<400> 391
[0126] Asp Met Asn Ile Leu Ala Thr Val Pro Phe Asp Ile
1 5 10
<210> 392
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
肽"
<400> 392
Asp Met Asn Ile Leu Ala Thr Val Pro Phe Asp Ile
1 5 10
<210> 393
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
肽"
<400> 393
Asp Met Asn Ile Leu Ala Thr Val Pro Phe Asp Ile
1 5 10
<210> 394
<400> 394
000
<210> 395
<400> 395
000
<210> 396
<400> 396
000
<210> 397
<400> 397

000
<210> 398
<400> 398
000
<210> 399
<400> 399
000
<210> 400
<400> 400
000
<210> 401
<400> 401
000
<210> 402
<400> 402
000
<210> 403
<400> 403
000
<210> 404
<400> 404
000
<210> 405
<400> 405
000
<210> 406
<400> 406
000
<210> 407
<400> 407
000
<210> 408
<400> 408
000

[0127]

<210> 409
<400> 409
000
<210> 410
<400> 410
000
<210> 411
<400> 411
000
<210> 412
<400> 412
000
<210> 413
<400> 413
000
<210> 414
<400> 414
000
<210> 415
<400> 415
000
<210> 416
<400> 416
000
<210> 417
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的肽"
<400> 417
Gly Asn Trp Asp Asp Tyr
1 5

<210> 418
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的肽"
<400> 418
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Tyr Leu Asn
1 5 10
<210> 419
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的肽"
<400> 419
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
1 5 10
<210> 420
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的肽"
<400> 420
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
1 5 10
<210> 421
[0128] <211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的肽"
<400> 421
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
1 5 10
<210> 422
<400> 422
000
<210> 423
<400> 423
000
<210> 424
<400> 424
000
<210> 425
<400> 425
000
<210> 426
<400> 426
000
<210> 427
<400> 427
000
<210> 428
<400> 428
000
<210> 429
<400> 429
000
<210> 430

<400> 430
000
<210> 431
<400> 431
000
<210> 432
<400> 432
000
<210> 433
<400> 433
000
<210> 434
<400> 434
000
<210> 435
<400> 435
000
<210> 436
<400> 436
000
<210> 437
<400> 437
000
<210> 438
<400> 438
000
<210> 439
<400> 439
000
<210> 440
<400> 440
000
<210> 441
<400> 441

[0129]

000
<210> 442
<400> 442
000
<210> 443
<400> 443
000
<210> 444
<400> 444
000
<210> 445
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的肽"
<400> 445
Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala
1 5 10
<210> 446
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的肽"
<400> 446
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5
<210> 447
<211> 7
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 447
Ala Ala Phe Ser Leu Gln Ser
1 5
<210> 448
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 448
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5
<210> 449
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 449
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5
<210> 450
<400> 450
000

[0130]

<210> 451
<400> 451
000
<210> 452
<400> 452
000
<210> 453
<400> 453
000
<210> 454
<400> 454
000
<210> 455
<400> 455
000
<210> 456
<400> 456
000
<210> 457
<400> 457
000
<210> 458
<400> 458
000
<210> 459
<400> 459
000
<210> 460
<400> 460
000
<210> 461
<400> 461
000
<210> 462
<400> 462
000

<210> 463
<400> 463
000
<210> 464
<400> 464
000
<210> 465
<400> 465
000
<210> 466
<400> 466
000
<210> 467
<400> 467
000
<210> 468
<400> 468
000
<210> 469
<400> 469
000
<210> 470
<400> 470
000
<210> 471
<400> 471
000
<210> 472
<400> 472
000
<210> 473
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

[0131]

<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的肽"
<400> 473
Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser
1 5
<210> 474
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的肽"
<400> 474
Gln Gln Gly Asp Ser Val Pro Leu Thr
1 5
<210> 475
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的肽"
<400> 475
Gln Gln Gly Asp Ser Val Pro Leu Thr
1 5
<210> 476
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源

<223> /注解="人工序列的描述：合成的肽"
<400> 476
Gln Gln Gly Asp Ser Val Pro Leu Thr
1 5
<210> 477
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的肽"
<400> 477
Gln Gln Gly Asp Ser Val Pro Leu Thr
1 5
<210> 478
<211> 243
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 478

[0132]

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Met Asn Ile Leu Ala Thr Val Pro Phe Asp Ile Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
130 135 140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg
145 150 155 160
Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
165 170 175
Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Phe Ser Leu Gln Ser
180 185 190
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
195 200 205
Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
210 215 220
Gln Gln Gly Asp Ser Val Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
225 230 235 240
Glu Ile Lys

<210> 479
<211> 729
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多核苷酸"
<400> 479
caagtgcaac tcgtccaaag cggagcggaa gtcaagaaac ccggagcgag cgtgaaagtg 60
tcctgcaaag cctccggcta cacctttacg ggctactaca tgcactgggt gcgccaggca 120
ccaggacagg gtcttgaatg gatgggatgg atcaacccta attcgggcgg aactaactac 180

gcacagaagt tccaggggag agtgactctg actcgggata cctccatctc aactgtctac 240
atggaactct cccgcttgcg gtcagatgat acggcagtgt actactgcgc ccgcgacatg 300
aatatcctgg ctaccgtgcc gttcgacatc tggggacagg ggactatggt tactgtctca 360
tcgggcggtg gaggttcagg aggaggcggc tcgggaggcg gaggttcgga cattcagatg 420
acccagtccc catcctctct gtcggccagc gtcggagata gggtgaccat tacctgtcgg 480
gcctcgcaaa gcatctcctc gtacctcaac tggtatcagc aaaagccggg aaaggcgcct 540
aagctgctga tctacgccgc ttcgagcttg caaagcgggg tgccatccag attctcggga 600
tcaggctcag gaaccgactt caccctgacc gtgaacagcc tccagccgga ggactttgcc 660
acttactact gccagcaggg agactccgtg ccgcttactt tcgggggggg tacccgcctg 720
gagatcaag 729

<210> 480
<211> 243
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 480

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Met Asn Ile Leu Ala Thr Val Pro Phe Asp Ile Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
130 135 140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg
145 150 155 160
Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
165 170 175
Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
180 185 190
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
195 200 205
Leu Thr Val Asn Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
210 215 220
Gln Gln Gly Asp Ser Val Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu
225 230 235 240
Glu Ile Lys

[0133]

<210> 481
<211> 1760
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 481

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
ccccaagtgc aactcgtcca aagcggagcg gaagtcaaga aacccggagc gagcgtgaaa 120
gtgtcctgca aagcctccgg ctacaccttt acgggctact acatgcactg ggtgcgccag 180
gcaccaggac agggtcttga atggatggga tggatcaacc ctaattcggg cggaactaac 240
tacgcacaga agttccaggg gagagtgact ctgactcggg atacctccat ctcaactgtc 300
tacatggaac tctcccgctt gcggtcagat gatacggcag tgtactactg cgcccgcgac 360
atgaatatcc tggctaccgt gccgttcgac atctggggac aggggactat ggttactgtc 420
tcatcgggcg gtggaggttc aggaggaggc ggctcgggag gcggaggttc ggacattcag 480
atgacccagt ccccatcctc tctgtcggcc agcgtcggag atagggtgac cattacctgt 540

cgggcctcgc aaagcatctc ctcgtacctc aactggtatc agcaaaagcc gggaaaggcg 600
cctaagctgc tgatctacgc cgcttcgagc ttgcaaagcg gggtgccatc cagattctcg 660
ggatcaggct caggaaccga cttcaccctg accgtgaaca gcctccagcc ggaggacttt 720
gccacttact actgccagca gggagactcc gtgccgctta ctttcggggg gggtacccgc 780
ctggagatca agaccactac cccagcaccg aggccaccca ccccggctcc taccatcgcc 840
tcccagcctc tgtccctgcg tccggaggca tgtagacccg cagctggtgg ggccgtgcat 900
acccggggtc ttgacttcgc ctgcgatatc tacatttggg cccctctggc tggtacttgc 960
ggggtcctgc tgctttcact cgtgatcact ctttactgta agcgcggtcg gaagaagctg 1020
ctgtacatct ttaagcaacc cttcatgagg cctgtgcaga ctactcaaga ggaggacggc 1080
tgttcttgcc ggttcccaga ggaggaggaa ggcggctgcg aactgcgcgt gaaattcagc 1140
cgcagcgcag acgctccagc ctacaagcag gggcagaacc agctctacaa cgaactcaat 1200
cttggtcgga gagaggagta cgacgtgctg gacaagcgga gaggacggga cccagaaatg 1260
ggcgggaagc cgcgcagaaa gaatccccaa gagggcctgt acaacgagct ccaaaaggat 1320
aagatggcag aagcctatag cgagattggt atgaaagggg aacgcagaag aggcaaaggc 1380
cacgacggac tgtaccaggg actcagcacc gccaccaagg acacctatga cgctcttcac 1440
atgcaggccc tgccgcctcg gtaagtcgac agctcgcttt cttgctgtcc aatttctatt 1500
aaaggttcct ttgttcccta agtccaacta ctaaactggg ggatattatg aagggccttg 1560
agcatctgga ttctgcctaa taaaaaacat ttattttcat tgctgcgtcg agagctcgct 1620
ttcttgctgt ccaatttcta ttaaaggttc ctttgttccc taagtccaac tactaaactg 1680
ggggatatta tgaagggcct tgagcatctg gattctgcct aataaaaaac atttattttc 1740
attgctgcct cgacgaattc 1760

<210> 482
<211> 729
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 482

caagtccaac tcgttcaatc cggcgcagaa gtcaagaagc caggagcatc agtgaaagtg 60
tcctgcaaag cctcaggcta catcttcacg ggatactaca tccactgggt gcgccaggct 120
ccgggccagg gccttgagtg gatgggctgg atcaacccta actctggggg aaccaactac 180
gctcagaagt tccaggggag ggtcactatg actcgcgata cctccatctc cactgcgtac 240
[0134] atggaactct cgggactgag atccgacgat cctgccgtgt actactgcgc ccgggacatg 300
aacatcttgg cgaccgtgcc gtttgacatt tggggacagg gcaccctcgt cactgtgtcg 360
agcggtggag gaggctcggg gggtggcgga tcaggagggg gaggaagcga catccagctg 420
actcagagcc catcgtcgtt gtccgcgtcg gtgggggata gagtgaccat tacttgccgc 480
gccagccaga gcatctcatc atatctgaat tggtaccagc agaagcccgg aaaggcccca 540
aaactgctga tctacgctgc aagcagcctc caatcgggag tgccgtcacg gttctccggg 600
tccggttcgg gaactgactt taccctgacc gtgaattcgc tgcaaccgga ggatttcgcc 660
acgtactact gtcagcaagg agactccgtg ccgctgacct tcggtggagg caccaaggtc 720
gaaatcaag 729

<210> 483
<211> 243
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 483

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Gly Tyr
20 25 30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Gly Leu Arg Ser Asp Asp Pro Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Met Asn Ile Leu Ala Thr Val Pro Phe Asp Ile Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro

130 135 140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg
145 150 155 160
Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
165 170 175
Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
180 185 190
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
195 200 205
Leu Thr Val Asn Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
210 215 220
Gln Gln Gly Asp Ser Val Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val
225 230 235 240
Glu Ile Lys

<210> 484
<211> 735
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 484
caagtccaac tccaacagtc aggcgcagaa gtgaaaaaga gcggtgcatc ggtgaaagtg 60
tcatgcaaag cctcgggcta caccttcact gactactata tgcactggct gcggcaggca 120
ccgggacagg gacttgagtg gatgggatgg atcaacccga attcagggga cactaactac 180
gcgcagaagt tccaggggag agtgaccctg acgagggaca cctcaatttc gaccgtctac 240
atggaattgt cgcgcctgag atcggacgat actgctgtgt actactgtgc ccgcgacatg 300
aacatcctcg cgactgtgcc ttttgatatc tggggacagg ggactatggt caccgtttcc 360
tccgcttccg gtggcggagg ctcgggaggc cgggcctccg gtggaggagg cagcgacatc 420

cagatgactc agagcccttc ctcgctgagc gcctcagtgg gagatcgcgt gaccatcact 480
tgccgggcca gccagtccat ttcgtcctac ctcaattggt accagcagaa gccgggaaag 540
[0135] gcgcccaagc tcttgatcta cgctgcgagc tccctgcaaa gcggggtgcc gagccgattc 600
tcgggttccg gctcgggaac cgacttcact ctgaccatct catccctgca accagaggac 660
tttgccacct actactgcca acaaggagat tctgtcccac tgacgttcgg cggaggaacc 720
aaggtcgaaa tcaag 735
<210> 485
<211> 245
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 485
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Ser Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met His Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Met Asn Ile Leu Ala Thr Val Pro Phe Asp Ile Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Arg Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln
130 135 140
Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr
145 150 155 160
Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln
165 170 175

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu
180 185 190
Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
195 200 205
Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr
210 215 220
Tyr Cys Gln Gln Gly Asp Ser Val Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr
225 230 235 240
Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 486
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 486
Gly Tyr Tyr Met His
1 5

<210> 487
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 487
Gly Tyr Tyr Met His
1 5

[0136]

<210> 488
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 488
Gly Tyr Tyr Ile His
1 5

<210> 489
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 489
Asp Tyr Tyr Met His
1 5

<210> 490
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 490
Ser Tyr Trp Met Asn
1 5

<210> 491
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
肽"
<400> 491
Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 492
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
肽"
<400> 492
Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 493
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
肽"
<400> 493
Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

[0137]

<210> 494
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
肽"
<400> 494
Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 495
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
肽"
<400> 495
Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15
Asp

<210> 496
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
肽"

<400> 496
Asp Met Asn Ile Leu Ala Thr Val Pro Phe Asp Ile
1 5 10
<210> 497
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 497
Asp Met Asn Ile Leu Ala Thr Val Pro Phe Asp Ile
1 5 10
<210> 498
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 498
Asp Met Asn Ile Leu Ala Thr Val Pro Phe Asp Ile
1 5 10
<210> 499
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 499

[0138]

Asp Met Asn Ile Leu Ala Thr Val Pro Phe Asp Ile
1 5 10
<210> 500
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 500
Gly Asn Trp Asp Asp Tyr
1 5
<210> 501
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 501
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Tyr Leu Asn
1 5 10
<210> 502
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 502
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 503
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的肽"
<400> 503
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
1 5 10
<210> 504
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的肽"
<400> 504
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
1 5 10
<210> 505
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的肽"
<400> 505
Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala
1 5 10
<210> 506

[0139]

<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的肽"
<400> 506
Ala Ala Phe Ser Leu Gln Ser
1 5
<210> 507
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的肽"
<400> 507
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5
<210> 508
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的肽"
<400> 508
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5
<210> 509
<211> 7
<212> PRT

[0140]

<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 509
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5
<210> 510
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 510
Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser
1 5
<210> 511
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 511
Gln Gln Gly Asp Ser Val Pro Leu Thr
1 5
<210> 512
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 512
Gln Gln Gly Asp Ser Val Pro Leu Thr
1 5
<210> 513
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 513
Gln Gln Gly Asp Ser Val Pro Leu Thr
1 5
<210> 514
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 514
Gln Gln Gly Asp Ser Val Pro Leu Thr
1 5
<210> 515
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源

[0141]

<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 515
Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr
1 5
<210> 516
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 516
Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
1 5
<210> 517
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 517
Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
1 5
<210> 518
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 518
Gly Tyr Ile Phe Thr Gly Tyr
1 5
<210> 519
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 519
Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
1 5
<210> 520
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 520
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
1 5
<210> 521
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 521

[0142]

Asn Pro Asn Ser Gly Gly
1 5
<210> 522
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 522
Asn Pro Asn Ser Gly Gly
1 5
<210> 523
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 523
Asn Pro Asn Ser Gly Gly
1 5
<210> 524
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 524
Asn Pro Asn Ser Gly Asp
1 5
<210> 525
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 525
Asp Pro Tyr Asp Ser Glu
1 5
<210> 526
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 526
Asp Met Asn Ile Leu Ala Thr Val Pro Phe Asp Ile
1 5 10
<210> 527
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 527
Asp Met Asn Ile Leu Ala Thr Val Pro Phe Asp Ile
1 5 10
<210> 528

<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
肽"
<400> 528
Asp Met Asn Ile Leu Ala Thr Val Pro Phe Asp Ile
1 5 10
<210> 529
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
肽"
<400> 529
Asp Met Asn Ile Leu Ala Thr Val Pro Phe Asp Ile
1 5 10
<210> 530
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
肽"
<400> 530
Gly Asn Trp Asp Asp Tyr
1 5
<210> 531
<211> 7

[0143]

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
肽"
<400> 531
Ser Gln Ser Ile Ser Thr Tyr
1 5
<210> 532
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
肽"
<400> 532
Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
1 5
<210> 533
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
肽"
<400> 533
Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
1 5

<210> 534
<211> 7
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 534
Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
1 5
<210> 535
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 535
Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
1 5
<210> 536
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 536
Ala Ala Phe
1
<210> 537
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

[0144]

<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 537
Ala Ala Ser
1
<210> 538
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 538
Ala Ala Ser
1
<210> 539
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 539
Ala Ala Ser
1
<210> 540
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源

[0145]

<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 540
Ser Gly Ser
1
<210> 541
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 541
Gly Asp Ser Val Pro Leu
1 5
<210> 542
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 542
Gly Asp Ser Val Pro Leu
1 5
<210> 543
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 543
Gly Asp Ser Val Pro Leu
1 5
<210> 544
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的肽"
<400> 544
Gly Asp Ser Val Pro Leu
1 5
<210> 545
<400> 545
000
<210> 546
<400> 546
000
<210> 547
<400> 547
000
<210> 548
<400> 548
000
<210> 549
<400> 549
000
<210> 550

<400> 550
000
<210> 551

<400> 551
000
<210> 552
<400> 552
000
<210> 553
<400> 553
000
<210> 554
<400> 554
000
<210> 555
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的肽"
<400> 555
His Asn Lys Tyr Pro Tyr
1 5
<210> 556
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 556

[0146]

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser
130 135 140
Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala
145 150 155 160
Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
165 170 175
Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly
180 185 190
Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu
195 200 205
Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
210 215 220
Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
225 230 235 240
Ile Lys

<210> 557
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源

<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 557

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
            100                 105                 110
Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala
    130                 135                 140
Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala
145                 150                 155                 160
Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
                165                 170                 175
Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly
            180                 185                 190
Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
        195                 200                 205
Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln
    210                 215                 220
Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
225                 230                 235                 240
Ile Lys
```

[0147]

<210> 558
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 558

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
            100                 105                 110
Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala
    130                 135                 140
Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala
145                 150                 155                 160
Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp
                165                 170                 175
Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly
            180                 185                 190
Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe
```

195 200 205
Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
210 215 220
Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
225 230 235 240
Ile Lys

<210> 559
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 559
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp
130 135 140
[0148] Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala
145 150 155 160
Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
165 170 175
Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly
180 185 190
Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
195 200 205
Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln
210 215 220
Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
225 230 235 240
Ile Lys

<210> 560
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 560
Asp Val Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95

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

<210> 561
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 561
Glu Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
100 105 110
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln
115 120 125
Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser
130 135 140
Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp
145 150 155 160
Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly
165 170 175
Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
180 185 190
Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met
195 200 205
Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
210 215 220
Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225 230 235 240
Ser Ser

[0149]

<210> 562
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"

<400> 562
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80
Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
100 105 110
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln
115 120 125
Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser
130 135 140
Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp
145 150 155 160
Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly
165 170 175
Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
180 185 190
Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met
195 200 205
Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
210 215 220
Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225 230 235 240
Ser Ser

[0150]
<210> 563
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 563
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
100 105 110
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln
115 120 125
Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser
130 135 140
Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp
145 150 155 160
Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly
165 170 175
Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
180 185 190
Asp Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met
195 200 205
Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

210 215 220
Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225 230 235 240
Ser Ser

<210> 564
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 564
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser
130 135 140
Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala
145 150 155 160
[0151] Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
165 170 175
Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly
180 185 190
Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu
195 200 205
Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
210 215 220
Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
225 230 235 240
Ile Lys

<210> 565
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 565
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala
130 135 140
Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala
145 150 155 160
Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
165 170 175
Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly
180 185 190
Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
195 200 205
Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln
210 215 220
Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
225 230 235 240
Ile Lys

<210> 566
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 566
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
[0152] 50 55 60
Lys Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala
130 135 140
Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala
145 150 155 160
Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp
165 170 175
Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly
180 185 190
Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe
195 200 205
Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
210 215 220
Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
225 230 235 240
Ile Lys

<210> 567
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 567
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp
130 135 140
Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala
145 150 155 160
Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
165 170 175
Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly
180 185 190
Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
195 200 205
Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln
210 215 220
Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
225 230 235 240
Ile Lys

<210> 568
<211> 242
<212> PRT
[0153] <213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 568
Asp Val Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
100 105 110
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln
115 120 125
Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala Ser
130 135 140
Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp
145 150 155 160
Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly
165 170 175
Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
180 185 190
Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu
195 200 205
Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
210 215 220
Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val

225 230 235 240
Ser Ser

<210> 569
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 569
Glu Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
100 105 110
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln
115 120 125
Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala Ser
130 135 140
Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp
145 150 155 160
Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly
165 170 175
[0154] Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
180 185 190
Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu
195 200 205
Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
210 215 220
Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225 230 235 240
Ser Ser

<210> 570
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 570
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80
Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
100 105 110
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln
115 120 125

Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala Ser
130 135 140
Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp
145 150 155 160
Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly
165 170 175
Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
180 185 190
Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu
195 200 205
Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
210 215 220
Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225 230 235 240
Ser Ser

<210> 571
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 571
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala
65 70 75 80
[0155]
Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
100 105 110
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln
115 120 125
Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala Ser
130 135 140
Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp
145 150 155 160
Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly
165 170 175
Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
180 185 190
Asp Arg Phe Val Phe Ser Val Asp Lys Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu
195 200 205
Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
210 215 220
Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225 230 235 240
Ser Ser

<210> 572
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 572
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

```
            20                  25                  30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
            100                 105                 110
Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser
    130                 135                 140
Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala
145                 150                 155                 160
Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
                165                 170                 175
Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly
            180                 185                 190
Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu
        195                 200                 205
Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
    210                 215                 220
Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
225                 230                 235                 240
Ile Lys
```

<210> 573
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

[0156]

<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"

```
<400> 573
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1               5                   10                  15
Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
            100                 105                 110
Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala
    130                 135                 140
Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala
145                 150                 155                 160
Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
                165                 170                 175
Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly
            180                 185                 190
Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
        195                 200                 205
Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln
    210                 215                 220
Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
225                 230                 235                 240
Ile Lys
```

<210> 574
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
多肽"
<400> 574
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala
130 135 140
Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala
145 150 155 160
Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp
165 170 175
Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly
180 185 190
[0157] Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe
195 200 205
Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
210 215 220
Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
225 230 235 240
Ile Lys

<210> 575
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
多肽"
<400> 575
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp
130 135 140

Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala
145 150 155 160
Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
165 170 175
Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly
180 185 190
Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
195 200 205
Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln
210 215 220
Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
225 230 235 240
Ile Lys

<210> 576
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 576
Asp Val Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
[0158]
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
100 105 110
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
115 120 125
Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser
130 135 140
Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp
145 150 155 160
Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly
165 170 175
Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
180 185 190
Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu
195 200 205
Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
210 215 220
Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225 230 235 240
Ser Ser

<210> 577
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 577
Glu Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

```
        35                  40                  45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
            100                 105                 110
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
        115                 120                 125
Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser
    130                 135                 140
Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp
145                 150                 155                 160
Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly
                165                 170                 175
Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
            180                 185                 190
Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu
        195                 200                 205
Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
    210                 215                 220
Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225                 230                 235                 240
Ser Ser
```

<210> 578
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"

[0159]

<400> 578

```
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly
1                   5                   10                  15
Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
            20                  25                  30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala
65                  70                  75                  80
Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
            100                 105                 110
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
        115                 120                 125
Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser
    130                 135                 140
Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp
145                 150                 155                 160
Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly
                165                 170                 175
Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
            180                 185                 190
Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu
        195                 200                 205
Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
    210                 215                 220
Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225                 230                 235                 240
Ser Ser
```

<210> 579

<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 579

```
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1               5                  10                  15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
            20                  25                  30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala
65                  70                  75                  80
Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
            100                 105                 110
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
        115                 120                 125
Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser
    130                 135                 140
Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp
145                 150                 155                 160
Met Asn Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly
                165                 170                 175
Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
            180                 185                 190
Asp His Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu
        195                 200                 205
```

[0160]

```
Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
    210                 215                 220
Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225                 230                 235                 240
Ser Ser
```

<210> 580
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 580

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Val
        35                  40                  45
Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala Lys Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
            100                 105                 110
Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser
    130                 135                 140
Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala
145                 150                 155                 160
```

Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
165 170 175
Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly
180 185 190
Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu
195 200 205
Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
210 215 220
Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
225 230 235 240
Ile Lys

<210> 581
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 581
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Val
35 40 45
Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
[0161] 100 105 110
Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala
130 135 140
Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala
145 150 155 160
Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
165 170 175
Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly
180 185 190
Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
195 200 205
Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln
210 215 220
Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
225 230 235 240
Ile Lys

<210> 582
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 582
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Val
35 40 45
Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe

```
    50                  55                  60
Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala Lys Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
            100                 105                 110
Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala
    130                 135                 140
Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala
145                 150                 155                 160
Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp
                165                 170                 175
Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly
            180                 185                 190
Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe
        195                 200                 205
Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
    210                 215                 220
Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
225                 230                 235                 240
Ile Lys
```

<210> 583
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 583

[0162]

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                   10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Val
        35                  40                  45
Ser Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala Lys Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
            100                 105                 110
Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp
    130                 135                 140
Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala
145                 150                 155                 160
Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
                165                 170                 175
Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly
            180                 185                 190
Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
        195                 200                 205
Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln
    210                 215                 220
Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
225                 230                 235                 240
Ile Lys
```

<210> 584
<211> 242
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 584

```
Asp Val Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
            20                  25                  30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
            100                 105                 110
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
        115                 120                 125
Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
    130                 135                 140
Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp
145                 150                 155                 160
Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Val Ser
                165                 170                 175
Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
            180                 185                 190
Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala Lys Ser Thr Ala Tyr Leu
        195                 200                 205
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
    210                 215                 220
```

[0163]

```
Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225                 230                 235                 240
Ser Ser
```

<210> 585
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 585

```
Glu Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1               5                  10                  15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
            20                  25                  30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
            100                 105                 110
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
        115                 120                 125
Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
    130                 135                 140
Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp
145                 150                 155                 160
Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Val Ser
                165                 170                 175
```

Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
180 185 190
Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala Lys Ser Thr Ala Tyr Leu
195 200 205
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
210 215 220
Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225 230 235 240
Ser Ser

<210> 586
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 586
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80
Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
100 105 110
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
115 120 125
Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
130 135 140
Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp
145 150 155 160
Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Val Ser
165 170 175
Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
180 185 190
Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala Lys Ser Thr Ala Tyr Leu
195 200 205
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
210 215 220
Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225 230 235 240
Ser Ser

[0164]

<210> 587
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 587
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala

65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
100 105 110
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
115 120 125
Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
130 135 140
Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp
145 150 155 160
Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Val Ser
165 170 175
Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
180 185 190
Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala Lys Ser Thr Ala Tyr Leu
195 200 205
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
210 215 220
Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
225 230 235 240
Ser Ser

<210> 588
<211> 132
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 588
Asp Val Pro Asp Tyr Ala Ser Leu Gly Gly Pro Ser Ser Pro Lys Lys
1 5 10 15
[0165] Lys Arg Lys Val Ser Arg Gly Val Gln Val Glu Thr Ile Ser Pro Gly
20 25 30
Asp Gly Arg Thr Phe Pro Lys Arg Gly Gln Thr Cys Val Val His Tyr
35 40 45
Thr Gly Met Leu Glu Asp Gly Lys Lys Phe Asp Ser Ser Arg Asp Arg
50 55 60
Asn Lys Pro Phe Lys Phe Met Leu Gly Lys Gln Glu Val Ile Arg Gly
65 70 75 80
Trp Glu Glu Gly Val Ala Gln Met Ser Val Gly Gln Arg Ala Lys Leu
85 90 95
Thr Ile Ser Pro Asp Tyr Ala Tyr Gly Ala Thr Gly His Pro Gly Ile
100 105 110
Ile Pro Pro His Ala Thr Leu Val Phe Asp Val Glu Leu Leu Lys Leu
115 120 125
Glu Thr Ser Tyr
130
<210> 589
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 589
Val Gln Val Glu Thr Ile Ser Pro Gly Asp Gly Arg Thr Phe Pro Lys
1 5 10 15
Arg Gly Gln Thr Cys Val Val His Tyr Thr Gly Met Leu Glu Asp Gly
20 25 30
Lys Lys Phe Asp Ser Ser Arg Asp Arg Asn Lys Pro Phe Lys Phe Met
35 40 45
Leu Gly Lys Gln Glu Val Ile Arg Gly Trp Glu Glu Gly Val Ala Gln
50 55 60
Met Ser Val Gly Gln Arg Ala Lys Leu Thr Ile Ser Pro Asp Tyr Ala
65 70 75 80

Tyr Gly Ala Thr Gly His Pro Gly Ile Ile Pro Pro His Ala Thr Leu
85 90 95
Val Phe Asp Val Glu Leu Leu Lys Leu Glu Thr Ser
100 105
<210> 590
<211> 93
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 590
Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Glu Glu Ala Ser Arg
1 5 10 15
Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu
20 25 30
Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr
35 40 45
Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp
50 55 60
Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Thr Gln Ala
65 70 75 80
Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys
85 90
<210> 591
<211> 95
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 591

[0166]

Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Ile Glu Ala Ser Arg
1 5 10 15
Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu
20 25 30
Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr
35 40 45
Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp
50 55 60
Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Thr Gln Ala
65 70 75 80
Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys Thr Ser
85 90 95
<210> 592
<211> 95
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 592
Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Leu Glu Ala Ser Arg
1 5 10 15
Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu
20 25 30
Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr
35 40 45
Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp
50 55 60
Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Thr Gln Ala
65 70 75 80
Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys Thr Ser
85 90 95
<210> 593
<211> 95

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 593
Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Glu Glu Ala Ser Arg
1 5 10 15
Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu
20 25 30
Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr
35 40 45
Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp
50 55 60
Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Leu Gln Ala
65 70 75 80
Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys Thr Ser
85 90 95
<210> 594
<211> 95
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<220>
<221> MOD_RES
<222> (12)..(12)
<223> 任何氨基酸
<220>
<221> MOD_RES
<222> (78)..(78)
[0167] <223> 任何氨基酸
<400> 594
Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Xaa Glu Ala Ser Arg
1 5 10 15
Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu
20 25 30
Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr
35 40 45
Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp
50 55 60
Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Xaa Gln Ala
65 70 75 80
Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys Thr Ser
85 90 95
<210> 595
<211> 95
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 595
Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Ile Glu Ala Ser Arg
1 5 10 15
Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu
20 25 30
Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr
35 40 45
Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp
50 55 60
Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Leu Gln Ala
65 70 75 80
Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys Thr Ser
85 90 95

<210> 596
<211> 95
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多肽"
<400> 596

```
Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Leu Glu Ala Ser Arg
1               5                  10                  15
Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu
            20                  25                  30
Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr
        35                  40                  45
Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp
    50                  55                  60
Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Leu Gln Ala
65                  70                  75                  80
Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys Thr Ser
                85                  90                  95
```

<210> 597
<211> 521
<212> DNA
<213> 智人
<400> 597

```
acccctctct ccagccacta agccagttgc tccctcggct gacggctgca cgcgaggcct   60
ccgaacgtct tacgccttgt ggcgcgcccg tccttgtccc gggtgtgatg gcggggtgtg  120
gggcggaggg cgtggcgggg aagggccggc gacgagagcc gcgcgggacg actcgtcggc  180
gataaccggt gtcgggtagc gccagccgcg cgacggtaac gagggaccgc gacaggcaga  240
cgctcccatg atcactctgc acgccgaagg caaatagtgc aggccgtgcg gcgcttggcg  300
ttccttggaa gggctgaatc cccgcctcgt ccttcgcagc ggccccccgg gtgttcccat  360
cgccgcttct aggcccactg cgacgcttgc ctgcacttct tacacgctct gggtcccagc  420
cgcggcgacg caaagggcct tggtgcgggt ctcgtcggcg cagggacgcg tttgggtccc  480
gacggaacct tttccgcgtt ggggttgggg caccataagc t                      521
```

[0168]

<210> 598
<211> 118
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 598

```
acccctctct ccagccacta agccagttgc tccctcggct gacggctgca cgcgaggcct   60
ccgaacgtct tacgccttgt ggcgcgcccg tccttgtccc gggtgtgatg gcggggtg     118
```

<210> 599
<211> 221
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 599

```
acccctctct ccagccacta agccagttgc tccctcggct gacggctgca cgcgaggcct   60
ccgaacgtct tacgccttgt ggcgcgcccg tccttgtccc gggtgtgatg gcggggtgtg  120
gggcggaggg cgtggcgggg aagggccggc gacgagagcc gcgcgggacg actcgtcggc  180
gataaccggt gtcgggtagc gccagccgcg cgacggtaac g                      221
```

<210> 600
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 600

```
acccctctct ccagccacta agccagttgc tccctcggct gacggctgca cgcgaggcct   60
```

ccgaacgtct tacgccttgt ggcgcgcccg tccttgtccc gggtgtgatg gcggggtgtg 120
gggcggaggg cgtggcgggg aagggccggc gacgagagcc gcgcgggacg actcgtcggc 180
gataaccggt gtcgggtagc gccagccgcg cgacggtaac gagggaccgc gacaggcaga 240
cgctcccatg atcactctgc acgccgaagg caaatagtgc aggccgtgcg gcgcttggcg 300
ttccttggaa gggctgaatc cccg 324
<210> 601
<211> 422
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
多核苷酸"
<400> 601
acccctctct ccagccacta agccagttgc tccctcggct gacggctgca cgcgaggcct 60
ccgaacgtct tacgccttgt ggcgcgcccg tccttgtccc gggtgtgatg gcggggtgtg 120
gggcggaggg cgtggcgggg aagggccggc gacgagagcc gcgcgggacg actcgtcggc 180
gataaccggt gtcgggtagc gccagccgcg cgacggtaac gagggaccgc gacaggcaga 240
cgctcccatg atcactctgc acgccgaagg caaatagtgc aggccgtgcg gcgcttggcg 300
ttccttggaa gggctgaatc cccgcctcgt ccttcgcagc ggccccccgg gtgttcccat 360
cgccgcttct aggcccactg cgacgcttgc ctgcacttct tacacgctct gggtcccagc 420
cg 422
<210> 602
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
肽"
<220>
<221> 变体
<222> (1)..(3)
<223> /替换=" "
[0169] <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(21)
<223> /注解="关于对变体位置的说明，在序列中给出的变体残基没有优选性"
<400> 602
Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu
1 5 10 15
Glu Asn Pro Gly Pro
20
<210> 603
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的
肽"
<220>
<221> 变体
<222> (1)..(3)
<223> /替换=" "
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(22)
<223> /注解="关于对变体位置的说明，在序列中给出的变体残基没有优选性"
<400> 603
Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val
1 5 10 15
Glu Glu Asn Pro Gly Pro
20
<210> 604
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的肽"
<220>
<221> 变体
<222> (1)..(3)
<223> /替换=" "
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(23)
<223> /注解="关于对变体位置的说明，在序列中给出的变体残基没有优选性"
<400> 604
Gly Ser Gly Gln Cys Thr Asn Tyr Ala Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp
1 5 10 15
Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro
20
<210> 605
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的肽"
<220>
<221> 变体
<222> (1)..(3)
<223> /替换=" "
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(25)
<223> /注解="关于对变体位置的说明，在序列中给出的变体残基没有优选性"
<400> 605
Gly Ser Gly Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala
1 5 10 15
Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro
20 25

[0170]

<210> 606
<211> 1132
<212> PRT
<213> 智人
<400> 606
Met Pro Arg Ala Pro Arg Cys Arg Ala Val Arg Ser Leu Leu Arg Ser
1 5 10 15
His Tyr Arg Glu Val Leu Pro Leu Ala Thr Phe Val Arg Arg Leu Gly
20 25 30
Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val Gln Arg Gly Asp Pro Ala Ala Phe Arg
35 40 45
Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro Trp Asp Ala Arg Pro
50 55 60
Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser Cys Leu Lys Glu Leu
65 70 75 80
Val Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn Val
85 90 95
Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Pro Pro
100 105 110
Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val Thr
115 120 125
Asp Ala Leu Arg Gly Ser Gly Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg Val
130 135 140
Gly Asp Asp Val Leu Val His Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe Val
145 150 155 160
Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu Tyr
165 170 175
Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln Ala Arg Pro Pro Pro His Ala Ser Gly
180 185 190
Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys Glu Arg Ala Trp Asn His Ser Val Arg
195 200 205
Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg Arg

[0171]

```
    210                 215                 220
Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser Leu Pro Leu Pro Lys Arg Pro Arg Arg
225                 230                 235                 240
Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu Arg Thr Pro Val Gly Gln Gly Ser Trp
                245                 250                 255
Ala His Pro Gly Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys Val
            260                 265                 270
Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly Ala
        275                 280                 285
Leu Ser Gly Thr Arg His Ser His Pro Ser Val Gly Arg Gln His His
    290                 295                 300
Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr Pro
305                 310                 315                 320
Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly
                325                 330                 335
Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro
            340                 345                 350
Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser
        355                 360                 365
Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln
    370                 375                 380
Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn His
385                 390                 395                 400
Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg
                405                 410                 415
Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln
            420                 425                 430
Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu
        435                 440                 445
Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe
    450                 455                 460
Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser
465                 470                 475                 480
Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser
                485                 490                 495
Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met
            500                 505                 510
Ser Val Arg Gly Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Cys
        515                 520                 525
Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe
    530                 535                 540
Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe
545                 550                 555                 560
Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr
                565                 570                 575
Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His
            580                 585                 590
Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln
        595                 600                 605
His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
    610                 615                 620
Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val
625                 630                 635                 640
Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr Ser
                645                 650                 655
Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg
            660                 665                 670
Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg
        675                 680                 685
Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro
    690                 695                 700
Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Thr Ile
705                 710                 715                 720
Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys Pro Gln
                725                 730                 735
Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His
            740                 745                 750
Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr Asp
        755                 760                 765
```

Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser
770 775 780
Pro Leu Arg Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn Glu
785 790 795 800
Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His His
805 810 815
Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro
820 825 830
Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp
835 840 845
Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu
850 855 860
Arg Leu Val Asp Asp Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala
865 870 875 880
Lys Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys
885 890 895
Val Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu
900 905 910
Ala Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe
915 920 925
Pro Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser
930 935 940
Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe
945 950 955 960
Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly
965 970 975
Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn
980 985 990
Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln
995 1000 1005
Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln
1010 1015 1020
Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp
1025 1030 1035
[0172] Thr Ala Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly
1040 1045 1050
Met Ser Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu
1055 1060 1065
Ala Val Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr
1070 1075 1080
Arg His Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr
1085 1090 1095
Ala Gln Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr
1100 1105 1110
Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys
1115 1120 1125
Thr Ile Leu Asp
1130

<210> 607
<211> 4027
<212> DNA
<213> 智人
<400> 607

caggcagcgt ggtcctgctg cgcacgtggg aagccctggc cccggccacc cccgcgatgc 60
cgcgcgctcc ccgctgccga gccgtgcgct ccctgctgcg cagccactac cgcgaggtgc 120
tgccgctggc cacgttcgtg cggcgcctgg ggccccaggg ctggcggctg gtgcagcgcg 180
gggacccggc ggctttccgc gcgctggtgg cccagtgcct ggtgtgcgtg ccctgggacg 240
cacggccgcc ccccgccgcc ccctccttcc gccaggtgtc ctgcctgaag gagctggtgg 300
cccgagtgct gcagaggctg tgcgagcgcg gcgcgaagaa cgtgctggcc ttcggcttcg 360
cgctgctgga cggggcccgc gggggccccc ccgaggcctt caccaccagc gtgcgcagct 420
acctgcccaa cacggtgacc gacgcactgc gggggagcgg ggcgtggggg ctgctgttgc 480
gccgcgtggg cgacgacgtg ctggttcacc tgctggcacg ctgcgcgctc tttgtgctgg 540
tggctcccag ctgcgcctac caggtgtgcg ggccgccgct gtaccagctc ggcgctgcca 600
ctcaggcccg gcccccgcca cacgctagtg gaccccgaag gcgtctggga tgcgaacggg 660
cctggaacca tagcgtcagg gaggccgggg tccccctggg cctgccagcc ccgggtgcga 720
ggaggcgcgg gggcagtgcc agccgaagtc tgccgttgcc caagaggccc aggcgtggcg 780
ctgcccctga gccggagcgg acgcccgttg ggcaggggtc ctgggcccac ccgggcagga 840
cgcgtggacc gagtgaccgt ggtttctgtg tggtgtcacc tgccagaccc gccgaagaag 900
ccacctcttt ggagggtgcg ctctctggca cgcgccactc ccacccatcc gtgggccgcc 960

agcaccacgc gggcccccca tccacatcgc ggccaccacg tccctgggac acgccttgtc 1020
ccccggtgta cgccgagacc aagcacttcc tctactcctc aggcgacaag gagcagctgc 1080
ggccctcctt cctactcagc tctctgaggc ccagcctgac tggcgctcgg aggctcgtgg 1140
agaccatctt tctgggttcc aggccctgga tgccagggac tccccgcagg ttgccccgcc 1200
tgccccagcg ctactggcaa atgcggcccc tgtttctgga gctgcttggg aaccacgcgc 1260
agtgccccta cggggtgctc ctcaagacgc actgcccgct gcgagctgcg gtcaccccag 1320
cagccggtgt ctgtgcccgg gagaagcccc agggctctgt ggcggccccc gaggaggagg 1380
acacagaccc ccgtcgcctg gtgcagctgc tccgccagca cagcagcccc tggcaggtgt 1440
acggcttcgt gcgggcctgc ctgcgccggc tggtgccccc aggcctctgg ggctccaggc 1500
acaacgaacg ccgcttcctc aggaacacca agaagttcat ctccctgggg aagcatgcca 1560
agctctcgct gcaggagctg acgtggaaga tgagcgtgcg gggctgcgct tggctgcgca 1620
ggagcccagg ggttggctgt gttccggccg cagagcaccg tctgcgtgag gagatcctgg 1680
ccaagttcct gcactggctg atgagtgtgt acgtcgtcga gctgctcagg tctttctttt 1740
atgtcacgga gaccacgttt caaaagaaca ggctcttttt ctaccggaag agtgtctgga 1800
gcaagttgca aagcattgga atcagacagc acttgaagag ggtgcagctg cgggagctgt 1860
cggaagcaga ggtcaggcag catcgggaag ccaggcccgc cctgctgacg tccagactcc 1920
gcttcatccc caagcctgac gggctgcggc cgattgtgaa catggactac gtcgtgggag 1980
ccagaacgtt ccgcagagaa aagagggccg agcgtctcac ctcgagggtg aaggcactgt 2040
tcagcgtgct caactacgag cgggcgcggc gccccggcct cctgggcgcc tctgtgctgg 2100

gcctggacga tatccacagg gcctggcgca ccttcgtgct gcgtgtgcgg gcccaggacc 2160
cgccgcctga gctgtacttt gtcaaggtgg atgtgacggg cgcgtacgac accatccccc 2220
aggacaggct cacggaggtc atcgccagca tcatcaaacc ccagaacacg tactgcgtgc 2280
gtcggtatgc cgtggtccag aaggccgccc atgggcacgt ccgcaaggcc ttcaagagcc 2340
acgtctctac cttgacagac ctccagccgt acatgcgaca gttcgtggct cacctgcagg 2400
agaccagccc gctgagggat gccgtcgtca tcgagcagag ctcctccctg aatgaggcca 2460
gcagtggcct cttcgacgtc ttcctacgct tcatgtgcca ccacgccgtg cgcatcaggg 2520
gcaagtccta cgtccagtgc caggggatcc cgcagggctc catcctctcc acgctgctct 2580
gcagcctgtg ctacggcgac atggagaaca agctgtttgc ggggattcgg cgggacgggc 2640
tgctcctgcg tttggtggat gatttcttgt tggtgacacc tcacctcacc cacgcgaaaa 2700
ccttcctcag gaccctggtc cgaggtgtcc ctgagtatgg ctgcgtggtg aacttgcgga 2760
agacagtggt gaacttccct gtagaagacg aggccctggg tggcacggct tttgttcaga 2820
tgccggccca cggcctattc ccctggtgcg gcctgctgct ggatacccgg accctggagg 2880
tgcagagcga ctactccagc tatgcccgga cctccatcag agccagtctc accttcaacc
[0173] gcggcttcaa ggctgggagg aacatgcgtc gcaaactctt tggggtcttg cggctgaagt 3000
gtcacagcct gtttctggat ttgcaggtga acagcctcca gacggtgtgc accaacatct 3060
acaagatcct cctgctgcag gcgtacaggt ttcacgcatg tgtgctgcag ctcccatttc 3120
atcagcaagt ttggaagaac cccacatttt tcctgcgcgt catctctgac acggcctccc 3180
tctgctactc catcctgaaa gccaagaacg cagggatgtc gctgggggcc aagggcgccg 3240
ccggccctct gccctccgag gccgtgcagt ggctgtgcca ccaagcattc ctgctcaagc 3300
tgactcgaca ccgtgtcacc tacgtgccac tcctggggtc actcaggaca gcccagacgc 3360
agctgagtcg gaagctcccg gggacgacgc tgactgccct ggaggccgca gccaacccgg 3420
cactgccctc agacttcaag accatcctgg actgatggcc acccgcccac agccaggccg 3480
agagcagaca ccagcagccc tgtcacgccg ggctctacgt cccagggagg gaggggcggc 3540
ccacacccag gcccgcaccg ctgggagtct gaggcctgag tgagtgtttg gccgaggcct 3600
gcatgtccgg ctgaaggctg agtgtccggc tgaggcctga gcgagtgtcc agccaagggc 3660
tgagtgtcca gcacacctgc cgtcttcact tccccacagg ctggcgctcg gctccacccc 3720
agggccagct tttcctcacc aggagcccgg cttccactcc ccacatagga atagtccatc 3780
cccagattcg ccattgttca cccctcgccc tgccctcctt tgccttccac ccccaccatc 3840
caggtggaga ccctgagaag gaccctggga gctctgggaa tttggagtga ccaaaggtgt 3900
gccctgtaca caggcgagga ccctgcacct ggatgggggt ccctgtgggt caaattgggg 3960
ggaggtgctg tgggagtaaa atactgaata tatgagtttt tcagttttga aaaaaaaaaa 4020
aaaaaaa 4027

<210> 608
<211> 19
<212> DNA
<213> 小家鼠 (Mus musculus)
<400> 608
ggaggtccct caccttcta 19

<210> 609
<211> 19
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 609
cggaggatct tatgctgaa 19

<210> 610
<211> 19
<212> DNA
<213> 小家鼠

<400> 610
cccgcttcca gatcataca 19
<210> 611
<211> 19
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 611
ggagacctca acaagatat 19
<210> 612
<211> 19
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 612
aaggcatggt cattggtat 19
<210> 613
<211> 19
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 613
gcatggtcat tggtatcat 19
<210> 614
<211> 19
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 614
ggtcattggt atcatgagt 19
<210> 615
<211> 19
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 615
cctagtgggt atccctgta 19
<210> 616
<211> 19
[0174] <212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 616
gaggatggac attgttctt 19
<210> 617
<211> 19
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 617
gcatgcaggc tacagttca 19
<210> 618
<211> 19
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 618
ccagcacatg cactgttga 19
<210> 619
<211> 19
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 619
cacatgcact gttgagtga 19
<210> 620
<211> 21
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 620
ctggaggtcc ctcaccttct a 21
<210> 621
<211> 21
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 621
gtcggaggat cttatgctga a 21
<210> 622

