



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109715808 A

(43)申请公布日 2019.05.03

(21)申请号 201780036531.8

G·莫茨 M·米伦

(22)申请日 2017.04.14

C·T·艾利布莱希特 A·S·佩恩

(30)优先权数据

62/322,931 2016.04.15 US

62/481,094 2017.04.03 US

(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 史文静 黄革生

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.12.12

(51)Int.Cl.

C12N 15/62(2006.01)

C07K 14/725(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2017/027778 2017.04.14

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/181119 EN 2017.10.19

(71)申请人 诺华股份有限公司

地址 瑞士巴塞尔

申请人 宾夕法尼亚大学托管会

权利要求书13页 说明书349页

序列表(电子公布) 附图43页

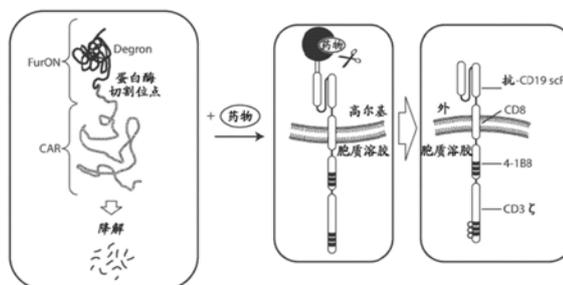
(72)发明人 A·戈隆索夫 C·吉马雷斯

(54)发明名称

用于选择性蛋白质表达的组合物和方法

(57)摘要

本文中提供了包含由异源蛋白酶切割位点分隔的二个蛋白质结构域的融合蛋白,其中第一蛋白质结构域是条件性表达结构域。因此,该融合蛋白包含三个必需元件:条件性表达结构域、含有目的蛋白的结构域和分隔这两者的蛋白酶切割结构域。本文中还提供通过用抗B细胞修饰的T细胞靶向B细胞,治疗受试者中自身抗体介导和同种异体抗体介导疾病或病状的方法。在一个实施方案中,继承性转移后,在受试者中选择性地消融嵌合抗原受体(CAR)修饰的T细胞。本文还描述了包含短暂受调节的CAR修饰的T细胞的药物组合物。



1. 融合蛋白,其包含由异源蛋白酶切割位点分隔的二个蛋白质结构域,其中所述蛋白质结构域第一者是条件性表达结构域,并且所述蛋白质结构域第二者是跨膜蛋白,其中条件性表达结构域具有与融合蛋白的表面表达和/或胞外表达的第一水平相关的第一状态和与融合蛋白的表面表达和/或胞外表达的第二水平相关的第二状态,其中第二水平增加,例如,在表达化合物存在下超过第一水平增加至少2、3、4、5、10、20或30倍。

2. 融合蛋白,其包含由异源蛋白酶切割位点分隔的二个蛋白质结构域,其中所述蛋白质结构域第一者是条件性表达结构域,并且所述蛋白质结构域第二者是跨膜蛋白,其中异源蛋白酶切割位点是弗林蛋白酶切割位点,条件是弗林蛋白酶切割位点不包含氨基酸序列SARNRQKR (SEQ ID NO:981)。

3. 融合蛋白,其包含由异源蛋白酶切割位点分隔的二个蛋白质结构域,其中所述蛋白质结构域第一者是条件性表达结构域,并且所述蛋白质结构域第二者是嵌合抗原受体(CAR)。

4. 根据权利要求1-3中任一项所述的融合蛋白,其中条件性表达结构域是降解结构域。

5. 根据权利要求1-3中任一项所述的融合蛋白,其中条件性表达结构域是聚集结构域。

6. 融合蛋白,其包含由异源蛋白酶切割位点分隔的二个蛋白质结构域,其中所述蛋白质结构域第一者是降解结构域,并且所述蛋白质结构域第二者是目的蛋白。

7. 融合蛋白,其包含由异源蛋白酶切割位点分隔的二个蛋白质结构域,其中所述蛋白质结构域第一者是降解结构域,并且所述蛋白质结构域第二者是跨膜蛋白。

8. 融合蛋白,其包含由异源蛋白酶切割位点分隔的二个蛋白质结构域,其中所述蛋白质结构域第一者是降解结构域,并且所述蛋白质结构域第二者是嵌合抗原受体(CAR)。

9. 根据权利要求6-8中任一项所述的融合蛋白,其中降解结构域选自雌激素受体(ER)结构域、FKB蛋白(FKBP)结构域或二氢叶酸还原酶(DHFR)。

10. 根据权利要求4或6-9中任一项所述的融合蛋白,其中降解结构域来自雌激素受体(ER)。

11. 根据权利要求4或6-10中任一项所述的融合蛋白,其中降解结构域来自雌激素受体(ER)并且包含与SEQ ID NO:58或121的任一者至少90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。

12. 根据权利要求4或6-9中任一项所述的融合蛋白,其中降解结构域来自FKB蛋白(FKBP)。

13. 根据权利要求的4、6-9或12中任一项所述的融合蛋白,其中降解结构域来自FKB蛋白(FKBP)并且包含与SEQ ID NO:56至少90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。

14. 根据权利要求4或6-9中任一项所述的融合蛋白,其中降解结构域来自二氢叶酸还原酶(DHFR)。

15. 根据权利要求的4、6-9或14中任一项所述的融合蛋白,其中降解结构域来自二氢叶酸还原酶(DHFR)并且包含与SEQ ID NO:57至少90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。

16. 根据权利要求4或6-15中任一项所述的融合蛋白,其中降解结构域具有与融合蛋白的表面表达和/或胞外表达的第一水平相关的第一状态和与融合蛋白的表面表达和/或胞

外表达的第二水平相关的第二状态,其中第二水平增加,例如,在稳定作用化合物存在下超过第一水平至少2、3、4、5、10、20或30倍。

17. 根据权利要求16所述的融合蛋白,其中当融合蛋白包含衍生自雌激素受体的降解结构域时,所述稳定作用化合物选自巴多昔芬或4-羟基他莫西芬(4-OHT)。

18. 根据权利要求16所述的融合蛋白,其中当融合蛋白包含衍生自FKB蛋白的降解结构域时,所述稳定作用化合物是Shield-1。

19. 融合蛋白,其包含由异源蛋白酶切割位点分隔的二个蛋白质结构域,其中所述蛋白质结构域第一者是聚集结构域,并且所述蛋白质结构域第二者是跨膜蛋白,其中聚集结构域具有与融合蛋白的表面表达和/或胞外表达的第一水平相关的第一状态和与融合蛋白的表面表达和/或胞外表达的第二水平相关的第二状态,并且其中第二水平增加,例如,在去聚集化合物存在下超过第一水平至少2、3、4、5、10、20或30倍。

20. 融合蛋白,其包含由异源蛋白酶切割位点分隔的二个蛋白质结构域,其中所述蛋白质结构域第一者是聚集结构域,并且所述蛋白质结构域第二者是跨膜蛋白,其中异源蛋白酶切割位点是弗林蛋白酶切割位点,条件是弗林蛋白酶切割位点不包含氨基酸序列SARNRQKR (SEQ ID NO:981)。

21. 融合蛋白,其包含由异源蛋白酶切割位点分隔的二个蛋白质结构域,其中所述蛋白质结构域第一者是聚集结构域,并且所述蛋白质结构域第二者是嵌合抗原受体(CAR)。

22. 根据权利要求19-21中任一项所述的融合蛋白,其中聚集结构域包含1、2、3、4、5、6、7、8个或更多个重复的二聚化结构域,例如,同型二聚化或异二聚化结构域。

23. 根据权利要求19-22中任一项所述的融合蛋白,其中聚集结构域来自FKB蛋白(FKBP)。

24. 根据权利要求19-22中任一项所述的融合蛋白,其中聚集结构域是FKBP F36M结构域。

25. 根据权利要求19-22中任一项所述的融合蛋白,其中聚集结构域来自FKB蛋白(FKBP)并且包含与SEQ ID NO:975或976的任一者至少90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。

26. 根据权利要求19-25中任一项所述的融合蛋白,其中融合蛋白包含又一个第2、第3、第4、第5、第6、第7、第8、第9或第10聚集结构域。

27. 根据权利要求26所述的融合蛋白,其中第2、第3、第4、第5、第6、第7、第8、第9或第10聚集结构域是与第一聚集结构域相同类型的聚集结构域。

28. 根据权利要求19-25中任一项所述的融合蛋白,其中聚集结构域与相同的聚集结构域形成同型二聚体。

29. 根据权利要求19-25中任一项所述的融合蛋白,其中融合蛋白包含多个聚集结构域,其中多个聚集结构域包含多于一个(例如,两个)类型的聚集结构域,并且第一类型聚集结构域与第二类型聚集结构域形成异二聚体。

30. 根据权利要求29所述的融合蛋白,其中融合蛋白包含2、4、6、8或10个聚集结构域,并且其中融合蛋白包含相等数目的第一类型聚集结构域和第二类型聚集结构域。

31. 根据权利要求30所述的融合蛋白,其中聚集结构域按照第一类型和第二类型的交替顺序布置在融合蛋白中,例如,第一、第二、第一、第二或者第二、第一、第二、第一。

32. 根据权利要求19所述的融合蛋白,其中当融合蛋白包含衍生自FKB蛋白(FKBP)(例如,FKBP F36M)的聚集结构域时,所述去聚集化合物选自FK506、雷帕霉素、AP22542、AP21998和Shield-1。

33. 根据任何前述权利要求所述的融合蛋白,其中所述异源切割位点由哺乳动物胞内蛋白酶切割。

34. 根据权利要求33所述的融合蛋白,其中所述切割位点由切割蛋白酶选自弗林蛋白酶、PCSK1、PCSK5、PCSK6、PCSK7、组织蛋白酶B、粒酶B、因子XA、肠激酶、genenase、分选酶、precision蛋白酶、凝血酶、TEV蛋白和弹性蛋白酶1。

35. 根据任何前述权利要求所述的融合蛋白,其中所述切割位点包含具有切割基序的多肽,所述切割基序选自RX(K/R)R共有基序、RXXX[KR]R共有基序、RRX共有基序、I-E-P-D-X共有基序(SEQ ID NO:35)、Glu/Asp-Gly-Arg、Asp-Asp-Asp-Asp-Lys(SEQ ID NO:36)、Pro-Gly-Ala-Ala-His-Tyr(SEQ ID NO:37)、LPXTG/A共有基序、Leu-Glu-Val-Phe-Gln-Gly-Pro(SEQ ID NO:38)、Leu-Val-Pro-Arg-Gly-Ser(SEQ ID NO:40)、E-N-L-Y-F-Q-G(SEQ ID NO:41)和[AGSV]-x(SEQ ID NO:42)的切割基序。

36. 根据权利要求34或35所述的融合蛋白,其中所述切割位点由弗林蛋白酶切割。

37. 根据权利要求36所述的融合蛋白,其中融合蛋白包含选自RTKR(SEQ ID NO:123);GTGAEDPRPSRKRRSLGDVG(SEQ ID NO:125);GTGAEDPRPSRKRR(SEQ ID NO:127);LQWLEQQVAKRRTKR(SEQ ID NO:129);GTGAEDPRPSRKRRSLGG(SEQ ID NO:131);GTGAEDPRPSRKRRSLG(SEQ ID NO:133);SLNLTESHNSRKKR(SEQ ID NO:135);或CKINGYPKRGRKRR(SEQ ID NO:137)的弗林蛋白酶切割位点。

38. 根据权利要求36所述的融合蛋白,其中融合蛋白包含GTGAEDPRPSRKRRSLGDVG(SEQ ID NO:125)的弗林蛋白酶切割位点。

39. 根据权利要求1-32中任一项所述的融合蛋白,其中所述异源蛋白酶切割位点由哺乳动物胞外蛋白酶切割。

40. 根据权利要求39所述的融合蛋白,其中所述哺乳动物胞外蛋白酶选自因子XA、肠激酶、genenase、分选酶、precision蛋白酶、凝血酶、TEV蛋白酶和弹性蛋白酶1。

41. 根据权利要求39所述的融合蛋白,其中所述切割位点包含多肽,所述多肽具有选自Glu/Asp-Gly-Arg、Asp-Asp-Asp-Asp-Lys(SEQ ID NO:36)、Pro-Gly-Ala-Ala-His-Tyr(SEQ ID NO:37)、LPXTG/A共有基序、Leu-Glu-Val-Phe-Gln-Gly-Pro(SEQ ID NO:38)、Leu-Val-Pro-Arg-Gly-Ser(SEQ ID NO:40)、E-N-L-Y-F-Q-G(SEQ ID NO:41)和[AGSV]-x(SEQ ID NO:42)的氨基酸序列。

42. 根据任何前述权利要求所述的融合蛋白,其中所述第二蛋白质结构域是嵌合抗原受体(CAR)。

43. 根据权利要求42所述的融合蛋白,其中所述嵌合抗原受体(CAR)按N末端至C末端方向包含抗原结合结构域、跨膜结构域和一个或多个胞内信号传导结构域。

44. 根据权利要求43所述的融合蛋白,其中所述胞内信号传导结构域包含一个或多个初级信号传导结构域。

45. 根据权利要求所述的融合蛋白43或44,其中所述胞内信号传导结构域包含一个或多个共刺激信号传导结构域。

46. 根据权利要求44所述的融合蛋白,其中所述一个或多个初级信号传导结构域之一包含CD3- δ 刺激性结构域。

47. 根据权利要求45所述的融合蛋白,其中所述共刺激信号传导结构域的一个或多个是来自共刺激蛋白的胞内结构域,所述共刺激蛋白选自:CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、GITR、CD30、CD40、ICOS、BAFFR、HVEM、ICAM-1、淋巴细胞功能相关抗原-1 (LFA-1)、CD2、CDS、CD7、CD287、LIGHT、NKG2C、NKG2D、SLAMF7、NKp80、NKp30、NKp44、NKp46、CD160、B7-H3和与CD83特异性结合的配体。

48. 根据权利要求47所述的融合蛋白,其中所述共刺激信号传导结构域的所述一个或多个包含4-1BB共刺激结构域。

49. 根据权利要求47所述的融合蛋白,其中所述共刺激结构域的所述一个或多个包含CD28共刺激结构域。

50. 根据权利要求43-49中任一项所述的融合蛋白,其中所述抗原结合结构域是scFv。

51. 根据权利要求43-49中任一项所述的融合蛋白,其中所述抗原结合结构域结合选自以下的抗原:CD19;CD123;CD22;CD30;CD171;CS-1;C型凝集素样分子-1;CD33;表皮生长因子受体变体III (EGFRvIII);神经节苷脂G2 (GD2);神经节苷脂GD3;TNF受体家族成员B细胞成熟 (BCMA);Tn抗原 ((Tn Ag) 或 (GalNAc α -Ser/Thr));前列腺特异性膜抗原 (PSMA);受体酪氨酸激酶样孤儿受体1 (ROR1);Fms样酪氨酸激酶3 (FLT3);肿瘤相关糖蛋白72 (TAG72);CD38;CD44v6;癌胚抗原 (CEA);上皮细胞黏附分子 (EPCAM);B7H3 (CD276);KIT (CD117);白介素-13受体亚基 α -2;间皮素;白介素11受体 α (IL-11Ra);前列腺干细胞抗原 (PSCA);蛋白酶丝氨酸21;血管内皮生长因子受体2 (VEGFR2);Lewis (Y) 抗原;CD24;血小板衍生生长因子受体 β (PDGFR- β);阶段特异性胚胎抗原-4 (SSEA-4);CD20;叶酸受体 α ;受体酪氨酸-蛋白激酶 ERBB2 (Her2/neu);细胞表面相关黏蛋白1 (MUC1);表皮生长因子受体 (EGFR);神经细胞黏附分子 (NCAM);Prostate;前列腺酸性磷酸酶 (PAP);突变的延伸因子2 (ELF2M);肝配蛋白B2;成纤维细胞活化蛋白 α (FAP);胰岛素样生长因子1受体 (IGF-I受体),碳酸酐酶IX (CAIX);蛋白酶体(蛋白酶体,巨蛋白因子)亚基B型9 (LMP2);糖蛋白100 (gp100);由断点簇集区 (BCR) 和Abelson鼠白血病毒癌基因同源物1 (Ab1) 组成的癌基因融合蛋白 (bcr-ab1);酪氨酸激酶;肝配蛋白A型受体2 (EphA2);岩藻糖基GM1;唾液酸Lewis黏附分子 (sLe);神经节苷脂 GM3;转谷氨酰胺酶5 (TGS5);高分子量-黑素瘤相关抗原 (HMWMAA);o-乙酰基-GD2神经节苷脂 (OAcGD2);叶酸受体 β ;肿瘤内皮标志物1 (TEM1/CD248);肿瘤内皮标志物7相关 (TEM7R);紧密连接蛋白6 (CLDN6);促甲状腺激素受体 (TSHR);G蛋白偶联受体C类第5群成员D (GPC5D);染色体X可读框61 (CXORF61);CD97;CD179a;间变性淋巴瘤激酶 (ALK);聚唾液酸;胎盘特异性1 (PLAC1);globoH glycosphingolipid的己糖部分 (GloboH);乳腺分化抗原 (NY-BR-1);尿路上皮分化特异糖蛋白 (uroplakin) 2 (UPK2);甲型肝炎病毒细胞受体1 (HAVCR1);肾上腺素受体 β 3 (ADRB3);泛连接蛋白 (pannexin) 3 (PANX3);G蛋白偶联受体20 (GPR20);淋巴细胞抗原6复合体基因座K9 (LY6K);嗅觉受体51E2 (OR51E2);TCR γ 可变可读框蛋白 (TARP);Wilms肿瘤蛋白 (WT1);癌症/睾丸抗原1 (NY-ESO-1);癌症/睾丸抗原2 (LAGE-1a);黑素瘤相关抗原1 (MAGE-A1);位于第12p号染色体上的ETS转位变体基因6 (ETV6-AML);精子蛋白17 (SPA17);X抗原家族成员1A (XAGE1);血管生成素结合性细胞表面受体2 (Tie 2);黑素瘤癌症睾丸抗原-1 (MAD-CT-1);黑素瘤癌症睾丸抗原-2 (MAD-CT-2);Fos相关抗原1;肿瘤蛋白p53

(p53); p53突变体; 前列腺特异性蛋白 (prostein); 存活; 端粒酶; 前列腺癌肿瘤抗原-1、T细胞识别的黑素瘤抗原1; 大鼠肉瘤 (Ras) 突变体; 人端粒酶逆转录酶 (hTERT); 肉瘤易位断点; 黑素瘤凋亡抑制蛋白 (ML-IAP); ERG (跨膜蛋白酶, 丝氨酸2 (TMPRSS2) ETS融合基因); N-乙酰葡萄糖胺基转移酶V (NA17); 配对的框蛋白Pax-3 (PAX3); 雄激素受体; 细胞周期蛋白B1; v-myc 鸟髓细胞增多症病毒癌基因神经母细胞瘤衍生的同源物 (MYCN); Ras同源物家族成员C (RhoC); 酪氨酸酶相关蛋白2 (TRP-2); 细胞色素P450 1B1 (CYP1B1); CCCTC-结合因子 (锌指蛋白) 样、由T细胞识别的鳞状细胞癌抗原3 (SART3); 配对的框蛋白Pax-5 (PAX5); 前顶体蛋白结合蛋白sp32 (OY-TES1); 淋巴细胞特异性蛋白质酪氨酸激酶 (LCK); A激酶锚定蛋白4 (AKAP-4); 滑膜肉瘤X断点2 (SSX2); 高级糖基化终末产物的受体 (RAGE-1); 肾遍在1 (RU1); 肾遍在2 (RU2); 豆类蛋白 (legumain); 人乳头瘤病毒E6 (HPV E6); 人乳头瘤病毒E7 (HPV E7); 肠羧基酯酶; 突变的热休克蛋白70-2 (mut hsp70-2); CD79a; CD79b; CD72; 白细胞相关免疫球蛋白样受体1 (LAIR1); IgA受体的Fc片段 (FCAR或CD89); 白细胞免疫球蛋白样受体亚家族A成员2 (LILRA2); CD300分子样家族成员f (CD300LF); C型凝集素结构域家族12成员A (CLEC12A); 骨髓间质细胞抗原2 (BST2); 含有EGF样模块的黏蛋白样激素受体样2 (EMR2); 淋巴细胞抗原75 (LY75); 磷脂酰基醇蛋白聚糖-3 (GPC3); Fc受体样5 (FCRL5); 和免疫球蛋白λ样多肽1 (IGLL1)。

52. 根据权利要求51所述的融合蛋白, 其中所述抗原是CD19。

53. 根据权利要求52所述的融合蛋白, 其中融合蛋白包含抗原结合结构域, 所述抗原结合结构域包含选自SEQ ID NO: 356-368或381中任一者的氨基酸序列。

54. 根据权利要求52所述的融合蛋白, 其中融合蛋白包含嵌合抗原受体, 所述嵌合抗原受体包含选自SEQ ID NO: 897、902、907、912、917、922、927、932、937、942、947、952、956中任一者的氨基酸序列。

55. 根据权利要求51所述的融合蛋白, 其中所述抗原是CD123。

56. 根据权利要求55所述的融合蛋白, 其中融合蛋白包含抗原结合结构域, 所述抗原结合结构域包含选自SEQ ID NO: 751、756、761或766中任一者的氨基酸序列。

57. 根据权利要求55所述的融合蛋白, 其中融合蛋白包含嵌合抗原受体, 所述嵌合抗原受体包含选自SEQ ID NO: 750、755、760或765中任一者的氨基酸序列。

58. 根据权利要求51所述的融合蛋白, 其中所述抗原是BCMA。

59. 根据权利要求58所述的融合蛋白, 其中融合蛋白包含抗原结合结构域, 所述抗原结合结构域包含选自SEQ ID NO: 382、386、390、394、398、402、406、410、414、418、422、426、430、434、438、442、446、450、454、458、462、466、470、474、478、482、486、490、494、498、502、506、510、514、518、522、528、531、534或537中任一者的氨基酸序列。

60. 根据权利要求58所述的融合蛋白, 其中融合蛋白包含嵌合抗原受体, 所述嵌合抗原受体包含选自SEQ ID NO: 789、791、793、795、797、799、801、803、805、807、809、811、813、815、817、819、821、823、825、827、829、831、833、835、837、839、841、843、845、847、849、851、853、855、857或859中任一者的氨基酸序列。

61. 根据权利要求51所述的融合蛋白, 其中所述抗原是CD20。

62. 根据权利要求61所述的融合蛋白, 其中融合蛋白包含抗原结合结构域, 所述抗原结合结构域包含位于SEQ ID NO: 3033的位置470-712或470-939处的氨基酸序列。

63. 根据权利要求61所述的融合蛋白,其中融合蛋白包含嵌合抗原受体,所述嵌合抗原受体包含SEQ ID NO:3033的氨基酸序列。

64. 根据前述权利要求中任一项所述的融合蛋白,其中条件性表达结构域,例如,聚集结构域或降解结构域,位于:

- a) 所述第二蛋白质结构域的N末端;或
- b) 所述第二蛋白质结构域的C末端。

65. 根据权利要求1-64中任一项所述的融合蛋白,其中所述融合蛋白还包含信号肽,例如,包含相对于所述条件性表达结构域(例如,聚集结构域或降解结构域)N末端的信号肽。

66. 根据权利要求65所述的融合蛋白,其中融合蛋白还包含位于信号肽和另一个融合蛋白结构域之间(例如,位于信号肽和所述条件性表达结构域(例如,聚集结构域或降解结构域)之间)的接头。

67. 根据权利要求66所述的融合蛋白,其中接头是在表23和表24中列出的任何融合蛋白中的接头。

68. 融合蛋白,其包含在表22、23和24中列出的任何融合蛋白的氨基酸序列。

69. 核酸,编码根据权利要求1-68中任一项所述的融合蛋白。

70. 载体,其包含根据权利要求69所述的核酸。

71. 根据权利要求70所述的载体,其中所述载体是病毒载体。

72. 根据权利要求70所述的载体,其中所述载体是慢病毒载体。

73. 病毒粒子,其包含根据权利要求70-72中任一项所述的载体。

74. 细胞,例如,宿主细胞,其包含根据权利要求1-68任一项所述的融合蛋白、根据权利要求69所述的核酸或根据权利要求70-72中任一项所述的载体。

75. 根据权利要求74所述的细胞,其中所述细胞,例如,宿主细胞,是人效应细胞,例如,人T细胞或人NK细胞。

76. 根据权利要求74或75任一项所述的细胞,其中所述细胞,例如,宿主细胞,还包含能够切割所述异源蛋白酶切割位点的蛋白酶。

77. 根据权利要求74-76中任一项所述的细胞,其中在表达化合物(例如,稳定作用化合物)不存在的情况下,融合蛋白借助细胞降解途径降解,例如,至少50%、60%、70%、80%、90%或更多的融合蛋白降解。

78. 细胞根据权利要求74-76中任一项所述的,其中在表达化合物(例如,去聚集化合物)不存在的情况下,融合蛋白在细胞中(例如,在内质网或细胞溶胶中)处于聚集状态,例如,至少50%、60%、70%、80%、90%或更多处于聚集状态。

79. 根据权利要求74-78中任一项所述的细胞,其中所述细胞还包含表达化合物,例如,稳定作用化合物。

80. 根据权利要求79所述的细胞,其中条件性表达结构域,例如,降解结构域,相对于表达化合物不存在下的构象,采取在表达化合物(例如,稳定作用化合物)存在下更抵抗细胞降解的构象。

81. 根据权利要求79或80中任一项所述的细胞,其中相对于表达化合物不存在下的构象,融合蛋白的构象在表达化合物(例如,稳定作用化合物)存在下更容许在异源蛋白酶切割位点处切割。

82. 根据权利要求79或80中任一项所述的细胞,其中融合蛋白的细胞表面表达或胞外表达的水平比不包含表达化合物(例如,稳定作用化合物)的细胞中融合蛋白的细胞表面表达或胞外表达的水平更高,例如,高于2、3、4、5、6、7、8、9、10、20或30倍。

83. 根据权利要求74-78中任一项所述的细胞,其中所述细胞还包含表达化合物,例如,去聚集化合物。

84. 根据权利要求83所述的细胞,其中条件性表达结构域,例如,聚集结构域,相对于表达化合物不存在下的构象,采取在表达化合物(例如,去聚集化合物)存在下更抵抗寡聚化或聚集的构象。

85. 根据权利要求83或84中任一项所述的细胞,其中相对于表达化合物不存在下的构象,融合蛋白的构象在表达化合物(例如,去聚集化合物)存在下更容许在异源蛋白酶切割位点处切割。

86. 根据权利要求83或84中任一项所述的细胞,其中融合蛋白的细胞表面表达或胞外表达的水平比不包含表达化合物(例如,去聚集化合物)的细胞中融合蛋白的细胞表面表达或胞外表达的水平更高,例如,高于2、3、4、5、6、7、8、9、10、20或30倍。

87. 在细胞表面上条件性表达目的蛋白、跨膜蛋白或CAR的方法,所述方法包括:使权利要求1-68中任一项所述的融合蛋白或包含所述融合蛋白的细胞(例如,根据权利要求74-86中任一项所述的细胞)与表达化合物接触,其中:

(a) 在所述表达化合物存在下,所述目的蛋白、跨膜蛋白或CAR的表面表达相对于所述表达化合物不存在下所述目的蛋白、跨膜蛋白或CAR的表面表达水平增加,例如,大2、3、4、5、6、7、8、9、10、20或30倍;和

(b) 在所述表达化合物不存在下,所述目的蛋白、跨膜蛋白或CAR的表面表达相对于表达化合物存下所述目的蛋白、跨膜蛋白或CAR的表面表达水平显著减少,例如,少2、3、4、5、6、7、8、9、10、20或30倍。

88. 根据权利要求87所述的方法,其中所述表达化合物的存在相关于(例如,造成)条件性表达结构域的构象从第一折叠状态改变至第二折叠状态,其中第一折叠状态相对于第二折叠状态更易遭降解(例如,细胞降解)或聚集。

89. 根据权利要求87或88中任一项所述的方法,其中所述表达化合物的存在使所述蛋白酶切割位点暴露,相对于所述表达化合物不存在下蛋白酶切割位点的暴露,例如,更大程度暴露,例如,2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、或30倍更多暴露。

90. 条件性表达目的蛋白、跨膜蛋白或CAR的方法,所述方法包括:使细胞(例如,根据权利要求74-86中任一项所述的细胞)与表达化合物(例如,稳定作用化合物或去聚集化合物)接触,其中:

(a) 在所述表达化合物存在下,相对于表达化合物不存在下的构象,所述条件性表达结构域采取更容许异源蛋白酶切割位点切割的构象,

因而导致从目的蛋白、跨膜蛋白或CAR切下所述条件性表达结构域及所述目的蛋白、跨膜蛋白或CAR的表达;和

(b) 在所述表达化合物不存在下,相对于表达化合物存在下的构象,所述条件性表达结构域采取更抵抗异源蛋白酶切割位点切割的构象,因而导致所述目的蛋白、跨膜蛋白或CAR降解或聚集。

91. 根据权利要求90所述的方法, 其中所述细胞与所述表达化合物离体接触。

92. 根据权利要求90所述的方法, 其中所述细胞与所述表达化合物在体内接触。

93. 条件性表达目的蛋白、跨膜蛋白或CAR的方法, 所述方法包括: 使细胞(例如, 根据权利要求74-86中任一项所述的细胞)与稳定作用化合物接触, 其中:

(a) 在所述稳定作用化合物存在下,

(i) 相对于稳定作用化合物不存在下的构象, 所述降解结构域采取更抵抗细胞降解的构象,

因而导致从所述目的蛋白、跨膜蛋白或CAR切下所述降解结构域及所述目的蛋白、跨膜蛋白或CAR的表达; 和

(b) 在所述稳定作用化合物不存在下, 相对于稳定作用化合物存在下的构象, 所述降解结构域采取更容许细胞降解的构象, 因而导致所述目的蛋白、跨膜蛋白或CAR降解。

94. 根据权利要求93所述的方法, 其中所述细胞与所述稳定作用化合物离体接触。

95. 根据权利要求93所述的方法, 其中所述细胞与所述稳定作用化合物在体内接触。

96. 条件性表达目的蛋白、跨膜蛋白或CAR的方法, 所述方法包括: 使细胞(例如, 根据权利要求74-86中任一项所述的细胞)与去聚集化合物接触, 其中:

(a) 在所述去聚集化合物存在下,

(i) 相对于去聚集化合物不存在下的构象, 所述聚集结构域采取更抵抗聚集或寡聚化的构象,

因而导致从所述目的蛋白、跨膜蛋白或CAR切下所述聚集结构域及所述目的蛋白、跨膜蛋白或CAR的表达; 和

(b) 在所述去聚集化合物不存在下, 相对于去聚集化合物存在下的构象, 所述聚集结构域采取更容许聚集或寡聚化的构象, 因而导致所述目的蛋白、跨膜蛋白或CAR聚集。

97. 根据权利要求96所述的方法, 其中所述细胞与所述去聚集化合物离体接触。

98. 根据权利要求96所述的方法, 其中所述细胞与所述去聚集化合物在体内接触。

99. 治疗患有与肿瘤抗原表达相关的疾病的受试者的方法, 包括向受试者施用有效量的细胞, 例如, 根据权利要求74-86中任一项所述的细胞, 其中所述第二蛋白质是嵌合抗原受体并且按N末端至C末端方向包含抗原结合结构域、跨膜结构域和一个或多个胞内信号传导结构域, 并且所述抗原结合结构域特异性结合所述肿瘤抗原。

100. 治疗自身抗体或同种异体抗体疾病或病状的方法, 所述方法包括向受试者施用有效量的细胞, 例如, 根据权利要求74-86中任一项所述的细胞, 其中所述第二蛋白质是嵌合抗原受体并且按N末端至C末端方向包含抗原结合结构域、跨膜结构域和一个或多个胞内信号传导结构域, 并且所述抗原结合结构域特异性结合所述自身抗体或同种异体抗体疾病特有的抗原。

101. 根据权利要求99或100所述的方法, 其中所述细胞相对所述受试者为自体。

102. 根据权利要求99或100所述的方法, 其中所述细胞相对所述受试者为同种异体。

103. 根据权利要求99-102中任一项所述的方法, 其中细胞与表达化合物接触, 并且:

(a) 在所述表达化合物存在下,

(i) 相对于所述表达化合物不存在下的构象, 所述条件性表达结构域更抵抗采取细胞降解或聚集的构象, 因而导致从所述嵌合抗原受体(CAR)切下所述条件性表达结构域及所

述CAR的表达;并且

(b) 在所述表达化合物不存在下,相对于所述表达化合物存在下的构象,所述条件性表达结构域采取更容许细胞降解或聚集的构象,因而导致所述融合蛋白降解或聚集。

104. 根据权利要求99-102中任一项所述的方法,其中细胞,例如,宿主细胞,与稳定作用化合物接触,并且:

(a) 在所述稳定作用化合物存在下,

(i) 相对于所述稳定作用化合物不存在下的构象,所述降解结构域采取更抵抗细胞降解的构象,

因而导致从所述嵌合抗原受体(CAR)切下所述降解结构域及所述CAR的表达;并且

(b) 在所述稳定作用化合物不存在下,相对于所述稳定作用化合物存在下的构象,所述降解结构域采取更容许细胞降解的构象,因而导致所述融合蛋白降解。

105. 根据权利要求90-98和104中任一项所述的方法,其中当融合蛋白包含衍生自雌激素受体的降解结构域时,所述稳定作用化合物选自巴多昔芬或4-羟基他莫西芬(4-OHT)。

106. 根据权利要求90-98和104中任一项所述的方法,其中当融合蛋白包含衍生自FKB蛋白的降解结构域时,所述稳定作用化合物是Shield-1。

107. 根据权利要求99-102中任一项所述的方法,其中细胞与去聚集化合物接触,并且:

(a) 在所述去聚集化合物存在下,

(i) 相对于所述去聚集化合物不存在下的构象,所述聚集结构域采取更抵抗聚集或寡聚化的构象,

因而导致从所述嵌合抗原受体(CAR)切下所述聚集结构域及所述CAR的表达;并且

(b) 在所述去聚集化合物不存在下,相对于所述去聚集化合物存在下的构象,所述聚集结构域采取更容许聚集或寡聚化的构象,因而导致所述融合蛋白聚集。

108. 根据权利要求90-98和107中任一项所述的方法,其中当融合蛋白包含衍生自FKB蛋白(FKBP)(例如,FKBP F36M)的聚集结构域时,所述去聚集化合物选自FK506、雷帕霉素、AP22542和AP21998。

109. 根据权利要求100-108中任一项所述的方法,自身抗体疾病或病状选自大疱性类天疱疮、获得性大疱性表皮松解症、p200类天疱疮、线性IgA大疱性皮肤病、其他类天疱疮基因疾病、疱疹性皮炎、乳糜泻、重症肌无力、Goodpasture综合征、肉芽肿病伴多血管炎和其他ANCA+脉管炎、自身免疫性边缘叶脑炎、抗N-甲基-D-天冬氨酸受体脑炎、视神经脊髓炎、自身免疫性溶血性贫血、在狼疮和其他结缔组织病中自身抗体相关的终末器官损伤(归因于抗dsDNA自身抗体、抗Ro自身抗体和其他自身抗体)、Graves'和桥本甲状腺炎、糖尿病中的抗胰岛素抗体、自身免疫性低血糖中的抗胰岛素受体抗体、冷球蛋白血症、类风湿性关节炎、多发性硬化、干燥综合征、皮炎、慢性特发性荨麻疹中的抗Fc-ε受体抗体、抗叶酸受体抗体、肺动脉高血压中的抗内皮受体或抗肾上腺素能受体抗体、难治性高血压、扩张型心脏病和自身炎性综合征。

110. 根据权利要求100-108中任一项所述的方法,其中同种异体抗体疾病或病状是响应于器官移植、输血、妊娠或蛋白质替代疗法的免疫反应。

111. 根据权利要求99-108中任一项所述的方法,其中与肿瘤抗原表达相关的疾病是癌症。

112. 根据权利要求111所述的方法,其中癌症是间皮瘤(例如,恶性胸膜间皮瘤),例如,在至少一种既往标准疗法时已经进展的受试者中;肺癌(例如,非小细胞肺癌、小细胞肺癌、鳞状细胞肺癌或大细胞肺癌);胰腺癌(例如,胰腺导管腺癌或转移性胰腺导管腺癌(PDA)、例如,在至少一种既往标准疗法时已经进展的受试者中);食管腺癌、卵巢癌(例如,浆液性卵巢上皮癌,例如,在至少一种既往标准治疗方案后已经进展的受试者中)、乳腺癌、结直肠癌、膀胱癌或其任意组合。

113. 根据权利要求99-111中任一项所述的方法,其中与肿瘤抗原表达相关的疾病是血液学癌,例如,选自白血病或淋巴瘤的血液学癌。

114. 根据权利要求111所述的方法,其中癌症选自:慢性淋巴细胞白血病(CLL)、套细胞淋巴瘤(MCL)、多发性骨髓瘤、急性淋巴样白血病(ALL)、霍奇金淋巴瘤、B细胞急性淋巴样白血病(BALL)、T细胞急性淋巴样白血病(TALL)、小淋巴细胞白血病(SLL)、B细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树状细胞肿瘤、Burkitt淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、与慢性炎症相关的DLBCL、慢性髓样白血病、骨髓增生性肿瘤、滤泡淋巴瘤、儿科滤泡淋巴瘤、多毛细胞白血病、小细胞或大细胞滤泡淋巴瘤、恶性淋巴细胞增生性疾病、MALT淋巴瘤(粘膜相关性淋巴组织的结节外边缘区淋巴瘤)、边缘区淋巴瘤、脊髓发育不良、脊髓发育不良综合征、非霍奇金淋巴瘤、浆母细胞淋巴瘤、浆细胞样树状细胞肿瘤、Waldenstrom巨球蛋白血症、脾边缘区淋巴瘤、脾淋巴瘤/白血病、脾弥漫性红髓小B细胞淋巴瘤、多毛细胞白血病变种、淋巴质浆细胞性淋巴瘤、重链病、浆细胞骨髓瘤、骨的孤立性浆细胞瘤、骨外浆细胞瘤、结内边缘区淋巴瘤、儿科结节边缘区淋巴瘤、原发性皮肤滤泡中心淋巴瘤、淋巴瘤样肉芽肿、原发性纵隔(胸腺的)大B细胞淋巴瘤、血管内大B细胞淋巴瘤、ALK+大B细胞淋巴瘤、在HHV8相关的多中心Castlem病中出现的大B细胞淋巴瘤、原发性渗出性淋巴瘤、B细胞淋巴瘤、急性髓样白血病(AML)或不可分类的淋巴瘤。

115. 根据权利要求111所述的方法,其中癌症选自MCL、CLL、ALL、霍奇金淋巴瘤、AML或多发性骨髓瘤。

116. 根据任何前述权利要求所述的融合蛋白、核酸、载体、病毒粒子或细胞,用作药物。

117. 根据任何前述权利要求所述的融合蛋白、核酸、载体、细胞、组合物或方法,用于治疗与肿瘤抗原表达相关的疾病,例如,癌症。

118. 治疗有需求的受试者中自身抗体或同种异体抗体疾病或病状的方法,包括向受试者施用有效量的包含修饰的T细胞的药物组合物,其中修饰的T细胞包含核酸,所述核酸包含自杀基因和编码嵌合抗原受体(CAR)的核酸,所述嵌合抗原受体包含抗B细胞结合结构域、跨膜结构域、共刺激结构域和胞内信号传导结构域。

119. 治疗有需求的受试者中自身抗体或同种异体抗体疾病或病状的方法,包括向受试者施用有效量的包含修饰的T细胞的药物组合物,其中修饰的T细胞包含核酸,所述核酸编码二聚化结构域和嵌合抗原受体(CAR),所述嵌合抗原受体包含抗B细胞结合结构域、跨膜结构域、共刺激结构域和胞内信号传导结构域。

120. 根据权利要求118所述的方法,其中自杀基因编码选自SEQ ID NO:3005-3007的氨基酸序列。

121. 根据权利要求118所述的方法,其中自杀基因还包含二聚化结构域,所述二聚化结构域包含选自SEQ ID NO:3013和3014的氨基酸序列。

122. 根据权利要求119所述的方法,其中二聚化结构域包含SEQ ID NO:980的氨基酸序列。

123. 根据权利要求121所述的方法,其中二聚化结构域还包含弗林蛋白酶切割位点,所述弗林蛋白酶切割位点包含SEQ ID NO:980的氨基酸序列。

124. 根据权利要求119所述的方法,其中CAR还包含信号肽。

125. 根据权利要求124所述的方法,其中信号肽包含SEQ ID NO:3035的氨基酸序列。

126. 根据权利要求118或119中任一项所述的方法,其中施用有效量包括活化修饰的T细胞以实现对抗B细胞的细胞毒功能。

127. 根据权利要求118所述的方法,还包含激活自杀基因的自杀基因产物以诱导修饰的T细胞发生细胞死亡。

128. 根据权利要求127所述的方法,其中激活自杀基因产物还包括施用促进自杀基因产物二聚化的二聚化剂。

129. 根据权利要求127所述的方法,其中激活自杀基因产物出现在修饰的T细胞产生对抗B细胞的细胞毒功能之后。

130. 根据权利要求127所述的方法,其中激活自杀基因产物在受试者中针对修饰的T细胞的不良反应发作后出现。

131. 根据权利要求118所述的方法,还包括阻抑自杀基因的自杀基因产物活化以阻抑修饰的T细胞发生细胞死亡。

132. 根据权利要求131所述的方法,其中阻抑激活自杀基因产物还包括施用阻止自杀基因产物二聚化的增溶剂。

133. 根据权利要求132所述的方法,其中施用增溶剂与施用修饰的T细胞同时进行并且随着修饰的T细胞产生对抗B细胞的细胞毒功能而继续进行。

134. 根据权利要求133所述的方法,其中在受试者中针对修饰的T细胞的不良反应发作后停止施用增溶剂。

135. 根据权利要求118或119中任一项所述的方法,其中CAR的抗B细胞结合结构域包括选自单克隆抗体、多克隆抗体、合成性抗体、人抗体、人源化抗体、单结构域抗体、单链可变片段及其抗原结合片段的抗体。

136. 根据权利要求118或119中任一项所述的方法,其中CAR的抗B细胞结合结构域特异性结合选自CD19、BCMA、CD20、CD21、CD27、CD38、CD138及其任意组合的B细胞标志物。

137. 根据权利要求118或119中任一项所述的方法,其中CAR的抗B细胞结合结构域特异性结合选自CD20、CD21、CD27、CD38、CD138及其任意组合的B细胞标志物以及选择性地在原B细胞、前B细胞、不成熟B细胞、成熟B细胞、记忆B细胞和浆细胞上存在的至少一个表面标志物。

138. 根据权利要求118或119中任一项所述的方法,其中CAR的胞内结构域包含双重信号传导结构域。

139. 根据权利要求118或119中任一项所述的方法,其中共刺激结构域选自CD3、CD27、CD28、CD83、CD86、CD127、4-1BB、4-1BBL、PD1、PD1L、T细胞受体(TCR)、任何衍生物或其变体、其具有相同功能能力的任何合成性序列及其任意组合。

140. 根据权利要求119或139中任一项所述的方法,其还包括施用阻止CAR二聚化的增

溶剂。

141. 根据权利要求140所述的方法,其中施用增溶剂与施用修饰的T细胞同时进行并且随着修饰的T细胞产生对抗B细胞的细胞毒功能而继续进行。

142. 根据权利要求138所述的方法,其中在受试者中针对修饰的T细胞的不良反应发作后停止施用增溶剂。

143. 根据权利要求118或119中任一项所述的方法,其中自身抗体疾病或病状选自大疱性类天疱疮、获得性大疱性表皮松解症、p200类天疱疮、线性IgA大疱性皮肤病、其他类天疱疮基团疾病、疱疹性皮炎、小肠吸收不良、重症肌无力、Goodpasture综合征、肉芽肿病伴多血管炎和其他ANCA+脉管炎、自身免疫性边缘性脑炎、抗-N-甲基-D-天冬氨酸受体脑炎、视神经脊髓炎、自身免疫性溶血性贫血、在狼疮和其他结缔组织病中自身抗体相关的终末器官(归因于抗dsDNA自身抗体、抗Ro自身抗体和其他自身抗体)、Graves'和桥本甲状腺炎、糖尿病中的抗胰岛素抗体、自身免疫性低血糖中的抗胰岛素受体抗体、冷球蛋白血症、类风湿性关节炎、多发性硬化、斯耶格伦综合征、皮炎、慢性特发性荨麻疹中的抗Fc-ε受体抗体、抗叶酸受体抗体、肺动脉高血压中的抗内皮受体或抗肾上腺素能受体抗体、难治性高血压、扩张型心肌病、自身炎症综合征、视神经脊髓炎、Goodpasture综合征、抗NMDAR脑炎、AIHA、ITP、TTP、Graves'/桥本氏病、原发性胆汁性肝硬化、新生儿狼疮、导致T细胞破坏的母体自身抗体、肺泡蛋白沉积症、抗叶酸受体、慢性炎症性脱髓鞘性多发性神经病和特发性膜性肾病。

144. 根据权利要求118或119中任一项所述的方法,其中同种异体抗体疾病或病状是响应于器官移植、输血、妊娠和蛋白质替代疗法的免疫反应。

145. 根据权利要求118或119中任一项所述的方法,其中通过缺失选自T细胞受体(TCR)链、主要组织相容性复合体蛋白及其任意组合的基因,将修饰的T细胞进一步修饰。

146. 根据权利要求145所述的方法,其中在施用至有需要的受试者之前,将修饰的T细胞进一步修饰。

147. 根据权利要求145所述的方法,其中通过诱导CRISPR/Cas系统,将修饰的T细胞进一步修饰。

148. 药物组合物,其配制用于根据权利要求118所述的方法中,所述组合物包含修饰的T细胞,所述细胞包含编码自杀基因的核酸和编码嵌合抗原受体(CAR)的核酸,所述嵌合抗原受体包含抗B细胞结合结构域、跨膜结构域、共刺激结构域和胞内信号传导结构域。

149. 药物组合物,其配制用于根据权利要求119所述的方法中,所述组合物包含修饰的T细胞,所述细胞包含编码二聚化结构域和嵌合抗原受体(CAR)的核酸,所述嵌合抗原受体包含抗B细胞结合结构域、跨膜结构域、共刺激结构域和胞内信号传导结构域。

150. 根据权利要求148所述的组合物,其中自杀基因编码选自SEQ ID NO:3005-3007的氨基酸序列。

151. 根据权利要求148所述的组合物,其中自杀基因还包含二聚化结构域,所述二聚化结构域包含选自SEQ ID NO:3013和3014的氨基酸序列。

152. 根据权利要求148所述的组合物,其中二聚化结构域包含SEQ ID NO:980的氨基酸序列。

153. 根据权利要求149所述的组合物,其中二聚化结构域还包含弗林蛋白酶切割位点,

所述弗林蛋白酶切割位点包含SEQ ID NO:980的氨基酸序列。

154. 根据权利要求149所述的组合物,其中CAR还包含信号肽。

155. 根据权利要求154所述的组合物,其中信号肽包含SEQ ID NO:3035的氨基酸序列。

156. 根据权利要求148所述的组合物,其还包含诱导自杀基因激活的诱导剂。

157. 根据权利要求148或149中任一项所述的组合物,其中修饰的T细胞缺少至少一个编码T细胞受体 (TCR) 链和主要组织相容性复合体蛋白的基因。

158. 分离的核酸序列,其包含核酸序列,所述核酸序列包含 (i) 自杀基因,所述自杀基因包含选自SEQ ID NO:3001-3004的核酸序列;和 (ii) 编码嵌合抗原受体 (CAR) 的核酸序列,所述嵌合抗原受体包含抗B细胞结合结构域、跨膜结构域、共刺激结构域和胞内信号传导结构域。

159. 根据权利要求158所述的分离的核酸序列,其中分离的核酸序列包含SEQ ID NO:3018、3020、3024、3026、3028或3030。

160. 分离的多肽,其包含 (i) 由自杀基因编码的氨基酸序列,其中氨基酸序列选自SEQ ID NO:3005-3007;和 (ii) 包含抗B细胞结合结构域、跨膜结构域、共刺激结构域和胞内信号传导结构域的嵌合抗原受体 (CAR)。

161. 根据权利要求160所述的分离的多肽,其中分离的多肽包含SEQ ID NO:3019、3021、3026、3028、3030或3034的氨基酸序列。

162. 分离的核酸序列,其包含 (i) 编码二聚化结构域的核酸;和 (ii) 包含抗B细胞结合结构域、跨膜结构域、共刺激结构域和胞内信号传导结构的嵌合抗原受体 (CAR)。

163. 根据权利要求162要求所述的分离的核酸序列,其中二聚化结构域包含SEQ ID NO:980的氨基酸序列。

164. 根据权利要求162所述的分离的核酸序列,其中分离的核酸序列包含SEQ ID NO:977或3032。

165. 分离的多肽,其包含 (i) 二聚化结构域;和 (ii) 包含抗B细胞结合结构域、跨膜结构域、共刺激结构域和胞内信号传导结构的嵌合抗原受体 (CAR)。

166. 根据权利要求165所述的分离的多肽,其中分离的多肽包含SEQ ID NO:978或3033。

用于选择性蛋白质表达的组合物和方法

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求2016年4月15日提交的美国系列号62/322,931和2017年4月3日提交的美国系列号62/481,094的优先权,这些申请各自的完整内容通过引用方式并入本文。

[0003] 序列表

[0004] 本申请含有已经通过电子方式以ASCII格式提交并因而通过引用方式完整并入的序列表。所述ASCII副本创建于2017年4月14日,命名为N2067-7128WO_SL.txt,并且大小为2,326,027字节。

[0005] 发明背景

[0006] 已经开发了能够实现所需目的蛋白选择性表达的多种构建体。已经测试最近的构建体,所述构建体掺入经工程化在稳定用配体不存在下降解的结构域(在本领域中称作“降解决定子(degron)”)。其他构建体掺入经工程化在去聚集性配体(例如,聚集结构域)不存在下聚集的结构域。这类结构域可以与目的蛋白融合,允许仅在稳定用或去聚集性配体存在下,才选择性表达这类蛋白质。

[0007] 在某些情况下,本领域已知的降解决定子和聚集结构域能具有某些与破坏目的蛋白的所需功能相关的缺点,原因在于融合蛋白的大小和/或构象。当目的蛋白是跨膜蛋白,这类缺点可能特别明显。因此,需要改进降解决定子/聚集结构域技术。另外,需要在不永久性修饰或阻抑免疫系统的情况下,修饰T细胞以治疗多种疾病和病状(如但不限于癌症、自身免疫性和同种异体免疫)的方法。

[0008] 发明概述

[0009] 在一个方面,本发明特征在于包含由异源蛋白酶切割位点(例如,由哺乳动物胞内或胞外蛋白酶切割的蛋白酶切割位点)分隔的二个蛋白质结构域的融合蛋白,其中第一蛋白质结构域是条件性表达结构域,例如,降解结构域或聚集结构域,并且第二蛋白质是目的蛋白,例如,跨膜蛋白(例如,CAR)。

[0010] 在一些实施方案中,条件性表达结构域是降解结构域,例如,如本文所述的降解结构域。不希望受理论约束,在一些实施方案中,降解结构域在表达化合物(例如,稳定作用化合物)不存在下不稳定和/或不能折叠成稳定构象。错误折叠/解折叠的降解结构域可以通过胞内降解途径随同融合蛋白的其他结构域一起降解(参见,例如,图25)。在表达化合物存在下,降解结构域能够折叠成稳定的构象并且例如,相对于表达化合物不存在下的降解结构域,不易受胞内降解途径影响。因此在表达化合物存在下,相对于表达化合物不存在,融合蛋白的细胞表面表达或胞外表达水平和/或速率增强,例如,至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、20或30倍。在一些实施方案中,一旦融合蛋白的降解结构域采取正确的构象,则异源切割位点暴露,导致降解结构域移除,并且因此,释放第二蛋白质结构域。

[0011] 在其他实施方案中,条件性表达结构域是聚集结构域。不希望受理论约束,在一些实施方案中,在表达化合物(例如,去聚集化合物)不存在下,融合蛋白的聚集结构域与一个或多个其他聚集结构域缔合成寡聚体和聚集物(参见,例如,图26)。聚集融合蛋白可以在其中它发生聚集的细胞区室中被隔绝。在表达化合物(例如,去聚集化合物)存在下,聚集结构

域彼此解离,并且融合蛋白溶解(例如,采取单聚构型)。因此在表达化合物存在下,相对于表达化合物不存在,融合蛋白的细胞表面表达或胞外表达水平和/或速率增强,例如,至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、20或30倍。在一些实施方案中,一旦融合蛋白的聚集结构域溶解,则异源切割位点暴露,导致聚集结构域移除,并且因此,释放第二蛋白质结构域。

[0012] 在前述任一个方面和实施方案中,融合蛋白包含了作为或包含条件性表达结构域(例如,降解结构域或聚集结构域)的第一蛋白质结构域和作为或包含目的蛋白(例如,跨膜蛋白(例如,CAR))的第二蛋白质结构域,其中融合蛋白的第一和第二结构域由异源蛋白酶切割位点(例如,由哺乳动物胞内或胞外蛋白酶切割的蛋白酶切割位点)分隔。在一些实施方案中,条件性表达结构域,例如,降解或聚集结构域,位于第二蛋白质结构域的N末端。在某些实施方案中,融合蛋白进一步包含降解结构域N末端的信号肽。

[0013] 在一个方面,本发明涉及一种融合蛋白,其包含由异源蛋白酶切割位点分隔的二个蛋白质结构域,其中所述蛋白质结构域第一者是条件性表达结构域,并且所述蛋白质结构域第二者是跨膜蛋白,其中条件性表达结构域具有与融合蛋白的表面表达和/或胞外表达的第一水平相关的第一状态和与融合蛋白的表面表达和/或胞外表达的第二水平相关的第二状态,其中第二水平增加,例如,在表达化合物存在下超过第一水平增加至少2、3、4、5、10、20或30倍。

[0014] 在另一个方面,本发明涉及一种融合蛋白,其包含由异源蛋白酶切割位点分隔的二个蛋白质结构域,其中所述蛋白质结构域第一者是条件性表达结构域,并且所述蛋白质结构域第二者是跨膜蛋白,其中异源蛋白酶切割位点是弗林蛋白酶切割位点,条件是弗林蛋白酶切割位点不包含氨基酸序列SARNRQKR (SEQ ID NO:981)。

[0015] 在另一个方面,本发明涉及一种融合蛋白,其包含由异源蛋白酶切割位点分隔的二个蛋白质结构域,其中所述蛋白质结构域第一者是条件性表达结构域,并且所述蛋白质结构域第二者是嵌合抗原受体(CAR)。

[0016] 在一些实施方案中,条件性表达结构域是降解结构域。

[0017] 在一些实施方案中,条件性表达结构域是聚集结构域。

[0018] 在一些实施方案中,融合蛋白包含由异源蛋白酶切割位点分隔的二个蛋白质结构域,其中所述蛋白质结构域第一者(本文也称作第一蛋白质结构域)是或包含降解结构域,例如,如本文所述的降解结构域,并且所述蛋白质结构域第二者(本文也称作第二蛋白质结构域)是目的蛋白。在一个实施方案中,目的蛋白是跨膜蛋白,例如,CAR。

[0019] 在一些实施方案中,降解结构域选自雌激素受体(ER)结构域、FKB蛋白(FKBP)结构域或二氢叶酸还原酶(DHFR)。

[0020] 在一些实施方案中,降解结构域具有与融合蛋白表面表达和/或胞外表达的第一水平相关的第一状态和与融合蛋白表面表达和/或胞外表达的第二水平相关的第二状态,其中第二水平增加,例如,在稳定作用化合物存在下超过第一水平至少2、3、4、5、10、20或30倍。

[0021] 在某些实施方案中,降解结构域衍生自雌激素受体。例如,降解结构域可以包含氨基酸序列,所述氨基酸序列选自SEQ ID NO:58或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列,或SEQ ID NO:121或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,降解结构域包含选自SEQ ID NO:58或SEQ ID NO:121的氨基酸

序列。当降解结构域衍生自雌激素受体时,稳定作用化合物可以选自巴多昔芬或4-羟基他莫昔芬(4-OHT)。在一些实施方案中,稳定作用化合物是巴多昔芬。他莫西芬和巴多昔芬是FDA批准的药物,并且因此在人类中使用安全。

[0022] 在某些实施方案中,降解结构域衍生自FKB蛋白(FKBP)。例如,降解结构域可以包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,降解结构域包含SEQ ID NO:56。当降解结构域衍生自FKBP时,稳定作用化合物可以是Shield-1。

[0023] 在一些实施方案中,降解结构域衍生自二氢叶酸还原酶(DHFR)。在一些实施方案中,降解结构域包含选自SEQ ID NO:57或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列的氨基酸序列。在一些实施方案中,降解结构域包含SEQ ID NO:57。当降解结构域衍生自DHFR时,稳定作用化合物可以是甲氧苄啶。

[0024] 在其他实施方案中,降解结构域未衍生自FKB蛋白或雌激素受体。

[0025] 在一些实施方案中,融合蛋白包含由异源蛋白酶切割位点分隔的二个蛋白质结构域,其中所述蛋白质结构域第一者(本文也称作第一蛋白质结构域)是或包含聚集结构域,例如,如本文所述的聚集结构域,并且所述蛋白质结构域第二者(本文也称作第二蛋白质结构域)是目的蛋白。在一个实施方案中,目的蛋白是跨膜蛋白,例如,CAR。

[0026] 在一些实施方案中,融合蛋白包含由异源蛋白酶切割位点分隔的二个蛋白质结构域,其中所述蛋白质结构域第一者是聚集结构域,并且所述蛋白质结构域第二者是跨膜蛋白,其中聚集结构域具有与融合蛋白的表面表达和/或胞外表达的第一水平相关的第一状态和与融合蛋白的表面表达和/或胞外表达的第二水平相关的第二状态,并且其中第二水平增加,例如,在去聚集化合物存在下超过第一水平至少2、3、4、5、10、20或30倍。

[0027] 在一些实施方案中,融合蛋白包含由异源蛋白酶切割位点分隔的二个蛋白质结构域,其中所述蛋白质结构域第一者是聚集结构域,并且所述蛋白质结构域第二者是跨膜蛋白,其中异源蛋白酶切割位点是弗林蛋白酶切割位点,条件是弗林蛋白酶切割位点不包含氨基酸序列SARNRQKR(SEQ ID NO:981)。

[0028] 在一些实施方案中,融合蛋白包含由异源蛋白酶切割位点分隔的二个蛋白质结构域,其中所述蛋白质结构域第一者是聚集结构域,并且所述蛋白质结构域第二者是嵌合抗原受体(CAR)。

[0029] 在一些实施方案中,聚集结构域包含1、2、3、4、5、6、7、8个或更多个重复的二聚化结构域,例如,同型二聚化或异二聚化结构域。。

[0030] 在一些实施方案中,聚集结构域来自FKB蛋白(FKBP)。

[0031] 在一些实施方案中,聚集结构域是FKBP F36M结构域。

[0032] 在一些实施方案中,聚集结构域来自FKB蛋白(FKBP)并且包含与SEQ ID NO:975或976的任一者至少90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。。

[0033] 在一些实施方案中,融合蛋白包含又一个第2、第3、第4、第5、第6、第7、第8、第9或第10聚集结构域。

[0034] 在一些实施方案中,第2、第3、第4、第5、第6、第7、第8、第9或第10聚集结构域是与第一聚集结构域相同类型的聚集结构域。

[0035] 在一些实施方案中,聚集结构域与相同的聚集结构域形成同型二聚体。

[0036] 在一些实施方案中,融合蛋白包含多个聚集结构域,其中多个聚集结构域包含多于一个(例如,两个)类型的聚集结构域,并且第一类型聚集结构域与第二类型聚集结构域形成异二聚体。

[0037] 在一些实施方案中,融合蛋白包含2、4、6、8或10个聚集结构域,其中融合蛋白包含相等数目的第一类型聚集结构域和第二类型聚集结构域。

[0038] 在一些实施方案中,聚集结构域按照第一类型和第二类型的交替顺序布置在融合蛋白中,例如,第一、第二、第一、第二或者第二、第一、第二、第一。

[0039] 在一些实施方案中,当融合蛋白包含衍生自FKB蛋白(FKBP)(例如,FKBP F36M)的聚集结构域时,所述去聚集化合物选自FK506、雷帕霉素、AP22542、AP21998和Shield-1。

[0040] 在一些实施方案中,所述异源切割位点由哺乳动物胞内蛋白酶切割。

[0041] 在一些实施方案中,所述切割位点由蛋白酶切割,所述蛋白酶选自弗林蛋白酶、PCSK1、PCSK5、PCSK6、PCSK7、组织蛋白酶B、粒酶B、因子XA、肠激酶、genenase、分选酶、precision蛋白酶、凝血酶、TEV蛋白和弹性蛋白酶1。

[0042] 在一些实施方案中,所述切割位点包含具有切割基序的多肽,所述切割基序选自RX(K/R)R共有基序、RXXX[KR]R共有基序、RRX共有基序、I-E-P-D-X共有基序(SEQ ID NO:35)、Glu/Asp-Gly-Arg、Asp-Asp-Asp-Asp-Lys(SEQ ID NO:36)、Pro-Gly-Ala-Ala-His-Tyr(SEQ ID NO:37)、LPXTG/A共有基序、Leu-Glu-Val-Phe-Gln-Gly-Pro(SEQ ID NO:38)、Leu-Val-Pro-Arg-Gly-Ser(SEQ ID NO:40)、E-N-L-Y-F-Q-G(SEQ ID NO:41)和[AGSV]-x(SEQ ID NO:42)的切割基序。

[0043] 在一些实施方案中,所述切割位点由弗林蛋白酶切割。

[0044] 在一些实施方案中,融合蛋白包含选自RTKR(SEQ ID NO:123);GTGAEDPRPSRKRRSLGDVG(SEQ ID NO:125);GTGAEDPRPSRKRR(SEQ ID NO:127);LQWLEQQVAKRRTRK(SEQ ID NO:129);GTGAEDPRPSRKRRSLGG(SEQ ID NO:131);GTGAEDPRPSRKRRSLG(SEQ ID NO:133);SLNLTESHNSRKKR(SEQ ID NO:135);或CKINGYPKRGRKRR(SEQ ID NO:137)的弗林蛋白酶切割位点。

[0045] 在一些实施方案中,融合蛋白包含选自GTGAEDPRPSRKRRSLGDVG(SEQ ID NO:125);或GTGAEDPRPSRKRR(SEQ ID NO:127)的弗林蛋白酶切割位点。

[0046] 在一些实施方案中,融合蛋白包含GTGAEDPRPSRKRRSLGDVG(SEQ ID NO:125)的弗林蛋白酶切割位点。

[0047] 在一些实施方案中,所述异源蛋白酶切割位点由哺乳动物胞外蛋白酶切割。

[0048] 在一些实施方案中,所述哺乳动物胞外蛋白酶选自因子XA、肠激酶、genenase、分选酶、precision蛋白酶、凝血酶、TEV蛋白酶和弹性蛋白酶1。

[0049] 在一些实施方案中,所述切割位点包含多肽,所述多肽具有选自Glu/Asp-Gly-Arg、Asp-Asp-Asp-Asp-Lys(SEQ ID NO:36)、Pro-Gly-Ala-Ala-His-Tyr(SEQ ID NO:37)、LPXTG/A共有基序、Leu-Glu-Val-Phe-Gln-Gly-Pro(SEQ ID NO:38)、Leu-Val-Pro-Arg-Gly-Ser(SEQ ID NO:40)、E-N-L-Y-F-Q-G(SEQ ID NO:41)和[AGSV]-x(SEQ ID NO:42)的氨基酸序列。

[0050] 在前述任一个方面和实施方案中,异源切割位点由弗林蛋白酶、PCSK1、PCSK5、PCSK6、PCSK7、组织蛋白酶B、粒酶B、因子XA、肠激酶、genenase、分选酶、precision蛋白酶、

凝血酶、TEV蛋白酶和弹性蛋白酶1切割。例如,蛋白酶切割位点可以包括具有切割基序的多肽,所述切割基序选自RX (K/R) R共有基序、RXXX [KR] R共有基序、RRX共有基序、I-E-P-D-X共有基序 (SEQ ID NO:35)、Glu/Asp-Gly-Arg、Asp-Asp-Asp-Asp-Lys (SEQ ID NO:36)、Pro-Gly-Ala-Ala-His-Tyr (SEQ ID NO:37)、LPXTG/A共有基序、Leu-Glu-Val-Phe-Gln-Gly-Pro (SEQ ID NO:38)、Leu-Val-Pro-Arg-Gly-Ser (SEQ ID NO:40)、E-N-L-Y-F-Q-G (SEQ ID NO:41) 或 [AGSV]-x (SEQ ID NO:42)。在某些实施方案中,哺乳动物胞外蛋白酶选自因子XA、肠激酶、genenase、分选酶、precission蛋白酶、凝血酶、TEV蛋白酶或弹性蛋白酶1 (例如,切割位点可以包含多肽,所述多肽具有选自Glu/Asp-Gly-Arg、Asp-Asp-Asp-Asp-Lys (SEQ ID NO:36)、Pro-Gly-Ala-Ala-His-Tyr (SEQ ID NO:37)、LPXTG/A共有基序、Leu-Glu-Val-Phe-Gln-Gly-Pro (SEQ ID NO:38)、Leu-Val-Pro-Arg-Gly-Ser (SEQ ID NO:40)、E-N-L-Y-F-Q-G (SEQ ID NO:41) 或 [AGSV]-x (SEQ ID NO:42) 的氨基酸序列。

[0051] 在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白包含弗林蛋白酶切割位点。在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白包含表20中列出的任一个弗林蛋白酶切割位点。在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白包含弗林蛋白酶切割位点,所述弗林蛋白酶切割位点选自RTKR (SEQ ID NO:123) 或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列;GTGAEDPRPSRKRRSLGDVG (SEQ ID NO:125) 或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列;GTGAEDPRPSRKRR (SEQ ID NO:127) 或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列;LQWLEQQVAKRRTKR (SEQ ID NO:129) 或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列;GTGAEDPRPSRKRRSLGG (SEQ ID NO:131) 或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列;GTGAEDPRPSRKRRSLG (SEQ ID NO:133) 或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列;SLNLTESHNSRKKR (SEQ ID NO:135) 或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列;或CKINGYPKRGRKR (SEQ ID NO:137) 或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白包含弗林蛋白酶切割位点,所述弗林蛋白酶切割位点选自GTGAEDPRPSRKRRSLGDVG (SEQ ID NO:125) 或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列,或GTGAEDPRPSRKRR (SEQ ID NO:127) 或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白包含弗林蛋白酶切割位点GTGAEDPRPSRKRRSLGDVG (SEQ ID NO:125) 或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列。

[0052] 在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白包含弗林蛋白酶切割位点,所述弗林蛋白酶切割位点选自RTKR (SEQ ID NO:123);GTGAEDPRPSRKRRSLGDVG (SEQ ID NO:125);GTGAEDPRPSRKRR (SEQ ID NO:127);LQWLEQQVAKRRTKR (SEQ ID NO:129);GTGAEDPRPSRKRRSLGG (SEQ ID NO:131);GTGAEDPRPSRKRRSLG (SEQ ID NO:133);SLNLTESHNSRKKR (SEQ ID NO:135);或CKINGYPKRGRKR (SEQ ID NO:137)。在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白包含弗林蛋白酶切割位点,所述弗林蛋白酶切割位点选自GTGAEDPRPSRKRRSLGDVG (SEQ ID NO:125) 或GTGAEDPRPSRKRR (SEQ ID NO:127)。在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白包含弗林蛋白酶切割位点GTGAEDPRPSRKRRSLGDVG (SEQ ID NO:125)。

[0053] 在一些实施方案中,条件性表达结构域,例如,聚集结构域或降解结构域,位于所

述第二蛋白质结构域的N末端或所述第二蛋白质结构域的C末端。

[0054] 在一些实施方案中,所述融合蛋白还包含相对于所述条件性表达结构域(例如,聚集结构域或降解结构域)N末端的信号肽。在一些实施方案中,融合蛋白还包含位于信号肽和所述条件性表达结构域(例如,聚集结构域或降解结构域)之间的接头。在一些实施方案中,接头是在表23和表24中列出的任何融合蛋白中的接头。

[0055] 在一些实施方案中,融合蛋白包含在表22、23和24中列出的任何融合蛋白的氨基酸序列。

[0056] 在前述任一个方面和实施方案中,第二蛋白质结构域是跨膜蛋白(例如,跨膜受体)。在前述任一方面,跨膜受体可以例如是合成性蛋白质(例如,嵌合抗原受体)。嵌合抗原受体可以例如,按N末端至C末端方向包含抗原结合结构域、跨膜结构域;和一个或多个胞内信号传导结构域。信号传导结构域可以包括一个或多个初级信号传导结构域(例如,CD3- δ 刺激性结构域)和,任选地,一个或多个共刺激信号传导结构域(例如,源于选自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、GITR、CD30、CD40、ICOS、BAFFR、HVEM、ICAM-1、淋巴细胞功能相关抗原-1(LFA-1)、CD2、CDS、CD7、CD287、LIGHT、NKG2C、NKG2D、SLAMF7、NKp80、NKp30、NKp44、NKp46、CD160、B7-H3或特异性结合CD83的配体的共刺激蛋白的胞内结构域)。

[0057] 在以上实施方案的某些实施方案中,抗原结合结构域是scFv。另外,抗原结合结构域结合选自以下的抗原:CD19;CD123;CD22;CD30;CD171;CS-1;C型凝集素样分子-1;CD33;表皮生长因子受体变体III(EGFRvIII);神经节苷脂G2(GD2);神经节苷脂GD3;TNF受体家族成员B细胞成熟(BCMA);Tn抗原(Tn Ag)或(GalNAc α -Ser/Thr);前列腺特异性膜抗原(PSMA);受体酪氨酸激酶样孤儿受体1(ROR1);Fms样酪氨酸激酶3(FLT3);肿瘤相关糖蛋白72(TAG72);CD38;CD44v6;癌胚抗原(CEA);上皮细胞黏附分子(EPCAM);B7H3(CD276);KIT(CD117);白介素-13受体亚基 α -2;间皮素;白介素11受体 α (IL-11Ra);前列腺干细胞抗原(PSCA);蛋白酶丝氨酸21;血管内皮生长因子受体2(VEGFR2);Lewis(Y)抗原;CD24;血小板衍生生长因子受体 β (PDGFR- β);阶段特异性胚胎抗原-4(SSEA-4);CD20;叶酸受体 α ;受体酪氨酸-蛋白激酶ERBB2(Her2/neu);细胞表面相关黏蛋白1(MUC1);表皮生长因子受体(EGFR);神经细胞黏附分子(NCAM);Prostate;前列腺酸性磷酸酶(PAP);突变的延伸因子2(ELF2M);肝配蛋白B2;成纤维细胞活化蛋白 α (FAP);胰岛素样生长因子1受体(IGF-I受体);碳酸酐酶IX(CAIX);蛋白酶体(蛋白酶体,巨蛋白因子)亚基B型9(LMP2);糖蛋白100(gp100);包含断点簇集区(BCR)和Abelson鼠白血病病毒癌基因同源物1(Abl)的癌基因融合蛋白(bcr-abl);酪氨酸酶;肝配蛋白A型受体2(EphA2);岩藻糖基GM1;唾液酰Lewis黏附分子(sLe);神经节苷脂GM3;转谷氨酰胺酶5(TGS5);高分子量-黑素瘤相关抗原(HMWMAA);o-乙酰基-GD2神经节苷脂(OAcGD2);叶酸受体 β ;肿瘤内皮标志物1(TEM1/CD248);肿瘤内皮标志物7相关(TEM7R);紧密连接蛋白6(CLDN6);促甲状腺激素受体(TSHR);G蛋白偶联受体C类第5群成员D(GPRC5D);染色体X可读框61(CXORF61);CD97;CD179a;间变性淋巴瘤激酶(ALK);聚唾液酸;胎盘特异性1(PLAC1);globoHglycoceramide的己糖部分(GloboH);乳腺分化抗原(NY-BR-1);尿路上皮分化特异糖蛋白(uropLakin)2(UPK2);甲型肝炎病毒细胞受体1(HAVCR1);肾上腺素受体 β 3(ADRB3);泛连接蛋白(pannexin)3(PANX3);G蛋白偶联受体20(GPR20);淋巴细胞抗原6复合体基因座K9(LY6K);嗅觉受体51E2(OR51E2);TCR γ 可变可读框蛋白(TARP);Wilm肿瘤蛋白(WT1);癌症/睾丸抗原1(NY-ESO-1);癌症/睾丸抗原2

(LAGE-1a);黑素瘤相关抗原1(MAGE-A1);位于第12p号染色体上的ETS转位变体基因6(ETV6-AML);精子蛋白17(SPA17);X抗原家族成员1A(XAGE1);血管生成素结合性细胞表面受体2(Tie 2);黑素瘤癌胚抗原-1(MAD-CT-1);黑素瘤癌胚抗原-2(MAD-CT-2);Fos相关抗原1;肿瘤蛋白p53(p53);p53突变体;前列腺特异性蛋白(prostein);存活;端粒酶;前列腺癌肿瘤抗原-1、T细胞识别的黑素瘤抗原1;大鼠肉瘤(Ras)突变体;人端粒酶逆转录酶(hTERT);肉瘤易位断点;黑素瘤凋亡抑制蛋白(ML-IAP);ERG(跨膜蛋白酶,丝氨酸2(TMPRS2)ETS融合基因);N-乙酰葡萄糖胺基转移酶V(NA17);配对的框蛋白Pax-3(PAX3);雄激素受体;细胞周期蛋白B1;v-myc鸟髓细胞增多症病毒癌基因神经母细胞瘤衍生的同源物(MYCN);Ras同源物家族成员C(RhoC);酪氨酸酶相关蛋白2(TRP-2);细胞色素P450 1B1(CYP1B1);CCCTC-结合因子(锌指蛋白)样、由T细胞识别的鳞状细胞癌抗原3(SART3);配对的框蛋白Pax-5(PAX5);前顶体蛋白结合蛋白sp32(OY-TES1);淋巴细胞特异性蛋白质酪氨酸激酶(LCK);A激酶锚定蛋白4(AKAP-4);滑膜肉瘤X断点2(SSX2);高级糖基化终末产物的受体(RAGE-1);肾遍在1(RU1);肾遍在2(RU2);豆荚蛋白(legumain);人乳头瘤病毒E6(HPV E6);人乳头瘤病毒E7(HPV E7);肠羧基酯酶;突变的热休克蛋白70-2(mut hsp70-2);CD79a;CD79b;CD72;白细胞相关免疫球蛋白样受体1(LAIR1);IgA受体的Fc片段(FCAR或CD89);白细胞免疫球蛋白样受体亚家族A成员2(LILRA2);CD300分子样家族成员f(CD300LF);C型凝集素结构域家族12成员A(CLEC12A);骨髓间质细胞抗原2(BST2);含有EGF样模块的黏蛋白样激素受体样2(EMR2);淋巴细胞抗原75(LY75);磷脂酰基醇蛋白聚糖-3(GPC3);Fc受体样5(FCRL5);或免疫球蛋白λ样多肽1(IGLL1)。

[0058] 在一些实施方案中,融合蛋白包含结合CD19的抗原结合结构域。在一些实施方案中,融合蛋白包含抗原结合结构域,所述抗原结合结构域包含选自SEQ ID NO:356-368或381中任一者的氨基酸序列。在一些实施方案中,融合蛋白包含嵌合抗原受体,所述嵌合抗原受体包含选自SEQ ID NO:897、902、907、912、917、922、927、932、937、942、947、952、956中任一者的氨基酸序列。

[0059] 在一些实施方案中,融合蛋白包含结合CD123的抗原结合结构域。在一些实施方案中,融合蛋白包含抗原结合结构域,所述抗原结合结构域包含选自SEQ ID NO:751、756、761或766中任一者的氨基酸序列。在一些实施方案中,融合蛋白包含嵌合抗原受体,所述嵌合抗原受体包含选自SEQ ID NO:750、755、760或765中任一者的氨基酸序列。

[0060] 在一些实施方案中,融合蛋白包含结合BCMA的抗原结合结构域。在一些实施方案中,融合蛋白包含抗原结合结构域,所述抗原结合结构域包含选自SEQ ID NO:382、386、390、394、398、402、406、410、414、418、422、426、430、434、438、442、446、450、454、458、462、466、470、474、478、482、486、490、494、498、502、506、510、514、518、522、528、531、534或537中任一者的氨基酸序列。在一些实施方案中,融合蛋白包含嵌合抗原受体,所述嵌合抗原受体包含选自SEQ ID NO:789、791、793、795、797、799、801、803、805、807、809、811、813、815、817、819、821、823、825、827、829、831、833、835、837、839、841、843、845、847、849、851、853、855、857或859中任一者的氨基酸序列。

[0061] 在一些实施方案中,融合蛋白包含结合CD20的抗原结合结构域。在一些实施方案中,融合蛋白包含抗原结合结构域,所述抗原结合结构域包含位于SEQ ID NO:3033的位置470-712或470-939处的氨基酸序列。在一些实施方案中,融合蛋白包含嵌合抗原受体,所述

嵌合抗原受体包含SEQ ID NO:3033的氨基酸序列。

[0062] 产生融合蛋白的细胞、核酸和方法

[0063] 在另一个方面,本发明特征在于包含前述任一种融合蛋白的细胞,例如,宿主细胞。在一些实施方案中,细胞(例如,宿主细胞)是免疫细胞,例如,免疫效应细胞。在一些实施方案中,细胞是T细胞或NK细胞。

[0064] 在又一个方面,本发明特征在于编码前述任一种融合蛋白的核酸(例如,mRNA或DNA分子)。在另一个方面,本发明特征在于含有这种核酸的载体(例如,病毒载体(如慢病毒载体))。本发明还特征在于包含这种病毒载体的病毒粒子。

[0065] 在又一个方面,本发明特征在于含有前述载体、核酸或融合蛋白中任一者的细胞,例如,宿主细胞(例如,人T细胞)。

[0066] 在某些实施方案中,细胞还包含能够切割异源蛋白酶切割位点的蛋白酶。在某些实施方案中,宿主细胞还可以包括稳定作用化合物(例如,巴多昔芬、Shield1或1 μ M 4-OHT(4-羟基他莫西芬)),其中所述降解结构域采取在所述稳定作用化合物不存在下容许细胞降解的构象。

[0067] 在一些实施方案中,在表达化合物(例如,稳定作用化合物)不存在的情况下,融合蛋白借助细胞降解途径降解,例如,至少50%、60%、70%、80%、90%或更多的融合蛋白降解。

[0068] 在一些实施方案中,在表达化合物(例如,去聚集化合物)不存在的情况下,融合蛋白在细胞中(例如,在内质网或细胞溶胶中)处于聚集状态,例如,至少50%、60%、70%、80%、90%或更多处于聚集状态。

[0069] 在一些实施方案中,所述细胞还包含表达化合物(例如,稳定作用化合物)。

[0070] 在一些实施方案中,条件性表达结构域,例如,降解结构域,相对于表达化合物不存在下的构象,采取在表达化合物(例如,稳定作用化合物)存在下更抵抗细胞降解的构象。

[0071] 在一些实施方案中,相对于表达化合物不存在下的构象,融合蛋白的构象在表达化合物(例如,稳定作用化合物)存在下更容许在异源蛋白酶切割位点处切割。

[0072] 在一些实施方案中,融合蛋白的细胞表面表达或胞外表达的水平比不包含表达化合物(例如,稳定作用化合物)的细胞中融合蛋白的细胞表面表达或胞外表达的水平更高,例如,高于2、3、4、5、6、7、8、9、10、20或30倍。

[0073] 在一些实施方案中,所述细胞还包含表达化合物,例如,去聚集化合物。

[0074] 在一些实施方案中,条件性表达结构域,例如,聚集结构域,相对于表达化合物不存在下的构象,采取在表达化合物(例如,去聚集化合物)存在下更抵抗寡聚化或聚集的构象。

[0075] 在一些实施方案中,相对于表达化合物不存在下的构象,融合蛋白的构象在表达化合物(例如,去聚集化合物)存在下更容许在异源蛋白酶切割位点处切割。

[0076] 在一些实施方案中,融合蛋白的细胞表面表达或胞外表达的水平比不包含表达化合物(例如,去聚集化合物)的细胞中融合蛋白的细胞表面表达或胞外表达的水平更高,例如,高于2、3、4、5、6、7、8、9、10、20或30倍。

[0077] 在又一个方面,公开了一种产生如本文所述的融合蛋白的方法。该方法包括在适于表达的条件下提供细胞,例如,如本文所述的宿主细胞,例如,包含前述载体、核酸或融合

蛋白中任一者的宿主细胞。

[0078] 在另一个方面,本发明特征还在于一种条件性表达目的蛋白的方法。在一个实施方案中,目的蛋白是跨膜蛋白,例如,CAR。

[0079] 在一些实施方案中,本发明特征还在于一种在细胞(例如,免疫细胞,例如,宿主细胞)的表面上条件性表达目的蛋白、跨膜蛋白或CAR的方法。该方法包括:

[0080] 提供包含融合蛋白或编码融合蛋白(例如,本文所述的任何融合蛋白)的核酸的细胞,例如,免疫细胞(例如,宿主细胞);

[0081] 使融合蛋白或包含所述融合蛋白的细胞与表达化合物接触,其中:

[0082] (a) 在所述表达化合物存在下,所述目的蛋白、跨膜蛋白或CAR的表面表达相对参比值(例如,相对于所述表达化合物不存在下所述目的蛋白、跨膜蛋白或CAR的表面表达水平)增加,例如,大2、3、4、5、6、7、8、9、10、20或30倍;和

[0083] (b) 在所述表达化合物不存在下,所述目的蛋白、跨膜蛋白或CAR的表面表达相对参比值(例如,相对于表达化合物存在下所述目的蛋白、跨膜蛋白或CAR的表面表达水平)显著减少,例如,少2、3、4、5、6、7、8、9、10、20或30倍。

[0084] 在一些实施方案中,所述表达化合物的存在相关于(例如,造成)条件性表达结构域的构象从第一折叠状态改变至第二折叠状态,其中第一折叠状态相对于第二折叠状态更易遭降解(例如,细胞降解)或聚集。

[0085] 在一些实施方案中,所述表达化合物的存在使切割位点暴露于异源蛋白酶,相对于所述表达化合物不存在下蛋白酶切割位点的暴露,例如,更大程度暴露,例如,2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、或30倍更多暴露。

[0086] 在一些实施方案中,本发明特征在于一种条件性表达目的蛋白、跨膜蛋白或CAR的方法,所述方法包括使细胞(例如,宿主细胞和/或本文所述的细胞)与稳定作用化合物接触,其中:

[0087] (a) 在所述稳定作用化合物存在下,

[0088] (i) 相对于稳定作用化合物不存在下的构象,所述降解结构域采取更抵抗细胞降解的构象,

[0089] 因而导致从所述目的蛋白、跨膜蛋白或CAR切下所述降解结构域及所述目的蛋白、跨膜蛋白或CAR的表达;和

[0090] (b) 在所述稳定作用化合物不存在下,相对于稳定作用化合物存在下的构象,所述降解结构域采取更容许细胞降解的构象,因而导致所述目的蛋白、跨膜蛋白或CAR降解。

[0091] 在一些实施方案中,所述细胞与所述稳定作用化合物离体接触。

[0092] 在一些实施方案中,所述细胞与所述稳定作用化合物在体内接触。

[0093] 在一些实施方案中,本发明特征在于一种条件性表达目的蛋白、跨膜蛋白或CAR的方法,所述方法包括使细胞(例如,宿主细胞和/或本文所述的细胞)与去聚集化合物接触,其中:

[0094] (a) 在所述去聚集化合物存在下,

[0095] (i) 相对于去聚集化合物不存在下的构象,所述聚集结构域采取更抵抗聚集或寡聚化的构象,

[0096] 因而导致从所述目的蛋白、跨膜蛋白或CAR切下所述聚集结构域及所述目的蛋白、

跨膜蛋白或CAR的表达;和

[0097] (b) 在所述去聚集化合物不存在下,相对于去聚集化合物存在下的构象,所述聚集结构域采取更容许聚集或寡聚化的构象,因而导致所述目的蛋白、跨膜蛋白或CAR聚集。

[0098] 在一些实施方案中,所述细胞与所述去聚集化合物离体接触。

[0099] 在一些实施方案中,所述细胞与所述去聚集化合物在体内接触。

[0100] 在又一个方面,本发明特征在于一种治疗患有与肿瘤抗原表达相关的疾病的受试者的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的前述任一种宿主细胞,其中第二蛋白质是嵌合抗原受体并且按N末端至C末端方向包含抗原结合结构域、跨膜结构域和一个或多个胞内信号传导结构域,并且该抗原结合结构域特异性结合该肿瘤抗原。在又一个方面,本发明的特征在于一种治疗自身抗体或同种异体抗体疾病或病状的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的前述任一种宿主细胞,其中所述第二蛋白质是嵌合抗原受体并且按N末端至C末端方向包含抗原结合结构域、跨膜结构域和一个或多个胞内信号传导结构域,并且所述抗原结合结构域特异性结合所述自身抗体或同种异体抗体疾病特有的抗原。在这类方法中,宿主细胞可以相对于受试者是自体或非自体的,例如,是同种异体的。这类方法还可以包括使宿主细胞与前述稳定作用化合物在体内或离体接触的步骤。

[0101] 在一些实施方案中,细胞与表达化合物接触,并且:

[0102] (a) 在所述表达化合物存在下,

[0103] (i) 相对于所述表达化合物不存在下的构象,所述条件性表达结构域更抵抗采取细胞降解或聚集的构象,因而导致从所述嵌合抗原受体(CAR)切下所述条件性表达结构域及所述CAR的表达;并且

[0104] (b) 在所述表达化合物不存在下,相对于所述表达化合物存在下的构象,所述条件性表达结构域采取更容许细胞降解或聚集的构象,因而导致所述融合蛋白降解或聚集。

[0105] 在一些实施方案中,细胞,例如,宿主细胞,与稳定作用化合物接触,并且:

[0106] (a) 在所述稳定作用化合物存在下,

[0107] (i) 相对于所述稳定作用化合物不存在下的构象,所述降解结构域采取更抵抗细胞降解的构象,

[0108] 因而导致从所述嵌合抗原受体(CAR)切下所述降解结构域及所述CAR的表达;并且

[0109] (b) 在所述稳定作用化合物不存在下,相对于所述稳定作用化合物存在下的构象,所述降解结构域采取更容许细胞降解的构象,因而导致所述融合蛋白降解。

[0110] 在一些实施方案中,当融合蛋白包含衍生自雌激素受体的降解结构域时,所述稳定作用化合物选自巴多昔芬或4-羟基他莫昔芬(4-OHT)。

[0111] 在一些实施方案中,当融合蛋白包含衍生自FKB蛋白的降解结构域时,所述稳定作用化合物是Shield-1。

[0112] 在一些实施方案中,细胞与去聚集化合物接触,并且:

[0113] (a) 在所述去聚集化合物存在下,

[0114] (i) 相对于所述去聚集化合物不存在下的构象,所述聚集结构域采取更抵抗聚集或寡聚化的构象,

[0115] 因而导致从所述嵌合抗原受体(CAR)切下所述聚集结构域及所述CAR的表达;并且

[0116] (b) 在所述去聚集化合物不存在下,相对于所述去聚集化合物存在下的构象,所述

聚集结构域采取更容许聚集或寡聚化的构象,因而导致所述融合蛋白聚集。

[0117] 在一些实施方案中,当融合蛋白包含衍生自FKB蛋白(FKBP)(例如,FKBP F36M)的聚集结构域时,所述去聚集化合物选自FK506、雷帕霉素、AP22542和AP21998。

[0118] 在一些实施方案中,自身抗体疾病或病状选自大疱性类天疱疮、获得性大疱性表皮松解症、p200类天疱疮、线性IgA大疱性皮肤病、其他类天疱疮基因疾病、疱疹样皮炎、乳糜泻、重症肌无力、Goodpasture综合征、肉芽肿病伴多血管炎和其他ANCA+脉管炎、自身免疫性边缘叶脑炎、抗N-甲基-D-天冬氨酸受体脑炎、视神经脊髓炎、自身免疫性溶血性贫血、在狼疮和其他结缔组织病中自身抗体相关的终末器官损伤(归因于抗dsDNA自身抗体、抗Ro自身抗体和其他自身抗体)、Graves'和桥本甲状腺炎、糖尿病中的抗胰岛素抗体、自身免疫性低血糖中的抗胰岛素受体抗体、冷球蛋白血症、类风湿性关节炎、多发性硬化、干燥综合征、皮炎、慢性特发性荨麻疹中的抗Fc-ε受体抗体、抗叶酸受体抗体、肺动脉高血压中的抗内皮受体或抗肾上腺素能受体抗体、难治性高血压、扩张型心肌病、自身炎症综合征、视神经脊髓炎、Goodpasture综合征、抗NMDAR脑炎、AIHA、ITP、TTP、Graves'/桥本氏病,原发性胆汁性肝硬化、新生儿狼疮,导致T细胞破坏的母体自身抗体,肺泡蛋白沉积症,抗叶酸受体,慢性炎症性脱髓鞘性多发性神经病和特发性膜性肾病。

[0119] 在一些实施方案中,同种异体抗体疾病或病状是响应于器官移植、输血、妊娠或蛋白质替代疗法的免疫反应。

[0120] 在一些实施方案中,癌症是间皮瘤(例如,恶性胸膜间皮瘤),例如,在至少一种既往标准疗法时已经进展的受试者中;肺癌(例如,非小细胞肺癌、小细胞肺癌、鳞状细胞肺癌或大细胞肺癌);胰腺癌(例如,胰腺导管腺癌或转移性胰腺导管腺癌(PDA)、例如,在至少一种既往标准疗法时已经进展的受试者中);食管腺癌、卵巢癌(例如,浆液性卵巢上皮癌,例如,在至少一种既往标准治疗方案后已经进展的受试者中)、乳腺癌、结直肠癌、膀胱癌或其任意组合。

[0121] 在一些实施方案中,与肿瘤抗原表达相关的疾病是癌症。

[0122] 在一些实施方案中,与肿瘤抗原表达相关的疾病是血液学癌,例如,选自白血病或淋巴瘤的血液学癌。

[0123] 在一些实施方案中,癌症选自:慢性淋巴细胞白血病(CLL)、套细胞淋巴瘤(MCL)、多发性骨髓瘤、急性淋巴样白血病(ALL)、霍奇金淋巴瘤、B细胞急性淋巴样白血病(BALL)、T细胞急性淋巴样白血病(TALL)、小淋巴细胞白血病(SLL)、B细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树状细胞肿瘤、Burkitt淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、与慢性炎症相关的DLBCL、慢性髓样白血病、骨髓增生性肿瘤、滤泡淋巴瘤、儿科滤泡淋巴瘤、多毛细胞白血病、小细胞或大细胞滤泡淋巴瘤、恶性淋巴细胞增生性疾病、MALT淋巴瘤(粘膜相关性淋巴组织的结节外边缘区淋巴瘤)、边缘区淋巴瘤、脊髓发育不良和脊髓发育不良综合征、非霍奇金淋巴瘤、浆母细胞淋巴瘤、浆细胞样树状细胞肿瘤、Waldenstrom巨球蛋白血症、脾边缘区淋巴瘤、脾淋巴瘤/白血病、脾弥漫性红髓小B细胞淋巴瘤、多毛细胞白血病变种、淋巴质浆细胞性淋巴瘤、重链病、浆细胞骨髓瘤、骨的孤立性浆细胞瘤、骨外浆细胞瘤、结内边缘区淋巴瘤、儿科结节边缘区淋巴瘤、原发性皮肤滤泡中心淋巴瘤、淋巴瘤样肉芽肿、原发性纵隔(胸腺的)大B细胞淋巴瘤、血管内大B细胞淋巴瘤、ALK+大B细胞淋巴瘤、在HHV8相关的多中心Castlem病中出现的大B细胞淋巴瘤、原发性渗出性淋巴瘤、B细胞淋巴瘤、急性髓样

白血病 (AML) 或不可分类的淋巴瘤。

[0124] 在一些实施方案中,癌症选自MCL、CLL、ALL、霍奇金淋巴瘤、AML或多发性骨髓瘤。

[0125] 在又一个方面,本发明特征在于本文所述的融合蛋白、细胞、核酸、病毒粒子或载体,用作药物。

[0126] 在又一个方面,本发明特征在于本文所述的融合蛋白、细胞、核酸、载体或方法,用于治疗表达肿瘤抗原的疾病。

[0127] 用于治疗自身抗体疾病或同种异体抗体疾病中的方法和组合物

[0128] 在一个方面,本发明特征在于治疗有需求的受试者中自身抗体或同种异体抗体疾病或病状的方法,包括向受试者施用有效量的包含修饰的T细胞的药物组合物,其中修饰的T细胞包含核酸,所述核酸包含自杀基因和编码嵌合抗原受体 (CAR) 的核酸,所述嵌合抗原受体包含抗B细胞结合结构域、跨膜结构域、共刺激结构域和胞内信号传导结构域。在另一个方面,本发明特征在于治疗有需求的受试者中自身抗体或同种异体抗体疾病或病状的方法,包括向受试者施用有效量的包含修饰的T细胞的药物组合物,其中修饰的T细胞包含核酸,所述核酸编码二聚化结构域和嵌合抗原受体 (CAR),所述嵌合抗原受体包含抗B细胞结合结构域、跨膜结构域、共刺激结构域和胞内信号传导结构域。

[0129] 在一些实施方案中,自杀基因编码选自SEQ ID NO:3005-3007的氨基酸序列。

[0130] 在一些实施方案中,自杀基因还包含二聚化结构域,所述二聚化结构域包含选自SEQ ID NO:3013和3014的氨基酸序列。

[0131] 在一些实施方案中,二聚化结构域包含SEQ ID NO:980的氨基酸序列。

[0132] 在一些实施方案中,二聚化结构域还包含弗林蛋白酶切割位点,所述弗林蛋白酶切割位点包含SEQ ID NO:980的氨基酸序列。

[0133] 在一些实施方案中,CAR还包含信号肽。

[0134] 在一些实施方案中,信号肽包含SEQ ID NO:3035的氨基酸序列。

[0135] 在一些实施方案中,施用有效量包括活化修饰的T细胞以实现对抗B细胞的细胞毒功能。

[0136] 在一些实施方案中,该方法还包括激活自杀基因的自杀基因产物以诱导修饰的T细胞发生细胞死亡。

[0137] 在一些实施方案中,激活自杀基因产物还包括施用促进自杀基因产物二聚化的二聚化剂。

[0138] 在一些实施方案中,激活自杀基因产物出现在修饰的T细胞产生对抗B细胞的细胞毒功能之后。

[0139] 在一些实施方案中,激活自杀基因产物在受试者中针对修饰的T细胞的不良反应发作后出现。

[0140] 在一些实施方案中,该方法还包括阻抑自杀基因的自杀基因产物活化以阻抑修饰的T细胞发生细胞死亡。

[0141] 在一些实施方案中,阻抑自杀基因产物活化还包括施用阻止自杀基因产物二聚化的增溶剂。

[0142] 在一些实施方案中,施用增溶剂与施用修饰的T细胞同时进行并且随着修饰的T细胞产生对抗B细胞的细胞毒功能而继续进行。

[0143] 在一些实施方案中,在受试者中针对修饰的T细胞的不良反应发作后停止施用增溶剂。

[0144] 在一些实施方案中,CAR的抗B细胞结合结构域包括选自单克隆抗体、多克隆抗体、合成性抗体、人抗体、人源化抗体、单结构域抗体、单链可变片段及其抗原结合片段的抗体。

[0145] 在一些实施方案中,CAR的抗B细胞结合结构域特异性结合选自CD19、BCMA、CD20、CD21、CD27、CD38、CD138及其任意组合的B细胞标志物。

[0146] 在一些实施方案中,CAR的抗B细胞结合结构域特异性结合选自CD20、CD21、CD27、CD38、CD138及其任意组合的B细胞标志物以及选择性地在原B细胞、前B细胞、不成熟B细胞、成熟B细胞、记忆B细胞和浆细胞上存在的至少一个表面标志物。

[0147] 在一些实施方案中,CAR的胞内结构域包含双重信号传导结构域。

[0148] 在一些实施方案中,共刺激结构域选自CD3、CD27、CD28、CD83、CD86、CD127、4-1BB、4-1BBL、PD1、PD1L、T细胞受体(TCR)、任何衍生物或其变体、其具有相同功能能力的任何合成性序列及其任意组合。

[0149] 在一些实施方案中,该方法还包括施用阻止CAR二聚化的增溶剂。

[0150] 在一些实施方案中,施用增溶剂与施用修饰的T细胞同时进行并且随着修饰的T细胞产生对抗B细胞的细胞毒功能而继续进行。

[0151] 在一些实施方案中,在受试者中针对修饰的T细胞的不良反应发作后停止施用增溶剂。

[0152] 在一些实施方案中,自身抗体疾病或病状选自大疱性类天疱疮、获得性大疱性表皮松解症、p200类天疱疮、线性IgA大疱性皮肤病、其他类天疱疮基因疾病、疱疹样皮炎、乳糜泻、重症肌无力、Goodpasture综合征、肉芽肿病伴多血管炎和其他ANCA+脉管炎、自身免疫性边缘叶脑炎、抗N-甲基-D-天冬氨酸受体脑炎、视神经脊髓炎、自身免疫性溶血性贫血、在狼疮和其他结缔组织病中自身抗体相关的终末器官损伤(归因于抗dsDNA自身抗体、抗Ro自身抗体和其他自身抗体)、Graves'和桥本甲状腺炎、糖尿病中的抗胰岛素抗体、自身免疫性低血糖中的抗胰岛素受体抗体、冷球蛋白血症、类风湿性关节炎、多发性硬化、干燥综合征、皮炎、慢性特发性荨麻疹中的抗Fc-ε受体抗体、抗叶酸受体抗体、肺动脉高血压中的抗内皮受体或抗肾上腺素能受体抗体、难治性高血压、扩张型心肌病和自身炎症性综合征。

[0153] 在一些实施方案中,同种异体抗体疾病或病状是响应于器官移植、输血、妊娠和蛋白质替代疗法的免疫反应。

[0154] 在一些实施方案中,通过缺失选自T细胞受体(TCR)链、主要组织相容性复合体蛋白及其任意组合的基因,将修饰的T细胞进一步修饰。

[0155] 在一些实施方案中,在施用至有需要的受试者之前,将修饰的T细胞进一步修饰。

[0156] 在一些实施方案中,通过诱导CRISPR/Cas系统,将修饰的T细胞进一步修饰。

[0157] 在一个方面,本发明特征在于配制用于本文所述方法中的药物组合物,所述组合物包含修饰的T细胞,所述T细胞包含编码自杀基因的核酸和编码嵌合抗原受体(CAR)的核酸,所述嵌合抗原受体包含抗B细胞结合结构域、跨膜结构域、共刺激结构域和胞内信号传导结构域。

[0158] 在一个方面,本发明特征在于配制用于本文所述方法中的药物组合物,所述组合物包含修饰的T细胞,所述T细胞包含编码二聚化结构域和嵌合抗原受体(CAR)的核酸,所述

嵌合抗原受体包含抗B细胞结合结构域、跨膜结构域、共刺激结构域和胞内信号传导结构域。

[0159] 在一些实施方案中,自杀基因编码选自SEQ ID NO:3005-3007的氨基酸序列。

[0160] 在一些实施方案中,自杀基因还包含二聚化结构域,所述二聚化结构域包含选自SEQ ID NO:3013和3014的氨基酸序列。

[0161] 在一些实施方案中,二聚化结构域包含SEQ ID NO:980的氨基酸序列。

[0162] 在一些实施方案中,二聚化结构域还包含弗林蛋白酶切割位点,所述弗林蛋白酶切割位点包含SEQ ID NO:980的氨基酸序列。

[0163] 在一些实施方案中,CAR还包含信号肽。

[0164] 在一些实施方案中,信号肽包含SEQ ID NO:3035的氨基酸序列。

[0165] 在一些实施方案中,组合物还包含诱导自杀基因激活的诱导剂。

[0166] 在一些实施方案中,修饰的T细胞缺少至少一个编码T细胞受体 (TCR) 链和主要组织相容性复合体蛋白的基因。

[0167] 在一个方面,本发明特征在于一种分离的核酸序列,其包含核酸序列,所述核酸序列包含 (i) 自杀基因,所述自杀基因包含选自SEQ ID NO:3001-3004的核酸序列;和 (ii) 编码嵌合抗原受体 (CAR) 的核酸序列,所述嵌合抗原受体包含抗B细胞结合结构域、跨膜结构域、共刺激结构域和胞内信号传导结构域。

[0168] 在一些实施方案中,分离的核酸序列包含SEQ ID NO:3018、3020、3024、3026、3028或3030。

[0169] 在一个方面,本发明特征在一种分离的多肽,其包含 (i) 由自杀基因编码的氨基酸序列,其中氨基酸序列选自SEQ ID NO:3005-3007;和 (ii) 包含抗B细胞结合结构域、跨膜结构域、共刺激结构域和胞内信号传导结构域的嵌合抗原受体 (CAR)。

[0170] 在一些实施方案中,分离的多肽包含SEQ ID NO:3019、3021、3026、3028、3030或3034的氨基酸序列。

[0171] 在一个方面,本发明特征在于一种分离的核酸序列,其包含 (i) 编码二聚化结构域的核酸;和 (ii) 包含抗B细胞结合结构域、跨膜结构域、共刺激结构域和胞内信号传导结构的嵌合抗原受体 (CAR)。

[0172] 在一些实施方案中,二聚化结构域包含SEQ ID NO:980的氨基酸序列。

[0173] 在一些实施方案中,分离的核酸序列包含SEQ ID NO:977或3032。

[0174] 在一个方面,本发明特征在于一种分离的多肽,其包含 (i) 二聚化结构域;和 (ii) 包含抗B细胞结合结构域、跨膜结构域、共刺激结构域和胞内信号传导结构的嵌合抗原受体 (CAR)。

[0175] 在一些实施方案中,分离的多肽包含SEQ ID NO:978或3033的氨基酸序列。

[0176] 附图简述

[0177] 图1是显示在原代人T细胞中表达PCSK (前蛋白转化酶) 家族成员的图。通过qRT-PCR测量PCSK家族成员的表达。用抗CD3/抗CD28活化珠刺激后,在第0、4和11天从正常供体T细胞收获RNA。在培养期间,对一个附加组补充100U/mL IL-2并且在第11天收获RNA。

[0178] 图2是在Jurkat T细胞中显示化合物依赖性CAR表达的系列图,所述T细胞采用与所示弗林蛋白酶降解结构域 (FKBP_{FD}、ER α _{FD}或DHFR_{FD}) 融合的抗CD19 scFv CAR构建体转导,

随后用相应的稳定化合物处理。将FKBP_{FD}转导的细胞用1 μ M Shield1处理；将ER α _{FD}转导的细胞用1 μ M巴多昔芬处理；将DHFR_{FD}转导的细胞用1mM甲氧苄啶 (TMP) 处理。借助稳定化合物可诱导抗CD19 scFv的表达。黑色=UTD(未转导的细胞)；灰色=构建体,无化合物；白色=构建体,有化合物。

[0179] 图3是显示Jurkat T细胞中CAR表达动力学的图,所述T细胞采用与所示弗林蛋白酶降解结构域(FKBP_{FD}或ER α _{FD})融合的抗CD19 scFv CAR构建体转导,随后添加稳定作用化合物。将FKBP_{FD}转导的细胞用1 μ M Shield1处理并将ER α _{FD}转导的细胞用1 μ M 4-OHT(4-羟基他莫昔芬)处理所示的时间；并且通过FACS测定CAR表达。

[0180] 图4是显示弗林蛋白酶降解决定子结构域ER α _{FD}可以在原代人T细胞中按照巴多昔芬依赖性方式调节CAR19表达并且稳定作用在IL-2存在下在体外增强的系列直方图。将原代人T细胞用融合于抗CD19 scFv CAR构建体的ER α _{FD}结构域转导。在第9天用抗CD3/CD28刺激珠活化后添加100U/mL IL-2。在第10天添加巴多昔芬,并且在第11天通过FACS测定CAR表达。

[0181] 图5是显示原代T细胞中化合物清洗期后CAR表达动力学的图,所述T细胞采用融合于弗林蛋白酶降解结构域的CAR构建体转导。将原代人T细胞用融合于抗CD19 scFv CAR构建体的所示弗林蛋白酶降解结构域(FKBP_{FD}或ER α _{FD})转导。在第9天用抗CD3/CD28刺激珠活化后添加100U/mL IL-2。在第10天添加巴多昔芬并且在第11天冷冻T细胞。将T细胞解冻,充分洗涤并培养所示的时间,随后通过FACS测定CAR表达。

[0182] 图6是显示多个靶向ER α 的药物使FurOn CART稳定化的系列曲线。将Jurkat T细胞用融合于抗CD19 scFv CAR构建体的ER α _{FD}降解结构域转导,随后用所示化合物处理24小时。使用的靶向ER α 的药物是:10 μ M 4-OHT、1 μ M巴多昔芬或1 μ M拉索昔芬。

[0183] 图7是显示ER α _{FD}融合的CAR表达对巴多昔芬的剂量反应的图。将原代人T细胞用融合于抗CD19 scFv CAR构建体或亲本CD19 CAR构建体的ER α _{FD}降解结构域转导。在第9天用抗CD3/CD28刺激珠活化后添加100U/mL IL-2,并且在第11天冷冻T细胞。将T细胞解冻并随所示浓度的巴多昔芬一起培养48小时。通过FACS测定CAR表达。

[0184] 图8是显示通过基于ER- α 的FurON CART所致的化合物依赖性靶特异性细胞杀伤作用的一对图。将原代人T细胞用融合于抗CD19 scFv CAR构建体或亲本CD19 CAR构建体的ER α _{FD}降解结构域转导。在第9天用抗CD3/CD28刺激珠活化后添加100U/mL IL-2和巴多昔芬,并且在第11天冷冻T细胞。将T细胞解冻并随所示的萤光素化细胞系靶K562(CD19-)或NALM6(CD19+)一起温育20小时。通过分析剩余萤光素酶活性测定杀伤百分数。

[0185] 图9是显示通过基于FKBP的FurON CART所致的化合物依赖性靶特异性细胞杀伤作用的一对图。将原代人T细胞用融合于抗CD19 scFv CAR构建体或亲本CD19 CAR构建体的FKBP_{FD}弗林蛋白酶降解结构域转导。在第9天用抗CD3/CD28刺激珠活化后添加100U/mL IL-2和Shield1,并且在第11天冷冻T细胞。将T细胞解冻并随所示的萤光素化细胞系靶K562(CD19-)或NALM6(CD19+)一起温育20小时。通过分析剩余萤光素酶活性测定杀伤百分数。

[0186] 图10是显示ER- α FurOn CART的化合物依赖性细胞因子产生的一对图。将原代人T细胞用融合于抗CD19 scFv CAR构建体或亲本CD19 CAR构建体的ER α _{FD}弗林蛋白酶降解结构域转导。在第9天用抗CD3/CD28刺激珠活化后添加100U/mL IL-2和巴多昔芬,并且在第11天冷冻T细胞。将T细胞解冻并且与所示的细胞系靶温育20小时。收获上清液并通过细胞因子

珠阵列分析。

[0187] 图11是显示ER- α FurON CART的化合物依赖性增殖的图。将原代人T细胞用融合于抗CD19 scFv CAR构建体或亲本CD19 CAR构建体的ER α _{FD}降解结构域转导。在第9天用抗CD3/CD28刺激珠活化后添加100U/mL IL-2和巴多昔芬,并且在第11天冷冻T细胞。将T细胞解冻并且与所示的细胞系靶温育4天。通过FACS分析T细胞FurON-CAR数目。

[0188] 图12A-12B是显示ER α -FurON CAR19构建体中多个受测弗林蛋白酶切割位点之间弗林蛋白酶切割程度的代表性免疫印迹结果。受测的弗林蛋白酶切割位点是:

[0189] #105-LQWLEQQVAKRRTKR (SEQ ID NO:129); #106-GTGAEDPRPSRKRRSLGDVG (SEQ ID NO:125); #107-GTGAEDPRPSRKRRSLGG (SEQ ID NO:131); #108-GTGAEDPRPSRKRRSLG (SEQ ID NO:133); #102-SLNLTESHNSRKKR (SEQ ID NO:135); #103-GTGAEDPRPSRKRR (SEQ ID NO:127); #104-CKINGYPKRGRKRR (SEQ ID NO:137); #73-RTKR (SEQ ID NO:123)。

[0190] 图13是显示furon(弗林蛋白酶降解决定子)结构域以稳定作用化合物依赖性方式调节人原代T细胞中CAR19表达,但是不影响细胞活力和细胞增殖的表。

[0191] 图14是显示具有弗林蛋白酶降解决定子结构域的CAR19以稳定作用化合物剂量依赖性方式杀伤CD19+肿瘤细胞并且不劣于亲本CAR构建体的系列线图。

[0192] 图15是显示在CD19+肿瘤细胞存在下,表达ER α FurON CAR19的原代人T细胞以稳定作用化合物剂量依赖性方式分泌IFN γ 并且不劣于亲本CAR构建体的柱状图。

[0193] 图16是显示在CD19+肿瘤细胞存在下,表达ER α FurON CAR19的原代人T细胞以稳定作用化合物依赖性方式增殖并且不劣于亲本CAR19构建体的系列柱状图。

[0194] 图17是显示无论突变数目为多少,受测FurON结构域以化合物依赖性方式调节Jurkat细胞中CAR19表达以及在稳定作用化合物不存在下检测不到CAR表面表达的系列图。

[0195] 图18是显示FurON结构域以稳定作用化合物依赖性方式和IL-2依赖性方式调节人原代T细胞中CAR19表达的表。当FurON部分与CAR19融合时,在稳定作用化合物巴多昔芬不存在下,检测不到CAR表面表达。

[0196] 图19A-19B是显示表达在降解决定子结构域中包含有限数目突变的FurON CAR19的CART细胞以稳定作用化合物依赖性方式和靶依赖性方式杀伤CD19+肿瘤细胞并且不劣于亲本CAR构建体的线图。

[0197] 图20是显示在CD19+肿瘤细胞存在下,表达在降解决定子结构域中包含有限数目突变的FurON CAR19的CART细胞以稳定作用化合物依赖性方式分泌细胞因子并且不劣于亲本CAR构建体的柱状图。

[0198] 图21是显示在CD19+肿瘤细胞存在下,包含FurON CAR19的CD3+T细胞以稳定作用化合物依赖性方式增殖并且不劣于亲本CAR构建体的系列柱状图。

[0199] 图22是显示FurON结构域以稳定作用化合物依赖性方式调节原代人T细胞中CAR123表达的系列图。

[0200] 图23是显示表达FurON CAR123的CART细胞以稳定作用化合物依赖性方式和靶依赖性方式杀伤CD123+肿瘤细胞并且不劣于亲本CAR构建体的系列柱状图。

[0201] 图24是显示在CD123+肿瘤细胞存在下,表达FurON CAR123的CART细胞以稳定作用化合物依赖性方式分泌细胞因子并且不劣于亲本CAR构建体的系列柱状图。

[0202] 图25是显示一种包含降解结构域(降解决定子)、蛋白酶切割位点和第二蛋白质结

构域的示例性融合蛋白 (CAR) 和在药物 (例如, 稳定作用化合物) 存在下融合蛋白降解情况变化的示意图。

[0203] 图26是显示一种包含四个聚集结构域 (FKBP12F36M) 拷贝、蛋白酶切割位点 (弗林蛋白酶位点) 和第二蛋白质结构域 (带胞质尾的scFv) 的示例性融合蛋白和在化合物 (例如, 去聚集化合物) 存在下融合蛋白聚集情况变化的示意图。该图示例性说明调节性on-CAR系统, 所述系统是控制细胞表面表达及因此控制CAR功能的又一个实施方案。CAR在弗林蛋白酶位点隔离的修饰的FKBP12结构域下游表达。在增溶性化合物不存在下, CAR分子自发聚集在内质网中, 并且数目降低的CAR分子, 例如, 无CAR分子, 可以运出T细胞表面。这导致CAR介导的T细胞功能降低, 例如, 无CAR介导的T细胞功能。在增溶性化合物存在时, CAR聚集结构域被隔离并且阻止聚集。位于scFv的N末端的弗林蛋白酶位点变成是切割可及的。在晚期高尔基体中通过弗林蛋白酶移除聚集结构域后, CAR分子运出至T细胞表面并且CAR介导的T细胞功能可以发生。

[0204] 图27是旨在造成完整但短暂B细胞耗尽的具有自杀开关 (诱导型胱天蛋白酶-9或iCasp9或iC9) 的抗CD19或抗CD20嵌合抗原受体构建体 (统称为CD19 sCAR或CD20 sCAR) 的图示。当输注时, CD19/CD20 sCAR T细胞通过耗尽B细胞而产生其治疗作用。小分子化合物后续处理允许胱天蛋白酶-9发生二聚化并激活胱天蛋白酶活性, 以诱导CD19/CD20 sCAR T细胞自杀, 因而允许B细胞再增殖发生。

[0205] 图28是可逆性胱天蛋白酶-9自杀盒的图示, 其是胱天蛋白酶-9自杀盒的另一个实施方案。在CD19/CD20 revCAR系统中, 胱天蛋白酶-9组成型表达并自发二聚化, 因此诱导如CD19 revCAR T细胞中默认的凋亡。在增溶胱天蛋白酶-9分子 (即, 抑制二聚化) 的小分子化合物存在下, 胱天蛋白酶活性遭抑制。因此, 小分子增溶剂治疗在扩充和输注revCAR T细胞期间抑制胱天蛋白酶-9活性, 并且撤回小分子增溶剂导致胱天蛋白酶-9活性激活和revCAR T细胞自杀, 因而允许B细胞再增殖发生。

[0206] 图29A-29F是显示原代人T细胞中CD19 sCAR、CD19revCAR和CD20 CAR构建体高效表达的系列图。

[0207] 图30是显示CD19 sCAR所致体外特异性杀伤作用的图。Nalm6是表达CD19 (wt, 野生型) 的B细胞系。CD19 sCAR T细胞杀伤CD19⁺ Nalm6细胞, 而未转导的 (NTD) T细胞或表达对照sCAR (阴性对照) 的T细胞不识别Nalm6wt细胞。

[0208] 图31是显示用AP20187激活胱天蛋白酶-9自杀开关后特异性及稳健消除CD19 sCAR T细胞的图。在所示浓度的AP20187存在下, 将CAR T细胞在37°C温育16小时。将死细胞用活/死-紫染料检测并通过流式细胞术定量。仅消除表达诱导性型胱天蛋白酶的T细胞 (FMC63 iC9或CD19 sCAR, 以及iC9对照CAR)。不表达对照CAR的T细胞未受影响 (未转导, NTD或不表达iC9的对照CAR)。

[0209] 图32是显示表达诱导型胱天蛋白酶-9的CD19 sCAR T细胞在体内有效的图。对NSG小鼠注射 1×10^6 个CD19⁺ Nalm6细胞。五天后, 用表达诱导型胱天蛋白酶-9的CD19 CAR T细胞或用未转导的对照T细胞处理小鼠。

[0210] 图33是显示完成体内实验时, 通过流式细胞术在血液和脾中检出表达诱导型胱天蛋白酶-9的CD19 sCAR T细胞 (表示植入) 的图。

[0211] 图34是描述杀伤测定法的系列图: CD20sCAR、20revCAR和CD20 onCAR。4小时铬释

放测定法评估对事先经工程化以表达CD20的Na1m6细胞的杀伤作用。Kwt = 呈CD20阴性并充当无关靶以展示特异性杀伤作用的K562野生型细胞。CD20sCAR、20revCAR和CD20 onCAR显示等同和特异的CD20+靶细胞杀伤作用。在500nM Shield-1存在下测试0n-CAR。

[0212] 图35是显示增溶性FKBP配体(例如shield-1)的不存在抑制CAR功能的系列直方图。显示与500nM shield-1存在下的杀伤作用相比,shield-1不存在时杀伤作用降低的百分数。Jeko细胞表达CD20。在E:T比较低时,如果FKBP配体不存在,0n-CAR功能被强烈地抑制。

[0213] 图36是说明用FKBP配体Shield-1调节CAR表面表达的系列图。将CD200n-CAR T细胞对CAR表达进行染色并且将CAR信号的平均荧光强度(MFI,依据流式细胞术评估)对Shield-1浓度作图。Shield-1导致CAR表达出现剂量依赖性增高。Shield-1的不存在导致CD200n-CAR表达减少约60%(底部图)。

[0214] 图37是描述CD19rev CAR中Shield-1滴定情况的系列流式细胞图。将CD19rev CAR T细胞(约38%转导)在不同剂量的Shield-1下温育24小时以评估剂量依赖性胱天蛋白酶-9激活。通过流式细胞术定量剩余的CAR+细胞。在CD19revCAR系统中,较低剂量的Shield-1导致胱天蛋白酶-9激活较高及凋亡增加(CAR+细胞比例较低)。

[0215] 图38是描述体内评估抗CD19 revCAR T细胞中凋亡效率的图。在第0天,将呈CD19阳性的Na1m6细胞(表达叩头虫萤光素酶)注射(i.v.)入NSG小鼠。在第4天,向小鼠注射靶向CD19的revCAR、19sCAR或无关(未转导的)T细胞。在所示的时间点定量Na1m6细胞的生物发光信号。在所示的时间点,向revCAR处理的小鼠注射两次10mg/kg aquashield-1,预计这些注射不足以保持revCAR T细胞活着。因此,revCAR小鼠和NTD小鼠的生物发光曲线大多重叠,表明revCAR T细胞在体内充足凋亡。

[0216] 图39是显示CD19 revCAR T细胞体内功效的系列示意性时间表和图。在第0天,将呈CD19阳性的Na1m6细胞(表达叩头虫萤光素酶)注射(i.v.)入NSG小鼠。在第4天,将渗透输注泵植入至小鼠中,以按剂量20mg/kg/日分泌aquashield-1。在成功植入泵后4小时注射CD19rev CAR T细胞(底部图,黑色箭头)。在所示的时间点定量Na1m6细胞的生物发光信号。输注泵分泌aquashield-1持续7天,此后Na1m6细胞的生物发光开始升高(CD19 revCAR曲线)。

[0217] 图40是描述自杀激活作用导致自杀CAR T细胞出现外周耗尽的系列流式细胞图。将小鼠用Na1m6细胞注射并在5天后用19s CAR T细胞处理。在注射之前基于scFV表达分选CD19s CAR T细胞。在第8天和第26天,流式曲线显示外周T细胞(CD3+,CD45+)。在第10天通过注射AP1903(10mg/kg)耗尽CD19 sCAR T细胞。在AP1903处理的小鼠中,左侧2条曲线显示,在自杀激活后几乎检测不到T细胞,并且在溶媒处理的小鼠中,右侧2条曲线显示T细胞百分数稳定。

[0218] 图41是显示自杀激活作用导致sCAR T细胞发生外周耗尽的系列图。从几只小鼠定量T细胞。在第10天,将小鼠用AP1903处理以耗尽sCAR T细胞。在处理,AP1903组的T细胞降低百分数与溶媒处理组对比。

[0219] 图42是显示自杀激活作用导致来自淋巴器官的sCAR T细胞耗尽的系列图像和图。切片顶部图像:将小鼠脾在AP1903处理后>2周收获并针对人CD3染色;在AP1903处理的小鼠中,与溶媒处理的小鼠相比,不可检出T细胞。底部曲线:进行定量PCR以检测AP1903处理和

溶媒处理小鼠的脾中的sCAR T细胞,显示大部分小鼠中sCAR几乎完全不存在。

[0220] 图43是显示使用BT(骨髓、肝脏、胸腺)小鼠作为宿主时需要缺少TCR和MHCI表达的‘通用’T细胞的系列示意性时间表和图。将T细胞在第1天用编码CD19 sCAR的慢病毒活化后转导,将细胞在第3天用Cas9向导RNA电穿孔(10ug/10⁶个细胞)并在第4天用靶向TCRβ链和β-2微球蛋白的向导RNA再次电穿孔。流式曲线显示sCAR19在活化后10天的45.2%细胞中表达和约20%细胞中双重敲除TCRβ和β-2微球蛋白。该示意图概述了T细胞产生的时间表。

[0221] 图44是本发明体内实验的实验设计的示意性时间表。在非肿瘤学小鼠模型中使用BT(骨髓、肝脏、和胸腺)小鼠评估通用sCAR功能。在第-91天,将人胎儿骨髓和胸腺植入NSG小鼠中。在第-27天通过流式细胞术进行植入的验证。在第0天注射表达CD19的通用T细胞(sCAR T细胞),在第10天评估B细胞耗尽并且将小鼠用AP1903处理(每日10mg/kg注射3次)。借助qPCR评估sCAR存活情况。

[0222] 图45是描述非自体性BT(骨髓、肝脏和胸腺)小鼠中‘通用’sCAR T细胞耗尽外周B细胞的系列流式细胞图。通用CAR T细胞能够耗尽非癌人源化小鼠模型中的人B细胞。流式曲线在第0天和第10天显示外周循环中CD19阳性细胞完全不存在。

[0223] 图46是显示可以用AP1903处理耗尽通用sCAR T细胞的图。进行定量PCR以检测AP1903处理和溶媒处理小鼠的外周血中的sCAR T细胞,显示2/3小鼠中sCAR几乎完全不存在。AP1903处理后4周,用gDNA进行来自外周血WPRE拷贝数的qPCR。

[0224] 图47是显示在接受或未接受IL2共处理的输注CART19或输注FurON CART19且用BZA处理的小鼠中CD19+ NALM6肿瘤生长受抑制的图。

[0225] 发明详述

[0226] 通常而言,本发明特征在于受调节的重组融合蛋白表达。这种调节作用的特征在于表达融合蛋白,所述融合蛋白含有与条件性表达结构域(例如,降解结构域(本领域一般称作“降解决定子”)或聚集结构域)融合的目的蛋白。一般,这类降解结构域仅在特定配体(例如,可溶性配体或系留于融合蛋白的配体)存在下才折叠成稳定构象。在这种配体不存在的情况下,降解结构域采取杂乱结构,导致整个融合蛋白因胞内天然机制而降解。一般在特定配体(例如,可溶性配体或系留于融合蛋白的配体)存在下,这类聚集结构域缔合成寡聚体和/或聚集物,导致整个融合蛋白聚集和/或固定。本发明基于以下深入了解:在稳定条件(例如,存在稳定作用化合物)或去聚集性条件(例如,存在去聚集化合物)下表达时,降解结构域或聚集结构域可以通过切割位点(例如,蛋白酶切割位点)与目的蛋白分离。因此,在关联蛋白酶不存在下,包含降解结构域的融合蛋白将仅在稳定作用化合物存在下才免于降解,并且包含聚集结构域的融合蛋白将仅在去聚集化合物存在下才免于聚集。但是,一旦切割位点遭关联蛋白酶切割,则不再需要稳定作用化合物或去聚集性化合物的存在以允许目的蛋白免于降解或聚集,因为它不再与降解结构域或聚集结构域缔合。因此,在初始表达时,包含降解结构域的融合蛋白易遭降解并且包含聚集结构域的融合蛋白易发生聚集,然而,一旦切割已经发生,则所产生的目的蛋白可以与其非融合蛋白对应物不可区分。

[0227] 本发明的融合蛋白因此具有三个必需元件:条件性表达结构域(例如,降解结构域或聚集结构域)、含有目的蛋白和分隔这两者的切割结构域的结构域。在这些元件每者内部,具体结构域可互换并且在下文讨论。值得注意地,融合蛋白可以如此布置,从而条件性表达结构域位于目的蛋白的N末端或C末端。但是,在某些实施方案中,条件性表达结构域相

对于目的蛋白为N末端。在这类实施方案中,若条件性表达结构域是降解结构域、降解结构域,若为杂乱,则在切割该切割结构域之前靶向整个融合蛋白进行降解。在C末端融合物的情况下,蛋白酶切割位点必须指向其中蛋白酶常驻的区室。在弗林蛋白酶的特定情况下,C末端降解决定子需要面向内质网和高尔基体的管腔。

[0228] 定义

[0229] 如本文所用,术语“条件性表达结构域”指融合蛋白的结构域,其具有第一状态和第二状态,例如,聚集状态或构象状态,例如,稳定/去稳定状态或折叠/错误折叠状态。第一状态相关于、造成或介导融合蛋白的一个或多个(例如,全部)部分以第一速率或水平在细胞表面表达或胞外表达,并且第二状态相关于、造成或介导融合蛋白的一个或多个(例如,全部)部分以第二速率或水平在细胞表面表达或胞外表达。在表达化合物不存在下,在目的细胞中表达时,大比例的包含条件性表达结构域的融合蛋白是在细胞表面上或胞外不可检测到的。相反,在表达化合物存在下,融合蛋白的一个或多个(例如,全部)结构域的表面表达和/或胞外表达显著增加。因此,依据以下特征可辨识条件性表达结构域:(1)它不在融合蛋白的背景下天然存在;(2)表面表达和/或胞外表达以共翻译方式或翻译后方式调节;(3)在表达化合物存在下,表面表达和/或胞外表达的速率显著增加。在实施方案中,例如,如本文所述,条件性表达结构域是降解结构域。在其他实施方案中,例如,如本文所述,条件性表达结构域是聚集结构域。在实施方案中,例如,如本文所述,包含条件性表达结构域非融合蛋白包含嵌合抗原受体(CAR)。在实施方案中,融合蛋白包含设置在条件性表达结构域和第二结构域之间的异源蛋白酶切割位点。在这类实施方案中,在表达化合物不存在下,大比例融合蛋白的蛋白酶切割位点是关联蛋白酶不可及的,并且融合蛋白的细胞命运由条件性表达结构域指导。在表达化合物存在下,大比例融合蛋白的蛋白酶切割位点变为关联蛋白酶可及,条件性表达结构域从融合蛋白切下,并且剩余部分的融合蛋白的细胞命运如同条件性表达结构域未破坏那样继续。

[0230] 如本文所用,术语“聚集结构域”指融合蛋白中造成融合蛋白胞内聚集的结构域。在去聚集化合物不存在下,在目的细胞中表达时,大比例包含聚集结构域的融合蛋白存在于聚集物中,所述聚集物例如在实现成熟表达之前(例如,在细胞表面上表达之前或在胞外分泌之前)隔绝在细胞内部。相反,在去聚集化合物存在下,融合蛋白的一个或多个(例如,全部)结构域的表面表达和/或胞外表达显著增加。因此,依据以下特征可辨识聚集结构域:(1)它不在融合蛋白的背景下天然存在;(2)表面表达和/或胞外表达以共翻译方式或翻译后方式调节;(3)在去聚集化合物存在下,表面表达和/或胞外表达的速率显著增加。在实施方案中,聚集结构域包含一个或多个,例如,1、2、3、4、5、6、7或更多个重复的二聚化结构域。在实施方案中,二聚化结构域是同型二聚化结构域。在其他实施方案中,二聚化结构域是异二聚化结构域。

[0231] 如本文所用,术语“表达化合物”指一种化合物,当添加至表达包含条件性表达结构域的融合蛋白的细胞时,所述化合物与条件性表达结构域结合并导致融合蛋白的一个或多个(例如,全部)结构域的表面表达和/或胞外表达增加。表达化合物可以是天然存在的或合成的。

[0232] 如本文所用,术语“去聚集化合物”指一种化合物,当添加至表达包含聚集结构域的融合蛋白的细胞时,所述化合物与聚集结构域结合并导致融合蛋白的一个或多个(例如,

全部)结构域的表面表达和/或胞外表达增加。去聚集化合物可以是天然存在的或合成的。

[0233] 术语“降解结构域”意指在稳定作用化合物存在下表达时采取稳定构象的融合蛋白的结构域。在稳定构象不存在下,在目的细胞中表达时,大比例的降解结构域(并且,一般,与之融合的任何蛋白质)将由内源细胞装置降解。值得注意地,降解结构域不是蛋白质的天然存在结构域,而经工程化,以便在不接触稳定作用化合物情况下不稳定。因此,依据以下特征可辨识降解结构域:(1)它不天然存在;(2)其表达通过降解速率增加或降低以共翻译方式或翻译后方式调节;(3)在稳定作用化合物存在下,降解速率显著降低。在一些实施方案中,降解结构域不导致融合蛋白聚集。在一些实施方案中,稳定作用化合物不存在时,在细胞中或细胞上基本不可检出融合蛋白的降解结构域或其他结构域。

[0234] 如本文所用,术语“去聚集”和“解聚集”互换使用。

[0235] 如本文所用,“融合蛋白”或“嵌合蛋白”指通过将两个或更多个异源蛋白结构域连接入单一、连续蛋白质所产生的蛋白质。

[0236] 术语“异源”意指一种结构域(例如,蛋白质结构域),所述结构域相比一个或多个与之融合的蛋白质结构域,具有不同起源(即,不天然存在,与其他参比结构域至少之一融合)。另外,“异源蛋白酶切割位点”意指这样的蛋白酶切割位点,其不被其中存在它的任何融合蛋白结构域切割。

[0237] “蛋白酶”意指基于待切割蛋白质中存在切割位点而切割另一种蛋白质的蛋白质。

[0238] “胞内蛋白酶”意指目的细胞内部天然表达的蛋白酶。

[0239] “胞外蛋白酶”意指在生物(例如,哺乳动物)中天然表达并分泌或暴露于细胞外部(例如,在血液中或皮肤表面)的蛋白酶。

[0240] “稳定作用化合物”或“稳定性化合物”意指一种化合物,当添加至表达降解结构域的细胞时,所述化合物使降解结构域稳定并降低其随后降解的速率。稳定作用化合物或稳定性化合物可以是天然存在的或合成的。

[0241] 术语“一个(a)”和“一种(an)”指该冠词的一个或多于一个(即,指至少一个)的语法对象。例如,“一个要素”意指一个要素或多于一个要素。

[0242] 当指可度量值如数量、时间持续期等时,术语“约”意在涵盖距指定值 $\pm 20\%$ 的变动或在一些情况下 $\pm 10\%$ 的变动或在一些情况下 $\pm 5\%$ 的变动或在一些情况下 $\pm 1\%$ 的变动或在一些情况下 $\pm 0.1\%$ 的变动,因为这类变动适于开展所公开的方法。

[0243] 术语“嵌合抗原受体”或备选地“CAR”指包含至少胞外抗原结合结构域、跨膜结构域;和胞质信号传导结构域(本文也称作“胞内信号传导结构域”)的重组多肽构建体,所述胞质信号传导结构域包含从如下文定义的刺激性分子衍生的功能性信号传导结构域。在一些实施方案中,CAR多肽构建体中的结构域处在相同的多肽链中(例如,包含嵌合融合蛋白)。在一些实施方案中,CAR多肽构建体中的结构域彼此不邻接,例如,处于不同的多肽链中,例如可调节嵌合抗原受体(RCAR)中。

[0244] 在一个方面,刺激性分子是与T细胞受体复合物缔合的 δ 链。在一个方面,胞质信号传导结构域包含初级信号传导结构域(例如,CD3- δ 的初级信号传导结构域)。在一个方面,胞质信号传导结构域还包含从至少一种如下文定义的共刺激分子衍生的一个或多个功能性信号传导结构域。在一个方面,共刺激分子选自4-1BB(即CD137),CD27,ICOS和/或CD28。在一个方面,CAR包含嵌合融合蛋白,所述嵌合融合蛋白包含胞外抗原结合结构域、跨

膜结构域和胞内信号传导结构域,所述胞内信号传导结构域包含从刺激性分子衍生的功能性信号传导结构域。在一个方面,CAR包含嵌合融合蛋白,所述嵌合融合蛋白包含胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和胞内信号传导结构域,所述胞内信号传导结构域包含从共刺激分子衍生的功能性信号传导结构域和从刺激性分子衍生的功能性信号传导结构域。在一个方面,CAR包含嵌合融合蛋白,所述嵌合融合蛋白包含胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和胞内信号传导结构域,所述胞内信号传导结构域包含两个从一种或多种共刺激分子衍生的功能性信号传导结构域和从刺激性分子衍生的功能性信号传导结构域。在一个方面,CAR包含嵌合融合蛋白,所述嵌合融合蛋白包含胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和胞内信号传导结构域,所述胞内信号传导结构域包含至少两个从一种或多种共刺激分子衍生的功能性信号传导结构域和从刺激性分子衍生的功能性信号传导结构域。在一个方面,CAR在CAR融合蛋白的氨基端(N-ter)包含任选的前导序列。在一个方面,CAR还包含在胞外抗原识别结构域的N末端的前导序列,其中前导序列任选地在细胞加工和CAR定位至细胞膜期间从抗原结合结构域(例如,scFv)切下。

[0245] 包含靶向(例如结合至)特定肿瘤抗原X(例如本文所述的那些)的抗原结合结构域(例如,scFv或TCR)的CAR也称作XCAR、X-CAR或靶向X的CAR。例如,包含靶向CD19的抗原结合结构域的CAR称作CD19CAR。

[0246] 术语“信号传导结构域”指蛋白质的功能性部分,所述的功能性部分通过在细胞内部传输信息而发挥以下作用:通过产生第二信使或通过响应于这类信使作为效应子发挥作用,借助限定的信号传导途径调节细胞活性。在一些方面,本文所述的CAR的信号传导结构域衍生自本文所述的刺激性分子或共刺激分子,或是合成或工程化的信号传导结构域。

[0247] 如本文所用,术语“抗体”指与抗原特异性结合的蛋白质或衍生自与抗原特异性结合的免疫球蛋白分子中的多肽序列。抗体可以是多克隆或单克隆、多链或单链或完整的免疫球蛋白并且可以衍生自天然来源或衍生自重组来源。抗体可以是免疫球蛋白分子的四聚体。

[0248] 术语“抗体片段”指完整抗体的至少一个部分或其重组变体,并且指足以引起抗体片段对靶(如抗原)的识别和特异性结合的抗原结合结构域,例如,完整抗体的抗原决定可变区。抗体片段的例子包括但不限于Fab、Fab'、F(ab')₂和Fv片段、scFv抗体片段、线性抗体、单结构域抗体如sdAb(或者VL或VH)、驼类(camelid)VHH结构域、从抗体片段形成的多特异性抗体如包含在铰链区由二硫键连接的两个Fab片段的双价片段,和抗体的分离的CDR或其他表位结合片段。也可以将抗原结合片段并入单结构域抗体、大抗体(maxibody)、微型抗体、纳米体、胞内抗体、双体抗体、三体抗体、四体抗体、v-NAR和双-scFv(参见,例如,Hollinger和Hudson,Nature Biotechnology,23:1126-1136,2005)。也可以将抗原结合片段移植至基于多肽的支架如纤连蛋白III型(Fn3)(参见美国专利号6,703,199,其描述纤连蛋白多肽微型抗体)。

[0249] 术语“scFv”是指包含至少一个包括轻链可变区的抗体片段和至少一个包括重链可变区的抗体片段的融合蛋白,其中所述轻链和重链可变区是经由短的柔性多肽接头邻接的,并且能够以单链多肽形式表达,且其中所述scFv保留其所来源的完整抗体的特异性。除非指定,否则如本文所用,scFv可以具有按任何顺序(例如,相对于多肽的N末端和C末端)的VL可变区和VH可变区,scFv可以包含VL-接头-VH或可以包含VH-接头-VL。

[0250] 如本文所用,术语“互补决定区”和“CDR”指在抗体可变区内部赋予抗原特异性和结合亲和力的氨基酸序列。例如,通常,在每个重链可变区中存在三种CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 并且在每个轻链可变区中存在三种CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。可以使用多种熟知方案的任一者确定给定CDR的精确氨基酸序列界限,所述熟知方案包括由Kabat等人(1991),“Sequences of Proteins of Immunological Interest”,第5版,Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD (“Kabat”编号方案);Al-Lazikani等人,(1997) JMB 273,927-948 (“Chothia”编号方案)描述的那些或其组合。根据Kabat编号方案,在一些实施方案中,将重链可变结构域(VH)中的CDR氨基酸残基编号为31-35 (HCDR1)、50-65 (HCDR2) 和95-102 (HCDR3);并且将在轻链可变结构域(VL)中的CDR氨基酸残基编号为24-34 (LCDR1)、50-56 (LCDR2) 和89-97 (LCDR3)。根据Chothia编号方案,在一些实施方案中,将VH中的CDR氨基酸编号为26-32 (HCDR1)、52-56 (HCDR2) 和95-102 (HCDR3);并且将VL中的CDR氨基酸残基编号为26-32 (LCDR1)、50-52 (LCDR2) 和91-96 (LCDR3)。在合并的Kabat和Chothia编号方案中,在一些实施方案中,CDR对应于作为Kabat CDR、Chothia CDR或二者之部分的氨基酸残基。例如,在一些实施方案中,CDR对应于VH(例如,哺乳动物VH,例如,人VH)中的氨基酸残基26-35 (HCDR1)、50-65 (HCDR2) 和95-102 (HCDR3) 以及VL(例如,哺乳动物VL,例如,人VL)中的氨基酸残基24-34 (LCDR1)、50-56 (LCDR2) 和89-97 (LCDR3)。

[0251] 包含抗体或其抗体片段的本发明CAR的部分可以按多种形式存在,其中抗原结合结构域表达为邻接多肽链的部分,例如包括scFv抗体片段、线性抗体、单结构域抗体如sdAb(或者VL或VH)、骆驼VHH结构域、人源化抗体、双特异性抗体、抗体缀合物(Harlow等人,1999,引自:Using Antibodies:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory Press,NY;Harlow等人,1989,引自:Antibodies:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor,New York;Houston等人,1988,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879-5883;Bird等人,1988,Science 242:423-426)。在一个方面,本发明CAR的抗原结合结构域包含抗体片段。在又一个方面,CAR包含了包括scFv的抗体片段。

[0252] 如本文所用,术语“结合结构域”或“抗体分子”(本文也称作“抗靶(例如,CD19)结合结构域”)指包含至少一个免疫球蛋白可变结构域序列的蛋白质,例如,免疫球蛋白链或其片段。术语“结合结构域”或“抗体分子”涵盖抗体和抗体片段。在一个实施方案中,抗体分子是多特异性抗体分子,例如,它包含多个免疫球蛋白可变结构域序列,其中多个免疫球蛋白可变结构域序列的第一免疫球蛋白可变结构域序列具有针对第一表位的结合特异性并且多个免疫球蛋白可变结构域序列的第二免疫球蛋白可变结构域序列具有针对第二表位的结合特异性。在一个实施方案中,多特异性抗体分子是双特异性抗体分子。双特异性抗体对不多于两种抗原具有特异性。双特异性抗体分子以针对第一表位具有结合特异性的第一免疫球蛋白可变结构域序列和针对第二表位具有结合特异性的第二免疫球蛋白可变结构域序列为特征。

[0253] 术语“抗体重链”指以天然构象存在的抗体分子中存在的两种类型多肽链中的较大者,其在正常情况下决定抗体所属的类别。

[0254] 术语“抗体轻链”指以天然构象存在的抗体分子中存在的两种类型多肽链中的较小者。 κ (κ) 轻链和 λ (λ) 轻链指两个主要的抗体轻链同种型。

[0255] 术语“重组抗体”指使用重组DNA技术生成的抗体,例如,通过噬菌体或酵母表达系

统表达的抗体。本术语应当还解释为意指已经通过合成编码抗体并且表达抗体蛋白的DNA分子或合成规定抗体的氨基酸序列而产生的抗体,其中已经使用本领域可获得的和熟知的重组DNA或氨基酸序列技术获得DNA或氨基酸序列。

[0256] 如本文所用的术语“免疫球蛋白”或“Ig”定义为一类作为抗体发挥作用的蛋白质。由B细胞表达的抗体有时称作BCR(B细胞受体)或抗原受体。这个类别蛋白质中所包括的五个成员蛋白质是IgA、IgG、IgM、IgD和IgE。IgA是存在于身体分泌物(如唾液、泪、母乳、胃肠道分泌物和呼吸道和生殖泌尿道粘液分泌物)中的第一抗体。IgG是最常见的循环型抗体。IgM是大部分受试者中初次免疫反应时产生的主要免疫球蛋白。它是在凝集、补体固定和其他抗体应答方面最有效的免疫球蛋白并在防御细菌和病毒中重要。IgD是具有未知抗体功能、但可能充当抗原受体的免疫球蛋白。IgE是当暴露于变应原时,通过引起介质从肥大细胞和嗜碱性粒细胞释放而介导速发型超敏反应的免疫球蛋白。

[0257] 术语“抗原”或“Ag”指激发免疫应答的分子。这种免疫应答可以涉及抗体产生、或特异性免疫活性细胞的活化、或这两者。技术人员将会理解,任何大分子(实际上包括全部蛋白质或肽)可以充当抗原。另外,抗原可以衍生自重组DNA或基因组DNA。技术人员将会理解,包含编码蛋白质的核苷酸序列或部分核苷酸序列的任何DNA因此编码如本文所用术语那样的“抗原”,其中所述蛋白质激发免疫应答。另外,本领域技术人员将会理解,抗原不必完全由基因的全长核苷酸序列编码。很明显,本公开包括但不限于使用多于一种基因的部分核苷酸序列并且这些核苷酸序列按多种组合布置以编码激发所需免疫应答的多肽。另外,技术人员将会理解,抗原完全不必要由“基因”编码。很明显,抗原可以生成或可以衍生自生物样品、或可能是除多肽之外的大分子。这种生物样品可以包括但不限于具有其他生物学组分的组织样品、肿瘤样品、细胞或流体。

[0258] 根据本发明,术语“自体抗原”意指由免疫系统识别为外来的任何自我抗原。自体抗原包括但不限于细胞蛋白、磷蛋白、细胞表面蛋白、细胞脂质、核酸、糖蛋白,包括细胞表面受体。

[0259] “自身抗体”指由自体抗原特异性B细胞产生的抗体。

[0260] 如本文所用的术语“自身抗体疾病”定义为因自身抗体免疫应答而产生的病症。自身抗体疾病是不适宜和过多产生自身抗体的应答的结果。自身抗体疾病的例子包括但不限于大疱性类天疱疮、获得性大疱性表皮松解症、p200类天疱疮、线性IgA大疱性皮肤病、其他类天疱疮基团疾病、疱疹样皮炎、乳糜泻、重症肌无力、Goodpasture综合征、肉芽肿病伴多血管炎和其他ANCA+脉管炎、自身免疫性边缘叶脑炎、抗N-甲基-D-天冬氨酸受体脑炎、视神经脊髓炎、自身免疫性溶血性贫血、在狼疮和其他结缔组织病中自身抗体相关的终末器官损伤(归因于抗dsDNA自身抗体、抗Ro自身抗体和其他自身抗体)、Graves'和桥本甲状腺炎、糖尿病中的抗胰岛素抗体、自身免疫性低血糖中的抗胰岛素受体抗体、冷球蛋白血症、类风湿性关节炎、多发性硬化、干燥综合征、皮炎、慢性特发性荨麻疹中的抗Fc-ε受体抗体、抗叶酸受体抗体、肺动脉高血压中的抗内皮受体或抗肾上腺素能受体抗体、难治性高血压、扩张型心肌病、自身炎症综合征如IgG4相关的疾病,连同其他。

[0261] 如本文所用的术语“自身免疫疾病”定义为因自体抗原的抗体介导自身免疫应答而产生的病症或病状。自身免疫疾病导致针对自我抗原或自体抗原不适宜产生的和/或过多产生的自身抗体产生。

[0262] 术语“自体的”指这样的任何物质,所述物质从稍后将向个体再次引入所述物质的相同个体衍生。

[0263] 术语“抗肿瘤作用”或“抗肿瘤活性”指可以通过多种手段展示的生物学效果,包括但不限于,例如,肿瘤体积减少、肿瘤细胞数目减少、转移灶数目减少、预期寿命增加、肿瘤细胞增殖减少、肿瘤细胞存活减少或与癌状况相关的多种生理症状改善。“抗肿瘤作用”也可以通过本发明的肽、多核苷酸、细胞和抗体防止肿瘤在首发位置出现的能力展示。

[0264] 术语“同种异体的”指这样的任何物质,所述物质从与引入所述物质的个体相同的物种的不同动物衍生。当一个或多个基因座处的基因不相同,两位或更多位个体据称彼此是同种异体的。在一些方面,来自相同物种的个体的同种异体物质可以在遗传上明显地不相似以发生抗原性相互作用。

[0265] 术语“异种的”指从不同物种的动物衍生的移植体。

[0266] 如本文所用的术语“单采血液成分术(apheresis)”指这样的体外方法,其中供体或患者的血液通过该方法从供体或患者中移出并通过分离出选择的特定成分的装置并将其余部分,例如通过再输血返回供体或患者的循环。因此,在“单采血液成分术样品”的上下文中,是指使用单采血液成分术获得的样品。

[0267] 术语“切割”指(如核酸分子的主链中)共价键破坏或肽键水解。可以通过多种方法(包括,但不限于磷酸二酯键的酶促或化学水解)启动切割。单链切割和双链切割均有可能。双链切割可以作为两个不同单链切割事件的结果而出现。DNA切割可以导致平末端或交错末端的产生。在某些实施方案中,融合多肽可以用于靶向切割的双链DNA。

[0268] 术语“癌症”或“肿瘤”指异常细胞失控生长为特征的疾病。癌包括全部类型的癌性生长物或致癌过程、转移性组织或恶性转化的细胞、组织或器官,而无论组织病理学类型或侵袭力阶段。癌细胞可以局部地或通过血流和淋巴系统扩散到身体其他部分。本文中描述了各种癌症的例子并且它们包括但不限于乳腺癌、前列腺癌、卵巢癌、宫颈癌、皮肤癌、胰腺癌、结直肠癌、肾癌、肝癌、脑癌、淋巴瘤、白血病、肺癌等。

[0269] 术语“CRISPR/CAS”、“成簇规律间隔的短回文重复序列系统”或“CRISPR”指含有碱基短重复序列的DNA基因座。每种重复序列跟随来自先前病毒暴露的间隔区DNA短区段。细菌和古细菌已经演化了称作CRISPR-CRISPR相关(Cas)系统的适应性免疫防御,所述系统使用短RNA指导外来核酸降解。在细菌中,CRISPR系统通过RNA指导的DNA切割,提供针对入侵性外来DNA的获得性免疫。

[0270] 在II型CRISPR/Cas系统中,外来DNA的短区段(称作“间隔区”)整合在CRISPR基因组座位内部并且被转录和加工成短CRISPR RNA(crRNA)。这些crRNA与反式激活性crRNA(tracrRNA)退火并指导Cas蛋白对致病性DNA的序列特异性切割和沉默。最近研究已经显示,Cas9蛋白的靶识别需要crRNA内部的“种子”序列和crRNA结合区上游含有二核苷酸的保守前间区序列邻近基序(PAM)序列。

[0271] 为了指导Cas9切割目的序列,可以从人U6聚合酶III启动子设计crRNA-tracrRNA融合转录物,下文称作“向导RNA”或“gRNA”。CRISPR/CAS介导的基因组编辑和调节作用突出显示其对基础科学、细胞工程化和治疗药的变革性潜力。

[0272] 术语“CRISPRi”指用于(如在转录水平)序列特异性基因阻遏或抑制基因表达的CRISPR系统。

[0273] “衍生自”如该术语在本文中那样，表示第一分子和第二分子之间的关系。它通常指第一分子和第二分子之间的结构相似性并且不暗示或不包括对衍生自第二分子的第一分子的过程限制或来源限制。例如，在衍生自CD3 δ 分子的胞内信号传导结构域的情况下，胞内信号传导结构域保留足够的CD3 δ 结构，从而具有需要的功能，即，适宜条件下产生信号的能力。它不暗示或不包括对产生胞内信号传导结构域的特定过程的限制，例如，它不意指，为了提供胞内信号传导结构域，必须从CD3 δ 序列出发并且删除不想要的序列，或加以突变，以获得胞内信号传导结构域。

[0274] 短语“与表达肿瘤抗原相关的疾病”包括但不限于与表达如本文所述的肿瘤抗原相关的疾病或与表达如本文所述的肿瘤抗原的细胞相关的病状，例如，包括增生性疾病如癌症或恶性肿瘤或癌前期病状如脊髓发育不良、骨髓增生异常综合征或白血病前期；或与表达如本文所述的肿瘤抗原的细胞相关的非癌症相关适应症。在一个方面，与表达如本文所述的肿瘤抗原相关的癌是血液癌。在一个方面，与表达如本文所述的肿瘤抗原相关的癌是实体癌。与本文所述的肿瘤抗原表达相关的其他疾病例如包括但不限于与表达如本文所述的肿瘤抗原相关的非典型和/或非经典癌症、恶性肿瘤、癌前期病状或增生性疾病。与表达如本文所述的肿瘤抗原相关的非癌症相关适应症例如包括但不限于自身免疫疾病、(例如，狼疮)、炎性疾病(过敏和哮喘)和移植。

[0275] 术语“保守序列修饰”指未显著影响或改变含有氨基酸序列的抗体或抗体片段的结合特征的氨基酸修饰。这类保守修饰包括氨基酸置换、添加和缺失。可以通过本领域已知的标准技术，如位点定向诱变和PCR介导的诱变向本发明的抗体或抗体片段引入修饰。保守性氨基酸置换是氨基酸残基被具有相似侧链的氨基酸残基替换的氨基酸置换。已经在本领域中定义了具有相似侧链的氨基酸残基的家族。这些家族包括具有碱性侧链(例如，赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、酸性侧链(例如，天冬氨酸、谷氨酸)、不带电荷极性侧链(例如，甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸、色氨酸)、非极性侧链(例如，丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸)、 β -侧链(例如，苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)和芳族侧链(例如，酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)的氨基酸。因而，可以将本发明CAR内部的一个或多个氨基酸残基替换为来自相同侧链家族的其他氨基酸残基，并且可以使用本文所述的功能测定法测试改变的CAR。

[0276] 术语“刺激”指由刺激性分子(例如，TCR/CD3复合物或CAR)与其同族配体(或在CAR的情况下肿瘤抗原)的结合所诱导的初次应答，所述初次应答因而介导信号转导事件，如，但不限于借助TCR/CD3复合物的信号转导或借助适宜NK受体或CAR的信号传导结构域的信号转导。刺激可以介导某些分子的改变的表达，例如TGF- β 的下调和/或细胞骨架结构的重组等。

[0277] 术语“刺激性分子”指由免疫效应细胞(例如，T细胞、NK细胞、B细胞)表达的提供胞质信号传导序列的分子，所述胞质信号传导序列相对于免疫效应细胞信号传导途径(例如，T细胞信号传导途径)的至少一些方面以刺激性方式调节免疫效应细胞的活化。在一个方面，信号是初级信号，所述初级信号例如通过TCR/CD3复合物与载有肽的MHC分子的结合引发并且导致T细胞反应的调节，包括但不限于增殖、活化、分化等。以刺激性方式发挥作用的初级胞质信号传导序列(也称作“初级信号传导结构域”)可以含有称作基于免疫受体酪氨酸的活化基序或ITAM的信号传导基序。在本发明中特别有用的含有ITAM的初级胞质信号传

导序列的例子包括但不限于衍生自CD3 δ 、共同FcR γ (FCER1G)、Fc γ RIIa、FcR β (Fc ϵ R1b)、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD5、CD22、CD79a、CD79b、CD278 (也称作“ICOS”)、Fc ϵ RI、DAP10、DAP12、和CD66d的那些。在本发明的具体CAR中,本发明的任一种或多种CAR中的胞内信号传导结构域包含胞内信号传导序列,例如,CD3- δ 的初级信号传导序列。在本发明的具体CAR中,CD3- δ 的初级信号传导序列是作为SEQ ID NO:18提供的序列或来自非人类物种 (例如,小鼠、啮齿类、猴、猿等) 的等同残基。在本发明的具体CAR中,CD3- δ 的初级信号传导序列是在SEQ ID NO:20中提供的序列或来自非人类物种 (例如,小鼠、啮齿类、猴、猿等) 的等同残基。

[0278] 术语“抗原呈递细胞”或“APC”指在其表面上展示与主要组织相容性复合体 (MHC) 复合的外来抗原的免疫系统细胞如辅助细胞 (例如,B细胞、树突细胞等)。T细胞可以使用其T细胞受体 (TCR) 识别这些复合物。APC加工抗原并将它们呈递至T细胞。

[0279] 如本文中那样,术语“胞内信号传导结构域”指分子的胞内部分。胞内信号传导结构域产生信号,所述信号促进表达CAR的细胞 (例如,CART细胞或表达CAR的NK细胞) 的免疫效应子功能。例如,在CART细胞或表达CAR的NK细胞中,免疫效应子功能的例子包括溶细胞活性和辅助活性,包括分泌细胞因子。尽管可以使用完整的胞内信号传导结构域,但在许多情况下不需要使用完整链。可以以这样的程度使用胞内信号传导结构域的截短部分,从而可以使用这种截短的部分替代完整链,只要它传导效应子功能信号即可。术语“胞内信号传导结构域”因此意在包括胞内信号传导结构域的足以传导效应子功能信号的任何截短部分

[0280] 在一个实施方案中,胞内信号传导结构域可以包含初级胞内信号传导结构域。示范性初级胞内信号传导结构域包括从负责初级刺激或抗原依赖性刺激的分子衍生的那些。在一个实施方案中,胞内信号传导结构域可以包含共刺激胞内结构域。示范性共刺激胞内信号传导结构域包括从共刺激信号或抗原非依赖性刺激衍生的那些。在一个实施方案中,将胞内信号传导结构域合成或工程化。例如,在表达CAR的免疫效应细胞 (例如,CART细胞或表达CAR的NK细胞) 的情况下,初级胞内信号传导结构域可以包含T细胞受体的胞质序列,并且共刺激胞内信号传导结构域可以包含来自共受体或共刺激分子的胞质序列。

[0281] 初级胞内信号传导结构域可以包含称作基于免疫受体酪氨酸的活化基序或ITAM的信号传导基序。含有ITAM的初级胞质信号传导序列的例子包括但不限于衍生自CD3 δ 、共同FcR γ (FCER1G)、Fc γ RIIa、FcR β 、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD5、CD22、CD79a、CD79b、CD278 (“ICOS”)、Fc ϵ RI CD66d、DAP10和DAP12的那些。

[0282] 术语“ δ ”或备选地“ δ 链”、“CD3- δ ”或“TCR- δ ”定义为作为GenBan登录号BAG36664.1提供的蛋白质或来自非人类物种 (例如,小鼠、啮齿类、猴、猿等) 的等同残基,并且“ δ 刺激性结构域”或备选地“CD3- δ 刺激性结构域”或“TCR- δ 刺激性结构域”定义为来自 δ 链胞质结构域的氨基酸残基,所述氨基酸残基足以在功能上传播T细胞活化必需的初始信号。在一个方面, δ 的胞质结构域包含GenBank登录号BAG36664.1的残基52至残基164或作为其功能直向同源物的来自非人类物种 (例如,小鼠、啮齿类、猴、猿等) 的等同残基。在一个方面,“ δ 刺激性结构域”或“CD3- δ 刺激性结构域”是作为SEQ ID NO:18提供的序列。在一个方面,“ δ 刺激性结构域”或“CD3- δ 刺激性结构域”是作为SEQ ID NO:20提供的序列。本文中还包括相对于本文所述的氨基酸序列 (例如,SEQ ID NO:20) 包含一个或多个突变的CD3 δ 结构域。

[0283] 术语“共刺激分子”指T细胞上与共刺激配体特异性结合,因而由T细胞介导共刺激

反应(如但不限于增殖)的同族结合配偶体。共刺激分子是有效免疫应答所需的除抗原受体或其配体之外的细胞表面分子。共刺激分子包括但不限于I类MHC分子、TNF受体蛋白、免疫球蛋白样蛋白、细胞因子受体、整联蛋白、信号传导淋巴细胞活化分子(SLAM蛋白)、NK细胞活化受体、BTLA、Toll配体受体、OX40、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CDS、ICAM-1、LFA-1(CD11a/CD18)、4-1BB(CD137)、B7-H3、CDS、ICAM-1、ICOS(CD278)、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM(LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8 α 、CD8 β 、IL2R β 、IL2R γ 、IL7R α 、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、CD69、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a和与CD83特异性结合的配体。

[0284] 共刺激胞内信号传导结构域或共刺激信号传导结构域可以是共刺激分子的胞内部分。胞内信号传导结构域可以包含从中衍生它的分子的完整胞内部分或完整天然胞内信号传导结构域或其功能性片段。

[0285] 术语“4-1BB”指TNFR超家族成员,所述成员具有作为GenBank登录号AAA62478.2提供的氨基酸序列或来自非人类物种(例如,小鼠、啮齿类、猴、猿等)的等同残基;并且“4-1BB共刺激结构域”定义为GenBank登录号AAA62478.2的氨基酸残基214-255或来自非人类物种(例如,小鼠、啮齿类、猴、猿等)的等同残基。在一个方面,“4-1BB共刺激结构域”是作为SEQ ID NO:14提供的序列或来自非人类物种(例如,小鼠、啮齿类、猴、猿等)的等同残基。

[0286] 如本文所用的术语“免疫应答”定义为细胞对抗原的应答,所述应答在淋巴细胞将抗原性分子鉴定为外来并诱导抗体形成和/或激活淋巴细胞以除去抗原时出现。

[0287] 当指出“免疫有效量”、“抑制自身免疫疾病有效量”或“治疗量”时,待施用的本发明组合物的精确量可以由医师或研究者在考虑年龄、体重、肿瘤尺寸、感染或转移程度和患者(受试者)状况的个体差异时确定。

[0288] 如该术语在本文中那样,术语“免疫效应子细胞”指涉及免疫应答,例如涉及促进免疫效应子反应的细胞。免疫效应子细胞的实例包括T细胞,例如, α/β 的T细胞和 γ/δ T细胞、B细胞、自然杀伤(NK)细胞、自然杀伤T(NKT)细胞、肥大细胞和骨髓源性吞噬细胞。

[0289] 如该术语在本文中那样,“免疫效应子功能或免疫效应子反应”指例如免疫效应子细胞的增强或促进免疫攻击靶细胞的功能或应答。例如,免疫效应子功能或应答指促进杀伤靶细胞或抑制靶细胞生长或增殖的T细胞或NK细胞特性。在T细胞的情况下,初级刺激和共刺激是免疫效应子功能或应答的例子。

[0290] 术语“效应子功能”指细胞的特化功能。T细胞的效应子功能例如可以是溶细胞活性或辅助活性,包括分泌细胞因子。

[0291] 术语“编码”指多核苷酸如基因、cDNA或mRNA中特定核苷酸序列在生物学过程中充当合成具有限定核苷酸序列(例如,rRNA、tRNA和mRNA)或限定氨基酸序列的其他聚合物和大分子的模板的内在特性和因其产生的生物学特性。因此,如果与该基因相对应的mRNA的转录和翻译在细胞或其他生物系统中产生某蛋白质,则基因、cDNA或RNA编码该蛋白质。其核苷酸序列与mRNA序列相同并且通常在序列表中提供的编码链和作为基因或cDNA转录的

模板使用的非编码链均可以称为编码该基因或cDNA的蛋白质或其他产物。

[0292] 除非另外说明,“编码氨基酸序列的核苷酸序列”包括彼此作为简并形式并编码相同氨基酸序列的全部核苷酸序列。短语编码蛋白质或RNA的“核苷酸序列”还可以包括内含子到这样的程度,从而编码蛋白质的核苷酸序列可以在某个形式中含有内含子。

[0293] 术语“有效量”或“治疗有效量”在本文中互换地使用并且指化合物、制剂、材料或组合物如本文所述那样有效实现特定生物学结果的量。

[0294] 术语“内源”指来自生物、细胞、组织或系统或在其内部产生的任何物质。

[0295] 术语“外源”指从生物、细胞、组织或系统外部引入或在其外部产生的任何物质。

[0296] 术语“表达”指受其启动子驱动的特定核苷酸序列的转录和/或翻译。

[0297] 术语“转移载体”指物质组合物,所述物质组合物包含分离的核酸并且可以用来向细胞的内部递送分离的核酸。众多载体是本领域已知的,包括但不限于线性多核苷酸、与离子或两性化合结合的多核苷酸、质粒和病毒。因此,术语“转移载体”包括自主复制型质粒或病毒。该术语还应当解释成进一步包括促进核酸转移入细胞中的非质粒和非病毒化合物,例如,聚赖氨酸化合物、脂质体等。病毒转移载体的例子包括但不限于腺病毒载体、腺相关病毒载体、逆转录病毒载体、慢病毒载体等。

[0298] 术语“表达载体”指一种包含重组多核苷酸的载体,所述重组多核苷酸包含与待表达的核苷酸序列有效连接的表达控制序列。表达载体包含用于表达的足够顺式作用元件;其他表达用元件可以由宿主细胞或在体外表达系统中供应。表达载体包括本领域已知的全部那些表达载体,包括并入重组多核苷酸的粘粒、质粒(例如,裸露或含于脂质体中)和病毒(例如,慢病毒、逆转录病毒、腺病毒和腺相关病毒)。

[0299] 术语“慢病毒”指逆转录病毒科(Retroviridae)的一个属。慢病毒在逆转录病毒当中的独特之处在于能够感染非分裂性细胞;它们可以递送显著量的遗传信息至宿主细胞的DNA,从而它们是基因递送载体的最高效方法之一。HIV、SIV和FIV均是慢病毒的例子。

[0300] 术语“慢病毒载体”指从慢病毒基因组的至少一部分衍生的载体,特别包括如Milone等人,Mol. Ther. 17 (8) :1453-1464 (2009)中提供的自我失活性慢病毒载体。可以在临床使用的慢病毒载体的其他例子例如包括但不限于来自Oxford BioMedica的LENTIVECTOR®基因递送技术、来自Lentigen的LENTIMAX™载体系统等。非临床类型的慢病毒载体也是可获得的并且将是本领域技术人员已知。

[0301] 术语“同源的”或“同一性”指两个聚合物分子之间(例如,在两个核酸分子(如,两个DNA分子或两个RNA分子之间)或在两个多肽分子之间)的次级单位序列同一性。当这两个分子中的次级单位位置被相同单体性次级单位占据时,例如,若两个DNA分子中每个分子中的某位置被腺嘌呤占据,则它们在该位置是同源或相同的。两个序列之间的同一性直接随匹配位置或同源位置的数目而变化,例如,如果两个序列中一半位置(例如长度为十个次级单位的聚合物中的五个位置)是同源的,则这两个序列是50%同源的;如果90%的位置(例如10个位置中9个位置)是匹配或同源的,则这两个序列是90%同源的。

[0302] 非人类(例如,小鼠)抗体的“人源化”形式是含有从非人免疫球蛋白衍生的最少序列的嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白链或其抗体片段(如抗体的Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂或其他抗原结合子序列)。对大部分情况而言,人源化抗体及其抗体片段是这些人免疫球蛋白(受体抗体或抗体片段),其中来自所述受体的互补决定区(CDR)中的残基替换为来自非人类物

种(供者抗体)如小鼠、大鼠或兔的具有所需特异性、亲和力和能力的CDR中的残基。在一些情况下,人免疫球蛋白的Fv框架区(FR)残基被相应的非人残基替换。另外,人源化抗体/抗体片段可以包含既不在受体抗体中又不在输入的CDR或框架序列中存在的残基。这些修饰可以进一步修正和优化抗体或抗体片段性能。通常,人源化抗体或其抗体片段将基本上包含至少一个、并且一般二个可变结构域的全部,其中全部或基本上全部的CDR区与非人类免疫球蛋白的那些CDR区对应并且全部或显著部分的FR区是具有人免疫球蛋白序列的那些FR区。人源化抗体或抗体片段还可以包含至少部分免疫球蛋白恒定区(Fc),通常是人免疫球蛋白的恒定区。关于其他细节,参见Jones等人,Nature,321:522-525,1986;Reichmann等人,Nature,332:323-329,1988;Presta,Curr.Op.Struct.Biol.,2:593-596,1992。

[0303] “全人”指免疫球蛋白,如抗体或抗体片段,其中整个分子是人源的或由与抗体或免疫球蛋白的人类形式相同的氨基酸序列组成。

[0304] 术语“分离的”意指从天然状态改变或取出。例如,天然存在于活的动物中的核酸或肽不是“分离的”,但是与其天然状态的共存物质分离的部分或完全的同种核酸或肽是“分离的”。分离的核酸或蛋白质可以按基本上纯化的形式存在,或可以存在于非天然环境(例如宿主细胞)中。

[0305] 在本公开的背景下,对常见出现的核酸碱基使用以下缩写。“A”指腺苷,“C”指胞嘧啶,“G”指鸟苷,“T”指胸苷和“U”指尿苷。

[0306] 术语“有效连接”或“转录性控制”指调节序列和异源核酸序列之间导致异源核酸序列表达的功能性连接。例如,当第一核酸序列置于与第二核酸序列的功能性关系中时,第一核酸序列与第二核酸序列有效连接。例如,如果启动子影响编码性序列的转录或表达,则启动子与编码序列有效连接。有效连接的DNA序列可以彼此邻接并且,例如,在需要连接两个蛋白质编码区的情况下,处于相同的可读框中。

[0307] 术语免疫原性组合物的“肠胃外”施用例如包括皮下(s.c.)、静脉内(i.v.)、肌肉内(i.m.)或胸骨内注射、瘤内或输注技术。

[0308] 术语“核酸”或“多核苷酸”指脱氧核糖核酸(DNA)或核糖核酸(RNA)及其单链形式或双链形式的聚合物。除非特别限制,否则该术语包括含有天然核苷酸的已知类似物的核酸,所述核酸具有与参考核酸相似的结合特性并且按照与天然存在核苷酸相似的方式代谢。除非另外说明,特定核酸序列也内在包括其保守方式修饰的变体(例如简并密码子置换)、等位基因、直向同源物、SNP和互补序列,以及明确指出的序列。具体而言,可以通过产生其中一个或多个选择的(或全部)密码子的第三位用混合型碱基和/或脱氧肌苷残基置换的序列,实现简并密码子置换(Batzer等人,Nucleic Acid Res.19:5081,(1991); Ohtsuka等人,J.Biol.Chem.260:2605-2608,(1985);和Rossolini等人,Mol.Cell.Probes 8:91-98,(1994))。

[0309] 术语“肽”、“多肽”和“蛋白质”互换使用并且指由通过肽键共价连接的氨基酸残基组成的化合物。蛋白质或肽必须含有至少两个氨基酸并且不限制可以构成蛋白质序列或肽序列的氨基酸的最大数目。多肽包括包含通过肽键彼此连接的两个或更多个氨基酸的任何肽或蛋白质。如本文所用,本术语指短链并且还指较长链,例如,所述短链还常见地在本领域称为肽、寡肽和寡聚体,所述较长链通常在本领域称为蛋白质,所述蛋白质存在许多类型。“多肽”例如包括多肽的生物活性片段、基本上同源的多肽、寡肽、同型二聚体、异二聚

体、变体、修饰的多肽、衍生物、类似物、融合蛋白等等。多肽包括天然肽、重组肽或其组合。

[0310] 术语“启动子”指由细胞合成装置或引入的合成装置识别、为多核苷酸序列特异性转录所需要的DNA序列。

[0311] 术语“启动子/调节序列”指表达与启动子/调节序列有效连接的基因产物所需要的核酸序列。在一些情况下,这个序列可以是核心启动子序列,并且在其他情况下,这个序列还可以包含表达基因产物需要的增强子序列和其他调节元件。启动子/调节序列可以例如是以组织特异性方式表达基因产物的那种。

[0312] 术语“组成型”启动子指与编码或规定基因产物的多核苷酸有效连接时,引起基因产物在细胞中在细胞的大部分或全部生理条件下产生的核苷酸序列。

[0313] 术语“诱导型”启动子指与编码或规定基因产物的多核苷酸有效连接时,引起基因产物在细胞中基本上仅当细胞中存在对应于该启动子的诱导物时才产生的核苷酸序列。

[0314] 术语“组织特异性”启动子指与基因编码或规定的多核苷酸有效连接时,引起基因产物在细胞中基本上只有细胞是与该启动子相对应的组织型的细胞时才产生的核苷酸序列。

[0315] 术语“癌相关抗原”或“肿瘤抗原”可互换地指在癌细胞表面上完整或作为片段(例如,MHC/肽)表达并且可用于偏好性导引药理学物质至癌细胞的分子(一般是蛋白质、糖或脂质)。在一些实施方案中,肿瘤抗原是正常细胞和癌细胞二者表达的标志物,例如,谱系标志物,例如,B细胞上的CD19。在一些实施方案中,肿瘤抗原是这样的细胞表面分子,所述细胞表面分子与正常细胞相比,在癌细胞中过量表达,例如,与正常细胞相比,1倍过量表达、2倍过量表达,3倍或更多倍过量表达。在一些实施方案中,肿瘤抗原是这样的细胞表面分子,所述细胞表面分子在癌细胞中不适宜地合成,例如,与正常细胞上表达的分子相比含有缺失、添加或突变的分子。在一些实施方案中,肿瘤抗原将排他地在癌细胞表面上完整或作为片段(例如,MHC/肽)表达,并且在正常细胞的表面上不合成或不表达。在一些实施方案中,示例性肿瘤抗原包括:CD19;CD123;CD22;CD30;CD171;CS-1;C型凝集素样分子-1;CD33;表皮生长因子受体变体III(EGFRvIII);神经节苷脂G2(GD2);神经节苷脂GD3;TNF受体家族成员B细胞成熟(BCMA);Tn抗原((Tn Ag)或(GalNAc α -Ser/Thr));前列腺特异性膜抗原(PSMA);受体酪氨酸激酶样孤儿受体1(ROR1);Fms样酪氨酸激酶3(FLT3);肿瘤相关糖蛋白72(TAG72);CD38;CD44v6;癌胚抗原(CEA);上皮细胞黏附分子(EPCAM);B7H3(CD276);KIT(CD117);白介素-13受体亚基 α -2;间皮素;白介素11受体 α (IL-11Ra);前列腺干细胞抗原(PSCA);蛋白酶丝氨酸21;血管内皮生长因子受体2(VEGFR2);Lewis(Y)抗原;CD24;血小板衍生生长因子受体 β (PDGFR- β);阶段特异性胚胎抗原-4(SSEA-4);CD20;叶酸受体 α ;受体酪氨酸-蛋白激酶ERBB2(Her2/neu);细胞表面相关黏蛋白1(MUC1);表皮生长因子受体(EGFR);神经细胞黏附分子(NCAM);Prostate;前列腺酸性磷酸酶(PAP);突变的延伸因子2(ELF2M);肝配蛋白B2;成纤维细胞活化蛋白 α (FAP);胰岛素样生长因子1受体(IGF-I受体);碳酸酐酶IX(CAIX);蛋白酶体(蛋白酶体,巨蛋白因子)亚基B型9(LMP2);糖蛋白100(gp100);由断点簇集区(BCR)和Abelson鼠白血病病毒癌基因同源物1(Abl)组成的癌基因融合蛋白(bcr-abl);酪氨酸酶;肝配蛋白A型受体2(EphA2);岩藻糖基GM1;唾液酰Lewis黏附分子(sLe);神经节苷脂GM3;转谷氨酰胺酶5(TGS5);高分子量-黑素瘤相关抗原(HMWMAA);o-乙酰基-GD2神经节苷脂(OAcGD2);叶酸受体 β ;肿瘤内皮标志物1(TEM1/

CD248);肿瘤内皮标志物7相关(TEM7R);紧密连接蛋白6(CLDN6);促甲状腺激素受体(TSHR);G蛋白偶联受体C类第5群成员D(GPRC5D);染色体X可读框61(CXORF61);CD97;CD179a;间变性淋巴瘤激酶(ALK);聚唾液酸;胎盘特异性1(PLAC1);globoH glycosphingolipid的己糖部分(GloboH);乳腺分化抗原(NY-BR-1);尿路上皮分化特异糖蛋白(uroplakin)2(UPK2);甲型肝炎病毒细胞受体1(HAVCR1);肾上腺素受体 β 3(ADRB3);泛连接蛋白(pannexin)3(PANX3);G蛋白偶联受体20(GPR20);淋巴细胞抗原6复合体基因座K9(LY6K);嗅觉受体51E2(OR51E2);TCR γ 可变可读框蛋白(TARP);Wilms肿瘤蛋白(WT1);癌症/睾丸抗原1(NY-ESO-1);癌症/睾丸抗原2(LAGE-1a);黑素瘤相关抗原1(MAGE-A1);位于第12p号染色体上的ETS转位变体基因6(ETV6-AML);精子蛋白17(SPA17);X抗原家族成员1A(XAGE1);血管生成素结合性细胞表面受体2(Tie 2);黑素瘤癌症睾丸抗原-1(MAD-CT-1);黑素瘤癌症睾丸抗原-2(MAD-CT-2);Fos相关抗原1;肿瘤蛋白p53(p53);p53突变体;前列腺特异性蛋白(prostein);存活;端粒酶;前列腺癌肿瘤抗原-1、T细胞识别的黑素瘤抗原1;大鼠肉瘤(Ras)突变体;人端粒酶逆转录酶(hTERT);肉瘤易位断点;黑素瘤凋亡抑制蛋白(ML-IAP);ERG(跨膜蛋白酶,丝氨酸2(TMPS2)ETS融合基因);N-乙酰葡萄糖胺基转移酶V(NA17);配对的框蛋白Pax-3(PAX3);雄激素受体;细胞周期蛋白B1;v-myc鸟髓细胞增多症病毒癌基因神经母细胞瘤衍生的同源物(MYCN);Ras同源物家族成员C(RhoC);酪氨酸酶相关蛋白2(TRP-2);细胞色素P450 1B1(CYP1B1);CCCTC-结合因子(锌指蛋白)样、由T细胞识别的鳞状细胞癌抗原3(SART3);配对的框蛋白Pax-5(PAX5);前顶体蛋白结合蛋白sp32(OY-TES1);淋巴细胞特异性蛋白质酪氨酸激酶(LCK);A激酶锚定蛋白4(AKAP-4);滑膜肉瘤X断点2(SSX2);高级糖基化终末产物的受体(RAGE-1);肾遍在1(RU1);肾遍在2(RU2);豆荚蛋白(legumain);人乳头瘤病毒E6(HPV E6);人乳头瘤病毒E7(HPV E7);肠羧基酯酶;突变的热休克蛋白70-2(mut hsp70-2);CD79a;CD79b;CD72;白细胞相关免疫球蛋白样受体1(LAIR1);IgA受体的Fc片段(FCAR或CD89);白细胞免疫球蛋白样受体亚家族A成员2(LILRA2);CD300分子样家族成员f(CD300LF);C型凝集素结构域家族12成员A(CLEC12A);骨髓间质细胞抗原2(BST2);含有EGF样模块的黏蛋白样激素受体样2(EMR2);淋巴细胞抗原75(LY75);磷脂酰基醇蛋白聚糖-3(GPC3);Fc受体样5(FCRL5);免疫球蛋白 λ 样多肽1(IGLL1);TNF受体家族成员;Fms样酪氨酸激酶3(FLT3);CD10;CD19;CD20;CD21;CD22;CD23;CD24;CD25;CD37;CD38;CD53;CD72;CD73;CD74;CD75;CD77;CD79a;CD79b;CD80;CD81;CD82;CD83;CD84;CD85;ROR1;BCMA;CD86;CD179b;CD1a;CD1b;CD1c;CD1d;CD2;CD5;CD6;CD9;CD11a;CD11b;CD11c;CD17;CD18;CD26;CD27;CD29;CD30;CD31;CD32a;CD32b;CD35;CD38;CD39;CD40;CD44;CD45;CD45RA;CD45RB;CD45RC;CD45R0;CD46;CD47;CD48;CD49b;CD49c;CD49d;CD50;CD52;CD54;CD55;CD58;CD60a;CD62L;CD63;CD63;CD68CD69;CD70;CD85E;CD85I;CD85J;CD92;CD95;CD97;CD98;CD99;CD100;CD102;CD108;CD119;CD120a;CD120b;CD121b;CD122;CD124;CD125;CD126;CD130;CD132;CD137;CD138;CD139;CD147;CD148;CD150;CD152;CD162;CD164;CD166;CD167a;CD170;CD175;CD175s;CD180;CD184;CD185;CD192;CD196;CD197;CD200;CD205;CD210a;CDw210b;CD212;CD213a1;CD213a2;CD215;CD217;CD218a;CD218b;CD220;CD221;CD224;CD225;CD226;CD227;CD229;CD230;CD232;CD252;CD253;CD257;CD258;CD261;CD262;CD263;CD264;CD267;CD268;CD269;CD270;CD272;CD274;CD275;CD277;CD279;CD283;CD289;CD290;CD295;CD298;CD300a;CD300c;CD305;CD306;CD307a;CD307b;CD307c;

CD307d;CD307e;CD314;CD315;CD316;CD317;CD319;CD321;CD327;CD328;CD329;CD338;CD351;CD352;CD353;CD354;CD355;CD357;CD358;CD360;CD361;CD362;CD363;和任何这些抗原呈递在MHC上的肽。特别优选的抗原包括:CD19、CD20、CD22、FcRn5、FcRn2、BCMA、CS-1、CD138、CLDN6、间皮素、EGFRvIII、CD123、CD33和CLL-1。在一些实施方案中,本公开的CAR包括了包含与MHC呈递的肽结合的抗原结合结构域(例如,抗体或抗体片段)。通常,衍生自内源蛋白的肽填满主要组织相容性复合体(MHC) I类分子的袋,并且由CD8⁺ T淋巴细胞上的T细胞受体(TCR)识别。MHC I类复合体由全部有核细胞组成型表达。在癌症中,病毒特异性和/或肿瘤特异性肽/MHC复合体代表用于免疫疗法的独特类别的细胞表面靶。已经描述了人白细胞抗原(HLA)-A1或HLA-A2背景下靶向从病毒或肿瘤抗原衍生的肽的TCR样抗体(参见,例如,Sastry等人,J Virol.201185(5):1935-1942;Sergeeva等人,Blood,2011 117(16):4262-4272;Verma等人,J Immunol 2010 184(4):2156-2165;Willemsen等人,Gene Ther 2001 8(21):1601-1608;Dao等人,Sci Transl Med 2013 5(176):176ra33;Tassev等人,Cancer Gene Ther 2012 19(2):84-100)。例如,可以通过筛选文库,如人scFv噬菌体展示文库,鉴定TCR样抗体。因此,本公开提供包含抗原结合结构域的CAR,所述抗原结合结构域与选自WT1、NY-ESO-1、LAGE-1a、MAGE-A1和RAGE-1的分子的MHC呈递肽结合。

[0316] 如scFv的背景下所用的术语“柔性多肽接头”或“接头”指由氨基酸如甘氨酸和/或丝氨酸残基组成的肽接头,其中单独或组合使用所述肽接头以将可变重链区和可变轻链区连接在一起。在一个实施方案中,柔性多肽接头是Gly/Ser接头并且包含氨基酸序列(Gly-Gly-Gly-Ser)_n,其中n是等于或大于1的正整数,例如,n=1,n=2,n=3,n=4,n=5和n=6,n=7,n=8,n=9或n=10(SEQ ID NO:28)。在一个实施方案中,柔性多肽接头包括但不限于(Gly₄ Ser)₄(SEQ ID NO:29)或(Gly₄Ser)₃(SEQ ID NO:30)。在另一个实施方案中,接头包括(Gly₂Ser)、(GlySer)或(Gly₃Ser)的多个重复序列(SEQ ID NO:31)。本发明的范围内还包括接头,其在通过引用方式并入本文的WO 2012/138475中描述。

[0317] 如本文所用,5'帽(还称作RNA帽、RNA 7-甲基鸟苷帽或RNA m⁷G帽)是已经紧接在转录起点后添加至真核信使RNA“前端”或5'末端的修饰的鸟嘌呤核苷酸。5'帽由与第一个转录的核苷酸连接的端基组成。其存在对核糖体识别并保护免遭RNA酶作用至关重要。帽添加与转录偶联并且以共转录方式出现,从而每者影响另一者。在转录起始后不久,正在合成的mRNA的5'末端被结合于RNA聚合酶的帽合成复合物约束。这种酶促复合物催化mRNA加帽需要的化学反应。合成过程作为多步骤生物化学反应推进。可以修饰加帽部分以调节mRNA的功能,如其稳定性或翻译效率。

[0318] 如本文所用,“体外转录的RNA”指已经在体外合成的RNA,优选地mRNA。通常,体外转录的RNA从体外转录载体产生。体外转录载体包括用来产生体外转录的RNA的模板。

[0319] 如本文所用,“聚腺苷酸”是通过多聚腺苷化与mRNA连接的一系列腺苷。在瞬时表达构建体的优选实施方案中,聚腺苷酸数在50和5000之间(SEQ ID NO:32)、优选地大于64、更优选地大于100、最优选地大于300或400。可以化学或酶促地修饰聚腺苷酸序列以调节mRNA功能如定位、稳定性或翻译效率。

[0320] 如本文所用,“多聚腺苷化”指聚腺苷酰基部分或其修饰变体与信使RNA分子的共价连接。在真核生物中,大部分信使RNA(mRNA)分子在3'末端聚腺苷酸化。3'聚腺苷酸尾是通过酶(聚腺苷酸聚合酶)的作用添加至前mRNA的长腺嘌呤核苷酸序列(经常几百个)。在高

等真核生物中,聚腺苷酸尾添加到含有特定序列(多聚腺苷化信号)的转录物上。聚腺苷酸尾和与之结合的蛋白质协助保护mRNA免遭核酸外切酶降解。多聚腺苷化还对转录终止、mRNA从胞核输出和翻译重要。多聚腺苷化在DNA转录成RNA后立即在胞核中发生,但额外地还可以稍后在细胞质中发生。在转录已经终止后,mRNA链因与RNA聚合酶结合的核酸内切酶复合体的作用而切割。切割位点通常以切割位点附近存在碱基序列AAUAAA为特征。在已经切割mRNA后,腺苷残基被添加至切割位点处的游离3'末端。

[0321] 如本文所用,“瞬时”指非整合的转基因表达数小时、数天或数周时间,其中表达时间段小于如果基因在宿主细胞中整合至基因组中或含于稳定质粒复制子内部时该基因表达的时间段。

[0322] 如本文所用,术语“治疗”、“疗法”和“治疗着”指因施用一种或多种疗法(例如,一种或多种治疗药如本发明的CAR)而减少或改善增殖性病症的进展、严重程度和/或持续时间,或改善增殖性病症一个或多个症状(优选地,一个或多个可察觉症状)。在具体实施方案中,“治疗”、“疗法”和“治疗着”指改善增殖性病症的并不必然由患者可察觉的至少一个可度量身体参数,如肿瘤生长。在其他实施方案中,“治疗”、“疗法”和“治疗着”指在身体上(例如,通过稳定可察觉症状)、生理上(例如,通过稳定身体参数)或这两方抑制增殖性病症的进展。在其他实施方案中,“治疗”、“疗法”和“治疗着”指肿瘤尺寸或癌细胞计数减少或稳定。

[0323] 术语“信号转导途径”指在从细胞一个部分传播信号至细胞的另一个部分中发挥作用的多种信号转导分子之间的生物化学关系。短语“细胞表面受体”包括能够接收信号和跨细胞膜传输信号的分子和分子复合物。

[0324] 术语“受试者”意在包括其中可以激发免疫应答的活生物(例如,哺乳动物、人)。如本文中所示,“受试者”或“患者”可以是人类或非人类哺乳动物。非人类哺乳动物例如包括家畜和宠物,如羊、牛、猪、犬、猫和鼠哺乳动物。优选地,受试者是人。

[0325] 术语“基本上纯化的”细胞指基本上不含其他细胞类型的细胞。基本上纯化的细胞还指已经与其天然存在状态下通常与之结合的其他细胞类型分离的细胞。在一些情况下,基本上纯化的细胞群体指均一的细胞群体。在其他情况下,这个术语单纯地指已经与其天然状态下天然与之结合的细胞分离的细胞。在一些方面,细胞在体外培养。在其他方面,细胞未在体外培养。

[0326] 如本文所用,术语“自杀基因”指与启动子有效连接的自杀基因或诱导凋亡的基因,所述启动子可以是组成型或诱导型的。自杀基因的例子包括但不限于单纯疱疹病毒胸苷激酶(HSV-TK)、Fas的胞质结构域、胱天蛋白酶如胱天蛋白酶-8或胱天蛋白酶-9、胞嘧啶脱氨酶、E1A、FHIT和其他已知的自杀基因或诱导凋亡的基因。

[0327] 如本文所用,术语“自杀基因产物”或“自杀结构域”指自杀基因的表达产物。

[0328] 如本文所用的术语“治疗性”意指治疗。治疗作用通过减少、抑制、缓解或根除疾病状态而获得。

[0329] 如本文所用的术语“耐受性”或“免疫耐受性”指这样的状态,其中受试者对正常情况下受试者与其响应的特定抗原或抗原组具有减少的免疫应答或不存在免疫应答。耐受在抑制免疫反应的条件下实现并且不仅仅是缺少免疫应答。在一个实施方案中,受试者中的耐受性可以用以下一项或多项表征:如与未治疗的受试者相比,(例如,由抗原特异性效应

子T淋巴细胞、B淋巴细胞或抗体介导的) 特异免疫应答水平降低; 特异性免疫应答启动或进展延迟; 或特异性免疫应答启动或进展的风险降低。

[0330] 如本文所用的术语“预防”意指预防或保护性治疗疾病或疾病状态。

[0331] 术语“转染”或“转化”或“转导”指借以将外源核酸转移或引入宿主细胞的过程。“转染”或“转化”或“转导的”细胞是已经用外源核酸转染、转化或转导的细胞。细胞包括原代主题细胞和其后代。

[0332] 术语“特异性结合”是指识别并结合样品中存在的同源结合配偶体蛋白(例如, T细胞上存在的刺激性和/或共刺激分子)的抗体或配体, 但所述抗体或配体基本上不识别或结合样品中的其他分子。

[0333] 如本文所用的“难治性”, 指不响应于治疗的疾病, 例如, 癌症。在实施方案中, 难治性癌症可以在治疗开始前或在治疗开始时抵抗治疗。在其他实施方案中, 难治性癌症可以在治疗期间变得耐药。难治性癌症也称作耐药性癌症。

[0334] 如本文所用的“复发的”或“复发”指在改善或反应性阶段后(例如, 在某疗法(例如, 癌疗法)既往治疗后)后, 疾病(例如, 癌症)或疾病(例如, 癌症)体征和症状返回或复现。反应性初始阶段可以涉及癌细胞水平降到某个阈值以下, 例如, 低于20%、1%、10%、5%、4%、3%、2%或1%。再出现可以涉及癌细胞水平升高到某个阈值以上, 例如, 高于20%、1%、10%、5%、4%、3%、2%或1%。例如, 在B-ALL的上下文中, 再次出现可能涉及例如在完全应答之后在血液, 骨髓(>5%)或任何髓外部位中胚细胞的再次出现。在这种情况下, 完全的应答可能涉及<5%的BM胚细胞。更一般地, 在一个实施方案中, 应答(例如完全应答或部分应答)可以涉及不存在可检测的MRD(最小残留疾病)。在一个实施方案中, 反应性的初始阶段持续至少1、2、3、4、5或6天; 至少1、2、3或4周; 至少1、2、3、4、6、8、10或12个月; 或至少1、2、3、4或5年。

[0335] 范围: 在本公开各处, 本发明的多个方面可以按范围样式展示。应当理解, 以范围样式描述仅出于方便和简洁目的并且不应当解释为刚性限制本发明的范围。因此, 范围的描述应当视为具有具体公开的全部可能子范围以及该范围内的各个数值。例如, 范围如从1至6的描述应当视为具有具体公开的如下子范围, 如从1至3、从1至4、从1至5、从2至4、从2至6、从3至6等, 以及该范围内的各个数值, 例如, 1、2、2.7、3、4、5、5.3和6。作为另一个例子, 范围(如95-99%同一性)包括具有95%、96%、97%、98%或99%同一性的范围, 并且包括子范围如96-99%、96-98%、96-97%、97-99%、97-98%和98-99%同一性。无论范围的宽度多大, 这均适用。

[0336] 融合蛋白

[0337] 本文中提供融合蛋白, 所述融合蛋白包含由异源蛋白酶切割位点(例如, 由哺乳动物胞内或胞外蛋白酶切割的蛋白酶切割位点)分隔的二个蛋白质结构域, 其中第一蛋白质结构域是条件性表达结构域, 例如, 降解结构域或聚集结构域。在一些实施方案中, 本文所述的融合蛋白包含三个必需元件: 条件性表达结构域(例如, 降解结构域或聚集结构域)、含有目的蛋白的结构域和分隔这两者的蛋白酶切割结构域。可以如此布置这些元件, 从而条件性表达结构域(例如, 降解结构域或聚集结构域)位于目的蛋白的N末端或C末端。

[0338] 在一些实施方案中, 本文所述的融合蛋白包含弗林蛋白酶切割位点。在一些实施方案中, 本文所述的融合蛋白包含表20中列出的任一个弗林蛋白酶切割位点。在一些实施

方案中,本文所述的融合蛋白包含弗林蛋白酶切割位点,所述弗林蛋白酶切割位点选自RTKR(SEQ ID NO:123);GTGAEDPRPSRKRRSLGDVG(SEQ ID NO:125)或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列;GTGAEDPRPSRKRR(SEQ ID NO:127)或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列;LQWLEQQVAKRRTKR(SEQ ID NO:129)或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列;GTGAEDPRPSRKRRSLGG(SEQ ID NO:131)或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列;GTGAEDPRPSRKRRSLG(SEQ ID NO:133)或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列;SLNLTESHNSRKKR(SEQ ID NO:135)或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列;或CKINGYPKRGRKRR(SEQ ID NO:137)或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白包含弗林蛋白酶切割位点,所述弗林蛋白酶切割位点选自GTGAEDPRPSRKRRSLGDVG(SEQ ID NO:125)或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列,或GTGAEDPRPSRKRR(SEQ ID NO:127)或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白包含弗林蛋白酶切割位点GTGAEDPRPSRKRRSLGDVG(SEQ ID NO:125)或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列。

[0339] 在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白包含弗林蛋白酶切割位点,所述弗林蛋白酶切割位点选自RTKR(SEQ ID NO:123);GTGAEDPRPSRKRRSLGDVG(SEQ ID NO:125);GTGAEDPRPSRKRR(SEQ ID NO:127);LQWLEQQVAKRRTKR(SEQ ID NO:129);GTGAEDPRPSRKRRSLGG(SEQ ID NO:131);GTGAEDPRPSRKRRSLG(SEQ ID NO:133);SLNLTESHNSRKKR(SEQ ID NO:135);或CKINGYPKRGRKRR(SEQ ID NO:137)。在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白包含弗林蛋白酶切割位点,所述弗林蛋白酶切割位点选自GTGAEDPRPSRKRRSLGDVG(SEQ ID NO:125)或GTGAEDPRPSRKRR(SEQ ID NO:127)。在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白包含弗林蛋白酶切割位点GTGAEDPRPSRKRRSLGDVG(SEQ ID NO:125)。

[0340] 在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白包含弗林蛋白酶降解决定子(FurON)结构域,所述结构域包含二个组件:降解决定子或降解结构域,其为在小分子配体不存在下不能获得正确构象的突变的蛋白结构域,和弗林蛋白酶切割位点。弗林蛋白酶降解决定子结构域可以与内质网中表达的目的蛋白融合。目的蛋白的N-和/或C末端可以用作融合位点,前提是弗林蛋白酶降解决定子结构域面朝内质网的管腔。目的蛋白可以是膜蛋白(无论跨膜结构域个数是多少)或可溶性蛋白。弗林蛋白酶切割位点应当相对于降解决定子结构域如此取向,从而切割作用导致弗林蛋白酶降解决定子结构域和目的蛋白分离。在小分子配体或稳定作用化合物不存在下,弗林蛋白酶降解决定子结构域导致整个融合蛋白的去稳定化或降解。在小分子配体或稳定作用化合物存在下,融合蛋白免于降解。如此突变弗林蛋白酶降解决定子结构域,从而消除对其天然内源性配体的亲和力;保留对小分子配体或稳定作用化合物的亲和力;并且当小分子不存在时,赋予蛋白质不稳定性。

[0341] 在一些实施方案中,降解决定子或降解结构域衍生自表21中列出的蛋白质。在一些实施方案中,降解决定子或降解结构域衍生自雌激素受体。在一些实施方案中,降解决定子或降解结构域包含氨基酸序列,所述氨基酸序列选自SEQ ID NO:58或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列,或SEQ ID NO:121或与之具有至少90%、95%、

97%、98%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,降解决定子或降解结构域包含选自SEQ ID NO:58或SEQ ID NO:121的氨基酸序列。

[0342] 在一些实施方案中,降解决定子或降解结构域衍生自FKB蛋白(FKBP)。在一些实施方案中,降解结构域包含SEQ ID NO:56或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列的氨基酸序列。在一些实施方案中,降解结构域包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列。

[0343] 在一些实施方案中,降解决定子或降解结构域衍生自二氢叶酸还原酶(DHFR)。在一些实施方案中,降解结构域包含选自SEQ ID NO:57或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列的氨基酸序列。在一些实施方案中,降解结构域包含选自SEQ ID NO:57的氨基酸序列。在一些实施方案中,降解决定子或降解结构域不衍生自FKB蛋白、雌激素受体或DHFR。

[0344] 目的蛋白

[0345] 本发明的融合蛋白可以实际上包括任何目的蛋白。在某些优选的实施方案中,目的蛋白可以是跨膜蛋白(例如,跨膜受体)。本发明融合蛋白的样式特别用于这类跨膜蛋白中,因为在跨膜受体N末端上包含完整的条件性表达结构域(例如,降解结构域或例如,聚集结构域)将可能导致破坏目的蛋白的活性,而在C末端上包含则可能导致对目的蛋白的调节作用低劣(因为,例如,向膜中整合可能导致蛋白质或降解结构域足够稳定以避免降解和/或聚集)。一类目的蛋白的一个例子是如以下章节中所述的嵌合抗原T细胞受体。

[0346] 嵌合抗原受体

[0347] 在一些实施方案中,目的蛋白是嵌合抗原受体(CAR),其中CAR包含与如本文所述的肿瘤抗原结合的抗原结合结构域(例如,抗体或抗体片段、TCR或TCR片段)、跨膜结构域(例如,本文所述的跨膜结构域)和胞内信号传导结构域(例如,本文所述的胞内信号传导结构域)(例如,包含共刺激结构域(例如,本文所述的共刺激结构域)和/或初级信号传导结构域(例如,本文所述的初级信号传导结构域)的胞内信号传导结构域。在国际专利申请公开号W02015142675中详细公开了与本公开相关的CAR核酸构建体、所编码的蛋白质、容纳载体、宿主细胞、药物组合物和施用与治疗方法,所述文献通过引用的方式完整并入。

[0348] 在一些实施方案中,目的蛋白是嵌合抗原受体(CAR),其中CAR包含与肿瘤支持抗原(例如,如本文所述的肿瘤支持抗原)结合的抗原结合结构域(例如,抗体或抗体片段、TCR或TCR片段)、跨膜结构域(例如,本文所述的跨膜结构域)和胞内信号传导结构域(例如,本文所述的胞内信号传导结构域)(例如,包含共刺激结构域(例如,本文所述的共刺激结构域)的胞内信号传导结构域和/或初级信号传导结构域(例如,本文所述的初级信号传导结构域))。在一些实施方案中,肿瘤支持抗原是在基质细胞或骨髓衍生的抑制细胞(MDSC)上存在的抗原。在其他方面,本发明的特征在于这类核酸编码的多肽和含有这类核酸和/或多肽的宿主细胞。

[0349] 在一些实施方案中,CAR分子包含至少一个胞内信号传导结构域,所述胞内信号传导结构域选自CD137(4-1BB)信号传导结构域、CD28信号传导结构域、CD27信号传导结构域、ICOS信号传导结构域、CD3 δ 信号结构域或其任意组合。在一些实施方案中,CAR分子包含至少一个胞内信号传导结构域,其选自一种或多种选自CD137(4-1BB)、CD28、CD27或ICOS的共刺激分子。

[0350] 在一些方面,本发明还包括一种用嵌合抗原受体(CAR)和自杀基因修饰T细胞的方法

法。因此,本发明涵盖编码CAR的核酸或包含CAR的修饰的T细胞,其中CAR包含抗原结合结构域、跨膜结构域和胞内结构域。

[0351] 美国专利号8,911,993、8,906,682、8,975,071、8,916,381、9,102,760、9,101,584和9,102,761中描述了CAR的例子,所述专利均通过引用方式并入本文完整地。

[0352] 表2中列出了可以是CAR分子的部分的多种的非限制性例子的序列,其中“aa”代表氨基酸,并且“na”代表编码相应肽的核酸。

[0353] 表2:CAR的多种组件的序列(aa-氨基酸,na-编码相应蛋白质的核酸)

[0354]

SEQ ID NO	描述	序列
1	EF-1 启动子	CGTGAGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATC GCCCACAGTCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTTCGGCAAT TGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGG AAAGTGATGTCGTGACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGT GGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGT TCTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGTAAGTG CCGTGTGTGGTTCGCGGGGCTGGCCTCTTACGGGTTAT GGCCCTTGCGTGCCTTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTA CGTGATTCTTGATCCCGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGG AGAGTTCGAGGCCCTTGCCTTAAGGAGCCCCCTTCGCTCGT GCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCGCCGCG TGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTC GATAAGTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCG ACGCTTTTTTTCTGGCAAGATAGTCTTGTAATGCGGGCCAA GATCTGCACACTGGTATTTTCGGTTTTTGGGGCCGCGGGCGG CGACGGGGCCCGTGCCTCCAGCGCACATGTTCCGGCGAGG CGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGG TAGTCTCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGC GCCGCCGTGTATCGCCCCGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCC CGGTCGGCACCAAGTTGCGTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTC CCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAATGGAGGACGCGGCG CTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAAA AGGGCCTTTCGCTCCTCAGCCGTGCTTCATGTGACTCCAC GGAGTACCGGGCGCCGTCCAGGCACCTCGATTAGTTCTCGA GCTTTTGGAGTACGTCGCTTTAGGTTGGGGGGAGGGTTT TATGCGATGGAGTTTCCCACACTGAGTGGGTGGAGACTGA AGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGAATT TGCCCTTTTTGAGTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCA GACAGTGGTTCAAAGTTTTTTCTTCCATTTCAAGTGTCTGTG

		A
2	前导 (aa)	MALPVTALLLPLALLLHAARP
3	前导 (na)	ATGGCCCTGCCTGTGACAGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCTCT GCTGCTGCATGCCGCTAGACCC
33	前导 (na)	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCT TCTGCTCCACGCCGCTCGGCC
4	CD 8 铰链 (aa)	TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFA CD
5	CD8 铰链 (na)	ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCA CCATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCCCAGAGGCGTG CCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCT GGAATTGCTGTGAT
6	Ig4 铰链 (aa)	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSGFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSLGKM
7	Ig4 铰链 (na)	GAGAGCAAGTACGGCCCTCCCTGCCCCCTTGCCCTGCCC CCGAGTTCCTGGGCGGACCCAGCGTGTTCTGTTCCCCCCC AAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGACCCCCGAGG TGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGAGGACCCCGA GGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGAGGTGCAC AACGCCAAGACCAAGCCCCGGGAGGAGCAGTTCAATAGCA CCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGA CTGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGTAAAGGTGTCCAACA AGGGCCTGCCAGCAGCATCGAGAAAACCATCAGCAAGGC CAAGGGCCAGCCTCGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCC CCTAGCCAAGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGAC CTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCGAGAACAATAACAAGA CCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCTG TACAGCCGGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAGG GCAACGTCTTTAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCAC AACCCTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCTGGGCAA GATG
8	IgD 铰链 (aa)	RWPESPKAQASSVPTAQPQAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGE EKKKEKEKEEQEERETKTPECPSTQPLGVYLLTPAVQDLWLR DKATFTCFVVGSDLKDAHLTWEVAGKVPTGGVEEGLLERHSN GSQSQHSRLTLPRSLWNAGTSVTCTLNHPSLPPQRLMALREP AAQAPVKLSLNLASSDPPEAASWLLCEVSGFSPNILLMWLE DQREVNTSGFAPARPPPQPGSTTFWAWSVLRVPAPPSPQPAT YTCVSHEDSRTLLNASRSLEVSIVTDH
9	IgD 铰链 (na)	AGGTGGCCCCGAAAGTCCCAAGGCCAGGCATCTAGTGTTC TACTGCACAGCCCCAGGCAGAAGGCAGCCTAGCCAAAGCTA

[0355]

[0356]

		CTACTGCACCTGCCACTACGCGCAATACTGGCCGTGGCGG GGAGGAGAAGAAAAAGGAGAAAGAGAAAGAAGAACAGGAA GAGAGGGAGACCAAGACCCCTGAATGTCCATCCCATACCCA GCCGCTGGGCGTCTATCTCTTACTCCCAGTACAGGACT TGTGGCTTAGAGATAAGGCCACCTTTACATGTTTCGTCGTGG GCTCTGACCTGAAGGATGCCATTTGACTTGGGAGGTTGCC GGAAAGGTACCCACAGGGGGGTTGAGGAAGGTTGCTGG AGCGCCATTCCAATGGCTCTCAGAGCCAGCACTCAAGACTC ACCCTTCCGAGATCCCTGTGGAACGCCGGGACCTCTGTCAC ATGTACTCTAAATCATCCTAGCCTGCCCCACAGCGTCTGAT GGCCCTTAGAGAGCCAGCCGCCAGGCACCAAGTTAAGCTTA GCCTGAATCTGCTCGCCAGTAGTGATCCCCAGAGGCCGCC AGCTGGCTCTTATGCGAAGTGTCCGGCTTTAGCCCCGCCAA CATCTTGCTCATGTGGCTGGAGGACCAGCGAGAAGTGAACA CCAGCGGCTTCGCTCCAGCCCGGCCCCACCCAGCCGGG TTCTACCACATTCTGGGCTGGAGTGTCTTAAGGGTCCCAG CACCACCTAGCCCCAGCCAGCCACATACACCTGTGTTGTG TCCCATGAAGATAGCAGGACCCTGCTAAATGCTTCTAGGAG TCTGGAGGTTTCTACGTGACTGACCATT
10	GS 铰链/接头 (aa)	GGGSGGGGS
11	GS 铰链/接头 (na)	GGTGGCGGAGGTTCTGGAGGTGGAGGTTCC
12	CD8TM (aa)	IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC
13	CD8 TM (na)	ATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCT TCTCCTGTCACTGGTTATCACCCTTTACTGC
34	CD8 TM (na)	ATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCT GCTGCTTCACTCGTGATCACTCTTACTGT
14	4-1BB 胞内结构域 (aa)	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL
15	4-1BB 胞内结构域 (na)	AAACGGGGCAGAAAGAACTCCTGTATATATTCAAACAACCA TTTATGAGACCAGTACAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGT AGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACT G
118	4-1BB 胞内结构域 (na)	AAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACC CTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCT GTTTCATGCCGTTCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGA ACTG
16	CD27 (aa)	QRRKYRSNKGESPVEPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPE PACSP
17	CD27 (na)	AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTACTACATGAA CATGACTCCCCGCCGCCCGGGCCACCCGCAAGCATTAC CAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTC C
18	CD3-zeta	RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD

[0357]

	(aa)	PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRRG KGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
19	CD3-zeta (na)	AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGGTACA AGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGA CGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCG GGACCCTGAGATGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCT CAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGC GGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGG AGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTA CAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCC CTGCCCCCTCGC
119	CD3-zeta (na)	CGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAA GCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGTC GGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACG GGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCC CAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGC AGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAA GAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCAC CGCCACCAAGGACACCTATGACGCTTTCACATGCAGGCC TGCCGCCTCGG
20	CD3-zeta (aa)	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRRG KGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
21	CD3-zeta (na)	AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGGTACC AGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGA CGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCG GGACCCTGAGATGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCT CAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGC GGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGG AGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTA CAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCC CTGCCCCCTCGC
22	接头	GGGGS
23	接头	GGTGGCGGAGTTCTGGAGGTGGAGTTCC
24	PD-1 胞外 结构域 (aa)	Pgwfldspdrpwnpftfpallvvtgednatftcsfsntsesfvlnwyrmspsnqtdklaa fpedrsqpgqdcfrvtqlpngrdfhmsvvrarrndsgtylcaislakpaqikeslraelrvt erraevptahpspsrpagqftlv
25	PD-1 胞外 结构域 (na)	Cccggatggttctgactctccggatgccccgtggaatcccccaacctctcaccggca ctcttggttgactgagggcgataatgacacctcacgtgctggttctcaacacctccga atcattcgtgctgaactgtaccgatgagcccgtaaaccagaccgacaagctgccc cgttccggaagatcggcgcgaaccgggacaggattgctggttccgctgactcaactgc cgaatggcagagactccacatgagcgtggtccgctagggcgaacgactccggga cctacctgtcggagccatctcgtggcgcctaaggcccaaatcaagagagcttgagg gccgaactgagagtgaccgagcgcagagctgaggtgccaactgcacatccatcccat cgctcggcctgcgggcagttcagacctggtc

[0358]

