



(12)发明专利



(10)授权公告号 CN 105744944 B

(45)授权公告日 2020.07.07

(21)申请号 201480061392.0

C07K 14/705(2006.01)

(22)申请日 2014.09.08

C07K 14/715(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

C07K 7/06(2006.01)

申请公布号 CN 105744944 A

C07K 7/08(2006.01)

G01N 33/566(2006.01)

(43)申请公布日 2016.07.06

(30)优先权数据

61/875,598 2013.09.09 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2016.05.09

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2014/054612 2014.09.08

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/035332 EN 2015.03.12

(73)专利权人 卡尼姆盖德治疗学公司

地址 瑞典赫尔湾

(72)发明人 L·霍坎松

(74)专利代理机构 北京信慧永光知识产权代理

有限责任公司 11290

代理人 洪俊梅 杨国强

(51)Int.Cl.

A61K 38/00(2006.01)

(56)对比文件

CN 1620468 A, 2005.05.25, 说明书第3页第2段第4-5行、第10页第4段、第10页第4段、第12页第3段、第15页第8段、第11段至第16页第2段、第16页第4-5段、第17页第3段以及第21页第10段.

WO 03099312 A1, 2003.12.04, 全文.

Yi Huanfa.Targeting the Immunoregulator SRA/CD204 Potentiates Specific Dendritic Cell Vaccine-Induced T-cell Response and Antitumor Immunity.《Cancer Research》.2011,第71卷(第21期),第6611-6620页.

赵楠.白细胞介素21的免疫调节功能及其在血液肿瘤中的作用.《中国肿瘤临床》.2012,第39卷(第7期),第414-417页.

审查员 季璇馨

权利要求书5页 说明书194页

序列表110页 附图48页

(54)发明名称

免疫系统调节器

(57)摘要

本文描述的本发明涉及与抑制免疫系统的分子相互作用的组合物。更具体地,本文描述的实施方式涉及通过与同免疫细胞上的受体相互作用的免疫调节肽的结合而去除免疫系统免疫抑制的组合物、能激发免疫细胞的组合物以及对肿瘤细胞具有细胞毒性的组合物的发现、制备和用途。

1. 由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、62、64-66、68、76、94-96、98、265-393或583-595的氨基酸序列组成的分离的肽，

其中如果所述分离的肽与由氨基酸序列VFDEFKPLVEEPQNLIK (SEQ ID NO:185) 组成的第二肽接触，所述分离的肽特异结合所述第二肽。

2. 根据权利要求1所述的分离的肽，其中所述分离的肽由氨基酸序列FFVKLS (SEQ ID NO:62) 组成。

3. 根据权利要求1所述的分离的肽，其中所述分离的肽由氨基酸序列KKLDTFFVKLSLFTER (SEQ ID NO:2) 组成。

4. 根据权利要求1所述的分离的肽，其中所述分离的肽由氨基酸序列RKLDTFFVKLSLFTERRR (SEQ ID NO:586) 组成。

5. 根据权利要求1-4任一项所述的分离的肽，其中所述分离的肽包含合成肽。

6. 根据权利要求1-4任一项所述的分离的肽，其中所述分离的肽包含修饰，所述修饰包含D氨基酸、N-末端乙酰基、C-末端酰胺基、糖基化、亚硝基化、羰基化、氧化、连接的药理学修饰剂和连接的聚乙二醇中的至少一种或其任意组合。

7. 根据权利要求1-4任一项所述的分离的肽，其中所述分离的肽活化免疫细胞。

8. 根据权利要求1-4任一项所述的分离的肽，其中，如果包含免疫细胞的溶液包含有序列VFDEFKPLVEEPQNLIK (SEQ ID NO:185) 的第二肽、白蛋白聚集体或损伤的白蛋白或白蛋白片段，或如果所述免疫细胞的LFA-1受体结合至所述第二肽、白蛋白聚集体或损伤的白蛋白或白蛋白片段，所述分离的肽活化所述免疫细胞。

9. 根据权利要求1-4任一项所述的分离的肽，其中，如果所述分离的肽与包含氨基酸序列VFDEFKPLVEEPQNLIK (SEQ ID NO:185) 的第二肽、白蛋白聚集体或损伤的白蛋白或白蛋白片段接触，所述分离的肽特异结合所述第二肽、白蛋白聚集体或损伤的白蛋白或白蛋白片段。

10. 根据权利要求1-4任一项所述的分离的肽，其中，如果所述分离的肽与包含LFA-1受体的免疫细胞和包含氨基酸序列VFDEFKPLVEEPQNLIK (SEQ ID NO:185) 的第二肽、白蛋白聚集体或损伤的白蛋白或白蛋白片段接触，所述分离的肽抑制所述第二肽、白蛋白聚集体或损伤的白蛋白或白蛋白片段与所述LFA-1受体的结合。

11. 一种组合物，其包含：

权利要求1-4任一项所述的分离的肽；和

药学上可接受的载体或稀释剂。

12. 根据权利要求11所述的组合物，其中所述药学上可接受的载体或稀释剂包含可降解颗粒。

13. 根据权利要求11所述的组合物，其中所述组合物包含至少10 μ g的所述肽。

14. 根据权利要求11所述的组合物，其包含选自：Bicine、Tricine、MOPS、MOPSO、MOBS、Tris、Hepes、HEPBS、MES、磷酸盐、碳酸盐、醋酸盐、柠檬酸盐、乙醇酸盐、乳酸盐、硼酸盐、ACES、ADA、酒石酸盐、AMP、AMPD、AMPSO、BES、CABS、甲次砷酸盐、CHES、DIPSO、EPPS、乙醇胺、甘氨酸、HEPPSO、咪唑、咪唑乳酸、PIPES、SSC、SSPE、POPSO、TAPS、TABS、TAPSO和TES组成的组的缓冲液。

15. 根据权利要求11所述的组合物，其中如果与癌细胞接触，所述组合物诱导对所述癌

细胞的细胞毒性。

16. 根据权利要求15所述的组合物,其中所述癌细胞选自由以下组成的组:结肠直肠癌、肾癌、乳癌、前列腺癌、胰腺癌、肺癌、恶性黑色素瘤、鳞状细胞癌、膀胱癌、骨肉瘤或支气管癌。

17. 根据权利要求15所述的组合物,其中所述癌细胞选自小细胞肺癌或非小细胞肺癌。

18. 根据权利要求11所述的组合物,其中所述组合物包含凝胶。

19. 根据权利要求18所述的组合物,其中所述组合物在生理状况下包含凝胶形式至少72小时。

20. 权利要求1-4任一项所述的分离的肽在制备用于治疗个体中癌症的药物中的应用,其中如果有效量的所述药物施用于所述个体,如下中的至少一种被诱导:

(a) 免疫细胞的活化;

(b) 损伤的白蛋白、白蛋白聚集体、白蛋白片段或第二肽与LFA-1受体或IL-2受体结合的抑制;

其中所述第二肽或白蛋白片段,如果存在,包含SEQ ID NO:183-246中的至少一种;或

(c) 对肿瘤细胞的细胞毒性。

21. 根据权利要求20所述的应用,其中(a)和(b)被诱导。

22. 根据权利要求20所述的应用,其中(a)、(b)和(c)被诱导。

23. 根据权利要求20所述的应用,其中所述白蛋白片段或第二肽包含不超过260个氨基酸残基。

24. 根据权利要求20所述的应用,其中所述损伤的白蛋白、白蛋白聚集体、白蛋白片段或第二肽包含SEQ ID NO:185。

25. 根据权利要求20所述的应用,其中所述损伤的白蛋白、白蛋白聚集体、白蛋白片段或第二肽由SEQ ID NO:185组成。

26. 根据权利要求20所述的应用,其中在抑制与所述损伤的白蛋白、白蛋白聚集体、白蛋白片段或第二肽结合之后,所述LFA-1受体可用于刺激。

27. 根据权利要求20所述的应用,其中在抑制与所述损伤的白蛋白、白蛋白聚集体、白蛋白片段或第二肽结合之后,所述免疫细胞被刺激。

28. 根据权利要求27所述的应用,其中所述免疫细胞被包含免疫刺激试剂的第二治疗试剂刺激。

29. 根据权利要求28所述的应用,其中所述第二治疗试剂与所述分离的肽同时施用。

30. 根据权利要求28所述的应用,其中所述药物包含所述第二治疗试剂。

31. 根据权利要求28所述的应用,其中所述第二治疗试剂在施用所述分离的肽之前施用。

32. 根据权利要求28所述的应用,其中所述第二治疗试剂在施用所述分离的肽之后施用。

33. 根据权利要求20所述的应用,其中所述分离的肽以至少50微克的剂量施用于个体。

34. 根据权利要求20所述的应用,其中所述肽被施用于所述癌症的肿瘤周围。

35. 根据权利要求20所述的应用,其中所述肽被全身施用。

36. 根据权利要求20所述的应用,其中所述肽被施用至肿瘤。

37. 根据权利要求20所述的应用,其中所述癌症包括结肠直肠癌、肾癌、乳癌、前列腺癌、胰腺癌、肺癌、恶性黑色素瘤、鳞状细胞癌、膀胱癌、骨肉瘤或支气管癌中的至少一种。

38. 根据权利要求20所述的应用,其中所述癌症包括小细胞肺癌或非小细胞肺癌中的至少一种。

39. 根据权利要求20所述的应用,其中所述个体包含含损伤的白蛋白、白蛋白聚集体、白蛋白片段或第二肽的血清,其中所述损伤的白蛋白、白蛋白聚集体、白蛋白片段或第二肽包含SEQ ID NO:183-246中的至少一种。

40. 根据权利要求39所述的应用,其中所述第二肽、损伤的白蛋白、白蛋白聚集体或白蛋白片段包含氨基酸序列VFDEFKPLVEEPQNLIK (SEQ ID NO:185)。

41. 根据权利要求40所述的应用,其中所述第二肽或白蛋白片段包含不超过260个氨基酸残基。

42. 分离的肽在制备用于活化癌症患者的免疫细胞的药物中的应用,所述分离的肽由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、62、64-66、68、76、94-96、98、265-393或583-595的氨基酸序列组成,其中如果所述分离的肽与由氨基酸序列VFDEFKPLVEEPQNLIK (SEQ ID NO:185)组成的第二肽接触,所述分离的肽特异结合所述第二肽。

43. 根据权利要求42所述的应用,其中所述分离的肽抑制损伤的白蛋白、白蛋白聚集体、白蛋白片段或第二肽与LFA-1受体结合,其中所述白蛋白片段或第二肽包含SEQ ID NO:183-246中的至少一种。

44. 根据权利要求43所述的应用,其中所述损伤的白蛋白、白蛋白聚集体、白蛋白片段或第二肽包含不超过260个氨基酸。

45. 根据权利要求43所述的应用,其中所述损伤的白蛋白、白蛋白聚集体、白蛋白片段或第二肽包含SEQ ID NO:185。

46. 根据权利要求43所述的应用,其中所述损伤的白蛋白、白蛋白聚集体、白蛋白片段或第二肽由SEQ ID NO:185组成。

47. 根据权利要求43-46任一项所述的应用,其中在抑制与所述损伤的白蛋白、白蛋白聚集体、白蛋白片段或第二肽结合之后,所述LFA-1受体可用于刺激。

48. 根据权利要求43-46任一项所述的应用,其中在抑制与所述损伤的白蛋白、白蛋白聚集体、白蛋白片段或第二肽结合之后,所述LFA-1受体被刺激。

49. 根据权利要求48所述的应用,其中所述免疫细胞被第二治疗试剂刺激。

50. 根据权利要求49所述的应用,其中所述第二治疗试剂与所述分离的肽同时施用。

51. 根据权利要求49所述的应用,其中所述药物包含所述第二治疗试剂。

52. 根据权利要求49所述的应用,其中所述第二治疗试剂在施用所述分离的肽之前施用。

53. 根据权利要求49所述的应用,其中所述第二治疗试剂在施用所述分离的肽之后施用。

54. 权利要求1-4任一项所述的分离的肽在制备用于与癌细胞结合的药物中的应用。

55. 根据权利要求54所述的应用,其中所述肽包含可检测的部分。

56. 根据权利要求55所述的应用,其中所述可检测的部分包括生物素标记、放射性标记、荧光标记、酶或胶体金标记。

57. 根据权利要求54所述的应用, 其中所述癌细胞为结肠直肠癌细胞、肾癌细胞、乳腺癌细胞、前列腺癌细胞、胰腺癌细胞、肺癌细胞、恶性黑色素瘤细胞、鳞状细胞癌细胞、膀胱癌细胞、骨肉瘤细胞或支气管癌细胞。

58. 根据权利要求54所述的应用, 其中所述癌细胞为小细胞肺癌细胞或非小细胞肺癌细胞。

59. 根据权利要求54所述的应用, 其中所述肽包含抗体或抗体片段。

60. 根据权利要求54所述的应用, 其进一步包括使抗体或抗体片段与所述肽结合来检测所述肽的存在。

61. 权利要求1-4任一项所述的分离的肽在制备用于改善需要的主体中免疫抑制的药物中的应用, 其中如果有效量的所述药物施用于所述主体, 发生如下中的至少一种:

(a) 免疫细胞的活化; 或

(b) 损伤的白蛋白、白蛋白聚集体、白蛋白片段或第二肽与LFA-1受体的结合的抑制;

其中所述第二肽或白蛋白片段, 如果存在, 包含SEQ ID NO:183-246中的至少一种。

62. 根据权利要求61所述的应用, 其中所述白蛋白片段或第二肽包含不超过260个氨基酸残基。

63. 根据权利要求61所述的应用, 其中所述白蛋白片段或第二肽包含SEQ ID NO:185。

64. 根据权利要求61所述的应用, 其中所述白蛋白片段或第二肽由SEQ ID NO:185组成。

65. 根据权利要求61所述的应用, 其中在抑制与所述损伤的白蛋白、白蛋白聚集体、白蛋白片段或第二肽结合之后, 所述LFA-1受体可用于刺激。

66. 一种试剂盒, 其包括:

权利要求1-4任一项所述的分离的肽; 和

可检测部分。

67. 根据权利要求66所述的试剂盒, 其中所述可检测部分包括生物素标记、放射性标记、荧光标记、酶或胶体金标记。

68. 编码权利要求1-4任一项所述的分离的肽的分离的核酸。

69. 包含权利要求68所述的分离的核酸的分离的载体。

70. 权利要求1-4任一项所述的分离的肽在制备用于治疗癌症或免疫抑制的药物中的应用。

71. 权利要求1-4任一项所述的分离的肽在制备用于刺激癌症患者的免疫细胞的药物中的应用。

72. 权利要求11所述的组合物在制备用于治疗癌症的药物中的应用。

73. 权利要求11所述的组合物在制备用于刺激癌症患者中的免疫细胞的药物中的应用。

74. 根据权利要求70所述的应用, 其中所述癌症包括结肠直肠癌、肾癌、乳腺癌、前列腺癌、胰腺癌、肺癌、恶性黑色素瘤、鳞状细胞癌、膀胱癌、骨肉瘤或支气管癌中的至少一种。

75. 根据权利要求70所述的应用, 其中所述癌症包括小细胞肺癌或非小细胞肺癌中的至少一种。

76. 根据权利要求1-4任一项所述的分离的肽, 其中所述分离的肽结合至支持体。

77. 根据权利要求76所述的分离的肽,其中所述分离的肽包含修饰,所述修饰包含D氨基酸、N-末端乙酰基、C-末端酰胺基、糖基化、亚硝基化、羰基化、氧化、连接的药学动力修饰剂和连接的聚乙二醇中的至少一种或其任意组合。

78. 根据权利要求76所述的分离的肽,其中所述分离的肽活化免疫细胞。

79. 根据权利要求76所述的分离的肽,其中,如果包含所述免疫细胞的溶液包含含有序列VFDEFKPLVEEPQNLIK (SEQ ID NO:185) 的损伤的白蛋白、白蛋白聚集体、白蛋白片段或第二肽,或如果所述免疫细胞的LFA-1受体结合至所述损伤的白蛋白、白蛋白聚集体、白蛋白片段或第二肽,所述分离的肽活化所述免疫细胞。

80. 根据权利要求76所述的分离的肽,其中,如果所述分离的肽与包含氨基酸序列VFDEFKPLVEEPQNLIK (SEQ ID NO:185) 的损伤的白蛋白、白蛋白聚集体、白蛋白片段或第二肽接触,所述分离的肽特异结合所述损伤的白蛋白、白蛋白聚集体、白蛋白片段或第二肽。

81. 根据权利要求76所述的分离的肽,其中,如果所述分离的肽与包含LFA-1受体的免疫细胞和包含氨基酸序列VFDEFKPLVEEPQNLIK (SEQ ID NO:185) 的损伤的白蛋白、白蛋白聚集体、白蛋白片段或第二肽接触,所述分离的肽抑制所述损伤的白蛋白、白蛋白聚集体、白蛋白片段或第二肽与所述LFA-1受体的结合。

82. 一种制备权利要求1-4任一项所述的分离的肽的方法,所述方法包括固相化学合成,以此制备所述分离的肽。

83. 根据权利要求82所述的方法,其中所述分离的肽特异结合SEQ ID NO:185的肽。

84. 根据权利要求1-4任一项所述的分离的肽,应用于检测结合免疫细胞的白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的存在,所述应用包括:

从病患分离所述免疫细胞;和

将所述免疫细胞与所述分离的肽接触。

85. 根据权利要求84所述的分离的肽,其进一步包括可检测的部分。

86. 根据权利要求85所述的分离的肽,其中所述接触在选自由全血、血清、骨髓、分离的免疫细胞和肿瘤活组织检查组成的组中的生物样品中进行。

87. 一种将癌细胞与肽结合的体外方法,所述方法并不用于诊断或治疗患者中的疾病,并且所述方法包括:

将癌细胞与权利要求1-4任一项所述的分离的肽接触;

并检测所述分离的肽与所述癌细胞的结合。

88. 根据权利要求87所述的体外方法,其中所述肽包含可检测的部分。

89. 根据权利要求88所述的体外方法,其中所述可检测的部分包括生物素标记、放射性标记、荧光标记、酶或胶体金标记。

90. 根据权利要求87所述的体外方法,其中所述癌细胞为结肠直肠癌细胞、肾癌细胞、乳腺癌细胞、前列腺癌细胞、胰腺癌细胞、肺癌细胞、恶性黑色素瘤细胞、鳞状细胞癌细胞、膀胱癌细胞、骨肉瘤细胞或支气管癌细胞。

91. 根据权利要求87所述的体外方法,其中所述癌细胞为小细胞肺癌细胞或非小细胞肺癌细胞。

92. 根据权利要求87所述的体外方法,其中所述肽包含抗体或抗体片段。

免疫系统调节器

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求2013年9月9日提交的序列号61/875598的美国临时申请的权益,其全部内容通过引用的方式并入本文。

[0003] 电子版的序列

[0004] 本申请与电子版的序列表一起提交。该序列表作为名称为CANIG005W0.TXT的文件提供,创建并最后保存于2014年9月8日,其大小为162189字节。该序列表的电子版中的信息通过引用的方式全文并入本文。

发明领域

[0005] 本发明的各方面主要涉及与抑制免疫系统的分子相互作用的组合物。更具体地,本文描述的实施方式涉及调节免疫系统的组合物的发现、制备和用途。

[0006] 发明背景

[0007] 免疫系统被精细调整以检测并摧毁外来分子,并且同时避免可能引起正常组织的破坏的过度反应,所述正常组织的破坏引起自身免疫或慢性炎症性疾病。特定免疫反应的启动是在效应器功能(比如,细胞因子的释放、特定抗体的产生和/或细胞的细胞毒活性)的活化中达到极点的事件的协调有致的链。

[0008] 免疫系统在人类癌症中的作用已经被讨论了多年。令人困惑的是,比如,在免疫系统受损的动物(比如,裸鼠)中没有观察到恶性肿瘤增加的发生率。这些动物没有像人们预期的那样极度的免疫损伤,因为它们能发起显著的抗肿瘤免疫反应。当研究Stat 1-/-、IFN γ R-/-或RAG2-/-基因型的严重免疫损伤的转基因小鼠时,在这些动物中的肿瘤发生率和癌症的免疫原性的增长有力支持了具有控制癌症发展能力的免疫调节的抗癌反应的存在。基于这些结果,开发了免疫编辑模型(Dunn和Schreiber, Immunity, 21:137-148 (2004))。

[0009] 相似地,在治疗性免疫抑制的异体器官移植患者中癌症发生率的适度增长好像由上皮癌中免疫抑制的早期出现解释(Schüle J等, Breast Cancer Res Treat. 2002; 74:33-40; Wolfram RM等, Int J Cancer. 2000; 88:239-44., Petersen RP等, Cancer. 2006; 107:2866-72)。自发免疫调节的肿瘤退化的出现、肿瘤浸润淋巴细胞和预后之间的相关性、肿瘤特异性细胞毒性T淋巴细胞和抗体的出现以及免疫刺激治疗的功效都支持了免疫系统在控制或调节癌症发展中的显著作用。

[0010] 这些观察也与Clinchy等的结果一致(Clinchy B, 等, Cancer. 2007; 109:1742-9),表明伴随产生IL-6能力提高的癌症中免疫系统的失调,与彻底切除的结肠直肠癌患者的差的预后相关。即使不是在患有局部晚期肿瘤T3N1-2的高危患者组中,如果他们的免疫细胞呈现出正常产生IL-6,患者也确实死于他们的癌症。相似地, Galon等(Galon J等, Science. 2006; 313:1960-4, Mlecnik B, 等, J Clin Oncol. 2011; 29:610-8)已经表明T细胞免疫参数与这些患者的预后强烈相关。

[0011] 大部分不同起源的人类癌症引起免疫介导的抗肿瘤反应,但是常常出现在早期的免疫抑制剂机制损害免疫系统。在没有全身抑制(伴随免疫)的区域性免疫抑制的存在表明

了免疫抑制的区域性、全身性梯度 (Gorelik E等, *Adv Cancer Res.*1983;39:71-120)。比如, 临近肿瘤的免疫细胞的功能会比在外周血中更受损 (Vose BM等, *Int J Cancer* 1977 20:895-902)。几种因子可以介导这种抑制 (Ménétrier-Caux C等, *Br J Cancer* 1999 79:119-130., Heimdal JH等, *Scand J Immunol* 2000 51:271-278., Heimdal JH等, *Scand J Immunol* 2001 53:162-170), 但是基础机制还没有被确定 (Kim R等, *Cancer Res.*2006 Jun 1;66(11):5527-36, Mocellin S等, *J Immunother* 2001 24:392-407)。几个组已经描述了不利的肿瘤内环境的影响 (Perdrizet GA, 等, *J Exp Med.*1990;171:1205-20, Yu P, 等, *J Exp Med.*2005 201:779-91)。对抗肿瘤的免疫反应可以在多种水平 (比如, 起始、将效应细胞募集到肿瘤以及这些细胞在肿瘤内的迁移和它们的细胞毒性活性) 上被抑制。在肿瘤位点上出现的效应器机制也可以提供免疫介导的癌症控制。

[0012] 虽然数据表明免疫系统对癌症控制是很重要的 (Dunn GP等, *Immunity.*2004 21:137-48., Galon J等, *Science.*2006 313:1960-4., Koebel CM等, *Nature.*2007 450:903-7, Clinchy B等, *Cancer.*2007 109:1742-9, Teng MW等, *J Leukoc Biol.*2008 84:988-93), 但是恶性肿瘤继续生长并且免疫治疗的功效是非常差的 (客观缓解率为10-20%)。这个明显矛盾可能有几个原因, 比如, 由于肿瘤抗原是弱的自身抗原引起的肿瘤逃避免疫系统的识别、由TAP和MHC I和II下调引起的差的抗原呈递或耐受性或肿瘤相关的免疫抑制的诱导。不利的肿瘤内环境的影响通过来自动物实验 (Perdrizet GA等, *J Exp Med.*1990;171:1205-20., Yu P, 等, *J Exp Med.*2005 201:779-91.) 和人肿瘤 (Gajewski TF等, *J Immunother.*2006 29:233-40, Whiteside TL, *Oncogene.*2008 27:5904-12) 的结果证实。

[0013] 不同类型的免疫抑制细胞、调节T细胞、未成熟树突细胞 (iDC)、肿瘤相关的巨噬细胞 (TAM) 以及骨髓来源的抑制细胞 (MDSC) 能够在癌症相关的免疫抑制中在本质上起作用。免疫平衡通常倾向于以细胞因子 (比如, IL-4、IL-10和PGE2) 为特征的Th2优势。另外, 其他的免疫抑制机制 (比如血清阻碍因子、循环的免疫复合体、提高的IL-1Ra产生以及提高的肿瘤内蛋白水解活性) 可以在癌症相关的免疫抑制中起作用。

[0014] 在研究癌症患者中白细胞介素-6 (IL-6) 的诱导机制时, 发现了衍生于血清白蛋白的免疫调节肽序列 (参见比如, 美国专利号7,960,126、8,110,347和8,110,347, 以及美国公布号2010/0323370, 它们中的每一篇的全部内容通过引用的方式明确并入本文)。白细胞介素-2 (IL-2) 在起始和活化免疫反应以及它诱导淋巴因子激活的杀伤细胞 (LAK细胞)、T细胞增殖和细胞毒性的能力中发挥了主要作用。几篇报道已经表明来自癌症患者的外周血单核细胞 (PBMC) 对合成 (Wanebo HJ等, *Cancer.*1986 57:656-62, Mantovani, G等, *Diagn.Clin.Immunol.*1987 5:104-111, Lauerova L等, *Neoplasma* 1999 46:141-149) 和应答IL-2 (Tsubono M等, *J Clin Lab Immunol* 1990 33:107-115, Pellegrini P等, *Cancer Immunol Immunother* 1996 42:1-8) 均具有减弱的能力。来自肿瘤外植体的可溶性产物或来自癌症患者的血清可以抑制细胞因子产生、抑制IL-2受体表达 (Botti C等, *Intl J Biol Markers* 1998 13:51-69, Lauerova L等, *Neoplasma* 1999 46:141-149) 和/或降低在正常T淋巴细胞中的增殖能力 (Botti C等, *Intl J Biol Markers* 1998 13:51-69)。

[0015] 整合素是跨膜糖蛋白的超家族, 主要在介导细胞-细胞和细胞基质相互作用的白细胞上发现。整合素在免疫调节中发挥重要作用, 同样地, 尤其是 α LB2 (白细胞功能相关分子-1, LFA-1) 对于免疫反应的起始和调节、炎症细胞的组织招募和迁移以及淋巴细胞的细

胞毒性活性是至关重要的(Hogg N等,J Cell Sci.2003 116:4695-705,Giblin PA等,Curr Pharm Des.2006 12:2771-95,Evans R等,Cell Sci.2009 122:215-25)。另外,LFA-1与对白细胞介素-2的增殖应答有关(Vyth-Dreese FA,Eur J Immunol.1993 12:3292-9),白蛋白的一些片段与LFA-1和/或IL-2受体结合,从而调节通过这些受体介导的功能特性,包括免疫细胞增殖(参见美国公布号2011/0262470,其全部内容通过引用的方式明确并入本文)。虽然有这些进步,但是依然明显需要更多的调节(尤其是在具有受损的免疫系统和/或含有癌症的个体中)免疫系统的组合物。

发明内容

[0016] 已经发现了几种调节免疫系统的分子。如在本文中所描述的,许多肽(比如,由酶切得到的肽或变性的白蛋白和/或白蛋白片段)与人免疫细胞上的受体(比如,IL-2和/或LFA-1受体)结合,从而抑制几种免疫细胞功能或特性(比如,淋巴细胞增殖、白细胞扩散/迁移、自然杀伤细胞(NK细胞)细胞毒性),这对保持健康的免疫系统是重要的。有趣的是,当在小鼠模型中针对治疗的抵制发展时,发现了白蛋白的显著提高的降解的发生(Culp WD等,J ProteomeRes.2006;5:1332-43)。相应地,一些实施方式包括为或结构上类似或模拟白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的分子(比如,合成的衍生的模拟物或类似物,或肽模拟物),其与人免疫细胞上的受体结合和/或与人免疫细胞上的受体相互作用并且抑制或压制免疫系统(比如,降低淋巴细胞的增殖、白细胞扩散/迁移和/或NK细胞细胞毒性)。另外,开发了几种与白蛋白衍生的免疫调节肽或结构结合和/或与白蛋白衍生的免疫调节肽或结构相互作用以抑制白蛋白衍生的免疫调节肽或结构与人免疫细胞上的受体相互作用的分子。例如,制备了与白蛋白衍生的免疫调节肽或结构结合的抗体和肽,并且发现这些白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的抑制剂干扰白蛋白衍生的免疫调节肽或结构抑制或压制免疫细胞功能的能力。

[0017] 采用本文描述的方法和途径鉴定了白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的优选抑制剂,比如P28R(SEQ ID NO:2)或P28核(SEQ ID NO:62)。P28R和P28核抑制剂(比如)被发现去阻碍(比如,从免疫细胞受体(比如,LFA-1)上替换结合的免疫调节肽或3028结构)、去除或替换与免疫细胞受体(比如,LFA-1)结合或相关联的白蛋白衍生的免疫调节肽或结构,从而恢复正常的免疫细胞功能(比如,应答诱导剂(比如IL-2)中的免疫细胞增殖,免疫细胞的活化或刺激(如由CD69或CD71表达增加证实),信号物质分泌的诱导(如由干扰素 γ 或IL-2的产生证实)或溶细胞物质释放的刺激(如由粒酶B或穿孔素的释放证实),提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移和/或细胞增殖)。如此,本文预期根据本文的一些实施方式,P28R和P28核可以诱导提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移和/或细胞增殖。也发现P28R直接刺激免疫细胞并诱导肿瘤细胞中的细胞毒性。预期采用本文描述的教导可以开发白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的几种其他抑制剂。相应地,本发明的方面包括与免疫调节结构(比如白蛋白衍生的免疫调节肽或结构)结合的肽、修饰肽、肽模拟物、适体、抗体和其片段,以及其制备方法和使用方法,尤其是在需要的主体中降低免疫抑制的方法(例如,癌症或致病菌的、病毒的或细菌的持续性或慢性感染(比如由于抗生素抗性)引起的免疫抑制)。

[0018] 本发明的一些实施方式涉及组合物,所述组合物包含含式VII的分离的肽,其中式VII为:

- [0019] X₇₀₀KX₇₀₁X₇₀₂X₇₀₃X₇₀₄X₇₀₅X₇₀₆KX₇₀₇X₇₀₈X₇₀₉X₇₁₀X₇₁₁EX₇₁₂ (SEQ ID NO: 394),
- [0020] 其中X₇₀₀为K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T、V或K,或缺失;
- [0021] 其中X₇₀₁为L、A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、N、Q、R、S、T或V,或缺失;
- [0022] 其中X₇₀₂为D、A、E、I、V、W或Y,或缺失;
- [0023] 其中X₇₀₃为T、C、M、N、P、Q、R、S、W或Y,或缺失;
- [0024] 其中X₇₀₄为F、A、I、M、N、P、T或V,或缺失;
- [0025] 其中X₇₀₅为F、L、M、Q、S、T或V,或缺失;
- [0026] 其中X₇₀₆为V、F、G、L、P或R,或缺失;
- [0027] 其中X₇₀₇为L、A、F、G、I、M、N、P、Q、R、S、T、V或Y,或缺失;
- [0028] 其中X₇₀₈为S、H、M、N、Q或T,或缺失;
- [0029] 其中X₇₀₉为L、A、H、I、M、N、Q、R、S、T、V或W,或缺失;
- [0030] 其中X₇₁₀为F、A、C、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或W,或缺失;
- [0031] 其中X₇₁₁为T、F、G、H、I、L、M、N、P、S、V或W,或缺失;和
- [0032] 其中X₇₁₂为R、F、K、N、R、T或Y,或缺失。
- [0033] 所述式VII可以为SEQ ID NO: 1-101、167-172、174-177、179-393、396-581或582其中之一。
- [0034] 本发明的一些实施方式包括组合物,所述组合物含有含式VIII的分离的肽,其中式VIII为:

- [0035] X₈₀₀K X₈₀₁K X₈₀₂E X₈₀₃ (SEQ ID NO: 395),
- [0036] 其中X₈₀₀为K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T、V或K,或缺失;
- [0037] 其中X₈₀₁为LDTFFV、GDTFFV、EDTFFV、LDQFFV、LDTAFV、LDTVFFV、LDTFMV、LDTFSV、LDTFVV、LDTFTV、LDTFLV、LDGFFV、LDTFGV、LDTFFK、ADTFFV、CDTFFV、DDTFFV、FDTFFV、HDTFFV、IDTFFV、KDTFFV、MDTFFV、NDTFFV、QDTFFV、RDTFFV、SDTFFV、TDTFFV、VDTFFV、LATFFV、LETFFV、LITFFV、LVTFFV、LWTFFV、LYTFFV、LDCFFV、LDMFFV、LDNFFV、LDPFFV、LDRFFV、LDSFFV、LDWFFV、LDYFFV、LDTIFV、LDTMFV、LDTNFV、LDTPFV、LDTTFV、LDTFQV、LDTFFF、LDTFFG、LDTFFL、LDTFFP、LDTFFR、LDTFIV、LDTSFV、LDTFAV、LDTFCV、LDTQFV、LDTLFV、LTTFV、LDTFFI、LDHFFV、LMTFFV、LDTFEV、LDTFWV、LFTFFV、LDVFFV、LDTFRV、LDTFHV、LDTYFV、LPTFFV、PDTFFV、LDTFPV、LDTFNV、LDTWFFV、LDTGFV、LDAFFV、LQTFFV、LCTFFV、LSTFFV、YDTFFV、LDEFFV、WDTFFV、LDTKFV、LDTCFV、LDTFYV、LDTHFV、LHTFFV、LRTFFV、LDLFFV、LDTRFV、LLTFFV、LDTFDV、LDTFFA、LDTFFT、LNTFFV、LDDFFV、LDIFFV、LDFFFV、LKTFFV、LDTFFQ、LGTFFV、LDTFFC、LDKFFV、LDTFKV、LDTEFV、LDTFFW、LDTFFM、LDTFFS、LDTFFH、LDTFFY、LDTFFN、LDTDFV、LDTFFE、LDTFFD、LTFFV、LDTFF、TFFV、LDF、LDTE、FFV、LDV、LV或L,或缺失;
- [0038] 其中X₈₀₂为LSLFT、VSLFT、LQLFT、LMLFT、LTLFT、LHLFT、LSQFT、LSVFT、LSMFT、LSLMT、LSLQT、LSLHT、LSLNT、LSLPT、LSLST、LSLGT、LSLAT、LSLRT、LSLFN、LSLFP、LSLFR、LGLFT、ASLFT、FSLFT、GSLFT、ISLFT、MSLFT、NSLFT、PSLFT、QSLFT、RSLFT、SSLFT、TSLFT、YSLFT、LNLFT、LSAFT、LSHFT、LSIFT、LSNFT、LSRFT、LSSFT、LSTFT、LSWFT、LSLCT、LSLIT、LSLLT、LSLTT、LSLVT、LSLWT、LSLFF、LSLFG、LSLFH、LSLFI、LSLFL、LSLFM、LSLFS、LSLFV、LSLFW、LYLFT、LVLFT、LSFFT、LSGFT、LSKFT、LSCFT、LCLFT、LRLFT、LPLFT、LWLFT、LKLFT、LDLFT、LSYFT、LALFT、WSLFT、LSLFA、LSLFQ、LSPFT、HSLFT、LSLYT、LILFT、KSLFT、CSLFT、LSLFY、

LSLFK、LSLFC、LFLFT、LELFT、LSLKT、LLLFT、LSLFD、LSLDT、LSLFE、DSLFT、LSLET、LSDFT、LSEFT、ESLFT、SLFT、LSFT、LFT、LSL、LT或T,或缺失;和

[0039] 其中X₈₀₃为R、F、K、N、R、T或Y,或缺失。

[0040] 所述式VIII可以为SEQ ID NO:1-34、64-68、70-72、74-77、80、83、86、89、92-96、99-100、264、268-269、270-386、388-393、396-401、403、404、406、408-411、413-416、419-420、422-438、442-444、446-449、451-453、455-458、460、462-466、470、472-477、479-480、482-484、486、487、489、491-493、495-498、500-508、512-517、519-522、528-530、532、533、535-538、540、542-551、553、557-559、567、570、572-581或582其中之一。

[0041] 本发明的一些实施方式包括组合物,所述组合物含有含式I的分离的肽,其中式I为:

[0042] XX₁VKX₂X₃X₄ (SEQ ID NO:166),

[0043] 其中X为KKLDT (SEQ ID NO:167)、RKLD (SEQ ID NO:168)、KKGDT (SEQ ID NO:169)、KKEDT (SEQ ID NO:170)、KKLDQ (SEQ ID NO:171)、KKGDQ (SEQ ID NO:252)、KKEDQ (SEQ ID NO:253)、RKLDQ (SEQ ID NO:254)、RKGDQ (SEQ ID NO:255)、RKEDQ (SEQ ID NO:256)、RKGDT (SEQ ID NO:257)、RKEDT (SEQ ID NO:258)、KLD (SEQ ID NO:172)、KGD (SEQ ID NO:259)、KEDT (SEQ ID NO:260)、KLDQ (SEQ ID NO:261)、KGDQ (SEQ ID NO:262)、KEDQ (SEQ ID NO:263)、LDT、LDQ、GDT、GDQ、EDT、EDQ、DT、DQ、T、Q,或缺失。

[0044] 其中X₁为FF、FM、FS、FV、FT、FL、AF、AM、AS、AV、AT、AL、VF、VM、VS、VV、VT或VL,或缺失;

[0045] 其中X₂为LS、LQ、LM、LT、LH、VS、VQ、VM、VT或VH,或缺失;

[0046] 其中X₃为LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR;和

[0047] 其中X₄为ER、E,或缺失。

[0048] 所述式I可以为SEQ ID NO:2-40、46-52、58-65、67-71、74-77、80-83、86-88、92-96、99-101、166、173、178、182、268-325、332-392-393、396-415、417-444、446-468、470-487、489-494、497-508、510、512、514-517、520-522、524-525、528-533、535-536、538-539、542-544、546、548、551、553、556-559、561、563-568、571-573、575-581或582其中之一,比如所述式I可以为SEQ ID NO:2至33其中之一。

[0049] 本发明的一些实施方式包括组合物,所述组合物含有含式II的分离的肽,其中式II为XTFFVKLSX₁X₂ (SEQ ID NO:173),

[0050] 其中X为KKLD (SEQ ID NO:174)、RKLD (SEQ ID NO:175)、KKGD (SEQ ID NO:176)、KKED (SEQ ID NO:177)、KLD、LD、D,或缺失

[0051] 其中X₁为LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、QMR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR,或缺失;和

[0052] 其中X₂为ER或E,或缺失,比如所述式II可以为SEQ ID NO:2-5、19-38、46-49、58-61、64、68-70、75、81、87、93、94、100、101、173、268-303、350-393、396、398、399、400、402、403、405、406-408、412-414、417、418、421-423、426-428、430、431、435、436、438、439、440-442、448-455、458、459、461、465、467、468、471、475、476、478-481、483、485、487、489-491、493、494、497-499、503、507、510、512、514-517、520、521、524、525、528、529、531、533、538、539、542-、544、546、551、556-559、561、563-568、571-573、575-577、579、580或581其中之一。其他实例包括一种分离的肽,其中X为KKLD(SEQ ID NO:174)或其中X₂为ER或其中所述式为TFFVKLSLFTER(SEQ ID NO:49)或TFFVKLSLFTE(SEQ ID NO:250)或其中所述式为KKLDTFFVKLSLFTER(SEQ ID NO:2)或KKLDTFFVKLSLFTE(SEQ ID NO:34)。

[0053] 本发明的一些实施方式包括组合物,所述组合物含有含式III的分离的肽,其中式III为:

[0054] XX₁VKLX₂LX₃TEX₄(SEQ ID NO:178),

[0055] 其中X为KKLDTF(SEQ ID NO:179)、KLDTF(SEQ ID NO:180)、LDTF(SEQ ID NO:181)、DTF、TF或F,或缺失;

[0056] 其中X₁为F、M、S、V、T或L,或缺失;

[0057] 其中X₂为S、Q、M、T或H,或缺失;

[0058] 其中X₃为F、M、Q、H、N、P、S、G、A或R,或缺失;和

[0059] 其中X₄为R或缺失。

[0060] 所述式III可以是SEQ ID NO:2-13、15-18、22-30、34、46-52、58、64、65、70、71、76、77、82、83、88、93-96、99、100、178、268-325其中之一。实例包括其中X为KKLDTF(SEQ ID NO:178)或其中X₄为R或其中所述式为VKLSLFTER(SEQ ID NO:52)或VKLSLFTE(SEQ ID NO:251)或其中所述式为KKLDTFFVKLSLFTER(SEQ ID NO:2)或KKLDTFFVKLSLFTE(SEQ ID NO:34)。

[0061] 其它实例包括分离的肽,所述分离的肽含SEQ ID NO:1-101、167-172、174-177、179-393、396-581和582中的至少一种或SEQ ID NO:1-32、34、64-66、68、76、94-96、98和264-393中的至少一种或表5.1的序列的至少一种。

[0062] 上述分离的肽可以有至少一个为D氨基酸、人工氨基酸或化学修饰的氨基酸的氨基酸和/或含有一个N末端乙酰基和/或含有C末端酰胺基和/或被糖基化或亚硝基化。

[0063] 上述分离的肽可以被连接至聚乙二醇、脂肪酸或药理学修饰剂(pharmacokinetic modifier)中的至少一种和/或含有环肽。

[0064] 上述分离的肽可以包含至少一种修饰,比如D氨基酸和/或N末端乙酰基和/或C末

端酰胺基和/或糖基化和/或亚硝基化和/或羰基化和/或氧化和/或连接的药学动力修饰剂和/或连接的聚乙二醇或其任意组合中的至少一种。

[0065] 上述分离的肽在长度上可以为小于或等于1100个氨基酸,比如在长度上为7个氨基酸和20个氨基酸之间。

[0066] 上述分离的肽可以连接至支持体、载体和/或融合蛋白中的至少一种。

[0067] 上述分离的肽可以被多聚体化。

[0068] 上述肽可以包含与其连接的可检测标记,比如生物素标记、放射性标记、荧光标记或胶体金标记和/或包含与其连接的细胞毒性试剂,比如放射化学的或毒素。

[0069] 上述定义的肽在长度上可以为小于或等于50、49、48、47、46、45、44、43、42、41、40、39、38、37、36、35、34、33、32、31、30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6或5个氨基酸或任意这些数值之间的任意长度。

[0070] 本发明的一些实施方式涉及一种分离的多核苷酸,所述多聚核苷酸包含编码任意上述公开的肽(比如SEQ ID No:2、62、102-165、583-586或589)的序列。本发明也涉及包含所述分离的多聚核苷酸的载体。由可以出现在载体中的分离的多聚核苷酸编码的肽在长度上为小于或等于1100个氨基酸,比如长度在7个氨基酸和20个氨基酸之间。

[0071] 本发明的一些实施方式涉及一种蛋白复合体,所述蛋白复合体包含结合至白蛋白、白蛋白的片段、支持体、载体或融合蛋白中的至少一种的任意上述分离的肽。本发明也涉及制备所述蛋白复合体的方法,其包括:

[0072] 将任意以上定义的肽与从人主体获得的生物样品接触,其中所述生物样品包含白蛋白或其片段;并且

[0073] 检测所述蛋白复合体的存在。

[0074] 所述肽可以(比如)被连接至支持体。

[0075] 本发明的一些实施方式涉及检测生物样品中白蛋白或白蛋白片段的存在的方法,其包括:

[0076] 将任意以上定义的肽与包含白蛋白或其片段的生物样品接触并检测所述肽与所述白蛋白或所述白蛋白片段的结合。

[0077] 在一些实施方式中,本发明涉及特异于以上定义的肽的结合方式,其中所述结合方式为抗体、其多克隆或单克隆或结合片段,比如功能片段、比如单域抗体、比如所述抗体可以为单克隆抗体,所述结合片段可以为单克隆抗体结合片段。

[0078] 在一些实施方式中,本发明涉及一种适体,所述适体特异于包含表1-4 (SEQ ID No:183-184和188-246)中至少一种序列的肽,比如所述适体特异于序列VFDEFKPLVEEPQNLIK (SEQ ID NO:185)的肽。所述适体可以(比如)为DNA或肽适体。

[0079] 在一些实施方式中,本发明涉及一种抑制需要的患者中的免疫抑制的方法,所述方法包括:

[0080] 识别具有与免疫抑制相关的状况的患者;

[0081] 向所述患者施用任意以上定义的肽,以及

[0082] 检测所述患者中白细胞扩散的增加。所述肽在长度上可以为小于或等于50、49、48、47、46、45、44、43、42、41、40、39、38、37、36、35、34、33、32、31、30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6或5个氨基酸或任意这些数值之间的任

意长度,并且所述肽可以是合成的。所述肽的施用可以包括施用由按重量计至少0.1%的肽组成的组合物,比如,按重量计至少0.1%、0.2%、0.5%、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、20%或30%的肽,包括任意两个所列值之间的范围。所述患者可以患有癌症、病毒感染或细菌感染,比如所述癌症可以为结肠直肠癌、肾癌、乳癌、皮肤癌、卵巢癌、前列腺癌、胰腺癌、肺癌或造血细胞癌。所述方法可以进一步包括检测淋巴细胞迁移的增加。

[0083] 在一些实施方式中,本发明涉及一种抑制白蛋白片段与受体结合的方法,所述方法包括:

[0084] 识别患有免疫抑制的人;

[0085] 将免疫细胞与任意以上定义的肽接触;并且

[0086] 检测在与所述肽接触后免疫细胞增殖的增加。所述免疫细胞可以比如为淋巴细胞或PBMC。所述人可以患有癌症、病毒感染或细菌感染,比如所述癌症可以为结肠直肠癌、肾癌、乳癌、皮肤癌、卵巢癌、前列腺癌、胰腺癌、肺癌或造血细胞癌。

[0087] 在一些实施方式中,本发明涉及一种增加NK细胞细胞毒性的方法,其包括:

[0088] 识别患有免疫抑制的人;

[0089] 将NK细胞与任意上述定义的肽接触;并且

[0090] 检测在与所述肽接触后所述NK细胞的细胞毒性相对于对照样品的增加,所述对照样品细胞毒性为比如不存在所述肽下的NK细胞的细胞毒性或NK细胞和无关肽的细胞毒性。所述人可以患有癌症、病毒感染或细菌感染,比如所述癌症可以为结肠直肠癌、肾癌、乳癌、皮肤癌、卵巢癌、前列腺癌、胰腺癌、肺癌或造血细胞癌。

[0091] 在一些实施方式中,本发明涉及一种增加人淋巴细胞迁移的方法,其包括:

[0092] 识别患有免疫抑制的人;

[0093] 将人淋巴细胞与任意以上定义的肽接触;并且

[0094] 检测在与所述肽接触后所述人淋巴细胞的迁移相对于对照样品的增加,所述对照样品的人淋巴细胞的迁移比如不存在所述肽下的人淋巴细胞的迁移或人淋巴细胞和无关肽的迁移。所述人可以患有癌症、病毒感染或细菌感染,比如所述癌症可以为结肠直肠癌、肾癌、乳癌、皮肤癌、卵巢癌、前列腺癌、胰腺癌、肺癌或造血细胞癌。

[0095] 在一些实施方式中,本发明涉及一种抑制人白蛋白或人白蛋白片段与人淋巴细胞上的LFA-1受体或IL-2受体或二者结合的方法,包括:

[0096] 在人白蛋白或人白蛋白片段存在下将人淋巴细胞与任意以上定义的肽接触;并且

[0097] 检测相对于对照样品人白蛋白或人白蛋白片段与人淋巴细胞上的LFA-1受体或IL-2受体或二者的结合的抑制,所述对照样品的结合比如不存在所述肽下人白蛋白或人白蛋白片段与人淋巴细胞上的LFA-1受体或IL-2受体或二者的结合或在无关蛋白存在下人白蛋白或人白蛋白片段与人淋巴细胞上的LFA-1受体或IL-2受体或二者的结合。所述人白蛋白片段包含与SEQ ID NO:185具有至少95%同一性的序列,比如所述人白蛋白片段包含SEQ ID NO:185的序列。

[0098] 在一些实施方式中,本发明涉及一种抑制人白蛋白或人白蛋白片段与人淋巴细胞上的LFA-1受体或IL-2受体或二者结合的方法,包括:

[0099] 提供人淋巴细胞,其中LFA-1受体或IL-2受体中的至少一种与人白蛋白或白蛋白片段结合;

[0100] 将一种分子与所述人白蛋白或白蛋白片段特异结合；并且

[0101] 检测通过LFA-1受体、IL-2受体的人淋巴细胞刺激的抑制的减少。所述人白蛋白片段包含与SEQ ID NO:185具有至少95%同一性的序列，比如所述人白蛋白片段包含SEQ ID NO:185的序列。

[0102] 在一些实施方式中，本发明涉及一种将癌细胞与肽结合的方法，其包括：

[0103] 将癌细胞与任意以上定义的肽接触；并且

[0104] 检测所述肽与所述癌细胞的结合。所述癌可以为结肠直肠癌细胞、肾癌细胞、乳腺癌细胞、皮肤癌细胞、卵巢癌细胞、前列腺癌细胞、胰腺癌细胞、肺癌细胞、肾癌细胞、恶性黑色素瘤细胞或造血癌细胞。所述肽可以包含与其连接的可检测标记，比如生物素标记、放射性标记、荧光标记或胶体金标记和/或包含与其连接的细胞毒性试剂（比如放射化学的或毒素）和/或抗体或抗体片段或其功能片段。

[0105] 在一些实施方式中，本发明涉及一种抑制人癌细胞增殖的方法，包括：

[0106] 识别人癌症患者；

[0107] 将所述人癌症患者的免疫细胞与任意以上定义的肽接触；并且

[0108] 检测所述患者的癌细胞增殖的抑制或所述患者的癌细胞细胞死亡的诱导。可以检测例如所述患者的癌细胞增殖的抑制和/或可以检测所述患者的癌细胞细胞死亡的诱导。所述癌可以比如为结肠直肠癌细胞、肾癌细胞、乳腺癌细胞、皮肤癌细胞、卵巢癌细胞、前列腺癌细胞、胰腺癌细胞、肺癌细胞、肾癌细胞、恶性黑色素瘤细胞或造血癌细胞。例如可以检测人免疫细胞的增殖的增加。所述免疫细胞可以为淋巴细胞或PBMC。在所述方法中使用的肽可以是合成的。

[0109] 在一些实施方式中，本发明涉及一种去除结合至人淋巴细胞的LFA-1受体的配体的方法，其包括：

[0110] 将人淋巴细胞与任意以上定义的肽接触；并且

[0111] 检测针对LFA-1受体的配体的减少的结合。所述人淋巴细胞可以是来自患有癌症、细菌感染或病毒感染的患者，比如患有乳腺癌、肾细胞癌、皮肤癌、卵巢癌、前列腺癌、胰腺癌、肺癌或造血细胞癌的患者。

[0112] 在一些实施方式中，本发明涉及一种去除结合至人淋巴细胞的IL-2受体的配体的方法，其包括：

[0113] 将人淋巴细胞与任意以上定义的肽接触；并且

[0114] 检测针对IL-2受体的配体的减少的结合。所述人淋巴细胞可以是来自患有癌症、细菌感染或病毒感染的患者，比如患有乳腺癌、肾细胞癌、皮肤癌、卵巢癌、前列腺癌、胰腺癌、肺癌或造血细胞癌的患者。

[0115] 在一些实施方式中，本发明涉及一种减少免疫抑制的人中的免疫抑制的方法，其包括：

[0116] 向人提供如上定义的肽；并且

[0117] 检测所述人中免疫抑制的减少，比如通过检测免疫细胞的活化或刺激（如由CD69或CD71表达的增加证实）、信号物质分泌的诱导（如由干扰素 γ 或IL-2的产生证实）或溶细胞物质的释放的刺激（如由粒酶B或穿孔素的释放证实）、提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移和/或细胞增殖。所述人可以患有癌症、细菌感染或病毒感染，比如所述癌症为乳

癌、肾细胞癌、皮肤癌、卵巢癌、前列腺癌、胰腺癌、肺癌或造血细胞癌。所述肽可以作为由按重量计至少0.1%的所述肽(比如,按重量计至少0.1%、0.2%、0.5%、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、20%或30%的所述肽,包括任意两个所列值之间的范围)组成的组合物施用给所述人。在一些实施方式中,免疫抑制的检测包括检测提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移和/或细胞增殖中的一种或多种。

[0118] 在一些实施方式中,本发明涉及一种抑制人白蛋白或人白蛋白片段与人淋巴细胞上的LFA-1受体或IL-2受体或二者结合的方法,其包括:

[0119] 向人提供如上定义的多聚核苷酸或载体;并且

[0120] 检测人白蛋白或人白蛋白片段与LFA-1受体或IL-2受体或二者的结合的抑制。

[0121] 在一些实施方式中,本发明涉及一种抑制人癌细胞增殖的方法,其包括:

[0122] 向具有癌细胞的人提供如上定义的多聚核苷酸或载体;并且

[0123] 检测所述癌细胞的增殖的抑制。

[0124] 在一些实施方式中,本发明涉及一种去除结合至人淋巴细胞的LFA-1受体或IL-2受体或二者的配体的方法,其包括:

[0125] 将人淋巴细胞与如上定义的多聚核苷酸或载体接触;并且

[0126] 检测针对所述LFA-1受体或IL-2受体或二者的配体的减少的结合。

[0127] 在一些实施方式中,本发明涉及一种减少免疫抑制的人中的免疫抑制的方法,其包括:

[0128] 向所述人提供如上定义的多聚核苷酸或载体;并且

[0129] 检测所述人中免疫抑制的减少,比如通过检测免疫细胞的活化或刺激(如由CD69或CD71表达的增加证实)、信号物质分泌的诱导(如由干扰素 γ 或IL-2的产生证实)或溶细胞物质的释放的刺激(如由粒酶B或穿孔素的释放证实)。在一些实施方式中,检测免疫抑制的减少包括检测提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移和/或细胞增殖中的一种或多种。

[0130] 在一些实施方式中,本发明涉及一种药物组合物,其包括:

[0131] 任意以上定义的肽;以及

[0132] 药学上可接受的载体、赋形剂或稀释剂。所述肽包括SEQ ID NO:1-33、34、46-53、62、64-66、68、76、94-96、98、583-586或589中的至少一种。

[0133] 在一些实施方式中,本发明涉及一种用于识别需要用免疫调节肽或结构的抑制剂治疗的患者,所述方法包括:

[0134] 将所述患者的免疫细胞在体外与任意以上定义的肽接触;

[0135] 检测所述免疫细胞的增殖的抑制;

[0136] 如果所述肽抑制所述免疫细胞的增殖,将所述患者归类为可能对用免疫调节肽或结构的抑制剂的治疗应答。所述方法可以比如进一步包括降低需要的患者中的免疫抑制,其中降低免疫抑制包括向需要的患者提供如上定义的肽和/或进一步包括检测所述人中免疫抑制的减少和/或进一步包括减少需要的患者中的免疫抑制,其中减少免疫抑制包括向需要的患者提供如上定义的载体或多聚核苷酸和/或进一步包括检测所述人中免疫抑制的减少。

[0137] 在另一个实施方式中,本发明涉及一种分离的肽,其中所述肽包含与SEQ ID NO:2

的氨基酸残基K2同源的氨基酸残基和/或,其中所述肽包含与SEQ ID NO:2的氨基酸残基K9同源的氨基酸残基和/或,其中所述肽包含与SEQ ID NO:2的氨基酸残基E15同源的氨基酸残基。

[0138] 以上定义的肽可以包含至少一种修饰,例如至少一种非自然发生的氨基酸和/或包含至少一种D氨基酸、N-末端乙酰基、C-末端酰胺基、糖基化、亚硝基化、连接的药学动力修饰剂或连接的聚乙二醇。任意以上定义的肽可以具有长度上小于或等于50、49、48、47、46、45、44、43、42、41、40、39、38、37、36、35、34、33、32、31、30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6或5个氨基酸的长度或任意两个这些数值之间的长度,比如长度在6个氨基酸和20个氨基酸之间,长度在7个氨基酸和20个氨基酸之间,优选长度在8-16个氨基酸之间,最优选长度在9至15个氨基酸之间。任意以上定义的肽可以被连接至支持体以及被多聚体化。

[0139] 在另一个实施方式中,本发明涉及包含编码任意以上定义的肽的序列的分离的多聚核苷酸,以及包含所述分离的多聚核苷酸的载体,以及包含结合至任意以上定义的肽的白蛋白或白蛋白的片段的蛋白复合体。所述蛋白复合体可以结合至支持体。

[0140] 本发明的一些实施方式包括包含分离的肽的组合物,所述分离的肽包含式(I), $XX_1VKX_2X_3X_4$ (SEQ ID NO:166)、由式(I), $XX_1VKX_2X_3X_4$ (SEQ ID NO:166) 组成或基本由式(I), $XX_1VKX_2X_3X_4$ (SEQ ID NO:166) 组成。在一些实施方式中,这种分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。在一些实施方式中,X为可选序列,并且可以是KKLDT (SEQ ID NO:167)、RKLD (SEQ ID NO:168)、KKGDT (SEQ ID NO:169)、KKEDT (SEQ ID NO:170)、KKLDQ (SEQ ID NO:171)、KKGDQ (SEQ ID NO:252)、KKEDQ (SEQ ID NO:253)、RKLDQ (SEQ ID NO:254)、RKGDQ (SEQ ID NO:255)、RKEDQ (SEQ ID NO:256)、RKGDT (SEQ ID NO:257)、RKEDT (SEQ ID NO:258)、KLD (SEQ ID NO:172)、KGD (SEQ ID NO:259)、KED (SEQ ID NO:260)、KLDQ (SEQ ID NO:261)、KGDQ (SEQ ID NO:262)、KEDQ (SEQ ID NO:263)、LDT、LDQ、GDT、GDQ、EDT、EDQ、DT、DQ、T、Q或缺失。在一些实施方式中, X_1 为FF、FM、FS、FV、FT、FL、AF、AM、AS、AV、AT、AL、VF、VM、VS、VV、VT或VL中的一种。在一些实施方式中, X_2 可以是LS、LQ、LM、LT、LH、VS、VQ、VM、VT或VH中的一种。在一些实施方式中, X_3 可以是LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、

QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR中的一种。在一些实施方式中， X_4 可选序列，并且可以是ER、E或缺失。在一些实施方式中，如果X缺失， X_1 为FF，并且 X_2 为LS。在一些实施方式中，所述肽包含SEQ ID NOs:2-33中的一种。

[0141] 本发明的一些实施方式包括包含分离的肽的组合物，所述分离的肽包含式(II)， X_{20} TFFVKLSX X_{21} X X_{22} (SEQ ID NO:173)、由式(II)， X_{20} TFFVKLSX X_{21} X X_{22} (SEQ ID NO:173)组成或基本由式(II)， X_{20} TFFVKLSX X_{21} X X_{22} (SEQ ID NO:173)组成。在一些实施方式中，这种分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度，比如，小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸，包括任意两个所列值之间的范围。在一些实施方式中， X_{20} 为可选序列，并且可以为KKLD (SEQIDNO:174)、RKLD (SEQIDNO:175)、KKGD (SEQIDNO:176)、KKED (SEQIDNO:177)、KLD、LD、D或缺失。 X_{21} 为可选序列，并且可以为LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR、MRR或缺失。在一些实施方式中， X_{22} 为可选序列，并且可以为ER、E或缺失。

[0142] 本发明的一些实施方式包括包含分离的肽的组合物，所述分离的肽包含式(III)， X_{30} X X_{31} VKLX X_{32} LX X_{33} TEX X_{34} (SEQ ID NO:178)、由式(III)， X_{30} X X_{31} VKLX X_{32} LX X_{33} TEX X_{34} (SEQ ID NO:178)组成或基本由式(III)， X_{30} X X_{31} VKLX X_{32} LX X_{33} TEX X_{34} (SEQ ID NO:178)组成。在一些实施方式中，这种分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度，比如，小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、

128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。在一些实施方式中,X₃₀为可选序列,并且可以为KKLDTF (SEQ ID NO:179)、KLDTF (SEQ ID NO:180)、LDTF (SEQ ID NO:181)、DTF、TF、F或缺失。在一些实施方式中,X₃₁为可选序列,并且可以为F、S、M、V、T、L或缺失。在一些实施方式中,X₃₁为F。在一些实施方式中,X₃₂可以为S、Q、M、T或H。在一些实施方式中,X₃₂为S。X₃₃可以为F、M、Q、H、N、P、S、G、A或R。在一些实施方式中,X₃₄为F。X₃₄为可选序列,并且可以为R或缺失。

[0143] 本发明的一些实施方式包括包含分离的肽的组合物,所述分离的肽包含式(VII), X₇₀₀K X₇₀₁X₇₀₂X₇₀₃X₇₀₄X₇₀₅X₇₀₆K X₇₀₇X₇₀₈X₇₀₉X₇₁₀X₇₁₁E X₇₁₂ (SEQ ID NO:394)、由式(VII), X₇₀₀K X₇₀₁X₇₀₂X₇₀₃X₇₀₄X₇₀₅X₇₀₆K X₇₀₇X₇₀₈X₇₀₉X₇₁₀X₇₁₁E X₇₁₂ (SEQ ID NO:394) 组成或基本由式(VII), X₇₀₀K X₇₀₁X₇₀₂X₇₀₃X₇₀₄X₇₀₅X₇₀₆K X₇₀₇X₇₀₈X₇₀₉X₇₁₀X₇₁₁E X₇₁₂ (SEQ ID NO:394) 组成。在一些实施方式中,这种分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。在一些实施方式中,X₇₀₀为可选序列,并且可以为K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T或V或缺失。在一些实施方式中,X₇₀₁为可选序列,并且可以为L、A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、N、Q、R、S、T或V或缺失。在一些实施方式中,X₇₀₂为可选序列,并且可以为D、A、E、I、V、W或Y或缺失。在一些实施方式中,X₇₀₃为可选序列,并且可以为T、C、M、N、P、Q、R、S、W或Y或缺失。在一些实施方式中,X₇₀₄为可选序列,并且可以为F、A、I、M、N、P、T或V或缺失。在一些实施方式中,X₇₀₅为可选序列,并且可以为F、L、M、Q、S、T或V或缺失。在一些实施方式中,X₇₀₆为可选序列,并且可以为V、F、G、L、P、R或缺失。在一些实施方式中,X₇₀₇为可选序列,并且可以为L、A、F、G、I、M、N、P、Q、R、S、T、V或Y或缺失。在一些实施方式中,X₇₀₈为可选序列,并且可以为S、H、M、N、Q或T或缺失。在一些实施方式中,X₇₀₉为可选序列,并且可以为L、A、H、I、M、N、Q、R、S、T、V或W或缺失。在一些实施方式中,X₇₁₀为可选序列,并且可以为F、A、C、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或W或缺失。在一些实施方式中,X₇₁₁为可选序列,并且可以为T、F、G、H、I、L、M、N、P、S、V或W或缺失。在一些实施方式中,X₇₁₂为可选序列,并且可以为R、F、K、N、R、T或Y或缺失。

[0144] 本发明的一些实施方式包括包含分离的肽的组合物,所述分离的肽包含式(VIII), X₈₀₀K X₈₀₁K X₈₀₂E X₈₀₃ (SEQ ID NO:395)、由式(VIII), X₈₀₀K X₈₀₁K X₈₀₂E X₈₀₃ (SEQ ID NO:395) 组成或基本由式(VIII), X₈₀₀K X₈₀₁K X₈₀₂E X₈₀₃ (SEQ ID NO:395) 组成。在一些实施方式中,这种分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、

60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。在一些实施方式中, X_{800} 为可选序列,并且可以为K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T、V或K或缺失。在一些实施方式中, X_{801} 为可选序列,并且可以为LDTFV、GDTFFV、EDTFFV、LDQFFV、LDTAFV、LDTVFV、LDTFMV、LDTFSV、LDTFVV、LDTFTV、LDTFLV、LDGFFV、LDTFGV、LDTFFK、ADTFFV、CDTFFV、DDTFFV、FDTFFV、HDTFFV、IDTFFV、KDTFFV、MDTFFV、NDTFFV、QDTFFV、RDTFFV、SDTFFV、TDTFFV、VDTFFV、LATFFV、LETFFV、LITFFV、LVTFFV、LWTFV、LYTFFV、LDCFFV、LDMFFV、LDNFFV、LDPFFV、LDRFFV、LDSFFV、LDWFFV、LDYFFV、LDTIFV、LDTMFV、LDTNFV、LDTPFV、LDTTFV、LDTFQV、LDTFFF、LDTFFG、LDTFFL、LDTFFP、LDTFFR、LDTFIV、LDTFSV、LDTFAV、LDTFCV、LDTQFV、LDTLTV、LTTFFV、LDTFFI、LDHFFV、LMTFFV、LDTFEV、LDTFWV、LFTFFV、LDVFFV、LDTFRV、LDTFHV、LDTYFV、LPTFFV、PDFFV、LDTFPV、LDTFNV、LDTWFV、LDTGFV、LDAFFV、LQTFV、LCTFFV、LSTFFV、YDTFFV、LDEFFV、WDFFV、LDTKFV、LDTCFV、LDTFYV、LDTHFV、LHTFFV、LRTFFV、LDLFFV、LDTFRV、LLTFFV、LDTFDV、LDTFFA、LDTFFT、LNTFFV、LDDFFV、LDIFFV、LDFFFV、LKTFFV、LDTFFQ、LGTFFV、LDTFFC、LDKFFV、LDTFKV、LDTEFV、LDTFFW、LDTFFM、LDTFFS、LDTFFH、LDTFFY、LDTFFN、LDTDFV、LDTFFE、LDTFFD、LTFFV、LDTFF、TFFV、LDF、LDTE、FFV、LDV、LV或L或缺失。在一些实施方式中, X_{802} 为可选序列,并且可以为LSLFT、VSLFT、LQLFT、LMLFT、LTLFT、LHLFT、LSQFT、LSVFT、LSMFT、LSLMT、LSLQT、LSLHT、LSLNT、LSLPT、LSLST、LSLGT、LSLAT、LSLRT、LSLFN、LSLFP、LSLFR、LGLFT、ASLFT、FSLFT、GSLFT、ISLFT、MSLFT、NSLFT、PSLFT、QSLFT、RSLFT、SSLFT、TSLFT、YSLFT、LNLFT、LSAFT、LSHFT、LSIFT、LSNFT、LSRFT、LSSFT、LSTFT、LSWFT、LSLCT、LSLIT、LSLLT、LSLTT、LSLVT、LSLWT、LSLFF、LSLFG、LSLFH、LSLFI、LSLFL、LSLFM、LSLFS、LSLFV、LSLFW、LYLFT、LVLFT、LSFFT、LSGFT、LSKFT、LSCFT、LCLFT、LRLFT、LPLFT、LWLFT、LKLFT、LDLFT、LSYFT、LALFT、WSLFT、LSLFA、LSLFQ、LSPFT、HSLFT、LSLYT、LILFT、KSLFT、CSLFT、LSLFY、LSLFK、LSLFC、LFLFT、LELFT、LSLKT、LLLFT、LSLFD、LSLDT、LSLFE、DSLFT、LSLET、LSDFT、LSEFT、ESLFT、SLFT、LSFT、LFT、LSL、LT或T或缺失。在一些实施方式中, X_{803} 为可选序列,并且可以为R、F、K、N、R、T或Y或缺失。

[0145] 本发明的一些实施方式包括包含分离的肽的组合物,所述分离的肽包含表5.1中所示的任意一种或多种肽、由表5.1中所示的任意一种或多种肽组成或基本由表5.1中所示的任意一种或多种肽组成。在一些实施方式中,这种分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、

290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。

[0146] 本发明的一些实施方式包括包含分离的多聚核苷酸的组合物,所述分离的多聚核苷酸包含编码如本文描述的白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的肽抑制剂(比如,以上描述的任意一种或多种肽)的分离的多聚核苷酸、由编码本文描述的白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的肽抑制剂(比如,以上描述的任意一种或多种肽)的分离的多聚核苷酸组成或基本由编码本文描述的白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的肽抑制剂(比如,以上描述的任意一种或多种肽)的分离的多聚核苷酸组成。一些实施方式包括包括这种分离的多聚核苷酸的载体。一些实施方式也包括蛋白复合体,所述蛋白复合体包含结合到本文描述的一种或多种白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的抑制剂的白蛋白或白蛋白片段。

[0147] 在一些实施方式中,以上描述的任意组合物包含一种缓冲液,所述缓冲液选自由Trizma、Bicine、Tricine、MOPS、MOPSO、MOBS、Tris、Hepes、HEPBS、MES、磷酸盐、碳酸盐、醋酸盐、柠檬酸盐、乙醇酸盐、乳酸盐、硼酸盐、ACES、ADA、酒石酸盐、AMP、AMPD、AMPSO、BES、CABS、甲次砷酸盐、CHES、DIPSO、EPPS、乙醇胺、甘氨酸、HEPPSO、咪唑、咪唑乳酸、PIPES、SSC、SSPE、POPSO、TAPS、TABS、TAPSO和TES组成的组。

[0148] 一些实施方式包括制备本文描述的蛋白复合体的方法。所述方法可以包括将本文描述的肽与来自人的生物样品接触。在一些实施方式中,所述生物样品包括白蛋白或白蛋白片段。所述方法可以包括检测所述蛋白复合体的存在。

[0149] 本发明的一些实施方式包括检测生物样品中白蛋白或白蛋白片段存在的方法。所述方法可以包括将肽抑制剂(比如,本文描述的一种或多种白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的抑制剂)与包括白蛋白或白蛋白片段的生物样品接触。所述方法可以包括检测白蛋白或白蛋白片段与本文描述的一种或多种白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的抑制剂结合的方法。本发明的一些实施方式包括特异于本文描述的一种或多种白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的抗体或其结合片段。

[0150] 本发明的一些实施方式包括特异于并结合于具有序列VFDEFKPLVEEPQNLIK (SEQ ID NO:185)的肽或其片段的适体。本发明的一些实施方式包括特异于并结合于本文描述的任意免疫调节肽(比如,在本文提供的表中所描述的任意一种肽)的适体。在一些实施方式中,所述适体为寡聚核苷酸适体。在一些实施方式中,所述适体为肽适体。

[0151] 本发明的一些实施方式包括解决患有免疫抑制(比如由癌症或由致病菌、病毒或细菌引起的感染、长期的或慢性的感染(比如,由于抗生素抗性)引起的免疫抑制)的患者的方法。这种方法包括治疗免疫抑制或抑制免疫抑制的一个方面或标志物(比如,减少的免疫细胞增殖、减少的NK细胞细胞毒性或减少的白细胞迁移)的方法或治疗病毒或细菌疾病的方法(比如,治疗或抑制慢性病毒(如甲型肝炎)感染或如由葡萄球菌属、链球菌属、假单胞菌属或其他病原菌引起的细菌感染的方法)。所述方法可以包括识别具有与免疫抑制相关的状况(比如癌症或细菌或病毒感染或长期或慢性细菌或病毒感染)的患者。所述方法可以包括向所述被识别的患者施用一种或多种本文描述的肽抑制剂(比如,一种或多种白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的抑制剂)和可选地检测免疫细胞的活化或刺激(如由CD69或CD71表达增加证实)、信号物质分泌的诱导(如由干扰素 γ 或IL-12的产生证实)、溶细胞物质释放的刺激(如由粒酶B或穿孔素的释放证实)、提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁

移和/或细胞增殖。所述方法也可以包括检测患者中白细胞扩散的增加。这些方法中的一些也可以包括(比如)包含分离的肽的组合物,所述分离的肽包含表5.1或5.4中所示的任意一种或多种肽、由表5.1或5.4中所示的任意一种或多种肽组成或基本由表5.1或5.4中所示的任意一种或多种肽组成,或者所述肽包含SEQ ID NO:2、62、584或589、由SEQ ID NO:2、62、584或589组成或基本由SEQ ID NO:2、62、584或589组成。在一些实施方式中,在这些方法中使用的来自表5.1或5.4的分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。

[0152] 本发明的一些实施方式包括抑制白蛋白片段与受体结合的方法。所述方法可以包括识别具有免疫抑制的人。如本文所描述的,所述方法可以包括将免疫细胞与肽接触(比如,一种或多种白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的抑制剂)。当免疫细胞与抑制剂接触时人血清可以存在。如本文所描述的,所述方法可以包括检测与一种或多种白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的抑制剂接触后免疫细胞的增殖的增加或免疫细胞的活化或刺激(如由CD69或CD71表达增加证实)、信号物质分泌的诱导(如由干扰素 γ 或IL-12的产生证实)或溶细胞物质释放的刺激(如由粒酶B或穿孔素的释放证实)。在一些实施方式中,所述方法包括检测提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移和/或细胞增殖中的一种或多种。

[0153] 本发明的一些实施方式包括在自体同源的人血清存在下增加NK细胞或白细胞细胞毒性的方法。所述方法可以包括识别具有免疫抑制的人。所述方法可以包括在所述人的血清存在下将NK细胞与本文描述的肽(比如,一种或多种白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的抑制剂)接触。所述方法可以包括检测与所述抑制剂接触后与对照样品相比所述NK细胞的细胞毒性的增加。对照样品可以包括不存在所述抑制剂下自体同源的人血清存在下NK细胞的细胞毒性或在自体同源的人血清和无关肽存在下NK细胞的细胞毒性。

[0154] 本发明的一些实施方式包括增加人淋巴细胞功能的方法,比如在自体同源的人血清存在下的迁移或免疫细胞的活化或刺激(如由CD69或CD71表达增加证实)、信号物质分泌的诱导(如由干扰素 γ 或IL-2的产生证实)或溶细胞物质释放的刺激(如由粒酶B或穿孔素的释放证实)、提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移和/或细胞增殖。所述方法可以包括识别患有免疫抑制的人。所述方法可以包括在所述人的血清存在下将人淋巴细胞与本文描述的肽(比如,一种或多种白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的抑制剂)接触。所述方法可以包括检测与所述抑制剂接触后,与对照样品相比,所述人淋巴细胞迁移的增加或免疫细胞的活化或刺激(如由CD69或CD71表达增加证实)、信号物质分泌的诱导(如由干扰素 γ 或IL-12的产生证实)、溶细胞物质释放的刺激(如由粒酶B或穿孔素的释放证实)、提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移和/或细胞增殖。对照样品可以包括不存在所述抑制剂下自

体同源的人血清存在下人淋巴细胞的迁移或自体同源的人血清和无关肽存在下人淋巴细胞的迁移。在一些实施方式中,所述方法包括检测提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移和/或细胞增殖。

[0155] 本发明的一些实施方式包括抑制人白蛋白或人白蛋白片段与人淋巴细胞上的细胞受体(比如LFA-1受体或IL-2受体或二者)的方法。所述方法可以包括在人白蛋白或人白蛋白片段存在下将人淋巴细胞与本文描述的肽(比如,一种或多种白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的抑制剂)接触。所述方法可以包括检测与对照样品相比人白蛋白或人白蛋白片段与人淋巴细胞上的LFA-1受体或IL-2受体或二者的结合的抑制。对照样品可以包括在不存在所述抑制剂下人白蛋白或人白蛋白片段与人淋巴细胞上的LFA-1受体或IL-2受体或二者的结合或在无关肽存在下人白蛋白或人白蛋白片段与人淋巴细胞上的LFA-1受体或IL-2受体或二者的结合。

[0156] 本发明的一些实施方式包括抑制人白蛋白或人白蛋白片段与人淋巴细胞上的LFA-1受体或IL-2受体或二者结合的方法。所述方法可以包括提供人淋巴细胞。在一些实施方式中,LFA-1受体或IL-2受体中的至少一种结合到人白蛋白或白蛋白片段。所述方法可以包括将抑制剂(比如,本文描述的一种或多种白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的抑制剂)特异结合到人白蛋白或白蛋白片段。所述方法可以包括检测通过LFA-1受体、IL-2受体的人淋巴细胞刺激的抑制的减少或免疫细胞的活化或刺激(如由CD69或CD71表达增加证实)、信号物质分泌的诱导(如由干扰素 γ 或IL-12的产生证实)或溶细胞物质释放的刺激(如由粒酶B或穿孔素的释放证实)。在一些实施方式中,所述方法检测提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移和/或细胞增殖。

[0157] 本发明的一些实施方式包括将癌细胞与同所述癌细胞特异相互作用的分子(比如,本文描述的一种或多种白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的抑制剂)结合的方法。如本文所述,所述方法可以包括将癌细胞与一种或多种抑制剂接触。在一些实施方式中,所述方法包括离体或体外方法。在一些实施方式中,所述方法包括体内方法。在一些实施方式中,所述抑制剂在肿瘤周围或在患者的肿瘤附近(比如在肿瘤的10cm、9、8、7、6、5、4、3、2、1或0.5cm内)施用。在一些实施方式中,所述抑制剂是全身施用的。在一些实施方式中,所述抑制剂与第二治疗试剂(比如选择的在免疫细胞的LFA-1受体已经被去阻碍后刺激免疫细胞的治疗试剂或选择的在免疫细胞的IL-2受体已经被去阻碍后刺激免疫细胞的治疗试剂)联合施用。所述方法可以包括检测所述抑制剂与所述癌细胞的结合。

[0158] 本发明的一些实施方式包括抑制人癌细胞增殖的方法。所述方法可以包括识别人癌症患者。所述方法可以包括将人癌症患者的免疫细胞与抑制剂(比如,本文描述的一种或多种白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的抑制剂)接触。在一些实施方式中,所述抑制剂在肿瘤周围或在患者的肿瘤附近(比如在肿瘤的10cm、9、8、7、6、5、4、3、2、1或0.5cm内)施用。在一些实施方式中,所述抑制剂是全身施用的。在一些实施方式中,所述抑制剂与第二治疗试剂(比如选择的在免疫细胞的LFA-1受体已经被去阻碍后刺激免疫细胞的治疗试剂)联合施用。所述方法可以包括检测患者的癌细胞增殖的抑制或患者癌细胞的细胞凋亡或细胞死亡的诱导。可选地,所述方法可以包括共同施用至少一种另外的治疗试剂,比如直接或间接通过LFA-1受体刺激免疫细胞活化(比如,CD69和/或CD71提高的表达、IL-12或IFN γ 的分泌、或穿孔素或粒酶B的分泌、提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移和/或细胞增殖)的治

疗试剂。在一些实施方式中,所述另外的治疗试剂刺激提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移和/或细胞增殖中的一种或多种。

[0159] 本发明的一些实施方式包括去除结合到人淋巴细胞的LFA-1受体的配体的方法。所述方法可以包括将人淋巴细胞与一种抑制剂(比如,本文描述的一种或多种白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的抑制剂)接触。所述方法可以包括检测针对LFA-1受体的配体的减少的结合。

[0160] 本发明的一些实施方式包括去除结合到人淋巴细胞的IL-2受体的配体的方法。所述方法可以包括将人淋巴细胞与一种抑制剂(比如,本文描述的一种或多种白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的抑制剂)接触。所述方法可以包括检测针对IL-2受体的配体的减少的结合或检测免疫细胞的活化或刺激(如由CD69或CD71表达的增加证实)、信号物质分泌的诱导(如由干扰素 γ 或IL-12的产生证实)或溶细胞物质释放的刺激(如由粒酶B或穿孔素的释放证实)。在一些实施方式中,所述方法包括检测提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移和/或细胞增殖中的一种或多种。

[0161] 本发明的一些实施方式包括减少免疫抑制的人中的免疫抑制的方法。所述方法可以包括向人提供本文描述的抑制剂(比如,一种或多种白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的抑制剂)。所述方法可以包括检测人中免疫抑制的减少或检测免疫细胞的活化或刺激(如由CD69或CD71表达的增加证实)、信号物质分泌的诱导(如由干扰素 γ 或IL-12的产生证实)或溶细胞物质释放的刺激(如由粒酶B或穿孔素的释放证实)。在一些实施方式中,所述方法包括检测提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移和/或细胞增殖中的一种或多种。

[0162] 本发明的一些实施方式包括抑制人白蛋白或人白蛋白片段与人淋巴细胞上的LFA-1受体或IL-2受体或二者结合的方法。所述方法可以包括向人提供本文描述的一种或多种多聚核苷酸和/或载体(比如,具有编码一种或多种白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的抑制剂的序列的多聚核苷酸或载体)。所述方法可以包括检测人白蛋白或白蛋白片段与LFA-1受体或IL-2受体或二者的结合的抑制或检测免疫细胞的活化或刺激(如由CD69或CD71表达的增加证实)、信号物质分泌的诱导(如由干扰素 γ 或IL-12的产生证实)或溶细胞物质释放的刺激(如由粒酶B或穿孔素的释放证实)。可选地,所述方法可以包括检测提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移和/或细胞增殖中的一种或多种。可选地,所述方法可以包括共同施用至少一种另外的治疗试剂,比如直接或间接通过LFA-1受体刺激免疫细胞活化(比如提高的CD69和/或CD71表达、IL-12或IFN γ 的分泌、穿孔素或粒酶B的分泌、提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移和/或细胞增殖)的治疗试剂。所述另外的治疗试剂可以与所述抑制剂同时施用或在所述抑制剂后施用。在一些实施方式中,所述第二治疗试剂刺激提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移和/或细胞增殖中的一种或多种。

[0163] 本发明的一些实施方式包括抑制人癌细胞增殖的方法。所述方法可以包括向患有癌症的人提供一种或多种本文描述的多聚核苷酸或载体(比如,具有编码一种或多种白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的抑制剂的序列的多聚核苷酸或载体)。在一些实施方式中,所述抑制剂在肿瘤周围或在患者的肿瘤附近(比如在肿瘤的10cm、9、8、7、6、5、4、3、2、1或0.5cm内)施用。在一些实施方式中,所述抑制剂是全身施用的。在一些实施方式中,所述抑制剂是与第二治疗试剂(比如选择的在免疫细胞的LFA-1受体已经被去阻碍后激发刺激免疫细胞的治疗试剂)联合施用的。所述方法可以包括检测所述癌细胞增殖的抑制或检测免

疫细胞的活化或刺激(如由CD69或CD71表达的增加证实)、信号物质分泌的诱导(如由干扰素 γ 或IL-12的产生证实)、溶细胞物质释放的刺激(如由粒酶B或穿孔素的释放证实)、提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移或细胞增殖。在一些实施方式中,所述方法包括检测提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移和/或细胞增殖中的一种或多种。

[0164] 本发明的一些实施方式包括通过免疫细胞诱导癌的浸润。所述方法可以包括在肿瘤周围或在患者的肿瘤附近,比如在肿瘤的10cm、9、8、7、6、5、4、3、2、1或0.5cm内,施用本文描述的肽抑制剂。所述方法可以包括检测通过免疫细胞的所述癌的浸润。

[0165] 本发明的一些实施方式包括去除结合到人淋巴细胞的LFA-1受体或IL-2受体或二者的配体的方法。所述方法可以包括向人提供一种或多种本文描述的多聚核苷酸或载体(比如,具有编码一种或多种白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的抑制剂的序列的多聚核苷酸或载体)。所述方法可以包括检测针对LFA-1受体或IL-2受体或二者的配体减少的结合。

[0166] 本发明的一些实施方式包括减少免疫抑制的人中的免疫抑制的方法。所述方法可以包括向人提供本文描述的一种或多种多聚核苷酸或载体(比如,具有编码一种或多种白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的抑制剂的序列的多聚核苷酸或载体)。所述方法可以包括检测人中免疫抑制的减少,比如检测免疫细胞的活化或刺激(如由CD69或CD71表达的增加证实)、信号物质分泌的诱导(如由干扰素 γ 或IL-12的产生证实)、溶细胞物质释放的刺激(如由粒酶B或穿孔素的释放证实)、提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移和/或细胞增殖。在一些实施方式中,所述方法包括检测提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移和/或细胞增殖中的一种或多种。

[0167] 本发明的一些实施方式包括药物组合物。所述药物组合物可以包括本文描述的一种或多种多聚核苷酸或载体(比如,具有编码一种或多种白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的抑制剂的序列的多聚核苷酸或载体)和/或本文描述的一种或多种抑制剂(比如,本文描述的一种或多种白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的肽抑制剂)。所述药物组合物可以包括药学上可接受的载体或稀释剂。

[0168] 本发明的一些实施方式包括用于识别需要免疫调节肽抑制的患者的方法。所述患者可以具有结合至他或她的免疫细胞的白蛋白衍生的免疫调节肽或结构,和/或可能应答用白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的抑制剂的治疗。所述诊断方法可以包括在体外将患者的免疫细胞与至少一种免疫调节肽或结构的抑制剂接触。所述诊断方法可以包括将所述患者分类为具有免疫调节肽或结构,和/或当免疫调节肽或结构的阻碍增加了免疫参数的恢复或提高了免疫应答(比如,通过所述主体的PBMC的增殖或应答)时可能应答用免疫调节肽或结构的抑制剂的治疗。所述方法可以包括确定哪种或哪些免疫调节肽的抑制剂在患者中具有免疫调节活性。

[0169] 本发明的一些实施方式包括包含氨基酸序列FFVKLS (SEQ ID NO:62)的分离的肽,其中所述分离的肽包含不超过30个氨基酸残基。在一些实施方式中,所述分离的肽包含不超过29个氨基酸残基,比如,不超过28个氨基酸残基、27、26、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7或6个氨基酸残基或由这些数值中的任意两个定义的范围。在一些实施方式中,所述分离的肽包含不超过16个氨基酸残基。在一些实施方式中,所述分离的肽包含不超过8个氨基酸残基。在一些实施方式中,所述分离的肽由氨基酸序列FFVKLS (SEQ ID NO:62)组成或基本由氨基酸序列FFVKLS (SEQ ID NO:62)组成。

[0170] 本发明的一些实施方式包括包含氨基酸序列KKLDTFVFKLSLFTER (SEQ ID NO:2) 的分离的肽。在一些实施方式中,所述分离的肽包含不超过100个氨基酸残基,比如不超过99、90、80、70、60、50、40、30或20个氨基酸残基或这些数值的任意两个定义的范围。在一些实施方式中,所述分离的肽包含不超过30个氨基酸残基。在一些实施方式中,所述分离的肽由SEQ ID NO:2的氨基酸序列组成。

[0171] 本发明的一些实施方式包括包含氨基酸序列RKLDTFVFKLSLFTERRR (SEQ ID NO:586) 的分离的肽。在一些实施方式中,所述分离的肽包含不超过100个氨基酸残基,比如不超过99、90、80、70、60、50、40、30或20个氨基酸残基或由这些数值的任意两个定义的范围。在一些实施方式中,所述分离的肽包含不超过30个氨基酸残基。在一些实施方式中,所述分离的肽由SEQ ID NO:586的氨基酸序列组成。

[0172] 本发明的一些实施方式包括包含式 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}$ 的分离的肽,其中 X_1 为任意氨基酸或缺失; X_2 为带正电荷的氨基酸,F或N; X_3 为任意氨基酸; X_4 为任意氨基酸; X_5 为极性不带电荷的氨基酸,R、Y或W; X_6 为疏水性或不带电荷的极性氨基酸; X_7 为疏水性或不带电荷的极性氨基酸; X_8 为疏水性、非M或F的非芳香碳链氨基酸; X_9 为带正电荷的氨基酸,T、Q或Y; X_{10} 为不带负电荷的任意氨基酸; X_{11} 为极性不带电荷的氨基酸或H; X_{12} 为不带负电荷的任意氨基酸; X_{13} 为不带负电荷的任意氨基酸; X_{14} 为不带负电荷的任意氨基酸; X_{15} 为带负电荷的氨基酸,Y或Q; X_{16} 为不带负电荷的任意氨基酸;并且 X_{17} 是一个或多个带正电荷的氨基酸或缺失。可选地 X_1 包含带正电荷的氨基酸。在一些实施方式中, X_1 为R或K。在一些实施方式中, X_{17} 为RR。在一些实施方式中, X_1 为R且 X_{17} 为RR。在一些实施方式中, X_1 包含R,并且 X_{17} 包含RR。在一些实施方式中,所述肽在水溶液中是可溶的。在一些实施方式中,所述肽在水溶液中是可溶的。在一些实施方式中,至少有一种: X_1 为K; X_2 为K; X_3 为L; X_4 为D; X_5 为T; X_6 为F; X_7 为F; X_8 为V; X_9 为K; X_{10} 为L; X_{11} 为S; X_{12} 为L; X_{13} 为F; X_{14} 为T; X_{15} 为E;或 X_{16} 为R。在一些实施方式中,所述分离的肽包含氨基酸序列KKLDTFVFKLSLFTER (SEQ ID NO:2)。在一些实施方式中,所述分离的肽包含氨基酸序列RKLDTFVFKLSLFTERRR (SEQ ID NO:586)。在一些实施方式中,所述分离的肽具有30个氨基酸残基或更少的长度,比如不超过约30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7或6个氨基酸残基或由这些数值的任意两个定义的范围。在一些实施方式中,所述分离的肽由式 $X_0X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}$ 组成。在一些实施方式中,所述分离的肽包含氨基酸序列KKLDTFVFKLSLFTER (SEQ ID NO:2)。在一些实施方式中,所述分离的肽包含氨基酸序列RKLDTFVFKLSLFTERRR (SEQ ID NO:586)。

[0173] 在一些实施方式中,任意以上分离的肽包含合成的肽。

[0174] 在一些实施方式中,任意以上分离的肽包含至少一种修饰,比如D氨基酸、N末端乙酰基、C末端酰胺基、糖基化、亚硝基化、羰基化、氧化、连接的药学动力修饰剂和连接的聚乙二醇或其任意组合中的至少一种。

[0175] 在一些实施方式中,任意以上分离的肽活化免疫细胞。作为实例,免疫细胞的活化可以包括免疫细胞的增殖、CD69或CD71增加的表达、信号物质(如IFN γ 或IL-12)的分泌、溶细胞分子(如穿孔素或粒酶B)的分泌、提高的细胞毒性、细胞因子产生和/或细胞迁移。

[0176] 在一些实施方式中,任意以上分离的肽活化免疫细胞,如果包含所述免疫细胞的溶液包含具有序列VFDEFKPLVEEPQNLIK (SEQ ID NO:185) 的第二肽,或如果所述免疫细胞的

LFA-1受体结合到所述第二肽。

[0177] 在一些实施方式中,如果任意以上分离的肽与由氨基酸序列VFDEFKPLVEEPQNLIK (SEQ ID NO:185)组成的第二肽接触,那么所述分离的肽与所述第二肽特异结合。

[0178] 在一些实施方式中,如果任意以上分离的肽与包含LFA-1受体的免疫细胞和由氨基酸序列VFDEFKPLVEEPQNLIK (SEQ ID NO:185)组成的第二肽接触,那么所述分离的肽抑制所述第二肽与所述LFA-1受体结合。

[0179] 本发明的一些实施方式包括一种组合物,所述组合物包含任意上述分离的肽和药学上可接受的载体或稀释剂。在一些实施方式中,所述药学上可接受的载体或稀释剂包含可降解的颗粒。在一些实施方式中,所述组合物包含一定量的所述肽,所述一定量的所述肽为至少约1ng的所述肽,比如至少约1ng、2ng、3ng、4ng、5ng、10ng、20ng、50ng、60ng、70ng、80ng、90ng、100ng、200ng、300ng、400ng、500ng、600ng、700ng、800ng、900ng、约1μg、2μg、3μg、4μg、5μg、6μg、7μg、8μg、9μg、10μg、20μg、30μg、40μg、50μg、60μg、70μg、80μg、90μg、100μg或200μg或由这些数值中的任意两个所定义的范围。在一些实施方式中,所述组合物包含缓冲液,所述缓冲液选自由:Trizma、Bicine、Tricine、MOPS、MOPSO、MOBS、Tris、Hepes、HEPBS、MES、磷酸盐、碳酸盐、醋酸盐、柠檬酸盐、乙醇酸盐、乳酸盐、硼酸盐、ACES、ADA、酒石酸盐、AMP、AMPD、AMPSO、BES、CABS、甲次砷酸盐、CHES、DIPSO、EPPS、乙醇胺、甘氨酸、HEPPSO、咪唑、咪唑乳酸、PIPES、SSC、SSPE、POPSO、TAPS、TABS、TAPSO和TES组成的组。在一些实施方式中,如果与癌细胞接触,所述组合物诱导所述癌细胞的细胞毒性。在一些实施方式中,所述癌细胞包含前列腺癌细胞。在一些实施方式中,所述组合物包含凝胶。在一些实施方式中,所述组合物会在生理状况下保持为凝胶形式至少72小时。

[0180] 本发明的一些实施方式包括一种方法,所述方法包括向患有癌症并因此需要治疗的个体施用有效量的任意上述组合物,从而诱导下列中的至少一种:(a)免疫细胞的活化(比如CD69和/或CD71提高的表达、IL-12或IFN γ 的分泌、或穿孔素或粒酶B的分泌、提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移和/或细胞增殖);(b)抑制损伤的白蛋白、白蛋白的聚集体、白蛋白片段或第二肽与LFA-1受体或IL-2受体结合,其中所述第二肽或白蛋白片段(如果存在)包含SEQ ID NO:183-246中的至少一种;或(c)对肿瘤细胞的细胞毒性。在一些实施方式中,(a)和(b)是被诱导的。在一些实施方式中,(a)、(b)和(c)是被诱导的。在一些实施方式中,所述受体包含LFA-1受体。在一些实施方式中,所述受体包含IL-2受体。在一些实施方式中,所述白蛋白片段或第二肽包含不超过100个氨基酸残基。在一些实施方式中,所述白蛋白片段或第二肽包含SEQ ID NO:185。在一些实施方式中,所述白蛋白片段或第二肽由SEQ ID NO:185组成。在一些实施方式中,在抑制白蛋白、白蛋白片段或第二肽的结合之后,所述LFA-1受体可用于刺激。在一些实施方式中,在抑制所述白蛋白、白蛋白片段或第二肽结合后,所述免疫细胞被刺激。在一些实施方式中,所述免疫细胞被第二治疗试剂刺激。在一些实施方式中,所述第二治疗试剂与所述组合物同时施用。在一些实施方式中,所述组合物包含所述第二治疗试剂。在一些实施方式中,所述第二治疗试剂在施用所述组合物之前施用。在一些实施方式中,所述第二治疗试剂跟随在施用所述组合物后施用。在一些实施方式中,所述组合物的所述肽以至少约0.1mg/kg的剂量施用给所述个体,比如至少约0.2mg/kg、0.3mg/kg、0.4mg/kg、0.5mg/kg、0.9mg/kg、1mg/kg、2mg/kg、3mg/kg、5mg/kg或10mg/kg或由这些值中的任意两个定义的范围。在一些实施方式中,所述组合物的所述肽在至少第一

次施用和第一次施用至少五天后的第二次施用进行施用。在一些实施方式中,将所述肽施用至所述癌症的肿瘤的约10cm内的组织。在一些实施方式中,将所述肽以肿瘤周围的方式施用给所述癌症的肿瘤。在一些实施方式中,所述癌症包括结肠直肠癌、肾癌、乳癌、皮肤癌、卵巢癌、前列腺癌、胰腺癌、肺癌、恶性黑色素瘤、小细胞肺癌、非小细胞肺癌(腺癌)、鳞状细胞癌、膀胱癌、骨肉瘤、支气管癌或造血细胞癌中的至少一种。在一些实施方式中,所述个体包含含有损伤的白蛋白、白蛋白的聚集体、白蛋白片段或第二肽的血清,其中所述白蛋白片段或第二肽包括SEQ ID NO:183-246中的至少一种。在一些实施方式中,所述第二肽或白蛋白片段包含氨基酸序列VFDEFKPLVEEPQNLIK (SEQ ID NO:185)。在一些实施方式中,所述第二肽或白蛋白片段包含不超过100个氨基酸残基。

[0181] 本发明的一些实施方式包括一种活化癌症患者的免疫细胞的方法(比如提高的CD69和/或CD71表达、IL-12或IFN γ 的分泌、或穿孔素或粒酶B的分泌、提高的细胞毒性、细胞因子产生和/或细胞迁移),所述方法包括将免疫细胞与含有氨基酸序列FFVKLS (SEQ ID NO:62) 的分离的肽接触,其中所述肽由约6至30个氨基酸组成。在一些实施方式中,将所述免疫细胞与所述分离的肽接触抑制了损伤的白蛋白、白蛋白的聚集体、白蛋白片段或第二肽与LFA-1受体结合,其中所述白蛋白片段或第二肽包含SEQ ID NO:183-246中的至少一种。在一些实施方式中,所述白蛋白片段或第二肽包含不超过100个氨基酸。在一些实施方式中,所述白蛋白片段或第二肽包含SEQ ID NO:185。在一些实施方式中,所述白蛋白片段或第二肽由SEQ ID NO:185组成。在一些实施方式中,在抑制白蛋白、白蛋白片段或第二肽结合之后,所述LFA-1受体可用于刺激。在一些实施方式中,在抑制白蛋白、白蛋白片段或第二肽结合后,所述免疫细胞被刺激。在一些实施方式中,所述免疫细胞被第二治疗试剂刺激。在一些实施方式中,所述第二治疗试剂与所述组合物同时施用。在一些实施方式中,所述组合物包含所述第二治疗试剂。在一些实施方式中,所述第二治疗试剂在施用所述组合物之前施用。在一些实施方式中,所述第二治疗试剂跟随在施用所述组合物后施用。

[0182] 本发明的一些实施方式包括一种将癌细胞与肽结合的方法。所述方法可以包括将癌细胞与以上描述的任意肽接触,并且检测所述肽与所述癌细胞的结合。在一些实施方式中,所述肽包含可检测的部分。在一些实施方式中,所述可检测的部分包括生物素标记、放射性标记、荧光标记、酶或胶体金标记。在一些实施方式中,所述癌细胞为结肠直肠癌细胞、肾癌细胞、乳癌细胞、皮肤癌细胞、卵巢癌细胞、前列腺癌细胞、胰腺癌细胞、肺癌细胞、恶性黑色素瘤细胞、小细胞肺癌细胞、非小细胞肺癌(腺癌)细胞、鳞状细胞癌细胞、膀胱癌细胞、骨肉瘤细胞、支气管癌细胞或造血细胞癌细胞。在一些实施方式中,所述肽包含抗体或抗体片段。

[0183] 本发明的一些实施方式包括一种改善需要的主体中免疫抑制的方法,所述方法包括向所述主体施用有效量的权利要求29-36中任一项的组合物,从而诱导如下至少一种:(a) 免疫细胞的活化(比如提高的CD69和/或CD71表达、IL-12或IFN γ 的分泌、或穿孔素或粒酶B的分泌、提高的细胞毒性、细胞因子产生和/或细胞迁移);或(b) 抑制损伤的白蛋白、白蛋白的聚集体、白蛋白片段或第二肽与LFA-1受体结合,其中所述第二肽或白蛋白片段(如果存在)包含SEQ ID NO:183-246中的至少一种。在一些实施方式中,所述白蛋白片段或第二肽包含不超过100个氨基酸残基。在一些实施方式中,所述白蛋白片段或第二肽包含SEQ ID NO:185。在一些实施方式中,所述白蛋白片段或第二肽由SEQ ID NO:185组成。在一些实

施方式中,在抑制所述白蛋白、白蛋白片段或第二肽结合之后,所述LFA-1受体可用于激发。

[0184] 一些实施方式包括包含权利要求1-26中任一项所述的分离的肽和可检测标记的试剂盒。在一些实施方式中,所述标记包括生物素标记、放射性标记、荧光标记、酶或胶体金标记。

[0185] 一些实施方式包括编码以上描述的任意分离的肽的分离的核酸。一些实施方式包括含有该核酸的分离的载体。

[0186] 本发明的一些实施方式包括以上描述的任意分离的肽在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

[0187] 本发明的一些实施方式包括以上描述的任意分离的肽在制备用于刺激癌症患者中的免疫细胞的药物中的用途。

[0188] 本发明的一些实施方式包括以上描述的任意组合物在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

[0189] 本发明的一些实施方式包括以上描述的任意组合物在制备用于刺激癌症患者中的免疫细胞的药物中的用途。

[0190] 在一些实施方式中,对于以上描述的任意用途,所述癌包括结肠直肠癌、肾癌、乳腺癌、皮肤癌、卵巢癌、前列腺癌、胰腺癌、肺癌、恶性黑色素瘤、小细胞肺癌、非小细胞肺癌(腺癌)、鳞状细胞癌、膀胱癌、骨肉瘤、支气管癌或造血细胞癌中的至少一种。

[0191] 本发明的一些实施方式包括以上描述的任意分离的肽在制备用于治疗免疫抑制的药物中的用途。

[0192] 本发明的一些实施方式包括以上描述的任意组合物在制备用于治疗免疫抑制的药物中的用途。

[0193] 本文也提供一些可选方案:

[0194] 可选方案1包括包含式VII的分离的肽,其中式VII为: $X_{700}K X_{701}X_{702}X_{703}X_{704}X_{705}X_{706}KX_{707}X_{708}X_{709}X_{710}X_{711}EX_{712}$ (SEQ ID NO:394),其中 X_{700} 为K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T、V或K,或缺失;其中 X_{701} 为L、A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、N、Q、R、S、T或V,或缺失;其中 X_{702} 为D、A、E、I、V、W或Y,或缺失;其中 X_{703} 为T、C、M、N、P、Q、R、S、W或Y,或缺失;其中 X_{704} 为F、A、I、M、N、P、T或V,或缺失;其中 X_{705} 为F、L、M、Q、S、T或V,或缺失;其中 X_{706} 为V、F、G、L、P或R,或缺失;其中 X_{707} 为L、A、F、G、I、M、N、P、Q、R、S、T、V或Y,或缺失;其中 X_{708} 为S、H、M、N、Q或T,或缺失;其中 X_{709} 为L、A、H、I、M、N、Q、R、S、T、V或W,或缺失;其中 X_{710} 为F、A、C、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或W,或缺失;其中 X_{711} 为T、F、G、H、I、L、M、N、P、S、V或W,或缺失;其中 X_{712} 为R、F、K、N、R、T或Y,或缺失。

[0195] 可选方案2包括可选方案1的分离的肽,其中所述式VII为SEQ ID NO:1-101、167-172、174-177、179-393、396-581或582中的一种。

[0196] 可选方案3包括包含式VIII的分离的肽,其中式VIII为: $X_{800}K X_{801}K X_{802}E X_{803}$ (SEQ ID NO:395),其中 X_{800} 为K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T、V或K,或缺失;其中 X_{801} 为LDTFV、GDTFFV、EDTFFV、LDQFFV、LDTAFV、LDTVFFV、LDTFMV、LDTFSV、LDTFVV、LDTFTV、LDTFLV、LDGFFV、LDTFGV、LDTFFK、ADTFFV、CDTFFV、DDTFFV、FDTFFV、HDTFFV、IDTFFV、KDTFFV、MDTFFV、NDTFFV、QDTFFV、RDTFFV、SDTFFV、TDTFFV、VDTFFV、LATFFV、LETFFV、LITFFV、LVTFV、LWTFV、LYTFV、LDCFFV、LDMFFV、LDNFFV、LDPFFV、LDRFFV、LDSFFV、LDWFFV、LDYFFV、LDTIFV、LDTMFV、LDTNFV、LDTPFV、LDTTFV、LDTFQV、LDTFFF、LDTFFG、LDTFFL、LDTFFP、LDTFFR、LDTFIV、LDTSFV、LDTFAV、

LDTFCV、LDTQFV、LDTLFV、LTTFV、LDTFFI、LDHFFV、LMTFFV、LDTFEV、LDTFWV、LFTFFV、LDVFFV、LDTFRV、LDTFHV、LDTYFV、LPTFFV、PDTFFV、LDTFPV、LDTFNV、LDTWFV、LDTGFV、LDAFFV、LQTFV、LCTFFV、LSTFFV、YDTFFV、LDEFFV、WDTFFV、LDTKFV、LDTCFV、LDTFYV、LDTHFV、LHTFFV、LRTFFV、LDLFFV、LDTRFV、LLTFFV、LDTFDV、LDTFFA、LDTFFT、LNTFFV、LDDFFV、LDIFFV、LDFFFV、LKTFFV、LDTFFQ、LGTFFV、LDTFFC、LDKFFV、LDTFKV、LDTEFV、LDTFFW、LDTFFM、LDTFFS、LDTFFH、LDTFFY、LDTFFN、LDTDFV、LDTFFE、LDTFFD、LTFFV、LDTFF、TFFV、LDF、LDTE、FFV、LDV、LV或L,或缺失;其中 X_{802} 为LSLFT、VSLFT、LQLFT、LMLFT、LTLFT、LHLFT、LSQFT、LSVFT、LSMFT、LSLMT、LSLQT、LSLHT、LSLNT、LSLPT、LSLST、LSLGT、LSLAT、LSLRT、LSLFN、LSLFP、LSLFR、LGLFT、ASLFT、FSLFT、GSLFT、ISLFT、MSLFT、NSLFT、PSLFT、QSLFT、RSLFT、SSLFT、TSLFT、YSLFT、LNLFT、LSAFT、LSHFT、LSIFT、LSNFT、LSRFT、LSSFT、LSTFT、LSWFT、LSLCT、LSLIT、LSLLT、LSLTT、LSLVT、LSLWT、LSLFF、LSLFG、LSLFH、LSLFI、LSLFL、LSLFM、LSLFS、LSLFV、LSLFW、LYLFT、LVLFT、LSFFT、LSGFT、LSKFT、LSCFT、LCLFT、LRLFT、LPLFT、LWLFT、LKLFT、LDLFT、LSYFT、LALFT、WSLFT、LSLFA、LSLFQ、LSPFT、HSLFT、LSLYT、LILFT、KSLFT、CSLFT、LSLFY、LSLFK、LSLFC、LFLFT、LELFT、LSLKT、LLLFT、LSLFD、LSLDT、LSLFE、DSLFT、LSLET、LSDFT、LSEFT、ESLFT、SLFT、LSFT、LFT、LSL、LT或T,或缺失;并且其中 X_{803} 为R、F、K、N、R、T或Y,或缺失。

[0197] 可选方案4包括可选方案3的分离的肽,其中所述式VIII为SEQ ID NO:1-34、64-68、70-72、74-77、80、83、86、89、92-96、99-100、264、268-269、270-386、388-393、396-401、403、404、406、408-411、413-416、419-420、422-438、442-444、446-449、451-453、455-458、460、462-466、470、472-477、479-480、482-484、486、487、489、491-493、495-498、500-508、512-517、519-522、528-530、532、533、535-538、540、542-551、553、557-559、567、570、572-581或582中的一种。

[0198] 可选方案5包括包含式I的分离的肽,其中式I为: $XX_1VKX_2X_3X_4$ (SEQ ID NO:166),其中X为KKLDT (SEQ ID NO:167)、RKLD (SEQ ID NO:168)、KKGDT (SEQ ID NO:169)、KKEDT (SEQ ID NO:170)、KKLDQ (SEQ ID NO:171)、KKGDQ (SEQ ID NO:252)、KKEDQ (SEQ ID NO:253)、RKLDQ (SEQ ID NO:254)、RKGDQ (SEQ ID NO:255)、RKEDQ (SEQ ID NO:256)、RKGT (SEQ ID NO:257)、RKEDT (SEQ ID NO:258)、KLDT (SEQ ID NO:172)、KGD (SEQ ID NO:259)、KEDT (SEQ ID NO:260)、KLDQ (SEQ ID NO:261)、KGDQ (SEQ ID NO:262)、KEDQ (SEQ ID NO:263)、LDT、LDQ、GDT、GDQ、EDT、EDQ、DT、DQ、T、Q,或缺失,其中 X_1 为FF、FM、FS、FV、FT、FL、AF、AM、AS、AV、AT、AL、VF、VM、VS、VV、VT或VL,或缺失,其中 X_2 为LS、LQ、LM、LT、LH、VS、VQ、VM、VT或VH,或缺失,其中 X_3 为LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、QMR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR;其中 X_4 为ER、E,或缺失。

[0199] 可选方案6包括可选方案5的分离的肽,其中所述式I为SEQ ID NO:2-40、46-52、

58-65、67-71、74-77、80-83、86-88、92-96、99-101、166、173、178、182、268-325、332-392-393、396-415、417-444、446-468、470-487、489-494、497-508、510、512、514-517、520-522、524-525、528-533、535-536、538-539、542-544、546、548、551、553、556-559、561、563-568、571-573、575-581或582中的一种。

[0200] 可选方案7包括可选方案5的分离的肽,其中所述式I为SEQ ID NO:2至33中的一种。

[0201] 可选方案8包括包含式II的分离的肽,其中式II为XTFFVKLSX₁X₂ (SEQ ID NO:173),其中X为KKLD (SEQ ID NO:174)、RKLD (SEQ ID NO:175)、KKGD (SEQ ID NO:176)、KKED (SEQ ID NO:177)、KLD、LD、D,或缺失,其中X₁为LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR,或缺失,其中X₂为ER、或E,或缺失。

[0202] 可选方案9包括可选方案8的分离的肽,其中所述式II为SEQ ID No:2-5、19-38、46-49、58-61、64、68-70、75、81、87、93、94、100、101、173、268-303、350-393、396、398、399、400、402、403、405、406-408、412-414、417、418、421-423、426-428、430、431、435、436、438、439、440-442、448-455、458、459、461、465、467、468、471、475、476、478-481、483、485、487、489-491、493、494、497-499、503、507、510、512、514-517、520、521、524、525、528、529、531、533、538、539、542-、544、546、551、556-559、561、563-568、571-573、575-577、579、580或581中的一种。

[0203] 可选方案10包括可选方案8的分离的肽,其中X为KKLD (SEQ ID NO:174)。

[0204] 可选方案11包括可选方案8的分离的肽,其中X₂为ER。

[0205] 可选方案12包括可选方案8的分离的肽,其中所述式为TFFVKLSLFTER (SEQ ID NO:49) 或TFFVKLSLFTE (SEQ ID NO:250)。

[0206] 可选方案13包括可选方案8的分离的肽,其中所述式为KKLDTFFVKLSLFTER (SEQ ID NO:2) 或KKLDTFFVKLSLFTE (SEQ ID NO:34)。

[0207] 可选方案14包括包含式III的分离的肽,其中式III为:XX₁VKLX₂LX₃TEX₄ (SEQ ID NO:178),其中X为KKLDTF (SEQ ID NO:179)、KLDTF (SEQ ID NO:180)、LDTF (SEQ ID NO:181)、DTF、TF或F,或缺失,其中X₁为F、M、S、V、T或L,或缺失,其中X₂为S、Q、M、T或H,或缺失,其中X₃为F、M、Q、H、N、P、S、G、A或R,或缺失,其中X₄为R或缺失。

[0208] 可选方案15包括可选方案14的分离的肽,其中所述式III为SEQ ID No:2-13、15-18、22-30、34、46-52、58、64、65、70、71、76、77、82、83、88、93-96、99、100、178、268-325 中的一种。

