



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113286621 A

(43) 申请公布日 2021.08.20

(21) 申请号 201980080704.5

(22) 申请日 2019.12.18

(30) 优先权数据

62/782,205 2018.12.19 US

62/814,707 2019.03.06 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.06.04

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2019/067280 2019.12.18

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/132138 EN 2020.06.25

(71) 申请人 库尔生物制药有限公司

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 罗纳德·D·赛德尔三世

鲁道夫·J·查帕罗

(74) 专利代理机构 北京东方亿思知识产权代理
有限责任公司 11258

代理人 肖善强

(51) Int.Cl.

A61K 48/00 (2006.01)

C12N 15/62 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 38/00 (2006.01)

权利要求书5页 说明书106页 附图28页

(54) 发明名称

多聚体T细胞调节多肽及其使用方法

(57) 摘要

本公开提供T细胞调节多聚体多肽,其包含免疫调节多肽、表位递呈肽及I类MHC多肽。所述T细胞调节多聚体多肽适用于调节T细胞的活性且适用于调节个体中的免疫反应。

1. 一种T细胞调节多聚体多肽,其包含:

至少一种异二聚体,所述至少一种异二聚体包含:

a) 第一多肽,所述第一多肽包含:

i) 肽表位,其中所述肽的长度为至少4个氨基酸;和

ii) 第一主要组织相容性复合物 (MHC) 多肽;

b) 第二多肽,所述第二多肽包含第二MHC多肽,及

c) 至少一种免疫调节多肽,

其中所述第一多肽和/或所述第二多肽包含所述免疫调节多肽。

2. 如权利要求1所述的T细胞调节多聚体多肽,其中所述至少一种免疫调节多肽中的至少一个为变异免疫调节多肽,所述变异免疫调节多肽呈现出对同源共免疫调节多肽的亲合力与相应野生型免疫调节多肽对所述同源共免疫调节多肽的亲合力相比有所减小,

且其中所述表位以至少 10^{-7} M的亲合力结合至T细胞上的T细胞受体 (TCR),

使得:

i) 所述T细胞调节多聚体多肽结合至第一T细胞的亲合力比所述T细胞调节多聚体多肽结合第二T细胞的亲合力高至少25%,

其中所述第一T细胞在其表面上表达所述同源共免疫调节多肽和以至少 10^{-7} M的亲合力结合所述表位的TCR,并且

其中所述第二T细胞在其表面上表达所述同源共免疫调节多肽,但在其表面上不表达以至少 10^{-7} M的亲合力结合所述表位的TCR;且/或

ii) 当通过生物层干涉术测量时,对照T细胞调节多聚体多肽对同源共免疫调节多肽的结合亲合力与包含野生型免疫调节多肽的变体的所述T细胞调节多聚体多肽对所述同源共免疫调节多肽的结合亲和力的比率范围为 $1.5:1$ 至 $10^6:1$,其中所述对照包含所述野生型免疫调节多肽。

3. 如权利要求2所述的T细胞调节多聚体多肽,其中:

a) 所述T细胞调节多聚体多肽结合至所述第一T细胞的亲合力比其结合所述第二T细胞的亲合力高至少50%、至少2倍、至少5倍或至少10倍;且/或

b) 所述变异免疫调节多肽结合所述共免疫调节多肽的亲合力为约 10^{-4} M至约 10^{-7} M、约 10^{-4} M至约 10^{-6} M、约 10^{-4} M至约 10^{-5} M;且/或

c) 其中当通过生物层干涉术测量时,对照T细胞调节多聚体多肽对同源共免疫调节多肽的结合亲合力与包含野生型免疫调节多肽的变体的所述T细胞调节多聚体多肽对所述同源共免疫调节多肽的结合亲和力的比率为至少 $10:1$ 、至少 $50:1$ 、至少 $10^2:1$ 或至少 $10^3:1$,其中所述对照包含所述野生型免疫调节多肽。

4. 如权利要求1至3中任一项所述的T细胞调节多聚体多肽,其中

a1) 所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:

i) 所述肽表位;

ii) 所述第一MHC多肽;和

iii) 至少一种免疫调节多肽;且

b1) 所述第二多肽以从N端至C端的次序包含:

i) 所述第二MHC多肽;和

- i i) 免疫球蛋白 (Ig) Fc 多肽; 或
 - a2) 所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:
 - i) 所述肽表位; 和
 - ii) 所述第一MHC多肽; 且
 - b2) 所述第二多肽以从N端至C端的次序包含:
 - i) 至少一种免疫调节多肽;
 - ii) 所述第二MHC多肽; 和
 - iii) Ig Fc多肽; 或
 - a3) 所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:
 - i) 所述肽表位; 和
 - ii) 所述第一MHC多肽; 且
 - b3) 所述第二多肽以从N端至C端的次序包含:
 - i) 所述第二MHC多肽; 和
 - ii) Ig Fc多肽; 和
 - iii) 至少一种免疫调节多肽; 或
 - a4) 所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:
 - i) 所述肽表位; 和
 - ii) 所述第一MHC多肽; 且
 - b4) 所述第二多肽以从N端至C端的次序包含:
 - i) 所述第二MHC多肽; 和
 - ii) 至少一种免疫调节多肽; 或
 - a5) 所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:
 - i) 所述肽表位; 和
 - ii) 所述第一MHC多肽; 且
 - b5) 第二多肽以从N端至C端的次序包含:
 - i) 至少一种免疫调节多肽; 和
 - ii) 所述第二MHC多肽; 或
 - a6) 所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:
 - i) 所述肽表位;
 - ii) 所述第一MHC多肽; 和
 - iii) 至少一种免疫调节多肽; 并且
 - b6) 所述第二多肽包含:
 - i) 所述第二MHC多肽。
5. 如权利要求1至4中任一项所述的T细胞调节多聚体多肽, 其中:
- a) 所述第一MHC多肽为 β 2-微球蛋白多肽; 且所述第二MHC多肽为I类MHC重链多肽; 或
 - b) 所述第一MHC多肽为I类MHC重链多肽; 且所述第二MHC多肽为 β 2-微球蛋白多肽。
6. 如权利要求5所述的T细胞调节多聚体多肽, 其中:
- a) 所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:
 - i) 所述肽表位; 和

- ii) 所述 β 2-微球蛋白多肽;且
- b) 所述第二多肽以从N端至C端的次序包含:
 - i) 至少一种免疫调节多肽;
 - ii) 所述I类MHC重链多肽;和
 - iii) Ig Fc多肽。

7. 如权利要求5所述的T细胞调节多聚体多肽,其中:

- a) 所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:
 - i) 所述肽表位;和
 - ii) 所述 β 2-微球蛋白多肽;且
 - b) 所述第二多肽以从N端至C端的次序包含:
 - i) 所述I类MHC重链多肽;和
 - ii) Ig Fc多肽;和
 - iii) 至少一种免疫调节多肽。

8. 如权利要求1至7中任一项所述的T细胞调节多聚体多肽,其中所述至少一种免疫调节多肽选自自由以下组成的组:细胞因子、4-1BBL多肽、ICOS-L多肽、OX-40L多肽、CD80多肽、CD86多肽、CD40多肽、CD70多肽及其组合。

9. 如权利要求1至8中任一项所述的T细胞调节多聚体多肽,其中所述至少一种免疫调节多肽是IL-2多肽。

10. 如权利要求1至9中任一项所述的T细胞调节多聚体多肽,其中所述多聚体多肽包含至少两种免疫调节多肽,且其中所述免疫调节多肽中的至少两个是相同的,任选地其中所述两种或更多种免疫调节多肽是串联的。

11. 如权利要求1至10中任一项所述的T细胞调节多聚体多肽,其中所述免疫调节多肽是变异IL-2多肽,其呈现出对IL-2受体的亲和力与野生型IL-2多肽对所述IL-2受体的亲和力相比有所减小。

12. 如权利要求11所述的T细胞调节多聚体多肽,其中所述变异IL-2多肽包含:i) H16A取代和F42A取代;或ii) H16T取代和F42A取代。

13. 如权利要求1至12中任一项所述的T细胞调节多聚体多肽,其中所述第一多肽与所述第二多肽彼此共价连接,任选地其中所述共价键联是经由二硫键。

14. 如权利要求1至13中任一项所述的T细胞调节多聚体多肽,其中所述第一MHC多肽或介于所述表位与所述第一MHC多肽之间的接头包含提供第一Cys残基的氨基酸取代,其中所述第二MHC多肽包含提供第二Cys残基的氨基酸取代,且其中所述二硫键联介于所述第一Cys残基与所述第二Cys残基之间。

15. 如权利要求1至14中任一项所述的T细胞调节多聚体多肽,其中所述多肽包含介于以下之间的二硫键:i) 存在于所述肽表位与所述第一I类MHC多肽之间的接头中的Cys,其中所述第一I类MHC多肽为 β 2M多肽;与ii) 经由Y84C取代引入所述第二I类MHC多肽中的Cys残基,其中所述第二I类MHC多肽为I类MHC重链多肽。

16. 如权利要求1至14中任一项所述的T细胞调节多聚体多肽,其中所述多肽包含介于以下之间的二硫键:i) 经由R12C取代引入所述第一I类MHC多肽中的Cys残基,其中所述第一I类MHC多肽为 β 2M多肽;与ii) 经由A236C取代引入所述第二I类MHC多肽中的Cys残基,其中

第二I类MHC多肽为I类MHC重链多肽。

17. 如权利要求1至14中任一项所述的T细胞调节多聚体多肽,其中所述多肽包含介于以下之间的第一二硫键:i) 存在于所述肽表位与所述第一I类MHC多肽之间的接头中的Cys,其中所述第一I类MHC多肽为 β 2M多肽;与ii) 经由Y84C取代引入所述第二I类MHC多肽中的Cys残基,其中所述第二I类MHC多肽为I类MHC重链多肽;及介于以下之间的第二二硫键:i) 经由R12C取代引入所述 β 2M多肽中的Cys残基;与ii) 经由A236C取代引入所述I类MHC重链多肽中的Cys残基。

18. 如权利要求15或请求项17所述的T细胞调节多聚体多肽,其中所述肽表位与所述第一MHC之间的所述接头为GCGGS (G4S) n (SEQ ID NO:315),其中n为1、2、3、4、5、6、7、8或9。

19. 如权利要求1至18中任一项所述的T细胞调节多聚体多肽,其中所述肽表位的长度约为4个氨基酸至约25个氨基酸。

20. 如权利要求1至19中任一项所述的T细胞调节多聚体多肽,其中所述肽表位不是人乳头瘤病毒 (HPV) 抗原,甲胎蛋白 (AFP) 抗原和威尔姆氏瘤-1 (WT1) 抗原的肽表位。

21. 如权利要求1至20中任一项所述的T细胞调节多聚体多肽,其中所述第一MHC多肽或所述第二MHC多肽包含:

a) 与图11A中描绘的HLA-A*0101、HLA-A*0201、HLA-A*0201、HLA-A*1101、HLA-A*2301、HLA-A*2402、HLA-A*2407、HLA-A*3303或HLA-A*3401氨基酸序列具有至少95%氨基酸序列同一性的氨基酸序列;或

b) 与图12A中描绘的HLA-B*0702、HLA-B*0801、HLA-B*1502、HLA-B*3802、HLA-B*4001、HLA-B*4601或HLA-B*5301氨基酸序列具有至少95%氨基酸序列同一性的氨基酸序列;或

c) 与图13A中描绘的HLA-C*0102、HLA-C*0303、HLA-C*0304、HLA-C*0401、HLA-C*0602、HLA-C*0701、HLA-C*0702、HLA-C*0801或HLA-C*1502具有至少95%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

22. 如权利要求1至20中任一项所述的T细胞调节多聚体多肽,其中所述第一MHC多肽为 β 2M多肽,且其中所述第二MHC多肽包含与HLA-A*2402多肽具有至少95%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

23. 如权利要求1至20中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述第一MHC多肽为 β 2M多肽,且其中所述第二MHC多肽包含与HLA-A*0201多肽具有至少95%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

24. 如权利要求1至23中任一项所述的T细胞调节多聚体多肽,其中所述多聚体多肽包含第一异二聚体和第二异二聚体,且其中所述第一异二聚体与所述第二异二聚体通过所述第一异二聚体与所述第二异二聚体的Ig Fc多肽之间的一个或多个二硫键来共价结合。

25. 一种核酸,其包含编码如权利要求1至24中任一项所述的第一多肽或第二多肽的核苷酸序列。

26. 一种表达载体,其包含如权利要求25所述的核酸。

27. 一种选择性调节对于肽表位有特异性的T细胞的活性的方法,所述方法包括使所述T细胞与如权利要求1至24中任一项所述的T细胞调节多聚体多肽接触,其中所述接触选择性调节所述表位特异性T细胞的活性。

28. 一种治疗患有癌症的患者的方法,所述方法包括向所述患者施用有效量的包含如

权利要求1至24中任一项所述的T细胞调节多聚体多肽的药物组合物。

29. 如权利要求28所述的方法,其进一步包括向所述个体施用一种或多种检查点抑制剂。

30. 如权利要求29所述的方法,其中所述检查点抑制剂为结合至选自以下组成的组的多肽的抗体:CD27、CD28、CD40、CD122、CD96、CD73、CD47、OX40、GITR、CSF1R、JAK、PI3K δ 、PI3K γ 、TAM、精氨酸酶、CD137、ICOS、A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、CTLA-4、LAG3、TIM3、VISTA、CD96、TIGIT、CD122、PD-1、PD-L1及PD-L2。

31. 如权利要求30所述的方法,其中所述检查点抑制剂为对PD-1、PD-L1或CTLA4有特异性的抗体。

32. 如权利要求29所述的方法,其中所述一种或多种检查点抑制剂选自以下组成的组:纳武单抗(nivolumab)、帕博利珠单抗(pembrolizumab)、皮地利珠单抗(pidilizumab)、AMP-224、MPDL3280A、MDX-1105、MEDI-4736、阿维鲁单抗(arelumab)、伊匹单抗(ipilimumab)、曲美木单抗(tremelimumab)、皮地利珠单抗(pidilizumab)、IMP321、MGA271、BMS-986016、利鲁单抗(lirilumab)、乌瑞鲁单抗(urelumab)、PF-05082566、IPH2101、MEDI-6469、CP-870,893、莫木利珠单抗(Mogamulizumab)、瓦利鲁单抗(Varlilumab)、阿维鲁单抗(Avelumab)、加利昔单抗(Galiximab)、AMP-514、AUNP 12、伊多莫德(Indoximod)、NLG-919、INCB024360、KN035及其组合。

33. 一种调节个体的免疫反应的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的如权利要求1至24中任一项所述的T细胞调节多聚体多肽,

其中所述施用诱导表位特异性T细胞反应和表位非特异性T细胞反应,且

其中所述表位特异性T细胞反应与所述表位非特异性T细胞反应的比率为至少2:1。

34. 一种选择性递送免疫调节多肽至靶T细胞的方法,所述方法包括使混合的T细胞群与如权利要求1至24中任一项所述的T细胞调节多聚体多肽接触,其中所述混合的T细胞群包含所述靶T细胞和非靶T细胞,其中所述靶T细胞对存在于所述T细胞调节多聚体多肽内的所述表位有特异性,且其中所述接触递送存在于所述T细胞调节多聚体多肽内的所述一种或多种免疫调节多肽至所述靶T细胞。

35. 一种检测从个体获得的混合的T细胞群中结合肽表位的靶T细胞的存在的方法,所述方法包括:

a) 使所述混合的T细胞群与如权利要求1至24中任一项所述的T细胞调节多聚体多肽在体外接触,其中所述T细胞调节多聚体多肽包含所述肽表位;及

b) 检测T细胞响应于所述接触的活化和/或增殖,其中活化和/或增殖的T细胞指示所述靶T细胞的存在。

多聚体T细胞调节多肽及其使用方法

[0001] 交叉引用

[0002] 本申请要求2018年12月19日提交的美国临时专利申请号62/782,205和2019年3月6日提交的美国临时专利申请号62/814,707的优先权,这些申请的公开内容以引用方式整体并入本文。

背景技术

[0003] 适应性免疫反应涉及存在于T细胞表面上的T细胞受体(TCR)与抗原递呈细胞(APC)表面上非共价递呈的小肽抗原通过主要组织相容性复合物(MHC;在人也称为人白细胞抗原(HLA)复合物)进行的接合。此接合表示免疫系统的靶向机制且为T细胞调节(活化或抑制)及效应物功能的必需分子相互作用。在表位特异性细胞靶向之后,通过使APC上所见的共刺激蛋白与T细胞上的对应物共刺激蛋白接合来激活所靶向的T细胞。驱动T细胞特异性及活化或抑制需要两种信号,即表位/TCR结合及APC共刺激蛋白与T细胞共刺激蛋白的接合。TCR对于给定表位具有特异性;然而,共刺激蛋白并非表位特异性的且相反通常在全部T细胞上或大T细胞子集上表达。

发明内容

[0004] 本公开提供T细胞调节多聚体多肽(TMMP),其包含免疫调节多肽、I类HLA多肽(I类HLA重链多肽和 β 2微球蛋白多肽)及向T细胞受体递呈表位的肽。TMMP适用于调节T细胞的活性且适用于调节个体中的免疫反应。