<210> 621
<211> 21
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 622
tgcccgcttc cagatcatac a 21
<210> 623
<211> 21
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 623
ctggagacct caacaagata t 21
<210> 624
<211> 21
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 624
tcaaggcatg gtcattggta t 21
<210> 625
<211> 21
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 625
aggcatggtc attggtatca t 21
<210> 626
<211> 21
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 626
atggtcattg gtatcatgag t 21
<210> 627
<211> 21
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 627
[0175] gccctagtgg gtatccctgt a 21
<210> 628
<211> 21
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 628
atgaggatgg acattgttct t 21
<210> 629
<211> 21
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 629
gagcatgcag gctacagttc a 21
<210> 630
<211> 21
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 630
ttccagcaca tgcactgttg a 21
<210> 631
<211> 21
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 631
agcacatgca ctgttgagtg a 21
<210> 632
<211> 21
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 632
tagaaggtga gggacctcca g 21
<210> 633
<211> 21
<212> DNA
<213> 小家鼠

<400> 633
ttcagcataa gatcctccga c 21
<210> 634
<211> 21
<212> DNA
<213> 小家鼠

<400> 634
tgtatgatct ggaagcgggc a 21
<210> 635
<211> 21
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 635
atatcttgtt gaggtctcca g 21
<210> 636
<211> 21
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 636
ataccaatga ccatgccttg a 21
<210> 637
<211> 21
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 637
atgataccaa tgaccatgcc t 21
<210> 638
<211> 21
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 638
atggtcattg gtatcatgag t 21
<210> 639
[0176] <211> 21
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 639
gccctagtgg gtatccctgt a 21
<210> 640
<211> 21
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 640
atgaggatgg acattgttct t 21
<210> 641
<211> 21
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 641
gagcatgcag gctacagttc a 21
<210> 642
<211> 21
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 642
ttccagcaca tgcactgttg a 21
<210> 643
<211> 21
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 643
agcacatgca ctgttgagtg a 21
<210> 644
<211> 19
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 644
tagaaggtga gggacctcc 19

<210> 645
<211> 19
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 645
ttcagcataa gatcctccg 19
<210> 646
<211> 19
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 646
tgtatgatct ggaagcggg 19
<210> 647
<211> 19
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 647
atatcttgtt gaggtctcc 19
<210> 648
<211> 19
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 648
ataccaatga ccatgcctt 19
<210> 649
<211> 19
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 649
atgataccaa tgaccatgc 19
<210> 650
<211> 19
<212> DNA
<213> 小家鼠

[0177]

<400> 650
atggtcattg gtatcatga 19
<210> 651
<211> 19
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 651
gccctagtgg gtatccctg 19
<210> 652
<211> 19
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 652
atgaggatgg acattgttc 19
<210> 653
<211> 19
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 653
gagcatgcag gctacagtt 19
<210> 654
<211> 19
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 654
ttccagcaca tgcactgtt 19
<210> 655
<211> 19
<212> DNA
<213> 小家鼠
<400> 655
agcacatgca ctgttgagt 19
<210> 656
<211> 19
<212> DNA

<213> 智人
<400> 656
ggccaggatg gttcttaga 19
<210> 657
<211> 19
<212> DNA
<213> 智人
<400> 657
gcttcgtgct aaactggta 19
<210> 658
<211> 19
<212> DNA
<213> 智人
<400> 658
gggcgtgact tccacatga 19
<210> 659
<211> 19
<212> DNA
<213> 智人
<400> 659
caggcctaga gaagtttca 19
<210> 660
<211> 19
<212> DNA
<213> 智人
<400> 660
cttggaaccc attcctgaa 19
<210> 661
<211> 19
<212> DNA
<213> 智人
<400> 661
ggaacccatt cctgaaatt 19
<210> 662
[0178] <211> 19
<212> DNA
<213> 智人
<400> 662
gaacccattc ctgaaatta 19
<210> 663
<211> 19
<212> DNA
<213> 智人
<400> 663
aacccattcc tgaaattat 19
<210> 664
<211> 19
<212> DNA
<213> 智人
<400> 664
acccattcct gaaattatt 19
<210> 665
<211> 19
<212> DNA
<213> 智人
<400> 665
cccattcctg aaattattt 19
<210> 666
<211> 19
<212> DNA
<213> 智人
<400> 666
ctgtggttct attatatta 19
<210> 667
<211> 19
<212> DNA
<213> 智人
<400> 667
aaatatgaga gcatgctaa 19

<210> 668
<211> 19
<212> DNA
<213> 智人
<400> 668
tctaagaacc atcctggcc 19
<210> 669
<211> 19
<212> DNA
<213> 智人
<400> 669
taccagttta gcacgaagc 19
<210> 670
<211> 19
<212> DNA
<213> 智人
<400> 670
tcatgtggaa gtcacgccc 19
<210> 671
<211> 19
<212> DNA
<213> 智人
<400> 671
tgaaacttct ctaggcctg 19
<210> 672
<211> 19
<212> DNA
<213> 智人
<400> 672
ttcaggaatg ggttccaag 19
<210> 673
<211> 19
<212> DNA
<213> 智人

[0179]

<400> 673
aatttcagga atgggttcc 19
<210> 674
<211> 19
<212> DNA
<213> 智人
<400> 674
taatttcagg aatgggttc 19
<210> 675
<211> 19
<212> DNA
<213> 智人
<400> 675
ataatttcag gaatgggtt 19
<210> 676
<211> 19
<212> DNA
<213> 智人
<400> 676
aataatttca ggaatgggt 19
<210> 677
<211> 19
<212> DNA
<213> 智人
<400> 677
aaataatttc aggaatggg 19
<210> 678
<211> 19
<212> DNA
<213> 智人
<400> 678
taatataata gaaccacag 19
<210> 679
<211> 19
<212> DNA

<213> 智人
<400> 679
ttagcatgct ctcatattt 19
<210> 680
<211> 21
<212> DNA
<213> 智人
<400> 680
gcggccagga tggttcttag a 21
<210> 681
<211> 21
<212> DNA
<213> 智人
<400> 681
gagcttcgtg ctaaactggt a 21
<210> 682
<211> 21
<212> DNA
<213> 智人
<400> 682
acgggcgtga cttccacatg a 21
<210> 683
<211> 21
<212> DNA
<213> 智人
<400> 683
tgcaggccta gagaagtttc a 21
<210> 684
<211> 21
<212> DNA
<213> 智人
<400> 684
tccttggaac ccattcctga a 21
<210> 685
[0180] <211> 21
<212> DNA
<213> 智人
<400> 685
ttggaaccca ttcctgaaat t 21
<210> 686
<211> 21
<212> DNA
<213> 智人
<400> 686
tggaacccat tcctgaaatt a 21
<210> 687
<211> 21
<212> DNA
<213> 智人
<400> 687
ggaacccatt cctgaaatta t 21
<210> 688
<211> 21
<212> DNA
<213> 智人
<400> 688
gaacccattc ctgaaattat t 21
<210> 689
<211> 21
<212> DNA
<213> 智人
<400> 689
aacccattcc tgaaattatt t 21
<210> 690
<211> 21
<212> DNA
<213> 智人
<400> 690
ccctgtggtt ctattatatt a 21

<210> 691
<211> 21
<212> DNA
<213> 智人
<400> 691
ttaaatatga gagcatgcta a 21
<210> 692
<211> 21
<212> DNA
<213> 智人
<400> 692
tctaagaacc atcctggccg c 21
<210> 693
<211> 21
<212> DNA
<213> 智人
<400> 693
taccagttta gcacgaagct c 21
<210> 694
<211> 21
<212> DNA
<213> 智人
<400> 694
tcatgtggaa gtcacgcccg t 21
<210> 695
<211> 21
<212> DNA
<213> 智人
<400> 695
tgaaacttct ctaggcctgc a 21
<210> 696
<211> 21
<212> DNA
<213> 智人

[0181]

<400> 696
ttcaggaatg ggttccaagg a 21
<210> 697
<211> 21
<212> DNA
<213> 智人
<400> 697
aatttcagga atgggttcca a 21
<210> 698
<211> 21
<212> DNA
<213> 智人
<400> 698
taatttcagg aatgggttcc a 21
<210> 699
<211> 21
<212> DNA
<213> 智人
<400> 699
ataatttcag gaatgggttc c 21
<210> 700
<211> 21
<212> DNA
<213> 智人
<400> 700
aataatttca ggaatgggtt c 21
<210> 701
<211> 21
<212> DNA
<213> 智人
<400> 701
aaataatttc aggaatgggt t 21
<210> 702
<211> 21
<212> DNA

<213> 智人
<400> 702
taatataata gaaccacagg g 21
<210> 703
<211> 21
<212> DNA
<213> 智人
<400> 703
ttagcatgct ctcatattta a 21
<210> 704
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
肽"
<400> 704
Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr
1 5 10 15
Lys Gly

<210> 705
<211> 150
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
多核苷酸"
<400> 705
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 60
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 120
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 150
[0182] <210> 706
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
肽"
<400> 706
Arg Gly Asp Ser
1
<210> 707
<211> 494
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
多肽"
<400> 707
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gly Ser Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala
20 25 30
Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala
35 40 45
Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr Gly Asn Thr Phe Met His Trp Tyr Gln
50 55 60
Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn
65 70 75 80
Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr
85 90 95
Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Pro Val Glu Ala Asp Asp Val Ala Thr
100 105 110
Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Ala Gly

115 120 125
Thr Lys Leu Glu Leu Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140
Ser Gly Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu
145 150 155 160
Lys Lys Pro Gly Glu Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
165 170 175
Ile Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys
180 185 190
Ser Phe Lys Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Ser Thr
195 200 205
Tyr Ser Ala Asp Phe Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser
210 215 220
Ala Ser Thr Ala Tyr Leu His Ile Asn Asp Leu Lys Asn Glu Asp Thr
225 230 235 240
Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Ser Gly Gly Tyr Asp Pro Met Asp Tyr
245 250 255
Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Ser Gly Thr
260 265 270
Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser
275 280 285
Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly
290 295 300
Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp
305 310 315 320
Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile
325 330 335
Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
340 345 350
Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys
355 360 365
Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val
370 375 380
Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn
[0183] 385 390 395 400
Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val
405 410 415
Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg
420 425 430
Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
435 440 445
Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg
450 455 460
Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys
465 470 475 480
Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485 490

<210> 708
<211> 487
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述：合成的多肽"
<400> 708
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gly Ser Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro Ser
20 25 30
Tyr Leu Ala Ala Ser Pro Gly Glu Thr Ile Thr Ile Asn Cys Arg Ala
35 40 45
Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly
50 55 60
Lys Thr Asn Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly
65 70 75 80
Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
85 90 95
Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Gln

[0184]

```
            100                 105                 110
Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu
        115                 120                 125
Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly
    130                 135                 140
Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly
145                 150                 155                 160
Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser
                165                 170                 175
Tyr Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Asp Gln Gly Leu Glu Trp
            180                 185                 190
Ile Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys
        195                 200                 205
Phe Lys Asp Lys Ala Ile Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala
    210                 215                 220
Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr
225                 230                 235                 240
Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
                245                 250                 255
Thr Val Ser Ser Ala Ser Ser Gly Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro
            260                 265                 270
Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro
        275                 280                 285
Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu
    290                 295                 300
Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys
305                 310                 315                 320
Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly
                325                 330                 335
Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val
            340                 345                 350
Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu
        355                 360                 365
Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp
    370                 375                 380
Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn
385                 390                 395                 400
Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg
                405                 410                 415
Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly
            420                 425                 430
Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu
        435                 440                 445
Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu
    450                 455                 460
Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His
465                 470                 475                 480
Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
                485
<210> 709
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注解="人工序列的描述: 合成的
      多肽"
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(40)
<223> /注解="这个序列可以包含 1-10 个 "Gly Gly Gly Ser"
      重复单位"
<400> 709
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1               5                   10                  15
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
            20                  25                  30
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
        35                  40
```

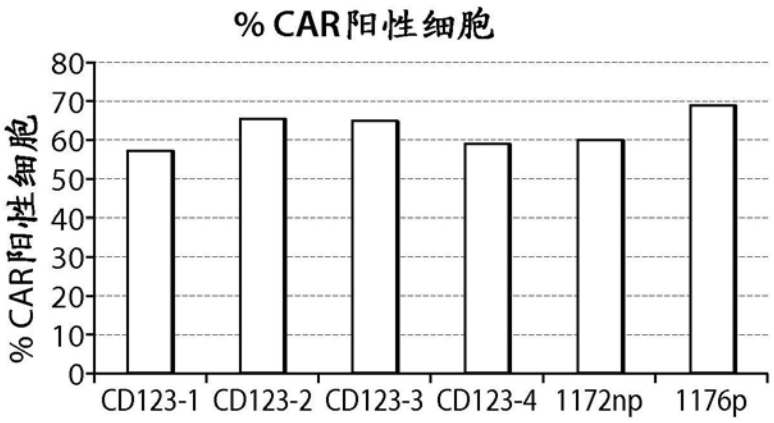

% CAR阳性细胞
% CAR阳性细胞
80
70
60
50
40
30
20
10
0
CD123-1
CD123-2
CD123-3
CD123-4
1172np
1176p

图1

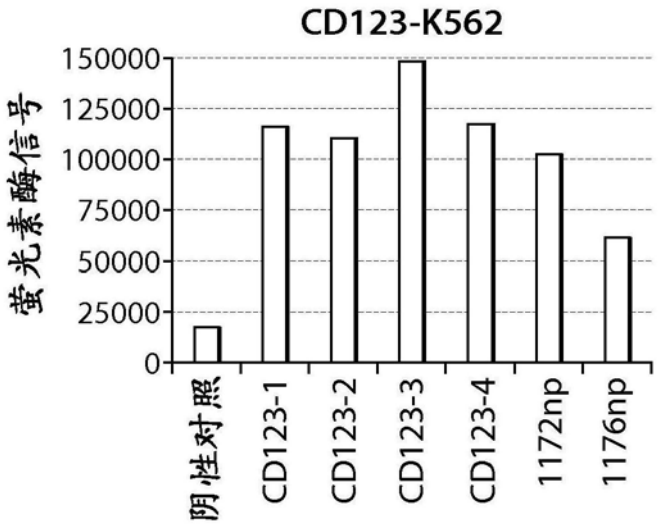

CD123-K562
萤光素酶信号
150000
125000
100000
75000
50000
25000
0
阴性对照
CD123-1
CD123-2
CD123-3
CD123-4
1172np
1176np

图2A

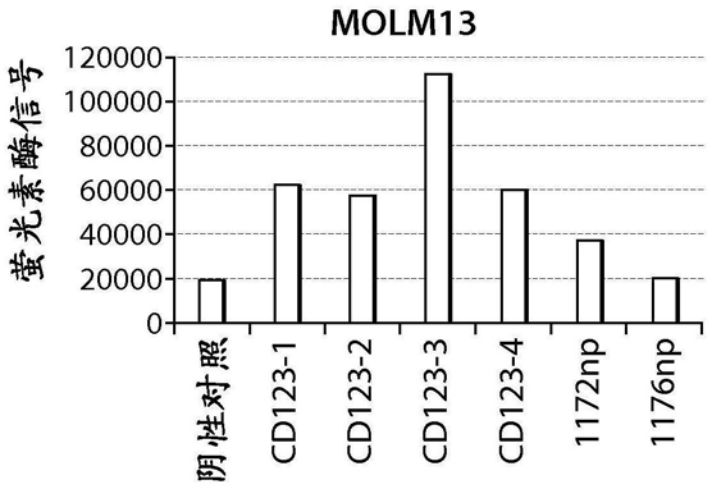

MOLM13
萤光素酶信号
120000
100000
80000
60000
40000
20000
0
阴性对照
CD123-1
CD123-2
CD123-3
CD123-4
1172np
1176np

图2B

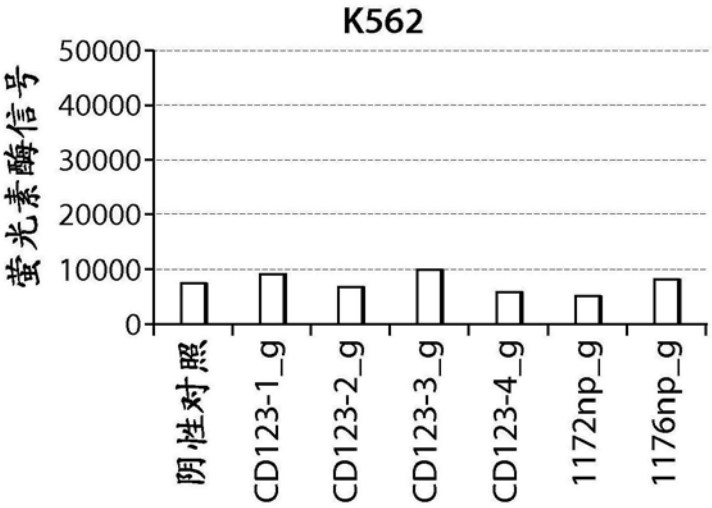

K562
萤光素酶信号
50000
40000
30000
20000
10000
0
阴性对照
CD123-1_g
CD123-2_g
CD123-3_g
CD123-4_g
1172np_g
1176np_g

图2C

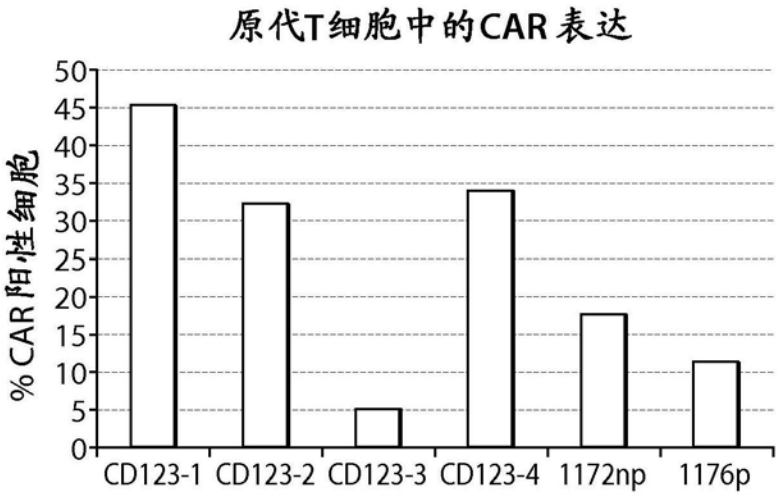

原代T细胞中的CAR表达
% CAR阳性细胞
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
CD123-1
CD123-2
CD123-3
CD123-4
1172np
1176p

图3

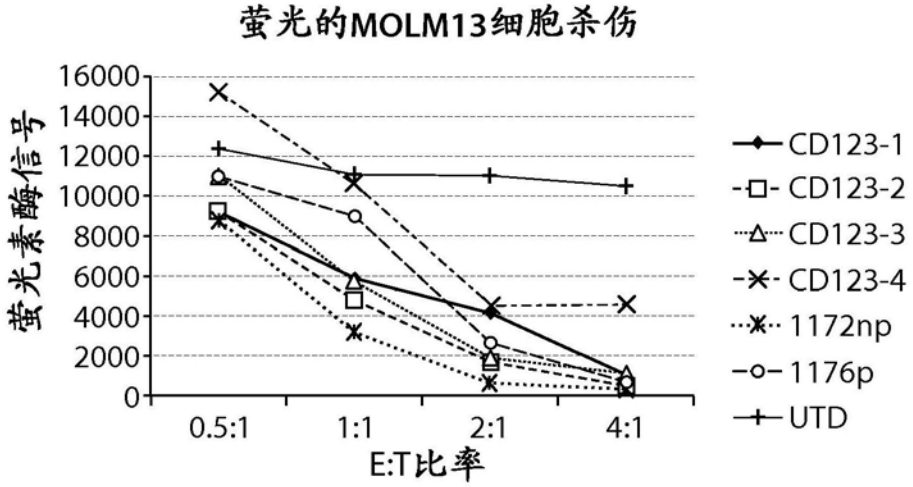
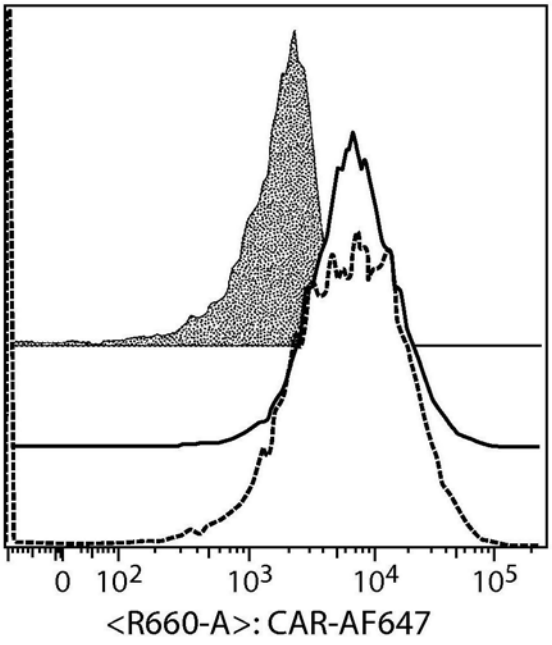
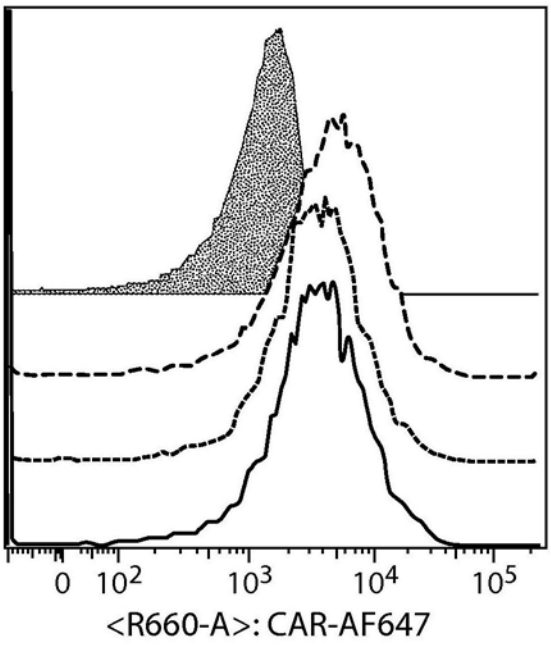

萤光的MOLM13细胞杀伤
萤光素酶信号
16000
14000
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
0.5:1
1:1
2:1
4:1
E:T比率
CD123-1
CD123-2
CD123-3
CD123-4
1172np
1176p
UTD

图4



	样品	中位值:<R660-A>
------	1176	5965
——	1172	6996
▒	UTD	1603

图5A



	样品	中位值:<R660-A>
——	NVS4	3323
------	NVS3	3356
----·	NVS2	4265
▒	UTD IGG	1289

图5B

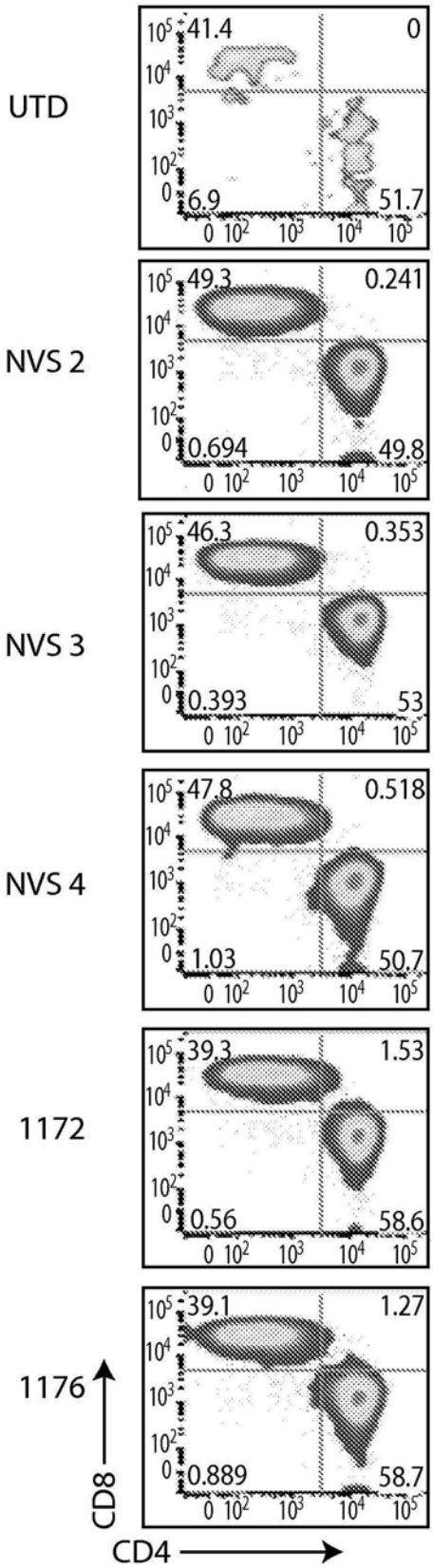

UTD
41.4
0
6.9
51.7
NVS 2
49.3
0.241
0.694
49.8
NVS 3
46.3
0.353
0.393
53
NVS 4
47.8
0.518
1.03
50.7
1172
39.3
1.53
0.56
58.6
1176
39.1
1.27
0.889
58.7
CD8
CD4

图6

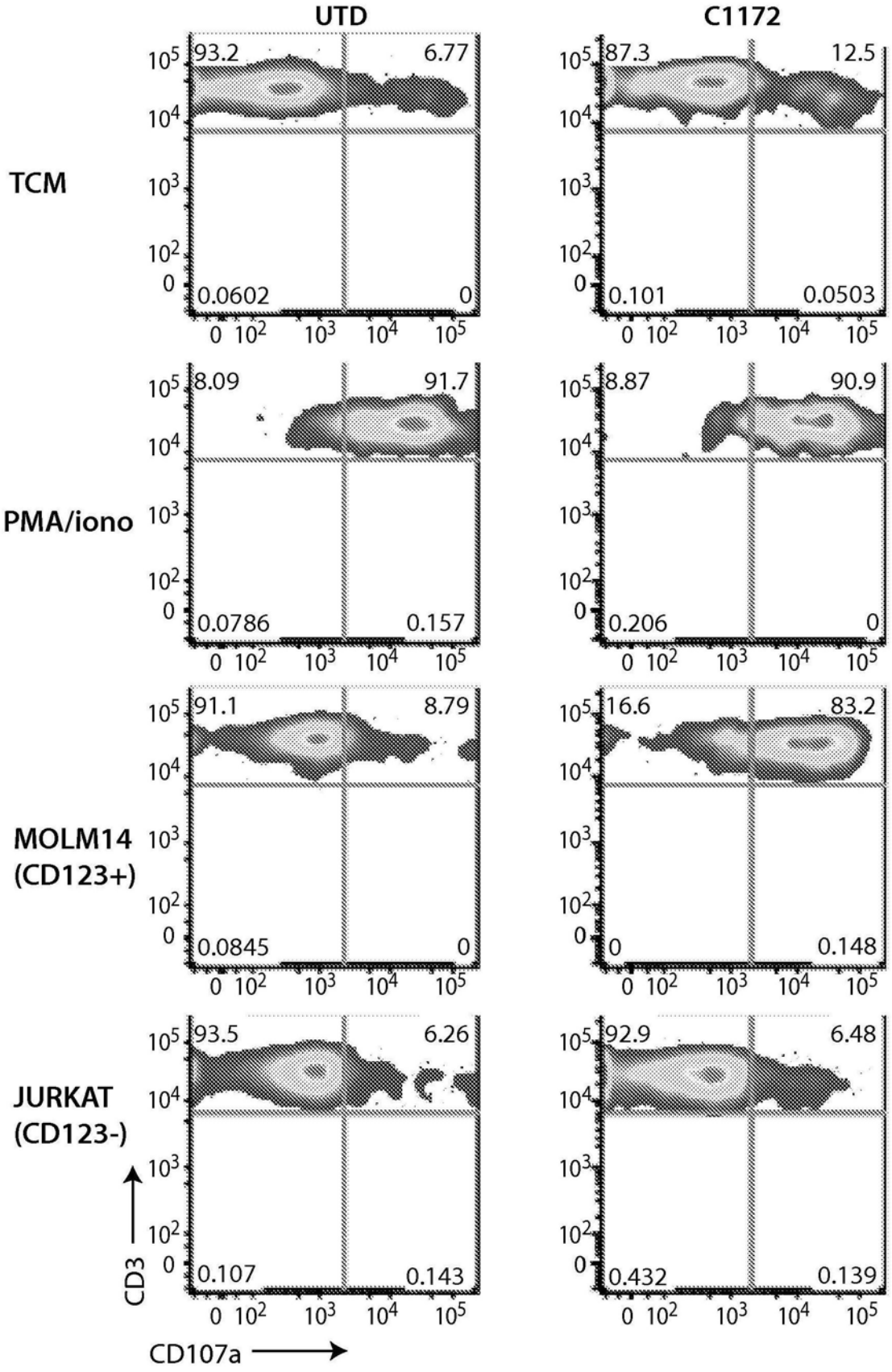

UTD
C1172
TCM
PMA/iono
MOLM14
(CD123+)
JURKAT
(CD123-)
93.2
6.77
0.0602
0
87.3
12.5
0.101
0.0503
8.09
91.7
0.0786
0.157
8.87
90.9
0.206
0
91.1
8.79
0.0845
0
16.6
83.2
0
0.148
93.5
6.26
0.107
0.143
92.9
6.48
0.432
0.139
CD3
CD107a

图7-1

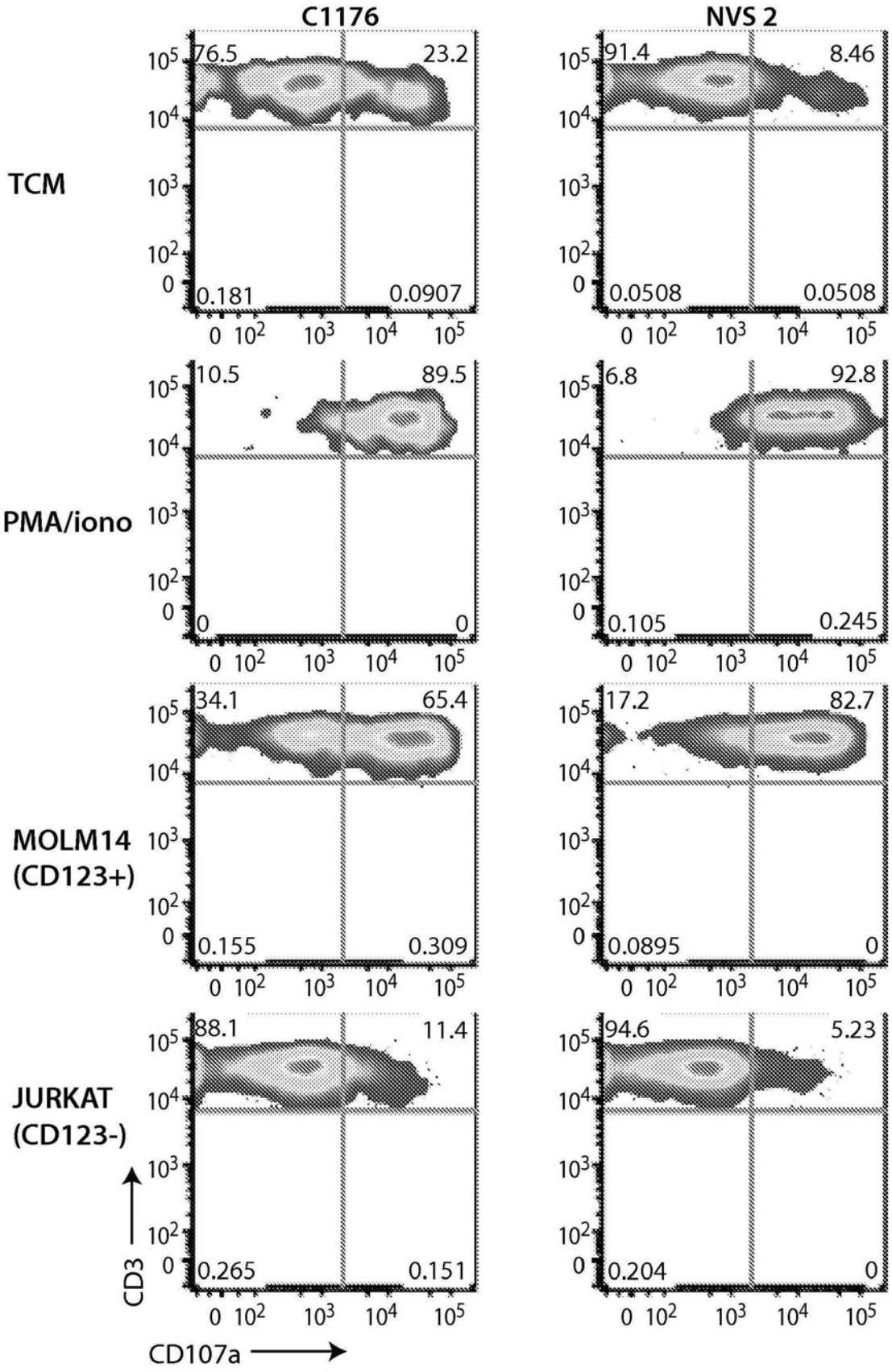

C1176
NVS 2
TCM
PMA/iono
MOLM14
(CD123+)
JURKAT
(CD123-)
76.5
23.2
0.181
0.0907
91.4
8.46
0.0508
0.0508
10.5
89.5
0
0
6.8
92.8
0.105
0.245
34.1
65.4
0.155
0.309
17.2
82.7
0.0895
0
88.1
11.4
0.265
0.151
94.6
5.23
0.204
0
CD3
CD107a

图7-2

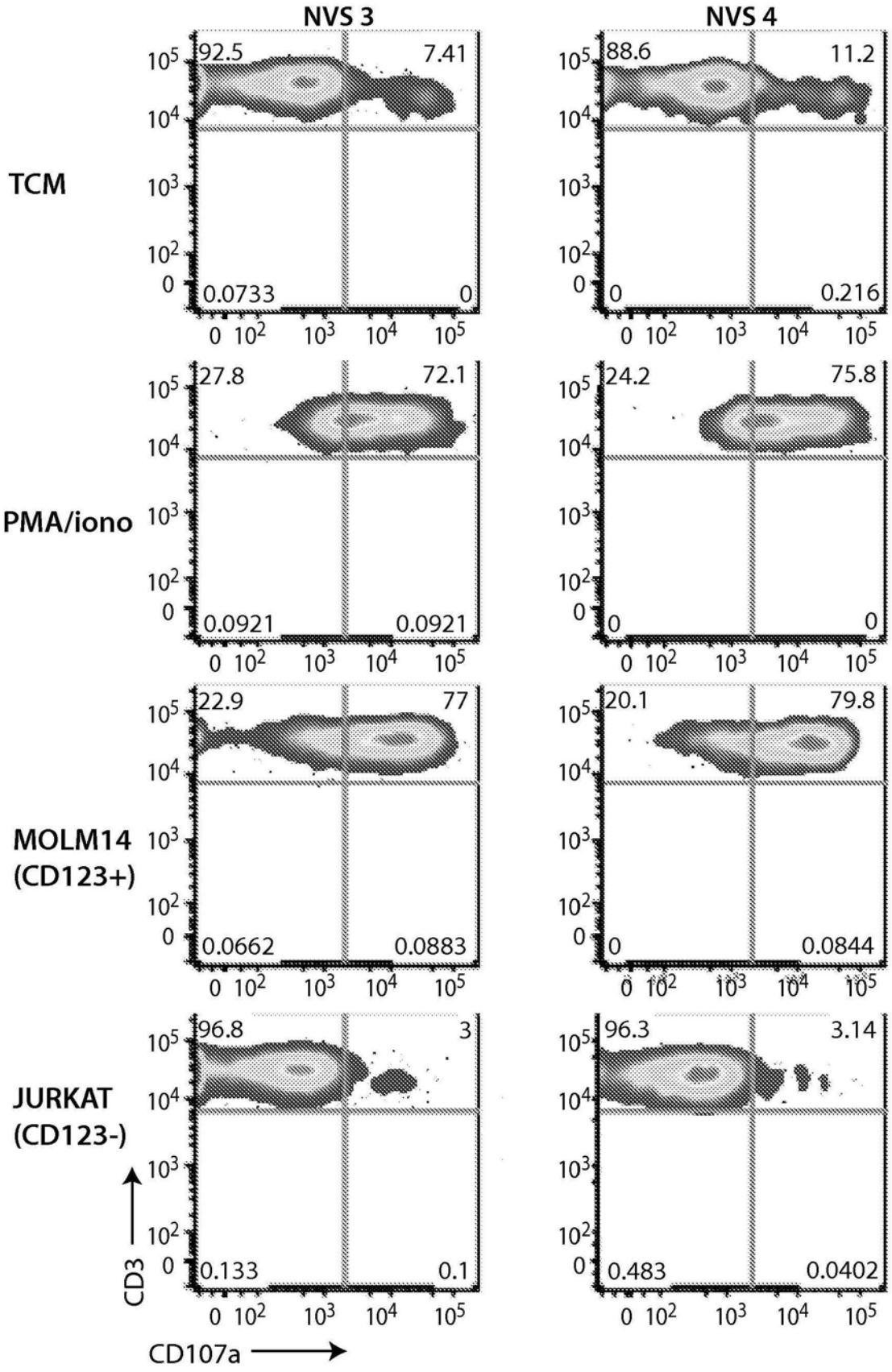

NVS 3
NVS 4
TCM
PMA/iono
MOLM14
(CD123+)
JURKAT
(CD123-)
92.5
7.41
0.0733
0
88.6
11.2
0
0.216
27.8
72.1
0.0921
0.0921
24.2
75.8
0
0
22.9
77
0.0662
0.0883
20.1
79.8
0
0.0844
96.8
3
0.133
0.1
96.3
3.14
0.483
0.0402
CD3
CD107a

图7-3

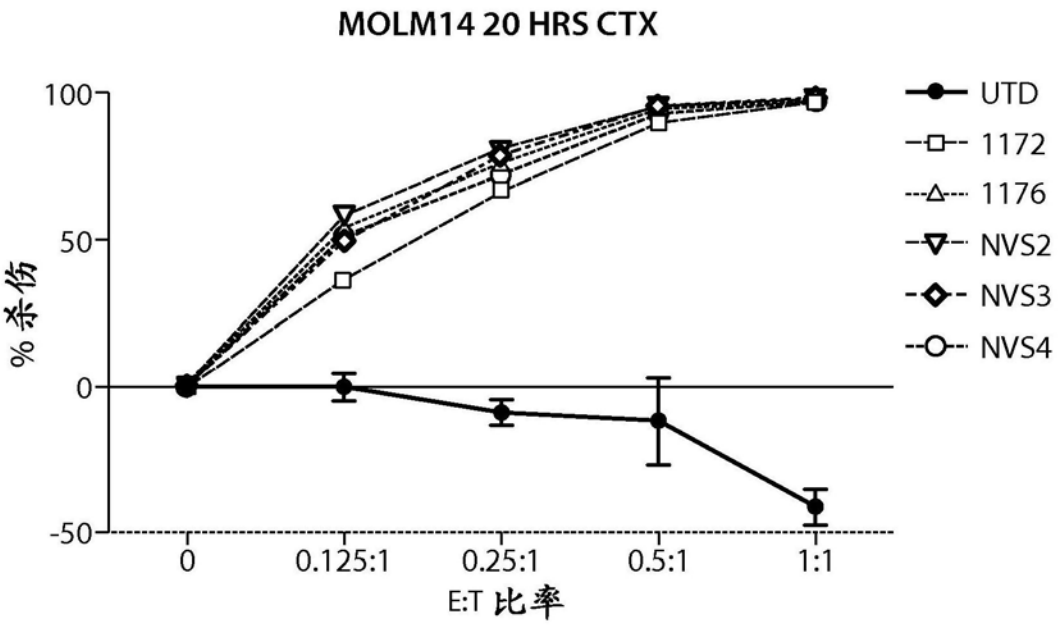

MOLM14 20 HRS CTX
100
50
0
-50
% 杀伤
0
0.125:1
0.25:1
0.5:1
1:1
E:T 比率
UTD
1172
1176
NVS2
NVS3
NVS4

图8

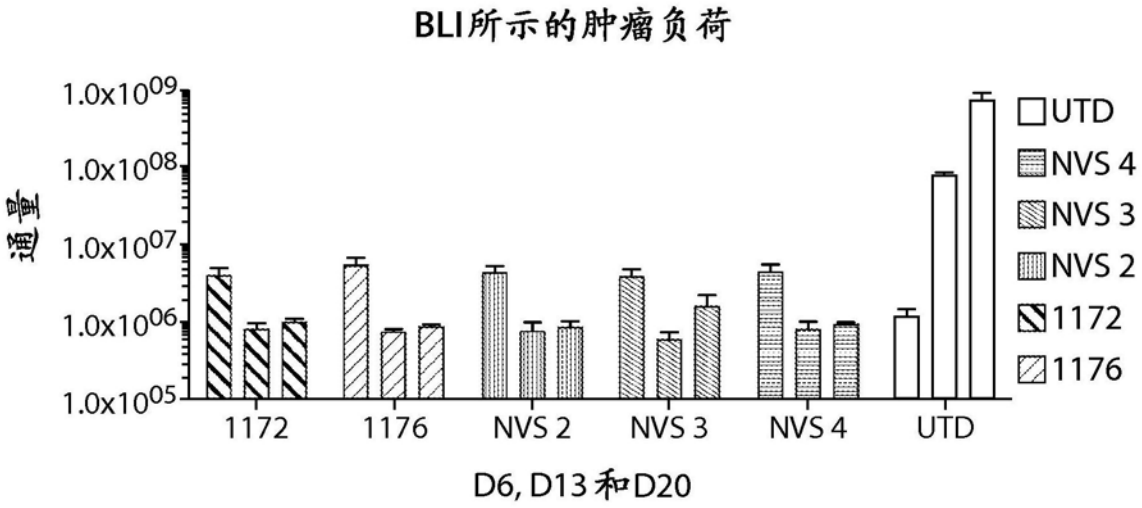

BLI所示的肿瘤负荷
通量
1.0x10^09
1.0x10^08
1.0x10^07
1.0x10^06
1.0x10^05
1172
1176
NVS 2
NVS 3
NVS 4
UTD
D6, D13 和D20
UTD
NVS 4
NVS 3
NVS 2
1172
1176

图9

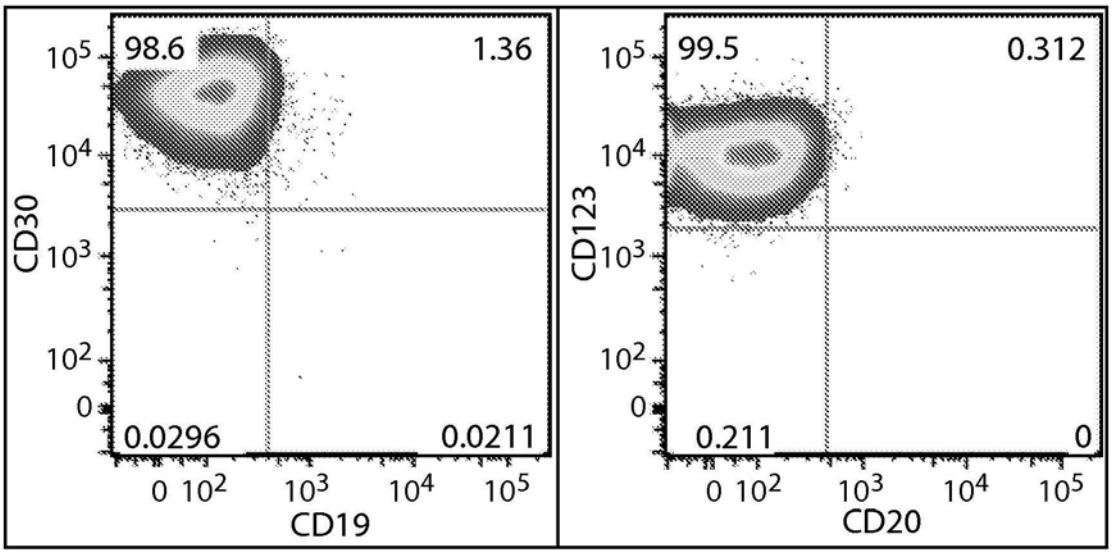

98.6
1.36
0.0296
0.0211
CD30
CD19
99.5
0.312
0.211
0
CD123
CD20

图10

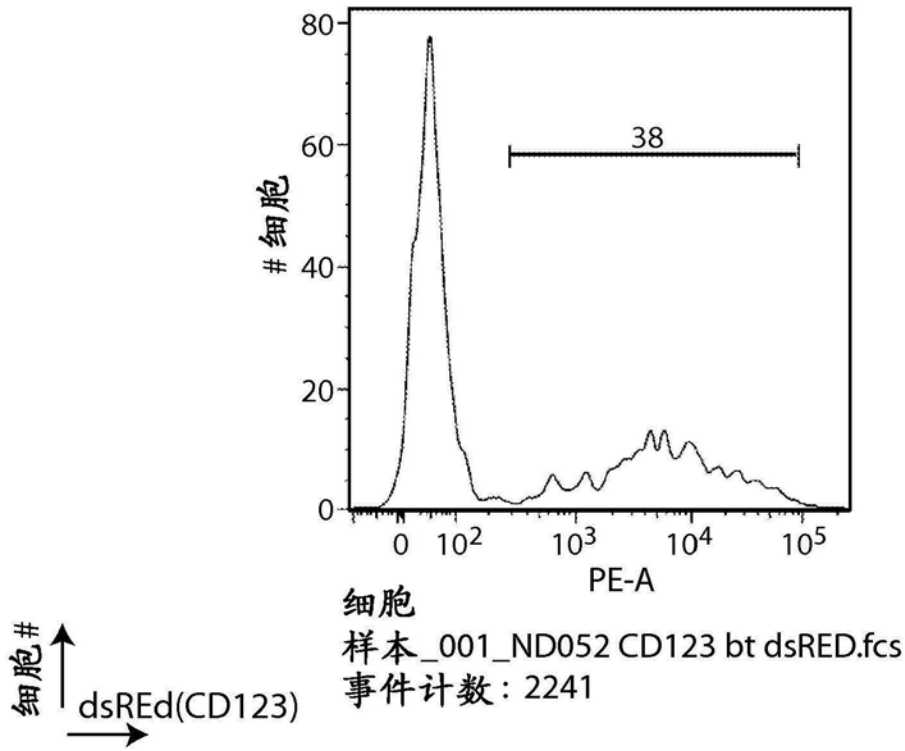

38
细胞
PE-A
细胞
样本_001_ND052 CD123 bt dsRED.fcs
事件计数：2241
细胞#
dsREd(CD123)