[0209] 可选方案16包括可选方案14的分离的肽,其中X为KKLDTF (SEQ ID NO:178)。

- [0210] 可选方案17包括可选方案14的分离的肽,其中X₄为R。
- [0211] 可选方案18包括可选方案14的分离的肽,其中所述式为VKLSLFTER (SEQ ID NO: 52) 或VKLSLFTE (SEQ ID NO:251)。
- [0212] 可选方案19包括可选方案14的分离的肽,其中所述式为KKLDTFVVKLSLFTER (SEQ ID NO:2) 或KKLDTFVVKLSLFTE (SEQ ID NO:34)。
- [0213] 可选方案20包括包含SEQ ID NO:1-101、167-172、174-177、179-393、396-581和582中的至少一种的分离的肽。
- [0214] 可选方案21包括可选方案20的分离的肽,其包含SEQ ID NO:1-32、34、64-66、68、76、94-96、98和264-393中的至少一种。
- [0215] 可选方案22包括可选方案1-21中任一项所述的分离的肽,其中所述分离的肽包含表5.1的序列中的至少一种。
- [0216] 可选方案23包括可选方案1-22中任一项所述的分离的肽,其中至少一个氨基酸为D氨基酸、人工氨基酸和化学修饰的氨基酸。
- [0217] 可选方案24包括可选方案1-23中任一项所述的分离的肽,其进一步包含N末端乙酰基。
- [0218] 可选方案25包括可选方案1-24中任一项所述的分离的肽,其进一步包含C末端酰胺基。
- [0219] 可选方案26包括可选方案1-25中任一项所述的分离的肽,其中所述分离的肽为化学修饰的。
- [0220] 可选方案27包括可选方案1-26中任一项所述的分离的肽,其中所述肽包含至少一种修饰,比如其中所述肽被糖基化、亚硝基化、羰基化、氧化、或连接到聚乙二醇、脂肪酸或药理学动力修饰剂中的至少一种。
- [0221] 可选方案28包括可选方案1至23中的任一项所述的分离的肽,其中所述多肽包含环肽。
- [0222] 可选方案29包括可选方案1至28中任一项所述的分离的肽,其中所述肽包含至少一种修饰,比如D氨基酸、N末端乙酰基、C末端酰胺基、糖基化、亚硝基化、羰基化、氧化、连接的药理学动力修饰剂以及连接的聚乙二醇或其任意组合中的至少一种。
- [0223] 可选方案30包括可选方案1至29中任一项所述的分离的肽,其中所述肽在长度上小于或等于1100个氨基酸。
- [0224] 可选方案31包括可选方案1至29中任一项所述的分离的肽,其中所述肽在长度上为6个氨基酸和20个氨基酸之间。
- [0225] 可选方案32包括可选方案1至31中任一项所述的分离的肽,其中所述分离的肽不具有N末端乙酰基。
- [0226] 可选方案33包括可选方案1至31中任一项所述的分离的肽,其中所述分离的肽不具有C末端酰胺基。
- [0227] 可选方案34包括可选方案1至33中任一项所述的分离的肽,其中所述肽被连接至支持体、载体和融合蛋白中的至少一种。
- [0228] 可选方案35包括可选方案1至34中任一项所述的分离的肽,其中所述肽是多聚体化的。

[0229] 可选方案36包括包含编码可选方案1至22中任一项所述的肽的序列的分离的多聚核苷酸。

[0230] 可选方案37包括包含SEQ ID NO:102至165中的一种的可选方案36所述的分离的多聚核苷酸。

[0231] 可选方案38包括包含可选方案36所述的分离的多聚核苷酸的载体。

[0232] 可选方案39包括包含可选方案37所述的分离的多聚核苷酸的载体。

[0233] 可选方案40包括可选方案36或37所述的分离的多聚核苷酸或可选方案38或39所述的载体,其中所述肽在长度上为小于或等于1100个氨基酸。

[0234] 可选方案41包括可选方案36或37所述的分离的多聚核苷酸或可选方案38或39所述的载体,其中所述肽在长度上为6个氨基酸和20个氨基酸之间。

[0235] 可选方案42包括一种蛋白复合体,所述蛋白复合体包含连接至白蛋白、白蛋白片段、免疫球蛋白、支持体、载体和融合蛋白中的至少一种上的可选方案1至35中任一项所述的肽。

[0236] 可选方案43包括一种制备根据可选方案42的蛋白复合体的方法,包括:将可选方案1至35中任一项所述的肽与从人主体获得的生物样品接触,其中所述生物样品包括免疫球蛋白、白蛋白或其片段;并且检测所述蛋白复合体的存在。

[0237] 可选方案44包括可选方案43所述的方法,其中可选方案1至35中任一项所述的肽被连接至支持体。

[0238] 可选方案45包括一种检测生物样品中白蛋白或白蛋白片段存在的方法,所述方法包括:将可选方案1至35中任一项所述的肽与包含白蛋白或其片段的生物样品接触并且检测所述肽与所述白蛋白或所述白蛋白片段的结合。

[0239] 可选方案46包括特异于可选方案1至35中任一项所述的肽的结合方式,其中所述结合方式为抗体或其结合片段。

[0240] 可选方案47包括可选方案46所述的结合方式,其中所述抗体为单克隆抗体并且所述结合片段为单克隆抗体结合片段。

[0241] 可选方案48包括特异于肽的适体,所述肽包含表1-4的序列(SEQ ID NO:183-184和188-246)中的至少一种。

[0242] 可选方案49包括可选方案48所述的适体,其中所述适体特异于序列为VFDEFKPLVEEPQNLIK(SEQ ID NO:185)的肽。

[0243] 可选方案50包括可选方案48或49所述的适体,其中所述适体为DNA适体。

[0244] 可选方案51包括可选方案48或49所述的适体,其中所述适体为肽适体。

[0245] 可选方案52包括一种抑制需要的患者中的免疫抑制的方法,所述方法包括:识别具有与免疫抑制相关的状况的患者;向所述患者施用可选方案1-35中任意一项的肽;并且检测所述患者中白细胞扩散的增加或检测免疫细胞的活化或刺激(如由CD69或CD71表达的增加证实)、信号物质分泌的诱导(如由干扰素 γ 或IL-2的产生证实)或溶细胞物质的释放的刺激(如由粒酶B或穿孔素的释放证实)。可选地所述方法包括检测提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移和/或细胞增殖中的一种或多种。

[0246] 可选方案53包括可选方案52所述的方法,其中所述肽在长度上小于或等于30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7或6个氨基酸或长度在这

些数值的任意两个之间。

[0247] 可选方案54包括可选方案52所述的方法,其中所述肽为合成的肽。

[0248] 可选方案55包括可选方案52所述的方法,其中施用所述肽包括施用由按重量计至少0.1%的所述肽组成的组合物,比如,按重量计至少0.1%、0.2%、0.5%、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、20%或30%的所述肽,包括任意两个所列值之间的范围。

[0249] 可选方案56包括可选方案52所述的方法,其中所述患者患有癌症、病毒感染或细菌感染。

[0250] 可选方案57包括可选方案56所述的方法,其中所述癌为结肠直肠癌、肾癌、乳癌、皮肤癌、卵巢癌、前列腺癌、胰腺癌、肺癌、恶性黑色素瘤、小细胞肺癌、非小细胞肺癌(腺癌)、鳞状细胞癌、膀胱癌、骨肉瘤、支气管癌或造血细胞癌。

[0251] 可选方案58包括可选方案52所述的方法,其进一步包括检测淋巴细胞迁移的增加。

[0252] 可选方案59包括一种抑制白蛋白片段与受体结合的方法,所述方法包括:识别患有免疫抑制的人;将免疫细胞与可选方案1至35中任意一种肽接触;并且在与所述肽接触后检测免疫细胞增殖的增加或检测免疫细胞的活化或刺激(如由CD69或CD71表达的增加证实)、信号物质分泌的诱导(如由干扰素 γ 或IL-2的产生证实)或溶细胞物质的释放的激发(如由粒酶B或穿孔素的释放所证实)。可选地,所述方法包括提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移和/或细胞增殖中的一种或多种。

[0253] 可选方案60包括可选方案59所述的方法,其中所述免疫细胞为淋巴细胞、单核细胞、巨噬细胞或NK细胞。

[0254] 可选方案61包括可选方案59所述的方法,其中所述免疫细胞为PBMC、单核细胞、巨噬细胞或NK细胞。

[0255] 可选方案62包括可选方案59所述的方法,其中所述人患有癌症、病毒感染或细菌感染。

[0256] 可选方案63包括可选方案62所述的方法,其中所述人患有结肠直肠癌、肾癌、乳癌、皮肤癌、卵巢癌、前列腺癌、胰腺癌、肺癌、恶性黑色素瘤、小细胞肺癌、非小细胞肺癌(腺癌)、鳞状细胞癌、膀胱癌、骨肉瘤、支气管癌或造血细胞癌。

[0257] 可选方案64包括增加NK细胞细胞毒性的方法,其包括:识别患有免疫抑制的人;将NK细胞与含有可选方案1至35中任意一种序列的肽接触;并且在与所述肽接触后检测与对照样品相比的所述NK细胞细胞毒性的增加,所述对照样品比如为不存在所述肽下NK细胞的细胞毒性或NK细胞和一种无关肽的细胞毒性。

[0258] 可选方案65包括可选方案64所述的方法,其中所述人为患有癌症、细菌感染或病毒感染的患者。

[0259] 可选方案66包括可选方案64所述的方法,其中所述患有癌症的所述患者患有结肠直肠癌、肾癌、乳癌、皮肤癌、卵巢癌、前列腺癌、胰腺癌、肺癌、恶性黑色素瘤、小细胞肺癌、非小细胞肺癌(腺癌)、鳞状细胞癌、膀胱癌、骨肉瘤、支气管癌或造血细胞癌。

[0260] 可选方案67包括增加人淋巴细胞迁移的方法,其包括:识别患有免疫抑制的人;将人淋巴细胞与可选方案1-35中任一项的肽接触;并且检测在与所述肽接触后与对照样品相比的所述人淋巴细胞迁移的增加,所述对照样品比如为不存在所述肽下人淋巴细胞的迁移

或人淋巴细胞和一种无关肽的迁移。

[0261] 可选方案68包括可选方案67所述的方法,其中所述人患有癌症、细菌感染或病毒感染。

[0262] 可选方案69包括可选方案68所述的方法,其中所述人患有结肠直肠癌、肾癌、乳腺癌、皮肤癌、卵巢癌、前列腺癌、胰腺癌、肺癌、恶性黑色素瘤、小细胞肺癌、非小细胞肺癌(腺癌)、鳞状细胞癌、膀胱癌、骨肉瘤、支气管癌或造血细胞癌中的至少一种。

[0263] 可选方案70包括抑制人白蛋白或人白蛋白片段与人淋巴细胞上的LFA-1受体或IL-2受体或二者结合的方法,所述方法包括:在人白蛋白或人白蛋白片段存在下将人淋巴细胞与可选方案1-35中任一项的肽接触;并且检测与对照样品相比的人白蛋白或人白蛋白片段与人淋巴细胞上的LFA-1受体或IL-2受体或二者的结合的抑制,其中所述对照样品包括在不存在所述肽下人白蛋白或人白蛋白片段与人淋巴细胞上的LFA-1受体或IL-2受体或二者的结合,或在无关肽的存在下人白蛋白或人白蛋白片段与人淋巴细胞上的LFA-1受体或IL-2受体或二者的结合。

[0264] 可选方案71包括可选方案70所述的方法,其中所述人白蛋白片段包含与SEQ ID NO:185具有至少95%同一性的序列。

[0265] 可选方案72包括可选方案71所述的方法,其中所述人白蛋白片段包含SEQ ID NO:185的序列。

[0266] 可选方案73包括抑制人白蛋白或人白蛋白片段与人淋巴细胞上的LFA-1受体或IL-2受体或二者结合的方法,其包括:提供人淋巴细胞,其中LFA-1受体和IL-2受体中的至少一种结合至人白蛋白或白蛋白片段;将一种分子与所述人白蛋白或白蛋白片段特异结合;并且检测通过所述LFA-1受体、IL-2受体的所述人淋巴细胞的刺激的抑制的减少。

[0267] 可选方案74包括可选方案73所述的方法,其中所述人白蛋白片段包含与SEQ ID NO:185具有至少95%同一性的序列。

[0268] 可选方案75包括可选方案74所述的方法,其中所述人白蛋白片段包含SEQ ID NO:185的序列。

[0269] 可选方案76包括将癌细胞与肽结合的方法,其包括:将癌细胞与可选方案1-35中任一项所述的肽接触;并且检测所述肽与所述癌细胞的结合。

[0270] 可选方案77包括可选方案76所述的方法,其中所述癌细胞为结肠直肠癌细胞、肾癌细胞、乳腺癌细胞、皮肤癌细胞、卵巢癌细胞、前列腺癌细胞、胰腺癌细胞、肺癌细胞、恶性黑色素瘤细胞、小细胞肺癌细胞、非小细胞肺癌(腺癌)细胞、鳞状细胞癌细胞、膀胱癌细胞、骨肉瘤细胞、支气管癌细胞或造血细胞癌细胞。

[0271] 可选方案78包括可选方案76所述的方法,其中所述肽包含与其结合的可检测标记,比如生物素标记、放射性标记、荧光标记或胶体金标记。

[0272] 可选方案79包括可选方案76所述的方法,其中所述肽包含与其结合的细胞毒试剂,比如放射化学的或毒素。

[0273] 可选方案80包括可选方案76所述的方法,其中所述肽包含抗体或抗体片段。

[0274] 可选方案81包括可选方案1-35中任一项所述的肽,进一步包含与其结合的可检测标记,比如生物素标记、放射性标记、荧光标记或胶体金标记。

[0275] 可选方案82包括可选方案1-36中任一项所述的肽,进一步包含与其结合的细胞毒

试剂,比如放射化学的或毒素。

[0276] 可选方案83包括抑制人癌细胞增殖的方法,其包括:识别人癌症患者;将人癌症患者的免疫细胞与可选方案1-35中任一项的肽接触;并且检测所述患者的癌细胞的增殖的抑制或所述患者的癌细胞的细胞死亡的诱导。

[0277] 可选方案84包括可选方案83所述的方法,其中检测所述患者的癌细胞的增殖的抑制。

[0278] 可选方案85包括可选方案83所述的方法,其中检测癌细胞的细胞死亡的诱导或肿瘤退行性变化中至少一种。

[0279] 可选方案86包括可选方案83所述的方法,其中所述癌细胞为结肠直肠癌、肾癌、乳腺癌、皮肤癌、卵巢癌、前列腺癌、胰腺癌、肺癌、恶性黑色素瘤、小细胞肺癌、非小细胞肺癌(腺癌)、鳞状细胞癌、膀胱癌、骨肉瘤、支气管癌和造血细胞癌中的至少一种。

[0280] 可选方案87包括可选方案83所述的方法,进一步包括检测所述人的免疫细胞的增殖、迁移、内皮游走和细胞毒性中的至少一种的增加。

[0281] 可选方案88包括可选方案83所述的方法,其中所述免疫细胞为PBMC。

[0282] 可选方案89包括可选方案88所述的方法,其中所述免疫细胞为淋巴细胞。

[0283] 可选方案90包括可选方案83所述的方法,其中所述肽是合成的。

[0284] 可选方案91包括去除结合至人淋巴细胞的LFA-1受体的配体的方法,其包括:将人淋巴细胞与可选方案1-31中任一项的肽接触;并且检测针对LFA-1受体的配体的减少的结合。

[0285] 可选方案92包括可选方案91所述的方法,其中所述人淋巴细胞来自患有癌症、细菌感染或病毒感染的患者。

[0286] 可选方案93包括可选方案92所述的方法,其中所述患者患有结肠直肠癌、肾癌、乳腺癌、皮肤癌、卵巢癌、前列腺癌、胰腺癌、肺癌、恶性黑色素瘤、小细胞肺癌、非小细胞肺癌(腺癌)、鳞状细胞癌、膀胱癌、骨肉瘤、支气管癌和造血细胞癌中的至少一种。

[0287] 可选方案94包括去除结合至人淋巴细胞的所述IL-2受体的配体的方法,其包括:将人淋巴细胞与可选方案1-35中任一项的肽接触;并且检测针对所述IL-2受体的配体的减少的结合。

[0288] 可选方案95包括可选方案94所述的方法,其中所述人淋巴细胞来自患有癌症、细菌感染或病毒感染的患者。

[0289] 可选方案96包括可选方案95所述的方法,其中所述患者患有结肠直肠癌、肾癌、乳腺癌、皮肤癌、卵巢癌、前列腺癌、胰腺癌、肺癌、恶性黑色素瘤、小细胞肺癌、非小细胞肺癌(腺癌)、鳞状细胞癌、膀胱癌、骨肉瘤、支气管癌和造血细胞癌中的至少一种。

[0290] 可选方案97包括一种减少免疫抑制的人中免疫抑制的方法,其包括:向人提供可选方案1-35中任一项的肽;并且检测所述人中免疫抑制的减少或检测免疫细胞的活化或刺激(如由CD69或CD71表达的增加证实)、信号物质分泌的诱导(如由干扰素 γ 或IL-12的产生证实)或溶细胞物质释放的刺激(如由粒酶B或穿孔素的释放证实)。可选地,所述方法包括检测提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移和/或细胞增殖中的一种或多种。

[0291] 可选方案98包括可选方案97所述的方法,其中所述人患有癌症、细菌感染或病毒感染。

[0292] 可选方案99包括可选方案98所述的方法,其中所述癌为结肠直肠癌、肾癌、乳癌、皮肤癌、卵巢癌、前列腺癌、胰腺癌、肺癌、恶性黑色素瘤、小细胞肺癌、非小细胞肺癌(腺癌)、鳞状细胞癌、膀胱癌、骨肉瘤、支气管癌或造血细胞癌。

[0293] 可选方案100包括可选方案99所述的方法,其中提供所述肽包括施用给所述人由按重量计至少0.1%的所述肽组成的组合物,比如,按重量计至少0.1%、0.2%、0.5%、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、20%或30%的所述肽,包括任意两个所列值之间的范围。

[0294] 可选方案101包括抑制人白蛋白或人白蛋白片段与人淋巴细胞上的所述LFA-1受体或所述IL-2受体或二者结合的方法,其包括:向人提供可选方案36-41中任一项所述的多聚核苷酸或载体;并且检测人白蛋白或人白蛋白片段与所述LFA-1受体或所述IL-2受体或二者的结合的抑制。

[0295] 可选方案102包括抑制人癌细胞增殖的方法,其包括:向具有癌细胞的人提供可选方案36-41中任一项所述的多聚核苷酸或载体;并且检测所述癌细胞的增殖的抑制。

[0296] 可选方案103包括去除结合至人淋巴细胞的所述LFA-1受体或IL-2受体或二者的配体的方法,其包括:将人淋巴细胞与可选方案36-41中任一项所述的多聚核苷酸或载体接触;并且检测针对所述LFA-1受体或IL-2受体或二者的配体的减少的结合。

[0297] 可选方案104包括减少免疫抑制的人中免疫抑制的方法,其包括:向所述人提供可选方案36-41中任一项所述的多聚核苷酸或载体;并且检测所述人中免疫抑制的减少或检测免疫细胞的活化或刺激(如由CD69或CD71表达的增加证实)、信号物质分泌的诱导(如由干扰素 γ 或IL-12的产生证实)或溶细胞物质释放的刺激(如由粒酶B或穿孔素的释放证实)。可选地所述方法包括检测提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移和/或细胞增殖中的一种或多种。

[0298] 可选方案105包括可选方案1-35中修饰的肽,其中所述肽包含至少一种修饰,比如D氨基酸、N末端乙酰基、C末端酰胺基、糖基化的氨基酸、亚硝基化的氨基酸、羰基化的氨基酸、氧化的氨基酸中的至少一种,或其中所述肽被连接至聚乙二醇、脂肪酸或药学动力修饰剂。

[0299] 可选方案106包括可选方案103所述的修饰的肽,其中所述肽在长度上小于或等于30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7或6个氨基酸。

[0300] 可选方案107包括药物组合物,所述药物组合物包含:可选方案1-35或可选方案103-104中任一项所述的肽,以及药学上可接受的载体、赋形剂或稀释剂。

[0301] 可选方案108包括可选方案107所述的药物组合物,其中所述肽包含SEQ ID NO:1-33、34、46-53、62、64-66、68、76、94-96、98和586中的至少一种。

[0302] 可选方案109包括识别需要用免疫调节肽或结构的抑制剂治疗的患者的方法,所述方法包括:将所述患者的免疫细胞在体外与可选方案1-35中任一项的肽接触;检测所述免疫细胞的反应性的恢复;并且如果所述肽抑制所述免疫细胞的增殖,将所述患者分类为可能应答用免疫调节肽或结构的抑制剂的治疗。

[0303] 可选方案110包括可选方案109所述的方法,进一步包括减少需要的患者中的免疫抑制,其中减少免疫抑制包括向需要的患者提供可选方案1-35中任一项的肽。

[0304] 可选方案111包括可选方案110所述的方法,进一步包括检测所述人中的免疫抑制

的减少。

[0305] 可选方案112包括可选方案109所述的方法,进一步包括减少需要的患者中的免疫抑制,其中减少免疫抑制包括向需要的患者提供可选方案36-41中任一项的载体或多聚核苷酸。

[0306] 可选方案113包括可选方案112所述的方法,进一步包括检测所述人中免疫抑制的减少或检测免疫细胞的活化或刺激(如由CD69或CD71表达的增加证实)、信号物质分泌的诱导(如由干扰素 γ 或IL-2的产生证实)或溶细胞物质释放的刺激(如由粒酶B或穿孔素的释放证实)。可选地,所述方法包括检测提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移和/或细胞增殖中的一种或多种。

[0307] 可选方案114包括可选方案1-23中任一项所述的分离的肽,其中所述肽包含与SEQ ID NO:2的氨基酸残基K2同源的氨基酸残基。

[0308] 可选方案115包括可选方案1-23中任一项所述的分离的肽,其中所述肽包含与SEQ ID NO:2的氨基酸残基K9同源的氨基酸残基。

[0309] 可选方案116包括可选方案1-23中任一项所述的分离的肽,其中所述肽包含与SEQ ID NO:2的氨基酸残基E15同源的氨基酸残基。

[0310] 可选方案117包括可选方案114所述的分离的肽,其中所述肽包含与SEQ ID NO:2的氨基酸残基K9同源的氨基酸残基。

[0311] 可选方案118包括可选方案114所述的分离的肽,其中所述肽包含与SEQ ID NO:2的氨基酸残基E15同源的氨基酸残基。

[0312] 可选方案119包括可选方案115所述的分离的肽,其中所述肽包含与SEQ ID NO:2的氨基酸残基E15同源的氨基酸残基。

[0313] 可选方案120包括可选方案114所述的分离的肽,其中所述肽包含与SEQ ID NO:2的氨基酸残基K9同源的氨基酸残基,并且其中所述肽包含与SEQ ID NO:2的氨基酸残基E15同源的氨基酸残基。

[0314] 可选方案121包括可选方案1-23或可选方案114-120中任一项所述的分离的肽,其中所述肽包含至少一个非自然发生的氨基酸。

[0315] 可选方案122包括可选方案114-120中任一项所述的分离的肽,其中所述肽包含至少一种修饰,比如D-氨基酸、N-末端乙酰基、C-末端酰胺基、糖基化的氨基酸、亚硝基化的氨基酸、羰基化的氨基酸、氧化的氨基酸中的至少一种,或其中所述肽被连接至聚乙二醇、脂肪酸或药学动力修饰剂。

[0316] 可选方案123包括可选方案114-120中任一项所述的分离的肽,其中所述肽在长度上小于或等于30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7或6个氨基酸或由这些数值中的任意两个之间的范围定义的长度。

[0317] 可选方案124包括可选方案114-120中任一项所述的分离的肽,所述肽在长度上为6个氨基酸和20个氨基酸之间,优选在长度上为8-16个氨基酸之间,并且最优选在长度上为9至15个氨基酸之间。

[0318] 可选方案125包括可选方案114-120中任一项所述的分离的肽,其中所述肽被连接至支持体。

[0319] 可选方案126包括可选方案114-120中任一项所述的分离的肽,其中所述肽是多聚

体化的。

[0320] 可选方案127包括包含编码可选方案114-120中任一项所述的肽的序列的分离的多聚核苷酸。

[0321] 可选方案128包括包含可选方案127所述的分离的多聚核苷酸的载体。

[0322] 可选方案129包括包含可选方案128所述的分离的多聚核苷酸的载体。

[0323] 可选方案130包括可选方案127所述的分离的多聚核苷酸或可选方案128所述的载体,其中所述肽在长度上为小于或等于30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7或6个氨基酸或由这些数值中的任意两个之间的范围定义的长度。

[0324] 可选方案131包括可选方案127所述的分离的多聚核苷酸或可选方案128所述的载体,其中所述肽在长度上为6个氨基酸和20个氨基酸之间,优选在长度上为8-16个氨基酸之间,并且最优选在长度上为9至15个氨基酸之间。

[0325] 可选方案132包括一种蛋白复合体,所述蛋白复合体包含结合至可选方案114-127中任一项所述的肽的白蛋白或白蛋白片段。

[0326] 可选方案133包括可选方案132所述的蛋白复合体,其中所述蛋白复合体结合至支持体。

[0327] 可选方案134包括一种分离的肽,所述分离的肽包含 $X_1X_2X_3-X_8X_9X_{10}-X_{14}X_{15}X_{16}$,其中 X_1 和 X_{16} 为任意氨基酸或缺失; X_2 选自由M、N、P、G、E、R、K组成的组; X_9 选自由T、R、K组成的组; X_{15} 选自由P、D、E、Y、N、Q组成的组; X_3-X_8 和 $X_{10}-X_{14}$ 为任意氨基酸。

[0328] 可选方案135包括根据可选方案134所述的分离的肽,其中 X_2 选自由K、N、P组成的组, X_{15} 选自由P、D、E组成的组。

[0329] 可选方案136包括根据可选方案135所述的分离的肽,其中 X_2 和 X_9 为K, X_{15} 为E。

[0330] 可选方案137包括根据可选方案136所述的分离的肽,其中 X_5-X_8 为F、F、V、K, $X_{10}-X_{11}$ 为L、S。

[0331] 可选方案138包括根据可选方案137所述的分离的肽,其中所述肽为KLDTFVFKLSLFTTE。

[0332] 可选方案139包括一种药物组合物,所述药物组合物包含根据可选方案134-138中的任一项所述的分离的肽以及药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

[0333] 可选方案140包括包含根据可选方案134-138中的任一项所述的分离的肽的抗体、单克隆抗体或其功能片段。

[0334] 可选方案141包括根据可选方案140所述的抗体、单克隆抗体或其功能片段,为单域抗体(SdAb)。

[0335] 可选方案142包括一种试剂盒,所述试剂盒包含根据可选方案134-138中的任一项所述的分离的肽和/或根据可选方案140-141中任一项所述的抗体、单克隆抗体或其功能片段以及怎样使用所述试剂盒的操作指南。

[0336] 可选方案143包括包含如下步骤的体外方法:(a)提供免疫细胞;(b)将所述免疫细胞与根据可选方案134-138中任一项所述的分离的肽或根据可选方案140-141中任一项所述的抗体、单克隆抗体或其功能片段接触;和(c)确定所述免疫细胞的调节作用,比如通过检测免疫细胞的活化或刺激(如由CD69或CD71表达的增加证实)、信号物质分泌的诱导(如由干扰素 γ 或IL-12的产生证实)或溶细胞物质释放的刺激(如由粒酶B或穿孔素的释放证

实) 确定。可选地, 所述方法包括检测提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移和/或细胞增殖中的一种或多种。

附图说明

[0337] 图1表明使用针对P3028表位的亲和纯化的兔抗体的恶性黑色素瘤转移癌的免疫组织化学染色。

[0338] 图2表明使用针对3028结构的抗体在肿瘤提取物上进行的蛋白质印迹实验。

[0339] 图3表明夹心ELISA检测血清中暴露P3028表位的白蛋白; 与P3028表位竞争。

[0340] 图4表明IL-2诱导来自健康对照样品的PBMC的增殖以及来自在10%的自体同源的血清中培养的肾细胞癌症患者(RCC)的人免疫细胞(PBMC)的增殖。

[0341] 图5表明根据对IL-2的增殖应答的肾细胞癌症患者的卡普兰梅尔分析。

[0342] 图6表明四种不同的肽对IL-2诱导的来自健康对照样品的PBMC增殖的作用的分析。

[0343] 图7表明由使用癌症患者PBMC的人离体模型中P3028对于IL-2的增殖应答的抑制。

[0344] 图8表明P3028对来自四个健康人的PBMC的TCR刺激的淋巴细胞增殖的作用。

[0345] 图9A-9B表明白蛋白肽对NK细胞细胞毒性的作用。图9A描述了K5和K6的作用。图9B描述了K12和K13的作用。

[0346] 图10表明P3028对在外周血白细胞上扩散的作用。

[0347] 图11表明使用博伊登小室技术研究的P3028对PBMC迁移的作用。

[0348] 图12表明与全长P3028的作用相比P3028的C-末端(3128)和-N末端(3325)部分对IL-2诱导的增殖的作用。

[0349] 图13表明P3028对IL-2诱导的增殖的抑制作用不被单独的P3028的C-末端(3128)和N-末端(3325)部分或其组合中和。

[0350] 图14表明通过孵育正常的PBMC和患者血清抑制针对CD11a的抗LFA-1抗体的结合。

[0351] 图15表明P3028对抗LFA-1mAb与单核血细胞结合的抑制。

[0352] 图16表明来自健康对照样品(A)的PBMC、以及用针对抑制型P3028的抗体治疗前(B)和治疗后(C)的癌症患者的PBMC上的LFA-1染色。

[0353] 图17表明通过抗LFA-1抗体的单核血细胞染色(A)被P3028(B)或癌症患者血清(C)阻碍。

[0354] 图18A和18B表明显示生物素化的IL-2与rhuIL-2R结合的ELISA分析。图18B为图18A的对比增强图, 以描述针对非生物素化的IL-2的结合数据(三角形;

[0355] 图19表明在IL-2结合位点(B)上IL-2受体(CD25)的 α 链结合P3028(A)。

[0356] 图20表明来自用P3028免疫的兔子的抗血清与P3028结合。

[0357] 图21表明在ELISA中白蛋白肽对兔抗3028血清L与用P3028包被的孔结合的抑制。

[0358] 图22表明针对P3028的亲和纯化的抗体对来自免疫抑制的癌症患者和正常对照样品的PBMC的对IL-2的增殖应答的作用。

[0359] 图23表明溶液中P3028抑制剂的识别。基于之前的分析在芯片上合成P3028的潜在结合剂。图23A表明实验1-14的结果。图23B表明实验15-28的结果。图23A和23B分别代表被

放大的以更清楚地显示文本的单个图的左侧和右侧。Y轴已被复制在图23B中作为参考。

[0360] 图24表明对针对IL-2的抑制的增殖应答的P28R的刺激活性。图24A、24B、24C和24D分别表明针对四个不同的癌症患者的刺激活性。

[0361] 图25表明生物素化的P28R与新鲜冷冻的乳癌肿瘤的结合。

[0362] 图26表明被针对LFA-1的抗体染色的用缓冲液(图26A)或P28R(图26B)孵育的乳癌组织。

[0363] 图27表明P3028与P28R的每个位置具有单个氨基酸取代的肽结合的rambo得分。

[0364] 图28表明具有大于500的rambo得分的肽P28R的单个氨基酸取代。

[0365] 图29表明P3028与P28R和肽P28R的N-末端和/或C-末端截短体结合的rambo得分。

[0366] 图30表明P3028与肽P28R的内部删除突变体和单个氨基酸取代突变体结合的rambo得分。图30A和30B分别代表被放大的以更清楚地显示文本的单个图的左侧和右侧。作为参考,Y轴已被复制在图30B中。

[0367] 图31表明肽3028和肽KKL15之间有利的静电相互作用和疏水相互作用。

[0368] 图32表明在位置扫描实验中被鉴定为与P3028结合的环肽(SEQ ID NO:265-267)和被鉴定为与P3028结合的线性肽(SEQ ID NO:2和268-293)的比对。

[0369] 图33A和33B表明各种浓度的肽P28R对来自健康对照样品的PBMC(图33A)和来自癌症患者的PBMC(图33B)中的MTS生物还原的作用。

[0370] 图34表明P28R(亦称为“SCF 28R”)(N=9)和P27(亦称为“SCF 27”)(N=8)对来自癌症患者的PBMC的作用,MTS测定,第7天。

[0371] 图35表明癌症患者细胞中对IL-2的应答,通过BrdU掺入测得。

[0372] 图36表明在高应答物(图36A)和低应答物(图36B)的细胞中P28R(亦称为“P28”)对IL-2诱导的增殖的作用。

[0373] 图37表明P28R(亦称为“SCF 28R”)和P27(亦称为“SCF 27”)对来自癌症患者的PBMC的IL-2刺激的作用,基于BrdU掺入。

[0374] 图38表明P28R(亦称为“SCF 28R”)和P27(亦称为“SCF 27”)对基于BrdU掺入(图38A、38C)和MTS掺入(图38B、38D)的IL-2诱导的增殖的作用。所示分别为两个不同患者的细胞,(图38A、38C)和(图38B、38D)。

[0375] 图39表明用(下排)和不用(上排)P3028肽的细胞的酶联免疫吸附测定。

[0376] 图40表明来自用和不用P3028肽的细胞的酶联免疫吸附测定的数据

[0377] 图41为表明修饰的肽对来自健康对照人的PBMC的活化的作用的一系列图。在RPMI加10%人AB血清中将PBMC与所述肽(40μg/mL)孵育24小时。使用流式细胞仪将活化测定为具有提高的标志物CD69的细胞的百分比。图41A表明针对每种肽进行的两个实验(410和412)的结果。图41B表明针对每种肽进行的两个实验(414和416)的结果。

[0378] 图42为表明在含有正常人AB血清的培养基中全长肽P28R和6氨基酸中心序列(32230,FFVKLS,SEQ ID NO:62)的作用的一系列图。使用流式细胞仪将活化测定为具有提高的标志物CD69或CD71的细胞的百分比。在RPMI加10%人AB血清中将PBMC与肽(40μg/mL)孵育24小时。图42A表明针对每种肽进行的两个实验(420和422)的结果。图42B表明针对每种肽进行的两个实验(424和426)的结果。

[0379] 图43为表明在含有来自两个不同的癌症患者的血清(“人癌血清1”430和“人癌血

清2”432)的培养基中全长肽P28R和6氨基酸中心序列(32230,FFVKLS,SEQ ID NO:62)的对比的一系列图。

[0380] 图44为表明在裸鼠的异种移植物模型中人前列腺癌PC3的P28R治疗的一系列显微镜图像。肿瘤在肿瘤内被注射P28R(图44A)和仅注射药物溶剂(图44B)。描述了对Caspase 3440的染色(显示凋亡的诱导)以及染色的缺失442。

[0381] 图45为表明用P28R肿瘤内治疗B16黑色素瘤的一系列显微镜图像。使用针对CD45的多克隆兔抗体治疗3天后显示炎性细胞浸润(图45A),并且对照部分用同样浓度的兔IgG孵育(图45B)。描述了染色450以及染色的缺失452。

[0382] 图46为表明修饰的肽对来自健康对照人的PBMC的活化的作用的一系列图。使用流式细胞仪将活化测定为具有提高的标志物CD69(图46A,显示两个实验,实验1 460和实验2462的结果)或CD71(图46B,显示两个实验,实验1 464和实验2 466的结果)的细胞的百分比。在RPMI加10%人AB血清中将PBMC与肽(40 μ g/mL)孵育48小时。

[0383] 图47为表明在人乳癌的两个区域(分别为图47A和图47B)中免疫抑制型3028结构的出现的一系列显微镜图像。描述了使用生物素化的P28R的免疫组织化学染色(470)。在图47A中观察到染色472的缺失。

[0384] 发明详述

[0385] 已经开发了几种免疫调节肽抑制剂,所述免疫调节肽抑制剂与引起人(比如,患有癌症、长期或慢性感染或炎性疾病的人)免疫抑制的免疫抑制肽相互作用。优选的免疫调节肽抑制剂与包含P3028结构和/或P3028序列(SEQ ID NO:185)的蛋白或肽结合。参考本文的一些实施方式和描述,所述P3028结构指多肽,比如包括所述P3028序列(SEQ ID NO:185)的肽、蛋白等等。所述P3028结构可以包括大分子,比如被与P3028结构特异结合的抗体识别的肽、蛋白等等(参见实施例1和图2)。比如,白蛋白的聚集体、变性的白蛋白和其他受损的白蛋白可以包括所述P3028结构。在本申请的一些语境中,所述P3028结构、P3028序列和P3028是可以交替使用的术语。具有所述P3028结构的分子与免疫细胞上引起免疫抑制的受体(比如IL-2受体和LFA-1受体)相互作用。如此,本文预期肽、蛋白、白蛋白片段、受损的白蛋白(比如变性的白蛋白)和白蛋白聚集体可以包括所述P3028结构,并且可以与免疫细胞受体(比如IL-2受体和LFA-1受体)相互作用。免疫抑制的特征可以在于减少的免疫细胞增殖、扩散和迁移,以及NK细胞细胞毒性。然而,如在本文所述的,在免疫调节肽抑制剂的存在下,由所述P3028结构介导的所述免疫抑制可以被改变(比如,被减少、改善、消除或一起移除)。比如,在一些实验中,发现免疫调节肽抑制剂可以去除包括来自所述LFA-1受体的P3028结构的分子,从而改变由P3028结构介导的免疫抑制。相应地,随后的描述提供了关于许多不同种类的免疫调节肽抑制剂的细节,其中所述免疫调节肽抑制剂包括但不限于基于免疫调节肽抑制剂的抗体或抗体片段、基于免疫调节肽抑制剂的肽、肽模拟的免疫调节肽抑制剂、修饰的免疫调节肽抑制剂(比如,含D-氨基酸、N-末端乙酰基或C-末端酰胺基)、环肽抑制剂和基于免疫调节肽抑制剂的适体。提供了使用(如在本文描述的)组合物来减少免疫抑制或其一方面(比如,减少P3028介导的免疫细胞增殖、扩散、迁移或NK细胞细胞毒性的抑制)的方法以及抑制、减少或改变癌症的发展或炎性疾病的方法。所述组合物可以包含本文描述的一种免疫调节肽抑制剂、由本文描述的一种免疫调节肽抑制剂组成或基本由本文描述的一种免疫调节肽抑制剂组成。相应地,本文描述的免疫调节肽抑制剂可以用于改善、减少免疫

抑制的症状、减少免疫抑制的严重度和/或对免疫抑制治疗。

[0386] 本文描述的免疫调节肽抑制剂与包含序列SEQ ID NO:183-185或188-246中的至少一种的蛋白或肽相互作用或结合。这种肽可以具有与P3028序列和结构类似的免疫调节性质(参见实施例17-26)。

[0387] 关于在随后公开的一些实施方式,氨基酸或氨基酸残基可以被三字母或单字母密码指代。二十种氨基酸通常被遗传密码编码,并且可以用本文的下述密码或缩写指代:精氨酸(“Arg”或“R”)、组氨酸(“His”或“H”)、赖氨酸(“Lys”或“K”)、天冬氨酸(“Asp”或“D”)、谷氨酸(“Glu”或“E”)、丝氨酸(“Ser”或“S”)、苏氨酸(“Thr”或“T”)、天冬酰胺(“Asp”或“N”)、谷氨酰胺(“Gln”或“Q”)、半胱氨酸(“Cys”或“C”)、甘氨酸(“Gly”或“G”)、脯氨酸(“Pro”或“P”)、丙氨酸(“Ala”或“A”)、缬氨酸(“Val”或“V”)、异亮氨酸(“Ile”或“I”)、亮氨酸(“Leu”或“L”)、甲硫氨酸(“Met”或“M”)、苯丙氨酸(“Phe”或“F”)、酪氨酸(“Tyr”或“Y”)、色氨酸(“Trp”或“W”)。

[0388] 关于在随后公开的一些实施方式,以“肽”表示蛋白和/或蛋白的片段,其可以具有几种不同的长度(比如,至少或等于2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、60、70、80、90、100、120、140、160、180、200、240、260、300、350、400、450、500、600、700、800或1000个氨基酸或由这些数值之间的任意数值定义的范围)。

[0389] 关于在随后公开的一些实施方式,氨基酸(和它们的残基)可以根据氨基酸的 α 碳的侧链的各种特征进行分类。注意,本文涉及由遗传密码编码的二十种自然发生的氨基酸,以及合成的氨基酸。如在本文中所使用的,“疏水性氨基酸”(包括这个源术语的复数形式和变化)指具有疏水性侧链的自然发生的或合成的氨基酸,比如A、V、I、L、M、F、Y或W。如在本文中所使用的,“带正电荷的氨基酸”(包括这个源术语的复数形式和变化)指具有带正电荷的侧链的自然发生的或合成的氨基酸,比如,R、H或K。如在本文中所使用的,“带负电荷的氨基酸”(包括这个源术语的复数形式和变化)指具有带负电荷的侧链的自然发生的或合成的氨基酸,比如,D或E。如在本文中所使用的,“疏水性非芳香碳链氨基酸”(包括这个源术语的复数形式和变化)指具有疏水性非芳香碳侧链的自然发生的或合成的氨基酸,比如,A、V、I或L。如在本文中所使用的,“极性不带电荷的氨基酸”(包括这个源术语的复数形式和变化)指具有极性不带电荷的侧链的自然发生的或合成的氨基酸,比如,S、T、N或Q。

[0390] 关于在本文中的一些实施方式和描述,核酸(比如DNA、RNA等等)的碱基可以被碱基的名称或单字母密码指代。本领域技术人员会理解遗传密码是简并的,对于一些氨基酸残基,两种或更多种的三碱基密码子可以编码相同的氨基酸。因此,比如为了描述可以编码单个氨基酸的两种或更多种可能的核酸,如在本文所述的,一些单字母密码可以代表两种或更多种碱基中的一种。在本文中使用的单字母密码包括:“A”(腺嘌呤)、“G”(鸟嘌呤)、“C”(胞嘧啶)、“T”(胸腺嘧啶)、“R”(腺嘌呤或鸟嘌呤其中之一)、“Y”(胞嘧啶或胸腺嘧啶其中之一)、“M”(腺嘌呤或胞嘧啶其中之一)、“K”(鸟嘌呤或胸腺嘧啶其中之一)、“S”(胞嘧啶或鸟嘌呤其中之一)、“W”(腺嘌呤或胸腺嘧啶其中之一)、“H”(腺嘌呤、胞嘧啶或胸腺嘧啶其中之一)、“B”(胞嘧啶、鸟嘌呤或胸腺嘧啶其中之一)、“V”(腺嘌呤、胞嘧啶或鸟嘌呤其中之一)、“D”(腺嘌呤、鸟嘌呤或胸腺嘧啶其中之一)以及“N”(腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶或胸腺嘧啶其中之一)。

[0391] 如在本文使用的术语“去阻碍”和“非阻碍”(包括这个源术语的复数形式和变化)指从受体转移结合的免疫调节肽或P3028结构。如此,去阻碍和非阻碍受体改变受体结合的和受体结合的免疫调节肽之间的平衡趋向“非受体结合”类型。比如,LFA-1受体或IL-2受体可以根据本文的实施方式通过从LFA-1受体或IL-2受体转移结合的肽P3028而去阻碍。比如,LFA-1受体或IL-2受体可以根据本文的实施方式通过从LFA-1受体或IL-2受体转移任意包含表1-4中的一种或多种序列的免疫调节肽而去阻碍。

[0392] 本文使用的术语“免疫细胞活化”,以及这个源术语的复数形式和变化(包括比如“活化免疫细胞”)指免疫细胞增殖、活化或提高CD69和/或CD71的表达、信号物质(如IFN γ 或IL-12)分泌的诱导、溶细胞分子(如穿孔素或粒酶B)分泌的诱导、提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移、细胞增殖或这些所列项目中的两种或更多种。作为举例,如果免疫细胞增殖、或如果免疫细胞开始表达可检测的CD69、或如果免疫细胞增加其CD71的表达、或如果免疫细胞分泌IFN γ 、IL-12或IFN γ 和IL-12,根据本文的一些实施方式的免疫细胞活化可能发生。

[0393] 可获得的数据支持免疫系统在癌症对照样品中的主要作用。然而,恶性肿瘤可以利用大量的免疫调节机制以抑制免疫介导的抗肿瘤反应性。基于白细胞介素6(IL-6)增加的血清浓度常常与各种诊断的癌症患者的不良预后相关的观察,探究了这种细胞因子的起源和诱导。发现蛋白水解片段或正常血清白蛋白的变性产生新结构,所述新结构通过与免疫细胞结合显示出免疫调节活性。相应地,发现了新种类的免疫调节物质。

[0394] 使用基于在“人造细胞表面柱”(ACS)上的亲和层析的人离体模型鉴定了具有与免疫细胞结合的新结构的白蛋白序列的存在。在ACS系统中分析了不同白蛋白片段对IL-2诱导的人免疫细胞(PBMC)的增殖的作用(参见实施例9)。简而言之,在IL-2和多种合成制备的白蛋白片段的在下培养PBMC 7天。在最后18小时期间掺入³H胸苷测量增殖。所述肽中的一种,P3028(也称为“肽3028”并且具有氨基酸序列VFDEFKPLVEEPQNLIK-SEQ ID NO:185)有规律地抑制IL-2诱导的增殖,但是通过它们与人造细胞表面的结合而鉴定的其他肽都没有显示出与P3028序列/结构一样多的抑制活性(参见图6)。因此,由LFA-1或IL-2诱导的免疫细胞增殖反应可以被P3028抑制,表明P3028序列/结构可以通过至少LFA-1或IL-2受体起作用。

[0395] ³HTdR的提高了的掺入可以是细胞内胸苷池的提高了的特异活性以及由此的DNA提高了的特异活性的结果,因此,不一定反映细胞数量的增加。因此考虑开发刺激淋巴细胞增殖的不同方式以及使用一种不同的方法(MTS技术)测量应答是重要的(参见实施例3)。因此,在用针对CD3的单克隆抗体预包被的板上的培养物中刺激T细胞,并且在培养3-7天后使用MTS染色确定代谢活性细胞的数量(参见图8)。如所示的,P3028序列/结构具有抑制作用。可以争辩的是由P3028序列/结构引起的减少的MTS染色可能是由于减少的细胞代谢;然而,将来自两种模型的淋巴细胞增殖的结果放在一起,减少的代谢应该相当减少内源的胸苷池并从而引起外源胸苷的增加的摄取/胸苷池的特异活性,其然后应该错误地记录为提高了的增殖。在这些实验中³H-TdR事实上减少了,表明增殖的抑制。因此,证实了包含3028序列的肽有效抑制IL-2介导的免疫细胞增殖。

[0396] 合成包含P3028的C末端和N末端部分的肽片段并分析这些肽(单独地或组合地)抑制IL-2诱导的免疫细胞增殖的能力(参见实施例6)。合成P3028的一种N末端片段(即,具有

氨基酸序列VFDEFKPLVE (SEQ ID NO:186) 的P3325) 和P3028的一种C末端片段(即,具有氨基酸序列EPQNLIK) (SEQ ID NO:187) 的P3218)。测定了P3028的这两种片段单独或组合的抑制活性弱于P3028 (参见图12), 并且3028的肽片段不抑制P3028对IL-2诱导的增殖的作用(参见图13)。

[0397] 然后确定了包含P3028序列/结构序列的肽不仅与IL-2受体相互作用而且也与LFA-1受体相互作用。在第一组实验中,发现了P3028肽具有调节LFA-1特异性单克隆抗体与人免疫细胞上的LFA-1受体结合的能力(参见实施例7)。这种LFA-1特异性单克隆抗体是IL-2诱导的免疫细胞增殖的有效抑制剂(参见Vyth-Dreese等, Eur. J. Immunol. 12:3292-3299 (1993))。在P3028肽存在和不存在下采用一种标准免疫组织化学染色程序。简而言之,比较了来自健康个体和癌症患者的免疫细胞(PBMC)。利用丙酮将该细胞固定,用有或没有P3028的10%人AB血清封闭,并且与单克隆抗LFA-1抗体和第二抗体孵育,随后用固红显色。如图16A所示,与展现出弱染色5的来自患有晚期癌症的患者的PBMC相比,在来自健康对照样品的PBMC上发现了清楚的膜染色3。然而,当将来自该癌症患者的PBMC与特异于3028结构的抗体孵育24小时时,所述膜染色3出现,表明抗体与3028结构结合并从而去阻碍LFA-1 (参见图16C和下文的讨论)。

[0398] 由于P3028序列/结构显著抑制免疫细胞对IL-2的增殖应答,因此研究了P3028序列/结构对IL-2与CD25结合的作用。将CD25和IgG的Fc部分的融合蛋白结合至蛋白G包被的微板/ELISA板,并且将所述板用有或没有P3028存在的生物素化的IL-2孵育。令人惊奇地,由于P3028的存在IL-2与CD25的结合提高了,提供了IL-2、CD25和P3028之间三部分相互作用的证据(参见图18A-B)。虽然IL-2与CD25的结合提高了,由于P3028序列/结构是IL-2诱导的增殖的有效抑制剂,高亲和受体的适当装配和/或信号转导被阻碍了。采用计算机辅助的分子建模,确定了P3028序列/结构在IL-2结合位点与CD25结合(参见图19)。这些结果提供了更多的证据证明P3028序列/结构具有至少双重的免疫调节能力,因为它既与LFA-1受体结合又与IL-2受体结合。

[0399] 也评价了特异性白蛋白片段影响NK细胞细胞毒性的能力。在这些实验中,制备了对应于白蛋白片段(P3028、P3026和P3027) (分别为SEQ ID NO:185、183和184) 的合成肽,并评价了K562靶细胞的溶解的量(参见实施例4)。在对照样品肽P3027的存在下没有看到抑制,但在P3028中看到,并且在较小的程度上,P3026引起NK细胞细胞毒性的减少(参见图9A-B)。因此,具有P3028序列的肽有效抑制NK细胞细胞毒性。

[0400] 也分析了特异性白蛋白片段抑制白细胞扩散和免疫细胞迁移的能力。简而言之,通过右旋糖苷辅助的沉降法从肝素化的血液中制备软层细胞。然后将这些细胞在PBS中洗涤两次并且被转移到干净的载玻片。所述细胞强烈附着到玻璃表面并扩散;然而,用浓度为10 μ g/ml的P3028预处理这些细胞15分钟有效抑制了免疫细胞扩散(参见实施例5)。类似的,使用博伊登室技术研究了P3028对PBMC迁移的影响(参见实施例5)。如图11中所示,P3028是免疫细胞迁移的有效抑制剂($p<0.002$)。

[0401] 制备、纯化和表征了特异于具有P3028序列/结构的蛋白的抗体(参见实施例9)。在兔或山羊中生成了特异于P3028的多克隆抗体。简而言之,用P3028免疫了兔子并用P3028亲和纯化特异性抗体。发现这些抗体与P3028的P3325(N末端片段SEQ ID NO:186) 结合,而与P3218(C末端片段(SEQ ID NO:187)) 不结合。

[0402] 在下一系列的实验中,通过免疫组织化学染色使用亲和纯化的兔抗3028抗体鉴定了在恶性肿瘤(比如,恶性黑色素瘤、肾细胞癌和结肠直肠癌)中P3028的表达(参见实施例9)。恶性黑色素瘤、肾细胞癌和结肠直肠癌组织切片的免疫组织化学染色显示了含P3028序列的分子广泛表达和/或定位于癌细胞上。使用蛋白质印迹技术从恶性黑色素瘤转移癌中制备的肿瘤提取物中的3028结构的证实进一步支持了这些结果(参见实施例1)。通过蛋白质印迹实验鉴定了可预见的3028结构(接近于、稍大于66kD),但是在全大小的白蛋白和更大的分子中也检测了3028序列(参见图2)。这些结果提供了证据证明包含3028结构的分子不仅由蛋白水解碎片产生也由变性产生。因此,确定了包含该序列的P3028序列和/或分子存在和/或定位于肿瘤组织。

[0403] 然后使用ELISA技术确定了包含3028序列的蛋白和肽存在于人血清中。简而言之,采用夹心分析,其中将亲和纯化的抗3028抗体包被到高蛋白结合的ELISA微孔上(捕获抗体),然后向孔中加入1%的热灭活血清溶液(随着P3028增加的浓度呈锥形)。洗涤之后,加入生物素化的小鼠抗人白蛋白单克隆抗体并用HRP结合的链霉亲和素和TMB发色底物检测结合的抗体的量(参见实施例1)。发现在来自5个健康对照样品、1个健康对照血清以及从癌症患者获得的2个血清中的一个血清池中血清浓度在1.2-1.6 $\mu\text{g/ml}$ P3028等价物范围内。含有3028的分子的量被确定为P3028的量,在夹心ELISA中其抑制了血清中3028结构与捕获抗体(针对3028表位)的50%的结合(参见图3)。血清中的这些3028物质的量可以认为是相当多的,因为白蛋白的分子量是P3028的分子量的大约35倍,而使用以上描述的方法准确测定了它们的表位特异性反应性。

[0404] 然后用特异于P3028序列/结构的第一类抑制剂进行实验。在特异于P3028序列/结构的抗体存在和不存在下分析在IL-2诱导后来自健康个体和癌症患者的人免疫细胞的增殖应答(参见实施例9)。也就是说,在特异于P3028序列/结构的抗体存在和不存在下,比较相对于从健康个体获得的PBMC的增殖应答的来自患有肾细胞癌患者和患有恶性黑色素瘤的患者的PBMC的增殖应答。确定了在特异于P3028序列/结构的抗体存在下,看到了IL-2诱导后PBMC提高的增殖。也就是说,针对P3028序列/结构的抗体抑制剂能去除由P3028序列/结构介导的免疫细胞的IL-2诱导增殖上的阻碍物。这些结果表明针对P3028序列/结构的结合伴侣(比如,特异于P3028的抗体或其结合片段)可以减少由P3028序列/结构介导的免疫抑制。

[0405] P3028序列/结构是免疫系统的有效生理抑制剂,并且是针对可以调节免疫活性的治疗性组合物的可能靶标。针对P3028序列/结构的抗体反转了癌症相关的免疫抑制,其在人离体模型中被建模成对于IL-2的PBMC减少的增殖应答(参见实施例9)。此外,该模型的结果与癌症患者的普遍生存相关(参见实施例2)。因此,考虑针对P3028序列/结构的另外的结合伴侣(比如,肽、环肽、肽模拟物、抗体和其部分)可以用于抑制P3028序列/结构介导的免疫抑制。

[0406] 最初开发了针对P3028序列/结构的三肽基的结合伴侣,并检测了这些抑制剂在溶液中与P3028的结合能力,如图23所示(参见实施例10)。只有一种分子SCF28具有允许在生物学人离体模型中检测的足够的溶解度。基于这种结构,开发了第一药物候选物P28R(SEQ ID NO: 2)。

[0407] 由于P28R强烈结合至P3028,所以检测了P28R抑制P3028序列/结构的功能的能力。

如上所述,β2整合素在免疫系统的正常功能中起主要作用。然而,P3028序列/结构与β2-整合素LFA-1的结合具有本质上的免疫抑制作用。如上所示(参见实施例7),在对LFA-1染色的实验中,与正常对照样品相比,来自癌症患者的PBMC的膜染色显著降低。然而,LFA-1的暴露可以通过孵育来自癌症患者的PBMC与针对抑制性P3028序列/结构的抗体提高(参见实施例7和图16C)。新鲜冷冻的肿瘤部分与肽P28R(SEQ ID NO:2)的类似的孵育去阻碍了肿瘤浸润的淋巴细胞(即从LFA-1受体转移了结合的免疫调节肽或P3028结构),引起抗CD11a抗体的提高的结合(图26)。这些结果显示通过由抗体去除P3028结构去阻碍了LFA-1受体。为了检测P28R抑制P3028结构的能力,在对LFA-1染色之前,在药物候选物P28R的存在下孵育没有固定的新鲜冷冻的肿瘤部分4-20小时(参见实施例15)。为了比较,将肿瘤部分只与磷酸盐缓冲盐溶液孵育。如图26所示,P28R有效去阻碍了LFA-1受体(即从LFA-1受体转移了结合的免疫调节肽或3028结构)并从而显著提高了能够使这些细胞迁移和具有细胞毒活性的LFA-1的功能表达。因此,P28R降低了P3028与LFA-1的结合并有效抑制了由P3028介导的免疫抑制。预期根据本文的一些实施方式与P28核(SEQ ID NO:62)孵育也去阻碍了LFA-1(比如从LFA-1受体转移结合的免疫调节肽或3028结构)。

[0408] 如此,P3028的受体包括LFA-1和IL-2受体的α链(CD25)。使用单克隆抗体与CD11a(LFA-1的α链)的结合研究LFA-1的生理阻碍物的可能存在和P28R以针对P3028的抗体的去阻碍活性。因此,进一步考虑,类似于LFA-1受体,IL-2受体可以通过本文描述的免疫调节肽抑制剂去阻碍(比如从IL-2受体可以转移结合的免疫调节肽或3028结构)。如此,在一些实施方式中,本文描述的免疫调节肽抑制剂去阻碍IL-2受体,比如已经被表1-4中所列的任意一种或多种肽(比如包含SEQ ID NO:185的肽)阻碍的IL-2受体。

[0409] 孵育来自健康对照的PBMC和P3028(图15和17)或癌症患者血清(图17)阻碍抗CD11a抗体与LFA-1的结合。进一步地,孵育来自晚期癌症患者的PBMC和针对P3028的抗体复原抗CD11a抗体与LFA-1的结合(图16)。P3028可以结合PBMC(参见描述不加肽的图15A和描述与肽3028预孵育的图15B;通过与肽3028预孵育抑制抗LFA-1mAb HI111,表明通过肽3028与单核血细胞结合)。

[0410] 由于P28R去阻碍被P3028序列/结构抑制的LFA-1受体(比如从LFA-1受体转移结合的免疫调节肽或3028结构),在人离体模型中检测P28R提高免疫刺激的能力。采用MTS或CFSE技术在7个健康的对照样品和7个各种诊断的癌症患者中测量P28R对PBMC的刺激活性(参见实施例13)。即使在其他类型的刺激不存在下,P28R在7个癌症患者的6个中具有显著的刺激活性;然而来自对照样品的PBMC仅显示出弱的或无刺激(参见实施例13)。类似于上面的关于针对P3028的抗体反转癌症相关的免疫抑制的功效的研究(参见实施例9;参见图22),研究了P28R抑制剂去阻碍IL-2受体以及从而诱导免疫细胞增殖的能力。来自4个不同的未接受过任何形式治疗的患者的PBMC培养物的每一种用P28R处理,并测量PBMC的增殖。虽然在用P28R处理之前具有高增殖活性的PBMC不被药物大量影响(参见图24C和图24D),具有低的初始增殖的PBMC被显著刺激(参见图24A和图23B;参见实施例13)。因此,当免疫细胞被P3028序列/结构结合并抑制时,P28R抑制剂有效诱导免疫细胞增殖,即使不存在额外的刺激。

[0411] 由于癌细胞已经被显示出富于P3028结构(参见实施例1和图1-2),研究了P28R特异结合癌细胞的能力。研究了生物素化的P28R与肿瘤的结合。分析了三个乳癌、两个肾细胞

癌和四个恶性黑色素瘤。显著地,在实验中所分析的所有不同类型的肿瘤结合P28R。比如在图25中所示的染色的乳癌部分展现出强烈的阳性信号,表明该肿瘤中抑制性P3028结构的存在以及P28R结合该肿瘤的能力(参见实施例14)。

[0412] 由于P3028结构抑制淋巴细胞迁移以及细胞毒性活性(参见实施例4和5),只要含P3028结构存在并且不被针对P3028序列/结构的结合伴侣(比如,抗体、其结合片段和/或抑制肽(比如P28R)或对应于P28R结构的肽模拟物)隔离,预期免疫系统介导的针对阳性染色肿瘤区域的攻击被有效抑制。与P3028强烈结合LFA-1受体的观察相一致,淋巴细胞不被该步骤染色,因为P3028结构通过与这些细胞上的LFA-1结合而阻碍。

[0413] 基于P28R与P3028序列/结构结合、去阻碍LFA-1受体和改善P3028序列/结构依赖的免疫抑制的能力,使用P28R作为模板化合物以鉴定与P3028结合并隔离P3028的额外的化合物。合成P28R结构的变异体,并使用PEPSCAN技术检测其结合P3028的能力(参见实施例12)。合成包括在P28R的每个氨基酸位置每种遗传编码的氨基酸取代(即,对于各位置的19中取代)的肽文库。将每种肽附着至支钉(support pin),并且将该肽文库与P3028孵育。通过夹心ELISA检测候选抑制剂与P3028的结合,其中采用兔抗小鼠过氧化物酶(rampo)第二抗体(参见实施例12)。然后对每种肽的结合赋值rampo得分(参见图27)。肽P28R具有范围在大约262和460之间的rampo得分,中间值为370。在一些实施方式中,选择具有希望的P3028结合rampo得分的本文公开的免疫调节肽抑制剂。在一些实施方式中,希望的P3028结合rampo得分为大于或等于P28R的rampo得分。也考虑具有比P28R小的亲和性的与P3028结合的一些肽具有治疗应用。比如具有小于P28R的结合亲和性的一些肽由于与P3028的亲和性比较低的事实可以不同于P28R来调节信号转导事件。因此,实施方式也包括与P3028结合的任意肽,其中所述肽具有小于由P28R显示的rampo得分。相应地,考虑的实施方式包括以任意亲和性与P3028结合的肽(比如,表5.1中提供的任意一种或多种肽,优选调节免疫系统的肽(比如,调节、上调或下调免疫系统或免疫抑制的标志物,比如减少P3028介导的免疫细胞增殖、扩散、迁移或NK细胞细胞毒性的抑制)。

[0414] 肽P28R的总共31种取代(SEQ ID NOs:3-33)具有大于500的rampo得分(参见图28),表明这31种肽(针对P3028的强力结合伴侣)可以用于有效结合和隔离P3028并从而减少P3028介导的免疫抑制。表6.1列出了在实验中评价的这31种肽并显示出具有与P3028的相当的结合。另外,在每个位置被取代的肽的结合强度(基于rampo得分)与对于同样位置的P28R(SEQ ID NO:2)对照样品的结合强度进行比较(参见实施例12)。鉴定了以基本等于或大于P28R对照样品的rampo得分的rampo得分结合的肽(即,以P28R对照样品的rampo得分的至少98%的rampo得分结合P3028的肽)(SEQ ID NO:268-393)。表6.2列出了显示出与P3028具有相当结合的这126种肽。要注意的是这126种肽包括表6.1的31种肽。因此,通过这种初始筛选鉴别了针对P3028的126种不同的结合伴侣,并且这些分子或其变异体(比如,具有D-氨基酸、N-末端酰胺基和/或C-末端乙酰基或对应于这些结合伴侣的肽模拟物或适体的变异体)可以用于抑制P3028序列/结构与免疫细胞的结合并从而减轻或减少P3028依赖的免疫抑制。P28R的一种变异体,仅缺少C-末端精氨酸的肽KKL15(SEQ ID NO:1)被认为既通过电荷相互作用又通过疏水相互作用结合P3028序列/结构。如在图31中所示,KKL15的带正电荷的氨基酸与P3028上的带负电荷的氨基酸相互作用,并且疏水性氨基酸产生提高相互作用的疏水接触。

[0415] 为了进一步绘制P28R的P3028结合域,合成P28R的删除和截短体,并使用PEPSCAN实验检测与P3028的结合。该方法导致开发了针对P3028的更多结合伴侣。根据rampo得分,虽然残基6-9(“FFVK”-SEQ ID NO:182)和C-末端氨基酸的删除趋于减少肽与P3028的结合(参见实施例12和图30),肽P28R的几种删除和截短体具有可比于或高于肽28R的rampo得分的rampo得分(参见,比如,SEQ ID NO:34、64-66、68和76)。另外,如通过rampo得分测量的,从P28R的N-末端删除直到至少8个氨基酸的肽(参见,比如,SEQ ID NO:46-53)保留了与P3028的高亲和性,提供证据证明了小于P28R的抑制剂可以用于结合和隔离P3028,防止P3028与免疫细胞受体(比如IL-2或LFA-1受体)的相互作用,从而减少P3028诱导的免疫抑制。

[0416] 因为P28R显示出对免疫细胞增殖的IL-2刺激具有调节作用(参见实施例2),所以进一步研究了是否P28R会对免疫细胞的IL-2刺激的其他方面具有调节作用。在多种剂量的P28R(“无P28R”对照样品,或者5 μ g/mL、10 μ g/mL或20 μ g/mL的P28R)存在下、在修改版本的实施例2的离体模型中培养来自8个健康对照样品和9个具有各种诊断的癌症患者的PBMC 7天。在5/8(参见图33A)对照样品和9/9癌症患者(参见图33B)中观察到被测量为MTS转换的线粒体新陈代谢的剂量依赖性刺激。当培养PBMC仅3天时获得了类似的结果(参见实施例28)。

[0417] 为了鉴别免疫调节肽的其他抑制剂的效用,将基于MTS转换的P28R(SEQ ID NO:2)对线粒体新陈代谢的作用与紧密相关的肽P27的作用相比较。P27具有序列KKLDTFKKLSLFTER(SEQ ID NO:264),并且是P28R的变异体,该变异体与P28R的不同在于P28R的V8在P27中被取代为K8。P28R比P27更有效地结合P3028(P27以253的rampo得分结合P3028,而P28R对照样品以308的rampo得分结合P3028;参见实施例12)。浓度为未处理的对照样品、5 μ g/mL(“SCF28-R5”和“SCF275”)、10 μ g/mL(“SCF28-R10”和“SCF2710”)、20 μ g/mL(“SCF28-R20”和“SCF2720”)或40 μ g/mL(“SCF28-R40”和“SCF2740”)。结果显示于图34中。P28R以剂量依赖的方式刺激癌症患者的细胞,而P27没有作用(参见实施例29)。

[0418] 在BrdU掺入实验中也测量了P28R(SEQ ID NO:2)对IL-2诱导的增殖的作用。在修改版本的离体模型中收获来自六个健康对照样品和十个癌症的PBMC。相比10个癌症患者样品中的4个,6个对照样品中的4个对IL-2具有高的增殖应答(参见图35)。在对PBMC中的IL-2的增殖应答的这些不同表明对IL-2刺激的高和低应答物的不同存在(参见实施例30)。

[0419] 比较了对多种剂量的P28R的高应答物和低应答物的应答。将来自高应答物或者来自低应答物的细胞与多种剂量的P28R培养(参见图36A和36B)。将IL-2诱导的增殖测量为BrdU掺入。虽然在来自对IL-2具有高应答的患者的细胞中P28R没有刺激作用(N=4)(参见图36A),P28R对来自对IL-2具有低应答的患者的细胞具有刺激作用(N=6)(参见图36B)。因此,在离体模型中表明了P28R对结合P3028和阻碍P3028的免疫抑制活性的作用,因为当加入到来自健康对照和具有正常增殖速率的癌症患者的PBMC时,将P28R加入到培养物中对增殖没有作用,然而来自免疫抑制的癌症患者的PBMC的增殖被P28R显著刺激。不被任何理论限制,在一些实施方式中P28R(SEQ ID NO:2)或P28核(SEQ ID NO:62)结合免疫细胞增殖的阻碍物,并诱导免疫细胞增殖。

[0420] 然后比较通过BrdU掺入测量的P27(SEQ ID NO:264)对IL-2诱导的增殖的作用和P28R(SEQ ID NO:2)对IL-2诱导的增殖的作用。来自低应答物癌症患者的PBMC与多种浓度

的P28R或P27一起,所述多种浓度范围从无肽(“未处理的细胞”)到5μg/mL、10μg/ml或20μg/ml。如在图37中所示,P28R和P27均提高了通过BrdU掺入测量的被IL-2诱导的PBMC的增殖速率。当比较在图37中所示的结果与图34中的那些结果时,观察到P27提高了通过BrdU掺入测量的细胞增殖的IL-2刺激,而没有提高通过MTS转换测量的线粒体的新陈代谢。在另一方面,观察到P28R提高了应答于IL-2刺激的MTS转换以及BrdU掺入(参见实施例31)。

[0421] 进一步研究了免疫调节肽的不同抑制剂对BrdU掺入和MTS转换的不同作用。依赖于所使用的实验,P28R对免疫细胞增殖的IL-2刺激的作用显著不同(参见图38)。在100%的所检查的癌症患者(N=9)中和在63%的所检查的健康对照样品(N=8)中的PBMC的7天培养物中肽P28R具有MTS转换的刺激活性。相比之下,在来自仅17%(N=6)和20%(N=10)的患者的PBMC的7天培养物中P28R刺激BrdU的掺入。在来自对IL-2具有低增殖应答的癌症患者的PBMC培养物中,P28R刺激IL-2诱导的增殖(以BrdU的掺入测量)。在另一方面,当所述作用以MTS转换测量时,来自67%的所检查的健康对照样品(N=3)和50%的癌症患者(N=4)的PBMC不被IL-2刺激(参见实施例32和图38)。然而,当所述作用以BrdU掺入测量时,来自所有这些当用MTS测量时不应答的人(“非应答者”)的PBMC被IL-2显著刺激(参见图38)。在两个患者中,以BrdU掺入测量,对IL-2的应答被P28R提高(参见图38A和38C),但是当采用MTS转换时P28R的这种作用仅在这些患者的一个中观察到(参见图38B)。这样,虽然在一个患者中(参见图38A和38B)采用BrdU和MTS均显示出IL-2的刺激活性,在另一个患者中,仅采用BrDU显示出IL-2的刺激活性(参见图38C)(参见实施例32)。基于这些观察,考虑以MTS转换测量的对代谢活性的作用不总是与以BrdU的掺入测量的DNA合成相关,并且不同的患者群体可以对免疫调节肽的抑制剂进行不同的应答。

[0422] 考虑可以鉴定结合P3028的其他分子。这些另外的结合分子也可以潜在地阻碍P3028。合成环状6-mere肽,并且鉴别了显示与P3028相当结合的6-mere(参见表12,SEQ ID NO:265-267)(参见实施例19)。观察到基于rampo得分具有与P3028最强结合的6-mere中的两种具有与结合3028的线形肽的同源性(参见图32)。

[0423] 除了P3028,发现几种其他的白蛋白片段和合成的肽结合免疫细胞。这些片段中的一些可以具有类似于P3028的免疫调节活性,可以类似于P3028结合免疫细胞和/或可以结合识别P3028的免疫调节抗体。在第一组实验中,白蛋白片段由胰蛋白酶消化产生并且发现胰蛋白酶片段在本文描述的ACS系统中结合免疫细胞(参见实施例17)。表1提供了白蛋白的胰蛋白酶产生片段的列表,如由MALDI-TOF分析检测的,所述片段在ACS系统中结合免疫细胞。

[0424] 表1:结合ACS的胰蛋白酶产生的白蛋白片段

[0425]	SEQ ID NO:	被吸附	序列	白蛋白位置
--------	------------	-----	----	-------

[0426]

	百分数		
194	71%	KYLYEIAR	161-168
195	64%	KVPQVSTPTLVEVSR	438-452
196	60%	VFDEFKPLVEEPQNLIK	397-413
197	59%	VPQVSTPTLVEVSR	439-452
198	42%	RPCFSALEVDETYVPK	509-524
199	41%	FQNALLVR	427-434
200	36%	SLHTLFGDK	89-97
201	36%	LKECCEKPLLEK	299-310
202	35%	LCTVATLR	98-105
203	34%	YLYEIAR	162-168
204	32%	CCAAADPHECYAK	384-396
205	29%	AAFTECCQAADK	187-198
206	26%	CCTESLVNR	500-508
207	25%	QEPERNECFLQHK	118-130
208	23%	AVMDDFAAFVEK	570-581
209	22%	NECFLQHK	123-130
210	20%	ONCELFEQLGEYK	414-426
211	18%	QEPERNECFLQHK	118-130
212	13%	VHTECCHGDLLECADDR	265-281
213	8%	FKDLGEENFK	35-44
214	3%	YICENQDSISSK	287-298
215	2%	LDEL RDEGK	206-214
216	1%	DDNPNLPR	131-138

[0427] 在第二组实验中,变性的人血清白蛋白被天冬酰胺酶 (ASN-N) 降解,并且在ACS系统中评价这些蛋白水解片段与免疫细胞结合的能力。再一次,采用MALDI TOF技术通过比较被吸附和不被吸附的肽溶液鉴定免疫细胞结合肽。这些肽显示于表2中。

[0428] 表2:结合ACS的Asp-N产生的白蛋白片段

[0429]

SEQ ID NO:	被吸附百分数	序列	白蛋白位置
217	100%	DHVKL VNEVTEFAKTCVA	62-79
218	100%	DDKETCF AEEGKKLV AASQAALGL	586-609
219	87%	DRVTK CCTESLVNRRPCFSALEV	495-517
220	86%	DETYVPKEFNAETFTHA	518-535
221	65%	DSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVEN	293-319
222	65%	DKLCTVATLRETYGEM	96-112

[0430]

223	100%	YSVLLLLRLAKTYETTTLEKCCAAADPHEC YAKVF	364-398
224	100%	KLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNEC FLQHK	96-130
225	100%	ICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKE QLKAVM	536-572
226	100%	LAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKHCIA EVEN	283-319
227	100%	VFLGMFLYEYARRHPDYSVLLLLRLAKTY ETT LEKCCAAA	348-388
228	100%	LGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKL NEVTEFAKTCVA	37-79
229	100%	RVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKE FNAETFTFHA	495-535
230	37%	YLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCCTES LVNRRPFSALEV	475-517

[0431] 另外,合成了几种合成肽(如在表3中所示),并且采用ACS系统评价这些分子与免疫细胞的结合。

[0432] 表3:合成的白蛋白肽

[0433]

SEQ ID NO:	肽名	序列	白蛋白位置
183	3026	NEETFLKKYLYEARRHPYFYAP	153-176
184	3027	ELFEQLGEYKFQNALLVR	417-434
188	3029	KVPQVSTPTLVEVSR	438-452
189	2604	KLVNEVTEFAKT	65-76
190	2605	NEETFLKKYLYE	153-168
191	2606	LDEL RDEGKAS	205-217
192	2607	EMADCCAKQEPE	110-122
193	2608	ELFEQLGEYKF	417-427

[0434] 另外,几种白蛋白片段肽特异结合于具有免疫调节作用的dHSA特异性抗体(mAb A)(参见实施例18)。这些肽显示于表4中。

[0435] 表4:结合单克隆抗体mAb A的白蛋白肽

[0436]

SEQ ID NO:	序列	白蛋白位置
231	LVNEVTEFAK	066-075
232	SLHTLFGDK	089-097
233	LCTVATLR	098-105
234	ETYGEMADCCAK	106-117
235	YLYE IAR	162-168

[0437]	236	LDEL RDEGK	206-214
	237	YICENQDSISSK	287-298
	238	LKECCEKPLLEK	299-310
	239	HPDYSVVLLLR	362-372
	240	CCAAADPHECYAK	384-396
	241	QNCELFEQLGEYK	414-426
	242	FQNALLVR	427-434
	243	CCTESLVNR	500-508
	244	AVMDDFAAFVEK	570-581
	245	LSQRFPK	243-249
	246	DDNPNLPR	131-138

[0438] 预期针对表1-4中所列的任意一种或多种肽的抑制剂可以以针对P3028的抑制剂一样的方式产生。简而言之,特异于表1-4中的任意一种或多种肽的多克隆和单克隆抗体可以采用免疫学中的常规技术容易地产生。也可以采用免疫学的常规技术制备和分离抗体结合片段。如本文所描述的,这些抗体或抗体片段可以为人的或人化的。采用类似于在前和在实施例9和10中描述的方法,在芯片基的实验和生物化学实验上可以评价这些肽抑制剂,比如可以评价在肽抑制剂存在或不存在下的免疫细胞增殖。以下部分提供了关于免疫调节肽抑制剂(优选P3028的抑制剂)的开发的更多信息。

[0439] 预期表1-4中所列的任意一种或多种肽的抑制剂可以包含P28R (SEQ ID NO:2) 或P28核 (SEQ ID NO:62) 序列的变型,并且进一步可以用于减少LFA-1受体的抑制或用于刺激免疫细胞。为了鉴定对根据本文的一些实施方式的抑制剂肽的变型,采用位置扫描数据研究P28R (SEQ ID NO:2) 的每个位置上的不同类型的氨基酸取代对P3028 (SEQ ID NO:185) 结合的影响。P28R (SEQ ID NO:2) 的肽序列中的每个氨基酸被所有自然产生的氨基酸交换,并且评价P3028 (SEQ ID NO:185) 与固相芯片上的每种肽的结合(参见,比如实施例36)。对根据本文的实施方式的P28R的大量可选变型总结于表5.3、5.4、5.5、5.6和13中。可选地,根据本文的一些实施方式的抑制剂肽可以包含表5.3或表13的一种或多种变型。可选地,抑制剂肽包含如表5.3中提供的位置2、5-11和15的中心核,并且保留位置被省略或用基本上任意氨基酸取代。可选地,抑制剂肽包含SEQ ID NO:2的位置K2、T5-S11和E15的中心核,并且保留位置被省略或用基本上任意氨基酸取代。

[0440] 从位置扫描数据也注意到可以鉴定“核肽”,FFVKLS (SEQ ID NO:62) (在本文称为“P28核”)。在一些实施方式中,提供包含P28核 (SEQ ID NO:62)、由P28核 (SEQ ID NO:62) 组成或基本由P28核 (SEQ ID NO:62) 组成的肽。所述肽可以包含不超过大约30个氨基酸残基,比如不超过大约30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7或6个氨基酸残基。在一些实施方式中,所述核肽去阻碍已被表1-4的一种或多种免疫调节肽结合的LFA-1受体(比如从LFA-1受体转移结合的免疫调节肽或3028结构)。

[0441] 基于位置扫描数据,根据本文的一些实施方式预期SEQ ID NO:2的取代可以用于结合P3028、从P3028介导的抑制中去阻碍LFA-1受体(比如从LFA-1受体转移结合的P3028肽和含P3028结构的分子)和/或刺激免疫细胞。在人离体模型中采用来自健康对照人的PBMC在短期培养物中研究肽P28R (SEQ ID NO:2) 和P28R的变型的活性,PBMC活化被测量为具有

提高的CD69的细胞的百分比(参见实施例37)。观察到P28R(SEQ ID NO:2)和肽31135(KKLDTFVYLSLFTER)(SEQ ID NO:589)在这种离体模型中直接刺激健康PBMC,但是肽30677(KKLDTFVVKLSLMTER)(SEQ ID NO:583)、30678(KKLDTFVVKLQLFTER)(SEQ ID NO:584)、30680(KKLDTVMVKLQLMTER)(SEQ ID NO:585)、30864(KSLDTFFVKLSLFTER)(SEQ ID NO:587)、30685(KKLDTFVVKLSLFTFR)(SEQ ID NO:588)和31136(KKLDTFVNLSLFTER)(SEQ ID NO:590)和31138(KKLDTFVVDLSLFTER)(SEQ ID NO:591)在这种离体模型中不刺激健康的PBMC(参见图41A和41B)。如此,在一些实施方式中,提供一种包含P28R(SEQ ID NO:2)、肽31135(SEQ ID NO:589)或P28R和肽31135的组合的组合组,基本由P28R(SEQ ID NO:2)、肽31135(SEQ ID NO:589)或P28R和肽31135的组合组成的组合组或由P28R(SEQ ID NO:2)、肽31135(SEQ ID NO:589)或P28R和肽31135的组合组成的组合物以直接刺激免疫细胞。如此,在一些实施方式中,提供包含SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:62或SEQ ID NO:583-586或587-595中任意一种的肽或这些肽的组合的组合物,基本由SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:62或SEQ ID NOs:583-586或587-595中任意一种的肽或这些肽的组合组成的组合物。

[0442] 注意到肽31135在对应于SEQ ID NO:2的位置9和SEQ ID NO:62的位置4的位置包含Y(参见表5.3和5.5)。在一些实施方式中,提供包含含有在SEQ ID NO:2的位置9包含Y的P28R的变型的修饰的肽的组合物、基本由含有在SEQ ID NO:2的位置9包含Y的P28R的变型的修饰的肽组成的组合物或由含有在SEQ ID NO:2的位置9包含Y的P28R的变型的修饰的肽组成的组合物。可选地,所述免疫细胞可以包含健康免疫细胞。可选地,所述免疫细胞可以包含癌症患者血清中的免疫细胞,比如癌症患者免疫细胞。在一些实施方式中,提供了包含含有在SEQ ID NO:62的位置4包含Y的P28核的变型的修饰的肽的组合物、基本由含有在SEQ ID NO:62的位置4包含Y的P28核的变型的修饰的肽组成的组合物或由含有在SEQ ID NO:62的位置4包含Y的P28核的变型的修饰的肽组成的组合物。可选地,所述免疫细胞可以包含健康免疫细胞。可选地,所述免疫细胞可以包含癌症患者血清中的免疫细胞,比如癌症患者免疫细胞。

[0443] 由于P28R(SEQ ID NO:2)可以结合P3028并刺激短期培养物(比如当在包含RPMI加10%正常人AB血清的培养基中时)中来自健康对照的PBMC(参见实施例37),预期根据本文的一些实施方式的P28R的截短体可以用于结合表1-4中所列的任意一种或多种肽的抑制剂。评价了P28R的截短体活化PBMC的能力(参见实施例38)。在RPMI加10%人AB血清中将PBMC与所述肽(40 μ g/mL)孵育24小时。采用流式细胞仪将PBMC活化测量为具有提高的CD69(图42A)或CD71(图42B)表达的百分比细胞。如在图42A和图42B中所示,肽P28R(SEQ ID NO:2)在这种离体模型中有效活化了健康PBMC,但是肽32251(SEQ ID NO:592)和肽32230(“P28核”(FFVKLS)(SEQ ID NO:62)没有。然而,PBMC也在来自狗的癌血清或在来自人癌症患者的癌血清中与所述肽孵育(参见图43)。观察到在癌血清的存在下全长肽P28R(SEQ ID NO:2)和P28核肽(肽32230)(SEQ ID NO:62)活化了PBMC。如此,预期根据本文的一些实施方式,P28R、P28核或这些肽的组合用于刺激患有癌症的主体的血清中的免疫细胞。

[0444] 在一些实施方式中,提供了包含P28核(SEQ ID NO:62)的肽,由P28核(SEQ ID NO:62)组成的肽或基本由P28核(SEQ ID NO:62)组成的肽。可选地,包含P28核(SEQ ID NO:62)的肽、由P28核(SEQ ID NO:62)组成的肽或基本由P28核(SEQ ID NO:62)组成的肽可以结合P3028肽。观察到P28核肽(SEQ ID NO:62)可以如全长肽P28R一样有效地结合3028肽,并且

可以诱导癌血清中PBMC的活化(比如增殖、CD69和/或CD71提高的表达、IL-12或IFN γ 的分泌、或穿孔素或粒酶B的分泌、提高的细胞毒性、细胞迁移、或细胞因子产生)(参见实施例38和图43),但是在包含PBMC的短期培养物的离体模型中,P28核肽(SEQ ID NO:62)不像P28R肽那样刺激PBMC活化(CD69和CD71)(参见图42A和42B)。因此,在一些实施方式中,包含P28核(SEQ ID NO:62)的肽、由P28核(SEQ ID NO:62)组成的肽或基本由P28核(SEQ ID NO:62)组成的肽如P28R(SEQ ID NO:2)一样有效或大体上有效地结合P3028肽。在一些实施方式中,提供P28R(SEQ ID NO:2)以结合P3028并去阻碍细胞受体(比如从细胞受体转移结合的免疫调节肽或3028结构)。可选地P28R可以进一步具有对免疫细胞的直接刺激活性。在一些实施方式中,提供P28核(SEQ ID NO:62)以结合P3028并去阻碍细胞受体(比如从细胞受体转移结合的P3028肽或3028结构)。

[0445] 也已经观察到,如由免疫细胞化学或P28R包被的珠(小珠与细胞的结合)的重置证实地,生物素化的P28R已经显示出直接结合PBMC。因此,在一些实施方式中,提供P28R以直接结合PBMC。在一些实施方式中,提供了包含可检测部分的P28R以结合PBMC。在一些实施方式中,提供了包含毒素的P28R以结合PBMC。在一些实施方式中,提供了包含毒素或可检测部分的肽31135。

[0446] 在裸鼠和免疫缺陷小鼠的体内模型中进一步研究P28R(SEQ ID NO:2)对癌细胞的作用。在裸鼠的异种移植模型中将P28R肿瘤内注射到人胰癌中,并在一天后诱导肿瘤细胞细胞凋亡(参见实施例39)。P28R诱导Caspase 3(一种进行性细胞凋亡的标志物),而仅用药物溶剂处理肿瘤不诱导Caspase 3(参见图44A和44B)。在一些实施方式中,P28R(SEQ ID NO:2)对肿瘤细胞(比如,前列腺癌细胞)具有直接的细胞毒性作用。在一些实施方式中,表5.3的肽或包含表5.2的至少一种变型的修饰的P28R肽对肿瘤细胞(比如,前列腺癌细胞)具有直接的细胞毒性作用。

[0447] 由于观察到P28R具有免疫调节作用(参见,比如实施例37),也评价了P28R(SEQ ID NO:2)活化免疫系统的能力。在B16黑色素瘤接种的免疫缺陷小鼠C57B1中将100微升中40微克的P28R肿瘤内注射到B16黑色素瘤(参见实施例40)。3天后取出肿瘤,并采用多克隆兔抗CD45抗体对部分进行免疫组织化学染色。如由CD45免疫染色450所表明的,在P28R处理后的肿瘤中的首要细胞为炎性细胞(参见图45A)。在与同样浓度的兔IgG孵育的对照肿瘤部分中没有观察到染色452(图45B)。预期在一些实施方式中P28R(SEQ ID NO:2)、P28核(SEQ ID NO:62)、SEQ ID NO:586或589中的一种肽或包含表5.2的至少一种变型的修饰的P28R肽可以活化免疫系统,比如指导针对肿瘤细胞的免疫应答。在一些实施方式中,所列肽中的一种或多种被施用于肿瘤或肿瘤附近。在一些实施方式中,所列肽中的一种或多种被施用于肿瘤周围。在一些实施方式中,所列肽中的一种或多种被施用于全身。

[0448] 由于考虑P28R的变型可以用于免疫细胞刺激,所以进一步研究了P28R的多种氨基酸取代和添加对免疫刺激作用的影响。评价了修饰的肽对来自健康对照人的PBMC的活化的作用(参见实施例41)。在RPMI加10%人AB血清中将PBMC与所述肽(40 μ g/mL)孵育48小时,并且基于具有提高的标志物CD69或CD71的细胞的百分比通过流式细胞仪确定PBMC活化。检测了肽P28R(SEQ ID NO:2)、P28核(肽32230)(SEQ ID NO:62)、32251(KKLDTFPPKLSLFTER)(SEQ ID NO:592)、32814(RKLDTFVVKLSLFTERRR)(SEQ ID NO:586)、32815(KKLDQFFVKLSQHNER)(SEQ ID NO:595)、32665(KKLDTFMVKLSQHTER)(SEQ ID NO:593)和

32819 (KKLDTFFVKLSLFTER (C (PEG24))) (SEQ ID NO:594)。如在图46中所示,肽32814 (SEQ ID NO:586) 在短期培养物中具有类似于P28R (SEQ ID NO:2) (批次CS8040) 的对于CD69提高 (参见图46A) 和CD71提高 (参见图46B) 的刺激作用。相应地,本文考虑

[0449] 除了治疗应用外,也考虑了P28R和其截短体和变型的诊断应用。比如,采用包含P28R或其截短体或变型的试剂可以获得关于患者的全身和局部 (肿瘤内的) 免疫状态信息。

[0450] 考虑通过采用针对P3028的抗体或采用标记的P28R (SEQ ID NO:2) 或P28核 (SEQ ID NO:62) (比如生物素化的P28R或P28核) 的免疫组织化学染色可以鉴定肿瘤中免疫抑制性3028结构的发生。图47显示了用生物素化的P28R染色的人乳癌的两个区域。在图47B中观察到染色470。在图47A中没有观察到染色。显示了染色缺失472。

[0451] 如此,根据本文的实施方式采用标记的肽可以鉴定包含P3028结构的肿瘤区域 (以及不包含这些结构的区域)。在一些实施方式中,提供了SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:584中的一种肽、表5.4中所列的一种肽、或包含表5.3或表13中所列的一种或多种变型的修饰的P28R或P28核肽,并且进一步包含可检测的部分。包含可检测部分的肽可以结合表1-4中的一种或多种免疫调节肽,比如P3028 (SEQ ID NO:185)。

[0452] 改善免疫抑制

[0453] 由于本文描述的免疫调节肽的抑制剂可以用于去除免疫抑制,所以本文的一些实施方式包括改善免疫抑制、减少免疫抑制的症状、减少或治疗免疫抑制的方法。在一些实施方式中,鉴定了患有免疫抑制的主体。所述主体可以包括人或非人哺乳动物。包含本文描述的免疫调节肽的至少一种抑制剂的组合物可以被施用于患者。所述组合物可以包含至少一种肽或包含含表5.3或表13中的一种或多种变型的修饰的P28R或P28核肽,所述至少一种肽含SEQ ID NO:1-33、34、46-53、62、64-66、68、76、94-96、98、265-393、583-586、587-595中的任意一种、由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、62、64-66、68、76、94-96、98、265-393、583-586、587-595中的任意一种组成或基本由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、62、64-66、68、76、94-96、98、265-393、583-586、587-595中的任意一种组成。所述肽可以具有的长度为小于或等于1100个氨基酸,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸或由这些数值中的任意两个之间的范围定义的长度。可选地,所述组合物可以进一步包含本文描述的缓冲液,比如,Trizma、Bicine、Tricine、MOPS、MOPS0、MOBS、Tris、Hepes、HEPBS、MES、磷酸盐、碳酸盐、醋酸盐、柠檬酸盐、乙醇酸盐、乳酸盐、硼酸盐、ACES、ADA、酒石酸盐、AMP、AMPD、AMPS0、BES、CABS、甲次砷酸盐、CHES、DIPS0、EPPS、乙醇胺、甘氨酸、HEPPS0、咪唑、咪唑乳酸、PIPES、SSC、SSPE、POPS0、TAPS、TABS、TAPS0或TES。可选地,所述组合物可以进一步包含如本文描述的可降解颗粒。所述组合物可以通过多种途径施用于主体,比如,全身性的,在免疫抑制位点上 (比如如果有由肿瘤引起的局部免疫抑制)

或免疫抑制位点附近,比如在免疫抑制位点的10cm、9cm、8cm、7cm、6cm、5cm、4cm、3cm、2cm、1cm或0.5cm内。可选地,除所述组合物之外可以施用第二治疗试剂,比如在施用所述组合物之前、同时或随后。比如,所述第二治疗试剂可以包含免疫刺激试剂。可选地,可以检测所述主体的免疫细胞的活化(比如CD69和/或CD71提高的表达、IL-12或IFN γ 的分泌、或穿孔素或粒酶B的分泌、提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移和/或细胞增殖)。比如,免疫细胞的活化可以被检测为免疫细胞的一种或多种标志物(比如CD69、CD71等等)的提高了的表达。免疫细胞的活化(比如CD69和/或CD71提高的表达、IL-12或IFN γ 的分泌、或穿孔素或粒酶B的分泌、提高的细胞毒性、细胞因子产生、细胞迁移和/或细胞增殖)可以通过大量的技术人员已知的技术进行检测,比如流式细胞术、免疫组织化学、ELISA、蛋白质印迹、免疫印迹、定量PCR、BUDR掺入的检测以测量增殖等等。不被任何理论限制,不同类型的免疫抑制细胞、调节T细胞、未成熟的树突细胞(iDC)、肿瘤相关的巨噬细胞(TAM)和骨髓来源的抑制细胞(MDSC)可以发挥免疫抑制功能,并且进一步地,其他免疫抑制机制(比如血清阻碍因子、循环免疫复合体、提高的IL-1Ra产生和提高的肿瘤内蛋白水解活性)可以在癌症相关的免疫抑制中发挥功能。如此,在一些实施方式中,免疫抑制症状的治疗、改善、减少或症状减少可以通过活性、显型或免疫抑制细胞的增殖的改变或免疫抑制因子的表达水平或定位的改变确定。

[0454] 免疫调节肽的抑制剂

[0455] 一些实施方式包括免疫调节肽(比如P3028和/或表1-4中所列的免疫调节肽(SEQ ID NO:183-184和188-246)中的一种或多种)的抑制剂,也被称为白蛋白衍生的免疫调节肽的阻碍物、针对免疫调节肽的结合伴侣或免疫调节肽抑制剂。所述免疫调节肽抑制剂可以包括但不限于:肽、环肽、肽模拟物、蛋白、核酸、抗体;抗体片段、核酸适体;肽适体;和小分子。接下来的部分提供更多关于抗体或抗体片段基的免疫调节肽抑制剂的细节。

[0456] 抗体或抗体片段基的免疫调节肽抑制剂

[0457] 一些实施方式包括抗体或抗体片段基的免疫调节肽抑制剂。也考虑了采用这些免疫调节肽抑制剂来抑制主体(比如,患有癌症或病原感染(如细菌或病毒感染)的主体)中的免疫抑制的方法。已知核心抗体结构单元包含四聚体。每个四聚体由两个相同的多肽链对组成,每对具有一条“轻”链(大约25kDa)和一条“重”链(大约50-70kDa)。每条链的氨基末端部分包括一个主要负责抗原识别的约100-110或更多氨基酸的可变区。每条链的羧基末端部分定义一个主要负责效应器功能的恒定区。重链被分类为 μ 、 δ 、 γ 、 α 或 ϵ ,并且定义抗体的同型分别为IgM、IgD、IgG、IgA和IgE。一种另外的同型IgY在鸟宿主中被发现。所有链均展现出被3个高度变化区域(也叫做互补决定区或CDR)结合的相对保守的框架区域(FR)的相同的一般结构。来自每对两条链的CDR通过框架区域排成一列,使得能结合特异的表位。从N-末端到C-末端,轻链和重链均包含FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4域。对每个域的氨基酸的分配是根据Kabat, Sequences of Proteins of Immunological Interest(美国国立卫生研究院贝塞斯达, Md. (1987和1991))或Chothia和Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987); Chothia等, Nature 342:878-883 (1989)的定义。

[0458] 因此,一些实施方式包括包含免疫调节肽抑制剂的组合物、由免疫调节肽抑制剂组成的组合物或基本由免疫调节肽抑制剂组成的组合物,所述免疫调节肽抑制剂包含结合免疫调节肽(比如P3028或表1-4(SEQ ID NO:183-184和188-246)中提供的一种或多种免

疫调节肽)的一个或多个区域的域的抗体或抗体片段。在一些实施方式中,所述抗体或抗体片段来自小鼠、兔、大鼠、仓鼠、豚鼠、山羊、驴、牛、马、骆驼、乳牛、鸡或人宿主。在一些实施方式中,所述抗体或片段为同型IgG、IgM、IgA、IgD、IgE或IgY。在一些实施方式中,所述抗体或片段为多克隆抗体集合中的部分。在一些实施方式中,所述抗体为单克隆的。在一些实施方式中,所述抗体或片段为嵌合的。在一些实施方式中,所述抗体或片段包括来自人宿主的至少一个区域,其可以为如下中的至少一种:Fc;Fab;轻链可变区;轻链CDR1、CDR2或CDR3;重链可变区;重链CDR1、CDR2或CDR3;轻链框架区;轻链FR1、FR2、FR3或FR4;重链框架区;重链FR1、FR2、FR3或FR4。在一些实施方式中,所述抗体包括非人宿主的至少一个CDR或FR。在一些实施方式中,所述抗体区域为与Kabat的定义一致。在一些实施方式中,所述抗体区域为与Chothia的定义一致。在一些实施方式中,所述抗体区域为与Kabat和Chothia的定义的组合一致。在一些实施方式中,所述抗体或抗体片段类似于表5.1、表5.4、表5.5或表5.6中所描述的一种或多种肽。

[0459] 使用免疫学常规技术(比如在美国专利号(8,142,784和7,628,986)中描述的技术)可以容易地制备抗体。产生于非人宿主的抗体可以被来源化,比如通过在非人宿主的抗体的至少一个可变区取代成为人抗体。另外,人抗体可以产生于比如转基因宿主动物中。转基因动物(比如,小鼠(如XENOMOUSE))可以通过免疫设计以在不存在内源免疫球蛋白产生下制备全部种类的人抗体(Jakobovits等.(1993)Proc.Natl.Acad.Sci.USA,90:2551;Jakobovits等.(1993)Nature 362:255-258;Bruggermann等.(1993)Year in Immuno.7:33;和美国专利号5,591,669;美国专利号5,589,369;美国专利号5,545,807)。另外,噬菌体展示技术(McCafferty等.(1990)Nature 348:552-553)可以用于在体外制备源于未免疫的供体的免疫球蛋白可变(V)域基因全部种类的人抗体和抗体片段(Johnson,Kevin S.和Chiswell,David J.(1993)Current Opinion in Structural Biology 3:564-571)。可以构建来自未免疫的人供体的V基因的全部种类,并且可以基本分离针对不同阵列的抗原(包括自身抗原)的抗体(Marks等.(1991)J.Mol.Biol.222:581-597;Griffith等.(1993)EMBO J.12:725-734;美国专利号5,565,332;美国专利号 5,573,905)。许多噬菌体展示文库是已知的或是可以生成的,比如(美国专利号7,985,840)的那些。通过在体外活化的B细胞也可以生成成人抗体(美国专利号5,567,610;美国专利号5,229,275)。因此,一些实施方式包括生成结合P3028(SEQ ID NO:185)和/或表1-4中的肽(SEQ ID NO:183-184和188-246)的抗体。在一些实施方式中,所述抗体为包括非人宿主抗体的至少一个可变区的人源化抗体。在一些实施方式中,所述抗体为在非人宿主(比如转基因动物)中生成的人抗体。在一些实施方式中,所述转基因动物为转基因小鼠。在一些实施方式中,所述抗体在体外生成。在一些实施方式中,所述抗体用噬菌体展示技术生成。在一些实施方式中,所述抗体在体外活化的B细胞中生成。

[0460] 抗体和抗体片段可以被构建成递送细胞毒素化合物到靶位点。因此,一些实施方式包括与本文描述的细胞毒素化合物结合的抗体和/或抗体片段。在一些实施方式中,所述抗体或抗体片段通过本文描述的可裂解的连接体结合至所述细胞毒素化合物。

[0461] 一些实施方式包括包含免疫调节肽抑制剂的组合物,由免疫调节肽抑制剂组成的组合物或基本由免疫调节肽抑制剂组成的组合物,所述免疫调节肽抑制剂包含特异结合P3028(SEQ ID NO:185)的抗体或其结合片段。一些实施方式包括特异结合P3028的片段

(SEQ ID NO:186和187)的抗体或其片段。结合P3028的示例性抗体描述于实施例9中。

[0462] 在一些实施方式中,以上描述的抗体或其片段可以用于抑制或隔离P3028。在一些实施方式中,特异于P3028的抗体或其片段可以施用于具有至少一个结合P3028的免疫细胞的患者以去阻碍所述患者的LFA-1或IL-2受体中的至少一种。在一些实施方式中,如本文所描述的,所述抗体或其片段可以施用于需要治疗免疫抑制的患者,从而刺激或提高所述患者的免疫应答。例如,可以向需要抑制免疫抑制的患者(比如,患有癌症或病原感染(如细菌或病毒感染)的主体)提供所述抗体或其片段。在提供所述抗体或其片段后,可以评价所述患者的免疫抑制的抑制,这可以通过确定肿瘤的免疫细胞浸润或细菌或病毒感染的减少,比如,或通过所述主体的PBMC提高的免疫应答完成。

[0463] 在另外的实施方式中,所述抗体或其片段可以用于检测,比如,在生物样品中P3028的存在。所述抗体或其片段可以用于检测复合体的形成,比如当免疫调节肽抑制剂(比如,肽SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98或264-393)被连接至支持体,以及所述抗体或其片段被用作第一抗体,用来检测结合至所述抑制剂的P3028的存在。

[0464] 一些实施方式包括特异结合P3028的免疫调节肽抑制剂的抗体或其片段(比如,模拟或具有与表5.1的一种或多种肽至少70%、75%、80%、85%、90%、95%或98%同一性的抗体或其片段)。所述抗体或其片段可以特异结合包括SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98或264-393中的至少一种的肽。在一些实施方式中,特异于P3028的免疫调节肽抑制剂的抗体或其片段可以用于检测生物样品中P3028的免疫调节肽抑制剂的存在。特异于P3028的免疫调节肽抑制剂的抗体或其片段也可以用于检测复合体的形成,比如,如果P3028连接至支持体,以及所述抗体或其片段被用作第一抗体来检测结合至P3028的免疫调节肽抑制剂的存在。

[0465] 在一些实施方式中,特异于P3028的免疫调节肽抑制剂的抗体或其片段被用于分离或鉴定P3028的抑制剂的存在。例如,所述抗体或其片段可以用于纯化用于刺激人的免疫细胞和/或用于结合人的癌细胞的抑制剂。

[0466] 在一些实施方式中,特异于P3028的免疫调节肽抑制剂的抗体或其片段可以用于检测P3028的存在。例如,特异于P3028的免疫调节肽抑制剂的抗体或其片段可以用于生物样品的免疫组织化学染色以检测已与免疫调节肽抑制剂接触的癌细胞的存在。例如,特异于P3028的免疫调节肽抑制剂的抗体可以用在流式细胞术中以检测和/或分离结合至免疫调节肽抑制剂的免疫细胞或癌细胞。接下来的部分提供了关于肽基的免疫调节肽抑制剂的更多细节。

[0467] 肽基的免疫调节肽抑制剂

[0468] 在一些实施方式中,提供包含结合免疫调节肽(比如P3028)的一个或多个区域的肽的分离的肽。术语“分离的”要求所述材料是从它的原始环境(比如,如果它是自然发生的就是自然环境)去除的。比如,在活体动物中存在的多聚核苷酸不是分离的,但是从自然系统中的一些或全部共存材料中分离的同样的多聚核苷酸是分离的。所述序列为纯化的形式也是有利的。术语“纯化的”不要求完全纯净;而是意指一个相对的定义。例如,分离的蛋白通常被纯化到由考马斯染色的电泳均匀性。起始材料或自然材料纯化到至少1个数量级,优选2或3个数量级,并且更优选4或5个数量级是明确考虑的。分离的肽可以比如以大体为盐形式、晶体形式、冻干形式、在溶液(比如可以包括缓冲液的水溶液)中和/或在药学载体或

稀释剂中存在。分离的肽可以以基本纯净的形式存在,比如包括至少或等于按重量计约1%的所述肽的组合物,比如至少或等于按重量计约1%、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、98.5、99、99.5、99.9、99.99或99.999%的肽。

[0469] 在一些实施方式中,本文描述的分离的免疫调节肽抑制剂(比如,包含SEQ ID NO: 1-33、34、46-53、62、64-66、68、76、94-96、98、265-393、583-586、587-595中的任意一种的肽,由SEQ ID NO: 1-33、34、46-53、62、64-66、68、76、94-96、98、265-393、583-586、587-595中的任意一种组成的肽或基本由SEQ ID NO: 1-33、34、46-53、62、64-66、68、76、94-96、98、265-393、583-586、587-595中的任意一种组成的肽,或包含表5.3或表13中的一种或多种变型的一种修饰的P28R或P28核肽)具有小于或等于1100个氨基酸的长度,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。比如,由序列(FVKL)组成的免疫调节肽抑制剂可以结合P3028,其具有与包含FVKL的在长度上为6-16个氨基酸的免疫调节肽抑制剂可比的rampo得分(参见图29和实施例12)。另外,接近肽的N-末端、C-末端或暴露的环的氨基酸序列更可能接近潜在的结合靶而不是包含到高度有序的肽结构中,从而允许1100个氨基酸或更小的肽结合P3028。因此,本发明的一些实施方式涉及组合物及其使用方法(比如,结合P3028的方法或减少P3028介导的免疫抑制的方法),所述组合物包含本文描述的任意一种或多种免疫调节肽抑制剂(比如,表5.1、5.4、5.5或5.6中提供的任意一种或多种肽),由本文描述的任意一种或多种免疫调节肽抑制剂(比如,表5.1、5.4、5.5或5.6中提供的任意一种或多种肽)组成或基本由本文描述的任意一种或多种免疫调节肽抑制剂(比如,表5.1、5.4、5.5或5.6中提供的任意一种或多种肽)组成。希望这些肽(比如,表5.1、5.4、5.5或5.6中的任意一种或多种肽)具有小于或等于1100个氨基酸的长度,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。

[0470] 表5.1:序列和相应的Ramapo得分

[0471]

SEQ ID	序列	RAMPO Score
367	KKLDTEFFVKLSLMTER	1190
22	KKLDTEFFVKLSLMTER	1190
370	KKLDTEFFVKLSLQTER	1144
23	KKLDTEFFVKLSLQTER	1144
364	KKLDTEFFVKLSLHTE	1046
24	KKLDTEFFVKLSLHTE	1046

368	KKLDTEFFVKLSLNTER	862
25	KKLDTEFFVKLSLNTER	862
348	KKLDTEFFVKLSLQFTE	768
15	KKLDTEFFVKLSLQFTE	768
346	KKLDTEFFVKLSLMLTE	744
16	KKLDTEFFVKLSLMLTE	744
321	KKLDTEFFVKLSLFTER	712
9	KKLDTEFFVKLSLFTER	712

[0472]

323	KKLDTEFFVKLSLFTER	700
10	KKLDTEFFVKLSLFTER	700
369	KKLDTEFFVKLSLPTE	696
26	KKLDTEFFVKLSLPTE	696
343	KKLDTEFFVKLSLFTER	658
14	KKLDTEFFVKLSLFTER	658
355	KKLDTEFFVKLSQFTE	651
19	KKLDTEFFVKLSQFTE	651
372	KKLDTEFFVKLSLSTER	635
27	KKLDTEFFVKLSLSTER	635
382	KKLDTEFFVKLSLFNER	599
31	KKLDTEFFVKLSLFNER	599
313	KKLDTEFFVKLSLFTER	575
7	KKLDTEFFVKLSLFTER	575
287	KKLDTEFFVKLSLFTER	563
94	KKLDTEFFVKLSLFTER	563
4	KKLDTEFFVKLSLFTER	563
383	KKLDTEFFVKLSLFPTE	551
32	KKLDTEFFVKLSLFPTE	551
319	KKLDTEFFVKLSLFTER	547
8	KKLDTEFFVKLSLFTER	547
359	KKLDTEFFVKLSVFTER	545
20	KKLDTEFFVKLSVFTER	545
345	KKLDTEFFVKLSLHFTER	535
308	KKLDTEFFVKLSLFTER	535
18	KKLDTEFFVKLSLHFTER	535
6	KKLDTEFFVKLSLFTER	535
363	KKLDTEFFVKLSLGTTE	531
100	KKLDTEFFVKLSLGTTE	531
28	KKLDTEFFVKLSLGTTE	531
285	KKEDTEFFVKLSLFTTE	528
5	KKEDTEFFVKLSLFTTE	528
325	KKLDTEFFVKLSLFTTE	527
11	KKLDTEFFVKLSLFTTE	527
361	KKLDTEFFVKLSLATER	525
29	KKLDTEFFVKLSLATER	525
279	KKLDTEFFVKLSLFTTE	523
3	KKLDTEFFVKLSLFTTE	523
349	KKLDTEFFVKLSLFTTE	520
17	KKLDTEFFVKLSLFTTE	520
324	KKLDTEFFVKLSLFTTE	517
320	KKLDTEFFVKLSLFTTE	517
13	KKLDTEFFVKLSLFTTE	517
12	KKLDTEFFVKLSLFTTE	517
322	KKLDTEFFVKLSLFTTE	511
371	KKLDTEFFVKLSLRTTE	502
30	KKLDTEFFVKLSLRTTE	502
381	KKLDTEFFVKLSLFTTE	501
353	KKLDTEFFVKLSMFTTE	499

21	KKLDTEFFVKLSMFTTE	499
317	KKLDTEFFVKLSLFTTE	497
334	KKLDTEFFVKLSLFTTE	495
373	KKLDTEFFVKLSLFTTE	494
298	KKLDTEFFVKLSLFTTE	494
280	KKLDTEFFVKLSLFTTE	493
284	KKLDTEFFVKLSLFTTE	492
356	KKLDTEFFVKLSRFTTE	483
273	KKLDTEFFVKLSLFTTE	483
318	KKLDTEFFVKLSLFTTE	481
357	KKLDTEFFVKLSLFTTE	478
288	KKLDTEFFVKLSLFTTE	477
305	KKLDTEFFVKLSLFTTE	475
293	KKLDTEFFVKLSLFTTE	473
339	KKLDTEFFVKLSLFTTE	470
365	KKLDTEFFVKLSLFTTE	468
315	KKLDTEFFVKLSLFTTE	467
314	KKLDTEFFVKLSLFTTE	466
268	KKLDTEFFVKLSLFTTE	466
378	KKLDTEFFVKLSLFTTE	463
354	KKLDTEFFVKLSNFTTE	462
350	KKLDTEFFVKLSAFTTE	462
396	KKLDTEFFVKLSLFTTE	460
351	KKLDTEFFVKLSHFTTE	460
336	KKLDTEFFVKMSLFTTE	460
291	KKMDTEFFVKLSLFTTE	460
310	KKLDTEFFVKLSLFTTE	458
275	KKLDTEFFVKLSLFTTE	457
352	KKLDTEFFVKLSLFTTE	456
329	KKLDTEFFVKLSLFTTE	456
278	KKLDTEFFVKLSLFTTE	455
289	KKLDTEFFVKLSLFTTE	454
347	KKLDTEFFVKLSLFTTE	451
296	KKLDTEFFVKLSLFTTE	451
304	KKLDTEFFVKLSLFTTE	449
274	KKLDTEFFVKLSLFTTE	449
366	KKLDTEFFVKLSLFTTE	448
397	KKLDTEFFVKLSLFTTE	446
374	KKLDTEFFVKLSLFTTE	446
316	KKLDTEFFVKLSLFTTE	446
398	KKLDTEFFVKLSLFTTE	445
276	KKLDTEFFVKLSLFTTE	445
302	KKLDTEFFVKLSLFTTE	443
399	KKLDTEFFVKLSLFTTE	442
281	KKLDTEFFVKLSLFTTE	442
340	KKLDTEFFVKLSLFTTE	439
400	KKLDTEFFVKLSLFTTE	437
358	KKLDTEFFVKLSLFTTE	437
338	KKLDTEFFVKPSLFTTE	436