26	PD-1 CAR (aa), 具有信号号	Malpvtallplallhaarppgwflsdprpwnpftspallvtegdnatftcsfsntsesfv lnwyrmspsnqtdklaafpedrsqpgqdcfrvtqlpngrdfhmsvvrarrndsgtlycg aislapkaqikeslraelvterraevptahpspsrpagqfqlvtvtpaprpptpaptiasq plslrpeacrpaaggavhtrglfacdiywaplagtcgvllslvitlyckrgrklllyifkqpfm rpvqttqeedgcscrfeeeggcelrvkfsrsadapaykqggnqlynelnlgrrreedyvl dkrrgrdpemggkprknpeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqgl statkdydalhmqalppr
27	PD-1 CAR (na)	Atggccctccctgtcactgccctctctccctcgcactcctgtccacgcgctagacc accggatggttcttgactctccgatcgccgtggaatccccaacctctcaccggca ctctggtgtgactgagggcgataatgcgacctcacgtgctcgtctccaacacctccga atcattcgtgctgaactggtaccgatgagcccgtaaaccagaccgacaagctcgccg cgttccggaagatcggcgcgaaccgggacaggattgctggtccgctgactcaactgc cgaatggcagagactccacatgagcgtggtccgctagggcgaacgactccggga cctacctgtcggagccatctcgtggcgctaaggcccaaatcaagagagctgagg gccgaactgagagtgaccgagcgcagagctgaggtccaactgcaatccatccccat cgctcggcctgcgggcagttcagaccctggtcacgaccactccggcgccgcccc accgactccggcccaactatcgcgagccagcccctgtcgtgagccggaagcatgc cgccctccgcccggagggtctgtgcatacccggggattggactcgcagatctac attgggctcctcgcgggaactgtggtgctcctctgtccctggtcatcacctgtactg caagcggggtcggaaaaagcttctgtacatttcaagcagccctcatgaggcccggtca aaccaccagaggaggacggttctcctgcccgttccccgaagaggagaaggagg gttgcgagctcgcgtgaagttctcccggagcgcgacgccccgcctataagcaggg ccagaaccagctgtacaacgaactgaacctgggacgggggaagagtacgatgtgt ggacaagcggcgccggccggaccgccgaatggcggggaagcctagaagaagaa ccctcaggaaggcctgtataacgagctgcagaaggacaagatggccgaggcctactc cgaaattgggatgaagggagagcggcgaggggaaaagggcacgacggcctgtac caaggactgtccaccgcccaccaaggacacatacagatgcccctgcatgcaggccctc cccctcgc
28	接头	(Gly-Gly-Gly-Ser) _n , 其中 n = 1-10
29	接头	(Gly ₄ Ser) ₄
30	接头	(Gly ₄ Ser) ₃
31	接头	(Gly ₃ Ser)
32	聚 A	[a] ₅₀₋₅₀₀₀
39	PD1 CAR (aa)	<u>Pgwflsdprpwnpftspallvtegdnatftcsfsntsesfvlnwyrmspsnqtdklaa</u> <u>fpedrsqpgqdcfrvtqlpngrdfhmsvvrarrndsgtlycgaislapkaqikeslraelvt</u> <u>erraevptahpspsrpagqfqlvtvtpaprpptpaptiasqplslrpeacrpaaggavht</u> <u>rgldfacdiywaplagtcgvllslvitlyckrgrklllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfee</u> <u>eeggcelrvkfsrsadapaykqggnqlynelnlgrrreedyvl</u> <u>dkrrgrdpemggkprknpeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalppr</u>
120	ICOS 胞内结构域 (aa)	TKKKYSSSVHDPNGEYMFMRVNTAKKSRLTDVTL
1111	ICOS 胞内结构域 (na)	ACAAAAAAGAAGTATTCATCCAGTGTGCACGACCCTAACGGT GAATACATGTTCATGAGAGCAGTGAACACAGCCAAAAAATCC AGACTCACAGATGTGACCCTA
972	ICOS TM 结	TTTPAPRPPTPAPTIAQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFA

	构域 (aa)	CDFWLPIGCAAFVVCILGCILICWL
[0359]	973 ICOS TM 结构域 (na)	ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCA CCATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCCCAGAGGCGTG CCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCT GGACTTCGCCTGTGATTTCTGGTTACCCATAGGATGTGCAG CCTTTGTTGTAGTCTGCATTTTGGGATGCATACTTATTTGTTG GCTT
	124 CD28 胞内结构域 (aa)	RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS
	1113 CD28 胞内结构域 (na)	AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAA CATGACTCCCCGCCGCCCGGGGCCACCCGCAAGCATTAC CAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTC C

[0360] 在具体方面, CAR构建体包含scFv结构域, 其中scFv可以前置有如SEQ ID NO:2中提供的任选前导序列, 并且后接如SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:6或SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:10中提供的任选铰链序列、如SEQ ID NO:12中提供的跨膜区、包含SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:120或SEQ ID NO:124之任一的胞内信号传导结构域和包含SEQ ID NO:18或SEQ ID NO:20的CD3 δ 序列, 其中各结构域彼此邻接并处于相同的可读框以形成单个融合蛋白。

[0361] 在一个方面, 示例性CAR构建体包含任选的前导序列(例如, 本文所述的前导序列)、胞外抗原结合结构域(例如, 本文所述的抗原结合结构域)、铰链区(例如, 本文所述的铰链区)、跨膜结构域(例如, 本文所述的跨膜结构域)和胞内刺激性结构域(例如, 本文所述的胞内刺激性结构域)。在一个方面, 示例性CAR构建体包含任选的前导序列(例如, 本文所述的前导序列)、胞外抗原结合结构域(例如, 本文所述的抗原结合结构域)、铰链区(例如, 本文所述的铰链区)、跨膜结构域(例如, 本文所述的跨膜结构域)、胞内共刺激信号传导结构域(例如, 本文所述的共刺激信号传导结构域)和/或胞内初级信号传导结构域(例如, 本文所述的初级信号传导结构域)。

[0362] 将示例性前导序列作为SEQ ID NO:2提供。将示例性铰链区/间隔序列作为SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:6或SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:10提供。将示例性跨膜结构域序列作为SEQ ID NO:12提供。将4-1BB蛋白的胞内信号传导结构域的示例性序列作为SEQ ID NO:14提供。将CD27的胞内信号传导结构域的示例性序列作为SEQ ID NO:16提供。将ICOS的胞内信号传导结构域的示例性序列作为SEQ ID NO:120提供。将CD28的胞内信号传导结构域的示例性序列作为SEQ ID NO:124提供。将示例性CD3 δ 结构域序列作为SEQ ID NO:18或SEQ ID NO:20提供。

[0363] 可以使用本领域已知的重组方法获得编码所需分子的核酸序列, 如, 例如通过筛选来自表达核酸分子的细胞文库、通过从已知包括核酸分子的载体衍生该基因、或通过使用标准技术从含有该基因的细胞和组织直接分离。备选地, 可以合成地产生目的核酸, 而非克隆。

[0364]

[0365] 抗原结合结构域

[0366] 在一个方面, 嵌合抗原受体(CAR)包含靶特异性的结合元件, 另外称为抗原结合结

构域。部分的选择取决于定义靶细胞表面的配体的类型和数量。例如,可以选择或工程化抗原结合结构域以识别充当靶细胞上与具体疾病状态相关的细胞表面标记物(例如,与特定癌症相关的肿瘤抗原)的配体(例如,与肿瘤抗原结合的抗原结合结构域)。在其他实施方案中,选择或工程化抗原结合结构域以识别正常B细胞或B细胞亚群,以耗尽正常B细胞或目标B细胞群体(例如,与B细胞抗原结合的抗原结合结构域)。

[0367] 抗原结合结构域可以是与抗原结合的任何结构域,包括但不限于单克隆抗体、多克隆抗体、重组抗体、双特异性抗体、缀合的抗体、人抗体、人源化抗体和其功能性片段,包括但不限于单一结构域抗体,如驼类衍生型纳米体的重链可变结构域(VH)、轻链可变结构域(VL)和可变结构域(VHH),以及本领域已知的作为抗原结合结构域发挥作用的备选支架,如重组纤连蛋白结构域、T细胞受体(TCR)、亲和力增强的重组TCR或其片段,例如,单链TCR等。在一些情况下,从其中将会最终使用CAR的相同物种衍生抗原结合结构域是有益的。例如,对于人类中使用,包含抗体或抗体片段的抗原结合结构域的人残基或人源化残基可能有益于CAR的抗原结合结构域。

[0368] 在一些实施方案中,编码的CAR分子的抗原结合结构域包含抗体、抗体片段、scFv、Fv、Fab、(Fab')₂、单结构域抗体(SDAB)、VH或VL结构域、驼类VHH结构域或双功能(例如双特异性)杂合抗体(例如,Lanzavecchi等人,Eur.J.Immunol.17,105(1987))。

[0369] 在一些实施方案中,编码的CAR分子的抗原结合结构域包含scFv。在一些情况下,scFv可以根据方法本领域已知的制备(参见,例如,Bird等人,(1988)Science 242:423-426和Huston等人,(1988)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879-5883)。可以通过使用柔性多肽接头将VH区和VL区连接在一起产生scFv分子。

[0370] 在一个方面,CAR的抗原结合结构域是scFv抗体片段,所述scFv抗体片段与衍生它的scFv的鼠序列相比是人源化的。

[0371] 在一个方面,本发明CAR的抗原结合结构域(例如,scFv)由其序列已经过密码子优化以便在哺乳动物细胞中表达的核酸分子编码。在一个方面,本发明的完整CAR构建体由其整个序列已经过密码子优化以便在哺乳动物细胞中表达的核酸分子编码。密码子优化指以下发现:编码性DNA中同义密码子(即,编码相同氨基酸的密码子)出现的频率在不同物种中有偏好。这种密码子简并性允许相同多肽由多种核苷酸序列编码。多种密码子优化方法是本领域已知的,并且包括,例如,至少在美国专利号5,786,464和6,114,148中公开的方法。在一个实施方案中,CAR包含与B细胞结合的抗原结合结构域。在B细胞上选择性存在的细胞表面标志物可以充当与CAR的抗原结合结构域结合的抗原。抗B细胞抗原结合结构域可以包括与B细胞结合的任何结构域并且可以包括但不限于单克隆抗体、多克隆抗体、合成性抗体、人抗体、人源化抗体、非人抗体和任何其片段。因此,在一个实施方案中,抗原结合结构域部分包含哺乳动物抗体或其片段,如单链可变片段(scFv)。抗原结合结构域可以结合一种或多种抗原,如,但不限于任何在B细胞(如原B细胞、前B细胞、不成熟B细胞、成熟B细胞、记忆B细胞和浆细胞)上选择性存在的表面标志物。在一个实施方案中,抗原结合结构域结合至少一种抗原(如CD19、BCMA)及其任意组合。在另一个实施方案中,抗原结合结构域结合至少一种抗原(如CD20、CD21、CD27、CD38、CD138)及其任意组合。在一些情况下,从其中将会最终使用CAR的相同物种衍生有益于抗原结合结构域。例如,对于人体中使用,包含人抗体、如本文他处描述的人源化抗体或其片段可能有益于CAR的抗原结合结构域。

[0372] 肿瘤抗原

[0373] 在一些实施方案中, CAR的抗原结合结构域特异性靶向肿瘤抗原。存在二类可以由CAR靶向的肿瘤抗原(肿瘤抗原, TA): (1) 表达在癌细胞表面上的肿瘤抗原; 和(2) 本身为细胞内, 然而这类抗原(肽) 的片段由MHC(主要组织相容性复合体) 呈递在癌细胞表面上的肿瘤抗原。

[0374] 在一个实施方案中, 肿瘤抗原在正常细胞和癌细胞二者上表达, 但是在正常细胞上以较低水平表达。在一个实施方案中, 该方法还包括选择以这样的亲和力结合肿瘤抗原的CAR, 所述亲和力允许经工程化以表达CAR的细胞结合并杀伤表达肿瘤抗原的癌细胞, 但是少于30%、25%、20%、15%、10%、5%或更少表达肿瘤抗原的正常细胞被杀伤, 例如, 如通过本文所述的测定法所测定。例如, 可以使用杀伤测定法如基于Cr⁵¹CTL的流式细胞术。在一个实施方案中, 选择的CAR具有这样的抗原结合结构域, 其对靶抗原具有10⁻⁴M至10⁻⁸M, 例如10⁻⁵M至10⁻⁷M, 例如10⁻⁶M或10⁻⁷M的结合亲和力K_d。在一个实施方案中, 选择的抗原结合结构域具有至少五倍、10倍、20倍、30倍、50倍、100倍或1,000倍小于参考抗体(例如, 本文所述的抗体)的结合亲和力。

[0375] 因此, 细胞经工程化以表达包含抗原结合结构域的CAR, 所述抗原结合结构域可以靶向, 例如, 结合至任一个示例性肿瘤抗原(肿瘤抗原): CD123、CD30、CD171、CS-1、CLL-1(CLECL1)、CD33、EGFRvIII、GD2、GD3、Tn Ag、sTn Ag、Tn-O-糖肽、Stn-O-糖肽、PSMA、FLT3、FAP、TAG72、CD44v6、CEA、EPCAM、B7H3、KIT、IL-13Ra2、间皮素、IL-11Ra、PSCA、VEGFR2、LewisY、PDGFR-β、PRSS21、SSEA-4、叶酸受体α、ERBB2(Her2/neu)、MUC1、EGFR、NCAM、Prostate、PAP、ELF2M、肝配蛋白B2、IGF-I受体、CAIX、LMP2、gp100、bcr-abl、酪氨酸酶、EphA2、岩藻糖基GM1、sLe、GM3、TGS5、HMWMAA、o-乙酰基-GD2、叶酸受体β、TEM1/CD248、TEM7R、CLDN6、TSHR、GPRC5D、CXORF61、CD97、CD179a、ALK、聚唾液酸、PLAC1、GloboH、NY-BR-1、UPK2、HAVCR1、ADRB3、PANX3、GPR20、LY6K、OR51E2、TARP、WT1、NY-ESO-1、LAGE-1a、豆荚蛋白、HPVE6、E7、MAGE-A1、MAGE A1、ETV6-AML、精子蛋白17、XAGE1、Tie 2、MAD-CT-1、MAD-CT-2、Fos-相关抗原1、p53、p53突变体、prostelin、存活素和端粒酶、PCTA-1/半乳糖凝集素8、MelanA/MART1、Ra突变体、hTERT、肉瘤易位断点、ML-IAP、ERG(TMPRSS2ETS融合基因)、NA17、PAX3、雄激素受体、细胞周期蛋白B1、MYCN、RhoC、TRP-2、CYP1B1、BORIS、SART3、PAX5、OY-TEST1、LCK、AKAP-4、SSX2、RAGE-1、人端粒酶逆转录酶、RU1、RU2、肠羧基酯酶、mut hsp70-2、LAIR1、FCAR、LILRA2、CD300LF、CLEC12A、BST2、EMR2、LY75、GPC3、FCRL5、IGLL1CD10、CD19、CD20、CD21、CD22、CD23、CD24、CD25、CD37、CD38、CD53、CD72、CD73、CD74、CD75、CD77、CD79a、CD79b、CD80、CD81、CD82、CD83、CD84、CD85、ROR1、BCMA、CD86和CD179b。可以被本文描述的CAR靶向的其他B细胞抗原包括: CD1a、CD1b、CD1c、CD1d、CD2、CD5、CD6、CD9、CD11a、CD11b、CD11c、CD17、CD18、CD26、CD27、CD29、CD30、CD31、CD32a、CD32b、CD35、CD38、CD39、CD40、CD44、CD45、CD45RA、CD45RB、CD45RC、CD45R0、CD46、CD47、CD48、CD49b、CD49c、CD49d、CD50、CD52、CD54、CD55、CD58、CD60a、CD62L、CD63、CD63、CD68CD69、CD70、CD85E、CD85I、CD85J、CD92、CD95、CD97、CD98、CD99、CD100、CD102、CD108、CD119、CD120a、CD120b、CD121b、CD122、CD124、CD125、CD126、CD130、CD132、CD137、CD138、CD139、CD147、CD148、CD150、CD152、CD162、CD164、CD166、CD167a、CD170、CD175、CD175s、CD180、CD184、CD185、CD192、CD196、CD197、CD200、CD205、CD210a、CDw210b、CD212、CD213a1、CD213a2、CD215、CD217、CD218a、

CD218b、CD220、CD221、CD224、CD225、CD226、CD227、CD229、CD230、CD232、CD252、CD253、CD257、CD258、CD261、CD262、CD263、CD264、CD267、CD268、CD269、CD270、CD272、CD274、CD275、CD277、CD279、CD283、CD289、CD290、CD295、CD298、CD300a、CD300c、CD305、CD306、CD307a、CD307b、CD307c、CD307d、CD307e、CD314、CD315、CD316、CD317、CD319、CD321、CD327、CD328、CD329、CD338、CD351、CD352、CD353、CD354、CD355、CD357、CD358、CD360、CD361、CD362、CD363和这些抗原呈递在MHC上的肽。

[0376] 在一些实施方案中，CAR的抗原结合结构域靶向与实体瘤相关（例如，实体瘤细胞表达的）的肿瘤抗原，本文中称作实体瘤相关抗原，例如，与间皮瘤（例如，恶性胸膜间皮瘤）、肺癌（例如，非小细胞肺癌、小细胞肺癌、鳞状细胞肺癌或大细胞肺癌）、胰腺癌（例如，胰腺导管腺癌）、食管腺癌、卵巢癌、乳腺癌、结直肠癌和膀胱癌或其任意组合相关的抗原。在一个实施方案中，疾病是胰腺癌，例如，转移性胰腺导管腺癌（PDA），例如，处于接受至少一种既往标准疗法时已经进展的受试者中。在一个实施方案中，疾病是间皮瘤（例如，恶性胸膜间皮瘤），例如，处于接受至少一种既往标准疗法时已经进展的受试者中。在一个实施方案中，疾病是卵巢癌，例如，浆液性卵巢上皮癌，例如，处于接受至少一种既往标准治疗方案后已经进展的受试者中。肿瘤相关抗原（例如，实体瘤抗原）的例子包括而限于：EGFRvIII、间皮素、GD2、Tn抗原、sTn抗原、Tn-0-糖肽、sTn-0-糖肽、PSMA、CD97、TAG72、CD44v6、CEA、EPCAM、KIT、IL-13Ra2、leguman、GD3、CD171、IL-11Ra、PSCA、MAD-CT-1、MAD-CT-2、VEGFR2、LewisY、CD24、PDGFR-β、SSEA-4、叶酸受体α、ERBB（例如、ERBB2）、Her2/neu、MUC1、EGFR、NCAM、肝配蛋白B2、CAIX、LMP2、sLe、HMWMAA、o-乙酰基-GD2、叶酸受体β、TEM1/CD248、TEM7R、FAP、豆荚蛋白、HPV E6或E7、ML-IAP、CLDN6、TSHR、GPCR5D、ALK、聚唾液酸、Fos-相关抗原、中性粒细胞弹性蛋白酶、TRP-2、CYP1B1、精子蛋白17、β人绒毛膜促性腺激素、AFP、甲状腺球蛋白、PLAC1、globoH、RAGE1、MN-CA IX、人端粒酶逆转录酶、肠羧基酯酶、mut hsp 70-2、NA-17、NY-BR-1、UPK2、HAVCR1、ADRB3、PANX3、NY-ESO-1、GPR20、Ly6k、OR51E2、TARP、GFRα4和呈递在MHC上的这些抗原中任一者的肽。

[0377] 在一个实施方案中，CAR的抗原结合结构域与人间皮素结合。在一个实施方案中，该抗原结合结构域是与人间皮素结合的鼠scFv结构域，例如，如表3中所示的SS1。在一个实施方案中，抗原结合结构域是衍生自鼠SS1scFv的人源化抗体或抗体片段，例如scFv结构域。在一个实施方案中，抗原结合结构域是与人间皮素结合的人抗体或抗体片段。表3中提供与间皮素结合的示例性人scFv结构域（及其序列）和鼠SS1scFv。CDR序列加下划线。表3中提供的scFv结构域序列包括轻链可变区（VL）和重链可变区（VH）。VL和VH由接头接合，所述接头包含序列GGGGSGGGSGGGGS（SEQ ID NO:30）（例如，如SS1scFv结构域中所显示）或GGGGSGGGSGGGSGGGGS（SEQ ID NO:29）（例如，如M1、M2、M3、M4、M5、M6、M7、M8、M9、M10、M11、M12、M13、M14、M15、M16、M17、M18、M19、M20、M21、M22、M23或M24scFv结构域中所显示）。表3中列出的scFv结构域为以下取向：VL-接头-VH。

[0378] 表3. 与间皮素结合的抗原结合结构域

[0379]

肿瘤抗原	名称	氨基酸序列	SEQ ID NO:
间皮素	M5 (人)	QVQLVQSGAEVEKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWVRQAPGQ GLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELRRLR SDDTAVYYCASGWDFDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGG SGGGGSDIVMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSIRYYLSWYQQK PGKAPKLLIYTASILQNGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCLQTYTTPDFGPGTKVEIK	201
间皮素	M11 (人)	QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQ GLEWMGWINPNSGGTNYAQNFQGRVTMTRDTSISTAYMELRRLR SDDTAVYYCASGWDFDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGG SGGGGSDIRMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSIRYYLSWYQQK PGKAPKLLIYTASILQNGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCLQTYTTPDFGPGTKVEIK	202
间皮素	ss1 (鼠)	QVQLQQSGPELEKPGASVKISKASGYSFTGYTMNWWKQSHGKS LEWIGLITPYNGASSYNQKFRGKATLTVDKSSSTAYMDLLSLTSED SAVYFCARGGYDGRGFDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSDIELTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSGTS PKRWIYDTSKLAGVPGRFSGSGSGNSYSLTISSVEAEDDATYYC QQWSGYPLTFGAGTKLEI	203
间皮素	M1 (人)	QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQ GLEWMGRINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELRRLR SEDTAVYYCARGRYYGMDVWGQGMVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATISCRASQSVSSNFAWYQ QRPQGAPRLLIYDASNRATGIPPRFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDF AAYYCHQRSNWLYTFGQGTKVDIK	204

[0380]

间皮素	M2 (人)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMHWVRQAPGQ GLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSLRLR SDDTAVYYCARDLRRTVTPRAYYGMDVWGQGTITVTVSSGGGG SGGGGSGGGGSDIQLTQSPSTLSASVGDRTITCQASQD <u>ISNSLNWYQQKAGKAPKLLIYDASTLETGVPSRFSGSGSGTDFSFT</u> <u>ISSLQPEDIATYYCQQHDNLPLTFGQGTKVEIK</u>	205
间皮素	M3 (人)	QVQLVQSGAEVKKPGAPVKVSCKASGYTFTGYMHWVRQAPGQ GLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSLRLR SDDTAVYYCARGEWGDSYDYWGQGTITVTVSSGGGGSGGGG SGGGGSGGGGSDIVLTQTPSSLSASVGDRTITCRASQSINTYLN WYQHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYCQQSFSPLTFGGGTKLEIK	206
间皮素	M4 (人)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQVPGK GLVWVSRINDGSTTTYADSVVEGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRD DDTAVYYCVGGHWAVWGQGTITVTVSSGGGGSGGGGSGGGG GGGGSDIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSSISDRLAWYQQK GKAPKLLIYKASSLESVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFAVY YCQQYGHLPMTYTFGQGTKVEIK	207
间皮素	M6 (人)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHWVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRS EDTAVYYCARYRLIAVAGDYGGMDVWGQGTMTVTVSSGGGG GGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVASVGDRTITCRASQGV <u>GRWLAWYQQKPGTAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT</u> <u>INNLPEDFATYYCQQANSFPLTFGGGTRLEIK</u>	208
间皮素	M7 (人)	QVQLVQSGGGVQPRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGK GLEWVAVISYDGSNKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARWVKVSSSPAFDYWGQGTITVTVSSGGGGSGGGG GGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERAILSCRASQSVYTKYLG WYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTINRLEP EDFAVYYCQHYGGSPLITFGQGTTRLEIK	209
间皮素	M8 (人)	QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYPFTGYSLHWVRQAPGQ GLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSLRLR SDDTAVYYCARDHYGGNSLFYWGQGTITVTVSSGGGGSGGGG GGGGSGGGGSDIQLTQSPSSISASVGDRTVITCRASQDSGTWLA WYQQKPGKAPNLLMYDASTLEDGVPSRFSGSASGTEFTLTVNRL QPEDSATYYCQQYNSYPLTFGGGTKVDIK	210
间皮素	M9 (人)	QVQLVQSGAEVKKPGASVEVSCKASGYTFTSYMHWVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVHMELSSLR SEDTAVYYCARGGYSSSDAFDIWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGG SGGGGSGGGGSDIQMTQSPPLSASVGDRTITCRASQDISSALA WYQQKPGTPPKLLIYDASSLESVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYCQQFSSYPLTFGGGTRLEIK	211
间皮素	M10 (人)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCARVAGGIYGGMDVWGQGTITVTVSSGGGGSGGGG SGGGGSGGGGSDIVMTQTPDSLAVSLGERATISCKSSHSVLYNR <u>NNKNYLAWYQQKPGQPPKLLFYWASTRKSVPDRFSGSGSGTD</u> <u>FTLTISSLQPEDFATYFCQQQTQTFPLTFGQGTTRLEIN</u>	212
间皮素	M12 (人)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMHWVRQAPGQ GLEWMGRINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLR SDDTAVYYCARTTTSYAFDIWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSDIQLTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSISTWLAWYQ QKPGKAPNLLIYKASTLESVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDF	213

[0381]

		ATYYCQQYNTYSPYTFGQGTKLEIK	
间皮素	M13 (人)	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCEASGFIFSDYYMGWIRQAPGKG LEWVSYIGRSGSSMYADSVKGRFTFSRDNAKNSLYLQMNSLRA EDTAVYYCAASPVAATEDFQHWGQGLVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSGGGSDIVMTQTPATLSLSPGERATLSCRASQSVTSNYL AWYQQKPGQAPRLLLF G ASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTINRL EPEDFAMYYCQQYGSAPVTFGQGTKLEIK	214
间皮素	M14 (人)	QVQLVQSGAEVRAPGASVKISCKASGFTFRGYYIHWVRQAPGQG LEWMGIINPSSGSRAYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSD DTAMYYCARTASCGGDCYYLDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGS SGGGSGGGGSDIQMTQSPPTLSASVGDRTITCRASENVNIWL AWYQQKPGKAPKLLIYKSSSLASGVPSRFSGSGSGAEFTLTISLQ PDDFATYYCQQYQSYPLTFGGGKVDIK	215
间皮素	M15 (人)	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGK GLEWVSGISWNSGSGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRA EDTAVYYCAKDSSSSWSWGYFDYWGQGLVTVSSGGGGSGGG GSGGGSSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDALRSYYASWYQ QKPGQAPMLVIYKNNRPSGIPDRFSGSDSGDTASLTITGAQAED EADYYCNSRDSSGYPVFGTGKVTVL	216
间皮素	M16 (人)	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGK GLEWVSGISWNSGSGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLR AEDTALYYCAKDSSSWYGGGSAFDIHWGQGMVTVSSGGGGSGG GGSGGGSSSELTQEPAVSVALGQTVRITCQGDLSRSYYASWYQ QKPGQAPVLVIFGRSRPSGIPDRFSGSSSGNTASLIITGAQAED ADYYCNSRDNTANHYVFGTGKLTVL	217
间皮素	M17 (人)	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGK GLEWVSGISWNSGSGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLR AEDTALYYCAKDSSSWYGGGSAFDIHWGQGMVTVSSGGGGSGG GGSGGGSSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRSYYASWYQ QKPGQAPVLVIYKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAED EADYYCNSRGSSGNHYVFGTGKVTVL	218
间皮素	M18 (人)	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSAASGFTFSSYWMHWVRQAPGK GLVWVSRINSDGSSTSYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCVRTGWVGSYYYYMDVWGKGTTVTVSSGGGGSGGG GSGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSN YLAWYQQKPGQPPRLLIYDVSTRATGIPARFSGGGSGTDFTLTISS LEPEDFAVYYCQQRSNWPPWTFGQGTKVEIK	219
间皮素	M19 (人)	QVQLVQSGGGVWPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGK GLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCAKGYRYYYYGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGG SGGGSGGGGSEIVMTQSPATLSLSPGERAILSCRASQSVYTKYL GWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTINRLE PEDFAVYYCQHYGGSPLITFGQGTKVDIK	220
间皮素	M20 (人)	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSAASGFTFSSYAMSWVRQAPGK GLEWVSAISGGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCAKREAAAGHDWYFDLWGRGTLVTVSSGGGGSGGGG SGGGSGGGGSDIRVTQSPSSLASVGDRTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQ PEDFATYYCQQYSIPLTFGQGTKVEIK	221
间皮素	M21 (人)	QVQLVQSWAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYMHWVRQAPGQ GLEWMGIINPSSGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSNLR EDTAVYYCARSPRVTTGYFDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSG GGSGGGGSDIQLTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSISSWLAWY	222

[0382]

		QQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDD FATYYCQQYSSYPLTFGGGTRLEIK	
间皮素	M22 (人)	QVQLVQSGAEVRRPGASVKISCRASGDTSTRHYIHWLRQAPGQG PEWMGVINPTTGPATGSPAYAQMLQGRVTMTRDTSTRTVYME SLRFEDTAVYYCARSVVGRSAPYYFDYWGQGLVTVSSGGGGG GGGGSGGGGGGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGI SDYSAWYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTDFLT ISYLQSEDFATYYCQQYSSYPLTFGGGTRLEIK	223
间皮素	M23 (人)	QVQLVQSGAEVRRPGASVKISCRASGDTSTRHYIHWLRQAPGQG GLEWMGIIINPSGGYTTIAQKFFQGLTMTTRDTSTSTVYME EDTAVYYCARIRSCGGDCYFDNWGQGLVTVSSGGGGGGGGG SGGGSGGGGGGGGGSDIQLTQSPSTLSASVGDRTITCRASE NVIWLA WYQQKPGKAPKLLIYKSSSLASGVPSRFSGSGSGAEFTLTIS SLQPD FATYYCQQYSSYPLTFGGGTRLEIK	224
间皮素	M24 (人)	QITLKESGPALVKPTQTLTCTFSGFSLSTAGVHVGWIRQPPGKA LEWLALISWADDKRYRPSLRSLDITRVTSKDQVLSMTNMQPED TATYYCALQGFDFYEAHWGPGTLVTVSSGGGGGGGGGGG SGGGSDIVMTQSPSSLSASAGDRVTITCRASRGISSALAWYQQK PGKPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFLTIDSLPEDFAT YYCQQSYSTPWFQGGTRLEIK	225

[0383] 对于重链可变结构域,表4中显示表3中提供的间皮素抗原结合结构域的scFv结构域的CDR序列,并且对于轻链可变结构域,在表5中显示相应序列。

[0384] 表4. 人抗间皮素scFvs的重链(HC) CDR1、CDR2和CDR3区的氨基酸序列

[0385]

描述	HC-CDR1	SEQ ID NO:	HC-CDR2	SEQ ID NO:	HC-CDR3	SEQ ID NO:
M5	GYTFTDYMH	226	WINPNSGGTNYAQKFQG	227	GWDFDY	228
M11	GYTFTGYMH	229	WINPNSGGTNYAQNFQG	230	GWDFDY	228
SS1	GYSFTGYTMN	231	LITPYNGASSYNQKFRG	232	GGYDGRGFDY	233
M1	GYTFTGYMH	229	RINPNSGGTNYAQKFQG	234	GRYYGMDV	235
M2	GYTFTGYMH	229	WINPNSGGTNYAQKFQG	227	DLRRTVVT PRAYY GMDV	236
M3	GYTFTGYMH	229	WINPNSGGTNYAQKFQG	227	GEWDGSYYYDY	237
M4	GFTFSSYWMH	238	RINTDGSTTTYADSV	239	GHWAV	240
M6	GYTFTSYMH	241	IINPSGGSTSYAQKFQ	242	YRLI AVAGD YYYY GMDV	243
M7	GFTFSSYAMH	244	VISYDGSNKYYADSVK	245	WKVSSSSPAFDY	246
M8	GYPFTGYSLH	247	WINPNSGGTNYAQKFQG	227	DHYGGNSLFY	248
M9	GYTFTSYMH	241	IINPSGGSTGYAQKFQ	249	GGYSSSSDAFDI	250
M10	GYTFTSYGIS	251	WISAYNGNTNYAQLQ	252	VAGGI YYYY GMD V	253
M12	GYTFTGYMH	229	RINPNSGGTNYAQKFQG	234	TTTSYAFDI	254

[0386]

M13	GFIFSDYYMG	255	YIGRSGSSMYADSVKG	256	SPVVAATEDFQH	257
M14	GFTFRGYIHH	258	IINPSGGSRAYAQKFQG	259	TASCGGDCYYLD Y	260
M15	GFTFDDYAMH	261	GISWNSGSIGYADSVK	262	DGSSSWSWGYP DY	263
M16	GFTFDDYAMH	261	GISWNSGSTGYADSVKG	264	DSSSWYGGGSAF DI	265
M17	GFTFDDYAMH	261	GISWNSGSTGYADSVKG	264	DSSSWYGGGSAF DI	265
M18	GFTFSSYWMH	238	RINSDGSSTSYADSVKG	266	TGWVGSYYYYMD V	267
M19	GFTFSSYGMH	268	VISYDGSNKYYADSVKG	245	GYSRYYYYGMDV	269
M20	GFTFSSYAMS	270	AISGSGGSTYYADSVKG	271	REAAAGHDWYFD L	272
M21	GYTFTSYMH	241	IINPSGGSTSYAQKFQG	273	SPRVTTGYFDY	274
M22	GDTSTRHYIH	275	VINPTTGPATGSPAYAQ MLQG	276	SVVGRSAPYYFD Y	277
M23	GYTFTNYMH	278	IINPSGGYTTAQKFQG	279	IRSCGGDCYYFDN	280
M24	GFSLSTAGVH VG	281	LISWADDKRYRPSLRS	282	QGFDGYEAN	283

[0387] 表5. 人抗间皮素scFvs的轻链(LC) CDR1、CDR2和CDR3区的氨基酸序列

[0388]

描述	LC-CDR1	SEQ ID NO:	LC-CDR2	SEQ ID NO:	LC-CDR3	SEQ ID NO:
M5	RASQSIRYYLS	284	TASILQN	285	LQTYTTPD	286
M11	RASQSIRYYLS	284	TASILQN	285	LQTYTTPD	286
SS1	SASSSVSYM	287	DTSKLS	288	QQWSGYPLT	289
M1	RASQSVSSNFA	290	DASNRAT	291	HQRSNWLYT	292
M2	QASQDISNSLN	293	DASTLET	294	QQHDNLPLT	295
M3	RASQSINTYLN	296	AASSLQS	297	QQSFSPLT	298
M4	RASQSIDRLA	299	KASSLES	300	QQYGHLPMT	301
M6	RASQGVGRWLA	302	AASTLQS	303	QQANSFPLT	304
M7	RASQSVYTKYLG	305	DASTRAT	306	QHYGGSPLIT	307
M8	RASQDSGTWLA	308	DASTLED	309	QQYNSYPLT	310
M9	RASQDISSALA	311	DASSLES	312	QQFSSYPLT	313
M10	KSSHSVLYNRNKNYLA	314	WASTRKS	315	QQTQTFPLT	316

[0389]

M12	RASQSISTWLA	317	KASTLES	318	QQYNTYSPYT	319
M13	RASQSVTSNYLA	320	GASTRAT	321	QQYGSAPVT	322
M14	RASENVNIWLA	323	KSSSLAS	324	QQYQSYPLT	325
M15	QGDALRSYYAS	326	GKNNRPS	327	NSRDSSGYPV	328
M16	QGDSLRSYYAS	329	GRSRRPS	330	NSRDNTANHYV	331
M17	QGDSLRSYYAS	329	GKNNRPS	327	NSRGSSGNHYV	332
M18	RASQSVSSNYLA	333	DVSTRAT	334	QQRSNWPPWT	335
M19	RASQSVYTKYLG	305	DASTRAT	306	QHYGGSPLIT	307
M20	RASQSISSYLN	336	AASSLQS	297	QQSYSIPLT	337
M21	RASQSISSWLA	338	KASSLES	300	QQYSSYPLT	339
M22	RASQGISDYS	340	AASTLQS	303	QQYYSYPLT	341
M23	RASENVNIWLA	323	KSSSLAS	324	QQYQSYPLT	325
M24	RASRGISSALA	342	DASSLES	312	QQSYSTPWT	343

[0390] 例如来自已知抗体、双特异性分子或CAR的任何已知抗间皮素结合结构域可以适用于本发明的CAR中。例如,针对间皮素的抗原结合结构域是或可以衍生自例如PCT公开W02015/090230中描述的抗体、抗原结合片段或CAR的抗原结合部分,例如,CDR或VH和VL。在

一个实施方案中,针对间皮素的抗原结合结构域是或衍生自例如PCT公开W01997/025068、W01999/028471、W02005/014652、W02006/099141、W02009/045957、W02009/068204、W02013/142034、W02013/040557或W02013/063419中描述的抗体、抗原结合片段或CAR的抗原结合部分,例如,CDR或VH和VL。

[0391] 在一个实施方案中,间皮素结合结构域包含本文所述(例如,表3或表5中提供)的间皮素结合结构域的一个或多个(例如,全部三个)轻链互补决定区1(LC CDR1)、轻链互补决定区2(LC CDR2)和轻链互补决定区3(LC CDR3)、和/或本文所述(例如,表3或表4中提供)的间皮素结合结构域的一个或多个(例如,全部三个)重链互补决定区1(HC CDR1)、重链互补决定区2(HC CDR2)和重链互补决定区3(HC CDR3)。在一个实施方案中,间皮素结合结构域包含如表5中提供的任何氨基酸序列的LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3中一者、两者或全体;和如表4中提供的任何氨基酸序列的全部HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3中一者、两者或三者。

[0392] 在一个实施方案中,间皮素结合结构域包含本文(例如,表3中)所述的轻链可变区和/或本文(例如,表3中)所述的重链可变区。在一个实施方案中,间皮素结合结构域是包含表3中列出的氨基酸序列的轻链和重链的scFv。在一个实施方案中,间皮素结合结构域(例如,scFv)包含:轻链可变区,所述轻链可变区包含下述氨基酸序列,所述氨基酸序列具有至少一个、两个或三个在表3中提供的轻链可变区的氨基酸序列的修饰(例如,置换,例如保守性置换),但不多于30、20或10个修饰(例如,置换,例如保守性置换),或包含与表3中提供的氨基酸序列具有95-99%同一性的序列;和/或重链可变区,所述重链可变区包含下述氨基酸序列,所述氨基酸序列具有至少一个、两个或三个在表3中提供的重链可变区的氨基酸序列的修饰(例如,置换,例如保守性置换),但不多于30、20或10个修饰(例如,置换,例如保守性置换),或包含与表3中提供的氨基酸序列具有95-99%同一性的序列。

[0393] 在一个实施方案中,间皮素结合结构域包含选自SEQ ID NO:201-225之任一的氨基酸序列;或相对于前述任何序列具有至少一个、两个或三个修饰(例如,置换,例如,保守性置换)但不多于30、20或10个修饰(例如,置换,例如,保守性置换)的氨基酸序列;或与前述任何序列具有95-99%同一性的序列。在一个实施方案中,间皮素结合结构域是scFv,并且包含本文(例如,表3中)所述的氨基酸序列的轻链可变区经接头(例如,本文所述的接头)与包含本文(例如,表3中)所述的氨基酸序列的重链可变区连接。在一个实施方案中,间皮素结合结构域包含(Gly₄-Ser)_n接头,其中n是1、2、3、4、5或6、优选地4(SEQ ID NO:967)。scFv的轻链可变区和重链可变区可以例如处于以下任何取向:轻链可变区-接头-重链可变区或重链可变区-接头-轻链可变区。

[0394] 在一个实施方案中,CAR(例如,本发明细胞表达的CAR)的抗原结合结构域与人EGFRvIII结合。在一个实施方案中,抗原结合结构域是与EGFRvIII结合的鼠scFv结构域,例如,mu310C。在一个实施方案中,抗原结合结构域是衍生自鼠mu310C scFv的人源化抗体或抗体片段,例如scFv结构域。表6中提供与EGFRvIII结合的示例性人源化scFv结构域(及其序列)和鼠SS1scFv。

[0395] 在一个实施方案中,CAR的抗原结合结构域与人紧密连接蛋白(claudin)6(CLDN6)结合。在一个实施方案中,抗原结合结构域是与CLDN6结合的鼠scFv结构域。在一个实施方案中,抗原结合结构域是人源化抗体或抗体片段。表6中提供与CLDN6结合的示例性scFv结构域(及其序列)。表6中提供的scFv结构域序列包括轻链可变区(VL)和重链可变区(VH)。

VL和VH由包含序列GGGSGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:29) 的接头例如按以下方向连接：
VL-接头-VH。

[0396] 表6. 与肿瘤抗原EGFRvIII或CLDN6结合的抗原结合结构域

[0397]

肿瘤抗原	名称	氨基酸序列	SEQ ID NO:
EGFR vIII	huscFv1	Eiqlvqsgaevkkpgatvkisckgsgfniedyyihwvqqapgkglewmgridpendetk ygpifqgrvitadtsntvymelsslrsedtavyycfrggyvwygqgtvtvssggggsggg gsgggsggggsdvmtqspdslavslgeratinckssqslldsdgktylnwlqqkpgqp pkrlislvskldsgvpdrfsgsgsgtdftlisslqaedvavyycwqgthfpgtfgggtkveik	344
EGFR vIII	huscFv2	Dvmtqspdslavslgeratinckssqslldsdgktylnwlqqkpgqpkrllislvskldsgv pdrfsgsgsgtdftlisslqaedvavyycwqgthfpgtfgggtkveikggggsgggsggg gsggggseiqlvqsgaevkkpgatvkisckgsgfniedyyihwvqqapgkglewmgrid pendetkygpifqgrvitadtsntvymelsslrsedtavyycfrggyvwygqgtvtvss	345
EGFR vIII	huscFv3	Eiqlvqsgaevkkpgeslriskgsgfniedyyihwvrmpgkglewmgridpendetk ygpifqghvtisadtsintvylqwsslkasdtamyycfrggyvwygqgtvtvssggggsg ggggsggggsdvmtqspslpvtlgqpasisckssqslldsdgktylnwlqrrpg qsprrlislvskldsgvpdrfsgsgsgtdftlkisrveaedvgyycwqgthfpgtfgggtkvei k	346
EGFR vIII	huscFv4	Dvmtqspslpvtlgqpasisckssqslldsdgktylnwlqrrpgqsprrlislvskldsgvp drfsgsgsgtdftlkisrveaedvgyycwqgthfpgtfgggtkveikggggsgggsggg gsggggseiqlvqsgaevkkpgeslriskgsgfniedyyihwvrmpgkglewmgrid pendetkygpifqghvtisadtsintvylqwsslkasdtamyycfrggyvwygqgtvtvss	347
EGFR vIII	huscFv5	Eiqlvqsgaevkkpgatvkisckgsgfniedyyihwvqqapgkglewmgridpendetk ygpifqgrvitadtsntvymelsslrsedtavyycfrggyvwygqgtvtvssggggsggg gsgggsggggsdvmtqspslpvtlgqpasisckssqslldsdgktylnwlqrrpgqs prrlislvskldsgvpdrfsgsgsgtdftlkisrveaedvgyycwqgthfpgtfgggtkveik	348
EGFR vIII	huscFv6	Eiqlvqsgaevkkpgeslriskgsgfniedyyihwvrmpgkglewmgridpendetk ygpifqghvtisadtsintvylqwsslkasdtamyycfrggyvwygqgtvtvssggggsg ggggsggggsdvmtqspdslavslgeratinckssqslldsdgktylnwlqqkpg	349

[0398]

		qppkrlislvskldsgvpdrfsgsgsgtdftlisslqaedvavyycwqgthfpgtfgggtkveik	
EGFR VIII	huscFv7	Dvmtqspdslavslgeratinckssqslldsdgktylnwlqkpgqppkrlislvskldsgvpdrfsgsgsgtdftlisslqaedvavyycwqgthfpgtfgggtkveikggggsgggsgggsggggseiqlvqsgaevkpkgeslriskgsgfniedyyihwvrqmpgkglewmgridpendetkygpifqghvtisadtsintvylqwsslkasdtamyycafrggvywgqgtvtvss	350
EGFR VIII	huscFv8	Dvmtqspplslpvtlqgpasisckssqslldsdgktylnwlqqrpgqsprrlislvskldsgvpdrfsgsgsgtdftlkisrveaedvgvyycwqgthfpgtfgggtkveikggggsgggsgggsggggseiqlvqsgaevkpkgatvksckgsgfniedyyihwvqqapgkglewmgridpendetkygpifqgrvtitadtstntvymelssrsedtavyycfrggvywgqgtvtvss	351
EGFR VIII	Mu310C	eiqlqsgaelvkpgasvksctgsgfniedyyihwvqrteagglewgridpendetkygpifqgratitadtsntvylqsltsedtavyycfrggvywgpgttlvssggggsgggsgggshmdvmtqsppltsvaigqsasisckssqslldsdgktylnwlqrpqgspkrlislvskldsgvpdrftgsgsgtdftlrisrveaedlgiycwqgthfpgtfgggtkleik	352
Claudin6	muMAB 64A	EVQLQQSGPELVKPGASMKISCKASGYSFTGYTMNWVKQSHGKNLEWIGLINPYNGGTIYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARDYGFVLDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGGSGGGSGGGGSQIVLTQSPSISMSVSPGEKVTITCSASSSVSYMHWFQQKPGTSPKLCIYSTSNLASGVPARFSGRGSSTSYSLTISRVAEDAATYYCQQRSNYPPWTFGGGTKLEIK	353
Claudin6	mAb206-LCC	EVQLQQSGPELVKPGASMKISCKASGYSFTGYTMNWVKQSHGKNLEWIGLINPYNGGTIYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARDYGFVLDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGGSGGGSGGGGSQIVLTQSPAIMSASPGEKVTITCSASSSVSYLHWFQQKPGTSPKLWVYSTSNLPSGVPARFSGSGSGSTSYSLTISRMEEDAATYYCQQRSIYPPWTFGGGTKLEIK	354
Claudin6	mAb206-SUBG	EVQLQQSGPELVKPGASMKISCKASGYSFTGYTMNWVKQSHGKNLEWIGLINPYNGGTIYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARDYGFVLDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGGSGGGSGGGGSQIVLTQSPSISMSVSPGEKVTITCSASSSVSYMHWFQQKPGTSPKLGISTSNLASGVPARFSGRGSSTSYSLTISRVAEDAATYYCQQRSNYPPWTFGGGTKLEIK	355

[0399] 在一个实施方案中,EGFR_{vIII}结合结构域包含本文所述(例如,表6中提供)的EGFR_{vIII}结合结构域的一个或多个(例如,全部三个)轻链互补决定区1(LC CDR1)、轻链互补决定区2(LC CDR2)和轻链互补决定区3(LC CDR3)、和/或本文所述(例如,表6中提供)的EGFR_{vIII}结合结构域的一个或多个(例如,全部三个)重链互补决定区1(HC CDR1)、重链互补决定区2(HC CDR2)和重链互补决定区3(HC CDR3)。

[0400] 在一个实施方案中,EGFR_{vIII}结合结构域包含本文(例如,表6中)所述的轻链可变区和/或本文(例如,表6中)所述的重链可变区。在一个实施方案中,EGFR_{vIII}结合结构域是包含表6中列出的氨基酸序列的轻链和重链的scFv。在一个实施方案中,EGFR_{vIII}结合结构域(例如,scFv)包含:轻链可变区,所述轻链可变区包含下述氨基酸序列,所述氨基酸序列具有至少一个、两个或三个在表6中提供的轻链可变区的氨基酸序列的修饰(例如,置换,例如保守性置换),但不多于30、20或10个修饰(例如,置换,例如保守性置换),或包含与表6中提供的氨基酸序列具有95-99%同一性的序列;和/或重链可变区,所述重链可变区包含下述氨基酸序列,所述氨基酸序列具有至少一个、两个或三个在表6中提供的重链可变区的氨基酸序列的修饰(例如,置换,例如保守性置换),但不多于30、20或10个修饰(例如,置换,例如保守性置换),或包含与表6中提供的氨基酸序列具有95-99%同一性的序列。

[0401] 在一个实施方案中,EGFRvIII结合结构域包含选自SEQ ID NO:344-352中任一项的氨基酸序列;或相对于前述任何序列具有至少一个、两个或三个修饰(例如,置换,例如,保守性置换)但不多于30、20或10个修饰(例如,置换,例如,保守性置换)的氨基酸序列;或与前述任何序列具有95-99%同一性的序列。在一个实施方案中,EGFRvIII结合结构域是scFv,并且包含本文(例如,表6中)所述的氨基酸序列的轻链可变区经接头(例如,本文所述的接头)与包含本文(例如,表6中)所述的氨基酸序列的重链可变区连接。在一个实施方案中,EGFRvIII结合结构域包含(Gly₄-Ser)_n接头,其中n是1、2、3、4、5或6、优选地4(SEQ ID NO:967)。scFv的轻链可变区和重链可变区可以例如处于以下任何取向:轻链可变区-接头-重链可变区或重链可变区-接头-轻链可变区。

[0402] 在一个实施方案中,紧密连接蛋白-6结合结构域包含本文所述(例如,表6中提供)的紧密连接蛋白-6结合结构域的一个或多个(例如,全部三个)轻链互补决定区1(LC CDR1)、轻链互补决定区2(LC CDR2)和轻链互补决定区3(LC CDR3)、和/或本文所述(例如,表6中提供)的紧密连接蛋白-6结合结构域的一个或多个(例如,全部三个)重链互补决定区1(HC CDR1)、重链互补决定区2(HC CDR2)和重链互补决定区3(HC CDR3)。

[0403] 在一个实施方案中,紧密连接蛋白-6结合结构域包含本文(例如,表6中)所述的轻链可变区和/或本文(例如,表6中)所述的重链可变区。在一个实施方案中,紧密连接蛋白-6结合结构域是包含表6中列出的氨基酸序列的轻链和重链的scFv。在一个实施方案中,紧密连接蛋白-6结合结构域(例如,scFv)包含:轻链可变区,所述轻链可变区包含下述氨基酸序列,所述氨基酸序列具有至少一个、两个或三个在表6中提供的轻链可变区的氨基酸序列的修饰(例如,置换,例如保守性置换),但不多于30、20或10个修饰(例如,置换,例如保守性置换),或包含与表6中提供的氨基酸序列具有95-99%同一性的序列;和/或重链可变区,所述重链可变区包含下述氨基酸序列,所述氨基酸序列具有至少一个、两个或三个在表6中提供的重链可变区的氨基酸序列的修饰(例如,置换,例如保守性置换),但不多于30、20或10个修饰(例如,置换,例如保守性置换),或包含与表6中提供的氨基酸序列具有95-99%同一性的序列。

[0404] 在一个实施方案中,紧密连接蛋白-6结合结构域包含选自SEQ ID NO:353-355中任一项的氨基酸序列;或相对于前述任何序列具有至少一个、两个或三个修饰(例如,置换,例如,保守性置换)但不多于30、20或10个修饰(例如,置换,例如,保守性置换)的氨基酸序列;或与前述任何序列具有95-99%同一性的序列。在一个实施方案中,紧密连接蛋白-6结合结构域是scFv,并且包含本文(例如,表6中)所述的氨基酸序列的轻链可变区经接头(例如,本文所述的接头)与包含本文(例如,表6中)所述的氨基酸序列的重链可变区连接。在一个实施方案中,紧密连接蛋白-6结合结构域包含(Gly₄-Ser)_n接头,其中n是1、2、3、4、5或6、优选地4(SEQ ID NO:967)。scFv的轻链可变区和重链可变区可以例如处于以下任何取向:轻链可变区-接头-重链可变区或重链可变区-接头-轻链可变区。

[0405] 在一个实施方案中,针对GD2的抗原结合结构域是在例如Mujoo等人,Cancer Res.47(4):1098-1104(1987);Cheung等人,Cancer Res 45(6):2642-2649(1985);Cheung等人,J Clin Oncol 5(9):1430-1440(1987);Cheung等人,J Clin Oncol 16(9):3053-3060(1998);Handgretinger等人,Cancer Immunol Immunother 35(3):199-204(1992)中描述的抗体的抗原结合部分,例如,CDR。在一些实施方案中,针对GD2的抗原结合结构域是

选自mAb 14.18、14G2a、ch14.18、hu14.18、3F8、hu3F8、3G6、8B6、60C3、10B8、ME36.1和8H9的抗体的抗原结合部分,参见,例如W02012033885、W02013040371、W02013192294、W02013061273、W02013123061、W02013074916和W0201385552。在一些实施方案中,针对GD2的抗原结合结构域是在美国公开号20100150910或PCT公开号W0 2011160119中描述的抗体的抗原结合部分。

[0406] 在一个实施方案中,针对Tn抗原、sTn抗原、Tn-O-糖肽抗原或sTn-O-糖肽抗原的抗原结合结构域是在例如US 2014/0178365、US8,440,798、EP 2083868 A2、Brooks等人,PNAS107(22):10056-10061(2010)和Stone等人,OncoImmunology 1(6):863-873(2012)中描述的抗体的抗原结合部分,例如,CDR。

[0407] 在一个实施方案中,针对PSMA的抗原结合结构域是在例如Parker等人,Protein Expr Purif 89(2):136-145(2013)、US 20110268656(J591ScFv);Frigerio等人,European J Cancer 49(9):2223-2232(2013)(scFvD2B);W0 2006125481(mAb 3/A12、3/E7和3/F11)和单链抗体片段(scFv A5和D7)中描述的抗体的抗原结合部分,例如,CDR。

[0408] 在一个实施方案中,针对CD97的抗原结合结构域是在例如US6,846,911;de Groot等人,J.Immunol 183(6):4127-4134(2009)中描述的抗体的或来自R&D的抗体MAB3734的抗原结合部分,例如,CDR。

[0409] 在一个实施方案中,针对TAG72的抗原结合结构域是在例如Hombach等人,Gastroenterology 113(4):1163-1170(1997)中描述的抗体和Abcam ab691的抗原结合部分,例如,CDR。

[0410] 在一个实施方案中,针对CD44v6的抗原结合结构域是在例如Casucci等人,Blood 122(20):3461-3472(2013)中描述的抗体的抗原结合部分,例如,CDR。

[0411] 在一个实施方案中,针对CEA的抗原结合结构域是在例如Chmielewski等人,Gastroenterology 143(4):1095-1107(2012)中描述的抗体的抗原结合部分,例如,CDR。

[0412] 在一个实施方案中,针对EPCAM的抗原结合结构域是选自MT110、EpCAM-CD3双特异性Ab(参见,例如,clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00635596);依决洛单抗;3622W94;ING-1;和阿德木单抗(MT201)的抗体的抗原结合部分,例如,CDR。

[0413] 在一个实施方案中,针对KIT的抗原结合结构域是在例如US7915391、US20120288506和几种商业目录抗体中描述的抗体的抗原结合部分,例如,CDR。

[0414] 在一个实施方案中,针对IL-13Ra2的抗原结合结构域是在例如W02008/146911、W02004087758、几种商业目录抗体和W02004087758中描述的抗体的抗原结合部分,例如,CDR。

[0415] 在一个实施方案中,针对CD171的抗原结合结构域是在例如Hong等人,J Immunother 37(2):93-104(2014)中描述的抗体的抗原结合部分,例如,CDR。

[0416] 在一个实施方案中,针对PSCA的抗原结合结构域是在例如Morgenroth等人,Prostate 67(10):1121-1131(2007)(scFv 7F5);Nejatollahi等人,J of Oncology 2013(2013),article ID 839831(scFv C5-II);和美国专利公开号20090311181中描述的抗体的抗原结合部分,例如,CDR。

[0417] 在一个实施方案中,针对MAD-CT-2的抗原结合结构域是在例如PMID:2450952;US7635753中描述的抗体的抗原结合部分,例如,CDR。

[0418] 在一个实施方案中,针对叶酸受体 α 的抗原结合结构域是抗体IMGN853或在US20120009181;US4851332、LK26:US5952484中描述的抗体的抗原结合部分,例如,CDR。

[0419] 在一个实施方案中,针对ERBB2 (Her2/neu) 的抗原结合结构域是抗体曲妥珠单抗或帕妥珠单抗的抗原结合部分,例如,CDR。

[0420] 在一个实施方案中,针对MUC1的抗原结合结构域是抗体SAR566658的抗原结合部分,例如,CDR。

[0421] 在一个实施方案中,针对EGFR的抗原结合结构域是抗体西妥昔单抗、帕尼单抗、扎芦木单抗、尼妥珠单抗或马妥珠单抗的抗原结合部分,例如,CDR。

[0422] 在一个实施方案中,针对NCAM的抗原结合结构域是抗体克隆2-2B:MAB5324 (EMD Millipore) 的抗原结合部分,例如,CDR。

[0423] 在一个实施方案中,针对CAIX的抗原结合结构域是抗体克隆303123 (R&D Systems) 的抗原结合部分,例如,CDR。

[0424] 在一个实施方案中,针对Fos-相关抗原1的抗原结合结构域是抗体12F9 (Novus Biologicals) 的抗原结合部分,例如,CDR。

[0425] 在一个实施方案中,针对SSEA-4的抗原结合结构域是抗体MC813 (Cell Signaling) 或其他市售抗体的抗原结合部分,例如,CDR。

[0426] 在一个实施方案中,针对PDGFR- β 的抗原结合结构域是抗体Abcam ab32570的抗原结合部分,例如,CDR。

[0427] 在一个实施方案中,针对ALK的抗原结合结构域是在例如Mino-Kenudson等人, Clin Cancer Res 16 (5) :1561-1571 (2010) 中描述的抗体的抗原结合部分,例如,CDR。

[0428] 在一个实施方案中,针对聚唾液酸的抗原结合结构域是在例如Nagae等人, J Biol Chem 288 (47) :33784-33796 (2013) 中描述的抗体的抗原结合部分,例如,CDR。

[0429] 在一个实施方案中,针对PLAC1的抗原结合结构域是在例如Ghods等人, Biotechnol Appl Biochem 2013doi:10.1002/bab.1177中描述的抗体的抗原结合部分,例如,CDR。

[0430] 在一个实施方案中,针对GloboH的抗原结合结构域是抗体VK9的抗原结合部分或在例如,Kudryashov V等人, Glycoconj J. 15 (3) :243-9 (1998) ;Lou等人, Proc Natl Acad Sci USA 111 (7) :2482-2487 (2014) 中描述的抗体的抗原结合部分;Bremer E-G等人, J Biol Chem 259:14773-14777 (1984) 中描述MBr1的抗原结合部分。

[0431] 在一个实施方案中,针对NY-BR-1的抗原结合结构域是在例如Jager等人, Appl Immunohistochem Mol Morphol 15 (1) :77-83 (2007) 中描述的抗体的抗原结合部分,例如, CDR。

[0432] 在一个实施方案中,针对精子蛋白17的抗原结合结构域是在例如Song等人, Target Oncol 2013 Aug 14 (PMID:23943313) ;Song等人, Med Oncol 29 (4) :2923-2931 (2012) 中描述的抗体的抗原结合部分,例如,CDR。

[0433] 在一个实施方案中,针对TRP-2的抗原结合结构域是在例如Wang等人, J Exp Med. 184 (6) :2207-16 (1996) 中描述的抗体的抗原结合部分,例如,CDR。

[0434] 在一个实施方案中,针对CYP1B1的抗原结合结构域是在例如Maecker等人, Blood 102 (9) :3287-3294 (2003) 中描述的抗体的抗原结合部分,例如,CDR。

[0435] 在一个实施方案中,针对RAGE-1的抗原结合结构域是抗体MAB5328 (EMD Millipore)的抗原结合部分,例如,CDR。

[0436] 在一个实施方案中,针对人端粒酶逆转录酶的抗原结合结构域是抗体目录号LS-B95-100 (Lifespan Biosciences)的抗原结合部分,例如,CDR。

[0437] 在一个实施方案中,针对肠道的羧基酯酶的抗原结合结构域是抗体4F12 (目录号LS-B6190-50 (Lifespan Biosciences))的抗原结合部分,例如,CDR。

[0438] 在一个实施方案中,针对mut hsp70-2的抗原结合结构域是抗体Lifespan Biosciences:单克隆:目录号:LS-C133261-100 (Lifespan Biosciences)的抗原结合部分,例如,CDR。

[0439] 在一个实施方案中,针对MAD-CT-2的抗原结合结构域是在例如PMID:2450952; US7635753中描述的抗体的抗原结合部分,例如,CDR。

[0440] 在一个实施方案中,抗原结合结构域包含一个、二个、三个(例如,全部三个)来自上文所列抗体的重链CDR、HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3,和/或一个、二个、三个(例如,全部三个)来自上文所列抗体的轻链CDR、LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3。在一个实施方案中,抗原结合结构域包含上文所列抗体的重链可变区和/或可变轻链区。

[0441] 在一些实施方案中,CAR的抗原结合结构域靶向肿瘤抗原,其是在髓系肿瘤上表达的抗原(或是表面抗原或由MHC呈递),并且包含这种CAR的细胞识别髓系肿瘤抗原。

[0442] 在一个实施方案中,髓系肿瘤抗原是在髓系肿瘤细胞表面上偏好或特异性表达的抗原。

[0443] 在一个实施方案中,可以如此选择CAR的抗原结合结构域,从而靶向髓系肿瘤群体。备选地,当需要靶向多于一个类型的髓系肿瘤时,可以选择靶向这样的髓系肿瘤抗原的抗原结合结构域,所述髓系肿瘤抗原由多于一种(例如,全部)待靶向的髓系肿瘤表达。

[0444] CAR可以靶向以下额外的肿瘤抗原:CD123、CD34、Flt3、CD33和CLL-1。在实施方案中,肿瘤抗原选自CD123、CD33和CLL-1。在一些实施方案中,肿瘤抗原是CD123。在一些实施方案中,肿瘤抗原是CD33。在一些实施方案中,肿瘤抗原是CD34。在一些实施方案中,肿瘤抗原是Flt3。在实施方案中,肿瘤抗原是CLL-1。在实施方案中,抗原结合结构域靶向人抗原。

[0445] 在一个方面,CAR的抗原结合结构域与CD123(例如,人CD123)结合。可以在本发明中使用任何已知的CD123结合结构域。在一个实施方案中,针对CD123的抗原结合结构域是在例如PCT公开W02014/130635中描述的抗体、抗原结合片段或CAR的抗原结合部分,例如,CDR或VH和VL。在一个实施方案中,针对CD123的抗原结合结构域是在例如PCT公开W0/2016/028896中描述的抗体、抗原结合片段或CAR的抗原结合部分,例如,CDR或VH和VL。在一个实施方案中,针对CD123的抗原结合结构域是在例如PCT公开W01997/024373、W02008/127735(例如,26292、32701、37716或32703的CD123结合结构域)、W02014/138805(例如,CSL362的CD123结合结构域)、W02014/138819、W02013/173820、W02014/144622、W02001/66139、W02010/126066(例如,01d4、01d5、01d17、01d19、New102或01d6的任一者的CD123结合结构域)、W02014/144622、W02016/028896或US2009/0252742中描述的抗体、抗原结合片段或CAR的抗原结合部分,例如,CDR。在实施方案中,抗原结合结构域是或衍生自鼠抗人CD123结合结构域。在实施方案中,抗原结合结构域是人源化抗体或抗体片段,例如,scFv结构域。在一个实施方案中,抗原结合结构域是与人CD123结合的人抗体或抗体片段。在实施

方案中,抗原结合结构域是包含轻链可变区(VL)和重链可变区(VH)的scFv结构域。VL和VH可以由本文所述的例如包含序列GGGSGGGSGGGGS(SEQ ID NO:30)的接头连接,并且可以处于例如任何取向:VL-接头-VH或VH-接头-VL。

[0446] 在一些实施方案中,与CD123结合的抗原结合结构域是scFv结构域。在一些实施方案中,与CD123结合的抗原结合结构域是鼠scFv结构域。在一个实施方案中,与CD123结合的抗原结合结构域是人或人源化scFv结构域。表19中提供与CLDN6结合的示例性scFv结构域(及其序列)。表19中提供的scFv结构域序列包括轻链可变区(VL)和重链可变区(VH)。VL和VH由包含序列GGGSGGGSGGGSGGGGS(SEQ ID NO:29)的接头例如按以下方向连接:VL-接头-VH。在一个实施方案中,CD123结合结构域包含选自SEQ ID NO:751、756、761或766中任一者的氨基酸序列;或相对于前述任何序列具有至少一个、两个或三个修饰(例如,置换,例如,保守性置换)但不多于30、20或10个修饰(例如,置换,例如,保守性置换)的氨基酸序列;或与选自SEQ ID NO:751、756、761或766中任一者的氨基酸序列具有95-99%同一性的序列。

[0447] 在一个方面,CAR的抗原结合结构域与CD33(例如,人CD33)结合。可以在本发明中使用任何已知的CD33结合结构域。在一个实施方案中,针对CD33的抗原结合结构域是在例如PCT公开W02016/014576或美国专利公开2016-0096892-A1中描述的抗体、抗原结合片段或CAR的抗原结合部分,例如,CDR或VH和VL,所述文献的内容完整并入本文。在一个实施方案中,针对CD33的抗原结合结构域是吉妥单抗(Gemtuzumab ozogamicin)的或衍生自其中的抗原结合部分(例如,包含抗原结合结构域,所述抗原结合结构域包含吉妥单抗(先前作为Mylotarg销售)的重链可变结构域的一个或多个(例如,一个、二个或三个)CDR和/或轻链可变结构域的一个或多个(例如,的一个、二个或三个)CDR或scFv序列的VH或VL或scFv序列),例如,Bross等人,Clin Cancer Res 7(6):1490-1496(2001)(Gemtuzumab Ozogamicin,hp67.6)。在一个实施方案中,针对CD33的抗原结合结构域是由GenBank参考号AM402974.1编码的scFv序列的或衍生自其中的抗原结合部分(例如,包含抗原结合结构域,所述抗原结合结构域包含重链可变结构域的一个或多个(例如,一个、二个或三个)CDR和/或轻链可变结构域的一个或多个(例如,一个、二个或三个)CDR,或VH或VL或scFv序列)(参见,Wang等人,Mol. Ther., vol. 23:1, pp. 184-191(2015),所述文献因而通过引用的方式并入)。在一个实施方案中,针对CD33的抗原结合结构域是在例如Caron等人,Cancer Res 52(24):6761-6767(1992)(林妥珠单抗(Lintuzumab),HuM195)、Lapusan等人,Invest New Drugs 30(3):1121-1131(2012)(AVE9633)、Aigner等人,Leukemia 27(5):1107-1115(2013)(AMG330,CD33BiTE)、Dutour等人,Adv hematol 2012:683065(2012)和Pizzitola等人,Leukemia doi:10.1038/Lue.2014.62(2014)中描述的抗体的抗原结合部分,例如,CDR。在实施方案中,抗原结合结构域是或衍生自鼠抗人CD33结合结构域。在实施方案中,抗原结合结构域是人源化抗体或抗体片段,例如,scFv结构域。在一个实施方案中,抗原结合结构域是与CD33结合的人抗体或抗体片段。在实施方案中,抗原结合结构域是包含轻链可变区(VL)和重链可变区(VH)的scFv结构域。VL和VH可以由本文所述的例如包含序列GGGSGGGSGGGGS(SEQ ID NO:30)的接头连接,并且可以处于例如任何取向:VL-接头-VH或VH-接头-VL。

[0448] 在一个方面,CAR的抗原结合结构域与CLL-1(例如,人CLL-1)结合。可以在本发明

中使用任何已知的CLL-1结合结构域。在一个实施方案中,针对CLL-1的抗原结合结构域是在例如PCT公开W02016/014535或美国专利公开2016-0051651-A1中描述的抗体、抗原结合片段或CAR的抗原结合部分,例如,CDR或VH和VL,所述文献的内容完整并入本文。在一个实施方案中,针对CLL-1的抗原结合结构域是从R&D、ebiosciences、Abcam可获得的抗体(例如PE-CLL1-hu目录号353604 (BioLegend);和PE-CLL1 (CLEC12A) 目录号562566 (BD))的抗原结合部分,例如,CDR。在实施方案中,抗原结合结构域是或衍生自鼠抗人CLL-1结合结构域。在实施方案中,抗原结合结构域是人源化抗体或抗体片段,例如,scFv结构域。在一个实施方案中,抗原结合结构域是与人CLL-1结合的人抗体或抗体片段。在实施方案中,抗原结合结构域是包含轻链可变区(VL)和重链可变区(VH)的scFv结构域。VL和VH可以由本文所述的例如包含序列GGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:30)的接头连接,并且可以处于例如任何取向:VL-接头-VH或VH-接头-VL。

[0449] 在一些实施方案中,CAR的抗原结合结构域靶向B-细胞抗原。在一个实施方案中,B细胞抗原是在B细胞表面上偏好或特异性表达的抗原。抗原可以表达在以下类型的B细胞的任一者的表面上:祖先B细胞(例如,前B细胞或原B细胞),早期原B细胞、晚期原B细胞、大前B细胞、小前B细胞、不成熟B细胞,例如,初始B细胞、成熟B细胞、浆(plasma)B细胞、浆母细胞、记忆型B细胞、B-1细胞、B-2细胞、边缘区B细胞、滤泡B细胞、生发中心B细胞或调节性B细胞(Bregs)。

[0450] 本公开提供可以靶向以下抗原的sCAR:CD19;CD123;CD22;CD30;CD171;CS-1;C型凝集素样分子-1;CD33;表皮生长因子受体变体III(EGFRvIII);神经节苷脂G2(GD2);神经节苷脂GD3;TNF受体家族成员B细胞成熟(BCMA);Tn抗原((Tn Ag)或(GalNAc α -Ser/Thr));前列腺特异性膜抗原(PSMA);受体酪氨酸激酶样孤儿受体1(ROR1);Fms样酪氨酸激酶3(FLT3);肿瘤相关糖蛋白72(TAG72);CD38;CD44v6;癌胚抗原(CEA);上皮细胞黏附分子(EPCAM);B7H3(CD276);KIT(CD117);白介素-13受体亚基 α -2;间皮素;白介素11受体 α (IL-11Ra);前列腺干细胞抗原(PSCA);蛋白酶丝氨酸21;血管内皮生长因子受体2(VEGFR2);Lewis(Y)抗原;CD24;血小板衍生生长因子受体 β (PDGFR- β);阶段特异性胚胎抗原-4(SSEA-4);CD20;叶酸受体 α ;受体酪氨酸-蛋白激酶ERBB2(Her2/neu);细胞表面相关黏蛋白1(MUC1);表皮生长因子受体(EGFR);神经细胞黏附分子(NCAM);Prostate;前列腺酸性磷酸酶(PAP);突变的延伸因子2(ELF2M);肝配蛋白B2;成纤维细胞活化蛋白 α (FAP);胰岛素样生长因子1受体(IGF-I受体),碳酸酐酶IX(CAIX);蛋白酶体(蛋白酶体,巨蛋白因子)亚基B型9(LMP2);糖蛋白100(gp100);由断点簇集区(BCR)和Abelson鼠白血病病毒癌基因同源物1(Ab1)组成的癌基因融合蛋白(bcr-ab1);酪氨酸酶;肝配蛋白A型受体2(EphA2);岩藻糖基GM1;唾液酰Lewis黏附分子(sLe);神经节苷脂GM3;转谷氨酰胺酶5(TGS5);高分子量-黑素瘤相关抗原(HMWMAA);o-乙酰基-GD2神经节苷脂(OAcGD2);叶酸受体 β ;肿瘤内皮标志物1(TEM1/CD248);肿瘤内皮标志物7相关(TEM7R);紧密连接蛋白6(CLDN6);促甲状腺激素受体(TSHR);G蛋白偶联受体C类第5群成员D(GPRC5D);染色体X可读框61(CXORF61);CD97;CD179a;间变性淋巴瘤激酶(ALK);聚唾液酸;胎盘特异性1(PLAC1);globoH glycosphingolipid的己糖部分(GloboH);乳腺分化抗原(NY-BR-1);尿路上皮分化特异糖蛋白(uroplakin)2(UPK2);甲型肝炎病毒细胞受体1(HAVCR1);肾上腺素受体 β 3(ADRB3);泛连接蛋白(pannexin)3(PANX3);G蛋白偶联受体20(GPR20);淋巴细胞抗原6复合体基因座K9(LY6K);

嗅觉受体51E2 (OR51E2); TCR γ 可变可读框蛋白 (TARP); Wilms肿瘤蛋白 (WT1); 癌症/睾丸抗原1 (NY-ESO-1); 癌症/睾丸抗原2 (LAGE-1a); 黑素瘤相关抗原1 (MAGE-A1); 位于第12p号染色体上的ETS转位变体基因6 (ETV6-AML); 精子蛋白17 (SPA17); X抗原家族成员1A (XAGE1); 血管生成素结合性细胞表面受体2 (Tie 2); 黑素瘤癌症睾丸抗原-1 (MAD-CT-1); 黑素瘤癌症睾丸抗原-2 (MAD-CT-2); Fos相关抗原1; 肿瘤蛋白p53 (p53); p53突变体; 前列腺特异性蛋白 (prostein); 存活; 端粒酶; 前列腺癌肿瘤抗原-1; T细胞识别的黑素瘤抗原1; 大鼠肉瘤 (Ras) 突变体; 人端粒酶逆转录酶 (hTERT); 肉瘤易位断点; 黑素瘤凋亡抑制蛋白 (ML-IAP); ERG (跨膜蛋白酶, 丝氨酸2 (TMPRSS2) ETS融合基因); N-乙酰葡萄糖胺基转移酶V (NA17); 配对的框蛋白Pax-3 (PAX3); 雄激素受体; 细胞周期蛋白B1; v-myc鸟髓细胞增多症病毒癌基因神经母细胞瘤衍生的同源物 (MYCN); Ras同源物家族成员C (RhoC); 酪氨酸酶相关蛋白2 (TRP-2); 细胞色素P450 1B1 (CYP1B1); CCCTC-结合因子 (锌指蛋白) 样、由T细胞识别的鳞状细胞癌抗原3 (SART3); 配对的框蛋白Pax-5 (PAX5); 前顶体蛋白结合蛋白sp32 (OY-TES1); 淋巴细胞特异性蛋白质酪氨酸激酶 (LCK); A激酶锚定蛋白4 (AKAP-4); 滑膜肉瘤X断点2 (SSX2); 高级糖基化终末产物的受体 (RAGE-1); 肾遍在1 (RU1); 肾遍存2 (RU2); 豆荚蛋白 (legumain); 人乳头瘤病毒E6 (HPV E6); 人乳头瘤病毒E7 (HPV E7); 肠羧基酯酶; 突变的热休克蛋白70-2 (mut hsp70-2); CD79a; CD79b; CD72; 白细胞相关免疫球蛋白样受体1 (LAIR1); IgA受体的Fc片段 (FCAR或CD89); 白细胞免疫球蛋白样受体亚家族A成员2 (LILRA2); CD300分子样家族成员f (CD300LF); C型凝集素结构域家族12成员A (CLEC12A); 骨髓间质细胞抗原2 (BST2); 含有EGF样模块的黏蛋白样激素受体样2 (EMR2); 淋巴细胞抗原75 (LY75); 磷脂酰基醇蛋白聚糖-3 (GPC3); Fc受体样5 (FCRL5); 免疫球蛋白 λ 样多肽1 (IGLL1); TNF受体家族成员; Fms样酪氨酸激酶3 (FL T3); CD10、CD19、CD20、CD21、CD22、CD23、CD24、CD25、CD37、CD38、CD53、CD72、CD73、CD74、CD75、CD77、CD79a、CD79b、CD80、CD81、CD82、CD83、CD84、CD85、ROR1、BCMA、CD86和CD179b。可以由本文所述的CAR靶向的其他B细胞抗原包括: CD1a、CD1b、CD1c、CD1d、CD2、CD5、CD6、CD9、CD11a、CD11b、CD11c、CD17、CD18、CD26、CD27、CD29、CD30、CD31、CD32a、CD32b、CD35、CD38、CD39、CD40、CD44、CD45、CD45RA、CD45RB、CD45RC、CD45RO、CD46、CD47、CD48、CD49b、CD49c、CD49d、CD50、CD52、CD54、CD55、CD58、CD60a、CD62L、CD63、CD63、CD68CD69、CD70、CD85E、CD85I、CD85J、CD92、CD95、CD97、CD98、CD99、CD100、CD102、CD108、CD119、CD120a、CD120b、CD121b、CD122、CD124、CD125、CD126、CD130、CD132、CD137、CD138、CD139、CD147、CD148、CD150、CD152、CD162、CD164、CD166、CD167a、CD170、CD175、CD175s、CD180、CD184、CD185、CD192、CD196、CD197、CD200、CD205、CD210a、CDw210b、CD212、CD213a1、CD213a2、CD215、CD217、CD218a、CD218b、CD220、CD221、CD224、CD225、CD226、CD227、CD229、CD230、CD232、CD252、CD253、CD257、CD258、CD261、CD262、CD263、CD264、CD267、CD268、CD269、CD270、CD272、CD274、CD275、CD277、CD279、CD283、CD289、CD290、CD295、CD298、CD300a、CD300c、CD305、CD306、CD307a、CD307b、CD307c、CD307d、CD307e、CD314、CD315、CD316、CD317、CD319、CD321、CD327、CD328、CD329、CD338、CD351、CD352、CD353、CD354、CD355、CD357、CD358、CD360、CD361、CD362和CD363。

[0451] 在另一个实施方案中, 由CAR靶向的抗原选自CD19、BCMA、CD20、CD22、FcRn5、FcRn2、CS-1和CD138。在一个实施方案中, 由CAR靶向的抗原是CD19。在一个实施方案中, 由CAR靶向的抗原是CD20。在一个实施方案中, 由CAR靶向的抗原是CD22。在一个实施方案中,

由CAR靶向的抗原是BCMA。在一个实施方案中,由CAR靶向的抗原是FcRn5。在一个实施方案中,由CAR靶向的抗原是FcRn2。在一个实施方案中,由CAR靶向抗原是CS-1。在一个实施方案中,由CAR靶向的抗原是CD138。

[0452] 在一个实施方案中,可以如此选择CAR(例如,本发明细胞(例如,还表达CAR的细胞)表达的CAR)的抗原结合结构域,从而靶向优选的B细胞群体。例如,在需要靶向调节性B细胞的一个实施方案中,选择这样的抗原结合结构域,其靶向在调节性B细胞上表达且不在其他B细胞群体(例如,血浆B细胞和记忆型B细胞)上表达的抗原。在调节性B细胞上表达的细胞表面标志物包括:CD19、CD24、CD25、CD38或CD86或在He等人,2014,J Immunology Research,Article ID 215471中描述的标志物。备选地,当需要靶向多于一个类型的B细胞时,可以选择靶向抗原的抗原结合结构域,所述抗原由全部待靶向的B细胞表达。

[0453] 在一个实施方案中,CAR(例如,本发明细胞表达的CAR)的抗原结合结构域与CD19结合。CD19存在于原/前B细胞阶段至终末分化型浆细胞阶段的整个谱系分化期间的B细胞上。在一个实施方案中,抗原结合结构域是与人CD19(例如,CTL019)结合的鼠scFv结构域(例如,SEQ ID NO:356)。在一个实施方案中,抗原结合结构域是衍生自鼠CTL019 scFv的人源化抗体或抗体片段,例如,scFv结构域。在一个实施方案中,抗原结合结构域是与人CD19结合的人抗体或抗体片段。表7和表15A中提供与CD19结合的示例性scFv结构域(及其序列,例如,CDR、VL和VH序列)。表7中提供的scFv结构域序列包括轻链可变区(VL)和重链可变区(VH)。VL和VH由包含序列GGGGSGGGSGGGGS(SEQ ID NO:30)的接头例如按以下方向连接:VL-接头-VH。

[0454] 表7. 结合CD19的抗原结合结构域

[0455]

抗原	名称	氨基酸序列	SEQ ID NO:
CD19	muCTL019	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLI YHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLP YTFGGGKLEITGGGGSGGGGSGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLS VTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYNSALKSR LTIKDNSKSKVFLKMNSLQTDDETAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQG TSVTVSS	356
CD19	huscFv1	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLI YHTSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLPEDFAVYFCQQGNTLPY TFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGVQLQESGPGLVKPSSETLSL TCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKLEWIGVIWGSETTYSSSLKSRV TISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQG TLVTVSS	357
CD19	huscFv2	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLI YHTSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLPEDFAVYFCQQGNTLPY TFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGVQLQESGPGLVKPSSETLSL TCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKLEWIGVIWGSETTYQSSSLKSRV TISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQG TLVTVSS	358
CD19	huscFv3	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKLE WIGVIWGSETTYSSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYY CAKHYYYGGSYAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIV MTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLIYH TSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLPEDFAVYFCQQGNTLPYTF GQGTKLEIK	359
CD19	huscFv4	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKLE WIGVIWGSETTYQSSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYY CAKHYYYGGSYAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIV MTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLIYH TSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLPEDFAVYFCQQGNTLPYTF	360

[0456]

		GQGTKLEIK	
CD19	huscFv5	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLI YHTSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPY TFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSQVQLQESGPGLVK PSETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWIGVIWGSETTYYS SSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAKHYYYGGSYAM DYWGQGTTLTVSS	361
CD19	huscFv6	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLI YHTSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPY TFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSQVQLQESGPGLVK PSETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWIGVIWGSETTYQ SSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAKHYYYGGSYAM DYWGQGTTLTVSS	362
CD19	huscFv7	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLE WIGVIWGSETTYSSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYY CAKHYYYGGSYAMDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSEIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKPGQAP RLLIYHTSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGN TLPYTFGQGTKLEIK	363
CD19	huscFv8	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLE WIGVIWGSETTYQSSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYY CAKHYYYGGSYAMDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSEIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKPGQAP RLLIYHTSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGN TLPYTFGQGTKLEIK	364
CD19	huscFv9	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLI YHTSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPY TFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSQVQLQESGPGLVK PSETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWIGVIWGSETTYN SSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAKHYYYGGSYAM DYWGQGTTLTVSS	365
CD19	Hu scFv10	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLE WIGVIWGSETTYNSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYY CAKHYYYGGSYAMDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSEIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKPGQAP RLLIYHTSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGN TLPYTFGQGTKLEIK	366
CD19	Hu scFv11	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLI YHTSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPY TFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSSQVQLQESGPGLVKPSETLSL TCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWIGVIWGSETTYNSSLKSRV TISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQ TLTVSS	367
CD19	Hu scFv12	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLE WIGVIWGSETTYNSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYY CAKHYYYGGSYAMDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIV MTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLIYH TSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPYTF GQGTKLEIK	368

[0457] 对于重链可变结构域,表8和表15B中显示表7中提供的CD19抗原结合结构域的 scFv结构域的CDR序列,并且对于轻链可变结构域,在表9和表15C中显示相应序列。“ID”代表每个CDR的相应SEQ ID NO。

[0458] 表8.重链可变结构域CDR

[0459]

描述	FW	HCDR1	SEQ ID NO	HCDR2	SEQ ID NO	HCDR3	SEQ ID NO
----	----	-------	-----------	-------	-----------	-------	-----------

[0460]

鼠_CART19		GVSLPDYGVV	369	VIWGSETTYNSALKS	370	HYYYGGSYAMDY	371
人源化_CART19 a	VH4	GVSLPDYGVV	369	VIWGSETTYSSSLKS	372	HYYYGGSYAMDY	371
人源化_CART19 b	VH4	GVSLPDYGVV	369	VIWGSETTYQSSLKS	373	HYYYGGSYAMDY	371
人源化_CART19 c	VH4	GVSLPDYGVV	369	VIWGSETTYNSSLKS	374	HYYYGGSYAMDY	371

[0461] 表9.轻链可变结构域CDR

[0462]

Description	FW	LCDR1	SEQ ID NO	LCDR2	SEQ ID NO	LCDR3	SEQ ID NO
鼠_CART19		RASQDISKYLN	375	HTSRLHS	376	QQGNTLPYT	377
人源化_CART19 a	VK3	RASQDISKYLN	375	HTSRLHS	376	QQGNTLPYT	377
人源化_CART19 b	VK3	RASQDISKYLN	375	HTSRLHS	376	QQGNTLPYT	377
人源化_CART19 c	VK3	RASQDISKYLN	375	HTSRLHS	376	QQGNTLPYT	377

[0463] 在一个实施方案中,抗原结合结构域包含抗CD19抗体或其片段,例如,scFv。例如,抗原结合结构域包含表10中列出的可变重链和可变轻链。连接可变重和可变轻链的接头序列可以是本文所述的任何接头序列,或备选地,可以是GSTSGSGKPGSGEGSTKG (SEQ ID NO: 378)。scFv的轻链可变区和重链可变区可以例如处于以下任何取向:轻链可变区-接头-重链可变区或重链可变区-接头-轻链可变区。

[0464] 表10.额外的抗CD19抗体结合结构域

[0465]

Ab 名称	VH 序列	VL 序列
SJ25-C1	QVQLLES GAELVRPGSSVKISCKASG YAFSSYWMNWKQRPQGQGLEWIGQI YPGDGDNTNYNGKFKGQATLTADKSS STAYMQLSGLTSEDSAVYSCARKTISS VVDYFDYWGQGT (SEQ ID NO: 379)	ELVLTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKASQN VGTNVAWYQQKPGQSPKPLIYSATYRNS GVPDRFTGSGSGTDFTLTITNVQSKDLA DYFYFCQYNRYPYTSGGGTKLEIKRRS (SEQ ID NO: 380)
	ScFv 序列	
SJ25-C1 scFv	QVQLLES GAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWKQRPQGQGLEWIGQIYPGD GDTNYNGKFKGQATLTADKSSSTAYMQLSGLTSEDSAVYSCARKTISSVVDYFDY WGQGT (SEQ ID NO: 381)	

[0466] 在一个实施方案中,CD19结合结构域包含本文所述(例如,表7或表9中提供)的CD19结合结构域的一个或多个(例如,全部三个)轻链互补决定区1(LC CDR1)、轻链互补决定区2(LC CDR2)和轻链互补决定区3(LC CDR3)、和/或本文所述(例如,表7或表8中提供)的CD19结合结构域的一个或多个(例如,全部三个)重链互补决定区1(HC CDR1)、重链互补决定区2(HC CDR2)和重链互补决定区3(HC CDR3)。在一个实施方案中,CD19结合结构域包含

如通过引用方式并入本文的表9中提供的任何氨基酸序列的LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3中一者、两者或全体；和如表8中提供的任何氨基酸序列的HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3中一者、两者或全体。

[0467] 在一个实施方案中，CD19结合结构域包含本文（例如，表7或表10中）所述的轻链可变区和/或本文（例如，表7或表10中）所述的重链可变区。在一个实施方案中，CD19结合结构域是包含表7或表10中列出的氨基酸序列的轻链和重链的scFv。在一个实施方案中，CD19结合结构域（例如，scFv）包含：轻链可变区，所述轻链可变区包含下述氨基酸序列，所述氨基酸序列具有至少一个、两个或三个在表7或表10中提供的轻链可变区的氨基酸序列的修饰（例如，置换，例如保守性置换），但不多于30、20或10个修饰（例如，置换，例如保守性置换），或包含与表7或表10中提供的氨基酸序列具有95-99%同一性的序列；和/或重链可变区，所述重链可变区包含下述氨基酸序列，所述氨基酸序列具有至少一个、两个或三个在表7或表10中提供的重链可变区的氨基酸序列的修饰（例如，置换，例如保守性置换），但不多于30、20或10个修饰（例如，置换，例如保守性置换），或包含与表7或表10中提供的氨基酸序列具有95-99%同一性的序列。

[0468] 在一个实施方案中，CD19结合结构域包含选自SEQ ID NO:356-368和381之任一的氨基酸序列；或相对于前述任何序列具有至少一个、两个或三个修饰（例如，置换，例如，保守性置换）但不多于30、20或10个修饰（例如，置换，例如，保守性置换）的氨基酸序列；或与前述任何序列具有95-99%同一性的序列。在一个实施方案中，CD19结合结构域是scFv，并且包含本文（例如，表7或表10中）所述的氨基酸序列的轻链可变区经接头（例如，本文所述的接头）与包含本文（例如，表7或表10中）所述的氨基酸序列的重链可变区连接。在一个实施方案中，CD19结合结构域包含(Gly₄-Ser)_n接头，其中n是1、2、3、4、5或6、优选地4（SEQ ID NO:967）。scFv的轻链可变区和重链可变区可以例如处于以下任何取向：轻链可变区-接头-重链可变区或重链可变区-接头-轻链可变区。

[0469] 本领域的任何已知CAR，例如，任何已知CAR的CD19抗原结合结构域，可以根据本发明用来构建CAR。例如，LG-740；在美国专利号8,399,645；美国专利号7,446,190；Xu等人，Leuk Lymphoma.2013 54(2):255-260(2012)；Cruz等人，Blood 122(17):2965-2973(2013)；Brentjens等人，Blood,118(18):4817-4828(2011)；Kochenderfer等人，Blood 116(20):4099-102(2010)；Kochenderfer等人，Blood 122(25):4129-39(2013)；和16th Annu Meet Am Soc Gen Cell Ther(ASGCT)(May 15-18,Salt Lake City)2013,Abst 10中描述的CAR。在一个实施方案中，针对CD19的抗原结合结构域是在例如PCT公开W02012/079000；PCT公开W02014/153270；Kochenderfer,J.N.等人，J.Immunother.32(7),689-702(2009)；Kochenderfer,J.N.等人，Blood,116(20),4099-4102(2010)；PCT公开W02014/031687；Bejcek,Cancer Research,55,2346-2351,1995；或美国专利号7,446,190中描述的CAR、抗体或其抗原结合片段的抗原结合部分，例如，CDR。

[0470] 在一个实施方案中，CAR（例如，本发明细胞表达的CAR）的抗原结合结构域与BCMA结合。发现BCMA偏好表达于成熟的B淋巴细胞中。在一个实施方案中，抗原结合结构域是与人BCMA结合的鼠scFv结构域。在一个实施方案中，抗原结合结构域是结合人BCMA的人源化抗体或抗体片段，例如，scFv结构域。在一个实施方案中，抗原结合结构域是与人BCMA结合的人抗体或抗体片段。表11、表12、表13和表14中提供与BCMA结合的示例性scFv结构域（及

其序列,例如,CDR、VL和VH序列)。表11和表12中提供的scFv结构域序列包括轻链可变区(VL)和重链可变区(VH)。VL和VH由接头例如按以下方向连接:VH-接头-VL。

[0471] 表11. 结合BCMA的抗原结合结构域

[0472] 还提供每个scFv的可变重链序列和可变轻链序列的氨基酸序列。

[0473]

名称/ 描述	SEQ ID NO:	序列
139109		
139109- aa ScFv 结构域	382	EVQLVESGGGLVQPGGSLRRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEW VSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSA HGGESDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIQLTQSPSSLS ASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLIYAASSLQSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIK
139109- nt	383	GAAGTGCAATTGGTGAATCAGGGGGAGGACTTGTGCAGCCTGGAG

[0474]

ScFv 结构域		GATCGCTGAGACTGTCATGTGCCGTGTCCGGCTTTGCCCTGTCCAAC CACGGGATGTCCTGGGTCCGCCGCGCCTGGAAAGGGCCTCGAAT GGGTGTCGGGTATTGTGTACAGCGGTAGCACCTACTATGCCGCATCC GTGAAGGGGAGATTACCATCAGCCGGGACAACCCAGGAACACTCT GTACCTCCAAATGAATTCGCTGAGGCCAGAGGACACTGCCATCTACT ACTGCTCCGCGCATGGCGGAGAGTCCGACGTCTGGGGACAGGGGA CCACCGTGACCGTGTCTAGCGCGTCCGGCGGAGGCGGCAGCGGGG GTCGGGCATCAGGGGGCGGCGGATCGGACATCCAGCTACCCAGTC CCCGAGCTCGCTGTCCGCCTCCGTGGGAGATCGGGTCACCATCACG TGCCGCGCCAGCCAGTCGATTTCTCTACCTGAAGTGGTACCAACA GAAGCCCGGAAAAGCCCCGAAGCTTCTCATCTACGCCGCCTCGAGC CTGCAGTCAGGAGTGCCTCACGGTTCTCCGGCTCCGGTTCCGGTA CTGATTTACCCTGACCATTTCTCCCTGCAACCCGAGGACTTCGCT ACTTACTACTGCCAGCAGTCGACTCCACCCCTACACTTTTCGGACAA GGCACCAAGGTCGAAATCAAG
139109- aa VH	384	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEW VSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSA HGGESDVWVGQTTVTVSS
139109- aa VL	385	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFG QGTKVEIK
139103		
139103- aa ScFv 结构域	386	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLGW VSGISRSGENTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRDEDTAVYYC ARSPAHHYGGMDVWGQTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIVLTQ SPGTLSPGERATLSCRASQSISSSFLAWYQQKPGQAPRLLIYGASRR ATGIPDRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDSAVYYCQQYHSSPSWTFGQGT KLEIK
139103- nt ScFv 结构域	387	CAAGTGCAACTCGTGAATCTGGTGGAGGACTCGTGCAACCCGGAA GATCGCTTAGACTGTCTGTGCCGCCAGCGGGTCACTTTCTCGAAC TACGCGATGTCCTGGGTCCGCCAGGCACCCGAAAGGGACTCGGTT GGGTGTCGGCATTTCCTGGTCCGCGGAAAATACCTACTACGCCGA CTCCGTGAAGGGCCGCTTACCATCTCAAGGGACAACAGCAAAAACA CCCTGTAATTGCAATGAAGTCCCTGCGGGATGAAGATACAGCCGTG TACTATTGCGCCCGTCCGCTGCCATTACTACGGCGGAATGGACGT CTGGGGACAGGGAACCACTGTGACTGTCAGCAGCGCGTCCGGTGGC GGCGGCTCAGGGGGTCCGGCCTCCGGGGGGGAGGGTCCGACATC GTGCTGACCCAGTCCCGGGAACCCTGAGCCTGAGCCCGGGAGAGC GCGGACCCTGTCATGCCGGGCATCCAGAGCATTAGCTCCTCTTT CTCGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGACAGGCCCGGAGGCTGCTGA TCTACGGCGCTAGCAGAAGGGCTACCGGAATCCCAGACCGGTTCTC CGGCTCCGGTTCCGGGACCGATTTCACCCTTACTATCTCGCGCCTGG AACCTGAGGACTCCGCCGTCTACTACTGCCAGCAGTACCACTCATCC CCGTGCTGGACGTTCCGACAGGGCACCAAGCTGGAGATTAAG
139103- aa VH	388	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLGW VSGISRSGENTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRDEDTAVYYC ARSPAHHYGGMDVWGQTTVTVSS
139103- aa VL	389	DIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSISSSFLAWYQQKPGQAPRLLIY GASRRATGIPDRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDSAVYYCQQYHSSPSWT FGQGTKLEIK
139105		
139105- aa ScFv 结构域	390	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEW VSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTALYYC SVHSFLAYWGQTLVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIVMTQTPLSLP VTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGNSRAS GVPDRFSGSGSGTDFLTKISRVEAEDVGVVYCMQALQTPYTFGQGTKV EIK
139105- nt ScFv 结构域	391	CAAGTGCAACTCGTGAATCCGGTGGAGGTCTGGTCCAACCTGGTAG AAGCCTGAGACTGTCTGTGCCGCCAGCGGATTCACCTTTGATGACT ATGCTATGCACTGGGTGCCGCCAGGCCCCAGGAAAGGGCCTGGAATG

[0475]

		GGTGTCCGGGAATTAGCTGGAACCTCCGGGTCCATTGGCTACGCCGAC TCCGTGAAGGGCCGCTTCACCATCTCCCGCGACAACGCAAAGAAGCTC CCTGTACTTGCAAATGAACTCGCTCAGGGCTGAGGATACCGCGCTGT ACTACTGCTCCGTGCATTCTTCTTGGCCTACTGGGGACAGGGAAGCT CTGGTCACCGTGTGAGCGCCTCCGGCGCGGGGGCTCGGGTGA CGGGCCTCGGGCGGAGGGGGTCCGACATCGTGATGACCCAGACC CCGCTGAGCTTGCCCGTGACTCCCGGAGAGCCTGCATCCATCTCT GCCGGTCATCCCAGTCCCTTCTCCACTCCAACGGATAACAACCTC GACTGGTACCTCCAGAAGCCGGGACAGAGCCCTCAGCTTCTGATCTA CCTGGGGTCAAATAGAGCCTCAGGAGTGCCGGATCGGTTAGCGGA TCTGGTTCGGGAAGTATTTCACTCTGAAGATTTCCCGCGTGGAAGC CGAGGACGTGGGCGTCTACTACTGTATGCAGGCGTGCAGACCCCC TATACCTTCGGCCAAGGGACGAAAGTGGAGATCAAG
139105- aa VH	392	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEW VSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYC SVHSFLAYWGQGLTVVSS
139105- aa VL	393	DIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSP QLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQ TPYTFGQGTKVEIK
139111		
139111- aa ScFv 结构域	394	EVQLLES GGGLVQP GGS LRLSCAVSGFALS NHGMSWVRRAPGKGLEW VSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDN SRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSA HGGESDVWGQGT TTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIVMTQTPLSLS VTPGQPASISCKSSQSLLRNDGKTPLYWYLQKAGQPPQLLIYEVS NRFS GVPDRFSGSGSDFTLTKISRVEAEDVGAYYCMQNIQFPSFGGGTKLEI K
139111- nt ScFv 结构域	395	GAAGTGCAATTGTTGGAATCTGGAGGAGGACTTGTGCAGCCTGGAG GATCACTGAGACTTTCGTGTGCGGTGTCAGGCTTCGCCCTGAGCAAC CACGGCATGAGCTGGGTGCGGAGAGCCCCGGGGAAGGGTCTGGAA TGGGTGTCCGGGATCGTCTACTCCGGTCAACTTACTACGCCGCAAG CGTGAAGGGTTCGCTTACCATTCCCGCGATAACTCCCGGAACACCC TGTACCTCAAATGAACTCCCTGCGGCCCGAGGACACCAGCCATCTAC TACTGTTCCGCGCATGGAGGAGAGTCCGATGTCTGGGGACAGGGCA CTACCGTGACCGTGTGAGCGCCTCGGGGGGAGGAGGCTCCGGCG GTCGCGCCTCCGGGGGGGGTGGCAGCGACATTGTGATGACGCAGA CTCCACTCTCGCTGTCCGTGACCCCGGGACAGCCCGCGTCCATCTC GTGCAAGAGCTCCAGAGCCTGCTGAGGAACGACGGAAGACTCCT CTGTATTGGTACCTCCAGAAGGCTGGACAGCCCCGCAACTGCTCAT CTACGAAGTGTCAAATCGCTTCTCCGGGGTGCCGGATCGGTTTTCCG GCTCGGGATCGGGCACCAGCTTACCCTGAAAATCTCCAGGGTCGA GGCCGAGGACGTGGGAGCCTACTACTGCATGCAAAACATCCAGTTCC CTTCTTCGGCGCGCGCACAAAGCTGGAGATTAAG
139111- aa VH	396	EVQLLES GGGLVQP GGS LRLSCAVSGFALS NHGMSWVRRAPGKGLEW VSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDN SRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSA HGGESDVWGQGT TTVVSS
139111- aa VL	397	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLRNDGKTPLYWYLQKAGQPP QLLIYEVS NRFSGVPDRFSGSGSDFTLTKISRVEAEDVGAYYCMQNIQF PSFGGGTKLEIK
139100		
139100- aa ScFv 结构域	398	QVQLVQSGAEVRKTGASVKVSCKASGYIFDNFGINWVRQAPGQGLEWM GWINPKNNNTNYAQKFQGRVTITADESTNTAYMEVSSLRSEDTAVYYCA RGPYYYQSYMDVWGQGTMTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIVMTQ TPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLHSNGYNYLNWYLQKPGQSPQLLIYLG SKRASGVPDRFSGSGSDFTLHITRVAEDVGVYYCMQALQTPYTFG QGTKLEIK
139100- nt ScFv 结构域	399	CAAGTCCAACCTCGTCCAGTCCGGCGCAGAAGTCAGAAAAACCGGTG CTAGCGTGAAAGTGTCTGCAAGGCCTCCGGCTACATTTTCGATAAC TTCGGAATCAACTGGGTGACAGAGGCCCGGGCCAGGGGCTGGAAT GGATGGGATGGATCAACCCCAAGAACAACAACCAACTACGCACAG AAGTTCCAGGGCCGCTGACTATCACCGCCGATGAATCGACCAATAC CGCCTACATGGAGGTGCTCCCTGCGGTGCGAGGACACTGCCGTG

[0476]

		TATTACTGCGCGAGGGGCCATACTACTACCAAAGCTACATGGACGT CTGGGGACAGGGAACCATGGTGACCGTGTTCATCCGCCTCCGGTGGT GGAGGCTCCGGGGGGCGGGCTTCAGGAGGCGGAGGAAGCGATATT GTGATGACCCAGACTCCGCTTAGCCTGCCCGTACTCCTGGAGAACC GGCCTCCATTTCTGCCGGTCCGCAATCACTCCTGCATTCCAACG GTTACAACCTACCTGAATTGGTACCTCCAGAAGCCTGGCCAGTCGCCC CAGTTGCTGATCTATCTGGGCTCGAAGCGCGCCTCCGGGGTGCCTG ACCGGTTTAGCGGATCTGGGAGCGGCACGGACTTACTCTCCACATC ACCCGCGTGGGAGCGGAGGACGTGGGAGTGTACTACTGTATGCAGG CGCTGCAGACTCCGTACACATTCGGACAGGGCACCAGCTGGAGAT CAAG
139100- aa VH	400	QVQLVQSGAEVRKTGASVKVSKASGYIFDNFGINWVRQAPGQGLEWM GWINPKNNNTNYAQKFQGRVTITADESTNTAYMEVSSLRSEDTAVYYCA RGPYYYQSYMDVWGQGMVTVSS
139100- aa VL	401	DIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSHNGYNYLNWYLQKPGQSP QLLIYLGSKRASGVPDRFSGSGSGTDFTLHITRVGAEDVGVYYCMQALQ TPYTFGQGTKLEIK
139101		
139101- aa ScFv 结构域	402	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSDAMTWVRQAPGKGLEW VSVISGSGGTTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKLDSSGYYYARGPRYWGGTLVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIQ LTQSPSSLSASVGDRVITCRASQSISSYLNWYQQKPKGAPKLLIYGAST LASGVPARFSGSGSGTHFTLTINSLQSEDSATYYCQQSYKRASFGQGTK VEIK
139101- nt ScFv 结构域	403	CAAGTGCAACTTCAAGAATCAGGCGGAGGACTCGTGCAGCCCGGAG GATCATTGCGGCTCTCGTGCGCCCGCTCCGGCTTCACCTTCTCGAGC GACGCCATGACCTGGGTCCGCCAGGCCCGGGGAAGGGGCTGGAA TGGGTGTCTGTGATTTCCGGCTCCGGGGGAACACTACTACGCCGA TTCCGTGAAAGGTGCGTTCACTATCTCCCGGACAACAGCAAGAACA CCCTTTATCTGCAAATGAATTCCTCCGCGCCGAGGACACCGCCGTG TACTACTGCGCCAAGCTGGACTCCTCGGGCTACTACTATGCCCGGG TCCGAGATACTGGGACAGGGAACCCTCGTGACCGTGTCTCCGCG TCCGCGGAGGAGGGTCCGGAGGGCGGGCCTCCGGCGGCGGGCG TTCGGACATCCAGCTGACCCAGTCCCCATCCTCACTGAGCGCAAGCG TGGGCGACAGAGTCACCATTACATGCAGGGCGTCCCAGAGCATCAG CTCCTACCTGAACTGGTACCAACAGAAGCCTGGAAAGGCTCCTAAGC TGTTGATCTACGGGGCTTCGACCCTGGCATCCGGGGTGCCCGCGAG GTTTAGCGGAAGCGGTAGCGGCACTCACTTCACTCTGACCATTAACA GCCTCCAGTCCGAGGATTACGCCACTTACTACTGTGAGCAGTCTTAC AAGCGGGCCAGCTCCGGACAGGGCACTAAGGTCGAGATCAAG
139101- aa VH	404	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSDAMTWVRQAPGKGLEW VSVISGSGGTTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKLDSSGYYYARGPRYWGGTLVTVSS
139101- aa VL	405	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITCRASQSISSYLNWYQQKPKGAPKLLIYG ASTLASGVPARFSGSGSGTHFTLTINSLQSEDSATYYCQQSYKRASFGQ GTKVEIK
139102		
139102- aa ScFv 结构域	406	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFSNYGITWVRQAPGQGLEW MGWISAYNGNTNYAQKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARGPYYYYMDVWGKGTMTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSEIVMTQS PLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLYSNGYNYVDWYLQKPGQSPQLLIYLG NRASGVDRFSGSGSGTDFKLIQRVEAEDVGIYYCMQGRQFPYSFGQ GTKVEIK
139102- nt ScFv 结构域	407	CAAGTCCAAGTGGTCCAGAGCGGTGCAGAAGTGAAGAAGCCCGGAG CGAGCGTGAAGTGTCTGCAAGGCTCCGGGTACACCTTCTCCAAC TACGGCATCACTGGGTGCGCCAGGCCCGGGACAGGGCCTGGAAT GGATGGGGTGGATTTCCGCGTACAACGGCAATACGAACTACGCTCAG AAGTTCAGGGTAGAGTGACCATGACTAGGAACACCTCCATTTCCAC CGCCTACATGGAAGTGTCTCCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTG TACTATTGCGCCCGGGACCATACTACTACTACATGGATGTCTGGGG GAAGGGGACTATGGTCACCGTGTTCATCCGCCTCCGGAGGGCGCGGA

[0477]

		TCAGGAGGACGCGCCTCTGGTGGTGGAGGATCGGAGATCGTGATGACCCAGAGCCCTCTCCTTGCCCGTGA CTCTGGGGAGCCCGCATCATTTCATGCCGGAGCTCCCAGTCACTTCTCTACTCCAACGGCTATAA CTACGTGGATTGGTACCTCCAAAAGCCGGGCCAGAGCCCGCAGCTGCTGATCTACCTGGGCTCGAACAGGGCCAGCGGAGTGCCTGACCGGT TCTCCGGGTCGGGAAGCGGGACCGACTTCAAGCTGCAAATCTCGAGAGTGGAGGCCGAGGACGTGGGAATCTACTACTGTATGCAGGGCCGC CAGTTTCCGTACTCGTTCCGACAGGGCACCAAAGTGAAATCAAG
139102- aa VH	408	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFSNYGITWVRQAPGQGLEW MGWISAYNGNTNYAQKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSSLRSED TAVYYCARGPYYYMDVWGKGTMTVSS
139102- aa VL	409	EIVMTQSPLSLPVTGPGEPA SISRSSQSLLYSNGYNYVDWYLQKPGQSP QLLIYLGSRASGVPDRFSGSGSGTDFLQISRVEAEDVGIYYCMQGRQFPYSFGQGTKVEIK
139104		
139104- aa ScFv 结构域	410	EVQLLETGGGLVQPGGSLRL SCAVSGFALS NHGMSWVRRAPGKGLEW VSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDN SRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSA HGGESDVWGQGT TTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSEIVLTQSPATLS VSPGESATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRASGIPDR FSGSGSGTDFLTISSLQAEDVAVYYCQQYGSSTLFGGGTKVEIK
139104- nt ScFv 结构域	411	GAAGTGCAATTGCTCGAAACTGGAGGAGGTCTGGTGCAACCTGGAGGATCACTTCGCCTGTCCTGCGCCGTGTCGGGCTTTGCCCTGTCCAACCATGGAATGAGCTGGGTCCGCCGCGCCGGGAAGGCCCTCGAATGGGTGTCGGCATCGTCTACTCCGGCTCCACCTACTACGCCGCGTC CGTGAAGGGCCGGTTCACGATTTACGGGACAACCTCGCGAACACCCTGTACCTCAAATGAATTCCCTTCGGCCGGAGGATACTGCCATCTACTGCTCCGCCACGGTGGCGAATCCGACGTCTGGGGCCAGGGA ACCACCGTGACCGTGTCCAGCGCGTCCGGGGGAGGAGGAAGCGGGGGTAGAGCATCGGGTGGAGGCGGATCAGAGATCGTGCTGACCCAGT CCCCCGCCACCTTGAGCGTGTACCAGGAGAGTCCGCCACCCTGTATGCCGCGCCAGCCAGTCCGTGTCCTCCAACCTGGCTTGGTACCAGCAGAAGCCGGGGCAGGCCCTAGACTCCTGATCTATGGGGCTCGA CCGGGCATCTGGAATCCCGATAGTTTCAGCGGATCGGGCTCGGGCACTGACTTCACTCTGACCATCTCCTCGCTGCAAGCCGAGGACGTGGCTGTACTACTGTGTCAGCAGTACGGAAGCTCCCTGACTTTCGGTGGC GGGACCAAAGTCGAGATTAAG
139104- aa VH	412	EVQLLETGGGLVQPGGSLRL SCAVSGFALS NHGMSWVRRAPGKGLEW VSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDN SRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSA HGGESDVWGQGT TTVTVSS
139104- aa VL	413	EIVLTQSPATLSVSPGESATL SCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIY GASTRASGIPDRFSGSGSGTDFLTISSLQAEDVAVYYCQQYGSSTLFGGGTKVEIK
139106		
139106- aa ScFv 结构域	414	EVQLVETGGGLVQPGGSLRL SCAVSGFALS NHGMSWVRRAPGKGLEW VSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDN SRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSA HGGESDVWGQGT TTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSEIVMTQSPATLS VSPGERATLSCRASQSVSSKLAWYQQKPGQAPRLLMYGASIRATGIPDR FSGSGSGTEFTLISLLEPEDFAVYYCQQYGSSSWTFGQGTKVEIK
139106- nt ScFv 结构域	415	GAAGTGCAATTGGTGGAAACTGGAGGAGGACTTGTGCAACCTGGAGGATCATTGAGACTGAGCTGCGCAGTGTGGGATTGCGCCTGAGCAACCATGGAATGTCTGGGTGAGAAGGGCCCTGGAAAAGGCCTCGAATGGGTGTCAGGGATCGTGTACTCCGGTTCACCTACTACGCCGCTCCGTGAAGGGGCGTTCACTATCTCACGGGATAACTCCCGCAATACCCTGTACCTCAAATGAACAGCCTGCGGCCGGAGGATAACGCCATCTACTACTGTTCCGCCACGGTGGAGAGTCTGACGTCTGGGGCCAGGGAAC TACCGTGACCGTGTCTCCGCGTCCGGCGGTGGAGGGAGCGGGCGGCCGCGCCAGCGCGGGCGGAGGCTCCGAGATCGTGATGACCCAGAGCCCCGCTACTCTGTCGGTGTGCGCCGGAGAAAGGGCGACCCTGTCC TGCCGGGCGTGCAGTCCGTGAGCAGCAAGCTGGCTTGGTACCAGCAGAAGCCGGGGCAGGCACACGCCTGCTTATGACGGTGCCTCCATTCGGGCCACCGGAATCCCGGACCGGTTCTCGGGGTCTCGGGTCCGG

[0478]

		TACCGAGTTCACACTGACCATTTCTCGCTCGAGCCCGAGGACTTTG CCGTCTATTACTGCCAGCAGTACGGCTCCTCCTCATGGACGTTTCGGC CAGGGGACCAAGGTCGAAATCAAG
139106- aa VH	416	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNGTHMSWVRRAPGKGLEW VSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSA HGGESDVWVGQTTVTVSS
139106- aa VL	417	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSKLAWYQQKPGQAPRLLM YGASIRATGIPDRFSGSGSGTEFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYGSSSWTF GQGTKVEIK
139107		
139107- aa ScFv 结构域	418	EVQLVETGGGVVQPGGSLRLSCAVSGFALSNGTHMSWVRRAPGKGLEW VSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSA HGGESDVWVGQTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSEIVLTQSPGTL LSPGERATLSCRASQSVGSTNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRA TIPDRFSGGGSGTDFTLISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPPWTFGQG TKVEIK
139107- nt ScFv 结构域	419	GAAGTGCAATTGGTGGAGACTGGAGGAGGAGTGGTGAACCTGGAG GAAGCCTGAGACTGTCATGCGCGGTGTCGGGCTTCGCCCTCTCCAA CCACGGAATGTCCTGGGTCCGCCGGGCCCTGGGAAAGGACTTGAA TGGGTGTCCGGCATCGTGTACTCGGGTTCACCTACTACGCGGCCCTC AGTGAAGGGCCGTTTACTATTAGCCGCGACAACCTCCAGAAACACAC TGTACCTCCAAATGAACTCGCTGCGGCCGGAAGATACCGCTATCTAC TACTGCTCCGCCCATGGGGGAGAGTCGGACGTCTGGGGACAGGGCA CCACTGTCACTGTGTCAGCGCTTCCGGCGGTGTTGGAAGCGGGGG ACGGGCCTCAGGAGGCGGTGGCAGCGAGATTGTGCTGACCCAGTCC CCCGGGACCCTGAGCCTGTCCCCGGGAGAAAGGGCCACCCTCTCCT GTCGGGCATCCCAGTCCGTGGGGTCTACTAACCTTGCATGGTACCAG CAGAAGCCCGGCCAGGCCCTCGCCTGCTGATCTACGACGCGTCCA ATAGAGCCACCGGCATCCCGGATCGCTTCAGCGGAGGCGGATCGGG CACCGACTTCACCCTACCATTTCAAGGCTGGAACCGGAGGACTTCG CCGTGTACTACTGCCAGCAGTATGGTTCGTCGCCACCCTGGACGTT GGCCAGGGGACTAAGGTCGAGATCAAG
139107- aa VH	420	EVQLVETGGGVVQPGGSLRLSCAVSGFALSNGTHMSWVRRAPGKGLEW VSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSA HGGESDVWVGQTTVTVSS
139107- aa VL	421	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVGSTNLAWYQQKPGQAPRLLI YDASNRA TIPDRFSGGGSGTDFTLISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPPW TFGQGTKVEIK
139108		
139108- aa ScFv 结构域	422	QVQLVESGGGLVVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWV SYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR ESGDGMDVWVGQTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIQMTQSPSS LSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYTLAFGQGTVDIK
139108- nt ScFv 结构域	423	CAAGTGCAACTCGTGAATCTGGTGGAGGACTCGTGAACCTGGAG GATCATTGAGACTGTCATGCGCGGCTCGGGATTACGTTCTCCGAT TACTACATGAGCTGGATTCCGCCAGGCTCCGGGGAAGGGACTGGAAT GGGTGTCTACATTTCTCATCCGGCTCCACCATCTACTACGCGGAC TCCGTGAAGGGGAGATTACCATTAGCCGCGATAACGCCAAGAACAG CCTGTACCTTCAGATGAACTCCCTGCGGGCTGAAGATACTGCCGTCT ACTACTGCGCAAGGGAGAGCGGAGATGGGATGGACGTCTGGGGACA GGGTACCACTGTGACCGTGTCTGCGCCTCCGGCGGAGGGGGTTCCG GGTGAAGGGCCAGCGCGGCGGAGGCAGCGACATCCAGATGACC CAGTCCCCCTCATCGCTGTCCGCCTCCGTGGGCGACCGCGTCACCA TCACATGCCGGGCTCACAGTCGATCTCCTCCTACCTCAATTGGTAT CAGCAGAAGCCCGAAAGGCCCTAAGCTTCTGATCTACGCAGCGT CCTCCCTGCAATCCGGGGTCCCATCTCGTTCTCCGGCTCGGGCAG CGGTACCGACTTCACTCTGACCATCTCGAGCCTGCAGCCGGAGGACT TCGCCACTTACTACTGTGAGCAAGCTACACCCTCGCGTTTGGCCAG GGCACCAAAGTGACATCAAG
139108- aa VH	424	QVQLVESGGGLVVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWV SYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR

[0479]

		ESGDGMDVWGQGTTVTVSS
139108- aa VL	425	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYTLAFGGQ TKVDIK
139110		
139110- aa ScFv 结构域	426	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRSLCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEW VSYISSSGNTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCA RSTMVREDYWGQGLVTVVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIVLTQSPLS LPVTLGQPASISCKSSSESLVHNSGKTYLNWFHQRPQGSPRRLIYEVSNR DSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHTWPGTFGQGT KLEIK
139110- nt ScFv 结构域	427	CAAGTGCAACTGGTGCAAAGCGGAGGAGGATTGGTCAAACCCGGAG GAAGCCTGAGACTGTATGCGCGGCCTCTGGATTACCTTCTCCGAT TACTACATGTATGGATCAGACAGGCCCGGGGAAGGCCTCGAAT GGGTGTCCTACATCTCGTCTCCGGGAACACCATCTACTACGCCGAC AGCGTGAAGGGCCGCTTTACCATTTCCCGCGACAACGCAAAGAATC GCTGTACCTTCAGATGAATTCCCTGCGGGCTGAAGATACCGCGGTGT ACTATTGCGCCCGGTCCACTATGGTCCGGGAGGACTACTGGGGACA GGGCACACTCGTGACCGTGTCCAGCGCGAGCGGGGGTGGAGGCAG CGGTGGACGCGCCTCCGGCGGCGGGTTCAGACATCGTGCTGACT CAGTCGCCCCTGTGCTGCCGGTCAACCCTGGGCCAACCAGGCCTCAA TTAGCTGCAAGTCTCGGAGAGCCTGGTGCACAACCTCAGGAAAGACT TACCTGAACTGGTTCATCAGCGGCCTGGACAGTCCCACGGAGGC TCATCTATGAAGTGTCCAACAGGGATTCGGGGGTGCCCGACCGCTTC ACTGGCTCCGGGTCCGGCACCGACTTCACCTTAAAATCTCCAGAGT GGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGTATGCAGGGTACCCAC TGGCCTGGAACCTTTGGACAAGGAACCTAAGCTCGAGATTAAG
139110- aa VH	428	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRSLCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEW VSYISSSGNTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCA RSTMVREDYWGQGLVTVVSS
139110- aa VL	429	DIVLTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSSESLVHNSGKTYLNWFHQRPQSP RRLIYEVSNRDSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHT WPGTFGQGTKLEIK
139112		
139112- aa ScFv 结构域	430	QVQLVESGGGLVQPGGSLRSLCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEW VSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSA HGGESDVWGQGTTVTVVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIRLTQSPSPLS ASVGDRTITCQASEDINKFLNWHYHQTGPKAPKLLIYDASTLQTVPSRF SGSGSGTDFTLTINSLQPEDIGTYCQQYESLPLTFGGGKVEIK
139112- nt ScFv 结构域	431	CAAGTGCAACTCGTGGAATCTGGTGGAGGACTCGTGCAAACCCGGTG GAAGCCTTAGGCTGTGCTGCGCCGTCAGCGGGTTTGTCTGAGCAA CCATGGAATGTCTGGTCCGCGGGCACCGGGAAAAGGGCTGGAA TGGGTGTCCGGCATCGTGTACAGCGGGTCAACCTATTACGCCGCGT CCGTGAAGGGCAGATTCACTATCTCAAGAGACAACAGCCGGAACACC CTGTACTTGCAAATGAATTCCCTGCGCCCCGAGGACACCGCCATCTA CTACTGCTCCGCCACGGAGGAGATCGGACGTGTGGGGCCAGGG AACGACTGTGACTGTGTCCAGCGCATCAGGAGGGGGTGGTTCGGGC GGCCGGGCCTCGGGGGGAGGAGTTCCGACATTCGGCTGACCCAG TCCCCGTCCCCACTGTCCGGCCTCCGTCGGCGACCGCGTGACCATCA CTTGTGAGGCGTCCGAGGACATTAACAAGTTCCTGAACTGGTACCAC CAGACCCCTGAAAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGATGCCTCGA CCCTTCAAACCTGGAGTGCCTAGCCGTTTCTCCGGGTCCGGCTCCGG CACTGATTTCACTCTGACCATCAACTCATTGCAGCCGGAAGATATCGG GACCTACTATTGCCAGCAGTACGAATCCCTCCCGCTCACATTCGGCG GGGAACCAAGGTCGAGATTAAG
139112- aa VH	432	QVQLVESGGGLVQPGGSLRSLCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEW VSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSA HGGESDVWGQGTTVTVVSS
139112- aa VL	433	DIRLTQSPSPLSASVGDRTITCQASEDINKFLNWHYHQTGPKAPKLLIYDA STLQTVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLQPEDIGTYCQQYESLPLTFGGG TKVEIK

[0480]

139113		
139113- aa ScFv 结构域	434	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEW VSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSA HGGESDVWQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGSETTLTQSPATLS VSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQKPGQGPRLLIYGASTRATGIPAR FSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFAVYYCQQYNDWLPVTFGQGTKVEIK
139113- nt ScFv 结构域	435	GAAGTGCAATTGGTGGAACTGGAGGAGGACTTGTGCAACCTGGAG GATCATTGCGGCTCTCATGCGCTGTCTCCGGCTTCGCCCTGTCAAAT CACGGGATGTCGTGGGTGACAGCGGGCCCCGGAAAGGGTCTGGAAT GGGTGTCGGGGATTGTGTACAGCGGCTCCACCTACTACGCCGCTTC GGTCAAGGGCCGCTTCACTATTTACGGGACAACAGCCGCAACACCC TCTATCTGCAAATGAACTCTCTCCGCCCGGAGGATACCGCCATCTAC TACTGCTCCGCACACGGCGGGAATCCGACGTGTGGGGACAGGGAA CCACTGTACCGTGTCTCCGCATCCGGTGGCGGAGGATCGGGTGG CCGGGCCTCCGGGGGCGGCGGCAGCGAGACTACCCTGACCCAGTC CCCTGCCACTCTGTCCGTGAGCCCGGGAGAGAGAGCCACCCTTAGC TGCCGGGCCAGCCAGAGCGTGGGCTCCAACCTGGCCTGGTACCAGC AGAAGCCAGGACAGGGTCCCAGGCTGCTGATCTACGGAGCCTCCAC TCGCGCGACCGGCATCCCCGCGAGGTTCTCCGGGTCCGGTTCGGG GACCGAGTTCACCCTGACCATCTCCTCCCTCCAACCGGAGGACTTCG CGGTGTACTACTGTACGAGTACAACGATTGGCTGCCCGTGACATTT GGACAGGGGACGAAAGGTGAAATCAA
139113- aa VH	436	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEW VSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSA HGGESDVWQGTTVTVSS
139113- aa VL	437	ETTLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQKPGQGPRLLIY GASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFAVYYCQQYNDWLPVT FGQGTKVEIK
139114		
139114- aa ScFv 结构域	438	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEW VSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSA HGGESDVWQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGSEIVLTQSPGTL LSPGERATLSCRASQSIGSSSLAWYQQKPGQAPRLLMYGASSRASGIPD RFSGSGSGTDFTLISRLEPEDFAVYYCQQYAGSPPTFGQGTKVEIK
139114- nt ScFv 结构域	439	GAAGTGCAATTGGTGGAACTGGTGGAGGACTTGTGCAACCTGGAG GATCACTGAGACTGTCATGCGCGGTGTCCGGTTTTGCCCTGAGCAAT CATGGGATGTCGTGGGTCCGGCGCGCCCCGGAAAGGGTCTGGAAT GGGTGTCGGGTATCGTCTACTCCGGGAGCACTTACTACGCCGCGAG CGTGAAGGGCCGCTTACCATTTCGCGGATAACTCCCACAACACCC TGTACTTGCAAATGAACTCGCTCCGGCCTGAGGACTGCCATCTAC TACTGCTCCGCACACGGAGGAGAATCCGACGTGTGGGGCCAGGGAA CTACCGTGACCGTACGACGCGCTCCGGCGGCGGGGGCTCAGGCG GACGGGCTAGCGGCGGCGGTGGCTCCGAGATCGTGCTGACCCAGT CGCCTGGCACTCTCTCGCTGAGCCCCGGGAAAGGGCAACCCTGTC CTGTCCGGCCAGCCAGTCCATTGGATCATCCTCCCTCGCCTGGTATC AGCAGAAACCGGGACAGGCTCCGCGGCTGCTTATGTATGGGGCCAG CTCAAGAGCCTCCGGCATTCCCGACCGGTTCTCCGGGTCCGGTTC GGCACCGATTTACCCTGACTATCTCGAGGCTGGAGCCAGAGGACTT CGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTACGCGGGGTCCCCGCCGTTACG TTCGGACAGGGAACCAAGGTCGAGATCAAG
139114- aa VH	440	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEW VSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSA HGGESDVWQGTTVTVSS
139114- aa VL	441	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSIGSSSLAWYQQKPGQAPRLLM YGASSRASGIPDRFSGSGSGTDFTLISRLEPEDFAVYYCQQYAGSPPT TFQGQTKVEIK
149362		
149362-aa ScFv 结构域	442	Qvqlqesgpglvkpssetlslctvsggsissyyywgwirppgkglewigsiiyysgsaynpslksrv tisvdtsknqfslrlssvtaadtavyyicarhwqewpdafdiwgqgtrmtvsvsgggsgggsgggsg ettltqspafmsatpgdkviiscasqdiddamnwyqqkpgaplfiiqsatspvpqiprrfsgsgfgt dfsltinniesedaayyfcldhndfpltfqggtkleik

[0481]

149362-nt ScFv 结构域	443	caagtgagcttcaggaaagcggaccgggctggtaagccatccgaaactctcctgacttgca ctgtgtctggcgggtccatctcatcgtctactactactgggctggattaggcagccgcccggaaagg gactggagtgatcggaagcatctactattccggctcggctactacaaccctagcctcaagtcgaga gtgaccatctcgtggatacctccaagaaccagtttccctgcgctgagctcctgaccgcccgtgac accgcccgtgtactactgtctcggcattggcaggaatggcccgatgcctcgacattggggccagggc actatggtcactgtgtcatccgggggtggaggcagcggggaggagggtcggggggagggttca gagacaacctgaccagtcaccgccattcatgtccgcaactccgggagacaaggtcatcatctcgtg caaagcgtcccaggatacgcagatgccatgaattggtaccagcagaagcctggcgaagcggcgt gtcattatccaatccgcaacctgcggctgctggaatcccaccggttcagcggcagcgggttcgg aaccgactttccctgaccattaacaacattgagtcaggagcggcctactactctcctgcaacac gacaactccctctcagctggccagggaaccaagctggaatcaag
149362-aa VH	444	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGISSSYYYWGWIRQPPGKGLE WIGSIYSGSAYYNPSLKSRTVISVDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCA RHWQEWPDAFDIWGQGTMTVSS
149362-aa VL	445	ETTLTQSPAFMSATPGDKVIISCKASQDIDDAMNWyQQKPEAPLFIIQS ATSPVPGIPPRFSGSGFGTDFSLTINNIESEDAAYFCLQHDNPLTFGQ GTKLEIK
149363		
149363-aa ScFv 结构域	446	QVNLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLRTSGMCSVWIRQPPGKALEW LARIDWDEDKFYSTSLKTRLTISKDTSNDQVVLMTNMDPADTATYYCA RSGAGGTSATAFDIWGPGTMVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGSDIQMTQS PSSLSASVGDRTITCRASQDIYNNLAWFQLKPGSAPRSLMYAANKSQS GVPSRFSGSASGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHYYRFPYSFGGQTKLEI K
149363-nt ScFv 结构域	447	caagtcaatctgcgcaatccggcccgccttggtcaagcctaccagaccctactctgactgtact ttctccggcttccctcgcgactccgggatgtcgtgtcctggatcagacagcctccgggaaaggcc ctggagtgctcgtcgtcattgactgggatgaggacaagtctactccacctactcaagaccaggctg accatcagcaaaagatacctctgacaaccaagtggtctccgatgaccaacatgaccagccgac actgccactactactcgcgaggagcggagcgggaggcaccctccgaccgctcgtatattggg gcccgggtaccatggtcaccgtgcaagcggaggagggggggtcggggggcggcgggtccggggga ggcggatcggacattcagatgactcagtcaccatcgtccctgagcgtagcgtggcgacagagtga caatcactgcccggcatcccaggacatctataacaacctgctggttccagctgaagcctggtccg caccgcggtcactatgtacgcccacaacaagagccagtcgggagtcggctccgggtttccgggtcg gcctcgggaactgactcaccctgacgatctccagcctgcaaccggaggattcggccactactcgc cagcactactaccgcttccctactcgtcggacagggaaaccaagctggaatcaag
149363-aa VH	448	QVNLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLRTSGMCSVWIRQPPGKALEW LARIDWDEDKFYSTSLKTRLTISKDTSNDQVVLMTNMDPADTATYYCA RSGAGGTSATAFDIWGPGTMVTVSS
149363-aa VL	449	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDIYNNLAWFQLKPGSAPRSLMY AANKSQSGVPSRFSGSASGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHYYRFPYSF GGQTKLEIK
149364		
149364-aa ScFv 结构域	450	evqlvesggglvkgpgslrlscaasgftfssysmnwvrqapgkglewvssisssssiyyadsvkgrft isrdnaknsllylqmnslraedtavyycaktiaavyafdiwgqgtvtvssggggsgggsggggseivl tqspislpvtpeepasiscrssqllhsngynyldwylqkpgqspqlliylnrasgvprdfsgsgsgtd ftlkisrveaedvgyvycmqalqtpyfgggtkleik
149364-nt ScFv 结构域	451	gaagtgagcttgcgaatccgggggggactggtcaagccgggaggatcactgagactgtcctcgc ccgagcgggcttcagttctcctactcctatgaactgggtccgccaagccccgggaagggactg gaatgggtgtcctctatcctcgtcgtcgtcctacatctactacgcccagctccgtgaagggaagattcac cattcccgcgacaacgcaagaactcactgtactgcaaatgaactcactccgggccaagatactg ctgtgtactattgcgcaagactattgcgcccgtctacgcttgcacatctggggccaaggaaccaccgt gactgtcgtcgggtggtggtcggcgggagggaggaagcggcggcgggggtccgagattgt gctgaccagtcgccaatgagcctccctgtgacccccgaggaaccgccaagcagctgcccgttc agccagtcctcctcactccaacggatacaattacctcgtattggtacctcagaagcctggcaaaag cccgcagctcctacttggatcaaaccgcgctcaggagtgctgaccggttctccggctcgg gcagcgtaccgattcaacctgaaaatccagggtggaggcagaggcgtgggagtgattactgt atgagggcgtcgcagactccgtacacatttggcagggcaccagctggagatcaag
149364-aa VH	452	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEW VSSISSSSSIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCA KTIAAVYAFDIWGQGTITVTVSS
149364-aa VL	453	EIVLTQSPSLPVTPEEPASISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQ

[0482]

		LLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQT PYTFGQGTKLEIK
149365		
149365-aa ScFv 结构域	454	evqlvesggglvkpggsrlscaasgftfsdyymswirqapgkglewvsiyssgstiyyadsvkgrfti srdnaknsllylqmnsiraedtavyycardlrgafdiwgqgtmvtvssgggsgggsgggsgggssyvl qspsvsaapgytaticsggnnigtksvhwyqkpgqapllvirdsvrpskipgrfsgsngnmatlti sgvqagdeadfyqcqvwdsdsehvvfgggtklvl
149365-nt ScFv 结构域	455	gaagtcagctcgtggagtcggcgaggcctgtgaagcctggaggtcgctgagactgtcctgcgc cgctccggcttcacctctccgactactacatgtcctggatcagacaggccccggaaaggcctgg aatgggtgtcctacatctcgtcatcggcagcactatctactcggactcaggaagggcggttca ccattcccgggataacgcgaagaactcgtgtatctgcaaatgaactcactgaggccgaggacac cgccgtgactactgcgcccgcgatcctcggggcatttgacatctgggacagggaaacctggtca cagtgccagcggagggggaggatcgggtggcggagggtccgggggtggaggctcctcactcgtgct gactcagagcccaagcgtcagcgtgcgcccgggtacacggcaaacatctcctgtggcggaacaa cattgggaccaagtctgtgactggtatcagcagaagccgggccaagctcccctgttggtatccgcg atgactccgtgcgctagcaaaattccgggacgggtctccggctccaacagcggcaaatatggccact ctaccatctcgggagtcaggccggagatgaagccgacttctactccaagctgggactcagactc cgagcatgtggtgtcggggggcgaaccaagctgactgtgctc
149365-aa VH	456	EVQLVESGGGLVKPGLSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWV SYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR DLRGAFDIWGQGTMTVSS
149365-aa VL	457	SYVLTQSPSVSAAPGYTATISCGGNNIGTKSVHWYQQKPGQAPLLVIRD DSVRPSKIPGRFSGSNSGNMATLTISGVQAGDEADFYCQVWDSDEHV VFGGGTKLTVL
149366		
149366-aa ScFv 结构域	458	qvqlvqsgaevkkgasvksckpsgyvtshyihwvrrapggglewmgminpsggvtaysqtlqg rvtmtsdtsstvymelsslrsedtamyycaregsgsgwyfdwgrgtlvvssgggsgggsggg gssyvltppsvsvspgqtasitcsgdglskkyvswyqqkagqspvvlisrdkerpsgipdrfsgs adatltsigtqamdeadyycqawddttvfgggtklvl
149366-nt ScFv 结构域	459	caagtcagctggtcagagcggggccgaagcaagaagccgggagcctccgtgaaagtgtcctg caagccttcgggatacaccgtgacctccactacattcattgggtccgccgcgccccggcgaagga ctcagtggtggtggcatgatcaaccctagcggcggagtgaccgcgtacagccagacgctgcaggg acgctgactatgacctggatacctcctcctccaccgtctatatggaactgtccagcctgcggtccgag gataccgcatgtactactgcgcccgggaaggatcaggctccgggtggtatttcgactctggggaag aggcaccctcgtgactgtcatctgggggagggggtccgggtggcggatcgggagggagcgggt tcatcctcgtgctgaccagccaccctcgtgctcgtgagccccggccagactcagcagattcagtg agcggcgacggcctccaagaaatacgtgtcgtggtaccagcagaagccggacagagcccgtg ggtgctgatcgaagagataaggagcggcctagcgaatcccggacaggttctcgggtccaactcc gcgacactgtactctgacctcctggggaccaggtatggacgaagccgattactactccaag cctgggacgacactactgtcgtgttgaggggggcaccaagttgaccgtcctt
149366-aa VH	460	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKPSGYVTSHYIHWVRRAPGQGLEW MGMINPSGGVTAYSQTLQGRVTMTSDTSSSTVYMESSLRSEDAMYY CAREGSGSGWYDFWGRGTLTVSS
149366-aa VL	461	SYVLTQPPSVSVSPGQTASITCSGDGLSKKYVSWYQQKAGQSPVVLISR DKERPSGIPDRFSGSNSADTALTISGTQAMDEADYYCQAWDDTTVFG GGTKLTVL
149367		
149367-aa ScFv 结构域	462	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPPGKLE WIGYIYYSGSTYYNPSLKRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA RAGIARLRGAFDIWGQGTMTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQS PSSVSASVGDRIITCRASQGIRNWLAWYQQKPGKAPNLLIYAASNLS GVPSRFSGSGSGADFTLTISLQPEDVATYYCQKYNAPFTFGPGTKVDI K
149367-nt ScFv 结构域	463	caagtcagctcaggagagcggcccgggactcgtgaagcgtccagacacctgtcctcgtactgca cgtgtcgggaggaagcatctcagcggaggcctactattggtcgtggatcggcagcaccctggaaa gggcctggaatggatcggctacatctactactcggctcgcactactacaacctatcgtgaagtcca gagtgacaatctcagtgacacgtccaagaatcagttcagcctgaagctctctcgtgactcggccg acaccgctgtactactgcgcacgcgtggaattgcccggcgtgaggggtcctcagcattgg ggacagggcaccatggtcaccgtgtcctcggcggcggaggtccgggggtggaggctcaggagg aggggggtccgacatcgtcatgactcagtcgacctcaagcgtcagcgtcctcggggacagagtg atcatcacctgtcggcgctccaggggaattcgaactggctggcctggtatcagcagaagccccgaa

[0483]

		aggccccaacctgtgatctacgcccctcaaactccaatccggggtgccgagccgttcagcggctccggttcgggtgccgattcactctgaccatctcctcctgcaacctggaagatgtggctactactctccaaaagtacaactcgcacctttactttcggaccggggaccaaagtgacattaag
149367-aa VH	464	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGSISGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARAGIAARLRGAFDIWGQGMVTVSS
149367-aa VL	465	DIVMTQSPSSVSASVGDRIITCRASQGIRNWLAWYQKPGKAPNLLIYASNLQSGVPSRFSGSGSGADFTLTISLQPEDVATYYCQKYNAPFTFGPGTKVDIK
149368		
149368-aa ScFv 结构域	466	qvqlvqsgaevkkpgssvkvscasggtfssyaiswvrqapgglewmggiipifgtanyaqkfqgrvtitadeststaymelssrstedtavyycarrgyqllrwdvllrsafdiwgqgtmvtvssggggsgggsggggssyvltpqpsvsvapqqtaritcggnnigsksvhwyqqkpgqapvlvlygknnrpsgvpdrfsgsrsgttaslitgaqaedeaddyccsrdsdsgdhrlvfgtgktvvl
149368-nt ScFv 结构域	467	caagtcagctgggtccagtcgggcccaggtcaagaagccgggagctctgtgaaagtctctgc aaggcctccgggggacaccttagctcctacgcatctcctgggtccgccaagcaccgggtcaaggcct ggagtgatgggggaattacatctcctcctcggcactgccaactacgcccagaagttccagggacgc gtgaccattaccgagcgaatccacctccaccgcttatatggagctgtccagcttgcgctcgggaagat accgctgtactactgcgcccggaggggtggataaccagctgtgagatgggacgtgggctcctgc ggtcggcgttcgacatctggggccagggcaactatggtcactgtgtccagcggaggaggcggatcggg agcgcgatcagggggaggcgggtccagctacgtgctactcaacccccctcgggtgctcggccc cgggacagaccgccaagaatcacttgcggaggaacaacattgggtccaagagcgtgacgtggtacc agcagaagccaggacagcccctgtgctgtgctctacgggaagaacaatcggcccagcggagtg cggacaggttctcgggttaccgctccggtacaaccgcttactgactatcaccggggcccaggcag aggatgaagcggactactgttctcctcgggattcatcggcgaccacctcgggtgtcggaaacc ggaacgaaggtcaccgtgctg
149368-aa VH	468	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEW MGGIIPFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAR RGGYQLLRWDVGLLRSAFDIWGQGMVTVSS
149368-aa VL	469	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVLY GKNNRPSGVPRFSGSRSGTTASLTITGAQAEDAADYYCNSRDSSGDH LRVFGTGKVTVL
149369		
149369-aa ScFv 结构域	470	evqlqsgpglvkpsqtlstlcaisgdsvsnsaawnwirqsprglewlgtryrskwysfyaislksrii inpdtsknqfslqlksvtpedtavycarrspeglywfdpwgqgtlvvssggdsgggggsgggss seltqdpavsvalgqtrirtcggdsgnyyatwyqqkpgqapvlvlygtnnrpsgipdrfsasssgntas litgaqaedeaddyccnsrdssghllhfgtgktvvl
149369-nt ScFv 结构域	471	gaagtcagctccaacagtcaggaccgggctcgtgaagccatccagaccctgtccctgactgtg ccatctcgggagatagcgtgcatcgaactccgcccctggaactggattcggcagagcccgctccg cggactggagtgcttgaaggactactaccggtccaagtggtactcttctacgcatctcgtgaa gtcccgcattatcattaaccctgatacctccaagaatcagttcctcctcaactgaaatccgtcaccccc gaggacacagcagtgatctactgcgacggagcagcccgaaggactgttctgtattgtttgacct ctggggccaggggactctgtgaccgtgtcagcggcggagatgggtccgggtggcgggtgtcgggg ggcggggatcatcatccgaactgaccagaccggctgtgtcgggtggcgtgggacaaccatc cgactacgtgccaggagactcctgggcaactactacgccaactgtgaccagcagaagccgggc caagccccgtgtgtcactctacgggaccaacaacagacctccggcatccccgaccgggtcagcgc ttcgtcctcggcaacactgcccagcctgaccatcactggagcgcaggccgaagatgaggccgacta ctactgcaacagcagagactcctcgggtcatcacctctgttcggaactggaaccaaggtcaccgtgct g
149369-aa VH	472	EVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLE WLGRTYYRQSKWYSFYAISLKSRIIINPDTSKNQFSLQLKSVTPEDTAVYYC ARSSPEGLFLYWFDPWGQGLTVTVSS
149369-aa VL	473	SSELTQDPAVSVALGQTIRITCQGDLSLGNYYATWYQQKPGQAPVLVIYG TNNRPSGIPDRFSASSSGNTASLTITGAQAEDAADYYCNSRDSSGHLL FGTGKVTVL
BCMA_EBB-C1978-A4		
BCMA_EBB-C1978-A4 - aa ScFv 结构域	474	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEW VSAISGGSGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRRAEDTAVYYC AKVEGSGSLDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPG TLSLSPGERATLSCRASQSVSSAYLAWYQKPGQPPRLLISGASTRATG IPDRFGGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQHYGSSFNSSLFTFGQG

[0484]

		TRLEIK
BCMA_EBB-C1978-A4 - nt ScFv 结构域	475	GAAGTGCAGCTCGTGGAGTCAAGGAGGCGGCCTGGTCCAGCCGGGA GGGTCCCTTAGACTGTCATGCGCCGCAAGCGGATTCACITTTCTCCTC CTATGCCATGAGCTGGTCCGCAAGCCCCGGAAAGGGACTGGAA TGGGTGTCCGCCATCTCGGGGTCTGGAGGCTCAACTTACTACGCTGA CTCCGTGAAGGGACGGTTCACCATTAGCCGCGACAACCTCCAAGAACA CCCTCTACCTCCAAATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGATACCGCCGTC TACTACTGCGCCAAAGTGAAGGTTTCAAGATCGCTGGACTACTGGGG ACAGGGTACTCTCGTGACCGTGTATCGGGCGGAGGAGGTTCCGGC GGTGGCGGCTCCGGCGCGGAGGGTCCGAGATCGTGATGACCCAG AGCCCTGGTACTCTGAGCCTTTCCGCGGGAGAAAGGGCCACCCTGT CCTGCCGCGCTTCCCAATCCGTGTCTCCGCGTACTTGGCGTGGTAC CAGCAGAAGCCGGGACAGCCCTCGGCTGTGATCAGCGGGGCC AGCACCCGGGCAACCGGAATCCCAGACAGATTCTGGGGTTCCGGCA GCGGCACAGATTTACCCTGACTATTTGAGGTTGGAGCCCAGGAC TTTGCGGTGTATTACTGTCAGCACTACGGGTGTCTTTAATGGCTCC AGCCTGTTCACGTTCCGACAGGGGACCCGCTGGAAATCAAG
BCMA_EBB-C1978-A4 - aa VH	476	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEW VSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKVEGSGSLDYWGQGLTVTVSS
BCMA_EBB-C1978-A4 - aa VL	477	EIVMTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSAYLAWYQQKPGQPRLLI SGASTRATGIPDRFGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGSSFN GSSLFTFGQGRLEIK
BCMA_EBB-C1978-G1		
BCMA_EBB-C1978-G1 - aa ScFv 结构域	478	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGITFSRYPMSWVRQAPGKGLEWV SGISDSGVSTYYADSAKGRFTISRDNKNTLFLQMSSLRDEDTAVYYCVT RAGSEASDIWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLS LSPGERATLSCRASQSVSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASSRATGIPDR FSGSGSDFTLTISRLEPEDFAIYYCQQFGTSSGLTFGGGKLEIK
BCMA_EBB-C1978-G1 - nt ScFv 结构域	479	GAAGTGCAACTGGTGGAAACCGGTGGCGGCCTGGTGCAGCCTGGAG GATCATTGAGGCTGTCATGCGCGGCCAGCGGTATTACITTTCTCCCGG TACCCCATGCTGGTCCGACAGGCCCCCGGGAAAGGGCTTGAAT GGGTGTCCGGATCTCGGACTCCGGTGTGACACTTACTACGCCGA CTCCGCCAAGGGACGCTTACCATTTCGCGGACAACCTCGAAGAACA CCCTGTTCTCCAAATGAGCTCCCTCCGGGACGAGGATACTGCAGTG TACTACTGCGTGACCCGCGCCGGTCCGAGGCGTCTGACATTTGGG GACAGGGCACTATGGTACCGTGTCTCCGGCGGAGGGGGCTCGG GAGGCGGTGGCAGCGGAGGAGGAGGGTCCGAGATCGTGCTGACCC AATCCCCGGCCACCCTCTCGCTGAGCCCTGGAGAAAGGGCAACCTT GTCCTGTGCGCGGAGCCAGTCCGTGAGCAACTCCCTGGCCTGGTAC CAGCAGAAGCCCGGACAGGCTCCGAGACTTCTGATCTACGACGCTTC GAGCCGGGCACTGGAATCCCCGACCGCTTTTCGGGGTCCGGCTCA GGAACCGATTTACCCTGACAATCTCACGGCTGGAGCCAGAGGATTT CGCCATCTATTACTGCCAGCAGTTCGGTACTTCTCCGGCCTGACTTT CGGAGGCGGCACGAAGCTCGAAATCAAG
BCMA_EBB-C1978-G1 - aa VH	480	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGITFSRYPMSWVRQAPGKGLEWV SGISDSGVSTYYADSAKGRFTISRDNKNTLFLQMSSLRDEDTAVYYCVT RAGSEASDIWGQGTMTVTVSS
BCMA_EBB-C1978-G1 - aa VL	481	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSNLAWYQQKPGQAPRLLIYD ASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAIYYCQQFGTSSGLTFG GGTKLEIK
BCMA_EBB-C1979-C1		
BCMA_EBB-C1979-C1 - aa ScFv 结构域	482	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEW VSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYCA RATYKRELRYYYGMDVWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVM TQSPGTVSLSPGERATLSCRASQSVSSSFLAWYQQKPGQAPRLLIYGAS SRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDSAVYYCQQYHSSPSWTFGQ GTRLEIK
BCMA_EBB-C1979-C1 - nt	483	CAAGTGCAGCTCGTGAATCGGGTGGCGGACTGGTGCAGCCGGGG GGCTCACTTAGACTGTCTGCGCGCCAGCGGATTCACITTTCTCCTC

[0485]

ScFv 结构域		CTACGCCATGTCCTGGGTGACAGAGGCCCCCTGAAAGGGCCTGGAA TGGGTGTCCGCAATCAGCGGCAGCGGGCGGCTCGACCTATTACGCGG ATTCAGTGAAGGGCAGATTACCATTTCCCGGGACAACGCCAAGAAC TCCTTGACCTTCAAATGAACTCCCTCCGCGCGGAAGATACCGCAAT CTACTACTGCGCTCGGGCCACTTACAAGAGGGAAGTGCCTACTACT ACGGGATGGACGTCTGGGGCCAGGGAACCATGGTCACCGTGTCCAG CGGAGGAGGAGGATCGGGAGGAGGCGGTAGCGGGGGTGGAGGGT CGGAGATCGTGATGACCCAGTCCCCCGGCACTGTGTCGCTGTCCCC CGGCGAACGGGCCACCCTGTATGTCGGGCCAGCCAGTCAGTGTGCG TCAAGCTTCTCGCCTGGTACCAGCAGAAACCGGGACAAGCTCCCC GCCTGCTGATCTACGGAGCCAGCAGCCGGGCCACCGGTATTCTGA CCGGTTCTCCGGTTCGGGGTCCGGGACCGACTTACTCTGACTATCT CTCGCCTCGAGCCAGAGGACTCCGCCGTGTATTACTGCCAGCAGTAC CACTCCTCCCCGTCTGGACGTTCCGGACAGGGCACAAAGGCTGGAGA TTAAG
BCMA_EBB-C1979-C1 - aa VH	484	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEW VSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAIYYCA RATYKRELRYYYGMDVWVWGQGTMTVTVSS
BCMA_EBB-C1979-C1 - aa VL	485	EIVMTQSPGTVSLSPGERATLSCRASQSVSSSFLAWYQQKPGQAPRLLI YGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDSAVYYCQQYHSSPSW TFGQGTREIK
BCMA_EBB-C1978-C7		
BCMA_EBB-C1978-C7 - aa ScFv 结构域	486	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEW VSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNTLKAEDTAVYYCA RATYKRELRYYYGMDVWVWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLT QSPSTLSLSPGESATLSCRASQSVSTTFLAWYQQKPGQAPRLLIYSSN RATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIRRLEPEDFAVYYCQQYHSSPSWTFGQG TKVEIK
BCMA_EBB-C1978-C7 - nt ScFv 结构域	487	GAGGTGCAGCTTGTGAAACCGGTGGCGGACTGGTGCAGCCCGGA GGAAGCCTCAGGCTGTCTGCGCCGCGTCCGGCTTCACCTTCTCCT CGTACGCCATGTCTGGTCCGCCAGGCCCGGAAAGGGCCTGGA ATGGGTGTCCGCCATCTCTGGAAGCGGAGGTTCCACGTAAGTACGCG GACAGCGTCAAGGGAAGGTTCAACAATCTCCGCGATAAATCGAAGAA CACTCTGTACCTTCAAATGAACACCCTGAAGGCCGAGGACTGCTG TGTACTACTGCGCACGGGCCACCTACAAGAGAGAGCTCCGGTACTAC TACGGAATGGACGTCTGGGGCCAGGGAAGTACTGTGACCGTGTCTCCT CGGGAGGGGGTGGCTCCGGGGGGGGCGGCTCCGGCGGAGGCGGT TCCGAGATTGTGCTGACCCAGTACCTTCAACTCTGTGCTGTCCCC GGGAGAGAGCGCTACTCTGAGCTGCCGGGCCAGCCAGTCCGTGTCC ACCACCTTCTCGCTGGTATCAGCAGAAGCCGGGGCAGGCACCAC GGCTCTTGATCTACGGGTCAAGCAACAGAGCGACCGGAATCCTGAC CGCTTCTCGGGGAGCGGTTCAAGCACCGACTTCAACCCTGACTATCC GGCGCCTGGAACCCGAAGATTTCCCGGTGTATTACTGTCAACAGTAC CACTCCTCGCCGTCTGGACCTTTGGCCAAGGAACCAAAGTGGAAAT CAAG
BCMA_EBB-C1978-C7 - aa VH	488	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEW VSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNTLKAEDTAVYYCA RATYKRELRYYYGMDVWVWGQGTMTVTVSS
BCMA_EBB-C1978-C7 - aa VL	489	EIVLTQSPSTLSLSPGESATLSCRASQSVSTTFLAWYQQKPGQAPRLLIY GSSNRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIRRLEPEDFAVYYCQQYHSSPSW FGQGTKVEIK
BCMA_EBB-C1978-D10		
BCMA_EBB-C1978-D10 - aa ScFv 结构域	490	EVQLVETGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEW VSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYC ARVGKAVPDVWVWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPSSL SASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYSFGQGTREIK
BCMA_EBB-C1978-D10 - nt ScFv 结构域	491	GAAGTGCAGCTCGTGAAACTGGAGGTGGACTCGTGCAGCCTGGAC GGTCGCTGCGGCTGAGCTGCGCTGCATCCGGCTTACCTTCGACGA TTATGCCATGCACACTGGGTCAAGCAGGCGCCAGGGAAAGGACTTGAG TGGGTGTCCGGTATCAGCTGGAATAGCGGCTCAATCGGATACGCGG

[0486]

		ACTCCGTGAAGGGAAGGTTACCATTTCCTCCGCGACAACGCCAAGAAC TCCCTGTACTTGCAAATGAACAGCCTCCGGGATGAGGACACTGCCGT GTACTACTGCGCCCGCGTGGAAAAGCTGTGCCCGACGTCTGGGGC CAGGGAACCACTGTGACCGTGTCCAGCGGGCGGGGTGGATCGGGC GGTGGAGGGTCCGGTGGAGGGGGCTCAGATATTGTGATGACCCAGA CCCCCTCGTCCCTGTCCGCCTCGGTCGGCGACCGCGTACTATCAC ATGTAGAGCCTCGCAGAGCATCTCCAGCTACCTGAACTGGTATCAGC AGAAGCCGGGGAAGGCCCGAAGCTCCTGATCTACGCGGCATCATC ACTGCAATCGGGAGTGCCGAGCCGGTTTTCCGGGTCCGGCTCCGGC ACCGACTTACGCTGACCATTTCTTCCCTGCAACCCGAGGACTTCGC CACTTACTACTGCCAGACTCTACTCCACCCCTTACTCCTTCGGCCA AGGAACCAGGCTGGAATCAAG
BCMA_EBB-C1978-D10 - aa VH	492	EVQLVETGGGLVQPRSLRLSCLASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEW VSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYC ARVGKAVPDVWGQTTVTVSS
BCMA_EBB-C1978-D10- aa VL	493	DIVMTQTPSSLSASVGDVITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFSGSGSDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPYSFG QGTRLEIK
BCMA_EBB-C1979-C12		
BCMA_EBB-C1979-C12- aa ScFv 结构域	494	EVQLVESGGGLVQPRSLRLSCTASGFTFDDYAMHWVRQRPVKGLEW VASINWKGNSLAYGDSVKGRFAISRDNKNTVFLQMNSLRTEDTAVYYC ASHQGVAYYNYAMDVWGRGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEIVLTQ SPGTLSPGERATLSCRATQSIGSSFLAWYQQRPGQAPRLLIYGASQR ATGIPDRFSGRGSGDFTLTISRVEPEDSAVYYCQHYESSPSWTFGQGT KVEIK
BCMA_EBB-C1979-C12 - nt ScFv 结构域	495	GAAGTGCAGCTCGTGGAGAGCGGGGAGGATTGGTGCAGCCCGGA AGGTCCCTGCGGCTCTCCTGCACTGCGTCTGGCTTACCTTCGACGA CTACGCGATGCACTGGGTGAGACAGCGCCCGGAAAGGGCCTGGAA TGGGTGCGCTCAATCAACTGGAAGGGAACTCCCTGGCCTATGGCGA CAGCGTGAAGGGCCGCTTCCGCAATTCGCGCGACAACGCCAAGAAC ACCGTGTTCGCAAATGAATTCCTGCGGACCGAGGATAACCGTGT GTACTACTGCGCCAGCCACCAGGGCGTGGCATACTATAACTACGCCA TGGACGTGTGGGGAAGAGGGACGCTCGTACCCTGTCTCCGGGG GCGGTGGATCGGGTGGAGGAGGAAGCGGTGGCGGGGGCAGCGAAA TCGTGCTGACTCAGAGCCCGGGAACCTTTCCTGTCCTCCCGGGAGAA CGGGCCACTCTCTCGTCCCGGGCCACCCAGTCCATCGGCTCCTCCT TCCTTGCTGGTACCAGCAGAGGCCAGGACAGGCGCCCGCCTGCT GATCTACGGTGCTTCCCAACGCGCCACTGGCATTCTGACCGGTTCA GCGGCAGAGGGTCCGGAACCGATTTACACTGACCATTTCCCGGGT GGAGCCCGAAGATTCGGCAGTCTACTACTGTCAGCATTACGAGTCT CCCCTTCATGGACCTTCGGTCAAGGGACCAAAGTGGAGATCAAG
BCMA_EBB-C1979-C12 - aa VH	496	EVQLVESGGGLVQPRSLRLSCTASGFTFDDYAMHWVRQRPVKGLEW VASINWKGNSLAYGDSVKGRFAISRDNKNTVFLQMNSLRTEDTAVYYC ASHQGVAYYNYAMDVWGRGTLVTVSS
BCMA_EBB-C1979-C12 - aa VL	497	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRATQSIGSSFLAWYQQRPGQAPRLLIY GASQRATGIPDRFSGRGSGDFTLTISRVEPEDSAVYYCQHYESSPSWT FGQGTKVEIK
BCMA_EBB-C1980-G4		
BCMA_EBB-C1980-G4- aa ScFv 结构域	498	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCLASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEW VSAISGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKVVRDGMVWQGTTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEIVLTQSPATL SLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIP DRFSGNGSGDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYQYGSPPRFTFGPGTKVDIK
BCMA_EBB-C1980-G4- nt ScFv 结构域	499	GAGGTGCAGTTGGTCGAAAGCGGGGGCGGGCTTGTGCAGCCTGGC GGATCACTGCGGCTGTCTGCGCGGCATCAGGCTTACGTTTTCTTC CTACGCCATGTCCTGGGTGCGCCAGGCCCTGAAAGGGACTGGAA TGGGTGTCCGCGATTTCCGGGTCCGGCGGGAGCACCTACTACGCCG

[0487]

		ATTCCGTGAAGGGCCGCTTCACTATCTCGCGGGACAACCTCCAAGAAC ACCCTCTACCTCAAATGAATAGCCTGCGGGCCGAGGATACCGCCGT CTACTATTGCGCTAAGGTCGTGCGCGACGGAATGGACGTGTGGGGA CAGGGTACCACCGTGACAGTGTCTCGGGGGAGGGCGGTAGCGGC GGAGGAGGAAGCGGTGGTGGAGTTCCGAGATTGTGCTGACTCAAT CACCCGCGACCCTGAGCCTGTCCCCCGGCGAAAGGGCCACTCTGTC CTGTGCGGGCCAGCCAATCAGTCTCCTCCTCGTACCTGGCCTGGTACC AGCAGAAGCCAGGACAGGCTCCGAGACTCCTTATCTATGGCGCATCC TCCCGCGCCACCGGAATCCCGGATAGTTCTCGGGAACGGATCGG GGACCGACTTCACTCTACCATCTCCCGGCTGGAACCGGAGGACTTC GCCGTGTACTACTGCCAGCAGTACGGCAGCCCGCCTAGATTCACTTT CGCCCCCGCACCAAAGTGACATCAAG
BCMA_EBB- C1980-G4- aa VH	500	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEW VSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKVVRDGMVWVWQGTITVSS
BCMA_EBB- C1980-G4- aa VL	501	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIY GASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYGSPPRFT FGPGTKVDIK
BCMA_EBB-C1980-D2		
BCMA_EBB- C1980-D2- aa ScFv 结构域	502	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEW VSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKIPQTGTFDYWQGTSLVTVSSGGGGGGGGGGSEIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQRPGQAPRLLIYGASSRATGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGSSPSWTFGQGRLEIK
BCMA_EBB- C1980-D2- nt ScFv 结构域	503	GAAGTGCAGCTGCTGGAGTCCGCGGTTGGATTGGTGAACCGGGG GGATCGCTCAGACTGTCTGTGCGGCGTCAGGCTTACCTTCTCGAG CTACGCCATGTCATGGGTGACAGAGCCCTGAAAGGGTCTGGAA TGGGTGTCCGCCATTTCCGGGAGCGGGGATCTACATACTACGCCG ATAGCGTGAAGGGCCGCTTACCATTTCCCGGGACAACCTCCAAGAAC ACTCTCTATCTGCAAATGAACTCCCTCCGCGCTGAGGACACTGCCGT GTACTACTGCGCCAAAATCCCTCAGACCGGACCTTCGACTACTGGG GACAGGGGACTCTGGTCACCGTACGAGCGGTGGCGGAGTTCCGG GGGGAGGAGGAAGCGGCGGCGGAGGGTCCGAGATTGTGCTGACCC AGTCAACCGGCACTTTGTCCCTGTGCGCTGGAGAAAGGGCCACCCCT TCCTGCCGGGCATCCCAATCCGTGTCTCCTCGTACCTGGCCTGGTA CCAGCAGAGGCCCGGACAGGCCCCACGGCTTCTGATCTACGGAGCA AGCAGCCGCGGACCGGTATCCCGGACCGGTTTTCCGGCTCGGGCT CAGGAAGTACTTACCCCTACCATCTCCCGCTGGAACCCGAAGAT TTCGCTGTGTATTACTGCCAGCACTACGGCAGCTCCCGCTCCTGGAC GTTCCGGCCAGGGAACCTCGGCTGGAGATCAAG
BCMA_EBB- C1980-D2- aa VH	504	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEW VSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKIPQTGTFDYWQGTSLVTVSS
BCMA_EBB- C1980-D2- aa VL	505	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQRPGQAPRLLIY GASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGSSPSWT FGQGRLEIK
BCMA_EBB-C1978-A10		
BCMA_EBB- C1978-A10- aa ScFv 结构域	506	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEW VSAISGSGGSTYYADSVKGRFTMSRENDKNSVFLQMNSLRVEDTG VYCARANYKRELRYYYGMDVWVWQGTMTVTVSSGGGGGGGGGGSEI VMTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQHKPGQAPSLIISG ASSRATGVPDRFSGSGSGTDFTLISRLEPEDSAVYYCQHYDSSPSWTF GQGTKVEIK
BCMA_EBB- C1978-A10- nt ScFv 结构域	507	GAAGTGCAACTGGTGGAAACCGGTGGAGGACTCGTGCAGCCTGGCG GCAGCCTCCGGCTGAGCTGCGCCGCTTCGGGATCACCTTTCTCCTCC TACGCGATGTCTTGGGTGACAGAGGCCCGGAAAGGGGCTGGAAT GGGTGTCAGCCATCTCCGGCTCCGGCGGATCAACGTAACGCGCA CTCCGTGAAAGGCCGTTACCATGTGCGCGGAGAAATGACAAGA ACTCCGTGTTCTGCAAATGAACTCCCTGAGGGTGGAGGACACCGGAGT GTACTATTGTGCGCGGCCAACTACAAGAGAGAGCTGCGGTACTACT ACGGAATGGACGTCTGGGGACAGGGAACATGGTGACCGTGTCTATC

[0488]

		CGGTGGAGGGGAAGCGGCGGTGGAGGCAGCGGGGCGGGGGTT CAGAAATTGTCATGACCCAGTCCCGGGAACCTTTCCCTCTCCCC GGGAATCCGCGACTTTGTCTGCCGGGCCAGCCAGCGCTGGCCT CGAACTACCTCGCATGGTACCAGCATAAGCCAGGCCAAGCCCTCC CTGCTGATTTCCGGGGCTAGCAGCCGCGCCACTGGCGTGCCGATA GGTTCTCGGGAAGCGGCTCGGGTACCGATTTACCCCTGGCAATCTC GCGGCTGGAACCGGAGGATTCGGCCGTGTACTACTGCCAGCACTAT GACTCATCCCCCTCTGGACATTCGGACAGGGCACCAAGTTCGAGAT CAAG
BCMA_EBB-C1978-A10-aa VH	508	EVQLVETGGGLVQPGGSLRSLCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEW VSAISGSGGSTYYADSVKGRFTMSRENDKNSVFLQMNSLRVEDTGYYY CARANYKRELRYYYGMDVWVGQGMVTVSS
BCMA_EBB-C1978-A10-aa VL	509	EIVMTQSPGTLSPGESATLSCRASQRVASNYLAWYQHKPGQAPSLLI SGASSRATGVPDRFSGSGSDFTLAIKRLPEPDSAVYYCQHYDSSPS WTFGQGTKVEIK
BCMA_EBB-C1978-D4		
BCMA_EBB-C1978-D4-aa ScFv 结构域	510	EVQLLETGGGLVQPGGSLRSLCAASGFSFSSYAMSWVRQAPGKGLEW VSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKALVGATGAFDIWQGTLLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPG TLSPGERATLSCRASQSLSSNFLAWYQKPGQAPGLLIYGASNWT GTPDRFSGSGSDFTLITRLEPEDFAVYYCQYYGTSMPYTFGQGTKV EIK
BCMA_EBB-C1978-D4-nt ScFv 结构域	511	GAAGTGCAGCTGCTCGAAACCGGTGGAGGGCTGGTGCAGCCAGGG GGCTCCCTGAGGCTTTCATGCGCCGCTAGCGGATTCTCTTCTCCTC TTACGCCATGTCGTGGGTCCGCCAAGCCCCTGAAAAGGCCTGGAA TGGGTGTCCGCGATTTCCGGGAGCGGAGTTTCGACCTATTACGCCG ACTCCGTGAAGGGCCGCTTTACCATCTCCCGGGATAACTCCAAGAAC ACTCTGTACCTCAAATGAACTCGCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGT GTATTACTGCGCGAAGGCGCTGGTCCGCGCGACTGGGGCATTCCGAC ATCTGGGGACAGGGAACCTTTGTGACCGTGTGCGAGCGGAGGCGCG GCTCCGCGGAGGAGGGAGCGGGGGCGGTGGTTCCGAAATCGTGT TGACTCAGTCCCCGGGAACCCTGAGCTTGTACCCGGGGAGCGGGC CACTCTCTCCTGTGCGCCTCCCAATCGCTCTCATCCAATTTCTGGC CTGGTACCAGCAGAAGCCCGGACAGGCCCGGGCCTGCTCATCTAC GGCGCTTCAAACCTGGGCAACGGGAACCCTGATCGGTTACAGCGGAA GCGGATCGGGTACTGACTTTACCCTGACCATCACCAGACTGGAACCG GAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGTACTACGGCACCTCCCCCAT GTACACATTCGGACAGGGTACCAAGGTCGAGATTAAG
BCMA_EBB-C1978-D4-aa VH	512	EVQLLETGGGLVQPGGSLRSLCAASGFSFSSYAMSWVRQAPGKGLEW VSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKALVGATGAFDIWQGTLLTVSS
BCMA_EBB-C1978-D4-aa VL	513	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSLSSNFLAWYQKPGQAPGLLIY GASNWATGTPDRFSGSGSDFTLITRLEPEDFAVYYCQYYGTSMPYTF FGQGTKVEIK
BCMA_EBB-C1980-A2		
BCMA_EBB-C1980-A2-aa ScFv 结构域	514	EVQLLESGGGLVQPGGSLRSLCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEW VSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC VLWFGEGFDPWQGTLLTVSSGGGGSGGGGSGGGSDIVLTQSPLSL PVTPEPAPASCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA SGVPDRFSGSGSDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPITFGGGTKV DIK
BCMA_EBB-C1980-A2-nt ScFv 结构域	515	GAAGTGCAGCTGCTTGAGAGCGGTGGAGGTCTGGTGCAGCCCGGG GGATCACTGCGCCTGTCTGTGCCGCGTCCGGTTTCACTTCTCCTC GTACGCCATGTCGTGGGTGAGACAGGCACCGGAAAGGGACTGGAA TGGGTGTACGCCATTTCCGGTTCCGGGGGCGAGCACCTACTACGCTG ACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATTTCCCGCGACAACCTCCAAGAAC ACCTTGTACCTCAAATGAACTCCCTGCGGGCCGAAGATACCGCCGT GTATTACTGCGTGTGGTTCGGAGAGGGATTCCGACCCGTGGGGA CAAGGAACACTCGTACTGTGTCATCCGGCGGAGGCGGCGAGCGGTG

[0489]

		GCGGCGGTTCCGGCGGCGGCGGATCTGACATCGTGTTGACCCAGTC CCCTCTGAGCCTGCCGGTCACTCCTGGCGAACCAGCCAGCATCTCCT GCCGGTCGAGCCAGTCCCTCCTGCACTCCAATGGGTACAACCTACCTC GATTGGTATCTGCAAAAAGCCGGGCCAGAGCCCCAGTCTGATCTA CCTTGGGTCAAACCGCGCTTCCGGGGTGCCTGATAGATTCTCCGGGT CCGGGAGCGGAACCGACTTTACCCTGAAAATCTCGAGGGTGGAGGC CGAGGACGTGCGAGTGTACTACTGCATGCAGGCGCTCCAGACTCCC CTGACCTTCGGAGGAGGAACGAAGGTCGACATCAAGA
BCMA_EBB-C1980-A2- aa VH	516	EVQLLESGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEW VSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC VLWFGEGFDPWGQGLTVVSS
BCMA_EBB-C1980-A2- aa VL	517	DIVLTQSPSLPVTPEGPASISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSP QLLIYLGSRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQ TPLTFGGGTKVDIK
BCMA_EBB-C1981-C3		
BCMA_EBB-C1981-C3- aa ScFv 结构域	518	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEW VSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKVGYDSSGYRDIYGMVWVWQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLIY GTSSRATGISDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGNSPPKFT FGPGTKLEIK
BCMA_EBB-C1981-C3- nt ScFv 结构域	519	CAAGTGCAGCTCGTGAGTCAAGCGGAGGACTGGTGCAGCCCCGGG GGCTCCCTGAGACTTTCTGCGCGGCATCGGGTTTACCTTCTCCTC CTATGCTATGCTCCTGGGTGCGCCAGGCCCGGAAAGGGACTGGAA TGGGTGTCCGCAATCAGCGGTAGCGGGGGCTCAACATACTACGCCG ACTCCGTCAAGGGTTCGCTTCACTATTTCCCGGGACAACCTCAAGAAT ACCCTGTACCTCAAATGAACAGCCTCAGGGCCGAGGATACTGCCGT GTACTACTGCGCCAAAGTCGGATACGATAGCTCCGGTACTACCGGG ACTACTACGGAATGGACGTGTGGGGACAGGGCACCACCGTGACCGT GTCAAGCGGCGGAGGCGGTTTCAGGAGGGGGAGGCTCCGGCGGTGG AGGGTCCGAAATCGTCCTGACTCAGTCGCCTGGCACTCTGTCGTTGT CCCCGGGGGAGCGCGCTACCCTGTCGTGTCGGGCGTCGCAGTCCG TGTCGAGCTCCTACCTCGCGTGGTACCAGCAGAAGCCCGGACAGGC CCCTAGACTTCTGATCTACGGCACTTCTTACGCGCCACCGGGATCA GCGACAGGTTCAGCGGCTCCGGTCCGGGACCGACTTCAACCCTGAC CATTAGCCGGCTGGAGCCTGAAGATTTGCGCGTGTATTACTGCCAAC ACTACGGAAACTCGCCGCAAAAGTTCACGTTCCGACCCGGAACCAAG CTGGAAATCAAG
BCMA_EBB-C1981-C3- aa VH	520	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEW VSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKVGYDSSGYRDIYGMVWVWQGTTVTVSS
BCMA_EBB-C1981-C3- aa VL	521	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLIY GTSSRATGISDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGNSPPKFT FGPGTKLEIK
BCMA_EBB-C1978-G4		
BCMA_EBB-C1978-G4- aa ScFv 结构域	522	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEW VSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKMGWSSGYLGAFDIWQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQ SPGTLSPGERATLSCRASQSVASSFLAWYQQKPGQAPRLIYGASGR ATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGGSPRLTFGGGT KVDIK
BCMA_EBB-C1978-G4- nt ScFv 结构域	523	GAAGTCCAACCTGGTGGAGTCCGGGGGAGGGCTCGTGCAGCCCCGA GGCAGCCTTCGGCTGTCGTGCGCCGCTCCGGGTTACGTTCTCAT CCTACGCGATGTCGTGGGTGAGACAGGCACCAGGAAAGGGACTGGA ATGGGTGTCCGCCATTAGCGGCTCCGGCGGTAGCACCTACTATGCC GACTCAGTGAAGGGAAGGTTCACTATCTCCCGCGACAACAGCAAGAA CACCTGTACCTCAAATGAACTCTGCGGGCCGAGGATACCGCG GTGTACTATTGCGCCAAGATGGGTTGGTCCAGCGGATACTGGGAGC CTTCGACATTTGGGGACAGGGCACTACTGTGACCGTGTCTCCGGG GGTGGCGGATCGGGAGGCGGCGCTCGGGTGGAGGGGTTCCGAA ATCGTGTTGACCCAGTCACCGGGAACCCTCTCGCTGTCCCCGGGAG

[0490]

		AACGGGCTACACTGTCATGTAGAGCGTCCCAGTCCGTGGCTTCCTCG TTCCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCGGGACAGGCACCCCGCCTGC TCATCTACGGAGCCAGCGGCCGGGCGACCGGCATCCCTGACCGCTT CTCCGGTTCGGGCTCGGGCACCGACTTTACTCTGACCATTAGCAGGC TTGAGCCCGAGGATTTTGCCGTGTACTACTGCCAACACTACGGGGGG AGCCCTCGCCTGACCTTCGGAGGCGGAACTAAGGTCGATATCAAAA
BCMA_EBB- C1978-G4- aa VH	524	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEW VSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKMGWSSGYLGAFDIWGQGTITVTVSS
BCMA_EBB- C1978-G4- aa VL	525	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVASSFLAWYQQKPGQAPRLIY GASGRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGGSPRLT FGGGTKVDIK

[0491] 在一些实施方案中,使用来自PCT公开W02012/0163805的VH和VL序列,生成额外的示例性CAR构建体(所述文献的内容因而通过引用方式完整地并入)。在一些实施方案中,使用来自PCT公开W02016/014565的VH和VL序列,生成额外的示例性CAR构建体(所述文献的内容因而通过引用方式完整地并入)。在一些实施方案中,使用来自PCT公开W02014/122144的VH和VL序列,生成额外的示例性CAR构建体(所述文献的内容因而通过引用方式完整地并入)。在一些实施方案中,使用来自PCT公开W02016/014789的CAR分子和/或VH和VL序列,生成额外的示例性CAR构建体(所述文献的内容因而通过引用方式完整地并入)。在一些实施方案中,使用来自PCT公开W02014/089335的CAR分子和/或VH和VL序列,生成额外的示例性CAR构建体(所述文献的内容因而通过引用方式完整地并入)。在一些实施方案中,使用来自PCT公开W02014/140248的CAR分子和/或VH和VL序列,生成额外的示例性CAR构建体(所述文献的内容因而通过引用方式完整地并入)。

[0492] 在一些实施方案中,也可以使用表12中存在的VH和VL序列生成额外的示例性CAR构建体。表12中还存在包含VH结构域和VL结构域及接头序列的示例性scFv结构域和全长CAR的氨基酸序列。

[0493] 表12. 额外的示例性BCMA结合结构域序列

[0494]

名称	序列	SEQ ID NO:
A7D12.2 VH	QIQLVQSGPDLKKPGETVKLSCKASGYTFTNFGMNWVKQAPGKGFKWMWIN TYTGESYFADDFKGRFAFSVETSATTAYLQINNLIKTEDTATYFCARGEIYYGYDG GFAYWGQGLTVSA	526
A7D12.2 VL	DVVMTQSHRFMSTSVGDRVSITCRASQDVNTAVSWYQQKPGQSPKLLIFSASY RYTGVPRFTGSGSGADFTLTISSVQAEDLAVYYCQQHYSTPWTFGGGTKLDIK	527
A7D12.2 scFv 结构域	QIQLVQSGPDLKKPGETVKLSCKASGYTFTNFGMNWVKQAPGKGFKWMWIN TYTGESYFADDFKGRFAFSVETSATTAYLQINNLIKTEDTATYFCARGEIYYGYDG GFAYWGQGLTVSAGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSHRFMSTSVGDRVSI TCRASQDVNTAVSWYQQKPGQSPKLLIFSASYRYTGVPRFTGSGSGADFTLTI SSVQAEDLAVYYCQQHYSTPWTFGGGTKLDIK	528
C11D5.3 VH	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSINWVKRAPGKGLKWMGWINTE TREPAYAYDFRGRFAFSLETSASTAYLQINNLIKYEDTATYFCALDYSYAMDYWG QGTSVTVSS	529
C11D5.3 VL	DIVLTQSPASLMSLGKRATISCRASESVSIGAHLIHWYQQKPGQPPLLIYLAS NLETGVPARFSGSGSRTDFLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRIPRTFGGGTKLEIK	530
C11D5.3 scFv 结构域	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSINWVKRAPGKGLKWMGWINTE TREPAYAYDFRGRFAFSLETSASTAYLQINNLIKYEDTATYFCALDYSYAMDYWG QGTSVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYT FTDYSINWVKRAPGKGLKWMGWINTETREPAYAYDFRGRFAFSLETSASTAYL QINNLIKYEDTATYFCALDYSYAMDYWGQGTSVTVSS	531
C12A3.2	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFRHYSMNWVKQAPGKGLKWMGRINT	532

[0495]

VH	ESGVPIYADDFKGRFAFSVETSASTAYLVINNLKDEDTASYFCSNDYLYSLDFWG QGTALTVSS	
C12A3.2 VL	DIVLTQSPPSLMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIYWYQQKPGQPPTLLIQLAS NVQTVGPARGSGSRTDFLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRIPRTFGGGTKLEIK	533
C12A3.2 scFv 结构域	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFRHYSMNWVKQAPGKGLKWMGRINT ESGVPIYADDFKGRFAFSVETSASTAYLVINNLKDEDTASYFCSNDYLYSLDFWG QGTALTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPPSLMSLGKRATISCRASESV TILGSHLIYWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTVGPARGSGSRTDFLTIDPVEE DDVAVYYCLQSRIPRTFGGGTKLEIK	534
C13F12.1 VH	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTHYSMNWVKQAPGKGLKWMGRINT ETGEPLYADDFKGRFAFSLETSASTAYLVINNLKNETATFFCSNDYLYSCDYW GGTTLTVSS	535
C13F12.1 VL	DIVLTQSPPSLMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIYWYQQKPGQPPTLLIQLAS NVQTVGPARGSGSRTDFLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRIPRTFGGGTKLEIK	536
C13F12.1 scFv 结构域	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTHYSMNWVKQAPGKGLKWMGRINT ETGEPLYADDFKGRFAFSLETSASTAYLVINNLKNETATFFCSNDYLYSCDYW GGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPPSLMSLGKRATISCRASESV TILGSHLIYWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTVGPARGSGSRTDFLTIDPVEE EDDVAVYYCLQSRIPRTFGGGTKLEIK	537

[0496] 对于重链可变结构域,在表13中显示scFv结构域的人CDR序列,并且对于轻链可变结构域,在表14中显示scFv结构域的人CDR序列。“ID”代表每个CDR的相应SEQ ID NO。CDR根据Kabat定义显示,然而,可以基于以上VH和VL序列轻易地推导出遵循其他惯例(例如,Chothi定义或联合Kabat/Chothi定义)的CDR。

[0497] 表13.根据Kabat编号方案的重链可变结构域CDR(Kabat等人(1991),“sequences of Proteins of Immunological Interest,”5th Ed.Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD)

[0498]

候选物	HCDR1	ID	HCDR2	ID	HCDR3	ID
139109	NHGMS	538	GIVYSGSTYYAASV KG	539	HGGESDV	540
139103	NYAMS	541	GISRSGENTYYADS VKG	542	SPAHHYYGGMDV	543
139105	DYAMH	544	GISWNSGSIGYADS VKG	545	HSFLAY	546
139111	NHGMS	538	GIVYSGSTYYAASV KG	539	HGGESDV	540
139100	NFGIN	547	WINPKNNNTNYAQK FQG	548	GPYYYQSYMDV	549
139101	SDAMT	550	VISGSGGTTYADS VKG	551	LDSSGYYYARGPRY	552
139102	NYGIT	553	WISAYNGNTNYAQK FQG	554	GPYYYYMDV	555
139104	NHGMS	538	GIVYSGSTYYAASV KG	539	HGGESDV	540
139106	NHGMS	538	GIVYSGSTYYAASV KG	539	HGGESDV	540
139107	NHGMS	538	GIVYSGSTYYAASV KG	539	HGGESDV	540
139108	DYYMS	556	YISSSGSTIYYADSV KG	557	ESGDGMDV	558
139110	DYYMS	556	YISSSGNTIYYADSV KG	559	STMVREDY	560
139112	NHGMS	538	GIVYSGSTYYAASV KG	539	HGGESDV	540
139113	NHGMS	538	GIVYSGSTYYAASV	539	HGGESDV	540

[0499]

			KG			
139114	NHGMS	538	GIVYSGSTYYAASV KG	539	HGGESDV	540
149362	SSYYYWG	561	SIYYSGSAYYNPSL KS	562	HWQEWPAFDI	563
149363	TSGMCVS	564	RIDWDEDKFYSTSL KT	565	SGAGGTSATAFDI	566
149364	SYSMN	567	SISSSSYIYYADSV KG	568	TIAAVYAFDI	569
149365	DYYMS	556	YISSSGSTIYYADSV KG	557	DLRGAFDI	570
149366	SHYIH	571	MINPSGGVTAYSQT LQG	572	EGSGSGWYFDF	573
149367	SGGYWS	574	YIYYSGSTYYNPSLK S	575	AGIAARLRGAFDI	576
149368	SYAIS	577	GIIPFGTANYAQKF QG	578	RGYQLLRWDVGLL RSAFDI	579
149369	SNSAAWN	580	RTYYRSKWYSFYAI SLKS	581	SSPEGLFLYWFDP	582
BCMA_EBB -C1978-A4	SYAMS	583	AISGSGGSTYYADS VKG	584	VEGSGSLDY	585
BCMA_EBB -C1978-G1	RYPMS	586	GISDSGVSTYYADS AKG	587	RAGSEASDI	588
BCMA_EBB -C1979-C1	SYAMS	583	AISGSGGSTYYADS VKG	584	ATYKRELRYYYGMD V	589
BCMA_EBB -C1978-C7	SYAMS	583	AISGSGGSTYYADS VKG	584	ATYKRELRYYYGMD V	589
BCMA_EBB -C1978-D10	DYAMH	544	GISWNSGSIGYADS VKG	545	VGKAVPDV	590
BCMA_EBB -C1979-C12	DYAMH	544	SINWKGNLAYGDS VKG	591	HQGVAYYNYAMDV	592
BCMA_EBB -C1980-G4	SYAMS	583	AISGSGGSTYYADS VKG	584	VVRDGMDV	593
BCMA_EBB -C1980-D2	SYAMS	583	AISGSGGSTYYADS VKG	584	IPQTGTFDY	594
BCMA_EBB -C1978-A10	SYAMS	583	AISGSGGSTYYADS VKG	584	ANYKRELRYYYGMD V	595
BCMA_EBB -C1978-D4	SYAMS	583	AISGSGGSTYYADS VKG	584	ALVGATGAFDI	596
BCMA_EBB -C1980-A2	SYAMS	583	AISGSGGSTYYADS VKG	584	WFGEGFDP	597
BCMA_EBB -C1981-C3	SYAMS	583	AISGSGGSTYYADS VKG	584	VGYDSSGYRDYY GMDV	598
BCMA_EBB -C1978-G4	SYAMS	583	AISGSGGSTYYADS VKG	584	MGWSSGYLGAFDI	599
A7D12.2	NFGMN	600	WINTYTGESYFADD FKG	601	GEIYYGYDGGFAY	602
C11D5.3	DYSIN	603	WINTETREPAYAYD FRG	604	DYSYAMDY	605
C12A3.2	HYSMN	606	RINTESGVPIYADDF KG	607	DYLYSLDF	608
C13F12.1	HYSMN	606	RINTETGEPLYADD FKG	609	DYLYSCDY	610

[0500] 表14. 根据Kabat编号方案的轻链可变结构域CDR (Kabat等人 (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National

Institutes of Health, Bethesda, MD)

[0501]	候选物	LCDR1	ID	LCDR2	ID	LCDR3	ID
	139109	RASQSISSYLN	611	AASSLQS	612	QQSYSTPYT	613
	139103	RASQSISSSFLA	614	GASRRAT	615	QQYHSSPSWT	616
	139105	RSSQSLLHSNGYNYL D	617	LGSNRAS	618	MQALQTPYT	619
	139111	KSSQSLLRNDGKTPL Y	620	EVSNRFS	621	MQNIQFPS	622
	139100	RSSQSLLHSNGYNYL N	623	LGSKRAS	624	MQALQTPYT	619
	139101	RASQSISSYLN	611	GASTLAS	625	QQSYKRAS	626
	139102	RSSQSLLYSNGYNYV D	627	LGSNRAS	618	MQGRQFPYS	628
	139104	RASQSVSSNLA	629	GASTRAS	630	QQYGSSLT	631
	139106	RASQSVSSKLA	632	GASIRAT	636	QQYGSSSWT	637
	139107	RASQSVGSTNLA	638	DASNRAT	639	QQYGSSPPWT	640
	139108	RASQSISSYLN	611	AASSLQS	612	QQSYTLA	641
	139110	KSSESLVHNSGKTYL N	642	EVSNRDS	643	MQGTHWPGT	644
	139112	QASEDINKFLN	645	DASTLQT	646	QQYESLPLT	647
	139113	RASQSVGSNLA	648	GASTRAT	649	QQYNDWLPVT	650
	139114	RASQSIGSSSLA	651	GASSRAS	652	QQYAGSPFFT	653
	149362	KASQDIDDAMN	654	SATSPVP	655	LQHDNFPLT	656
	149363	RASQDIYNLA	657	AANKSQS	658	QHYYRFPYS	659
	149364	RSSQSLLHSNGYNYL D	617	LGSNRAS	618	MQALQTPYT	619
	149365	GGNIGTKSVH	660	DDSVRPS	661	QVWDSSEHV V	662
[0502]	149366	SGDGLSKKYVS	663	RDKERPS	664	QAWDDTTVV	665
	149367	RASQGIRNWLA	666	AASNLQS	667	QKYNSAPFT	668
	149368	GGNIGSKSVH	669	GKNNRPS	670	SSRDSSGDHL RV	671
	149369	QGDSLGNYYAT	672	GTNNRPS	673	NSRDSSGHHL L	674
	BCMA_EBB- C1978-A4	RASQSVSSAYLA	675	GASTRAT	649	QHYGSSFNGL SLFT	676
	BCMA_EBB- C1978-G1	RASQSVSNSLA	677	DASSRAT	678	QQFGTSSGLT	679
	BCMA_EBB- C1979-C1	RASQSVSSSFLA	680	GASSRAT	681	QQYHSSPSWT	616
	BCMA_EBB- C1978-C7	RASQSVSTTFLA	682	GSSNRAT	683	QQYHSSPSWT	616
	BCMA_EBB- C1978-D10	RASQSISSYLN	611	AASSLQS	612	QQSYSTPYS	684
	BCMA_EBB- C1979-C12	RATQSIGSSFLA	685	GASQRAT	686	QHYESSPSWT	687
	BCMA_EBB- C1980-G4	RASQSVSSSYLA	688	GASSRAT	681	QQYGSPPRFT	689
	BCMA_EBB- C1980-D2	RASQSVSSSYLA	688	GASSRAT	681	QHYGSSPSWT	690
	BCMA_EBB- C1978-A10	RASQSVASNYLA	691	GASSRAT	681	QHYDSSPSWT	692
	BCMA_EBB- C1978-D4	RASQSLSSNFLA	693	GASNWAT	694	QYYGTSPMYT	695
	BCMA_EBB- C1980-A2	RSSQSLLHSNGYNYL D	617	LGSNRAS	618	MQALQTPLT	696
	BCMA_EBB-	RASQSVSSSYLA	688	GTSSRAT	697	QHYGNSPPKF	698

	C1981-C3				T	
	BCMA_EBB-C1978-G4	RASQSVASSFLA	699	GASGRAT	700	QHYGGSPRLT 701
[0503]	A7D12.2	RASQDVNTAVS	702	SASYRYT	703	QQHYSTPWT 704
	C11D5.3	RASESVSVIGAHLIH	705	LASNLET	706	LQSRIFPRT 707
	C12A3.2	RASESVTILGSHLIY	708	LASNVQT	709	LQSRITPRT 710
	C13F12.1	RASESVTILGSHLIY	708	LASNVQT	709	LQSRITPRT 710

[0504] 在一个实施方案中,BCMA结合结构域包含本文所述(例如,表11、表12或表14中提供)的BCMA结合结构域的一个或多个(例如,全部三个)轻链互补决定区1(LC CDR1)、轻链互补决定区2(LC CDR2)和轻链互补决定区3(LC CDR3)、和/或本文所述(例如,表11、表12或表13中提供)的BCMA结合结构域的一个或多个(例如,全部三个)重链互补决定区1(HC CDR1)、重链互补决定区2(HC CDR2)和重链互补决定区3(HC CDR3)。在一个实施方案中,BCMA结合结构域包含如通过引用方式并入本文的表11中提供的任何氨基酸序列的LCCDR1、LC CDR2和LC CDR3中一者、两者或全体;和如表11中提供的任何氨基酸序列的HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3中一者、两者或全体。

[0505] 在一个实施方案中,BCMA结合结构域包含本文(例如,表11或12中)所述的轻链可变区和/或本文(例如,表11或12中)所述的重链可变区。在一个实施方案中,BCMA结合结构域是包含表11或12中列出的氨基酸序列的轻链和重链的scFv。在一个实施方案中,BCMA结合结构域(例如,scFv)包含:轻链可变区,所述轻链可变区包含下述氨基酸序列,所述氨基酸序列具有至少一个、两个或三个在表11或表12中提供的轻链可变区的氨基酸序列的修饰(例如,置换,例如保守性置换),但不多于30、20或10个修饰(例如,置换,例如保守性置换),或包含与表11或表12中提供的氨基酸序列具有95-99%同一性的序列;和/或重链可变区,所述重链可变区包含下述氨基酸序列,所述氨基酸序列具有至少一个、两个或三个在表11或12中提供的重链可变区的氨基酸序列的修饰(例如,置换,例如保守性置换),但不多于30、20或10个修饰(例如,置换,例如保守性置换),或包含与表11或表12中提供的氨基酸序列具有95-99%同一性的序列。

[0506] 在一个实施方案中,BCMA结合结构域包含选自SEQ ID NO:382、386、390、394、398、402、406、410、414、418、422、426、430、434、438、442、446、450、454、458、462、466、470、474、478、482、486、490、494、498、502、506、510、514、518、522、528、531、534或537中任一者的氨基酸序列;或相对于前述任何序列具有至少一个、两个或三个修饰(例如,置换,例如,保守性置换)但不多于30、20或10个修饰(例如,置换,例如,保守性置换)的氨基酸序列;或与前述任何序列具有95-99%同一性的序列。在一个实施方案中,BCMA结合结构域是scFv,并且包含本文(例如,表11或12中)所述的氨基酸序列的轻链可变区经接头(例如,本文所述的接头)与包含本文(例如,表11或12中)所述的氨基酸序列的重链可变区连接。在一个实施方案中,BCMA结合结构域包含(Gly₄-Ser)_n接头,其中n是1、2、3、4、5或6、优选地4(SEQ ID NO:967)。scFv的轻链可变区和重链可变区可以例如处于以下任何取向:轻链可变区-接头-重链可变区或重链可变区-接头-轻链可变区。

[0507] 本领域的任何已知CAR,例如,任何已知CAR的BCMA抗原结合结构域,可以根据本发明用来构建CAR。例如,本文所述的那些。

[0508] 在一个实施方案中,针对ROR1的抗原结合结构域是在例如Hudecek等人,Clin

Cancer Res 19(12):3153-3164(2013);WO 2011159847;和US20130101607中描述的抗体的抗原结合部分,例如,CDR。

[0509] 在一个实施方案中,针对CD22的抗原结合结构域是在例如Haso等人,Blood,121(7):1165-1174(2013);Wayne等人,Clin Cancer Res 16(6):1894-1903(2010);Kato等人,Leuk Res 37(1):83-88(2013);Creative BioMart(creativebiomart.net):MOM-18047-S(P)中描述的抗体的抗原结合部分,例如,CDR。

[0510] 在一个实施方案中,针对CD20的抗原结合结构域是抗体利妥昔单抗、奥法木单抗、奥瑞珠单抗(Ocrelizumab)、维妥珠单抗或GA101或其衍生物的抗原结合部分,例如,CDR。在一个实施方案中,针对CD20的抗原结合结构域是如在WO2016/164731中描述的抗原结合部分,所述文献因而通过引用方式完整地并入。

[0511] 在一个实施方案中,抗原结合结构域包含一个、二个、三个(例如,全部三个)来自上文所列抗体的重链CDR、HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3,和/或一个、二个、三个(例如,全部三个)来自结合上文所列的肿瘤抗原的抗体的轻链CDR、LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3。在一个实施方案中,抗原结合结构域包含结合上文所列的肿瘤抗原的抗体的重链可变区和/或可变轻链区。

[0512] 在一个实施方案中,本文所述的CAR的抗原结合结构域是scFv抗体片段。在一个方面,这类抗体片段是有功能的,在于它们保留等同的结合亲和力,例如,它们以可比的功效结合与衍生它的IgG抗体相同的抗原。在其他实施方案中,抗体片段具有较低的结合亲和力,例如,它以低于衍生它的抗体的结合亲和力结合相同的抗原,但是有功能,在于它提供本文所述的生物学反应。在一个实施方案中,CAR分子包含这样的抗体片段,其对靶抗原具有 10^{-4} M至 10^{-8} M,例如 10^{-5} M至 10^{-7} M,例如 10^{-6} M或 10^{-7} M的结合亲和力 K_D 。在一个实施方案中,抗体片段具有至少五倍、10倍、20倍、30倍、50倍、100倍或1,000倍小于参考抗体(例如,本文所述的抗体)的结合亲和力。

[0513] 在一个实施方案中,抗原结合结构域包含非人类抗体或抗体片段,例如,小鼠抗体或抗体片段。

[0514] 在另一个实施方案中,抗原结合结构域包含人源化抗体或抗体片段。在一些方面,非人类抗体是人源化的,其中修饰抗体的特定序列或区域以增加与人类中天然产生的抗体或其片段的相似性。在一个方面,与衍生它的抗体或抗体片段(例如,scFv)的鼠序列相比,抗原结合结构域是人源化的。

[0515] 可以使用本领域已知的多种技术产生人源化抗体,所述技术包括但不限于CDR移植(参见,例如,欧洲专利号EP 239,400;国际公开号WO 91/09967;和美国专利号5,225,539、5,530,101和5,585,089,每份文献通过引用的方式完整并入本文)、镶饰或表面重塑(参见,例如,欧洲专利号EP 592,106和EP 519,596;Padlan,1991,Molecular Immunology, 28(4/5):489-498;Studnicka等人,1994,Protein Engineering,7(6):805-814;和Roguska等人,1994,PNAS,91:969-973,每份文献通过引用的方式完整并入本文)、链改组(参见,例如,美国专利号5,565,332,所述文献通过引用的方式完整并入本文)和在例如以下文献中公开的技术:美国专利申请公开号US2005/0042664、美国专利申请公开号US2005/0048617、美国专利号6,407,213、美国专利号5,766,886、国际公开号WO 9317105、Tan等人,J.Immunol.,169:1119-25(2002)、Caldas等人,Protein Eng.,13(5):353-60(2000)、Morea

等人, *Methods*, 20 (3) :267-79 (2000)、Baca等人, *J. Biol. Chem.*, 272 (16) :10678-84 (1997)、Roguska等人, *Protein Eng.*, 9 (10) :895-904 (1996)、Couto等人, *Cancer Res.*, 55 (23Supp) :5973s-5977s (1995)、Couto等人, *Cancer Res.*, 55 (8) :1717-22 (1995)、Sandhu J S, *Gene*, 150 (2) :409-10 (1994) 和 Pedersen 等人, *J. Mol. Biol.*, 235 (3) :959-73 (1994), 每份文献通过引用的方式完整并入本文。经常地, 框架区中的框架残基将用来自 CDR 供体抗体的相应残基置换以改变、例如改善抗原结合。这些框架置换由本领域熟知的方法鉴定, 例如, 通过将 CDR 和框架残基的相互作用建模以鉴定对抗原结合重要的框架残基并且进行序列比较以鉴定特定位置处的不寻常框架残基。(参见, 例如, Queen 等人, 美国专利号 5,585,089; 和 Riechmann 等人, 1988, *Nature*, 332:323, 所述文献通过引用的方式完整并入本文)。

[0516] 人源化抗体或抗体片段具有留在其中的来自非人类来源的一个或多个氨基酸残基。这些非人氨基酸残基经常称作“输入”残基, 它们一般取自“输入”可变结构域。如本文中提供, 人源化抗体或抗体片段包含来自非人类免疫球蛋白分子的一个或多个 CDR 和框架区, 其中包含框架的氨基酸残基完全或大部分衍生自人种系。用于抗体或抗体片段人源化的多项技术是本领域熟知并且可以基本上按照 Winter 和合作者 (Jones 等人, *Nature*, 321:522-525 (1986); Reichmann 等人, *Nature*, 332:323-327 (1988); Verhoeyen 等人, *Science*, 239:1534-1536 (1988)) 的方法, 通过将啮齿类 CDR 或 CDR 序列置换相应的人抗体序列 (即, CDR 移植) 进行 (EP 239,400; PCT 公开号 WO 91/09967; 和美国专利号 4,816,567; 6,331,415; 5,225,539; 5,530,101; 5,585,089; 6,548,640, 所述文献的内容通过引用的方式完整并入本文)。在这类人源化抗体和抗体片段中, 基本上小于完整人可变结构域的区域已经由来自非人类物种的相应序列置换。人源化抗体往往是其中一些 CDR 残基并且可能地一些 FR 残基由来自啮齿动物抗体中类似位点的残基置换的人抗体。抗体和抗体片段的人源化也可以通过镶饰或表面重塑 (EP 592,106; EP 519,596; Padlan, 1991, *Molecular Immunology*, 28 (4/5) :489-498; Studnicka 等人, *Protein Engineering*, 7 (6) :805-814 (1994); 和 Roguska 等人, *PNAS*, 91:969-973 (1994)) 或链改组 (美国专利号 5,565,332) 实现, 所述文献的内容通过引用的方式完整并入本文。

[0517] 选择待用于产生人源化抗体的人可变结构域 (重链和轻链可变结构域) 降低抗原性。根据所谓“最佳配合”方法, 针对已知的人可变结构域序列的完整文库筛选啮齿动物抗体的可变结构域的序列。随后鉴定到与啮齿类序列最接近的人类序列并且接受它作为用于人源化抗体的人框架区 (FR) (Sims 等人, *J. Immunol.*, 151:2296 (1993); Chothia 等人, *J. Mol. Biol.*, 196:901 (1987), 所述文献的内容通过引用的方式完整并入本文)。另一种方法使用从具有特定亚组重链或重链的全部人类抗体的共有序列中衍生的特定框架。相同的框架可以用于几种不同的人源化抗体 (参见, 例如, Nicholson 等人, *Mol. Immun.* 34 (16-17) :1157-1165 (1997); Carter 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992); Presta 等人, *J. Immunol.*, 151:2623 (1993), 所述文献的内容通过引用的方式完整并入本文)。在一些实施方案中, 重链可变区的框架区 (例如, 全部四个框架区) 衍生自 VH4_4-59 种系序列。在一个实施方案中, 框架区可以包含一个、两个、三个、四个或五个修饰, 例如, 置换, 例如来自相应鼠序列处氨基酸的置换。在一个实施方案中, 轻链可变区的框架区 (例如, 全部四个框架区) 衍生自 VK3_1.25 种系序列。在一个实施方案中, 框架区可以包含一个、两个、三个、四个或五个修饰, 例如, 置换, 例如来自相应鼠序列处氨基酸的置换。

[0518] 在一些方面,CAR的抗体片段是人源化的,保留对靶抗原的高亲和力和其他有利的生物学特性。根据本发明的一个方面,使用亲本序列和人源化序列的三维模型,通过分析亲本序列和多种构思性人源化产物的过程,制备人源化抗体和抗体片段。三维免疫球蛋白模型通常是可获得的并且是本领域技术人员熟悉的。说明并展示所选择候选免疫球蛋白序列的可能三维构象性结构的计算机程序是可获得的。对这些展示结果的检验允许分析残基在候选免疫球蛋白序列发挥作用中的可能角色,例如,分析影响候选免疫球蛋白结合靶抗原的能力的残基。以这种方式,可以从受体序列和输入序列选出并且组合FR残基,从而实现想要的抗体或抗体片段特征,如对靶抗原的亲和力增加。通常,CDR残基直接并且基本上参与影响抗原结合作用。

[0519] 人源化抗体或抗体片段可以保留与(例如,在本公开中的)原始抗体相似的抗原特异性,结合如本文所述的人肿瘤抗原的能力。在一些实施方案中,人源化抗体或抗体片段可以具有改善的与如本文所述的肿瘤抗原结合的亲和力和/或特异性。在一些实施方案中,人源化抗体或抗体片段可以对如本文所述的肿瘤抗原或如本文所述的B细胞抗原的结合具有较低的亲和力和/或特异性。

[0520] 在一个方面,本发明的抗原结合结构域以抗体或抗体片段的特定功能性特征或特性为特征。例如,在一个方面,本发明的包含抗原结合结构域的CAR部分特异性结合如本文所述的肿瘤抗原。

[0521] 在一个方面,抗原结合结构域是片段,例如,单链可变片段(scFv)。在一个方面,如本文所述的抗肿瘤抗原结合结构域是Fv、Fab、(Fab')₂、或双功能(例如双特异性)杂交分子抗体(例如,Lanzavecchia等人,Eur.J.Immunol.17,105(1987))。在一个方面,本发明的抗体及其片段以野生型的亲和力或增强的亲和力结合如本文所述的肿瘤抗原蛋白。

[0522] 在一些情况下,scFv可以根据方法本领域已知的制备(参见,例如,Bird等人,(1988) Science 242:423-426和Huston等人,(1988) Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879-5883)。可以通过使用柔性多肽接头将VH区和VL区连接在一起产生scFv分子。ScFv分子包含长度和/或氨基酸组成优化的接头(例如,Ser-Gly接头)。接头长度可以大大影响scFv的可变区怎样折叠并相互作用。实际上,如果使用短多肽接头(例如,在5-10个氨基酸之间),则防止链内折叠。还需要链间折叠以使这两个可变区一起形成有功能的表位结合位点。关于接头取向和大小的例子,参见,例如,Hollinger等人,1993 Proc Natl Acad.Sci.U.S.A.90:6444-6448、美国专利公开号2005/0100543、2005/0175606、2007/0014794,和PCT公开号W02006/020258和W02007/024715,所述文献通过引用方式并入本文。

[0523] scFv可以在其VL区和VH区之间包含至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50个或更多个氨基酸残基的接头。接头序列可以包含任何天然存在的氨基酸。在一些实施方案中,接头序列包含氨基酸甘氨酸和丝氨酸。在另一个实施方案中,接头序列包含成组的甘氨酸和丝氨酸重复序列如(Gly₄Ser)_n,其中n是等于或大于1的正整数(SEQ ID NO:22)。在一个实施方案中,接头可以是(Gly₄Ser)₄(SEQ ID NO:29)或(Gly₄Ser)₃(SEQ ID NO:30)。接头长度的变异性可以保留或增强活性,在活性研究中产生优越功效。

[0524] 在另一个方面,抗原结合结构域是T细胞受体("TCR")、工程化的TCR或其片段,例如,单链TCR(scTCR)。产生这类TCR的方法是本领域已知的。参见,例如,Willemsen RA等人,

Gene Therapy 7:1369-1377 (2000); Zhang T等人, Cancer Gene Ther 11:487-496 (2004); Aggen等人, Gene Ther. 19 (4):365-74 (2012) (参考文献通过引用的方式完整并入)。例如,可以工程化scTCR为含有接头(例如,柔性肽)连接的来自T细胞克隆的Va基因和Vb基因。这种方法对本身为细胞内,然而这类抗原(肽)的片段由MHC呈递在癌细胞表面上的癌相关靶非常有用。

[0525] 在一个方面,CAR的抗原结合结构域包含与本文所述的抗原结合结构域氨基酸序列同源的氨基酸序列,并且抗原结合结构域保留本文所述的抗原结合结构域的所需功能特性。

[0526] 在一个具体方面中,CAR的抗原结合结构域包含抗体片段。在又一个方面,抗体片段包含scFv。在又一个方面,抗体片段仅包含可变重链(VH)。

[0527] 在多个方面,CAR的抗原结合结构域通过以下方式工程化:修饰在一个或两个可变区(例如,VH和/或VL)内部,例如,一个或多个CDR区内部和/或一个或多个框架区内部的一个或多个氨基酸。在一个具体方面中,本发明的CAR组合物包含抗体片段。在又一个方面,抗体片段包含scFv。

[0528] 本领域普通技术人员将理解,还可以修饰本发明的抗体或抗体片段,从而它们在氨基酸序列方面变动(例如,相对于野生型),但是在所需的活性方面无变动。例如,可以对蛋白质进行额外的核苷酸替换,所述核苷酸替换导致“非必需”氨基酸残基处的氨基酸置换。例如,分子中的非必需氨基酸残基可以替换为来自相同侧链家族的另一个氨基酸残基。在另一个实施方案中,一段氨基酸可以替换为侧链家族成员的顺序和/或组成方面不同的结构上相似的氨基酸段,例如,可以进行保守性置换,其中某个氨基酸残基替换为具有相似侧链的氨基酸残基。

[0529] 本领域中已经定义了具有相似侧链的氨基酸家族,所述侧链包括碱性侧链(例如赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、酸性侧链(例如,天冬氨酸、谷氨酸)、不带电荷极性侧链(例如,甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸)、非极性侧链(例如,丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸、色氨酸)、β分枝侧链(例如,苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)和芳族侧链(例如,酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。

[0530] 在两个或更多个核酸序列或多肽序列的情境下,同一性百分数指相同的两个或更多个序列。如果在比较窗口或指定区域范围内为最大对应性而进行比较和比对时,如使用以下序列比较算法之一或通过手工比对和目视审查所测量,两个序列具有指定百分数的相同氨基酸残基或核苷酸(例如,在指定区域范围内或当未指定时在整个序列范围内60%同一性,任选地70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%同一性),则这两个序列是“基本上相同的”。任选地,同一性存在于长度至少约50个核苷酸(或10个氨基酸)的区域内,或更优选地在长度100到500或1000或更多个核苷酸(或20、50、200或更多个氨基酸)的区域内。

[0531] 对于序列比较,一般地一个序列充当与检验序列比较的参考序列。当使用序列比较算法时,将检验序列和参考序列输入计算机,如果需要,指定子序列坐标,并指定序列算法程序参数。可以使用默认程序参数或可以指定备选参数。基于程序参数,序列比较算法随后相对于参考序列计算检验序列的序列同一性百分数。用于比对序列以比较的方法是本领

域熟知的。用于比较的最佳序列比对可以按如下方式进行,例如通过Smith和Waterman, (1970) *Adv. Appl. Math.* 2:482c的局部同源性算法、通过Needleman和Wunsch (1970) *J. Mol. Biol.* 48:443的同源性比对算法、通过Pearson和Lipman, (1988) *Proc. Nat' l. Acad. Sci. USA* 85:2444的相似性搜索方法、通过这些算法的计算机化执行 (Wisconsin Genetics软件包, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI中的GAP、BESTFIT、FASTA和TFASTA) 或通过手工比对和目视审查 (参见, 例如, Brent等人, (2003) *Current Protocols in Molecular Biology*)。

[0532] 适用于确定序列同一性和序列相似性百分数的两个算法例子是BLAST算法和BLAST2.0算法, 它们分别在Altschul等人, (1977) *Nuc. Acids Res.* 25:3389-3402; 和Altschul等人, (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-410中描述。用于进行BLAST分析的软件是通过国家生物技术信息中心可公开获得的。

[0533] 还可以使用采用PAM120加权余数表、空位长度罚分12, 空位罚分4, 已经并入ALIGN程序 (2.0版) 的E. Meyers和W. Miller算法, (1988) *Comput. Appl. Biosci.* 4:11-17) 确定两个氨基酸序列之间的同一性百分数。此外, 可以使用已经集成至GCG软件包的GAP程序中的Needlema和Wunsch (1970) *J. Mol. Biol.* 48:444-453) 算法 (在www.gcg.com可获得), 使用Blossom 62矩阵或PAM250矩阵和空位权重16、14、12、10、8、6或4和长度权重1、2、3、4、5或6, 确定两个氨基酸序列之间的同一性百分数。