图11A

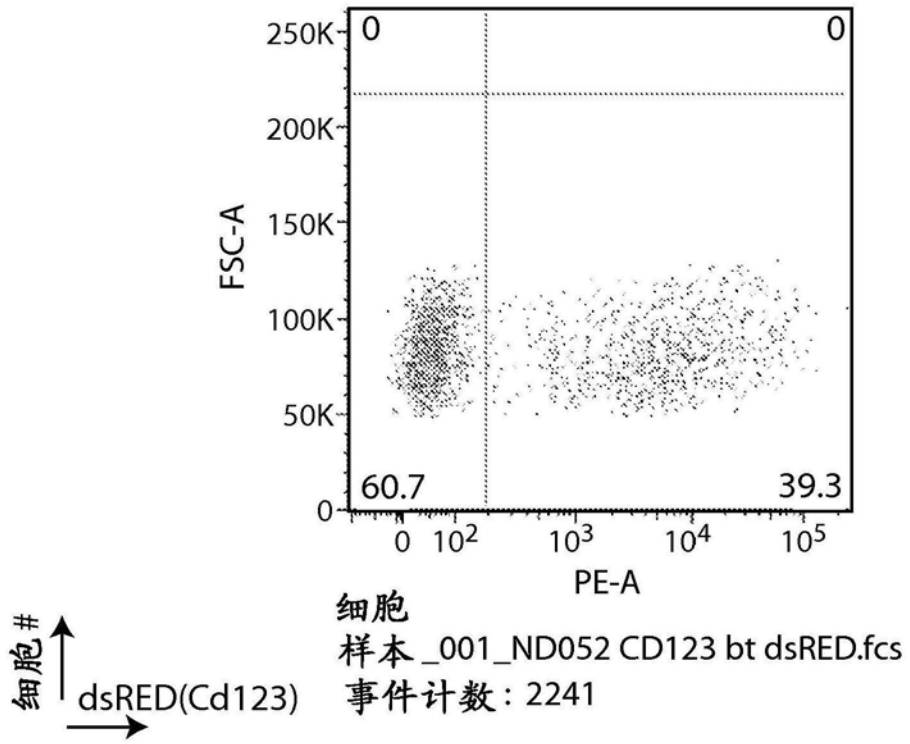

250K
200K
150K
100K
50K
0
FSC-A
0
0
60.7
39.3
0 10^2 10^3 10^4 10^5
PE-A
细胞
样本 _001_ND052 CD123 bt dsRED.fcs
事件计数：2241
细胞 #
dsRED(Cd123)

图11B

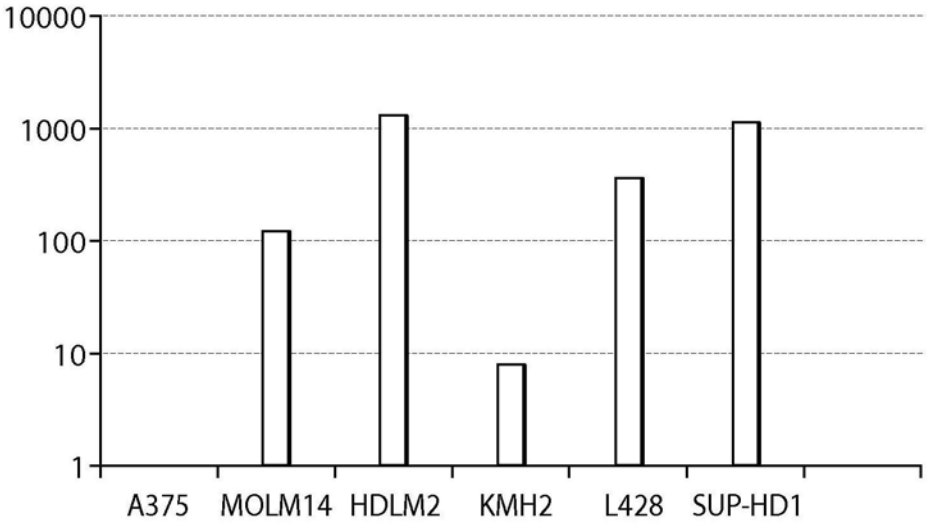

10000
1000
100
10
1
A375
MOLM14
HDLM2
KMH2
L428
SUP-HD1

图12

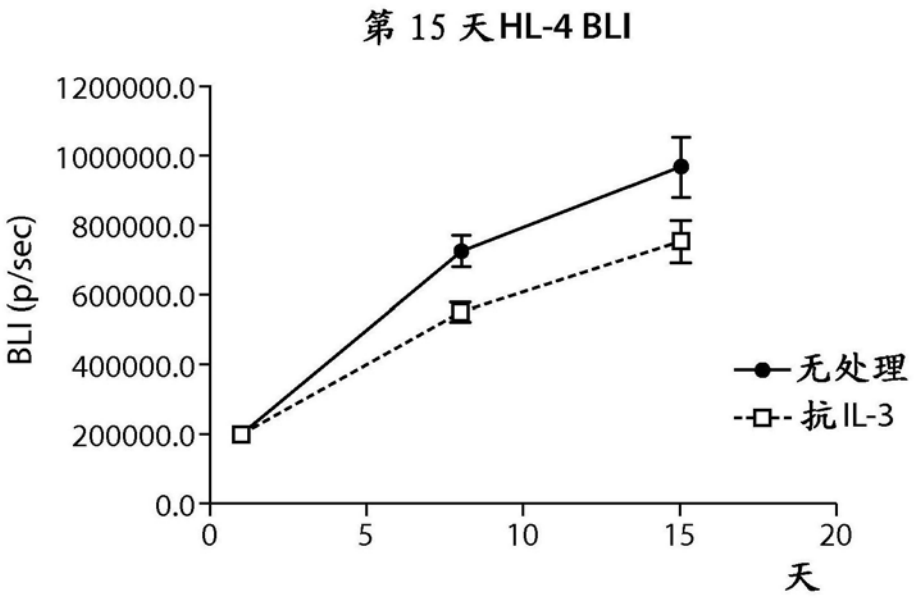

第 15 天HL-4 BLI
1200000.0
1000000.0
800000.0
600000.0
400000.0
200000.0
0.0
BLI (p/sec)
0
5
10
15
20
天
无处理
抗 IL-3

图13

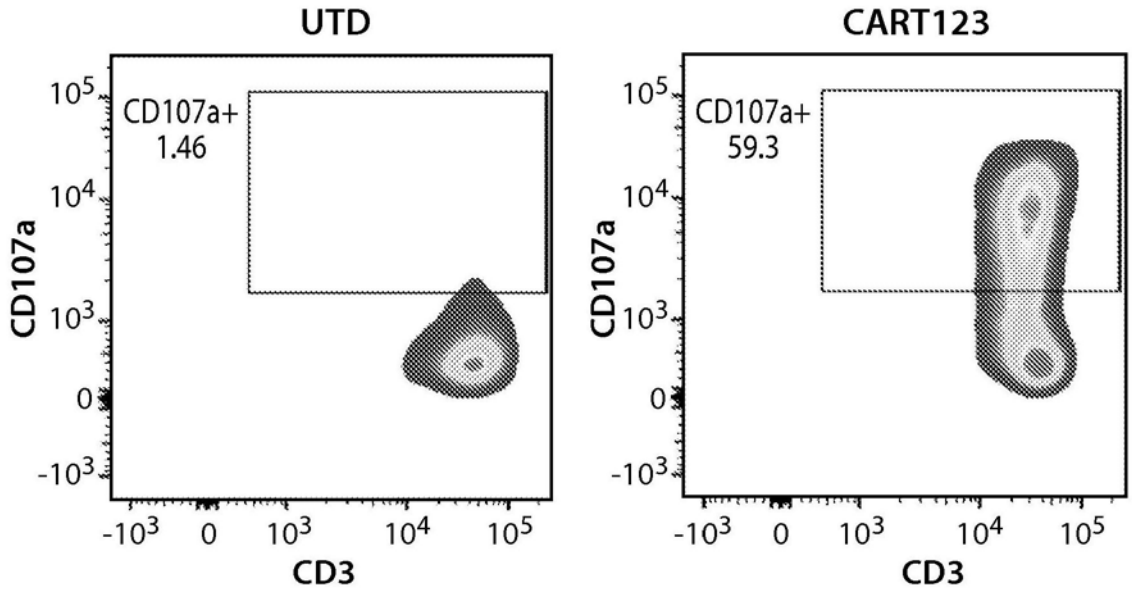

UTD
CD107a+
1.46
CD107a
CD3
CART123
CD107a+
59.3
CD107a
CD3

图14

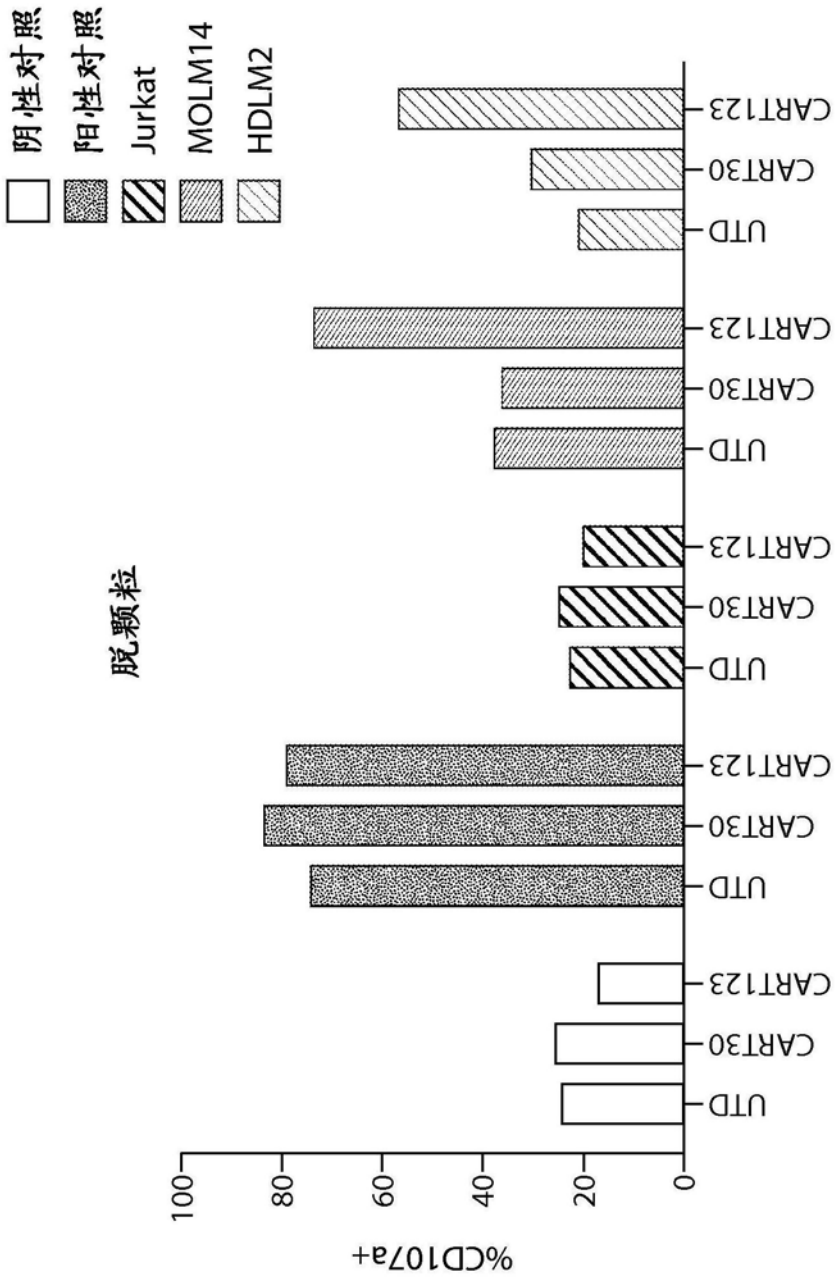

阴性对照
阳性对照
Jurkat
MOLM14
HDLM2
脱颗粒
%CD107a+
0
20
40
60
80
100
UTD
CART30
CART123
UTD
CART30
CART123
UTD
CART30
CART123
UTD
CART30
CART123
UTD
CART30
CART123

图15


阴性对照
阳性对照
Jurkat
MOLM14
HDLM2
TNF
% TNF+ve
IL-2
% IL2+ve
UTD
CART30
CART123
0
20
40
60

图16

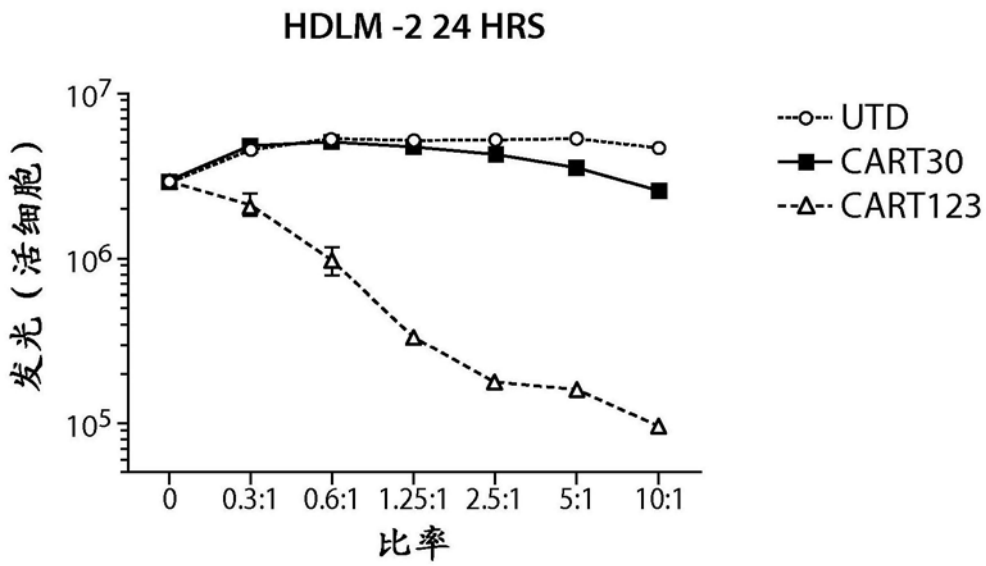

HDLM -2 24 HRS
发光（活细胞）
10^7
10^6
10^5
0
0.3:1
0.6:1
1.25:1
2.5:1
5:1
10:1
比率
UTD
CART30
CART123

图17

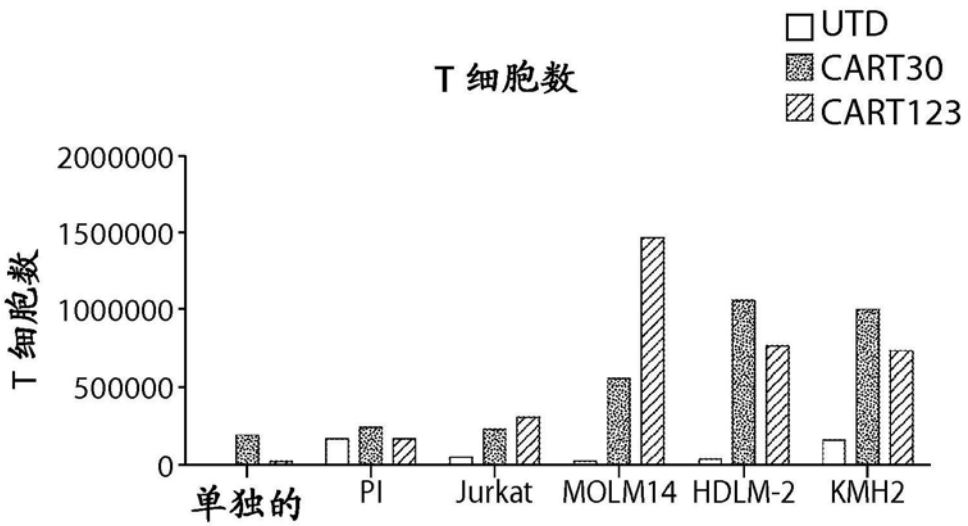

T 细胞数
UTD
CART30
CART123
T 细胞数
2000000
1500000
1000000
500000
0
单独的
PI
Jurkat
MOLM14
HDLM-2
KMH2

图18

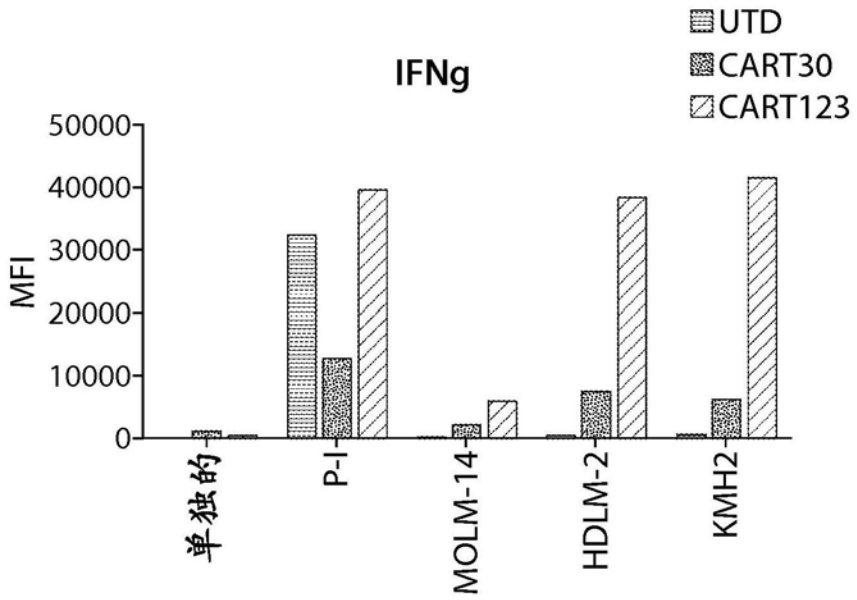

IFNg
UTD
CART30
CART123
MFI
50000
40000
30000
20000
10000
0
单独的
P-I
MOLM-14
HDLM-2
KMH2

图19A

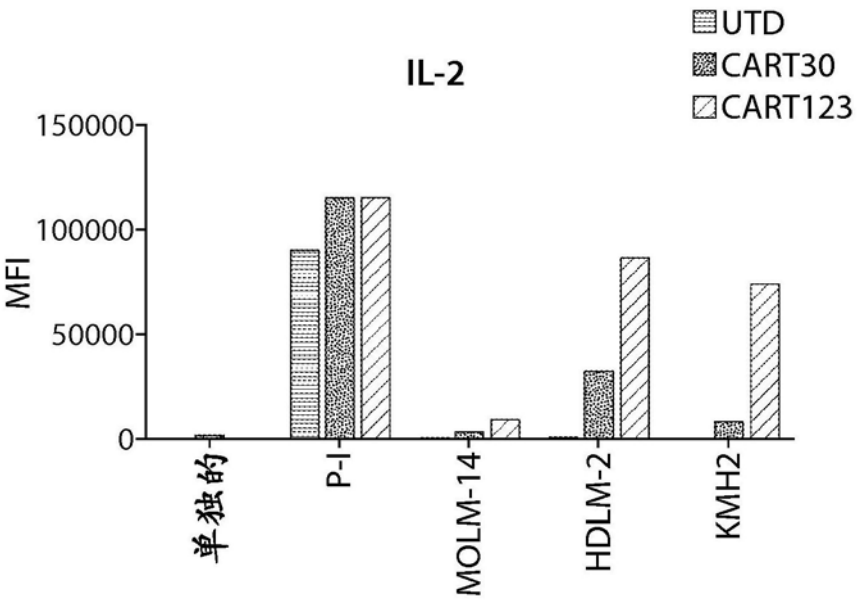

IL-2
UTD
CART30
CART123
MFI
150000
100000
50000
0
单独的
P-I
MOLM-14
HDLM-2
KMH2

图19B

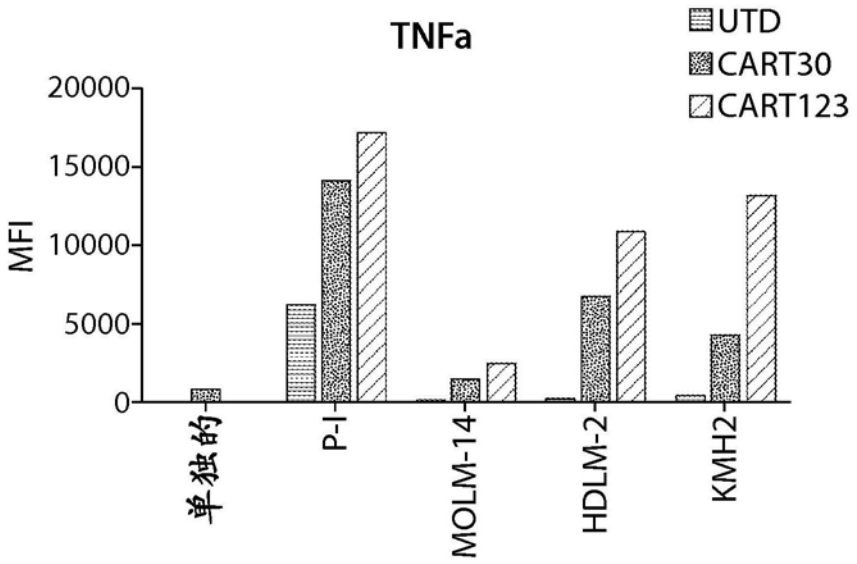

TNFa
UTD
CART30
CART123
MFI
20000
15000
10000
5000
0
单独的
P-I
MOLM-14
HDLM-2
KMH2

图19C

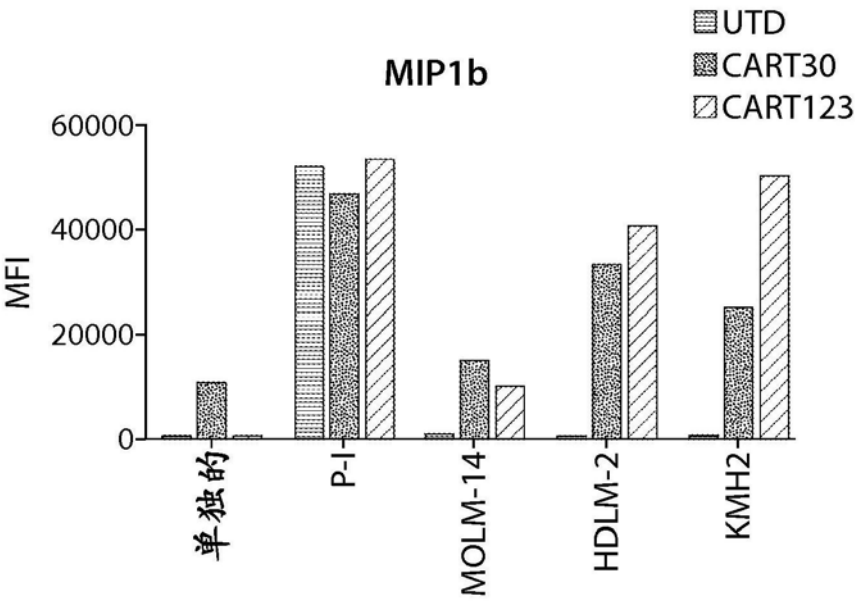

MIP1b
UTD
CART30
CART123
MFI
60000
40000
20000
0
单独的
P-I
MOLM-14
HDLM-2
KMH2

图19D

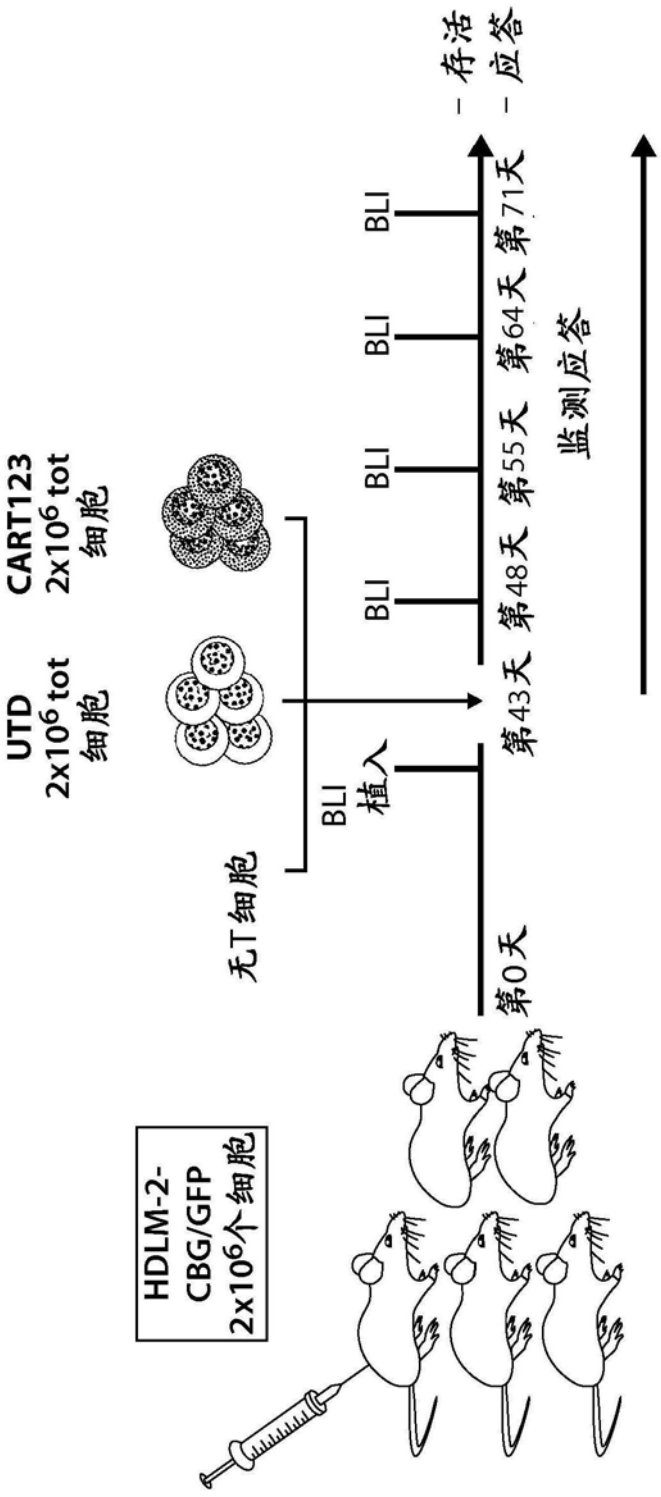

HDLM-2-CBG/GFP 2x10⁶个细胞
无T细胞
UTD 2x10⁶ tot 细胞
CART123 2x10⁶ tot 细胞
BLI 植入
第0天
第43天
第48天
第55天
第64天
第71天
BLI
BLI
BLI
BLI
监测应答
- 存活
- 应答

图20

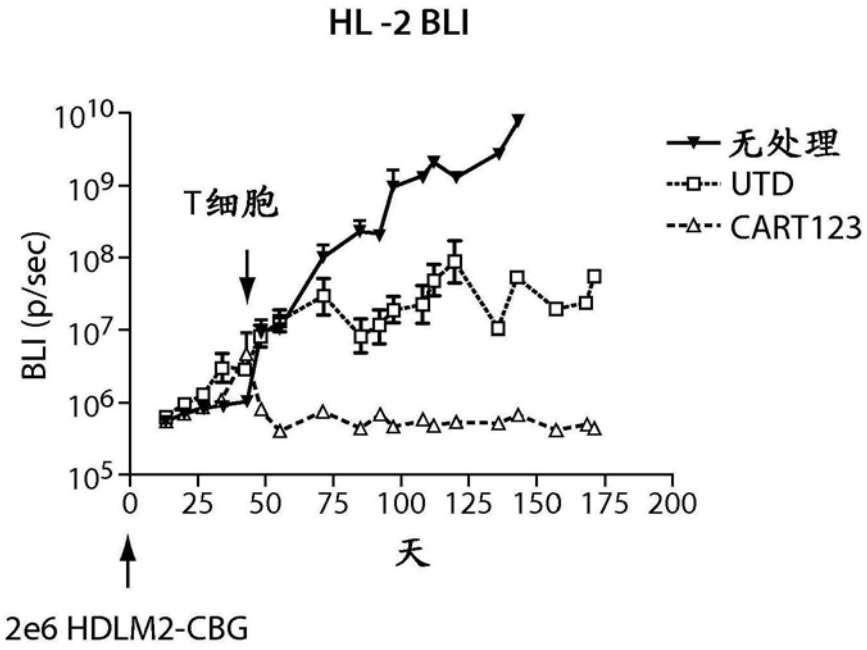

HL -2 BLI
BLI (p/sec)
10^{10}
10^{9}
10^{8}
10^{7}
10^{6}
10^{5}
T细胞
0 25 50 75 100 125 150 175 200
天
2e6 HDLM2-CBG
无处理
UTD
CART123

图21

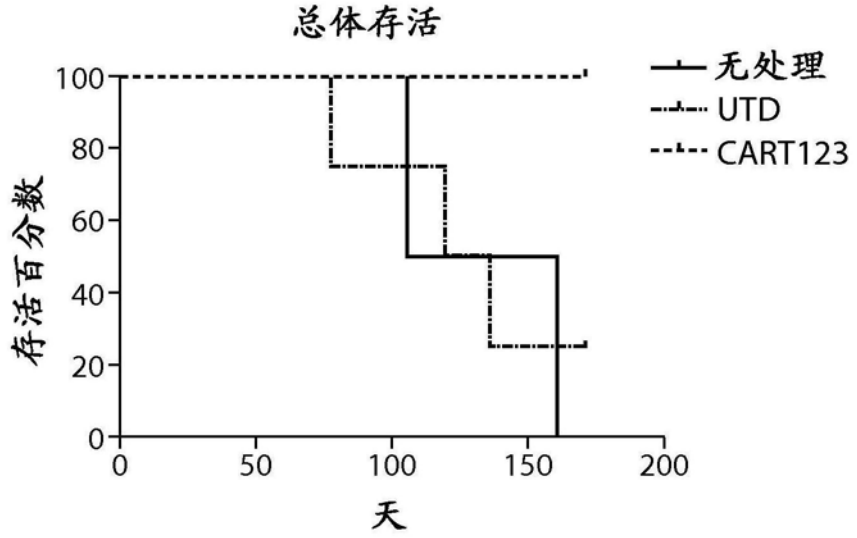

总体存活
存活百分数
100
80
60
40
20
0
0 50 100 150 200
天
无处理
UTD
CART123

图22

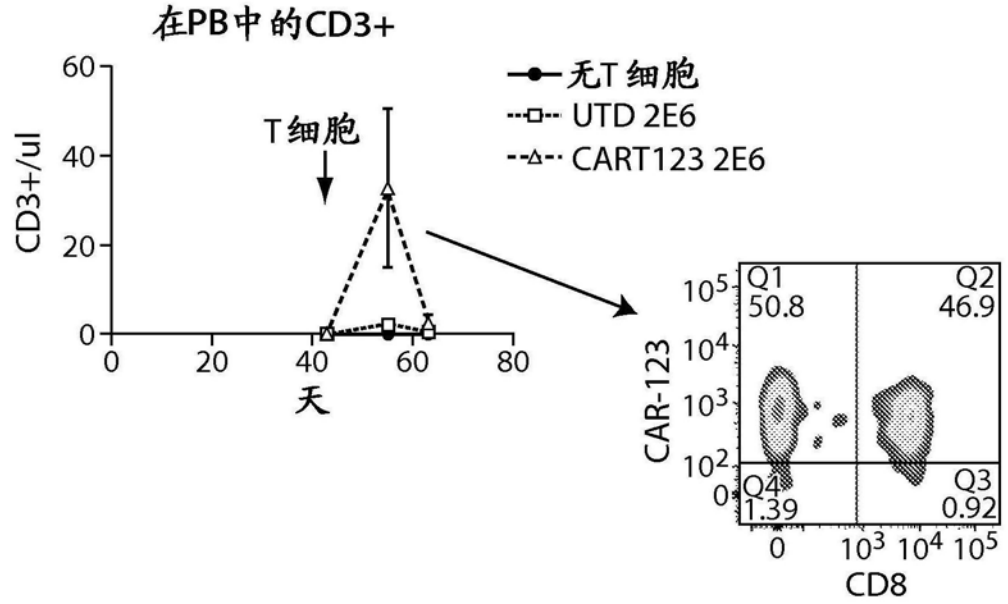

在PB中的CD3+
CD3+/ul
60
40
20
0
0
20
40
60
80
天
T细胞
无T细胞
UTD 2E6
CART123 2E6
CAR-123
CD8
Q1
50.8
Q2
46.9
Q4
1.39
Q3
0.92

图23

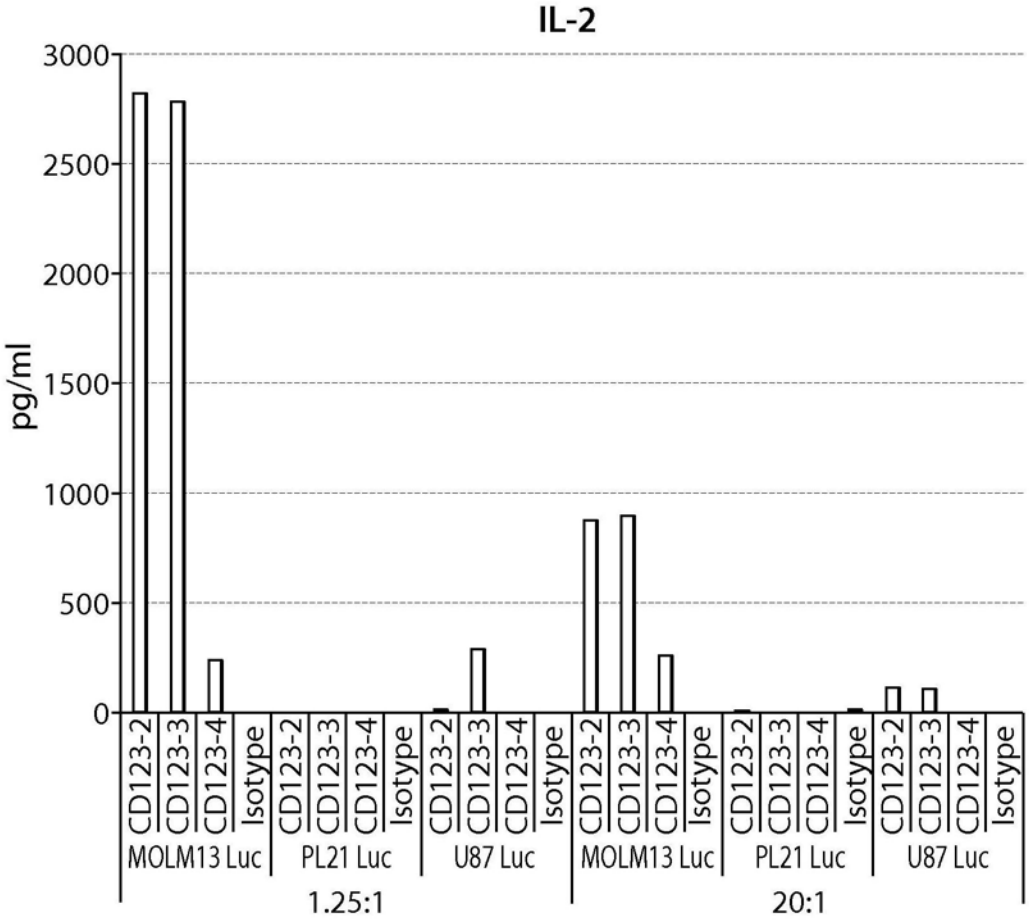

IL-2
pg/ml
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
CD123-2
CD123-3
CD123-4
Isotype
MOLM13 Luc
PL21 Luc
U87 Luc
1.25:1
20:1

图24A

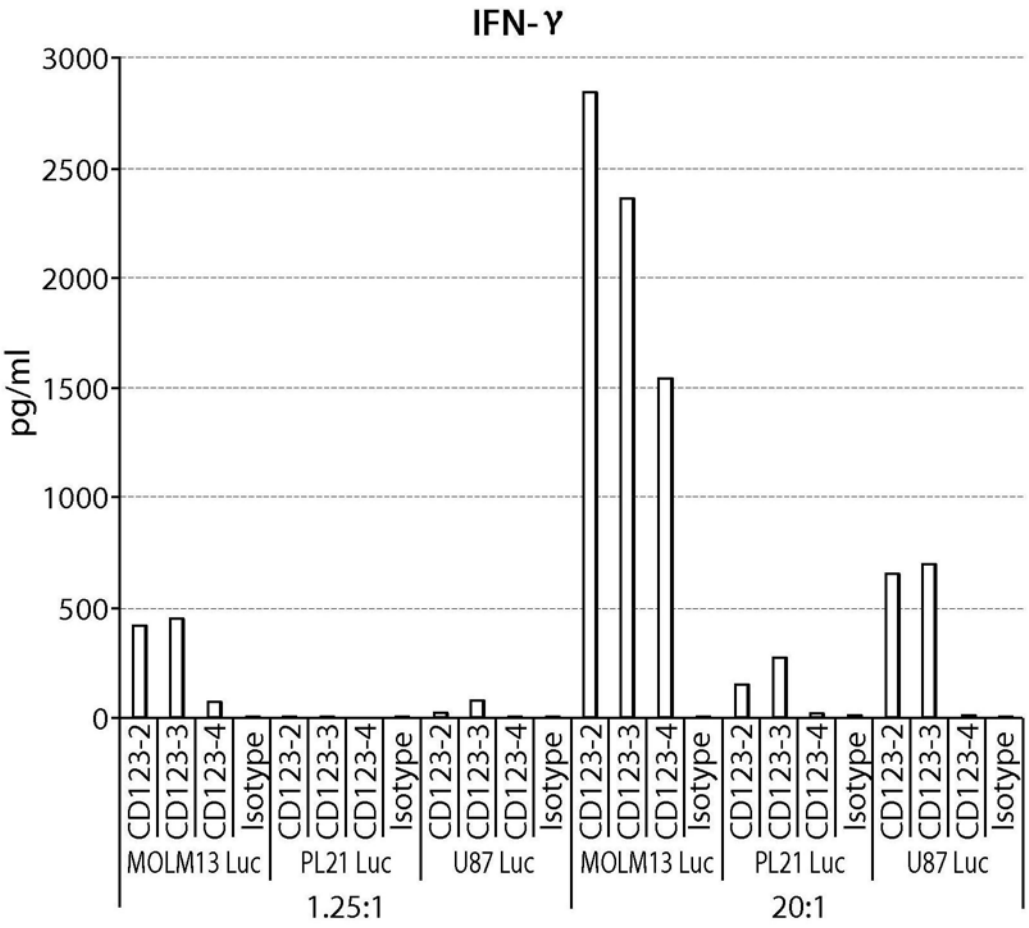

IFN-γ
pg/ml
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
CD123-2
CD123-3
CD123-4
Isotype
MOLM13 Luc
PL21 Luc
U87 Luc
1.25:1
20:1

图24B

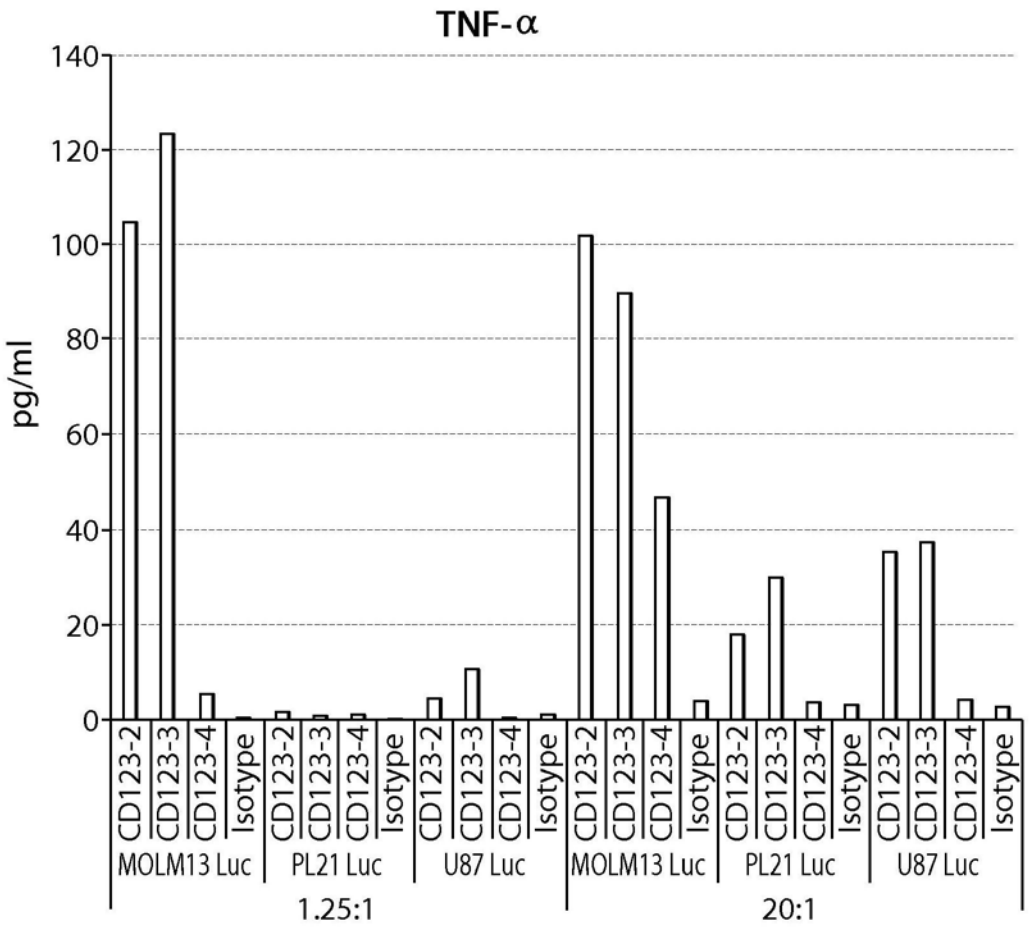

TNF-α
pg/ml
140
120
100
80
60
40
20
0
CD123-2
CD123-3
CD123-4
Isotype
MOLM13 Luc
PL21 Luc
U87 Luc
1.25:1
20:1

图24C

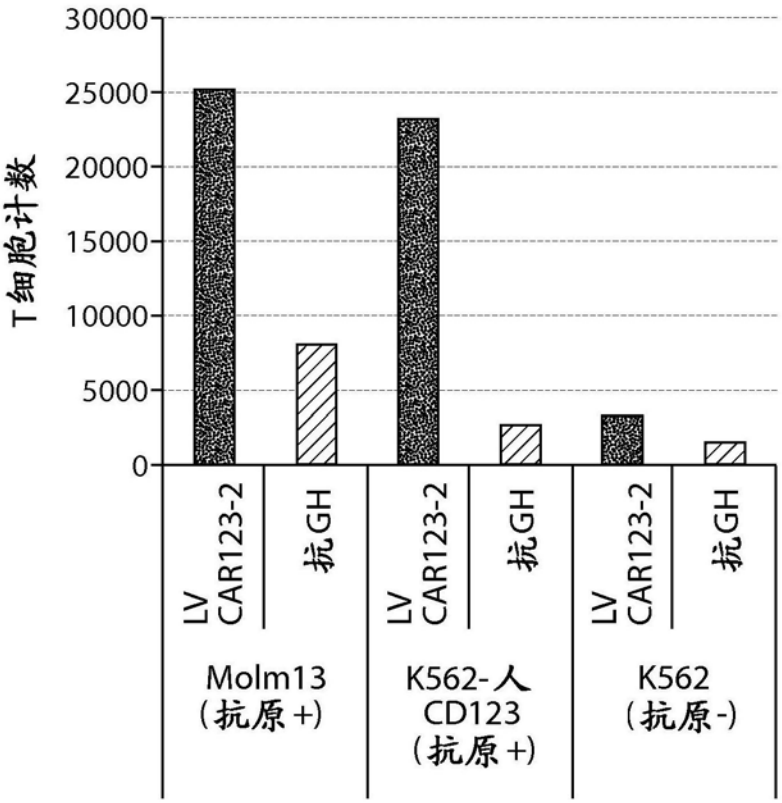

30000
25000
20000
15000
10000
5000
0
T细胞计数
LV
CAR123-2
抗GH
Molm13
(抗原+)
K562-人
CD123
(抗原+)
K562
(抗原-)