[0473]

306	KKLDNFFVKLSLFTER	436
401	KKLDTSFVKLSLFTER	432
402	KNLDTFVVKLSLFTER	432
283	KKCDTFVVKLSLFTER	432
375	KKLDTFVVKLSLWTER	430
309	KKLDRFFVKLSLFTER	430
300	KKLITFFVKLSLFTER	430
403	KKLDTFVVKLSLFTER	428
272	HKLDTFVVKLSLFTER	428
307	KKLDPFFVKLSLFTER	427
282	KKADTFVVKLSLFTER	427
404	KKLDTFVVKLSLFTER	426
332	KKLDTFVVKASLFTER	426
405	KPLDTFFVKLSLFTER	425
312	KKLDYFFVKLSLFTER	425
406	KKLDTFVVKLSLFTER	424
303	KKLYTFFVKLSLFTER	422
311	KKLDWFFVKLSLFTER	418
407	KRLDTFFVKLSLFTER	417
299	KKLETFFVKLSLFTER	417
335	KKLDTFVVKISLFTER	415
408	KKLDTFVVKLSLFTER	414
409	KKLDTFVVKLSLFTER	411
328	KKLDTFVVKLSLFTER	411
410	KKLDTFVVKLSLFTER	410
360	KKLDTFVVKLSWFTER	409
411	KKLDTFVVKLSLFTER	408
412	KGLDTFFVKLSLFTER	405
413	KKLTTFVVKLSLFTER	405
387	KKLDTFVVKLSLFTDR	404
333	KKLDTFVVKFSLFTER	403
414	KKLDTFVVKLSLFTER	402
415	KKLDTFVVKLYLFTER	402
416	KKLDTFVVKLSLFTER	401
417	KMLDTFFVKLSLFTER	400
362	KKLDTFVVKLSLCTER	400
342	KKLDTFVVKLSLFTER	399
270	EKLDTFVVKLSLFTER	396
418	KHLDTFVVKLSLFTER	394
295	KKSDTFVVKLSLFTER	393
286	KKFDTFVVKLSLFTER	393
419	KKLDTFVVKLVLFTER	392
420	KKLDHFFVKLSLFTER	391
421	KFLDTFFVKLSLFTER	390
422	KKLDTFVVKLSFFTER	389
277	PKLDTFVVKLSLFTER	387
290	KKKDTFFVKLSLFTER	386
95	KKLDGFFVKLSLFTER	386
423	KKLMTFFVKLSLFTER	384

344	KKLDTFVVKYSLFTER	382
424	KKLDTFVVKLSLFTER	381
425	KKLDTFVVKLSLFTER	380
426	KKLFTFFVKLSLFTER	380
385	KKLDTFVVKLSLFTER	380
327	KKLDTFVVKLSLFTER	379
427	KKLDTFVVKLSLFTER	377
297	KKVDTFFVKLSLFTER	377
428	KKLDTFVVKLSLFTER	375
379	KKLDTFVVKLSLFTER	375
429	KKLDVFFVKLSLFTER	374
386	KKLDTFVVKLSLFTER	374
331	KKLDTFVVKLSLFTER	374
292	KKNDTFVVKLSLFTER	374
269	DKLDTFVVKLSLFTER	373
430	KKLDTFVVKLSLFTER	371
431	KKLDTFVVKLSLFTER	370
294	KKRDTFFVKLSLFTER	370
432	KKLDTFVVKLSLFTER	369
384	KKLDTFVVKLSLFTER	369
271	GKLDTFVVKLSLFTER	367
93	GKLDTFVVKLSLFTER	367
391	KKLDTFVVKLSLFTER	366
337	KKLDTFVVKNSLFTER	365
330	KKLDTFVVKNSLFTER	365
433	KKLDTFVVKNSLFTER	364
434	KKLDTFVVKNSLFTER	364
435	KKLPTFFVKLSLFTER	364
436	KKPDTFFVKLSLFTER	361
380	KKLDTFVVKLSLFTER	360
326	KKLDTFVVKLSLFTER	358
437	KKLDTFVVKLSLFTER	356
438	KKLDTFVVKLSLFTER	355
439	KKLDTFVVKLSLFTER	351
341	KKLDTFVVKSSLFTER	351
440	KQLDTFFVKLSLFTER	350
441	KELDTFFVKLSLFTER	349
442	KKLDTFVVKLSLFTER	348
443	KKLDTFVVKLSLFTER	348
444	KKLDTFVVKLSLFTER	348
376	KKLDTFVVKLSLFTER	348
445	KKLDTFVVKLSLFTER	347
446	KKLDTFVVKLSLFTER	347
96	KKLDTFVVKLSLFTER	347
447	KKLDAFFVKLSLFTER	346
448	KKLQTFVVKLSLFTER	345
449	KKLCTFFVKLSLFTER	344
450	KKLDTFVVKLSLFTER	344
451	KKLSTFFVKLSLFTER	344

[0474]

452	KKYDTFFVKLSLFTER	344	388	KKLDTFFVKLSLFTEF	297
453	SKLDTFFVKLSLFTER	344	498	KKLNTFFVKLSLFTER	296
454	KLLDTFFVKLSLFTER	343	499	KCLDTFFVKLSLFTER	295
377	KKLDTFFVKLSLFGER	343	500	KKLDDFFVKLSLFTER	295
455	KKLDTFFVKLSCFTER	342	501	KKLDIFFVKLSLFTER	293
456	KKLDEFFVKLSLFTER	341	502	KKLDTFFVKHSLFTER	293
457	KKLDTFFVKLSLFTER	341	392	KKLDTFFVKLSLFTET	292
458	KKWDTFFVKLSLFTER	341	503	KKLDTFFVKLSLYTER	291
459	KKLDTFFVKLSLFTYR	340	389	KKLDTFFVKLSLFTEK	291
460	KKLDTKFVKLSLFTER	337	504	KKLDFFFVKLSLFTER	290
461	KDLDTFFVKLSLFTER	335	505	KKLDTFFVKLSLIFTER	289
462	KKLDTCFVKLSLFTER	335	99	KKLDTFFVKLSLIFTER	288
463	KKLDIFYVKLSLFTER	334	506	KKLDTFFVKLSLIFTER	285
464	KKLDTFFVKLSLIFTER	333	507	WKLDTFFVKLSLFTER	284
465	FKLDTFFVKLSLFTER	332	508	KKLDTFFVKCSLFTER	283
466	KKLDTHFVKLSLFTER	332	509	KKLDTFFVMSLFTER	283
467	KILDTFFVKLSLFTER	331	510	KSLDTFFVKLSLFTER	281
468	KTLDTFFVKLSLFTER	331	511	KKLDTFFVSLSLFTER	274
469	KKLDTFFVQLSLFTER	330	512	KKLKTFFVKLSLFTER	274
470	KKLDTFFVKLSLPLFTER	328	513	KKLDTFFQKLSLFTER	271
471	KKLDTFFVKLSLFTKR	324	514	KKLDTFFVKLSLIFYER	270
472	KKLDTFFVKLSLWLFTER	324	515	KKLGTFFVKLSLFTER	264
473	KKLDTFFVKLSLKFTER	323	33	KKLDTFFVKLSLFRER	264
474	KKLDTFFVKLSLDFTER	322	516	KKLDTFFVKLSLIFTER	260
475	KKLDTFFVKLSYFTER	320	517	KKLDTFFVKLSLIFTER	259
476	KKLDTFFVKLSLIFTER	319	518	KKLDTFFVNLSLFTER	256
477	KKLDTFFVKLSLALFTER	318	519	KKLDTFFCKLSLFTER	254
478	KKLDTFFVKLSLFTHR	318	520	KKLDTFFVKLSLFCER	254
479	KKLHTFFVKLSLFTER	317	521	KKLDTFFVKLSLFTFV	254
480	KKLRTFFVKLSLFTER	317	264	KKLDTFFKKLSLFTER	253
481	KVLDTFFVKLSLFTER	317	522	KKLDTFFVKLSLIFTER	250
482	KKLDTFFVKWSLFTER	316	523	KKLDTFFVLSLFTER	248
483	YKLDTFFVKLSLFTER	315	524	KKLDTFFVKLSLFTMR	247
484	KKLDLFFVKLSLFTER	311	525	KKLDTFFVKLSLFTLR	246
393	KKLDTFFVKLSLFTFTEY	311	526	KKLDTFFVWLSLFTER	245
390	KKLDTFFVKLSLFTEN	311	527	KKLDTFFVELSLFTER	240
485	KALDTFFVKLSLFTER	309	528	KKLDTFFVKLSLFTFTEH	239
486	KKLDTRFVKLSLFTER	309	529	KKLDTFFVKLSLFTFTEM	238
487	KKLDTFFVKLSLFTER	308	530	KKLDKFFVKLSLFTER	237
488	KKLDTFFVHLSLFTER	306	531	KKLDTFFVKLSLFTFRR	237
489	KKLDTFFVKLSLFAER	305	532	KKLDTFFVKLSLFTFELFTER	234
490	KWLDTFFVKLSLFTER	304	533	KKLDTFFVKLSLFTFEP	234
491	KKLLTFFVKLSLFTER	303	534	KKLDTFFVPLSLFTER	233
492	KKLDTFDVKLSLFTER	301	101	KKLDTFFVKLSLFTFGR	233
493	KKLDTFFVKLSLFTQER	301	535	KKLDTFFVKLSLFTFGR	232
494	KYLDTFFVKLSLFTER	301	536	KKLDTFFVKLSLFTFGR	229
495	KKLDTFFAKLSLFTER	299	537	KKLDTFFVKLSLFTFGR	228
496	KKLDTFFTKLSLFTER	298	538	KKLDTFFVKLSLFTFTEA	226
497	KKLDTFFVKLSLFTFGR	297	539	KKLDTFFVKLSLFTFWR	226

[0475]

540	KKLDITFFMKLSLFTER	221	561	KKLDITFFVKLSLFTAR	174
541	KKLDITFFVCLSLFTER	220	562	KKLDITFFVLLSLFTER	166
542	KKLDITFFVKLSLKTER	220	563	KKLDITFFVKLSLFTSR	165
543	KKLDITFFVKLSLFTEG	218	564	KKLDITFFVKLSLFTIR	163
544	KKLDITFFVKLSLFTTEL	217	565	KKLDITFFVKLSLFTVR	163
545	KKLDITFFSKLSLFTER	216	566	KKLDITFFVKLSLFTNR	161
546	CKLDITFFVKLSLFTER	215	567	KKLDITFFVKLSLFDER	159
547	KKLDITFFHKLSLFTER	213	568	KKLDITFFVKLSLFTTR	152
548	KKLDITFFVKLLLFTER	213	569	KKLDITFFVDLSLFTER	149
549	KKLDITFFYKLSLFTER	211	570	KKLDITFFEKLSLFTER	139
550	KKLDITFFNKLSLFTER	203	571	KKLDITFFVKLSLFTFR	137
551	KKLDITFFVKLSLFTTEW	202	572	KKLDITFFVKLSLFTED	133
552	KKLDITFFVYLSLFTER	198	573	KKLDITFFVKLSLFTTEQ	133
553	KKLDITDFVKLSLFTER	193	574	KKLDITFFDKLSLFTER	122
554	KKLDITFFVALSLFTER	191	575	KKLDITFFVKLSLFDTER	112
555	KKLDITFFVILSLFTER	190	576	KKLDITFFVKLSLFEER	110
98	KKLDITFFVGLSLFTER	188	577	KKLDITFFVKLSLFTTE	107
97	KKLDITFFVGLSLFTER	188	578	KKLDITFFVKDSLFTER	102
556	KKLDITFFVKLSLFTCR	185	579	KKLDITFFVKLSLETER	98
557	KKLDITFFVKLSLFTES	184	580	KKLDITFFVKLSLDFTER	89
558	KKLDITFFVKLSLFTTEI	176	581	KKLDITFFVKLSLSETER	82
559	KKLDITFFVKLSLFTTEC	175	582	KKLDITFFVKESLFTER	81
560	KKLDITFFVFLSLFTER	174			

[0476] 如在实施例12中所示,表6.1中所示的P28R的至少31种单氨基酸取代(SEQ ID NO: 3-34)以比P28R高的rambo得分结合P3028。另外至少4种甘氨酸残基对P28R的残基的单取代(SEQ ID NO:94-96和98)以至少可比于P28R的rambo得分(比如大于约500的rambo得分)结合P3028。如在表6.2中所示的,另外至少129种单氨基酸取代以至少基本等于(即,至少98%的)P28R的rambo得分结合P3028(SEQ ID NO:268-393)。另外,P28R的至少N末端精氨酸的截短体(SEQ ID NO:34),以及直至P28R的前8个C末端氨基酸的截短体(SEQ ID NO:46-53)提供了具有至少可比于P28R的rambo得分的肽。另外,至少一些P28的内部氨基酸残基删除(SEQ ID NO:64-66、68、76)提供了具有至少可比于P28R的rambo得分的肽。因此,本文考虑了包括P28R取代的肽,其包括SEQ ID NO:3-34的两种或多种取代的组合。此外,本文考虑了包括如SEQ ID NO:34、46-53、64-66、68和/或74中的至少一种P28R的删除和如SEQ ID NO:3-34、94-96、98和/或268-393中的至少一种P28R的(非删除残基的)取代的肽。

[0477] 因此,一些实施方式涉及包含免疫调节肽抑制剂的组合物,由免疫调节肽抑制剂组成的组合物或基本由免疫调节肽抑制剂组成的组合物,所述免疫调节肽抑制剂包含式(I),由式(I)组成或基本由式(I)组成:

[0478] 式(I):

[0479] $XX_1VKX_2X_3X_4$ (SEQ ID NO:166)。

[0480] 其中X为可选序列,并且可以为KKLDT(SEQ ID NO:167)、RKLD(SEQ ID NO:168)、KKGDT(SEQ ID NO:169)、KKEDT(SEQ ID NO:170)、KKLDQ(SEQ ID NO:171)、KKGDQ(SEQ ID NO:252)、KKEDQ(SEQ ID NO:253)、RKLDQ(SEQ ID NO:254)、RKGDQ(SEQ ID NO:255)、RKEDQ(SEQ ID NO:256)、RKGT(SEQ ID NO:257)、RKEDT(SEQ ID NO:258)、KLD(SEQ ID NO:172)、KGD(SEQ ID NO:259)、KEDT(SEQ ID NO:260)、KLDQ(SEQ ID NO:261)、KGDQ(SEQ ID NO:262)、KEDQ(SEQ ID NO:263)、LDT、LDQ、GDT、GDQ、EDT、EDQ、DT、DQ、T或Q,或缺失。

[0481] X_1 可以为FF、FM、FS、FV、FT、FL、AF、AM、AS、AV、AT、AL、VF、VM、VS、VV、VT或VL其中之

一。

[0482] X_2 可以为LS、LQ、LM、LT、LH、VS、VQ、VM、VT或VH其中之一。

[0483] X_3 可以为LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR其中之一。

[0484] X_4 为可选序列,并且可以为ER或E,或缺失。

[0485] 在一些实施方式中,如果X缺失,则 X_1 为FF,并且 X_2 为LS。

[0486] 在一些实施方式中,包含式(I)的所述分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。

[0487] 一些实施方式涉及包含免疫调节肽抑制剂的组合物,由免疫调节肽抑制剂组成的组合物或基本由免疫调节肽抑制剂组成的组合物,所述免疫调节肽抑制剂包含式(II),由式(II)组成或基本由式(II)组成:

[0488] 式(II):

[0489] X_{20} TFFVKLS X_{21} X_{22} (SEQ ID NO:173),

[0490] 其中 X_{20} 为可选序列,并且可以为KKLD (SEQ ID NO:174)、RKLD (SEQ ID NO:175)、KKGD (SEQ ID NO:176)、KKED (SEQ ID NO:177)、KLD、LD或D,或缺失。

[0491] X_{21} 为可选序列,并且可以为LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR,或缺失。

[0492] X_{22} 为可选序列,并且可以为ER或E,或缺失。

[0493] 在一些实施方式中,包含式(II)的所述分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。

[0494] 一些实施方式涉及包含免疫调节肽抑制剂的组合物,由免疫调节肽抑制剂组成的组合物或基本由免疫调节肽抑制剂组成的组合物,所述免疫调节肽抑制剂包含式(III),由式(III)组成或基本由式(III)组成:

[0495] 式(III):

[0496] $X_{30}X_{31}VKLX_{32}LX_{33}TEX_{34}$ (SEQ ID NO:178),

[0497] 其中 X_{30} 为可选序列,并且可以为KKLDTF (SEQ ID NO:179)、KLDTF (SEQ ID NO:180)、LDTF (SEQ ID NO:181)、DTF、TF或F,或缺失。

[0498] X_{31} 为可选序列,并且可以为F、S、M、V、T或L,或缺失。在一些实施方式中, X_{31} 为F。

[0499] X_{32} 可以为S、Q、M、T或H。在一些实施方式中, X_{32} 为S。

[0500] X_{33} 可以为F、M、Q、H、N、P、S、G、A或R。在一些实施方式中, X_{34} 为F。

[0501] X_{34} 为可选序列,并且可以为R,或缺失。

[0502] 在一些实施方式中,包含式(III)的所述分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。

[0503] 一些实施方式涉及包含免疫调节肽抑制剂的组合物,由免疫调节肽抑制剂组成的组合物或基本由免疫调节肽抑制剂组成的组合物,所述免疫调节肽抑制剂包含式(VII),由式(VII)组成或基本由式(VII)组成:

[0504] 式(VII):

[0505] $X_{700}KX_{701}X_{702}X_{703}X_{704}X_{705}X_{706}KX_{707}X_{708}X_{709}X_{710}X_{711}EX_{712}$ (SEQ ID NO:394),

[0506] 其中 X_{700} 为可选序列,并且可以为K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T或V,或缺失。

[0507] X_{701} 为可选序列,并且可以为L、A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、N、Q、R、S、T或V,或缺失。

- [0508] X₇₀₂为可选序列,并且可以为D、A、E、I、V、W或Y,或缺失。
- [0509] X₇₀₃为可选序列,并且可以为T、C、M、N、P、Q、R、S、W或Y,或缺失。
- [0510] X₇₀₄为可选序列,并且可以为F、A、I、M、N、P、T或V,或缺失。
- [0511] X₇₀₅为可选序列,并且可以为F、L、M、Q、S、T或V,或缺失。
- [0512] X₇₀₆为可选序列,并且可以为V、F、G、L、P或R,或缺失。
- [0513] X₇₀₇为可选序列,并且可以为L、A、F、G、I、M、N、P、Q、R、S、T、V或Y,或缺失。
- [0514] X₇₀₈为可选序列,并且可以为S、H、M、N、Q或T,或缺失。
- [0515] X₇₀₉为可选序列,并且可以为L、A、H、I、M、N、Q、R、S、T、V或W,或缺失。
- [0516] X₇₁₀为可选序列,并且可以为F、A、C、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或W,或缺失。
- [0517] X₇₁₁为可选序列,并且可以为T、F、G、H、I、L、M、N、P、S、V或W,或缺失。
- [0518] X₇₁₂为可选序列,并且可以为R、F、K、N、R、T或Y,或缺失。
- [0519] 在一些实施方式中,包含式(VII)的所述分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。
- [0520] 一些实施方式涉及包含免疫调节肽抑制剂的组合物,由免疫调节肽抑制剂组成的组合物或基本由免疫调节肽抑制剂组成的组合物,所述免疫调节肽抑制剂包含式(VIII),由式(VIII)组成或基本由式(VIII)组成:
- [0521] 式(VIII):
- [0522] X₈₀₀K X₈₀₁K X₈₀₂E X₈₀₃(SEQ ID NO:395),
- [0523] 其中X₈₀₀为K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T、V或K,或缺失。
- [0524] X₈₀₁为LDTFV、GDTFV、EDTFV、LDQFFV、LDTAFV、LDTVFFV、LDTFMV、LDTFSV、LDTFVV、LDTFTV、LDTFLV、LDGFFV、LDTFGV、LDTFFK、ADTFV、CDTFV、DDTFV、FDTFV、HDTFFV、IDTFV、KDTFV、MDTFV、NDTFV、QDTFFV、RDTFFV、SDTFV、TDTFFV、VDTFFV、LATFFV、LETFFV、LITFFV、LVTFFV、LWTFFV、LYTFFV、LDCFFV、LDMFFV、LDNFFV、LDPFFV、LDRFFV、LDSFFV、LDWFFV、LDYFFV、LDTIFV、LDTMFV、LDTNFV、LDTPFV、LDTTFV、LDTFQV、LDTFFF、LDTFFG、LDTFFL、LDTFFP、LDTFFR、LDTFIV、LDTSFV、LDTFAV、LDTFCV、LDTQFV、LDTLFFV、LTTFV、LDTFFI、LDHFFV、LMTFFV、LDTFEV、LDTFWV、LFTFFV、LDVFFV、LDTFRV、LDTFHV、LDTYFV、LPTFFV、PDTFV、LDTFNV、LDTWFFV、LDTGFFV、LDAFFV、LQTFV、LCTFFV、LSTFFV、YDTFFV、LDEFFV、WDTFV、LDTKFV、LDTCFV、LDTFYV、LDTHFV、LHTFFV、LRTFFV、LDLFFV、LDTRFV、LLTFFV、LDTFDV、LDTFFA、LDTFFT、LNTFFV、LDDFFV、LDIFFV、LDFFFV、LKTFV、LDTFFQ、LGTFFV、LDTFFC、LDKFFV、LDTFKV、LDTEFV、LDTFFW、LDTFFM、LDTFFS、LDTFFH、LDTFFY、LDTFFN、LDTDFV、LDTFFE、LDTFFD、LTFFV、LDTFF、TFFV、LDF、LDTE、FFV、LDV、LV或L,或缺失;

[0525] 其中X₈₀₂为LSLFT、VSLFT、LQLFT、LMLFT、LTLFT、LHLFT、LSQFT、LSVFT、LSMFT、LSLMT、LSLQT、LSLHT、LSLNT、LSLPT、LSLST、LSLGT、LSLAT、LSLRT、LSLFN、LSLFP、LSLFR、LGLFT、ASLFT、FSLFT、GSLFT、ISLFT、MSLFT、NSLFT、PSLFT、QSLFT、RSLFT、SSLFT、TSLFT、YSLFT、LNLFT、LSAFT、LSHFT、LSIFT、LSNFT、LSRFT、LSSFT、LSTFT、LSWFT、LSLCT、LSLIT、LSLLT、LSLTT、LSLVT、LSLWT、LSLFF、LSLFG、LSLFH、LSLFI、LSLFL、LSLFM、LSLFS、LSLFV、LSLFW、LYLFT、LVLFT、LSFFT、LSGFT、LSKFT、LSCFT、LCLFT、LRLFT、LPLFT、LWLFT、LKLFT、LDLFT、LSYFT、LALFT、WSLFT、LSLFA、LSLFQ、LSPFT、HSLFT、LSLYT、LILFT、KSLFT、CSLFT、LSLFY、LSLFK、LSLFC、LFLFT、LELFT、LSLKT、LLLFT、LSLFD、LSLDT、LSLFE、DSLFT、LSLET、LSDFT、LSEFT、ESLFT、SLFT、LSFT、LFT、LSL、LT或T,或缺失;和

[0526] 其中X₈₀₃为R、F、K、N、R、T或Y,或缺失。

[0527] 在一些实施方式中,包含式(VIII)的所述分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。

[0528] 一些实施方式涉及包含免疫调节肽抑制剂的组合物,由免疫调节肽抑制剂组成的组合物或基本由免疫调节肽抑制剂组成的组合物,所述免疫调节肽抑制剂包含表5.1中所示的任意一种或多种肽,由表5.1中所示的任意一种或多种肽组成或基本由表5.1中所示的任意一种或多种肽组成。在一些实施方式中,在这些组合物中使用的来自表5.1的所述分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。

[0529] 在一些实施方式中,所述肽包含SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96或98中的一种。再一次,这种分离的肽可以具有小于或等于1100个氨基酸的长度,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、

102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。

[0530] 本发明的实施方式也包括对P3028序列或结构具有特异亲和性的免疫调节肽抑制剂。在一些实施方式中,所述免疫调节肽抑制剂具有如由rampo实验测定的对P3028序列或结构的特异亲和性,在所述rampo实验中,所述免疫调节肽抑制剂粘附到固相,加入P3028,并且测量rampo第二抗体的酶活性以检测结合(参见实施例12)。在一些实施方式中,所述免疫调节肽抑制剂以至少基本等于P28R的rampo得分的rampo得分结合P3028结构或序列(参见实施例12、表6.2)。优选地,所述免疫调节肽抑制剂具有通过这种rampo实验的至少或等于约300rampo单位的对P3028的特异的亲和性,比如,至少或等于约300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490、500、510、520、530、540、550、560、570、580、590、600、610、620、630、640、650、660、670、680、690、700、710、720、730、740、750、760、770、780、790、800、820、840、860、880、900、920、940、960、980、1000、1020或1040rampo单位,包括任意两个所列值之间的范围。在一些实施方式中,所述免疫调节肽抑制剂以500的rampo得分结合P3028结构或序列(参见实施例12、表6.1)。实施例12中提供了对P3028具有亲和性的示例性肽(参见表6.1、6.2和图29-30)。

[0531] 类似地,实施方式包括对表1-4中所列的任意一种或多种免疫调节肽(SEQ ID NO: 183-184和188-246)具有亲和性的分离的免疫调节肽抑制剂。在一些实施方式中,所述免疫调节肽抑制剂具有如由rampo实验测定的对表1-4中所列的任意一种或多种免疫调节肽(SEQ ID NO:183-184和188-246)具有特异亲和性,在所述rampo实验中,所述免疫调节肽抑制剂粘附到固相,加入表1-4中所列的任意一种或多种免疫调节肽(SEQ ID NO:183-184和188-246),并且测定rampo第二抗体的酶活性以检测结合。比如,本发明的方面包括表5.1中所提供的任意肽,并且本文描述的任意方法可以用表5.1中所描述的一种或多种肽实践。优选地,所述免疫调节肽抑制剂具有通过这种rampo实验的至少或等于约300rampo单位的对表1-4中所列的任意一种或多种免疫调节肽(SEQ ID NO:183-184和188-246)的特异亲和性,比如,至少或等于约300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490、500、510、520、530、540、550、560、570、580、590、600、610、620、630、640、650、660、670、680、690、700、710、720、730、740、750、760、770、780、790、800、820、840、860、880、900、920、940、960、980、1000、1020或1040rampo单位,包括任意两个所列值之间的范围。

[0532] 肽序列变型

[0533] 免疫调节肽抑制剂P28R(KKLDTFVFKLSLFTER;SEQ ID NO:2)的大量序列变型已经显示出对肿瘤细胞具有免疫刺激活性和/或细胞毒性(参见实施例37-40)。不被任何理论限制,根据本文的一些实施方式,SEQ ID NO:2和如表5.3中描述的SEQ ID NO:2的变型,比如表5.4的一种或多种肽,可以用于结合肽3028(SEQ ID NO:185),结合包含SEQ ID NO:185的肽或白蛋白片段,结合表1-4中所列的任意一种或多种肽,直接刺激免疫细胞和/或杀死肿瘤细胞(参见实施例36-40)。如此,在一些实施方式中,免疫调节肽抑制剂肽包含具有如表

5.3中所示的对SEQ ID NO:2的一种或多种变型(比如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10种变型)的氨基酸序列,由具有如表5.3中所示的对SEQ ID NO:2的一种或多种变型(比如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10种变型)的氨基酸序列组成或基本由具有如表5.3中所示的对SEQ ID NO:2的一种或多种变型(比如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10种变型)的氨基酸序列组成,比如,1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1-8、1-9、1-10、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、3-4、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10、4-5、4-6、4-7、4-8、4-9、4-10、5-6、5-7、5-8、5-9、5-10、6-7、6-8、6-9、6-10、7-8、7-9、7-10、8-9、8-10或9-10种变型。所述抑制剂肽可以进一步包含SEQ ID NO:2的位置1、3-4、12-14或16中的一个或多个位置上的更多变型,其中所述更多变型包括任意氨基酸或氨基酸的缺失,比如,1、2、3、4、5、6或7个更多变型。

[0534] 表5.3

在 KKLDTFVVKLSLFTER(SEQ ID NO: 2)中的位置	变型的类型	针对变型的示例性氨基酸
K1	任意类型的氨基酸	任意氨基酸或缺失
K2	带正电荷的氨基酸	R、H、K
L3	任意类型的氨基酸	任意氨基酸或缺失
D4	任意类型的氨基酸	任意氨基酸或缺失
T5	极性不带电荷的氨基酸	S、T、N、Q
F6	疏水性或不带电荷的极性氨基酸	A、V、I、L、F、Y、W、 S、T、N、Q
F7	疏水性或不带电荷的极性氨基酸	A、V、I、L、F、Y、W、 S、T、N、Q
V8	疏水性、非M的非芳香碳链氨基酸	A、V、I、L
K9	带正电荷的氨基酸、T、Q或Y	R、H、K、T、Q、Y
L10	除了带负电荷的任意类型的氨基酸	R、H、K、S、T、N、 Q、C、U、G、P、A、 V、I、L、M、F、Y、 W
S11	极性不带电荷的氨基酸	S、T、N、Q
L12	除了带负电荷的任意类型的氨基酸	R、H、K、S、T、N、 Q、C、U、G、P、A、
		V、I、L、M、F、Y、 W
F13	除了带负电荷的任意类型的氨基酸	R、H、K、S、T、N、 Q、C、U、G、P、A、 V、I、L、M、F、Y、 W
T14	除了带负电荷的任意类型的氨基酸	R、H、K、S、T、N、 Q、C、U、G、P、A、 V、I、L、M、F、Y、 W
E15	带负电荷的氨基酸	D、E

[0536]

[0537] 在一些实施方式中,所述变化的肽在位置8上不包含M。在一些实施方式中,所述变化的肽在位置9上不包含M。在一些实施方式中,所述变化的肽在位置15上不包含M。在一些实施方式中,所述修饰的肽在位置8、9或15的任意位置上不包含的M。

[0538] 因此,在一些实施方式中,包含P28R的变型的所述肽抑制物包含式(IX)的肽,基本由式(IX)的肽组成或由式(IX)的肽组成:

[0539] 式(IX)

[0540] X₉₀₁X₉₀₂X₉₀₃X₉₀₄X₉₀₅X₉₀₆X₉₀₇X₉₀₈X₉₀₉X₉₁₀X₉₁₁X₉₁₂X₉₁₃X₉₁₄X₉₁₅X₉₁₆X₉₁₇,

[0541] 其中X₉₀₁为任意氨基酸,或缺失,

[0542] X₉₀₂为带正电荷的氨基酸、F或N,

[0543] X₉₀₃为任意氨基酸,

[0544] X₉₀₄为任意氨基酸,

[0545] X₉₀₅为极性不带电荷的氨基酸、R、Y或W,

[0546] X₉₀₆为疏水性或不带电荷的极性氨基酸,

[0547] X₉₀₇为疏水性或不带电荷的极性氨基酸,

[0548] X₉₀₈为疏水性、非M或F的非芳香碳链氨基酸,

[0549] X₉₀₉为带正电荷的氨基酸、T、Q或Y,

[0550] X₉₁₀为不带负电荷的任意氨基酸,

[0551] X₉₁₁为极性不带电荷的氨基酸或H,

[0552] X₉₁₂为不带负电荷的任意氨基酸,

[0553] X₉₁₃为不带负电荷的任意氨基酸,

[0554] X₉₁₄为不带负电荷的任意氨基酸,

[0555] X₉₁₅为带负电荷的氨基酸、Y或Q,

[0556] X₉₁₆为不带负电荷的任意氨基酸,和

[0557] X₉₁₇一个或多个带正电荷的氨基酸,或缺失。

[0558] 可选地,X₉₀₁包含带正电荷的氨基酸。可选地,X₉₀₁为R或K。可选地,X₉₁₇包含RR或由RR组成。

[0559] 大量基于本文描述的肽的变型的肽抑制剂已经显示刺激免疫细胞(参见实施例36)。示例性的变化的肽显示于表5.4中。因此,在一些实施方式中,所述肽抑制剂包含表5.4的肽,由表5.4的肽组成或基本由表5.4的肽组成。另外的显示出具有对P3028的低结合(参见实施例36)或在健康血清中的健康PBMC的低刺激(参见实施例37)的示例性的变化的肽显示于表5.5和5.6中。在一些实施方式中,提供包含表5.4、5.5或5.6的肽的肽,由表5.4、5.5或5.6的肽组成的肽或基本由表5.4、5.5或5.6的肽组成的肽。

[0560] 表5.4: 基于位置扫描的对P3028具有“高”结合的肽

SEQ ID NO:	氨基酸序列 (对 SEQ ID NO: 2 的变化加下划线)	也可以称为:
583	KKLD <u>T</u> FFVKLSLMTER	30677
584	KKLD <u>T</u> FFVKLQLFTER	30678
585	KKLD <u>T</u> VMVKLQLMTER	30680
586	RKLD <u>T</u> FFVKLSLFTE <u>RR</u>	32814

[0562] 表5.5:基于位置扫描的对P3028具有“低”结合的肽

SEQ ID NO:	氨基酸序列 (对 SEQ ID NO: 2 的变化加下划线)	也可以称为:
587	K <u>S</u> LDTFVVKLSLFTER	30684
[0563] 588	KKLDTFVVKLSLFTE <u>R</u>	30685
589	KKLDTFV <u>V</u> YLSLFTER	31135
590	KKLDTFV <u>N</u> LSLFTER	31136
591	KKLDTFV <u>D</u> LSLFTER	31138

[0564] 表5.6:P28R的另外的变型

SEQ ID NO:	氨基酸序列 (对 SEQ ID NO: 2 的变化加下划线)	也可以称为:
592	KKLDTF <u>F</u> PKLSLFTER	32251
[0565] 593	KKLDTF <u>M</u> VKLS <u>Q</u> HTER	32665
594	KKLDTFVVKLSLFTER(<u>C</u> (PEG24))	32819
595	KKLDQFFVKLSQHNER	32815

[0566] 本发明的实施方式也包括与本文描述的分离的免疫调节肽抑制剂具有同一性的肽和蛋白。术语“同一性”是指包括核酸或蛋白序列同一性或三维同一性。存在几种技术来测定对于肽的核酸或肽序列同一性和/或三维同一性。这些方法是常规采用的以发现一种序列、域或模型对于一种靶序列、域或模型所具有的同性的程度。大范围的功能性免疫调节肽抑制剂(比如,针对P3028序列或结构的免疫调节肽抑制剂)可以包含本文公开的肽抑制剂的特征,因此提供与SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589的免疫调节肽抑制剂的巨大程度的同一性。比如,具有抑制剂的小区域的融合蛋白可以展示出对SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589 的免疫调节肽抑制剂的低程度的整体同一性,但是保留了作为抑制剂(比如, P3028的抑制剂,比如结合P3028的分子)发挥功能的能力,或提高通过LFA-1和/或IL-2受体的免疫细胞刺激(比如,调节、上调或下调免疫系统或免疫抑制的标志物,比如减少P3028介导的免疫细胞增殖、扩散、迁移或NK细胞细胞毒性的抑制),或提高免疫细胞刺激。因此,本发明的实施方式可以具有对SEQ ID NO:1-33、34、46-53、62、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589的序列从1%同一性至100%同一性。即,实施方式可以具有对SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589中的任意一种至少或等于约1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同一性。优选地,这些肽或修饰的肽也保留了调节免疫系统的能力(比如,调节、上调或下调免疫系统或免疫抑制的标志物,比如减少P3028介导的免疫细胞增殖、扩散、迁移或NK细胞细胞毒性的抑制)。

[0567] 实施方式也包括包含分离的免疫调节肽抑制剂和/或结合至支持体的分离的免疫调节肽抑制剂的多聚体的组合物。一些实施方式包括包含免疫调节肽抑制剂的多聚体的组合物,所述免疫调节肽抑制剂的多聚体包括单个免疫调节肽抑制剂的多个拷贝。一些实施方式包括包含多聚体的组合物,所述多聚体包括两个或更多个不同的免疫调节肽抑制剂。一些多聚体包括至少或等于两个免疫调节肽抑制剂,比如2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、99、100或101个免疫调节肽抑制剂。在一些实施方式中,所述多聚体含有相同的免疫调节肽抑制剂,而在其他实施方式中,所述多聚体含有不同的免疫调节肽抑制剂。相应地,一些实施方式涉及包含一种或多种免疫调节肽抑制剂的组合物,而在一些实施方式中,所述一种或多种免疫调节肽抑制剂是相同分子的多聚体。

[0568] 制备肽基的免疫调节肽抑制剂的方法

[0569] 本领域已知许多制备肽的方法。制备肽的方法的实例可以在美国专利号6,495,674中找到,其全部内容通过引用的方式明确并入本文。在一些实施方式中,肽抑制剂是化学合成的。肽的化学合成也是公知的。比如,固相化学合成可以被用于制备长度直至至少约100个氨基酸的肽。相应地,在一些实施方式中,免疫调节肽抑制剂是合成的肽。

[0570] 在其他实施方式中,免疫调节肽抑制剂是采用本领域公知的技术通过重组DNA技术制备的。这样的方法可以被用来构建(比如)含有编码免疫调节肽抑制剂的核苷酸序列和合适的转录和翻译控制信号的表达载体。这些方法可以包括,比如,体外重组DNA技术、合成技术和体内遗传重组。或者,能够编码肽抑制剂的RNA可以采用(比如)合成器化学合成。参见,比如Oligonucleotide Synthesis,1984,Gait,M.J.ed.,IRL Press,Oxford中描述的技术,其全部内容通过引用的方式并入本文。或者,可以提供编码大体上比肽抑制剂长的肽或蛋白的DNA或RNA,其中所述肽抑制剂两侧为蛋白酶靶位点,这样从更大的肽或蛋白制备所述肽抑制剂。示例性的蛋白酶包括凝血酶、胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、LysC、GluC和AspN。或者,可以提供编码两个或更多个肽抑制剂拷贝的DNA或RNA,其中所述肽抑制剂两侧为蛋白酶靶位点,这样从更大的肽或蛋白制备所述肽抑制剂。因此,在一些实施方式中,P3028的肽抑制剂是由核糖体产生的。

[0571] 在几个实施方式中,所述免疫调节肽抑制剂是在细胞系中表达的。比如,向一些细胞提供编码一个或多个免疫调节肽抑制剂的核酸,所述细胞被制备来表达SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589的肽或表5.1中提供的任何一种或多种肽,并且所述免疫调节肽抑制剂是被分离和/或纯化的。示例性核酸列在表5.2中,SEQ ID NO:102-165。

[0572] 可以利用多种宿主表达载体系统以表达本发明的一些实施方式的抑制剂肽。当所述免疫调节肽抑制剂为可溶性肽时,可以从培养物(即,在所述肽或多肽不被分泌的情况下从宿主细胞和在所述肽或多肽被所述细胞分泌的情况下从所述培养基)中回收它。然而,所述表达系统也包含在原位(即,锚定在细胞膜上)表达所述肽或功能等价物工程化的宿主细胞。可以使用合适的洗涤剂 and 脂微粒以及本领域技术人员公知的方法完成从这样的表达系统纯化或富集所述肽。然而,这种工程化的宿主细胞它们本身可以用在当不仅对保留所述肽的结构和功能特点是重要的,而且对(比如,在药物筛选实验中)评价生物活性也是重要

的情况下。

[0573] 可以用于本发明的目的的表达式包括但不限于微生物,比如用含有编码抑制剂肽的核苷酸序列的重组噬菌体DNA、质粒DNA或黏粒DNA表达载体转化的细菌(如,大肠杆菌或枯草芽孢杆菌);用含有编码抑制剂肽的核苷酸序列的重组酵母表达载体转化的酵母(如酵母属,毕赤酵母属);用含有编码抑制剂肽的序列的重组病毒表达载体(比如,杆状病毒)感染的昆虫细胞体系;用含有编码抑制剂肽的核苷酸序列的重组病毒表达载体(比如,花椰菜花叶病毒,CaMV;烟草花叶病毒,TMV)感染的或用含有编码抑制剂肽的核苷酸序列的重组质粒表达载体(比如,Ti质粒)转化的植物细胞体系;具有含有从哺乳动物细胞的基因组衍生的启动子(比如,金属硫蛋白启动子)或从哺乳动物病毒衍生的启动子(比如,腺病毒晚期启动子;牛痘病毒7.5K启动子)的重组表达构建体的哺乳动物细胞体系(比如,COS、CHO、BHK、293、3T3);或无细胞表达体系,所述体系可以包括细胞溶解产物或其片段以及编码所述抑制剂肽的核酸。

[0574] 在细菌体系中,依据被制备的肽的意欲的用途可以方便地选择大量表达载体例如,当大量的这种肽被制备用于药物组合物的生产或用于生产针对所述肽的抗体,比如,指导方便纯化的融合蛋白产物高水平表达的载体是希望的。这种载体包括但不限于大肠杆菌表达载体pUR278(Ruther等,EMBO J.,2:1791(1983),其中所述抑制剂肽编码序列可以单独地连接进载体的具有lacZ编码区的框因此产生融合蛋白;pIN载体(Inouye&Inouye, Nucleic Acids Res.,13:3101-3109(1985);Van Heeke&Schuster,J.Biol.Chem.,264:5503-5509(1989))等等。pGEX载体也可以用于表达如具有谷胱甘肽S转移酶(GST)的融合蛋白的外源多肽。总之,这种融合蛋白是可溶的并且可以通过吸附到谷胱甘肽琼脂糖小球接着在无谷胱甘肽存在下洗脱而从裂解的细胞中纯化。所述PGEX载体被设计为包括凝血酶或Xa因子蛋白酶切割位点因此克隆的靶基因产物可以从GST部分释放。

[0575] 在昆虫体系中,苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒(Autographa californica nuclear polyhedrosis virus)(AcNPV)被用作载体来表达外源基因。该病毒生长在草地贪夜蛾(Spodoptera frugiperda)细胞中。所述肽编码序列可以单独地被克隆进病毒的非必需区域(比如多角体蛋白基因)并置于AcNPV启动子(比如多角体蛋白启动子)的控制下。肽编码序列的成功插入会引起多角体蛋白基因的失活和非封闭重组病毒(即,缺乏由多角体蛋白基因编码的蛋白性质的外壳的病毒)的产生。这些重组病毒然后用来感染其中表达插入基因的草地贪夜蛾细胞。(比如,参见Smith等,J.Virol.46:584(1983)和Smith,美国专利号4,215,051)。

[0576] 在哺乳动物宿主细胞中,可以利用大量病毒基的表达体系。在腺病毒被用作表达载体的情况下,感兴趣的核苷酸序列可以被连接至腺病毒转录/翻译控制复合体,比如,晚期启动子和三重前导序列。这种嵌合基因然后可以通过体外或体内重组插入到腺病毒基因组。在病毒基因组的非必需区域(比如,区域E1或E3)的插入会引在感染的宿主中起活的并且能表达所述肽的重组病毒。(比如,参见Logan&Shenk,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 81:3655-3659(1984))。对于插入的编码肽的核苷酸序列的有效翻译也可以需要特定的起始信号。这些信号包括ATG起始密码子和邻近序列。

[0577] 在无细胞体系中,提供细胞提取物或其片段用于在体外将核酸翻译为多肽。无细胞体系可以包括(比如)大肠杆菌提取物、酵母提取物。所述提取物可以为裂解产物。所述提

取物可以被纯化(比如)以富集核糖体和/或去除不希望的材料(比如碎片或宿主基因组DNA)。在无细胞体系中编码免疫调节肽抑制剂的核酸可以包括质粒DNA、线性DNA或RNA。

[0578] 在一些实施方式中,免疫调节肽抑制剂在表达之后被分离或纯化。分离或纯化可以包括亲和纯化。在一些实施方式中,表达系统的肽产物包括亲和和标签,比如被可裂解的连接体分离的GST,比如凝血酶或Xa因子蛋白酶裂解位点。在亲和纯化后,亲和和标签可以被裂解,产生不具有亲和和标签或裂解位点的基本纯净的肽。在一些实施方式中,纯化引起按重量计至少为或等于约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、98.5、99、99.5、99.9、99.99或99.999%的肽的组合物。以下的部分提供关于可以与本文描述的实施方式使用的药学上可接受的载体和稀释剂的更多信息。

[0579] D-氨基酸和非天然氨基酸

[0580] 一些实施方式包括包含一种或多种免疫调节肽抑制剂的组合物,由一种或多种免疫调节肽抑制剂组成的组合物或基本由一种或多种免疫调节肽抑制剂组成的组合物,所述免疫调节肽抑制剂包括至少一个D-氨基酸。除了甘氨酸外,氨基酸的手性碳可以作为D-或L-异构体存在。通常,氨基酸以L-构型被核糖体合成。然而,包括D-氨基酸或D-和L-氨基酸的组合物可以具有活性,比如,作为配体或抑制剂。例如,包括至少一个D-氨基酸的肽可以结合到P3028序列/结构并抑制P3028序列/结构结合LFA-1受体和/或IL-2受体的能力。

[0581] 相应地,一些实施方式包括包含至少一个非天然氨基酸的免疫调节肽抑制剂。非天然氨基酸包括具有除了由标准遗传密码编码的20种氨基酸的R基之外的R基的氨基酸。非天然氨基酸可以以L-或D-构型存在。因此,一些实施方式包括具有-D构型和/或L-构型的非天然氨基酸的肽。示例性的非天然氨基酸描述于美国专利号8,153,758、7,888,533、6,344,483,每一篇的全文通过引用的方式明白并入本文。一些实施方式涉及包含本文描述的一种或多种免疫调节肽抑制剂的组合物,由本文描述的一种或多种免疫调节肽抑制剂组成的组合物或基本由本文描述的一种或多种免疫调节肽抑制剂组成的组合物(在此描述的免疫调节肽抑制剂比如,P3028序列/结构的免疫调节肽抑制剂,如由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589提供的一种或多种免疫调节肽抑制剂或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合),其中所述免疫调节肽抑制剂包含至少一个D氨基酸。相似地,一些实施方式涉及包含P3028序列/结构的免疫调节肽抑制剂的组合物,其中所述免疫调节肽抑制剂(比如,由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589提供的任意一种或多种免疫调节肽抑制剂或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合)包含至少一个非天然氨基酸。进一步的实施方式包括包含免疫调节肽抑制剂(比如,由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589提供的任意一种或多种免疫调节肽抑制剂或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合)的组合物,其中所述免疫调节肽抑制剂的每个非甘氨酸氨基酸为D-氨基酸。

[0582] IL-2受体(CD25)的晶体结构已经被解析,并且P3028结合IL-2受体的IL-2结合位点的计算机建模已经实施(参见图19)。此外,IL-2的配体结合域的晶体结构是已知的(参见Qu,A和Leahy,DJ,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 1995,92:10277-10281,其全部内容通过引用的方式明确并入本文)。此外,P3028和至少一个免疫调节肽抑制剂之间的有利的相互作用可以促进其它的氨基酸残基、D-氨基酸残基和/或非天然氨基酸残基的选择以保持有利的相互作用。

[0583] 在一些实施方式中,至少这些免疫调节肽抑制剂中的一些包括采用合理设计选择的D氨基酸位置或P3028序列/结构抑制剂。如在美国专利号7,957,912中表明的,肽的合理设计可以起始于蛋白骨架结构并设计氨基酸序列以调整所述蛋白的性质,同时保持它的三维折叠性质。在一些实施方式中,可以采用计算机建模操作大量的序列,使得设计蛋白结构(序列、子序列等)。合理设计的方面描述于大量的出版物中,包括,比如,Malakauskas和Mayo(1998)“Design,Structure and Stability of a Hyperthermophilic Protein Variant”Nature Struc.Biol.5:470;Dahiyat和Mayo(1997)“De Novo Protein Design: Fully Automated Sequence Selection”Science,278,82-87.DeGrado,(1997)“Proteins from Scratch”Science,278:80-81;Dahiyat,Sarisky和Mayo(1997)“De Novo Protein Design:Towards Fully Automated Sequence Selection”J.Mol.Biol.273:789-796;Dahiyat和Mayo(1997)“Probing the Role of Pachng Specificity in Protein Design”Proc.Natl.Acad.Sci.USA,94:10172-10177;Hellinga(1997)“Rational Protein Design--Combining Theory and Experiment”Proc.Natl.Acad.Sci.USA,94:10015-10017;Su和 Mayo(1997j“Coupling Backbone Flexibility and Amino Acid Sequence Selection in Protein Design”Prot.Sci.6:1701-1707;Dahiyat,Gordon和Mayo(1997)“Automated Design of the Surface Positions of Protein Helices”Prot.Sci.,6:1333-1337;Dahiyat和Mayo(1996)“Protein Design Automation”Prot.Sci.,5:895-903。

[0584] 在一些实施方式中,针对与P3028序列/结构结合,筛选含有一个或多个D-氨基酸和/或非天然氨基酸的P3028序列/结构的免疫调节肽抑制剂的变异体的文库。在一些实施方式中,针对与P3028结合筛选所述文库(参见实施例10和12)。在一些实施方式中,针对抑制所述P3028序列/结构结合LFA-1受体筛选所述文库(参见实施例15)。

[0585] 在一些实施方式中,先导分子被用作用于指导药物设计的模板。先导肽(比如)可以包括但不限于本文(比如在实施例12中)提供的结合P3028序列/结构的一种或多种示例性免疫调节肽抑制剂(比如,由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589提供的任意一种或多种免疫调节肽抑制剂或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合)。所述先导肽可以被合成为包括至少一个D-氨基酸和/或至少一个非天然氨基酸。在一些实施方式中,如本文所描述的,然后检测第一代人工免疫调节肽抑制剂的结合活性,比如通过评价针对P3028序列/结构的结合亲和性。另外,可以检测第一代人工免疫调节肽抑制剂的免疫刺激活性,比如通过评价在具有LFA-1受体或IL-2受体的细胞中LFA-1和/或IL-2依赖的应答的刺激,所述刺激可以被P3028序列/结构抑制。一旦获得第一代人工免疫调节肽抑制剂的结合和/或免疫刺激活性,对所述先导肽做至少一种另外的修饰并且针对结合P3028序列/结构和免疫刺激活性评价这种第二代免疫调节肽抑制剂。所述另外的修饰可以

包括但不限于至少一个另外的D-氨基酸和/或非天然氨基酸的添加或取代。通过重复地进行这种筛选和修饰步骤,可以制备更多的免疫调节肽抑制剂。

[0586] 另外,本文描述的任意一种或多种免疫调节肽抑制剂(比如,由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589提供的任意一种或多种免疫调节肽抑制剂或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合)可以包含N-末端乙酰基和/或C-末端酰胺基。此外,本文描述的包含至少一个D-氨基酸和/或至少一个非天然氨基酸的任意一种或多种免疫调节肽抑制剂(比如,由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589提供的任意一种或多种免疫调节肽抑制剂或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合)可以被制备为包含N-末端乙酰基和/或C-末端酰胺基。

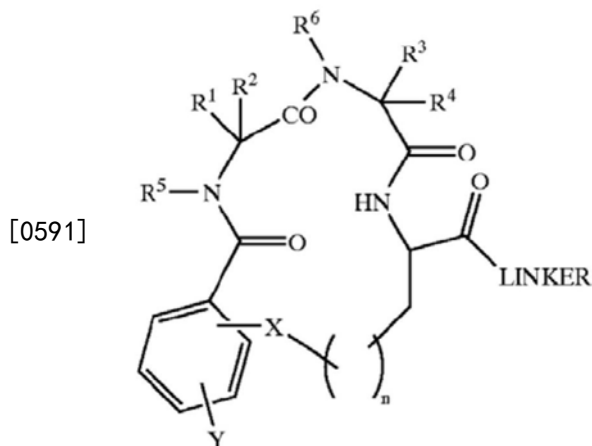
[0587] 肽模拟物

[0588] 一些实施方式包括包含肽模拟物基的免疫调节肽抑制剂的组合物,由肽模拟物基的免疫调节肽抑制剂组成的组合物或基本由肽模拟物基的免疫调节肽抑制剂组成的组合物。肽模拟物可以包括但不限于具有至少一种肽也具有的生物化学相互作用的小分子化合物。一些肽模拟物可以包括小分子骨架。一些肽模拟物可以包括共价结合至小分子骨架的自然产生的氨基酸的至少一个R基。一些肽模拟物被取代成一个已知肽序列的至少一个位置。相应地,一些实施方式包括包含本文提供的结合P3028序列/结构的一种或多种示例性免疫调节肽抑制剂的组合物,由本文提供的结合P3028序列/结构的一种或多种示例性免疫调节肽抑制剂组成的组合物或由基本由本文提供的结合P3028序列/结构的一种或多种示例性免疫调节肽抑制剂组成的组合物(其中所述免疫调节肽抑制剂比如,由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589提供的任意一种或多种免疫调节肽抑制剂或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合),其中所述免疫调节肽抑制剂包含至少一个肽模拟物取代(比如,非肽结合、小分子骨架或人工肽键)。

[0589] 一些实施方式包括包含本文提供的结合P3028序列/结构的一种或多种示例性的分离的免疫调节肽抑制剂的组合物,由本文提供的结合P3028序列/结构的一种或多种示例性的分离的免疫调节肽抑制剂组成的组合物或基本由本文提供的结合P3028序列/结构的一种或多种示例性的分离的免疫调节肽抑制剂组成的组合物(其中所述免疫调节肽抑制剂比如,由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589提供的任意一种或多种免疫调节肽抑制剂或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合),其中所述免疫调节肽抑制剂包含肽模拟物取代,所述取代包括两个或多个单体,其中每个单体包含共价结合至至少一个R基的小分子骨架。更多的实施方式包括包含本文提供的结合P3028序列/结构的一种或多种示例性的免疫调节肽抑制剂的组合物,由本文提供的结合P3028序列/结构的一种或多种示例性的免疫调节肽抑制剂组成的组合物或基本由本文提供的结合P3028序列/结构的一种或多种示例性的免疫调节肽抑制剂组成的组合物(其中所述免疫调节肽抑制剂比如,由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589提供的任意一种或多种免疫调节肽抑制剂或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种

肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合),其中所述免疫调节抑制剂包含至少一个肽模拟物小分子骨架,其中每个骨架分子包括芳基(比如苯、吡咯、咪唑、噻吩、咪唑、噁唑、噻唑、三唑、吡唑、吡啶、吡嗪、哒嗪和嘧啶等等)、环烷或杂环烷、环烯或杂环烯中的一种,或两种或多种所列分子的组合。每个R基可以为自然产生的氨基酸的R基或可选地可以为合成的分子。每个R基可以不同,但是两个或多个R基可以相同。一些肽模拟物包括(比如)结合P3028的第一位的第一单体和结合P3028的第二位的第二单体,其中所述第一和第二单体是共价结合的(参见,比如,Chen等的方法,ACS Chemical Biology 2009;4(9):769-81,其全部内容通过引用的方式明确并入本文)。包含在结合本文提供的P3028序列/结构的一种或多种示例性免疫调节肽抑制剂(比如,由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589提供的任意一种或多种免疫调节肽抑制剂或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合)的肽模拟物骨架可以包括式(IV)的 β -旋转肽模拟的环状化合物的衍生物,如由美国专利号6,881,719教导的,其全部内容通过引用的方式明确并入本文;

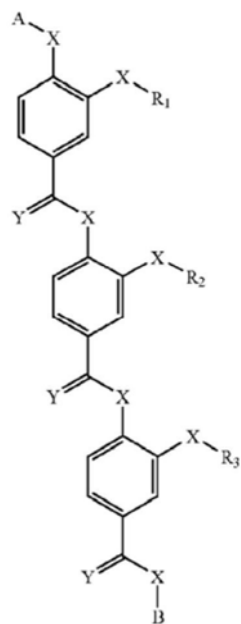
[0590] 式(IV)



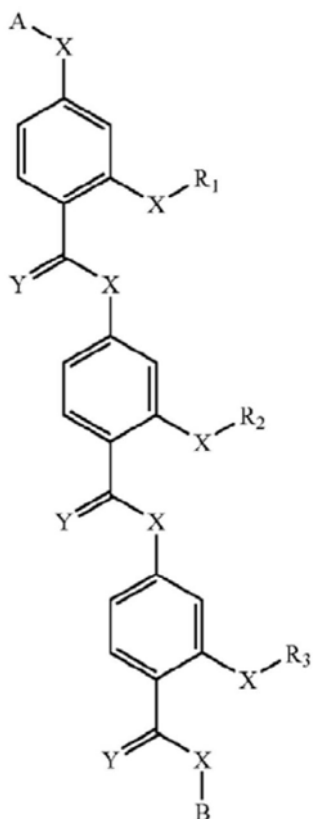
[0592] 在一些实施方式中,以上式(IV)中的R1和R3包括天然的和/或合成的氨基酸的R基。一些实施方式包括包含本文提供的结合P3028序列/结构的一种或多种示例性免疫调节肽抑制剂的组合物,由本文提供的结合P3028序列/结构的一种或多种示例性免疫调节肽抑制剂组成的组合物或基本由本文提供的结合P3028序列/结构的一种或多种示例性免疫调节肽抑制剂组成的组合物(其中所述免疫调节肽抑制剂比如,由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589提供的任意一种或多种免疫调节肽抑制剂或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合),其中所述免疫调节抑制剂包含包括两个或多个式(IV)的衍生物的多聚物的肽模拟取代。在一些实施方式中,针对它们结合P3028序列/结构的能力,选择衍生于式(IV)的单独的肽模拟单体或二聚物,然后组装成多聚物,因此产生特异结合P3028序列/结构的肽模拟多聚物。

[0593] 如在美国专利号7,816,324中描述的,式(V)或式(VI)中的肽模拟物可以被修饰以模拟结合肽的 α 螺旋基序。

[0594] 式(V)



[0595] 式(VI)



[0596]

[0597] 相应地,本发明的方面包括包含本文提供的结合P3028序列/结构的一种或多种示例性免疫调节肽抑制剂的组合物,由本文提供的结合P3028序列/结构的一种或多种示例性免疫调节肽抑制剂组成的组合物或基本由本文提供的结合P3028序列/结构的一种或多种示例性免疫调节肽抑制剂组成的组合物(其中所述免疫调节肽抑制剂比如,由SEQ ID NO: 1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589提供的任意一种或多种免疫调节肽抑制剂或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合),其中所述免疫调节抑制剂包含合并式V或

式VI的支架的肽模拟取代,其提供了一个刚性结构并如 α 螺旋那样放置取代和标定取代的方向。比如刚性三苯甲酰胺上的取代可以使得对应于在理想的 α 螺旋的i、i+4和i+7位置上发现的氨基酸侧链的被肽结合的三个官能团(R_1 - R_3)的放置。如在图19中所示,P3028被建模成结合IL-2受体的含 α -螺旋的区域。因此,一些实施方式包括包含本文提供的结合P3028的一种或多种示例性免疫调节肽抑制剂的组合物,由本文提供的结合P3028的一种或多种示例性免疫调节肽抑制剂组成的组合物或基本由本文提供的结合P3028的一种或多种示例性免疫调节肽抑制剂组成的组合物(其中所述免疫调节肽抑制剂比如,由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589提供的任意一种或多种免疫调节肽抑制剂或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合),其中所述免疫调节抑制剂包含合并式V或式VI的肽模拟物的肽模拟物取代,其中 R_1 - R_3 选自P3028的已知的结合伴侣上的位置,比如IL-2受体(CD25)(SEQ ID NO:247)的 α 亚基、LFA-1受体(CD11a-SEQ ID NO:248和CD18-SEQ ID NO:249),或SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589中的肽或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合

[0598] 实施方式也包括肽模拟物的文库。在一些实施方式中,所述肽模拟物的文库是采用合理设计方法选择和/或合成的。如在美国专利号7,816,324(其全文内容通过引用的方式明确并入本文)中公开的,基于蛋白复合体的界面的结构知识可以开发肽模拟物文库。因此,在一些实施方式中,肽模拟物化合物是基于P3028的结构,并且它与已知的结合伴侣(比如晶体结构已知的IL-2受体(参见图19)、晶体结构已知的LFA-1受体、KKL15肽(参见实施例11),和P3028序列/结构的已知抑制剂(比如,SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、或264-393或在表5.1中提供的任意一种或多种肽))的相互作用。在一些实施方式中, α 螺旋模拟物可以用于调节蛋白-蛋白或蛋白-肽相互作用。因此,模拟在P3028序列/结构和它的结合伴侣之间的界面中发现的关键原件的合成支架被考虑用于开发小分子免疫调节蛋白抑制剂。在一些实施方式中,所述肽模拟物文库的分子连接至支持体、芯片、表面或底物,比如(如在美国专利号7,153,68中,其全文内容通过引用的方式明确并入本文)微阵列。以下的部分提供更多关于适体基的免疫调节肽抑制剂的细节。

[0599] 环肽

[0600] 一些实施方式包括至少一个环肽免疫调节肽抑制剂。环肽,有时被称为“环状肽(looped peptide)”,在本领域中是已知的,并且可以被化学合成(参见,比如,美国专利号7,589,170,其全文内容通过引用的方式明确并入本文),或被体内合成(参见,比如,美国专利号7,252,952,其全文内容通过引用的方式明确并入本文)。如在美国专利号7,589,170中教导的,环化可以以下方式完成,比如通过在两个侧链官能团之间形成二硫键,在一个侧链官能团和骨架 α 氨基或羧基功能之间形成酰胺键或酯键,在两个侧链官能团之间形成酰胺键或酯键,在骨架 α 氨基和羧基功能之间形成酰胺键,或通过连接所述肽的两个或更多位置的连接体。

[0601] 肽的一部分可以是成环的,或可选地,整个肽可以是成环的,从而形成环肽。因此,在一些实施方式中,所述肽的N末端结合至所述肽的C末端,从而环化整个肽。在一些实施方式中,所述N末端通过 α 酰胺连接结合至所述C末端。在一些实施方式中,所述N末端通过非 α

酰胺连接(比如Ser(S)或Thr(T)的侧链和C末端羧基之间的键,在两个Cys(C)残基之间的二硫键,或Trp(W)和Cys(C)残基之间的硫醚,或合成的连接分子)结合至所述C末端。在一些实施方式中,所述C末端通过非 α 酰胺连接(比如Ser(S)或Thr(T)的侧链和C末端羧基之间的键,或合成的连接分子)结合至内部氨基酸。在一些实施方式中,通过非 α 酰胺连接(比如两个Cys(C)残基之间的二硫键,或Trp(W)和Cys(C)残基之间的硫醚),所述N末端或所述C末端结合至一个内部氨基酸,或两个内部氨基酸彼此结合。

[0602] 在一些实施方式中,环肽免疫调节肽抑制剂包括单个环多肽结构。在一些实施方式中,环肽免疫调节肽抑制剂包括两个或更多个环多肽结构,比如2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个环多肽结构。每个环多肽结构可以包括至少两个氨基酸残基,比如,约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、26、27、28、29、30、35或40个氨基酸残基或由这些数值中的任意两个定义的范围。

[0603] 在一些实施方式中,针对结合白蛋白衍生的免疫调节肽(比如,表1-4或5.4(SEQ ID NO:183-184、188-246)中的肽)的环肽筛选环肽文库。环肽文库的筛选描述于PCT公布文本W0 95/09344中,其全文内容通过引用的方式并入本文。在一些实施方式中,环肽文库是合成的。在一些实施方式中,文库中的每个环肽具有相同的长度,比如5mer、6mer、7mer、8mer、9mer、10mer、11mer或12mer。在一些实施方式中,所述文库包括两种或更多种长度的环肽。如在实施例12中所示,合成6mer的文库并筛选文库中结合P3038的肽。进行被鉴定为展现适当的结合P3028的先导环肽(SEQ ID NO:265)的位置扫描(即,在每个位置上的单氨基酸取代)以识别结合P3028的另外的环6-mer。观察到以最高亲和性结合P3028的两个6-mer(SEQ ID NO:266-267)具有与结合P3028的线性肽的同源性(参见图32)。因此,本文考虑结合白蛋白衍生的免疫调节肽的线性肽的方面可以合并至环肽,因此制备结合白蛋白衍生的免疫调节肽的环肽。

[0604] 在一些实施方式中,白蛋白衍生的免疫调节肽或结构的抑制剂或其部分是成环的。在一些实施方式中,SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589的任意一种肽或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合,或其部分被修饰以促进环化。在一些实施方式中,含可以用于环状结构的侧链的氨基残基(比如半胱氨酸)可以添加至SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589的任意一种肽或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合的N末端、C末端和/或内部位置。

[0605] 适体

[0606] 适体为特异结合靶分子的小分子。适体可以包括寡核苷酸适体,比如DNA、RNA或合成的寡核苷酸。在一些实施方式中,寡核苷酸适体包括具有合成骨架(比如吗啉)的寡核苷酸。适体也可以包括肽适体。本发明的方面包括包含适体的组合物,由适体组成的组合物或基本由适体组成的组合物(所述适体比如,核酸基的或肽基的),其中所述适体对应或模拟本文提供的结合P3028序列/结构的一种或多种示例性免疫调节肽抑制剂(比如,由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589提供的任意一种或多种免疫调节肽抑制剂或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合)。本发明的一些实施方式包括特异结合

P3028序列/结构的适体。

[0607] 一些实施方式包括寡核苷酸适体的文库。考虑本文描述的教导,可以容易地开发结合P3028序列/结构的寡核苷酸适体。如在美国专利号7,745,607(其全文内容通过引用的方式并入本文)中描述的,特异结合靶(比如P3028序列/结构)的适体可以通过将反义寡核苷酸与具有互补反义结合域的库寡核苷酸相互作用以形成双链联体(duplex)而被识别,所述库寡核苷酸进一步具有随机核苷酸域;ii)将所述联体结构固定到固体支持体;iii)在P3028序列/结构的存在下孵育所述联体结构;和iv)收集从所述联体结构分离并结合P3028序列/结构的库寡核苷酸。或者,可以提供寡核苷酸文库,其中所述库寡核苷酸与生物素化的反义寡核苷酸杂交以形成联体分子。将所述联体分子固定到表面上,比如抗生物素蛋白包被的小珠。提供靶(比如P3028)并使其与寡核苷酸接触。收集并放大已经结合至靶的寡核苷酸。可以使用相似的筛选方法以识别结合P3028序列/结构的肽基适体。结合P3028序列/结构的肽基适体可以模拟本文描述的免疫调节肽抑制剂(比如,SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589中的任意一种或多种或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合),以及其变异体。以下的部分讨论可以合并至本文描述的免疫调节肽抑制剂的许多修饰。

[0608] 修饰

[0609] 本文描述的实施方式也包括包含本文提供的结合P3028序列/结构的一种或多种示例性的分离的免疫调节肽抑制剂的组合物,由本文提供的结合P3028序列/结构的一种或多种示例性的分离的免疫调节肽抑制剂组成的组合物或基本由本文提供的结合P3028序列/结构的一种或多种示例性的分离的免疫调节肽抑制剂组成的组合物(其中所述免疫调节肽抑制剂比如,由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589提供的任意一种或多种免疫调节肽抑制剂或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合),其中所述免疫调节肽抑制剂包含至少一种修饰(比如,糖基化、亚硝基化、细胞毒素、可检测的部分或放射性核)。糖基化可以包括添加聚乙二醇(PEG)。PEG的添加可以增加本文描述的一种或多种免疫调节肽抑制剂在水溶液中的溶解度,保护所述分子免受来自宿主的免疫系统的攻击,和/或增加所述分子在所述宿主中的半衰期。

[0610] 在一些实施方式中,免疫调节肽抑制剂直接结合细胞毒素。在一些实施方式中,由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589中的一种或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合组成的肽,基本由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589中的一种或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合组成的肽,或含有SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589中的一种或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合的肽共价结合至细胞毒素。在一些实施方式中,所述免疫调节肽抑制剂通过连接体连接至毒素。在一些实施方式中,由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589中的一种或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种

肽或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合组成的肽,基本由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589中的一种或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合组成的肽,或含有SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589中的一种或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合的肽通过连接体连接至细胞毒素。可以采用广泛阵列的连接体技术。连接体可以是可裂解的或不可裂解的。已知在许多情况下,当细胞毒性分子从在靶位点上未修饰形式的结合体(比如免疫调节肽抑制剂)中释放时,可以观察到药物的全部细胞毒性潜力。一种已经被用于制备细胞毒性结合体的可裂解的连接体是基于顺式-乌头酸的酸不稳定连接体,所述顺式-乌头酸利用不同细胞内间隔(比如在受体介导的内吞作用期间遇到的内含体和溶酶体)的酸性环境。Shen和Ryser介绍这种方法用于制备道诺霉素和大分子载体的结合体

(Biochem.Biophys.Res.Comm.102:1048-1054(1981))。Yang和Reisfeld使用相同的技术将道诺霉素与抗黑色素瘤抗体结合(J.Natl.Canc.Inst.80:1154-1159(1988))。近来,Dillman等也使用酸不稳定的连接体以相似的方式来制备道诺霉素和抗T细胞抗体的结合体(Cancer Res.48:6097-6102(1988))。由Trouet等开发的一种可替代的方法涉及通过肽空间臂(spacer arm)将道诺霉素连接到靶分子(Proc.Natl.Acad.Sci.79:626-629(1982))。这是在游离药物可以通过溶酶体肽酶作用从这种结合体释放的前提下完成的。本领域技术人员会理解所采用的用于将细胞毒素与抗体结合的可裂解的连接体方法也可以用于将肽(比如SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589中的一种或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合)与细胞毒素结合。

[0611] 可以合并进结合本文提供的P3028序列/结构的一种或多种示例性免疫调节肽抑制剂(比如,由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589提供的任意一种或多种免疫调节肽抑制剂或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合)的示例性细胞毒素包括:放射性毒素、一甲基奥瑞他汀-E、一甲基奥瑞他汀-F、aplidin、阿扎立平、阿纳托唑、阿扎胞苷、博来霉素、硼替佐米、藜芦抑制素1、白消安、刺孢霉素、喜树碱、10-羟基喜树碱、亚硝(基)脲氮芥、西乐葆、苯丁酸氮芥、顺铂、伊立替康(CPT-11)、SN-38、卡波铂、克拉屈滨、环磷酰胺、阿糖胞苷、氮烯唑胺、多西他奇、更生霉素、道诺霉素葡萄糖苷酸、道诺霉素、地塞米松、己烯雌酚、阿霉素、阿霉素葡萄糖苷酸、表柔比星葡萄糖苷酸、乙炔基雌二醇、雌氮芥、依托泊苷、依托泊苷葡萄糖苷酸、依托泊苷磷酸盐、氟尿苷(FUdR)、3',5'-O-二油酰-FudR(FUdR-dO)、氟达拉滨、氟他胺、氟尿嘧啶、氟羟甲基睾丸素、吉西他滨、羟孕酮己酸盐、羟基脲、去甲基柔红霉素、异环磷酰胺、左旋天冬酰胺、甲酰四氢叶酸、环己亚硝脲、二氯甲基二乙胺、醋酸甲羟孕酮、醋酸甲地孕酮、美法仑、巯嘌呤、6-巯基嘌呤、氨甲蝶呤、米托蒽醌、光神霉素、丝裂霉素、米托坦、丁酸苯酯、泼尼松、甲基苄肼、紫杉醇、喷司他丁、PSI-341、皂草素、甲基环己亚硝脲链脲菌素、三苯氧胺、紫杉烷类、睾酮丙酸盐、沙利度胺、硫鸟嘌呤、噻替派、替尼泊苷、托泊替康、尿嘧啶氮芥、硼替佐米、长春碱、长春瑞滨、长春新碱、蓖麻毒素(比如蓖麻毒素A链)、红豆因、核糖核酸酶、onconase、rapLR1、DNase I、金黄色葡萄球菌肠毒素A、美

洲商陆抗病毒蛋白、白树毒素、白喉毒素、假单胞菌外毒素和假单胞菌内毒素。

[0612] 可以合并至结合本文提供的P3028序列/结构的一种或多种示例性免疫调节肽抑制剂(比如,由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589提供的任意一种或多种免疫调节肽抑制剂或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合)或特异结合P3028的抗体的示例性可检测部分(其也可以本文称为“可检测标记”)包括:放射性标记、荧光团、生物素、荧光蛋白、胶体金和/或辅酶。放射性标记可以包括³H和¹⁴C。荧光团可以包括Alexa-Fluor染料、Pacific Blue、Pacific Orange、Cascade Blue、Cascade Yellow和R-藻红蛋白、荧光素(FITC)、罗丹明、Texas red、BODIPY家族染料、Cy2、Cy3、C5和Cy7。荧光蛋白可以包括蓝色、青色、绿色、黄色和红色荧光蛋白。在一些实施方式中,荧光标记包括荧光共振能量转移(FRET)对。比如,单个的肽可以被连接至FRET供体和FRET受体,其被构建为因此当所述肽为第一构型(比如,结合到靶)而不是当所述肽为第二构型(比如,未结合到靶)时,FRET受体基本在FRET供体的FRET半径内。例如,第一肽可以连接至FRET受体,并且第二肽可以连接至FRET供体,这样当所述第一肽和第二肽每个都结合靶(比如靶细胞)而不是当至少一个肽未结合所述靶时,FRET受体基本在FRET供体的FRET半径内。在一些实施方式中,荧光标记包括荧光团和淬灭剂。所述荧光团和淬灭剂每个都可以连接至所述肽因此当所述肽为第一构型(比如,结合到靶)而不是当所述肽为第二构型(比如,未结合到靶)时,所述淬灭剂吸收由荧光团发出的电磁辐射。辅酶可以包括维生素,比如生物素。

[0613] 可以合并至结合本文提供的P3028序列/结构的一种或多种示例性免疫调节肽抑制剂(比如,由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589提供的任意一种或多种免疫调节肽抑制剂或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合)或特异结合P3028的抗体的示例性放射性核包括:¹¹¹I、¹³¹I、⁹⁰Y、⁶⁷Cu、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、²¹²Bi或²¹¹At。例如,优选的放射性标记的免疫调节肽抑制剂能传送多于6000rad到肿瘤,并且具有足够的亲和性,因此患者的骨髓不暴露于多于300rad。接下来的部分以更多的细节描述一些实施方式,其包括了含本文描述的免疫调节肽抑制剂的蛋白复合物。

[0614] 在一些实施方式中,提供了诊断试剂盒。所述试剂盒可以包括由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589提供的任意一种或多种免疫调节肽抑制剂或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合或特异结合SEQ ID NO:183-185或188-246(比如,P3028(SEQ ID NO:185))中的任意肽的抗体。所述试剂盒也可以包括如本文描述的可检测部分。在一些实施方式中,所述试剂盒的所述肽抑制剂或抗体是生物素化的。

[0615] 载体分子

[0616] 一些实施方式包括载体分子。载体分子可以(比如)增加稳定性或半衰期,增加溶解度,增加吸收,将所述肽靶定到合适的细胞、器官或组织,和/或最小化对抗治疗性分子的免疫应答。

[0617] 示例性的载体分子包括人血清白蛋白;具有多个酸部分的多聚物(参见PCT公布号W001/93911);含阴离子基团的两性阻碍共聚物,当用作针对阳离子治疗性分子的药物载体时,其可以提高该分子的稳定性(参见PCT公布号W0 03/00778);用于改进碱性治疗性分子

的性质的环糊精和酸(欧洲专利号0 681 481);作为针对疏水治疗性分子的载体的脂类(参见PCT公布号W0 04/064731);免疫球蛋白类;和作为用于改进半衰期和最小化免疫应答的载体的Fc片段(参见美国专利号7,736,653)。在一些实施方式中,免疫调节肽抑制剂(比如,包含SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽、或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合的肽,由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽、或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合组成的肽,或基本由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合组成的肽)包括或结合至载体。在一些实施方式中,免疫调节肽抑制剂(比如,包含SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合的肽,由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合组成的肽,或基本由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合组成的肽)包括两个或更多个载体。

[0618] 在一些实施方式中,免疫调节肽抑制剂与可降解颗粒一起提供。不被任何理论限制,考虑可降解颗粒可以允许免疫调节颗粒为可溶的并发挥它在系统循环中控制的时间周期中的活性。相应地,在一些实施方式中,提供含免疫调节肽抑制剂(比如,包含SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合的肽,由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合组成的肽,或基本由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合组成的肽)的可降解颗粒。在一些实施方式中,含所述免疫调节肽抑制剂的所述可降解颗粒被施用与需要的主体。可选地,所述可降解颗粒可以全身施用。可选地,所述可降解颗粒可以局部施用,比如在免疫抑制位点或其附近(比如,在免疫抑制位点的10cm、9cm、8cm、7cm、6cm、5cm、4cm、3cm、2cm、1cm或0.5cm内或由这些数值中的任意两个定义的范围)。在一些实施方式中,所述主体患有由表1-4中的任意一种免疫调节肽序列引起的LFA-1受体阻碍。可选地,所述可降解颗粒可以与一种或多种另外的治疗性试剂共同施用。例如,如果免疫调节肽抑制剂对于去阻碍LFA-1受体(比如从LFA-1受体转移结合的免疫调节肽或3028结构)是有用的,刺激免疫应答(比如通过LFA-1受体)的治疗性试剂可以用于与免疫调节肽抑制剂和可降解颗粒共同施用。在一些实施方式中,所述另外的治疗性试剂是与所述免疫调节肽抑制剂同时施用的,比如作为所述可降解颗粒的部分。在一些实施方式中,所述另外的治疗性试剂是在所述免疫

调节肽抑制剂之后施用的,比如至少约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24小时后,或约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30或31天后或由前述时间中的任意两个定义的范围。根据本文的实施方式可以使用多种合适的可降解颗粒。在一些实施方式中,所述可降解颗粒包含球体,比如微球体。在一些实施方式中,所述可降解颗粒包含纳米颗粒。在一些实施方式中,所述可降解颗粒包含淀粉或糖。在一些实施方式中,所述可降解颗粒包含有机多聚物或有机多聚物的组合,比如,聚酯类、聚磷酸酯类、聚磷酸酯类、聚原酸酯类、聚酞类、聚碳酸酯类、聚酰胺类、聚乳酸、poly-glycoloyic acid,或两种或多种多聚物(比如两种或多种所列的多聚物)的组合。

[0619] 蛋白复合体

[0620] 一些实施方式包括包含分离的蛋白复合体的组合物,所述分离的蛋白复合体包含免疫调节肽抑制剂。所述分离的蛋白复合体可以包括免疫调节肽,比如P3028 (SEQ ID NO: 185) 或表1-4 (SEQ ID NO: 183-184和188-246) 中描述的任意一种或多种免疫调节肽和至少一种免疫调节肽抑制剂(比如,表5.1中提供的任意一种或多种肽)。在一些实施方式中,所述分离的蛋白复合体包括肽3028 (SEQ ID NO: 185) 和包括SEQ ID NO: 1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96或98中的序列或表5.1中提供的任意一种或多种肽的抑制剂肽。实施例10、11和12以及表5.1提供了结合P3028序列/结构的包括肽SEQ ID NO: 1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589中的每一种或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合的示例性蛋白复合体。所述蛋白复合体可以包括P3028或其变异体的氨基酸残基与抑制剂肽或肽模拟物的氨基酸之间的至少一种有利的静电相互作用。所述蛋白复合体可以包括P3028或其变异体的氨基酸残基与抑制剂肽或肽模拟物的氨基酸之间的至少一种有利的疏水相互作用(参见实施例11)。在一些实施方式中,所述蛋白复合体包括具有与P3028至少约80%同一性的P3028的变异体,比如大于或等于约与P3028的80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性。所述蛋白复合体可以进一步包括至少一种结合癌细胞的蛋白,比如表面蛋白。因此,在一些实施方式中,所述分离的蛋白复合体可以定位于癌细胞的表面。

[0621] 相应地,一些实施方式包括制备包含一种或多种本文描述的免疫调节肽抑制剂的蛋白复合体的方法。所述方法可以(比如)通过将本文描述的免疫调节肽抑制剂与P3028或其变异体或片段结合而实践。所述方法可以可选地包括检测复合体的存在,其可以如本文描述的通过rampo研究完成。

[0622] 一些实施方式包括将肽与包含P3028序列/结构 (SEQ ID NO: 185) 的分子结合的方法,所述肽含有SEQ ID NO: 1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合,由SEQ ID NO: 1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合组成,或基本由SEQ ID NO: 1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合组成。

一些实施方式包括将肽与包含P3028序列/结构(SEQ ID NO:185)的变异体的分子结合的方法,所述肽含有SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589中的至少一种或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合,由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589中的至少一种或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合组成,或基本由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589中的至少一种或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合组成。一些实施方式包括将肽与包含P3028序列/结构或P3028(SEQ ID NO:185)的片段的蛋白结合的方法,所述肽包括SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589中的至少一种或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合,其中所述P3028的片段具有至少约10个氨基酸的长度,更优选11个氨基酸、更优选12个氨基酸、更优选13个氨基酸、更优选14个氨基酸、更优选15个氨基酸、更优选16个氨基酸或更优选17个氨基酸。在一些实施方式中,所述结合包括所述蛋白复合体成员之间的有利的亲水和/或静电相互作用。在一些实施方式中,所述结合包括所述蛋白复合体成员之间的共价键,比如通过交联。交联可以是化学和/或通过电磁辐射(比如紫外光谱中的电磁辐射)诱发的。

[0623] 在一些实施方式中,所述肽包含SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、583-586或589中的至少一种或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合。示例性支持体包括钉、珠、表面、基质、人工细胞表面或细胞表面。例如,所述肽可以通过亲和和标签附加在支持体。在一些实施方式中,P3028或其变异体或片段被附加至支持体。在一些实施方式中,包括SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、583-586或589中的至少一种或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合的肽被附加至支持体,并且P3028或其变异体或片段溶解在溶剂中。在一些实施方式中,包括SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、583-586或589中的至少一种或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合的肽溶解在溶剂中,并且P3028或其变异体或片段被附加至支持体。在一些实施方式中,包括SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、583-586或589中的至少一种或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合的肽和P3028每个都溶解在溶剂(比如血清)中。

[0624] 在一些实施方式中,所述结合发生在有机体中,比如在细胞外基质、和/或血清或从有机体(比如人)获得的生物样品中。生物样品可以包括至少一个细胞、组织或有机体的细胞外组合物,包括提取物、纯化的提取物和/或其部分。示例性生物样品包括全血、血清、骨髓、分离的免疫细胞和肿瘤活组织检查。分离的免疫细胞可以包括白细胞和外周血单核细胞(PBMC),比如淋巴细胞、单核细胞或巨噬细胞。所述方法可以包括传送所述复合体的至少一个成员(比如包括SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、583-586或589

中的至少一种或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合的肽)到所述有机体。在一些实施方式中,所述结合发生在体外,比如在缓冲溶液或在生物样品中。所述方法可以包括添加所述复合体的至少一个成员(比如包括SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、583-586或589中的至少一种或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合的肽)到含有所述复合体的剩余成员的溶液中。或者,所述方法可以包括添加所述复合体的两个或多个成员(比如包括SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、583-586或589中的至少一种或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合和P3028或其片段或变体的肽)到溶液中。在一些实施方式中,包括SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、583-586或589中的至少一种或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合的肽被加到生物样品中。

[0625] 一些实施方式包括检测所述复合体的存在。一些实施方式包括检测结合被附加至支持体的肽上的P3028序列/结构的存在(参见实施例12),例如通过ELISA。一些实施方式包括通过FRET检测复合体的存在。例如FRET供体荧光团可以被连接至所述复合体的第一成员,并且FRET受体荧光团可以被连接至所述复合体的第二成员,这样只有当所述复合体形成时FRET转移发生。一些实施方式包括通过中止淬灭检测复合体的存在。例如所述复合体的一个成员可以被连接至荧光团和用于由所述荧光团发出的电磁辐射的淬灭剂,这样当所述复合体成员为未结合时,所述荧光团基本在所述淬灭剂的半径内,并且所述淬灭剂吸收由荧光团发出的电磁辐射(比如,淬灭剂可以被连接到N-末端并且荧光团被连接到C-末端,或淬灭剂可以被连接到C-末端并且荧光团被连接到N-末端)。复合体一旦形成,所述荧光团可以在所述淬灭剂半径之外,这样允许检测由所述荧光团发出的电磁辐射。

[0626] 一些实施方式包括通过检测复合体功能检测所述复合体的存在。例如,其中肽3028结合至LFA-1和/或IL-2受体的免疫细胞可以展示出减少的IL-2诱导的增殖、T细胞受体刺激、白细胞扩散、免疫细胞迁移和/或NK细胞细胞毒性(参见实施例2-6)。增加的IL-2诱导的增殖、T细胞受体刺激、白细胞扩散、免疫细胞迁移和/或NK细胞细胞毒性(比如相对于未处理的对照样品(其中所述复合体的至少一个成员未加入)的增加)的直接或间接检测可以检测复合体形成。例如,如在实施例13中所示,P3028序列/结构和免疫调节肽抑制剂之间复合体的形成可以增加淋巴细胞刺激。例如,如在实施例1中所示,复合体的形成可以去阻碍LFA-1受体。因此,一些实施方式包括间接检测复合体形成,例如通过检测(如与对照样品(已知没有复合体形成)相比)增加的淋巴细胞刺激、检测去阻碍的LFA-1受体、和/或检测通过去阻碍的LFA-1受体的免疫细胞刺激。

[0627] 一些实施方式包括通过检测复合体成员的定位来检测所述复合体的存在。在一些实施方式中,检测所述复合体的存在包括检测免疫调节肽抑制剂的存在,所述免疫调节肽抑制剂包括SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589中的至少一种或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合,或特异结合肿瘤细胞上的P3028序列/结构的肽模拟物。如在实施例1中所示,所述P3028序列/结构可以结合肿瘤细胞。如在实施例14中所

示,所述P3028序列/结构的抑制剂可以结合肿瘤细胞,比如通过结合P3028序列/结构。因此,在一些实施方式中,所述P3028序列/结构的抑制剂(比如,SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589中的至少一种或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合)在肿瘤细胞上的存在可以指示复合体形成。这样,复合体形成可以通过将抑制剂与肿瘤细胞的至少一种标志物共定位而检测。共定位可以被检测,例如通过免疫组织化学或流式细胞术。在一些实施方式中,所述抑制剂是被标记的,比如用荧光团或放射标记。在一些实施方式中,所述抑制剂是被检测的,例如用特异结合所述抑制剂的第一抗体。接下来的部分描述了一些核酸实施方式的更多细节,所述核酸编码免疫调节肽抑制剂。

[0628] 编码抑制剂肽的核酸

[0629] 一些实施方式包括编码免疫调节肽抑制剂的分离的核酸。本领域技术人员会理解对于给定的肽序列,编码该肽序列的核酸序列可以容易地被确定,并且由于遗传密码的简并性,多于一种核酸序列可以编码任意一种肽。也可以使用已知技术将编码肽的核酸序列合并至表达载体。表达载体可以用于在表达体系(比如宿主细胞、宿主有机体、无细胞表达体系等等)中制备肽。表达载体也可以用于在有机体(比如本文描述的需要阻碍免疫抑制的患者)中制备肽。示例性的表达载体包括质粒DNA(比如pVAX构建体)、噬菌体DNA、黏粒DNA、人工染色体(比如BAC和YAC)、逆转录病毒体系(比如慢病毒)、DNA病毒体系(比如腺病毒或牛痘病毒(比如,MVA))。对于不具有对应于翻译起始密码子的N-末端氨基酸(通常对应于ATG的Met)的肽,表达载体可以包括框内翻译起始密码子。这种氨基酸可以通过可裂解的连接体(比如被蛋白酶裂解的肽序列)从所述肽的N-末端分离。表达载体可以包括转录调节序列,比如核心启动子、转录增强子和/或绝缘子序列。这种序列可以促进转录部分(比如RNA聚合酶III)的组装以及编码肽的转录本的后续产生(比如,通过促进有利于转录的异染色质环境)。

[0630] 在一些实施方式中,表达载体编码两个或多个拷贝的肽和/或两个或多个唯一的肽。在一些实施方式中,表达载体编码两个或多个肽,并且每个肽都在唯一的转录单元(比如,启动子、转录增强子和/或转录终止子)的控制下。在一些实施方式中,编码两个或多个肽的核酸在单个转录单元的控制下。在这种实施方式中,编码单独的肽的序列可以在单独的翻译起始位点(比如内部核糖体插入位点(IRES))的控制下。在这种实施方式中,单个核酸可以编码编码两个或多个肽的蛋白或多肽,所述蛋白或多肽被至少一个蛋白酶靶位点分离。

[0631] 本领域技术人员会理解基于肽的序列可以容易地构建编码肽(比如肽抑制剂)的多聚核苷酸。编码SEQ ID NO:2-33的免疫调节肽抑制剂肽的序列的示例性多聚核苷酸提供于表5.2中。本领域技术人员会理解由于遗传密码的简并性,一种给定的多肽可以被多于一种多聚核苷酸编码。因此,本文提供,比如在表5.2中,对遗传密码的典型简并性作出说明的同义多聚核苷酸以及示例性多聚核苷酸。表5.2的多聚核苷酸是举例说明,包括SEQ ID NO:102-165。本领域技术人员会进一步理解另外的多聚核苷酸可以编码肽抑制剂,比如本文公开的肽抑制剂(比如,编码表5.1中提供的任意一种或多种肽的多聚核苷酸是具体化的)。例如,多聚核苷酸可以被转录后修饰,例如通过选择性剪接和/或通过酶(比如可以修饰多聚核苷酸的碱基的RNA特异性腺苷脱氨酶(ADAR))。

[0632] 表5.2:编码P3028序列/结构的肽抑制剂的多聚核苷酸

[0633]	<table><tr><th>Seq ID</th><th>描述</th></tr></table>	Seq ID	描述
Seq ID	描述		

[0634]

NO	
102	编码 P28R 的同义多聚核苷酸 (SEQ ID NO: 2)
103	编码 P28R 的示例性 NT (SEQ ID NO: 2)
104	编码 SEQ ID NO: 3 的同义多聚核苷酸
105	编码 SEQ ID NO: 3 的示例性 NT
106	编码 SEQ ID NO: 4 的同义多聚核苷酸
107	编码 SEQ ID NO: 4 的示例性 NT
108	编码 SEQ ID NO: 5 的同义多聚核苷酸
109	编码 SEQ ID NO: 5 的示例性 NT
110	编码 SEQ ID NO: 6 的同义多聚核苷酸
111	编码 SEQ ID NO: 6 的示例性 NT
112	编码 SEQ ID NO: 7 的同义多聚核苷酸
113	编码 SEQ ID NO: 7 的示例性 NT
114	编码 SEQ ID NO: 8 的同义多聚核苷酸
115	编码 SEQ ID NO: 8 的示例性 NT
116	编码 SEQ ID NO: 9 的同义多聚核苷酸
117	编码 SEQ ID NO: 9 的示例性 NT
118	编码 SEQ ID NO: 10 的同义多聚核苷酸
119	编码 SEQ ID NO: 10 的示例性 NT
120	编码 SEQ ID NO: 11 的同义多聚核苷酸
121	编码 SEQ ID NO: 11 的示例性 NT
122	编码 SEQ ID NO: 12 的同义多聚核苷酸
123	编码 SEQ ID NO: 12 的示例性 NT
124	编码 SEQ ID NO: 13 的同义多聚核苷酸
125	编码 SEQ ID NO: 13 的示例性 NT
126	编码 SEQ ID NO: 14 的同义多聚核苷酸
127	编码 SEQ ID NO: 14 的示例性 NT
128	编码 SEQ ID NO: 15 的同义多聚核苷酸
129	编码 SEQ ID NO: 15 的示例性 NT
130	编码 SEQ ID NO: 16 的同义多聚核苷酸
131	编码 SEQ ID NO: 16 的示例性 NT
132	编码 SEQ ID NO: 17 的同义多聚核苷酸
133	编码 SEQ ID NO: 17 的示例性 NT
134	编码 SEQ ID NO: 18 的同义多聚核苷酸
135	编码 SEQ ID NO: 18 的示例性 NT
136	编码 SEQ ID NO: 19 的同义多聚核苷酸
137	编码 SEQ ID NO: 19 的示例性 NT

[0635]

138	编码 SEQ ID NO: 20 的同义多聚核苷酸
139	编码 SEQ ID NO: 20 的示例性 NT
140	编码 SEQ ID NO: 21 的同义多聚核苷酸
141	编码 SEQ ID NO: 21 的示例性 NT
142	编码 SEQ ID NO: 22 的同义多聚核苷酸
143	编码 SEQ ID NO: 22 的示例性 NT
144	编码 SEQ ID NO: 23 的同义多聚核苷酸
145	编码 SEQ ID NO: 23 的示例性 NT
146	编码 SEQ ID NO: 24 的同义多聚核苷酸
147	编码 SEQ ID NO: 24 的示例性 NT
148	编码 SEQ ID NO: 25 的同义多聚核苷酸
149	编码 SEQ ID NO: 25 的示例性 NT
150	编码 SEQ ID NO: 26 的同义多聚核苷酸
151	编码 SEQ ID NO: 26 的示例性 NT
152	编码 SEQ ID NO: 27 的同义多聚核苷酸
153	编码 SEQ ID NO: 27 的示例性 NT
154	编码 SEQ ID NO: 28 的同义多聚核苷酸
155	编码 SEQ ID NO: 28 的示例性 NT
156	编码 SEQ ID NO: 29 的同义多聚核苷酸
157	编码 SEQ ID NO: 29 的示例性 NT
158	编码 SEQ ID NO: 30 的同义多聚核苷酸
159	编码 SEQ ID NO: 30 的示例性 NT
160	编码 SEQ ID NO: 31 的同义多聚核苷酸
161	编码 SEQ ID NO: 31 的示例性 NT
162	编码 SEQ ID NO: 32 的同义多聚核苷酸
163	编码 SEQ ID NO: 32 的示例性 NT
164	编码 SEQ ID NO: 33 的同义多聚核苷酸
165	编码 SEQ ID NO: 33 的示例性 NT

[0636] 相应地,本文描述的实施方式也包括包含编码结合本文提供的P3028序列/结构的一种或多种示例性免疫调节肽抑制剂的分离的核酸或多聚核苷酸的组合物,由编码结合本文提供的P3028序列/结构的一种或多种示例性免疫调节肽抑制剂的分离的核酸或多聚核苷酸组成的组合物,或基本由编码结合本文提供的P3028序列/结构的一种或多种示例性免疫调节肽抑制剂的分离的核酸或多聚核苷酸组成的组合物(所述免疫调节肽抑制剂比如,由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96或98提供的任意一种或多种免疫调节肽抑制剂或在表5.1中提供的任意一种或多种肽)。包含前述核酸或多聚核苷酸的载体、构件和质粒也是具体化的。接下来的部分讨论可以包括在本文描述的一种或多种组合物中的另外的组分。

[0637] 药物组合物

[0638] 在一些实施方式中,提供包含肽抑制剂的药物组合物,基本由肽抑制剂组成的药物组合物或由肽抑制剂组成的药物组合物(所述肽抑制剂比如,表5.1中提供的任意一种或多种肽)。所述药物组合物可以包括如本文描述的肽抑制剂和如本文描述的药学上可接受的成分。示例性的药学上可接受的成分包括稀释剂、载体、赋形剂和/或缓冲液。在一些实施方式中,所述肽抑制剂包含本文描述的肽抑制剂,由本文描述的肽抑制剂组成或基本由本文描述的肽抑制剂组成。例如,组合物可以包含肽抑制剂、由肽抑制剂组成或基本由肽抑制剂组成,所述肽抑制剂含式(I)的肽、由式(I)的肽组成或基本由式(I)的肽组成,所述式(I)为 $XX_1VKX_2X_3X_4$ (SEQ ID NO:166)。在一些实施方式中, X 为可选序列,并且可以为KKLDT(SEQ ID NO:167)、RKLD(SEQ ID NO:168)、KKGDT(SEQ ID NO:169)、KKEDT(SEQ ID NO:170)、KKLDQ(SEQ ID NO:171)、KKGDQ(SEQ ID NO:252)、KKEDQ(SEQ ID NO:253)、RKLDQ(SEQ ID NO:254)、RKGDQ(SEQ ID NO:255)、RKEDQ(SEQ ID NO:256)、RKGT(SEQ ID NO:257)、RKEDT(SEQ ID NO:258)、KLDT(SEQ ID NO:172)、KGD(SEQ ID NO:259)、KEDT(SEQ ID NO:260)、KLDQ(SEQ ID NO:261)、KGDQ(SEQ ID NO:262)、KEDQ(SEQ ID NO:263)、LDT、LDQ、GDT、GDQ、EDT、EDQ、DT、DQ、T、Q,或缺失。在一些实施方式中, X_1 为FF、FM、FS、FV、FT、FL、AF、AM、AS、AV、AT、AL、VF、VM、VS、VV、VT或VL其中之一。在一些实施方式中, X_2 为LS、LQ、LM、LT、LH、VS、VQ、VM、VT或VH其中之一。在一些实施方式中, X_3 为LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR其中之一。在一些实施方式中, X_4 为可选序列,并且可以为ER、E,或缺失。在一些实施方式中,如果 X 缺失,则 X_1 为FF,并且 X_2 为LS。在一些实施方式中,包含式(I)的所述分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。

[0639] 另外,组合物可以包含肽抑制剂、由肽抑制剂组成或基本由肽抑制剂组成,所述肽抑制剂含式(II)的肽、由式(II)的肽组成或基本由式(II)的肽组成,所述式(II)为 $X_{20}TFFVKLSX_{21}X_{22}$ (SEQ ID NO:173)。在一些实施方式中, X_{20} 为可选序列,并且可以为KKLD

(SEQ ID NO:174)、RKLD (SEQ ID NO:175)、KKGD (SEQ ID NO:176)、KKED (SEQ ID NO:177)、KLD、LD或D,或缺失。 X_{21} 为可选序列,并且可以为LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR,或缺失。在一些实施方式中, X_{22} 为可选序列,并且可以为ER或E,或缺失。在一些实施方式中,包含式(II)的所述分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。

[0640] 另外,组合物可以包含肽抑制剂、由肽抑制剂组成或基本由肽抑制剂组成,所述肽抑制剂包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:式(III)或SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96或98中的肽,所述式(III)为 $X_{30}X_{31}VKLX_{32}LX_{33}TEX_{34}$ (SEQ ID NO:178)。在一些实施方式中, X_{31} 为可选序列,并且可以为F、S、M、V、T或L,或缺失。在一些实施方式中, X_{31} 为F。在一些实施方式中, X_{32} 可以为S、Q、M、T或H。在一些实施方式中, X_{32} 为S。 X_{33} 可以为F、M、Q、H、N、P、S、G、A或R。在一些实施方式中, X_{34} 为F。 X_{34} 为可选序列,并且可以为R,或缺失。在一些实施方式中, X_{30} 为可选序列,并且可以为KKLDTF (SEQ ID NO:179)、KLDTF (SEQ ID NO:180)、LDTF (SEQ ID NO:181)、DTF、TF或F,或缺失。在一些实施方式中,包含式(III)的所述分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。

[0641] 另外,如本文所描述的,组合物可以包含肽抑制剂、由肽抑制剂组成或基本由肽抑制剂组成,所述肽抑制剂含式(VII)的肽、由式(VII)的肽组成或基本由式(VII)的肽组成,所述式(VII)为 $X_{700}KX_{701}X_{702}X_{703}X_{704}X_{705}X_{706}KX_{707}X_{708}X_{709}X_{710}X_{711}EX_{712}$ (SEQ ID NO:394)。在一些实施方式中, X_{700} 为可选序列,并且可以为K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T或V,或缺失。在一些实施方式中, X_{701} 为可选序列,并且可以为L、A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、N、Q、R、S、T或V,或缺失。在一些实施方式中, X_{702} 为可选序列,并且可以为D、A、E、I、V、W或Y,或缺失。在一些实施方式中, X_{703} 为可选序列,并且可以为T、C、M、N、P、Q、R、S、W或Y,或缺失。在一些实施方式中, X_{704} 为可选序列,并且可以为F、A、I、M、N、P、T或V,或缺失。在一些实施方式中, X_{705} 为可选序列,并且可以为F、L、M、Q、S、T或V,或缺失。在一些实施方式中, X_{706} 为可选序列,并且可以为V、F、G、L、P或R,或缺失。在一些实施方式中, X_{707} 为可选序列,并且可以为L、A、F、G、I、M、N、P、Q、R、S、T、V或Y,或缺失。在一些实施方式中, X_{708} 为可选序列,并且可以为S、H、M、N、Q或T,或缺失。在一些实施方式中, X_{709} 为可选序列,并且可以为L、A、H、I、M、N、Q、R、S、T、V或W,或缺失。在一些实施方式中, X_{710} 为可选序列,并且可以为F、A、C、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或W,或缺失。在一些实施方式中, X_{711} 为可选序列,并且可以为T、F、G、H、I、L、M、N、P、S、V或W,或缺失。在一些实施方式中, X_{712} 为可选序列,并且可以为R、F、K、N、R、T或Y,或缺失。在一些实施方式中,包含式(VII)的所述分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。

[0642] 另外,如本文所描述的,组合物可以包含肽抑制剂、由肽抑制剂组成或基本由肽抑制剂组成,所述肽抑制剂含式(VIII)的肽、由式(VIII)的肽组成或基本由式(VIII)的肽组成,所述式(VIII)为 $X_{800}K X_{801}K X_{802}E X_{803}$ (SEQ ID NO:395)。在一些实施方式中, X_{800} 为可选序列,并且可以为K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T、V或K,或缺失。在一些实施方式中, X_{801} 为可选序列,并且可以为LDTFFV、GDTFFV、EDTFFV、LDQFFV、LDTAFV、LDTVFV、LDTFMV、LDTFSV、LDTFVV、LDTFTV、LDTFLV、LDGFFV、LDTFGV、LDTFFK、ADTFFV、CDTFFV、DDTFFV、FDTFFV、HDTFFV、IDTFFV、KDTFFV、MDTFFV、NDTFFV、QDTFFV、RDTFFV、SDTFFV、TDTFFV、VDTFFV、LATFFV、LETFFV、LITFFV、LVTFFV、LWTFFV、LYTFFV、LDCFFV、LDMFFV、LDNFFV、LDPFFV、LDRFFV、LDSFFV、LDWFFV、LDYFFV、LDTIFV、LDTMFV、LDTNFV、LDTPFV、LDTTFV、LDTFQV、LDTFFF、LDTFFG、LDTFFL、LDTFFP、LDTFFR、LDTFIV、LDTSFV、LDTFAV、LDTFCV、LDTQFV、LDTLFV、LTTFV、LDTFFI、LDHFFV、LMTFFV、LDTFEV、LDTFWV、LFTFFV、LDVFFV、LDTFRV、LDTFHV、LDTYFV、LPTFFV、PDTFV、LDTFPV、LDTFNV、LDTWV、LDTGFV、LDAFFV、LQTFFV、LCTFFV、LSTFFV、YDTFFV、LDEFFV、WDTFV、LDTKFV、LDTCFV、LDTFYV、LDTHFV、LHTFFV、LRTFFV、LDLFFV、LDTRFV、LLTFFV、LDTFDV、LDTFFA、LDTFFT、LNTFFV、LDDFFV、LDIFFV、LDFFFV、LKTFFV、LDTFFQ、LGTFFV、LDTFFC、LDKFFV、LDTFKV、LDTEFV、LDTFFW、

LDTFFM、LDTFFS、LDTFFH、LDTFFY、LDTFFN、LDTDFV、LDTFFE、LDTFFD、LTFFV、LDTFF、TFFV、LDF、LDTE、FFV、LDV、LV或L,或缺失。在一些实施方式中, X_{802} 为可选序列,并且可以为LSLFT、VSLFT、LQLFT、LMLFT、LTLFT、LHLFT、LSQFT、LSVFT、LSMFT、LSLMT、LSLQT、LSLHT、LSLNT、LSLPT、LSLST、LSLGT、LSLAT、LSLRT、LSLFN、LSLFP、LSLFR、LGLFT、ASLFT、FSLFT、GSLFT、ISLFT、MSLFT、NSLFT、PSLFT、QSLFT、RSLFT、SSLFT、TSLFT、YSLFT、LNLFT、LSAFT、LSHFT、LSIFT、LSNFT、LSRFT、LSSFT、LSTFT、LSWFT、LSLCT、LSLIT、LSLLT、LSLTT、LSLVT、LSLWT、LSLFF、LSLFG、LSLFH、LSLFI、LSLFL、LSLFM、LSLFS、LSLFV、LSLFW、LYLFT、LVLFT、LSFFT、LSGFT、LSKFT、LSCFT、LCLFT、LRLFT、LPLFT、LWLFT、LKLFT、LDLFT、LSYFT、LALFT、WSLFT、LSLFA、LSLFQ、LSPFT、HSLFT、LSLYT、LILFT、KSLFT、CSLFT、LSLFY、LSLFK、LSLFC、LFLFT、LELFT、LSLKT、LLLFT、LSLFD、LSLDT、LSLFE、DSLFT、LSLET、LSDFT、LSEFT、ESLFT、SLFT、LSFT、LFT、LSL、LT或T,或缺失。在一些实施方式中, X_{803} 为可选序列,并且可以为R、F、K、N、R、T或Y,或缺失。在一些实施方式中,包含式(VIII)的所述分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。另外,组合物可以包含肽抑制剂、由肽抑制剂组成或基本由肽抑制剂组成,所述肽抑制剂含表5.1中所示的任意一种或多种肽、由表5.1中所示的任意一种或多种肽组成或基本由表5.1中所示的任意一种或多种肽组成。在一些实施方式中,用在这些化合物中的来自表5.1的所述分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。

[0643] 所述药物组合物可以包含一种或多种其他的药学上可接受的药物成分,比如药学上可接受的稀释剂、载体、赋形剂和/或缓冲液。“药学上可接受”意为不降低活性成分的生物活性有效性的无毒性化合物。这样的药学上可接受的添加剂、稀释剂缓冲液、载体或赋形剂在本领域是公知的(参见Remington's Pharmaceutical Sciences,第18版,A.R Gennaro,Ed.,Mack Publishing Company(1990)和handbook of Pharmaceutical Excipients,第3版,A.Kibbe,Ed.,Pharmaceutical Press(2000))。

[0644] 所述药物组合物可以包括缓冲液。术语“缓冲液”意指含有具有稳定pH目的的含酸碱混合物的水溶液。缓冲剂的实例为氢氧化镁和氢氧化铝、海藻酸、无热源的水、等渗盐水、林格氏溶液、乙醇、pH缓冲溶液、聚酯类、聚碳酸酯类和/或聚酞类,和其他在药物配方中采用的无毒性兼容物质。缓冲液的其他实例为Trizma、Bicine、Tricine、MOPS、MOPSO、MOBS、Tris、Hepes、HEPBS、MES、磷酸盐、碳酸盐、醋酸盐、柠檬酸盐、乙醇酸盐、乳酸盐、硼酸盐、ACES、ADA、酒石酸盐、AMP、AMPD、AMPSO、BES、CABS、甲次砷酸盐、CHES、DIPSO、EPPS、乙醇胺、甘氨酸、HEPPSO、咪唑、咪唑乳酸、PIPES、SSC、SSPE、POPSO、TAPS、TABS、TAPSO和TES。

[0645] 所述药物组合物可以包括稀释剂。术语“稀释剂”意指具有稀释药物制剂中的化合物目的的水溶液或非水溶液。所述稀释剂可以为盐、水、聚乙二醇、丙二醇或乙醇中的一种或多种。

[0646] 所述药物组合物可以包括赋形剂。所述赋形剂可以为碳水化合物类、表面活性剂类、聚合物类、脂类和矿物质类中的一种或多种。碳水化合物类的实例包括乳糖、蔗糖、甘露醇和环糊精,其可以加入到所述组合物(比如)用于促进冷冻干燥。聚合物类的实例为所有不同分子量的淀粉、纤维素醚类、纤维素羧甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羟乙基纤维素、羟乙基纤维素乙基醚、海藻酸盐、鹿角菜胶、透明质酸及其衍生物、聚丙烯酸、聚磺酸酯、聚乙二醇/聚氧化乙烯、聚氧化乙烯/聚环氧丙烷共聚物、聚乙烯醇/不同水解度的聚醋酸乙烯、和聚乙烯吡咯烷酮,其可以加入到所述组合物,(比如)用于黏度控制,用于获得生物黏着,或用于保护脂免受化学和蛋白降解。脂类的实例为脂肪酸、磷脂、单酸甘油酯、二酸甘油酯和三酸甘油酯、神经酰胺、鞘脂类和糖脂类、所有不同的酰基链长度和饱和度、蛋黄卵磷脂、大豆卵磷脂、氢化的蛋黄和大豆卵磷脂,其被加入到组合物中由于与多聚物的那些相似的原因。矿物质类的实例为滑石、氧化镁、氧化锌和氧化钛,其被加入到组合物中以获得比如降低液体积聚或有利的色素性质的好处。

[0647] 所述药物组合物可以包括载体。在一些实施方式中,所述载体为非水载体。可以在本发明的药物组合物中采用的合适的水和非水载体的实例包括水、乙醇、多元醇(比如丙三醇、丙二醇、聚乙二醇等等)及其合适的混合物、植物油(比如橄榄油)和可注射的有机酯(比如油酸乙酯)。(比如)可以通过使用涂覆材料(比如卵磷脂)、通过保持在分散剂的情况下所要求的颗粒尺寸以及通过使用表面活性剂保持合适的流动性。

[0648] 这些组合物可以含有辅助剂,比如防腐剂、润湿剂、乳化剂和分散剂。预防微生物在主体化合物上的作用可以通过包含多种抗菌剂和抗真菌剂(例如,尼泊金、氯丁醇、苯酚山梨酸等等)确保。也希望包括等渗试剂(比如糖类、氯化钠等等)在组合物中。另外,可注射的药物形式的延长吸收可以由包括延长吸收的试剂(比如单硬脂酸铝和明胶)引起。

[0649] 所述药物组合物可以被配制为缓释。在一些实施方式中,所述药物组合物被配制为用于缓释的凝胶或凝胶状物质。所述凝胶或凝胶状物质可以在生理条件下保持稳定约3天、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14天,3-4天、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10、3-11、3-12、3-13、3-14、4-5、4-6、4-7、4-8、4-9、4-10、4-11、4-12、4-13、4-14、5-6、5-7、5-8、5-9、5-10、5-11、5-12、5-13、5-14、6-7、6-8、6-9、6-10、6-11、6-12、6-13、6-14、7-8、7-9、7-10、7-11、7-12、7-13、7-14、8-14、9-14或10-14天。在一些实施方式中,所述胶包含SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393或583-586中的任意一种,由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393或583-586中的任意一种组成或基本由SEQ ID

N0:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393或583-586中的任意一种组成的抑制剂肽,其中所述抑制剂肽是非水溶的,并且当与所述抑制剂肽结合时选择缓冲液或辅助剂配制凝胶。不被任何理论限制,根据本文的一些实施方式,凝胶可以适于所述抑制剂肽的缓慢释放。