[0534] 在一个方面, 本公开构思了产生功能上等同分子的起始抗体或片段 (例如, scFv) 氨基酸序列修饰。例如, 可以修饰CAR中包含的针对本文所述的肿瘤抗原的抗原结合结构域 (例如, scFv) 的VH或VL, 以保留针对本文所述的肿瘤抗原的抗原结合结构域 (例如, scFv) 的起始VH或VL框架区的至少约70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%同一性。本发明构思对完整CAR构建体的修饰, 例如, 在CAR构建体的各种结构域的一种或多种氨基酸序列中的修饰, 旨在产生功能上等同的分子。可以修饰CAR构建体以保留起始CAR构建体的至少约70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%同一性。

[0535] 双特异性CAR

[0536] 在一个实施方案中, 多特异性抗体分子为双特异性抗体分子。双特异性抗体对不多于两种抗原具有特异性。双特异性抗体分子以针对第一表位具有结合特异性的第一免疫球蛋白可变结构域序列和针对第二表位具有结合特异性的第二免疫球蛋白可变结构域序列为特征。在一个实施方案中, 第一和第二表位在相同抗原 (例如, 相同蛋白质 (或多聚体蛋白的亚基)) 上。在一个实施方案中, 第一和第二表位重叠。在一个实施方案中, 第一和第二表位不重叠。在一个实施方案中, 第一和第二表位在不同抗原 (例如, 不同蛋白质 (或多聚体蛋白的不同亚基)) 上。在一个实施方案中, 双特异性抗体分子包含针对第一表位具有结合特异性的重链可变结构域序列和轻链可变结构域序列以及针对第二表位具有结合特异性的重链可变结构域序列和轻链可变结构域序列。在一个实施方案中双特异性抗体分子包含针对第一表位具有结合特异性的半抗体和针对第二表位具有结合特异性的半抗体。在一个实施方案中双特异性抗体分子包含针对第一表位具有结合特异性的半抗体或其片段和针对

第二表位具有结合特异性的半抗体或其片段。在一个实施方案中双特异性抗体分子包含针对第一表位具有结合特异性的scFv或其片段和针对第二表位具有结合特异性的scFv或其片段。

[0537] 在某些实施方案中,抗体分子是多特异性(例如,双特异性或三特异性)抗体分子。产生双特异性或异二聚抗体分子的方案是本领域已知的;包括但不限于,例如,“杵入臼”方案,例如在US 5731168中描述;静电导引Fc配对,例如,如WO 09/089004、WO 06/106905和WO 2010/129304中所述;链交换工程化的结构域(SEED)异二聚体形成,例如,如WO 07/110205中所述;Fab臂交换,例如,如WO 08/119353、WO 2011/131746和WO 2013/060867中所述;双抗体缀合物,例如,使用具有胺反应基团和巯基反应基团的异双官能试剂,通过抗体交联以产生双特异性结构,例如,如US 4433059中所述;通过以下方式产生的双特异性抗体决定簇:借助两条重链之间二硫键的还原和氧化循环重组来自不同抗体的半抗体(重链-轻链对或Fab),例如,如US 4444878中所述;三功能抗体,例如,通过巯基反应基团交联的三个Fab片段,例如,如US5273743中所述;生物合成性结合蛋白,例如,通过C末端尾部、优选地通过二硫键或胺反应性化学交联作用交联的一对scFvs,例如,如US5534254中所述;双功能抗体,例如,通过已经替换恒定结构域的亮氨酸拉链(例如,c-fos和c-jun)二聚化的具有不同结合特异性的Fab片段,例如,如US5582996中所述;双特异性和寡特异性单价和寡价受体,例如,经一种抗体的CH1区和另一种抗体的VH区(一般具有缔合的轻链)之间的多肽间隔团连接的两种抗体(两个Fab片段)的VH-CH1区域,例如,如US5591828中所述;双特异性DNA-抗体缀合物,例如,通过双链DNA片段交联抗体或Fab片段,例如,如中US5635602所述;双特异性融合蛋白,例如,在两个scFv和完整恒定区域之间具有亲水螺旋肽接头的含有两个scFv的表达构建体,例如,如US5637481中所述;多价和多特异性结合蛋白,例如,多肽的二聚体,所述多肽具有含有Ig重链可变区的结合区的第一结构域和含有Ig轻链可变区的结合区的第二结构域,总体上称作双体抗体(还涵盖产生双特异性、三特异性或四特异性分子的高级结构),例如,如US5837242中所述;VL链和VH链连接的迷你抗体构建体,其还借助肽间隔团连接至抗体铰链区和CH3区,所述迷你抗体构建体可以二聚化以形成双特异性/多价分子,例如,如US5837821中所述;在任一个方向与短肽接头(例如,5或10个氨基酸)连接或根本没有接头的VH结构域和VL结构域,所述VH结构域和VL结构域可以形成二聚体以形成双特异性双体抗体;三聚体和四聚体,例如,如US5844094中所述;一系列通过肽键以可交联基团在C末端连接的VH结构域(或家族成员中的VL结构域),所述结构域进一步与VL结构域缔合以形成一系列FV(或scFv),例如,如US5864019中所述;和将VH结构域和VL结构域均通过肽接头连接的单一链结合多肽借助非共价交联或化学交联并入多价结构以使用scFv或双体抗体类型样式,形成例如同源双价、异源双价、三价和四价结构,例如,如US5869620中所述。额外的示例性多特异性和双特异性分子和产生这些分子的方法存在于例如以下申请中:US5910573,US5933448,US5959083,US5989830,US6005079,US6239259,US6264353,US6333396,US6476198,US6511663,US6670453,US6743896,US6809185,US6833441,US7129330,US7183076,US7521056,US7527787,US7534866,US7612181,US2002004587A1,US2002076406A1,US2002103345A1,US2003207346A1,US2003211078A1,US2004219643A1,US2004220388A1,US2004242847A1,US2005003403A1,US2005004352A1,US2005069552A1,US2005079170A1,US2005100543A1,US2005136049A1,US2005136051A1,US2005163782A1,

US2005266425A1, US2006083747A1, US2006120960A1, US2006204493A1, US2006263367A1, US2007004909A1, US2007087381A1, US2007128150A1, US2007141049A1, US2007154901A1, US2007274985A1, US2008050370A1, US2008069820A1, US2008152645A1, US2008171855A1, US2008241884A1, US2008254512A1, US2008260738A1, US2009130106A1, US2009148905A1, US2009155275A1, US2009162359A1, US2009162360A1, US2009175851A1, US2009175867A1, US2009232811A1, US2009234105A1, US2009263392A1, US2009274649A1, EP346087A2, WO0006605A2, WO02072635A2, WO04081051A1, WO06020258A2, WO2007044887A2, WO2007095338A2, WO2007137760A2, WO2008119353A1, WO2009021754A2, WO2009068630A1, WO9103493A1, WO9323537A1, WO9409131A1, WO9412625A2, WO9509917A1, WO9637621A2, WO9964460A1。上文所提及申请的内容是通过引用方式完整地并入本文。

[0538] 在双特异性抗体分子的每种抗体或抗体片段(例如, scFv)内部, VH可以在VL的上游或下游。在一些实施方案中, 上游抗体或抗体片段(例如, scFv)设置成其VH(VH₁)在其VL(VL₁)上游并且下游抗体或抗体片段(例如, scFv)设置成其VL(VL₂)在其VH(VH₂)上游, 从而整个双特异性抗体分子具有布局VH₁-VL₁-VL₂-VH₂。在其他实施方案中, 上游抗体或抗体片段(例如, scFv)设置成其VL(VL₁)在其VH(VH₁)上游并且下游抗体或抗体片段(例如, scFv)设置成其VH(VH₂)在其VL(VL₂)上游, 从而整个双特异性抗体分子具有布局VL₁-VH₁-VH₂-VL₂。任选地, 接头设置在二个抗体或抗体片段(例如, scFv)之间, 例如, 如果构建体设置为VH₁-VL₁-VL₂-VH₂, 则设置在VL₁和VL₂之间, 或如果构建体设置为VL₁-VH₁-VH₂-VL₂, 则设置在VH₁和VH₂之间。接头可以是如本文所述的接头, 例如, (Gly₄-Ser)_n接头, 其中n是1、2、3、4、5或6、优选地4(SEQ ID NO:967)。通常而言, 二个scFv之间的接头应当长到足以避免二个scFv的结构域之间错误配对。任选地, 接头设置在第一scFv的VL和VH之间。任选地, 接头设置在第二scFv的VL和VH之间。在具有多个接头的构建体中, 任何两个或更多个接头可以是相同或不同的。因此, 在一些实施方案中, 双特异性CAR按照如本文所述的布局包含多个VL、多个VH和任选地一个或多个接头。

[0539] 在一个方面, 嵌合抗原受体包含双特异性抗原结合结构域、(例如, 如本文所述的)跨膜结构域和(例如, 如本文所述的)胞内信号传导结构域。在实施方案中, 双特异性抗原结合结构域包含结合(例如, 如本文所述的)抗原的第一免疫球蛋白可变结构域序列, 例如, scFv(或包含来自本文所述的scFv的轻链CDR和/或重链CDR), 例如, (本文(例如, 在表6或表12中)所述的CD19结合结构域或BCMA结合结构域), 并包含对本文所述的一种或多种抗原具有结合特异性的第二免疫球蛋白可变结构域序列, 例如, scFv(或包含来自本文所述的scFv的轻链CDR和/或重链CDR), 包含如本文所述的scFv, 例如包含(例如, 如表2或表5中所述的)间皮素结合结构域或EGFRvIII结合结构域。在实施方案中, 双特异性抗原结合结构域包含本文所述的CD19结合结构域和本文所述的间皮素结合结构域。在实施方案中, 双特异性抗原结合结构域包含本文所述的BCMA结合结构域和本文所述的间皮素结合结构域。在实施方案中, 双特异性抗原结合结构域包含本文所述的CD19结合结构域和本文所述的EGFRvIII结合结构域。在实施方案中, 双特异性抗原结合结构域包含本文所述的BCMA结合结构域和本文所述的EGFRvIII结合结构域。在另一个方面, 本发明提供例如本文所述的细胞(例如, 细胞群体), 例如, 免疫效应细胞, 例如, T细胞或NK细胞, 其经工程化以表达(例如, 包含)如本

文所述的双特异性CAR,例如,包含本文所述的两种抗原结合结构域的双特异性CAR。不受任何理论约束,相信表达这类双特异性CAR(例如,包含(例如,如本文所述的)两种抗原结合结构域)的细胞可用于本文所述的方法和组合物中。

[0540] 嵌合TCR

[0541] 在一个方面,可以将本文所述的例如在本文各表中提供的抗原结合结构域,例如,抗体和抗体片段,移植到T细胞受体(“TCR”)链(例如,TCR α 链或TCR β 链)的一个或多个恒定结构域,以产生对本文所述的肿瘤抗原具有结合特异性的嵌合TCR。不受理论束缚,相信嵌合TCR将在抗原结合后通过TCR复合物发出信号。例如,可以将如本文中公开的间皮素或CD19scFv或其片段,例如,VL结构域,或VH结构域,移植到TCR链(例如,TCR α 链和/或TCR β 链)的恒定结构域,例如,胞外恒定结构域、跨膜结构域和胞质结构域的至少一部分。作为另一个例子,可以将抗体或抗体片段的CDR,例如,如本文提供的各表中所述的任何抗体或抗体片段的CDR,移植入TCR α 链和/或 β 链,以产生与本文所述的肿瘤抗原特异性结合的嵌合TCR。例如,本文公开的LCDR可以移植到TCR α 链的可变结构域中,并且本文公开的HCDR可以移植到TCR β 链的可变结构域,反之亦然。这样的嵌合TCR可以通过本领域已知的方法产生(例如,Willemsen RA等人,Gene Therapy 2000;7:1369-1377;Zhang T等人,Cancer Gene Ther 2004;11:487-496;Aggen等人,Gene Ther.2012 Apr;19(4):365-74)。

[0542] 1.跨膜结构域

[0543] 就跨膜结构域而言,在多种实施方案中,CAR可以旨在包含与CAR的胞外结构域(如,抗原结合结构域)连接的跨膜结构域。跨膜结构域可以包括一个或多个与跨膜区毗邻的额外氨基酸,例如,一个或多个与衍生跨膜区的蛋白质的胞外区相关的氨基酸(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个直至15个胞外区氨基酸)和/或一个或多个与衍生跨膜蛋白的蛋白质的胞内区相关的氨基酸(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个至多15个胞内区氨基酸)。在一个方面,跨膜结构域是与CAR的其他结构域之一缔合的结构域。例如,跨膜结构域来自与胞内信号传导结构域(例如,共刺激结构域)相同的蛋白质。在一些情况下,可以选择或通过氨基酸置换修饰跨膜结构域,以避免这类结构域与相同或不同表面膜蛋白的跨膜结构域结合,例如,以最大限度减少与受体复合体的其他构件的相互作用。在一个方面,跨膜结构域能够与表达CAR的细胞表面上的另一个CAR同型二聚化。在一个不同方面,可以修饰或置换跨膜结构域的氨基酸序列,从而最大限度减少与表达CAR的相同细胞中存在的天然结合配偶体的结合结构域的相互作用。

[0544] 跨膜结构域可以衍生自天然来源或重组来源。在来源是天然的情况下,结构域可以衍生自任何膜结合蛋白或跨膜蛋白。在一个方面,每当CAR已经与靶结合时,跨膜结构域就能够向胞内结构域发送信号。在本发明中特别有用的跨膜结构域可以包含例如以下蛋白质的跨膜结构域:T细胞受体的 α 、 β 或 δ 链、CD28、CD27、CD3 ϵ 、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154。在一些实施方案中,跨膜结构域可以包括至少例如以下蛋白质的跨膜区:KIRDS2、OX40、CD2、CD27、LFA-1(CD11a、CD18)、ICOS(CD278)、4-1BB(CD137)、GITR、CD40、BAFFR、HVEM(LIGHTR)、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD160、CD19、IL2R β 、IL2R γ 、IL7R α 、ITGA1、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、TNFR2、DNAM1(CD226)、SLAMF4

(CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、PAG/Cbp、NKG2D、NKG2C。

[0545] 在一些情况下,跨膜结构域可以借助铰链区(例如,来自人蛋白质的铰链区)与CAR的胞外区(例如,CAR的抗原结合结构域)连接。例如,在一个实施方案中,铰链区可以是人Ig(免疫球蛋白)铰链区,例如,IgG4铰链区,或CD8a铰链区。在一个实施方案中,铰链区或间隔团包含(例如,由其组成)SEQ ID NO:4的氨基酸序列。在一个方面,跨膜结构域包含SEQ IDNO:12的跨膜结构域(例如,由其组成)。

[0546] 在一个方面,铰链区或间隔区包含IgG4铰链区。例如,在一个实施方案中,铰链区或间隔团包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:6的铰链区。在一些实施方案中,铰链区或间隔团包含由SEQ ID NO:7的核苷酸序列编码的铰链区。在一个方面,铰链区或间隔区包含IgD铰链区。例如,在一个实施方案中,铰链区或间隔团包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:8的铰链区。在一些实施方案中,铰链区或间隔团包含由SEQ ID NO:9的核苷酸序列编码的铰链区。

[0547] 在一个方面,跨膜结构域可以是重组的,在这种情况下它将包含优势疏水的残基如亮氨酸和缬氨酸。在一个方面,苯丙氨酸、色氨酸和缬氨酸三联体可以在重组跨膜结构域的每个末端存在。

[0548] 任选地,2和10个氨基酸长度之间的短寡聚物接头或多肽接头可以在CAR的跨膜结构域和胞质区域之间形成连接。甘氨酸-丝氨酸双联体提供特别合适的接头。例如,在一个方面,接头包含氨基酸序列GGGSGGGGS (SEQ ID NO:10)。在一些实施方案中,接头由GGTGGCGGAGGTTCTGGAGGTGGAGGTTCC (SEQ ID NO:11)的核苷酸序列编码。

[0549] 在一个方面,铰链区或间隔区包含KIR2DS2铰链区。

[0550] 2. 胞质结构域

[0551] CAR的胞质结构域或区域包含胞内信号传导结构域。胞内信号传导结构域通常负责活化其中已经引入CAR的免疫细胞的多项正常效应子功能的至少之一。术语“效应子功能”指细胞的特化功能。T细胞的效应子功能例如可以是溶细胞活性或辅助活性,包括分泌细胞因子。因此,术语“胞内信号传导结构域”指传导效应子功能信号并且指导细胞执行特化功能的蛋白质部分。尽管通常可以使用完整的胞内信号传导结构域,但在许多情况下不需要使用完整链。使用胞内信号传导结构域的截短部分到这样的程度:从而可以使用这种截短的部分替代完整链,只要它传导效应子功能信号即可。术语“胞内信号传导结构域”因此意在包括胞内信号传导结构域的足以传导效应子功能信号的任何截短部分

[0552] 用于本发明CAR中的胞内信号传导结构域的例子包括协同发挥作用以在抗原受体接合后启动信号转导的T细胞受体 (TCR) 和辅受体的胞质序列,以及这些序列的任何衍生物或变体和具有相同功能性能的任何重组序列。

[0553] 已知单独通过TCR生成的信号不足以完全活化T细胞并且还需要次级和/或共刺激信号。因此,据称T细胞活化可以由两类不同的胞质信号传导序列介导:通过TCR启动抗原依赖性初级活化的那些序列(初级胞内信号传导结构域)和以抗原非依赖性方式发挥作用以提供次级或共刺激信号的那些序列(次级胞质结构域,例如,共刺激结构域)。

[0554] 初级信号传导结构域以刺激性方式或以抑制性方式调节TCR复合物的初级活化。以刺激性方式发挥作用的初级胞内信号传导结构域可以含有称作基于免疫受体酪氨酸的

活化基序或ITAM的信号传导基序。

[0555] 在本发明中特别有用的含有ITAM的主要胞内信号传导结构域的实例包括TCR δ 、FcR γ 、FcR β 、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD5、CD22、CD79a、CD79b、CD278(也称为“ICOS”)、Fc ϵ RI、DAP10、DAP12和CD66d的那些。在一个实施方案中,本发明的CAR包含胞内信号传导结构域,例如,CD3- δ (例如,本文所述的CD3- δ 序列)的初级信号传导结构域。

[0556] 在一个实施方案中,初级信号传导结构域包含修饰的ITAM结构域,例如,如与天然ITAM结构域相比具有改变(例如,增加或减少)的活性的突变ITAM结构域。在一个实施方案中,初级信号传导结构域包含了含有修饰的ITAM的初级胞内信号传导结构域,例如,含有优化和/或截短的ITAM的初级胞内信号传导结构域。在一个实施方案中,初级信号传导结构域包含一个、两个、三个、四个或更多个ITAM基序。

[0557] CAR的胞内信号传导结构域可以包含本身CD3- δ 信号传导结构域,或它可以与本发明CAR背景下有用的任何其他所需的胞内信号传导结构域组合。例如,CAR的胞内信号传导结构域可以包含CD3 δ 链部分和共刺激信号传导结构域。共刺激信号传导结构域指包含共刺激分子的胞内结构域的CAR部分。共刺激性分子是淋巴细胞对抗原的有效应答所需的除抗原受体或其配体以外的细胞表面分子。这类分子的例子包括CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30、CD40、PD-1、ICOS、淋巴细胞功能相关抗原-1(LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3和与CD83特异性结合的配体等。例如,CD27共刺激作用已经证实在体外增强人CART细胞的扩充、效应子功能和存活并且在体内增进人T细胞留存和抗肿瘤活性(Song等人, Blood. 2012; 119(3): 696-706)。共刺激分子的其他例子包括I类MHC分子、TNF受体蛋白、免疫球蛋白样蛋白、细胞因子受体、整联蛋白、信号传导淋巴细胞活化分子(SLAM蛋白)、NK细胞活化受体、BTLA、To11配体受体、OX40、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CDS、ICAM-1、LFA-1(CD11a/CD18)、4-1BB(CD137)、B7-H3、CDS、ICAM-1、ICOS(CD278)、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM(LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8 α 、CD8 β 、IL2R β 、IL2R γ 、IL7R α 、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、CD69、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a和与CD83特异性结合的配体。

[0558] 在本发明CAR的胞质部分内部的胞内信号传导序列可以彼此按随机顺序或指定顺序连接。任选地,例如2个和10个氨基酸(例如,2、3、4、5、6、7、8、9或10个氨基酸)长度之间的短寡聚物接头或多肽接头可以在胞内信号传导序列之间形成连接。在一个实施方案中,甘氨酸-丝氨酸双联体可以用作合适的接头。在一个实施方案中,单个氨基酸,例如,丙氨酸、甘氨酸,可以用作合适的接头。

[0559] 在一个方面,胞内信号传导结构域旨在包含两个或更多个(例如,2、3、4、5或更多个)共刺激信号传导结构域。在一个实施方案中,两个或更多个(例如,2、3、4、5或更多个)共刺激信号传导结构域由接头分子(例如,本文所述的接头分子)分隔。在一个实施方案中,胞内信号传导结构域包含两个共刺激信号传导结构域。在一些实施方案中,接头分子是甘氨酸残基。在一些实施方案中,接头是丙氨酸残基。

[0560] 在一个方面,胞内信号传导结构域旨在包含CD3- δ 的信号传导结构域和CD28的信号传导结构域。在一个方面,胞内信号传导结构域旨在包含CD3- δ 的信号传导结构域和4-1BB的信号传导结构域。在一个方面,4-1BB的信号传导结构域是SEQ ID NO:14的信号传导结构域。在一个方面,CD3- δ 的信号传导结构域是SEQ ID NO:18的信号传导结构域。

[0561] 在一个方面,胞内信号传导结构域旨在包含CD3- δ 的信号传导结构域和CD27的信号传导结构域。在一个方面,CD27的信号传导结构域包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列。在一个方面,CD27的信号传导结构域由SEQ ID NO:17的核酸序列编码。

[0562] 在一个方面,胞内信号传导结构域旨在包含CD3- δ 的信号传导结构域和CD28的信号传导结构域。在一个方面,CD28的信号传导结构域包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列。在一个方面,CD28的信号传导结构域由SEQ ID NO:113的核酸序列编码。

[0563] 在一个方面,胞内信号传导结构域旨在包含CD3- δ 的信号传导结构域和ICOS的信号传导结构域。在一个方面,ICOS的信号传导结构域包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列。在一个方面,ICOS的信号传导结构域由SEQ ID NO:1111的核酸序列编码。在一个方面,本发明的细胞(例如,本文所述的细胞,例如,表达两种不同CAR的细胞)包含多种CAR,它们各自包含结合本文所述的靶抗原的抗原结合结构域、跨膜结构域、初级信号传导结构域和共刺激信号传导结构域。在前述的方面实施方案中,两种不同CAR的共刺激结构域可以相同或不同。在实施方案中,一个或多个两种不同的CAR包含多于一个共刺激信号传导结构域。在其他方面,本发明的细胞(例如,本文所述的细胞,例如,表达两种不同CAR的细胞)包含第一CAR,其包含结合本文所述的靶抗原的抗原结合结构域、跨膜结构域、初级信号传导结构域,但是不包含共刺激信号传导结构域,和第二CAR,其包含结合本文所述的靶抗原的抗原结合结构域、跨膜结构域和共刺激信号传导结构域,但是不包含初级信号传导结构域。

[0564] 在一个方面,本文所述的表达CAR的细胞(例如,表达两种不同CAR的细胞)还可以包含另一个,例如第三CAR,例如,另一个包含例如针对相同靶或不同靶(例如,除本文所述的肿瘤抗原或本文所述的不同肿瘤抗原之外的靶)的不同抗原结合结构域的CAR。例如,在一个实施方案中,其中本发明细胞表达包含与第二靶肿瘤抗原结合的抗原结合结构域的第三CAR,第三CAR包含针对表达靶的与第一或第二CAR所靶向的肿瘤抗原相同的癌细胞类型的抗原结合结构域。在一个实施方案中,表达CAR的细胞包含第一CAR,其靶向第一肿瘤抗原并且包含具有共刺激信号传导结构域但是不包含初级信号传导结构域的胞内信号传导结构域,和第三CAR,其靶向第二种不同的肿瘤抗原并且包含具有初级信号传导结构域但是不包含共刺激信号传导结构域的胞内信号传导结构域。不希望受理论约束的同时,将共刺激信号传导结构域(例如,4-1BB、CD28、CD27或OX-40)安置到第一CAR上,并且将初级信号传导结构域(例如,CD3 δ)安置在第三CAR上可以限制CAR对表达两种靶的细胞的活性。在一个实施方案中,本发明的细胞包含第一CAR,其包含结合本文所述靶抗原的抗原结构域、跨膜结构域和共刺激结构域,和第二CAR,其靶向不同抗原(例如,与第一靶抗原相同的癌细胞类型上表达的抗原)并且包含抗原结合结构域、跨膜结构域和初级信号传导结构域。在另一个实施方案中,本发明的细胞包含(即,经基因工程化以表达)第一CAR,其包含结合本文所述靶抗原的抗原结构域、跨膜结构域和初级信号传导结构域,和第二CAR,其靶向除第一靶抗原之外的肿瘤抗原(例如,与第一靶抗原相同的癌细胞类型上表达的抗原)并且包含针对该抗原的抗原结合结构域、跨膜结构域和共刺激信号传导结构域。在另一个实施方案中,本发明

的细胞包含(即,经基因工程化以表达)第一CAR,其包含结合本文所述靶抗原的抗原结构域、跨膜结构域、共刺激信号传导结构域和初级信号传导结构域,和第二CAR,其靶向除第一靶抗原之外的肿瘤抗原(例如,与第一靶抗原相同的癌细胞类型上表达的抗原)并且包含针对该抗原的抗原结合结构域、跨膜结构域、共刺激信号传导结构域和初级信号传导结构域。在其中第一和第二CAR均包含共刺激信号传导结构域的实施方式中,第一CAR和第二CAR的共刺激信号传导结构域可以衍生自相同的蛋白质,例如,衍生自本文所述的共刺激蛋白,例如,4-1BB、CD28或ICOS。在其他实施方式中,第一CAR和第二CAR的共刺激信号传导结构域可以衍生自不同的蛋白质,例如,第一CAR包含本文所述(例如,4-1BB)的共刺激信号传导结构域,并且第二CAR包含本文所述(例如,CD28)的不同的共刺激信号传导结构域。

[0565] 在一个实施方式中,表达CAR的细胞包含含有结合本文所述的靶抗原的抗原结合结构域的CAR,和抑制性CAR。在一个实施方式中,抑制性CAR包含结合抗原的结合结构域,所述抗原存在于正常细胞上,但不存在于癌细胞上,例如,存在于还表达由CAR靶向的肿瘤抗原的正常细胞上,其中所述CAR包含结合靶抗原的抗原结合结构域。在一个实施方式中,抑制性CAR包含抑制性分子的抗原结合结构域,跨膜结构域和胞内结构域。例如,抑制性CAR的胞内结构域可以是PD1、PD-L1、CTLA4、TIM3、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3 (CD276)、B7-H4 (VTCN1)、HVEM (TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I类、MHC II类、GAL9、腺苷和TGFRB的胞内结构域。

[0566] 在一个实施方式中,不同CAR的抗原结合结构域可以是这样的,从而抗原结合结构域彼此不相互作用。例如,表达第一和第二CAR的细胞可以具有第一CAR的抗原结合结构域,例如,作为不与第二CAR的抗原结合结构域形成缔合的片段(例如,scFv),例如,第二CAR的抗原结合结构域是VHH。

[0567] 在一些实施方式中,抗原结合结构域包含单结构域抗原结合(SDAB)分子,包括其互补决定区是单结构域多肽的一部分的分子。实例包括但不限于重链可变结构域,天然缺乏轻链的结合分子,衍生自常规4-链抗体的单结构域,工程化结构域和除抗体衍生的那些支架以外的单结构域支架。SDAB分子可以是现有技术的任何分子,或将来的任何单结构域分子。SDAB分子可以衍生自任何物种,包括但不限于小鼠,人,骆驼,骆马,七鳃鳗,鱼,鲨鱼,山羊,兔和牛。这个术语还包括来自骆驼和鲨鱼之外的物种中的天然存在的单结构域抗体分子。

[0568] 在一个方面,SDAB分子可以衍生自鱼类中存在的免疫球蛋白的可变区,如,例如,从鲨鱼血清中存在的称作新抗原受体(NAR)的免疫球蛋白同种型衍生的那种可变区。产生从NAR可变区衍生的单结构域分子("IgNAR")的方法在WO 03/014161和Streltsov (2005) Protein Sci.14:2901-2909中描述。

[0569] 根据另一个方面,SDAB分子是天然存在的单结构域抗原结合分子,称作缺少轻链的重链。这类单结构域分子例如在WO 9404678和Hamers-Casterman, C.等人,(1993) Nature 363:446-448中公开。为了清楚起见,衍生自天然缺乏轻链的重链分子的这种可变结构域在本文中称为VHH或纳米抗体,以将其与四链免疫球蛋白的常规VH区分开。这种VHH分子可以衍生自骆驼属(Camelidae)物种,例如骆驼、羊驼、单峰驼、驼羊和原驼。除骆驼之外的其他物种可以产生天然缺少轻链的重链分子;这类VHH处于本发明的范围内。

[0570] SDAB分子可以是重组的、经CDR移植、人源化、骆驼化、去免疫化和/或在体外生成

(例如,通过噬菌体展示法选择)。

[0571] 还已经发现,具有多个膜包埋嵌合受体(所述受体包含在所述受体的抗原结合结构域之间的相互作用的抗原结合结构域)的细胞可能是不期望,例如因为其抑制一种或多种抗原结合结构域结合其同源抗原的能力。因此,本文公开了具有第一和第二非天然存在的膜包埋嵌合受体的细胞,所述受体包含最大限度减少这种相互作用的抗原结合结构域。本文还公开了编码第一和第二非天然存在的膜包埋嵌合受体的核酸,所述受体包含最大限度减少这类相互作用的抗原结合结构域,以及制备和使用这些细胞和核酸的方法。在一个实施方案中,所述第一和所述第二非天然存在的膜包埋嵌合受体之一的抗原结合结构域包含scFv,并且另一个包含单个VH结构域,例如驼类、鲨鱼或七鳃鳗单一VH结构域,或衍生自人或小鼠序列的单一VH结构域。

[0572] 在另一个方面,本文所述的表达CAR的细胞还可以表达另一种物质,例如,增强表达CAR的细胞的活性的物质。例如,在一个实施方案中,物质可以是抑制了抑制性分子的物质。在一些实施方案中,抑制性分子(例如,PD1)可以降低表达CAR的细胞发动免疫效应子反应的能力。抑制性分子的例子包括PD1、PD-L1、CTLA4、TIM3、CEACAM(例如,CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3(CD276)、B7-H4(VTCN1)、HVEM(TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I类、MHC II类、GAL9、腺苷和TGFR β 。

[0573] 在一个实施方案中,对抑制性分子抑制的物质例如是本文所述的分子,例如,包含第一多肽(例如,抑制性分子)的物质,所述第一多肽与提供正向信号给细胞的第二多肽(例如,本文所述的胞内信号传导结构域)缔合。在一个实施方案中,该物质包含例如抑制性分子的第一多肽,所述抑制性分子为例如PD1、PD-L1、CTLA4、TIM3、CEACAM(例如,CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3(CD276)、B7-H4(VTCN1)、HVEM(TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I类、MHC II类、GAL9、腺苷和TGFR β 或这些任何一种的片段(例如,这些任一个的细胞外结构域的至少一部分),和第二多肽,其是本文所述的胞内信号传导结构域(例如,包含共刺激结构域(例如,(例如,本文所述的)41BB、CD27或CD28)和/或初级信号传导结构域(例如本文所述的CD3 δ 信号传导结构域))。在一个实施方案中,该物质包含PD1或其片段(例如,PD1的胞外结构域的至少一部分)的第一多肽,和本文所述的胞内信号传导结构域(例如,本文所述的CD28信号传导结构域和/或本文所述的CD3 δ 信号传导结构域)的第二多肽。PD1是受体CD28家族的抑制性成员,所述家族还包括CD28、CTLA-4、ICOS和BTLA。PD-1在活化的B细胞,T细胞和骨髓细胞上表达(Agata等人.1996Int.Immunol 8:765-75)。已经显示与PD1结合时,针对PD1、PD-L1和PD-L2的两种配体下调T细胞活化(Freeman等人,2000J Exp Med 192:1027-34;Latchman等人,2001 Nat Immunol 2:261-8;Carter等人,2002 Eur J Immunol 32:634-43)。PD-L1在人类癌症中是丰富的(Dong等人.2003 J Mol Med 81:281-7;Blank等人.2005 Cancer Immunol.Immunother 54:307-314;Konishi等人.2004 Clin Cancer Res 10:5094)。可以通过抑制PD1与PD-L1的局部相互作用,逆转免疫抑制作用。

[0574] 在一个实施方案中,该物质包含抑制性分子(例如,程序性死亡1(PD1))的胞外结构域(ECD),其与跨膜结构域和胞内信号传导结构域如41BB和CD3 δ 融合(本文也称作PD1 CAR)。在一个实施方案中,与本文所述的XCAR组合使用时,PD1 CAR改善T细胞的留存。在一

个实施方案中, CAR是PD1 CAR, 其包含如SEQ ID NO:26中加下划线所示的PD1的胞外结构域。在一个实施方案中, PD1 CAR包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列。在一个实施方案中, PD1 CAR包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列。

[0575] 在一个实施方案中, 该物质包含编码PD1 CAR的核酸序列(例如, 本文所述的PD1 CAR)。在一个实施方案中, PD1 CAR的核酸序列作为表1中的SEQ ID NO:27显示, PD1 ECD的序列加下划线。

[0576] 在另一个方面, 本公开提供表达CAR的细胞群体。在一些实施方案中, 表达CAR的细胞群体包含表达不同CAR的细胞的混合物。例如, 在一个实施方案中, CART细胞群体可以包含第一细胞, 其表达具有针对本文所述的抗原的抗原结合结构域的CAR, 和第二细胞, 其表达具有不同抗原结合结构域的CAR, 所述不同抗原结合结构域例如针对本文所述的不同抗原的抗原结合结构域, 例如, 针对本文所述的肿瘤抗原的抗原结合结构域, 该肿瘤抗原与由第一细胞表达的CAR的抗原结合结构域结合的肿瘤抗原不同。作为另一个例子, 表达CAR的细胞的群体可以包含第一细胞, 其表达了包含针对如本文所述的肿瘤抗原的抗原结合结构域的CAR; 和第二细胞, 其表达了包含针对如本文所述的肿瘤抗原之外的靶的抗原结合结构域的CAR。在一个实施方案中, 表达CAR的细胞的群体包含表达下述CAR的第一细胞, 所述CAR包含初级胞内信号传导结构域, 和表达下述CAR的第二细胞, 所述CAR包括次级信号传导结构域。

[0577] 在另一个方面, 本公提供这样的细胞群体, 其中群体的至少一个细胞表达具有针对本文所述的肿瘤抗原的抗原结合结构域的CAR, 和这样的第二细胞, 其表达另一种物质, 例如, 增强表达CAR的细胞活性的物质。例如, 在一个实施方案中, 物质可以是抑制了抑制性分子的物质。在一些实施方案中, 抑制性分子(例如, PD-1)可以降低表达CAR的细胞发动免疫效应子反应的能力。抑制性分子的例子包括PD-1、PD-L1、CTLA4、TIM3、CEACAM(例如, CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3(CD276)、B7-H4(VTCN1)、HVEM(TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I类、MHC II类、GAL9、腺苷和TGFR β 。在一个实施方案中, 对抑制性分子抑制的物质例如是本文所述的分子, 例如, 包含第一多肽(例如, 抑制性分子)的物质, 所述第一多肽与提供正向信号给细胞的第二多肽(例如, 本文所述的胞内信号传导结构域)缔合。在一个实施方案中, 该物质包含例如抑制性分子的第一多肽, 所述抑制性分子例如为PD-1、PD-L1、CTLA4、TIM3、CEACAM(例如, CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3(CD276)、B7-H4(VTCN1)、HVEM(TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I类、MHC II类、GAL9、腺苷和TGFR β 或前者任一种的片段, 和第二多肽, 其是本文所述的胞内信号传导结构域(例如, 包含共刺激结构域(例如, (例如, 本文所述的) 41BB、CD27、OX40或CD28)和/或初级信号传导结构域(例如本文所述的CD3 δ 信号传导结构域)。在一个实施方案中, 该物质包含PD-1或其片段的第一多肽和本文所述胞内信号传导结构域(例如, 本文所述的CD28信号传导结构域和/或本文所述的CD3 δ 信号传导结构域)的第二多肽。

[0578] 在一个方面, 本公开提供这样的方法, 所述方法包括与另一种物质(例如, 激酶抑制剂, 如本文所述的激酶抑制剂)组合施用表达CAR的细胞的群体, 例如, 表达不同CAR的细胞的混合物。在另一个方面, 本公提供这样的方法, 所述方法包括与另一种物质(例如, 激酶抑制剂, 如本文所述的激酶抑制剂)组合施用细胞的群体, 其中该群体的至少一个细胞表达

具有本文所述肿瘤抗原的抗原结合结构域的CAR,和这样的第二细胞,其表达另一种物质,例如,增强表达CAR的细胞活性的物质。

[0579] 示例性CAR分子

[0580] 本文公开的CAR分子可以包含与靶(例如,如本文所述的靶)结合的结合结构域;跨膜结构域,例如,如本文所述的跨膜结构域;和胞内信号传导结构域,例如,如本文所述的胞内结构域。在实施方案中,结合结构域包含本文所述的重链结合结构域的重链互补决定区1(HC CDR1)、重链互补决定区2(HC CDR2)和重链互补决定区3(HC CDR3)、和/或本文所述的轻链结合结构域的轻链互补决定区1(LC CDR1)、轻链互补决定区2(LC CDR2)和轻链互补决定区3(LC CDR3)。

[0581] 在其他实施方案中,CAR分子包含本文所述的CD19 CAR分子,例如,US-2015-0283178-A1中描述的CD19 CAR分子,例如,CTL019。在实施方案中,CD19 CAR包含通过引用方式并入本文的US-2015-0283178-A1中所示的氨基酸或具有其中所示的核苷酸序列或具有与之基本上相同(例如,与之至少85%、90%、95%或更多相同)的序列。

[0582] 在一个实施方案中,特异性结合CD19的CAR T细胞具有USAN名称TISAGENLECLEUCEL-T。CTL019通过T细胞的基因修饰来制备,其经由用自失活的复制缺陷型慢病毒(LV)载体转导通过稳定插入介导,所述载体含有EF-1 α 启动子控制下的CTL019转基因。CTL019可以是转基因阳性和阴性T细胞的混合物,其基于转基因阳性T细胞的百分比递送给受试者。

[0583] 在一个实施方案中,CAR19分子包含(例如,由其组成)表15A中或如2014年3月15日提交的国际公开号W02014/153270的表3中提供的氨基酸序列;所述文献通过引用方式并入本文。W02014/153270中具体说明了编码CD19 CAR分子和抗原结合结构域的氨基酸序列及编码其的核苷酸序列(例如,包括根据Kabat或Chothia的一个、二、三个VH CDR;和一个、二、三个VL CDR)。在实施方案中,CD19 CAR包含通过引用方式并入本文的W02014/153270中所示的氨基酸或具有其中所示的核苷酸序列或具有与前述任一序列基本上相同(例如,与前述任意CD19 CAR序列至少85%、90%、95%或更多相同)的序列。在一个实施方案中,CAR分子包含以下氨基酸序列(例如,由其组成):选自SEQ ID NO:897、902、907、912、917、922、927、932、937、942、947、952、956之任一者的氨基酸序列;或具有选自SEQ ID NO:897、902、907、912、917、922、927、932、937、942、947、952、956之任一者的氨基酸序列的至少一个、二个、三个、四个、五个、10、15、20或30个修饰(例如,置换,例如,保守性置换)但不多于60、50或40个修饰(例如,置换,例如,保守性置换)的氨基酸序列;或与选自SEQ ID NO:897、902、907、912、917、922、927、932、937、942、947、952、956之任一者的氨基酸序列具有85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%同一性的氨基酸序列。

[0584] 在一个实施方案中,鼠scFv亲本序列是在PCT公开W02012/079000(通过引用方式并入本文)中提供且本文在表15A中提供的CAR19构建体。在一个实施方案中,抗CD19结合结构域是在W02012/079000中描述并和本文在表15A中提供的scFv。

[0585] 在一个实施方案中,CD19 CAR包含在PCT公开W02012/079000中作为SEQ ID NO:12提供的氨基酸序列。在实施方案中,氨基酸序列是:

[0586] MALPVTALLLPLALLLHAARPdiqmtqttslsaslgdrvtiscrasqdiskylnwyqqkpdgtvkll
iyhtsrllhsgvpsrfsrgsgsgtdysltisnleqediatyfcqqgntlpytfgggtkleitggggsgggsggggse

vklqesgpglvapsqslsvtctvsgvslpdygvswirqprrkglewlgviwgsettyynsalksrltiikdnksq
vflkmnslqtddtaiyycahyyyggsyamdywgqtsvtvssttppaprpptpaptiasqplslrpeacrpaagg
avhtrglfacdiyiwaplagtcgvlllslvitlyckrgrklllyifkqpfmrpvqtqtqeedgcscrpfpeeeeggc
elrvkfsrsadapaykqgqnllynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrrknpqeglynelqkdkmaeaysei
gmkgerrrgkghdglyqglstatkdydalhmqualppr (SEQ ID NO:891), 或与之基本上相同 (例如,
与之相同至少85%、90%或95%或更高) 的序列, 具有或没有以大写字母显示的信号肽序
列。

[0587] 在实施方案中, 氨基酸序列是:

[0588] diqmtqttslsaslgdrvtiscrasqdiskylnwyqqkpdgtvkllyhtsrhlhsgvpsrfsqsgsg
tdysltisnleqediayfcqqgntlpytfgggtkleitggggsgggggsevklqesgpglvapsqslsvtc
tvsgvslpdygvswirqprrkglewlgviwgsettyynsalksrltiikdnksqvflkmnslqtddtaiyycah
yyyggsyamdywgqtsvtvssttppaprpptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrglfacdiyiwaplag
tcgvlllslvitlyckrgrklllyifkqpfmrpvqtqtqeedgcscrpfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgq
lynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglst
atkdydalhmqualppr (SEQ ID NO:892), 或与之基本上同源 (例如, 与之相同至少85%、90%
或95%或更高) 的序列。

[0589] 在实施方案中, CAR分子是本文所述的CD19 CAR分子, 例如, 本文所述的人源化CAR
分子, 例如, 表15A的或具有如表15B和表15C中所述的CDR的人源化CD19 CAR分子。

[0590] 在实施方案中, CAR分子是本文所述的CD19 CAR分子, 例如, 本文所述的鼠CAR分
子, 例如, 表15A的或具有如表15B和表15C中所述的CDR的鼠CD19 CAR分子。

[0591] 在一些实施方案中, CAR分子包含一个、二个和/或三个来自表15B和表15C的鼠或
人源化CD19 CAR的重链可变区的CDR和/或一个、二个和/或三个来自其轻链可变区的CDR。

[0592] 在一个实施方案中, 抗原结合结构域包含一个、二个、三个 (例如, 全部三个) 来自
本文所列抗体的重链CDR、HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3, 和/或一个、二个、三个 (例如, 全部
三个) 来自本文所列抗体的轻链CDR、LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3。在一个实施方案中, 抗原
结合结构域包含本文列出或描述的抗体的重链可变区和/或可变轻链区。

[0593] 示例性CD19 CAR包括本文 (例如, 在本文所述的一个或多个表中 (例如, 表15A)) 所
述的任何CD19 CAR或抗CD19结合结构域, 或以下文献中所述的抗CD19 CAR: Xu等人Blood
123.24 (2014) :3750-9; Kochenderfer等人Blood 122.25 (2013) :4129-39, Cruz等人Blood
122.17 (2013) :2965-73, NCT00586391, NCT01087294, NCT02456350, NCT00840853,
NCT02659943, NCT02650999, NCT02640209, NCT01747486, NCT02546739, NCT02656147,
NCT02772198, NCT00709033, NCT02081937, NCT00924326, NCT02735083, NCT02794246,
NCT02746952, NCT01593696, NCT02134262, NCT01853631, NCT02443831, NCT02277522,
NCT02348216, NCT02614066, NCT02030834, NCT02624258, NCT02625480, NCT02030847,
NCT02644655, NCT02349698, NCT02813837, NCT02050347, NCT01683279, NCT02529813,
NCT02537977, NCT02799550, NCT02672501, NCT02819583, NCT02028455, NCT01840566,
NCT01318317, NCT01864889, NCT02706405, NCT01475058, NCT01430390, NCT02146924,
NCT02051257, NCT02431988, NCT01815749, NCT02153580, NCT01865617, NCT02208362,
NCT02685670, NCT02535364, NCT02631044, NCT02728882, NCT02735291, NCT01860937,

NCT02822326, NCT02737085, NCT02465983, NCT02132624, NCT02782351, NCT01493453, NCT02652910, NCT02247609, NCT01029366, NCT01626495, NCT02721407, NCT01044069, NCT00422383, NCT01680991, NCT02794961, 或NCT02456207, 所述文献各自通过引用方式完整地并入本文。

[0594] 可用于本文所述方法的示例性CD19 CAR和抗原结合结构域构建体示于表15A中。根据Kabat的轻链CDR序列和重链CDR序列以加粗和加下划线文本显示, 并且还在表15A-C中总结。信号序列和组氨酸标签的位置也加下划线。在实施方案中, CD19 CAR序列及其抗原结合片段不包含信号序列和/或组氨酸标签序列。

[0595] 在实施方案中, CD19 CAR包含抗CD19结合结构域(例如, 鼠或人源化抗CD19结合结构域)、跨膜结构域和胞内信号传导结构域, 并且其中所述抗CD19结合结构域包含表15A-C中列出的任何抗CD19重链结合结构域氨基酸序列(的重链互补决定区1(HC CDR1)、重链互补决定区2(HC CDR2)和重链互补决定区3(HC CDR3)或与之至少85%、90%、95%或更多相同的序列例如, 具有小于5、4、3、2或1个氨基酸置换, 例如, 保守性置换)。

[0596] 在一个实施方案中, 抗CD19结合结构域包含本文(例如, 表15A中)所述的轻链可变区和/或本文(例如, 表15A中)所述的重链可变区或与之至少85%、90%、95%或更多相同的序列。

[0597] 在一个实施方案中, 编码的抗CD19结合结构域是包含表5中氨基酸序列的轻链和重链或与之至少85%、90%、95%或更多相同的序列的scFv。

[0598] 在一个实施方案中, 人或人源化抗CD19结合结构域(例如, scFv)包含: 轻链可变区, 所述轻链可变区包含下述氨基酸序列, 所述氨基酸序列具有至少一个、两个或三个在表15A中提供的轻链可变区的氨基酸序列的修饰(例如, 置换, 例如保守性置换), 但不多于30、20或10个修饰(例如, 置换, 例如保守性置换)或包含与之至少85%、90%、95%或更多相同的序列; 和/或重链可变区, 所述重链可变区包含下述氨基酸序列, 所述氨基酸序列具有至少一个、两个或三个在表15A中提供的重链可变区的氨基酸序列的修饰(例如, 置换, 例如保守性置换), 但不多于30、20或10个修饰(例如, 置换, 例如保守性置换)或包含与与之至少85%、90%、95%或更多相同的序列。

[0599] 在一个实施方案中, CAR分子包含CD19抗原结合结构域(例如, 与CD19特异性结合的鼠、人或人源化抗体或抗体片段)、跨膜结构域和胞内信号传导结构域(例如, 包含共刺激结构域和/或初级信号传导结构域的胞内信号传导结构域)。

[0600] 表15A中(并且还在表7中)提供示例性CAR19分子。表15A中的CAR分子包含CD19抗原结合结构域, 例如, 表7或表10中提供的任何CD19抗原结合结构域的氨基酸序列。

[0601] 表15A. 示例性CD19 CAR分子

[0602]

名称	SEQ ID NO:	序列
CAR 1		
CAR1 scFv 结构域	893	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLIYH TSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLPEDFAVYFCQQGNTLPYTFGQ GTKLEIKGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGVS LPDYGVSWIRQPPGKGLEWIGVIWGSETTYYSSSLKSRVTISKDNSKNQV SLKLSSVTAADTAVYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGLTVTVSS
103101 CAR1 可溶 scFv -	894	atggcctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccg ctcggcccgaattgtgatgaccagtcacccgccactcttagccttccaccgg tgagcgcgcaaccctgtcttgagagcctccaagacatctcaaaatacctta tggtatcaacagaagcccggacaggctcctcgcttctgatctaccacaccagc ggctccattctggaatccctgccaggttcagcggtagcggatctgggaccgacta caccctcactatcagctcactgcagccagaggacttcgctgtctattctgtcag

[0603]

<p>nt</p>		<p>caagggAACACCCTGCCTACACCTTTGGACAGGGCACCAAGCTCGAGATTAAG GTGGAGGTGGCAGCGGAGGAGGTGGGTCCGGCGGTGGAGGAAGCCAGGTCCA CCAAGAAAGCGGACCGGTCTTGTGAAGCCATCAGAACTCTTCACTGACTTGT ACTGTGAGCGGAGTGTCTCTCCCCGATTACGGGGTGTCTTGGATCAGACAGCCAC CGGGAAAGGGTCTGGAATGGATTGGAGTGATTGGGGCTCTGAGACTACTTACTA CTCTTCATCCCTCAAGTCACCGTCAACCATCTCAAAGGACAACCTAAGAATCAG GTGTCACTGAAACTGTCTGTGACCGCAGCCGACACCGCCGTGTACTATTGCG CTAAGCATTACTATTATGGCGGGAGCTACGCAATGGATTACTGGGGACAGGGTAC TCTGGTCAACCGTGTCCAGCCACCACCATCATCACCATCACCAT</p>
<p>103101 CAR1 可溶 scFv - aa</p>	<p>895</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPEivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskyln wyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcq qgntlpytfgggtkleikgggsgggsgggsgvqlqesgpglvkpstsltc tvsgvslpdygvswirppgkglewigviwgsettyyssslksrvtiskdnsknq vslklssvtaadtavyycakhyyyyggsyamdywgqgtlvtvsshhhhhhhh</p>
<p>104875 CAR 1 - 全 - nt</p>	<p>896</p>	<p>atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccg ctcgccccgaaattgtgatgaccagtcaccgccactcttagcctttcaccgg tgagcgcgcaaccctgtcttgagagcctccaagacatctcaaaatacctta tggatcaacagaagcccggacaggtcctcgccttctgatctaccacaccagcc ggctccattctggaatccctgccaggttcagcggtagcggatctgggaccgacta caccctcaactatcagctcactgcagccagaggacttcgctgtctatttctgtcag caagggAACACCCTGCCTACACCTTTGGACAGGGCACCAAGCTCGAGATTAAG GTGGAGGTGGCAGCGGAGGAGGTGGGTCCGGCGGTGGAGGAAGCCAGGTCCA CCAAGAAAGCGGACCGGTCTTGTGAAGCCATCAGAACTCTTCACTGACTTGT ACTGTGAGCGGAGTGTCTCTCCCCGATTACGGGGTGTCTTGGATCAGACAGCCAC CGGGAAAGGGTCTGGAATGGATTGGAGTGATTGGGGCTCTGAGACTACTTACTA CTCTTCATCCCTCAAGTCACCGTCAACCATCTCAAAGGACAACCTAAGAATCAG GTGTCACTGAAACTGTCTGTGACCGCAGCCGACACCGCCGTGTACTATTGCG CTAAGCATTACTATTATGGCGGGAGCTACGCAATGGATTACTGGGGACAGGGTAC TCTGGTCAACCGTGTCCAGCCACCACCATCAACCCAGCACCAGGGCCACCACCCCGGCT CCTACCATGCGCTCCAGCCTCTGTCCCTGCTCCGGAGGCATGTAGACCOCGAG CTGGTGGGGCGTGCATACCOCGGGTCTTGACTTCGCTCGGATATCTACATTTG GGCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGTCTGCTGCTTCACTCGTGATCACTCTT TACTGTAAGCGCGGTGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTAAAGCAACCCTTCATGA GGCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGTTCCAGAGGA GGAGGAAGGGCTGCGAACTGCGCGTGAATTCAGCCGACGCGCAGATGCTCCA GCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACCAATCTTGGTCGGAGAG AGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAA GCCGCGCAGAAAAGATCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAG ATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAG GCCACGACGGACTGTACCAGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGC TCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG</p>
<p>104875 CAR 1 - 全 - aa</p>	<p>897</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPEivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskyln wyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcq qgntlpytfgggtkleikgggsgggsgggsgvqlqesgpglvkpstsltc tvsgvslpdygvswirppgkglewigviwgsettyyssslksrvtiskdnsknq vslklssvtaadtavyycakhyyyyggsyamdywgqgtlvtvssttpaprpptpa ptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvllslvitl ykrgrklllyifkqpfmrpvqttqeedgcsrfpeeeeggcelrvkfrsadap aykqgnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdk</p>

[0604]

		maeayseigmkgerrrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalppr
CAR 2		
CAR2 scFv 结构域	898	eivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrhsgiparfsgsgsgtdytltlisslqpedfavyfcqqgntlpytfgggtkleikgggsgsgsgsgsgsgsvqlqesgpglvkpssetlslctvsgvslpdygvswirpppgkglewigviwgsettyyqsslksrvtiskdnskqvslklssvtaadtavyycahyyyggsyamdywgqgtlvtvss
103102 CAR2 - 可溶 scFv - nt	899	atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccgctcggcccgaattgtgatgaccagtcaccgcccactcttagccttccaccggtgagcgcgcaaccctgtcttgagagcctccaagacatctcaaaataccttaattggtatcaacagaagcccggacaggtcctcgccttctgatctaccacaccagccggctccattctggaatccctgccaggttcagcggtagcggatctgggaccgactacacctcaactatcagctcactgcagccagaggacttcgctgtctatttctgtcagcaaggaacaccctgcctacaccttggacagggcaccaagctcgagattaaaggtggaggtggcagcggaggaggtgggtccggcggtaggaggaagccaggtccaactccaagaaagcggaccgggtcttgtgaagccatcagaaactcttcaactgacttgtactgtgagcggagtgctctccccgattacggggtgtcttggatcagacagccaccgggaagggctggaatggattggagtgattggggctctgagactacttactaccaatcatccctcaagtcacgcgtcaccatctcaaaggacaactctaagaatcaggtgtcactgaaactgtcatctgtgaccgcagccgacaccgcccgtgtactattgcgctaagcattactattatggcgggagctacgcaatggattactggggacaggggtactctggtcaccgtgtccagccaccaccatcatcaccatcacat
103102 CAR2 - 可溶 scFv - aa	900	<u>MALPVTALLLPLALLLHAARP</u> eivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrhsgiparfsgsgsgtdytltlisslqpedfavyfcqqgntlpytfgggtkleikgggsgsgsgsgsgsvqlqesgpglvkpssetlslctvsgvslpdygvswirpppgkglewigviwgsettyyqsslksrvtiskdnskqvslklssvtaadtavyycahyyyggsyamdywgqgtlvtvss <u>hhhhhhh</u>
104876 CAR 2 - 全 - nt	901	atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccgctcggcccgaattgtgatgaccagtcaccgcccactcttagccttccaccggtgagcgcgcaaccctgtcttgagagcctccaagacatctcaaaataccttaattggtatcaacagaagcccggacaggtcctcgccttctgatctaccacaccagccggctccattctggaatccctgccaggttcagcggtagcggatctgggaccgactacacctcaactatcagctcactgcagccagaggacttcgctgtctatttctgtcagcaaggaacaccctgcctacaccttggacagggcaccaagctcgagattaaaggtggaggtggcagcggaggaggtgggtccggcggtaggaggaagccaggtccaactccaagaaagcggaccgggtcttgtgaagccatcagaaactcttcaactgacttgtactgtgagcggagtgctctccccgattacggggtgtcttggatcagacagccaccgggaagggctggaatggattggagtgattggggctctgagactacttactaccaatcatccctcaagtcacgcgtcaccatctcaaaggacaactctaagaatcaggtgtcactgaaactgtcatctgtgaccgcagccgacaccgcccgtgtactattgcgctaagcattactattatggcgggagctacgcaatggattactggggacaggggtactctggtcaccgtgtccagcaccactaccccagcaccgaggccaccaccccggctcctaccatcgcctcccagcctctgtccctgcgtccggaggcatgtagaccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttcgctgcgatactacatttggccctctggctggtacttgcggggctcctgctgcttcaactcgtgateactcttactgtgaagcggctcggagaagctgctgtacatctttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggtcccagaggaaggaggaagggcggctgcgaactgcgcgtgaaatcagccgcagcgcagatgctccagcctacaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggcggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggagaggacgggaccagaaatgggcccggaa

[0605]

		gccgcgcagaaagaatccccagaggcctgtacaacgagctccaaaaggataag atggcagaagcctatagcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaag gccacgacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgc tcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
104876 CAR 2 - 全 - aa	902	MALPVTALLLPLALLLHAARPeivmtqspatlsispgeratlsc <u>rasqdiskyln</u> wyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytlitisslqpedfavyfcg <u>qgntlpyt</u> fgggtkleikggggsgggsgggsgvqlqesgpglvkpssetlsltc tvsgvslpdygvswirqppgkglewigviwgsettyyqsslksrvtiskdnskng vslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamydwgggtltvsvsttpprpppta ptiasqplslrpeacrpaaggavhtrglfacdiyiwaplagtcgvlllslvitl yckrgrklllyifkqpfmrpvqttqeedgcsrfpeeeeggcelrvkfsrsadap aykqqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprkrnpqeglynelqkdk maeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalppr
CAR 3		
CAR3 scFv 结构域	903	qvqlqesgpglvkpssetlsltctvsgvslpdygvswirqppgkglewigviwgse ttyysslksrvtiskdnskngvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamydw gggtltvsvsgggsgggsggggseivmtqspatlsispgeratlscrasqdis kylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytlitisslqpedfav yfcqqntlpytfgggtkleik
103104 CAR 3 - 可溶 scFv - nt	904	atggctctgccgctgaccgcaactcctcctgccactggctctgctgcttcaagccg ctcgccacaagtccagcttcaagaatcaggcctggctctggtgaagccatctga gactctgtccctcacttgcaaccgtgagcggagtgccctcccagactacggagt agctggattagacagcctcccgaaaggactggagtgatcgagtgatttggg gtagcgaaccacttactattcatcttccctgaagtcacgggtcaccatttcaa ggataactcaaagaatcaagtgagcctcaagctctcatcagtcaccgcccgtgac accgcccgtgtattactgtgccaagcattactactatggagggtcctacgccatgg actactggggccagggaactctggctcactgtgtcatctggtggaggaggtagcgg aggaggcgggagcgggtggagggtggctccgaaatcgtgatgaccagagccctgca accctgtccctttctcccggggaacgggctaccctttcttgtcgggcatcacaag atatctcaaaatacctcaattggtatcaacagaagccgggacaggccctaggct tcttatctaccacacctctgcctgcatagcgggattcccgcacgctttagcggg tctggaagcgggaccgactacactctgaccatctcatctctccagcccaggact tcgcccgtctacttctgccagcgggtaacaccctgccgtacaccttcggccaggg caccaagcttgagatcaaacatcaccaccatcatcaccatcac
103104 CAR 3 - 可溶 scFv - aa	905	<u>MALPVTALLLPLALLLHAARP</u> qvqlqesgpglvkpssetlsltctvsgvslpdyg swirqppgkglewigviwgsettyysslksrvtiskdnskngvslklssvtaad tavyycakhyyyggsyamydwgggtltvsvsgggsgggsggggseivmtqspa tlsispgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsg sgsgtdytlitisslqpedfavyfcqqntlpytfgggtkleik <u>hhhhhhh</u>
104877 CAR 3 - 全 - nt	906	atggctctgccgctgaccgcaactcctcctgccactggctctgctgcttcaagccg ctcgccacaagtccagcttcaagaatcaggcctggctctggtgaagccatctga gactctgtccctcacttgcaaccgtgagcggagtgccctcccagactacggagt agctggattagacagcctcccgaaaggactggagtgatcgagtgatttggg gtagcgaaccacttactattcatcttccctgaagtcacgggtcaccatttcaa ggataactcaaagaatcaagtgagcctcaagctctcatcagtcaccgcccgtgac accgcccgtgtattactgtgccaagcattactactatggagggtcctacgccatgg actactggggccagggaactctggctcactgtgtcatctggtggaggaggtagcgg aggaggcgggagcgggtggagggtggctccgaaatcgtgatgaccagagccctgca

[0606]

		<p>accctgtccctttctcccggggaacgggctaccctttcttgtcgggcatcacaag atatctcaaaatacctcaattggtatcaacagaagccgggacaggccctaggct tcttatctaccacacctctcgctgcatagcgggattcccgcacgcttagcggg tctggaagcgggaccgactacactctgaccatctcatctctccagcccaggact tcgccgtctacttctgccagcagggtaacaccctgccgtacaccttcggccaggg caccaagcttgagatcaaaaccactactcccgtccaaggccaccaccctgcc ccgaccatcgctctcagccgctttccctgcgtccggaggcatgtagaccgcag ctggtggggccgctgcatacccgggtcttgacttcgctgcgatactacattg ggccctctggctggtacttgccgggtcctgctgctttcactcgtgacactctt tactgtaagcggctcggagaagctgctgtacatctttaagcaacccttcatga ggctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagagga ggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctcca gcctacaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagag aggagtacgacgtgctggacaagcggagaggacgggaccagaaatgggcgggaa gccgcgcagaaagaatcccgaagggcctgtacaacgagctccaaaaggataag atggcagaagcctatagcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaag gccacgacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgc tcttcacatgcaggccctgcgcctcgg</p>
<p>104877 CAR 3 - 全 - aa</p>	907	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPqvqlqesgpglvkpselstctvsgvslpdygv swirpppgkglewigviwgsettyysslksrvtiskdnskqvslklssvtaad tavyyca<hu>hyyyggsyamdywgggtlvtvssggggsgggsggggseivmtqspa tllslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsg sgsdtylttisslqpedfavycqggntlpytfgggtkleiktttpaprpptpa ptiasqplslrpeacrpaaggavhtrglfacdiyiwaplagtcgvlllslvitl yckrgrklllyifkqpfmrpvqttqeedgcsrfpeeeeggcelrvkfsrsadap aykqqnqllynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprkrnpqeglynelqkdk maeayseigmkgerrrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalppr</hu></p>
<p>CAR 4</p>		
<p>CAR4 scFv 结构域</p>	908	<p>qvqlqesgpglvkpselstctvsgvslpdygvswirpppgkglewigviwgse tyyqsslksrvtiskdnskqvslklssvtaadtavyycahyyyggsyamdyw gggtlvtvssggggsgggsggggseivmtqspatllslspgeratlscrasqdis kylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgdtylttisslqpedfav yfcqggntlpytfgggtkleik</p>
<p>103106 CAR4 - 可 溶 scFv - nt</p>	909	<p>atggctctgccgctgaccgcaactcctcctgccactggctctgctgcttcaagccg ctgcccacaagtccagcttcaagaatcaggcctggtctggtgaagccatctga gactctgtccctcacttgaccgtagcggagtgccctcccagactacggagtg agctggattagacagcctcccggaaaggactggagtgatcggagtgattggg gttagcgaaccacttactatcaatcttccctgaagtacgggtcaccatttcaa ggataactcaagaatcaagtgagcctcaagctctcatcagtcaccgccgctgac accgccgtgtattactgtgccaagcattactactatggagggtcctacgccatgg actactggggccagggaactctggctactgtgtcatctggtggaggaggtagcgg aggaggcgggagcgggtggagggtgctccgaaatcgtgatgaccagagccctgca accctgtccctttctcccggggaacgggctaccctttcttgtcgggcatcacaag atatctcaaaatacctcaattggtatcaacagaagccgggacaggccctaggct tcttatctaccacacctctcgctgcatagcgggattcccgcacgcttagcggg tctggaagcgggaccgactacactctgaccatctcatctctccagcccaggact tcgccgtctacttctgccagcagggtaacaccctgccgtacaccttcggccaggg caccaagcttgagatcaaacatcaccaccatcatcaccatcac</p>
<p>103106</p>	910	<p><u>MALPVTALLLPLALLLHAARP</u>qvqlqesgpglvkpselstctvsgvslpdygv swirpppgkglewigviwgsettyyqsslksrvtiskdnskqvslklssvtaad</p>

[0607]

<p>CAR4 – 可溶 scFv -aa</p>		<p>tavyycakhyyyggsyamdywgggtlvtvssggggsgggsggggseivmtqspa tllslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrllhsgiparfsg sgsgtdytlitisslqpedfavycqqgntlpytfgggtkleik<u>hhhhhhh</u></p>
<p>104878 CAR 4 – 全-nt</p>	<p>911</p>	<p>atggctctgcccgtgaccgcaactcctcctgccactggctctgctgcttcaagccg ctcgcccacaagtccagcttcaagaatcagggcctggctctgggtgaagccatctga gactctgtccctcacttgcaccgtgagcggagtgtccctcccagactacggagtg agctggattagacagcctcccggaaagggactggagtggatcggagtgatttggg gtagcgaaccacttactatcaatcttccctgaagtcacgggtcaccatttcaaa ggataactcaaagaatcaagtgaacctcaagctctcatcagtcaccgcccgtgac accgcccgtgtattactgtgccaagcattactactatggagggtcctacgccatgg actactggggccaggaactctgggtcactgtgtcatctgggtggaggaggtagcgg aggaggcgggagcgggtggagggtggctccgaaatcgtgatgaccagagccctgca accctgtccctttctcccggggaacgggctaccctttcttctgctgggcatcacaag atatctcaaaatacctcaattgggtatcaacagaagccgggacaggcccctaggct tcttatctaccacacctctgcctgcatagcgggattcccgcacgcttttagcggg tctggaagcgggaccgactacactctgaccatctcatctctccagcccaggact tcgcccgtctacttctgcccagcagggtaacaccctgcccgtacaccttcggccagg caccagcttgagatcaaaaccactactcccgtccaaggccaccaccctgcc ccgaccatgcctctcagccgcttccctgctccggaggcatgtagaccgcag ctggtggggccgctgcatacccggggtcttgacttcgctgcgatatctacattt ggcccctctggctggtaacttgcgggggtcctgctgctttcactcgtgatcactctt tactgtaagcggcgtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacccttcatga ggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagagga ggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctcca gcctacaagcaggggagacaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagag aggagtacgacgtgctggacaagcggagaggacgggaccagaaaatgggcgggaa gccgcgcagaaaagaatcccgaagaggcctgtacaacgagctccaaaaggataag atggcagaagcctatagcgagattgggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaag gccacgacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgc tcttcacatgcaggccctgcccctcgg</p>
<p>104878 CAR 4 – 全-aa</p>	<p>912</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPqvqlqesgpglvkpssetlsltctvsgvslpdygv <u>swir</u>qppgkglewigviwgsettyyqsslksrvtiskdnskqvslklssvtaad tavyycakhyyyggsyamdywgggtlvtvssggggsgggsggggseivmtqspa tllslspgeratlsc<u>rasqdiskyl</u>nwyqqkpgqaprlliyhtsrllhsgiparfsg sgsgtdytlitisslqpedfavycqqgntlpytfgggtkleiktttpaprpptpa ptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitl yckrgrklllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrffpeeeeggcelrvkfsrsadap aykqqnqlynelnlgrreeydvldkrrrdpemggkprknpqeglynelqkdk maeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalppr</p>
<p>CAR 5</p>		
<p>CAR5 scFv 结构域</p>	<p>913</p>	<p>eivmtqspatllslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrllh sgiparfsgsgsgtdytlitisslqpedfavycqqgntlpytfgggtkleikggg gsgggsgggsgggsgvqlqesgpglvkpssetlsltctvsgvslpdygvswir qppgkglewigviwgsettyysssllksrvtiskdnskqvslklssvtaadtavy ycakhyyyggsyamdywgggtlvtvss</p>
<p>99789 CAR5 - 可</p>	<p>914</p>	<p>atggccctcccagtgaccgctctgctgctgctctcgcacttctctccatgccg ctcggcctgagatcgtcatgaccaaagcccgcctaccctgtccctgtcaccgg cgagagggcaacccttcatgcagggccagccaggacatttctaagtacctcaac tggatcagcagaagccagggcaggctcctcgcctgctgatctaccacaccagcc gcctccacagcggatccccgccagatttccgggagcgggtctggaaccgacta</p>

[0608]

<p>溶 scFv - nt</p>		<p>caccctcaccatctcttctctgcagcccgaggatttogccgtctatttctgccag caggggaatactctgccgtacaccttcgggtcaaggtaccaagctggaaatcaagg gagcggaggatcaggcgggtggcgggaagcggaggaggtggctccggaggaggagg ttccaagtgcagcttcaagaatcaggaccggacttgtgaagccatcagaaacc ctctccctgacttgtaccgtgtccgggtgtgagcctccccgactacggagtctctt ggattcgcacgcctccggggaaggggtcttgaatggattgggggtgatttggggatc agagactacttactactcttcatcacttaagtcaacgggtcaccatcagcaaaagat aatagcaagaaccaagtgtcacttaagctgtcatctgtgaccgcgctgacaccg ccgtgtactattgtgccaacattactattacggaggggtcttatgctatggacta ctggggacaggggacccctgggtgactgtctctagccatcaccatcaccaccatcat cac</p>
<p>99789 CAR5 - 可 溶 scFv -aa</p>	<p>915</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPPeivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskyl nwyqqkpgqaprllyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcg qgntlpytfgggtkleikggggsgggsgggsgggsgvqlqesgpglvkps etlslctvsgvslpdygvswirppgkglewigviwgsettyyssslksrvtiskd nsknqvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamydwwgggtlvtvsshhhhhhh h</p>
<p>104879 CAR 5 - 全 - nt</p>	<p>916</p>	<p>atggccctccctgtcaccgcctgctgcttccgctggctcttctgctccaagcgcg ctcggcccgaattgtgatgaccagtcaccgcactcttagccttccaccg tgagcgcgaaccctgtcttgcagagcctccaagacatctcaaaatcctta tggtatcaacagaagcccggacaggtcctcgcctctgatctaccacaccagc ggctccattctggaatccctgccaggttcagcggtagcggatctgggaccgacta caccctcactatcagctcactgcagccagaggacttcgctgtctatttctgtcag caaggaacaccctgcctacaccttggacagggcaccaagctcagagattaag gtggaggtggcagcggaggaggtgggtccggcgggtggaggaagcggcggaggcgg gagccaggtccaactccaagaaagcggaccgggtcttgtgaagccatcagaaact cttccactgacttgtactgtgagcggagtgctctccccgattacggggtgctt ggatcagacagccaccggggaaggggtctggaatggattggagtgatttggggctc tgagactacttactactcttcatccctcaagtcaacgcgctcaccatctcaaggac aactctaagaatcaggtgtcactgaaactgtcatctgtgaccgcagccgacaccg ccgtgtactattgcgctaagcattactattatggcgggagctacgcaatggatta ctggggacagggtaactctggtaaccgtgtccagcaccactacccagcaccgagg ccaccaccccggctcctaccatcgcctcccagcctctgtccctgcgtccggagg catgtagaccgcagctgggggcccgtgcatacccgggggtcttgacttcgctg cgatatctacatttgggcccctctggctggtaacttgggggctcctgtgcttca ctcgtgatcactcttactgtaagcgcggctcgaagaagctgctgtacatctta agcaacccttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatg ccggttcccagaggagggaagggcggctgcgaactgcgcgtgaaatcagccgc agcgcagatgctccagcctacaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactca atcttggtcggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggagaggacgggacc agaaatgggcccgaagccgcgagaaagaatccccaggggctgtacaacgag ctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgagattggatgaaaggggaac gcagaagaggcaagggcaccgacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaa ggacacctatgacgctcttccatgcaggccctgcgcctcgg</p>
<p>104879 CAR 5 - 全 - aa</p>	<p>917</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPPeivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskyl nwyqqkpgqaprllyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcg qgntlpytfgggtkleikggggsgggsgggsgggsgvqlqesgpglvkps etlslctvsgvslpdygvswirppgkglewigviwgsettyyssslksrvtiskd nsknqvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamydwwgggtlvtvssttpapr pptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvllls lvitlyckrgrklllyifkqpfmrpvqttqeedgcsrpfepseeeggcelrvkfsr</p>

[0609]

		sadapaykqqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprkrnpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalppr
CAR 6		
CAR6 scFv 结构域	918	eivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrhsgiparfsgsgsgtdytlitisslqpedfavyfcqqgntlpytfgqgkkleikgggsggggsggggsgggsgvqlqesgpglvkpselstctvsgvslpdygvswirpppgkglewigviwgsettyyqsslksrvtiskdnskqvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamdywgggtlvtvss
99790 CAR6 - 可溶 scFv - nt	919	atggccctcccagtgaccgctctgctgctgctctcgcacttctctccatgccgctcggcctgagatcgatgacccaaagcccgcctaccctgtccctgtcaccggcgagagggcaacccttcatgcagggccagccaggacatttctaagtacctcaactggtatcagcagaagccagggcaggctcctcgcctgctgatctaccacaccagccgctccacagcggatccccgcagatttccgggagcgggtctggaaccgactacacctcaccatctctctctgcagcccaggatttcgcccgtctattctgccagcaggggaatactctgccgtacaccttcggtaaggtaccaagctggaatcaaggaggcggaggatcaggcggggggaagcggaggagggtggctccggaggaggagggtcccaagtgcagctcaagaatcaggaccggacttgtgaagccatcagaaacctctccctgacttgtaccgtgtccgggtgtgagcctccccgactacggagtctctggattgccagcctccggggaagggcttgatggattgggggtgattggggatcagagactacttactaccagtcacttaagtcacgggtcaccatcagcaaagataatagcaagaaccaagtgtcacttaagctgtcatctgtgaccgccctgacaccgacctgtactattgtgcaaacattactattacggagggtcttatgctatggactactggggacaggggaccctgggtgactgtctctagccatcaccatcaccaccatcatcac
99790 CAR6 - 可溶 scFv - aa	920	MALPVTALLLPLALLLHAARP eivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrhsgiparfsgsgsgtdytlitisslqpedfavyfcqqgntlpytfgqgkkleikgggsggggsgggsgvqlqesgpglvkpselstctvsgvslpdygvswirpppgkglewigviwgsettyyqsslksrvtiskdnskqvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamdywgggtlvtvss hhhhhhh
104880 CAR6 - 全 - nt	921	atggccctccctgtcaccgcccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccgctcggcccgaattgtgatgaccagtcaccggccactcttagccttccaccggtgagcgcgcaaccctgtcttgagagcctccaagacatctcaaaataccttaattggtatcaacagaagcccggacaggctcctcgccttctgatctaccacaccagccggctccattctggaatccctgccagggtcagcggtagcggatctgggaccgactacacctcactatcagctcactgcagccagaggacttcgctgtctatttctgtcagcaagggaacaccctgcctacaccttggacagggcaccaagctcgagattaaaggtggagggtggcagcggaggagggtgggtccggcgggtggaggaagcggaggcggaggagccagggtccaactccaagaaagcggaccgggtcttgtgaagccatcagaaactcttcaactgacttgtactgtgagcggaggtctctccccgattacgggggtgtctggatcagacagccaccggggaagggctggaatggattggagtgattgggggtcttgagactacttactaccaatcatccctcaagtcacgcgtcaccatctcaaaggacaactctaagaatcaggtgtcactgaaactgtcatctgtgaccgcagccgacaccgacctgtactattgctaaagcattactattatggcgggagctacgcaatggattaactggggacaggggtactctgggtaccctgtccagcaccactacccagcaccgagggccaccaccccggctcctaccatcgccctccagcctctgtccctgcgtccggaggcatgtagaccgcagctgggtggggccgtgcatacccgggtcttgacttcgctcgatatactacatttgggcccctctggctggacttgccgggtcctgctgctttcactcgtgatcactcttactgtaagcgggtcggagaagctgctgtacatcttaagcaacccttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgtcatg

[0610]

		ccggttcccagaggaggaggaagggcggctgcgaactgocgctgaaattcagccgc agcgcagatgctccagcctacaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactca atcttggctggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggagaggacgggacc agaaatgggcgggaagccgcgagaaagaatccccaagagggcctgtacaacgag ctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgagattggtatgaaaggggaaac gcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccaggactcagcaccgccaacaa ggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgcccgcctcgg
104880 CAR6 - 全 - aa	922	MALPVTALLLPLALLLHAARPeivmtqspatlsispgeratlscrasqdiskyln wyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytlitisslqpedfavycg ggntlpyt fgqgtkleikggggsgggsgggsgggsgggsgvqlqesgpglvkps lsltctvsgvslpdygvswirppgkglewigviwgsettyyqsslksrvtiskd nknqvsllkssvtaadvavycakhyyyggsyamdywgqgtlvtvsssttpapr pptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvllls lvitlyckrgrklllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfeeeeeggcelrvkfsr sadapaykqqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprkrnpqeglyne lqkdkmaeyseigmkgerrrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalppr
CAR 7		
CAR7 scFv 结构域	923	qvqlqesgpglvkpslsltctvsgvslpdygvswirppgkglewigviwgse ttyysslksrvtiskdnknqvsllkssvtaadvavycakhyyyggsyamdyw gqgtlvtvssggggsgggsgggsgggsgggseivmtqspatlsispgeratlscra sqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytlitisslq edfavycqqgntlpytfgqgtkleik
100796 CAR7 - 可 溶 scFv - nt	924	atggcactgcctgtcactgccctcctgctgcctctggccctccttctgcatgccg ccaggcccccaagtccagctgcaagagtcaggaccggactggtgaagccgtctga gactctctcactgacttgtaccgtcagcggcgtgcccctccccgactacggagt tcatggatccgccaacctcccggaaagggcttgaatggattggtgcatctggg gttctgaaaccactactactcatcttccctgaagtccagggtgaccatcagcaa ggataattccaagaaccaggtcagccttaagctgcatctgtgaccgctgctgac accgccgtgtattactgcgccaaagcactactattacggaggaagctacgctatgg actattggggacagggcactctcgtgactgtgagcagcggcgggtggagggtctgg aggtggaggatccggtggtgggtcaggcggaggaggagcgagattgtgatg actcagtcaccagccaccttctctttcaccggcgagagagcaacctgagct gtagagccagccaggacatttctaagtaacctcaactggtatcagcaaaaaccggg gcaggccccctgcctcctgatctaccatacctcacgccttcaactctggtatcccc gctcggttttagcggatcaggatctggtaccgactacactctgaccatttccagcc tgacgccagaagatttcgagtgatcttctgcccagcagggcaataaccttcccta caccttcggtcagggaaaccaagctcgaaatcaagcaccatcaccatcatcaccac cat
100796 CAR7 - 可 溶 scFv - aa	925	<u>MALPVTALLLPLALLLHAAR</u> Pqvqlqesgpglvkpslsltctvsgvslpdygv swirppgkglewigviwgsettyysslksrvtiskdnknqvsllkssvtaad tavycakhyyyggsyamdywgqgtlvtvssggggsgggsgggsgggsgggseivm tqspatlsispgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgip arfsgsgsgtdytlitisslqpedfavycqqgntlpytfgqgtkleik <u>hhhhhhh</u> <u>h</u>
104881 CAR 7	926	atggctctgcccgtagccgactcctcctgccactggctctgctgcttcaagccg ctcgccacaagtccagctcaagaatcagggcctggtctggtgaagccatctga gactctgtccctcacttgaccgtgagcggagtgcctcccagactacggagt agctggattagacagcctcccggaaagggactggagtggatcggagtgtttggg gtagcgaaccacttactattcatcttccctgaagtcaagggtcaccatttcaaaa

[0611]

全 - nt		<p>ggataactcaaagaatcaagtgagcctcaagctctcatcagtcaccgcccgtgac accgccgtgtattactgtgccaaagcattactactatggagggtcctacgccatgg actactggggccagggaaactctgggtcactgtgtcatctggaggaggtagcgg aggaggcgggagcgggtggaggtggctccggaggtggcggaagcgaatcgtgatg accagagccctgcaaccctgtccctttctccggggaaacgggtaccctttctt gtcgggcatcacaagatatctcaaaatacctcaattgggtatcaacagaagccggg acaggccoctaggcttcttatctaccacacctctcgctgcatacgggattccc gcacgcttttagcgggtctggaagcgggaccgactacactctgacctctcatctc tccagcccaggacttccgctctacttctgcccagcagggtaacaccctgccgta caccttcggccagggcacaagcttgagatcaaaaccactactcccgtccaagg ccaccaaccctgccccgacctcgcctctcagccgcttccctgcgtccggagg catgtagaccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttcgctg cgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgccggggtcctgctgcttca ctcgtgatcactcttactgtaagcggctcggaagaagctgctgtacatcttta agcaacccttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatg ccggttcccagaggagggaaggcggctgcgaactgcgctgaaattcagccgc agcgcagatgctccagcctacaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactca atcttggtcggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggagaggacgggacc agaaatgggcccgaagccgcgagaaagaatccccagaggcctgtacaacgag ctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgagattggtatgaaaggggaa gcagaagaggcaaggccacgacggactgtaccagggactcagcaccgccacca ggcacctatgacgctcttccatgcaggccctgccgctcgg</p>
104881 CAR 7 全 - aa	927	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPqvqlqesgpglvkpselstctvsgvslpdygv <u>swir</u>qppgkglewigviwgsettyysslksrvtiskdnskqvslklssvtaad tavyyca<hy< h="">yyggsyamdywgggtlvtvssggggsgggsgggsgggseivm tqspatlslspgeratlsc<u>rasqdiskyl</u>nwyqqkpgqaprlliyhtsrhsgip arfsqsgsgtdytlstisslqpedfavfycqgntlpytfgggtkleikttpapr pptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvllls lvitlyckrgrklllyifkqpfmrpvqttqeedgcsrpfpeeeeggcelrvkfsr sadapaykqqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprkrnpqeglyne lqdkmaeayseigmkgerrrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalppr</hy<></p>
CAR 8		
CAR8 scFv 结构域	928	<p>qvqlqesgpglvkpselstctvsgvslpdygvswirqppgkglewigviwgse ttypqsslksrvtiskdnskqvslklssvtaadvavyycahyyyggsyamdyw gggtlvtvssggggsgggsgggsgggseivmtqspatlslspgeratlscra sqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrhsgiparfsqsgsgtdytlstisslq edfavfycqgntlpytfgggtkleik</p>
100798 CAR8 - 可 溶 scFv - nt	929	<p>atggcactgcctgtcactgcctcctcctgctgcctctggccctccttctgcacg ccaggccccaagtccagctgcaagagtcaggaccggactggtgaagccgtotga gactctctcactgactgtaccgtcagcggcgtgtccctccccgactacggagt tcatggatccgccaacctcccggaaagggttgatggattggtgtcatctggg gttctgaaaccacctactaccagtcttccctgaagtccagggtgaccatcagcaa ggataattccaagaaccaggtcagccttaagctgtcatctgtgaccgctgctgac accgccgtgtattactgcgccaagcactactattacggaggaaagctacgctatgg actattggggacagggcactctcgtgactgtgagcagcggcggtggagggtctgg agggtggaggatccgggtggtgggtcaggcggaggaggagcgagattgtgatg actcagtcaccagccacctttctcttccaccggcgagagagcaaccctgagct gtagagccagccaggacatttctaagtaacctcaactgggtatcagcaaaaaccggg gcaggccctcgcctcctgatctaccatacctcagccttactctggtatcccc gctcggtttagcggatcaggatctggtaccgactacactctgaccatttccagcc</p>

[0612]

		tgagccagaagatttcgcagtgatattctgccagcagggcaataacccttcctta caccttcoggtcagggaaaccaagctcgaaatcaagcaccatcaccatcatcatcac cac
100798 CAR8 - 可 溶 scFv - aa	930	MALPVTALLLPLALLLHAARP qvqlqesgpglvkpssetlsltctvsgvslpdygv swirpppgkglewigviwgsettyyqsslksrvtiskdnskqvslklssvtaad tavyycahyyyggsyamdywgqgtlvtvssgggsgggsgggsgggsgggseivm tqspatlsispgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrhsgip arfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqgntlpytfgggtkleik <u>hhhhhhh</u> <u>h</u>
104882 CAR 8 - 全 - nt	931	atggctctgcccgtagccgcaactcctcctgccactggctctgctgcttcacgccg ctcgcaccacaagtcagacttcaagaatcaggcctggctctggtagaacatctga gactctgtccctcacttgaccgtgagcggagtgtccctccagactacggagtg agctggattagacagcctcccgaaaggactggagtggatcggagtgattggg gtagcgaaccacttactatcaatcttcctgaagtcacgggtcaccatttcaa ggataactcaaagaatcaagtgagcctcaagctctcatcagtcaccgocgtgac accgocgtgtattactgtgccaagcattactactatggagggtcctacgccatgg actactggggccaggaactctggctactgtgcatctggtaggaggtagcgg aggaggcgggagcggtagggtggctccgaggcggtaggtagcagaatcgtgatg accagagccctgcaaccctgtcccttctccggggaacgggtacccttctt gtcgggcatcacaagatatctcaaaatacctcaattggtagcagaagcggg acaggcccctaggcttcttactaccacacctctgcctgcatagcgggattccc gcacgctttagcgggtctggaagcgggaccgactacactctgaccatctcatctc tccagcccgaggacttcgocgtctacttctgccagcagggtaacaccctgcgta caccttcoggcagggcaaccaagcttgagatcaaaaccactactcccgctccaagg ccaccaccccctgccccgaccatgcctctcagcogcttccctgcgtccggagg catgtagaccgcagctggtagggcctgcataaccgggtcttgacttcgctg cgatatctacatttggccctctggctggtagtgcggggctcctgctgcttca ctcgtgatcactcttactgtaagcgggtcggaagaagctgctgtacatctta agcaacccttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggagcgtgttcatg ccggttccagaggaggaggaaggcggctgcgaactgcgctgaaatcagccgc agcgcagatgctccagcctacaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactca atcttggtaggagagaggtagcagcgtgctggacaagcggagaggacgggacc agaaatgggcccgaagccgcgagaaagaatccccagagggctgtacaacgag ctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcagattggtagaaaggggaac gcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcagcaccgccacaa ggacacctatgacgctcttccatgcaggccctgcgcctcgg
104882 CAR 8 - 全 - aa	932	MALPVTALLLPLALLLHAARP qvqlqesgpglvkpssetlsltctvsgvslpdygv <u>swirpppgkglewigviwgsettyyqsslks</u> rvtiskdnskqvslklssvtaad tavyycah <u>yyyggsyamdy</u> wgqgtlvtvssgggsgggsgggsgggsgggseivm tqspatlsispgeratlsc <u>rasqdiskyl</u> nwyqqkpgqaprlliyhtsrhsgip arfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfc <u>qqgntlpyt</u> fgggtkleiktppapr pptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiywaplagtcgvllls lvitlyckrgrklllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfeeeeeggcclrvkfsr sadapaykqqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprkrnpqeglyne lqkdkmaeayseigmkgerrrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalppr
CAR 9		
CAR9 scFv 结构域	933	eivmtqspatlsispgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrh sgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqgntlpytfgggtkleikggg gsgggsgggsgggsgggsgvqlqesgpglvkpssetlsltctvsgvslpdygvswir qppgkglewigviwgsettyynsslksrvtiskdnskqvslklssvtaadtavy

[0613]

		ycakhyyyggsyamdywgqgtlvtvss
99789 CAR9 - 可溶 scFv - nt	934	atggccctcccagtgaccgctctgctgctgctcctctcgcaacttcttctccatgccg ctcggcctgagatcgtcatgacccaaagccccgctaccctgtccctgtcaccgg cgagagggcaaccctttcatgacgggcccagccaggacatttctaaagtaoctcaac tggtatcagcagaagccagggcaggctcctcgctgctgacttaccacaccagcc gcctccacagcggatccccgccagatttccgggagcgggtctggaaccgacta caccctcaccatctctctctgcagcccaggatttccgctctatttctgccag caggggaatactctgccgtacaccttcgggtcaaggtaaccaagctggaaatcaagg gagggcggaggatcaggcgggtggcgggaagcggaggagggtggctccggaggaggagg ttccaagtgcagcttcaagaatcaggacccggacttgtgaagccatcagaaacc ctctccctgacttgtaccgtgtccgggtgtgagcctccccgactacggagtctctt ggattcggcagcctccggggaagggtcttgaatggattgggggtgattgggggac agagactacttactacaattcatcacttaagtcacgggtcaccatcagcaaagat aatagcaagaaccaagtgtcacttaagctgtcatctgtgaccgcccgtgacaccg ccgtgtactattgtgccaacattactattacggagggtcttatgctatggacta ctggggacaggggaccctgggtgactgtctctagccatcaccatcaccaccatcat cac
99789 CAR9 - 可溶 scFv - aa	935	<u>MALPVTALLLPLALLLHAARP</u> Peivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskyl wyqqkpgqaprlliyhtsrllhsgiparfsgsgsdytlttisslqpedfavyfcq qgntlpytfgqgkkleikgggsgggsgggsgggsgvqlqesgpglvkpsel lsltctvsgvslpdygvswirqpqgkglewigviwgsettyynsslksrvtiskd nshknqvsllkssvtaadtavyycahhyyyggsyamdywgqgtlvtvss <u>hhhhhhh</u> <u>h</u>
105974 CAR9 - 全 - nt	936	atggccctccctgtcaccgcccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccg ctcggcccgaattgtgatgaccagtcaccgccactcttagcctttcaccgg tgagcgcgcaaccctgtcttgagagcctccaagacatctcaaaataocttaat tggtatcaacagaagcccggacaggctcctcgcttctgacttaccacaccagcc ggctccattctggaatccctgccaggttcagcggtagcggatctgggaaccgacta caccctcactatcagctcactgcagccagaggacttcgctgtctatttctgtcag caagggaacaccctgccctacaccttggacagggcaccaagctcgagattaaag gtggagggtggcagcggaggagggtgggtccggcgggtggaggaagcggaggcgggtg gagccaggtccaactccaagaaagcggaccgggtcttgtgaagccatcagaaact ctttcactgacttgtactgtgagcggagtgtctctccccgattacgggggtctt ggatcagacagccaccggggaagggtctggaatggattggagtgattggggctc tgagactacttactacaactcatccctcaagtcacgcgtcaccatctcaaaggac aactctaagaatcaggtgtcactgaaactgtcatctgtgaccgcagccgacaccg ccgtgtactattgcgctaagcattactattatggcgggagctacgcaatggatta ctggggacagggtaactctgggtcaccgtgtccagcaccactacccagcaccgagg ccaccacccccggtcctaccatcgctcccagcctctgtccctgcgtccggagg catgtagacccgcagctgggtggggccgtgcataccccgggtcttgacttcgctg cgatatctacatttgggcccctctggctggacttgcggggctcctgctgcttca ctcgtgatcactcttactgtaagcgcggctcgaagaagctgctgtacatcttta agcaacccttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatg ccggttcccagaggaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgc agcgcagatgctccagcctacaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactca atcttggctcggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggagaggacgggacc agaaatgggcccgaagccgcagaaagaatccccagaggcctgtacaacgag ctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgagattggatgaaaggggaac gcagaagaggcaaaggccagcaggactgtaccaggactcagcaccgccacca ggacacctatgacgctcttccatgcaggccctgcgcctcgg

[0614]

<p>105974 CAR 9 - 全 - aa</p>	<p>937</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPeivmtqspatlslspgeratlsc<u>rasqdiskyln</u> wyqqkpgqaprrlly<u>htsrllhs</u>giparfsgsgsgtdytlstisslqpedfavyf<u>cg</u> <u>qgntlpyt</u>fgqgkkleikggggsgggsgggsgggsgggsgvqlqesgpglvkpsel sltctvsgvslp<u>dygvs</u>wirppgkglewig<u>viwgsettyynsslks</u>rvtiskd nsknqvslklssvtaadtavyyca<u>kyyyggsyamdy</u>wgggtlvtvsssttpapr pptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvllls lvitlyckrgrklllyifkqpfmrpvqttgeedgcscrfpееееggcelrvkfsr sadapaykqggnqlynelnlgrrreedyvldkrrgrdpemggkprknpqeglyne lqkdkmaeayseigmkgerrrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalppr</p>
<p>CAR10</p>		
<p>CAR10 scFv 结构域</p>	<p>938</p>	<p>qvqlqesgpglvkpselsltctvsgvslpdygvswirppgkglewigviwgse ttyynsslksrvtiskd nsknqvslklssvtaadtavyyca<u>kyyyggsyamdy</u>w gggtlvtvssggsgggsgggsgggsgggseivmtqspatlslspgeratlscra sqdiskylnwyqqkpgqaprrllyhtsrllhsqiparfsgsgsgtdytlstisslqp edfavyf<u>cgqgntlpyt</u>fgqgkkleik</p>
<p>100796 CAR10 - 可溶 scFv - nt</p>	<p>939</p>	<p>atggcaactgcctgtcactgcctcctgctgctctggccctcctctgcatgccg ccaggcccccaagtccagctgcaagagtcaggaccogactggtgaagcogtctga gactctctcactgactgtaccgtcagcggcgtgctccctccccactacggagtgc atgatccgcccaactccccggaaaggcttgaatggattggtgcatctggg gtctgaaaccactactacaactcttccctgaagtcagggtgaccatcagcaa ggataattccaagaaccaggtcagccttaagctgcatctgtgaccgctgctgac accgocgtgtattactgcgccaagcactactattacggaggaagctacgctatgg actattggggacagggcactctcgtgactgtgagcagcggcgggtggagggtctgg aggtggaggatccggtggtggtgggtcaggcggaggaggagcagagattgtgatg actcagtcaccagccacccttctctttcaccggcgagagagcaaccctgagct gtagagccagccaggacatttotaagtacctcaactggatcagcaaaaaccggg gcaggccccctgcctcctgatctaccatacctcaogccttcaactctggatcccc gctcggtttagcggatcaggatctggtagcactacactctgaccatttccagcc tgcagccagaagatttgcagtgatttctgcccagcagggaataacccttcccta caccttcgggtcagggaaccaagctcgaaatcaagcaccatcaccatcatcaccac cat</p>
<p>100796 CAR10 - 可溶 scFv - aa</p>	<p>940</p>	<p><u>MALPVTALLLPLALLLHAARP</u>qvqlqesgpglvkpselsltctvsgvslpdygv swirppgkglewigviwgsettyynsslksrvtiskd nsknqvslklssvtaad tavyyca<u>kyyyggsyamdy</u>wgggtlvtvssggsgggsgggsgggsgggseivm tqspatlslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprrllyhtsrllhsqip arfsgsgsgtdytlstisslqpedfavyf<u>cgqgntlpyt</u>fgqgkkleik<u>hhhhhhh</u> <u>h</u></p>
<p>105975 CAR 10 全 - nt</p>	<p>941</p>	<p>atggccctccctgtcaccgcoctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccc gctcggccccgaaattgtgatgaccagtcaccgcoactcttagccttccaccgg tgagcgcgcaaccctgtcttgagagcctccaagacatctcaaaataccttaat tggatcaacagaagcccgacaggctcctcgccttctgatctaccacaccagcc ggctccattctggaatccctgccaggttcagcggtagcggatctgggaccgacta caccctcaactatcagctcactgcagccagaggacttcgctgtctattctgtcag caagggaacaccctgcctacaccttggacagggcaccaagctcgagattaaag gtggagggtggcagcggaggaggtgggtccggcggtagggaagcggaggcgggtgg gagccaggtccaactccaagaaagcggaccgggtcttgtgaagccatcagaaact ctctcaactgactgtactgtgagcggagtgctctccccgattacgggggtctt ggatcagacagccaccgggaaggtctggaatggattggagtgattggggctc tgagactacttactacaactcactccctcaagtcacgcgtcaccatctcaaggac aactctaagaatcaggtgtcactgaaactgtcatctgtgaccgacggcagaccg</p>

[0615]

		<p>ccgtgtactattgcgctaagcattactattatggcgggagctacgcaatggatta ctggggacagggactctggtcaccgtgtccagcaccactaccccagcaccgagg ccaccaccccggctcctaccatgcctcccagcctctgtccctgctccggagg catgtagaccgcagctgggtggggccgtgcatacccgggggtcttgacttcgctg cgatatctacatttgggcccctctggctggtaacttgccggggtcctgtgctttca ctcgtgatacactctttactgtaagcgcggctcggaagaagctgctgtacatcttta agcaacccttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatg ccggttcccagaggaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgc agcgcagatgctccagcctacaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactca atcttggctcggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggagaggacgggacc agaaatgggcccgaagccgcgcagaaagaatcccgaaggggctgtacaacgag ctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgagattggatgaaaggggaac gcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcagcaccgccacca ggcacctatgacgctcttccatgcaggccctgccgcctcgg</p>
<p>105975 CAR 10 全 - aa</p>	942	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPEIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLN WYQQKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTISLQPEDFAVYFCQ QGNTLPYTFGQGTKLEIKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLQESGPGLVKPSET LSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKLEWIGVIWGSETTYNSSLKSRVTISKD NSKNQVSLKLSVTAADTAVYYCAKHYYYGGSYAMDYWGGTLVTVSSTTPAPR PPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLS LVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSR SADAPAYKQGNQLYNELNLRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNE LQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHGDLGYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR</p>
<p>CAR11</p>		
<p>CAR11 scFv 结构 域</p>	943	<p>eivmtqspatlsrspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprrlliyhtsrlh sgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqgntlpytfggtkleikggg gsgggsgggsgvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqppgk glewigviwgsettynsslksrvtiskdnsknqvslklsvtaadtavyycak yyyggyamdywgqgtlvtvs</p>
<p>103101 CAR11 - 可溶 scFv - nt</p>	944	<p>Atggccctccctgtcaccgcccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgcg ctcgcccgaattgtgatgaccagtcaccgccactcttagccttccaccgg tgagcgcgcaaccctgtcttgagagcctcccagacatctcaaaataccttat tggtatcaacagaagcccggacaggtcctcgcctctgatctaccacaccagcc ggctccattctggaatccctgccaggttcagcggtagcggatctgggaccgacta caccctcactatcagctcactgcagccagaggacttcgctgtctattctgtcag caaggaacaccctgccctacaccttggacagggcaccaagctcgagattaag gtggaggtggcagcggaggaggtgggtccggcggaggaggaagccaggtccaact ccaagaaagcggaccgggtcttgtgaagccatcagaaactctttcactgacttgt actgtgagcggagtgctctccccgattacggggtgtcttggatcagacagccac cggggaagggctctggaatggattggagtgatttggggctctgagactacttacta caattcatccctcaagtacgcgacccatctcaaggacaactctaagaatcag gtgtcactgaaactgtcactgtgaccgcagccgacaccgccgtgactattgcg ctaagcattactattatggcgggagctacgcaatggattactggggacagggtac tctggtcaccgtgtccagccaccaccatcatcaccatcaccat</p>
<p>103101 CAR11 -</p>	945	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPEeivmtqspatlsrspgeratlscrasqdiskyln wyqqkpgqaprrlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcq</p>

[0616]

<p>可溶 scFv - aa</p>		<p>qgntlpytfgggtkleikgggsgggsgggsgvqlqesgpglvkpsetlsltc tvsgvslpdygvswirppgkglewigviwgsettyynsslksrvtiskdnskng vsklssvtaadtavyycahyyyyggsyamdywgqgtlvtvss<u>hhhhhhh</u></p>
<p>105976 CAR 11 全 - nt</p>	<p>946</p>	<p>atggctctgcccgtgaccgcaactcctcctgccactggctctgctgcttcacgccc ctgcccacaagtccagcttcaagaatcagggcctggctctggtgaagccatctga gactctgtccctcaactgacccgtgagcggagtgccctcccagactacggagtg agctggattagacagcctcccggaaaggactggagtggatcggagtgattggg gtacgaaaccacttactataactcttccctgaagtcaagggtcaccatttcaaa ggataactcaaagaatcaagtgagcctcaagctctcatcagtcaccgcccgtgac accgcccgtgtattactgtgccaagcattactactatggagggtcctacgccatgg actactggggccagggaactctgggtcactgtgtcatctggtggaggaggtagcgg aggaggcgggagcgggtggagggtggctccggagggtggcggaaagcgaatcgtgatg acccagagccctgcaaccctgtccctttctcccggggaacgggctaccctttctt gtcgggcatcacaagatatctcaaaatacctcaattgggatcaacagaagccggg acaggcccctaggcttcttctaccacacctctgcctgcatagcgggattccc gcacgcttagcgggtctggaagcgggaccgactacactctgaccatctcatctc tccagcccaggacttcgcccgtctacttctgccaagcgggtaacaccctgcgta caccttcggccagggcaccaagcttgagatcaaaaccactactcccgtccaagg ccaccaccccctgccccgaccatgcctctcagccgcttccctgcgtccggagg catgtagaccgcagctggtggggccgtgcatacccgggtcttgacttcgctg cgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgggggtcctgctgcttca ctcgtgatcactcttactgtaagcgggtcggagaagctgctgtacatcttta agcaacccttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatg ccggttcccagaggaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgc agcgcagatgctccagcctacaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactca atcttggtcggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggagaggacgggacc agaaatgggcccgaagccgcgagaaagaatccccagaggcctgtacaacgag ctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgagattgggatgaaaggggaa gcagaagaggcaaaggccaacgacggactgtaccagggactcagcaccgccacca ggacacctatgacgctcttccatgcaggccctgccgctcgg</p>
<p>105976 CAR 11 全 - aa</p>	<p>947</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGVSLP<u>DIYGV</u> <u>SWIRQPPGKLEWIGVIWGSETTYYNSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAAD</u> TAVYYCAK<u>HYYYGGSYAMDY</u>WGQGTTLVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSEIVM TQSPATLSLSPGERATLSC<u>RASQDISKYL</u>NWYQQKPGQAPRLLIY<u>HTSRLHS</u>GIP ARFSGSGSGTDYTLTISLQPEDFAVYFC<u>QQGNTLPYT</u>FGQGTKLEIKTTTPAPR PPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLS LVITLYCKRGRKLLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSR SADAPAYKQGNQLYELNLRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNE LQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR</p>
<p>CAR12</p>		
<p>CAR12 scFv 结构域</p>	<p>948</p>	<p>qvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirppgkglewigviwgse ttyynsslksrvtiskdnskngvslklssvtaadtavyycahyyyyggsyamdyw gqgtlvtvssgggsgggsggggseivmtqspatlspsgeratlsctasqdis kylnwqqkpgqaprrlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfav yfcqqgntlpytfgggtkleik</p>

[0617]

<p>103104</p> <p>CAR12 - 可溶 scFv - nt</p>	<p>949</p>	<p>atggctctgcccgtgaccgcaactcctcctgccaactggctctgctgcttcacgccg ctcgcccacaagtccagcttcaagaatcagggcctggctggtggaagccatctga gactctgtccctcacttgcaaccgtgagcggagtgocctcccagactacggagtg agctggattagacagcctcccggaaagggactggagtgatcggagtgattggg gtagcgaaccacttactataactcttccctgaagtcacgggtcaccatttcaaa ggataactcaaagaatcaagtgagcctcaagctctcatcagtcaccgcccgtgac accgcccgtgtattactgtgccaagcattactactatggagggtcctacgccatgg actactggggccagggaactctgggtcactgtgtcatctggtggaggaggtagcgg aggaggcgggagcgggtggaggtggctccgaaatcgtgatgaccagagccctgca accctgtccctttctcccggggaacgggctaccctttcttctgctgggcatcacaag atatctcaaaatacctcaattgggtatcaacagaagccgggacaggcccctaggct tcttatctaccacacctctcgctgcatagcgggattcccgcacgcttttagcggg tctggaagcgggaccgactacactctgaccatctcatctctccagcccaggact tcgcccgtctacttctgcccagcgggtaaacacctgcccgtacaccttcggccaggg caccaagcttgagatcaaacatcaccaccatcatcaccatcac</p>
<p>103104</p> <p>CAR12 - 可溶 scFv -aa</p>	<p>950</p>	<p><u>MALPVTALLLPLALLLHAARP</u>qvqlqesgpglvkpselstctvsgvslpdygv swirpppgkglewigviwgsettyynsslksrvtiskdsknqvsllkssvtaad tavyycahyyyggsyamdywqggtlvtvssgggsgggsggggseivmtqspa tlslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrhsgiparfsg sgsgtdytltlisslqpedfavyfcqqgntlpytfqggtklei<u>khhhhhhh</u></p>
<p>105977</p> <p>CAR 12 - 全 - nt</p>	<p>951</p>	<p>atggccctccctgtcaccgcccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccg ctcgcccgaattgtgatgaccagtcaccgcccactcttagccttccaccgg tgagcgcgcaaccctgtcttgagagcctccaagacatctcaaaatacctta tggtatcaacagaagcccggacaggtcctcgccttctgatctaccacaccagcc ggctccattctggaatccctgccaggttcagcggtagcggatctgggaccgacta caccctcactatcagctcactgcagccagaggacttcgctgtctatttctgtcag caagggaacaccctgcctacaccttggacagggcaccaagctcgagattaaag gtggaggtggcagcggaggggtgggtccggcggggaggaagccaggtccaact ccaagaaagcggaccgggtcttgtgaagccatcagaaactcttccactgacttgt actgtgagcggagtgctctccccgattacggggtgtcttggatcagacagccac cggggaagggctggaatggattggagtgatttggggctctgagactacttacta caactcatccctcaagtcacgcgtcaccatctcaaggacaactctaagaatcag gtgtcactgaaactgtcatctgtgaccgcagccgacaccgcccgtgactattg ctaagcattactattatggcgggagctacgcaatggattactggggacagggtac tctggtcaccgtgtccagcaccactacccagcaccgaggccaccacccccggct cctaccatcgctcccagcctctgtccctgcgtccggaggcatgtagaccgcag ctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttcgctgcgatatctacattg ggccctctggctggtacttgcggggctcctgctgctttcactcgtgatcactctt tactgtaagcgcggctcgaagaagctgctgtacatctttaagcaaccctcatga ggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagagga ggaggaagggcggctgcgaactgcgcgtgaaatcagccgcagcgcagatgctcca gcctacaagcaggggagcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggcggagag aggagtacgacgtgctggacaagcggagaggacgggaccagaaatggcggggaa gccgcgcagaaagaatcccgaagggcctgtacaacgagctccaaaaggataag atggcagaagcctatagcgagattgggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaa gccacgacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgc tcttcacatgcaggccctgccgctcgg</p>
<p>105977</p>	<p>952</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPEIVMTQSPATLSLSPGERATLSC<u>RASQDISKYL</u> N<u>WYQQKPGQAPRLLIYHTSRLHS</u>GIPARFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQ</p>

[0618]

<p>CAR 12 - 全 - aa</p>		<p><u>QGNTLPYTF</u>FGQGTKLEIKGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSSETLSLTC TVSGVSLP<u>DYGVSWIR</u>QPPGKGLEWIG<u>VIWGSETTYNSSLKSR</u>VRTISKDNSKNQ VSLKLSSVTAADTAVYYCAK<u>HYYYGGSYAMDY</u>WGQGTLVTVSSTTTPAPRPPTPA PTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITL YCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAP AYKQQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDK MAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR</p>
<p>CTL019</p>		
<p>CTL019 - 可溶 scFv-Histag - nt</p>	<p>953</p>	<p>atggcctgcccgtcaccgctctgctgctgccccttgcctctgcttctcatgcag caaggccggacatccagatgacccaaaccacctcatccctctctgcctctcttgg agacagggtgaccatttctgtgcgcccagccaggacatcagcaagatctgaac tggtatcagcagaagccggacggaaccgtgaagctcctgatctaccatacctctc gcctgcatagcggcgtgcccctcagcttctctggaagcggatcaggaaccgatta ttctctcaactatttcaaatcttgagcaggaagatattgccacctatttctgccag caggtaataccctgcctacacctcggaggagggaaccaagctcgaatcaccg gtggaggaggcagcggcggtggagggtctggtggagggtggttctgaggtgaagct gcaagaatcaggccctggactgtggcccctcagctccctgagcgtgacttgc accgtgtccggagtctccctgcccgactacggagtgtcatggatcagacaacctc cacgaaaggactggaatggctcggtgtcatctgggtagcgaactactactacta caatcagccctcaaaagcaggctgactattatcaaggacaacagcaagtcccaa gtcttcttaagatgaactcactccagactgacgacacagcaatctactattgtg ctaagcactactactacggaggatcctacgctatggattactgggacaaaggta ttccgtcaactgtctcttcaaccatcatcaccatcaccatcac</p>
<p>CTL019 - 可溶 scFv-Histag - aa</p>	<p>954</p>	<p><u>MALPVTALLLPLALLLHAARP</u>diqmtqttsslsaslgrvtiscrasqdiskyl wyqqkpdgtvkllyhtsrhshgvsprfsgsgsgtdysltisnleqediatyfcq qgntlpytfgggtkleitggggsgggsggggsevklesgpglvapsqslsvtc tvsgvslpdygvswirqprrkglewlgviwgsettyynsalksrltiikdnsksq vflkmnslqtddtaiyycahyygggyamdywggtsvtvss<u>hhhhhhh</u></p>
<p>CTL019 全 - nt</p>	<p>955</p>	<p>atggccttaccagtgaccgcttgcctcctgcccgtggccttgcctgctccacgccc ccaggccggacatccagatgacacagactacatcctccctgtctgcctctctggg agacagagtcaccatcagtgccagggcaagtcaggacattagtaaatatttaaat tggtatcagcagaaaccagatggaactgttaactcctgatctaccatacatcaa gattacactcaggagtcacatcaagggtcagtgccagtggtctggaacagatta ttctctcaccattagcaacctggagcaagaagatattgccacttactttgcaa caggtaatacgtctccgtacacgttcggaggggggaaccaagctggagatcacag gtggcgggtggtcgggcggtgggtgggtcgggtggcggcgatctgaggtgaaact gcaggagtcaggacctggcctgggtggcgcctcagagacctgtccgtcacatgc actgtctcaggggtctcattaccogactatgggtgtaagctggattccagcctc cacgaaagggctcggagtggctgggagtaatatgggtagtgaaaccacatacta taatcagctctcaaatccagactgaccatcatcaaggacaactccaagagccaa gtttcttaaaaatgaacagtctgcaaactgatgacacagccatttactactgtg ccaaacattattactacggtgtagctatgctatggactactggggccaaggaac ctcagtcaccgtctcctcaaccaagcagccagcggcgaccaccaaccggcg cccaccatcgcgtcgcagcccctgtccctgcgccagagggcgtgcccggcagcgg cggggggcgcagtgacacaggggggtggactcgcctgtgatctacatctg ggcgccttggccgggacttgggggtccttctcctgctactggttatcaccctt tactgcaaacggggcagaagaactcctgtatataatcaacaaccatttatga</p>

[0619]

		gaccagtacaaactactcaagaggaagatggctgtagctgccgatttccagaaga agaagaaggaggatgtgaactgagagtgaagttcagcaggagcgcagacgcccc gctacaagcagggccagaaccagctctataacgagctcaatctaggacgaagag aggagtacgatgttttgacaagagacgtggccgggaccctgagatgggggaaa gccgagaaggaagaacctcaggaaggcctgtacaatgaactgcagaaagataag atggcggaggcctacagtgagattgggatgaaaggcagcgcggaggggcaagg ggcacgatggcctttaccaggggtctcagtacagccaccaaggacacctacgacgc ccttcacatgcaggccctgccccctgc
CTL019 全 - aa	956	MALPVTALLLPLALLLHAARPdiqmtqttsslsaslgdrvtiscrasqdiskyl nwyqqkpdgtvkllyhtsrhsgvpsrfsfgsgsgtdysltisnleqediathyfcq qgntlpytfgggtkleitggggsgggsggggsevklqesgpglvapsqslsvtc tvsgvslpdygvswirqprrkglewlgviwgsettyynsalksrliikdnsksg vflkmnslqtddtaiyycahyyyggsyamdywgqtsvtvssttpaprptpa ptiasqplslrpeacrpaaggavhtrglfacdiyiwaplagtcgvllslvitl yckrgrklllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfeeeggcelrvkfsrsadap aykqqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprknpqeglynelqkdk maeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalppr
CTL019 scFv 结构域	957	diqmtqttsslsaslgdrvtiscrasqdiskylnwyqqkpdgtvkllyhtsrh sgvpsrfsfgsgsgtdysltisnleqediathyfcqqgntlpytfgggtkleitggg sgggsggggsevklqesgpglvapsqslsvtctvsgvslpdygvswirqprrk glewlgviwgsettyynsalksrliikdnsksgvflkmnslqtddtaiyycah yyyggsyamdywgqtsvtvss
mCAR1 scFv	983	QVQLLES GAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPQG LEWIGQIYPGD GDTNYNGKFKGQATLTADKSSSTAYMQLSGLTSEDSAVYSCARKTISVVDYFYD YWGQGT TVTGGGSGGGSGGGSGGSELVLTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVG TNVAWYQQKPGQSPKPLIYSATYRNSGVPDRFTGSGSGTDFTLTITNVQSKDLAD YFCQYNYRYPYTSFFFTKLEIKRRS
mCAR1 全 - aa	984	QVQLLES GAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPQG LEWIGQIYPGD GDTNYNGKFKGQATLTADKSSSTAYMQLSGLTSEDSAVYSCARKTISVVDYFYD YWGQGT TVTGGGSGGGSGGGSGGSELVLTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVG TNVAWYQQKPGQSPKPLIYSATYRNSGVPDRFTGSGSGTDFTLTITNVQSKDLAD YFCQYNYRYPYTSFFFTKLEIKRRSKIEMVPPPYLDNEKNGTIIHVKGKHLCP SPLFPGPSKPFVWL VVGGV LACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSLRLHSDYMNMT PRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGR REEYDVLDKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGH DGLYQGLSTATKDYDALHMALPPR
mCAR2 scFv	985	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYL N WYQQKPDGTVKLLIYHTSR LHSGVPSRFSFGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTL PYTFGGG TKLEITGSTSGSGKPGSGEGSTKGEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGV SLPDYGVSWIRQP PRKGLEWLGVIWGSETTYNSALKSR LTIKDNSK SQVFLKMNSLQTD DTAIYYCAKH YYYGGSYAMDYWGQTSVTVSSE
mCAR2 CAR - aa	986	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYL N WYQQKPDGTVKLLIYHTSR LHSGVPSRFSFGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTL PYTFGGG TKLEITGSTSGSGKPGSGEGSTKGEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGV SLPDYGVSWIRQP PRKGLEWLGVIWGSETTYNSALKSR LTIKDNSK SQVFLKMNSLQTD DTAIYYCAKH YYYGGSYAMDYWGQTSVTVSSESKY GPPCPMPFVWL VVGGV LACYS LLVTVAFIIFWVRSKRKLLYIFKQ PFMRPVQTTQ EEDGCSCRF EEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNEL NLGRREEYDVLDKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGH DGLYQGLSTATKDYDALHMALPPR

[0620]

		L
mCAR2 全 - aa	987	DIQMTQTT SLSASLGDR VTISCRASQD ISKYLNWYQQ KPDGTVKLLI YHTSRLHSGV PSRFSGSGSG TDYSLTISNL EQEDIATYFC QQGNTLPYTF GGGTKLEITG STSGSGKPGS GEGSTKGEVK LQESGPGLVA PSQSLSVTCT VSGVSLPDYG VSWIRQPPRK GLEWLGVIWG SETTYNSAL KSRLTIKDN SKSQVFLKMN SLQTDTAIY YCAKHYYGG SYAMDYWGQG TSVTVSSESK YGPPCPPCPM FWVLVVGGV LACYSLLVTV AFIIFWVKRG RKKLLYIFKQ PFMRPVQTTQ EEDGCSCRFE EEEGGCELRV KFSRSADAPA YQQGQNQLYN ELNLGRREEY DVLDKRRGRD PEMGGKPRRK NPQEGLYNEL QKDKMAEAYS EIGMKGERRR GKGHDGLYQG LSTATKDTYD ALHMQUALPPR LEGGEGRGS LLTCGDVEEN PGPRMLLLVT SLLCELPH AFLLIPRKVC NGIGIGEFKD SLSINATNIK HFKNCTSIG DLHILPVAFR GDSFHTPPL DPQELDILKT VKEITGFLLI QAWPENRTDL HAFENLEIR GRTKQHGFQFS LAVVSLNITS LGLRSLKEIS DGDVIISGNK NLCYANTINW KKLFGTSGQK TKIISNRGEN SCKATGQVCH ALCSPEGCWG PEPKRCVSCR NVSREGREVD KCNLEGEPR ETVENSECIQ CHPECLPQAM NITCTGRGPD NCIQCAHYID GPHCVKTCPA GVMGENNTLV WKYADAGHVC HLCHPNCTYG CTGPGLEGCP TNGPKIPSA TGMVGALLL LVVALGIGLF M
mCAR3 scFv	988	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLH SGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEITGST SGSGKPGSGEGSTKGEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQP PRKGLEWLGVIWGSETTYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDTAIYYC AKHYYGGSYAMDYWGQTSVTVSS
mCAR3 全 - aa	989	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLH SGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEITGST SGSGKPGSGEGSTKGEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQP PRKGLEWLGVIWGSETTYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDTAIYYC AKHYYGGSYAMDYWGQTSVTVSSAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHL CPSPLFPGPSKPFWVLVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSLHSDYMNMT PRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRRE EYDVLDKRRGRDPEMGGKPRKPNQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKG HDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR
SSJ25-C1 VH 序列	379	QVQLLES GAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKRPGQGLEWIGQIYPGD GDTNYNGKFKGQATLTADKSSSTAYMQLSGLTSEDSAVYSCARKTISSVVDYFD YWGQTTVT
SSJ25-C1 VL 序列	380	ELVLTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNVAWYQQKPGQSPKPLIYSATYRN SGVPDRFTGSGSGTDFTLTITNVQSKDLADYFYFCQYNRYPYTSGGGTKLEIKRR S

[0621] 在一些实施方案中,CD19 CAR或结合结构域包含CTL019的氨基酸序列或由具有或没有前导序列或his标签的根据表5的CTL019的核苷酸序列编码或与之基本上相同(例如,至少85%、90%、95%或更高同一性)的序列。

[0622] 在一些实施方案中,根据Kabat编号方案、Chothia编号方案或其组合限定CDR。

[0623] 对于重链可变结构域,在表15B中显示scFv结构域的人源化CDR序列,并且对于轻链可变结构域,在表15C中显示scFv结构域的人源化CDR序列。“ID”代表每个CDR的相应SEQ ID NO。

[0624] 表15B. 重链可变结构域CDR(根据Kabat)

[0625]

候选	FW	HCDR1	SEQ ID	HCDR2	SEQ ID	HCDR3	SEQ ID
鼠_CART19		DYGVS	958	VIWGSETTYNSALKS	959	HYYYGGSYAMDY	960
人源化_CART19 a	VH4	DYGVS	958	VIWGSETTYSSSLKS	961	HYYYGGSYAMDY	960
人源化_CART19 b	VH4	DYGVS	958	VIWGSETTYQSSLKS	962	HYYYGGSYAMDY	960
人源化_CART19 c	VH4	DYGVS	958	VIWGSETTYNSSLKS	963	HYYYGGSYAMDY	960

[0626] 表15C轻链可变结构域CDR (根据Kabat)

[0627]

候选	FW	LCDR1	SEQ ID	LCDR2	SEQ ID	LCDR3	SEQ ID
鼠_CART19		RASQDISKYLN	964	HTSRLHS	965	QQGNTLPYT	966
人源化_CART19 a	VK3	RASQDISKYLN	964	HTSRLHS	965	QQGNTLPYT	966
人源化_CART19 b	VK3	RASQDISKYLN	964	HTSRLHS	965	QQGNTLPYT	966
人源化_CART19 c	VK3	RASQDISKYLN	964	HTSRLHS	965	QQGNTLPYT	966

[0628] 在一个实施方案中,CAR包括了包含BCMA抗原结合结构域(例如,与BCMA(例如,人BCMA)特异性结合的鼠、人或人源化抗体或抗体片段)、跨膜结构域和胞内信号传导结构域(例如,包含共刺激结构域和/或初级信号传导结构域的胞内信号传导结构域)的CAR分子。

[0629] 表16或W02016/014565的表1中提供或另外如本文描述了示例性CAR分子。表16中的CAR分子包含BCMA抗原结合结构域,例如,表11或表12中提供的任何BCMA抗原结合结构域的氨基酸序列。

[0630] 表16. 示例性CAR分子序列。提供有前导序列的序列。

[0631]

名称/描述	SEQ ID NO:	序列
139109		
139109- aa 全 CAR	789	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALS NHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRSRNTLYL QMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQTTVTVSSASGGGGSGGRASG GGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTF GQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDF

[0632]

		ACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEE DGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEY DVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGER RRGKGDGLYQGLSTATKD TYDALHMQUALPPR
139109- nt 全 CAR	790	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCAAGTGCAATTGGTGAATCAGGGGAGGACT TGTGCAGCCTGGAGGATCGCTGAGACTGTCATGTGCCGTGTCCGGCTT TGCCCTGTCCAACCACGGGATGTCCTGGGTCCGCCGCGCCTGGAA AGGGCCTCGAATGGGTGTCCGGTATTGTGTACAGCGGTAGCACCTACT ATGCCGCATCCGTGAAGGGGAGATTACCATCAGCCGGGACAACCTCCA GGAACACTCTGTACCTCAAATGAATTCGCTGAGGCCAGAGGACACTG CCATCTACTACTGCTCCGCGCATGGCGGAGAGTCCGACGTCTGGGGA CAGGGGACCACCGTGACCGTGTCTAGCGCGTCCGGCGGAGGGCGGA GCGGGGGTCCGGGCATCAGGGGGCGGGGATCGGACATCCAGCTCAC CCAGTCCCCGAGCTCGCTGTCCGCTCCGTGGGAGATCGGGTCACCA TCACGTGCCGCGCCAGCCAGTCGATTTCTCCTACCTGAACTGGTACC AACAGAAGCCCGGAAAAGCCCCGAAGCTTCTCATCTACGCCGCCTCGA GCCTGCAGTCAGGAGTGCCTCACGGTTCTCCGGCTCCGGTTCCGGTA CTGATTTACCCTGACCATTTCTCCCTGCAACCGGAGGACTTCGCTAC TACTACTGCCAGCAGTCGACTCCACCCCTACACTTTCGGACAAGGC ACCAAGGTCGAAATCAAGACCACTACCCAGCACCGAGGCCACCCACC CCGGCTCCTACCATCGCTCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCA TGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGCTTTGACTT CGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTTCGGGGT CCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTTCGGAAG AAGCTGCTGTACATCTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTA CTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGTTCCAGAGGAGGAGGAA GGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCC AGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGG TCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACC CAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTG TACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCATATAGCGAGATG GGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTA CCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTACAT GCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139103		
139103- aa 全 CAR	791	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFS NYAMSWVRQAPGKGLGWVSGISRSGENTYYADSVKGRFTISRDNKNTL YLQMNSLRDEDTAVYYCARSPAHYYGMDVWGQGTTVTVSSASGGGGS GGRASGGGSDIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSISSSFLAWYQQK PGQAPRLLIYGASRRATGIPDRFSGSGSDFTLTISRLEPEDSAVYYCQQ YHSSPSWTFGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGG AVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMR PVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNEL NLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYS EIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKD TYDALHMQUALPPR
139103- nt 全 CAR	792	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCAAGTGCAACTCGTGAATCTGGTGGAGGACT CGTGCAACCCGGAAGATCGCTTAGACTGTCGTGTGCCGCCAGCGGGTT CACTTTCTCGAACTACGCGATGTCCTGGGTCCGCCAGGCACCCGGAAA GGGACTCGGTTGGGTGTCCGGCATTCCCGGTCCGGCGAAAATACCTA CTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGCTTACCATCTCAAGGGACAACAG CAAAAACACCCGTACTTGCAAATGAACTCCCTGCGGGATGAAGATACA GCCGTGTAATAATTGCGCCCGGTGCCTGCCATTACTACGGCGGAATG GACGTCTGGGGACAGGGAACCACTGTACTGTGACTGTCAGCAGCGCTCGG TGGCGCGGCTCAGGGGGTCCGGCCCTCCGGGGGGAGGGTCCGAC ATCGTGCTGACCCAGTCCCCGGGAACCCTGAGCCTGAGCCCGGGAGA GCGCGCACCCTGTCATGCCGGGCATCCAGAGCATTAGCTCCTCCTT TCTCGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGACAGGCCCCGAGGCTGCTGA TCTACGGCGCTAGCAGAAGGGCTACCGGAATCCAGACCGGTTCTCCG

[0633]

		GCTCCGGTTCCGGGACCGATTTACCCCTTACTATCTCGCGCCTGGAAC CTGAGGACTCCGCCGTCTACTACTGCCAGCAGTACCACTCATCCCCGT CGTGGACGTTCCGACAGGGCACCAAGCTGGAGATTAAGACCACTACCC CAGCACCGAGGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCT CTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCGAGCTGGTGGGGCCGT GCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCC TCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTT TACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCT TCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCC GGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCCAACTGCGCGTGAAATTC AGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCT CTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGA CAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGA AAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATG GCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGG CAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCCGCCACCAAGG ACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139105		
139105- aa 全 CAR	793	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFD DYAMHWVRQAPGKLEWVSGISWNSGSIYADSVKGRFTISRDNKNSL YLQMNSLRRAEDTALYYCSVHSFLAYWGQGLVTVSSASGGGGSGGRASG GGGSDIVMTQTPLSLPVTPEPASISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPG QSPQLLIYLSNRASGVPDRFSGSGSDTFLKISRVEAEDVGVYICMQA LQTPYTFGQGTKEIKTTTPAPRPPTPAPTASQPLSLRPEACRPAAGGAV HTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPV QTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGNQLYNELNL GRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG MKGERRRGKGHDLGQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
139105- nt 全 CAR	794	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCAAGTGCAACTCGTCGAATCCGGTGGAGGTCT GGTCCAACCTGGTAGAAGCCTGAGACTGTGCTGTGCGGCCAGCGGATT CACCTTTGATGACTATGCTATGCACTGGGTGCGGCAGGCCCCAGGAAA GGGCCTGGAATGGGTGTCGGGAATTAGCTGGAATCCGGGTCCATTG GCTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGCTTACCATCTCCCGGCACAAC GCAAAGAATCCCTGTACTTGCAAATGAACTCGCTCAGGGCTGAGGAT ACCGCGCTGTACTACTGCTCCGTGCATTCTTCTGGCCTACTGGGGA CAGGGAATCTGGTCACCGTGTGAGCGCCTCCGGCGCGGGGGCTC GGGTGGACGGCCTCGGGCGGAGGGGGTCCGACATCGTGATGACC CAGACCCCGCTGAGCTTGCCCGTACTCCCGGAGAGCCTGCATCCATC TCCTGCCGGTCATCCCAGTCCCTTCTCCACTCCAACGGATACAACCTACC TCGACTGGTACCTCCAGAAGCCGGGACAGAGCCCTCAGCTTCTGATCT ACCTGGGGTCAAATAGAGCCTCAGGAGTGCCGGATCGGTTACGCGGAT CTGGTTCGGGAATGATTTCACTCTGAAGATTTCCCGCTGGAAGCCG AGGACGTGGGCGTCTACTACTGTATGCAGGCGCTGCAGACCCCTATA CCTTCGGCCAAGGGACGAAAGTGGAGATCAAGACCACTACCCCAGCAC CGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCAGCCTCTGTCCC TGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCGAGCTGGTGGGGCCGTGCATACC CGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCT GGTACTTGCGGGTCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTFACTGTA AGCGCGGTGCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGA GGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGGTTC CAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGC AGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCACTCTACAAC GAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCG GAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATC CCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAG CCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCC ACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCCGCCACCAAGGACACCTATG ACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139111		
139111- aa	795	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLESVGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALS

[0634]

<p>全 CAR</p>		<p>NHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRSRNTLYL QMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQTTVTVSSASGGGGSGGRASG GGSDDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLRNDGKTPLYWYLQKAG QPPQLLIYEVSNRFSGVDFRFSGSGSDFTLKISRVEAEDVGAYYCMQNI QFPSFGGGTKLEIKTTTTAPRPPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQ TTQEEDGCSCRFPFFFFFFGGCELRVKFSRSADAPAYKQGNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGM KGERRRGKGHGDLQGLSTATKDTYDALHMQALPPR</p>
<p>139111- nt 全 CAR</p>	<p>796</p>	<p>ATGGCCCTCCCTGTCAACGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCAAGTGCAATTGTTGGAATCTGGAGGAGGACTT GTGCAGCCTGGAGGATCACTGAGACTTTCGTGTGCGGTGTCAGGCTTC GCCCTGAGCAACCACGGCATGAGCTGGGTGCGGAGAGCCCCGGGAA GGGTCTGGAATGGGTGTCGGGATCGTCTACTCCGGTTCAACTACTA CGCCGCAAGCGTGAAGGGTCGCTTACCATTTCGCGATAACTCCCG GAACACCCTGTACCTCAAATGAACTCCCTGCGGCCCGAGGACACCGC CATCTACTACTGTTCCGCGCATGGAGGAGAGTCCGATGTCTGGGGACA GGGCACTACCGTGACCGTGTGCGAGCGCCTCGGGGGGAGGAGGCTCC GGCGGTGCGCCTCCGGGGGGGGTGGCAGCGACATTGTGATGACGC AGACTCCACTCTCGCTGTCCGTGACCCCGGGACAGCCCGCGTCCATCT CGTGCAAGAGCTCCCAGAGCCTGCTGAGGAACGACGGAAGACTCCT CTGTATTGGTACCTCCAGAAGGCTGGACAGCCCCCGCAACTGCTCATC TACGAAGTGTCAAATCGTTCCTCCGGGGTCCCGGATCGGTTTTCCGGC TCGGGATCGGGCACCGACTTACCCTGAAAATCTCCAGGGTCGAGGCC GAGGACGTGGGAGCCTACTACTGCATGCAAACATCCAGTTCCCTTCC TTCGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATTAAGACCACTACCCAGCACCCG AGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTG CGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCG GGGTCTTGACTTCGCTGCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGG TACTTGCGGGGTCTGCTGCTTCACTCGTGATCACTTTACTGTAAG CGCGGTCGGAAGAAGTGTGTACATCTTAAGCAACCTTCATGAGG CCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCGGGTCCCA GAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGAG CGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGA ACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGA GAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCC CAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCC TATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCAC GACGGACTGTACCAGGACTCAGCACCCGCCACCAAGGACACCTATGAC GCTCTTACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG</p>
<p>139100</p>		
<p>139100- aa 全 CAR</p>	<p>797</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVRKTGASVKVSKASGYIFD NFGINWVRQAPGQGLEWMGWINPKNNNTNYAQKFQGRVTITADESTNTA YMEVSSLRSEDTAVYYCARGPYYYQSYMVDVWGQTMVTVSSASGGGGG GGRASGGGGSDIVMTQTPLSLPVTGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLNLW YLQKPGQSPQLLIYLGSKRASGVPDRFSGSGSDFTLHITRVAEDVGVY YCMQALQTPYTFGQGTLEIKTTTTAPRPPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQ PFMRPVQTTQEEDGCSCRFPFFFFFFGGCELRVKFSRSADAPAYKQGNQL YNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMA EAYSEIGMKGERRRGKGHGDLQGLSTATKDTYDALHMQALPPR</p>
<p>139100- nt 全 CAR</p>	<p>798</p>	<p>ATGGCCCTCCCTGTCAACGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCAAGTCCAACCTGTCAGTCCGGCGCAGAAGT CAGAAAAACCGGTGCTAGCGTGAAAGTGTCTGCAAGGCCTCCGGCTA CATTTTCGATAACTTCGGAATCAACTGGGTGAGACAGGCCCGGGCCA GGGGCTGGAATGGATGGGATGGATCAACCCCAAGAACAAACACCAA CTACGCACAGAAGTTCAGGGCCGCGTGACTATCACCGCCGATGAATC GACCAATACCGCCTACATGGAGGTGTCTCCCTGCGGTGCGGAGGACAC TGCCGTGTATTACTGCGCGAGGGGCCATACTACTACCAAGCTACAT GGACGTCTGGGGACAGGGAACCATGGTGACCGTGTCTATCCGCTCCG GTGGTGGAGGCTCCGGGGGGCGGGCTTCAAGGAGCGGAGGAAGCGA</p>

[0635]

		<p>TATTGTGATGACCCAGACTCCGCTTAGCCTGCCCGTGACTCCTGGAGA ACCGGCTCCATTTCTGCCGGTCTCGCAATCACTCCTGCATTCCAAC GTTACAACACTACCTGAATTGGTACCTCCAGAAGCCTGGCCAGTCGCC CAGTTGCTGATCTATCTGGGCTCGAAGCGCGCCTCCGGGGTGCCTGAC CGGTTTAGCGGATCTGGGAGCGGCACGGACTTCACTCTCCACATCACC CGCGTGGGAGCGGAGGACGTGGGAGTGTACTACTGTATGCAGGCGCT GCAGACTCCGTACACATTCGGACAGGGACCAAGCTGGAGATCAAGAC CACTACCCAGCACCAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTC CCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTG GGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATT GGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGCTGCTTTCACTCGTGA TCACTCTTACTGTAAGCGCGGTTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTAA GCAACCCTTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTG TTCATGCCGGTTCCAGAGGAGGAGGAAGCGGCTGCGAACTGCGCG TGAAATTCAGCCGACGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGAGCA ACCAGCTCTACAACGAACCTCAATCTTGGTCCGAGAGAGGAGTACGACG TGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCC GCGCAGAAAGAATCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGA TAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAG AAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCA CCAAGGACACCTATGACGCTCTTACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG</p>
<p>139101 139101- aa 全 CAR</p>	<p>799</p>	<p>MALPVTALLPLALLLHAARPVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SDAMTWVRQAPGKGLEWVSVISGSGTTYADSVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAKLDSSGYYYARGPRYWQGLVTVSSASGGGG SGGRASGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDVITCRASQSISSYLNWYQK PGKAPKLLIYGASTLASGVPARFSGSGTHFTLTINSLQSEDSATYYCQQ SYKRASFGQGTKVEIKTTTPAPRPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAV HTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPV QTTQEEDGDCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNLNELNL GRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG MKGERRRGKHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQLPPR</p>
<p>139101- nt 全 CAR</p>	<p>800</p>	<p>ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCAAGTGCAACTTCAAGAATCAGGCGGAGGACT CGTGCAGCCCGGAGGATCATTGCGGCTCTCGTGCGCCGCTCGGGCT TCACCTTCTCGAGCGACGCCATGACCTGGGTCCGCCAGGCCCGGGG AAGGGGCTGGAATGGGTGTCTGTGATTTCCGGCTCCGGGGGAACTAC GTACTACGCCGATTCCGTGAAAGGTCGCTTCACTATCTCCCGGACAA CAGCAAGAACACCCTTTATCTGCAAAATGAATTCCTCCGCGCCGAGGA CACCGCCGTGTAATACTGCGCCAAGCTGGACTCCTCGGGTACTACTA TGCCCGGGTCCGAGATACTGGGACAGGGAACCCTCGTACCCTGTG CCTCCGCGTCCGGCGGAGGAGGGTCCGGAGGGCGGGCTCCGGCGG CGGCGGTTCCGACATCCAGCTGACCCAGTCCCATCCTCACTGAGCGC AAGCGTGGGCGACAGAGTACCATTACATGCAGGGCGTCCCAGAGCAT CAGCTCCTACCTGAAGTGGTACCAACAGAAGCCTGGAAGGCTCCTAA GCTGTTGATCTACGGGGCTTCGACCCTGGCATCCGGGGTGCCCGCGA GGTTTAGCGGAAGCGGTAGCGGCACTCACTTCACTCTGACCATTAACA GCCTCCAGTCCGAGGATTCAGCCACTTACTACTGTGAGCAGTCTACAA GCGGGCCAGCTTCGGACAGGGCACTAAGGTCGAGATCAAGACCACTA CCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCAG CCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGACAGCTGGTGGGGC CGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGC CCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGCTGCTTTCACTCGTGATCAC TCTTACTGTAAGCGCGGTTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTAAAGCAA CCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCA TGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAAGTCCGCGTGAA ATTCAGCCGACGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGGCAGAAC AGCTCTACAACGAACCTCAATCTTGGTCCGAGAGAGGAGTACGACGTGC TGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCCGC CAGAAAGAATCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAA GATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAA</p>

[0636]

		AGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCA AGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139102		
139102- aa 全 CAR	801	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFS NYGITWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKFQGRVTMTRNTSISTA YMESSLRSEDNAVYYCARGPYYYMDVWVGKTMVTVSSASGGGGSGG RASGGGGSEIVMTQSPLSLPVPGEPAISCRSSQSLLYSNGYNYVDWYL QKPGQSPQLLIYLSNRASGVPDRFSGSGSGTDFLQISRVEAEDVGIYYC MQGRQFPYFSGGQTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAG GAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPF MRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNLQYN ELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAY SEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
139102- nt 全 CAR	802	ATGGCCCTCCCTGTCAACGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCAAGTCCAAGTGGTCCAGAGCGGTGCAGAAGT GAAGAAGCCCGGAGCGAGCGTGAAAGTGCTCGCAAGGCTTCCGGGT ACACCTTCTCCAAGTACGGCATCACTTGGGTGCGCCAGGCCCGGGAC AGGGCCTGGAATGGATGGGGTGGATTTCCGCGTACAACGGCAATACGA ACTACGCTCAGAAGTTCAGGGTAGAGTGACCATGACTAGGAACACCT CCATTTCCACCGCCTACATGGAAGTGTCTCCCTGCGGAGCGAGGACA CCGCCGTGACTATTGCGCCCGGGGACCATACTACTACTACATGGATG TCTGGGGGAAGGGGACTATGGTCACCGTGTGCATCCGCCTCGGGAGGC GGCGGATCAGGAGGACGCGCCTCTGGTGGTGGAGGATCGGAGATCGT GATGACCCAGAGCCCTCTCTCTTCCCGTACTCCTGGAGAGCCCG CATCCATTTTCATGCCGGAGCTCCAGTCACTTCTCTACTCCAACGGCTA TAACTACGTGGATTGGTACCTCCAAAAGCCGGGCCAGAGCCCGCAGCT GCTGATCTACCTGGGCTCGAACAGGGCCAGCGGAGTGCCTGACCGGT TCTCCGGGTCGGGAAGCGGGACCGACTTCAAGCTGCAAATCTCGAGA GTGGAGGCCGAGGACGTGGGAATCTACTACTGTATGCAGGGCCGCCA GTTTCCGTACTCGTTCCGACAGGGCACCAAAGTGGAAATCAAGACCAC TACCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCA GCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGG CCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGCTGCTTCACTCTGATCA CTCTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCA ACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTT ATGCCGTTCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGA AATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAAC CAGCTCTACAACGAAGTCAATCTTGGTCCGAGAGAGGAGTACGACGTG CTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGGAAGCCGC GCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATA AGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAA GAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACC AAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139104		
139104- aa 全 CAR	803	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALS NHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRSNTLYL QMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWQGTTVTVSSASGGGGSGGRASG GGGSEIVLTQSPATLSVSPGESATLSCRASQSVSSNLAWYQKPGQAPRL LIYGASTRASGIPDRFSGSGSGTDFLTISSLQAEDVAVYYCQQYGSSTLF GGGKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDF ACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEE DGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNLQYNELNLGRREEY DVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGER RRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
139104- nt 全 CAR	804	ATGGCCCTCCCTGTCAACGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCAAGTCCAAGTGGTCCAGAGCGGTGCAGAAGT GGTGCACCTGGAGGATCACTTCCGCTGTCTGCGCCGTGTCGGGCTT TGCCCTGTCCAACCATGGAATGAGCTGGGTCCGCCGCGCGCCGGGA AGGGCCTCGAATGGGTGTCCGGCATCGTCTACTCCGGCTCCACCTACT ACGCCGCTCCGTGAAGGGCCGGTTCACGATTTACGGGACAACCTCG

[0637]

		<p>CGGAACACCCTGTACCTCCAAATGAATTCCCTTCGGCCGGAGGATACT GCCATCTACTACTGCTCCGCCACCGGTGGCGAATCCGACGTCTGGGG CCAGGGAACCACCGTGACCGTGTCCAGCGCGTCCGGGGGAGGAGGAA GCGGGGGTAGAGCATCGGGTGGAGGCGGATCAGAGATCGTGCTGACC CAGTCCCCCGCCACCTTGAGCGTGTACCAGGAGAGTCCGCCACCCT GTCATGCCGCGCCAGCCAGTCCGTGTCCTCCAACCTGGCTTGGTACCA GCAGAAGCCGGGGCAGGCCCTAGACTCCTGATCTATGGGGCGTCA CCCGGGCATCTGGAATCCCGATAGTTTCAGCGGATCGGGCTCGGGC ACTGACTTCACTCTGACCATCTCCTCGCTGCAAGCCGAGGACGTGGCT GTGTACTACTGTCAGCAGTACGGAAGCTCCCTGACTTTCGGTGGCGGG ACCAAAGTCGAGATTAAGACCACTACCCAGCACCCGAGGCCACCCACC CCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCA TGTAGACCCGACGTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGCTCTTGACTT CGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGT CCTGCTGCTTTCCTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTGCGAAG AAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTA CTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGTTCCAGAGGAGGAGGAA GGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCC AGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGG TCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACC CAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTG TACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATT GGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTA CCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACAT GCAGGCCCTGCCGCTCGG</p>
<p>139106 139106- aa 全 CAR</p>	<p>805</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALS NHGMSWVRRAPGKLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRSRNTLYL QMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWVGQTTVTVSSASGGGGSGGRASG GGGSEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSKLAWYQKPKGQAPR LLMYGASIRATGIPDRFSGSGSGTEFTLTISSELEPDFAVYYCQQYVSSSW TFGQGTKEIKTTTPAPRPTPTPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGL DFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQ EEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRRE EYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGE RRRGKHDGLYQQLSTATKDTYDALHMQUALPPR</p>
<p>139106- nt 全 CAR</p>	<p>806</p>	<p>ATGGCCCTCCCTGTACCCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAATTGGTGGAAACTGGAGGAGGACT TGTGCAACCTGGAGGATCATTGAGACTGAGCTGCGCAGTGTCCGGATT CGCCCTGAGCAACCATGGAATGTCCTGGGTGAGAAGGGCCCTGGAA AAGCCCTCGAATGGGTGTCAGGGATCGTGTACTCCGTTCCACTTACT ACGCCGCTCCGTGAAGGGGCGCTTCACTATCTCACGGGATAACTCC GCAATACCCTGTACCTCCAAATGAACAGCCTGCGGCCGGAGGATACCG CCATCTACTACTGTTCCGCCACCGTGGAGAGTCTGACGTCTGGGGCC AGGGAACCTACCGTGACCGTGTCTCCGCGTCCGGCGGTGGAGGGAGC GGCGGCCGCGCCAGCGGGCGGAGGCTCCGAGATCGTGATGACCC AGAGCCCCGCTACTCTGTGCGGTGTCGCCCGGAGAAAGGGCGACCCTG TCCTGCCGGGCGTGCAGTCCGTGAGCAGCAAGCTGGCTTGGTACCA GCAGAAGCCGGGCCAGGCACCACGCCTGCTTATGTACGGTGCCTCCA TTCGGGCCACCGAATCCCGGACCGGTTCTCGGGTCCGGGTCGGGTCCGGT ACCGAGTTCACACTGACCATTTCTCGCTCGAGCCGAGGACTTTGCC GTCTATTACTGCCAGCAGTACGGCTCCTCCTCATGGACGTTCCGGCCAG GGGACCAAGGTGCAATCAAGACCACTACCCAGCACCCGAGGCCACC CACCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGA GGCATGTAGACCCGACGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTG ACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCG GGGTCTGCTGCTTTCCTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTGCG GAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAG ACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGTTCCAGGAGGAGGA GGAAGGCGGCTGCGAAGTCCGCGTGAAATTCAGCCGCGAGCGAGATG CTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATC</p>

[0638]

		TTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGG GACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAAGAATCCCCAAGAGGG CCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGA GATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGGCAAAGGCCACGACGGAC TGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTC ACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139107		
139107- aa 全 CAR	807	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVETGGGVVQPGGSLRLSCAVSGFALS NHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRSNTLYL QMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQTTTVTVSSASGGGGSGGRASG GGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVGSTNLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPDRFSGGGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSP PWTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTR GLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTT QEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNLNELNLGRR EEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKG ERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
139107- nt 全 CAR	808	ATGGCCCTCCCTGTCAACGCCCTGCTGCTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAATTGGTGGAGACTGGAGGAGGAGT GGTGAACCTGGAGGAAGCCTGAGACTGTCATGCGCGGTGTCGGGCT TCGCCCTCTCCAACCACGGAATGTCCTGGGTCCGCCGGGCCCTGGG AAAGGACTTGAATGGGTGTCCGGCATCGTGTACTCGGGTCCACCTAC TACGCGCCTCAGTGAAGGGCCGTTTACTATTAGCCGCGACAACCTC AGAAACACACTGTACCTCAAATGAACTCGCTGCGGCCGGAAGATACC GCTATCTACTACTGCTCCGCCATGGGGGAGAGTCCGACGTCTGGGG ACAGGGCACCCTGTCAGTGTGTCCAGCGCTTCCGGCGGTGGTGAA GCGGGGGACGGGCCTCAGGAGGCGGTGGCAGCGAGATTGTGCTGAC CCAGTCCCCCGGGACCCTGAGCCTGTCCCCGGGAGAAAGGGCCACCC TCTCCTGTCGGGCATCCCAGTCCGTGGGGTCTACTAACCTTGCATGGT ACCAGCAGAAGCCCCGGCCAGGCCCTCGCCTGCTGATCTACGACGCG TCCAATAGAGCCACCGGCATCCCGGATCGCTTCAGCGGAGGCGGATC GGGCACCGACTTCACCCTCACCATTTCAAGGCTGGAACCCGAGGACTT CGCCGTGACTACTGCCAGCAGTATGGTTCGTCGCCACCCCTGGACGT CGGCCAGGGGACTAAGGTTCGAGATCAAGACCACTACCCAGCACCAG GGCCACCCACCCGGCTCCTACCATCGCCTCCAGCCTCTGTCCCTGC GTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGG GGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTA CTTGCGGGGTCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTACTGTAAGCG CGGTCCGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCTTCATGAGGCC TGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGTTCCCAGA GGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAAGTGCAGCGTGAATTCAGCCGAGCG CAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTACAACGAAAC TCAATCTTGGTTCGGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGA GGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCA AGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTA TAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACG ACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACG CTCTTACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139108		
139108- aa 全 CAR	809	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS DYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARESVDGMDVWGQTTTVTVSSASGGGGSGGRA SGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAP KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTLAF GQGTQVDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDF ACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEE DGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNLNELNLGRREEY DVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGER RRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
139108- nt 全 CAR	810	ATGGCCCTCCCTGTCAACGCCCTGCTGCTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAACTCGTGAATCTGGTGGAGGACT

[0639]

		<p>CGTGAAACCTGGAGGATCATTGAGACTGTCATGCGCGGCCTCGGGATT CACGTTCTCCGATTACTACATGAGCTGGATTGCGCAGGCTCCGGGGAA GGGACTGGAATGGGTGCCTACATTTCTCATCCGGCTCCACCATCTA CTACGCGGACTCCGTGAAGGGGAGATTACCATTAGCCGCGATAACGC CAAGAACAGCCTGTACCTTACAGATGAACTCCCTGCGGGCTGAAGATAC TGCCGTCTACTACTGCGCAAGGGAGAGCGGAGATGGGATGGACGTCT GGGGACAGGGTACCACTGTGACCGTGTGTCGCGGCCTCCGGCGGAGGG GGTTCCGGGTGGAAGGGCCAGCGGCGGCGGAGGCAGCGACATCCAGA TGACCCAGTCCCCCTCATCGCTGTCCGCTCCGTGGGCGACCGCGTC ACCATCACATGCCGGGCCACAGTCGATCTCCTCCTACCTCAATTGGT ATCAGCAGAAGCCCCGAAAGGCCCTAAGCTTCTGATCTACGCAGCGT CCTCCCTGCAATCCGGGGTCCCATCTCGGTTCTCCGGCTCGGGCAGC GGTACCGACTTCACTCTGACCATCTCGAGCCTGCAGCCGAGGACTTC GCCACTTACTACTGTACAGCAAAGCTACACCCTCGCGTTTGGCCAGGGC ACCAAAGTGGACATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACC CCGGCTCCTACCATCGCTCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCA TGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTT CGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGT CCTGCTGCTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCCGGAAG AAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTCATGAGGCCTGTGCAGACTA CTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGGTCCAGAGGAGGAGGAA GGCGGCTGCGAACTGCGCGTAAAATTCAGCCGCAGCCAGATGCTCC AGCCTACAAGCAGGGGCAGAACAGCTTACAACGAATCAATCTTGG TCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACC CAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTG TACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAAGCCTATAGCGAGATT GGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAGGCCACGACGGACTGTA CCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTTTCACAT GCAGGCCCTGCCGCTCGG</p>
<p>139110 139110- aa 全 CAR</p>	<p>811</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS DYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSGNTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARSTMVREDYWGQGLTVTVSSASGGGSGGRAS GGGGSDIVLTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSESLVHNSGKTYLNWFHQR GQSPRRLIYEVSNRDSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQ GTHWPGTFGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTASQPLSLRPEACRPAAGGA VHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRP VQTTQEEDGCSRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELN LGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI GMKGERRRKGKHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR</p>
<p>139110- nt 全 CAR</p>	<p>812</p>	<p>ATGGCCCTCCCTGTCCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCAAGTGCAACTGGTGCAAAGCGGAGGAGGATT GGTCAAACCCGGAGGAAGCCTGAGACTGTCATGCGCGGCCTCTGGATT CACCTTCTCCGATTACTACATGTCATGGATCAGACAGGCCCCCGGGAA GGGCCCTCGAATGGGTGCCTACATCTCGTCCCTCCGGGAACACCATCTA CTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGCTTACCATTTCCCGCGACAACGC AAAGAACTCGCTGTACCTTACAGATGAATCCCTGCGGGCTGAAGATACC GCGGTGTACTATTGCGCCCGGTCCACTATGGTCCGGGAGGACTACTGG GGACAGGGCACACTCGTGACCGTGTCCAGCGCGAGCGGGGGTGGAG GCAGCGGTGGACGCGCCTCCGGCGGCGGCGGTTACAGACATCGTGCTG ACTCAGTCGCCCTGTGCTGCGTCCCGGTACCCTGGGCCAACCCGGCCTC AATTAGCTGCAAGTCTCGGAGAGCCTGGTGCACAACCTCAGGAAAGAC TTACCTGAACTGGTTCCATCAGCGGCCTGGACAGTCCCCACGGAGGCT CATCTATGAAGTGTCCAACAGGGATTCCGGGGTGCCTGACCGCTTAC TGGCTCCGGGTCCGGCACCGACTTACCTTGAAAATCTCCAGAGTGGA AGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGTATGCAGGGTACCCACTGGC CTGGAACCTTTGGACAAGGAACTAAGCTCGAGATTAAGACCACTACCC CAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCTCCCAGCCT CTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGCCGT GCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCTGCGCTGCGATATCTACATTTGGCCCC TCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGCTGCTTCACTCGTGATCACTCTT</p>

[0640]

		TACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCT TCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCC GGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTC AGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCGAGAACCAGCT CTACAACGAACTCAATCTTGGTCGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGA CAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGA AAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATG GCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGG CAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGG ACACCTATGACGCTCTTACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG
139112		
139112- aa 全 CAR	813	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALS NHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRSNTLYL QMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQTTVTVSSASGGGGSGGRASG GGGSDIRLTQSPSPLSASVGDRTITCQASEDINKFLNWHQTPGKAPKLLI YDASTLQTGVPSRFSGSGSGTDFLTINSLQPEDIGTYCQQYESLPLTFG GGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFA CDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQED GCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREYD VLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERR RGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR
139112- nt 全 CAR	814	ATGGCCCTCCCTGTCAACGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCAAGTGCAACTCGTGAATCTGGTGGAGGACT CGTGCAACCCGGTGAAGCCTTAGGCTGTCTGCGCCGTCAGCGGGT TTGCTCTGAGCAACCATGGAATGTCCTGGGTCCGCCGGGCACCGGGA AAAGGGCTGGAATGGGTGTCCGGCATCGGTACAGCGGGTCAACCTAT TACGCCGCTCCGTGAAGGGCAGATTCACTATCTCAAGAGACAACAGC CGGAACACCCTGTACTTGCAAATGAATTCCCTGCGCCCCGAGGACACC GCCATCTACTACTGCTCCGCCACGGAGGAGAGTCGGACGTGTGGGG CCAGGGAACGACTGTGACTGTGTCCAGCGCATCAGGAGGGGGTGGTT CGGGCGGCCGGCCTCGGGGGGAGGAGGTTCCGACATTCGGCTGAC CCAGTCCCCGTCCCCACTGTCCGCCCTCCGTCCGGCAGCCGCTGACCA TCACTTGTCAAGCGTCCGAGGACATTAACAAGTTCCCTGAATGGTACCA CCAGACCCTGGAAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACAGTCCCTCGAC CCTTCAAACCTGGAGTGCCTAGCCGGTTCTCCGGGTCCGGCTCCGGCAC TGATTTCACTCTGACCATCAACTCATTGCAGCCGGAAGATATCGGGACC TACTATTGCCAGCAGTACGAATCCCTCCCGCTCACATTCGGCGGGGGA ACCAAGGTCGAGATTAAGACCACTACCCACGACCGAGGCCACCCACC CCGGCTCCTACCATCGCCTCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCA TGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTT CGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGT CCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTACTGTAAGCGCGGTGCGAAG AAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGCGGTGTCAGACTA CTCAAGAGGAGGACGGGTTTCATGCCGGTTCCAGAGGAGGAGGAA GGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCC AGCCTACAAGCAGGGGCGAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGG TCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACC CAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTG TACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATT GGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTA CCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTACAT GCAGGCCCTGCCGCTCGG
139113		
139113- aa 全 CAR	815	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALS NHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRSNTLYL QMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQTTVTVSSASGGGGSGGRASG GGGSETTLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQKPGQGR LLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFAVYYCQQYNDWLPV TFGQGTKEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGL DFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQ EEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRRE

[0641]

		EYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGE RRRGKGHDLGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR
139113- nt 全 CAR	816	ATGGCCCTCCCTGTCAACGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAATTGGTGGAACTGGAGGAGGACT TGTGCAACCTGGAGGATCATTGCGGCTCATGCGCTGTCTCCGGCTT CGCCCTGTCAAATCACGGATGTCGTGGGTGACACGGGCCCGGGAA AGGGTCTGGAATGGGTGTCGGGGATTGTGTACAGCGGCTCCACCTACT ACGCCGCTTCGGTCAAGGGCCGCTTCACTATTTACGGGACAACAGCC GCAACACCCCTATCTGCAAATGAACTCTCTCCGCCCGGAGGATACCG CCATCTACTACTGCTCCGCACACGGCGGCGAATCCGACGTGTGGGGA CAGGGAACCACTGTCAACCGTGTCTGTCGCGCATCCGGTGGCGGAGGATC GGGTGGCCGGGCTCCGGGGGGCGGCGGCAGCGAGACTACCCTGACC CAGTCCCCTGCCACTCTGTCCGTGAGCCCCGGAGAGAGGCCACCT TAGCTGCCGGGCGAGCCAGAGCGTGGGCTCCAACCTGGCCTGGTACC AGCAGAAGCCAGGACAGGGTCCCAGGCTGCTGATCTACGGAGCCTCC ACTCGCGGACCGGCATCCCCGCGAGGTTCTCCGGGTCCGGTTCCGG GACCGAGTTCACCCTGACCATCTCCTCCCTCCAACCGGAGGACTTCGC GGTGTACTACTGTACAGTACAACGATTGGCTGCCCGTGACATTTGG ACAGGGGACGAAGGTGGAAATCAAAACCACTACCCAGCACCGAGGC CACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCAGCCTCTGTCCCTGCGTC CGGAGGCATGTAGACCCGACGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGT CTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGCCCCCTCTGGCTGGTACT GCGGGTCCCTGCTGCTTCACTCGTGATCACTTTTACTGTAAGCGCG GTCCGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCCTCATGAGGCCTGT GCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGGTCCCAGAGGA GGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAG ATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCA ATCTTGGTCCGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGA CGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGA GGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAG CGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACG GACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTC TTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139114		
139114- aa 全 CAR	817	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALS NHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRSNTLYL QMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQTTVTVSSASGGGGSSGRASG GGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSIGSSSLAWYQQKPGQAPR LLMYGASSRASGIPDRFSGSGSDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYAGSPP FTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRG LDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQ EEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRRE EYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGE RRRGKGHDLGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR
139114- nt 全 CAR	818	ATGGCCCTCCCTGTCAACGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAATTGGTGGAACTCTGGTGGAGGACTT GTGCAACCTGGAGGATCACTGAGACTGTATGCGCGGTGTCCGGTTTT GCCCTGAGCAATCATGGGATGTCGTGGGTCCGGCGCGCCCCGGAAA GGGTCTGGAATGGGTGTCGGGTATCGTCTACTCCGGGAGCACTTACTA CGCCGCGAGCGTGAAGGGCCGCTTACCATTTCCCGGATAACTCCC GCAACACCCCTGACTTGCAAATGAACTCGCTCCGGCCTGAGGACACTG CCATCTACTACTGCTCCGCACACGGAGGAGAATCCGACGTGTGGGGCC AGGGAACCTACCGTGACCGTCAGCAGCGCCTCCGGCGGGGGGGCTCA GGCGGACGGGCTAGCGGCGGGGGTGGCTCCGAGATCGTGCTGACCC AGTCGCCTGGCACTCTCTCGCTGAGCCCCGGGAAAGGGCAACCCTG TCCTGTCCGGCCAGCCAGTCCATTGGATCATCCTCCCTCGCCTGGTAT CAGCAGAAACCGGGACAGGCTCCGCGGCTGCTTATGTATGGGGCCAG CTCAAGAGCCTCCGGCATTCCCGACCGGTTCTCCGGGTCCGGTTCCG GCACCGATTACCCCTGACTATCTCGAGGCTGGAGCCAGGACTTCG CCGTGTACTACTGCCAGCAGTACGCGGGGTCCCCCGCTTACGTTCCG GACAGGGAACCAAGGTCGAGATCAAGACCACTACCCAGCACCGAGG

[0642]

		CCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGT CCGGAGGCATGTAGACCCGCGAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGG TCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACT TTCGGGGTCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCG GTCCGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGT GCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGGTCCCAGAGGA GGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAG ATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCA ATCTTGGTTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGA CGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGA GGGCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAG CGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACG GACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTC TTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
149362		
149362-aa 全 CAR	819	malpvtalllplallhaarpqvqlqesgpglvkpsetlslctvsggsissyyywvirpppgkglewigi yysgsayynpslksrvitvdsknqfslrissvtaadvyyicarhwqewpdafdiwgggtmvtvssgg ggsgggsgggsetltsqspafmsatpgdkviisckasqiddamnwyqqkpeaplfiiqsatsvpv gipprfsgsgfgtdfsltiniesedaayyflqhdnflplfqqgkkleikttpprppptapiasqplsrpea crpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqtqeedgcscrpe eeeggcelrvkfsrsadapaykqqnqlynelnlgrreeydvldkrgrdpemggkprkrnpqeglynel qdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdydalhmqlppr
149362-nt 全 CAR	820	atggccctccctgtcacccgctgtcctccgctgctctctcctccagccgctcggccccaagtgcag cttcaggaaagcggaccgggctgtgcaagcctaccgaaactctcctcctgactgactgtgtctgctggcgg ttccatctcatcgtctactactactggtgctggaataggcagccgcccgaagggactggagtgatcg gaagcatctactattccgctcggcgtactacaaccctagcctcaagtcgagagtgaccatctccgtgat acctccaagaaccagtttccctgctgctgactcctgacccgctgacaccgctgtactactgtgt cggcattggcaggaaatggcccagatgcttgcacatttggggccagggactatggtcactgtgtatccgg gggtggaggcagcgggggaggaggtccggggggggagggttcagagacaacctgaccagtcacc cgcatcattgctccgactccgggagacaaggtcatctctgtgcaaagcgtccaggatctcgacgat gcatgaattggtaccagcagaagcctggcgaagcggcgttccattatccaatccgcaacctcggccg tgctggaatcccaccgctcagcggcagcgggttcggaaccgactttccctgaccattaacaacattg agtcaggagcgcgctactactctgctgcaacacgacaactccctctcactgctcggccagggaac caagctggaatcaagaccactaccagcaccgagggccaccaccggctcctaccatcgccctcc agcctctgctcctgctcggagcagtagaccgcaagcctggtggggcctgcataccggggcttga cttgcctgctgatactacatttggcccctctgctggtgactgctgggtctctgtcttctactcgtgact cttactgtaagcgggtggaagaagctgctgtacatctttaaagcaacctcatgaggcctgtgcagact actcaagaggaggcggctgtcatgctcgggtccagaggaggaggaaggcggctgcaactgcg tgaaattcagccgagcgcagatgctccagcctacaagcaggggcagaaccagctctacaacgaact caatctggtcggagagaggagtagcagctgctggacaagcggagaggacgggaccagaaatggg cgggaagccgagcagaagaatcccaagaggcctgtacaacgagctcaaaaaggataagaatgg cagaagcctatagcagattgtagaaaggggaacgcagaagaggcaaggccacgacggactgt accagggactcagcaccgccaccaaggacacatgacgctctcatgacggcctgcccctcgg
149363		
149363-aa 全 CAR	821	malpvtalllplallhaarpqvnlresgpalvkptqtlitctfsgfslrtsgmcsvwirpppgkalewlaridwd edkfystsiktrltiskdtsdnqvllrmtndmpadtatyycarsgaggtatadfiwgggtmvtvssggggs ggggsggggsdiqmtqspsslsasvgrvritcrasqdiynnlawfqlkpgsaprslmyaanksqsgvp srfsgsagtdftlisslpedfatyycqhyrfpysfggkkleikttpprppptapiasqplsrpeacr aaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqtqeedgcscrpeee eggcelrvkfsrsadapaykqqnqlynelnlgrreeydvldkrgrdpemggkprkrnpqeglynelqk dkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdydalhmqlppr
149363-nt 全 CAR	822	atggccctccctgtcacccgctgtcctccgctgctctctcctccagccgctcggccccaagtcaatc tgcggaatccggcccggcctgtgcaagcctaccagaccctcactctgactgtacttctcggctctc cctcggactccgggatgtgctgctgctgacagacagcctcgggaagggcctggagtgctcgtcgt cgactgactgggatgaggacaagtctactccactcaagaccagctgaccatcagcaagat acctctgacaaccaagtggctcggcatgaccaacatggaccagccgactgactactactg gagaggagcggagcgggggaaacctcggcaccgctctgatatggggcccgggtaccatggtcac cgtgtcaagcggaggaggggggctcggggggcgggtccggggggaggcggatcggacattcagat gactcagtcaccatcgtccctgagcgtagcgtgggcaagagtgacaatcattgcccggcatcca ggacatctataacaacctgctggttccagctgaagcctggtccgcaccgctgactatgtacggc caacaagagcagctcgggatgctcgggtccgggttccggctcgggaactgactcaccctgacg

[0643]

		atctccagcctgcaaccggaggattcgccacctactactgcccagcactactaccgctttccctaactgcttcg gacaggggaaccaagctggaatcaagaccactaccccagcaccgaggccaccacccccggctccta ccatcgctcccagcctctgctccctgctcggaggcatgtagaccgcagctggggggcggctgacatac ccggggctctgactcgcctgcgatactacattgggcccctctggctgtaactgcccggctctgcttcc actcgtgatcactcttactgtaagcgcggcgggaagaagctgctgtacatcttaagcaaccctcatgagg cctgtgcagactactcaagaggaggcgttcatgcccgttcccagaggaggaggaaagggcggctg cgaactgcgctgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctacaagcagggggcagaaccagctc tacaacgaactcaatcttgctggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggagaggacggggacc cagaaatgggcccgaagccgcgcagaaagaatcccaagaggcctgtacaacgagctccaaaag gataagatggcagaagcctatagcagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaggccac gacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcatatgcaggccct gcccgcctcgg
149364		
149364-aa 全 CAR	823	malpvtallplallhaarpevqlvesggglvlpkpggsrlscaasgffssysmnrwraqpgkglewvssis ssssyiyadsvkgrftisrdnaknsllylqmnslraedtavyycaaktiaavyafdiwqggtvtvssggggs gggsggggseivltqspislpvtpeepasiscrssqslhsngynldwylqkpgqspqlliygsnrsg vpdrfsgsgsgtdftlkisrveaedvgvyymqalqtpyftgqgkileikttpprptpaptiasqplsrpe acrpaaggavhtrgldfacdiywaplagtcgvllslvitlyckrgrklliyfkipfmrpvqtteedgcsrfp eeeeggcelrvkfsrsadapaykqgnqlynelnlgrrreydvlkrrgrdpemggkprknpqeglyn elqdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalppr
149364-nt 全 CAR	824	atggccctccctgtaaccgcccctgctgcttccgctgctcttctgctccacgcgctcggcccgaagtgcag ctgtcgaatccggggggggactggtcaagccggcgatcactgagactgtcctgcgcgcgagcgg cttcaacttctcctcactcctgaactgggtccgccaagccccgggaaggactggaatgggtgctcct ctatctcctcgtcgtcctacatctactacgccgactcctggaaggaagattcaccattcccgcgaca acgcaaagaactcactgactctgcaaatgaactcactccgggcccgaagatactgctgtactattgcgc aagactattgcccccgtctacgcttccgacatctggggccagggaaaccacgctgactgtctcctcgg tggtgctcggcggaggaggaaagcggcgggggggctccgagattgtctgaccagctcactg agcctccctgtgacccccgaggaaccccgcagcatcagctcgggtccagccagctcctgctccactcc aacggatacaattacctcgtattgttacctcagaagcctggacaaagcccgcagctgctcatctctggg atcaaacgcgcgctcaggagtgccgtgacgggttctccggctcgggcagcgggtaccgattcacctgaaa atctccaggggtgaggcagaggacgtgggagtgattactgtatgcaggcgtcgcagactccgtacacat ttgggcagggcaccaagctggagatcaagaccactaccccagcaccgaggccaccacccccggctcc taccatcgctcccagcctctgctccctgctcggaggcatgtagaccgcagctggtggggccgctgcat accggggcttgcactcgcgatactacattgggcccctctggctgacttgcggggctcctgctgctt tcaactcgtgatcactcttactgtaagcgcggctcggagaagcgtgctgtacatcttaagcaaccctcatga ggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgcttcatgcccgttcccagaggaggaggaaagggcg ctgcgaactgcgctgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctacaagcagggggcagaaccag cttacaacgaactcaatcttgctggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggagaggacggg accagaaatgggcccgaagccgcgcagaaagaatcccaagaggcctgtacaacgagctccaa aaggataagatggcagaagcctatagcagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaagg ccacgacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcatatgcagg cctgcccctcgg
149365		
149365-aa 全 CAR	825	malpvtallplallhaarpevqlvesggglvlpkpggsrlscaasgffsdyymswirraqpgkglewvssyis ssgstiyadsvkgrftisrdnaknsllylqmnslraedtavyycaardlrgafdiwqggtmvtvssgggsg gggsggggssyvltspsvsaaapgytaticcggnigtksvhwyqqkpgqapllvirddsvrpskipgrfs gsnsgnmatltsigvqagdeadfycqvwdsdsehvfvgggtklvlttpprptpaptiasqplsrpea crpaaggavhtrgldfacdiywaplagtcgvllslvitlyckrgrklliyfkipfmrpvqtteedgcsrfpe eeeggcelrvkfsrsadapaykqgnqlynelnlgrrreydvlkrrgrdpemggkprknpqeglyn qkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalppr
149365-nt 全 CAR	826	atggccctccctgtaaccgcccctgctgcttccgctgctcttctgctccacgcgctcggcccgaagtccag ctcgtggagtccggcggaggcctgtgaagcctggagggtcctgctgagactgtcctgcgcgcctccggctt caccttctccgactactacatgctctgatcagacaggccccgggaaggcctggaatgggtgctctac atctcgtcatcgggagcactatctactacgcgactcagtgaaagggcggttaccattcccgggataa cgcgaagaactcgtctgactgcaaatgaactcactgaggccgagggacaccgcgctgtactactgcg ccgcatctccgcccggcatttgacatctggggacagggaaaccatggtcacagtgtccagcggagggg gaggatcgggtggcggagggtccgggggtggaggctcctcctactgctgactcagacccaagcgtca gcgctgcgccgggttacacggcaaccatctcctgtggcggaaacaacattgggacccaagctgtgact ggatcagcagaagccgggccaagctcccctgttggatccgcgatgactcctgctggcctagcaaaa tccgggacgggttccggctccaacagcggcaaatatggcactctcaacatctcgggagtgaggccgg agatgaagccgacttactcgaagctctgggactcagactccgagcatgtggtgtccggggcggaacc

[0644]

		<p>aagctgactgtctcaccactaccccagcaccgaggccacccaccccgctcctaccatgcctccag cctctgtccctgcgtccgaggcatgtagaccgagctgggtggggcctgtgcataccgggtcttgactt cgctgagatctacattggcccctctggctgttctgcgggtcctgtctgttctactcgtgatcactctt tactgtaagcgcggtcggagaagctgctgtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagactact caagaggaggcagcgtgtccatgcccgttcccagaggaggaggaggagggcgtgcgaactgcgcgtga aatcagccgcagcagatgctccagcctacaagcaggggcagaaccagcttacaacgaactcaa tctgtgtagagaggagtagcagctgctggacaagcggagaggcgggaccagaaatgggagg gaagccgcgagaagaatcccaagaggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcag aagcctatagcagattggtatgaagggggaacgcagagaggcaaggccacgacggactgtacc agggactcagcaccgccaccaaggacactatgacgctcttcacatgaggccctgcccgcctcgg</p>
149366		
149366-aa 全 CAR	827	<p>malpvtallplallhaarqvqlvqsgeavkpkgasvkvscpkpsgyvtshyihwvrrapggglewmg minpsggvtaysqlqgrvmtsdtsstvyelsslrsedtamycaregsgswyfdwgrgtlvtvss ggggsgggsgggssyvltpqpsvsvpgtasitcsgdglskkyvswyqqkagqspvvlisrdker psgipdrfsgnsadatltsigtamdeadyycqawddttvfvggkltvlttpprppptpaptiasqpls lrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrvpvtteedgcs crfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqqnqlynelnlgreeydvldkrrrdpemmkkprknpqeg lynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalppr</p>
149366-nt 全 CAR	828	<p>atggccctccctgtcaccgccctgctcctccgctgctcctctgtcctccacgcccgtcggccccagtgag ctggtgcagagcggggccgaagcaagaagcgggagcctcctgaaagtgtcctcaagccttcggg atacaccgtgacctcccactacattcattgggtccgcccgcgccccggccaaggactcgagtgatggg catgatacaccctagcggcgagtgaccgctacagccagacgctgcagggacgcgtgactatgacct cggatacctcctcaccgctctatatggaactgtccagcctcggctccgaggatacggcctgactact cgcggcgggaagagatcagcctcgggtggtattcgaactctggggaagagcaccctcgtactgtct atcgggggaggggtccggtgggtagcagcggagggaggggttcatctactcgtgctgaccagcc accctcgtgtcgtgagccccggccagactgcattacatgtagcggcgcagggcctcctcaagaa atacgtgctgtgtagcagcagaaggccggacagagccgggtggtgctatcaagagataaggagc ggcctagcggaaatcccgacagggttctcgggttccaactccgaggacactgactcctgacctcggg gacccaggctatggacgaagcggattactctgccaagcctgggacgacactactgctggtttggaggg ggccaagttgacctcctaccactaccccagcaccgaggccacccaccccgctcctaccatcgcc tcccagcctctgtccctgcgtccggaggcatgtagaccgcagctggtggggcgtgcataccggggtc ttgactcgcctgcgatatctacattggcccctctggctgttctgctgtgcttctactcgtgat cactcttactgtaagcgcggtcggagaagaagctgctgtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtca gactactcaagaggaggacggctgtccatgcccgttcccagaggaggaggaaaggcgtgcgaactg cgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctacaagcaggggcagaaccagcttacaacg aactcaatctgtgtagagaggagtacgagctgctggacaagcggagaggcgggaccagaaa tggcggaagccgcagaaagaatcccaagaggcctgtacaacgagctccaaaaggataag atggcagaagcctatagcagattggtatgaagggggaacgcagaagaggcaaggccacgacgg actgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacactatgacgctcttcacatgaggccctgcccgc tcgg</p>
149367		
149367-aa 全 CAR	829	<p>malpvtallplallhaarqvqlqesgpglvkpsqtlstctvsngsissggyyswirqhpgkglewigyi yysgstynpksrvtisvdtsknqfslklssvtaadtavyycaragiaarlrgafdiwqggtmvtvssggg gsgggsgggsgdivmtqspssvsasvgrvuitcrasqgirnwlawyqqkpgkapnlliyaasnlsqg vpsrfgsgsgadftlitisslpedvatyycqkynsapftfgpgtkvdkittpprppptpaptiasqplsirpe acrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrvpvtteedgcs crfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqqnqlynelnlgreeydvldkrrrdpemmkkprknpqegly elqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalppr</p>
149367-nt 全 CAR	830	<p>atggccctccctgtcaccgccctgctcctccgctgctcctctgtcctccacgcccgtcggccccagtgag cttcaggagagcggcccgggactcgtgaagcctgccagaccctgtcctgactgcaccgtgtcggga ggaagcatctcagcggaggctactattgctgtggttcggcagcaccctggaaggcctggaatgg atcggctacatctactactcggctcgcacctactacaaccctcgcctgaagtcagagtgacaatctcagt ggacacgtccaagaatcagttcagcctgaagcctcctcctgactgctgcccgcacccgctgtactact gcgcacgcgtggaattgcccggcgtgaggggtgccttcgacattggggacaggccaccatggtca ccggtcctcggcggcggagggtccgggggtgaggctcaggaggagggggtccgacatcgcatg actcagtcgccctcaagcgtcagcgcctcggggacagagtgatcatcactgctgggctcccag ggaattcgaactgctggtctggtatcagcagaagccggaaaggcccccaacctgtgatctacgcc gctcaaacctccaatccggggtgcccagcgcctcagcggctcgggtcgggtgctgattactctgac catctcctcctgcaacctgaagatggtgctacactactgccaagaagtaaacctccgacatttacttc ggaccggggaccaaagtggacattaagaccactaccccagcaccgaggccacccaccccgctcct accatcgccctcccagcctctgtccctgctccggaggcatgtagaccgcagcgtgtggggcctgcata</p>

[0645]

		cccggggtcttgacttcgctgcgatatctacattgggccctctggctggacttgcggggctctgctgctt cactcgtgatcactcttactgtaagcggtcggaagaagctgctgtacatcttaagcaacccttcatgag gcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgtcatgcccagaggagggaagggcgt cggaactgcgctgaaattcagccgacgcagatgctccagcctacaagcaggggcagaaccagct ctacaacgaaactcaatcttggcggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggagaggacgggac ccagaataggcgggaagccgagcagaagaatcccaagaggcctgtacaacgagctccaaaa ggataagatggcagaagcctatagcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaggcca cgacggactgtaccaggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcatgacggccc tgccgctcgg
149368		
149368-aa 全 CAR	831	malpvtallplallhaarqvqlvqsgaevkpgssvksckasggtfssyaiswvrqapggglewmg giipifgtanyaqkfqgrvitadeststymelssrsedtavyycarrggyqllrwdvllrsafdiwggtm vtvssgggsgggsgggssyvltpqpsvsvapqqtaritcggnnigsksvhwyyqkpgqapvlvly gknnrpsgvpdfsgrsrgttaslitgaqaedeaddyccssrdssgdhrlvfgtktvlttpprptpap tiasqplsrpeacrpaaggavhtrglfacdiywaplactgvlslsvitlyckrgrklllyifkqpfmrpvqt qeedgcscrfeeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgnqlynelnlgreeydvldkrrrdpemggkpr rrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalppr
149368-nt 全 CAR	832	atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctgctcttctgctccacgccgctcggcccaagtgcag ctggtccagtgcggcgccgaggtcaagaagcccgggagctctgtgaaagtgcctgcaaggcctcgg gggacaccttagctcctacgcatctcctgggtccgccaagcaccgggtcaaggcctggatggatggg gggaattatccctatcttggcactgccaactacgcccagaagtccaggggacgcgtgaccattaccg gacgaatccacctccaccgcttatagggctgtccagcttgcgctcggaaagataaccgctgtactactg cgccggagggggtgataccagctgctgagatgggacgtggcctcctcggctcggctgcgacatctg ggccagggcaactatgtaactgtgctcagcggaggagggcgcgacggaggcggcggatcaggggg aggcgttccagctacgtcttactcaacccctcgggtgctcggggccgggacagaccgccaagatc actgctggaggaaacaacattgggtccaagagcgtgacttggatccagcagaagccaggacaggccc ctgtgctggctctacgggaagaacaatcggcccagcggagtgccggaaggcttccgggtcacgctc cggtaacaaccgcttactgactatcaccggggcccaggcagaggatgaagcggactactactgtctctc cgggattcatcggcgaccacctcgggtgctcggaaaccggaacgaaggtcacgctgctgaccactacc ccagaccgagggccaccaccccggtcctaccatgcctcccagcctctgctccctgctcggaggca ttagaccgcagctggtggggcctgcataccggggtcttacttgcctgctgacatctacatttggggc cctctggtggtactgctggggtcctgctgcttctactcgtgatactcttactgtaagcgcggtcgaaga gctgctgtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagactactcaagaggagcagcgtgttcatg ccgggtccagaggaggaggaggcggcgtcgaactgcgctgaaattcagccgacagcgcagatgct ccagcctacaagcaggggcagaaccagcttacaacgaactcaatcttggctggagagaggagtacg acgtgctggacaagcggagaggacgggaccagaaatggcgggaagccgcgagaaagaatcc ccaagaggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgagattggtatg aaaggggaacgcagaagaggcaaggccacgacggactgtaccagggactcagcaccgcca aggacacctatgacgcttcatatgacggccctgcccctcgg
149369		
149369-aa 全 CAR	833	malpvtallplallhaarpevqlqsgpglvkpsqtlstcaisgdsvsnsaawnwirqpsrglewlg yyskwyfyaislksriinpdtsknqfslqlksvtpedavyycarsspeglfilywfdpwgggtlvvssg dsggggsgggsseltqdpavsvalgqirticqgdslgnyyatwyqkpgqapvlviygtnnrpsgi pdfsasssgntaslitgaqaedeaddyccnsrdssghllfvtgktvlttpprptpaptiasqplsrp eacrpaaggavhtrglfacdiywaplactgvlslsvitlyckrgrklllyifkqpfmrpvqtqeedgcscr peeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgnqlynelnlgreeydvldkrrrdpemggkprknpqegly nelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalppr
149369-nt 全 CAR	834	atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggtctctctgctccacgccgctcggcccaagtgcag ctccaacagtgcaggaccgggctcgtgaagccatccagaccctgctcctgactgtgcatctcgggag atagcgtgtcatgaaactccgcccctggaactggattcggcagagcccgtcccgggactggagtgcc ttggaaggacctactaccggtccaagtgttactcttctacgcatctcgtgaaagtcggcattatcattaa ccctgatacctccaagaatcagttcctcccaactgaaatccgtcacccccgaggacacagcagtgatt actgctcagcggagcagccccgaaggactgttctgtattggttgaccctggggcaggggactctgtg accgtgctgagcggcggagatgggtccggtggcgtggtggggggggcgggatcatcatccaact gaccaggaccggctgtgctcgtgctgggacaaccatccgattacgtgaccagggagactccct gggcaactactaccactgtgtaccagcagaagcgggccaagcccctgtgtgtcatctacgggac caacaacagacctccgcatccccgaccggtcagcgtctcctcggcaacactgccaagcctgac catcactggagcgcaggccaagatgaggccgactactactgcaacagcagagactcctcgggtcatc acctctgttggaaactggaaccaaggtcaccgtgctgaccactacccagcaccgagggccaccacc cggctcctaccatcgctcccagcctctgctcctgctcggaggcatgtagaccgcagctggtggggc cgtgcataccggggtctgacttgcctgcgatatctacatttggggccctctgctggtacttgcggggtc

[0646]

		tgctgctttcactcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggagaagctgctgtacatcttaagcaacc ttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagaggaggaggaa ggcggctgcgaactgcgctgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctacaagcaggggcaga accagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggagagg acgggaccagaatggcgggaagccgcagaaagaatcccaagaggcctgtacaacgagc tccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgagattggtatgaagggggaacgcagaagaggca aaggccacgacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcatg caggccctgccgctcgg
BCMA_EBB-C1978-A4		
BCMA_EBB-C1978-A4 - aa 全 CART	835	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAKVEGSGSLDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSEIVMTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSAYLAWYQKPGQP PRLISGASTRATGIPDRFGSGSGTDFTLISRLEPEDFAVYYCQHYGSSF NGSSLFTFGQGRLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGA VHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRP VQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNLNELN LGRREYDVLDKRRGRDPENGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI GMKGERRRGGKHDGLYQQLSTATKDTYDALHMQUALPPR
BCMA_EBB-C1978-A4 - nt 全 CART	836	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAGCTCGTGGAGTCAGGAGCGGCCCT GGTCCAGCCGGAGGGTCCCTTAGACTGTCATGCGCCGCAAGCGGAT TCACTTTCTCCTCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAAGCCCGGAA AGGGACTGGAATGGGTGTCCGCCATCTCGGGGTCTGGAGGCTCAACT ACTACGCTGACTCCGTGAAGGGACGGTTCACCATTAGCCGCGACA CCAAGAACACCCTCTACCTCAAATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGATA CCGCCGTCTACTACTGCGCCAAAGTGAAGGTTTCCAGGATCGCTGGACT ACTGGGGACAGGGTACTCTCGTGACCGTGCATCGGGCGGAGGAGGT TCCGGCGGTGGCGGCTCCGGCGGCGGAGGGTCCGAGATCGTGATGA CCCAGAGCCCTGGTACTCTGAGCCTTTCGCCGGGAGAAAGGGCCACC CTGTCTGCCGCGCTTCCCAATCCGTGCTCCTCCGCTACTTGGCGTGG TACCAGCAGAAGCCGGGACAGCCCTCCGCTGCTGATCAGCGGGGC CAGCACCCGGGCAACCAGGATCCAGACAGATTCCGGGGTTCCGGCA GCGGCACAGATTTACCCTGACTATTTGAGGTTGGAGCCCGAGGACT TTGCGGTGTATTACTGTCAGCACTACGGGTGCTCCTTTAATGGCTCCAG CCTGTTACGTTTCGGACAGGGGACCCGCCTGGAAATCAAGACCACTAC CCCAGCACCGAGGCCACCCACCCGGCTCCTACCATCGCCTCCAGC CTCTGTCCCTGCGTCCGGAaggatgtagaccgcagctggtggggcctgcataccggg gtcttgacttcgctgcgatatctacattggccctctggctgacttgcggtgctgctgctttcactcgt gatcactcttactgtaagcgcggtcggagaagctgctgtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtg cagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagaggaggaggaaagcggctgcgaa tgccgctgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctacaagcaggggcagaaccagctctaca cgaactcaatcttggtcggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggagaggacgggaccaga aatggcggggaagccgcagaaagaatcccaagaggcctgtacaacgagctccaaaaggata agatggcagaagcctatagcgagattggtatgaagggggaacgcagaagaggcaaggccacgac ggactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcatgacggccctgcc gcctcgg
BCMA_EBB-C1978-G1		
BCMA_EBB-C1978-G1 - aa 全 CART	837	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGITFS RYPMSWVRQAPGKGLEWVSGISDSGVSTYYADSAKGRFTISRDNKNTLF LQMSSLRDEDTAVYYCVTRAGSEASDIWGQTMVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSEIVLTQSPATLSPGERATLSCRASQSVSNLAWYQKPGQAPR LLIYDASSRATGIPDRFGSGSGTDFTLISRLEPEDFAIYYCQQFGTSSGLT FGGGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLD FACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEE DGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNLNELNLRREY DVLDKRRGRDPENGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKG RRGKHDGLYQQLSTATKDTYDALHMQUALPPR
BCMA_EBB-C1978-G1 - nt 全 CART	838	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAACTGGTGGAAACCGGTGGCGGCCCT GGTGCAGCCTGGAGGATCATTGAGGCTGTCATGCGCGGCCAGCGGTA

[0647]

		<p>TTACCTTCTCCCGGTACCCCATGTCCTGGGTGACAGACAGGCCCCCGGGGA AAGGGCTTGAATGGGTGTCCGGGATCTCGGACTCCGGTGTGAGCACTT ACTACGCCGACTCCGCCAAGGGACGCTTACCATTTCGCGGGACAAC CGAAGAACACCCTGTTCTCCAAATGAGCTCCCTCCGGGACGAGGATA CTGCAGTGTACTACTGCGTGACCCGCGCCGGGTCCGAGGCGTCTGAC ATTTGGGGACAGGGCACTATGGTCACCGTGTGTCGTCGCGGAGGGGG CTCGGGAGGCGGTGGCAGCGGAGGAGGAGGGTCCGAGATCGTGCTG ACCCAATCCCCGGCCACCCTCTCGCTGAGCCCTGGAGAAAGGGCAAC CTTGTCCTGTGCGCGGAGCCAGTCCGTGAGCAACTCCCTGGCCTGGTA CCAGCAGAAAGCCCGGACAGGCTCCGAGACTTCTGATCTACGACGCTTC GAGCCGGGCCACTGGAATCCCCGACCGCTTTTCGGGGTCCGGCTCAG GAACCGATTTACCCTGACAATCTCACGGCTGGAGCCAGAGGATTTCCG CCATCTATTACTGCCAGCAGTTCCGGTACTTCTCCGGCCTGACTTTCCG AGGCGGCACGAAGCTCGAAATCAAGACCACTACCCAGCACCGAGGC CACCCACCCGGCTCCTACCATCGCCTCCAGCCTCTGTCCCTGCGTC CGGAggcatgtagaccgcagctggtggggcgtgcataccggggtctgactgcctgcgatatct acattgggccctctgctggtactgcggggtctgctgctttcactcgtgatcactcttactgtaagcgcg gtcgaagaagctgctgtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagactactcaagaggagga cggctgtcatgccggtcccagaggaggaggaaggcggctgcgaactgcgctgaaatcagccgca gcgagatgctccagcctacaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatctggtcgaga gaggagtacgagctgctgacaagcggagaggacgggaccagaaatggcggggaagccgca gaaagaatcccaagaggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcg agattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaggccacgacggactgtaccagggactcagc accgccaccaaggacacctatgacgctctcacatgcaggccctgcccctcgg</p>
BCMA_EBB-C1979-C1		
BCMA_EBB-C1979-C1 - aa 全 CART	839	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGSTYYADSVKGRFTISRDNKNSL YLQMNSLRRAEDTAIYYCARATYKRELRYYYGMDVWVGQGMVTVSSGGGG SGGGGSGGGGSEIVMTQSPGTVSLSPGERATLSCRASQSVSSFLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSDFTLISRLEPEDSAVYYC QQYHSSPSWTFGQGRLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA GGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPF MRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPYKQGQNLYN ELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAY SEIGMKGERRRGKGHGDLGLSTATKDTYDALHMQUALPPR</p>
BCMA_EBB-C1979-C1 - nt 全 CART	840	<p>ATGGCCCTCCCTGTACCCGCCCTGCTGCTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCAAGTGCAGCTCGTGGAATCGGGTGGCGGACT GGTGCAGCCGGGGGGCTCACTTAGACTGTCTGCGCGCCAGCGGAT TCACTTTCTCCTCCTACGCCATGTCCTGGGTGACAGACAGGCCCTGGAA AGGGCCTGGAATGGGTGTCCGCAATCAGCGGCAGCGGCGGCTCGACC TATTACGCGGATTCAGTGAAGGGCAGATTACCAATTTCCCGGACAAC GCCAAGAACTCCTTGTACCTTCAAATGAACTCCCTCCGCGGGAAGATA CCGCAATCTACTACTGCGCTCGGGCCACTTACAAGAGGGAAGTGCCT ACTACTACGGGATGGACGTCTGGGGCCAGGGAACCATGGTCACCGTG TCCAGCGGAGGAGGAGGATCGGGAGGAGGCGGTAGCGGGGGTGGAG GGTCCGAGATCGTGATGACCCAGTCCCCGGCACTGTGTGCTGTCC CCCGGCGAACGGGCCACCCTGTCATGTGCGGGCCAGCCAGTCAGTGTC GTCAAGCTTCTCGCCTGGTACCAGCAGAAACCGGGACAAGCTCCCCG CTGCTGATCTACGGAGCCAGCAGCCGGGCCACCGGTATTCTGACC GGTTCTCCGGTTCGGGGTCCGGGACCGACTTTACTCTGACTATCTCTC GCCTCGAGCCAGAGGACTCCGCCGTGATTACTGCCAGCAGTACCCT CCTCCCCGTCCTGGACGTTCCGACAGGGCACAAGGCTGGAGATTAAGA CCACTACCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCT CCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAaggcatgtagaccgcagctggtggggcgtgc ataccggggtctgactgcctgcgatatctacattgggccctctgctggtactgcggggtctgctg ctttcactcgtgatcactcttactgtaagcgcggtcgaagaagctgctgtacatcttaagcaaccctcat gaggcctgtgcagactactcaagaggagacggctgttcatgccggtcccagaggaggaggaaggc ggctgcgaactgcgctgaaatcagccgacgcagcagatgctccagcctacaagcaggggcagaacc agctctacaacgaactcaatctggtcggagagaggagtacgagctgctgacaagcggagaggacg ggaccagaaatggcggaagcgcgcaagaagaatcccaagaggcctgtacaacgagctcc aaaaggataagatggcagaagcctatagcagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaa</p>

[0648]

		ggccacgacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgca ggccctgccgctcgg
BCMA_EBB-C1978-C7		
BCMA_EBB-C1978-C7 - aa 全 CART	841	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVETGGGLVQPGGSLRLSAASGFTFS SYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLY LQMNTLKAEDTAVYYCARATYKRELRYYYGMDVWGQTTTVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSEIVLTQSPSTLSLSPGESATLSCRASQSVSTTFLAWYQQK PGQAPRLLIYSSNRATGIPDRFSGSGSDFTLTIRLEPEDFAVYYCQQ YHSSPSWTFGQGTKEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGG AVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMR PVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNEL NLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYS EIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
BCMA_EBB-C1978-C7 - nt 全 CART	842	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCGAGGTGCAGCTTGTGGAAACCGGTGGCGGACT GGTGCAGCCCGGAGGAAGCCTCAGGCTGTCTGCGCCGCTCCGGCT TCACCTTCTCCTCGTACGCCATGTCTGGGTCCGCCAGGCCCGGAA AGGGCCTGGAATGGGTGTCCGCCATCTCTGGAAGCGGAGGTTCCACG TACTACGCGGACAGCGTCAAGGGAAGGTTACAATCTCCCGCGATAAT TCGAAGAACACTCTGTACCTTCAAATGAACACCCTGAAGGCCGAGGAC ACTGCTGTGTACTACTGCGCACGGGCCACCTACAAGAGAGAGCTCCGG TACTACTACGGAATGGAGCTCTGGGGCCAGGGAAGTGTGACCGTG TCTCGGGAGGGGTGGCTCCGGGGGGGGCGGCTCCGGCGGAGG GGTTCCGAGATTGTGCTGACCCAGTCACCTTCAACTCTGTCGCTGTCC CCGGGAGAGAGCGTACTCTGAGCTGCCGGGCCAGCCAGTCCGTGTC CACCACCTTCTCGCCTGGTATCAGCAGAAGCCGGGGCAGGCACCAC GGCTCTTGATCTACGGGTCAAGCAACAGAGCGACCGGAATTCCTGACC GCTTCTCGGGGAGCGGTTACAGGCACCGACTTACCCTGACTATCCGGC GCCTGGAACCCGAAGATTTCCGCCGTGTATTACTGTCAACAGTACCACTC CTCGCCGTCCTGGACCTTTGGCCAAGGAACCAAAGTGGAAATCAAGAC CACTACCCAGCACCAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTC CCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAggcatgtagaccgagctggtggggcctgcat accggggcttgactcgctgcgatatctacattgggcccctctggctggtactgcggggctctgctgctt tactcgtgatcactcttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatcttaagcaacctcatga ggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgtcatgccggtcccagaggaggaggaaggcgg ctcgaactgcgctgaaattcagccgagcgcagatgctccagcctacaagcaggggcagaaccag cttacaacgaactcaatcttgctggagagaggagtacgagctgctggacaagcggagaggacggg accagaaaatgggcggaagccgagcagaagaatcccaagaggcctgtacaacgagctcaa aaggataagatggcagaagcctatagcagagattggtatgaaaggggaaagcagaagaggcaaagg ccacgacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgacgg ccctgccgctcgg
BCMA_EBB-C1978-D10		
BCMA_EBB-C1978-D10 - aa 全 CART	843	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVETGGGLVQPGRSLRLSAASGFTFD DYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNKNSL YLQMNSLRDEDTAVYYCARVGVKAVPDVWGQTTTVTVSSGGGSGGGGS GGGGSDIVMTQTPSSLSASVGDRTITCRASQSISYLNWYQQKPKGKPK LLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPYS FGQGTREIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLD FACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEE DGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEY DVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGER RRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
BCMA_EBB-C1978-D10 - nt 全 CART	844	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCGGAAGTGCAGCTCGTGGAAACTGGAGGTGGACT CGTGCAGCCTGGACGGTCTGCTGCGGCTGAGCTGCGCTGCATCCGGCT TCACCTTCGACGATTATGCCATGCACTGGGTGAGACAGGCAGGGGA AGGGACTTGAGTGGGTGTCCGGTATCAGCTGGAATAGCGGCTCAATCG GATACGCGGACTCCGTGAAGGGAAGGTTACCATTTCGCGGACAACG CCAAGAACTCCCTGTACTTCAAATGAACAGCCTCCGGGATGAGGACA CTGCCGTGTACTACTGCGCCCGTCCGAAAAGCTGTGCCCCGACGCT GGGGCCAGGGAACCACTGTGACCGTGTCCAGCGGCGGGGGTGGATC

[0649]

		GGGCGGTGGAGGGTCCGGTGGAGGGGGCTCAGATATTGTGATGACCC AGACCCCTCGTCCCTGTCCGCCTCGGTCGGCGACCGCGTGACTATCA CATGTAGAGCCTCGCAGAGCATCTCCAGCTACCTGAACGGTATCAGC AGAAGCCGGGAAGGCCCGAAGCTCCTGATCTACCGCGGATCACA CTGCAATCGGGAGTGCCGAGCCGGTTTTCCGGGTCCGGCTCCGGCAC CGACTTCACGCTGACCATTTCTCCCTGCAACCCGAGGACTTCGCCACT TACTACTGCCAGCAGTCTACTCCACCCCTTACTCCTTCGGCCAAGGAA CCAGGCTGGAATCAAGACCACTACCCAGCACCGAGGCCACCCACC CCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAaggat gtagaccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgactcgctgcgatatctacattgggccc cctctggtggtactgctggggtcctgctgctttcactcgtgatcactcttactgtaagcgcggtcggaagaa gctgctgtacatcttaagaaccctcatgaggcctgctgcagactactcaagaggaggagcggctgttcatg ccggtcccagaggaggaggaaggcggctgcgaactgcgctgaaattcagccgagcgcagatgct ccagcctacaagcaggggaggaaccagctctacaacgaactcaatcttgctggagagagtagtaccg acgtgctggacaagcggagagagcgggaccagaaatggcggggaagccgagcagaagaatcc ccaagaggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgagattggtatg aaaggggaacgcagaagaggcaaagccacgacggactgtaccagggactcagcaccgccacca aggacacctatgacgctctcacatgcaggccctgcccctcgg
BCMA_EBB-C1979-C12		
BCMA_EBB-C1979-C12 - aa 全 CART	845	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFD DYAMHWVRQRPVKGLEWVASINWKGNSLAYGDSVKGRFAISRDNKNTV FLQMNSLRTEDTAVYYCASHQGVAYYNYAMDVWGRGLTVSSGGGGS GGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRATQSIGSSFLAWYQQR PGQAPRLLIYGASQRATGIPDRFSGRGSGTDFTLISRVEPEDSAVYYCQH YESSPSWTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGG AVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMR PVQTTQEEDGCSCRFPPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNLNEL NLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQGLYNELQKDKMAEAYS EIGMKGERRRGKGHDLGQLSTATKDTYDALHMQALPPR
BCMA_EBB-C1979-C12 - nt 全 CART	846	ATGGCCCTCCCTGTACCCGCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCGAAGTGCAGCTCGTGAGAGCGGGGAGGATT GGTGCAGCCCGAAGTCCCTGCGGCTCTCCTGCAGCTCGCTGCTGCT TCACCTTCGACGACTACGCGATGCACTGGGTACAGACAGCGCCCGGA AAGGGCCTGGAATGGGTCGCCTCAATCAACTGGAAGGAACTCCCTG GCCTATGGCGACAGCGTGAAGGGCCGCTTCGCCATTTCCGCGACAA CGCCAAGAACACCGTGTCTGCAAATGAATTCCTGCGGACCGAGGA TACCGCTGTGTACTACTGCGCCAGCCACCAGGGCGTGGCATACTATAA CTACGCCATGGACGTGTGGGGAAGAGGGACGCTCGTACCGTGTCT CCGGGGGCGGTGGATCGGGTGGAGGAGGAAGCGGTGGCGGGGGCA GCGAAATCGTGTACTGACTCAGAGCCCGGAACTCTTCACTGTCCCCGG GAGAACGGGCCACTCTCTCGTGCCGGGCCACCCAGTCCATCGCTCC TCCTTCTTGCCTGGTACCAGCAGAGGCCAGGACAGGCGCCCGCCT GCTGATCTACGGTGTCTCCCAACGCGCCACTGGCATTCTGACCGGTT CAGCGGCAGAGGGTCGGGAACCGATTTCACTGACCATTTCCCGGGT GGAGCCCAGGATTCGGCAGTCTACTACTGTGACATTACGAGTCCTC CCCTTCATGGACCTTCGGTCAAGGGACCAAAGTGGAGATCAAGACCAC TACCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCA GCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAaggatgtagaccgcagctggtggggccgtgcataccc ggggtcttgactcgctgcgatatctacattgggcccctctggtggtactgctggggtcctgctgctttcac tctgtgatcactcttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatcttaagcaaccctcatgaggcc tgtgcagactactcaagaggaggacgctgttcatgccggtcccagaggaggaggaaggcggctgcg aactgcgctgaaattcagccgagcgcagatgctccagcctacaagcaggggagaaaccagctcta caacgaactcaatctggtcggagagaggagtagcagctgctggacaagcggagagagcgggacc agaaatggcggaagcgcagaaagaatcccaagaggcctgtacaacgagctccaaaagg ataagatggcagaagcctatagcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaagccacg acggactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctctcacatgcaggccctg ccgctcgg
BCMA_EBB-C1980-G4		
BCMA_EBB-C1980-G4 - aa 全 CART	847	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SYAMSWVRQAPGKLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAKVVDRGMDVWQGTTTVSSGGGGSGGGGS

[0650]

		GGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYGASSRATGIPDRFSGNGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSPP RFTFGPGTKVDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTR GLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTT QEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNLQLYNELNLGRR EEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKG ERRRGKGHGDLGYQLSTATKDTYDALHMQALPPR
BCMA_EBB- C1980-G4- nt 全 CART	848	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCGAGGTGCAGTTGGTTCGAAAGCGGGGGCGGGC TTGTGCAGCCTGGCGGATCACTGCGGCTGCTCCTGCGCGGCATCAGGC TTCACGTTTTCTTCTACGCCATGTCCTGGGTGCGCCAGGCCCTGGA AAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCGATTTCCGGGGTCCGGCGGGAGCAC CTACTACGCCGATTCCGTGAAGGGCCGCTTACTATCTCGCGGGACAA CTCCAAGAACACCCTCTACCTCCAAATGAATAGCCTGCGGGCCGAGGA TACCGCCGTCTACTATTGCGCTAAGGTCTGCGCGACGGAATGGACGT GTGGGGACAGGGTACCACCGTGACAGTGTCTCCTGGGGGGAGGCGGTA GCGGCGGAGGAGGAAGCGGTGGTGGAGGTTCCGAGATTGTGCTGACT CAATCACCCGCGACCCTGAGCCTGTCCCCCGGCGAAAGGGCCACTCT GTCCTGTGCGGGCCAGCCAATCAGTCTCCTCCTCGTACCTGGCCTGGTA CCAGCAGAAGCCAGGACAGGCTCCGAGACTCCTTATCTATGGCGCATC CTCCCGCGCCACCGGAATCCCGGATAGGTTCTCGGAAACGGATCGG GGACCGACTTACTCTCACCATCTCCCGGCTGGAACCGGAGGACTTCG CCGTGTACTACTGCCAGCAGTACGGCAGCCCGCCTAGATTACTTTCCG GCCCGGCACCAAAGTGGACATCAAGACCACTACCCAGCACCGAGG CCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGT CCGGAggcatgtagaccgcagctggtggggccgtgcataaccggggtctgactcgcctgcgat ctacattgggcccctctggtgactgcgggctctgctttcactcgtgatcactcttactgtaagcgc ggtcgaagaagctgctgtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagactactcaagaggagg acggctgtcatgcccgttccagaggaggaggaaggcggctgcgaactgcgctgaaattcagccgc agcgcagatgctccagcctacaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggctggag agaggagtacgagctgtggacaagcggagaggacgggaccagaaaatggcggggaagccgcgc agaaagaatcccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagc gagattggtatgaaggggaacgcagaagaggcaaggccacgacggactgtaccagggactcag caccgccaccaaggacacctatgacgctcttccatgacaggccctgcccctcgg
BCMA_EBB-C1980-D2		
BCMA_EBB- C1980-D2- aa 全 CART	849	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAKIPQTGTFDYWQGTLVTVSSGGGGSGGGGGG GGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQRPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGSSPS WTFGQGRLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRG LDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQ EEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNLQLYNELNLGRRE EYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKG RRRGKGHGDLGYQLSTATKDTYDALHMQALPPR
BCMA_EBB- C1980-D2- nt 全 CART	850	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAGCTGCTGGAGTCCGGCGGTGGATT GGTGC AACCGGGGGGATCGCTCAGACTGTCTGTCGCGCGTCAGGCT TCACCTTCTCGAGCTACGCCATGTCATGGGTGACAGAGGCCCTGGAA AGGGTCTGGAATGGGTGTCCGCCATTTCCGGGAGCGGGGATCTACA TACTACGCCGATAGCGTGAAGGGCCGCTTACCATTTCGGGGACAAC TCCAAGAACA CTCTCTATCTGCAAATGAACTCCCTCCGCGCTGAGGACA CTGCCGTGTACTACTGCGCCAAAATCCCTCAGACCGGCACCTTCGACT ACTGGGGACAGGGGACTCTGGTCACCGTCAGCAGCGGTGGCGGAGGT TCGGGGGGAGGAGGAAGCGGCGGCGGAGGGTCCGAGATTGTGCTGA CCCAGTCACCCGGCACTTTGTCCCTGTGCGCCTGGAGAAAGGGCCACCC TTTCTGCGGGGCATCCCAATCCGTGTCCTCCTCGTACCTGGCCTGGT ACCAGCAGAGGGCCCGGACAGGCCCCACGGCTTCTGATCTACGGAGCA AGCAGCCGCGGACCGGTATCCCGACCGGTTTTCGGGCTCGGGCTC AGAACTGACTTACCCTCACCATCTCCCGCCTGGAACCCGAAGATTT CGCTGTGTATTACTGCCAGCACTACGGCAGCTCCCGTCCCTGGACGTT

[0651]

		CGGCCAGGGAACCTCGGCTGGAGATCAAGACCACTACCCCAGCACCGA GGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGC GTCCGGAggcatgtagaccgcagctggtggggcogtgcataaccggggtcttgacttcgctgca atatctacattgggcccctctggtggtactgctggggtctgctgtttcactcgtgatcactcttactgtaa gcgcggtcggagaagctgctgtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagactcaagag gaggacggtgttcatgccggtcccagaggagggaaggcgctgcgaactgcgctgaaattcag ccgcagcgcagatgctccagcctacaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaattggtc ggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatggcggaagcc gcgcagaagaatcccaagaggcctgtacaacgagctcaaaaggataagatggcagaagccta tagcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacgactgtaccagggact cagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcatatgcaggccctgcccctcgg
BCMA_EBB-C1978-A10		
BCMA_EBB- C1978-A10- aa 全 CART	851	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTMSRENDKNS VFLQMNSLRVEDTVVYCARANYKRELRYYGMDVWQGTMTVSSGG GGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPGTLSPGESATLSCRASQRVASNYLAW YQHKPGQAPSLISGASSRATGVPDRFSGSGSGTDFTLAISRLEPEDSAVY YCQHYDSSPSWTFGQGTKEIKTTTTAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRP AAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFK QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQN QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDK MAEAYSEIGMKGERRRGKGHDLGYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
BCMA_EBB- C1978-A10- nt 全 CART	852	ATGGCCCTCCCTGTCACCCGCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCGCAAGTGCAACTGGTGGAAACCGGAGGACT CGTGCAGCCTGGCGGCAGCCTCCGGCTGAGCTGCGCCGCTTCGGGAT TCACCTTTTCTCCTACGCGATGTCTTGGGTGACACAGGCCCCCGGAA AGGGGCTGGAATGGGTGTCAGCCATCTCCGGCTCCGGCGGATCAACG TACTACGCCGACTCCGTGAAAGGCCGGTTCACCATGTCGCGCGAGAAT GACAAGAACTCCGTGTTCTGCAAATGAACTCCCTGAGGGTGGAGGAC ACCGGAGTGTACTATTGTGCGCGCGCAACTACAAGAGAGAGCTGCGG TACTACTACGGAATGGACGTCTGGGGACAGGGAATATGGTGACCGTG TCATCCGGTGGAGGGGGAAGCGGCGGTGGAGGCAGCGGGGCGGGG GTTCCAGAAATTGTCATGACCCAGTCCCCGGAACTTTTCCCTCCCC CGGGGAATCCGCGACTTTGTCTGCGGGCCAGCCAGCGCGTGGCCT CGAACTACCTCGCATGGTACCAGCATAAGCCAGGCCAAGCCCCTTCCC TGCTGATTTCCGGGGCTAGCAGCCGCGCCACTGGCGTGCCGGATAGG TTCTCGGGAAGCGGCTCGGGTACCGATTTACCCTGGCAATCTCGCGG CTGGAACCGGAGGATTCGGCCGTGTAATACTGCCAGCACTATGACTCA TCCCCCTCTGGACATTCGGACAGGGCACCAAGGTCGAGATCAAGACC ACTACCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCC CAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAggcatgtagaccgcagctggtggggcogtgcata cccggggtctgacttcgctgcatatctacattgggcccctctggtggtacttcggtgctcgtctt cactcgtgatcactcttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatcttaagcaaccctcatgag gcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggtcccagaggagggaaggcggt gcgaactgcgctgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctacaagcaggggcagaaccagct ctacaacgaactcaattggtcggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggagaggacgggac ccagaaatggcggaagccgcgagaaagaaatcccaagaggcctgtacaacgagctcaaaa ggataagatggcagaagcctatagcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggcca cgacgactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcatatgcaggccc tgccgcctcgg
BCMA_EBB-C1978-D4		
BCMA_EBB- C1978-D4- aa 全 CART	853	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSS SYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAKALVGATGAFDIWQGTTLVTVSSGGGGSGGGG SGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSLSSNFLAWYQQKPGQA PGLLIYGASNWATGTPDRFSGSGSGTDFTLITRLEPEDFAVYYCQYYGTS PMTYFGQGTKEIKTTTTAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQ TTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGM KGERRRGKGHDLGYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