图25

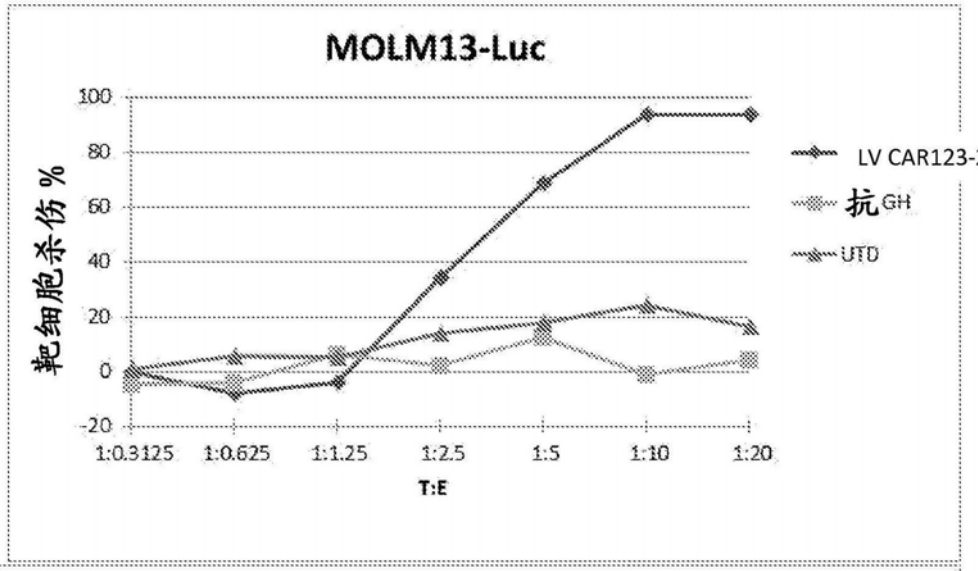


图 26A

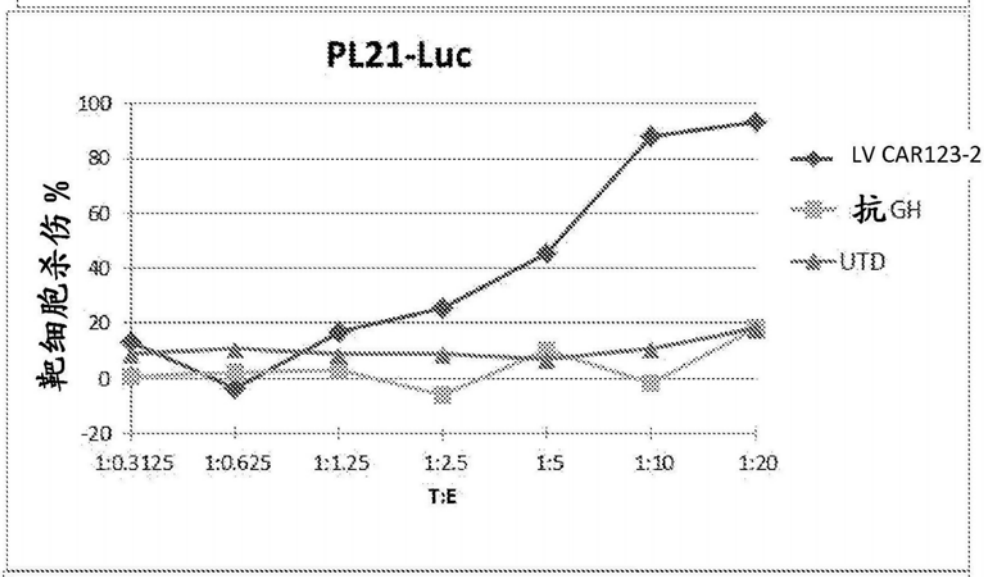


图 26B

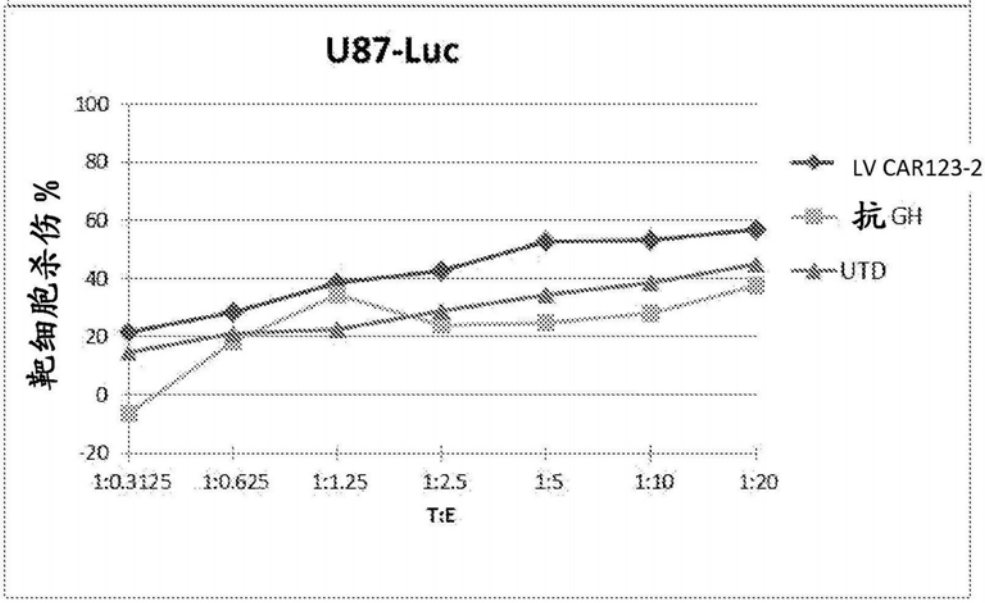


图 26C

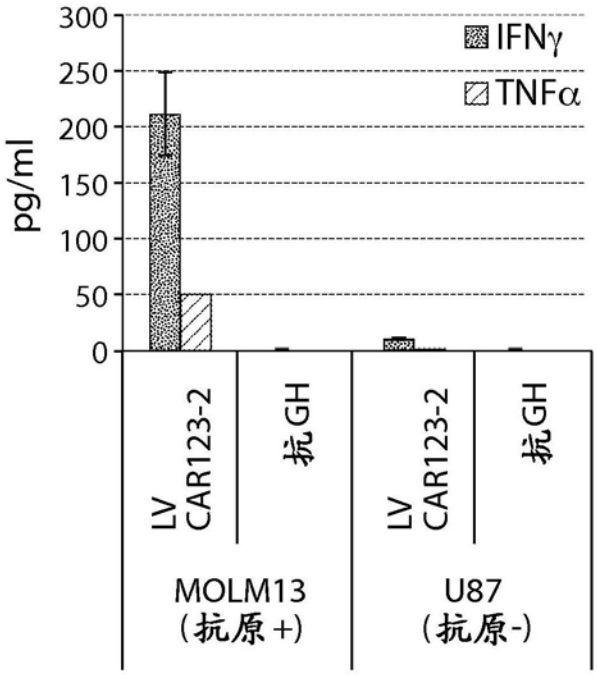

300
250
200
150
100
50
0
pg/ml
IFNγ
TNFα
LV
CAR123-2
抗GH
LV
CAR123-2
抗GH
MOLM13
(抗原+)
U87
(抗原-)

图27A

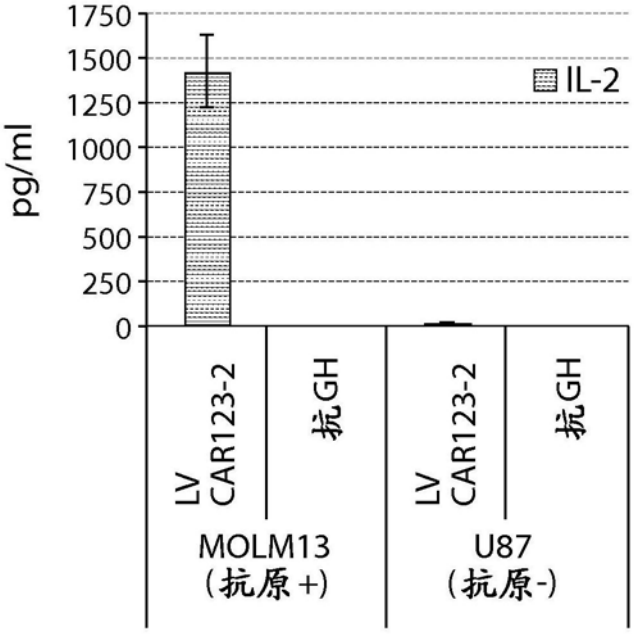

1750
1500
1250
1000
750
500
250
0
pg/ml
IL-2
LV
CAR123-2
抗GH
LV
CAR123-2
抗GH
MOLM13
(抗原+)
U87
(抗原-)

图27B

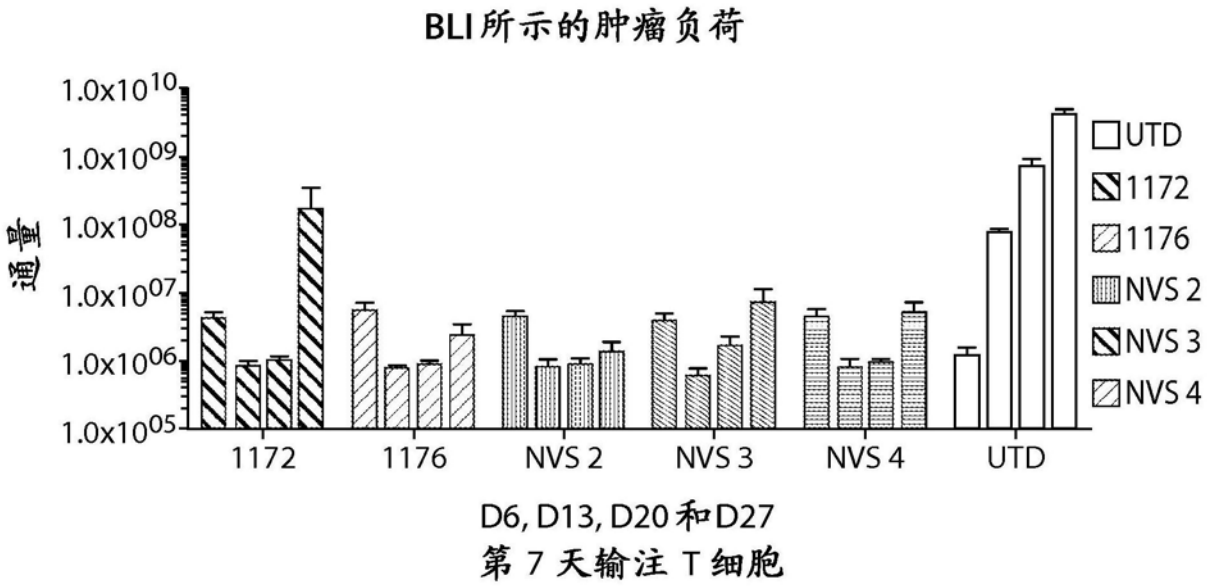

BLI所示的肿瘤负荷
1.0x10^10
1.0x10^09
1.0x10^08
1.0x10^07
1.0x10^06
1.0x10^05
通量
UTD
1172
1176
NVS 2
NVS 3
NVS 4
1172
1176
NVS 2
NVS 3
NVS 4
UTD
D6, D13, D20和D27
第 7 天输注 T 细胞

图28

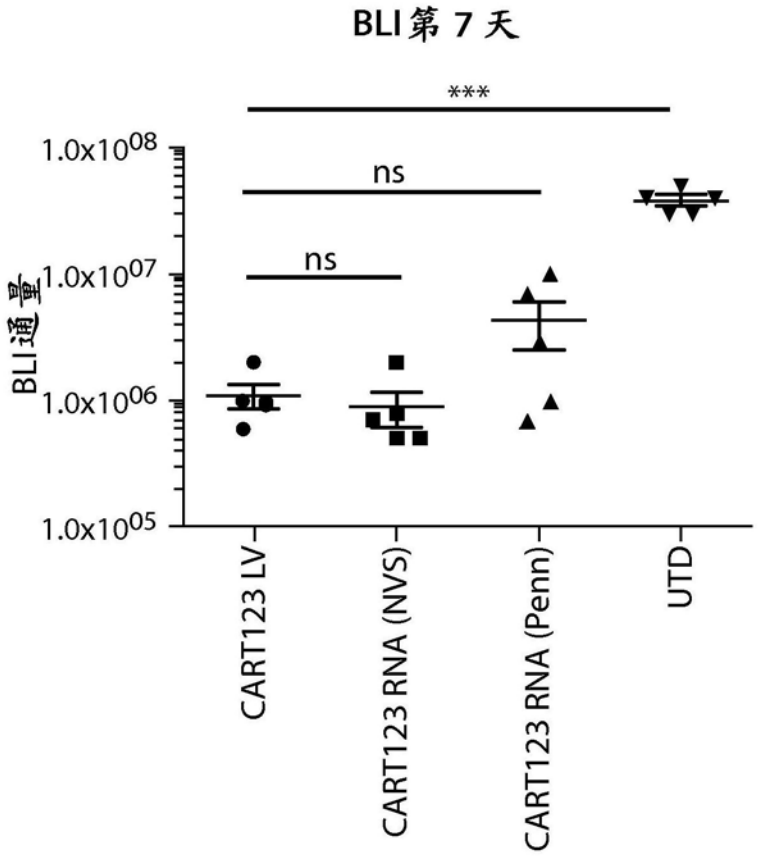

BLI第 7 天
***
ns
ns
1.0x10^08
1.0x10^07
1.0x10^06
1.0x10^05
BLI通量
CART123 LV
CART123 RNA (NVS)
CART123 RNA (Penn)
UTD

图29

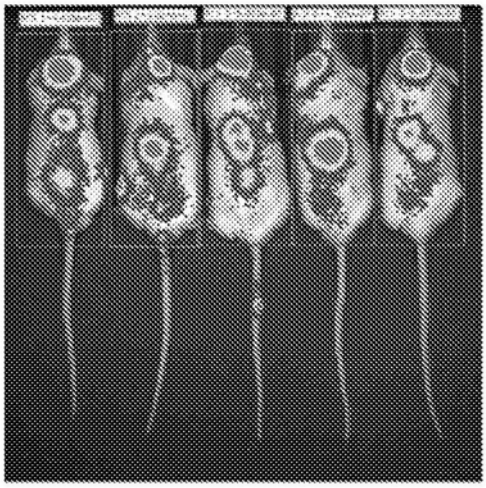


图30A

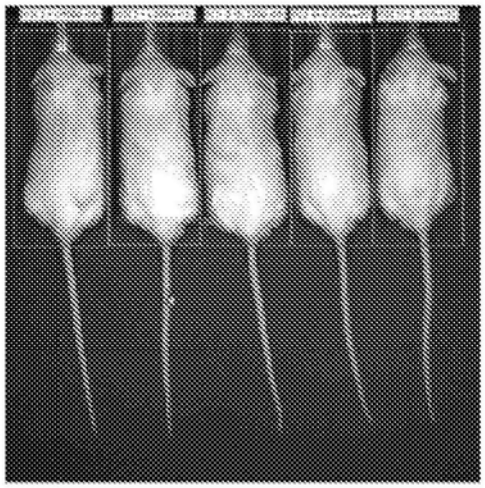


图30B

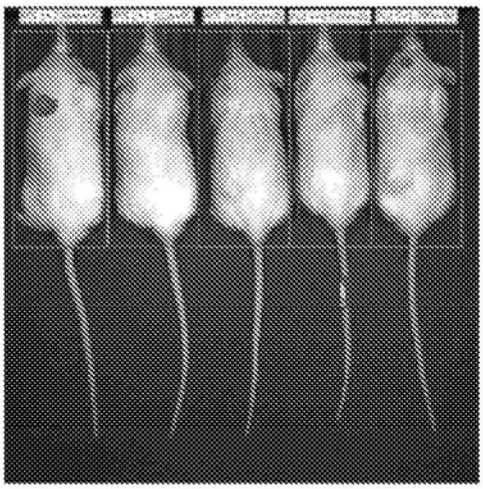


图30C

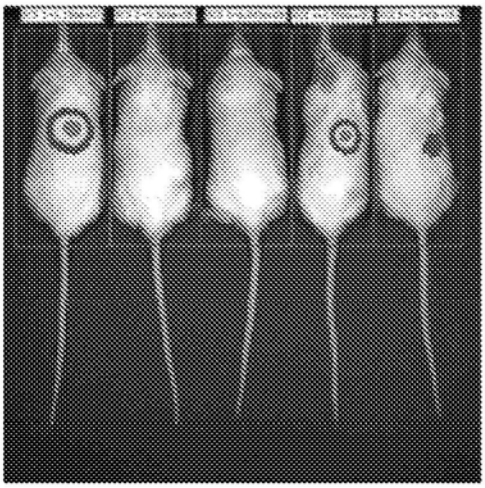


图30D

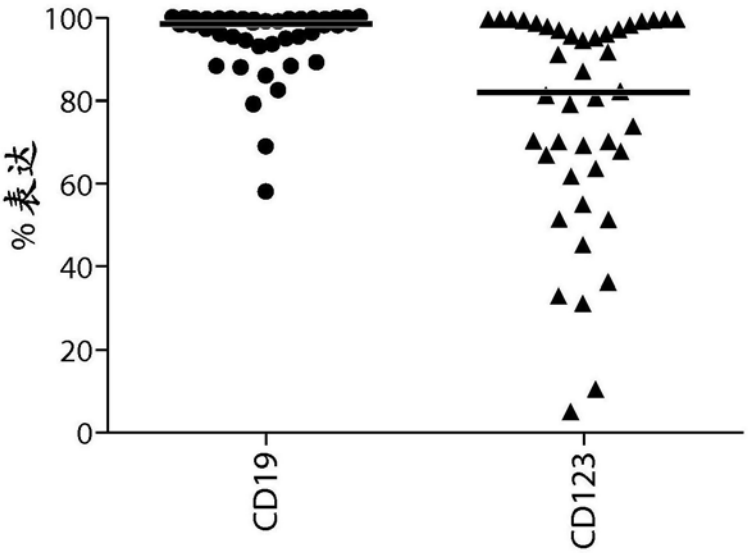

100
80
60
40
20
0
% 表达
CD19
CD123

图31A

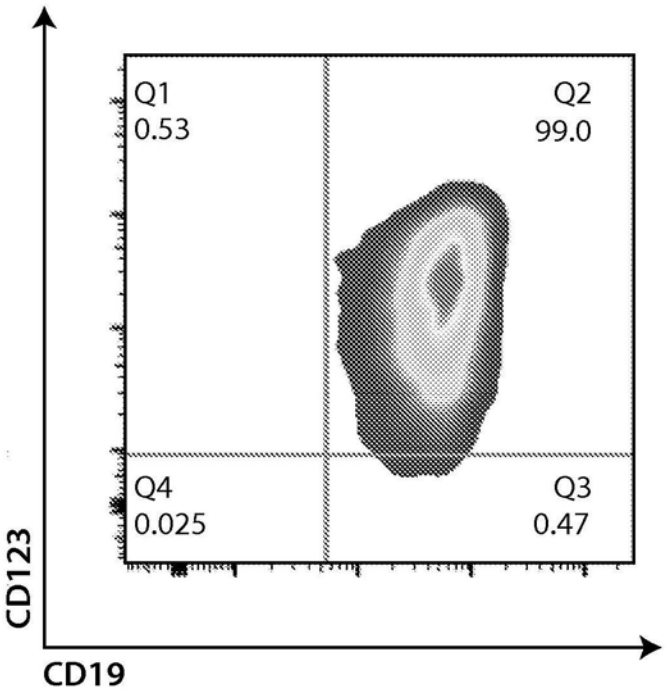

Q1
0.53
Q2
99.0
Q4
0.025
Q3
0.47
CD123
CD19

图31B

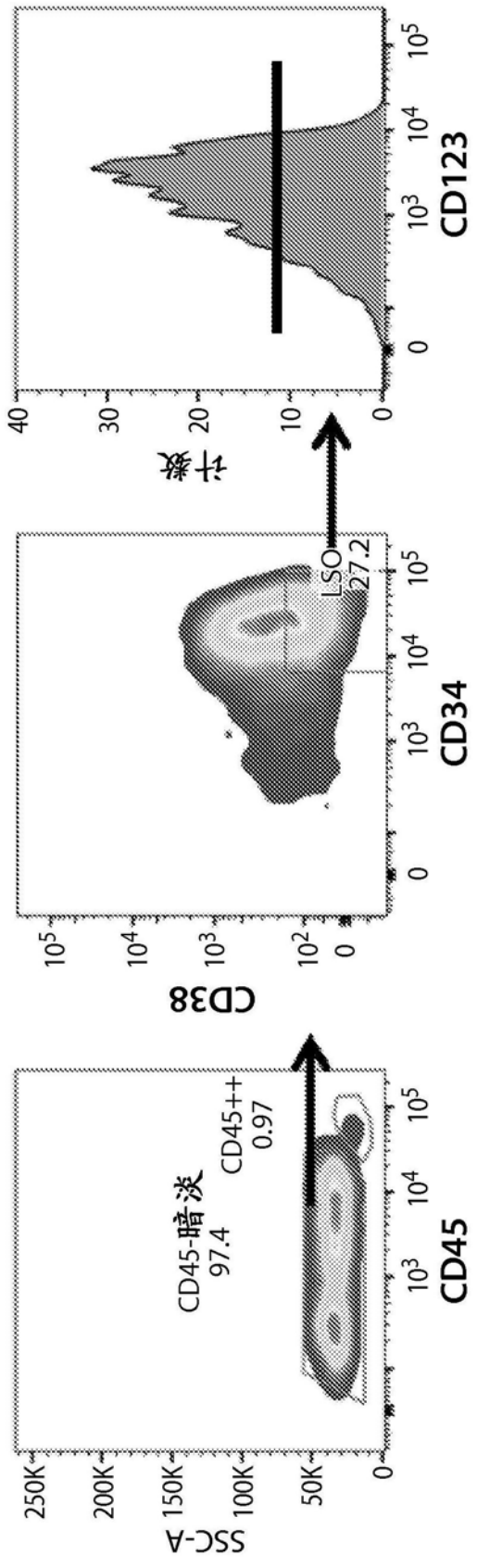
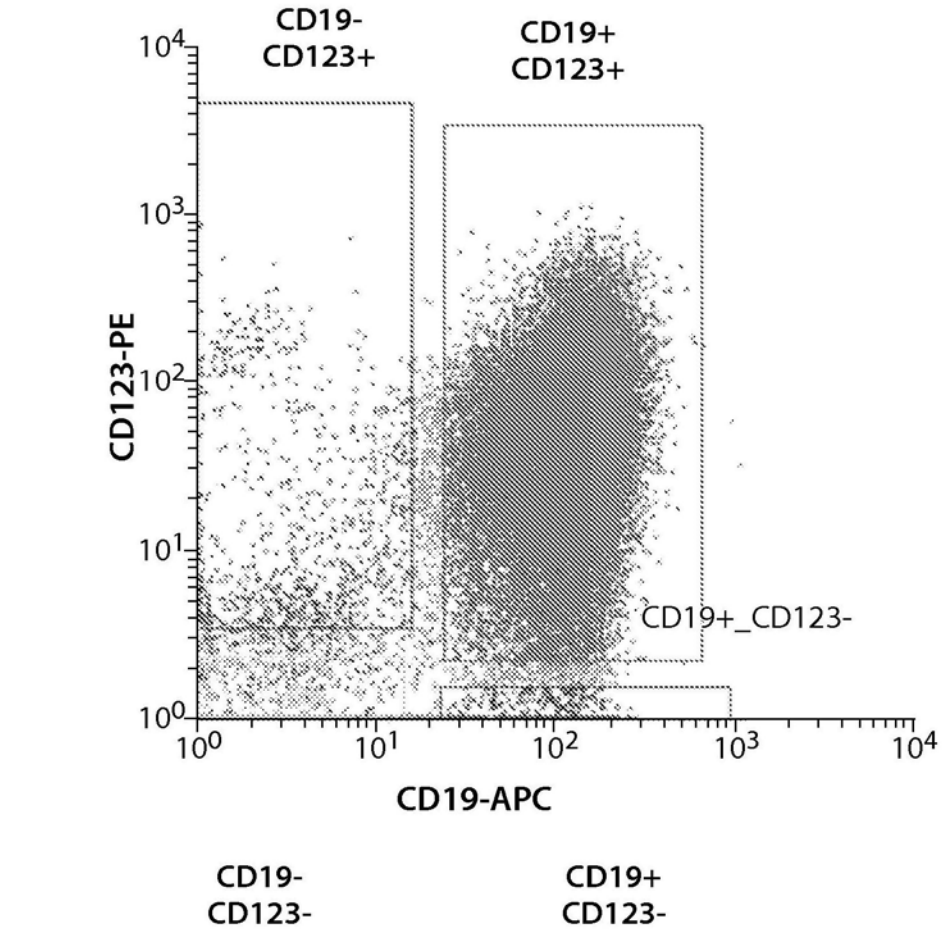

SSC-A
250K
200K
150K
100K
50K
0
CD45
10^3
10^4
10^5
CD45-暗淡
97.4
CD45++
0.97
CD38
10^5
10^4
10^3
10^2
0
CD34
LSO
27.2
计数
40
30
20
10
0
CD123

图31C


CD19-
CD123+
CD19+
CD123+
CD123-PE
CD19+_CD123-
CD19-APC
CD19-
CD123-
CD19+
CD123-

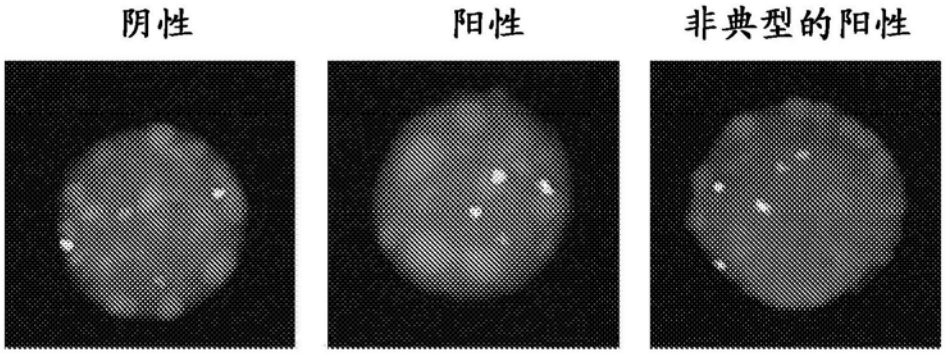

阴性
阳性
非典型的阳性

图31D

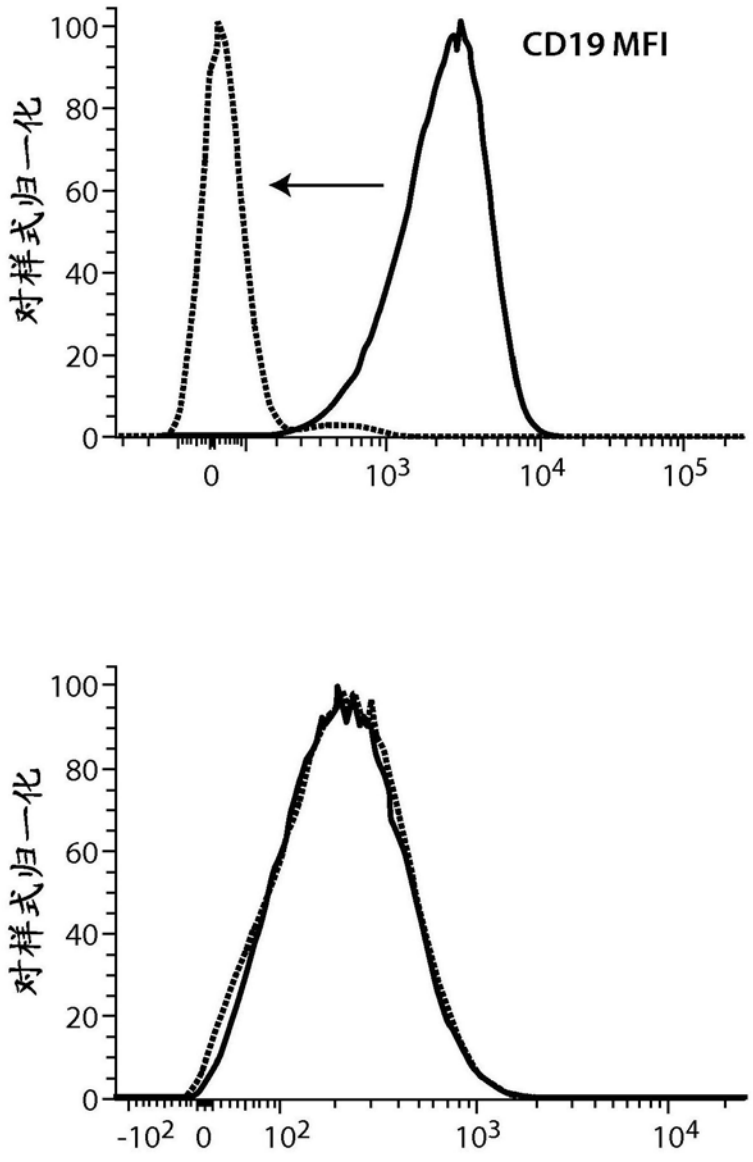

CD19 MFI
对样式归一化
100
80
60
40
20
0
0
10^3
10^4
10^5
对样式归一化
100
80
60
40
20
0
-10^2
0
10^2
10^3
10^4

图31E

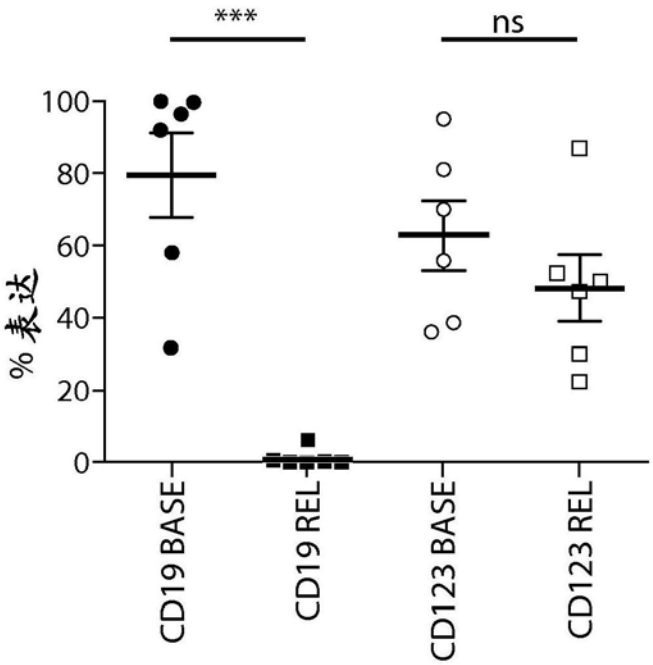

***
ns
100
80
60
40
20
0
% 表达
CD19 BASE
CD19 REL
CD123 BASE
CD123 REL

图31F

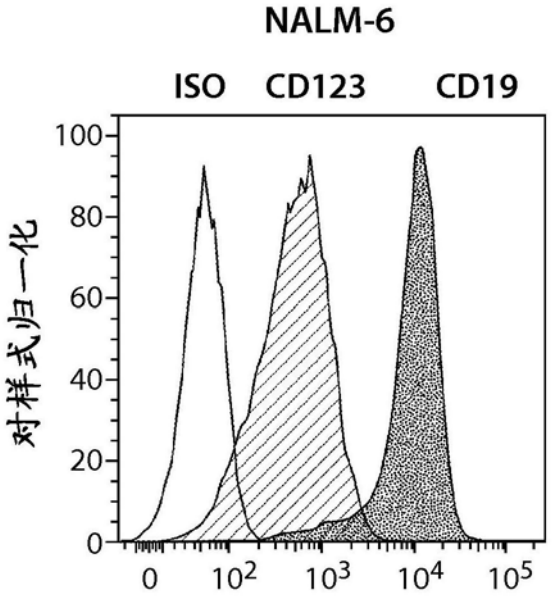

NALM-6
ISO
CD123
CD19
100
80
60
40
20
0
对样式归一化
0
10^2
10^3
10^4
10^5

图32A

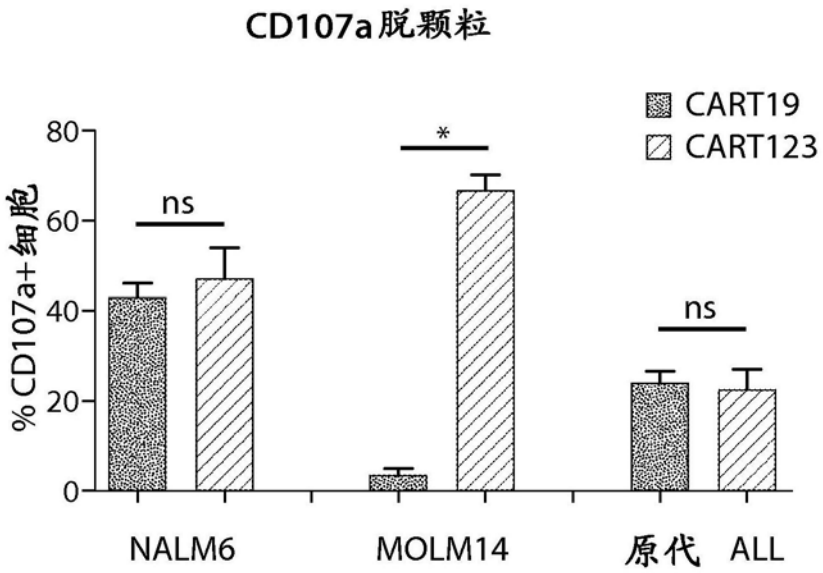

CD107a脱颗粒
CART19
CART123
% CD107a+细胞
80
60
40
20
0
ns
*
ns
NALM6
MOLM14
原代 ALL

图32B

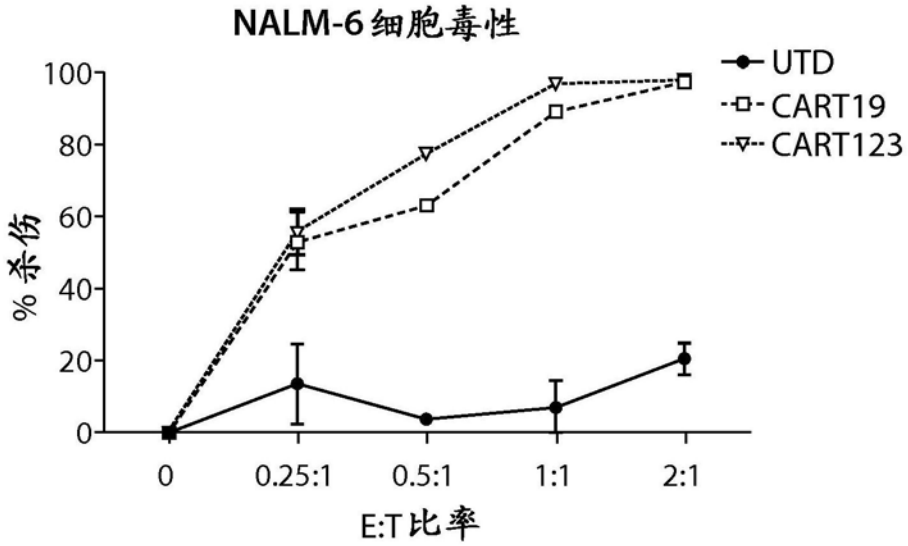

NALM-6细胞毒性
UTD
CART19
CART123
% 杀伤
100
80
60
40
20
0
0
0.25:1
0.5:1
1:1
2:1
E:T比率

图32C

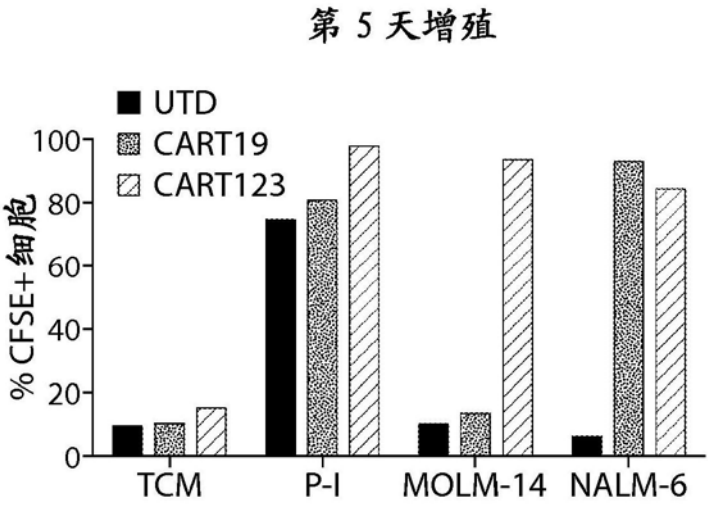

第 5 天增殖
UTD
CART19
CART123
% CFSE+细胞
100
80
60
40
20
0
TCM
P-I
MOLM-14
NALM-6

图32D

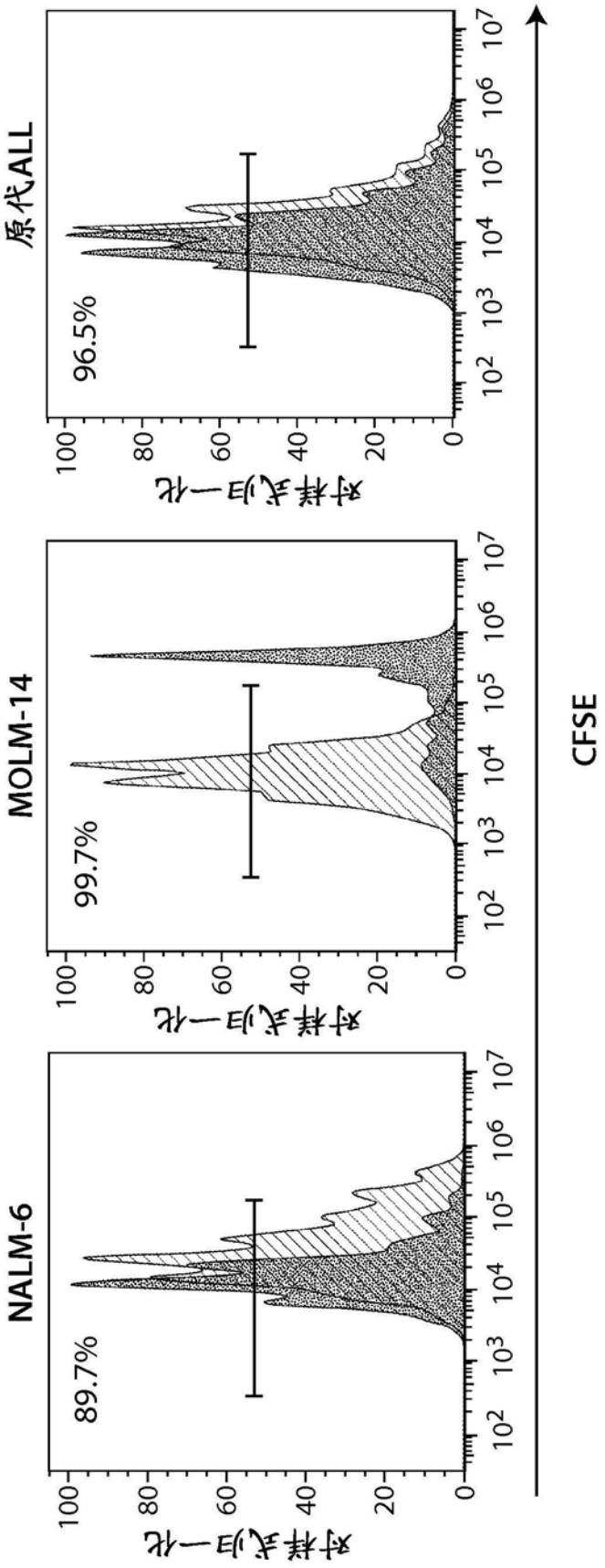


图32E

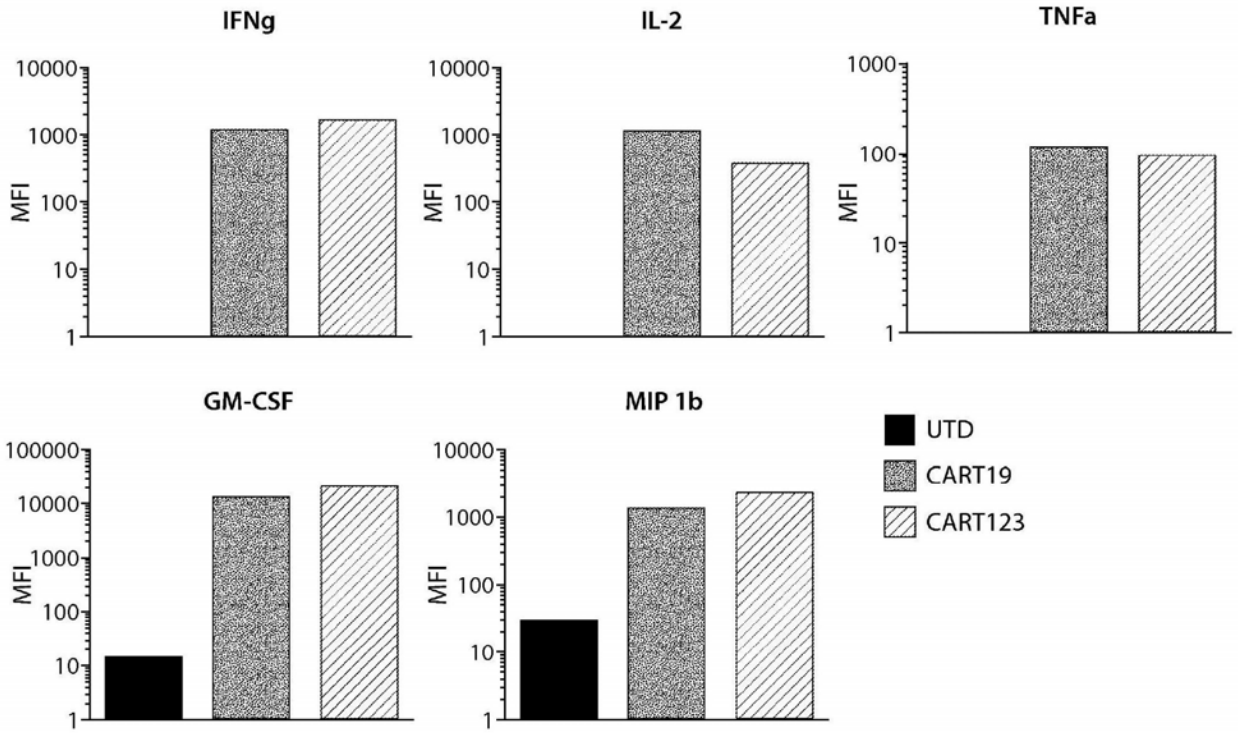

IFNg
IL-2
TNFa
GM-CSF
MIP 1b
MFI
10000
1000
100
10
1
100000
UTD
CART19
CART123

图32F

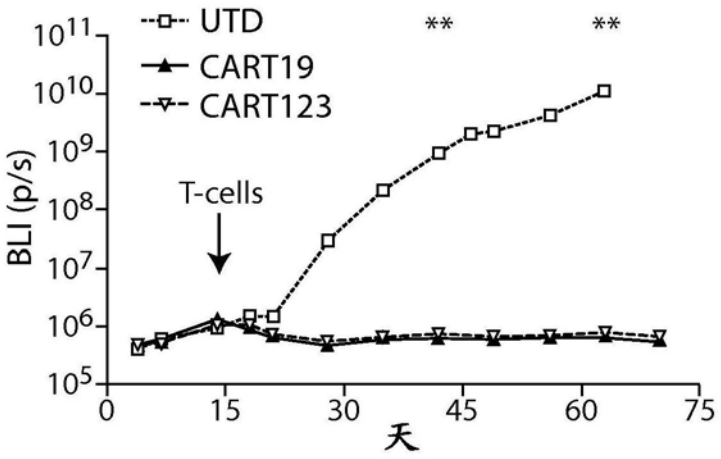

UTD
CART19
CART123
**
**
T-cells
BLI (p/s)
10^{11}
10^{10}
10^{9}
10^{8}
10^{7}
10^{6}
10^{5}
0
15
30
45
60
75
天

图33A

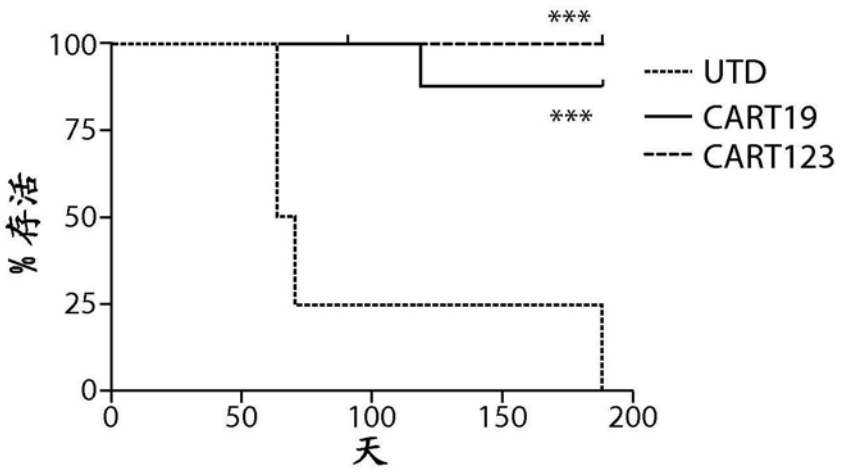

***
***
UTD
CART19
CART123
% 存活
100
75
50
25
0
0
50
100
150
200
天

图33B

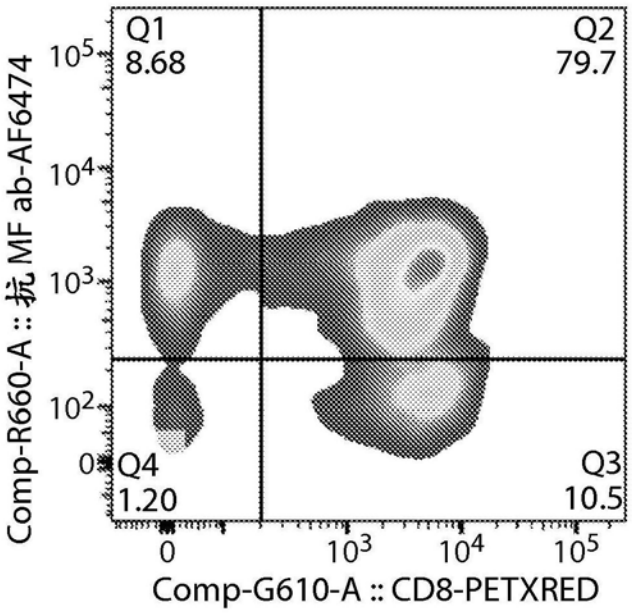

Q1
8.68
Q2
79.7
Q4
1.20
Q3
10.5
Comp-R660-A :: 抗 MF ab-AF6474
Comp-G610-A :: CD8-PETXRED
0
10^2
10^3
10^4
10^5

图33C

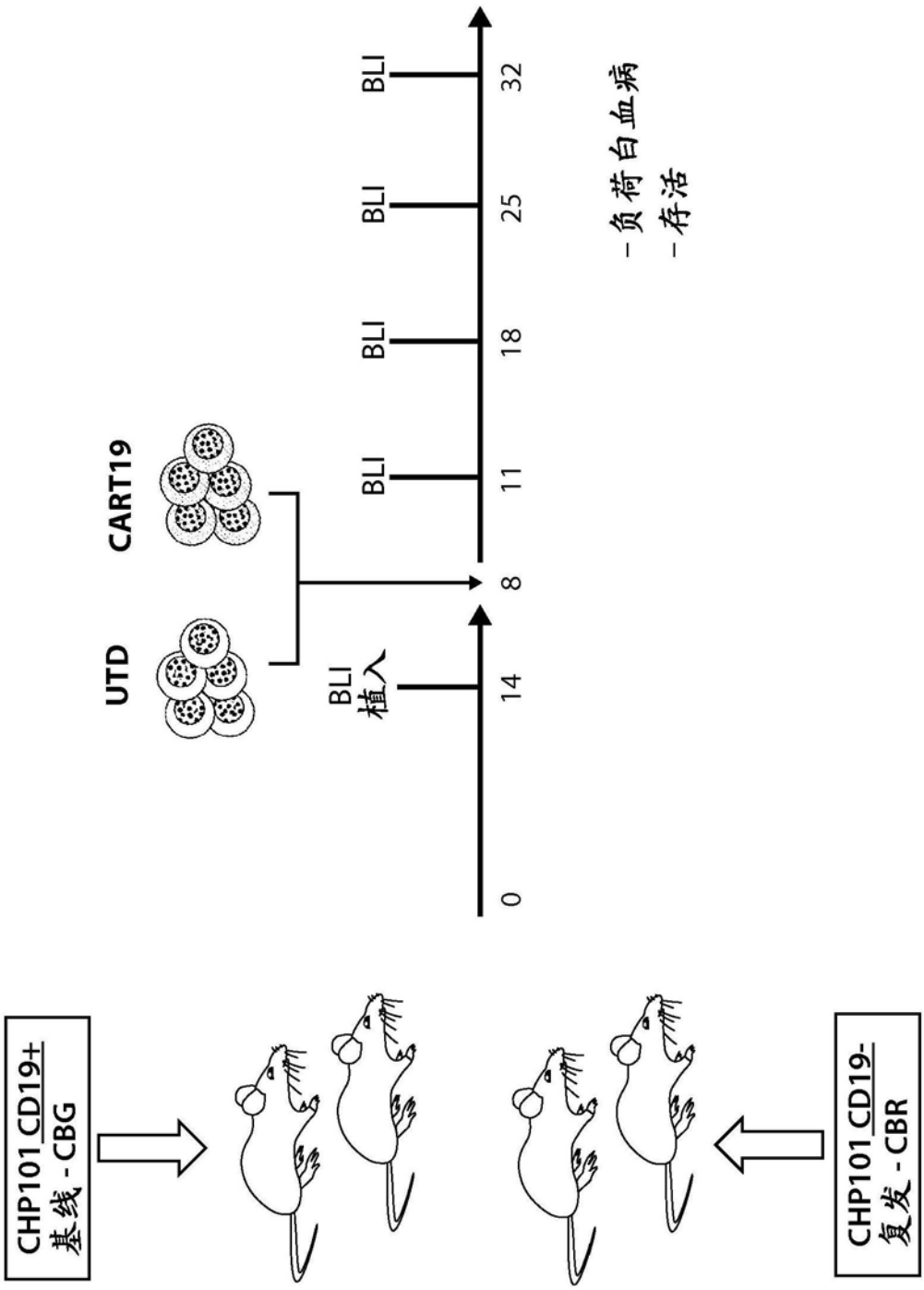

CHP101 CD19+
基线 - CBG
CHP101 CD19-
复发 - CBR
UTD
CART19
BLI
植入
0
14
8
11
18
25
32
BLI
BLI
BLI
BLI
- 负荷白血病
- 存活