附图说明

[0005] 图1A-1F为本公开的各种TMMP的示意性描绘。

[0006] 图2A-2F为本公开的各种二硫键连接的TMMP的示意性描绘。

[0007] 图3A-3G提供免疫球蛋白Fc多肽的氨基酸序列。图5A-5G的序列分别列于SEQ ID NO:449-460中。

[0008] 图4提供来自以下各项的 β -2微球蛋白(β 2M)前体(即,包括前导序列)的多重氨基酸序列比对:智人(*Homo sapiens*) (NP_004039.1;SEQ ID NO:19)、黑猩猩(*Pan troglodytes*) (NP_001009066.1;SEQ ID NO:19)、恒河猕猴(*Macaca mulatta*) (NP_001040602.1;SEQ ID NO:20)、欧洲牛(*Bos taurus*) (NP_776318.1;SEQ ID NO:21)及小鼠(*Mus musculus*) (NP_033865.2;SEQ ID NO:22)。氨基酸1-20是信号肽。

[0009] 图5A-5C提供等位基因A*0101(SEQ ID NO:23)、A*1101(SEQ ID NO:24)、A*2402(SEQ ID NO:25)及A*3303(SEQ ID NO:26)(图7A)的全长人HLA重链的氨基酸序列;等位基因B*0702(SEQ ID NO:27)(图5B)的全长人HLA重链的氨基酸序列;以及全长人HLA-C重链(SEQ ID NO:28)(图5C)的氨基酸序列。

[0010] 图6提供十一种无前导序列、跨膜结构域及细胞内结构域的成熟I类MHC重链氨基酸序列的比对。顶部至底部:SEQ ID NO:41-51。

[0011] 图7A-7B提供HLA-A重链氨基酸序列(图7A;分别为SEQ ID NO:198-206)和共有序列(图7B;SEQ ID NO:29)的比对。

[0012] 图8A-8B提供HLA-B重链氨基酸序列(图8A;分别为SEQ ID NO:207-213)和共有序列(图8B;SEQ ID NO:30)的比对。

[0013] 图9A-9B提供HLA-C重链氨基酸序列(图9A;分别为SEQ ID NO:214-222)和共有序列(图9B;SEQ ID NO:31)的比对。

[0014] 图10提供HLA-E、HLA-F及HLA-G重链(分别为SEQ ID NO:32-34)中各者的共有氨基酸序列。各种氨基酸(aa)位置指示为依次编号的“X”残基;氨基酸84、139及236的位置加双下划线。

[0015] 图11提供HLA-A(SEQ ID NO:35)、HLA-B(SEQ ID NO:36)、HLA-C(SEQ ID NO:37)、HLA-E(SEQ ID NO:38)、HLA-F(SEQ ID NO:39)及HLA-G(SEQ ID NO:40)的共有氨基酸序列的比对。

[0016] 图12A-12D提供本公开的多二硫键连接的TMMP的示意性描绘。

[0017] 图13A-13C提供本公开的二硫键连接的TMMP的构型的实例的示意性描绘。

[0018] 图14提供免疫调节多肽于本公开的TMMP中的位置的实例的示意性描绘。

[0019] 定义

[0020] 如本文中可互换使用的术语“多核苷酸”与“核酸”是指具有任何长度的核苷酸的聚合物形式,即核糖核苷酸或脱氧核糖核苷酸。因此,此术语包括但不限于单链、双链或多链DNA或RNA、基因组DNA、cDNA、DNA-RNA杂合体、或包含嘌呤和嘧啶碱基或其他天然、化学或生物化学修饰、非天然或衍生化核苷酸碱基的聚合物。

[0021] 术语“肽”、“多肽”及“蛋白质”在本文中可互换使用,且是指具有任何长度的氨基酸的聚合物形式,其可包括编码及非编码氨基酸、化学或生物化学修饰或衍生化的氨基酸、及具有修饰肽主链的多肽。

[0022] 多核苷酸或多肽与另一个多核苷酸或多肽具有一定百分比的“序列同一性”意指在比对时在比较两个序列时碱基或氨基酸的百分比相同且处于相同相对位置中。序列同一性可以许多不同方式测定。为了测定序列同一性,可使用各种便利方法及在万维网之网址上可获得的计算机程序(例如BLAST、T-COFFEE、MUSCLE、MAFFT等)来比对序列,这些网址包括ncbi.nlm.nih.gov/BLAST、ebi.ac.uk/Tools/msa/tcoffee/、ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle/、mafft.cbrc.jp/alignment/software/。参见,例如Altschul等人(1990), J.Mol.Biol.215:403-10。

[0023] 术语“保守氨基酸取代”是指在蛋白质中具有类似侧链的氨基酸残基的可互换性。例如,具有脂族侧链的氨基酸组由甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸及异亮氨酸组成;具有脂族羟基侧链的氨基酸组由丝氨酸和苏氨酸组成;具有含酰胺侧链的氨基酸组由天冬酰胺和谷氨酰胺组成;具有芳族侧链的氨基酸组由苯丙氨酸、酪氨酸及色氨酸组成;具有碱性侧链的氨基酸组由赖氨酸、精氨酸及组氨酸组成;具有酸性侧链的氨基酸组由谷氨酸和天冬氨酸组成;且具有含硫侧链的氨基酸组由半胱氨酸和甲硫氨酸组成。示例性保守氨基酸取代基为:缬氨酸-亮氨酸-异亮氨酸、苯丙氨酸-酪氨酸、赖氨酸-精氨酸、丙氨酸-缬氨酸-甘氨酸及天冬酰胺-谷氨酰胺。

[0024] 如本文所用,术语“免疫学突触”或“免疫突触”通常是指适应性免疫反应的两个相

互作用免疫细胞之间的自然界面,包括例如抗原递呈细胞(APC)或靶细胞与效应细胞例如淋巴细胞、效应T细胞、自然杀手细胞等之间的界面。APC与T细胞之间的免疫学突触通常通过T细胞抗原受体与主要组织相容性复合物分子之间的相互作用来起始,例如,如Bromley等人,Annu Rev Immunol.2001;19:375-96中所述,该文献的公开内容以引用方式整体并入本文。

[0025] “T细胞”包括所有类型的表达CD3的免疫细胞,包括T-辅助细胞(CD4⁺细胞)、细胞毒性T-细胞(CD8⁺细胞)、T-调节性细胞(Treg)及NK-T细胞。

[0026] 如本文所用,术语“免疫调节多肽”也称为“共刺激多肽”)包括在抗原递呈细胞(APC)(例如,树突状细胞、B细胞等)上的多肽,其特异性结合T细胞上的同源共免疫调节多肽,从而提供一个信号,除了通过例如TCR/CD3复合物与以肽装载的主要组织相容性复合物(MHC)多肽的结合提供的主要信号之外,该信号还介导T细胞反应,包括但不限于增殖、活化、分化等反应。免疫调节多肽可包括但不限于CD7、B7-1(CD80)、B7-2(CD86)、PD-L1、PD-L2、4-1BBL、OX40L、Fas配体(FasL)、诱导性共刺激配体(ICOS-L)、细胞内粘附分子(ICAM)、CD30L、CD40、CD70、CD83、HLA-G、MICA、MICB、HVEM、淋巴毒素β受体、3/TR6、ILT3、ILT4、HVEM、结合To11配体受体的激动剂或抗体、以及与B7-H3特异性结合的配体。

[0027] 如上文所述,“免疫调节多肽”(在本文中也称为“MOD”)特异性结合T细胞上的同源共免疫调节多肽。

[0028] 本公开的TMMP的“免疫调节结构域”(“MOD”)结合可存在于靶T细胞上的同源共免疫调节多肽。

[0029] 如本文所用,“异源”意指核苷酸或多肽分别不可见于天然核酸或蛋白质中。

[0030] 如本文所用,“重组”意指特定核酸(DNA或RNA)为克隆、限制、聚合酶链反应(PCR)和/或连接步骤的各种组合的产物,这些组合产生具有与见于自然系统中的内源性核酸可区分的结构性编码或非编码序列的构建体。编码多肽的DNA序列可由cDNA片段或一系列合成寡核苷酸组装以提供合成核酸,该合成核酸能够从细胞或无细胞转录及转译系统中所含的重组转录单元表达。

[0031] 术语“重组表达载体”或“DNA构建体”在本文中可互换使用以指代包含载体和至少一个插入物的DNA分子。重组表达载体通常出于表达和/或繁殖插入物的目的或出于构建其他重组核苷酸序列的目的而生成。插入物可以可操作地连接或不连接至启动子序列且可以可操作地连接或不连接至DNA调节序列。

[0032] 如本文所用,术语“亲和力”是指两种试剂(例如抗体与抗原)的可逆结合的平衡常数且表示为解离常数(K_D)。亲和力可比抗体对不相关氨基酸序列的亲和力大至少1倍、大至少2倍、大至少3倍、大至少4倍、大至少5倍、大至少6倍、大至少7倍、大至少8倍、大至少9倍、大至少10倍、大至少20倍、大至少30倍、大至少40倍、大至少50倍、大至少60倍、大至少70倍、大至少80倍、大至少90倍、大至少100倍、或大至少1,000倍或更多倍。抗体对靶蛋白的亲和力可为例如约100纳摩尔(nM)至约0.1nM、约100nM至约1皮摩尔(pM)、约100nM至约1飞摩尔(femtomolar)(fM)或更大。如本文所用,术语“亲合力”是指两种或更多种试剂的复合物在稀释后对解离的抵抗。术语“免疫反应性”和“优先结合”在本文中关于抗体和/或抗原结合片段可互换使用。

[0033] 如本文所用,术语“结合”(例如关于TMMP与T细胞上的多肽(例如T细胞受体)的结

合)是指两个分子之间的非共价相互作用。非共价结合是指两个分子之间由于例如静电、疏水性、离子和/或氢键相互作用(包括诸如盐桥和水桥的相互作用)而直接缔合。非共价结合相互作用的特征通常在于解离常数(K_D)小于 $10^{-6}M$ 、小于 $10^{-7}M$ 、小于 $10^{-8}M$ 、小于 $10^{-9}M$ 、小于 $10^{-10}M$ 、小于 $10^{-11}M$ 、小于 $10^{-12}M$ 、小于 $10^{-13}M$ 、小于 $10^{-14}M$ 或小于 $10^{-15}M$ 。“亲和力”是指非共价结合强度,结合亲和力的增加与较低 K_D 相关联。“特异性结合”通常是指以至少约 $10^{-7}M$ 或更大,例如 $5 \times 10^{-7}M$ 、 $10^{-8}M$ 、 $5 \times 10^{-8}M$ 、 $10^{-9}M$ 、及更大亲和力结合。“非特异性结合”通常是指以小于约 $10^{-7}M$ 的亲和力结合(例如,配体与除了其指定结合位点或受体以外的部分的结合)(例如以 $10^{-6}M$ 、 $10^{-5}M$ 、 $10^{-4}M$ 的亲和力结合)。然而,在一些情况下,例如TCR与肽/MHC复合物之间的结合,“特异性结合”可在 $1\mu M$ 至 $100\mu M$ 或 $100\mu M$ 至 $1mM$ 范围内。如本文所用,“共价结合”或“共价键”是指两个不同分子之间的一个或多个共价化学结合的形成。

[0034] 术语“治疗(treatment/treating)”等在本文中用于通常意指获得所要药理学和/或生理学作用。该作用可在完全或部分预防疾病或其症状方面为预防性的,且/或可在疾病和/或因疾病引起的不良效应的部分或完全治愈方面为治疗性的。如本文所用,“治疗”涵盖哺乳动物中疾病或症状的任何治疗,且包括:(a)预防疾病或症状出现于可能倾向于获得该疾病或症状但尚未诊断为患有该疾病的受试者中;(b)抑制疾病或症状,即阻止其发展;和/或(c)缓解疾病,即引起疾病消退。治疗剂可在疾病或损伤发作之前、期间或之后施用。尤其关注正在发展的疾病的治疗,其中所述治疗使患者的不希望有的临床症状稳定或减轻。此类治疗理想地在患病组织中的功能完全丧失之前进行。目标疗法将理想地在疾病之有症状阶段期间且在一些情况下在疾病的有症状阶段之后施用。

[0035] 术语“个体(individual)”、“受试者(subject)”、“宿主(host)”及“患者(patient)”在本文中可互换使用且是指需要诊断、处理或治疗的任何哺乳动物受试者。哺乳动物包括例如人、非人灵长类动物、啮齿动物(例如大鼠;小鼠)、兔类动物(例如兔)、有蹄类动物(例如奶牛、绵羊、猪、马、山羊等)等。

[0036] 在进一步描述本发明之前,应了解本发明不限于所述特定实施方案,因此所述实施方案当然可变化。还应理解,本文所用的术语仅是为了描述具体实施方案,并不旨在限制,因为本发明的范围仅受所附申请专利范围的限制。

[0037] 当提供数值范围时,应了解在那个范围的上限与下限之间的直至下限的十分之一单位的各间插值(除非上下文另外明确规定)以及在那个所述范围内的任何其他陈述值或间插值皆涵盖在本发明内。这些较小范围的上限及下限可独立地包括在较小范围中,且也涵盖在本发明内,属于陈述的范围内的任何明确排除的界限。在所陈述范围包括界限的一个或两个时,排除那些包括的界限的任一个或两个的范围也可包括在本发明内。

[0038] 除非另外定义,本文所用的所有技术和科学术语均具有熟习本发明所属技术者通常理解的含义。虽然类似于或等效于本文所述的那些的任何方法和材料也可用于实践或测试本发明,但现在描述优选方法和材料。本文提及的所有出版物均以引用的方式并入本文中,以公开及描述与出版物引用的内容关联的方法和/或材料。

[0039] 必须注意的是,除非上下文另外明确规定,如本文和所附权利要求书中所用,单数形式“一”和“所述”包括多个指示物。因此,举例来说,提及“T细胞调节多聚体多肽”包括多个此类多肽且提及“免疫调节多肽”包括提及一种或多种免疫调节多肽及其为本领域技术人员所知的等效物等。应进一步注意可起草权利要求书的范围以排除任何任选的要素。因

此,此陈述旨在充当与叙述申请专利范围要素关联使用诸如“唯一”、“仅”等的排除性术语或使用“否定性”限制的前提基础。

[0040] 应了解,为明确起见在单独实施方案的情形下描述的本发明的某些特征也可于单一实施方案中组合提供。相反,为简洁起见在单一实施方案的情形下描述的本发明的各种特征也可单独或以任何适合子组合提供。本发明所涉及的实施方案的全部组合明确由本发明包括,且就如同各个及每个组合个别地及明确地在本文中公开一般来公开于本文中。此外,各种实施方案及其要素的所有子组合也由本发明明确包括,且就如同各个及每个此子组合个别地及明确地在本文中公开一般来公开于本文中。

[0041] 本文论述之出版物仅因其公开内容在本申请的申请日期之前而加以提供。本文中没有内容应解释为承认本发明由于先前发明而无权先于此出版物。此外,提供的公开日期可不同于可能需要独立确认的实际公开日期。

具体实施方式

[0042] 本公开提供T细胞调节多聚体多肽,其包含免疫调节多肽且包含表位递呈肽。TMMP适用于调节T细胞的活性且适用于调节个体中的免疫反应。

[0043] T细胞调节多聚体多肽

[0044] 本公开提供一种T细胞调节多聚体多肽(TMMP),其包含:a)第一多肽;和b)第二多肽,其中所述TMMP包含表位;第一主要组织相容性复合物(MHC)多肽;第二MHC多肽;一种或多种免疫调节多肽;以及任选的免疫球蛋白(Ig)Fc多肽或非Ig支架。本公开提供一种TMMP,其中所述TMMP为异二聚体,其包含:a)包含第一MHC多肽的第一多肽;和b)包含第二MHC多肽的第二多肽,其中第一多肽或第二多肽包含表位(例如,递呈表位的肽);其中所述第一多肽和/或所述第二多肽包含一种或多种可以相同或不同的免疫调节多肽;及任选的Ig Fc多肽或非Ig支架。本公开的TMMP在本文中也称为“本公开的多聚体多肽”或“synTac”。在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的肽表位是癌症相关肽。在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的肽表位是传染性疾病相关肽(例如病毒编码肽)。

[0045] 本公开提供一种TMMP,其包含异二聚体多肽,所述多肽包含:a)第一多肽,所述第一多肽包含:i)肽表位;和ii)第一MHC多肽;b)第二多肽,所述第二多肽包含第二MHC多肽;以及c)至少一种免疫调节多肽,其中所述第一多肽和/或所述第二多肽包含至少一种(即一种或多种)免疫调节多肽。任选地,第一多肽或第二多肽包含Ig Fc多肽或非Ig支架。所述一种或多种免疫调节多肽中的至少一个为呈现出对同源共免疫调节多肽的亲合力比相应野生型免疫调节多肽对同源共免疫调节多肽的亲合力有所减小的变异免疫调节多肽。存在于本公开的TMMP中的表位以如下亲合力结合至T细胞上的T细胞受体(TCR):至少100 μ M(例如至少10 μ M、至少1 μ M、至少100nM、至少10nM或至少1nM)。本公开的TMMP结合至第一T细胞的亲合力比TMMP结合第二T细胞的亲合力高至少25%,其中第一T细胞在其表面上表达同源共免疫调节多肽及以至少100 μ M的亲合力结合表位的TCR,且其中第二T细胞在其表面上表达同源共免疫调节多肽但在其表面上不表达以至少100 μ M(例如,至少10 μ M、至少1 μ M、至少100nM、至少10nM或至少1nM)的亲合力结合表位的TCR。在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的肽表位是癌症相关肽。在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的肽表位是传染性疾病相关肽(例如病毒编码肽)。