[0650] 可以配制所述药物组合物的在水溶液中的溶解度。举例说明,由SEQ ID N0:589组成或基本由SEQ ID N0:589组成的抑制剂肽已经显示在水溶液中可溶。如此,在一些实施方式中,药物组合物包含溶解或部分溶解在水溶液中的由SEQ ID N0:589组成或基本由SEQ ID N0:589组成的抑制剂肽。可选地,所述水溶液可以作为辅助剂提供。

[0651] 施用形式

[0652] 本文描述的所述药物配方可以局部施用或全身施用。施用的途径包括局部的、眼睛的、鼻的、肺的、颊的、肠胃外的(静脉内的、皮下的和肌肉内的)、口的、阴道的和直肠的。最常用的为口服。

[0653] 在一些实施方式中,例如如果肿瘤的免疫细胞侵袭、肿瘤的细胞毒性或肿瘤的免疫细胞受体的去阻碍是希望的,所述药物配方施用在肿瘤处或其附近。例如,所述药物配方可以施用在肿瘤周围,或肿瘤的10cm内,例如肿瘤的10cm、9、8、7、6、5、4、3、2、1或0.5cm内或由任意两个这些距离定义的范围。

[0654] 所述药物组合物会以治疗有效量或剂量施用给患者。治疗有效量包括足够至少部分地阻止患者所经受的紊乱的症状的药物组合物的剂量。准确的剂量依赖于施用的方式、紊乱的性质和严重性。根据患者的总体健康、性别、年龄和体重可能需要不同的剂量。剂量的施用可以通过单个剂量单元或几个较小剂量单元形式的单一施用以及也通过在特定间隔(例如日间隔(比如,在剂量之间1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30天,包括任意两个所列值之间的范围)的细分剂量的多施用进行。示例性的剂量可以包含毫克、微克或纳克范围的剂量,例如毫克、微克或纳克每kg主体体重。根据施用形式活性化合物或物质也可以一起施用或分开施用。根据本文的一些实施方式示例性的配量方案包括“初期推动”方法,其中在第一施用中施用第一剂量的化合物或物质,并且在第二施用中施用第二剂量的化合物或物质。可选地,进行另外的后续施用(比如第三、第四、第五、第六、第七、第八、第九或第十)。可选地,第一剂量大于后续剂量(比如第二剂量,或如果进行的第三、第四、第五、第六、第七、第八、第九或第十),比如至少后续剂量的 $1.1\times$ 、 $1.2\times$ 、 $1.5\times$ 、 $2\times$ 、 $3\times$ 、 $4\times$ 、 $5\times$ 、 $10\times$ 、 $20\times$ 、 $30\times$ 、 $40\times$ 、 $50\times$ 、 $100\times$ 、 $200\times$ 、 $500\times$ 、 $1000\times$ 、 $2000\times$ 、 $5000\times$ 或 $10000\times$ 。可选地,后续剂量(比如第二、第三、第四、第五、第六、第七、第八、第九或第十)大于第一剂量,比如至少第一剂量的 $1.1\times$ 、 $1.2\times$ 、 $1.5\times$ 、 $2\times$ 、 $3\times$ 、 $4\times$ 、 $5\times$ 、 $10\times$ 、 $20\times$ 、 $30\times$ 、 $40\times$ 、 $50\times$ 、 $100\times$ 、 $200\times$ 、 $500\times$ 、 $1000\times$ 、 $2000\times$ 、 $5000\times$ 或 $10000\times$ 。在一些实施方式中,后续剂量(比如第一剂量后的第二剂量、第二剂量后的第三剂量(如果进行)、第五剂量后的第四剂量(如果进行))是在前次剂量的至少一天后施用的,例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、60、90或100天后,包括任意两个所列值之间的范围。

[0655] 合适的制剂形式为(比如)颗粒、粉剂、片剂、包被的片剂、(微)胶囊、微粒起泡粉剂或颗粒、栓剂、针剂形式的可注射溶液以及具有活性化合物延长释放的制剂,在其制剂中赋形剂、稀释剂或载体如上所述是通常使用的。其他制剂可以是本领域技术人员公知的产生

活性成分的不同释放性的那些。实例包括持续释放、持续作用、缓释、限时释放或定时缓释、控释、调节释放或连续释放。持续释放的片剂或胶囊的优点是与相同药物的立即释放配方相比它们可以通常较少次数的摄取,并且它们保持药物在血液中的稳定水平。如今,配制了许多限时释放药物,这样活性成分被嵌入在不溶性物质(例如一些丙烯酸树脂或几丁质)的基质中,使得溶解的药物一定找到通过基质中的洞的出口。一些药物被封闭在聚合物基的片剂中,所述片剂一边具有激光钻孔的洞并在另一边具有多孔膜。胃酸挤着穿过所述多孔膜,从而将所述药物挤着穿过所述激光钻孔的洞。经过一段时间,全部药物剂量释放到全身,而聚合物容器保持完整以通过正常消化在之后被排泄。在一些配方中,所述药物溶解到所述基质,所述基质物理性膨大以形成胶,使得所述药物穿出所述胶的外表面。微包装也被认为是一种更完全的技术以产生复合的溶解性。通过在惰性核心周围包被活性药物成分,以及用不溶性物质将其分层以形成微球,可能获得更一致和可复制的溶解速率。在一些实施方式中,所述组合物包含按重量计至少约0.1%的所述免疫调节肽抑制剂,比如,按重量计至少0.1%、0.2%、0.5%、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、20%或30%的所述免疫调节肽抑制剂,包括任意两个所列值之间的范围。所有这些对于本领域技术人员来说是公知的。

[0656] 检测白蛋白或白蛋白片段存在的方法

[0657] 一些实施方式包括通过将免疫调节肽抑制剂与生物样品接触从而允许免疫调节肽抑制剂结合白蛋白或白蛋白片段并检测结合的免疫调节肽抑制剂的存在来检测生物样品中白蛋白或白蛋白片段存在的方法。在一些实施方式中,检测P3028序列/结构或其片段存在的方法可以包括将包含P3028序列/结构的生物样品与免疫调节肽抑制剂或结合P3028序列/结构的抗体接触并检测结合的免疫调节肽抑制剂的存在。可选地,所述免疫调节肽抑制剂或抗体包含本文描述的可检测部分。

[0658] 在这些方法中使用的免疫调节肽抑制剂可以包含本文描述的肽,由本文描述的肽组成或基本由本文描述的肽组成。例如,所述肽抑制剂可以包含本文描述的式(I) $XX_1VKX_2X_3X_4$ (SEQ ID NO:166),由本文描述的式(I) $XX_1VKX_2X_3X_4$ (SEQ ID NO:166)组成或基本由本文描述的式(I) $XX_1VKX_2X_3X_4$ (SEQ ID NO:166)组成。在一些实施方式中,X为可选序列,并且可以为KKLDT (SEQ ID NO:167)、RKLDT (SEQ ID NO:168)、KKGDT (SEQ ID NO:169)、KKEDT (SEQ ID NO:170)、KKLDQ (SEQ ID NO:171)、KKGDQ (SEQ ID NO:252)、KKEDQ (SEQ ID NO:253)、RKLDQ (SEQ ID NO:254)、RKGDQ (SEQ ID NO:255)、RKEDQ (SEQ ID NO:256)、RKGTD (SEQ ID NO:257)、RKEDT (SEQ ID NO:258)、KLDT (SEQ ID NO:172)、KGDT (SEQ ID NO:259)、KEDT (SEQ ID NO:260)、KLDQ (SEQ ID NO:261)、KGDQ (SEQ ID NO:262)、KEDQ (SEQ ID NO:263)、LDT、LDQ、GDT、GDQ、EDT、EDQ、DT、DQ、T、Q或缺失。在一些实施方式中, X_1 为FF、FM、FS、FV、FT、FL、AF、AM、AS、AV、AT、AL、VF、VM、VS、VV、VT或VL其中之一。在一些实施方式中, X_2 为LS、LQ、LM、LT、LH、VS、VQ、VM、VT或VH其中之一。在一些实施方式中, X_3 为LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、

QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR其中之一。在一些实施方式中， X_4 为可选序列，并且可以为ER、E，或缺失。在一些实施方式中，如果X缺失，则 X_1 为FF，并且 X_2 为LS。在一些实施方式中，在这些方法中使用的包含式(I)的所述分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度，比如，小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸，包括任意两个所列值之间的范围。

[0659] 另外，在这些方法中使用的肽抑制剂可以包含式(II) X_{20} TFFVKLS X_{21} X_{22} (SEQ ID NO:173)，由式(II) X_{20} TFFVKLS X_{21} X_{22} (SEQ ID NO:173) 组成或基本由式(II) X_{20} TFFVKLS X_{21} X_{22} (SEQ ID NO:173) 组成。在一些实施方式中， X_{20} 为可选序列，并且可以为KKLD (SEQ ID NO:174)、RKLD (SEQ ID NO:175)、KKGD (SEQ ID NO:176)、KKED (SEQ ID NO:177)、KLD、LD或D，或缺失。 X_{21} 为可选序列，并且可以为LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR，或缺失。在一些实施方式中， X_{22} 为可选序列，并且可以为ER或E，或缺失。在一些实施方式中，在这些方法中使用的包含式(II)的所述分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度，比如，小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸，包括任意两个所列值之间的范围。

[0660] 另外,在这些方法中使用的肽抑制剂可以包含式(III) $X_{30}X_{31}VKLX_{32}LX_{33}TEX_{34}$ (SEQ ID NO:178),由式(III) $X_{30}X_{31}VKLX_{32}LX_{33}TEX_{34}$ (SEQ ID NO:178)组成或基本由式(III) $X_{30}X_{31}VKLX_{32}LX_{33}TEX_{34}$ (SEQ ID NO:178)组成。在一些实施方式中, X_{30} 为可选序列,并且可以为KKLDTF (SEQ ID NO:179)、KLDTF (SEQ ID NO:180)、LDTF (SEQ ID NO:181)、DTF、TF或F,或缺失。在一些实施方式中, X_{31} 为可选序列,并且可以为F、S、M、V、T或L,或缺失。在一些实施方式中, X_{31} 为F。在一些实施方式中, X_{32} 可以为S、Q、M、T或H。在一些实施方式中, X_{32} 为S。 X_{33} 可以为F、M、Q、H、N、P、S、G、A或R。在一些实施方式中, X_{34} 为F。 X_{34} 为可选序列,并且可以为R,或缺失。另外,所述肽抑制剂可以包含本文描述的SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96或98,由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96或98组成或基本由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96或98组成。在一些实施方式中,在这些方法中使用的包含式(III)的所述分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。

[0661] 另外,如本文描述的,在这些方法中使用的肽抑制剂可以包含式(VII) $X_{700}KX_{701}X_{702}X_{703}X_{704}X_{705}X_{706}KX_{707}X_{708}X_{709}X_{710}X_{711}EX_{712}$ (SEQ ID NO:394),由式(VII) $X_{700}KX_{701}X_{702}X_{703}X_{704}X_{705}X_{706}KX_{707}X_{708}X_{709}X_{710}X_{711}EX_{712}$ (SEQ ID NO:394)组成或基本由式(VII) $X_{700}KX_{701}X_{702}X_{703}X_{704}X_{705}X_{706}KX_{707}X_{708}X_{709}X_{710}X_{711}EX_{712}$ (SEQ ID NO:394)组成。在一些实施方式中, X_{700} 为可选序列,并且可以为K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T或V,或缺失。在一些实施方式中, X_{701} 为可选序列,并且可以为L、A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、N、Q、R、S、T或V,或缺失。在一些实施方式中, X_{702} 为可选序列,并且可以为D、A、E、I、V、W或Y,或缺失。在一些实施方式中, X_{703} 为可选序列,并且可以为T、C、M、N、P、Q、R、S、W或Y,或缺失。在一些实施方式中, X_{704} 为可选序列,并且可以为F、A、I、M、N、P、T或V,或缺失。在一些实施方式中, X_{705} 为可选序列,并且可以为F、L、M、Q、S、T或V,或缺失。在一些实施方式中, X_{706} 为可选序列,并且可以为V、F、G、L、P或R,或缺失。在一些实施方式中, X_{707} 为可选序列,并且可以为L、A、F、G、I、M、N、P、Q、R、S、T、V或Y,或缺失。在一些实施方式中, X_{708} 为可选序列,并且可以为S、H、M、N、Q或T,或缺失。在一些实施方式中, X_{709} 为可选序列,并且可以为L、A、H、I、M、N、Q、R、S、T、V或W,或缺失。在一些实施方式中, X_{710} 为可选序列,并且可以为F、A、C、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或W,或缺失。在一些实施方式中, X_{711} 为可选序列,并且可以为T、F、G、H、I、L、M、N、P、S、V或W,或缺失。在一些实施方式中, X_{712} 为可选序列,并且可以为R、F、K、N、R、T或Y,或缺失。在一些实施方式中,包含式(VII)的所述分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、

59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。

[0662] 另外,如本文描述的,在这些方法中使用的肽抑制剂可以包含式(VIII) $X_{800}K X_{801}K X_{802}E X_{803}$ (SEQ ID NO:395),由式(VIII) $X_{800}K X_{801}K X_{802}E X_{803}$ (SEQ ID NO:395)组成或基本由式(VIII) $X_{800}K X_{801}K X_{802}E X_{803}$ (SEQ ID NO:395)组成。在一些实施方式中, X_{800} 为可选序列,并且可以为K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T、V或K,或缺失。在一些实施方式中, X_{801} 为可选序列,并且可以为LDTFFV、GDTFFV、EDTFFV、LDQFFV、LDTAFV、LDTVFFV、LDTFMV、LDTFSV、LDTFVV、LDTFTV、LDTFLV、LDGFFV、LDTFGV、LDTFFK、ADTFFV、CDTFFV、DDTFFV、FDTFFV、HDTFFV、IDTFFV、KDTFFV、MDTFFV、NDTFFV、QDTFFV、RDTFFV、SDTFFV、TDTFFV、VDTFFV、LATFFV、LETFFV、LITFFV、LVTFFV、LWTFV、LYTFFV、LDCFFV、LDMFFV、LDNFFV、LDPFFV、LDRFFV、LDSFFV、LDWFFV、LDYFFV、LDTIFV、LDTMFV、LDTNFV、LDTPFV、LDTTFV、LDTFQV、LDTFFF、LDTFFG、LDTFFL、LDTFFP、LDTFFR、LDTFIV、LDTSFV、LDTFAV、LDTFCV、LDTQFV、LDTLFV、LTTFV、LDTFFI、LDHFFV、LMTFFV、LDTFEV、LDTFWV、LFTFFV、LDVFFV、LDTFRV、LDTFHV、LDTYFV、LPTFFV、PDTFFV、LDTFPV、LDTFNV、LDTWV、LDTGFV、LDAFFV、LQTFV、LCTFFV、LSTFFV、YDTFFV、LDEFFV、WDTFFV、LDTKFV、LDTCFV、LDTFYV、LDTHFV、LHTFFV、LRTFFV、LDLFFV、LDTRFV、LLTFFV、LDTFDV、LDTFFA、LDTFFT、LNTFFV、LDDFFV、LDIFFV、LDFFFV、LKTFFV、LDTFFQ、LGTFV、LDTFFC、LDKFFV、LDTFKV、LDTFV、LDTFFW、LDTFFM、LDTFFS、LDTFFH、LDTFFY、LDTFFN、LDTDFV、LDTFFE、LDTFFD、LTFFV、LDTFF、TFFV、LDF、LDTE、FFV、LDV、LV或L,或缺失。在一些实施方式中, X_{802} 为可选序列,并且可以为LSLFT、VSLFT、LQLFT、LMLFT、LTLFT、LHLFT、LSQFT、LSVFT、LSMFT、LSLMT、LSLQT、LSLHT、LSLNT、LSLPT、LSLST、LSLGT、LSLAT、LSLRT、LSLFN、LSLFP、LSLFR、LGLFT、ASLFT、FSLFT、GSLFT、ISLFT、MSLFT、NSLFT、PSLFT、QSLFT、RSLFT、SSLFT、TSLFT、YSLFT、LNLFT、LSAFT、LSHFT、LSIFT、LSNFT、LSRFT、LSSFT、LSTFT、LSWFT、LSLCT、LSLIT、LSLLT、LSLTT、LSLVT、LSLWT、LSLFF、LSLFG、LSLFH、LSLFI、LSLFL、LSLFM、LSLFS、LSLFV、LSLFW、LYLFT、LVLFV、LSFFT、LSGFT、LSKFT、LSCFT、LCLFT、LRLFT、LPLFT、LWLFT、LKLFT、LDLFT、LSYFT、LALFT、WSLFT、LSLFA、LSLFQ、LSPFT、HSLFT、LSLYT、LILFT、KSLFT、CSLFT、LSLFY、LSLFK、LSLFC、LFLFT、LELFT、LSLKT、LLLFT、LSLFD、LSLDT、LSLFE、DSLFT、LSLET、LSDFT、LSEFT、ESLFT、SLFT、LSFT、LFT、LSL、LT或T,或缺失。在一些实施方式中, X_{803} 为可选序列,并且可以为R、F、K、N、R、T或Y,或缺失。在一些实施方式中,包含式(VIII)的所述分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、

136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。

[0663] 另外,在这些方法中使用的肽抑制剂可以包含式(IX),由式(IX)组成或基本由式(IX)组成。相应地,在一些实施方式中,所述肽抑制剂包含式(IX): $X_{901}X_{902}X_{903}X_{904}X_{905}X_{906}X_{907}X_{908}X_{909}X_{910}X_{911}X_{912}X_{913}X_{914}X_{915}X_{916}X_{917}$ 的肽,其中 X_{901} 为任意氨基酸或缺失; X_{902} 为带正电荷的氨基酸、F或N; X_{903} 为任意氨基酸; X_{904} 为任意氨基酸; X_{905} 为极性不带电荷的氨基酸、R、Y或W; X_{906} 为疏水性或不带电荷的极性氨基酸; X_{907} 为疏水性或不带电荷的极性氨基酸; X_{908} 为疏水性、非M或F的非芳香碳链氨基酸; X_{909} 为带正电荷的氨基酸、T、Q或Y; X_{910} 为不带负电荷的任意氨基酸; X_{911} 为极性不带电荷的氨基酸或H; X_{912} 为不带负电荷的任意氨基酸; X_{913} 为不带负电荷的任意氨基酸; X_{914} 为不带负电荷的任意氨基酸; X_{915} 为带负电荷的氨基酸、Y或Q; X_{916} 为不带负电荷的任意氨基酸; X_{917} 一个或多个带正电荷的氨基酸或缺失。可选地, X_{901} 包含带正电荷的氨基酸。可选地, X_{901} 为R或K。可选地, X_{917} 为RR。在一些实施方式中,包含式(IX)的所述分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。

[0664] 另外,如本文描述的,在这些方法中使用的肽抑制剂可以包含SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589,由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589组成或基本由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589组成。在一些实施方式中,在这些方法中使用的这些分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。

[0665] 另外,在这些方法中使用的肽抑制剂可以包含肽抑制剂、由肽抑制剂组成或基本由肽抑制剂组成,所述肽抑制剂包含表5.1、5.4、5.5、5.6中所示的任意一种或多种肽或提

供的任意一种或多种肽或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合,由表5.1、5.4、5.5、5.6中所示的任意一种或多种肽或提供的任意一种或多种肽或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合组成或基本由表5.1、5.4、5.5、5.6中所示的任意一种或多种肽或提供的任意一种或多种肽或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合组成。在一些实施方式中,在这些方法中使用的来自或在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合的所述分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。

[0666] 相应地,一旦免疫调节肽抑制剂结合包含P3028序列/结构的白蛋白片段或白蛋白,检测所述抑制剂的存在,以此检测P3028序列/结构的存在。

[0667] 在一些用于检测包含P3028序列/结构的白蛋白或白蛋白片段存在的方法中,所述免疫调节肽抑制剂包含本文描述的肽,由本文描述的肽组成或基本由本文描述的肽组成。例如,在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含本文描述的式(I) $XX_1VKX_2X_3X_4$ (SEQ ID NO:166),由本文描述的式(I) $XX_1VKX_2X_3X_4$ (SEQ ID NO:166) 组成或基本由本文描述的式(I) $XX_1VKX_2X_3X_4$ (SEQ ID NO:166) 组成。在一些实施方式中,X为可选序列,并且可以为KKLDT (SEQ ID NO:167)、RKLDLT (SEQ ID NO:168)、KKGDT (SEQ ID NO:169)、KKEDT (SEQ ID NO:170)、KKLDQ (SEQ ID NO:171)、KKGDQ (SEQ ID NO:252)、KKEDQ (SEQ ID NO:253)、RKLDQ (SEQ ID NO:254)、RKGDQ (SEQ ID NO:255)、RKEDQ (SEQ ID NO:256)、RKGTD (SEQ ID NO:257)、RKEDT (SEQ ID NO:258)、KLDLT (SEQ ID NO:172)、KGDLT (SEQ ID NO:259)、KEDT (SEQ ID NO:260)、KLDQ (SEQ ID NO:261)、KGDQ (SEQ ID NO:262)、KEDQ (SEQ ID NO:263)、LDT、LDQ、GDT、GDQ、EDT、EDQ、DT、DQ、T、Q,或缺失。在一些实施方式中, X_1 为FF、FM、FS、FV、FT、FL、AF、AM、AS、AV、AT、AL、VF、VM、VS、VV、VT或VL其中之一。在一些实施方式中, X_2 为LS、LQ、LM、LT、LH、VS、VQ、VM、VT或VH其中之一。在一些实施方式中, X_3 为LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR

其中之一。在一些实施方式中, X_4 为可选序列, 并且可以为 ER、E, 或缺失。在一些实施方式中, 如果 X 缺失, 则 X_1 为 FF, 并且 X_2 为 LS。在一些实施方式中, 在这些方法中使用的包含式 (I) 的所述分离的肽具有小于或等于 1100 个氨基酸的长度, 比如, 小于或等于 4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050 或 1100 个氨基酸, 包括任意两个所列值之间的范围。

[0668] 另外, 在这些方法中使用的肽抑制剂可以包含式 (II) X_{20} TFFVKLS X_{21} X_{22} (SEQ ID NO:173), 由式 (II) X_{20} TFFVKLS X_{21} X_{22} (SEQ ID NO:173) 组成或基本由式 (II) X_{20} TFFVKLS X_{21} X_{22} (SEQ ID NO:173) 组成。在一些实施方式中, X_{20} 为可选序列, 并且可以为 KKLD (SEQ ID NO:174)、RKLD (SEQ ID NO:175)、KKGD (SEQ ID NO:176)、KKED (SEQ ID NO:177)、KLD、LD 或 D, 或缺失。 X_{21} 为可选序列, 并且可以为 LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR 或 MRR, 或缺失。在一些实施方式中, X_{22} 为可选序列, 并且可以为 ER 或 E, 或缺失。在一些实施方式中, 在这些方法中使用的包含式 (II) 的所述分离的肽具有小于或等于 1100 个氨基酸的长度, 比如, 小于或等于 4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050 或 1100 个氨基酸, 包括任意两个所列值之间的范围。

[0669] 另外, 在这些方法中使用的肽抑制剂可以包含式 (III) X_{30} X_{31} VKL X_{32} L X_{33} TEX X_{34} (SEQ ID NO:178), 由式 (III) X_{30} X_{31} VKL X_{32} L X_{33} TEX X_{34} (SEQ ID NO:178) 组成或基本由式 (III) X_{30} X_{31} VKL X_{32} L X_{33} TEX X_{34} (SEQ ID NO:178) 组成。在一些实施方式中, X_{30} 为可选序列, 并且可以

为KKLDTF (SEQ ID NO:179)、KLDTF (SEQ ID NO:180)、LDTF (SEQ ID NO:181)、DTF、TF或F,或缺失。在一些实施方式中, X₃₁为可选序列, 并且可以为F、S、M、V、T或L, 或缺失。在一些实施方式中, X₃₁为F。在一些实施方式中, X₃₂可以为S、Q、M、T或H。在一些实施方式中, X₃₂为S。X₃₃可以为F、M、Q、H、N、P、S、G、A或R。在一些实施方式中, X₃₄为F。X₃₄为可选序列, 并且可以为R, 或缺失。另外, 所述肽抑制剂可以包含本文描述的SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96或98, 由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96或98组成或基本由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96或98组成。在一些实施方式中, 在这些方法中使用的包含式(III)的所述分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度, 比如, 小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸, 包括任意两个所列值之间的范围。

[0670] 另外, 如本文描述的, 在这些方法中使用的肽抑制剂可以包含式(VII) X₇₀₀K X₇₀₁X₇₀₂X₇₀₃X₇₀₄X₇₀₅X₇₀₆K X₇₀₇X₇₀₈X₇₀₉X₇₁₀X₇₁₁E X₇₁₂ (SEQ ID NO:394), 由式(VII) X₇₀₀K X₇₀₁X₇₀₂X₇₀₃X₇₀₄X₇₀₅X₇₀₆K X₇₀₇X₇₀₈X₇₀₉X₇₁₀X₇₁₁E X₇₁₂ (SEQ ID NO:394) 组成或基本由式(VII) X₇₀₀K X₇₀₁X₇₀₂X₇₀₃X₇₀₄X₇₀₅X₇₀₆K X₇₀₇X₇₀₈X₇₀₉X₇₁₀X₇₁₁E X₇₁₂ (SEQ ID NO:394) 组成。在一些实施方式中, X₇₀₀为可选序列, 并且可以为K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T或V, 或缺失。在一些实施方式中, X₇₀₁为可选序列, 并且可以为L、A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、N、Q、R、S、T或V, 或缺失。在一些实施方式中, X₇₀₂为可选序列, 并且可以为D、A、E、I、V、W或Y, 或缺失。在一些实施方式中, X₇₀₃为可选序列, 并且可以为T、C、M、N、P、Q、R、S、W或Y, 或缺失。在一些实施方式中, X₇₀₄为可选序列, 并且可以为F、A、I、M、N、P、T或V, 或缺失。在一些实施方式中, X₇₀₅为可选序列, 并且可以为F、L、M、Q、S、T或V, 或缺失。在一些实施方式中, X₇₀₆为可选序列, 并且可以为V、F、G、L、P或R, 或缺失。在一些实施方式中, X₇₀₇为可选序列, 并且可以为L、A、F、G、I、M、N、P、Q、R、S、T、V或Y, 或缺失。在一些实施方式中, X₇₀₈为可选序列, 并且可以为S、H、M、N、Q或T, 或缺失。在一些实施方式中, X₇₀₉为可选序列, 并且可以为L、A、H、I、M、N、Q、R、S、T、V或W, 或缺失。在一些实施方式中, X₇₁₀为可选序列, 并且可以为F、A、C、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或W, 或缺失。在一些实施方式中, X₇₁₁为可选序列, 并且可以为T、F、G、H、I、L、M、N、P、S、V或W, 或缺失。在一些实施方式中, X₇₁₂为可选序列, 并且可以为R、F、K、N、R、T或Y, 或缺失。在一些实施方式中, 包含式(VII)的所述分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度, 比如, 小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、

126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。

[0671] 另外,如本文描述的,在这些方法中使用的肽抑制剂可以包含式(VIII) $X_{800}K X_{801}K X_{802}E X_{803}$ (SEQ ID NO:395),由式(VIII) $X_{800}K X_{801}K X_{802}E X_{803}$ (SEQ ID NO:395)组成或基本由式(VIII) $X_{800}K X_{801}K X_{802}E X_{803}$ (SEQ ID NO:395)组成。在一些实施方式中, X_{800} 为可选序列,并且可以为K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T、V或K,或缺失。在一些实施方式中, X_{801} 为可选序列,并且可以为LDTFFV、GDTFFV、EDTFFV、LDQFFV、LDTAFV、LDTVFFV、LDTFMV、LDTFSV、LDTFVV、LDTFTV、LDTFLV、LDGFFV、LDTFGV、LDTFFK、ADTFFV、CDTFFV、DDTFFV、FDTFFV、HDTFFV、IDTFFV、KDTFFV、MDTFFV、NDTFFV、QDTFFV、RDTFFV、SDTFFV、TDTFFV、VDTFFV、LATFFV、LETFFV、LITFFV、LVTFFV、LWTFV、LYTFFV、LDCFFV、LDMFFV、LDNFFV、LDPFFV、LDRFFV、LDSFFV、LDWFFV、LDYFFV、LDTIFV、LDTMFV、LDTNFV、LDTPFV、LDTTFV、LDTFQV、LDTFFF、LDTFFG、LDTFFL、LDTFFP、LDTFFR、LDTFIV、LDTSFV、LDTFAV、LDTFCV、LDTQFV、LDTLFV、LTTFV、LDTFFI、LDHFFV、LMTFFV、LDTFEV、LDTFWV、LFTFFV、LDVFFV、LDTFRV、LDTFHV、LDTYFV、LPTFFV、PDTFFV、LDTFPV、LDTFNV、LDTWV、LDTGFV、LDAFFV、LQTFFV、LCTFFV、LSTFFV、YDTFFV、LDEFFV、WDTFFV、LDTKFV、LDTCFV、LDTFYV、LDTHFV、LHTFFV、LRTFFV、LDLFFV、LDRFV、LLTFFV、LDTFDV、LDTFFA、LDTFFT、LNTFFV、LDDFFV、LDIFFV、LDFFFV、LKTFFV、LDTFFQ、LGTFFV、LDTFFC、LDKFFV、LDTFKV、LDTEFV、LDTFFW、LDTFFM、LDTFFS、LDTFFH、LDTFFY、LDTFFN、LDTDFV、LDTFFE、LDTFFD、LTFFV、LDTFF、TFFV、LDF、LDTE、FFV、LDV、LV或L,或缺失。在一些实施方式中, X_{802} 为可选序列,并且可以为LSLFT、VSLFT、LQLFT、LMLFT、LTLFT、LHLFT、LSQFT、LSVFT、LSMFT、LSLMT、LSLQT、LSLHT、LSLNT、LSLPT、LSLST、LSLGT、LSLAT、LSLRT、LSLFN、LSLFP、LSLFR、LGLFT、ASLFT、FSLFT、GSLFT、ISLFT、MSLFT、NSLFT、PSLFT、QSLFT、RSLFT、SSLFT、TSLFT、YSLFT、LNLFT、LSAFT、LSHFT、LSIFT、LSNFT、LSRFT、LSSFT、LSTFT、LSWFT、LSLCT、LSLIT、LSLLT、LSLTT、LSLVT、LSLWT、LSLFF、LSLFG、LSLFH、LSLFI、LSLFL、LSLFM、LSLFS、LSLFV、LSLFW、LYLFT、LVLFT、LSFFT、LSGFT、LSKFT、LSCFT、LCLFT、LRLFT、LPLFT、LWLFT、LKLFT、LDLFT、LSYFT、LALFT、WSLFT、LSLFA、LSLFQ、LSPFT、HSLFT、LSLYT、LILFT、KSLFT、CSLFT、LSLFY、LSLFK、LSLFC、LFLFT、LELFT、LSLKT、LLLFT、LSLFD、LSLDT、LSLFE、DSLFT、LSLET、LSDFT、LSEFT、ESLFT、SLFT、LSFT、LFT、LSL、LT或T,或缺失。在一些实施方式中, X_{803} 为可选序列,并且可以为R、F、K、N、R、T或Y,或缺失。在一些实施方式中,包含式(VIII)的所述分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。

[0672] 另外,在这些方法中使用的肽抑制剂可以包含式(IX),由式(IX)组成或基本由式(IX)组成。相应地,在一些实施方式中,所述肽抑制剂包含式(IX): $X_{901}X_{902}X_{903}X_{904}X_{905}X_{906}X_{907}X_{908}X_{909}X_{910}X_{911}X_{912}X_{913}X_{914}X_{915}X_{916}X_{917}$ 的肽,其中 X_{901} 为任意氨基酸或缺失; X_{902} 为带正电荷的氨基酸,F或N; X_{903} 为任意氨基酸; X_{904} 为任意氨基酸; X_{905} 为极性不带电荷的氨基酸,R、Y或W; X_{906} 为疏水性或不带电荷的极性氨基酸; X_{907} 为疏水性或不带电荷的极性氨基酸; X_{908} 为疏水性、非M或F的非芳香碳链氨基酸; X_{909} 为带正电荷的氨基酸,T、Q或Y; X_{910} 为不带负电荷的任意氨基酸; X_{911} 为极性不带电荷的氨基酸或H; X_{912} 为不带负电荷的任意氨基酸; X_{913} 为不带负电荷的任意氨基酸; X_{914} 为不带负电荷的任意氨基酸; X_{915} 为带负电荷的氨基酸,Y或Q; X_{916} 为不带负电荷的任意氨基酸;和 X_{917} 为一个或多个带正电荷的氨基酸或缺失。可选地, X_{901} 包含带正电荷的氨基酸。可选地, X_{901} 为R或K。可选地, X_{917} 为RR。在一些实施方式中,包含式(IX)的所述分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。

[0673] 另外,如在此描述的,在这些方法中使用的肽抑制剂可以包含SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589或表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合、由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589或表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合组成或基本由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589或表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任意一种或多种肽,或如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任意变型或变型的组合组成。在一些实施方式中,在这些方法中使用的所述分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。

[0674] 另外,在这些方法中使用的肽抑制剂可以包含某肽抑制剂、由某肽抑制剂组成或

基本由某肽抑制剂组成,所述某肽抑制剂包含表5.1中所示的任意一种或多种肽,由表5.1中所示的任意一种或多种肽组成或基本由表5.1中所示的任意一种或多种肽组成。在一些实施方式中,在这些方法中使用的来自表5.1的所述分离的肽具有小于或等于1100个氨基酸的长度,比如,小于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个所列值之间的范围。

[0675] 在一些实施方式中,所述免疫调节肽抑制剂被连接至支持体(参见实施例12)。示例性的支持体包括表面、试纸、培养皿、基质、树脂或小珠。在一些实施方式中,所述免疫调节肽抑制剂溶解在溶液中(参见实施例10)。在一些实施方式中,可能含有P3028序列/结构的生物样品与溶液中的抑制剂接触(参见实施例10和12)。所述生物样品可以包括血液、血清、免疫细胞、免疫细胞裂解物、肿瘤细胞或肿瘤细胞裂解物。在与所述免疫调节肽抑制剂接触后,可选地洗涤在其上置有蛋白复合体的支持体以去除任何未结合的或松弛附着的免疫调节肽抑制剂。如果P3028序列/结构存在于样品中,检测与连接至支持体的抑制剂结合的P3028序列/结构的存在,比如采用rampo分析。如果P3028序列/结构在样品中不存在,就检测不到结合的蛋白。

[0676] 在一些实施方式中,如本文描述的,所述免疫调节肽抑制剂被连接至可检测标记。示例性的可检测标记包括生物素、荧光团、放射性标记和酶类。在一些实施方式中,提供可能含有P3028序列/结构的生物样品。所述样品可以包括血液、血浆、血清、分离的免疫细胞、分离的癌细胞、组织活检和/或肿瘤活检。肽3028的抑制剂(免疫调节肽抑制剂)与生物样品接触。然后可选地洗涤所述样品。如果P3028序列/结构存在,可检测标记会在生物样品中存在(参见实施例14)。如果P3028序列/结构不存在,检测不到标记。检测可检测标记的示例性方法包括显微镜检查、组织切片、免疫测定、免疫组织化学、流式细胞术、免疫印迹、ELISA和ELISpot(参见图39)。例如,可以检查组织切片以确定含有P3028序列/结构的细胞和/或组织。例如,采用冷冻或塑料切片技术筛选分离的免疫和/或肿瘤细胞样品中结合P3028序列/结构的细胞。下面的部分提供关于处理、预防或抑制需要的主体(比如,患有癌症或病原感染(如病毒感染或细菌感染)的主体)中免疫抑制的方法的更多细节。

[0677] 治疗、预防或抑制免疫抑制的方法

[0678] 许多状况和疾病与免疫抑制相关。例如,许多类型的癌症、感染和炎症疾病与免疫抑制相关。因此,可以使用本文描述的一种或多种免疫调节肽抑制剂来治疗、预防或抑制与免疫抑制相关的示例性的状况包括许多类型的癌症,如结肠直肠癌、肾癌、乳腺癌、皮肤癌、卵巢癌、前列腺癌、胰腺癌、肺癌或造血细胞癌。同样可以使用一种或多种本文描述的免疫调节肽抑制剂来治疗、预防、改善或抑制这些状况。可以通过使用一种或多种本文描述的免疫调节肽抑制剂治疗、预防或抑制的、与免疫抑制相关的示例性的状况还包括激素失调,如增

加的和/或异常的皮质醇活性。

[0679] 因此,一些实施方式包括治疗、预防或减少人体中的免疫抑制或一种或多种前述感染或疾病的方法。在一些实施方式中,所述方法包括鉴定具有与免疫抑制相关的状况(如,癌症)的患者。这样的鉴定步骤可以通过临床评价(如,CT、MRI或PET扫描)或诊断分析来完成。所述方法进一步包括向鉴定的或选择的患者施用一种组合物,所述组合物包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:本文描述的免疫调节肽抑制剂序列或编码这样的分子的核酸。例如,包含免疫调节肽抑制剂、由免疫调节肽抑制剂组成或基本由免疫调节肽抑制剂组成的所述组合物可以包括SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589中的任意一条,或者表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的一种或多种肽,或者在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任何变异体或变异体的组合。在一些实施方式中,在肿瘤周边或肿瘤附近施用所述组合物,例如,在肿瘤的10、9、8、7、6、5、4、3、2、1或0.5cm内。在一些实施方式中,所述组合物是系统性施用。在一些实施方式中,所述组合物与第二种治疗试剂联合施用,所述第二种治疗剂例如是一种选择的以在免疫细胞的 LFA-1受体已经被去阻碍(如,结合的免疫调节肽或3028结构已经从LFA-1受体转移)之后刺激所述免疫细胞的治疗剂。在一些实施方式中,在这些方法中使用的这些分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任意两个列出值之间的范围。

[0680] 此外,在这些方法中使用的包含所述免疫调节肽抑制剂、由所述免疫调节肽抑制剂组成或基本由所述免疫调节肽抑制剂组成的所述组合物可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:本文描述的肽或编码这样分子的核酸。例如,在这些方法中使用的肽抑制剂可以包括以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:在本文中描述的式(I) $XX_1VKX_2X_3X_4$ (SEQ ID NO:166)。在一些实施方式中,X是可选的序列,可以是KKLDT (SEQ ID NO:167)、RKLDT (SEQ ID NO:168)、KKGDT (SEQ ID NO:169)、KKEDT (SEQ ID NO:170)、KKLDQ (SEQ ID NO:171)、KKGDQ (SEQ ID NO:252)、KKEDQ (SEQ ID NO:253)、RKLDQ (SEQ ID NO:254)、RKGDQ (SEQ ID NO:255)、RKEDQ (SEQ ID NO:256)、RKGTD (SEQ ID NO:257)、RKEDT (SEQ ID NO:258)、KLDT (SEQ ID NO:172)、KGDQ (SEQ ID NO:259)、KEDT (SEQ ID NO:260)、KLDQ (SEQ ID NO:261)、KGDQ (SEQ ID NO:262)、KEDQ (SEQ ID NO:263)、LDT、LDQ、GDT、GDQ、EDT、EDQ、DT、DQ、T或Q,或缺失。在一些实施方式中, X_1 是FF、FM、FS、FV、FT、FL、AF、AM、AS、AV、AT、AL、VF、VM、VS、VV、VT或VL中的一种。在一些实施方式中, X_2 是LS、LQ、LM、LT、LH、VS、VQ、VM、VT或VH中的一种。在一些实施方式中, X_3 是LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、

LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR中的一种。在一些实施方式中， X_4 是可选序列，可以是ER或E或缺失。在一些实施方式中，如果X缺失， X_1 是FF、 X_2 是LS。在一些实施方式中，在这些方法中使用的包含式(I)的分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸，包括任何两个列出值之间的范围。

[0061] 此外，在这些方法中使用的肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成：本文所描述的式(II)， X_{20} TFFVKLSX X_{21} X X_{22} (SEQ ID NO:173)。在一些实施方式中， X_{20} 是可选序列，可以是KKLD(SEQ ID NO:174)、RKLD(SEQ ID NO:175)、KKGD(SEQ ID NO:176)、KKED(SEQ ID NO:177)、KLD、LD、D或缺失。 X_{21} 是可选序列，可以是LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR，或缺失。在一些实施方式中， X_{22} 是可选序列，可以是ER或E，或缺失。在一些实施方式中，在这些方法中使用的包含式(II)的分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或

1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0682] 此外,在这些方法中使用的肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:式(III), $X_{30}X_{31}VKLX_{32}LX_{33}TEX_{34}$ (SEQ ID NO:178)。在一些实施方式中, X_{30} 是可选序列,可以是KKLDTF(SEQ ID NO:179)、KLDTF(SEQ ID NO:180)、LDTF(SEQ ID NO:181)、DTF、TF或F,或缺失。在一些实施方式中, X_{31} 是可选序列,可以是F、S、M、V、T或L,或缺失。在一些实施方式中, X_{31} 是F。在一些实施方式中, X_{32} 可以是S、Q、M、T或H。在一些实施方式中, X_{32} 是S。 X_{33} 可以是F、M、Q、H、N、P、S、G、A或R。在一些实施方式中, X_{34} 是F。 X_{34} 是可选序列,可以是R或缺失。在一些实施方式中,在这些方法中使用的包含式(III)的分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0683] 此外,在这些方法中使用的肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:本文中描述的式(VII), $X_{700}KX_{701}X_{702}X_{703}X_{704}X_{705}X_{706}KX_{707}X_{708}X_{709}X_{710}X_{711}EX_{712}$ (SEQ ID NO:394)。在一些实施方式中, X_{700} 是可选序列,可以是K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T或V,或缺失。在一些实施方式中, X_{701} 是可选序列,可以是L、A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、N、Q、R、S、T或V或缺失。在一些实施方式中, X_{702} 是可选序列,可以是D、A、E、I、V、W或Y或缺失。在一些实施方式中, X_{703} 是可选序列,可以是T、C、M、N、P、Q、R、S、W或Y或缺失。在一些实施方式中, X_{704} 是可选序列,可以是F、A、I、M、N、P、T或V或缺失。在一些实施方式中, X_{705} 是可选序列,可以是F、L、M、Q、S、T或V或缺失。在一些实施方式中, X_{706} 是可选序列,可以是V、F、G、L、P或R或缺失。在一些实施方式中, X_{707} 是可选序列,可以是L、A、F、G、I、M、N、P、Q、R、S、T、V或Y或缺失。在一些实施方式中, X_{708} 是可选序列,可以是S、H、M、N、Q或T或缺失。在一些实施方式中, X_{709} 是可选序列,可以是L、A、H、I、M、N、Q、R、S、T、V或W或缺失。在一些实施方式中, X_{710} 是可选序列,可以是F、A、C、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或W或缺失。在一些实施方式中, X_{711} 是可选序列,可以是T、F、G、H、I、L、M、N、P、S、V或W或缺失。在一些实施方式中, X_{712} 是可选序列,可以是R、F、K、N、R、T或Y或缺失。在一些实施方式中,包含式(VII)的分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、

1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0684] 此外,在这些方法中使用的肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:本文中描述的式(VIII), $X_{800}K X_{801}K X_{802}E X_{803}$ (SEQ ID NO:395)。在一些实施方式中, X_{800} 是可选序列,可以是K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T、V或K或缺失。在一些实施方式中, X_{801} 是可选序列,可以是LDTFFV、GDTFFV、EDTFFV、LDQFFV、LDTAFV、LDTVFFV、LDTFMV、LDTFSV、LDTFVV、LDTFTV、LDTFLV、LDGFFV、LDTFGV、LDTFFK、ADTFFV、CDTFFV、DDTFFV、FDTFFV、HDTFFV、IDTFFV、KDTFFV、MDTFFV、NDTFFV、QDTFFV、RDTFFV、SDTFFV、TDTFFV、VDTFFV、LATFFV、LETFFV、LITFFV、LVTFFV、LWTFV、LYTFFV、LDCFFV、LDMFFV、LDNFFV、LDPFFV、LDRFFV、LDSFFV、LDWFFV、LDYFFV、LDTIFV、LDTMFV、LDTNFV、LDTPFV、LDTTFV、LDTFQV、LDTFFF、LDTFFG、LDTFFL、LDTFFP、LDTFFR、LDTFIV、LDTSFV、LDTFAV、LDTFCV、LDTQFV、LDTLFV、LTTFFV、LDTFFI、LDHFFV、LMTFFV、LDTFEV、LDTFWV、LFTFFV、LDVFFV、LDTFRV、LDTFHV、LDTYFV、LPTFFV、PDTFFV、LDTFPV、LDTFNV、LDTWFV、LDTGFV、LDAFFV、LQTFFV、LCTFFV、LSTFFV、YDTFFV、LDEFFV、WDTFFV、LDTKFV、LDTCFV、LDTFYV、LDTHFV、LHTFFV、LRTFFV、LDLFFV、LDTRFV、LLTFFV、LDTFDV、LDTFFA、LDTFFT、LNTFFV、LDDFFV、LDIFFV、LDFFFV、LKTFFV、LDTFFQ、LGTFFV、LDTFFC、LDKFFV、LDTFKV、LDTEFV、LDTFFW、LDTFFM、LDTFFS、LDTFFH、LDTFFY、LDTFFN、LDTDFV、LDTFFE、LDTFFD、LTFFV、LDTFF、TFFV、LDF、LDTE、FFV、LDV、LV或L或缺失。在一些实施方式中, X_{802} 是可选序列,可以是LSLFT、VSLFT、LQLFT、LMLFT、LTLFT、LHLFT、LSQFT、LSVFT、LSMFT、LSLMT、LSLQT、LSLHT、LSLNT、LSLPT、LSLST、LSLGT、LSLAT、LSLRT、LSLFN、LSLFP、LSLFR、LGLFT、ASLFT、FSLFT、GSLFT、ISLFT、MSLFT、NSLFT、PSLFT、QSLFT、RSLFT、SSLFT、TSLFT、YSLFT、LNLFT、LSAFT、LSHFT、LSIFT、LSNFT、LSRFT、LSSFT、LSTFT、LSWFT、LSLCT、LSLIT、LSLLT、LSLTT、LSLVT、LSLWT、LSLFF、LSLFG、LSLFH、LSLFI、LSLFL、LSLFM、LSLFS、LSLFW、LYLFT、LVLFV、LSFFT、LSGFT、LSKFT、LSCFT、LCLFT、LRLFT、LPLFT、LWLFT、LKLFT、LDLFT、LSYFT、LALFT、WSLFT、LSLFA、LSLFQ、LSPFT、HSLFT、LSLYT、LILFT、KSLFT、CSLFT、LSLFY、LSLFK、LSLFC、LFLFT、LELFT、LSLKT、LLLFT、LSLFD、LSLDT、LSLFE、DSLFT、LSLET、LSDFT、LSEFT、ESLFT、SLFT、LSFT、LFT、LSL、LT或T或缺失。在一些实施方式中, X_{803} 是可选序列,可以是R、F、K、N、R、T或Y或缺失。在一些实施方式中,包含式(VIII)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0685] 此外,所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:式(IX)。因此,在一些实施方式中,所述肽抑制剂包含式(IX): $X_{901}X_{902}X_{903}X_{904}X_{905}X_{906}X_{907}X_{908}X_{909}X_{910}X_{911}X_{912}X_{913}X_{914}X_{915}X_{916}X_{917}$ 的肽,其中 X_{901} 是任何氨基酸或缺失; X_{902} 是正电荷氨基酸、F或N; X_{903} 是任何氨基酸; X_{904} 是任何氨基酸; X_{905} 是极性无电荷氨基酸、R、Y或W; X_{906} 是疏水或

无电荷极性氨基酸;X₉₀₇是疏水或无电荷极性氨基酸;X₉₀₈是疏水的、非芳香碳链氨基酸且不是M或F;X₉₀₉是正电荷氨基酸、T、Q或Y;X₉₁₀是不带负电荷的任何氨基酸;X₉₁₁是极性无电荷氨基酸或H;X₉₁₂是不带负电荷的任何氨基酸;X₉₁₃是不带负电荷的任何氨基酸;X₉₁₄是不带负电荷的任何氨基酸;X₉₁₅是负电荷氨基酸、Y或Q;X₉₁₆是不带负电荷任何氨基酸;X₉₁₇是一个或多个正电荷氨基酸或缺失。可选地,X₉₀₁包含正电荷氨基酸。可选地,X₉₀₁是R或K。可选地,X₉₁₇是RR。在一些实施方式中,包含式(IX)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0686] 此外,在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成和/或:SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589、或者表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任何一种或多种肽、或者表5.3和13中提供的P28R或P28核的任何变异体或变异体的组合。在一些实施方式中,在这些方法中使用的这些分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0687] 此外,在这些方法中使用的肽抑制剂可以包括某肽抑制剂、或由某肽抑制剂组成或基本由某肽抑制剂组成,所述某肽抑制剂包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589中列出的一种或多种肽,或者在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任何一种或多种肽,或者在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任何变异体或变异体的组合。在一些实施方式中,在这些方法中使用的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、

127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0688] 在一些实施方式中,可以提供编码这种肽抑制剂的核酸,例如,SEQ ID NO:102-165的核酸。优选地,在前述方法中使用的免疫调节肽抑制剂是P28R、其衍生物或编码这种分子的核酸(例如,任何一种或多种免疫调节肽抑制剂包含本文所述的肽、由本文所述的肽组成或基本由本文所述的肽组成)。例如,所述肽抑制可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:本文描述的式(I), $XX_1VKX_2X_3X_4$ (SEQ ID NO:166)。在一些实施方式中,X是可选序列,可以是KKLDT(SEQ ID NO:167)、RKLD(SEQ ID NO:168)、KKGDT(SEQ ID NO:169)、KKEDT(SEQ ID NO:170)、KKLDQ(SEQ ID NO:171)、KKGDQ(SEQ ID NO:252)、KKEDQ(SEQ ID NO:253)、RKLDQ(SEQ ID NO:254)、RKGDQ(SEQ ID NO:255)、RKEDQ(SEQ ID NO:256)、RKGTD(SEQ ID NO:257)、RKEDT(SEQ ID NO:258)、KLDT(SEQ ID NO:172)、KGDT(SEQ ID NO:259)、KEDT(SEQ ID NO:260)、KLDQ(SEQ ID NO:261)、KGDQ(SEQ ID NO:262)、KEDQ(SEQ ID NO:263)、LDT、LDQ、GDT、GDQ、EDT、EDQ、DT、DQ、T或Q或缺失。在一些实施方式中, X_1 是FF、FM、FS、FV、FT、FL、AF、AM、AS、AV、AT、AL、VF、VM、VS、VV、VT或VL中的一种。在一些实施方式中, X_2 是LS、LQ、LM、LT、LH、VS、VQ、VM、VT或VH中的一种。在一些实施方式中, X_3 是LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR中的一种。在一些实施方式中, X_4 是可选序列,可以是ER或E或缺失。在一些实施方式中,如果X缺失,则 X_1 是FF, X_2 是LS。在一些实施方式中,包含式(I)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0689] 此外,所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:式(II), $X_{20}TFFVKLSX_{21}X_{22}$ (SEQ ID NO:173)。在一些实施方式中, X_{20} 是可选序列,可以是KKLD(SEQ ID NO:174)、RKLD(SEQ ID NO:175)、KKGD(SEQ ID NO:176)、KKED(SEQ ID NO:177)、

KLD、LD或D或缺失。 X_{21} 是可选序列,可以是LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR或缺失。在一些实施方式中, X_{22} 是可选序列,可以是ER或E或缺失。在一些实施方式中,包含式(II)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0690] 此外,所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:式(III), $X_{30}X_{31}VKLX_{32}LX_{33}TEX_{34}$ (SEQ ID NO:178)。在一些实施方式中, X_{30} 是可选序列,可以是KKLDTF(SEQ ID NO:179)、KLDTF(SEQ ID NO:180)、LDTF(SEQ ID NO:181)、DTF、TF、F或缺失。在一些实施方式中, X_{31} 是可选序列,可以是F、S、M、V、T或L或缺失。在一些实施方式中, X_{31} 是F。在一些实施方式中, X_{32} 可以是S、Q、M、T或H。在一些实施方式中, X_{32} 是S。 X_{33} 可以是F、M、Q、H、N、P、S、G、A或R。在一些实施方式中, X_{34} 是F。 X_{34} 是可选序列,可以是R或缺失。在一些实施方式中,包含式(III)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0691] 此外,所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:如本文所述的式(VII), $X_{700}KX_{701}X_{702}X_{703}X_{704}X_{705}X_{706}KX_{707}X_{708}X_{709}X_{710}X_{711}EX_{712}$ (SEQ ID NO:394)。在一些实施方式中, X_{700} 是可选序列,可以是K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T或V或缺失。在一些实施方式中, X_{701} 是可选序列,可以是L、A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、N、Q、R、S、T或V或

缺失。在一些实施方式中, X₇₀₂是可选序列, 可以是D、A、E、I、V、W或Y或缺失。在一些实施方式中, X₇₀₃是可选序列, 可以是T、C、M、N、P、Q、R、S、W或Y或缺失。在一些实施方式中, X₇₀₄是可选序列, 可以是F、A、I、M、N、P、T或V或缺失。在一些实施方式中, X₇₀₅是可选序列, 可以是F、L、M、Q、S、TV或缺失。在一些实施方式中, X₇₀₆是可选序列, 可以是V、F、G、L、P或R或缺失。在一些实施方式中, X₇₀₇是可选序列, 可以是L、A、F、G、I、M、N、P、Q、R、S、T、V或Y或缺失。在一些实施方式中, X₇₀₈是可选序列, 可以是S、H、M、N、Q或T或缺失。在一些实施方式中, X₇₀₉是可选序列, 可以是L、A、H、I、M、N、Q、R、S、T、V或W或缺失。在一些实施方式中, X₇₁₀是可选序列, 可以是F、A、C、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或W或缺失。在一些实施方式中, X₇₁₁是可选序列, 可以是T、F、G、H、I、L、M、N、P、S、V或W或缺失。在一些实施方式中, X₇₁₂是可选序列, 可以是R、F、K、N、R、T、+或Y或缺失。在一些实施方式中, 包含式(VII)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸, 例如, 少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸, 包括任何两个列出值之间的范围。

[0692] 此外, 所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成: 如本文所述的式(VIII), X₈₀₀KX₈₀₁K X₈₀₂E X₈₀₃(SEQ ID NO:395)。在一些实施方式中, X₈₀₀是可选序列, 可以是K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T、V或K或缺失。在一些实施方式中, X₈₀₁是可选序列, 可以是LDTFV、GDTFV、EDTFV、LDQFV、LDTAFV、LDTVfV、LDTFMV、LDTFSV、LDTFVV、LDTFTV、LDTFLV、LDGFFV、LDTFGV、LDTFFK、ADTFV、CDTFV、DDTFV、FDTFV、HDTFV、IDTFV、KDTFV、MDTFV、NDTFV、QDTFV、RDTFV、SDTFV、TDTFV、VDTFV、LATFV、LETfV、LITFV、LVTfV、LWTfV、LYTfV、LDCFFV、LDMFFV、LDNFFV、LDPFFV、LDRFFV、LDSFFV、LDWFFV、LDYFFV、LDTIFV、LDTMFV、LDTNFV、LDTPFV、LDTTFV、LDTFQV、LDTFFF、LDTFFG、LDTFFL、LDTFFP、LDTFFR、LDTFIV、LDTSFV、LDTFAV、LDTFCV、LDTQFV、LDTLFV、LTTFV、LDTFFI、LDHFFV、LMTFFV、LDTFEV、LDTFWV、LFTFFV、LDVFFV、LDTFRV、LDTFHV、LDTYFV、LPTFFV、PDTFV、LDTFPV、LDTFNV、LDTWfV、LDTGFV、LDAFFV、LQTFV、LCTFFV、LSTFFV、YDTFFV、LDEFFV、WDTFV、LDTKFV、LDTCFV、LDTFYV、LDTHFV、LHTFFV、LRTFFV、LDLFFV、LDTRFV、LLTFFV、LDTFDV、LDTFFA、LDTFFT、LNTFFV、LDDFFV、LDIFFV、LDFFFV、LKTFFV、LDTFFQ、LGTFV、LDTFFC、LDKFFV、LDTFKV、LDTEFV、LDTFFW、LDTFFM、LDTFFS、LDTFFH、LDTFFY、LDTFFN、LDTDFV、LDTFFE、LDTFFD、LTFFV、LDTFF、TFFV、LDF、LDTE、FFV、LDV、LV或L或缺失。在一些实施方式中, X₈₀₂是可选序列, 可以是LSLFT、VSLFT、LQLFT、LMLFT、LTLFT、LHLFT、LSQFT、LSVFT、LSMFT、LSLMT、LSLQT、LSLHT、LSLNT、LSLPT、LSLST、LSLGT、LSLAT、LSLRT、LSLFN、LSLFP、LSLFR、LGLFT、ASLFT、FSLFT、GSLFT、ISLFT、MSLFT、NSLFT、PSLFT、QSLFT、RSLFT、SSLFT、TSLFT、YSLFT、LNLFT、LSAFT、LSHFT、LSIFT、LSNFT、LSRFT、LSSFT、LSTFT、LSWFT、LSLCT、LSLIT、LSLLT、LSLTT、LSLVT、LSLWT、LSLFF、LSLFG、LSLFH、LSLFI、LSLFL、LSLFM、LSLFS、LSLFV、LSLFW、LYLFT、LVLFT、LSFFT、

LSGFT、LSKFT、LSCFT、LCLFT、LRLFT、LPLFT、LWLFT、LKLFT、LDLFT、LSYFT、LALFT、WSLFT、LSLFA、LSLFQ、LSPFT、HSLFT、LSLYT、LILFT、KSLFT、CSLFT、LSLFY、LSLFK、LSLFC、LFLFT、LELFT、LSLKT、LLLFT、LSLFD、LSLDT、LSLFE、DSLFT、LSLET、LSDFT、LSEFT、ESLFT、SLFT、LSFT、LFT、LSL、LT或T或缺失。在一些实施方式中，X₈₀₃是可选序列，可以是R、F、K、N、R、T或Y或缺失。在一些实施方式中，包含式(VIII)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸，包括任何两个列出值之间的范围。

[0693] 此外，所述肽抑制剂可以包含式(IX)、由式(IX)组成或基本由式(IX)组成。因此，在一些实施方式中，所述肽抑制剂包含式(IX)：X₉₀₁X₉₀₂X₉₀₃X₉₀₄X₉₀₅X₉₀₆X₉₀₇X₉₀₈X₉₀₉X₉₁₀X₉₁₁X₉₁₂X₉₁₃X₉₁₄X₉₁₅X₉₁₆X₉₁₇的肽，其中X₉₀₁是任何氨基酸或缺失；X₉₀₂是正电荷氨基酸、F或N；X₉₀₃是任何氨基酸；X₉₀₄是任何氨基酸；X₉₀₅是极性无电荷氨基酸、R、Y或W；X₉₀₆是疏水或无电荷极性氨基酸；X₉₀₇是疏水或无电荷极性氨基酸；X₉₀₈是疏水的、非芳香碳链氨基酸且不是M或F；X₉₀₉是正电荷氨基酸、T、Q或Y；X₉₁₀是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₁是极性无电荷氨基酸或H；X₉₁₂是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₃是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₄是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₅是负电荷氨基酸、Y或Q；X₉₁₆是不带负电荷的任何氨基酸；以及X₉₁₇是一个或多个正电荷氨基酸或缺失。可选地，X₉₀₁包括正电荷氨基酸。可选地，X₉₀₁是R或K。可选地，X₉₁₇是RR。在一些实施方式中，包含式(IX)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸，包括任何两个列出值之间的范围。

[0694] 此外，所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成和/或：如本文所描述的SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589，或者在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任何一种或多种肽，或者如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任何变异体或变异体的组合。在一些实施方式中，所述分离肽的长度是少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、

43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0695] 此外,所述肽抑制剂可以包括某肽抑制剂、或由某肽抑制剂组成或基本由某肽抑制剂组成,所述某肽抑制剂包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:在表5.1、5.4、5.5或5.6中列出的任何一种或多种肽,或者如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任何变异体或变异体的组合。在一些实施方式中,来自表5.1、5.4、5.5或5.6的所述分离肽或者在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任何变异体或变异体的组合的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。例如,可以通过SEQ ID NO: 102-165提供编码这种肽抑制剂的核酸。

[0696] 在前述方法中使用的免疫调节肽抑制剂可以包括至少一个D-氨基酸、至少一个非天然氨基酸、N-末端乙酰基或C末端酰胺基,且所述免疫调节肽抑制剂可以被糖基化或者与PEG、细胞毒素或放射性核素连接。可以将所述肽施用至病患的至少一个细胞。所述施用可以体内进行,例如,治疗性地。所述施用可以离体进行,例如,作为诊断工具或者作为一种离体疗法以在将免疫细胞施用至病患前刺激所述病患的免疫细胞。在实施例13中描述了将一种免疫调节肽抑制剂施用至人免疫细胞并检测所述免疫细胞刺激,所述免疫调节肽抑制剂包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:如本文中所述的肽抑制剂或编码这样分子的核酸。例如,在这些方法中使用的肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:如本文描述的式(I), $XX_1VKX_2X_3X_4$ (SEQ ID NO:166)。在一些实施方式中,X是可选序列,可以是KKLDT (SEQ ID NO:167)、RKLDT (SEQ ID NO:168)、KKGDT (SEQ ID NO:169)、KKEDT (SEQ ID NO:170)、KKLDQ (SEQ ID NO:171)、KKGDQ (SEQ ID NO:252)、KKEDQ (SEQ ID NO:253)、RKLDQ (SEQ ID NO:254)、RKGDQ (SEQ ID NO:255)、RKEDQ (SEQ ID NO:256)、RKGTD (SEQ ID NO:257)、RKEDT (SEQ ID NO:258)、KLDT (SEQ ID NO:172)、KGD (SEQ ID NO:259)、KEDT (SEQ ID NO:260)、KLDQ (SEQ ID NO:261)、KGDQ (SEQ ID NO:262)、KEDQ (SEQ ID NO:263)、LDT、LDQ、GDT、GDQ、EDT、EDQ、DT、DQ、T或Q或缺失。在一些实施方式中, X_1 是FF、FM、FS、FV、FT、FL、AF、AM、AS、AV、AT、AL、VF、VM、VS、VV、VT或VL中的一种。在一些实施方式中, X_2 是LS、LQ、LM、LT、LH、VS、VQ、VM、VT或VH中的一种。在一些实施方式中, X_3 是LFT、LMT、

LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR中的一种。在一些实施方式中， X_4 是可选序列，可以是ER或E或缺失。在一些实施方式中，如果X缺失，则 X_1 是FF， X_2 是LS。在一些实施方式中，在这些方法中使用的包含式(I)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸，包括任何两个列出值之间的范围。

[0697] 此外，在这些方法中使用的肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成：式(II)， X_{20} TFFVKLSX X_{21} X X_{22} (SEQ ID NO:173)。在一些实施方式中， X_{20} 是可选序列，可以是KKLD(SEQ ID NO:174)、RKLD(SEQ ID NO:175)、KKGD(SEQ ID NO:176)、KKED(SEQ ID NO:177)、KLD、LD或D或缺失。 X_{21} 是可选序列，可以是LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR或缺失。在一些实施方式中， X_{22} 是可选序列，可以是ER或E或缺失。在一些实施方式中，用在这些方法中的包含式(II)的分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、

123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0698] 此外,在这些方法中使用的肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:式(III), $X_{30}X_{31}VKLX_{32}LX_{33}TEX_{34}$ (SEQ ID NO:178)。在一些实施方式中, X_{30} 是可选序列,可以是KKLDTF(SEQ ID NO:179)、KLDTF(SEQ ID NO:180)、LDTF(SEQ ID NO:181)、DTF、TF或F或缺失。在一些实施方式中, X_{31} 是可选序列,可以是F、S、M、V、T或L或缺失。在一些实施方式中, X_{31} 是F。在一些实施方式中, X_{32} 可以是S、Q、M、T或H。在一些实施方式中, X_{32} 是S。 X_{33} 可以是F、M、Q、H、N、P、S、G、A或R。在一些实施方式中, X_{34} 是F。 X_{34} 是可选序列,可以是R或缺失。在一些实施方式中,在这些方法中使用的包含式(III)的分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0699] 此外,在这些方法中使用的肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:如本文描述的式(VII), $X_{700}K X_{701}X_{702}X_{703}X_{704}X_{705}X_{706}K X_{707}X_{708}X_{709}X_{710}X_{711}E X_{712}$ (SEQ ID NO:394)。在一些实施方式中, X_{700} 是可选序列,可以是K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T或V或缺失。在一些实施方式中, X_{701} 是可选序列,可以是L、A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、N、Q、R、S、T或V或缺失。在一些实施方式中, X_{702} 是可选序列,可以是D、A、E、I、V、W、Y或缺失。在一些实施方式中, X_{703} 是可选序列,可以是T、C、M、N、P、Q、R、S、W、Y或缺失。在一些实施方式中, X_{704} 是可选序列,可以是F、A、I、M、N、P、T或V或缺失。在一些实施方式中, X_{705} 是可选序列,可以是F、L、M、Q、S、T或V或缺失。在一些实施方式中, X_{706} 是可选序列,可以是V、F、G、L、P或R或缺失。在一些实施方式中, X_{707} 是可选序列,可以是L、A、F、G、I、M、N、P、Q、R、S、T、V或Y或缺失。在一些实施方式中, X_{708} 是可选序列,可以是S、H、M、N、Q或T或缺失。在一些实施方式中, X_{709} 是可选序列,可以是L、A、H、I、M、N、Q、R、S、T、V或W或缺失。在一些实施方式中, X_{710} 是可选序列,可以是F、A、C、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或W或缺失。在一些实施方式中, X_{711} 是可选序列,可以是T、F、G、H、I、L、M、N、P、S、V或W或缺失。在一些实施方式中, X_{712} 是可选序列,可以是R、F、K、N、R、T或Y或缺失。在一些实施方式中,包含式(VII)的分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、

116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0700] 此外,在这些方法中使用的肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:如本文描述的式(VIII), $X_{800}K X_{801}K X_{802}E X_{803}$ (SEQ ID NO:395)。在一些实施方式中, X_{800} 是可选序列,可以是K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T、V或K或缺失。在一些实施方式中, X_{801} 是可选序列,可以是LDTFV、GDTFFV、EDTFFV、LDQFFV、LDTAFV、LDTVFFV、LDTFMV、LDTFSV、LDTFVV、LDTFTV、LDTFLV、LDGFFV、LDTFGV、LDTFFK、ADTFFV、CDTFFV、DDTFFV、FDTFFV、HDTFFV、IDTFFV、KDTFFV、MDTFFV、NDTFFV、QDTFFV、RDTFFV、SDTFFV、TDTFFV、VDTFFV、LATFFV、LETFFV、LITFFV、LVTFFV、LWTFV、LYTFFV、LDCFFV、LDMFFV、LDNFFV、LDPFFV、LDRFFV、LDSFFV、LDWFFV、LDYFFV、LDTIFV、LDTMFV、LDTNFV、LDTPFV、LDTTFV、LDTFQV、LDTFFF、LDTFFG、LDTFFL、LDTFFP、LDTFFR、LDTFIV、LDTSFV、LDTFAV、LDTFCV、LDTQFV、LDTLFV、LTTFFV、LDTFFI、LDHFFV、LMTFFV、LDTFEV、LDTFWV、LFTFFV、LDVFFV、LDTFRV、LDTFHV、LDTYFV、LPTFFV、PDTFFV、LDTFPV、LDTFNV、LDTWFV、LDTGFV、LDAFFV、LQTFV、LCTFFV、LSTFFV、YDTFFV、LDEFFV、WDTFFV、LDTKFV、LDTCFV、LDTFYV、LDTHFV、LHTFFV、LRTFFV、LDLFFV、LDTRFV、LLTFFV、LDTFDV、LDTFFA、LDTFFT、LNTFFV、LDDFFV、LDIFFV、LDFFFV、LKTFFV、LDTFFQ、LGTFV、LDTFFC、LDKFFV、LDTFKV、LDTEFV、LDTFFW、LDTFFM、LDTFFS、LDTFFH、LDTFFY、LDTFFN、LDTDFV、LDTFFE、LDTFFD、LTFFV、LDTFF、TFFV、LDF、LDTE、FFV、LDV、LV或L或缺失。在一些实施方式中, X_{802} 是可选序列,可以是LSLFT、VSLFT、LQLFT、LMLFT、LTLFT、LHLFT、LSQFT、LSVFT、LSMFT、LSLMT、LSLQT、LSLHT、LSLNT、LSLPT、LSLST、LSLGT、LSLAT、LSLRT、LSLFN、LSLFP、LSLFR、LGLFT、ASLFT、FSLFT、GSLFT、ISLFT、MSLFT、NSLFT、PSLFT、QSLFT、RSLFT、SSLFT、TSLFT、YSLFT、LNLFT、LSAFT、LSHFT、LSIFT、LSNFT、LSRFT、LSSFT、LSTFT、LSWFT、LSLCT、LSLIT、LSLLT、LSLTT、LSLVT、LSLWT、LSLFF、LSLFG、LSLFH、LSLFI、LSLFL、LSLFM、LSLFS、LSLFV、LSLFW、LYLFT、LVLFT、LSFFT、LSGFT、LSKFT、LSCFT、LCLFT、LRLFT、LPLFT、LWLFT、LKLFT、LDLFT、LSYFT、LALFT、WSLFT、LSLFA、LSLFQ、LSPFT、HSLFT、LSLYT、LILFT、KSLFT、CSLFT、LSLFY、LSLFK、LSLFC、LFLFT、LELFT、LSLKT、LLLFT、LSLFD、LSLDT、LSLFE、DSLFT、LSLET、LSDFT、LSEFT、ESLFT、SLFT、LSFT、LFT、LSL、LT或T或缺失。在一些实施方式中, X_{803} 是可选序列,可以是R、F、K、N、R、T或Y或缺失。在一些实施方式中,包含式(VIII)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0701] 此外,所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成

和/或:如本文所描述的SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589,或者在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任何一种或多种肽,或者如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任何变异体或变异体的组合。在一些实施方式中,在这些方法中使用的这些分离肽的长度为少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0702] 此外,在这些方法中使用的肽抑制剂可以包括某肽抑制剂、或由某肽抑制剂组成或基本由某肽抑制剂组成,所述某肽抑制剂包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:表5.1中列出的任何一种或多种肽。在一些实施方式中,在这些方法中使用的来自表5.1的分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0703] 可以提供编码这种肽抑制剂的核酸,例如,SEQ ID NO:102-165的核酸。在施用所述免疫调节肽抑制剂之后,可以检测人的免疫细胞的刺激(例如,免疫细胞增殖、迁移或NK细胞细胞毒素的增加)。一旦已经施用了所述免疫调节肽抑制剂,这些方法可以可选地包括测量或观察病患中免疫抑制的减少(如,可以评估免疫细胞增殖、迁移或扩散或NK细胞细胞毒性的增加或者检测如通过CD69或CD71表达增加所证实的免疫细胞的活化或刺激,如通过干扰素 λ 或IL-12生产所证实的信号物质分泌的诱导,或者如通过粒酶B或穿孔素的释放所证实的溶细胞物质释放的刺激、增强的细胞毒性、细胞因子生产、细胞迁移和/或细胞增殖)。

[0704] 如上所提及的,一些实施方式包括鉴定患有免疫抑制的病患的步骤。该分析可以包括大体检测病患的免疫细胞活性,例如,检测所述病患的生物样品中至少一种免疫细胞类型(例如,白细胞、PBMC、淋巴细胞、单核细胞、巨噬细胞)的数量。P3028序列/结构在病患的血清中和/或在病患的癌细胞上的存在(可使用标记的免疫调节肽抑制剂完成的评估)同样是病患免疫系统抑制的指示。因此,本发明的一些实施方式包括检测病患的生物样品(例

如,包括血液、血浆、血清或癌细胞活组织检查的样品)中P3028序列/结构的存在。可以在美国专利号7960126、8133688、8110347和美国公开号2010/0323370和2011/0262470中发现用于检测肽3028在病患的生物样品中存在的实施例、方法和组合物,前述每份文献通过引用的方式全文明确地并入本文。使用至少一种与P3028序列/结构结合的抗体,通过例如免疫分析、印记技术、ELISA、ELISpot、流式细胞术、微量样本多指标流式蛋白定量技术、蛋白质组学和/或生物样品的免疫组织化学可以检测P3028序列/结构。还可以通过例如对病患的生物样品或其片段使用质谱法来检测P3028序列/结构。还可以通过直接检测如本文描述的P3028序列/结构的标记的肽抑制剂来检测P3028序列/结构,例如,通过组织学染色、荧光显微镜、免疫组织化学或酶显色定量分析(见实施例14)。还可以例如通过将病患血清接触过的免疫细胞同对照样品血清接触过的免疫细胞进行比较来功能性地检测所述P3028序列/结构,所述对照样品血清已知不含有P3028序列/结构。在一些实施方式中,所述血清是变性的。示例性的免疫细胞包括PBMC。在一些实施方式中,所述血清不是变性的。所述免疫细胞可选地可以被例如IL-2或脂多糖(LPS)刺激。在一些实施方式中,可以分析所述免疫细胞中的IL-6生产。

[0705] 在一些实施方式中,通过诊断病患患有癌症来鉴定患有免疫抑制的病患。在一些实施方式中,通过检测病患的细胞与P3028序列/结构结合(见实施例7)或P3028序列/结构的抑制剂(见实施例14)可以鉴定癌细胞并因此鉴定病患。可以被鉴定并且与免疫抑制相关的示例性的癌包括乳癌、肾细胞癌以及恶性黑色素瘤。

[0706] 可以通过多种方式完成将所述免疫调节肽抑制剂施用给所述病患。在一些实施方式中,将所述免疫调节肽抑制剂直接施用给病患。可以静脉内、腹腔内、皮下、肌肉内、局部地、经皮地、口服地和/或肿瘤周边地施用所述免疫调节肽抑制剂。在一些实施方式中,所述免疫调节肽抑制剂施用在肿瘤位置,例如,通过直接注射。在一些实施方式中,将所述免疫调节肽抑制剂施用在肿瘤周围,例如,在肿瘤内10cm、9cm、8cm、7cm、6cm、5cm、4cm、3cm、2cm、1cm或0.5cm,或者由任何两个前述距离所限定的范围。在一些实施方式中,所述免疫调节肽抑制剂与本文描述的制药学可接受的稀释剂或载体一起施用。在一些实施方式中,离体施用所述免疫调节肽抑制剂。例如,可以从病患分离病患的免疫细胞,与所述抑制剂接触,再返回至所述病患。实施例13和14描述了用P3028序列/结构的抑制剂接触病患的免疫细胞。

[0707] 本文描述的任何一种或多种免疫调节肽抑制剂可以用于一种或多种前述方法。在一些实施方式中,所述免疫调节肽抑制剂包括SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589中的至少一种,或者在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任何一种或多种肽,或者如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任何变异体或变异体的组合。在一些实施方式中,所述免疫调节肽抑制剂包括至少一种与SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589中的任何一种或多种、或者在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任何一种或多种肽、或者如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任何变异体或变异体的组合相对应的P3028序列/结构的肽模拟物抑制剂。在一些实施方式中,所述免疫调节肽抑制剂是与SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589中的任何一种或多种、或者在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任何一种或多种肽、或者如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任何变异体或变异体的组合相对应的肽3028的小分子抑制剂。在一些实施方式中,所述免疫调节肽抑制剂包括与P3028序列/结

构特异结合的抗体或其片段。抑制P3028序列/结构的抗体在实施例9中描述。

[0708] 在一些前述方法中, P3028序列/结构的免疫调节肽抑制剂包括一种核酸, 所述核酸编码免疫调节肽抑制剂, 如本文描述的肽。例如, 由所述核酸编码的肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成: 如本文所述的式(I), $XX_1VKX_2X_3X_4$ (SEQ ID NO:166)。在一些实施方式中, X 是可选序列, 可以是KKLDT (SEQ ID NO:167)、RKLDT (SEQ ID NO:168)、KKGDT (SEQ ID NO:169)、KKEDT (SEQ ID NO:170)、KKLDQ (SEQ ID NO:171)、KKGDQ (SEQ ID NO:252)、KKEDQ (SEQ ID NO:253)、RKLDQ (SEQ ID NO:254)、RKGDQ (SEQ ID NO:255)、RKEDQ (SEQ ID NO:256)、RKGTD (SEQ ID NO:257)、RKEDT (SEQ ID NO:258)、KLDT (SEQ ID NO:172)、KGDQ (SEQ ID NO:259)、KEDT (SEQ ID NO:260)、KLDQ (SEQ ID NO:261)、KGDQ (SEQ ID NO:262)、KEDQ (SEQ ID NO:263)、LDT、LDQ、GDT、GDQ、EDT、EDQ、DT、DQ、T或Q或缺失。在一些实施方式中, X_1 是FF、FM、FS、FV、FT、FL、AF、AM、AS、AV、AT、AL、VF、VM、VS、VV、VT或VL中的一种。在一些实施方式中, X_2 是LS、LQ、LM、LT、LH、VS、VQ、VM、VT或VH中的一种。在一些实施方式中, X_3 是LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR中的一种。在一些实施方式中, X_4 是可选序列, 可以是ER或E或缺失。在一些实施方式中, 如果 X 缺失, X_1 是FF, X_2 是LS。在一些实施方式中, 在这些方法中使用的、由所述核酸编码的、包含式(I)的分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸, 例如, 少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸, 包括任何两个列出值之间的范围。

[0709] 此外, 由所述核酸编码的肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成: 式(II), $X_{20}TFFVKLSX_{21}X_{22}$ (SEQ ID NO:173)。在一些实施方式中, X_{20} 是可选序列, 可以是KKLD (SEQ ID NO:174)、RKLD (SEQ ID NO:175)、KKGD (SEQ ID NO:176)、KKED (SEQ ID NO:177)、KLD、LD或D或缺失。 X_{21} 是可选序列, 可以是LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、

VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR或缺失。在一些实施方式中， X_{22} 是可选序列，可以是ER、E或缺失。在一些实施方式中，在这些方法中使用的、由所述核酸编码的、包含式(II)的分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸，包括任何两个列出值之间的范围。

[0710] 此外，由所述核酸编码的肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成：式(III)， $X_{30}X_{31}VKLX_{32}LX_{33}TEX_{34}$ (SEQ ID NO:178)。在一些实施方式中， X_{30} 是可选序列，可以是KKLDTF (SEQ ID NO:179)、KLDTF (SEQ ID NO:180)、LDTF (SEQ ID NO:181)、DTF、TF或F或缺失。在一些实施方式中， X_{31} 是可选序列，可以是F、S、M、V、T或L或缺失。在一些实施方式中， X_{31} 是F。在一些实施方式中， X_{32} 可以是S、Q、M、T或H。在一些实施方式中， X_{32} 是S。 X_{33} 可以是F、M、Q、H、N、P、S、G、A或R。在一些实施方式中， X_{34} 是F。 X_{34} 是可选序列，可以是R或缺失。在一些实施方式中，在这些方法中使用的、由所述核酸编码的、包含式(III)的分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸，包括任何两个列出值之间的范围。

[0711] 此外，由所述核酸编码的肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成：如本文描述的式(VII)， $X_{700}K X_{701}X_{702}X_{703}X_{704}X_{705}X_{706}K X_{707}X_{708}X_{709}X_{710}X_{711}E X_{712}$ (SEQ ID NO:394)。在一些实施方式中， X_{700} 是可选序列，可以是K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T或V或缺失。在一些实施方式中， X_{701} 是可选序列，可以是L、A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、N、Q、R、S、T或V或缺失。在一些实施方式中， X_{702} 是可选序列，可以是D、A、E、I、V、W或Y或缺失。在一些实施方式中， X_{703} 是可选序列，可以是T、C、M、N、P、Q、R、S、W或Y或缺失。在一些实施方式中， X_{704} 是可选序列，可以是F、A、I、M、N、P、T或V或缺失。在一些实施方式中， X_{705} 是可选序

列,可以是F、L、M、Q、S、T或V或缺失。在一些实施方式中,X₇₀₆是可选序列,可以是V、F、G、L、P或R或缺失。在一些实施方式中,X₇₀₇是可选序列,可以是L、A、F、G、I、M、N、P、Q、R、S、T、V或Y或缺失。在一些实施方式中,X₇₀₈是可选序列,可以是S、H、M、N、Q或T或缺失。在一些实施方式中,X₇₀₉是可选序列,可以是L、A、H、I、M、N、Q、R、S、T、V或W或缺失。在一些实施方式中,X₇₁₀是可选序列,可以是F、A、C、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或W或缺失。在一些实施方式中,X₇₁₁是可选序列,可以是T、F、G、H、I、L、M、N、P、S、V或W或缺失。在一些实施方式中,X₇₁₂是可选序列,可以是R、F、K、N、R、T或Y或缺失。在一些实施方式中,包含式(VII)的分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0712] 此外,由所述核酸编码的肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:如本文描述的式(VIII),X₈₀₀K X₈₀₁K X₈₀₂E X₈₀₃(SEQ ID NO:395)。在一些实施方式中,X₈₀₀是可选序列,可以是K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T、V或K或缺失。在一些实施方式中,X₈₀₁是可选序列,可以是LDTFFV、GD TFFV、ED TFFV、LDQFFV、LDTAFV、LDTVFFV、LDTFMV、LDTFSV、LDTFVV、LDTFTV、LDTFLV、LDGFFV、LDTFGV、LDTFFK、AD TFFV、CD TFFV、DD TFFV、FD TFFV、HD TFFV、ID TFFV、KD TFFV、MD TFFV、ND TFFV、QD TFFV、RD TFFV、SD TFFV、TD TFFV、VD TFFV、LATFFV、LETFFV、LITFFV、LVTFFV、LW TFFV、LY TFFV、LDCFFV、LDMFFV、LDNFFV、LDPFFV、LDRFFV、LDSFFV、LDWFFV、LDYFFV、LDTIFV、LDTMFV、LDTNFV、LDTPFV、LD TTFV、LDTFQV、LDTFFF、LDTFFG、LDTFFL、LDTFFP、LDTFFR、LDTFIV、LDTSFV、LDTFAV、LDTFCV、LDTQFV、LDTLFV、LT TFFV、LDTFFI、LDHFFV、LMTFFV、LDTFEV、LDTFWV、LFTFFV、LDVFFV、LDTFRV、LDTFHV、LD TYFV、LPTFFV、PD TFFV、LDTFPV、LDTFNV、LDTWFV、LDTGFV、LDAFFV、LQTFFV、LCTFFV、LSTFFV、YD TFFV、LDEFFV、WD TFFV、LDTKFV、LDTCFV、LDTFYV、LDTHFV、LHTFFV、LRTFFV、LDLFFV、LDTRFV、LL TFFV、LDTFDV、LDTFFA、LDTFFT、LNTFFV、LDDFFV、LDIFFV、LDFFFV、LKTFFV、LDTFFQ、LGTFFV、LDTFFC、LDKFFV、LDTFKV、LDTEFV、LDTFFW、LDTFFM、LDTFFS、LDTFFH、LDTFFY、LDTFFN、LDTDFV、LDTFFE、LDTFFD、LTFFV、LDTFF、TFFV、LDF、LDTE、FFV、LDV、LV或L或缺失。在一些实施方式中,X₈₀₂是可选序列,可以是LSLFT、VSLFT、LQLFT、LMLFT、LTLFT、LHLFT、LSQFT、LSVFT、LSMFT、LSLMT、LSLQT、LSLHT、LSLNT、LSLPT、LSLST、LSLGT、LSLAT、LSLRT、LSLFN、LSLFP、LSLFR、LGLFT、ASLFT、FSLFT、GSLFT、ISLFT、MSLFT、NSLFT、PSLFT、QSLFT、RSLFT、SSLFT、TSLFT、YSLFT、LNLFT、LSAFT、LSHFT、LSIFT、LSNFT、LSRFT、LSSFT、LSTFT、LSWFT、LSLCT、LSLIT、LSLLT、LSLTT、LSLVT、LSLWT、LSLFF、LSLFG、LSLFH、LSLFI、LSLFL、LSLFM、LSLFS、LSLFV、LSLFW、LYLFT、LV LFT、LSFFT、LSGFT、LSKFT、LSCFT、LCLFT、LRLFT、LPLFT、LWLFT、LKLFT、LDLFT、LSYFT、LALFT、WSLFT、LSLFA、LSLFQ、LSPFT、HSLFT、LSLYT、LILFT、KSLFT、CSLFT、LSLFY、LSLFK、LSLFC、LFLFT、LELFT、LSLKT、LLLFT、LSLFD、LSLDT、LSLFE、DSLFT、LSLET、LSDFT、LSEFT、ESLFT、SLFT、

LSFT、LFT、LSL、LT或T或缺失。在一些实施方式中，X₈₀₃是可选序列，可以是R、F、K、N、R、T或Y或缺失。在一些实施方式中，包含式(VIII)的分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸，包括任何两个列出值之间的范围。

[0713] 此外，在这些方法中使用的、由所述核酸编码的肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成：式(IX)。因此，在一些实施方式中，所述肽抑制剂包含式(IX)：X₉₀₁X₉₀₂X₉₀₃X₉₀₄X₉₀₅X₉₀₆X₉₀₇X₉₀₈X₉₀₉X₉₁₀X₉₁₁X₉₁₂X₉₁₃X₉₁₄X₉₁₅X₉₁₆X₉₁₇的肽，其中，X₉₀₁是任何氨基酸或缺失；X₉₀₂是正电荷氨基酸、F或N；X₉₀₃是任何氨基酸；X₉₀₄是任何氨基酸；X₉₀₅是极性无电荷氨基酸、R、Y或W；X₉₀₆是疏水的或无电荷极性氨基酸；X₉₀₇是疏水的或无电荷极性氨基酸；X₉₀₈是疏水的、非芳香碳链氨基酸且不是M或F；X₉₀₉是正电荷氨基酸、T、Q或Y；X₉₁₀是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₁是极性无电荷氨基酸或H；X₉₁₂是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₃是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₄是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₅是负电荷氨基酸、Y或Q；X₉₁₆是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₇是一个或多个正电荷氨基酸或缺失。可选地，X₉₀₁包括正电荷氨基酸。可选地，X₉₀₁是R或K。可选地，X₉₁₇是RR。在一些实施方式中，包含式(IX)的分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸，包括任何两个列出值之间的范围。

[0714] 此外，在这些方法中使用的、由所述核酸编码的肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成和/或：如本文所描述的SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589，或者在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任何一种或多种肽，或者如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任何变异体或变异体的组合。在一些实施方式中，在这些方法中使用的、由所述核酸编码的这些分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、

97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0715] 此外,在这些方法中使用的由所述核酸编码的肽抑制剂可以包括某肽抑制剂、或由某肽抑制剂组成或基本由某肽抑制剂组成,所述某肽抑制剂包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:表5.1、5.4、5.5、5.6中列出的任何一种或多种肽,或者在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任何变异体或变异体的组合。在一些实施方式中,在这些方法中使用的由所述核酸编码的来自表5.1、5.4、5.5、5.6的分离肽或者在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任何变异体或变异体的组合的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0716] 例如,可以提供编码这种肽抑制剂的核酸,例如,SEQ ID NO:102-165的核酸。可以在如本文描述的表达载体中提供所述核酸。可以通过以下方式将所述核酸提供给人:将包含编码所述免疫调节肽抑制剂的所述核酸的表达载体直接施用于人,例如,通过逆转录病毒载体或腺病毒载体或在基因免疫中使用的表达质粒(如,pVAX)。可以将所述表达载体离体提供给人的细胞,再将所述细胞返回至人,或者使用电穿孔技术体内提供。通过病毒载体将核酸递送给宿主细胞的方法在美国专利号7,572,906中描述,其全部内容通过引用的方式明确地并入本文。用腺病毒离体转导免疫细胞再将它们返回至病患的方法在美国专利号8,012,468中描述,其全部内容通过引用的方式明确地并入本文。在一些实施方式中,宿主细胞与编码P3028的免疫调节肽抑制剂的载体接触,所述载体可以在宿主细胞中复制。在一些实施方式中,所述宿主细胞还与“辅助表达载体”(即,一种促进载体在未感染的宿主中复制的病毒基因组)接触。在一些实施方式中,如在实施例16中施用所述抑制剂。在一些实施方式中,离体接触所述细胞。在一些实施方式中,所述细胞是免疫细胞。在一些实施方式中,所述细胞是淋巴细胞、PBMC或白细胞中的一种。在一些实施方式中,如在实施例13中施用所述抑制剂。

[0717] 优选地,提供治疗有效量的免疫调节肽抑制剂。对于已经患有P3028依赖的免疫抑制的病患,治疗有效量的抑制剂可以包括一剂足以至少部分地遏止免疫抑制症状的免疫调节肽抑制剂(如,足以增加免疫细胞的增殖或迁移的量)。在一些实施方式中,治疗有效量包括至少约1纳克基本纯的免疫调节肽抑制剂,例如,至少或等于约1纳克,2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、100、120、140、160、180、200、250、300、350、400、450、

500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000纳克,1微克,2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、100、120、140、160、180、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000微克,约1毫克,2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、100、120、140、160、180、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000毫克,或1.1克,1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、99、100、105、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、250、300、350、400、450或500克,包括任何两个列出值之间的范围可以提供至需要的病患。

[0718] 在一些实施方式中,可以根据时间表提供治疗有效量,所述时间表包括一次或多次施用治疗有效量的抑制剂,例如,至少或等于约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、99、100、105、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、250、300、350、400、450或500次施用。可以每小时或更少地提供施用,例如,每1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24小时不超过1次,或者每1天、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、9、10、11、12、13、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30或31天不超过1次。

[0719] 通过一些方法,在施用所述免疫调节肽抑制剂之后,测量、检测或观察免疫抑制的减少。在一些实施方式中,通过以下方式检测、测量或观察免疫抑制的减少:从接受所述免疫调节肽抑制剂的病患处获得生物样品,检测与P3028结合的免疫细胞受体的减少和/或在IL-2诱导生物样品中存在的免疫细胞之后检测免疫细胞增殖。在一些实施方式中,将从上述病患获得的生物样品的分析与在对照生物样品上进行的相同分析(如,检测与P3028序列/结构结合的免疫细胞受体的量或IL-2诱导的免疫细胞增殖)进行比较,所述对照样品例如从施用所述免疫调节肽抑制剂之前的相同病患取得的生物样品或者从健康人取得的生物样品。实施例9和13描述了与对照样品相比与血清接触的细胞中免疫抑制减少的检测。

[0720] 如上所提及的,免疫抑制的减少可以被检测为免疫细胞刺激(如,免疫细胞增殖或免疫细胞细胞毒性)的增加。可以在在前描述的方法中测量的P3028诱导的免疫抑制的减少可以包括:增加的T细胞受体刺激(见实施例3)、增加的NK细胞细胞毒性(见实施例4)、增加的白细胞扩散(见实施例5)、增加的免疫细胞迁移(见实施例5)和/或IL-2诱导的增殖(见实施例6)。增加的IL-6生产同样可以是癌症病患(例如,患有免疫抑制的癌症病患)的改善的预后(见美国专利号8,110,347,其全文内容通过引用的方式明确地并入本文)。期望地,通过以下方式检测免疫抑制的减少:如在实施例9中所示的对于IL-2的PBMC的增值性反应,或检测如通过CD69或CD71表达的增加所证实的免疫细胞的活化或刺激,通过干扰素 λ 或IL-12生产所证实的信号物质的分泌的诱导,或如通过粒酶B或穿孔素的释放所证实的溶细胞物质的释放的刺激,增加的细胞毒性、细胞因子生产、细胞迁移和/或细胞增殖。

[0721] 在一些实施方式中,通过检测从收集自病患的免疫细胞和/或血清和/或白蛋白中的标志物的存在或量来检测免疫抑制的减少。在一些实施方式中,所述检测包括收集病患

血清、血液和/或病患白蛋白,并将所述病患血清、血浆、血液或白蛋白与免疫细胞离体接触。在一些实施方式中,所述免疫细胞同样与IL-2接触。所述免疫细胞对IL-2的增值性反应可以用于检测免疫抑制的减少。所述免疫细胞可以是病患细胞、或来自另一个人的细胞、或来自细胞培养物的细胞。在一些实施方式中,通过检测增加的免疫系统活性的效果(例如癌细胞数量的减少、肿瘤尺寸的减少或癌细胞增殖的减少或抑制)来检测免疫抑制的减少。在一些实施方式中,可以通过检测与P3028序列/结构结合的细胞(见实施例7)或P3028序列/结构的抑制剂(见实施例14)来鉴定癌细胞,并因此定量癌细胞。

[0722] 抑制白蛋白片段与受体结合的方法

[0723] 其它方法包括用于抑制白蛋白片段与免疫细胞受体(如,LFA-1和/或IL-2受体)结合的方式。如本文所描述的,所述方法可以包括鉴定患有免疫抑制的人。所述免疫抑制可以由一种或多种免疫调节肽或结构引起。示例性的免疫调节肽或结构包括P3028序列/结构,和/或包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成的蛋白或肽:SEQ ID NO:183-185或188-246的序列。所述方法还可以包括用包含本文描述的肽抑制剂、由本文描述的肽抑制剂组成或基本由本文描述的肽抑制剂组成的肽接触免疫细胞。例如,在这些方法中使用的肽可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:本文描述的式(I), $XX_1VKX_2X_3X_4$ (SEQ ID NO:166)。在一些实施方式中,X是可选序列,可以是KKLDT(SEQ ID NO:167)、RKLDT(SEQ ID NO:168)、KKGDT(SEQ ID NO:169)、KKEDT(SEQ ID NO:170)、KKLDQ(SEQ ID NO:171)、KKGDQ(SEQ ID NO:252)、KKEDQ(SEQ ID NO:253)、RKLDQ(SEQ ID NO:254)、RKGDT(SEQ ID NO:255)、RKEDQ(SEQ ID NO:256)、RKGDT(SEQ ID NO:257)、RKEDT(SEQ ID NO:258)、KLDT(SEQ ID NO:172)、KGD(SEQ ID NO:259)、KEDT(SEQ ID NO:260)、KLDQ(SEQ ID NO:261)、KGDQ(SEQ ID NO:262)、KEDQ(SEQ ID NO:263)、LDT、LDQ、GDT、GDQ、EDT、EDQ、DT、DQ、T或Q或缺失。在一些实施方式中, X_1 是FF、FM、FS、FV、FT、FL、AF、AM、AS、AV、AT、AL、VF、VM、VS、VV、VT或VL中的一种。在一些实施方式中, X_2 是LS、LQ、LM、LT、LH、VS、VQ、VM、VT或VH中的一种。在一些实施方式中, X_3 是LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR中的一种。在一些实施方式中, X_4 是可选序列,可以是ER或E或缺失。在一些实施方式中,如果X缺失,则 X_1 是FF, X_2 是LS。在一些实施方式中,在这些方法中使用的包含式(I)的分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、

117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0724] 此外,在这些方法中使用的所述肽可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:式(II), $X_{20}TFFVKLSX_{21}X_{22}$ (SEQ ID NO:173)。在一些实施方式中, X_{20} 是可选序列,可以是KKLD(SEQ ID NO:174)、RKLD(SEQ ID NO:175)、KKGD(SEQ ID NO:176)、KKED(SEQ ID NO:177)、KLD、LD或D或缺失。 X_{21} 是可选序列,可以是LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR或缺失。在一些实施方式中, X_{22} 是可选序列,可以是ER或E或缺失。在一些实施方式中,在这些方法中使用的包含式(II)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0725] 此外,在这些方法中使用的所述肽可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:式(III), $X_{30}X_{31}VKLX_{32}LX_{33}TEX_{34}$ (SEQ ID NO:178)。在一些实施方式中, X_{30} 是可选序列,可以是KKLDTF(SEQ ID NO:179)、KLDTF(SEQ ID NO:180)、LDTF(SEQ ID NO:181)、DTF、TF或F或缺失。在一些实施方式中, X_{31} 是可选序列,可以是F、S、M、V、T或L或缺失。在一些实施方式中, X_{31} 是F。在一些实施方式中, X_{32} 可以是S、Q、M、T或H。在一些实施方式中, X_{32} 是S。 X_{33} 可以是F、M、Q、H、N、P、S、G、A或R。在一些实施方式中, X_{34} 是F。 X_{34} 是可选序列,可以是R或缺失。在一些实施方式中,在这些方法中使用的包含式(III)的所述分离肽长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、

115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0726] 此外,在这些方法中使用的所述肽可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:如本文描述的式(VII), $X_{700}KX_{701}X_{702}X_{703}X_{704}X_{705}X_{706}KX_{707}X_{708}X_{709}X_{710}X_{711}E X_{712}$ (SEQ ID NO:394)。在一些实施方式中, X_{700} 是可选序列,可以是K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T或V或缺失。在一些实施方式中, X_{701} 是可选序列,可以是L、A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、N、Q、R、S、T或V或缺失。在一些实施方式中, X_{702} 是可选序列,可以是D、A、E、I、V、W或Y或缺失。在一些实施方式中, X_{703} 是可选序列,可以是T、C、M、N、P、Q、R、S、W或Y或缺失。在一些实施方式中, X_{704} 是可选序列,可以是F、A、I、M、N、P、T或V或缺失。在一些实施方式中, X_{705} 是可选序列,可以是F、L、M、Q、S、T或V或缺失。在一些实施方式中, X_{706} 是可选序列,可以是V、F、G、L、P或R或缺失。在一些实施方式中, X_{707} 是可选序列,可以是L、A、F、G、I、M、N、P、Q、R、S、T、V或Y或缺失。在一些实施方式中, X_{708} 是可选序列,可以是S、H、M、N、Q或T或缺失。在一些实施方式中, X_{709} 是可选序列,可以是L、A、H、I、M、N、Q、R、S、T、V或W或缺失。在一些实施方式中, X_{710} 是可选序列,可以是F、A、C、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或W或缺失。在一些实施方式中, X_{711} 是可选序列,可以是T、F、G、H、I、L、M、N、P、S、V或W或缺失。在一些实施方式中, X_{712} 是可选序列,可以是R、F、K、N、R、T或Y或缺失。在一些实施方式中,包含式(VII)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0727] 此外,在这些方法中使用的所述肽可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:如本文描述的式(VIII), $X_{800}K X_{801}K X_{802}E X_{803}$ (SEQ ID NO:395)。在一些实施方式中, X_{800} 是可选序列,可以是K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T、V或K或缺失。在一些实施方式中, X_{801} 是可选序列,可以是LDTFFV、GDTFFV、EDTFFV、LDQFFV、LDTAFV、LDTVFFV、LDTFMV、LDTFSV、LDTFVV、LDTFTV、LDTFLV、LDGFFV、LDTFGV、LDTFFK、ADTFFV、CDTFFV、DDTFFV、FDTFFV、HDTFFV、IDTFFV、KDTFFV、MDTFFV、NDTFFV、QDTFFV、RDTFFV、SDTFFV、TDTFFV、VDTFFV、LATFFV、LETFFV、LITFFV、LVTFFV、LWTFV、LYTFFV、LDCFFV、LDMFFV、LDNFFV、LDPFFV、LDRFFV、LDSFFV、LDWFFV、LDYFFV、LDTIFV、LDTMFV、LDTNFV、LDTPFV、LDTTFV、LDTFQV、LDTFFF、LDTFFG、LDTFFL、LDTFFP、LDTFFR、LDTFIV、LDTSFV、LDTFAV、LDTFCV、LDTQFV、LDTLFV、LTTFFV、LDTFFI、LDHFFV、LMTFFV、LDTFEV、LDTFWV、LFTFFV、LDVFFV、LDTFRV、LDTFHV、LDTYFV、LPTFFV、PDTFFV、LDTFPV、LDTFNV、LDTWFFV、LDTGFV、LDAFFV、LQTFFV、LCTFFV、LSTFFV、YDTFFV、LDEFFV、WDTFFV、LDTKFV、LDTCFV、LDTFYV、LDTHFV、LHTFFV、LRTFFV、LDLFFV、LDTRFV、LLTFFV、LDTFDV、LDTFFA、

LDTFFT、LNTFFV、LDDFFV、LDIFFV、LDFFFV、LKTFFV、LDTFFQ、LGTFV、LDTFFC、LDKFFV、LDTFKV、LDTEFV、LDTFFW、LDTFFM、LDTFFS、LDTFFH、LDTFFY、LDTFFN、LDTDFV、LDTFFE、LDTFFD、LTFFV、LDTFF、TFFV、LDF、LDTE、FFV、LDV、LV或L或缺失。在一些实施方式中，X₈₀₂是可选序列，可以是LSLFT、VSLFT、LQLFT、LMLFT、LTLFT、LHLFT、LSQFT、LSVFT、LSMFT、LSLMT、LSLQT、LSLHT、LSLNT、LSLPT、LSLST、LSLGT、LSLAT、LSLRT、LSLFN、LSLFP、LSLFR、LGLFT、ASLFT、FSLFT、GSLFT、ISLFT、MSLFT、NSLFT、PSLFT、QSLFT、RSLFT、SSLFT、TSLFT、YSLFT、LNLFT、LSAFT、LSHFT、LSIFT、LSNFT、LSRFT、LSSFT、LSTFT、LSWFT、LSLCT、LSLIT、LSLLT、LSLTT、LSLVT、LSLWT、LSLFF、LSLFG、LSLFH、LSLFI、LSLFL、LSLFM、LSLFS、LSLFV、LSLFW、LYLFT、LVLFT、LSFFT、LSGFT、LSKFT、LSCFT、LCLFT、LRLFT、LPLFT、LWLFT、LKLFT、LDLFT、LSYFT、LALFT、WSLFT、LSLFA、LSLFQ、LSPFT、HSLFT、LSLYT、LILFT、KSLFT、CSLFT、LSLFY、LSLFK、LSLFC、LFLFT、LELFT、LSLKT、LLLFT、LSLFD、LSLDT、LSLFE、DSLFT、LSLET、LSDFT、LSEFT、ESLFT、SLFT、LSFT、LFT、LSL、LT或T或缺失。在一些实施方式中，X₈₀₃是可选序列，可以是R、F、K、N、R、T或Y或缺失。在一些实施方式中，包含式(VIII)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸，包括任何两个列出值之间的范围。

[0728] 此外，在这些方法中使用的肽抑制剂可以包含式(IX)、由式(IX)组成或基本由式(IX)组成。因此，在一些实施方式中，所述肽抑制剂包含式(IX)：X₉₀₁X₉₀₂X₉₀₃X₉₀₄X₉₀₅X₉₀₆X₉₀₇X₉₀₈X₉₀₉X₉₁₀X₉₁₁X₉₁₂X₉₁₃X₉₁₄X₉₁₅X₉₁₆X₉₁₇的肽，其中，X₉₀₁是任何氨基酸或缺失；X₉₀₂是正电荷氨基酸、F或N；X₉₀₃是任何氨基酸；X₉₀₄是任何氨基酸；X₉₀₅是极性无电荷氨基酸、R、Y或W；X₉₀₆是疏水的或无电荷极性氨基酸；X₉₀₇是疏水的或无电荷极性氨基酸；X₉₀₈是疏水的、非芳香碳链氨基酸且不是M或F；X₉₀₉是正电荷氨基酸、T、Q或Y；X₉₁₀是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₁是极性无电荷氨基酸或H；X₉₁₂是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₃是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₄是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₅是负电荷氨基酸、Y或Q；X₉₁₆是不带负电荷的任何氨基酸；以及X₉₁₇是一个或多个正电荷氨基酸或缺失。可选地，X₉₀₁包括正电荷氨基酸。可选地，X₉₀₁是R或K。可选地，X₉₁₇是RR。在一些实施方式中，包含式(IX)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、

290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0729] 此外,在这些方法中使用的肽抑制剂可以包括某肽抑制剂、或由某肽抑制剂组成或基本由某肽抑制剂组成,所述某肽抑制剂包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:一种或多种在表5.1中列出的肽。在一些实施方式中,在这些方法中使用的来自表5.1的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0730] 此外,在这些方法中使用的所述肽可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成和/或:如本文所描述的SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589,或者在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任何一种或多种肽,或者如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任何变异体或变异体的组合。在一些实施方式中,在这些方法中使用的这些分离肽的长度是少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。所述免疫细胞可以存在于人血清中,例如,本文描述的白蛋白或白蛋白片段。

[0731] 本发明的一些实施方式包括抑制人白蛋白片段(具有P3028序列/结构的白蛋白片段)与LFA-1受体或IL-2受体结合的方法。P3028,一种白蛋白片段,可以与LFA-1受体和IL-2受体结合(见实施例7和8),且这种结合可以通过提供一种组合物抑制,所述组合物包含免疫调节肽抑制剂、由免疫调节肽抑制剂组成或基本由免疫调节肽抑制剂组成。在一些实施方式中,抑制P3028与LFA-1和IL-2受体结合的方法包括在体内或体外使免疫调节肽抑制剂接触或结合P3028,以及可选地,检测P3028与LFA-1受体或IL-2受体结合的抑制。例如,通过P3028与特异结合P3028的抗体结合可以抑制P3028与LFA-1受体和IL-2受体结合(见实施例9)。这些方法还可以通过结合肽基免疫调节肽抑制剂来实践,所述肽基免疫调节肽抑制剂具有移除或抑制LFA-1受体的P3028阻碍物的能力,例如,P28R免疫调节肽抑制剂(SEQ ID

NO:2) (见实施例16) 或P28核肽 (SEQ ID NO:62) (见实施例38)。

[0732] 优选地, 包含在这些方法中使用的免疫调节肽抑制剂、由在这些方法中使用的免疫调节肽抑制剂组成或基本由在这些方法中使用的免疫调节肽抑制剂组成的组合物包括某免疫调节肽抑制剂, 所述某免疫调节肽抑制剂包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成: 如本文所描述的式 (I), $XX_1VKX_2X_3X_4$ (SEQ ID NO:166)。在一些实施方式中, X 是可选序列, 可以是KKLDT (SEQ ID NO:167)、RKLDT (SEQ ID NO:168)、KKGDT (SEQ ID NO:169)、KKEDT (SEQ ID NO:170)、KKLDQ (SEQ ID NO:171)、KKGDQ (SEQ ID NO:252)、KKEDQ (SEQ ID NO:253)、RKLDQ (SEQ ID NO:254)、RKGDT (SEQ ID NO:255)、RKEDQ (SEQ ID NO:256)、RKGDT (SEQ ID NO:257)、RKEDT (SEQ ID NO:258)、KLDT (SEQ ID NO:172)、KGDQ (SEQ ID NO:259)、KEDT (SEQ ID NO:260)、KLDQ (SEQ ID NO:261)、KGDQ (SEQ ID NO:262)、KEDQ (SEQ ID NO:263)、LDT、LDQ、GDT、GDQ、EDT、EDQ、DT、DQ、T或Q或缺失。在一些实施方式中, X_1 是FF、FM、FS、FV、FT、FL、AF、AM、AS、AV、AT、AL、VF、VM、VS、VV、VT或VL中的一种。在一些实施方式中, X_2 是LS、LQ、LM、LT、LH、VS、VQ、VM、VT或VH中的一种。 X_3 可以是LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR。在一些实施方式中, X_4 是可选序列, 可以是ER或E或缺失。在一些实施方式中, 如果X缺失, 则 X_1 是FF, X_2 是LS。在一些实施方式中, 在这些方法中使用的包含式 (I) 的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸, 例如, 少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸, 包括任何两个列出值之间的范围。

[0733] 此外, 在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成: 如本文所描述的式 (II), $X_{20}TFFVKLSX_{21}X_{22}$ (SEQ ID NO:173)。在一些实施方式中, X_{20} 是可选序列, 可以是KKLD (SEQ ID NO:174)、RKLD (SEQ ID NO:175)、KKGD (SEQ ID NO:176)、KKED (SEQ ID NO:177)、KLD、LD或D或缺失。 X_{21} 是可选序列, 可以是LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、

QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR或缺失。在一些实施方式中， X_{22} 是可选序列，可以是ER或E或缺失。在一些实施方式中，在这些方法中使用的包含式(II)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸，包括任何两个列出值之间的范围。

[0734] 此外，在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成：如本文所描述的式(III)， $X_{30}X_{31}VKLX_{32}LX_{33}TEX_{34}$ (SEQ ID NO:178)。在一些实施方式中， X_{30} 是可选序列，可以是KKLDTF (SEQ ID NO:179)、KLDTF (SEQ ID NO:180)、LDTF (SEQ ID NO:181)、DTF、TF或F或缺失。在一些实施方式中， X_{31} 是可选序列，可以是F、S、M、V、T或L或缺失。在一些实施方式中， X_{31} 是F。在一些实施方式中， X_{32} 可以是S、Q、M、T或H。在一些实施方式中， X_{32} 是S。 X_{33} 可以是F、M、Q、H、N、P、S、G、A或R。在一些实施方式中， X_{34} 是F。 X_{34} 是可选序列，可以是R或缺失。在一些实施方式中，在这些方法中使用的包含式(III)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸，包括任何两个列出值之间的范围。

[0735] 此外，在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成：如本文所描述的式(VII)， $X_{700}K X_{701}X_{702}X_{703}X_{704}X_{705}X_{706}K X_{707}X_{708}X_{709}X_{710}X_{711}E X_{712}$ (SEQ ID NO:394)。在一些实施方式中， X_{700} 是可选序列，可以是K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T或V或缺失。在一些实施方式中， X_{701} 是可选序列，可以是L、A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、N、Q、R、S、T或V或缺失。在一些实施方式中， X_{702} 是可选序列，可以是D、A、E、I、V、W或Y或缺失。在一些实施方式中， X_{703} 是可选序列，可以是T、C、M、N、P、Q、R、S、W或Y或缺失。在一些实施方式中， X_{704} 是可选序列，可以是F、A、I、M、N、P、T或V或缺失。在一些实施方

式中, X₇₀₅是可选序列, 可以是F、L、M、Q、S、T或V或缺失。在一些实施方式中, X₇₀₆是可选序列, 可以是V、F、G、L、P或R或缺失。在一些实施方式中, X₇₀₇是可选序列, 可以是L、A、F、G、I、M、N、P、Q、R、S、T、V或Y或缺失。在一些实施方式中, X₇₀₈是可选序列, 可以是S、H、M、N、Q或T或缺失。在一些实施方式中, X₇₀₉是可选序列, 可以是L、A、H、I、M、N、Q、R、S、T、V或W或缺失。在一些实施方式中, X₇₁₀是可选序列, 可以是F、A、C、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或W或缺失。在一些实施方式中, X₇₁₁是可选序列, 可以是T、F、G、H、I、L、M、N、P、S、V或W或缺失。在一些实施方式中, X₇₁₂是可选序列, 可以是R、F、K、N、R、T或Y或缺失。在一些实施方式中, 包含式(VII)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸, 例如, 少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸, 包括任何两个列出值之间的范围。