图34A

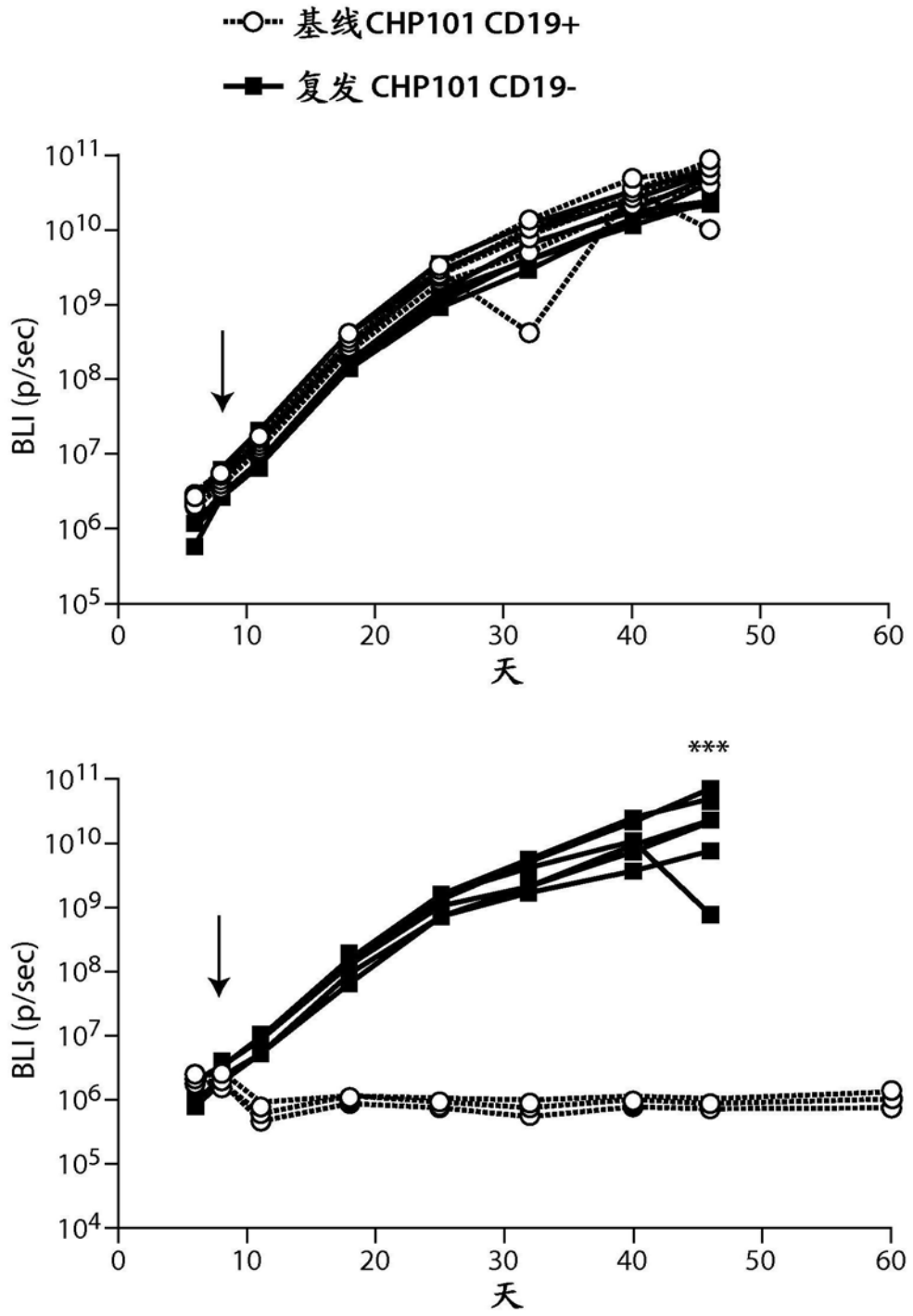


图34B

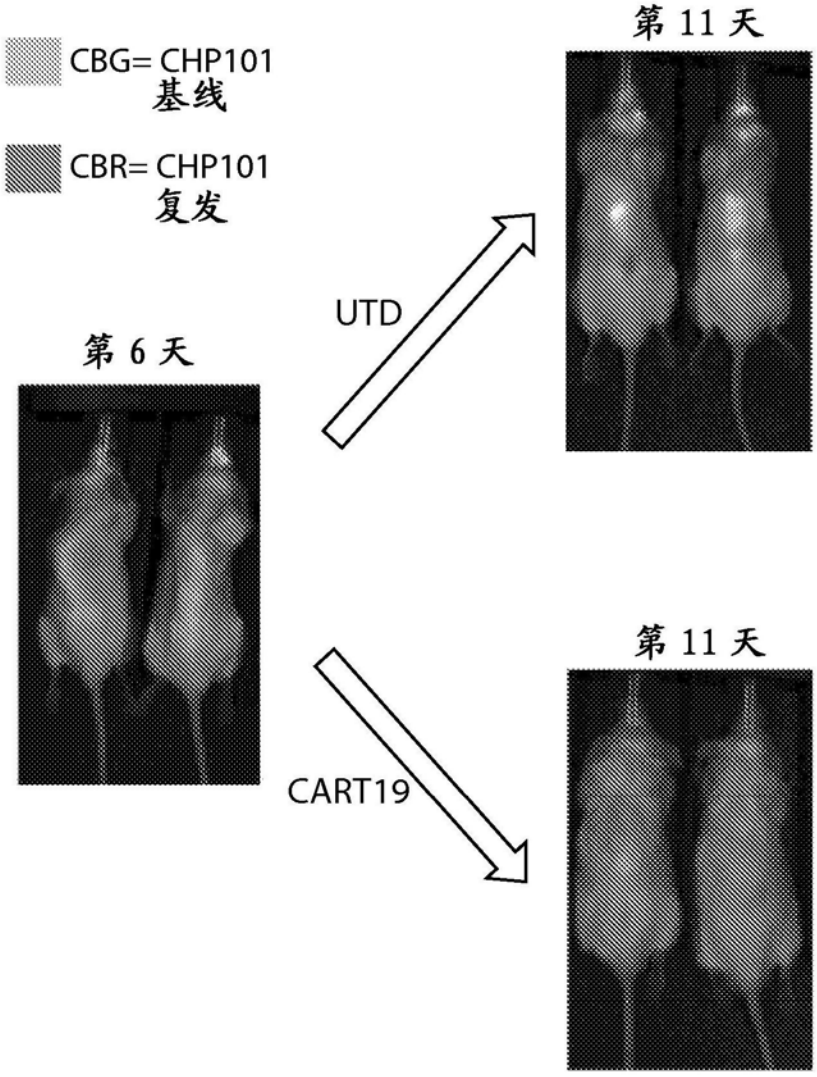


图34C

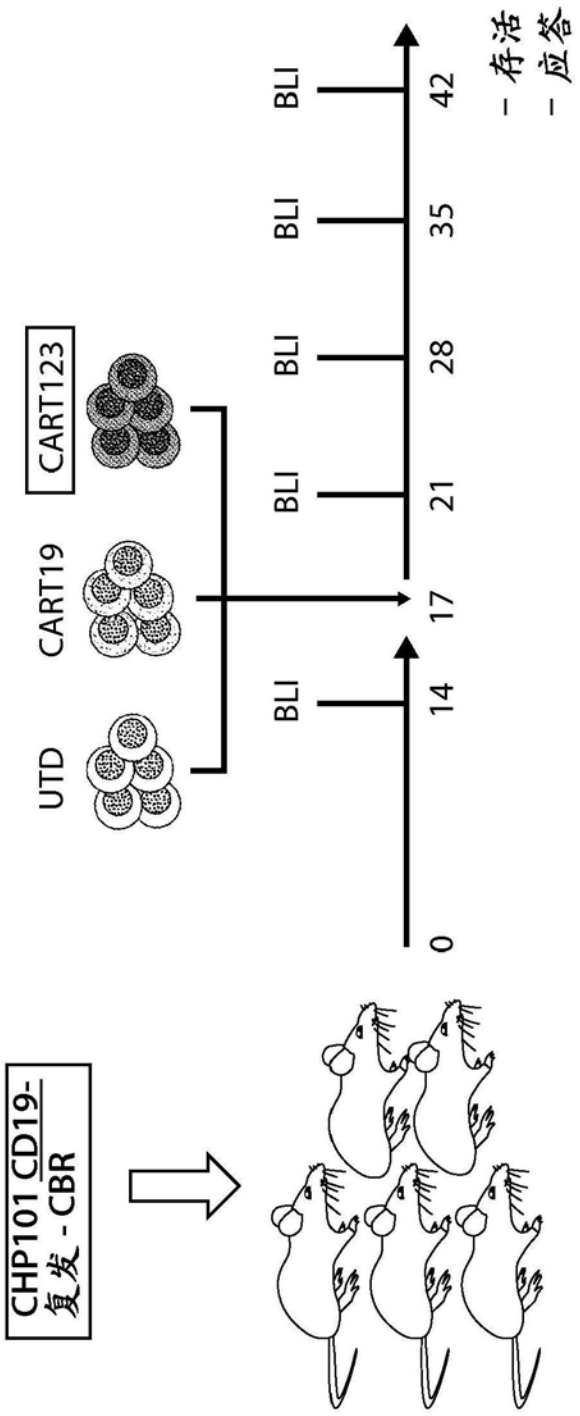

CHP101 CD19-
复发 - CBR
UTD
CART19
CART123
BLI
BLI
BLI
BLI
BLI
0
14
17
21
28
35
42
- 存活
- 应答

图34D

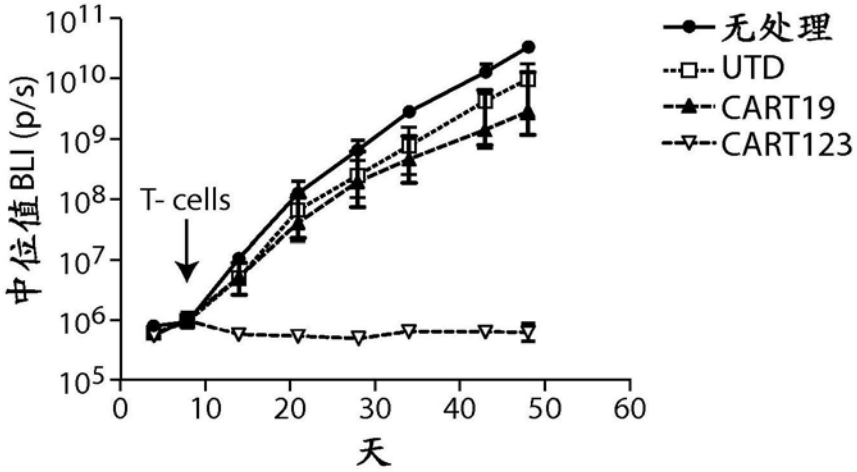

中位值BLI (p/s)
10^{11}
10^{10}
10^{9}
10^{8}
10^{7}
10^{6}
10^{5}
T- cells
0
10
20
30
40
50
60
天
无处理
UTD
CART19
CART123

图34E

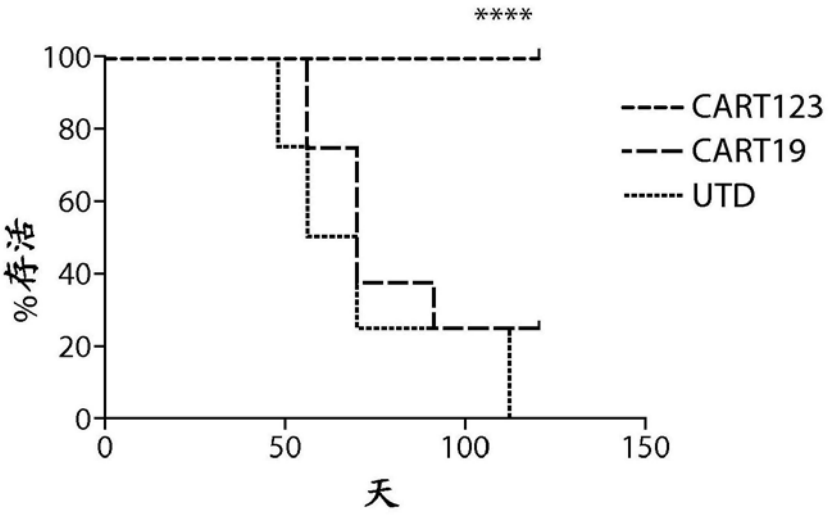

****
%存活
100
80
60
40
20
0
0
50
100
150
天
CART123
CART19
UTD

图34F

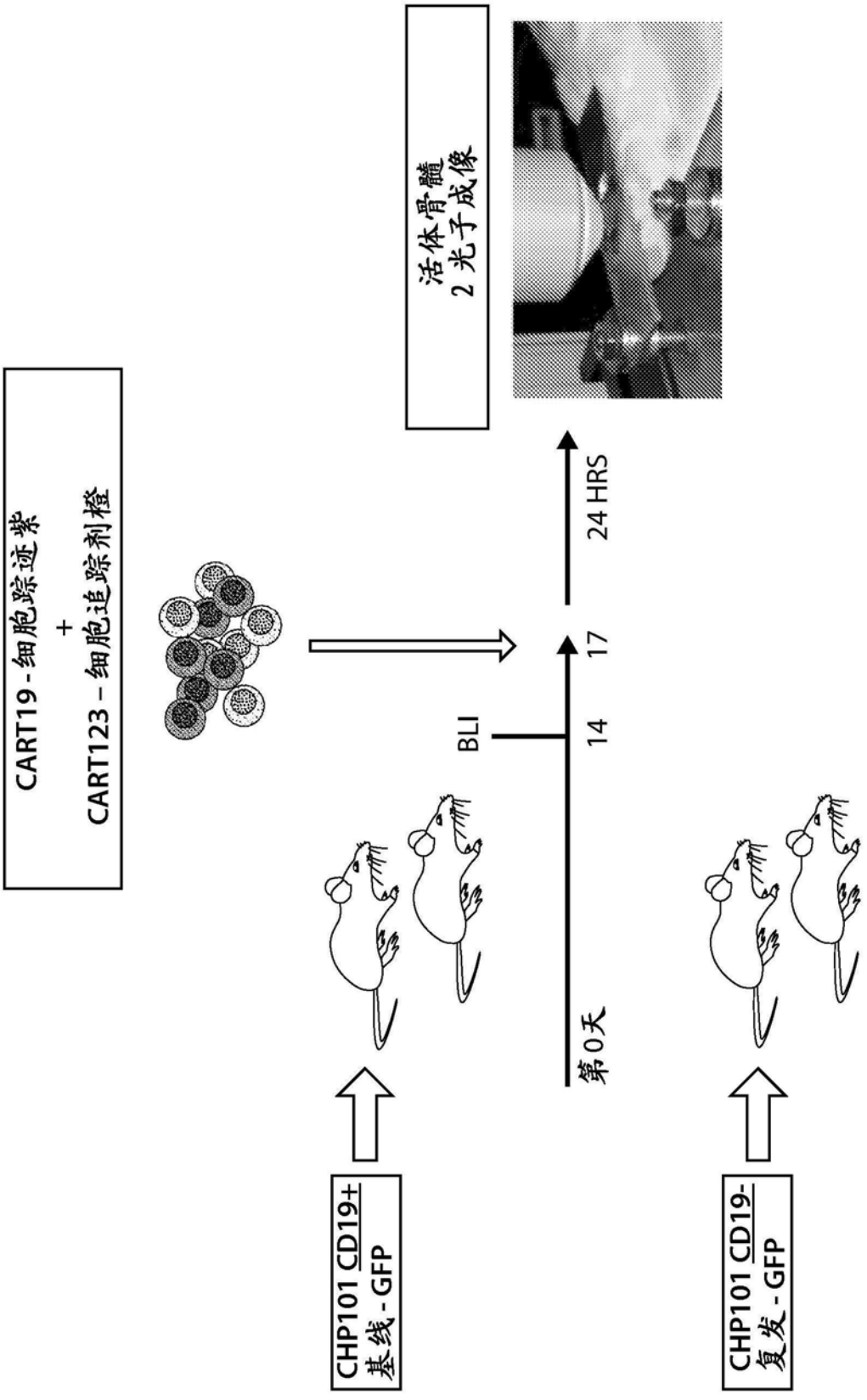

CART19 - 细胞踪迹紫
+
CART123 – 细胞追踪剂橙
活体骨髓
2 光子成像
BLI
24 HRS
17
14
第0天
CHP101 CD19+
基线 - GFP
CHP101 CD19-
复发 - GFP

图35A

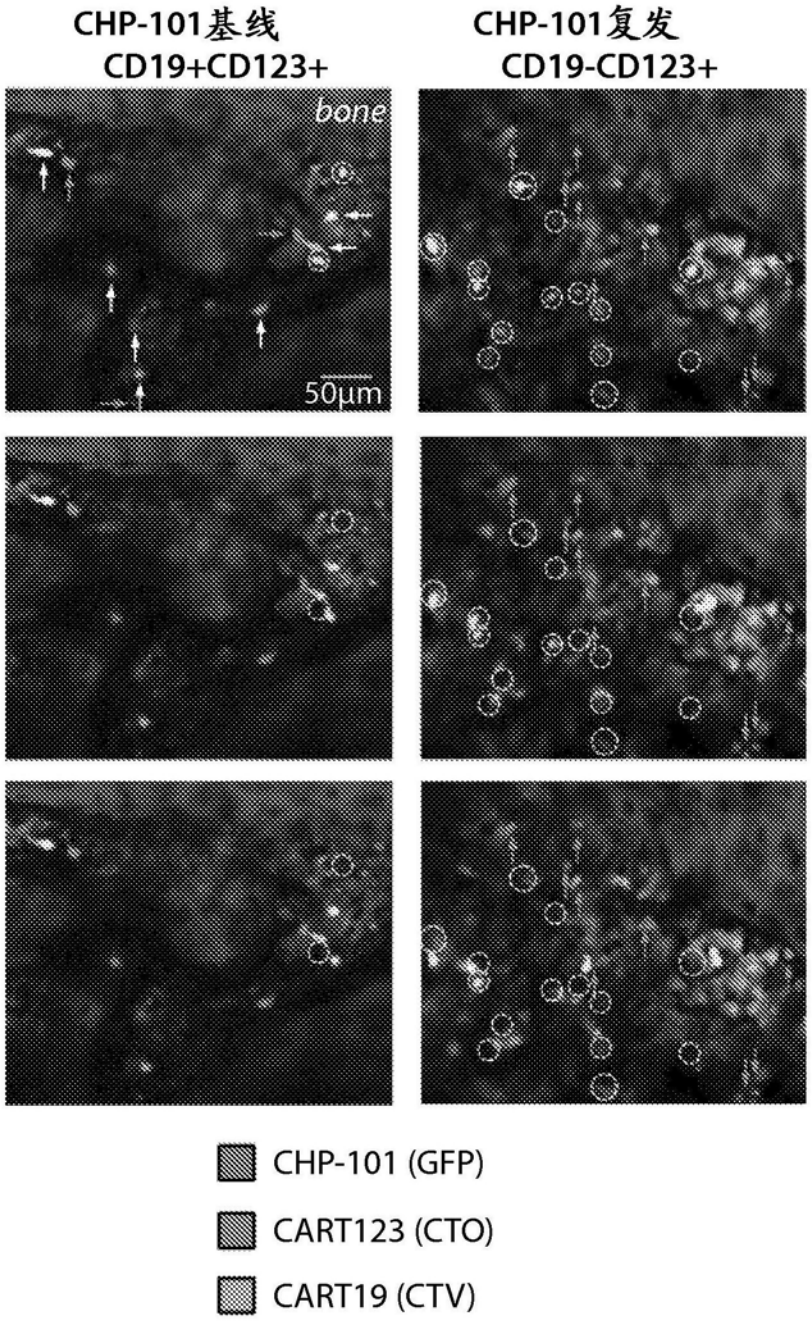

CHP-101基线
CD19+CD123+
CHP-101复发
CD19-CD123+
bone
50μm
CHP-101 (GFP)
CART123 (CTO)
CART19 (CTV)

图35B

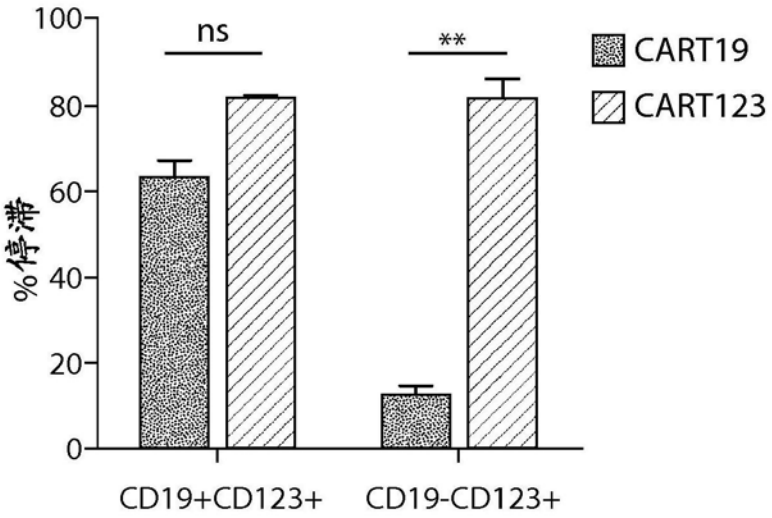


图35C

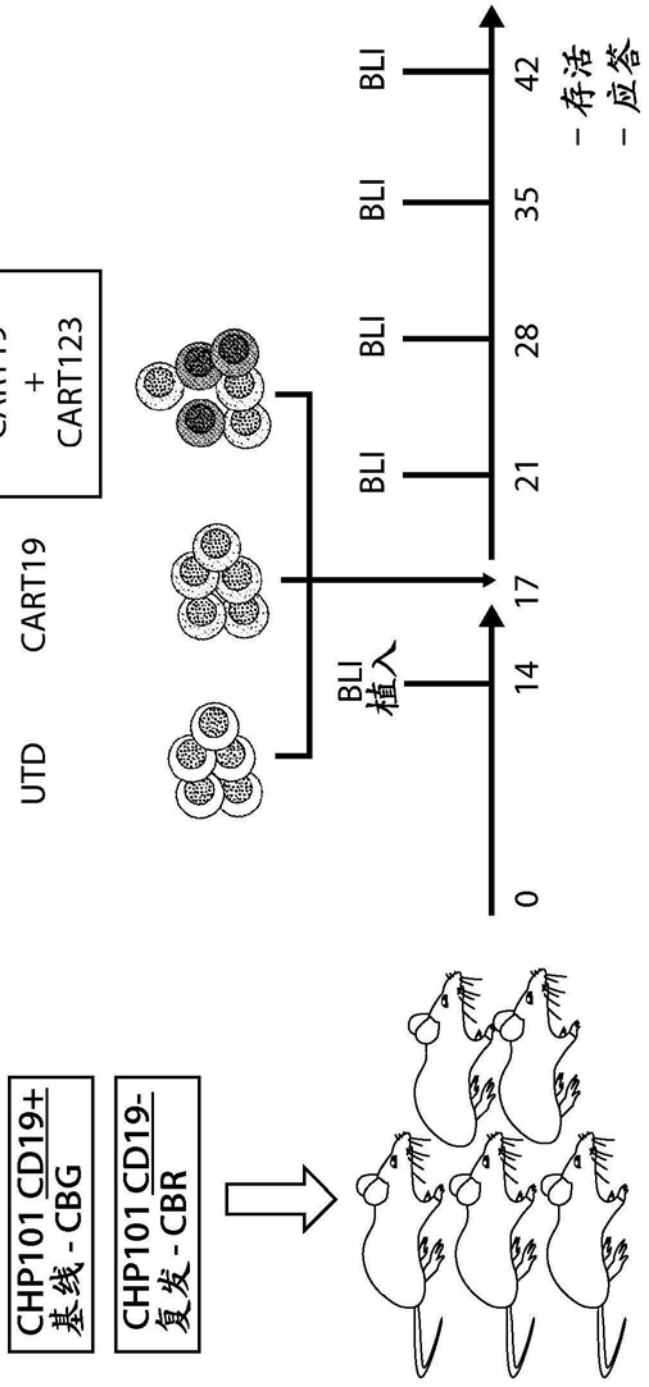

CHP101 CD19+
基线 - CBG
CHP101 CD19-
复发 - CBR
UTD
CART19
CART19
+
CART123
BLI
植入
0
14
17
21
28
35
42
BLI
BLI
BLI
BLI
- 存活
- 应答

图36A

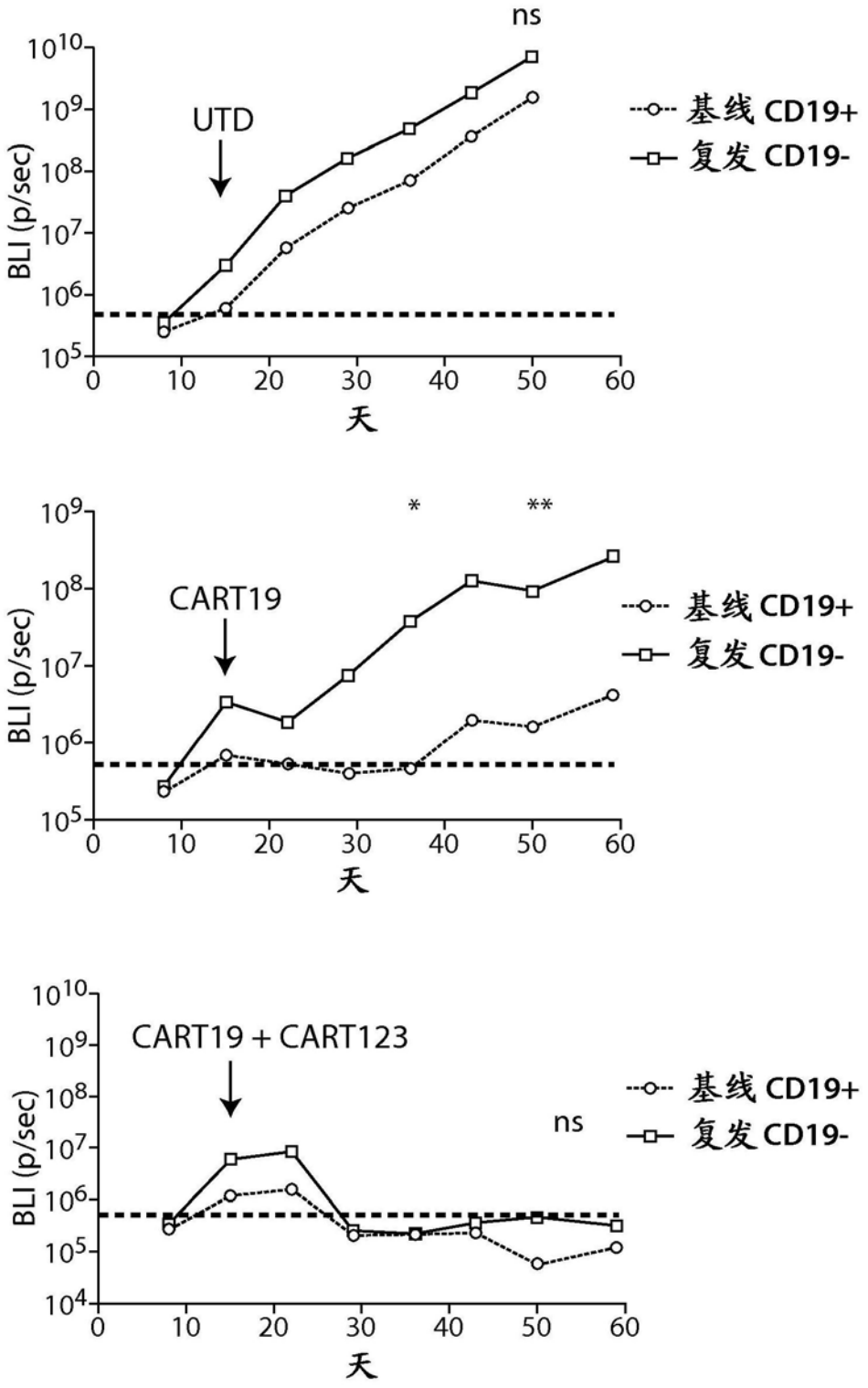


图36B

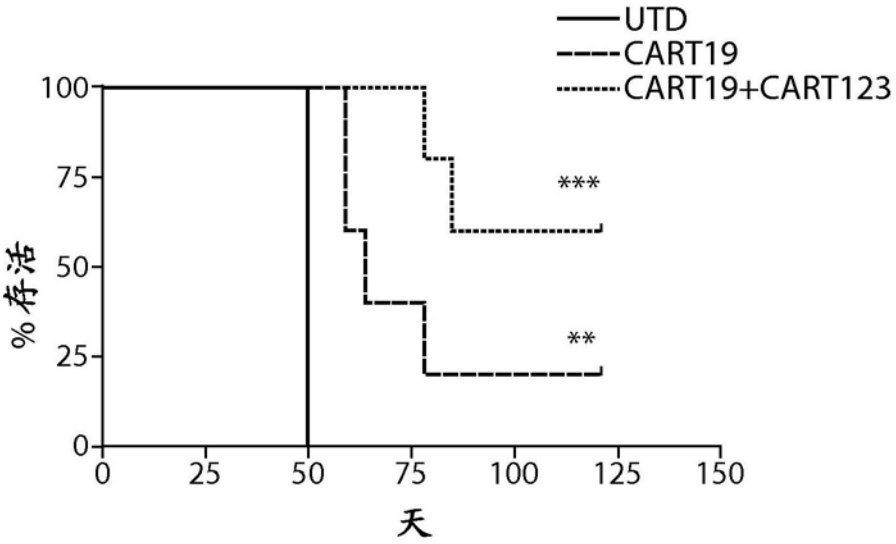

UTD
CART19
CART19+CART123
100
75
50
25
0
% 存活
***
**
0
25
50
75
100
125
150
天

图36C

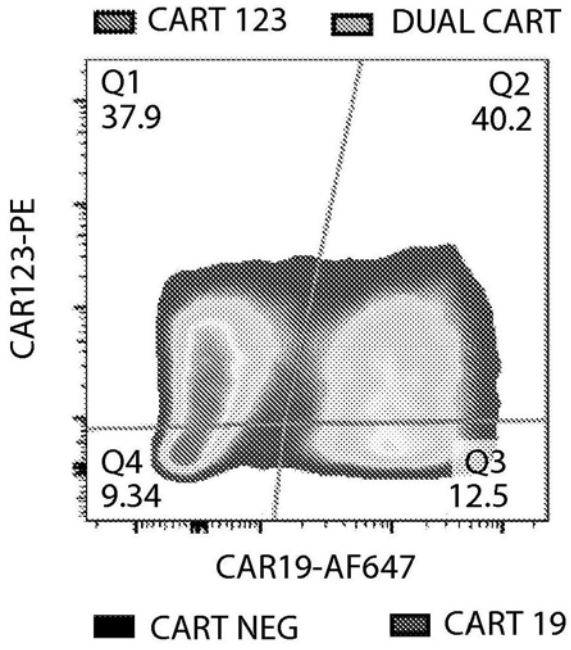

CART 123
DUAL CART
Q1
37.9
Q2
40.2
Q4
9.34
Q3
12.5
CAR123-PE
CAR19-AF647
CART NEG
CART 19

图37A

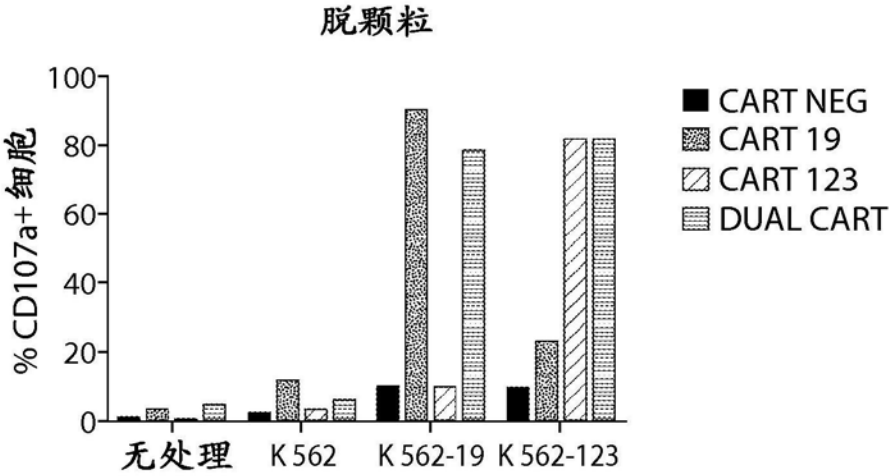

脱颗粒
% CD107a+ 细胞
100
80
60
40
20
0
CART NEG
CART 19
CART 123
DUAL CART
无处理
K 562
K 562-19
K 562-123

图37B

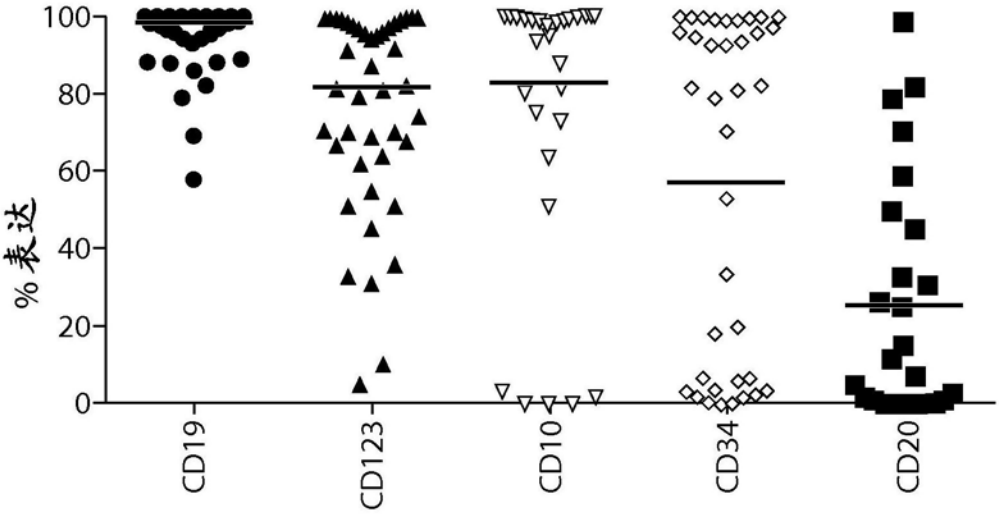

% 表达
100
80
60
40
20
0
CD19
CD123
CD10
CD34
CD20

图38A

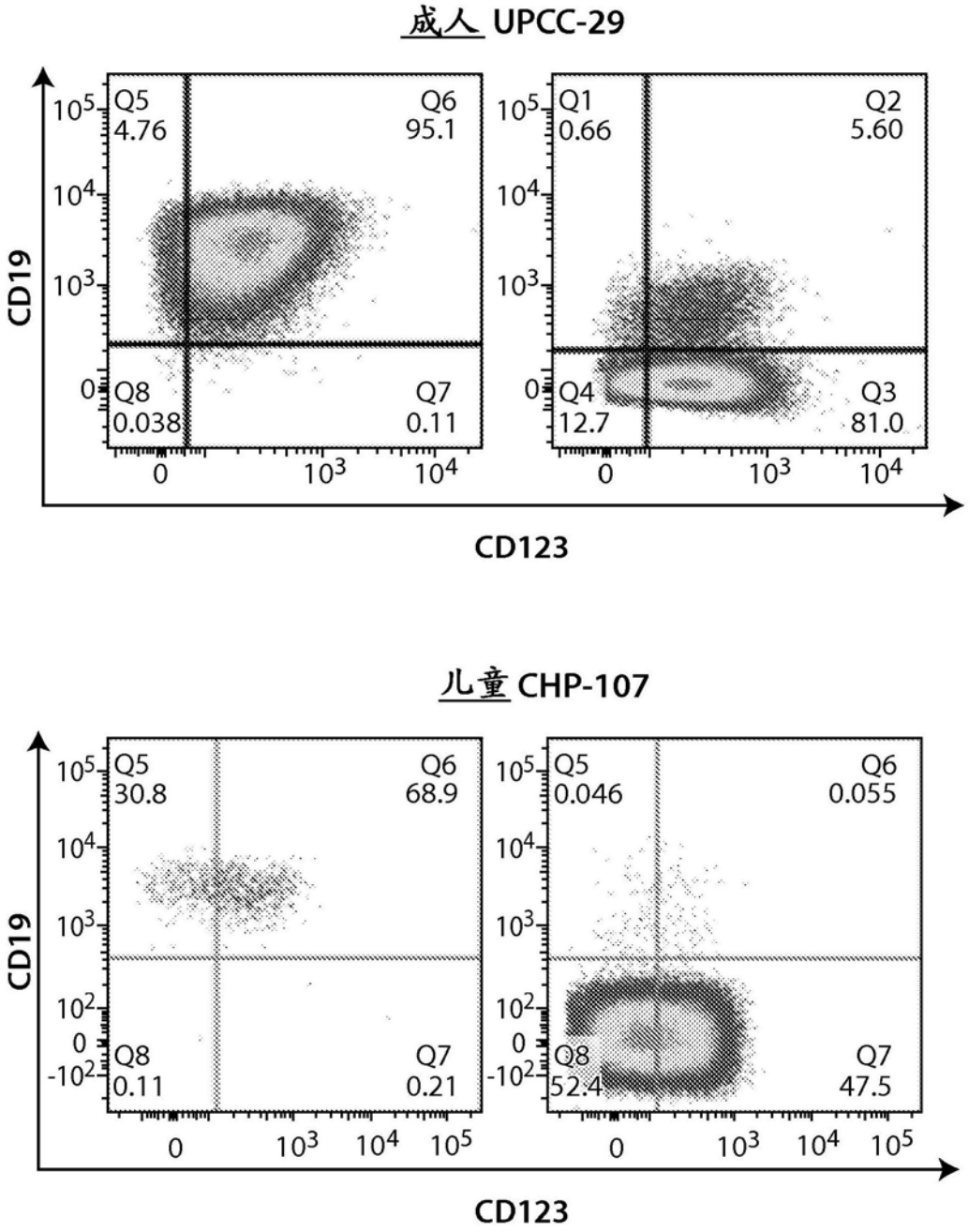

成人 UPCC-29
Q5
4.76
Q6
95.1
Q8
0.038
Q7
0.11
Q1
0.66
Q2
5.60
Q4
12.7
Q3
81.0
CD19
CD123
儿童 CHP-107
Q5
30.8
Q6
68.9
Q8
0.11
Q7
0.21
Q5
0.046
Q6
0.055
Q8
52.4
Q7
47.5
CD19
CD123

图38B

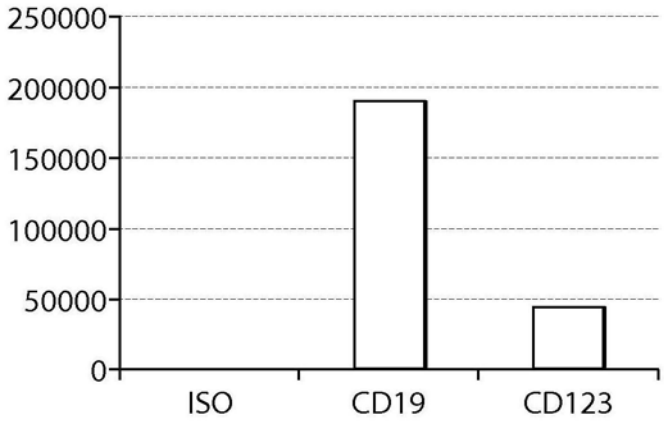

250000
200000
150000
100000
50000
0
ISO
CD19
CD123

图39A

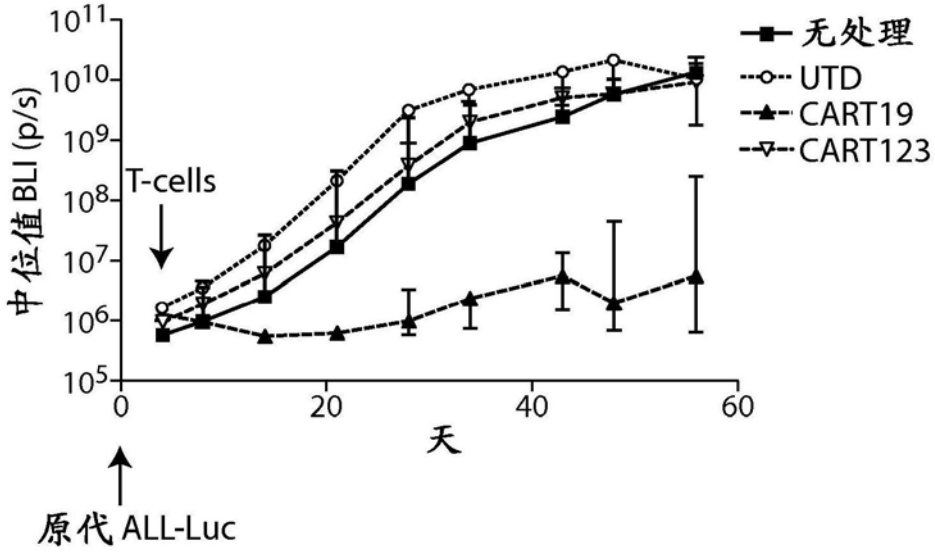

无处理
UTD
CART19
CART123
中位值BLI (p/s)
T-cells
原代ALL-Luc
天
0
20
40
60

图39B

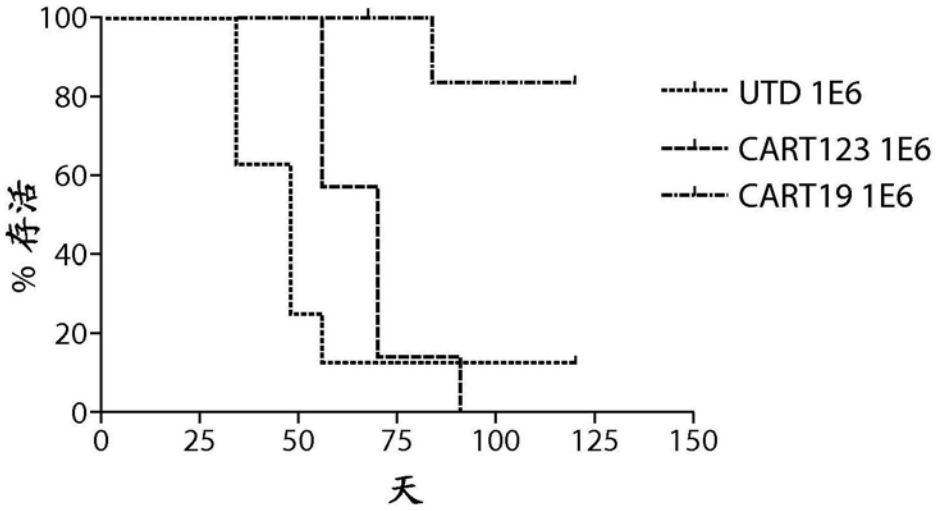

100
80
60
40
20
0
% 存活
0
25
50
75
100
125
150
天
UTD 1E6
CART123 1E6
CART19 1E6

图39C

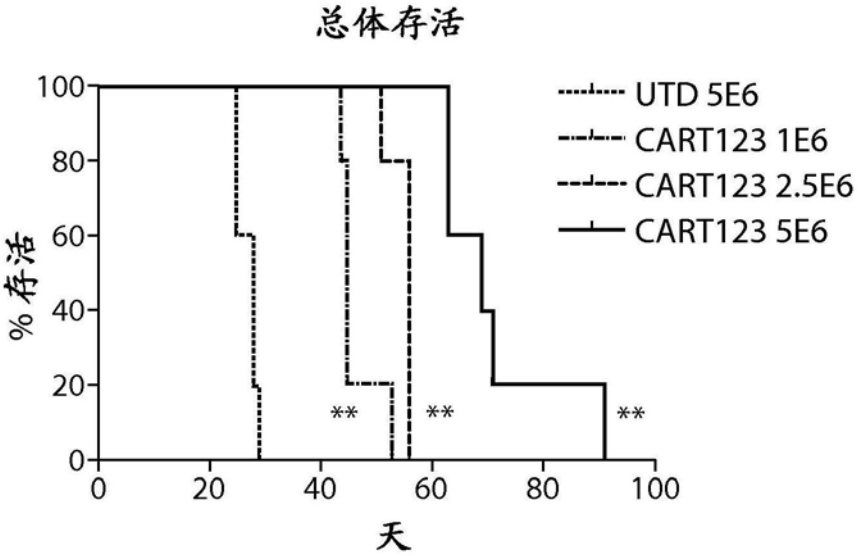

总体存活
100
80
60
40
20
0
% 存活
0
20
40
60
80
100
天
**
**
**
UTD 5E6
CART123 1E6
CART123 2.5E6
CART123 5E6