[0046] 本公开提供一种TMMP,其中所述TMMP为:

[0047] A) 异二聚体,其包含:a) 包含第一MHC多肽的第一多肽;及b) 包含第二MHC多肽的第二多肽,其中所述第一多肽或所述第二多肽包含表位(例如,包含由T细胞识别的表位的肽);其中第一多肽和/或第二多肽包含一种或多种可以相同或不同的免疫调节多肽,且其中所述一种或多种免疫调节多肽中的至少一个可为野生型免疫调节多肽或野生型免疫调节多肽的变体,其中所述变异免疫调节多肽与相应野生型免疫调节多肽的氨基酸序列相比包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个氨基酸取代;且其中所述第一多肽或所述第二多肽任选包含Ig Fc多肽或非Ig支架;或

[0048] B) 异二聚体,其包含:a) 包含第一MHC多肽的第一多肽;及b) 包含第二MHC多肽的第二多肽,其中第一多肽或第二多肽包含表位;其中所述第一多肽和/或所述第二多肽包含一种或多种可以相同或不同的免疫调节多肽,

[0049] 其中所述一种或多种免疫调节多肽中的至少一个为野生型免疫调节多肽的变体,其中所述变异免疫调节多肽与相应野生型免疫调节多肽的氨基酸序列相比包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个氨基酸取代,

[0050] 其中所述一个或多个免疫调节结构域中的至少一个为变异免疫调节多肽,其呈现出对同源共免疫调节多肽的亲合力与相应野生型免疫调节多肽对同源共免疫调节多肽的亲合力相比有所减小,且其中表位以至少 10^{-7} M的亲合力结合至T细胞上的TCR,使得:i) 所述TMMP多肽结合至第一T细胞的亲合力比TMMP结合第二T细胞的亲合力高至少25%,其中第一T细胞在其表面上表达同源共免疫调节多肽及以至少 10^{-7} M的亲合力结合表位的TCR,且其中第二T细胞在其表面上表达同源共免疫调节多肽,但在其表面上不表达以至少 10^{-7} M的亲合力结合表位的TCR;且/或ii) 当通过生物层干涉术测量时,对照TMMP与同源共免疫调节多肽的结合亲合力与包含野生型免疫调节多肽变体的TMMP与同源共免疫调节多肽的结合亲和力的比率范围为1.5:1至 10^6 :1,其中所述对照包含野生型免疫调节多肽;且其中所述变异免疫调节多肽与相应野生型免疫调节多肽的氨基酸序列相比包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个氨基酸取代;且

[0051] 其中所述第一多肽或所述第二多肽任选包含Ig Fc多肽或非Ig支架;或

[0052] C) 异二聚体,其包含:a) 第一多肽,所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:i) 表位;ii) 第一MHC多肽;及b) 第二多肽,所述第二多肽以从N端至C端的次序包含:i) 第二MHC多肽;及ii) 任选的免疫球蛋白(Ig)Fc多肽或非Ig支架,其中所述TMMP包含一个或多个可以相同或不同的免疫调节结构域,其中所述一个或多个免疫调节结构域中的至少一个:A) 在第一多肽的C端;B) 在第二多肽的N端;C) 在第二多肽的C端;或D) 在第一多肽的C端且在第二多肽的N端,且其中所述一个或多个免疫调节结构域中的至少一个可为野生型免疫调节多肽或野生型免疫调节多肽的变体,其中所述变异免疫调节多肽与相应野生型免疫调节多肽的氨基酸序列相比包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个氨基酸取代;且

[0053] 任选地其中所述一个或多个免疫调节结构域中的至少一个为变异免疫调节多肽,其呈现出对同源共免疫调节多肽的亲合力与相应野生型免疫调节多肽对同源共免疫调节多肽的亲合力相比有所减小,且其中表位以至少 10^{-7} M的亲合力结合至T细胞上的TCR,使得:i) 所述TMMP结合至第一T细胞的亲合力比TMMP结合第二T细胞的亲合力高至少25%,其中第

一T细胞在其表面上表达同源共免疫调节多肽及以至少 10^{-7} M的亲合力结合表位的TCR,且其中第二T细胞在其表面上表达同源共免疫调节多肽,但在其表面上不表达以至少 10^{-7} M的亲合力结合表位的TCR;且/或ii)当通过生物层干涉术测量时,对照TMMP与同源共免疫调节多肽的结合亲合力与包含野生型免疫调节多肽变体的TMMP与同源共免疫调节多肽的结合亲和力的比率范围为 $1.5:1$ 至 $10^6:1$,其中所述对照包含野生型免疫调节多肽;且其中所述变异免疫调节多肽与相应野生型免疫调节多肽的氨基酸序列相比包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的肽表位是癌症相关肽。在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的肽表位是传染性疾病相关肽(例如病毒编码肽)。

[0054] 本公开提供一种TMMP,其包含:a)第一多肽,所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:i)表位;ii)第一MHC多肽;和b)第二多肽,所述第二多肽以从N端至C端的次序包含:i)第二MHC多肽;及ii)任选的Ig Fc多肽或非Ig支架。本公开的TMMP包含一种或多种免疫调节多肽,其中所述一种或多种免疫调节多肽中的至少一个:A)在第一多肽的C端;B)在第二多肽的N端;C)在第二多肽的C端;或D)在第一多肽的C端且在第二多肽的N端。所述一种或多种免疫调节多肽中的至少一个为呈现出对同源共免疫调节多肽的亲合力与相应野生型免疫调节多肽对同源共免疫调节多肽的亲合力相比有所减小的变异免疫调节多肽。存在于本公开的TMMP中的表位以如下亲合力结合至T细胞上的T细胞受体(TCR):至少 $100\mu\text{M}$ (例如至少 $10\mu\text{M}$ 、至少 $1\mu\text{M}$ 、至少 100nM 、至少 10nM 或至少 1nM)。本公开的TMMP结合至第一T细胞的亲合力比TMMP结合第二T细胞的亲合力高至少25%,其中第一T细胞在其表面上表达同源共免疫调节多肽及以至少 $100\mu\text{M}$ 的亲合力结合表位的TCR,且其中第二T细胞在其表面上表达同源共免疫调节多肽但在其表面上不表达以至少 $100\mu\text{M}$ (例如,至少 $10\mu\text{M}$ 、至少 $1\mu\text{M}$ 、至少 100nM 、至少 10nM 或至少 1nM)的亲合力结合表位的TCR。

[0055] 在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的表位结合至T细胞上的TCR的亲合力为约 10^{-4}M 至约 $5\times 10^{-4}\text{M}$ 、约 $5\times 10^{-4}\text{M}$ 至约 10^{-5}M 、约 10^{-5}M 至约 $5\times 10^{-5}\text{M}$ 、约 $5\times 10^{-5}\text{M}$ 至 10^{-6}M 、约 10^{-6}M 至约 $5\times 10^{-6}\text{M}$ 、约 $5\times 10^{-6}\text{M}$ 至约 10^{-7}M 、约 10^{-7}M 至约 $5\times 10^{-7}\text{M}$ 、约 $5\times 10^{-7}\text{M}$ 至约 10^{-8}M 、或约 10^{-8}M 至约 10^{-9}M 。换句话说,在一些情况,存在于本公开的TMMP中的表位结合至T细胞上的TCR的亲合力为约 1nM 至约 5nM 、约 5nM 至约 10nM 、约 10nM 至约 50nM 、约 50nM 至约 100nM 、约 $0.1\mu\text{M}$ 至约 $0.5\mu\text{M}$ 、约 $0.5\mu\text{M}$ 至约 $1\mu\text{M}$ 、约 $1\mu\text{M}$ 至约 $5\mu\text{M}$ 、约 $5\mu\text{M}$ 至约 $10\mu\text{M}$ 、约 $10\mu\text{M}$ 至约 $25\mu\text{M}$ 、约 $25\mu\text{M}$ 至约 $50\mu\text{M}$ 、约 $50\mu\text{M}$ 至约 $75\mu\text{M}$ 、约 $75\mu\text{M}$ 至约 $100\mu\text{M}$ 。

[0056] 存在于本公开的TMMP中的免疫调节多肽结合至其同源共免疫调节多肽的亲合力比相应野生型免疫调节多肽对同源共免疫调节多肽的亲合力小至少10%、小至少15%、小至少20%、小至少25%、小至少30%、小至少35%、小至少40%、小至少45%、小至少50%、小至少55%、小至少60%、小至少65%、小至少70%、小至少75%、小至少80%、小至少85%、小至少90%、小至少95%或小大于95%。

[0057] 在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽对同源共免疫调节多肽具有的结合亲合力为 1nM 至 100nM 或 100nM 至 $100\mu\text{M}$ 。举例来说,在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽对同源共免疫调节多肽具有的结合亲合力为约 100nM 至 150nM 、约 150nM 至约 200nM 、约 200nM 至约 250nM 、约 250nM 至约 300nM 、约 300nM 至约 350nM 、约 350nM 至约 400nM 、约 400nM 至约 500nM 、约 500nM 至约 600nM 、约 600nM 至约 700nM 、约 700nM 至约

800nM、约800nM至约900nM、约900nM至约1 μ M至约1 μ M至约5 μ M、约5 μ M至约10 μ M、约10 μ M至约15 μ M、约15 μ M至约20 μ M、约20 μ M至约25 μ M、约25 μ M至约50 μ M、约50 μ M至约75 μ M、或约75 μ M至约100 μ M。在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽对同源共免疫调节多肽具有的结合亲和力为约1nM至约5nM、约5nM至约10nM、约10nM至约50nM、约50nM至约100nM。

[0058] 免疫调节多肽对其同源共免疫调节多肽的减小的亲和力与表位对TCR的亲合力的组合提供了本公开的TMMP的提高了的选择性。举例来说,本公开的TMMP与结合至第二T细胞相比选择性地结合至第一T细胞,所述第一T细胞呈现出:i)对存在于TMMP中的表位具有特异性的TCR;及ii)结合至存在于TMMP中的免疫调节多肽的共免疫调节多肽,所述第二T细胞呈现出:i)对除了存在于TMMP中的表位以外的表位具有特异性的TCR;及ii)结合至存在于TMMP中的免疫调节多肽的共免疫调节多肽。举例来说,本公开的TMMP结合至第一T细胞的亲和力比其结合第二T细胞的亲和力高至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少2倍、至少2.5倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少50倍、至少100倍或大于100倍。

[0059] 在一些情况下,本公开的TMMP当向有需要的个体施用诱导表位特异性T细胞反应及表位非特异性T细胞反应。换句话说,在一些情况下,本公开的TMMP当向有需要的个体施用通过调节第一T细胞的活性来诱导表位特异性T细胞反应,所述第一T细胞呈现出:i)对存在于TMMP中的表位具有特异性的TCR;ii)结合至存在于TMMP中的免疫调节多肽的共免疫调节多肽;且通过调节第二T细胞的活性来诱导表位非特异性T细胞反应,所述第二T细胞呈现出:i)对除了存在于TMMP中的表位以外的表位具有特异性的TCR;及ii)结合至存在于TMMP中的免疫调节多肽的共免疫调节多肽。表位特异性T细胞反应与表位非特异性T细胞反应的比率为至少2:1、至少5:1、至少10:1、至少15:1、至少20:1、至少25:1、至少50:1、或至少100:1。表位特异性T细胞反应与表位非特异性T细胞反应的比率为约2:1至约5:1、约5:1至约10:1、约10:1至约15:1、约15:1至约20:1、约20:1至约25:1、约25:1至约50:1、或约50:1至约100:1、或大于100:1。“调节T细胞的活性”可包括以下各项中的一个或多个:i)激活细胞毒性(例如CD8⁺)T细胞;ii)诱导细胞毒性(例如CD8⁺)T细胞的细胞毒性活性;iii)诱导细胞毒性(例如CD8⁺)T细胞对细胞毒素(例如穿孔蛋白;颗粒酶;粒溶蛋白)的产生及释放;iv)抑制自身反应性T细胞的活性;等等。

[0060] 免疫调节多肽对其同源共免疫调节多肽的减小的亲和力与表位对TCR的亲合力的组合提供了本公开的TMMP的提高了的选择性。因此,举例来说,本公开的TMMP与其结合至第二T细胞的亲合力相比以更高亲合力结合至第一T细胞,所述第一T细胞呈现出:i)对存在于TMMP中的表位具有特异性的TCR;及ii)结合至存在于TMMP中的免疫调节多肽的共免疫调节多肽,所述第二T细胞呈现出:i)对除了存在于TMMP中的表位以外的表位具有特异性的TCR;及ii)结合至存在于TMMP中的免疫调节多肽的共免疫调节多肽。

[0061] 免疫调节多肽与其同源共免疫调节多肽之间的结合亲和力可通过生物层干涉术(BLI),使用纯化的免疫调节多肽及纯化的同源共免疫调节多肽来确定。TMMP与其同源共免疫调节多肽之间的结合亲和力可通过BLI,使用纯化的TMMP及同源共免疫调节多肽来确定。BLI方法为本领域技术人员公知。参见,例如Lad等人.(2015)J.Biomol.Screen.20(4):498-507;以及Shah和Duncan(2014)J.Vis.Exp.18:e51383。

[0062] BLI测定可使用Octet RED 96(Pal FortéBio)仪器或如下类似仪器进行。TMMP(例

如,本公开的TMMP;对照TMMP(其中对照TMMP包含野生型免疫调节多肽)固定于不溶性支撑物(“生物探测器”)。固定的TMMP为“靶标”。固定可通过将捕获抗体固定至不溶性支撑物上来实现,其中捕获抗体固定TMMP。例如,固定可通过将抗Fc(例如,抗人IgG Fc)抗体固定至不溶性支撑物上来实现,其中固定的抗Fc抗体结合至且固定TMMP(其中TMMP包含IgFc多肽)。共免疫调节多肽以若干种不同浓度施加于固定的TMMP,且记录仪器的反应。测定在包含25mM HEPES pH 6.8、5%聚(乙二醇)6000、50mM KCl、0.1%牛血清白蛋白及0.02%Tween 20非离子清洁剂的液体介质中进行。共免疫调节多肽与固定的TMMP的结合在30°C下进行。作为结合亲和力的阳性对照,可使用抗I类MHC单克隆抗体。例如,可使用抗HLA I类单克隆抗体W6/32(美国模式培养物保藏中心(American Type Culture Collection)编号HB-95; Parham等人(1979) J. Immunol. 123:342),其具有7nM的 K_D 。标准曲线可使用抗I类MHC单克隆抗体的连续稀释液来生成。共免疫调节多肽或抗I类MHCmAb为“分析物”。BLI分析从以下两个表面反射的白光的干涉图型:i)固定的多肽(“靶标”);及ii)内部参考层。结合至生物探测器尖端的分子(“分析物”;例如,共免疫调节多肽;抗HLA抗体)的数目的变化引起干涉图型的偏移;干涉图型中的此偏移可即时测量。描述靶标/分析物相互作用的亲和力的两个动力学术语为缔合常数(k_a)和解离常数(k_d)。这两个术语的比率(k_a/k_d)产生亲和力常数 K_D 。

[0063] BLI测定在多孔板中进行。为了操作该测定,限定板布局,限定测定步骤,且在Octet Data Acquisition软件中指派生物探测器。使生物探测器组件水合。将水合的生物探测器组件和测定板在Octet仪器上平衡10分钟。一旦采集数据,便将所采集数据加载至Octet Data Analysis软件中。在处理窗口中通过指定参考减法、y轴对准、步间校正及Savitzky-Golay滤波的方法来处理数据。在分析窗口中通过指定分析(缔合和解离)、选择曲线拟合模型(1:1)、拟合方法(全域)及目标窗口(以秒计)的步骤来分析数据。评价拟合品质。如果在3倍范围内,则对各数据追踪(分析物浓度)的 K_D 值取平均值。 K_D 误差值应处于亲和力常数值的约一个数量级之内; R^2 值应高于0.95。参见,例如Abdiche等人(2008) J. Anal. Biochem. 377:209。

[0064] 除非本文另外说明,本公开的TMMP对同源共免疫调节多肽的亲和力或对照TMMP(其中对照TMMP包含野生型免疫调节多肽)对同源共免疫调节多肽的亲和力使用如上文所述的BLI测定。

[0065] 在一些情况下,i)对照TMMP(其中对照包含野生型免疫调节多肽)与同源共免疫调节多肽的结合亲和力同ii)本公开的包含野生型免疫调节多肽变体的TMMP与同源共免疫调节多肽的结合亲和力的比率当通过BLI(如上文所述)测量时为至少1.5:1、至少2:1、至少5:1、至少10:1、至少15:1、至少20:1、至少25:1、至少50:1、至少100:1、至少500:1、至少 10^2 :1、至少 5×10^2 :1、至少 10^3 :1、至少 5×10^3 :1、至少 10^4 :1、至少 10^5 :1、或至少 10^6 :1。在一些情况下,i)对照TMMP(其中对照包含野生型免疫调节多肽)与同源共免疫调节多肽的结合亲和力同ii)本公开的包含野生型免疫调节多肽变体的TMMP与同源共免疫调节多肽的结合亲和力的比率当通过BLI测量时范围在1.5:1至 10^6 :1内,例如1.5:1至10:1、10:1至50:1、50:1至 10^2 :1、 10^2 :1至 10^3 :1、 10^3 :1至 10^4 :1、 10^4 :1至 10^5 :1、或 10^5 :1至 10^6 :1。