[0652]

<p>BCMA_EBB-C1978-D4- nt 全 CART</p>	<p>854</p>	<p>ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAGCTGCTCGAAACCGGTGGAGGGCT GGTGCAGCCAGGGGGTCCCTGAGGCTTTCATGCGCCGCTAGCCGAT TCTCCTTCTCCTCTTACGCCATGTCGTGGGTCCGCCAAGCCCTGGAA AAGGCCTGGAATGGGTGTCCGCGATTTCCGGGAGCGGAGTTTCGACC TATTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGCTTTACCATCTCCCGGATAAC TCCAAGAACACTCTGTACCTCAAATGAACTCGCTGAGAGCCGAGGAC ACCGCCGTGTATTACTGCGCGAAGGCGCTGGTCCGCGCGACTGGGGC ATTCGACATCTGGGGACAGGGAACCTTTGTGACCGTGTGAGCGGAGG CGGCGGCTCCGGCGGAGGAGGGAGCGGGGGCGGTGGTTCCGAAATC GTGTTGACTCAGTCCCCGGGAACCCTGAGCTTGTACCCGGGGAGCG GGCCACTCTCTCCTGTCGCGCCTCCCAATCGCTCTCATCAATTTCTG CCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGACAGGCCCGGGCCCTGCTCATCTA CGGCGCTTCAAACCTGGGCAACGGGAACCCCTGATCGGTTACGCGAA GCGGATCGGGTACTGACTTTACCCTGACCATCACCAGACTGGAACCGG AGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGTACTACGGCACCTCCCCATGT ACACATTCGGACAGGGTACCAAGTTCGAGATTAAGACCACTACCCAG CACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGT CCCTGCGTCCGGAaggcatgtagaccgcagctggtggggcctgcataccggggtctgact cgctgcatatctacattgggccctctgctggtactgcggggtctgctgtttactcgtgatcactctt tactgtaagcgcggtcgaagaagctgctgtacatcttaagcaaccttcatgaggcctgtgcagactact caagaggaggacggtgctcatgccggttcccagaggaggaggaaggcggctgcgaactgcgctga aattcagccgagcgcagatgctccagcctacaagcaggggacagaaccagcttacaacgaactcaa tcttggcggagagaggagtagcagctgctggacaagcggagaggacgggaccagaaatgggagg gaagccgcgcagaagaatcccaagaggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcag aagcctatagcagattggtatgaaggggaacgcagaagaggcaaggccacgagcggactgtacc agggactcagcaccgccaccaaggacacatgacgctcttcatgtagggcctgcccgcctgg</p>
<p>BCMA_EBB-C1980-A2</p>		
<p>BCMA_EBB-C1980-A2- aa 全 CART</p>	<p>855</p>	<p>MALPVTALLPLALLLHAARPEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCVLWFGEFDPWQGTLVTVSSGGGGSGGGKPG GGGSDIVLTQSPSLSPVTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLCMQA QSPQLLIYLGSNRASGVPRFSGSGSDFTLTKISRVEADVGVYYCKMQA LQTPLTFGGGTKVDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAV HTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPV QTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNLNELNL GRREYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIG MKGERRRRGKGHDLGQGLSTATKDTYDALHMQLPPR</p>
<p>BCMA_EBB-C1980-A2- nt 全 CART</p>	<p>856</p>	<p>ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAGCTGCTTGGAGCGGTGGAGGTCT GGTGCAGCCCGGGGATCACTGCGCCTGTCTGTGCCGCGTCCGGTT TCACTTCTCCTCGTACGCCATGTCGTGGGTGAGACAGGACCCGGAA AGGGACTGGAATGGGTGTGAGCCATTTCCGGTTCCGGGGGCGAGCACC TACTACGCTGACTCCGTGAAGGGCCGTTTACCATTTCCCGCGACAAC TCCAAGAACACCTTGTACCTCAAATGAACTCCCTGCGGGCCGAAGAT ACCGCCGTGTATTACTGCGTGTGTGGTTCGGAGAGGGATTCCGACCCG TGGGGACAAGGAACACTCGTACTGTGTCATCCGGCGGAGGGCGGCAG CGGTGGCGGGCGTTCCGGCGGCGGCGGATCTGACATCGTGTGACCC AGTCCCCTCTGAGCCTGCCGCTCACTCCTGGCGAACCAGCCAGCATCT CTGCCCCTCGAGCCAGTCCCTCCTGCACTCCAATGGGTACAACACTACC TCGATTGGTATCTGCAAAAGCCGGGCCAGAGCCCGCAGCTGCTGATCT ACCTTGGGTCAAACCGCGCTTCCGGGGTGCCTGATAGATTCTCCGGGT CCGGGAGCGGAACCGACTTTACCCTGAAAATCTCGAGGGTGGAGGCC GAGGACGTCGGAGTGTACTACTGCATGCAGGCGCTCCAGACTCCCCTG ACCTTCGGAGGAGGAACGAAGTTCGACATCAAGACCACTACCCAGCA CCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCC CTGCGTCCGGAaggcatgtagaccgcagctggtggggcctgcataccggggtctgactcgc ctgcgatactacattgggccctctgctggtactgcggggtctgctgtttactcgtgatcactcttact gtaagcgcggtcgaagaagctgctgtacatcttaagcaaccttcatgaggcctgtgcagactactcaa gaggaggacggtgctcatgccggttcccagaggaggaggaaggcggctgcgaactgcgctgaaatt cagccgagcgcagatgctccagcctacaagcaggggacagaaccagcttacaacgaactcaattctg</p>

[0653]

		gtcggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggagaggacgggaccagaaatgggcgggaa gcccgcagaaaagaatcccaagaggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaag cctatagcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaggccacgagcggactgtaccagg gactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgcccgcctcg
BCMA_EBB-C1981-C3		
BCMA_EBB-C1981-C3- aa 全 CART	857	MALPVTALLPLALLLHAARPQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAKVG YDSSGYRDIYGM DVWQGTTVTVSSGG GGSGGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQK KPGQAPRLLIYGTSSRATGISDRFSGSGSDFTLTISRLEPEDFAVYY CQHYGNSPPKFTFGPGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQ PFMRPVQTTQEEDGCSCRFP EEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYKQGQNQL YNELNLGRREYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKDMA EAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
BCMA_EBB-C1981-C3- nt 全 CART	858	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCAAGTGCAGCTCGTGGAGTCAGGCGGAGGACT GGTGCAGCCCGGGGGCTCCCTGAGACTTTCTGCGCGGCATCGGGTT TTACCTTCTCCTCCTATGCTATGCTCCTGGGTGCGCCAGGCCCGGGAA AGGGACTGGAATGGGTGTCCGCAATCAGCGGTAGCGGGGGCTCAACA TACTACGCCGACTCCGTCAAGGGTTCGCTTCACTATTTCCCGGGACAAC TCCAAGAATACCCTGTACCTCAAATGAACAGCCTCAGGGCCCGAGGAT ACTGCCGTGTACTACTGCGCAAAGTCCGATACGATAGCTCCGGTTAC TACCGGGACTACTACGGAATGGACGTGTGGGGACAGGGCACCACCGT GACCGTGTCAAGCGCGGAGGGCGGTT CAGGAGGGGGAGGCTCCGGC GGTGGAGGGTCCGAAATCGTCCTGACTCAGTCGCCTGGCACTCTGTGC TTGTCCCCGGGGGAGCGCGCTACCCTGTCGTGTCGGGCGTCGCAGTC CGTGTGAGCTCCTACCTCGCGTGGTACCAGCAGAAGCCCGGACAGG CCCCTAGACTTCTGATCTACGGCACTTCTTACGCGCCACCGGGATCA GCGACAGGTT CAGCGGCTCCGGCTCCGGGACCGACTTCAACCTGACC ATTAGCCGGCTGGAGCCTGAAGATTTCCGCGTGTATTACTGCCAACACT ACGGAAACTCGCCGCCAAAGTTACGTTCCGACCCGGAACCAAGCTGG AAATCAAGACCACTACCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTA CCATCGCCTCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAggcatgtagaccgcagctg gtggggcgtgcataccggggtcttgactcgcctgcgatatctacattggggcccctctggctgtactg cggggctctgctcttactcgtgatcactcttactgtaagcgcggtcggagaagctgctgtacatctta agcaaccctcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggtgtcatgccggttccagagg aggaggaaaggcgtcgaactgcgctgaaattcagccgcagcgcagatgtccagcctacaagca ggggcagaaccgctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacgacgtgctggacaag cggagaggacgggaccagaaatgggcggaagccgcgcagaaagaatcccaagaggcctgt acaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgagattggtatgaaaggggaacgca gaagaggcaaggccacgagctgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgac gctcttcacatgcaggccctgcccgcctcg
BCMA_EBB-C1978-G4		
BCMA_EBB-C1978-G4- aa 全 CART	859	MALPVTALLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAKMGWSSGYLGAFDIWQGTTVTVSSGGGGSG GGSGGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVASSFLAWYQKQ PGQAPRLLIYGASGRATGIPDRFSGSGSDFTLTISRLEPEDFAVYYCQH YGGSPRLTFGGGKVDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGG AVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMR PVQTTQEEDGCSCRFP EEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNEL NLGRREYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKDMAEAYS EIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
BCMA_EBB-C1978-G4- nt 全 CART	860	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCCAAGTCCAAC TGGTGGAGTCCGGGGGAGGGCT CGTGCAGCCCGGAGGCAGCCTTCGGCTGTCGTGCGCCGCCTCCGGGT TCACGTTCTCATCCTACGCGATGTCGTGGGT CAGACAGGCACCAGGAA AGGGACTGGAATGGGTGTCCGCCATTAGCGGCTCCGGCCGATGACC TACTATGCCGACTCAGTGAAGGGAAGGTTCACTATCTCCCGGACAAAC AGCAAGAACACCCTGTACCTCAAATGAACTCTCTGCGGGCCGAGGAT

[0654]

	<p>ACCGCGGTGTA CTATTGCGCCAAGATGGGTTGGTCCAGCGGATACTTG GGAGCCTTCGACATTTGGGGACAGGGCACTACTGTGACCGTGTCTCC GGGGGTGGCGGATCGGGAGGCGGGCTCGGGTGGAGGGGGTTCCG AAATCGTGTGGACCCAGTCAACCGGGAACCCCTCTCGCTGTCCCGGGAG AACGGGCTACACTGTCATGTAGAGCGTCCAGTCCGTGGCTTCTCGT TCCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCGGGACAGGCACCCCGCCTGCTC ATCTACGGAGCCAGCGGCCGGGCGACCGGCATCCCTGACCGCTTCTC CGGTTCCGGCTCGGGCACCGACTTTACTCTGACCATTAGCAGGCTTGA GCCCGAGGATTTTGCCGTGTACTACTGCCAACACTACGGGGGGAGCC TCGCCTGACCTTCGGAGGCGGA ACTAAGGTCGATATCAA AACACTAC CCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGC CTCTGTCCCTGCGTCCGGA ggc atg tag acc ccg cag ct ggt ggg g cct g c at acc cgg g gt ct t g act t c g cct g c g at a t c a t t g g c c c t c t g g t g t a c t t g c g g g t c t g t c t t c a c t c g t g a t c a c t c t t a c t g a a g c g g t c g g a a g a a g c t g t a c a t c t t a a g c a a c c c t c a t g a g g c t g t g c a g a c t a c t c a a g a g g a g g a c g g t t c a t g c c g g t c c c a g a g g a g g a a g g c g g t g c g a a c t g c g c t g a a a t t c a g c c g a g c g c a g a t g t c c a g c c t a c a a g c a g g g c a g a a c c a g c t a c a a c g a a c t a a t c t t g t c g g a g a g a g a g t a c g a c g t g t g g a c a a g c g g a g a g a c g g g a c c c a g a a a t g g c g g g a a g c c g c g a g a a a g a a t c c c a a g a g g g c t g t a a c a c g a g c t c c a a a g g a t a a g a t g g c a g a a g c c t a t a g c g a g a t t g g t a t g a a g g g g a a c g c a g a a g a g g c a a a g g c c a c g a c g g a c t g t a c c a g g g a c t a g c a c c g c c a c c a a g g a c c a t a t g a c g c t c t t c a c a t g c a g g c c c t g c c g c c t c g g</p>
--	--

[0655] 在一个实施方案中, CAR分子包含在表16或W02016/014565的表1中或如本文另外所述那样提供的氨基酸序列(例如,由其组成)。在一个实施方案中, CAR包含以下氨基酸序列(例如,由其组成): 选自SEQ ID NO: 789、791、793、795、797、799、801、803、805、807、809、811、813、815、817、819、821、823、825、827、829、831、833、835、837、839、841、843、845、847、849、851、853、855、857、859之任一者的氨基酸序列; 或具有选自SEQ ID NO: 789、791、793、795、797、799、801、803、805、807、809、811、813、815、817、819、821、823、825、827、829、831、833、835、837、839、841、843、845、847、849、851、853、855、857、859之任一者的氨基酸序列的至少一个、二个、三个、四个、五个、10、15、20或30个修饰(例如, 置换, 例如, 保守性置换)但不多于60、50或40个修饰(例如, 置换, 例如, 保守性置换)的氨基酸序列; 或与选自SEQ ID NO: 789、791、793、795、797、799、801、803、805、807、809、811、813、815、817、819、821、823、825、827、829、831、833、835、837、839、841、843、845、847、849、851、853、855、857、859之任一者的氨基酸序列具有85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%同一性的氨基酸序列。

[0656] 在一个实施方案中, CAR分子包含间皮素抗原结合结构域(例如, 与间皮素特异性结合的鼠、人或人源化抗体或抗体片段)、跨膜结构域和胞内信号传导结构域(例如, 包含共刺激结构域和/或初级信号传导结构域的胞内信号传导结构域)。

[0657] 本文中描述并在表17中提供靶向间皮素的示例性CAR分子。表17中的CAR分子包含间皮素抗原结合结构域, 例如, 表3中提供的任何间皮素抗原结合结构域的氨基酸序列。前导序列为粗体及加下划线, CDR加下划线, 并且抗原结合区的重链和轻链之间的接头序列加灰色阴影。

[0658] 表17. 示例性CAR分子

[0659]

名称	氨基酸序列	SEQ ID NO:
M5 CAR	MALPVTALLPLALLHAARP QVQLVQSGAEVEKPGASVKVSKKASGYTFTDYY MHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRL RSDDTAVYYCASGWDYFDYWGQGLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIV MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRYYLSWYQQKPKAPKLLIYTASILQNGVP SRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCLQTYTTPDFGPGTKVEIKTTTPAPRPPT	724

[0660]

	PAPTASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITL YCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAP AYKQGNQQLYNELNLRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR	
M11 CAR	MALPVTALLPLALLHAARP QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTGY MHWVRQAPGQGLEWMGWPNSSGGTNYAQNFQGRVTMTRDTSISTAYMELRRL RSDDTAVYYCASGWDFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIR MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRYYLSWYQQKPGKAPKLLIYTASILQNGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYYCLQTYTTPDFGPGTKVEIKTTTPAPRPPT PAPTASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITL YCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAP AYKQGNQQLYNELNLRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR	725
SS1 CAR	MALPVTALLPLALLHAARP QVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSFTGYTM NWWKQSHGKSLEWIGLITPYNGASSYNQKFRGKATLTVDKSSSTAYMDLLSLTSE DSAVYFCARGGYDGRGFDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIELTQS PAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPGRF SGSGSGNSYSLTISSVEADDATYYCQQWSGYPLTFGAGTKLEITTTTPAPRPPTPA PTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC KRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPA	726
M1 CAR	MALPVTALLPLALLHAARP QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTGY MHWVRQAPGQGLEWMGRINPNSSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSR RSEDVAVYYCARGRYGMDVWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG EIVLTQSPATLSLSPGERATISCRASQSVSSNFAWYQQRPGQAPRLLIYDASNRA GIPPRFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAAYYCHQRSNWLYTFGQGTVDIKTTTPA PRPPTPAPTASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLL SLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSR SADAPAYKQGNQQLYNELNLRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR	727
M2 CAR	MALPVTALLPLALLHAARP QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTGY MHWVRQAPGQGLEWMGWPNSSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSR RSDDTAVYYCARDLRRTVVTTPRAYYGMDVWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSDIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQDISNSLNWYQQKAGKAPKLLI YDASTLETGVPSPRFSGSGSGTDFSTISSLPEDIATYYCQQHDNLPLTFGQGT EIKTTTPAPRPPTPAPTASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAG TCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCE LRVKFSRSADAPAYKQGNQQLYNELNLRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRR NPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHM QUALPPR	728
M3 CAR	MALPVTALLPLALLHAARP QVQLVQSGAEVKKPGAPVKVSCASGYTFTGY MHWVRQAPGQGLEWMGWPNSSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSR RSDDTAVYYCARGEWGDSYDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSDIVLTQTPSSLSASVGDRVTITCRASQSINTYLNWYQHKPGKAPKLLIYAASSL QSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYYCQQSFSPLTFGGGTKLEIKTTTP APRPPTPAPTASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLL LSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFS RSADAPAYKQGNQQLYNELNLRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR	729
M4 CAR	MALPVTALLPLALLHAARP QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYW MHWVRQVPGKGLVWVSRINTDGGSTTYADSVGRFTISRDNKNTLYLQMNLSR DDDTAVYYCVGGHWAVWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQM TQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSIDRLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESVPS RFSGSGSGTEFTLTISSLPDDFAVYYCQQYGHLPMTYFGQGTVEIKTTTPAPRP PTPAPTASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLSLVI TLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSAD APAYKQGNQQLYNELNLRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNEL QKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR	730
M6 CAR	MALPVTALLPLALLHAARP QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSY MHWVRQAPGQGLEWMGIINPNSSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLR SEDTAVYYCARYRLIAVAGDYGGMDVWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGGG	731

[0661]

	GSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGVGRWLAWYQQKPGTAPKL LIYAASLTQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTINNLQPEDFATYYCQQANSFPLTFGGGT RLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPL AGTCGVLLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGG CELRVKFSRSADAPAYKQGQNLQYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDAL HMQALPPR	
M7 CAR	<u>MALPVTALLPLALLHAARP</u> QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYA MHWVRQAPGQGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARWVKVSSSSPAFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGG GSEIVLTQSPATLSLSPGERAILSCRASQSVYTKYLGWYQQKPGQAPRLLIYDAST <u>RATGIPDRFSGSGSGTDFTLTINRLEPEDFAVYYCQHYGGSPLITFGQGRLEIKTT</u> TPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGV LLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVK FSRSADAPAYKQGQNLQYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQE GLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALP PR	732
M8 CAR	<u>MALPVTALLPLALLHAARP</u> QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYPFTGYS LHWVRQAPGQGLEWVGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSR RSDDTAVYYCARDHYGGNSLFYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGG GSDIQLTQSPSSISASVGDTSITCRASQDSGTWLAWYQQKPGKAPNLLMYDAST <u>LEDGVPFRSFGSASGTEFTLTVNRLQPEDSATYYCQQYNSYPLTFGGTKVDIKT</u> TTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCG VLLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRV KFSRSADAPAYKQGQNLQYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQ EGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALP PPR	733
M9 CAR	<u>MALPVTALLPLALLHAARP</u> QVQLVQSGAEVKKPGASVEVSCASGYTFTSY MHWVRQAPGQGLEWVGIIINPSSGGSTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVHMESSL RSDDTAVYYCARGGYSSSSDAFDIWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSDIQLTQSPPLSASVGDRTITCRASQDISSALAWYQQKPGTPPKLLIYDASS <u>LESGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYYCQQFSSYPLTFGGGTRLEIKTT</u> TPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGV LLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVK FSRSADAPAYKQGQNLQYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQE GLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALP PR	734
M10 CAR	<u>MALPVTALLPLALLHAARP</u> QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYGI SWVRQAPGQGLEWVGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSL SDDTAVYYCARVAGGIYYYYGMDVWGQTTITVSSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSDIVMTQTPDSLAVSLGERATISCKSSHVLYNRNKNYLAWYQQKPGQPPKL LFYWASTRKSQVDPDRFSGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYFCQQTQTFPLTFGG TRLEINTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAP LAGTCGVLLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEE GCELRVKFSRSADAPAYKQGQNLQYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDA LHMQALPPR	735
M12 CAR	<u>MALPVTALLPLALLHAARP</u> QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTGY MHWVRQAPGQGLEWVGRIINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSL RSDDTAVYYCARTTTSYAFDIWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG DIQLTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSISTWLAWYQQKPGKAPNLLIYKASTLESG VPSRFRSGSGSGTEFTLTISSLPDDFATYYCQQYNTYSPYTFGQGTKLEIKTTTPA PRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLL SLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSR SADAPAYKQGQNLQYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	736
M13 CAR	<u>MALPVTALLPLALLHAARP</u> QVQLVQSGGGLVKPGSLRLSCEASGFIFSDYYM GWIRQAPGQGLEWVSYIGRSGSSMYADSVKGRFTFSRDNAKNSLYLQMNSLR EDTAVYYCAASPVAATEDFQHWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SDIVMTQTPATLSLSPGERATLSRASQSVTSNYLAWYQQKPGQAPRLLIFGAST <u>RATGIPDRFSGSGSGTDFTLTINRLEPEDFAMYYCQQYGSAPVTFGQGTKLEIKTT</u>	737

[0662]

	TPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGV LLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPFFFFFFGGCELRVK FRRSADAPAYKQGNQQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQE GLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALP PR	
M14 CAR	MALPVTALLPLALLHAARP QVQLVQSGAEVRAPGASVKISCKASGFTFRGYYI HWWVRQAPGQGLEWVWGIINPSGGSRAYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLSR DDTAMYYCARTASCGGDCYLDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGGSGG GGSDIQMTQSPPTLSASVGDRTITCRASENVNIWLAWYQQKPGKAPKLLIYKSSS LASGVPSRFSGSGSGAEFTLTISLQPDFFATYYCQQYQSYPLTFGGGKVDIKTT TPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGV LLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPFFFFFFGGCELRVK FRRSADAPAYKQGNQQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQE GLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALP PR	738
M15 CAR	MALPVTALLPLALLHAARP QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYA MHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSGIYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSR AEDTAVYYCAKDGSSWSWGYFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGGSS SELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDALRSYYASWYQQKPGQAPMLVIYGKNNRPS GIPDRFSGSDSGDTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGYPVFGTGKVTVLTTP APRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLL LSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPFFFFFFGGCELRVKFS RSADAPAYKQGNQQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGL YNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR	739
M16 CAR	MALPVTALLPLALLHAARPE VQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYA MHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSTGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSR RAEDTALYYCAKSSSWYGGGSAFDIWGQGMVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGGSS SSELTQEPAVSVALGQTVRITCQGDLSRYYASWYQQKPGQAPVLFVIFGRSRRPS GIPDRFSGSSSGNTASLIITGAQAEDEADYYCNSRDNTANHYVFGTGKLVLTTP PAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLL LSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPFFFFFFGGCELRVKFS RSADAPAYKQGNQQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEG LYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPP R	740
M17 CAR	MALPVTALLPLALLHAARPE VQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYA MHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSTGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSR RAEDTALYYCAKSSSWYGGGSAFDIWGQGMVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGGSS SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRYYASWYQQKPGQAPVLFVIFGKNNRPS GIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRSGSSGNHYVFGTGKLVLTTP TPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGV LLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPFFFFFFGGCELRVK FRRSADAPAYKQGNQQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQE GLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALP PR	741
M18 CAR	MALPVTALLPLALLHAARP QVQLVQSGGGLVQPGSLRLSCAASGFTFSSYW MHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSTSYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSR AEDTAVYYCVRTGWVGSYYYYMDVWVGKTTVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGGSSG GGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSNYLAWYQQKPGQPPRLIYD VSTRATGIPARFSGGGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQRSNWPPWTFGQGTKV EIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAG TCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPFFFFFFGGCE LRVKFRRSADAPAYKQGNQQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNP QEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHM QUALPPR	742
M19 CAR	MALPVTALLPLALLHAARP QVQLVQSGGGVQPGSLRLSCAASGFTFSSYG MHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSR AEDTAVYYCAKGSRYYYYYMDVWVGKTTVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGGSSG GGSEIVMTQSPATLSLSPGERAILSCRASQSVYTKYLGWYQQKPGQAPRLIYDAS TRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTINRLEPEDFAVYYCQHYGGSPLITFGQGTKVDIKT TTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCG VLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPFFFFFFGGCELRV	743

[0663]

	KFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQ EGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUAL PPR	
M20 CAR	MALPVTALLPLALLHAARP QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYA MSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAKREAAAGHDWYFDLWGRGTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSDIRVTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASS LQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQSYIPLTFGGGKTKVEIKTTT PAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVL LLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKF SRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEG LYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPP R	744
M21 CAR	MALPVTALLPLALLHAARP QVQLVQSWAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSY MHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSNL RSEDTAVYYCARSPRVTTGYFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGG GSDIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSL ESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQQYSSYPLTFGGGTRLEIKTTT PAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVL LLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKF SRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEG LYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPP R	745
M22 CAR	MALPVTALLPLALLHAARP QVQLVQSGAEVRRPGASVKISCRASGDTSTRHYI HWLRQAPGQGPPEWMGVINPTTGPATGSPAYAQMLQGRVTMTRDTSTRTVYME RSLRFEDTAVYYCARSVVGRSAPYYFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISDYSAWYQQKPGKAPKLLI YAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISYLQSEDFATYYCQQYSSYPLTFGGGTK VDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLA GTCGVLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGC ELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRR KNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALH MQALPPR	746
M23 CAR	MALPVTALLPLALLHAARP QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTNYY MHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYTYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLR SEDTAVYYCARIRSCGGDCYFDNWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGG GGSDIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASENVNIWLAWYQQKPGKAPKLLIYKSSS LASGVPSRFSGSGSGAEFTLTISLQPDDEFATYYCQQYQSYPLTFGGGKTKVDIKTT TPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGV LLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVK FERSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEG LYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALP PR	747
M24 CAR	MALPVTALLPLALLHAARP QITLKESGPALVKPTQTLTCTFSGFSLSTAGVH VGWIRQPPGKALEWLALISWADDKRYRPSLRSRLDITRVTSKDQVLSMTNMQPE DTATYYCALQGFQDGYEAWGPGTLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIV MTQSPSSLSASAGDRVTITCRASRGISSALAWYQQKPGKPPKLLIYDASSLESQV SRFSGSGSGTDFLTIDSLEPEDFATYYCQQSYSTPWTFGGGKTKVDIKTTTPAPRP PTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLVITLY TLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSAD APAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNEL QKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR	748

[0664] 在一个实施方案中,结合间皮素的CAR分子包含如表17或2014年12月19日提交的国际公开号W02015/090230的表2中提供的氨基酸序列(例如,由其组成);所述文献通过引用方式并入本文。在一个实施方案中,CAR分子包含以下氨基酸序列(例如,由其组成):选自SEQ ID NO:724-748之任一者的氨基酸序列;或具有选自SEQ ID NO:724-748之任一者的氨基酸序列的至少一个、二个、三个、四个、五个、10、15、20或30个修饰(例如,置换,例如,保守性置换)但不多于60、50或40个修饰(例如,置换,例如,保守性置换)的氨基酸序列;或与选

自SEQ ID NO:724-748之任一者的氨基酸序列具有85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%同一性的氨基酸序列。

[0665] 在一个实施方案中,CAR分子包含EGFRvIII抗原结合结构域(例如,与EGFRvIII特异性结合的鼠、人或人源化抗体或抗体片段)、跨膜结构域和胞内信号传导结构域(例如,包含共刺激结构域和/或初级信号传导结构域的胞内信号传导结构域)。

[0666] 本文中描述并在表18中或W0/2014/130657的或如W02016/014789中所述的表2中提供靶向EGFRvIII的示例性CAR分子。

[0667] 表18. 示例性人源化CAR构建体。序列提供有前导序列,并且CDR加下划线。Nt代表核酸并且aa代表氨基酸

[0668]

名称	SEQ ID NO:	序列
CAR 1		
CAR 1 - 全 - nt	769	atggcctccctgtcaccgcctgtgcttccgctggctcttctgtctccacgcccctggcccagatc cagctggtgagtcgggagctgaagtaaaaagcctggcgcaaccgtcaagatctcgtgcaaaag gatcagggtcaacatcgaggactactacatccattgggtgcaacaggcaccggaaaaggcctg gagtgatggggaggattgaccagaaaaatgacgaaaccaagtacggaccgatctccaaggac gggtgaccatcacggctgacactccactaacacggctctacatggaactctcagcctctcgtcga agataccgcggtgtactactgcgctttagaggtggagtctactggggacaagggactaccgtcac cgtgtcgtcagggtggcggaggatcaggcggaggcggctccggtggaggaggaagcggaggag gtggctccgacgtggtgatgacgcagtcaccggactccttggcgggtgagcctgggtgaacgcgcca ctatcaactgcaagagctccagagctgtctggactccgatgaaagacttatctcaattggctgcaa cagaagcctggccagccgcaaaagagactcatctactggtgagcaagctggatagcggagtgc cagatcgggtttcgggatcgggctaggcaccgactcaccctgactatctcctccaagccgag gatgtggccgtctactactgtggcaggggactcactcccgggacctcgggtggaggcactaagg tgagatcaaaaactacccagcaccgaggccaccaccccggctcctaccatcgctccca gcctctgctcctgctcggaggcatgtagaccgcagctggtggggcgtgcataaccggggtctt gactcgtcgtcgatatactacattgggcccctctgctggtacttgcgggctcctgctgtcttactcgt gatcactcttactgtaagcgcgggtcggaagaagctgtgacatcttaagcaaccctcataggcc tgtgcagactactcaagaggaggacggctgtcatgccggttcccagaggaggaggaaggcggct gcaactgcgctgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctacaagcaggggcagaacc agctctacaacgaactcaatctggtcggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggagagg acgggaccagaaatgggcggaagccgcgagaaagaatcccaagaggcctgtacaac gagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcagattggtatgaaaggggaaacgcaga agaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcagcaccgccaaccaaggacacctatga cgctcttccatgcaggccctcgcctcgg
CAR 1 - 全 - aa	770	malpvtallplallhaarpeiqlvqsgaevkpkpgatvkisckgsgfniedyyihwvqqapgkglew mgridpendetkygpifggrvitadtstntvymelsslrsedtavyycafrggvwywggtvtvss ggggsgggsgggsgggsggsvdvmqtspdslavslgeratinc kssqslldsdktyln wlqq kpgqppkrlis lvsklds gvpd rfs gsgsgdftltisslqaedvavyyc wqgthfpqg fgggtkveik ttpparpptpaptiasqplsrpeacrpaaggavhtrglfacdiyiwaplgtcgvllslvitlyckrgrk klyifkqpfmrpvqtteedgcscrfeeeggcclrvkfrsadapaykqggnqlynelnlgree ydvdkrrrdpemggkprkrnpqeglynelqdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglsta tkdydalhmqalppr
CAR 2		
CAR 2 - 全 - nt	771	atggcctccctgtcaccgcctgtgcttccgctggctcttctgtctccacgcccctggcccagctg gtcatgactcaaagcccagattccttgctgtctccttgagaaagagcaacgatcaattgcaaaa gctcgcagctccctgttgactcggatggaaaaacctacctaactggctgcagcagaagccggga caaccaccaaaagcggctgattccctcgtgtccaagctggacagcggcgtgccgatcgtctcgg gcagcggctcgggaaccgatttactctactattcgtcactgcaagcggaggacgtggcgggtat tactgtggcagggcactcactcccgggtactttggtggaggatccaaagtcaaatcaagggtg gaggcgggagcggaggaggcgggtcgggaggaggaggatcgggtggcggaggctcagaaat ccagctggtgagtcaggtcggaaagtgaagaagcctggggccacgggtgaagatctcgtgcaag ggagcggattcaacatcgaggattactacatccattgggtgcaacaggcccctggcaagggct ggaatggatgggaaggatcgaccggagaatgacgagactaagtagcggccgatctccaagga cgggtgaccatcactgcagacactcaaccaacaccgtctacatggaactctcctcgtcgtcctcg aggacaccgctgtactactgtgcttccagaggaggagtactggggacaggggaacgaccgtg

[0669]

		accgtcagctcaaccactaccccagcaccgagccacccaccccggctcctaccatcgctccca gcctctgtccctgcgtccggagggcatgtagaccgcagctgggtgggcccgtgcatacccggggtctt gacttcgctgcgatactacatttggccctctgctggtacttgcggggtcctgctgctttactcgt gatcactcttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatcttaagcaaccctcatgagggc tggcagactactcaagaggaggacggcgttcatgccggttccagagggaggaagggcggct gcaactgcgctgaaattcagccgagcgcagatgctccagcctacaagcaggggcagaacc agctctacaacgaactcaatcttggcggagagaggagtacgacgtgctggacaagcgggaggg acgggaccagaatggcgggaagccgcagaaagaatcccaagagggcctgtaaac gagctccaaaggataagatggcagaagcctatagcagattggtatgaaaggggaacgcaga agaggcaaaggccaagcggactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacatgta cgctctcaatgcaggccctgccgctcgg
CAR 2 - 全 - aa	772	malpvtallplalllhaarpdvmtqspdslavslgeratinc kssqslldsdktyln wlqqkpgg ppkrlis lvsklds gvpdrfsgsgsgtdftitisslqaedvavyyc wqgthfpgt fgggktveikggg gsgggsgggsggggseiqlvqsgaevkkpgatvkisckgsfnied dyvih wvqapgkgle wm gridpendetkyqpfqgr vtitadtstntvymelsslrstedavyyc frggv wgqgtvtv ssttpprptpaptiasqplsrpeacrpaaggavhtrglfacdiyiwaplagtcgvllslvitlyckr grklliyfkpfrmpvqtqeedgcscrfeeeggcelrvkfsrsadapaykqgnqlynelnlgrr eeydvidkrrgrdpemggkprknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqgl statkdydalhmqalppr
CAR 3		
CAR 3 - 全 - nt	773	atggccctccctgtcaccgcccctgctgcttccgctggctcttctgctccaagcgcctcggcccgaatc cagctgggtgcaaagcggagccgaggtgaagaagccgggagaatccctgcgcatcctgtgtaagg gtccggctttaacatcgaggattactacatccactgggtgagacagatgccgggcaaaaggtcgtga atggatgggcccgcacccggagaaacgacgaaacaaatacggaccaatcttcaaggacat gtgactattccgggatacctcacaactgtctactgacgtggagctcgtcaaggcgtcggat accgcatgtactactgcgcattcagaggagggtgtactggggccagggcactacggctcaccgtg cctcgggaggtggagggtcaggagggcggagctcgggcccgtggaggatcaggcggaggagga agcgtggtcatgactcaatccccactgtcactgcctgtcactcgggcaaccggcttccatctca tgcaagtcaagccaatcgtgctcgcactccgacggaacaaacctacccaattggctcagcagcgc ccaggccagtcgctcggaggctgactcactcgtgcaagcttgactccggggtgcccggatcggg ttagcggaaagcggatcggggaccgacttcacgtgaagattagcgggtggaagccgaggaagcgtg ggagcttactactgctggcaggggaccacttccggggacttccggaggaccacaaagtcga gattaagaccactaccccagcaccgagccacccaccccggctcctaccatcgcctcccagcctc gtccctgcgtccggagggatgtagaccgcagctgggtgggcccgtgcatacccggggtctgacttc gcctgcgatactacatttggccctctgctggtacttgcggggtcctgctgctttactcgtgatcac tcttactgtaagcggctcggaaagaagctgctgtacatcttaagcaaccctcatgagccctgtgca gactactcaagaggaggacggcttcatgcccgttcccagaggaggaggaaggcggctcggaa ctgcgctgaaattcagcccagcgcagatgctccagcctacaagcaggggcagaaccagctc acaacgaactcaatcttggcggagagaggagtaagcagctgctggacaagcgggagaggacggg accagaaatgggcccgggaagccgcgcaaaagaatcccaagagcctgtacaacgagctc caaaaggataagatggcagaagcctatagcagattggtatgaaaggggaacgcagaaagggc aaaggccagcagcgtgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacatgacgctctc acatgcaggccctgccgctcgg
CAR 3 - 全 - aa	774	malpvtallplalllhaarpeiqlvqsgaevkkpgeslriscckgsfnied dyvih wvrmpgkglew m gridpendetkyqpfqgr hvtisadtsintvylqwsllkasdtamyyc frggv wgqgtvtv ssggggsgggsgggsgggsgdsvmtqspslpvtlqgpasisc kssqslldsdktyln wlq qrpqgsprrlis lvsklds gvpdrfsgsgsgtdftikisrveaedvavyyc wqgthfpgt fgggktvei kttpprptpaptiasqplsrpeacrpaaggavhtrglfacdiyiwaplagtcgvllslvitlyckrgr klliyfkpfrmpvqtqeedgcscrfeeeggcelrvkfsrsadapaykqgnqlynelnlgrr eeydvidkrrgrdpemggkprknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglst atkdydalhmqalppr
CAR 4		
CAR 4 - 全 - nt	775	atggccctccctgtcaccgcccctgctgcttccgctggctcttctgctccaagcgcctcggcccagcgc gtcatgaccaatcccctctcctcctcgggtcacctgggtcagccggcgtcgtatctcatgcaaaa gtcacagctccctgctggtcggacgggaaaaacactactgaactggtcctcaacagaggcggggtc agtcccctcgcagactgactcgtggtgagcaagctcgcactcgggtgctcggatcgggttctcgg gtcaggatcgggaccgacttaccgtcaagattcagaggtggaggccgaggatgtgggagtgta ctattgctggcagggcagcatttccccggaccttggaggcgggactaagggtgaaatcaaggg agggtggcagatcaggcggaggaggcagcggcggagggtggatcaggagcgggaggggtcagag atccagctgtccaaagcggagcagagggtgaagaagccagggcagctcctcgcatttctgcaaa agggagcggctcaacattgaagattactacatccactgggtcgggcaaatccaggaaagggctc

[0670]

		ggaatggatgggacggatcgaccagaaaatgatgaaactaagtacggaccgatctccaagga cacgtcactatctccgcggacactctgatcaacaaccgtgacactcagtgaggagcgttgaagcct ccgacaccgctatgtactactgtcctccgcggaggagtactctggggacaggggactactgtgac cgtgtcgtccaccactaccagcaccgaggccaccaccggctctaccatcgctcccagc ctctgtccctgcgtccggagcatgtagaccgcagctggtgggcccgtgcataccggggtcttga ctcgcctgcgatctacattggccccctggtgctgactctggggcctgctcttctactctgat cactcttactgtaagcgcggctggaagaagctgctgtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgt gcagactactcaagaggaggacggctgtcatcggttccagaggaggaggaggaggcggctgc gaactgcgctgaaatcagccgcagcgcagatgctccagcctacaagcaggggagaaaccag ctctacaacgaactcaatctggtcggagagaggagtagcagctgctggacaagcggagaggac gggaccagaaatggcgggaagccgcagaaaatcccaagaggcctgtacaacga gctcaaaaaggataagatggcagaagcctatagcagattggtatgaaaggggaacgcagaag aggcaaggccacgagcgtgtaccagggactcagaccgccaccaaggacacatgatgc ctctcactgcaggccctgcccctcgg
CAR 4 – 全 - aa	776	malpvtallplalllhaarpdvmtqspislpvtlqgpasisckssqslldsdgktylnwlqrrpgqs prrlislvskldsgvpdfsrgsgtdftlkisrveaedvgvyycwqgthfpgtfgggtkveikggg sgggsgggsggggseiqlvqsgaevkkpgeslrisckgsgfniedyyihwvrmpgkglew mgridpendetkygpifqghvtisadtsintvylqwsllkasdtamycafrggyvwggtvtv ssttpprptpaptiasqplsrpeacrpaaggavhtrglfacdiyiwaplactgvlislvitlyckr grklyifkqpfmrpvqtteedgscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgnqlynelnlgrr eydvidkrrrdpemggkprknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrkghdglyqgl statkdydalhmqaalppr
CAR 5		
CAR 5 – 全 - nt	777	atggccctccctgtcaccgccctgctgctccgctggctctctgctccaacgcgctcggcccgaatc cagctcgtgcagagcggagccgaggtcaagaaaccgggtgctaccgtgaagattcatgaagg gatcgggctcaacatcgaggattactacatccactgggtgcagcaggcaccaggaaaaggactt gaatggatggcgggatcgaccggaaaatgacgagactaagtagcgcctatctccaaggac gggtgacgatcaccgcagacactagcaccacaccgctctatggaactctcgtccctgaggtccg aagatactcggctgactactgtgcttccggagggtgtactggggacaggggtaccaccgtcac cgtgtcatcggcgggtggaggtcgggtggaggagggtcaggaggcgggtgaagcggaggagg cggcagcagctggtcatgactcaatcgccgctgctgctgcccgtcactgggacaaccgcgctc catcagctgcaaatcctcgcagctactgcttactcogatggaaagactcactcaactgctgcag caacgccagggccaatcccaagacgcctgatctcgttgggtgcaaaagctggactcaggggtgcc ggaccggtctccgggagcgggtcggcacggattcactctcaagatctccagagtgaagccga ggatgtgggagtctactactgctgagggaaaccattccctggacttttggcggaggactaag gtcgagattaaaaccactaccagcaccgaggccaaccaccggctcctacatcgctccca gcctctgctccctgctcggaggcatgtagaccgcagctggtggggccgtgcataccggggctt gactcgcctgcatctacattggccccctggtgacttgcggggtctgctgcttactcgt gatcactcttactgtaagcgcggctcgaagaagctgctgtacatcttaagcaaccctcatgaggcc tgtcagactactcaagaggaggacggcgttcatgccggttccagaggaggaggaagcggct gcaactgcgctgaaatcagccgcagcgcagatgctccagcctaagcaggggagcagaacc agctctacaacgaactcaatctggtcggagagaggagtagcagctgctggacaagcggagagg acgggaccagaaatggcgggaagccgcagaaagaatcccaagaggcctgtacaac gagctcaaaaaggataagatggcagaagcctatagcagattggtatgaaaggggaacgcaga agaggcaaggccaacgagcactgtaccagggactcagaccgccaccaaggacacatgta cgctctcactgcaggccctgcccctcgg
CAR 5 – 全 - aa	778	malpvtallplalllhaarpeiqvsgaevkkpgatvkisckgsgfniedyyihwvqapqkglew mgridpendetkygpifqgrvtitadtsntvymelssrsedtavyycafrggyvwggtvtvss ggggsgggsgggsgggsgdvmmtqspislpvtlqgpasisckssqslldsdgktylnwlqrr pgqsprrlislvskldsgvpdfsrgsgtdftlkisrveaedvgvyycwqgthfpgtfgggtkveikt tpprptpaptiasqplsrpeacrpaaggavhtrglfacdiyiwaplactgvlislvitlyckrgrk kilyifkqpfmrpvqtteedgscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgnqlynelnlgrr ydvldkrrrdpemggkprknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrkghdglyqglsta tkdydalhmqaalppr
CAR 6		
CAR 6 – 全 - nt	779	atggccctccctgtcaccgccctgctgctccgctggctctctgctccaacgcgctcggcccagatt cagctcgtgcaatcgggagcggagtaagaagccaggagagctcctgctcggatctcatgaagg gtagcggcttaacatcgaggattactacatccactgggtgaggcagctcgggggaagggactcg aatggatgggacggatcgaccagaaaacgacgaaactaagtagcggctcctccaaggcca tgtactattagcgcgatactcaatcaataaccgtgtatctgcaatggtcctcatgaaagcctcagat accgcgatgtactactgtcttccagaggagggtctactggggacagggaaactaccgtgactgtct

[0671]

		cgtcggcgaggcggtcaggaggtggcggcagcggaggagggtccggcgagggtg gtccgacgtcgtgatgaccagagccctgacagcctggcagtgagcctggcgaaagagctacc attaactgcaaatcgtcgagagcctgctggactcggacggaaaaacgtacctcaattggctcag caaaagcctggccagccaccgaagcgcttatctactggtgctgaagctggattcgggagtgccc gatcgcttccggctcgggactcgggtactgactcaccctactatctcctcgctcaagcagaggac gtggccgtctactactgctggcagggaaccacttccgggaacctcggcgaggggacgaaagt gagatcaagaccactaccagcaccgagggccaccaccggctcctaccatcgctcccagc ctctgctcctgctcggaggcatgtagaccgcagctggtgggctgcataccggggtcttga cttcgctcgtgatactacattggccccctcctggctgactgctgggctcctgctgcttctactcgtgat cactcttactgtaagcggctcggagaagctgctgtacatcttaagcaaccttcatgaggcctgt gcagactactcaagaggaggacggctgttcatgcccgggtccagaggaggaggaggcggtc gaactgcgctgaaattcagccgcagcagatgctccagcctacaagcaggggcagaaccag ctctacaagaaactcaatctggtcggagagaggagtagcagctgctgacaagcggagaggac gggaccagaaaatggcggggaagccgcgagaaaagaatccccaagggcctgttacaacga gctcaaaaaggataagatggcagaagcctatagcgagattggtatgaaaggggaaacgcagaag aggcaaaaggccacgagcggactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacg ctctcatgacaggccctgcccctcgg
CAR6 – 全 – aa	780	malpvtallplallhaarpeiqlvqsgaevkkpgeslrisccksgfniedyvihwvrqmpgkglew mgridpendetkyqpfqghvtisadtsintvylqwsslkasdtamyycfrggyvwgqgtvtv ssggggsgggsgggsgggsvdvmqtspdslavslgeratinckssqslldsdgktylnwl qqkpgppkrlislvskldsgvprdfsgsgtdftitisslqaedvavyycwqgthfpgtfgggtkv eikttpprptpaptiasqplsrpeacrpaaggavhtrglfdacdiywaplagtcgvllslvityck grkkllyifkqpfmrpvqtteedgcscrfeeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgnqlynelnlgrr eeydvlkrrrdpemggkprknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqgl statkdydalhmqalppr
CAR 7		
CAR 7 全 - nt	781	atggccctccctgtcaccgccctgctgctccgctggctcttctgctccacgcccctcggcccagctg gtgatgactcagtcgctgactcgtgctgctgctccctggagagcggccactatcaattgcaagtc atcccagtcgctgctgattccgacgggaaaacctactcaattggctgcagcaaaaaccgggac agcctcaaaagcggctcatcagcctggtgccaagtggacagcggcgtgcccagaccgcttctccg gttcgggaagcggctactgattcagcctgacctctcatccctcaagcggagatggtggcagctac tactgtggcaggcacgcatttccgggcactttggaggaggaccagggtgaaatcaagggga ggagggtgctcggcggaggaggctcgggaggaggaggatcaggaggcgggtggaagcagat tcaactgtccagagcggcgcagaagtcaagaagccgggtgaatcgtcagaatctcgtgcaaa ggatcgggattcaacatcgaggactactacattcactgggtcagacaaatcggggcaaaagggt ggaatggatggggaggatcgacccgaaaacgatgaaaccaagtacggaccaatctccaagg gcacgtgaccatttcggcggacacctaatacaactgtgtacctccagtgagctcactaaggcc agcgataccgcatgatactatgcttccgggagggtgactggggacagggcactactgtga cctctgctcctgctcggaggcatgtagaccgcagctggtgggcccgtgcatacccggggtcttg acttcgctcgtgatactacattggccccctcctggctggtactgctgggctcctgctgcttctcgtg atcactcttactgtaagcggctcggagaagctgctgtacatcttaagcaaccttcatgaggcct gtcagactactcaagaggaggacggcttcatgcccgttcccagaggaggaggaaaggcggct gcaactgcgctgaaattcagccgcagcagatgctccagcctacaagcaggggcagaacc agctctacaacgaactcaatctggtcggagagaggagtagcagctgctggacaagcggagagg acgggaccagaatggcggggaagccgcgagaaagaatccccaagagggctgtaaac gagctcaaaaaggataagatggcagaagcctatagcgagattggtatgaaaggggaacgcaga agaggcaaaaggccacgacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatga cgctctcatgacaggccctgcccctcgg
CAR 7 全 - aa	782	malpvtallplallhaarpdvmtqspdslavslgeratinckssqslldsdgktylnwlqqkpgq ppkrlislvskldsgvprdfsgsgtdftitisslqaedvavyycwqgthfpgtfgggtkveikggg gsgggsgggsggggseiqlvqsgaevkkpgeslrisccksgfniedyvihwvrqmpgkgle wmgridpendetkyqpfqghvtisadtsintvylqwsslkasdtamyycfrggyvwgqgtvt vssttpprptpaptiasqplsrpeacrpaaggavhtrglfdacdiywaplagtcgvllslvityck rgrkkllyifkqpfmrpvqtteedgcscrfeeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgnqlynelnlgrr reeydvldkrrrdpemggkprknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqgl statkdydalhmqalppr
CAR 8		
CAR 8 – 全 - nt	783	atggccctccctgtcaccgccctgctgctccgctggctcttctgctccacgcccctcggcccagctg gtcatgacgcagtcaccactgctcctcccgtgaccttggacagccagcgtcgattagctgcaagt catcccaatccctgctcgtgattcggatggaagacctatctcaactggctgcagcaaaagaccggctc

[0672]

		agagccctaggagactcatctcgttggtgcaaaactggacagcggagtgccggaccggtttccg gttcgggatcggggacggactcactctgaagattcacgggtggaagctgaggtatggtggagtgta ctactgctggcagggaaaccattccctggcacttttgccggaggaaactaaggtcgaaatcaaggg aggaggtggctcgggaggagcggatcgggaggaggcgggagcgggagggaggggtccgaa atccaactgtccagtcaggagccgaagtgaagaaaccgggagccaccgtcaaaatcagctgta agggatcgggattcaatcagaggactactacatccactgggtgagcaagctccgggcaaagga ctggagtggatggggcgcatcgaccagagaacgacgaaaccaatacggcccgatctccaag ggcgggtgaccatcaccgaggacactcaactaactggtgacatggagctgagctcctcgct ccgaagatactgagctactactgcccctccggtggtgtagctggggacagggcaccactgt gactgtcagctcgaccactaccagcaccgaggccaccaccggctcctaccatcgctccc agcctctgctcctgctcggaggtatgtagaccgagctggtggggcgtgcataccgggggtc ttgactcgcctcgcgatatctacattgggcccctctggctgtagctgcccggctcctgctgttactc tgatcactttactgtaagcggctcggagaagctgctgtacatcttaagcaaccctcatgaggc ctgtgcagactactaagaggaggacggctgtcagcgggtcccagaggaggaggaagcgg ctgcgaactcgcgctgaaatcagccgagcgcagatgctccagcctacaagcaggggagagaac cagctctacaacgaactcaatctggtcggagagaggagtagcagctgctggacaagcggagag gacgggaccagaaatgggcccgaagccgagcagaagaatcccaagagggcctgtacaa cgagctcaaaaaggataagatggcagaagcctatagcgagattggtatgaaaggggaaacgag aagaggcaaaggccagcagcagctgtaccagggactcagcaccgccaagagacacatg acgctctcacatgcaggccctgcgcctcgg
CAR 8 – 全 - aa	784	malpvtallplalllhaarpdvmtqspislpvtlqqpasisc kssqslldsdktyln lwlqrrpgqs prrlis lvsklds gvpdfrfsgsgtdftlrisrveaedvgvyyc wqgthfpgt fgggtkveikgggg sgggsgggsgggshmdvmtqspislvaisqgsasis kssqslldsdktyln lwlqrrpgqspkrl m gridpendetkypifqgr vtitadtstntvymelsslrsedtavyyca frggyv wgpgttlvss ttpprptpaptiasqplsrpeacrpaaggavhtrglfacdiyiwaplagtcgvllslvitlyckrgrk klyifkqpfmrpvqttqeedgcsrfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgnqlynelnlgrrree ydvldkrrrdpemggkprknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglsta tkdydalhmqalppr
CAR 9 Mouse anti-EGFRVIII clone 3C10		
CAR 9 – 全 - nt	785	atggccctccctgtcaccgcctgctgcttccgctgctcctctgctccacgcccgtcggcccagagatc cagctccaacagagcggagcgaactggtcaaaccgggagcgtcgggtaagttgcatgactg gatcgggctcaacatcgagattactacatccactgggtcaagcaacgaccgagcaggggctg gaatggatcggacggatcgacccccgaaaacgatgaaaccaagtagcgggctatctccaaggac gggccaccattacggctgacacgtcaagcaataccgtctacctcagctttccagcctgacctccga ggacactgcccgtgactactgcccctcagaggaggcgtgactggggaccaggaaccactttgac cgtgtccagcggagggcgtggtatcaggaggaggaggcaggcgggtgcccgtcgcacatgga cgtggtcatgactcagctcccctgacccctgctggtgcaattggacagagcgcacatctcgtgc aagagctcagctgctggtgattccgacggaagacttatctgaactggtcgtcctcaagacca gggcaatcaccgaaacgccttatcctcctggtgctgaaactcgaactcgggtggtcgggatcggttac cggtagcgggtcggcagcggactcactctccgattcaggggtggaagcggaggtatcctgggat ctactactgtggcagggaaaccactccctgggacttttgaggcggaaactaagctgaaatcaag accactaccagcaccgagggccaccccccggctcctaccatgcctccagcctctgctcctg cgtccggaggcatgtagaccgcagctggtggggcgtgcataccggggcttgactcgcctgc gatatctacattgggcccctctggtgtagtctgcccggctcctgctgttactcctgctgactcttact gtaagcgggtcgaagaagctgctgtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgagactac tcaagaggaggacggctgtcatgcccgttccagaggaggaggaaggcggctgcaactgccc gtgaaatcagccgacgcagatgctccagcctacaagcaggggagagaaccagctctacaacg aactcaatctggtcggagagaggatcagcagctgctggaacagcggagaggacgggaccag aaatggcgggagaccgagcagaagaatcccaagaggcctgtacaacgagctccaaaag gataagatggcagaagcctatagcagattggtatgaaaggggaaacgagaagaggcaaagggc cacgacggactgtaccagggactcagcaccgccaagacacatgacgctctcacatgca ggccctgcgcctcgg
CAR 9 – 全 - aa	786	malpvtallplalllhaarpeiqqsgaelvkpgasvklscctgsgfnied dyvih wwkqrteqglewig ridpendetkypifqgr atitadtsntvylqslsstedtavyyca frggyv wgpgttlvssgggg sgggsgggsgggshmdvmtqspislvaisqgsasis kssqslldsdktyln lwlqrrpgqspkrl slvsklds gvpdfrfsgsgtdftlrisrveaedlgiyyc wqgthfpgt fgggtkleiktpprptpa ptiasqplsrpeacrpaaggavhtrglfacdiyiwaplagtcgvllslvitlyckrgrklyifkqpfmr pvqttqeedgcsrfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgnqlynelnlgrrreeydvldkrrrd pemggkprknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdydalhm qalppr
CAR10 Anti-EGFRVIII clone 139		

[0673]

<p>CAR 10 全 - nt</p>	<p>787</p>	<p>atggccctccctgtcaccgccctgctctccgctggctcttctgctccaagccgctcggcccataatcc aaatgactcagagcccttcatccctgagcgcagcgtcggagacagggtgaccatcacgtgccgg gcatccaaggcattagaaataactggcgtggtatcagcaaaaaccaggaaaggccccgaagc gctgatctacgcgccctcaacctcagtcaggagtgccctcgcgttcaccgggagcggtagcg gaactgagttacccttctcgtgctcctgcagccagaggactcgcgacctactgctccagc atcactcgtaccctgtgactcgggaggcgaaccaaggtcgaatcaaacgcactggctcgactg cagggctccgtaaacgggatcgggagaaggatcgaagtcgaagtctggagagcggaggc ggactcgtgcaacctggcgggtcgtcggctcagctgtgccgctcgggtttactttcagctcgtac gctatgcatgggtgcggcaggctccgggaaagggctggaatgggtgctcgtattccggctcgg gtggaagcacaattacgcccactcgtgaaggagcgttcaccatctcacgggataactccaag aatactctgtacctccagatgaactcgtgagagccgaggacaccgcagtgactactcgcaggg tcaagcggctgttccgaatactggggacagggcaccctcgtcactgtcagctccaccactaccca gcaccgaggccaccaccccgctctaccatcgctccagcctcgtcctcgtcctcgtcggaggca ttagaccgcagctgtggtggcgctgcataccggggtcttgactcgcctcgtcgtatctacattgg gcccctcgtggtacttgcgggctcgtcgtcttactcgtgatcactcttactgtaagcgcggtcg gaagaagctcgtgtacatcttaagcaacctcatgaggcctgtgcagactactcaagaggagga cggctgtcatcgggtccagaggaggaggaaggcggctcgaactcgcgtgaaattcagcc gcagcgcagatgtccagcctacaagcaggggcagaaccagctcacaacgaactcaatctggt cggagagaggagtagcagctgtggacaagcggagaggacgggaccagaatggcgggga agccgcgcagaagaatcccaagaggcctgtacaacgagctcaaaaaggataagatggca gaagcctatagcagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaggccacgcagcgact gtaccaggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcatgacaggcctgcccgc ctcgg</p>
<p>CAR 10 全 - aa</p>	<p>788</p>	<p>malpvtallplallhaarpdimqtspsslsasvgrvritcrasqgirnlnlawyqqkpgkapkriya asnlqsgvpsrftgsgstefliivsslqpedfatyyclqhhsypltsgggtkveikrtgstsgskpgsg egsevqvlesggglvqpqgsrlscaasgftssyamswvrqapkgglewvsaisgsggstnyad svkgrftisrdnsntlylqmnsiraedtavyycagssgwseywqgtlvtssttpaprrptpapti asqplsrpeacrpaaggavhtrglfdacdiyiwaplagtcgvllsvitlyckrgrklliyifkqpfmrpv qttqeedgcsrpfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgnqlynelnlgreeydvldkrrgrdpe mggkprkrnpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdydalhmqal ppr</p>

[0674] 在一个实施方案中,结合EGFR_{vIII}的CAR分子包含如表18中提供的氨基酸序列(例如,由其组成)。在一个实施方案中,结合EGFR_{vIII}的CAR包含以下氨基酸序列(例如,由其组成):选自SEQ ID NO:770、772、774、776、778、780、782、784、786、788之任一者的氨基酸序列;或具有选自SEQ ID NO:770、772、774、776、778、780、782、784、786、788之任一者的氨基酸序列的至少一个、二个、三个、四个、五个、10、15、20或30个修饰(例如,置换,例如,保守性置换)但不多于60、50或40个修饰(例如,置换,例如,保守性置换)的氨基酸序列;或与选自SEQ ID NO:770、772、774、776、778、780、782、784、786、788之任一者的氨基酸序列具有85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%同一性的氨基酸序列。

[0675] 在一个实施方案中,CAR分子包含CD123抗原结合结构域(例如,与CD123特异性结合的鼠、人或人源化抗体或抗体片段)、跨膜结构域和胞内信号传导结构域(例如,包含共刺激结构域和/或初级信号传导结构域的胞内信号传导结构域)。靶向CD123的示例性CAR分子包括在表19中提供的那些和在W02016/028896的表2、表6和表9中提供的那些。W0/2014/130635(例如,W0/2014/130635的表1)中描述了靶向CD123的其他示例性CAR分子。W0/2014/144622中描述了靶向CD123的其他示例性CAR分子。

[0676] 在一个实施方案中,结合CD123的CAR分子包含如表19中提供的氨基酸序列(例如,由其组成)。在一个实施方案中,结合CD123的CAR包含以下氨基酸序列(例如,由其组成):选自SEQ ID NO:750、755、760、765之任一者的氨基酸序列;或具有选自SEQ ID NO:750、755、760、765之任一者的氨基酸序列的至少一个、二个、三个、四个、五个、10、15、20或30个修饰(例如,置换,例如,保守性置换)但不多于60、50或40个修饰(例如,置换,例如,保守性置换)

的氨基酸序列;或与选自SEQ ID NO:750、755、760、765之任一者的氨基酸序列具有85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%同一性的氨基酸序列。

[0677] 表19. 示例性CAR序列

[0678]

名称	SEQ ID	序列
CAR123-2 NT	749	atggccctccctgacaccgacctgctctccgctggctctctgctccacgcccgtcggcccccaagtcaaa ctcgtccaagcgggagcggaaagcaagaaaccggagcagcgtgaaagtgtcctgcaaaagcctccg gctacacctttacgggctactacatgactgggtgcgacaggcaccaggacagggtctgaatggatggg atggatcaaccctaattcgggcggaactaactacgcacagaagtccaggggagagtgactctgactcg ggatacctccatctcaactgtctacatggaactctcccgttgccggtcagatgatacggcagtgactactg cgccccgcagatgaatacctggctaccgtccgttcgacatctggggacaggggactatggttactgtct catcgggctggaggtcaggaggcggctcgggagggcggaggttcggacattcagatgaccca gtccccatcctctgctcgccagcgtcgagatagggtagcattacctgctgggctcgaagcatct cctcgtacctcaactggtatcagcaaaagccgggaaaggccctaagctgctgatctacgcccctcga gcttgcaaaagcggggtccatccagattctcgggatcaggctcaggaaccgactccacctgacctga acagcctccagccggaggactttgccactactactgacagcaggagactccgtgcccgtactttcggg gggggtaccgcctggagatcaagaccactaccagaccgagggccaccaccgccggctcctacca tcgctccagcctctgctccctgctccggaggcatgtagaccgcagctggggggcctgcataccg gggtcttgacttcgctgcatatctacattgggccctctgctggtacttgccgggtctctgctgttactc gtgatcactcttactgtaagcgcggtcgaagaagctgctgtacatcttaagcaaccctcatgaggcctg tcagactactcaagaggaggcagcgtgtcatgcccagaggaggaggaaggcggctgcga actgcgctgaaattcagccgacgcgagatgctccagcctacaagcaggggcagaaccagctctac aacgaactcaatcttgctcggagagaggactgacgctgctggacaagcggagaggacgggaccca gaaatggcgggaagccgcgagaaagaatcccaagaggcctgtacaacgactccaaaagga taagatggcagaagcctatagcagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaagccacga cggactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcatgacggccctgc cgctcgg
CAR123-2 AA	750	malpvtallplallhaarqvqlvqsgaevkkpgasvkvskasgytftgyymhwvrqapggglewm gwinpnsngtnyaqkfqrvtltrdtsistvymelsrlrsddtavyycardmnilatvpfdiwgggtmvtvss ggggsgggsggggsdiqmtqspsslsasvgrvritcrasqsissylnwyyqkpgkapklliyaasslq sgvpsrfsrgsgsgtdftitvnsllqpedfatyyccqgdsvpltfgggtrleikttpprppptaptiasqplsrp eacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvllslvitlyckrgrklliyifkqpfmrpvqtteedgcscr peeeeggcelrvkfsrsadapaykqgnqlynelnlgreeydvldkrrrdpemmkkprknpqegly nelqdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalppr
CAR123-2 scFv	751	malpvtallplallhaarqvqlvqsgaevkkpgasvkvskasgytftgyymhwvrqapggglewm gwinpnsngtnyaqkfqrvtltrdtsistvymelsrlrsddtavyycardmnilatvpfdiwgggtmvtvss ggggsgggsggggsdiqmtqspsslsasvgrvritcrasqsissylnwyyqkpgkapklliyaasslq sgvpsrfsrgsgsgtdftitvnsllqpedfatyyccqgdsvpltfgggtrleik
CAR123-2 VH	752	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTGYMHWVRQAPGGGLEWM GWINPNSGGTNYAQKFQGRVTLTRDTSISTVYMELSRRLSDDTAVYYCAR DMNILATVPFDIWGGGTMVTVSS
CAR123-2 VL	753	DIQMTQSPSSLSASVGRVITCRASQSISYLNWYQQKPKAPKLLIYAA SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTVNSLQPEDFATYYCQQGDSVPLTFGG GTRLEIK
CAR123-3 NT	754	atggccctccctgacaccgacctgctctccgctggctctctgctccacgcccgtcggcccccaagtcaaa ctcgttcaatccggcgcagaagtcaagaagcaggagcatcagtgaaagtgtcctgcaaaagcctcagg ctacatcttcacgggatactacatcactgggtgcgacaggctccgggaccaggccttgatggatggc tgatcaaccctaactctggggaaccaactacgctcagaagtccaggggaggggtcactatgactcgc gatacctccatctccaactgctacatggaactctcgggactgagatccgacgatcctgcccgtgactactgc gccccggacatgaacatctggcgaccgtccgtttgacatttggggacagggcaccctctactgtctc gagcgggtggaggaggtcggggggtgcccagatcaggagggggaggaagcagatccagctgactc agagcccactcgtctgtcgcgctcgggtggggatagagtgaccattactgcccgcagccagagcat ctcatcatatctgaattgtaccagcagaagccgggaaaggccccaaaactgctgatctacgctgcaag cagcctcaatcgggagtgccgtcacggttctccgggtccgggtcgggaactgactttaccctgaccgtga attcgtgcaaccggaggatctgccactactctcagcaaggagactccgtgccgctgacctcggg ggaggccaaggtcgaatcaagaccactaccagcaccgagggccaccaccgccggctcctacc atcgctccagcctctgctccctgctcgggagcagtagaccgcagctggtggggcctgcatacc ggggtctgacttcgctgcgatatctacatttggcccctctggctggtactgctggggtcctgctcttca ctgctgactcttactgtaagcgcggtcgaagaagctgctgtacatctttaaagcaaccctcatgaggcc

[0679]

		tgtgcagactactcaagaggagacggctgtcatgccggtccagaggaggaggaaggcgctcgcg aactgcgcgtgaaatcagccgcagcgcagatgtccagcctacaagcaggggcagaaccagctcta caacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggagagacgggacc agaaatgggcggaagccgcagaaagaatcccaagaggcctgtacaacagactccaaaagg ataagatggcagaagcctatagcagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaggccacg acggactgtaccagggactcagaccgccaccaaggacacctatgacgctctcacatgcaggccctg ccgctcgg
CAR123-3 AA	755	malpvtalllplalllhaarpqvqlvqsgaevkkgasvkvscasgyiftgyihwvrqapggglewmg winpnsngttnyaqkfqrvtmtrdtsistaymelsglrddpavyycardmnilatvpfdiwgggtlvvss ggggsgggsgggsgdiqltqspsslsasvgrvritcrasqsissylnwyyqkpgkapklliyaasslqs gvpsrfsrgsgsgtdftltvnsiqpedfatyycqgdsvglftgggtkveikttpprptpaptiasqplsrlr eacrpaaggavhtrglfacdiyiwaplagtcgvllslvitlyckrgrklllyfkkpfrmpvqttqeedgcscr peeeeggcelrvkfsrsadapaykqgnqlynelnlgreeydvldkrrgrdpemggkprkrnpqegly nelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalppr
CAR123-3 scFv	756	malpvtalllplalllhaarpqvqlvqsgaevkkgasvkvscasgyiftgyihwvrqapggglewmg winpnsngttnyaqkfqrvtmtrdtsistaymelsglrddpavyycardmnilatvpfdiwgggtlvvss ggggsgggsgggsgdiqltqspsslsasvgrvritcrasqsissylnwyyqkpgkapklliyaasslqs gvpsrfsrgsgsgtdftltvnsiqpedfatyycqgdsvglftgggtkveik
CAR123-3 VH	757	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYIFTGYIHWVRQAPGQGLEWMG WINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSLRSDDPVAVYYCARD MNILATVPFDIWGQGLTVTVSS
CAR123-3 VL	758	DIQLTQSPSSLSASVGRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAAS SLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTVNSLQPEDFATYYCQQGDSVPLTFGGGT KVEIK
CAR123-4 NT	759	atggccctccctgtcaccgctgctcctccgctgctctctgctccacgccgctcggcccccaagtccaa ctccaacagtcaggcgcagaagtgaagagcgggtcatcggtgaaagtgtcatgcaaagcctcgg gctacacctcactgactactatgactgctgctcggcaggcaccgggacagggacttgatggtatggg atggatcaaccgcaattcaggggacactaacgcgcagaagtccaggggagagtgaccctgacg agggacacctcaattcagaccgtctacatggaattgtcgcgctgagatcggacgatactgctgtactac tgtcccgcgacatgaacatcctcgcgactgtgctttgatactggggacaggggactatgctaccggtt cctccgctcgggtgcgaggctcgggagggcgggctcgggtggaggaggcagcgacatccagat gactcagagccctcctcctgctgagcgcctcagtgggagatcgcgctgaccatcactgcccgggcca gtccattcgtcctacctcaattgtaccagcagaagccgggaaaggcgcccaagctctgactacgctg cgagctccctgcaaagcggggtcggagccgattctcgggtccggctcgggaaccgactcactctgac catctatccctgcaaccagaggactttgccactactgccaacaaggagattctgcccactgacggt cggcggaggaaaccaaggtcgaatcaagaccactaccagcaccgagggccaccaccccggtcc taccatcgctcccagcctctgctcctcgtcggaggcatgtagaccgagctggtggggccggtgcat accgggggtctgactcgcctgcatatctacattgggcccctcgtggtgacttgcggggtcctgctgctt tactcgtgactcactcttactgtaagcgcggtcggagaagaagctgctgtacatcttaagcaaccctcatga ggcctgtgcagactactcaagaggaggacggcgttcatgcccgggtccagaggaggaggaaggcgg ctgcgaactgcgctgaaattcagcgcagcagatgctccagcctacaagcggggcagaaccag cttacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggagaggacggg accgaaatgggcggaagcgcgcagaaagaatcccaagaggcctgtacaacgactccaa aaggataagatggcagaagcctatagcagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaagg ccacgacggactgtaccagggactcagaccgccaccaaggacacctatgacgctctcacatgcagg cctgcccctcgg
CAR123-4 AA	760	malpvtalllplalllhaarpqvqlqsgaevkksagasvkvscasgyftdyymhwlrqapggglewmg winpnsdntnyaqkfqrvtlrdtsistvymelsrlrddpavyycardmnilatvpfdiwgggtmvtvssa sgggsggrasgggsgdiqltqspsslsasvgrvritcrasqsissylnwyyqkpgkapklliyaassl qsgvpsrfsrgsgsgtdftltvnsiqpedfatyycqgdsvglftgggtkveikttpprptpaptiasqplsrlr peacrpaaggavhtrglfacdiyiwaplagtcgvllslvitlyck
CAR123-4 scFv	761	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQQSGAEVKKSGASVKVSKASGYTFT DYVMHWLRQAPGQGLEWMGWINPNSGDTNYAQKFQGRVTLTRDTSISTV YMELSLRSDDTAVVYYCARDMNILATVPFDIWGQGMVTVSSASGGGGS GGRASGGGSDIQMTQSPSSLSASVGRVITITCRASQSISSYLNWYQQK GKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQG DSVPLTFGGGTKVEIK
CAR123-4 VH	762	QVQLQQSGAEVKKSGASVKVSKASGYTFTDYVMHWLRQAPGQGLEWM GWINPNSGDTNYAQKFQGRVTLTRDTSISTVYMELSLRSDDTAVVYYCAR DMNILATVPFDIWGQGMVTVSS
CAR123-4	763	DIQMTQSPSSLSASVGRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAA

[0680]

VL		SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGDSVPLTFGGG TKVEIK
CAR123-1 NT	764	atggccctccctgtcaccgacctgctgctccgctggctcttctgctccacgccgctcggccccaagtccaa ctcgtccagtcaggagcggaagtcaagaagcccggagcgtcagcaaaagtgtcatgcaaaagcctcggg ctacacttcactgggtactacatgcaactgggtgcccaggctccaggacagggactggaatggatggg atggatcaaccggaactcgggtggcacaattaccccagaagtccaggggagggtgacctgactc gcgacacgtcgatcagcaccgcatacatggagctgtcaagactcgggtccgacgatactcgggtact actgcgacgggacatgaacattctggccaccgtgcttttgacatctgggtcagggaactatggtacc gtgtcctctggtggaggcggctccggcgggggggaagcggaggcgggtggaagcgacattcagatga cccagtcgcctcatcccttcggcgagcgtgggatcgctcactatcacttgcggcctcgagtcaca tctccacctacctcaattggtaccagcagaagccaggaaaagcaccgaatctgctgatctacgccgctt tccttgaatcgggagtgccaagcagattcagcggatcgggatcaggcactgattccacctcacatca actcgtcgaaccggaggattctgctactattgccaacaaggagacagcgtgcccctcacctcgg cggagggactaagctggaatcaagaccactaccagcaccgaggccaccaccggtcctacc atcgctccagcctctgtccctgctccggaggcatgtagaccgcagctggtggggcgtgcataccc gggtctgactcgcctgcgatactacattgggcccctctggctggtactgcggggtcctgctgtttcac ctgtgatcactcttactgtaagcgcggtcgaagaagctgctgacatcttaagcaaccctcatgaggcc tgtcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggtccagaggaggaggaaggcggctcg aactgcgctgaaattcagccgcagcagatgctccagcctacaagcaggggcagaaccagcctca caacgaactcaatctggtcggagagaggagtacgacgtgctgacaagcggagaggacgggacc agaaatggcggaagccgcgagaagaatcccaagaggcctgtacaacgagctcaaaaagg ataagatggcagaagcctatagcagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaaggccacg acggactgtaccaggactcagcaccgccaccaaggacacatgacgctctcactgacggccctg ccgctcgg
CAR123-1 AA	765	malpvtallplallhaarqqvqlvqsgaevkkgasvkvskasgytftgyymhwvrqapggglewm gwinpnsngtnyaqkfqgrvtmtrdtsistaymelsrlrsddtavyyccardmnilatvpfdiwgggmvts sgggsgggsgggsggdiqmtqspsslsasvdrvtrtcrasqsistylnwyqqkpgkapnlliyaafslq sgvpsrfsrgsgsgtdftitnslqpedfatyyccqqgdsvpltfgggkcleiktpprptpaptiasqplsrp eacrpaaggavhtrglfacdiywaplagtcgvllslvitlyckrgrklllyifkqpfmrvpqtteedgcsrf peeeeggcelrvkfsrsadapaykqgnqlynelnlgreeydvldkrrgrdpemggkprkrnpqegly nelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdydalhmqlppr
CAR123-1 scFv	766	malpvtallplallhaarqqvqlvqsgaevkkgasvkvskasgytftgyymhwvrqapggglewm gwinpnsngtnyaqkfqgrvtmtrdtsistaymelsrlrsddtavyyccardmnilatvpfdiwgggmvts sgggsgggsgggsggdiqmtqspsslsasvdrvtrtcrasqsistylnwyqqkpgkapnlliyaafslq sgvpsrfsrgsgsgtdftitnslqpedfatyyccqqgdsvpltfgggkcleik
CAR123-1 VH	767	QVQLVQSGAEVVKKPGASVKVSKASGYTFTGYMHWRQAPGQGLEWM GWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSLRSDDTAVYYCAR DMNILATVPFDIWGQGMVTVSS
CAR123-1 VL	768	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISTYLNWYQQKPKGAPNLLIYAAF SLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGDSVPLTFGGGT KLEIK

[0681] 在一个实施方案中，CAR分子包含CD33抗原结合结构域（例如，与CD33特异性结合的鼠、人或人源化抗体或抗体片段）、跨膜结构域和胞内信号传导结构域（例如，包含共刺激结构域和/或初级信号传导结构域的胞内信号传导结构域）。本文中描述并在W02016/014576中（例如，在W02016/014576的表2中）提供靶向CD33的示例性CAR分子。

[0682] 在一个实施方案中，CAR分子包含CLL-1抗原结合结构域（例如，与CLL-1特异性结合的鼠、人或人源化抗体或抗体片段）、跨膜结构域和胞内信号传导结构域（例如，包含共刺激结构域和/或初级信号传导结构域的胞内信号传导结构域）。本文中描述并在W0/2016/014535中（例如，在W02016/014535的表2中）提供靶向CLL-1的示例性CAR分子。

[0683] 天然杀伤细胞受体 (NKR) CAR

[0684] 在一个实施方案中，本文所述的CAR分子，包含天然杀伤细胞受体 (NKR) 的一种或多种组分。NKR组分可以是以下任何天然杀伤细胞受体的跨膜结构域，铰链结构域或细胞质结构域：杀伤细胞免疫球蛋白样受体 (KIR)，例如KIR2DL1、KIR2DL2/L3、KIR2DL4、KIR2DL5A、KIR2DL5B、KIR2DS1、KIR2DS2、KIR2DS3、KIR2DS4、DIR2DS5、KIR3DL1/S1、KIR3DL2、KIR3DL3、

KIR2DP1和KIR3DP1;天然细胞毒性受体(NCR),例如,NKp30、NKp44、NKp46;免疫细胞受体的信号传导淋巴细胞活化分子(SLAM)家族,例如CD48、CD229、2B4、CD84、NTB-A、CRACC、BLAME和CD2F-10;Fc受体(FcR),例如CD16和CD64;和Ly49受体,例如LY49A、LY49C。本文所述的包含NKR组分的CAR分子可与衔接子分子或细胞内信号传导结构域,例如DAP12相互作用。包含NKR组分的CAR分子的示例性构型和序列描述在国际公开号W02014/145252中,其内容通过引用并入本文。

[0685] 分裂的CAR

[0686] 在一些实施方案中,本文所述的表达CAR的细胞使用分裂的CAR。分裂CAR方法在公开W02014/055442和W02014/055657中有更详细的描述,其通过引用并入本文。简而言之,分裂的CAR系统包含细胞,所述细胞表达具有第一抗原结合结构域和共刺激结构域(例如,41BB)的第一CAR,并且细胞还表达具有第二抗原结合结构域和胞内信号传导结构域(例如,CD3δ)的第二CAR。当细胞遇到第一抗原时,共刺激结构域被激活并且细胞增殖。当细胞遇到第二抗原时,胞内信号传导结构域被激活并且细胞杀伤活性开启。因此,表达CAR的细胞仅在两种抗原存在下完全活化。在实施方案中,第一抗原结合结构域识别本文所述的抗原,例如,包含本文所述的抗原结合结构域,且第二抗原结合结构域识别本文所述的第二抗原。

[0687] 瞬时表达的本发明CAR的示例性特征

[0688] 在一些实施方案中,抗原结合结构域与CAR的另一个结构域(如跨膜结构域或胞内结构域,二者均在本文他处描述)有效连接有益于细胞中的表达。在一个实施方案中,编码抗原结合结构域的核酸与编码跨膜结构域的核酸和编码胞内结构域的核酸有效连接。

[0689] 在CAR的抗原结合结构域和跨膜结构域之间或在CAR的胞内结构域和跨膜结构域之间,可以并入间隔区结构域。如本文所用,术语“间隔区结构域”通常意指在多肽链中发挥将跨膜结构域与抗原结合结构域或胞内结构域连接之作用的任何寡肽或多肽。在一个实施方案中,间隔区结构域可以包含多达300个氨基酸、优选地10至100个氨基酸和最优选地25至50个氨基酸。在另一个实施方案中,短的寡肽或多肽接头,优选地长度在2和10个氨基酸之间的短寡肽或多肽接头可以在CAR的跨膜结构域和胞内结构域之间形成连接。接头的例子包括甘氨酸-丝氨酸双联体。

[0690] 在一些实施方案中,CAR还包含信号肽。在一个实施方案中,信号肽包含核酸序列,所述核酸序列包含

[0691] ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCG或SEQ ID NO:3034。在另一个实施方案中,信号肽包含氨基酸序列,所述氨基酸序列包含MALPVTALLLPLALLLHAARP或SEQ ID NO:3035。

[0692] 在一些实施方案中,CAR还包含二聚化结构域,这种二聚化结构域来自FKBP或相似的分子。在这种实施方案中,通过CAR分子在细胞的细胞质或其他内部位置自发聚集,阻止CAR分子在修饰的T细胞表面上存在。

[0693] 在又一个实施方案中,二聚化结构域包含核酸序列,所述核酸序列包含

[0694] CGGGCGTGCAGGTTGAGACAATTTCCCCAGGAGATGGGCGAACGTTCCCAAGCGCGGACAGACATGCGTTGTGCACTACACAGGAATGTTGGAGGACGGAAGAAAATGGACAGTTCAAGAGATCGGAACAAACCATTCAAA TTCATGTTGGGAAAACAGGAAGTGATACGGGGCTGGGAAGAGGGTGTAGCGCAAATGTCCGTTGGTCAACGAGCAA AACTCACGATAAGTCCCGATTATGCTTACGGCGCAACCGGTCACCCGGGCATCATACCGCCTCATGCGACTTTGGT

CTTTGATGTGGAGCTGTTGAAACTGAAACTCGCGGAGTACAGGTTGAAACAATATCACCCGGGACGGGCGGACT
 TTTCCGAAGAGAGGTCAGACCTGCGTCGTCCATTATACCGGTATGCTGGAGGACGGAAAGAAAATGGACAGCTCAC
 GGGACCGAAATAAACCATTCAAATTTATGTTGGGGAAACAAGAGTTATCAGGGGCTGGGAGGAGGTGTGGCCCA
 GATGTCTGTGCGGTACGCGCGGAAACTCACAATCTCTCCGATTATGCGTATGGGGCGACAGGGCATCCGGGAATT
 ATCCCTCCCCACGCTACCTTGGTTTTTCGATGTTGAGCTTCTGAAGTTGGAGACCAGAGGAGTTCAAGTGGAGACAA
 TATCTCTGGGGATGGACGGACGTTCCCCAAGCGCGCCAGACCTGTGTAGTCCACTACACAGGGATGCTTGAAGA
 CGGAAAAAAGATGGATAGCAGTAGAGATCGCAACAAACCATTTAAGTTCATGCTGGGGAAGCAGGAAGTAATACGC
 GGCTGGGAGGAAGGCGTGGCACAGATGAGTGTGGTCAACGGGCCAAACTTACTATTTCTCCCGATTATGCGTATG
 GAGCCACCGGGCACCTGGCATTATCCCACCCCATGCCACATTGGTTTTTGACGTTGAATTGCTTAAATTGGAGAC
 CAGGGGAGTCCAAGTGGAAACAATATCACCGGGGATGGTCCGACTTTTCTAAAAGGGGCCAAACCTGTGTAGTC
 CATTATACCGGAATGCTCGAAGACGGAAAGAAAATGGACTCTTCTAGAGACCGCAATAAGCCCTTCAAGTTCATGT
 TGGGTAAGCAAGAGGTGATCCGGGGCTGGGAAGAGGGGGTCGCTCAAATGTCCGTCGTCAGCGAGCTAAACTGAC
 TATTTCCCAGACTACGCATATGGAGCGACTGGCCACCCCGGTATTATTCCTCCCATGCGACTCTCGTGTTCGAC
 GTAGAACTCTTGAAATTGGAAACG或SEQ ID NO:3015。

[0695] 在另一个这样的实施方案中,二聚化结构域包含氨基酸序列,所述氨基酸序列包含

[0696] RGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKMDSSRDRNKPFKFLGKQEVIRGWEEGVAQMS
 VGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLETRGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGK
 KMDSSRDRNKPFKFLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLETRG
 VQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKMDSSRDRNKPFKFLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTIS
 PDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLETRGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKMDSSRDRNK
 PFKFLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLET或SEQ ID NO:
 980(本文他处描述)。

[0697] 用施用至细胞或施用至包含细胞的哺乳动物的增溶剂增溶二聚化结构域,阻止二聚化并允许构建体经分泌系统运出,其中借助弗林蛋白酶切割作用加工该构建体,以表达有功能的细胞表面CAR。

[0698] 在增溶剂存在下,隔离CAR分子并阻止聚集。施用增溶剂将阻止CAR分子的二聚化或聚集并允许CAR分子呈递在T细胞的表面上。在一个实施方案中,弗林蛋白酶切割位点包含核酸序列,所述核酸序列包含TCAGCCCGGAACAGGCGGAAGAGA或SEQ ID NO:3016。在另一个实施方案中,弗林蛋白酶切割位点包含氨基酸序列SARNRRKR或SEQ ID NO:3017。

[0699] 组合物

[0700] 在一个实施方案中,本发明包含一种分离的核酸序列,其包含核酸序列,所述核酸序列包含自杀基因,所述自杀基因包含选自SEQ ID NO:3001-3004的核酸序列;和编码CAR的核酸序列,所述CAR包含抗B细胞结合结构域、跨膜结构域、共刺激结构域和胞内信号传导结构域。在一些实施方案中,分离的核酸序列包含SEQ ID NO:3018、3020、3024、3026、3028或3030。

[0701] 在一个实施方案中,本发明包含一种分离的多肽,其包含由自杀基因编码的氨基酸序列,其中氨基酸序列选自SEQ ID NO:3005-3007;和包含抗B细胞结合结构域、跨膜结构域、共刺激结构域和胞内信号传导结构域的CAR。在一些实施方案中,分离的多肽包含SEQ

ID NO:3019、3021、3026、3028、3030或3034的氨基酸序列。

[0702] 在另一个实施方案中,本发明包含一种分离的核酸序列,其包含编码二聚化结构域的核酸;和包含抗B细胞结合结构域、跨膜结构域、共刺激结构域和胞内信号传导结构域的CAR。在一些实施方案中,二聚化结构域包含SEQ ID NO:980的氨基酸序列。在其他实施方案中,分离的核酸序列包含SEQ ID NO:977或3032。

[0703] 在又一个实施方案中,本发明包含一种分离的多肽,其包含二聚化结构域;和包含抗B细胞结合结构域、跨膜结构域、共刺激结构域和胞内信号传导结构域的CAR。在一些实施方案中,分离的多肽包含SEQ ID NO:978或3033的氨基酸序列。

[0704] 信号肽

[0705] 在某些优选的实施方案中,本发明的融合蛋白还包含信号肽。如果需要使得蛋白质遵循分泌途径,则信号肽有用。在优选的实施方案中,这种信号肽将经工程化以存在于融合蛋白的极N末端处。下文描述示例性信号肽:

[0706] CD8: MALPVTALLLPLALLLHAARP (SEQ ID NO:2)

[0707] GMCSFR: MLLLVTSLLLCELPHPAFLIP (SEQ ID NO:43)

[0708] IL2: MYRMQLLSICIALSLALVTNS (SEQ ID NO:44)

[0709] IgK链: MAQVKLQESGTELAKPGA AVK (SEQ ID NO:45)

[0710] NPC2: MRFLAATFLLLALSTAAQA (SEQ ID NO:46)

[0711] LAMB1: MGLLQLLAFSFLALCRARVRA (SEQ ID NO:1114)

[0712] P3IP1: MLLAWVQAFVLSNMLLAEAYG (SEQ ID NO:1115)

[0713] DMKN: MKFQGPLACLLLALCLGSGEA (SEQ ID NO:1116)

[0714] TPA: MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSP (SEQ ID NO:1117)

[0715] PCSK9: MGTVSSRRSWPLPLLLLLLLLLLGPAGARAQED (SEQ ID NO:1118)

[0716] 如果目的蛋白是ER常驻性蛋白质,则可以在目的蛋白的极C末端处工程化KDEL (SEQ ID NO:47) 或KKXX和衍生物。这些序列必须与信号肽一起插入。

[0717] 目的蛋白可以经工程化以包含糖基化模式,以便借助甘露糖-6-磷酸受体内化和靶向内体系统/溶酶体系统。如果目的蛋白是该区室中常驻的蛋白质,则应当在目的蛋白本身中包含这些糖基化模式。N-糖基化共有基序是Asn-X-Ser/Thr,其中X是除脯氨酸(Pro)、丝氨酸(Ser)和苏氨酸(Thr)之外的任何氨基酸。

[0718] 在其中需要将目的蛋白靶向过氧化物酶体的实施方案中,融合蛋白可以被工程化以包括C末端过氧化物酶体靶向信号(例如,PTS1:-SKL)。

[0719] 切割位点

[0720] 本发明的每种融合蛋白均包含切割位点。切割位点可以是自切割位点和/或蛋白酶切割位点。切割位点可以设计成由目的细胞中(通过重组表达或内源表达)按照足以切割条件性表达结构域(例如,降解结构域或聚集结构域)的水平表达的任何位点特异性蛋白酶切割。在本发明的重要方面,选择蛋白酶切割位点以天然地(或通过细胞工程化)对应于与表达目的蛋白相关的细胞区室中存在的蛋白酶。即,胞内运输蛋白酶应当与含有所用的条件性表达结构域(例如,降解结构域或聚集结构域)的目的蛋白的胞内运输重叠或部分重叠。例如,如果目的蛋白位于细胞表面,则可以添加对细胞为外源的切割它的酶。

[0721] 如果目的蛋白常驻于内体/溶酶体系统中,则可以使用在那些区室中常驻酶的蛋

白酶切割位点。这类蛋白酶/共有基序例如包括

[0722] 弗林蛋白酶:RX (K/R) R共有基序

[0723] PCSK1:RX (K/R) R共有基序

[0724] PCSK5:RX (K/R) R共有基序

[0725] PCSK6:RX (K/R) R共有基序

[0726] PCSK7:RXXX[KR]R共有基序

[0727] 组织蛋白酶B:RRX

[0728] 粒酶B:I-E-P-D-X (SEQ ID NO:35)

[0729] 因子XA:Ile-Glu/Asp-Gly-Arg

[0730] 肠激酶:Asp-Asp-Asp-Asp-Lys (SEQ ID NO:36)

[0731] Genenase:Pro-Gly-Ala-Ala-His-Tyr (SEQ ID NO:37)

[0732] 分选酶:LPXTG/A

[0733] PreScission蛋白酶:Leu-Glu-Val-Phe-Gln-Gly-Pro (SEQ ID NO:38)

[0734] 凝血酶:Leu-Val-Pro-Arg-Gly-Ser (SEQ ID NO:40)

[0735] TEV蛋白酶:E-N-L-Y-F-Q-G (SEQ ID NO:41)

[0736] 弹性蛋白酶1[AGSV]-x (SEQ ID NO:42)

[0737] 在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白包含弗林蛋白酶切割位点。在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白包含表20中列出的任一个弗林蛋白酶切割位点。

[0738] 在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白包含弗林蛋白酶切割位点,所述弗林蛋白酶切割位点选自RTKR (SEQ ID NO:123) 或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列;GTGAEDPRPSRKRRSLGDVG (SEQ ID NO:125) 或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列;GTGAEDPRPSRKRR (SEQ ID NO:127) 或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列;LQWLEQQVAKRRTKR (SEQ ID NO:129) 或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列;GTGAEDPRPSRKRRSLGG (SEQ ID NO:131) 或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列;GTGAEDPRPSRKRRSLG (SEQ ID NO:133) 或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列;SLNLTESHNSRKKR (SEQ ID NO:135) 或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列;或CKINGYPKRGRKRR (SEQ ID NO:137) 或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列。

[0739] 在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白包含弗林蛋白酶切割位点,所述弗林蛋白酶切割位点选自RTKR (SEQ ID NO:123);GTGAEDPRPSRKRRSLGDVG (SEQ ID NO:125);GTGAEDPRPSRKRR (SEQ ID NO:127);LQWLEQQVAKRRTKR (SEQ ID NO:129);GTGAEDPRPSRKRRSLGG (SEQ ID NO:131);GTGAEDPRPSRKRRSLG (SEQ ID NO:133);SLNLTESHNSRKKR (SEQ ID NO:135);或CKINGYPKRGRKRR (SEQ ID NO:137)。

[0740] 在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白包含弗林蛋白酶切割位点,所述弗林蛋白酶切割位点选自GTGAEDPRPSRKRRSLGDVG (SEQ ID NO:125) 或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列,或GTGAEDPRPSRKRR (SEQ ID NO:127) 或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列。

[0741] 在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白包含弗林蛋白酶切割位点,所述弗林蛋白酶切割位点选自GTGAEDPRPSRKRRSLGDVG (SEQ ID NO:125) 或GTGAEDPRPSRKRR (SEQ ID

NO:127)。

[0742] 在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白包含弗林蛋白酶切割位点 GTGAEDPRPSRKRRSLGDVG (SEQ ID NO:125)。

[0743] 表20. 示例性弗林蛋白酶切割位点

[0744]

	氨基酸序列	核酸序列
弗林蛋白酶切割位点 1	RTKR (SEQ ID NO: 123)	cgtactaaaaga (SEQ ID NO: 1112)
弗林蛋白酶切割位点 2	GTGAEDPRPSRKRRSLGDVG (SEQ ID NO: 125)	ggaaccggcgcggaagacccccggcctccaggaag cgaaggctccctcgagacgtgggt (SEQ ID NO: 126)
弗林蛋白酶切割位点 3	GTGAEDPRPSRKRR (SEQ ID NO: 127)	ggaaccggcgcggaagacccccggcctccaggaag cgaagg (SEQ ID NO: 128)
弗林蛋白酶切割位点 4	LQWLEQQVAKRRTKR (SEQ ID NO: 129)	ctgcaatggctggagcagcaggtggcgaagcggagaa ctaagcgg (SEQ ID NO: 130)

[0745]

弗林蛋白酶切割位点 5	GTGAEDPRPSRKRRSLGG (SEQ ID NO: 131)	ggcacaggtgccgaggaccctcggccaagccgcaaaa ggaggtcacttggcggc (SEQ ID NO: 132)
弗林蛋白酶切割位点 6	GTGAEDPRPSRKRRSLG (SEQ ID NO: 133)	ggaaccgggagcagaagatcccagaccaagccggaaa aggcggctccctgggt (SEQ ID NO: 134)
弗林蛋白酶切割位点 7	SLNLTESHNSRKRR (SEQ ID NO: 135)	agtctcaatttgactgagtcacacaattccaggaagaaaa gg (SEQ ID NO: 136)
弗林蛋白酶切割位点 8	CKINGYPKRGRKRR (SEQ ID NO: 137)	tgcaagatcaacggctaccctaagagggggcagaaagc ggcg (SEQ ID NO: 138)

[0746] 条件性表达结构域

[0747] 本发明的融合蛋白可以包含条件性表达结构域。在一些实施方案中,条件性表达结构域具有第一状态和第二状态,例如,聚集状态或构象状态,例如,稳定/去稳定状态或折叠/错误折叠状态。第一状态相关于、造成或介导融合蛋白的一个或多个(例如,全部)部分以第一速率或水平在细胞表面表达或胞外表达,并且第二状态相关于、造成或介导融合蛋白的一个或多个(例如,全部)部分以第二速率或水平在细胞表面表达或胞外表达。在一个实施方案中,第二状态具有比第一状态的速率或水平更大的水平或速率,大于例如,2、3、4、5、6、7、8、9、10、20或30倍。在一个实施方案中,一个状态(例如,第二状态)与表达化合物的存在相关,由其维持或引起。在一个实施方案中,表达化合物的存在可以相关于、造成或介导物理特性变化,例如,第二状态相关于改变的物理特性水平,例如,表达化合物的存在相关于、造成或介导具有物理特性第一值的第一状态转化成具有物理特性第二值的第二状态,例如,其中该特性可以包括分子量、稳定性、预先选择的波长处的吸光度、与另一种分子相互作用的能力或溶解度。在一个实施方案中,表达化合物的存在可以在例如目的细胞中相关于、引起或介导第一折叠状态转变成第二折叠状态,例如,从错误的折叠转变成更正确折叠的状态,例如,易于降解的第一状态转变成比第一状态更不易降解的第二状态;或从具有第一降解水平的第一折叠状态转变成具有第二更少降解水平的第二折叠状态。在一个实施方案中,表达化合物的存在可以相关于、引起或介导第一和第二条件性表达结构域的解离或去聚集,例如,从高阶缔合转变成低阶缔合,例如,从二聚体转变成单体或从四聚体转变成低阶结构,例如,二聚体或单体。在一个实施方案中,表达化合物的存在可以相关于、引起或介导溶解度变化,例如,第二状态与更高水平的溶解度相关,例如,表达化合物的存在

与相关、造成或介导具有较低溶解度的第一状态转变成具有较高溶解度的第二状态。在一个实施方案中,表达化合物的存在可以相关于、引起或介导融合蛋白的一个或多个部分或全部部分定位或区室化的第一状态转化成融合蛋白的一个或多个部分或全部部分定位或区室化的第二状态,例如,从高尔基体或ER转变成另一个区室或定位,例如,细胞溶胶、膜、细胞表面或胞外间隙。

[0748] 在一个实施方案中,表达化合物的存在可以例如在目的细胞中相关于、引起或介导从第一折叠状态或第一折叠状态转变成第二折叠状态,例如,从错误折叠状态转变成更正确折叠的状态,例如,易于降解的第一状态转变成比第一状态更不易降解的第二状态;或从具有第一降解水平的第一折叠状态转变成具有第二降解水平的第二折叠状态。

[0749] 在一个实施方案中,一个状态(例如,第二状态)相关于、引起或介导切割位点处的切割作用。尽管不希望受理论约束,认为在一些实施方案中,切割作用导致或相关于融合蛋白的一个或多个(例如,全部)部分的细胞表面表达或胞外表达。在一个实施方案中,在表达化合物不存在下,在目的细胞中表达时,例如,包含条件性表达结构域的融合蛋白,例如,第一水平(例如,大比例)的融合蛋白是在细胞表面上或胞外不可检测到的,例如,原因是切割作用受另一个实体(例如,条件性表达结构域)空间阻碍。相反,在表达化合物存在下,融合蛋白的一个或多个(例如,全部)结构域的表面表达和/或胞外表达转变成高于第一水平的第二水平,例如,显著增加,例如,超过第一水平2、3、4、5或10倍,或相对于第一水平,增加例如至少10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、300、400、500、600、700、800、900或1000%。因此,在一个实施方案中,条件性表达结构域是依据以下特征可辨识或由以下特征表征:(1)它不在融合蛋白的背景下天然存在,例如,它是重组的或经工程化;(2)表面表达和/或胞外表达以共翻译方式或翻译后方式调节;(3)在表达化合物存在下,表面表达和/或胞外表达的速率显著增加。

[0750] 在一个实施方案中,向多个细胞(例如,包含本文所述的融合蛋白的宿主细胞或细胞)添加表达化合物(例如,去聚集化合物或稳定作用化合物)造成细胞的子群体(sub-plurality)从第一状态转化成第二状态,例如,聚集状态或构象状态,例如,稳定/去稳定状态,或如本文所述的折叠/错误折叠状态。在一个实施方案中,在表达化合物(例如,去聚集化合物或稳定作用化合物)不存在下,群体中少于10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%或1%的细胞包含第二状态,并且群体中多于或等于90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的细胞包含第一状态。在一个实施方案中,在表达化合物(例如,去聚集化合物或稳定作用化合物)存在下,群体中多于或等于20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或95%的细胞包含第二状态,并且群体中少于20%、15%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%或1%的细胞包含第一状态。可以使用本说明书通篇范围内描述(例如,如图4中使用)的方法,确定群体中包含某状态的细胞百分数。

[0751] 在实施方案中,例如,如本文所述,条件性表达结构域是降解结构域。在其他实施方案中,例如,如本文所述,条件性表达结构域是聚集结构域。在一个实施方案中,条件性表达结构域不包含降解结构域。在一个实施方案中,条件性表达结构域不包含聚集结构域。在实施方案中,例如,如本文所述,包含条件性表达结构域的融合蛋白包含跨膜蛋白,例如,嵌合抗原受体(CAR)。在一些实施方案中,条件性表达结构域是降解结构域。在一些实施方案中,条件性表达结构域是聚集结构域。

[0752] 聚集结构域

[0753] 在一些实施方案中,条件性表达结构域是聚集结构域。产生在表达化合物(例如,去聚集化合物)不存在下引起胞内聚集的聚集结构域的方法是本领域已知的并且在下文进一步讨论。

[0754] 本公开涵盖衍生自任何天然存在性蛋白质的聚集结构域。优选地,本发明的融合蛋白将包括这样的聚集结构域,对于所述聚集结构域,目的细胞区室中不天然表达或不提供去聚集化合物。例如,如果设计融合蛋白在T细胞中表达,则优选的是选择与T细胞中不天然存在的去聚集化合物配对的聚集结构域。因此在目的细胞中表达时,聚集结构域仅将在去聚集化合物存在下才去聚集。值得注意地,这种特性可以通过以下方式工程化:工程化聚集结构域以便不再结合天然表达的/存在的去聚集化合物(在聚集结构域将仅在合成性化合物存在下才去聚集的情况下)或在不存在天然表达/存在的配体的区室中表达聚集结构域(例如,聚集结构域可以衍生自除其中将表达融合蛋白的物种之外的物种)。

[0755] 聚集结构域-去聚集化合物对可以衍生自任何天然存在的或合成开发的蛋白质。去聚集化合物可以是任何天然存在的或合成性化合物。在某些实施方案中,去聚集化合物将是现有处方药或非处方药。下文描述可以经工程化以拥有聚集结构域的特性的蛋白质的例子连同相应的去聚集化合物。

[0756] 在一个实施方案中,聚集结构域是二聚化结构域,例如,衍生自FKB蛋白(FKBP)。在一些实施方案中,聚集结构域包含氨基酸序列,所述氨基酸序列选自SEQ ID NO:975或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列,或SEQ ID NO:976或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,聚集结构域包含氨基酸序列,所述氨基酸序列选自SEQ ID NO:979或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列,或SEQ ID NO:980或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列。当聚集结构域衍生自FKBP时,去聚集化合物可以选自本领域已知并且在Rollins等人2000 PNAS第97卷,第13期,7096-7101;WO/2000/023600和Rivera,V.M.,等人(2000) Regulation of protein secretion through controlled aggregation in the endoplasmic reticulum.Science 287:826-30中所述的AP21998或AP22542。这些参考文献每者通过引用的方式完整并入。尽管不希望受理论约束,包含F36M置换的FKBP结构域缔合成二聚体。可以通过添加配体,例如,FK506、雷帕霉素、AP22542、AP21998或Shield-1,使FKBP F36M二聚体解离,例如,去聚集。

[0757] GVQVETISPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLDGGKFDSSRDRNKPFKFMGLGKQEVIRGWEEGVAQMSV
GQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLE (SEQ ID NO:975)

[0758] GVQVETISPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLDGGKMDSSRDRNKPFKFMGLGKQEVIRGWEEGVAQMSV
GQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLE (SEQ ID NO:976)

[0759] RGVQVETISPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLDGGKFDSSRDRNKPFKFMGLGKQEVIRGWEEGVAQMS
VGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLETRGVQVETISPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLDGGK
KMDSSRDRNKPFKFMGLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLETRG
VQVETISPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLDGGKMDSSRDRNKPFKFMGLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTIS
PDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLETRGVQVETISPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLDGGKMDSSRDRNK
PFKFMGLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLET (SEQ ID NO:

979)

[0760] RGVQVETISPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLEDGKKMDSSRDRNKPFKFMGLKQEVIRGWEEGVAQMS VGQRAKL TISPDYAYGATGHPGIIPPATLVFDVELLKLLETTRGVQVETISPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLEDGK KMDSSRDRNKPFKFMGLKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKL TISPDYAYGATGHPGIIPPATLVFDVELLKLLETTRG VQVETISPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLEDGKKMDSSRDRNKPFKFMGLKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKL TIS PDYAYGATGHPGIIPPATLVFDVELLKLLETTRGVQVETISPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLEDGKKMDSSRDRNK PFKFMGLKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKL TISPDYAYGATGHPGIIPPATLVFDVELLKLLET (SEQ ID NO: 980)

[0761] 在另一个实施方案中,聚集结构域衍生自UVR8蛋白。UVR8是植物光受体蛋白(Chen等人2013.*J.Cell.Biol.*v201no.4:631-640;Rizzini,L.等人2011.*Science.*332:103-106;Christie,J.M.等人2012.*Science.*335:1492-1496;Wu,D.等人2012.*Nature.*484:214-219)。这些参考文献每者通过引用的方式完整并入。UVR8以组成型方式形成在吸收紫外B(UVB)辐射(280-320nm)解离的光不稳定性同型二聚体。在一个实施方案中,聚集结构域衍生自UVR8结构域,并且去聚集化合物是合适剂量的UVB辐射。在一个实施方案中,合适剂量的UVB辐射足以使至少25%、50%、75%或100%的UVR8同型二聚体解离。在一个实施方案中,合适剂量的UVB对包含融合蛋白的细胞具有最小毒性。

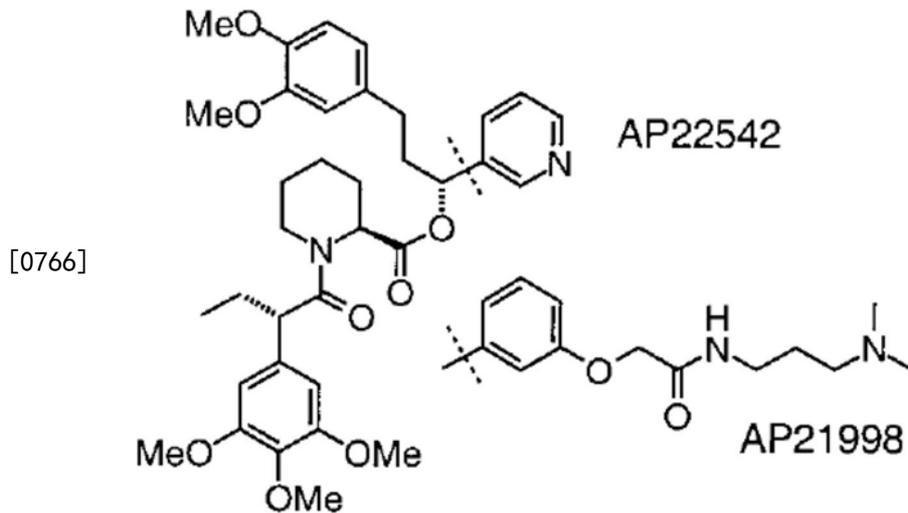
[0762] 在一些实施方案中,本发明的融合蛋白包含多个,例如,2、3、4、5、6、7、8、9、10个或更多个拷贝的条件性表达结构域,例如,聚集结构域或降解结构域。在一些实施方案中,本发明的融合蛋白包含多个,例如,2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个聚集结构域。

[0763] 在一些实施方案中,多个聚集结构域的每一个是相同聚集结构域的拷贝。这类聚集结构域将彼此结合以形成同型寡聚体,例如,同型二聚体。

[0764] 在一些实施方案中,本发明的融合蛋白包含多个(例如,多于一个)聚集结构域,其中所述多个包括多于一个类型的聚集结构域,例如,第一类型和第二类型的聚集结构域。在一些实施方案中,第一类型聚集结构域与第二类型聚集结构域缔合,例如,与之结合并促进与之寡聚化或聚集;这类缔合表示聚集结构域异聚缔合或异寡聚化,例如,成为异二聚体。在一些实施方案中,本发明的融合蛋白包含二、四个、六或八个聚集结构域,其中融合蛋白包含至少一个每种类型的聚集结构域,例如,第一类型和第二类型的聚集结构域。在一个实施方案中,融合蛋白包含多个聚集结构域,其中所述多个包括多于一个类型的聚集结构域,例如,第一类型和第二类型的聚集结构域,包含包含相等数目的每个类型的聚集结构域。在一些实施方案中,若融合蛋白包含四个或更多个(例如,六、八个、十个或更多个)聚集结构域,则聚集结构域以交替方式布置在融合蛋白中,例如,类型1、类型2、类型1、类型2。在一些实施方案中,若融合蛋白包含四个或更多个(例如,六、八个、十个或更多个)聚集结构域,则聚集结构域以成批方式布置在融合蛋白中,例如,类型1、类型1、类型2、类型2。在一些实施方案中,第一类型聚集结构域与第一类型聚集结构域的其他拷贝不明显缔合并且第二类型聚集结构域与第二类型聚集结构域的其他拷贝不明显缔合。在一些实施方案中,第一类型聚集结构域仅与第一类型聚集结构域的其他拷贝明显缔合并且第二类型聚集结构域仅与第二类型聚集结构域的其他拷贝明显缔合。

[0765] 在一些实施方案中,表达化合物,例如,去聚集化合物,是AP21998或AP22542(化学结构在此显示;AP21998和AP22542在短划线左侧部分相同并且在短划线右侧部分不同)。可

以在现有技术中和Rollins等人2000; Amara, J.F. 等人 (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94, 10618-10623; Clackson, T. 等人 (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 10437-10442; 和 Yang, W. 等人 (2000) J. Med. Chem. 43, 1135-1142中找到AP21998和AP22542的制备和用途。这些参考文献每者通过引用的方式完整并入。



[0767] 在一些实施方案中,表达化合物,例如,去聚集化合物,是FK506 (他克莫司) 或雷帕霉素 (西罗莫司)。在一些实施方案中,条件性表达结构域 (例如,聚集结构域) 衍生自FKBP, 并且表达化合物,例如,去聚集化合物,是FK506 (他克莫司) 或雷帕霉素 (西罗莫司)。可以在现有技术中找到FK506和雷帕霉素的制备和用途。

[0768] 在一些实施方案中,表达化合物,例如,去聚集化合物,抑制聚集结构域之间的相互作用。在一些实施方案中,其中去聚集化合物是FK506、雷帕霉素、AP22542或AP21998,去聚集化合物抑制包含衍生自FKBP F36M的聚集结构域的融合蛋白之间的相互作用。

[0769] 已经在本发明中生成并表征了示例性聚集结构域-去聚集化合物对 (SEQ ID NO: 977 (核酸) 和978 (氨基酸))。这个聚集结构域包含如“A ligand-reversible dimerization system for controlling protein-protein interactions.” Rollins等人PNAS vol. 97no. 13, 7096-7101和WO/2000/023600中所述的FKBP F36M结构域。这些参考文献每者通过引用的方式完整并入。

[0770] CD19bbz on-CAR核苷酸序列, CD19 on-CAR (SEQ ID NO: 977)

[0771] 信号肽-条件性聚集结构域 (4个重复序列)-弗林蛋白酶位点-FMC63bbz

[0772] ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCGGGATCC
CGGGGCGTGAGGTTGAGACAATTTCCCAGGAGATGGGCGAACGTTCCCAAGCGCGACAGACATGCGTTGTGCA
CTACACAGGAATGTTGAGGACGGAAAGAAAATGGACAGTTCAAGAGATCGGAACAAACCATTCAAATTCATGTTGG
GAAAACAGGAAGTGATACGGGGCTGGGAAGAGGGTGTAGCGCAAATGTCCGTTGGTCAACGAGCAAACTCACGATA
AGTCCCGATTATGCTTACGGCGCAACCGGTCACCCGGGCATCATACCGCCTCATGCGACTTTGGTCTTTGATGTGGA
GCTGTTGAAACTTGAAACTCGCGGAGTACAGTTGAAACAATATCACCCGGGACGGGCGGACTTTTCCGAAGAGAG
GTCAGACCTGCGTCGTCATTATAACCGGTATGCTGGAGGACGGAAAGAAAATGGACAGCTCACGGGACCGAAATAAA
CCATTCAAATTTATGTTGGGAAACAAGAGGTTATCAGGGGCTGGGAGGAGGTGTGGCCAGATGTCTGTGGTCA
GCGCGGAAACTCACAATCTCTCCGGATTATGCGTATGGGGCGACAGGGCATCCGGGAATTATCCCTCCCCACGCTA
CCTTGGTTTTTCGATGTTGAGCTTCTGAAGTTGGAGACCAGAGGAGTTCAAGTGGAGACAATATCTCCTGGGGATGGA

CGGACGTTCCCAAGCGCGCCAGACCTGTGTAGTCCACTACACAGGGATGCTTGAAGACGGAAAAAGATGGATAG
 CAGTAGAGATCGCAACAAACCATTAAAGTTCATGCTGGGGAAGCAGGAAGTAATACGCGGCTGGGAGGAAGGCGTGG
 CACAGATGAGTGTGGTCAACGGGCCAAACTTACTATTTCTCCCGATTATGCGTATGGAGCCACCGGGCACCTGGC
 ATTATCCCACCCCATGCCACATTGGTTTTTACGTTGAATTGCTTAAATTGGAGACCAGGGGAGTCCAAGTGGAAAC
 AATATCACCGGGGGATGGTCGGACTTTTCTTAAAGGGGCCAAACCTGTGTAGTCCATTATACCGGAATGCTCGAAG
 ACGGAAAGAAAATGGACTCTTCTAGAGACCGCAATAAGCCCTTCAAGTTCATGTTGGGTAAGCAAGAGGTGATCCGG
 GGCTGGGAAGAGGGGGTCGCTCAAATGTCCGTCGGTCAGCGAGCTAACTGACTATTTCCCGACTACGCATATGG
 AGCGACTGGCCACCCCGTATTATTCTCCCATGCGACTCTCGTGTTCGACGTAGAACTCTTAAAATTGGAAACGT
 CAGCCCGAACAGGCGGAAGAGAGGATCCGACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGA
 GACAGAGTCACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGG
 AACTGTTAAACTCCTGATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTG
 GAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACG
 CTTCCGTACACGTTCCGAGGGGGGACTAAGTTGAAAATAACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTTCGGGTG
 CGGCGGATCTGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTGTCCGTACATGCA
 CTGTCTCAGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAGCTGGATTCGCCAGCCTCCACGAAAGGTCTGGAGTGGCTG
 GGAGTAATATGGGGTAGTGAAACCACATACTATAATTCAGCTCTCAAATCCAGACTGACCATCATCAAGGACAACCTC
 CAAGAGCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACCTGATGACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATT
 ACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCACGACG
 CCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCACCATCGCGTCGAGCCCTGTCCCTGCGCCCAGAGGCGTGGCCGGCC
 AGCGGCGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGATTCCGGAATCTACATCTGGGCGCCCTTGG
 CCGGGACTTGTGGGGTCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCCTTACTGCAAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTAT
 ATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGA
 AGAAGAAGGAGGATGTGAACTGAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCGCGTACCAGCAGGGCCAGAACC
 AGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAG
 ATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGC
 CTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAG
 CCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGCTAA

[0773] CD19bbz on-CAR氨基酸序列 (SEQ ID NO:978)

[0774] 信号肽-条件性聚集结构域(4个重复序列)-弗林蛋白酶位点-FMC63bbz

[0775] MALPVTALLLPLALLLHAARPGSRGVQVETISPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLDGGKMDSSRDRNKP
 FKFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTI SPDYAYGATGHPGI IPPHATLVFDVELLKLETRGVQVETISPGDGR
 TFPKRGQTCVVHYTGMLDGGKMDSSRDRNKP FKFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTI SPDYAYGATGHPGI
 IPPHATLVFDVELLKLETRGVQVETISPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLDGGKMDSSRDRNKP FKFMLGKQEVIRG
 WEEGVAQMSVGQRAKLTI SPDYAYGATGHPGI IPPHATLVFDVELLKLETRGVQVETISPGDGRTPFKRGQTCVVHY
 TGMLDGGKMDSSRDRNKP FKFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTI SPDYAYGATGHPGI IPPHATLVFDVEL
 LKLETSARNRRKRGSDIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRF
 SSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEITGGGSGGGGSGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQS
 LSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVWGETTYNSALKSRLTI IKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYY
 CAKHYYYGGSYAMDYWGQTSVTVSSASTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDSGIY

IWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPMPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAY
QQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLY
QGLSTATKDTYDALHMQALPPRZ

[0776] 降解结构域

[0777] 在一些实施方案中,条件性表达结构域是降解结构域。产生在稳定作用化合物存在下选择性稳定的降解结构域的方法是本领域已知的并且在下文进一步讨论。迄今已经在本发明中生成并表征几种这样的结构域稳定作用化合物对。这些化合物包括如A Rapid, Reversible, and Tunable Method to Regulate Protein Function in Living Cells Using Synthetic Small Molecules.” Banaszynski, L.A.; Chen, L.-C.; Maynard-Smith, L.A.; Ooi, A.G.L.; Wandless, T.J. Cell, 2006, 126, 995-1004中所述的基于FKBP的降解结构域(例如,使用“Shield”稳定作用化合物);如A general chemical method to regulate protein stability in the mammalian central nervous system. Iwamoto, M.; Björklund, T.; Lundberg, C.; Kirik, D.; Wandless, T.J. Chemistry & Biology, 2010, 17, 981-988中所述的基于DHFR的结构域(例如,使用甲氧苄啶作为稳定作用化合物);和如 Destabilizing domains derived from the human estrogen receptor Y Miyazaki, H Imoto, L-c Chen, T.J Wandless J. Am. Chem. Soc. 2012, 134, 3942-3945中所述的基于雌激素受体 α 的结构域(例如,其中使用4OHT作为稳定作用化合物)。这些参考文献每者通过引用的方式完整并入。

[0778] 本公开涵盖衍生自任何天然存在性蛋白质的降解结构域。优选地,本发明的融合蛋白将包括这样的降解结构域,对于所述降解结构域,目的细胞区室中不存在天然表达的配体。例如,如果设计融合蛋白在T细胞中表达,则优选的是选择T细胞中无天然存在性配体的降解结构域。因此在目的细胞中表达时,降解结构域仅将在外源添加的化合物存在下才稳定化。值得注意地,这种特性可以通过以下方式工程化:工程化降解结构域以便不再结合天然表达的配体(在降解结构域将仅在合成性化合物存在下才稳定的情况下)或在不存在天然表达的配体的区室中表达降解结构域(例如,降解结构域可以衍生自除其中将表达融合蛋白的物种之外的物种)。

[0779] 降解结构域-稳定作用化合物对可以衍生自任何天然存在的或合成开发的蛋白质。稳定作用化合物可以是任何天然存在的或合成性化合物。在某些实施方案中,稳定作用化合物将是现有处方药或非处方药。下表21中描述可以经工程化以拥有降解结构域的特性的蛋白质的例子连同相应的稳定作用化合物。

[0780] 在一些实施方案中,降解结构域衍生自表21中列出的蛋白质。

[0781] 在一些实施方案中,降解结构域衍生自雌激素受体(ER)。在一些实施方案中,降解结构域包含氨基酸序列,所述氨基酸序列选自SEQ ID NO:58或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列,或SEQ ID NO:121或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,降解结构域包含选自SEQ ID NO:58或SEQ ID NO:121的氨基酸序列。当降解结构域衍生自雌激素受体时,稳定作用化合物可以选自巴多昔芬或4-羟基他莫昔芬(4-OHT)。在一些实施方案中,稳定作用化合物是巴多昔芬。他莫西芬和巴多昔芬是FDA批准的药物,并且因此在人类中使用安全。

[0782] 在一些实施方案中,降解结构域衍生自FKB蛋白(FKBP)。在一些实施方案中,降解

结构域包含SEQ ID NO:56或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列的氨基酸序列。在一些实施方案中,降解结构域包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列。当降解结构域衍生自FKBP时,稳定作用化合物可以是Shield-1。

[0783] 在一些实施方案中,降解结构域衍生自二氢叶酸还原酶(DHFR)。在一些实施方案中,降解结构域包含选自SEQ ID NO:57或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列的氨基酸序列。在一些实施方案中,降解结构域包含选自SEQ ID NO:57的氨基酸序列。当降解结构域衍生自DHFR时,稳定作用化合物可以是甲氧苄啶。

[0784] 在一些实施方案中,降解结构域不衍生自FKB蛋白、雌激素受体或DHFR。

[0785] 表21.产生降解结构域的示例性蛋白质

[0786]

类型	药物活性	药物例子
氧化还原酶		
醛脱氢酶	抑制剂	双硫仑
单胺氧化酶类(MAO)	MAO-A 抑制剂	反苯环丙胺、吗氯贝胺
	MAO-B 抑制剂	反苯环丙胺
环氧合酶类(COX)	COX1 抑制剂	乙酰水杨酸、普罗芬(profen)、醋氨酚和安乃近(如花生四烯酰胺类)
	COX2 抑制剂	乙酰水杨酸、普鲁芬、对乙酰氨基酚和安乃近(如花生四烯酰胺类)
维生素 K 环氧化物还原酶	抑制剂	华法林、苯丙香豆素
芳香化酶	抑制剂	依西美坦
羊毛甾醇脱甲基酶(真菌)	抑制剂	吡咯类抗真菌药
脂加氧酶	抑制剂	美沙拉秦
	5-脂加氧酶抑制剂	齐留通
甲状腺过氧化物酶	抑制剂	硫脲嘧啶
碘甲状腺原氨酸-5'脱碘酶	抑制剂	丙基硫脲嘧啶

[0787]

肌苷一磷酸脱氢酶	抑制剂	麦考酚酸吗乙酯
HMG-CoA 还原酶	抑制剂	他汀类
α -5-羟酮还原酶	抑制剂	非那雄胺、度他雄胺
二氢叶酸还原酶(细菌)	抑制剂	甲氧苄啶
二氢叶酸还原酶(人)	抑制剂	甲氧蝶呤、培美曲塞
二氢叶酸还原酶(寄生虫)	抑制剂	氟脲(Proguanil)
二氢还原酶	抑制剂	来氟米特
烯酰还原酶(分枝杆菌)	抑制剂	异烟肼
角鲨烯环氧酶(真菌)	抑制剂	特比萘芬(Terbinafin)
Δ -14 还原酶(真菌)	抑制剂	阿莫罗芬(Amorolfin)
黄嘌呤氧化酶	抑制剂	别嘌呤醇
4-羟苯基丙酮酸加氧酶	抑制剂	尼替西农(Nitisinone)
核糖核苷二磷酸还原酶	抑制剂	羟基脲
转移酶类		
蛋白激酶 C	抑制剂	米替福新
细菌的肽酰基转移酶	抑制剂	氯霉素
儿茶酚胺-O-甲基转移酶	抑制剂	恩他卡朋(Entacapone)
RNA 聚合酶(细菌)	抑制剂	安莎霉素

[0788]

逆转录酶(病毒)	竞争性抑制剂	齐多夫定
	变构抑制剂	依法韦伦
DNA 聚合酶	抑制剂	阿昔洛韦、舒拉明
GABA 转氨酶	抑制剂	丙戊酸、氨己烯酸
酪氨酸激酶	PDGFR/ABL/KIT 抑制剂	伊马替尼
	EGFR 抑制剂	厄洛替尼
	β -VEGFR2/PDGFR/KIT/FLT3	舒尼替尼
	β -VEGFR2/PDGFR/RAF	索拉非尼
甘氨酸胺核糖核苷酸甲酰基转移酶	抑制剂	培美曲塞
磷酸烯醇式丙酮酸转移酶(细菌性 MurA)	抑制剂	磷霉素
人胞质分枝链氨基转移酶(hBCATc)	抑制剂	加巴喷丁
水解酶(蛋白酶)		
天冬氨酸蛋白酶(病毒)	HIV 蛋白酶抑制剂	沙奎那韦、茚地那韦
水解酶(丝氨酸蛋白酶)		
非特异性	非特异性抑制剂	抑蛋白酶肽
细菌丝氨酸蛋白酶	直接抑制剂	β -内酰胺
细菌丝氨酸蛋白酶	间接抑制剂	糖肽
细菌的内酰胺酶	直接抑制剂	舒巴坦
人抗凝血酶	激活物	肝素
人纤维蛋白溶酶原	激活物	链激酶
人凝血因子	激活物	因子 IX 复合物, 因子 VIII

[0789]

人因子 Xa	抑制剂	磺达肝癸
水解酶(金属蛋白酶)		
人 ACE	抑制剂	卡托普利
人 HRD	抑制剂	西司他丁
人羧肽酶 A (Zn)	抑制剂	青霉胺
人脑啡肽酶	抑制剂	消旋卡多曲
水解酶(其他)		
26S 蛋白酶体	抑制剂	硼替佐米
酯酶	AChE 抑制剂	毒扁豆碱
	AChE 复活剂	双复磷(Obidoxime)
	PDE 抑制剂	咖啡因
	PDE3 抑制剂	氨力农、米力农
	PDE4 抑制剂	罂粟碱
	PDE5 抑制剂	西地那非
	HDAC 抑制剂	丙戊酸
	HDAC3/HDAC7 抑制剂	卡马西平(Carbamezepine)
糖苷酶(病毒)	α -糖苷酶抑制剂	扎那米韦、奥司他韦
糖苷酶(人)	α -糖苷酶抑制剂	阿卡波糖
脂肪酶	胃肠道脂肪酶抑制剂	奥利司他
磷酸酶	钙神经素抑制剂	环孢霉素
	肌醇聚磷酸磷酸酶抑制剂	锂离子

[0790]

GTP 酶	Rac1 抑制剂	6-硫代-GTP(硫唑嘌呤代谢物)
磷酸化酶	细菌 C55-脂质磷酸去磷酸化酶抑制剂	杆菌肽
裂解酶		
DOPA 脱羧酶	抑制剂	卡比多巴
碳酸酐酶	抑制剂	乙酰唑胺
组氨酸脱羧酶	抑制剂	曲托喹啉
鸟氨酸脱羧酶	抑制剂	依氟鸟氨酸
可溶性鸟苷酰环化酶	激活物	硝酸酯、吗多明
异构酶		
丙氨酸消旋酶	抑制剂	D-环丝氨酸
DNA 促旋酶(细菌)	抑制剂	荧光喹诺酮类 (Fluoroquinolones)
拓扑异构酶	拓扑异构酶 I 抑制剂	依立替康
	拓扑异构酶 II 抑制剂	依托泊苷
8,7 异构酶(真菌)	抑制剂	阿莫罗芬(Amorolfin)
连接酶(也称作合酶)		
二氢蝶酸合酶	抑制剂	磺胺类
胸苷酸合酶(真菌和人)	抑制剂	氟尿嘧啶
胸苷酸合酶(人)	抑制剂	甲氧蝶呤、培美曲塞
磷酸果糖激酶	抑制剂	锑化合物
mTOR	抑制剂	雷帕霉素

[0791]

溶血聚合酶(疟原虫属)	抑制剂	喹啉抗疟药
β -1,3-D-葡聚糖合酶(真菌)	抑制剂	卡泊芬净
糖基神经酰胺合酶	抑制剂	麦格司他
底物	药物物质	
天冬酰胺	天门冬酰胺酶	
尿酸盐	拉布立酶(尿酸氧化酶)	
VAMP-小突触囊泡蛋白、SNAP25、突触融合蛋白	肉毒神经毒素(Zn-内肽酶)轻链	
类型	药物活性	药物例子
直接配体门控离子通道受体		
GABA _A 受体	巴比妥酸盐结合位点激动剂	巴比妥酸盐(Barbiturate)
	苯二氮杂卓(benzodiazepine)结合位点激动剂	苯二氮杂卓类
	苯二氮杂卓结合位点拮抗剂	氟马西尼
乙酰胆碱受体	烟酸受体激动剂	噻啉啉(管圆线虫属(Angiostrongylus))、左旋咪唑
	烟酸受体稳定拮抗剂	阿库铵(Alcuronium)
	烟酸受体去极化拮抗剂	琥珀胆碱
	烟酸受体变构调节物	加兰他敏
谷氨酸受体(离子型)	NMDA亚型拮抗剂	美金刚
	NMDA亚型表达调节物	阿坎酸
	NMDA亚型苯环利定(phencyclidine)结合位点拮抗剂	氯胺酮(Ketamine)
G蛋白偶联受体		
乙酰胆碱受体	毒蕈碱受体激动剂	毛果芸香碱
	毒蕈碱受体拮抗剂	莨菪烷衍生物
	毒蕈碱受体 M ₃ 拮抗剂	达非那新
腺苷受体	激动剂	腺苷
	腺苷 A ₁ 受体激动剂	来自缬草属植物的木脂素
	腺苷 A ₁ 受体拮抗剂	咖啡因、茶碱
	腺苷 A _{2A} 受体拮抗药	咖啡因、茶碱
肾上腺受体	激动剂	肾上腺素、去甲肾上腺素、麻黄碱

[0792]

	α_1 -和 α_2 -受体激动剂	赛洛唑啉
	α_1 -受体拮抗药	麦角胺
	α_2 -受体、中枢激动剂	甲基多巴(如甲基去甲肾上腺素)
	β -肾上腺素受体拮抗剂	异丙肾上腺素
	β_1 -受体拮抗药	普萘洛尔、阿替洛尔
	β_2 -受体激动剂	舒喘灵
	β_2 -受体拮抗药	普萘洛尔
血管紧张素受体	AT ₁ -受体拮抗剂	沙坦类(Sartans)
钙感知受体	激动剂	镉离子
	变构激活物	西那卡塞特
大麻素受体	CB ₁ -和 CB ₂ -受体激动剂	屈大麻酚
半胱氨酰-白三烯受体	拮抗剂	孟鲁司特
多巴胺受体	多巴胺受体亚型直接激动剂	多巴胺、左旋多巴
	D ₂ 、D ₃ 和 D ₄ 激动剂	阿扑吗啡
	D ₂ 、D ₃ 和 D ₄ 拮抗剂	氯丙嗪、氟奋乃静、氟哌啶醇、甲氧氯普胺、齐拉西酮
内皮缩血管肽受体(ETA、ET _B)	拮抗剂	波生坦
GABA _B 受体	激动剂	巴氯芬
胰高血糖素受体	激动剂	胰高血糖素
胰高血糖素样肽-1受体	激动剂	依泽那太(Exenatide)
组胺受体	H ₁ -拮抗剂	苯海拉明
	H ₂ -拮抗剂	西咪替丁
阿片样物质受体	μ -阿片样物质激动剂	吗啡、丁丙诺啡
	μ -、 κ -和 δ -阿片样物质拮抗剂	纳曲酮
	κ -阿片样物质拮抗剂	丁丙诺啡
神经激肽受体	NK ₁ 受体拮抗药	阿瑞匹坦(Aprepitant)
类前列腺素受体	激动剂	米索前列醇、硫前列酮、伊洛前列素
前列腺酰胺受体	激动剂	比马前列素
嘌呤能受体	P ₂ Y ₁₂ 拮抗剂	氯吡格雷
血清素受体	亚型特异性(部分)激动剂	麦角新碱、麦角胺
	5-HT _{1A} 部分激动剂	丁螺环酮
	5-HT _{1B/1D} 激动剂	曲普坦类(Triptans)

[0793]

	5-HT _{2A} 拮抗剂	喹硫平、齐拉西酮
	5-HT ₃ 拮抗剂	格兰塞隆(Granisetron)
	5-HT ₄ 部分激动剂	替加色罗
加压素受体	激动剂	加压素
	V ₁ 激动剂	特利加压素
	V ₂ 激动剂	去氨加压素
	OT激动剂	催产素
	OT拮抗剂	阿托西班
细胞因子受体		
I类细胞因子受体	生长激素受体拮抗药	培维索孟
	促红细胞生成素受体激动剂	促红细胞生成素
	粒细胞集落刺激因子激动剂	非格司亭
	粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子激动剂	莫拉司亭
	白介素-1受体拮抗蛋白	阿那白滞素
	白介素-2受体激动剂	阿地白介素
TNF α 受体	模拟物(可溶解)	依那西普
整联蛋白受体		
糖蛋白 IIb/IIIa受体	拮抗剂	替罗非班
酪氨酸激酶相关的受体		
胰岛素受体	直接激动剂	胰岛素
胰岛素受体	增敏剂	双胍类
核受体(类固醇激素受体)		
盐皮质激素受体	激动剂	醛固酮
	拮抗剂	安体舒通
糖皮质激素受体	激动剂	糖皮质激素
孕酮受体	激动剂	孕激素类
雌激素受体	激动剂	雌激素类
	(部分)拮抗剂	氟米芬
	拮抗剂	氟维司群
	调节物	他莫西芬、雷洛昔芬
	雄激素受体激动剂	睾酮
	拮抗剂	醋酸环丙孕酮
维生素 D受体	激动剂	维生素 a 酸类
ACTH受体激动剂	激动剂	替可克肽(也称作二十四肽促皮质素)
核受体(其他)		
	α -维生素 a 酸类受体 RAR 激动剂	异维 A 酸

[0794]

	β -RAR 激动剂	阿达帕林、异维 A 酸
	γ -RAR 激动剂	阿达帕林、异维 A 酸
过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR)	α -PPAR 激动剂	贝特类
	γ -PPAR 激动剂	格列酮类
甲状腺激素受体	激动剂	L-甲状腺素
电压门控 Ca^{2+}通道		
一般	抑制剂	奥卡西平
血吸虫属物种 (<i>Schistosoma sp.</i>)中	抑制剂	吡喹酮
L-型通道	抑制剂	二氢吡啶类、地尔硫卓、乐卡地平、普瑞巴林、维拉帕米
T-型通道	抑制剂	琥珀酰亚胺
K⁺通道		
上皮 K ⁺ 通道	开通剂 抑制剂 (Opener Inhibitor)	二氮嗪、米诺地尔 那格列奈、磺脲类
电压-门控 K ⁺ 通道	抑制剂	胺碘酮
Na⁺通道		
上皮 Na ⁺ 通道(ENaC)	抑制剂	阿米洛利、布比卡因、利多卡因、普鲁卡因胺、奎尼丁
电压门控 Na ⁺ 通道	抑制剂	卡马西平、氟卡尼、拉莫三嗪、苯妥英、普罗帕酮、托吡酯、丙戊酸
兰尼碱-肌醇 1,4,5-三磷酸受体 Ca^{2+}通道(RIR-CaC)家族		
理阿诺碱受体 (Tyanodine receptors)	抑制剂	丹曲林
瞬时受体电位 Ca^{2+}通道(TRP-CC)家族		
TRPV1 受体	抑制剂	醋氨酚(如花生四烯酰胺)
Cl⁻通道		
Cl ⁻ 通道	抑制剂(肥大细胞)开通剂(寄生体)	色甘酸钠 伊维菌素
阳离子-氯协同转运蛋白(CCC)家族	噻嗪化物敏感性 NaCl 共输送体, 人抑制剂	噻嗪利尿剂
	布美他尼敏感性 NaCl/KCl 共输送体, 人抑制剂	呋塞米
Na ⁺ /H ⁺ 反向转运蛋白	抑制剂	阿米洛利、氨苯蝶啶
质子泵	Ca ²⁺ - 依赖性 ATP 酶 (PfATP6; 疟原虫)抑制剂	青蒿素和衍生物
H ⁺ /K ⁺ -ATP 酶	抑制剂	奥美拉唑

[0795]

Na ⁺ /K ⁺ ATP 酶	抑制剂	强心苷类
真核(推定性)固醇转运蛋白(EST)家族	Niemann-Pick C1 样 1 (NPC1L1)蛋白质抑制剂	依折麦布
神经递质/Na ⁺ 共输送体(NSS)家族	血清素/Na ⁺ 共输送体抑制剂	可卡因、三环类抗抑郁药、帕罗西汀
	去甲肾上腺素/Na ⁺ 共输送体抑制剂	安非他酮、文拉法辛
	多巴胺/Na ⁺ 共输送体抑制剂	三环类抗抑郁药、可卡因、苯丙胺类
	囊泡单胺转运蛋白抑制剂	利血平
核酸		
DNA 和 RNA	烷基化	苯丁酸氮芥、环磷酰胺、达卡巴嗪
	复合 (Complexation)	顺铂
	嵌入	多柔比星
	氧化性降解	博来霉素
	链断裂	硝基咪唑类
RNA	与 16S-rRNA 相互作用	氨基糖苷类抗感染药
	与 23S-rRNA 相互作用	大环内酯类抗感染药
	23S-rRNA/tRNA/2-多肽复合物	噁唑烷酮抗感染药
纺锤体	抑制发育	长春花生物碱类
	抑制去聚集	紫杉烷
抑制有丝分裂	—	秋水仙素
核糖体		
30S 亚单位(细菌)	抑制剂	四环素
50S 亚单位(细菌)	抑制剂	林肯胺类、奎奴普丁-达福普汀

[0796] 降解结构域可以通过本领域已知的多种例行方法中任一者,从已知的蛋白质(例如,上表中所述那些蛋白质)工程化而来。通常,这类方法首先产生目的文库,所述目的文库包含衍生自例如天然存在性蛋白质的蛋白质。其次,将基于衍生的蛋白质表达是否依赖于所需稳定作用化合物的存在,选择表达来自各个文库构建体的蛋白质的细胞或细胞群体。衍生和选择的过程可以按需要重复许多循环,以鉴定合适的候选物。

[0797] 例如,可以基于对不同结构采样和蛋白质结构域对所选择化合物的推定性亲和力,通过理性蛋白质设计而产生文库。备选地,可以通过靶蛋白质的随机诱变产生文库。在任何一种情况下,例如,可以用从构建体产生的慢病毒文库转导Jurkat细胞。Jurkat细胞随后可以接受多轮FACS分选,以消除组成型表达目的蛋白的细胞。在下一个阶段,分选的细胞与选择的化合物温育24小时并且阳性细胞接受FACS分选。将这些细胞通过单一细胞克隆法扩充。从这些细胞中,将对转导的各个克隆评估以化合物依赖性方式诱导目的蛋白表达的能力。

[0798] 自杀基因和结构域

[0799] 本发明,部分地利用在继承性转移后选择性消除或活化来自受试者的已修饰T细胞的方法的CAR技术。在一个实施方案中,通过诱导修饰的T细胞中自杀结构域激活,在受试

者中选择性地消除修饰的CAR T细胞。在另一个实施方案中,通过治疗期间主动防止修饰的CAR T细胞凋亡,在受试者中选择性地活化修饰的T细胞。在又一个实施方案中,通过允许细胞表面表达CAR构建体,在受试者中选择性地活化修饰的T细胞。

[0800] 可以通过在CAR T细胞中共表达自杀基因,克服CAR T细胞识别非目标细胞的一些潜在副作用。此外,可以在靶向B细胞发生耗尽后,选择性地消除CAR T细胞,以治疗自身抗体或同种异体抗体疾病或病状。

[0801] 本发明包括分离的核酸,其包含自杀基因。自杀基因的例子包括但不限于单纯疱疹病毒胸苷激酶(HSV-TK)、胞质结构域Fas、胱天蛋白酶如胱天蛋白酶-8或胱天蛋白酶-9、胞嘧啶脱氨酶、E1A、FHIT和其他已知的自杀基因或诱导凋亡的基因(Straathof等人,2005, Blood 105:4247-4254;Cohen等人,1999,Leuk.Lymphoma 34:473-480;Thomis等人,2001, Blood 97:1249-1257;Tey等人,2007,Biol.Blood Marrow Transplant 13:913-924;和Di Stasi等人,2011,N.Engl.J.Med.365:1673-1683)。

[0802] 自杀基因可以有效连接于启动子,如诱导型启动子序列。诱导型启动子的例子包括但不限于热休克启动子、四环素调节型启动子、类固醇调节型启动子、金属调节型启动子、雌激素受体调节型启动子和本领域已知的其他启动子。在一个方面,本发明包括分离的核酸序列,其包含了包含自杀基因的核酸序列和编码嵌合抗原受体的核酸。在另一个方面,本发明包括分离的核酸序列,其包含了包含自杀基因的核酸序列和编码嵌合抗原受体的核酸。在一个实施方案中,自杀基因包含选自以下的核酸:

[0803] ATGCTCGAGGGGTTTCAGGTGGAGACTATCAGCCCGGGCGACGGACGGACATCCCAAAGCGCGGGCA GACGTGTGTGGTGCATTACACCGGGATGCTTGAGGACGGAAAGAAAGTGGACTCTTCCCGAGACCGAAATAACCA TTCAAGTTCATGTTGGGCAAGCAGGAGGTTATCAGAGGGTGGGAGGAGGGCGTCGCTCAGATGAGTGTCCGACAGA GGGCCAAGCTCACGATCTCCCCTGATTACGCCTACGGGGCAACTGGTCACCCCGGAATCATCCCCCTCACGCAAC CCTCGTGTTCGACGTCGAGCTGCTCAAACCTGGAATCAGGCGGAGGCAGTGGCGCTAGCGGGTTTGGCGATGTCCGT GCCCTTGAAAGCTTGAGAGGAAATGCCGATCTCGCTTACATCTTGAGCATGGAGCCCTGTGGGCACTGTCTGATCA TCAACAATGTAACTTTTGCCGGGAGTCCGGCCTGCGCACACGCACAGGCTCCAACATTGACTGCGAAAACTTCG AAGGAGGTTTAGCTCTCTGCATTTTCATGGTAGAGGTGAAGGGGATCTGACCGCCAAGAAAATGGTTCTCGCCCTT CTCGAGCTTGCGCAGCAGGACCATGGAGCGCTTACTGTTGTGTCGTTGTGATACTGAGCCATGGCTGTCAGGCTT CCCATCTCCAGTTTCCAGGGGCCGTGTACGGAACCGATGGATGCCCTGTGTCAGTTGAAAAGATCGTAAACATCTT TAACGGAACATCTTGCCCGAGCCTCGGCGGTAACCGAAGCTTTTTTTTATCCAGGCCTGCGGCGGTGAACAGAAA GATCATGGCTTCGAGGTTGCCAGTACCAGCCCTGAAGACGAATCCCCGGGTCAAATCCTGAACCAGATGCGACCC CTTTCCAGGAAGGACTCCGCACTTTTGACCAGCTTGACGCCATTTCTCCCTGCCAACACCTTCCGACATATTTGT AAGCTACTCCACCTTTCCAGGATTCGTGAGCTGGCGCGACCCAAAATCCGGCAGTTGGTATGTTGAAACCCTGGAC GATATTTTGAACAATGGGCCACAGTGAGGACCTGCAGTCCCTTCTTCTGCGCGTAGCCAATGCCGTGTCAGTCA AAGGGATTTACAAGCAGATGCCAGGCTGCTTTAATTTCTGCGCAAGAAAAGTGTTTTTTAAGACCAGT或SEQ ID NO:3001;

[0804] CGGACGGACATTCCAAAGCGCGGGCAGACGTGTGTGGTGCATTACACCGGGATGCTTGAGGACGGAA AGAAAGTGGACTCTTCCCGAGACCGAAATAAACATTCAAGTTCATGTTGGGCAAGCAGGAGGTTATCAGAGGGTG GGAGGAGGGCGTCGCTCAGATGAGTGTCCGACAGAGGGCCAAGCTCACGATCTCCCCTGATTACGCCTACGGGGCA ACTGGTCACCCCGGAATCATCCCCCTCACGCAACCCTCGTGTTCGACGTCGAGCTGCTCAAACCTGGAATCAGGCG

GAGGCAGTGGCGGGTTTGGCGATGTGCGGTGCCCTTGAAAGCTTGAGAGGAAATGCCGATCTCGCTTACATCTTGAG
CATGGAGCCCTGTGGGCACTGTCTGATCATCAACAATGTAACTTTTGCCGGGAGTCCGGCCTGCGCACACGCACA
GGCTCCAACATTGACTGCGAAAACTTCGAAGGAGGTTAGCTCTCTGCATTTTCATGGTAGAGGTGAAGGGGGATC
TGACCGCCAAGAAAAATGGTTCTCGCCCTTCTCGAGCTTGCGCAGCAGGACCATGGAGCGCTTACTGTTGTGTCTGT
TGTGATACTGAGCCATGGCTGTCAGGCTTCCCATCTCCAGTTTCCAGGGGCCGTGTACGGAACCGATGGATGCCCT
GTGTGAGTTGAAAAGATCGTAAACATCTTTAACGGAACATCTTGCCCGAGCCTCGGCGGTAAACCGAAGCTTTTTT
TTATCCAGGCCTGCGGCGGTGAACAGAAAGATCATGGCTTCGAGGTTGCCAGTACCAGCCCTGAAGACGAATCCCC
CGGGTCAAATCCTGAACCAGATGCGACCCCTTCCAGGAAGGACTCCGCACTTTTGACCAGCTTGACGCCATTTCC
TCCCTGCCAACACCTTCGACATATTTGTAAGCTACTCCACCTTCCAGGATTCGTGAGCTGGCGCGACCCAAAAT
CCGGCAGTTGGTATGTTGAAACCCTGGACGATATCTTGAACAATGGGCCACAGTGAGGACCTGCAGTCCCTTCT
TCTGCGCGTAGCCAATGCCGTGTCAGTCAAAGGGATTTACAAGCAGATGCCAGGCTGCTTTAATTTCTGCGCAAG
AAACTGTTTTTTAAGACCAGTTGAGTCGACGGAGGAGGAG或SEQ ID NO:3002;

[0805] GGGTTTCAGGTGGAGACTATCAGCCCGGGCGACGGACGACATTCCCAAAGCGGGCAGACGTGTGT
GGTGCATTACACCGGGATGCTTGAGGACGGAAGAAAGTGGACTCTTCCCGAGACCGAAATAAACCATTCAAGTTC
ATGTTGGGCAAGCAGGAGGTTATCAGAGGGTGGGAGGAGGGCGTCGCTCAGATGAGTGTGCGACAGAGGGCCAAGC
TCACGATCTCCCCTGATTACGCCTACGGGGCAACTGGTCACCCCGGAATCATCCCCCTCACGCAACCCTCGTGTT
CGACGTGAGCTGCTCAAACCTGGAATCAGGCGGAGGCAGTGGCGGGTTTGGCGATGTCGGTGCCTTGAAAGCTTG
AGAGGAAATGCCGATCTCGCTTACATCTTGAGCATGGAGCCCTGTGGGCACTGTCTGATCATCAACAATGTAACT
TTTGCCGGGAGTCCGGCCTGCGCACACGCACAGGCTCCAACATTGACTGCGAAAACTTCGAAGGAGGTTTAGCTC
TCTGCATTTTCATGGTAGAGGTGAAGGGGGATCTGACCGCAAGAAAAATGGTTCTCGCCCTTCTCGAGCTTGCGCAG
CAGGACCATGGAGCGCTTACTGTTGTGTGCTGTGATACTGAGCCATGGCTGTCAGGCTTCCCATCTCCAGTTTC
CAGGGGCCGTGTACGGAACCGATGGATGCCCTGTGTGAGTTGAAAAGATCGTAAACATCTTTAACGGAACATCTTG
CCCAGCCTCGGCGGTAAACCGAAGCTTTTTTTTATCCAGGCCTGCGGCGGTGAACAGAAAGATCATGGCTTCGAG
GTTGCCAGTACCAGCCCTGAAGACGAATCCCCGGGTCAAATCCTGAACCAGATGCGACCCCTTCCAGGAAGGAC
TCCGCACTTTTGACCAGCTTGACGCCATTTCTCCCTGCCAACACCTTCCGACATATTTGTAAGCTACTCCACCTT
TCCAGGATTCGTGAGCTGGCGCGACCCAAAATCCGGCAGTTGGTATGTTGAAACCCTGGACGATATCTTCGAACAA
TGGGCCACAGTGAGGACCTGCAGTCCCTTCTTCTGCGCGTAGCCAATGCCGTGTCAGTCAAAGGGATTTACAAGC
AGATGCCAGGCTGCTTTAATTTCTGCGCAAGAAACTGTTTTTTAAGACCAGTTGA或SEQ ID NO:3003;和

[0806] AGAGGCGTGCAGGTGGAACCATCTCTCCCGGCGACGGCAGAACCTTCCCTAAGAGGGGCCAGACCTG
CGTGGTGCCTACACCGCATGCTGGAAGATGGCAAGAAGATGGACAGCTCCCGGACCGGAACAAGCCCTTCAAG
TTCATGCTGGGCAAGCAGGAAGTGATCCGGGGCTGGGAAGAGGGCGTGGCACAGATGTCTGTGGGCCAGAGAGCCA
AGCTGACCATCAGCCCCGATTACGCCTACGGCGCCACAGGCCACCCTGGCATCATCTCCACACGCCACACTGGT
GTTTCGATGTGGAAGTCTGAAAGCTGGAACCCGGGGAGTGCAGGTGGAACAATCAGCCCTGGCGACGGCCGGACC
TTTCCAAAACGGGGACAGACATGTGTGGTGCATTATACAGGGATGCTGGAAGATGGGAAAAAATGGATAGCAGCC
GCGACCGCAACAAACCTTTTAAGTTTATGCTGGGAAACAGGAAGTGATTAGAGGCTGGGAAGAGGGGGTGGCACA
GATGAGCGTGGGACAGCGGGCCAACTGACAATCTCCCCGACTATGCCTATGGGGCCACCGGACACCCCGGAATC
ATCCACCTCATGCTACCCTGGTGTGTTGACGTGGAAGTCTGAAACTGGAACAAGCGGCGGAGGCAGCGGCGGCT
TTGGAGATGTGGGAGCCCTGGAAGCCTGCGGGGCAATGCCGATCTGGCCTACATCTGAGCATGGAACCCTGCGG
CCACTGCCTGATTATCAACAACGTGAACTTCTGCAGAGAGAGCGGCCTGCGGACCAGAACCAGCAACATCGAC

TGCGAGAAGCTGCGGCGGAGATTCAGCAGCCTGCACTTCATGGTGAAGTGAAGGGGGACCTGACCGCCAAGAAAA
TGTTGCTGGCTCTGCTGGAAGTGGCCAGCAGGATCATGGCGCCCTGGACTGTTGCGTGGTCTGTATCCTGAGCCA
CGGCTGCCAGGCCAGCCATCTGCAGTTTCCCGGCGCTGTGTATGGCACCGATGGCTGCCCTGTGTCCGTGGAAG
ATCGTGAATATCTTCAACGGCACCAGCTGCCCCAGCCTGGGCGGAAAGCCTAAGCTGTTCTTTATTCAAGCCTGTG
GGGCGAGCAGAAGGACCACGGATTTGAGGTGGCCAGCACCTCCCCGAGGATGAGAGCCCTGGCAGCAACCCTGA
GCCTGACGCCACCCCATCCAGGAAGGACTGCGGACCTTCGACCAGCTGGACGCCATCTCTAGCCTGCCACCCCC
AGCGACATCTTCGTGTCTACAGCACCTTCCCTGGCTTTGTGTCTGGCGGGACCCCAAGTCCGGCTCTTGGTACG
TGAAACCCTGGACGACATCTTTGAGCAGTGGGCCATAGCGAGGACCTGCAGAGCCTGCTGCTGAGGGTGGCCAA
TGCCGTGTCCGTGAAGGCATCTACAAGCAGATGCCCGCTGCTTCAACTTCTGCGGAAGAAGCTGTTTTTCAAG
ACCAGC或SEQ ID NO:3004。

[0807] 在另一个实施方案中,自杀基因编码选自以下的氨基酸序列:

[0808] MLEGVQVETISPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLEDGKVKDSSRDRNKPFKMLGKQEVIRGWEEGVAQ
MSVQRAKLTI SPDYAYGATGHPGI IPPHATLVFDVELLKLKLESGGGSGASGFGDVGALES LRGNADLAYILSMEPC
GHCL I INNVNFCRESGLRTRTGSNIDCEKLR RRFSSLHFMVEVKGDLTAKKMLALLELAQQDHGALDCCVVVILS
HGCQASHLQFP GAVYGT DGC PVSVEKIVNIFNGTSCPSLGGKPKLFFIQACGGEQKDHGFEVASTSPEDESPGSNP
EPDATPFQEGLR TFDQLDAISSLPTPSDIFVSYSTFPGFVSWRDPKSGSWYVETLDDIFEQWAHSEDLQSLLLRVA
NAVSVKGIYKQMPGCFNFLRKKLFFKTS或SEQ ID NO:3005;

[0809] GVQVETISPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLEDGKVKDSSRDRNKPFKMLGKQEVIRGWEEGVAQMSV
GQRAKLTI SPDYAYGATGHPGI IPPHATLVFDVELLKLKLESGGGSGGFGDVGALES LRGNADLAYILSMEPCGHCL I
INNVNFCRESGLRTRTGSNIDCEKLR RRFSSLHFMVEVKGDLTAKKMLALLELAQQDHGALDCCVVVILSHGCQA
SHLQFP GAVYGT DGC PVSVEKIVNIFNGTSCPSLGGKPKLFFIQACGGEQKDHGFEVASTSPEDESPGSNPEP DAT
PFQEGLR TFDQLDAISSLPTPSDIFVSYSTFPGFVSWRDPKSGSWYVETLDDIFEQWAHSEDLQSLLLRVANAVSV
KGIYKQMPGCFNFLRKKLFFKTS或SEQ ID NO:3006;和

[0810] RGVQVETISPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLEDGKMDSSRDRNKPFKMLGKQEVIRGWEEGVAQMS
VGQRAKLTI SPDYAYGATGHPGI IPPHATLVFDVELLKLKLETRGVQVETISPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLEDGK
KMDSSRDRNKPFKMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTI SPDYAYGATGHPGI IPPHATLVFDVELLKLKLETS
GGSGGFGDVGALES LRGNADLAYILSMEPCGHCL I INNVNFCRESGLRTRTGSNIDCEKLR RRFSSLHFMVEVKG
DLTAKKMLALLELAQQDHGALDCCVVVILSHGCQASHLQFP GAVYGT DGC PVSVEKIVNIFNGTSCPSLGGKPKL
FIQACGGEQKDHGFEVASTSPEDESPGSNPEP DATPFQEGLR TFDQLDAISSLPTPSDIFVSYSTFPGFVSWRDPK
SGSWYVETLDDIFEQWAHSEDLQSLLLRVANAVSVKGIYKQMPGCFNFLRKKLFFKTS或SEQ ID NO:3007。在
又一个实施方案中,自杀基因具有诱导型启动子。

[0811] 在一些实施方案中,自杀基因处于表达载体中。在一个示例性实施方案中,本发明
包括一种包含核酸序列的载体,所述核酸序列包含了包含SEQ ID NO:3001、3002、3003或
3004的自杀基因。该表达载体还可以包含其他基因,如本文他处公开的嵌合抗原受体和/或
CRISPR系统。

[0812] 本发明还包括细胞,其包含自杀基因。在示例性方面,本发明包括包含修饰的细
胞,所述细胞包含了包含自杀基因的核酸,所述自杀基因编码选自SEQ ID NO:3005、3006和
3007的氨基酸序列,和编码嵌合抗原受体的核酸。在另一个方面,本发明包括包含修饰的细
胞,所述细胞包含选自SEQ ID NO:3001、3002、3003和3004的自杀基因的核酸和编码嵌合抗

原受体的核酸。在一个实施方案中,自杀基因编码选自SEQ ID NO:3005、3006和3007的氨基酸序列。在另一个实施方案中,自杀基因具有诱导型启动子。

[0813] 在一个实施方案中,修饰CAR的T细胞包含核酸,所述核酸编码作为来自本文他处描述的CAR构建体中独立核酸序列的自杀基因。例如,HSV-TK、i-Casp9、Fas的胞质结构域或胱天蛋白酶可以并入中独立于CAR构建体的基因工程化的T细胞。在另一个实施方案中,修饰CAR的T细胞在与编码CAR的核酸的相同构建体中包含自杀基因。在这个实施方案中,包含自杀基因的核酸可以在编码CAR的核酸的上游或下游。

[0814] 在一个实施方案中,通过使细胞与施用至细胞或施用至包含细胞的哺乳动物的诱导剂接触,在细胞中激活自杀基因的表达。诱导剂随后激活诱导型启动子以表达自杀基因。在这种实施方案中,将诱导剂施用至受试者以诱导自杀基因的表达。

[0815] 在另一个实施方案中,从自杀基因表达的自杀基因产物由活化剂(如二聚化剂)激活。例如,二聚化剂,如AP20187,促进胱天蛋白酶-9分子的二聚化和激活。

[0816] 在自杀基因组成型表达的一些实施方案中,通过使细胞与施用至细胞或施用至包含细胞的哺乳动物的抑制剂接触,在细胞中关闭自杀基因的表达。抑制剂选择性地关闭表达。例如,胱天蛋白酶-9在细胞中组成型表达并且添加抑制剂阻抑胱天蛋白酶-9的表达或激活。在一个实施方案中,将抑制剂施用至受试者阻抑自杀基因的表达。

[0817] 在自杀基因组成型表达的一些实施方案中,通过使细胞与施用至细胞或施用至包含细胞的哺乳动物的抑制剂(如增溶剂)接触,在细胞中阻抑自杀基因产物的激活。抑制剂阻抑自杀基因产物的激活,如通过阻止胱天蛋白酶-9分子的二聚化。在一个实施方案中,将增溶剂施用至受试者以阻抑自杀基因产物的激活。

[0818] 在一些方面,自杀基因对包含自杀基因的细胞或携带自杀基因的宿主无免疫原性。尽管可以使用胸苷激酶(TK),但它可能有免疫原性。备选地,对宿主无免疫原性的自杀基因的例子包括胱天蛋白酶-9、胱天蛋白酶-8和胞嘧啶脱氨酶。

[0819] 在又一个实施方案中,自杀基因表达以串联方式连接至一个或多个二聚化结构域,这造成含有自杀结构域和二聚化结构域的融合蛋白聚集,从而阻止细胞表面表达并因此阻止自杀基因的功能。

[0820] 在又一个实施方案中,与自杀基因连接的编码二聚化结构域的核酸序列包含选自GGAAGCGCGCCACCAATTTTCAGCCTGCTGAAACAGGCCGGCGACGTGGAAGAGAACCCTGGCCCT或SEQ ID NO:3008;

[0821] AGTGGCTCCGGCGCAACAAATTTCTCCTTGCTGAAACAGGCAGGCGACGTTGAGGAAAATCCCGGCCCA或SEQ ID NO:3009;

[0822] GGCTCCGGCGCAACAAATTTCTCCTTGCTGAAACAGGCAGGCGACGTTGAGGAAAATCCCGGCCCA或SEQ ID NO:3010;GGGGTTCAGGTGGAGACTATCAGCCCGGGCGA或SEQ ID NO:3011;和

[0823] GGCTCCGGCGCAACAAATTTCTCCTTGCTGAAACAGGCAGGCGACGTTGAGGAAAATCCCGGCCCA或SEQ ID NO:3012的核酸序列。在另一个这样的实施方案中,与自杀结构域连接的二聚化结构域包含选自GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP或SEQ ID NO:3013;和RKRRTSGATNFSLLKQAGDVEENPGP或SEQ ID NO:3014的氨基酸序列。

[0824] 用施用至细胞或施用至包含细胞的哺乳动物的增溶剂增溶二聚化结构域,阻止聚集并引起构建体经分泌系统运出。

[0825] 如本文所述,本发明包括一种用嵌合抗原受体(CAR)和自杀基因修饰T细胞的方法。因此,本发明涵盖编码CAR的核酸或包含CAR的修饰的T细胞,其中CAR包含抗原结合结构域、跨膜结构域和胞内结构域。

[0826] CAR的一个或多个结构域或结构域的片段可以是人类的。在一个实施方案中,本发明包括全人CAR。编码所需结构域的核酸序列可以使用本领域已知的重组方法获得,例如通过从表达该基因的细胞筛选文库,通过从已知包含该基因的载体衍生基因,或使用标准技术通过从含有该基因的细胞和组织直接分离。备选地,可以合成地产生目的基因,而非作为克隆分子。

[0827] 美国专利号8,911,993、8,906,682、8,975,071、8,916,381、9,102,760、9,101,584和9,102,761中描述了CAR的例子,所述专利均通过引用方式并入本文完整地。

[0828] 核酸和载体

[0829] 在另一个方面,本发明涉及编码本文所述的任何融合蛋白的核酸或包含这种核酸的载体。在一个实施方案中,载体选自DNA载体、RNA载体、质粒、慢病毒载体、腺病毒载体或逆转录病毒载体。在一个实施方案中,载体是慢病毒载体。

[0830] 在一些实施方案中,本文所述的核酸包括编码弗林蛋白酶切割位点的序列。在一些实施方案中,本文所述的核酸包含SEQ ID NO:1112、126、128、130、132、134、136或138中任一个或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,本文所述的核酸包含SEQ ID NO:1112、126、128、130、132、134、136或138中任一个。在一些实施方案中,本文所述的核酸包含SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:128。在一些实施方案中,本文所述的核酸包含SEQ ID NO:126。

[0831] 在一些实施方案中,本文所述的核酸包含序列,所述序列编码条件性表达结构域,例如,聚集结构域或降解结构域。在一些实施方案中,本文所述的核酸包含序列,所述序列编码衍生自FKBP的聚集结构域,例如,FKBP F36M。在一些实施方案中,本文所述的核酸包含序列,所述序列编码衍生自雌激素受体(ER)的降解结构域。在一些实施方案中,本文所述的核酸包含SEQ ID NO:1110或SEQ ID NO:122或与之具有至少90%、95%、97%、98%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,本文所述的核酸包含SEQ ID NO:1110或SEQ ID NO:122。在一些实施方案中,本文所述的核酸包含SEQ ID NO:122。

[0832] 本公开还提供其中插入本公开的DNA的载体。衍生自逆转录病毒(如慢病毒)的载体是实现长期基因转移的合适工具,因为它们允许转基因的长期、稳定整合和其在子代细胞中增殖。慢病毒载体具有胜过衍生自癌-逆转录病毒(如鼠白血病病毒)的载体的附加优点,在于它们可以转导非增殖性细胞,如肝细胞。它们还具有附加的低免疫原性优点。逆转录病毒载体也可以例如是 γ 逆转录病毒载体。 γ 逆转录病毒载体可以例如包含启动子、包装信号(ψ)、引物结合位点(PBS)、一个或多个(例如,两个)长末端重复序列(LTR)和目的转基因,例如,编码CAR的基因。 γ 逆转录病毒载体可以缺少病毒结构性基因如gag、pol和env。示范性 γ 逆转录病毒载体包括鼠白血病病毒(MLV)、脾病灶形成病毒(SFFV)和骨髓增生性肉瘤病毒(MPSV)和从中衍生的载体。其他 γ 逆转录病毒载体例如在Tobias Maetzig等人,“Gammaretroviral Vectors: Biology, Technology and Application” Viruses. 2011 Jun; 3(6):677-713中描述。

[0833] 在另一个实施方案中,包含编码本发明的所需融合蛋白的核酸的载体是腺病毒载

体(A5/35)。在另一个实施方案中,可以使用转座子如sleeping beauty、crisper、CAS9和锌指核酸酶,实现编码嵌合分子的核酸的表达。参见下文June等人2009 Nature Reviews Immunology 9.10:704-716,所述文献通过引用将其并入本文。

[0834] 可以将核酸克隆入众多类型的载体中。例如,可以将核酸克隆入包括但不限于质粒、噬菌粒、噬菌体衍生物、动物病毒和粘粒的载体中。特别感兴趣的载体包括表达载体、复制载体、探针生成载体和测序载体。

[0835] 本文公开了用于产生体外转录的RNA嵌合分子的方法。本公开还包括可以直接转染至细胞中的编码嵌合分子的RNA构建体。一种产生用于转染的mRNA的方法可以涉及用专门设计的引物体外转录(IVT)模板,随后添加聚腺苷酸,以产生含有3'和5'非翻译序列(“UTR”)、5'帽和/或内部核糖体进入位点(IRES)、待表达核酸和聚腺苷酸化尾的构建体,长度一般为50-5000个碱基(SEQ ID NO:32)。如此产生的RNA可以高效地转染不同种类的细胞。在一个方面,模板包括CAR的序列。

[0836] 编码包含CAR的融合蛋白的核酸构建体

[0837] 本公开还提供核酸分子,其编码(例如,如本文所述的)融合蛋白,所述融合蛋白包含结构域,所述结构域包含一个或多个靶向本文所述抗原的CAR构建体。在一个方面,核酸分子作为信使RNA转录物提供。在一个方面,核酸分子作为DNA构建体提供。

[0838] 因此,在一个方面,本发明涉及一种编码包含嵌合抗原受体(CAR)的融合蛋白(例如如本文所述的)的核酸分子,其中CAR包含与本文所述的抗原结合的抗原结合结构域、跨膜结构域(例如,本文所述的跨膜结构域)和胞内信号传导结构域(例如,本文所述的胞内信号传导结构域),所述胞内信号传导结构域包括刺激性结构域,例如,共刺激信号传导结构域(例如,本文所述的共刺激信号传导结构域)和/或初级信号传导结构域(例如,本文所述的初级信号传导结构域,例如,本文所述的 δ 链)。在一个实施方案中,跨膜结构域是选自以下蛋白质的跨膜结构域:T细胞受体的 α 、 β 或 δ 链、CD28、CD3 ϵ 、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137和CD154。在一些实施方案中,跨膜结构域可以包括至少例如以下蛋白质的跨膜区:KIRDS2、OX40、CD2、CD27、LFA-1(CD11a、CD18)、ICOS(CD278)、4-1BB(CD137)、GITR、CD40、BAFFR、HVEM(LIGHTR)、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD160、CD19、IL2R β 、IL2R γ 、IL7R α 、ITGA1、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、PAG/Cbp、NKG2D和NKG2C。

[0839] 在一个实施方案中,跨膜结构域包含SEQ ID NO:12的序列或与其具有95-99%同一性的序列。在一个实施方案中,抗原结合结构域通过铰链区(例如,本文所述的铰链区)与跨膜结构域连接。在一个实施方案中,铰链区包含SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:6或SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:10或与其具有95-99%同一性的序列。在一个实施方案中,分离的核酸分子还包含编码共刺激结构域的序列。在一个实施方案中,共刺激结构域是选自以下的蛋白质的功能性信号传导结构域:OX40、CD27、CD28、CDS、ICAM-1、LFA-1(CD11a/CD18)、ICOS(CD278)和4-1BB(CD137)。这类共刺激分子的其他例子包括CDS、ICAM-1、GITR、BAFFR、HVEM

(LIGHTR)、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD160、CD19、CD4、CD8 α 、CD8 β 、IL2R β 、IL2R γ 、IL7R α 、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、CD69、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、NKG2D和NKG2C。在一个实施方案中,胞内信号传导结构域包含4-1BB的功能性信号传导结构域和CD3 δ 的功能性信号传导结构域。在一个实施方案中,胞内信号传导结构域包含SEQ ID NO:14、16、120或124的序列或与其具有95-99%同一性的序列和SEQ ID NO:18或SEQ ID NO:20的序列或与其具有95-99%同一性的序列,其中包含胞内信号传导结构域的序列在相同可读框中表达并作为单条多肽链表达。

[0840] 在另一个方面,本发明涉及编码包含包括CAR构建体的结构域的融合蛋白(例如如本文所述的)的分离的核酸分子,所述CAR构建体包含SEQ ID NO:2的前导序列、如本文所述的scFv结构域、SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:6或SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:10(或与其具有95-99%同一性的序列)的铰链区、具有SEQ ID NO:12的序列(或与其具有95-99%同一性的序列)的跨膜结构域、具有SEQ ID NO:14的序列的4-1BB共刺激结构域、具有SEQ ID NO:16的序列(或与其具有95-99%同一性的序列)的CD27共刺激结构域、具有SEQ ID NO:120的序列(或与其具有95-99%同一性的序列)的ICOS共刺激结构域或具有SEQ ID NO:124的序列的CD28共刺激结构域,和具有SEQ ID NO:18或SEQ ID NO:20的序列(或与其具有95-99%同一性的序列)的CD3 δ 刺激性结构域。

[0841] 编码所需分子的核酸序列可以使用本领域已知的重组方法获得,例如通过从表达该基因的细胞筛选文库,通过从已知包含该基因的载体衍生基因,或使用标准技术通过从含有该基因的细胞和组织直接分离。或者,可以合成产生,而不是克隆目的基因。

[0842] 本公开还提供其中插入本公开核酸的载体。衍生自逆转录病毒(如慢病毒)的载体是实现长期基因转移的合适工具,因为它们允许转基因的长期、稳定整合和其在子代细胞中增殖。慢病毒载体具有胜过衍生自癌-逆转录病毒(如鼠白血病病毒)的载体的附加优点,在于它们可以转导非增殖性细胞,如肝细胞。它们还具有附加的低免疫原性优点。

[0843] 在另一个实施方案中,包含编码包含包括本发明CAR的结构域的融合蛋白(例如如本文所述的)的核酸的载体是腺病毒载体(A5/35)。在另一个实施方案中,可以使用转座子如睡美人转座子、crispr/CAS9和锌指核酸酶完成编码CAR的核酸的表达。参见下文June等人,2009 Nature Reviews Immunology 9.10:704-716,所述文献通过引用方式并入本文。

[0844] 简言之,一般通过将编码包含包括CAR的结构域的融合蛋白(例如如本文所述的)的核酸有效连接至启动子并将构建体并入表达载体中,实现编码CAR的天然或合成性核酸的表达。载体可以适合在真核生物中复制和整合。常见的克隆载体含有用于调节所需核酸序列的表达的转录和翻译终止子、起始序列和启动子。

[0845] 使用标准基因递送方案,本公开的表达构建体也可以用于核酸免疫和基因治疗。用于基因递送的方法是本领域已知的。参见,例如,美国专利号5,399,346、5,580,859、5,589,466,所述文献通过引用的方式完整并入本文。在另一个实施方案中,本发明提供了一

种基因治疗载体。

[0846] 可以将核酸克隆入众多类型的载体中。例如,可以将核酸克隆入包括但不限于质粒、噬菌粒、噬菌体衍生物、动物病毒和粘粒的载体中。特定意义的载体包括表达载体、复制载体、探针生成载体和测序载体。

[0847] 另外,可以将表达载体以病毒载体的形式向细胞提供。病毒载体技术是本领域熟知的并且例如在Sambrook等人,2012,MOLECULAR CLONING:A LABORATORY MANUAL,第1-4卷,Cold Spring Harbor Press,NY)中及在其他病毒学和分子生物学手册中描述。可用作载体的病毒包括但不限于逆转录病毒、腺病毒、腺相关病毒、疱疹病毒和慢病毒。通常,合适的载体含有在至少一种生物中有功能的复制起点、启动子序列、便利限制性核酸内切酶位点和一种或多种选择标记(例如,WO 01/96584;WO 01/29058;和美国专利号6,326,193)。

[0848] 已经开发众多基于病毒的用于转移基因至哺乳动物细胞中的系统。例如,逆转录病毒提供了用于基因递送系统的便利平台。可以使用本领域已知的技术,将选择的基因插入载体并且包装在逆转录病毒粒子中。随后可以分离重组病毒并将其在体内或离体输送至受试者的细胞。众多逆转录病毒系统是本领域已知的。在一些实施方案中,使用腺病毒载体。众多腺病毒载体是本领域已知的。在一个实施方案中,使用慢病毒载体。

[0849] 额外的启动子元件(例如,增强子)调节转录起始的频率。一般,这些位于起始位点上游30-110bp的区域内,不过已经显示众多启动子也在起始位点下游含有功能性元件。启动子元件之间的间距往往灵活,从而当各元件反转或相对于彼此移动时,启动子功能保留。在胸苷激酶(tk)启动子中,在活性开始下降前,启动子元件之间的间距可以增加至相隔50bp。取决于启动子,各个元件似乎可以协同或独立地发挥作用以激活转录。示例性启动子包括CMV IE基因启动子、EF-1 α 启动子、遍在蛋白C启动子或磷酸甘油激酶(PGK)启动子。

[0850] 能够在哺乳动物T细胞中表达包含包括CAR的结构域的融合蛋白(例如如本文所述的)编码核酸分子的启动子的实例是EF1 α 启动子。天然EF1 α 启动子驱动延伸因子-1复合体的 α 亚基表达,其负责酶促输送氨酰基tRNA至核糖体。EF1 α 启动子已被广泛用于哺乳动物表达质粒,并且已被证明能有效驱动克隆到慢病毒载体中的核酸分子的融合蛋白(例如如本文所述的,包含包括CAR的结构域的融合蛋白)表达。参见,例如,Milone等人,Mol. Ther. 17(8):1453-1464(2009)。一方面,EF1 α 启动子包含作为SEQ ID NO:1提供的序列。

[0851] 启动子的另一个例子是立即早期巨细胞病毒(CMV)启动子序列。这个启动子序列是能够驱动与之有效连接的任何多核苷酸序列的高水平表达的组成型强启动子序列。但是,也可以使用其他组成型启动子序列、包括但不限于猴病毒40(SV40)早期启动子、小鼠乳腺瘤病毒(MMTV)、人类免疫缺陷病毒(HIV)长末端重复序列(LTR)启动子、MoMuLV启动子、鸟类白血病病毒启动子、Epstein-Barr病毒立即早期启动子、劳斯肉瘤病毒启动子以及人基因启动子,如但不限于肌动蛋白启动子、肌球蛋白启动子、延伸因子-1 α 启动子、血红蛋白启动子和肌酸激酶启动子。此外,本发明不应限于使用组成型启动子。还构思诱导型启动子作为本发明的部分。诱导型启动子的用途提供了一种分子开关,所述分子开关能够在需要这类表达时启动与之有效连接的多核苷酸序列表达或在不需要这类表达时关闭表达。诱导型启动子的例子包括但不限于金属硫蛋白启动子、糖皮质激素启动子、孕酮启动子和四环素启动子。

[0852] 启动子的另一个例子是磷酸甘油酸激酶(PGK)启动子。在实施方案中,可能需要截

短的PGK启动子(例如,当与野生型PGK启动子序列比较时,具有一个或多个,例如1,2,5,10,100,200,300,或400个核苷酸缺失的PGK启动子)。示例性PGK启动子的核苷酸序列在下面提供。

[0853] WT PGK启动子

[0854] ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACGT
CTTACGCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGCGGAGGGCGTGGCGGGGAAGG
GCCGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATAACCGGTGTCGGGTAGCGCCAGCCGCGGACGGTAAC
GAGGGACCGCGACAGGCAGACGCTCCCATGATCACTCTGCACGCCGAAGGCAAATAGTGCAGGCCGTGCGGCGCTT
GGCGTTCCCTTGAAGGGCTGAATCCCCGCCTCGTCCTTCGCAGCGGCCCGGGTGTTCATCGCCGCTTCTAG
GCCACTGCGACGCTTGCTGCACTTCTTACACGCTCTGGGTCCCAGCCGCGGCGACGCAAAGGGCCTTGGTGC GG
GTCTCGTCGGCGCAGGGACGCGTTTGGGTCCCGACGGAACCTTTCCGCGTTGGGGTGGGGCACCATAAGCT (SEQ
ID NO:185)

[0855] 示例性截短的PGK启动子:

[0856] PGK100:

[0857] ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACGT
CTTACGCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTG (SEQ ID NO:186)

[0858] PGK200:

[0859] ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACGT
CTTACGCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGCGGAGGGCGTGGCGGGGAAGG
GCCGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATAACCGGTGTCGGGTAGCGCCAGCCGCGGACGGTAACG
(SEQ ID NO:187)

[0860] PGK300:

[0861] ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACGT
CTTACGCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGCGGAGGGCGTGGCGGGGAAGG
GCCGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATAACCGGTGTCGGGTAGCGCCAGCCGCGGACGGTAAC
GAGGGACCGCGACAGGCAGACGCTCCCATGATCACTCTGCACGCCGAAGGCAAATAGTGCAGGCCGTGCGGCGCTT
GGCGTTCCCTTGAAGGGCTGAATCCCCG (SEQ ID NO:188)

[0862] PGK400:

[0863] ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACGT
CTTACGCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGCGGAGGGCGTGGCGGGGAAGG
GCCGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATAACCGGTGTCGGGTAGCGCCAGCCGCGGACGGTAAC
GAGGGACCGCGACAGGCAGACGCTCCCATGATCACTCTGCACGCCGAAGGCAAATAGTGCAGGCCGTGCGGCGCTT
GGCGTTCCCTTGAAGGGCTGAATCCCCGCCTCGTCCTTCGCAGCGGCCCGGGTGTTCATCGCCGCTTCTAG
GCCACTGCGACGCTTGCTGCACTTCTTACACGCTCTGGGTCCCAGCCG (SEQ ID NO:189)

[0864] 载体还可以例如包括促进分泌的信号序列、多聚腺苷化信号和转录终止子(例如,来自牛生长激素(BGH)基因)、允许附加体型复制并且在原核生物中复制的元件(例如SV40复制起点和ColE1或本领域已知的其他元件)和/或允许选择的元件(例如,氨苄青霉素耐药基因和/或zeocin标记)。

[0865] 为了评估包含包括CAR多肽或其部分的结构域的融合蛋白(例如如本文所述的)的

表达,待引入细胞中的表达载体还可以含有选择标记基因或报道基因或这两者以促进从寻求用病毒载体转染或感染的细胞群体鉴定和选择出表达的细胞。在其他方面,选择标记可以在独立的DNA片段上携带并且在共转染法中使用。选择标记和报道基因可以旁侧分布有能够在宿主细胞中实现表达的适宜调节序列。可用的选择标记例如包括抗生素耐药性基因,如neo等。

[0866] 报道基因用于确定可能转染的细胞及评价调节序列的功能。通常,报道基因是这样的基因,所述基因不存在于接受生物或组织中或不由接受生物或组织表达并且编码其表达由某种轻易可检测特性(例如,酶活性)展示的多肽。在DNA已经引入接受细胞之后的合适时间测定报道基因的表达。合适的报道基因可以包括编码萤光素酶、 β -半乳糖苷酶、氯霉素乙酰基转移酶、分泌型碱性磷酸酶的基因或绿色荧光蛋白基因(例如,Ui-Tei等人,2000 FEBS Letters 479:79-82)。合适的表达系统是熟知的并且可以使用已知技术制备或商业地获得。通常,将显示最高报道基因表达水平的具有最少5'侧翼区的结构鉴定为启动子。这类启动子区可以与报道基因连接并用来评价多种物质调节启动子驱动型转录的能力。

[0867] 在一些实施方案中,包含编码本文所述的融合蛋白(例如,本文所述的包含CAR分子的融合蛋白)的核酸序列的载体还可以包含编码多肽(例如,增加(例如,如本文所述的)融合蛋白(其包含了包含CAR分子的结构域)的活性的物质)的第二核酸序列。在一些实施方案中,单个核酸分子或包含所述核酸分子的载体编码例如本文所述的多个融合蛋白,每个融合蛋白包含本文所述的包含CAR的结构域。在一些实施方案中,编码第一融合蛋白的核酸处在不同于编码第二融合蛋白的核酸的调节控制(例如,通过本文所述的启动子)下。在其他实施方案中,两个或更多个核酸序列由单个核酸分子在相同可读框中和作为单条多肽链编码。在这个方面,两种或更多种(例如,如本文所述的)融合蛋白(各自包含了包含CAR的结构域)可以例如由一个或多个肽切割位点分开(例如,自身切割位点或细胞内蛋白酶的底物)。肽切割位点的例子包括以下者,其中GSG残基是任选的:

[0868] T2A: (GSG)E G R G S L L T C G D V E E N P G P (SEQ ID NO:190)

[0869] P2A: (GSG)A T N F S L L K Q A G D V E E N P G P (SEQ ID NO:191)

[0870] E2A: (GSG)Q C T N Y A L L K L A G D V E S N P G P (SEQ ID NO:192)

[0871] F2A: (GSG)V K Q T L N F D L L K L A G D V E S N P G P (SEQ ID NO:193)

[0872] 向细胞引入基因并表达基因的方法是本领域已知的。在表达载体的情况下,载体可以通过本领域的任何方法轻易地引入宿主细胞(例如,哺乳动物细胞、细菌细胞、酵母细胞或昆虫细胞)中。例如,表达载体可以通过物理手段、化学手段或生物学手段转移至宿主细胞中。

[0873] 用于引入多核苷酸至宿主细胞中的物理方法包括磷酸钙沉淀法、脂质体转染法、粒子轰击法、微量注射法、电穿孔法等。用于产生包含载体和/或外源核酸的细胞的方法是本领域熟知的。参见,例如,Sambrook等人,2012,MOLECULAR CLONING:A LABORATORY MANUAL,第1-4卷,Cold Spring Harbor Press,NY)。用于引入多核苷酸至宿主细胞中的优选方法是磷酸钙转染法或电穿孔法。

[0874] 用于引入目的多核苷酸至宿主细胞中的生物学方法包括使用DNA载体和RNA载体。病毒载体和尤其逆转录病毒载体已经具有变成使用最广泛的将基因插入哺乳动物(例如,人细胞)的方法。其他病毒载体可以衍生自慢病毒、痘病毒、单纯疱疹病毒I、腺病毒和腺相

关病毒等。参见,例如,美国专利号5,350,674和5,585,362。

[0875] 用于引入多核苷酸至宿主细胞中的化学手段包括胶态分散体系,如大分子复合物、纳米囊、微球、珠和基于脂质的系统,包括水包油乳液、胶束、混合胶束和脂质体。用作体外和体内递送载具的示例性胶态体系是脂质体(例如,人工膜囊泡)。现有定向递送核酸的其他方法是可获得的,如用导引的纳米粒子或其他合适的亚微米尺度递送系统递送多核苷酸。

[0876] 在其中利用非病毒递送系统的情况下,示例性递送载具是脂质体。构思使用脂质制剂以引入核酸至宿主细胞中(体外,离体或体内)。在另一个方面,核酸可以与脂质结合。与脂质结合的核酸可以包封于脂质体的水质内部、散布在脂质体的脂质双层内部、借助与脂质体和寡核苷酸均结合的连接分与脂质体连接、包埋于脂质体中、与脂质体复合、分散于含有脂质的溶液中、与脂质混合、与脂质组合、作为混悬液含于脂质中、含于胶束中或与胶束复合或否则与脂质结合。脂质、脂质/DNA或脂质/表达载体结合的组合物不限于溶液中的任何特定结构。例如,它们可以在双层结构中存在、作为胶束存在或以“塌陷”结构存在。它们还可以简单地散布在溶液中,可能形成大小或形状不均一的聚集物。脂质是可以是天然存在脂质或合成性脂质的脂肪性物质。例如,脂质包括天然出现在细胞质中的脂肪滴以及含有长链脂族烃及其衍生物如脂肪酸、醇类、胺、氨基醇类和醛的化合物类。

[0877] 适合使用的脂质可以从商业来源获得。例如,二肉豆蔻基磷脂酰胆碱(“DMPC”)可以从Sigma, St. Louis, MO获得;二鲸蜡醇磷酸酯(“DCP”)可以从K&K Laboratories获得(Plainview, NY);胆固醇(“Choi”)可以从Calbiochem-Behring获得;二肉豆蔻基磷脂酰甘油(“DMPG”)和其他脂质可以从Avanti Polar Lipids, Inc. (Birmingham, AL.)获得。脂质在氯仿或氯仿/甲醇中的母液可以贮存在约-20°C。使用氯仿作为唯一溶剂,因为它比甲醇更易蒸发。“脂质体”是概况性术语,其涵盖通过产生封闭的脂质双层或聚集物所形成的多种单一和多层脂质载体。脂质体可以表征作为具有磷脂双层膜和内部水介质的囊泡结构。多层脂质体具有水介质分隔的多个脂质层。当磷脂在过量水溶液中悬浮时,它们自发形成。脂质组分在形成封闭结构前发生自我重排并在脂质双层之间夹带水和溶解的溶质(Ghosh等人,1991Glycobiology 5:505-10)。但是,还涵盖在溶液中具有与正常囊泡结构不同的结构的组合物。例如,脂质可以采取胶束结构或仅作为脂质分子的非均匀聚集物存在。还构思了脂质转染胺(lipofectamine)-核酸复合物。

[0878] 无论用来将外源核酸引入宿主细胞或以其他方式将细胞暴露于本发明抑制剂的方法是什么,为了确认宿主细胞中重组DNA序列的存在,可以进行多种测定法。这类测定法例如包括本领域技术人员熟知的“分子生物分析”,如DNA印迹和RNA印迹法、RT-PCR和PCR;“生物化学”分析,如检测特定肽的存在或不存在,例如,通过免疫手段(ELISA法和蛋白质印迹法)或通过本文所述测定法鉴定属于本发明范围内的物质。

[0879] 本公开还提供一种载体,所述载体包含编码(例如,如本文所述的)融合蛋白(其包含了包含CAR的结构域)的核酸分子。在一个实施方案中,载体包含(例如,如本文所述)编码CAR的核酸分子。在一个实施方案中,载体包含两个编码CAR的核酸分子。在一个方面,可以将一个或多个CAR载体(例如,包含编码第一CAR的核酸分子的载体和包含编码第二CAR的核酸分子的载体,或包含编码第一和第二CAR的核酸的载体)直接转导入细胞,例如,T细胞或NK细胞。在一个方面,载体是克隆载体或表达载体,例如,载体,包括但不限于一种或多种质

粒(例如,表达质粒、克隆载体、微环、微载体、双微小染色体)、逆转录病毒构建体和慢病毒载体构建体。在一个方面,载体能够在哺乳动物免疫效应细胞(例如,T细胞,NK细胞)中表达CAR构建体。

[0880] 在一个其中需要稳定表达一种或更多种(例如一种或两种)(例如,如本文所述的)融合蛋白(各自包含了包含CAR的结构域)的实施方案中,将包含编码CAR一个或多个(例如,一个或两个)的核酸分子的载体转导至免疫效应细胞中。例如,可以使用慢病毒载体生成稳定表达两种(例如,如本文所述的)融合蛋白(各自包含了包含CAR的结构域)的免疫效应细胞。显示出稳定表达两种(例如,如本文所述的)融合蛋白(各自包含了包含CAR的结构域)的细胞在转导后表达CAR至少1周、2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、3月、6月、9月或12个月。

[0881] 在一个其中需要瞬时表达一种或多种(例如,一种或两种)(例如,如本文所述的)融合蛋白(其包含了包含CAR的结构域)的实施方案中,将编码一种或多种(例如,一种或两种)融合蛋白的核酸分子转染至免疫效应细胞中。编码一种或多种(例如,一种或两种)(例如,如本文所述的)融合蛋白(其包含了包含CAR的结构域)的核酸分子可以是包含编码一种或多种(例如,一种或两种)CAR的核酸分子或一种或多种(例如,一种或两种)CAR的体外转录的RNA的载体。下文进一步描述用于转染至免疫效应细胞中的体外转录的RNA CAR和方法。显示瞬时表达一种或多种(例如,一种或两种)CAR的细胞在转染后表达一种或多种(例如,一种或两种)CAR持续4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15天。

[0882] RNA转染

[0883] 本文公开了用于产生体外转录的RNA的方法,所述RNA编码例如本文所述的包含了包含CAR的结构域的融合蛋白。本公开还包括编码融合蛋白(例如本文所述的,包含包括CAR的结构域)的可以直接转染至细胞中的RNA构建体。一种产生用于转染的mRNA的方法可以涉及用专门设计的引物体外转录(IVT)模板,随后添加聚腺苷酸,以产生含有3'和5'非翻译序列("UTR")、5'帽和/或内部核糖体进入位点(IRES)、待表达核酸和聚腺苷酸化尾(长度一般为50-5000个碱基(SEQ ID NO:32))的构建体。如此产生的RNA可以高效地转染不同种类的细胞。在一个方面,模板包括CAR的序列。

[0884] 在一个方面,本公开的融合蛋白(例如本文所述的,包含包括CAR的结构域),由信使RNA(mRNA)编码。在一个方面,将编码本文所述的CAR的mRNA引入T细胞或NK细胞。

[0885] 在一个实施方案中,可以将体外转录的编码融合蛋白(例如本文所述的,包含包括CAR的结构域)的RNA作为瞬时转染的形式引入细胞。使用聚合酶链反应(PCR)生成的模板,通过体外转录产生RNA。来自任何来源的目的DNA可以直接通过PCR转化成模板,以使用适宜引物和RNA聚合酶,体外合成mRNA。DNA的来源可以例如是基因组DNA、质粒DNA、噬菌体DNA、cDNA、合成的DNA序列或任何其他适宜的DNA来源。用于体外转录的所需模板是本文所述的融合蛋白(例如本文所述的,包含包括CAR的结构域)。例如,RNA CAR的模板包含细胞外区域,其包含针对本文所述的抗原的抗体的单链可变结构域;铰链区(例如,本文所述的铰链区),跨膜结构域(例如本文所述的跨膜结构域,例如CD8a的跨膜结构域);以及细胞质区域,其包括胞内信号传导结构域,例如本文所述的胞内信号传导结构域,例如包含CD3- δ 的信号传导结构域和4-1BB的信号传导结构域。

[0886] 在一个实施方案中,待用于PCR的DNA含有可读框。DNA可以来自源于生物基因组的天然存在的DNA序列。在一个实施方案中,核酸可以包括5'非翻译区和/或3'非翻译区(UTR)

的一些或全部。核酸可以包括外显子和内含子。在一个实施方案中,待用于PCR的DNA是人类核酸序列。在另一个实施方案中,待用于PCR的DNA是人类核酸序列,包括5'UTR和3'UTR。DNA可以备选地是正常情况下在天然存在的生物中不表达的人工DNA序列。示例性人工DNA序列是含有各基因部分的人工DNA序列,其中所述的各基因部分连接在一起以形成编码融合蛋白的可读框。连接在一起各DNA部分可以来自单种生物或来自多于一种生物。

[0887] PCR用来产生模板以便体外转录用于转染的mRNA。用于开展PCR的方法是本领域熟知的。用于PCR中的引物旨在具有与待用作PCR模板的DNA的区域基本上互补的区域。如本文所用,“基本上互补”,指其中引物序列中的大部分或全部碱基互补或一个或多个碱基是非互补或错配的核苷酸序列。基本上互补的序列能够在用于PCR的复性条件下与预期的DNA靶复性或杂交。引物可以设计为与DNA模板的任何部分基本上互补。例如,引物可以旨在扩增正常情况下在细胞中转录的核酸部分(可读框),包括5'和3'UTR。引物也可以旨在扩增编码特定目的结构域的核酸部分。在一个实施方案中,引物旨在扩增人cDNA的编码区,包括5'和3'UTR的全部或部分。可用于PCR的引物可以通过本领域熟知的合成方法产生。“正向引物”是这样的引物,其含有与DNA模板上待扩增的DNA序列上游的核苷酸基本上互补的核苷酸区域。“上游”在本文中用来指相对于编码链的对待扩增的DNA序列而言5'的位置。“反向引物”是这样的引物,其含有与DNA模板上待扩增的DNA序列下游的双链DNA模板基本上互补的核苷酸区域。“下游”在本文中用来指相对于编码链的对待扩增的DNA序列而言3'的位置。

[0888] 可用于PCR的任何DNA聚合酶可以在本文中公开的方法中。试剂和聚合酶从众多来源可商业获得。

[0889] 也可以使用具有促进稳定性和/或翻译效率的能力的化学结构物。RNA优选地具有5'UTR和3'UTR。在一个实施方案中,5'UTR长度在1个和3000个核苷酸之间。待添加至编码区的5'UTR和3'UTR序列的长度可以通过不同方法改变,所述方法包括但不限于设计与UTR的不同区域复性的PCR用引物。使用这种方法,本领域普通技术人员可以调节为转染转录的RNA后实现最佳翻译效率所需要的5'UTR和3'UTR长度。

[0890] 5'UTR和3'UTR可以是目的核酸的天然存在的、内源5'UTR和3'UTR。备选地,相对于目的核酸并非内源的UTR序列可以通过将该UTR序列并入正向引物和反向引物中或通过对模板的任何其他修饰进行添加。相对于目的核酸并非内源的UTR序列的用途可以用于调整RNA的稳定性和/或翻译效率。例如,已知3'UTR序列中的AU丰富元件可以降低mRNA的稳定性。因此,基于本领域熟知的UTR特性,可以选择或设计3'UTR以增加转录的RNA的稳定性。

[0891] 在一个实施方案中,5'UTR可以含有内源核酸的Kozak序列。备选地,当通过如上文所述的PCR正在添加相对于目的核酸并非内源的5'UTR时,可以通过添加5'UTR序列再设计共有Kozak序列。Kozak序列可以增加某些RNA转录物的翻译效率、但似乎不是令全部RNA有效翻译需要的。本领域已知许多mRNA需要Kozak序列。在其他实施方案中,5'UTR可以是其RNA基因组在细胞中稳定的RNA病毒的5'UTR。在其他实施方案中,多种核苷酸类似物可以用于3'或5'UTR中,以阻碍核酸外切酶降解mRNA。

[0892] 为了能够在不需要基因克隆的情况下从DNA模板合成RNA,转录启动子应当在待转录序列上游与DNA模板连接。当作为RNA聚合酶启动子发挥作用的序列添加至正向引物的5'末端时,RNA聚合酶启动子并入待转录的可读框上游的PCR产物中。在一个优选的实施方案中,启动子是T7聚合酶启动子,如本文他处描述。其他可用启动子包括但不限于T3RNA聚合

酶启动子和SP6RNA聚合酶启动子。T7、T3和SP6启动子的共有核苷酸序列是本领域已知的。

[0893] 在一个优选实施方案中,mRNA具有在5'末端的帽和3'聚腺苷酸尾,其决定在细胞中核糖体结合、翻译起始和mRNA稳定性。在环状DNA模板,例如,质粒DNA上,RNA聚合酶产生不适于真核细胞中表达的长连环体(concatameric)产物。转录在3'UTR末端线性化的质粒DNA产生在真核转染中并非有效的大小正常的mRNA,即便转录后它发生聚腺苷酸化。

[0894] 在线性DNA模板上,噬菌体T7RNA聚合酶可以延伸转录物的3'末端越过模板的最后碱基(Schenborn和Mierendorf,Nuc Acids Res.,13:6223-36(1985);Nacheva和Berzal-Herranz,Eur.J.Biochem.,270:1485-65(2003))。

[0895] 整合聚腺苷酸/T片段至DNA模板中的常规方法是分子克隆。但是,整合入质粒DNA的聚腺苷酸/T序列可能造成质粒不稳定性,这是为何从细菌细胞获得的质粒DNA模板经常遭受缺失和其他畸变高度污染的原因。这使得克隆方法不仅繁琐和费时的,而且经常不可靠。这是为何迫切需要以下方法的原因:允许在不进行克隆情况下构建带聚腺苷酸/T 3'片段的DNA模板。

[0896] 可以在PCR期间通过使用含有聚胸苷酸尾(如100T尾(SEQ ID NO:968)(大小可以是50-5000T(SEQ ID NO:974)))的反向引物或在PCR后通过任何其他方法(包括但不限于DNA连接或体外重组),产生已转录的DNA模板的聚腺苷酸/T区段。聚腺苷酸尾还向RNA提供稳定性并减少它们的降解。通常,聚腺苷酸尾的长度与转录的RNA的稳定性正相关。在一个实施方案中,聚腺苷酸尾长在100个和5000个腺苷之间(SEQ ID NO:82)。

[0897] RNA的聚腺苷酸尾可以在体外转录后利用聚腺苷酸聚合酶(如大肠杆菌聚腺苷酸聚合酶(E-PAP))进一步延长。在一个实施方案中,聚腺苷酸尾的长度从100个核苷酸增加至300个和400个核苷酸之间(SEQ ID NO:969)导致RNA的翻译效率增加约两倍。另外,接合不同化学基团至3'末端可以增加mRNA稳定性。这种接合可以含有修饰/人工的核苷酸、适配体和其他化合物。例如,ATP类似物可以使用聚腺苷酸聚合酶并入聚腺苷酸尾中。ATP类似物还可以增加RNA的稳定性。

[0898] 5'帽也向RNA分子提供稳定性。在一个优选实施方案中,通过本文所公开的方法产生的RNA包含5'帽。使用本领域已知和本文所述的技术提供5'帽(Cougot等人,Trends in Biochem.Sci.,29:436-444(2001);Stepinski等人,RNA,7:1468-95(2001);Elango等人,Biochim.Biophys.Res.Commun.,330:958-966(2005))。

[0899] 通过本文所公开的方法产生的RNA还可以含有内部核糖体进入位点(IRES)序列。IRES序列可以是任何病毒序列、染色体序列或人工设计的序列,所述序列启动帽非依赖性核糖体结合至mRNA并促进翻译的起始。可以包含适于细胞电穿孔的任何溶质,所述溶质可以含有促进细胞通透性和生存力的因子,如糖、肽、脂质、蛋白质、抗氧化剂和表面活性剂。

[0900] 可以使用众多不同方法的任一者,将RNA引入靶细胞中,例如包括但不限于以下的市售方法:电穿孔法(Amaxa Nucleofector-II(Amaxa Biosystems,Cologne,德国))、(ECM 830(BTX)(Harvard Instruments,Boston,Mass.)或Gene Pulser II(BioRad,Denver,Colo.)、Multiporator(Eppendorf,Hamburg德国)、使用脂质体转染的阳离子脂质体介导转染法、聚合物囊化法、肽介导的转染法或生物射弹粒子递送系统如“基因枪”(参见,例如,Nishikawa等人Hum Gene Ther.,12(8):861-70(2001))。

[0901] 非病毒递送方法

[0902] 在一些方面,非病毒方法可以用来递送编码本文所述的嵌合分子或融合蛋白的核酸至细胞或组织或受试者中。在一些实施方案中,非病毒方法包括利用转座子(也称作转座元件)。在一些实施方案中,转座子是可以将本身插入基因组中的某位置处的一段DNA,例如,能够自我复制并将其副本插入基因组中的一段DNA或可以从较长核酸剪接出来并插入基因组中的另一个位置的一段DNA。例如,转座子包含由反向重复序列组成的DNA序列,所述反向重复序列在用于换位的基因旁侧分布。

[0903] 在一些实施方案中,通过使用采取SBTS的基因插入法和采取核酸酶(例如,锌指核酸酶(ZFN)、转录激活物样效应核酸酶(TALEN)、CRISPR/Cas系统或工程化大范围核酸酶(meganucleases)、再工程化归巢核酸内切酶)的遗传编辑法的组合,生成表达例如如本文所述的嵌合分子或融合蛋白的细胞(例如,T细胞或NK细胞)。

[0904] 在一些实施方案中,非病毒递送方法的使用允许再编程细胞(例如,T细胞或NK细胞)和直接输注细胞至受试者中。非病毒载体的优点包括但不限于便利和成本相对低地产生满足患者群体所需要的足够量、储存期间稳定性和缺少免疫原性。

[0905] 宿主细胞

[0906] 本文中还提供细胞,例如,包含例如本文所述的核酸分子、融合蛋白分子或载体的免疫效应细胞(例如,细胞群体,例如,免疫效应细胞群体)。在一些实施方案中,提供的细胞包含(例如,如本文所述的)融合蛋白(其包含了包含CAR的结构域)、编码融合蛋白(其包含了包含CAR的结构域)的核酸分子或包含其的载体。

[0907] 在某些方面,免疫效应细胞例如T细胞或NK细胞可以从使用技术人员已知的任何种类的技术(如Ficoll™分离)从受试者采集的血液成分中获得。在一个优选的方面,通过单采血液成分术获得来自个体循环血液的细胞。单采产物一般含有淋巴细胞,包括T细胞、单核细胞、粒细胞、B细胞、其他有核的白细胞、红细胞和血小板。在一个方面,可以洗涤通过单采血液成分术采集的细胞,以除去血浆级分并且任选地,以将细胞置于后续加工步骤的适宜缓冲液或培养基中。在一个实施方案中,用磷酸盐缓冲盐水(PBS)洗涤细胞。在备选实施方案中,洗涤液缺少钙并且可以缺少镁或可以缺少许多(若非全部)二价阳离子。

[0908] 在钙不存在情况下的初始活化步骤可以导致放大的活化。如本领域普通技术人员将轻易领会,可以通过本领域技术人员已知的方法,如根据制造商说明通过使用半自动化“通流”离心机(例如,Cobe 2991细胞处理器、Baxter CytoMate、或Haemonetics Cell Saver 5),完成洗涤步骤。在洗涤后,细胞可以重悬于多种生物相容缓冲液中,如,例如,无Ca、无Mg的PBS、PlasmaLyte A或含有或没有缓冲剂的其他盐水溶液。备选地,可以移除单采样品的不想要组分并且将细胞直接重悬于培养基中。

[0909] 认识到,施加方法可以利用包含5%或更少(例如2%)人AB血清的培养基条件并利用已知的培养基条件和组合物,例如在Smith等人,“Ex vivo expansion of human T cells for adoptive immunotherapy using the novel Xeno-free CTS Immune Cell Serum Replacement”*Clinical&Translational Immunology* (2015) 4,e31;doi:10.1038/cti.2014.31中描述的那些。

[0910] 在一个方面,通过裂解红细胞和耗尽单核细胞,例如,通过经PERCOLL™梯度离心或通过逆流离心淘析,从外周血淋巴细胞分离T细胞。

[0911] 本文所述的方法可以例如包括例如使用(例如,本文所述的)负选择技术,选择特

定免疫效应细胞(例如,T细胞)亚群,所述亚群是调节性T细胞耗尽的群体、CD25+耗尽的细胞。优选地,调节性T细胞耗尽的细胞群体含有少于30%、25%、20%、15%、10%、5%、4%、3%、2%、1%的CD25+细胞。

[0912] 在一个实施方案中,使用抗CD25抗体或其片段或CD25结合配体(IL-2)从群体移除调节性T细胞,例如,CD25+ T细胞。在一个实施方案中,抗CD25抗体或其片段或CD25-结合配体与基材(例如,珠)缀合、或否则包被在基材(例如,珠)上。在一个实施方案中,抗CD25抗体或其片段与如本文所述的基材缀合。

[0913] 在一个实施方案中,使用来自Miltenyi™的CD25耗尽试剂从群体移除调节性T细胞,例如,CD25+ T细胞。在一个实施方案中,细胞/CD25耗尽试剂的比率是 $1e7$ 个细胞/20uL、或 $1e7$ 个细胞/15uL、或 $1e7$ 个细胞/10uL、或 $1e7$ 个细胞/5uL、或 $1e7$ 个细胞/2.5uL、或 $1e7$ 个细胞/1.25uL。在一个实施方案中,例如,对于耗尽调节性T细胞,例如,CD25+而言,使用大于500百万个细胞/ml。在又一个方面,使用600、700、800、或900百万个细胞/ml的细胞浓度。

[0914] 在一个实施方案中,待耗尽的免疫效应细胞群体包含约 6×10^9 个CD25+ T细胞。在其他方面,待耗尽的免疫效应细胞群体包含约 1×10^9 个至 1×10^{10} 个和二者之间任何整数个CD25+ T细胞。在一个实施方案中,所产生的调节性T细胞耗尽的群体具有 2×10^9 个调节性T细胞,例如,CD25+细胞、或更少(例如, 1×10^9 、 5×10^8 、 1×10^8 、 5×10^7 、 1×10^7 个或更少的CD25+细胞)。

[0915] 在一个实施方案中,使用具有耗尽管路套件,例如,管路162-01的CliniMAC系统,从群体移除调节性T细胞,例如,CD25+细胞。在一个实施方案中,CliniMAC系统在耗尽设定(如,例如,DEPLETION2.1)上运行。

[0916] 不希望受具体理论约束,在单采血液成分术之前或在产生表达融合蛋白(例如如本文所述的,包含包括CAR的结构域)的细胞产物期间降低受试者中免疫细胞的负向调节物水平(例如,减少不想要的免疫细胞(例如, T_{REG} 细胞)的数目)可以降低受试者复发风险。例如,耗尽 T_{REG} 细胞的方法是本领域已知的。减少 T_{REG} 细胞的方法包括但不限于环磷酰胺、抗GITR抗体(本文所述的抗GITR抗体)、CD25耗尽、及其组合。

[0917] 在一些实施方案中,生产方法包括在产生表达融合蛋白(例如如本文所述的,包含包括CAR的结构域)的细胞之前减少(例如,耗尽) T_{REG} 细胞的数目。例如,生产方法包括使与样品(例如,单采样品)与抗GITR抗体和/或抗CD25抗体(或其片段、或CD25-结合配体)接触,例如,以在产生表达CAR的细胞(例如,T细胞、NK细胞)产品之前耗尽 T_{REG} 细胞。

[0918] 在一个实施方案中,在采集细胞以产生表达融合蛋白(例如如本文所述的,包含包括CAR的结构域)的细胞产品之前,将受试者用减少 T_{REG} 细胞的一种或多种疗法预治疗,因而相对于表达融合蛋白(例如如本文所述的,包含包括CAR的结构域)的细胞治疗,降低受试者复发风险。在一个实施方案中,减少 T_{REG} 细胞的方法包括但不限于向受试者施用以下一种或多种:环磷酰胺、抗GITR抗体、CD25耗尽或其组合。施用环磷酰胺、抗GITR抗体、CD25耗尽或其组合中一者或多者可以在输注表达CAR的细胞产品之前、其期间或之后进行。

[0919] 在一个实施方案中,在采集细胞以产生表达CAR的细胞产品之前,将受试者用环磷酰胺预治疗,因而相对于表达融合蛋白(例如如本文所述的,包含包括CAR的结构域)的细胞治疗,降低受试者复发风险。在一个实施方案中,在采集细胞以产生表达CAR的细胞产品之前,将受试者用抗GITR抗体预治疗,因而降低受试者对表达CAR的细胞治疗复发的风险。

[0920] 在一个实施方案中,待移除的细胞群体既不是调节性T细胞,也不是肿瘤细胞,而是否则不利影响CART细胞的扩充和/或功能的细胞,例如,表达CD14、CD11b、CD33、CD15或由潜在免疫抑制性细胞表达的其他标记的细胞。在一个实施方案中,构思将这类细胞与调节性T细胞和/或肿瘤细胞同时、或在所述耗尽后或按另一个顺序移除。