图39D

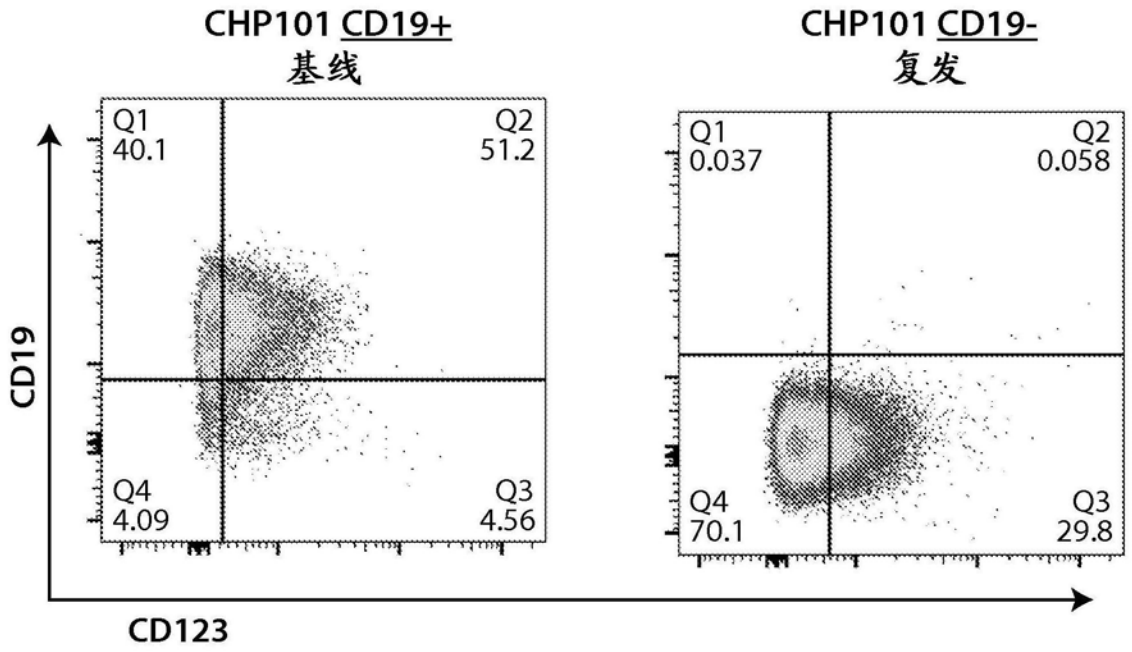

CHP101 CD19+
基线
Q1
40.1
Q2
51.2
Q4
4.09
Q3
4.56
CHP101 CD19-
复发
Q1
0.037
Q2
0.058
Q4
70.1
Q3
29.8
CD19
CD123

图40A

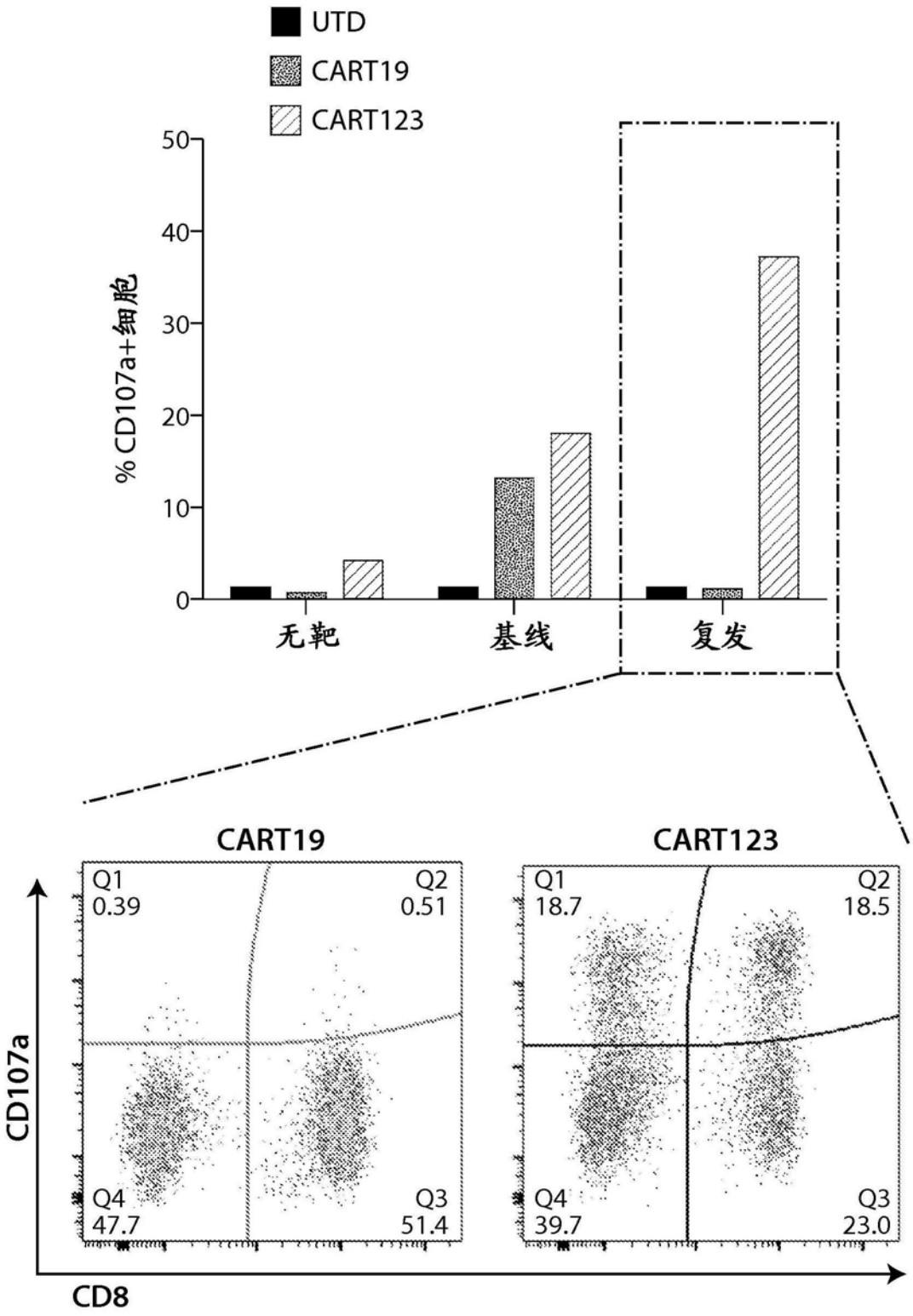

UTD
CART19
CART123
% CD107a+细胞
50
40
30
20
10
0
无靶
基线
复发
CART19
CART123
Q1
0.39
Q2
0.51
Q4
47.7
Q3
51.4
Q1
18.7
Q2
18.5
Q4
39.7
Q3
23.0
CD107a
CD8

图40B

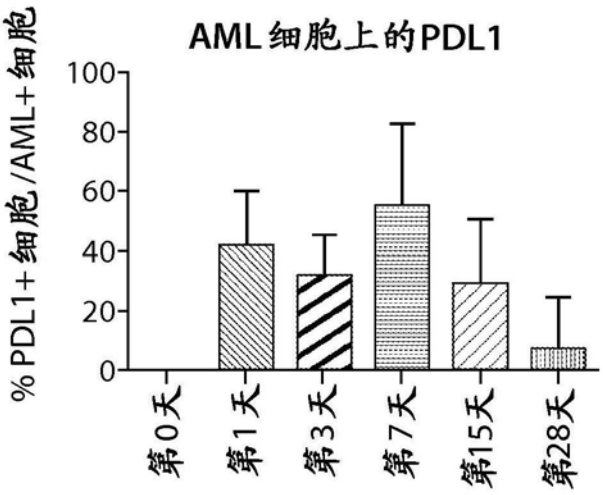

AML细胞上的PDL1
% PDL1+细胞/AML+细胞
100
80
60
40
20
0
第0天
第1天
第3天
第7天
第15天
第28天

图41A

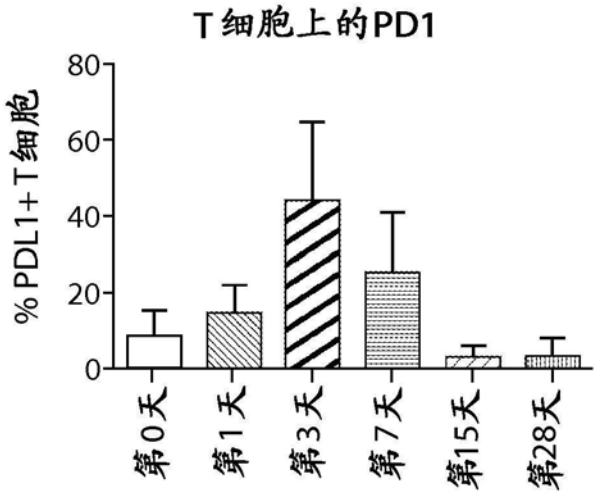

T细胞上的PD1
% PDL1+T细胞
80
60
40
20
0
第0天
第1天
第3天
第7天
第15天
第28天

图41B

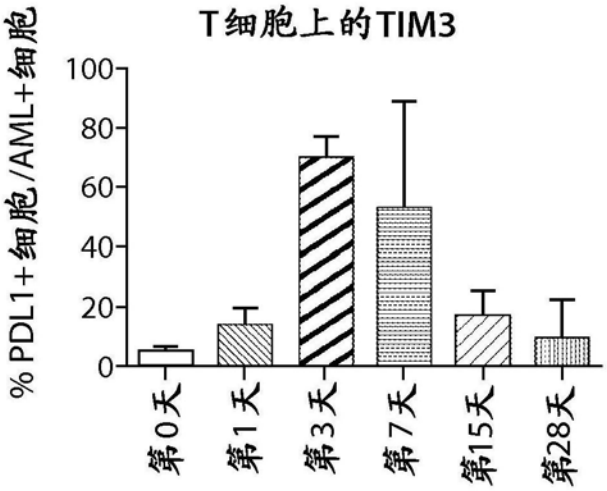

T细胞上的TIM3
% PDL1+细胞/AML+细胞
100
80
60
40
20
0
第0天
第1天
第3天
第7天
第15天
第28天

图41C

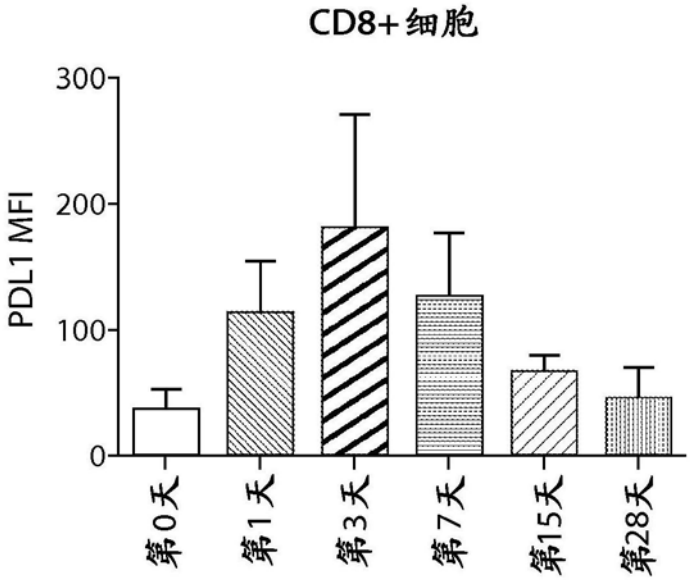

CD8+细胞
PDL1 MFI
300
200
100
0
第0天
第1天
第3天
第7天
第15天
第28天

图42A

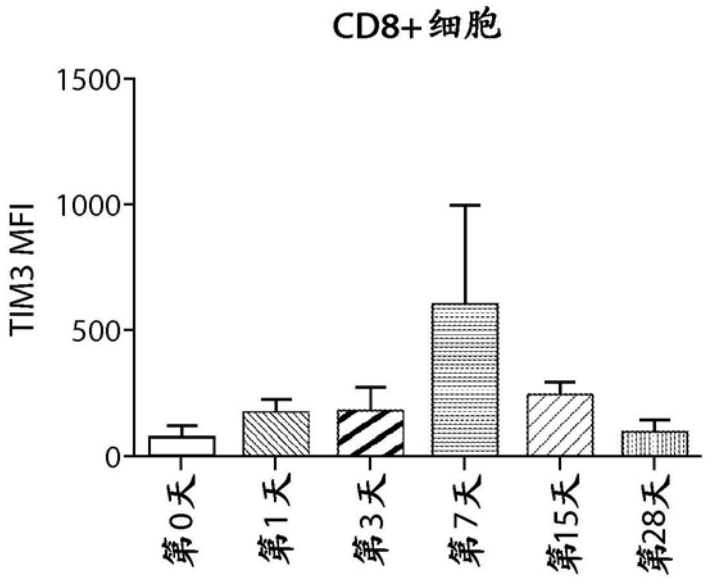

CD8+细胞
TIM3 MFI
1500
1000
500
0
第0天
第1天
第3天
第7天
第15天
第28天

图42B

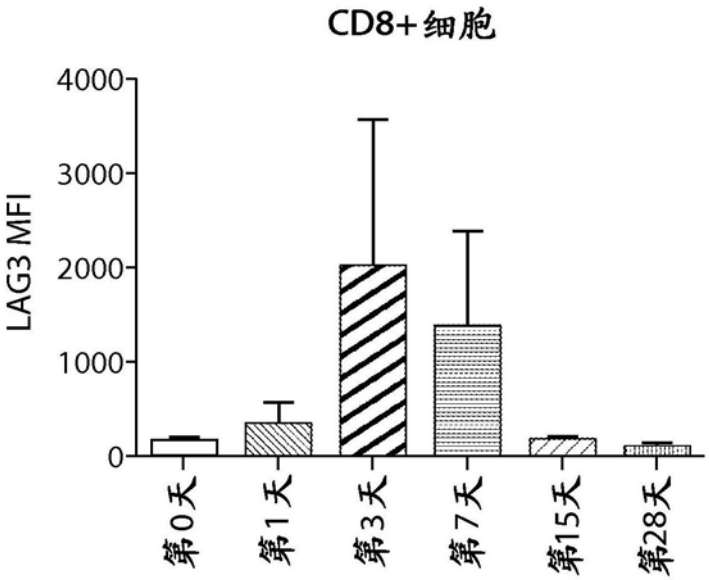

CD8+细胞
LAG3 MFI
4000
3000
2000
1000
0
第0天
第1天
第3天
第7天
第15天
第28天

图42C

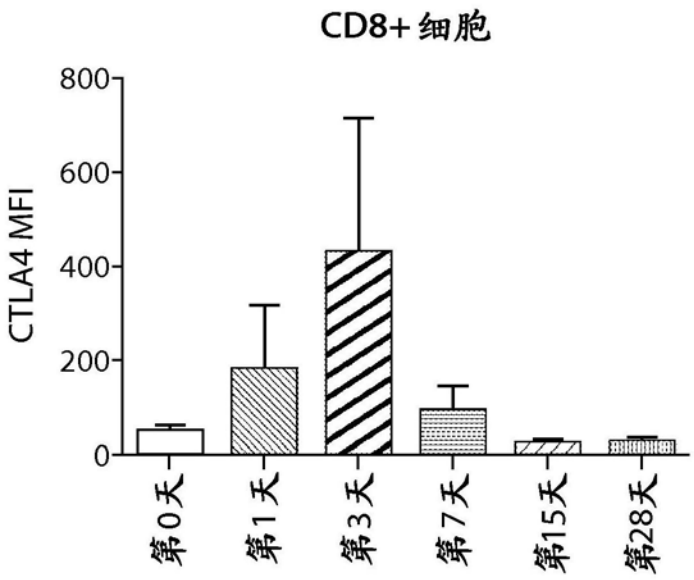


图42D

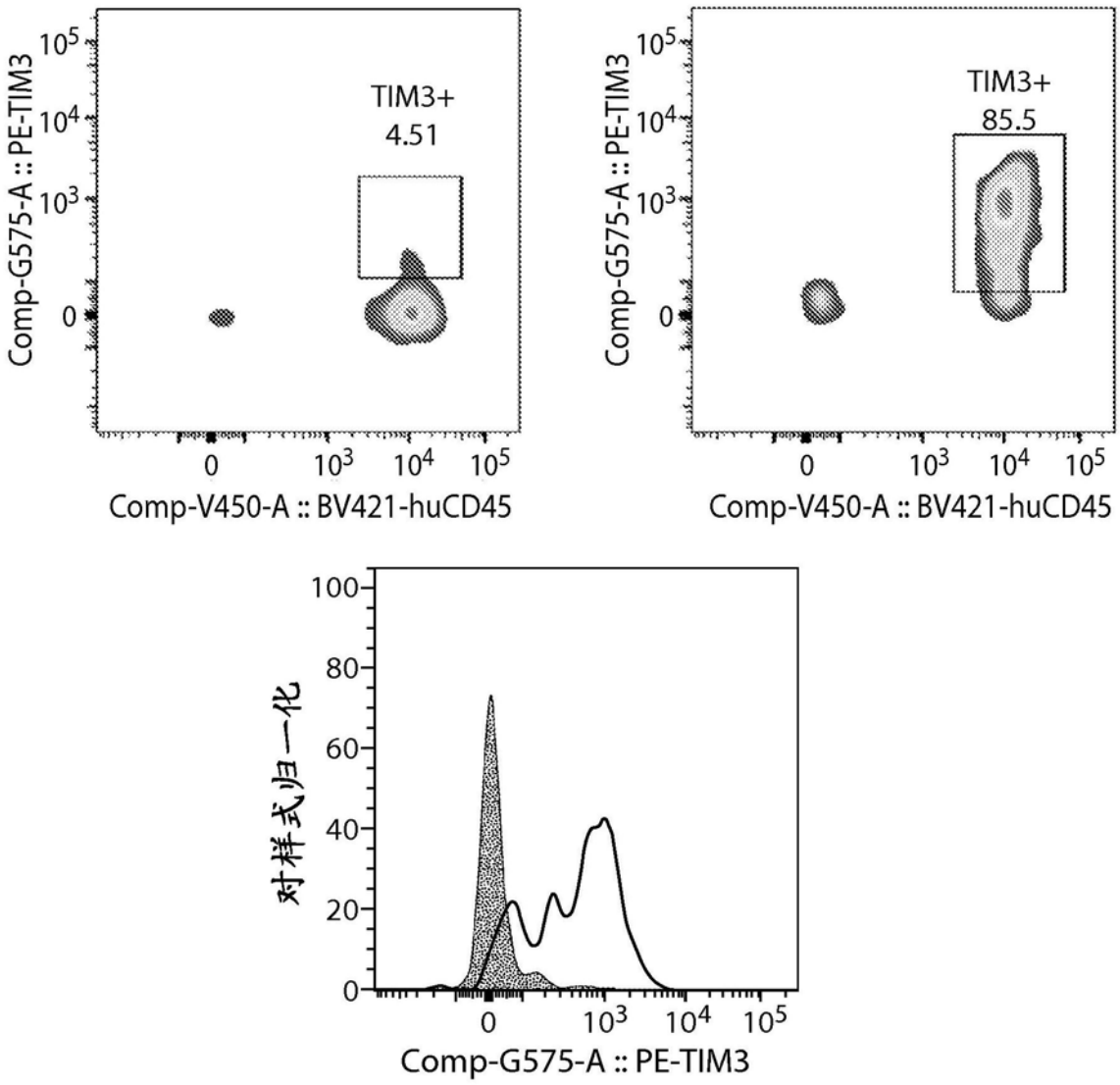

TIM3+
4.51
Comp-G575-A :: PE-TIM3
Comp-V450-A :: BV421-huCD45
TIM3+
85.5
Comp-G575-A :: PE-TIM3
Comp-V450-A :: BV421-huCD45
对样式归一化
Comp-G575-A :: PE-TIM3

图43

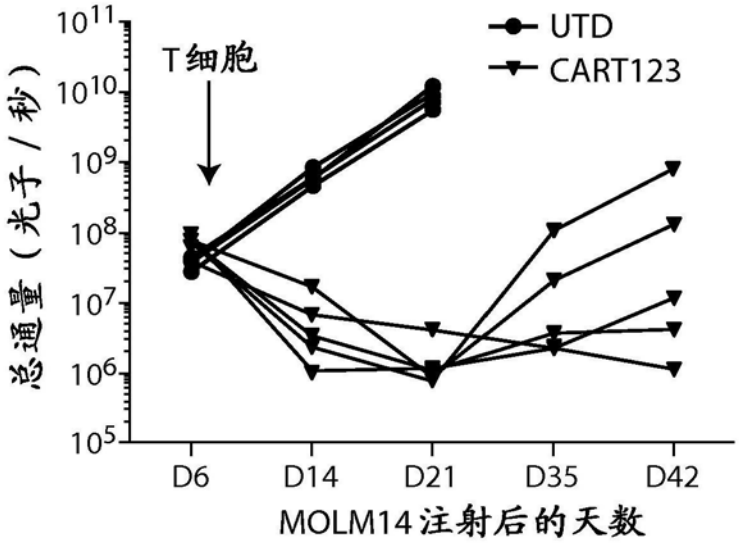

UTD
CART123
T细胞
总通量（光子/秒）
10^{11}
10^{10}
10^{9}
10^{8}
10^{7}
10^{6}
10^{5}
D6
D14
D21
D35
D42
MOLM14注射后的天数

图44

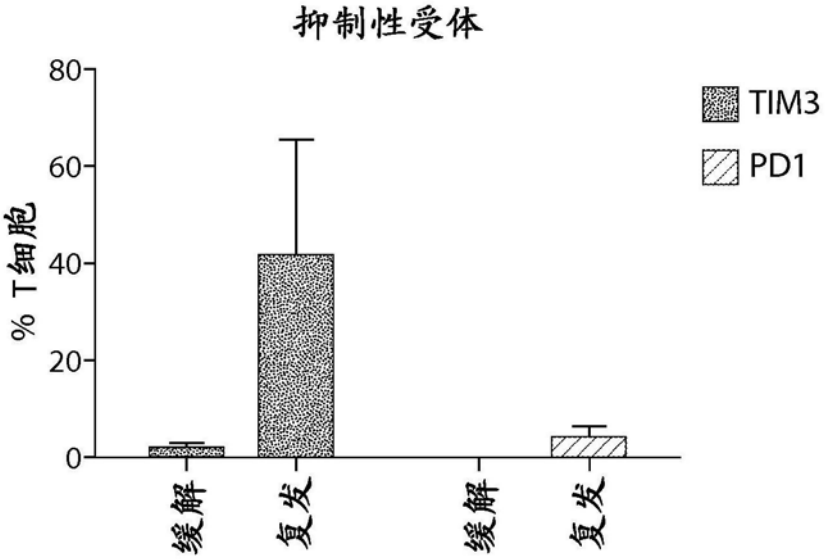

抑制性受体
TIM3
PD1
% T细胞
80
60
40
20
0
缓解
复发
缓解
复发

图45

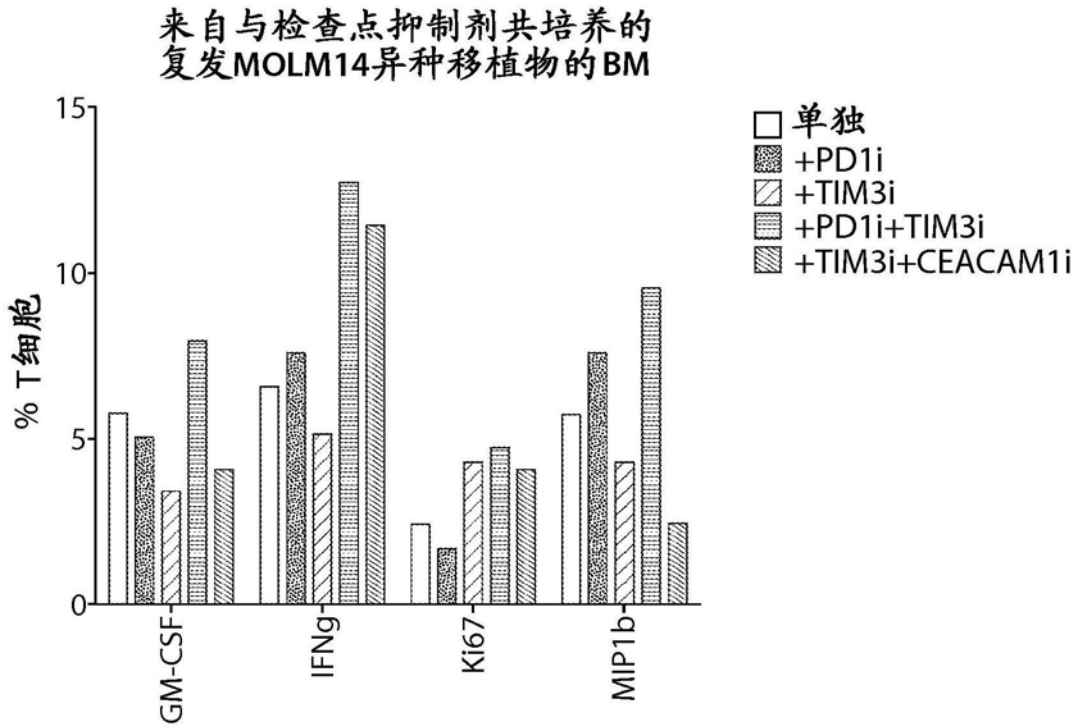

来自与检查点抑制剂共培养的
复发MOLM14异种移植物的BM
% T细胞
15
10
5
0
GM-CSF
IFNg
Ki67
MIP1b
单独
+PD1i
+TIM3i
+PD1i+TIM3i
+TIM3i+CEACAM1i

图46A

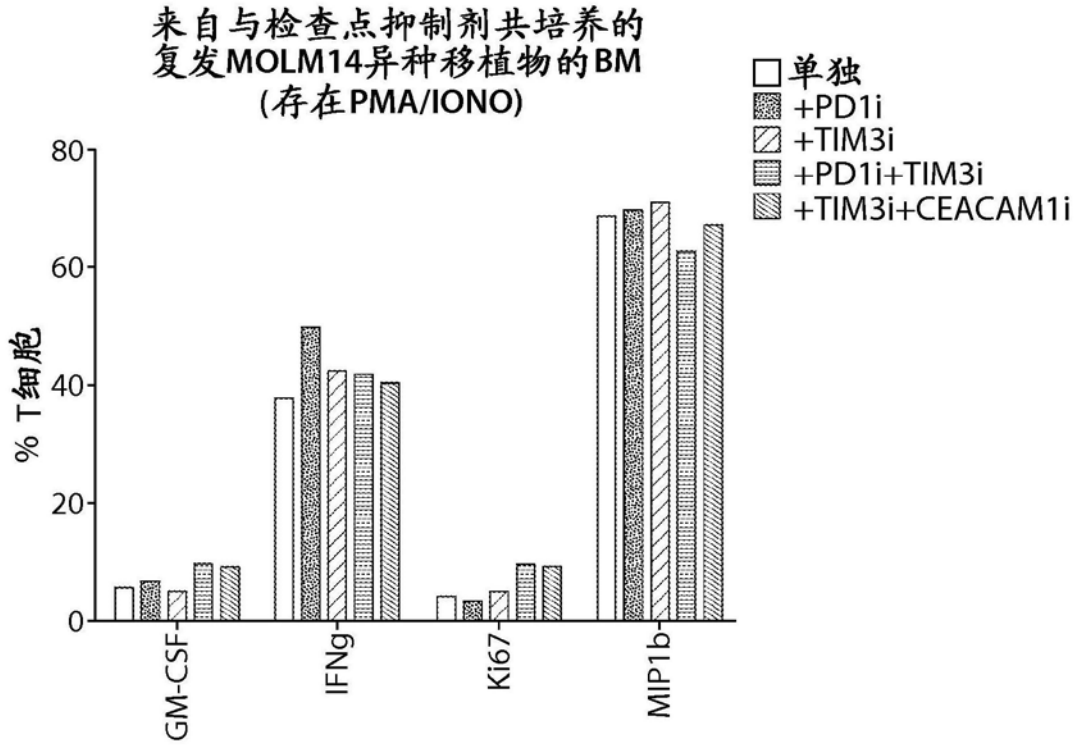

来自与检查点抑制剂共培养的
复发MOLM14异种移植物的BM
(存在PMA/IONO)
% T细胞
80
60
40
20
0
GM-CSF
IFNg
Ki67
MIP1b
单独
+PD1i
+TIM3i
+PD1i+TIM3i
+TIM3i+CEACAM1i

图46B

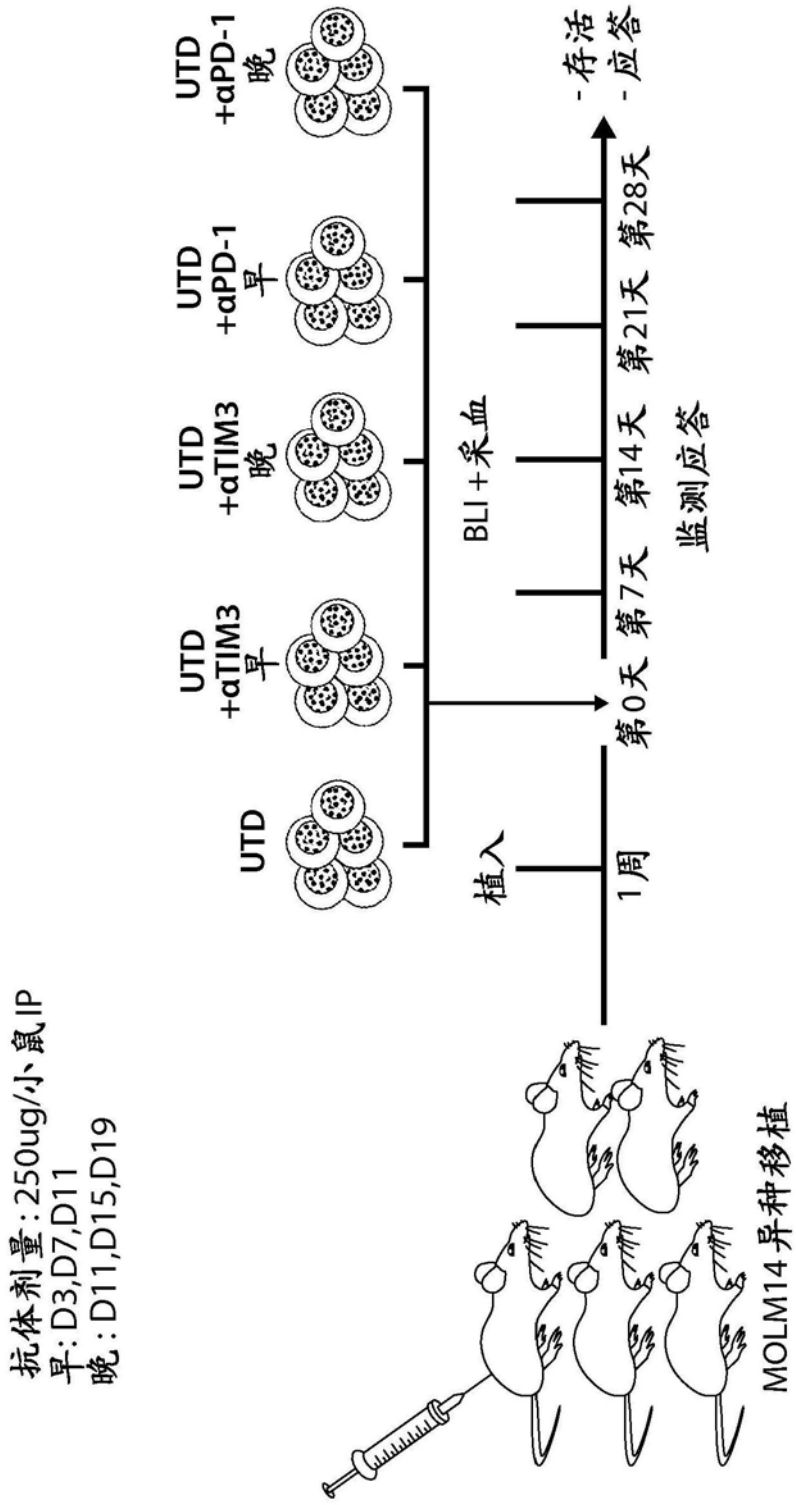

抗体剂量：250ug/小鼠IP
早：D3,D7,D11
晚：D11,D15,D19
MOLM14异种移植
植入
1周
第0天
BLI＋采血
第7天
第14天
第21天
第28天
监测应答
- 存活
- 应答
UTD
UTD +aTIM3 早
UTD +aTIM3 晚
UTD +aPD-1 早
UTD +aPD-1 晚

图47

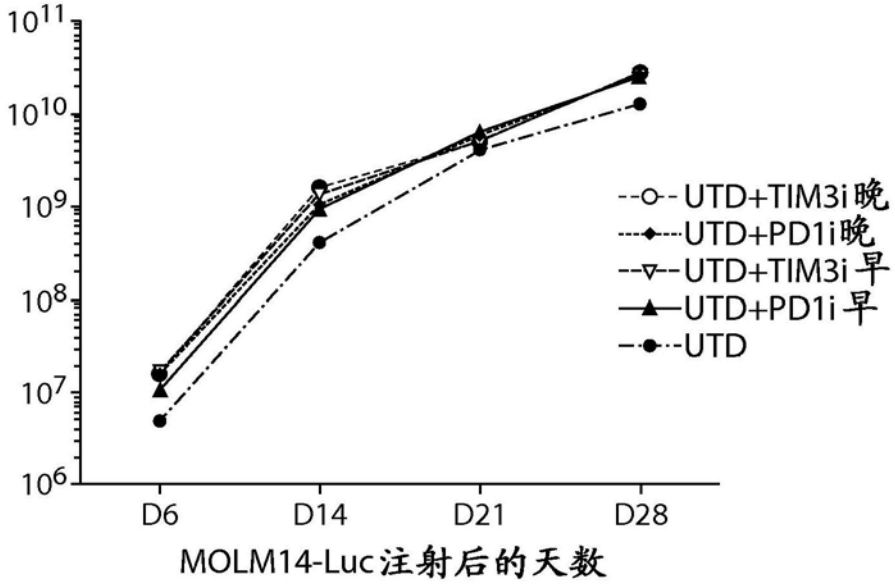

10^{11}
10^{10}
10^{9}
10^{8}
10^{7}
10^{6}
D6
D14
D21
D28
MOLM14-Luc注射后的天数
UTD+TIM3i晚
UTD+PD1i晚
UTD+TIM3i早
UTD+PD1i早
UTD

图48

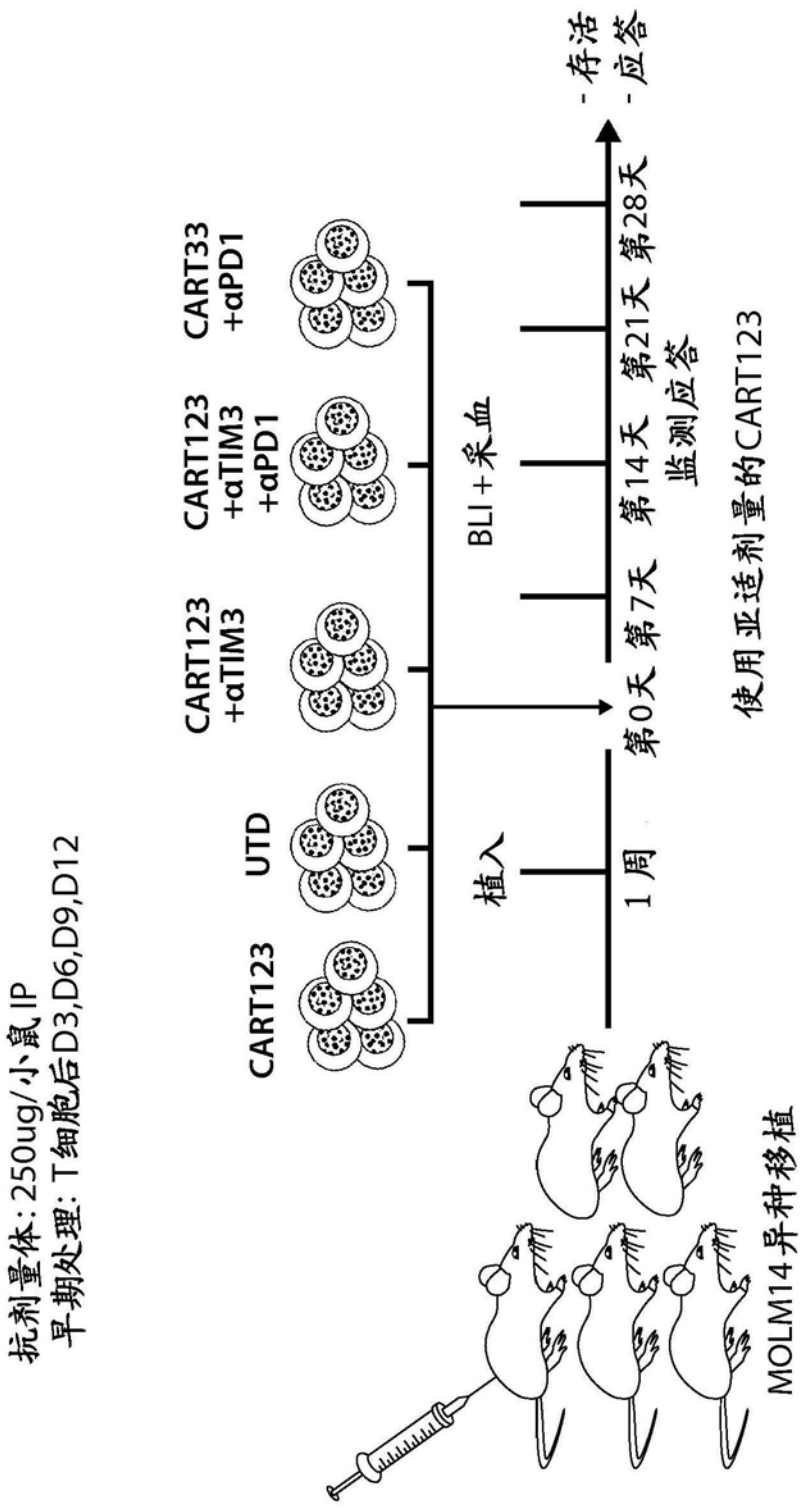

抗剂量体: 250ug/小鼠 IP
早期处理: T细胞后D3,D6,D9,D12
CART123
UTD
CART123 +aTIM3
CART123 +aTIM3 +aPD1
CART33 +aPD1
植入
1 周
第0天
第7天
BLI + 采血
第14天
第21天
第28天
监测应答
- 存活
- 应答
使用亚适剂量的CART123
MOLM14 异种移植

图49

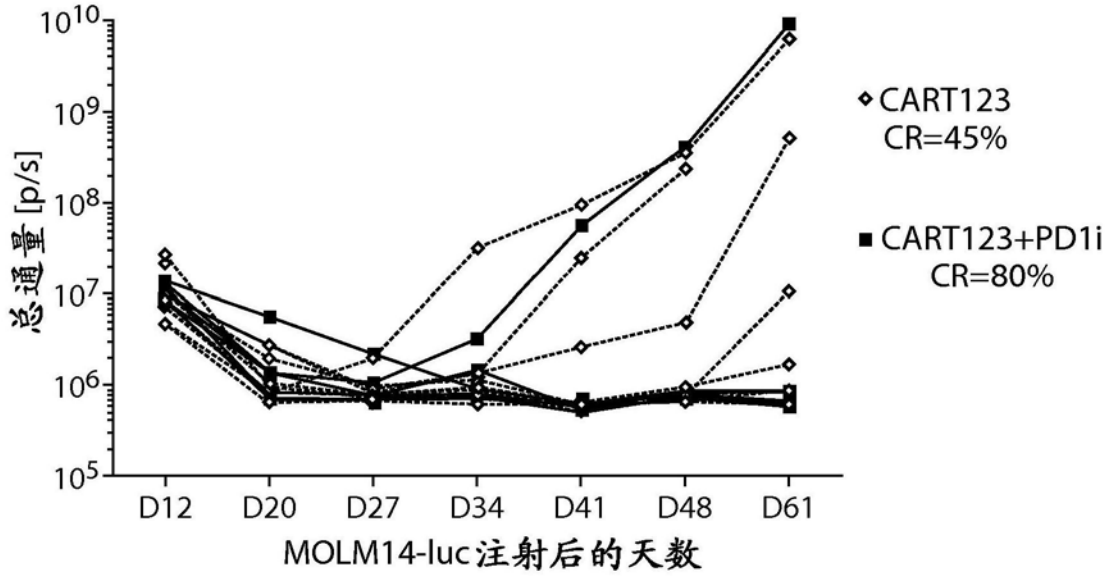

10^{10}
10^{9}
10^{8}
10^{7}
10^{6}
10^{5}
总通量 [p/s]
D12
D20
D27
D34
D41
D48
D61
MOLM14-luc注射后的天数
CART123
CR=45%
CART123+PD1i
CR=80%

图50A

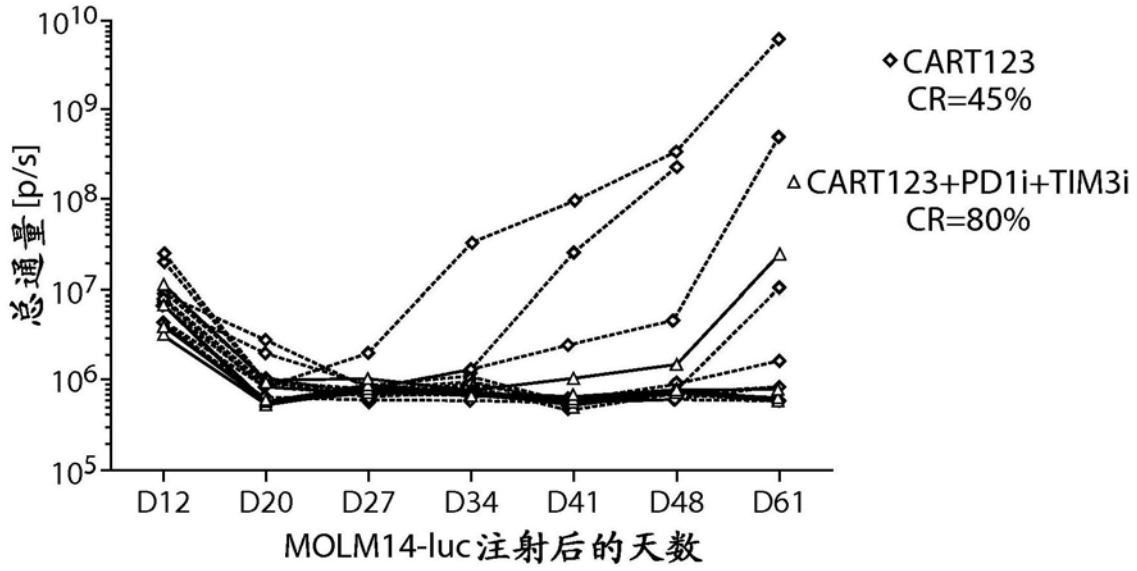

10^{10}
10^{9}
10^{8}
10^{7}
10^{6}
10^{5}
总通量 [p/s]
D12
D20
D27
D34
D41
D48
D61
MOLM14-luc注射后的天数
CART123
CR=45%
CART123+PD1i+TIM3i
CR=80%

图50B

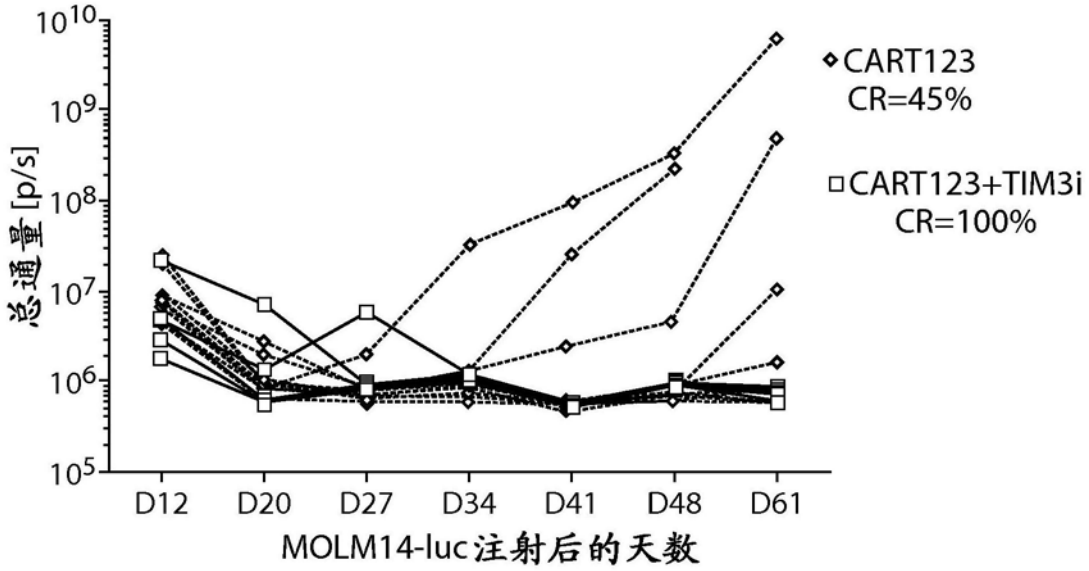

10^{10}
10^{9}
10^{8}
10^{7}
10^{6}
10^{5}
总通量 [p/s]
D12
D20
D27
D34
D41
D48
D61
MOLM14-luc注射后的天数
CART123
CR=45%
CART123+TIM3i
CR=100%