[0066] 作为实例,在对照TMMP包含野生型IL-2多肽时,且在本公开的TMMP包含变异IL-2多肽(相对于野生型IL-2多肽的氨基酸序列包含1至10个氨基酸取代)作为免疫调节多肽时,i)对照TMMP与IL-2受体(即,同源共免疫调节多肽)的结合亲和力同ii)本公开的TMMP与

IL-2受体的结合亲和力的比率当通过BLI测量时为至少1.5:1、至少2:1、至少5:1、至少10:1、至少15:1、至少20:1、至少25:1、至少50:1、至少100:1、至少500:1、至少 10^2 :1、至少 5×10^2 :1、至少 10^3 :1、至少 5×10^3 :1、至少 10^4 :1、至少 10^5 :1、或至少 10^6 :1。在一些情况下,在对照TMMP包含野生型IL-2多肽时,且在本公开的TMMP包含变异IL-2多肽(相对于野生型IL-2多肽的氨基酸序列包含1至10个氨基酸取代)作为免疫调节多肽时,i)对照TMMP与IL-2受体(即,同源共免疫调节多肽)的结合亲和力同ii)本公开的TMMP与IL-2受体的结合亲和力的比率当通过BLI测量时范围在1.5:1至 10^6 :1内,例如1.5:1至10:1、10:1至50:1、50:1至 10^2 :1、 10^2 :1至 10^3 :1、 10^3 :1至 10^4 :1、 10^4 :1至 10^5 :1、或 10^5 :1至 10^6 :1。

[0067] 作为另一实例,在对照TMMP包含野生型PD-L1多肽时,且在本公开的TMMP包含变体PD-L1多肽(相对于野生型PD-L1多肽的氨基酸序列包含1至10个氨基酸取代)作为免疫调节多肽时,i)对照TMMP与PD-1多肽(即,同源共免疫调节多肽)的结合亲和力同ii)本公开的TMMP与PD-1多肽的结合亲和力的比率当通过BLI测量时为至少1.5:1、至少2:1、至少5:1、至少10:1、至少15:1、至少20:1、至少25:1、至少50:1、至少100:1、至少500:1、至少 10^2 :1、至少 5×10^2 :1、至少 10^3 :1、至少 5×10^3 :1、至少 10^4 :1、至少 10^5 :1、或至少 10^6 :1。

[0068] 作为另一实例,在对照TMMP包含野生型CD80多肽时,且在本公开的TMMP包含变体CD80多肽(相对于野生型CD80多肽的氨基酸序列包含1至10个氨基酸取代)作为免疫调节多肽时,i)对照TMMP与CTLA4多肽(即,同源共免疫调节多肽)的结合亲和力同ii)本公开的TMMP与CTLA4多肽的结合亲和力的比率当通过BLI测量时为至少1.5:1、至少2:1、至少5:1、至少10:1、至少15:1、至少20:1、至少25:1、至少50:1、至少100:1、至少500:1、至少 10^2 :1、至少 5×10^2 :1、至少 10^3 :1、至少 5×10^3 :1、至少 10^4 :1、至少 10^5 :1、或至少 10^6 :1。

[0069] 作为另一实例,在对照TMMP包含野生型CD80多肽时,且在本公开的TMMP包含变体CD80多肽(相对于野生型CD80多肽的氨基酸序列包含1至10个氨基酸取代)作为免疫调节多肽时,i)对照TMMP与CD28多肽(即,同源共免疫调节多肽)的结合亲和力同ii)本公开的TMMP与CD28多肽的结合亲和力的比率当通过BLI测量时为至少1.5:1、至少2:1、至少5:1、至少10:1、至少15:1、至少20:1、至少25:1、至少50:1、至少100:1、至少500:1、至少 10^2 :1、至少 5×10^2 :1、至少 10^3 :1、至少 5×10^3 :1、至少 10^4 :1、至少 10^5 :1、或至少 10^6 :1。

[0070] 作为另一实例,在对照TMMP包含野生型4-1BBL多肽时,且在本公开的TMMP包含变异4-1BBL多肽(相对于野生型4-1BBL多肽的氨基酸序列包含1至10个氨基酸取代)作为免疫调节多肽时,i)对照TMMP与4-1BB多肽(即,同源共免疫调节多肽)的结合亲和力同ii)本公开的TMMP与4-1BB多肽的结合亲和力的比率当通过BLI测量时为至少1.5:1、至少2:1、至少5:1、至少10:1、至少15:1、至少20:1、至少25:1、至少50:1、至少100:1、至少500:1、至少 10^2 :1、至少 5×10^2 :1、至少 10^3 :1、至少 5×10^3 :1、至少 10^4 :1、至少 10^5 :1、或至少 10^6 :1。

[0071] 作为另一实例,在对照TMMP包含野生型CD86多肽时,且在本公开的TMMP包含变异CD86多肽(相对于野生型CD86多肽的氨基酸序列包含1至10个氨基酸取代)作为免疫调节多肽时,i)对照TMMP与CD28多肽(即,同源共免疫调节多肽)的结合亲和力同ii)本公开的TMMP与CD28多肽的结合亲和力的比率当通过BLI测量时为至少1.5:1、至少2:1、至少5:1、至少10:1、至少15:1、至少20:1、至少25:1、至少50:1、至少100:1、至少500:1、至少 10^2 :1、至少 5×10^2 :1、至少 10^3 :1、至少 5×10^3 :1、至少 10^4 :1、至少 10^5 :1或至少 10^6 :1。

[0072] 本公开的TMMP与靶T细胞的结合亲和力可以下列方式测量:A)使本公开的TMMP与

在其表面上表达以下各物的靶T细胞接触:i) 结合亲本野生型免疫调节多肽的同源共免疫调节多肽;及ii) 结合至表位的T细胞受体,其中TMMP包含表位标签,使得TMMP结合至靶T细胞;B) 使靶T细胞结合的TMMP与结合至表位标签的荧光标记的结合剂(例如,荧光标记的抗体)接触,从而生成TMMP/靶T细胞/结合剂复合物;C) 使用流动式细胞测量术测量TMMP/靶T细胞/结合剂复合物的平均荧光强度(MFI)。表位标签可为例如FLAG标签、凝集素标签、c-myc标签、聚(组氨酸)标签等。在TMMP文库成员的浓度范围上测量的MFI提供亲和力的量度。在TMMP文库成员的浓度范围上测量的MFI提供TMMP的半最大有效浓度(EC_{50})。在一些情况下,本公开的TMMP对于靶T细胞的 EC_{50} 在nM范围内;且TMMP对于对照T细胞(其中对照T细胞在其表面上表达:i) 结合亲本野生型免疫调节多肽的同源共免疫调节多肽;及ii) 并未结合至TMMP中存在的表位的T细胞受体)的 EC_{50} 在 μ M范围内。在一些情况下,本公开的TMMP对于对照T细胞的 EC_{50} 同TMMP对于靶T细胞的 EC_{50} 的比率为至少1.5:1、至少2:1、至少5:1、至少10:1、至少15:1、至少20:1、至少25:1、至少50:1、至少100:1、至少500:1、至少 10^2 :1、至少 5×10^2 :1、至少 10^3 :1、至少 5×10^3 :1、至少 10^4 :1、至少 10^5 :1、或至少 10^6 :1。本公开的TMMP对于对照T细胞的 EC_{50} 同TMMP对于靶T细胞的 EC_{50} 的比率为对TMMP的选择性的表述。

[0073] 在一些情况下,当如前述段落中所述进行测量时,与TMMP文库成员与包含以下各物的对照T细胞的结合相比,本公开的TMMP呈现出与靶T细胞的选择性结合:i) 结合亲本野生型免疫调节多肽的同源共免疫调节多肽;及ii) 结合至除了TMMP文库成员中存在的表位以外的表位的T细胞受体。

[0074] 二聚化TMMP

[0075] 本公开的TMMP可被二聚化;即,本公开提供包含本公开的TMMP的二聚体的多聚体多肽。因此,本公开提供一种TMMP,其包含:A) 第一异二聚体,所述第一异二聚体包含:a) 第一多肽,所述第一多肽包含:i) 肽表位;及ii) 第一主要组织相容性复合物(MHC)多肽;和b) 第二多肽,所述第二多肽包含:i) 第二MHC多肽,其中所述第一异二聚体包含一种或多种免疫调节多肽;及B) 第二异二聚体,所述第二异二聚体包含:a) 第一多肽,所述第一多肽包含:i) 肽表位;及ii) 第一MHC多肽;和b) 第二多肽,所述第二多肽包含:i) 第二MHC多肽,其中所述第二异二聚体包含一种或多种免疫调节多肽,且其中所述第一异二聚体与所述第二异二聚体彼此共价连接。在一些情况下,两个TMMP的氨基酸序列彼此相同。在一些情况下,第一异二聚体与第二异二聚体经由第一异二聚体的第二多肽的C端区域及第二异二聚体的第二多肽的C端区域彼此共价连接。在一些情况下,第一异二聚体与第二异二聚体经由第一异二聚体的第二多肽的C端氨基酸及第二异二聚体的第二多肽的C端区域彼此共价连接;例如,在一些情况下,第一异二聚体的第二多肽的C端氨基酸与第二异二聚体的第二多肽的C端区域直接或经由接头彼此连接。接头可为肽接头。肽接头可具有的长度为1个氨基酸至200个氨基酸(例如,1个氨基酸(aa)至5aa、5aa至10aa、10aa至25aa、25aa至50aa、50aa至100aa、100aa至150aa、或150aa至200aa)。在一些情况下,第一异二聚体的肽表位与第二异二聚体的肽表位包含相同氨基酸序列。在一些情况下,第一异二聚体和第二异二聚体的第一MHC多肽为I类MHC β 2-微球蛋白,且其中第一异二聚体及第二异二聚体的第二MHC多肽为I类MHC重链。在一些情况下,第一异二聚体的免疫调节多肽与第二异二聚体的免疫调节多肽包含相同氨基酸序列。在一些情况下,第一异二聚体的免疫调节多肽和第二异二聚体的免疫调节多肽为与相应亲本野生型免疫调节多肽相比包含1至10个氨基酸取代的变异免疫调节多

肽,且其中这1至10个氨基酸取代导致变异免疫调节多肽与同源共免疫调节多肽的亲合力结合减小。在一些情况下,第一异二聚体的免疫调节多肽和第二异二聚体的免疫调节多肽各自独立地选自自由以下组成的组:IL-2、4-1BBL、PD-L1、CD80、CD86、ICOS-L、OX-40L、FasL、JAG1 (CD339)、TGF β 、CD70及ICAM。下文描述适合的MHC多肽、免疫调节多肽及肽表位的实例。

[0076] MHC多肽

[0077] 如上文所述,本公开的TMMP包括MHC多肽。出于本公开的目的,术语“主要组织相容性复合物(MHC)多肽”旨在包括不同物种的MHC多肽,包括人MHC(也称为人白细胞抗原(HLA))多肽、啮齿动物(例如,小鼠、大鼠等)MHC多肽、及其他哺乳动物物种的MHC多肽(例如,兔类动物、非人灵长类动物、犬科动物、猫科动物、有蹄类动物(例如,马、牛、绵羊、山羊等)等。术语“MHC多肽”旨在包括I类MHC多肽(例如, β -2微球蛋白和I类MHC重链)。

[0078] 在一些情况下,第一MHC多肽为I类MHC β 2M(β 2M)多肽,且第二MHC多肽为I类MHC重链(H链)(“MHC-H”)。在其他情况下,第一MHC多肽为I类MHC重链多肽;且第二MHC多肽为 β 2M多肽。在一些情况下, β 2M和MHC-H链均为人来源;即,MHC-H链为HLA重链或其变体。除非另外明确说明,本公开的TMMP不包括I类MHC重链的膜锚定结构域(跨膜结构域)或足以将所得TMMP锚定至表达其的细胞(例如,真核细胞,诸如哺乳动物细胞)的I类MHC重链的一部分。在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的I类MHC重链不包括与天然I类MHC重链缔合的信号肽、跨膜结构域或细胞内结构域(细胞质尾部)。因此,例如,在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的I类MHC重链仅包括I类MHC重链的 α 1、 α 2及 α 3结构域。在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的I类MHC重链具有的长度为约270个氨基酸(aa)至约290aa。在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的I类MHC重链具有的长度为270aa、271aa、272aa、273aa、274aa、275aa、276aa、277aa、278aa、279aa、280aa、281aa、282aa、283aa、284aa、285aa、286aa、287aa、288aa、289aa或290aa。

[0079] 在一些情况下,TMMP之MHC多肽为人MHC多肽,其中人MHC多肽也称为“人白细胞抗原”(“HLA”)多肽。在一些情况下,TMMP的MHC多肽为I类HLA多肽,例如, β 2-微球蛋白多肽或I类HLA重链多肽。I类HLA重链多肽包括HLA-A重链多肽、HLA-B重链多肽、HLA-C重链多肽、HLA-E重链多肽、HLA-F重链多肽及HLA-G重链多肽。

[0080] I类MHC重链

[0081] 在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的I类MHC重链多肽包含与图7-13中描绘的任何人HLA重链多肽的全部或部分氨基酸序列(例如,50、75、100、150、200、或250个连续氨基酸)具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况下,I类MHC重链具有的长度为270aa、271aa、272aa、273aa、274aa、275aa、276aa、277aa、278aa、279aa、280aa、281aa、282aa、283aa、284aa、285aa、286aa、287aa、288aa、289aa或290aa。在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的I类MHC重链多肽包含图7-13中描绘的任一氨基酸序列的1-30、1-5、5-10、10-15、15-20、20-25或25-30个氨基酸插入、缺失和/或取代(除了指示为在重链共有序列中可变之那些位置)。在一些情况下,I类MHC重链不包括跨膜结构域或细胞质域。作为一个实例,本公开的TMMP的I类MHC重链多肽可包含与图5A、5B及5C中任一个描绘的人HLA-A重链多肽的氨基酸25-300(缺乏全部或大体上全部前导序列、跨膜序列及细胞质序列)或氨基酸25-365(缺乏前导序列)具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少

99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0082] 图5A、5B和5C提供人白细胞抗原 (HLA) I类重链多肽的氨基酸序列。将信号序列氨基酸1-24加粗且加下划线。图5A条目:3A.1为HLA-A重链 (HLA-A*01:01:01:01或A*0101) (NCBI登录NP_001229687.1) SEQ ID NO:23;条目3A.2来自HLA-A*1101SEQ ID NO:24;条目3A.3来自HLA-A*2402SEQ ID NO:25且条目3A.4来自HLA-A*3303SEQ ID NO:26。图5B提供序列HLA-B*07:02:01 (HLA-B*0702) NCBI GenBank登录NP_005505.2 (也参见GenBank登录AUV50118.1.)。图5C提供序列HLA-C*0701 (GenBank登录NP_001229971.1) (HLA-C*07:01:01:01或HLA-Cw*070101, HLA-Cw*07参见GenBank登录CA078194.1)。

[0083] 图6提供十一种无前导序列或跨膜结构域或细胞内结构域的成熟I类MHC重链氨基酸序列的比对。所比对序列为人HLA-A、HLA-B及HLA-C、小鼠H2K蛋白序列、三种HLA-A变体 (var.1、var.2C及var.2CP)、以及3种人HLA-A变体 (HLA-A*1101; HLA-A*2402; 及HLA-A*3303)。在比对中指出位置 (成熟蛋白的84和139), 其中半胱氨酸残基可被引入 (例如, 通过取代) 以用于形成二硫键以使MHC H链-β2M复合物稳定。比对中还展示位置236 (成熟多肽的位置), 其可由半胱氨酸残基取代, 从而可与β2M形成链间二硫键 (例如, 在aa12处)。箭头出现于那些位置各自的上方且将残基加粗。比对 (var.2c) 中所示的第七HLA-A序列展示以C残基在位置84、139及236处取代的变体2的序列。框侧翼残基84、139及236展示在五个残基的那些六组的任一侧上的五个氨基酸的群, 所述六组表示为aac1 (对于“氨基酸簇1”)、aac2 (对于“氨基酸簇2”)、aac3 (对于“氨基酸簇3”)、aac4 (对于“氨基酸簇4”)、aac5 (对于“氨基酸簇5”)及aac6 (对于“氨基酸簇6”), 所述残基可被独立地选自以下的1至5个氨基酸置换: (i) 任何天然存在的氨基酸或 (ii) 或除脯氨酸或甘氨酸以外的任何天然存在的氨基酸。

[0084] 关于图6, 在一些情况下: i) aac1 (氨基酸簇1) 可为氨基酸序列GTLRG (SEQ ID NO: 287) 或有一或两个氨基酸缺失或被其他天然存在的氨基酸取代 (例如, L被I、V、A或F置换) 的序列; ii) aac2 (氨基酸簇2) 可为氨基酸序列YNQSE (SEQ ID NO: 288) 或有一或两个氨基酸缺失或被其他天然存在的氨基酸取代 (例如, N被Q置换, Q被N置换, 且/或E被D置换) 的序列; iii) aac3 (氨基酸簇3) 可为氨基酸序列TAADM (SEQ ID NO: 289) 或有一或两个氨基酸缺失或被其他天然存在的氨基酸取代 (例如, T被S置换, A被G置换, D被E置换, 且/或M被L、V或I置换) 的序列; iv) aac4 (氨基酸簇4) 可为氨基酸序列AQTTK (SEQ ID NO: 290) 或有一或两个氨基酸缺失或被其他天然存在的氨基酸取代 (例如, A被G置换, Q被N置换, 或T被S置换, 且/或K被R或Q置换) 的序列; v) aac5 (氨基酸簇5) 可为氨基酸序列VETRP (SEQ ID NO: 291) 或有一或两个氨基酸缺失或被其他天然存在的氨基酸取代 (例如, V被I或L置换, E被D置换, T被S置换, 且/或R被K置换) 的序列; 且/或vi) aac6 (氨基酸簇6) 可为氨基酸序列GDGTF (SEQ ID NO: 292) 或有一或两个氨基酸缺失或被其他天然存在的氨基酸取代 (例如, D被E置换, T被S置换, 或F被L、W或Y置换) 的序列。