[0921] 本文所述的方法可以包括多于一个选择步骤,例如,多于一个耗尽步骤。可以例如,用针对负向选择的细胞独有的表面标记物的抗体的组合,通过负选择过程完成T细胞群体的富集。一种方法是借助负向磁力免疫粘附法或流式细胞术分选和/或选择细胞,所述负向磁力免疫粘附法或流式细胞术使用针对负向选择的细胞上存在的细胞表面标记物的单克隆抗体混合物。例如,为了通过负向选择富集CD4⁺细胞,单克隆抗体混合物可以包含针对CD14、CD20、CD11b、CD16、HLA-DR和CD8的抗体。

[0922] 本文所述的方法还可以包括从表达肿瘤抗原(例如,不包括CD25的肿瘤抗原,例如,CD19、CD30、CD38、CD123、CD20、CD14或CD11b)的群体移除细胞,旨在因而提供适于表达融合蛋白(例如如本文所述的,包含包括CAR(例如,本文所述的CAR)的结构域)的调节性T细胞耗尽(例如,CD25⁺耗尽的细胞和肿瘤抗原耗尽的细胞)的群体。在一个实施方案中,将表达肿瘤抗原的细胞与调节性T细胞(例如,CD25⁺细胞)同时移除。例如,抗CD25抗体或其片段和抗肿瘤抗原抗体或其片段可以连接至可以用来移除细胞的相同基质(例如,珠),或抗CD25抗体或其片段或者抗肿瘤抗原抗体或其片段可以连接至分立的珠,所述分立的珠可以用来移除细胞的混合物。在其他实施方案中,移除调节性T细胞(例如,CD25⁺细胞)和移除表达肿瘤抗原的细胞是依次进行的,并且可以例如按任何顺序进行。

[0923] 还提供这些方法,所述方法包括从群体移除表达检查点抑制蛋白(例如,本文所述的检查点抑制蛋白)的细胞,例如,PD1⁺细胞、LAG3⁺细胞和TIM3⁺细胞中的一者或多者,因而提供调节性T细胞耗尽(例如,CD25⁺耗尽的细胞)和检查点抑制蛋白耗尽的细胞(例如,PD1⁺、LAG3⁺和/或TIM3⁺耗尽的细胞)的群体。示例性检查点抑制蛋白包括B7-H1、B7-1、CD160、P1H、2B4、PD1、TIM3、CEACAM(例如,CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG3、TIGIT、CTLA-4、BTLA和LAIR1。在一个实施方案中,将表达检查点抑制蛋白的细胞与调节性T细胞(例如,CD25⁺细胞)同时移除。例如,抗CD25抗体或其片段和抗检查点抑制蛋白抗体或其片段可以连接至可以用来移除细胞的相同珠,或抗CD25抗体或其片段或者抗检查点抑制蛋白抗体或其片段可以连接至分立的珠,所述分立的珠的混合物可以用来移除细胞。在其他实施方案中,移除调节性T细胞(例如,CD25⁺细胞)和移除表达检查点抑制蛋白表达细胞是依次进行的,并且可以例如按任何顺序进行。

[0924] 本文所述的方法可以包括正选择步骤。例如,可以通过与抗CD3/抗CD28(例如,3x28)缀合的珠(如DYNABEADS®M-450CD3/CD28T)孵育一段足够正选择所需T细胞的时间,分离T细胞。在一个实施方案中,该时间段是约30分钟。在又一个实施方案中,该时间段范围从30分钟至36小时或更长和二者之间的全部整数值。在又一个实施方案中,该时间段是至少1、2、3、4、5或6小时。在又一个实施方案中,该时间段是10至24小时,例如,24小时。较长的温育时间可以用来在其中如与其他细胞类型相比存在少量T细胞的任何情况下分离T细胞,如用于从肿瘤组织或从免疫受损个体分离肿瘤浸润型淋巴细胞(TIL)。另外,使用较长的温育时间可以增加捕获CD8⁺ T细胞的效率。因此,通过简单地缩短或延长该时间,允许T细胞与CD3/CD28珠结合和/或通过增加或减少珠对T细胞的比率(如本文进一步所述那样),可以

在培养伊始或在培养过程期间的其他时间点偏好地选择T细胞亚群。额外地,通过增加或减少珠或其他表面上抗CD3和/或抗CD28抗体的比率,可以在培养伊始或在其他所需的时间点偏好地选择T细胞亚群。

[0925] 在一个实施方案中,可以选择表达以下一者或多者的T细胞群体:IFN- γ 、TNF α 、IL-17A、IL-2、IL-3、IL-4、GM-CSF、IL-10、IL-13、粒酶B和穿孔素、或其他适宜的分子,例如,其他细胞因子。可以例如通过PCT公开号WO 2013/126712中描述方法,确定用于筛选细胞表达的方法。

[0926] 为了通过正向或负向选择分离所需的细胞群体,细胞和表面(例如,粒子如珠)的浓度可以变动。在某些方面,可能想要明显减少其中珠和细胞混合在一起的体积(例如,增加细胞浓度)以确保细胞和珠最大限度接触。例如,在一个方面,使用100亿个细胞/ml、90亿个细胞/ml、80亿个细胞/ml、70亿个细胞/ml、60亿个细胞/ml或50亿个细胞/ml、的浓度。在一个方面,使用10亿个细胞/ml的浓度。在又一个方面,使用大于1亿个细胞/ml。在又一个方面,使用75、80、85、90、95或100百万个细胞/ml的细胞浓度。在其他方面,可以使用1.25亿或1.5亿个细胞/ml的浓度。

[0927] 使用高浓度可以导致增加的细胞产量、细胞活化和细胞扩充。另外,使用高细胞浓度允许更高效地捕获可能微弱表达目的靶抗原的细胞(如CD28阴性T细胞)、或来自其中存在许多肿瘤细胞的样品(例如,白血病血液、肿瘤组织等)中的细胞。这类细胞群体可能具有治疗价值并且将希望获得。例如,使用高浓度的细胞允许更高效地选择正常情况下具有更弱CD28表达的CD8⁺ T细胞。

[0928] 在一个相关方面,可能想要使用较低的细胞浓度。通过大幅度稀释T细胞和表面(例如,粒子如珠)的混合物,粒子和细胞之间的相互作用最小化。这选出表达高量待与粒子结合的所需抗原的细胞。例如,CD4⁺ T细胞表达较高水平的CD28并且在稀释的浓度比CD8⁺ T细胞被更高效地捕获。在一个方面,细胞使用浓度是 5×10^6 /ml。在其他方面,所用的浓度可以是约 1×10^5 /ml至 1×10^6 /ml和其间的任何整数值。

[0929] 在其他方面,可以将细胞在2-10°C或在室温在摇床上按不同的速度温育长度不同的时间。

[0930] 待刺激的T细胞也可以在洗涤步骤后冷冻。不希望受理论约束,通过移除细胞群体中的粒细胞和一定程度移除单核细胞,冷冻和后续解冻步骤提供更均匀的产物。在移除血浆和血小板的洗涤步骤后,细胞可以悬浮于冷冻液中。尽管许多冷冻液和参数是本领域已知的并且将用于这种环境下,一种方法涉及使用含有20%DMSO和8%人血清白蛋白的PBS,或含有10%葡聚糖40和5%右旋糖、20%人血清白蛋白和7.5%DMSO、或31.25%Plasmalyte-A、31.25%右旋糖5%、0.45%NaCl、10%葡聚糖40和5%右旋糖、20%人血清白蛋白和7.5%DMSO的培养基或例如含有Hespan和PlasmaLyte A的其他合适的细胞冷冻培养基,细胞随后以1°/分钟的速率冷冻至-80°C并且存储在液氮储罐的蒸气相中。也可以使用其他受控冷冻方法,以及立即在-20°C或在液氮中不受控冷冻。

[0931] 在某些方面,将冷冻的细胞如本文所述那样解冻和洗涤并允许在室温静置一小时,之后使用本发明的方法活化。

[0932] 在本发明背景下还构思,在可能需要如本文所述的已扩充细胞时之前的某个时间段从受试者采集血液样品或单采产品。就这一点而论,待扩充的细胞来源可以在需要的任

何时间点采集,并且所需的细胞(如T细胞)可以分离并冷冻供稍后用于将从免疫效应细胞疗法获益的任何种类的疾病或病状(如本文所述的那些)的免疫效应细胞疗法中。在一个方面,血液样品或单采物取自总体上健康的受试者。在某些方面,血液样品或单采物取自总体上健康的受试者,所述受试者面临形成疾病的风险、但是尚未形成疾病,并且将目的细胞分离并冷冻供稍后使用。在某些方面,可以将T细胞扩充、冷冻并在稍后时间使用。在某些方面,样品从诊断如本文所述的特定疾病后不久、但在任何治疗之前的患者采集。在又一个方面,在任何数目的相关治疗模式之前,从受试者的血液样品或单采物分离细胞,所述的治疗模式包括但不限于药物治疗,如那他珠单抗、依法珠单抗、抗病毒药、化疗、辐射、免疫抑制剂,如环孢菌素、硫唑嘌呤、甲氨蝶呤、霉酚酸盐和FK506、抗体、或其他免疫清除剂如CAMPATH、抗CD3抗体、环磷氮芥、氟达拉滨、环孢菌素、FK506、雷帕霉素、霉酚酸、类固醇、FR901228和照射。

[0933] 在本发明的又一个方面,在留给受试者有功能的T细胞的治疗后马上从患者获得T细胞。在这个方面,已经观察到在某些癌症治疗、尤其用损伤免疫系统的药物治疗后,在治疗后不久在患者正常情况下将从治疗中恢复的时间期间,获得的T细胞的质量可能就其离体扩充能力而言最佳或改善。同样地,在使用本文所述的方法离体操作后,这些细胞可以处于移植和体内扩充增强的优选状态。因此,在本公开的情境范围内构思,在这个恢复阶段期间采集血细胞,包括T细胞、树突细胞或造血谱系的其他细胞。另外,在某些方面,动员(例如,用GM-CSF动员)和条件化方案可以用来在受试者中产生这样的条件,其中有利于特定细胞类型再增殖、再循环、再生和/或扩充,特别在治疗后的限定时间窗口期间有利。示意性的细胞类型包括T细胞、B细胞、树突细胞和免疫系统的其他细胞。

[0934] 在一个实施方案中,从已经接受低、免疫增强性剂量的mTOR抑制剂的受试者获得表达(例如,如本文所述的)融合蛋白(其包含了包含CAR分子(例如,本文所述的CAR分子)的结构域)的免疫效应细胞。在一个实施方案中,在足够时间后或在充分给予低、免疫增强性剂量的mTOR抑制剂后收获待工程化以表达CAR的免疫效应细胞(例如,T细胞)群体,从而受试者中的或从受试者收获的PD1阴性免疫效应细胞(例如,T细胞)的水平或PD1阴性免疫效应细胞(例如,T细胞)/PD1阳性免疫效应细胞(例如,T细胞)的比率已经至少短暂增加。

[0935] 在其他实施方案中,可以通过与下述量的mTOR抑制剂接触,离体处理已经工程化或将会工程化以表达(例如,如本文所述的)融合蛋白(其包含了包含CAR的结构域)的免疫效应细胞(例如,T细胞)群体,所述量增加PD1阴性免疫效应细胞(例如,T细胞)数目或增加PD1阴性免疫效应细胞(例如,T细胞)/PD1阳性免疫效应细胞(例如,T细胞)的比率。

[0936] 在一个实施方案中,T细胞群体是二酰甘油激酶(DGK)缺陷的。DGK缺陷性细胞包括不表达DGK RNA或蛋白质或具有降低或抑制的DGK活性的细胞。可以通过遗传方法产生DGK缺陷性细胞,例如,施用减少或阻止DGK表达的RNA干扰剂(例如,siRNA、shRNA、miRNA)。备选地,可以通过用本文所述的DGK抑制剂处理,产生DGK缺陷性细胞。

[0937] 在一个实施方案中,T细胞群体是Ikaros缺陷的。Ikaros缺陷性细胞包括不表达Ikaros RNA或蛋白质或Ikaros活性降低或抑制的细胞。可以通过遗传方法产生Ikaros缺陷性细胞,例如,施用减少或阻止Ikaros表达的RNA干扰剂(例如,siRNA、shRNA、miRNA)。备选地,可以通过用Ikaros抑制剂(例如,来那度胺)处理,产生Ikaros缺陷性细胞。

[0938] 在实施方案中,T细胞群体是DGK缺陷的和Ikaros缺陷的,例如,不表达DGK和

Ikaros、或具有减少或抑制的DGK活性和Ikaros活性。这类DGK和Ikaros缺陷性细胞可以通过本文所述任何方法产生。

[0939] 在一个实施方案中,NK细胞从受试者获得。在另一个实施方案中,NK细胞是NK细胞系,例如,NK-92细胞系(Conkwest)。

[0940] 表达的额外物质

[0941] 在另一个实施方案中,本文所述的表达(例如,如本文所述的)融合蛋白(其包含了包含CAR的结构域)的免疫效应细胞还可以表达另一种物质,例如,增强表达CAR的细胞活性的物质。例如,在一个实施方案中,物质可以是抑制了抑制性分子的物质。例如,如本文所述,抑制性分子的例子包括PD-1、PD-L1、CTLA-4、TIM-3、CEACAM(例如,CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5),LAG-3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4和TGFR β 。在一个实施方案中,对抑制性分子抑制的物质包含第一多肽(例如,抑制性分子),所述第一多肽与提供正向信号给细胞的第二多肽(例如,本文所述的胞内信号传导结构域)接合。在一个实施方案中,该物质例如包含抑制性分子的第一多肽和第二多肽,该抑制性分子如PD-1、PD-L1、CTLA-4、TIM-3、CEACAM(例如,CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5),LAG-3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4或TGFR β 或这些分子中任一者之片段,第二多肽作为本文所述胞内信号传导结构域(例如,包含共刺激结构域(例如,如本文所述的41BB、CD27或CD28)和/或初级信号传导结构域(例如,本文所述的CD3 δ 信号传导结构域)。在一个实施方案中,该物质包含PD-1或其片段的第一多肽和本文所述胞内信号传导结构域(例如,本文所述的CD28、CD27、OX40或4-1BB信号传导结构域和/或本文所述的CD3 δ 信号传导结构域)的第二多肽。

[0942] 在一个实施方案中,本文所述的表达(例如,如本文所述的)融合蛋白(其包含了包含CAR的结构域)的免疫效应细胞还可以包含第二(例如,如本文所述的)融合蛋白(其包含了包含CAR的结构域),例如针对相同靶(例如,上文描述的靶)或不同靶的例如包含不同抗原结合结构域的第二CAR。在一个实施方案中,第二CAR包含针对下述靶的抗原结合结构域,所述靶表达在与第一CAR的靶相同的癌细胞类型上。在一个实施方案中,表达CAR的免疫效应细胞包含第一CAR,其靶向第一抗原并且包含具有共刺激信号传导结构域的胞内信号传导结构域但是不包含初级信号传导结构域,和第二CAR,其靶向第二种不同的抗原并且包含具有初级信号传导结构域的胞内信号传导结构域,但是不包含共刺激信号传导结构域。

[0943] 不希望受理论约束的同时,将共刺激信号传导结构域(例如,4-1BB、CD28、CD27或OX-40)安置到第一CAR上,并且将初级信号传导结构域(例如,CD3 δ)安置在第二CAR上可以限制CAR对表达两种靶的细胞的活性。在一个实施方案中,表达CAR的免疫效应细胞包含第一CAR,其包含靶向例如上文所述靶的抗原结构域、跨膜结构域和共刺激结构域,和第二CAR,其靶向除第一CAR靶向的抗原之外的抗原(例如,与第一靶相同的癌细胞类型上表达的抗原)并且包含抗原结合结构域、跨膜结构域和初级信号传导结构域。在另一个实施方案中,表达CAR的免疫效应细胞包含第一CAR,其包含靶向例如上文所述靶的抗原结构域、跨膜结构域和初级信号传导结构域,和第二CAR,其靶向除第一CAR靶向的抗原之外的抗原(例如,与第一靶相同的癌细胞类型上表达的抗原)并且包含针对该抗原的抗原结合结构域、跨膜结构域和共刺激信号传导结构域。

[0944] 在一个实施方案中,表达CAR的免疫效应细胞包含本文所述的CAR(例如,针对上文所述靶的CAR)和抑制性CAR。在一个实施方案中,抑制性CAR包含结合抗原的抗原结合结构

域,所述抗原存在于正常细胞上,但不存在于癌细胞上,例如,存在于还表达该靶的正常细胞上。在一个实施方案中,抑制性CAR包含抗原结合结构域,跨膜结构域和抑制性分子的胞内结构域。例如,抑制性CAR的胞内结构域可以是PD1、PD-L1、CTLA-4、TIM-3、CEACAM(例如,CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5),LAG-3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4或TGFR β 的胞内结构域。

[0945] 在一个实施方案中,免疫效应细胞(例如,T细胞,NK细胞)包含第一CAR,其包含与如本文所述的肿瘤抗原结合的抗原结合结构域,并且第二CAR,其包含PD1胞外结构域或其片段。

[0946] 在一个实施方案中,细胞还包含如上文所述的抑制性分子。

[0947] 在一个实施方案中,细胞中的第二CAR是抑制性CAR,其中抑制性CAR包含抗原结合结构域、跨膜结构域和抑制性分子的胞内结构域。抑制性分子可以选自以下一种或多种:PD1、PD-L1、CTLA-4、TIM-3、LAG-3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、TGFR β ,CEACAM-1、CEACAM-3和CEACAM-5。在一个实施方案中,第二CAR分子包含PD1的胞外结构域或其片段。

[0948] 在实施方案中,细胞中的第二CAR分子还包含这样的胞内信号传导结构域,其包含初级信号传导结构域和/或胞内信号传导结构域。

[0949] 在其他实施方案中,细胞中的胞内信号传导结构域包含有包含CD3 δ 的功能性结构域的初级信号传导结构域和包含4-1BB的功能性结构域的共刺激信号传导结构域。

[0950] 在一个实施方案中,细胞中的第二CAR分子包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列。

[0951] 在某些实施方案中,第一CAR分子的抗原结合结构域包含scFv并且第二CAR分子的抗原结合结构域不包含scFv。例如,第一CAR分子的抗原结合结构域包含scFv并且第二CAR分子的抗原结合结构域包含驼类VHH结构域。

[0952] 分裂的CAR

[0953] 在一些实施方案中,表达CAR的细胞使用分裂的CAR。出版物WO2014/055442和WO2014/055657中更详细地描述了分裂的CAR方案。简而言之,分裂的CAR系统包含细胞,所述细胞表达具有第一抗原结合结构域和共刺激结构域(例如,41BB)的第一CAR,并且细胞还表达具有第二抗原结合结构域和胞内信号传导结构域(例如,CD3 δ)的第二CAR。当细胞遇到第一抗原时,共刺激结构域被激活并且细胞增殖。当细胞遇到第二抗原时,胞内信号传导结构域被激活并且细胞杀伤活性开启。因此,表达CAR的细胞仅在两种抗原存在下完全活化。

[0954] 多重CAR表达

[0955] 在一个方面,本文所述的表达(例如,如本文所述的)融合蛋白(其包含了包含CAR的结构域)的细胞还可以包含例如针对相同靶或不同靶(例如,除本文所述的癌相关抗原或本文所述的不同癌相关抗原之外的靶)的第二(例如,如本文所述的)融合蛋白(其包含了包含CAR的结构域),例如,包含不同抗原结合结构域的第二CAR。在一个实施方案中,第二CAR包含针对下述靶的抗原结合结构域,所述靶表达在与癌相关抗原相同的癌细胞类型上。在一个实施方案中,表达CAR的细胞包含第一CAR,其靶向第一抗原并且包含具有共刺激信号传导结构域但是不包含初级信号传导结构域的胞内信号传导结构域,和第二CAR,其靶向第二种不同的抗原并且包含具有初级信号传导结构域,但是不包含共刺激信号传导结构域的胞内信号传导结构域。不希望受理论约束的同时,将共刺激信号传导结构域(例如,4-1BB、CD28、CD27或OX-40)安置到第一CAR上,并且将初级信号传导结构域(例如,CD3 δ)安置在第

二CAR上可以限制CAR对表达两种靶的细胞的活性。在一个实施方案中,表达CAR的细胞包含第一癌相关抗原CAR,其包含结合本文所述靶抗原的抗原结构域、跨膜结构域和共刺激结构域,和第二CAR,其靶向不同靶抗原(例如,与第一靶抗原相同的癌细胞类型上表达的抗原)并且包含抗原结合结构域、跨膜结构域和初级信号传导结构域。在另一个实施方案中,表达CAR的细胞包含第一CAR,其包含结合本文所述靶抗原的抗原结构域、跨膜结构域和初级信号传导结构域,和第二CAR,其靶向除第一靶抗原之外的抗原(例如,与第一靶抗原相同的癌细胞类型上表达的抗原)并且包含针对该抗原的抗原结合结构域、跨膜结构域和共刺激信号传导结构域。

[0956] 在一些实施方案中,要求保护的发明包含第一和第二CAR,其中所述第一CAR和所述第二CAR之一的抗原结合结构域不包含可变轻链结构域和可变重链结构域。在一些实施方案中,所述第一CAR和所述第二CAR之一的抗原结合结构域是scFv,并且另一个不是scFv。在一些实施方案中,所述第一CAR和所述第二CAR之一的抗原结合结构域包含单一VH结构域,例如,驼类、鲨鱼或七鳃鳗单一VH结构域,或衍生自人或小鼠序列的单一VH结构域。在一些实施方案中,所述第一CAR和所述第二CAR之一的抗原结合结构域包含纳米体。在一些实施方案中,所述第一CAR和所述第二CAR之一的抗原结合结构域包含驼类VHH结构域。

[0957] 同种异体细胞

[0958] 在本文所述的实施方案中,免疫效应细胞可以是同种异体免疫效应细胞,例如,T细胞或NK细胞。例如,细胞可以是同种异体T细胞,例如,缺少功能性T细胞受体(TCR)和/或人白细胞抗原(HLA)(例如,HLA I类和/或HLA II类或β2微球蛋白(B2M))表达的同种异体T细胞。

[0959] 缺少功能性TCR的T细胞可以例如如此工程化,从而它不在其表面上表达任何功能性TCR,如此工程化,从而它不表达构成功能性TCR(例如TRAC,TRBC1,TRBC2,CD3E,CD3G或CD3D)的一个或多个亚基,或如此工程化,从而它在其表面上产生非常少的功能性TCR。备选地,T细胞可以表达大幅度受损的TCR,例如,通过表达突变或截短形式的一个或多个TCR亚基。术语“大幅度受损的TCR”意指这种TCR将不在宿主中激发不良免疫反应。

[0960] 本文所述的T细胞例如可以如此工程化,从而它不在其表面上表达功能性HLA。例如,本文所述的T细胞可以如此工程化,从而HLA(例如,HLA I类和/或HLA II类或HLA表达的亚基或调节物(例如,B2M))的细胞表面表达下调。

[0961] 本文所述的T细胞例如可以如此工程化,从而它不在其表面上表达功能性B2M。例如,可以如此工程化本文所述的T细胞,从而B2M的细胞表面表达下调。

[0962] 在某些实施方式中,T细胞可以缺乏功能性TCR和功能性HLA(例如I类HLA和/或II类HLA)。

[0963] 可以通过任何合适的手段(包括敲除或敲减TCR或HLA的一个或多个亚基),获得缺少功能性TCR和/或HLA表达的修饰的T细胞。例如,T细胞可以包括使用siRNA、shRNA、成簇规律间隔的短回文重复序列(CRISPR)转录激活物样效应子核酸酶(TALEN)或锌指核酸内切酶(ZFN)敲减的TCR和/或HLA。

[0964] 在一些实施方案中,同种异体细胞可以是例如因本文所述的任何方法而不表达或以低水平表达抑制性分子的细胞。例如,细胞可以是不表达或以低水平表达抑制性分子的细胞,例如,可以降低表达CAR的细胞发动免疫效应子反应的能力的细胞。抑制性分子的例

子包括PD1、PD-L1、CTLA4、TIM3、CEACAM (例如CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4和TGFRB。对抑制性分子的抑制 (例如,通过在DNA、RNA或蛋白质水平抑制) 可以优化表达CAR的细胞性能。在实施方案中,可以使用抑制性核酸,例如,抑制性核酸,例如,dsRNA,例如,siRNA或shRNA、成簇规律间隔的短回文重复序列 (CRISPR)、转录激活物样效应子核酸酶 (TALEN) 或锌指核酸内切酶 (ZFN), 例如,如本文所述。

[0965] siRNA和shRNA

[0966] 在一些实施方案中,可以在T细胞中使用靶向编码TCR和/或HLA的核酸的siRNA或shRNA抑制TCR表达和/或HLA或B2M表达。

[0967] CRISPR

[0968] 如本文所用的“CRISPR”或“针对TCR和/或HLA的CRISPR”或“抑制TCR和/或HLA的CRISPR”指一组成簇规律间隔的短回文重复序列或一个包括这种重复序列组的系统。如本文所用,“Cas”指CRISPR相关蛋白。“CRISPR/Cas”系统指衍生自CRISPR和Cas的系统,所述系统可以用来沉默或突变TCR和/或HLA或B2M基因。

[0969] 使用本领域已知的技术,可以生成抑制TCR和/或HLA的人工CRISPR/Cas系统,例如,美国公开号20140068797和Cong (2013) *Science* 339:819-823中描述的那种。也可以生成本领域已知的抑制TCR和/或HLA的其他人工CRISPR/Cas系统,例如,在Tsai (2014) *Nature Biotechnol.*, 32:6 569-576;美国专利号8,871,445;8,865,406;8,795,965;8,771,945和8,697,359中描述的那种。

[0970] TALEN

[0971] “TALEN”或“针对HLA和/或TCR的TALEN”或“抑制HLA和/或TCR的TALEN”指转录激活物样效应核酸酶,一种可以用来编辑HLA或B2M和/或TCR基因的人工核酸酶。

[0972] 通过TAL效应子DNA结合结构域融合于DNA切割结构域,人工产生TALEN。转录激活物样效应 (TALEs) 可以经工程化以结合任何所需的DNA序列,包括HLA或TCR基因的一部分。通过将工程化的TALE与DNA切割结构域组合,可以产生对任何所需DNA序列 (包括HLA或TCR序列) 特异的限制性酶。随后可以将这些酶引入细胞中,在那里,它们可以用于基因组编辑。Boch (2011) *Nature Biotech.* 29:135-6;和Boch等人 (2009) *Science* 326:1509-12;Moscou等人 (2009) *Science* 326:3501。

[0973] 可以使用本领域已知的任何方法 (包括使用模块化组件的多种方案), 构建对HLA或TCR中的序列特异的TALEN。Zhang等人 (2011) *Nature Biotech.* 29:149-53;Geibler等人 (2011) *PLoS ONE* 6:e19509。

[0974] 抑制HLA和/或TCR的锌指核酸酶

[0975] “ZFN”或“锌指核酸酶”或“针对HLA和/或TCR的ZFN”或“抑制HLA和/或TCR的ZFN”指锌指核酸酶,一种可以用来编辑HLA和/或TCR或B2M基因的人工核酸酶。

[0976] 可以使用本领域已知的任何方法,构建对HLA/或TCR中的序列特异的ZFN。参见,例如,Provani (2011) *Nature Med.* 18:807-815;Torikai (2013) *Blood* 122:1341-1349;Cathomen等人 (2008) *Mol. Ther.* 16:1200-7;Guo等人 (2010) *J. Mol. Biol.* 400:96;美国专利公开2011/0158957;和美国专利公开2012/0060230。

[0977] 端粒酶表达

[0978] 尽管不希望受任何具体理论约束,在一些实施方案中,治疗性T细胞在患者中具有短期留存,原因在于T细胞中端粒缩短;因此,用端粒酶基因转染可以延长T细胞的端粒并改善T细胞在患者中的持久性。参见Carl June,“Adoptive T cell therapy for cancer in the clinic”,*Journal of Clinical Investigation*,117:1466-1476(2007)。因此,在一个实施方案中,免疫效应细胞(例如,T细胞)异位表达端粒酶亚基,例如,端粒酶(例如,TERT,例如,hTERT)的催化性亚基。在一些方面,本公开提供一种产生表达CAR的细胞的方法,包括使细胞与编码端粒酶亚基(例如,端粒酶(例如,TERT,例如,hTERT)的催化性亚基)的核酸接触。细胞可以在接触编码CAR的构建体之前、与之同时或之后与核酸接触。

[0979] 扩充和活化

[0980] 可以通常使用如在例如以下文献中所述的方法,活化和扩充免疫效应细胞如T细胞:美国专利6,352,694;6,534,055;6,905,680;6,692,964;5,858,358;6,887,466;6,905,681;7,144,575;7,067,318;7,172,869;7,232,566;7,175,843;5,883,223;6,905,874;6,797,514;6,867,041;和美国专利申请公开号20060121005,所述每篇文献通过引用的方式完整并入。

[0981] 通常,可以通过接触于下述表面扩充免疫效应细胞(例如,T调节性细胞耗尽的细胞)群体,所述表面已经与刺激CD3/TCR复合物相关的信号的物质和刺激T细胞表面上共刺激分子的配体连接。特别地,可以如本文所述那样,如通过接触于固定在表面上的抗CD3抗体或其抗原结合片段或抗CD28抗体,或通过接触于蛋白激酶C激活物(例如,苔藓抑素)连同钙离子载体,刺激T细胞群体。为了共刺激T细胞表面上的辅助分子,使用结合辅助分子的配体。例如,T细胞群体可以在适于刺激T细胞增殖的条件下与抗CD3抗体和抗CD28抗体接触。为了刺激CD4⁺ T细胞或CD8⁺ T细胞增殖,可以使用抗CD3抗体和抗CD28抗体。抗CD28抗体的例子包括9.3、B-T3、XR-CD28(Diacclone, **Besançon**, France),可以如本领域共知的其他方法那样使用(Berg等人, *Transplant Proc.* 30(8):3975-3977, 1998; Haanen等人, *J. Exp. Med.* 190(9):1319-1328, 1999; Garland等人, *J. Immunol Meth.* 227(1-2):53-63, 1999)。

[0982] 在某些方面,T细胞的初级刺激性信号和共刺激信号可以由不同方案提供。例如,提供每种信号的物质可以处于溶液中或与表面偶联。与表面偶联时,物质可以与相同表面(即,处于“顺式”形式)偶联或与分立的表面偶联(即,处于“反式”形式)。备选地,一个物质可以与表面偶联并且另一种物质处于溶液中。在一个方面,提供共刺激信号的物质与细胞表面结合并且提供初级激活信号的物质处于溶液中或与表面偶联。在某些方面,两种物质均可以处于溶液中。在一个方面,物质可以处于可溶性形式,并且随后交联至表面,如表达将会与该物质结合的Fc受体或抗体或其他结合物的细胞。在这个方面,关于在本发明中构思用于活化和扩充T细胞的人工抗原呈递细胞(aAPC),参见例如,美国专利申请公开号20040101519和20060034810。

[0983] 在一个方面,两种物质固定在珠上、固定在相同的珠上、即,“顺式”,或固定至分立的珠上、即,“反式”。例如,提供初级活化信号的物质是抗CD3抗体或其抗原结合片段并且提供共刺激信号的物质是抗CD28抗体或其抗原结合片段;并且两种物质均以等同的分子数量共同固定至相同珠上。在一个方面,对于CD4⁺ T细胞扩充和T细胞生长,使用与珠结合的每种抗体的1:1比率。在本发明的某些方面,如此使用与珠结合的抗CD3:CD28抗体的比率,从

而如与使用比率1:1时观察到的扩充相比,观察到T细胞扩充增加。在一个特定方面中,如与使用比率1:1时观察到的扩充相比,观察到约1倍至约3倍的增加。在一个方面,与珠结合的CD3:CD28抗体的比率是从100:1至1:100和其间的全部整数值。在一个方面,比抗CD3抗体更多的抗CD28抗体与粒子结合、即,CD3:CD28的比率小于1。在某些方面,与珠结合的抗CD28抗体对抗CD3抗体的比率大于2:1。在一个特定的方面中,使用1:100与珠结合的CD3:CD28抗体比率。在一个方面,使用1:75与珠结合的CD3:CD28抗体比率。在又一个方面,使用1:50与珠结合的CD3:CD28抗体比率。在一个方面,使用1:30与珠结合的CD3:CD28抗体比率。在一个优选的方面,使用1:10与珠结合的CD3:CD28抗体比率。在一个方面,使用1:3与珠结合的CD3:CD28抗体比率。在又一个方面,使用3:1与珠结合的CD3:CD28抗体比率。

[0984] 粒子对细胞比率1:500至500:1和其间的任何整数值可以用来刺激T细胞或其他靶细胞。如本领域普通技术人员可以轻易地领会,粒子对细胞的比率可以取决于相对于靶细胞的粒子大小。例如,小规格珠仅可能结合一些细胞,而较大的珠可能结合许多细胞。在某些方面,细胞对粒子的比率范围从1:100至100:1和其间的任何整数值,并且在其他方面中,该比率包含1:9至9:1和其间的任何整数值、也可以用来刺激T细胞。导致刺激T细胞的抗CD3偶联粒子和抗CD28偶联粒子对T细胞的比率可以如上文所示变动,然而某些优选的值包括1:100、1:50、1:40、1:30、1:20、1:10、1:9、1:8、1:7、1:6、1:5、1:4、1:3、1:2、1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1和15:1,一个优选的比率是每个T细胞至少1:1粒子。在一个方面,使用1:1或更小的粒子对细胞比率。在一个特定方面,优选的粒子:细胞比率是1:5。在其他方面,粒子:细胞比率可以根据刺激的日期变动。例如,在一个方面,粒子:细胞比率在第1天是1:1至10:1,并且此后每日或每隔1日添加额外粒子至细胞持续至多10天,按1:1至1:10的最终比率(基于添加日时的细胞计数)添加。在一个特定方面,粒子:细胞比率在第1刺激日是1:1并且在第三刺激日和第五刺激日调节至1:5。在一个方面,基于每日或每隔1日添加粒子至第1刺激日时最终比率1:1,并且在第三刺激日和第五刺激日添加粒子至最终比率1:5。在一个方面,粒子:细胞比率在第1刺激日是2:1并且在第三刺激日和第五刺激日调节至1:10。在一个方面,基于每日或每隔1日添加粒子至第1刺激日时最终比率1:1,并且在第三刺激日和第五刺激日添加粒子至最终比率1:10。本领域技术人员将理解,多种其他比率可以在本发明中适用。特别地,比率将根据粒子大小和细胞尺寸和类型变动。在一个方面,使用的最常见比率在第1天接近1:1、2:1和3:1。

[0985] 在其他方面,细胞(如T细胞)与物质包被的珠组合,随后分离珠和细胞,并且随后培养细胞。在备选方面,在培养之前,不分离物质包被的珠和细胞,而是在一起培养。在又一个方面,首先通过应用某种力(如磁力)浓缩珠和细胞、导致细胞表面标记物的连接增加,因而诱导细胞刺激作用。

[0986] 例如,可以通过使得与抗CD3和抗CD28连接的顺磁珠(3x28珠)接触T细胞,连接细胞表面蛋白。在一个方面,将细胞(例如,10⁴个至10⁹个T细胞)和珠(例如,DYNABEADS® M-450CD3/CD28T顺磁珠按比率1:1)在缓冲液例如PBS(不含二价阳离子如钙和镁)中合并。再次,本领域普通技术人员可以轻易地领会,可以使用任何细胞浓度。例如,靶细胞可能在样品中非常稀少并仅占样品的0.01%或整个样品(即,100%)可能包含目的靶细胞。因此,任何细胞数目均属于本发明的情景范围内。在某些方面,可能想要明显减少其中粒子和细胞混合在一起的体积(即,增加细胞浓度)以确保细胞和粒子最大限度接触。例如,在一个方

面,使用约100亿个细胞/ml、90亿/ml、80亿/ml、70亿/ml、60亿/ml、50亿/ml、或20亿个细胞/ml的浓度。在一个方面,使用大于1亿个细胞/ml。在又一个方面,使用1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5或5千万个细胞/ml的细胞浓度。在又一个方面,使用75、80、85、90、95或100百万个细胞/ml的细胞浓度。在其他方面,可以使用1.25亿或1.5亿个细胞/ml的浓度。使用高浓度可以导致增加的细胞产量、细胞活化和细胞扩充。另外,使用高细胞浓度允许更高效地捕获可能微弱表达目的靶抗原的细胞,如CD28阴性T细胞。在某些方面,这类细胞群体可能具有治疗价值并且将希望获得。例如,使用高浓度的细胞允许更高效地选择正常情况下具有更弱CD28表达的CD8⁺ T细胞。

[0987] 在一个实施方案中,例如,通过本文所述方法,扩充用编码融合蛋白(例如本文所述的,包含包括CAR(例如本文所述的CAR)的结构域)的核酸转导的细胞。在一个实施方案中,将细胞在培养下扩充几小时(例如,约2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、18、21小时)至约14天(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14天)。在一个实施方案中,将细胞扩充4至9天时间。在一个实施方案中,将细胞扩充8天或更短(例如,7、6或5天)时间。在一个实施方案中,将细胞在培养下扩充5天并且所产生的细胞比相同培养条件下培养扩充9天的相同细胞更有效力。效力可以例如由多种T细胞功能定义,例如增殖、靶细胞杀伤作用、细胞因子产生、活化、移行、或其组合。在一个实施方案中,与相同培养条件下培养扩充9天的相同细胞相比,扩充5天的细胞显示在抗原刺激时细胞倍增作用增长至少1、2、3或4倍。在一个实施方案中,将细胞在培养下扩充5天,并且与相同培养条件下培养扩充9天的相同细胞相比,所产生的细胞显示出更高的促炎细胞因子产量,例如,IFN- γ 水平和/或GM-CSF水平。在一个实施方案中,与相同培养条件下培养扩充9天的相同细胞相比,扩充5天的细胞显示以pg/ml计的促炎细胞因子产量(例如,IFN- γ 水平和/或GM-CSF水平)增长至少1、2、3、4、10倍或更多。

[0988] 也可能需要几轮刺激,从而T细胞培养时间可以是60天或更长。适于T细胞培养的条件包括适宜的培养基(例如,极限基本培养基或RPMI培养基1640或、X-vivo 15、(Lonza)),所述培养基可以含有增殖和生存力必需的因子,包括血清(例如,胎牛血清或人血清)、白介素-2(IL-2)、胰岛素、IFN- γ 、IL-4、IL-7、GM-CSF、IL-10、IL-12、IL-15、TGF β 和TNF- α 或技术人员已知的用于细胞生长的任何其他添加物。用于细胞生长的其他添加物包括但不限于表面活性剂、Plasmanate和还原剂如N-乙酰-半胱氨酸和2-巯基乙醇。培养基可以包含RPMI1640、AIM-V、DMEM、MEM、 α -MEM、F-12、X-Vivo 15和X-Vivo 20、Optimizer、连同添加的氨基酸、丙酮酸钠和维生素,无血清或补充有适宜量的血清(或血浆)或限定的成组激素和/或足以生长和扩充T细胞的某种量的细胞因子。抗生素,例如,青霉素和链霉素仅包含于实验性培养物中,不包含于待输注入受试者的细胞培养物中。将靶细胞在支持生长所必需的条件维持,例如,适宜的温度(例如,37 $^{\circ}$ C)和气氛(例如,空气外加5%CO₂)。

[0989] 在一个实施方案中,将细胞在适宜的培养基(例如,本文所述的培养基)中扩充,所述培养基包括导致细胞在14天扩充时间内增加至少200倍(例如,200倍、250倍、300倍、350倍)的一种或多种白介素,例如,如通过本文所述的方法(如流式细胞术)所测量的。在一个实施方案中,将细胞在IL-15和/或IL-7(例如,IL-15和IL-7)存在下扩充。

[0990] 在实施方案中,本文描述的方法,例如,生产表达(例如,如本文所述的)融合蛋白(其包含了包含CAR的结构域)的细胞的方法,包括例如,用抗CD25抗体或其片段,或CD25结合配体IL-2从细胞群体除去调节性T细胞,例如,CD25⁺ T细胞。本文中描述了从细胞群体移

除调节性T细胞(例如,CD25⁺ T细胞)的方法。在实施方案中,方法(例如,生产方法)还包括:使细胞群体与IL-15和/或IL-7接触,所述细胞群体例如是其中调节性T细胞(如CD25⁺ T细胞)已经耗尽的细胞群体;或先前已经接触过抗CD25抗体、其片段或CD25结合配体的细胞群体。例如,将细胞群体(例如,先前已经接触过抗CD25抗体、其片段或CD25结合配体的细胞群体)在IL-15和/或IL-7存在下扩充。

[0991] 在一些实施方案中,本文所述的表达融合蛋白(例如如本文所述的,包含包括了CAR的结构域)的细胞与包含白介素-15(IL-15)多肽、白介素-15受体 α (IL-15Ra)多肽或IL-15多肽与IL-15Ra多肽(例如,hetIL-15)组合的组合物在产生表达CAR的细胞期间(例如,离体)接触。在实施方案中,本文所述的表达CAR的细胞与包含IL-15多肽的组合物在产生该表达CAR的细胞期间(例如,离体)接触。在实施方案中,本文所述的表达CAR的细胞与包含IL-15多肽和IL-15Ra多肽二者组合的组合物在产生表达CAR的细胞期间(例如,离体)接触。在实施方案中,本文所述的表达CAR的细胞与包含hetIL-15的组合物在产生表达CAR的细胞期间(例如,离体)接触。

[0992] 在一个实施方案中,表达融合蛋白(例如,如本文所述的,包含包括CAR的结构域)的细胞与组合物在离体扩充期间接触,所述组合物包含hetIL-15。在一个实施方案中,本文所述的表达CAR的细胞与包含IL-15多肽的组合物在离体扩充期间接触。在一个实施方案中,本文所述的表达CAR的细胞与包含IL-15多肽和IL-15Ra多肽二者的组合物在离体扩充期间接触。在一个实施方案中,接触过程导致淋巴细胞亚群(例如,CD8⁺ T细胞)存活和增殖。

[0993] 已经暴露于变动的刺激时间的T细胞可以显示出不同的特征。例如,常见的血液或单采外周血单核细胞产物具有比细胞毒T细胞或抑制T细胞群体(TC、CD8⁺)更大的辅助T细胞群体(TH、CD4⁺)。通过刺激CD3和CD28受体离体扩充T细胞产生了这样的T细胞群体,其约第8-9天之前由TH细胞优势组成的T细胞群体,而约第8-9天之后,T细胞群体包含日益更大的TC细胞群体。因此,取决于治疗目的,向受试者输注由TH细胞优势组成的T细胞群体可能是有利的。类似地,如果已经分离TC细胞的抗原特异性亚群,可能有益的是更大程度地扩充这个亚群。

[0994] 另外,除CD4和CD8标记物之外,其他表型标记也显著地变动,但是在细胞扩充过程期间大多可重复地变动。因此,这种重现性使得为特定目的而调整活化的T细胞产物的能力成为可能。

[0995] 一旦构建(例如,如本文所述的)融合蛋白(其包含了本文所述的包含CAR的结构域),则各种测定法可以用来评价分子的活性,如但不限于抗原刺激后扩充T细胞的能力、在再次刺激不存在的情况下维持T细胞扩充的能力和在适宜体外模型和动物模型中的抗癌活性。下文进一步详细描述评价本公开cars之作用的测定法。

[0996] 原代T细胞中(例如,如本文所述的)融合蛋白(其包含了包含CAR的结构域)表达的蛋白质印迹分析可以用来检测单体和二聚体的存在。参见,例如,Milone等人,Molecular Therapy 17(8):1453-1464(2009)。非常简要地,将表达CAR的T细胞(CD4⁺ T细胞和CD8⁺ T细胞的1:1混合物)在体外扩充多于10天,随后裂解和在还原条件下进行SDS-PAGE。使用针对TCR- δ 链的抗体,通过蛋白质印迹法检测含有全长TCR- δ 胞质结构域和内源TCR- δ 链的CAR。相同T细胞亚群用于非还原性条件下的SDS-PAGE分析以允许评价共价二聚体形成。

[0997] 可以通过流式细胞术测量在抗原刺激后(例如,如本文所述的)融合蛋白⁺(其包含了包含CAR的结构域)(例如CAR⁺)T细胞的体外扩充。例如,CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞的混合物用 α CD3/ α CD28 aAPC刺激,随后用在待分析的启动子控制下表达GFP的慢病毒载体转导。示例性启动子包括CMV IE基因启动子、EF-1 α 启动子、遍在蛋白C启动子或磷酸甘油激酶(PGK)启动子。在培养第6日通过流式细胞术评价CD4⁺和/或CD8⁺T细胞亚群中的GFP荧光。参见,例如,Milone等人,Molecular Therapy 17(8):1453-1464(2009)。备选地,CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞的混合物在第0天用 α CD3/ α CD28包被的磁珠刺激并且使用双顺反子慢病毒载体在第1天用CAR转导,其中所述双顺反子慢病毒载体使用2A核糖体跳跃序列表达CAR连同eGFP。在洗涤后,将培养物用如本文所述的癌相关抗原⁺K562细胞(表达如本文所述的癌相关抗原的K562)、野生型K562细胞(K562野生型)或表达hCD32和4-1BBL的K562细胞在抗CD3和抗CD28抗体(K562-BBL-3/28)存在下再刺激。每隔1日按100IU/ml添加外源IL-2至培养物。使用基于珠的计数法,通过流式细胞术计数GFP⁺T细胞。参见,例如,Milone等人,Molecular Therapy 17(8):1453-1464(2009)。

[0998] 也可以测量在再次刺激不存在的情况下维持的(例如,如本文所述的)融合蛋白⁺(其包含了包含CAR的结构域)(例如CAR⁺)T细胞扩充。参见,例如,Milone等人,Molecular Therapy 17(8):1453-1464(2009)。简而言之,在第0天用 α CD3/ α CD28包被的磁珠刺激并在第1天用所示CAR转导后,在培养第8天使用库尔特粒度分析仪III粒子计数器Nexcelom Cellometer Vision或Millipore Scepter测量平均T细胞量(f1)。

[0999] 动物模型也可以用来测量CART活性。例如,可以使用在免疫缺陷性小鼠中利用本文所述的癌相关抗原特异性人CAR⁺T细胞处理原代人前B ALL的异种移植模型。参见,例如,Milone等人,Molecular Therapy 17(8):1453-1464(2009)。非常简短地,在建立ALL后,将小鼠随机分配至治疗组。将不同数目的癌相关抗原特异性CAR工程化的T细胞按1:1比率共注射至携带B-ALL的NOD-SCID- $\gamma^{-/-}$ 小鼠中。在注射T细胞后的各种时间评价来自小鼠的脾DNA中癌相关抗原特异性CAR载体的拷贝数。按每周一次间隔评估动物的白血病。在用本文所述的癌相关抗原- δ CAR⁺T细胞或模拟转导的T细胞注射的小鼠中测量外周血如本文所述的癌相关抗原⁺B-ALL母细胞计数。使用对数秩检验,比较各组的生存曲线。此外,也可以分析NOD-SCID- $\gamma^{-/-}$ 小鼠中注射T细胞后4周的外周血CD4⁺T细胞绝对计数和CD8⁺T细胞绝对计数。将小鼠用白血病细胞注射并且3周后,用经工程化以通过双顺反子慢病毒载体表达CAR的T细胞注射,所述双顺反子慢病毒载体编码与eGFP连接的CAR。通过注射之前与模拟转导的细胞混合,将T细胞对45-50%输入的GFP⁺T细胞归一化,并且通过流式细胞术证实。按1周间隔评估动物的白血病。使用对数秩检验,比较各CAR⁺T细胞组的生存曲线。

[1000] 可以评价剂量依赖性(例如,如本文所述的)融合蛋白(其包含了包含CAR的结构域)治疗反应。参见,例如,Milone等人,Molecular Therapy 17(8):1453-1464(2009)。例如,在第21日用CAR⁺T细胞、等同数目的模拟转导的T细胞或不用T细胞注射的小鼠中建立白血病后35-70天,获得外周血。来自每个组的小鼠随机采血以测定外周血如本文所述的癌相关抗原⁺ALL母细胞计数并且随后在第35天和第49天杀死。在第57和第70天评价剩余的动物。

[1001] 先前已经描述了细胞增殖和细胞因子产生的评估,例如,在Milone等人,Molecular Therapy 17(8):1453-1464(2009)处描述。简而言之,在微量滴定板中通过将洗

涤的T细胞与表达本文所述的癌相关抗原(K19)的K562细胞或表达CD32和CD137的K562细胞(KT32-BBL)按T细胞:K562最终比率2:1混合,评估CAR介导的增殖。K562细胞在使用之前用 γ -辐射照射。将抗CD3(克隆OKT3)单克隆抗体和抗CD28(克隆9.3)单克隆抗体添加至培养物,以KT32-BBL细胞充当刺激T细胞增殖的阳性对照,因为这些信号支持CD8⁺T细胞离体长期扩充。如制造商所描述那样使用CountBright™荧光珠(Invitrogen, Carlsbad, CA)和流式细胞术,计数培养物中的T细胞。使用T细胞依据GFP表达鉴定CAR⁺T细胞,其中所述T细胞用表达eGFP-2A连接的CAR的慢病毒载体工程化。对于不表达GFP的CAR⁺T细胞,用生物素酰化的重组如本文所述的癌相关抗原蛋白和第二抗生物素蛋白-PE缀合物检测CAR⁺T细胞。还同时用特异性单克隆抗体(BD Biosciences)检测T细胞上的CD4⁺表达和CD8⁺表达。使用人TH1/TH2细胞因子细胞计数珠阵列试剂盒(BD Biosciences, San Diego, CA)根据制造商的说明,对再次刺激后24小时收集的上清液进行细胞因子测量。使用FACScalibur流式细胞仪评估荧光并且根据制造商的说明分析数据。

[1002] 细胞毒性可以由标准⁵¹Cr-释放测定法评估。参见,例如, Milone等人, *Molecular Therapy* 17(8):1453-1464(2009)。简而言之,将靶细胞(K562系和原代前B-ALL细胞)在37°C用⁵¹Cr(作为NaCrO₄, New England Nuclear, Boston, MA)加载2小时伴以频繁搅拌,在完全RPMI中洗涤2次并铺种至微量滴定板中。在孔中,将效应T细胞与靶细胞在完全RPMI中按不同的效应细胞:靶细胞比率(E:T)混合。还配制了仅含有培养基(自发释放, SR)或1% triton-X100去垢剂溶液(总释放, TR)的额外孔。在37°C孵育4小时后,从每个孔收获上清液。随后使用 γ 粒子计数器(Packard Instrument Co., Waltham, MA)测量释放的⁵¹Cr。每条条件按至少三次重复进行并且使用下式计算裂解百分数:裂解% = (ER-SR)/(TR-SR), 其中ER代表每种实验条件的⁵¹Cr平均释放。

[1003] 成像技术可以用来评价携瘤动物模型中CAR的特异性转运和增殖。已经描述此类测定法,例如,在Barrett等人, *Human Gene Therapy* 22:1575-1586(2011)中描述。简而言之,将NOD/SCID/ γ c^{-/-}(NSG)小鼠用NaIm-6细胞静脉内注射,7天后,用CAR构建体电穿孔后4小时,用T细胞静脉内注射。T细胞用表达萤火虫萤光素酶的慢病毒构建体稳定转染并且对小鼠的生物发光成像。备选地,可以如下测量NaIm-6异种移植模型中单次注射CAR⁺T细胞的治疗功效和特异性:用经转导以稳定表达萤火虫萤光素酶的NaIm-6注射NSG小鼠,7天后,随后单次尾静脉注射经本公开的car电穿孔的T细胞。在注射后的各种时间点对动物成像。例如,可以在第5日(处理前2天)和第8日(CAR⁺PBL后24小时)生成代表性小鼠中萤火虫萤光素酶阳性白血病的光子密度热图。

[1004] 其他测定法,包括在本文实施例部分中描述的那些以及本领域已知的那些,也可以用来评价本文所述的CAR。

[1005] 产生表达CAR的细胞的方法

[1006] 在另一个方面,本发明涉及一种产生细胞(例如,免疫效应细胞或其群体)的方法,所述方法包括向细胞(例如,本文所述的T细胞或NK细胞)引入(例如,转导)载体,其包含编码融合蛋白(例如如本文所述的,其包含包括CAR(例如本文所述的CAR)的结构域)的核酸或编码CAR分子(例如,本文所述的CAR)的核酸。

[1007] 这些方法中的细胞是免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞、或其组合)。在一些实施方案中,在方法中的细胞是二酰甘油激酶(DGK)缺陷的和/或Ikaros缺陷的。

[1008] 在一些实施方案中,引入编码CAR的核酸分子包括转导包含编码融合蛋白(例如如本文所述的,其包含包括CAR的结构域)的核酸分子的载体,或转染编码CAR的核酸分子,其中核酸分子是体外转录的RNA。

[1009] 在一些实施方案中,该法还包括:

[1010] 提供免疫效应细胞群体(例如,T细胞或NK细胞);并且

[1011] 从该群体移除调节性T细胞,因而提供调节性T细胞耗尽的群体;

[1012] 其中步骤a)和b)在引入编码融合蛋白(例如如本文所述的,其包含包括CAR的结构域)的核酸至群体之前进行。

[1013] 在这些方法的实施方案中,调节性T细胞包括CD25⁺ T细胞,并且使用抗CD25抗体或其片段从细胞群体移除。抗CD25抗体或其片段可以与基材(例如,珠)缀合。

[1014] 在其他实施方案中,从步骤(b)提供的调节性T细胞耗尽的群体含有小于30%、25%、20%、15%、10%、5%、4%、3%、2%、1%的CD25⁺细胞。

[1015] 在另外的其他实施方案中,该方法还包括从群体移除细胞,其表达不包含CD25的肿瘤抗原,以在引入编码融合蛋白(例如如本文所述的,其包含包括CAR的结构域)的核酸至群体之前,提供调节性T细胞耗尽和肿瘤抗原耗尽的细胞群体。肿瘤抗原可以选自CD19、CD30、CD38、CD123、CD20、CD14或CD11b或其组合。

[1016] 在其他实施方案中,该方法还包括从群体移除表达检查点抑制蛋白的细胞,以在将编码融合蛋白(例如如本文所述的,其包含包括CAR的结构域)的核酸引入至群体之前,提供调节性T细胞耗尽和抑制性分子耗尽的细胞的群体。检查点抑制蛋白可以选自PD-1、LAG-3、TIM3、B7-H1、CD160、P1H、2B4、CEACAM(例如,CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、TIGIT、CTLA-4、BTLA及LAIR1。

[1017] 本文公开的其他实施方案涵盖提供免疫效应细胞群体。可以基于CD3、CD28、CD4、CD8、CD45RA、和/或CD45RO中一者或多者的表达,选择所提供的免疫效应细胞群体。在某些实施方案中,所提供的免疫效应细胞群体为CD3⁺和/或CD28⁺。

[1018] 在该方法的某些实施方案中,此方法还包括在已经引入编码融合蛋白(例如如本文所述的,其包含包括CAR的结构域)的核酸分子后扩充细胞群体。

[1019] 在实施方案中,将细胞群体扩充8天或更短时间。

[1020] 在某些实施方案中,将细胞群体在培养下扩充5天并且所产生的细胞比相同培养条件下培养扩充9天的相同细胞更有效力。

[1021] 在其他实施方案中,与相同培养条件下培养扩充9天的相同细胞相比,在培养下扩充5天的细胞群体显示在抗原刺激时细胞倍增作用增长至少1、2、3或4倍。

[1022] 在另外的其他实施方案中,将细胞群体在培养下扩充5天,并且如与相同培养条件下培养扩充9天的相同细胞相比,所产生的细胞显示出更高的促炎IFN- γ 和/或GM-CSF水平。

[1023] 在其他实施方案中,通过在刺激CD3/TCR复合体相关信号的物质和/或刺激细胞表面上共刺激分子的配体存在下培养细胞,扩充细胞群体。该物质可以是与抗CD3抗体或其片段和/或抗CD28抗体或其片段缀合的珠。

[1024] 在其他实施方案中,将细胞群体在适宜的培养基中扩充,所述培养基包含导致细胞历经14天扩充时间增加至少200倍、250倍、300倍或350倍的一种或多种白介素,如通过流

式细胞术所测量。

[1025] 在其他实施方案中,在IL-15和/或IL-7存在下扩充细胞群体。

[1026] 在某些实施方案中,该方法还包括在适宜的扩充时间后深冷保存细胞群体。

[1027] 在另外的其他实施方案中,本文公开的产生方法还包括使免疫效应细胞群体与编码端粒酶亚基(例如,hTERT)的核酸接触。编码端粒酶亚基的核酸可以是DNA。

[1028] 本公开还提供一种产生暂时表达外源RNA的RNA工程化细胞(例如,本文所述的细胞,例如,免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞))的群体的方法。该方法包括将体外转录的RNA或合成的RNA引入细胞,其中RNA包含编码本文所述的融合蛋白(例如如本文所述的,其包含包括CAR分子的结构域)的核酸。

[1029] 在另一个方面,本发明涉及一种在受试者中提供抗肿瘤免疫力的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的包含融合蛋白(例如如本文所述的,其包含包括CAR分子的结构域)的细胞,例如,表达本文所述的CAR分子的细胞。在一个实施方案中,细胞是自体T细胞或NK细胞。在一个实施方案中,细胞是同种异体T细胞或NK细胞。在一个实施方案中,受试者是人。

[1030] 在一个方面,本发明包含用载体转染或转导的自体细胞群体,所述载体包含编码融合蛋白(例如如本文所述的,其包含包括CAR分子(例如如本文所述的)的结构域)的核酸分子。在一个实施方案中,载体是逆转录病毒载体。在一个实施方案中,载体是如本文他处描述的自我失活性慢病毒载体。在一个实施方案中,将载体递送(例如,通过转染或电穿孔)至细胞,例如,T细胞或NK细胞,其中载体包含编码如本文所述的本公开CAR的核酸分子,所述核酸分子转录为mRNA分子,并且本公开的CAR从RNA分子翻译并表达在细胞的表面上。

[1031] 在另一个方面,本公开提供表达融合蛋白(例如如本文所述的,其包含包括CAR的结构域)的细胞(例如,表达CAR的免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞))的群体。在一些实施方案中,表达CAR的细胞群体包含表达不同CAR的细胞的混合物。例如,在一个实施方案中,表达CAR的免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)的群体可以包含第一细胞,其表达了具有与如本文所述的第一肿瘤抗原结合的抗原结合结构域的CAR;和第二细胞,其表达了具有与如本文所述的第二肿瘤抗原结合的不同抗原结合结构域的CAR。作为另一个例子,表达CAR的细胞的群体可以包含第一细胞,其表达了包含与如本文所述的肿瘤抗原结合的抗原结合结构域的CAR;和第二细胞,其表达了包含针对如本文所述的肿瘤抗原之外的靶的抗原结合结构域的CAR。在一个实施方案中,表达CAR的细胞的群体包含第一细胞,其表达了包含初级胞内信号传导结构域的CAR;和第二细胞,其表达了包含次级信号传导结构域(例如,共刺激信号传导结构域)的CAR。

[1032] 在另一个方面,本公开提供这样的细胞群体,其中群体的至少一个细胞表达具有与如本文所述的肿瘤抗原结合的抗原结合结构域的融合蛋白(例如如本文所述的,其包含包括CAR的结构域),和这样的第二细胞,其表达另一种物质,例如,增强表达CAR的细胞活性的物质。例如,在一个实施方案中,物质可以是抑制了抑制性分子的物质。抑制性分子的例子包括PD-1、PD-L1、CTLA-4、TIM-3、CEACAM(例如,CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG-3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4和TGFR β 。在一个实施方案中,对抑制性分子抑制的物质例如是本文所述的分子,例如,包含第一多肽(例如,抑制性分子)的物质,所述第一多肽与提供正向信号给细胞的第二多肽(例如,本文所述的胞内信号传导结构域)缔合。

在一个实施方案中,该物质例如包含抑制性分子如PD-1、LAG-3、CTLA-4、CD160、BTLA、LAIR1、TIM-3、CEACAM(例如,CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、2B4和TIGIT或这些分子中任一者之片段的第一多肽和作为本文所述胞内信号传导结构域(例如,包含共刺激结构域(例如,如本文所述的41BB、CD27或CD28)和/或初级信号传导结构域(例如,本文所述的CD3 δ 信号传导结构域)的第二多肽。在一个实施方案中,该物质包含PD-1或其片段的第一多肽和本文所述胞内信号传导结构域(例如,本文所述的CD28、CD27、OX40或4-1BB信号传导结构域和/或本文所述的CD3 δ 信号传导结构域)的第二多肽。

[1033] 在一个实施方案中,编码融合蛋白(例如如本文所述的,其包含包括本公开CAR分子的结构域)的核酸分子作为mRNA分子表达。在一个实施方案中,可以通过将编码所需CAR的RNA分子(例如,无载体序列)转染或电穿孔入细胞,产生基因修饰的表达本发明CAR的细胞,例如,免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)。在一个实施方案中,一旦并入,则本公开的CAR分子从RNA分子翻译并表达在重组细胞的表面上。

[1034] 一种产生用于转染的mRNA的方法涉及用专门设计的引物在体外转录(IVT)模板,随后添加聚腺苷酸,以产生含有3'和5'非翻译序列("UTR")(例如,本文所述的3'和/或5'UTR)、5'帽(例如,本文所述的5'帽)和/或内部核糖体进入位点(IRES)(例如,本文所述的IRES)、待表达的核酸和长度一般为50-5000碱基的聚腺苷酸化尾(SEQ ID NO:32)的构建体。如此产生的RNA可以高效地转染不同种类的细胞。在一个实施方案中,模板包括融合蛋白(例如如本文所述的,其包含包括CAR的结构域)的序列。在一个实施方案中,将RNA融合蛋白(例如如本文所述的,其包含包括CAR的结构域)载体通过电穿孔转导至细胞(例如,T细胞或NK细胞)中。

[1035] 在一种实施方式中,将(例如,如本文所述的)融合蛋白(其包含了包含CAR的结构域)引入到免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)中,例如利用体外转录,并且受试者(例如人)接受本发明的(例如,如本文所述的)融合蛋白(其包含了包含CAR的结构域)、免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)的初次施用,以及本发明的(例如,如本文所述的)融合蛋白(其包含了包含CAR的结构域)、免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)的一次或更多次后续施用,其中一次或更多次后续施用在先前施用后小于15天,例如,14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3或2天施用。在一种实施方式中,每周向所述的受试者(例如,人)超过一次施用本发明的CAR免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞),例如每周施用2、3或4次本发明的CAR免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)。在一种实施方式中,每个星期所述的受试者(例如人受试者)接受超过一次CAR免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)的施用(例如每个星期2、3或4次施用)(在本文中也被称为循环),随后一个星期不施用CAR免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞),然后给所述的受试者施用一次或更多次额外的CAR免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)(例如每个星期超过一次的CAR免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)的施用)。在另一种实施方式中,所述的受试者(例如人受试者)接受超过一个循环的CAR免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞),并且每个循环之间的时间少于10、9、8、7、6、5、4,或3天。在一种实施方式中,每隔一天施用CAR免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞),每个星期持续3次施用。在一种实施方式中,施用本发明的CAR免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)持续至少2、3、4、5、6、7、8周或更多周。

[1036] 在一个方面,使用慢病毒载体(如慢病毒)生成表达CAR的细胞。以这种方式生成的细胞(例如,CART)将具有稳定的CAR表达。

[1037] 在一个方面,使用病毒载体(如 γ 逆转录病毒载体,例如,本文所述的 γ 逆转录病毒载体)生成表达CAR的细胞,例如,CART。使用这些载体生成的CART可以具有稳定的CAR表达。

[1038] 在一个方面,在转导后CART短暂表达CAR载体4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15天。可以通过递送RNA CAR载体实现CAR的瞬时表达。在一个方面,将CAR RNA通过电穿孔法转导入T细胞中。

[1039] 可能在使用短暂表达CAR的免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)(尤其用携带鼠scFv的CART)正在治疗的患者中出现的潜在问题是多次治疗后的变态反应。

[1040] 在不受这个理论约束的情况下,认为这种变态反应可能由患者形成抗CAR体液应答(即,具有抗IgE同种型的抗CAR抗体)引起。认为当存在十至十四天抗原暴露间断期的情况下,产生抗体的患者细胞发生从(不引起变态反应的)IgG同种型至IgE同种型的类别转换。如果患者在短暂CAR疗法过程期间面临产生抗CAR抗体反应的高风险(如由RNA转导产生的那些),CART输注间断期不应当持续超过十至十四天。

[1041] 条件性表达蛋白质的方法和治疗性应用

[1042] 本文中还提供条件性表达融合蛋白(例如,包含CAR多肽)的方法。这类方法可以包括使包含本文所述的任何融合蛋白或编码这种融合蛋白的核酸的宿主细胞与表达化合物(例如,去聚集化合物或稳定作用化合物)接触。

[1043] 在稳定作用化合物存在下,融合蛋白的降解结构域采取抵抗细胞降解的构象,并且蛋白酶切割融合蛋白内部的蛋白酶切割位点,因而导致降解结构域从所需的蛋白质切下及所需蛋白质的表达。在稳定作用化合物不存在下,融合蛋白的降解结构域采取容许细胞降解的构象,导致融合蛋白降解。在一些实施方案中,宿主细胞与稳定作用化合物在体内接触。在一些实施方案中,宿主细胞与稳定作用化合物在离体接触。

[1044] 在去聚集化合物存在下,融合蛋白的去聚集结构域采取抵抗寡聚化(例如,二聚化)的构象,造成融合蛋白进入蛋白酶可及的单聚状态,并且蛋白酶切割融合蛋白内部的蛋白酶切割位点,因而导致聚集结构域从所需的蛋白质切下及所需蛋白质的表达。在去聚集化合物不存在下,融合蛋白的去聚集结构域采取容许二聚化的构象,造成融合蛋白进入低聚(例如,二聚,例如,聚集)状态。低聚(例如,二聚,例如,聚集)状态阻止融合蛋白在细胞区室之间移动或阻止其分泌。低聚(例如,二聚,例如,聚集)状态是蛋白酶不可及的。在一些实施方案中,宿主细胞与去聚集化合物在体内接触。在一些实施方案中,宿主细胞与去聚集化合物在离体接触。

[1045] 可以基于降解结构域选择稳定作用化合物。例如,当降解结构域衍生自雌激素受体时,稳定作用化合物可以选自巴多昔芬或4-羟基他莫昔芬(4-OHT)。他莫昔芬和巴多昔芬是FDA批准的药物,并且因此在人类中使用安全。如果降解结构域衍生自FKB蛋白,稳定作用化合物可以是Shield-1。

[1046] 可以基于去聚集结构域选择去聚集化合物。例如,当去聚集结构域衍生自FKBP时,去聚集化合物可以选自FK506、雷帕霉素、AP22542或AP21998。

[1047] 在另一个方面,本公开提供包括施用本发明融合蛋白的方法作为一种疗法。一般,这类向受试者的施用将采取宿主细胞(例如,自体或同种异体宿主细胞)表达融合蛋白的形式。因此,通过(体内或离体)施用相应的稳定作用化合物,可以调节治疗药(即,在切割降解

结构域后剩余的蛋白质)的表达。因此,通过(体内或离体)施用相应的去聚集化合物,可以调节治疗药(即,在切割聚集结构域后剩余的蛋白质)的表达。因此,可以调节表达已知的合成性治疗用蛋白质或跨膜受体(例如,(例如,如本文所述的)融合蛋白,其包含了包含本文所述的CAR分子的结构域)。在一个实施方案中,受试者患有本文所述的病症,例如,受试者患有癌症,例如,受试者患有表达本文所述的靶抗原的癌症。在一个实施方案中,受试者是人。

[1048] 本文中提供向受试者施用有效量的包含本文所述的任何融合蛋白或编码这种融合蛋白的核酸的宿主细胞,治疗患有与肿瘤抗原表达相关的疾病的受试者的方法。在一些实施方案中,融合蛋白包含嵌合抗原受体(CAR),所述嵌合抗原受体按N末端至C末端方向包含特异性结合肿瘤抗原的抗原结合结构域、跨膜结构域和一个或多个胞内信号传导结构域。在一些实施方案中,宿主细胞相对受试者为自体。在一些实施方案中,宿主细胞相对所述受试者为同种异体。在一些实施方案中,宿主细胞与表达化合物(例如,稳定作用化合物或去聚集化合物)接触。在稳定作用化合物存在下,融合蛋白的降解结构域采取抵抗细胞降解的构象,并且蛋白酶切割融合蛋白内部的蛋白酶切割位点,因而导致降解结构域从所需的蛋白质切下及所需蛋白质的表达。在稳定作用化合物不存在下,融合蛋白的降解结构域采取容许细胞降解的构象,导致融合蛋白降解。在去聚集化合物存在下,融合蛋白的聚集结构域采取抵抗寡聚化或聚集的构象,并且蛋白酶切割融合蛋白内部的蛋白酶切割位点,因而导致聚集结构域从所需的蛋白质切下及所需蛋白质的表达。在去聚集化合物不存在下,融合蛋白的聚集结构域采取容许寡聚化或聚集的构象,导致融合蛋白聚集。

[1049] 在另一个方面,本发明涉及一种治疗患有与如本文所述的癌相关抗原表达相关的疾病的受试者的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的细胞,所述细胞包含了包含CAR分子的融合蛋白,例如,包含本文所述的CAR分子的融合蛋白。

[1050] 在又一个方面,本发明的特征在于一种治疗患有与肿瘤抗原(例如,本文所述的抗原)表达相关的疾病的受试者的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的细胞,例如,免疫效应细胞(例如,免疫效应细胞群体),所述细胞包含了包含CAR分子的融合蛋白,其中该CAR分子包含抗原结合结构域、跨膜结构域和胞内结构域,所述胞内结构域包含共刺激结构域和/或初级信号传导结构域,其中所述抗原结合结构域与疾病相关的肿瘤抗原(例如本文所述的肿瘤抗原)结合。

[1051] 在一个相关方面,本发明的特征在于一种治疗患有与肿瘤抗原表达相关的疾病的受试者的方法。该方法包括向受试者施用与增加免疫细胞功效的物质组合的有效量的细胞,例如,免疫效应细胞(例如,免疫效应细胞群体),所述细胞包含了包含CAR分子的融合蛋白;其中:所述增加免疫细胞功效的物质选自以下一种或多种:

[1052] (i) 蛋白质磷酸酶抑制剂;

[1053] (ii) 激酶抑制剂;

[1054] (iii) 细胞因子;

[1055] (iv) 免疫抑制性分子的抑制剂;或

[1056] (v) 降低T_{REG}细胞水平或活性的物质。

[1057] 在另一个方面,本发明特征在于一种用于治疗患有与肿瘤抗原表达相关的疾病(例如,如本文所述的病症)的受试者的组合物,所述组合物包含了包含融合蛋白的免疫效

应细胞(例如,免疫效应细胞群体),所述融合蛋白包含CAR分子(例如,包含如本文所述的CAR分子的融合蛋白)。

[1058] 在前述任何方法或用途的某些实施方案中,与肿瘤抗原(例如,本文所述的肿瘤抗原)相关的疾病选自增生性疾病如癌症或恶性肿瘤或癌前期病状如脊髓发育不良、脊髓发育不良综合征或白血病前期,或是与表达本文所述的肿瘤抗原相关的非癌症相关适应症。在一个实施方案中,疾病是本文所述的癌症,例如,本文描述为如与本文所述的靶相关的癌症。在一个实施方案中,疾病是血液学癌。在一个实施方案中,血液学癌是白血病。在一个实施方案中,癌选自以下一种或多种:急性白血病,包括但不限于B细胞急性淋巴样白血病(“BALL”)、T细胞急性淋巴样白血病(“TALL”)、急性淋巴样白血病(ALL);一种或多种慢性白血病,包括但不限于慢性髓性白血病(CML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL);额外的血液学癌或血液学疾病,包括但不限于,例如,B细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树状细胞肿瘤、Burkitt淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡淋巴瘤、多毛细胞白血病、小细胞或大细胞滤泡淋巴瘤、恶性淋巴细胞增生性疾病、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、脊髓发育不良和骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、浆母细胞淋巴瘤、浆细胞样树状细胞肿瘤、Waldenstrom巨球蛋白血症和作为依据髓样血细胞无效产生(或异型增生)联合的多样性血液学疾病集合的“白血病前期”,并且与表达本文所述的肿瘤抗原相关的疾病包括但不限于表达如本文所述的肿瘤抗原的非典型和/或非经典癌症、恶性肿瘤、癌前期病状或增生性疾病;及其任意组合。在另一个实施方案中,与本文所述的肿瘤抗原相关的疾病是实体瘤。

[1059] 在某些实施方案中,这些方法或用途与增加免疫效应细胞功效的物质(例如,如本文所述的物质)组合实施。

[1060] 在上述任何方法或用途中,与表达肿瘤抗原相关的疾病选自与表达肿瘤抗原相关的增生性疾病、癌前期病状、癌症和非癌症相关适应症。

[1061] 癌症可以是血液学癌,例如,选自以下一者或多者的癌症:慢性淋巴细胞白血病(CLL)、急性白血病、急性淋巴样白血病(ALL)、B细胞急性淋巴样白血病(B-ALL)、T细胞急性淋巴样白血病(T-ALL)、慢性髓性白血病(CML)、B细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树状细胞肿瘤、Burkitt淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡淋巴瘤、多毛细胞白血病、小细胞或大细胞滤泡淋巴瘤、恶性淋巴细胞增生性疾病、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、脊髓发育不良和脊髓发育不良综合征、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、浆母细胞淋巴瘤、浆细胞样树状细胞肿瘤、Waldenstrom巨球蛋白血症或白血病前期。

[1062] 癌症也可以选自结肠癌、直肠癌、肾细胞癌、肝癌、非小细胞肺癌、小肠癌、食道癌、黑素瘤、骨癌、胰腺癌、皮肤癌、头或颈癌、皮肤或眼内恶性黑素瘤、子宫癌、卵巢癌、直肠癌、肛区癌、胃癌、睾丸癌、子宫癌、输卵管癌、子宫内膜癌、子宫颈癌、阴道癌、外阴癌、霍奇金病、非霍奇金淋巴瘤、内分泌系统癌、甲状腺癌、甲状旁腺癌、肾上腺癌、软组织肉瘤、尿道癌、阴茎癌、儿童实体瘤、膀胱癌、肾或输尿管癌、肾盂癌、中枢神经系统(CNS)肿瘤、原发性CNS淋巴瘤、肿瘤血管生成、脊椎椎肿瘤、脑干胶质瘤、垂体腺瘤、Kaposi肉瘤、表皮样癌、鳞状细胞癌、T细胞淋巴瘤、环境所致癌、所述癌的组合和所述癌的转移性病变。

[1063] 在本文所述的方法或用途的某些实施方案中,细胞与增加细胞功效的物质(例如,一种或多种蛋白质磷酸酶抑制剂、激酶抑制剂、细胞因子、免疫抑制性分子的抑制剂或降低

T_{REG}细胞水平或活性的物质)组合施用。

[1064] 在本文所述的方法或用途的某些实施方案中,蛋白质磷酸酶抑制剂是SHP-1抑制剂和/或SHP-2抑制剂。

[1065] 在本文所述的方法或用途的其他实施方案中,激酶抑制剂选自以下一者或多者:CDK4抑制剂、CDK4/6抑制剂(例如,palbociclib)、BTK抑制剂(例如,依鲁替尼(ibrutinib)或RN-486)、mTOR抑制剂(例如,雷帕霉素或依维莫司(RAD001))、MNK抑制剂或双重P13K/mTOR抑制剂。在一个实施方案中,BTK抑制剂不减少或抑制白介素-2诱导型激酶(ITK)的激酶活性。

[1066] 在本文所述方法或用途的其他实施方案中,抑制免疫抑制性分子的物质包括抑制抑制性分子表达的抗体或抗体片段、抑制性核酸、成簇规律间隔的短回文重复序列(CRISPR)、转录激活物样效应子核酸酶(TALEN)或锌指核酸内切酶(ZFN)。

[1067] 在本文所述的方法或用途的其他实施方案中,降低T_{REG}细胞水平或活性的物质选自环磷酰胺、抗GITR抗体、CD25耗尽或其组合。

[1068] 在本文所述方法或用途的某些实施方案中,免疫抑制性分子选自PD1、PD-L1、CTLA-4、TIM-3、LAG-3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、TGFR β 、CEACAM-1、CEACAM-3和CEACAM-5。

[1069] 在其他实施方案中,对抑制性分子抑制的物质包含有包含抑制性分子或其片段的第一多肽和向细胞提供正信号的第二多肽,并且其中第一多肽和第二多肽表达在含有CAR的免疫细胞上,其中(i)第一多肽包含PD1、PD-L1、CTLA-4、TIM-3、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、TGFR β 、CEACAM-1、CEACAM-3和CEACAM-5或其片段;和/或(ii)第二多肽包含有包含初级信号传导结构域和/或共刺激信号传导结构域的胞内信号传导结构域。在一个实施方案中,初级信号传导结构域包含CD3 δ 的功能性结构域;和/或共刺激信号传导结构域包含选自41BB、CD27和CD28的蛋白质的功能性结构域。

[1070] 在其他实施方案中,细胞因子选自IL-7、IL-15、IL-18或IL-21或其组合

[1071] 在其他实施方案中,包含融合蛋白的免疫效应细胞和第二联合疗法(例如,本文公开的任何联合疗法(例如,增加免疫效应细胞功效的物质))基本上同时或依次施用。

[1072] 在其他实施方案中,包含融合蛋白的免疫效应细胞与靶向GITR和/或调节GITR功能的分子组合施用。在某些实施方案中,将靶向GITR和/或调节GITR功能的分子施用在表达CAR的细胞或细胞群体之前或在单采血液成分术之前。

[1073] 在一个实施方案中,淋巴细胞输注,例如同种异体淋巴细胞输注,用于治疗癌症,其中淋巴细胞输注包含本发明的至少一个表达CAR的细胞。在一个实施方案中,自体淋巴细胞输注用于治疗癌症,其中自体淋巴细胞输注包含至少一个本文所述的表达CAR的细胞。

[1074] 在一个实施方案中,细胞是T细胞并且该T细胞是二酰甘油激酶(DGK)缺陷的。在一个实施方案中,细胞是T细胞并且该T细胞是Ikaros缺陷的。在一个实施方案中,细胞是T细胞并且该T细胞是DGK缺陷和Ikaros缺陷的。

[1075] 在一个实施方案中,该方法包括施用表达如本文所述的包含CAR分子的融合蛋白的细胞,其与增强表达CAR的细胞的活性的物质组合,其中该物质是细胞因子,例如,IL-7、IL-15、IL-18、IL-21或其组合。细胞因子可以与施用表达CAR的细胞组合(例如,与之同时或在其之后不久)递送。备选地,细胞因子可以在施用表达CAR的细胞后延续一段时间之后(例

如,在评定受试者对表达CAR的细胞的反应后)递送。在一个实施方案中,将细胞因子与施用根据权利要求61-80的细胞或细胞群体同时施用(例如,在同一天施用)或在之后不久施用(例如,在其施用后1天、2天、3天、4天、5天、6天或7天施用)至受试者。在其他实施方案中,将细胞因子在施用根据权利要求61-80的细胞或细胞群体后延续一段时间(例如,至少2周、3周、4周、6周、8周、10周或更多周)之后或在评定受试者对细胞的反应后施用至受试者。

[1076] 在其他实施方案中,表达融合蛋白(包含CAR分子)的细胞与减轻与施用表达CAR分子的细胞相关的一种或多种副作用的物质组合施用。与表达CAR的细胞相关的副作用可以选自细胞因子释放综合征(CRS)或嗜血细胞性淋巴组织细胞增多症(HLH)。

[1077] 在前述任何方法或用途的实施方案中,将表达CAR分子的细胞与治疗与表达肿瘤抗原相关的疾病的物质(例如,本文公开的任何第二或第三疗法)组合施用。额外的示例性组合包括以下一种或多种。

[1078] 在另一个实施方案中,(例如,如本文所述的)表达CAR分子的细胞可以与另一种物质(例如,本文所述的激酶抑制剂和/或检查点抑制蛋白)组合施用。在一个实施方案中,表达CAR分子的细胞还可以表达另一个物质,例如,增强表达CAR的细胞活性的物质。

[1079] 例如,在一个实施方案中,增强表达CAR的细胞的活性的物质可以是对抑制性分子(例如,免疫抑制剂分子)抑制的物质。抑制性分子的例子包括PD1、PD-L1、CTLA-4、TIM-3、CEACAM(例如,CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5),LAG-3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4和TGFR β 。

[1080] 在一个实施方案中,对抑制性分子抑制的物质是作为dsRNA、siRNA或shRNA的抑制性核酸。在实施方案中,抑制性核酸与编码CAR分子组分的核酸连接。例如,抑制性分子可以在表达CAR的细胞上表达。

[1081] 在另一个实施方案中,对抑制性分子抑制的物质例如是本文所述的分子,例如,包含第一多肽(例如,抑制性分子)的物质,所述第一多肽与提供正向信号给细胞的第二多肽(例如,本文所述的胞内信号传导结构域)缔合。在一个实施方案中,该物质包含例如,抑制性分子如PD-1、PD-L1、CTLA-4、TIM-3、CEACAM(例如,CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG-3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4或TGFR β 、或这些分子中任一者的片段(例如,这些分子中任一者的胞外结构域的至少一部分)的第一多肽和作为本文所述的胞内信号传导结构域(例如,包含共刺激结构域(例如,如本文所述的41BB、CD27或CD28)和/或初级信号传导结构域(例如,本文所述的CD3 δ 信号传导结构域)的第二多肽。在一个实施方案中,该物质包含PD1或其片段(例如,PD1的胞外结构域的至少一部分)的第一多肽和本文所述的胞内信号传导结构域(例如,本文所述的CD28信号传导结构域和/或本文所述的CD3 δ 信号传导结构域)的第二多肽。

[1082] 在一个实施方案中,将本发明的细胞(例如,T细胞或NK细胞)施用至已经接受既往干细胞移植(例如,自体干细胞移植)的受试者。

[1083] 在一个实施方案中,将本发明的细胞(例如,T细胞或NK细胞)施用至已经接受既往美法仑剂量的受试者。

[1084] 在一个实施方案中,表达包含CAR分子(例如,本文所述的CAR分子)的融合蛋白的细胞与增加表达CAR分子的细胞功效的物质(例如,本文所述的物质)组合施用。

[1085] 在一个实施方案中,表达包含CAR分子(例如,本文所述的CAR分子)的融合蛋白的

细胞与低免疫增强性剂量的mTOR抑制剂组合施用。尽管不希望受理论约束,据信用低免疫增强性剂量(例如,不足以完全抑制免疫系统,但足以改善免疫功能的剂量)治疗伴有PD-1阳性T细胞减少或PD-1阴性细胞增加。可以通过与表达PD-1配体(例如,PD-L1或PD-L2)的细胞衔接,耗尽PD-1阳性T细胞,但不耗尽PD-1阴性T细胞。

[1086] 在一个实施方案中,这种方法可以用来优化本文所述的CAR细胞在受试者中的性能。尽管不希望受理论约束,据信在一个实施方案中,改善了内源性未修饰的免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)的性能。尽管不希望受理论约束,据信在一个实施方案中,表达靶抗原CAR的细胞的性能改进。在其他实施方案中,可以通过与下述量的mTOR抑制剂接触,离体处理已经工程化或将会工程化以表达CAR的细胞(例如,T细胞或NK细胞),所述量增加PD1阴性免疫效应细胞(例如,T细胞)数目或增加PD1阴性免疫效应细胞(例如,T细胞)/PD1阳性免疫效应细胞(例如,T细胞)的比率。

[1087] 在一个实施方案中,在施用表达本文所述的CAR的细胞(例如,T细胞或NK细胞)之前启动低、免疫增强性剂量的mTOR抑制剂(例如,变构抑制剂(例如,RAD001)或催化性抑制剂)的施用。在一个实施方案中,在足够时间的mTOR抑制剂或充分给予mTOR抑制剂后施用CAR细胞,从而PD1阴性免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)的水平或PD1阴性免疫效应细胞(例如,T细胞)/PD1阳性免疫效应细胞(例如,T细胞)的比率已经至少短暂增加。

[1088] 在一个实施方案中,在足够时间后或在充分给予免疫增强性低剂量的mTOR抑制剂后收获待工程化以表达CAR的细胞(例如,T细胞或NK细胞),从而受试者中的或从受试者收获的PD1阴性免疫效应细胞(例如,T细胞)的水平或PD1阴性免疫效应细胞(例如,T细胞)/PD1阳性免疫效应细胞(例如,T细胞)的比率已经至少短暂增加。

[1089] 在一个实施方案中,表达包含CAR分子(例如,本文所述的CAR分子)的融合蛋白的细胞与改进与施用表达CAR分子的细胞相关的一种或多种副作用的物质(例如,本文所述的物质)组合施用。

[1090] 在一个实施方案中,表达包含CAR分子(例如,本文所述的CAR分子)的融合蛋白的细胞与治疗与如本文所述的癌抗原相关的疾病的物质(例如,本文所述的物质)组合施用。

[1091] 在一个实施方案中,将表达两种或更多种(例如,如本文所述的)包含CAR分子的融合蛋白的细胞施用至有需求的受试者以治疗癌症。在一个实施方案中,将细胞群体,包括表达(例如,如本文所述的)包含CAR的融合蛋白的细胞,施用至有需求的受试者以治疗癌症。

[1092] 在一个实施方案中,表达包含CAR分子(例如,本文所述的CAR分子)的融合蛋白的细胞按本文所述的剂量和/或给药方案施用。

[1093] 在一个实施方案中,将包含CAR分子的融合蛋白引入免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞),例如,利用体外转录引入,并且受试者(例如,人)接受初始施用包含融合蛋白(其包含CAR分子)的细胞以及一次或多次后续施用包含融合蛋白(其包含CAR分子)的细胞,其中一次或多次后续施用在先前施用后小于15天,例如,14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3或2天施用。在一个实施方案中,将包含融合蛋白(其包含CAR分子)的细胞的多于一次施用每周施用至受试者(例如,人),例如,将2、3、或4次包含融合蛋白(其包含CAR分子)的细胞的施用每周施用。在一个实施方案中,受试者(例如,人类受试者)每周接受包含融合蛋白(其包含CAR分子)的细胞的多于一次施用(例如,每周2、3或4次施用)(本文也称作循环),随后一周不施用包含融合蛋白(其包含CAR分子)的细胞,并且随后将包含CAR分子的细胞的一次或多

次额外施用(例如,每周多于一次施用包含CAR分子的细胞)施用至受试者。在另一个实施方案中,受试者(例如,人类受试者)接受多于一个循环的包含融合蛋白(其包含CAR分子)的细胞并且每个循环之间的时间小于10、9、8、7、6、5、4或3天。在一个实施方案中,将包含融合蛋白(其包含CAR分子)的细胞每隔一天施用每周3次施用。在一个实施方案中,将包含融合蛋白(其包含CAR分子)的细胞施用至少两、三、四、五、六、七、八或更多周。

[1094] 在一个实施方案中,将表达包含CAR分子(例如,本文所述的CAR分子)的融合蛋白的细胞作为疾病(例如,癌症,例如,本文所述的癌症)的一线治疗施用。在一个实施方案中,将表达包含CAR分子(例如,本文所述的CAR分子)的融合蛋白的细胞作为疾病(例如,癌症,例如,本文所述的癌症)的二线、三线、四线治疗施用。

[1095] 在一个实施方案中,施用本文所述的细胞群体。

[1096] 在另一个方面,本发明涉及表达包含本文所述的CAR分子的融合蛋白的细胞,其与如本文所述的激酶抑制剂和/或检查点抑制剂组合用作药物。在另一个方面,本发明涉及本文所述的激酶抑制剂和/或检查点抑制剂,其与表达本文所述的CAR分子的细胞组合用作药物。

[1097] 在另一个方面,本发明涉及表达包含本文所述的CAR分子的融合蛋白的细胞,其与如本文所述的细胞因子(例如,IL-7、IL-15和/或IL-21)组合用于治疗表达由CAR靶向的肿瘤抗原的疾病。在另一个方面,本发明涉及本文所述的细胞因子,其与表达本文所述的包含CAR分子的融合蛋白的细胞组合用于治疗表达由CAR靶向的肿瘤抗原的疾病。

[1098] 在另一个方面,本发明涉及表达包含本文所述的CAR分子的融合蛋白的细胞,其与如本文所述的激酶抑制剂和/或检查点抑制剂组合用于治疗表达由CAR靶向的肿瘤抗原的疾病。在另一个方面,本发明涉及本文所述的激酶抑制剂和/或检查点抑制剂,其与表达本文所述的包含CAR分子的融合蛋白的细胞组合用于治疗表达由CAR靶向的肿瘤抗原的疾病。

[1099] 在另一个方面,本公开提供一种方法,其包括施用包含CAR分子(例如,本文所述的CAR分子)的融合蛋白,或包含核酸的细胞,所述核酸编码包含CAR分子(例如,本文所述的CAR分子)的融合蛋白。在一个实施方案中,受试者患有本文所述的病症,例如,受试者患有癌症,例如受试者患有癌症并且具有表达本文所述的肿瘤支持抗原的肿瘤支持细胞。在一个实施方案中,受试者是人。

[1100] 在本文所述的方法或用途一个实施方案中,包含CAR分子的融合蛋白与另一种物质组合施用。在一个实施方案中,该物质可以是激酶抑制剂,例如,CDK4/6抑制剂、BTK抑制剂、mTOR抑制剂、MNK抑制剂或双重PI3K/mTOR抑制剂及其组合。在一个实施方案中,激酶抑制剂是CDK4抑制剂,例如,本文所述的CDK4抑制剂,例如,CD4/6抑制剂,如,例如,6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-2-(5-哌嗪-1-基-吡啶-2-基氨基)-8H-吡啶并[2,3-d]嘧啶-7-酮盐酸盐(也称作palbociclib或PD0332991)。在一个实施方案中,激酶抑制剂是BTK抑制剂,例如,本文所述的BTK抑制剂,如,例如,依鲁替尼。在一个实施方案中,激酶抑制剂是mTOR抑制剂,例如,本文所述的mTOR抑制剂,如,例如,雷帕霉素、雷帕霉素类似物、OSI-027。mTOR抑制剂可以例如是mTORC1抑制剂和/或mTORC2抑制剂,例如,本文所述的mTORC1抑制剂和/或mTORC2抑制剂。在一个实施方案中,激酶抑制剂是MNK抑制剂,例如,本文所述的MNK抑制剂,如,例如,4-氨基-5-(4-氟苯胺基)-吡啶并[3,4-d]嘧啶。MNK抑制剂可以例如是MNK1a、MNK1b、MNK2a和/或MNK2b抑制剂。双重PI3K/mTOR抑制剂可以例如是PF-04695102。

[1101] 在本文所述的方法或用途的一个实施方案中,激酶抑制剂是CDK4抑制剂,选自alosisineA;夫拉平度(flavopiridol)或HMR-1275、2-(2-氯苯基)-5,7-二羟基-8-[(3S,4R)-3-羟-1-甲基-4-哌啶基]-4-色烯酮;克里唑替尼(PF-02341066);2-(2-氯苯基)-5,7-二羟基-8-[(2R,3S)-2-(羟甲基)-1-甲基-3-吡咯烷基]-4H-1-苯并吡喃-4-酮、盐酸盐(P276-00);1-甲基-5-[[2-[5-(三氟甲基)-1H-咪唑-2-基]-4-吡啶基]氧]-N-[4-(三氟甲基)苯基]-1H-苯并咪唑-2-胺(RAF265);indisulam(E7070);roscovitine(CYC202);palbociclib(PD0332991);dinaciclib(SCH727965);N-[5-[[5-(叔丁基噁唑-2-基)甲基]硫代]噁唑-2-基]哌啶-4-甲酰胺(BMS 387032);4-[[9-氯-7-(2,6-二氟苯基)-5H-嘧啶并[5,4-d][2]苯并吡啶-2-基]氨基]-苯甲酸(MLN8054);5-[3-(4,6-二氟-1H-苯并咪唑-2-基)-1H-吡唑-5-基]-N-乙基-4-甲基-3-吡啶甲胺(AG-024322);4-(2,6-二氯苯甲酰氨基)-1H-吡唑-3-羧酸N-(哌啶-4-基)酰胺(AT7519);4-[2-甲基-1-(1-甲基乙基)-1H-咪唑-5-基]-N-[4-(甲磺酰基)苯基]-2-嘧啶胺(AZD5438)和XL281(BMS908662)。

[1102] 在本文所述的方法或用途的一个实施方案中,激酶抑制剂是CDK4抑制剂,例如,palbociclib(PD0332991),并且palbociclib以约50mg、60mg、70mg、75mg、80mg、90mg、100mg、105mg、110mg、115mg、120mg、125mg、130mg、135mg(例如,75mg、100mg或125mg)的剂量每日施用一段时间,例如,每日施用持续28天周期的14-21天,或每日施用持续21天周期的7-12天。在一个实施方案中,施用1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个周期的palbociclib。

[1103] 在本文所述的方法或用途的一个实施方案中,激酶抑制剂是选自依鲁替尼(PCI-32765);GDC-0834;RN-486;CGI-560;CGI-1764;HM-71224;CC-292;ONO-4059;CNX-774;和LFM-A13的BTK抑制剂。在一个实施方案中,BTK抑制剂不减少或不抑制白介素-2诱导型激酶(ITK)的激酶活性,并且选自GDC-0834;RN-486;CGI-560;CGI-1764;HM-71224;CC-292;ONO-4059;CNX-774;和LFM-A13。

[1104] 在本文所述的方法或用途的一个实施方案中,激酶抑制剂是BTK抑制剂,例如,依鲁替尼(PCI-32765),并且依鲁替尼以约250mg、300mg、350mg、400mg、420mg、440mg、460mg、480mg、500mg、520mg、540mg、560mg、580mg、600mg(例如,250mg、420mg或560mg)的剂量每日施用一段时间,例如,每日施用持续21天周期,或每日施用持续28天周期。在一个实施方案中,施用1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个周期的依鲁替尼。

[1105] 在本文所述的方法或用途的一个实施方案中,激酶抑制剂是不抑制ITK的激酶活性的BTK抑制剂,例如,RN-486,并且RN-486以约100mg、110mg、120mg、130mg、140mg、150mg、160mg、170mg、180mg、190mg、200mg、210mg、220mg、230mg、240mg、250mg(例如,150mg、200mg或250mg)的剂量每日施用一段时间,例如,每日施用持续28天周期。在一个实施方案中,施用1、2、3、4、5、6、7个或更多个周期的RN-486。

[1106] 在本文所述的方法或用途的一个实施方案中,激酶抑制剂是mTOR抑制剂,选自坦罗莫司;地磷莫司(1R,2R,4S)-4-[(2R)-2-[(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28Z,30S,32S,35R)-1,18-二羟-19,30-二甲氧基-15,17,21,23,29,35-六甲基-2,3,10,14,20-五氧-11,36-二氧杂-4-偶氮三环并[30.3.1.0^{4,9}]三十七碳-16,24,26,28-四烯-12-基]丙基]-2-甲氧环己基二甲基次膦酸酯,也称作AP23573和MK8669;依维莫司(RAD001);雷帕霉素(AY22989);塞马莫德(simapimod);(5-{2,4-双[(3S)-3-甲基吗啉-4-

基]吡啶并[2,3-d]嘧啶-7-基}-2-甲氧苯基) 甲醇(AZD8055); 2-氨基-8-[反-4-(2-羟乙氧基) 环己基]-6-(6-甲氧基-3-吡啶基)-4-甲基-吡啶并[2,3-d]嘧啶-7(8H)-酮(PF04691502); 和N²-[1,4-二氧化-4-[[4-(4-氧代-8-苯基-4H-1-苯并吡喃-2-基) 吗啉鎓-4-基]]甲氧基]丁基]-L-精氨酸甘氨酸-L-α-天冬氨酸-L-丝氨酸-(SEQ ID NO:982), 内盐(SF1126); 和XL765。

[1107] 在本文所述的方法或用途的一个实施方案中, 激酶抑制剂是mTOR抑制剂, 例如, 雷帕霉素, 并且雷帕霉素以约3mg、4mg、5mg、6mg、7mg、8mg、9mg、10mg (例如, 6mg) 的剂量每日施用一段时间, 例如, 每日施用持续21天周期, 或每日施用持续28天周期。在一个实施方案中, 施用1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个周期的雷帕霉素。在一个实施方案中, 激酶抑制剂是mTOR抑制剂, 例如, 依维莫司, 并且依维莫司以约2mg、2.5mg、3mg、4mg、5mg、6mg、7mg、8mg、9mg、10mg、11mg、12mg、13mg、14mg、15mg (例如, 10mg) 的剂量每日施用一段时间, 例如, 每日施用持续28天周期。在一个实施方案中, 施用1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个周期的依维莫司。

[1108] 在本文所述的方法或用途的一个实施方案中, 激酶抑制剂是MNK抑制剂, 选自CGP052088; 4-氨基-3-(对-氟苯基氨基)-吡啶并[3,4-d]嘧啶(CGP57380); 尾孢酰胺; ETC-1780445-2; 和4-氨基-5-(4-氟苯胺基)-吡啶并[3,4-d]嘧啶。

[1109] 在本文所述的方法或用途的一个实施方案中, 激酶抑制剂是磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K) 和mTOR双重抑制剂, 选自2-氨基-8-[反-4-(2-羟乙氧基) 环己基]-6-(6-甲氧基-3-吡啶基)-4-甲基-吡啶并[2,3-d]嘧啶-7(8H)-酮(PF-04691502); N-[4-[[4-(二甲基氨基)-1-哌啶基] 羰基] 苯基]-N'-[4-(4,6-二-4-吗啉基-1,3,5-三嗪-2-基) 苯基] 脲(PF-05212384, PKI-587); 2-甲基-2-[4-[3-甲基-2-氧代-8-(喹啉-3-基)-2,3-二氢-1H-咪唑并[4,5-c]喹啉-1-基] 苯基] 丙腈(BEZ-235); apitolisib(GDC-0980, RG7422); 2,4-二氟-N-{2-(甲氧基)-5-[4-(4-哒嗪基)-6-喹啉基]-3-吡啶基} 苯磺酰胺(GSK2126458); 8-(6-甲氧基吡啶-3-基)-3-甲基-1-(4-(哌嗪-1-基)-3-(三氟甲基) 苯基)-1H-咪唑并[4,5-c]喹啉-2(3H)-酮马来酸(NVP-BGT226); 3-[4-(4-吗啉基吡啶并[3',2':4,5]呋喃并[3,2-d]嘧啶-2-基) 酚(PI-103); 5-(9-异丙基-8-甲基-2-吗啉代-9H-嘌呤-6-基) 嘧啶-2-胺(VS-5584, SB2343); 和N-[2-[(3,5-二甲氧苯基) 氨基] 喹噁啉-3-基]-4-[(4-甲基-3-甲氧苯基) 羰基] 氨基苯磺酰胺(XL765)。

[1110] 在本文所述的方法或用途的一个实施方案中, 本文所述的包含融合蛋白的细胞与蛋白质酪氨酸磷酸酶抑制剂(例如, 本文所述的蛋白质酪氨酸磷酸酶抑制剂) 组合施用至受试者。在一个实施方案中, 蛋白质酪氨酸磷酸酶抑制剂是SHP-1抑制剂, 例如, 本文所述的SHP-1抑制剂, 例如, 葡萄糖酸锑钠。在一个实施方案中, 蛋白质酪氨酸磷酸酶抑制剂是SHP-2抑制剂。

[1111] 在本文所述方法或用途的一个实施方案中, 将包含本文所述的融合蛋白的细胞与另一种物质组合施用, 并且该物质是细胞因子。细胞因子可以例如是IL-7、IL-15、IL-21或其组合。在另一个实施方案中, 将包含本文所述的融合蛋白的细胞与检查点抑制剂(例如, 本文所述的检查点抑制蛋白) 组合施用。例如, 在一个实施方案中, 检查点抑制剂抑制选自PD-1、PD-L1、CTLA-4、TIM-3、CEACAM(例如, CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG-3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4和TGFRβ的抑制性分子。

[1112] 在一个方面,本文所述的融合蛋白可以用来根除表达本文所述的肿瘤抗原的正常细胞,从而可应用于用作细胞移植前的细胞整备疗法(cellular conditioning therapy)。在一个方面,表达如本文所述的肿瘤抗原的正常细胞是正常干细胞并且细胞移植是干细胞移植。

[1113] 治疗自身抗体病状或同种异体抗体病状的方法

[1114] 本发明包括通过用抗B细胞修饰的T细胞靶向B细胞(包括产生自身抗体或同种异体抗体的B细胞),治疗受试者中自身抗体和同种异体抗体疾病或病状的方法。在一个实施方案中,在B细胞被修饰的T细胞耗尽后或在针对修饰的T细胞的不良反应发作后,则在受试者中的通过激活已经插入修饰的T细胞中的自杀基因,选择性地消除修饰的T细胞。

[1115] 在一个方面,本发明包括一种治疗有需求的受试者中自身抗体或同种异体抗体疾病或病状的方法,包括向受试者施用有效量的包含修饰的T细胞的药物组合物。修饰的T细胞包含了包含自杀基因的核酸和编码嵌合抗原受体的核酸,所述嵌合抗原受体包含抗B细胞结合结构域、跨膜结构域、共刺激结构域和胞内信号传导结构域。

[1116] 在一个实施方案中,该方法还包括诱导自杀基因表达以产生诱导修饰的T细胞发生细胞死亡的自杀基因产物。在这样一个实施方案中,施用诱导剂诱导自杀基因的表达。在另一个实施方案中,在修饰的T细胞产生对抗B细胞的细胞毒功能之后或在受试者中针对修饰的T细胞的不良反应发作后诱导自杀基因的表达。

[1117] 在另一个实施方案中,该方法还包括激活自杀基因的自杀基因产物以诱导修饰的T细胞发生细胞死亡。在这样一个实施方案中,活化剂的施用促进自杀基因产物二聚化以激活自杀基因产物。在另一个实施方案中,在修饰的T细胞产生对抗B细胞的细胞毒功能之后或在受试者中针对修饰的T细胞的不良反应发作后或在实现治疗作用后激活自杀基因产物。

[1118] 在又一个实施方案中,该方法还包括抑制自杀基因的表达以抑制修饰的T细胞发生细胞死亡。在这样一个实施方案中,施用抑制剂抑制自杀基因的表达。在另一个实施方案中,施用抑制剂与施用修饰的T细胞同时进行并且随着修饰的T细胞产生对抗B细胞的细胞毒功能而继续进行,并且可以在受试者中针对修饰的T细胞的不良反应发作后停止。

[1119] 在又一个实施方案中,该方法包括阻抑自杀基因的自杀基因产物活化以阻抑修饰的T细胞发生细胞死亡。在这样一个实施方案中,施用增溶剂阻止自杀基因产物二聚化以阻止自杀基因产物的激活。在另一个实施方案中,施用增溶剂与施用修饰的T细胞同时进行并且随着修饰的T细胞产生对抗B细胞的细胞毒功能而继续进行,并且可以在受试者中针对修饰的T细胞的不良反应发作后或在实现治疗作用后停止。

[1120] 在又一个实施方案中,该方法还包括施用阻止CAR二聚化的增溶剂,其中CAR连接至二聚化结构域,如FKBP或相似分子的二聚化结构域。在这种实施方案中,CAR分子在细胞质或其他内部位置中自发聚集,因而阻止CAR分子呈递在修饰的T细胞的表面上。在另一个实施方案中,施用增溶剂与施用修饰的T细胞同时进行并且随着修饰的T细胞产生对抗B细胞的细胞毒功能而继续进行,并且可以在受试者中针对修饰的T细胞的不良反应发作后或在实现治疗作用后停止。

[1121] 可以将修饰的T细胞施用至动物、优选地哺乳动物、甚至更优选地人,以抑制免疫反应,如对自身免疫疾病或病状或同种异体抗体疾病或病状常见的那些。

[1122] 此外,本发明的修饰的T细胞可以用于其中需要削弱或否则抑制免疫应答、尤其细胞介导的免疫应答以治疗或减轻疾病的治疗任何病状。在一个方面,本发明包括在受试者中治疗病状,如自身抗体或同种异体抗体疾病,包括向受试者施用治疗有效量的包含本文所述的修饰的T细胞的药物组合物。

[1123] 自身抗体疾病或病状的例子包括但不限于大疱性类天疱疮、获得性大疱性表皮松懈症、p200类天疱疮、线性IgA大疱性皮肤病、其他类天疱疮基因疾病、疱疹样皮炎、乳糜泻、重症肌无力、Goodpasture综合征、肉芽肿病伴多血管炎和其他ANCA+脉管炎、自身免疫性边缘叶脑炎、抗N-甲基-D-天冬氨酸受体脑炎、视神经脊髓炎、自身免疫性溶血性贫血、在狼疮和其他结缔组织病中自身抗体相关的终末器官损伤(归因于抗dsDNA自身抗体、抗Ro自身抗体和其他自身抗体)、Graves'和桥本甲状腺炎、糖尿病中的抗胰岛素抗体、自身免疫性低血糖中的抗胰岛素受体抗体、冷球蛋白血症、类风湿性关节炎、多发性硬化、干燥综合征、皮炎、慢性特发性荨麻疹中的抗Fc-ε受体抗体、抗叶酸受体抗体、肺动脉高血压中的抗内皮受体或抗肾上腺素能受体抗体、难治性高血压、扩张型心肌病、和自身炎症综合征。

[1124] 同种异体抗体疾病或病状的例子包括但不限于因如下情况所致的免疫反应:器官移植、输血和产生供体特异性HLA和/或b2-微球蛋白抗体、针对血型或Rh抗原的妊娠致敏或蛋白质替代疗法,如采用因子VIII、α-L-艾杜糖苷酸酶、VII型胶原蛋白等(包括但不限于Gorzelay等人(Sci. Transl. Med., 5 (178) :178s10, 2013)中列出的替代蛋白质)的蛋白质替代疗法

[1125] 在一个实施方案中,该疾病或病状是天疱疮。对治疗期间天疱疮患者中B细胞库的纵向分析已经显示,天疱疮患者随活动性疾病中观察到的相同抗Dsg B细胞克隆而复发。总体上,这些数据显示,在天疱疮患者中,通过靶向pan-B细胞标志物(如CD20或备选的CD19)消除全部抗Dsg B细胞克隆的单次、但真正完全的B细胞耗尽可以有治愈性。将消除病变克隆,健康B细胞库将改造,并且耐受性的另一次罕见破坏不大可能复现。

[1126] 类似地,这种相同方案还应当对任何B细胞或抗体介导的疾病有效;例如,因妊娠期间输血或致敏产生的同种异体抗体、使器官移植复杂化的供体特异性HLA同种异体抗体和因遗传疾病的蛋白质替代疗法而产生的同种异体抗体所造成的疾病。即便同种异体抗体因再暴露于同种异体抗原而再出现,间歇性重新治疗以彻底、但是短暂消除B细胞(和因此同样方式消除同种异体抗体)将在这些疾病中是有益的。

[1127] 药物组合物

[1128] 本公开的药物组合物可以包含如本文所述的任何融合蛋白、编码这种融合蛋白的核酸和一种或多种药物或生理可接受载体、稀释剂或赋形剂。这类组合物可以包含缓冲液如中性缓冲盐水、磷酸盐缓冲盐水等;糖如葡萄糖、甘露糖、蔗糖或葡聚糖、甘露醇;蛋白质;多肽或氨基酸如甘氨酸;抗氧化剂;螯合剂如EDTA或谷胱甘肽;佐剂(例如,氢氧化铝);和防腐剂。在一个方面,配制本公开的组合物供静脉内施用。

[1129] 可以以合适的方式把本公开的药物组合物施用到将要被治疗(或预防)的疾病。施用的量和频率将由这类因素决定,如患者的状况和患者疾病的类型和严重性,不过适宜的剂量可以通过临床试验确定。

[1130] 在一个方面,本发明包括配制用于如本文所述方法中的药物组合物,所述组合物包含修饰的T细胞,所述细胞包含编码自杀基因的核酸和编码嵌合抗原受体的核酸,所述嵌

合抗原受体包含抗B细胞结合结构域、跨膜结构域、共刺激结构域和胞内信号传导结构域。

[1131] 在另一个方面,本发明包括配制用于本文所述方法中的药物组合物,所述组合物包含修饰的T细胞,所述细胞包含编码二聚化结构域和嵌合抗原受体(CAR)的核酸,所述嵌合抗原受体包含抗B细胞结合结构域、跨膜结构域、共刺激结构域和胞内信号传导结构域。

[1132] 在一个实施方案中,药物组合物基本上不含(例如,不存在)可检测水平的杂质,例如,所述杂质选自内毒素、支原体(*Mycoplasma*)、有复制能力的慢病毒(RCL)、p24、VSV-G核酸、HIV gag、残余抗CD3/抗CD28包被的珠、小鼠抗体、汇集的人血清、牛血清白蛋白、牛血清、培养基组分、载体包装细胞或质粒组分、细菌和真菌。在一个实施方案中,细菌是选自以下的至少一种:粪产碱杆菌(*Alcaligenes faecalis*)、白假丝酵母(*Candida albicans*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、流感嗜血杆菌(*Haemophilus influenza*)、脑膜炎奈瑟球菌(*Neisseria meningitides*)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、肺炎链球菌(*Streptococcus pneumonia*)和化脓性链球菌(*Streptococcus pyogenes*)A群。

[1133] 当指出“免疫有效量”、“抗肿瘤有效量”、“肿瘤抑制有效量”或“治疗量”时,待施用的本公开组合物的精确量可以由医师在考虑年龄、体重、肿瘤尺寸、感染程度或转移和患者(受试者)状况的个体差异时确定。通常可以声称,本文所述的包含免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)的药物组合物可以按 10^4 至 10^9 个细胞/kg体重,在一些情况下 10^5 至 10^6 个细胞/kg体重(包括这些范围内部的全部整数值)的剂量施用。T细胞组合物也可以按这些剂量施用多次。细胞可以通过使用免疫疗法中公知的输注技术施用(参见,例如,Rosenberg等人, *New Eng. J. of Med.* 319:1676,1988)。

[1134] 在某些方面,可能想要将活化的免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)施用至受试者并且随后回抽血液(或进行单采血液成分术)、根据本发明活化来自其中的免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)并向患者回输这些活化和扩充的免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)。这个过程可以每数周实施多次。在某些方面,可以活化来自10cc至400cc抽血的免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)。在某些方面,活化来自20cc、30cc、40cc、50cc、60cc、70cc、80cc、90cc或100cc抽血的免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)。

[1135] 施用主题组合物可以按任何便利方式实施,包括气溶胶吸入、注射、摄入、输血、植入或移植。本文所述的组合物可以经动脉、皮下、真皮内、瘤内、淋巴结内(intranodally)、髓内、肌内、通过静脉内(i.v.)注射、或腹腔内施用至患者。在一个方面中,通过皮内或皮下注射向患者施用本公开的T细胞组合物。在一个方面,通过静脉内注射施用本公开的细胞组合物。可以将免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)的组合物直接注射至肿瘤、淋巴结或感染部位中。

[1136] 在特定的示例性方面,受试者可以接受白细胞去除术,其中将白细胞收集、富集或离体耗尽以选择和/或分离目的细胞,例如,T细胞。可以通过本领域已知的方法扩充和处理这些T细胞分离物,从而可以引入本发明的一个或多个CAR构建体,因而产生本发明的CAR T细胞。有需求的受试者可以随后接受高剂量化疗标准治疗,接着进行外周血干细胞移植。在某些方面,在移植后或与移植同时地,受试者接受扩充的本发明CAR T细胞的输注。在一个额外的方面,将扩充的细胞在手术前或之后施用。

[1137] 待施用至患者的上述疗法的剂量将随正在治疗的病症的确切性质和治疗的接受

者变动。人类施用剂量的放大可以根据本领域接受的惯例进行。

实施例

[1138] 实施例1:实施例1-13的材料与方法。

[1139] 构建体

[1140] 表22中所示的以下构建体用于实施例1-13中。

[1141] 注意本发明涵盖重链和轻链的两种方向。

[1142] 表22. 各种构建体的序列 (粗体为所用的信号肽; 弗林蛋白酶切割位点加下划线者)

[1143]

构建体	蛋白质序列	DNA 序列
ER _{mut} 弗林蛋白酶_Flexi-12	MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSAALLDAEPPI LYSEYDPTPRPFSEASMMGLLTN LADRELVHMINWAKRVPGFVDL ALHDQVHLLCEAWMEILMIGLV WRSMEHPGKLLFAPNLLLDNRNQ GKCVVEGGVEIFDMLLATSSRF MMNLQGEEFVCLKSILLNSGVY TFLSSTLKSLEEKDHIHRVLDKIT DTLIHLMAKAGLTLQQHQRLA QLLLILSHIRHMSSKRMEHLYSM KCKNVVPLSDLLLEMLDAHRLR TKRIWELKKDVYVVELDWYPD PGEMVVLTCDTPEEDGITWTLD QSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDA GQYTCHKGGEVLSHSLLLHKK EDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLR CEAKNYSGRFTCWLLTTISTDL TFSVKSSRGSDDPQGVTCGAAT LSAERVRGDNKEYEYSVECQED SACPAAEESLPIEVMVDAVHKLK YENYTSSFFIRDIIKPPKPNLQL KPLKNSRQVEVSWEYPTWST PHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVR AQDRYYSSSWSEWASVPCSGG GSGGGSGGGSRNLPVATPDPG MFPCLHHSQNLLRAVSNMLQKA RQTLEFYPTSEEIDHEDITKDK TSTVEACLPLELTKNESCLNSRE TSFITNGSCLASRKTSFMMALCL SSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLL MDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQ ALNFNSETVPQKSSLEEPDFYK TKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSY LNAS (SEQ ID NO: 48)	atggccctccctgtcaccgcctgtcgtctccgctggctcttctgctc cacgccgctcgccccggctcgttgccacttccctgactgccg accagatggtgtccgccctctggagcgcgagcctccaattctgta ctcggagtacgatccgactcgcctctccgaagccagcatgat ggcctgttgactaacctggcggaccgcgagttggtgcacatgatt aactgggctaagcgggtgccgggctcgtggacctggccctgca cgaccaagtgcacctcctggaatgcgcctggatggaatcctcat gatcggcctcgtgtggagatccatggagcatcccggaaagctct gttgcacccaacctcctgctgatcgcaaccagggaatcggt ggaaggggggtgcgagatcttcgacatgctgctgccacctctcc cggttccggatgatgaatctgcaggggagaagagttcgtgtgtctga agtcaatcatcctgctgaactccggggtatatacctcctgagctcg accctcaagtcactggaggaaaaagaccacatccatcgcgtgct cgataagatcacgcacacctatccatctatggcgaaggctgg actgacctgcaacagcagcaccagaggtggcccagttgctgc tgattctgagccacatccggcacatgctgccaagaggatggaac acctgtacagcatgaagtgaagaacgtcgtgctcctgtccgatct gctcctggaaatgctggacgcgcacagactccgtactaaaaga (SEQ ID NO: 49)
接头	GGGSGGGSGGGSRNLPV (SEQ ID NO: 52)	gtggtggcggtggaagcggcgggtggcgggaagcggcgggtggcg gcagcagaaacctccccgtgg (SEQ ID NO: 53)
FKBP L106P	GVQVETISPGDGRTFPKRGQTC VHYTGMLEDGKKVDSSRDRN KPFKFM LGKQEVIRGWEEGVAQ MSVGQRAKLTISPDYAYGATGH PGIIPPHATLVFDVELLKE (SEQ ID NO: 56)	
DHFR R12Y/G27S/Y100I	ISLIAALAVDYVIGMENAMPWNL PADLAWFKRNTLNKPVIMGRHT WESIGRPLPGRKNILSSQPSTD DRVTVVKSVDIAIACGDVPEI	

[1144]

	MVIGGGRVIEQFLPKAQKLYLTH IDAEVEGDTHFPDYEPDDWESV FSEFHDADAQNSHSYCFEILER R (SEQ ID NO: 57)	
ER T371A_L384 M_M421G_N 519S_G521R _Y537S	RSSLALS LTADQMVSALLDAEP PILYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGFVD LALHDQVHLLECAWMEILMIGLV WRSMEHPGKLLFAPNLLLDNRN GKCVVEGGVEIFDMLLATSSRFR MMNLQGEFVCLKSILLNSGVY TFLSSTLKSLEEKDHIHRVLDKIT DTLIHLMAKAGLTLQQQHQLA QLLLILSHIRHMSSKRMEHLYSM KCKNVVPLSDLLEMLDAHRL (SEQ ID NO: 1119)	
CG#c43 FKBP _{mut} _HA_ 弗林蛋白酶 _CAR19	MALPVTALLPLALLHAARPG VQVETISPGDGRTPFKRGQTCV VHYTGMLEDKKVDSSRDRNK PFKFWLQKQEVIRGWEEGVAQ MSVQRAKLTISPDIYAYGATGH PGIIPPHATLVFDVVELLKPEYPYD VPDYAFPVDRTKREIVMTQSPA TSLSPGERATLSCRASQDISKY LNWYQQKPGQAPRLLIYHTSRL HSGIPARFSGSGSDTYLTISS LQPEDFAVYFCQQGNTLPYTFG QGTKLEIKGGGGSGGGSGGG GSQVQLQESGPGLVKPSSETLSL TCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPG KGLEWIGVIWGSETTYSSSLKS RVTISKDNSKNQVSLKSSVTAA DTAVYYCAKHYYGGSYAMDY WGQGLTVSSTTTPAPRPPTP APTIASQPLSLRPEACRPAAGG AVHTRGLDFACDIYIWAFLAGTC GVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIF KQPFMRPVQTTQEEDGCSCRF PEEEEGGCELRVKFSRSADAPA YKQGQNQLYNELNLGRREEYD VLDKRRGRDPEMGGKPRRKNP QEGLYNELQKDKMAEAYSEIGM KGERRRGKGDGLYQGLSTAT KDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 59)	atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctc cacgccgctcggcccggagtgagggtgaaaccatctcccag gagacgggcccacctccccagcggccagacctgtgtgt gcactacaccgggatgctgaagatggaagaaagtcgattcct cccgggacagaaacaagcccttaagtattgctaggcaagcag gaggatgacggaggtgggaaggggtgcccagatgagtg tgggtcagagagccaaactgactatactccagattatgctatgg tgccactgggacccaggcatcatccaccacatgccactctgt cttctgagtgaggcttctaaaaccggaataccctatgatgttctg attatgcttcccctggtatgactaaaagagaattgtgatgacc cagtcacccgccactcttagccttaccgggtgagcgcgcaacc ctgtctgcagagcctccaagacatctcaaaatccttaattggt tcaacagaagcccggacaggtcctctgccttctgatctaccacac cagccggctccattctggaatccctgcccaggttcagcggtagcgg atctgggaccgactacacctcactatcagctcactgcagccaga ggactctgctgtctatttctgtcagcaagggaacacctgcctac accttggacagggcaccagctcagagattaagggtggagggtg cagcggaggagggtgggtccggcgggtggagggaagcaggtcca actccaagaaagcggaccgggtctgtgaaagcagcagaaactc ttcactgactgtactgtgagcggagtgctctccccgattacgggg gtcttggatcagacagccaccggggaagggtctggaatggattg gagtgattggggctctgagactactactcttcatccctcaagt cacgctcaccatctcaaggacaactcaagaatcaggtgtca ctgaaactgtcatctgtgaccgagccgacaccgctgtactatt gcgctaagcattactattatggcgggagctacgcaatggattactg gggacagggactctgtgtaccgtccagaccactaccccag caccgaggccaccaccccggctcctaccatcgctcccagcct ctgtccctgcgctcggaggtatgtagaccgcagctggtggggc cgtgcataaccggggtcttgactcgcctgcgatactacattggg ccctctgctggtacttgcgggtctctgctcttactcgtgatca ctcttactgtaagcgggtcggagaagctgctgtacatcttaag caaccctcatgaggcctgtgcagactactcaagaggagcgg ctgttcatgcccgttcccagaggaggagggaaggcggctgcgaa ctgctgctgaaaltcagccgagcgcagatgctccagcctaca gcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttgctcga gagagggtacgagctgctggacaagcggagaggacgggac ccagaaatgggcccgaagccgagcagaaagaatccccaaaga ggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagc ctatagcagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaa aggccacgacggactgtaccagggactcagcaccgccaaca ggacacctatgacgctcttcatatgcaggccctgcccgcctcgg (SEQ ID NO: 60)
CG#c44 FKBP _{mut}	MALPVTALLPLALLHAARPG VQVETISPGDGRTPFKRGQTCV	atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctc cacgccgctcggcccggagtgagggtgaaaccatctcccag

[1145]

<p>_HA_弗林蛋白酶 mut_CAR19</p>	<p>VHYTGMLEDGKKVDSSRDRNK PFKFMLGKQEVIRGWEEGVAQ MSVGGQRAKLTISPDIYAGATGH PGIIPPHATLVFDVELLKPEYPYD VPDYAFPVDATKREIVMTQSPA TSLSPGERATLSCRASQDISKY LNWYQQKPGQAPRLLIYHTSRL HSGIPARFSGSGSGTDYTLTISS LQPEDFAVYFCQQGNTLPYTFG QGTKLEIKGGGSGGGGSGGG GSQVQLQESGPGLVKPSSETLSL TCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPG KGLEWIGVIWGSETTYSSSLKS RVTISKDNSKNQVSLKLSVTAA DTAVYYCAKHYYYGGSYAMDY WGQGLTVTVSSTTTPAPRPPTP APTIASQPLSLRPEACRPAAGG AVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTC GVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIF KQPFMRPVQTTQEEDGCSCRF PEEEEGGCELRVKFSRSADAPA YKGGQNQLYNELNLGRREEYD VLDKRRGRDPEMGGKPRRKNP QEGLYNELQKDKMAEAYSEIGM KGERRRGKGDGLYQGLSTAT KDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 61)</p>	<p>gagacgggcgaccttcccaagcgcggccagacctgtgtgt gcactacaccgggatgcttgaagatggaagaaagtcgattct ccgggacagaaacaagcccttaagtattgctagggcaagcag gaggtgatccgaggctgggaagaaggggtgcccagatgatg tgggtcagagagccaaactgactatatctccagattatgcctatgg tgccactgggcacccaggcatcatcccaccacatgccactctgt cttcgatgtggagcttctaaaaccggaataacccttatgatgtcctg attatgcttccccgtggatgctactaaaagagaaattgtgatgacc cagtcacccgccactctagccttaccgggtgagcgcgcaacc ctgtcttcagagcctcccaagacatctcaaaaatacctaattggt tcaacagaagcccggacaggtcctcgccttctgatctaccacac cagccggctccattctggaatccctgccaggtcagcggtagcgg atctgggaccgactacacctactatcagctcactgagccaga ggactctgctgtctattctgtcagcaaggaacaccctgccctac accttggacagggcaccagctcagagattaagggtggagggtg cagcggaggaggtgggtccggcgggtggaggaagccaggtcca actcaagaaagcggaccgggtctgtgaagccatcagaaactc ttcactgactgtactgtgagcggagtgctctcccggattacggg tgtctggatcagacagccaccggggaagggctggaatggattg gagtgattgggctctgagactactactcttcatccctcaagt cacgctcaccatctcaaaggacaacttaagaatcaggtgtca ctgaaactgtcatctgtgaccgagccgacaccggctgactatt gcgctaagcattactattatggcgggagctacgcaatggattactg gggacaggggtactctgttaccgtgaccagcaccactaccaccag caccgagggcaccaccggctcctaccatcgctcccagcct ctgtccctgctcggaggtatgtagaccgcagctggtggggc cgtgcataaccggggtctgactctgcctgcgatactacattggg ccctctgctggtacttgcggggtcctgtctgttctactctgtatca ctcttactgtaagcgggtcggagaagctgctgtacatcttaag caaccctcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacgg ctgtcatgcccgttcccagaggaggaggaagcggctgcgaa ctgcgctgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctcaaa gcaggggacagaaccagctctacaacgaactcaatctggctcgg gagaggagtacgactgctggacaagcggagaggacgggac ccagaaatgggctggaagcggcgcagaaagaatcccaaga gggctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagc ctatagcagagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaa aggccacgacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaa ggacacctatgacgctcttccatgcaggccctgcgctcgg (SEQ ID NO: 62)</p>
<p>CG#c45 DHFR_{mut}_HA _弗林蛋白酶 _CAR19</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPIS LIAALAVDYVIGMENAMPWNLPA DLAWFKRNTLNKPVIMGRHTWE SIGRPLPGRKNILSSQPSTDDR VTWVKSVDIAIACGDVPEIMVI GGGRVIEQFLPKAQKLYLTHIDA EVEGDTHFPDYEPPDWEVFS EFHDADAQNSHSYCFEILERRY PYDVPDYAFPVDRTKREIVMTQ SPATLSLSPGERATLSCRASQDI SKYLNWYQQKPGQAPRLLIYHT SRLHSGIPARFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPY TFGQGTKLEIKGGGSGGGGSG GGGGSQVQLQESGPGLVKPS TSLTCTVSGVSLPDYGVSWIR QPPGKLEWIGVIWGSETTYYS SSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLS SVTAADTAVYYCAKHYYYGGSY AMDYWGQGLTVTVSSTTTPAP RPPTPAPTIASQPLSLRPEACRP</p>	<p>atggccctcctgtcaccgctgcttccgctggctcttctgct cacgcccctggccatctctgattgccgctctggcgggtgact acgtgatcgggatggaacacgctatgccatggaatctgcccgcc gatctggctggtcaagaggacacacctgacaagccagtgat catgggacagacacactgggagtcattggccggccctctgctg gacgcaagaacatcattctgagctcccagccctctaccgacgac agggtgacatgggtgaaagtgaggacgaagccattgccgcttg cggagatgtcccagatcatggtcatggcggaggaggagatg atcgagcagttcctgctaaggccagaaactgactgactcac attgacgctgagggtggaaggggacaccatttctgattatgagc cagacgattgggaaagcgtgttctccagtttccagcgcgagatg ctcagaactctatagttattgcttggatcctggaaggagatac ccttatgatgttctgattatgcttccccgtggatgctactaaaaga gaaattgtgatgaccagtcaccggcactcttagccttcaaccg gtgagcgcgcaaccctgcttgcagagcctcccaagacatctca aaataccttaattggtatcaacagaagcccggacaggtcctcgc cttctgatctaccacaccagcggctccattctggaatccctgcca ggttaccgctgtagcggatctgggaccgactacacctactaca gctcactgcagccagaggactctgctgtctattctgtcagcaagg gaacaccctgcctacaccttggacagggcaccagctcagag attaaagggtggagggtggcagcggaggaggtgggtccggcgggtg</p>

[1146]

	<p>AAGGAVHTRGLDFACDIYWAPL AGTCGVLLSLVITLYCKRGRKK LLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPPEEEEGCCELRVKFSRSA DAPAYKQGQNQLYNELNLGRR EEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAY SEIGMKGERRRGKGDGLYQG LSTATKDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 63)</p>	<p>gaggaagccaggtccaactccaagaaagcggaccgggtctgt gaagccatcagaaaactcttctactgactgtactgtgagcggagtg tctctcccgattacgggggtcttgatcagacagccaccgggg aagggtctggaatggattggagtgattggggctctgagactact actactctcatccctcaagtcaacgctcaccatctcaaggacaa ctctaagaatcagggtgactgaaactgtcatctgtgaccgagcc gacaccgctgtactattgcgtaagcattactattatggcgga gctacgcaatggattactggggacagggactctgtgaccgtgt ccagcaccactaccccagcaccgaggccaccaccccggctc ctaccatcgctcccagcctctgtccctgctccggaggcatgtg accgcagctgtggggcctgcataccggggctgtgactctgc ctgcgatactacattgggccctctgctgtgacttgcgggtctc gctgcttctactctgtatcactcttactgtaagcgcggtcggaaga agctgctgtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagact actcaagaggaggacggctgtcatgccggtcccagaggagg aggaaggcggctgcgaactgcgctgaaattcagccgagcgc agatgctccagcctacaagcaggggcagaaccagctctacaac gaactcaatctggtcggagagaggagtacgacgtgtggacaa gaggagaggacgggaccagaaatggcggaagccgctc agaaagaatccccagaggcctgtacaacgagctccaaaag gataagatggcagaagcctatagcgaattggtatgaaagggg aacgcagaagaggcaagggccagcagcgtgtaccagggga ctcagcaccgccaagggacacctatgacgctctcacatgca ggcctgcccctcgg (SEQ ID NO: 64)</p>
<p>CG#c46 DHFR_{mut} _HA_弗林蛋 白酶 mut_CAR19</p>	<p>MALPVTALLPLALLHAARPIS LIAALAVDYVIGMENAMPWNLPA DLAWFKRNTLNKPVIMGRHTWE SIGRPLPGRKNIILSSQPSTDDR VTWVKSVDIAAAGCDVPEIMVI GGGRVIEQFLPKAQKLYLTHIDA EVEGDTHFPDYEPDDWESVFS EFHDADAQNSHSYCFEILERRY PYDVPDYAFPVDATKREIVMTQ SPATLSLSPGERATLSCRASQDI SKYLNWYQQKPGQAPRLLIYHT SRLHSGIPARFSGSGSDTYTL TISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPY TFGQGTKLEIKGGGSGGGGS GGGGSQVQLQESGGLVKPSE TSLTCTVSGVSLPDYGVSWIR QPPGKLEWIGVIWGSETTYYS SSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLS SVTAADTAVYYCAKHYHYGGSY AMDYWGQGLTVTVSSTTPAP RPPTPAPTIASQPLSLRPEACRP AAGGAVHTRGLDFACDIYWAPL AGTCGVLLSLVITLYCKRGRKK LLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPPEEEEGCCELRVKFSRSA DAPAYKQGQNQLYNELNLGRR EEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAY SEIGMKGERRRGKGDGLYQG LSTATKDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 65)</p>	<p>atggcctccctgtcaccgctctgtctccgctggtctctctgctc cacgccgctcggccatctctctgattgccgctctggcctgtgact acgtgatcgggatggaaaacgctatgccatggaatctgccgcc gatctggctgttcaagaggaaacacctgaacaagccagtgat catgggcagacacactgggagtcattggccggccctctgctg gacgcaagaacatcattctgagctcccagccctctaccgacgac aggtgacatgggtgaaaagtgtggacgaagcattggcctgtg cggagatgtcccagatcatgtctcggcggaggagagtg atcagagcagttcctgctaaggcccagaactgtacctgactcac attgacgctgagggtgaaggggacaccatttctgattatgagc cagacgattgggaaagcgtgttctccgagttcagcagcggatg ctcagaactctatagttatgcttggatcctggaaggagatac ccttatgatgttctgattatgcttccccgctggatgctactaaaaga gaaattgtgatgaccagtcaccgccaactcttagccttcaaccg gtgagcgcgcaaccctgtctgagagcctccaagacatctca aaatacctaattggtatcaacagaagccgggacaggtcctcgc cttctgatctaccacaccagcggctccattctggaatccctgcca ggttcagcggtagcggatctgggaccgactacaccctcactatca gctcactgcagccagaggactctgctgtctatttctgtagcaagg gaacaccctgccctacaccttggacagggcaccagctcag attaaaggtggaggtggcagcggaggagtggtccggcgggtg gaggaagccaggtccaactccaagaaagcggaccgggtctgt gaagccatcagaaaactcttctactgactgtactgtgagcggagtg tctctcccgattacgggggtcttgatcagacagccaccgggg aagggtctggaatggattggagtgattggggctctgagactact actactctcatccctcaagtcaacgctcaccatctcaaggacaa ctctaagaatcagggtgactgaaactgtcatctgtgaccgagcc gacaccgctgtactattgcgtaagcattactattatggcgga gctacgcaatggattactggggacagggactctgtgaccgtgt ccagcaccactaccccagcaccgaggccaccaccccggctc ctaccatcgctcccagcctctgtccctgctccggaggcatgtg accgcagctgtggggcctgcataccggggctgtgactctgc ctgcgatactacattgggccctctgctgtgacttgcgggtctc gctgcttctactctgtatcactcttactgtaagcgcggtcggaaga agctgctgtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagact actcaagaggaggacggctgtcatgccggtcccagaggagg aggaaggcggctgcgaactgcgctgaaattcagccgagcgc</p>

[1147]

		<p>agatgctccagcctacaagcaggggcagaaccagctctacaac gaactcaatcttggctcggagagaggagtagcagctgctggacaa gctggagaggacgggaccagaaatggcggggaagccgctgc agaaagaatccccaagaggcctgtacaacgagctccaaaag gataagatggcagaagcctatagcgagattggtatgaaagggg aacgcagaagaggcaaaggccacgagcggactgtaccagggga ctcagcaccgcccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgca ggcctgcccgcctcgg (SEQ ID NO: 66)</p>
<p>CG#c47 ER_{mut}_HA_弗 林蛋白酶 -CAR19</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSALLDAEPP LYSEYDPTPRPFSEASMMGLLT LADRELVHMINWAKRVPGFVDL ALHDQVHLLECAWMEILMIGLV WRSMEHPGKLLFAPNLLDRNQ GKCVEGGVEIFDMLLATSSRFR MMNLQGEFVCLKSILLNSGVY TFLSSTLKSLEEKDHIHRVLDKIT DTLIHLMAKAGLTLQQHQRLA QLLLILSHIRHMSSKRMEHLYSM KCKNVVPLSDLLLEMLDAHRLY PYDVPDYAFPVDRTKREIVMTQ SPATLSLSPGERATLSCRASQDI SKYLNWYQQKPGQAPRLLIYHT SRLHSGIPARFSGSGSDTYTL TISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPY TFGQGTKEIKGGGGSGGGGS GGGGSQVQLQESGPGLVKPS E TSLTCTVSGVSLPDYGVSWIR QPPGKGLEWIGVIWGSETTYYS SSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLS SVTAADTAVYYCAKHYYYGGSY AMDYWGQGLTVVSTTTPAP RPPTPAPTIASQPLSRPEACRP AAGGAVHTRGLDFACDIYWAPL AGTCGVLLSLVITLYCKRGRKK LLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFERSA DAPAYKQGQNQLYNELNLGRR EEYDVLDRKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQDKMAEAY SEIGMKGERRRGKGDHGLYQG LSTATKDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 67)</p>	<p>atggccctcctgtcaccgacctgctcctcggctgctctctgctc cacgcccctcggccccggctgctggtggcacttccctgactgccc accagatggtgtccgccccttctggagcggcagcctccaaattctgta ctcggagtagcagctcggcctcctcggcctcctcgaagccagcatgat ggcctggtgactaacctgctggaccgagctgggtgacatgat taactgggctaagcgggtgcccggcctcgtggacctggcccctgca cgaccaagtgcacctcctggaatgcccctggatggaatcctcat gatcggcctcgtgtggagatccatggagatcccggaaagctcct gtttgacccaacctcctgctgacgcaaccaggaaaatgctg ggaaaggggtgtcagatcttgcagatgctgctcgcacaccttcc cggttccggatgatgaatctcaggggagaagagttcgtgtgtctga agtcaatcatcctgctgaactccggggtctataccttctgagctcgc accctcaagtcactggaggaaaagaccacatccatcgcgctgct cgataagatcaccgacaccttaccatctcatggcgaaggtcgg actgacctgcaacacgacgacaccagaggctggccccagttgctg ctgattctgagccacatccggcacatgctgccaagaggatggaa cacctgtacagcatgaagtgaagaacgctgctcctctgctccgat ctgctcctggaatgctggacgctcagacagactctaccctatgatg ttcctgattatgcttccccgctgctgactactaaaagagaaattgta tgaccagtcaccgcccactcttagccttccaccgggtgagcgcg caacctgtctgagagcctcccaagacatctcaaaatacctta attggtatcaacagaagcccggacagggctcctcgcctctgatcta ccacaccagccgctccattctggaatccctgcccaggttcagcgg tagcggatctgggaccgactacacctcactatcagctcactgca gcccagaggactcgtctctattctgctcagcaagggaaacacctg ccctacaccttggacagggcaccagctcagatgaaaggtgg aggtggcagcggaggaggtgggtccggcgggtggaggaaagcca ggtccaactcaagaagcggaccgggtcttggaaagccatcag aaactcttactgactgtactgtgagcggagtgctctccccgatt acgggggtcttggatcagacagccaccggggaaggtctgga atggattggagtgattgggctctgagactactactactcttcatc cctcaagtcacgctcaccatctcaaggacaactcaagaatc aggtgtcactgaaactgtatctgtgaccgacggcagaccgccc gtgtactattgctgaagcattactattatggcgggagctacgcaat ggattactggggacagggactctgtgacccgtgcccagaccac taccacagcaccgaggccaccaccggctcctaccatcgctc cccagcctctgctcctgctcgggagcatgtagaccgagcgtg gtggggccgtgcataccggggtctgactcgtcgtcgatatacta catttggcccctctggctggtactgctgggtcctgctcttctact ctgtagcactcttactgtaagcggctcgggaagaagctgctgtac atcttaagcaaccttcatgaggcctgtgagactactcaagagg aggacggctgtcatgcccgttccagaggaggaggaaagggcgg ctgcaactcgcgctgaaattcagccgacgagcagatgctccag cctacaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatct ggtcggagagaggagtagcagctgctggacaagcggagagg acgggaccagaaatggcggggaagccgagcagaaagaatc ccaagagggctgtacaacgagctccaaaaggataagatgg cagaagcctatagcgagattggtatgaaaggggaacgcagaa gaggcaaaagccacgacggactgtaccagggactcagaccg ccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgacggccctgccc cctcgg (SEQ ID NO: 68)</p>
<p>CG#c48 ER_{mut}_HA_弗</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSALLDAEPP</p>	<p>atggccctcctgtcaccgacctgctcctcggctgctctctgctc cacgcccctcggccccggctgctggtggcacttccctgactgccc</p>

[1148]

<p>林蛋白酶 Mmut_CAR1 9</p>	<p>LYSEYDPTPRPFSEASMMGLLTN LADRELVHMINWAKRVPGFVDL ALHDQVHLLLECAWMEILMIGLV WRSMHPGKLLFAPNLLDRNQ GKCVEGGVEIFDMLLATSSRF MMNLQGEFVCLKSIILLNSGVY TFLSSTLKSLEEKDHIHRVLDKIT DTLIHLMKAGLTLQQQHQLA QLLLILSHIRHMSSKRMEHLYSM KCKNVVPLSDLLEMLDAHRLY PYDVPDYAFPVDATKREIVMTQ SPATLSLSPGERATLSCRASQDI SKYLNWYQQKPGQAPRLLIYHT SRLHSGIPARFSGSGTDYTL TISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPY TFGQGTKLEIKGGGGSGGGGS GGGGSQVQLQESGPGLVKPS TSLTCTVSGVSLPDYGVSWIR QPPGKLEWIGVIWGSETYYYS SSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLS SVTAADTAVYYCAKHYYYGGSY AMDYWGQGLVTVSSTTPAP RPPTPAPTIASQPLSLRPEACRP AAGGAVHTRGLDFACDIWAPL AGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKK LLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFERSA DAPAYKQGQNQLYNELNLGRR EEDVLDKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQDKMAEAY SEIGMKGERRRGKGDGLYQG LSTATKDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 69)</p>	<p>accagatggtgtccgcccttctggacgcccagcctccaattctgta ctcggagtacgatccgactcgcgccgttctccgaagccagcatgat gggcctgttgactaacctggcgaccgaggttgatgacatgat taactgggctaagcgggtgcccggctctggacctggccctgca cgaccaagtgcacctctggaatgcgctggatggaatcctcat gatcggcctcgtgtggagatccatggagcatcccggaaagctct gtttgacccaacctcctgctgatcgcaaccagggaaaatcgct ggaaggggggtgagatcttcgacatgctgctgccacctctcc cggttccggatgatgaatctgcagggagaagagttcgtgtctga agtcaatcatcctgctgaactccggggtctataacctcctgagctg acctcaagtcactggaggaaaagaccacatccatcgcgtgct cgataagatcaccgacaccttaccatctcagggcgaaggctgg actgacctgcaacagcagcaccagaggctggcccagttgctg ctgattctgagccaatccggcacatgctgccaagaggatgga cacctgtacagcatgaagtgaagaacgctgctcctctgctccgat ctgctcctggaatgctggacgcgcacagactctaccttatgatg ttcctgattatgcttccccgtggatgctactaaaagagaaattgga tgaccagtcaccgccaactcttagccttaccgggtgagcgcg caacctgtcttcgagagcctcccaagacatctcaaaatacctta attggtatcaacagaagcccggacaggctcctgcctctgatcta ccacaccagccgctcattctggaatccctgccaggttcagcgg tagcggatctggaccgactaccctcactacatcagctcagcagc gccagaggactcgtgctctattctgctcagcaagggaaacacctg ccctacaccttggacagggcacaagctcagatgaaggtgg agggtggcagcggaggagggtgggtccggcgggtggaggaagcca ggtccaactcaagaagcggaccgggtctgtgaagccatcag aaactcttactgactgtactgtgagcggagtgctctcccgat acgggggtcttggatcagacagccaccgggaagggctgga atggattgagtgattggggctctgagactactactctctc cctcaagtcaacgctcaccatctcaaggacaactcaagaatc agggtcactgaaactgctctgtgaccgagccagacaccg gtgactattgctgtaagcattactattatggcggagctacgcaat ggattactggggacagggactctggtcaccgtgaccagcaccac tccccagcaccgaggccaccaccccgctcctaccatgcct cccagcctctgctcctgctcgggagcatgtagaccgagcagctg gtggggccgtgcatacccggggtctgactcgcctgagatata catttgggcccctctggctgactgctgggtcctgctcttact cgtgatcactcttactgtaagcggctcggagaagctgctgtac atcttaagcaacctcatgaggcctgtgagactactcaagagg aggacggctgtcagcgggtccagaggaggaggaagggcgg ctgcaactgcgctgaaattcagcggcagcagatgctccag cctacaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatct ggcggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggagagg acgggaccagaaatggcgggaagcggcgcagaaagaatc ccaagaggcctgtacaacgagctcaaaaggataagatgg cagaagcctatagcagattggtatgaaggggaaacgcagaa gaggcaaaggccagcagcagctgaccagggactcagcaccg ccaccaaggacacctatgagctcttccatgacaggccctgccc cctcgg (SEQ ID NO: 70)</p>
<p>CG#c71 FKBP_{mut}_HA_ no 弗林蛋白 酶_CAR19</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPG VQVETISPGDGRTPFKRGQTCV VHYTGMLEDGKKVDSRRDNK PFKFMLGKQEVIRGWEEGVAQ MSVGQRAKLTIISPDYAYGATGH PGIIPPHATLVFDVELLKPEYPYD VPDYAFPVDEIVMTQSPATLSLS PGERATLSCRASQDISKYLNWY QQKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIP ARFSGSGSGTDYTLTISSLQPED FAVYFCQQGNTLPYTFGQGTKL EIKGGGGSGGGSGGGGSQV</p>	<p>atggccctcctgtcaccgcccctgctctccgctggctcttctgctc cacgcccctcggcccggagtgagggtgaaaccatctcccag gagacgggcccacctcccgaagcggcggcagacctgtggt gcactacaccgggatgctgaagatggaagaaagctgattct cccgggacagaaacaagcccttaagttagctaggcaagcag gagggtatccgaggctgggaagaaggggtgccagatgagtg tgggtcagagagccaaactgactatactccagattatgctatg tgcaactgggaccagggcatccaccacatgcccactcctg cttcgatgtggagcttctaaaaccgggaatacccttatgatgtc attatgcttccccgtggatgaaattgtgatgaccagtcaccg actcttagccttaccgggtgagcgcgcaacctgtctgagag cctccaagacatctcaaaataccttaattggtatcaacagaagc</p>

[1149]

	<p>QLQESGPGLVKPSSETLSLTCTV SGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLE WIGVIWGSETTYSSSLKSRVTI SKDNSKNQVSLKLSVTAADTA VYYCAKHYYGGSYAMDYWGQ GTLVTVSSTTTTPAPRPPTPAPT ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYWAPLAGTCGVLL LSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPF MRPVQTTQEEDGCSCRFPEEE EGGCELRVKFSRSADAPAYKQ GQNQLYNELNLRREEYDVLDK RRGRDPEMGGKPRRKNPQEGL YNELQDKMAEAYSEIGMKGER RRGKGHDGLYQGLSTATKDTY DALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 71)</p>	<p>ccggacaggctcctcgcttctgatctaccacaccagccggctcc attctggaatccctgcaggttcagcggtagcggatctgggaccg actacacctcactatcagctcactgcagccagaggactctgctgt ctattctgtcagcaagggaaacacctgcctacacctttggacag ggcaccagctcgagattaaggtggaggtggcagcggagga gggggctccggcggtagggaagccaggtccaactccaagaa agcggaccgggtctgtgaagccatcagaaactcttactgactt gtactgtgagcggagtgctctccccgattacggggtgtcttgatc agacagccaccggggaaggtctggaatggattggagtgatttg gggctctgagactactactactcttcatccctcaagtacgcgtca ccatctcaaaggacaacttaagaatcaggtgtactgaaactgt catctgtgaccgcagccgacaccgctgtactattgcgtaagc attactattatggcgggagctacgcaatggattactggggacagg gtactctggcaccgtgtccagcaccactaccagcaccgagg ccaccaccccgctcctaccatcgctcccagcctctgtccctgc gtccggaggcatgtagaccgcagctgtggggcgctgcatacc cggggtcttgactctgctgatactacattggccctctggct ggactgtcggggctcctgctgttctactctgtgatcactcttactgta agcgggctcgggaagaagctgctgtacatcttaagcaaccttcat gaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgcc ggtcccagaggaggaggaagggcgtcgaactgcgcgtga aattcagccgagcgcagatgtccagcctacaagcaggggca gaaccagcttacaacgaactcaactctgtcggagagaggagt acgacgtgctggacaagcggagaggacgggaccagaatg ggcgggaagccgcgagaaagaatcccaagaggcctgtac aacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcggag attggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaagggccacgac ggactgtaccagggactcagcaccgccaacaggacacctatg acgctctcacatgcaggccctgcgcctcgg (SEQ ID NO: 72)</p>
<p>CG#c72 ER_{mut}_HA_{no} 弗林蛋白酶 - CAR19</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSALLDAEPP LYSEYDPTRPFSEASMMGLLTN LADRELVHMINWAKRVPGFVDL ALHDQVHLLLECAWMEILMIGLV WRSMEHPGKLLFAPNLLDRNQ GKCVVEGGVEIFDMLLATSSRFR MMNLQGEFVCLKSILLNSGVY TFLSSTLKSLEEKDHIHRVLDKIT DTLIHLMKAGLTLQQHQRLA QLLLILSHIRHMSSKRMEHLYSM KCKNVVPLSDLLEMLDAHRLY PYDVPDYAFPVDEIVMTQSPATL SLSPGERATLSCRASQDISKYLN WYQKPGQAPRLLIYHTSRLHS GIPARFSGSGSDTYLTISLQ PEDFAVYFCQQGNTLPYTFGQG TKLEIKGGGSGGGSGGGGGS QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTC TVSGVSLPDYGVSWIRQPPGK LEWIGVIWGSETTYSSSLKSRV TISKDNSKNQVSLKLSVTAADT AVYYCAKHYYGGSYAMDYWG QGTLVTVSSTTTTPAPRPPTPAPT IASQPLSLRPEACRPAAGGAVH TRGLDFACDIYWAPLAGTCGVL LLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPF FMRPVQTTQEEDGCSCRFPEE EEGGCELRVKFSRSADAPAYKQ GQNQLYNELNLRREEYDVLDK RRGRDPEMGGKPRRKNPQEGL</p>	<p>atggccctcctgtcaccgctcgtcttccgctggctcttctgctc cagcgcctcggccccggctcgttggcacttccctgactgccc accagatggtgtccgcccttctggacgcgcgacctccaattctgta ctcggagtagatccgactcgccttctccgaagccagcatgat ggcctgttgactaacctggcggaccgcgaggttggtgacatgat taactgggtaagcgggtgcgggctcgtggacctggcctgca cgaccaagtgcacctcctggaatgcgctggtggaatcctcat gatcggcctcgtgtggagatccatggagcatccggaaagctcct gttgcaccaacctcctgctgtatcgcaaccagggaatgctg ggaaggggggtgcgagatttgcagactgtgctgcgacccttcc cggctccggatgataatctcagggagaagagtgctgtgtcga agtcaatcatcctgctgaactcggggctataccttctgagctc acctcaagtactggaggaaaagaccacatccatcgctgct cgataagatcaccgacaccttattcatctatggcgaaggctgg actgacctgcaacagcagcaccagaggctggcccagttgctg ctgattctgagccacatccggcaccatgtcgtccaagaggatgaa cacctgtacagcatgaagtgcaagaacgtcgtcctctgtccgat ctcctctggaatgctggacgcgcacagactctacccttatgatg ttcctgattatgcttcccggatgaaattgtatgaccagtcac ccgccaacttagccttaccgggtgagcgcgcaacctgtctg cagagcctccaagacatctcaaaataccttaattggtatcaaca gaagcccggacaggctcctgcctctgatctaccacaccagcc ggctccattctggaatccctgccaggttcagcggtagcggatctg gaccgactacacctcactatcagctcactgcagccagaggact cgctgtctattctgtcagcaagggaaacacctgcctacaccttg gacagggcaccagctcgagattaaggtggaggtggcagcgc gaggaggtgggtccggcggtagggaagccaggtccaactcc aagaagcggaccgggtctgtgaagccatcagaactcttca ctgactgtactgtgagcggagtgctctccccgattacggggtgt tgatcagacagccaccggggaaggtctggaatggattggagt gattggggctgagactactactcttcatccctcaagtcacg</p>

[1150]

	<p>YNELQKDKMAEAYSEIGMKGER RRGKGHDGLYQGLSTATKDTY DALHMQALPPR (SEQ ID NO: 73)</p>	<p>cgtcaccatctcaaggacaactctaagaatcaggtgtcactgaa actgtcatctgtgaccgcagccgacaccgctgtactattgcgct aagcattactattatggcgggagctacgcaatggattactgggga cagggtactctgtcaccgtgtccagcaccactaccaccagcacc gaggccaccaccggctcctaccafcgctccagcctctgtc cctgcgtccggaggcatgtagaccgcagctggggccgctgc ataccggggtctgactcgcctgcgatatctacattgggcccct ctggctgtactgcgggctctgtcttactcgtgatcactctt actgtaagcgcggtcgaagaagctgctgtacatcttaagcaac cctcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgtt catgccggtcccagaggagggaaggcggctgcgaactgc gcgtgaaattcagccgcagcgcagatgtccagcctacaagca ggggcagaaccagctctacaacgaactcaatctgtgctggaga gaggagtagcagctgctggacaagcggagagcgggacc agaaatggcgggaagccgcgcaaaagaatcccaagagg gcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagccta tagcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaagg ccacgacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaagga cacctatgacgctctcacatgcaggccctgccgctcgg (SEQ ID NO: 74)</p>
<p>CG#c73 ER_{mut}_noHa_ 弗林蛋白酶 - CAR19</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSALLDAEPP LYSEYDPTRPFSEASMMGLLTN LADRELVHMINWAKRVPGFVDL ALHDQVHLLLECAWMEILMIGLV WRSMEHPGKLLFAPNLLDRNQ GKCVEGGVEIFDMLLATSSRF MMNLQGEFVCLKSILLNSGVY TFLSSTLKSLEEKDHIHRVLDKIT DTLIHLMAKAGLTLQQHQRLA QLLLILSHIRHMSSKRMEHLYSM KCKNVVPLSDLLEMLDAHRLR <u>TKREIVMTQSPATLSLSPGERAT</u> LSCRASQDISKYLNWYQQKPGQ APRLLIYHTSRLHSGIPARFSGS GSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFC QQGNTLPYTFGQGTKLEIKGGG GSGGGGSGGGGSQVQLQESG PGLVKPSETLSLTCTVSGVSLPD YGVSWIRQPPGKGLEWIGVIWG SETYYSSSLKSRVTISKDNSKN QVSLKLSSVTAADTAVYYCAKH YYYGGSYAMDYWGQGLTVTVS STTTPAPRPPTPAPTIASQPLSL RPEACRPAAGGAVHTRGLDFA CDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVTIL YCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQ TTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYKQGQNQLY NELNLGRREEYDVLDRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGKG HDGLYQGLSTATKDTYDALHMQ ALPPR (SEQ ID NO: 75)</p>	<p>atggcctccctgtcaccgcctgtcgtctccgctggctcttctgctc cacgcccgtcggccccggctgctgtggcactttccctgactgcg accagatggtgtccgcccctctgacgcgagcctccaattctgtg ctcggagtacgatccgactcgcctgtctccgaagccagcatgat gggcctgttgactaacctggcggaccgcgagtggtgacatgat taactgggtaagcgggtgcgggctctgtgacactggcctgca cgaccaagtgcacctctggaatgcgctggtggaatcctcat gatcggcctcgtgtggagatccatggagcatccggaaagctcct glttgacccaacctcctgctgtatgcgaaccagggaaaatgcgt ggaagggggtgtagatcttcgacatgctgctcgcacactctcc cggtccggatgatgaatctgcaggggagaagatctgtgtctga agtcaatcatcctgctgaactcggggtctatacctcctgagctc acctcaagtactggaggaaaagaccacatccatcgcgtgct cgataagatcacgcacaccttaccatctcatggcgaaggctgg actgacctgcaacagcagcaccagaggctggcccagttgctg ctgattctgagccacatccggcacatgctgccaagaggatgga cacctgtacagcatgaagtgcagaacgcgtgctcctctgctccg ctgctcctggaatgctggacgcgcacagactccgtactaaaag agaaatgtgatgaccagtcaccgccactcttagcctttcacc ggtagcgcgcaaccctgctgtagagcctccaagacatctc aaaataccttaattggtatcaacagaagccggacggctcctg cctctgatctaccacaccagccgctcattctggaatccctgcc aggctcagcggtagcggatctgggaccgactacacctcactatc agctcactgcagccagaggactctgctgtctattctgtcagcaag ggaacacctgcccacactttggacagggcaaccaagctcga gattaaagggtggagggtgacgcggaggagggtgggcccggggt ggaggaagccaggtccaactcaagaagcggacggggtctt gtgaagccatcagaaactcttactgactgtactgtgagcggag tgtctctcccgattacggggtgcttgatcagacagccaccggg gaaggtctggaatgattggagtgattgggctctgagactact tactactctcatccctcaagtcacgcgtcaccatctcaaaggaca actctaagaatcaggtgtcactgaaactgtcatctgtgaccgcagc cgacaccgctgtactattgcgtaagcattactattatggcggg agctacgcaatggattactggggacagggactctgtgaccgctg tccagcaccactaccagcaccgaggccaccaccccggtc ctaccatgcctcccagcctctgcccctgctccggaggcatgtag accgcagctgtggggccgtgataaccggggtctgacttgc ctgcgatatctacattgggcccctcgtgctgtactgcccgggtct gctgcttactcgtgatcactcttactgtaagcgcggctggaaga agctgctgtacatcttaagcaacctcatgaggcctgtgcagact actcaagaggaggacggctgtcatgccggtcccagaggagg</p>

[1151]

		<p>aggaaggcggctgcgaactgcgctgaaattcagccgcagcgc agatgctccagcctacaagcaggggcagaaccagctctacaac gaactcaatcttggctggagagaggagtagcagctgctggacaa gaggagaggacgggaccagaaatggcgagggaagccgcgc agaaagaatcccaagaggcctgtacaacagctccaaaag gataagatggcagaagcctatagcgagattggtatgaaagggg aacgcagaagaggcaaggccacgacggactgtaccagggga ctcagaccgccaagacacctatgacgctcttcacatgca ggcctgcccctcgg (SEQ ID NO: 76)</p>
<p>CG#c74 ER_{mut}_noHa_ no 弗林蛋白 酶 CAR19</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSALLDAEPI LYSEYDPTTRPFSEASMMGLLTN LADRELVHMINWAKRVPGFVDL ALHDQVHLLLECAWMEILMIGLV WRSMEHPGKLLFAPNLLDRNQ GKCVVEGGVEIFDMLLATSSRFR MMNLQGEFVCLKSILLNSGVY TFLSSTLKSLEEKDHIHRVLDKIT DTLIHLMAKAGLTQQQHQLRA QLLLILSHIRHMSSKRMEHLYSM KCKNVVPLSDLLLEMLDAHRLEI VMTQSPATLSLSPGERATLSCR ASQDISKYLNWYQKPGQAPRL LIYHTSRLHSGIPARFSGSGGT DYTLTISSLQPEDFAVYFCQQG NTPYTFGQGTKLEIKGGGGSG GGGSGGGGSQVQLQESGPGLV KPSETLSLTCTVSGVSLPDYGV SWIRQPPGKLEWIGVIWGSSET TYSSSLKSRVTISKDNSKNQVS LKLSSVTAADTAVVYCAKHYYY GGSYAMDYWGQGLVTVSSTT TPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPE ACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYI WAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKR GRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQE EDGCSRFPPEEEEGGCELRVKF SRSADAPAYKQGGNQLYNELNL GRREEYDVLDKRRGRDPEMGG KPRRKNPQEGLYNELQDKMA EAYSEIGMKGERRRGKGDGL YQGLSTATKDTYDALHMQALPP R (SEQ ID NO: 77)</p>	<p>atggcctcctgtcaccgcctgctgctccgctggtcttctgctc cacgcgctcggccccggctgctgctggcactttccctgactgcg accagatggtgctcggcctctgagcgcgagcctccaattctgta ctcggagtagcagcagcagcctgctccgaagccagcagatgat ggcctgttgactaacctgcgagaccgagtggtgcatgatg taactgggctaagcgggtgcccggctctgctggacctgcccctgca cgaccaagtgcacctcctggaatgcccctggtggaatcctcat gatcggcctcgtgtagatccatggagcagcagcagcagcagcct gtttgacccaacctcctgctgctgacgcaaccagggaatgctg ggaaggggggtgtagatatttcgacatgctgctgcccactctcc cggctccggatgatgaatctgcagggagaagagtgctgctgta agtcaatcatcctgctgaactccggggtctatacctcctgagctg accctcaagtcaactggaggaaaagaccacatccatcgctgctg cgataagatcaccgacacccttatcatctatggcgaaggctgg actgacctgcaacagcagcaccagaggctggcccagttgctg ctgattctgagccacatccggcacatgctgccaagaggatggaa cacctgtacagatgaagtgaagaacgctgctgctcctgctccgat ctgctcctggaatgctggacgcgcaagcagactcgaatgtgatg accagtcacccgccactcttagccttaccgggtgagcgcgca accctgtcttgagagcctccaagacatctcaaaataccttaatt ggatcaacagaagccggagcagcctcctgctcctctgactacc acaccagcgggctcattctggaatccctgcaagttcagcggta gaggatctgggaccgactacaccctcactatcagctcactgcagc cagaggactcgtgctatttctgtagcaaggaacacccctgcc ctacaccttgagcagggcaccagctcagatgaaggtggag gtggcagcggagagggtgggtcggcggtggaggaagccagg tccaactcaagaaagcggaccgggcttggtagcagcagcagaa actcttactgactgtactgtgagcggagtgctctccccgattac ggggtgcttgatcagacagcaccggggaagggtctggaatg gattggagtgattgggctcagagcactactactctcctcctc aagtcaagcgtcaccatctcaaggacaactctaagaatcaggt gtcactgaaactgtatctgtgaccgcagcagcagcagcagcagc ctattgcgtaagcattactattatggcgggagctacgcaatggat actggggacagggtactctggtcaccgtgtccagcaccactacc ccagcaccgaggccaccacccggctcctaccatcgctccc agcctctgctcctgctcggaggcatgtagaccgcagctggg ggccctgcataccggggtctgactcgcctgctgatactacatt tggccctctgctggtactgctggggtcctgctgcttccactgctg atcactcttactgtaagcggcgggaagaagctgctgacatctt taagcaaccctcatgaggcctgtgcagactactcaagaggagg acggctgtcatgcccgttcccagaggagggaagggcggctg cgaactgcgctgaaattcagccgcagcagcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttgg cggagagaggagtacgagctgctggacaagcggagaggacg ggaccagaaatggcggggaagccgcgagaaagaatcccc aagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcag aagcctatagcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagag gcaagggccacgacggactgtaccagggactcagcaccgcca ccaaggacacctatgacgctcttcacatgagggcctgcccctc gg (SEQ ID NO: 78)</p>

[1153]

<p>ER_{mut}-弗林蛋白酶 - CAR19=Alt2</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSALLDAEPPILYSEYDPTTRPFSEASMMGLLTNLADRELVHMINWAKRVPGFVDLALHDQVHLLCEAWMEILMIGLVWRSMEHPGKLLFAPNLLDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLATSSRFRMMNLQGEEFVCLKSILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKDHIHRVLDKITDTLIHLMAKAGLTLQQHQRLAQLLLILSHIRHMSSKRMEHLYSMCKNVVPLSDLLEMLDAHRLGTGAEDPRPSRKRREIVMTQSPA<u>TL</u>SLSSPGERATLSCRASQDISKYNWYQKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIPARFSGSGSDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPYTFGGQTKLEIKGGGGSGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWIGVIWGETTYSSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKSSVTAA DTAVYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGLTVSSTTTPAPRPPTPTPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 105)</p>	<p>(SEQ ID NO: 104)</p> <p>atggccctccctgtcaccgacctgctgcttccgctggctcttctgctcacgcccctggccccggctgctgctggcactttccctgactgcccaccagatggtgtccgccccttctggagccgagcctccaattctgtactcggagtagatccgactcgcgcttccggaagccagcatgatggcctgttgactaacctggcggaccgagtggtgacatgat taactgggctaagcgggtgccgggctctgtagacctggccctgca cgaccaagtgcacctcctggaatgcccctggatggaatcctcat gatcggcctcgtgtggagatccatggagatcccggaaagctcct gtttgacccaacctcctgctgctgacgcaaccagggaatgctg ggaagggggtgctgagatcttgcagatgctgctgccacctctcc cggttccggatgataatctgcaggagagaagagttcgtgtctga agtcaatcatcctgctgaactccgggtctatacctcctgagctcg accctcaagtcactggaggaaaagaccacatccatccgctgctcg ataagatcacccgacaccttatccatctcatggcgaaggctgg actgacctgcaacagcagcaccagaggctggcccagttgctgct gattctgagccatccggcacatgctgccaagaggatggaa cactgtacagcatgaagtgaagaacgctgctcctctgctccgat ctgctcctggaatgctggagcgcgacagactcgggagcggag ctgaggatccacgaccagcagaaagcagcgggaaattgtgat gaccagtcaccgcccactcttagcctttaccgggtgagcgcgc aacctgtcttgacagacctccaagacatcctcaaatcctaat tggatcaacagaagcccggagcggctcctcgccttctgactcac caccagccggctccattctggaatccctgcccaggtcagcggg agcggatctgggaccgactacacctcactatcagctcactgca gccagaggactcgtgctctattctgctcagcaagggaacacctg ccctacacctttggacagggcacaagctcgcagataaagggtg aggtggcagcggaggaggtgggtccggcgggtggaggaagcca ggtccaactccaagaagcgggaccgggtcttgaagccatcag aaactcttactgactgtactgtgagcggagtgctctcccggatt acgggggtgcttgatcagacagccaccggggaagggtctgga atggattggagtgattggggctctgagactactactctctcatc cctcaagtacgcgtcacctctcaaggacaactcaagaatc aggtgtcactgaaactgctatctgtagccgacggacaccgccc ggtactattgctgaagcattactattatggcgggagctacgcaat ggattactggggacagggactctggtcaccgtgtccagaccac taccccagcaccgaggccaccaccccggctcctaccatcgctc ccagcctctgctcctgctcgggagcatgtagaccgcagctg gtggggccgtgcatacccgggtctgacttgcctgctgatactca cattgggcccctctggctgactgcccgggtcctgctgcttcaact cgtgatcactcttactgtaagcgcggctcggagaagctgctgtac atcttaagcaacctctatgaggcctgctgagactactcaagagg aggacggctgtcatgccggttccagaggaggaggaaggcgg ctgcgaactgcgctgaaattcagccgagcgcagatgctccag cctacaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatctt ggtcggagagaggagtacgctgctggacaagcggagagg acgggaccagaaatgggcccgaagcggcgcagaaagaatc ccaagaggcctgtacaacgagctcaaaaaggataagatgg cagaagcctatagcagagattggatgaaaggggaacgcagaa gaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcagcaccg ccaccaaggacacctatgacgctctcacatgcaggccctgccc cctcgg (SEQ ID NO: 106)</p>
<p>ER_{mut}-弗林蛋白酶 - CAR19=Alt3</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSALLDAEPPILYSEYDPTTRPFSEASMMGLLTNLADRELVHMINWAKRVPGFVDLALHDQVHLLCEAWMEILMIGLVWRSMEHPGKLLFAPNLLDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLATSSRFRMMNLQGEEFVCLKSILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKDHIHRVLDKIT</p>	<p>Atggccctccctgtcaccgacctgctgcttccgctggctcttctgctcacgcccctggccccggctgctgctggcactttccctgactgcccaccagatggtgtccgccccttctggagccgagcctccaattctgtactcggagtagatccgactcgcgcttccggaagccagcatgatggcctgttgactaacctggcggaccgagtggtgacatgat taactgggctaagcgggtgccgggctctgtagacctggccctgca cgaccaagtgcacctcctggaatgcccctggatggaatcctcat gatcggcctcgtgtggagatccatggagatcccggaaagctcct gtttgacccaacctcctgctgctgacgcaaccagggaatgctg</p>

[1154]

	<p>DTLIHLMAKAGLTLQQQHQLA QLLLILSHIRHMSSKRMEHLYSM KCKNVVPLSDLLLEMLDAHRLC KINGYPKRGRKRREIVMTQSPA TLSLSPGERATLSCRASQDISKY LNWYQQKPGQAPRLLIYHTSRL HSGIPARFSGSGSDTYLTISS LQPEDFAVYFCQQGNTLPYTFG QGTKLEIKGGGSGGGGSGGG GSQVQLQESGPGLVKPSSETLSL TCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPG KGLEWIGVIWGETTYYSLLKS RVTISKDNSKNQVSLKSSVTAA DTAVYYCAKHYYGGSYAMDY WGQGLTVSSTTTPAPRPPTP APTIASQPLSLRPEACRPAAGG AVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTC GVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIF KQPFMRPVQTTQEEDGCSCRF PEEEEGGCELRVKFSRSADAPA YKQGQNQLYNELNLGRREEYD VLDKRRGRDPEMGGKPRRKNP QEGLYNELQKDKMAEAYSEIGM KGERRRGKGDGLYQGLSTAT KDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 107)</p>	<p>ggaagggggtgagatctcgacatgctgctgccacctctcc cggttccggatgatgaatctgcaggggagaagagtctgtgtctga agtcaatcatcctgctgaactccgggtctatacctctgagctcg accctcaagtcactggaggaaaaagaccacatccatcgctgctg cgataagatcaccgacaccttatccatctcatggcgaaggctgg actgacctgcaacagcagcaccagaggctggcccagttgctg ctgattctgagccacatccggcacatgctgccaagaggatggaa cacctgtacagcatgaagtgaagaacgtgctgctctgctccgat ctgctcctggaaatgctggacgcgcacagactctgcaagatcaa cggctaccctaagaggggcagaaaacggcgaggaaattgtgatg acccagtcacccgccactcttagccttccaccgggtgagcgcgca accctgtcttcagagcctccaagacatctcaaaataccttaatt ggtatcaacagaagccggacaggctcctgcctctgctatctacc acaccagccggctccattctggaatccctgacaggctcagcggta gggatctgggaccgactacacctcactatcagctcactgcagc cagaggactcgtctctattctgtcagcaagggaacacctgcc ctacaccttggacagggaccaagctcgagattaaggtggag gtggcagcggaggagggtgggtccggcgggtggaggaaagccagg tccaactccaagaaagcggaccgggtctgtgaagccatcagaa actcttctactgactgtactgtgagcggaggtctctccccgattac ggggtgtcttgatcagacagccaccggggaagggtctggaatg gattggagtgattgggctctgagactactactcttctacacctc aagtcacgcgtcaccatctcaaggaactctcaagaatcaggt gtactgaaactgtcatctgtgaccgcagccgacaccgcccgtgta ctattgcgctaagcattactattatggcgggagctacgcaatggatt actggggacagggtactctgtcaccgtgtccagaccactacc ccagcaccgaggccaccacccccgctcctaccatcgctccc agcctctgtccctgctccggaggatgtagaccgcagctggtg gggccgtgcataccggggtctgacttgcctgctgatatctacatt tgggccctctggctgacttgcggggtcctgctgcttctactctg atcactcttactgtaagcgcgctggaagaagctgctgtacatctt taagcaacctctcatgagcctgtgcagactactcaagaggagg acggctgtcatccggttcccagaggaggaggaaaggcggctg cgaactgcgctgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct acaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttgg cggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggagaggacg ggaccagaaatggcgggaaagccgcgagaaagaatcccc aagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcag aagcctatagcagattggtatgaaaggggaacgcagaagag gcaaaggccacgacgactgtaccagggactcagcaccgcca ccaaggacacctatgacgctctcactatgacggcctgcccgcctc gg (SEQ ID NO: 108)</p>
<p>ER_{mut.}-弗林蛋 白酶 - CAR19=Ait4</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSALLDAEPP LYSEYDPTRFSEASMMGLLTN LADRELVHMINWAKRVPGFVDL ALHDQVHLLLECAWMEILMIGLV WRSMEHPGKLLFAPNLLDRNQ GKCVEGGVEIFDMLLATSSRF MMNLQGEFVCLKSILLNSGVY TFLSSTLKSLEEKDHIHRVLDKIT DTLIHLMAKAGLTLQQQHQLA QLLLILSHIRHMSSKRMEHLYSM KCKNVVPLSDLLLEMLDAHRL QWLEQQVAKRRTKREIVMTQSP ATLSLSPGERATLSCRASQDISK YLNWYQQKPGQAPRLLIYHTSR LHSGIPARFSGSGSDTYLTISS SLQPEDFAVYFCQQGNTLPYTF GQGTKLEIKGGGSGGGGSGGG GGSQVQLQESGPGLVKPSSETLS</p>	<p>Atggccctccctgtcaccgcctgctgcttccgctggtctctctgctc cacgcccgtcggccccggtgctgctggtgacttccctgactgccc accagatggtgtccgcccttctgacgcgcgagcctccaattctgta ctcgagtagcatccgactcgcggcttctccgaaagccagcatgat gggcctgttgactaacctggcggaccgcgaggtggtgacatgat taactgggtaagcgggtgcccggcttctgtagacctggccctgca cgaccaagtgcacctcctggaatgcgctggtgaaatcctcat gatcggcctctgtggagatccatggagcatcccggaaagctcct gtttgacccaacctcctgctgtagcgaaccagggaaaatcgct ggaagggggtgagatctcgacatgctgctgcccacctctcc cggttccggatgatgaatctgcaggggagaagagtctgtgtctga agtcaatcatcctgctgaactccgggtctatacctctgagctcg accctcaagtcactggaggaaaaagaccacatccatcgctgctg cgataagatcaccgacaccttatccatctcatggcgaaggctgg actgacctgcaacagcagcaccagaggctggcccagttgctg ctgattctgagccaacatccggcacatgctgccaagaggatggaa cacctgtacagcatgaagtgaagaacgtgctgctctgctccgat ctgctcctggaaatgctggacgcgcacagactctgcaatggctg gagcagcaggtggcgaagcggagaaactaagcgggaaattgtg</p>

[1155]

	<p>LTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPP GKGLEWIGVIWGSETTYSSSL KSRVTISKDNSKNQVSLKSSVT AADTAVYYCAKHYYGGSYAM DYWGQGLTVTVSSTTTPAPRPP TPAPTIASQPLSLRPEACRPAAG GAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGT CGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYI FKQPFMRPVQTTQEEDGCSCR FPEEEEGGCELRVKFSRSADAP AYKQGQNQLYNELNLGRREEY DVLDKRRGRDPEMGGKPRRKN PQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG MKGERRRGKGDGLYQGLSTA TKDITYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 109)</p>	<p>atgaccagtcacccgccactcttagccttcacccggtagcgc gcaaccctgtcttgacagagcctccaagacatctcaaaaacctt aattggatcaacagaagcccgacaggctcctgccttctgatct accacaccagccggctccattctggaatcctctgcaggtcagcg gtagcggatctgggaccgactacacccctcactatcagctcactgc agccagaggactcgtctgtctatttctgacagcaagggaacaccct gccctacaccttggacagggcaccacagctcgagatgaagggtg gaggtggcagcggaggaggtgggtccggcgggtggaggaagcc aggtccaactcaagaaagcggaccgggtctgtgaagccatca gaaactcttctactgactgtactgtgagcggagtgctctccccgat tacgggggtgcttgatcagacagccaccggggaagggtctgga atggattgagtgattggggctctgagactactactctctc cctcaagtcacgcgtcaccatctcaaggacaacttaagaatc aggtgtcactgaaactgtcactgtgaccgcagccgacaccgc gtgtactattgctgaagcattactattatggcgggagctacgcaat ggattactggggacagggtactctggtcaccgtgtccagcaccac taccacagcaccgaggccacccaccccgctcctaccatgcct cccagcctctgctcctgctcgggagcatgtagaccgcagctg gtggggccgtgcatacccggtctgactctgctgcatatcta catttgggcccctctggtgacttgcgggctctgctcttact ctgtactcttactgtaagcggctggaagaagctgctgtac atcttaagcaaccctcatgagcctgtgcagactactcaagagg aggacggctgtcatgcccgggtccagaggaggaggaaggcgg ctgcaactgcgctgaaattcagccgcagcgcagatgctccag cctacaagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatctt ggcggagagaggagtagcagctgctggacaagcggagagg acgggaccagaaatggcgggaagccgcgagaaagaatc ccaagaggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatgg cagaagcctatagcgagattggtatgaagggggaacgcagaa gaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcagcaccg ccaagggacacctatgacgctctcactgacagccctgccc cctcgg (SEQ ID NO: 110)</p>
<p>ER_{mut}-弗林蛋 白酶 - CAR19=Alt5</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSALLDAEPP LYSEYDPTTRPFSEASMMGLLT LADRELVHMINWAKRVPGFVDL ALHDQVHLLCAWMEILMIGLV WRSMEHPGKLLFAPNLLDRNQ GKCVEGGVEIFDMLLATSSRFR MMNLQGEFVCLKSILLNSGVY TFLSSTLKSLEEKDHIHRVLDKIT DTLIHLMAKAGLTLQQHQRLA QLLLILSHIRHMSSKRMEHLYSM KCKNVVPLSDLLEMLDAHRLG <u>TGAEDPRPSRKRRSLGDVGEIV</u> MTQSPATLSLSPGERATLSCRA SQDISKYLNWYQQKPGQAPRLL IYHSRSLHSGIPARFSGSGD YTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNT LPYTFGQGTKLEIKGGGSGGG GSGGGGSQVQLQESGPGLVKP SETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWI RQPPGKGLEWIGVIWGSETTY SSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKL SSVTAADTAVYYCAKHYYGG SYAMYDYWGQGLTVTVSSTTTP APRPPAPTIASQPLSLRPEACR PAAGAVHTRGLDFACDIYIWAPL AGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK LLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRPFPEEEEGGCELRVKFSRSA</p>	<p>Atggccctccctgtcaccgccctgctgctccgctggctctctgctc cacgccgctcggccccggctgctgtggcacttccctgactgccg accagatggtgtccgccctctggacgccgagcctcaattctgta ctcggagtagatccgactcgcctgctccgagccagcatgat ggcctgttgactaacctggcggaccgcgagtggtgacatgat taactgggtaagcgggtgcccggctctgctgacctggccctgca cgaccaagtgacacctctggaatgcgcctggaatggaatctcat gatcggcctgctgtggagatccatggagcactccggaaagctcct gttgacaccaacctcctgctgacgcgaaccagggaatgctg ggaagggggtgctgagatctgacatgctgctgcccactctcc cggctccggatgataatctgcagggagaagagttcgtgtgctga agtcaatcatcctgctgaactccgggtctatacctcctgagctg accctcaagtcactggaggaaaagaccacatccatcgcgtgct cgataagatcaccgacaccccttaccatctatggcgaaggctgg actgaccctgcaacagcagcaccagaggctggcccagttgctg ctgattctgagccacatccggcacatgctgccaagaggatggaa cacctgtacagcatgaagtgaagaacgtcgtgctcctgctcggat ctgctcctggaaatgctggacgcgacagactcggaaaccggcg <u>cggaagacccccggccctccaggaagcgaaggtccctcggag</u> <u>acgtgggtgaaattgtgatgaccagtcaccgccactctagcct</u> ttaccgggtgagcgcgcaaccctgctctgacagcctccaaga catctcaaaaacctaattggtatcaacagaagcccgacaggc tctcgccttctgactaccacaccagccgctccattctggaatcc ctgccaggtcagcggtagcggatctggaccgactacacccctc actatcagctcactgcagccagaggactcgtctctatttctgta gcaagggaaacaccctgcccctacaccttggacagggcaccga ctcagagatgaagggtgaggtggcagcggaggaggtgggtccg gggtggaggaagcagggtccaactcaagaaagcggaccg ggctctggaagccatcagaaactcttactgactgtactgtgag</p>

[1156]

	<p>DAPAYKQGQNQLYNELNLGRR EEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAY SEIGMKGERRRGKGDGLYQG LSTATKDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 111)</p>	<p>cggagtgtctctccccgatta cgggggtgtcttgatcagacagcca ccggggaaggggtctggaatgattggagtgattggggctctgag actactactactctcatccctcaagtcacgcgtcaccatctcaaa ggacaactctaagaatcagggtgactgaaactgtcatctgtgac gcagccgacaccgctgtactattgcgtaagcattactattat ggcgggagctacgcaatggattactggggacaggggtactctggt caccgtgtccagcaccactaccagcaccgagggccaccacc ccggctcctaccatgcctcccagcctctgtccctgcgtccggagg catgtagaccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtctg acttcgctgcgatatctacattggggccctctggtgacttgctg gggtcctgctgcttctactctgtatcactcttactgtaagcgcggtc ggaagaagctgtgtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgt gcagactactcaagaggaggacggctgtcatgccggtcccag aggaggaggaagggcgtgcgaactgcgctgaaatcagcc gcagcgcagatgtccagcctacaagcaggggcagaaccagc tctacaacgaactcaatctggtcggagagaggagtacgacgtg ctggacaagcggagaggacgggaccagaaatggcggggaa gccgcgcagaaagaatcccgaagaggcctgtacaacgagct ccaaaaggataagatggcagaagcctatagcagattggtatg aaaggggaacgcagaagaggcaaggccacgacggactgta ccagggactcagcaccgccaagagacacatgatgacgtcttc acatgcaggccctgcccgcctcg (SEQ ID NO: 112)</p>
<p>ER_{mut}-弗林蛋 白酶 - CAR19=Alt6</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSALLDAEPPI LYSEYDPTPRPFSEASMMGLLTN LADRELVHMINWAKRVPGFVDL ALHDQVHLLCEAWMEILMIGLV WRSMEHPGKLLFAPNLLDRNQ GKCVVEGGVEIFDMLLATSSRFR MMNLQGEFVCLKSIILLNSGVY TFLSSTLKSLEEKDHIHRVLDKIT DTLIHLMAKAGLTLQQQHQLA QLLLILSHIRHMSSKRMEHLYSM KCKNVVPLSDLLEMLDAHRLG <u>TGAEDPRPSRKRRSLGGEIVMT</u> QSPATLSLSPGERATLSCRASQ DISKYLNWYQQKPGQAPRLIY HTSRLHSGIPARFSGSGSGTDY TLTISSLQPEDFAVYFCQQGNL PYTFGQGTKLEIKGGGSGGG GSGGGGSQVQLQESGPGLVKP SETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWI RQPPGKLEWIGVIWGSETTY SSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKL SSVTAADTAVYYCAKHYYYGGS YAMDYWGQGLTVVSTTTPAP RPPTPAPTIASQPLSLRPEACRP AAGGAVHTRGLDFACDIYIWAFL AGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKK LLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSA DAPAYKQGQNQLYNELNLGRR EEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAY SEIGMKGERRRGKGDGLYQG LSTATKDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 113)</p>	<p>Atggccctccctgtcaccgcccctgcttccgctggtcttctgtct cagccgctcggccccgctgctgtggcacttccctgactgccg accagatggtgtccgccctctggacgcgcagcctccaattctgta ctcggagtacgatccgactcggccttctccgaagccagcatgat ggcctgttgactaacctggcggaccgcgagtggtgacatgat taactgggtaagcgggtgcgggctcctggtgacctggccctgca cgaccaagtgcacctcctggaatgcgctggtggaatcctcat gatcggcctcgtgtggagatccatggagcatcccggaaagctcct gtttgacccaacctcctgctgtagcgaaccagggaaaatgcgt ggaaaggggtgtagatgttgcagatgctgctgcaccctctcc cgggtccggatgatgaatctgcaggggagaagagttcgtgtgtga agtcaatcatcctgctgaactccgggtctatacctctgagctcg accctcaagtactgaggaaaaagaccacatccatgcgtgct cgataagatcaccgacaccttatccatctatggcgaaggctgg actgacctgcaacagcagcaccagaggctggcccagttgctg ctgattctgagccatccggcaccatgctgccaagaggatggaa cacctgtacagcatgaagtgaagaacgctgctcctctgctccgat ctgctcctggaaatgctggacgcgcacagactcggcagggctc <u>cgaggaccctcggccaagccgcaaaagggtcactggtggcgg</u> <u>cgaaattgtgatgaccagtcaccgccaactcttagccttacc</u> <u>ggtagcgcgcaaccctgtctgagagcctccaagacatctc</u> <u>aaaatacctaattggtatcaacagaagcccggacaggctcctg</u> <u>cctctgatctaccacaccagccgctccattctggaatccctg</u> <u>aggttcagcggtagcggatctgggaccgactacaccctcactatc</u> <u>agctcactgcagccagaggactcgtgctatcttctgtcagcaag</u> <u>ggaacacctgcctacaccttggacagggcaccagctcga</u> <u>gattaaggtggaggtggcagcggaggagggtgggtccggcgg</u> <u>ggaggaaagccaggtccaactccaagaaagcggaccgggtctt</u> <u>gtgaagccatcagaaactcttactgactgtactgtgagcggag</u> <u>gtctctccccgattacgggggtcttgatcagacagccaccggg</u> <u>gaaggtctggaatgattggagtgattggggctctgagactact</u> <u>tactactctcatccctcaagtcacgcgtcaccatctcaaggaca</u> <u>acttaagaatcagggtgactgaaactgtcatctgtgaccgcagc</u> <u>cgacaccgctgtactattgcgtaagcattactattatggcggg</u> <u>agctacgcaatggactggggacaggggtactctggtcaccgtg</u> <u>tccagcaccactaccagcaccgagggccaccaccggcggctc</u> <u>ctaccatgcctcccagcctctgtccctgctccggaggcatgtag</u> <u>accgcagctggtggggccgtgcataccgggggtctgactcgc</u> <u>ctgcgatatctacattggggccctctggtgctgacttgcgggtcct</u></p>

[1157]

		<p>gctgcttactcgtgatcactcttactgtaagcgcggtcgaaga agctgctgtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagact actcaagaggaggacggctgtcatgccggtcccagaggagg aggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgc agatgctccagcctacaagcaggggcagaaccagctctacaac gaactcaatcttggtcggagagagggtacgacgtgctggacaa gaggagaggacgggaccagaaatgggcgggaagccgcgc agaaagaatcccaagaggcctgtacaacgagctccaaaag gataagatggcagaagcctatagcgagattggtatgaaagggg aacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggg ctcagcaccgccaagaggacacatgacgctcttccatgca ggcctgccgctcgg (SEQ ID NO: 114)</p>
<p>ER_{mut}-弗林蛋 白酶 - CAR19=Alt7</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSILTADQMVSALLDAEPPI LYSEYDPTPRPFSEASMMGLLTN LADRELVHMINWAKRVPGFVDL ALHDQVHLLLECAWMEILMIGLV WRSMEHPGKLLFAPNLLDRNQ GKCVVEGGVEIFDMLLATSSRFR MMNLQGEFVCLKSIIILLNSGVY TFLSSTLKSLEEKDHIHRVLDKIT DTLIHLMKAGLTLQQHQRLA QLLLILSHIRHMSSKRMEHLYSM KCKNVVPLSDLLEMLDAHRLG <u>TGAEDPRPSRKRRSLGEIVMTQ</u> SPATLSLSPGERATLSCRASQDI SKYLNWYQQKPGQAPRLLIYHT SRLHSGIPARFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPY TFGQGTKLEIKGGGSGGGGS GGGGSQVQLQESGPGLVKPSSE TSLTCTVSGVSLPDYGVSWIR QPPGKLEWIGVIWGSETTYYS SSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLS SVTAADTAVYYCAKHYYYGGSY AMDYWGQGLTVTVSSTTPAP RPPTPAPTIASQPLSLRPEACRP AAGGAVHTRGLDFACDIYWAPL AGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKK LLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSA DAPAYKQGQNQLYNELNLGRR EEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAY SEIGMKGERRRGKGDGLYQG LSTATKDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 115)</p>	<p>Atggccctccctgtcaccgcctgtgcttccgctggtccttctgctc cacgcccgtcggccccggtcgtgctggcacttccctgactgccc accagatggtgtccgccctctggaagcgcgactccaattctgta ctcggagtagatccgactgcccgttctccgaagccagcatgat gggctgttgactaacctggcggaccgcgaggtggtgacatgat taactgggtaagcgggtgcccggctcgtggacctggcctgca cgaccaagtgcacctcctggaatgcgctggtggaatcctcat gatcggcctcgtgtggagatccatggagcatcccggaaagctcct gttgcacccaacctcctgctgatcgcaaccagggaaaatgcgt ggaaggggggtgagatcttcagatgctgctgccacctctcc cggttccggatgatgaatctgcagggagaagatcgtgtgtctga agtcaatcatcctgctgaactccgggtctatacctcctgagctcg acctcaagtactgaggaaaagaccacatccatcgcgtgct cgataagatcaccgacaccttatccatctcatggcgaaggctgg actgacctgcaacagcagcaccagaggctggcccagttgctg ctgattctgagccacatccggcactgctgccaagaggatgaa cacctgtacagcatgaagtgaagaacgctgctcctctgtccgat ctgctcctggaaatgctggacgcgcacagactcggaaacgggag cagaagatcccagaccaagccggaaaagggcggctcctggggtg aaattgtgatgaccagtcaccgcctcttagccttccaccgggt gagcgcgcaacctgtctgagagcctcccaagacatctcaaaa ataccttaattggtatcaacagaagcccggacaggctcctcgcctt ctgatctaccacaccagccgctccattctggaatcctgcccaggt tcagcggtagcggatctgggaccgactacacctcactatcagct cactgcagccagaggacttcgctgtctattctgtcagcaagggaa cacctgccctacaccttggacagggcaccgaagctcagagatta aagggtgagggtgcagcggaggaggtgggtcccggcgggtggag gaagccaggtccaactcaagaaagcggaccgggtctgtgaa gccatcagaaaactttcactgactgtactgtgagcggaggtctct ccccgattacggggtgcttggatcagacagccaccggggaagg gtctggaatggattggagtgattggggctctgagactactactact cttcatcctcaagtacgcgtcaccatctcaaaggacaactctaa gaatcagggtgactgaaactgtcatctgtgaccgcagccgacac cgccgtgactattgcgtaagcattactattatggcgggagctac gcaatggattactgggacagggactcgtgtaaccgtgtccagc accactacccagcaccgagggcaccaccaccggctcctacca tcgctcccagcctctgtcctcgtcggagggcatgtagaccg cagctggtggggccgtgcatacccggggtctgacttcgctgcg atatctacattgggcccctctggctggaactgcggggctcctgctg ttcactcgtgatcactcttactgtaagcgcggtcgaagaagctg ctgtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagactactca agaggaggacggctgtcatgccggttcccagaggaggaggaa ggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatg ctccagcctacaagcaggggcagaaccagctctacaacgaact caatcttggtcggagagagggtacgacgtgctggacaagcgg agaggacgggaccagaatgggcggggaagccgcagaa agaaatcccaagaggcctgtacaacgagctccaaaaggata agatggcagaagcctatagcgagattggtatgaaaggggaacg cagaagaggcaaaaggccacgacggactgtaccagggactca</p>

Nature Reviews Drug Discovery 11,367-383 (May 2012))。通过qRT-PCR分析前蛋白转化酶家族成员的表达。用抗CD3/抗CD28活化珠刺激后,在第0、4和11天从正常供体T细胞收获RNA。在培养期间,对一个附加组补充100U/mL IL-2并且在第11天收获RNA。这些数据显示用抗CD3/抗CD28珠激活后,弗林蛋白酶mRNA比前蛋白转化酶家族的其他成员更高地表达(图1)。

[1177] 实施例3:受化合物添加控制的CD19 CAR表达

[1178] 将Jurkat T细胞用融合于抗CD19 scFv CAR构建体的弗林蛋白酶降解决定子结构域(FKBP_{FD}、ER α _{FD}或DHFR_{FD})转导,随后用相应的化合物处理。用1 μ M Shield1处理FKBP_{FD}转导的细胞。用1 μ M巴多昔芬处理ER α _{FD}转导的细胞。用1mM TMP处理DHFR_{FD}转导的细胞。在化合物存在下,抗CD19 scFv的表达为诱导型(图2)。黑色=UTD;灰色=构建体,无化合物;白色=构建体,有化合物。这些数据显示与弗林蛋白酶切割结构域组合时,多个降解决定子结构域导致CAR 19表达的严格化合物依赖性调节。

[1179] 实施例4:添加化合物后Jurkat细胞中CAR表达的动力学

[1180] 将Jurkat T细胞用融合于抗CD19 scFv CAR构建体的所示弗林蛋白酶降解决定子结构域(FKBP_{FD}或ER α _{FD})转导。将这些细胞用1 μ M Shield1或1 μ M 4-OHT处理所示的时间并通过FACS测定CAR表达。这些数据显示,使用弗林蛋白酶降解决定子CAR 19时表达的诱导在添加化合物后快速出现并且在化合物处理的期间稳定(图3)。

[1181] 实施例5:原代人T细胞中化合物诱导性型CAR表达

[1182] 将原代人T细胞用融合于抗CD19 scFv CAR构建体的ER α 弗林蛋白酶降解决定子结构域(ER α _{FD}结构域)转导。在第9天用抗CD3/CD28刺激珠活化后添加100U/mL IL-2。在第10天添加巴多昔芬,并且在第11天通过FACS测定CAR表达。这些数据显示,弗林蛋白酶降解决定子结构域(例如,ER α _{FD}结构域)可以在原代人T细胞中按照化合物依赖性方式调节CAR 19表达(图4),并且稳定作用在IL-2存在下在体外增强(图4)。

[1183] 实施例6:在原代T细胞中化合物清洗后CAR表达的动力学

[1184] 将原代人T细胞用融合于抗CD19 scFv CAR构建体的所示弗林蛋白酶降解决定子结构域(FKBP_{FD}或ER α _{FD})转导。在第9天用抗CD3/CD28刺激珠活化后添加100U/mL IL-2。在第10天添加巴多昔芬并且在第11天冷冻T细胞。将T细胞解冻,充分洗涤并培养所示的时间,随后通过FACS测定CAR表达。这些数据显示,使用弗林蛋白酶降解决定子结构域,移除化合物导致CAR 19表达减少(图5)。

[1185] 实施例7:多个ER- α 靶向药物使ER- α FURON CART稳定

[1186] 将Jurkat T细胞用融合于抗CD19 scFv CAR构建体的ER α _{FD}降解结构域转导,随后用所示化合物处理24小时。对于4-OHT,化合物按10 μ M使用,对于巴多昔芬,按1 μ M使用或对于拉索昔芬,按1 μ M使用。这些数据显示,使用基于雌激素受体的弗林蛋白酶降解决定子(FurON)系统时,多个ER- α 靶向性化合物可以诱导CAR 19表达(图6)。

[1187] 实施例8:人T细胞中巴多昔芬的剂量反应

[1188] 将原代人T细胞用融合于抗CD19 scFv CAR构建体或亲本CD19 CAR构建体的ER α _{FD}弗林蛋白酶降解决定子结构域转导。在第9天用抗CD3/CD28刺激珠活化后添加100U/mL IL-2,并且在第11天冷冻T细胞。将T细胞解冻并随所示浓度的巴多昔芬一起培养48小时。通过FACS测定CAR表达。这些数据显示,生理学相关浓度的巴多昔芬可以使弗林蛋白酶降解决定

子CAR 19表达以类似于亲本CAR 19的水平稳定(图7)。

[1189] 实施例9:借助ER- α FURON CART的化合物依赖性靶特异性细胞杀伤作用

[1190] 将原代人T细胞用融合于抗CD19 scFv CAR构建体或亲本CD19 CAR构建体的ER α _{FD}弗林蛋白酶降解决定子结构域转导。在第9天用抗CD3/CD28刺激珠活化后添加100U/mLIL-2和巴多昔芬,并且在第11天冷冻T细胞。将T细胞解冻并随所示的萤光素化细胞系靶K562(CD19⁻)或NALM6(CD19⁺)一起温育20小时。通过分析剩余萤光素酶活性测定杀伤百分数。这些数据显示,具有基于雌激素受体的弗林蛋白酶降解决定子结构域的CAR19以化合物依赖性并且不劣于亲本CAR19的方式特异性杀伤CD19⁺肿瘤细胞(图8)。

[1191] 实施例10:借助FKBP FURON CART的化合物依赖性靶特异性细胞杀伤作用

[1192] 将原代人T细胞用融合于抗CD19 scFv CAR构建体或亲本CD19 CAR构建体的FKBP_{FD}弗林蛋白酶降解决定子结构域转导。在第9天用抗CD3/CD28刺激珠活化后添加100U/mLIL-2和Shield1,并且在第11天冷冻T细胞。将T细胞解冻并随所示的萤光素化细胞系靶K562(CD19⁻)或NALM6(CD19⁺)一起温育20小时。通过分析剩余萤光素酶活性测定杀伤百分数。这些数据显示,具有基于FKBP的弗林蛋白酶降解决定子结构域的CAR19以化合物依赖性并且不劣于亲本CAR19的方式特异性杀伤CD19⁺肿瘤细胞(图9)。

[1193] 实施例11:ER- α FURON CART的化合物依赖性细胞因子产生作用

[1194] 将原代人T细胞用融合于抗CD19 scFv CAR构建体或亲本CD19 CAR构建体的ER α _{FD}弗林蛋白酶降解决定子结构域转导。在第9天用抗CD3/CD28刺激珠活化后添加100U/mLIL-2和巴多昔芬,并且在第11天冷冻T细胞。将T细胞解冻并且与所示的细胞系靶温育20小时。收获上清液并通过细胞因子珠阵列分析。这些数据显示,在CD19⁺肿瘤细胞存在下,具有基于雌激素受体的弗林蛋白酶降解决定子结构域的CAR19以化合物依赖性并且不劣于亲本CAR19的方式特异性产生细胞因子(图10)。

[1195] 实施例12:ER- α FURON CART的化合物依赖性增殖作用

[1196] 将原代人T细胞用融合于抗CD19 scFv CAR构建体或亲本CD19 CAR构建体的ER α _{FD}弗林蛋白酶降解决定子结构域转导。在第9天用抗CD3/CD28刺激珠活化后添加100U/mLIL-2和巴多昔芬,并且在第11天冷冻T细胞。将T细胞解冻并且与所述的细胞系靶温育4天。通过FACS分析T细胞FurON-CAR数目。这些数据显示,在CD19⁺肿瘤细胞存在下,具有基于雌激素受体的弗林蛋白酶降解决定子结构域的CAR19以化合物依赖性并且不劣于亲本CAR19的方式特异性增值(图11)。

[1197] 实施例13:实施例14-26的材料与方法。

[1198] 以下一般的材料与方法用于实施例14-26中描述的测定法。

[1199] FurON构建体

[1200] 在一些实施方案中,本文所述的融合蛋白包含弗林蛋白酶降解决定子(FurON)结构域,所述结构域包含二个组件:降解决定子或降解结构域,其为在小分子配体不存在下不能获得正确构象的突变的蛋白结构域,和弗林蛋白酶切割位点。弗林蛋白酶降解决定子结构域可以与内质网中表达的目的蛋白融合。目的蛋白的N-和/或C末端可以用作融合位点,前提是弗林蛋白酶降解决定子结构域面朝内质网的管腔。目的蛋白可以是膜蛋白(无论跨膜结构域个数是多少)或可溶性蛋白。弗林蛋白酶切割位点应当相对于降解决定子结构域如此取向,从而切割作用导致弗林蛋白酶降解决定子结构域和目的蛋白分离。在小分子配

体或稳定作用化合物不存在下,弗林蛋白酶降解决定子结构域导致整个融合蛋白的去稳定化或降解。在小分子配体或稳定作用化合物存在下,融合蛋白免于降解。如此突变弗林蛋白酶降解决定子结构域,从而消除对其天然内源性配体的亲和力;保留对小分子配体或稳定作用化合物的亲和力;并且当小分子不存在时,赋予蛋白质不稳定性。

[1201] 产生几种在弗林蛋白酶降解决定子结构域内部包含不同突变和不同弗林蛋白酶切割位点的构建体并且融合于抗CD19 scFV CAR或抗CD123 scFV CAR的N末端。无论scFV重链和轻链的取向如何,弗林蛋白酶降解决定子结构域的融合在信号肽前导序列和scFV之间发生。在弗林蛋白酶降解决定子结构域内部所选的突变的蛋白质是截短形式的雌激素受体 α 。为稳定弗林蛋白酶降解决定子结构域所选择的小分子配体属于选择性雌激素受体调节剂或下调物家族。

[1202] 评估了小分子配体不存在或存在下,弗林蛋白酶降解决定子结构域使CAR结构去稳定化或稳定化的功效。当使用融合弗林蛋白酶降解决定子结构域时,还在小分子配体不存在或存在下评估CAR T细胞效应子功能的效力并且与亲本CAR19构建体比较。细胞对相同百分数表达CAR的细胞归一化。同时添加来自相同供体T细胞扩充过程的未转导的T细胞(UTD)。随后在共培养的测定法中使用归一化的群体,以测量CAR介导的溶细胞功能、细胞因子产生和增殖。

[1203] FurON CAR构建体产生

[1204] 基于上文描述的抗CD19或抗CD123 scFV序列,独立地合成在实施例评估的CAR构建体中所用的scFv。将scFV按照轻链至重链方向(抗-CD19)或重链至轻链方向(抗-CD123),应用连接VH结构域和VL结构域的柔性接头(例如,GGGSGGGSGGGSGGGGS,SEQ ID NO:29),克隆入含有CD8铰链区连同4-1BB分子和CD3 δ 分子的载体主链。为此目的,在scFV上游添加与去稳定化结构域融合的N末端弗林蛋白酶切割位点。在慢病毒载体中生成全部构建体。表23中提供多种FurON CAR构建体及其组件的序列。

[1205] 表23.FurON CAR构建体及其组件的序列

[1206]

	氨基酸序列	DNA 序列
ER1 WT (305aa-549aa)	SLALS LTADQMVSALLDAEPI LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLTLHDQVHLLLECAWLEILMI GLVWRSMEHPGKLLFAPNLL DRNQGKCVVEGMVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQQHQLAQLLLILSHIRHM SNKGMEHLYSMKCKNVVPLY DLLLEMLDAHRL (SEQ ID NO: 970)	tcgtggcactttccctgactgccgaccagatgggtccgcc ctctggacgccgagcctccaattctgtactcggagtacgat ccgactcgcccgttctccgaagccagcatgatgggcctgtt gactaacctggcggaccgagtggtgacatgattaac tgggctaagcgggtgccgggctctgtggacctgactctgc acgaccaagtgcacctcctggaatgcgctggctggaaa tcctcatgatcggcctctgtggagatccatggagatccc ggaaagctcctgtttgcacccaacctcctctgtgatcgaa ccagggaaaatgcgtggaagggatggtcgagattttcga catgctgctgccacctctcccggttccggatgatgaatc gcagggagaagatgcgtgtctgaagtcaatcatcctgc tgaactccgggtctatacctcctgagctcgacctcaagt cactggaggaaaaagaccacatccatcgctgctcgata agatcaccgacacccttatccatctatggcgaaggctgg actgacctgcaacagcagcaccagaggctggcccagtt gctgctgattctgagccacatccggcacatgctgaacaag gggatggaacacctgtacagcatgaagtgaagaacgctc gtcctctgtacgatctgctcctggaaatgctggacgcgca cagactc (SEQ ID NO: 971)
ERmut1 (6 突变)	SLALS LTADQMVSALLDAEPI LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLALHDQVHLLLECAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQQHQLAQLLLILSHIRHM SSKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRL (SEQ ID NO: 58)	tcgtggcactttccctgactgccgaccagatgggtccgcc ctctggacgccgagcctccaattctgtactcggagtacgat ccgactcgcccgttctccgaagccagcatgatgggcctgtt gactaacctggcggaccgagtggtgacatgattaac tgggctaagcgggtgccgggctctgtggacctggccctgc acgaccaagtgcacctcctggaatgcgctggatggaaa tcctcatgatcggcctctgtggagatccatggagatccc ggaaagctcctgtttgcacccaacctcctctgtgatcgaa ccagggaaaatgcgtggaagggggtgctcgagattttcga catgctgctgccacctctcccggttccggatgatgaatc gcagggagaagatgcgtgtctgaagtcaatcatcctgc tgaactccgggtctatacctcctgagctcgacctcaagt cactggaggaaaaagaccacatccatcgctgctcgata agatcaccgacacccttatccatctatggcgaaggctgg actgacctgcaacagcagcaccagaggctggcccagtt

[1207]

		gctgctgattctgagccacatccggccacatgctgccaaga ggatggaacacctgtacagcatgaagtgcaagaacgctg tgctctgtccgatctgctcctggaaatgctggacgcgca agactc (SEQ ID NO: 110)
ERmut2 (4 突变)	SLALSLTADQMVSALLDAEPPI LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLTLHDQVHLLLECAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIIHRVLDKITDTLIHLMAKAGLT LQQQHQLRAQLLLILSHIRHM SNKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRL (SEQ ID NO: 121)	tcgttgacacttccctgactgcccaccagatggtgtccgc cttctggacgcccagcctccaattctgtactcggagtagat ccgactcgccttctccgaagccagcatgatggcctgtt gactaacctggcggaccgagtggtgacatgattaac tgggctaagcgggtgcccggctcgtggacctgacctgc acgaccaagtgcacctcctggaatgcctggatggaaa tcctcatgatcggcctcgtgtggagatccatggagcatccc ggaaagctcctgtttgacccaacctcctgctgatcgca ccagggaaaatgctggaaggggtgctgagatttcga catgctgctcgcacctctcccgggtccggatgatgaatc gcagggagaagagtgctgtgtctgaagcaatcctcctgc tgaactccgggtctatacctcctgagctcgcacctcaagt cactggaggaaaaagaccacatccatcgcgtgctcgata agatcacccgacacctatccatcctatggcgaaggctgg actgacctgcaacagcagcaccagaggctggcccagtt gctgctgattctgagccacatccggccacatgctgaacaag aggatggaacacctgtacagcatgaagtgcaagaacgctc gtcctctgctccgatctgctcctggaaatgctggacgcgca cagactc (SEQ ID NO: 122)
弗林蛋白酶切割位点 1	RTKR (SEQ ID NO: 123)	cgtactaaaaga (SEQ ID NO: 1112)
弗林蛋白酶切割位点 2	GTGAEDPRPSRKRRSLGDVG (SEQ ID NO: 125)	ggaaccggcgcggaagacccccggcctccaggaagc gaaggctcctcggagacgtgggt (SEQ ID NO: 126)
弗林蛋白酶切割位点 3	GTGAEDPRPSRKRR (SEQ ID NO: 127)	ggaaccggcgcggaagacccccggcctccaggaagc gaagg (SEQ ID NO: 128)
弗林蛋白酶切割位点 4	LQWLEQQVAKRRTKR (SEQ ID NO: 129)	ctgcaatggctggagcagcaggtggcgaagcggagaac taagcgg (SEQ ID NO: 130)
弗林蛋白酶切割位点 5	GTGAEDPRPSRKRRSLGG (SEQ ID NO: 131)	ggcacaggtgccgaggacctcggccaagccgcaaaa ggaggtcacttgccggc (SEQ ID NO: 132)
弗林蛋白酶切割位点 6	GTGAEDPRPSRKRRSLG (SEQ ID NO: 133)	ggaaccggagcagaagatcccagaccaagccgaaa aggcggctccctgggt (SEQ ID NO: 134)
弗林蛋白酶切割位点 7	SLNLTESHNSRKRR (SEQ ID NO: 135)	agtctcaattgactgagtcacacaattccaggaagaaaa gg (SEQ ID NO: 136)
弗林蛋白酶切割位点 8	CKINGYPKRGRKRR (SEQ ID NO: 137)	tgcaagatcaacggctaccttaagaggggcagaaagcg gccc (SEQ ID NO: 138)
前导序列/信号肽 (SP)	MALPVTALLLPLALLLHAARP (SEQ ID NO: 139)	atggccctccctgtcaccgcccctgctcctccgctgctctc tgctccacgcccctcggccc (SEQ ID NO: 140)
SP-接头 1-ERmut1- 弗林蛋白酶切割位点 1-CD19 CAR1	MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSALLDAEP PILYSEYDPTRPFSEASMMGL LTNLADRELVHMINWAKRVPG FVDLALHDQVHLLLECAWMEIL MIGLVWRSMEHPGKLLFAPNL LLDRNQGKCVVEGGVEIFDMLL ATSSRFRMMNLQGEFVCLK SIILLNSGVYTFLSSTLKSLEEK DHIHRVLDKITDTLIHLMAKAG LTLQQQHQLRAQLLLILSHIRH MSSKRMEHLYSMKCKNVVPL SDLLEMLDAHRLRTKREIVM TQSPATLSLSPGERATLSCRA SQDISKYLNWYQQKPGQAPR LLIYHTSRLHSGIPARFSGSGS	atggccctccctgtcaccgcccctgctcctccgctgctctc tgctccaacgcccctcggcccctcgtcgtggtgacttccc tgactgccgaccagatggtgtccgcccctcctggacgcca gcctccaattctgtactcggagtagatccgactcgcctgtt ctccgaagccagcatgatggcctgttgactaacctggcg gaccgaggtgggcacatgattaactgggctaagcggg tgccgggctcgtggacctggcctgcacgaccaagtca cctcctggaatgcgcccctggatggaatcctcatgatcggcc tcgtgtggagatccatggagatcccggaaagctcctgtt gcaccaacctcctgctgatcgcaaccagggaaaatgc gtggaaggggtgctgagatttcgacatgctgctcggcac cttcccgggtccggatgatgaatcgcagggagaagagt tcgtgtctgaagtcaatcctcctgctgaactccggggtct atacctcctgagctcgcacctcaagtcaactggaggaaaa agaccacatccatcgcgtgctcgataagatcaccgacac ccttatccatcctatggcgaaggctggactgacctgcaac