图50C

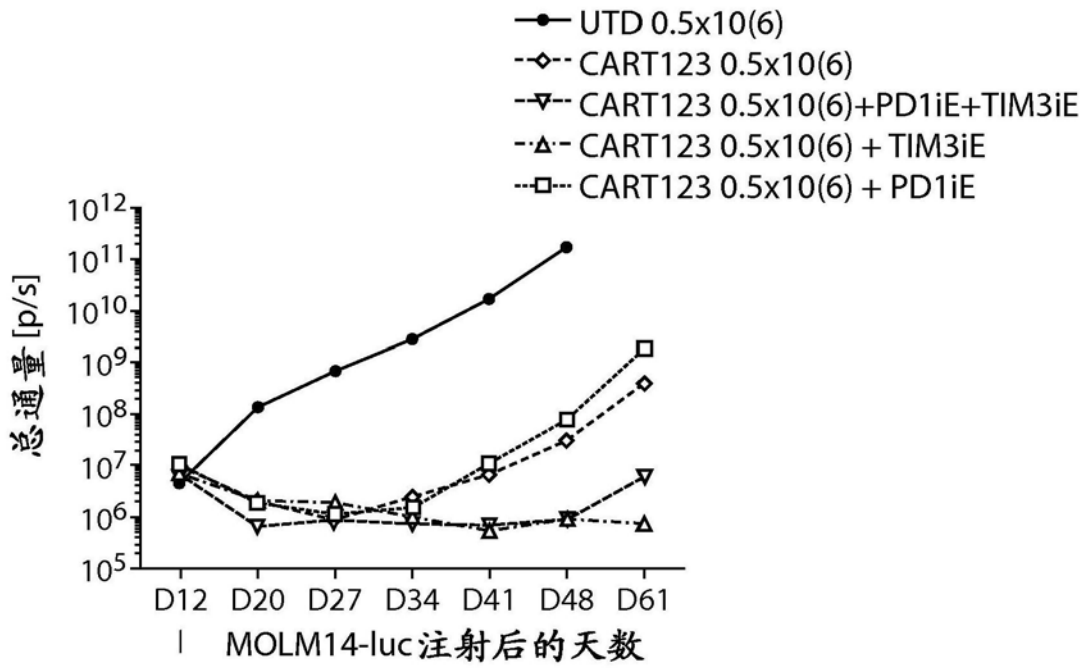
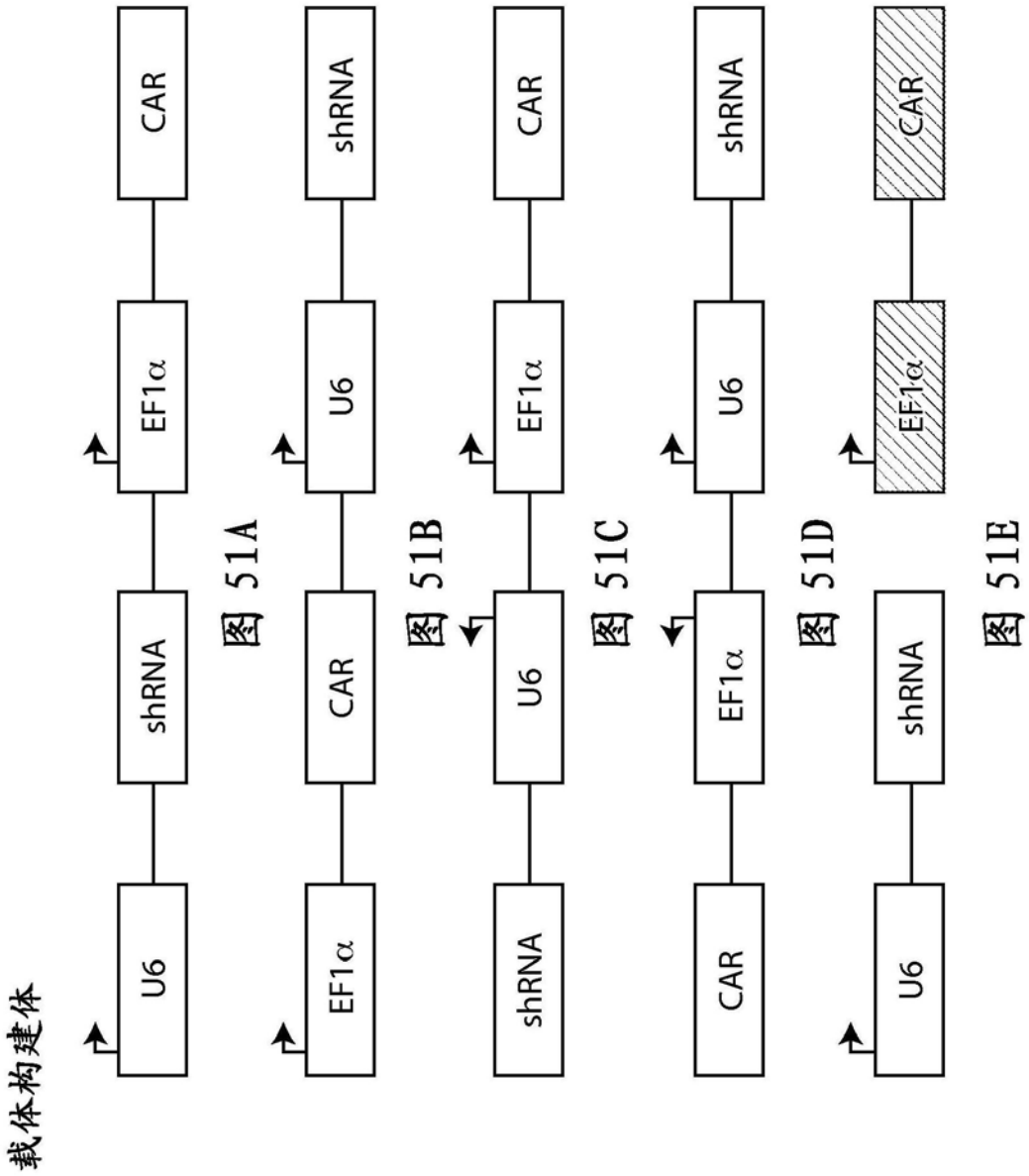

UTD 0.5x10(6)
CART123 0.5x10(6)
CART123 0.5x10(6)+PD1iE+TIM3iE
CART123 0.5x10(6) + TIM3iE
CART123 0.5x10(6) + PD1iE
10^{12}
10^{11}
10^{10}
10^{9}
10^{8}
10^{7}
10^{6}
10^{5}
总通量 [p/s]
D12
D20
D27
D34
D41
D48
D61
MOLM14-luc注射后的天数

图50D


载体构建体
U6
shRNA
EF1α
CAR
图 51A
U6
CAR
EF1α
shRNA
图 51B
U6
shRNA
EF1α
CAR
图 51C
U6
EF1α
CAR
shRNA
图 51D
U6
shRNA
EF1α
CAR
图 51E

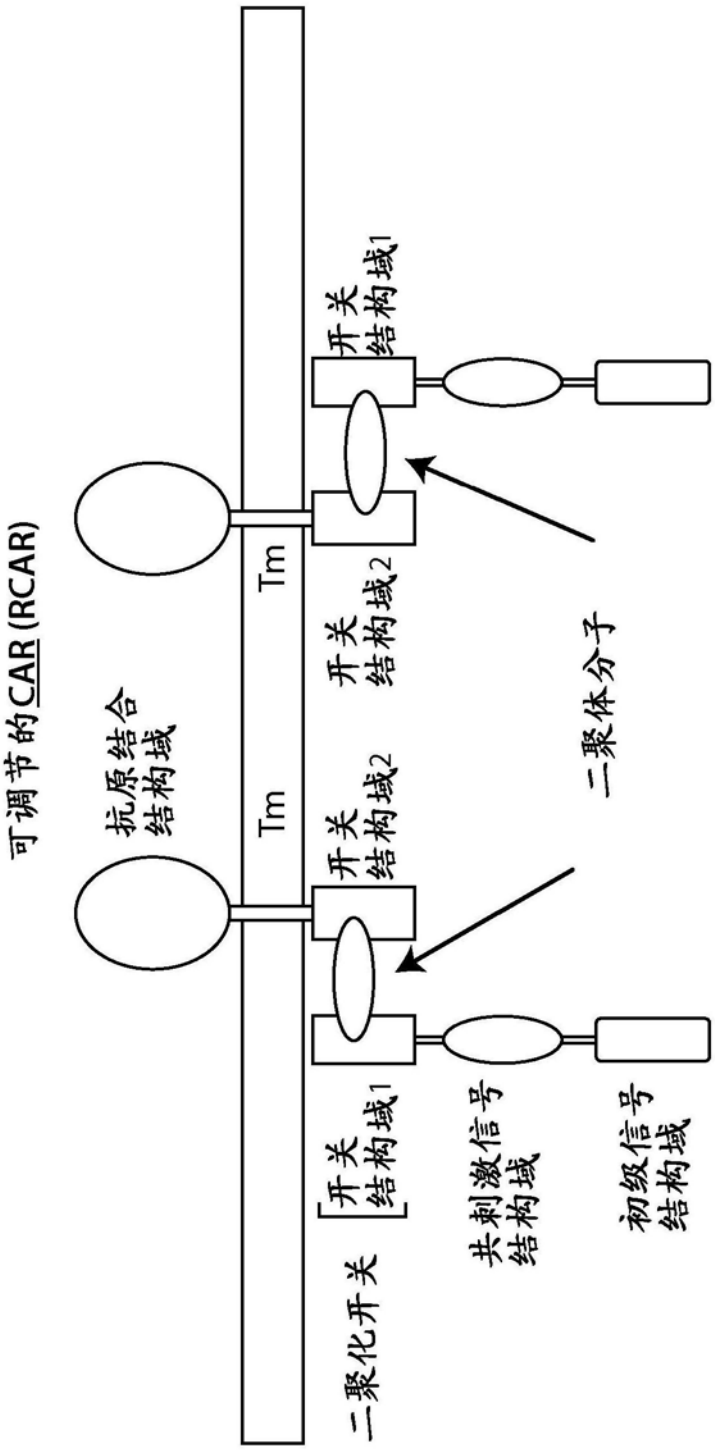

可调节的CAR (RCAR)
抗原结合结构域
Tm
Tm
开关结构域1
开关结构域2
开关结构域2
二聚体分子
二聚化开关
开关结构域1
共刺激信号结构域
初级信号结构域

图52

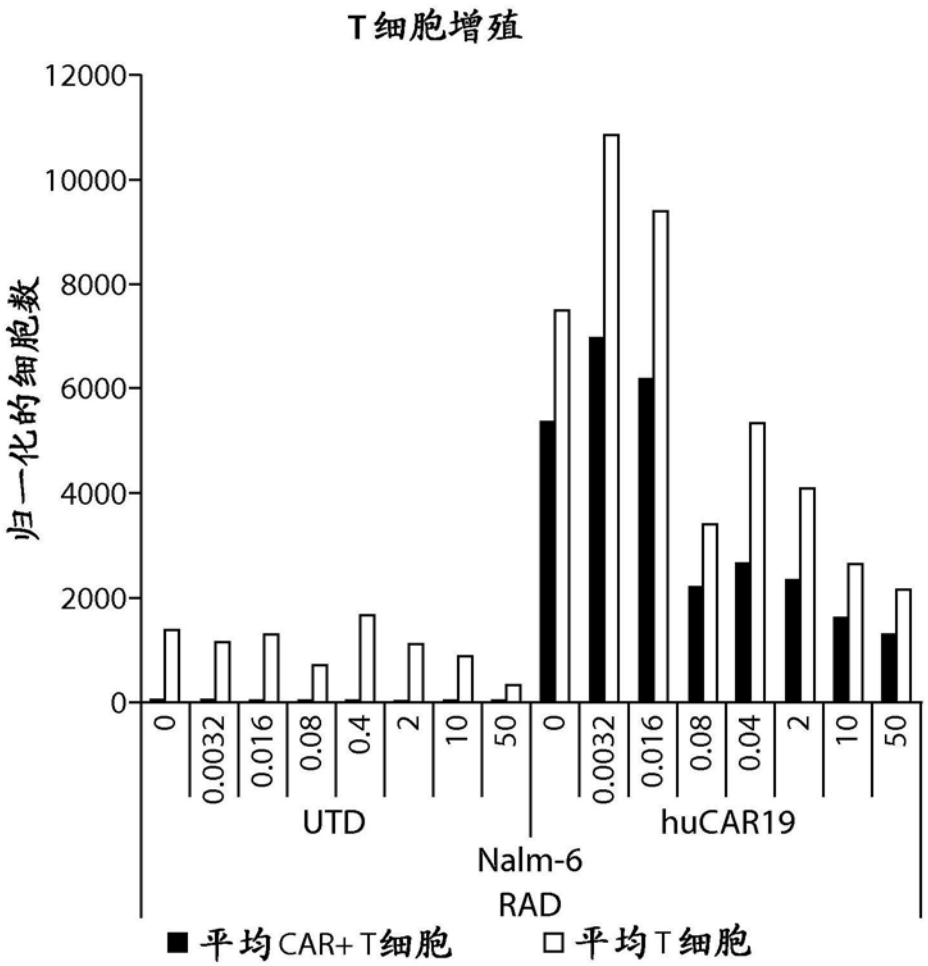

T细胞增殖
归一化的细胞数
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
0
0.0032
0.016
0.08
0.4
2
10
50
0
0.0032
0.016
0.08
0.04
2
10
50
UTD
huCAR19
Nalm-6
RAD
平均CAR+ T细胞
平均T细胞

图53

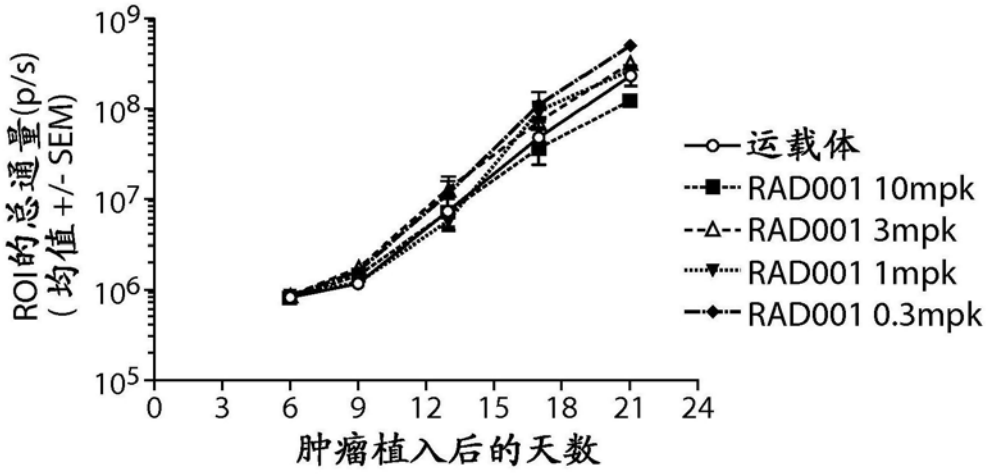

ROI的总通量(p/s)
(均值 +/- SEM)
10^9
10^8
10^7
10^6
10^5
0
3
6
9
12
15
18
21
24
肿瘤植入后的天数
运载体
RAD001 10mpk
RAD001 3mpk
RAD001 1mpk
RAD001 0.3mpk

图54

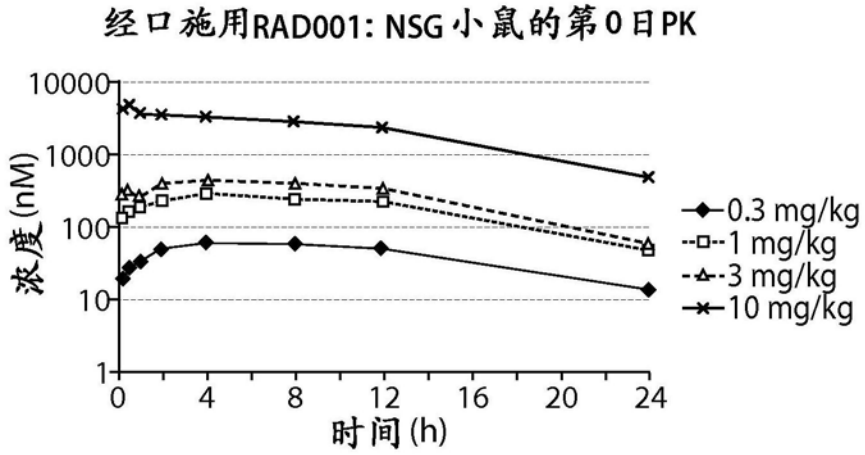

经口施用RAD001: NSG小鼠的第0日PK
浓度(nM)
10000
1000
100
10
1
0
4
8
12
16
20
24
时间(h)
0.3 mg/kg
1 mg/kg
3 mg/kg
10 mg/kg

图55A

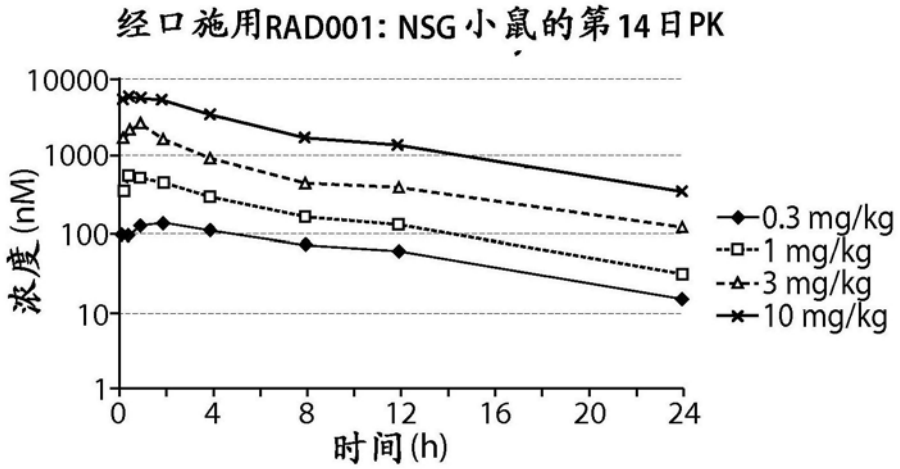

经口施用RAD001: NSG小鼠的第14日PK
浓度(nM)
10000
1000
100
10
1
0
4
8
12
16
20
24
时间(h)
0.3 mg/kg
1 mg/kg
3 mg/kg
10 mg/kg

图55B

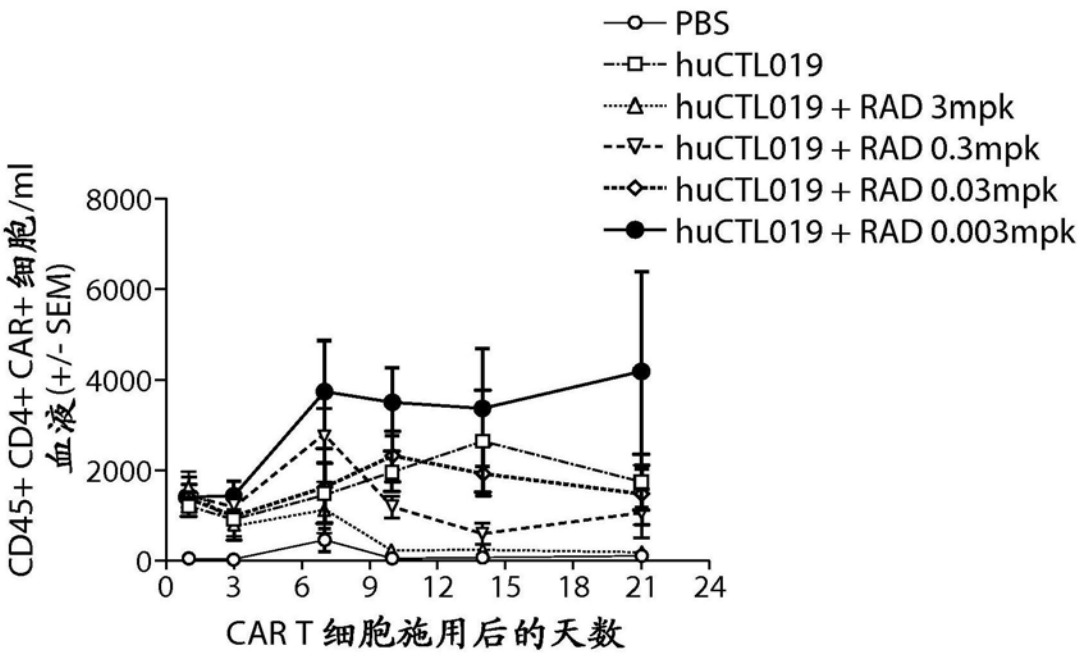

PBS
huCTL019
huCTL019 + RAD 3mpk
huCTL019 + RAD 0.3mpk
huCTL019 + RAD 0.03mpk
huCTL019 + RAD 0.003mpk
CD45+ CD4+ CAR+ 细胞/ml 血液(+/- SEM)
8000
6000
4000
2000
0
0 3 6 9 12 15 18 21 24
CAR T 细胞施用后的天数

图56A

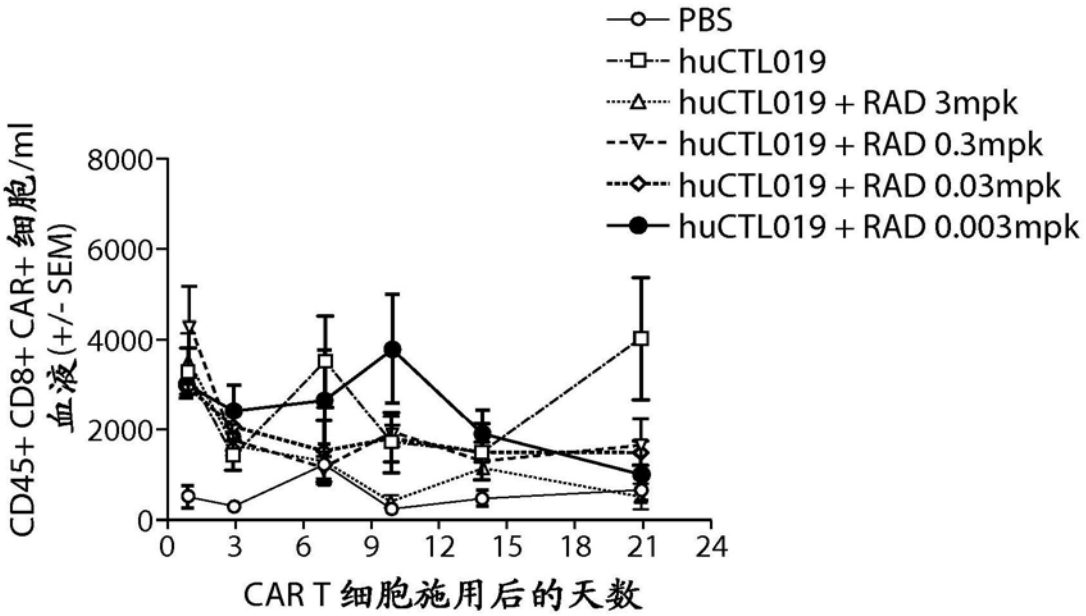

PBS
huCTL019
huCTL019 + RAD 3mpk
huCTL019 + RAD 0.3mpk
huCTL019 + RAD 0.03mpk
huCTL019 + RAD 0.003mpk
CD45+ CD8+ CAR+ 细胞/ml 血液(+/- SEM)
8000
6000
4000
2000
0
0 3 6 9 12 15 18 21 24
CAR T 细胞施用后的天数

图56B

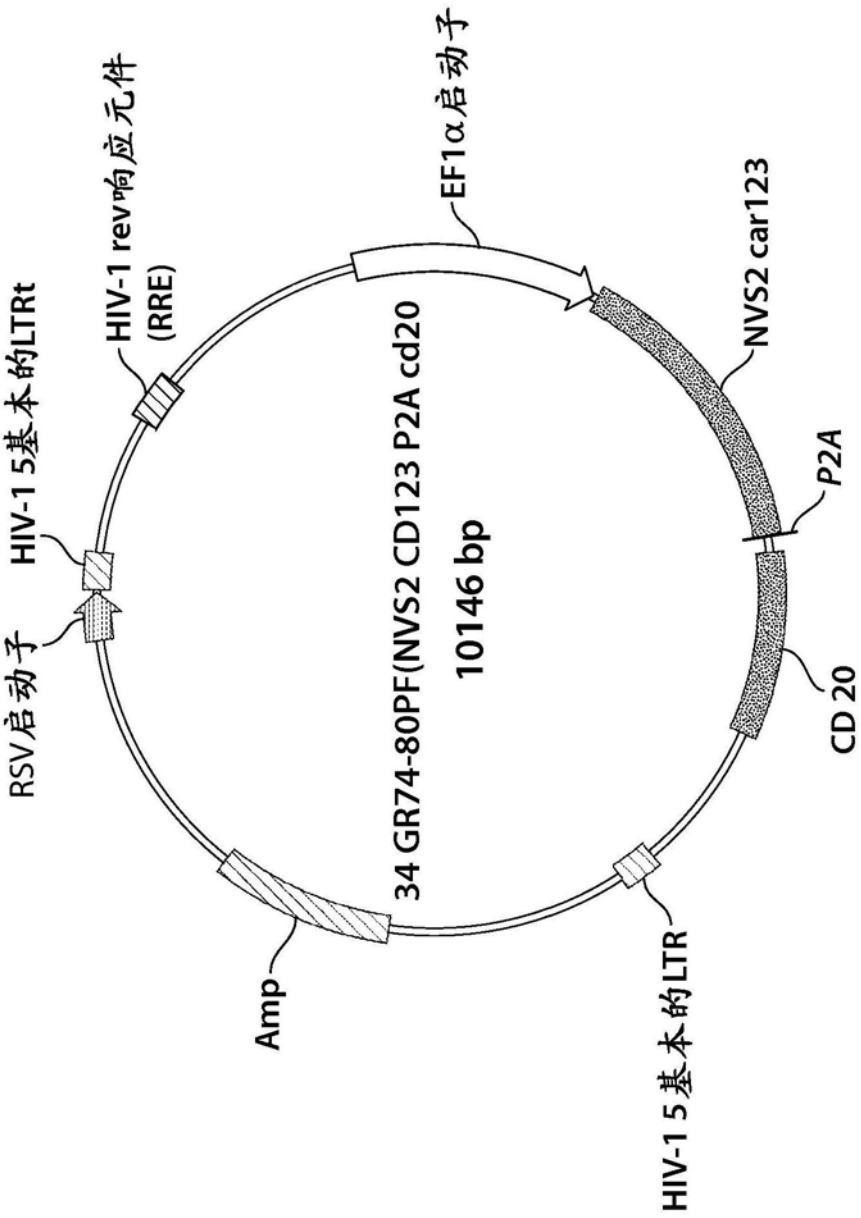

EF1α启动子
HIV-1 rev响应元件
(RRE)
HIV-1 5基本的LTRt
RSV启动子
34 GR74-80PF(NVS2 CD123 P2A cd20
10146 bp
NVS2 car123
P2A
CD 20
Amp
HIV-1 5基本的LTR

图57

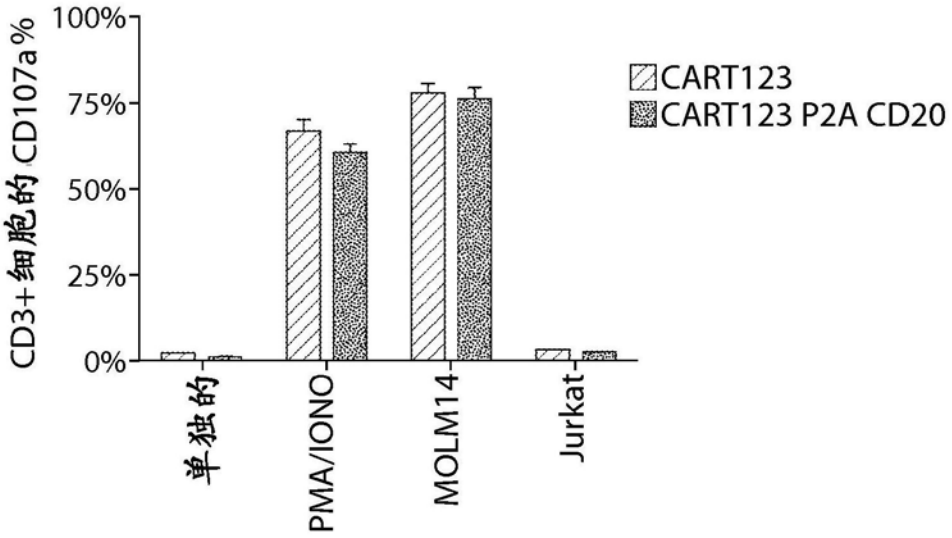

CD3+细胞的CD107a%
100%
75%
50%
25%
0%
CART123
CART123 P2A CD20
单独的
PMA/IONO
MOLM14
Jurkat

图58

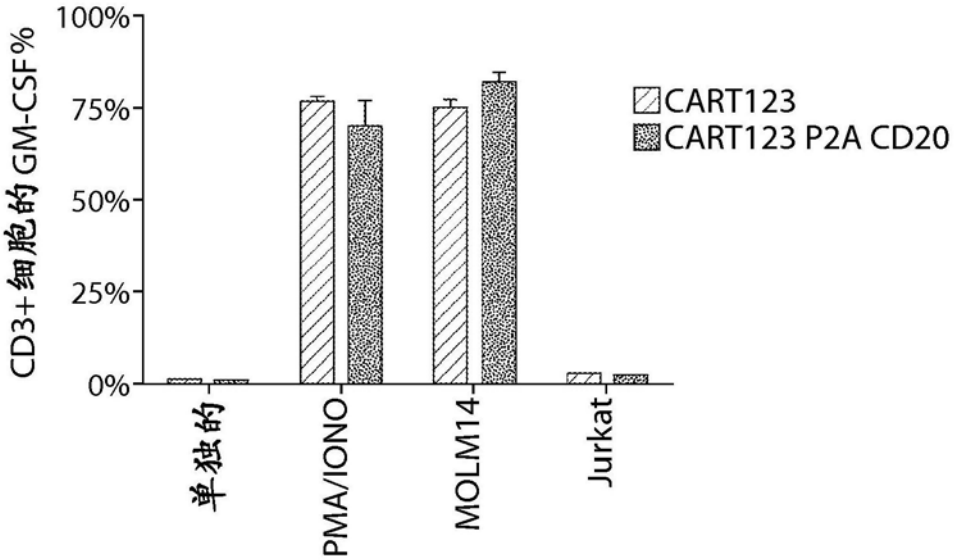

CD3+细胞的GM-CSF%
100%
75%
50%
25%
0%
CART123
CART123 P2A CD20
单独的
PMA/IONO
MOLM14
Jurkat

图59A

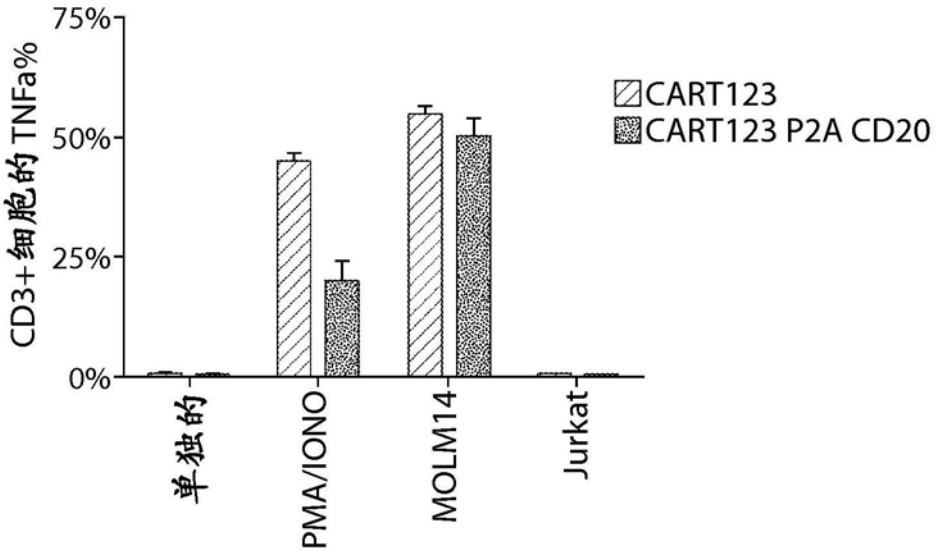

75%
50%
25%
0%
CD3+细胞的 TNFa%
CART123
CART123 P2A CD20
单独的
PMA/IONO
MOLM14
Jurkat

图59B

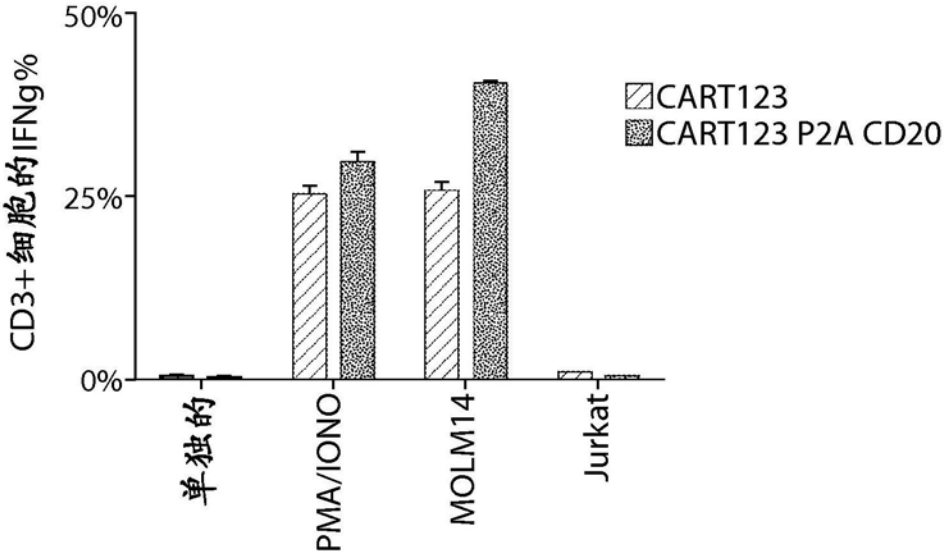

50%
25%
0%
CD3+细胞的IFNg%
CART123
CART123 P2A CD20
单独的
PMA/IONO
MOLM14
Jurkat

图59C

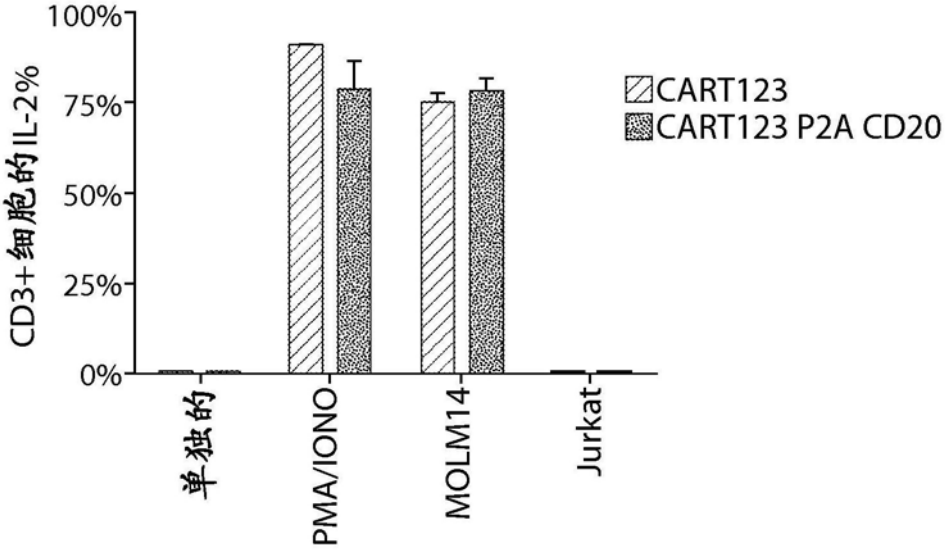

100%
75%
50%
25%
0%
CD3+细胞的IL-2%
CART123
CART123 P2A CD20
单独的
PMA/IONO
MOLM14
Jurkat

图59D

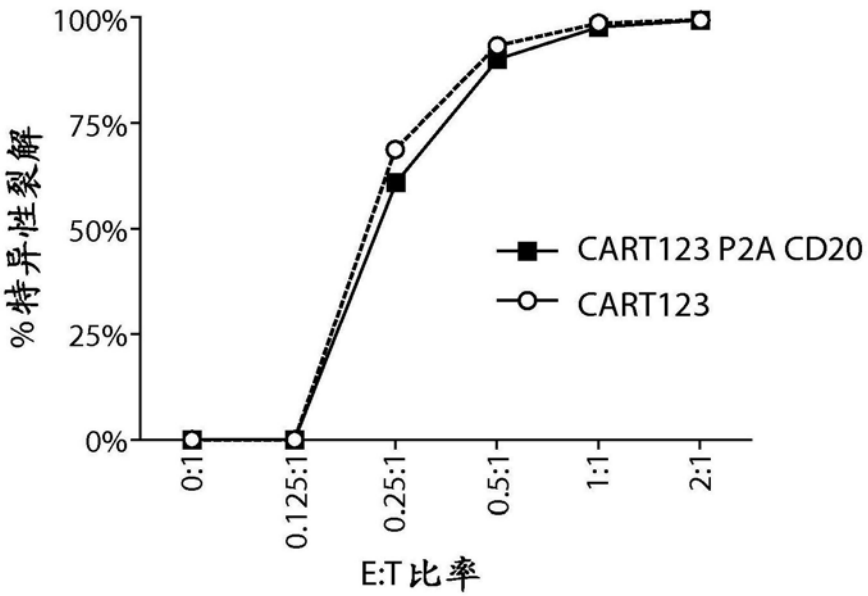

100%
75%
50%
25%
0%
%特异性裂解
CART123 P2A CD20
CART123
0:1
0.125:1
0.25:1
0.5:1
1:1
2:1
E:T比率

图60

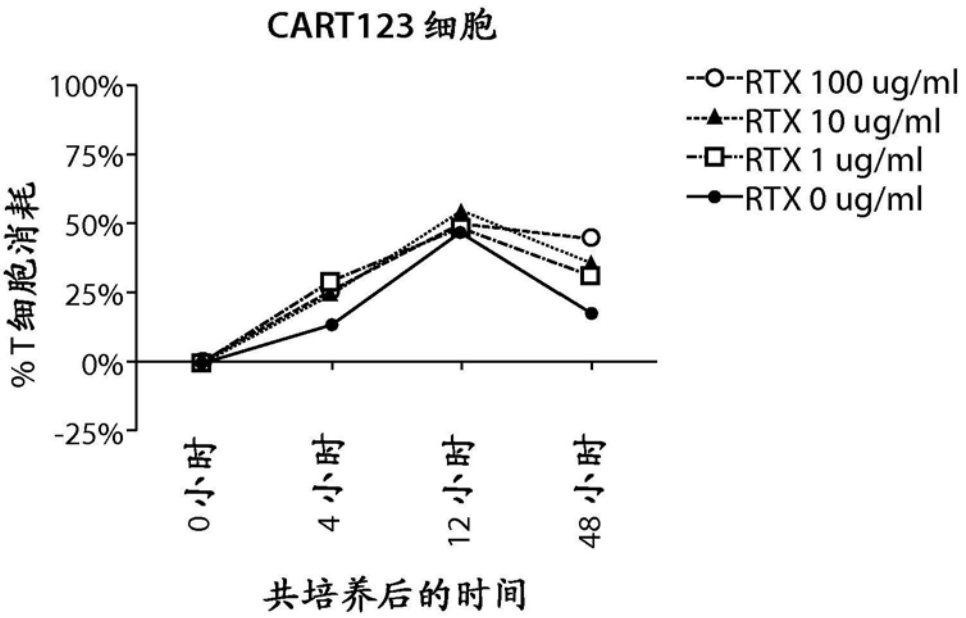

CART123 细胞
RTX 100 ug/ml
RTX 10 ug/ml
RTX 1 ug/ml
RTX 0 ug/ml
100%
75%
50%
25%
0%
-25%
% T细胞消耗
0 小时
4 小时
12 小时
48 小时
共培养后的时间

图61A

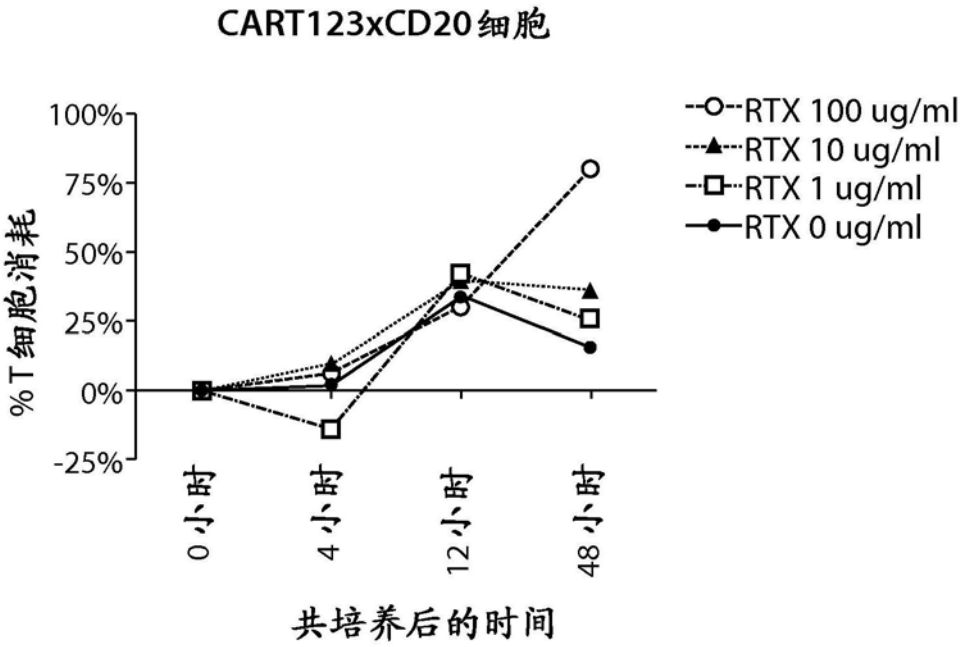

CART123xCD20细胞
RTX 100 ug/ml
RTX 10 ug/ml
RTX 1 ug/ml
RTX 0 ug/ml
100%
75%
50%
25%
0%
-25%
% T细胞消耗
0 小时
4 小时
12 小时
48 小时
共培养后的时间

图61B

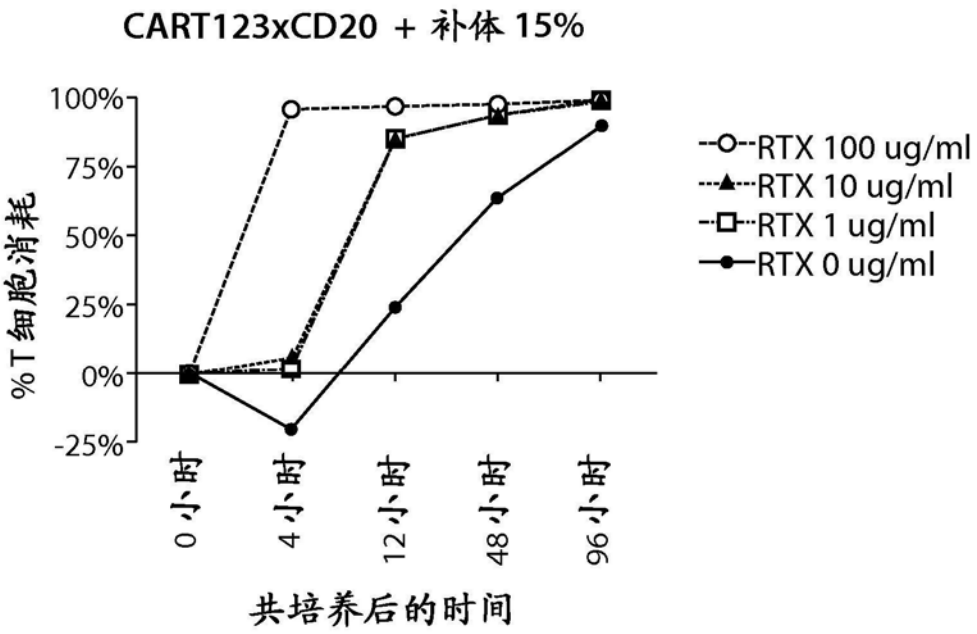

CART123xCD20 + 补体 15%
100%
75%
50%
25%
0%
-25%
%T细胞消耗
0小时
4小时
12小时
48小时
96小时
共培养后的时间
RTX 100 ug/ml
RTX 10 ug/ml
RTX 1 ug/ml
RTX 0 ug/ml

图62

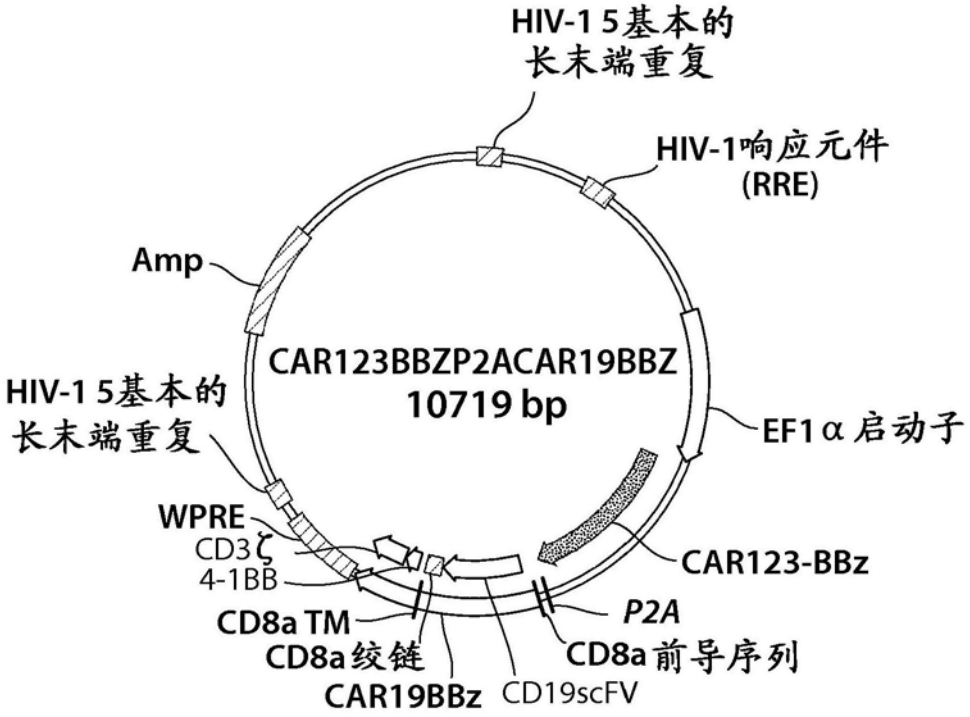

HIV-1 5基本的
长末端重复
HIV-1响应元件
(RRE)
Amp
CAR123BBZP2ACAR19BBZ
10719 bp
HIV-1 5基本的
长末端重复
EF1α启动子
WPRE
CD3ζ
4-1BB
CAR123-BBz
CD8a TM
P2A
CD8a绞链
CD8a前导序列
CAR19BBz
CD19scFV

图63A

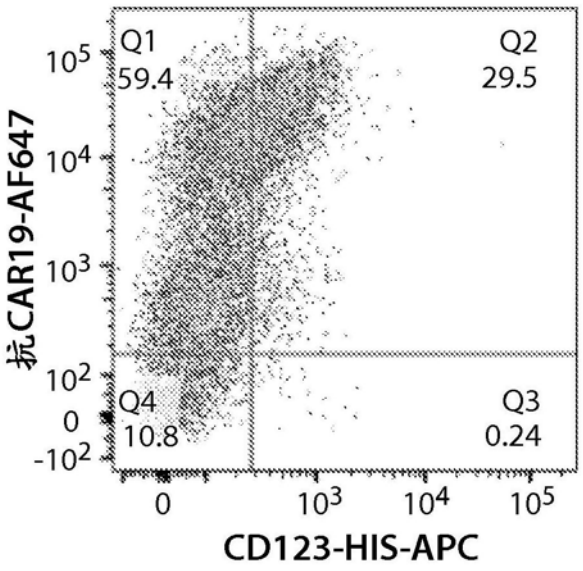

Q1
59.4
Q2
29.5
Q4
10.8
Q3
0.24
抗CAR19-AF647
CD123-HIS-APC
10^5
10^4
10^3
10^2
0
-10^2
0
10^3
10^4
10^5

图63B

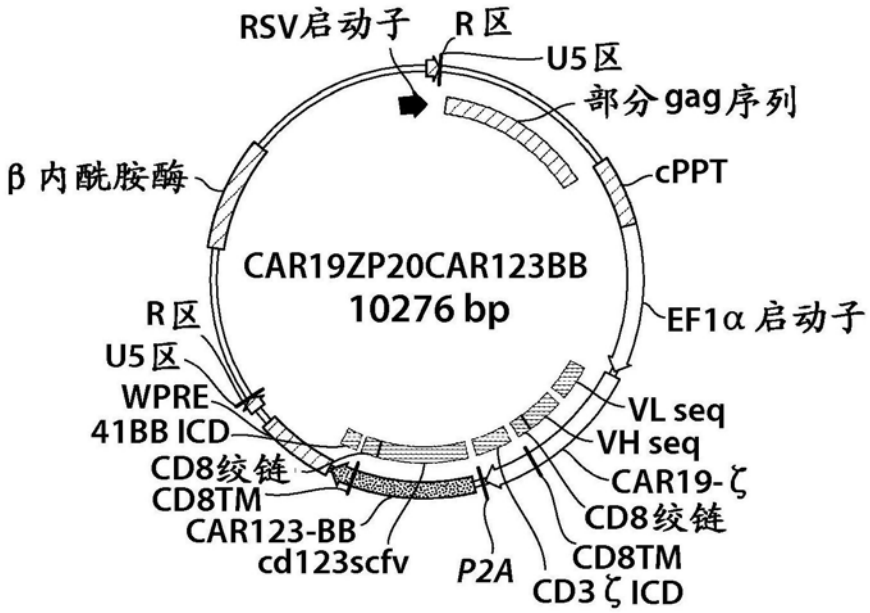

RSV启动子
R区
U5区
部分gag序列
cPPT
β内酰胺酶
CAR19ZP20CAR123BB
10276 bp
EF1α启动子
R区
U5区
WPRE
41BB ICD
CD8绞链
CD8TM
CAR123-BB
cd123scfv
P2A
VL seq
VH seq
CAR19-ζ
CD8绞链
CD8TM
CD3ζ ICD