[0085] 图7-9提供成熟HLA I类重链氨基酸序列 (无前导序列或跨膜结构域或细胞内结构域) 的比对。图7A中比对的氨基酸序列为以下等位基因的HLA-A I类重链: A*0101、A*0201、A*0301、A*1101、A*2301、A*2402、A*2407、A*3303及A*3401。图8A中比对的氨基酸序列为以下等位基因的HLA-B I类重链: B*0702、B*0801、B*1502、B*3802、B*4001、B*4601及B*5301。图9A中比对的氨基酸序列为以下等位基因的HLA-C I类重链: C*0102、C*0303、C*0304、C*0401、C*0602、C*0701、C*0801及C*1502。在比对中指出位置 (成熟蛋白的84和139), 其中半

胱氨酸残基可被引入(例如,通过取代)以用于形成二硫键以使HLA H链-B2M复合物稳定。比中还展示位置236(成熟多肽的位置),其可由半胱氨酸残基取代,从而可与B2M形成链间二硫键(例如,在aa 12处)。框侧翼残基84、139及236展示在五个残基的那些六组之任一侧上的五个氨基酸的群,该六组表示为aac1(对于“氨基酸簇1”)、aac2(对于“氨基酸簇2”)、aac3(对于“氨基酸簇3”)、aac4(对于“氨基酸簇4”)、aac5(对于“氨基酸簇5”)及aac6(对于“氨基酸簇6”),这些残基可独立地选自以下的1至5个氨基酸置换:(i)任何天然存在的氨基酸或(ii)或除脯氨酸或甘氨酸以外的任何天然存在的氨基酸。

[0086] 图7A、8A及9A分别提供成熟HLA-A、HLA-B及HLA-C I类重链的氨基酸序列的比对。提供成熟蛋白的细胞外部分(无前导序列或跨膜结构域或细胞内结构域)的序列。如图6所述,还展示aa残基84、139及236以及其侧翼残基(aac1至aac6)的位置,这些残基可独立地选自以下的1至5个氨基酸置换:(i)任何天然存在的氨基酸或(ii)除了脯氨酸或甘氨酸以外的任何天然存在的氨基酸。图7B、8B及9B提供分别在图7A、8A及9A中所提供的HLA-A、HLA-B及HLA-C序列的共有氨基酸序列。共有序列将可变氨基酸位置展示为依次编号的“X”残基且将氨基酸84、139及236的位置加双下划线。

[0087] 关于图7A,在一些情况下:i)aac1(氨基酸簇1)可为氨基酸序列GTLRG(SEQ ID NO:287)或有一或两个氨基酸缺失或被其他天然存在的氨基酸取代(例如,L被I、V、A或F置换)的序列;ii)aac2(氨基酸簇2)可为氨基酸序列YNQSE(SEQ ID NO:288)或有一或两个氨基酸缺失或被其他天然存在的氨基酸取代(例如,N被Q置换,Q被N置换,且/或E被D置换)的序列;iii)aac3(氨基酸簇3)可为氨基酸序列TAADM(SEQ ID NO:289)或有一或两个氨基酸缺失或被其他天然存在的氨基酸取代(例如,T被S置换,A被G置换,D被E置换,且/或M被L、V或I置换)的序列;iv)aac4(氨基酸簇4)可为氨基酸序列AQTTK(SEQ ID NO:290)或有一或两个氨基酸缺失或被其他天然存在的氨基酸取代(例如,A被G置换,Q被N置换,或T被S置换,且或K被R或Q置换)的序列;v)aac5(氨基酸簇5)可为氨基酸序列VETRP(SEQ ID NO:291)或有一或两个氨基酸缺失或被其他天然存在的氨基酸取代(例如,V被I或L置换,E被D置换,T被S置换,且/或R被K置换)的序列;且/或vi)aac6(氨基酸簇6)可为氨基酸序列GDGTF(SEQ ID NO:292)或有一或两个氨基酸缺失或被其他天然存在的氨基酸取代(例如,D被E置换,T被S置换,或F被L、W或Y置换)的序列。

[0088] 关于图8A,在一些情况下:i)aac1(氨基酸簇1)可为氨基酸序列RNLRG(SEQ ID NO:293)或有一或两个氨基酸缺失或被其他天然存在的氨基酸取代(例如,N被T或I置换;且/或L被A置换;且/或第二R被L置换;且/或G被R置换)的序列;ii)aac2(氨基酸簇2)可为氨基酸序列YNQSE(SEQ ID NO:288)或有一或两个氨基酸缺失或被其他天然存在的氨基酸取代(例如,N被Q置换,Q被N置换,且/或E被D置换)的序列;iii)aac3(氨基酸簇3)可为氨基酸序列TAADT(SEQ ID NO:294)或有一或两个氨基酸缺失或被其他天然存在的氨基酸取代(例如,第一T被S置换;且/或A被G置换;且/或D被E置换;且/或第二T被S置换)的序列;iv)aac4(氨基酸簇4)可为氨基酸序列AQITQ(SEQ ID NO:295)或有一或两个氨基酸缺失或被其他天然存在的氨基酸取代(例如,A被G置换;且/或第一Q被N置换;且/或I被L或V置换;且/或T被S置换;且/或第二Q被N置换)的序列;v)aac5(氨基酸簇5)可为氨基酸序列VETRP(SEQ ID NO:291)或有一或两个氨基酸缺失或被其他天然存在的氨基酸取代(例如,V被I或L置换,E被D置换,T被S置换,且/或R被K置换)的序列;且/或vi)aac6(氨基酸簇6)可为氨基酸序列GDRTF

(SEQ ID NO:296) 或有一或两个氨基酸缺失或被其他天然存在的氨基酸取代(例如,D被E置换;且/或T被S置换;且/或R被K或H置换;且/或F被L、W或Y置换)的序列。

[0089] 关于图9A,在一些情况下:i) aac1(氨基酸簇1)可为氨基酸序列RNLRG(SEQ ID NO:293) 或有一或两个氨基酸缺失或被其他天然存在的氨基酸取代(例如,N被K置换;且/或L被A或I置换;且/或第二R被H置换;且/或G被T或S置换)的序列;ii) aac2(氨基酸簇2)可为氨基酸序列YNQSE(SEQ ID NO:288) 或有一或两个氨基酸缺失或被其他天然存在的氨基酸取代(例如,N被Q置换,Q被N置换,且/或E被D置换)的序列;iii) aac3(氨基酸簇3)可为氨基酸序列TAADT(SEQ ID NO:294) 或有一或两个氨基酸缺失或被其他天然存在的氨基酸取代(例如,第一T被S置换;且/或A被G置换;且/或D被E置换;且/或第二T被S置换)的序列;iv) aac4(氨基酸簇4)可为氨基酸序列AQITQ(SEQ ID NO:295) 或有一或两个氨基酸缺失或被其他天然存在的氨基酸取代(例如,A被G置换;且/或第一Q被N置换;且/或I被L置换;且/或第二Q被N或K置换)的序列;v) aac5(氨基酸簇5)可为氨基酸序列VETRP(SEQ ID NO:291) 或有一或两个氨基酸缺失或被其他天然存在的氨基酸取代(例如,V被I或L置换,E被D置换,T被S置换,且/或R被K或H置换)的序列;且/或vi) aac6(氨基酸簇6)可为氨基酸序列GDGTF(SEQ ID NO:292) 或有一或两个氨基酸缺失或被其他天然存在的氨基酸取代(例如,D被E置换;且/或T被S置换;且/或F被L、W或Y置换)的序列。

[0090] HLA-A

[0091] 在一些情况下,本公开的TMMP包含HLA-A重链多肽。可并入本公开的TMMP中的HLA-A重链肽序列或其部分包括但不限于以下等位基因:A*0101、A*0201、A*0301、A*1101、A*2301、A*2402、A*2407、A*3303及A*3401,其在无全部或大体上全部图7A中的前导序列、跨膜序列及胞质序列的情况下比对。那些等位基因中的任一个可包含在位置84、139和/或236(如图7A所示)的一个或多个处的选自以下的突变:在位置84处酪氨酸至丙氨酸(Y84A);在位置84处酪氨酸至半胱氨酸(Y84C);在位置139处丙氨酸至半胱氨酸(A139C);及在位置236处丙氨酸至半胱氨酸的取代(A236C)。另外,也可采用与那些HLA-A等位基因的序列的全部或一部分(例如,50、75、100、150、200或250个连续氨基酸)具有至少75%(例如,至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%)或100%氨基酸序列同一性的HLA-A序列(例如,其可包含1-25、1-5、5-10、10-15、15-20、20-25、或25-30个氨基酸插入、缺失和/或取代)。

[0092] 在一些情况下,本公开的TMMP包含HLA-A重链多肽,其包含以下HLA-A共有氨基酸序列:

[0093] GSHSMRYFX1TSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQX2MEPRAPWIEQEGPEYWDX3X4TX5X6X7KAX8SQX9X10RX11X12LX13X14X15X16X17YYNQSEX18GSHTX19QX20MX21GCDV GX22DX23RFLRGYX24QX25AYDGGDYIALX26EDLRSWTAADM AAQX27TX287X29KWEX30X31X32EAEQX33RX34YLX35GX36CVX37X38LRRYLENGKETLQRTDX39PKTHMTHHX40X41SDHEATL RCWALX42FYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDGTGFKWAX43VVVPSGX44EQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEX45(SEQ ID NO:29),其中X1为F、Y、S或T;X2为K或R;X3为Q、G、E或R;X4为N或E;X5为R或G;X6为N或K;X7为M或V;X8为H或Q;X9为T或I;X10为D或H;X11为A、V或E;X12为N或D;X13为G或R;X14为T或I;X15为L或A;X16为R或L;X17为G或R;X18为A或D;X19为I、L或V;X20为I、R或M;X21为F或Y;X22为S或P;X23为W或G;X24为R、H、或Q;X25为D或Y;X26为N或K;X27为T或I;X28为K或Q;X29为R或H;

X30为A或T;X31为A或V;X32为H或R;X33为R、L、Q或W;X34为V或A;X35为D或E;X36为R或T;X37为D或E;X38为W或G;X39为P或A;X40为P或A;X41为V或I;X42为S或G;X43为A或S;X44为Q或E;且X45为P或L。

[0094] 作为一个实例, TMMP的I类MHC重链多肽可包含与以下人HLA-A重链氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0095] GSHSMRYFFTSVSRPGRGEP^RFI^AVG^VYDDTQFVRFDS^AAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETR^KVKAHSQTHRVDLGT^LRGYYNQSEAGSHTVQ^RMYGCDVGS^DWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQ^TTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLR^RYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALS^FYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL^VETRPAGDGT^FQKWA^AVVPSGQE^RRYTCHVQHEGLPKPLTLR^WEP (SEQ ID NO:297)。

[0096] 在一些情况下, 适用于包含在本公开的TMMP中的HLA-A重链多肽包含以下氨基酸序列:

[0097] GSHSMRYFFTSVSRPGRGEP^RFI^AVG^VYDDTQFVRFDS^AAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETR^KVKAHSQTHRVDLGT^LRGYYNQSEAGSHTVQ^RMYGCDVGS^DWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQ^TTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLR^RYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALS^FYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL^VETRPAGDGT^FQKWA^AVVPSGQE^RRYTCHVQHEGLPKPLTLR^WEP (SEQ ID NO:297)。此HLA-A重链多肽也称为“HLA-A*0201”或简称为“HLA-A02”。在一些情况下, C端Pro不包括在本公开的TMMP中。举例来说, 在一些情况下, 适用于包含在本公开的TMMP中的HLA-A02多肽包含以下氨基酸序列: GSHSMRYFFTSVSRPGRGEP^RFI^AVG^VYDDTQFVRFDS^AAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETR^KVKAHSQTHRVDLGT^LRGYYNQSEAGSHTVQ^RMYGCDVGS^DWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQ^TTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLR^RYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALS^FYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL^VETRPAGDGT^FQKWA^AVVPSGQE^RRYTCHVQHEGLPKPLTLR^WE (SEQ ID NO:461)。

[0098] HLA-A (Y84A;A236C)

[0099] 在一些情况下, I类MHC重链多肽包含Y84A和A236C取代。举例来说, 在一些情况下, I类MHC重链多肽包含与以下人HLA-A重链 (Y84A;A236C) 氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0100] GSHSMRYFFTSVSRPGRGEP^RFI^AVG^VYDDTQFVRFDS^AAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETR^KVKAHSQTHRVDLGT^LRGAYNQSEAGSHTVQ^RMYGCDVGS^DWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQ^TTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLR^RYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALS^FYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL^VETRPCGDGT^FQKWA^AVVPSGQE^RRYTCHVQHEGLPKPLTLR^WEP (SEQ ID NO:298), 其中氨基酸84为Ala且氨基酸236为Cys。在一些情况下, Cys-236与包含R12C取代的变体β2M多肽的Cys-12形成链间二硫键。

[0101] 在一些情况下, 适用于包含在本公开的TMMP中的HLA-A重链多肽为包含以下氨基酸序列的HLA-A02 (Y84A;A236C) 多肽:

[0102] GSHSMRYFFTSVSRPGRGEP^RFI^AVG^VYDDTQFVRFDS^AAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETR^KVKAHSQTHRVDLGT^LRGAYNQSEAGSHTVQ^RMYGCDVGS^DWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQ^TTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLR^RYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALS^FYPAEITLTWQRD

GEDQTQDTELVETRPCGDGTFQKWA^{AVVV}PSGQEQR^YTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:298)。

[0103] 在一些情况下,适用于包含在本公开的TMMP中的HLA-A重链多肽为包含以下氨基酸序列的HLA-A02 (Y84A;A236C) 多肽:

[0104] GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKVK AHSQTHRVDLGTLRGAYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTK HKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRD GEDQTQDTELVETRPCGDGTFQKWA^{AVVV}PSGQEQR^YTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:462)。

[0105] HLA-A (Y84C;A139C)

[0106] 在一些情况下,I类MHC重链多肽包含Y84C和A139C取代。举例来说,在一些情况下,I类MHC重链多肽包含与以下人HLA-A重链 (Y84C;A139C) 氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0107] GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKVK AHSQTHRVDLGTLRGCYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMCAQTTK HKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRD GEDQTQDTELVETRPAGDGTFQKWA^{AVVV}PSGQEQR^YTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:299),其中氨基酸84为Cys且氨基酸139为Cys。在一些情况下,Cys-84与Cys-139形成链内二硫键。

[0108] HLA-A11 (HLA-A*1101)

[0109] 作为一个非限制性实例,TMMP的I类MHC重链多肽可包含与以下人HLA-A11重链氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0110] GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDQETRNVK AQSQTDRVDLGTLRGYYNQSEDGSHTIQIMYGCDVGPDGRFLRGYRQDAYDGKDYIALNEDLRSWTAADMAAQITK RKWEAAHAAEQQRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRD GEDQTQDTELVETRPAGDGTFQKWA^{AVVV}PSGEEQR^YTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:300)。此类I类MHC重链在亚洲人群中可为突出的,该亚洲人群包括亚洲人种的个体群体。

[0111] HLA-A11 (Y84A;A236C)

[0112] 作为一个非限制性实例,在一些情况下,I类MHC重链多肽为包含Y84A和A236C取代的HLA-A11等位基因。举例来说,在一些情况下,I类MHC重链多肽包含与以下人HLA-A A11重链 (Y84A;A236C) 氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0113] GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDQETRNVK AQSQTDRVDLGTLRGAYNQSEDGSHTIQIMYGCDVGPDGRFLRGYRQDAYDGKDYIALNEDLRSWTAADMAAQITK RKWEAAHAAEQQRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRD GEDQTQDTELVETRPCGDGTFQKWA^{AVVV}PSGEEQR^YTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:301),其中氨基酸84为A1a且氨基酸236为Cys。在一些情况下,Cys-236与包含R12C取代的变体β2M多肽的Cys-12形成链间二硫键。

[0114] HLA-A24 (HLA-A*2402)

[0115] 作为一个非限制性实例,本公开的TMMP的I类MHC重链多肽可包含与以下人HLA-

A24重链氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列：

[0116] GSHSMRYFSTSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDEETGKVK AHSQTDRENLRALRYYNQSEAGSHTLQMMFGCDVGS DGRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQITK RKWEAAHVAEQQRAYLEGTCVDGLRRYLENGKETLQRTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRD GEDQTQDTELVETRPAGDGTQKWA AVVVP SGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEPSQPTVPIVGI IAGLVLLGA VITGAVVAAMWRRNSSDRKGGSYSQAASSDSAQGS DSVSLTACKV (SEQ ID NO:302)。此类I类MHC重链在亚洲人群中可为突出的,该亚洲人群包括亚洲人种的个体群体。在一些情况下,氨基酸84为Ala。在一些情况下,氨基酸84为Cys。在一些情况下,氨基酸236为Cys。在一些情况下,氨基酸84为Ala且氨基酸236为Cys。在一些情况下,氨基酸84为Cys且氨基酸236为Cys。