[1208]

	<p>GTDYTLTISSLQPEDFAVYFC QQGNTLPYTFGQGKLEIKGG GSGGGGSGGGGSQVQLQE SGPGLVKPSETLSLTCTVSGV SLPDYGVSWIRQPPGKGLEWI GVIWGSETTYSSSLKSRVTIS KDNSKNQVSLKSSVTAADTA VYYCAKHYYYGGSYAMDYW GQGTLVTVSSTTTPAPRPTP APTIASQPLSLRPEACRPAAG GAVHTRGLDFACDIYIWAPLA GTCGVLLLSLVITLYCKRGRKK LLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFS RSADAPAYKQGQNQLYNELN LGRREEYDVLDKRRGRDPEM GGKPRRKNPQEGLYNELQKD KMAEAYSEIGMKGERRRGKG HDGLYQGLSTATKDTYDALH MQALPPR (SEQ ID NO: 141)</p>	<p>agcagcaccagagctggcccagttgctgctgattctgag ccacatccggcacatgctgccaagaggatggaacacct gtacagcatgaagtgaagaacgctgctctgctccgat ctgctcctggaatgctggaagcgacagactccgtacta aaagagaaattgtagtaccagtcacccgacctcttag ccttcacccggtagcgcgcaacctgtctgagagacct cccaagacatctcaaaatacctaattggtatcaacagaa gcccgacaggtcctcgtcctctgactaccacaccagc cggctccattctggaatccctgccagggtcagcgtagcgg atctgggaccgactacacctcactatcagctcactgag ccagaggactcgtctctattctgctcagcaagggaaacac cctgccctacaccttggacagggcaccagctcgagatt aaagtgagggtggcagcggaggggtgggtcggcg gtggaggaagccaggtccaactccaagaagcggacc gggctctgtaagccatcagaaccttctactgactgtact gtgagcggagtgctctccccgattacgggggtctggatc agacagccaccgggaagggctggaatggattggagt gattggggctctgagactacttactctctcatccctaag tcacgctcaccatctcaaggacaacttaagaatcag gtgtactgaaactgtatctgtgaccgagccgacaccg ccgtgactattgcgctaagcattactatattggcgggagct acgcaatggattactggggacagggactctgttcaccgt gtccagcaccactacccagcaccgaggccaccacc cggctcctaccatcgctccagcctctgtccctgctccg gaggcatgtagaccgcagctgggtgggcccgtgcatacc cggggtctgactcgcctgcgatatctacattgggcccctc tggctgtactgctgggtcctgctgttctactcgtgatcac tcttactgtaagcgcggctggaagaagctgctgtacatctt aagcaacctcatgaggcctgtgcagactcaagag gaggacgctgtcatgcccgtcccagaggaggaggaa ggcgctgcgaactgcgctgaaattcagccgacgc agatgctccagcctacaagcagggcagaaccagctct acaacgaactcaatctggctggagagaggagtacgagc tgctggacaagcggagaggacgggaccagaaatggg cgggaagcgcgcagaaagaatcccaagaggcctg tacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctat agcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggca aaggccacgagcgtgtaccagggactcagcaccgcc accaaggacacctatgacgtcttccatgacaggccctgc cgctcgg (SEQ ID NO: 142)</p>
<p>SP-接头 1-ERmut1- 弗林蛋白酶切割位点 2-CD19 CAR1 (构建 体 106)</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSALLDAEP PILYSEYDPTRPFSEASMMGL LTNLADRELVHMINWAKRVPG FVDLALHDQVHLLCAWMEIL MIGLVWRSMHPGKLLFAPNL LLDRNQKCVVEGGVEIFDMLL ATSSRFRMMNLQGEFVCLK SILLNSGVYTFLSSTLKSLEEK DHIHRVLDKITDTLIHLMAKAG LTLQQHQRLAQLLLILSHIRH MSSKRMEHLYSMKCKNVVPL SDLLEMLDAHRLGTGAEDPR PSRKRRSLGDVGEIVMTQSPA TSLSPGERATLSCRASQDIS KYLNWYQQKPGQAPRLIYHT SRLHSGIPARFSGSGSDTYT LTISSLQPEDFAVYFCQQGNT LPYTFGQGKLEIKGGGGSG GGGSGGGGSQVQLQESGPG LVKPSETLSLTCTVSGVSLPD</p>	<p>atggccctccctgtcaccgcccctgctcctccgctgctctc tgcctccacgcccctcggccccgctgctggtggcacttccc tgactcgcgaccagatggtgctccgcccctctggacgcgga gcctcaattctgactcggagtacgatccgactcggccgtt ctccgaagccagcatgatgggctgtgactaacctggcg gaccgcgagttggtgcacatgattaactgggctaagcggg tgcgggctcgtggacctggcctgcacgaccaagtga cctcctggaatgcccctggatgaaaacctcatgatcggcc tctgtggagatccatggagcatcccgaagctcctggtt gcacccaacctcctgctgatcgcaaccagggaaaatgc gtggaagggggtgctgagatttgcagatgctgctcgcac ctctcccgttccggatgatgaatctgcaggagagaagagt tctgtgtctgaagtcaatcatcctgctgaactcgggggtct atacctcctgagctcgaacctcaagtcactggaggaaaa agaccacatccatcgcgtgctcgataagatcaccgacac ccttatccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaac agcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgag ccacatccggcacatgctgccaagagggatggaacacct gtacagcatgaagtgaagaacgctgctcctctgctccgat ctgctcctggaatgctggacgacagactcggaaacc ggcgaggagaccggccctccagggaagcgaagg</p>

[1209]

	<p>YGVSWIRQPPGKGLEWIGVIW GSETTYSSSLKSRVTISKDN SKNQVSLKLSVTAADTAVYY CAKHYYYGGSYAMDYWGQG TLVTVSSTTTPAPRPPTPAPT ASQPLSLRPEACRPAAGGAV HTRGLDFACDIYWAPLAGTC GVLLLSLVITLYCKRGRKLLYI FKQPFMRPVQTTQEEDGCSC RFPEEEEEGGCELRVKFSRSA DAPAYKQGQNQLYNELNLGR REEYDVLDKRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMA EAYSEIGMKGERRRGKGDG LYQGLSTATKDTYDALHMQUAL PPR (SEQ ID NO: 143)</p>	<p>ccctcggagacgtgggtgaaattgtgatgaccagtcacc cgccactcttagcctttcaccgggtgagcgcgcaaccctgt cttgacagacccccaagacatctcaaaaacctaattgg tatcaacagaagcccggacaggtctctgccttctgatcta ccacaccagccggctccattctggaatccctgcaggttca gcggtagcggatctgggaccgactacacctcactatcag ctcactgcagccagaggactctgctgtctatttctgcagca aggaacacccctgccctacacctttggacagggcacc gctcagattaaggtgagggtggcagcggaggagggtg ggtccggcgggtggagggaagccaggtccaactccaagaa agcggaccgggtctgtgaagccatcagaaactctttcact gactgtactgtgagcggagtgtctctcccattacgggggt gtcttgatcagacagccaccggggaagggtctggaatg gattgagtgattgggctctgagactactactactctcat ccctcaagtcacgcgtaccatctcaaggaactctaa gaatcaggtgtactgaaactgtcatctgtgaccgcagcc gacaccgctgtactattgcgctaagcattactattatggc gggagctacgcaatggattactgggacaggggtactctg gtcaccgtgtccagcaccactacccagcaccgaggcca cccaccccggtcctaccatgcctcccagcctctgtccct gcgtccggaggcatgtagaccgcagctggtgggcccgt gcataccggggtctgactcgcctgcgatatctacattg ggcccctctggctggacttgcggggtcctgctgcttctc gtgatcactcttactgtaagcgcggctggaagaagctgt gtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagacta ctcaagaggaggacggctgtcatgcccgttccagagg aggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagc cgcagcgcagatgtccagcctacaagcaggggcaga accagctctacaacgaactcaatctgtgagagagagg agtacgacgtgtggacaagcggagaggacgggaccc agaaatggcgggaagcgcgcgagaagaatccca gaggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggc agaagcctatagcagattggtatgaaaggggaacgca gaagaggcaaggccacgacggactgtaccagggact cagcaccgccaagacacatgacgtcttccat gcaggccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 144)</p>
<p>SP-接头 1-ERmut1- 弗林蛋白酶切割位点 2-CD19 CAR2</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSALLDAEP PILYSEYDPTTRPFSEASMMGL LTNLADRELVHMINWAKRVPG FVDLALHDQVHLLCAWMEIL MIGLVWRSMHPGKLLFAPNL LLDRNQGKCVVEGGVEIFDMLL ATSSRFRMMNLQGEFVCLK SIILLNSGVYTFLSSTLKSLEEK DHIHRVLDKITDTLIHLMAKAG LTLQQHQRLAQLLLILSHIRH MSSKRMEHLYSMKCKNVVPL SDLLEMLDAHRLGTGAEDPR PSRKRRSLGDVGEIVMTQSPA TSLSPGERATLSCRASQDIS KYLNWYQQKPGQAPRLIYHT SRLHSGIPARFSGSGSDTYT LTISSLQPEDFAVYFCQQGNT LPYTFGGQTKLEIKGGGSG GGGSGGGGSQVQLQESGPG LVKPKSETLSLCTVSGVSLPD YGVSWIRQPPGKGLEWIGVIW GSETTYSSSLKSRVTISKDN SKNQVSLKLSVTAADTAVYY CAKHYYYGGSYAMDYWGQG</p>	<p>atggccctccctgtcaccgcccctgctctccgctggtcttc tgctccaagcgcctcggccccggctgctgtggcactttcc tgactcgcaccagatggtgctccgcccctctggacgcgca gcctccaattctgtactcggagtacgatcgcgactcgcgggt ctccgaagccagatgatggcctgtgactaacctggcg gaccgcgagttggtgcacatgattaactgggtaagcggg tgccgggctctggtgacctggccctgcagcaccagtgca cctctggaatgcgcctggatggaatcctcatgatcggcc tcgtgtggagatccatggagcatcccggaagctcctgttt gcaccaacctcctgctgatcgaaccagggaatgca gtggaagggggtgcgagatttgcagatgctgctcggc ctctccgggtccggatgatgaatcgcaggagagaagat tcgtgtctgaagtcaatcctcctgctgaactccggggtct atacctcctgagctcgaacctcaagtcactggaggaaaa agaccacatccatcgcgtgctcgataagatcaccgacac ccttatccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaac agcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgag ccacatccggcacatgtgtccaagaggatggaacact gtacagatgaagtgaagaacgctgctcctctgctccgat ctgctcctggaatgctggacgcgcagactcggaaacc ggcgcggaagacccccggccctccagggaagcgaaggt ccctcggagacgtgggtgaaattgtgatgaccagtcacc cgccactcttagcctttcaccgggtgagcgcgcaaccctgt cttgacagacccccaagacatctcaaaaacctaattgg tatcaacagaagcccggacaggtctctgccttctgatcta</p>

[1210]

	<p>TLVTVSSTTTPAPRPPTPAPTI ASQPLSLRPEACRPAAGGAV HTRGLDFACDIYWAPLAGTC GVLLLSLVITLYCKRGRKLLYI FKQPFMRPVQTTQEEDGCSC RFPEEEEEGGCELRVKFSRSA DAPAYQQGQNQLYNELNLGR REEYDVLDRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMA EAYSEIGMKGERRRGKGDG LYQGLSTATKDTYDALHMQUAL PPR (SEQ ID NO: 145)</p>	<p>ccacaccagccggctccattctggaatccctgccaggttca gcggtagcggatctgggaccgactacacccctcactatcag ctcactgcagccagaggactcgtgtctatttctgcagca aggaacacccctgccctacaccttggacagggcaccaa gctcgagattaagggtggagggtggcagcggaggagggtg ggtccggcgggtggaggagccagggtccaactccaagaa agcggaccgggtctgtgaagccatcagaaactcttctact gactgtactgtgagcggagtgtctctcccggattacgggg gtcttgatcagacagccaccggggaaggggtctggaatg gattggagtatttggggctctgagactactactactctcat ccctcaagtacgcgtccatctcaaaaggacaactctaa gaatcagggtcactgaaactgtcatctgtgaccgcagcc gacaccgccgtgtactattgcgtaagcattactattatggc gggagctacgcaatggacttgggacaggggtactctg gtcaccgtgtccagcaccactacccagcaccgaggcca cccacccggctcctaccatgcctcccagcctctgtccct gcgtccggaggcatgtagaccgcagctggtggggccgt gcatacccggggtctgactcgcctgcgatatctacattg ggccccctggctggtacttgcggggtcctgctcttctactc gtgatcactcttactgtaagcgcggctggaagaagctgt gtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagacta ctcaagaggaggacggctgttcatgcccgttccagagg aggaggaaaggcggctgcaactgcgcgtgaaatcagc cgcagcgcagatgtccagcctaccagcaggggcagaa ccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagagga gtacgacgtctggacaagcggagagggacgggaccca gaaatgggcccgaagccgcgagaaagaatcccaag agggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggca gaagcctatagcagattggtatgaaaggggaaagcag aagaggcaaaggccagcagcactgtaccagggactc agcaccgccaagacacatgacgctcttccatg caggccctgcgcctcgg (SEQ ID NO: 146)</p>
<p>SP-接头 1-ERmut1- 弗林蛋白酶切割位点 3-CD19 CAR1 (构建 体 103)</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSALLDAEP PILYSEYDPTTRPFSEASMMGL LTNLADRELVHMINWAKRVPG FVDLALHDQVHLLCAWMEIL MIGLVWRSMEHPGKLLFAPNL LLDRNQGKCVVEGGVEIFDMLL ATSSRFRMMNLQGEFVCLK SIILLNSGVYTFLSSTLKSLEEK DHIHRVLDKITDTLIHLMAKAG LTLQQHQRLAQLLLILSHIRH MSSKRMEHLYSMCKKNVPL SDLLEMLDAHRLGTGAEDPR PSRKRREIVMTQSPATLSLSP GERATLSCRASQDISKYLNWY QQKPGQAPRLLIYHTSRLHSG IPARFSGSGSGTDYTLTISLQ PEDFAVYFCQQGNTLPYTFG QGTKLEIKGGGGSGGGGSGG GGSQVQLQESGPGLVKPSE TSLTCTVSGVSLPDYGV WIRQPPGKLEWIGVIWGS ETYYSSSLKSRVTISKDNS KNQVSLKLSSVTAADTAVY YCAKHYYYGGSYAMDYW GQGTLVTVSSTTTPAPRPP TPAPTIASQPLSLRPEACRP AAGGAVHTRGLDFACDIYI</p>	<p>atggccctccctgtcacccctgctgctccgctggctctc tgctccaagcgcgctcggccccgctgctggtggcacttccc tgactcgcgaccagatggtgctccgctctgagcgcgga gcctccaattctgtactcggagtagatcgcagctcgcctgt ctccgaagccagcatgatggcctgttactaacctggcg gaccgcgagttggtgcacatgattaactgggtaagcggg tgccgggctcgtggacctggccctgcagcaccagtgca cctcctggaatgcgctggatggaatcctcatgatcggcc tcgtgtggagatccatggagcatcccgaaagctcctgttt gcaccaaacctcctgctgatcgaaccagggaaaaatgc gtggaagggggtgctgagatttgcagatgctgctcgcac cttctccggtccggatgatgaatctgcagggagaagagt tcgtgtgctgaagtcaatcatcctgctgaaactccgggtct atacctcctgagctgcaccccaagtcactggaggaaaa agaccacatccatgcggtgctcgataagatcaccgcacac ccttatccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaac agcagcaccagaggctggccagttgctgctgattctgag ccacatccggcacatgctgccaagaggatggaacacct gtacagcatgaagtgaagaacgctgctcctctgtccgat ctgctcctggaatgctggacgcgcacagactcgggacg ggagctgaagatccacgaccagcagaaagcagcggg aaattgtgatgaccagtcacccgccactctagccttccac ccgggtgagcgcgcaaccctgcttgcagagcctcccaag acatctcaaaaaccttaattggtatcaacagaagccgg acaggctcctgcctctgactaccacaccagcggctcc attctggaatccctgcaaggtcagcggtagcggatctggg accgactacaccctactatcagctcactgcagccagag gactcgtgtctatttctgcagcaagggaaacacctgccc tacaccttggacagggcaccagctcgagattaagggtg</p>

[1211]

	<p>WAPLAGTCGVLLLSLVITLY CKRGRKLLYIFKQPFMRP VQTTQEEDGCSCRFPEEE EGGCELRVKFSRSADAPA YKQGQNQLYNELNLGRRE EYDVLDRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDK MAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYD ALHMQALPPR (SEQ ID NO: 147)</p>	<p>gaggtggcagcggaggaggtgggtccggcgggtggagg aagccaggtccaactccaagaaagcggaccgggtctgt gaagccatcagaaactcttactgactgtactgtgagcg gagtctctccccgattacgggggtcttggatcagacag ccaccggggaagggctggaatggattggagtgatttggg gctctgagactacttactcttcatccctcaagtcacgct cacatctcaaaggacaacttaagaatcagggtgactg aaactgtcatctgtgaccgcagccgacaccgctgtact attgctgaagcattactattatggcgggagctacgcaatg gattactggggacaggggtactctgtgaccgtgtccagca ccactaccccagcaccgaggccaccaccccggctccta ccatcgctcccagcctctgtccctgctcgggaggtatg agaccgcagctggtggggccgtgcataccggggctt gacttcgctgcatctacattggccctctggctgta ctgcggggtctgctgttactctgtgatcttactgta agcgggtcggagaagctgctgtacatcttaagcaacc ctcatgaggcctgtgagactactcaagaggaggacgg ctgtcatgcccgttccagaggaggaggaggcggctg cgaactgcgctgaaattcagccgagcgcagatgctcc agcctacaagcggggcagaaccagctctacaacgaa ctcaatctggtcggagagaggagtagcagctgtggaca agcggagaggacgggaccagaaatggcgggagc cgcgcaaaagaatcccaagaggcctgtacaacga gctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaggcca cgacggactgtaccaggactcagaccgcccacaagg acacatgacgctctcatatgcaggccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 148)</p>
<p>SP-接头 1-ERmut1- 弗林蛋白酶切割位点 3-CD19 CAR2</p>	<p>MALPVTALLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSALLDAEP PILYSEYDPTTRPFSEASMMGL LTNLADRELVHMINWAKRVPG FVDLALHDQVHLLCAWMEIL MIGLVWRSMEHPGKLLFAPNL LLDRNQGKCVVEGGVEIFDMLL ATSSRFRMMNLQGEFVCLK SIILLNSGVYTFLSSTLKSLEEK DHIHRVLDKITDTLIHLMKAG LTQQQHQRLAQLLLSHIRH MSSKRMEHLYSMKCKNVVPL SDLLEMLDAHRLGTGAEDPR PSRKRREIVMTQSPATLSLSP GERATLSCRASQDISKYLWY QKPGQAPRLIYHTSRLHSG IPARFSGSGSGTDYTLTISSLQ PEDFAVYFCQQGNTLPYTFG QGTKLEIKGGGGSGGGSGG GGSQVQLQESGPLVKPSET LSLTCTVSGVSLPDYGVSWIR QPPGKLEWIGVIWGSETTY SSSLKSRVTISKDNSKNQVSL KLSSVTAADTAVYYCAKHYYY GGSYAMDYWGQGLTVVSSST TTPAPRPPTPAPTIASQPLSLR PEACRPAAGGAVHTRGLDFA CDIIWAPLAGTCGVLLLSLVIT LYCKRGRKLLYIFKQPFMRP VQTTQEEDGCSCRFPEEEEG GCELRVKFSRSADAPAYQQG QNQLYNELNLGRREEYDVL KRRGRDPEMGGKPRRKNPQ</p>	<p>atggccctccctgtcaccgcccctgctctccgctggtcttc tgcctcacgcccctcggcccctgctgtggtgacttccc tgactgcgaccagatgggtcggcccctctggacgcca gctccaattctgtactcggagtagcagactcggactcggc ctccaagccagcatgatgggctgtgactaacctggcg gaccgcgagttggtgcacatgattaactgggtaagcggg tgcgggctctgtggaactggcccctgcagaccaagtga cctcctggaatgcgctggatggaatcctcatgatcggcc tctgtggagatccatggagcatcccggaaagctcctggtt gcaccaacctcctgctgatcgaaccagggaatgc gtggaaggggtgctgagatttgcagatgctgctcggcac ctctcccgttccggatgatgaatctgcaggagagaagag tctgtgtctgaagtcaatcactcctgctgaactcggggtct atacctcctgagctgaccctcaagtcactggagga agaccacatccatcggctgctgataagatcaccgacac ccttatccatctcatggcgaaggctggactgaccctgcaac agcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgag ccacatccggcagatgctccaagaggatggaacacct gtacagcatgaagtgaagaacgctgctcctctgctccgat ctgctcctggaatgctggacgcccagactcgggagc ggagctgaagatccagaccagcagaaagcagcggg aaattgtgatgaccagtcaccgcccactctagccttcac ccggtagcgcgcaaccctgcttcagagcctcccaag acatctcaaaataccttaattggtatcaacagaagcccgg acaggctcctcgcctctgatctaccacaccagccggctcc attctggaatccctgccaggtcagcggtagcggatctggg accgactacacctcactatcagctcactgacggcagag gacttcgctgtctattctgtcagcaagggaacacctgccc tacaccttggacagggcaccagctcagatgaatgaaggtg gagggtggcagcggaggaggtgggtccggcgggtggagg aagccaggtccaactccaagaaagcggaccgggtctgt gaagccatcagaaactcttactgactgtactgtgagcg gactgtctccccgattacgggggtcttggatcagacag</p>

[1212]

	<p>EGLYNELQKDKMAEAYSEIGM KGERRRGKGDGLYQGLSTA TKD TYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 149)</p>	<p>ccaccgggaagggctggaatggattggagtgattggg gctctgagactacttactactcttcatccctcaagtcacgcgt cacatctcaaggacaactctaagaatcagggtgactg aaactgtcatctgtagccgcagccgacaccgcccgtgact attgcgtaagcattactattatggcgggagctacgcaatg gattactggggacagggactctggtcaccgtgtccagca ccactaccccagcaccgaggccaccaccccggctccta ccatcgctcccagcctctgtccctgctgtaggagcatgt agaccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtctt gactcgctcgatatactcattgggccctctggctgta ctgcccggctctgctgtcttactcgtgatcactcttactgta agcgcggtcgaagaagctgctgtacatcttaagcaacc ctcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacgg ctgtcatgcccgttccagaggagggaaggcggctg cgaactgcgctgaaatcagccgagcgcagatgctcc agcctaccagcaggggcagaaccagctctacaacgaac tcaatctggtcggagagaggagtacgacgtgtggaca agcggagaggacgggaccagaaatggcggggaagc cgcgagaaagaatcccgaagaggcctgtacaacga gctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaggggaacgcagaagaggcaaggcca cgacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaagg acacctatgacgctctcactgtagccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 150)</p>
<p>SP-接头 1-ERmut2- 弗林蛋白酶切割位点 1-CD19 CAR1</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSALLDAEP PILYSEYDPTTRPFSEASMMGL LTNLADRELVHMINWAKRVP FVDLTLHDQVHLLCAWMEIL MIGLVWRSMHPGKLLFAPNL LLDRNQGKCVVEGGVEIFDMLL ATSSRFRMMNLQGEFVCLK SIILLNSGVYTFLSSTLKSLEEK DHIHRVLDKITDTLIHLMKAG LTLQQHQRLAQLLLILSHIRH MSNKRMEHLYSMKCKNVVPL SDLLEMLDAHRLRTKREIVM TQSPATLSLSPGERATLSCRA SQDISKYLNWYQQKPGQAPR LLIYHTSRLHSGIPARFSGSGS GTDYTLTISSLQPEDFAVYFC QQGNTLPYTFGQGTLEIKGG GSGGGGGSGGGGSQVQLQE SGPGLVKPSETLSLTCTVSGV SLPDYGVSWIRQPPGKLEWI GVIWGSETTYSSSLKSRVTIS KDNSKNQVSLKLSSVTAADTA VYYCAKHYYYGGSYAMDYW GQGTLVTVSSTTTAPRPPTP APTIASQPLSLRPEACRPAAG GAVHTRGLDFACDIYIWA PLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKK LLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFS RSADAPAYKQQQNQLYNELN LGRREEYDVLDKRRGRDPEM GGKPRRKNPQEGLYNELQKD KMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDYDALH MQALPPR (SEQ ID NO: 151)</p>	<p>atggccctccctgtcacccctgctgcttccgctggtctctc tgcctccacgcgctcggccccggtcgtcggtggcactttcc ctgactcgcgaccagatgggttccgcccctctggacgccc agcctccaattctgtactcggagtacgatccgactcgcgcc ttctccgaagccagcatgatgggctgttgactaacctggc ggaccgcgagttggtgcatgattaactgggctaagcgg gtgcccggctctgtagcctgaccctgcacgaccaagtg acctctggaatgcgctggatggaaatcctcatgctg cctcgtgtggagatccatggagcatcccggaaagctcctg ttgcaccaacctcctgctgatgcgaaccagggaatg cgtggaagggggtgtagatcttgcagatgctgctgcga cctctcccgggtccggatgatgaatctgcaggagaaga gttcgtgttctgaagtcaatcatcctgctgaactccgggt ctataccttctgagctcagccctcaagtcactggaggaaa aagaccacatcctcgcgtgctgcgataagatcaccgaca ccctatcctcctcagcgaaggtgtagctgaccctgcaa cagcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctga gccacatccggcacatgtcgaacaagaggatggaacac ctgtacagcatgaagtgaagaacgtgctgctctgctccg atctgctcctggaatgctggacgcgcacagactccgtact aaaagagaatgtgatgaccagctcaccgccactctta gccttaccgggtgagcgcgcaaccctgcttgcagagc ctccaagacatctcaaaataccttaattggatcaacaga agcccggacaggctcctgcctctgactatcaccacaccag ccggctccattctggaatccctgcccaggtcagcggtagcg gatctgggaccgactacaccctcactatcagctcactgca gccagaggactcctgcttatttctgtagcaagggaaca ccctgccctacaccttggacagggcaccacagctcagat taaaggtggaggtgtagcggaggagggtgggtccggcg gtggaggaagccaggtccaactccaagaaagcggacc gggctctgtagcctcagaaactcttactgactgtact gtgagcggagtgctctcccggatcaggggtgcttggatc agacagccaccggggaagggctggaatggattggagt gattggggctcagactacttactactctcactcctcaag tcacgcgtcaccatctcaaggacaactctaagaatcag gtgactgaaactgtatctgtgaccgcagccgacaccg ccgtgactattgcgctaagcattactattatggcgggagct</p>

[1213]

		<p>acgcaatggattactggggacagggactctgtgacccgt gtccagcaccactaccccagcaccgagggccaccacc cggtcctaccatcgctcccagcctctgtccctgctccg gaggcatgtagaccgcagctggggcggtgcatacc cggggtctgacttcgctcgatatactacattgggccc tggctggtacttcggggctctgctttcactcgtgatcac tcttactgtaagcgcggtcgaagaagctgctgtacatctt aagcaaccctcatgaggcctgtgcagactactcaagag gaggacggctgtcatgccggtcccagaggaggaggaa ggcggctgcgaactgcgctgaaattcagccgagcgc agatgctccagcctacaagcagggggcagaaccagctct acaacgaactcaatctggtcggagagaggagtacgacg tgctggacaagcggagaggacgggaccagaaatggg cggaagccgagcagaagaatcccaagaggcctg tacaacgagctccaaaaggataagtggcagaagcctat agcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggca aaggccacgacggactgtaccagggactcagcaccgcc accaaggacacctatgacgctctcacatgcaggccctgc cgctcgg (SEQ ID NO: 152)</p>
<p>SP-接头 1-ERmut2- 弗林蛋白酶切割位点 2-CD19 CAR1 (构建 体 130)</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSALLDAEP PILYSEYDPTTRPFSEASMMGL LTNLADRELVHMINWAKRVPG FVDLTLHDQVHLLCAWMEIL MIGLVWRSMEHPGKLLFAPNL LLDRNQKGCVEGGVEIFDMLL ATSSRFRMMNLQGEFVCLK SIILLNSGVYTFLSSTLKSLEEK DHIHRVLDKITDTLIHLMAKAG LTLQQQHQRLAQLLLILSHIRH MSNKRMEHLYSMKCKNVVPL SDLLEMLDAHRLGTGAEDPR PSRKRRSLGDVGEIVMTQSPA TSLSPGERATLSCRASQDIS KYLNWYQQKPGQAPRLIYHT SRLHSGIPARFSGSGSDTYT LTISSLQPEDFAVYFCQQGNT LPYTFGQGKLEIKGGGGSG GGGSGGGGSQVQLQESGPG LVKPSETLSLCTVSGVSLPD YGVSWIRQPPGKLEWIGVIV GSETTYSSSLKSRVTISKDN SKNQVSLKLSSVTAADTAVYY CAKHYYYGGSYAMDYWGQG TLVTVSSTTTPAPRPPTPAPT ASQPLSLRPEACRPAAGGAV HTRGLDFACDIYWAPLAGTC GVLLLSLITLYCKRGRKLLYI FKQPFMRPVQTTQEEDGCSC RFPEEEEGGCELRVKFSRSA DAPAYKQGQNQLYNELNLGR REEYDVLDKRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMA EAYSEIGMKGERRRGKGDH LYQGLSTATKDTYDALHMQUAL PPR (SEQ ID NO: 153)</p>	<p>atggccctccctgtcaccgcccgtgcttccgctgctctc tgctccacgcccgtcggccccgtgctgtggcacttccc tgactcgcaccagatgggtccgccccttgagcgcga gctccaattctgtactcggagtagatccgactcgcggt ctccgaagccagcatgtggcctgttgactaacctggcg gaccgcgagttggtgcacatgattaactgggtaagcggg tgccgggctcgtggacctgacctgcagaccaagtga cctcctggaatgcgctggatggaatcctcatgatcggcc tcgtgtggagatccatggagcatcccgaagctcctggtt gcaccaacctcctgctgatcgaaccagggaatgc gtggaaggggtgctgagatttcgacatgctgctcggcac cttcccggttccgagatgaaatcgcaggagagagat tcgtgtgctgaagtcaatcctcgtgaaatccgggtct atacctcctgagctgaccctcaagtcactggagaaaa agaccacatccatcgctgctgataagatcaccgacac ccttatccatctcatggcgaaggtcggactgacctgcaac agcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgag ccacatccggcacatgctgaacaagaggatggaacacc tgtacagcatgaagtgaagaacgctgctcctgctcogat ctgctcctggaatgctggacgcgcacagactcggaaacc ggcgcggaagacccccggccctccagggaagcgaaggt ccctcggagacgtgggtgaaattgtgatgaccagtcacc cgccactctagccttcaaccgggtgagcgcgcaaccctgt ctgacagacctcccaagacatctcaaaaacttaattgg tatcaacagaagcccggacaggtcctcctcctctgatcta ccacaccagccggtccattctggaatccctgcccaggttca gctgtagcggatctgggaccgactacaccctcactatcag ctcactgcagccagaggactcgtgctatcttctgtagca aggaacaaccctgcctacaccttgacagggcaccaa gctcagattaaggtggaggtgagcagcggaggagggtg ggtccggcgtggagggaagccaggtccaactccaagaa agcggaccgggtctgtgaagccatcagaactcttact gactgtactgtgagcggaggtctctccccgattacggggt gtcttgatcagacagccaccgggaagggctggaatg gattggagtgattgggctcctgagactactactctctcat ccctcaagtacgcgctccatctcaaggacaactctaa gaatcaggtgctactgaaactgtcatctgtgaccgagcc gacaccgctgtactattgctgtaagcattactattatggc gggagctacgcaatggactggggacagggactctg gtaccggtcagcaccactacccagcaccgaggcca cccacccggtcctaccatgcctcccagcctctgctcct gcgtccggaggcatgtagaccgcagctggtgggcccgt</p>

[1214]

		<p>gcatacccgggcttgactgcctgcgatatctacattg ggccctctggctgacttcgggctcctgctgttctactc gtgactactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgt gtacatctttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagacta ctcaagaggaggacgctgttcatgcccgttcccagagg aggaggaaggcggctgcaactgcgctgaaattcagc cgagcgcagatgctccagcctacaagcaggggcaga accagctctacaacgaactcaatcttgctggagagagg agtacgacgtgctggacaagcggagaggacgggacc agaaatgggcggaagccgcgcagaaagaatccc gagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggc agaagcctatagcgagattggtatgaaaggggaacgca gaagaggcaaaggccacgacgactgtaccagggact cagcaccgccaaggaacactatgacgcttccat gcaggccctgccgctcgg (SEQ ID NO: 154)</p>
<p>SP-接头 1-ERmut2- 弗林蛋白酶切割位点 2-CD19 CAR2</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSALLDAEP PILYSEYDPTRPFSEASMMGL LTNLADRELVHMINWAKRVPG FVDLTLHDQVHLLCAWMEIL MIGLVWRSMHPGKLLFAPNL LLDRNQGKCVVEGGVEIFDMLL ATSSRFRMMNLQGEFVCLK SIILLNSGVYTFLSSTLKSLEEK DHIHRVLDKITDTLIHLMKAG LTLQQHQRLAQLLLILSHIRH MSNKRMEHLYSMKCKNVVPL SDLLEMLDAHRLGTGAEDPR PSRKRRSLGDVGEIVMTQSPA TSLSPGERATLSCRASQDIS KYLNWYQKPGQAPRLLIYHT SRLHSGIPARFSGSGSDTYT LTISSLQPEDFAVYFCQQGNT LPYTFGQGKLEIKGGGGSG GGGSGGGGSQVQLQESGPG LVKPSETLSLCTVSGVSLPD YGVSWIRQPPGKLEWIGVIV GSETYYSSSLKSRVTISKDN SKNQVSLKSSVTAADTAVYY CAKHYYYGGSYAMDYWGQG TLVTVSSTTTPAPRPPTPAPT ASQPLSLRPEACRPAAGGAV HTRGLDFACDIYWAPLAGTC GVLLLSLVTLYCKRGRKLLLYI FKQPFMRPVQTTQEEDGCSC RFPEEEEGGCELRVKFSRSA DAPAYQQGQNQLYNELNLGR REEYDVLDKRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQDKMA EAYSEIGMKGERRRGKGHGDG LYQGLSTATKDTYDALHMQUAL PPR (SEQ ID NO: 155)</p>	<p>atggccctccctgtcacccctgctgctccgctgctctc tgctccacgcccctcggccccgctgctgtggcacttccc tgactgccgaccagatggtgctccgctctgagcggcga gcctccaattctgactcggagtagatcgcagctcggcgt ctccgaagccagatgattggcctgtgactaacctggcg gaccgcgagttggtgcacatgattaactgggctaagcggg tgccgggctcgtggacctgacctgcagccaagtgc cctcctggaatgcgctggaatcctcatgactcggcc tcgtgtggagatccatggagatcccggaaagctcctgtt gcacccaacctcctgctgacgcaaccagggaatgc gtggaagggggtgctgagatttgcagatgctgctgccac ctctcccgggtccggatgtagaatctgcagggagaagagt tcgtgtgctgaagtcaatcatcctgctgaaactcggggtct atacctcctgagctgcacctcaagtactggagga agaccacatccatcggctgctcgataagatcaccgacac ccttatccatctatggcgaaggctggactgacctgcaac agcagcaccagagggctggcccagttgctgattctgag ccacatccggcacatgctgaacaagaggatggaacacc tgtacagcatgaagtgaagaacgctgctcctgctcggat ctgctcctggaatgctggacgcgcagactcggaaacc ggcgcggaagacccccggccctccaggaagcgaagg ccctcggagacgtgggtgaaattgtgatgaccagtcacc cgccactctagccttcccccggctgagcgcgcaaccctgt ctgagagcctcccaagacatctcaaaaactcttaattgg tatcaacagaagcccgacagggctcctcctcctgatcta ccacacagccggctccattctggaatcctgcccaggttca gaggtagcggatctgggaccgactacacccctactatcag ctactgcagccagaggactcgtgctctatttctgtagca agggaacacccctgccctacaccttgagcagggcacc gctcagattaagggtgagggtggcagcggaggagggtg ggtccggcgggtgagggaagccaggtccaactccaagaa agcggaccgggtctgtgaagccatcagaaactcttact gactgtactgtgagcggagtgtctctcccattacggggt gtcttgatcagacagccaccggggaagggtctggaatg gattggagtattgggctcgtgagactactactctcat ccctcaagtacgcgtcaccatctcaaggacaactctaa gaatcaggtgactgaaactgcatctgtagccgcagcc gacaccgctgtactattgcgtaagcattactattatggc gggagctacgcaatgattactggggacagggactctg gtcaccgtgtccagcaccactacccagcaccgaggcca cccacccggctcctaccatgcctcccagcctctgctcct gcgtccggaggcatgtagaccgcagctggtggggcgt gcatacccgggctgactgcctgcgatatctacattg ggccctctggctgacttcggggctcctgctgttctactc gtgactactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgt gtacatctttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagacta</p>

[1215]

		<p>ctcaagaggaggacggctgttcatgccgggtccagagg aggaggaaggcggctgcaactgcgctgaaattcagc cgcagcgcagatgctccagcctaccagcaggggagaa ccagctctacaacgaactcaatttggctggagagagga gtacgacgtgctggacaagcggagaggacgggacca gaaatgggagggaagccgcgcagaaagaatcccaag agggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggca gaagcctatagcagattggtatgaaaggggaacgcag aagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactc agcaccgcccaaggacacctatgacgctcttcacatg caggccctgccgctcgg (SEQ ID NO: 156)</p>
<p>SP-接头 1-ERmut2- 弗林蛋白酶切割位点 3-CD19 CAR1</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSALLDAEP PILYSEYDPTRPFSEASMMGL LTNLADRELVHMINWAKRVP FVDLTLHDQVHLLCAWMEIL MIGLVWRSMEHPGKLLFAPNL LLDRNQGKCVVEGGVEIFDMLL ATSSRFRMMNLQGEFVCLK SIILLNSGVYTFLSSTLKSLEEK DHIHRVLDKITDTLIHLMKAG LTLQQHQRLAQLLLSHIRH MSNKRMEHLYSMKCKNVVPL SDLLEMLDAHRLGTGAEDPR PSRKRREIVMTQSPATLSLSP GERATLSCRASQDISKYLWY QQKPGQAPRLIYHTSRLHSG IPARFSGSGSGTDYTLTISSLQ PEDFAVYFCQQGNTLPYTFG QGTKLEIKGGGGSGGGSGG GGSQVQLQESGPGLVKPSSET LSLTCTVSGVSLPDYGVSWIR QPPGKGLEWIGVIWGSETTY SSSLKSRVTISKDNSKNQVSL KLSSVTAADTAVYYCAKHY GGSYAMDYWGQGLTVVSS TTPAPRPPTPAPTIASQPLSLR PEACRPAAGGAVHTRGLDFA CDIYWAPLAGTCGVLLSLVIT LYCKRGRKLLYIFKQPFMRP VQTTQEEDGCSCRFPEEEEG GCELRVKFSRSADAPAYKQG QNQLYNELNLGRREEYDVL KRRGRDPEMGGKPRRKNPQ EGLYNELQKDKMAEAYSEIGM KGERRRGKGHDLGQLSTA TKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 157)</p>	<p>atggccctccctgtcaccgcccgtgcttccgctgcttcc tgctccacgcccgtcggccccggtcgTcgttggcactttcc ctgactcgcgaccagatgggtgccccctctggagcgcg agcctccaattctgtactcggagtagcagatccgactgc ttctccgaagccagcatgatgggctgttgactaacctggc ggaccgcgagttggtgacatgattaactgggctaagcgg gtgcccggctcgtggacctgacctgcacgaccaagtg acctctggaatgcgctggtgaaatcctcatgatcgg cctcgtgtggagatcctaggatcccgaaagctcctg ttgcacccaacctcctgtgatcgcaaccagggaaaatg cgtggaaggggtgctgagatttgcagatgctgctcgcca cctctcccgggtccggatgatgaatcgcaggggagaaga ggtcgtgtctgaagtcaatcactcctgaaactcgggg ctatacctcctgagctcaccctcaagtcactggaggaaa aagaccacatccatcgcgtgctcgataagatcaccgaca cccttatccatctcatgagcgaaggctggactgacctgcaa cagcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctga gccacatccggcagatgcaacaagaggatggaacac ctgtacagcatgaagtgaagaacgctgctcctgtcgg atctgctcctggaatgctggacgcgcagagactcGgga cgggagctgaagatccacgaccagcagaagcgcagc ggaaattgtgatgaccagtcaccgccactcttagccttcc accgggtgagcgcgcaacctgtctgacagaccccca agacatctcaaaataccttaattggtatcaacagaagccc ggacaggctcctgccttctgacttaccacaccagccggct ccattctggaatccctgcccaggtcagcggtagcggatctg ggaccgactacacctcactatcagctcactgcagccag aggactcgtgctctatttctgacgaagggaacacctg ccctacaccttggacagggcaccagctcagagattaaa gggtgaggtggcagcggaggaggtgggtcggcgggtg aggaagccaggtccaactccaagaaagcggaccgggt ctgtgaagccatcagaactcttctactgactgtactgtga gaggagtgctctccccgattacgggtgcttggatcaga cagccaccgggaagggctggaatggattggagtgatt ggggctctgagactactactcttcatccctcaagtcac gctcaccatctcaaaggacaactctaagaatcaggtgct actgaaactgtcatctgaccgcagccgacaccgcccgtg tactattgcgctaagcattactattaaggcggagctacgca atggattactggggacagggactcctggtcaccgtgcccag caccactacccagcaccgagggcaccaccccggtc ctaccatgcctcccagcctctgctcctgctcggaggca ttagaccgcagctggtggggcgtgcataaccgggggt ctgactcgcctgcgatatctacatttgggccctctggctg gtacttgggggtcctgctgcttactcgtgatcacttact gtaagcggctggaagaagctgctgacatcttaagca accctcatgaggcctgtgcagactactcaagaggagga cggctgtcatgcccgggtcccagaggagggaagggcgg ctgcgaactgcgctgaaattcagccgagcgcagatgc tccagcctacaagcaggggcagaaccagctctacaacg aactcaatctggtcggagagaggatcagcagctgctgg</p>

[1216]

		acaagcggagaggacgggacccagaaatggcgggga agccgcgcagaaagaatccccaagaggcctgtacaa cgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcg agattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaagg ccacgacggactgtaccagggactcagaccgccacca aggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgcccg tegg (SEQ ID NO: 158)
SP-接头 1-ERmut2- 弗林蛋白酶切割位点 3-CD19 CAR2	MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSALLDAEP PILYSEYDPTRPFSEASMMGL LTNLADRELVHMINWAKRVPG FVDLTLHDQVHLLCAWMEIL MIGLVWRSMEHPGKLLFAPNL LLDRNQGKCVVEGGVEIFDMLL ATSSRFRMMNLQGEFVCLK SIILLNSGVYTFLSSTLKSLEEK DHIHRVLDKITDTLIHLMKAG LTLQQQHQRLAQLLLILSHIRH MSNKRMEHLYSMKCKNVVPL SDLLEMLDAHRLGTGAEDPR PSRKRREIVMTQSPATLSLSP GERATLSCRASQDISKYLNWY QQKPGQAPRLLIYHTSRLHSG IPARFSGSGSGTDYTLTISSLQ PEDFAVYFCQQGNTLPYTFG QGKLEIKGGGGSGGGGSGG GGSQVQLQESGPGLVKPSSET LSLTCTVSGVSLPDYGVSWIR QPPGKGLEWIGVIWGSETYY SSSLKSRVTISKDNSKNQVSL KLSSVTAADTAVYYCAKHYYY GGSYAMDYWGQGLTVSST TTPAPRPPTPAPTIASQPLSLR PEACRPAAGGAVHTRGLDFA CDIYIWAPLAGTCGVLLSLVIT LYCKRGRKLLYIFKQPFMRP VQTTQEEDGCSCRFPEEEEG GCELRVKFSRSADAPAYQQG QNQLYNELNLGRREEYDVL KRRGRDPEMGGKPRRKNPQ EGLYNELQDKMAEAYSEIGM KGERRRGKGDGLYQGLSTA TKDITYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 159)	atggccctccctgtcacccctgtgcttccgctggctcttc tgctccacgcccctcgccccggctgTcgttggcactttcc ctgactgcccaccagatgggttccgccctcttgacgccc agcctccaattctgtactcggagtagcagcagcagcagccc ttctccgaagccagcatgatgggctgttgactaacctggc ggaccgcgagttggtcacatgattaactgggctaagcgg gtgcccggcttctgtagaccctgacgaccaagtg acctctggaatgctgctggatggaaatcctcatgatcgg cctctgtgtagatcctggagcatcccgaaagctcctg ttgcacccaacctcctgtgtagcgaaccagggaatg cgtggaagggggtgtagatcttgcagatgctgctcgcca cctctcccgggtccgtagatgaaatctgcagggagaaga gttctgtgtctgaagtcaatcctctgtaactccgggt ctataccttctgagctcagcccaagtcactggaggaaa aagaccacatcctcgcgtgctgataagatcaccgaca cccttatccatctatggcgaaggctggactgaccctgcaa cagcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctga gccacatccggcacatgtcgaacaagaggatggaacac ctgtacagcatgaagtgaagaacgtgctgctctgtccg atctgctcctgaaatgctggacgagcagactcGgga cgggagctgaagatccacgaccagcagaaagcagc ggaaattgtagtaccagtcaccgccactcttagcctttc accgggtgagcgcgaaccctgtctgacagcctccca agacatctcaaaataccttaattggtatcaacagaagccc ggacaggctcctcgcctctgacttaccacaccagccggct ccattctggaatccctgcccaggtcagcggtagcggatctg ggaccgactacacctcactatcagctcactgagccag aggactcgtgctatcttctgtagcaagggaacaccctg ccctacaccttggacagggcaccagctcagagattaa ggtagagggtggcagcggaggaggtggctccggcgggtg aggaagccaggtccaactcaagaaagcggaccgggt cttgaagccatcagaaactcttctactgactgtactgtga gaggagtgctctccccgattcgggggtgcttggatcaga cagccaccggggaagggtctggaatggattggagtgatt ggggctctgagactactactcttcatccctcaagtac gcgtcaccatctcaaaggacaactcaagaatcaggtgtc actgaaactgcatctgtgaccgagccgacaccgctg tactattgcgtaagcattactattatggcgggagctacgca atggattactggggacagggactctggtcaccgtgtccag caccactacccagcaccgaggccaccaccccggtc ctaccatgcctcccagcctctgtccctgctcggaggca ttagaccgcagctggtgggcccgtgcatacccggggt ctgactcgcctgcatatctacattggggcccctctgctg gtacttgggggtcctgctgttctactcgtgatcactttact gtaagcggctggaagaagctgctgacatctttaagca accctcatgaggcctgtgagactactcaagaggaggga cgctgttcatgcccgttcccagaggaggaggaaagcgg ctgcgaactgcgctgaaattcagccgagcgcagatgc tccagcctaccagcaggggcagaaccagcttacaacg aactcaatcttggctcggagagaggagtagcagctgctg acaagcggagaggacgggaccagaaatggcgggga agccgcgcagaaagaatccccaagaggcctgtacaa cgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcg agattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaagg

[1217]

<p>SP-接头 1-ERmut1- 弗林蛋白酶切割位点 1-CD123 CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSALLDAEP PILYSEYDPTRPFSEASMMGL LTNLADRELVHMINWAKRVP FVDLALHDQVHLLCAWMEIL MIGLVWRSMEHPGKLLFAPNL LLDRNQGKCVGVEIFDMLL ATSSRFRMMNLQGEFVCLK SIILLNSGVYTFLSSTLKSLEEK DHIHRVLDKITDTLIHLMAKAG LTLQQHQRLAQLLLILSHIRH MSSKRMEHLYSMCKNVVPL SDLLEMLDAHRLRTRKRVQL VQSGAEVKKPGASVKVSCA SGYTFTGYMHWVRQAPGQ GLEWMGWINPNSGGTNYAQ KFQGRVTLTRDTSISTVYME SRLRSDDTAVYYCARDMNILA TVPFDIWGQGTMTVSSGGG GSGGGGSGGGSDIQMTQS PSSLSASVGDRVTITCRASQSI SSYLNWYQQKPGKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLVNSLQPEDFATYYCQQG DSVPLTFGGGTRLEIKTTTPAP RPPTPAPTIASQPLSLRPEAC RPAAGGAVHTRGLDFACDIYI WAPLAGTCGVLLLLSLVITLYCK RGRKLLYIFKQPFMRPVQTT QEEDGCSCRPEEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYQQGQNQL YNELNLGRREEYDVLDRRG RDPEMGGKPRRKNPQEGLYN ELQKDKMAEAYSEIGMKGER RRGKGHDGLYQGLSTATKDT YDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 161)</p>	<p>ccacgacggactgtaccagggactcagcaccgcca aggacacatgatgacgctcttcacatgcaggccctgccc tcgg (SEQ ID NO: 160) atggccctccctgtcaccgcccctgctgctccgctggtcttc tgctccacgcccgtcggccccggctgTcggtggcactttcc ctgactgccgaccagatgggtgccgcccctctggacgccc agcctccaattctgtactcggagtagcatccgactcggccc ttctccgaagccagcatgatggcctgttgactaacctggc ggaccgagtggtgacatgattaactgggtaagcgg gtgcccggctcgtggacctggccctgcacgaccaagtgc acctcctggaatgcgctggatggaaatcctcatgatcgg cctcgtgtggagatcctaggagcatcccggaaagctcgt ttgcaccaacctcctgctgacgcaaccagggaaaaatg cgtggaaggggtgtagatattcgacatgctgctgcgcca cctctccgggtccggatgatgaatcgcagggagaaga gttcgtgtctgaagtcaatcatcctgctgaactccgggt ctatacctcctgagctgaccctcaagtcactggaggaaa aagaccacatcctatgcgctgctgataagatcaccgaca cccttatcatctatgcggaaggctggactgacctgcaa cagcagcaccagaggctggcccagttgctgctgatttga gccacatccggacatgtgccaagaggatggaacacc tgtacagcatgaagtgaagaacgctgctgctcctgcccga ctgctcctggaaatgctggacgacgacagactccgta aaagacaagtcaactcgtccaaagcggagcggaaagtc aagaaaccggagcggagcgtgaaagtctgcaaaagc ctccggctacaccttaccggctactacatgactgggtgc gccaggcaccaggacagggctggaatggatgggagtg atcaaccctaattcgggcggaactaactacgacagaag ttcaggggagagtagctgactcgggatacctccatctc aactgtctacatggaactctccgctgctgctcagatgata cggcagtgtagctgctgcccgcgacatgaatactcggct accgtgccgttcgacatctggggacaggggactatggta ctgtctatcggcgggtggaggtcaggaggaggcggctc gggaggcggaggttcggacattcagatgaccagctccc atcctctctgctggcagcgtcggagatagggtgaccatta cctgctggcctcgcgaaagcatctcctcgtacctcaactg tatcagcaaaagccgggaaagggcgcctaagtctgctgat tacgcccctcagctgcaaaagcgggtgcacatccagat tctcgggatcaggctcaggaaaccgactcaccctgaccgt gaacagcctccagcggaggactttgccacttactactgc cagcagggagactcctgcccgttacttccgggggggta cccgcctggagatcaagaccactaccagcaccgagg ccaccaccccgctcctaccatgcctccagcctctgctc cctgctcggaggcatgtagaccgcagctggtggggc cgtgcataccggggtctgacttgcctgcatatctacatt tggcccctctggctggtacttgcgggctcctgctgtttcac ctgtgatcactttactgtaagcgggtcggaaagaagctg ctgtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagact actcaagaggaggacggctgtcatgcccgttccagag gaggaggaaggcggctcgaactgcgctgaaattcag ccgacgagcagatgctccagcctaccagcaggggcaga accagctctacaacgaactcaatctggtcggagagagg agtacgactgctggacaagcggagaggacgggacc agaaatgggcgggaagccgagcagaaagaatcccaa gaggcctgtacaacgagctcaaaaggataagatggc agaagcctatagcagagattggtatgaaaggggaacgca gaagaggcaaaagccacgacggactgtaccagggact cagcaccgccaagacacatgatgactcttcacat gcaggccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 162)</p>
<p>SP-接头 1-ERmut1- 弗林蛋白酶切割位点</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSALLDAEP</p>	<p>atggccctccctgtcaccgcccctgctgctccgctggtcttc tgctccacgcccgtcggccccggctgctggtggcactttcc</p>

[1218]

<p>2-CD123 CAR (构建体 119)</p>	<p>PILYSEYDPTRPFSEASMMGL LTNLADRELVHMINWAKRVPG FVDLALHDQVHLLLECAWMEIL MIGLVWRSMHPGKLLFAPNL LLDRNQGKCVGEGVEIFDMLL ATSSRFRMMNLQGEEFVCLK SIILLNSGVYTFLSSTLKSLEEK DHIHRVLDKITDTLIHLMKAG LTLQQQHQLAQLLLILSHIRH MSSKRMEHLYSMKCKNVVPL SDLLEMLDAHRLGTGAEDPR PSRKRRSLGDVGVQVQLVQSG AEVKKPGASVKVSKASGYTF TGYMHVWRQAPGQGLEWM GWINPNSGGTNYAQKFQGRV TLTRDTSISTVYMELSRLRSD DTAVYYCARDMNILATVPFDI WGQGTMTVTVSSGGGGSSGGG GSGGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVITICRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGDFTLTV NSLQPEDFATYYCQQGDSVP LTFGGGTRLEIKTTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYWAPL AGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK KLLYIFKQPFMRPVQTTQEED GCSCRFPEEEEEGGCELRVKF SRSADAPAYQQGQNLQYNEL NLGRREEYDVLDKRRGRDPE MGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQQLSTATKDTYDAL HMQUALPPR (SEQ ID NO: 163)</p>	<p>tgactcgcgaccagatggtgtccgcccttctggacgcca gcctccaattctgtactcggagtagatccgactcgcgggt ctccgaagccagatgatgggctgtgactaacctggcg gaccgaggtggtgacatgattaactgggtaagcggg tgccgggctcgtggaccctggcctgcacgaccaagtca cctcctggaatgcgctggatggaatcctcatgatcgcc tcgtgtggagatccatggagatccggaaagctcctgtt gcaccaacctcctgtgtatcgcaaccagggaatgc gtggaaggggtgctgagatttgcagatgctgctgccac ctctcccggtccggatgatgaatcgcagggagaagagt tcgtgtctgaagtcaatcatcctgctgaactccgggtct atacctcctgagctcgaccctcaagtactggaggaaaa agaccacatccatcgctgctcgataagatcaccgacac cctatccatcctatggcgaaggctggactgacctgcaac agcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgag ccacatccggcacatgctccaagaggatggaacacct gtacagatgaagtgaagaacgctgctcctctgctccgat ctgctcctggaatgctggacgcgacagactcggaaacc ggcgcggaagacccccggcctccaggaagcgaagg ccctcggagacgtgggtcaagtgaactcgtccaagcg gagcgaagtcaagaaaccggagcgagcgtgaaagt gtcctgcaaagcctcggctacaccttacgggctactaca tgactgggtgcccaggcaccaggacagggcttgaat ggatggatggatcaaccctaattcgggcggaactaacta cgcacagaagttccaggggagagtgactctgactcggga tacctccatcactgtctacatggaactcctccgcttgcg gtcagatgatacggcagtgactactcgcggcgacatg aatacctggtactcctgctgacatctggggacagg ggactatggtactgtctcatcggcggtggaggttcagga ggaggcggctcgggagggaggttcggacattcagat gaccagtcctcctcctcctgctgcccagcgtcggagat agggtgaccattactgctggcctcgcgaaagcatctcctc gtacctcaactggtatcagcaaaagccgggaaaggcgc ctaagtctgctgactacggcctcagacttcaaagcgg ggtgccatccagattcctgggatcaggctcaggaaccga ctcaccctgaccgtgaacagcctccagccggaggaactt gccactactactgccagcagggagactcctgcccgtta cttcgggggggtaccgcctggagatcaagaccacta ccccagcaccgagggcaccaccggcctcctaccatcg cctccagcctcgtccctgctcggagcagatgtagacc gcagctggggggcgtgcataaccggggtctgactcgc cctgcatatctacattgggccctcctgctgacttgcgg ggtcctgctgttactcgtgactcttactgtaagcgcg gtcgaagaagctgctgacatcttaagcaaccctcatg aggcctgtgcagactactcaagaggaggcggctgttcat gccggtcccagaggaggaggaaggcggctcgaactg cgctgaaattcagccgagcgcagatgctccagcctac cagcaggggcagaccagctctacaacgaactcaatctt ggtcggagagaggagtacgctgctggacaagcggga gaggacgggaccagaaatgggcgggaagccgcgca gaaagaatcccaagaggcctgtacaacgagctcaa aaggataagatggcagaagcctatagcgagattggtatg aaaggggaacgcagaagaggcaaggccacgacgg actgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacct atgacgtctctacatgaggccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 164)</p>
<p>SP-接头 1-ERmut1-弗林蛋白酶切割位点 3-CD123 CAR (构建体 122)</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSALLDAEP PILYSEYDPTRPFSEASMMGL LTNLADRELVHMINWAKRVPG FVDLALHDQVHLLLECAWMEIL</p>	<p>atggccctcctgtcaccgcctgctgcttccgctggctcttc tgctccacggcctcggccccggctgctgtggcacttccc tgactcgcgaccagatggtgtccgcttctggacggcggag cctccaattctgtactcggagtagatccgactcgcggcttc</p>

[1219]

	<p>MIGLVWRSMHEHPGKLLFAPNL LLDRNQGKCVVEGGVEIFDMLL ATSSRFMMNLQGEFVCLK SIILLNSGVYTFLSSTLKSLEEK DHIHRVLDKITDTLIHLMKAG LTQQQHQRQAQLLLSHIRH MSSKRMEHLYSMKCKNVVPL SDLLEMLDAHRLGTGAEDPR PSRKRRQVQLVQSGAEVKKP GASVKVSKASGYFTGYM HWVRQAPGQGLEWMGWINP NSGGTNYAQKFQGRVTLTRD TSISTVYMELSRLSDDTAVY YCARDMNILATVPFDIWQGT MVTVSSGGGGSGGGSGGG GSDIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCRASQSISSYLNWYQQK PGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTVNSLQPE DFATYYCQQGDSVPLTFGGG TRLEIKTTTPAPRPPTPPTI ASQPLSLRPEACRPAAGG AVHTRGLDFACDIYWAPLA GTCGVLLLSLITLYCKRGR KLLLYIFKQPFMRPVQTTQ EEDGCSCRFPEEEEGGCE LRVKFSRSADAPAYQQGQ NQLYNELNLGRREEYDVLD KRRGRDPEMGGKPRRKNP QEGLYNELQKDKMAEAYS EIGMKGERRRGKGDGLY QGLSTATKDTYDALHMQUAL PPR (SEQ ID NO: 165)</p>	<p>tccgaagccagcatgatgggctgtgactaacctggcggg ccgaggttggtgcacatgataactgggctaagcgggtgc cgggctcgtggacctggccctgcacgaccaagtgcacctc ctggaatgcgctggatggaatcctcatgatcgccctgt gtggagatccatggagcatcccgaaagctcctgtttgcac ccaacctcctgctgatcgcaaccagggaatgctgga agggggtgtagagatttcgacatgctgctgccacctctc ccggttccggatgatgaatctgcaggagaaagagttcgtgt gtctgaagtcaatcatcctgctgaactccggggtctatacct tcctgagctcgacctcaagtcaactggaggaaaaagacca catccatcgctgctcgataagatcaccgacaccttatcc atctcatggcgaaggctggactgacctgcaacagcagca ccagaggctggcccagtgctgctgattctgagccacatcc ggcacatgctccaagaggatggaacacctgtacagcat gaagtcaagaacgctgctgctcctgtccgctgctcctgg aatgctggacgacgacagactcggaaaccggcgaggaa acccccggccctcaggaaagcgaaggcaagtgaactcgt ccaaagcggagcgaagcaagaacccggagcgaagcgt gaaagtgtcctgcaaaagcctccgctacacctttacgggct actacatgactgggtgcccaggcaccaggacagggtct tgaatggatgggatggatcaaccctaattcgggaggaaact aactacgcacagaagttccaggggagagtgactctgactc gggatacctcatctcaactgtctacatggaactctcccgt tgcggtcagatgatacggcagtgactactgcccgcgac atgaatatcctggctaccgtgctgacatctgggggaca ggggactatggttactgtctcatcgggctggagggtcag gaggaggcggctcgggaggcggaggttcggacattcagat gaccagtcacctcctctgctcggccagcgtcggagata gggtgaccattacctgctgggctcgaagcatctcctcgt acctcaactggtatcagaaaagcgggaaaggcgcctaa gctgctgatctacccgcttcgagcttcaaaagcggggtgc catccagattctcgggatcaggctcaggaaaccgactcacc ctgacctgaacagcctccagccggaggactttgccactta ctactccagcaggagactccgtgccgttactttcgggg ggggtaccgctggagatcaagaccactaccagcacc gaggccaccacccggctcctaccatgcctccagcctc tgtcctgctccggagcatgtagaccgcagctggtggg gccgtgcataccggggtctgactcgcctcgatatactac atttggcccctctggctggtacttgcgggtcctgctctt cactcgtgatcactcttactgtaagcgggtcggaaag ctgctgtacatcttaagcaaccttcatgaggcctgtgag actactcaagaggaggacggctgtcatgcccgttccaga ggaggaggaaggcggctcgaactgcgctgaaattcag ccgagcgcagatgctccagcctaccagcgggagcagaac cagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagt acgacgtgctggacaagcggagaggacgggaccagaaa tggcggggaagccgcgagaagaatcccaagagggccc tgtacaacgagctcaaaaggataagatggcagaagccta tagcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaa aggccacgacggactgtaccaggactcagcaccgccacc aaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgc tcgg (SEQ ID NO: 166)</p>
--	--	---

[1220]

<p>SP-接头 1-ERmut2- 弗林蛋白酶切割位点 1-CD123 CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSAALLDAEP PILYSEYDPTRPFSEASMMGL LTNLADRELVHMINWAKRVPG FVDLTLHDQVHLECAWMEIL MIGLVWRSMEHPGKLLFAPNL LLDRNQGKCVVEGGVEIFDMLL ATSSRFRMMNLQGEEFVCLK SILLNSGVYTFLSSTLKSLEEK DHIHRVLDKITDTLIHLMAKAG LTLQQQHQLAQLLLILSHIRH MSNKRMEHLYSMKCKNVVPL SDLLEMLDAHRLRTRKQVQL VQSGAEVKKPGASVKVSCA SGYTFTGYMHVWRQAPGQ GLEWMGWINPNSGGTNYAQ KFQGRVTLTRDTSISTVYME SRLRSDDTAVYYCARDMNILA TVPFDIWGQGMVTVSSGGG GSGGGGSGGGSDIQMTQS PSSLASVGDRTITCRASQSI SSYLNWYQKPKGAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFGSGSGTD FTLTVNSLQPEDFATYYCQQG DSVPLTFGGGTRLEIKTTTPAP RPPTPAPTIASQPLSLRPEAC RPAAGGAVHTRGLDFACDIYI WAPLAGTCGVLLLSLVITLYCK RGRKKLLYIFKQPFMRPVQTT QEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYQGGQNQL YNELNLGRREEYDVLDKRRG RDPENGGKPRRKNPQEGLYN ELQKDKMAEAYSEIGMKGER RRGKGHDGLYQGLSTATKDT YDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 167)</p>	<p>atggcctccctgtcacgcccctgctctccgctgctctt tgctccaagcgcctcggccccggctgTcggtggcactttcc ctgactgcccaccagatgggtgccccctctggacgccc agcctcaattctgactcggagtagcatccgactcgcgccc ttctcgaagccagcatgatgggctgtgactaacctggc ggaccgcgagttggtgcacatgattaactgggctaagcgg gtgcccgggctcgtggacctgaccctgcacgaccaagtgc acctctggaatgcgcctgtagtgaatcctcatgatcgg cctcgtgtggagatccatggagcatcccggaaagctcctg ttgcaccaacctcctgctgtatgcgaaccagggaanaatg cgtggaaggggggtgcgagatcttcgacatgctgctgcca cctctcccgggtccggatgatgaatcgcaggggagaaga gttcgtgtgtcgaagtcaatcactcctgtaactccggggt ctatacctcctgagctcgaccctcaagtcactggaggaaa aagaccacatccatcgcgtgctgcataagatcacggaca ccctatccatctcaggcgaaggctggactgaccctgcaa cagcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctga gccacatccggcacatgtcgaacaagaggatggaacac ctgtacagcatgaagtgaagaacgtcgtcctctgtccc atctgctcctggaatgctggacgcgcacagactcgtact aaaagacaagtcaactcgtccaaagcggagcgaagt caagaaaaccggagcgcagcgtgaaagtgtcctgcaaag cctcgggtacaccttacgggctactacatgactgggtg cgccaggcaccaggacagggtctgaatggatgggatgg atcaaccctaattcgggccaactaactacgcacagaag ttccaggggagagtgactctgactcgggatacctcctatc aactgtctacatggaactcctccgctgctgagatgata cggcagtgactactgcgcccgcgacatgaatcctggct accgtgcccgtcgcactctggggacaggggactatggfca ctgtctcatcgggcccgtggaggtcaggaggagcggctc gggaggcggagggtcggacattcagatgaccagtcctcc atcctctctgctggccagcgtcggagatagggtgaccatta cctgtcgggctcgcgaagcatcctcctgacctaactgg tatcagcaaaagccgggaaaggcgcctaagctgctgatc tacgcccgtcagcttgcgaagcggggtgccatccagat tctcgggatcaggctcaggaaaccgactcaccctgaccgt gaacagcctccagccggaggacttgcacttactactgc cagcaggggagactccgtgcccttactttcgggggggta cccgcctggagatcaagaccactacccagcaccgagg ccaaccaccggctcctaccatgcctccagcctctgtc cctgctcggaggcatgtagaccgcagctggtggggc cgtgcataccggggtctgactcgcctcgcgatatctacatt tgggcccctctggtgactgctggggtcctgctgtcttca ctgtagcacttctactgtaagcgcggtcggagaagctg ctgtacatcttaagcaacctctatgaggcctgtgcagact actcaagaggaggacggctgtcatgcccgttccagag gaggaggaaggcggctcgaactgcgctgaaattcag ccgagcgcagatgtccagcctaccagcaggggcaga accagctctacaacgaactcaacttggtcggagagagg agtacgacgtgctggacaagcggagaggacgggaccc agaaatgggcccgaagccgcgagaagaatcccca gagggcctgtacaacgagctccaaaggataagatggc agaagcctatagcagattggtatgaaaggggaacgca gaagaggcaaggccacgacggactgtaccagggact cagcaccgcccaaggacacatgatgcgtcttccat gcaggcctcgcgctcgg (SEQ ID NO: 168)</p>
<p>SP-接头 1-ERmut2- 弗林蛋白酶切割位点 2-CD123 CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSAALLDAEP PILYSEYDPTRPFSEASMMGL</p>	<p>atggcctccctgtcacgcccctgctctccgctgctctt tgctccaagcgcctcggccccggctgTcggtggcactttcc ctgactgcccaccagatgggtgccccctctggacgccc</p>

[1221]

	<p>LTNLADRELVHMINWAKRVPG FVDLTLHDQVHLLCAWMEIL MIGLVWRSMEHPGKLLFAPNL LLDRNQGKCVVEGGVEIFDMLL ATSSRFRMMNLQGEFVCLK SIILLNSGVYTFLSSTLKSLEEK DHIHRVLDKITDTLIHLMKAG LTLQQHQRLAQLLLILSHIRH MSNKRMEHLYSMKCKNVVPL SDLLEMLDAHRLGTGAEDPR PSRKRRSLGDVGQVQLVQSG AEVKKPGASVKVSKASGYTF TGYMHVWRQAPGQGLEWM GWINPNSGGTNYAQKFQGRV TLTRDTSISTVYMELSRLRSD DTAVYYCARDMNILATVPFDI WGQGTMTVTVSSGGGSGGG GSGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVITICRASQSISSYLN WYQQKPKGKAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSDFTLTV NSLQPEDFATYYCQGDVSV LTFGGGTRLEIKTTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYIWAPL AGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK KLLYIFKQPFMRPVQTTQEED GCSCRFPSEEEEGGCELRVKF SRADAPAYQQGQNLQYNEL NLGRREYDVLDKRRGRDPE MGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDAL HMQUALPPR (SEQ ID NO: 169)</p>	<p>agcctccaattctgtactcggagtagatccgactcgcggc ttctccgaagccagcatgatgggctgtgactaacctggc ggaccgcgagttggtgacatgattaactgggctaagcgg gtgccgggctcgtggacctgacctgcacgaccaagtgc acctctggaatgcgcctggatggaatcctcatgatcgg cctcgtgtggagatcctatggatccccgaaagctcctg ttgcaccaacctcctgtatcgcaaccagggaatg cgtggaaggggtgctgagatttcgacatgctgctgcca cctctcccgggtccggatgatgaatctgcagggagaaga gttcgtgtgtgaagtcaatcatcctgctgaactccgggt ctatacctcctgagctcgacctcaagtcactggaggaaa aagaccacatcctcgcgtgctgataagatcaccgaca ccctatcctcctatgctgcaaggctggactgacctgcaa cagcagcaccagaggctggcccagttgctgattctga gccacatccggcacatgctgaacaaggaggatggaacac ctgtacagcatgaagtcaagaacgtgctgctcctgtccg atctgctcctgaaatgctggacgcgcacagactcggaa ccggcgcggaagacccccggccctccaggaagcgaag gtccctcggagacgtgggtcaagtgaactcgtcgaag cggagcgggaagtcaagaacccggagcgcgctgaaa gtgctcgaagcctccgctacaccttacgggctacta catgactgggtgctcagcaccagcaggaggtctga atggatgggatggatcaaccctaattcggcgggaactaac tacgcacagaagtccaggggagagtgactgactcgg gatacctcctcctcaactgtctacatggaactcctccgctg cggtcagatgatacggcagtgactactgccccgcgac atgaatatcctggctaccgtgctgacatctggggaca ggggactatggtactgtctcctcggcgggtgaggtcag gaggaggcggctcgggaggcggaggtcggacattcag atgaccagtcctcctcctcctgctcggcagcgtcggag atagggtgaccattactcctgctggcctcgaagcactcc tcgtacctcaactggtatcagcaaaagccgggaaaggcg cctaagctgctgatctacgccctcagagctgcaagcgg ggtgccatccagattctcgggatcaggctcaggaaccga ctcaccctgaccgtgaacagcctccagccggaggacttt gccactactactgcccagcaggagactcctgctcggctta cttcggggggggtacccgctggagatcaagaccacta ccccagcaccgagggcaacccccggctcctaccatcg cctccagcctctgctcctgctcggaggcatgtagacc gcagctggtggggcgtgcataccggggtctgactcgt cctgcgatatctacattggccccctcgtggtgactgctg ggtcctgctgcttactcgtgatcactcttactgtaagcgg gtcggagaagctgctgtacatcttaagcaaccctcatg aggcctgctcagactactcaagaggaggcggctgtcat gccggtcccagaggaggaggaaaggcggctgcgaactg cgcgtgaaattcagcgcagcgcagatgctccagcctac cagcaggggcagaaccagcctacaacgaactcaatctt ggtcggagagaggatcagcgtgctggaacaagcggga gaggacgggaccagaaatgggcgggaagcgcgca gaaagaatcccaagaggcctgtacaacgagctcaa aaggataagatggcagaagcctatagcagattggtatg aaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacgg actgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacct atgacgctctcacatgaggccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 170)</p>
<p>SP-接头 1-ERmut2- 弗林蛋白酶切割位点 3-CD123 CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSAALLDAEP PILYSEYDPTRFSEASMMGL LTNLADRELVHMINWAKRVPG FVDLTLHDQVHLLCAWMEIL MIGLVWRSMEHPGKLLFAPNL</p>	<p>atggccctcctgtcaccgccctgctgctcctgctgctctc tgctccaagcgcctcggccccggctgTcgttggcactttcc ctgactgcccagaccagatggtgtccgcccttctgacgcg agcctccaattctgtactcggagtagatccgactcgcggc ttctccgaagccagcatgatgggctgtgactaacctggc ggaccgcgagttggtgacatgattaactgggctaagcgg</p>

[1222]

	<p>LLDRNQKGCVEGGVEIFDMLL ATSSRFRMMNLQGEEFVCLK SIILLNSGVYTFLSSTLKSLEEK DHIHRVLDKITDTLIHLMKAG LTQQQHQLAQLLLSHIRH MSNKRMEHLYSMKCKNVVPL SDLLEMLDAHRLGTGAEDPR PSRKRQVQLVQSGAEVKKP GASVKVSKASGYTFTGYM HWVRQAPGQGLEWMGWINP NSGGTNYAQKFQGRVTLTRD YSISTVYMELSRLRSDDTAVY YCARDMNILATVPFDIWGQGT MVTVSSGGGGSGGGSGGG GSDIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCRASQSISSYLNWYQK PGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTVNSLQPE DFATYYCQQGDSVPLTFGGG TRLEIKTTTPAPRPPTPAPTIA SQPLSLRPEACRPAAGGAVH TRGLDFACDIYIWAPLAGTCG VLLLSLVITLYCKRGRKLLYIF KQPFMRPVQTTQEEDGCSCR FPEEEEGGCELRVKFSRSAD APAYQQGQNQLYNELNLGRR EEYDVLDKRRGRDPEMGKPK RRKNPQEGLYNELQDKMAE AYSEIGMKGERRRGKHDGL YQGLSTATKDTYDALHMQALP PR* (SEQ ID NO: 171)</p>	<p>gtgccgggcttcgtggacctgacacctgcacgaccaagtgc acctcctggaatgagcctggaatcctcatgatcgg cctcgtgtggagatccatggagatcccggaaagctcctg ttgcaccaacctcctgctgatgcgaaccagggaaaatg cgtggaaggggtgctgagatttcgacatgctgctcgcca cctctcccgggtccggatgatgaatctgcagggagaaga gttcgtgtgtgaagtcaatcctgctgaactccggggt ctatacctcctgagctgcacacctcaagtcactggaggaaa aagaccacatccatcgctgctgataagatcaccgaca ccctatccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaa cagcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctga gccacatccggcacatgtcgaacaagaggatggaacac ctgtacagcatgaagtgaagaacgctgctcctgtccg atctgctcctggaaatgctggacgacagactcggga cgggagctgaagatccacgacccagcagaagcgacg gcaagtgaactcctcaagcgaggcgggaagtcaaga aaccggagcagcgtgaaagtctcctcaaagcctcc ggctacaccttacgggactactatgcactgggtgcgcca ggcaccaggacagggtctgaaatggatggatggatcaa ccctaattcggggcgaactaactcgcacagaagttcca ggggagagtactctgactcgggatacctcctcaact gtctacatggaactcccgttcggctcagatgacggc agtgactactgcgcccgcacatgaatcctgctaccg tgccgttcgacatctggggacaggggactatggtactgtc catcgggctggtgaggtcaggaggaggcggctcggga ggcggaggttcggacattcagatgaccagtcacctcct ctctgctggccagcgtcggagatagggtgaccattacctgt cgggcctcgcaaagcatctcctcgtacccaactggatca gcaaaagccgggaaaggcgctaagctgctgatctacg ccgcttcgagcttcaaagcggggtccatccagattcctg ggatcaggctcaggacccactcaccctgaccgtgaac agcctccagccggaggacttgcactactactgcagc agggagactccgtgcccacttctgggggggtaccg cctggagatcaagaccactaccagcaccgaggccac ccaccggctcctaccatcgcctccagcctctgtccctg cgtccggaggcatgtagaccgagctggtgggcccgtg cataccggggtctgactcgcctgcgatctacattgg gcccctctggctgactgctgggctcctgctcttactcgt tgatcacttctactgaagcggctcggagaagaagctcgt acatcttaagcaaccctcatgaggcctgctcagactact aagaggaggacggcttcatgcccgttccagaggagg aggaaggcggctgcgaactgcgctgaaattcagccgc agcgcagatgctccagcctaccagcggggcagaacca gctctacaacgaactcaatctggtcggagagaggagtac gacgtgctggacaagcggagaggacgggaccagaaa tgggcgggaagccgcgagaagaatcccaagaggg cctgtacaacgagctcaaaaaggataagatggcagaag cctatagcagattgtagaaaggggaacgcagaaga ggcaaaggccagcagcactgaccagggactcagca ccgccaccaaggacacatgacgctctcacatgcagg ccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 172)</p>
<p>SP-接头 1-ERmut1- 弗林蛋白酶切割位点 1-BCMA CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSAALLDAEP PILYSEYDPTRFSEASMMGL LTNLADRELVHMINWAKRVPG FVDLALHDQVHLLLECAWMEIL MIGLVWRSMHPGKLLFAPNL LLDRNQKGCVEGGVEIFDMLL ATSSRFRMMNLQGEEFVCLK SIILLNSGVYTFLSSTLKSLEEK</p>	<p>atggcctccctgtcacccctgctgctccgctgctcttc tgctccacgctcggccccggctgTcgttgccacttcc ctgactgcccaccagatgggtccgcccttctggacgcg agcctccaattctgactcggagtagatccgactgcccg ttctccaagccagcatgatgggctgttgactaacctggc ggaccgcgagttgtgcatgattaactggcctaagcgg gtgcccggcttcgtggacctggcctgcacgaccaagtgc acctcctggaatgagcctggaatcctcatgatcgg cctcgtgtggagatccatggagatcccggaaagctcctg</p>

[1223]

	<p>DHIHRVLDKITDTLIHLMKAG LTLQQQHQLAQLLLILSHIRH MSSKRMEHLYSMKCKNVVPL SDLLEMLDAHRLRTRKREVQL VESGGGLVQPGGSLRLSCAV SGFALSNHGMSWVRRAPGK GLEWVSGIVYSGSTYYAASVK GRFTISRDNRSNTLYLQMNSL RPEDTAIYYCSAHGGESDVW GQGTTVTVSSASGGGGSGG RASGGGSDIQLTQSPSSLSA SVGDRVTITCRASQSISSYLN WYQKPKGKAPKLLIYASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SLQPEDFATYYCQSYSTPYT FGQGTKVEIKTTTPAPRPPTP APTIASQPLSLRPEACRPAAG GAVHTRGLDFACDIYIWAPLA GTCGVLLSLVITLYCKRGRKK LLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFS RSADAPAYQQGQNQLYNELN LGRREEYDVLDKRRGRPEM GGKPRRKNPQEGLYNELQKD KMAEAYSEIGMKGERRRGKG HDGLYQGLSTATKDTYDALH MQALPPR (SEQ ID NO: 173)</p>	<p>ttgcaccaacctcctgctgatcgcaaccagggaaaatg cgtggaagggggtgctgagatcttcgacatgctgctcgca cctctcccgggtccggatgatgaatctgcagggagaaga gttcgtgtgctgaagtcaatcatcctgctgaactccgggt ctatacctcctgagctcgaccctcaagtcactgaggaaa aagaccacatccatcgctgctgataagatcacccgaca ccctatccatctcatggcgaaggctggactgaccctgcaa cagcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctga gccacatccggcacatgctgccaagaggatggaacacc gtacagcatgaagtgcagaacgctgctgctgctcgat ctgctcctgaaaatgctggacgctgacagactccgtacta aaagagaagtgcaattggtggaatcagggggaggactg tgcagcctggaggatcgctgagactgctgctgctgctg ggcttgccctgtccaaccacgggatgctgctgggtccg cgctgctggaaggcctcgaatgggtgctgggtattgtg acagcgtgtagcacctactatgctgctgctggaaggga gattcaccatcagcgggacaactccaggaacactctgta cctccaaatgaatcgtgaggccagaggactgctgctg tactactgctcctgctgctgctgctgctgctgctgctg gacaggggaccacgctgaccgtgctgctgctgctgctg gaggcggcagcggggctgggcatcagggggcggcgg atcggacatccagctcaccagctcccagctgctgctg gctcctgctggagatcgggtaccatcagctgctgctg agccagctgatttctcctactgaaactggtaccaacagaa gcccgaaaagccccgaagcttctcctcctgctgctg agcctgagtcaggagtgccctcagcttctcctgctgctg gttcgggtactgattcaccctgaccatttctcctgcaacc ggaggactgctgacttactactgctgctgctgctgctg cccctacacttctggacaaggcaccacaggtcgaaatca agaccactaccccagaccgaggccaccaccccggct ctaccatcgctcccagcctgctgctgctgctgctgctg atgtagaccgagctggtggggcctgctgctgctgctg tctgactgctgctgctgctgctgctgctgctgctgctg gtactgctgctgctgctgctgctgctgctgctgctgctg gtaagcgggtcggagaagctgctgctgctgctgctgctg accctcatgaggcctgctgctgctgctgctgctgctgctg cggctgtcatgctgctgctgctgctgctgctgctgctgctg ctgcaactgctgctgctgctgctgctgctgctgctgctg tccagcctaccagcaggggcagaaccagctctacaacg aactcaatctgctgctgctgctgctgctgctgctgctg acaagcggagaggcgggaccagaaatggcgggga agcgcgcagaaagaatccccagaggcctgtgctgctg cgagctcaaaaaggataagatggcagaagcctatagcg agattgtagaaagggaacgcagaagaggcaaagg ccacgacgactgtaccagggactcagcaccgcccacca aggacacctatgacgctctcactgctgctgctgctgctg cgg (SEQ ID NO: 174)</p>
<p>SP-接头 1-ERmut1- 弗林蛋白酶切割位点 2-BCMA CAR (构建 体 164)</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMV/SALLDAEP PILYSEYDPTRPFSEASMMGL LTNLADRELVHMINWAKRVPG FVDLALHDQVHLLLECAWMEIL MIGLVWRSMEHPGKLLFAPNL LLDRNQKCVVEGGVEIFDMLL ATSSRFRMMNLQGEFVCLK SIILLNSGVYTFLSSTLKSLEEK DHIHRVLDKITDTLIHLMKAG LTLQQQHQLAQLLLILSHIRH MSSKRMEHLYSMKCKNVVPL SDLLEMLDAHRLGTGAEDPR PSRKRRSLGDVGEVQLVESG</p>	<p>atggcctcctgctcaccgctgctgctgctgctgctgctg tgctccacgctgctgctgctgctgctgctgctgctgctg ctgactgctgctgctgctgctgctgctgctgctgctg agcctccaattctgactcggagtagctgctgctgctgctg ttctccgaagccagatgatgggctgtgactaacctggc ggaccgagttgtgcatgattaactgggctaagcgg gtgctgctgctgctgctgctgctgctgctgctgctg acctcctggaatgctgctgctgctgctgctgctgctg cctcgtgtgagatcctgagatcccggaaagctcctg ttgcaccaacctcctgctgctgctgctgctgctgctg cgtggaagggggtgctgagatctgcatgctgctgctg cctctcccgggtccggatgatgaatctgcagggagaaga gttcgtgtgctgagctgctgctgctgctgctgctgctg ctatacctcctgagctgaccctcaagtcactgagggaaa</p>

[1224]

	<p>GGLVQPGGSLRLSCAVSGFA LSNHGMSWVRRAPGKGLEW VSGIVYSGSTYYAASVKGRFTI SRDNSRNTLYLQMNSLRPED TAIYYCSAHGGESDVWQGT TVTSSASGGGGSGGRASGG GGSDIQLTQSPSSLSASVGDR VTITCRASQSISSYLNWYQQK PGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSYSTPYTFGQG TKVEIKTTTTAPRPPPTPAPTIA SQPLSLRPEACRPAAGGAVH TRGLDFACDIYWAPLAGTCG VLLLSLVITLYCKRGRKLLYIF KQPFMRPVQTTQEEDGCSCR FPEEEEGGCELRVKFSRSAD APAYQQGQNQLYNELNLGRR EEYDVLDRKRRGRDPEMGGKP RRKNPQEGLYNELQKDKMAE AYSEIGMKGERRRGKHDGL YQGLSTATKDTYDALHMQALP PR (SEQ ID NO: 175)</p>	<p>aagaccacatccatcgctgctcgataagatcaccgaca cccttatccatctcatgcgcaaggctggactgacccgcaa cagcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctga gccacatccggcacatgtcgtccaagaggatggaacacc gtacagcatgaagtgaagaacgtcgtgctcctgtccgat ctgctcctggaatgtcggacgcgcaagactcggaaacc ggcggggaagacccccggccctccaggaagcgaaggf ccctcggagacgtgggtgaagtcaattggtggaatcag ggggaggactgtgcagcctggaggatcgctgagactgtc atgtccgtgtccggcttgcctgtccaaccacgggatgtc ctgggtccgcccgcgcctcggaaagggcctcgaatggf gtcgggtattgtgtacagcggtagcacctactatgccgat ccgtgaaggggagattcaccatcagccgggacaactcc aggaacactctgtacctcaaatgaattcgtgaggccag aggacactgcatctactactgtcctcgcgcatggcggaga gtccgacgtctggggacaggggaccacgtgacccgtgtc tagcgcgtccggcggaggcggcagcgggggtcgggcat cagggggcggcggatcggacatccagctcaccagctcc ccgagctcgtcgtccgcctcgtgggagatcgggtcacca tcagctcggcggccagccagctcgaattcctcctactgaat ggtaccaacagaagcccggaaaagcccgaagctctc atctacgcgcctcgtgagctgcagtcaggagtgcctcac ggttctccggctcgggtcggtagctgattcaccctgacat ttcctcctgcaaccggaggactcgtactactactgcca gcagctgtactccacccctacacttctggacaaggcacc aaggctgaaatcaagaccactacccagcaaccgaggcc accacccccggctcctaccatcgcctcccagcctctgtcc tgcgtccggaggcatgtagaccgcagctgggtgggccc tgcataccccgggtctgactcgcctgcgatactacattg ggccccctggctggtacttgcgggtcctgctgttctactc gtgatcactcttactgtgaagcgcggtcggaaagactgct gtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagacta ctcaagaggaggacggctgtcatgcccgttccagagg aggaggaagggcgtcgaactcgcgtgaaattcagc cgcagcgcagatgtccagcctaccagcaggggagaga ccagctctacaacgaactcaatctgtgtagagagagga gtacgacgtctggacaagcggagaggacgggaccca gaaatgggcgggaagccgcgagaaagaatcccaag aggcctgtacaacgagctcaaaaaggataagatggca gaagcctatagcagatgtgtagaaaggggaaacgag aagaggcaagggccacgacggactgtaccagggactc agcaccgccaccaaggacacctaagcgtcttcatatg caggccctcgcgcctcgg (SEQ ID NO: 176)</p>
<p>SP-接头 1-ERmut1- 弗林蛋白酶切割位点 3-BCMA CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSAALLDAEP PILYSEYDPTRFSEASMMGL LTNLADRELVHMINWAKRVPG FVDLALHDQVHLLCAWMEIL MIGLVWRSMHPGKLLFAPNL LLDRNQKQKVEGGVEIFDMLL ATSSRFRMMNLQGEFVCLK SIILLNSGVYTFLSSTLKSLEEK DHIHRVLDKITDTLIHLMKAG LTLQQHQHQLAQLLLILSHIRH MSSKRMEHLYSMKCKNVVPL SDLLEMLDAHRLGTGAEDPR PSRKRREVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAVSGFALS NHGM SWVRRAPGKGLEWVSGIVYS GSTYYAASVKGRFTISRNSR NTLYLQMNSLRPEDTAIYYCS</p>	<p>atggccctcctgtcaccgcccgtgcttccgctggtcttc tgctccaacgcccgtcggccccggtcTcgttggcacttcc ctgactgcccagaccagatgggtccgccctctggaagccc agcctccaattctgtactcggagtagatccgactcgcgg ttctccaagccagcatgatgggctgttgactaacctggc ggaccgcgagttgtgcaatgattaactgggtaagcgg gtgcccggctcgtggacctggccctgcacgaccaagtgc acctcctggaatgcgctggatgaaatcctcatgatcgg cctcgtgtggagatccatggagatcccggaaagctcctg tttcaccaacctcctgctgatcgaaccagggaaaatg cgtggaaggggggtcgcgagatttcgacatgctgctcgc cctctcccgggtccggatgatgaatctgcagggagaaga gttcgtgtgtcgaagtcaatcctcgtgaaactccgggt ctataccttctgagctcgaacctcaagtcactggaggaaa aagaccacatccatcgcgtgctcgataagatcaccgaca cccttatccatctcatgcgcaaggctggactgacccgcaa cagcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctga gccacatccggcacatgtcgtccaagaggatggaacacc</p>

[1225]

	<p>AHGGESDVWGQTTVTVSSA SGGGSGGRASGGGGSDIQL TQSPSSLSASVGDRTITCRA SQSISSYLNWYQKPKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQSYSTPYTFGQGTKEIKTT TPAPRPPTPAPTIASQPLSLRP EACRPAAGGAVHTRGLDFAC DIYIWAPLAGTCGVLLLSLVL YCKRGRKLLYIFKQPFMRPV QTTQEEDGCSCRFPFFFFFFG CELRVKFSRSADAPAYQQGQ NQLYNELNLRREEYDVLDK RRGDPPEMGGKPRRKNPQE GLYNELQKDKMAEAYSEIGMK GERRRGKGDGLYQGLSTAT KDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 177)</p>	<p>tgtagcatgaagtgaagaacgtcgtcctgtccgat ctgctcctggaatgctggacgcgcacagactcGggacg ggagctgaagatccacgaccagcagaagcgacggg aagtgaattggtggaatcagggggaggactgtgcagc ctggaggatcgctgagactgtcatgtccgtgcccgtttg ccctgtccaaccacgggatgtcctgggtccgcccgcgccc tggaaagggcctcgaatgggtgctgggtattgttacagc ggtagcacctactatgcccacatccgtgaaggggagattca ccatcagccgggacaactccaggaacactgttacctcc aatgaattcgctgagccagaggacactgccaactacta ctgctccgcatggtggagagtcggacgtcggggaca ggggaccaccgtgaccgtgtctagcgcgtccggcggag gcggcagcgggggtcgggacatcagggggcggcggatc ggacatccagctcaccagtcaccgagctcgtcgtccgccc tccgtgggagatcgggtaccatcacgtcccgcgcccagc cagtcgatttctcctactgaactggtaccaacagaagcc cggaaaagccccgaagcttctatctacgcccctcgag cctgcagtcaggagtgccctcaggttctccggctccggtt ccggtactgattcaccctgaccatttctccctgcaaccgg aggactcgtacttactactgcccagcagtcgactccacc ccctacactttcggacaaggaccaaggtcgaatcaag accactaccagcaccgagccaccaccggctcct accatgcctcccagcctcgtccctgctccgaggcatg tagaccgcagctggtggggcgtgcataccggggtctt gactcgcctgcgatatctacattgggccctctggctgta ctgcccggctcgtcgtttcactcgtgatcactttactgta agcgcggtcggagaagctgctgtacatcttaagcaacc ctcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacgg ctgtcatgcccgtcccagaggaggaggaagggcgtg cgaactgcgctgaaatcagccgagcgcagatgtcc agcctaccagcaggggcagaaccagctcaacgaac tcaatcttggtcggagagaggagtagcagcgtcgtggaca agcggagaggacgggaccagaaatggggcgggaagc cgcgcaaaagaatcccgaagggcctgtacaacga gctcaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaggggaacgcagaagaggcaaaggcca cgacggactgtaccagggactcagaccgcccacaagg acacctatgacgctcttcatgacggccctgcccctcg g (SEQ ID NO: 178)</p>
<p>SP-接头 1-ERmut2- 弗林蛋白酶切割位点 1-BCMA CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSALLDAEP PILYSEYDPTTRPFSEASMMGL LTNLADRELVHMINWAKRVPG FVDLTLHDQVHLLCAWMEIL MIGLVWRSMEHPGKLLFAPNL LLDRNQKCVVEGGVEIFDMLL ATSSRFRMMNLQGEFVCLK SIILLNSGVYTFLSSTLKSLEEK DHIHRVLDKITDTLIHLMAKAG LTLQQHQRLAQLLLILSHIRH MSNKRMEHLYSMKCKNVVPL SDLLEMLDAHRLRTKREVQL VESGGGLVQPGGSLRLSCAV SGFALSNHGMSWVRRAPGK GLEWVSGIVYSGSTYYAASVK GRFTISRDNRSRNTLYLQMNSL RPEDTAIYYCSAHGGESDVW GQGTTVTVSSASGGGSGG RASGGGSDIQLTQSPSSLSA SVGDRVTITCRASQSISSYLN</p>	<p>atggccctccctgtcacgcccgtgctcctccgctgctcctc tgcctccacgcgctcggccccgctgTcgtggcactttcc ctgactgcccagaccagatggtgtccgccctctggacgccc agcctccaattctgactcggagtagcagatccgactcgcgg ttctccgaagccagcatgatgggctgtgactaacctggc ggaccgcgagttggtgcacatgattaactgggctaagcgg gtgcccggctcgtggacctgaccctgcacgaccaagtg acctctggaatgcgctgtaggaatcctcatgacgg cctcgtgtggagatccatggagcaccggaaagctcctg ttgcacccaacctcctgctgacgcaaccagggaatg cgtggaaggggtgctgagattttcgacatgctgctgcca cctctcccgggtccggatgatgaatctgcagggagaaga gttcgtgtgtgaagtcaatcctcgtgtaactccggggt ctatacctcctgagctcgaacctcaagtcactggaggaaa aagaccacatccatcgcgtgctcgataagatcaccgaca ccctatccatctatggcgaaggctggactgaccctgcaa cagcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctga gccacatccggcacatgtcgaacaagaggatggaacac ctgtacagcatgaagtgaagaacgtcgtcctcgtcctg atctgctcctggaatgctggacgcgcacagactcgtact aaaagagaagtgaattggtggaatcagggggaggact</p>

[1226]

	<p>WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFLTIS SLQPEDFATYYCQQSYSTPYT FGQGTKVEIKTTTPAPRPPTP APTIASQPLSLRPEACRPAAG GAVHTRGLDFACDIYWAPLA GTCGVLLLSLVITLYCKRGRKK LLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFS RSADAPAYQQGQNLQYNELN LGRREEYDVLDKRRGRDPEM GGKPRRKNPQEGLYNELQKD KMAEAYSEIGMKGERRRGKG HDGLYQGLSTATKDYDALH MQALPPR (SEQ ID NO: 179)</p>	<p>gtgcagcctggaggatcgctgagactgtcatgtgccgtgtc cggctttgccctgtccaaccacgggatgtcctgggtccgcc gcgcgctgaaagggcctcgaatgggtgtcgggtattgt gtacagcggtagcacctactatgccgatccgtgaaggg gagattcaccatcagccgggacaactccaggaacactct gtacctcaaatgaattcgtgaggccagaggacactgc catctactactgtccgcgatggcggagagtccgacgtct ggggacaggggaccaccgtgaccgtgtctagcgcgtcc ggcgaggcggcagcgggggtcgggcatcagggggcg gcggatcggacatccagctcaccagtccccgagctcgt gtccgcctccgtgggagatcgggtaccatcacgtgccg gccagccagtcgatttctctacctaagctgtaccaaca gaagccggaaaagccccgaagcttctcatctacggcg ctgagcctgcagtcaggagtgccctcaggttctccggt ccggttccggtactgatttaccctgaccatttctccctgca accggaggacttctactactactgcccagcagtcgact ccacccctacactttcggacaaggaccaaggtcgaaa tcaagaccatcaccagcaccgagggccacccaccccg gctcctaccatcgctcccagcctctgtccctgcgtccgga ggcatgtagaccgcagctggtggggccgtgcatacccg ggtctgacttgcctgcgatactacatttggcccctctg gctgtacttgcgggtcctgctgttctactcgtgatcactct ttactgtaagcgcggtcgaagaagctgctgtacatcttaa gcaaccctcatgaggcctgtgcagactactcaagagga ggacggctgtcatgcccgttcccagaggaggaggaagg cggctgcgaactgcgctgaaattcagccgcagcgcag atgtccagcctaccagcaggggcagaaccagctctaca acgaactcaatcttggtcggagagagagtagcagcgtct ggacaagcggagaggacgggacccagaaatggggcg gaagccgcgagaagaatccccagagggctgtac aacgagctcaaaaggataagatggcagaagcctatag cgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaa ggccacgacggactgtaccagggactcagaccgcccac caaggacacctatgacgtcttcatatcagggcctgccg cctcgg (SEQ ID NO: 180)</p>
<p>SP-接头 1-ERmut2- 弗林蛋白酶切割位点 2-BCMA CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSAALLDAEP PILYSEYDPTTRPFSEASMMGL LTNLADRELVHMINWAKRVPG FVDLTLHDQVHLLLECAWMEIL MIGLVWRSMEHPGKLLFAPNL LLDRNQKQKVEGGVEIFDMLL ATSSRFRMMNLQGEFVCLK SIILLNSGVYTFLSSTLKSLEEK DHHRVLDKITDTLIHLMAKAG LTQQQHQRQAQLLLSHIRH MSNKRMEHLYSMKCKNVVPL SDLLEMLDAHRLGTGAEDPR <u>PSRKRRSLGDVGEVQLVESG</u> <u>GGLVQPGGSLRLSCAVSGFA</u> LSNHGMSWVRRAPGKGLEW VSGIVYSGSTYYAASVKGRFTI SRDNSRNTLYLQMNSLRPED TAIYYCSAHGGESDVWQGT TVTVSSASGGGGSGGRASGG GGSDIQLTQSPSSLSASVGD VTITCRASQSISSYLNWYQKQ PGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFLTISSLQPE DFATYYCQQSYSTPYTFGQG TKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIA</p>	<p>atggcctccctgtcaccgcccgtcgtctccgctggtcttc tgcctccagcgcgctcggccccgtcgTcgttgacattcc ctgactgcgaccagatgggttccgccccttctggacgcg agcctccaattctgactcggagtagcagatccgactgccc ttctcgaagccagcatgatggcctgtgactaacctggc ggaccgcgagttggtgacatgattaactgggctaagcgg gtgcgggcttctggtgacctgacctgcacgaccaagtgc acctctggaatgcgctgtaggaaatcctcatgatcgg cctcgtgtggagatcctatggagatcccggaaagctcctg ttgcaccaacctcctgcttgcgcaaccagggaaatg cgtggaagggggtgcgagatcttgcagatcgtcgtcgca cctctcccgggtccggatgatgaatcgcagggagaaga gttcgtgtgtgaagtcaatcctcgtgtaactccgggt ctatacctcctgagctcaccctcaagtcactgagggaaa aagaccacatccatcgcgtgctcgataagatcacccgaca cccttatccatctcagggcgaaggctggactgacctgcaa cagcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctga gccacatccggcacatgtcgaacaagaggatggaacac ctgtacagcatgaagtcaagaacgtcgtcctctgtccg atctgctcctgaaatgctggacgcgcacagactcggaa ccggcgcggaagacccccggcctccaggaagcgaag gtccctcggagacgtgggtgaagtgcattggtggaatca gggggaggacttgcagcctggaggatcgtgagactg tcatgtccgtgtccgcttgcctgtccaaccacgggatg tctgggtccgcccgcgctggaagggcctcgaatgg gtgctgggtattgtacagcggtagcacctactatgccg</p>

[1227]

	<p>SQPLSLRPEACRPAAGGAVH TRGLDFACDIYIWAPLAGTCG VLLLSLVITLYCKRGR KKLLYIFKQPFMRPVQTTQEE DGCSCRFPEEEEEGGCELRVK FRSADAPAYQQGQNQLYNE LNLGRREEYDVLDKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQ KDKMAEAYSEIGMKGERRRG KGHDGLYQGLSTATKDTYDAL HMQALPPR (SEQ ID NO: 181)</p>	<p>atcctgtaaggggagattcaccatcagccgggacaact caggaacactctgtacctcaaatgaattcgtgaggcca gaggacactgcatctactactgtcccgcatggcggag agtccgacgtctggggacaggggaccaccgtgaccgtgt ctagcgcgtccggcggagcggcagcgggggtcgggc atcagggggcggcggatcggacatccagctcaccagtc cccagctcgtctccgctcctggtggagatcgggtcacc atcacgtgccgcccagccagctgatttctcctactctgaa ctggtaccaacagaagcccggaaaagcccgaagcttct catctaccgcccctcagcctgagctgagtgaccctca cggttctccggctccggttccggtactgattcaccctgacc atttctccctgcaaccggaggactctgctactactactgc cagcagctgtactccaccctacacttccgacaaggca ccaaggtcgaatcaagaccactaccagcaccgagg ccaccaccggctcctaccatcgctccagcctctgtc cctcgtccggaggcatgtagaccgcagctggtggggc cgtgcataccggggtctgactcgcctcgcgatctacatt tgggccctctggctggtactgctggggtcctgctgttccac tcgtgatcactttactgtaagcgcggtcggagaagctg ctgtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagact actcaagaggaggacggcgttcatgcccgttcccagag gaggaggaaggcggctgcgaactgcgctgaaattcag ccgagcgcagatgctccagcctaccagcaggggcaga accagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagagg agtacgacgtctggacaagcggagaggacgggacc agaaatgggcgggaagccgcgcagaagaatccc gagggcctgtacaacgagctccaaaggataagatggc agaagcctatagcagattggtatgaaaggggaacgca gaagaggcaaaggccagcagcagctgaccagggact cagcaccgccaccaaggacacatgacgctcttccat gcaggccctgcgcctcgg (SEQ ID NO: 182)</p>
<p>SP-接头 1-ERmut2- 弗林蛋白酶切割位点 3-BCMA CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPR SSLALSLTADQMVSALLDAEP PILYSEYDPTRPFSEASMMGL LTNLADRELVHMINWAKRVPG FVDLTLHDQVHLLCAWMEIL MIGLVWRSMEHPGKLLFAPNL LLDRNQKCVVEGGVEIFDMLL ATSSRFRMMNLQGEFVCLK SIILLNSGVYTFLSSTLKSLEEK DHIHRVLDKITDTLIHLMAKAG LTLQQHQHRLAQLLLILSHIRH MSNKRMEHLYSMKCKNVVPL SDLLEMLDAHRLGTGAEDPR PSRKRREVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAVSGFALS NHGM SWVRRAPGKGLEWVSGIVYS GSTYYAASVKGRFTISRDNRS NTLYLQMNSLRPEDTAIYCS AHGGESDVWGQTTTVTVSSA SGGGGSGGRASGGGGSDIQL TQSPSSLSASVGDRTITCRA SQSISYLNWYQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQSYSTPYTFGQGTKEIKTT TPAPRPPTPAPTIASQPLSLRP EACRPAAGGAVHTRGLDFAC DIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITL YCKRGRKKLLYIFKQPFMRPV QTTQEEDGCSCRFPEEEEEGG</p>	<p>atggccctccctgtcacccgctgcttccgctggctctc tgcctccacgcgctcggccccgctgTcgtggcacttcc ctgactgcccaccagatggtgtcccctctgagcgcg agcctccaattctgtactcggagtagatccgactcgcg ttctcgaagccagcatgatgggctgtgactaacctggc ggaccgcgagttggtgcaatgattaactgggctaagcgg gtgcccggctcgtggacctgacctgcacgaccaagtg acctctggaatgcgctgagtgaaatcctcatgatcgg cctcgtgtggagatcctagcagcaccggaaagctcctg ttgcaccacaacctcctgctgacgcaaccagggaaaatg cgtggaagggggtgtagatcttgcagatgctgctgcca cctctcccgggtccgatgatgaatctgcagggagaaga ggtcgtgtgtgaagtcaatcctcgtgtaactccggggt ctatacctcctgagctcgaacctcaagtcactggaggaaa aagaccacatcctcgcgtgctgcgataagatcaccgaca cccttatccatctcagcgaaggctggactgacctgcaa cagcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattcga gccacatccggcacatgtcgaacaagaggatggaacac ctgtacagcatgaagtgaagaacgtgctgctcctgctccg atctgctcctggaaatgctggacgcgcacagactcggga cgggagctgaagatccacgaccagcagaaagcgcag ggaagtgaattggtggaatcagggggaggactgtgca gcctggaggatcgcgactgctgctgctgctcggct ttgccctgccaaccacgggatgctcctgggtccgcccgc gctggaagggcctcgaatgggtgctgggtattgtgac agcggtagcacctactatcgcgcatccgtgaaggggaga ttaccatcagccgggacaactccaggaactcctgtacc tccaaatgaattcgtgagccagaggaactgcatctta ctactgctccgcatggcggagagctccgactgctggg acaggggaccaccgtgaccgtgctagcgcctcggcgg</p>

[1228]

	<p>CELRVKFSRSADAPAYQQGQ NQLYNELNLGRREEYDVLDK RRGDRPEMGGKPRRKNPQE GLYNELQKDKMAEAYSEIGMK GERRRGKGDGLYQGLSTAT KDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 183)</p>	<p>aggcggcagcgggggtcgggcatcagggggcggcgga tcggacatccagctcaccagctccccgagctcgtgccg cctccgtggagatcgggtcaccatcacgtgccgcgcca gccagtcgatttctctacctgaactggtaccaacagaag cccggaaaagccccgaagcttctcatctacgccgctcga gcctgcagtcaggagtgccctcacggttctccggtccggt tccggtactgattcaccctgaccatttctccctgcaaccgg aggactcgcctactactgcccagcagtcgtactccacc ccctacacttccgacaaggcaccaggcgaaatcaag accactacccagcaccgagggcaccaccggctcct accatgcctcccagcctctgtccctgctcggaggcatg tagaccgcagctggtggggcgtgcataccgggggtctt gacttcgctgcgatatctacattgggccctctggctgta cttcggggctcgtcgtcttactcgtgatcactcttactgta agcgcggtcggagaagctgctgtacatctttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacgg ctgtcatgccggtcccagaggaggaggaggcggctg cgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctcc agcctaccagcaggggcagaaccagctctacaacgaac tcaatctgggtcggagagaggagtacgactgctggaca agcggagaggacgggaccagaaatgggcgggaagc cgcgagaaagaatccccagaggcctgtacaacga gctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaagggaacgcagaaaggcaaggcca cgacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaagg acacctatgacgctctcatatgcaggccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 184)</p>
--	---	---

[1229] 细胞系和细胞转导

[1230] 从ATCC获得Jurkat细胞并在培养基中根据供应商的建议维持。采用来自各种质粒DNA转染的293T细胞的慢病毒上清液,通过离心注入法转导Jurkat细胞系。

[1231] 癌细胞

[1232] 从ATCC获得NALM6、K562、Molm13细胞系并在培养基中根据供应商的建议维持。为了产生T细胞杀伤测定法的生物发光模型,将全部细胞用萤光素酶慢病毒构建体转导并保持处于抗生素选择下。

[1233] 化合物处理

[1234] 4-羟他莫昔芬(4-OHT)重悬于乙醇中。巴多昔芬和雷洛昔芬重悬于DMSO中。在不显示浓度的全部情况下,在通过流式细胞术分析之前按1uM添加化合物24小时。

[1235] 流式细胞术

[1236] 将细胞从体外培养物分离,在补充0.5%牛血清白蛋白的PBS中洗涤1次并且在冰上如下染色:使用生物素酰化的蛋白质L,随后与荧光物质缀合的链霉亲和素试剂或识别给定靶抗原的抗体温育。在全部分析中,基于前向与侧向散射特征对目的群体设门,随后进行单峰设门,并且对活细胞设门。在四激光Fortessa (Becton-Dickinson) 上进行流式细胞术。

[1237] 肿瘤杀伤测定法

[1238] 简言之,在巴多昔芬存在或不存在下,将萤光素酶转导的靶细胞系按所示比率与CD19CAR、FurON-CD19CAR、CD123CAR、FurON-CD123 CAR T效应细胞共培养20小时。在发光读数仪(Envision)上,通过添加Bright-Glo (Promega) 测量剩余萤光素酶活性。使用阴性对照,计算杀伤百分数。

[1239] 细胞因子分泌

[1240] 在巴多昔芬存在或不存在下,将效应细胞系和萤光素酶转导的靶细胞系按3:1比率在含有10%FBS的RPMI中共培养20小时。根据生产商的说明 (Invitrogen),通过3-plex阵列分析上清液。

[1241] 增殖测定法

[1242] 在巴多昔芬存在或不存在下,将效应细胞和照射的靶细胞共培养4天。随后收获细胞,洗涤并用抗CD3抗体和/或蛋白质L试剂染色,以检测CAR表面表达。随后将细胞洗涤、重悬于FACS缓冲液中并将固定体积的绝对计数用珠添加至每种样品。在Fortessa FACS分析仪上运行样品并且对全部样品采集计数用珠门中相同数目的事件。

[1243] 实施例14:对CAR19背景下弗林蛋白酶降解决定子结构域内部不同弗林蛋白酶切割位点的评价(抗CD19 scFV CAR)

[1244] 包含弗林蛋白酶降解决定子结构域与抗CD19 scFV CAR融合并前置有T7启动子的基因片段经历体外转录/翻译。如注释,基因片段之间的差异在于产生的弗林蛋白酶切割位点。将体外合成的蛋白质与如所示的弗林蛋白酶在37°C温育1小时。将样品加载于还原性SDS-PAGE凝胶上并使用抗CD3 ζ 抗体,通过免疫印迹法分析。

[1245] 图12A-12B显示CAR19背景下多个受测弗林蛋白酶切割位点之间的弗林蛋白酶切割程度。受测的弗林蛋白酶切割位点是:#105-LQWLEQQVAKRRTKR (SEQ ID NO:129);#106-GTGAEDPRPSRKRRSLGDVG (SEQ ID NO:125);#107-GTGAEDPRPSRKRRSLGG (SEQ ID NO:131);#108-GTGAEDPRPSRKRRSLG (SEQ ID NO:133);#102-SLNLTESHNSRKKR (SEQ ID NO:135);#103-GTGAEDPRPSRKRR (SEQ ID NO:127);#104-CKINGYPKRGRKR (SEQ ID NO:137);#73-RTKR (SEQ ID NO:123)。使用衍生自亲本CAR19的基因片段作为对照 (Ctrl) 并且未观察到切割作用(图12A-12B)。

[1246] 实施例15:原代人T细胞中化合物诱导性型CAR表达

[1247] 将原代人T细胞用融合于抗CD19 scFV CAR构建体(构建体#106)的弗林蛋白酶降解决定子结构域转导。使用未转导的T细胞(UTD)和亲本CAR19作为对照。在抗CD3/CD28刺激珠存在下,将细胞扩充10天。在第7天添加100U/mL IL-2,在第8天添加巴多昔芬(BZA)。在冷冻细胞之前,使用蛋白质L染色法,通过FACS在第10天测定CAR表达。还评估细胞数目、大小和活力。

[1248] 数据显示,弗林蛋白酶降解决定子结构域以稳定作用化合物依赖性方式调节人原代T细胞中的CAR19表达,与亲本CAR构建体相比,CAR的MFI(平均荧光强度)较低(图13)。另外,弗林蛋白酶降解决定子结构域对细胞活力和细胞增殖没有影响(图13)。

[1249] 实施例16:FURON CAR介导的化合物依赖性肿瘤杀伤

[1250] 将原代人T细胞用融合于抗CD19 scFV CAR(构建体#106)的弗林蛋白酶降解决定子结构域转导。使用未转导的T细胞(UTD)作为对照。纳入亲本CAR19构建体作为完整CAR功能活性的基准。在抗CD3/CD28刺激珠存在下,将细胞扩充10天。在第7天添加100U/mL IL-2,在第8天添加巴多昔芬(样品CD19CAR+和FurON 106+)或省略(样品CD19CAR和FurON 106)。在第10天冷冻细胞。将T细胞解冻并且与萤光素化的靶细胞系(CD19+ NALM6细胞或CD19-K562细胞)和巴多昔芬共培养20小时。CART细胞对相同百分数表达CAR的细胞归一化。通过分析剩余萤光素酶活性测定肿瘤裂解百分数。

[1251] 这些数据显示,具有弗林蛋白酶降解决定子结构域的CAR19以稳定作用化合物剂

量依赖性方式杀伤CD19+肿瘤细胞并且不劣于亲本CAR构建体(图14)。

[1252] 实施例17:FURON CAR所致的化合物依赖性和肿瘤依赖性细胞因子分泌

[1253] 将原代人T细胞用融合于抗CD19 scFV CAR(构建体106)的弗林蛋白酶降解决定子结构域转导。使用未转导的T细胞(UTD)作为对照。纳入亲本CAR19构建体作为完整CAR功能活性的基准。在抗CD3/CD28刺激珠存在下,将细胞扩充10天。在第7天添加100U/mL IL-2,在第8天添加巴多昔芬(BAZ)(样品CD19CAR+BAZ和FurON 106+BAZ)或省略(样品CD19CAR和FurON 106)。在第10天冷冻细胞。如所示,将T细胞解冻并且与荧光素化的NALM6(CD19+靶细胞系)和所示巴多昔芬共培养20小时。CART细胞对相同百分数表达CAR的细胞归一化。收获上清液并评价IFN γ 水平。

[1254] 这些数据显示,在CD19+肿瘤细胞存在下,表达ER α FurON CAR19的原代人T细胞以稳定作用化合物剂量依赖性方式分泌IFN γ 并且不劣于亲本CAR19构建体(图15)。

[1255] 实施例18:FURON CAR的化合物依赖性和肿瘤依赖性增殖

[1256] 将原代人T细胞用融合于抗CD19 scFV CAR(构建体106)的弗林蛋白酶降解决定子结构域转导。使用未转导的T细胞(UTD)作为对照。纳入亲本CAR19构建体作为完整CAR功能活性的基准。在抗CD3/CD28刺激珠存在下,将细胞扩充10天。在第7天添加100U/mL IL-2,在第8天添加巴多昔芬(Baz)(样品CD19CAR+BAZ和FurON 106+BAZ)或省略(样品CD19CAR和FurON 106)。在第10天冷冻细胞。将T细胞解冻并且与荧光素化的靶细胞系(CD19+ NALM6细胞或CD19-K562细胞)和巴多昔芬共培养。CART细胞对相同百分数表达CAR的细胞归一化。在4天后,通过FACS分析样品并且对全部样品采集计数用珠门中的3000个事件。

[1257] 这些数据显示,在CD19+肿瘤细胞存在下,表达ER α FurON CAR19的原代人T细胞以稳定作用化合物依赖性方式增殖并且不劣于亲本CAR19构建体(图16)。

[1258] 实施例19:JURKAT T细胞中化合物诱导性型CAR表达

[1259] 将Jurkat T细胞用融合于抗CD19 scFV CAR构建体的二个弗林蛋白酶降解决定子结构域之一转导。这二个构建体共有相同的弗林蛋白酶切割序列,但是差异在于降解结构域中突变的数目(表23中所示的ERmut1或ERmut2)。具有更多突变的构建体是FurONCART19#106(具有ERmut1);并且具有较少突变的构建体是FurONCART19#130(具有ERmut2)。将转导细胞与4-OH他莫昔芬、巴多昔芬或雷洛昔芬按所示浓度温育42小时。使用蛋白质L,通过FACS测定抗CD19 scFV的表达。

[1260] 这些数据显示,无论突变数目为多少,受测的弗林蛋白酶降解决定子结构域可以按照稳定作用化合物依赖性方式调节CAR19表达;并且在化合物不存在下,检测不到CAR表面表达(图17)。

[1261] 实施例20:人原代T细胞中化合物诱导型CAR表达

[1262] 将原代人T细胞用融合于抗CD19 scFV CAR构建体(构建体#130)的弗林蛋白酶降解决定子结构域转导。使用未转导的T细胞(UTD)和亲本CAR19作为对照。在抗CD3/CD28刺激珠存在下,将细胞扩充10天。在第7天添加或省略100U/mL IL-2,在第8天添加巴多昔芬(BZA)。在冷冻细胞之前,使用蛋白质L染色法,通过FACS在第10天测定CAR表达。

[1263] 这些数据显示,在人原代T细胞中,FurON结构域-在降解决定子结构域中包含有限数目的突变-以稳定作用化合物依赖性和IL-2依赖性方式调节CAR19表达(图18)。另外,当FurON部分与CAR19融合时,在稳定作用化合物巴多昔芬不存在下,检测不到CAR表面表达

(图18)。

[1264] 实施例21: FURON CAR介导的化合物依赖性肿瘤杀伤

[1265] 将原代人T细胞用融合于抗CD19 scFV CAR构建体(构建体#130)的弗林蛋白酶降解决定子结构域转导。使用未转导的T细胞(UTD)作为对照。纳入亲本CAR19构建体作为完整CAR功能活性的基准。在抗CD3/CD28刺激珠存在下,将细胞扩充10天。在第7天添加100U/mL IL-2。在第8天,将巴多昔芬(BZA)添加至FurON 130 BZA样品的一部分,从而在冷冻细胞之前,可以使用蛋白质L染色法,通过FACS在第10天测定CAR表达。在巴多昔芬存在或不存在下,将T细胞解冻并且与荧光素化的靶细胞系(CD19⁺ NALM6细胞或CD19⁻ K562细胞)共培养20小时。如图19A-19B的x-轴中所示,使用不同比率的CAR(“效应子”)和靶细胞。CART细胞对相同百分数表达CAR的细胞归一化。通过分析剩余荧光素酶活性测定肿瘤裂解百分数。

[1266] 这些数据显示,表达在降解决定子结构域中包含有限数目突变的FurON CAR19的CART细胞以稳定作用化合物依赖性方式和靶依赖性方式杀伤CD19⁺肿瘤细胞并且不劣于亲本CAR构建体的(图19A-19B)。

[1267] 实施例22: FURON CAR所致的化合物依赖性和肿瘤依赖性细胞因子分泌

[1268] 将原代人T细胞用融合于抗CD19 scFV CAR构建体(构建体#130)的弗林蛋白酶降解决定子结构域转导。使用未转导的T细胞(UTD)作为对照。纳入亲本CAR19构建体作为完整CAR功能活性的基准。在抗CD3/CD28刺激珠存在下,将细胞扩充10天。在第7天添加100U/mL IL-2。在第8天,将巴多昔芬(BZA)添加至FurON 130 BZA样品的一部分,从而在冷冻细胞之前,可以使用蛋白质L染色法,通过FACS在第10天测定CAR表达。在第10天冷冻细胞。在巴多昔芬存在或不存在下,将T细胞解冻并且与荧光素化的靶细胞系(CD19⁺ NALM6细胞)按5:1的效应子:靶比率共培养20小时。CART细胞对相同百分数表达CAR的细胞归一化。收获上清液并评价IFN γ 水平。

[1269] 这些数据显示,在CD19⁺肿瘤细胞存在下,表达在降解决定子结构域中包含有限数目突变的FurON CAR19的CART细胞以稳定作用化合物依赖性方式分泌细胞因子并且不劣于亲本CAR构建体(图20)。

[1270] 实施例23: 化合物依赖性和肿瘤依赖性T细胞增殖

[1271] 将原代人T细胞用融合于抗CD19 scFV CAR(构建体#130)的弗林蛋白酶降解决定子结构域转导。使用未转导的T细胞(UTD)作为对照。纳入亲本CAR19构建体作为完整CAR功能活性的基准。在抗CD3/CD28刺激珠存在下,将细胞扩充10天。在第7天添加100U/mL IL-2。在第8天,将巴多昔芬添加至FurON 130 BZA样品的一部分,从而在冷冻细胞之前,可以使用蛋白质L染色法,通过FACS在第10天测定CAR表达。在第10天冷冻细胞。在巴多昔芬存在或不存在下,将T细胞解冻并且与所示的荧光素化的靶细胞系共培养4天。CART细胞对相同百分数表达CAR的细胞归一化。在4天后,通过FACS分析样品并且对全部样品采集计数用珠门中的3000个事件。

[1272] 这些数据显示,在CD19⁺肿瘤细胞存在下,包含FurON CAR19的CD3⁺T细胞以稳定作用化合物依赖性方式增殖并且不劣于亲本CAR构建体(图21)。

[1273] 实施例24: 原代人T细胞中化合物诱导型CAR123表达

[1274] 将原代人T细胞用融合于与抗CD123 scFV CAR构建体的弗林蛋白酶降解决定子结构域转导。使用未转导的T细胞(UTD)和亲本CAR123作为对照。在抗CD3/CD28刺激珠存在下,

将细胞扩充10天。在第7天添加100U/mL IL-2,在第8天添加巴多昔芬(BZA) (Furon123+BZA) 或省略(Furon123)。在冷冻细胞之前,使用蛋白质L染色法,通过FACS在第10天测定CAR表达。

[1275] 这些数据显示FurON结构域以稳定作用化合物依赖性方式调节原代人T细胞中CAR123表达(图22)。

[1276] 实施例25:CAR123介导的化合物依赖性肿瘤杀伤

[1277] 将原代人T细胞用融合于与抗CD123 scFV CAR构建体的弗林蛋白酶降解决定子结构域转导。使用未转导的T细胞(UTD)作为对照。纳入亲本CAR123构建体作为完整CAR功能活性的基准。在抗CD3/CD28刺激珠存在下,将细胞扩充10天。在第7天添加100U/mL IL-2,在第8天添加巴多昔芬(BZA) (FurON123+BZA) 或省略(FurON123)。在冷冻细胞之前,使用蛋白质L染色法,通过FACS在第10天测定CAR表达。在巴多昔芬存在或不存在下,将T细胞解冻并且与荧光素化的靶细胞系共培养20小时。Mo1m13是CD123+细胞系;K562细胞中观察到CD123+表达很低。如图25的x-轴(E:T比率)中所示,使用不同比率的CART和靶细胞。CART细胞对相同百分数表达CAR的细胞归一化。通过分析剩余荧光素酶活性测定肿瘤裂解百分数。

[1278] 这些数据显示,表达FurON CAR123的CART细胞以稳定作用化合物依赖性方式和靶依赖性方式杀伤CD123+肿瘤细胞并且不劣于亲本CAR构建体(图23)。

[1279] 实施例26:FURON CAR123所致的化合物依赖性和肿瘤依赖性IFN- γ 细胞因子分泌

[1280] 将原代人T细胞用融合于与抗CD123 scFV CAR的弗林蛋白酶降解决定子结构域转导。使用未转导的T细胞(UTD)作为对照。纳入亲本CAR123构建体作为完整CAR功能活性的基准。在抗CD3/CD28刺激珠存在下,将细胞扩充10天。在第7天添加100U/mL IL-2,在第8天添加巴多昔芬(BZA) (FurON123+BZA) 或省略(FurON123)。在第10天冷冻细胞。在巴多昔芬存在或不存在下,将T细胞解冻并且与荧光素化的靶细胞系按5:1的效应子对靶比率共培养20小时。Mo1m13是CD123+细胞系;K562细胞中观察到CD123+表达很低。收获上清液并评价IFN γ 水平。

[1281] 这些数据显示在CD123+肿瘤细胞存在下,表达FurON CAR123的CART细胞以稳定作用化合物依赖性方式分泌细胞因子并且不劣于亲本CAR构建体的(图24)。

[1282] 实施例27:仅在给予巴多昔芬时FURON CART19才在动物中模型有效对抗CD19+肿瘤细胞

[1283] 细胞系

[1284] NALM6 (RRID:CVCL_0092) 是人白血病细胞系,其衍生自一名19岁在1976复发的急性淋巴母细胞性白血病(ALL)男性的外周血。在含有10%胎牛血清的RMPI培养基中培育细胞。该细胞系在组织培养瓶中悬浮生长。当静脉内植入时,该细胞系在小鼠中持续存在并扩充。已经修饰NALM6细胞以表达荧光素酶,从而也可以通过小鼠成像,监测肿瘤细胞生长。

[1285] 小鼠

[1286] 6周龄NSG (NOD.Cg-Prkdc^{scid}I12rg^{tm1Wjl}/SzJ) 小鼠从Jackson Laboratory接收。在实验之前允许动物在NIBR动物设施适应至少3天。根据Novartis ACUC规程和指导原则操作动物。在植入肿瘤之前一天,在左侧植入动物识别用电子应答器。

[1287] 肿瘤植入

[1288] 收获对数生长阶段的NALM6细胞并在50ml Falcon管中按1200转/分钟洗涤5分钟,

在生长培养基中一次并且随后在冷的无菌PBS中两次。将细胞以 5×10^6 /ml的浓度重悬于PBS中,置于冰上并立即在小鼠中注射。将肿瘤细胞经尾静脉按200 μ l静脉内注射。NALM6模型内源表达CD19,并且因此可以用来测试指向CD19的CAR T细胞的体内功效。这个模型在小鼠中静脉内植入时生长良好并且可以对肿瘤负荷量值成像。

[1289] 体内研究用CART19和FurON CART19细胞的制备

[1290] 通过始于来自健康单采供体的血液,生成CART细胞,其中通过负向选择T细胞、CD4⁺和CD8淋巴细胞,获得幼稚T细胞。通过以下方式活化这些细胞:在T细胞培养基(RPMI1640、10%热灭活胎牛血清(FCS)、2mL-谷氨酰胺、1x青霉素/链霉素、100 μ M非必需氨基酸、1mM丙酮酸钠、10mM HEPES、和55 μ M2-巯基乙醇)中在37 $^{\circ}$ C,5%CO₂按比率1:3(T细胞/珠)添加CD3/CD28珠(Dynabeads[®]人T-Expander CD3/CD28,Thermo Fisher Scientific)。在24孔平板每孔1mL培养基中,按 4×10^6 个T细胞(UTD)或 5×10^6 (CART19和FurON CART19)培养T细胞。在24小时后,当吹打T细胞时,添加0.5mL未浓缩的或更小体积的浓缩的病毒上清液;按感染复数(MOI)5转导T细胞。T细胞开始按对数生长模式分裂,这通过测量细胞计数/mL来监测。并且在新鲜培养基中每两天稀释T细胞。在第7天,将100U/ml的IL2(PeproTech, Rocky Hill, NJ)和1 μ M巴多昔芬添加至培养物。在第9天,添加1 μ M巴多昔芬。在第10天,收集细胞并在FACS Fortessa (BD)上通过流式细胞分析法,测定转导的细胞(在细胞表面上表达CD19-特异性CAR)的百分数。病毒转导显示相似的转导效率;FurON CAR19(平均荧光强度,MFI)的表面表达低于对CART19的观测情况。全部CAR T细胞均在研究级(即,非临床等级)生产条件下产生。

[1291] 用CART19或FurON CART19细胞处理

[1292] 将表达萤光素酶的CD19⁺ NALM6肿瘤细胞输注至NSG小鼠中。七天后,依据全身生物发光测量肿瘤负荷,将动物随机分组至治疗组(5小鼠/组),并借助外侧尾静脉按静脉内方式输注PBS(溶媒)、CART19(1×10^6 或 5×10^6 个CAR⁺T细胞)、FurON CART19细胞(5×10^6 个CAR⁺T细胞)或未转导的T细胞(UTD)。全部动物均接受相同剂量的总T细胞(16.4×10^6 个/小鼠)。对一些组给予巴多昔芬(BZA)、巴多昔芬加白介素2(BZA/IL2)或溶媒,如线条所示。给予BZA10天(单次剂量200mg/kg;p.o)。给予IL2持续5天,休息二天并再次给予3天(单次剂量 18×10^6 IU/kg;i.p.)。随时间推移监测肿瘤生长和动物健康。在图27中对全部处理组的平均生物发光作图;箭头显示何时停止施用BZA和IL2。

[1293] 结果

[1294] 如图47中所示,尽管在阴性对照小鼠中和仅用FurON CART19处理的小鼠中,肿瘤进展,但在输注CART19或输注FurON CART19并经单一BZA或BZA和IL2二者处理的小鼠中,肿瘤生长受抑制。一旦停止给予巴多昔芬和IL2,则仅组成型活性的CART19在最高剂量时才能够控制肿瘤生长。先前显示以相同的剂量和给药方案,BZA不影响NALM6肿瘤细胞的生长(数据未显示)。因此在巴多昔芬存在下,FurON CART19显示与阳性对照CART19相当的肿瘤抑制活性。

[1295] 实施例28:额外的FurON CAR序列

[1296] 表24. 额外FurON CAR构建体及其组件的序列

[1297]

	氨基酸序列	DNA 序列
前导序列 / 信号肽 (SP)	MALPVTALLLPLALLLHAARP (SEQ ID NO: 139)	atggcctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccgctcggccc (SEQ ID NO: 140)
SP-接头 2-ERmut1-弗林蛋白酶切割位点 2-CD19 CAR2	MALPVTALLLPLALLLHAARPS LALSLTADQMVSALLDAEPPIL YSEYDPTTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLALHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMAKAGLT LQQQHQLAQLLLILSHIRHM SSKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRSLGDVGEIVMTQSPAT LSLSPGERATLSCRASQDISK YLNWYQQKPGQAPRLLIYHTS RLHSGIPARFSGSGSDYTL TISSLQPEDFAVYFCQQGNTL PYTFGGQTKLEIKGGGSGG GGSGGGGSQVQLQESGPGI VKPSETLSLTCTVSGVSLPDY GVSWIRQPPGKLEWIGVIW GSETTYSSSLKSRVTISKDN SKNQVSLKLSSVTAADTAVYY CAKHYYYGGSYAMDYWGQG TLVTVSSTTPAPRPPTPPTI ASQPLSLRPEACRPAAGGAV HTRGLDFACDIYWAPLAGTC GVLLLSLVITLYCKRGRKLLYI FKQPFMRPVQTTQEEDGCSC RFPEEEEGGCELRVKFSRSA DAPAYQQGQNQLYNELNLR REEYDVLDRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMA EAYSEIGMKGERRRGKGDG LYQGLSTATKDTYDALHMQUAL PPR (SEQ ID NO: 990)	atggcctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccgctcggccc (SEQ ID NO: 140) atggcctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccgctcggccc (SEQ ID NO: 140) tgctccacgccgctcggccc (SEQ ID NO: 140) cggaccagatgggtgctcggccctctggagcggcggactcc aattctgtactcggagtagatccgactcggcggctcctcga agccagcatgatggcctgtgactaacctggcggaccg cgagttggtgcacatgattaactgggctaagcgggtgccc ggctctgtggacctggccctgcacgaccaagtgcacctcc tggaatgcgctggatgaaatcctcatgatcggcctcgtg tggagatccatggagcatcccgaaagctcctgtttgac ccaacctcctgctgatcgcaaccagggaaaatcgctgg aagggggtgctgagatcttcgacatgctgctgccacctctt cccgggtccgatgatgaatctgcaggagaagagttcgt gtgtctgaagtcaatcactcctgctgaactcggggtctatac cttctgagctcgacctcaagcactgagggaagaaaga ccacatccatcgctgctcgaatagatcaccgacacctt atccatctatggcgaaggctggactgacctgcaacagc agcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgagcca catccggcacatgctgccaagaggatggaacacctgta cagcatgaagtgaagaacgctgctcctctgctccgatctg ctcctggaatgctggagcgcacagactcgaaccggc gcggaagacccccggcctccaggaagcgaaggtccct cggagacgtgggtgaaattgtagaccagtcaccgc cactcttagccttccaccggtagcgcgcaacctgtctg cagagcctccaagacatctcaaaataccttaattggtatc aacagaagccggacaggctcctcgcctctgatctacca caccagccggctccattctggaatccctgaccaggtcagc ggtagcggatctgggaccgactacacctcactatcagct cactgcagccagaggactcgtcttattctgtcagcaa gggaacacctgcccctacaccttggacagggcaccaga ctcgagattaaggtggaggtggcagcggaggaggtgg gtccggcgggtggagggaagccaggtccaactccaagaaa gcccaccgggtctgtgaagccatcagaactcttctactg actgtactgtgagcggagtgctctccccgattacggggtg tcttgatcagacagccaccggggaaggtctggaatgg attggagtgattggggctctgagactactactctctatc cctcaagtcacgcgtcaccatctcaaggaactctaa aatcaggtgtcactgaaactgtcatctgtgaccgagcgg

[1298]

		<p>acaccgccgtgtactattgcgctaagcattactattatggcg ggagctacgcaatggattactggggacaggggtactctggt cacggtgtccagcaccactaccccagcaccgagggccac ccaccccggtcctaccatcgctcccagcctctgtccctg cgccggagggcatgtagaccgagctggggggccggtg catacccggtgtgacttgcctgcatatctacattgg gcccctctggctggtacttgcgggctctgctcttactctg tgatcactcttactgtaagcgcggtcggagaagaagctgctg acatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagactactc aagaggaggacggctgtcatgcccgttcccagaggagg aggaaggcggctgcaactgcgctgaaattacggcgc agcgagatgctccagcctaccagcagggggcagaacca gctctacaacgaactaatctggtcggagagaggagtag gacgtgctggacaagcggagagggacgggaccgagaaa tggcggggaagccgagcagaaagaatcccaagagg cctgtacaacgagctcaaaaggataagatggcagaag cctatagcgagattgtagaaaggggaacgcagaaga ggcaaaggccagcagcagctgtaccagggactcagca ccgccaccaaggacacatgacgctcttcaatgacagg ccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 1050)</p>
<p>SP-接头 2-ERmut2- 弗林蛋白酶切割位点 2-CD19 CAR2</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPS LALSLTADQMVSALLDAEPPIL YSEYDPTRFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLTLHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMEHKLLFAPNLL LDRNQGKCVGGVEIFDMLLA TSSRFMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMAKAGLT LQQQHQRLLAQLLLILSHIRHM SNKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRSLGDVGEIVMTQSPAT LSLSPGERATLSCRASQDISK YLNWYQKPGQAPRLIYHTS RLHSGIPARFSGSGSDTYTL TISSLQPEDFAVYFCQQGNL PYTFGQGTKLEIKGGGSGG GGSGGGSQVQLQESGPG VKPSETLSLTCTVSGVSLPDY GVSWIRQPPGKLEWIGVIW GSETTYSSSLKSRVTISKDN SKNQVSLKLSVTAADTAVYY CAKHYYYGGSYAMDYWGQG TLVTVSSTTTPAPRPPTPPTI ASQPLSLRPEACRPAAGGAV HTRGLDFACDIYIWAPLAGTC GVLLLSLVITLYCKRGRKLLLYI FKQPFMRPVQTTQEEDGCSC RFPEEEEGGCELRVKFSRSA DAPAYQQGQNQLYNELNLGR REEYDVLDRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMA EAYSEIGMKGERRRGKGDH LYQGLSTATKDTYDALHMQUAL PPR (SEQ ID NO: 991)</p>	<p>atggccctccctgtcaccgcccctgtgcttccgctggtcttc tgctccacgcccctcggccctcgttgacatttccctgactg ccgaccagatgggtccgcccctctggagcggagcctcc aattctgtactcggagtagatccgactcggccttccga agccagcatgatggcctgtgactaacctggcggaccg cgagttggtgacatgattaactgggctaagcgggtgccg ggcttctggacctgacctgcagcagcaagtcacctcc tggaatgcgctggatggaaatcctcatgctgcccctg tggagatccatggagcatcccggaaagctcctgtttgac ccaacctcctgctgatcgcaaccagggaaaatgcggtg aagggggtgctgagatttgcagatgctgctgcccactt cccgggtccggtgatgaatctgagggaggaagagttcgt gtgtctgaagtcaatcctcctgtaactccggggtctatac cttctgagctcagccctcaagtcactggaggaaaaga ccacatccatcgctgctcgataagatcaccgacaccctt atccatctatggcgaaggctggactgacctgcaacagc agcaccagagggctggcccagttgctgctgattctgagcca catccggcacatgtgacaagaggatggaacacctgta cagcatgaagtgaagaacgctgctcctctgctcagctg ctcctggaatgctggagcgcagcagactcgaacccg gaggaagacccccggccctcaggaagcgaaggtccct cggagacgtgggtgaaattgtgatgaccagtcaccgc cactcttagccttaccgggtgagcgcgcaacctgtctg cagagcctccaagacatctcaaaatacctaattggtatc aacagaagcccggacagggctcctcgtctgactacca caccagcccgtccattctggaatccctgcccaggtcagc ggtagcggatctggaccgactacacctcactatcagct cactgcagccagaggactcgtgcttatttctgacgcaa gggaacaacctgcccctacaccttggacagggcaccgaag ctcgagattaaggtggaggtggcagcggaggaggtg gtccggcgggtggaggaagccaggtccaactccaagaaa gaggaccgggtctgtgaagccatcagaactcttctactg actgtactgtgagcggaggtctctccccgattacggggtg tcttgatcagacagccacgggggaaggtctggaatgg attggagtgattggggtctgagactactactactctc cctcaagtcacgctcaccatctcaaaaggacaactctaa aatcaggtgctactgaaactgtcatctgaccgagccg acaccgcccgtgactattgcgctaagcattactattatggcg ggagctacgcaatggattactggggacaggggtactctggt cacggtgtccagcaccactaccccagcaccgagggccac ccaccccggtcctaccatcgctcccagcctctgctcctg</p>

[1299]

		<p>cgtcggaggcatgtagaccgcagctggtggggccggtg catacccggggtcttgacttcgctgcgatctacattgg gcccctctggctggtactgctggggtcctgctcttactcg tgatcactcttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctg acatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagactact aagaggaggacggctgtcatgccggtccagaggagg aggaaggcggctgcgaactgcgctgaaattcagccgc agcgcagatgctccagcctaccagcaggggcagaacca gctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggtagt gacgtgctggacaagcggagagggacgggacccagaaa tgggcgggaagccgctgcagaaagaatcccaagaggg cctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaag cctatagcgagattgtagaaaggggaacgcagaaga ggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcagca ccgccaccaaggacacatgacgctctcacatgcagg ccctgccgctcgg (SEQ ID NO: 1051)</p>
<p>SP-接头 2 – ERmut1 – 弗林蛋白 酶切割位点 3 – CD19 CAR2</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPS LALSLTADQMVSALLDAEPPIL YSEYDPTPRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLALHDQVHLLLECAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQQHQLRLAQLLLILSHIRHM SSKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRREIVMTQSPATLSLSPG ERATLSCRASQDISKYLNWYQ QKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIP ARFSGSGSGTDYTLTISSLQP EDFAVYFCQQGNTLPYTFGQ GTKLEIKGGGSGGGGSGGG GSQVQLQESGPGLVKPSSETL SLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQ PPGKGLEWIGVIWGSETTYYS SSLKSRVTISKDNSKNQVSLK LSSVTAADTAVYYCAKHYYYG GSYAMDYWGQGLTVTSSTT TPAPRPPTPAPTIASQPLSLRP EACRPAAGGAVHTRGLDFAC DIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITL YCKRGRKLLYIFKQPFMRPV QTTQEEDGCSCRFPEEEEEGG CELRVKFSRSADAPAYQQGQ NQLYNELNLGRREEYDVLDK RRGRDPEMGGKPRRKNPQE GLYNELQKDKMAEAYSEIGMK GERRRGKGDGLYQGLSTAT KDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 992)</p>	<p>atggcctccctgtcaccgccctgctgctccgctgctctc tgctccacgcccctcggccctcgttgccacttccctgactg ccgaccagatggtgtccgccctctgagcgcgagcctcc aattctgactcggagtagatccgactcggcgttccga agccagcatgatggcctgtgactaacctggcggaccg cgagttggtgcacatgattaactgggctaagcgggtgccc ggctcgtggacctggccctgcacgaccaagtgcacctcc tggaatgcgctggatggaatcctcatgatcggcctcgtg tggagatccatggagatcccggaaagctcctgtttgac ccaacctcctgctgatcgcaaccagggaaaatgcgctg aagggggtgctgagatcttcgacatgctgctgccacctct cccgggtccggatgatgaatctgcagggaagaaggttctg gtgctgaagtcaatcctcctgtaactccggggtctatac ctcctgagctgcaccctcaagtcactggaggaaaaga ccacatccatcgctgctcgataagatcaccgacaccctt atccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaacagc agcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgagcca catccggcacatgctgccaagaggatggaacacctgta cagcatgaagtgaagaacgctgctgctcctgctccgatctg ctcctggaatgctggacgcgacagactcgggacggg agctgaagatccaagaccagcagaagcgcagcgggaa attgtgatgaccagtcaccgccactcttagccttacc gggtgagcgcgaaccctgcttgagagcctcccaagac atctcaaaataccttaattggtatcaacagaagccggac aggctcctgcctctgatctaccaaccagcgggctccatt ctggaatccctgccaggtcagcggtagcggatctgggac cgactacacctcactatcagctcactgcagccagagga ctcctgctctattctgctcagcaagggaacacctgcctca caccttggacagggcaccagctcagatgaaagggtg aggtggcagcggaggagggtgggtccggcgggtggagga agccaggtccaactccaagaagcgggaccgggtcttg aagccatcagaactcttcaactgactgtactgtgagcgg agtgtctctcccggattacggggtgcttggatcagacagc cacccgggaagggtctggaatggattggagtgattgggg ctctgagactactactcttcatccctcaagtcacgcgctc accatctcaaggacaactctaagaatcaggtgtcactga aactgtcatctgaccgagccgacaccgctgtactat tgcgctaagcattactattatggcgggagctacgcaatgga ttactgggacagggactcgtgacccgtgtccagcacc actacccagcaccgagggccaccacccggctcctacc atgcctcccagcctctgctcctgctcggagcagctgtag accgcagctggtggggcctgcataccggggtcttgac ttgcctgctgatatctacattgggcccctctgctggtactg cggggctcctgctcttactcctgctgactcttactgtaagc</p>

[1300]

		<p>gcggtcggagaagctgctgtacatcttaagcaacccttc atgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgtt catgccggtcccagaggaggaggaaggcggctgcgaa ctgcgctgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct accagcagggggcagaaccagctctacaacgaactcaat cttggtcggagagaggtagcagctgctggacaagcg gagaggacgggaccagaaatgggcggaagccgcg cagaaagaatccccaagaggcctgtacaacgagctcc aaaaggataagatggcagaagcctatagcgagattgta tgaaaggggaacgcagaagaggcaaggccacgacg gactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacc tatgacgctcttcatatgcaggccctgcgcgctcgg (SEQ ID NO: 1052)</p>
<p>SP-接头 2 – ERmut2 – 弗林蛋白 酶切割位点 3 – CD19 CAR2</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPS LALSLTADQMVSALLDAEPPIL YSEYDPTPRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLTLHDQVHLLLECAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQQHQLAQLLLILSHIRHM SNKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRREIVMTQSPATLSLSPG ERATLSCRASQDISKYLNWYQ QKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIP ARFSGSGSGTDYTLTISSLQP EDFAVYFCQQGNTLPYTFGQ GTKLEIKGGGSGGGSGGG GSQVQLQESGPGLVKPSSETL SLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQ PPGKGLEWIGVIWGSETTYYS SSLKSRVTISKDNSKNQVSLK LSSVTAADTAVYYCAKHYYYG GSYAMDYWGQGLTVTVSSTT TPAPRPPTPAPTIASQPLSLRP EACRPAAGGAVHTRGLDFAC DIYIWAPLAGTCGVLLLSLVTIL YCKRGRKLLYIFKQPFMRPV QTTQEEDGCSCRFPEEEEEGG CELRVKFSRSADAPAYQQGQ NQLYNELNLGRREEYDVLDK RRGRDPEMGGKPRRKNPQE GLYNELQKDKMAEAYSEIGMK GERRRGKGHDLGLYQGLSTAT KDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 993)</p>	<p>atggcctccctgtcaccgacctgctgctccgctggctctc tgctccacgcccgtcggcccTcgttggcactttccctgactg ccgaccagatgggtccgccctctggagcgcgagcctcc aattctgtactcggagtagatccgactcgcctgctccga agccagcatgatggcctgtgactaacctggcggaccg cgagttggtgacatgattaactgggctaagcgggtgccc ggctcgtggacctgacctgcacgaccaagtgacctcc tggaatgcgctggatggaaatcctcatgatcggcctcgtg tggagatccatggagatcccggaaagctcgtttgac ccaacctcctgctgatcgaaccagggaaaatcgctgg aagggggtgctgagatttcgacatgctgctgccacctct cccggttccggatgatgaatcgcagggagaagagttcgt gtgctgaagtcaatcatcctgctgaactccgggtctatac ctcctgagctcgaacctcaagtcactggaggaaaaga ccacatccatcgctgctcgataagatcacccacacctt atccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaacagc agcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgagcca catccggcacatgtcgaacaagaggatggaacacctgta cagcatgaagtgaagaacgtcgtgctcctgctccgatctg ctcctggaatgctggagcgcgcacagactcGggacggg agctgaagatccacgaccagcagaagcgcagggaa attgtgatgaccagtcaccgcccactctagccttacc ggtagcgcgcaacctgtctgacagagcctccaagac atctcaaaataccttaattggtatcaacagaagcccggac aggctcctcgcctctgatctaccaaccagccggctccatt ctggaatcctgccaggttcagcggtagcggatctgggac cgactacacctcactatcagctactgcagccagagga ctcctgctctattctgctcagcaagggaacacctgcctca caccttggacagggcaccaagctcagagattaaaggtgg aggtggcagcggaggagggtgggtccggcggtggagga agccaggtccaactcaagaagcggaccgggtcttctg aagccatcagaactcttctactgactgtactgtgagcgg agtgctctccccgattacgggggtgcttggatcagacagc cacccgggaagggtctggaatggattggagtgattgggg ctctgagactactactcttcatccctcaagtcacgcgctc accatctcaaggacaactcaagaatcaggtgtcactga aactgtcatctgtagccgacggacaccgctgactat tgcgctaagcattactattatggcgggagctacgcaatgga ttactggggacagggtagctggtcaccgtgtccagcacc actccccagcaccgaggccaccaccccgctcctacc atgcctcccagcctctgctcctgctcggaggcatgtag accgcagctggtggggcgtgcataccgggggtcttgac ttcgctcgcgatatctacattgggcccctctggctgactg cgggtcctgctgcttctactcgtgatcactcttactgtaagc gcggtcggagaagctgctgtacatcttaagcaacccttc atgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgtt catgccggtcccagaggaggaggaaggcggctgcgaa ctgcgctgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcct</p>

[1301]

		<p>accagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaat cttggtcggagagaggagtagcagcgtgctggacaagcg gagaggacgggaccagaaatggcggggaagccgcg cagaaagaatccccaagaggcctgtacaacgagctcc aaaaggataagatggcagaagcctatagcgagattgta tgaaaggggaacgcagaagaggcaaggccacgacg gactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacc tatgacgctcttcacatgcaggccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 1053)</p>
<p>SP-接头 2 - ERmut1 - 弗林蛋白 酶切割位点 2 - CD123 CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPS LALSLTADQMVSALLDAEPPIL YSEYDPTPRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLALHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMAKAGLT LQQHQRLAQLLLILSHIRHM SSKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRSLGDVGQVQLVQSGA EVKKPGASVKVSCKASGYTFT GYMHWVRQAPGQGLEWM GWINPNSGGTNYAQKFQGRV TLTRDTSISTVYMELSRLRSD DTAVYYCARDMNILATVPFDI WGQGTMTVTVSSGGGGSSGGG GSGGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVITICRASQSISSYLN WYQQKPKGKAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTV NSLQPEDFATYYCQQGDSVP LTFGGGTREIKITTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYWAPL AGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK KLLYIFKQPFMRPVQTTQEED GCSCRFPEEEEGGCELRVKF SRSADAPAYQQGQNQLYNEL NLGRREEYDVLDKRRGRDPE MGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDYDAL HMQALPPR (SEQ ID NO: 994)</p>	<p>atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctctc tgcctccacgcccctcggccctcgtggcacttccctgactg ccgaccagatggtgtccgcccttctggacgcccagcctcc aattctgtactcggagtagcagcactcgccttctccga agccagcatgatggcctgtgactaacctggcggaccg cgagttggtgcacatgattaactgggctaagcgggtgccc ggctctgtggacctggccctgcacgaccaagtgcacctcc tggaatgcgctggatggaaatcctcatgatcggcctcgtg tggagatccatggagcatcccgaaagctcctgtttgac ccaacctcctgctgatcgcaaccagggaatcgctgg aagggggtgctgagatcttcgacatgctgctgccacctt cccgggtccggatgatgaatctgcagggaagaaggtctg gtgctgaagtcaatcctcctgtaactccggggtctatac cttcctgagctcgaccctcaagtcactgagggaaaga ccacatccatcgcgtgctcgataagatcaccgacacctt atccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaacagc agcaccagaggctggccagttgctgctgattctgagcca catccggcacatgctgccaagaggatggaacacctgta cagcatgaagtgaagaacgctgctcctctgcccgatctg ctcctggaatgctggacgcgacagactcggaaaccggc gcggaagacccccggccctccaggaagcgaaggtccct cggagacgtgggtcaagtcaactcgtccaaagcggag cggaagtcaagaaaccggagcgcgagcgtgaaagtgtcc tgcaaagcctccggctacacctttacgggctactacatgca ctgggtgcgccaggcaccagagcagggcttgaatggat gggatggatcaaccctaattcgggccaactaactacgc acagaagtccaggggagagtagctgactcgggatac ctccatcctaactgtctacatggaactcaccgcttgcggtc agatgatacggcagtgactactgcccgcgacatgaat atcctggtaccgtgcccgtgcacatctggggacagggga ctatggtactgtctcatcgggctggaggtcaggagga ggcggctcgggaggcggaggtcggacattcagatgacc cagtccccatcctctctgctggccagcgtcggagatagggt gaccattactgtcggcctcgcgaaagcatcctcgtacc tcaactggtatcagaaaagccgggaaggcgcctaag ctgctgatctacgcccgttcgagcttgcgaaagcggggtgcc atccagattcctgggatcaggctcaggaaaccgactcacc ctgaccgtgaacagcctccagcggaggacttggcactt actactgccagcaggagactccgtgcccgttacttccgg gggggtaccgctcggagatcaagaccactaccaccagc accgaggccaccaccaccggcctcctaccatgcctcca gcctctgtccctgctcggaggcatgtagaccgcagct ggtggggcctgcataccggggtctgactcgcctgctg atatctacatttggcccctcctgctggtactgctgggtcct gctgcttactcgtgatcactcttactgtaagcgggtcgg aagaagctgctgtacatcttaagcaaccttcatgagcc tgtcagactactcaagaggaggcggctgtcatgccc tcccagaggagggaaggcggctgcaactgcgcgt gaaattcagccgagcgcagatgctccagcctaccagca ggggcagaaccagctctacaacgaactcaatctggctg gagagaggagtacgacgtgctggcaagcggagagga cgggaccagaaatggcggggaagccgcgagaaag</p>

[1302]

		<p>aatccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaagga taagatggcagaagcctatagcgagattggtatgaaagg ggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtac cagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgc tctcacatgcaggccctgccgctcgg (SEQ ID NO: 1054)</p>
<p>SP-接头 2 – ERmut2 – 弗林蛋白 酶切割位点 2 – CD123 CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPS LALSLTADQMVSALLDAEPPIL YSEYDPTTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLTLHDQVHLLLECAWMEILM IGLVWRSMHEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMAKAGLT LQQQHQLRAQLLLILSHIRHM SNKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRSLGDVGVQVLVQSGA EVKKPGASVKVSCASGYTFT GYMHWVRQAPGQGLEWM GWINPNSGGTNYAQKFQGRV TLTRDTSISTVYMELSRLRSD DTAVYYCARDMNILATVPFDI WGQGTMTVTVSSGGGGSGGG GSGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVITICRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGDTFTLTV NSLQPEDFATYYCQQGDSVP LTFGGGTRLEIKTTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYWAPL AGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK KLLYIFKQPFMRPVQTTQEED GCSCRFPEEEEGGCELRVKF SRADAPAYQQGQNQLYNEL NLGRREEYDVLDRRGRDPE MGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQQLSTATKDYDAL HMQUALPPR (SEQ ID NO: 995)</p>	<p>atggccctccctgtcacgcccctgtgcttccgctggctctt tgctccaagcgcctcggcccTcgttggcactttccctgactg ccgaccagatgggtccgcccctctggacgcccagcctcc aattctgtactcggagtagcatccgactcggccttccga agccagcatgatggcctgtgactaacctggcggaccg cgagttggtgcacatgattaactgggctaagcgggtccg ggctctggacctgacctgcacgaccaagtgcacctcc tggaatgcgctggatggaaatcctcatgatcggcctcgtg tggagatccatggagcatcccgaaagctcctgtttgac ccaacctcctgtgatcgcaaccagggaaaatgcgtgg aagggggtgctgagattttcgacatgctgctgccacctt cccggttccgtagatgaatctgcagggagaagagtctgt gtgtctgaagcaatcatcctgctgaactccggggtctatac cttctgagctcagacctcaagtaactggaggaaaaaga ccacatccatcgcgtgctcgataagatcacccacacccctt atccatctatggcgaaggctggactgacctgcaacagc agcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgagcca catccggcacatgtcgaacaagaggatggaacacctgta cagcatgaagtgaagaacgctgctcctctgctccgatctg ctcctgaaatgctggacgcccagactcggaaaccggc gcggaagaccccggccctccaggaagcgaaggtccct cggagacgtgggtcaagtgaactcgtcaaaagcggag cggagtgcaaaaacccggagcagcgtgaaagtgtcc tgcaaacctccggctacaccttacgggctactacatgca ctgggtgcgcccaggcaccaggacaggttctgaatggat gggatggatcaaccctaattcgggcggaactaacgc acagaagtccaggggagagtgactctgactcgggatac ctccatctcaactgtctacatggaactctcccgttgcggtc agatgatacggcagtgactactcgcggcgcagatgaat atcctggctaccgtgcccgtgacatctggggacagggga ctatggttactgtctcatcgggcgggtgaggttcaggagga ggcggctcgggagggcggaggttcggacattcagatgacc cagtccccatcctctctgtcggcagcgtcggagataggg gaccattacctgtcggcctcgcaagcatctcctcgtacc tcaactggtatcagcaaaagccgggaaagcgcgctaag ctgctgatctacgcccctcagacttgcaaacgggggtgcc atccagattctcgggatcaggctcaggaaaccgacttacc ctgaccgtgaacagcctccagccggaggactttgccactt actactgcccagcaggagactccgtgcccgttactttcggg gggggtaccgccctggagatcaagaccactaccaccagc accgagggccaccaccccggctcctaccatgcctccca gcctctgtccctgctcggaggcatgtagaccgcagct ggtggggccgtgcataccggggtcttgactcgcctgctg atatctacatttggcccctctggctggtacttgcgggtcct gctgcttactcgtgatcactcttactgtaagcgggtcgg aagaagctgctgtacatcttaagcaaccctcatgaggcc tgtcagactactcaagaggaggacggctgttcatgcccg tcccagaggaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgt gaaattcagcccagcgcagatgctccagcctaaccagca ggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttgctg gagagaggagtagcagctgctggacaagcggagagga cgggaccagaaatgggcgggaagccgcgagaaag aatccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaagga taagatggcagaagcctatagcgagattggtatgaaagg ggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtac</p>

[1303]

		<p>cagggactcagcaccgccaccaaggacaccatatgacgc tctcacatgcaggccctgccgctcgg (SEQ ID NO: 1055)</p>
<p>SP-接头 2 – ERmut1 – 弗林蛋白 酶切割位点 3 – CD123 CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPS LALSLTADQMVSALLDAEPPIL YSEYDPTPRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLALHDQVHLLCEAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQQHQLAQLLLILSHIRHM SSKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRQVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCASGYTFTGYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPN SGGTNYAQKFQGRVTLTRDT SISTVYMELSRLRSDDTAVYY CARDMNILATVPFDIWGQGM VTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQSISSYLNWYQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTVNSLQPEDFA TYCQQGDSVPLTFGGGTRL EIKTTTPAPRPPTPAPTIASQP LSLRPEACRPAAGGAVHTR GLDFACDIYIWAFLAGTCG VLLLVLITLYCKRGRKLL YIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEEGGCELRVK FSRSADAPAYQQGQNQLY NELNLGRREEYDVLDKRR GRDPEMGGKPRRKNPQE GLYNELQDKMAEAYSEIG MKGERRRGKGDGLYQGL STATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 996)</p>	<p>atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttc tgctccacgccgctcggccctcgttggcactttccctgactg ccgaccagatgggtgctccgctcttggagccgagcctcca attctgtactcggagtagatccgactcgccttctccgaa gccagcatgatggcctgtgactaacctggcggaccgagc agttgggtcacatgattaactgggtaagcgggtgccggc ttcgtggacctggccctgcacgaccaagtgcacctcctgga atgcgctggatggaaatcctcatgatcggcctcgtgtgga gatccatggagcatcccggaaagctcctgtttgaccaaac ctcctgcttgatcgcaaccagggaatgctggaagggg gtgtcgagatttcgacatgctgctcgcacctctcccgtt ccggatgatgaatctgcaggagagaaggtcgtgtgtctga agtcaatcatcctgctgaactcggggtctataccttctga gctcgacctcaagtactggaggaaaaagaccacatcca tcgctgctcgataagatcaccgacaccttatccatctcat ggcgaaggctggactgacctgcaacagcagcaccagag gctggcccagttgctgctgattctgagccacatccggcacat gtcgtccaagaggatggaacctgtacagcatgaagtgc aagaactgctgctcctctgctccgatctgctcctggaatgctg gacgcgcacagactcggaaaccggcgggaagacccccgg ccctccaggaagcgaaggcaagtgaactcgtccaaagcg gagcggaaagtcaagaaccggagcagcgtgaaagtgt cctgcaaagcctccgctacacctttacggctactacatg cactgggtgctcaggaccaggacagggtctgaatgga tgggatggatcaacctaatcgggaggaaactaactacgc acagaagttccaggggagagtactctgactcgggatacc tccatctcaactgtctacatggaactctccccttgcggtca gatgatacggcagtgactactcgcctccgacatgaatat cctggctaccgtccgttcgacatcggggacaggggacta tggttactgtctcatcggcgggtggaggtcaggaggaggc ggctcgggaggcggaggttcggacattcagatgaccagt ccccatctctctgctcggccagcgtcggagatagggtgacc attacgtgctggcctcgaagcatctctctgactcctcaac tggatcagcaaaagccgggaaggcgcctaagctgctga tctacgccgcttcgagcttcaaagcggggtccatccaga ttctcgggatcaggctcaggaaccgactcaccctgacctg gaacagcctccagccggaggacttggcacttactactgccc agcaggagactccgtcgccttactttcgggggggtacc cgctggagatcaagaccactacccagcaccgaggccac ccacccggctctaccatgcctcccagcctctgtccctgc gtccggaggcatgtagaccgcagctggtgggcccgtgca taccggggtcttgactcgcctcgcgatactacattgggc cccttgctggtacttgcgggctcctgctgcttctactcgtg atcactcttactgtaagcggctcgggaagaagctgctgta catcttaagcaaccttcatgaggcctgtgcagactactca agaggaggacggctgttcatccggttccagaggaggag gaaggcggctgcgaactcgcgctgaaattcagccgagc cagatgctccagcctaccagcaggggcagaaccagctcta caacgaactcaatcttggctcggagagaggagtacgactg ctggacaagcggagaggacgggaccagaaatgggcggg</p>

[1304]

		<p>aagccgcgcagaaagaatccccaagaggcctgtacaac gagctcaaaaaggataagatggcagaagcctatagcgag attggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccac gacggactgtaccagggactcagcaccgcccaccaaggac acctatgacgctcttcacatgcaggccctgccctcgg (SEQ ID NO: 1056)</p>
<p>SP-接头 2 - ERmut2 - 弗林蛋白 酶切割位点 3 - CD123 CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPS LALSLTADQMVSALLDAEPPIL YSEYDPTTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLTLHDQVHLLCEAWMEILM IGLVWRSMEHGPKLLFAPNLL LDRNQGKCVGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQHQRLAQLLLILSHIRHM SNKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRQVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCASGYTFTGYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPN SGGTNYAQKFQGRVTLTRDT SISTVYMELSRLRSDDTAVYY CARDMNILATVPFDIWGQGM VTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQSISSYLNWYQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFLTVNSLQPEDFA TYQCQGDVPLTFGGGTRL EIKTTTPAPRPTPAPTIASQP LSLRPEACRPAAGGAVHTRG LDFACDIYWAPLAGTCGVLLL SLVITLYCKRGRKLLYIFKQP FMRPVQTTQEEDGCSCRFPE EEEGGCELRVKFSRSADAPA YQQGNQLYNELNLGRREEY DVLDKRRGRDPEMGGKPRRK NPQEGLYNELQDKMAEAYS EIGMKGERRRGKGHDGLYQG LSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 997)</p>	<p>atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctgctctt tgcctccacgccgctcggcccTcgttggcactttccctgactg ccgaccagatggtgtccgcccttctggacgcccagcctcc aattctgtactcggagtagcatccgactcggcctctccga agccagcatgatggcctgttgactaacctggcggtagcga cgagtgtgtgacatgattaactgggctaagcgggtgccg ggctcgtggactgacctgcacgaccaagtgcacctcc tggaatgcgctggtgaaatcctcatgatcggcctcgtg tggagatccatggagcatcccgaaagcctctgttgac ccaacctcctgctgatcgcaaccagggaatagcgtgg aagggggtgtcgagatttgcacatgctgctgccacctctt cccgttccggatgaaatctgcaggagaagaggtcgt gtgtctgaagtcaatcctcctgctgaactcggggtctatac ctcctgagctcgacctcaagtactggaggaaaaaga ccacatccatcgctgctgataagatcaccgacacctt atccatctatggcgaaggctggactgacctgcaacagc agcaccagaggctggcccagtgctgctgattctgagcca catccggcacatgtcgaacaaggatggaacacctgta cagcatgaagtgaagaacgctgctcctgtccgatctg ctcctgaaatgctggacgacagactcgggacggg agctgaagatccaagaccagcgaagagcagcggcaa gtgcaactcgtccaaagcggagcggaaagcaagaaacc cggagcggcgtgaaagtgcctgcaaaagcctccggcta caccttacgggctactacatgcactgggtgcccaggca ccaggacagggtcttgaatggatggatggatcaacccta attcgggcggaactaacacgcacagaaagtccaggga gagtactctgactcgggatacctcctcaactgtctaca tggactctccgcttgcggcagatgatacggcagtgatc tactgcggccgacatgaatacctggctaccgtgcccgtt cgacatctggggacaggggactatggtactgtctcctcgg gctggtgaggtcaggagggcggcctcgggagggcgg aggttggacattcagatgaccagctcccactcctctgtc ggcagcgtcggagatagggtgaccattacctgtcgggc ctcgaagcatctcctgtactcctcaactggtatcagaaa agccgggaaagcgcctaagctgctgatctacgccctc gagctgcaaagcgggtgcatccagattctcgggatca ggctcaggaaaccgacttaccctgaccgtgaacagcctc cagccggaggacttgcacttactactgcccagcaggga gactccgtgccccttacttccgggggtaccgcctgga gatcaagaccactaccagcaccgaggccaccacc cggctcctaccatcgctcccagcctctgctcctgctcgg gaggcatgtagaccgcagctggtgggcccgtgcatacc cggggtcttgactcgcctgcgatactacattgggcccctc tggctggtacttgcgggctcctgctgcttactcgtgatcac tcttactgtaagcggcgtggaagaagctgtgtacatctt aagcaaccttcatgagcctgtgcagactactcaagag gaggacggctgtcatgcccgttcccagaggaggaa ggcggctgcgaactgcgctgaaattcagccgagcgc agatgctccagcctaccagcaggggcagaaccagctcta caacgaactcaatctggtcggagagaggagtacgagct gctggacaagcggagaggacgggaccagaaatgggc gggaagccgcgagaagaatcccaagaggcctgt acaacgagctcaaaaaggataagatggcagaagcctat</p>

[1305]

		<p>agcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggca aaggccacgacggactgtaccagggactcagcaccgcc accaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgc cgctcgg (SEQ ID NO: 1057)</p>
<p>SP-接头 2 – ERmut1 – 弗林蛋白 酶切割位点 2 – BCMA CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPS LALSLTADQMVSALLDAEPPIL YSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLALHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQQHQLRAQLLLILSHIRHM SSKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRSLGDVGEVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAVSGFALS NHGMSWVRRAPGKGLEWVS GIVYSGSTYYAASVKGRFTISR DNSRNTLYLQMNSLRPEDTAI YYCSAHGGESDVWGQTTVT VSSASGGGGSGGRASGGGG SDIQLTQSPSSLSASVGDRTI TCRASQSISSYLNWYQQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFLTISLQPEDFA TYQCQSSTPYTFGQGTKV EIKTTTTAPRPPTPAPTIASQP LSLRPEACRPAAGGAVHTRG LDFACDIYIWAFLAGTCGVLLL SLVITLYCKRGRKLLYIFKQP FMRPVQTTQEEDGCSCRFPE EEEGGCELRVKFSRSADAPA YQQGQNQLYNELNLGRREY DVLDKRRGRDPEMGGKPRRK NPQEGLYNELQKDKMAEAYS EIGMKGERRRGKGDGLYQG LSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 998)</p>	<p>atggcctccctgtcaccgcccctgtcctccgctgctctt tgctccacgcccgtcggcccTcggtggcacttccctgactg ccgaccagatggtgtccgccctctggacgcccagcctcc aattctgtactcggagtacgatccgactcggccttccga agccagcatgatggcctgtgtactaacctggcggaccg cgagttggtgacatgattaactgggctaagcggtgccc ggctcgtggacctggcccgtcaccgaccaagtgcacctcc tggaatcgccctggatggaatcctcatgatcggcctcgtg tggagatccatggagcatcccgaaagctcctgtttgac ccaacctcctgctgatcgcaaccagggaaaatcgctgg aagggggtgctgagatttcgacatgctgctgccacctct cccggttccggatgatgaatcgcagggagaagagttcgt gtgtctgaagtcaatcctcctgtaactccgggtctatac ctcctgagctcgaccctcaagtcactggaggaaaaga ccacatccatcgctgctcgataagatcaccgacacccct atccatctcatggcgaaggctggactgaccctgcaacagc agcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgagcca catccggcacatgctgccaagaggatggaacacctgta cagcatgaagtgcaagaacgtcgtcctcctgctccgatctg ctcctggaatgctggacgcccacagactcggaaaccggc gcggaagacccccggcctccaggaagcgaaggtccct cggagacgtgggtgaagtcaattggtggaatcaggggg aggactgtgacgctggaggatcgtgagactgtcatgtg ccgtgtccggctttgccctgccaaccacgggagtgctctg gtccgcccgcgcccctggaaggcctcgatgggtgtcgtg ggattgtgtacagcggtagcacctactatgcccatccgt gaaggggagattcaccatcagccgggacaactccagga acactctgtacctcaaatgaattcctgagggcagagga cactgccatctactactcctcgcgcatggtcggagagtc gacgtctggggacaggggaccaccgtgaccgtgtctagc gcgtccggcggaggcggcagcgggggtcgggcatcag ggggcggcggatcggacatccagctcaccagtccccg agctcgtgtcgcctcctcctggagatcgggtcaccatca cgtgccgcccagccagctgatttctcctactgaactgg taccacagaagcccggaaaagccccgaagcttctcatc tacgccgctcagcctgagcctgagtcaggagtgccctcaggt tctccgctcgggtccggtagctgattcaccctgaccattcc tccctgcaaccggaggactcgtactactactgcccagca gtcgtactccaccctcacttctggacaaggcaccacag gtcgaatcaagaccactaccacagaccgaggccacc caccggctcctaccatcgctcccagcctctgtccctgc gtccggaggcatgtagaccgcagctggtggggccgtgc ataccggggtctgactcgcctgcatatctacattggg cccctctggtgactgctgggctcctgctgcttactcgt gatcactcttactgtaagcgcggctcggagaagctgctgt acatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagactactc aagaggaggacggctgttcatgcccgttccagaggagg aggaaggcggctgcgaactgcgctgaaattcagccgc agcgcagatgctccagcctaccagcaggggagagaacca gctctacaacgaactcaatctggctggagagaggagtac gacgtgctggacaagcggagaggacgggagaccagaaa tgggcgggaagccgcgagaaagaatcccaagaggg cctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaag cctatagcagagattggtatgaaaggggaacgcagaaga ggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcagca ccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcagg ccctgccgctcgg (SEQ ID NO: 1058)</p>

[1306]

<p>SP-接头 2 - ERmut2 - 弗林蛋白 酶切割位点 2 - BCMA CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPS LALSLTADQMVSALLDAEPPIL YSEYDPTPRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLTLHDQVHLLLECAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQQHQLRAQLLLILSHIRHM SNKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRSLGDVGEVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAVSGFALS NHGMSWVRRAPGKGLEWVS GIVYSGSTYYAASVKGRFTISR DNSRNTLYLQMNSLRPEDITAI YYCSAHGGESDVWGQTTVT VSSASGGGGSGGRASGGGG SDIQLTQSPSSLSASVGDRTVI TCRASQSISSYLNWYQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYQCQSYSTPYTFGQGTKV EIKTTTPAPRPPPTAPTIASQP LSLRPEACRPAAGGAVHTRG LDFACDIYWAPLAGTCGVLLL SLVITLYCKRGRKLLYIFKQP FMRPVQTTQEEDGCSCRFPE EEEGGCELRVKFSRSADAPA YQQGQNQLYNELNLGRREEY DVLDKRRGRDPEMGGKPRRK NPQEGLYNELQKDKMAEAYS EIGMKGERRRGKGDGLYQG LSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 999)</p>	<p>atggccctccctgtcaccgcccctgctgcttccgctggctctc tgcctccacgcccctcggcccTcggtggcactttccctgactg ccgaccagatgggtgccccccttctggagccgagcctcc aattctgtactcggagtacgatccgactcgccttctccga agccagcatgatgggctgtgactaacctggcggaccg cgagttgggacatgattaactgggctaagcgggtgccc ggctctgtggacctgacctgcacgaccaagtgcacctcc tggaatgcgctggatggaaatcctcatgatcggcctcgtg tggagatccatggagcatcccgaaagctctgtttgac ccaacctcctgctgatcgcaaccagggaatgcgtgg aaggggggtgctgagatcttcgacatgctgctgccacctt cccggttccggatgatgaatctgcagggaagaaggtctgt gtgctgaagcaatcctctgctgaactccgggtctatac ctcctgagctcgaccctcaagtcactggaggaaaaaga ccacatccatcgctgctcgataagatcaccgacaccctt atccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaacagc agcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgagcca catccggcacatgtcgacaagaggatggaacacctgta cagcatgaagtgcaagaacgctgctcctctgctccgatctg ctcctggaatgctggacgcgacagactcggaaaccggc gcggaagacccccggccctccaggaagcgaaggtccct cggagacgtgggtgaagtcaattgggtggaatcaggggg aggactgtgcagcctggaggatcgctgagactgctatgtg ccgtgctcggcttgcctgtccaaccacgggatgctctgg gtccgcccgcgctggaaggccctcgaatgggtgctg ggtattgtgacagcggtagcacctactatgccgatccgt gaaggggagattcaccatcagccgggacaactccagga acactctgtactcctcaaatgaattcgtgaggccagagga cactgcatctactactgctcgcgcatggcggagagtc gagctctggggacaggggaccaccgtgacctgtctagc gctcggcgaggcggcagcggggctggcggcagcag ggggcgcgatcgacatccagctcaccagtcctcccg agctcgtgctcgcctcctgggagatcgggtaccatca cgtcggcgccagccagctgatttctcctactcgaactgg taccacagaagcccggaaaagccccgaagctctcatc tacccgctcgcgactgagctgagcaggtccctcacggt tctcggctcgggtccggtactgattcaccctgaccatttcc tccctgcaaccggaggacttgcctactactgcccagca gtgacttccaccctacacttctggacaaggcaccag gtgaaatcaagaccactaccagcaccgagggcacc caccggctcctaccatcgctccagcctctgctcctg gtccggaggcatgtagaccgcagctggtggggcgtgc ataccggggtcttgaactcgcctgcgatactacattggg cccctggtgctgactgctgggctcctgctcttcaactgt gatcactcttactgtaagcggctcggaagaagctgctgt acatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagactactc aagaggaggagcgtgtcatgcccgttccagaggagg aggaaggcggctgcgaactgcgctgaaattcagccgc agcgcagatgctccagcctaccagcaggggcagaacca gctctacaacgaactcaatctggctggagagaggagtac gacgtgctggacaagcggagaggacgggaccagaaa tgggcgggaagccgcgagaaagaatcccaagaggg cctgtacaacgagctcaaaaggataagatgacagaag cctatagcagattggtatgaaaggggaacgcagaaga ggcaaaggccacgacgactgtaccagggactcagca ccgccaagaggacacctatgacgctcttcacatgcagg ccctgcccgcctcgg (SEQ ID NO: 1059)</p>
<p>SP-接头 2 - ERmut1 - 弗林蛋白 酶切割位点 3 - BCMA CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPS LALSLTADQMVSALLDAEPPIL YSEYDPTPRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF</p>	<p>atggccctccctgtcaccgcccctgctgcttccgctggctctc tgcctccacgcccctcggcccTcggtggcactttccctgactg ccgaccagatgggtgccccccttctggagccgagcctcc aattctgtactcggagtacgatccgactcgccttctccga</p>

[1307]

	<p>VDLALHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMHEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVEGGVEIFDMLLA TSSRFMMNLQGEEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMAKAGLT LQQQHQLAQLLLILSHIRHM SSKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRREVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAVSGFALSNGTHMS WVRRAPGKGLEWVSGIVYSG STYYAASVKGRFTISRDNARN TLYLQMNSLRPEDTAIYCSA HGGESDVWGGTTVTVSSAS GGGSGGRASGGGSDIQLT QSPSSLSASVGDRTITCRAS QSISYLNWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGS TDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QSYSTPYTFGGTKVEIKTTT PPRPPTPAPTIASQPLSLRPE ACRPAAGGAVHTRGLDFACDI YIWAPLAGTCGVLLLSLVITLY CKRGRKLLYIFKQPFMRPVQ TTQEEDGCSRFPEEEEGGC ELRVKFSRSADAPAYQQGQN QLYNELNLGRREEYDVLDRK RGRDPEMGGKPRRKNPQEG LYNELQDKMAEAYSEIGMKG ERRRGKHDGLYQGLSTATK DTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 1000)</p>	<p>agccagcatgatggcctgtgactaacctggcggaccg cgagttggtgcacatgattaactgggctaagcgggtgccg ggctctgtggacctggccctgcacgaccaagtcacctcc tggaatgcgctggatggaaatcctcatgatcgccctcgtg tggagatccatggagcatcccggaagctcctgtttgcac ccaacctcctgctgatcgcaaccagggaaaatcgctgg aagggggtgctgagatcttcgacatgctgctgccacctct cccggttccggatgatgaatctgcaggagagaagagtctg gtgctgaagtcaatcatcctgctgaactccgggtctatac ctctcctgagctcgaccctcaagtcactggaggaaaaaga ccacatccatcgctgctcgataagatcaccgacaccctt atccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaacagc agcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgagcca catccggcacatgctgccaagaggatggaacacctgta cagcatgaagtgaagaacgctgctgctctgctccgatctg ctctggaatgctggagcgcacagactcGggacggg agctgaagatccacgaccagcagaagcagcgggaa gtgcaattggtggaatcagggggaggactgtgagcctg gaggatcgtgagactgctatgctcgggtgctggctttgcc ctgtccaaccagggatgctcgggtccgcccgcgctg gaaagggcctcgaatgggtgctgggtattgttacagcgg tagcacctactatgcccgcactcgaaggggagattcacc atcagccgggacaactccaggaacactctgtacctcaa atgaattcgtgaggccagaggacactgctactactact gctccgcgcatggcggagagtcacgctgctgggacag gggaccaccgtgacctgtctagcgcgctccggcggaggc ggcagcgggggtcgggcatcagggggcggcggatcgg acatccagctcaccagctcccagctgctgctcgcctc cgtgggagatcgggtcaccatcacgtgcccgcagcca gtcgatttctcctactgtaactggtaccaagaagcccg gaaaagccccgaagcttctcactcagcgcctcagcct gcagtcaggagtgccctcaggttccggctccggttccg gtactgatttaccctgaccttctcctcctgcaaccggagg actctgctactactactgaccagcagctgactccaacct acacttccgacaaggcaccaggtcgaatcaagacc actaccccagcaccgaggccaccaccccggctcctacc atgcctcccagcctctgctcctgctcggaggcatgtag acccgagctggtgggcccgtgcataccggggtcttgac ttgcctgctgatatctacattgggcccctctggtggtactg cggggtcctgctgcttctcactcgtgataccttactgtaagc gcggtcggagaagctgctgtacatcttaagcaaccttc atgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgt catgcccgttccagaggaggaggaaaggcggctgcgaa ctgctgctgaaattcagccgagcgcagatgctccagcct accagcaggggagagaaccagctctacaacgaactcaat ctggtcggagagaggagtagcagctgctggacaagcg gagaggacgggaccagaaatgggagggaagccgcg cagaagaatcccaagaggcctgatacaacgagctcc aaaaggataagatggcagaagcctatagcgagattgga tgaaaggggaacgcagaagaggcaaggccacgacg gactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacc tatgagctcttcatatgaggccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 1060)</p>
<p>SP-接头 2 - ERmut2 - 弗林蛋白 酶切割位点 3 - BCMA CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPS LALSLTADQMVSALLDAEPPIL YSEYDPTPRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLTLHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMHEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVEGGVEIFDMLLA TSSRFMMNLQGEEFVCLKSI</p>	<p>atggcctccctgtcacccgctgctgctccgctggtcttc tgcctccacgcccctcggcccTcgttggcactttccctgactg ccgaccagatggtgtccgccctctggacgcccagcctcc aattctgactcggagtacgatccgactcggccttctccga agccagcatgatggcctggtgactaacctggcggaccg cgagttggtgcacatgattaactgggctaagcgggtgccg ggctctgtggacctgacctgcacgaccaagtcacctcc tggaatgcgctggatggaaatcctcatgatcgccctcgtg</p>

[1308]

	<p>ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQHQRLAQLLLILSHIRHM SNKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRREVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAVSGFALSNGMS WVRRAPGKGLEWVSGIVYSG STYYAASVKGRFTISRDNARN TLYLQMNSLRPEDTAIYCSA HGGESDVWGQGTTVTVSSAS GGGSGGRASGGGSDIQLT QSPSSLSASVGDRTVITCRAS QSISSYLNWYQQKPKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGS TDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QSYSTPYTFGQGTKVEIKTTT PAPRPPTPAPTIASQPLSLRPE ACRPAAGGAVHTRGLDFACDI YIWAPLAGTCGVLLLSLVITLY CKRGRKLLYIFKQPFMRPVQ TTQEEDGCSCRFPEEEEGGC ELRVKFSRSADAPAYQQGQN QLYNELNLGRREEYDVLDR RGRDPEMGGKPRRKNPQEG LYNELQKDKMAEAYSEIGMKG ERRRGKGDGLYQGLSTATK DTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 1001)</p>	<p>tggagatccatggagcatcccggaaagctcctgtttgac ccaacctcctgctgatcgcaaccagggaaaatgctgtg aaggggtgctgagatcttcgacatgctgctgccacctt cccggttccgatgatgaatctgcagggaagaagagttcgt gtgtctgaagtcaatcatcctgctgaactccgggtctatac ctctctgagctcgaccctcaagtcactggaggaaaaga ccacatccatcgctgctcgataagatcacccgacacctt atccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaacagc agcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgagcca catccggcacatgctgaacaagaggatggaacacctgta cagcatgaagtgaagaacgctgctcctgtccgatctg ctctggaatgctggacgctcagactcgggacggg agctgaagatccacgaccagcagaagcgcagcggaa gtgcaattggtggaatcagggggaggactgtgagcctg gaggatcgtgagactgcatgtgccgtgctggcttggc ctgtccaaccacgggatgctcgggtccgcccgcgctg gaaagggcctgaatgggtgctgggtattgtgtacagcg tagcacctactatcgcatccctggaaggggagattcacc atcagccgggacaactccaggaacactctgtacctcaa atgaattcgtgaggccagaggacactgcatctactact gctccgcatgctgggagagctccgactgctgggacag gggaccacgtgaccgtgtctagcgcctcggcggaggc ggcagcgggggtcgggcatcagggggcggcggatcgg acatccagctcaccagctcccagctgctgctcgcctc cgtgggagatcgggtcaccatcagctgcccgcagcca gtgatttctcctactgaactgtgaccaacagaagcccg gaaaagccccgaagcttctctacgcccctcgagcct gcagtcaggagtgccctcaggttctccggctccggtccg gtactgatttaccctgaccatttctcctgcaaccggagg actcgtacttactactgaccagctgactccaacctt acacttctggacaaggccaaggtcgaatcaagacc actacccagcaccgaggccaccaccccgctcctacc atgcctcccagcctctgctcctgctcggaggcatgtag acccgagctggtgggcccgtgcataccgggtcttgac ttgcctgctgatctacatttggcccctctgctggtactg cggggtcctgctgttctactcgtgatcactttactgtaagc gcggtcggagaagctgctgtacatcttaagcaaccttc atgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgt catgcccgttccagaggaggaggaaggcggctgcgaa ctgctgctgaaatcagcccagcgcagatgctccagcct accagcaggggagaaaccagctctacaacgaactcaat ctggtcggagagaggagtagcagctgctggacaagcg gagaggacgggaccagaaatgggcccgaagccgcg cagaaagaatcccaagaggcctgtacaacgagctcc aaaaggataagatggcagaagcctatagcgagattgta tgaaggggaaacgcagaagaggcaaggccacgacg gactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacc fatgagctcttcatgtagggcctgcccctcgg (SEQ ID NO: 1061)</p>
<p>SP-接头 3 - ERmut1 - 弗林蛋白 酶切割位点 2 - CD19 CAR2</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPD SLALSLTADQMVSALLDAEPPI LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLALHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCEGGVEIFDMLLA TSSRFMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQHQRLAQLLLILSHIRHM SSKRMEHLYSMKCKNVVPLS</p>	<p>atggccctccctgtcaaccctgctgctcctgctgctcttc tgcctccacgctcctgcccagattcgttggcacttccctga ctgcccagcagatggtgtccgccctctgagcgcgagcc tcaattctgtactcggagtagcatccgactcgccttctc cgaagccagcatgatggcctgtgactaacctggcggga ccgaggtggtgcacatgattaactgggtaagcgggtg cgggctcgtggacctggcctgacgaccaagtgac ctctggaatgcctggtggaatcctcatgatcggcct cgtgtggagatccatggagcatcccggaaagctcctgttg caccacacctcctgtgacgcaaccagggaaaatgctg ggaaggggtgctgagatcttcgacatgctgctgccacct ctcccgggtccgatgatgaatctgcagggaagaagagttc</p>

[1309]

	<p>DLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRSLGDVGEIVMTQSPAT LSLSPGERATLSCRASQDISK YLNWYQQKPGQAPRLLIYHTS RLHSGIPARFSGSGSDTYTL TISSLQPEDFAVYFCQQGNTL PYTFGQGKLEIKGGGSGG GGSGGGGSQVQLQESGPG VKPSETLSLTCTVSGVSLPDY GVSWIRQPPGKLEWIGVIW GSETYYSSSLKSRVTISKDN SKNQVSLKLSVTAADTAVYY CAKHYYYGGSYAMDYWGQG TLVTVSSTTTPAPRPPTPAPT ASQPLSLRPEACRPAAGGAV HTRGLDFACDIYWAPLAGTC GVLLLSLVITLYCKRGRKLLYI FKQPFMRPVQTTQEEDGCSC RFPEEEEGGCELRVKFSRSA DAPAYQQGQNLNELNLGR REEYDVLDKRRGRDPEMGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMA EAYSEIGMKGERRRGKGDG LYQGLSTATKDTYDALHMQUAL PPR (SEQ ID NO: 1002)</p>	<p>gtgtgtctgaagtcaatcatctgctgaactccgggtctat accttctgagctcgaccctcaagtcactggaggaaaaa gaccacatccatcgctgctgataagatcaccgacacc cttatccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaaca gcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgagc cacatccggcacatgctgccaagaggatggaacacctg tacagcatgaagtcaagaacgctgctctgtccgatct gctctggaaatgctggacgacagactcgaaccg gcgaggaaagacccccggcctccaggaaagcgaaggctc cctcggagacgtgggtgaaattgtgatgaccagtcacc gccactcttagccttaccgggtgagcgcgaaccctgtct tgacagagcctccaagacatctcaaaataccttaattgga tcaacagaagcccggacaggctcctcgcctctgatctac cacaccagccgctcattctggaatccctgcccagggtca gcggtgagcggatctgggaccgactacacctcactatcag ctcactgcagccagaggactcgtgctctattctgacgca aggaacaacctgcctacacctggacaggccacca gctcagattaaggctggaggctggcagcggaggaggctg ggtccggcgggtggaggaaagccaggctcaactccaagaa agcggaccgggtctgtgaagccatcagaaactcttact gactgtactgtgagcggagtgctctccccgattaccgggt gtcttgatcagacagccaccggggaagggtctggaatg gattggagtattggggctgagactactactactctcat ccctcaagtacgcgtaccatctcaaaaggacaactctaa gaatcagggtcactgaaactgtcatctgaccgagcc gacaccgctgtactattgcgtaagcattactattatggc gggagctacgcaatgattactggggacagggtactctg gtcaccgtgtccagcaccactaccagcaccgaggcca cccaccccgctcctaccatgcctcccagcctctgtccct gcgtccggaggcatgtagaccgcagctggtggggccgt gcatacccgggctgactcgcctgcgatactcattg ggccccctggtggtactgctggggctcctgctcttactc gtgactactcttactgtaagcgcggctggaagaagctgct gtacatcttaagcaacctctatgaggcctgtgcagacta ctcaagaggaggacggctgtcatgcccgttccagagg aggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagc cgcagcgcagatgtccagcctaccagcaggggagaa ccagctctacaacgaactcaatctgtgctggagagagga gtacgacgtgctggacaagcggagagggacgggacca gaaatggcgggaaagccgcgagaagaatccccaag agggcctgtacaacgagctcaaaaggataagatggca gaagcctatagcagattggtatgaaaggggaaagcag aagaggcaaggccacgacggactgtaccagggactc agcaccgccaagaggacacctatgacgctctcactatg caggcctgcccgcctcg (SEQ ID NO: 1062)</p>
<p>SP-接头 3 - ERmut2 - 弗林蛋白 酶切割位点 2 - CD19 CAR2</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPD SLALSLTADQMVSALLDAEPP LYSEYDPTTRPFSEASMMGLL NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLTLHDQVHLLCEAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFSSLTLSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMAKAGL LQQQHQLAQLLLILSHIRHM SNKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRSLGDVGEIVMTQSPAT LSLSPGERATLSCRASQDISK YLNWYQQKPGQAPRLLIYHTS</p>	<p>atggcctccctgtcaccgcccgtgcttccgctgctcttc tgctccaagcgcctcggcccgattcgttggcatttccctga ctgcccagcagatggtgtccgccccttgcgacccgagcc tccaattctgtactcggagtagatccgactcggcctgtctc cgaagccagcatgatggcctgttgactaacctggcggga ccgaggtggtgcacatgattaactgggtaagcgggtg ccgggctcgtggacctgaccctgcacgaccaagtgac ctcctggaatgcgctggtgaaatcctcatgatcggcct cgtgtggagatccatggagatcccggaaagctcctgttg caccacacctcctgctgacgcaaccagggaaaatgctg ggaagggggtgctgagatttgcagatgctgctcggacct ctcccgggtccggatgatgaatctgcagggagaagaggtc gtgtgtctgaagtcaatcatctgctgaactccgggtctat accttctgagctcgaccctcaagtcactggaggaaaaa gaccacatccatcgctgctgataagatcaccgacacc cttatccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaaca</p>

[1310]

	<p>RLHSGIPARFSGSGSDTYL TISSLQPEDFAVYFCQQGNTL PYTFGQGTKLEIKGGGSGG GGSGGGGSQVQLQESGPG VKPSETLSLTCTVSGVSLPDY GVSWIRQPPGKLEWIGVIW GSETTYSSSLKSRVTISKDN SKNQVSLKLSSVTAADTAVYY CAKHYYYGGSYAMDYWGQG TLVTVSSTTTPAPRPPTPPTI ASQPLSLRPEACRPAAGGAV HTRGLDFACDIYWAPLAGTC GVLLSLVITLYCKRGRKLLYI FKQPFMRPVQTTQEEDGCSC RFPEEEEGGCELRVKFSRSA DAPAYQQGQNQLYNELNLGR REEYDVLDRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMA EAYSEIGMKGERRRGKGDH LYQGLSTATKDTYDALHMQUAL PPR (SEQ ID NO: 1003)</p>	<p>gcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgagc cacatccggcacatgtcgaacaagaggatggaacacct gtacagcatgaagtgaagaacgtcgtcctctgcccgat ctgctcctggaatgctggagcgcacagactcggaaacc ggcgcggaagacccccggccctccaggaagcgaagg ccctcggagacgtgggtgaaattgtgatgaccagtcacc cgccactctagccttcccccggtagcgcgcaaccctgt ctgacagcctcccaagacatctcaaaaaccttaattgg tatcaacagaagcccggacaggtcctcctctgatcta ccacaccagccggctccattctggaatccctgcccagggtca gcggtagcggatctgggaccgactacaccctcactatcag ctcactgcagccagaggactcgtctctattctgtagca aggaacaaccctgccctacactttggacagggaccaa gctcagagattaagggtggaggtggcagcggagggaggtg ggtccggcgggtggaggaagccaggtccaactccaagaa agcggaccgggtctgtgaagccatcagaaactcttact gactgtactgtgagcggaggtctctccccgattacgggg gtcttgatcagacagccaccggggaagggctggaatg gattggagtgattgggctctgagactactactctctcat ccctcaagtacgcgtccatctcaaggacaactctaa gaatcagggtcactgaaactgtcatctgtagccgcagcc gacaccgctgtactattgcgtaagcattactattatggc gggagctacgcaatgactggggacagggactctg gtcaccgtgtccagcaccactacccagcaccgaggcca cccacccggctcctaccatgcctcccagcctctgtccct gcgtccggaggcatgtagaccgcagctggtggggccgt gcataccggggtctgactcgcctcgatctcatttg ggcccctctggtgacttgcgggctcctgctcttactc gtgatccttactgtaagcggcggcgaagaagctgct gtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagacta ctcaagaggaggagcggctgtcatgccggtcccagagg aggaggaagcggcgtcgaactgcgcgtgaaattcagc cgcagcgcagatgctccagcctaccagcaggggcagaa ccagctctacaacgaactcaatctggtcggagagagga gtacgacgtctggacaagcggagagggacgggaccca gaaatgggcccgaagccgcgagaagaatccccaag agggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggca gaagcctatagcagattggtatgaaaggggaaacgcag aagaggcaaagccacgacggactgtaccagggactc agcaccgccaccaaggacacatgacgctctccatg caggccctgccgcctcgg (SEQ ID NO: 1063)</p>
<p>SP-接头 3 - ERmut1 - 弗林蛋白 酶切割位点 3 - CD19 CAR2</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPD SLALSLTADQMVSALLDAEPII LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLALHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMEHKLLFAPNLL LDRNQKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFSSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQHQRLAQLLLILSHIRHM SSKRMEHLYSMKKNVPLS DLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRREIVMTQSPATLSLSPG ERATLSCRASQDISKYLWYQ QKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIP ARFSGSGSDTYLTISSLQP EDFAVYFCQQGNTLPYTFGQ GTKLEIKGGGSGGGGSGGG GSQVQLQESGPGLVKPSETL</p>	<p>atggccctccctgtcacccctgctgctccgctgctcttc tgctccaagcgcctcggccgattcgttggcacttccctga ctgccgaccagatggtgtccgcccctctgacgcccagcc tcaaattctgtactcggagtagatccgactcgcctgtctc cgaagccagcatgatggcctgtgactaacctggcggga ccgcgagttggtcacatgataactgggtaagcgggtg ccgggcttctgtagctggccctgcacgaccaagtcac ctcctggaatgcgctggtggaatcctcatgatcggcct cgtgtggagatccatggagcatcccggaaagctcctgttg caccacactcctgctgtagcgaaccagggaaaatgctg ggaagggggtgctgagatttgcagactgctgctgccacct cttcccgggtccggatgatgaatctgcaggagaagagttc gtgtgctgaagtcaatcatcctgctgaactccgggtctat acctcctgagctcagccctcaagtactggaggaaaaa gaccacatccatcgcgtgctcagataagatcaccgacacc cttatccatctcatggcgaagcgtgactgacctgcaaca gcagcaccagaggcgtggcccagttgctgctgattctgagc cacatccggcacatgtcgaagaagcgtgctcctctgcccgatc tacagcatgaagtgaagaagcgtgctcctctgcccgatc gctcctggaatgctggagcgcacagactcgggacgg</p>

[1311]

	<p>SLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQ PPGKGLEWIGVIWGSETTYYS SSLKSRVTISKDNSKNQVSLK LSSVTAADTAVYYCAKHYYYG GSYAMDYWGQGTLVTVSSTT TPAPRPPTPAPTIASQPLSLRP EACRPAAGGAVHTRGLDFAC DIYWAPLAGTCGVLLLSLVITL YCKRGRKLLYIFKQPFMRPV QTTQEEDGCSCRFPEEEEEGG CELRVKFSRSADAPAYQQGQ NQLYNELNLGRREEYDVLDK RRGRDPEMGGKPRRKNPQE GLYNELQKDKMAEAYSEIGMK GERRRGKGDGLYQGLSTAT KDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 1004)</p>	<p>gagctgaagatccacgacccagcagaaagcgacggga aattgtgatgaccagtcacccgacctcttagccttacc cggtagcgcgcaaccctgtcttcagagcctccaaga catctcaaataccttaattggtatcaacagaagcccga caggctcctcgcttctgatctaccacaccagccggtcca ttctggaatccctgccaggttcagcggtagcggatctggga ccgactacaccctcactatcagctcactgcagccagagg actcgcgtctatttctgcagcaagggaaacacctgccct acaccttggacagggcaccagctcgagattaagggtg gaggtggcagcggaggagggtgggtccggcgggtggagg aagccaggtccaactccaagaaagcggaccgggtctgt gaagccatcagaaactcttactgactgtactgtgagcg gagtgctctccccgattacgggggtcttggatcagacag ccaccggggaaggggtcggatggaatggagtgattggg gctctgagactactactactctcatccctcaagtcacgct caccatctcaaaggacaacttaagaatcaggtgtcactg aaactgtcatctgtgaccgcagccgacaccgctgtact attgctgaagcattactattatggcgggagctacgcaatg gattactggggacaggggtactctggtcaccgtgtccagca ccactacccagcaccgaggccaccaccccggtccta ccatcgcctcccagcctctgtccctgcgtccggaggcatgt agaccgcagctggtggggccgtgcataccgggggtctt gactcgcctcgcgatctacattgggccctctggctgta cttgcggggtcctgctcttactcgtgatcactcttactgta agcgcggtcggagaagctgctgtacatcttaagcaacc ctcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacgg ctgtcatgcccgttccagagaggaggaaagcggctg cgaactgcgctgaaattcagccgagcgcagatgtcc agcctaccagcaggggcagaaccagctctacaacgaac tcaatcttggcggagagaggagtacgacgtgtctggaca agcggagaggacgggaccagaaatgggcgggaagc cgcgcaaaaagaatccccaagaggcctgtacaacga gctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaaggcca cgacggactgtaccaggactcagaccgcccaccaagg acacatgacgctctcatatgcaggccctgccgctcgg (SEQ ID NO: 1064)</p>
<p>SP-接头 3 - ERmut2 - 弗林蛋白 酶切割位点 3 - CD19 CAR2</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPD SLALSLTADQMVSALLDAEPP LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLTLHDQVHLLLECAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFSSLTLSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMAKAGLT LQQQHQLAQLLLILSHIRHM SNKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRREIVMTQSPATLSLSPG ERATLSCRASQDISKYLWYQ QKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIP ARFSGSGSGTDYTLTISSLQP EDFAVYFCQQGNTLPYTFGQ GTKLEIKGGGSGGGGSGGG GSQVQLQESGPGLVKPSSETL SLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQ PPGKGLEWIGVIWGSETTYYS SSLKSRVTISKDNSKNQVSLK LSSVTAADTAVYYCAKHYYYG</p>	<p>atggccctccctgtcacccgctgtcttccgctggtctct tgctccacgcccgtcggccgatTcgttggcactttccctg actcgcgaccagatgggtcggcctcttgagccgagc ctccaattctgtactcggagtagcagcagcagcggctt ccgaagccagcatgatgggcctgttgactaacctggcgg accgcgagttggtgcacatgattaactgggctaagcgggt gccgggctcgtggacctgacctgcacgaccaagtga cctcctggaatgcgctggatggaatcctcatatgcggcc tcgtgtggagatccatggagatcccggaaagctcctggtt gcaccaacctcctgctgatcgaaccagggaatgca gtggaagggggtcgcagatttgcagatgctgctcggcc ctctcccggttccggatgatgaatctgcagggagaagagt tcgtgtgtcgaagtcaatcatcctgctgaactccgggtct ataccttctgagctcgaacctcaagtcactggaggaaaa agaccacatccatcgcgtgctcgataagatcaccgacac ccttatccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaac agcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgag ccacatccggcagatgctgaacaagaggatggaacacc tgtacagcatgaagtgaagaacgtcgtgctcctgctcggat ctgctcctggaatgctggagcgcagcagactcGggacg ggagctgaagatccacgaccagcagaaagcagcagggg aaattgtgatgaccagtcacccgacctcttagccttacc ccggtgagcgcgcaaccctgtcttcagagcctccaag acatctcaaataccttaattggtatcaacagaagcccgg</p>

[1312]

	<p>GSYAMDYWGQGLTVSSTT TPAPRPPTPAPTIASQPLSLRP EACRPAAGGAVHTRGLDFAC DIYWAPLAGTCGVLLSLVITL YCKRGRKLLYIFKQPFMRPV QTTQEEDGCSCRFPEEEEEG CELRVKFSRSADAPAYQQGQ NQLYNELNLGRREEYDVLDK RRGRDPEMGGKPRRKNPQE GLYNELQKDKMAEAYSEIGMK GERRRGKGHGDLQGLSTAT KDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 1005)</p>	<p>acaggctcctcgcttctgatctaccacaccagccggctcc attctggaatccctgccagggtcagcggtagcggatctggg accgactacaccctcactatcagctcactgcagccagag gacttcgctgtctattctgtcagcaagggaacaccctgcc tacaccttggacagggcaccagctcgagattaaagggtg gagggtggcagcgaggagggtgggtccggcggtggagg aagccagggtccaactccaagaaaggcggaccgggtctgt gaagccatcagaaactcttctactgactgtactgtgagcg gagtgctctccccgattacgggggtctgtgagcagacag ccaccgggaagggtctggaatggattggagtgattggg gctctgagactactactcttcatccctcaagtcacgcgt caccatctcaaaggacaacttaagaatcagggtgactg aaactgtcatctgtgaccgcagccgacaccgctgtact attgctgtaagcattactattatggcgggagctacgcaatg gattactggggacaggggtactctggtcaccgtgtccagca ccactacccagcaccgaggccaccaccccggtccta ccatcgctcccagcctctgctcctgctcggaggcatgt agaccgcagctggtggggcctgcataccgggtctt gacttcgctcgatatactattggccctctggtgta cttgggggtcctgctgcttctactcgtgatcactttactgta agcgggtcggagaagctgctgacatcttaagcaacc ctcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacgg ctgtcatgcccgttccagaggagggaaggcggctg cgaactgcgctgaaatcagccgagcgcagatgctcc agcctaccagcaggggcagaaccagctctacaacgaac tcaatcttggcggagagaggagtacgctgtctggaca agcgggagaggacgggaccagaaatggcggggaagc cgcgcaaaagaatcccaagaggcctgtacaacga gctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaaggcca cgacggactgtaccagggactcagcaccgcccaagg acacctatgacgcttccatgacggccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 1065)</p>
<p>SP-接头 3 - ERmut1 - 弗林蛋白 酶切割位点 2 - CD123 CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPD SLALSLTADQMVSALLDAEPP LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLALHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMAKAGLT LQQQHQLAQLLLILSHIRHM SSKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRSLGDVGVQVLVQSGA EVKKPGASVKVSKASGYTFT GYMHWVRQAPGQGLEWM GWINPNSGGTNYAQKFQGRV TLTRDTSISTVYMELSRLRSD DTAVYYCARDMNILATVPFDI WGQGTMTVTVSSGGGSSGGG GSGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGDFTLTV NSLQPEDFATYYCQQGDSVP LTFGGGTRLEIKTTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYWAPL</p>	<p>atggccctcctgtcaccgcccgtgcttccgctgctcttc tgctccacgcccgtcggcccgttctggtgacitctccctga ctgcccagcagatggtgtccgcccctctgagcggcagcc tccaattctgtactcggagtacgatccgactcggcgtctc cgaagccagcatgatggcctgtgactaacctggcggga ccgaggtggtgcacatgataactgggtaagcgggtg ccgggctcgtggacctggccctgcagcagcaagtgac ctcctggaatgcgctggtgaaatcctcatgctggcct cgtgtggagatccatggagatcccggaaagctcctgttg caccacaacctcctgtgatgcacaccagggaaaatgctg ggaagggggtgctgagattttcagatgctgctgccacct cttcccgttccgatgatgaatctgcaggagaagagttc gtgtgtctgaagtcaatcatcctgctgaactccgggtctat acctcctgagctcagccctcaagtactggaggaaaaa gaccacatccatcggctgctcagataagatcaccgacacc cttatccatctatggcgaaggctggactgacctgcaaca gcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgagc cacatccggcacatgctgccaagaggatggaacacctg tacagcatgaagtgaagaacgtcgtgctctgtccgatct gctcctggaaatgctggacgcgcacagactcggaaaccg gcgcggaagaccccggccctccaggaaagcgaaggctc cctcgggagacgtgggtcaagtgaactcgtccaaagcgg agcggaaagtcaagaacccggagcagcgtgaaagtg tcctgcaaaagcctccggctacaccttacgggctactacat gcactgggtgcgcccaggcaccaggacagggcttgaatg gatgggatgatcaaccctaattcggggcggaaactaac gcacagaagtccaggggagagtgactctgactcgggat acctcatctcaactgtctacatggaactcctccgcttggg</p>

[1313]

	<p>AGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK KLLYIFKQPFMRPVQTTQEED GCSCRFPEEEEEGGCEL RVKF SRSADAPAYQQGQNLVYNEL NLGRREEYDVLDRRGRDPE MGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDAL HMQALPPR (SEQ ID NO: 1006)</p>	<p>tcagatgatacggcagtgactactgcgcccgcgacatga atatcctggctaccgtgccgttcgacatctggggacaggg gactatggtactgtctcatcgggagggtgaggtcaggag gaggcggctcgggaggcggagggtcggacattcagatg accagtcctccatcctctctgtcggccagcgtcggagata gggtgaccattacctgtcgggctcgcgaaagcatctcctcg tacctcaactggatcagcaaaagcgggaaaggcgct aagctgtgatctacgcccgttcgagcttgcgaaagcgggg tgccatccagattctcgggatcaggctcaggaaccgacttc accctgaccgtgaacagcctccagcggaggactttgcc acttactactgcagcaggaggactccgtgcgcttacttcc gggggggtaccgcctggagatcaagaccactacccc agcaccgaggccaccaccccggctcctaccatcgctc ccagcctctgtccctgcgtcggaggcatgtagaccgca gctgtggggcggcgcatacccggggtttgactcgcctg cgatatctacattggcccctcggctggtacttgcgggt cctgtcttctactcgtgatcacttctactgtaagcgggtc ggaagaagctgctgtacatcttaagcaaccctcatgagg cctgtgcagactactcaagaggaggacggcttcatgcc ggtcccagaggaggaggaaggcggctgcgaactgcgc gtgaaattcagccgagcgcagatgtccagcctaccag caggggcagaaccagctcaacaagcaactcaatctgtg cggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggagag gacgggaaccagaaatggcggggaagcgcgcagaa agaatcccaagaggcctgtacaacgagctccaaaag gataagatggcagaagcctatagcgagattggtatgaaa ggggaacgcagaagaggcaaaaggccagcagcagactgt accagggactcagcaccgccaccaaggacacatgac gctctcacatgcaggccctgcgcctcgg (SEQ ID NO: 1066)</p>
<p>SP-接头 3 - ERmut2 - 弗林蛋白 酶切割位点 2 - CD123 CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPD SLALS LTADQMVSALLDAEPII LYSEYDPTPRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLTLHDQVHLLCEAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQQHQRQLAQLLLILSHIRHM SNKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRSLGDVGQVQLVQSGA EVKKPGASVKVSKASGYTFT GYMHWVRQAPGQGLEWM GWINPNSGGTNYAQKFQGRV TLTRDTSISTVYMELSRLRSD DTAVYYCARDMNILATVPFDI WGQGTMTVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVITICRASQSISSYLN WYQQKPKGKAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTV NSLQPEDFATYYCQQGDSVP LTFGGGTRLEIKTTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYIWAPL AGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK KLLYIFKQPFMRPVQTTQEED GCSCRFPEEEEEGGCEL RVKF</p>	<p>atggccctccctgtcaccgcccgtgcttccgctggctcttc tgctccacgcgcgctcggcccgatTcgttggcacttccctg actgccgaccagatgggttccgccctctggacgcccagc ctccaattctgtactcggagtagatccgactcggcccgtct cgaagccagcatgatgggcctgtgactaacctggcgg accgcgagttggtgcacatgattaactgggctaagcgggt gccgggctcgtggaccctgaccctgcacgaccaagtga cctcctggaatgcgcctggatggaatctcatgatcggcc tcgtgtggagatccatggagatcccggaaagctcctggtt gcaccaacctcctgcttgatcgaaccagggaaaatgc gtggaaggggtgtcgagatttgcacatgctgctgcacc ctctcccggtccggatgatgaatcgcaggggagaagagt tcgtgtgtcgaagtcaatcatcctgctgaactccggggtct atacctcctgagctgcaccccaagtcactggagggaaaa agaccacatccatcgctgctcgataagatcaccgacac ccttatccatctcatggcgaaggctggactgaccctgcaac agcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgag ccacatccggcacatgcaacaagaggatggaacacc tgtacagcatgaagtgaagaacgtcgtgctcctgtccgat ctgctcctggaatgctggacgcgcacagactcggaaacc ggcgcggaagacccccggccctccaggaagcgaagggt ccctcggagacgtgggtcaagtgcactcgtccaaagcg gagcggaaagtcaagaaaccggagcagcagcgtgaaagt gtcctgcaaagcctccggctacaccttacgggctactaca tgactgggtgcgccaggcaccaggacagggtcttgaat ggatgggatggatcaaccctaattcgggcggaactaacta cgcacagaagttccaggggagagtgactctgactcggga tacctccatctcaactgtctacatggaactcctccgcttgcg gtcagatgatacggcagtgactactgcgcccgcgacatg aatatcctggctaccgtgcccgttcgacatctggggacagg ggactatggttactgtctcatcggcgggtggagggtcagga</p>