[0736] 此外, 在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成: 如本文所描述的式(VIII), X₈₀₀K X₈₀₁K X₈₀₂E X₈₀₃ (SEQ ID NO: 395)。在一些实施方式中, X₈₀₀是可选序列, 可以是K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T、V或K或缺失。在一些实施方式中, X₈₀₁是可选序列, 可以是LDTFFV、GDTFFV、EDTFFV、LDQFFV、LDTAFV、LDTVFFV、LDTFMV、LDTFSV、LDTFVV、LDTFTV、LDTFLV、LDGFFV、LDTFGV、LDTFFK、ADTFFV、CDTFFV、DDTFFV、FDTFFV、HDTFFV、IDTFFV、KDTFFV、MDTFFV、NDTFFV、QDTFFV、RDTFFV、SDTFFV、TDTFFV、VDTFFV、LATFFV、LETFFV、LITFFV、LVTFFV、LWTFFV、LYTFFV、LDCFFV、LDMFFV、LDNFFV、LDPFFV、LDRFFV、LDSFFV、LDWFFV、LDYFFV、LDTIFV、LDTMFV、LDTNFV、LDTPFV、LDTTFV、LDTFQV、LDTFFF、LDTFFG、LDTFFL、LDTFFP、LDTFFR、LDTFIV、LDTSFV、LDTFAV、LDTFCV、LDTQFV、LDTLFV、LTTFFV、LDTFFI、LDHFFV、LMTFFV、LDTFEV、LDTFWV、LFTFFV、LDVFFV、LDTFRV、LDTFHV、LDTYFV、LPTFFV、PDTFFV、LDTFPV、LDTFNV、LDTWFV、LDTGFV、LDAFFV、LQTFFV、LCTFFV、LSTFFV、YDTFFV、LDEFFV、WDTFFV、LDTKFV、LDTCFV、LDTFYV、LDTHFV、LHTFFV、LRTFFV、LDLFFV、LDTRFV、LLTFFV、LDTFDV、LDTFFA、LDTFFT、LNTFFV、LDDFFV、LDIFFV、LDFFFV、LKTFFV、LDTFFQ、LGTTFFV、LDTFFC、LDKFFV、LDTFKV、LDTEFV、LDTFFW、LDTFFM、LDTFFS、LDTFFH、LDTFFY、LDTFFN、LDTDFV、LDTFFE、LDTFFD、LTTFFV、LDTFF、TFFV、LDF、LDTE、FFV、LDV、LV或L或缺失。在一些实施方式中, X₈₀₂是可选序列, 可以是LSLFT、VSLFT、LQLFT、LMLFT、LTLFT、LHLFT、LSQFT、LSVFT、LSMFT、LSLMT、LSLQT、LSLHT、LSLNT、LSLPT、LSLST、LSLGT、LSLAT、LSLRT、LSLFN、LSLFP、LSLFR、LGLFT、ASLFT、FSLFT、GSLFT、ISLFT、MSLFT、NSLFT、PSLFT、QSLFT、RSLFT、SSLFT、TSLFT、YSLFT、LNLFT、LSAFT、LSHFT、LSIFT、LSNFT、LSRFT、LSSFT、LSTFT、LSWFT、LSLCT、LSLIT、LSLLT、LSLTT、LSLVT、LSLWT、LSLFF、LSLFG、LSLFH、LSLFI、LSLFL、LSLFM、LSLFS、LSLFV、LSLFW、LYLFT、LVLFT、LSFFT、LSGFT、LSKFT、LSCFT、LCLFT、LRLFT、LPLFT、LWLFT、LKLFT、LDLFT、LSYFT、LALFT、WSLFT、LSLFA、LSLFQ、LSPFT、HSLFT、LSLYT、LILFT、KSLFT、CSLFT、LSLFY、LSLFK、LSLFC、LFLFT、LELFT、LSLKT、LLLFT、LSLFD、LSLDT、LSLFE、DSLFT、LSLET、LSDFT、LSEFT、

ESLFT、SLFT、LSFT、LFT、LSL、LT或T或缺失。在一些实施方式中，X₈₀₃是可选序列，可以是R、F、K、N、R、T、Y或缺失。在一些实施方式中，包含式(VIII)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸，包括任何两个列出值之间的范围。

[0737] 此外，在这些方法中使用的肽抑制剂包含式(IX)、由式(IX)组成或基本由式(IX)组成。因此，在一些实施方式中，所述肽抑制剂包含式(IX)：X₉₀₁X₉₀₂X₉₀₃X₉₀₄X₉₀₅X₉₀₆X₉₀₇X₉₀₈X₉₀₉X₉₁₀X₉₁₁X₉₁₂X₉₁₃X₉₁₄X₉₁₅X₉₁₆X₉₁₇的肽，其中，X₉₀₁是任何氨基酸或缺失；X₉₀₂是正电荷氨基酸、F或N；X₉₀₃是任何氨基酸；X₉₀₄是任何氨基酸；X₉₀₅是极性无电荷氨基酸、R、Y或W；X₉₀₆是疏水的或无电荷极性氨基酸；X₉₀₇是疏水的或无电荷极性氨基酸；X₉₀₈是疏水的、非芳香碳链氨基酸且不是M或F；X₉₀₉是正电荷氨基酸、T、Q或Y；X₉₁₀是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₁是极性无电荷氨基酸或H；X₉₁₂是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₃是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₄是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₅是负电荷氨基酸、Y或Q；X₉₁₆是不带负电荷的任何氨基酸；以及X₉₁₇是一个或多个正电荷氨基酸或缺失。可选地，X₉₀₁包括正电荷氨基酸。可选地，X₉₀₁是R或K。可选地，X₉₁₇是RR。在一些实施方式中，包含式(IX)的分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸，包括任何两个列出值之间的范围。

[0738] 此外，在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成和/或：如本文所描述的SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589，或者在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任何一种或多种肽，或者如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任何变异体或变异体的组合。在一些实施方式中，在这些方法中使用的这些分离肽的长度是少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、

105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0739] 此外,在这些方法中使用的肽抑制剂可以包括某肽抑制剂、或由某肽抑制剂组成或基本由某肽抑制剂组成,所述某肽抑制剂包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:表5.1中列出的任何一种或多种肽。在一些实施方式中,在这些方法中使用的来自表5.1的分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。此外,可以提供编码所述肽抑制剂的核酸,例如,SEQ ID NO:102-165的核酸。

[0740] 优选地,在所述方法中使用的免疫调节肽抑制剂是P28R、其衍生物或编码这种分子的核酸,如,SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589提供的任何一种或多种免疫调节肽抑制剂,或者在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任何一种或多种肽,或者如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任何变异体或变异体的组合,或者编码这种分子的核酸。在所述方法中使用的免疫调节肽抑制剂可以包括至少一种D-氨基酸、至少一种非天然氨基酸、N-末端乙酰基或C末端酰胺基,且所述免疫调节肽抑制剂可以被糖基化、亚硝基化、羰基化、氧化或者与连接的药物动力学修饰物、PEG、细胞毒素或放射性核素连接。

[0741] 一些实施方式包括将LFA-1受体或IL-2受体的结合配体从所述受体(如,包含P3028的分子)移除。如在实施例15中所示的,当与其中抑制剂与P3028没有结合的对照样品相比,P3028序列/结构的抑制剂与P3028结合能够增加LFA-1受体对特异结合LFA-1受体的抗体的可利用性。在一些实施方式中,P3028与所述抑制剂结合,因此从IL-2受体移除P3028的结合(见实施例9和13)。

[0742] 用免疫调节肽抑制剂结合癌细胞的方法

[0743] 实施方式还包括用免疫调节肽抑制剂(如,具有细胞毒素、放射性核素或可检测的标记的免疫调节肽抑制剂)结合癌细胞的方法。这些方法通过用一种组合物接触癌细胞(如,体外或体内)来实践,所述组合物包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:本文中所述的任何一种或多种免疫调节肽抑制剂。例如,在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:如本文所述的式(I), $XX_1VKX_2X_3X_4$ (SEQ ID NO:166)。在一些实施方式中,X是可选序列,可以是KKLDT(SEQ ID NO:167)、RKLDT(SEQ ID NO:168)、KKGDT(SEQ ID NO:169)、KKEDT(SEQ ID NO:170)、KKLDQ(SEQ

ID NO:171)、KKGDQ (SEQ ID NO:252)、KKEDQ (SEQ ID NO:253)、RKLDQ (SEQ ID NO:254)、RKGDQ (SEQ ID NO:255)、RKEDQ (SEQ ID NO:256)、RKGTQ (SEQ ID NO:257)、RKEDT (SEQ ID NO:258)、KLDQ (SEQ ID NO:172)、KGDT (SEQ ID NO:259)、KEDT (SEQ ID NO:260)、KLDQ (SEQ ID NO:261)、KGDQ (SEQ ID NO:262)、KEDQ (SEQ ID NO:263)、LDT、LDQ、GDT、GDQ、EDT、EDQ、DT、DQ、T或Q或缺失。在一些实施方式中, X_1 是FF、FM、FS、FV、FT、FL、AF、AM、AS、AV、AT、AL、VF、VM、VS、VV、VT或VL中的一种。在一些实施方式中, X_2 是LS、LQ、LM、LT、LH、VS、VQ、VM、VT或VH中的一种。在一些实施方式中, X_3 是LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR中的一种。在一些实施方式中, X_4 是可选序列,可以是ER或E或缺失。在一些实施方式中,如果X缺失,则 X_1 是FF, X_2 是LS。在一些实施方式中,在这些方法中使用的包含式(I)的分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸序列,包括任何两个列出值之间的范围。

[0744] 此外,在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:式(II), X_{20} TFFVKLS X_{21} X_{22} (SEQ ID NO:173)。在一些实施方式中, X_{20} 是可选序列,可以是KKLD (SEQ ID NO:174)、RKLD (SEQ ID NO:175)、KKGD (SEQ ID NO:176)、KKED (SEQ ID NO:177)、KLD、LD、D或缺失。 X_{21} 是可选序列,可以是LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR或缺失。在一些实施方式中, X_{22} 是可选序列,可以是ER或E或缺失。在一些实施

方式中,在这些方法中使用的包含式(II)的分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸序列,包括任何两个列出值之间的范围。

[0745] 此外,在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:式(III), $X_{30}X_{31}VKLX_{32}LX_{33}TEX_{34}$ (SEQ ID NO:178)。在一些实施方式中, X_{30} 是可选序列,可以是KKLDTF(SEQ ID NO:179)、KLDTF(SEQ ID NO:180)、LDTF(SEQ ID NO:181)、DTF、TF或F或缺失。在一些实施方式中, X_{31} 是可选序列,可以是F、S、M、V、T或L或缺失。在一些实施方式中, X_{31} 是F。在一些实施方式中, X_{32} 可以是S、Q、M、T或H。在一些实施方式中, X_{32} 是S。 X_{33} 可以是F、M、Q、H、N、P、S、G、A或R。在一些实施方式中, X_{34} 是F。 X_{34} 是可选序列,可以是R或缺失。在一些实施方式中,在这些方法中使用的式(III)的分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸序列,包括任何两个列出值之间的范围。

[0746] 此外,在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:如本文所述的式(VII), $X_{700}K X_{701}X_{702}X_{703}X_{704}X_{705}X_{706}K X_{707}X_{708}X_{709}X_{710}X_{711}E X_{712}$ (SEQ ID NO:394)。在一些实施方式中, X_{700} 是可选序列,可以是K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T或V或缺失。在一些实施方式中, X_{701} 是可选序列,可以是L、A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、N、Q、R、S、T或V或缺失。在一些实施方式中, X_{702} 是可选序列,可以是D、A、E、I、V、W或Y或缺失。在一些实施方式中, X_{703} 是可选序列,可以是T、C、M、N、P、Q、R、S、W或Y或缺失。在一些实施方式中, X_{704} 是可选序列,可以是F、A、I、M、N、P、T或V或缺失。在一些实施方式中, X_{705} 是可选序列,可以是F、L、M、Q、S、T或V或缺失。在一些实施方式中, X_{706} 是可选序列,可以是V、F、G、L、P或R或缺失。在一些实施方式中, X_{707} 是可选序列,可以是L、A、F、G、I、M、N、P、Q、R、S、T、V或Y或缺失。在一些实施方式中, X_{708} 是可选序列,可以是S、H、M、N、Q或T或缺失。在一些实施方式中, X_{709} 是可选序列,可以是L、A、H、I、M、N、Q、R、S、T、V或W或缺失。在一些实施方式中, X_{710} 是可选序列,可以是F、A、C、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或W或缺失。在一些实施方式中, X_{711} 是可选序列,可以是T、F、G、H、I、L、M、N、P、S、V或W或缺失。在一些实施方式中,

X₇₁₂是可选序列,可以是R、F、K、N、R、T或Y或缺失。在一些实施方式中,包含式(VII)的分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸序列,包括任何两个列出值之间的范围。

[0747] 此外,在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:如本文所述的式(VIII),X₈₀₀K X₈₀₁K X₈₀₂E X₈₀₃(SEQ ID NO:395)。在一些实施方式中,X₈₀₀是可选序列,可以是K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T、V或K或缺失。在一些实施方式中,X₈₀₁是可选序列,可以是LDTFV、GDTFFV、EDTFFV、LDQFFV、LDTAFV、LDTVFFV、LDTFMV、LDTFSV、LDTFVV、LDTFTV、LDTFLV、LDGFFV、LDTFGV、LDTFFK、ADTFFV、CDTFFV、DDTFFV、FDTFFV、HDTFFV、IDTFFV、KDTFFV、MDTFFV、NDTFFV、QDTFFV、RDTFFV、SDTFFV、TDTFFV、VDTFFV、LATFFV、LETFFV、LITFFV、LVTFFV、LWTFV、LYTFFV、LDCFFV、LDMFFV、LDNFFV、LDPFFV、LDRFFV、LDSFFV、LDWFFV、LDYFFV、LDTIFV、LDTMFV、LDTNFV、LDTPFV、LDTTFV、LDTFQV、LDTFFF、LDTFFG、LDTFFL、LDTFFP、LDTFFR、LDTFIV、LDTFSV、LDTFAV、LDTFCV、LDTQFV、LDTLFV、LTTFFV、LDTFFI、LDHFFV、LMTFFV、LDTFEV、LDTFWV、LFTFFV、LDVFFV、LDTFRV、LDTFHV、LDTYFV、LPTFFV、PDTFFV、LDTFPV、LDTFNV、LDTWV、LDTGFV、LDAFFV、LQTFV、LCTFFV、LSTFFV、YDTFFV、LDEFFV、WDTFFV、LDTKFV、LDTCFV、LDTFYV、LDTHFV、LHTFFV、LRTFFV、LDLFFV、LDTRFV、LLTFFV、LDTFDV、LDTFFA、LDTFFT、LNTFFV、LDDFFV、LDIFFV、LDFFFV、LKTFFV、LDTFFQ、LGTFV、LDTFFC、LDKFFV、LDTFKV、LDTEFV、LDTFFW、LDTFFM、LDTFFS、LDTFFH、LDTFFY、LDTFFN、LDTDFV、LDTFFE、LDTFFD、LTFFV、LDTFF、TFFV、LDF、LDTE、FFV、LDV、LV或L或缺失。在一些实施方式中,X₈₀₂是可选序列,可以是LSLFT、VSLFT、LQLFT、LMLFT、LTLFT、LHLFT、LSQFT、LSVFT、LSMFT、LSLMT、LSLQT、LSLHT、LSLNT、LSLPT、LSLST、LSLGT、LSLAT、LSLRT、LSLFN、LSLFP、LSLFR、LGLFT、ASLFT、FSLFT、GSLFT、ISLFT、MSLFT、NSLFT、PSLFT、QSLFT、RSLFT、SSLFT、TSLFT、YSLFT、LNLFT、LSAFT、LSHFT、LSIFT、LSNFT、LSRFT、LSSFT、LSTFT、LSWFT、LSLCT、LSLIT、LSLLT、LSLTT、LSLVT、LSLWT、LSLFF、LSLFG、LSLFH、LSLFI、LSLFL、LSLFM、LSLFS、LSLFV、LSLFW、LYLFT、LVLFT、LSFFT、LSGFT、LSKFT、LSCFT、LCLFT、LRLFT、LPLFT、LWLFT、LKLFT、LDLFT、LSYFT、LALFT、WSLFT、LSLFA、LSLFQ、LSPFT、HSLFT、LSLYT、LILFT、KSLFT、CSLFT、LSLFY、LSLFK、LSLFC、LFLFT、LELFT、LSLKT、LLLFT、LSLFD、LSLDT、LSLFE、DSLFT、LSLET、LSDFT、LSEFT、ESLFT、SLFT、LSFT、LFT、LSL、LT或T或缺失。在一些实施方式中,X₈₀₃是可选序列,可以是R、F、K、N、R、T或Y或缺失。在一些实施方式中,包含式(VIII)的分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、

99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸序列,包括任何两个列出值之间的范围。

[0748] 此外,在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成和/或:如本文所描述的SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589,或者在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任何一种或多种肽,或者如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任何变异体或变异体的组合。在一些实施方式中,在这些方法中使用的这些分离肽的长度是少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0749] 此外,在这些方法中使用的肽抑制剂可以包括某肽抑制剂、或由某肽抑制剂组成或基本由某肽抑制剂组成,所述某肽抑制剂包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:表5.1中列出的任何一种或多种肽。在一些实施方式中,在这些方法中使用的来自表5.1的分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。此外,可以提供编码这种肽抑制剂的核酸,例如,SEQ ID NO:102-165的核酸。

[0750] 优选地,在所述方法中使用的免疫调节肽抑制剂是P28R、P28核、其衍生物或编码这种分子的核酸(如,由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589提供的任何一种或多种免疫调节肽抑制剂,或者在表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任何一种或多种肽,或者如在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任何变异体或变异体的组合,或者编码这种分子的核酸(如,SEQ ID NO:102-165))。在所述方法中使用的免疫调节肽抑制剂可以包括至少一个D氨基酸、至少一个非天然氨基酸、N末端乙酰基或C末端酰胺基,且所述免疫调节肽抑制剂可以被糖基化或者与PEG、细胞毒素或放射性核素连接。

[0751] 与表1-4中的任何免疫调节肽特异性结合的免疫调节肽抑制剂或抗体一旦与癌细胞结合,它可以被检测出。即,可选地,上述方法包括检测步骤,借此,直接或间接地测定免疫调节肽抑制剂的结合。在一些实施方式中,如在实施例14中的直接检测所述免疫调节肽抑制剂的结合。在一些实施方式中,间接检测所述免疫调节肽抑制剂的结合。如本文所述,P3028在癌细胞上的存在可以局部地抑制免疫反应。因此,在一些实施方式中,如在实施例13中所描述的,检测免疫调节肽抑制剂与癌细胞结合同样可以包括检测免疫抑制反转的步骤。免疫抑制的反转可以被检测为,例如,削弱的PBMC增殖的反转(见实施例2和13)、T细胞受体刺激的反转(见实施例3)、减少的NK细胞细胞毒性的反转(见实施例4)、减少的白细胞扩散的反转(见实施例5)或降低的免疫细胞迁移的反转(见实施例6)或增加的IL-2诱导的增殖的反转(见实施例6和9)。在一些实施方式中,癌细胞在体内与免疫调节肽抑制剂结合。实施例16描述了在体内将P3028的抑制剂递送至癌细胞。实施例42描述了检测癌细胞上的P3028的抑制剂。

[0752] 在一些实施方式中,免疫调节肽抑制剂的检测可以发生在获自人的组织活检上。在一些实施方式中,所述组织活检可以包括推定的癌细胞,或者可以筛选所述组织活检的癌细胞。如本文所描述的,通过这些方法,将所述组织活检与免疫调节肽抑制剂接触。优选地,如本文所描述的,所述免疫调节肽抑制剂包括可检测的标记物。在一些实施方式中,肝细胞与所述免疫调节肽抑制剂接触(见实施例14)。在一些实施方式中,组织切片与所述免疫调节肽抑制剂结合。然后检测可检测的标记物,因此鉴定不能被免疫系统攻击的癌细胞。可以通过本领域已知的方法,例如,免疫测定、印记技术、ELISA、ELISpot、流式细胞术、微量样本多指标流式蛋白定量技术、蛋白质组学和/或免疫组织化学检测可检测的标记物。

[0753] 将细胞毒素或放射性核素递送至癌细胞的方法

[0754] 其它实施方式包括将细胞毒素或放射性核素递送至癌细胞的方法。一些实施方式包括将放射性物质(如, ^{111}I 、 ^{131}I 、 ^{90}Y 、 ^{67}Cu 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{212}Bi 或 ^{211}At)或治疗性化合物(如,毒素)靶定至癌细胞。如本文中所述,免疫调节肽抑制剂,例如肽P28R,结合癌细胞,但不结合健康免疫细胞,例如淋巴细胞(见实施例14)。因此,在一些实施方式中,通过免疫调节肽抑制剂可以介导治疗性化合物与癌细胞的结合。在一些实施方式中,治疗性化合物(例如,本文描述的细胞毒素、放射性核素等等)同与P3028结合的免疫调节肽抑制剂连结。

[0755] 通过将癌细胞(如,在体内或在体外)与一种组合物接触来实施这些方法,所述组合物包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:任何一种或多种本文描述的免疫调节肽抑制剂,所述组合物包括放射性物质(如, ^{111}I 、 ^{131}I 、 ^{90}Y 、 ^{67}Cu 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{212}Bi 或 ^{211}At)或治疗性化合物(如,毒素)。在一些实施方式中,在这些方法中使用的所述免疫调节肽抑制剂包含本文描述的肽、由本文描述的肽组成或基本由本文描述的肽组成。例如,在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:本文描述的式(I), $\text{XX}_1\text{VKX}_2\text{X}_3\text{X}_4$ (SEQ ID NO:166)。在一些实施方式中,X是可选序列,可以是KKLDT(SEQ ID NO:167)、RKLD(SEQ ID NO:168)、KKGDT(SEQ ID NO:169)、KKEDT(SEQ ID NO:170)、KKLDQ(SEQ ID NO:171)、KKGDQ(SEQ ID NO:252)、KKEDQ(SEQ ID NO:253)、RKLDQ(SEQ ID NO:254)、RKGDQ(SEQ ID NO:255)、RKEDQ(SEQ ID NO:256)、RKGT(SEQ ID NO:257)、RKEDT(SEQ ID NO:258)、KLDT(SEQ ID NO:172)、KGD(SEQ ID NO:259)、KEDT(SEQ ID NO:260)、KLDQ(SEQ ID NO:261)、KGDQ(SEQ ID NO:262)、KEDQ(SEQ ID NO:263)、LDT、

LDQ、GDT、GDQ、EDT、EDQ、DT、DQ、T或Q或缺失。在一些实施方式中， X_1 是FF、FM、FS、FV、FT、FL、AF、AM、AS、AV、AT、AL、VF、VM、VS、VV、VT或VL中的一种。在一些实施方式中， X_2 是LS、LQ、LM、LT、LH、VS、VQ、VM、VT或VH中的一种。在一些实施方式中， X_3 是LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR中的一种。在一些实施方式中， X_4 是可选序列，可以是ER或E或缺失。在一些实施方式中，如果X缺失， X_1 是FF， X_2 是LS。在一些实施方式中，在这些方法中使用的包含式(I)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸，包括任何两个列出值之间的范围。

[0756] 此外，在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成：如本文所述的式(II)， X_{20} TFFVKLSX X_{21} X X_{22} (SEQ ID NO:173)。在一些实施方式中， X_{20} 是可选序列，可以是KKLD(SEQ ID NO:174)、RKLD(SEQ ID NO:175)、KKGD(SEQ ID NO:176)、KKED(SEQ ID NO:177)、KLD、LD、D或缺失。 X_{21} 是可选序列，可以是LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR或缺失。在一些实施方式中， X_{22} 是可选序列，可以是ER或E或缺失。在一些实施方式中，在这些方法中使用的包含式(II)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、

72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0757] 此外,在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:式(III), $X_{30}X_{31}VKLX_{32}LX_{33}TEX_{34}$ (SEQ ID NO:178)。在一些实施方式中, X_{30} 是可选序列,可以是KKLDTF(SEQ ID NO:179)、KLDTF(SEQ ID NO:180)、LDTF(SEQ ID NO:181)、DTF、TF或F或缺失。在一些实施方式中, X_{31} 是可选序列,可以是F、S、M、V、T或L或缺失。在一些实施方式中, X_{31} 是F。在一些实施方式中, X_{32} 可以是S、Q、M、T或H。在一些实施方式中, X_{32} 是S。 X_{33} 可以是F、M、Q、H、N、P、S、G、A或R。在一些实施方式中, X_{34} 是F。 X_{34} 是可选序列,可以是R或缺失。在一些实施方式中,在这些方法中使用的包含式(III)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0758] 此外,在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:如本文所述的式(VII), $X_{700}K X_{701}X_{702}X_{703}X_{704}X_{705}X_{706}K X_{707}X_{708}X_{709}X_{710}X_{711}E X_{712}$ (SEQ ID NO:394)。在一些实施方式中, X_{700} 是可选序列,可以是K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T或V或缺失。在一些实施方式中, X_{701} 是可选序列,可以是L、A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、N、Q、R、S、T或V或缺失。在一些实施方式中, X_{702} 是可选序列,可以是D、A、E、I、V、W或Y或缺失。在一些实施方式中, X_{703} 是可选序列,可以是T、C、M、N、P、Q、R、S、W或Y或缺失。在一些实施方式中, X_{704} 是可选序列,可以是F、A、I、M、N、P、T或V或缺失。在一些实施方式中, X_{705} 是可选序列,可以是F、L、M、Q、S、T或V或缺失。在一些实施方式中, X_{706} 是可选序列,可以是V、F、G、L、P或R或缺失。在一些实施方式中, X_{707} 是可选序列,可以是L、A、F、G、I、M、N、P、Q、R、S、T、V或Y或缺失。在一些实施方式中, X_{708} 是可选序列,可以是S、H、M、N、Q或T或缺失。在一些实施方式中, X_{709} 是可选序列,可以是L、A、H、I、M、N、Q、R、S、T、V或W或缺失。在一些实施方式中, X_{710} 是可选序列,可以是F、A、C、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或W或缺失。在一些实施方式中, X_{711} 是可选序列,可以是T、F、G、H、I、L、M、N、P、S、V或W或缺失。在一些实施方式中, X_{712} 是可选序列,可以是R、F、K、N、R、T或Y或缺失。在一些实施方式中,包含式(VII)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、

65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0759] 此外,在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:如本文所述的式(VIII), $X_{800}KX_{801}KX_{802}EX_{803}$ (SEQ ID NO:395)。在一些实施方式中, X_{800} 是可选序列,可以是K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T、V或K或缺失。在一些实施方式中, X_{801} 是可选序列,可以是LDTFV、GDTFFV、EDTFFV、LDQFFV、LDTAFV、LDTVFFV、LDTFMV、LDTFSV、LDTFVV、LDTFTV、LDTFLV、LDGFFV、LDTFGV、LDTFFK、ADTFFV、CDTFFV、DDTFFV、FDTFFV、HDTFFV、IDTFFV、KDTFFV、MDTFFV、NDTFFV、QDTFFV、RDTFFV、SDTFFV、TDTFFV、VDTFFV、LATFFV、LETFFV、LITFFV、LVTFFV、LWTFV、LYTFFV、LDCFFV、LDMFFV、LDNFFV、LDPFFV、LDRFFV、LDSFFV、LDWFFV、LDYFFV、LDTIFV、LDTMFV、LDTNFV、LDTPFV、LDTTFV、LDTFQV、LDTFFF、LDTFFG、LDTFFL、LDTFFP、LDTFFR、LDTFIV、LDTSFV、LDTFAV、LDTFCV、LDTQFV、LDTLFV、LTTFFV、LDTFFI、LDHFFV、LMTFFV、LDTFEV、LDTFWV、LFTFFV、LDVFFV、LDTFRV、LDTFHV、LDTYFV、LPTFFV、PDTFFV、LDTFPV、LDTFNV、LDTWFV、LDTGFV、LDAFFV、LQTFV、LCTFFV、LSTFFV、YDTFFV、LDEFFV、WDTFFV、LDTKFV、LDTCFV、LDTFYV、LDTHFV、LHTFFV、LRTFFV、LDLFFV、LDTRFV、LLTFFV、LDTFDV、LDTFFA、LDTFFT、LNTFFV、LDDFFV、LDIFFV、LDFFFV、LKTFFV、LDTFFQ、LGTFV、LDTFFC、LDKFFV、LDTFKV、LDTEFV、LDTFFW、LDTFFM、LDTFFS、LDTFFH、LDTFFY、LDTFFN、LDTDFV、LDTFFE、LDTFFD、LTFFV、LDTFF、TFFV、LDF、LDTE、FFV、LDV、LV或L或缺失。在一些实施方式中, X_{802} 是可选序列,可以是LSLFT、VSLFT、LQLFT、LMLFT、LTLFT、LHLFT、LSQFT、LSVFT、LSMFT、LSLMT、LSLQT、LSLHT、LSLNT、LSLPT、LSLST、LSLGT、LSLAT、LSLRT、LSLFN、LSLFP、LSLFR、LGLFT、ASLFT、FSLFT、GSLFT、ISLFT、MSLFT、NSLFT、PSLFT、QSLFT、RSLFT、SSLFT、TSLFT、YSLFT、LNLFT、LSAFT、LSHFT、LSIFT、LSNFT、LSRFT、LSSFT、LSTFT、LSWFT、LSLCT、LSLIT、LSLLT、LSLTT、LSLVT、LSLWT、LSLFF、LSLFG、LSLFH、LSLFI、LSLFL、LSLFM、LSLFS、LSLFV、LSLFW、LYLFT、LVLFT、LSFFT、LSGFT、LSKFT、LSCFT、LCLFT、LRLFT、LPLFT、LWLFT、LKLFT、LDLFT、LSYFT、LALFT、WSLFT、LSLFA、LSLFQ、LSPFT、HSLFT、LSLYT、LILFT、KSLFT、CSLFT、LSLFY、LSLFK、LSLFC、LFLFT、LELFT、LSLKT、LLLFT、LSLFD、LSLDT、LSLFE、DSLFT、LSLET、LSDFT、LSEFT、ESLFT、SLFT、LSFT、LFT、LSL、LT、T或缺失。在一些实施方式中, X_{803} 是可选序列,可以是R、F、K、N、R、T或Y或缺失。在一些实施方式中,包含式(VIII)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基

酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0760] 此外,在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:如本文所述的式(IX)。因此,在一些实施方式中,所述肽抑制剂包含式(IX)的肽: $X_{901}X_{902}X_{903}X_{904}X_{905}X_{906}X_{907}X_{908}X_{909}X_{910}X_{911}X_{912}X_{913}X_{914}X_{915}X_{916}X_{917}$,其中 X_{901} 是任何氨基酸或缺失; X_{902} 是正电荷氨基酸、F或N; X_{903} 是任何氨基酸; X_{904} 是任何氨基酸; X_{905} 是极性无电荷氨基酸、R、Y或W; X_{906} 是疏水的或无电荷极性氨基酸; X_{907} 是疏水的或无电荷极性氨基酸; X_{908} 是疏水的、非芳香碳链氨基酸且不是M或F; X_{909} 是正电荷氨基酸、T、Q或Y; X_{910} 是不带负电荷的任何氨基酸; X_{911} 是极性无电荷氨基酸或H; X_{912} 是不带负电荷的任何氨基酸; X_{913} 是不带负电荷的任何氨基酸; X_{914} 是不带负电荷的任何氨基酸; X_{915} 是负电荷氨基酸、Y或Q; X_{916} 是不带负电荷的任何氨基酸; X_{917} 是一个或多个正电荷氨基酸或缺失。可选地, X_{901} 包含正电荷氨基酸。可选地, X_{901} 是R或K。可选地, X_{917} 是RR。在一些实施方式中,包含式(IX)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0761] 此外,在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成和/或:本文所述的SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589。在一些实施方式中,在这些方法中使用的这些分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0762] 此外,在这些方法中使用的肽抑制剂可以包括某肽抑制剂、或由某肽抑制剂组成或基本由某肽抑制剂组成,所述某肽抑制剂包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:在表5.1、5.4、5.5、5.6中列出的或提供的任何一种或多种肽,或者在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任何变异体或变异体的组合。在一些实施方式中,在这些方法中使用的、来自表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任何一种或多种肽者在表5.3和13中提供的P28R或P28核的任何变异体或变异体的组合的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、

28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0763] 优选地,在所述方法中使用的免疫调节肽抑制剂是P28R、其衍生物、编码这种分子的核酸(如,由SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96或98提供的任何一种或多种免疫调节肽抑制剂或任何一种或多种表5.1中提供的肽)。在所述方法中使用的所述免疫调节肽抑制剂可以包括至少一个D氨基酸、至少一个非天然氨基酸、N-末端乙酰基或C末端酰胺基,且所述免疫调节肽抑制剂可以被糖基化或与PEG连接。

[0764] 包含细胞毒素或放射性核素的免疫调节肽抑制剂一旦已经与癌细胞接触,(如,在人病患内)所述毒素和/或放射性核素能够诱导癌细胞死亡。在一些实施方式中,所述癌细胞死亡包括细胞凋亡。可选地,细胞死亡可以包括半胱天冬酶3活化(见实施例39)。在一些实施方式中,肽P28R(SEQ ID NO:2)或包含P28R或基本由P28R组成的药物组合物在肿瘤周边或邻近肿瘤施用(例如,在肿瘤内10cm、9cm、8cm、7cm、6cm、5cm、4cm、3cm、2cm、1cm或0.5cm),并诱导肿瘤细胞的细胞死亡。在一些实施方式中,所述肿瘤包括前列腺癌细胞。在一些实施方式中,所述肿瘤包括黑色素瘤,例如,B16黑色素瘤。在一些实施方式中,至少约10ng/100ml的肽抑制剂在肿瘤周边施用,例如,约10ng/100ml、20ng/100ml、30ng/100ml、40ng/100ml、50ng/100ml、60ng/100ml、70ng/100ml、80ng/100ml、90ng/100ml、100ng/100ml、200ng/100ml、300ng/100ml、400ng/100ml、500ng/100ml、600ng/100ml、700ng/100ml、800ng/100ml、900ng/100ml、1μg/100ml、2μg/100ml、3μg/100ml、4μg/100ml、5μg/100ml、6μg/100ml、7μg/100ml、8μg/100ml、9μg/100ml、10μg/100ml、20μg/100ml、30μg/100ml、40μg/100ml、50μg/100ml、100μg/100ml、200μg/100ml、500μg/100ml、1000μg/100ml,包括任何两个列出值之间的范围,例如,10ng-100ng/100ml、10ng-200ng/100ml、10ng-500ng/100ml、10ng-1μg/100ml、20ng-10μg/100ml、100ng-200ng/100ml、100ng-500ng/100ml、100ng-1μg/100ml、200ng-10μg/100ml、200ng-500ng/100ml、200ng-1μg/100ml、200ng-10μg/100ml、1μg-100μg/100ml、1μg-500μg/100ml、约1μg-1000μg/100ml、5μg-100μg/100ml、5μg-500μg/100ml、5μg-1000μg/100ml、10μg-100μg/100ml、10μg-500μg/100ml、10μg-1000μg/100ml、50μg-100μg/100ml、50μg-500μg/100ml、50μg-1000μg/100ml、100μg-500μg/100ml或约100μg-1000μg/100ml。在一些实施方式中,全身性地施用所述药物组合物。在一些实施方式中,所述药物组合物与第二治疗试剂联合施用,所述第二治疗试剂例如,选择的在免疫细胞的LFA-1受体已经被去阻碍之后(如,结合的免疫调节肽或3028结构已经从LFA-1受体转移)刺激所述免疫细胞的治疗剂。

[0765] 可选地,这些方法包括观察或监测病患的癌或癌发展的步骤。在一些实施方式中,对患有结肠直肠癌、肾癌、乳腺癌、皮肤癌、卵巢癌、前列腺癌、胰腺癌、肺癌、恶性黑色素瘤、小细胞肺癌、非小细胞肺癌(腺癌)、鳞状细胞癌、膀胱癌、骨肉瘤、支气管癌或造血细胞癌的癌

病患施用包含细胞毒素或放射性核素的免疫调节肽抑制剂。在一些实施方式中,在施用包含细胞毒素或放射性核素的免疫调节肽抑制剂之前,筛选与所述免疫调节肽抑制剂结合的人生物学样品。例如,可以如在实施例14或实施例41中的对生物样品施用与结合有可检测的标记物的表1-4的任何一种免疫调节肽特异结合的免疫调节肽抑制剂或抗体。从检测可检测的标记物可以确定癌细胞被免疫调节肽抑制剂结合,然后相同的包含所述细胞毒素或放射性毒素的免疫调节肽抑制剂可以提供给病患。

[0766] 抑制癌细胞增殖的方法

[0767] 本发明的一些实施方式包括抑制癌细胞增殖的方法。所述方法可以包括鉴定人癌病患。所述病患可能患有一种或多种癌,例如,结肠直肠癌、肾癌、乳癌、皮肤癌、卵巢癌、前列腺癌、胰腺癌、肺癌、恶性黑色素瘤、小细胞肺癌、非小细胞肺癌(腺癌)、鳞状细胞癌、膀胱癌、骨肉瘤、支气管癌或造血细胞癌。这些方法可以包括用免疫调节肽抑制剂接触人的免疫细胞。在一些实施方式中,接触免疫细胞包括肿瘤内施用或邻近肿瘤施用,例如,在肿瘤内10、9、8、7、6、5、4、3、2、1或0.5cm。在一些实施方式中,所述免疫调节肽抑制剂包含本文描述的肽、由本文描述的肽组成或基本由本文描述的肽组成。例如,在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:如本文所述的式(I), $XX_1VKX_2X_3X_4$ (SEQ ID NO:166)。在一些实施方式中,X是可选序列,可以是KKLDT (SEQ ID NO:167)、RKLDT (SEQ ID NO:168)、KKGDT (SEQ ID NO:169)、KKEDT (SEQ ID NO:170)、KKLDQ (SEQ ID NO:171)、KKGDQ (SEQ ID NO:252)、KKEDQ (SEQ ID NO:253)、RKLDQ (SEQ ID NO:254)、RKGDQ (SEQ ID NO:255)、RKEDQ (SEQ ID NO:256)、RKGTD (SEQ ID NO:257)、RKEDT (SEQ ID NO:258)、KLDT (SEQ ID NO:172)、KGDT (SEQ ID NO:259)、KEDT (SEQ ID NO:260)、KLDQ (SEQ ID NO:261)、KGDQ (SEQ ID NO:262)、KEDQ (SEQ ID NO:263)、LDT、LDQ、GDT、GDQ、EDT、EDQ、DT、DQ、T或Q或缺失。在一些实施方式中, X_1 是FF、FM、FS、FV、FT、FL、AF、AM、AS、AV、AT、AL、VF、VM、VS、VV、VT或VL中的一种。在一些实施方式中, X_2 是LS、LQ、LM、LT、LH、VS、VQ、VM、VT或VH中的一种。在一些实施方式中, X_3 是LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR中的一种。在一些实施方式中, X_4 是可选序列,可以是ER或E或缺失。在一些实施方式中,如果X缺失,则 X_1 是FF, X_2 是LS。在一些实施方式中,在这些方法中使用的包含式(I)的分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、

117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0768] 此外,在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:如本文所述的式(II), $X_{20}TFFVKLSX_{21}X_{22}$ (SEQ ID NO:173)。在一些实施方式中, X_{20} 是可选序列,可以是KKLD(SEQ ID NO:174)、RKLD(SEQ ID NO:175)、KKGD(SEQ ID NO:176)、KKED(SEQ ID NO:177)、KLD、LD或D或缺失。 X_{21} 是可选序列,可以是LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR或缺失。在一些实施方式中, X_{22} 是可选序列,可以是ER、E或缺失。在一些实施方式中,在这些方法中使用的包含式(II)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0769] 此外,在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:式(III), $X_{30}X_{31}VKLX_{32}LX_{33}TEX_{34}$ (SEQ ID NO:178)。在一些实施方式中, X_{30} 是可选序列,可以是KKLDTF(SEQ ID NO:179)、KLDTF(SEQ ID NO:180)、LDTF(SEQ ID NO:181)、DTF、TF或F或缺失。在一些实施方式中, X_{31} 是可选序列,可以是F、S、M、V、T或L或缺失。在一些实施方式中, X_{31} 是F。在一些实施方式中, X_{32} 可以是S、Q、M、T或H。在一些实施方式中, X_{32} 是S。 X_{33} 可以是F、M、Q、H、N、P、S、G、A或R。在一些实施方式中, X_{34} 是F。 X_{34} 是可选序列,可以是R或缺失。在一些实施方式中,在这些方法中使用的包含式(III)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、

114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0770] 此外,在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:如本文所述的式(VII), $X_{700}K X_{701}X_{702}X_{703}X_{704}X_{705}X_{706}K X_{707}X_{708}X_{709}X_{710}X_{711}E X_{712}$ (SEQ ID NO:394)。在一些实施方式中, X_{700} 是可选序列,可以是K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T或V或缺失。在一些实施方式中, X_{701} 是可选序列,可以是L、A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、N、Q、R、S、T或V或缺失。在一些实施方式中, X_{702} 是可选序列,可以是D、A、E、I、V、W或Y或缺失。在一些实施方式中, X_{703} 是可选序列,可以是T、C、M、N、P、Q、R、S、W或Y或缺失。在一些实施方式中, X_{704} 是可选序列,可以是F、A、I、M、N、P、T或V或缺失。在一些实施方式中, X_{705} 是可选序列,可以是F、L、M、Q、S、T或V或缺失。在一些实施方式中, X_{706} 是可选序列,可以是V、F、G、L、P或R或缺失。在一些实施方式中, X_{707} 是可选序列,可以是L、A、F、G、I、M、N、P、Q、R、S、T、V或Y或缺失。在一些实施方式中, X_{708} 是可选序列,可以是S、H、M、N、Q或T或缺失。在一些实施方式中, X_{709} 是可选序列,可以是L、A、H、I、M、N、Q、R、S、T、V或W或缺失。在一些实施方式中, X_{710} 是可选序列,可以是F、A、C、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或W或缺失。在一些实施方式中, X_{711} 是可选序列,可以是T、F、G、H、I、L、M、N、P、S、V或W或缺失。在一些实施方式中, X_{712} 是可选序列,可以是R、F、K、N、R、T或Y或缺失。在一些实施方式中,包含式(VII)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0771] 此外,在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:如本文所述的式(VIII), $X_{800}K X_{801}K X_{802}E X_{803}$ (SEQ ID NO:395)。在一些实施方式中, X_{800} 是可选序列,可以是K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T、V或K或缺失。在一些实施方式中, X_{801} 是可选序列,可以是LDTFFV、GDTFFV、EDTFFV、LDQFFV、LDTAFV、LDTVFFV、LDTFMV、LDTFSV、LDTFVV、LDTFTV、LDTFLV、LDGFFV、LDTFGV、LDTFFK、ADTFFV、CDTFFV、DDTFFV、FDTFFV、HDTFFV、IDTFFV、KDTFFV、MDTFFV、NDTFFV、QDTFFV、RDTFFV、SDTFFV、TDTFFV、VDTFFV、LATFFV、LETFFV、LITFFV、LVTFFV、LWTFV、LYTFFV、LDCFFV、LDMFFV、LDNFFV、LDPFFV、LDRFFV、LDSFFV、LDWFFV、LDYFFV、LDTIFV、LDTMFV、LDTNFV、LDTPFV、LDTTFV、LDTFQV、LDTFFF、LDTFFG、LDTFFL、LDTFFP、LDTFFR、LDTFIV、LDTSFV、LDTFAV、LDTFCV、LDTQFV、LDTLFV、LTTFFV、LDTFFI、LDHFFV、LMTFFV、LDTFEV、LDTFWV、LFTFFV、LDVFFV、LDTFRV、LDTFHV、LDTYFV、LPTFFV、PDTFFV、LDTFPV、LDTFNV、LDTWFFV、LDTGFV、LDAFFV、LQTFFV、LCTFFV、LSTFFV、YDTFFV、LDEFFV、WDTFFV、LDTKFV、LDTCFV、LDTFYV、LDTHFV、LHTFFV、LRTFFV、LDLFFV、LDTRFV、LLTFFV、LDTFDV、LDTFFA、

LDTFFT、LNTFFV、LDDFFV、LDIFFV、LDFFFV、LKTFFV、LDTFFQ、LGTFV、LDTFFC、LDKFFV、LDTFKV、LDTEFV、LDTFFW、LDTFFM、LDTFFS、LDTFFH、LDTFFY、LDTFFN、LDTDFV、LDTFFE、LDTFFD、LTFFV、LDTFF、TFFV、LDF、LDTE、FFV、LDV、LV或L或缺失。在一些实施方式中，X₈₀₂是可选序列，可以是LSLFT、VSLFT、LQLFT、LMLFT、LTLFT、LHLFT、LSQFT、LSVFT、LSMFT、LSLMT、LSLQT、LSLHT、LSLNT、LSLPT、LSLST、LSLGT、LSLAT、LSLRT、LSLFN、LSLFP、LSLFR、LGLFT、ASLFT、FSLFT、GSLFT、ISLFT、MSLFT、NSLFT、PSLFT、QSLFT、RSLFT、SSLFT、TSLFT、YSLFT、LNLFT、LSAFT、LSHFT、LSIFT、LSNFT、LSRFT、LSSFT、LSTFT、LSWFT、LSLCT、LSLIT、LSLLT、LSLTT、LSLVT、LSLWT、LSLFF、LSLFG、LSLFH、LSLFI、LSLFL、LSLFM、LSLFS、LSLFV、LSLFW、LYLFT、LVLFT、LSFFT、LSGFT、LSKFT、LSCFT、LCLFT、LRLFT、LPLFT、LWLFT、LKLFT、LDLFT、LSYFT、LALFT、WSLFT、LSLFA、LSLFQ、LSPFT、HSLFT、LSLYT、LILFT、KSLFT、CSLFT、LSLFY、LSLFK、LSLFC、LFLFT、LELFT、LSLKT、LLLFT、LSLFD、LSLDT、LSLFE、DSLFT、LSLET、LSDFT、LSEFT、ESLFT、SLFT、LSFT、LFT、LSL、LT或T或缺失。在一些实施方式中，X₈₀₃是可选序列，可以是R、F、K、N、R、T或Y或缺失。在一些实施方式中，包含式(VIII)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸，包括任何两个列出值之间的范围。

[0772] 此外，在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含式(IX)、由式(IX)组成或基本由式(IX)组成。因此，在一些实施方式中，所述肽抑制剂包含式(IX)：X₉₀₁X₉₀₂X₉₀₃X₉₀₄X₉₀₅X₉₀₆X₉₀₇X₉₀₈X₉₀₉X₉₁₀X₉₁₁X₉₁₂X₉₁₃X₉₁₄X₉₁₅X₉₁₆X₉₁₇的肽，其中，X₉₀₁是任何氨基酸或缺失；X₉₀₂是正电荷氨基酸、F或N；X₉₀₃是任何氨基酸；X₉₀₄是任何氨基酸；X₉₀₅是极性无电荷氨基酸、R、Y或W；X₉₀₆是疏水的或无电荷极性氨基酸；X₉₀₇是疏水的或无电荷极性氨基酸；X₉₀₈是疏水的、非芳香碳链氨基酸且不是M或F；X₉₀₉是正电荷氨基酸、T、Q或Y；X₉₁₀是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₁是极性无电荷氨基酸或H；X₉₁₂是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₃是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₄是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₅是负电荷氨基酸、Y或Q；X₉₁₆是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₇是一个或多个正电荷氨基酸或缺失。可选地，X₉₀₁包括正电荷氨基酸。可选地，X₉₀₁是R或K。可选地，X₉₁₇是RR。在一些实施方式中，包含式(IX)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、

290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0773] 此外,在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成和/或:如本文所述的SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589、或者表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任何一种或多种肽、或者表5.3和13中提供的P28R或P28核的任何变异体或变异体的组合。在一些实施方式中,这些分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050 或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0774] 此外,在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包括某肽抑制剂、或由某肽抑制剂组成或基本由某肽抑制剂组成,所述某肽抑制剂包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:表5.1、5.4、5.5、5.6中列出的任何一种或多种肽、或者表5.3和13中提供的P28R或P28核的任何变异体或变异体的组合。在一些实施方式中,在这些方法中使用的来自表5.1的分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0775] 在一些实施方式中,所述方法包括向人提供编码这种肽抑制剂(如,表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任何一种或多种肽、或者表5.3和13中提供的P28R或P28核的任何变异体或变异体的组合)的多核苷酸。例如,可以提供编码这种肽抑制剂的多核苷酸,如,SEQ ID NO:102-165的核酸。

[0776] 癌相关免疫抑制的减少可以诱导和/或增强针对癌细胞的免疫反应。针对癌细胞的免疫反应可以减少癌细胞增殖和/或引起癌细胞经历细胞死亡或细胞凋亡。因此,所述方法可以包括检测病患癌细胞增殖的抑制。这些方法可以包括检测病患癌细胞的细胞死亡或细胞凋亡的诱导。所述方法可以包括检测病患癌细胞增殖的抑制以及病患癌细胞的细胞死亡或细胞凋亡的诱导。可以用本领域已知的方法鉴定细胞凋亡,例如通过中性红试验、死细胞的台盼蓝拒染、吖啶橙染色、TUNEL染色和/或劈开的PARP和/或半胱天冬酶检测。

[0777] 移除结合在LFA-1受体的配体的方法

[0778] 本发明的一些实施方式包括移除结合在人淋巴细胞的LFA-1受体的配体的方法。这些方法可以包括用免疫调节肽抑制剂或编码这种抑制剂的多核苷酸接触人淋巴细胞。在一些实施方式中,所述免疫调节肽抑制剂包含本文描述的某肽、由本文描述的某肽组成或基本由本文描述的某肽组成。例如,在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:如本文所述的式(I), $XX_1VKX_2X_3X_4$ (SEQ ID NO: 166)。在一些实施方式中,X是可选序列,可以是KKLDT (SEQ ID NO: 167)、RKLDT (SEQ ID NO: 168)、KKGDT (SEQ ID NO: 169)、KKEDT (SEQ ID NO: 170)、KKLDQ (SEQ ID NO: 171)、KKGDQ (SEQ ID NO: 252)、KKEDQ (SEQ ID NO: 253)、RKLDQ (SEQ ID NO: 254)、RKGdQ (SEQ ID NO: 255)、RKEDQ (SEQ ID NO: 256)、RKGTD (SEQ ID NO: 257)、RKEDT (SEQ ID NO: 258)、KLDT (SEQ ID NO: 172)、KGD (SEQ ID NO: 259)、KEDT (SEQ ID NO: 260)、KLDQ (SEQ ID NO: 261)、KGDQ (SEQ ID NO: 262)、KEDQ (SEQ ID NO: 263)、LDT、LDQ、GDT、GDQ、EDT、EDQ、DT、DQ、T或Q或缺失。在一些实施方式中, X_1 是FF、FM、FS、FV、FT、FL、AF、AM、AS、AV、AT、AL、VF、VM、VS、VV、VT或VL中的一种。在一些实施方式中, X_2 是LS、LQ、LM、LT、LH、VS、VQ、VM、VT或VH中的一种。在一些实施方式中, X_3 是LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、QMR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR中的一种。在一些实施方式中, X_4 是可选序列,可以是ER或E或缺失。在一些实施方式中,如果X缺失,则 X_1 是FF, X_2 是LS。在一些实施方式中,在这些方法中使用的包含式(I)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0779] 此外,在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:如本文所述的式(II), $X_{20}TFFVKLSX_{21}X_{22}$ (SEQ ID NO: 173)。在一些实施方式中, X_{20} 是可选序列,可以是KKLD (SEQ ID NO: 174)、RKLD (SEQ ID NO: 175)、KKGD (SEQ ID NO: 176)、KKED (SEQ ID NO: 177)、KLD、LD或D或缺失。 X_{21} 是可选序列,可以是LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、

VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR或缺失。在一些实施方式中， X_{22} 是可选序列，可以是ER、E或缺失。在一些实施方式中，在这些方法中使用的包含式(II)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸，包括任何两个列出值之间的范围。

[0780] 此外，在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成：式(III)， $X_{30}X_{31}VKLX_{32}LX_{33}TEX_{34}$ (SEQ ID NO:178)。在一些实施方式中， X_{30} 是可选序列，可以是KKLDTF (SEQ ID NO:179)、KLDTF (SEQ ID NO:180)、LDTF (SEQ ID NO:181)、DTF、TF或F或缺失。在一些实施方式中， X_{31} 是可选序列，可以是F、S、M、V、T或L或缺失。在一些实施方式中， X_{31} 是F。在一些实施方式中， X_{32} 可以是S、Q、M、T或H。在一些实施方式中， X_{32} 是S。 X_{33} 可以是F、M、Q、H、N、P、S、G、A或R。在一些实施方式中， X_{34} 是F。 X_{34} 是可选序列，可以是R或缺失。在一些实施方式中，在这些方法中使用的包含式(III)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸，包括任何两个列出值之间的范围。

[0781] 此外，在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成：本文描述的式(VII)， $X_{700}K X_{701}X_{702}X_{703}X_{704}X_{705}X_{706}K X_{707}X_{708}X_{709}X_{710}X_{711}E X_{712}$ (SEQ ID NO:394)。在一些实施方式中， X_{700} 是可选序列，可以是K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T或V或缺失。在一些实施方式中， X_{701} 是可选序列，可以是L、A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、N、Q、R、S、T或V或缺失。在一些实施方式中， X_{702} 是可选序列，可以是D、A、

E、I、V、W或Y或缺失。在一些实施方式中，X₇₀₃是可选序列，可以是T、C、M、N、P、Q、R、S、W或Y或缺失。在一些实施方式中，X₇₀₄是可选序列，可以是F、A、I、M、N、P、T或V或缺失。在一些实施方式中，X₇₀₅是可选序列，可以是F、L、M、Q、S、T或V或缺失。在一些实施方式中，X₇₀₆是可选序列，可以是V、F、G、L、P或R或缺失。在一些实施方式中，X₇₀₇是可选序列，可以是L、A、F、G、I、M、N、P、Q、R、S、T、V或Y或缺失。在一些实施方式中，X₇₀₈是可选序列，可以是S、H、M、N、Q或T或缺失。在一些实施方式中，X₇₀₉是可选序列，可以是L、A、H、I、M、N、Q、R、S、T、V或W或缺失。在一些实施方式中，X₇₁₀是可选序列，可以是F、A、C、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或W或缺失。在一些实施方式中，X₇₁₁是可选序列，可以是T、F、G、H、I、L、M、N、P、S、V或W或缺失。在一些实施方式中，X₇₁₂是可选序列，可以是R、F、K、N、R、T或Y或缺失。在一些实施方式中，包含式(VII)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸，包括任何两个列出值之间的范围。

[0782] 此外，在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成：本文描述的式(VIII)，X₈₀₀K X₈₀₁K X₈₀₂E X₈₀₃(SEQ ID NO:395)。在一些实施方式中，X₈₀₀是可选序列，可以是K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T、V或K或缺失。在一些实施方式中，X₈₀₁是可选序列，可以是LDTFFV、GDTFFV、EDTFFV、LDQFFV、LDTAFV、LDTVFFV、LDTFMV、LDTFSV、LDTFVV、LDTFTV、LDTFLV、LDGFFV、LDTFGV、LDTFFK、ADTFFV、CDTFFV、DDTFFV、FDTFFV、HDTFFV、IDTFFV、KDTFFV、MDTFFV、NDTFFV、QDTFFV、RDTFFV、SDTFFV、TDTFFV、VDTFFV、LATFFV、LETFFV、LITFFV、LVTFFV、LWTFV、LYTFFV、LDCFFV、LDMFFV、LDNFFV、LDPFFV、LDRFFV、LDSFFV、LDWFFV、LDYFFV、LDTIFV、LDTMFV、LDTNFV、LDTPFV、LDTTFV、LDTFQV、LDTFFF、LDTFFG、LDTFFL、LDTFFP、LDTFFR、LDTFIV、LDTSFV、LDTFAV、LDTFCV、LDTQFV、LDTLFV、LTTFFV、LDTFFI、LDHFFV、LMTFFV、LDTFEV、LDTFWV、LFTFFV、LDVFFV、LDTFRV、LDTFHV、LDTYFV、LPTFFV、PDTFFV、LDTFPV、LDTFNV、LDTWFV、LDTGFV、LDAFFV、LQTFFV、LCTFFV、LSTFFV、YDTFFV、LDEFFV、WDTFFV、LDTKFV、LDTCFV、LDTFYV、LDTHFV、LHTFFV、LRTFFV、LDLFFV、LDTRFV、LLTFFV、LDTFDV、LDTFFA、LDTFFT、LNTFFV、LDDFFV、LDIFFV、LDFFFV、LKTFFV、LDTFFQ、LGTFV、LDTFFC、LDKFFV、LDTFKV、LDTEFV、LDTFFW、LDTFFM、LDTFFS、LDTFFH、LDTFFY、LDTFFN、LDTDFV、LDTFFE、LDTFFD、LTTFFV、LDTFF、TFFV、LDF、LDTE、FFV、LDV、LV或L或缺失。在一些实施方式中，X₈₀₂是可选序列，可以是LSLFT、VSLFT、LQLFT、LMLFT、LTLFT、LHLFT、LSQFT、LSVFT、LSMFT、LSLMT、LSLQT、LSLHT、LSLNT、LSLPT、LSLST、LSLGT、LSLAT、LSLRT、LSLFN、LSLFP、LSLFR、LGLFT、ASLFT、FSLFT、GSLFT、ISLFT、MSLFT、NSLFT、PSLFT、QSLFT、RSLFT、SSLFT、TSLFT、YSLFT、LNLFT、LSAFT、LSHFT、LSIFT、LSNFT、LSRFT、LSSFT、LSTFT、LSWFT、LSLCT、LSLIT、LSLLT、LSLTT、LSLVT、LSLWT、LSLFF、LSLFG、LSLFH、LSLFI、LSLFL、LSLFM、LSLFS、LSLFV、LSLFW、LYLFT、LVLFT、LSFFT、LSGFT、LSKFT、LSCFT、LCLFT、LRLFT、LPLFT、LWLFT、LKLFT、LDLFT、LSYFT、

LALFT、WSLFT、LSLFA、LSLFQ、LSPFT、HSLFT、LSLYT、LILFT、KSLFT、CSLFT、LSLFY、LSLFK、LSLFC、LFLFT、LELFT、LSLKT、LLLFT、LSLFD、LSLDT、LSLFE、DSLFT、LSLET、LSDFT、LSEFT、ESLFT、SLFT、LSFT、LFT、LSL、LT或T或缺失。在一些实施方式中，X₈₀₃是可选序列，可以是R、F、K、N、R、T或Y或缺失。在一些实施方式中，包含式(VIII)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸，包括任何两个列出值之间的范围。

[0783] 此外，在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含式(IX)、由式(IX)组成或基本由式(IX)组成。因此，在一些实施方式中，所述肽抑制剂包含式(IX)：X₉₀₁X₉₀₂X₉₀₃X₉₀₄X₉₀₅X₉₀₆X₉₀₇X₉₀₈X₉₀₉X₉₁₀X₉₁₁X₉₁₂X₉₁₃X₉₁₄X₉₁₅X₉₁₆X₉₁₇的肽，其中，X₉₀₁是任何氨基酸或缺失；X₉₀₂是正电荷氨基酸、F或N；X₉₀₃是任何氨基酸；X₉₀₄是任何氨基酸；X₉₀₅是极性无电荷氨基酸、R、Y或W；X₉₀₆是疏水的或无电荷极性氨基酸；X₉₀₇是疏水的或无电荷极性氨基酸；X₉₀₈是疏水的、非芳烃碳链氨基酸且不是M或F；X₉₀₉是正电荷氨基酸、T、Q或Y；X₉₁₀是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₁是极性无电荷氨基酸或H；X₉₁₂是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₃是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₄是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₅是负电荷氨基酸、Y或Q；X₉₁₆是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₇是一个或多个正电荷氨基酸或缺失。可选地，X₉₀₁包括正电荷氨基酸。可选地，X₉₀₁是R或K。可选地，X₉₁₇是RR。在一些实施方式中，包含式(IX)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸，包括任何两个列出值之间的范围。

[0784] 此外，在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成和/或：如本文所述的SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589、或者表5.1、5.4、5.5、5.6中提供的任何一种或多种肽、或者表5.3和13中提供的P28R或P28核的任何变异体或变异体的组合。在一些实施方式中，在这些方法中使用的这些分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、

59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0785] 此外,在这些方法中使用的所述肽抑制剂可以包括某肽抑制剂、由某肽抑制剂组成或基本由某肽抑制剂组成,所述某肽抑制剂包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:表5.1、5.4、5.5、5.6中列出的任何一种或多种肽、或者表5.3和13中提供的P28R或P28核的任何变异体或变异体的组合。在一些实施方式中,在这些方法中使用的来自表5.1、5.4、5.5、5.6的分离肽或者表5.3和13中提供的P28R或P28核的任何变异体或变异体的组合的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。在一些实施方式中,所述方法包括向人提供编码这种肽抑制剂的多核苷酸。例如,可以提供编码这种肽抑制剂的多核苷酸,例如,SEQ ID NO:102-165的核酸。

[0786] 如在文本中所示的(见实施例15和24;见图15、16、17和26),免疫调节肽抑制剂可以与免疫调节肽序列/结构结合,从而阻止免疫调节肽序列/结构与LFA-1受体结合。示例性的免疫调节肽可以包括P3028结构/序列。示例性的免疫调节肽可以包括SEQ ID NO:183-185或188-246的肽。因此,这些方法可以包括检测如本文所述的配体与LFA-1受体减少的结合。可以使用一种抗体检测配体的减少的结合,所述抗体识别LFA-1受体的至少一个抗原表位,当配体与LFA-1受体结合时,所述表位是被封闭的;所述抗体例如实施例15和23的抗体。可以使用与LFA-1受体的配体特异结合的抗体检测配体的减少的结合;例如,与如P3028序列/结构等等的免疫调节肽特异结合的抗体(见实施例9)。

[0787] 鉴定需要的病患的方法

[0788] 本文考虑,不同群病患可能具有不同的白蛋白来源的免疫调节肽,给定的白蛋白来源的免疫调节肽在不同个体病患中可能具有不同效果。如在实施例30中所示的,一些癌病患具有对IL-2有高增殖性反应的免疫细胞,而其他癌病患具有对IL-2有低增殖性反应的免疫细胞。如在实施例31和32中所示的,不同群病患对相同的免疫调节肽抑制剂可能反应不同。此外,给定的抑制剂可以调节一些病患中的免疫系统,但是在其它病患中不能。因此,本发明的一些实施方式包括鉴定需要的病患。需要的病患可以包括具有与至少一些他的或她的免疫细胞结合的白蛋白来源的免疫调节肽的病患。需要的病患可以包括可能对免疫调

节肽抑制剂反应的病患。在一些实施方式中,可以分离病患的免疫细胞。可以检测免疫细胞上的免疫调节结构的存在。可以检测免疫调节肽抑制剂对免疫细胞的作用。如果免疫调节结构存在和/或如果免疫细胞功能由所述抑制剂调节,该病患可以被分类为需要的病患。可选地,可以确定有效剂量的抑制剂。可以将治疗有效量的抑制剂施用给需要的病患。

[0789] 一些实施方式包括在体外实验中检测免疫调节肽的存在的方法。在检测与免疫细胞、免疫调节序列和结构结合的白蛋白来源的免疫调节肽的存在的体外方法以及检测白蛋白来源的免疫调节肽对免疫细胞活性的作用的体外方法在美国专利号8,182,983(通过引用的方式全文明确地并入本文)、美国专利号7,960,126(通过引用的方式全文明确地并入本文)、美国专利号8,133,688(通过引用的方式全文明确地并入本文)、美国专利号8,110,347(通过引用的方式全文明确地并入本文)以及美国专利公开号2011/0262470(通过引用的方式全文明确地并入本文)中提供。

[0790] 一些实施方式包括检测抑制的免疫细胞对免疫调节肽抑制剂的反应。在一些实施方式中,从病患分离免疫细胞。在一些实施方式中,所述免疫细胞包括PBMC。在一些实施方式中,所述免疫细胞与免疫调节肽抑制剂接触。

[0791] 在一些实施方式中,所述免疫细胞与一种包括肽的抑制剂接触,所述肽包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:SEQ ID NO:1-33、34、46-53、64-66、68、76、94-96、98、264-393、583-586或589中的至少一种肽,或表5.1、5.4、5.5、5.6、6.1、6.2或12中提供的任何一种或多种肽,或表5.3和13中提供的P28R或P28核的任何变异体或变异体的组合。

[0792] 在一些实施方式中,所述免疫细胞与包含一种肽的抑制剂接触,所述肽包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:式(I),XX1VKX2X3X4(SEQ ID NO:166)。在一些实施方式中,X是可选序列,可以是KKLDT(SEQ ID NO:167)、RKLD(SEQ ID NO:168)、KKGDT(SEQ ID NO:169)、KKEDT(SEQ ID NO:170)、KKLDQ(SEQ ID NO:171)、KKGDQ(SEQ ID NO:252)、KKEDQ(SEQ ID NO:253)、RKLDQ(SEQ ID NO:254)、RKGDQ(SEQ ID NO:255)、RKEDQ(SEQ ID NO:256)、RKGTD(SEQ ID NO:257)、RKEDT(SEQ ID NO:258)、KLDT(SEQ ID NO:172)、KGD(SEQ ID NO:259)、KEDT(SEQ ID NO:260)、KLDQ(SEQ ID NO:261)、KGDQ(SEQ ID NO:262)、KEDQ(SEQ ID NO:263)、LDT、LDQ、GDT、GDQ、EDT、EDQ、DT、DQ、T或Q或缺失。在一些实施方式中,X1是FF、FM、FS、FV、FT、FL、AF、AM、AS、AV、AT、AL、VF、VM、VS、VV、VT或VL中的一种。在一些实施方式中,X2可以是LS、LQ、LM、LT、LH、VS、VQ、VM、VT或VH中的一种。在一些实施方式中,X3可以是LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR中的一种。在一些实施方式中,X4是可选序列,可以是ER或E或缺失。在一些实施方式中,如果X缺失,X1是FF,X2是LS。在一些实施方

式中,所述肽包括SEQ ID NO:2-33中的一种。在一些实施方式中,包含式(I)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0793] 在一些实施方式中,所述免疫细胞与包含一种肽的抑制剂接触,所述肽包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:式(II), $X_{20}TFFVKLSX_{21}X_{22}$ (SEQ ID NO:173)。在一些实施方式中, X_{20} 是可选序列,可以是KKLD(SEQ ID NO:174)、RKLD(SEQ ID NO:175)、KKGD(SEQ ID NO:176)、KKED(SEQ ID NO:177)、KLD、LD或D或缺失。 X_{21} 是可选序列,可以是LFT、LMT、LQT、LHT、LNT、LPT、LST、LGT、LAT、LRT、QFT、QMT、QQT、QHT、QNT、QPT、QST、QGT、QAT、QRT、VFT、VMT、VQT、VHT、VNT、VPT、VST、VGT、VAT、VRT、MFT、MMT、MQT、MHT、MNT、MPT、MST、MGT、MAT、MRT、LFN、LMN、LQN、LHN、LNN、LPN、LSN、LGN、LAN、LRN、QFN、QMN、QQN、QHN、QNN、QPN、QSN、QGN、QAN、QRN、VFN、VMN、VQN、VHN、VNN、VPN、VSN、VGN、VAN、VRN、MFN、MMN、MQN、MHN、MNN、MPN、MSN、MGN、MAN、MRN、LFP、LMP、LQP、LHP、LNP、LPP、LSP、LGP、LAP、LRP、QFP、QMP、QQP、QHP、QNP、QPP、QSP、QGP、QAP、QRP、VFP、VMP、VQP、VHP、VNP、VPP、VSP、VGP、VAP、VRP、MFP、MMP、MQP、MHP、MNP、MPP、MSP、MGP、MAP、MRPR、LFR、LMR、LQR、LHR、LNR、LPR、LSR、LGR、LAR、LRR、QFR、QMR、QQR、QHR、QNR、QPR、QSR、QGR、QAR、QRR、VFR、VMR、VQR、VHR、VNR、VPR、VSR、VGR、VAR、VRR、MFR、MMR、MQR、MHR、MNR、MPR、MSR、MGR、MAR或MRR或缺失。在一些实施方式中, X_{22} 是可选序列,可以是ER或E或缺失。在一些实施方式中,包含式(II)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0794] 在一些实施方式中,所述免疫细胞与包含一种肽的抑制剂接触,所述肽包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:式(III), $X_{30}X_{31}VKLX_{32}LX_{33}TEX_{34}$ (SEQ ID NO:178)。在一些实施方式中, X_{30} 是可选序列,可以是KKLDTF(SEQ ID NO:179)、KLDTF(SEQ ID NO:180)、LDTF(SEQ ID NO:181)、DTF、TF或F或缺失。在一些实施方式中, X_{31} 是可选序列,可以是F、S、M、V、T或L或缺失。在一些实施方式中, X_{31} 是F。在一些实施方式中, X_{32} 可以是S、Q、M、T或H。在一些实施方式中, X_{32} 是S。 X_{33} 可以是F、M、Q、H、N、P、S、G、A或R。在一些实施方式中,

X₃₄是F。X₃₄是可选序列,可以是R或缺失。在一些实施方式中,在这些方法中使用的包含式(III)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0795] 在一些实施方式中,所述免疫细胞与包含一种肽的抑制剂接触,所述肽包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:本文所述的式(VII), X₇₀₀KX₇₀₁X₇₀₂X₇₀₃X₇₀₄X₇₀₅X₇₀₆K X₇₀₇X₇₀₈X₇₀₉X₇₁₀X₇₁₁E X₇₁₂(SEQ ID NO:394)。在一些实施方式中,X₇₀₀是可选序列,可以是K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T或V或缺失。在一些实施方式中,X₇₀₁是可选序列,可以是L、A、C、D、E、F、G、H、I、K、M、N、Q、R、S、T或V或缺失。在一些实施方式中,X₇₀₂是可选序列,可以是D、A、E、I、V、W或Y或缺失。在一些实施方式中,X₇₀₃是可选序列,可以是T、C、M、N、P、Q、R、S、W或Y或缺失。在一些实施方式中,X₇₀₄是可选序列,可以是F、A、I、M、N、P、T或V或缺失。在一些实施方式中,X₇₀₅是可选序列,可以是F、L、M、Q、S、T或V或缺失。在一些实施方式中,X₇₀₆是可选序列,可以是V、F、G、L、P或R或缺失。在一些实施方式中,X₇₀₇是可选序列,可以是L、A、F、G、I、M、N、P、Q、R、S、T、V或Y或缺失。在一些实施方式中,X₇₀₈是可选序列,可以是S、H、M、N、Q或T或缺失。在一些实施方式中,X₇₀₉是可选序列,可以是L、A、H、I、M、N、Q、R、S、T、V或W或缺失。在一些实施方式中,X₇₁₀是可选序列,可以是F、A、C、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、S、T、V或W或缺失。在一些实施方式中,X₇₁₁是可选序列,可以是T、F、G、H、I、L、M、N、P、S、V或W或缺失。在一些实施方式中,X₇₁₂是可选序列,可以是R、F、K、N、R、T或Y或缺失。在一些实施方式中,包含式(VII)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸,例如,少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸,包括任何两个列出值之间的范围。

[0796] 在一些实施方式中,所述免疫细胞与包含一种肽的抑制剂接触,所述肽包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成:本文所述的式(VIII), X₈₀₀K X₈₀₁K X₈₀₂E X₈₀₃(SEQ ID NO:395)。在一些实施方式中,X₈₀₀是可选序列,可以是K、A、D、E、G、H、I、L、M、N、P、Q、R、T、V或K或缺失。在一些实施方式中,X₈₀₁是可选序列,可以是LDTFFV、GDTFFV、EDTFFV、

LDQFFV、LDTAFV、LDTVFFV、LDTFMV、LDTFSV、LDTFVV、LDTFTV、LDTFLV、LDGFFV、LDTFGV、LDTFFK、ADTFFV、CDTFFV、DDTFFV、FDTFFV、HDTFFV、IDTFFV、KDTFFV、MDTFFV、NDTFFV、QDTFFV、RDTFFV、SDTFFV、TDTFFV、VDTFFV、LATFFV、LETFFV、LITFFV、LVTFFV、LWTFFV、LYTFFV、LDCFFV、LDMFFV、LDNFFV、LDPFFV、LDRFFV、LDSFFV、LDWFFV、LDYFFV、LDTIFV、LDTMFV、LDTNFV、LDTPFV、LDTTFV、LDTFQV、LDTFFF、LDTFFG、LDTFFL、LDTFFP、LDTFFR、LDTFIV、LDTSFV、LDTFAV、LDTFCV、LDTQFV、LDTLFFV、LTTFFV、LDTFFI、LDHFFV、LMTFFV、LDTFEV、LDTFWV、LFTFFV、LDVFFV、LDTFRV、LDTFHV、LDTYFV、LPTFFV、PDTFFV、LDTFPV、LDTFNV、LDTWFV、LDTGFV、LDAFFV、LQTFV、LCTFFV、LSTFFV、YDTFFV、LDEFFV、WDTFFV、LDTKFV、LDTCFV、LDTFYV、LDTHFV、LHTFFV、LRTFFV、LDLFFV、LDTRFV、LLTFFV、LDTFDV、LDTFFA、LDTFFT、LNTFFV、LDDFFV、LDIFFV、LDFFFV、LKTFFV、LDTFFQ、LGTFFV、LDTFFC、LDKFFV、LDTFKV、LDTEFV、LDTFFW、LDTFFM、LDTFFS、LDTFFH、LDTFFY、LDTFFN、LDTDFV、LDTFFE、LDTFFD、LTFFV、LDTFF、TFFV、LDF、LDTE、FFV、LDV、LV或L或缺失。在一些实施方式中，X₈₀₂是可选序列，可以是LSLFT、VSLFT、LQLFT、LMLFT、LTLFT、LHLFT、LSQFT、LSVFT、LSMFT、LSLMT、LSLQT、LSLHT、LSLNT、LSLPT、LSLST、LSLGT、LSLAT、LSLRT、LSLFN、LSLFP、LSLFR、LGLFT、ASLFT、FSLFT、GSLFT、ISLFT、MSLFT、NSLFT、PSLFT、QSLFT、RSLFT、SSLFT、TSLFT、YSLFT、LNLFT、LSAFT、LSHFT、LSIFT、LSNFT、LSRFT、LSSFT、LSTFT、LSWFT、LSLCT、LSLIT、LSLLT、LSLTT、LSLVT、LSLWT、LSLFF、LSLFG、LSLFH、LSLFI、LSLFL、LSLFM、LSLFS、LSLFV、LSLFW、LYLFT、LVLFT、LSFFT、LSGFT、LSKFT、LSCFT、LCLFT、LRLFT、LPLFT、LWLFT、LKLFT、LDLFT、LSYFT、LALFT、WSLFT、LSLFA、LSLFQ、LSPFT、HSLFT、LSLYT、LILFT、KSLFT、CSLFT、LSLFY、LSLFK、LSLFC、LFLFT、LELFT、LSLKT、LLLFT、LSLFD、LSLDT、LSLFE、DSLFT、LSLET、LSDFT、LSEFT、ESLFT、SLFT、LSFT、LFT、LSL、LT、T或缺失。在一些实施方式中，X₈₀₃是可选序列，可以是R、F、K、N、R、T或Y或缺失。在一些实施方式中，包含式(VIII)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸，包括任何两个列出值之间的范围。

[0797] 在一些实施方式中，所述免疫细胞与包含一种肽的抑制剂接触，所述肽包含式(IX)、由式(IX)组成或基本由式(IX)组成。因此，在一些实施方式中，所述肽抑制剂包含式(IX)：X₉₀₁X₉₀₂X₉₀₃X₉₀₄X₉₀₅X₉₀₆X₉₀₇X₉₀₈X₉₀₉X₉₁₀X₉₁₁X₉₁₂X₉₁₃X₉₁₄X₉₁₅X₉₁₆X₉₁₇的肽，其中，X₉₀₁是任何氨基酸或缺失；X₉₀₂是正电荷氨基酸、F或N；X₉₀₃是任何氨基酸；X₉₀₄是任何氨基酸；X₉₀₅是极性无电荷氨基酸、R、Y或W；X₉₀₆是疏水的或无电荷极性氨基酸；X₉₀₇是疏水的或无电荷极性氨基酸；X₉₀₈是疏水的、非芳香碳链氨基酸且不是M或F；X₉₀₉是正电荷氨基酸、T、Q或Y；X₉₁₀是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₁是极性无电荷氨基酸或H；X₉₁₂是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₃是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₄是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₅是负电荷氨基酸、Y或Q；X₉₁₆是不带负电荷的任何氨基酸；X₉₁₇是一个或多个正电荷氨基酸或缺失。可选地，X₉₀₁包含正电

荷氨基酸。可选地，X₉₀₁是R或K。可选地，X₉₁₇是RR。在一些实施方式中，包含式(IX)的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸，包括任何两个列出值之间的范围。

[0798] 在一些实施方式中，所述免疫细胞与包含某肽抑制剂、由某肽抑制剂组成或基本由某肽抑制剂组成的抑制剂接触，所述某肽抑制剂包含以下成分、由以下成分组成或基本由以下成分组成：任何一种或多种在表5.1中列出的肽。在一些实施方式中，在这些方法中使用的来自表5.1的所述分离肽的长度少于或等于1100个氨基酸，例如，少于或等于4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、320、340、360、380、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050或1100个氨基酸，包括任何两个列出值之间的范围。在一些实施方式中，检测所述免疫细胞的反应。在一些实施方式中，检测对IL-2刺激的反应(见实施例2)。在一些实施方式中，检测T细胞刺激(见实施例3)。在一些实施方式中，分析NK细胞细胞毒性(见实施例4)。在一些实施方式中，检测白细胞扩散(见实施例5)。在一些实施方式中，检测LFA-1受体的未阻碍(见实施例6)。在一些实施方式中，证明P28R与肿瘤的结合。在一些实施方式中，检测P3028(SEQ ID NO:185)与IL-2受体的结合(见实施例8)。在一些实施方式中，例如，在对免疫细胞刺激的反应中，检测由免疫细胞的MTS反转(见实施例31-32)。在一些实施方式中，例如，在对免疫细胞刺激的反应中，检测由免疫细胞的BrdU掺入(见实施例31-32)。本文考虑，一些病患在对所述抑制剂的反应中将展示出一些免疫细胞反应，但是，在对相同的抑制剂的反应中没有展示其它免疫细胞反应(见实施例31-32，以及图34、37和38，其结果显示了在一位病患中P28R增加了IL-2诱导的BrdU吸收的刺激以及MTS反转，但是在另一位病患中增强了BrdU吸收但没有MTS反转)。因此，一些实施方式包括检测本文描述的两种或更多种免疫细胞反应。检测两种或更多种免疫细胞反应使得鉴定可能引发第一反应但不引发第二反应的病患，且可以用于指导临床决策，如使用哪种抑制剂或抑制剂的组合，以及是否对所述需要的病患施用其它疗法。在一些实施方式中，检测免疫细胞的活化或刺激(如通过CD69或CD71表达的增加所证明的)、诱导信号物质的分泌(如通过干扰素 λ 或IL-12生产所证明的)或溶细胞物质的释放的刺激(如通过粒酶B或穿孔素的释放所证明的)。在一些实施方式中，检测免疫细胞的活化或刺激包括检测

增强的细胞毒性、细胞因子生产、细胞迁移和/或细胞增殖中的一种或多种。

[0799] 在一些实施方式中,可选地,检测用于需要的病患的有效剂量抑制剂。在一些实施方式中,病患的细胞在体外与两剂或更多剂的抑制剂接触,并有免疫反应。如在图33A、33B和34中所示的,P28R可以具有例如对线粒体代谢的剂量依赖的免疫调节作用(见实施例28和29)。

[0800] 如在图34中所示的,在体外向癌病患的免疫细胞提供增加剂量的P28R (SEQ ID NO:2)。20 μ g/ml的P28R的剂量比40 μ g/ml的P28R的剂量导致明显更高的MTS反转。因此,本领域技术人员将意识到一些实施方法包括在体外确定对于病患细胞的有效量的抑制剂,然后向所述病患提供合适量的抑制剂。

[0801] 材料和方法

[0802] 除非另有说明,在以下提供的实施例中视情况而定使用以下材料或方法。

[0803] 人血清

[0804] 在从血液样品中分离PBMC的同时将人血清收集在没有添加剂的血清收集管中 (Vacutainer, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ)。在56EC下将血清热灭活30分钟。

[0805] PBMC的分离

[0806] 为分离PBMC,从健康志愿者或癌病患抽取静脉血于玻璃真空管中,所述玻璃真空管具有枸橼酸葡萄糖溶液A作为抗凝剂 (Vacutainer, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ)。通过0.9%NaCl中的2%右旋糖酐T500溶液 (Amersham Pharmacia Biotech AB, Uppsala, 瑞典) 上的沉降作用移除红细胞 (对于用PHA刺激的培养物来说,该步骤省略-见下文)。然后通过Ficoll-Paque Plus (GE Healthcare Bio-Sciences AB, Uppsala, 瑞典) 密度梯度离心分离PBMC,之后将所述细胞在含有2%人血清白蛋白 (HSA) (Pharmacia&Upjohn, Stockholm, 瑞典) 的RPMI 1640Dutch修正培养基 (Gibco, Invitrogen AB, Stockholm, 瑞典) (RPMI/2%HSA) 中清洗两次。对于用PHA刺激的细胞培养物,将PBMC在含有10%的自体同源的血浆的Hank平衡盐溶液 (HBSS) (代替RPMI/2%HSA) 中清洗。通过0.05%台盼蓝拒染检测细胞生存能力,总是在95%以上。用Türk溶液对细胞悬浮液染色,在血球计中计算PBMC制品中的淋巴细胞和单核白细胞的数量。将PBMC悬浮在RPMI/2%HSA中,将细胞浓度调整到 5×10^5 淋巴细胞/ml。

[0807] 在未包被和包被的培养平板中IL-2诱导的PBMC的增殖

[0808] 用HSA和HSA/IgG预包被培养平板。圆底的、96孔组织培养平板 (Costar, Corning Inc. NY, 美国) 用仅HSA或HSA和用于静脉注射的合并的人IgG (Gammagard, Baxter AS, 丹麦) 预包被。用没有补充物的RPMI1640将HSA稀释至10mg/ml的浓度。在一些试验中,将1mg/ml的IgG混合在RPMI中的9mg/mlHSA溶液中 (HSA/IgG)。然后向平板的每个孔中加入200 μ l的HSA或HSA/IgG。在4 $^{\circ}$ C下将所述平板孵育30分钟,然后用200 μ l的RPMI1640清洗孔两次。立即使用所述包被的平板。

[0809] 向未包被的、HSA包被或HSA/IgG包被的组织培养微量滴定板加入100 μ l的补充有200IU/ml青霉素、200 μ l/ml链霉素、4mM L-谷氨酰胺 (均来自Sigma Chemical Co. MO, 美国) 和20%热灭活的人血清 (自体同源的或来自癌病患) 的RPMI 1640。分离自健康个体或患有转移性肾细胞癌的病患的PBMC在RPMI/2%HSA中稀释到 5×10^5 /ml的浓度,将100 μ l加入到微量滴定孔中。向一些孔中加入白细胞介素-2 (IL-2, Proleukin, Chiron, NL), 终浓度为

120IU/孔。在37℃下、在潮湿的、5%CO₂氛围中培养细胞7天。在最后18个小时中,通过掺入1.6μCi/孔的 [³H]-胸苷 (Amersham Int.,UK) 分析增殖。三次的dpm(每分钟衰变) 平均值用于计算。

[0810] 存在白蛋白肽时白细胞介素-2 (IL-2) 诱导的PBMC的增殖

[0811] 用来自上述的健康供体和自体同源血清的PBMC建立用于IL-2诱导的增殖的培养物,例外的是,将PBMC在室温下用浓度为10μg/ml的标示的白蛋白肽首先预培养30分钟。

[0812] 在包被的和未包被的组织培养平板中存在白蛋白肽时白细胞介素-2 (IL-2) 诱导的PBMC的增殖

[0813] 如下所述,将圆底的、96孔组织培养平板 (Costar,Corning Inc.NY,美国) 用仅HSA或HSA和用于静脉注射的合并的人IgG (Gammagard,Baxter AS,丹麦) 预包被;用没有添加物的RPMI1640将HSA稀释至10mg/ml的浓度。同样制备RPMI中有9mg/ml HSA的溶液中有1mg/ml IgG (HSA/IgG) 的混合物。然后将200μl的HSA或HSA/IgG加入至平板的每个孔中。将平板在4℃下培养30分钟,然后用200μl的RPMI1640清洗孔两次。立即使用被包被的平板。向HSA或HSA/IgG包被的组织培养微量滴定孔中加入100μl的补充有200IU/ml青霉素、200μl/ml链霉素、4mM L-谷氨酰胺(均来自Sigma Chemical Co.MO,美国) 和20%热灭活的人血清(自体同源)的RPMI1640。将来自健康个体的PBMC用RPMI/2%HSA稀释,将肽直接加入至细胞悬浮液中,浓度为10μg/ml。然后每孔加入100μl这种细胞悬浮液 (5×10⁴淋巴细胞),提供了每孔5μg/ml肽的终浓度。将IL-2 (Proleukin,Chiron,NL) 加入至所述孔中,终浓度为120IU/孔。在37℃下、在潮湿的、5%CO₂氛围中培养细胞7天。在最后18个小时中,通过掺入1.6μCi/孔的 [³H]-胸苷 (Amersham Int.,UK) 分析增殖。三次的dpm(每分钟衰变) 平均值用于计算。

[0814] 白蛋白肽

[0815] 由CSBio Co,Menlo Park,CA定做合成的白蛋白肽。通过HPLC确认肽为>95%纯度。将肽在负20℃下冷冻干燥保存。将肽在用于ELISA的灭菌H₂O (Sigma) 中或用于细胞培养实验的RPMI1640 (GIBCO) 中重新构建。在细胞培养实验中使用之前,将肽通过0.22μm注射过滤器 (Millipore Co) 过滤灭菌。

[0816] 用于检测与人白蛋白结合的鼠抗体的ELISA

[0817] 用100μl的以PBS稀释成不同浓度的dHSA或可选地相同浓度的对照白蛋白样品包被Hibinding微量滴定板 (Costar 2592,Corning Inc,NY,USA) 中的双份孔。室温下过夜培养所述平板。然后将所述孔用清洗缓冲液(由含0.05%吐温20 (Sigma) 的PBS组成) 清洗,然后在25℃下用200μl含0.1%凝胶(用牛皮 (Sigma) 制备) 的PBS封闭1小时,然后用清洗缓冲液清洗。将对变性的人白蛋白具有特异性的两种鼠单克隆抗体 (IgG1) (抗dAbc1h040801抗体或抗dA1bc1h040809抗体) 中的一种加入在ELISA反应稀释液 (20mM Tris缓冲的盐 (TBS, Sigma) 中含0.01%凝胶 (Sigma) 和0.05%吐温20 (Sigma)) 中,浓度为1μg/ml。将所述抗体在25℃下孵育1.5小时,然后清洗。将预想-HRP (envision-HRP) (DakoCytomation Norden A/S,Glostrup,丹麦) 以1/5至1/10稀释度加入在ELISA反应稀释液中,在25℃下孵育30分钟,然后清洗。最后,加入由双氧水和四甲基联苯胺 (R&D Systems Europe Ltd,阿宾登,英国) 组成的底物溶液。用1M H₂SO₄停止反应。用多重扫描EX微量板读仪 (Labsystems) 在双波长450nm和570nm下测量可视密度为吸收率 (Ab)。

[0818] 用兔抗3028抗血清的ELISA

[0819] 用100 μ l的P3028 (10 μ g/ml)、变性的HSA (denHSA, 4.5 μ g/ml) 或对照HSA样品 (4.5 μ g/ml) 包被Hi-binding微量滴定板 (Costar 2592, Corning Inc, NY, 美国) 中的双份孔。所有的包被试剂用PBS稀释, 并在室温下孵育过夜。然后将所述孔用清洗缓冲液 (由含0.05%吐温20 (Sigma) 的PBS组成) 清洗, 然后在25 $^{\circ}$ C下用200 μ l含有0.5%凝胶 (用牛皮 (Sigma) 制备) 的PBS封闭1小时, 然后用清洗缓冲液清洗。加入在ELISA反应稀释液 (含0.01%凝胶和0.05%吐温20的PBS) 中稀释至1/1000 000的兔免疫前血清或抗3028血清, 在25 $^{\circ}$ C下孵育1小时, 然后清洗。然后加入在ELISA反应稀释液中以1/5稀释的生物素标记的马抗兔/鼠IgG (Vectastain ELITE, Vektor Laboratories Inc, CA, 美国), 在25 $^{\circ}$ C下孵育所述平板1小时, 然后清洗。然后, 加入HRP连结的链霉亲和素 (R&D systems Europe, Ltd, 英国)。最后, 在清洗缓冲液中清洗后, 加入由H₂O₂和四甲基联苯胺 (R&D Systems) 组成的底物溶液。用1M H₂SO₄ 停止反应。用多重扫描EX微量板读仪 (Labsystems) 在双波长450nm和570nm下测量可视密度为吸收率 (A)。

[0820] 统计考量

[0821] 使用未配对的t-检验进行不同病患组或不同检验机会的平均值的比较。使用Kaplan-Meier法和Logrank检验分析发展和存活的时间。使用未配对t-检验对一式三份的dpm的对数平均值进行不同组中的或不同检验机会中对PHA增值性反应的比较。为测量CHL的增加对PHA刺激的PBMC的增殖性反应的作用, 根据以下公式计算调制指数 (MI): $MI = \log(dpm \text{ PHA} + \text{药物} / dpm \text{ PHA})$ 。

[0822] 实施例1: 具有免疫抑制活性的血清肽

[0823] 免疫调节肽的鉴定

[0824] 通过选择性地生物素标记PBMC的细胞表面结构和在溶解细胞之后将生物素标记的蛋白与链霉亲和素柱结合来制备人造细胞表面 (ACS) (ACS的更多描述见实施例17)。胰蛋白酶消化后获得的肽混合物被ACS吸附, 使用MALDI TOF ms技术通过比较吸附的和未吸附的肽溶液鉴定结合的肽。基于它们的结合度和它们与之前鉴定的免疫调节结构的时空关系, 选择四种新的肽进行合成并研究它们的免疫调节活性, 主要是对IL-2的增殖性反应的作用。发现这些肽之一, P3028 (SEQ ID NO: 185) 具有多种免疫抑制活性。

[0825] 恶性肿瘤中P3028表位的表达

[0826] 产生并亲和纯化抗P3028的兔多克隆抗体 (见实施例9)。为确定P3028在肿瘤细胞中位置, 使用抗P3028的兔多克隆抗体免疫染色了恶性转移癌的切片。从福尔马林固定的癌病患的组织活检制备组织切片。在染色之前, 将切片脱腊并用补充有0.01M Hepes (BSS, GIBCO BRL) 的含10%正常人AB血清的Hank平衡盐溶液封闭1小时。然后用在含有2%AB血清和0.1g/ml皂素的BSS稀释的10 μ g/ml亲和纯化的兔抗P3028抗体对切片染色30分钟。用含有0.1g/ml皂素的BSS清洗之后, 添加特异于鼠和兔IgG的Ultravision One碱性磷酸酶聚合物 (Lab Vision Co., CA, 美国)。然后用含有0.1g/ml皂素的BSS从所述切片上清洗多余的聚合物。然后通过萘酚磷酸酯底物和液态固红色原体 (Lab Vision Corp.) 检测结合的聚合物复合物。将切片在Mayer的苏木精中复染并在甘油凝胶 (Glycergel) 中安装。如在图1中所示, 抗P3028抗体结合的结构1在人恶性肿瘤 (如, 恶性黑色素瘤、肾细胞癌和结肠直肠癌) 中广泛表达。

[0827] 对恶性黑色素瘤转移癌的提取物进行蛋白质印迹分析, 以检测P3028结构的存在。

使用标准技术进行蛋白质印迹分析,并使用亲和纯化的抗P3028兔多克隆抗体检测P3028结构(见实施例9)。在来自筛选的4个病患的7个转移癌的7份提取物中鉴定了来自恶性黑色素瘤转移癌的肿瘤提取物中的P3028结构(见图2)。在所有病患中都存在P3028肽。此外,所述P3028结构在全长白蛋白中存在。此外,在更大的分子中发现该结构。这些结果与产生自蛋白水解片段和变性的P3028结构相容。

[0828] 血清中P3028结构的存在

[0829] 通过在夹心ELISA中使用亲和纯化的抗体在人血清中测量展示P3028结构的物质。即,确定了检测人血清中P3028结构的能力。

[0830] 如下所示进行夹心ELISA以检测血清中展示P3028表位的白蛋白:将特异于人白蛋白P3028的亲和多克隆纯化的兔抗血清包被在结合ELISA微孔的高蛋白(捕获抗体,见实施例9)上。然后向孔中加入1%的热灭活血清溶液(用增加浓度的P3028失效)(来自5份健康对照样品、1份健康对照血清样品和2份获自癌病患的血清的血清池)。清洗之后,加入生物素标记的鼠抗人白蛋白单克隆抗体,用HRP连结的链霉亲和素和TMB色原体底物检测结合的抗体的量。(两种代表性试验之一在图3中示出)。

[0831] P3028结构的量被测量为P3028的量,其抑制血清中50%的P3028结构的结合以捕获抗体(见图3)。所述血清浓度被测定为每个血清池1.2-1.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ P3028等价物的范围,所述血清池来自5份健康对照样品、1份健康对照血清样品和2份获自癌病患的血清。血清中这些P3028-底物的量可能是相当更多,因为白蛋白的分子量大约比P3028的分子量多35倍。使用本实施例的方法精确地测量了P3028-底物的表位特异活性。

[0832] 实施例2:ACS鉴定的肽对IL-2诱导的增殖的作用

[0833] 用于癌病患中的免疫抑制的人离体模型

[0834] 白细胞介素2(IL-2)在启动和活化免疫反应以及它的诱导淋巴因子激活的杀伤细胞(LAK细胞)、T细胞增殖和细胞毒性的能力中起主要作用。因此,开发了IL-2刺激免疫细胞的人离体模型。该模型用于研究免疫系统调控因子(如P3028)及其抑制剂的作用。

[0835] 该模型包括分离自健康血供体(对照样品)或癌病患的静脉血样品的PBMC。向圆底的96孔组织培养板(Costar,Corning Inc.NY,US)中加入100 μl 的培养基(RPMI 1640Dutch's修正(Gibco,InvitrogenAB,斯德哥尔摩,瑞典),该培养基补充有200IU/ml青霉素、200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 链霉素、4mM L-谷氨酰胺(均来自Sigma Chemical Co.MO,美国)以及20%热灭活的人血清)。向每孔中加入100 μl 的含有PBMC的RPMI/2%HSA(5×10^4 淋巴细胞),然后加入终浓度为120IU/孔的IL-2(Proleukin,Chiron,NL)。平行地设置没有IL-2的对照样品孔。在37 $^{\circ}\text{C}$ 下、在潮湿的、5%CO₂氛围下培养细胞7天。在最后18-24小时期间,通过掺入1.6pCi/孔的[³H]-胸苷(Amersham Int.,UK)分析细胞增殖。三个孔的dpm(每分钟衰变)平均值用于计算。

[0836] 使用该模型研究了通过来自健康对照样品的PBMC以及在10%的自体同源血清中培养的肾细胞癌病患(RCC)的PBMC的IL-2诱导的增殖。研究结果在图4中示出。与健康对照样品相比,对于在肾癌病患的血清中培养的PBMC而言,IL-2诱导的增殖显著降低($p < 0.0002$)。

[0837] 离体模型中的IL-2反应与肾细胞癌病患的总存活数之间的关系

[0838] 该模型中对IL-2的反应被证明与肾细胞癌病患的总存活数相关。在根据PBMC对白细胞介素2的增殖性反应的总存活数的分析中包括的病患被诊断被患有全身转移的肾细胞

癌。他们之前没有经受治疗,并安排了白细胞介素2治疗(Proleukin,Chiron,NL)。在治疗之前取血样品。使用卡普兰和梅尔法绘制存活曲线,使用时序检验进行亚组之间的时间对进程和存活比较。此外,使用Cox回归计算LPS刺激的IL-6生产水平的预后显著性。

[0839] 图5举例说明了根据对IL-2的增殖反应的肾细胞癌病患的卡普兰-梅尔分析。病患被分类为具有>30,000dpm 52、15,000-30,000dpm 54或<15,000dpm 56的增殖反应。进行了时序检验分析,总的病患存活数与增殖反应相关($p=0.0042$)。如在图5中所例示的,在离体模型56中具有最低IL-2诱导的自体同源血清中的PBMC增殖的病患同样具有最低的总存活时间。因此,低增殖率象征低存活。

[0840] 不同肽对IL-2诱导的增殖的作用

[0841] 在人离体模型中使用来自健康对照样品的PBMC分析了不同肽对IL-2诱导的增殖的作用。在存在IL-2 (20U/ml) 和所述肽的情况下培养PBMC7天。同样实施了对照样品,其中没有添加肽(“无”)。在最后18个小时期间通过掺入 ^3H -胸苷测量增殖。所述肽包括P3026 (SEQ ID NO:183)、P3027 (SEQ ID NO:184)、P3028 (SEQ ID NO:185) 和P3029 (SEQ ID NO:186)。这些肽之一,P3028,有规律地抑制IL-2诱导的增殖(与对照样品相比, $p<0.0006$; $n=17$),但是通过与人工细胞表面结合而鉴定的其它肽没有任何抑制活性(对于P3026、P3027、P3029, $n=4$ 或5)。图6举例说明了这四种不同肽的作用。

[0842] 同样观察了在人离体模型中研究的癌病患PBMC中P3028对对于IL-2的增殖反应的抑制。使用癌病患的PBMC构建IL-2刺激的离体模型,在存在和缺失P3028的情况下比较IL-2刺激。如在图7中所例示的,即使已经抑制了对IL-2的反应,在含有癌病患PBMC的培养物中同样可以证明P3028对IL-2诱导的增殖的抑制活性(见图7)。

[0843] 实施例3:P3028对T细胞受体刺激的作用

[0844] 为检测P3028对T细胞受体刺激的作用,从健康对照样品提供用于PBMC分离的血,置于含有枸缘酸葡萄糖溶液A的50ml输液袋中。将全血以1:1稀释在含有2mM EDTA的PBS中。通过Ficoll-paque Plus (GE Healthcare Bio-Sciences AB,瑞典) 密度梯度离心分离PBMC,然后在含有2mM EDTA的PBS中第一次清洗细胞,在淋巴细胞培养基中第二次清洗。通过0.02%台盼蓝拒染检测细胞存活度,总是在95%以上。在血球计数板上计算悬浮细胞。用不含血清的培养基悬浮PBMC,并将细胞浓度分别调整到 1×10^6 淋巴细胞/ml以用于增殖实验以及 6×10^5 用于迁移实验。所述淋巴细胞培养基RPMI 1640 (Invitrogen,瑞典) 补充有1%青霉素/链霉素 (Invitrogen,瑞典) 和4mM Gluta-Max (Invitrogen,瑞典)。对于CD3诱导的增殖,用纯化的抗人CD3抗体 (BD Pharmingen,瑞典) 包被所述平板。因此,向每个孔中用吸液管加入50 μl 的2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 抗体的PBS溶液,孵育1小时。在37 $^{\circ}\text{C}$ 下、在潮湿的、5% CO_2 氛围下培养细胞4、5或7天。在最后4小时通过线粒体活性测试CellTiter 96 $^{\text{®}}$ 水性非放射性细胞增殖试验 (MTS, Promega,瑞典) 检测细胞增殖。向每个孔中加入10 μl 的MTS溶液,在37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育4小时后检测。减去每个孔的参考染料的测量值。通过将肽3028、SCF28R、28209和SCF27 (Schafer-N, Copenhagen, 丹麦) 在淋巴细胞培养基中溶解至25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 而制备肽溶液。培养物中的终浓度是5或10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

[0845] 在预包被有抗CD3的单克隆抗体的平板上的培养物中刺激T细胞,并在培养3-7天后使用MTS染色检测代谢活性细胞的数量(即,细胞增殖)。固相CD3单克隆抗体的检测用作T细胞增殖的量度。图8例示了P3028对来自四个健康人的PBMC的TCR刺激的淋巴细胞增殖的

作用。对于每个人,在缺乏刺激82、IL-2刺激84、仅用P3028处理86和IL-2刺激加P3028 88测量淋巴细胞的增殖。图8的柱状图中的柱对于每个人是相同的顺序。

[0846] 如在图8中可以看到的,在4个实验的至少3个中,P3028具有抑制作用($P < 0.001$)。由P3028引起的减少的MTS染色不可能是由于减少的细胞代谢。总之,来自两个淋巴细胞增殖模型的结果,减少的代谢应当适当地减少内在胸苷池并因此导致外在胸苷吸收的增加/胸苷池的特定活性的增加,然后应当被错误地记录为增强的增殖。 ^3H -TdR在这些实验中实际上是减少的,表明增殖的抑制。

[0847] 实施例4:P3028对NK细胞细胞毒性的作用

[0848] 检测来自四个健康供体的血液单核细胞的NK细胞细胞毒素活性。通过标准的Ficoll-paque Plus (Pharmacia AB,瑞典)密度梯度离心从获自健康供体的肝素化血中分离单核细胞。然后使用商购试剂盒(NKTEST,Orpegen Pharma GmbH,海德堡,德国)根据操作说明检测单核细胞的NK细胞细胞毒素活性。简要地,所述试剂盒包含低温保藏的标记有亲脂性绿色荧光膜染料的NK敏感靶细胞(K562),其能够分辨效应器和靶细胞。在与效应器细胞孵育后,通过DNA着色(其渗透死的靶细胞并特异地对死的靶细胞核着色)鉴定杀死的靶细胞。这种方式,可以通过流式细胞术测量杀死的靶的百分比。将所述单核细胞在 37°C 下与 $10\mu\text{g/ml}$ 的指示的肽(已经在之前描述的肽)预孵育30分钟。然后加入靶细胞,给出的效应器:靶比例为40:1,细胞混合物在 37°C 下孵育3-4小时。在FACSCalibur (BD Biosciences,圣何塞,加利福尼亚)上分析样品。

[0849] 图9A-B图示了白蛋白肽对NK细胞细胞毒性的作用($p = 0.015$,配对t-检验,正态变换log值)。如在图9A-B中所示的,P3028的存在,以及在较小的程度上,肽3026减少了全部4个供体的K562靶细胞的百分比特定溶解。在存在对照样品肽3027(与P3028没有结构关系)中没有看到抑制。在该模型中,NK细胞细胞毒性的抑制不是由于P3028对IL-2活性的作用,因为没有向短期培养物中加入IL-2。

[0850] 实施例5:P3028对白细胞扩散和免疫细胞迁移的作用

[0851] 在正常起作用的免疫系统中,免疫细胞被招募至组织并在组织内迁移。调查了P3028在两种功能试验,白细胞扩散和免疫细胞迁移中的作用。

[0852] 白细胞扩散

[0853] 为分析P3028对白细胞扩散的作用,通过葡聚糖辅助沉积从肝素化血液制备软层细胞。然后将这些细胞在PBS中清洗两次,转移至在70%和96%乙醇中清洗的玻片上。将细胞悬液滴到玻片上,在含有或不含有 $10\mu\text{g/ml}$ 的P3028的潮湿室内培养15分钟,小心地排光溶液,空气干燥玻片,在May Grönwals Giemsa中染色1分钟。如在图10A中所示的,细胞坚固地附着在玻璃表面并扩散出去。用P3028预处理这些细胞有效地抑制了所述扩散(见图10B)。

[0854] 免疫细胞迁移

[0855] 来自健康对照样品的用于PBMC分离的血提供在50ml的含有枸缘酸葡萄糖溶液A的输血袋中。将全血用含有2mM EDTA的PBS以1:1稀释。然后通过Ficoll-paque Plus (GE Healthcare Bio-Sciences AB,Sweden)密度梯度离心分离PBMC,之后将细胞先在含有2mM EDTA的PBS中清洗,第二次在淋巴细胞培养基中清洗。通过0.02%台盼蓝拒染检测细胞生存能力,总是在95%以上。在血球计数板中计算细胞悬浮。在没有血清的培养基中悬浮PBMC,

并将细胞浓度分别调整至 1×10^6 淋巴细胞/ml以用于增殖试验和 6.4×10^5 以用于迁移试验。淋巴细胞培养基RPMI1640 (Invitrogen, 瑞典) 补充有1%青霉素/链霉素 (Invitrogen, 瑞典) 和4mM Gluta-Max (Invitrogen, 瑞典)。对于CD3诱导的增殖, 将平板用纯化的抗人CD3抗体 (BD Pharmingen, 瑞典) 包被。因此, 将50 μ l的2.5 μ g/ml抗体的PBS溶液用移液管量至每个孔中, 孵育1小时。在37 $^{\circ}$ C下、在潮湿的、5%CO₂氛围中培养细胞4、5或7天。在最后4小时通过线粒体活性测试CellTiter 96[®] 水性非放射性细胞增殖试验 (Promega, 瑞典) 检测细胞增殖。向每个孔中加入10 μ l的MTS溶液, 在37 $^{\circ}$ C下孵育4小时后检测。减去每个孔的参考染料的测量值。通过将肽3028、SCF28R、28209和SCF27 (Schafer-N, Copenhagen, 丹麦) 在淋巴细胞培养基中溶解至25 μ g/ml而制备肽溶液。培养物中的终浓度是5或10 μ g/ml。

[0856] 将50 μ l的制备的 6.4×10^5 PBMC稀释液用吸液管加入至艾本德 (Eppendorf) 管中, 400g下离心5分钟, 然后加入制备的空白、P3028和所述抑制剂的稀释液。将PBMC在37 $^{\circ}$ C下与测试物质孵育一小时。同时, 通过向下方孔中用移液管加入25 μ l的没有fMLP培养基或含有 1×10^{-8} M fMLP的培养基而制备博伊登室。然后, 将50 μ l的终浓度为 3.2×10^4 PBMC转移至小室的上方孔中。使PBMC在37 $^{\circ}$ C下迁移一小时。移除过滤器并在70%乙醇中保存过夜。之后, 将过滤器在递增乙醇浓度中脱水并最终放置在二甲苯中。随后, 将它们放置在玻片上, 装载在含有 μ m刻度的显微镜中并计数。每个检测一式两份, 迁移被计算为没有fMLP的空白一式两份的平均值的百分比。如在图11中所示的, P3028是免疫细胞跨越博伊登室的膜迁移的有效抑制剂 ($p < 0.02$)。健康对照样品 (N=6) 的迁移在图11中示出, 使用暗柱 (左), 而癌病患 (N=3) 显示为亮柱 (右)。在图11中, 错误柱: 95%CI。P3028减少了健康细胞的PBMC和癌病患的PBMC的迁移。

[0857] 实施例6: P3028对IL-2诱导的增殖的作用的更多特征

[0858] 合成P3028的C末端部分和N末端部分, 分别以及组合分析。P3028的这两个部分单独或组合的抑制活性更弱 (见图12), 且在离体人模型中, 它们不抑制P3028对IL-2诱导的增殖的作用 (见图13)。图12图示了P3028的C末端部分 (P3218) (SEQ ID NO: 187) 和N末端部分 (P3325) (SEQ ID NO: 186) 对IL-2诱导的增殖的作用与全长P3028的作用的比较。显示了一个代表性实验。图13图示了P3028对IL-2诱导的增殖的抑制作用没有被P3028的C末端部分 (P3218) 和N末端部分 (P3325) 单独或组合中和。

[0859] 实施例7: P3028与LFA-1的结合

[0860] 通过免疫细胞化学染色证明PBMC上 β 2-整合素的存在。通过PBMC上 β 2-整合素的染色分析癌病患血清中干扰抗 β 2-整合素的单克隆抗体结合的因素的出现。标准的免疫组织化学染色程序使用丙酮固定, 10%人AB血清封闭, 抗LFA-1抗体孵育。如上所述分离PBMC, 并立即在Shandon Cytospin (Shandon Scientific Ltd, 英国) 中以1000RPM作用7分钟以旋转落在预清洁的显微镜玻片上, 使得每个玻片 5×10^4 个细胞。将玻片留在室温中过夜至干, 之后用石蜡膜缠绕并在70 $^{\circ}$ C保存。在使用前即刻, 融化细胞涂片并在室温下用丙酮固定5分钟。在染色之前, 首先将所述细胞涂片用含有和不含有白蛋白肽 (40 μ g/ml) 的10%正常人AB血清或癌病患血清封闭1小时。加入在Tris缓冲盐 (TBS, pH7.6) 中稀释为1 μ g/ml (PBMC) 的初级抗体, 所述初级抗体由单克隆鼠抗人CD11a抗体 (BD Biosciences) 组成。孵育所述玻片30分钟, 然后在TBS中清洗, 接着通过Envision碱性磷酸酶 (Dako Norden A/S, 丹麦) 或可选地 Ultravision碱性磷酸酶 (Lab Vision Co) 处理30分钟。在TBS中额外清洗之后, 将玻片在碱

性磷酸酶底物中孵育20分钟以封闭内源的碱性磷酸酶活性,所述碱性磷酸酶底物由固红TR盐(Sigma)、萘酚AS-MX(Sigma)和5mM左旋咪唑(Sigma)组成。然后在TBS中清洗。然后将它们在Mayer苏木精中复染色1分钟并装载在Glycergel(Dako Norden A/S)中。抗不相干抗原的单克隆鼠IgG1(黑曲霉葡萄糖氧化酶,Dako Norden A/S)用作阴性对照样品。所有的孵育在室温下、潮湿室中进行。

[0861] 用加入至AB血清的肽的预培养或者没有肽加入(见图15A),或者加入P3028(见图15B)。值得注意的是,在这些实验中使用的抗LFA-1抗体是IL-2诱导的增殖的有效抑制剂。

[0862] 如在图14中所示的, β 2-整合素封闭因子的存在然后被证明为在与癌病患血清孵育后这些细胞有减少的可染性5(见图14B),相比较地,与对照血清样品预孵育的制品(见图14A)显示对于LFA-1的强染色3。

[0863] 如在图15中所示的,与对于癌病患血清所描述的结果相似,用P3028处理可以调节LFA-1抗体与单核血细胞的LFA-1的结合。图15图示了P3028对抗LFA-1单克隆抗体与单核血细胞的结合的抑制。在没有加入肽的细胞中观察到对于LFA-1的强染色3(见图15A),而在加入P3028的细胞中观察到对于LFA-1的弱染色5(见图15B)。