[0117] HLA-A33 (HLA-A*3303)

[0118] 作为一个非限制性实例,本公开的TMMP的I类MHC重链多肽可包含与以下人HLA-A33重链氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列：

[0119] GSHSMRYFTTSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWRNTRNVK AHSQIDRVDLGTLRGYYNQSEAGSHTIQMMYGCDVGS DGRFLRGYQQDAYDGKDYIALNEDLRSWTAADMAAQITQ RKWEAARVAEQLRAYLEGTCVEWLRRLYLENGKETLQRTDPPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALS FYPAEITLTWQRD GEDQTQDTELVETRPAGDGTQKWA SVVVP SGQE QRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEPSQPTIPIVGI IAGLVLFGA VFAGAVVAAVRWRKSSDRKGGSYSQAASSDSAQGS DMSLTACKV (SEQ ID NO:303)。此类I类MHC重链在亚洲人群中可为突出的,该亚洲人群包括亚洲人种的个体群体。在一些情况下,氨基酸84为Ala。在一些情况下,氨基酸84为Cys。在一些情况下,氨基酸236为Cys。在一些情况下,氨基酸84为Ala且氨基酸236为Cys。在一些情况下,氨基酸84为Cys且氨基酸236为Cys。

[0120] HLA-B

[0121] 在一些情况下,本公开的TMMP包含HLA-B重链多肽。可并入本公开的TMMP中的HLA-B重链肽序列或其部分包括但不限于以下等位基因:B*0702、B*0801、B*1502、B*3802、B*4001、B*4601及B*5301,其在无全部或大体上全部图8A中的前导序列、跨膜序列及细胞质序列的情况下比对。那些等位基因中的任一个可包含在位置84、139和/或236(如图8A所示)的一个或多个处的选自以下的突变:在位置84处酪氨酸至丙氨酸(Y84A);在位置84处酪氨酸至半胱氨酸(Y84C);在位置139处丙氨酸至半胱氨酸(A139C);及在位置236处丙氨酸至半胱氨酸的取代(A236C)。另外,也可采用包含与那些HLA-B等位基因的全部或一部分序列(例如,50、75、100、150、200或250个连续氨基酸)具有至少75%(例如,至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%)或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列的HLA-B多肽(例如,其可包含1-25、1-5、5-10、10-15、15-20、20-25、或25-30个氨基酸插入、缺失和/或取代)。

[0122] 在一些情况下,本公开的TMMP包含HLA-B重链多肽,其包含以下HLA-B共有氨基酸序列：

[0123] GSHSMRYFX1TX2X3SRPGRGEPRIX4VG YVDDTX5FVRFSDAX6SPRX7X8PRAPWIEQEGPEYW DRX9TQX10X11KTX12X13TQX14YX15X16NLX17X18X19X20YYNQSEAGSHX21X22QX23MYGCDLGPDG RLLRGHDQSAYDGKDYIALNEDLX24SWTAADTAAQIX25QRKX26EAARX27AEQX28RX29YLEGX30CVEWLR

RYLENGKX31X32LX33RADPPKTHVTHHPX34SDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDRTFQKWA^{AVVV}PSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE^P (SEQ ID NO:30), 其中X1为H、Y或D; X2为A或S; X3为M或V; X4为A、S或T; X5为Q或L; X6为A或T; X7为E、M、K或T; X8为A或T; X9为E或N; X10为I或K; X11为Y、F、S或C; X12为N或Q; X13为A或T; X14为D或Y; X15为E或V; X16为S或N; X17为T、N或I; X18为A或L; X19为L或R; X20为R或G; X21为T或I; X22为L或I; X23为R或S; X24为R或S; X25为S或T; X26为L或W; X27为E或V; X28为R、D、L或W; X29为A或T; X30为L、E或T; X31为E或D; X32为K或T; X33为E或Q; 且X34为I或V。

[0124] 作为一个实例, 本公开的TMMP的I类MHC重链多肽可包含与以下人HLA-B重链氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0125] GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRFISVGYVDDTQFVRFSDAASPREEPRAPWIEQEGPEYWRNTQIYK AQAQTDRESLRNLRGYYNQSEAGSHTLQSMYGC^{DV}PGDGRLLRGHDQYAYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQ RKWEAAREAEQRRAYLEGECEVWLRRLYLENGKDKLERADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDRTFQKWA^{AVVV}PSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE^P (SEQ ID NO:304)。

[0126] HLA-B (Y84A; A236C)

[0127] 作为一个非限制性实例, 在一些情况下, I类MHC重链多肽为包含Y84A和A236C取代的HLA-B多肽。举例来说, 在一些情况下, I类MHC重链多肽包含与以下人HLA-B重链 (Y84A; A236C) 氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0128] GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRFISVGYVDDTQFVRFSDAASPREEPRAPWIEQEGPEYWRNTQIYK AQAQTDRESLRNLRG^{AY}NQSEAGSHTLQSMYGC^{DV}PGDGRLLRGHDQYAYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQ RKWEAAREAEQRRAYLEGECEVWLRRLYLENGKDKLERADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPC^GDRTFQKWA^{AVVV}PSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE^P (SEQ ID NO:305), 其中氨基酸84为Ala且氨基酸236为Cys。在一些情况下, Cys-236与包含R12C取代的变体β2M多肽的Cys-12形成链间二硫键。

[0129] HLA-B (Y84C; A139C)

[0130] 在一些情况下, I类MHC重链多肽包含Y84C和A139C取代。举例来说, 在一些情况下, I类MHC重链多肽包含与以下人HLA-B重链 (Y84C; A139C) 氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0131] GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRFISVGYVDDTQFVRFSDAASPREEPRAPWIEQEGPEYWRNTQIYK AQAQTDRESLRNLRG^{CY}NQSEAGSHTLQSMYGC^{DV}PGDGRLLRGHDQYAYDGKDYIALNEDLRSWTAADTCAQITQ RKWEAAREAEQRRAYLEGECEVWLRRLYLENGKDKLERADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDRTFQKWA^{AVVV}PSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE^P (SEQ ID NO:306), 其中氨基酸84为Cys且氨基酸139为Cys。在一些情况下, Cys-84与Cys-139形成链内二硫键。

[0132] HLA-B*0702

[0133] 作为一个实例, 在一些情况下, 存在于本公开的TMMP中的I类MHC重链多肽包含图8A中的HLA-B*0702 (SEQ ID NO:207) 的氨基酸序列或与该序列的全部或一部分 (例如, 50、75、100、150、200或250个连续氨基酸) 具有至少75% (例如, 至少80%、至少85%、至少90%、

至少95%、至少98%、至少99%)或100%氨基酸序列同一性的序列(例如,其可包含1-25、1-5、5-10、10-15、15-20、20-25、或25-30个氨基酸插入、缺失和/或取代)。在一些情况下,在本公开的TMMP的HLA-B重链多肽与图6中的序列标记的HLA-B或图8A中的标记的“B*0702具有小于100%同一性时,其可包含在位置84、139和/或236中的一个或多个处的选自以下的突变:在位置84处酪氨酸至丙氨酸的取代(Y84A);在位置84处酪氨酸至半胱氨酸的取代(Y84C);在位置139处丙氨酸至半胱氨酸(A139C);及在位置236处丙氨酸至半胱氨酸的取代(A236C)。在一些情况下,本公开的TMMP的HLA-B重链多肽包含Y84A和A236C取代。在一些情况下,本公开的TMMP的HLA-B*0702重链多肽包含Y84C和A139C取代。在一些情况下,本公开的TMMP的HLA-B重链多肽包含Y84C、A139C及A236C取代。

[0134] HLA-C

[0135] 在一些情况下,本公开的TMMP包含HLA-C重链多肽。可并入本公开的TMMP中的HLA-C重链多肽或其部分包括但不限于以下等位基因:C*0102、C*0303、C*0304、C*0401、C*0602、C*0701、C*0801及C*1502,其在无全部或大体上全部图9A中的前导序列、跨膜序列及细胞质序列的情况下比对。那些等位基因中的任一个可包含在位置84、139和/或236(如图9A所示)中的一个或多个处的选自以下的突变:在位置84处酪氨酸至丙氨酸的取代(Y84A);在位置84处酪氨酸至半胱氨酸的取代(Y84C);在位置139处丙氨酸至半胱氨酸的取代(A139C);及在位置236处丙氨酸至半胱氨酸的取代(A236C)。另外,也可采用包含与那些HLA-C等位基因的全部或部分序列(例如,50、75、100、150、200或250个连续氨基酸)具有至少75%(例如,至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%)或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列的HLA-C多肽(例如,其可包含1-25、1-5、5-10、10-15、15-20、20-25、或25-30个氨基酸插入、缺失和/或取代)。

[0136] 在一些情况下,本公开的TMMP包含HLA-C重链多肽,其包含以下HLA-C共有氨基酸序列:

[0137] X1SHSMX2YFX3TAVSX4PGRGEPX5FIX6VGIVDDTQFVX7FDSDAASPRGEPX8PWVEQEGPEYW
DRETQX9YKRQAQX10DRVX11LRX12LRGYNQSEX13X14SHX15X16QX17MX18GCDX19GPDRLLRGX20
X21QX22AYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKX23EAARX24AEQX25RAYLEGX26CVEWLRRYLX27NG
KX28TLQRAEX29PKTHVTHHPX30SDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQX31DGEDQTQDTELVETRPAGDGTQK
WAVX32VPSGX33EQRYTCHX34QHEGLX35EPLTLX36WX37P (SEQ ID NO: 31),其中X1为C或G;X2为
R或K;X3为F、Y、S或D;X4为R或W;X5为H或R;X6为A或S;X7为Q或R;X8为A或E;X9为N或K;X10为
T或A;X11为S或N;X12为N或K;X13为A或D;X14为G或R;X15为T或I;X16为L或I;X17为W或R;
X18为C、Y、F或S;X19为L或V;X20为Y或H;X21为D或N;X22为Y、F、S或L;X23为L或W;X24为E、A
或T;X25为R、L或W;X26为L或T;X27为E或K;X28为E或K;X29为H或P;X30为R或V;X31为W或R;
X32为V或M;X33为E或Q;X34为M或V;X35为P或Q;X36为R或S;且X37为P或G。

[0138] 作为一个实例,本公开的TMMP的I类MHC重链多肽可包含与以下人HLA-C重链氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0139] CSHSMRYFDTAVSRPGRGEPRI SVGVVDDTQFVRFSDAASPRGEPRAPWVEQEGPEYWDRETQNYK
RQAQADRVSLRNLRGYINQSEDSHTLQRMYGCDLGPDRLLRGYDQSAYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQ
RKLEAARAAEQRLAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRAEPPKTHVTHHPLSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRD

GEDQTQDTELVETRPAGDGTQKWAAVVPSGQEQRYSCHMQHEGLQEPLTSLWEP (SEQ ID NO:307)。

[0140] HLA-C (Y84A;A236C)

[0141] 作为一个非限制性实例,在一些情况下,I类MHC重链多肽为包含Y84A和A236C取代的HLA-C多肽。举例来说,在一些情况下,I类MHC重链多肽包含与以下人HLA-C重链(Y84A;A236C)氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0142] CSHSMRYFDTA^USRPGRGEP^RRFISVGYVDDTQFVRFSDAASPRGEP^RAPWVEQEGPEYWDRETQNYK
RQAQADR^VSLRNLRGAYNQSE^DGSHTLQRMYGCDLGP^DGRLLRGYDQSA^YDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQ
RKLEAARAAEQ^LRAYLEGTCVEWLR^RYLENGKETLQRAEPPKTHVTHHPLSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRD
GEDQTQDTELVETRPAGDGTQKWAAVVPSGQEQRYSCHMQHEGLQEPLTSLWEP (SEQ ID NO:308),其中
氨基酸84为Ala且氨基酸236为Cys。在一些情况下,Cys-236与包含R12C取代的变体β2M多肽
的Cys-12形成链间二硫键。

[0143] HLA-C (Y84C;A139C)

[0144] 在一些情况下,I类MHC重链多肽包含Y84C和A139C取代。举例来说,在一些情况下,I类MHC重链多肽包含与以下人HLA-C重链(Y84C;A139C)氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0145] CSHSMRYFDTA^USRPGRGEP^RRFISVGYVDDTQFVRFSDAASPRGEP^RAPWVEQEGPEYWDRETQNYK
RQAQADR^VSLRNLRGAYNQSE^DGSHTLQRMYGCDLGP^DGRLLRGYDQSA^YDGKDYIALNEDLRSWTAADTCAQITQ
RKLEAARAAEQ^LRAYLEGTCVEWLR^RYLENGKETLQRAEPPKTHVTHHPLSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRD
GEDQTQDTELVETRPAGDGTQKWAAVVPSGQEQRYSCHMQHEGLQEPLTSLWEP (SEQ ID NO:397),其中
氨基酸84为Cys且氨基酸139为Cys。在一些情况下,Cys-84与Cys-139形成链内二硫键。

[0146] HLA-C*0701

[0147] 在一些情况下,本公开的TMMP的I类MHC重链多肽包含图9A中的HLA-C*0701的氨基酸序列(图6中的标记的HLA-C)或与该序列的全部或一部分(例如,50、75、100、150、200或250个连续氨基酸)具有至少75%(例如,至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%)或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列(例如,其可包含1-25、1-5、5-10、10-15、15-20、20-25、或25-30个氨基酸插入、缺失和/或取代)。在一些情况下,在本公开的TMMP的HLA-C重链多肽与图9A中的序列标记的HLA-C*0701具有小于100%同一性时,其可包含在位置84、139和/或236中的一个或多个处的选自以下的突变:在位置84处酪氨酸至丙氨酸的取代(Y84A);在位置84处酪氨酸至半胱氨酸的取代(Y84C);在位置139处丙氨酸至半胱氨酸(A139C);及在位置236处丙氨酸至半胱氨酸的取代(A236C)。在一些情况下,本公开的TMMP的HLA-C重链多肽包含Y84A和A236C取代。在一些情况下,T-细胞-MMP或其表位缀合物之HLA-C*0701重链多肽包含Y84C和A139C取代。在一些情况下,本公开的TMMP的HLA-C重链多肽包含Y84C、A139C及A236C取代。

[0148] 非经典HLA-E、HLA-F及HLA-G I类MHC重链

[0149] 在一些情况下,本公开的TMMP包含非经典I类MHC重链多肽。可并入本公开的TMMP中的非经典HLA重链多肽或其部分包括但不限于HLA-E、HLA-F及HLA-G等位基因的那些。HLA-E、HLA-F及HLA-G重链多肽的氨基酸序列(以及HLA-A、HLA-B和HLA-C等位基因)可见于

万维网 hla.alleles.org/nomenclature/index.html、欧洲生物信息研究所 (www.ebi.ac.uk)、该研究所为欧洲分子生物学实验室 (EMBL) 的一部分) 及美国国家生物技术信息中心 (www.ncbi.nlm.nih.gov)。

[0150] 适合的HLA-E等位基因的非限制性实例包括但不限于HLA-E*0101 (HLA-E*01:01:01:01)、HLA-E*01:03 (HLA-E*01:03:01:01)、HLA-E*01:04、HLA-E*01:05、HLA-E*01:06、HLA-E*01:07、HLA-E*01:09及HLA-E*01:10。适合的HLA-F等位基因的非限制性实例包括但不限于HLA-F*0101 (HLA-F*01:01:01:01)、HLA-F*01:02、HLA-F*01:03 (HLA-F*01:03:01:01)、HLA-F*01:04、HLA-F*01:05及HLA-F*01:06。适合的HLA-G等位基因的非限制性实例包括但不限于HLA-G*0101 (HLA-G*01:01:01:01)、HLA-G*01:02、HLA-G*01:03 (HLA-G*01:03:01:01)、HLA-G*01:04 (HLA-G*01:04:01:01)、HLA-G*01:06、HLA-G*01:07、HLA-G*01:08、HLA-G*01:09、HLA-G*01:10、HLA-G*01:10、HLA-G*01:11、HLA-G*01:12、HLA-G*01:14、HLA-G*01:15、HLA-G*01:16、HLA-G*01:17、HLA-G*01:18、HLA-G*01:19、HLA-G*01:20及HLA-G*01:22。无前导序列、跨膜序列及细胞质序列中的全部或大体上全部的那些HLA-E、HLA-F及HLA-G等位基因的共有序列提供于图10中,且将其与图11中的上文提及的HLA-A、HLA-B及HLA-C等位基因的共有序列进行比对。

[0151] 图1-提供HLA-E、HLA-F及HLA-G中各者的共有序列,其中可变aa位置指示为依次编号的“X”残基且aa 84、139及236的位置加双下划线。

[0152] 图11提供在图7-11中给出的HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-E、HLA-F及HLA-G的共有氨基酸序列的比对。各序列中的可变残基列出为“X”,其中序列编号已被除去。如图6所示,指示aa84、139及236及其侧翼的五氨基酸簇的位置,该五氨基酸簇可独立地选自以下的1至5个氨基酸置换:(i)任何天然存在的氨基酸或(ii)除了脯氨酸或甘氨酸以外的任何天然存在的氨基酸。