[1314]

	<p>SRSADAPAYQQGQNQLYNEL NLGRREEYDVLDRRGRDPE MGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDAL HMQUALPPR (SEQ ID NO: 1007)</p>	<p>ggaggcggctcgggaggcggagggtcggacattcagat gaccagtcctcctctctgctcggccagcgtcggagat agggtgaccattacctgctcggcctcgcgaaagcatctcctc gtacctcaactggtatcagcaaaagccgggaaaagggcgc ctaagctgctgatctacgcccgttcgagcttgcaaagcgg ggtgcatccagattctcgggatcaggctcaggaaccga ctcaccctgaccgtgaacagcctccagccggaggacttt gccactactactgcccagcaggagactcctgctcggctta cttcgggggggtaccgctcgggatcaagaccacta cccagcaccgaggccaccaccccgctcctaccatcg cctcccagcctctgctcctcgtccggaggcatgtagacc gcagctggtggggcctgcataccggggcttgacttgc cctgcgatatctacattggcccctctggtgctgacttgcg ggtcctgctgcttactcgtgatcactcttactgtaagcgg gtcggagaagctgctgtacatcttaagcaaccctcatg aggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgtcat gccggtcccagaggaggaggaaaggcggctgcgaactg cgcgtgaaattcagccgagcgcagatgctccagcctac cagcaggggcagaaaccagctctacaacgaactcaatctt ggtcggagagaggagtacgactgctggacaagcggga gaggacgggaccagaaatgggcccgaagccgcgca gaaagaatcccgaagaggcctgtacaacgagctccaa aaggataagatggcagaagcctatagcgagattggtatg aaaggggaacgcagaagaggcaagggccacgacgg actgtaccagggactcagcaccgcccaccaaggacacct atgacgctctcacatgaggccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 1067)</p>
<p>SP-接头 3 - ERmut1 - 弗林蛋白 酶切割位点 3 - CD123 CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPD SLALSLTADQMVSALLDAEPI LYSEYDPTTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLALHDQVHLLCEAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVGGVEIFDMLLA TSSRFMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMAKAGLT LQQQHQLRAQLLLILSHIRHM SSKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRQVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSKASGYTFTGYMH WVRQAPGGLEWMGWINPN SGGTNYAQKFQGRVTLTRDT SISTVYMELSRLSDDTAVYY CARDMNILATVPFDIWGQGT MVTSSGGGGSGGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRT ITCRASQSISSYLNWYQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFLTVNSLQPEDFA TYQCQGDVPLTFGGGTRL EIKTTTPAPRPPTPAPTASQP LSLRPEACRPAAGGAVHTR GLDFACDIYIWAFLAGTCG VLLLSLVITLYCKRGRKLL YIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEEGGCELRVK FSRSADAPAYQQGQNQLY NELNLGRREEYDVLDRR</p>	<p>atggccctcctgtcaccgccctgctctcctcgtgctcttc tgctccacgccctcggcccattcgttgccacttccctga ctgccgaccagatggtgtccgccctcttgagcggagcct ccaattctgtactcggagtacgatccgactcggcctctcc gaagccagcatgatgggctgtgactaacctggcggacc cggagtgggtgcatgattaactgggctaagcgggtgccc ggcttctgtagcctggcctgcagaccaagtgcacctct ggaatgcgctgagatgaaatcctcatgatcggcctcgtgt ggagatccatggagcatcccggaaagctcctgtttgaccc aacctcctgctgatcgcaaccagggaatcgctggaag ggggtgtcgagatttctgacatgctgctcggcactctccc ggttcggatgatgaatctgcagggagaagattcgtgtgt ctgaagtcaatcatcctgctgaactcggggtctatacctc ctgagctcgaccctcaagtactggagaaaaagaccaca tccatcgctgctcgataagatcaccgacaccttatccatc tcatggcgaaggctggactgacctgcaacagcagcacca gaggctggcccagttgctgctgattctgagccacatccggc acatgtcgtccaagaggatggaacacctgtacagcatgaa gtgcaagaacgtcgtgctcctgctcggatgctcctggaat gctggacgcgcacagactcggaaaccggcgcggaagacc ccggccctccaggaagcgaaggcaagtcaactcgtccaa agcggagcggagtaagaacccggagcagcgtgaaa gtgtcctgcaaagcctccggctacacctttacgggctactac atgactgggtgcccaggcaccaggacagggtcttgaat ggatgggatggatcaaccctaattcgggcggaactaacta cgacagaagttccaggggagagtactctgactcgggat acctccatctcaactgtctacatggaactctcccgtcggg tcagatgatacggcagtgactactgcccgcgacatgaa tatcctggctaccgtgctgacatctggggacagggga</p>

[1315]

	<p>GRDPEMGGKPRRKNPQE GLYNELQKDKMAEAYSEIG MKGERRRGKGHGDLQGL STATKDYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 1008)</p>	<p>ctatggttactgtctcatcgggctggagggtcaggagga ggcggctcgggagcggagggttcggacattcagatgacc agtccccatcctctctgtcggccagcgtcgagatagggtg accattacgtgtcggcctcgcaaagcatctcctcgtacctc aactggtatcagcaaaagccgggaaaggcgctaagctgc tgatctacgccgttgagcttgaagcggggtccatcc agattctcgggatcaggctcaggaaaccgactcaccctgac cgtgaacagcctccagccggaggactttgccacttactact gccagcaggagactcgtgcccgttactttcgggggggt acccgctggagatcaagaccactacccagcaccgaggc caccacccggctcctaccatcgctcccagcctctgtccc tgcgtccggaggcatgtagaccgcagctggtggggcgt gcataccggggtctgacttcgctgcgatctcatttg ggccctctggtgacttgcgggctcctgctgttactc gtgatcactcttactgaagcggctggaagaagctgct gtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagactac tcaagaggaggacggcttcatgcccgttcccagaggag gaggaaggcggctcgaactgcgctgaaattcagccgca gcgcagatgctccagcctaccagcaggggcagaaccagct ctacaacgaactcaatcttggcggagagaggagtagcagc gtgctggacaagcggagaggacgggaccagaatgggc gggaagccgcgagaagaatcccaagaggcctgtac aacgagctccaaaagataagatggcagaagcctatagc gagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggc cacgacggactgtaccaggactcagcaccgccaccaagg acacatgacgctctcatcagggcctgcccctcgg (SEQ ID NO: 1068)</p>
<p>SP-接头 3 – ERmut2 – 弗林蛋白 酶切割位点 3 – CD123 CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLHAARPD SLALSLTADQMVSALLDAEPPI LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLTLHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMAKAGLT LQQHQRLAQLLLILSHIRHM SNKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRQVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSKASGYTFGTYYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPN SGGTNYAQKFQGRVTLTRDT SISTVYMELSRLSDDTAVYY CARDMNILATVPFDIWGQGT MTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRT ITCRASQSISSYLNWYQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTVNSLQPEDFA TYCQQGDSVPLTFGGGTRL EIKTTTPAPRPPPTAPTIASQP LSLRPEACRPAAGGAVHTRG LDFACDIYWAPLAGTCGVLLL SLVITLYCKRGRKLLYIFKQP FMRPVQTTQEEDGCSCRFPE</p>	<p>atggccctccctgtcacccgctgctcctcctcctc tgctccacgcccgtcggccgatTcgtggcactttccctg actcggaccagatgggtcggccctctggagcggagc ctccaattctgtactcggagtagcagcagcagcggctc ccgaagccagcatgatgggctgtgactaacctggcgg accgaggtggtgcacatgataactgggctaagcgggt gccgggctcgtggacctgacctgcagaccaagtga cctcctggaatgcgctggatggaatcctcatgatcggcc tcgtgtggagatccatggagcatcccgaaagctcctg gcaccaacctcctgctgatcgcaaccagggaatgc gtggaaggggtgtagatcttcgacatgctgctcggc ctctccgggtcggatgatgaatctgcaggagaagat tcgtgtgctgaagtcaatcctcgtgaaactcggggtc atacctcctgagctgaccctcaagtactggaggaaaa agaccacatccatcgctgctgataagatcaccgacac ccttatccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaac agcagcaccagaggtgcccagttgctgctgattctgag ccacatccggcagatggaacaagaggatggaacacc tgtacagcatgaagtgaagaacgtgctcctctgctgat ctgctcctggaatgctggagcgcacagactcgggagc ggagctgaagatccagaccagcagaagaagcagcggc aagtgcactcgtccaaagcggagcggagtagcaaaaa cccggagcagcgtgaagtgtcctgcaaaagcctcggc tacaccttacgggctactacatgactgggtgcgccaggc accaggacagggtctgaaatggatggatggaatcaacct aattcgggcggaactaactacgcacagaagtccagggg agagtgactctgactcgggatacctcatcactgtctac atggaactctccgcttgggtcagatgatacggcagtgta ctactcggccgcagatgaatcctggtaccgtgcccgt tcgacatctgggagcaggggactatggtactgtctcatcg</p>

[1316]

	<p>EEEEGCELRVKFSRSADAPA YQQGQNQLYNELNLRREEY DVLDKRRGRDPEMGGKPRRK NPQEGLYNELQKDKMAEAYS EIGMKGERRRGKGDGLYQG LSTATKDITYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 1009)</p>	<p>ggcgggtggaggttcaggaggaggcggctcgggaggcg gaggttcggacattcagatgaccagtcctcctctgt cgccagcgtcggagatagggtgaccattacctgctggg cctcgcaaagcatctcctcgtacctcaactggtatcagcaa aagccgggaaaggcgcctaagctgctgactacgcccgt tcgagcttgcaaagcggggtccatccagattctcgggat caggctcaggaaccgactcacctgaccgtgaacagcc tccagccggaggacttggcactactactgcccagcaggg agactccgtcggcttacttccgggggggtaccgcctgg agatcaagaccactacccagcaccgaggccaccacc ccggctcctaccatcgctcccagcctctgtccctgctcgg gagcatgtagaccgcagctggtggggcgtgcataacc cggggtctgactcgcctgcgatactacattggcccctc tggctgtactgctggggtcctgctgcttactcgtgatcac tcttactgtaagcgcggctcgaagaagctgctgtacatctt aagcaaccctcatgaggcctgtgcagactactcaagag gaggacggctgtcatgcccgttcccagaggaggaggaa ggcggctgcgaactgcgctgaaattcagccgcagcgc agatgctccagcctaccagcaggggcagaaccagctcta caacgaactcaatctggtcggagagaggagtacgacgt gctggacaagcggagaggacgggaccagaaatgggg gggaagccgcgcagaaagaatcccaagaggcctgt acaacgagctcaaaaaggataagatggcagaagcctat agcgagattggtatgaaggggaaacgcagaagaggca aaggccacgacggactgtaccaggactcagcaccgcc accaaggacacctatgacgtcttccatgcaggccctgc cgctcgg (SEQ ID NO: 1069)</p>
<p>SP-接头 3 - ERmut1 - 弗林蛋白 酶切割位点 2 - BCMA CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPD SLALSLTADQMVSALLDAEPP LYSEYDPTTRPFSEASMMGLL NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLALHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQQHQLRAQLLLILSHIRHM SSKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRSLGDVGEVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAVSGFALS NHGMSWVRRAPGKGLEWVS GIVYSGSTYYAASVKGRFTISR DNSRNTLYLQMNSLRPETA YYCSAHGGESDVWGQTTVT VSSASGGGSGGRASGGGG SDIQLTQSPSSLSASVDRVTI TCRASQSISSYLNWYQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYCQSYSTPYTFGQGTKV EIKTTTPAPRPTPAPTIASQP LSLRPEACRPAAGGAVHTRG LDFACDIYWAPLAGTCGVLLL SLVITLYCKRGRKLLYIFKQP FMRPVQTTQEEDGCSCRFP EEEEGCELRVKFSRSADAPA YQQGQNQLYNELNLRREEY DVLDKRRGRDPEMGGKPRRK NPQEGLYNELQKDKMAEAYS</p>	<p>atggccctccctgtcaccgcccgtgcttccgctgctctc tgctccaagcgcgctcggccgatTcgttggcacttccctg actgcccagcagatgggtcgccttctggagccgagc ctccaattctgactcggagtagatccgactcgcggctct ccgaagccagcatgaggcctgttgactaccctggcgg accgcgagttggtgcacatgattaactgggtaagcgggt gcccggctcgtggacctggccctgcacgaccaagtga cctcctggaatgcgctggatggaatcctcatgatcggcc tcgtgtggagatccatggagcatcccggaagctcctgtt gcaccaacctcctgctgatcgaaccagggaatgc gtggaagggggtgctgagatttcgacatgctgctcggcc cttcccgggtccggatgataatcgcagggagaagagt tcgtgtctgaagtcaatcatcctgctgaaactcggggct atacctcctgagctcgaccctcaagtcactggaggaaa agaccacatccatcgctgctcgataagatcaccgacac cctatccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaac agcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgag ccacatccggcacatgtcgtccaagaggatggaacct gtacagcatgaagtgaagaacgctgctcctctgctccgat ctgctcctggaatgctggacgcgcacagactcggaaacc ggcgcggaagacccccggccctccaggaagcgaaggt ccctcgagacgtgggtgaagtgcgaattggtggaatcag ggggaggactgtgctgagcctggaggatcgtgagactgtc atgtcctgctcggcttgcctgccaaccacgggatgtc ctgggtccgcccgcctggaaagggcctcgaatgggt gtcgggtattgtgacagcggtagacctactatgcccgat ccgtgaaggggagattcaccatcagccgggacaactcc aggaacactctgtacctcaaatgaaatcgtgaggccag aggacactgcatctactgctcgcgcatggcgggaga gtccgagcttggggacaggggaccaccggtgacctgtc tagcgcgtcggcgaggaggcggcggggtcgggcat cagggggcggcgatcggacatccagctcaccagctcc ccgagctcgtcgtcgcctcgtgggagatcgggtcacca tcacgtcggcgccagccagctcattctcctacctaact</p>

[1317]

	<p>EIGMKGERRRGKGDGLYQG LSTATKD TYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 1010)</p>	<p>ggtaccaacagaagcccgaaaagccccgaagcttct atctacgcccgcctcgagcctgcagtcaggagtcacctac ggttctccggctccgggtccggactgattcacctgacat ttctccctgcaaccggaggacttcgctactactactgcca gcagtcgtactccaccctacacttcggacaaggcacc aaggctgaaatcaagaccactaccccagcaccgaggcc accacccccggctcctaccatgcctcccagcctctgtccc tgcgtccggaggcatgtagaccgcagctggtggggccg tgcataccgggggtcttgactcgcctgcgatatctacattg ggccccctggtgctgactgctggggctcctgctgtttcactc gtgatcactcttactgtaagcgcggctggaagaagctgct gtacatcttaagcaacctctcatgaggcctgtgcagacta ctcaagaggaggacggctgttcagccggtcccagagg aggaggaaggcggctgcgaactgcgctgaaattcagc cgagcgcagatgctccagcctaccagcaggggcagaa ccagctctacaacgaactcaatctggtcggagagagga gtacgacgtgctggacaagcggagaggacgggaccca gaaatgggcccgaagccgcgagaaagaatccccaaag agggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggca gaagcctatagcagattggtatgaaaggggaaagcag aagaggcaagggccacgagcgtgtaccagggactc agcaccgccaaggaacacatgacgctcttccatg caggccctgcccctcg (SEQ ID NO: 1070)</p>
<p>SP-接头 3 - ERmut2 - 弗林蛋白 酶切割位点 2 - BCMA CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPD SLALS LTADQMVSALLDAEPII LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLTLHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMHEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQQHQLRAQLLLILSHIRHM SNKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRLGTGAEDPPR <u>SRKRRSLGDVGEVQLVESGG</u> GLVQPGGSLRLSCAVSGFALS NHGMSWVRRAPGKGLEWVS GIVYSGSTYYAASVKGRFTISR DNSRNTLYLQMNSLRPETA YYCSAHGGESDVWGQTTVT VSSASGGGGSGGRASGGGG SDIQLTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQSISSYLNWYQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFLTISLQPEDFA TYQCQSYSTPYTFGQGTKV EIKTTTPAPRPPTPAPTIASQP LSLRPEACRPAAGGAVHTRG LDFACDIYIWAFLAGTCGVLLL SLVITLYCKRGRKLLYIFKQP FMRPVQTTQEEDGCSCRFPE EEEGGCELRVKFSRSADAPA YQQGQNQLYNELNLGRREEY DVLDKRRGRDPEMGGKPRRK NPQEGLYNELQDKMAEAYS EIGMKGERRRGKGDGLYQG LSTATKD TYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 1011)</p>	<p>atggccctccctgtcaccgcccctgctctccgctggtcttc tgctccacgcccgcctcggccgatTcgttggcactttccctg actgcgaccagatggtgtccgccccttggaagcggcagc ctccaattctgtactcggagtagatccgactcggccgtct ccgaagccagcatgatgggcccgttgactaacctggcgg accgogagttggtgcacatgataactgggctaagcgggt gccgggctcgtggacctgacctgcacgaccaagtga cctcctggaatgcgctggatggaatcctcatgatcggcc tcgtgtggagatccatggagcatcccggaaagctcgttt gcaccaacctcctgctgatcgaaccagggaaaaatgc gtggaagggggtgctgagatttcgacatgctgctgccac cttcccgggtccggatgatgaatctgcagggagaagagt tcgtgtctgaagtcaatcatcctgctgaaactccggggtct atacctcctgagctcgaacctcaagtcactggaggaaaa agaccacatccatcgcgtgctcgataagatcaccgacac ccttatccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaac agcagcaccagaggtcggccaggtgctgctgattctgag ccacatccggcacatgctgaacaagaggatggaacacc gtacagcatgaagtgaagaacgctgctcctctgctcgat ctgctcctggaatgctggacgcgcacagactcggaaacc ggcgcggaagacccccggccctccaggaaagcgaaggt ccctcggagacgtgggtgaagtgaattggtggaatcag ggggaggactgtgcagcctggaggatcgtgagactgtc atgtccgtgtccggcttgcctcgtccaaccacgggatgtc ctgggtccgcccgcgctggaagggcctcgaatgggt gtcgggtattgtgtacagcgtgtagcacctactatgccc cgtgaaggggagattcaccatcagccgggacaactcc aggaacaactctgtacctcaaatgaattcgtgaggccag aggacactgcatctactactgctccgcatggcgggaga gtccgacgtcggggacaggggaccaccgtgacctgtc tagcgcgtccggcggaggcggcagcgggggtcgggcat cagggggcggcggatggacatccagctcaccagctcc ccgagctcgtgctccgctcgtgggagatcgggtcacca tcagctgcccgcagcagctgattcctcctacctgaact ggtaccaacagaagcccgaaaagccccgaagcttctc atctacgcccgcctcgagcctgcagtcaggagtcacctac ggttctccggctccgggtccggactgattcacctgacat ttctccctgcaaccggaggacttcgctactactactgcca</p>

[1318]

		<p>gcagtcgtactccaccccctacactttcgacaaggcacc aaggtcgaaatcaagaccactaccccagcaccgagggc accaccccggctcctaccatcgctcccagcctctgtccc tgcgtccggaggcatgtagaccgcagctggtggggccg tgcataccggggtcttgacttcgctgcgatatctacattg ggccccctggtgacttcggtgctgctgtcttcaactc gtgatactctttactgtaagcgcggtcggagaagctgct gtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagacta ctcaagaggaggacggctgttcacggttccagagg aggaggaaggcggctgcgaactgcgctgaaattcagc cgcagcgcagatgtccagcctaccagcaggggagaa ccagctctacaacgaactcaatctggtcggagagagga gtacgacgtgctggacaagcggagagggaggggaccca gaaatgggcggaagccgcgagaaagaatcccaag agggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggca gaagcctatagcagattggtatgaaaggggaaagcag aagaggcaaggccacgacggactgtaccagggactc agcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatg caggccctgcccgcctcg (SEQ ID NO: 1071)</p>
<p>SP-接头 3 – ERmut1 – 弗林蛋白 酶切割位点 3 – BCMA CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPD SLALSLTADQMVSALLDAEPP LYSEYDPTTRPFSEASMMGLL NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLALHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEEFVCLKSI ILLNSGVYTFSSLTKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMAKAGL LQQQHQLRAQLLLILSHIRHM SSKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRREVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAVSGFALSNGMS WVRRAPGKGLEWVSGIVYSG STYYAASVKGRFTISRDNRSR TLYLQMNSLRPEDTAIYCSA HGGESDVWGQGTTVTVSSAS GGGSGGRASGGGSDIQLT QSPSSLSASVGDRTITCRAS QSISYLNWYQQKPKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QSYSTPYTFGGTKVEIKTTT PAPRPPTPAPTIASQPLSLRPE ACRPAAGGAVHTRGLDFACDI YIWAPLAGTCGVLLLSLVITLY CKRGRKLLYIFKQPFMRPVQ TTQEEDGCSCRFPEEEEGGC ELRVKFSRSADAPAYQQGQN QLYNELNLGRREEYDVLDR RGRDPEMGGKPRRKNPQEG LYNELQKDKMAEAYSEIGMKG ERRRGKGDHGLYQGLSTATK DTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 1012)</p>	<p>atggccctccctgtcaccgcccgtgcttccgctggtcttc tgctccacgcccgtcggccgatTcggtggcactttccctg actcgcaccagatggtgtccgccttctggagcgcgagc ctccaattctgtactcggagtagcctccgactcggcctct ccgaagccagcatgatggcctgttgactaacctggcgg accgaggtggtgcacatgattaactgggctaagcgggt gcccggctcgtggacctggcctgcacgaccaagtga cctcctggaatgcgctggatggaatcctcatgatcggcc tcgtgtggagatccatggagcatcccggaaagctcctg gcaccaacctcctgctgatcgaaccagggaatgct gtggaagggggtgcgagatttgcacatgctgctcggcac cttcccggttccgagatgaatcgcaggagagaagat tcgtgtgtcgaagtcaatcctcctgctgaactcggggtct atacctcctgagctgcaccctcaagtcactggaggaaaa agaccacatccatcgcggtgctcgataagatcaccgacac ccttatccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaac agcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgag ccacatccggcacatgctgccaagaggatggaacacct gtacagcatgaagtgaagaacgctgctcctctgctccgat ctgctcctggaatgctggagcgcacagactcGggagc ggagctgaagatccacgaccagcagaaagcagcggg aagtccaattggtggaatcagggggaggactgtgcagc ctggaggatcgtgagactgtcatgtccgtgctccgctttg ccctgtccaaccacgggatgtcctgggtccgcccgcgccc tggaaagggcctcgaatgggtgctgggtattgtgtacagc ggtagcacctactatgccatccgtgaaggggagattca ccatcagccgggacaactccaggaacactctgtacctcc aatgaattcgtgagggcagaggacactgccaactacta ctgctccgcatggtggagagctccgactgctggggaca ggggaccaccgtgaccgtgttagcgcgtccggcggag gcggcagcgggggtcggcatcagggggcggggatc ggacatccagctcaccagctcccagctcgtctccgccc tccgtgggagatcgggtcaccatcacgtccgcccagc cagctgatttctcctacctgaactggtaccaacagaagcc cggaaaagccccgaagcttctatctacgcccctcag cctgcagtcaggagtgccctcaggttctccggctccggt ccggtactgattcaccctgaccatttctcctcgaaccgg aggactcgtactactactgcccagcagctgactccacc ccctacacttccgacaaggcaccagggtcgaatcaag accactaccccagcaccgagggccaccaccccggctcct accatgcctcccagcctctgtccctcgtccggaggcatg tagaccgcagctggtggggcgtgcataccggggtctt</p>

[1319]

		<p>gacttcgctgcgatatctacattgggccctctggctgga cttgccgggtcctctgctcttactcgtgatcactcttactgta agcgcggtcgaagaagctgctgacatcttaagcaacc ctcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacgg ctgtcatgccggtccagaggaggaggaaaggcggctg cgaactgcgctgaaattcagccgagcgcagatgctcc agcctaccagcaggggcagaaccagctctacaacgaac tcaatcttgctggagagaggagtacgacgtgctggaca agcggagaggacgggacccagaaatggcggaagc cgcgcagaaagaatcccaagaggcctgtacaacga gctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcggaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaggcca cgacggactgtaccagggactcagaccgccaacgaag acacctatgacgctctcactcagcaggccctgcccctcg g (SEQ ID NO: 1072)</p>
<p>SP-接头 3 – ERmut2 – 弗林蛋白 酶切割位点 3 – BCMA CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPD SLALSLTADQMVSALLDAEPP LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLTLHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQQHQLRAQLLLILSHIRHM SNKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRREVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAVSGFALSNHGMS WVRRAPGKGLEWVSGIVYSG STYYAASVKGRFTISRDNRSR TLYLQMNSLRPEDTAIYCSA HGGESDVWGQTTVTVSSAS GGGGSGGRASGGGGSDIQLT QSPSSLSASVGDVITICRAS QSISSYLNWYQQKPKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSG DFTLTISSLQPEDFATYYCQ QSYSTPYTFGGTKVEIKTTT PAPRPPTPAPTIASQPLSLRPE ACRPAAGGAVHTRGLDFACDI YIWAPLAGTCGVLLLSLVITLY CKRGRKLLYIFKQPFMRPVQ TTQEEDGCSCRFPEEEEGGC ELRVKFSRSADAPAYQQGQN QLYNELNLGRREEYDVLDR RGRDPEMGGKPRRKNPQEG LYNELQKDKMAEAYSEIGMKG ERRRGKGDGLYQGLSTATK DTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 1013)</p>	<p>atggccctccctgtcaccgcccctgctgctccgctggctctc tgctccacgcccctgcccgatTcgtggcactttccctg actgcccagcagatgggtccgccctctggacgcccagc ctccaattctgtactcggagtagcactccgactgcccgttct ccgaagccagcatgatgggctgtgactaacctggcgg accgaggtgggtgcacatgattaactgggctaagcgggt gccgggctcgtggactgacctgcacgaccaagtga cctcctggaatgcgctggtggaatcctcatgactcggcc tcgtgtggagatccatggagcatcccgaagactcctgtt gcacccaacctcctgctgatcgaaccagggaatgc gtggaaggggtgctgagatttcgacatgctgctgccac ctctcccgttccggatgatgaatctgcagggagaagagt tcgtgtgtcgaagtcaatcatcctgctgaactccgggtct atacctcctgagctgcacctcaagtactggagga agaccacatccatcggctgctcagataagatcaccgacac ccttatccatctatggcgaaggctggactgacctgcaac agcagcaccagagggctggcccagttgctgctgattctgag ccacatccggcaccatgctgaacaagaggatggaacacc tgtacagcatgaagtgaagaacgctgctgctcctgctcggat ctgctcctggaatgctggacgcccagactcgggacg ggagctgaagatccacgaccagcagaagcgcagcggg aagtgaattggtggaatcagggggaggactgtgcagc ctggaggatgctgagactgtcatgtccgtgctccgctttg cctgtccaaccacgggatgctcctgggtccgcccggcggc tggaaaggcctcgaatgggtgctcgggtattgtgacagc ggtagcacctactatgcccgatccgtagaaggggagattca ccatcagccgggacaactccagggaacactctgtactctcc aatgaattcgtgagggcagaggacactgcatctacta ctgctccgcatggtggagagctccgactgctgggaca ggggaccaccgtgaccgtgttagcgcgctccggcggag gcccagcgggggtcggcatcagggggcggcgggatc ggacatccagctcaccagctcccagctgctgctcggcc tccgtggagatcgggtcaccatcagtgccgcccagc cagtcgatttctctactcctaactggtaccacagaagcc cggaaaagccccgaagcttctcactcagcgcctcagag cctgcagtcaggagtgcctcaggttctccggctccggtt ccggtactgattcaccctgaccatttctcctcctgcaaccgg aggactcgtactactactgcccagcagctgactccacc ccctacacttccgacaaggcaccaggctgaaatcaag accactacccagcaccgagggccaccaccccggtcctc accatgcctcccagcctctgctcctgctcggaggcatg tagaccgcagctggtggggcctgcataccgggggtctt gacttcgctgcgatatctacattgggccctctggctgga cttgccgggtcctgctgcttactcgtgatcactcttactgta agcgcggtcgaagaagctgctgacatcttaagcaacc ctcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacgg</p>

[1320]

		<p>ctgttcacgcccgtccagaggaggaggaaggcggctg cgaactgcgctgaaattcagccgagcgcagatgtcc agcctaccagcaggggcagaaccagctctacaacgaac tcaatcttgctggagagaggagtacgacgtgctggaca agcggagaggacgggaccagaaatggcgggaagc cgcgcaaaagaatccccaagaggcctgtacaacga gctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggcca cgacggactgtaccagggactcagaccgcccacaagg acacctatgacgctctcacatgcaggccctgccctcgg (SEQ ID NO: 1073)</p>
<p>SP-接头 4 – ERmut1 – 弗林蛋白 酶切割位点 2 – CD19 CAR2</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPN SLALSLTADQMVSALLDAEPP LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLALHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFSSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMAKAGLT LQQQHQLAQLLLILSHIRHM SSKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRSLGDVGEIVMTQSPAT LSLSPGERATLSCRASQDISK YLNWYQQKPGQAPRLIYHTS RLHSGIPARFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFAVYFCQQGNTL PYTFGQGKLEIKGGGSGG GGSGGGGSQVQLQESGPG VKPSETLSLTCTVSGVSLPDY GVSWIRQPPGKLEWIGVIW GSETYYSSSLKSRVTISKDN SKNQVSLKLSVTAADTAVYY CAKHYYYGGSYAMDYWGQG TLVTVSSTTPAPRPPTPAPT ASQPLSLRPEACRPAAGGAV HTRGLDFACDIYIWAPLAGTC GVLLLSLVITLYCKRGRKLLYI FKQPFMRPVQTTQEEDGCSC RFPEEEEGGCELRVKFSRSA DAPAYQQGQNQLYNELNLGR REEYDVLDKRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMA EAYSEIGMKGERRRGKGDH LYQGLSTATKDTYDALHMQAL PPR (SEQ ID NO: 1014)</p>	<p>atggccctccctgtcacccctgtgcttccgctggtctct tgctccacgcccgtcggcccaactcgttggaacttccctga ctgccgaccagatgggtgccgctcttgacgcccagacc tcaattctgtactcggagtagatccgactcggcctctc cgaagccagcatgatggcctgtgactaacctggcggga ccgagagtggtgcacatgataactgggtaagcgggtg ccgggctcgtggactcggcctgcacgaccaagtgac ctcctggaatgcgctggtatgaaatcctcatgatcggcct cgtgtggagatccatggagatcccggaaagctcctgtttg caccacactcctgtgatgcgaaccagggaaaatgctg ggaagggggtgctgagatcttcagatgctgctgccacct ctcccggtccggatgataatctcagggagaagaggttc gtgtgtcgaagtcaatcctcctgtaactccgggtctat acctcctgagctcgaacctcaagctactggaggaaaaa gaccacatccatcggctgctgataagatcaccgacacc ctatccatcctatggcgaaggctggactgacctgcaaca gcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgagc cacatccggcacatgctgccaagaggatggaacacctg tacagcatgaagtgaagaacgctgctcctgtcggatct gctcctggaatgctggagcgcacagactcgaagccg gcgagggaagacccccgcccctccaggaaagcgaaggtc cctcgggagacgtgggtgaaatgtgatgaccagtcacc gccactcttagccttaccocggtagcgcgaaccctgtct tgagagcctccaagacatctcaaaatacctaattggtgta taacagaagcccggacaggctcctcgcctctgatctac cacaccagccggtcattctggaatccctgcagggttca gcggtagcggatctgggaccgactacaccctcactatcag ctactgcagccagaggactcgtgctatcttctgcagca aggaacacccctgccctacaccttgacagggcaccaca gctcagagattaagggtgagggtggcagcggaggagggtg ggtccggcgggtggagggaagccaggtccaactccaagaa agcggaccgggtctgtgaagccatcagaaactcttact gactgtactgtgagcggagtgctctccccgattacggggt gtcttgatcagacagccaccggggaagggctggaatg gattggagtgattgggctcctgagactactactctctcat ccctcaagtcacgcgtccatctcaaaaggacaactctaa gatcagggtgactgaaactgtcatctgtgaccgcagcc gacaccgctgtactatgctgtaagcattactattatggc gggagctacgcaatggattactggggacagggtactctg gtcaccgtgtccagcaccactacccagcaccgaggcca cccaccccgctcctaccatgcctcccagcctctgtccct gcgtccggaggcatgtagaccgcagctggtgggcccgt gcatacccggtctgactcgcctgcgatatctcatttg ggccctctgctggtactcggggctcctgctgtcttactc gtatcactcttactgtaagcgcggctggaagaagctgct gtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagacta ctcaagaggaggagcggctgtcatgcccgttccagagg aggaggaaaggcggctgcaactgcgctgaaatcagc cgagcgcagatgctccagcctaccagcaggggcagaa ccagctctacaacgaactcaatctggctggagagagga</p>

[1321]

		<p>gtacgacgtgctggacaagcggagaggacgggaccca gaaatgggcggaagccgcgcagaaagaatcccaag agggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggca gaagcctatagcgagattggtatgaaaggggaaacgag aagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactc agcaccgccaccaaggacacatgacgctcttcatg caggccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 1074)</p>
<p>SP-接头 4 – ERmut2 – 弗林蛋白 酶切割位点 2 – CD19 CAR2</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPN SLALSLTADQMVSALLDAEPPI LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLTLHDQVHLLLECAWMEILM IGLVWRSMHEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMAKAGLT LQQQHQLAQLLLILSHIRHM SNKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRSLGDVGEIVMTQSPAT LSLSPGERATLSCRASQDISK YLNWYQKPGQAPRLLIYHTS RLHSGIPARFSGSGSDTYTL TISSLQPEDFAVYFCQQGNTL PYTFGQGKLEIKGGGGSGG GGSGGGGSQVQLQESGPG VKPSETLSLTCTVSGVSLPDY GVSWIRQPPGKLEWIGVIW GSETTYSSSLKSRVTISKDN SKNQVSLKLSSVTAADTAVYY CAKHYYYGGSYAMDYWGQG TLVTVSSTTTPAPRPPTPAPT ASQPLSLRPEACRPAAGGAV HTRGLDFACDIYWAPLAGTC GVLLLSLVITLYCKRGRKLLLY FKQPFMRPVQTTQEEDGCSC RFPEEEEGGCELRVKFSRSA DAPAYQQGQNQLYNELNLGR REEYDVLDKRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQDKMA EAYSEIGMKGERRRGKGHDG LYQGLSTATKDTYDALHMQUAL PPR (SEQ ID NO: 1015)</p>	<p>atggccctccctgtcacccctgtgcttccgctggtcttc tgctccacgcgctcggcccaactcgttggaacttccctga ctgccgaccagatggtgtccgacctctggaacgagcc tccaattctgtactcggagtagatccgactcggcgttctc cgaagccagatgatggcctgtgactaacctggcggga cgcgagttggtgcacatgataactgggtaagcggggtg ccgggctcgtggacctgacctgcagcaagacatgac ctcctggaatgcgctggatggaaatcctcatgatcggcct cgtgtggagatccatggagatccccgaaagctcctgtttg caccacaacctcctgtgatgcgaaccagggaatgctg ggaagggggtgctgagatcttcgacatgctgctcgcacct cttcccgggtccggtatgataatctgcaggagaagagttc gtgtgtcgaagtcaatcatcctgctgaactccggggtctat acctcctgagctcgacctcaagtactggaggaaaaa gaccacatccatcgctgtcgcataagatcacccgacacc cttatccatctatggcgaaggctggactgacctgcaaca gcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgagc cacatccggcacatgtcgaacaagaggatggaacacct gtacagcatgaagtgaagaacgctgctcctctgtccgat ctgctcctggaatgctggacgcgcacagactcgggaacc ggcgcgggaagacccccgcctccagggaagcgaagg ccctcgggagacgtgggtgaaattgtgatgaccagtcacc cgccactcttagccttcccccgtgagcgcgaaccctgt ctgagagcctcccaagacatctcaaaatccttaattgg tatcaacagaagcccgacaggctcctcgcctctgatcta ccacaccagccggctccattctggaatccctgccagggtca gcggtagcggatctgggaccgactacacctcactatcag ctactgcagccagaggactctgcttctatctctgtagca agggaacacctgcccctacaccttggacagggcaccaa gctcagagattaagggtggagggtgacgaggagggtg ggtccggcgggtggagggaagccaggtccaactccaagaa agcggaccgggtctgtgaagcattcagaaactcttact gactgtactgtgagcggagtgctctccccgattacgggt gtcttgatcagacagccagcggggaagggtctggaatg gattggagtgattgggctctgagactactactactctcat ccctcaagtcacgcgtcaccatctcaaaggacaactctaa gaatcagggtgactgaaactgtcatctgtgaccgagcc gacaccgctgtactattgcgctaagcattactatattggc gggagctacgcaatggattactggggacaggggtactctg gtcaccgtgtccagcaccactacccagcaccgaggcca cccacccggctcctaccatcgcctccagcctctgtcct gctcgggaggtgatgacccgagctggtggggccgt gcataccggggtctgactcgcctgcgatactacattg ggccctctggctgactcggggctctgctcttactc gtgactcttactgtaagcgcggctcgaagaagctgct gtacatcttaagcaacctctatgaggcctgtgcagacta ctcaagaggaggacggctgtcatcgggttccagagg aggaggaaggcggctgcgaactgcgctgaaattcagc cgagcgcagatgctccagcctaccagcaggggagaa ccagctctacaacgaactcaatctgtgagagagagga gtacgacgtgctggacaagcggagagggacgggaccca gaaatgggcggaagccgcgcagaaagaatcccaag agggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggca gaagcctatagcgagattggtatgaaaggggaaacgag</p>

[1322]

<p>SP-接头 4 – ERmut1 – 弗林蛋白 酶切割位点 3 – CD19 CAR2</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPN SLALSLTADQMVSALLDAEPPI LYSEYDPTPRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLALHDQVHLLCEAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQQHQLRAQLLLILSHIRHM SSKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRREIVMTQSPATLSLSPG ERATLSCRASQDISKYLNWYQ QKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIP ARFSGSGSGTDYTLTISSLQP EDFAVYFCQQGNTLPYTFGQ GTKLEIKGGGSGGGSGGG GSQVQLQESGPGLVKPSSETL SLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQ PPGKLEWIGVIWGSETTYYS SSLKSRVTISKDNSKNQVSLK LSSVTAADTAVYYCAKHYYG GSYAMDYWGQGLTVTVSSTT TPAPRPPTPAPTIASQPLSLRP EACRPAAGGAVHTRGLDFAC DIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITL YCKRGRKLLYIFKQPFMRPV QTTQEEDGCSCRFPPEEEEGG CELRVKFSRSADAPAYQQGQ NQLYNELNLGRREEYDVLDK RRGRDPEMGGKPRRKNPQE GLYNELQKDKMAEAYSEIGMK GERRRGKGHDLGLYQGLSTAT KDYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 1016)</p>	<p>aagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactc agcaccgccaaccaaggacacctatgacgctcttcacatg caggccctgccgcctcgg (SEQ ID NO: 1075) atggccctccctgtcaccgcccctgctgcttcgctggctcttc tgctccacgcccgtcggcccaactcgttgccactttccctga ctgccgaccagatgggtgcggccctctggacgccgagcc tccaattctgtactcggagtagatccgactcggccgttctc cgaagccagcatgatgggctgttgactaacctggcggga ccgagagttgggtcacatgattaactgggtaagcgggtg ccgggctcgtggacctggccctgcacgaccaagtgcac ctcctggaatgcgctgtagtgaatcctcatgatcggcct cgtgtggagatccatggagatcccggaaagctcctgtttg caccacacctcctgtgtagcgaaccagggaataatgcgt ggaaggggggtgcgagatttcgacatgctgctgcaccct ctcccggttccggatgatgaatctgcagggagaagagttc gtgtgtcgaagtaaatcctgctgaactccgggtctat acctcctgagctgcacctcaagtactggaggaaaaa gaccacatcatcgcgtgctcgataagatcaccgacacc ctatccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaaca gcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgagc cacatccggcacatgctgccaagaggatggaacacctg tacagcatgaagtgcaagaactcgtgctcctctgccgatct gctcctggaatgctggagcgcacagactcgggacgg gagctgaagatccacgaccagcagaagcgcagggga aattgtgatgaccagtcacccgacctcttagccttcacc cggtagcgcgcaacctgtctgtagagcctccaaga catctcaaaataccttaattggtatcaacagaagccggga caggctcctcgcctctgatctaccacaccagccggctcca ttctggaatcccctgcccaggtcagcggtagcggatctggga ccgactacacctcactatcagctcactgacgaccagagg actcgtgcttattctgtcagcaagggaacacctgcccct acaccttgacagggcaccgaagctcgagattaagggtg gagggtggcagcggaggagggtgggtccggcgggtggagg aagccaggtccaactccaagaagcggaccgggtctgt gaagccatcagaactcttctactgactgtactgtgagcg gagtgctctcccggattacgggggtctgtgtagacag ccaccggggaagggtcgtggaatggattggagtgattggg gctctgagactactactcttcatccctcaagtcacgctg caccatctcaaggacaactcaagaatcagggtgactg aaactgctatctgtgaccgagccgacaccgcccgtgact attgctgaagcattactattatggcgggagctacgcaatg gattactggggacagggtagctgtcaccgtgtccagca ccactacccagcaccgaggccaccaccccggtcctca ccatgcctcccagcctctgtccctgctccggaggcatgt agaccgcagctggtggggcctgcataccggggtctt gactcgcctcgaatctcaattggcccctctggctggta ctgcccgggtcctgctcttactcgtgatactcttactgta agcgcgggtcgaagaagctgctgtacatcttaagcaacc ctcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacgg ctgtcatgccggttccagaggaggaggaaggcggctg cgaactgcgctgaaattcagccgacgcagatgctcc agcctaccagcaggggcagaaccagctctacaacgaac tcaatctggtcggagagaggagtacgacgtgctggaca agcggagaggacgggaccagaaatgggcccgggaagc cgcgcaaaagaatcccaagagggctgtacaacga gctccaaaaggataagatggcagaagcctaagcgaga ttggtatgaagggggaacgagaagaggcaaggcca cgacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaagg acacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgctcgg (SEQ ID NO: 1076)</p>
<p>SP-接头 4 –</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPN</p>	<p>atggccctccctgtcaccgcccctgctgcttcgctggctcttc</p>

[1323]

<p>ERmut2 – 弗林蛋白酶切割位点 3 – CD19 CAR2</p>	<p>SLALSLTADQMVSALLDAEPPILYSEYDPTRPFSEASMMGLLTNLADRELVHMINWAKRVPGFVDLTLHDQVHLLLECAWMEILMIGLVWRSMEHPGKLLFAPNLLDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLATSSRFRMMNLQGEFVCLKSIILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKDHIHRVLDKITDTLIHLMKAGLTLQQQHQRRLAQLLLILSHIRHMSNKRMEHLYSMKCKNVVPLSDLLEMLDAHRLGTGAEDPRPSRKREIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQKQPGQAPRLLIYHTSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPYTFGQGTKLEIKGGGSGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSSETLSLCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWIGVIWGSETTYSSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGLTVTVSSTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 1017)</p>	<p>tgctccacgccgctcggcccaacTcgttgacactttccctgactgcccagaccagatgggtgccccctctggacgcccagcctccaattctgtactcggagtagcatccgactcggccgttccgaagccagcatgatgggctgtgactaacctggcggaccgagtggtgacatgattaactgggctaagcgggtgccgggctcgtggacctgacctgcacgaccaagtgcacctctggaatgcgctggatggaatctcatgatcggcctcgtgtggagatccatggagatcccggaaagctcctgttgcaccaacctcctgctgatcgaaccagggaataatcgtggaaggggtgtcagatttgcagatgctgctgccaccttcccgttccggatgatgaatctgcaggggagaagagtctgtgtctgaagtcaatcatcctgctgaactcggggctatcctctgagctgcacctcaagtcactggaggaaaaagaccacatccatcgcgtgctcgataagatcacccgacccttatccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaacagcagcaccagaggctggcccagtgtcgtgattctgagccacatccggcacatgtcgaacaagaggatggaacaccgtacagatgaagtgaagaacgtcgtgctctgtccgatctgctcgtgaaatgctggacgcgcacagactcGggacggagctgaagatccacgaccagcagaagcgcagggaaattgtgatgaccagtcaccgccactcttagccttaccggtgagcgcgaacctgtctgcagagcctcccaagacatctcaaaaacttaattggtatcaacagaagcggacaggctcctgcctctgatctaccacaccagccggctccattctggaatccctgccagggtcagcggtagcggatctggaccgactacacctcactatcagctcactgcagccagagactctgctgtattctgtcagcaagggaacacctgcccacaccttggacagggcaccaagctcagagattaagggtgagggtggcagcggaggagggtgggtccggcgggtggaggaaagcaggtccaactccaagaagcggaccgggtcttgaagccatcagaactcttcaactgactgtactgtgagcggagtgtctccccgattacgggggtcttgatcagacagccaccgggaagggtctggaatgattggagtgattggggctctgagactactactcttcatccctcaagtcacgcgtcaccatctcaaggacaacttaagaatcaggtgtcactgaaactgtatctgtgaccgcagccgacaccgctgtactattgctgaagcattatattatggcgggagctacgcaatgattactggggacagggactctggtcaccgtgtccagcaccactaccagcaccgagggcaccaccaccggctcctccatcgcctcccagcctctgctcctgcctcggagggatgtagaccgcagctggggggcgtgcataccggggtctgactgcctcgcgatatctacattggggccctctggctggtactgcccggctcctgctgttctactcgtgatcactcttactgtagcgcggctcggagaagctgtgtacatcttaagcaacctcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgtcatgcccgttccagaggaggaggaaaggcggctgcgaactgcgctgaaatcagccgcagcgcagatgtccagcctaccagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttgctcggagagaggatcagcgtgctggacaagcggagaggacgggaccagaaatggcgggaagccgcgcagaaagaatcccaagaggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaggccaagcggactgtaccaggactcagaccgcccacaaggacacctatgacgctctcatgacaggccctgcccctcgg</p>
<p>SP-接头 4 – ERmut1 – 弗林蛋白酶切割位点 2 – CD123 CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPN SLALSLTADQMVSALLDAEPPILYSEYDPTRPFSEASMMGLLTNLADRELVHMINWAKRVPGFVDLALHDQVHLLLECAWMEILM</p>	<p>atggccctcctgtcacccgctgctgctccgctggtctctctgctccacgccgctcggcccaactcgttggaactttccctgactcggaccagatgggtccgccccttctggacgcccagcctccaattctgtactcggagtagcatccgactcggccgttctcgaagccagcatgatgggctgtgactaacctggcga</p>

[1324]

	<p>IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMAKAGLT LQQQHQRLLAQLLLILSHIRHM SSKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRLGTGAEDPRP <u>SRKRRSLGDVGQVQLVQSGA</u> <u>EVKKPGASVKVSCKASGYFT</u> GYMHWVRQAPGQGLEWM GWINPNSGGTNYAQKFQGRV TLTRDTSISTVYMELSRLRSD DTAVYYCARDMMNILATVPFDI WGQGTMTVSSGGGSGGGG GSGGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVITICRASQSISSYLN WYQQKPKGKAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSDFTFTLV NSLQPEDFATYYCQQGDSVP LTFGGGTRLEIKTTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYWAPL AGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK KLLYIFKQPFMRPVQTTQEED GCSCRFPVEEEEGGCELRVKF SRADAPAYQQGQNQLYNEL NLGRREEYDVLDRRGRDPE MGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQLSTATKDTYDAL HMQUALPPR (SEQ ID NO: 1018)</p>	<p>ccgcgagttggtcacatgattaactgggtaagcgggtg ccgggcttcgtggacctggccctgcacgaccaagtgcac ctcctggaatgcgctgtaggaaatcctcatgatcggcct cgtgtggagatccatggagatcccgaaagctcctgtttg caccacacctcctgctgtagcgaaccagggaataatgcgt ggaaggggtgctgagatcttcgacatgctcgcaccct ctcccggtccggatgatgaatctgcagggagaagagttc gtgtgtcgaagtcaatcatcctgctgaactccgggtctat acctcctgagctcgaccctcaagtactgagggaaaaa gaccacatccatcgctgctcgataagatcaccgacacc cttatccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaaca gcagcaccagaggctggcccagttgctgtgatctgagc cacatccggcacatgctgccaagaggatggaacacctg tacagcatgaagtcaagaacgctgctcctgtccgatct gctcctggaatgctggagcgcacagactcggaaaccg gcgcggaagacccccggccctccaggaagcgaaggctc cctcggagacgtgggtcaagtcaactcgtcaaaagcgg agcggagtaagaaaccggagcagcgtgaaagtg tcctgcaaacctccggctacacctttacgggtactacat gcactgggtgcgaccggcaccaggacagggcttgaatg gatgggatggaacaacctaatcgggccaactaactac gcacagaagtccaggggagagtgactctcagctgggat acctcatctcaactgtctacatggaactcctccgctgagg tcagatgatacggcagtgactactgcgcccgcagatga atatcctggctaccgtgctgacatctgggacaggg gactatggtactgtctcatcgggctggagggtcaggag gaggcggctcgggaggcggagggtcggacattcagatg accagctcccacctcctctgctcggccagcgtcggagata gggtgaccattactgtcgggctcgaagatctcctog tacctcaactggtatcagcaaaagccgggaagggcct aagctgctgactcagcggctcagctgcaaaagcggg tgcatccagattctcgggatcaggctcaggaaaccgactc accctgaccgtgaacagcctccagcggaggacttggc acttactactgccagcaggagactcctgctcctacttcc gggggggtaccgctggagatcaagaccactacccc agcaccgaggccaccaccccggctcctaccatcgctc ccagcctctgtcccctgctcggaggatgtagaccgca gctggtggggcgtgataaccggggtctgactcgcctg cgatatctacattggcccctcgtggtgactgctgggggt cctgctgcttactcgtgatacactcttactgtaagcgggtc ggaagaagctgctgataccttaagcaacctcatgagg cctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttatgcc ggtcccagaggagggaagggcggctgcaactcgc gtgaaattcagccgagcgcagatgctccagcctaccag caggggcagaaccagctctacaacgaactcaatctggt cggagagaggagtacgactgctggacaagcggagag gacgggaccagaaatggcggggaagcgcgagaa agaatcccaagaggcctgtacaacgagctccaaag gataagatggcagaagcctatagcagagattggtatgaaa ggggaacgcagaagaggcaaaaggccacgacggactgt accagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgac gctctcactgacaggccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 1078)</p>
<p>SP-接头 4 - ERmut2 - 弗林蛋白 酶切割位点 2 - CD123 CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARNP SLALSLTADQMVSALLDAEPI LYSEYDPTPRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLTLHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI</p>	<p>atggcctccctgtcaccgcccctgctgctccgctggctctc tgtccacgcgctcggcccaacTcgttggcactttccctg actgcccagcagatggtgtccgcccttctggacgcccagc ctccaattctgactcggagtacgatccgactcggccttct ccgaagccagcatgatggcctgtgactaactcggcgg accgcgagttggtcacatgattaactgggtaagcgggt gcccggctcgtggacctgacctgcacgaccaagtgca cctcctggaatgcgctgtaggaaatcctcatgatcggcc</p>

[1325]

	<p>ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMAKAGLT LQQQHQLAQLLLILSHIRHM SNKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRSLGDVGVQVLVQSGA EVKKGASVKVSCASGYTFT GYYMHWVRQAPGQGLEWIM GWINPNSGGTNYAQKFQGRV TLTRDTSISTVYMELSRLRSD DTAVYYCARDMNILATVPFDI WGQGTMTVTVSSGGGSGGG GSGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVITICRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSDFTLTV NSLQPEDFATYYCQQGDSVP LTFGGGTRLEIKTTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYWAPL AGTCGVLLLLSLVITLYCKRGRK KLLYIFKQPFMRPVQTTQEDD GCSCRFPEEEEGGCELRVKF SRSDAPAYQQGQNQLYNEL NLGRREEYDVLDRRGRDPE MGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDYDAL HMQALPPR (SEQ ID NO: 1019)</p>	<p>tcgtgtggagatccatggagcatcccggaagctcctgtt gcaccaacctcctgctgatcgcaaccagggaatg gtggaaggggtgctgagatttcgacatgctgctgccac ctctcccgttccggatgatgaatcgcaggagagaagag tcgtgtgctgaagtcaatcatcctgctgaaactccggggtct atacctcctgagctgcaacctcaagtcactggaggaaaa agaccacatccatcgctgctgataagatcaccgacac ccttatccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaac agcagcaccagaggctggcccagtgctgctgattctgag ccacatccggcacatgtcgaacaagaggatggaacacc tftacagcatgaagtcaagaacgtgctgctctgctcagat ctgctcctggaatgtcggacgctgacagactcggaaacc ggctcggagaccctccaggaagcgaaggt ccctcggagacgtgggtcaagtcaactcgtcgaagcg gagcggagcaagaacccggagcgcgctggaagt gtctcgaagcctccggctacaccttacggctactaca tgcactgggtgctgcccaggcaccaggacagggtctggaat ggatggatggatcaaccctaattcgggcccgaactaacta cgacagaagttccaggggagagtgactctgactcggga tacctccatctcaactgtctacatggaaactcctccgctg gtcagatgatacggcagtgactactgctgcccgcgacatg aatatcctggctaccgtgctgacatcgggctgggagttcagga ggactatggtactgctcctcggcgggtgaggttcagga ggaggcggctcggaggcggagggttcggacattcagat gaccagtcctcctctctgctgcccagcgtcggagat agggtgaccattacctgctggcctcgcgaagcatctcctc gtacctcaactggtatcagcaaaagccgggaaaggcgc ctaagctgctgatctacgcccgttcgagcttgcgaagcgg ggtgcatccagattctcgggatcaggctcaggaaaccga cttcaccctgaccgtgaacagcctccagccggaggacttt gccacttactactgcccagggagactcctgctcggctta ctccgggggggtaccgctggagatcaagaccacta cccagcaccgaggccaccccccggctcctaccatcg cctcccagcctctgctcctgctcggaggcatgtagacc gcagctggtgggcccgtgcatacccgggcttgacttcg cctgcatatctacattgggcccctctggctgactgctg ggtcctgctgcttactcgtgatcactcttactgtaagcgg gtcggaagaagctgctgacatcttaagcaaccctcatg aggcctgtgcagactactcaagaggaggcggctgttcat gccggttccagaggaggaggaaggcggctgcgaactg cgcgtgaaattcagccgagcgcagatgctccagcctac cagcaggggagcaaccagctctacaacgaactcaatctt ggtcggagagaggagtagcagctgctggacaagcggga gaggaaggaccagaaaatgggcccgaagccgcgca gaaagaatcccgaaggcctgtacaacgagctcaa aaggataagatggcagaagcctatagcagattggtatg aaaggggaacgcagaagaggcaaggccacgacgg actgtaccaggactcagcaccgccaacaggacacct atgacgctctcacatgcaggccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 1079)</p>
<p>SP-接头 4 – ERmut1 – 弗林蛋白 酶切割位点 3 – CD123 CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPN SLALSLTADQMVSALLDAEPPI LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLALHDQVHLLCEAWMEILM IGLVWRSMEHKLLFAPNLL LDRNQGKCVGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMAKAGLT LQQQHQLAQLLLILSHIRHM</p>	<p>atggccctccctgtcaccgctcgtgcttccgctgctctt tgctccacgctcggccaactcgttggcactttccctga ctgcccagcagatgggtcggcctcttgacgcccagcct ccaattctgtactcggagtacgatccgactcggcctctcc gaagccagcatgatgggctgtgactaacctggcggacc gcgagttggtgacatgattaactgggctaagcgggtgccc ggcttctggacctggcctgcacgaccaagtgacctct ggaatgcgctgagatgaaatcctcatgatcggcctcgtg ggagatccatggagatcccggaaagctcctgtttgaccc</p>

[1326]

	<p>SSKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRQVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCASGYTFTGYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPN SGGTNYAQKFQGRVTLTRDT SISTVYMELSRLRSDDTAVYY CARDMNILATVPFDIWGQGM VTVSSGGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRT ITCRASQSISSYLNWYQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTVNSLQPEDFA TYCQGGDSVPLTFGGGTRL EIKTTTPAPRPPTPAPTIASQP LSLRPEACRPAAGGAVHTR GLDFACDIYWAPLAGTCG VLLSLVITLYCKRGRKLL YIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEEGGCELRVK FRSADAPAYQQGQNQLY NELNLGRREEYDVLDKRR GRDPEMGGKPRRKNPQE GLYNELQDKMAEAYSEIG MKGERRRGKGHGGLYQGL STATKDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 1020)</p>	<p>aacctcctgcttgatcgcaaccagggaaaatgctggaag gggtgtcgagattttcgacatgctgctgccacctctccc ggtccggatgatgaatctgcagggagaagagttcgtgtgt ctgaagtcaatcatcctgctgaactccggggtctataccttc ctgagctcgacctcaagtcaactgaggagaaaaagaccaca tccatcgctgctcgataagatcaccgacaccttatccatc tcatggcgaaggctgactgacctgcaacagcagcacca gaggctggcccagttgctgctgattctgagccacatccggc acatgctgccaagaggatggaacacgttacagcatgaa gtgcaagaacgtcgtcctctgtccgatctgctcctgaaat gctggacgcgcacagactcggaaccggcgcggaagacc ccggccctccaggaagcgaaggcaagtgcaactcgtccaa agcggagcggagcaagaaccggagcgcgagcgtgaaa gtgtcctgcaagcctccggctacaccttacgggtactac atgactgggtgcgcaggcaccaggacagggtcttgaat ggatgggatggatcaaccctaattcgggcggaactaacta cgacagaagttccagggagagtgactctgactcgggat acctcatctcaactgtctacatggaactctccccttgcgg tcagatgatacggcagtgactactgcgcccgacatgaa tatcctggctaccgtccgttcacatctggggacagggga ctatggttactgtctcatcggcgggtgagggtcaggagga ggcggctcgggagggagggttcggacattcagatgacc agtccccatcctctctgctggccagcgtcggagatagggtg accattactgctgggcctcgcaaagcatctcctctacctc aactggtatcagaaaagccgggaaaggcgcctaagctgc tgatctacgcccttcgagcttcaaagcggggtgccatcc agattctcgggatcaggctcaggaaaccgacttcacctgac cgtgaacagcctccagccggaggactttgccactactact gccagcaggagactccgtgcccgttactttcgggggggt accgctggagatcaagaccactaccagcaccgaggc caccacccggctctaccatcgctcaccagcctctgtccc tgcgtccggaggcatgtagaccgcagctggtggggccgt gcataccggggtcttgactcgcctgcgatctacatttg ggcccctctgctggtacttgcgggctcctgctgttctactc gtgatcactcttactgtaagcggctcgaagaagctgct gtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagactac tcaagaggaggacggcttcatgccgttcccagaggag gaggaaggcggctcgaactgcgctgaaattcagccgca gcgcagatgctccagcctaccagcaggggcagaaccagct ctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacgac gtgctggacaagcggagaggacgggaccagaaatgggc gggaagccgcgcaaaagaatcccaagaggcctgtac aacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagc gagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaaggc cacgacggactgtaccaggactcagcaccgccaccaagg acacatgacgctcttcacatgcaggccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 1080)</p>
<p>SP-接头 4 – ERmut2 – 弗林蛋白 酶切割位点 3 – CD123 CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPN SLALSLTADQMVSALLDAEPI LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLTLHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL</p>	<p>atggccctccctgtaccgcccctgctgtccgctgctcttc tgcctccagccgctcgcccaacTcgttggcactttccctg actgccgaccagatggtgtccgcccctctggacgcccagc ctcaattctgactcggagtagatccgactcggcctgct ccgaagccagcatgatgggcctgttgactaacctggcgg accgaggtggtgacatgattaactgggctaagcgggt</p>

[1327]

	<p>LDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQQHQLAQLLLILSHIRHM SNKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRQVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCASGYTFTGYMMH WVRQAPGQGLEWMGWINPN SGGTNYAQKFQGRVTLTRDT SISTVYMELSRLSDDTAVYY CARDMNILATVPFDIWGQGT VTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQSISSYLNWYQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFLTVNSLQPEDFA TYQCQGDVPLTFGGGTRL EIKTTTTAPRPPPTPAPTIASQP LSLRPEACRPAAGGAVHTRG LDFACDIYWAPLAGTCGVLLL SLVITLYCKRGRKLLYIFKQP FMRPVQTTQEEDGCSCRFPE EEEGGCELRVKFSRSADAPA YQQGQNQLYNELNLGRREEY DVLDKRRGRDPEMGGKPRRK NPQEGLYNELQKDKMAEAYS EIGMKGERRRGKGDGLYQG LSTATKDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 1021)</p>	<p>gccgggcttcgtggacctgacctgcacgaccaagtga cctcctggaatgcgctggatggaatcctcatgatcgcc tcgtgtggagatccatggagcatcccggaagctcctgtt gcaccaacctcctgcttgatcgcaaccagggaagaaatgc gtggaaggggtgctgagatttcgacatgctgctcgccac ctctcccggtccggatgatgaatctgcaggagaagagt tcgtgtctgaagtcaatcatcctgctgaactcgggggtct atacctcctgagctcgacctcaagctactggaggaaaa agaccacatccatcgctgctcgataagatcaccgacac ccttatccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaac agcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgag ccacatccggcacatgctgaacaagaggatggaacacc tgtacagcatgaagtgaagaacgctgctcctgctcgat ctgctcctggaatgctggacgacagactcgggacg ggagctgaagatccacgaccagcagaagcgcagcggc aagtgaactcgtccaaagcggagcgaagtaagaaa cccggagcagcgtgaaagtctctgcaaacctccggc tacaccttacgggctactacatgactgggtgcgaccaggc accaggacagggcttgaaatggatggatggaaccct aattcgggcggaactaactacgcacagaagtccagggg agagtgactctgactcgggatacctccatcactgctac atggaactcctcgtgctgctgagatgatacggcagtgta ctactgcgccgcgacatgaatatcctggctaccgtccgt tcgacatctggggacaggggactatggttactgctcatcg ggcgggtggaggtcaggaggaggcggctcgggaggcg gaggttcggacattcagatgaccagctcccatcctcctgt cggccagcgtcggagatagggtgacattacctgctggg cctcgcaaagcatctcctgtaactcaactggatcagcaa aagccgggaaaggcgcctaagctgctgatactacgcgct tcgagctgcaaagcgggggtccatccagattctcgggat caggctcaggaaccgactcaccctgaccgtgaacagcc tccagccggaggactttgccctactactgaccagcaggg agactcctgctcgtactttcggggggggtaccgcctgg agatcaagaccactaccagcaccgaggccaccacc ccggctcctaccatcgctccagcctctgctcctgctcctg gaggcatgtagaccgcagctggtgggcccgtgcatacc cggggcttgactcgcctgagatactacattgggcccctc tggctggtacttgcgggctcctgctgcttactcctgcatc tcttactgtaagcgcggtcgaagaagctgctgacatctt aagcaaccctcatgaggcctgctgacactcaagag gaggacggctgtcatgccggtcccagaggaggaggaa ggcggctgcaactcgcgctgaaattcagccgcagcgc agatgctccagcctaccagcaggggcagaaccagctcta caacgaactcaatctggtcggagagaggagtacgacgt gctggacaagcggagaggacgggaccagaaatgggc gggaagccgcgcaaaagaatcccagaggggcctgt acaacgagctcaaaagataagatggcagaagcctat agcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggca aaggccacgacggactgtaccagggactcagcaccgcc accaaggacacctatgacgctctcatgacggccctgc cgctcgg (SEQ ID NO: 1081)</p>
<p>SP-接头 4 - ERmut1 - 弗林蛋白 酶切割位点 2 - BCMA CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPN SLALSLTADQMVSALLDAEPPI LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLALHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT</p>	<p>atggcctcctgtcaccgcccctgctctccgctgctctc tgctccacgcccctcggcccaacTcgttggcactttccctg actcggaccagatgggttccgccctctgacgcccagc ctcaattctgtactcgggagacgatccgactcggcctct cgaagccagcatgatgggctgttgactaacctggcgg accgaggtggtgacatgattaactgggctaagcgggt gccgggctcgtggacctggccctgcacgaccaagtga cctcctggaatgcgctggatggaatcctcatgatcgcc tcgtgtggagatccatggagcatcccggaagctcctgtt gcaccaacctcctgcttgatcgcaaccagggaagaaatgc</p>

[1328]

	<p>LQQQHQLAQLLLILSHIRHM SSKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRSLGADVGEVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAVSGFALS NHGMSWVRRAPGKGLEWVS GIVYSGSTYYAASVKGRFTISR DNSRNTLYLQMNSLRPETA YYCSAHGGESDVWGQTTVT VSSASGGGGSGGRASGGGG SDIQLTQSPSSLSASVGDRTI TCRASQSISSYLNWYQQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFLTISLQPEDFA TYQCQSSTPYTFGQGTKV EIKTTTPAPRPPTPAPTASQP LSLRPEACRPAAGGAVHTRG LDFACDIYWAPLAGTCGVLL SLVITLYCKRGRKLLYIFKQP FMRPVQTTQEEDGCSCRFPE EEEEGCCELRVKFSRSADAPA YQQGQNQLYNELNLGRREY DVLDKRRGRDPEMGGKPRRK NPQEGLYNELQKDKMAEAYS EIGMKGERRRGKGDGLYQG LSTATKDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 1022)</p>	<p>gtggaaggggtgctgagatttcgacatgctgctcgccac ctctcccgggtccggatgatgaatctgcaggaggagaagagt tcgtgtctgaagtcaatcatctgctgaactccgggggtct atacctctgagctcgaccctcaagtcactggaggaaaa agaccacatccatcgctgctcgataagatcaccgacac ccttatccatctcatggcgaaggctggaactgacctgcaac agcagcaccagaggctggcccagtgtgctgattctgag ccacatccggcacatgctgccaagaggatggaacacct gtacagcatgaagtgaagaacgctgctgctctgctccgat ctgctcctggaatgctggacgcgcacagactcggaacc ggcgggaagacccccggccctccagggaagcgaagggt ccctcggagacgtgggtgaagtgaattgggtggaatcag ggggaggactgtgcagcctggaggatcgtgagactgtc atgtccgtgctccgcttgccctgtccaaccacgggatgtc ctgggtccgcccgcgctggaaggggcctgcaatgggt gtcgggtattgtgtacagcggtagcacctactatgcccgat ccgtgaaggggagattcaccatcagccgggacaactcc aggaacactctgtacctcaaatgaattcgtgaggccag aggacactgcatctactactgctccgcgcatggcggaga gtccgacgtctggggacaggggaccaccgtgaccgtgtc tagcgcgtccggcggaggcggcagcgggggtcgggcat cagggggcggcggatcggacatccagctcaccagctcc ccgagctcgtctgctccgctcgggagatcgggtcacca tcacgtgcccgcgcccagccagtcgatttctctactgaact ggtaccaacagaagcccggaaaagcccgaagctctc atctacgcccctcagcctgcagtcaggagtgccctcac ggttctccggctccgggtccggtactgattcaccctgacat ttctccctgcaaccggaggactcgtactactactgcca gcagctgactccaccccactacttccggaacaggcacc aaggtcgaatacaagaccactaccacccagcaccgaggcc accaccccggctcctaccatcgctccagcctctgtccc tgctcggaggcatgtagaccgcagctggtgggccc tgcataccggggcttgactcgcctgcgatactacattg ggcccctctggctgactgctgggctcctgctcttactc gtgatcactcttactgtaagcgcggtcggagaagagctgct gtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagacta ctcaagaggaggacggctgtcatgcccgttccagagg aggaggaagggcgtcgaactgcgctgaaattcagc cgagcgcagatgctccagcctaccagcaggggagaa ccagctctacaacgaactaacttggctgagagagga gtacgacgtcgtgacaagcggagaggacgggacca gaaatgggcccgaagccgcgcagaaagaatcccgaag agggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggca gaagcctatagcagattggtatgaaaggggacgcag aagaggcaaggccacgacggactgtaccagggactc agcaccgccaccaaggacacatgacgctcttcatatg caggccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 1082)</p>
<p>SP-接头 4 - ERmut2 - 弗林蛋白 酶切割位点 2 - BCMA CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPN SLALSLTADQMVSALLDAEPP LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLTLHDQVHLLLECAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKIDTDLIHLMAKAGLT LQQQHQLAQLLLILSHIRHM SNKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRSLGADVGEVQLVESGG</p>	<p>atggccctccctgtcacgcccctgctgctccgctgctctc tgctccacgcccctcggccaacTcgttgccactttccctg actgccaccagatgggtcggccctctgacgcccgagc ctccaattctgtactcggagtagatccgactgcccgttct ccgaagccagcatgatgggctgtgactaacctggcgg accgaggtgggtcacatgattaactgggtaagcgggt gccgggctcgtggacctgacctgcacgaccaagtgc cctcctggaatgcccctggatggaatctcatgatcgccc tcgtgtggagatccatggagatcccggaaagctcctgtt gcaccaacctcctgctgacgcaaccagggaataatgc gtggaaggggtgctgagatttcgacatgctgctcgccac ctctcccgggtccggatgatgaatctgcaggaggagaag tcgtgtctgaagtcaatcatctgctgaactccgggggtct atacctctgagctcgaccctcaagtcactggaggaaaa</p>

[1329]

	<p>GLVQPGGSLRLSCAVSGFALS NHGMSWVRRAPGKGLEWVS GIVYSGSTYYAASVKGRFTISR DNSRNTLYLQMNSLRPEDTAI YYCSAHGGESDVWGQTTVT VSSASGGGGSGGRASGGGG SDIQLTQSPSSLSASVGDRTI TCRASQSISSYLNWYQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFLTISLQPEDFA TYQCQSYSTPYTFGQGTKV EIKTTTTAPRPPPTPAPTIASQP LSLRPEACRPAAGGAVHTRG LDFACDIYWAPLAGTCGVLLL SLVITLYCKRGRKLLYIFKQP FMRPVQTTQEEDGCSCRFPE EEEGGCELRVKFSRSADAPA YQQGQNQLYNELNLGRREY DVLDKRRGRDPEMGGKPRRK NPQEGLYNELQKDKMAEAYS LSTATKDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 1023)</p>	<p>agaccacatccatcgctgctcgataagatcaccgacac ccttatccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaac agcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgag ccacatccggcacatgtcgaacaagaggatggaacacc tgtacagcatgaagtgcaagaacgtcgtgacctgctgctg ctgctcctggaatgctggacgcgcacagactcggaaacc ggcgcggaagacccccggccctccaggaagcgaagg ccctcggagacgtgggtgaagtgcaattggtggaatcag ggggaggactgtgcagcctggaggatcgctgagactgtc atgtccggtgctcggccttgccctgccaaccacgggatgtc ctgggtccgcgcgcgcctggaaggcctcgaatgggt gtcgggtattgtgtacagcggtagcacctactatgccgat ccgtgaaggggagattcaccatcagccgggacaactcc aggaacactctgtacctcaaatgaattcgctgaggccag aggacactgcatctactactgctccgcgcatggcggaga gtccgacgtctggggacaggggaccaccgtgaccgtgtc tagcgcgtccggcggaggcggcagcgggggtcgggcat cagggggcggcggatcgacatccagctcaccagctcc ccgagctcgtctcggcctcgggagatcgggtcacc tcacgtcgcgcgcagccagctgattcctcctactgaa ggtaccaacagaagcccggaaaagcccgaagctctc atctacgcgcctcgcagctgcagtcaggagtgcctcac ggttctccggcctcgggtcgggtactgattcaccctgacat ttcctcctgcaaccggaggactcgtactactactgcca gcagctgtactccacccctacacttctggacaaggcacc aaggctgaaatcaagaccactacccagcaccgaggcc accacccccggctcctaccatcgctcccagcctctgtcc tgcgtccggaggcatgtagaccgcagctgggtgggccc tgcataccccggggtctgactcgcctgcgatactacattg ggccccctggctggtactgctggggctcgtgcttctactc gtgatcactcttactgtaagcgcggtcggagaagaagctgt gtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagacta ctcaagaggaggacggctgtcatgcccgttccagagg aggaggaagggcgtgcgaactgcgctgaaattcagc cgcagcgcagatgtccagcctaccagcaggggagaga ccagctctacaacgaactcaatctgtgtagagagga gtacgacgtctggacaagcgggagaggcgggaccca gaaaatggcgggaagccgcgcagaaagaatcccaag agggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggca gaagcctatagcgagattgtatgaaaggggacgcag aagaggcaagggccagcagcactgtaccagggactc agcaccgccaccaaggacacctaagcgtcttcatatg caggccctgcccgcctcgg (SEQ ID NO: 1083)</p>
<p>SP-接头 4 - ERmut1 - 弗林蛋白 酶切割位点 3 - BCMA CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPN SLALSLTADQMVSALLDAEPP LYSEYDPTPRPFSEASMMGLL NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLALHDQVHLLLECAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFSSLTKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQQHQLRAQLLLILSHIRHM SSKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRREVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAVSGFALS NHGMS WVRRAPGKGLEWVSGIVYSG STYYAASVKGRFTISR DNSRN TLYLQMNSLRPEDTAIYYCSA</p>	<p>atggcctcctgtcaccgcctgctgcttccgctgctctc tgctccacgcgcctcggcccaacTcgttggcacttccctg actgcccagcagatgggttccgccctctgagcgcgagc ctccaattctgtactcggagtagatccgactcggccgttct cgaagccagcatgatggcctgtgactaacctggcgg accgcgagttggtgcacatgattaactgggctaagcgggt gccgggctcgtggacctggccctgcacgaccaagtga cctcctggaatgcgcctggatggaatctcatgatcggcc tcgtgtggagatccatggagatcccggaaagctcctg gcaccaacctcctgctgatcgaaccagggaatgct gtggaagggggtgtcagatttgcagatgctgctcgcac ctctcccgggtccggatgatgaatctgcagggagagag tcgtgtctgaagtcaatcatcctgctgaactcgggggtc atacctcctgagctcgaacctcaagtcactggagga agaccacatccatcgctgctcgataagatcaccgacac ccttatccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaac agcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgag ccacatccggcacatgtcgtccaagaggatggaacacct</p>

[1330]

	<p>HGGESDVWQGTTVTVSSAS GGGSGGRASGGGSDIQLT QSPSSLSASVGDRTITCRAS QSISSYLNWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QSYSTPYTFGQGTKEIKTTT PAPRPPTPAPTIASQPLSLRPE ACRPAAGGAVHTRGLDFACDI YIWAPLAGTCGVLLLLSLVITLY CKRGRKLLYIFKQPFMRPVQ TTQEEDGCSCRFPEEEEGGC ELRVKFSRSADAPAYQQGQN QLYNELNLRREEYDVLDRK RGRDPEMGGKPRRKNPQEG LYNELQDKMAEAYSEIGMKG ERRRGKGDGLYQGLSTATK DTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 1024)</p>	<p>gtacagcatgaagtgaagaacgctgctcctgtccgat ctgctcctggaatgctggacgcgcacagactcGggacg ggagctgaagatccacgaccagcagaagcgcagcggg aagtgaattggtggaatcagggggaggactgtgcagc ctggaggatcgctgagactgtcatgtgcccgtccggtttg ccctgtccaaccacgggatgtcctgggtccgcccgcgc tggaaagggcctcgaatgggtgctgggtattgtgtacagc ggtagcacctactatgcccgcacccgtaaggggagattca ccatcagccgggacaactccaggaaactctgtacatcc aatgaattcgctgagccagaggacactgcccactacta ctgctccgcgcatggcggagagtcggacgtcggggaca ggggaccaccgtagccgtgtctagcgcgctccggcggag gcggcagcgggggtcgggcatcagggggcggcgggatc ggacatccagctcaccagtcaccgagctcgtctgccc tccgtgggagatcgggtcaccatcacgtcccgcgccagc cagtcgatttctcctactcgaactggtaccaacagaagcc cggaaaagccccgaagcttctatctacgccgctcgag cctgcagtcaggagtgccctcacggttctccggctccggtt ccggtactgattcaccctgaccatttctccctgcaaccgg aggactcgtacttactactgcccagcagctgactccacc ccctacactttcggacaaggaccaaggtcgaatcaag accactaccaccagcaccgagccaccaccggctcct accatgcctcccagcctctgtccctgctccggaggcatg tagaccgcagctggtggggcgtgcataccggggtctt gacttcgctcgcgatactcattgggccctctggctgta cttgcgggctcctgctgttctactcgtgatcactttactgta agcgcggtcggagaagctgctgtacatcttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacgg ctgtcatgcccgtcccagaggaggaggaggcggctg cgaactgcgctgaaatcagccgagcgcagatgtcc agcctaccagcaggggcagaaccagctcaaacgaac tcaatcttgctggagagaggagtagcagctgctggaca agcggagaggacgggaccagaaatggcggggaagc cgcgcaaaagaatcccgaagggcctgtacaacga gctcaaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga tggatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggcca cgacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaagg acacctatgacgctcttcatatgcaggccctgcccctcg g (SEQ ID NO: 1084)</p>
<p>SP-接头 4 - ERmut2 - 弗林蛋白 酶切割位点 3 - BCMA CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPN SLALSLTADQMVSALLDAEPP LYSEYDPTPRPFSEASMMGLL NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLTLHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMAKAGLT LQQQHQRLLQLLLILSHIRHM SNKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRREVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAVSGFALSNGMS WVRRAPGKGLEWVSGIVYSG STYYAASVKGRFTISRDNRSN TLYLQMNLSLRPEDTAIYYCSA HGGESDVWQGTTVTVSSAS GGGSGGRASGGGSDIQLT QSPSSLSASVGDRTITCRAS QSISSYLNWYQQKPGKAPKLL</p>	<p>atggccctccctgtcaccgcccgtgctcctccgctgctc tgctccacgcccgtcggcccaacTcgttggcactttccctg actgcccagcagatggtgtccgccctctggacgcccagc ctccaattctgtactcggagtagatccgactcggccgtct cgaagccagcatgatgggctgtgactaacctggcgg accgagctgtgacatgattaactgggctaagcgggt gccgggctcctgtagcactgaccctgcacgaccaagtga cctcctggaatgcccctggatggaatcctcatgatcgcc tcgtgtggagatccatggagatcccggaaagctcctg gcaccaacctcctgctgacgcaccagggaaaatgc gtggaagggggtgctgagatttcgacatgctgctgcac ctctcccgttccggatgatgaatcgcaggggagaagagt tcgtgtgctgaagtcaatcatcctgctgaactccgggtct atacctcctgagctgcaccccaagtcactggagaaaa agaccacatccatcgctgctcgataagatcaccgacac ccttatccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaac agcagcaccagaggctggcccagtgctgctgattctgag ccacatccggcacatgcaacaagaggatggaacacc gtacagcatgaagtgaagaacgctgctcctctgcccgat ctgctcctggaatgctggacgcgcacagactcgggacg ggagctgaagatccacgaccagcagaagcgcagcggg aagtgaattggtggaatcagggggaggactgtgcagc</p>

[1331]

	<p>IYAASSLQSGVPSRFSGSGS TDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QSYSTPYTFGQGKVEIKTTT PAPRPPTPAPTIASQPLSLRPE ACRPAAGGAVHTRGLDFACDI YIWAPLAGTCGVLLLLSLVITLY CKRGRKLLYIFKQPFMRPVQ TTQEEDGCSCRFPEEEEGGC ELRVKFSRSADAPAYQQGQN QLYNELNLGRREEYDVLDR RGRDPEMGGKPRRKNPQEG LYNELQDKMAEAYSEIGMKG ERRRGKGDGLYQGLSTATK DTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 1025)</p>	<p>ctggaggatcgctgagactgtcatgtg ccctgtccaaccacgggatgtcctggg tggaaagggcctcgaatgggtgctgg gtagcacctactatgcccgcaggaact ccatcagccgggacaactccaggaact aatgaattcgctgagccagaggacact ctgctccgcgcatggcggagagtcgac gggaccaccgtgacctgtctagcgcg gagcggcagcgggggctggcgcaggg ggacatccagctaccagctcccagctg tccgtgggagatcgggtcaccatcag cagtcgattctcctactcgaactggt cggaaaagccccgaagcttctacac cctgcagtcaggagtgccctcaggtt ccggtactgattcaccctgaccattct aggactcgtacttactactgcccagc ccctacactttcggacaaggaccaag accactaccaccagcaccgagccacc accatcgctcccagcctctgtccctg tagaccgcagctggggcggtgcatacc gacttcgctcgcgatactcattggccc cttgctgggctcctgctgtttcactc agcgcggtcggagaagctgtctacat cttcatgaggcctgtgcagactactca ctgtcatgcccgttccagaggaggagg cgaactgcgctgaaatcagccgcagc agcctaccagcggggcagaaccagct tcaatcttggtcggagagaggagtac agcggagaggacgggaccagaaatgg gctcaaaaaggataagatggcagaag tggtatgaaaggggacgcagaagagg cgacggactgtaccagggactcagacc acacctatgacgcttcaatgcaggcc </p>
<p>SP-接头 5 - ERmut1 - 弗林蛋白 酶切割位点 2 - CD19 CAR2</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPE SLALSLTADQMVSALLDAEPI LYSEYDPTTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGL VDLALHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQQHQLAQLLLILSHIRHM DLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRSLGDVGEIVMTQSPAT LSLSPGERATLSCRASQDISK YLNWYQQKPGQAPRLLIYHTS RLHSGIPARFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFAVYFCQQGNL PYTFGQGKLEIKGGGSGG GGSGGGGSQVQLQESGPG VKPSETLSLTCTVSGVSLPDY GVSWIRAPPKGLEWIGVIW GSETYYSSSLKSRVTISKDN SKNQVSLKLSVTAADTAVYY CAKHYYYGGSYAMDYWGQG TLVTVSSTTTPAPRPPTPAPT</p>	<p>atggcctccctgtcaccgcccctgct tgctccaacgcccctgcccagctggt ctgccgaccagatgggtcgccttctg tccaattctgactcggagtacgatccg cgaagccagcatgatggcctgttgact ccgaggttggtcacatgattactggg ccgggctcgtggacctggcctgcacg ctcctggaatgcgctggtgaaatcct cggtggagatccatggagatcccgg caccacacctcctgctgacgcaacc ggaagggggtgctgagatcttcgac gtgtgtcgaagtaacatcctgctgac acctcctgagctcgcaccctcaagtc gaccacatccatcgctgctgataaga cttatccatctcatgggaaggctgg gcagcaccagaggctggcccagttg cacatccggcacatgctgccaagagg tacagcatgaagtgaagaacgctg gctcctggaatgctggacgcgacag gagcgggaaagacccccggccctc cctcggagacgtgggtgaaatgtgat gccaacttagccttccaccgggtgag tgagagcctccaagacatctcaaaat tcaacagaagccggacaggctcctg cacaccagccgctcattctggaatcc </p>

[1332]

	<p>ASQPLSLRPEACRPAAGGAV HTRGLDFACDIYWAPLAGTC GVLLLSLVITLYCKRGRKLLYI FKQPFMRPVQTTQEEDGCSC RFPEEEEEGGCELRVKFSRSA DAPAYQQGQNQLYNELNLGR REEYDVLDRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQDKMA EAYSEIGMKGERRRGKGDG LYQGLSTATKDTYDALHMQUAL PPR (SEQ ID NO: 1026)</p>	<p>gcggtagcggatctgggaccgactacacctcactatcag ctcactgcagccagaggactcgtctctatttctgtagca aggaacacctgcccctacaccttgagcagggaccaa gctcgagattaagggtgagggtggcagcggaggaggtg ggtccggcggtggaggaagccaggtccaactccaagaa agcggaccgggtctgtgaagccatcagaaactcttctact gactgtactgtgagcggagtgtctctccccgattacggggt gtcttgatcagacagccaccggggaagggtctggaatg gattggagtattggggctctgagactactactctctcat ccctcaagtcacgcgtcaccatctcaaggacaactctaa gaatcagggtgactgaaactgtcatctgtgaccgcagcc gacaccgcccgtactattgcgctaagcattactattatggc gggagctacgcaatggattactggggacaggggtactctg gtcaccgtgtccagcaccactaccccagcaccgagcca cccacccggctcctaccatcgctcccagcctctgtccct gcgtccggaggcatgtagaccgcagctggtggggccgt gcatacccggtctgactgcctgcgatatctacatttg ggccccctggctggtacttgcggggtcctgctcttctactc gtgatcactcttactgtaagcgcggctggaagaagctgt gtacatcttaagcaacctctcatgaggcctgtgcagacta ctcaagaggaggacggctgttcacggtcccagagg aggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagc cgcagcgcagatgtccagcctaccagcaggggagaa ccagctctacaacgaactcaatctgtgaggagagaggga gtacgacgtgctggacaagcggagaggacgggaccca gaaatgggagggaagccgcgagaaagaatcccaag agggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggca gaagcctatagcagattggtatgaaaggggacgcag aagaggcaagggccacgacggactgtaccagggactc agcaccgccaaggaacacatgacgctctcactg caggccctgcgcctcgg (SEQ ID NO: 1086)</p>
<p>SP-接头 5 - ERmut2 - 弗林蛋白 酶切割位点 2 - CD19 CAR2</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPE SLALSLTADQMVSALLDAEPII LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLTLHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMHEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVEGGVEIFDMLLA TSSRFMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQQHQLAQLLLILSHIRHM SNKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRSLGDVGEIVMTQSPAT LSLSPGERATLSCRASQDISK YLNWYQQKPGQAPRLLIYHTS RLHSGIPARFSGSGSDTYTL TISSLQPEDFAVYFCQQGNTL PYTFGQGTKLEIKGGGSGG GGSGGGGSQVQLQESGPG VKPSETLSLTCTVSGVSLPDY GVSWIRQPPGKLEWIGVIW GSETYYSSSLKSRVTISKDN SKNQVSLKLSVTAADTAVYY CAKHYYYGGSYAMDYWGQG TLVTVSSTTTTPAPRPPTPPTI ASQPLSLRPEACRPAAGGAV HTRGLDFACDIYWAPLAGTC GVLLLSLVITLYCKRGRKLLYI FKQPFMRPVQTTQEEDGCSC</p>	<p>atggccctccctgtcacccctgctgctcgcgctgctctc tctccaacgcgcctcggccgagctgtggcacttccctga ctgccgaccagatggtgtccgcccctctggacgccgagcc tcaattctgtactcggagtacgatccgactcgccttctc cgaagccagcatgatgggctgttgactaacctggcggga ccgagctggtgcacatgattactgggtaagcgggtg ccgggctcgtggactgaccctgcacgaccaagtgac ctcctggaatgcgctggtgaaatcctcatgatcggcct cgtgtggagatccatggagcaccggaaagctcctgtttg caccacacctcctgctgtgacgaaccagggaaaatgctg ggaaggggtgtcagatcttgcacatgctgctgccacct ctcccgggtccgatgatgaatctgcagggagaagagttc gtgtgtcgaagtcaatcctctgctgaactccgggtctat acctcctgagctcgaacctcaagtcactgaggaaaaa gaccacatccatcgcgtgctcgataagatcaccgacacc cttatccatctcatgggaaggctggactgacctgcaaca gcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgagc cacatccggcacatgtcgaacaagaggatggaacacct gtacagcatgaagtgaagaacgctcgtcctctgtccgat ctgctcctggaatgctggacgcgcacagactcggaaacc ggcgcggaagacccccggccctccaggaagcgaagg ccctcggagacgtgggtgaaattgtgatgaccagtcacc cgccactcttagccttccaccgggtgagcgcgcaacctgt ctgagagcctcccaagacatctcaaaaaccttaattgg tatcaacagaagcccggacaggtcctcctgcctctgatcta ccacaccagccggctccattctggaatccctgacaggttca gcggtagcggatctgggaccgactacacctcactatcag ctcactgcagccagaggactcgtctctatttctgtagca aggaacacctgcccctacaccttgagcagggaccaa gctcgagattaagggtgagggtggcagcggaggaggtg</p>

[1333]

	<p>RFPEEEEGGCELRVKFSRSA DAPAYQQGQNQLYNELNLGR REEYDVLDKRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMA EAYSEIGMKGERRRGKGDG LYQGLSTATKDTYDALHMQUAL PPR (SEQ ID NO: 1027)</p>	<p>ggtcgpgcggagggaagccaggtccaactccaagaa agcggaccgggtctgtgaagccatcagaaactcttctact gactgtactgtgagcggagtgtctctcccagattacgggg gtcttgatcagacagccaccggggaagggtctggaatg gattggagtattggggctctgagactactactactctcat ccctcaagtcacgcgtaccatctcaaggaactctaa gaatcagggtgactgaaactgtcatctgaccgcagcc gacaccgctgtactattgcgctaagcattactattatggc gggagctacgcaatggattactggggacaggggtactctg gtcaccgtgtccagcaccactaccagcaccgaggcca cccaccccggtcctaccatcgctcccagcctctgtccct gcgtccggaggatgtagaccgcagctggtggggccgt gcataccggggctgtactgcctgcgatatctacatttg ggccccctggctgtactgctggggctctgctgtcttactc gtgatcactcttactgtaagcgcggctcgaagaagctgt gtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagacta ctcaagaggaggacggctgtcatgcccgtcccagagg aggaggaaggcggctgcgaactgcgctgaaatcagc cgagcgcagatgtccagcctaccagcaggggagaa ccagctctacaacgaactcaatctgtgagagagaggga gtacgacgtctggacaagcggagagggacgggaccca gaaatgggagggaagccgcagaaagaatcccaag agggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggca gaagcctatagcagattggtatgaaaggggacgcag aagaggcaaggccacgacggactgtaccagggactc agcaccgccaccaaggacacctatgacgtcttcatatg caggcctgcccgcctcg (SEQ ID NO: 1087)</p>
<p>SP-接头 5 - ERmut1 - 弗林蛋白 酶切割位点 3 - CD19 CAR2</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPE SLALSLTADQMVSALLDAEPII LYSEYDPTTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLALHDQVHLLCEAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQHQRLAQLLLILSHIRHM SSKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRREIVMTQSPATLSLSPG ERATLSCRASQDISKYLNWYQ QKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIP ARFSGSGSGTDYTLTISSLQP EDFAVYFCQQGNTLPYTFGQ GTKLEIKGGGSGGGGSGGG GSQVQLQESGPGLVKPSSETL SLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQ PPGKGLEWIGVIWGETTYYS SSLKSRVTISKDNSKNQVSLK LSSVTAADTAVYYCAKHYYYG GSYAMDYWGQGLTVTVSSTT TPAPRPPTPAPTIASQPLSLRP EACRPAAGGAVHTRGLDFAC DIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITL YCKRGRKLLYIFKQPFMRPV QTTQEEDGCSRFPEEEEGG CELRVKFSRSADAPAYQQGQ NQLYNELNLGRREEYDVLK RRGRDPEMGGKPRRKNPQE GLYNELQKDKMAEAYSEIGMK</p>	<p>atggcctccctgtcaccgcccgtgcttccgctggtcttc tgctccaagcgcgctcggccgagctgtggcactttccctga ctgccagcagatggtgtccgcccctctggacgcccagcc tcaattctgtactcggagtagcagctccgactcgcggcttc cgaagccagcatgatggccctgttgactaacctggcggga ccgaggtggtgacatgattaactgggtaagcggggtg ccgggctctgtggacctggccctgcagcaccagtgac ctcctggaatgcgctggtgaaatcctcatgatcggcct cgtgtggagatccatggagatcccggaaagctcctgtttg cacccaacctcctgttgatgcgaaccagggaaaatgctg ggaaggggggtgtagattttcagatgctgctgcccacct ctcccgggtccggatgatgaatctgcagggagaagagttc gtgtgtcgaagtcaatcatcctgctgactccggggtctat acctcctgagctcgaccctcaagtcactggaggaaaa gaccacatccatcgcgtgctcgataagatcaccgacacc cttatccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaaca gcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgagc cacatccggcacatgctgccaagaggatggaacacctg tacagcatgaagtgaagaacgtcgtgcctctgtccgatct gctcctggaaatgctggacgcgcacagactcgggacgg gagctgaagatccacgaccagcagaagcgcagggga aattgtgatgaccagtcacccgactcttagccttacc cgggtgagcgcgaaccctgtctgagagcctccaaga catctcaaaataccttaattggtatcaacagaagcccgga caggctcctgcctctgtatctaccacaccagccggtcca ttctggaatccctgccaggtcagcggtagcggatctggga ccgactacaccctcactatcagctcactgcagccagagg actcgtctgtattctgctcagcaaggggaacacctgacct acacctttggacagggcaccaagctcgagattaaagggtg gagggtgcagcggaggagggtgggtccggcgggtggagg aagccaggtccaactccaagaagcggaccgggtctgtg gaagccatcagaaactcttactgactgtactgtgagcg gagtgctctccccgattacgggggtcttggatcagacag ccaccggggaagggtctggaatggattggagtgattggg</p>

[1334]

	<p>GERRRGKGGHDGLYQGLSTAT KDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 1028)</p>	<p>gctctgagactacttactacttcatccctcaagtcaacgct caccatctcaaaggacaactctaagaatcagggtgactg aaactgtcatctgtgaccgcagccgacaccgcccgtact attgctgaagcattactattatggcgggagctacgcaatg gattactggggacaggggtactctggtcaccgtgaccagca ccactacccagcaccgaggccaccaccccggtccta ccatcgctcccagcctctgctccctgctcgggaggtatg agacccgcagctggtggggccgtgcatacccggtgctt gacttcgctgcgatatctacattgggcccctctggtgta ctgctgggtcctgctgcttactcgtgatcactttactgta agcgggtcggagaagctgctgacatcttaagcaacc ctcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacgg ctgtcatgccggtcccagaggaggaggagggcggctg cgaactgcgctgaaattcagccgcagcgcagatgctcc agcctaccagcaggggcagaaccagctctacaacgaac tcaatctggtcggagagaggagtacgacgtgctggaca agcggagaggacgggacccagaaatggcggggaagc cgcgcaaaagaatcccaagaggcctgtacaacga gctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaggcca cgacggactgtaccagggactcagaccgccaccaagg acacctatgacgctctcactgacggccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 1088)</p>
<p>SP-接头 5 – ERmut2 – 弗林蛋白 酶切割位点 3 – CD19 CAR2</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPE SLALSLTADQMVSALLDAEPII LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLTLHDQVHLLLECAWMEILM IGLVWRSMEHKLLFAPNLL LDRNQGKCVGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFSSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMAKAGLT LQQQHQLRAQLLLILSHIRHM SNKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRREIVMTQSPATLSLSPG ERATLSCRASQDISKYLNYWQ QKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIP ARFSGSGSGTDYTLTISSLQP EDFAVYFCQQGNTLPYTFGQ GTKLEIKGGGSGGGSGGG GSQVQLQESGPGLVKPSSETL SLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQ PPGKGLEWIGVIWGETTYYS SSLKSRVTISKDNSKNQVSLK LSSVTAADTAVYYCAKHYYYG GSYAMDYWGQGTLVVTSSTT TPAPRPPTPAPTIASQPLSLRP EACRPAAGGAVHTRGLDFAC DIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITL YCKRGRKLLYIFKQPFMRPV QTTQEEDGCSCRFPEEEEEGG CELRVKFSRSADAPAYQQGQ NQLYNELNLRREEYDVLK RRGRDPEMGGKPRRKNPQE GLYNELQKDKMAEAYSEIGMK GERRRGKGGHDGLYQGLSTAT KDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 1029)</p>	<p>atggccctccctgtcaccgcccgtgcttccgctggtctt tgctccacgcccgtcggcccagTcgttgccacttccctg actgcccagcagatggtgtccgccctctggacgcccagc ctccaattctgtactcggagtagcactccgactcggcctt ccgaagccagcatgatgggctgttgactaacctggcgg accgaggtggtgcacatgattaactgggctaagcgggt gccgggctcgtggacctgcaccgcagccaagtgc cctcctggaatgcgctggatggaatcctcatgatcggcc tcgtgtggagatccatggagcatcccggaaagctcctgtt gcacccaacctcctgctgatcgaaccagggaatgc gtggaaggggtgctgagatttcgacatgctgctgccac cttcccggtccggatgatgaatctgcagggagaagagt tcgtgtgctgaagtcaatcactcctgctgaactccgggt atacctcctgagctgaccccaagctcactggagaaaa agaccacatccatcgggtgctcgataagatcaccgacac cctatccatcctatggcgaaggctggactgaccctgcaac agcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgag ccacatccggcactgctgaacaagaggatggaacacc tgtacagcatgaagtgaagaacgctgctcctgctccgat ctgctcctggaatgctggacgcgcagactcGggacg ggagctgaagatccacgaccagcagaagagcagcggg aaattgtgatgaccagctcaccgcccactcttagccttac ccggtgagcgcgcaacctgcttgcagagcctcccaag acatctcaaaataccttaattggtatcaacagaagcccgg acaggctcctcgcctctgatctaccacaccagccggctcc attctggaatccctgccagggtcagcggtagcggatctggg accgactacacctcactatcagctcactgcagccagag gacttcgctgctatttctgtagcaagggaaacacctgccc tacaccttgacagggcaccacagctcgagattaaggtg gaggtggcagcggaggagggtgggtccggcgggtggagg aagccaggtccaactccaagaaagcggaccgggtctgt gaagccatcagaactcttactgactgtgtagcgcg gagtgctctccccgattacgggggtcttggatcagacag ccaacggggaaggggtcggaaatggattggagtgattggg gctctgagactacttactacttcatccctcaagtcaacgct caccatctcaaaggacaactctaagaatcagggtgactg aaactgtcatctgtgaccgcagccgacaccgcccgtact</p>

[1335]

		<p>attgcgtaagcattactattatggcgggagctacgcaatg gattactggggacaggggtactctggtcaccgtgtccagca ccactaccccagcaccgagggccaccaccccggctccta ccatcgctcccagcctctgtccctgctcggagggatgt agaccgcagctggtggggccgtgcatacccgggtctt gacttcgctcgatatactcattgggccctctggtgta ctgcggggtcctgctcttactcgtgatcactcttactgta agcgggtcggagaagctgctgtacatcttaagcaacc ctcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacgg ctgtcatgccgttcccagaggaggaggaggcggctg cgaactgcgctgaaaltcagccgagcgcagatgtcc agcctaccagcaggggcagaaccagctctacaacgaac tcaatcttggcggagaggagtacgacgtgtgga agcggagaggacgggaccagaaatggcgggaagc cgcgcaaaagaatcccaagaggcctgtacaacga gctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggcca cgacggactgtaccagggactcagaccgcccacaagg acacctatgacgctctcatatgcaggccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 1089)</p>
<p>SP-接头 5 – ERmut1 – 弗林蛋白 酶切割位点 2 – CD123 CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPE SLALSLTADQMVSALLDAEPP LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLALHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMAKAGLT LQQQHQLLAQLLILSHIRHM SSKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRSLGDVGVQQLVQSGA EVKKPGASVKVSCKASGYFT GYMHWVRQAPGQGLEWM GWINPNSGGTNYAQKFQGRV TLTRDTSISTVYMELSRLRSD DTAVYYCARDMNILATVPFDI WGQGTMTVSSGGGSGGG GSGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVITICRASQSISSYLN WYQQKPKGKAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTV NSLQPEDFATYYCQQGDSVP LTFGGGTRLEIKTTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYWAPL AGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK KLLYIFKQPFMRPVQTTQEED GCSCRFPEEEEGGCELRVKF SRSADAPAYQQGQNQLYNEL NLGRREEYDVLKRRGRDPE MGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDAL HMQUALPPR (SEQ ID NO: 1030)</p>	<p>atggccctccctgtcaccgcccctgctctccgctggtcttc tgctccacgcccctcggcccagtgctgtggcacttccctga ctgcccagcagatggtgtccgcccctctgagcggagcc tcaattctgtactcggagtacgatccgactcggcgtctc cgaagccagcatgatggcctgtgactaacctggcggga ccgaggtggtgcacatgataactgggtaagcgggtg ccgggctcgtggacctggcctgcacgaccaagtgcac ctcctggaatgcgctggtgaaatcctcatgatcggcct cgtgtggagatccatggagatcccggaaagctcctgtttg caccacccctcctgtgatgcacaccagggaaaatgctg ggaagggggtgctgagatcttcagatcgtcgtccacact ctcccgggtccggatgatgaatctgcagggagaagagttc gtgtgtcgaagtcaatcatcctgctgaactccgggtctat acctcctgagctcagacctcaagtcactgagggaaaaa gaccacatccatcgcgtgctcagatagatcaccgacacc cttatccatcctatgggaaggctggactgacctgcaaca gcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgagc cacatccggcacatgctgccaagaggatggaacacctg tacagcatgaagtgaagaacgctgctcctgtcggatct gctcctggaatgctggacgcgcacagactcgaagaccg gcgcggaagacccccggccctccagggaagcgaaggtc cctcgggagcgtgggtcaagtgaactcgtccaaagcgg agcgggaagtcaagaacccggagcagcgtgaaagtg tctgcaaagcctccggctacacctttacgggctactacat gcactgggtgcgaccaggcaccaggacagggtctgaaatg gatgggatggatcaaccctaattcgggcccgaactaactac gcacagaagttccaggggagagtgactctgactcgggat acctcatcctaactgtctacatggaactctcccgttgcgg tcagatgatacggcagtgactactcgcgcccgcatga atcctcggctaccgtgcccgtcagatcggggacaggg gactatggtactgtctcatcggggcgtggaggtcaggag gaggcggctcgggaggcggaggtcggacattcagatg accagtcctcctcctctgctcggccagcgtcggagata gggtgaccattacctgctggccctcgaagcatctcctcg tacctcaactggtatcagcaaaagccgggaaaggcgcct aagctgctgatctacggcctcagcgttgcgaagcgggg tgccatccagattcgggatcaggctcaggaaaccgacttc accctgaccgtgaacagcctccagcggaggactttgcc acttactactgcccagggagactccgtgcccgttacttc gggggggtaccgctggagatcaagaccactacccc agcaccgaggccaccaccccggctctaccatcgcctc</p>

[1336]

		<p>ccagcctctgtccctgctccgagggcatgtagaccgca gctggtggggccgtgcatacccggggtcttgactgcctg cgatatctacattggcccctctggctggtactgagggt cctgctgcttactctgtgactactcttactgtaagcgggtc ggaagaagctgctgtacatctttaaagcaaccctcatgagg cctgtgcagactactcaagaggaggacggctgtcatgcc ggtcccagaggaggagggaaggcggctgcaactgcgc gtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctaccag caggggcagaaccagctctacaacgaactcaatctgtg cggagagaggagtagcagctgctggacaagcggagag gacgggacccagaaatggcggggaagcgcgcagaa agaatccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaag gataagatggcagaagcctatagcgagattggtatgaaa ggggaacgcagaagaggcaaggccacgagcactgt accagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgac gctctcatgacaggccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 1090)</p>
<p>SP-接头 5 – ERmut2 – 弗林蛋白 酶切割位点 2 – CD123 CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPE SLALSLTADQMVSALLDAEPI LYSEYDPTTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLTLHDQVHLLECAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQQHQLRLAQLLLILSHIRHM SNKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRSLGDVGQVQLVQSGA EVKKPGASVKVSCASGYTFT GYMHWVRQAPGQGLEWM GWINPNSGGTNYAQKFQGRV TLTRDTSISTVYMELSRLRSD DTAVYYCARDMNILATVPFDI WGQGTMTVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCRASQSISSYLN WYQAKPGKAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTV NSLQPEDFATYYCQQGDSVP LTFGGGTRLEIKTTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYWAPL AGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK KLLYIFKQPFMRPVQTTQEED GCSCRFPEEEEEGGCELRVKF SRSADAPAYQQGQNQLYNEL NLGRREEYDVLDKRRGRDPE MGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDITYDAL HMQALPPR (SEQ ID NO: 1031)</p>	<p>atggcctccctgtcaccgcccctgctgctccgctgctctc tgctccacgcccctcggcccggagTcgttggcactttccctg actgccgaccagatggtgtccgccctctggacgcccagc ctccaattctgtactcggagtagatccgactcggcccgtct cgaagccagcatgatggcctgtgactaacctggcgg accgcgagtgggtcacatgattaactgggtaagcgggt gccgggctcgtggacctgaccctgcacgaccaagtga cctcctggaatgcgctggatggaatcctcatgatcggcc tcgtgtggagatccatggagatcccggaaagctcctgtt gcaccaacctcctgctgatcgaaccagggaatgc gtggaaggggtgtcagatttgcagatgctgctcggcac cttcccgggtccggatgatgaatcgcagggagaagagt tcgtgtctgaagtcaatcatcctgctgaactcgggggtc atacctcctgagctcgaacctcaactggaaggaaaa agaccacatccatcgcgtgctcgaataagatcaccgacac ccttatccatctcatggcgaaggctggactgaccctgcaac agcagcaccagaggctggcccagtgctgctgattctgag ccacatccggcacatgtcgaacaagaggatggaacacc tgtacagatgaagtcaagaacgctgctcctgtccgat ctgctcctggaatgctggacgcgcacagactcggaaacc ggcgcggaagacccccggccctccaggaagcgaagg ccctcggagacgtgggtcaagtgaactcgtccaagcg gagcggagtgcaagaaccggagcgcagcgtgaaagt gtcctgcaaagcctcggctacaccttacgggctactaca tgactgggtgcgcccaggcaccaggacagggtcttgaat ggatgggatggatcaaccctaattcgggcggaactaacta cgcacagaagttcaggggagagtgactctgactcggga tacctccatcactgctacatggaactcctccgctgctg gtcagatgatacggcagtgactactgcgcccgcgacatg aatacctcctgctaccgtgcccgtgacatcggggacagg ggactatggtactgtctcatcggcggtggaggttcagga ggaggcggctcgggagcggaggttcggacattcagat gaccaggtcccacctcctcgtcggccagcgtcggagat agggtgaccattactgctgggctcggcaagatcctcctc gtacctcaactggtatcagcaaaagccgggaaaggcgc ctaagctgctgatctacgcccctcagacttcaaagcgg ggtgccatccagattcctggatcaggctcaggaaaccga ctcaccctgaccgtgaacagcctccagccggaggacttt gccactactactgccagcaggagactcctgcccgtta ctttcgggggggtaccgcccctggagatcaagaccacta cccagcaccgaggccaaccaccccggctcctccatcg cctccagcctcgtcctcgtcggaggcatgtagacc gcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgactcg cctcgatctacattggcccctctggctggtactgccc</p>

[1337]

		<p>ggtcctgctgcttactcgtgatcactcttactgtaagcgcg gtcggaagaagctgctgtacatcttaagcaaccctcatg aggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgtcat gccggtcccagaggagggaaggcggctgcgaactg cgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctac cagcagggggcagaaccagctctacaacgaactcaatctt ggtcggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggga gaggacgggaccagaaaatgggcgggaagccgcgca gaaagaatcccaagaggcctgtacaacgagctcaa aaggataagatggcagaagcctatagcgagattggtatg aaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacgg actgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacct atgacgctctcactcagcaggccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 1091)</p>
<p>SP-接头 5 – ERmut1 – 弗林蛋白 酶切割位点 3 – CD123 CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPE SLALSLTADQMVSALLDAEPI LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLALHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMHEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQHQRLAQLLLILSHIRHM SSKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRQVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSKASGYTFTGYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPN SGGTNYAQKFQGRVTLTRDT SISTVYMELSRLSDDTAVYY CARDMNILATVPFDIWGQGM VTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQSISSYLNWYQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTVNSLQPEDFA TYQCQGDVPLTFGGGTRL EIKTTTPAPRPPTPAPTIASQP LSLRPEACRPAAGGAVHTR GLDFACDIYIWAFLAGTCG VLLLVLVITLYCKRGRKLL YIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEEGGCELRVK FRSADAPAYQQGQNQLY NELNLGRREEYDVLDKRR GRDPEMGGKPRRKNPQE GLYNELQDKMAEAYSEIG MKGERRRGKGDGLYQGL STATKDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 1032)</p>	<p>atggcctccctgtcaccgcctcgtgcttccgctggctcttc tgctccacgccgctcggccgagctgttgacacttccctga ctgccgaccagatgggtccgctctggacccgagcct ccaattctgtactcggagtacgatccgactcggccttctcc gaagccagcatgatggcctgtgactaacctggcggacc gcgagttgggtcacatgataactgggtaagcgggtgccg ggcttctggacctggcctgcacgaccaagtgcacctct ggaatgcgctggatgaaatcctcatgatcggcctcgtgt ggagatccatggagatcccgaaaagctcgtttgaccc aacctcctgcttgatcgaaccagggaaaatgcgtggaag ggggtgtcgagatttgcagatgctgctgccacctctccc ggttccggatgatgaatctgcagggagaagagttcgtgtgt ctgaagtcaatcatcctgctgaactccggggtctatacttc ctgagctgcacctcaagtactggaggaaaaagaccaca tccatcgcgtgctcgataagatcaccgacaccttatccatc tcatggcgaaggctggactgacctgcaacagcagcacca gaggctggcccagttgctgctgattctgagccacatccggc acatgctgccaagaggatggaacacctgacagcatgaa gtgcaagaacgtcgtcctctgctcagatgctcctggaat gctggacgcgcacagactcggaaaccggcgggaagacc ccggcctccaggaagcgaagcgaagtgcactcgtccaa agcggagcgggaagtcaagaaaccggagcgagcgtgaaa gtgtcctgcaaagcctccggctacacctttacgggctactac atgactgggtgcgccaggcaccaggacagggtcttgaat ggatgggatggatcaaccctaattcggcggaactaacta cgacagaagttccaggggagagtactctgactcgggat acctccatctcaactgtctacatggaactctcccctgagg tcagatgatacggcagtgactactcgcgccgcgacatgaa tatcctggctaccgtgcgcttcgacatctggggacagggga ctatggttactgtctcatcggcgggtggaggttcaggagga ggcggctcgggagggcggaggttcggacattcagatgacc agtccccatcctctctgctgccagcgtcggagatagggtg accattacctgctggcctcgcgaagcatctcctctacctc aactggtatcagaaaagccgggaaaggcgcctaagctgc tgatctacgccgcttcgagctgcaaagcggggtgccatcc agattctcgggatcaggctcaggaaaccgacttaccctgac cgtgaacagcctccagccggagactttgccacttactact gccagcaggagactcgtgcccgttactttcggggggggt acccgctggagatcaagaccactacccagcaccgaggc caccacccggctcctaccatgcctccagcctctgtccc</p>

[1338]

		<p>tgctccggaggcatgtagaccgcagctggtggggccgt gcataccggggtcttgacttcgctgcgatatctacattg ggcccctctggctgtacttcggggtcctgctgtttcactc gtgatcactctttactgtaagcggtcgaagaagctgct gtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagactac tcaagaggaggacggctgtcatccggttcccagaggag gaggaaggcggctcgaactgcgctgaaattcagccgca gcgcatgctccagcctaccagcagggcagaaccagct ctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacgac gtgctggacaagcggagaggacggaccagaatgggc gggaagccgagcagaagaatcccaagaggcctgtac aacgagctccaaaagataagatggcagaagcctatagc gagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaaggc cacgacggactgtaccagggaactcagaccgccaccaagg acacatgacgctctcatgacggccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 1092)</p>
<p>SP-接头 5 – ERmut2 – 弗林蛋白 酶切割位点 3 – CD123 CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPE SLALSLTADQMVSALLDAEPP LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLTLHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNMQEEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMAKAGLT LQQQHQLAQLLLILSHIRHM SNKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRQVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASGYTFTGYMH WVRQAPGQGLEWMGWINPN SGGTNYAQKFQGRVTLTRDT SISTVYMELSRLRSDDTAVYY CARDMNILATVPFDIWGQGT MTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGRVT ITCRASQSISSYLNWYQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFLTVNSLQPEDFA TYQCQGDVPLTFGGGTRL EIKTTTPAPRPPTPAPTIASQP LSLRPEACRPAAGGAVHTRG LDFACDIYWAPLAGTCGVLLL SLVITLYCKRGRKLLYIFKQP FMRPVQTTQEEDGCSCRFPE EEEGGCELRVKFSRSADAPA YQQGQNQLYNELNLGRREEY DVLDKRRGRDPEMGGKPRRK NPQEGLYNELQKDKMAEAYS EIGMKGERRRGKGDHGLYQG LSTATKDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 1033)</p>	<p>atggccctccctgtcaccgccctgctgctccgctggtcttc tgctccacgcccctcggcccagTcgttggcactttccctg actccgaccagatggtgtccgccctctggagcgcgagc ctcaattctgtactcggagtagatccgactcggccgttct ccgaagccagcatgatgggcctgttgactaacctggcgg accgaggtggtgcacatgattaactgggctaagcgggt gccgggctcgtggacctgaccctgacgaccaagtgca cctcctggaatgcgctggtggaatcctcatgatcggcc tctgtggagatccatggagcatcccggaaagctcctggtt gcaccaacctcctgctgatcgaaccagggaatgc gtggaaggggtgtcagatcttcgacatgctgctgccac cttcccgttccgagatgaaatcgcagggagaagagt tctgtgtctgaagtcaatcatcctgctgaactcgggggtct atacctcctgagctcgaacctcaagtactggaggaaaa agaccacatccatcgcgtgctcgaagaatcaccgacac cctatccatctcggcgaaggctggccagttgctgattctgag agcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgag ccacatccggcacatgtgaacaagaggatggaacacc tgtacagcatgaagtgaagaacgctgctcctctgctccgat ctgctcctggaatgctggacgcgacagactcgggacg ggagctgaagatccacgaccagcagaaagcgcagggc aagtgaactcgtccaagcggagcgggaagtcaagaaa cccggagcagcgtgaagtgctcgtcaaagcctccggc tacaccttacgggctactacatgactgggtgcgcccaggc accaggacagggtctgaaatggatggatggatgcaacct aattcgggcggaactaactcgcacagaagtccagggg agagtgactctgactcgggatacctccatctcaactgtctac atggaactctcccgttgcggtcagatgatacggcagtgta ctactcgcccgcagatgaatatcctggctaccgtgccgt tcgacatcggggacaggggactatggttactgtctatcg ggcgggtggaggttcaggaggaggcggctcgggaggcg gaggttcggacattcagatgaccagtcacctcctctctgt cggccagcgtcggagatagggtgaccattacctgtcggg cctcgcaaagcatcctcctgctacctaactggtatcagcaa aagcgggaaaggcgcctaagctgctgactacgcccgt tcgagctgcaaagcggggtccatccagattctcgggat caggctcaggaaaccgactcacctgaccgtgaacagcc tccagccggaggacttggcacttactactgcccagaggg agactccgtcggcttacttccgggggggtaaccgcctgg agatcaagaccactaccagcaccgaggccaccacc ccggctcctaccatcgcctcccagcctctgtccctcgtccg gaggcatgtagaccgcagcgtggtggggccgtgcatacc</p>

[1339]

		<p>cggggtctgactcgcctgcgatatctacattgggcccctc tggctgtactcggggctcctgctgtttcactcgtgatcac tcttactgtaagcgcggtcgaagaagctgctgtacatctt aagcaaccctcatgaggcctgtgcagactactcaagag gaggacgctgttcatgccggtccagagaggaggaa ggcggctgcgaactcgcgctgaaattcagccgcagcgc agatgctccagcctaccagcaggggcagaaccagctcta caacgaactcaatctgttcggagagaggagtacgacgt gctggacaagcggagaggacgggaccagaaatgggc gggaagccgcgcagaaagaatcccaagaggcctgt acaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctat agcgagattggtatgaaggggaacgcagaagaggca aaggccacgacgactgtaccagggactcagcaccgcc accaaggacacctatgacgcttccatgacggccctgc cgctcgg (SEQ ID NO: 1093)</p>
<p>SP-接头 5 – ERmut1 – 弗林蛋白 酶切割位点 2 – BCMA CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPE SLALSLTADQMVSALLDAEPP LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLALHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQQHQLRAQLLLILSHIRHM SSKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRSLGDVGEVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAVSGFALS NHGMSWVRRAPGKGLEWVS GIVYSGSTYYAASVKGRFTISR DNSRNTLYLQMNSLRPETA IYYCSAHGGESDVWGQTTVT VSSASGGGGSGGRASGGGG SDIQLTQSPSSLSASVGDRTI TCRASQSISSYLNWYQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFLTISLQPEDFA TYQCQSYSTPYTFQGTKV EIKTTTPAPRPPPTAPTIASQP LSLRPEACRPAAGGAVHTRG LDFACDIYWAPLAGTCGVLLL SLVITLYCKRGRKLLYIFKQP FMRPVQTTQEEDGCSCRFPE EEEGGCELRVKFSRSADAPA YQQGQNQLYNELNLGRREEY DVLDKRRGRDPEMGGKPRRK NPQEGLYNELQDKMAEAYS EIGMKGERRRGKGHDLGQY LSTATKDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 1034)</p>	<p>atggccctccctgtcacccctgctgctccgctggctctc tgctccaagcgcgctcggccgagTcgttggcactttccctg actgcccagcagatggtgtccgcccttctggacgcccagc ctccaattctgtactcggagtagcagcactcgcggcttct ccgaagccagcagatggtggcctgttgactaacctggcgg accgaggtggtgcacatgattactgggctaagcgggt gccgggctcctggtgacctggcctgcacgaccaagtgc cctcctggaatgcgctggatgaaatcctcatgacggcc tcgtgtggagatccatggagcagcaccgaaagctcctgtt gcacccaacctcctgctgatcgaaccagggaatgc gtggaagggggtgagatcttcgacatgctgctcggcac ctctcccggtccggatgagatctgcaggagagaagagt tcgtgtgctgaagtcaatcatcctgctgaactccggggtct atacctcctgagctgcaccccaagtcactggagga agaccacatccatcgcggtgctcagataagatcaccgacac ccttatccatcctatggcgaaggtgactgacctgcaac agcagcaccagagaggtgcccagttgctgctgattctgag ccacatccggcagatgctccaagaggatggaacacct gtacagcagatgaagtgaagaacgctgctcctgctccgat ctgctcctggaatgctggacgcccagactcggaaacc ggcgcggaagacccccggccctccaggaaagcgaaggt ccctcggagacgtgggtgaagtgaattggtggaatcag ggggaggactgtgcagcctggaggatgctgagactgtc atggtcctgctcggccttgcctgccaaccacgggatgct ctgggtccgcccgcgctggaagggcctcgaatgggt gtcgggtattgtgtacagcgtgacactcactatgcccgat ccgtgaaggggagaltcaccatcagccgggacaactcc aggaacactctgtacctcaaatgaaatcgtgaggccag aggacactgcatctactgctcggcagatggcgggaga gtccgagcttggggacaggggaccaccgtgaccgtgct tagcgcgtccggcggaggcggcagcgggggtcgggcat cagggggcggcggatggacatccagctcaccagctcc ccgagctcgtcgtccgctcgtggagatcgggtcacca tcagctcgcgcgacagcagctgatttccctcactgaact ggtaccaacagaagcccggaagccccaagcttctc atctacgcccctcagcctgagctcagcaggtgacctcac ggttctccggctccggttccggtactgatttaccctgacat ttcctcctgcaaccggaggactcgtactactactgcca gcagctgactccacccctacacttccgacaaggcacc aaggtcgaaatcaagaccactacccagcaccgaggcc accaccccggctcctaccatcgcctcccagcctctgtcc tgcgtccggaggcatgtagaccgcagctggtggggccg tgataaccggggtcttgactcgcctgcgatatctacattg ggcccctcgtgctgacttgcgggctcctgctgttactc gtatcactcttactgtaagcgcggtcgaagaagctgct gtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagacta</p>

[1340]

		<p>ctcaagaggaggacggctgtcatgcccgttccagagg aggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagc cgacgcagatgtccagcctaccagcaggggagaa ccagctctacaacgaactcaatctgtgctggagagagga gtacgacgtgctggacaagcggagagagcgggacca gaaatgggcggaagccgcgagaaagaatcccaag agggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggca gaagcctatagcagattggtatgaaaggggaaacgag aagaggcaaggccacgacggactgtaccagggactc agcaccgccaccaaggacacctatgacgctctcacatg caggccctgcccgcctcgg (SEQ ID NO: 1094)</p>
<p>SP-接头 5 – ERmut2 – 弗林蛋白 酶切割位点 2 – BCMA CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPE SLALSLTADQMVSALLDAEPP LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLTLHDQVHLLLECAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQQHQLAQLLLILSHIRHM SNKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRSLGDVGEVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAVSGFALS NHGMSWVRRAPGKGLEWVS GIVYSGSTYYAASVKGRFTISR DNSRNTLYLQMNSLRPEDTAI YYCSAHGGESDVWGQGTTVT VSSASGGGGSGGRASGGGG SDIQLTQSPSSLSASVGDRTI TCRASQSISSYLNWYQQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFLTISLQPEDFA TYQCQSYSTPYTFGQGTKV EIKTTTTAPRPPPTAPTIASQP LSLRPEACRPAAGGAVHTRG LDFACDIYWAPLAGTCGVLLL SLVITLYCKRGRKLLYIFKQP FMRPVQTTQEEDGCSCRFPE EEEGGCELRVKFSRSADAPA YQQGQNQLYNELNLGRREEY DVLDKRRGRDPEMGGKPRRK NPQEGLYNELQKDKMAEAYS EIGMKGERRRGKGDHGLYQG LSTATKDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 1035)</p>	<p>atggccctccctgtcacccctgtgcttccgctggctctc tgctccacgcccgtcggcccgagTcgttggcacttccctg actcggaccagatgggtcgcctcttgagcggcggagc ctccaattctgtactcggagtagcagcaccgactcggcgttct ccgaagccagcatgatgggctgtgactaacctggcgg accgaggtggtgcacatgattaactgggctaagcgggt gccgggctcgtggacctgacccctgcacgaccaagtga cctcctggaatgcccctggatggaatcctcatgatcggcc tcgtgtggagatccatggagcatcccggaaagctcctgtt gcaccaacctcctgtgatgcaccaggggaaaaatgc gtggaagggggtgtagatgttcgacatgctgctgcac ctctcccggtccggatgatgaatcgcagggagaagat tcgtgtgctgaagtcaatcatcctgctgaactcggggtct atacctcctgagctcgacctcaagtactggaggaaaa agaccacatccatcgctgctgataagatcaccgacac ccttatccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaac agcagcaccagagctggcccagttgctgctgattctgag ccacatccggcacatgtogaacaagaggatggaacacc gtacagcatgaagtcaagaacgtcgtgctcctgtccgat ctgctcctggaatgctgcagcgcgacagactcggaaacc ggcgcggaagacccccggcctccaggaaagcgaagggt ccctcggagacgtgggtgaagtgaattggtggaatcag ggggaggactgtgcagcctggaggatcgtgagactgtc atgtccgtgtccggcttggcctgtccaaccacgggatgtc ctgggtccgcgcgcgctggaaggccctcgaatgggt gtcgggtattgttacagcggtagcactactatgcccgat ccgtgaaggggagaltcaccatcagcccgggacaactcc aggaacactctgtacctcaaatgaaatcgtgaggccag aggacactgcatctactactgctccgcgcatggcgggaga gtccgacgtctggggacagggaccacggtagcgggtc tagcgcgtccggcggaggcggcagcgggggtcgggcat cagggggcggcggatcgacatccagctcaccagctcc ccgagctcgtctccgctcggtagatcgggtcacca tcagctgcccgcgaccagcagctgattcctcctaccta ggtaccaacagaagcccggaaaagcccgaagcttctc atctacgcccctcagcctgcagtcaggagtgccctcac ggttctccggctccggttccggtactgattcaccctgacat ttctccctgcaaccggaggactcgtactactactgcca gcagctgactccaccccctacacttccgacaaggcacc aaggctgaaatcaagaccactaccaccagcaccgaggcc accaccccggctcctaccatgcctcccagcctctgtccc tgctccggaggcatgtagaccgcagctggtggggccg tgcataccggggtctgactcgcctcgatatactacattg ggcccctctggctgacttgcggggtcctgctgttctactc gtatcactcttactgtaagcgcggctggaagaagctgct gtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagacta ctcaagaggaggacggcgttcatgcccgttccagagg aggaggaaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagc cgacgcagatgtccagcctaccagcaggggagaa ccagctctacaacgaactcaatctgtgctggagagagga</p>

[1341]

		<p>gtacgacgtgctggacaagcggagaggacgggaccca gaaatgggcggaagccgcgcagaagaatcccaag agggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggca gaagcctatagcgagattggtatgaaaggggaaacgcag aagaggcaaaaggccacgacggactgtaccagggactc agcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcatg caggccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 1095)</p>
<p>SP-接头 5 – ERmut1 – 弗林蛋白 酶切割位点 3 – BCMA CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPE SLALSLTADQMVSALLDAEPPI LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLALHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMAKAGLT LQQQHQLRAQLLLILSHIRHM SSKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRREVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAVSGFALS NHGMS WVRRAPGKGLEWVSGIVYSG STYYAASVKGRFTISRDNRSR TLYLQMNSLRPEDTAIYYCSA HGGESDVWGQTTVTVSSAS GGGGSGGRASGGGGSDIQLT QSPSSLSASVGDRTITCRAS QSISSYLNWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QSYSTPYTFQGKTKVEIKTTT PAPRPPTPAPTIASQPLSLRPE ACRPAAGGAVHTRGLDFACDI YIWAPLAGTCGVLLLSLVITLY CKRGRKLLYIFKQPFMRPVQ TTQEEDGCSCRFPEEEEGGC ELRVKFSRSADAPAYQQGQN QLYNELNLRREEYDVLDRK RGRDPEMGGKPRRKNPQEG LYNELQDKMAEAYSEIGMKG ERRRGKGDGLYQGLSTATK DTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 1036)</p>	<p>atggccctccctgtcacccctgtgcttccgctggtcttc tgctccacgcccgtcggcccagTcgttggcactttccctg actgccgaccagatggtgtccgcccttctggacgcccagc ctccaattctgtactcggagtagatccgactcggccgttct ccgaagccagcatgatgggctgttgactaacctggcgg accgaggtggtgcacatgattaactgggctaagcgggt gccgggctcgtggacctggccctgcagcaccagtgca cctcctggaatgcccctggatggaatcctcatgatcggcc tcgtgtggagatccatggagcatcccgaagactcctgtt gcaccaacctcctgctgatcgcaaccagggaataatgc gtggaaggggtgtcgagatttgcagatgctgctcgccac ctctccgggtccggatgatgaatctgcagggagaagagt tcgtgtctgaagtcaatcatcctgctgaaactcggggtct atacctcctgagctcgacctcaagtcactggaggaaaa agaccacatccatcgctgctcgataagatcaccgacac ccttatccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaac agcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgag ccacatccggcacatgctccaagaggatggaacacct gtacagcatgaagtgaagaacgctgctgctctgctccgat ctgctcctggaatgctggacgcccagacagatcGggacg ggagctgaagatccacgaccagcagaagagcagcggg aagtgaattgtggaatcagggggaggactgtgacagc ctggaggatcgtgagactgtcatgtccgtgctccgctttg ccctgtccaaccagggatgctcctggctccgcccgcgccc tggaaaggccctcgaatgggtgctgggtattgtgtaacgc ggtagcacctactatgcccatccgtgaaggggagattca ccatcagccgggacaactccaggaaactctgtactctcc aatgaattcgtgagggcagaggacactgcatctacta ctgctccgcatggcggagagtcagcagctgctgggaca ggggaccaccgtgaccgtgtctagcgcgtccggcggag gcccagcgggggtcgggcatcagggggcgggggatc ggacatccagctcaccagctcccagctcgtgctcggcc tccgtgggagatcgggtcaccatcagtgccgcccagc cagtcgatttctcctcactgaactggtaccacagaagcc cggaaaagccccgaagcttctcatctacgcccctcag cctgcagtcaggagtgcctcaggttctccggctccggtt ccggtactgatttaccctgaccatttctccctgcaaccgg aggactcgtacttactactgcccagcagctgactccacc ccctacacttccgacaaggcaccaggctgaaatcaag accactaccccagcaccgagggcaccaccggctcct accatgcctcccagcctctgtccctgctcggaggcatg tagaccgcagctggtggggcgtgcataccggggtctt gactcgcctcgcgatatactattggcccctctggctgta cttgggggtcctgctcttactcgtgatcacttctactgta agcgggtcggagaagctgctgtacatctttagcaacc ctcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacgg ctgtcatgcccgttcccagaggagggaagggcggctg cgaactgcgcgtgaaaltcagccgagcgcagatgtcc agcctaccagcaggggcagaaccagctctacaacgaac tcaatcttgctggagagaggagtacgacgtgtggaca agcggagaggacgggaccagaaatgggcccgggaagc cgcgcaaaagaatcccaagaggcctgtacaacga gctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaaggcca</p>

[1342]

<p>SP-接头 5 – ERmut2 – 弗林蛋白 酶切割位点 3 – BCMA CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPE SLALSLTADQMVSALLDAEPPI LYSEYDPTPRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLTLHDQVHLLLECAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMAKAGLT LQQQHQRLLAQLLLILSHIRHM SNKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRREVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAVSGFALSNGMS WVRRAPGKGLEWVSGIVYSG STYYAASVKGRFTISRDNDRN TLYLQMNSLRPEDTAIYYCSA HGGESDVWQGTTVTVSSAS GGGSGGRASGGGSDIQLT QSPSSLSASVGDRTITCRAS QSISSYLNWYQQKPKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QSYSTPYTFGQGTKEIKTTT PAPRPPTPAPTIASQPLSLRPE ACRPAAGGAVHTRGLDFACDI YIWAPLAGTCGVLLLSLVITLY CKRGRKLLYIFKQPFMRPVQ TTQEEDGCSCRFPEEEEGGC ELRVKFSRSADAPAYQQGQN QLYNELNLGRREEYDVLDR RGRDPEMGGKPRRKNPQEG LYNELQKDKMAEAYSEIGMK ERRRGKGDGLYQGLSTATK DTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 1037)</p>	<p>cgacggactgtaccagggactcagcaccgccaaggaag acacctatgacgctcttccatgcaggccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 1096) atggccctccctgtcaccgcccctgctgctccgctggtcctc tgctccaagcggcctcggcccagTcgttggcactttccctg actgcccaccagatgggtgctccccccttggacgcccagc ctccaattctgtactcgggagacgactccgactgcccgttct ccgaagccagcatgatgggctgtgactaacctggcgg accgaggtgggtgcacatgattaactgggctaagcgggt gcccggcctcgtggacctgaccctgcacgaccaagtga cctcctggaatgcccctggatggaatcctcatgatcggcc tcgtgtggagatccatggagcatcccggaaagctcctgttt gcaccaacctcctgctgatcgaaccaggggaaaatgc gtggaaggggggtgctgagatttgcacatgctgctcggcac ctctcccgggtccggatggaatctgcagggagaagagt tcgtgtgctgaagtcaatcatcctgctgaaactcgggggtct atacctcctgagctgcacctcaagtactggaggaaaa agaccacatccatcgcgtgctcgataagatcaccgacac ccttatccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaac agcagcaccagaggctggcccagtgtgctgattctgag ccacatccggcacatgcaacaagaggatggaacacc tgtacagcatgaagtgaagaacgctgctcctcgtccgat ctgctcctggaatgctggagcgcacagactcgggacg ggagctgaagatccacgaccagcagaagcgcagggg aagtgaattggtggaatcagggggaggactgtgacg ctggaggatcgtgagactgcatgtccgtgcccgtttg ccctgtccaaccagggatgctcctgggtccgcccgcgccc tggaaagggcctcgaatgggtgctgggtattgtgacagc ggtagcacctactatgcccgcacgtaaggggagattca ccatcagcccgggacaactccaggaaactctgtacctcc aatgaattcgtgagccagaggactgcccactacta ctgctccgcatggcggagagctccgagctggggaca ggggaccaccgtgaccgtgtctagcgcgtccggcggag gcccagcgggggtcgggcatcagggggcggcggatc ggacatccagctcaccagctcccagctcgtcctcggcc tccgtgggagatcgggtcaccatcagctccgcccagc cagtcgatttccctcactcctgaactggtaccaacagaagcc cggaaaagccccgaagcttctcactacgcccctcggag cctgcagtcaggagtgccctcaggttctcgggtcgggtt ccggtactgattcaccctgaccatttccctcctgcaaccgg aggacttgcctactactactgcccagcagctgactccacc ccctacactttcggacaaggcaccaggctgaaatcaag accactacccagcaccgagccaccaccccggtcct accatgcctcccagcctctgctcctgctccggaggcatg tagaccgcaactggtggggcgtgataccgggggtctt gactcgcctcgcgatactacattggcccctcgtgctgta cttgccgggtcctgctgcttactcgtgatcactcttactgta agcgggtcggagaagctgctgatactcttaagcaacc cttcatgaggcctgtgagactactcaagaggaggacgg ctgtcatgcccgttccagaggaggaggaggcggctg cgaactgcccgtgaaatcagccgagcgcagatgctcc agcctaccagcaggggagaccagctctacaacgaac tcaatcttggtcggagagaggagtacgactgctggaca agcggagaggacgggaccagaaatgggcccgaagc cgcgcagaaagaatcccgaagaggcctgtacaacga gctcaaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaaggcca cgacggactgtaccagggactcagcaccgccaagga acacctatgacgctcttccatgcaggccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 1097)</p>
---	--	--

[1343]

<p>SP-接头 6 - ERmut1 - 弗林蛋白 酶切割位点 2 - CD19 CAR2</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPQ SLALSLTADQMVSALLDAEPI LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLALHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMAKAGLT LQQQHQLAQLLLILSHIRHM SSKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRSLGDVGEIVMTQSPAT LSLSPGERATLSCRASQDISK YLNWYQQKPGQAPRLLIYHTS RLHSGIPARFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFAVYFCQQGNL PYTFGQGTKLEIKGGGSGG GGSGGGGSQVQLQESGPG VKPSETLSLTCTVSGVSLPDY GVSWIRQPPGKLEWIGVIW GSETYYSSSLKSRVTISKDN SKNQVSLKLSSVTAADTAVYY CAKHYYYGGSYAMDYWGQG TLVTVSSTTPAPRPPTPPTI ASQPLSLRPEACRPAAGGAV HTRGLDFACDIYWAPLAGTC GVLLLSLVITLYCKRGRKLLYI FKQPFMRPVQTTQEEDGCSC RFPEEEEGGCELRVKFSRSA DAPAYQQGQNQLYNELNLR REEYDVLDKRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMA EAYSEIGMKGERRRGKGDG LYQGLSTATKDTYDALHMQUAL PPR (SEQ ID NO: 1038)</p>	<p>atggccctccctgtcaccgcccctgctgcttccgctggctctc tgctccaacgcccctcggccccagctggtggcactttccctga ctgcccaccagatggtgtccgccccttctggacgcccagcc tccaattctgtactcggagtagcatccgactcgcctgtctc cgaagccagcatgatggcctgttgactaacctggcggga ccgaggtggtgcacatgattaactgggtaagcgggtg ccgggctcgtggacctggcctgcacgaccaagtgac ctcctggaatgcgctggtgaaatcctcatgatcggcct cgtgtggagatccatggagcatcccggaaagctcctgtttg cacccaacctcctgctgatcgcaaccagggaatgctg ggaaggggggtgtagatcttcgacatgctgctgccacct ctcccgggtccgatgatgaatctgcagggagaagaggtc gtgtgtcgaagtcaatcctcctgctgactcggggtctat acctcctgagctcgaccctcaagtcaactgaggaaaaa gaccacatccatcgctgctgataagatcaccgacacc cttatccatctcatgggaaggctggactgacctgcaaca gcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgagc cacatccggcacatgctgccaagaggatggaacacctg tacagcatgaagtgaagaacgctgctcctctgctccgatc gctcctggaaatgctggagcgcacagactcggaaaccg gcgagggaagacccccggcctccagggaagcgaaggct cctcgggagcgtgggtgaaattgtgatgaccacacc gccactcttagccttccaccgggtgagcgcgaacctgtct tgagagcctcccaagacatctcaaaataccttaattggta tcaacagaagcccggacaggctcctgcctctgatctac cacaccagccgctcattctggaatccctgcccaggttca gctgtagcggatctgggaccgactacaccctcactatcag ctcactgcagccagaggactcgtgctctattctgtagca aggaacacccctgcctacacctggacagggacccaa gctcagagattaagggtggagggtggcagcggaggaggtg ggtccggcgtgggaggaagcaggtccaactcagaa agcggaccgggtctgtgaagccatcagaaactcttact gactgtactgtgagcggagtgtctctcccagattcgggg gtcttgatcagacagccaccggggaagggtctggaatg gattggagtgattggggctctgagactactactcttcat ccctcaagtcaagcgtcaccatctcaaggacaactctaa gaatcagggtgactgaaactgtatctgtgaccgagcc gacaccgcccgtactattgcgctaagcattactattatggc gggagctacgcaatggattactggggacagggtactctg gtcaccgtgtccagcaccactaccagcaccgagccca cccacccggctcctaccatcgctcccagcctctgtcct gctcgggagcatgtagaccgagcgtggtggggcgt gcatacccggtctgacttcgctgcatatctacattg ggcccctctggctgacttgcgggtcctgctgttctactc gtgatcactcttactgtaagcgcggtcggagaagagctgt gtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagacta ctcaagaggaggagcgtgttcatgcccgttccagagg aggaggaaaggcgtcgaactgcgctgaaattcagc cgagcgcagatgctccagcctaccagcaggggcagaa ccagctctacaacgaactcaatctgtgagagaggga gtacgagctgtggacaagcggagaggacgggaccca gaaatgggcccgaagccgcgagaagaatccccag agggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggca gaagcctatagcagattggtatgaaaggggaaagcag aagaggcaaggccacgagcgtgtaccagggactc agcaccgccaaggaacacatgacgctcttcatg caggcccctcggcctcgg (SEQ ID NO: 1098)</p>
<p>SP-接头 6 - ERmut2 - 弗林蛋白 酶切割位点 2 - CD19 CAR2</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPQ SLALSLTADQMVSALLDAEPI LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF</p>	<p>atggccctccctgtcaccgcccctgctgcttccgctggctctc tgctccaacgcccctcggccccagctggtggcactttccctga ctgcccaccagatggtgtccgccccttctggacgcccagcc tccaattctgtactcggagtagcatccgactcgcctgtctc</p>

[1344]

	<p>VDLTLHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQHQRLAQLLLILSHIRHM SNKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRSLGDVGEIVMTQSPAT LSLSPGERATLSCRASQDISK YLNWYQQKPGQAPRLLIYHTS RLHSGIPARFSGSGSDTYTL TISSLQPEDFAVYFCQQGNTL PYTFGQGKLEIKGGGSGG GSGGGGGSQVQLQESGPG VKPSETLSLTCTVSGVSLPDY GVSWIRQPPGKLEWIGVIW GSETYYSSSLKSRVTISKDN SKNQVSLKLSSVTAADTAVYY CAKHYYYGGSYAMDYWGQG TLVTVSSTTTPAPRPPTPPTI ASQPLSLRPEACRPAAGGAV HTRGLDFACDIYIWAFLAGTC GVLLLSLVITLYCKRGRKLLYI FKQPFMRPVQTTQEEDGCSC RFPEEEEGGCELRVKFSRSA DAPAYQQGQNQLYNELNLGR REEYDVLDKRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMA EAYSEIGMKGERRRGKGHG LYQGLSTATKDTYDALHMQUAL PPR (SEQ ID NO: 1039)</p>	<p>ogaagccagcatgatggcctgtgactaacctggcggg ccgaggttggtcacatgattaactgggtaagcgggtg ccgggctcgtggacctgaccctgcacgaccaagtgac ctctggaatgcgctggaatggaatcctcatgatcggcct cgtgtggagatccatggagcaccggaagctcctgtttg caccacacctcctgtgacgcaaccagggaatgctg ggaaggggtgctgagatctgacatgctgctgccacct ctcccggtccggatgatgaatctgcaggagaagagttc gtgtgtctgaagtcaatcctcctgctgactccgggtctat acctcctgagctgaccctcaagtcactgaggaaaaa gaccacatccatcgctgctgataagatcaccgacacc cttatccatcctatggcgaaggctggactgaccctgcaaca gcagcaccagaggctggcccagttgtctgattctgagc cacatccggcacatgctgaacaagaggatggaacacct gtacagcatgaagtgaagaacgctgctcctgtccgat ctgctcctggaatgctggacgagcagactcggaaacc ggcgcggaagacccccggccctccaggaaagcgaaggt ccctcggagacgtgggtgaaattgtgatgaccagtcacc cgcaactctagcctttcaccgggtgagcgcgcaaccctgt ctgacagcctcccaagacatctcaaaaacttaattgg tatcaacagaagcccggacaggtcctcctcctctgacta ccacaccagcggctccattctggaatccctgcaggttca gcggtagcggatctgggacgactacacctactatcag ctactgcaaccagaggactcgtgctctattctgacgca aggaacacctgcctacacctggacaggacccaa gctcagaltaaagggtgagggtggcagcggaggaggtg ggtccggcgtggagggaagccaggtccaactccaagaa agcggacgggtctgtgaagccatcagaaactctttact gactgtactgtgagcggaggtctctcccattacggggt gtcttgatcagacagccaccggggaagggtctggaatg gattgagtgattgggctgtagactactactctctat ccctcaagtcacgctgaccatctcaaggacaactctaa gaatcaggtgactgaaactgtatctgaccgagcc gacaccgctgtactattgcgctaagcattactattatggc gggagctacgcaatggactggggacagggtactctg gtcaccgtgtccagcaccactaccagcaccgaggcca cccaccccgctcctaccatcgctcccagcctctgtccct gcgtccggaggatgtagaccgagctggtgggcccgt gcatacccggtctgactcgcctgcatatctacattg ggccccctggtgctgactgctgggctcctgctcttactc gtgatcactcttactgtaagcgcggctggaagaagctgt gtacatcttaagcaacctcatgaggcctgtgcagacta ctcaagaggaggacggctgtcatgcccgtcccagagg aggaggaaaggcggctgcgaactgcgctgaaattcagc cgagcgcagatgctccagcctaccagcaggggcagaa ccagctctacaacgaactcaatctgtgaggagaggga gtacgacgtctggacaagcggagaggacgggaccca gaaatggcgggagccgcgagaagaatccccaaag agggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggca gaagcctatagcagattggtatgaaaggggaacgcag aagaggcaaggccagcagcactgtaccagggactc agcaccgcccaaggacacctatgacgctcttcatg caggccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 1099)</p>
<p>SP-接头 6 - ERmut1 - 弗林蛋白 酶切割位点 3 - CD19 CAR2</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPQ SLALSLTADQMVSALLDAEPII LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLALHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI</p>	<p>atggcctccctgtcaccgcccctgctcctcctgctcttc tgcctccagcgcctcggccccagctgtggcatttccctga ctgcccagcagatggtgtccgcccctctggacccgagcc tccaattctgtactcggagtacgatccgactcggccttctc cgaagccagcatgatggcctgttgactaacctggcggga ccgaggttggtcacatgattaactgggtaagcgggtg ccgggctcgtggacctggcctgcacgaccaagtgac ctctggaatgcgctggaatggaatcctcatgatcggcct</p>

[1345]

	<p>ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQQHQLAQLLLILSHIRHM SSKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRREIVMTQSPATLSLSPG ERATLSCRASQDISKYLWYQ QKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIP ARFSGSGSGTDYTLTISSLQP EDFAVYFCQQGNTLPYTFGQ GTKLEIKGGGSGGGGSGGG GSQVQLQESGPGLVKPSSETL SLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQ PPGKGLEWIGVIWGSETTYYS SSLKSRVTISKDNSKNQVSLK LSSVTAADTAVYYCAKHYYG GSYAMDYWGQGLTVVSSTT TPAPRPPTPAPTIASQPLSLRP EACRPAAGGAVHTRGLDFAC DIYIWAPLAGTCGVLLSLVITL YCKRGRKLLYIFKQPFMRPV QTTQEEDGCSRFEEEEEGG CELRVKFSRSADAPAYQQGQ NQLYNELNLGRREEYDVLK RRGDPPEMGGKPRRKNPQE GLYNELQKDKMAEAYSEIGMK GERRRGKGDGLYQGLSTAT KDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 1040)</p>	<p>cggtggagatccatggagcatcccggaaagctcctgtttg caccacacctcctgcttgatcgcaaccagggaaaatgctg ggaaggggtgtcgagatcttcgacatgctgctgccacct ctcccgggtccggatgatgaatctgcaggagagaagagttc gtgtgtcgaagcaatcatcctgctgaactccgggtctat acctcctgagctcgacctcaagtcactggaggaaaaa gaccacatccatcgctgctgataagatcaccgacacc ctatccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaaca gcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgagc cacatccggcacatgctgccaagaggatggaacacctg tacagcatgaagtgaagaacgctgctgctcctgtccgatct gctcctggaatgctggagcgcacagactcgggacgg gagctgaagatccacgaccagcagaagcgacggga aattgtagtaccagctcaaccgacctcttagccttcacc cggtagcgcgaacctgtctgtagagcctccaaga catctcaaataccttaattgtagatcaacagaagcccga caggctcctgctctgtagctaccacaccagccgctcca ttctggaatccctgccaggttcagcggtagcggatctggga ccgactacacctcactatcagctcactgcagccagagg actcctgctctattctgtagcaagggaaacacctgacct acacctttggacagggcaccaagctcagattaaagggtg gaggtggcagcggaggagggtgggtccggcgggtggagg aagccaggtccaactccaagaagcggacgggtctgtg gaagccatcagaaactcttactgactgtactgtgagcg gagtctctccccgattacggggtgcttgatcagacag ccaccgggaagggctggaatgtagtgaggatgtggg gctctgagactactactactctatccctcaagtcacgct caccatctcaaaggacaacttaagaatcagggtgctactg aaactgtcatctgtagccgagccgacaccgctgtact attgctgaagcattactattatggcgggagctacgcaatg gattactgggacagggtagctggtcaccgtgaccagca ccactacccagcagcaggccaccaccccgctccta ccatcgctcccagcctctgctcctgctcgggagcatgt agaccgcagctggtggggccgtgcatacccggtctt gactcgcctgcgatatctacattgggccctctggctggtg ctgctgggtcctgctgcttactcgtgatcactcttactgta agcgcgggtcggagaagctgctgacatcttaagcaacc ctcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacgg ctgtcatgcccgttcccagaggaggaggaagcggctg cgaactgcgctgaaatcagccgagcgcagatgctcc agcctaccagcaggggaggaaccagctctacaacgaac tcaatctggtcggagagaggtagcagctgctggaca agcggagaggacgggacccagaaatggcggggaagc cgcgagaaagaatcccaagaggcctgtacaacga gctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaggcca cgacggactgtaccagggactcagaccgccaccaagg acacctatgagctctcaatgacagccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 1100)</p>
<p>SP-接头 6 - ERmut2 - 弗林蛋白 酶切割位点 3 - CD19 CAR2</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPQ SLALSLTADQMVSALLDAEPPI LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLTLHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQKGCVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQQHQLAQLLLILSHIRHM SNKRMEHLYSMKCKNVVPLS</p>	<p>atggccctccctgtcaccgcccctgctgctccgctgctctt tgcctccacgcccctcggccccagTcgttgacatttccctg actcgcgaccagatggtgtccgcccttctggagcggcagc ctccaattctgactcggagtagatccgactcggccgtct ccgaagccagcatgatgggcccgttgactaacctggcgg acccgaggtggtgcacatgataactgggctaagcgggt gccgggctcgtggacctgacctgcacgaccaagtga cctcctggaatgcgctgtaggaaatcctcatgatcgcc tctgtggagatccatggagcatcccggaaagctcctgtt gcaccaacctcctgctgatcgaaccagggaaaaatgc gtggaaggggtgtcgagatttcgacatgctgctcggcac ctctcccgggtccggatgatgaatctgcaggagagaagag</p>

[1346]

	<p>DLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRREIVMTQSPATLSLSPG ERATLSCRASQDISKYLWYQ QKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIP ARFSGSGSDTYLTISSLQP EDFAVYFCQQGNTLPYTFGQ GTKLEIKGGGSGGGSGGG GSQVQLQESGGLVLPSETL SLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQ PPGKGLEWIGVIWGSETTYYS SSLKSRVTISKDNSKNQVSLK LSSVTAADTAVYYCAKHYYG GSYAMDYWGQGLVTVSSTT TPAPRPPTPAPTIASQPLSLRP EACRPAAGGAVHTRGLDFAC DIYIWAPLAGTCGVLLLSLVTL YCKRGRKLLYIFKQPFMRPV QTTQEEDGCSCRFPSEEEEGG CELRVKFSRSADAPAYQQGQ NQLYNELNLGRREEYDVLK RRGRDPEMGGKPRRKNPQE GLYNELQKDKMAEAYSEIGMK GERRRGKGDGLYQGLSTAT KDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 1041)</p>	<p>tcgtgtctgaagtcaatcatcctgctgaactccggggtct atacctcctgagctcgaccctcaagtcactggaggaaaa agaccacatccatcgctgctcgataagatcaccgacac ccttatccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaac agcagcaccagagggctggccagttgctgctgattctgag ccacatccggcacatgtcgacaagaggatggaacacc tgtacagcatgaagtcaagaacgtgctgctctgctcgat ctgctcctggaatgtcggacgacagactcGggacg ggagctgaagatccacgaccagcagaaagcgacggg aaattgtgatgaccagtcacccgacctctagccttcac ccgggtgagcgcgcaaccctgtctgagagcctccaag acatctcaaaataccttaattggtatcaacagaagcccg acaggctcctgcctctgatacaccacagcgggctcc attctggaatccctgcccaggtcagcggtagcggatctgg accgactacacctcactatcagctcactgacggcagag gacttctgctctatttctgtagcaagggaaacacctgccc tacaccttgagacagggcaccaagctcgagattaagggtg gagggtggcagcggaggagggtgggtccggcggtggagg aagccaggtccaactccaagaaagcggaccgggtctgt gaagccatcagaaactcttactgactgtactgtgagcg gagtgtctctcccgattacgggggtgcttgatcagacag ccaccggggaagggctggaatggattggagtgattggg gctctgagactactactctcactcctcaagtcacgct cacatctcaaggaacttaagaatcaggtgtcactg aaactgtcatctgtgaccgagccgacaccgctgtact attgctgaagcattactattatggcgggactacgcaatg gattactggggacagggactctgtgaccgtgtccagca ccactaccagcagcagggccaccaccccggtccta ccatcgctcccagcctctgctcctgctcgggaggtatg agaccgcagctgggtggggccgtgataccggggctct gactcgcctgagatctacattggcccctctggctgta ctgcccgggtcctgctcttactcgtgatcactcttaactgta agcgggtcggagaagcgtcgtacatcttaagcaacc ctcatgaggcctgtgacactactcaagaggaggacgg ctgtcatgcccgttccagaggaggaggagggcgctg cgaactgcgctgaaatcagccgagcgcagatgctcc agcctaccagcaggggagaaaccagctctacaacgaac tcaatcttggtcggagagaggagtacgactgctggaca agcggagaggacgggacccagaaatggcggggaagc cgcgagaaagaatcccaagagggcctgtacaacga gctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaaagggcaaggcca cgacggactgtaccagggactcagaccgccaacagg acacctatgacgctctcatatgcaggccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 1101)</p>
<p>SP-接头 6 - ERmut1 - 弗林蛋白 酶切割位点 2 - CD123 CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLHAARPQ SLALSLTADQMVSALLDAEPP LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLALHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFSSLTKSLEEKD LQQHQRLAQLLLILSHIRHM SSKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRSLGVDGQVQLVQSGA EVKKPGASVKVSCASGYTFT</p>	<p>atggccctccctgtcaccgcccctgctgctcctgctgctctc tgctccaagcgcctcggccccagctggtggcacttccctga ctgcccagcagatggtgtccgccccttggacgcccagcc tcaattctgtactcggagtagatccgactcggcctctc cgaagccagcatgatggcctgtgactaacctggcggga ccgaggtggtgcacatgataactgggtaagcgggtg ccgggctcgtggacctggccctgcacgaccaagtgcac ctcctggaatgcgctggtgaaatcctcatgatcggcct cgtgtggagatccatggagatcccggaaagctcctgtttg caccacacctcctgctgtagcgaaccagggaaaatgctg ggaagggggtgctgagatttgcagatgctgctgccacct ctcccgggtccggatgataatctgaggggagaagagttc gtgtgtcgaagtcaatcatcctgctgaactccgggtctat acctcctgagctcagccctcaagtcactggaggaaaaa gaccacatccatcgctgctcgataagatcaccgacacc</p>

[1347]

	<p>GYMHWVRQAPGQGLEWM GWINPNSGGTNYAQKFQGRV TLTRDTSISTVYMELSLRSD DTAVYYCARDMNILATVPFDI WGQGTMTVTVSSGGGSSGGG GSGGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVITICRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGDFTLTV NSLQPEDFATYYCQQGDSVP LTFGGGTRLEIKTTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYWAPL AGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK KLLYIFKQPFMRPVQTTQEED GCSCRFPEEEEGGCELRVKF SRSADAPAYQQGQNQLYNEL NLGRREEYDVLDRRGRDPE MGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDAL HMQUALPPR (SEQ ID NO: 1042)</p>	<p>cttatccatctcatggcgaaggctggactgaccctgcaaca gcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgagc cacatccggcacatgtcgtccaagaggatggaacacctg tacagcatgaagtgaagaacgtcgtgctctgtccgatct gctcctggaaatgctggacgcgcacagactcggaaccg gcgcggaagacccccggcctccaggaagcgaaggc cctcgagagcgtgggtcaagtgaactcgtcgaagcgg agcggagtaagaacccggagcagcgtgaaagt tcctgcaagcctccgctacacctttacgggctactacat gcactgggtgcgccaggcaccaggacagggtctgaatg gatgggatggatcaaccctaattcggggcgaactaactac gcacagaagtccaaggggagagtgactctgactcgggat acctcatcactgtctcatggaactctcccgttcggg tcagatgatacggcagtgactactcgcgcccgacatga atatcctggtaccgtgcccgtcagacatctgggacaggg gactatggtactgtctcatcgggagggtgagggtcaggag gaggcggctcgggaggcggagggtcggacattcagatg acccagtcctcctctctgtcggccagcgtcggagata gggtgaccattacctgtcgggcccctcgaagcatctcctc tacctcaactggtatcagcaaaagccgggaaaggcgct aagctgctgactacgcgcttcgagcttgcgaagcgggg tgccatccagattctcgggatcaggctcaggaaaccgactc accctgaccgtgaacagcctccagcggaggacttgc acttactactgcccaggggagactcctgcccgttacttcc ggggggggtaccgcctggagatcaagaccactacccc agcaccgaggccaccaccccgcctctaccatcgctc ccagcctctgtccctgctcgggaggtgtagaccgca gctggtggggcgtgcataaccgggggtcttgactcgcctg cgatactacattggcccctcggctggtacttgcgggt cctgctgttactcgtgatacacttactgtaagcgggtc ggaagaagctgctgatactttaaagcaaccctcagagg cctgtgcagactactcaagaggagcggctgttcatgcc ggtcccagaggagggaaggcggctgcaactgcgc gtgaaattcagccgcagcagatgctccagcctaccag caggggcagaaccagctctacaacgaactcaatctggt cggagagaggagtacgactgctggaagcggagag gacgggacccagaaatggcggggaagccgcagaa agaatccccaagaggcctgtacaacgagctccaaaag gataagatggcagaagcctatagcagattggtatgaaa ggggaacgcagaagaggcaagccagcagcactg accagggactcagcaccgccaccaaggacacatgac gctctcacatgacggccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 1102)</p>
<p>SP-接头 6 - ERmut2 - 弗林蛋白 酶切割位点 2 - CD123 CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPQ SLALSLTADQMVSALLDAEPI LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLTLHDQVHLLLECAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMAKAGLT LQQQHQLRAQLLLILSHIRHM SNKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRSLGDVGVQVLVQSGA EVKPKGASVKVSCASGYTFT GYMHWVRQAPGQGLEWM GWINPNSGGTNYAQKFQGRV</p>	<p>atggccctccctgtcaccgcccctgctgctccgctggtcttc tgcctcacgcgctcggccccagTcgttgacattccctg actccgaccagatgggtccgcccctctggacgcccagc ctcaattctgtactcggagtacgatccgactcggcgttct ccgaagccagcatgatggcctgtgactaacctggcgg accgagagttggtcacatgataactgggtaagcgggt gccgggctcgtggacctgacctgcacgaccaagtga cctcctggaatgcgctggatggaatcctcatgatcggcc tcgtgtggagatccatggagatcccggaaagctcctggtt gcaccaacctcctgctgatcgaaccagggaatgc gtggaagggggtgctgagatttcgacatgctgctcgcac ctctcccgggtccggatgataatcgcagggagaagagt tcgtgtctgaagtcaatcctgctgaaactccggggtct atacctcctgagctgaccccaagtcactggaggaaaa agaccacatccatcgcgtgctcgataagatcaccgacac ccttatccatctcatggcgaaggctggactgacctgcaac agcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgag</p>

[1348]

	<p>TLTRDTSISTVYMELSRRLRSD DTAVYYCARDMNILATVPFDI WGQGTMTVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCRASQSISSYLN WYQQKPKGKAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFLTV NSLQPEDFATYYCQQGDSVP LTFGGGTRLEIKTTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYWAPL AGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK KLLYIFKQPFMRPVQTTQEED GCSCRFPEEEEGGCELRVKF SRADAPAYQQGQNQLYNEL NLGRREEYDVLDRRGRDPE MGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDAL HMQALPPR (SEQ ID NO: 1043)</p>	<p>ccacatccggcacatgtcgaacaagaggatggaacacc tgtacagcatgaagtgaagaacgctgctctgtccgat ctgctcctggaatgtcggacgagcacagactcggaaacc ggcgcggaagacccccggccctccaggaagcgaaggt ccctcggagacgtgggtcaagtgaactcgtcgaagcg gagcgggaagtcaagaaacccggagcgcgctgaaagt gtcctgcaagcctccggctacaccttacgggtactaca tgactgggtgcgccaggcaccaggacagggtcttgaat ggatgggatggatcaaccctaattcgggcggaactaacta cgcacagaagttccaggggagagtgactctgactcggga tacctccatctcaactgtctacatggaactcctccgcttgcg gtcagatgatacggcagtgactactcgcggcgacatg aatatcctggctaccgtgcctgtcagatctgggacagg ggactatggtactgtctcgcggcggtggaggtcagga ggaggcggctcgggaggcggaggttcggacattcagat gaccagtcctccatctctctgtcggccagcgtcggagat agggtgaccattactgtcgggctcgcgaagcatctcctc gtacctcaactggatcagcaaaagccgggaaaggcgc ctaagctgctgatctacgcgcttcgagcttgcgaagcgg ggtgcatccagattctcgggatcaggctcaggaaccga cttcaccctgaccgtgaacagcctccagccggaggacttt gccacttactactccagcaggagactcctgctcggctta cttcggggggggtaccgcctggagatcaagaccacta ccccagcaccgaggccaccaccccgctcctaccatcg cctccagcctctgtcctcgtcgggagcatgtagacc gcagctggtggggcgtgcataccggggcttgcactcgc cctgcgatatctacattggcccctctggctgtactgcgg ggtcctgctgcttactcgtgatcactcttactgtaagcgcg gtcgaagaagctgctgtacatcttaagcaaccctcatg aggcctgtgcagactactcaagaggaggcggctgttcat gccggttccagaggagggaaggcggctcgaactg cgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgtccagcctac cagcaggggagcagaaccagcctacaacgaactcaatctt ggtcggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggga gaggacgggaccagaaaatgggcgggaagccgcgca gaaagaatcccaagaggcctgtacaacgagctcaa aaggataagatggcagaagcctatagcagattggtatg aaaggggaacgcagaagaggcaaggccacgacgg actgtaccagggactcagcaccgccaagacacct atgacgctctcacatgcaggccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 1103)</p>
<p>SP-接头 6 – ERmut1 – 弗林蛋白 酶切割位点 3 – CD123 CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPQ SLALSLTADQMVSALLDAEPP LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLALHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMHEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQQHQLAQLLLILSHIRHM SSKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRQVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCASGYTFTGYMH WVRQAPGGGLEWGWIPN SGGTNYAQKFQGRVTLTRDT SISTVYMELSRRLRSDDTAVYY CARDMNILATVPFDIWGQGT MTVTVSSGGGGSGGGGGSGGGG</p>	<p>atggccctccctgtcaccgcccctgctgcttccgctgctctt tgctccacgcccctcggccccagctgctggcactttccctga ctgcccagcagatggtgtccgcccctctcggacgagcgcct ccaattctgtactcggagtacgatccgactcgccttctcc gaagccagcatgatgggctgttgactaacctggcggacc gcgagttggtgcacatgattaactgggctaagcgggtgccc ggcttctgtagcctggcctgcacgaccaagtgcacctct ggaatgcgcctggatgaaatcctcatgatcggcctcgtgt ggagatccatggagatcccggaaagctcctgtttgacccc aacctcctgctgatcgaaccagggaaaatgcgtggaag ggggtgtcagatcttcgacatgctgctcgcacctctccc ggttccgatgatgaatctgcagggagaagattcgtgtgt ctgaagtcaatcatcctgctgaactcggggtctatacctt ctgagctcgcacctcaagtactggaggaaaaagaccaca tccatcgcgtgctcgaatgatcaccgacaccttatccatc tcatggcgaaggctggactgacctgcaacagcagcacca gaggctggcccagttgctgctgattctgagccacatccggc</p>

[1349]

	<p>SDIQMTQSPSSLSASVGDVRT ITCRASQSISSYLNWYQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTVNSLQPEDFA TYYCQQGDSVPLTFGGGTRL EIKTTTTAPRPPTPAPT ASQPLSLRPEACRPAAGG AVHTRGLDFACDIYIWAPLA GTCGVLLLLSLVITLYCKRGR KLLLYIFKQPFMRPVQTTQ EEDGCSCRFPFFFFFFGGCE LRVKFSRSADAPAYQQGQ NQLYNELNLGRREEYDVL KRRGRDPEMGGKPRRKNP QEGLYNELQKDKMAEAYS EIGMKGERRRGKGDGLY QGLSTATKDTYDALHMQUAL PPR (SEQ ID NO: 1044)</p>	<p>acatgtcgtccaagaggatggaacacctgtacagcatgaa gtgcaagaacgtcgtgctctgtccgatctgctcctgaaat gctggacgcgcacagactcggaaaccggcgcggaagacc ccggccctccaggaagcgaagcaagtcaactcgtccaa agcggagcggagtaagaaccggagcgcagcgtgaaa gtgtcctgcaaagcctccggctacacctttacgggctactac atgcactgggtgcgccaggcaccaggacagggtcttgaat ggatgggatggatcaaccctaattcgggcggaactaacta cgcacagaagttccaggggagagtactctgactcgggat acctccatctcaactgtctacatggaactctcccgttgcgg tcagatgatacggcagtgactactgcgccgcgacatgaa tatcctggctaccgtgctgacatctggggacagggga ctatggttactgtctcatcgggcggtggaggtcagaggga ggcggctcgggagcggaggttcggacattcagatgacc agtccccatcctctgtcggccagcgtcggagatagggtg accattactgtcgggcctcgcaaagcatctcctcgtacctc aactggtatcagaaaagccgggaaaggcgcctaagctgc tgatctacccgcttcagcttcaagcggggtgcctacc agattctcgggatcaggctcaggaaccgactcaccctgac cgtgaacagcctccagccggaggactttgccacttactact gccagcaggagactcctgctccttctcggggggggt acccgctggagatcaagaccactaccagcaccgaggc caccacccggctcctaccatgcctccagcctctgtccc tgctcggaggcatgtagaccgcagctggtggggcgt gcataccggggtcttgactcgcctgcgatctacatttg ggcccctctggctggtacttgcgggctcgtgctttcactc gtgatcactcttactgtaagcgcggtcggagaagctgct gtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagactac tcaagaggaggacggcttcatgcccgttccagaggag gaggaagcggctcgaactgcgctgaaattcagccgca gcgcagatgctccagcctaccagcaggggcagaaccagct ctacaacgaactcaatcttgctcggagagaggagtacgac gtgctggacaagcggagaggacggaccagaaatgggc gggaagccgcgagaagaatcccaagaggcctgtac aacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagc gagattggtatgaaaggggaacgagaagaggcaaaggc cacgacggactgtaccaggactcagaccgccaccaagg acacctatgacgctcttccatgacggccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 1104)</p>
<p>SP-接头 6 - ERmut2 - 弗林蛋白 酶切割位点 3 - CD123 CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPQ SLALSLTADQMVSALLDAEPI LYSEYDPTPRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLTLHDQVHLLLECAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQQHQLRAQLLLILSHIRHM SNKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRQVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSKASGYTFTGYMH</p>	<p>atggcctccctgtcaccgcccctgcttccgctggtcttc tgctccaacgctcgcggccagTcgttgacattccctg actgccgaccagatgggtgctccgctctgagcgcgagc ctcaattctgtactcggagtagatccgactcggccttct ccgaagccagcatgatgggcctgtgactaacctggcgg accgagtggtgacatgataactgggctaagcgggt gccggcctcgtggacctgaccctgcagaccaagtga cctcctggaatgcgctggatggaatctcatgatcggcc tcgttgagatccatggagatcccggaaagctcctggtt gcaccaacctcctgctgatcgaaccagggaatgc gtggaagggggtgctgagatttcgacatgctgctcggc ctctccgggtccggatgataatcgcagggagagagat tcgtgtctgaagtcaatcctgctgaactcggggtct atacctctgagctcgaacctcaagtcactggagggaaa agaccacatccatcgcgtgctcgataagatcaccgacac</p>

[1350]

	<p>WVRQAPGQGLEWMGWINPN SGGTNYAQKFQGRVTLTRDT SISTVYMELSRRLSDDTAVYY CARDMNILATVPFDIWGGQTM VTVSSGGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRV ITCRASQSISSYLNWYQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFLTVNSLQPEDFA TYQCQGGDSVPLTFGGGTRL EIKTTTTAPRPPPTPAPTIASQP LSLRPEACRPAAGGAVHTRG LDFACDIYWAPLAGTCGVLLL SLVITLYCKRGRKLLYIFKQP FMRPVQTTQEEDGCSCRFPE EEEGGCELRVKFSRSADAPA YQQGQNQLYNELNLGRREEY DVLDKRRGRDPEMGGKPRRK NPQEGLYNELQKDKMAEAYS EIGMKGERRRGKGDHGLYQG LSTATKDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 1045)</p>	<p>ccttatccatctcatggcgaaggctggactgaccctgcaac agcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgag ccacatccggcacatgtgaacaagaggatggaacacc tgtacagcatgaagtgaagaacgctgctgctgctccgat ctgctcctggaaatgctggacgacagactcgggacg ggagctgaagatccacgaccagcagaagagcggc aagtgaactcgtccaaagcggagcgggaagtcaagaaa cccggagcagcgtgaaagtgtcctgcaaaagcctccggc tacacctttacgggctactacatgactgggtgcgaccaggc accaggacagggcttgaatggatggatggatcaaccct aattcgggcggaactaactacgcacagaagtccagggg agagtgactctgactcgggatacctccatctcaactgtctac atggaactcctccgcttgccgtcagatgatacggcagtgta ctactgcgcccgcgacatgaatatcctggctaccgtgccgt tcgacatctggggacaggggactatggttactgtctcatcg ggcggtggaggtcaggaggaggcggctcgggaggcg gaggttcggacattcagatgaccagtcctccatcctctctgt cggccagcgtcggagataggggtgaccattacctgtcggg cctcgcaaagcatctcctgtaactcaactggatcagcaa aagccgggaaaggcgcctaagctgctgactacgcgct tcgagctgcaaagcgggggtccatccagattctcgggat caggctcaggaaccgactcaccctgaccgtgaacagcc tccagccggaggactttgccaactactactgaccagcagg agactccgtgcccctactttcggggggggtaccgcctgg agatcaagaccactaccagcaccgaggccaccacc ccggctcctaccatcgctcccagcctctgtccctgctgccc gaggcatgtagaccgcagctggtggggcgtgcatacc cggggcttgactcgcctgcgatactacattgggcccctc tggctggtactgcccggctcctgctgttactcctgctgac tcttactgtaagcgcggtcggagaagagctgctgtacatctt aagcaaccctcatgaggcctgtgcagactcaagag gaggacggctgtcatgccggttcccagaggaggagaa ggcggtgcgaactgcgctgaaattcagccgcagcgc agatgctccagcctaccagcaggggcagaaccagctcta caacgaactcaatctggtcggagagaggagtacgacgt gctggacaagcggagagagcgggaccagaaatgggg gggagccgcgagaaagaatcccagaggcctgt acaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctat agcgagattggtatgaaggggaacgcagaagaggca aaggccacgacgactgtaccagggactcagcaccgcc accaaggacacctatgacgctctcaatgcaggccctgc cgctcgg (SEQ ID NO: 1105)</p>
<p>SP-接头 6 - ERmut1 - 弗林蛋白 酶切割位点 2 - BCMA CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPQ SLALSLTADQMVSALLDAEPI LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLALHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQHQRLAQLLLILSHIRHM SSKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRRSLGDVGEVLVESGG GLVQPGGSLRLSCAVSGFALS NHGMSWVRRAPGKGLEWVS GIVYSGSTYYAASVKGRFTISR DNSRNTLYLQMNSLRPETA YYCSAHGGESDVWGQTTVT</p>	<p>atggccctccctgtcaccgcccctgctgctccgctgctctc tgctccacgcccgtcggcccagTcgttgccactttccctg actgccgaccagatggtgtccgccctctggacgcccagc ctccaattctgtactcgggagtagatccgactcggccgttct ccgaagccagcatgatgggctgttgactaacctggcgg accgaggtggtgcacatgattaactgggctaagcgggt gccgggctcgtggacctggccctgcacgaccaagtgc cctcctggaatgcccctggatggaatcctcatgatcggcc tegtgtggagatccatggagcatcccgaagactcctggtt gcaccaacctcctgctgatcgcaaccagggaatgc gtggaagggggtgctgagatttgcagatgctgctcggcac ctctccgggtccggatgatgaatctgcagggagaagagt tegtgtctgaagtcaatcatcctgctgaaactcgggggtct atacctcctgagctgcacctcaagtcactggaggaaaa agaccacatccatcgcgctgctgataagatcaccgacac ccttatccatctcatggcgaaggctggactgaccctgcaac agcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgag ccacatccggcacatgtgtccaagaggatggaacacct gtacagcatgaagtgaagaacgctgctgctcctgctccgat</p>

[1351]

	<p>VSSASGGGGSGGRASGGGG SDIQLTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQSISSYLNWYQQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFLTISLQPEDFA TYQCQSYSTPYTFGQGTKV EIKTTTTAPRPPPTPAPTIASQP LSLRPEACRPAAGGAVHTRG LDFACDIYWAPLAGTCGVLLL SLVITLYCKRGRKLLYIFKQP FMRPVQTTQEEDGCSCRFPE EEEGGCELRVKFSRSADAPA YQQGQNQLYNELNLGRREEY DVLDKRRGRDPEMGGKPRRK NPQEGLYNELQKDKMAEAYS EIGMKGERRRGKGDGLYQG LSTATKDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 1046)</p>	<p>ctgctcctggaatgctggacgcgcacagactcggaaacc ggcgcggaagacccccggccctccaggaagcgaagg ccctcggagacgtgggtgaagtgaattggtggaatcag ggggaggactgtgcagcctggaggatcgtgagactgtc atgtccgtgtccggcttgcctgtccaaccacgggatgtc ctgggtccgcccgcgcctggaaggggcctcgaatgggt gtcgggtattgttacagcggtagcacctactatgccgat ccgtgaaggggagattcaccatcagccgggacaactcc aggaacactctgtacctcaaatgaattcgtgaggccag aggacactgccatctactactgtccgcgatggcggaga gtccgacgtctggggacaggggaccacgtgaccgtgtc tagcgcgtccggcggaggcggcagcgggggtcgggcat cagggggcggcggatcggacatccagctcaccagctcc ccgagctcgtctccgctcctgggagatcgggtacca tcacgtgcccgcgcagccagtcgatttctcctaccta ggtaaccaagaagcccggaaaagccccgaagctctc atctacgcgcctcagcctcagtcaggagtgccctcac ggttctccggctccgggtccggtactgatttaccctgacat ttcctccctgcaaccggaggactcgtactactactgcca gcagtcgtactccacccctacacttctggacaaggcacc aaggtcgaaatcaagaccactacccagcaccgaggcc accacccccggctcctaccatgcctcccagcctctgtccc tgctccggaggcatgtagaccgcagctgggtgggccc tgataaccggggcttgactcgcctgcgatactacattg ggcccctctggctgacttgcgggctcgtcttctactc gtgatcactcttactgtaagcgcggtcggagaagctgt gtacatcttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagacta ctcaagaggaggacggctgtcatgcccgttccagagg aggaggaaggcggctgcgaactgcgctgaaattcagc cgagcgcagatgtccagcctaccagcagggggcagaa ccagctctacaacgaactcaatctgttcggagagagga gtacgacgtctggacaagcgggagagcgggacca gaaatgggcccgaagcgcgcagaaagaatccccaa agggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggca gaagcctatagcagattggtatgaaaggggacgcag aagaggcaaaaggccacgacggactgtaccagggactc agcaccgccaccaaggacacatgacgctcttcatatg caggccctgcccctcgg (SEQ ID NO: 1106)</p>
<p>SP-接头 6 - ERmut2 - 弗林蛋白 酶切割位点 2 - BCMA CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPQ SLALSLTADQMVSALLDAEPPI LYSEYDPTPRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLTLHDQVHLLLECAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMAKAGLT LQQQHQLAQLLLILSHIRHM SNKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLEMLDAHRLGTGAEDPRP <u>SRKRRSLGDVGEVQLVESGG</u> GLVQPPGSLRLSCAVSGFALS NHGMSWVRRAPGKGLEWVS GIVYSGSTYYAASVKGRFTISR DNSRNTLYLQMNSLRPEDTAI YYCSAHGGESDVWGGTTVT VSSASGGGGSGGRASGGGG SDIQLTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQSISSYLNWYQQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS</p>	<p>atggccctccctgtcacccctcgtctcctcgtgctctc tgctccaacgcccctcggccccagTcgttggcacttccctg actcggaccagatgggtcggcctcctggacgcccgagc ctccaattctgtactcgggtagcatccgactcggccgtct ccgaagccagcatgatgggctgtgactaacctggcgg accgaggtggtgcacatgattaactgggctaagcgggt gccgggctcgtggacctgacctgcacgaccaagtgc cctcctggaatgcccctggatggaatcctcatgatcggcc tcgtgtggagatccatggagatcccggaaagctcctgtt gcaccaacctcctgctgatcgcaaccaggggaaaatgc gtggaaggggggtgcgagatttgcagatgctcgtcggcac ctctccgggtccggatggaatctgcagggagaagagt tcgtgtctgaagtcaatcatcctgctgaactcgggggtct atacctcctgagctcgacctcaagtactggaggaaaa agaccacatccatcgcgtgctcgataagatcaccgacac ccttatccatcctatggcgaaggctggactgacctgcaac agcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgag ccacatccggcacatgctgaacaagaggatggaacacc gtacagcatgaagtgaagaacgctgctcctcgtccgat ctgctcctggaatgctggacgcgcagacgactcggaaacc ggcgcggaagacccccggccctccaggaagcgaagg ccctcggagacgtgggtgaagtgaattggtggaatcag ggggaggactgtgcagcctggaggatcgtgagactgtc</p>

[1352]

	<p>GS GSGTDFLT ISSLQPEDFA TY YCQQSYSTPYTFGQGTKV EI KTTTT PPRPPTPAPT IASQP LS LRPEACRPAAGGAVHTRG LD FACDIYWAPLAGTCGVLLL SL VITLYCKRGRKLLYIFKQP FM RPVQTTQEEDGCSCRFPE EE EGGCEL RVKFSRSADAPA YQ QGQNQLY NELNLGRREEY DV LDKRRGRDPEMGGKPRRK NP QEGLYNELQKDKMAEAYS EI GMKGERRRGKGDGLYQG LS TATKDTYDALHMQUALPPR (S EQ ID NO: 1047)</p>	<p>atgtgccgtgtccggcttgccctgtccaaccacgggatgtc ctgggtccgccgcgcctggaaagggcctcgaatgggt gtcgggatgtgtacagcggtagcacctactatgcgcgat ccgtgaaggggagattcaccatcagccgggacaactcc aggaacactctgtacctccaaatgaattcgtgagccag aggacactgccatctactactgtccgcgatggcggaga gtccgacgtctggggacaggggaccaccgtgaccgtgtc tagcgcgtccggcggaggcggcagcgggggtcgggcat cagggggcggcggatcggacatccagctcaccagctcc ccgagctcgtctccgcctccgtgggagatcgggtacca tcacgtgccgcgcagccagctcattctcctacctaact ggtaccaacagaagcccggaaaagcccgaagctctc atctacgcgcctcagctcgtcagtcaggagtgccctcac ggttctccggctccggtccggtagctattcaccctgacat ttctccctgcaaccggaggactcgtactactactgcca gcagtcgtactccacccctacatttggacaaggcacc aaggtcgaaatcaagaccactaccagcaccgaggcc accaccccggctcctaccatcgcctcccagcctctgtccc tgcgtccggaggcatgtagaccgcagctgtggggccg tgcataccggggtctgactcgcctgcgatactacattg ggcccctctggctggtactgctgggctcgtcttctactc gtgactactcttactgtaagcgcggctcgaagaagctgct gtacatctttaagcaaccctcatgaggcctgtgcagacta ctcaagaggaggacggctgtcatgccggtccagagg aggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagc cgcagcgcagatgtccagcctaccagcaggggcagaa ccagctctacaacgaactcaatcttgctcggagagagga gtacgacgtctggacaagcggagagggacgggaccca gaaatggggcgggaaagccgcgcagaaagaatcccaag aggcctgtacaacagctccaaaaggataagatggca gaagcctatagcagattggtatgaaaggggaaagcag aagaggcaaaagccacgcggactgtaccagggactc agcaccgccaccaaggacacatgacgctctcacatg caggccctgccgcctcgg (SEQ ID NO: 1107)</p>
<p>SP-接头 6 - ERmut1 - 弗林蛋白 酶切割位点 3 - BCMA CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPQ SLALS LTADQMVSALLDAEPII LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLALHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQGKCVEGGVEIFDMLLA TSSRFRMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQQHQLAQLLLILSHIRHM SSKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRREVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAVSGFALS NHGMS WVRRAPGKGLEWVSGIVYSG STYYAASVKGRFTISRDN SRN TLYLQMNSLRPEDTAIYYCSA HGGESDVWGQTTVTVSSAS GGGSGGRASGGGSDIQLT QSPSSLSASVGD RVTITCRAS QSISSYLNWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGS G TDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QSYSTPYTFGQGTKVEIKTTT PAPRPPTPAPT IASQPLSRPE ACRPAAGGAVHTRGLDFACDI</p>	<p>atggccctcctgtcacccctcgtctcctccgctgctctc tgctccaagcgcgcctcggccccagTcgttgacattccctg actcgcgaccagatgggtccgcccctctggacgcgcgagc ctccaattctgtactcgggagtagatccgactcgcgcggtct ccgaagccagatgatgggcctgttgactaacctggcgg accgcgagttggtgcacatgattaactgggctaagcgggt gccgggctcgtggacctggcctgcacgcagcaaccaagtgca cctcctggaatgcgcctggatggaaatcctcatgatcggcc tcgtgtggagatccatggagcatcccggaaagctcctgttt gcaccaacctcctcgtgatgcgaaccagggaaaaatgc gtggaagggggtgctgagatttcgacatgctgctcgcac ctctcccggtccggatgatgaatctgcaggagagaagagt tcgtgtctgaagtcaatcatcctcgtcgaactccggggtct atacctcctgagctgcaccccaagtcactggaggaaaa agaccacatccatcgcgtgctcgaataagatcaccgcac cctatccatctcatggcgaaggctggactgaccctgcaac agcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgag ccacatccggcacatgctgccaagaggatggaacacct gtacagcatgaagtgaagaaagctgctcctctgtccgat ctgctcctggaatgctggacgcgcacagactcGggacg ggagctgaagatccacgaccagcagaaagcgcagcggg aagtgc aattggtggaatcagggggaggactgtgcagc ctggaggatcgtgagactgtcatgtccgtgtccggctttg cctgtccaaccacgggatgtcctgggtccgcgcgcgcgc tggaaagggcctcgaatgggtgcgggtattgtgacagc ggtagcacctactatgcgcgatccgtgaaggggagattca ccatcagccgggacaactccaggaaactcgtgtacctcc</p>

[1353]

	<p>YIWAPLAGTCGVLLLLSLVITLY CKRGRKLLYIFKQPFMRPVQ TTQEEDGCSCRFPEEEEEGGC ELRVKFSRSADAPAYQQGQN QLYNELNLGRREEYDVLDKR RGRDPEMGGKPRRKNPQEG LYNELQKDKMAEAYSEIGMKG ERRRGKGDGLYQGLSTATK DTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 1048)</p>	<p>aaatgaattcgctgagccagaggacactgcatctacta ctgctccgcgcatggcggagagtcggacgtcggggaca ggggaccaccgtgaccgtgtctagcgcgtccggcggag gcggcagcgggggtcgggcatcagggggcggcggatc ggacatccagctcaccagtcaccgagctcgtctccgct tccgtgggagatcgggtaccatcacgtgccgcgaccgc cagtcgatttctcctactgaactggtaccaacagaagcc cggaaaagccccgaagcttctctacgccgctcgag cctgcagtcaggagtgccctcaggttctccggctccggtt ccggtactgattcaccctgaccatttctcctcgcaaccgg aggactcgcacttactactgcccagcagtcgactccacc ccctacactttcggacaaggcaccaggctgaaatcaag accactaccagcaccgagccaccaccggctcct accatcgctcccagcctctgtccctcgtccggaggcatg tagaccgcagctggtggggcgtgcataccggggctt gactcgcctcgcgatactcattggggccctctggctgta ctgcggggtcctcgtcttctactcgtgatcactttactgta agcgcggtcggagaagctgctgtacatcttaagcaacc ctcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacgg ctgtcatgcccgttccagaggaggaggaggcggctg cgaactgcgctgaaatcagccgcagcgcagatgctcc agcctaccagcaggggcagaaccagctcaaacgaac tcaatcttgctcggagagaggagtagcagctgctggaca agcggagaggacgggaccagaaatggggcgggaagc cgcgcaaaagaatcccaagaggcctgtacaacga gctcaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggcca cgacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaagg acacctatgacgctcttcatgacggccctcgcgctcg g (SEQ ID NO: 1108)</p>
<p>SP-接头 6 - ERmut2 - 弗林蛋白 酶切割位点 3 - BCMA CAR</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPQ SLALSLTADQMVSALLDAEPII LYSEYDPTRPFSEASMMGLLT NLADRELVHMINWAKRVPGF VDLTLHDQVHLLCAWMEILM IGLVWRSMEHPGKLLFAPNLL LDRNQKCVVEGGVEIFDMLLA TSSRFMMNLQGEFVCLKSI ILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKD HIHRVLDKITDTLIHLMKAGLT LQQQHQRQLAQLLLILSHIRHM SNKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRLGTGAEDPRP SRKRREVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAVSGFALSNGMS WVRAPGKGLEWVSGIVYSG STYYAASVKGRFTISRDNDRN TLYLQMNSLRPEDTAIYYCSA HGGESDVWGQTTVTVSSAS GGGSGGRASGGGSDIQLT QSPSSLSASVGDRTITCRAS QSISSYLNWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGS TDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QSYSTPYTFGGGTKVEIKTTT PAPRPPTPAPTIASQPLSLRPE ACRPAAGGAVHTRGLDFACDI YIWAPLAGTCGVLLLLSLVITLY CKRGRKLLYIFKQPFMRPVQ TTQEEDGCSCRFPEEEEEGGC ELRVKFSRSADAPAYQQGQN</p>	<p>atggcctccctgtcaccgcccctgctcctccgctgctctt tgctccacgcgctcggccccagTcgttgcactttccctg actgccgaccagatgggtgccctctggacgcccagc ctccaattctgtactcggagtagatccgactcggccttct cgaagccagcatgatgggcctgtgactaacctggcgg accgcgagttggtgcacatgattaactgggctaagcgggt gccgggctcgtggaccctgaccctgcacgaccaagtga cctcctggaatgcgcctggatggaatctcatgatcgcc tctgtggagatccatggagatcccggaagctcctggtt gcaccaacctcctgctgatcgcaaccagggaaaatgc gtggaaggggtgctgagatttgcagatgctgctgcacc ctctccgggtccggatgatgaatcgcagggagaagagt tctgtgtctgaagtcaatcatcctgctgaactccgggtct atacctcctgagctgcacctcaagtcactggagggaaa agaccacatccatcgctgctcgataagatcaccgacac ccttatccatctcatggcgaaggctggactgaccctgcaac agcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgag ccacatccggcacatgcaacaagaggatggaacacc gtacagcatgaagtgcagaacgctgctcctctgcccgat ctgctcctggaatgctggacgcgacagactcgggacg ggagctgaagatccacgaccagcagaagagcagcggg aagtgaattggtggaatcagggggaggactgtgcagc ctggaggatcgtgagactgtcatgtccgtgctccgctt ccctgccaaccacgggatgctcctgggtccgcccgcgccc tggaaagggcctcgaatgggtgctgggtattgtgtacagc ggtagcacctactatgccatccgtgaaggggagattca ccatcagcgggacaactccaggaaactctgtactctcc aatgaattcgctgagggcagaggacactctgactacta ctgctccgcgcatggcggagagtcggacgtcggggaca ggggaccaccgtgaccgtgtctagcgcgtccggcggag gcggcagcgggggtcgggcatcagggggcggcggatc</p>

[1354]

	<p>QLYNELNLGRREEYDVLDR RGRDPEMGGKPRRKNPQEG LYNELQKDKMAEAYSEIGMKG ERRRGKGDGLYQGLSTATK DTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 1049)</p>	<p>ggacatccagctcaccagctccccgagctcgtctccgcc tccgtgggagatcgggtcaccatcacgtgccgcgaccagc cagtcgatttctcctacctgaactggtaccaacagaagcc cggaaaagccccgaagcttctcatctacgcccctcagag cctgcagtcaggagtgccctcacggttctccggctccggtt ccggtactgattcaccctgaccatttctccctgcaaccgg aggactcgtactactactgcccagcagctgactccacc ccctacacttccgacaaggcaccaaggcgaatcaag accactacccagcaccgagggcaccaccaccggctcct accatcgctcccagcctctgtccctgctccggaggcatg tagaccgcagctggtggggcgtgcatacccggttctt gactcgcctgcgatatactacattgggccctctggctgta cttgcgggtcctgctgcttctactcgtgatcactttactgta agcgcggtcgaagaagctgctgtacatcttaagcaacc cttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacgg ctgtcatgccggtcccagaggaggaggaggcggctg cgaactgcgctgaaattcagccgagcgcagatgctcc agcctaccagcaggggcagaaccagcttacaacgaac tcaatcttggtcggagagaggagtacgagctgctggaca agcggagaggacgggaccagaaatgggcgggaagc cgcgcaaaaagaatcccaagaggcctgtacaacga gtccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgaga ttggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaagcca cgacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaagg acacctatgacgcttccatgcagggcctgcccctcgg (SEQ ID NO: 1109)</p>
--	---	---

[1355] 实施例29:暂时受控的总B细胞耗尽。

[1356] 现在描述这些实验中使用的材料和方法。

[1357] 构建包含自杀基因的CAR构建体。使用FMC63 (抗CD19) 单链可变片段 (scFv) 的构建体使用前述的载体 (带人EF1 α 启动子的pRRLSIN.cPPT. 目的基因-WPRE), 其中针对胱天蛋白酶-9表达如下修饰所述载体:

[1358] 1. 为了表达FMC63-bbz CAR的3'的诱导型胱天蛋白酶-9, 将跨膜结构域和胞质尾通过用EcoRV和Sal I消化来移除并且替换为基因块 (IDT), 所述基因块编码相同的跨膜结构域和胞质尾, 后接2A位点和FKBP12F36V, 随后接短GS-接头和胱天蛋白酶-9原分子结构域。

[1359] 2. 为了表达FMC63-bbz CAR的5'的诱导型胱天蛋白酶-9, 将信号肽和FMC63 scFv的部分通过用Xba I和Tth111I消化移除并替换为基因块 (IDT), 所述基因块编码与1所述相同的诱导型胱天蛋白酶-9结构域, 后接2A位点和编码原始质粒的先前已移除部分的序列。

[1360] 3. 为了表达FMC63-bbz CAR的3'的可逆型胱天蛋白酶-9, 将跨膜结构域和胞质尾通过用EcoRV和Sal I消化来移除并且替换为基因块 (genart, Thermofisher), 所述基因块编码相同的跨膜结构域和胞质尾, 后接2A位点和2个FKBP12F36M重复序列, 随后接短GS-接头 (SGGS、SEQ IDNO:3036) 和胱天蛋白酶-9原分子结构域。

[1361] 4. 为了表达抗人CD20ScFv, 将FMC63ScFv和CD8铰链区从1-3中描述的构建体移除并替换为编码维妥珠单抗的氨基酸序列的密码子优化基因块 (IDT)。

[1362] 构建包含条件性聚集结构域的CAR构建体。为了表达FMC63-bbz CAR的5'的条件性聚集结构域, 用BamHI在信号肽和ScFv之间切割质粒, 并且在信号肽和ScFv之间插入编码4个FKBP12F36M重复序列 (后接弗林蛋白酶识别序列) 的基因块 (genart)。

[1363] 慢病毒产生。使用第4代包装系统, 产生VSV-G假型化慢病毒粒子。在90%的汇合度

时用复合于Lipofectamine 2000 (Life Technologies)的以下混合物转染293T细胞:pRRLSIN.cPPT.EF1 α -目的基因WPRE、包膜质粒pMD2.G (Addgene#12252)、包装质粒pRSVRev (Addgene#12253)和pMDLgM/pRRE (Addgene#12251)。在24小时和48小时后收获含有慢病毒的上清液,经0.4微米PES膜过滤,在4℃按12,000xg浓缩12小时并储存在-80℃。

[1364] 原代人T细胞的刺激和扩充。在RPMI1640,10%FBS,10mM HEPES,1%青霉素/链霉素中培养原代人T细胞。用抗CD3和抗CD28珠 (Dynabeads,Life Technologies)按珠:细胞比3:1刺激批量T细胞(CD4⁺和CD8⁺)。刺激后24小时,向培养基补充100IU/mL白介素2,将10⁶个T细胞用编码各种CAR构建体或对照构建体的慢病毒粒子转导或模拟转导。通过测量细胞体积和浓度(Coulter计数器,Beckman Coulter)监测T细胞的扩充8-12天。通过流式细胞术(BD LSR II),用针对人或小鼠重链和轻链的多克隆抗体验证CAR构建体的细胞表面表达。CAR染色在室温进行25分钟。全部染色程序均在饱和条件下进行。对于一些实验,转导的T细胞先前冷冻在90%FBS和10%DMSO中。当刺激后细胞静息(即体积<450f1)时进行实验。

[1365] 体外细胞毒性和细胞因子测定法。用⁵¹Cr-释放测定法测试对NaIm-6细胞的体外杀伤。向5x10⁵个靶细胞加载50 μ Ci的Na₂⁵¹CrO₄ (Perkin Elmer)持续90-120分钟,洗涤两次并重悬于含5%FBS的无酚红培养基中。将CAR转导的、对照CAR转导的或模拟转导的T细胞(初始激活后8-10天)与加载的靶细胞按照各种效应子:靶(E:T)比率共温育4小时,并且用MicroBeta2计数器(Perkin Elmer)测量铬向上清液释放。按相同体积分析靶细胞的自发释放(无效应细胞情况下),并且通过用终浓度5%的SDS裂解靶细胞,评估最大释放。特异性裂解百分数=(实验性释放-自发释放)/(最大释放-自发释放)*100。全部实验均重复进行至少3次。

[1366] CD19 CAR T细胞消除。在所示浓度的AP20187存在下,将CD19 sCAR T细胞在37℃温育16小时。将死细胞用活/死-紫染料检测并通过流式细胞术定量。

[1367] CD19 sCAR T细胞体内保留生物效力。将小鼠用IVIG (Privigen,CSL Behring)按剂量600mg/kg i.v.预处理2天,以阻断单核细胞和中性粒细胞上的Fc γ R。随后对NSG小鼠注射1x10⁶个表达叩头虫萤光素酶的CD19⁺ NaIm6细胞,以允许生物发光检测。五天后,用表达诱导型胱天蛋白酶9的5x10⁶个CD19 CAR T细胞或用未转导的对照T细胞处理小鼠。通过眶后采血获得外周血,并且如生产商的说明中所述,使用BD TruCOUNT (BD Biosciences)管,通过流式细胞术确定B细胞和T细胞植入的存在。在注射B细胞后第5、6、7、10、13和18天评估生物发光,这与腹腔内施用IVIG (600mg/kg)组合。根据本地IACUC指南,将小鼠安乐死以收获器官,并且通过流式细胞术评估骨髓样品、脾样品和血液样品。

[1368] 现在描述实验结果。

[1369] 在寻常型天疱疮(PV)和其他抗体介导的疾病中,如果100%完全,则B细胞耗尽应当具有治愈性,因为应当消除致病性B细胞,并且全新B细胞库必须形成。鉴于防止自身免疫性的耐受性检查点众多,不太可能的是B细胞自身反应性将复现。

[1370] CD19 CAR T细胞方案的优点是,它是治疗任何B细胞或抗体介导的疾病的通用方法并且已经在人体临床试验中验证过高度有效耗尽CD19⁺B细胞。因此,疾病的靶抗原无需已知。这个治疗方案可以适用于其中B细胞或它们产生的抗体造成自身免疫性或疾病的任何疾病。此外,CD19 CAR可以用来消除针对非自身蛋白的阻止功能性拯救遗传疾病的同种异体抗体,如来自器官移植物的HLA或 β 2微球蛋白抗体、来自输血或妊娠的血型抗体或Rh抗

体,或因因子VIII、 α -L-艾杜糖苷酸酶和临床上使用或开发的许多其他蛋白质替换疗法。

[1371] CD19 CAR T细胞已经在人临床试验中对B细胞耗尽显示功效,无明显的脱靶细胞毒性,尽管B细胞耗尽为永久性,导致终身免疫抑制。CD20还是B细胞耗尽的临床靶。因此,向抗CD19或抗CD20 CAR设计(sCAR)中并入自杀基因或(借助可逆性自杀盒或CAR的条件性表达)选择性激活CAR-T功能,将会允许时序控制CAR介导的B细胞耗尽作为重要的安全措施。

[1372] sCAR中自杀基因的例子包括人胱天蛋白酶9融合于一种修饰的人FK结合蛋白,其允许在暴露于合成性二聚化药物如AP1903时的条件性二聚化。一旦二聚化,则胱天蛋白酶9激活,导致表达自杀基因的细胞死亡。因此,输注CD19 sCAR T细胞将导致B细胞完全耗尽,这将治愈B细胞介导或抗体介导的疾病。后续用AP1903,AP20187或相似活性剂激活自杀基因将随后消除sCAR T细胞,从而允许B细胞再增殖发生,因而再生正常的免疫功能。revCAR中逆转性自杀基因的例子包括人胱天蛋白酶9融合于一种修饰的人FK结合蛋白,其默认状态是二聚化并导致表达自杀基因的细胞死亡。一旦二聚化结构域增溶,则抑制胱天蛋白酶9活性并阻止细胞死亡,从而允许CAR T细胞功能发生。调节性on-CAR系统的例子包括CAR融合于一种修饰的人FK结合蛋白结构域,其默认状态是二聚化并在细胞的分泌系统中引起蛋白质聚集和降解。二聚化结构域增溶允许CAR运出和在细胞的分泌系统中加工,包括弗林蛋白酶将CAR从FKBP结构域切割,以允许CAR的功能性细胞表面表达。

[1373] 为了评价这些时序控制CAR T细胞功能的方案,将几种构建体工程化;对于一个实施方案,一个构建体在CAR前方具有自杀基因并且一个构建体在CAR构建体后具有自杀基因(图27)。对于另一个实施方案,逆转性自杀基因(或者在CAR构建体前方或在其之后)(图28)。对于又一个实施方案,调节性onCAR(图26)。显示原代人T细胞高效地表达CD19 sCAR、CD19revCAR、和CD20 CAR(图29A-29F),并且CD19 sCAR T细胞对其预期靶展示特异性细胞毒性(图30)。另外,通过用AP20187激活自杀开关,在体外特异性杀伤表达CD19 sCAR的原代人T细胞,而在AP20187处理后,未转导的T细胞未显示细胞死亡(图31)。另外,CD19 sCAR T细胞在体内小鼠模型(图32)和证实的植入(图33)中仍有效消除CD19⁺B细胞。

[1374] 如图34的杀伤测定法中所见,CD20sCAR、20revCAR和CD20 onCAR显示等同和特异的CD20+靶细胞杀伤作用。在500nM Shield-1存在下测试On-CAR。

[1375] 如图35中所见,增溶性FKBP配体(例如shield-1)的不存在抑制CAR功能。在E:T比较低时,如果FKBP配体不存在,On-CAR功能被强烈地抑制。

[1376] 如图36中所见,可以用FKBP配体Shield-1调节CAR表面表达。Shield-1导致CAR表达的剂量依赖性增加,而Shield-1的不存在导致CD20 on-CAR表达减少约60%。

[1377] 如图37中所见,在CD19rev CAR系统中滴定Shield-1并且较低剂量的Shield-1导致胱天蛋白酶-9激活较高及凋亡增加。

[1378] 如图38中所见,对抗CD19 revCAR T细胞中凋亡效率的体内评估显示revCAR T细胞出现充分的体内凋亡(图38)。还评估了CD19 revCAR T细胞的体内功效(图39)。

[1379] 如图40、图41和图42中所见,自杀基因激活导致自杀CAR T细胞的外周耗尽(例如,图42中来自淋巴器官的sCAR T细胞耗尽)。

[1380] 本发明的T细胞产生时间表概述于图43的示意图中并且本发明体内实验的实验设计的示时间表概述于图44的示意图中。

[1381] 如图45中所示,‘通用’sCAR T细胞可以耗尽非自体BT小鼠中的外周B细胞和非癌

症人源化小鼠模型中的人B细胞。另外,图46表明可以用AP1903处理耗尽通用sCAR T细胞。

[1382] 本文所展示的一些实验结果的相关序列如下:

[1383] CD19 sCAR:

[1384] 自杀基因,后为CD19 CAR(核苷酸)

[1385] 自杀基因,后为CD19 CAR(氨基酸)

[1386] CD19 CAR,后为自杀基因(核苷酸)

[1387] CD19 CAR,后为自杀基因(氨基酸)

[1388] CD20 CAR和sCAR:

[1389] CD20bbz CAR(核苷酸和氨基酸)

[1390] CD20 CAR,后为自杀基因(核苷酸和氨基酸)

[1391] 自杀基因,后为CD20 CAR(核苷酸和氨基酸)

[1392] CD19 revCAR:

[1393] CD19 CAR,后为可逆性自杀盒(核苷酸和氨基酸)

[1394] CD19 onCAR:

[1395] CD19 on-CAR(核苷酸和氨基酸)

[1396] CD20 revCAR:

[1397] CD20 CAR,后为可逆的自杀盒(核苷酸和氨基酸)

[1398] CD20 onCAR:

[1399] CD20 on-CAR(核苷酸和氨基酸)

[1400] 自杀基因=诱导型胱天蛋白酶9(与小分子激活物二聚化时,激活凋亡)

[1401] 2A位点=核糖体跳跃位点

[1402] CD19 CAR,包含CD8跨膜结构域、CD137和CD3- δ (CD3- δ 又称作CD247,CD137-CD3 δ 总体上又称作bbz)胞质信号传导结构域

[1403] 诱导型胱天蛋白酶9-2A-CD19bbz核苷酸序列(SEQ ID NO:3018)

[1404]

ATGCTCGAGGGGGTTTCAGGTGGAGACTATCAGCCCGGGCGACGGACGGACATTCCCAAAGCGCGGGCAGACGTGT
GTGGTGCATTACACCGGGATGCTTGAGGACGGAAAGAAAGTGGACTCTCCCGAGACCGAAATAAACCATTCAAGT
TCATGTTGGGCAAGCAGGAGTTATCAGAGGGTGGGAGGAGGGCGTCGCTCAGATGAGTGTGGACAGAGGGCC
AAGCTCACGATCTCCCCTGATTACGCCTACGGGGCAACTGGTCACCCCGGAATCATCCCCCTCACGCAACCCTCGTG
TTCGACGTCGAGCTGCTCAAACCTGGAATCAGGCGGAGGCAGTGGCGCTAGCGGGTTTGCGATGTCGGTGCCCTTG
AAAGCTTGAGAGGAAATGCCGATCTCGCTTACATCTTGAGCATGGAGCCCTGTGGGCACTGTCTGATCATCAACAAT
GTAACTTTTGCCGGGAGTCCGGCCTGCGCACACGCACAGGCTCCAACATTGACTGCGAAAACTTCGAAGGAGGT
TTAGCTCTCTGCATTTTCATGGTAGAGGTGAAGGGGGATCTGACCGCCAAGAAAATGGTTCTCGCCCTTCTCGAGCTT
GCGCAGCAGGACCATGGAGCGCTTGACTGTTGTGTCGTTGTGATACTGAGCCATGGCTGTCAGGCTTCCCATCTCCA
GTTTCCAGGGGCCGTGTACGGAACCGATGGATGCCCTGTGTGAGTTGAAAAGATCGTAAACATCTTTAACGGAACA
TCTTGCCCGAGCCTCGGCGGTAACCGAAGCTTTTTTTTATCCAGGCCTGCGGCGGTGAACAGAAAGATCATGGCTT
CGAGGTTGCCAGTACCAGCCCTGAAGACGAATCCCCGGGTCAAATCCTGAACCAGATGCGACCCCTTCCAGGAA
GGACTCCGCACTTTTGACCAGCTTGACGCCATTTCTCCCTGCCAACACCTTCCGACATATTTGTAAGCTACTCCACCT
TTCCAGGATTCGTGAGCTGGCGCGACCCAAAATCCGGCAGTTGGTATGTTGAAACCTGGACGATATTTTGAACAA
TGGGCCACAGTGAGGACCTGCAGTCCCTTCTTCTGCGCGTAGCCAATGCCGTGTCAGTCAAAGGGATTACAAGCA
GATGCCAGGCTGCTTAATTTCTGCGCAAGAACTGTTTTTAAGACCAGTGGCTCCGGCGCAACAAATTTCTCCTT
GCTGAAACAGGCAGGCGACGTTGAGGAAAATCCCGGCCAATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGC
CTTGCTGCTCCACGCCCGCCAGGCCGGACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGA
GTCACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAACCTGTT
AAACTCCTGATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATT
ATTCTCTACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCGTACAC
GTTGCGAGGGGGGACTAAGTTGGAATAACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTCTGGGTGGCGGGGATC
TGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTGTCCGTACATGCACTGTCTCAGG
GGTCTCATTACCCGACTATGGTGAAGCTGGATTGCCAGCCTCCACGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATAG
GGGTAGTGAAACCACATACTATAATTAGCTCTCAAATCCAGACTGACCATCATCAAGGACAACCTCAAGAGCCAAGTT
TTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACCTGATGACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCT
ATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACAC
CGGCGCCACCATCGCGTCGACGCCCTGTCCCTGCGCCAGAGGCGTGGCCGGGACTGTGGGGTCTTCTCCTGTCA
ACGAGGGGGTGGACTTCGCCTGTGATATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTGTGGGGTCTTCTCCTGTCA
CTGTTATACCCCTTACTGCAAACGGGGCAGAAAGAACTCCTGTATATATTCAAACAACCTTTATGAGACCAGTAC
AAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAGGAGGATGTGAACTGAGAGTGAA

[1405]

GTTACAGCAGGAGCGCAGACGCCCGCGTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAA
GAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACC
CTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGA
GCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTC
ACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGCTAA

[1406] 诱导型胱天蛋白酶9-2A-CD19bbz氨基酸序列 (SEQ ID NO:3019)

[1407]

MLEGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKVDSSRDRNKPFKMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVQGQRAK
 LTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLESGGGSGASGFGDVGALESLRGNADLAYILSMPCGHCLIINNVNFCRE
 SGLRTRTGSNIDCEKLRRRFSSLHFMVEVKGDLTAKKMVLALLELAQQDHGALDCCVVVILSHGCQASHLQFPGAVYGT
 DGCPVSEKIVNIFNGTSCPSLGGKPKLFFIQACGGEQKDHGFVASTSPEDESPGSNPEPDATPFQEGLRTFDQLDAISS
 LPTPSDIFVSYSTFPGFVSWRDPKSGSWYVETLDDIFEQWAHSEDLQSLLRVANAVSVKGIYQMPGCFNFLRKKLFFK
 TSGSGATNFSLKQAGDVEENPGPMALPVTALLPLALLHAARPDIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQ
 QKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEITGGGGSGGGSGGG
 GSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKLEWLGVWVWGETTYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLK
 MNSLQDDTAIYYCAKHYGGSYAMDYWGQTSVTVSSTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLD
 FACDIYWAPLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQ
 QGQNQLYNELNLRREEYDVLDRRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGHDLGYQ
 GLSTATKDTYDALHMQALPPR