[0864] 为了进一步证明LFA-1被P3028结构阻碍,比较了来自健康对照样品和癌病患的PBMC上的该整合素的染色。图16图示了来自健康对照样品(见图16A)、用抗P3028抗体治疗前的癌病患(见图16B)和用抗P3028抗体治疗后的癌病患(见图16C)的PBMC上LFA-1的染色。如在图16A中所示的,在来自健康对照样品的PBMC上发现清晰的膜染色3,相比之下,来自患有晚期癌症的病患的PBMC表现出弱染色5。但是,当来自该病患的PBMC与抗P3028结构的抗体孵育24小时时,所述膜染色显示出3,表明所述抗体结合P3028结构,从而去阻碍LFA-1(见图16C)。

[0865] 相似地,如在图17中所示的,将来自健康对照样品的PBMC与P3028或来自癌病患的血清孵育阻碍了LFA-1的膜染色。图17图示了单核血细胞被抗LFA-1抗体(A)染色3被P3028(B)或癌病患血清(C)阻碍5。

[0866] 实施例8:P3028与IL-2受体的 α -链(CD25)的结合

[0867] 由于P3028显著抑制了对IL-2的增殖性反应,研究了P3028对IL-2与它的受体CD25的结合的作用。将CD25和IgG的Fc部分的融合蛋白结合在蛋白G包被的微板/Elisa板上,并将板在有或没有P3028存在的条件下与生物素化的IL-2孵育。图18-B图示了该Elia分析的结果,其中对于生物素化的IL-2的稀释如下:(菱形◆)1:300,(方形■)1:600,(三角形▲;见图18B)无生物素化的IL-2。通过增加P3028的量增加生物素化的IL-2与rhuIL-2R α 的结合。令人惊讶地,IL-2与CD25的结合被P3028增强,表明IL-2、CD25和P3028三方之间的相互作用(见图18B)。即使IL-2与CD25的结合增强,高亲和受体和/或信号转导的合适装配被阻碍,因为P3028是IL-2诱导的增殖的有效抑制剂。

[0868] 使用计算机协助的分子建模证明了P3028与CD25在IL-2结合位点结合(见图19)。本领域已知与IL-2结合的IL-2受体的晶体结构(见Wang等,Science 2005,310(5751):1159-1163,以及Stauber等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 2006,103(8):2788-2793,均通过引用的方式全文并入本文),并因此建模P3028的结合。在图19中,描绘了IL-2受体(CD25)的 α -链190与P3028 192(A)在IL-2结合位点194(B)处结合。IL-2 196也是已知的。

[0869] 实施例9:与P3028结合的抗体

[0870] 产生了抗白蛋白P3028的兔抗血清。合成P3028,在N-末端添加半胱氨酸,然后与作为载体蛋白的钥孔血蓝蛋白(KLH)结合。通过用KLH-结合的P3028和弗氏佐剂反复免疫兔而产生多克隆抗血清。对于一些实施方式,通过层析法用P3028结合的Ultralink Iodoacetyl凝胶(Pierce Biotechnology Inc)亲和纯化所述抗血清。对于细胞培养实验,通过穿过PD-10交联葡聚糖柱(Amersham Biosciences, 乌普萨拉,瑞典)将缓冲液交换为RPMI 1640Dutch修饰(Gibco, InVitrogen AB, 斯德哥尔摩,瑞典),随后用0.22 μ m Millex注射器过滤器(Millipore Co., MA, 美国)过滤灭菌。通过Agrisera AB, 瑞典实施兔免疫和抗血清纯化。

[0871] 检测来自两种不同兔子的两种抗血清,R和L,结合人血清和变性的人血清白蛋白(dHSA)的能力。检测商业可购买的用于治疗目的的人血清白蛋白,加热10次使之无病毒。用P3028、dHSA或对照样品处理(未变性,但是加热10次)的HSA(已经同变性HSA同样制备,除了变性步骤)包被孔。如在图20中所示的,来自用白蛋白P3028免疫的两种兔子的抗血清,不是免疫前血清与包被有P3028 204、dHSA 206的板结合,以及在较少的程度上,与对照样品处理的HSA 208结合。检测到没有包被的孔202没有实质性结合。因此,抗白蛋白P3028的兔抗血清与dHSA结合以及在较少程度上与对照样品HSA结合。

[0872] 使用竞争ELISA试验检测了兔抗P3028抗血清与P3028片段的结合。在EILSA反应稀释液中1/1000 000稀释的兔抗血清与指定浓度的肽在室温下预孵育1小时。然后向P3028包被的孔加入100 μ l的单独的单克隆抗体或可选地与肽混合的单克隆抗体,实施ELISA。检测白蛋白肽2607(SEQ ID NO:192)、3218(P3028的C末端)(SEQ ID NO:187)、3325(P3028的N末端)(SEQ ID NO:186)、和全长P3028(SEQ ID NO:185)对兔抗P3028血清L与包被有P3028的孔的结合的抑制。包含E5K结构的肽2607用作阴性对照样品。如在图21中所示的,这些血清抗体优先地结合3325,但是不结合P3028的3218片段。用亲和纯化的抗体观察到了相似的结果。

[0873] 使用来自免疫抑制癌病患和正常对照样品的PBMC,在离体模型中研究了亲和纯化的抗P3028抗体对针对于IL-2的增殖性反应的作用。如上用于IL-2诱导的增殖所述,制备检测特异于3028的亲和纯化兔抗体的免疫调节作用的培养基,但以下除外:从清洗培养基和PBMC悬浮培养基中省略2% HSA。在向培养孔中加入100 μ l PBMC悬浮液之前,将包含血清的培养基(100 μ l/孔)在室温下与20 μ g/ml的兔抗体预孵育30分钟。

[0874] P21患有肾细胞癌,p26、p28和p29患有恶性黑色素瘤。如在图22中所示的,在免疫抑制癌病患中,亲和纯化的抗P3028兔抗体克服了对IL-2的增殖性反应的抑制(图22A)。在具有正常的对IL-2的增殖性反应的正常对照样品中,没有看到添加这些抗体的作用(见图22B)(抗体:R,癌病患,p=0.0002,配对t-检验,正态变换log值)。在免疫反应性下调的正常对照样品(增殖率小于100,000dpm)中,增值率被刺激,类似于癌病患的培养物中的情形。

[0875] 向对照样品培养物中加入多克隆兔IgG,以保证亲和纯化的抗体的作用不是因为该模型中的兔IgG的非特异活性。兔IgG仅具有最小的活性。抗P3028抗体的特异性进一步被证明,因为这些抗体的刺激作用被小量的本身没有抑制活性的P3028中和。与在自体同源的离体模型中的结果相似,通过向培养物中加入抗P3028抗体解决了来自对IL-2具有低增殖性反应的人的血清的免疫抑制剂活性。

[0876] 实施例10:与P3028结合的肽

[0877] 通过研究癌病患血清和合成肽P3028对PBMC上的LFA-1的 α -链(CD11a)的染色的作用所获得信息用于设计免疫调节肽P3028的潜在结合物/抑制剂的结构。使用的特定单克隆鼠抗体的表位,HI 111,被定位在CD11a的残基249-300(Ma Q等,J Biol Chem.2002;277:10638-41)。基于带电的和疏水氨基酸序列的互补性,设计了与P3028肽结合的第一候选物。然后通过合成和检测候选肽的结合效率来优化该序列,其中每一种氨基酸都可以替代为所有的19种L-氨基酸。

[0878] 鉴定了P3028序列/结构的三个候选肽抑制剂,并检测了它们在溶液中的阻碍能力。在芯片上合成P3028的潜在肽抑制剂。使用常规的Fmoc化学、基于靶蛋白的氨基酸序列合成线性和/或CLIPS肽,并使用含有清洁剂的三氟酸脱保护。使用支架上的化学连接肽(CLIPS)技术(Timmerman等(2007))在化学支架上合成约束肽以重新建构构象表位。例如,合成含有胱氨酸的单环肽,其通过用 α,α -二溴二甲苯处理而环化,并通过在可变区间引入半胱氨酸使环的尺寸变化。如果在新引入的半胱氨酸之外还存在其它半胱氨酸,用丙氨酸取代它们。通过信用卡模式聚丙烯PEPSCAN卡(455肽模板/卡)与0.5mM的CLIPS模板溶液(如,含1,3-双(溴甲基)苯的碳酸氢铵(20mM,pH7.9)/乙腈(1:1(v/v)))反应将所述肽的多个半胱氨酸的侧链连接在CLIPS模板。将所述卡在溶液中轻柔震荡30-60分钟,其中在溶液中完全被覆盖。最终,将所述卡在过量水中充分清洗,并在70℃下、在含有包含1%SDS/0.1%巯基乙醇的PBS(pH7.2)的裂解缓冲液中超声处理30分钟,随后在水中超声处理45分钟。在基于PEPSCAN的ELISA中检测组氨酸标签的P3028与每种肽的结合。将包含共价连接肽的455孔信用卡模式聚丙烯卡与肽溶液培养,所述肽溶液例如由在封闭溶液(例如,含4%马血清、5%卵白蛋白(w/v)的PBS/1%吐温)中稀释的1微克/ml组成。清洗之后,将所述肽与单克隆鼠抗组氨酸标签抗体(1/1000,Novagen,70796-3)孵育,随后在25℃下用兔抗鼠抗体过氧化物酶结合物(1/1000,Southern Biotech,6175-05)清洗1小时。清洗之后,加入过氧化物酶底物2,2'-联氮-二-3-乙基苯并噻唑啉磺酸(ABTS)和2微升的3%双氧水。1小时之后,测量颜色发展。用电荷耦合元件(CCD)——照相机和图像处理系统定量颜色发展。

[0879] 原始数据(原始数据:光密度,随意OD单元)是通过CCD-照相机获得光学值。该数值主要范围是0-3000,对数比例与标准96孔板ELISA读数仪的1-3相似。首先,在过氧化物酶着色之前,CCD-照相机为所述卡拍照,然后在过氧化物酶着色之后再一次拍照。将这两幅照片互相扣减,形成被称为原始数据的数据。将这个拷贝至PepLabTM数据库。然后,将这些值拷贝在excel中,该文件被标记为原始数据文件。使用一种后续操作。有时,某孔包含导致假阳性值的气泡,这些卡手工检查,且由气泡引起的任何值被评分为0。

[0880] 如所示的,位置17、22和26包含P3028的良好结合物(PGE73=组氨酸标签-P3028)。如在图表中所示的,肽SCF28和SCF29有效地阻止了P3028(PGE37)的结合,但SCF27没有。肽SCF28(SEQ ID NO:1)具有良好的可溶性,足以使得在生物学人离体模型中检测。基于该结构,开发了肽P28R(SEQ ID NO:2)。对于每一个位置,显示了以下数据:在PBS缓冲液中没有加入肽的分析230,SCF027在PBS缓冲液中的分析232,SCF029在PBS缓冲液+10%DMSO中的分析234,在PBS缓冲液+10%DMSO中没有加入肽的分析236,以及SCF028在PBS缓冲液+10%DMSO中的分析238。在图23的柱形图中,对于每一个位置的每一种分析的柱以相同的从左至右的顺序。在分析中存在的每种肽的浓度是0.5mg/ml。

[0881] 实施例11:肽与P3028的交互作用

[0882] 使用通过研究癌病患血清和合成肽P3028对PBMc上的LFA-1的 α -链(CD11a)(SEQ ID NO:248)的染色的作用所获得信息以设计免疫调节肽P3028的潜在结合物/抑制剂。使用的特定单克隆鼠抗体的表位,HI 111,被定位在CD11a(SEQ ID NO:248)的残基274-325(UniProt登录号P20701;Ma Q等,J Biol Chem.2002;277:10638-41)。基于带电的和疏水氨基酸序列的互补性(见图31),使用包含CD11a的312-326的序列设计了与P3028肽结合的第一候选物。这导致了肽KKL15(SEQ ID NO:1)。

[0883] 肽KKL15(SEQ ID NO:1)例如显示出与P3028互补。如在图31中所示的,P3028的正电荷氨基酸与负电荷氨基酸交互作用,疏水性氨基酸使得疏水性接触增强了所述交互作用。

[0884] 实施例12:与P3028结合的肽

[0885] 基于肽P28R的结构,鉴定了与P3028结合的其它肽。其它结合物包括肽P28R的缺失、截短和/或氨基酸取代。使用PEPSCAN技术分析了肽与P3028的结合。PEPSCAN技术或“rampo”分析是生化结合分析,它们的详细内容如下:

[0886] 肽微阵列筛选技术用于测量P28R(SEQ ID NO:2)和P28R的变异体与P3028(SEQ ID NO:185)的结合。在该技术中,合成合成肽文库并共价连接至聚丙烯微阵列芯片上。使用标准的Fmoc化学、使用己二胺(HMDA)作为链接物、通过如(Timmerman等,2004)的描述将所述线性肽合成在信用卡模式聚丙烯卡上(455肽模式/卡),并使用含有清洁剂的三氟酸脱保护。

[0887] 在ELISA试验中检测组氨酸标签的P3028与所述卡上的每一种肽的结合。包含共价连接的肽的455孔信用卡模式聚丙烯卡与组氨酸标签的P3028肽(PGE73)溶液培养,所述溶液由在封闭液(含4%马血清、5%卵白蛋白(w/v)的PBS/1%吐温)中稀释的0.5 μ g/ml组成。清洗之后,将所述肽与单克隆鼠抗组氨酸标签抗体(Novagen,70796-3,在孵育缓冲液中稀释至1/1000)孵育,随后在25 $^{\circ}$ C下用兔抗鼠抗体过氧化物酶(Rampo)结合物(Southern Biotech,6175-05,稀释至1/1000)清洗1小时。清洗之后,加入过氧化物酶底物2,2'-联氮-二-3-乙基苯并噻唑啉磺酸(ABTS)和2微升的3%双氧水。单克隆抗体的结合能力被测量为405nm下的颜色发展(光密度,OD405)。用电荷耦合元件(CCD)——照相机和图像处理系统定量颜色发展。

[0888] 通过CCD-照相机获得的OD405值被认为是原始数据(“rampo数据”、“rampo单元”或“rampo得分”)。所述值主要范围是0-3000,对数比例与标准96孔板ELISA读数仪的1-3相似。首先,在过氧化物酶着色之前,CCD-照相机为所述卡拍照,然后在过氧化物酶着色之后再一次拍照。将这两幅照片互相扣减,形成被称为原始数据的数据。将这些值拷贝在excel文件中并将该文件标记为原始数据文件。使用一种后续操作。有时,某孔包含导致假阳性值的气泡。如果手工检查这些卡发现气泡,该孔的值被设为0。

[0889] 被检测与肽P3028结合的肽文库包括肽P28R(SEQ ID NO:2)的每一位置的所有取代(即,对于每个位置的19种取代)。这些结合实验的结果在图27、28、29和30以及表5.1中示出。对于P28R的16个位置中的每一个的所有取代,rampo得分范围是102-1190。P28R的rampo值范围是262-460,平均值为370。如在图28中所示的,肽P28R(SEQ ID NO:2)的31种单氨基酸取代的rampo得分大于500。这些31种取代的肽包括SEQ ID NO:3-31,并在表6.1中示出。位置13的M、Q、H、N取代(分别为SEQ ID NO:22-25)观察到显著更高的值,所有值均超过800。

此外,位置7的M和S(分别为SEQ ID NO:9和10)、位置11的Q和M(分别为SEQ ID NO:15和16)均具有超过700的rampo值。

[0890] 表6.1:与P3028结合、具有超过500的rampo得分的肽

SEQ ID NO	序列
3	RKLDTFFVKLSLFTER
4	KKGDTFFVKLSLFTER
5	KKEDTFFVKLSLFTER
6	KKLDQFFVKLSLFTER
7	KKLDTAFVKLSLFTER
[0891] 8	KKLDTVFFVKLSLFTER
9	KKLDTFMVKLSLFTER
10	KKLDTFSVKLSLFTER
11	KKLDTFVVKLSLFTER
12	KKLDTFTVKLSLFTER
13	KKLDTFLVKLSLFTER
14	KKLDTFFVKVSLFTER
15	KKLDTFFVKLQLFTER
16	KKLDTFFVKLMLFTER
17	KKLDTFFVKLTLFTER
18	KKLDTFFVKLHLFTER
19	KKLDTFFVKLSQFTER
20	KKLDTFFVKLSVFTER
21	KKLDTFFVKLSMFTER
22	KKLDTFFVKLSLMTER
23	KKLDTFFVKLSLQTER
[0892] 24	KKLDTFFVKLSLHTER
25	KKLDTFFVKLSLNTER
26	KKLDTFFVKLSLPTER
27	KKLDTFFVKLSLSTER
28	KKLDTFFVKLSLGTER
29	KKLDTFFVKLSLATER
30	KKLDTFFVKLSLRTER
31	KKLDTFFVKLSLFNER
32	KKLDTFFVKLSLFPER
33	KKLDTFFVKLSLFRER

[0893] 对于P28R的每一个位置,将包含L-氨基酸取代的19种不同肽的组的rampo得分与

该组的对照样品P28R肽 (SEQ ID NO:2) 的rampo得分相比较。鉴定了具有高于或实质上等于P28R的rampo得分的单氨基酸取代。如在本文中所使用的,“实质上等于P28R”的rampo得分是P28R的rampo得分至少98%的rampo得分。因此,鉴定了与P3028具有相当或更好结合的P28R变异体。

[0894] 例如,P28R (SEQ ID NO:2) 的位置8是V。所述对照样品P28R肽具有308的rampo得分,而在位置8处为F、G、L、P或R的肽 (分别为SEQ ID NO:326-330) 每一种都具有高于或等于302 (308的98%) 的rampo得分。得分高于或等于该组的P28R对照样品肽的得分的P28R单氨基酸取代在表6.2中示出。

[0895] 表62:与高于或实质上等于P28R rampo得分的rampo得分结合的肽

[0896]	SEQ ID NO	位置	序列	Rampo 得分	P28R 对照样品的 rampo 得分
	268	1	AKLDTFFVKLSLFTER	466	308
	269	1	DKLDTFFVKLSLFTER	373	308
	270	1	EKLD TFFVKLSLFTER	396	308
	271	1	GKLD TFFVKLSLFTER	367	308
	272	1	HKLD TFFVKLSLFTER	428	308
	273	1	IKLD TFFVKLSLFTER	483	308

[0897]

274	1	LKLDTFFVKLSLFTER	449	308
275	1	MKLDTFFVKLSLFTER	457	308
276	1	NKLDTFFVKLSLFTER	445	308
277	1	PKLDTFFVKLSLFTER	387	308
278	1	QKLDTFFVKLSLFTER	455	308
279	1	RKLDTFFVKLSLFTER	523	308
280	1	TKLDTFFVKLSLFTER	493	308
281	1	VKLDTFFVKLSLFTER	442	308
282	3	KKADTFFVKLSLFTER	427	375
283	3	KKCDTFFVKLSLFTER	432	375
284	3	KKDDTFFVKLSLFTER	492	375
285	3	KKEDTFFVKLSLFTER	528	375
286	3	KKFDTFFVKLSLFTER	393	375
287	3	KKGDTFFVKLSLFTER	563	375
288	3	KKHDTFFVKLSLFTER	477	375
289	3	KKIDTFFVKLSLFTER	454	375
290	3	KKKDTFFVKLSLFTER	386	375
291	3	KKMDTFFVKLSLFTER	460	375
292	3	KKNDTFFVKLSLFTER	374	375
293	3	KKQDTFFVKLSLFTER	473	375
294	3	KKRDTFFVKLSLFTER	370	375
295	3	KKSDTFFVKLSLFTER	393	375
296	3	KKTDTFFVKLSLFTER	451	375
297	3	KKVDTFFVKLSLFTER	377	375
298	4	KKLATFFVKLSLFTER	494	414
299	4	KKLETFFVKLSLFTER	417	414
300	4	KKLITFFVKLSLFTER	430	414
301	4	KKLVTFFVKLSLFTER	424	414
302	4	KKLWTFFVKLSLFTER	443	414
303	4	KKLYTFFVKLSLFTER	422	414
304	5	KKLDCFFVKLSLFTER	449	424
305	5	KKLDMFFVKLSLFTER	475	424
306	5	KKLDNFFVKLSLFTER	436	424
307	5	KKLDPFFVKLSLFTER	427	424
308	5	KKLDQFFVKLSLFTER	535	424
309	5	KKLDRFFVKLSLFTER	430	424
310	5	KKLDSFFVKLSLFTER	458	424

[0898]

311	5	KKLDWFFVKLSLFTER	418	424
312	5	KKLDYFFVKLSLFTER	425	424
313	6	KKLDTAFVKLSLFTER	575	437
314	6	KKLDTIFVKLSLFTER	466	437
315	6	KKLDTMFVKLSLFTER	467	437
316	6	KKLDTNFVKLSLFTER	446	437
317	6	KKLDTPFVKLSLFTER	497	437
318	6	KKLDTTFVKLSLFTER	481	437
319	6	KKLDTVFVKLSLFTER	547	437
320	7	KKLDTFLVKLSLFTER	517	460
321	7	KKLDTFMVKLSLFTER	712	460
322	7	KKLDTFQVKLSLFTER	511	460
323	7	KKLDTFSVKLSLFTER	700	460
324	7	KKLDTFTVKLSLFTER	517	460
325	7	KKLDTFVVKLSLFTER	527	460
326	8	KKLDTFFFKLSLFTER	358	308
327	8	KKLDTFFGKLSLFTER	379	308
328	8	KKLDTFFLKLSLFTER	411	308
329	8	KKLDTFFPKLSLFTER	456	308
330	8	KKLDTFFRKLSLFTER	365	308
331	9	KKLDTFFVRLSLFTER	374	377
332	10	KKLDTFFVKASLFTER	426	348
333	10	KKLDTFFVKFSLFTER	403	348
334	10	KKLDTFFVKGSLFTER	495	348
335	10	KKLDTFFVKISLFTER	415	348
336	10	KKLDTFFVKMSLFTER	460	348
337	10	KKLDTFFVKNSLFTER	365	348
338	10	KKLDTFFVKPSLFTER	436	348
339	10	KKLDTFFVKQSLFTER	470	348
340	10	KKLDTFFVKRSLFTER	439	348
341	10	KKLDTFFVKSSLFTER	351	348
342	10	KKLDTFFVKTSLFTER	399	348
343	10	KKLDTFFVKVSLFTER	658	348
344	10	KKLDTFFVKYSLFTER	382	348
345	11	KKLDTFFVKLHLFTER	535	442
346	11	KKLDTFFVKLMLFTER	744	442
347	11	KKLDTFFVKLNLFTER	451	442

[0899]

348	11	KKLDTFFVKLQLFTER	768	442
349	11	KKLDTFFVKLTLFTER	520	442
350	12	KKLDTFFVKLSAFTER	462	428
351	12	KKLDTFFVKLSHFTER	460	428
352	12	KKLDTFFVKLSIFTER	456	428
353	12	KKLDTFFVKLSMFTER	499	428
354	12	KKLDTFFVKLSNFTER	462	428
355	12	KKLDTFFVKLSQFTER	651	428
356	12	KKLDTFFVKLSRFTER	483	428
357	12	KKLDTFFVKLSSFTER	478	428
358	12	KKLDTFFVKLSTFTER	437	428
359	12	KKLDTFFVKLSVFTER	545	428
360	12	KKLDTFFVKLSWFTER	409	428
361	13	KKLDTFFVKLSLATER	525	402
362	13	KKLDTFFVKLSLCTER	400	402
363	13	KKLDTFFVKLSLGTER	531	402
364	13	KKLDTFFVKLSLHTER	1046	402
365	13	KKLDTFFVKLSLITER	468	402
366	13	KKLDTFFVKLSLLTER	448	402
367	13	KKLDTFFVKLSLMTER	1190	402
368	13	KKLDTFFVKLSLNTER	862	402
369	13	KKLDTFFVKLSLPTER	696	402
370	13	KKLDTFFVKLSLQTER	1144	402
371	13	KKLDTFFVKLSLRTER	502	402
372	13	KKLDTFFVKLSLSTER	635	402
373	13	KKLDTFFVKLSLTTER	494	402
374	13	KKLDTFFVKLSLVTER	446	402
375	13	KKLDTFFVKLSLWTER	430	402
376	14	KKLDTFFVKLSLFFER	348	319
377	14	KKLDTFFVKLSLFGER	343	319
378	14	KKLDTFFVKLSLFHER	463	319
379	14	KKLDTFFVKLSLFIER	375	319
380	14	KKLDTFFVKLSLFLER	360	319
381	14	KKLDTFFVKLSLFMER	501	319
382	14	KKLDTFFVKLSLFNER	599	319
383	14	KKLDTFFVKLSLFPER	551	319
384	14	KKLDTFFVKLSLFSER	369	319

[0900]

385	14	KKLDTFVVKLSLFVER	380	319
386	14	KKLDTFVVKLSLFWER	374	319
387	15	KKLDTFVVKLSLFTDR	404	371
388	16	KKLDTFVVKLSLFTEF	297	260
389	16	KKLDTFVVKLSLFTEK	291	260
390	16	KKLDTFVVKLSLFTEN	311	260
391	16	KKLDTFVVKLSLFTER	260	260
392	16	KKLDTFVVKLSLFTET	292	260
393	16	KKLDTFVVKLSLFTEY	311	260

[0901] 表6.2中的P28R的位置取代(SEQ ID NO:268-393)总结在图32中。值得注意的是,位置2(K)、9(K)和15(E)容忍相对少的取代而依然结合P3028。P28R的位置2、9和/或15处的残基的取代可以导致实质上低于未取代的P28R的与P3028的结合(通过rampo得分测量的)。因此,本文考虑,这三个位置显示出调节信号转导。本领域技术人员将意识到,这些位置的信号转导调节活性能够用于设计免疫调节肽的抑制剂。

[0902] 同样对肽P28R的截短体和内部缺失实施PEPSCAN分析。图29中显示了具有以下序列的肽的rampo得分:KKLDTFVVKLSLFTER(SEQ ID NO:2)、KKLDTFVVKLSLFTE(SEQ ID NO:34)、KKLDTFVVKLSLFT(SEQ ID NO:35)、KKLDTFVVKLSLF(SEQ ID NO:36)、KKLDTFVVKLSL(SEQ ID NO:37)、KKLDTFVVKLS(SEQ ID NO:38)、KKLDTFVVKL(SEQ ID NO:39)、KKLDTFVVK(SEQ ID NO:40)、KKLDTFV(SEQ ID NO:41)、KKLDTF(SEQ ID NO:42)、KKLDTF(SEQ ID NO:43)、KKLDT(SEQ ID NO:44)、KKLD(SEQ ID NO:45)、KLDTFVVKLSLFTER(SEQ ID NO:46)、LDTFVVKLSLFTER(SEQ ID NO:47)、DTFFVVKLSLFTER(SEQ ID NO:48)、TFFVVKLSLFTER(SEQ ID NO:49)、FFVVKLSLFTER(SEQ ID NO:50)、FVKLSLFTER(SEQ ID NO:51)、VKLSLFTER(SEQ ID NO:52)、KLSLFTER(SEQ ID NO:53)、LSLFTER(SEQ ID NO:54)、SLFTER(SEQ ID NO:55)、LFTER(SEQ ID NO:56)、FTER(SEQ ID NO:57)、KLDTFVVKLSLFTE(SEQ ID NO:58)、LDTFVVKLSLFT(SEQ ID NO:59)、DTFFVVKLSLF(SEQ ID NO:60)、TFFVVKLSL(SEQ ID NO:61)、FFVVKLS(SEQ ID NO:62)、FVKL(SEQ ID NO:63)。

[0903] 图30中显示了具有以下序列的肽的rampo得分:KKLDTFVVKLSLFTER(SEQ ID NO:2)、KLDTFVVKLSLFTER(SEQ ID NO:46)、KKLTFVVKLSLFTER(SEQ ID NO:64)、KKLDTFVVKLSLFTER(SEQ ID NO:65)、KKLDTFVKLSLFTER(SEQ ID NO:66)、KKLDTFVVKLSLFTER(SEQ ID NO:67)、KKLDTFVVKLSFTER(SEQ ID NO:68)、KLDTFVVKLSLTER(SEQ ID NO:69)、KLDTFVVKLSLFTE(SEQ ID NO:58)、LDTFVVKLSLFTER(SEQ ID NO:47)、KKTFVVKLSLFTER(SEQ ID NO:70)、KKLDFVVKLSLFTER(SEQ ID NO:71)、KKLDTEKLSLFTER(SEQ ID NO:72)、KKLDTFVVSFTER(SEQ ID NO:73)、KKLDTFVVKLFTER(SEQ ID NO:74)、KKLDTFVVKLSLER(SEQ ID NO:75)、LDTFVVKLSLFT(SEQ ID NO:59)、DTFFVVKLSLFTER(SEQ ID NO:48)、KKFFVVKLSLFTER(SEQ ID NO:76)、KKLDVKLSLFTER(SEQ ID NO:77)、KKLDTFVLSLFTER(SEQ ID NO:78)、KKLDTFVVLTER(SEQ ID NO:79)、KKLDTFVVKLTER(SEQ ID NO:80)、KKLDTFVVKLSLR(SEQ ID NO:81)、KFFVVKLSLFTER(SEQ ID NO:82)、KKLVVKLSLFTER(SEQ ID NO:83)、KKLDTLVSLFTER(SEQ ID NO:84)、KKLDTFVLFTER(SEQ ID NO:85)、KKLDTFVVKTER(SEQ ID NO:86)、KKLDTFVVKLSR(SEQ ID NO:87)、KFVVKLSLFTER(SEQ ID NO:88)、KKLKLVSFTER(SEQ ID

NO:89)、KKLDTSLFTER (SEQ ID NO:90)、KKLDTFFFTTER (SEQ ID NO:91)、KKLDTFFVKER (SEQ ID NO:92)、KKLDTFFVKLS (SEQ ID NO:93)、GKLDTFFVKLSLFTER (SEQ ID NO:94)、KKGD TFFVKLSLFTER (SEQ ID NO:95)、KKLDGFFVKLSLFTER (SEQ ID NO:96)、KKLDTFGVKLSLFTER (SEQ ID NO:97)、KKLDTFFVGLSLFTER (SEQ ID NO:98)、KKLDTFFVKLGLFTER (SEQ ID NO:99)、KKLDTFFVKLSLGTER (SEQ ID NO:100)、KKLDTFFVKLSLFTGR (SEQ ID NO:101)。

[0904] 如在图30中所示的,肽P28R的几种缺失或截短体具有与P28R可比较的或高的rambo得分,包括SEQ ID NO:64、65、68和76的肽。此外,几种甘氨酸取代具有与P28R可比较的rambo得分,包括SEQ ID NO:94、95、96、98和99的肽。通过rambo得分测量,从P28R的N末端删除上至至少8个氨基酸 (SEQ ID NO:46-53) 保留了对P3028的高亲和性。删除P28R的C末端R (SEQ ID NO:34) 保留了对P3028的高亲和性。

[0905] 实施例13:P3028的低分子量抑制剂对淋巴细胞活化的作用

[0906] 在人离体模型中分析P3028的抑制剂,P28R。使用MTS或CFSE技术,在7份健康对照样品和7种不同诊断的癌病患中研究了对PBMC的刺激活性。有趣的是,即使没有其它类型的刺激,在7个癌病患中的6个中,P28R依然具有显著的刺激活性,而来自对照样品的PBMC仅显示弱的刺激或没有刺激。

[0907] 如在图24中所示的,P28R对针对于IL-2的抑制的增殖性反应的刺激活性。将PBMC与IL-2培养7天,当掺入BrdU时检测增值率。每一柱代表一式三份的平均值。类似于对抗P3028抗体反转癌相关免疫抑制 (被测定为癌病患的PBMC对IL-2的弱的增殖性反应) 的功效的研究 (见图22),研究了低分子量抑制剂P28R对抑制的IL-2诱导的增殖的反转的功效。来自四个不同处理的单纯病患的PBMC的培养物的结果在图24中示出。对于每一数量添加的P28R,IL-2刺激的细胞240显示在左边,未刺激的242显示在右边。具有低初始增殖的PBMC (见图24A和24B) 被P28R显著刺激,而高初始增殖基本上没有被药物影响 (见图24C和24D)。如所期待的,系统性免疫抑制并非存在于所有病患中,而仅具有免疫抑制的那些被刺激。

[0908] 实施例14:P3028的低分子量抑制剂与肿瘤细胞的结合

[0909] 如在本文中所证明的,P3028结构存在于肿瘤中。P3028的生物素化的抑制剂,P28R,被用于进一步研究肿瘤组织中3028结构的分布以及所述抑制剂的结合。分析了三份乳癌、两份肾细胞癌和四份恶性黑色素瘤。所有研究的肿瘤都结合所述抑制剂。图25中显示了染色的乳癌的实施例,看到了强阳性反应7,证实了抑制性3028结构在该肿瘤中的存在。由于P3028结构抑制淋巴细胞迁移以及细胞毒性活性 (如上所述),针对阳性染色肿瘤区的免疫调节的攻击可以被有效抑制,只要暴露的P3028没有通过结合P28R而阻碍。但是,淋巴细胞在该过程中没有被染色,因为P3028结构被通过与这些细胞上的LFA-1结合而阻碍。

[0910] 实施例15:通过P28R去阻碍LFA-1受体

[0911] 如在本文中所描述的, β 2-整合素在免疫系统的正常功能中起作用。本文同样描述了基于内源抑制剂P3028与 β 2-整合素LFA-1的结合的免疫抑制机制。如在实施例7中所描述的,与正常对照样品相比,来自癌病患的PBMC的膜染色明显增加。但是,可以通过将来自癌病患的PBMC与抗所述抑制剂P3028的抗体孵育而促进LFA-1的暴露 (见实施例7和图16)。使用实施例7的抗LFA-1抗体和二级抗体 (Ultravision) 接着用固红显色进行LFA-1染色。在对LFA-1染色之前,没有任何固着的新鲜冷冻肿瘤切片与药物候选物,P28R,一起孵育4-20个

小时(见图26B)。为进行对比,对照样品肿瘤切片仅与磷酸盐缓冲的盐孵育(见图26A)。

[0912] 如在图26中所示的,P28R去阻碍LFA-1,从而显著增加了有可能迁移的LFA-1的功能性表达以及这些细胞的细胞毒性活性。P28R处理的细胞的强LFA-1染色3与未处理细胞中的弱LFA-1染色5对比。这些结果显示,通过P28R移除P3028结构而去阻碍LFA-1。

[0913] 实施例16:通过向癌病患纳米定量给药的免疫调节肽抑制物的递送

[0914] 选择由于存在P3028结构而患有免疫抑制且患有皮下黑色素瘤转移癌的癌病患。在已经使用细针活组织检查测定炎症浸润之后,将微透析导管插入至这些转移癌之一。基线:在注入P3028特异免疫调节肽抑制剂之前测量炎症浸润、细胞因子特征和P3028结构的浓度。然后在注入期间和之后测量细胞因子特征和P3028结构浓度的变化。所述注入将持续24或48小时,注入后立即通过微透析导管提供面积,然后在一和两周后提供以研究炎症浸润和肿瘤消退变化。期望地,施用免疫调节肽抑制剂将减少癌病患的免疫抑制,例如,通过去阻碍LFA-1、结合P3028结构和/或增加免疫细胞征募而测量的。

[0915] 实施例17:细胞表面分子的白蛋白肽结合物

[0916] 与细胞表面分子结合的白蛋白片段

[0917] 如在美国专利申请公开号2011/0262470(通过引用的方式全文明确地并入本文)中所教导的,一些白蛋白片段可以与细胞表面分子结合。美国专利申请公开号2011/0262470报道了与人工细胞表面(ACS)柱结合的血清肽的鉴定。所述ACS柱的制备如下:

[0918] 首先,制备生物素化的细胞表面蛋白。从4位健康供体的每一位收集从450ml血中产生的白细胞层。通过在含有2%右旋糖酐T500溶液(Amersham Pharmacia Biotech AB,马普萨拉,瑞典)的0.9%NaCl中沉淀而移除红细胞。然后通过Ficoll-Paque Plus(GE Healthcare BioscienceAB瑞典)密度梯度离心分离单核细胞(PMBC)。然后将PBMC悬浮在含有Ca和Mg(GIBCO)的磷酸盐缓冲盐溶液(PBS)中,浓度为 $10 \times 10^6/\text{ml}$ 。加入EZ Link Sulfo-NHS-生物素(Pierce美国)至终浓度为0.2mg/ml并将所述混合物在室温下在振荡器上孵育10分钟。通过将PBMC在PBS中清洗而移除多余的生物素。然后通过加入每 2×10^7 成球的细胞1.0ml冰冷的裂解液(50mM Tris-HCL,pH 7.5,0.15M NaCl,包含100mM辛基葡糖苷和1mM苯甲基磺酰氟的5mM MgCl₂)以及轻柔震荡然后在冰上培养30分钟而裂解生物素化的PBMC。通过在4℃下以 $5000 \times g$ 离心10分钟而移除残渣,收集来自四个供体的上清液并汇集。将裂解产物保存在-70℃的聚丙烯塑料管中。

[0919] 为研究通过胰蛋白酶片段dHSA的吸收,如下所述制备亲和柱,所述亲和柱具有与链霉亲和素-琼脂糖凝胶连结的来自单核细胞的生物素化的细胞表面蛋白:18ml的裂解产物缓冲液中的生物素化的细胞裂解产物在结合缓冲液(20mM NaH₂PO₄,0.15M NaCl,pH 7.5)中以1/10稀释。裂解产物的量相当于 36×10^7 单核细胞。将它加入至1ml的Hitrap Streptavidin HP 亲和柱(Amersham Biosciences)中。为阻碍可能残余的游离生物素,向柱中加入5ml的0.1M甘氨酸(Sigma)。柱上未中和的链霉亲和素然后与结合缓冲液中的150μg生物素(Sigma)反应。用PBS小心清洗柱并保存在4℃下、含有0.1%NaN₃的PBS中,直到使用。

[0920] 为研究通过ASP-N片段的dHSA的吸收,如下所述制备亲和柱,所述亲和柱具有与链霉亲和素-琼脂糖凝胶连结的来自单核细胞的生物素化的细胞表面蛋白:通过用Spectrapore 4透析管(Spectrum Europe,Breda,荷兰)在结合缓冲液(20mM NaH₂PO₄,

0.15M NaCl pH 7.5) 中透析对裂解产物缓冲液中的生物素化的细胞裂解产物进行缓冲液交换。向1.5ml清洗的链霉亲和素Sepharose HP (Amersham Biosciences) 中加入27ml结合缓冲液中的生物素化的细胞裂解产物(相当于 54×10^7 单核细胞)。为阻碍可能残余的游离生物素,向链霉亲和素琼脂糖凝胶中加入25ml的0.1M甘氨酸(Sigma)。然后未中和的链霉亲和素与结合缓冲液中的225 μ g生物素(Sigma)反应。在PBS中小心清洗链霉亲和素琼脂糖凝胶。然后将1毫升的与链霉亲和素琼脂糖凝胶连结的生物素化的细胞裂解产物包装在空柱(Tricorn空高性能柱,Amersham Bioscience)中,并用含有 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 的磷酸盐缓冲盐溶液(PBS) (GIBCO) 清洗。

[0921] 如下所述用胰蛋白酶或ASP-N消化。在含有10mg测序级修正的胰蛋白酶(Promega Corporation,WI) 或2mg胞内蛋白酶ASP-N(Sigma) 的25mM NH_4HCO_3 , pH 8中重构冻干的dHSA (0.5mg), 并在37 $^\circ\text{C}$ 下孵育过夜。为移除未片段化的白蛋白和酶,通过Amicon Ultra4 (mw 5000切断) 或Centriplus (mw 10000切断) 离心过滤器(Millipore AB, Solna, 瑞典) 对样品超过滤。收集没有酶的包含片段化的dHSA的过滤物并用含有Ca和Mg (GIBCO) 的PBS稀释。

[0922] dHSA被胰蛋白酶分解,在胰蛋白酶分解之后获得的肽混合物通过ACS吸收。将2ml的PBS中的酶片段化的dHSA(相当于一共0.2mb蛋白) 通过ACS柱。收集流穿液并考虑通过在0.2ml的小部分收集的吸收样品的空隙体积和稀释度。在Speed-Vac离心机中干燥30微升的每种样品,包括还没有被吸收的对照样品。使用MALDI TOF质谱技术,通过比较吸收的和未吸收的肽溶液鉴定结合肽。在10 μ l的0.1%TFA中重构干燥的样品。包含C18反向介质的Zip Tip吸液管枪头(Millipore, 美国) 用于脱盐重构的样品。为分析质量范围为700-3600Da的样品,1 μ l的每个Zip Tip洗提的样品与1 μ l的含有 α -氰基-4-羟基肉桂酸(0.02mg/ml) 的70%乙腈/0.3%三氟乙酸的饱和溶液混合。为分析质量范围在1500-9000Da的样品,将1 μ l的每个Zip Tip洗提的样品与1 μ l的芥子酸(3-甲氧基-4-羟基肉桂酸) 混合。将1 μ l的所述混合物点在MALDI板上并使用MALDI-TOF MS (Voyager-DE PRO, Applied Biosystems, CA, 美国) 分析。在SwissProt或NCBI数据库使用MS-Fit对得到的范围进行质量一致性检索。

[0923] 这些肽在表7中示出。

[0924] 表7:胰蛋白酶产生的与ACS结合的白蛋白片段

[0925]	SEQ ID NO:	百分比吸收	序列	白蛋白位置
	194	71%	KYLYEIIAR	161-168
	195	64%	KVPQVSTPTLVEVSR	438-452
	196	60%	VFDEFKPLVEEPQNLIK	397-413
	197	59%	VPQVSTPTLVEVSR	439-452
	198	42%	RPCFSALEVDETYVPK	509-524
	199	41%	FQNALLVR	427-434

[0926]

200	36%	SLHTLFGDK	89-97
201	36%	LKECCEKPLLEK	299-310
202	35%	LCTVATLR	98-105
203	34%	YLYEIAR	162-168
204	32%	CCAAADPHECYAK	384-396
205	29%	AAFTECCQAADK	187-198
206	26%	CCTESLVNR	500-508
207	25%	QEPERNECFLQHK	118-130
208	23%	AVMDDFAAFVEK	570-581
209	22%	NECFLQHK	123-130
210	20%	ONCELFEQLGEYK	414-426
211	18%	QEPERNECFLQHK	118-130
212	13%	VHTECCHGDLLECADDR	265-281
213	8%	FKDLGEENFK	35-44
214	3%	YICENQDSISSK	287-298
215	2%	LDEL RDEGK	206-214
216	1%	DDNP NLPR	131-138

[0927] 由于在胰蛋白酶降解之后使用MALDI-TOF技术没有恢复全部肽序列以及因为一些具有与免疫细胞的细胞表面受体结合能力的序列可能已经被胰蛋白酶处理降解,还通过门冬酰胺酶 (ASN-N) 降解dHSA,在降解之后获得的肽混合物被ACS吸收。通过使用MALDI TOF ms技术比较吸收的和未吸收的肽溶液而鉴定结合的肽。这些肽在表8中示出。

[0928] 表8:Asp-N产生的与ACS结合的白蛋白片段

[0929]

SEQ ID NO:	百分比吸收	序列	白蛋白位置
217	100%	DHV KLVNEVTEFAKTCVA	62-79
218	100%	DDKETCF AEEGKKLV AASQAALGL	586-609
219	87%	DRVTKCTESLVNRRPCFSALEV	495-517
220	86%	DETYVPKEFNAETFTHA	518-535
221	65%	DSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVEN	293-319
222	65%	DKLCTVATLRETYGEM	96-112
223	100%	YSVVLLRLAKTYETTLEKCCAAADP HECYAKVF	364-398
224	100%	KLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPER NECFLQHK	96-130
225	100%	ICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKA TKEQLKAVM	536-572
226	100%	LAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEK HCIAEVEN	283-319

[0930]

227	100%	VFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLA KTYETT LEKCCAAA	348-388
228	100%	LGEENFKALVLIAFAQYLQQCFEDH VKLVNEVTEFAKTCVA	37-79
229	100%	RVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETY VPKEFNAETFTFHA	495-535
230	37%	YLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCC CTESLVNRRPFSALEV	475-517

[0931] 此外,如在表9中所示的,合成9种合成的白蛋白肽。

[0932] 表9:合成的白蛋白肽

[0933]

SEQ ID NO:	肽名称	序列	白蛋白位置
183	3026	NEETFLKKYLYEIARRHPYFYAP	153-176
184	3027	ELFEQLGEYKFQNALLVR	417-434
185	3028	VFDEFKPLVEEPQNLIK	397-413
188	3029	KVPQVSTPTLVEVSR	438-452
189	2604	KLVNEVTEFAKT	65-76
190	2605	NEETFLKKYLYE	153-168
191	2606	LDEL RDEGKAS	205-217
192	2607	EMADCCAQKEPE	110-122
193	2608	ELFEQLGEYKF	417-427

[0934] 实施例18:细胞表面分子的白蛋白肽结合物

[0935] 单克隆抗体mAb A显示具有免疫调节活性。进一步研究了被mAb A结合的抗原表位的结构。简要地,将白蛋白片段与抗体培养,使用Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation Time-of-Flight质谱(MALDI-TOF ms)以限定人血清白蛋白上可能的位点,特异于变性的白蛋白的鼠单克隆抗体与所述位点结合。一种方式利用了以下事实:抗体所结合的一些胰蛋白酶肽在MALDI中将不产生特征质谱,因为它们在分析中“隐藏”。另一种方式利用以下事实:蛋白上抗体已经结合的位点被保护免于蛋白质水解。

[0936] 纯化的人血清白蛋白(HSA)用尿素变性、用DTT还原并进行烷基化。然后用低浓度(0.02-2ng/ml)的胰蛋白酶对变性的HSA进行胰蛋白酶处理。但是用MALDI获得的光谱并不令人满意,因为没有发现针对白蛋白的肽质量。基于凝胶电泳,发现该制品(被0.02ng/ml的胰蛋白酶消化)包含大量未消化的白蛋白。因此,以更高浓度(5μg/ml)继续进行胰蛋白酶消化,以获得通常用于通过MALDI进行蛋白鉴定的质谱。

[0937] 为鉴定被mAb A结合的白蛋白片段,将一些目前完全切开的白蛋白的溶液与mAb A培养。进行MALDI-TOF ms,并比较在存在或不存在mAb A时获得的酶处理的变性的白蛋白光谱。在与mAb A培养之后,14种白蛋白(SEQ ID NO:231-244)聚集缺失或减少。这些肽的氨基酸序列在表10中示出。所述光谱代表包含白蛋白分子的残基66-508的多个区域。

[0938] 为进一步证实这些结果,将单克隆抗体mAb A与变性的白蛋白(之前以0.02ng/ml浓度的胰蛋白酶消化)结合以保护抗原表位的肽序列。然后再一次用胰蛋白酶处理该复合物。然后进行MALDI-TOF,并将从白蛋白产生的肽质谱与从不存在抗体时用胰蛋白酶处理的

变性白蛋白产生的光谱进行比较。在胰蛋白酶处理期间存在mAb时,39种白蛋白集合中的同样14种集合完全消失或在样品中明显减少(见表10,第6列)。采取了多个读数以证实结果。

[0939] 表10:与单克隆抗体mAb A结合的白蛋白肽

SEQ ID NO:	序列	白蛋白位置	在 Ab 培养之前的峰区域(2 光谱)	在 Ab 培养之后的峰区域(5 光谱)	胰蛋白酶处理的白蛋白 +Ab 的峰区域(6 光谱)
231	LVNEVTEFAK	066-075	1970, 4092	0, 0, 0, 0, 0,	0, 0, 0, 0, 0, 0,
232	SLHTLFGDK	089-097	1695, 5089	0, 0, 0, 0, 0,	0, 0, 0, 0, 0, 0,
233	LCTVATLR	098-105	1862, 4869	0, 0, 132, 0, 0	0, 0, 0, 0, 0, 0,
234	ETYGEMADCCAK	106-117	809, 1010	0, 0, 0, 0, 0,	0, 0, 0, 0, 0, 0,
235	YLYEIAR	162-168	6036, 13066	504, 118, 473, 281, 288	448, 895, 216, 724, 2346, 1571
236	LDELRLDEGK	206-214	3064, 7917	0, 0, 0, 0, 0	0, 0, 0, 0, 0, 0
237	YICENQDSISSK	287-298	583, 1394	0, 0, 0, 0, 0,	0, 0, 53, 0, 0, 0,
[0940] 238	LKECCEKPLLEK	299-310	2283, 4675	0, 0, 0, 0, 0,	0, 0, 0, 0, 0, 0,
239	HPDYSVVLRLR	362-372	1036, 1482	0, 0, 0, 0, 0,	0, 0, 51, 0, 407 (1312), 226(1312)
240	CCAAADPHECYAK	384-396	2186, 3327	0, 0, 0, 0, 0,	0, 0, 0, 0, 0, 0,
241	QNCELFEQLGEYK	414-426	2519, 2978	0, 0, 0, 0, 0,	0, 0, 0, 0, 0, 212(1656.64)
242	FQNALLVR	427-434	15276, 32846	267, 315, 931, 494, 309	591, 1284, 199, 1015, 2963, 1998
243	CCTESLVNR	500-508	1360, 4659	0, 0, 0, 0, 0,	0, 258, 0, 0, 0, 204 (1139)
244	AVMDDFAAFVEK	570-581	2720, 3758	0, 0, 0, 0, 0	0, 0, 0, 0, 0, 0

[0941] 由于白蛋白的mAb结合的抗原表位被胰蛋白酶切掉的可能性,导致所述抗原表位片段的结合亲和性太低而不能与mAb结合,通过使抗体与白蛋白的胰蛋白酶化的片段结合的方式可能不能鉴定白蛋白的一些肽片段。因此,使用其它方法鉴定被抗体结合的片段。重复进行基于蛋白水解的抗体保护的mAb A的MALDI抗原表位定位。这次,使用稍微不同的方式。将变性的HSA与mAb A培养。通过超过滤器上的尺寸排阻,没有被抗体结合的白蛋白从所述样品中移除。然后用胰蛋白酶消化残留的游离mAb以及mAb-白蛋白复合物(mAb结合的白蛋白分子的序列应当忍得住胰蛋白酶消化)。然后通过超过滤(30kD)从所述样品中移除mAb的小切割片段和未保护的白蛋白。通过将pH值降低至2.7解离mAb和结合的白蛋白片段的复合物。再一次进行30kD超过滤以将整个的mAb从小于30kD的白蛋白片段中分离。这些片段的MALDI TOF分析并不鉴定特别针对白蛋白的光谱。合理地,因为包含mAb A的抗原表位的片段依然太大。这次过滤产物(<30kD)然后进一步用胰蛋白酶消化(用于切开之前被mAb保护的位点)以产生适于用MALDI TOF ms分析的肽聚集。

[0942] 在该第二次胰蛋白酶处理之后,通过MALDI TOF ms检测的32种聚集中的8种与白

蛋白匹配(见表11)。因此,这些新氨基酸序列代表抗原表位的一部分,其同样包含胰蛋白酶切割点的另一侧序列。8种肽聚集的6种(SEQ ID NO:231、233、235、236、242和243)是在之前分析的当在MALDI-TOF分析之前完全切割的白蛋白与mAb A培养时同样消失的肽聚集(见表10)。8种肽中的2种(SEQ ID NO:245和346)还没有在完全切割的白蛋白的结合实验中鉴定。因此确定了该抗体的抗原表位。值得一提的是,在白蛋白分子中存在多种这样的结构,它们之后可以引起与它们结合的受体的交联。但是,对于mAb A的多种抗原表位位点确实可以在白蛋白上存在。

[0943] 表11:与单克隆抗体mAb A结合的白蛋白肽

SEQ ID NO:	序列	白蛋白位置
245	LSQRFPK	243-249
246	DDNPNLPR	131-138
235	YLYEIAR	162-168
233	LCTVATLR	98-105
242	FQNALLVR	427-434
236	LDELRDEGK	206-214
243	CCTESLVNR	500-508
231	LVNEVTEFAK	66-75

[0945] 实施例19:结合P3028的环肽

[0946] 为鉴定与P3028结合的环肽,在芯片上合成二肽和三肽所有可能变异体,并使用ELISA技术分析组氨酸标签标记的P3028的结合。基于鉴定的结合基序,产生并检测环状的6聚体。这些结果一起构建了先导环肽CLALNVMCG(SEQ ID NO:264)。对引导环肽的每一个位置进行位置扫描,其中每一个位置用其它19种L-氨基酸中的每一种代替。检测每一种取代的肽的结合,鉴定了比所述先导肽具有更高结合能力的肽序列。具有最高亲和性的两种肽是CLRLNVFCG(SEQ ID NO:265)和CLRLIVMCG(SEQ ID NO:266)。基于位置扫描结合实验,与P3028结合的两种最好的环肽总结在表12中。

[0947] 表12:与P3028结合的环肽

SEQ ID NO:	序列
264	CLALNVMCG
265	CLRLNVFCG
266	CLRLIVMCG

[0949] 在位置扫描中鉴定的提供改进结合P3028(SEQ ID NO:185)的先导环肽中的可取代的氨基酸残基总结在图23中(即,SEQ ID NO:246-266)。被鉴定为提供更高或实质上相当的与P3028的结合的、导致P28R与P3028有相当的或更好结合的P28R的位置取代(见表6.1和6.2)同样总结在图33中。观察到,基于扫描数据的与P3028结合的环肽序列(SEQ ID NO:264-266)和被鉴定为与P3028结合的线性肽的序列(SEQ ID NO:2-31和268-393)之间有非常好的同源性(见图33)。值得注意的是,环肽的N末端C残基和C末端CG残基参与所述肽的环化。因此,如图33中的阴影框所示,在被鉴定为P3028的结合物的6聚体环肽(SEQ ID NO:264-266)和P28R相关肽(SEQ ID NO:2-31和268-393)的N末端或C末端之一之间有强烈的同源性。预期可以鉴定其它结合并抑制白蛋白来源的免疫调节肽的环肽。

[0950] 实施例20:白蛋白肽对IL-2诱导的增殖的作用

[0951] 使用如在实施例2中描述的离体人模型测量包括SEQ ID NO:183-185或188-246中至少一种的白蛋白肽的作用。

[0952] 从来自健康血供体(对照样品)或癌病患的静脉血样品中分离PBMC。向圆底、96孔组织培养板Costar, Corning Inc. NY, 美国)中加入100pI的培养基(RPMI 1640Dutch修正(Gibco, InVitrogen AB, Stockholm, 瑞典), 补充有200IU/ml青霉素、200μl/rnl链霉素、4mM L-谷氨酰胺(均来自Sigma Chemical Co. MO, 美国)和20%热灭活的人血清)。对于实验培养物, 每孔培养基补充有SEQ ID NOs:183-185或188-246的肽。向每孔中加入100pI的含PBMC的RPMI/2% HSA (5 × 10⁴淋巴细胞), 接着加入终浓度为120IU/孔的IL-2 (Proleukin, Chiron, NL)。平行设置没有IL-2的对照孔。在37℃下、在潮湿的、5%CO₂氛围中培养细胞7天。在最后18-24个小时中, 通过掺入1.6μCi/孔的 [³H]-胸苷 (Amersham Int., UK) 分析细胞增殖。一式三份孔的dpm(每分钟衰变)平均值用于计算。

[0953] 因此, 鉴定抑制PBMC的IL-2刺激的白蛋白肽。

[0954] 实施例21:白蛋白肽对T细胞受体刺激的作用

[0955] 如在实施例3中所示的测量包括SEQ ID NO:183-185或188-246中至少一种的白蛋白肽对T细胞受体刺激的作用。在用抗CD3的单克隆抗体预包被的平板上的培养物中刺激细胞, 并在培养3-7天后使用MTS染色测量代谢活性细胞的数量(即, 细胞增殖)。固相CD3单克隆抗体的检测被用作测量T细胞增殖。

[0956] 因此, 鉴定抑制T细胞受体刺激的白蛋白肽。

[0957] 实施例22:白蛋白肽对NK细胞细胞毒性的作用

[0958] 如在实施例4中所示的测量包括SEQ ID NO:183-185或188-246中至少一种的白蛋白肽对NK细胞细胞毒性的作用。

[0959] 通过标准的Ficoll-paque Plus (Pharmacia AB, 瑞典) 密度梯度离心从获自健康供体的肝素化血液中分离单核细胞。然后使用商业试剂盒(NKTEST, Orpegen Pharma GmbH, 海德堡, 德国) 依照生产商的指示检测单核细胞的NK细胞细胞毒性活性。简要地, 所述试剂盒包含低温保存的、NK敏感的靶细胞(K562), 所述靶细胞标记有亲脂性绿色荧光膜染料, 能够分辨效应器和靶细胞。在用效应器细胞培养后, 通过DNA染色鉴定杀死的靶细胞, 所述DNA染色渗透并特异性地染色死的靶细胞的核。这种方式下, 可以通过流式细胞术测量杀死的靶的百分比。在37℃下, 将单核细胞与10μg/ml的指定肽(之前已经描述的肽)预孵育30分钟。然后加入靶细胞, 效应器:靶细胞的比例为40:1, 并将所述细胞混合物在37℃下培养3-4小时。在FACSCalibur (BD Biosciences, San Jose, Calif.) 上分析样品。

[0960] 因此, 鉴定了抑制NK细胞细胞毒性的白蛋白肽。

[0961] 实施例23:白蛋白肽对白细胞扩散的作用

[0962] 如在实施例5中所示的测量包括SEQ ID NO:183-185或188-246中至少一种的白蛋白肽对白细胞扩散的作用。通过葡聚糖辅助沉积从肝素化血液制备软层细胞。为检测每一种肽的作用, 用浓度为10μg/ml的一种肽(SEQ ID NO:183-185或188-246)处理细胞样品15分钟, 有效抑制所述扩散。然后将这些细胞在PBS中清洗两次并转移至干净的玻片上。检测细胞对玻璃表面的依附以及扩散。

[0963] 因此, 鉴定了抑制白细胞扩散的白蛋白肽。

[0964] 实施例24:白蛋白肽对免疫细胞迁移的作用

[0965] 如在实施例5中所示的测量包括SEQ ID NO:183-185或188-246中至少一种的白蛋白肽对免疫细胞迁移的作用。使用博伊登小室技术研究PBMC迁移。在存在和不存在SEQ ID NO:183-185或188-246中的每一种肽的情况下评估健康对照样品和癌病患的PBMC的迁移。因此,鉴定了抑制免疫细胞迁移的白蛋白肽。

[0966] 实施例25:白蛋白肽与LFA-1的结合

[0967] 如在实施例7中所示的测量包括SEQ ID NO:183-185或188-246中至少一种的白蛋白肽与LFA-1的结合。使用丙酮固定、10%人AB血清封闭、与抗LFA-1抗体和一种二级抗体(Ultravision)培养接着进行固红显色而实施标准的免疫组织化学染色程序。用添加至AB血清的肽的预培养没有肽添加,或者添加SEQ ID NO:183-185或188-246的一种肽。

[0968] 与LFA-1结合的肽阻止抗体的结合,因此与未处理的对照样品相比,减少了抗体处理的细胞中固红染色的量。

[0969] 实施例26:结合白蛋白肽的抗体

[0970] 如在实施例9中所示的生产与包括SEQ ID NO:183-185或188-246中至少一种的肽特异结合的抗体。生产抗SEQ ID NO:183-185或188-246中每一种肽的兔抗血清。合成SEQ ID NO:183-185或188-246中的每一种肽,并向N末端加上半胱氨酸,然后与作为载体蛋白的钥孔血蓝蛋白(KLH)结合。通过用KLH-结合的P3028和弗氏佐剂反复免疫兔而产生多克隆抗血清。通过用P3028结合的Ultralink Iodoacetyl凝胶(Pierce Biotechnology Inc)的层析法亲和纯化所述抗血清。

[0971] 检测所述抗血清与人血清和dHSA结合的能力。检测可商业购买的用于治疗目的的人血清,加热10次使之无病毒。因此,特异结合白蛋白肽的兔抗血清结合dHSA和/或对照样品HSA。

[0972] 使用竞争ELISA试验检测兔抗血清与SEQ ID NO:183-185或188-246的肽的结合。

[0973] 使用来自免疫抑制的癌病患的PBMC和正常对照样品的PBMC,在离体模型中检测亲和纯化的抗SEQ ID NO:183-185或188-246的抗体针对IL-2的增殖反应的作用。

[0974] 因此,鉴定了结合SEQ ID NO:183-185或188-246的肽的抗体。

[0975] 实施例27:与白蛋白来源的肽结合的肽

[0976] 如在实施例10中所示的鉴定与包括SEQ ID NO:183-185或188-246中至少一种的肽结合的肽。合成肽的潜在结合物。对于SEQ ID NO:183-185或188-246中的每一种肽,将组氨酸标签的肽与潜在结合物在溶液中接触,然后使用组氨酸标签从溶液中分离组氨酸标签的肽。将每一种肽的结合物与所述肽一起分离,然后鉴定。

[0977] 此外,如在实施例12中所示的,鉴定与每一种白蛋白肽结合的所述肽的取代、截短体和缺失。在芯片上合成所述取代、截短体和缺失,并与SEQ ID NO:183-185或188-246中的每一种白蛋白肽接触以检测结合。使用实施例12中的rampo分析定量结合的肽的量。分离具有最高rampo得分的结合物。

[0978] 如在实施例13和15中所示的,评估每一种肽的最高分数结合物减少免疫抑制的能力。评估每一种结合物的诱导淋巴细胞活化和去阻碍LFA-1受体的能力。此外,如在实施例14中所示的,评估每一种结合物与肿瘤细胞的结合。

[0979] 实施例28:P28R对线粒体代谢和MTS反转的作用

[0980] 在存在多种量的P28R(SEQ ID NO:2) 情况下,将来自8份健康对照样品的PBMC和来自9位具有不同诊断(包括肾细胞癌、恶性黑色素瘤、直肠癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌(腺癌)、鳞状细胞癌、膀胱癌、骨肉瘤、胰腺癌或支气管癌)的癌病患的PBMC在修正版本的实施例2离体模型中培养7天,其中对照样品不用P28R处理。如在图33A和33B中所示的,在以下情况下培养所述细胞:没有P28R 322、5 μ g/mL P28R 324、10 μ g/mL P28R 326或20 μ g/mL P28R 328。在5/8对照样品(见图33A)和9/9癌病患(见图33B)中观察到被测量为MTS反转的线粒体代谢的剂量依赖的刺激。当培养PBMC仅三天时获得相似的结果。

[0981] 实施例29:免疫调节肽抑制剂对线粒体代谢和MTS反转的作用

[0982] 将P28R(SEQ ID NO:2)对基于MTS反转的线粒体代谢的作用与密切相关的肽P27的作用进行比较。P27(亦称“SCF 27”)具有序列KKLDTFFKKLSLFTER(SEQ ID NO:264),是P28R的变异体,区别在于,P28R的V8被替换为P27中的K8。P28R比P27更有效地与P3028结合(P27结合P3028的rampo得分为253,而P28R对照样品结合P3028的rampo得分为308;见实施例12)。

[0983] 将来自具有不同诊断的癌病患的PBMC在具有不同浓度的P28R或P27的修正版本的实施例2离体模型中培养(对于P28R,N=9;对于P27,N=8)。所述浓度是:未处理的对照样品、5 μ g/mL(“SCF28-R5”和“SCF275”)、10 μ g/mL(“SCF28-R10”和“SCF2710”)、20 μ g/mL(“SCF28-R20”和“SCF2720”)或40 μ g/mL(“SCF28-R40”和“SCF2740”)。所述结果在图34中示出。P28R以剂量依赖方式刺激癌病患的细胞,而P27没有作用。

[0984] 实施例30:P28R对IL-2诱导的增殖(BrdU掺入)的作用

[0985] 在BrdU掺入分析中测量P28R(SEQ ID NO:2)对IL-2诱导的增殖的作用。在修正版本的实施例2离体模型中收获来自6份健康对照样品的PBMC和10位癌病患(包括肾细胞癌、恶性黑色素瘤、直肠癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌(腺癌)、鳞状细胞癌、膀胱癌、骨肉瘤、胰腺癌或支气管癌)的PBMC。向圆底的96孔组织培养板(Costar,Corning Inc.NY,US)中加入100pI的培养基(RPMI 1640Dutch修正(Gibco,InvitrogenAB,斯德哥尔摩,瑞典),补充有200IU/mL青霉素、200uL/rnI链霉素、4mM L-谷氨酰胺(均来自Sigma Chemical Co.MO,美国)以及20%热灭活的人血清)。向每孔中加入100pI的含有PBMC的RPMI/2%HSA(5 \times 10⁴淋巴细胞),然后加入终浓度为120IU/孔的IL-2(Proleukin,Chiron,NL)。平行地设置没有IL-2的对照样品孔。在37℃下、在潮湿的、5%CO₂氛围下培养细胞7天。通过BrdU的掺入分析细胞增殖。

[0986] 如在图35中所示的,与10个癌病患中的4个相比,6份对照样品中的4份具有针对IL-2的高增殖反应。PBMC中的这些针对IL-2的增殖性反应的差异证明了针对IL-2的高响应物和低响应物的差异存在。

[0987] 比较了高响应物和低响应物对不同剂量P28R的反应。来自高响应物或低响应物的细胞与无P28R、5 μ g/mL P28R、10 μ g/mL P28R或20 μ g/mL P28R一起培养7天。如在上述实施例中,将IL-2诱导的增殖测量为BrdU掺入,高响应物的结果显示在图36A中,而低响应物的结果显示在图36B中。虽然在来自病患的、对IL-2具有高响应的细胞中P28R没有刺激作用(N=4)(见图36A),P28R对来自病患的、对IL-2具有低响应的细胞具有刺激作用(N=6)(见图36B)。

[0988] 实施例31:免疫调节肽抑制剂对IL-2诱导的增殖(BrdU掺入和MTS反转)的作用

[0989] 比较P27 (与P28R相关的一种肽) 和P28R对IL-2诱导的增殖的作用,所述IL-2诱导的增殖通过BrdU掺入测量。P27 (亦称“SCF27”) 具有序列KKLDTFKKLSLFTER (SEQ ID NO: 264), 是P28R的变异体, 区别在于, P28R的V8被替换为P27中的K8。P28R比P27更有效地与P3028结合 (P27结合P3028的rampo得分为253, 而P28R对照样品结合P3028的rampo得分为308; 见实施例12)。

[0990] 如在实施例30中所示的培养实施例30中的低响应物癌病患的PBMC, 除了一些样品与多种浓度的P28R (亦称“SCF28-R”) 培养, 而其它与多种浓度的P27 (亦称“SCF27”) 培养。所述浓度是: 没有肽 (“未处理的细胞”)、5 μ g/mL、10 μ g/ml或20 μ g/ml。如在实施例30中所示的测量BrdU掺入。如在图37中所示的, P28R和P27均提高了由IL-2诱导的PBMC的增殖率。可以将实施例29和图34中的数据进行比较, 如通过MTS反转所测量的, 其中P28R, 而不是P27, 提高了线粒体代谢的IL-2刺激。观察到P27提高了通过BrdU掺入测量的细胞增殖的IL-2刺激, 而没有提高通过MTS反转测量的线粒体代谢。另一方面, 观察到P28R提高了两种参数。如在本文中所述的, 抑制肽P3028结合不同受体, 包括CD25 (见实施例8和图18-19) 以及LFA-1 (见实施例7和图15-16)。预期P3028的更有效结合物, P28R, 能够将P3028从LFA-1移除和/或去阻碍CD25。但是, 预期与P3028较少/较弱结合的P27没有去阻碍LFA-1的能力, 但是可以去阻碍CD25。因此, 预期不同群体的病患可以通过免疫调节肽 (如P3028) 以不同方式影响。此外, 预期免疫调节肽的不同抑制剂可以调节不同受体的活性和/或不同信号转导通路。

[0991] 实施例32: MTS和BrdU分析的比较

[0992] 该研究中的两种细胞增殖分析均广泛使用以测量细胞增殖。在9/9病患和5/8健康对照样品的PBMC的7天培养物中, 肽P28R具有MTS反转的刺激活性。相反, P28R仅在1/6和2/10病患的PBMC的7天培养物中刺激BrdU掺入。

[0993] 测量为BrdU掺入的IL-2诱导的增殖被对IL-2具有低增殖性反应的癌病患的PBMC培养物中的P28R刺激 (实验条件如在实施例30中所描述)。当所述作用被测量为MTS反转时, 2/3健康对照样品的PBMC和2/4癌病患的PBMC没有被IL-2刺激 (实验条件如在实施例28中所描述的)。但是, 当所述作用被测量为BrdU掺入时, 当用MTS测量时没有反应的全部这些人 (“非响应物”) 的PBMC被IL-2明显刺激。

[0994] 上述结果在图38中示出。PBMC培养物来自两个不同病患 (A, B) 和 (C, D), 具有IL-2 382 (左边的柱) 或没有IL-2 384 (右边的柱)。在以下浓度下测量IL-2和肽P28R (亦称“SCR28R”) 和P27 (亦称“SCR27”) 的作用: 没有肽 (“未处理的细胞”)、5 μ g/mL肽、10 μ g/ml肽或20 μ g/ml肽。

[0995] 在两个病患中, 测量为BrdU掺入的对IL-2的反应被P28R提高 (见图38A和38C), 但是P28R的该作用仅在当使用MTS反转时在这些病患之一中观察到 (见图38B)。因此, 在一个病患中, 使用BrdU和MTS提示IL-2的刺激活性 (见图38A和38B), 在另一位病患中, 仅使用BrdU提示IL-2的刺激活性 (见图38C)。基于这些观察, 可以总结, 对测量为MTS反转的代谢活性的作用并不总是与被测量为BrdU掺入的DNA合成相关。

[0996] 此外, P28R提高了用BrdU和MTS测量的IL-2的作用, 但是仅当测量BrdU掺入时观察到SCF27的刺激作用。当使用MTS反转测量作用时, 在C中示出的病患中的结果与在A中示出的那些结果非常相似, 但是在D中没有看到刺激作用。

[0997] 这些结果表明, 白蛋白来源的免疫调节结构 (如P3028) 显示通过不同机制调节信

号转导。因此,不同病患群体对免疫调节肽的抑制剂可以有不同反应。预期体外诊断实验能够帮助鉴定哪些病患具有白蛋白来源的免疫调节结构,并可以进一步帮助鉴定哪些病患将对免疫调节结构的一些抑制剂(或抑制剂的组合)反应。

[0998] 实施例33:免疫调节肽的结合物对淋巴细胞活化的作用

[0999] 如在实施例13中所示的,分析免疫调节肽(例如表5.1、6.1、6.2或12 (SEQ ID NO: 1-32、265-393) 或SEQ ID NO:34、46-53、64-66、68、76、94-96、98或264的肽)的结合物对淋巴细胞活化的作用。在人离体模型中分析这些肽。在7份健康对照样品和7个不同诊断的癌病患中研究使用MTS或CFSE技术测量的对PBMC的刺激活性。相等地在不存在其它类型刺激的情况下分析所述肽的刺激活性,并与未处理的对照样品做比较。

[1000] 表5.1、6.1、6.2或12 (SEQ ID NO:1-32、265-393) 或SEQ ID NO:34、46-53、64-66、68、76、94-96、98或264的肽针对IL-2的增殖性反应的刺激作用被P3028序列或结构抑制。PBMC与IL-2培养7天,所述增殖率被测量为BrdU掺入。一式三份的分析每系列情形。PBMC的初始增殖与来自用每种肽处理后的相同供体的PBMC的增殖进行比较。

[1001] 实施例34:免疫调节肽抑制剂与肿瘤细胞的结合

[1002] 表5.1、6.1、6.2或12 (SEQ ID NO:1-32、265-393) 或SEQ ID NO:34、46-53、64-66、68、76、94-96、98或264的每种P28R肽的生物素化形式,每种都已经显示与P3028结合,用于分析所述肽与肿瘤细胞的结合。如在实施例14中所示的,分析了5份乳癌、2份肾细胞癌和4份恶性黑色素瘤。

[1003] 实施例35:通过免疫调节肽抑制剂去阻碍LFA-1受体

[1004] 如在本文中所描述的, β 2-整合素在免疫系统的正常功能中起作用。本文同样描述了基于内源抑制物,P3028,与 β 2-整合素LFA-1的结合的免疫抑制机制。如在实施例7中所描述的,与正常对照样品相比,癌病患的PBMC的膜染色明显减少。但是,LFA-1的暴露可以通过将癌病患的PBMC与抗抑制物P3028的抗体孵育而提高(见实施例7和图16)。

[1005] 用实施例7的抗LFA-1抗体和一种二级抗体(Ultravision)、接着进行固红显色而对LFA-1实施染色。在对LFA-1染色之前,用表5.1、6.1、6.2或12 (SEQ ID NO:1-32、265-393) 或SEQ ID NO:34、46-53、64-66、68、76、94-96、98或264的每种P28R肽(每一种均已经显示出与P3028结合)与没有任何固定的新鲜冷冻的肿瘤切片一起孵育4-20小时。用于对照,仅用磷酸盐缓冲盐培养对照样品肿瘤切片。观察抗LFA-1抗体染色的量,并用于测量阻碍(如果有的话)LFA-1受体的量。处理的细胞的迁移和细胞毒性活性同样继续进行。

[1006] 实施例36:SEQ ID NO:2中的氨基酸残基的位置扫描

[1007] 位置扫描数据用于研究P28R (SEQ ID NO:2) 的每一位置中不同类型氨基酸的取代对P3028 (SEQ ID NO:185) 的结合的影响。P28R (SEQ ID NO:2) 的肽序列中的每一个氨基酸用所有天然存在的氨基酸置换,并固定在固相芯片上。使用ELISA技术测量P3028与在芯片上合成的这些“突变的”P28R肽的结合。所述结果总结在表13中。由这些结果看来,表13包括了鉴定了能够保持与P3028结合的每一位点处的可选取代的列。

[1008] 表13:与固相P28R变异体结合的P3028的分析

[1009]

位置	取代种类	ELISA 信号				均值	保持 3028 结合的 可选取代
K1	RHK	523	428	366		439	任何类型的氨基酸均可能
	DE	373	396			385	
	AVIL	466	442	483	449	460	
	M	457				457	
	FYW	332	315	284		310	
	STNQ	344	493	445	455	434	
K2	RHK	417	394	445		419	优选正电荷氨基酸，可能为 F 和 N*
	DE	335	349			342	
	AVIL	309	317	331	343	325	
	M	400				400	
	FYW	390	301	304		332	
	STNQ	281	331	432	350	349	
L3	RHK	370	477	386		411	任何类型的氨基酸均可能
	DE	492	528			510	
	AVIL	427	377	454	375	408	
	M	460				460	
	FYW	393	344	341		359	
	STNQ	393	451	374	473	423	
D4	RHK	317	317	274		303	任何类型的氨基酸均可能
	DE	414	417			416	
	AVIL	494	424	430	303	413	
	M	384				384	
	FYW	380	422	443		415	
	STNQ	344	405	296	345	348	
T5	RHK	430	391	237		353	优选极性无电荷氨基酸，可能为 R、Y 和 W*
	DE	295	341			318	
	AVIL	346	374	293	311	331	
	M	475				475	

[1010]

	FYW	290	425	418		378	
	STNQ	458	424	436	535	463	
F6	RHK	309	332	309		317	优选疏水和无电荷极性氨基酸; 避免正电荷和负电荷氨基酸
	DE	193	229			211	
	AVIL	575	547	466	408	499	
	M	467				467	
	FYW	437	364	348		383	
	STNQ	432	481	446	410	442	
F7	RHK	369	364	232		322	优选疏水和无电荷极性氨基酸; 避免正电荷和负电荷氨基酸
	DE	301	381			341	
	AVIL	426	527	446	517	479	
	M	712				712	
	FYW	460	334	380		391	
	STNQ	700	517	348	511	519	
V8	RHK	365	213	253		277	优选疏水的非芳香碳链氨基酸, 可能是F, 避免负电荷氨基酸
	DE	122	139			131	
	AVIL	299	308	401	411	355	
	M	221				221	
	FYW	358	211	228		266	
	STNQ	216	298	203	271	247	
K9	RHK	374	306	377		352	优选正电荷氨基酸, 可能是极性无电荷的T和Q
	DE	149	240			195	
	AVIL	191	248	190	166	199	
	M	283				283	
	FYW	174	198	245		206	
	STNQ	274	347	256	330	302	
L10	RHK	439	293	285		339	任何类型氨基酸均有可能, 除了负电荷氨基酸
	DE	102	81			92	
	AVIL	426	658	415	348	462	
	M	460				460	
	FYW	403	382	316		367	
	STNQ	351	399	365	470	396	
S11	RHK	333	535	323		397	可能是极性无电荷氨基酸, 有可能是H*
	DE	322	234			278	
	AVIL	318	392	289	213	303	
	M	744				744	
	FYW	250	402	324		325	

[1011]

	STNQ	442	520	451	768	545	
L12	RHK	483	460	355		433	任何类型的氨基酸, 除了负电荷氨基酸
	DE	89	82			86	
	AVIL	462	545	456	428	473	
	M	499				499	
	FYW	389	320	409		373	
	STNQ	478	437	462	651	507	
F13	RHK	502	1046	220		589	任何类型的氨基酸, 除了负电荷氨基酸*
	DE	112	98			105	
	AVIL	525	446	468	448	472	
	M	1190				1190	
	FYW	402	291	430		374	
	STNQ	635	494	862	1144	784	
T14	RHK	264	463	259		329	任何类型的氨基酸, 除了负电荷氨基酸
	DE	159	110			135	
	AVIL	305	380	375	360	355	
	M	501				501	
	FYW	348	270	374		331	
	STNQ	369	319	599	301	397	
E15	RHK	237	318	324		293	优选为负电荷氨基酸, 可能是 Y 或 Q
	DE	404	371			388	
	AVIL	174	163	163	246	187	
	M	247				247	
	FYW	137	340	226		234	
	STNQ	165	152	161	344	206	
R16	RHK	260	239	291		263	任何类型的氨基酸, 除了负电荷氨基酸
	DE	133	107			120	
	AVIL	226	254	176	217	218	
	M	238				238	
	FYW	297	311	202		270	
	STNQ	184	292	311	133	230	

[1012] *注意的是, M的侧链上有硫原子, 且不被任何理论限制, 预期仅在8、9和/15位的M的取代能够导致抑制剂肽与P3028的结合减少。

[1013] 注意的是, 以下位置处的以下种类氨基酸很可能涉及P3028与P28R的结合(一些其它“可能的”取代在表13中注出):

[1014] K2正电荷氨基酸

[1015] T5极性无电荷氨基酸

[1016] F6疏水的和无电荷极性

[1017] F7疏水的和无电荷极性

[1018] V8疏水的、非芳香碳链氨基酸

[1019] K9正电荷氨基酸

[1020] S11极性无电荷氨基酸

[1021] E15负电荷氨基酸

[1022] 因此,在一些实施方式中,中心核(T5-S11)和两个其它氨基酸(K2和E15)被鉴定为涉及肽P3028的结合。

[1023] 从所述位置扫描数据同样可以注意到,可以鉴定“核肽”,FFVKLS (SEQ ID NO:62) (在本文也被称为“P28R核”),如同全长肽P28R一样有效地结合3028。但是,在该模型的短期培养物中,P28R核肽不刺激PBMC活化(CD69和CD71),而P28R肽在该模型的短期培养物中刺激PBMC活化。

[1024] 但是,在含有人和狗癌血清的培养物中,P28R核具有刺激活性。如此,不被任何理论限制,预测P28R核能够用于去阻碍P3028的抑制作用(如,从细胞受体转移结合的3028结构)。例如,在一些实施方式中,P28核能够用于去阻碍LFA-1受体的P3028介导的抑制。

[1025] 基于位置扫描数据,预测SEQ ID NO:2的取代物能够用于结合P3028、去阻碍LFA-1受体以避免P3028介导的抑制和/或刺激免疫细胞。

[1026] 实施例37:修饰的肽对PBMC活化的作用

[1027] 使用短期培养物(24或48小时)中的PBMC在人离体模型中研究肽P28R (SEQ ID NO:2)和P28R的修饰物的活性。研究P28R和P28R的修饰物对健康对照人的PBMC的作用。使用流式细胞术将活化测量为含有提高的标志物CD69的细胞的百分比。将PBMC与所述肽(40 μ g/mL)在RPMI加10%人AB血清中培养24小时。

[1028] 研究在该离体模型中多种氨基酸取代物对刺激作用(测量为CD69的表达)的影响。评估了根据位置扫描展示出良好的结合能力的P28R和氨基酸取代物的刺激作用。检测了P28R(KKLDTFVVKLSLFTER) (SEQ ID NO:2)、肽30677(KKLDTFVVKLSLMTER) (SEQ ID NO:583)、肽30678(KKLDTFVVKLQLFTER) (SEQ ID NO:584)和肽30680(KKLDTVMVKLQLMTER) (SEQ ID NO:585) (见图41A)。图41A图示了对于每种肽的两个实验(410和412)的结果。所有的四种肽诱导了健康对照人的PBMC的活化。

[1029] 检测了P28R (SEQ ID NO:2)、肽30864(KSLDTFFVVKLSLFTER,SEQ ID NO:586)、肽30685(KKLDTFVVKLSLFTFR,SEQ ID NO:587)、肽31135(KKLDTFVYLSLFTER) (SEQ ID NO:588)、肽31136(KKLDTFVNLSTLFTER) (SEQ ID NO:589)和肽31138(KKLDTFVVDLSLFTER) (SEQ ID NO:590) (见图41B)。图41B显示了对于每种肽的两个实验(414和416)。肽31135同样刺激免疫细胞。因此,除了表13的分析,根据本文的一些实施方式,SEQ ID NO:2的位置9中的酪氨酸同样可以被取代。

[1030] 这些结果显示与基于表13中的位置扫描分析的数据大体一致(见实施例36)。不受任何理论限制,位置扫描数据与免疫细胞刺激数据之间的一些差异与本文公开的内容并非不一致。注意的是,表13涉及ELISA试验中与P3028结合的能力,而图41A-B涉及用于PBMC活化的试验。在一些实施方式中,包含SEQ ID NO:2或583-585、基本由SEQ ID NO:2或583-585组成或由SEQ ID NO:2或583-585组成的肽刺激健康免疫细胞,如PBMC。

[1031] 实施例38:P28R核肽对PBMC活化的作用

[1032] 如在实施例37中所观察到的,当RPMI加10%正常人AB血清用作培养基时,P28R (SEQ ID NO:2)可以刺激短期培养物中的健康对照的PBMC。同样评估了P28R的截短体的活化PBMC的能力。将PBMC与所述肽(40 μ g/mL)在RPMI加10%人AB血清中培养24小时。使用流式细胞术,将PBMC活化测量为具有CD69(图42A)或CD71(图42B)提高表达的百分比细胞。对于

每种肽实施两个实验。

[1033] 如在图42A和42B中所示的,在该模型中肽P28R(SEQ ID NO:2)有效活化健康PBMC,但肽32251(SEQ ID NO:592)和肽32230(“P28R核”(FFVKLS)(SEQ ID NO:62)在该模型中不活化健康PBMC。

[1034] 但是,在PBMC培养物中(其中,培养基中的正常人AB血清被患有癌症的狗的血清或患有癌症的人的血清取代),P28R(SEQ ID NO:2)和P28R核(肽32230,FFVKLS)(SEQ ID NO:62)均活化PBMC(被测量为CD69的提高表达)(见图43)。图43显示了在包含来自两种不同癌病患的血清(人癌血清1 430和人癌血清2 432)的培养基中全长肽P28R(SEQ ID NO:2)和6个氨基酸的P28R核序列(肽32230)(FFVKLS)(SEQ ID NO:62)之间的比较。在存在癌血清时,P28R(SEQ ID NO:2)和P28R核(SEQ ID NO:62)均活化PBMC。

[1035] 此外,如通过免疫细胞化学或P28R包被的珠的重置(珠与细胞的结合)所证明的,生物素化的P28R已经显示与PBMC直接结合。

[1036] 总之,这些结果显示P28R(SEQ ID NO:2)能与P3028结合,去阻碍细胞受体以及还具有对免疫细胞的直接刺激活性。此外,P28R核(SEQ ID NO:62)可以结合P3028并去阻碍细胞受体。

[1037] 实施例39:P28R的细胞毒性活性

[1038] 在裸鼠和免疫活性鼠的体内模型中进一步研究P28R(SEQ ID NO:2)的作用。将P28R肿瘤内注入至裸鼠的异种移植模型中的人胰腺癌中在一天后证明了诱导肿瘤细胞细胞凋亡的能力。图44A和44B显示了对于Caspase3的免疫组织化学染色(440),表明了继续进行的细胞凋亡,其中与仅用药物溶剂处理的肿瘤(图44B)相比,在P28R处理的肿瘤中该酶有显著提高的活化(图44A)。同样指出了染色的缺失442。注意的是,显示的结果仅在在动物中施用P28R一天后获得,没有形成对肿瘤的免疫反应性的能力。

[1039] 因此,根据本文的一些实施方式,肿瘤内施用P28R可以对肿瘤细胞有细胞毒性作用。在一些实施方式中,P28R对肿瘤细胞有直接的细胞毒性作用。

[1040] 实施例40:P28R的治疗活性

[1041] 在接种B16黑色素瘤的免疫活性小鼠C57B1中研究了P28R(SEQ ID NO:2)活化免疫系统并从而诱导肿瘤细胞裂解的能力。将100微升中的40微克P28R肿瘤内注射并在3天后取出肿瘤。如在图45中所示的,该处理后所述肿瘤中的主要细胞是炎症细胞,这是通过使用多克隆兔抗CD45抗体通过免疫组织化学染色450而鉴定的(图45A)。用于对照,将对照肿瘤切片与同浓度的兔IgG一起培养(图45B)。同样指出了染色的缺失452。

[1042] 因此,证明了P28R可以诱导通过炎症细胞的B16黑色素瘤肿瘤的浸润。根据本文的一些实施方式,P28R可以诱导通过免疫细胞的肿瘤(例如,黑色素瘤)浸润。

[1043] 实施例41:修饰的肽对免疫细胞刺激的作用

[1044] 研究了多种氨基酸取代和添加对免疫刺激作用的影响。评估了修饰的肽对健康对照人的PBMC活化的作用。使用流式细胞术将活化测量为具有增加的标记物CD69或CD71的细胞的百分比。将PBMC与所述肽(40μg/ml)在RPMI加10%人AB血清中培养48小时。对于每种肽实施两个实验(分别为图46A中的460和462;图46B中的464和466)。检测了肽P28R(SEQ ID NO:2)、P28R核(肽32230)(SEQ ID NO:62)、32251(KKLDTFPPKLSLFTER)(SEQ ID NO:592)、32814(RKLDTFPPKLSLFTERRR)(SEQ ID NO:591)、32815(KKLDQFFVKLSQHNER)(SEQ ID NO:

595)、32665 (SEQ ID NO:593) 和32819 (SEQ ID NO:594)。

[1045] 如在图46中所示的,肽32814 (SEQ ID NO:591) 在短期培养物中具有与P28R (SEQ ID NO:2) (批次CS8040) 相似的刺激作用。因此,如通过增加的CD69 (图46A) 以及增加的CD71 (图46B) 所指示的,肽32814 (SEQ ID NO:591) 活化健康的PBMC。

[1046] 实施例42:诊断应用

[1047] 除了治疗应用,同样预期P28R及其截短体和修饰物的诊断应用。例如,使用包含P28R或其截短体或修饰物的试剂可以获得关于病患系统和局部(肿瘤内)免疫状况的信息。

[1048] 可以预期通过免疫组织化学染色,使用抗P3028抗体或使用标记的P28R (SEQ ID NO:2) 或P28R核 (SEQ ID NO:62) (例如,生物素化的P28R或P28R核) 可以鉴定肿瘤内免疫抑制性3028结构的存在。图47显示了用生物素化的P28R染色人乳癌的两个区域。在图47B中观察到染色470。在图47A中没有观察到染色。指出了染色的缺失472。

[1049] 因此,根据本文的实施方式,使用标记的肽可以鉴定包含P3028结构的肿瘤的区域(以及不包含这些结构的区域)。

[1050] 实施例43:使用P28肽抑制剂治疗肿瘤

[1051] 鉴定了患有黑色素瘤的病患。将包含40 μ g/100ml的肽和PBS缓冲液的、被配制成凝胶样物质的药物组合物在肿瘤周边注入在病患中,每周一次,一共三周,其中所述肽由SEQ ID NO:2的氨基酸序列组成。观察到肿瘤细胞毒性。观察到免疫细胞侵袭肿瘤。

[1052] 实施例44:使用P28R核肽抑制剂治疗肿瘤

[1053] 鉴定了患有乳癌的病患。将包含80 μ g/100ml的肽和tris缓冲液的、被配制成凝胶样物质的药物组合物在肿瘤周边注入在病患中,其中所述肽由SEQ ID NO:62的氨基酸序列组成。观察到免疫细胞侵袭肿瘤。

[1054] 实施例45:使用P28R修饰肽抑制剂治疗肿瘤

[1055] 鉴定了患有前列腺癌的病患。将包含溶解在水性缓冲溶液中的1mg/kg的肽的药物组合物系统性地施用给病患,每两天一次,一共5次施用,其中所述肽由SEQ ID NO:586的氨基酸序列组成。观察到肿瘤细胞毒性。观察到免疫细胞侵袭肿瘤。

序列表

<110> 卡尼姆盖德治疗学公司
L·霍坎松

<120> 免疫系统调节器

<130> FP1V160266LD/USKMO/HF

<150> 61/875,598

<151> 2013-09-09

<160> 595

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 1

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Phe	Lys	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu
1				5					10					15

<210> 2

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

[0001]

<220>

<223> 合成多肽

<400> 2

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 3

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 3

Arg	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 4

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 4

Lys	Lys	Gly	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 5

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

[0002]

<220>

<223> 合成多肽

<400> 5

Lys	Lys	Glu	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 6

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 6

Lys	Lys	Leu	Asp	Gln	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 7

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 7

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Ala	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 8

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 8

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Val	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 9

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 9

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Met	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 10

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 10

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Ser	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 11

<211> 16

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 11
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Val Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 12
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 12
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Thr Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 13
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 13
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Leu Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

[0003]

<210> 14
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 14
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Val Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 15
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 15
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Gln Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 16
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 16
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Met Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 17
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 17
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Thr Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 18
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 18
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu His Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 19
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 19
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Gln Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

[0004]

<210> 20
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 20
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Val Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 21
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 21
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Met Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 22
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 22

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Met Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 23
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 23
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Gln Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 24
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 24
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu His Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 25
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

[0005]

<400> 25
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Asn Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 26
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 26
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Pro Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 27
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 27
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Ser Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 28
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

[0006]

<223> 合成多肽

<400> 28

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Gly	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 29

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 29

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Ala	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 30

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 30

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Arg	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 31

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 31

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Asn	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 32

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 32

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Pro	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 33

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 33

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Arg	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 34

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 34

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu
1 5 10 15

<210> 35

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 35

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr
1 5 10

<210> 36

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 36

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe
1 5 10

[0007]

<210> 37

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 37

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu
1 5 10

<210> 38

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 38

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser
1 5 10

<210> 39

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 39

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu
1 5 10

[0008]

<210> 40	
<211> 9	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成多肽	
<400> 40	
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys	
1	5

<210> 41	
<211> 8	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成多肽	
<400> 41	
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val	
1	5

<210> 42	
<211> 7	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成多肽	
<400> 42	
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe	
1	5

<210> 43	
<211> 6	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成多肽	
<400> 43	
Lys Lys Leu Asp Thr Phe	
1	5

<210> 44	
<211> 5	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成多肽	
<400> 44	
Lys Lys Leu Asp Thr	
1	5

<210> 45	
<211> 4	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成多肽	
<400> 45	
Lys Lys Leu Asp	

1

<210> 46
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 46
Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 47
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 47
Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10

<210> 48
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

[0009]

<400> 48
Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10

<210> 49
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 49
Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10

<210> 50
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 50
Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10

<210> 51
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 51
Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10

<210> 52
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 52
Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5

<210> 53
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 53
Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5

<210> 54
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

[0010] <220>
<223> 合成多肽

<400> 54
Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5

<210> 55
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 55
Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5

<210> 56
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 56
Leu Phe Thr Glu Arg
1 5

<210> 57
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

[0011]

<220>

<223> 合成多肽

<400> 57

Phe Thr Glu Arg

1

<210> 58

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 58

Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu

1

5

10

<210> 59

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 59

Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr

1

5

10

<210> 60

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 60

Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe

1

5

10

<210> 61

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 61

Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu

1

5

<210> 62

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 62

Phe Phe Val Lys Leu Ser

1

5

<210> 63

<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 63
Phe Val Lys Leu
1

<210> 64
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 64
Lys Lys Leu Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 65
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 65
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

[0012]

<210> 66
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 66
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 67
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 67
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 68
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 68
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 69
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 69
Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Glu Arg
1 5 10

<210> 70
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 70
Lys Lys Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10

<210> 71
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

[0013] <400> 71
Lys Lys Leu Asp Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10

<210> 72
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 72
Lys Lys Leu Asp Thr Glu Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10

<210> 73
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 73
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10

<210> 74
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 74
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10

<210> 75
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 75
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Glu Arg
1 5 10

<210> 76
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 76
Lys Lys Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10

<210> 77
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

[0014] <220>
<223> 合成多肽

<400> 77
Lys Lys Leu Asp Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10

<210> 78
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 78
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10

<210> 79
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 79
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10

<210> 80
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 80

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Thr Glu Arg
1 5 10

<210> 81

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 81

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Arg
1 5 10

<210> 82

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 82

Lys Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10

<210> 83

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

[0015]

<220>

<223> 合成多肽

<400> 83

Lys Lys Leu Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10

<210> 84

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 84

Lys Lys Leu Asp Thr Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10

<210> 85

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 85

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10

<210> 86

<211> 12

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 86
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Thr Glu Arg
1 5 10

<210> 87
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 87
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Arg
1 5 10

<210> 88
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 88
Lys Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10

[0016]

<210> 89
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 89
Lys Lys Leu Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10

<210> 90
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 90
Lys Lys Leu Asp Thr Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10

<210> 91
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 91
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Phe Thr Glu Arg
1 5 10

<210> 92
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 92
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Glu Arg
1 5 10

<210> 93
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 93
Gly Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 94
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 94
Lys Lys Gly Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

[0017]

<210> 95
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 95
Lys Lys Leu Asp Gly Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 96
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 96
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Gly Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 97
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 97

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Gly Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 98
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 98
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Gly Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 99
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 99
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Gly Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 100
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

[0018]

<400> 100
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Gly Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 101
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 101
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Gly Arg
1 5 10 15

<210> 102
<211> 48
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 编码 P28R (SEQ ID NO:2) 的同义多聚核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> 9, 15, 24, 30, 33, 36, 42, 48
<223> N=A, G, C, or T

<400> 102
aaraarytng ayacnttytt ygtnaarytn wsnynttya cngarmgn 48

<210> 103
<211> 48
<212> DNA

	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码 P28R (SEQ ID NO:2)的示例性多聚核苷酸	
	<400> 103	
	aaaaaactgg ataccttttt tgtgaaactg agcctgttta ccgaacgc	48
	<210> 104	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO:3的同义多聚核苷酸	
	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> 3, 9, 15, 24, 30, 33, 36, 42, 48	
	<223> N=A, G, C, or T	
	<400> 104	
	mgnaarytng ayacnttytt ygtnaarytn wsnynttitya cngarmgn	48
	<210> 105	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO: 3的示例性NT	
	<400> 105	
	cgcaaactgg ataccttttt tgtgaaactg agcctgttta ccgaacgc	48
	<210> 106	
[0019]	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO:4的同义多聚核苷酸	
	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> 9, 15, 24, 30, 33, 36, 42, 48	
	<223> N=A, G, C, or T	
	<400> 106	
	aaraarggng ayacnttytt ygtnaarytn wsnynttitya cngarmgn	48
	<210> 107	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO: 4的示例性NT	
	<400> 107	
	aaaaaaggcg ataccttttt tgtgaaactg agcctgttta ccgaacgc	48
	<210> 108	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO:5的同义多聚核苷酸	
	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> 15, 24, 30, 33, 36, 42, 48	
	<223> N=A, G, C, or T	

[0020]	<400> 108 aaraargarg ayacnttytt ygtnaarytn wsnynttya cngarmgn	48
	<210> 109	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO: 5的示例性NT	
	<400> 109 aaaaaagaag ataccttttt tgtgaaactg agcctgttta ccgaacgc	48
	<210> 110	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO:6的同义多聚核苷酸	
	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> 9, 24, 30, 33, 36, 42, 48	
	<223> N=A, G, C, 或 T	
	<400> 110 aaraarytng aycarttytt ygtnaarytn wsnynttya cngarmgn	48
	<210> 111	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO: 6的示例性NT	
	<400> 111 aaaaaactgg atcagttttt tgtgaaactg agcctgttta ccgaacgc	48
	<210> 112	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO:7的同义多聚核苷酸	
	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> 9, 15, 18, 24, 30, 33, 36, 42, 48	
	<223> N=A, G, C, 或 T	
	<400> 112 aaraarytng ayacngcntt ygtnaarytn wsnynttya cngarmgn	48
	<210> 113	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO: 7的示例性NT	
	<400> 113 aaaaaactgg ataccgcgtt tgtgaaactg agcctgttta ccgaacgc	48
	<210> 114	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO:8的同义多聚核苷酸	

[0021]	<220>		
	<221> misc_feature		
	<222> 9, 15, 18, 24, 30, 36, 42, 48		
	<223> N=A, G, C, 或 T		
	<400> 114		
	aaraarytng ayacngtntt ygtnaarytn wsnynttitya cngarmgn	48	
	<210> 115		
	<211> 48		
	<212> DNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 编码SEQ ID NO: 8的示例性NT		
	<400> 115		
	aaaaaactgg ataccgtggtt tgtgaaactg agcctgttta ccgaacgc	48	
	<210> 116		
	<211> 48		
	<212> DNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 编码SEQ ID NO:9的同义多聚核苷酸		
	<220>		
	<221> misc_feature		
	<222> 9, 15, 24, 30, 33, 36, 42, 48		
	<223> N=A, G, C, 或 T		
	<400> 116		
	aaraarytng ayacnttyat ggtnaarytn wsnynttitya cngarmgn	48	
	<210> 117		
	<211> 48		
	<212> DNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 编码SEQ ID NO: 9的示例性NT		
	<400> 117		
	aaaaaactgg atacctttat ggtgaaactg agcctgttta ccgaacgc	48	
	<210> 118		
	<211> 48		
	<212> DNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 编码SEQ ID NO:10的同义多聚核苷酸		
	<220>		
	<221> misc_feature		
	<222> 9 15, 21, 24, 30, 33, 36, 42, 48		
	<223> N=A, G, C, 或 T		
	<400> 118		
	aaraarytng ayacnttyws ngtnaarytn wsnynttitya cngarmgn	48	
	<210> 119		
	<211> 48		
	<212> DNA		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 编码SEQ ID NO: 10的示例性NT		
	<400> 119		
	aaaaaactgg atacctttag cgtgaaactg agcctgttta ccgaacgc	48	
	<210> 120		

	<p><211> 48 <212> DNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 编码SEQ ID NO: 11的同义多聚核苷酸</p> <p><400> 120 aaaaaactgg atacctttgt ggtgaaactg agcctgttta ccgaacgc 48</p> <p><210> 121 <211> 48 <212> DNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 编码SEQ ID NO:11的示例性NT</p> <p><220> <221> misc_feature <222> 9, 15, 21, 24, 30, 33, 36, 42, 48 <223> N=A, G, C, 或 T</p> <p><400> 121 aaraarytng ayacnttygt ngtnaarytn wsnynttitya cngarmgn 48</p> <p><210> 122 <211> 48 <212> DNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 编码SEQ ID NO:12的同义多聚核苷酸</p> <p><220> <221> misc_feature <222> 9, 15, 21, 24, 30, 33, 36, 42, 48 <223> N=A, G, C, 或 T</p> <p>[0022]</p> <p><400> 122 aaraarytng ayacnttyac ngtnaarytn wsnynttitya cngarmgn 48</p> <p><210> 123 <211> 48 <212> DNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 编码SEQ ID NO: 12的示例性NT</p> <p><400> 123 aaaaaactgg atacctttac cgtgaaactg agcctgttta ccgaacgc 48</p> <p><210> 124 <211> 48 <212> DNA <213> 人工序列</p> <p><220> <223> 编码SEQ ID NO:13的同义多聚核苷酸</p> <p><220> <221> misc_feature <222> 9, 15, 21, 24, 30, 33, 36, 42, 48 <223> N=A, G, C, 或 T</p> <p><400> 124 aaraarytng ayacnttyyt ngtnaarytn wsnynttitya cngarmgn 48</p> <p><210> 125 <211> 48 <212> DNA <213> 人工序列</p> <p><220></p>
--	---

	<223> 编码SEQ ID NO: 13的示例性NT	
	<400> 125 aaaaaactgg atacctttct ggtgaaactg agcctgttta ccgaacgc	48
	<210> 126 <211> 48 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 编码SEQ ID NO:14的同义多聚核苷酸	
	<220> <221> misc_feature <222> 9, 15, 24, 30, 33, 36, 42, 48 <223> N=A, G, C, 或 T	
	<400> 126 aaraarytng ayacnttytt ygtnaargtn wsnynttiya cngarmgn	48
	<210> 127 <211> 48 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 编码SEQ ID NO: 14的示例性NT	
	<400> 127 aaaaaactgg ataccttttt tgtgaaagtg agcctgttta ccgaacgc	48
	<210> 128 <211> 48 <212> DNA <213> 人工序列	
[0023]	<220> <223> 编码SEQ ID NO:15的同义多聚核苷酸	
	<220> <221> misc_feature <222> 9, 15, 24, 30, 36, 42, 48 <223> N=A, G, C, 或 T	
	<400> 128 aaraarytng ayacnttytt ygtnaarytn carynttiya cngarmgn	48
	<210> 129 <211> 48 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 编码SEQ ID NO: 15的示例性NT	
	<400> 129 aaaaaactgg ataccttttt tgtgaaactg cagctgttta ccgaacgc	48
	<210> 130 <211> 48 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 编码SEQ ID NO:16的同义多聚核苷酸	
	<220> <221> misc_feature <222> 9, 15, 24, 30, 36, 42, 48 <223> N=A, G, C, 或 T	
	<400> 130 aaraarytng ayacnttytt ygtnaarytn atgynttiya cngarmgn	48

[0024]	<210> 131	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO: 16的示例性NT	
	<400> 131	
	aaaaaactgg ataccttttt tgtgaaactg atgctgttta ccgaacgc	48
	<210> 132	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO:17的同义多聚核苷酸	
	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> 9, 15, 24, 30, 33, 36, 42, 48	
	<223> N=A, G, C, 或 T	
	<400> 132	
	aaraarytng ayacnttytt ygtnaarytn acnytnnttya cngarmgn	48
	<210> 133	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO: 17的示例性NT	
	<400> 133	
	aaaaaactgg ataccttttt tgtgaaactg accctgttta ccgaacgc	48
	<210> 134	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO:18的同义多聚核苷酸	
	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> 9, 15, 24, 30, 33, 42, 48	
	<223> N=A, G, C, 或 T	
	<400> 134	
	aaraarytng ayacnttytt ygtnaarytn cayytnnttya cngarmgn	48
	<210> 135	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO: 18的示例性NT	
	<400> 135	
	aaaaaactgg ataccttttt tgtgaaactg catctgttta ccgaacgc	48
	<210> 136	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO:19的同义多聚核苷酸	
	<220>	
	<221> misc_feature	

	<222> 9, 15, 24, 30, 33, 42, 48 <223> N=A, G, C, 或 T	
	<400> 136 aaraarytng ayacnttytt ygtnaarytn wsnarttya cngarmgn	48
	<210> 137 <211> 48 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 编码SEQ ID NO: 19的示例性NT	
	<400> 137 aaaaaactgg ataccttttt tgtgaaactg agccagttaa ccgaacgc	48
	<210> 138 <211> 48 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 编码SEQ ID NO:20的同义多聚核苷酸	
	<220> <221> misc_feature <222> 9, 15, 24, 30, 33, 36, 42, 48 <223> N=A, G, C, 或 T	
	<400> 138 aaraarytng ayacnttytt ygtnaarytn wsngnttya cngarmgn	48
	<210> 139 <211> 48 <212> DNA <213> 人工序列	
[0025]	<220> <223> 编码SEQ ID NO: 20的示例性NT	
	<400> 139 aaaaaactgg ataccttttt tgtgaaactg agcgtgttaa ccgaacgc	48
	<210> 140 <211> 48 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 编码SEQ ID NO:21的同义多聚核苷酸	
	<220> <221> misc_feature <222> 9, 15, 24, 30, 33, 42, 48 <223> N=A, G, C, 或 T	
	<400> 140 aaraarytng ayacnttytt ygtnaarytn wsnatgttya cngarmgn	48
	<210> 141 <211> 48 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 编码SEQ ID NO: 21的示例性NT	
	<400> 141 aaaaaactgg ataccttttt tgtgaaactg agcatgttaa ccgaacgc	48
	<210> 142 <211> 48 <212> DNA <213> 人工序列	

	<220>		
	<223>	编码SEQ ID NO:22的同义多聚核苷酸	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	9, 15, 24, 30, 33, 36, 42, 48	
	<223>	N=A, G, C, 或 T	
	<400>	142	
		aaraarytng ayacnttytt ygtnaarytn wsnytnatga cngarmgn	48
	<210>	143	
	<211>	48	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<223>	编码SEQ ID NO: 22的示例性NT	
	<400>	143	
		aaaaaactgg ataccttttt tgtgaaactg agcctgatga ccgaacgc	48
	<210>	144	
	<211>	48	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<223>	编码SEQ ID NO:23的同义多聚核苷酸	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	9, 15, 24, 30, 33, 36, 42, 48	
	<223>	N=A, G, C, 或 T	
[0026]	<400>	144	
		aaraarytng ayacnttytt ygtnaarytn wsnytncara cngarmgn	48
	<210>	145	
	<211>	48	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<223>	编码SEQ ID NO: 23的示例性NT	
	<400>	145	
		aaaaaactgg ataccttttt tgtgaaactg agcctgcaga ccgaacgc	48
	<210>	146	
	<211>	48	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<223>	编码SEQ ID NO:24的同义多聚核苷酸	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	9, 15, 24, 30, 33, 36, 42, 48	
	<223>	N=A, G, C, 或 T	
	<400>	146	
		aaraarytng ayacnttytt ygtnaarytn wsnytncaya cngarmgn	48
	<210>	147	
	<211>	48	
	<212>	DNA	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<223>	编码SEQ ID NO: 24的示例性NT	
	<400>	147	

	aaaaaactgg ataccttttt tgtgaaactg agcctgcata ccgaacgc	48
	<210> 148	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO:25的同义多聚核苷酸	
	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> 9, 15, 24, 30, 33, 36, 42, 48	
	<223> N=A, G, C, 或 T	
	<400> 148	
	aaraarytng ayacnttytt ygtnaarytn wsnytnaaya cngarmgn	48
	<210> 149	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO: 25的示例性NT	
	<400> 149	
	aaaaaactgg ataccttttt tgtgaaactg agcctgaaca ccgaacgc	48
	<210> 150	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO:26的同义多聚核苷酸	
[0027]	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> 9, 15, 24, 30, 33, 36, 39, 42, 48	
	<223> N=A, G, C, 或 T	
	<400> 150	
	aaraarytng ayacnttytt ygtnaarytn wsnytnccna cngarmgn	48
	<210> 151	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO: 26的示例性NT	
	<400> 151	
	aaaaaactgg ataccttttt tgtgaaactg agcctgccga ccgaacgc	48
	<210> 152	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO:27的同义多聚核苷酸	
	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> 9, 15, 24, 30, 33, 36, 39, 42, 48	
	<223> N=A, G, C, 或 T	
	<400> 152	
	aaraarytng ayacnttytt ygtnaarytn wsnytnwsna cngarmgn	48
	<210> 153	
	<211> 48	
	<212> DNA	

	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO: 27的示例性NT	
	<400> 153	
	aaaaaactgg ataccttttt tgtgaaactg agcctgagca ccgaacgc	48
	<210> 154	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO:28的同义多聚核苷酸	
	<220>	
	<221> misc feature	
	<222> 9, 15, 24, 30, 33, 36, 39, 42, 48	
	<223> N=A, G, C, 或 T	
	<400> 154	
	aaraarytng ayacnttytt ygtnaarytn wsnytnggna cngarmgn	48
	<210> 155	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO: 28的示例性NT	
	<400> 155	
	aaaaaactgg ataccttttt tgtgaaactg agcctgggca ccgaacgc	48
	<210> 156	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO:29的同义多聚核苷酸	
	<220>	
	<221> misc feature	
	<222> 9, 15, 24, 30, 33, 36, 39, 42, 48	
	<223> N=A, G, C, 或 T	
	<400> 156	
	aaraarytng ayacnttytt ygtnaarytn wsnytngcna cngarmgn	48
	<210> 157	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO: 29的示例性NT	
	<400> 157	
	aaaaaactgg ataccttttt tgtgaaactg agcctggcga ccgaacgc	48
	<210> 158	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO:30的同义多聚核苷酸	
	<220>	
	<221> misc feature	
	<222> 9, 15, 24, 30, 33, 36, 39, 42, 48	
	<223> N=A, G, C, 或 T	

[0028]

[0029]	<400> 158 aaraarytng ayacnttytt ygtnaarytn wsnytnmgna engarmgn	48
	<210> 159	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO: 30的示例性NT	
	<400> 159 aaaaaactgg ataccttttt tgtgaaactg agcctgcgca ccgaacgc	48
	<210> 160	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO:31的同义多聚核苷酸	
	<220>	
	<221> misc feature	
	<222> 9, 15, 24, 30, 33, 36, 48	
	<223> N=A, G, C, 或 T	
	<400> 160 aaaaaactgg ataccttttt tgtgaaactg agcctgttta acgaacgc	48
	<210> 161	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO: 31的示例性NT	
[0029]	<400> 161 aaaaaactgg ataccttttt tgtgaaactg agcctgttta acgaacgc	48
	<210> 162	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO:32的同义多聚核苷酸	
	<220>	
	<221> misc feature	
	<222> 9, 15, 24, 30, 33, 36, 42, 48	
	<223> N=A, G, C, 或 T	
	<400> 162 aaraarytng ayacnttytt ygtnaarytn wsnytnntyc engarmgn	48
	<210> 163	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO: 32的示例性NT	
	<400> 163 aaaaaactgg ataccttttt tgtgaaactg agcctgtttc cggaacgc	48
	<210> 164	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 编码SEQ ID NO:33的同义多聚核苷酸	