[0153] 上文提及的HLA-E、HLA-F和/或HLA-G等位基因中的任一个可包含如图11所示的共有序列在位置84、139和/或236中的一个或多个处的取代。在一些情况下,这些取代可选自:位置84酪氨酸至丙氨酸(Y84A)或半胱氨酸(Y84C),或在HLA-F情况下,为R84A或R84C取代;位置139丙氨酸至半胱氨酸(A139C),或在HLA-F情况下,为V139C;及在位置236处丙氨酸至半胱氨酸的取代(A236C)。另外,也可采用与图11所列的共有序列中任一个的全部或一部分(例如,50、75、100、150、200或250个连续氨基酸)具有至少75%(例如,至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%)或100%氨基酸序列同一性的HLA-E、HLA-F和/或HLA-G序列(例如,除了其中列出的可变残基的变化以外,这些序列还可包含1-25、1-5、5-10、10-15、15-20、20-25或25-30个氨基酸插入、缺失和/或取代)。

[0154] 小鼠H2K

[0155] 在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的I类MHC重链多肽包含小鼠H2K (SEQ ID NO:45) (图6中的小鼠H2K)的氨基酸序列或与该序列的全部或一部分(例如,50、75、100、150、200或250个连续氨基酸)具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的序列(例如,其可包含1-25、1-5、5-10、10-15、15-20、20-25、或25-30个氨基酸插入、缺失和/或取代)。在一些情况下,在本公开的小鼠H2K重链多肽与图6中的序列标记的小鼠H2K具有小于100%同一性时,其可包含在位置84、139和/或236中的一个或多个处的选自以下的突变:在位置84处酪氨酸至丙氨酸

(Y84A) ;在位置84处酪氨酸至半胱氨酸 (Y84C) ;在位置139处丙氨酸至半胱氨酸 (A139C) ;及在位置236处丙氨酸至半胱氨酸的取代 (A236C) 。在一些情况下,本公开的TMMP的小鼠H2K重链多肽包含Y84A和A236C取代。在一些情况下,本公开的TMMP的小鼠H2K重链多肽包含Y84C和A139C取代。在一些情况下,本公开的TMMP的小鼠H2K重链多肽包含Y84C、A139C及A236C取代。

[0156] 示例性组合

[0157] 以下表1呈现可并入本公开的TMMP中的I类MHC重链序列修饰的各种组合。

[0158] 表1

图例	HLA 重链序列	序列 同一性 范围*	特异性 在位置 84、139 和/ 或 236 处的取代
[0159]	HLA-A 共有 (图 7B)	75%-99.8%、80%-99.8%、 85%-99.8%、90%-99.8%、 95%-99.8%、98%-99.8%、或 99%-99.8%; 或 1-25、1-5、5-10、 10-15、15-20、或 20-25 aa 插入、	无; Y84C; Y84A; A139C; A236C; (Y84A 及 A236C); (Y84C 及 A139C); 或

图例	HLA 重链序列	序列 同一性 范围*	特异性 在位置 84、139 和/ 或 236 处的取代
		缺失和/或取代(未计数可变残基)	(Y84C、A139C 及 A236C)
2	A*0101、A*0201、 A*0301、A*1101、 A*2402、A*2301、 A*2402、A*2407、 A*3303 或 A*3401 (图 7A)	75%-99.8%、80%-99.8%、 85%-99.8%、90%-99.8%、 95%-99.8%、98%-99.8%、或 99%-99.8%；或 1-25、1-5、5-10、 10-15、15-20、或 20-25 aa 插入、 缺失和/或取代	无；Y84C；Y84A； A139C；A236C； (Y84A 及 A236C)； (Y84C 及 A139C)；或 (Y84C、A139C 及 A236C)
3	HLA-B 共有 (图 8B)	75%-99.8%、80%-99.8%、 85%-99.8%、90%-99.8%、 95%-99.8%、98%-99.8%、或 99%-99.8%；或 1-25、1-5、5-10、 10-15、15-20、或 20-25 aa 插入、 缺失和/或取代(未计数可变残基)	无；Y84C；Y84A； A139C；A236C； (Y84A 及 A236C)； (Y84C 及 A139C)；或 (Y84C、A139C 及 A236C)
4	B*0702、B*0801、 B*1502、B*3802、 B*4001、B*4601 或 B*5301。 (图 8A)	75%-99.8%、80%-99.8%、 85%-99.8%、90%-99.8%、 95%-99.8%、98%-99.8%、或 99%-99.8%；或 1-25、1-5、5-10、 10-15、15-20、或 20-25 aa 插入、 缺失和/或取代	无；Y84C；Y84A； A139C；A236C； (Y84A 及 A236C)； (Y84C 及 A139C)；或 (Y84C、A139C 及 A236C)
5	HLA-C 共有 (图 9B)	75%-99.8%、80%-99.8%、 85%-99.8%、90%-99.8%、 95%-99.8%、98%-99.8%、或 99%-99.8%；或 1-25、1-5、5-10、 10-15、15-20、或 20-25 aa 插入、 缺失和/或取代(未计数可变残基)	无；Y84C；Y84A； A139C；A236C； (Y84A 及 A236C)； (Y84C 及 A139C)；或 (Y84C、A139C 及 A236C)
6	C*0102、C*0303、 C*0304、C*0401、 C*0602、C*0701、 C*0801 或 C*1502 (图 9A)	75%-99.8%、80%-99.8%、 85%-99.8%、90%-99.8%、 95%-99.8%、98%-99.8%、或 99%-99.8%；或 1-25、1-5、5-10、 10-15、15-20、或 20-25 aa 插入、 缺失和/或取代	无；Y84C；Y84A； A139C；A236C； (Y84A 及 A236C)； (Y84C 及 A139C)；或 (Y84C、A139C 及 A236C)
7	HLA-E、HLA-F 或 HLA-G 共有	75%-99.8%、80%-99.8%、 85%-99.8%、90%-99.8%、 95%-99.8%、98%-99.8%、或	无；Y84C；Y84A； A139C；A236C； (Y84A 及 A236C)；

[0160]

图例	HLA 重链序列	序列 同一性 范围*	特异性 在位置 84、139 和/ 或 236 处的取代
[0161]	(图 10)	99%-99.8%; 或 1-25、1-5、5-10、10-15、15-20、或 20-25 aa 插入、缺失和/或取代(未计数可变残基)	(Y84C 及 A139C); 或 (Y84C、A139C 及 A236C)
8	小鼠 H2K (图 6)	75%-99.8%、80%-99.8%、85%-99.8%、90%-99.8%、95%-99.8%、98%-99.8%、或 99%-99.8%; 或 1-25、1-5、5-10、10-15、15-20、或 20-25 aa 插入、缺失和/或取代	无; Y84C; Y84A; A139C; A236C; (Y84A 及 A236C); (Y84C 及 A139C); 或 (Y84C、A139C 及 A236C)

[0162] *序列同一性范围为并入TMMP中的MHC-H多肽序列相对于图6-11中列出的序列相应部分的序列同一性的可允许范围,未计数共有序列中的可变残基。

[0163] β -2微球蛋白

[0164] 本公开的TMMP的 β 2-微球蛋白(β 2M)多肽可为人 β 2M多肽、非人灵长类动物 β 2M多肽、鼠类 β 2M多肽等。在一些情况下, β 2M多肽包含与图6中描绘的 β 2M多肽氨基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况下, β 2M多肽包含与图4中描绘的 β 2M氨基酸序列的氨基酸21至119具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0165] 在一些情况下,适合的 β 2M多肽包含以下氨基酸序列:

[0166] IQRTPKIQVY SCHPAENGKS NFLNCYVSGF HPSDIEVDLLK NGERIEKVE HSDLFSKDW SFYLLYYTEF TPTEKDEYAC RVN HVTLSQP KIVKWRDM (SEQ ID NO:311);且HLA I类重链多肽包含以下氨基酸序列:

[0167] GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPFRF IAVGYVDDTQFVRFSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKKV AHSQTHRVDL (aa1) {C} (aa2) AGSHTVQRMYGCDVGSWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSW (aa3) {C} (aa4) HKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRLRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEIT LTWQRDGEDQTQDTEL (aa5) (C) (aa6) QKWAAVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:309),其中指示为{C}的半胱氨酸残基在 α 1与 α 2-1螺旋之间形成二硫键且(C)残基与位置12处的 β 2M多肽半胱氨酸形成二硫键。在以上序列中,“aa1”为“氨基酸簇1”;“aa2”为“氨基酸簇2”;“aa3”为“氨基酸簇3”;“aa4”为“氨基酸簇4”;“aa5”为“氨基酸簇5”;且“aa6”为“氨基酸簇6”;参见,例如图8。aa1、aa2、aa3、aa4、aa5及aa6在每次出现时被选出且独立地选择为1-5个氨基酸残基,其中氨基酸残基i)独立地选自任何天然存在(例如编码)的氨基酸或ii)除了脯氨酸或甘氨酸以外的任何天然存在的氨基酸。

[0168] 在一些情况下,MHC多肽相对于参考MHC多肽(其中参考MHC多肽可为野生型MHC多肽)包含单一氨基酸取代,其中单一氨基酸取代以半胱氨酸(Cys)残基取代一氨基酸。此类半胱氨酸残基当存在于本公开的TMMP的第一多肽的MHC多肽中时,可以与存在于本公开的

TMMP的第二多肽链中的半胱氨酸残基形成二硫键。

[0169] 在一些情况下,本公开的TMMP的第一多肽中的第一MHC多肽和/或本公开的TMMP的第二多肽中的第二MHC多肽包括氨基酸取代以用半胱氨酸取代氨基酸,其中第一MHC多肽中的取代的半胱氨酸与第二MHC多肽中的半胱氨酸形成二硫键,其中第一MHC多肽中的半胱氨酸与第二MHC多肽中的取代的半胱氨酸形成二硫键,或其中第一MHC多肽中的取代的半胱氨酸与第二MHC多肽中的取代的半胱氨酸形成二硫键。

[0170] 举例来说,在一些情况下,HLA β 2-微球蛋白和HLA I类重链中的以下残基对之一被半胱氨酸取代(其中残基编号为成熟多肽的那些):1) β 2M残基12,HLA I类重链残基236;2) β 2M残基12,HLA I类重链残基237;3) β 2M残基8,HLA I类重链残基234;4) β 2M残基10,HLA I类重链残基235;5) β 2M残基24,HLA I类重链残基236;6) β 2M残基28,HLA I类重链残基232;7) β 2M残基98,HLA I类重链残基192;8) β 2M残基99,HLA I类重链残基234;9) β 2M残基3,HLA I类重链残基120;10) β 2M残基31,HLA I类重链残基96;11) β 2M残基53,HLA I类重链残基35;12) β 2M残基60,HLA I类重链残基96;13) β 2M残基60,HLA I类重链残基122;14) β 2M残基63,HLA I类重链残基27;15) β 2M残基Arg3,HLA I类重链残基Gly120;16) β 2M残基His31,HLA I类重链残基Gln96;17) β 2M残基Asp53,HLA I类重链残基Arg35;18) β 2M残基Trp60,HLA I类重链残基Gln96;19) β 2M残基Trp60,HLA I类重链残基Asp122;20) β 2M残基Tyr63,HLA I类重链残基Tyr27;21) β 2M残基Lys6,HLA I类重链残基Glu232;22) β 2M残基Gln8,HLA I类重链残基Arg234;23) β 2M残基Tyr10,HLA I类重链残基Pro235;24) β 2M残基Ser11,HLA I类重链残基Gln242;25) β 2M残基Asn24,HLA I类重链残基Ala236;26) β 2M残基Ser28,HLA I类重链残基Glu232;27) β 2M残基Asp98,HLA I类重链残基His192;及28) β 2M残基Met99,HLA I类重链残基Arg234。MHC/HLA I类重链的氨基酸编号是参考成熟MHC/HLA I类重链,无信号肽。举例来说,在一些情况下,成熟HLA-A氨基酸序列之残基236被Cys取代。在一些情况下,成熟HLA-B氨基酸序列之残基236被Cys取代。在一些情况下,成熟HLA-C氨基酸序列之残基236被Cys取代。在一些情况下,图4中描绘的氨基酸序列的残基32(对应于成熟 β 2M之Arg-12)被Cys取代。

[0171] 在一些情况下, β 2M多肽包含以下氨基酸序列:IQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGF HPSDIEVDLLKNGERIEKVE HSDLSFSKDW SFYLLYYTEF TPTEKDEYAC RVNHVTLSPKIVKWDRDM(SEQ ID NO:310)。在一些情况下, β 2M多肽包含以下氨基酸序列:IQRTPKIQVYSCHPAENGKSNFLNCYVSGF HPSDIEVDLLKNGERIEKVE HSDLSFSKDW SFYLLYYTEF TPTEKDEYACRVNHVTLSPKIVKWDRDM(SEQ ID NO:311)。

[0172] 在一些情况下,HLA I类重链多肽包含以下氨基酸序列:

[0173] GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKKVAHSQTHRVDLGTLRGYYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGS DWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRLYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDGTGFKWA AVVVPSGQEQRVTCHVQHEGLPKPLTLRWEF(SEQ ID NO:297)。

[0174] 在一些情况下,HLA I类重链多肽包含以下氨基酸序列:

[0175] GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKKVAHSQTHRVDLGTLRGYYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGS DWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRLYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRD

GEDQTQDTELVETRPCGDGTFQKWAAVVVPSGQEQR^TCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:312)。

[0176] 在一些情况下,HLA I类重链多肽包含以下氨基酸序列:

[0177] GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG^VDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKVK
AHSQTHRVDLGTLRGAYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTK
HKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRD
GEDQTQDTELVETRPCGDGTFQKWAAVVVPSGQEQR^TCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:313)。

[0178] 在一些情况下, β 2M多肽包含以下氨基酸序列:

[0179] IQRTPKIQVY SCHPAENGKS NFLNCYVSGF HPSDIEVDLLKNGERIEKVE HSDLSFSKDW
SFYLLYYTEF TPTEKDEYAC RVNHVTLSQP KIVKWDRD (SEQ ID NO:311);且本公开的TMMP的HLA
I类重链多肽包含以下氨基酸序列:

[0180] GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG^VDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKVK
AHSQTHRVDLGTLRGAYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTK
HKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRD
GEDQTQDTELVETRPCGDGTFQKWAAVVVPSGQEQR^TCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:312),其中
加下划线且呈粗体的Cys残基在TMMP中彼此形成二硫键。

[0181] 在一些情况下, β 2M多肽包含以下氨基酸序列:

[0182] IQRTPKIQVYSCHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYT
EFTPEKDEYACRVNHVTLSQPKIVKWDRD (SEQ ID NO:314)。

[0183] 在一些情况下,本公开的TMMP的第一多肽与第二多肽通过以下各物彼此经由二硫键连接:i)存在于连接第一多肽链中的肽表位与 β 2M多肽的接头中的Cys残基;和ii)存在于第二多肽链中的I类MHC重链中的Cys残基。在一些情况下,存在于I类MHC重链中的Cys残基为作为Y84C取代引入的Cys。在一些情况下,连接第一多肽链中的肽表位与 β 2M多肽的接头为GCGGS (G4S)_n (SEQ ID No:315),其中n为1、2、3、4、5、6、7、8或9。举例来说,在一些情况下,接头包含氨基酸序列GCGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:316)。作为另一实例,接头包含氨基酸序列GCGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:317)。本公开的TMMP的二硫键连接的第一多肽与第二多肽的实例示意性描绘于图2A-2F中。

[0184] 多二硫键键合的TMMP

[0185] 在一些情况下,本公开的TMMP的第一多肽与第二多肽通过至少两个二硫键(即,两个链间二硫键)彼此连接。此类多二硫键连接的TMMP的实例示意性描绘于图12A和12B及图13A-13C中。另外,在本公开的TMMP包含IgFc多肽时,异二聚体TMMP可被二聚化,使得二硫键连接两个异二聚体TMMP中的IgFc多肽。此种排列示意性描绘于图12C和12D中,其中二硫键由虚线表示。除非另外说明,在此部分中的多二硫键连接的TMMP中所述的至少两个二硫键并非指代连接二聚化TMMP中的IgFc多肽的二硫键。

[0186] 如上文所述,在一些情况下,本公开的TMMP的第一多肽与第二多肽通过至少两个二硫键(即,两个链间二硫键)彼此连接。举例来说,在一些情况下,本公开的TMMP的第一多肽与第二多肽通过2个链间二硫键彼此连接。作为另一实例,在一些情况下,本公开的TMMP的第一多肽与第二多肽通过3个链间二硫键彼此连接。作为另一实例,在一些情况下,本公开的TMMP的第一多肽与第二多肽通过4个链间二硫键彼此连接。

[0187] 在一些情况下,在本公开的TMMP的第一多肽中的肽表位通过包含Cys的接头连接

至 β 2M多肽时,至少两个二硫键中的至少一个连接所述接头中的Cys与第二多肽的I类MHC重链中的Cys。在一些情况下,在本公开的TMMP的第一多肽中的肽表位通过接头连接至I类MHC重链多肽时,至少两个二硫键中的至少一个连接所述接头中的Cys与存在于第二多肽的 β 2M多肽中的Cys。

[0188] 在一些情况下,本公开的多二硫键连接的TMMP(例如,双二硫键连接的TMMP)与包括该至少两个二硫键中仅一个的对照TMMP相比呈现出增加的稳定性。在一些情况下,本公开的多二硫键连接的TMMP(例如,双二硫键连接的TMMP)与包括该至少两个二硫键中仅一个的对照TMMP相比呈现出增加的体外稳定性。举例来说,在一些情况下,本公开的多二硫键连接的TMMP(例如,双二硫键连接的TMMP)与包括该至少两个二硫键中仅一个的对照TMMP相比呈现出至少5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少50%、至少2倍、至少5倍或至少10倍更大的体外稳定性。