[1408] CD19bbz -2A-诱导型胱天蛋白酶9核苷酸序列 (SEQ ID NO:3020)

[1409]

ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCGGACATCCAGATGACAC
 AGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCAACATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGTAAAT
 ATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGTAACTCCTGATCTACCATACATCAAGATTACTCAGGAGT
 CCCATCAAGTTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGC
 CACTTACTTTTGCCAAACAGGGTAATACGCTTCCGTACACGTTCCGAGGGGGGACTAAGTTGGAAATAACAGGTGGCG
 GTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTGGGTGGCGCGGATCTGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGG
 CGCCCTCACAGAGCCTGTCCGTACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAAGCTGGATTGCCA
 GCCTCCACGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTAGTGAAACCACATACTATAATTCAGCTCTCAAATC
 CAGACTGACCATCATCAAGGACAACCTCCAAGAGCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACCTGATGACACAGC
 CATTACTACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACC
 GTCTCCTCAACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCACCATCGCGTTCGAGCCCCCTGTCCCTGCGCC
 CAGAGGCGTGCCGGCCAGCGCGGGGGGCGCAGTGACACAGAGGGGGCTGGACTTCGCTGTGATATCTACATCTG
 GCGGCCCTTGCCGGGACTTGTGGGGTCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCTTTACTGCAAACGGGGCAGAAAGAA
 ACTCCTGTATATATCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTT
 CCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTGAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCTACCAGCAGG
 GCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGG
 GACCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAACTGCAAGAAAGATAAGA
 TGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGG
 GTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTACATGCAAGCCCTGCCCCCTCGCTCGGAAGCGACGGGGC
 TCCGGCGCAACAAATTTCTCCTTGCTGAAACAGGCAGGCGACGTTGAGGAAAATCCC GGCCCAAGGGGTT CAGGTGGA

[1410]

GACTATCAGCCCGGGCGACGACGGACATTCCCAAAGCGCGGGCAGACGTGTGTGGTGCATTACACGGGATGCTT
 GAGGACGGAAAGAAAGTGGACTCTCCCGAGACCGAAATAAACCATTCAAGTTCATGTTGGGCAAGCAGGAGGTT
 ATCAGAGGGTGGGAGGAGGGCGTCTCAGATGAGTGTGCGACAGAGGGCCAAGCTCACGATCTCCCCTGATTAC
 GCCTACGGGGCAACTGGTCACCCCGGAATCATCCCCCTCACGCAACCCTCGTGTTCGACGTCGAGCTGCTCAAAT
 GGAATCAGGCGGAGGCAGTGGCGGGTTGGCGATGTGCGGTGCCCTGAAAGCTTGAGAGGAAATGCCGATCTCGC
 TTACATCTTGAGCATGGAGCCCTGTGGGCACTGTCTGATCATCAACAATGTTAACTTTTCCGGGAGTCCGGCCTGC
 GCACACGCACAGGCTCCAACATTGACTGCGAAAACTTCGAAGGAGGTTTAGCTCTCTGCATTCATGGTAGAGGT
 GAAGGGGGATCTGACCGCAAGAAAATGGTTCTCGCCCTTCTCGAGCTTGCAGCAGGACCATGGAGCGCTTGAC
 TGTTGTGTCGTTGTGATACTGAGCCATGGCTGTCAGGCTCCCATCTCCAGTTTCCAGGGGCGTGTACGGAACCGA
 TGGATGCCCTGTGTCAGTTGAAAAGATCGTAAACATCTTAAACGGAACATCTTCCCCGAGCCTCGGCGTAAACCGA
 AGCTTTTTTTTATCCAGGCTGCGGCGGTGAACAGAAAGATCATGGCTTCGAGGTTGCCAGTACCAGCCCTGAAGAC
 GAATCCCCCGGGTCAAATCCTGAACCAGATGCGACCCCTTCCAGGAAGGACTCCGCACTTTTGACCAGCTTGACGC
 CATTCTCCCTGCCAACACCTCCGACATATTTGTAAGCTACTCCACCTTCCAGGATTGTCGAGCTGGCGCGACCCA
 AAATCCGGCAGTTGGTATGTTGAAACCCTGGACGATATCTCGAACAATGGGCCACAGTGAGGACCTGCAGTCCC
 TTCTTCTGCGCGTAGCCAATGCCGTGTCAGTCAAAGGGATTTACAAGCAGATGCCAGGCTGCTTAATTTCTGCGC
 AAGAACTGTTTTTAAGACCAGTTGAGTCGACGGAGGAGGAG

[1411] *CD19bbz*-2A-诱导型胱天蛋白酶9氨基酸序列 (SEQ ID NO:3021)

[1412]

MALPVTALLPLALLHAARPDQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFS
 GSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEITGGGGSGGGGSEVKLQESGGLVAPSQSLSVTCT
 VSGVSLPDYGVSWIRQPPRKLEWLVGIWGETTYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQDDTAIYYCAKHYYGGSY
 AMDYWGQGTSVTSSTTPAPRPPTAPTASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLSLVITLY
 CKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEEDGCSRFPPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEDVLDKR
 RGRDPEMGGKPRRKNPQGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDYDALHMQALPPRRKRR
 GSGATNFSLLKQAGDVEENPGPGVQVETISPGDGRTFPKRQTCVVHYTGMLEDGKKVDSSRDRNKPFKFMKGQEV
 RGWEEGVAQMSVQRAKLISPDIYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLESGGGSGGFGDVGALSLRGNADLAYILS
 MEPCGHCLINNVNFCRESGLRTRTGSNIDCEKLRFRSSLFHMVEVKGDLTAKKMLALLELAQQDHGALDCCVVVILS
 HGCQASHLQFPGAVYGTGCPVSVKIVNIFNGTSCPSLGGKPKLFFIQACGGEQKDHGFEVASTSPEDESPPSNPEPDA
 TPFQEGLRFDQLDAISSLPTSDIFVSYSTFPGFVSWRDPKSGSWYVETLDDIFEQWAHSEDLQSLLLRVANAVSVKGIY
 KQMPGCFNFLRKKLFFKTS

[1413] 信号肽-抗-人 *CD20*-*CD8* 铰链-*CD8* 跨膜-*CD137*-*CD247*核苷酸序列 (SEQ ID NO:3022)

[1414]

ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCCGCCAGGCCGGATCCGATATTCAAC
 TTACACAGTCCCCTAGTTCCTGTCCGCCTCCGTGCGGACAGAGTTACCATGACTTGTGCGAGCGTCTTCTAGCGTTCC
 TACATTCATTGGTTCCAACAGAAGCCCGGAAAGGCACCAAAACCTGGATCTACGCCACGTCCAATTTGGCTAGTGGT
 GTTCCGGTGCATTTCGGGTCAGGTAGCGGGACGACTATACTTTACCATTTCAAGCCTCAGCCTGAAGACATC
 GCGACGTACTATTGTCAGCAGTGGACCTTAACCCTCTACCTTTGGCGGTGGAACAAAGCTGGAGATCAAACGAGG
 CGGGGGTGGCTCTGGGGGAGGAGGTTCCGGTGGGGGAGGCTCTCAAGTACAACGCAACAAAGTGGGGCTGAAGT
 GAAGAAGCCCGTCTTTCAGTCAAAGTATCATGTAAGGCAAGTGGTTATACTTTACGTCTTATAACATGCATTGGGTA
 AAGCAAGCCCTGGTCAGGGCCTCGAGTGGATTGGTGCATCTACCCTGGAATGGGTGATACGAGCTATAATCAGAA
 ATTCAAGGGGAAAGCCACCTTGACTGCAGACGAATCTACGAACACGGCTTACATGGAGCTTAGCTCACTCAGATCAGA

[1415]

GGATACAGCCTTTACTACTGCGCTAGATCAACTTATTACGGAGGAGACTGGTATTTTGTATGTATGGGGTCAGGGGAC
CACAGTCACTGTTAGCTCTGCTAGCACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCACCATCGCGTCGCA
GCCCTGTCCCTGCGCCAGAGGCGTGCCGCCAGCGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCC
TGTGATTCCGGAATCTACATCTGGGCGCCCTTGCCGGGACTTGTGGGGTCTTCTCTGTCACTGGTTATCACCTTTA
CTGCAAACGGGGCAGAAAGAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAACTACTCAAGAGGA
AGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTGAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCA
GACGCCCCCGGTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGT
TTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTAC
AATGAACTGCAGAAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAG
GGGCACGATGGCCTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTACATGCAGGCCCTGCC
CCTCGC

[1416] 信号肽-抗-人 CD20-CD8 铰链-CD8 跨膜-CD137-CD247氨基酸序列 (SEQ ID NO:3023)

[1417]

MALPVTALLPLALLLHAARPGSDIQLTQSPSSLSASVGDRTMTCRASSSVSYIHWFQQKPKGKAPKPIYATSNLASGVPV
RFSGSGSGTDYFTISSLPEDIATYYCQWTSNPPTFGGGTKLEIKRGGGSGGGGSGGGGSGVQLQSGAEVKKPGSS
VKVSKASGYFTSYNMHWVKAPGQGLEWIGAIYPMGDTSYNQKFKGKATLTADESTNTAYMELSSLRSEDTAFYCA
RSTYYGGDWYFDVWVGQTTVTVSSASTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDSGIYIWAPLA
GTCGVLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELN
LGRREEYDVLKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDAL
HMQALPPRZ

[1418] 抗-人 CD20bbz-2A-iCasp9 核苷酸序列 (SEQ ID NO:3024)

[1419]

ATGGCTCTGCCTGTGACAGCTCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCATGCTGCCAGACCTGGCTCCGATATTCAAC
TTACACAGTCCCCTAGTTCCTTGCCGCCTCCGTCCGCGACAGAGTTACCATGACTTGTGAGCGCTTCTAGCGTTTCC
TACATTCAATTGGTTCCAACAGAAGCCCGAAAGGCACCAAAACCTGGATCTACGCCACGTCCAATTTGGCTAGTGGT
GTTCCGGTGCATTTTCCGGGTCAGGTAGCGGGACGGACTATACTTTACCATTTCAAGCCTTACGCTGAAGACATC
GCGACGTAATATTGTCAGCAGTGGACCTTAACCCTCTACCTTTGGCGGTGGAACAAAGCTGGAGATCAAACGAGG
CGGGGGTGGCTCTGGGGGAGGAGGTTCCGGTGGGGGAGGCTCTCAAGTACAAGTGAACAAAGTGGGGCTGAAGT
GAAGAAGCCCGTCTTTCAGTCAAAGTATCATGTAAGGCAAGTGGTTATACTTTACGTCTTATAACATGCATTGGGTA
AAGCAAGCCCTGGTCAGGGCCTCGAGTGGATTGGTGCGATCTACCCTGGAATGGGTGATACGAGCTATAATCAGAA
ATTCAAGGGGAAAGCCACCTTGACTGCAGACGAATCTACGAACACGGCTTACATGGAGCTTAGCTCACTCAGATCAGA
GGATACAGCCTTTACTACTGCGCTAGATCAACTTATTACGGAGGAGACTGGTATTTTGTATGTATGGGGTCAGGGGAC
CACAGTCACTGTTAGCTCTGCTAGCACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCACCATCGCGTCGCA
GCCCTGTCCCTGCGCCAGAGGCGTGCCGCCAGCGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCC
TGTGATTCCGGAATCTACATCTGGGCGCCCTTGCCGGGACTTGTGGGGTCTTCTCTGTCACTGGTTATCACCTTT
ACTGCAAACGGGGCAGAAAGAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAACTACTCAAGAGG
AAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTGAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGC
AGACGCCCCCGGTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGAT
GTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTG
TACAATGAACTGCAGAAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGG
AAGGGGCACGATGGCCTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTACATGCAGGCCCT

[1420]

GCCCCCTCGCGGCTCCGGCGCAACAAATTTCTCCTTGCTGAAACAGGCAGGCGACGTTGAGGAAAATCCCGGCCAG
 GGGTTCAGGTGGAGACTATCAGCCCGGGCGACGGACGGACATTCCCAAAGCGCGGGCAGACGTGTGTGGTGCATT
 ACACCGGGATGCTTGAGGACGGAAAGAAAGTGGACTCTCCCGAGACCGAAATAAACCATTCAAGTTCATGTTGGG
 CAAGCAGGAGGTTATCAGAGGGTGGGAGGAGGGCGTCGCTCAGATGAGTGTGCGACAGAGGGCCAAGCTCACGA
 TCTCCCCTGATTACGCCTACGGGGCAACTGGTCACCCCGGAATCATCCCCCTCACGCAACCCTCGTGTTCGACGTCG
 AGCTGCTCAAACCTGGAATCAGGCGGAGGCAGTGGCGGGTTTGGCGATGTCGGTGCCCTTGAAAGCTTGAGAGGAA
 ATGCCGATCTCGTTACATCTTGAGCATGGAGCCCTGTGGGCACTGTCTGATCATCAACAATGTTAACTTTTGCCGGG
 AGTCCGGCCTGCGCACACGCACAGGCTCCAACATTGACTGCGAAAACTTGAAGGAGGTTTAGCTCTCTGCATTTC
 ATGGTAGAGGTGAAGGGGGATCTGACCGCCAAGAAAATGGTTCTCGCCCTTCTCGAGCTTGCGCAGCAGGACCATG
 GAGCGCTTGACTGTTGTGTCGTTGTGATACTGAGCCATGGCTGTCAGGCTTCCCATCTCCAGTTTCCAGGGGCCGTGT
 ACGGAACCGATGGATGCCCTGTGTCAGTTGAAAAGATCGTAAACATCTTAAACGGAACATCTTGCCCGAGCCTCGG
 CGGTAAACCGAAGCTTTTTTTATCCAGGCCTGCGGCGGTGAACAGAAAGATCATGGCTTCGAGGTTGCCAGTACC
 AGCCCTGAAGACGAATCCCCCGGGTCAAATCCTGAACAGATGCGACCCCTTCCAGGAAGGACTCCGCACTTTTGA
 CCAGCTTGACGCCATTTCTCCCTGCCAACACCTCCGACATATTTGTAAGCTACTCCACCTTCCAGGATTCTGTGAGC
 TGGCGGACCCAAAATCCGGCAGTTGGTATGTTGAAACCCTGGACGATATCTCGAACAAATGGGCCACAGTGAGG
 ACCTGCAGTCCCTTCTGCGCGTAGCCAATGCCGTGTCAGTCAAAGGGATTACAAGCAGATGCCAGGCTGCTTT
 AATTTCTGCGCAAGAACTGTTTTTAAAGACCAGTTGA

[1421] 抗-人 CD20bbz-2A-iCasp9 氨基酸序列 (SEQ ID NO:3025)

[1422]

MALPVTALLPLALLLHAARPGSDIQLTQSPSSLSASVGDRTMTCRASSSVSYIHWQKPKGKAPKWIYATSNLASGVPV
 RFSGSGSGTDYFTISSLPEDIATYYCQWTSNPPTFGGGTKLEIKRGGGGSGGGGSGGGGSQLQVQLQSGAEVKKPGSS
 VKVSKASGYFTSYNMHWVKQAPGQGLEWIGAIYPMGMDTSYNQKFKGKATLTADESTNTAYMELSSLRSEDTAFYCA
 RSTYYGGDWYFDVWVGQTTVTVSSASTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDSGIYIWA
 PLAGTGVLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNL
 YNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRRKGHDGLYQGLSTATKDTYD
 ALHMQUALPPRGGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPGVQVETISPGDGRTPFKRQQTVCVHYTGMLEDGKKVDSRRDRNKP
 FKFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLESAGGGSGGFGDVGAL
 SLRGNADLAYILSMPCGHCLINNVNFCRESGLRTRTGSNIDCEKLRFRFSSLHFMVEVKGDLTAKKMLALLELAQQDHGA
 LDCCVVVILSHGCQASHLQFPGAVYGTGCPVSVKIVNIFNGTSCPSLGGKPKLFFIQACGGEQKDHGFVASTSPEDES
 PGSNPEPDATPFQEGLRFTDQLDAISSLPTPSDIFVSYSTFPGFVSWRDPKSGSWYVETLDDIFEQWAHSEDLQSL
 LLRVA NAVSVKGIYQMPPGCFNFLRKKLFFKTSZ

[1423] iCasp9-2A-抗-人 CD20bbz 核苷酸序列 (SEQ ID NO:3026)

[1424]

ATGCTCGAGGGGGTTCAGGTGGAGACTATCAGCCCGGGCGACGGACGGACATTCCCAAAGCGCGGGCAGACGTGT
 GTGGTGCATTACACCGGGATGCTTGAGGACGGAAAGAAAGTGGACTCTCCCGAGACCGAAATAAACCATTCAAGT
 TCATGTTGGGCAAGCAGGAGGTTATCAGAGGGTGGGAGGAGGGCGTCGCTCAGATGAGTGTGCGACAGAGGGCC
 AAGCTCACGATCTCCCCTGATTACGCCTACGGGGCAACTGGTCACCCCGGAATCATCCCCCTCACGCAACCCTCGTG
 TTCGACGTCGAGCTGCTCAAACCTGGAATCAGGCGGAGGCAGTGGCGCTAGCGGGTTTGGCGATGTCGGTGCCCTTG
 AAAGCTTGAGAGGAAATGCCGATCTCGTTACATCTTGAGCATGGAGCCCTGTGGGCACTGTCTGATCATCAACAAT
 GTTAACTTTTGCCGGGAGTCCGGCCTGCGCACACGCACAGGCTCCAACATTGACTGCGAAAACTTGAAGGAGGT
 TTAGCTCTCTGCATTCATGGTAGAGGTGAAGGGGGATCTGACCGCCAAGAAAATGGTTCTCGCCCTTCTCGAGCTT

[1425]

GCGCAGCAGGACCATGGAGCGCTTGACTGTTGTGTCGTTGTGATACTGAGCCATGGCTGTCAGGCTTCCCATCTCCA
 GTTTCAGGGGCCGTGTACGGAACCGATGGATGCCCTGTGTCAGTTGAAAAGATCGTAAACATCTTTAACGGAACA
 TCTTGCCCGAGCCTCGGCGGTAACCGAAGCTTTTTTTATCCAGGCCTGCGGCGGTGAACAGAAAGATCATGGCTT
 CGAGGTTGCCAGTACCAGCCCTGAAGACGAATCCCCGGGTCAAATCCTGAACCAGATGCGACCCCTTCCAGGAA
 GGACTCCGCACTTTTGACCAGCTTGACGCCATTTCTCCCTGCCAACACCTCCGACATATTTGTAAGCTACTCCACCT
 TTCCAGGATTCGTGAGCTGGCGCGACCCAAAATCCGGCAGTTGGTATGTTGAAACCCTGGACGATATTTTCGAACAA
 TGGGCCACAGTGAGGACCTGCAGTCCCTTCTTCTGCGCGTAGCCAATGCCGTGTCAGTCAAAGGGATTACAAGCA
 GATGCCAGGCTGCTTAATTTCTGCGCAAGAACTGTTTTTAAGACCAGTGGCTCCGGCGCAACAAATTTCTCCTT
 GCTGAAACAGGCAGGCGACGTTGAGGAAAATCCCCGCCAATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGG
 CCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCGGGATCCGATATTTCAACTTACACAGTCCCCTAGTTCCTTGCCGCTCCGTCCG
 CGACAGAGTTACCATGACTTGTGCGAGCGTCTTAGCGTTTCTACATTCATTGGTTCCAACAGAAGCCCGGAAAGGC
 ACCAAAACCTTGGATCTACGCCACGTCCAATTTGGTAGTGGTGTCCGGTGCGATTTCCGGGTCAGGTAGCGGGAC
 GGACTATACTTTTACCATTTCAAGCCTTCAGCCTGAAGACATCGCGACGTACTATTGTCAGCAGTGGACCTTAACCT
 CCTACCTTTGGCGGTGGAACAAAGCTGGAGATCAAACGAGGCGGGGGTGGCTCTGGGGGAGGAGGTTCCGGTGGG
 GGAGGCTCTCAAGTACAACGCAACAAAGTGGGGCTGAAGTGAAGAAGCCCGTTCTCAGTCAAAGTATCATGTAA
 GGCAAGTGGTTATACTTTTACGTCTTATAACATGCATTGGGTAAAGCAAGCCCTGGTCAGGGCCTCGAGTGGATTGG
 TGCGATCTACCCTGGAATGGGTGATACGAGCTATAATCAGAAATCAAGGGGAAAGCCACCTTGACTGCAGACGAAT
 CTACGAACACGGCTTACATGGAGCTTAGCTCACTCAGATCAGAGGATACAGCCTTTACTACTGCGCTAGATCAACTTA
 TTACGGAGGAGACTGGTATTTTATGATGTATGGGGTCAGGGGACCACAGTCACTGTTAGCTCTGCTAGCACCACGACGC
 CAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCACCATCGCGTGCAGCCCCTGTCCTGCGCCAGAGGCGTGCCGGCCA
 GCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGATTCCGGAATCTACATCTGGGCGCCCTTGG
 CCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCTTTACTGCAAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATAT
 ATTCAAACAACCTTTATGAGACCAGTACAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGA
 AGAAGGAGGATGTGAAGTGAAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCGCTACCAGCAGGGCCAGAACCA
 GCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAG
 ATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAG
 GCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTACCAGGGTCTCAGTA
 CAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC

[1426] iCasp9-2A-抗-人CD20bbz氨基酸序列 (SEQ ID NO:3027)

[1427]

MLEGVQVETISPGDGRTPKRGQTCVVHYTGMLLEDGKKVDSSRDRNPKFKFMLGKQEVIRGWEQVAQMSVGRQAKLT
 ISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLESGGSGASGFGDVGALSLRGNADLAYILSMPECGHCLIINNVNFCRESGLR
 TRTGSNIDCEKLRFRFSSLHFMVEVKGDLTAKKMVLALLELAQQDHGALDCCVVVILSHGCQASHLQFPGAVYGTGCPVS
 VEKIVNIFNGTSCPSLGGPKLFFIQACGGEQKDHGFVASTSPEDESPGSNPEPDATPFQEGLRTFDQLDAISSLPTPSDIFV
 SYSTFPGFVSWRDPKSGSWYVETLDDIFEQWAHSEDLQSLLRVANAVSVKGIYKQMPGCFNFLRKKLFFKTS~~SGS~~GATNFSL
~~LKQAGDVEENPGP~~MALPVTALLPLALLHAARPGSDIQLTQSPSSLSASVGDVRTMTCRASSSVSYIHWQKPKGKAP
 KPWIYATSNLASGVPVRFSGSGSDYFTFTISSLPEDIATYYCQWTSNPPTFGGGTKLEIKRGGGSGGGGSGGGGS
 QVQLQQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYFTSYNMHWVKAPGQGLEWIGAIYPMGDTSYNQKFKGKATLTADDEST
 NTAYMELSSLRSEDTAFYYCARSTYYGGDWYFDVWVGQTTVTVSSASTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAG
 GAVHTRGLDFACDSGIYIWAPLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELR
 VKFSRSADAPAYQQQNQLYNELNLRREEYDVLDRRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMK
 GERRRGKGHGDLVYQLSTATKDYDALHMQALPPRZ

[1428] FMC63-bbz-2A- revCasp9核苷酸序列 (SEQ ID NO:3028)

[1429]

ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCAGGCCGGGATCCGACATCCAG
ATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATT
AGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGTAAACTCCTGATCTACCATACATCAAGATTACACT
CAGGAGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAA
GATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCGTACACGTTCCGAGGGGGGACTAAGTTGGAAATAACA
GGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGTGGGTGGCGGCGGATCTGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGC
CTGGTGGCGCCTCACAGAGCCTGTCCGTACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAAGCTGG
ATTCGCCAGCCTCCACGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTAGTGAAACCACATACTATAATTCAGC
TCTCAAATCCAGACTGACCATCATCAAGGACAACCTCAAGAGCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACCTGAT
GACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACC
TCAGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCACGACGCCAGCGCCGACCAACACCCGGCGCCACCATCGCGTCGCAG
CCCCTGTCCCTGCGCCAGAGGCGTGGCGCCAGCGGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGGCTGGACTTCGCCT
GTGATTCCGGAATCTACATCTGGGCCCTCTGGCCGGCACCTGTGGCGTGTCTGCTGCTCTCGTGATCACCTGTGA
CTGCAAGCGGGGAGAAAGAAGCTGCTGTACATCTTCAAGCAGCCCTTCATGCGGCCCTGCAGACCACCCAGGAAG
AGGACGGCTGCTCTGCAGATTCCCCGAGGAAGAAGAAGGCGGCTGCGAGCTGAGAGTGAAGTTCAGCAGAAGCGC
CGACGCCCTGCCTATCAGCAGGGCCAGAACCAGCTGTACAACGAGCTGAACCTGGGCAGACGGGAAGAGTACGAC
GTGCTGGACAAGCGGAGAGGCAGGGACCTGAGATGGGCGGCAAGCCAGAAGAAAGAACCCCCAGGAAGGCCTG
TATAACGAACTGCAGAAAGACAAGATGGCCGAGGCCTACAGCGAGATCGGAATGAAGGGCGAGCGGAGAAGAGGC
AAGGGCCACGATGGCCTGTACCAGGGCCTGAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCCCTGCACATGCAGGCCCT
GCCTCAAAGAGGAAGCGGCGCCACCAATTCAGCCTGCTGAAACAGGCCGGCGACGTGGAAGAGAACCCTGGCCCT
AGAGGCGTGCAGGTGGAACCATCTCTCCGGCGACGGCAGAACCTTCCTAAGAGGGGCCAGACCTGCGTGGTG
CACTACACCGGCATGCTGGAAGATGGCAAGAAGATGGACAGCTCCCGGGACCGGAACAAGCCCTTCAAGTTCATGC
TGGCAAGCAGGAAGTGATCCGGGGTGGGAAGAGGGCGTGGCACAGATGTCTGTGGGCCAGAGAGCCAAGCTG
ACCATCAGCCCCGATTACGCTACGGCGCCACAGGCCACCCTGGCATCATTCTCCACACGCCACACTGGTGTTCGAT
GTGGAAGTCTGAAGCTGGAACCCGGGGAGTGCAGGTGGAACAATCAGCCCTGGCGACGGCCGGACCTTTCCA
AAACGGGGACAGACATGTGTGGTGATTATACAGGGATGCTGGAAGATGGGAAAAAATGGATAGCAGCCGCGA
CCGCAACAAACCTTTAAGTTTATGCTGGGGAAACAGGAAGTGATTAGAGGCTGGGAAGAGGGGGTGGCACAGAT
GAGCGTGGGACAGCGGGCCAAACTGACAATCTCCCCGACTATGCCTATGGGGCCACCGGACACCCCGGAATCATC
CCACCTCATGCTACCCTGGTGTGGACGTGGAAGTCTGAAACTGGAACAAGCGGCGGAGGCAGCGGCGGCTTTG
GAGATGTGGGAGCCCTGGAAGCCTGCGGGGCAATGCCGATCTGGCCTACATCCTGAGCATGGAACCCTGCGGCC
ACTGCCTGATTATCAACAACGTGAACTTCTGCAGAGAGAGCGGCCTGCGGACCAGAACCAGGACCAACATCGACTG
CGAGAAGCTGCGGCGGAGATTACAGCAGCCTGCACTTCATGGTGGAAAGTGAAGGGGGACCTGACCGCAAGAAAAT
GGTGTGGCTCTGCTGGAAGTGGCCAGCAGGATCATGGCGCCCTGGACTGTTGCGTGGTCTGTGATCCTGAGCCAC
GGCTGCCAGGCCAGCCATCTGCAGTTTCCCGGCGCTGTGTATGGCACCGATGGCTGCCCTGTGTCCGTGGAAAAGAT
CGTGAATATCTTCAACGGCACCAAGCTGCCCCAGCCTGGGCGGAAAGCCTAAGCTGTTCTTTATTCAAGCCTGTGGGG
GCGAGCAGAAGGACCACGGATTTGAGGTGGCCAGCACCTCCCCGAGGATGAGAGCCCTGGCAGCAACCCTGAGC
CTGACGCCACCCATTCCAGGAAGGACTGCGGACCTTCGACCAGCTGGACGCCATCTTAGCCTGCCACCCCCAGC
GACATCTTCGTGTCTACAGCACCTCCCTGGCTTTGTGTCTGGCGGGACCCCAAGTCCGGCTCTGGTACGTGGAA
ACCCTGGACGACATCTTTGAGCAGTGGGCCATAGCGAGGACCTGCAGAGCCTGCTGCTGAGGGTGGCCAATGCCG
TGTCCGTGAAGGGCATCTCAAGCAGATGCCCGGCTGCTTCAACTTCTGCGGAAGAAGCTGTTTTTCAAGACCAGC

[1430] FMC63-bbz-2A- revCasp9 氨基酸序列 (SEQ ID NO:3029)

[1431]

MALPVTALLPLALLLHAARPGSDIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPS
RFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEITGGGGSGGGGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLSV
TCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGETTYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDBAIYYCAKHYYYG
GSYAMDYWGQGSVTVSSASTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDSGIYIWAPLAGTCGVL
LLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREE
YDVLDKRRGRDPEMGGKPRRNKPEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQAL
PPRGSATNFSLLKQAGDVEENPGPRGVQVETISPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMELEDGKKMDSRDRNKPFKFMGLG
KQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDIYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLETRGVQVETISPGDGRTPFKRGQT
CVVHYTGMELEDGKKMDSRDRNKPFKFMGLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDIYAYGATGHPGIIPPHATLV
FDVELLKLETSGGGSGGFGDVGALSLRGNADLAYILSMPCGHCLINNVNFCRESGLRTRTGSNIDCEKLRFRFSSLHF
MVEVKGDLTAKKMLALLELAQQDHGALDCCVVVILSHGCQASHLQFPGAVYGTGDCPVSEKIVNIFNGTSCPSLGG
KPKLFFIQACGGEQKDHGFEVASTSPEDESPGSNPEPDATPFQEGLRTFDQLDAISSLPTSPDIFVSYSTFPGFVSWRDPK
SGSWYVETLDDIFEQWAHSEDLQSLLLRVANAVSVKGIYKQMPGCFNFLRKKLFFKTS

[1432] CD19bbz on-CAR核苷酸序列,CD19 on-CAR (SEQ ID NO:977,也在本文之前提供)

[1433] 信号肽-条件性聚集体结构域 (4 重复)-弗林蛋白酶位点-FMC63bbz

[1434]

ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCGGGATCCCGGGGCGTG
CAGGTTGAGACAATTTCCCAGGAGATGGGCGAACGTTCCCAAGCGCGACAGACATGCGTTGTGACTACACAGG
AATGTTGGAGGACGGAAAGAAAATGGACAGTCAAGAGATCGGAACAAACCATTCAAATTCATGTTGGGAAAACAG
GAAGTGATACGGGGCTGGGAAGAGGGTGTAGCGCAAATGTCCGTTGGTCAACGAGCAAACACTCACGATAAGTCCCG
ATTATGCTTACGGCGCAACCGGTACCCGGGCATCATACCGCCTCATGCGACTTTGGTCTTGTATGTGGAGCTGTTGA
AACTTGAACACTCGCGGAGTACAGGTTGAAACAATATCACCCGGGGACGGGCGGACTTTTCCGAAGAGAGGTGAGACC
TGCGTCGTCATTATACCGGTATGCTGGAGGACGGAAAGAAAATGGACAGCTCACGGGACCGAAATAAACCATTCAA
ATTTATGTTGGGGAACAAGAGGTTATCAGGGGCTGGGAGGAGGGTGTGGCCAGATGTCTGTCCGTCAGCGCGCG
AAACTCACAATCTCTCCGATTATGCGTATGGGGCGACAGGGCATCCGGGAATTATCCCTCCCACGCTACCTTGGTTT
TCGATGTTGAGCTTCTGAAGTTGGAGACCAGAGGATTCAAGTGGAGACAATATCTCTGGGGATGGACGGACGTTCC
CCCAAGCGCGCCAGACCTGTGTAGTCCACTACACAGGGATGCTTGAAGACGGAAAAAGATGGATAGCAGTAGAG
ATCGCAACAAACCATTAAAGTTCATGCTGGGGAAGCAGGAAGTAATACGCGGCTGGGAGGAAGGCGTGGCACAGAT
GAGTGTGGTCAACGGGCCAAACTTACTATTTCTCCGATTATGCGTATGGAGCCACCGGGCACCTGGCATTATCCC
ACCCCATGCCACATTGGTTTTGACGTTGAATTGCTTAAATTGGAGACCAGGGGAGTCCAAGTGAAACAATATCACCC
GGGGGATGGTCGGACTTTTCTAAAAGGGGCCAAACCTGTGTAGTCCATTATACCGGAATGCTCGAAGACGGAAAGA
AAATGGACTCTTAGAGACCGCAATAAGCCCTCAAGTTCATGTTGGGTAAGCAAGAGGTGATCCGGGGCTGGGAA
GAGGGGGTCGCTCAAATGTCCGTCGGTCAGCGAGCTAAACTGACTATTTCCCAGACTACGCATATGGAGCGACTGG
CCACCCCGGTATTAATCTCCCATGCGACTCTCGTGTTCGACGTAGAACTCTTGAAATTGAAACGTCAGCCCGGAAC
AGGCGGAAGAGAGGATCCGACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCAC
CATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGTAAACT
CCTGATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTC
TCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCGTACACGTTCC
GGAGGGGGGACTAAGTTGAAATAACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTCGGGTGGCGGGATCTGA
GGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTGTCCGTACATGCACTGTCTCAGGGG
TCTCATTACCGACTATGGTGTAAAGTGGATTCGCCAGCCTCCACGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGG
GGTAGTGAAACCACATACTATAATTCAGCTCTCAAATCCAGACTGACCATCATCAAGGACAACCTCAAGAGCCAAGTT

[1435]

TTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACCTGATGACACAGCCATTACTACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCT
 ATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCACGACGCCAGCGCCGCGACCAC
 CAACACCGGCGCCACCATCGCGTCGCAGCCCTGTCCCTGCGCCAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGC
 AGTGACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGATTCCGGAATCTACATCTGGGCGCCCTTGCCGGGACTTGTGGGG
 TCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCTTACTGCAAACGGGGCAGAAAGAACTCCTGTATATATCAAACAACCATTT
 ATGAGACCAGTACAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTG
 AACTGAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTC
 AATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCG
 AGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTG
 GGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACAC
 CTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGCTAA

[1436] CD19bbz on-CAR氨基酸序列 (SEQ ID NO:978,也在本文之前提供)

[1437] 信号肽-条件性聚集结构域 (4 重复)-弗林蛋白酶位点-FMC63bbz

[1438]

MALPVTALLPLALLLHAARPGSRGVQVETISPGDGRTFPRKGQTCVVHYTGMLEDGKKMDSSRDRNKPFKFM LGKQEV
 RGWEEGVAQMSVGQRAKLITSPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLETRGVQVETISPGDGRTFPRKGQTCVVHYTG
 MLEDGKKMDSSRDRNKPFKFM LGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLITSPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLE
 TRGVQVETISPGDGRTFPRKGQTCVVHYTGMLEDGKKMDSSRDRNKPFKFM LGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLIT
 SPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLETRGVQVETISPGDGRTFPRKGQTCVVHYTGMLEDGKKMDSSRDRNKPFK
 FM LGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLITSPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLETSARNRRKRGS
 DIQMTQTSSLSASLGRVITISCRASQDISKYLNWYQKQPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLP
 YTFGGGKLEITGGGGSGGGSGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLVSTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWL
 GVIWGETTYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTD DTAIYCAKHYYYGGSYAMDYWGQTSVTSSASTTTPAPRP
 PPTAPPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDSGIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQ
 PFMRPVQTTQEEDGCSCRFP EEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGK
 PRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRKGHDGLYQGLSTATKDYDALHMQALPPRZ

[1439] 信号肽-抗-人 CD20-CD8 铰链-CD8 跨膜-CD137-CD247-2A- revCasp9 氨基酸序列核苷酸
 序列 (SEQ ID NO:3030)

[1440]

ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCGGGATCCGATATTCAAC
 TTACACAGTCCCCTAGTTCCTTGTCGCCTCCGTCGGCGACAGAGTTACCATGACTTGTGCGAGCGTCTTCTAGCGTTTCC
 TACATTCATTGGTTCCAACAGAAGCCCGAAAGGCACCAAAACCTGGATCTACGCCACGTCCAATTTGGCTAGTGGT
 GTTCCGGTGCGATTTCCGGGTCAGGTAGCGGGACGGACTATACTTTACCATTTCAAGCCTTACGCTGAAGACATC
 GCGACGTACTATTGTCAGCAGTGGACCTTAACCCTCTACCTTTGGCGGTGGAACAAAGCTGGAGATCAAACGAGG
 CGGGGGTGGCTCTGGGGGAGGAGGTTCCGGTGGGGGAGGCTCTCAAGTACAAGTCAACAAAGTGGGGCTGAAGT
 GAAGAAGCCCGGTTCTTCAGTCAAAGTATCATGTAAGGCAAGTGGTTATACTTTACGTCTTATAACATGCATTGGGTA
 AAGCAAGCCCCTGGTCAGGGCCTCGAGTGGATTGGTGCATCTACCCTGGAATGGGTGATACGAGCTATAATCAGAA
 ATTCAAGGGGAAAGCCACCTTGACTGCAGACGAATCTACGAACACGGCTTACATGGAGCTTAGCTCACTCAGATCAGA
 GGATACAGCCTTTACTACTGCGTAGATCAACTATTACGGAGGAGACTGGTATTTTGATGTATGGGGTCAGGGGAC
 CACAGTCACTGTTAGCTCTGCTAGCACCCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCACCATCGCGTCGC
 AGCCCTGTCCCTGCGCCAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCG

[1441]

CCTGTGATTCCGGAATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCCT
 TTA**CTGCAAACGGGGCAGAAAGAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAACTACTCAAGA**
 GGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTGAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGC
 GCAGACGCCCCCGCTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACG
 ATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCC
 TGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGG
 GCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTACATGCAGGCC
 CTGCCCTCGCGGAAGCGGCCACCAATTTACAGCTGCTGAAACAGGCCGGCGACGTGGAAGAGAACCCTGGCCC
TAGAGGCGTGAGGTGGAAA**CCATCTCTCCCGGCAGCGCAGAACCTTCCCTAAGAGGGGCCAGACCTGCGTGGTG**
CACTACACCGGCATGCTGGAAGATGGCAAGAAGATGGACAGCTCCCGG**ACC**GGAA**CAAGCCCTTCAAGTTCATGC**
TGGGCAAGCAGGAAGTGATCCGGGGCTGGGAAGAGGGCGTGGCACAGATGTCTGTGGGCCAGAGAGCCAAGCTG
ACCATCAGCCCCGATTACGCTACGGCGCCACAGGCCACCCTGGCATCATTCTCCACACGCCACACTGGTGTTCGAT
GTGAACTGCTGAAGCTGGAAA**CCCGGGAGTGCAGGTGGA**AA**CAATCAGCCCTGGCGACGGCCGGACCTTTCA**
AAACGGGGACAGACATGTGTGGTGCATTATACAGGGATGCTGGAAGATGGGAAAAAAATGGATAGCAGCCGCGA
CCGCAACAAACCTTTAAGTTTATGCTGGGGAAACAGGAAGTGATTAGAGGCTGGGAAGAGGGGGTGGCACAGAT
GAGCGTGGGACAGCGGGCCAAACTGACAATCTCCCCGACTATGCCTATGGGGCCACCGGACACCCCGAATCATCC
CACCTCATGCTACCCTGGTGTGGAGCTGGAAA**CTGCTGAAACTGGA**AA**CAAGCGGCGGAGGCAGCGCGGCTTTGG**
AGATGTGGGAGCCCTGGAAA**GCCTGCGGGCAATGCCGATCTGGCCTACATCCTGAGCATGGA**ACC**CTGCGGCCAC**
TGCCTGATTATCAACAACGTGAACTTTCAGAGAGAGCGGCCTGCGGACCAGAACCGGCAGCAACATCGACTGCG
AGAAGCTGCGGCGGAGATTCAGCAGCCTGCACTT**CATGGTGA**AGTGAAGGGGGACCTGACCGCAAGAAAATGG
TGCTGGCTCTGCTGGAAA**CTGGCCAGCAGGATCATGGCGCCCTGGACTGTTGCGTGGTCTGATCCTGAGCCACGGC**
TGCCAGGCCAGCCATCTGCAGTTTCCCGCGCTGTGTATGGCACCGATGGCTGCCCTGTGTCCGTGGAAA**AAGATCGT**
GAATATCTTCAACGGCACCAGCTGCCCCAGCCTGGGCGGAAAGCCTAAGCTGTTCTTTATTCAAGCCTGTGGGGGCG
AGCAGAAGGACCACGGATTTGAGGTGGCCAGCACCTCCCCGAGGATGAGAGCCCTGGCAGCAACCCTGAGCCTGA
CGCCACCCATTCCAGGAAGGACTGCGGACCTTCGACCAGCTGGACGCCATCTCTAGCCTGCCACCCCCAGCGACAT
CTTCGTGCTCTACAGCACCTCCCTGGCTTTGTGTCTGGCGGGACCCCAAGTCCGGCTCTTGGTACGTGGAAA**CCCT**
GGACGACATCTTTGAGCAGTGGGCCATAGCGAGGACCTGCAGAGCCTGCTGCTGAGGGTGGCCAATGCCGTGTCC
GTGAAGGGCATCTACAAGCAGATGCCCGGCTGCTTCAACTTCTGCGGAAGAAGCTGTTTTTCAAGACCAGC

[1442] 信号肽-抗-人 CD20-CD8 铰链-CD8 跨膜-CD137-CD247-2A- revCasp9 氨基酸序列 (SEQ ID NO:3031)

[1443]

MALPVTALLPLALLHAARPGSDIQLTQSPSSLSASVGDRTMTCRASSVSYIHWFFQKPKGKPKWIYATSNLASGVPV
 RFSGSGSGTDYFTISSLPEDIATYYCQQWTSNPPTFGGGTKLEIKRGGGGSGGGGSQVQLQQSGAEVKKPGSS
 VKVSKASGYTFTSYNMHWVKQAPGQGLEWIGAIYPMGDTSYNQKFKGKATLTADESTNTAYMELSSLRSEDATFYCA
 RSTYYGGDWYFDVWVGQTTVTVSSASTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDSGIYIWAPL
 AGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGNQLYNE
 LNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYD
 ALHMQUALPPRGSGATNFSLKQAGDVEENPGPRGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKMDSRDRNK
 PFKFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLETRGVQVETISPGDGRTF
 PKRGQTCVVHYTGMLEDGKKMDSRDRNKPFKFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIP
 PHATLVFDVELLKLETSGGGSGGFDVGALES LRGNADLAYILSMPCGHCLIIINNVNFCRESGLRTRTGSNIDCEKLR
 RRFSSLHFMEVVKGDLTAKKMVLALLELAQQDHGALDCCVVVILSHGCQASHLQFPGAVYGTGDCPVSVKIVNIFNGTSCP
 SLGGPKLFFIQACGGEQKDHGFEVASTSPEDESPGSNPEPDATPFQEGLRTFDQLDAISSLPTPSDIFVSYSTFPGFVSWR
 DPKSGSWYVETLDDIFEQWAHSEDLQSLLLRVANAVSVKGIYKMPGCFNFLRKKLFFKTS

[1444] CD20bbz on-CAR核苷酸序列,CD20 on-CAR (SEQ ID NO:3032)

[1445] 信号肽-条件性聚集结构域 (4 重复)-弗林蛋白酶位点-抗-CD20bbz

[1446]

ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCGGGATCCCGGGGCGTG
CAGGTTGAGACAATTTCCCCAGGAGATGGGCGAACGTTCCCAAGCGCGGACAGACATGCGTTGTGCACTACACAGG
AATGTTGGAGGACGGAAAGAAAATGGACAGTCAAGAGATCGGAACAAACCATTCAAATTCATGTTGGGAAAACAG
GAAGTGATACGGGGCTGGGAAGAGGGTGTAGCGCAAATGTCCGTTGGTCAACGAGCAAAACTCACGATAAGTCCCG
ATTATGCTTACGGCGCAACCGGTCACCCGGGCATCATACCGCCTCATGCGACTTTGGTCTTTGATGTGGAGCTGTTGA
AACTTGAAAACGCGGAGTACAGGTTGAAACAATATCACCCGGGGACGGGCGGACTTTTCCGAAGAGAGGTCAGACC
TGCGTCGTCCATTATACCGGTATGCTGGAGGACGGAAAGAAAATGGACAGCTCACGGGACCGAAAATAAACCATTCAA
ATTTATGTTGGGAAAACAAGAGGTTATCAGGGGCTGGGAGGAGGGTGTGGCCAGATGTCTGTGCGTACGCGCGG
AAACTCACAATCTCTCCGATTATGCGTATGGGGCGACAGGGCATCCGGGAATTATCCCTCCCACGCTACCTTGGTTT
TCGATGTTGAGCTTCTGAAGTTGGAGACCAGAGGAGTTCAAGTGGAGACAATATCTCTGGGGATGGACGGACGTTCC
CCAAGCGCGGCCAGACCTGTGTAGTCCACTACACAGGGATGCTTGAAGACGGAAAAAGATGGATAGCAGTAGAG
ATCGCAACAAACCATTAAAGTTTCATGCTGGGGAAGCAGGAAGTAATACGCGGCTGGGAGGAAGGCGTGGCACAGAT
GAGTGTGGTCAACGGGGCAAACCTACTATTTCTCCGATTATGCGTATGGAGCCACCGGGCACCTGGCATTATCCC
ACCCATGCCACATTGGTTTTGACGTTGAATTGCTTAAATTGGAGACCAGGGGAGTCCAAGTGGAAACAATATCACCC
GGGGGATGGTCGGACTTTTCTAAAAGGGGCCAAACCTGTGTAGTCCATTATACCGGAATGCTCGAAGACGGAAAGA
AAATGGACTCTTAGAGACCGCAATAAGCCCTCAAGTTCATGTTGGTAAGCAAGAGGTGATCCGGGGCTGGGAA
GAGGGGGTCTCAATGTCCGTCGGTACGCGAGCTAACTGACTATTTCCCAGACTACGCATATGGAGCGACTGG
CCACCCCGGTATTATTCCTCCCATGCGACTCTCGTGTTCGACGTAGAACTCTTGAATGGAAACGTCAGCCCGGAAC
AGCGGGAAGAGA GATATCAACTTACACAGTCCCCTAGTTCTTGTCCGCCTCCGTCGGCGACAGAGTTACCATGACT
TGTCGAGCGTCTTCTAGCGTTTCTACATTATTGGTTCCAACAGAAGCCCGAAAGGCACCAAAACCTTGGATCTACG
CCACGTCCAATTTGGCTAGTGGTGTCCGGTGCATTTCCGGGTCAGGTAGCGGGACGGACTATACTTTTACCATTTC
AAGCCTTACGCTGAAGACATCGCGACGTAATTGTGTCAGCAGTGGACCTTAACCCTCTACCTTTGGCGGTGGAAC
AAAGCTGGAGATCAAACGAGGCGGGGGTGGCTCTGGGGAGGAGGTTCCGGTGGGGGAGGCTCTCAAGTACAAC
GCAACAAAGTGGGGCTGAAGTGAAGAAGCCCGTTCTTCAAGTATCATGTAAGGCAAGTGGTTATACTTTTA
CGTCTTATAACATGCATTGGGTAAAGCAAGCCCCTGGTACAGGGCCTCGAGTGGATTGGTGCATCTACCTGGAATG
GGTGATACGAGCTATAATCAGAAATTCAAGGGGAAAGCCACCTTGACTGCAGACGAATCTACGAACACGGCTTACAT
GGAGCTTAGCTCACTCAGATCAGAGGATACAGCCTTTACTACTGCGCTAGATCAACTTATTACGGAGGAGACTGGTA
TTTTGATGTATGGGGTCAGGGGACCACAGTCACTGTTAGCTCTGCTAGCACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAAC
ACCGGCGCCACCATCGCGTCGAGCCCCTGTCCCTGCGCCAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTG
CACACGAGGGGGCTGGACTTCGCTGTGATTCCGGAATCTACATCTGGGCGCCCTTGCCGGGACTTGTGGGGTCTT
CTCCTGTCACTGGTTATCACCTTTACTGCAAACGGGGCAGAAAGAAAACCTCTGTATATATCAAACAACCATTATGA
GACCAGTACAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAAC
GAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATC
TAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAA
GGAAGAACCCTCAGGAAGGCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCTACAGTGAGATTGGGAT
GAAAGGCGAGCGCCGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTAC
GACGCCCTTACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC

[1447] CD20bbz on-CAR氨基酸序列 (SEQ ID NO:3033)

[1448] 信号肽-条件性聚集结构域 (4 重复)-弗林蛋白酶位点-抗-CD20bbz

[1449]

MALPVTALLLPLALLLHAARPGSRGVQVETISPGDGRTFPCRGTQCVVHYTGMLEDGKKMDSSRDRNKPFKMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLETRGVQVETISPGDGRTFPCRGTQCVVHYTGMLEDGKKMDSSRDRNKPFKMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLETRGVQVETISPGDGRTFPCRGTQCVVHYTGMLEDGKKMDSSRDRNKPFKMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLETSARNRRKRGSIDIQLTQSPSSLSASVGDVRTMTCRASSSVSYIHWFQQKPGKAPKPKWIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYFTTISLQPEDATYYCQQWTSNPPTFGGGTKLEIKRGGGGSGGGGGSGVQLQQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYNMHWVKQAPGQGLEWIGAIYPMGDTSYNQKFKGKATLTADESTNTAYMELSSLRSEDTAFYYCARSTYYGGDWYFDVWGQTTVTVSSASTTTPARRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDSGIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

[1450] 其他实施方案

[1451] 本文引用的每份和每项专利、专利申请和出版物的公开内容因此通过引用的方式完整并入本文。尽管本发明已经参考具体实施方案公开，但显而易见本发明的其他实施方案和变型可以由本领域其他技术人员构思，而不脱离本发明的真实精神和范围。所附权利要求意在解释成包括全部此类实施方案和等同变型。

相对于第 0 天弗林蛋白酶的倍数表达，
针对 18S 内参对照标准化
未检测的 *PCSK1、2 和 9

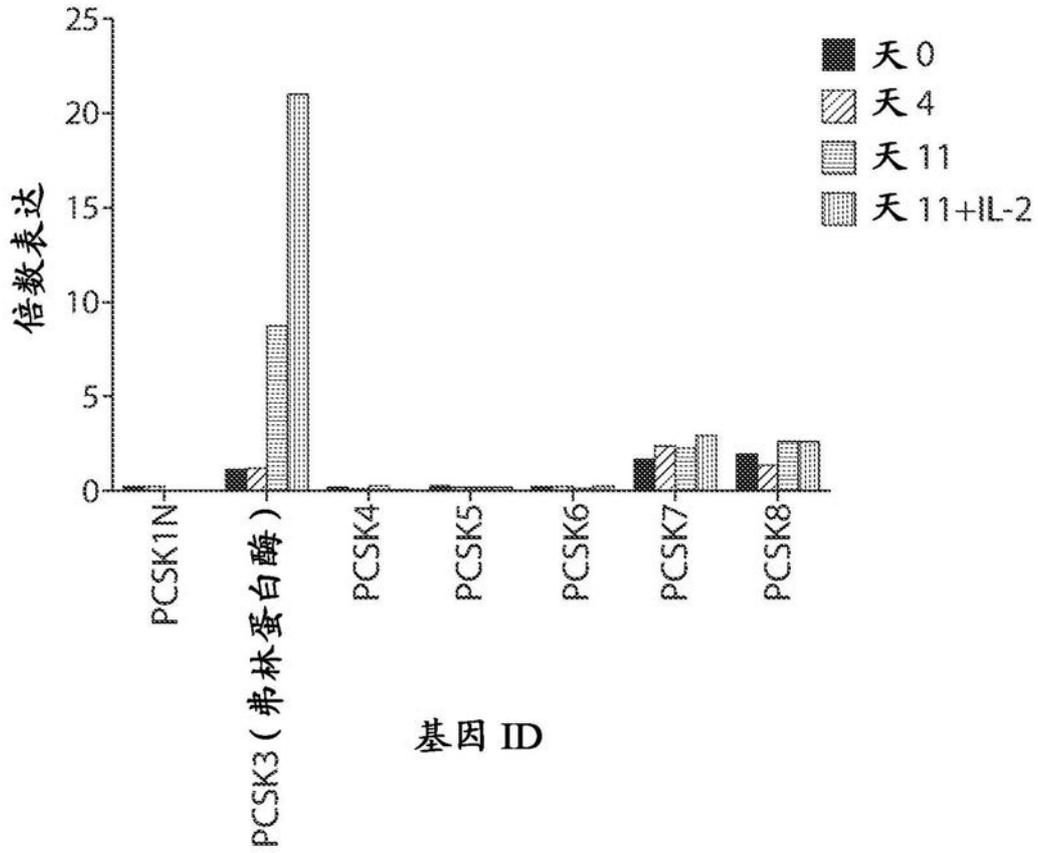


图1

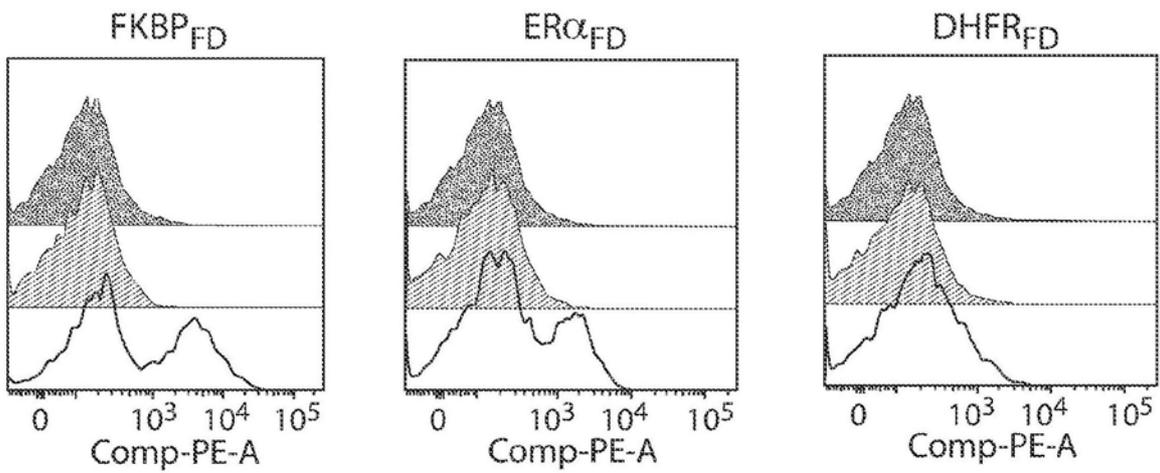


图2

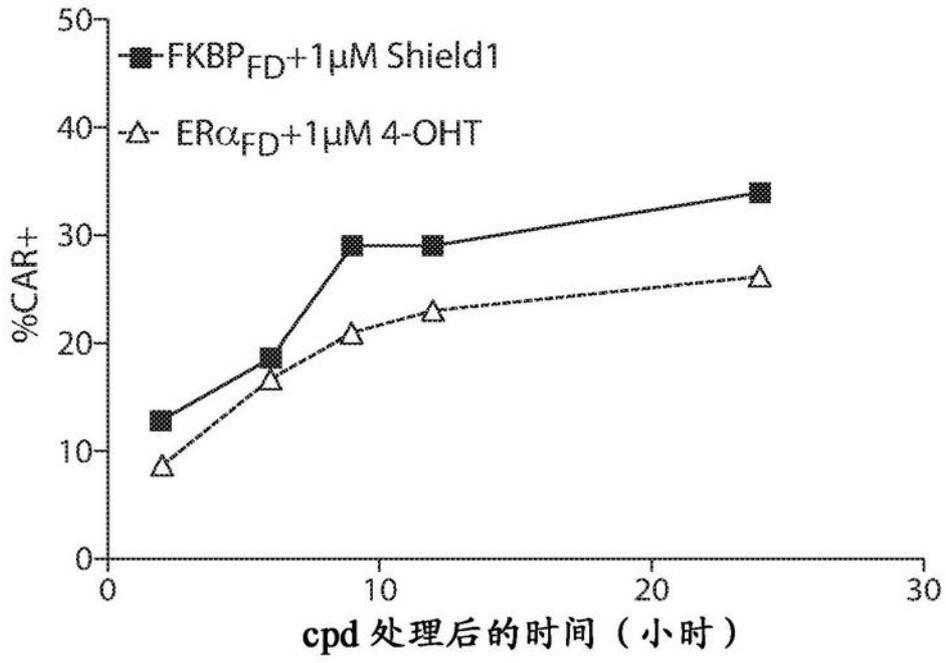


图3

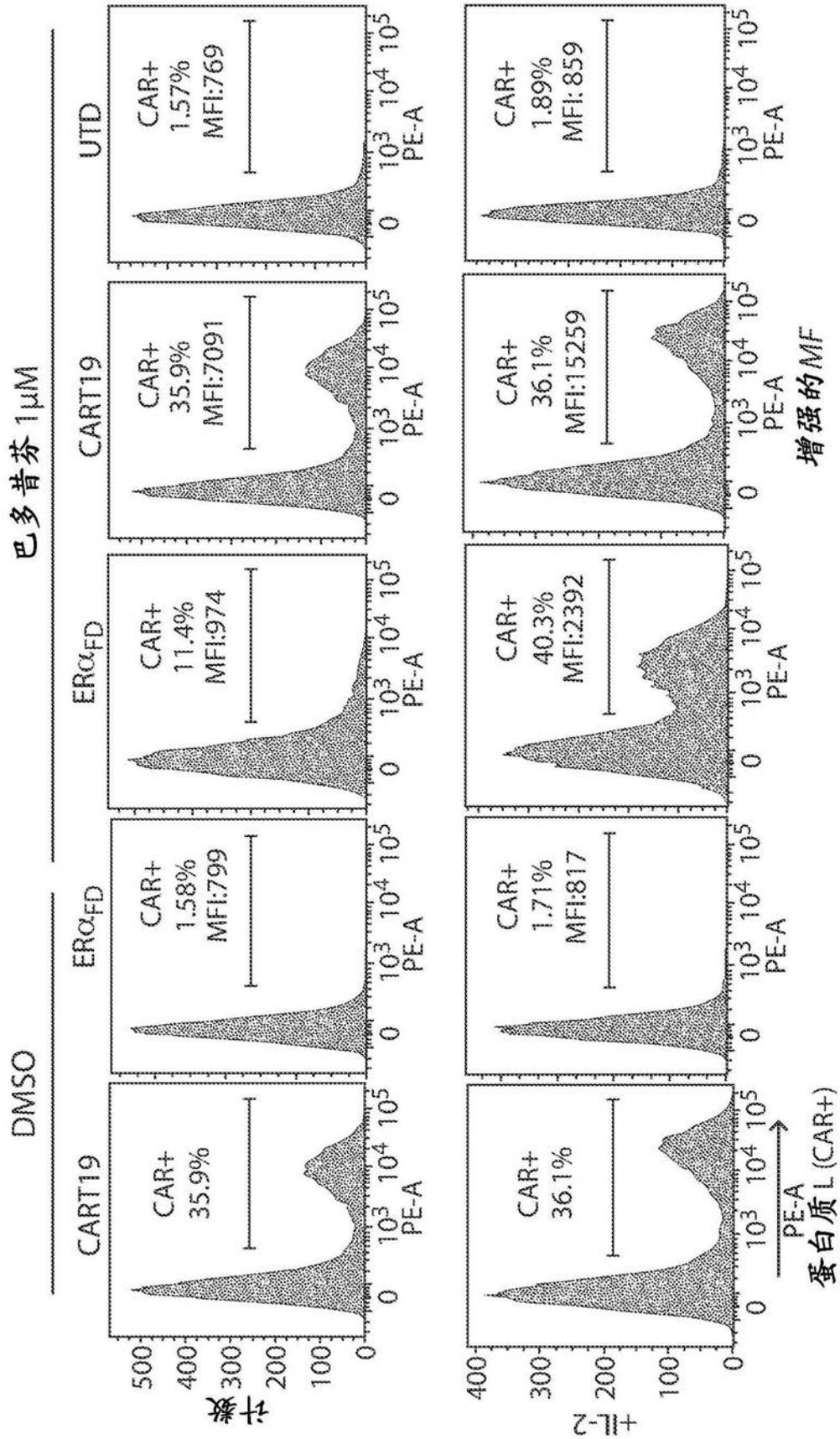


图4

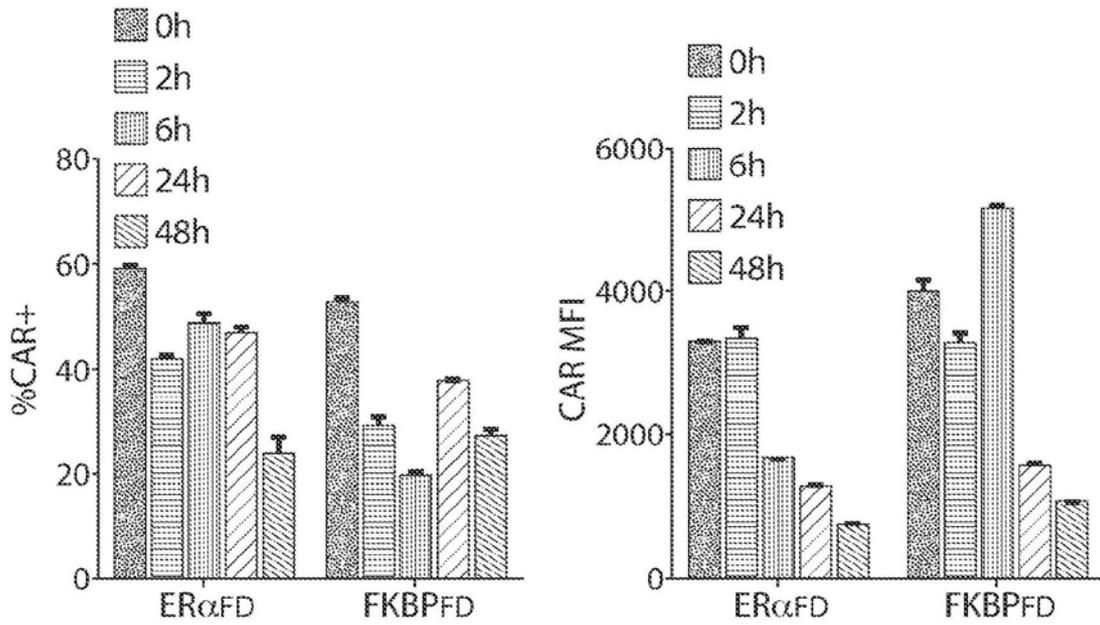


图5

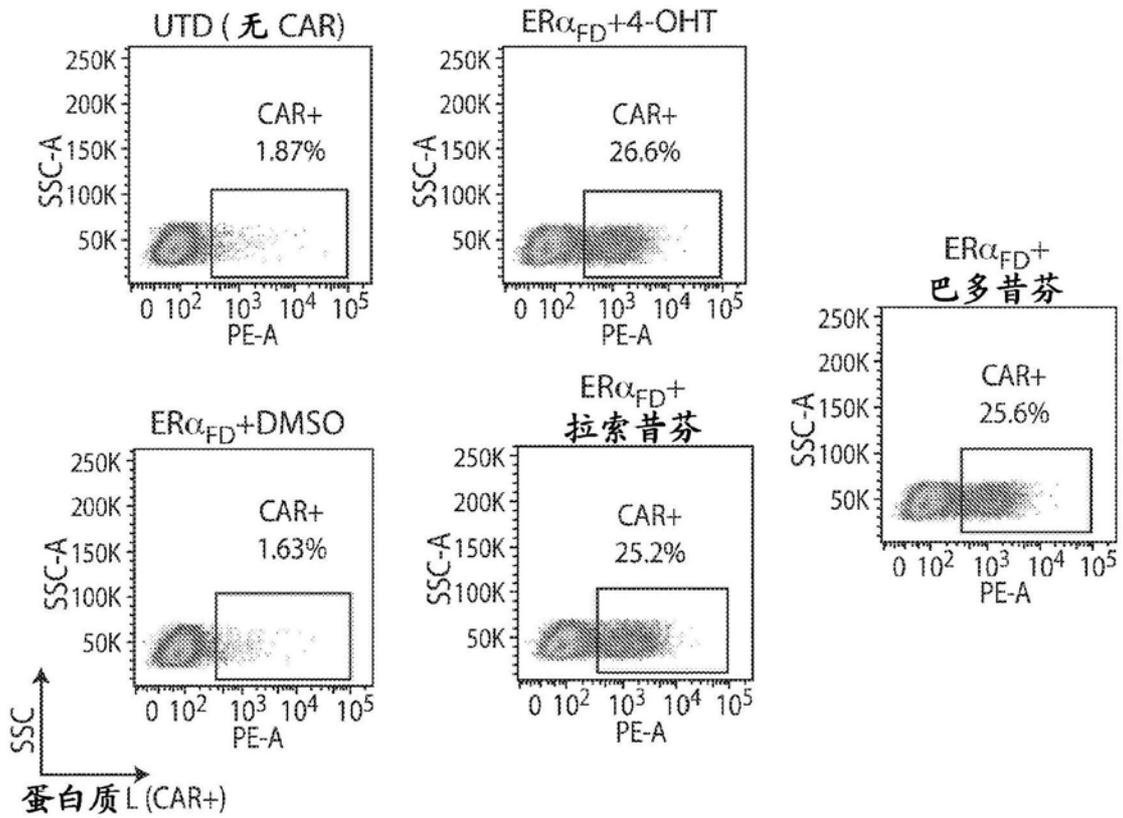


图6

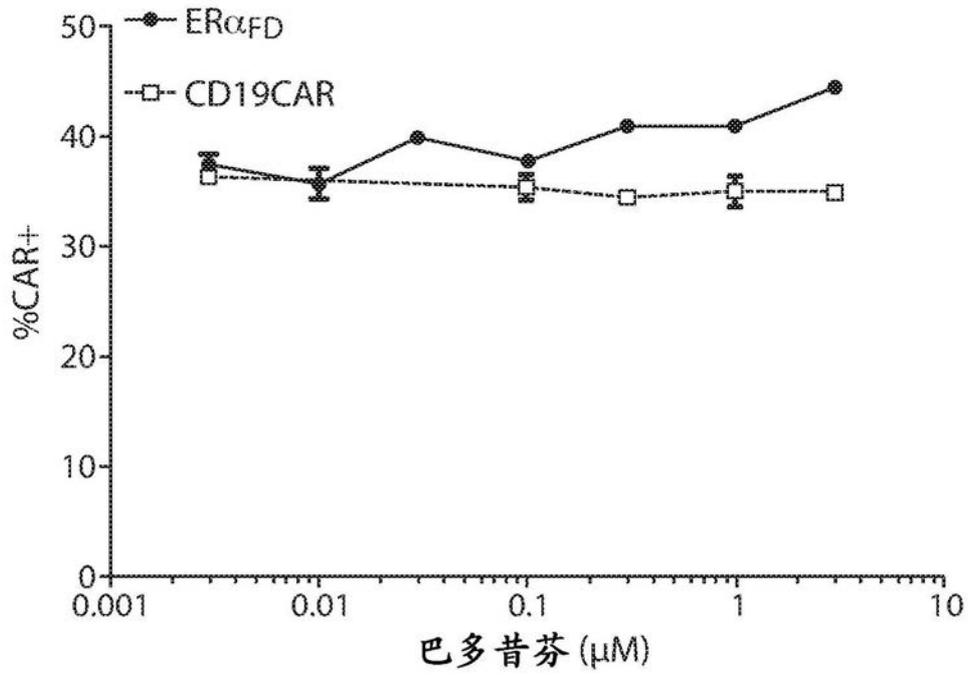


图7

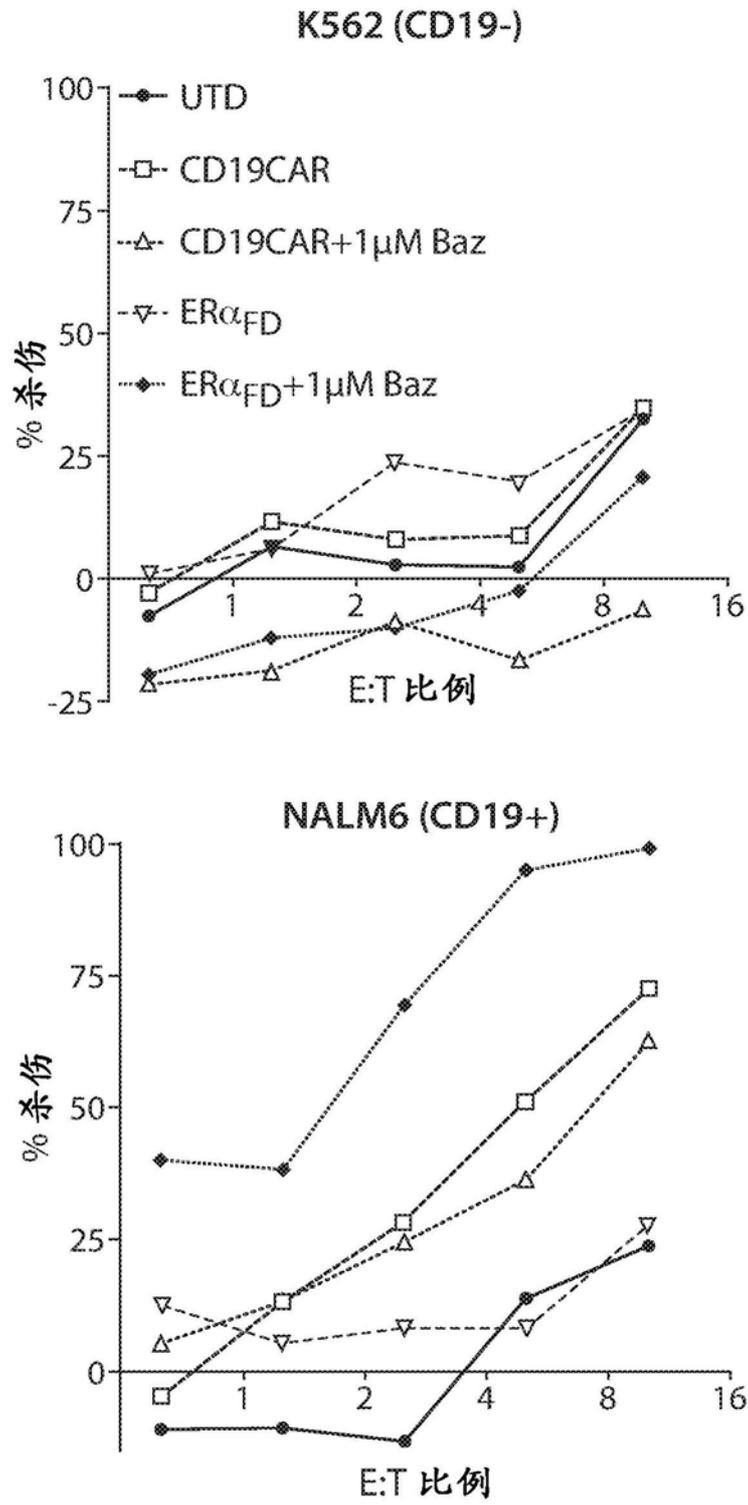


图8

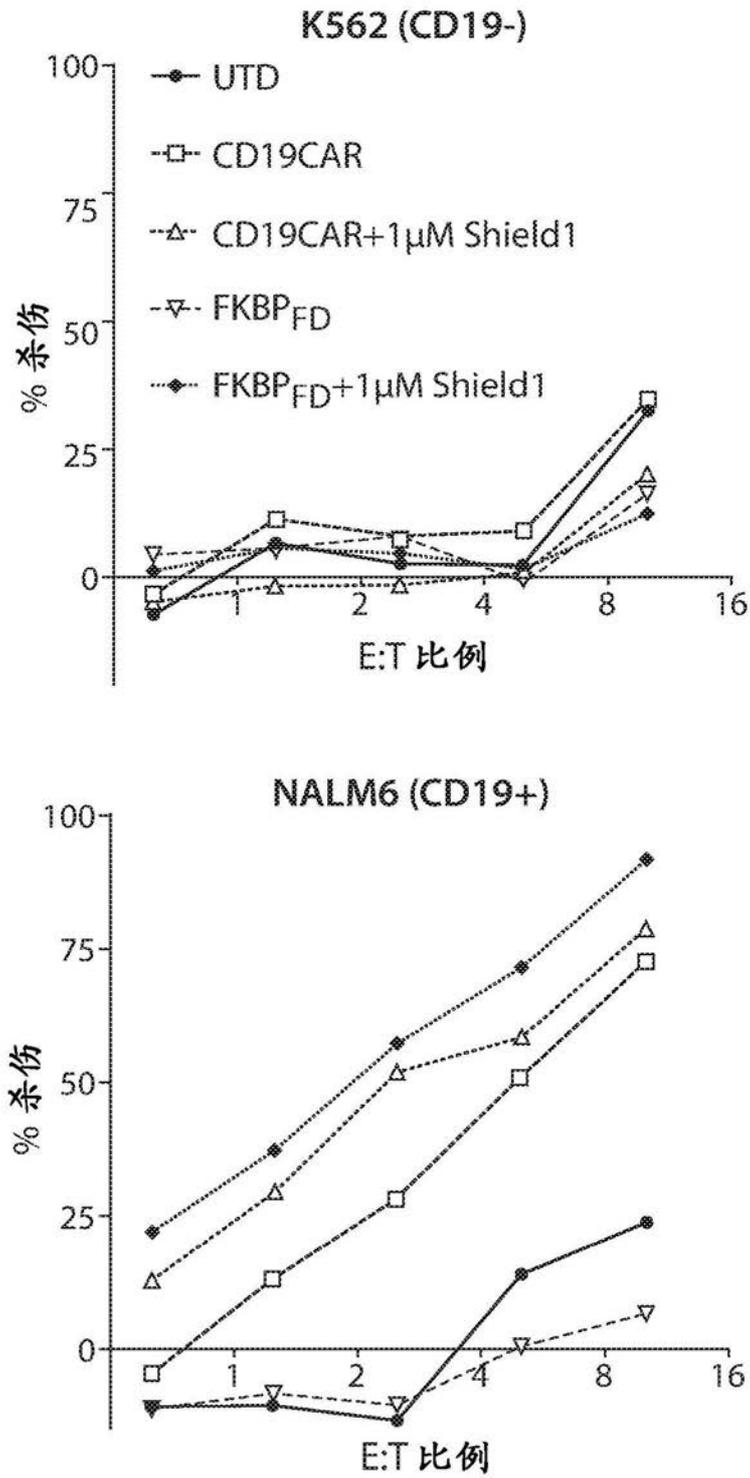


图9

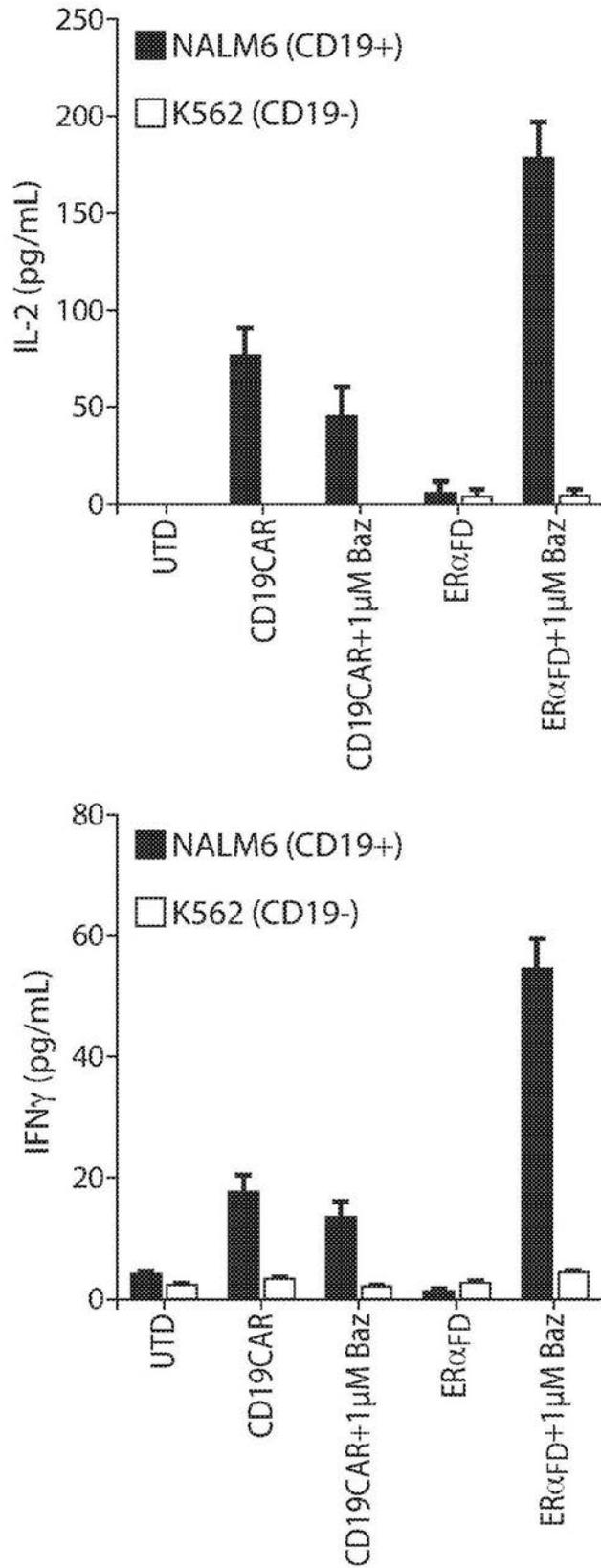


图10

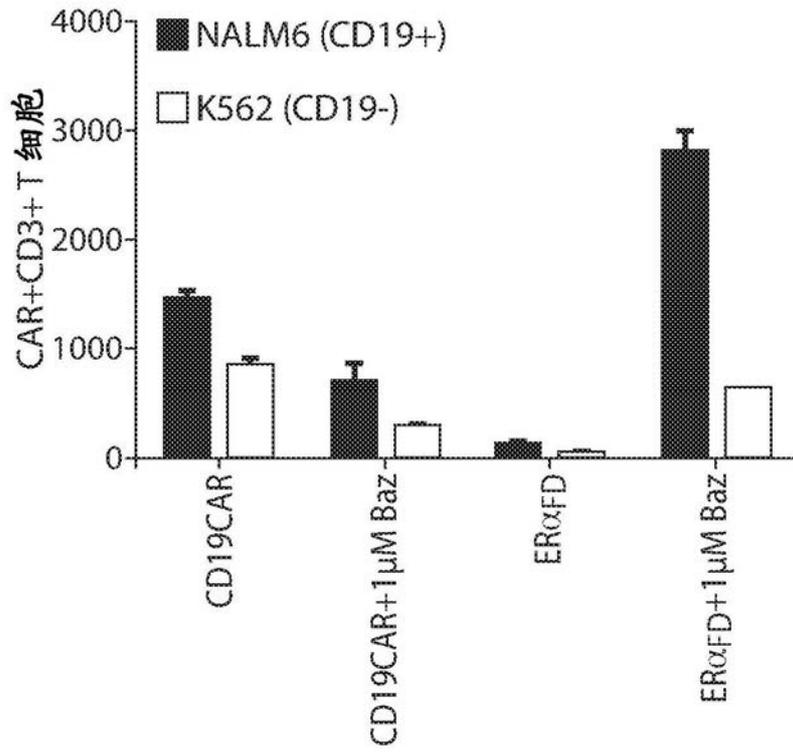


图11

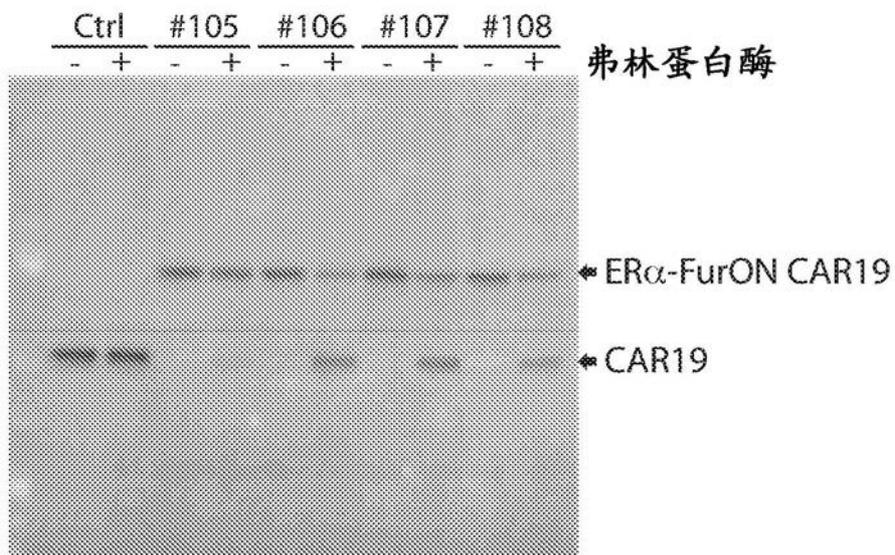


图12A

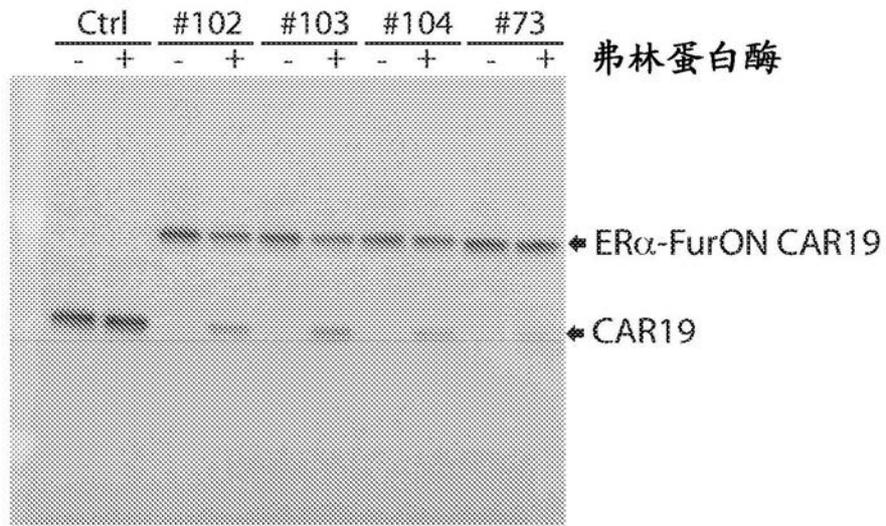


图12B

构建体	倍数 扩增	活力 (%)	大小 (uM)	大小 (pL)	CAR+ (%)	CAR+ (Geo. 平均)
UTD	119	92.1	9.63	0.468	-	-
CART19	143	92.3	9.52	0.451	44	6708
CART19+ BZA	162	92	9.56	0.458	45	6514
Furon106	100	92.4	9.61	0.465	-	-
Furon106+ BZA	124	93.8	9.61	0.465	52	3414

图13

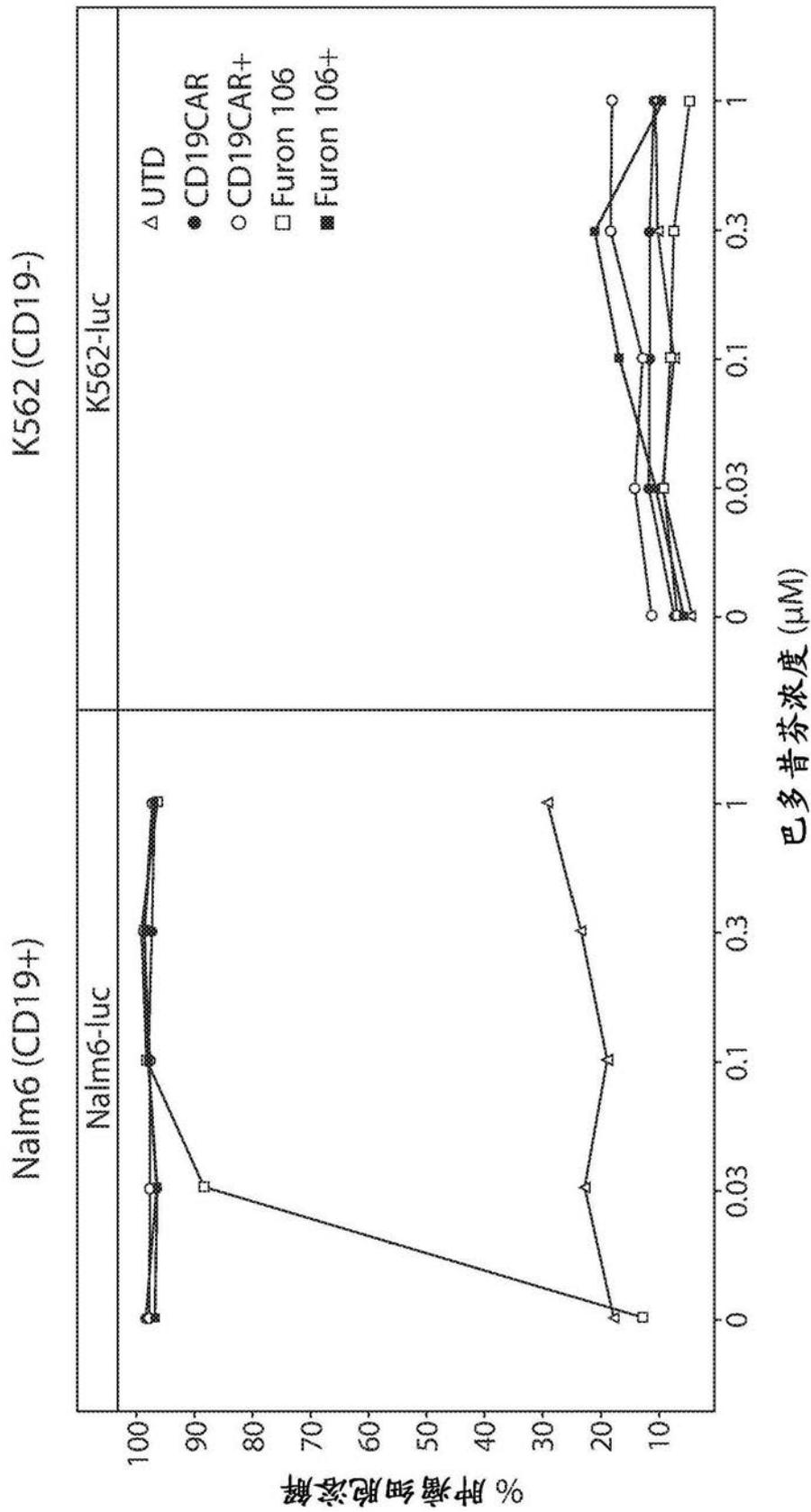


图14

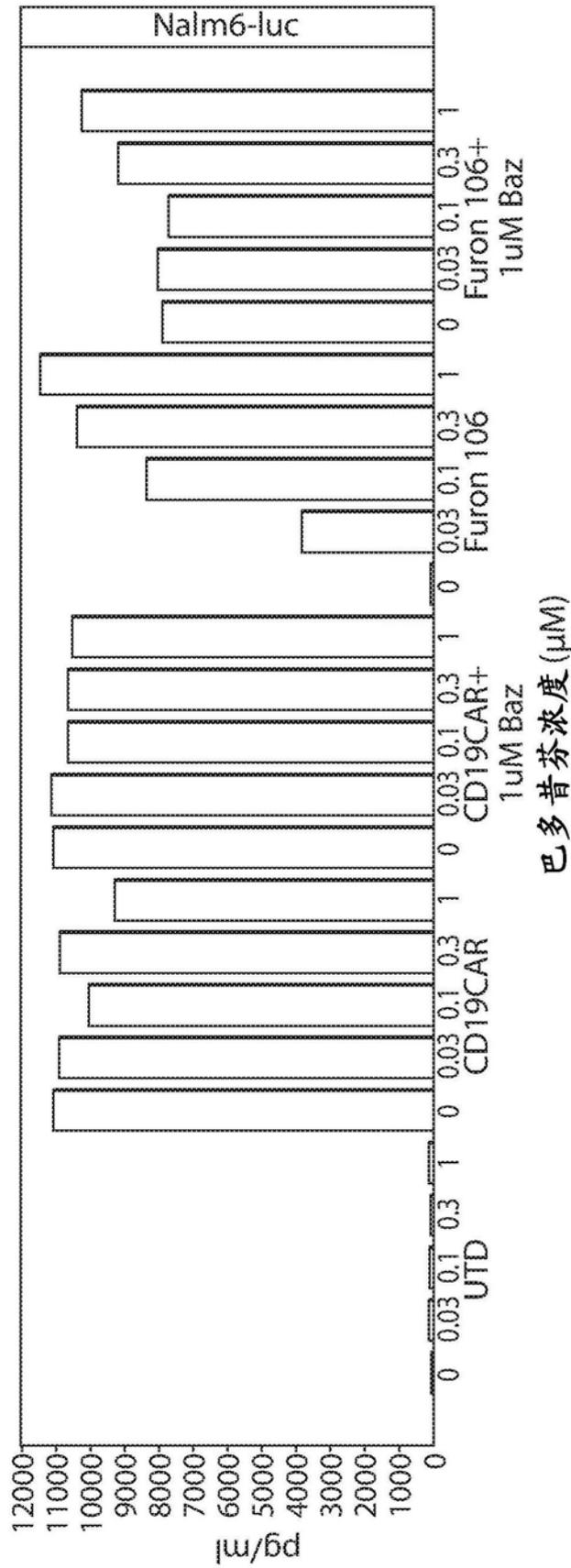


图15

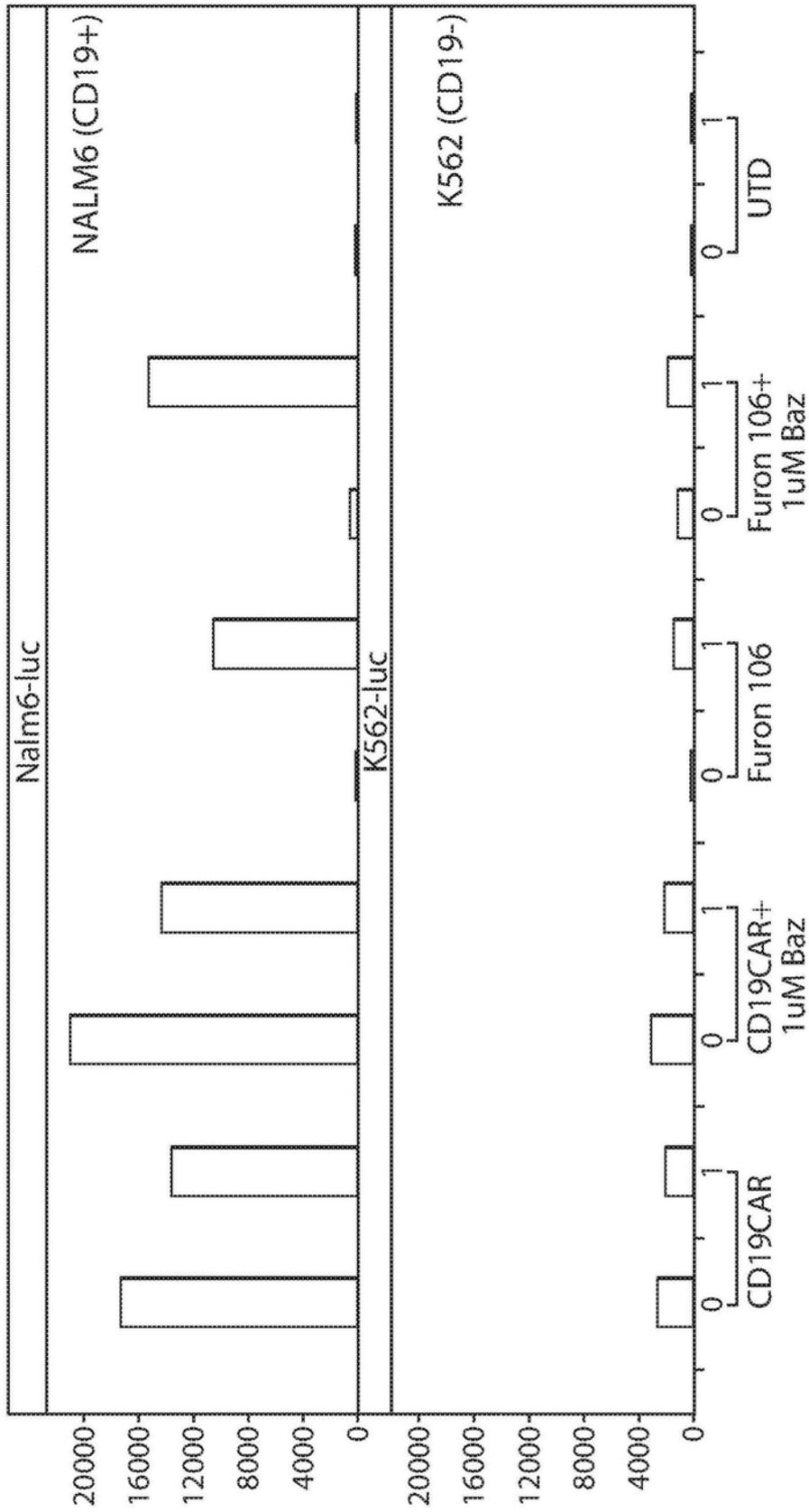


图16

雷洛昔芬

巴多昔芬

4-OH他莫昔芬

FurONCART19 #106

FurONCART19 #130

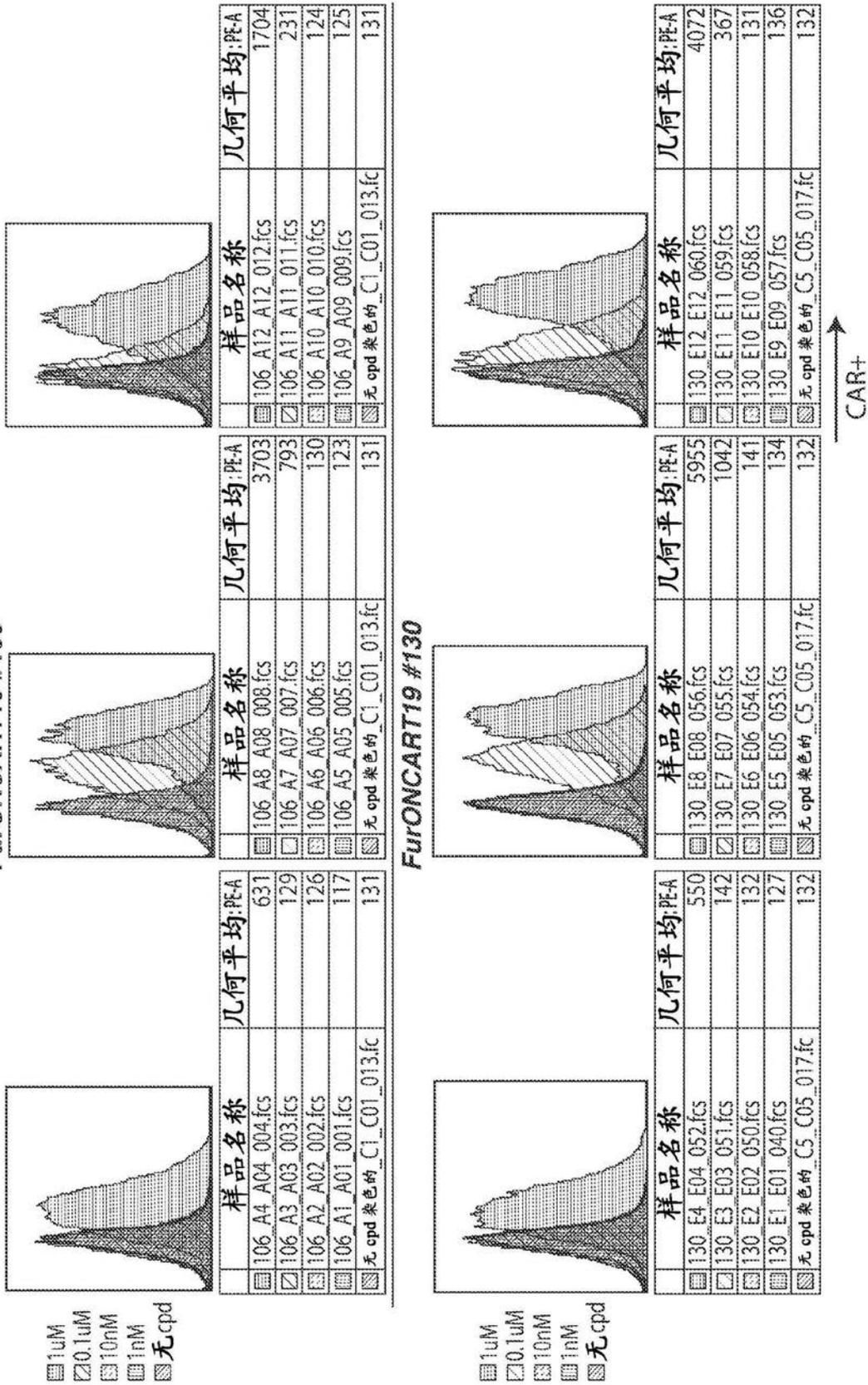


图17

	UTD		FurON 130		CART 19	
处理	%CAR	MFI	%CAR	MFI	%CAR	MFI
无	2.91	1952	2.85	1722	38.8	3305
BZA	6.86	2857	9.29	3482	36.5	7999
BZA + IL2	1.09	2600	38.8	6863	34.2	8142
+IL2	0.53	962	0.72	988	37.9	2977

图18

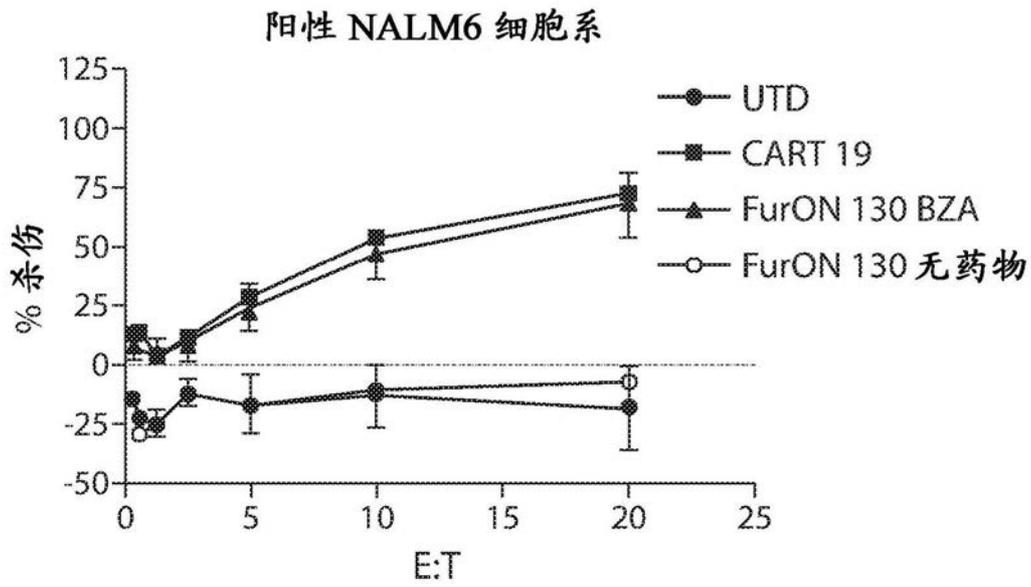


图19A

阴性 K562 细胞系

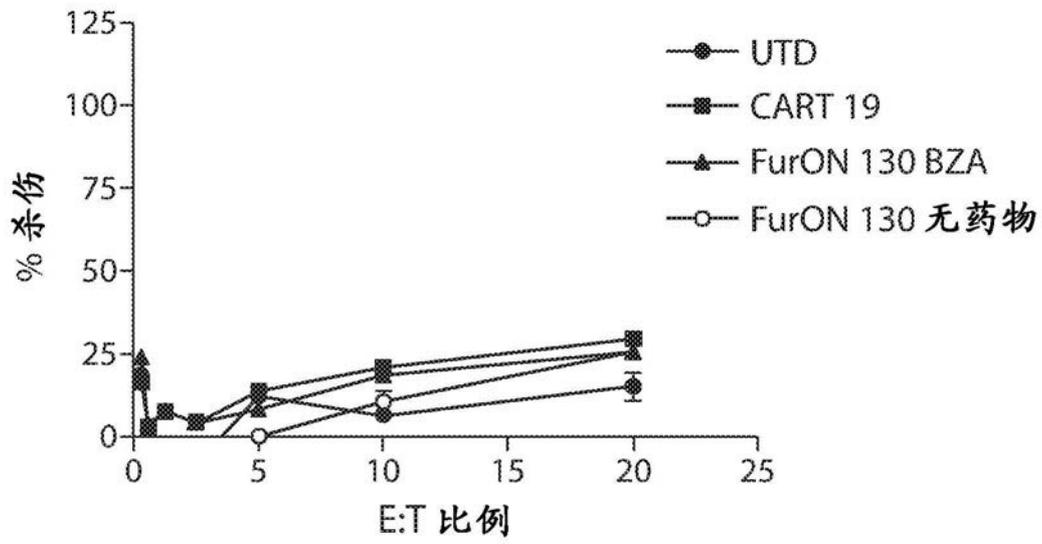


图19B

CD19+ NALM6 细胞

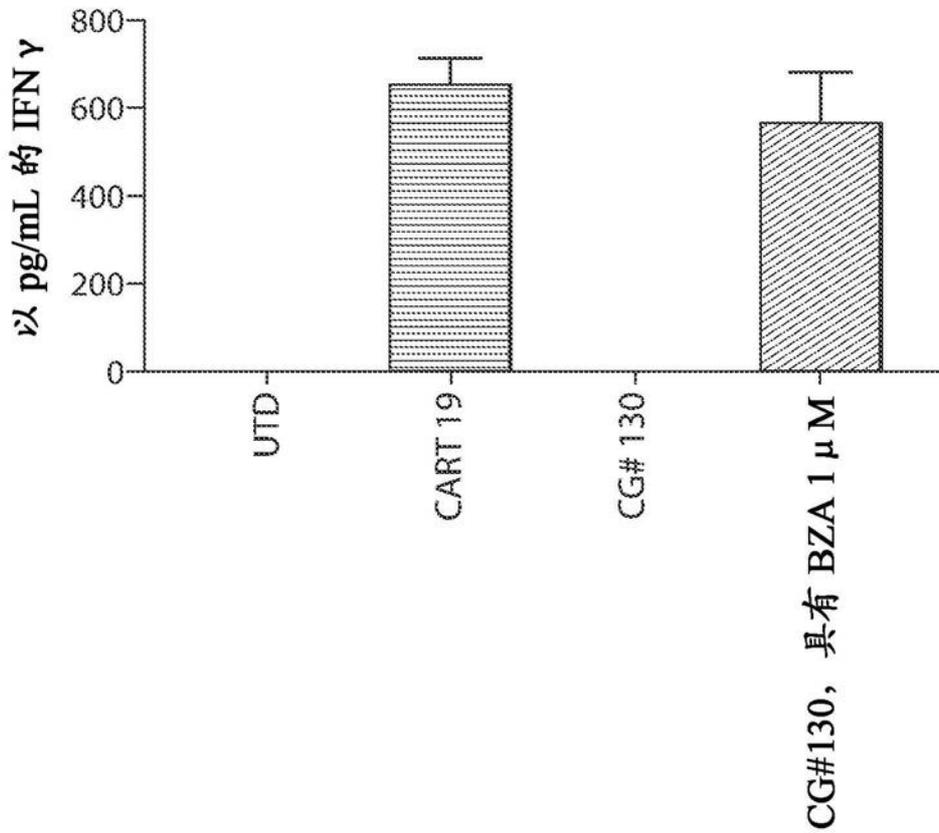


图20

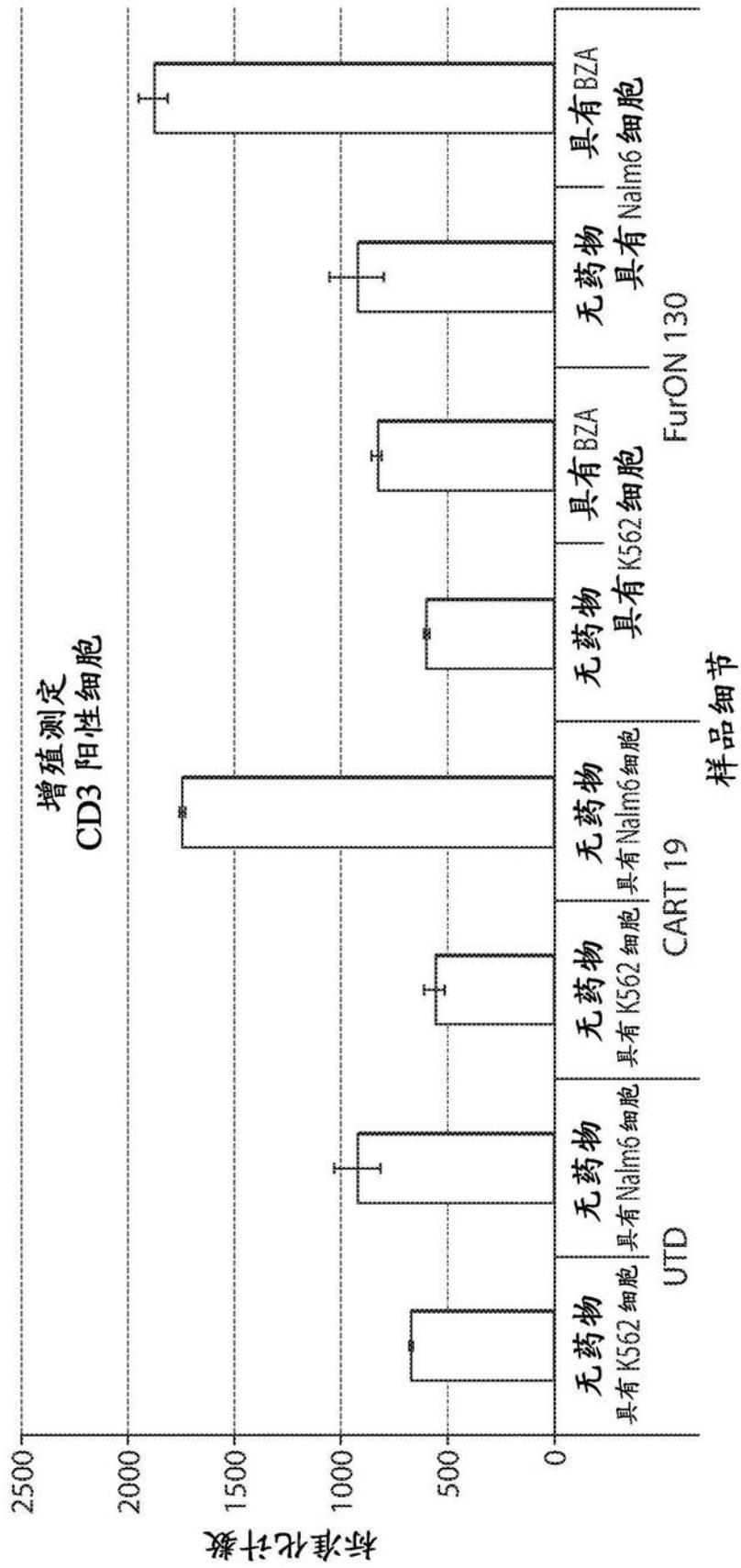
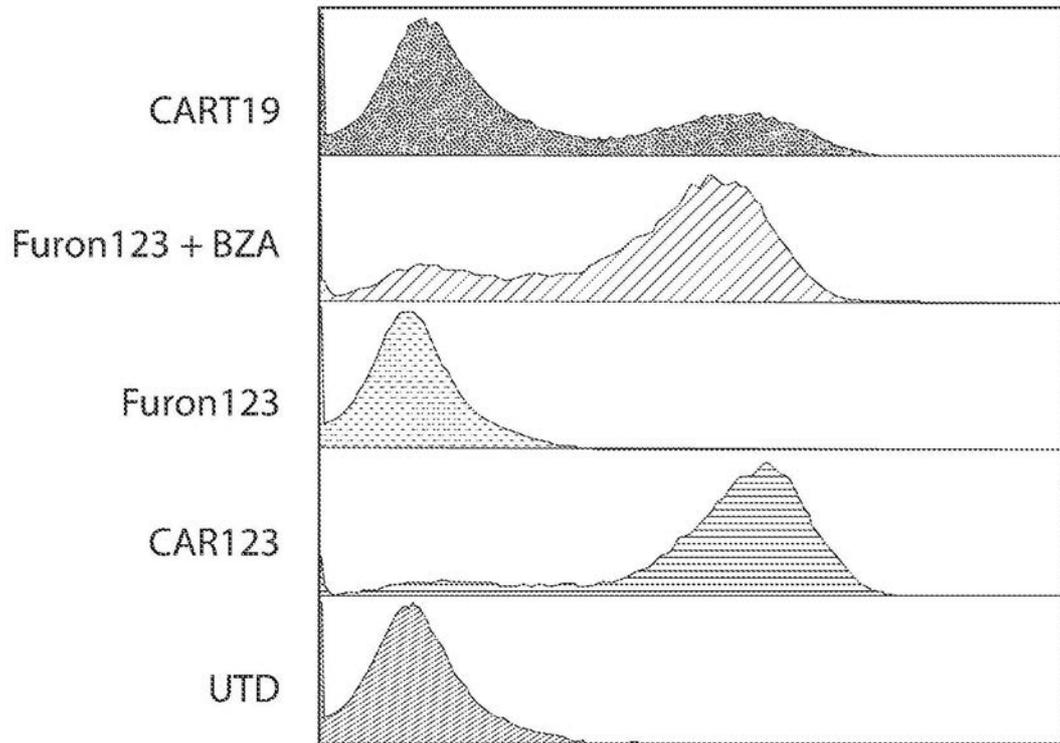


图21



	样品名称	几何平均: Comp-APC-Cy7-A
■	第 9 天样品_A7_A07_007.fos	219
▨	第 9 天样品_A6_A06_006.fos	877
▩	第 9 天样品_A5_A05_005.fos	11.9
▧	第 9 天样品_A3_A03_003.fos	2050
▦	第 9 天样品_A1_A01_001.fos	14.5

图22

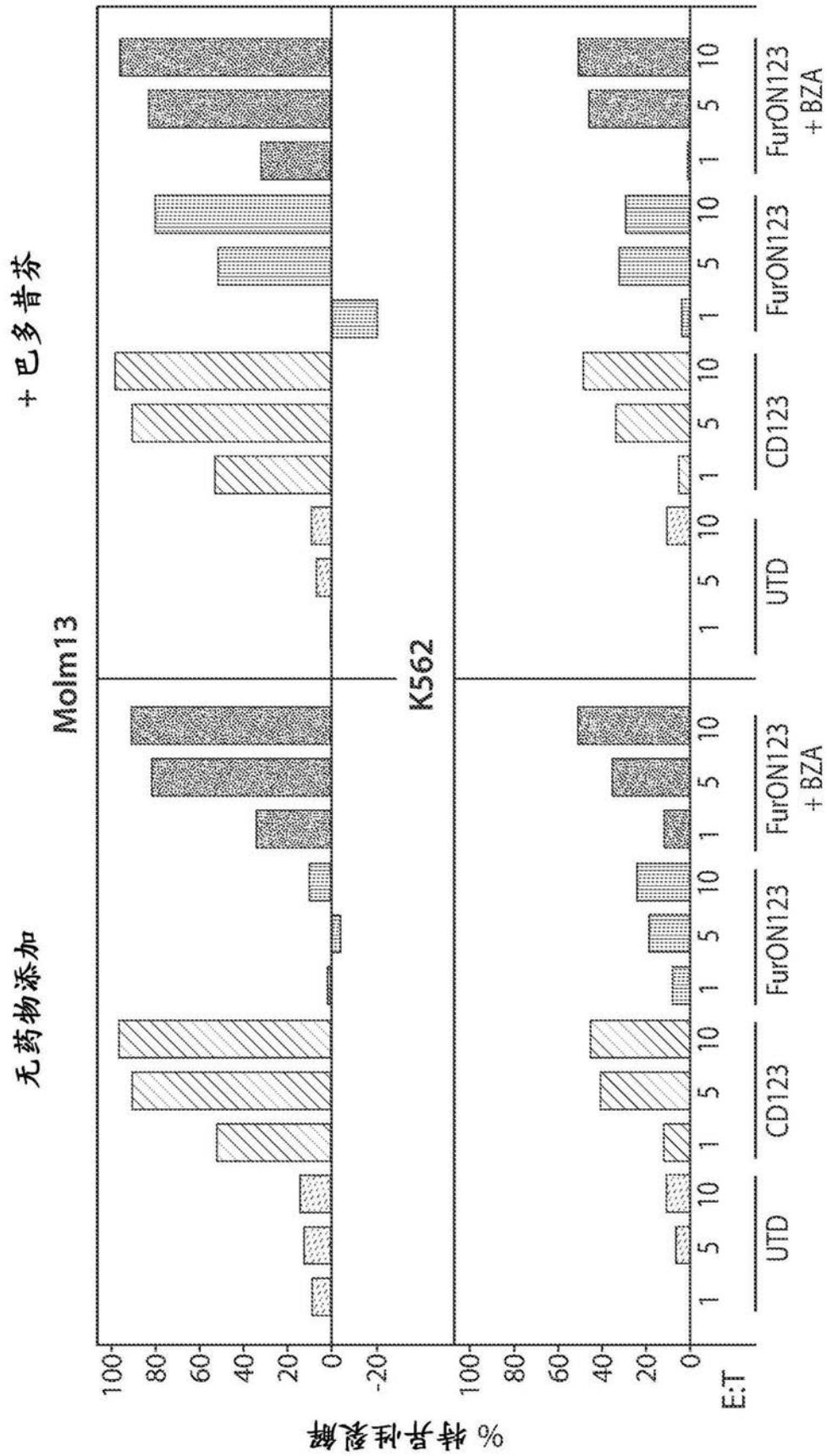


图23

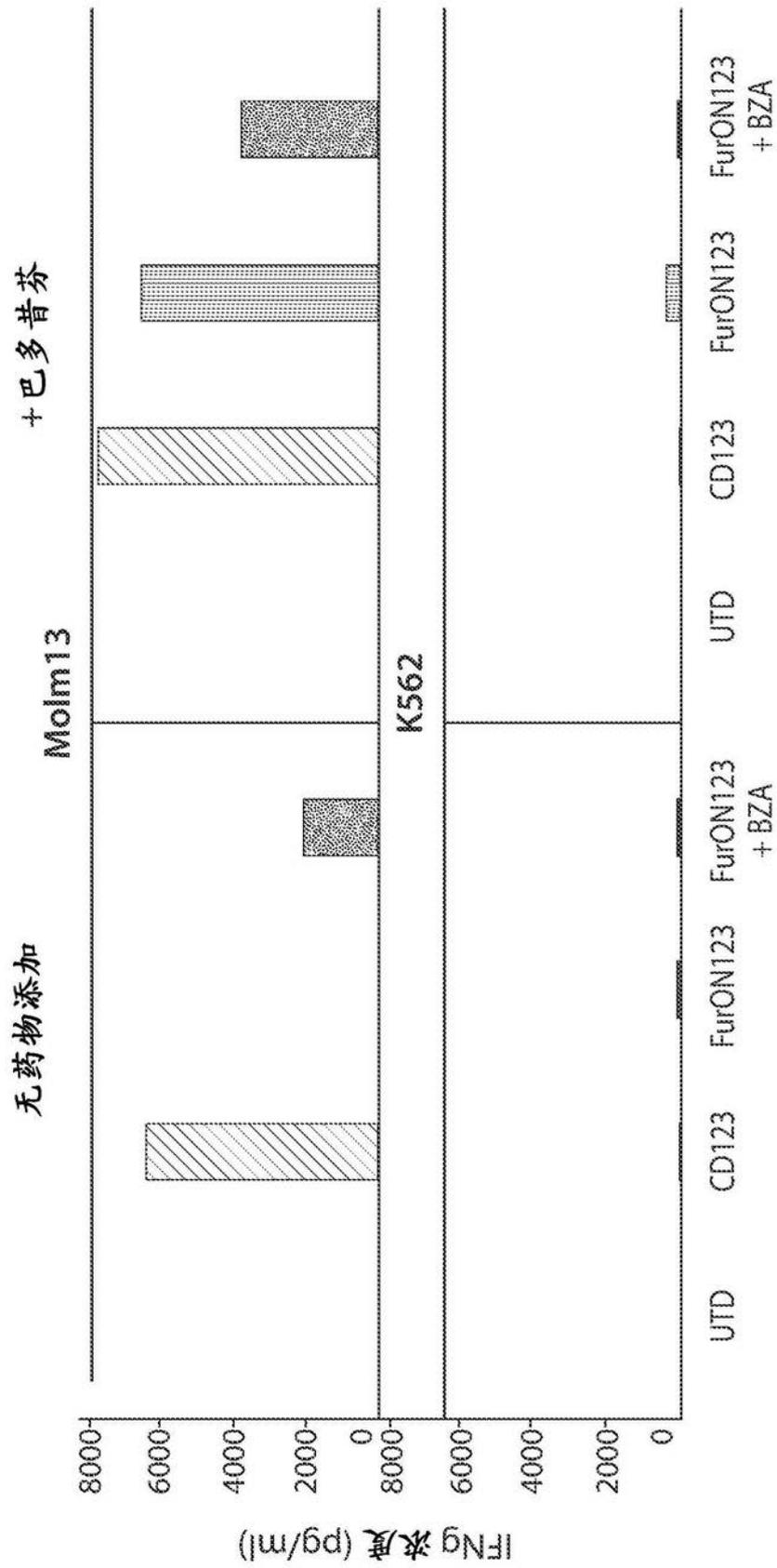


图24

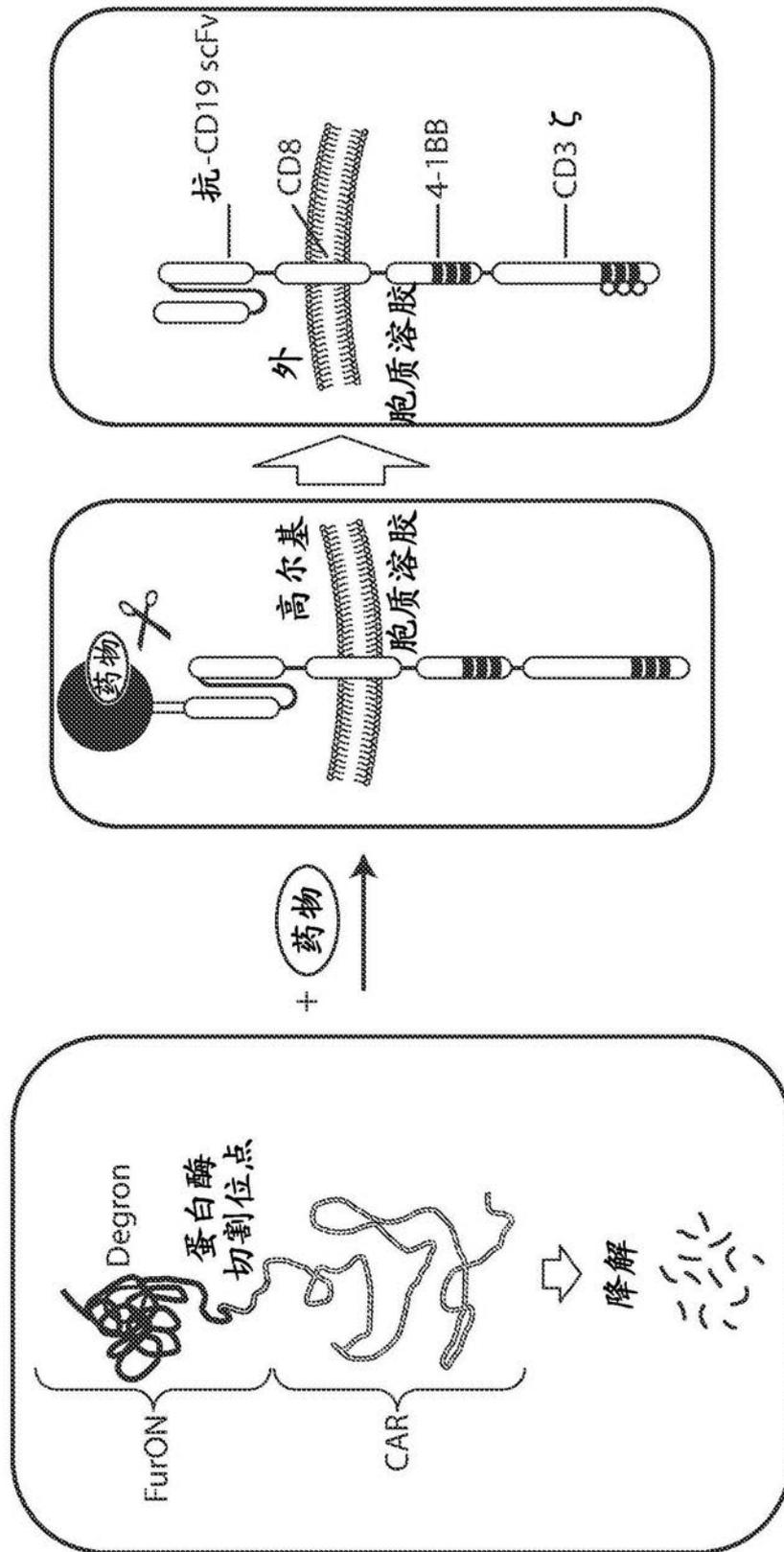


图25

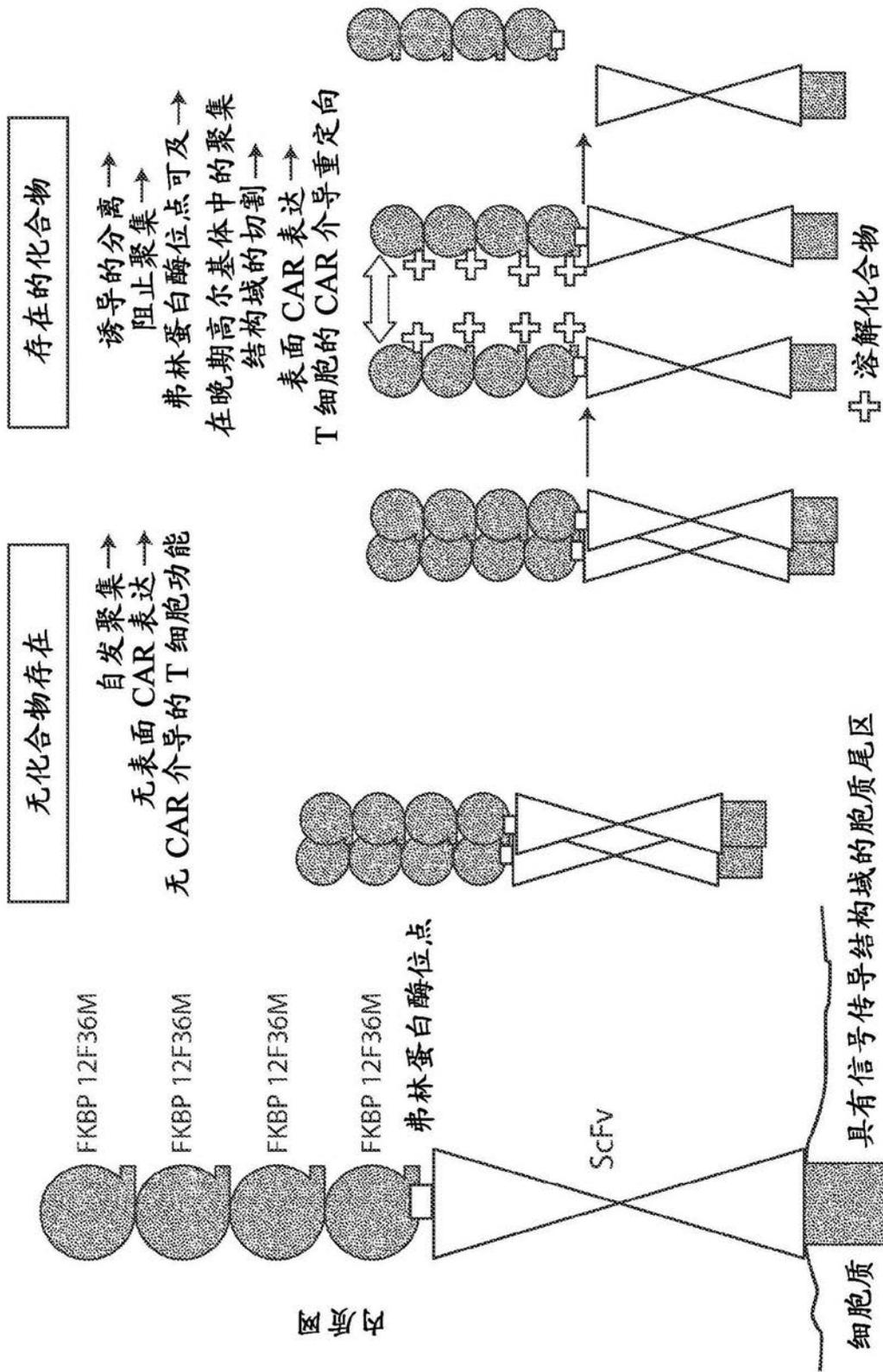


图26

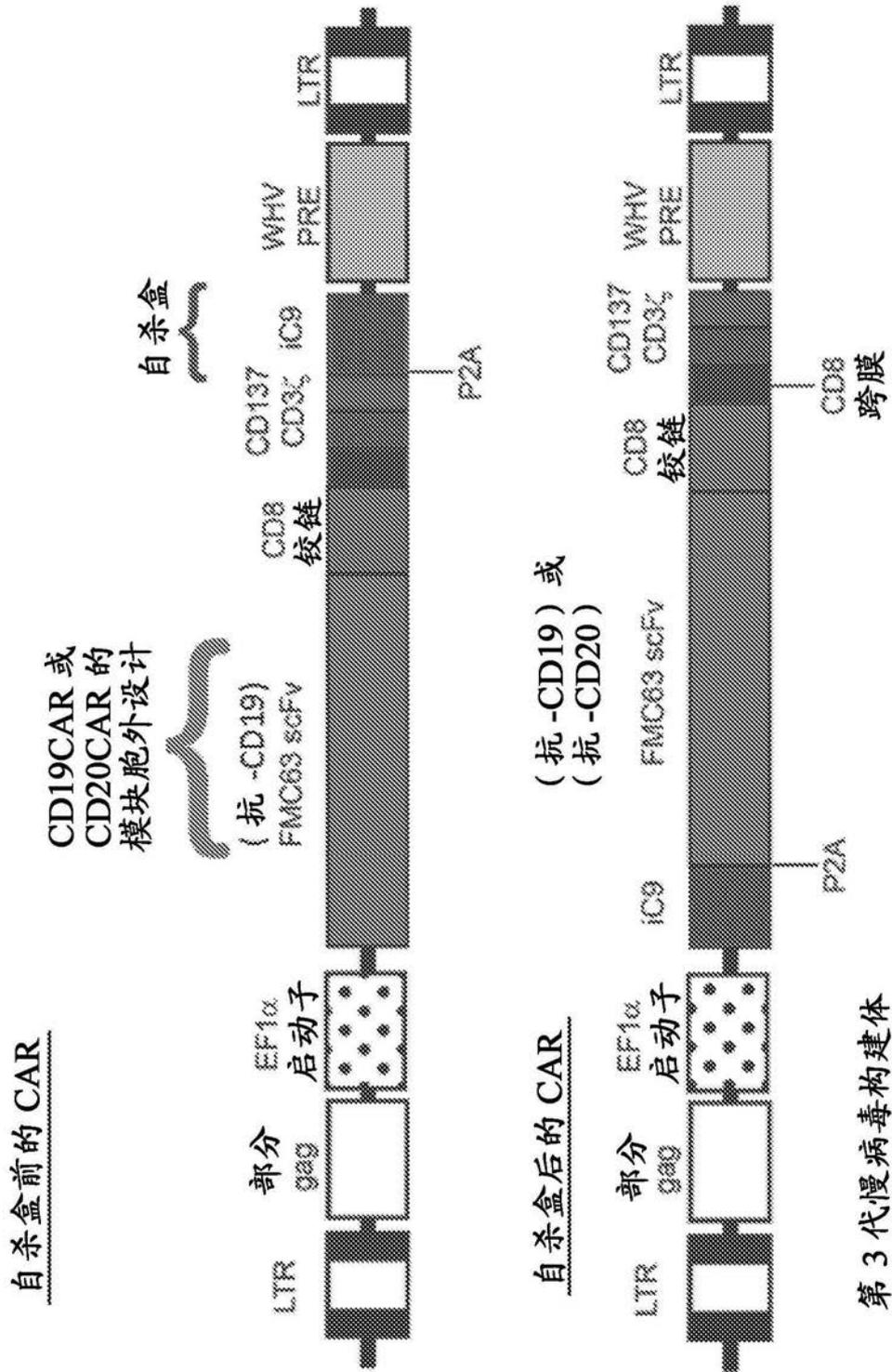


图27

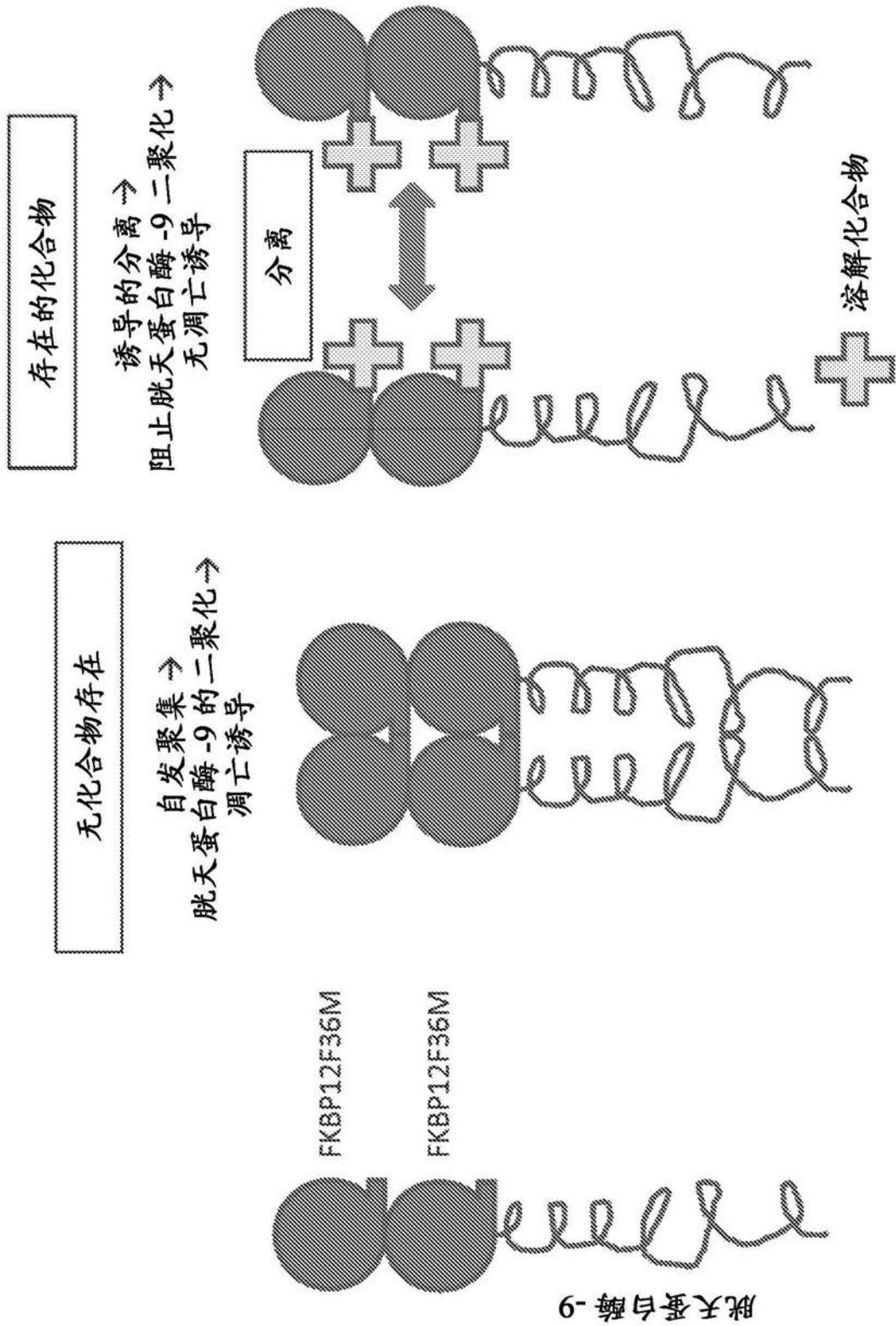


图28

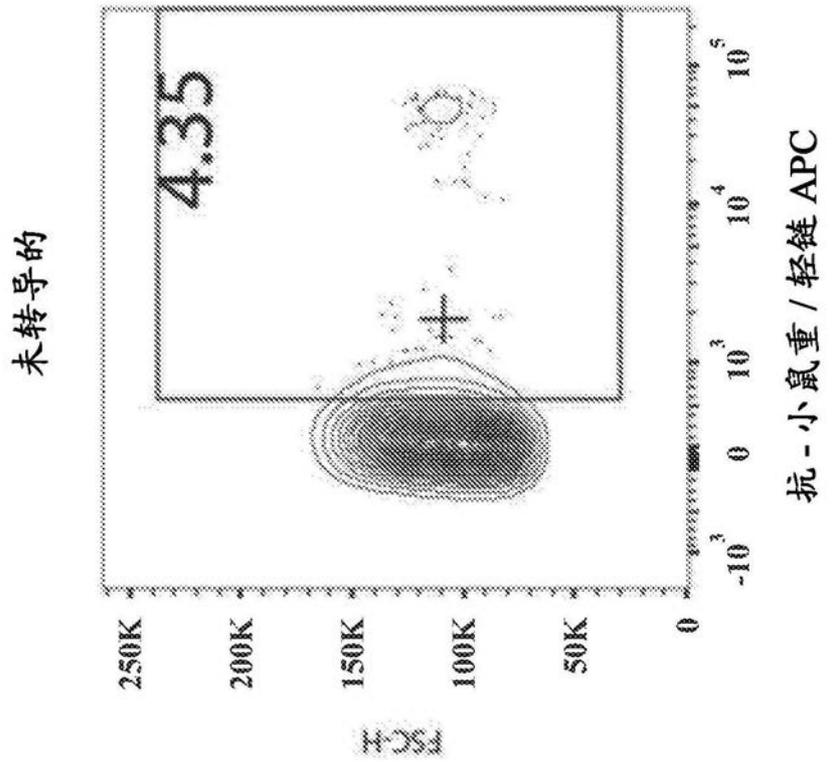


图29A

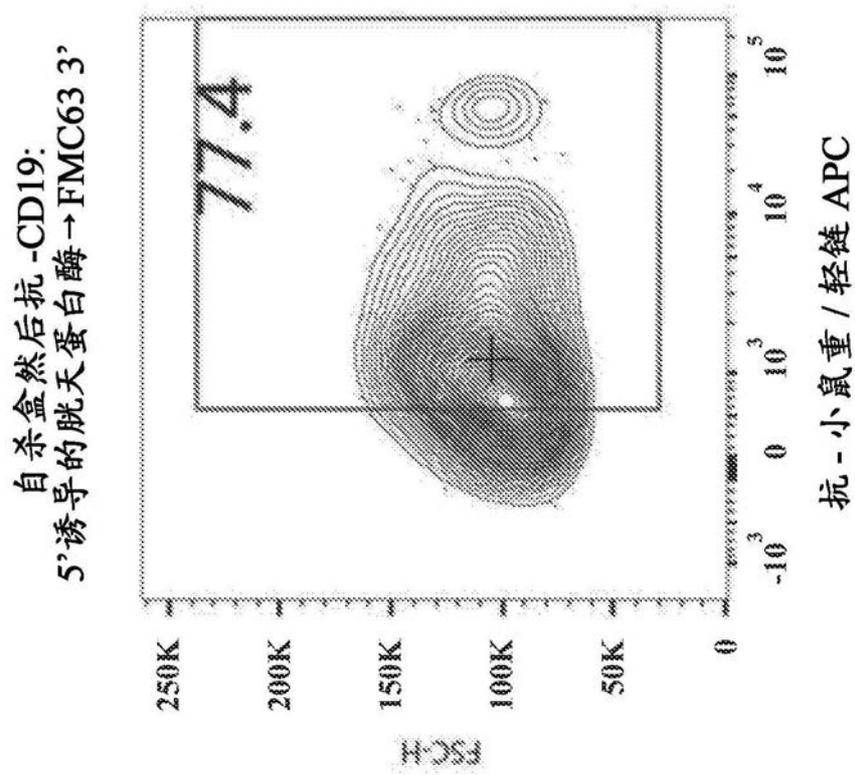


图29B

抗-CD19 然后自杀盒:
5'FMC63 → 诱导的胱天蛋白酶 3'

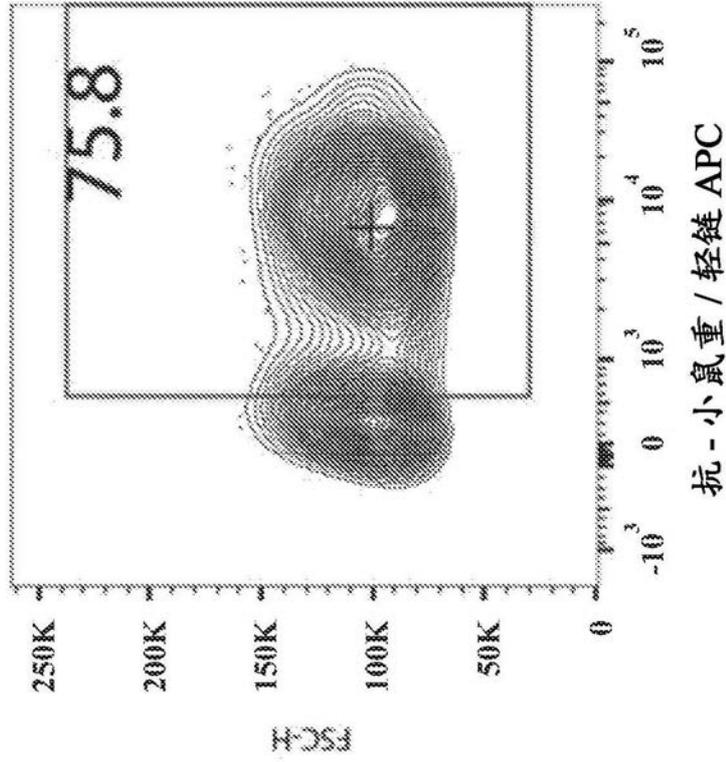


图29C

抗-CD19 然后可逆性自杀盒:
5'FMC63 → 可逆性胱天蛋白酶 3'

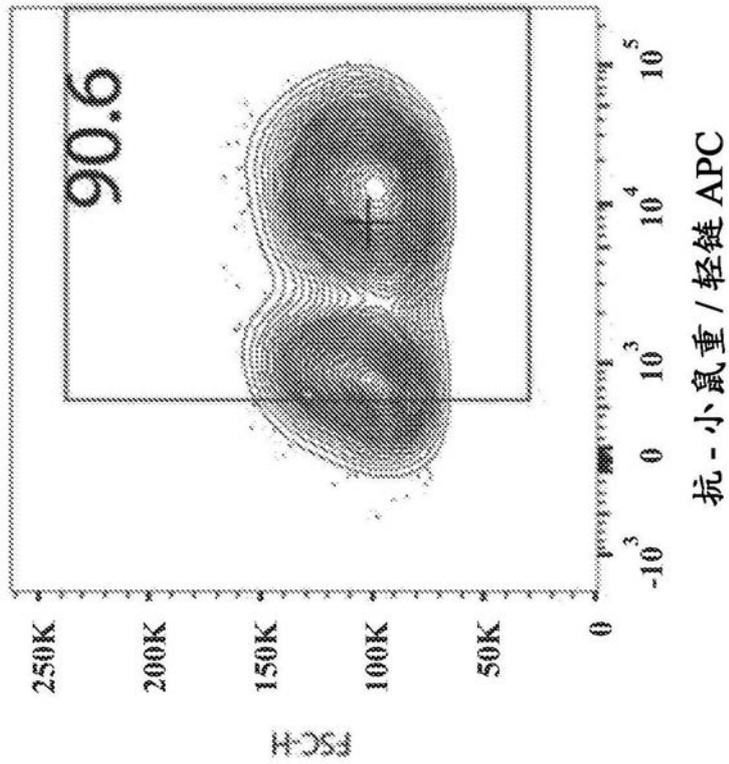


图29D

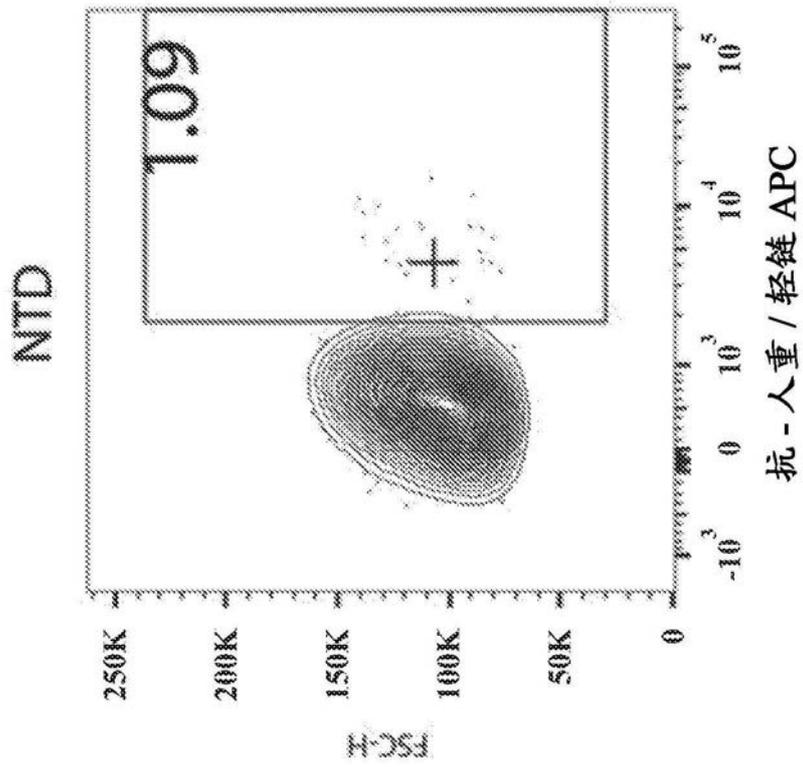


图29E

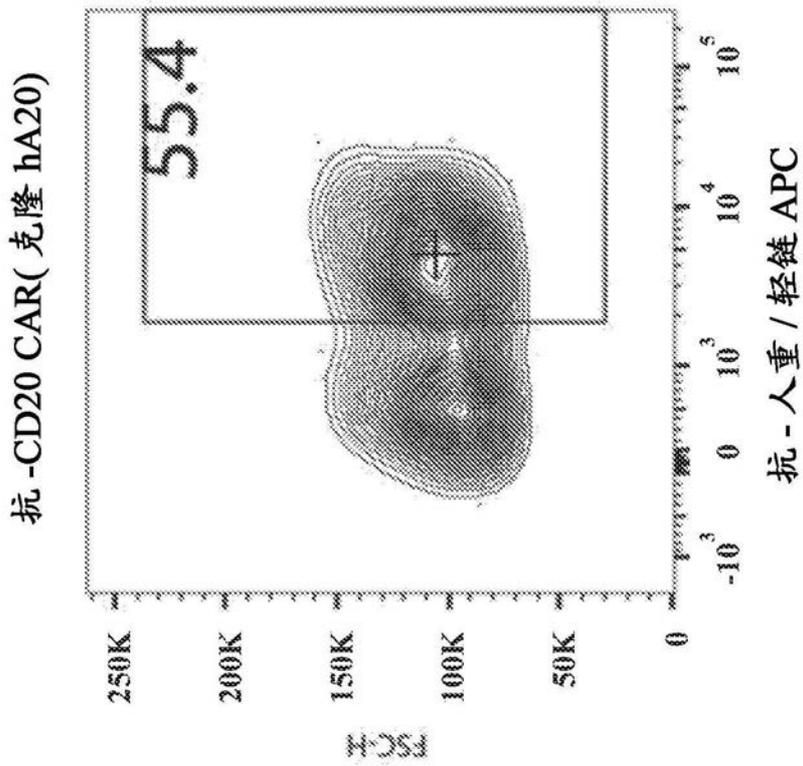
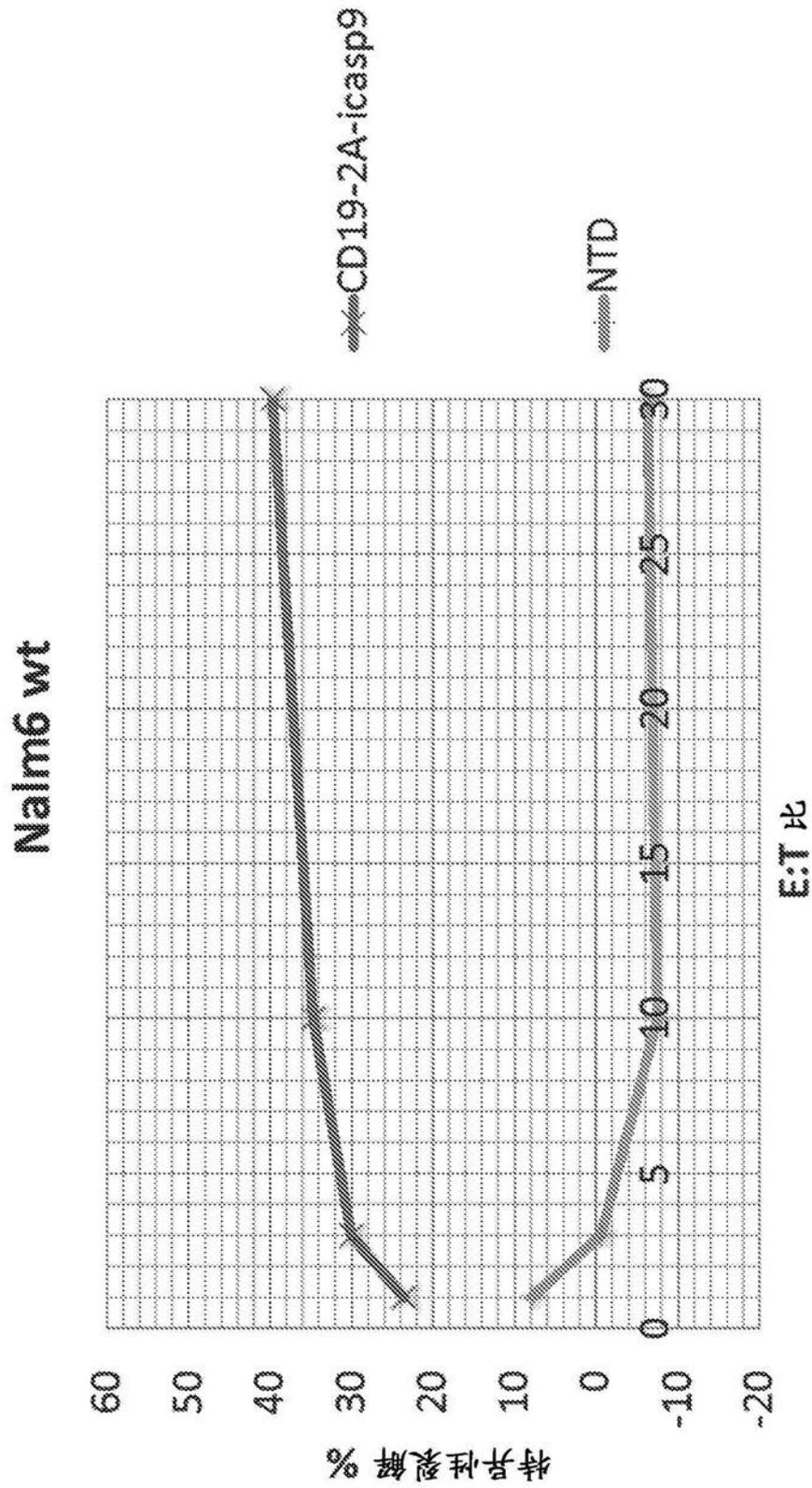


图29F



⁵¹ 铬释放测定

图30

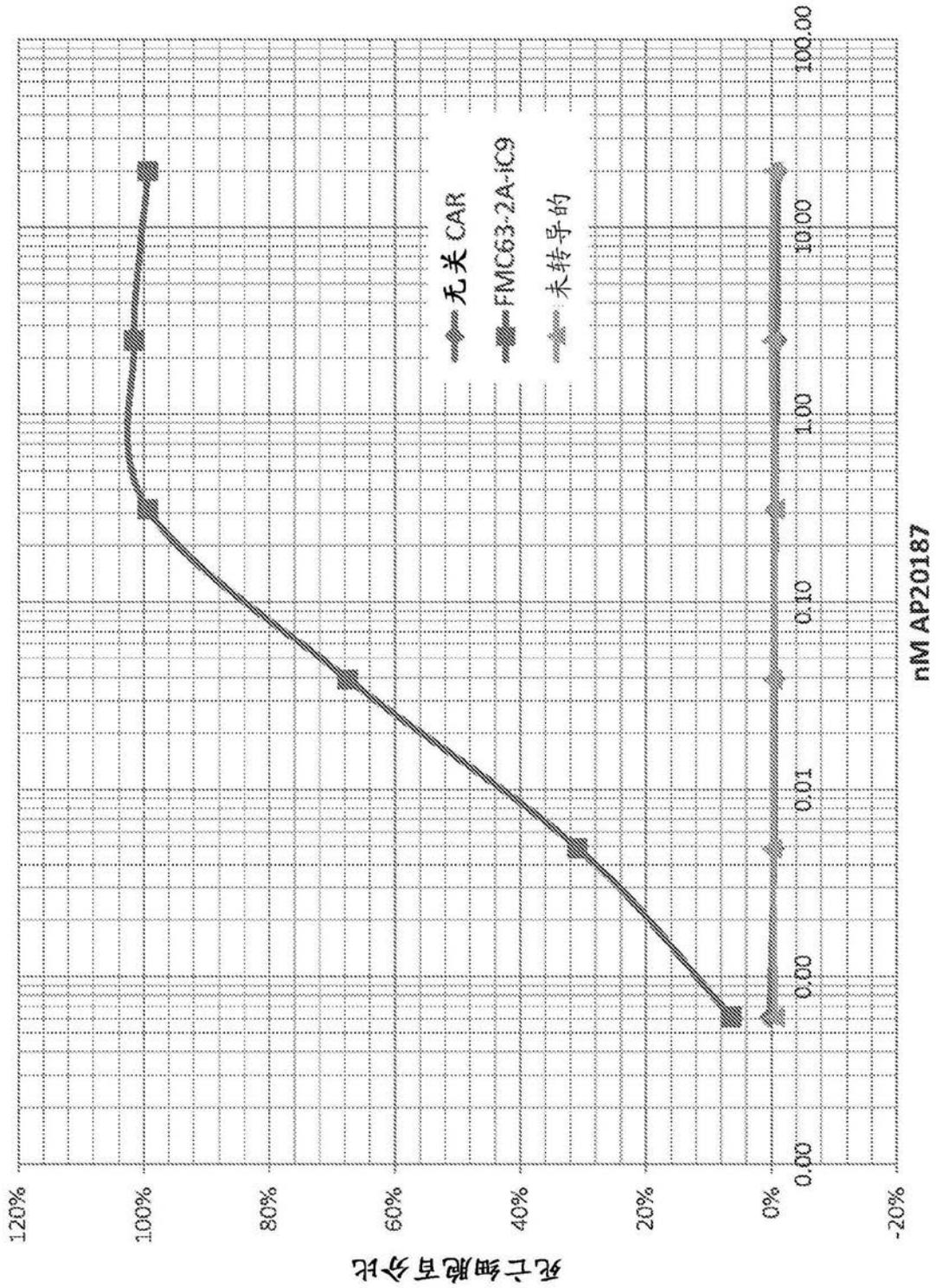


图31

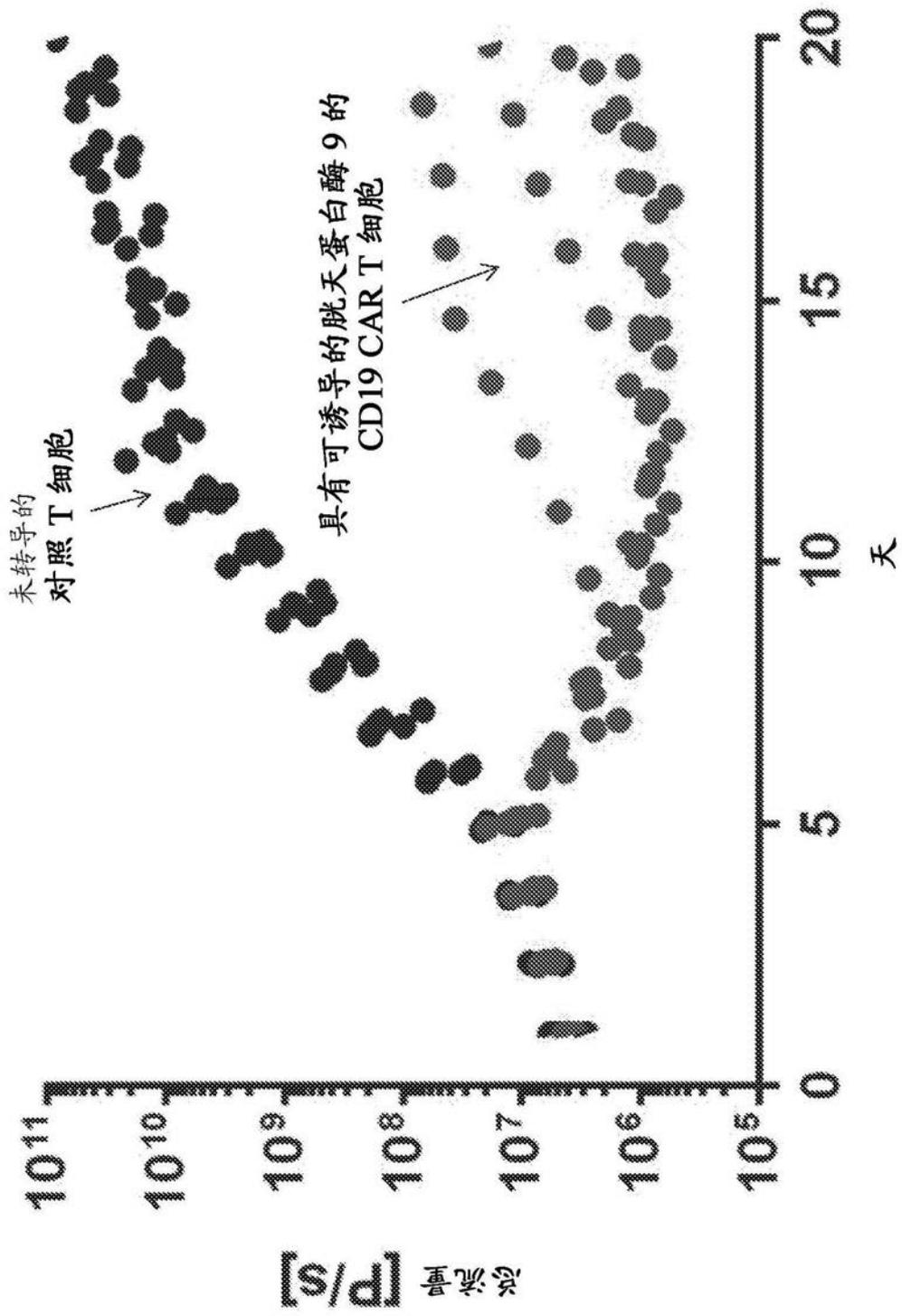


图32

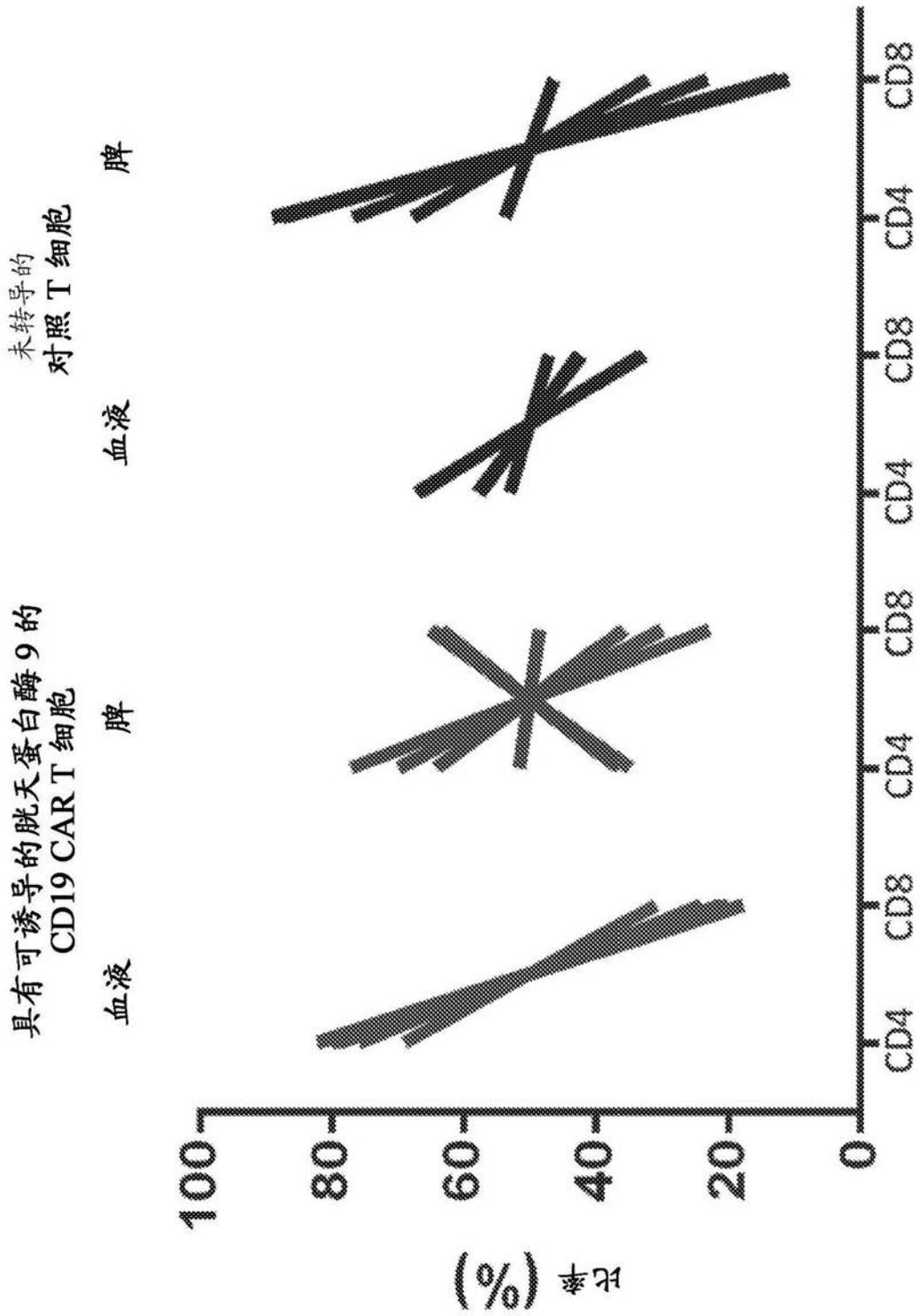


图33

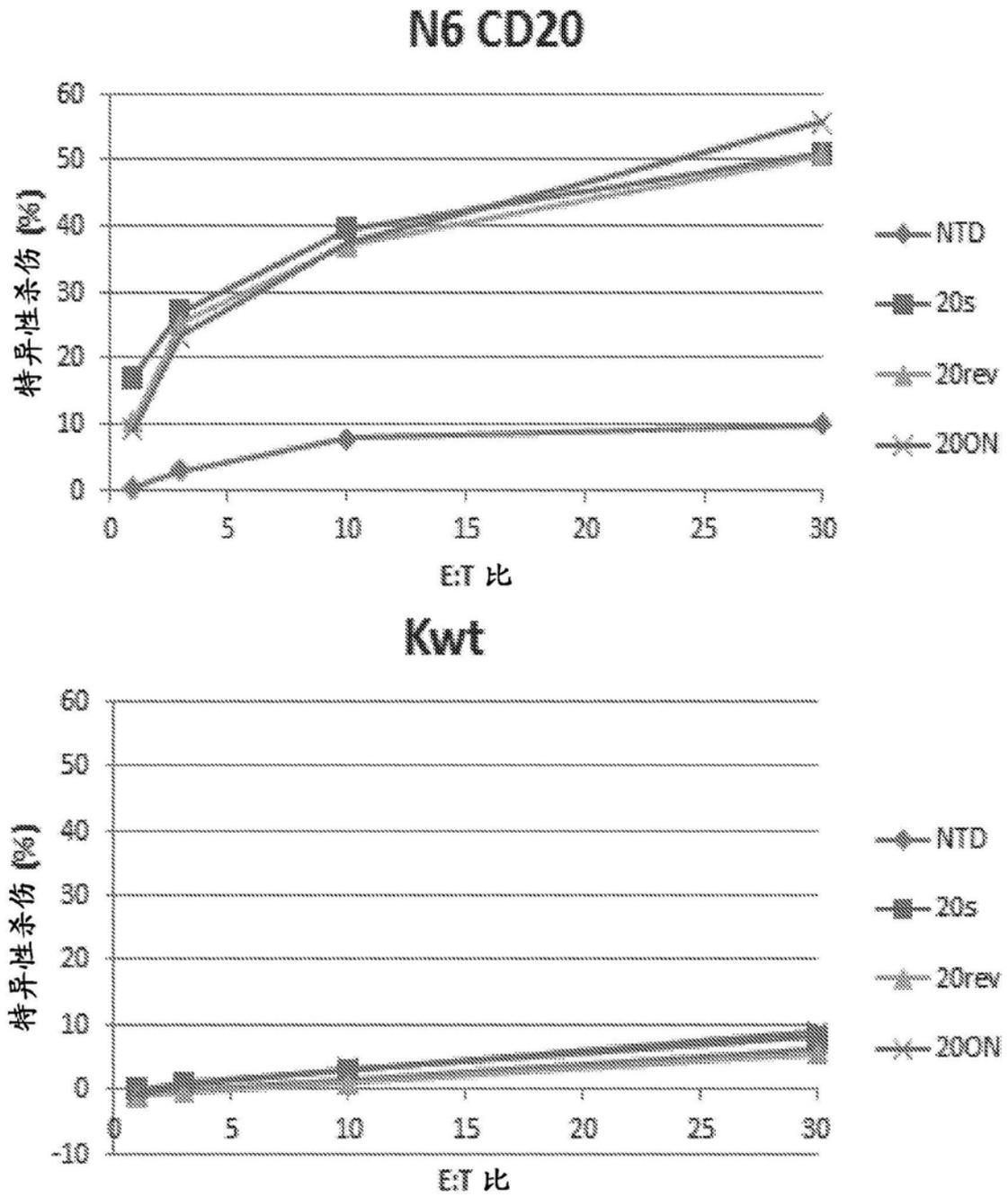


图34

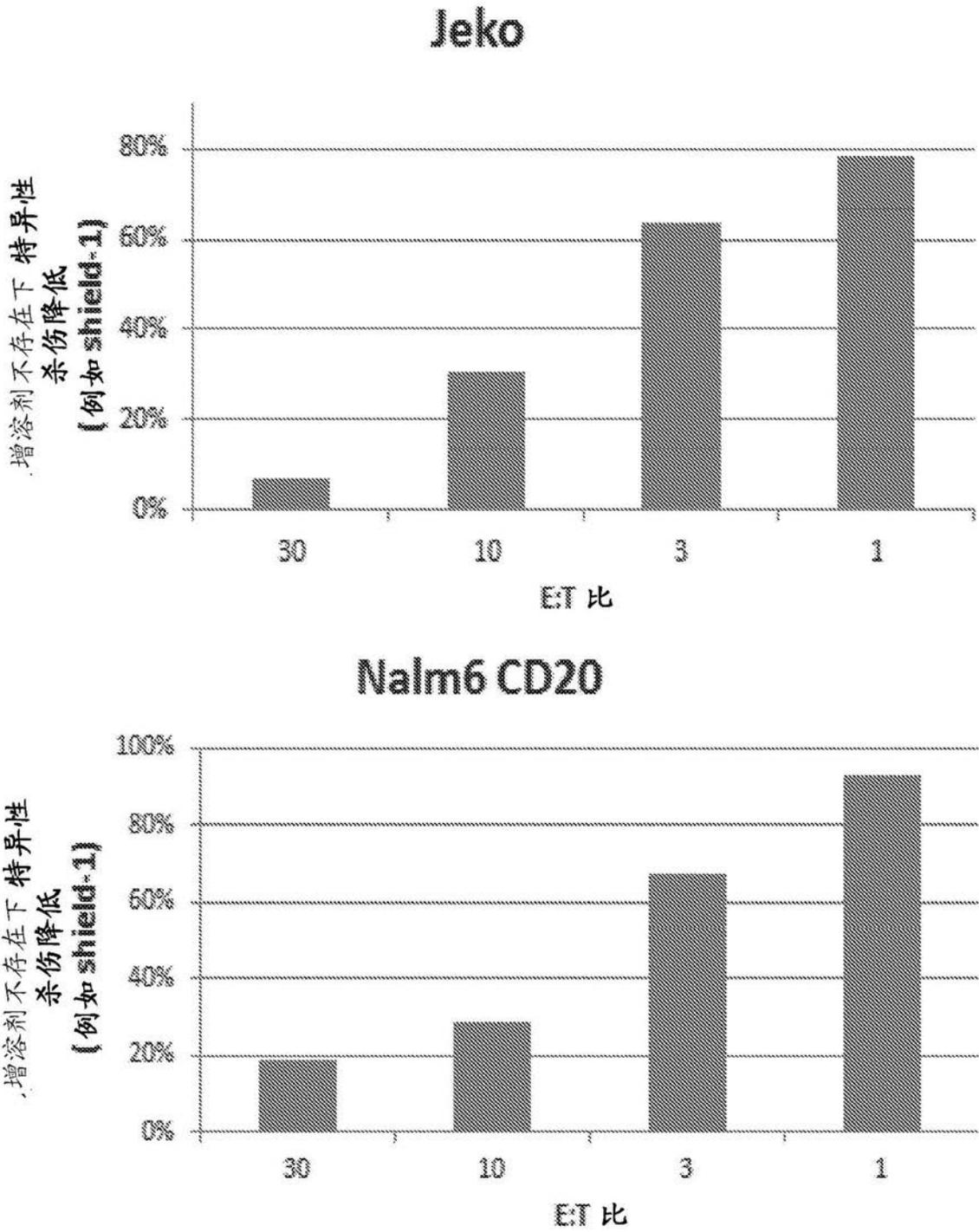


图35

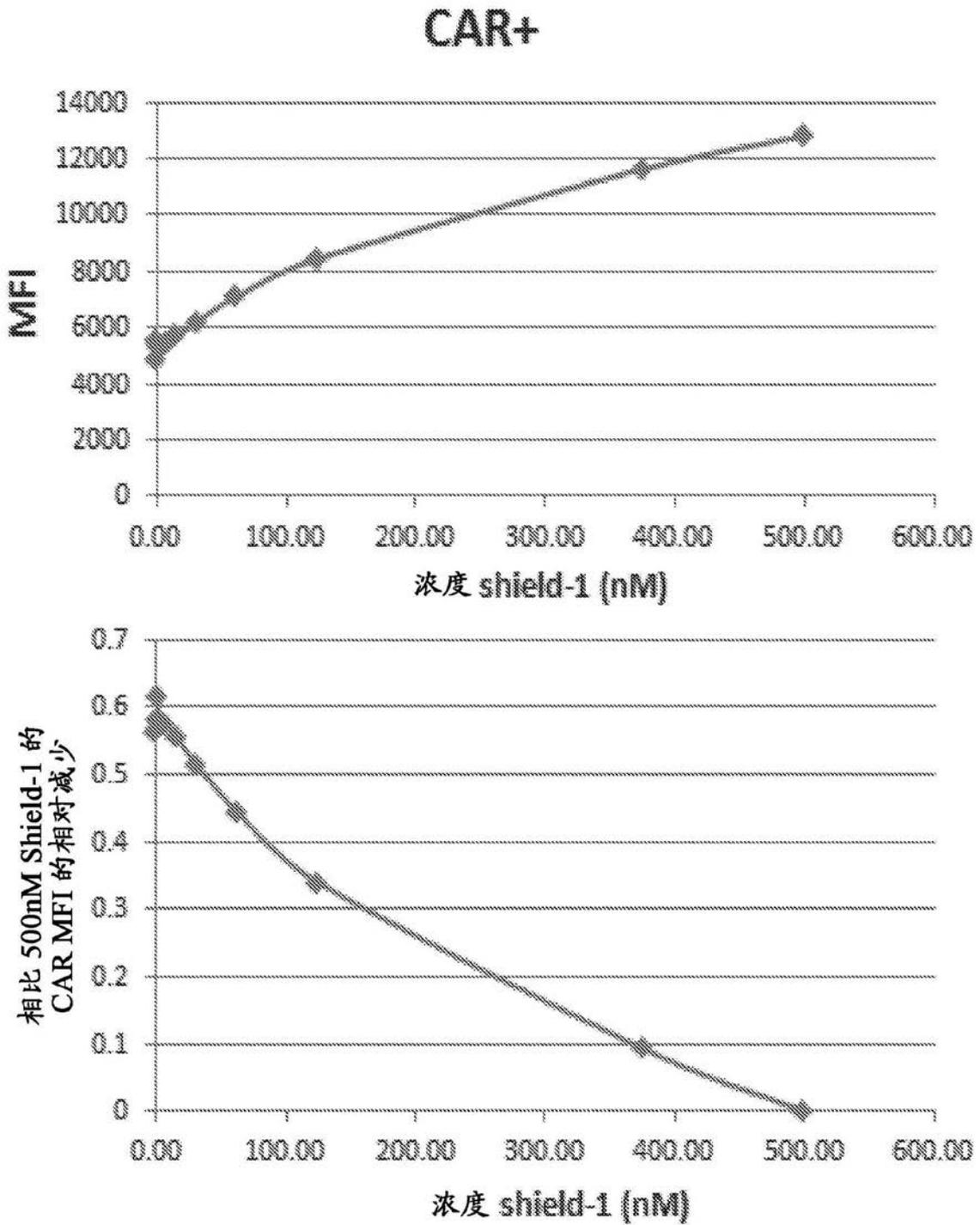


图36

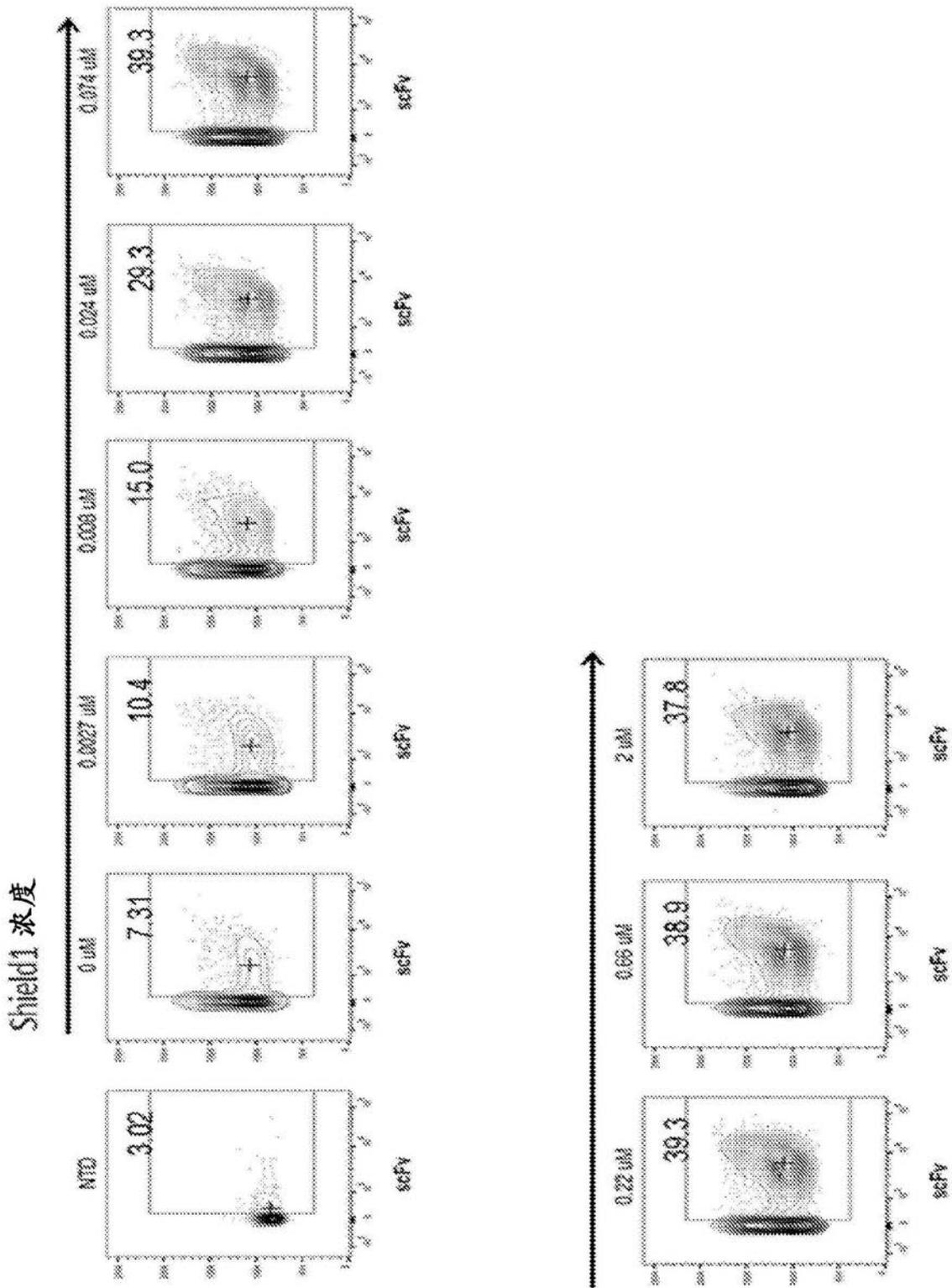


图37

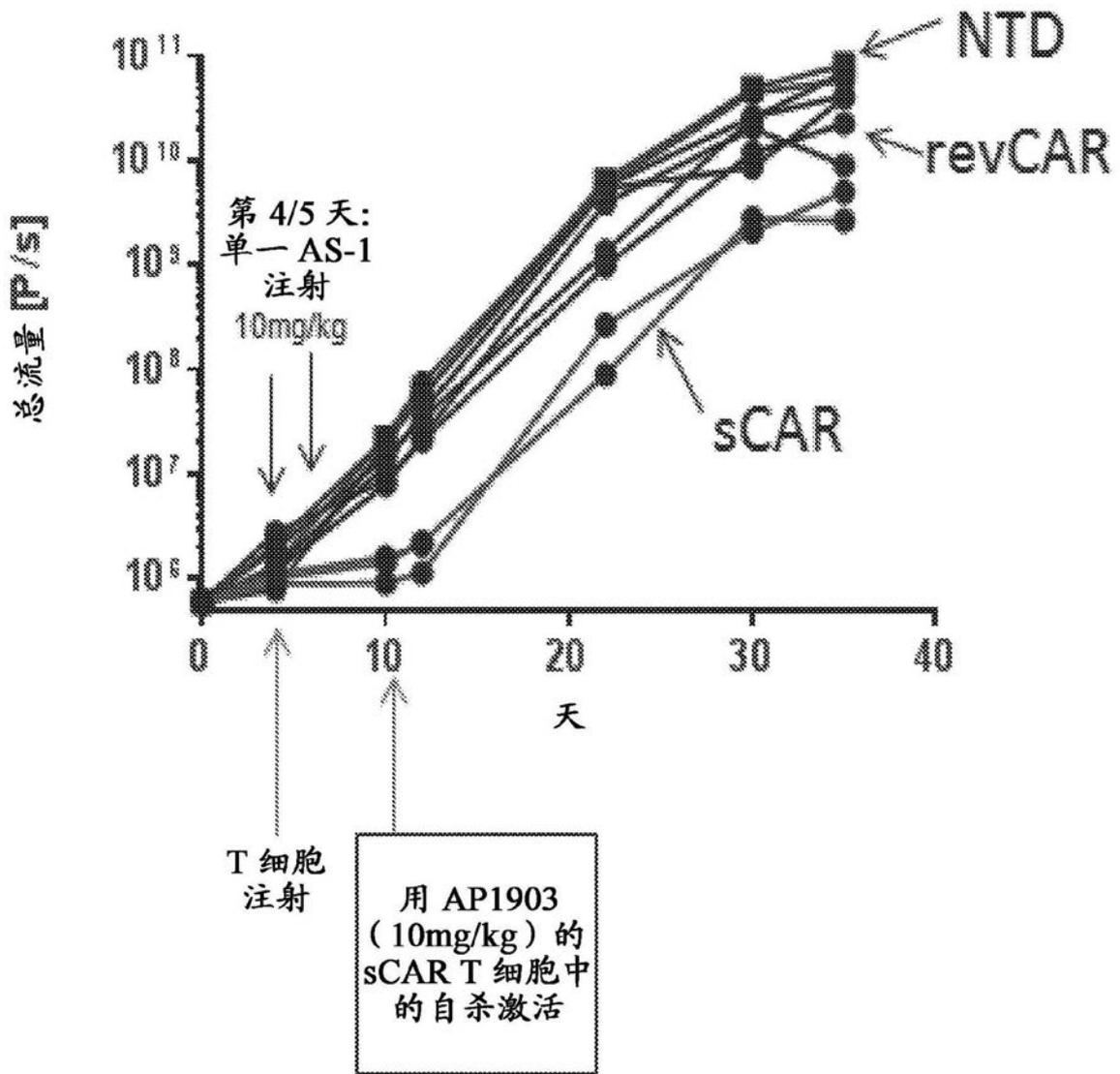


图38

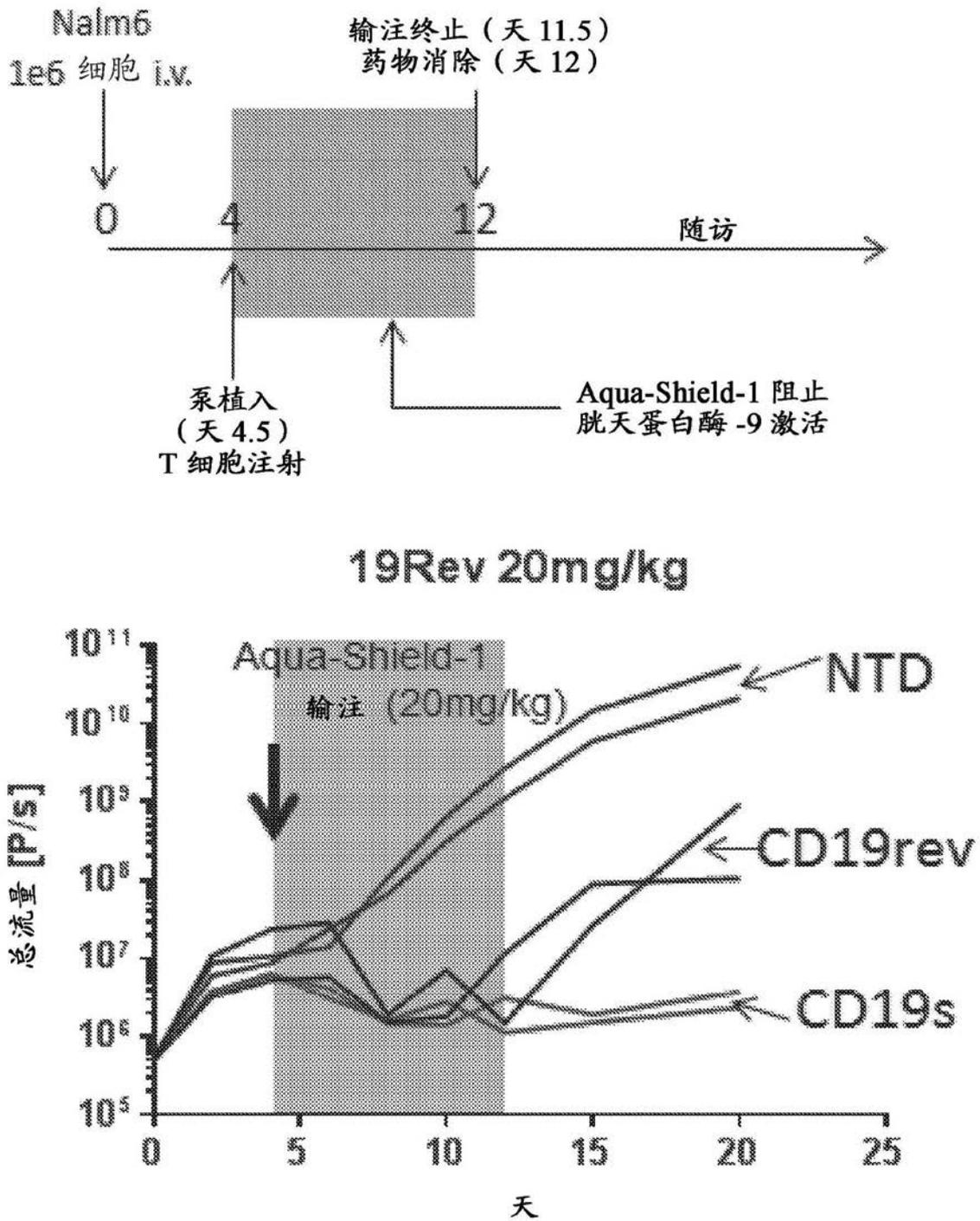
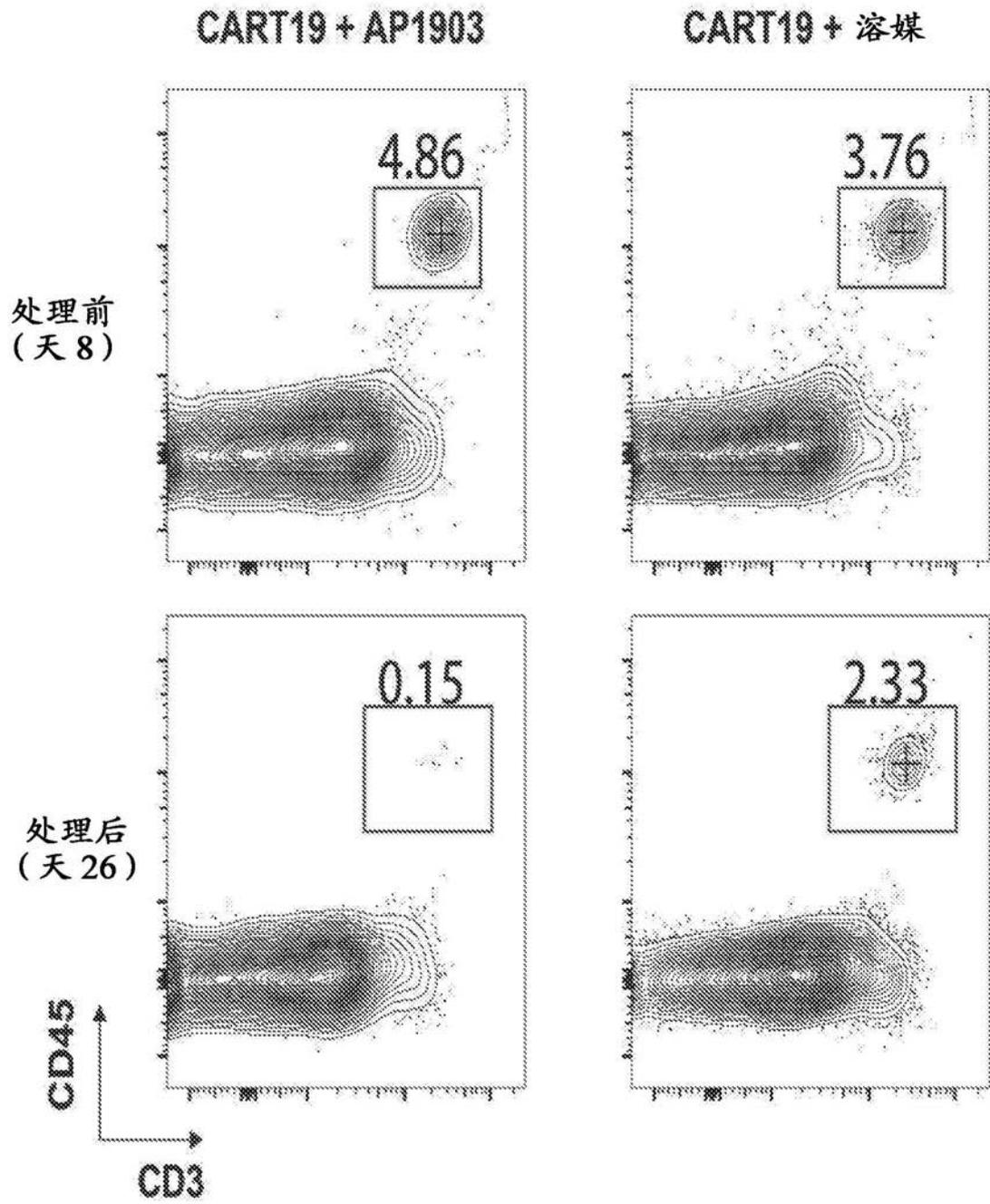


图39



全血, 单线门控 → 淋巴细胞

图40

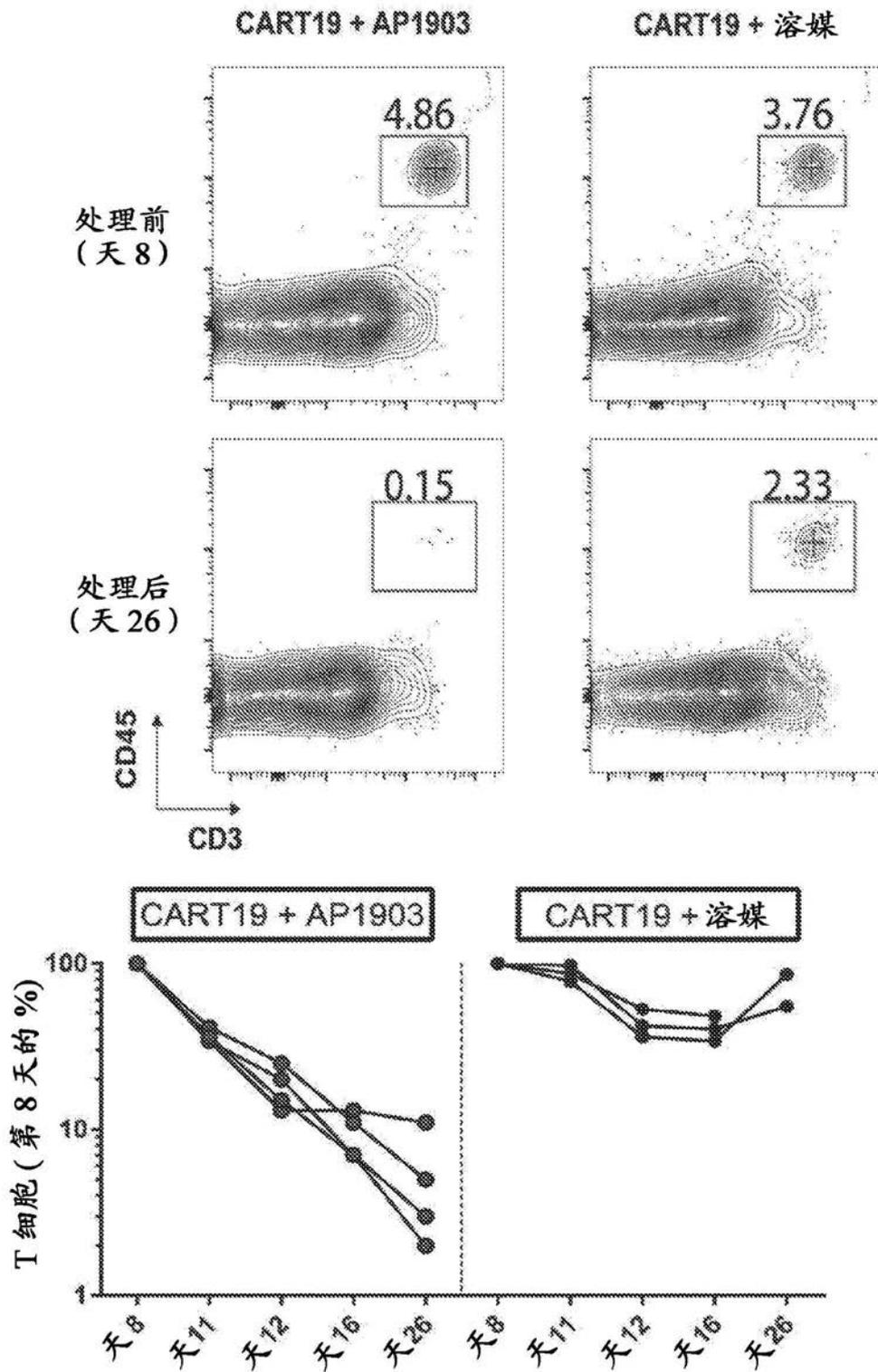


图41

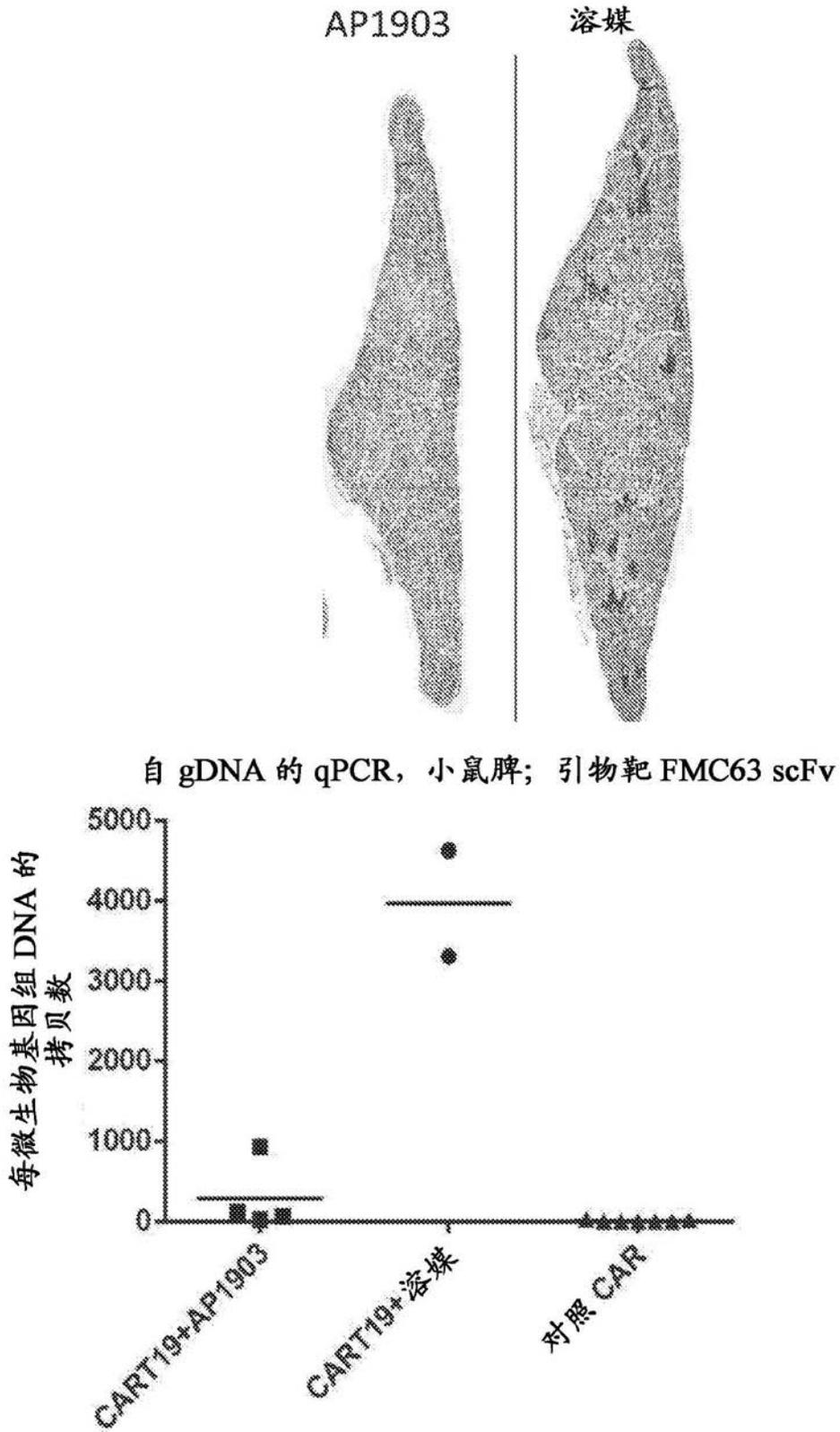


图42

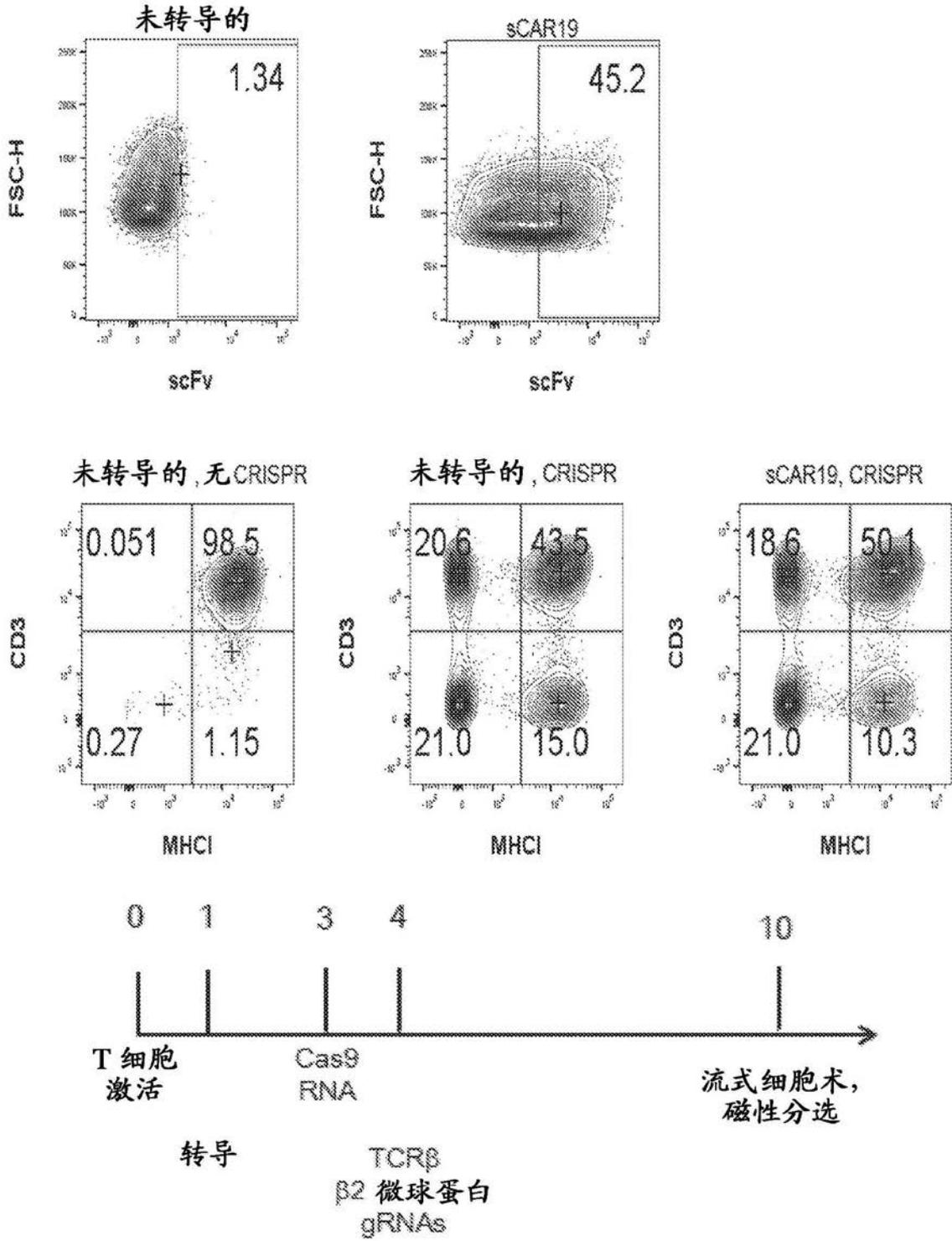


图43

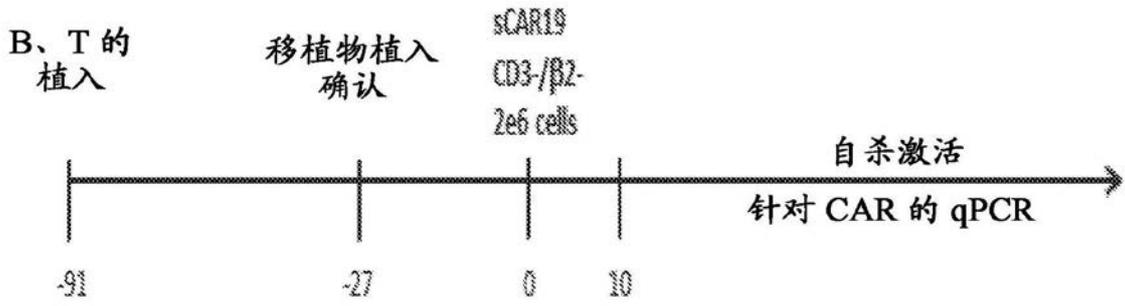


图44

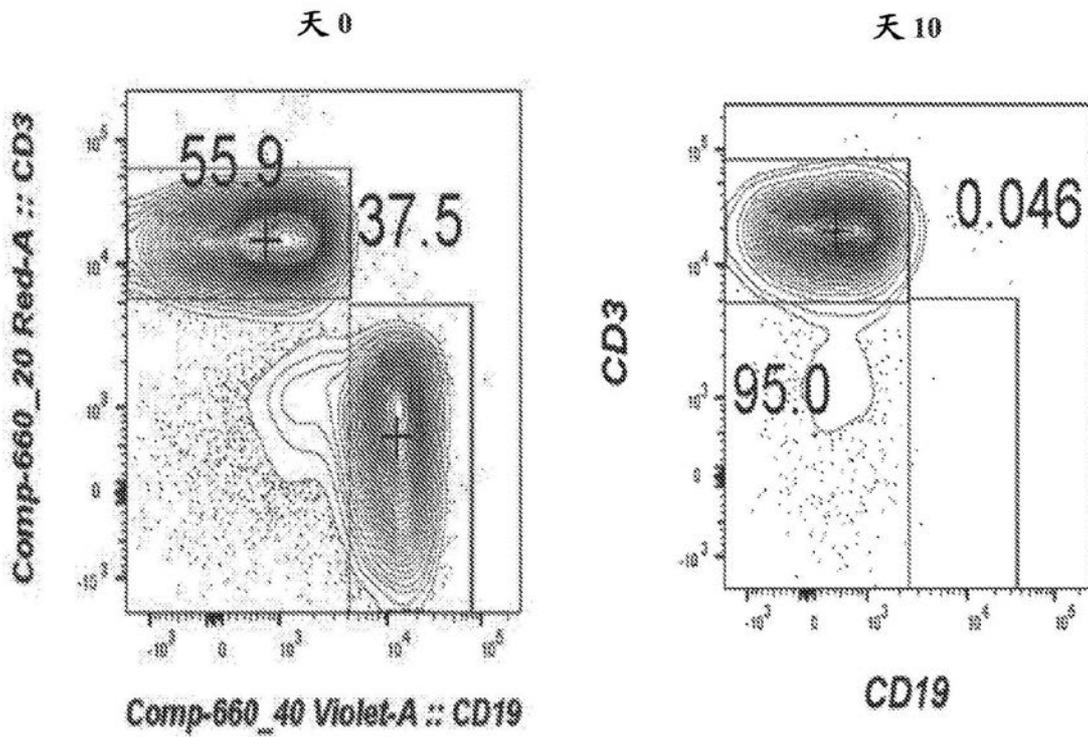


图45

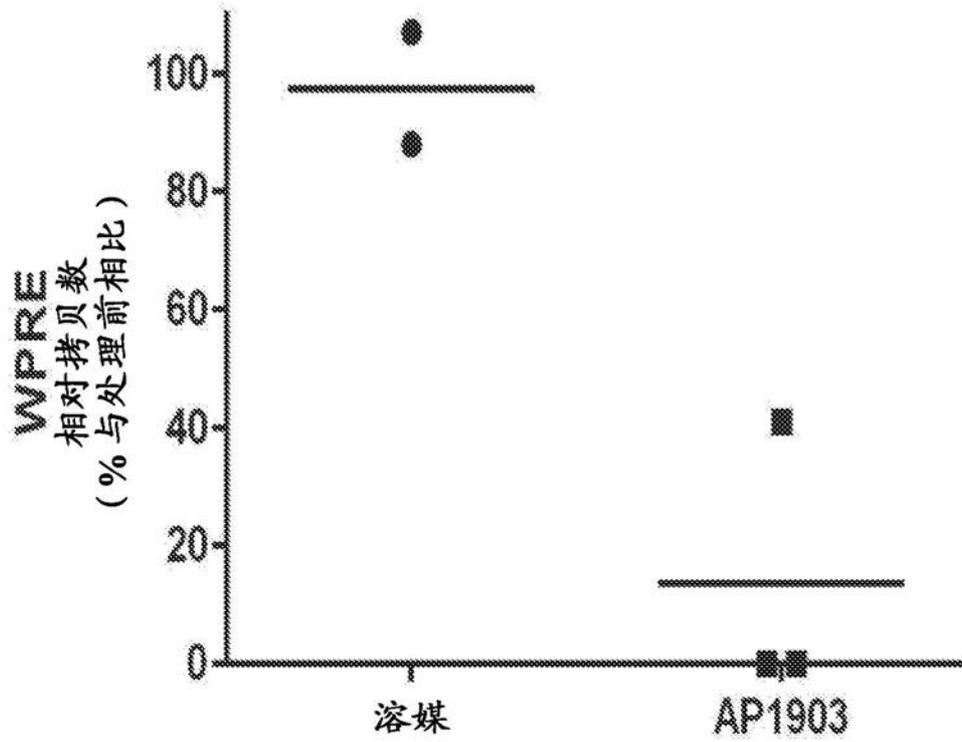


图46

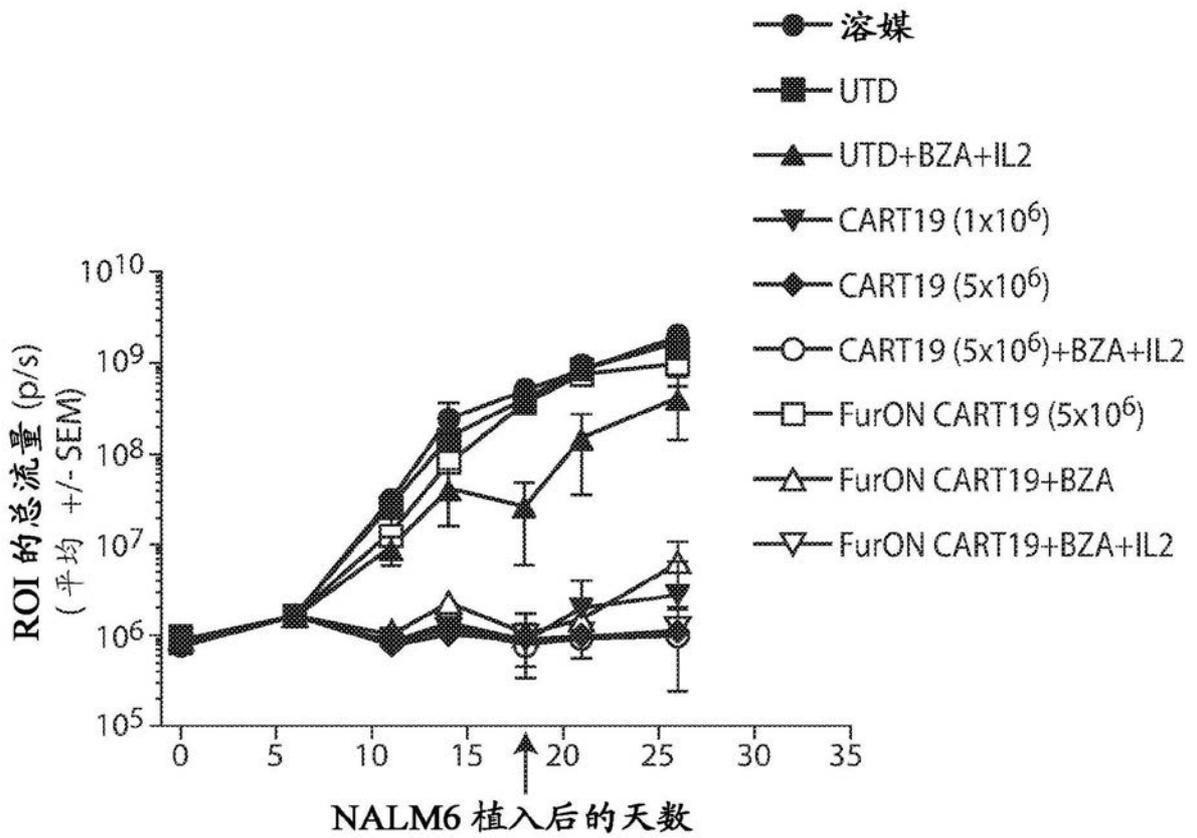


图47