	<220> <221> misc_feature <222> 9, 15, 24, 30, 33, 36, 42, 48 <223> N=A, G, C, 或 T	
	<400> 164 aaraarytng ayacnttytt ygtnaarytn wsnynttym gngarmgn	48
	<210> 165 <211> 48 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 编码SEQ ID NO: 33的示例性NT	
	<400> 165 aaaaaactgg ataccttttt tgtgaaactg agcctgtttc gcgaacgc	48
	<210> 166 <211> 16 <212> PRT <213> 人工序列	
	<220> <223> 合成多肽	
	<220> <221> 变体 <222> 1-5 <223> 可变长度区= KKLDL RKLDL, KKGLD, KKEDL, KKLDQ, KKGLDQ, KKEDQ, RKLDQ, RKGLDQ, RKEDQ, RKGLD, RKEDL, KLDL, KGLD, KEDL, KLDQ, KGLDQ, KEDQ, LDT, LDQ, GDT, GDQ, EDT, EDQ, DT, DQ, T, Q,	
[0030]	<220> <221> 变体 <222> 1-5 <223> 可变长度区= 或无氨基酸	
	<220> <221> 变体 <222> 6-7 <223> Xaa Xaa= FF, FM, FS, FV, FT, FL, AF, AM, AS, AV, AT, AL, VF, VM, VS, VV, VT, 或 VL	
	<220> <221> 变体 <222> 10-11 <223> Xaa Xaa= LS, LQ, LM, LT, LH, VS, VQ, VM, VT, 或 VH	
	<220> <221> 变体 <222> 12-14 <223> Xaa Xaa Xaa=LFT, LMT, LQT, LHT, LNT, LPT, LST, LGT, LAT, LRT, QFT, QMT, QQT, QHT, QNT, QPT, QST, QGT, QAT, QRT, VFT, VMT, VQT, VHT, VNT, VPT, VST, VGT, VAT, VRT, MFT, MMT, MQT, MHT, MNT, MPT, MST,	
	<220> <221> 变体 <222> (12)... (14) <223> Xaa Xaa Xaa=MGT, MAT, MRT, LFN, LMN, LQN, LHN, LNN, LPN, LSN, LGN, LAN, LRN, QFN, QMN, QQN, QHN, QNN, QPN, QSN, QGN, QAN, QRN, VFN, VMN, VQN, VHN, VNN, VPN, VSN, VGN, VAN, VRN, MFN, MMN, MQN, MHN,	
	<220> <221> 变体 <222> (12)... (14) <223> Xaa Xaa Xaa=MNN, MPN, MSN, MGN, MAN, MRN, LFP,	

LMP, LQP, LHP, LNP, LPP, LSP, LGP, LAP, LRP, QFP,
QMP, QQP, QHP, QNP, QPP, QSP, QGP, QAP, QRP, VFP,
VMP, VQP, VHP, VNP, VPP, VSP, VGP, VAP, VRP, MFP,

<220>

<221> 变体

<222> (12)... (14)

<223> Xaa Xaa Xaa=MMP, MQP, MHP, MNP, MPP, MSP, MGP,
MAP, MRPR, LFR, LMR, LQR, LHR, LNR, LPR, LSR, LGR,
LAR, LRR, QFR, QMR, QQR, QHR, QNR, QPR, QSR, QGR,
QAR, QRR, VFR, VMR, VQR, VHR, VNR, VPR, VSR, VGR,

<220>

<221> 变体

<222> (12)... (14)

<223> Xaa Xaa Xaa=VAR, VRR, MFR, MMR, MQR, MHR, MNR,
MPR, MSR, MGR, MAR, 或 MRR

<220>

<221> 变体

<222> (15)... (16)

<223> 可变长度区=ER, R, 或无氨基酸

<400> 166

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Val Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

<210> 167

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

[0031]

<220>

<223> 合成多肽

<400> 167

Lys Lys Leu Asp Thr
1 5

<210> 168

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 168

Arg Lys Leu Asp Thr
1 5

<210> 169

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 169

Lys Lys Gly Asp Thr
1 5

<210> 170

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

[0032]

<220>
 <223> 合成多肽

 <400> 170
 Lys Lys Glu Asp Thr
 1 5

<210> 171
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成多肽

 <400> 171
 Lys Lys Leu Asp Gln
 1 5

<210> 172
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成多肽

<400> 172
 Lys Leu Asp Thr
 1

<210> 173
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成多肽

<220>
 <221> 变体
 <222> 1-4
 <223> 可变长度区=KKLD, RKLD, KKGd, KKED,
 KLD, KGD, KED, LD, GD, ED, D, 或无氨基酸

<220>
 <221> 变体
 <222> 12-14
 <223> Xaa Xaa Xaa= LFT, LMT, LQT, LHT, LNT, LPT, LST,
 LGT, LAT, LRT, QFT, QMT, QQT, QHT, QNT, QPT, QST,
 QGT, QAT, QRT, VFT, VMT, VQT, VHT, VNT, VPT, VST,
 VGT, VAT, VRT, MFT, MMT, MQT, MHT, MNT, MPT, MST,

<220>
 <221> 变体
 <222> 12-14
 <223> Xaa Xaa Xaa= MGT, MAT, MRT, LFN, LMN, LQN, LHN,
 LNN, LPN, LSN, LGN, LAN, LRN, QFN, QMN, QQN, QHN,
 QNN, QPN, QSN, QGN, QAN, QRN, VFN, VMN, VQN, VHN,
 VNN, VPN, VSN, VGN, VAN, VRN, MFN, MMN, MQN, MHN,

<220>
 <221> 变体
 <222> 12-14
 <223> Xaa Xaa Xaa= MNN, MPN, MSN, MGN, MAN, MRN, LFP,
 LMP, LQP, LHP, LNP, LPP, LSP, LGP, LAP, LRP, QFP,
 QMP, QQP, QHP, QNP, QPP, QSP, QGP, QAP, QRP, VFP,
 VMP, VQP, VHP, VNP, VPP, VSP, VGP, VAP, VRP, MFP,

<220>
 <221> 变体

<222> 12-14
 <223> Xaa Xaa Xaa= MMP, MQP, MHP, MNP, MPP, MSP, MGP, MAP, MRPR, LFR, LMR, LQR, LHR, LNR, LPR, LSR, LGR, LAR, LRR, QFR, QMR, QQR, QHR, QNR, QPR, QSR, QGR, QAR, QRR, VFR, VMR, VQR, VHR, VNR, VPR, VSR, VGR,

<220>
 <221> 变体
 <222> (12)... (14)
 <223> Xaa Xaa Xaa= VAR, VRR, MFR, MMR, MQR, MHR, MNR, MPR, MSR, MGR, MAR, MRR, 或无氨基酸

<220>
 <221> 变体
 <222> (15)... (16)
 <223> 可变长度区=ER, R, 或无氨基酸

<400> 173
 Xaa Xaa Xaa Xaa Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10 15

<210> 174
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成多肽

<400> 174
 Lys Lys Leu Asp
 1

[0033]

<210> 175
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成多肽

<400> 175
 Arg Lys Leu Asp
 1

<210> 176
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成多肽

<400> 176
 Lys Lys Gly Asp
 1

<210> 177
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成多肽

<400> 177
 Lys Lys Glu Asp
 1

<210> 178
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 合成多肽

 <220>
 <221> 变体
 <222> 1-6
 <223> 可变长度区= KKLDTF, KLDTF, LDTF, DTF,
 TF, F, 或无氨基酸

<220>
 <221> 变体
 <222> 7
 <223> Xaa= F, S, M, V, T, L, 或无氨基酸

<220>
 <221> 变体
 <222> 11
 <223> Xaa= S, Q, M, T, 或 H

<220>
 <221> 变体
 <222> 13
 <223> Xaa= F, M, Q, H, N, P, S, G, A, 或 R

<220>
 <221> 变体
 <222> 16
 <223> Xaa= R, 或无氨基酸

[0034]

<400> 178
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Val Lys Leu Xaa Leu Xaa Thr Glu Xaa
 1 5 10 15

<210> 179
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成多肽

<400> 179
 Lys Lys Leu Asp Thr Phe
 1 5

<210> 180
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成多肽

<400> 180
 Lys Leu Asp Thr Phe
 1 5

<210> 181
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成多肽

	<400> 181 Leu Asp Thr Phe 1
	<210> 182 <211> 4 <212> PRT <213> 人工序列
	<220> <223> 合成多肽
	<400> 182 Phe Phe Val Lys 1
	<210> 183 <211> 23 <212> PRT <213> 人类
	<400> 183 Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg 1 5 10 15 His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro 20
	<210> 184 <211> 18 <212> PRT <213> 人类
[0035]	<400> 184 Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu 1 5 10 15 Val Arg
	<210> 185 <211> 17 <212> PRT <213> 人类
	<400> 185 Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile 1 5 10 15 Lys
	<210> 186 <211> 10 <212> PRT <213> 人类
	<400> 186 Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu 1 5 10
	<210> 187 <211> 7 <212> PRT <213> 人类
	<400> 187 Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys 1 5
	<210> 188

<211> 15
<212> PRT
<213> 人类

<400> 188
Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg
1 5 10 15

<210> 189
<211> 12
<212> PRT
<213> 人类

<400> 189
Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr
1 5 10

<210> 190
<211> 12
<212> PRT
<213> 人类

<400> 190
Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu
1 5 10

<210> 191
<211> 11
<212> PRT
<213> 人类

<400> 191
Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
1 5 10

[0036]

<210> 192
<211> 12
<212> PRT
<213> 人类

<400> 192
Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu
1 5 10

<210> 193
<211> 11
<212> PRT
<213> 人类

<400> 193
Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe
1 5 10

<210> 194
<211> 8
<212> PRT
<213> 人类

<400> 194
Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
1 5

<210> 195
<211> 15
<212> PRT
<213> 人类

<400> 195

Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg
1 5 10 15

<210> 196
<211> 17
<212> PRT
<213> 人类

<400> 196
Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile
1 5 10 15
Lys

<210> 197
<211> 14
<212> PRT
<213> 人类

<400> 197
Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg
1 5 10

<210> 198
<211> 16
<212> PRT
<213> 人类

<400> 198
Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys
1 5 10 15

[0037]

<210> 199
<211> 8
<212> PRT
<213> 人类

<400> 199
Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg
1 5

<210> 200
<211> 9
<212> PRT
<213> 人类

<400> 200
Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys
1 5

<210> 201
<211> 12
<212> PRT
<213> 人类

<400> 201
Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys
1 5 10

<210> 202
<211> 8
<212> PRT
<213> 人类

<400> 202
Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg
1 5

<210> 203
<211> 7
<212> PRT
<213> 人类

<400> 203
Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
1 5

<210> 204
<211> 13
<212> PRT
<213> 人类

<400> 204
Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys
1 5 10

<210> 205
<211> 12
<212> PRT
<213> 人类

<400> 205
Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys
1 5 10

<210> 206
<211> 9
<212> PRT
<213> 人类

[0038] <400> 206
Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg
1 5

<210> 207
<211> 13
<212> PRT
<213> 人类

<400> 207
Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys
1 5 10

<210> 208
<211> 12
<212> PRT
<213> 人类

<400> 208
Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys
1 5 10

<210> 209
<211> 8
<212> PRT
<213> 人类

<400> 209
Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys
1 5

<210> 210
<211> 13
<212> PRT
<213> 人类

<400> 210
Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys
1 5 10

<210> 211
<211> 13
<212> PRT
<213> 人类

<400> 211
Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys
1 5 10

<210> 212
<211> 17
<212> PRT
<213> 人类

<400> 212
Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
1 5 10 15
Arg

<210> 213
<211> 10
<212> PRT
<213> 人类

<400> 213
Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys
1 5 10

[0039]

<210> 214
<211> 12
<212> PRT
<213> 人类

<400> 214
Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys
1 5 10

<210> 215
<211> 9
<212> PRT
<213> 人类

<400> 215
Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys
1 5

<210> 216
<211> 8
<212> PRT
<213> 人类

<400> 216
Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg
1 5

<210> 217
<211> 18
<212> PRT
<213> 人类

<400> 217
Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys

	1	5	10	15
	Val Ala			
	<210> 218			
	<211> 24			
	<212> PRT			
	<213> 人类			
	<400> 218			
	Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala			
	1 5 10 15			
	Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu			
	20			
	<210> 219			
	<211> 23			
	<212> PRT			
	<213> 人类			
	<400> 219			
	Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro			
	1 5 10 15			
	Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val			
	20			
	<210> 220			
	<211> 17			
	<212> PRT			
	<213> 人类			
	<400> 220			
	Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr His			
	1 5 10 15			
[0040]	Ala			
	<210> 221			
	<211> 27			
	<212> PRT			
	<213> 人类			
	<400> 221			
	Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu			
	1 5 10 15			
	Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn			
	20 25			
	<210> 222			
	<211> 16			
	<212> PRT			
	<213> 人类			
	<400> 222			
	Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met			
	1 5 10 15			
	<210> 223			
	<211> 34			
	<212> PRT			
	<213> 人类			
	<400> 223			
	Tyr Ser Val Val Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr			
	1 5 10 15			
	Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys			
	20 25 30			
	Val Phe			

<210> 224
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> 人类

<400> 224
 Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala
 1 5 10 15
 Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln
 20 25 30
 His Lys

<210> 225
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> 人类

<400> 225
 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 1 5 10 15
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 20 25 30
 Lys Ala Val Met
 35

<210> 226
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> 人类

[0041] <400> 226
 Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu
 1 5 10 15
 Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys His Cys Ile Ala Glu
 20 25 30
 Val Glu Asn
 35

<210> 227
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人类

<400> 227
 Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp
 1 5 10 15
 Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr
 20 25 30
 Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala
 35 40

<210> 228
 <211> 42
 <212> PRT
 <213> 人类

<400> 228
 Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln
 1 5 10 15
 Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu
 20 25 30
 Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala
 35 40

<210> 229
 <211> 40
 <212> PRT

<213> 人类

<400> 229

Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys
1 5 10 15
Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn
20 25 30
Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala
35 40

<210> 230

<211> 42

<212> PRT

<213> 人类

<400> 230

Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr
1 5 10 15
Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val
20 25 30
Asn Arg Arg Pro Phe Ser Ala Leu Glu Val
35 40

<210> 231

<211> 10

<212> PRT

<213> 人类

<400> 231

Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys
1 5 10

[0042]

<210> 232

<211> 9

<212> PRT

<213> 人类

<400> 232

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys
1 5

<210> 233

<211> 8

<212> PRT

<213> 人类

<400> 233

Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg
1 5

<210> 234

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> P28R truncation

<400> 234

Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys
1 5 10

<210> 235

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> P28R truncation

[0043]

<400> 235

Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
1 5

<210> 236

<211> 9

<212> PRT

<213> 人类

<400> 236

Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys
1 5

<210> 237

<211> 12

<212> PRT

<213> 人类

<400> 237

Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys
1 5 10

<210> 238

<211> 12

<212> PRT

<213> 人类

<400> 238

Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys
1 5 10

<210> 239

<211> 11

<212> PRT

<213> 人类

<400> 239

His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg
1 5 10

<210> 240

<211> 13

<212> PRT

<213> 人类

<400> 240

Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys
1 5 10

<210> 241

<211> 13

<212> PRT

<213> 人类

<400> 241

Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys
1 5 10

<210> 242

<211> 8

<212> PRT

<213> 人类

<400> 242

Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg
1 5

<210> 243
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人类

<400> 243
 Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg
 1 5

<210> 244
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人类

<400> 244
 Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys
 1 5 10

<210> 245
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人类

<400> 245
 Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys
 1 5

<210> 246
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人类

[0044] <400> 246
 Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg
 1 5

<210> 247
 <211> 272
 <212> PRT
 <213> 人类

<400> 247
 Met Asp Ser Tyr Leu Leu Met Trp Gly Leu Leu Thr Phe Ile Met Val
 1 5 10 15
 Pro Gly Cys Gln Ala Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro
 20 25 30
 His Ala Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn
 35 40 45
 Cys Glu Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr
 50 55 60
 Met Leu Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys
 65 70 75 80
 Gln Cys Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro
 85 90 95
 Gln Pro Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro
 100 105 110
 Met Gln Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro
 115 120 125
 Pro Pro Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val
 130 135 140
 Gly Gln Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His
 145 150 155 160
 Arg Gly Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg
 165 170 175
 Trp Thr Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Glu Met Glu Thr Ser Gln
 180 185 190
 Phe Pro Gly Glu Glu Lys Pro Gln Ala Ser Pro Glu Gly Arg Pro Glu
 195 200 205
 Ser Glu Thr Ser Cys Leu Val Thr Thr Thr Asp Phe Gln Ile Gln Thr
 210 215 220

Glu Met Ala Ala Thr Met Glu Thr Ser Ile Phe Thr Thr Glu Tyr Gln
 225 230 235 240
 Val Ala Val Ala Gly Cys Val Phe Leu Leu Ile Ser Val Leu Leu Leu
 245 250 255
 Ser Gly Leu Thr Trp Gln Arg Arg Gln Arg Lys Ser Arg Arg Thr Ile
 260 265 270

<210> 248
 <211> 1170
 <212> PRT
 <213> 人类

<400> 248
 Met Lys Asp Ser Cys Ile Thr Val Met Ala Met Ala Leu Leu Ser Gly
 1 5 10 15
 Phe Phe Phe Phe Ala Pro Ala Ser Ser Tyr Asn Leu Asp Val Arg Gly
 20 25 30
 Ala Arg Ser Phe Ser Pro Pro Arg Ala Gly Arg His Phe Gly Tyr Arg
 35 40 45
 Val Leu Gln Val Gly Asn Gly Val Ile Val Gly Ala Pro Gly Glu Gly
 50 55 60
 Asn Ser Thr Gly Ser Leu Tyr Gln Cys Gln Ser Gly Thr Gly His Cys
 65 70 75 80
 Leu Pro Val Thr Leu Arg Gly Ser Asn Tyr Thr Ser Lys Tyr Leu Gly
 85 90 95
 Met Thr Leu Ala Thr Asp Pro Thr Asp Gly Ser Ile Leu Ala Cys Asp
 100 105 110
 Pro Gly Leu Ser Arg Thr Cys Asp Gln Asn Thr Tyr Leu Ser Gly Leu
 115 120 125
 Cys Tyr Leu Phe Arg Gln Asn Leu Gln Gly Pro Met Leu Gln Gly Arg
 130 135 140
 Pro Gly Phe Gln Glu Cys Ile Lys Gly Asn Val Asp Leu Val Phe Leu
 145 150 155 160
 Phe Asp Gly Ser Met Ser Leu Gln Pro Asp Glu Phe Gln Lys Ile Leu
 165 170 175
 Asp Phe Met Lys Asp Val Met Lys Lys Leu Ser Asn Thr Ser Tyr Gln
 180 185 190
 Phe Ala Ala Val Gln Phe Ser Thr Ser Tyr Lys Thr Glu Phe Asp Phe
 195 200 205
 Ser Asp Tyr Val Lys Arg Lys Asp Pro Asp Ala Leu Leu Lys His Val
 210 215 220
 Lys His Met Leu Leu Leu Thr Asn Thr Phe Gly Ala Ile Asn Tyr Val
 225 230 235 240
 Ala Thr Glu Val Phe Arg Glu Glu Leu Gly Ala Arg Pro Asp Ala Thr
 245 250 255
 Lys Val Leu Ile Ile Thr Asp Gly Glu Ala Thr Asp Ser Gly Asn
 260 265 270
 Ile Asp Ala Ala Lys Asp Ile Ile Arg Tyr Ile Ile Gly Ile Gly Lys
 275 280 285
 His Phe Gln Thr Lys Glu Ser Gln Glu Thr Leu His Lys Phe Ala Ser
 290 295 300
 Lys Pro Ala Ser Glu Phe Val Lys Ile Leu Asp Thr Phe Glu Lys Leu
 305 310 315 320
 Lys Asp Leu Phe Thr Glu Leu Gln Lys Lys Ile Tyr Val Ile Glu Gly
 325 330 335
 Thr Ser Lys Gln Asp Leu Thr Ser Phe Asn Met Glu Leu Ser Ser Ser
 340 345 350
 Gly Ile Ser Ala Asp Leu Ser Arg Gly His Ala Val Val Gly Ala Val
 355 360 365
 Gly Ala Lys Asp Trp Ala Gly Gly Phe Leu Asp Leu Lys Ala Asp Leu
 370 375 380
 Gln Asp Asp Thr Phe Ile Gly Asn Glu Pro Leu Thr Pro Glu Val Arg
 385 390 395 400
 Ala Gly Tyr Leu Gly Tyr Thr Val Thr Trp Leu Pro Ser Arg Gln Lys
 405 410 415
 Thr Ser Leu Leu Ala Ser Gly Ala Pro Arg Tyr Gln His Met Gly Arg
 420 425 430
 Val Leu Leu Phe Gln Glu Pro Gln Gly Gly Gly His Trp Ser Gln Val
 435 440 445
 Gln Thr Ile His Gly Thr Gln Ile Gly Ser Tyr Phe Gly Gly Glu Leu
 450 455 460
 Cys Gly Val Asp Val Asp Gln Asp Gly Glu Thr Glu Leu Leu Leu Ile
 465 470 475 480
 Gly Ala Pro Leu Phe Tyr Gly Glu Gln Arg Gly Gly Arg Val Phe Ile

[0045]

Tyr	Gln	Arg	Arg	Gln	Leu	Gly	Phe	Glu	Glu	Val	Ser	Glu	Leu	Gln	Gly
Asp	Pro	Gly	500	Pro	Leu	Gly	Arg	505	Gly	Glu	Ala	Ile	510	Ala	Leu
Thr	Asp	Ile	Asn	Gly	Asp	Gly	Leu	Val	Asp	Val	Ala	Val	Gly	Ala	Pro
Leu	Glu	Glu	Gln	Gly	Ala	Val	Tyr	Ile	Phe	Asn	Gly	Arg	His	Gly	Gly
545	Leu	Ser	Pro	Gln	550	Ser	Gln	Arg	Ile	Glu	Gly	Thr	Gln	Val	560
Leu	Ser	Pro	Gln	565	Ser	Gln	Arg	Ile	Glu	Gly	Thr	Gln	Val	Leu	Ser
Gly	Ile	Gln	Trp	580	Phe	Gly	Arg	Ser	Ile	His	Gly	Val	Lys	Asp	Glu
Gly	Asp	Gly	Leu	Ala	Asp	Val	Ala	Val	Gly	Ala	Glu	Ser	Gln	Met	Ile
Val	Leu	Ser	Ser	Arg	Pro	Val	Val	Asp	Met	Val	Thr	Leu	Met	Ser	Phe
Ser	Pro	Ala	Glu	Ile	Pro	Val	His	Glu	Val	Glu	Cys	Ser	Tyr	Ser	Thr
625	Ser	Asn	Lys	Met	645	Glu	Gly	Val	Asn	Ile	Thr	Ile	Cys	Phe	Gln
Ser	Ser	Leu	Ile	Pro	Gln	Phe	Gln	Gly	Arg	Leu	Val	Ala	Asn	Leu	Thr
Tyr	Thr	Leu	Gln	Leu	Asp	Gly	His	Arg	Thr	Arg	Arg	Arg	Gly	Leu	Phe
Pro	Gly	Gly	Arg	His	Glu	Leu	Arg	Arg	Asn	Ile	Ala	Val	Thr	Thr	Ser
Met	Ser	Cys	Thr	Asp	Phe	Ser	Phe	His	Phe	Pro	Val	Cys	Val	Gln	Asp
705	Leu	Ile	Ser	Pro	Ile	Asn	Val	Ser	Leu	Asn	Phe	Ser	Leu	Trp	Glu
Glu	Gly	Thr	Pro	Arg	Asp	Gln	Arg	Ala	Gln	Gly	Lys	Asp	Ile	Pro	Pro
Ile	Leu	Arg	Pro	Ser	Leu	His	Ser	Glu	Thr	Trp	Glu	Ile	Pro	Phe	Glu
Lys	Asn	Cys	Gly	Glu	Asp	Lys	Lys	Cys	Glu	Ala	Asn	Leu	Arg	Val	Ser
Phe	Ser	Pro	Ala	Arg	Ser	Arg	Ala	Leu	Arg	Leu	Thr	Ala	Phe	Ala	Ser
785	Leu	Ser	Val	Glu	Leu	Ser	Leu	Ser	Asn	Leu	Glu	Glu	Asp	Ala	Tyr
Val	Gln	Leu	Asp	Leu	His	Phe	Pro	Pro	Gly	Leu	Ser	Phe	Arg	Lys	Val
Glu	Met	Leu	Lys	Pro	His	Ser	Gln	Ile	Pro	Val	Ser	Cys	Glu	Glu	Leu
Pro	Glu	Glu	Ser	Arg	Leu	Leu	Ser	Arg	Ala	Leu	Ser	Cys	Asn	Val	Ser
Ser	Pro	Ile	Phe	Lys	Ala	Gly	His	Ser	Val	Ala	Leu	Gln	Met	Met	Phe
865	Asn	Thr	Leu	Val	Asn	Ser	Ser	Trp	Gly	Asp	Ser	Val	Glu	Leu	His
Asn	Val	Thr	Cys	Asn	Asn	Glu	Asp	Ser	Asp	Leu	Leu	Glu	Asp	Asn	Ser
Ala	Thr	Thr	Ile	Ile	Pro	Ile	Leu	Tyr	Pro	Ile	Asn	Ile	Leu	Ile	Gln
Asp	Gln	Glu	Asp	Ser	Thr	Leu	Tyr	Val	Ser	Phe	Thr	Pro	Lys	Gly	Pro
Lys	Ile	His	Gln	Val	Lys	His	Met	Tyr	Gln	Val	Arg	Ile	Gln	Pro	Ser
945	Ile	His	Asp	His	Asn	Ile	Pro	Thr	Leu	Glu	Ala	Val	Val	Gly	Val
Gln	Pro	Pro	Ser	Glu	Gly	Pro	Ile	Thr	His	Gln	Trp	Ser	Val	Gln	Met
Glu	Pro	Pro	Val	Pro	Cys	His	Tyr	Glu	Asp	Leu	Glu	Arg	Leu	Pro	Asp
Ala	Ala	Glu	Pro	Cys	Leu	Pro	Gly	Ala	Leu	Phe	Arg	Cys	Pro	Val	Val
Phe	Arg	Gln	Glu	Ile	Leu	Val	Gln	Val	Ile	Gly	Thr	Leu	Glu	Leu	Val
1025	Gly	Glu	Ile	Glu	Ala	Ser	Ser	Met	Phe	Ser	Leu	Cys	Ser	Ser	Leu
Ile	Ser	Phe	Asn	Ser	Ser	Lys	His	Phe	His	Leu	Tyr	Gly	Ser	Asn	Ala
Ser	Leu	Ala	Gln	Val	Val	Met	Lys	Val	Asp	Val	Val	Tyr	Glu	Lys	Gln
1075							1080					1085			

Met Leu Tyr Leu Tyr Val Leu Ser Gly Ile Gly Gly Leu Leu Leu Leu
 1090 1095 1100
 Leu Leu Ile Phe Ile Val Leu Tyr Lys Val Gly Phe Phe Lys Arg Asn
 1105 1110 1115 1120
 Leu Lys Glu Lys Met Glu Ala Gly Arg Gly Val Pro Asn Gly Ile Pro
 1125 1130 1135
 Ala Glu Asp Ser Glu Gln Leu Ala Ser Gly Gln Glu Ala Gly Asp Pro
 1140 1145 1150
 Gly Cys Leu Lys Pro Leu His Glu Lys Asp Ser Glu Ser Gly Gly Gly
 1155 1160 1165
 Lys Asp
 1170

<210> 249
 <211> 600
 <212> PRT
 <213> 人类

<400> 249
 Met Leu Gly Leu Arg Pro Pro Leu Leu Ala Leu Val Gly Leu Leu Ser
 1 5 10 15
 Leu Gly Cys Val Leu Ser Gln Glu Cys Thr Lys Phe Lys Val Ser Ser
 20 25 30
 Cys Arg Glu Cys Ile Glu Ser Gly Pro Gly Cys Thr Trp Cys Gln Lys
 35 40 45
 Leu Asn Phe Thr Gly Pro Gly Asp Pro Asp Ser Ile Arg Cys Asp Thr
 50 55 60
 Arg Pro Gln Leu Leu Met Arg Gly Cys Ala Ala Asp Asp Ile Met Asp
 65 70 75 80
 Pro Thr Ser Leu Ala Glu Thr Gln Glu Asp His Asn Gly Gly Gln Lys
 85 90 95
 Gln Leu Ser Pro Gln Lys Val Thr Leu Tyr Leu Arg Pro Gly Gln Ala
 100 105 110
 Ala Ala Phe Asn Val Thr Phe Arg Arg Ala Lys Gly Tyr Pro Ile Asp
 115 120 125
 Leu Tyr Tyr Leu Met Asp Leu Ser Tyr Ser Met Leu Asp Asp Leu Arg
 130 135 140
 Asn Val Lys Lys Leu Gly Gly Asp Leu Leu Arg Ala Leu Asn Glu Ile
 145 150 155 160
 Thr Glu Ser Gly Arg Ile Gly Phe Gly Ser Phe Val Asp Lys Thr Val
 165 170 175
 Leu Pro Phe Val Asn Thr His Pro Asp Lys Leu Arg Asn Pro Cys Pro
 180 185 190
 Asn Lys Glu Lys Glu Cys Gln Pro Pro Phe Ala Phe Arg His Val Leu
 195 200 205
 Lys Leu Thr Asn Asn Ser Asn Gln Phe Gln Thr Glu Val Gly Lys Gln
 210 215 220
 Leu Ile Ser Gly Asn Leu Asp Ala Pro Glu Gly Gly Leu Asp Ala Met
 225 230 235 240
 Met Gln Val Ala Ala Cys Pro Glu Glu Ile Gly Trp Arg Asn Val Thr
 245 250 255
 Arg Leu Leu Val Phe Ala Thr Asp Asp Gly Phe His Phe Ala Gly Asp
 260 265 270
 Gly Lys Leu Gly Ala Ile Leu Thr Pro Asn Asp Gly Arg Cys His Leu
 275 280 285
 Glu Asp Asn Leu Tyr Lys Arg Ser Asn Glu Phe Asp Tyr Pro Ser Val
 290 295 300
 Gly Gln Leu Ala His Lys Leu Ala Glu Asn Asn Ile Gln Pro Ile Phe
 305 310 315 320
 Ala Val Thr Ser Arg Met Val Lys Thr Tyr Glu Lys Leu Thr Glu Ile
 325 330 335
 Ile Pro Lys Ser Ala Val Gly Glu Leu Ser Glu Asp Ser Ser Asn Val
 340 345 350
 Val His Leu Ile Lys Asn Ala Tyr Asn Lys Leu Ser Ser Arg Val Phe
 355 360 365
 Leu Asp His Asn Ala Leu Pro Asp Thr Leu Lys Val Thr Tyr Asp Ser
 370 375 380
 Phe Cys Ser Asn Gly Val Thr His Arg Asn Gln Pro Arg Gly Asp Cys
 385 390 395 400
 Asp Gly Val Gln Ile Asn Val Pro Ile Thr Phe Gln Val Lys Val Thr
 405 410 415
 Ala Thr Glu Cys Ile Gln Glu Gln Ser Phe Val Ile Arg Ala Leu Gly
 420 425 430
 Phe Thr Asp Ile Val Thr Val Gln Val Leu Pro Gln Cys Glu Cys Arg

[0047]

```

      435      440      445
Cys Arg Asp Gln Ser Arg Asp Arg Ser Leu Cys His Gly Lys Gly Phe
      450      455      460
Leu Glu Cys Gly Ile Cys Arg Cys Asp Thr Gly Tyr Ile Gly Lys Asn
465      470      475      480
Cys Glu Cys Gln Thr Gln Gly Arg Ser Ser Gln Glu Leu Glu Gly Ser
      485      490      495
Cys Arg Lys Asp Asn Asn Ser Ile Ile Cys Ser Gly Leu Gly Asp Cys
      500      505      510
Val Cys Gly Gln Cys Leu Cys His Thr Ser Asp Val Pro Gly Lys Leu
      515      520      525
Ile Tyr Gly Gln Tyr Cys Glu Cys Asp Thr Ile Asn Cys Glu Arg Tyr
      530      535      540
Asn Gly Gln Val Cys Gly Gly Pro Gly Arg Gly Leu Cys Phe Cys Gly
545      550      555      560
Lys Cys Arg Cys His Pro Gly Phe Glu Gly Ser Ala Cys Gln Cys Glu
      565      570      575
Arg Thr Thr Glu Gly Cys Leu Asn Pro Arg Arg Val Glu Cys Ser Gly
      580      585      590
Arg Gly Arg Cys Arg Cys Asn Val
      595      600

```

<210> 250

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> P28R 截短体

<400> 250

```

Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1              5              10

```

[0048]

<210> 251

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> P28R 截短体

<400> 251

```

Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu
1              5

```

<210> 252

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 252

```

Lys Lys Gly Asp Gln
1              5

```

<210> 253

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 253

```

Lys Lys Glu Asp Gln
1              5

```

<210> 254
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 254
Arg Lys Leu Asp Gln
1 5

<210> 255
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 255
Arg Lys Gly Asp Gln
1 5

<210> 256
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 256
Arg Lys Glu Asp Gln
1 5

[0049]

<210> 257
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 257
Arg Lys Gly Thr Asp
1 5

<210> 258
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 258
Arg Lys Glu Asp Thr
1 5

<210> 259
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 259
Lys Gly Asp Thr

	1
	<210> 260
	<211> 4
	<212> PRT
	<213> 人工序列
	<220>
	<223> 合成肽
	<400> 260
	Lys Glu Asp Thr
	1
	<210> 261
	<211> 4
	<212> PRT
	<213> 人工序列
	<220>
	<223> 合成肽
	<400> 261
	Lys Leu Asp Gln
	1
	<210> 262
	<211> 4
	<212> PRT
	<213> 人工序列
	<220>
	<223> 合成肽
[0050]	<400> 262
	Lys Gly Asp Gln
	1
	<210> 263
	<211> 4
	<212> PRT
	<213> 人工序列
	<220>
	<223> 合成肽
	<400> 263
	Lys Glu Asp Gln
	1
	<210> 264
	<211> 16
	<212> PRT
	<213> 人工序列
	<220>
	<223> 合成肽
	<400> 264
	Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Lys Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
	1 5 10 15
	<210> 265
	<211> 9
	<212> PRT
	<213> 人工序列
	<220>
	<223> 合成肽

<400> 265
Cys Leu Ala Leu Asn Val Met Cys Gly
1 5

<210> 266
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 266
Cys Leu Arg Leu Asn Val Phe Cys Gly
1 5

<210> 267
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 267
Cys Leu Arg Leu Ile Val Met Cys Gly
1 5

<210> 268
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

[0051]

<220>
<223> 合成肽

<400> 268
Ala Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 269
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 269
Asp Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 270
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 270
Glu Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 271
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 271

Gly Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 272

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 272

His Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 273

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 273

Ile Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 274

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 274

Leu Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 275

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 275

Met Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 276

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 276

Asn Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 277

[0052]

<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 277
Pro Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 278
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 278
Gln Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 279
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 279
Arg Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

[0053]

<210> 280
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 280
Thr Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 281
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 281
Val Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 282
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 282
Lys Lys Ala Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 283
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 283
Lys Lys Cys Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 284
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 284
Lys Lys Asp Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 285
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

[0054] <400> 285
Lys Lys Glu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 286
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 286
Lys Lys Phe Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 287
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 287
Lys Lys Gly Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 288
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 288
Lys Lys His Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 289
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 289
Lys Lys Ile Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 290
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 290
Lys Lys Lys Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 291
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

[0055]

<220>
<223> 合成肽

<400> 291
Lys Lys Met Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 292
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 292
Lys Lys Asn Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 293
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 293
Lys Lys Gln Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 294
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

[0056]

<220>

<223> 合成肽

<400> 294

Lys	Lys	Arg	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 295

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 295

Lys	Lys	Ser	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 296

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 296

Lys	Lys	Thr	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 297

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 297

Lys	Lys	Val	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 298

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 298

Lys	Lys	Leu	Ala	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 299

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 299

Lys	Lys	Leu	Glu	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 300

<211> 16

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 300
Lys Lys Leu Ile Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 301
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 301
Lys Lys Leu Val Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 302
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 302
Lys Lys Leu Trp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

[0057]

<210> 303
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 303
Lys Lys Leu Tyr Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 304
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 304
Lys Lys Leu Asp Cys Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 305
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 305
Lys Lys Leu Asp Met Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 306
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 306
Lys Lys Leu Asp Asn Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 307
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 307
Lys Lys Leu Asp Pro Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 308
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 308
Lys Lys Leu Asp Gln Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

[0058]

<210> 309
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 309
Lys Lys Leu Asp Arg Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 310
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 310
Lys Lys Leu Asp Ser Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 311
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 311

Lys Lys Leu Asp Trp Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 312
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 312
Lys Lys Leu Asp Tyr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 313
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 313
Lys Lys Leu Asp Thr Ala Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 314
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

[0059]

<400> 314
Lys Lys Leu Asp Thr Ile Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 315
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 315
Lys Lys Leu Asp Thr Met Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 316
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 316
Lys Lys Leu Asp Thr Asn Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 317
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 317

Lys Lys Leu Asp Thr Pro Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 318

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 318

Lys Lys Leu Asp Thr Thr Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 319

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 319

Lys Lys Leu Asp Thr Val Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 320

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 320

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Leu Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 321

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 321

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Met Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 322

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 322

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Gln Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 323

<211> 16

<212> PRT

[0060]

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 323

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Ser Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 324

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 324

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Thr Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 325

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 325

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Val Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

[0061]

<210> 326

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 326

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Phe Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 327

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 327

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Gly Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 328

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 328

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Leu Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 329
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 329
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Pro Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 330
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 330
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Arg Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 331
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 331
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Arg Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

[0062]

<210> 332
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 332
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Ala Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 333
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 333
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Phe Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 334
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 334
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Gly Ser Leu Phe Thr Glu Arg

	1	5	10	15
	<210> 335			
	<211> 16			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成肽			
	<400> 335			
	Lys	Lys	Leu	Asp
	1	5	10	15
	Thr	Phe	Phe	Val
	Lys	Ile	Ser	Leu
	Phe	Thr	Glu	Arg
	<210> 336			
	<211> 16			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成肽			
	<400> 336			
	Lys	Lys	Leu	Asp
	1	5	10	15
	Thr	Phe	Phe	Val
	Lys	Met	Ser	Leu
	Phe	Thr	Glu	Arg
	<210> 337			
	<211> 16			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成肽			
[0063]	<400> 337			
	Lys	Lys	Leu	Asp
	1	5	10	15
	Thr	Phe	Phe	Val
	Lys	Asn	Ser	Leu
	Phe	Thr	Glu	Arg
	<210> 338			
	<211> 16			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成肽			
	<400> 338			
	Lys	Lys	Leu	Asp
	1	5	10	15
	Thr	Phe	Phe	Val
	Lys	Pro	Ser	Leu
	Phe	Thr	Glu	Arg
	<210> 339			
	<211> 16			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成肽			
	<400> 339			
	Lys	Lys	Leu	Asp
	1	5	10	15
	Thr	Phe	Phe	Val
	Lys	Gln	Ser	Leu
	Phe	Thr	Glu	Arg
	<210> 340			
	<211> 16			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成肽			

<400> 340
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Arg Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 341
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 341
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Ser Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 342
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 342
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Thr Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 343
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

[0064]

<220>
<223> 合成肽

<400> 343
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Val Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 344
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 344
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Tyr Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 345
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 345
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu His Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 346
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

[0065]

<220>

<223> 合成肽

<400> 346

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Met Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 347

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 347

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Asn Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 348

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 348

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Gln Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 349

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 349

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Thr Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 350

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 350

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Ala Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 351

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 351

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser His Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 352

<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 352
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Ile Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 353
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 353
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Met Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 354
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 354
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Asn Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

[0066]

<210> 355
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 355
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Gln Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 356
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 356
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Arg Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 357
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 357
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Ser Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 358
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 358
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Thr Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 359
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 359
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Val Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 360
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

[0067] <400> 360
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Trp Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 361
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 361
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Ala Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 362
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 362
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Cys Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 363
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 363
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Gly Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 364
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 364
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu His Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 365
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 365
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Ile Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 366
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

[0068]

<220>
<223> 合成肽

<400> 366
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Leu Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 367
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 367
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Met Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 368
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 368
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Asn Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 369
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

[0069]

<220>

<223> 合成肽

<400> 369

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Pro	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 370

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 370

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Gln	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 371

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 371

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Arg	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 372

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 372

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Ser	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 373

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 373

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Thr	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 374

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 374

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Val	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 375

<211> 16

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 375
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Trp Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 376
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 376
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Phe Glu Arg
1 5 10 15

<210> 377
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 377
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Gly Glu Arg
1 5 10 15

[0070]

<210> 378
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 378
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe His Glu Arg
1 5 10 15

<210> 379
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 379
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Ile Glu Arg
1 5 10 15

<210> 380
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 380
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Leu Glu Arg
1 5 10 15

<210> 381
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 381
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Met Glu Arg
1 5 10 15

<210> 382
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 382
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Asn Glu Arg
1 5 10 15

<210> 383
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 383
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Pro Glu Arg
1 5 10 15

[0071]

<210> 384
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 384
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Ser Glu Arg
1 5 10 15

<210> 385
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 385
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Val Glu Arg
1 5 10 15

<210> 386
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 386

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Trp Glu Arg
1 5 10 15

<210> 387
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 387
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Asp Arg
1 5 10 15

<210> 388
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 388
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Phe
1 5 10 15

<210> 389
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

[0072]

<400> 389
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Lys
1 5 10 15

<210> 390
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 390
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Asn
1 5 10 15

<210> 391
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 391
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 392
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 392

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Thr
1 5 10 15

<210> 393

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 393

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Tyr
1 5 10 15

<210> 394

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> 变体

<222> 1

<223> Xaa = K, A, D, E, G, H, I, L, M, N, P, Q, R, T, V,
或缺失

<220>

<221> 变体

<222> 3

<223> Xaa = L, A, C, D, E, F, G, H, I, K, M, N, Q, R, S,
T, V, 或缺失

<220>

<221> 变体

<222> 4

<223> Xaa = D, A, E, I, V, W, Y, 或缺失

<220>

<221> 变体

<222> 5

<223> Xaa = T, C, M, N, P, Q, R, S, W, Y, 或缺失

<220>

<221> 变体

<222> 6

<223> Xaa = F, A, I, M, N, P, T, V, 或缺失

<220>

<221> 变体

<222> (7)... (7)

<223> Xaa = F, L, M, Q, S, T, V, 或缺失

<220>

<221> 变体

<222> (8)... (8)

<223> Xaa = V, F, G, L, P, R, 或缺失

<220>

<221> 变体

<222> (10)... (10)

<223> Xaa = L, A, F, G, I, M, N, P, Q, R, S, T, V, Y, 或缺失

[0073]

- <220>
 <221> 变体
 <222> (11)... (11)
 <223> Xaa = S, H, M, N, Q, T, 或缺失
- <220>
 <221> 变体
 <222> (12)... (12)
 <223> Xaa = L, A, H, I, M, N, Q, R, S, T, V, W, 或缺失
- <220>
 <221> 变体
 <222> (13)... (13)
 <223> Xaa = F, A, C, G, H, I, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W, 或缺失
- <220>
 <221> 变体
 <222> (14)... (14)
 <223> Xaa = T, F, G, H, I, L, M, N, P, S, V, W 或缺失
- <220>
 <221> 变体
 <222> (16)... (16)
 <223> Xaa = R, F, K, N, R, T, Y 或缺失
- <400> 394
 Xaa Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Xaa
 1 5 10 15
- <210> 395
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
- <220>
 <223> 合成多肽
- <220>
 <221> 变体
 <222> 1
 <223> Xaa = K, A, D, E, G, H, I, L, M, N, P, Q, R, T, V, 或缺失
- <220>
 <221> 变体
 <222> 3
 <223> Xaa = LDTFFV, GDTEFFV, EDTFFV, LDQFFV, LDFAFV, LDTVFV, LDTFMV, LDTFSV, LDTFVV, LDTFTV, LDTFLV, LDGFFV, LDTFGV, LDTFFK, ADTEFFV, CDTEFFV, DDTEFFV, FDTFFV, HDTEFFV, IDTEFFV, KDTEFFV, MDTEFFV, NDTEFFV,
- <220>
 <221> 变体
 <222> 3
 <223> Xaa = QDTEFFV, RDTEFFV, SDTEFFV, TDTEFFV, VDTEFFV, LATTEFFV, LETTEFFV, LITTEFFV, LVTEFFV, LWTEFFV, LYTEFFV, LDCFFV, LDMFFV, LDNFFV, LDPFFV, LDRFFV, LDSFFV, LDWFFV, LDYFFV, LDTIFV, LDTMFV, LDTNFV, LDTPFV,
- <220>
 <221> 变体
 <222> 3
 <223> Xaa = LDTEFFV, LDTEFQV, LDTEFFF, LDTEFFG, LDTEFFL, LDTEFFP, LDTEFFR, LDTEFIV, LDTEFSV, LDTEFAV, LDTEFCV, LDTEQFV, LDTELFV, LDTTEFFV, LDTEFFI, LDTEHFFV, LMTTEFFV, LDTEFEV, LDTEFWV, LFTTEFFV, LDTEFFV, LDTEFRV, LDTEFHV,
- <220>

[0074]

- <221> 变体
 <222> 3
 <223> Xaa = LDYFV, LPTFFV, PDYFFV, LDYFPV, LDYFNV,
 LDTWV, LDTGFV, LDYFFV, LQYFFV, LCTFFV, LSTFFV,
 YDTFFV, LDEFV, WDTFFV, LDTKFV, LDTCFV, LDTFV,
 LDTHFV, LHTFFV, LRTFFV, LDLFFV, LDTRFV, LLTFFV,
- <220>
 <221> 变体
 <222> (3)... (3)
 <223> Xaa = LDYFDV, LDYFFA, LDYFFT, LNTFFV, LDDFFV,
 LDYFFV, LDYFFV, LKTFV, LDYFFQ, LGTFV, LDYFFC,
 LDKFFV, LDYFKV, LDYFV, LDYFFW, LDYFFM, LDYFFS,
 LDYFFH, LDYFFY, LDYFFN, LDYFDV, LDYFE, LDYFFD,
- <220>
 <221> 变体
 <222> (3)... (3)
 <223> Xaa = LTYFV, LDYFF, TYFV, LDY, LDTE, FFV, LDV, LV,
 L, 或缺失
- <220>
 <221> 变体
 <222> (5)... (5)
 <223> Xaa = LSLFT, VSLFT, LQLFT, LMLFT, LTLFT, LHLFT,
 LSQFT, LSVFT, LSMFT, LSLMT, LSLQT, LSLHT, LSLNT,
 LSLPT, LSLST, LSLGT, LSLAT, LSLRT, LSLFN, LSLFP,
 LSLFR, LGLFT, ASLFT, FSLFT, GSLFT, ISLFT, MSLFT,
- <220>
 <221> 变体
 <222> (5)... (5)
 <223> Xaa = NSLFT, PSLFT, QSLFT, RSLFT, SSLFT, TSLFT,
 YSLFT, LNLFT, LSAFT, LSHFT, LSIFT, LSNFT, LSRFT,
 LSSFT, LSTFT, LSWFT, LSLCT, LSLIT, LSLLT, LSLTT,
 LSLVT, LSLWT, LSLFF, LSLFG, LSLFH, LSLFI, LSLFL,
- <220>
 <221> 变体
 <222> (5)... (5)
 <223> Xaa = LSLFM, LSLFS, LSLFV, LSLFW, LYLFT, LVLFT,
 LSFFT, LSGFT, LSKFT, LSCFT, LCLFT, LRLFT, LPLFT,
 LWLFT, LKLFT, LDLFT, LSYFT, LALFT, WSLFT, LSLFA,
 LSLFQ, LSPFT, HSLFT, LSLYT, LILFT, KSLFT, CSLFT,
- <220>
 <221> 变体
 <222> (5)... (5)
 <223> Xaa = LSLFY, LSLFK, LSLFC, LFLFT, LELFT, LSLKT,
 LLLFT, LSLFD, LSLDT, LSLFE, DSLFT, LSLET, LSDFT,
 LSEFT, ESLFT, SLFT, LSFT, LFT, LSL, LT, T, 或缺失
- <220>
 <221> 变体
 <222> (7)... (7)
 <223> Xaa = R, F, K, N, R, T, Y, 或缺失
- <400> 395
 Xaa Lys Xaa Lys Xaa Glu Xaa
 1 5
- <210> 396
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列
- <220>

<223> 合成多肽

<400> 396

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 397

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 397

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Ile Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 398

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 398

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 399

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 399

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 400

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 400

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 401

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 401

Lys Lys Leu Asp Thr Ser Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 402

<211> 16

<212> PRT

[0076]

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 402

Lys Asn Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 403

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 403

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 404

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 404

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Ala Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

[0077]

<210> 405

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 405

Lys Pro Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 406

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 406

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 407

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 407

Lys Arg Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 408
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 408
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 409
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 409
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Cys Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 410
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 410
Lys Lys Leu Asp Thr Gln Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

[0078]

<210> 411
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 411
Lys Lys Leu Asp Thr Leu Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 412
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 412
Lys Gly Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 413
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 413
Lys Lys Leu Thr Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg

	1	5	10	15
	<210> 414			
	<211> 16			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成多肽			
	<400> 414			
	Lys	Lys	Leu	Asp
	1	5	10	15
	Thr	Phe	Phe	Val
	Lys	Leu	Ser	Leu
	Phe	Thr	Glu	Arg
	<210> 415			
	<211> 16			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成多肽			
	<400> 415			
	Lys	Lys	Leu	Asp
	1	5	10	15
	Thr	Phe	Phe	Val
	Lys	Leu	Tyr	Leu
	Phe	Thr	Glu	Arg
	<210> 416			
	<211> 16			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成多肽			
[0079]	<400> 416			
	Lys	Lys	Leu	Asp
	1	5	10	15
	Thr	Phe	Phe	Ile
	Lys	Leu	Ser	Leu
	Phe	Thr	Glu	Arg
	<210> 417			
	<211> 16			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成多肽			
	<400> 417			
	Lys	Met	Leu	Asp
	1	5	10	15
	Thr	Phe	Phe	Val
	Lys	Leu	Ser	Leu
	Phe	Thr	Glu	Arg
	<210> 418			
	<211> 16			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成多肽			
	<400> 418			
	Lys	His	Leu	Asp
	1	5	10	15
	Thr	Phe	Phe	Val
	Lys	Leu	Ser	Leu
	Phe	Thr	Glu	Arg
	<210> 419			
	<211> 16			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成多肽			

<400> 419
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Val Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 420
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 420
Lys Lys Leu Asp His Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 421
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 421
Lys Phe Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 422
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

[0080] <220>
<223> 合成多肽

<400> 422
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Phe Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 423
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 423
Lys Lys Leu Met Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 424
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 424
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Glu Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 425
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

[0081]

<220>

<223> 合成多肽

<400> 425

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Trp	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 426

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 426

Lys	Lys	Leu	Phe	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 427

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 427

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 428

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 428

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 429

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 429

Lys	Lys	Leu	Asp	Val	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 430

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 430

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 431

<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 431
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Gly Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 432
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 432
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Arg Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 433
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 433
Lys Lys Leu Asp Thr Phe His Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

[0082]

<210> 434
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 434
Lys Lys Leu Asp Thr Tyr Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 435
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 435
Lys Lys Leu Pro Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 436
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 436
Lys Lys Pro Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 437
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 437
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Pro Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 438
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 438
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Lys Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 439
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

[0083] <400> 439
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Pro Arg
1 5 10 15

<210> 440
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 440
Lys Gln Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 441
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 441
Lys Glu Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 442
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 442
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 443
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 443
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Asn Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 444
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 444
Lys Lys Leu Asp Thr Trp Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 445
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

[0084]

<220>
<223> 合成多肽

<400> 445
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Thr Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 446
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 446
Lys Lys Leu Asp Thr Gly Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 447
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 447
Lys Lys Leu Asp Ala Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 448
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

[0085]

<220>

<223> 合成多肽

<400> 448

Lys	Lys	Leu	Gln	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 449

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 449

Lys	Lys	Leu	Cys	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 450

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 450

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Gln	Arg
1				5					10					15	

<210> 451

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 451

Lys	Lys	Leu	Ser	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 452

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 452

Lys	Lys	Tyr	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 453

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 453

Ser	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 454

<211> 16

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 454
Lys Leu Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 455
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 455
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Cys Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 456
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 456
Lys Lys Leu Asp Glu Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

[0086]

<210> 457
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 457
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Cys Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 458
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 458
Lys Lys Trp Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 459
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 459
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Tyr Arg
1 5 10 15

<210> 460
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 460
Lys Lys Leu Asp Thr Lys Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 461
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 461
Lys Asp Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 462
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 462
Lys Lys Leu Asp Thr Cys Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

[0087]

<210> 463
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 463
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Tyr Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 464
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 464
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Arg Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 465
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 465

Phe Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 466
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 466
Lys Lys Leu Asp Thr His Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 467
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 467
Lys Ile Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 468
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

[0088]

<400> 468
Lys Thr Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 469
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 469
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Gln Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 470
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 470
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Pro Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 471
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 471

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Lys Arg
1 5 10 15

<210> 472

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 472

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Trp Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 473

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 473

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Lys Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 474

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

[0089]

<220>

<223> 合成多肽

<400> 474

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Asp Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 475

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 475

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Tyr Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 476

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 476

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 477

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 477

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ala Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 478

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 478

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr His Arg
1 5 10 15

<210> 479

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 479

Lys Lys Leu His Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

[0090]

<210> 480

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 480

Lys Lys Leu Arg Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 481

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 481

Lys Val Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 482

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 482

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Trp Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 483
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 483
Tyr Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 484
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 484
Lys Lys Leu Asp Leu Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 485
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 485
Lys Ala Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

[0091]

<210> 486
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 486
Lys Lys Leu Asp Thr Arg Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 487
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 487
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 488
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 488
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val His Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg

	1	5	10	15
	<210> 489			
	<211> 16			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成多肽			
	<400> 489			
	Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Ala Glu Arg			
	1	5	10	15
	<210> 490			
	<211> 16			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成多肽			
	<400> 490			
	Lys Trp Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg			
	1	5	10	15
	<210> 491			
	<211> 16			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成多肽			
[0092]	<400> 491			
	Lys Lys Leu Leu Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg			
	1	5	10	15
	<210> 492			
	<211> 16			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成多肽			
	<400> 492			
	Lys Lys Leu Asp Thr Phe Asp Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg			
	1	5	10	15
	<210> 493			
	<211> 16			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成多肽			
	<400> 493			
	Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Gln Glu Arg			
	1	5	10	15
	<210> 494			
	<211> 16			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成多肽			

<400> 494
Lys Tyr Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 495
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 495
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Ala Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 496
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 496
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Thr Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 497
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

[0093] <220>
<223> 合成多肽

<400> 497
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Pro Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 498
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 498
Lys Lys Leu Asn Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 499
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 499
Lys Cys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 500
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

[0094]

<220>

<223> 合成多肽

<400> 500

Lys	Lys	Leu	Asp	Asp	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 501

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 501

Lys	Lys	Leu	Asp	Ile	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 502

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 502

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	His	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 503

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 503

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Tyr	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 504

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 504

Lys	Lys	Leu	Asp	Phe	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 505

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 505

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ile	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 506

<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 506
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Lys Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 507
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 507
Trp Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 508
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 508
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Cys Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

[0095]

<210> 509
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 509
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Met Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 510
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 510
Lys Ser Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 511
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 511
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Ser Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 512
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 512
Lys Lys Leu Lys Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 513
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 513
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Gln Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 514
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

[0096] <400> 514
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Tyr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 515
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 515
Lys Lys Leu Gly Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 516
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 516
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 517
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 517
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Lys Glu Arg
1 5 10 15

<210> 518
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 518
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Asn Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 519
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 519
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Cys Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 520
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

[0097]

<220>
<223> 合成多肽

<400> 520
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Cys Glu Arg
1 5 10 15

<210> 521
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 521
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Val
1 5 10 15

<210> 522
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 522
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Phe Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 523
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

[0098]

<220>

<223> 合成多肽

<400> 523

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Val	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 524

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 524

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Met	Arg
1				5					10					15	

<210> 525

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 525

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Leu	Arg
1				5					10					15	

<210> 526

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 526

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Trp	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 527

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 527

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Glu	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	Arg
1				5					10					15	

<210> 528

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 528

Lys	Lys	Leu	Asp	Thr	Phe	Phe	Val	Lys	Leu	Ser	Leu	Phe	Thr	Glu	His
1				5					10					15	

<210> 529

<211> 16

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 529
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Met
1 5 10 15

<210> 530
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 530
Lys Lys Leu Asp Lys Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 531
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 531
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Arg Arg
1 5 10 15

[0099]

<210> 532
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 532
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Glu Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 533
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 533
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Pro
1 5 10 15

<210> 534
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 534
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Pro Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 535
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 535
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Lys Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 536
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 536
Lys Lys Leu Asp Thr Glu Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 537
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 537
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Trp Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

[0100]

<210> 538
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 538
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Ala
1 5 10 15

<210> 539
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 539
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Trp Arg
1 5 10 15

<210> 540
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 540

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Met Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 541
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 541
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Cys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 542
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 542
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Lys Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 543
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

[0101]

<400> 543
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Gly
1 5 10 15

<210> 544
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 544
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Leu
1 5 10 15

<210> 545
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 545
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Ser Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 546
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 546

Cys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 547

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 547

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe His Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 548

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 548

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Leu Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 549

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 549

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Tyr Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 550

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 550

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Asn Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 551

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 551

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Trp
1 5 10 15

<210> 552

<211> 16

<212> PRT

[0102]

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 552

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Tyr Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 553

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 553

Lys Lys Leu Asp Thr Asp Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 554

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 554

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Ala Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

[0103]

<210> 555

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 555

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Ile Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 556

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 556

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Cys Arg
1 5 10 15

<210> 557

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 557

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Ser
1 5 10 15

<210> 558
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 558
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Ile
1 5 10 15

<210> 559
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 559
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Cys
1 5 10 15

<210> 560
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 560
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Phe Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

[0104]

<210> 561
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 561
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Ala Arg
1 5 10 15

<210> 562
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 562
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Leu Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 563
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 563
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Ser Arg

	1	5	10	15
	<210> 564			
	<211> 16			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成多肽			
	<400> 564			
	Lys	Lys	Leu	Asp
	1	5	10	15
	Thr	Phe	Phe	Val
	Lys	Leu	Ser	Leu
	Phe	Thr	Ile	Arg
	<210> 565			
	<211> 16			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成多肽			
	<400> 565			
	Lys	Lys	Leu	Asp
	1	5	10	15
	Thr	Phe	Phe	Val
	Lys	Leu	Ser	Leu
	Phe	Thr	Val	Arg
	<210> 566			
	<211> 16			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成多肽			
[0105]	<400> 566			
	Lys	Lys	Leu	Asp
	1	5	10	15
	Thr	Phe	Phe	Val
	Lys	Leu	Ser	Leu
	Phe	Thr	Asn	Arg
	<210> 567			
	<211> 16			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成多肽			
	<400> 567			
	Lys	Lys	Leu	Asp
	1	5	10	15
	Thr	Phe	Phe	Val
	Lys	Leu	Ser	Leu
	Phe	Asp	Glu	Arg
	<210> 568			
	<211> 16			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成多肽			
	<400> 568			
	Lys	Lys	Leu	Asp
	1	5	10	15
	Thr	Phe	Phe	Val
	Lys	Leu	Ser	Leu
	Phe	Thr	Thr	Arg
	<210> 569			
	<211> 16			
	<212> PRT			
	<213> 人工序列			
	<220>			
	<223> 合成多肽			

<400> 569
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Asp Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 570
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 570
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Glu Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 571
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 571
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Phe Arg
1 5 10 15

<210> 572
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

[0106] <220>
<223> 合成多肽

<400> 572
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Asp
1 5 10 15

<210> 573
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 573
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Gln
1 5 10 15

<210> 574
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 574
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Asp Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 575
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

[0107]

<220>

<223> 合成多肽

<400> 575

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Asp Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 576

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 576

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Glu Glu Arg
1 5 10 15

<210> 577

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 577

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Glu
1 5 10 15

<210> 578

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 578

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Asp Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 579

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 579

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Glu Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 580

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 580

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Asp Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 581

<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 581
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Glu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 582
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 582
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Glu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 583
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 583
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Met Thr Glu Arg
1 5 10 15

[0108]

<210> 584
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 584
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Gln Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 585
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 585
Lys Lys Leu Asp Thr Val Met Val Lys Leu Gln Leu Met Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 586
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 586
Arg Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

Arg Arg

<210> 587
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 587
Lys Ser Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 588
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 588
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Phe Arg
1 5 10 15

<210> 589
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

[0109]

<400> 589
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Tyr Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 590
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 590
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Asn Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 591
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 591
Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Asp Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 592
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 592

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Pro Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 593

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 593

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Met Val Lys Leu Ser Gln His Thr Glu Arg
1 5 10 15

<210> 594

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

[0110]