图64A

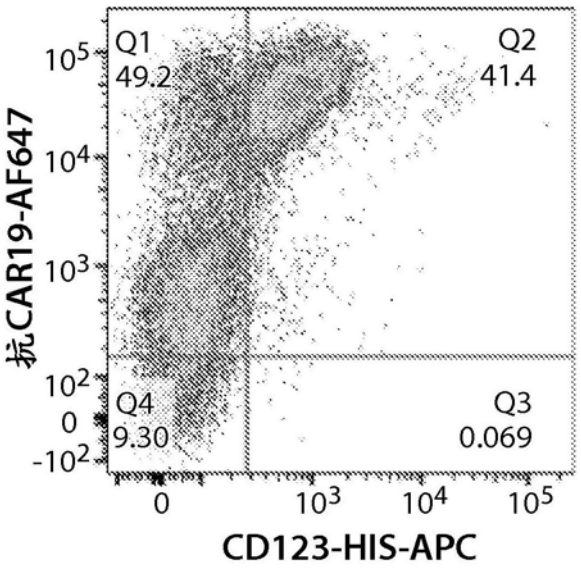

Q1
49.2
Q2
41.4
Q4
9.30
Q3
0.069
抗CAR19-AF647
CD123-HIS-APC
10^5
10^4
10^3
10^2
0
-10^2
0
10^3
10^4
10^5

图64B

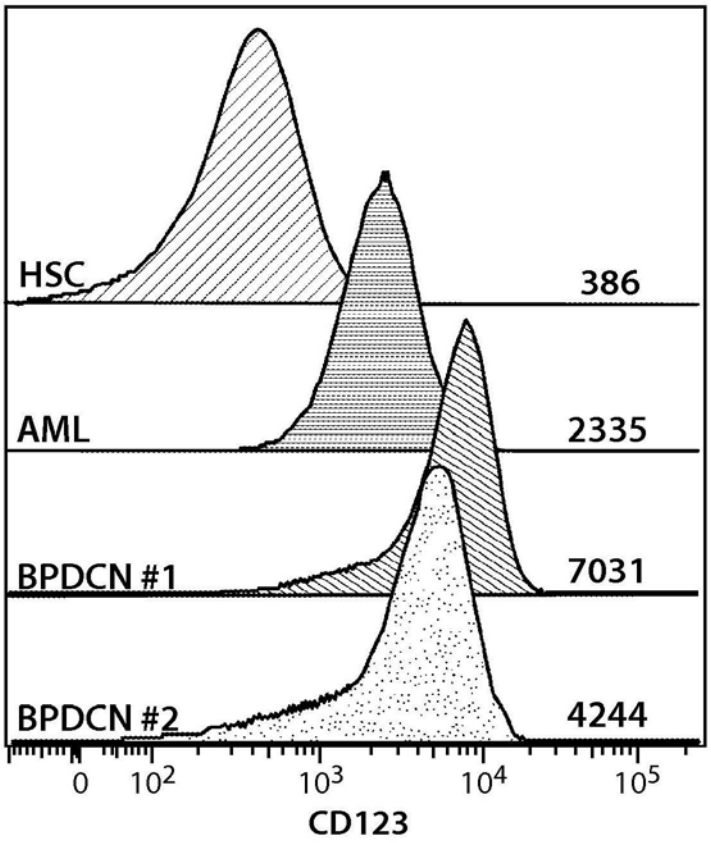

HSC
386
AML
2335
BPDCN #1
7031
BPDCN #2
4244
0
10^2
10^3
10^4
10^5
CD123

图65

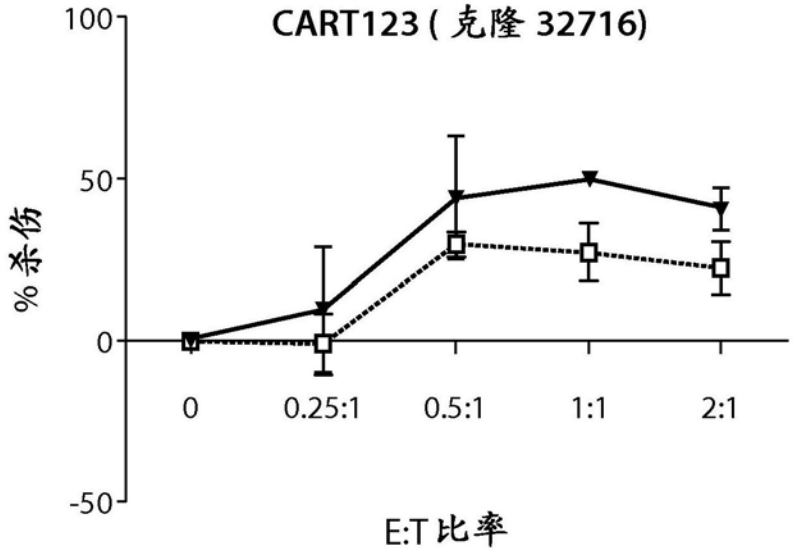

CART123 (克隆 32716)
100
50
0
-50
% 杀伤
0
0.25:1
0.5:1
1:1
2:1
E:T 比率

图66A

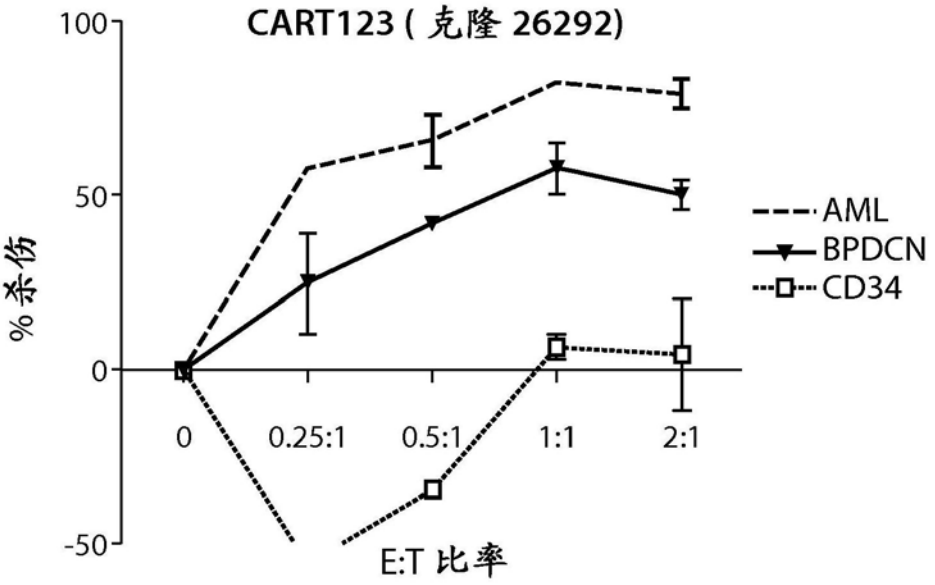

CART123 (克隆 26292)
100
50
0
-50
% 杀伤
0
0.25:1
0.5:1
1:1
2:1
E:T 比率
AML
BPDCN
CD34

图66B

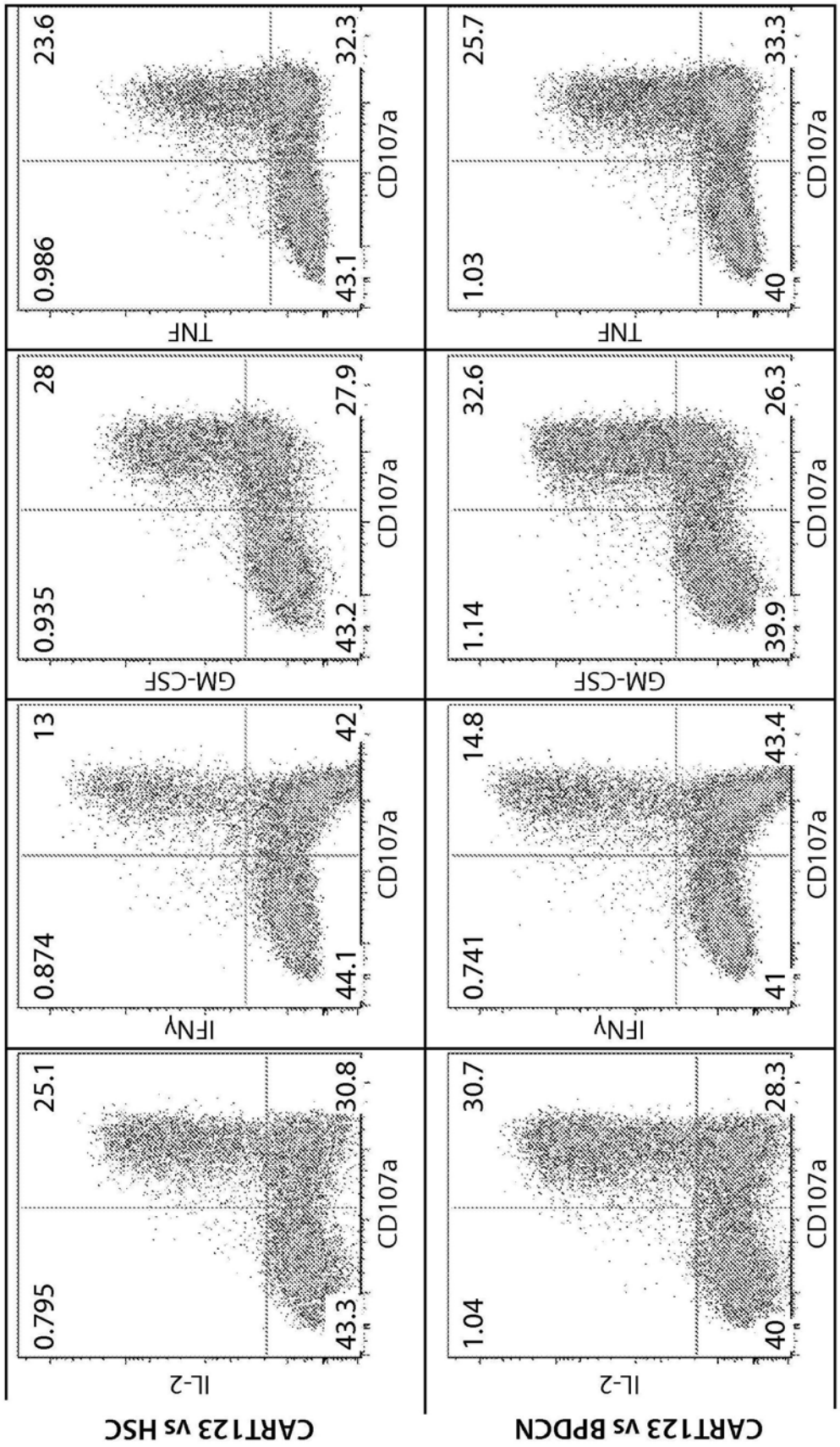

CART123 vs HSC
CART123 vs BPDCN
IL-2
IFNγ
GM-CSF
TNF
CD107a
0.795
25.1
43.3
30.8
0.874
13
44.1
42
0.935
28
43.2
27.9
0.986
23.6
43.1
32.3
1.04
30.7
40
28.3
0.741
14.8
41
43.4
1.14
32.6
39.9
26.3
1.03
25.7
40
33.3

图67

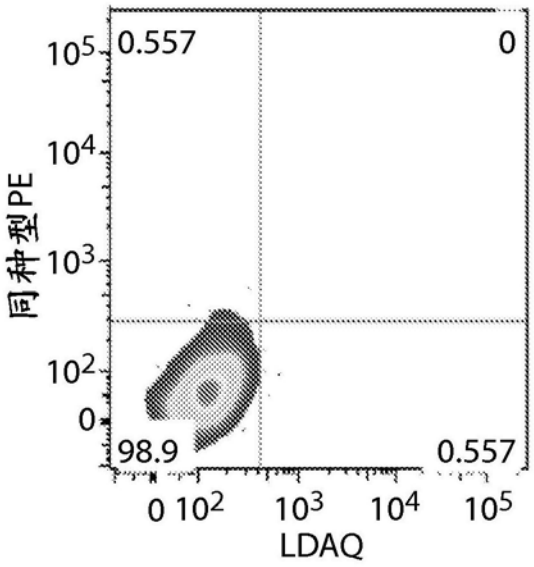


图68A

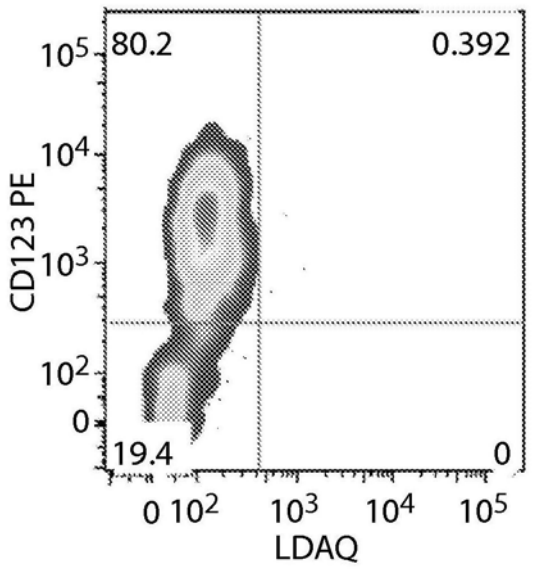


图68B

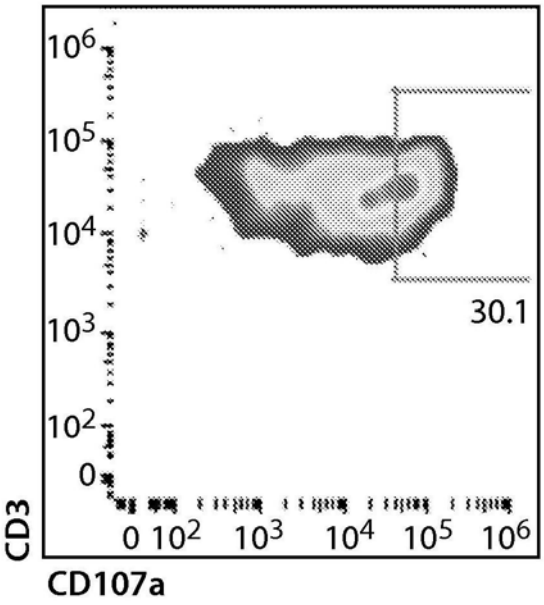

10^6
10^5
10^4
10^3
10^2
0
30.1
CD3
0 10^2 10^3 10^4 10^5 10^6
CD107a

图69A

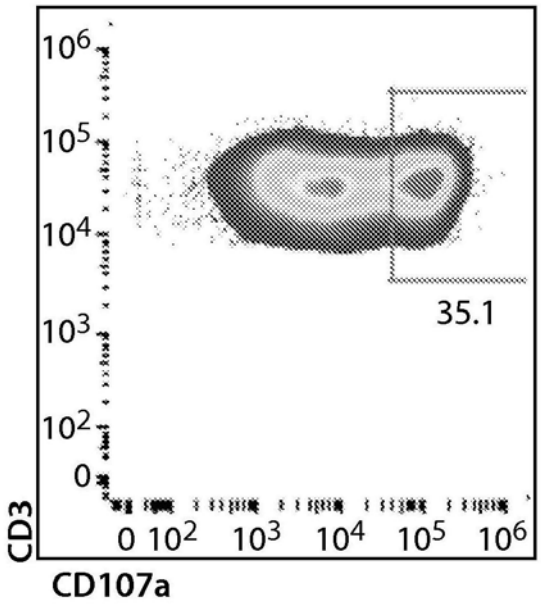

10^6
10^5
10^4
10^3
10^2
0
35.1
CD3
0 10^2 10^3 10^4 10^5 10^6
CD107a

图69B

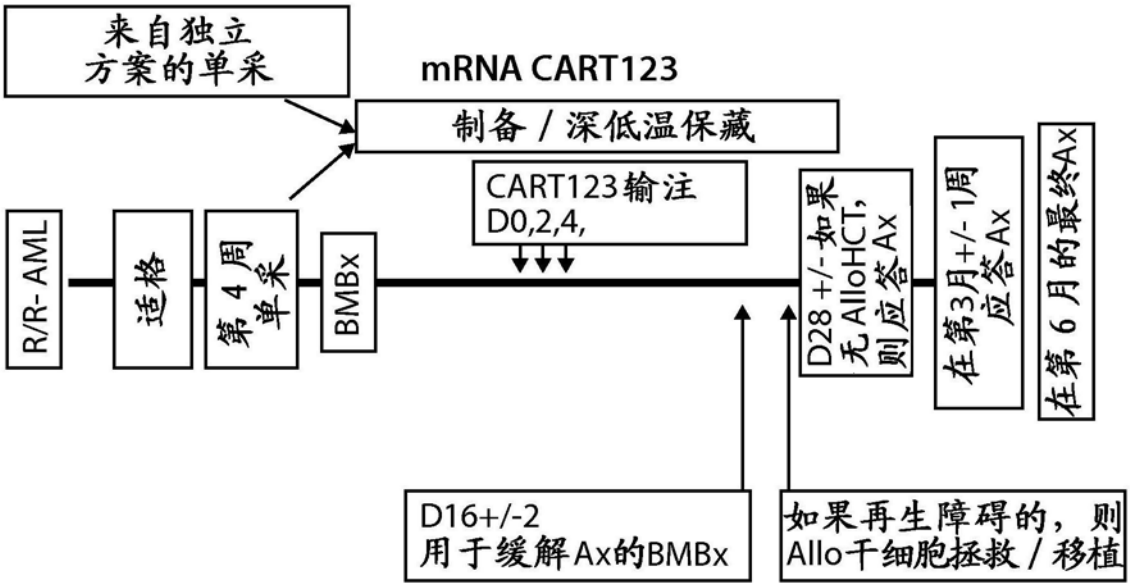

来自独立
方案的单采
mRNA CART123
制备 / 深低温保藏
CART123输注
D0,2,4,
R/R- AML
适格
第 4 周
单采
BMBx
D28 +/- 如果
无 AlloHCT,
则应答Ax
在第3月+/- 1周
应答Ax
在第 6 月的最终Ax
D16+/-2
用于缓解Ax的BMBx
如果再生障碍的，则
Allo干细胞拯救 / 移植

图70

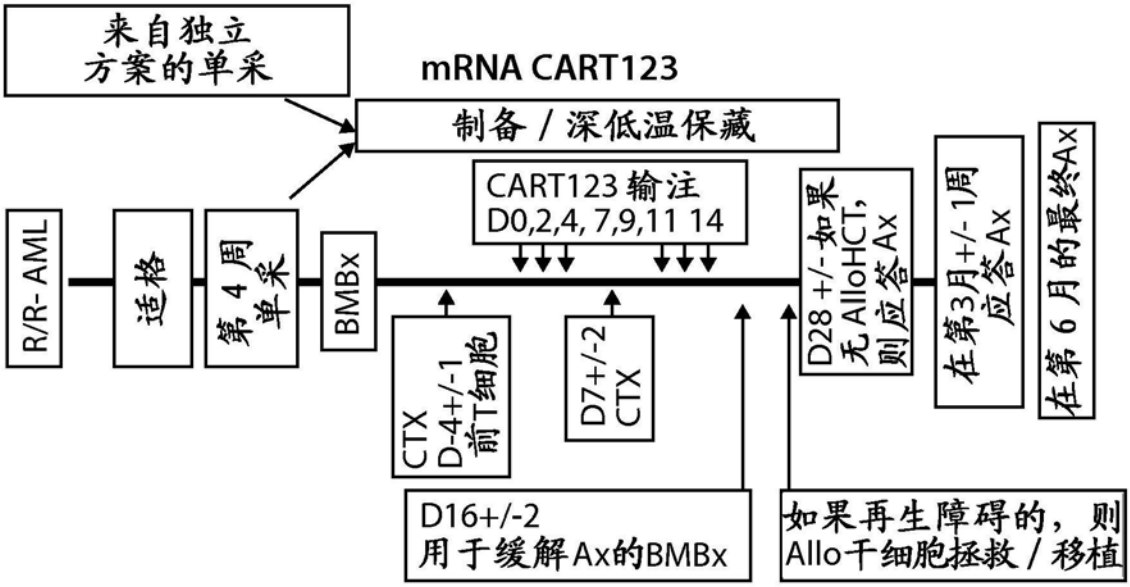

来自独立
方案的单采
mRNA CART123
制备 / 深低温保藏
CART123 输注
D0,2,4, 7,9,11 14
R/R- AML
适格
第 4 周
单采
BMBx
CTX
D-4+/-1
前T细胞
D7+/-2
CTX
D28 +/- 如果
无 AlloHCT,
则应答Ax
在第3月+/- 1周
应答Ax
在第 6 月的最终Ax
D16+/-2
用于缓解Ax的BMBx
如果再生障碍的，则
Allo干细胞拯救 / 移植

图71

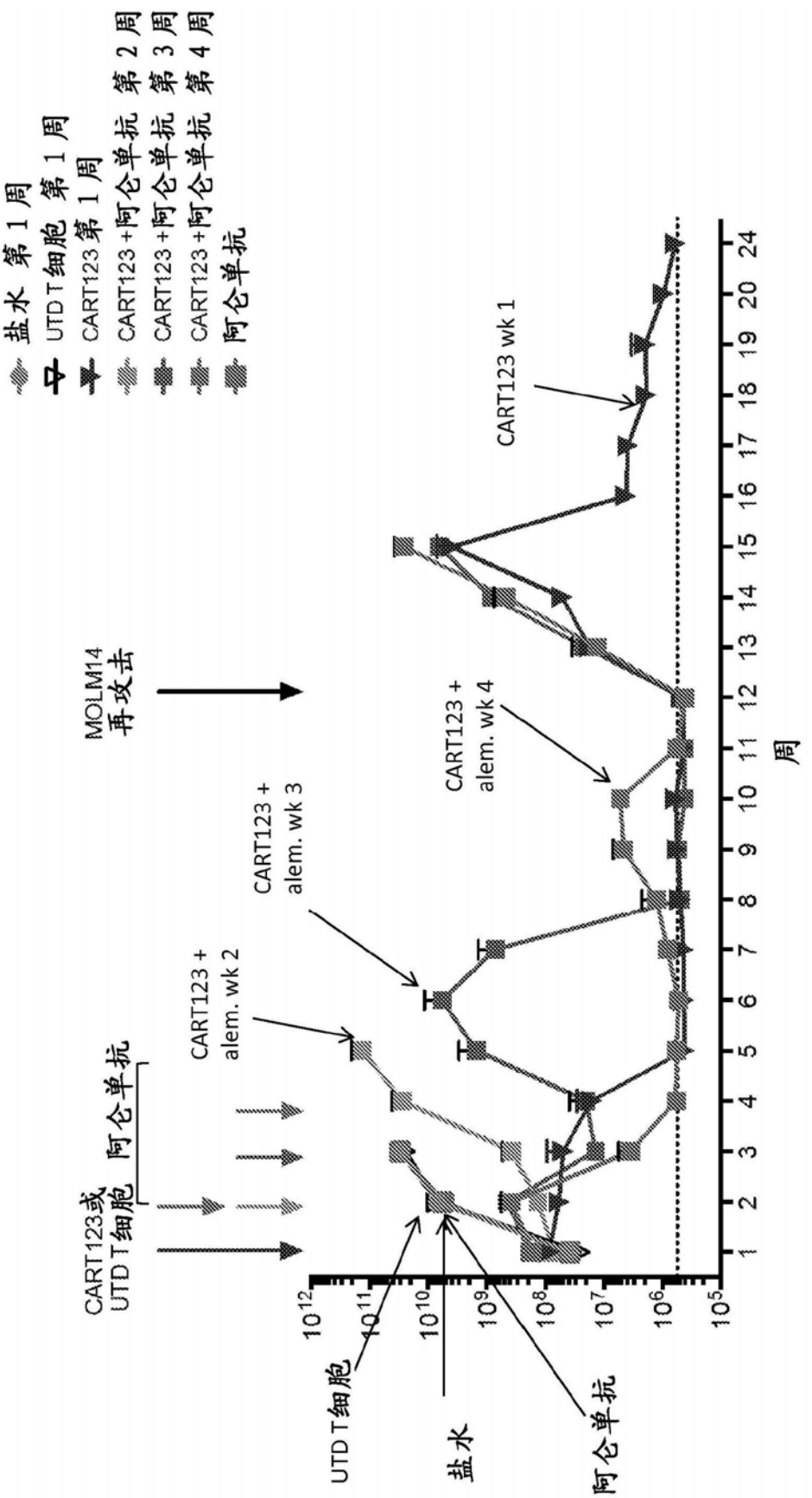

盐水 第 1 周
UTD T细胞 第 1 周
CART123 第 1 周
CART123 +阿仑单抗 第 2 周
CART123 +阿仑单抗 第 3 周
CART123 +阿仑单抗 第 4 周
阿仑单抗
CART123或
UTD T细胞
阿仑单抗
CART123 +
alem. wk 2
CART123 +
alem. wk 3
CART123 +
alem. wk 4
CART123 wk 1
MOLM14
再攻击
UTD T细胞
盐水
阿仑单抗
周

图72A

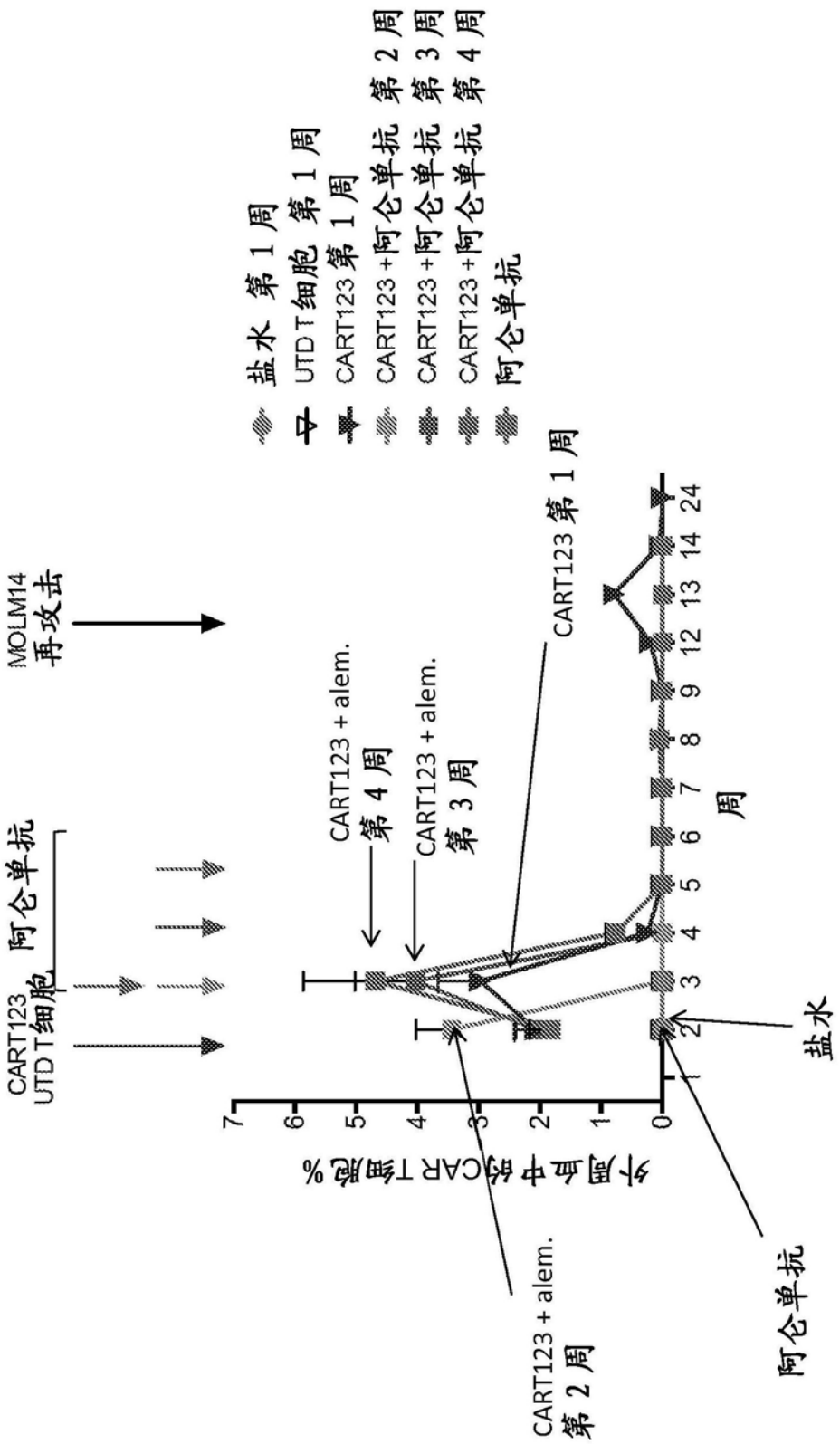

盐水 第 1 周
UTD T细胞 第 1 周
CART123第 1 周
CART123 +阿仑单抗 第 2 周
CART123 +阿仑单抗 第 3 周
CART123 +阿仑单抗 第 4 周
阿仑单抗
MOLM14
再攻击
CART123
UTD T细胞
阿仑单抗
CART123 + alem.
第 4 周
CART123 + alem.
第 3 周
CART123 第 1 周
CART123 + alem.
第 2 周
盐水
阿仑单抗
周
外周血中的CAR T细胞%

图72B

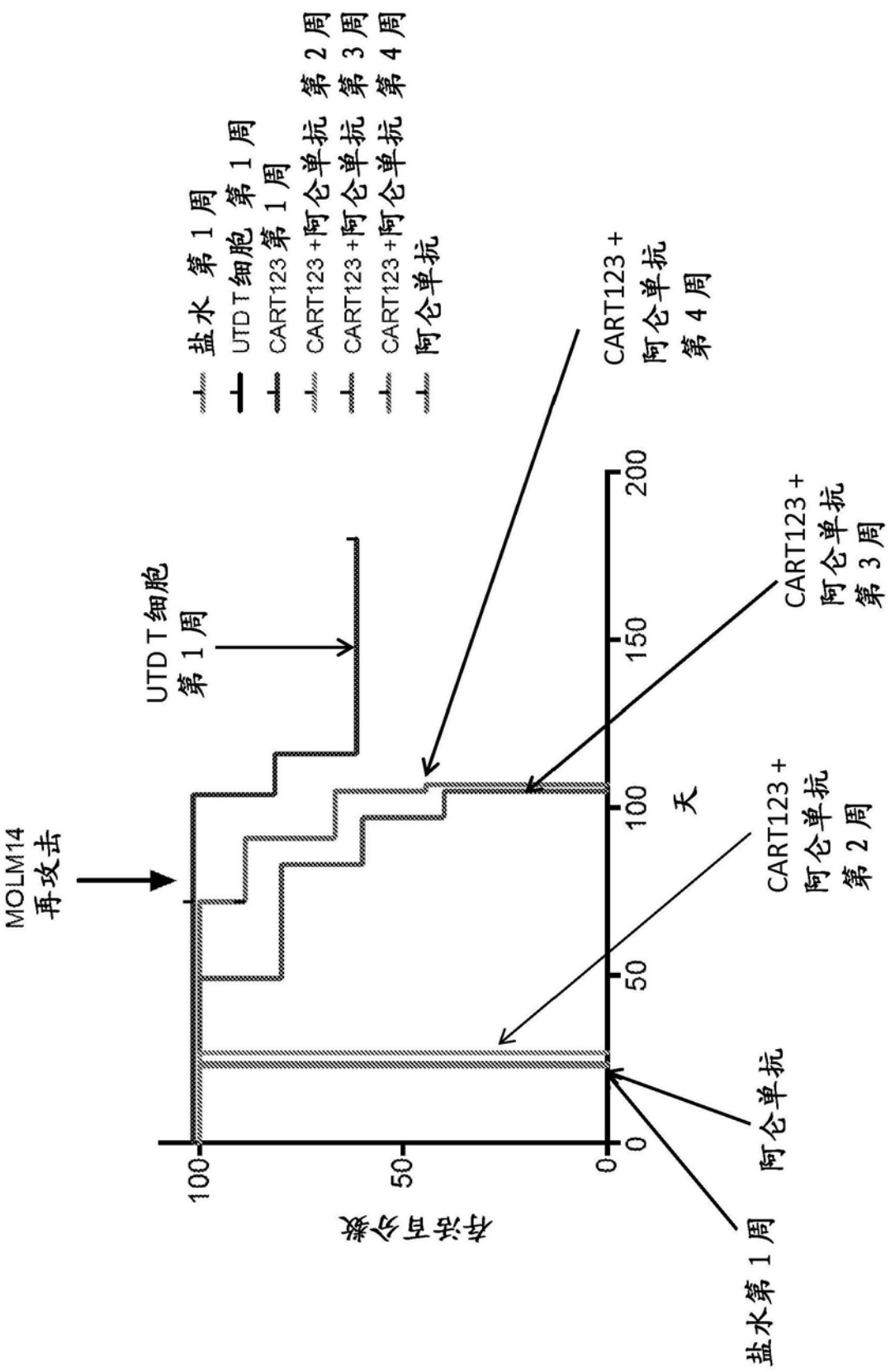

盐水 第 1 周
UTD T 细胞 第 1 周
CART123 第 1 周
CART123 +阿仑单抗 第 2 周
CART123 +阿仑单抗 第 3 周
CART123 +阿仑单抗 第 4 周
阿仑单抗
MOLM14
再攻击
UTD T 细胞
第 1 周
CART123 +
阿仑单抗
第 4 周
CART123 +
阿仑单抗
第 3 周
CART123 +
阿仑单抗
第 2 周
阿仑单抗
盐水第 1 周
存活百分数
100
50
0
0
50
100
150
200
天

图72C

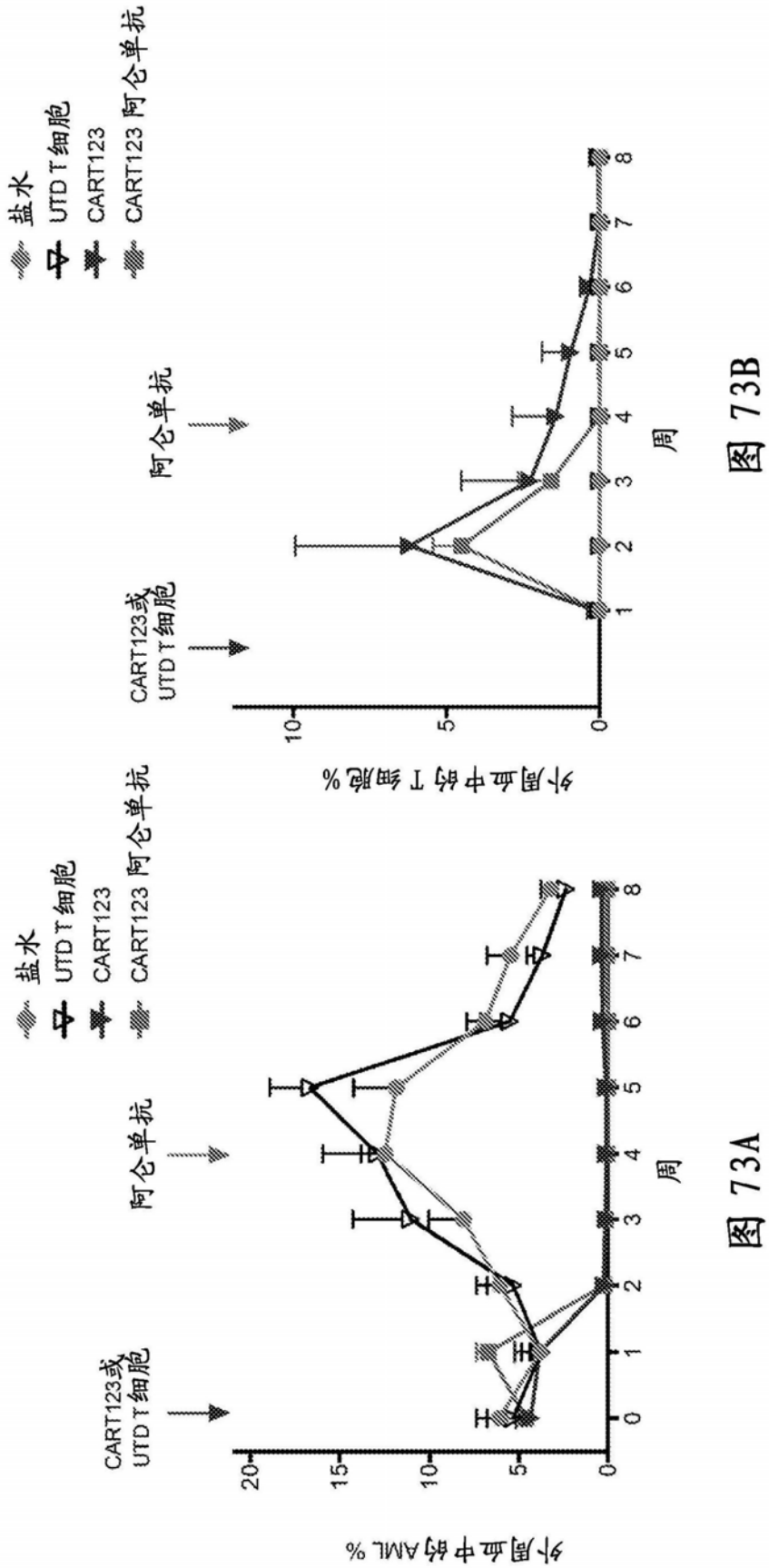

盐水
UTD T细胞
CART123
CART123 阿仓单抗
CART123或
UTD T细胞
阿仓单抗
外周血中的AML %
外周血中的 T 细胞%
周
0
1
2
3
4
5
6
7
8
0
5
10
15
20

图 73A

图 73B

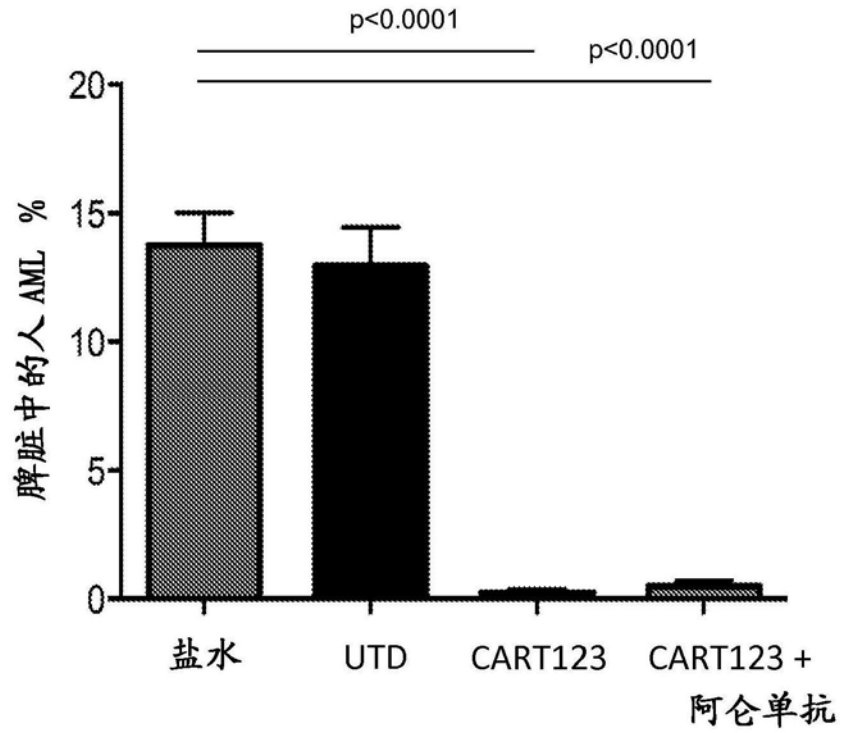

p<0.0001
p<0.0001
脾脏中的人 AML %
20
15
10
5
0
盐水
UTD
CART123
CART123 +
阿仑单抗

图74A

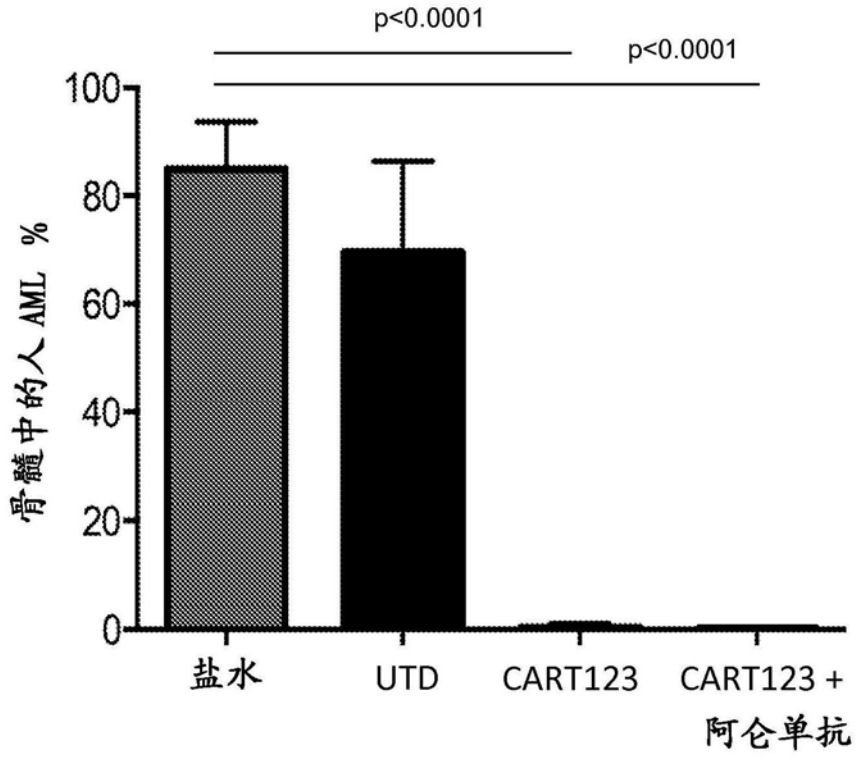

p<0.0001
p<0.0001
骨髓中的人 AML %
100
80
60
40
20
0
盐水
UTD
CART123
CART123 +
阿仑单抗

图74B

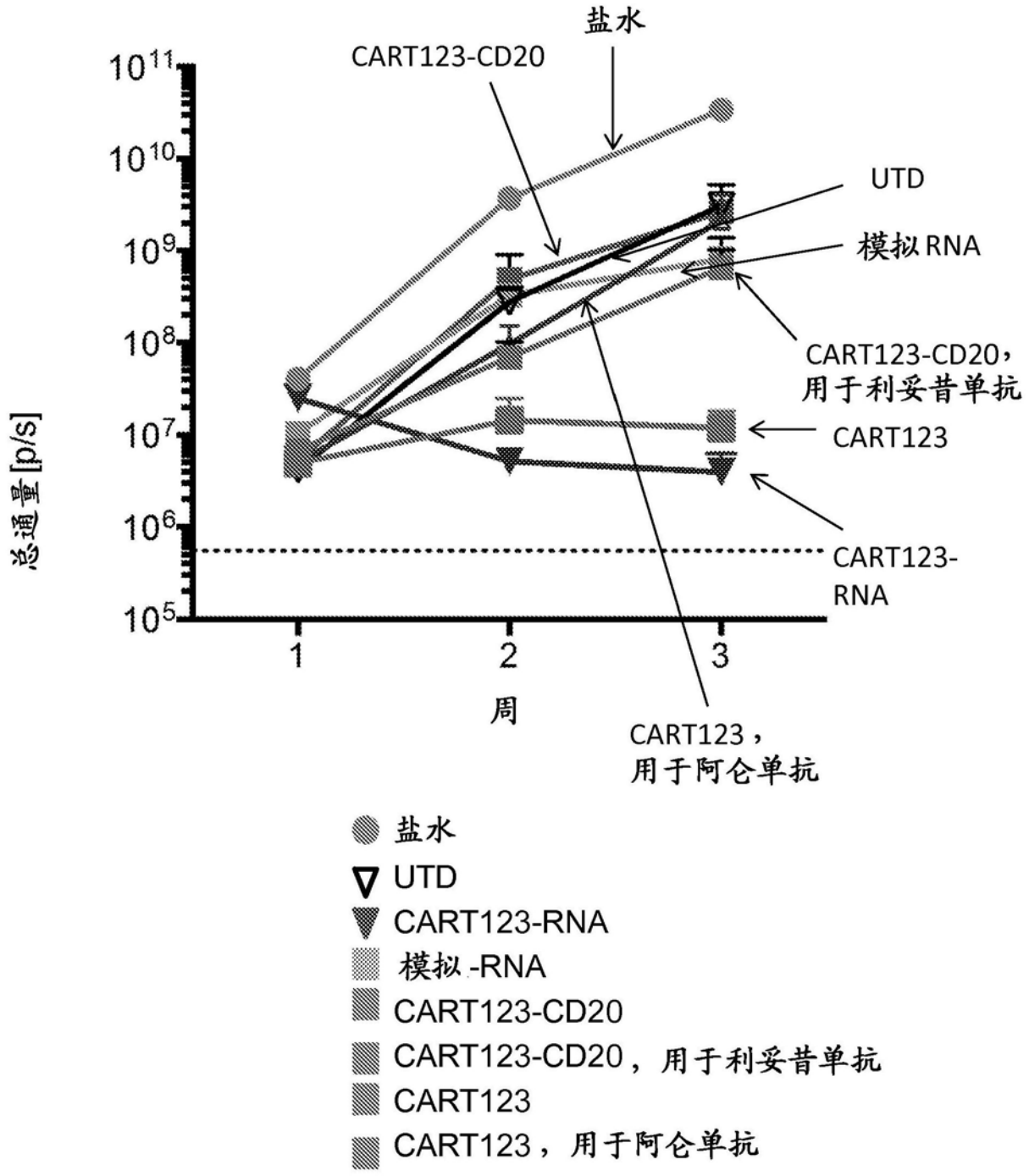

盐水
CART123-CD20
UTD
模拟RNA
CART123-CD20，
用于利妥昔单抗
CART123
CART123-
RNA
CART123，
用于阿仑单抗
总通量[p/s]
10^{11}
10^{10}
10^{9}
10^{8}
10^{7}
10^{6}
10^{5}
1
2
3
周
盐水
UTD
CART123-RNA
模拟-RNA
CART123-CD20
CART123-CD20，用于利妥昔单抗
CART123
CART123，用于阿仑单抗

图75