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> 17

<223> 聚乙二醇化

<400> 594

Lys Lys Leu Asp Thr Phe Phe Val Lys Leu Ser Leu Phe Thr Glu Arg
1 5 10 15
Cys

<210> 595

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 595

Lys Lys Leu Asp Gln Phe Phe Val Lys Leu Ser Gln His Asn Glu Arg
1 5 10 15

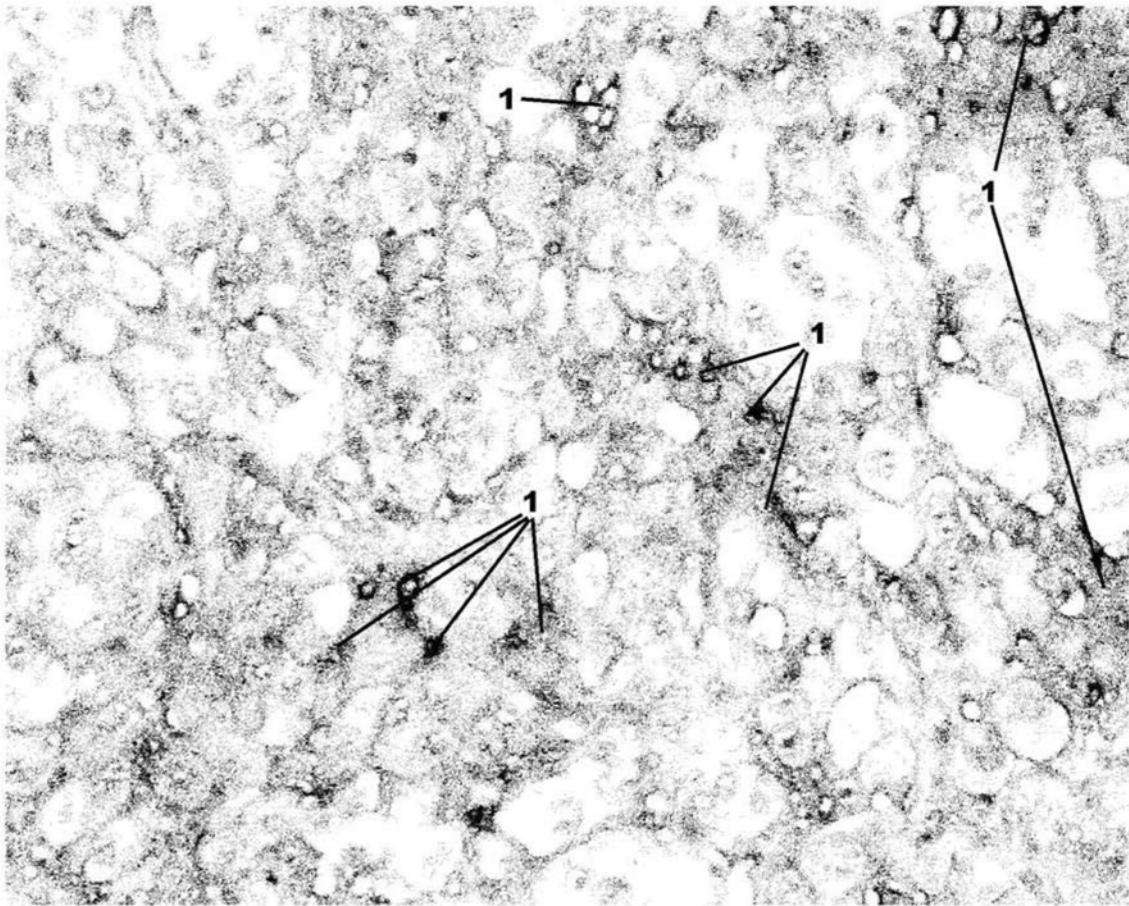


图1

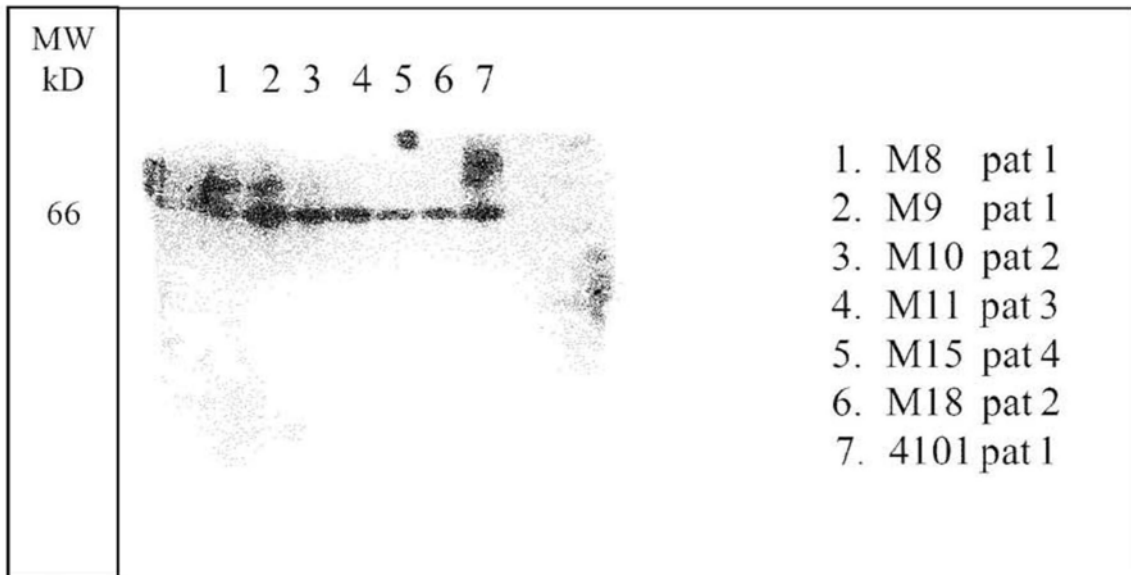


图2

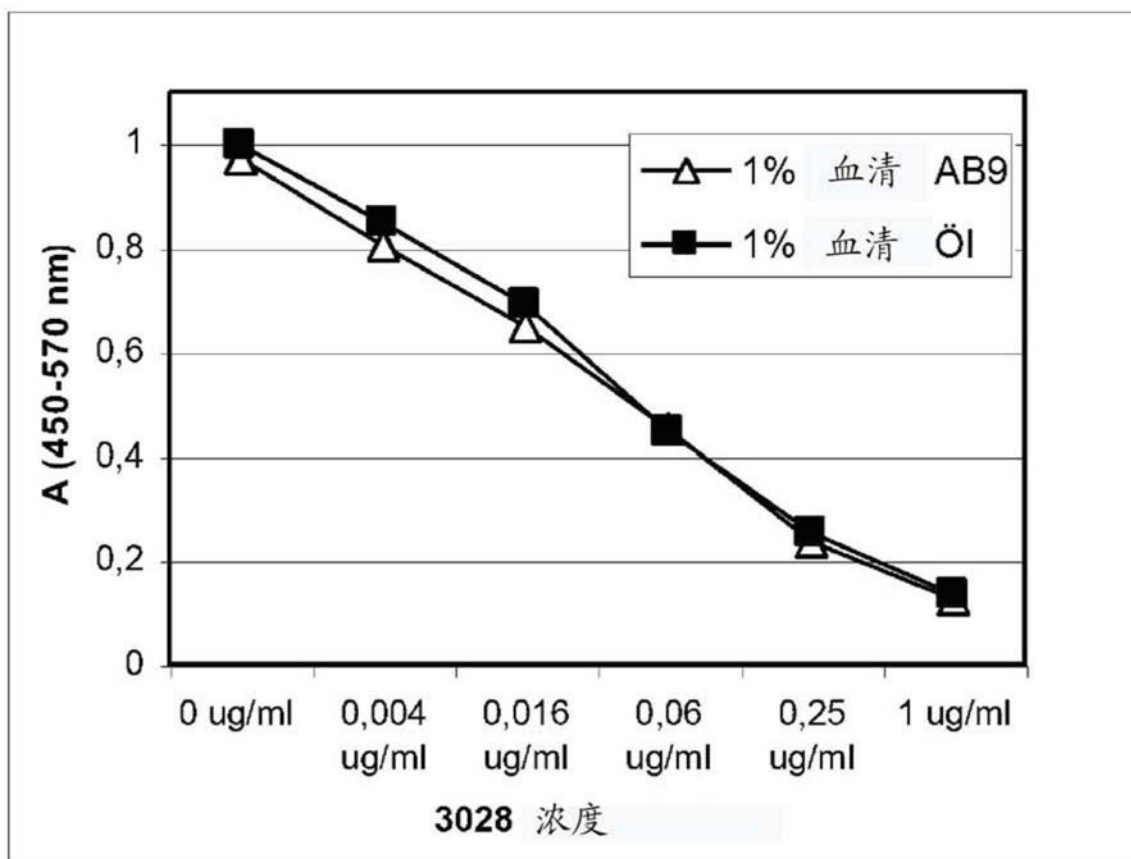


图3

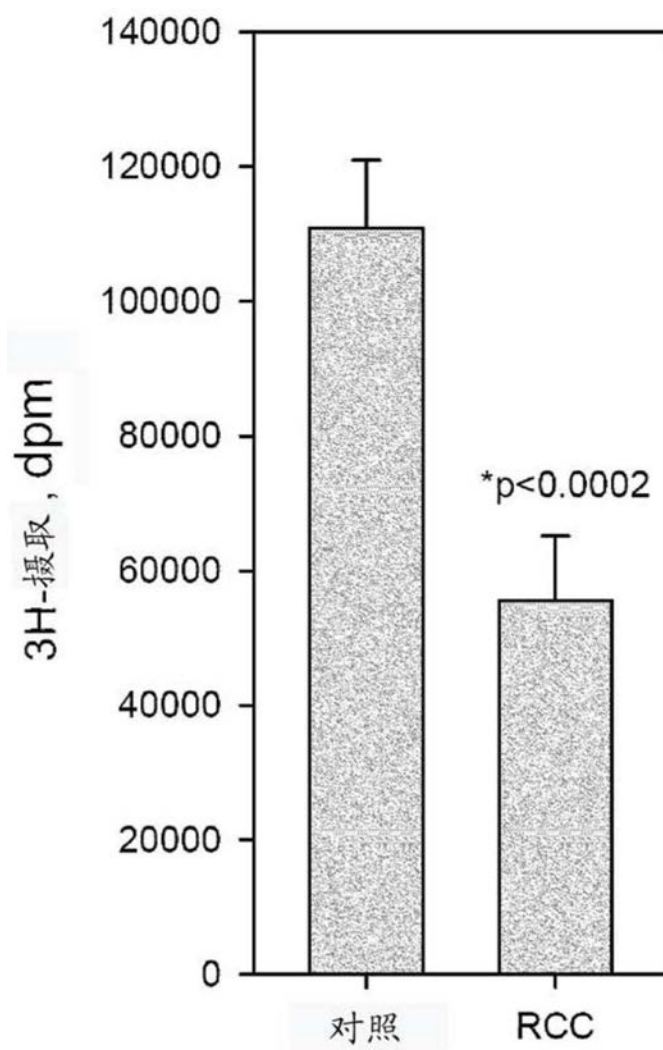


图4

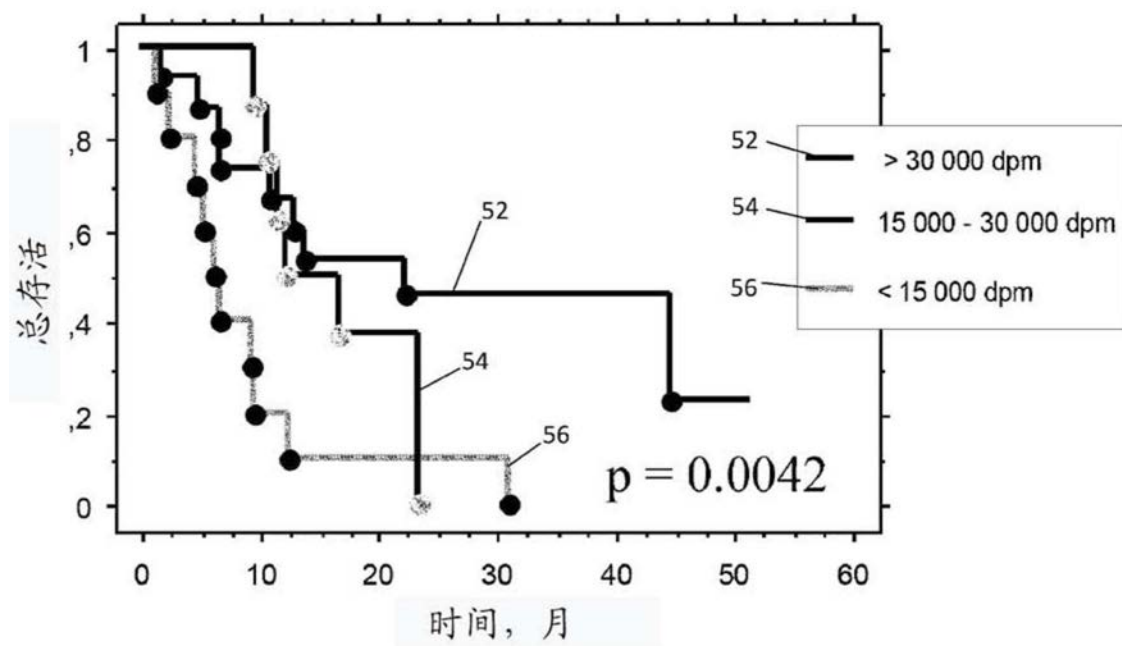


图5

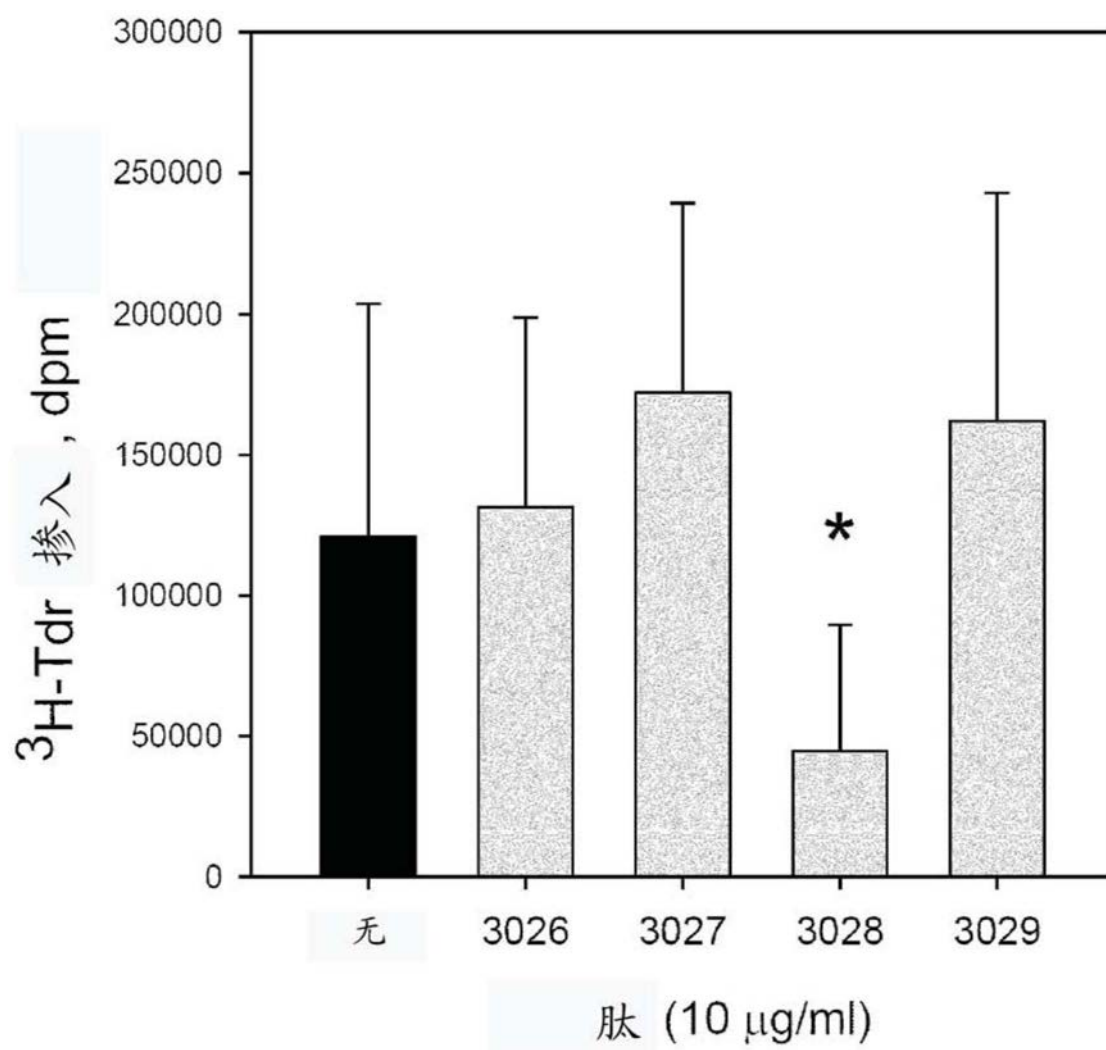


图6

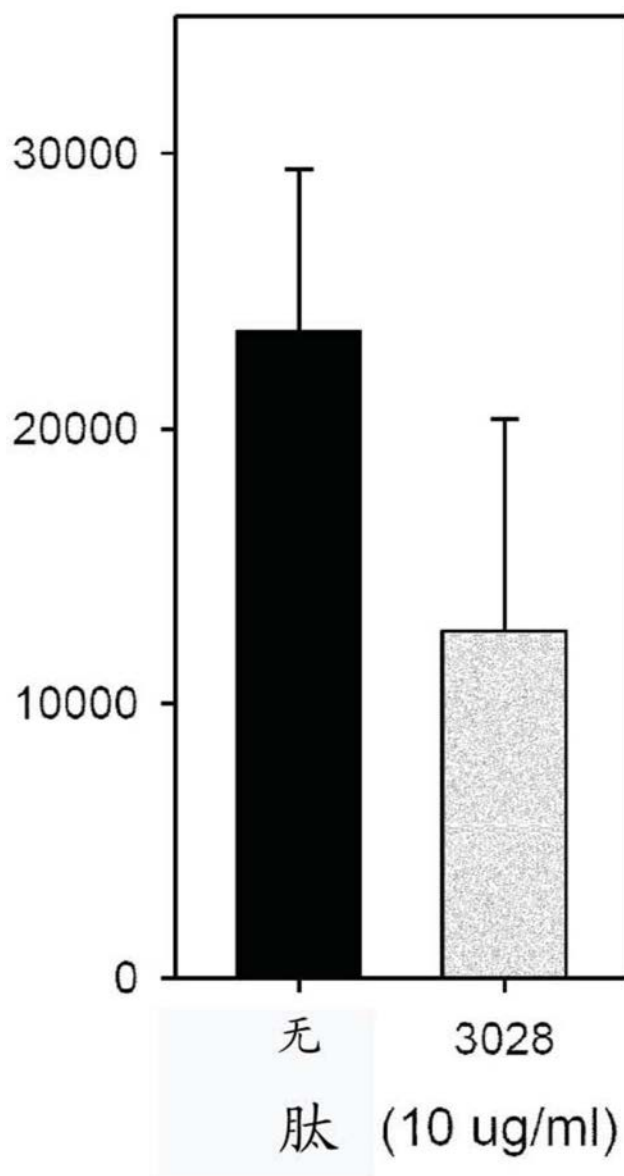


图7

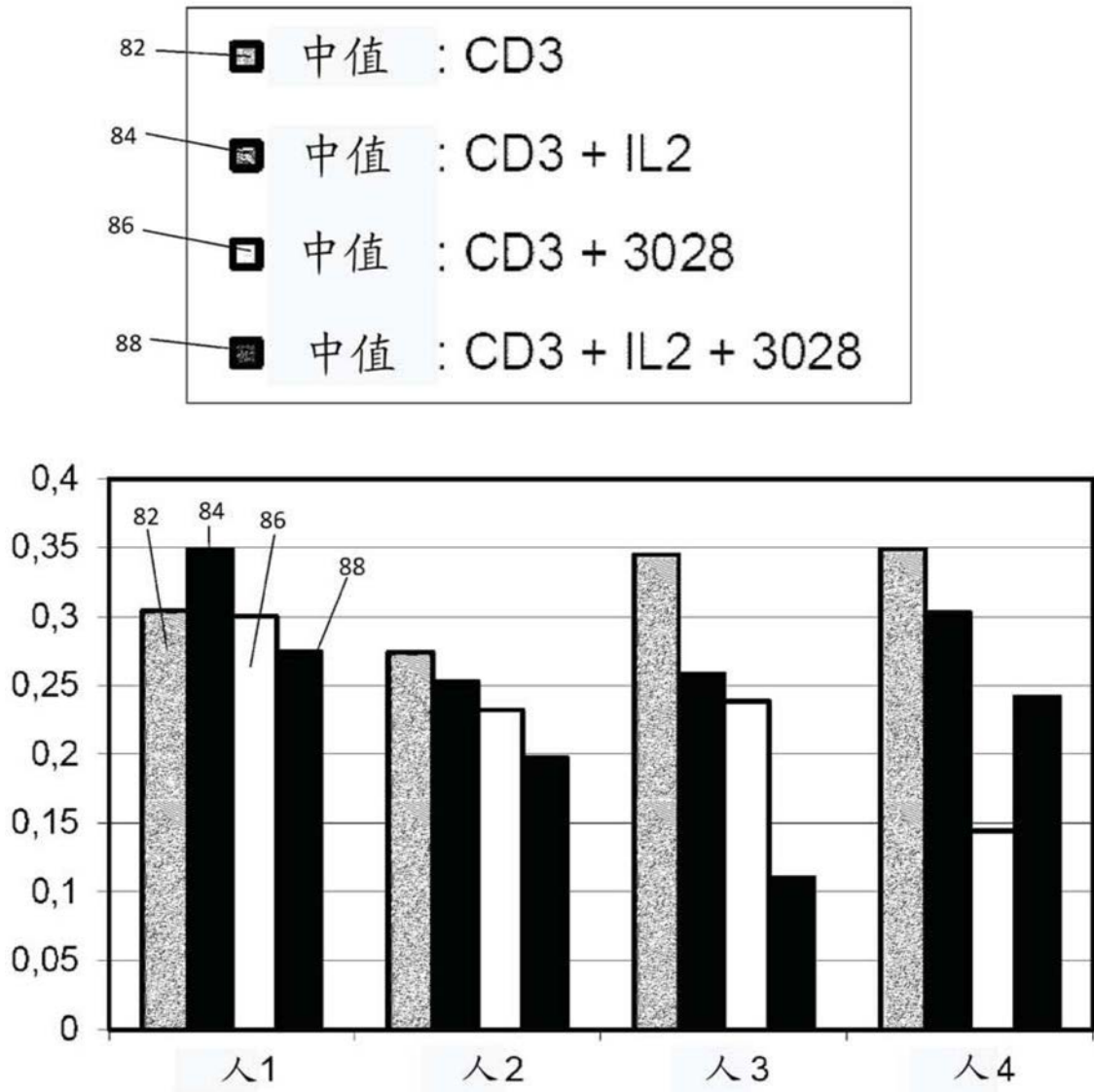


图8

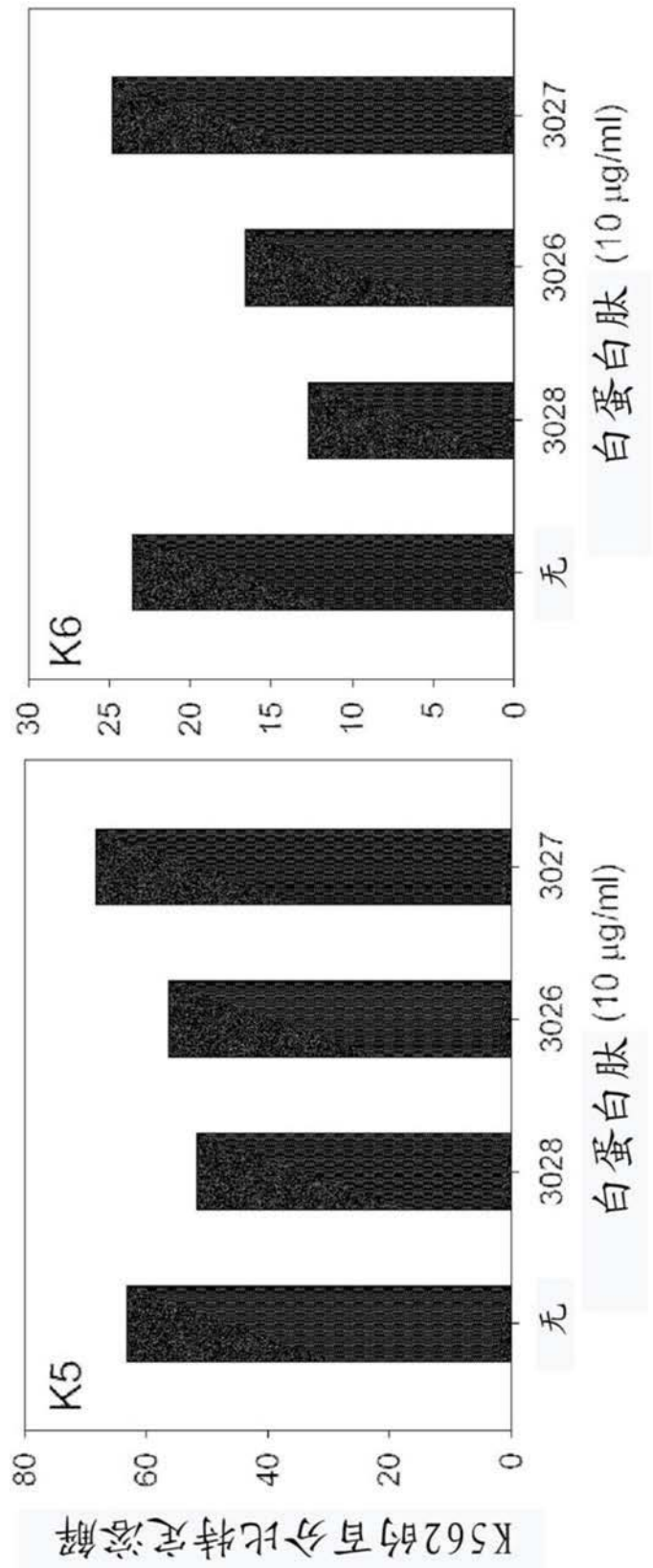


图9A

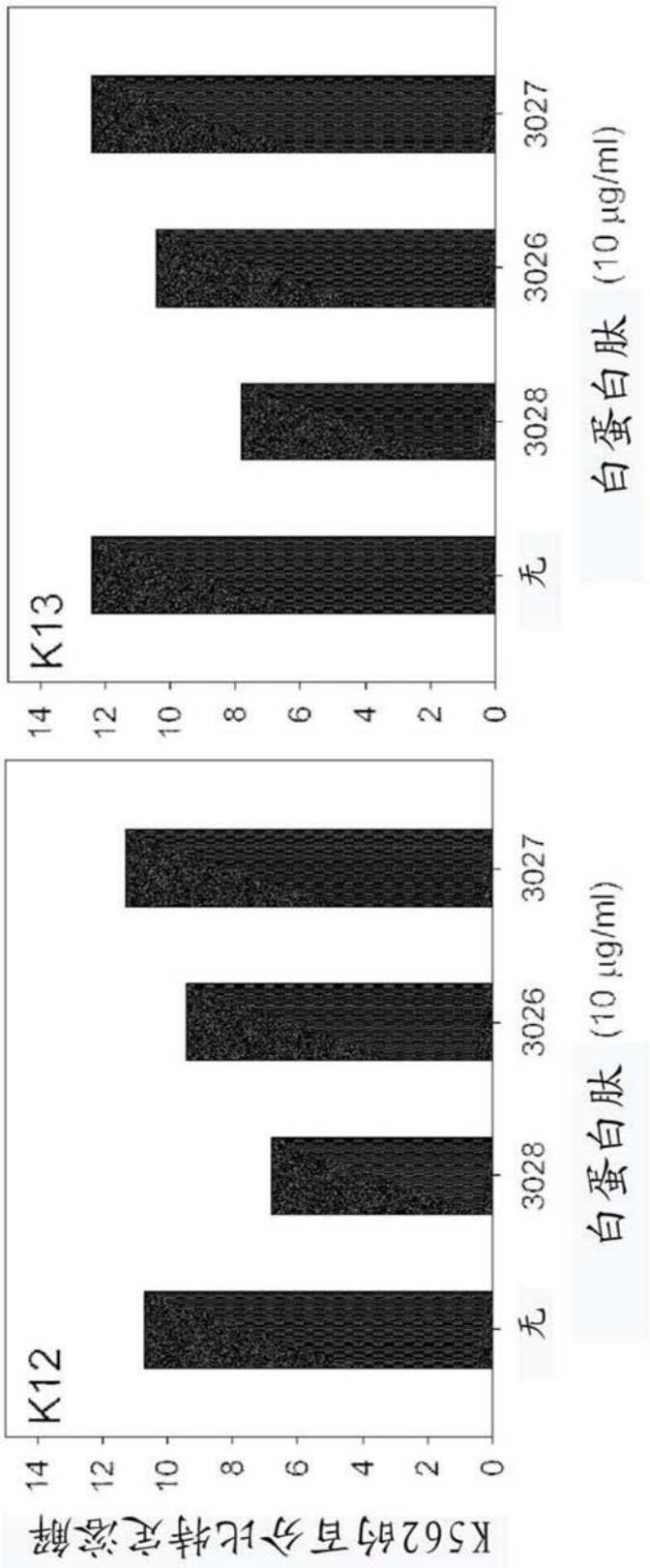


图9B

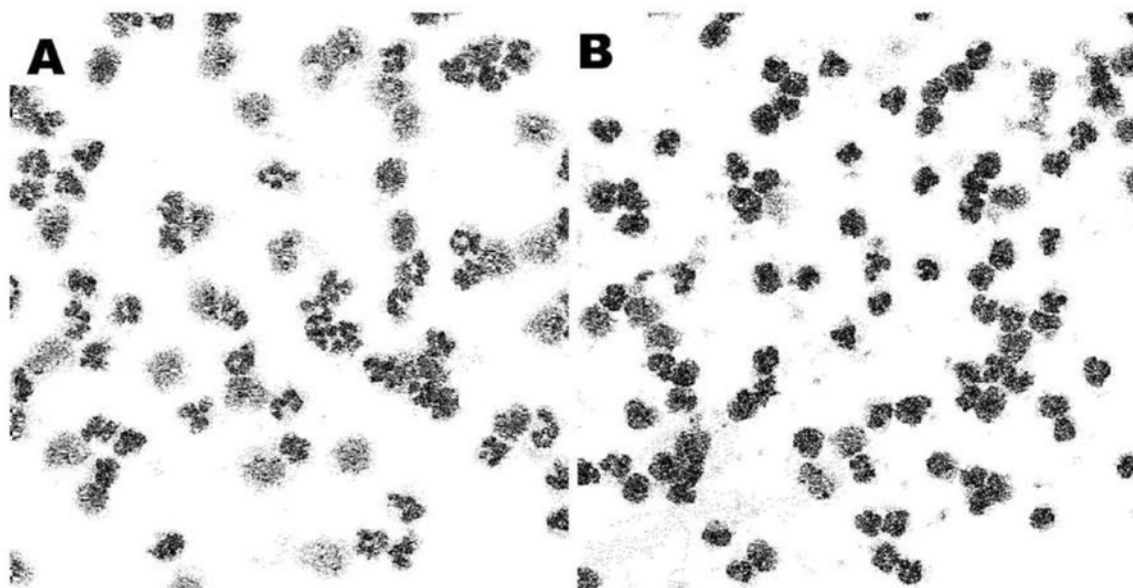


图10

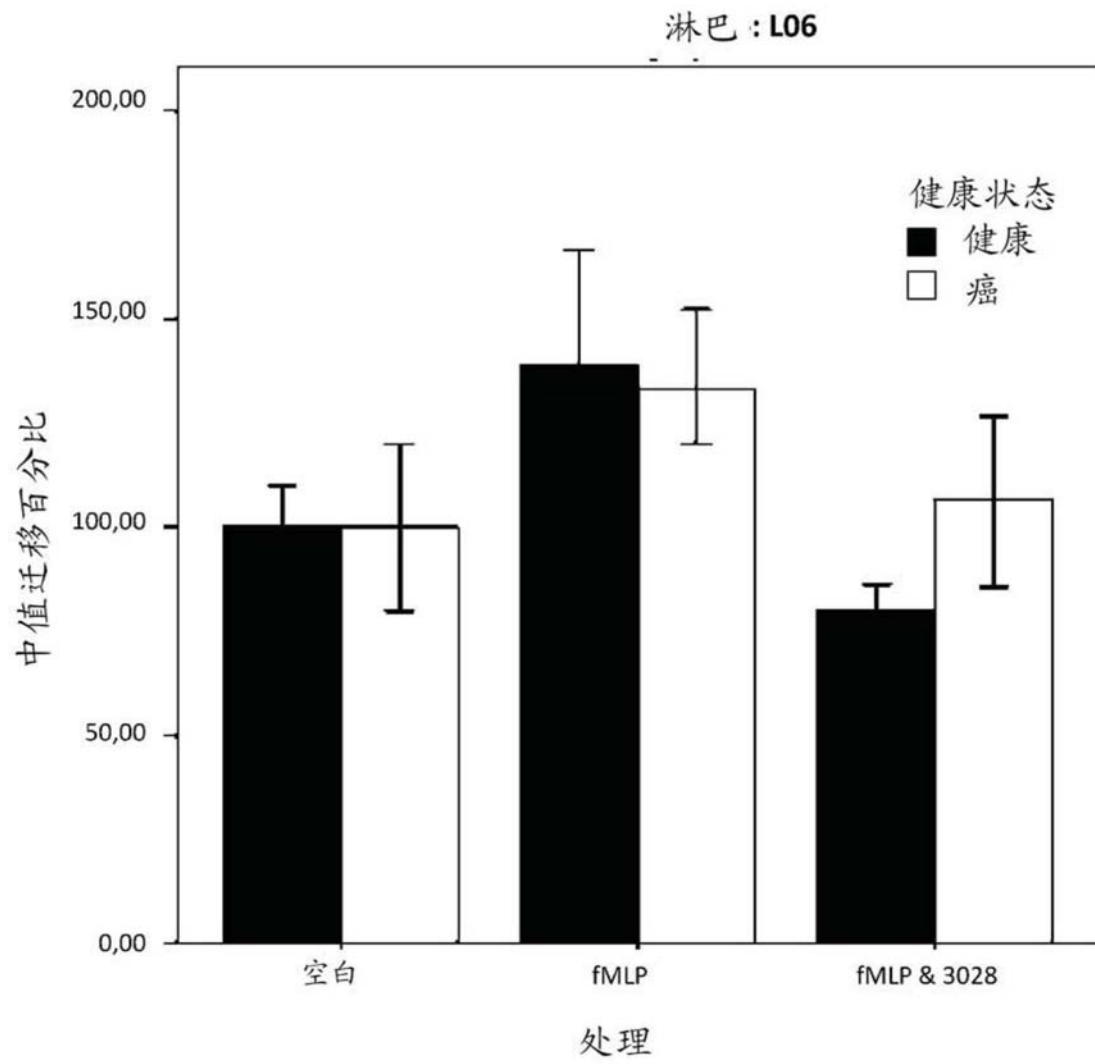


图11

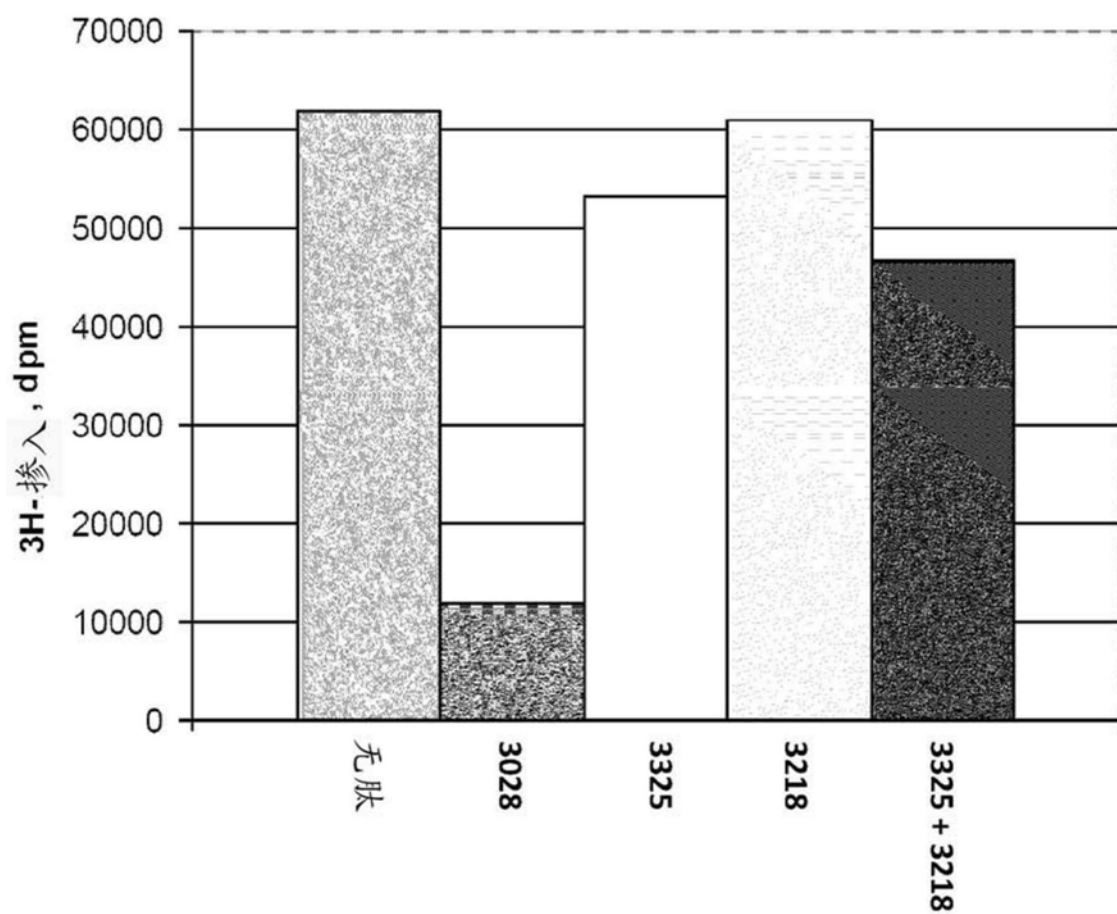


图12

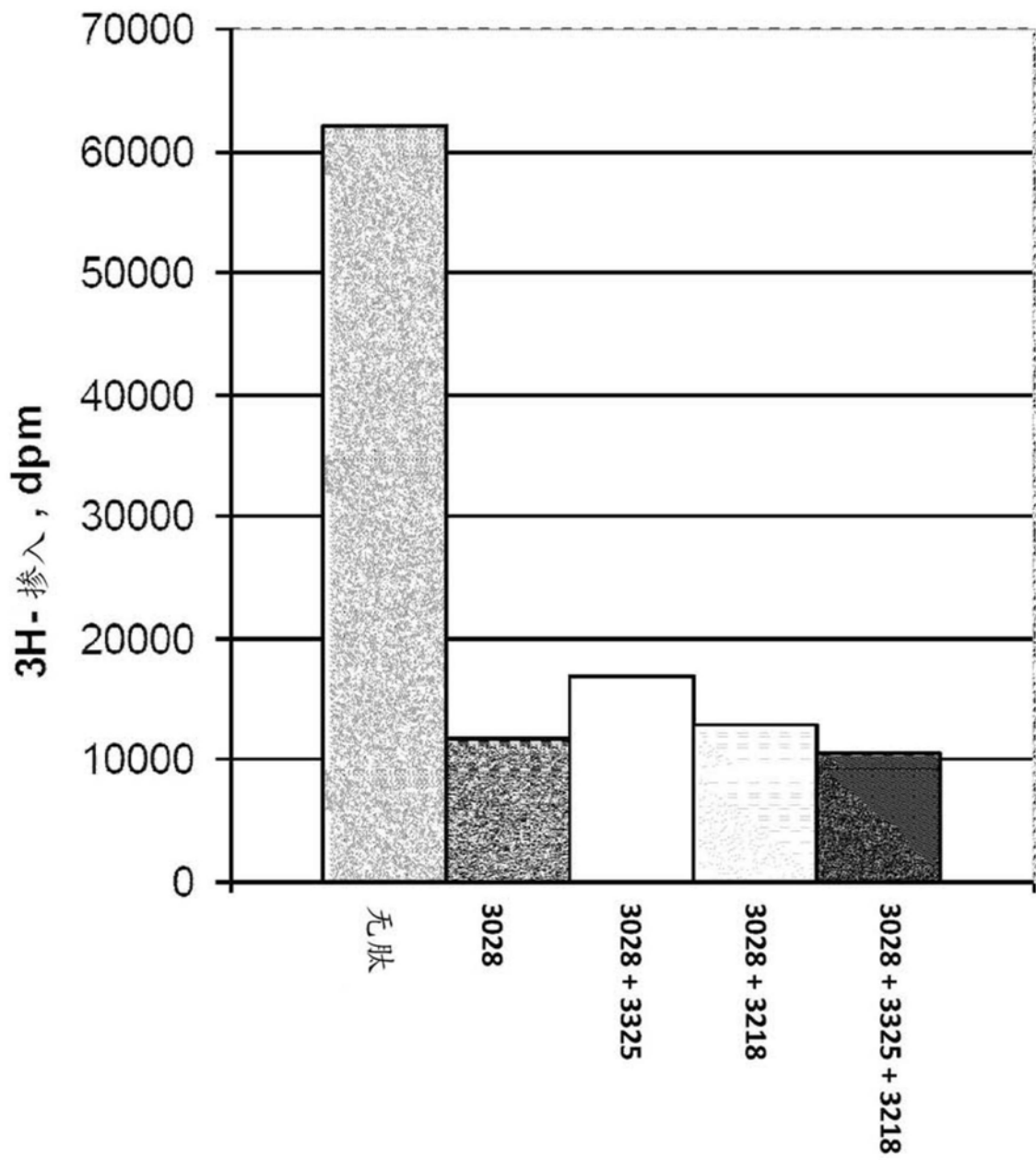


图13

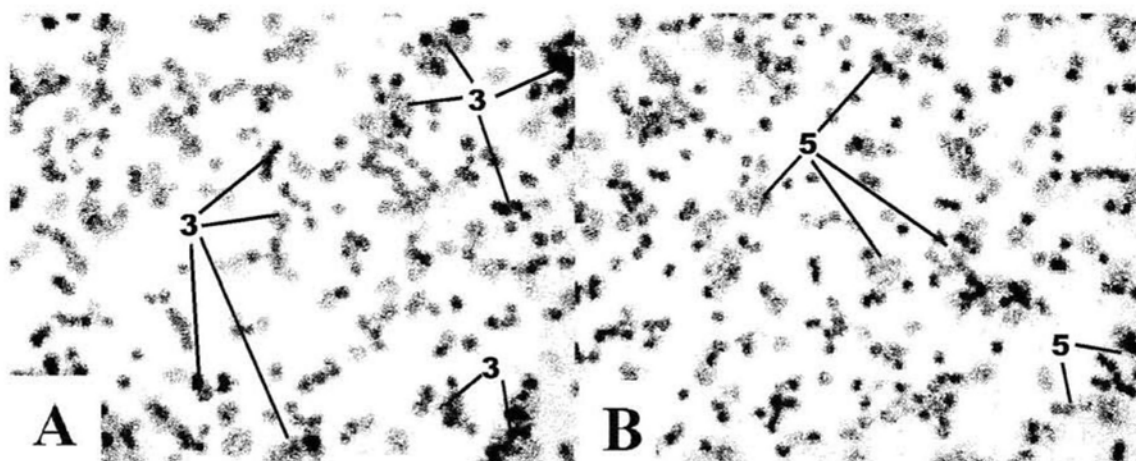


图14

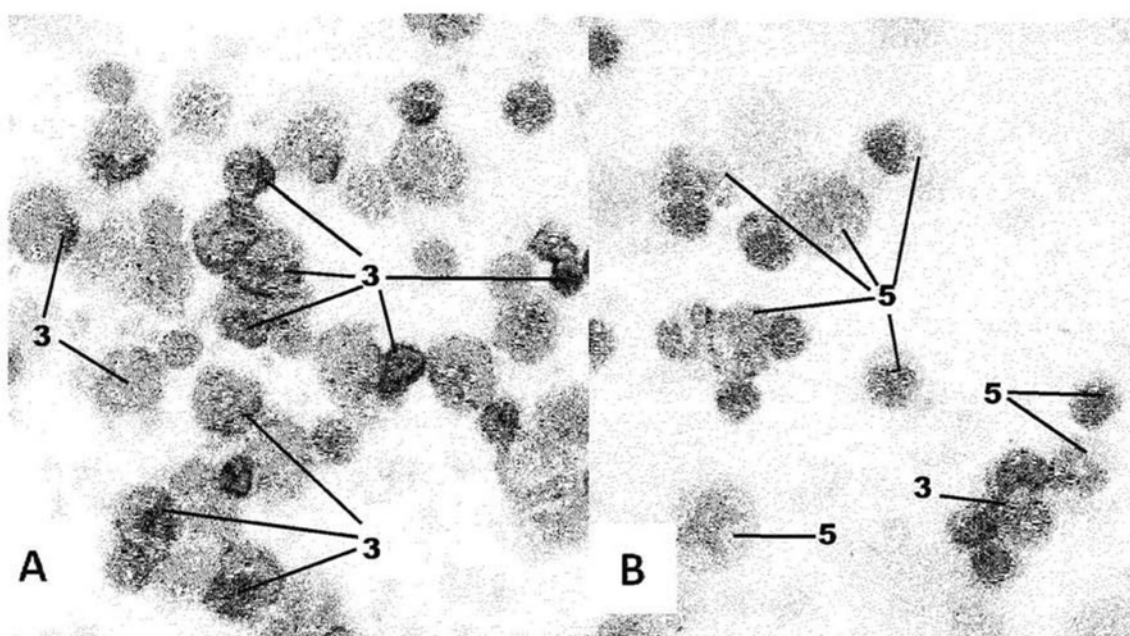


图15

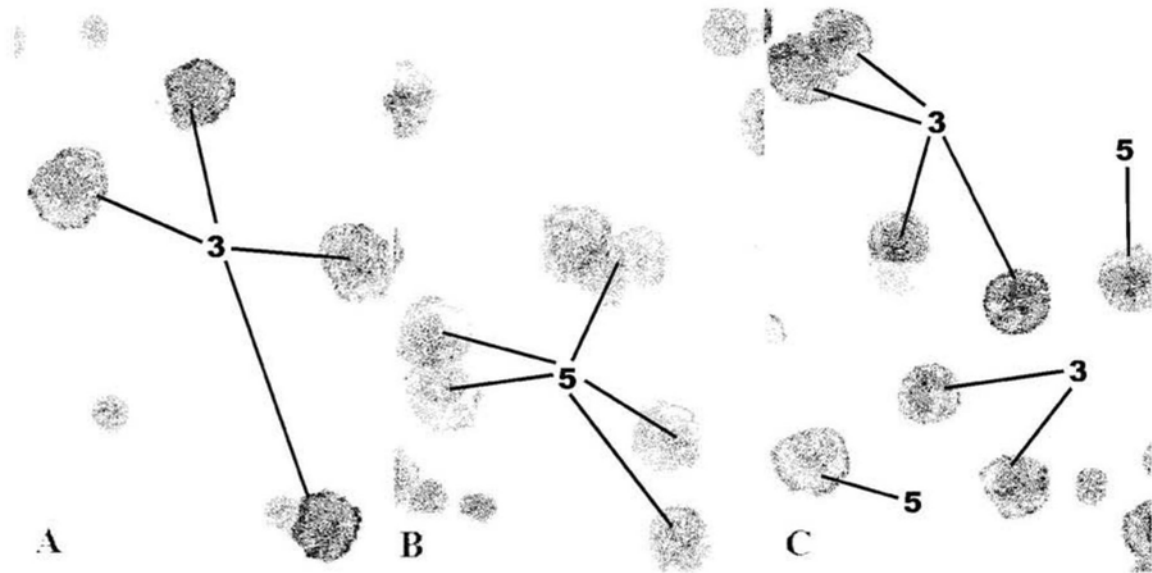


图16

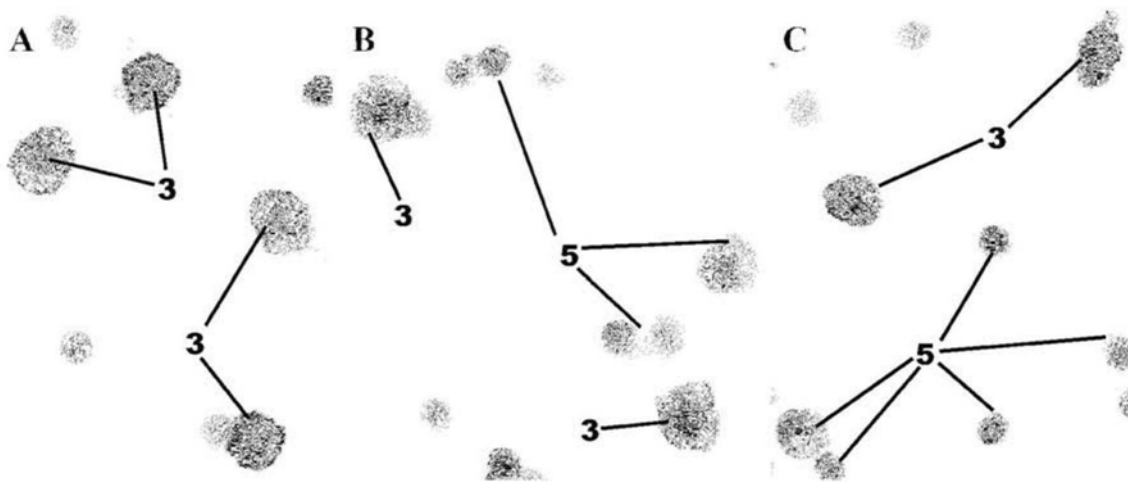


图17

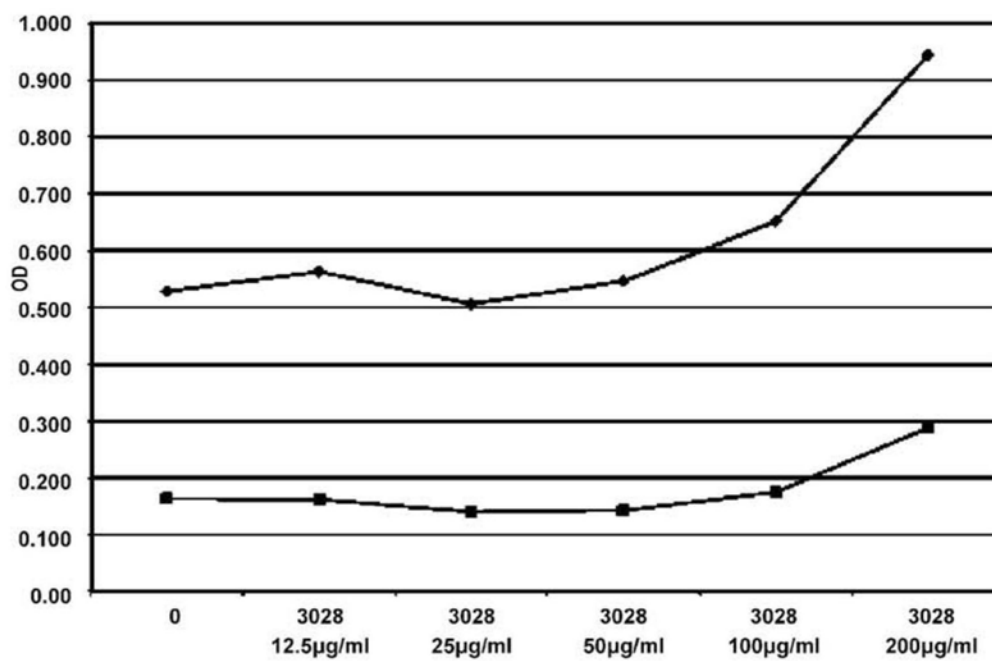


图18A

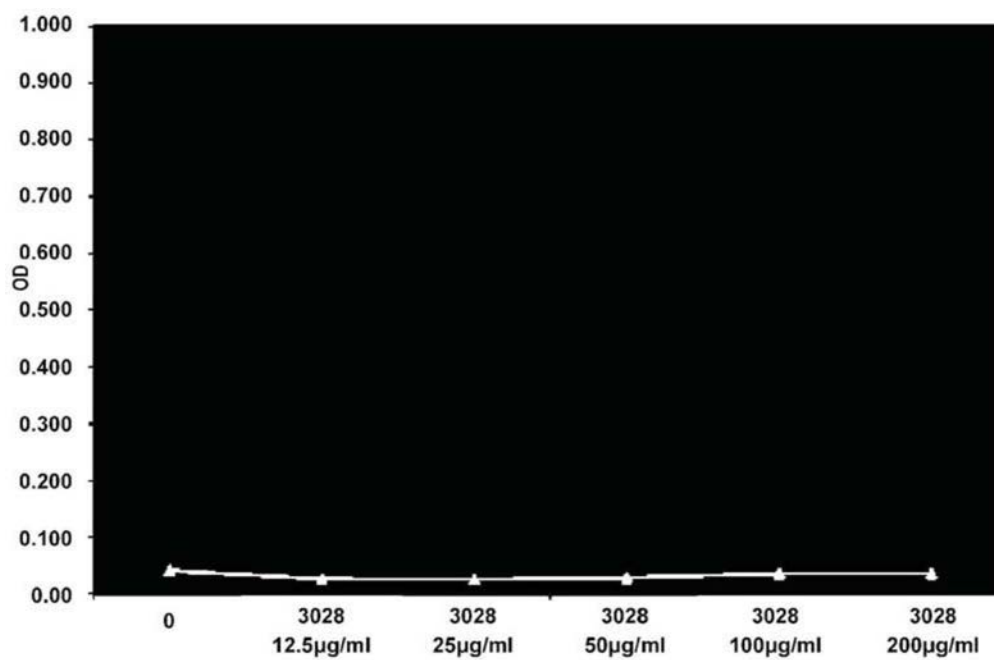


图18B

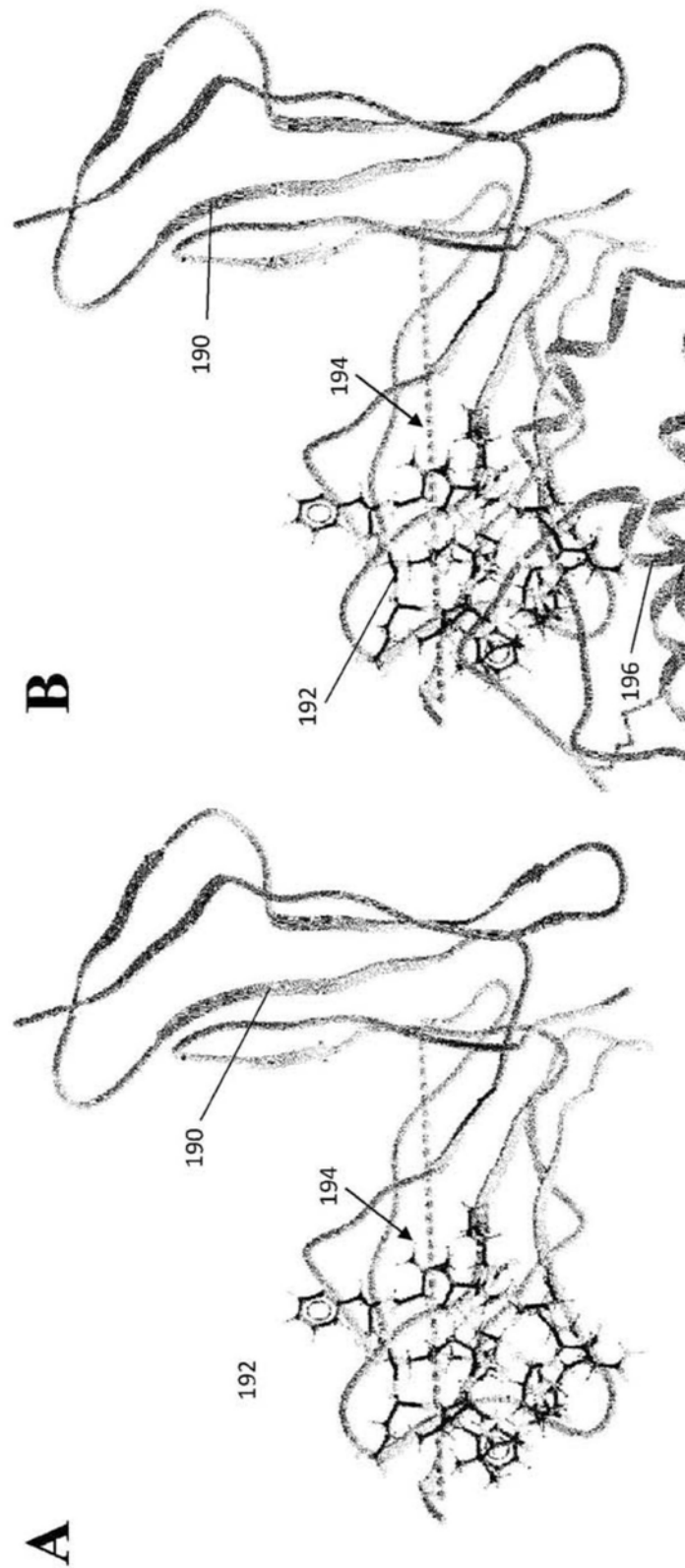


图19

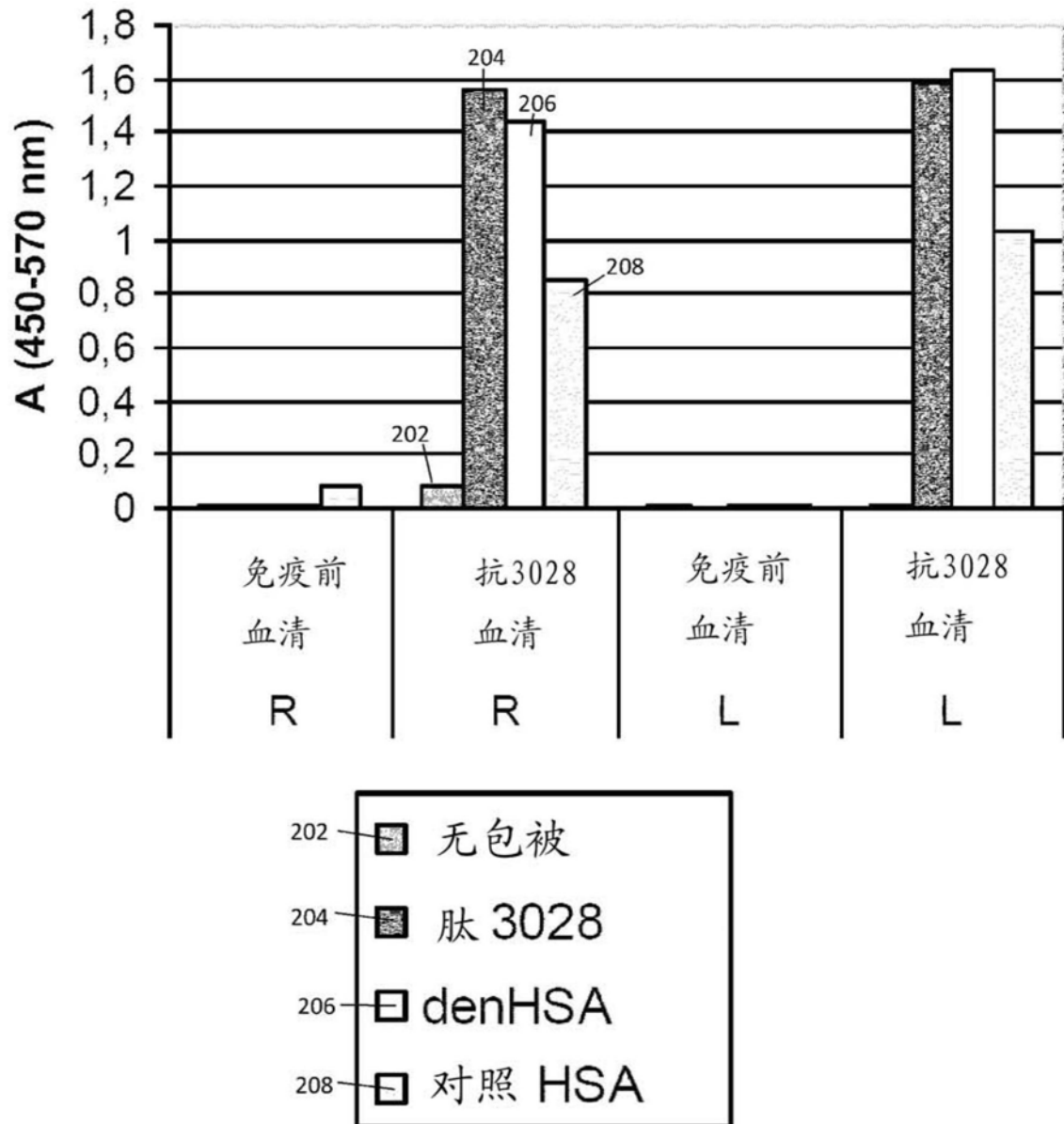


图20

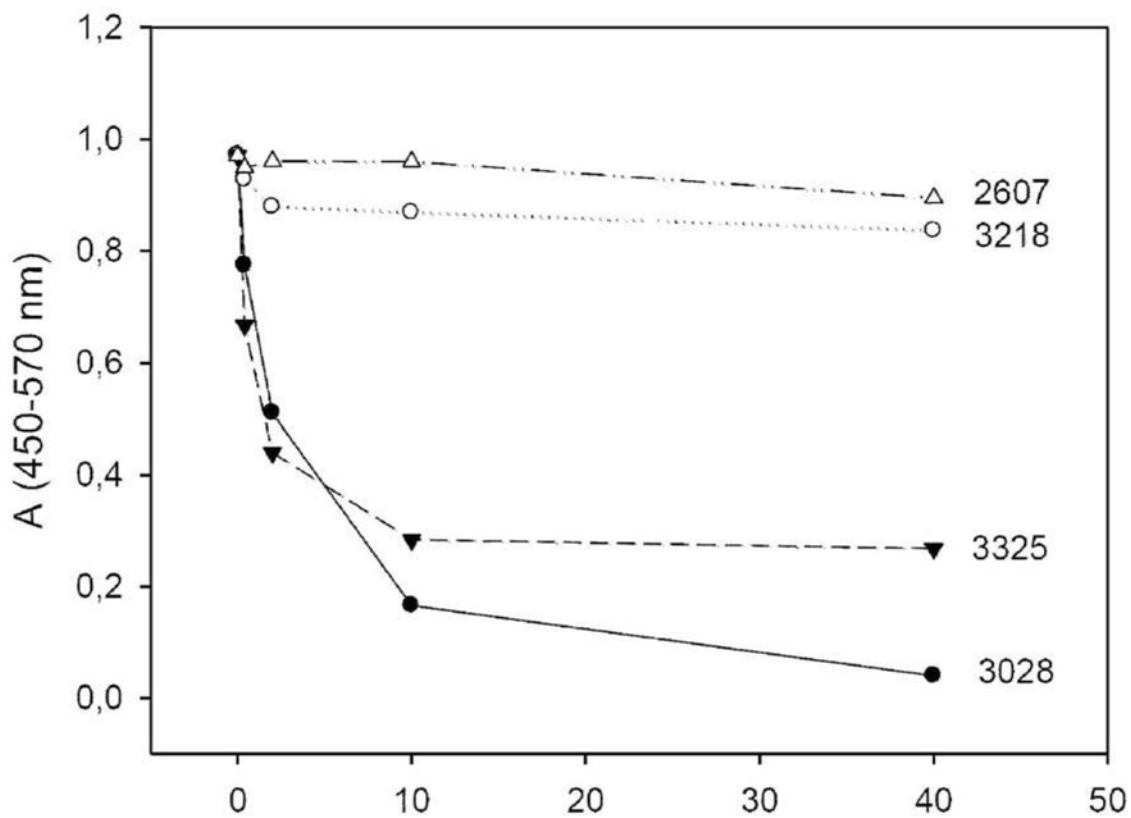


图21

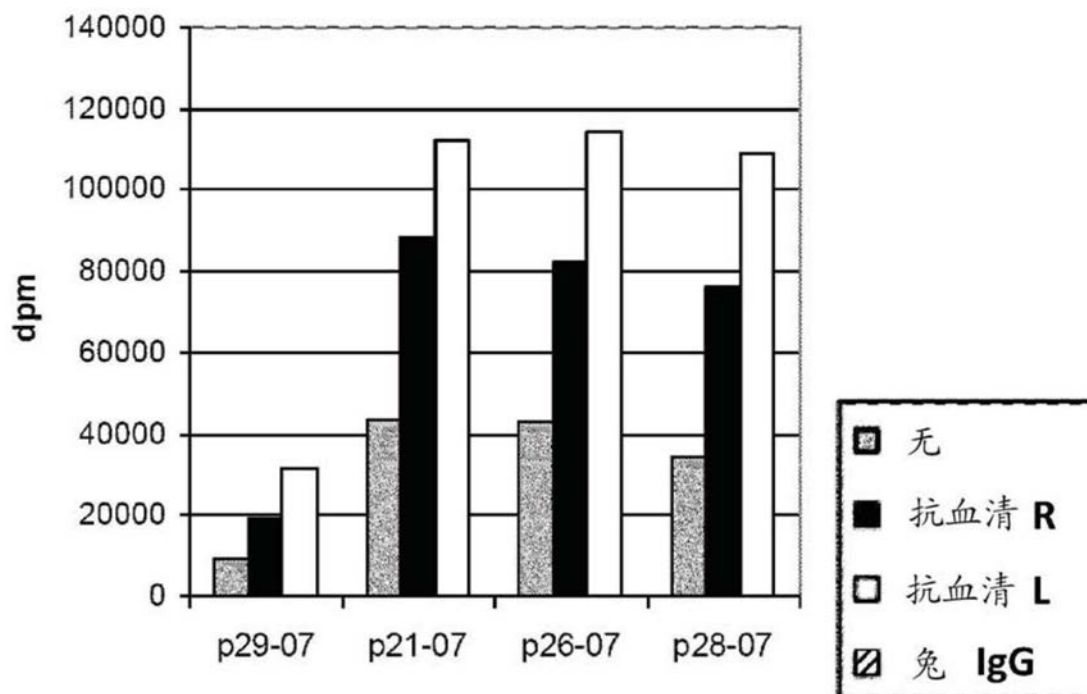


图22A

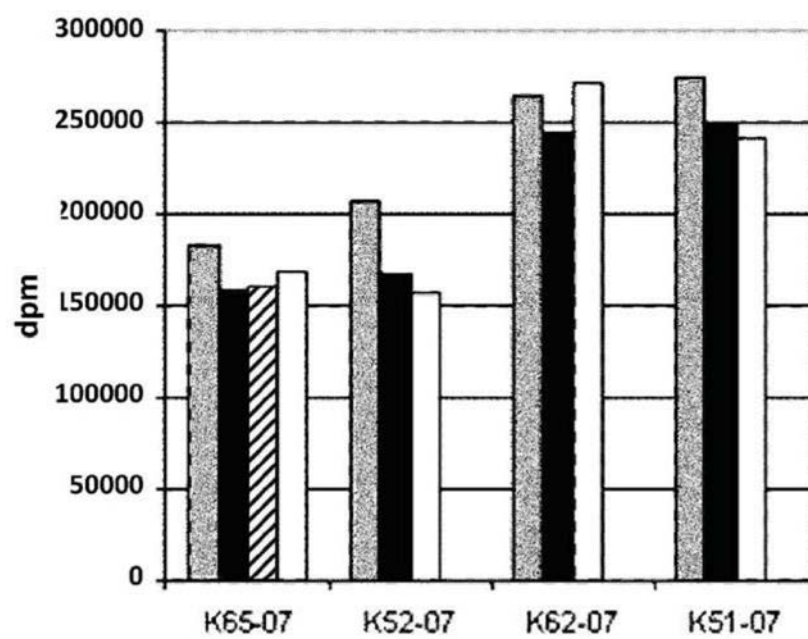


图22B

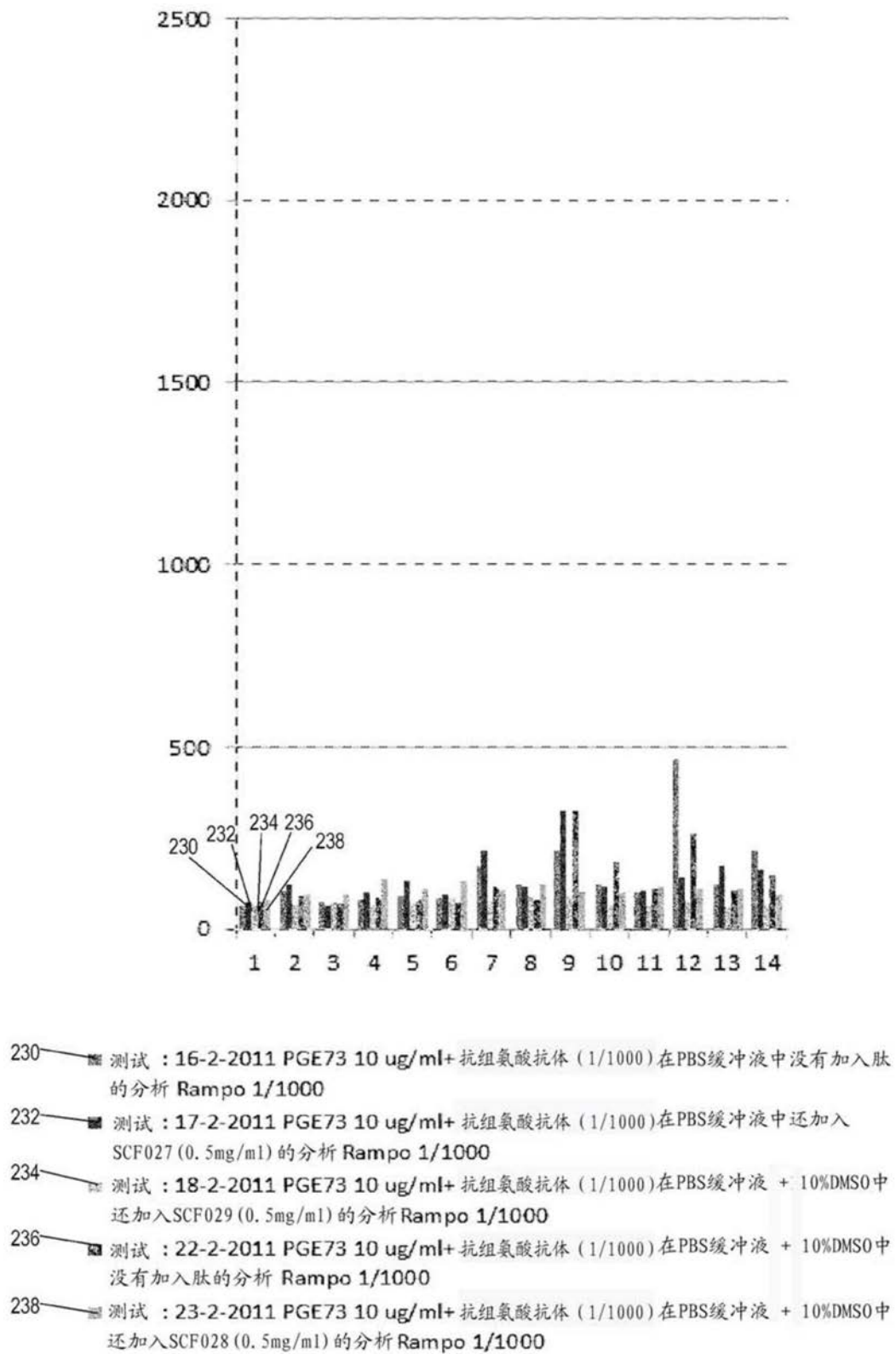


图23A

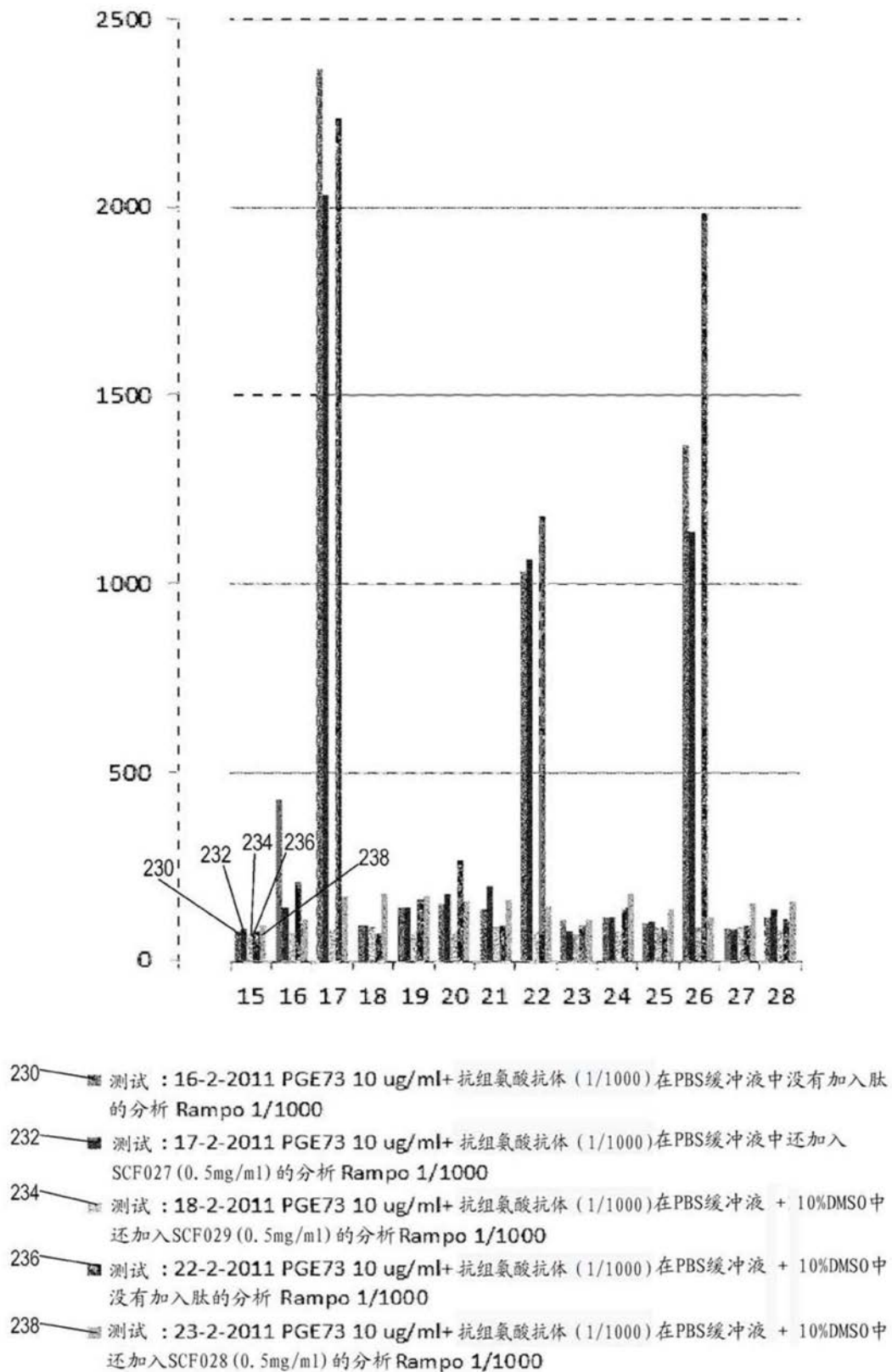


图23B

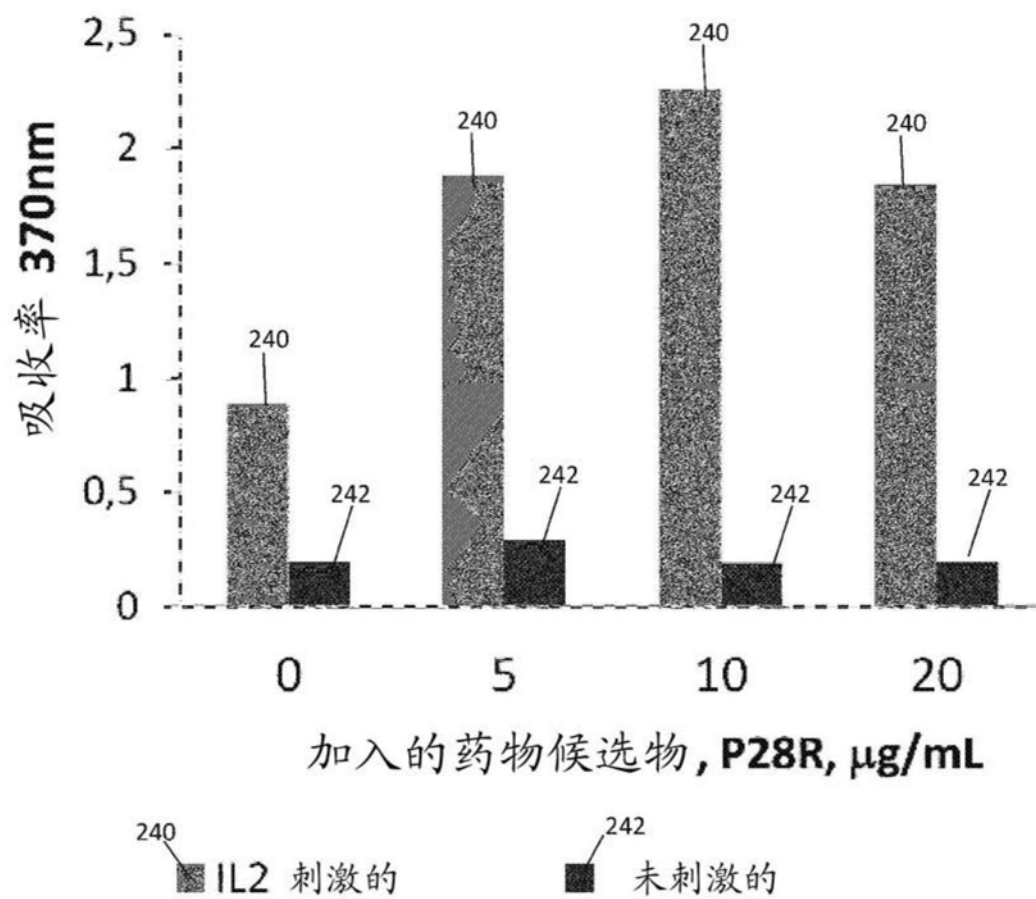


图24A

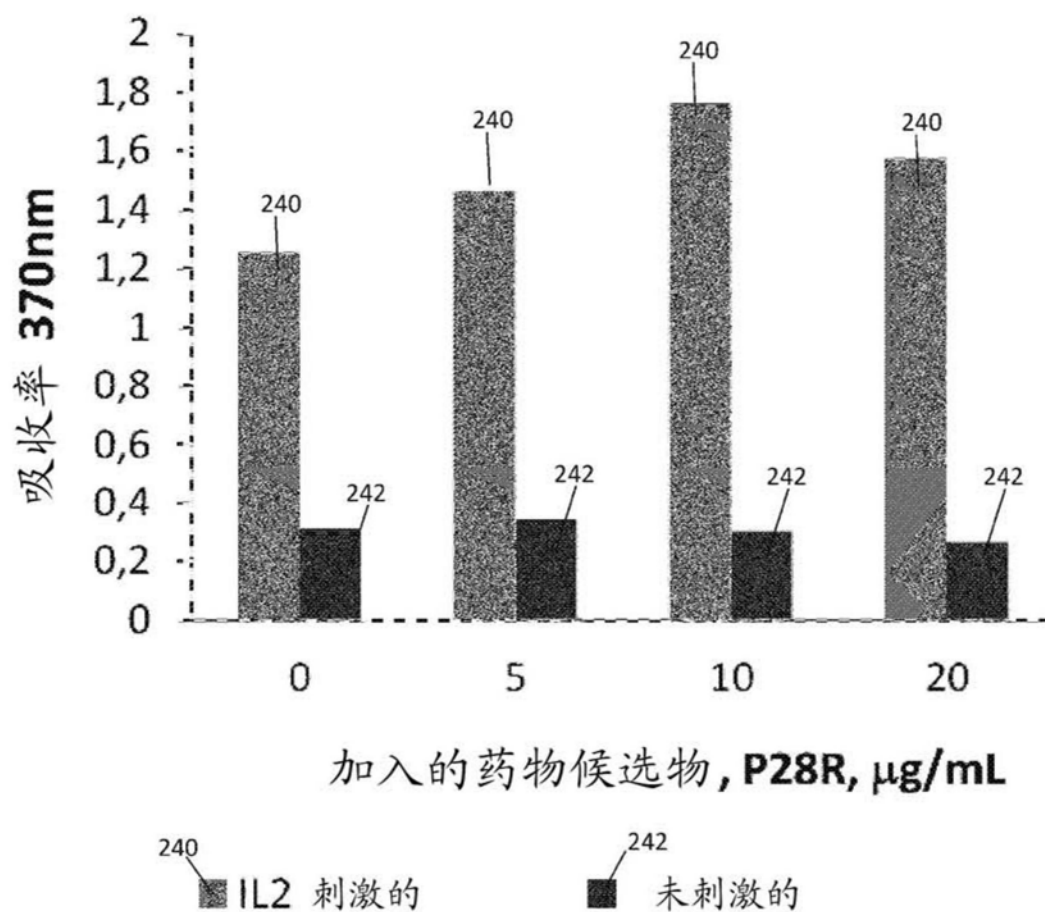


图24B

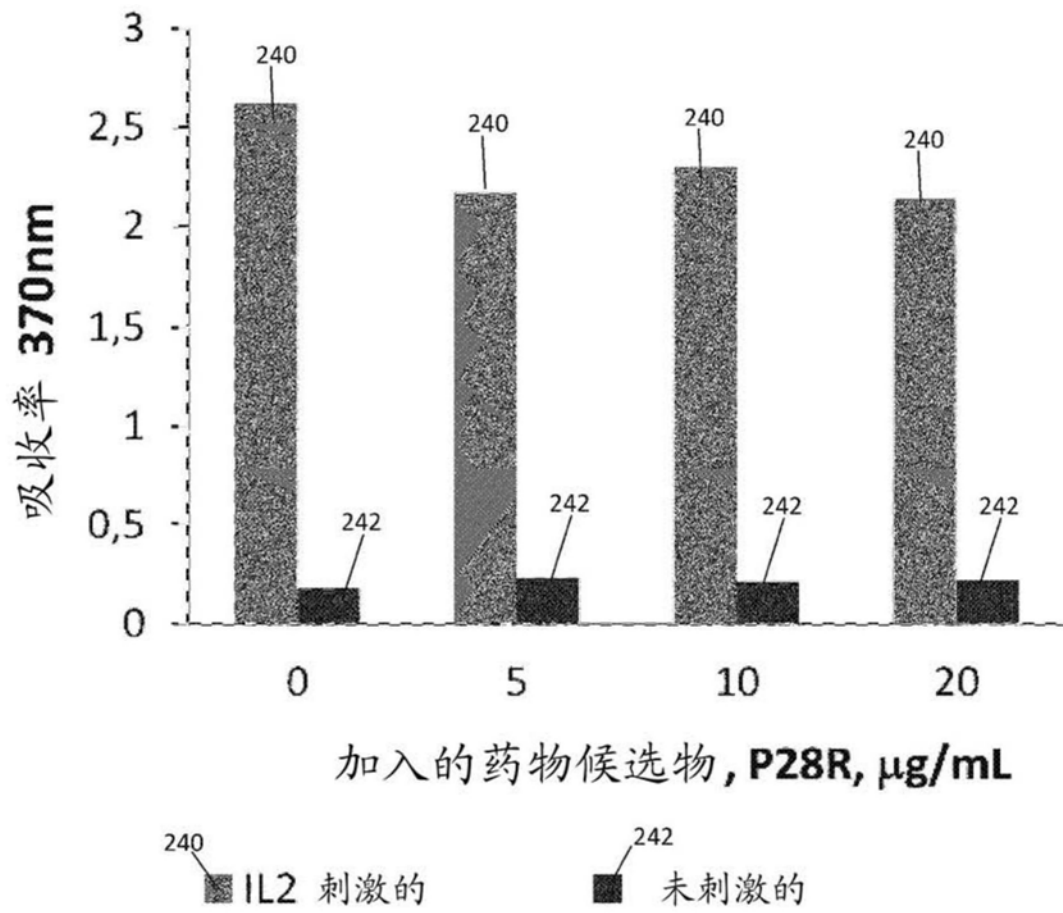


图24C

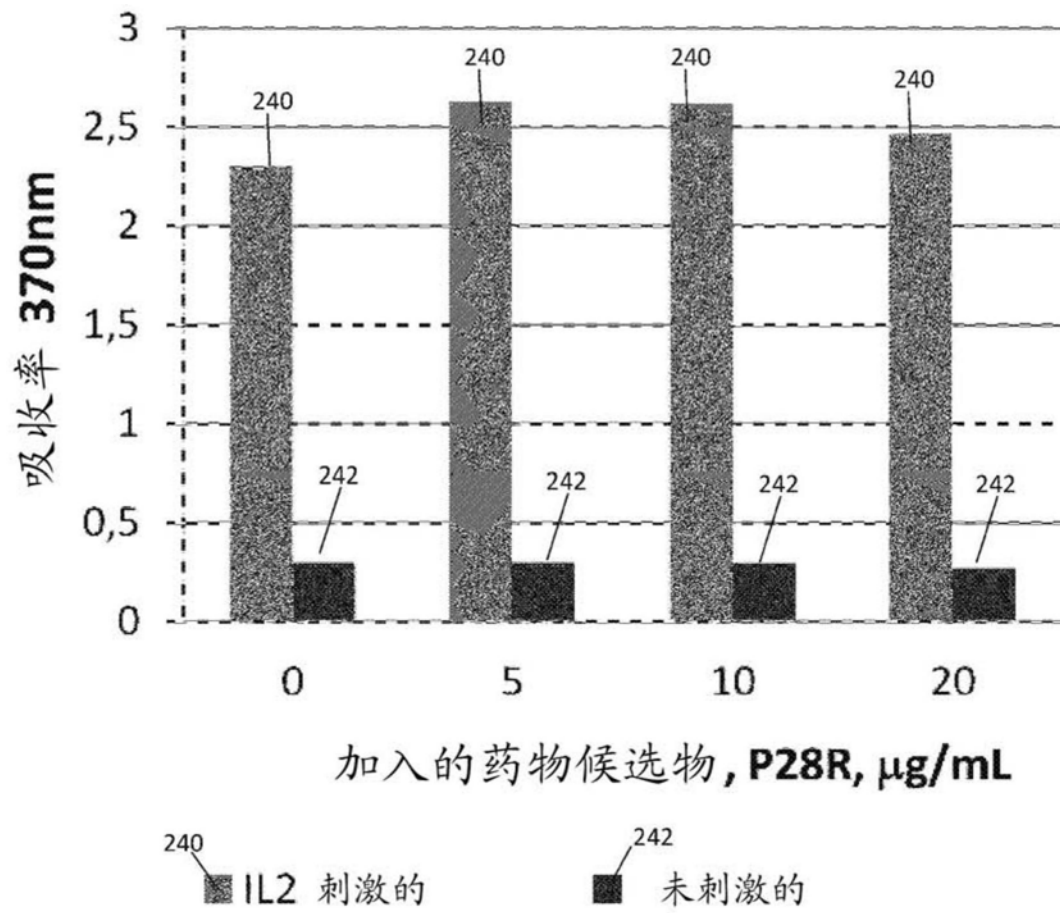


图24D

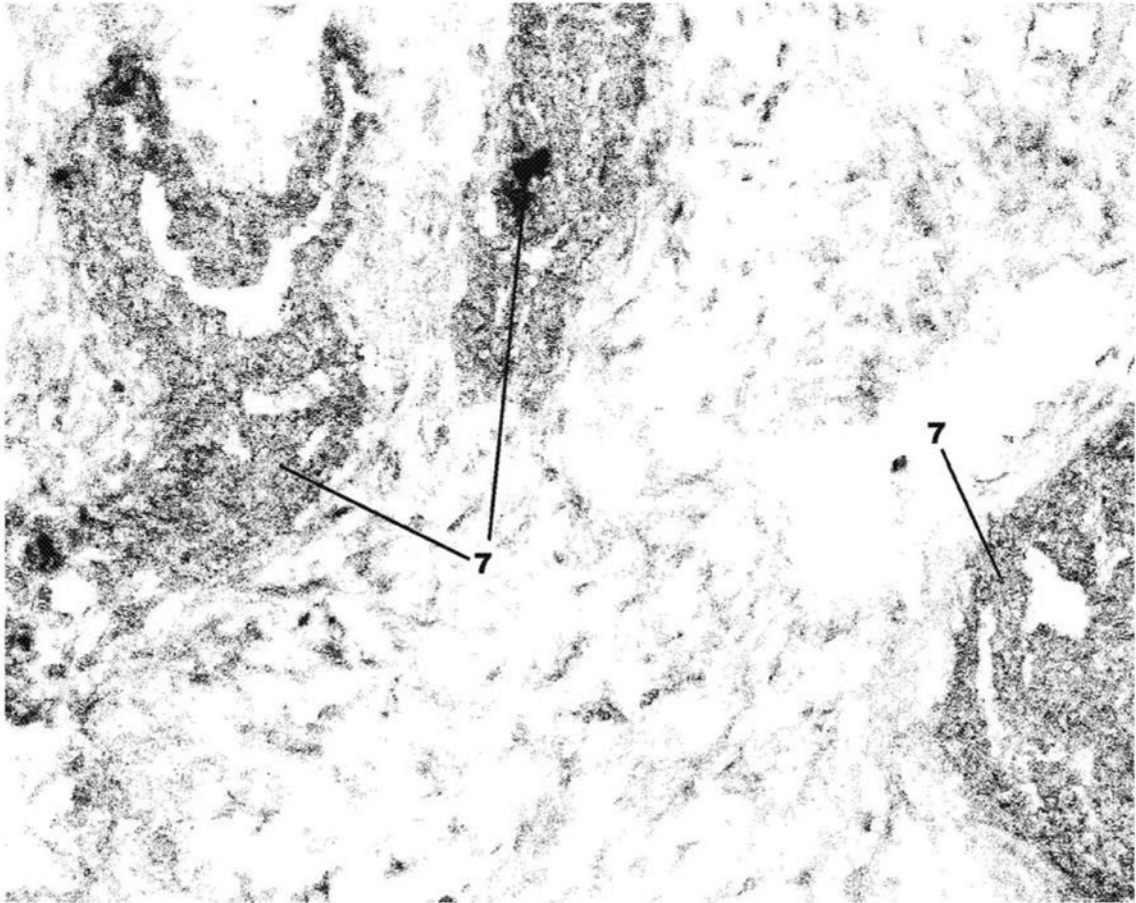


图25

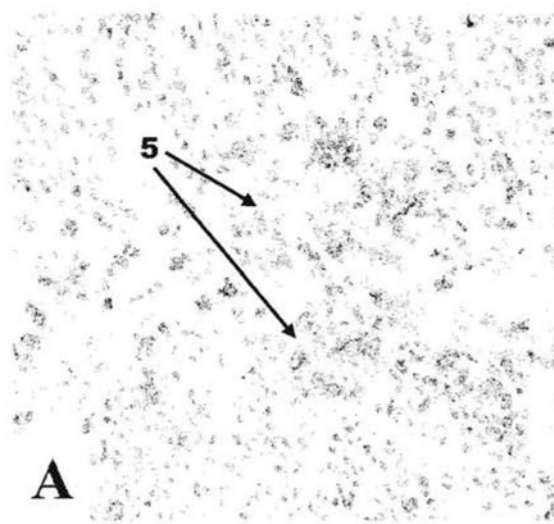


图26A

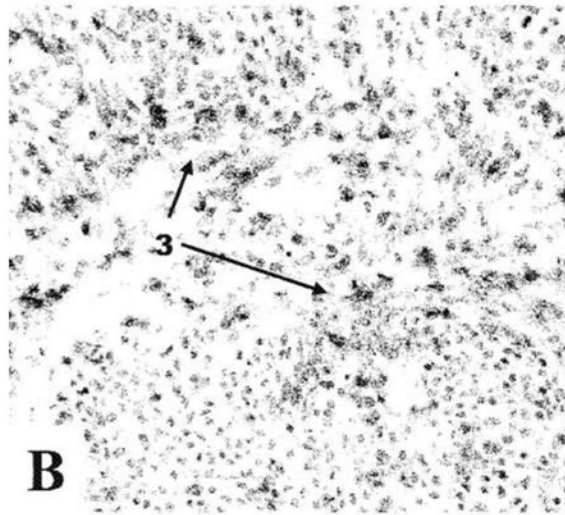


图26B

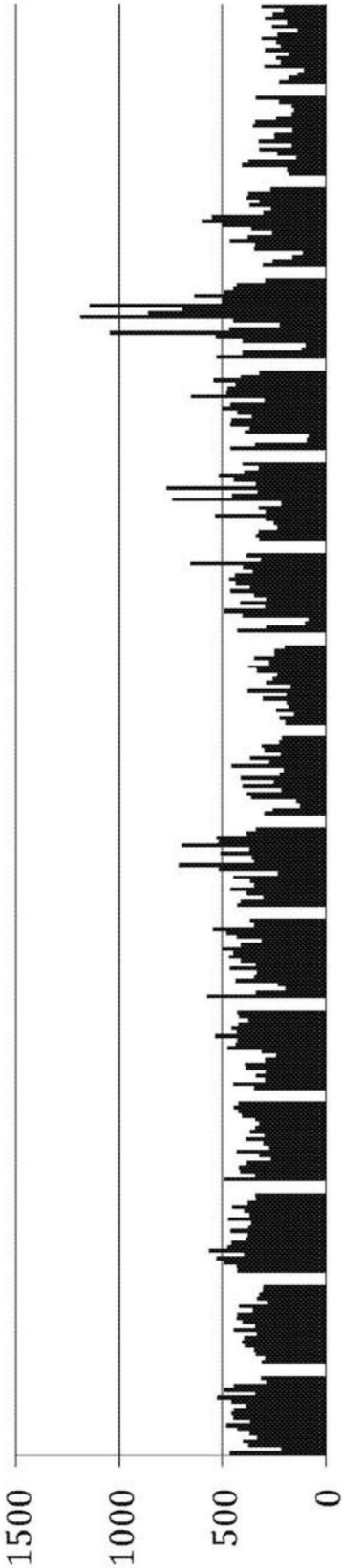


图27

rampo得分大于500的所有取代:

取代 >500	KKLDTFFVKLSLFTER	
	R-G-QAM--VQQMN--	(最大)
	E VS MVQP	
	V TMHR	
	T H N	
	L P	
	S	
	G	
	A	
	R	(最低)

图28

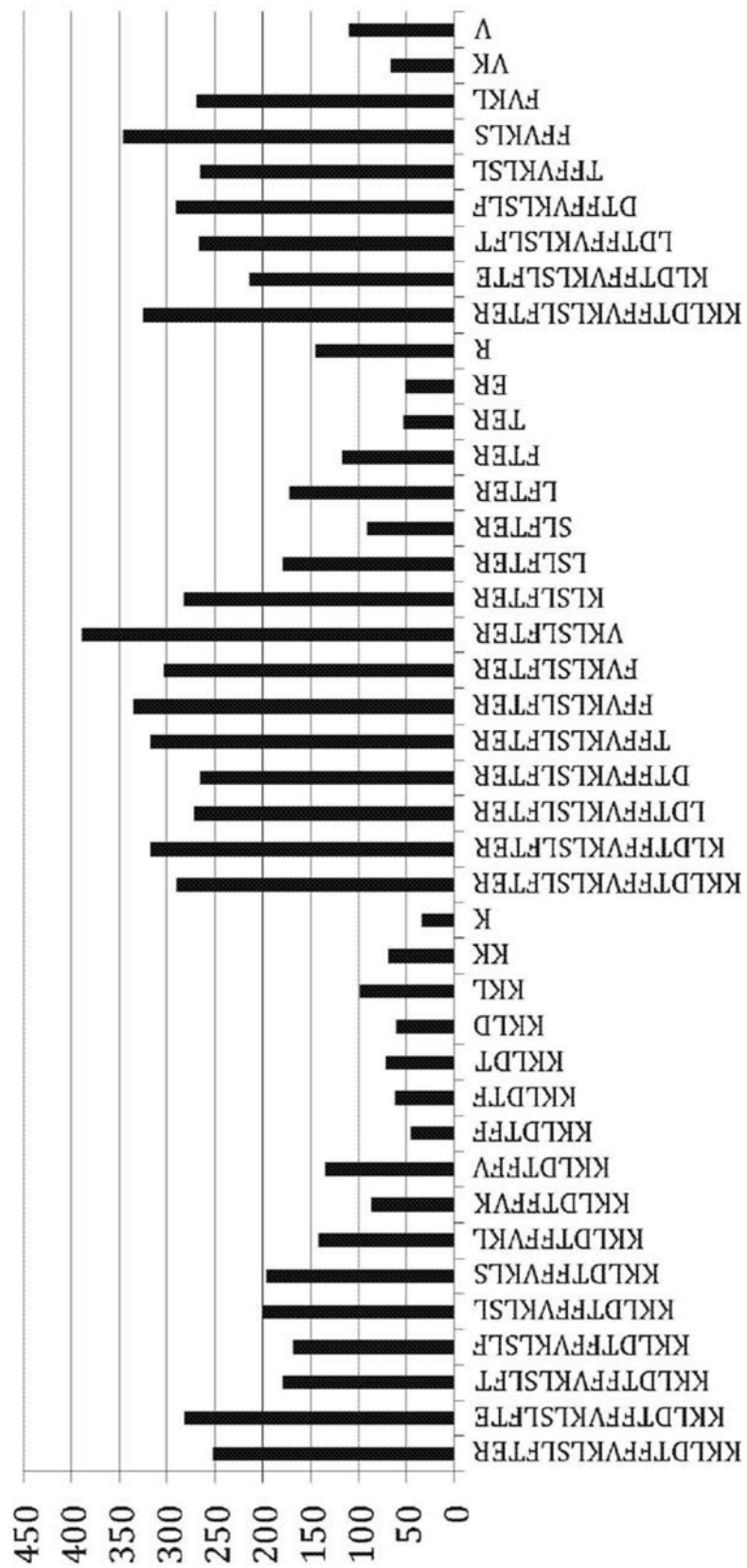


图29

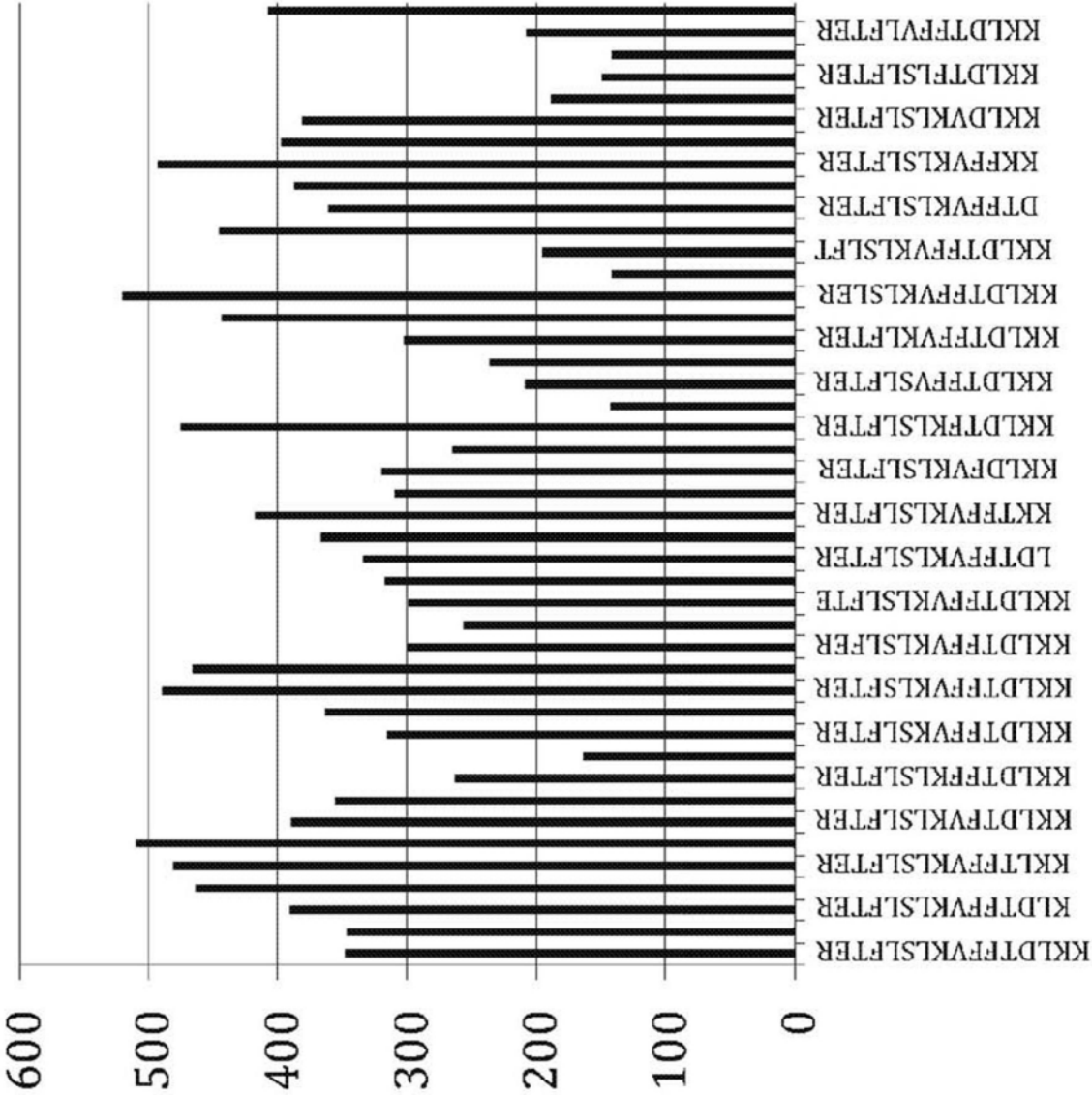


图30A

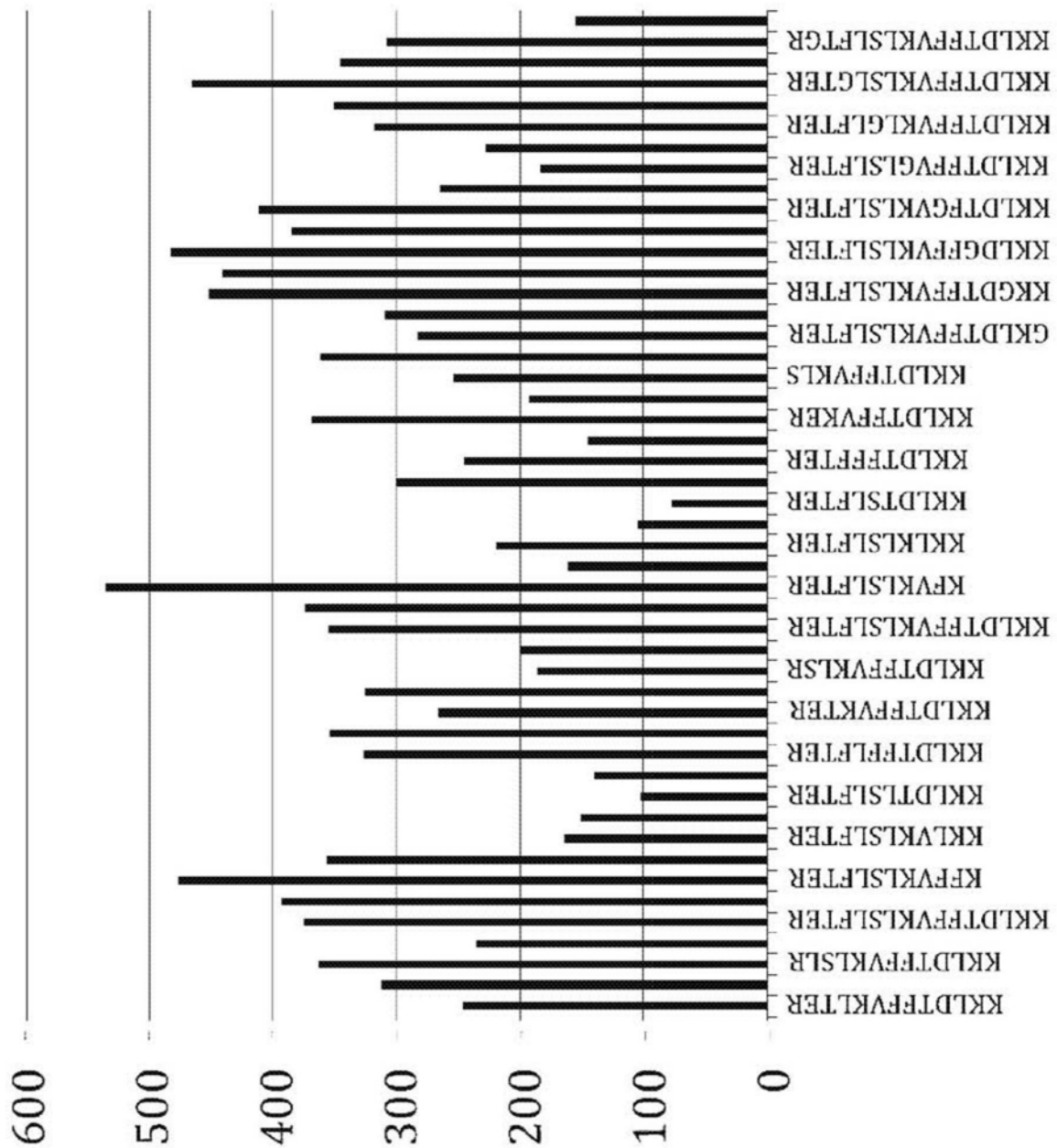


图30B

CIG3028	VFDEFKPLVEEPQNLIK
	* *** * **
KKL15	KKLDTFFKKLSLFTE

	=	有利的静电相互作用
*	=	有利的疏水相互作用

图31

C	L	A	L	N	-	V	M	C	G								
		R		I			F										

								C	L	A	L	N	V	M	C	G	
										R		I		F			

	K	K	L	D	T	F	F	V	K	L	S	L	F	T	E	R
	A		A	A	C	A	L	F	R	A	H	A	A	F	D	F
	D		C	E	M	I	M	G		F	M	H	C	G		K
	E		D	I	N	M	Q	L		G	N	I	G	H		N
	G		E	V	P	N	S	P		I	Q	M	H	I		R
	H		F	W	Q	P	T	R		M	T	N	I	L		T
	I		G	Y	R	T	V			N		Q	L	M		Y
	L		H		S	V				P		R	M	N		
	M		I		W					Q		S	N	P		
	N		K		Y					R		T	P	S		
	P		M							S		V	Q	V		
	Q		N							T		W	R	W		
	R		Q							V			S			
	T		R							Y			T			
	V		S										V			
	K		T										W			
			V													

图32

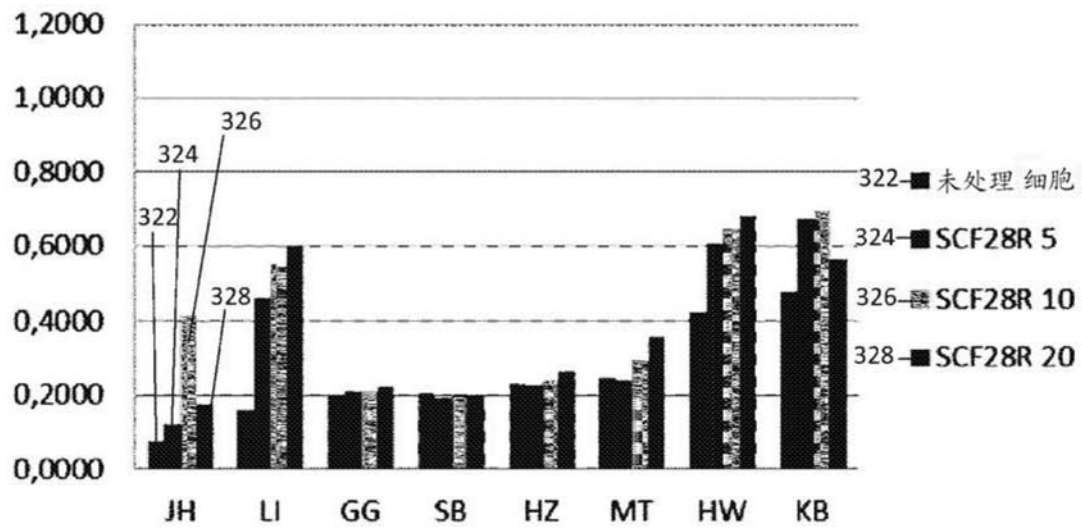


图33A

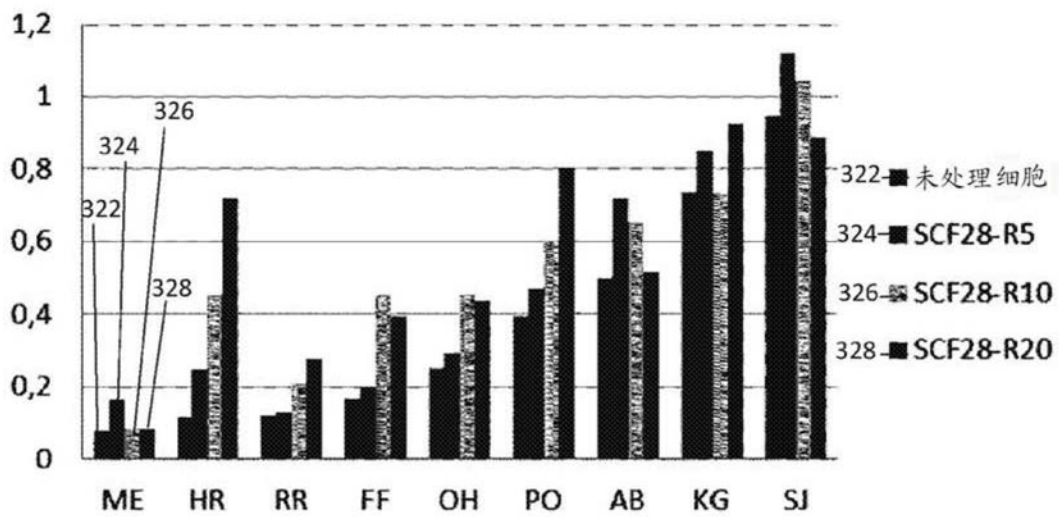


图33B

SCF28R (N=9) 和SCF27 (N=8) 对癌症患者的PBMC的作用,
第7天测量MTS

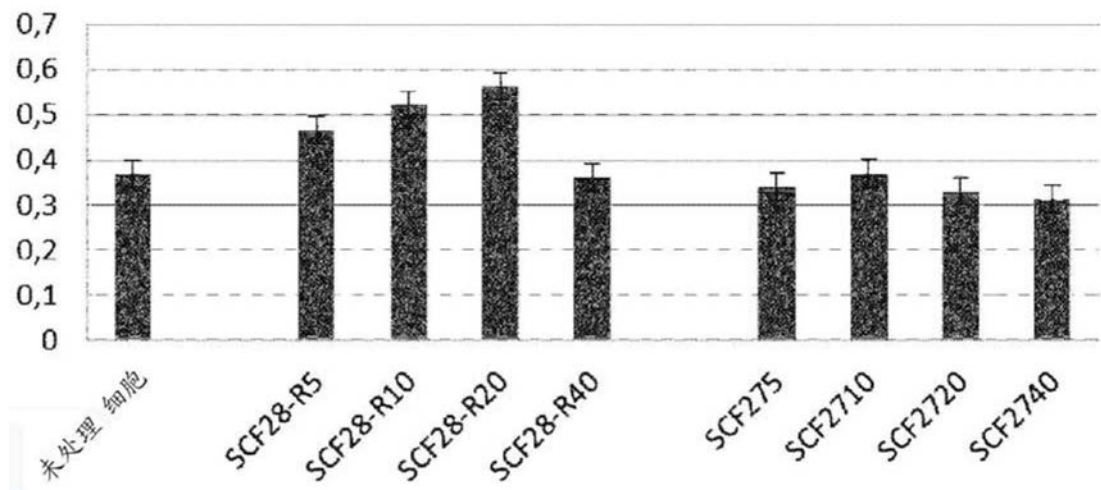


图34

对IL-2的反应, BrdU, 癌症患者

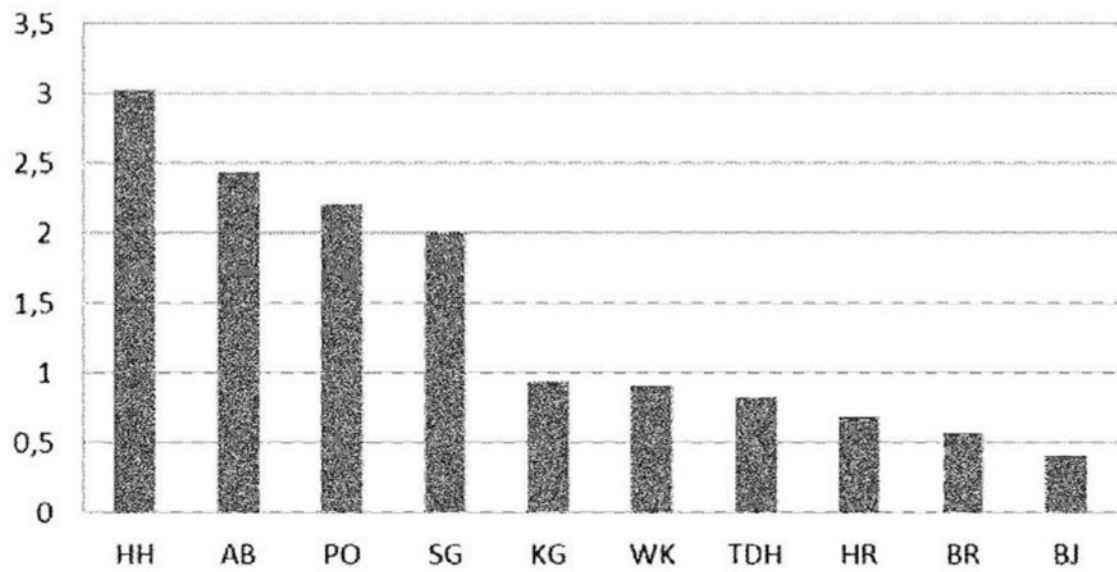


图35

P28对IL-2诱导的增殖的作用
高应答物

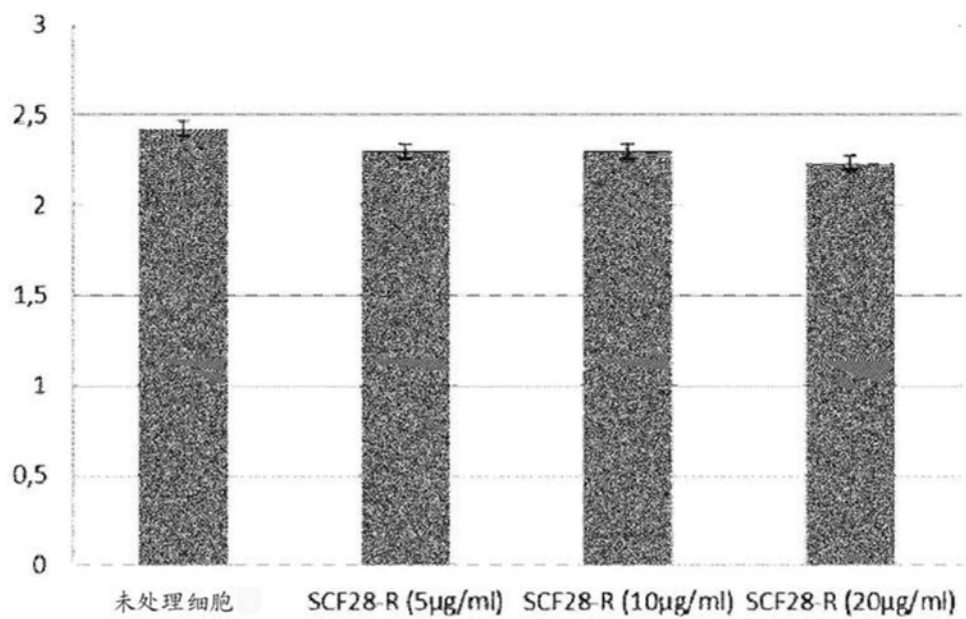


图36A

P28对IL-2诱导的增殖的作用
低应答物

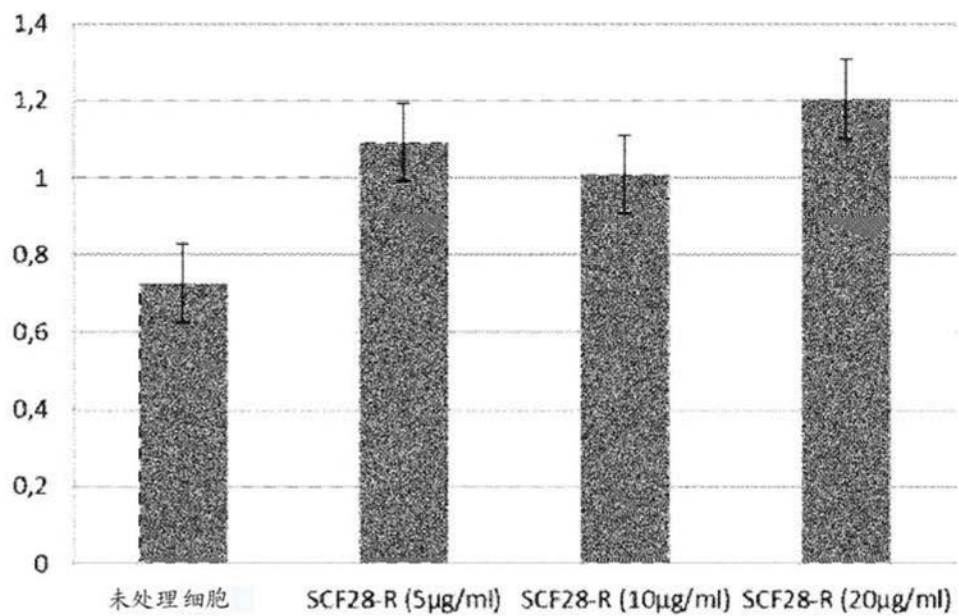


图36B

SCF28R和SCF27对癌症患者PBMC的作用，IL-2刺激，BrdU

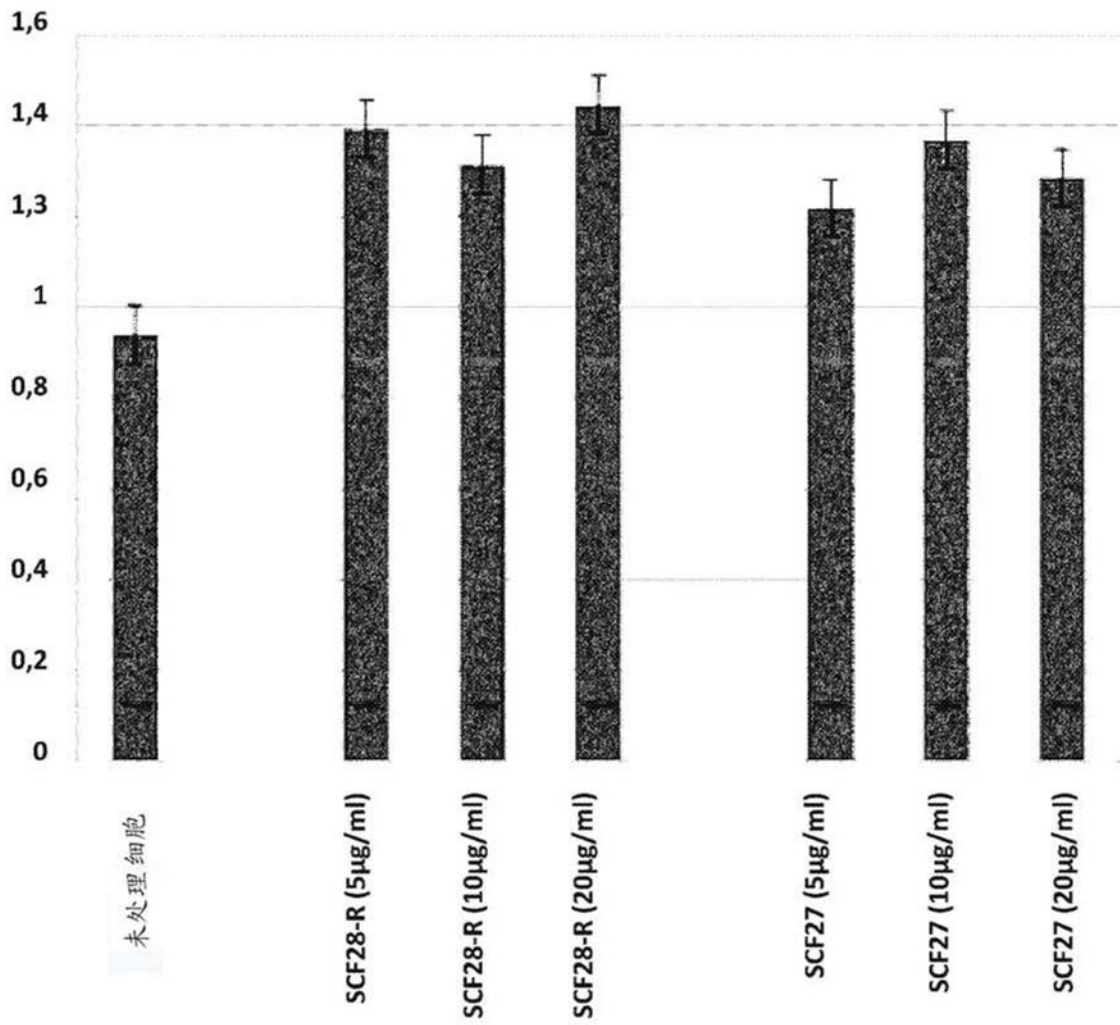


图37

SCF28R和SCF27对IL-2诱导的增殖的作用, BrdU

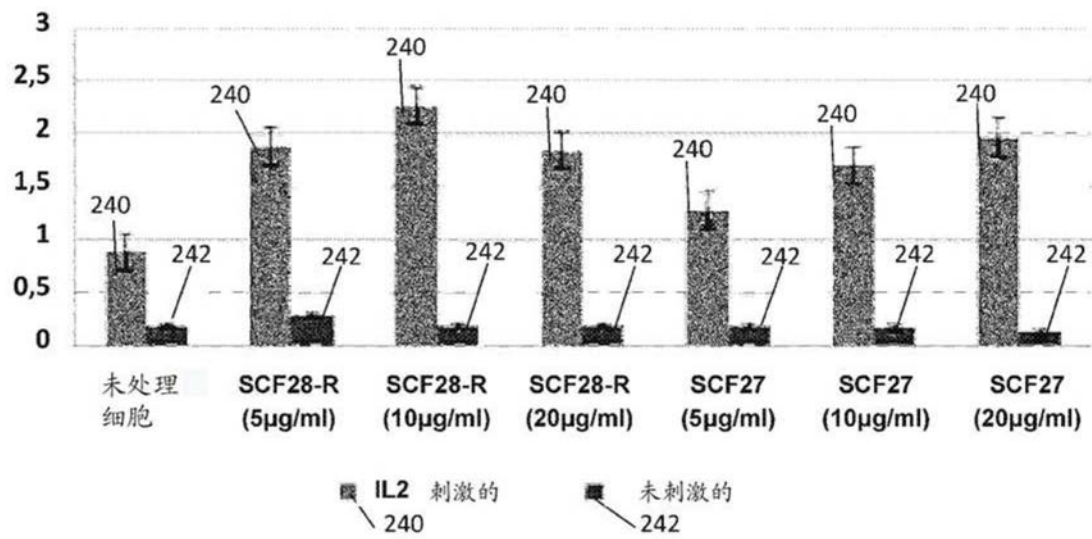


图38A

SCF28R和SCF27对IL-2诱导的增殖的作用, MTS

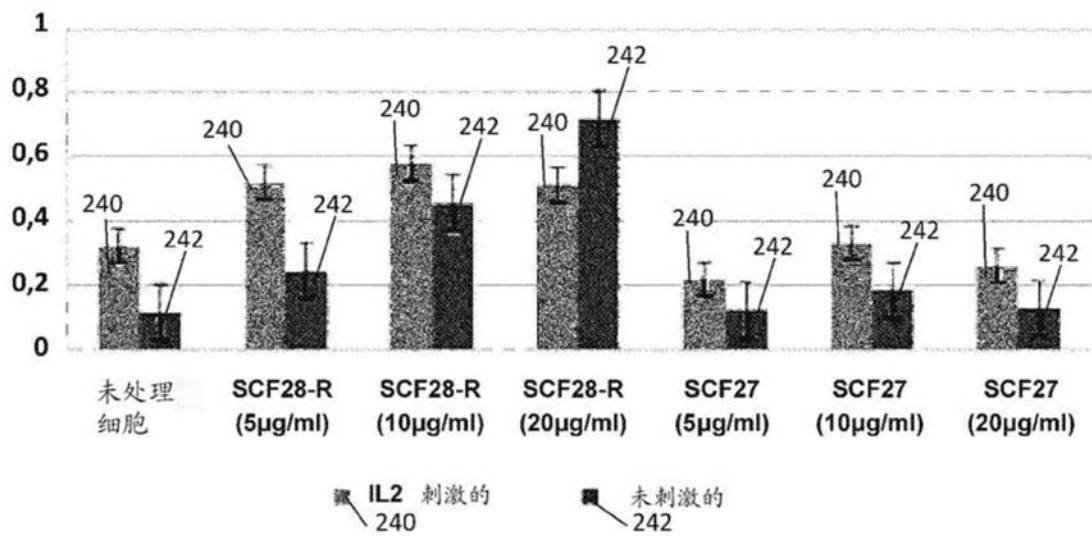


图38B

SCF28R和SCF27对IL-2诱导的增殖的作用, BrdU

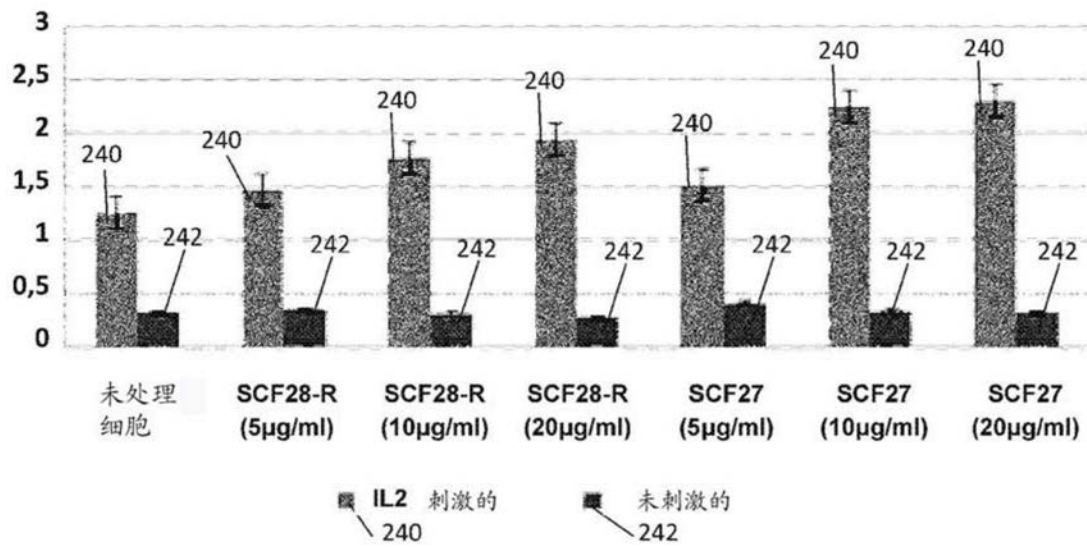


图38C

SCF28R和SCF27对IL-2诱导的增殖的作用, MTS

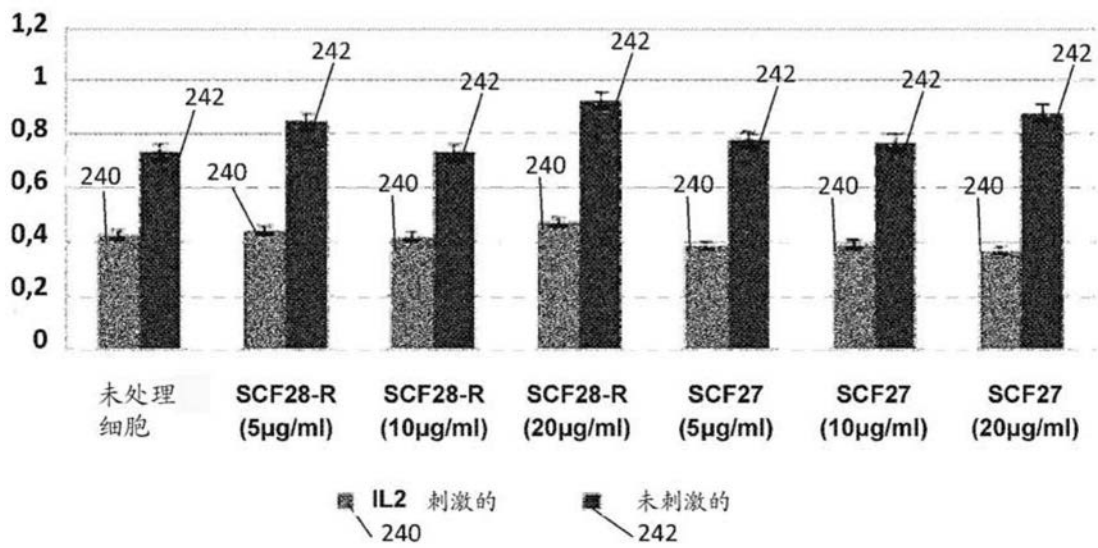


图38D

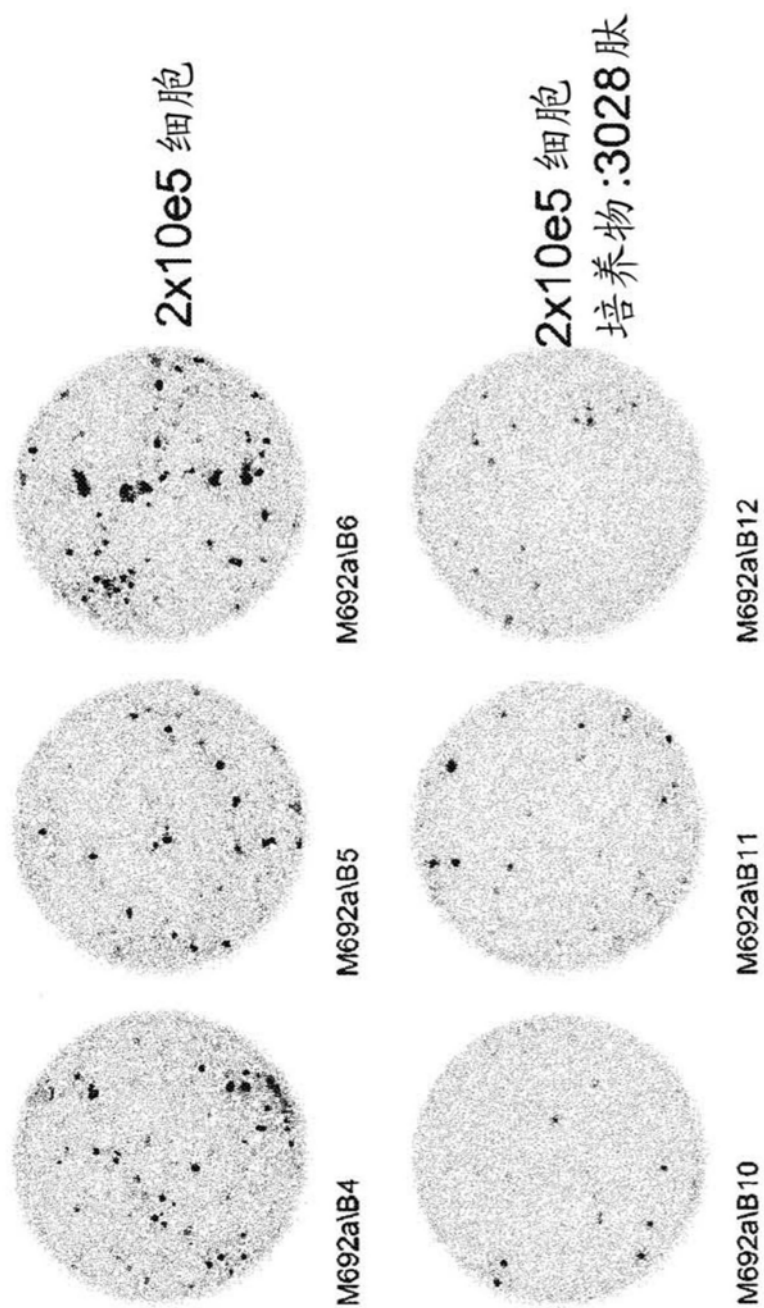


图39

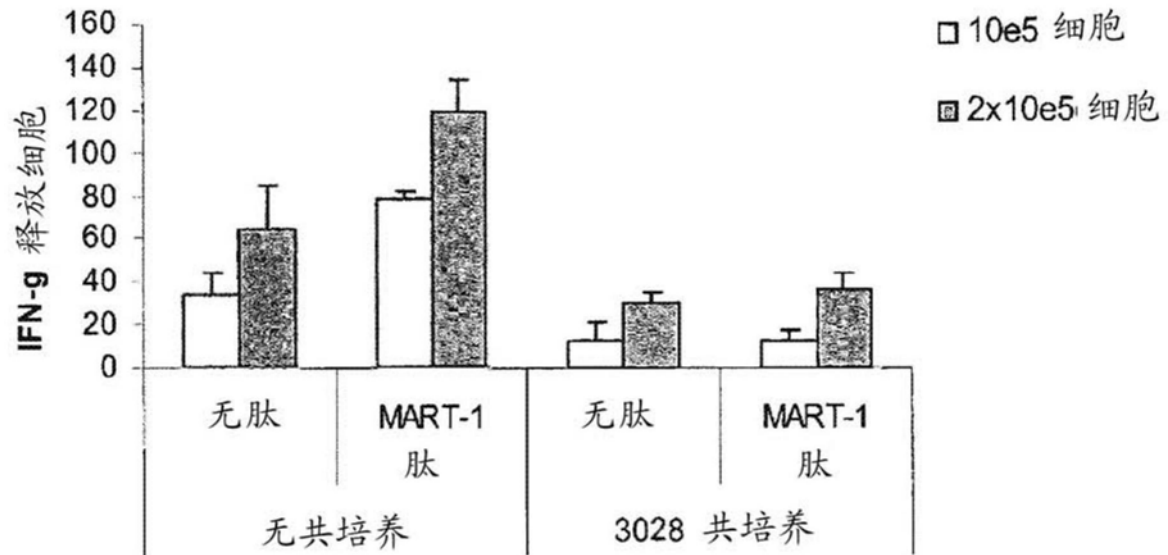


图40

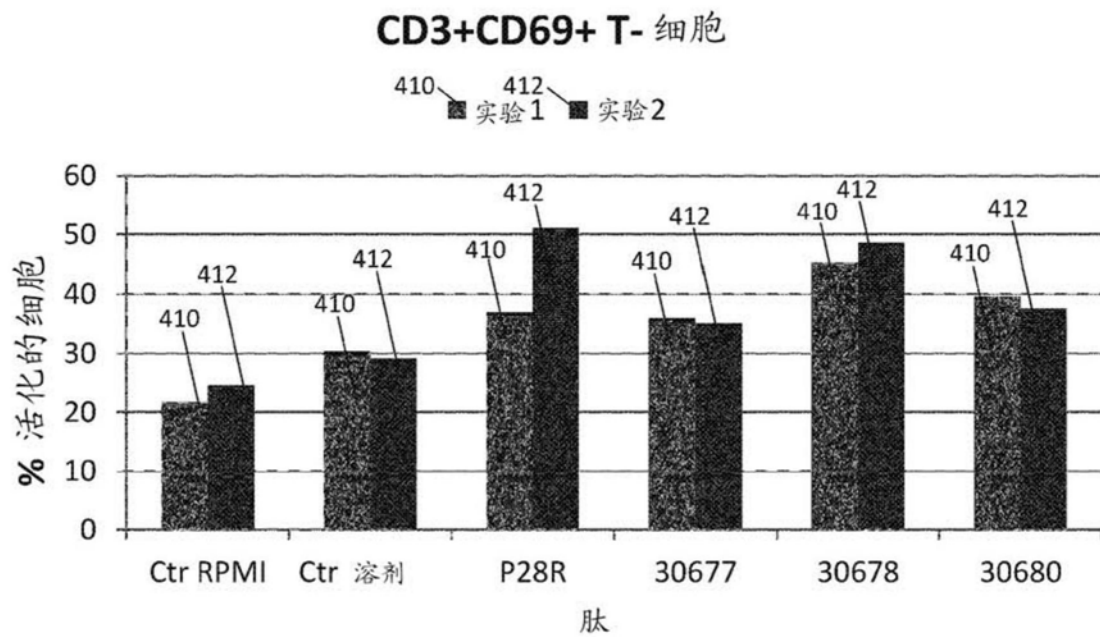


图41A

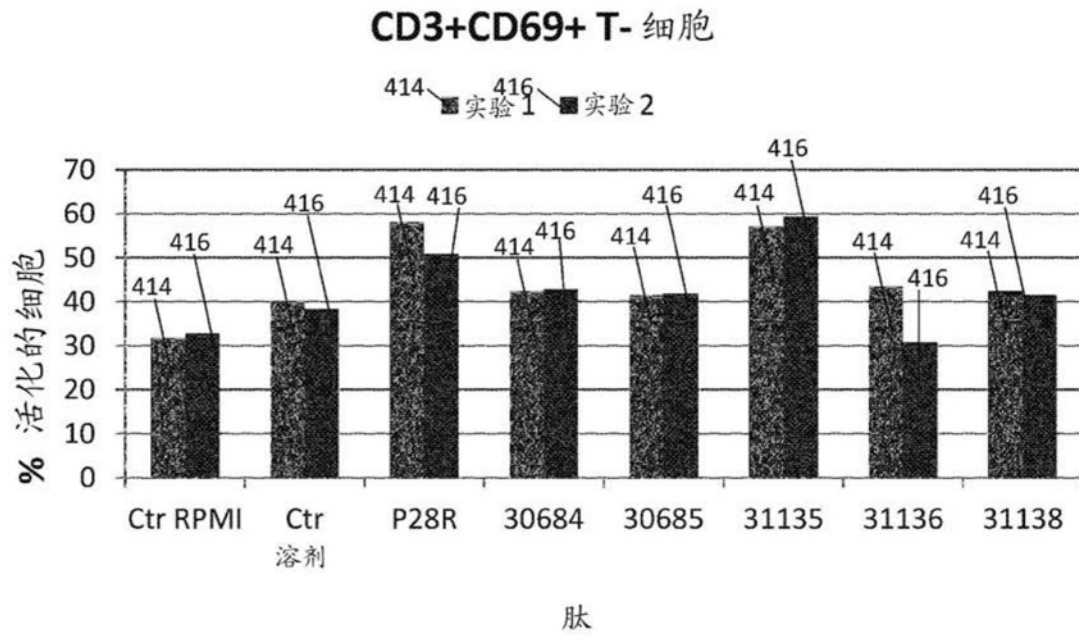


图41B

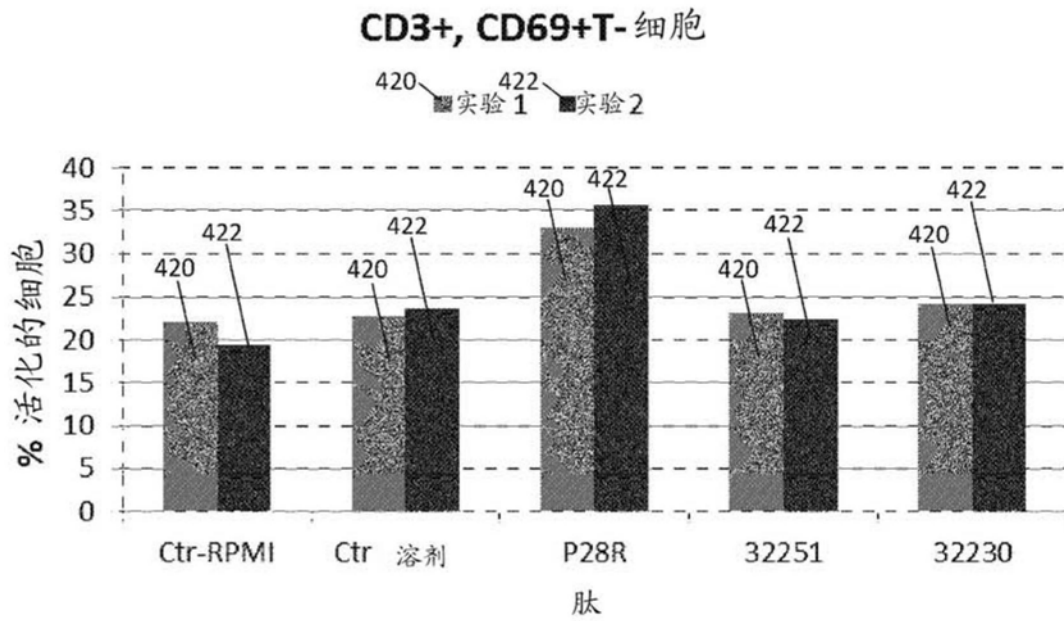


图42A

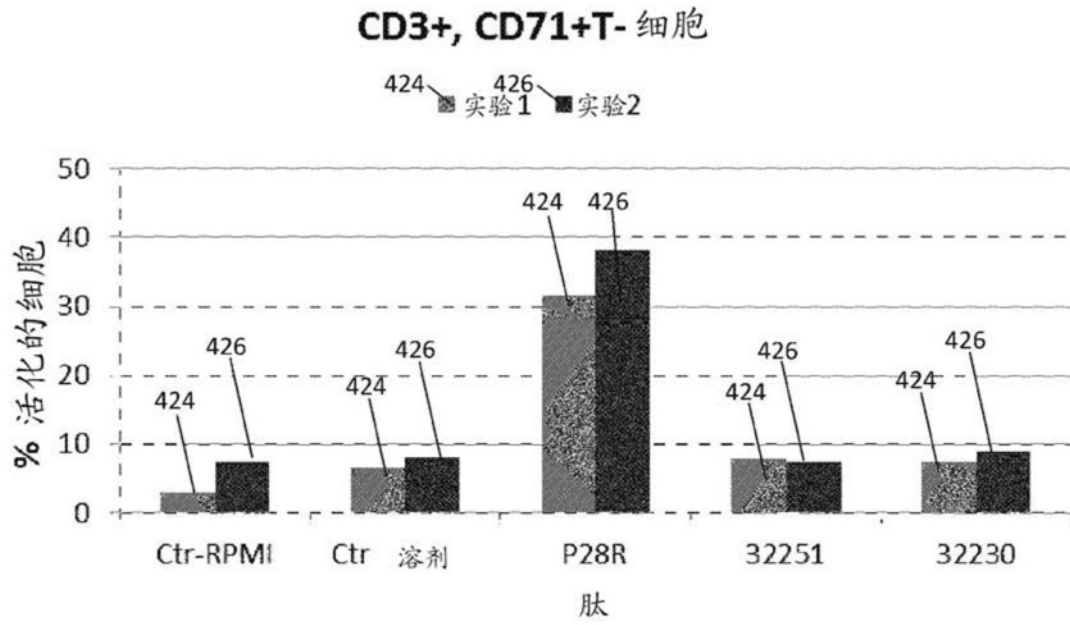


图42B

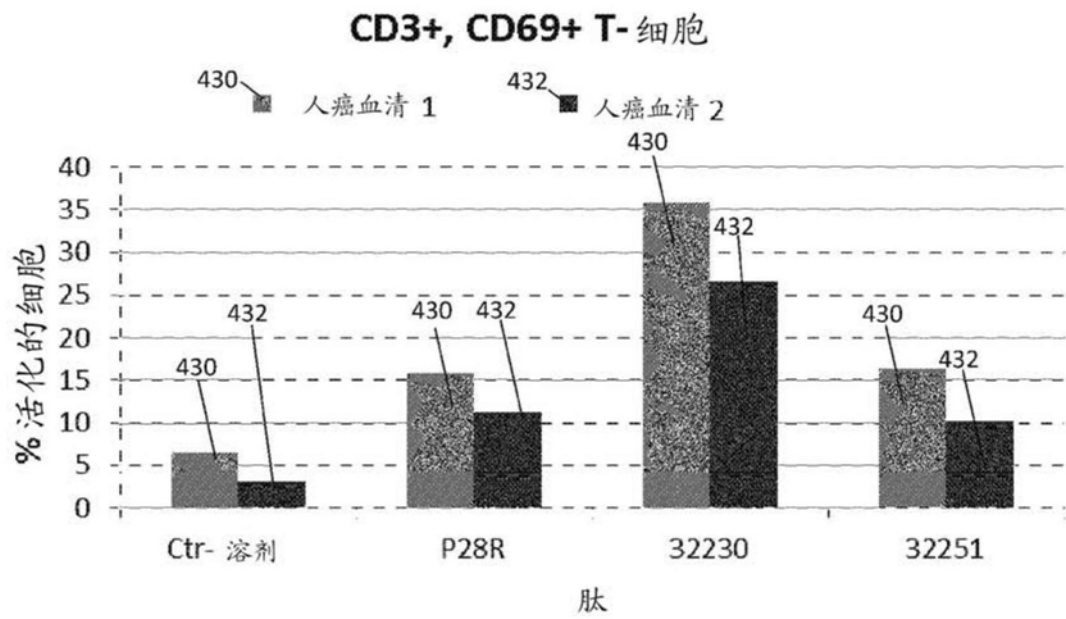


图43

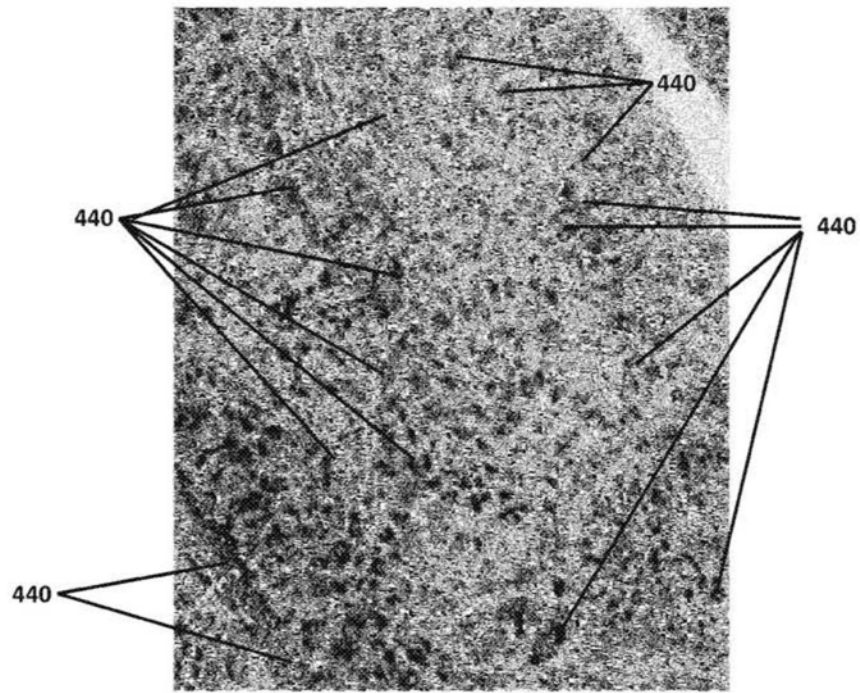


图44A

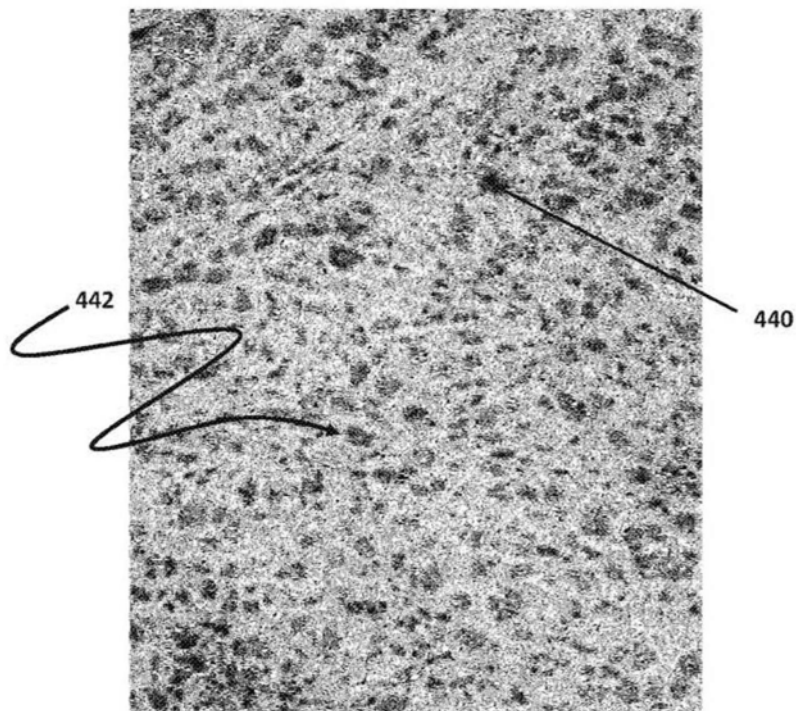


图44B

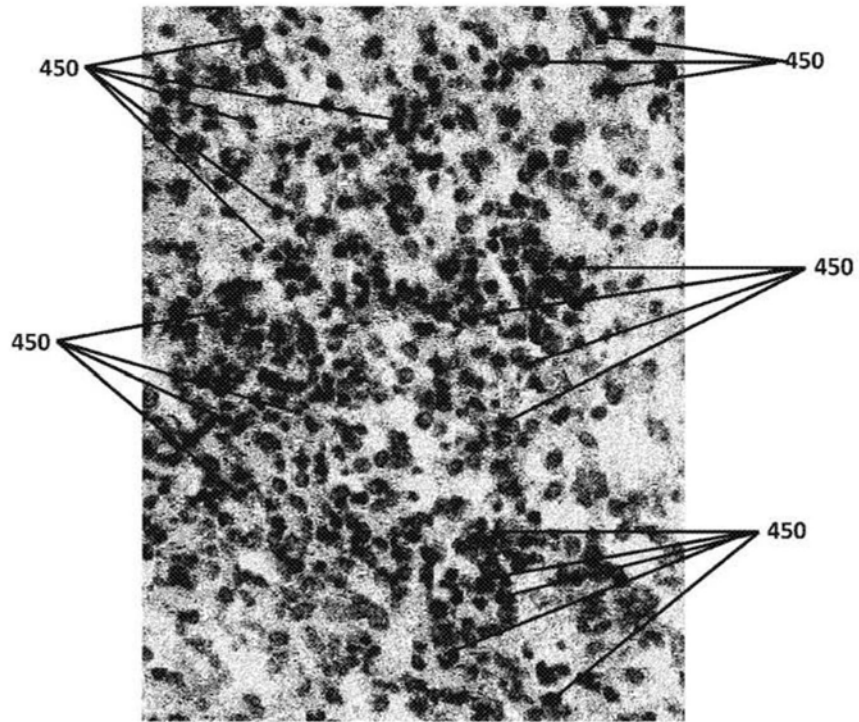


图45A

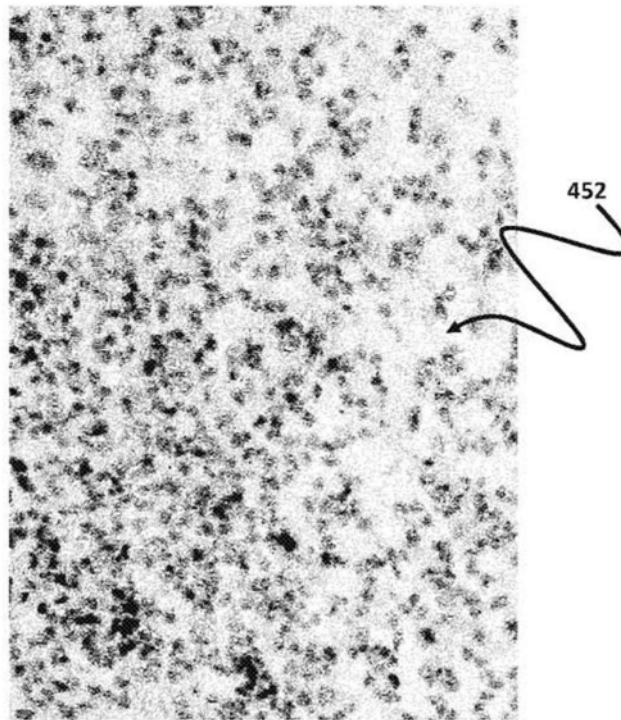


图45B

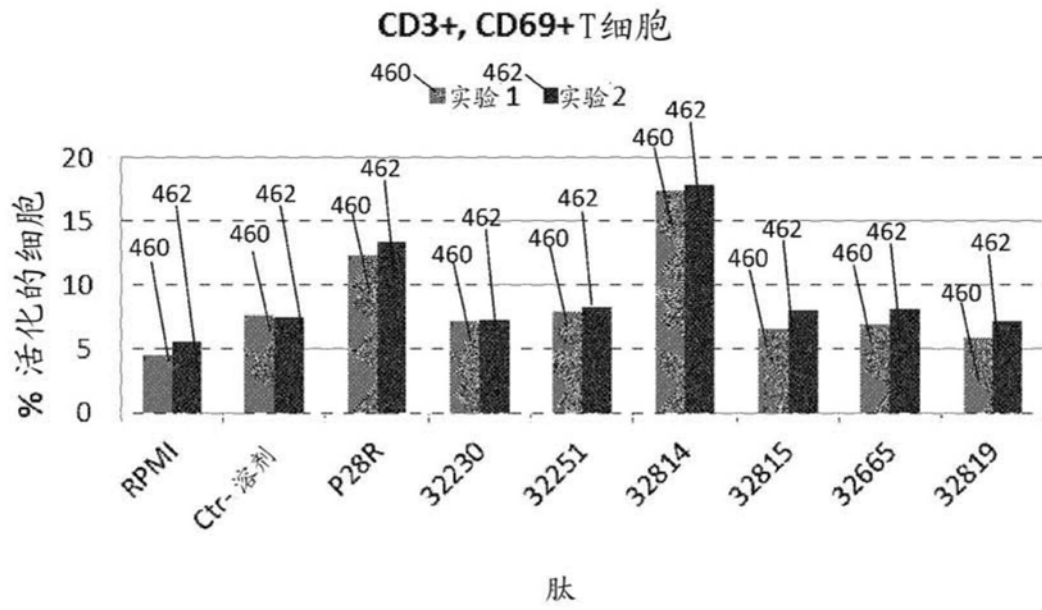


图46A

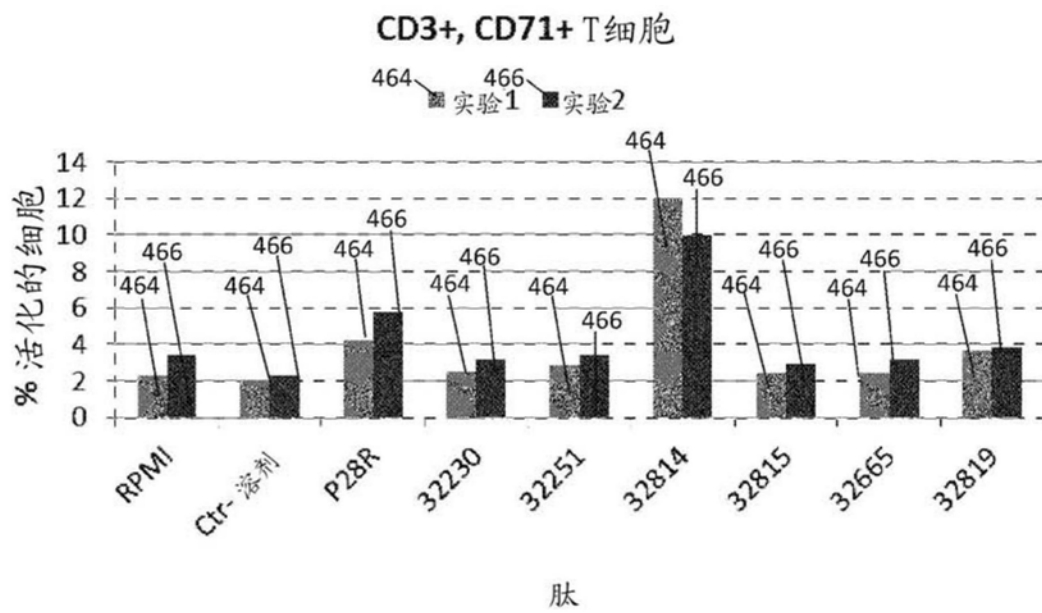


图46B

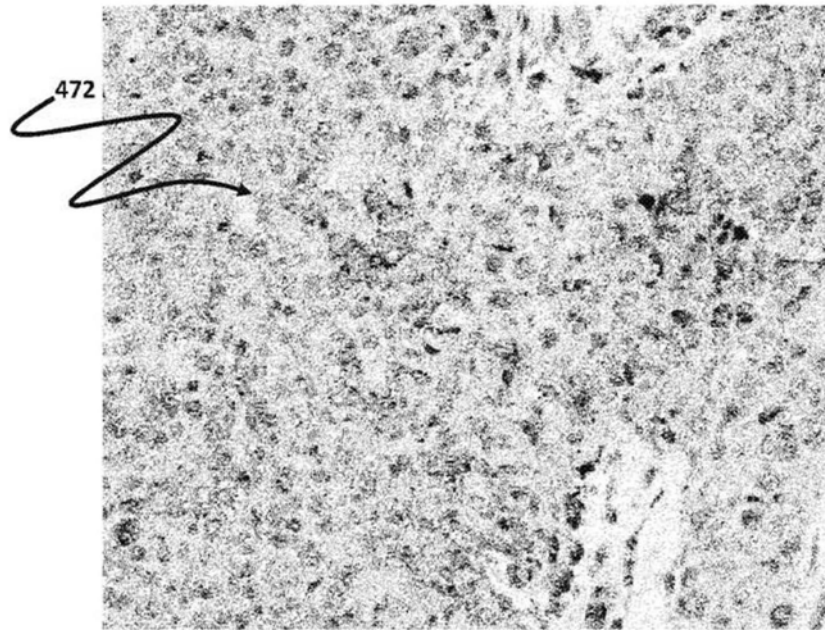


图47A

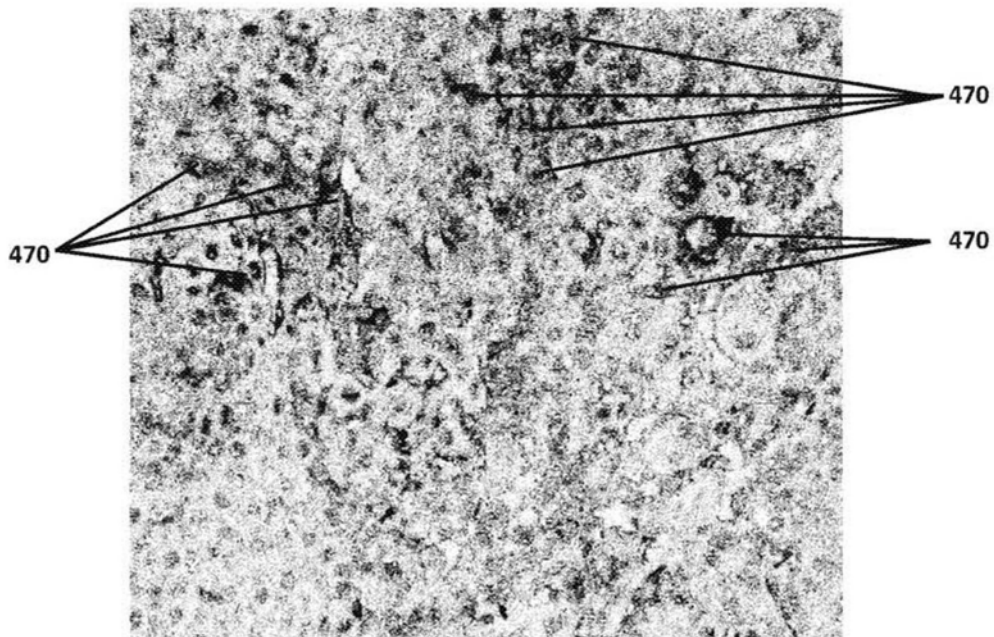


图47B