[0189] 本公开的多二硫键连接的TMMP与包括所述至少两个二硫键中仅一个的对照TMMP相比是否呈现出增加的体外稳定性,可通过随时间且/或在指定条件下且/或在TMMP纯化期间测量存在于样品中的二硫键连接的异二聚体TMMP的量来确定。

[0190] 举例来说,在一些情况下,当TMMP在37°C下保存一段时间(例如,约1周至约2周、约2周至约4周、或约4周至约2个月的时间段)时,本公开的多二硫键连接的TMMP(例如,双二硫键连接的TMMP)与包括该至少两个二硫键中仅一个的对照TMMP相比呈现出至少5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少50%、至少2倍、至少5倍、或至少10倍更大的体外稳定性。例如,在一些情况下,在37°C下在体外保存本公开的多二硫键连接的TMMP(例如,双二硫键连接的TMMP)达28天之后剩余的二硫键连接的异二聚体TMMP的量与在37°C下在体外保存对照TMMP(包括存在于多二硫键连接的TMMP中的至少两个二硫键中仅一个的TMMP)达28天之后剩余的二硫键连接的异二聚体TMMP的量相比是至少5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少50%、至少2倍、至少5倍、或至少10倍更多。

[0191] 在一些情况下,本公开的多二硫键连接的TMMP与包括该至少两个二硫键中仅一个的对照TMMP相比呈现出增加的体内稳定性。举例来说,在一些情况下,本公开的多二硫键连接的TMMP与包括该至少两个二硫键中仅一个的对照TMMP相比呈现出至少5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少50%、至少2倍、至少5倍、或至少10倍更大的体内稳定性。

[0192] 在一些情况下,在本公开的多二硫键连接的TMMP(例如,双二硫键连接的TMMP)中存在两个二硫键使得二硫键连接的异二聚体TMMP的产生与在TMMP为包括所述至少两个二硫键中仅一个的对照TMMP时产生的二硫键连接的异二聚体TMMP的量相比有所增加。举例来说,本公开的多二硫键连接的TMMP(例如,双二硫键连接的TMMP)可在体外细胞培养的哺乳动物细胞中产生,其中哺乳动物细胞在液体细胞培养基中培养。TMMP可分泌至细胞培养基中。细胞可裂解,从而生成细胞裂解物,且TMMP可存在于细胞裂解物中。TMMP可自细胞培养基和/或细胞裂解物中纯化。举例来说,在TMMP包含IgG1 Fc多肽时,细胞培养基和/或细胞裂解物可与固定的蛋白A接触(例如,细胞培养基和/或细胞裂解物可施用于蛋白A柱,其中蛋白A固定于珠粒上)。存在于细胞培养基和/或细胞裂解物中的TMMP结合至固定的蛋白A。在洗涤柱以除去未结合的材料后,使结合的TMMP洗脱,从而生成蛋白A洗脱物。存在于蛋白A洗脱物中的二硫键连接的异二聚体TMMP的量与在TMMP为包括存在于多二硫键连接的TMMP(例如,双二硫键连接的TMMP)中的至少两个二硫键中仅一个的对照TMMP时存在于蛋白A洗

脱物中的二硫键连接的异二聚体TMMP的量相比至少0.5%、至少1%、至少2%、至少3%、至少4%、至少5%、至少6%、至少7%、至少8%、至少9%或至少10%更多。在一些情况下,洗脱物中为非聚集的二硫键连接的异二聚体TMMP的总TMMP蛋白的百分比为至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%。蛋白A洗脱物可经受尺寸排阻色谱(SEC)和/或一个或多个其他额外纯化步骤。

[0193] 在一些情况下,本公开的T细胞调节多聚体多肽包含至少一种异二聚体,其包含:
a) 第一多肽,所述第一多肽包含:i) 肽表位,其中所述肽的长度为至少4个氨基酸(例如,4个氨基酸至25个氨基酸;例如肽具有的长度为4、5、6、7、8、9、10-15、15-20、或20-25个氨基酸);及ii) 第一MHC多肽;b) 第二多肽,所述第二多肽包含第二MHC多肽,及c) 至少一种免疫调节多肽,其中所述第一多肽和/或所述第二多肽包含免疫调节多肽,且其中所述异二聚体在第一多肽与第二多肽之间包含至少两个二硫键(例如,两个二硫键)(例如,所述异二聚体包含:i) 连接第一多肽与第二多肽的第一二硫键;及ii) 连接第一多肽与第二多肽的第二二硫键)。换句话说,第一多肽包含的第一Cys残基与第二多肽中的第一Cys残基形成二硫键(第一二硫键);且第一多肽包含的第二Cys残基与第二多肽中的第二Cys残基形成二硫键(第二二硫键)。

[0194] 在一些情况下,本公开的TMMP包含:a) 第一多肽,所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:i) 肽表位;ii) 肽接头;及iii) β 2M多肽;和b) 第二多肽,所述第二多肽包含I类MHC重链多肽,其中所述第一多肽及所述第二多肽中的一个或两个包含至少一种免疫调节多肽,其中所述TMMP包含:a) 以下各物之间的第一二硫键联:i) 存在于肽表位与 β 2M多肽之间的接头中的Cys;与ii) 引入至I类MHC重链多肽中的第一Cys;及b) 第一多肽与第二多肽之间的至少一个第二二硫键联,其中该至少一个第二二硫键联是在以下各物之间:i) 第一多肽中在存在于接头中的Cys的C端的Cys;与ii) 第二多肽中在引入I类MHC重链多肽中的第一Cys的C端的Cys。

[0195] 在一些情况下,在本公开的TMMP的第一多肽或第二多肽中的第一二硫键形成Cys残基与第二二硫键形成Cys残基彼此间隔约10个氨基酸至约200个氨基酸。例如,在一些情况下,在TMMP的第一多肽或第二多肽中的第一二硫键形成Cys残基与第二二硫键形成Cys残基间隔约10个氨基酸(aa)至约15aa、约15aa至约20aa、约20aa至约25aa、约25aa至约30aa、约30aa至约40aa、约40aa至约50aa、约50aa至约60aa、约60aa至约70aa、约70aa至约80aa、约80aa至约90aa、约90aa至约100aa、约100aa至约110aa、约110aa至约120aa、约120aa至约130aa、约130aa至约140aa、约140aa至约150aa、约150aa至约160aa、约160aa至约170aa、约170aa至约180aa、约180aa至约190aa、或约190aa至约200aa。

[0196] 作为一个实例,在一些情况下,在本公开的TMMP的第一多肽中的第一二硫键形成Cys残基与第二二硫键形成Cys残基彼此间隔约10个氨基酸至约80个氨基酸残基。举例来说,在一些情况下,第一多肽中的第二二硫键形成Cys残基在第一多肽中的第一二硫键形成Cys残基的C端的约10个氨基酸至约80个氨基酸(例如,约10个氨基酸(aa)至约15aa、约15aa至约20aa、约20aa至约25aa、约25aa至约30aa、约30aa至约40aa、约40aa至约50aa、约50aa至约60aa、约60aa至约70aa、或约70aa至约80aa)处。在一些情况下,第一多肽中的第二二硫键形成Cys残基在第一多肽中的第一二硫键形成Cys残基的C端的10aa、11aa、12aa、13aa、14aa、15aa、16aa、17aa、18aa、19aa、20aa、21aa、22aa、23aa、24aa或25aa处。在一些情况下,

第一多肽中的第二二硫键形成Cys残基在第一多肽中的第一二硫键形成Cys残基的C端的15aa处。在一些情况下,第一多肽中的第二二硫键形成Cys残基在第一多肽中的第一二硫键形成Cys残基的C端的20aa处。在一些情况下,第一多肽中的第二二硫键形成Cys残基在第一多肽中的第一二硫键形成Cys残基的C端的25aa处。

[0197] 作为另一实例,在一些情况下,在本公开的TMMP的第二多肽中的第一二硫键形成Cys残基与第二二硫键形成Cys残基彼此间隔约140个氨基酸至约160个氨基酸。举例来说,在一些情况下,第二多肽中的第二二硫键形成Cys残基在第二多肽中的第一二硫键形成Cys残基的C端的约140个氨基酸至约160个氨基酸处。在一些情况下,第二多肽中的第二二硫键形成Cys残基在第二多肽中的第一二硫键形成Cys残基的C端的140个氨基酸(aa)、141aa、142aa、143aa、144aa、145aa、146aa、147aa、148aa、149aa、150aa、151aa、152aa、153aa、154aa、155aa、156aa、157aa、158aa、159aa或160aa处。

[0198] 本公开的多二硫键连接的TMMP(例如,双二硫键连接的TMMP)可包含例如:a)第一多肽,所述第一多肽包含:i)肽(例如,当所述肽与MHC多肽复合时,被TCR结合的具有4个氨基酸至约25个氨基酸的肽);和ii)第一MHC多肽,其中所述第一多肽包含介于所述肽与第一MHC多肽之间的肽接头,其中所述肽接头包含Cys残基,且其中所述第一MHC多肽为包含引入Cys残基的氨基酸取代的 β 2M多肽;b)及第二多肽,所述第二多肽包含第二MHC多肽,其中所述第二MHC多肽为I类重链,其包含基于HLA-A*0201(图7A中描绘)的氨基酸编号或在另一种I类重链等位基因中的相应位置处的Y84C取代和A236C取代,其中所述TMMP包含介于肽接头中的Cys残基与I类重链的氨基酸位置84或另一种I类重链等位基因的相应位置处的Cys残基之间的二硫键,且其中所述TMMP包含介于 β 2M多肽中引入的Cys残基与I类重链的氨基酸位置236或另一种I类重链等位基因的相应位置处的Cys之间的二硫键;及c)至少一种免疫调节多肽,其中所述第一多肽和/或第二多肽包含所述至少一种免疫调节多肽。实例示意性地描绘于图12A和图12B中。

[0199] 在一些情况下,肽接头包含氨基酸序列GCGGS (SEQ ID NO:318)。在一些情况下,肽接头包含氨基酸序列GCGGS (GGGGS) n (SEQ ID NO:319),其中n为1至10的整数。在一些情况下,肽接头包含氨基酸序列GCGGS (GGGGS) n (SEQ ID NO:398),其中n为1。在一些情况下,肽接头包含氨基酸序列GCGGS (GGGGS) n (SEQ ID NO:320),其中n为2。在一些情况下,肽接头包含氨基酸序列GCGGS (GGGGS) n (SEQ ID NO:321),其中n为3。在一些情况下,肽接头包含氨基酸序列GCGGS (GGGGS) n (SEQ ID NO:322),其中n为4。在一些情况下,肽接头包含氨基酸序列GCGGS (GGGGS) n (SEQ ID NO:323),其中n为5。在一些情况下,肽接头包含氨基酸序列GCGGS (GGGGS) n (SEQ ID NO:324),其中n为6。在一些情况下,肽接头包含氨基酸序列GCGGS (GGGGS) n (SEQ ID NO:325),其中n为7。在一些情况下,肽接头包含氨基酸序列GCGGS (GGGGS) n (SEQ ID NO:326),其中n为8。在一些情况下,肽接头包含氨基酸序列GCGGS (GGGGS) n (SEQ ID NO:327),其中n为9。在一些情况下,肽接头包含氨基酸序列GCGGS (GGGGS) n (SEQ ID NO:328),其中n为10。

[0200] 在一些情况下,肽接头包含氨基酸序列CGGGS (SEQ ID NO:329)。在一些情况下,肽接头包含氨基酸序列CGGGS (GGGGS) n (SEQ ID NO:330),其中n为1至10的整数。在一些情况下,肽接头包含氨基酸序列CGGGS (GGGGS) n (SEQ ID NO:331),其中n为1。在一些情况下,肽接头包含氨基酸序列CGGGS (GGGGS) n (SEQ ID NO:332),其中n为2。在一些情况下,肽接头包

含氨基酸序列CGGGS (GGGGS) n (SEQ ID NO:333), 其中n为3。在一些情况下, 肽接头包含氨基酸序列CGGGS (GGGGS) n (SEQ ID NO:334), 其中n为4。在一些情况下, 肽接头包含氨基酸序列CGGGS (GGGGS) n (SEQ ID NO:335), 其中n为5。在一些情况下, 肽接头包含氨基酸序列CGGGS (GGGGS) n (SEQ ID NO:336), 其中n为6。在一些情况下, 肽接头包含氨基酸序列CGGGS (GGGGS) n (SEQ ID NO:337), 其中n为7。在一些情况下, 肽接头包含氨基酸序列CGGGS (GGGGS) n (SEQ ID NO:338), 其中n为8。在一些情况下, 肽接头包含氨基酸序列CGGGS (GGGGS) n (SEQ ID NO:339), 其中n为9。在一些情况下, 肽接头包含氨基酸序列CGGGS (GGGGS) n (SEQ ID NO:340), 其中n为10。

[0201] 以下为包含基于HLA-A*0201 (图7A中描绘) 的氨基酸编号或在另一种I类重链等位基因的相应位置处的Y84C取代和A236C取代的I类MHC重链的非限制性实例。

[0202] HLA-A

[0203] 在一些情况下, 本公开的多二硫键连接的TMMP (例如, 双二硫键连接的TMMP) 包含:
a) 第一多肽, 所述第一多肽包含: i) 肽 (例如, 当所述肽与MHC多肽复合时, 被TCR结合的具有4个氨基酸至约25个氨基酸的肽); 及ii) 第一MHC多肽, 其中所述第一多肽包含介于所述肽与第一MHC多肽之间的肽接头, 其中所述肽接头包含Cys残基, 且其中所述第一MHC多肽为包含引入Cys残基的氨基酸取代的β2M多肽; 和b) 第二多肽, 所述第二多肽包含HLA-A I类MHC重链, 所述重链包含与以下氨基酸序列具有至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0204] GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKKV AHSQTHRVDLGLRGCYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGS DWRFLRGYHQYAYDYGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTK HKWEAAHVAEQRLRAYLEGTVCVEWLRRLYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRD GEDQTQDTELVETRPCDGTGTFQKWA AVVPSGQEQR YTCHVQHEGLPKPLTLRWEP (SEQ ID NO:341), 其中氨基酸84为Cys且氨基酸236为Cys; 及c) 至少一种免疫调节多肽, 其中所述第一多肽和/或所述第二多肽包含所述至少一种免疫调节多肽。在一些情况下, 肽接头包含氨基酸序列GCGGS (SEQ ID NO:318)。在一些情况下, 肽接头包含氨基酸序列GCGGS (GGGGS) n (SEQ ID NO:319), 其中n为1至10的整数。在一些情况下, β2M多肽包含R12C取代。举例来说, β2M多肽可包含与以下氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列: IQRTPKIQVYSCHPAENGKSNFLNLCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLS FSKDWSFYLLYYTEFTPTTEKDEYACRVNHVTL SQPKIVKWDRDM (SEQ ID NO:314), 其中氨基酸12为Cys。所述至少一种免疫调节多肽可为对靶T细胞发挥活化/刺激作用或对靶T细胞发挥抑制/抑制性 (suppressing/inhibitory) 作用的多肽。举例来说, 所述至少一种免疫调节多肽可为细胞因子 (例如, IL2多肽、IL7多肽、IL12多肽、IL15多肽、IL17多肽、IL21多肽、IL27多肽、IL-23多肽、TGFβ多肽等; 且包括全部家族成员, 例如IL17A、IL-17B、IL-17C、IL-17D、IL-17E、IL-17F、IL-17E)、4-1BBL多肽、ICOS-L多肽、OX-40L多肽、CD80多肽、CD86多肽 (CD80及CD86亦分别称为B7-1及B7-2)、CD40多肽、CD70多肽、JAG1 (CD339) 多肽、ICAM (CD540多肽、PD-L1多肽、FasL多肽、PD-L2多肽、PD-1H (VISTA) 多肽、ICOS-L (CD275) 多肽、GITRL多肽、HVEM多肽、CXCL10多肽、CXCL9多肽、CXCL11多肽、CXCL13多肽、及CX3CL1多肽、半乳糖凝集素-9多肽、CD83多肽、CD30L多肽、HLA-G多肽、MICA多肽、MICB多肽、HVEM (CD270) 多肽、淋巴毒素β受体多肽、3/TR6多肽、ILT3多肽、ILT4多肽、CXCL10多肽、CXCL9多肽、CXCL11多肽、

CXCL13多肽或CX3CL1多肽。这些免疫调节多肽可为野生型多肽或野生型多肽的变体。在一些情况下,免疫调节多肽为活化(“刺激”)免疫调节多肽;例如,免疫调节多肽可对T细胞产生活化/刺激效应。活化免疫调节多肽的实例包括例如CD80、CD86、4-1BBL、OX40L、CD70、ICOS-L、CD40、ICAM(CD54)、IL2、IL7、IL12、IL15、IL17、IL21、IL27、IL23、GITRL、TGFβ及淋巴毒素β受体。在一些情况下,免疫调节多肽为抑制(“抑制性”)免疫调节多肽;例如,免疫调节多肽可对T细胞产生抑制/抑制性效应。抑制性免疫调节多肽的实例包括例如PD-1H、PD-L1、PD-L2、TGFβ、FasL、HVEM、半乳糖凝集素-9、ILT3及ILT4。视情形而定,TGFβ多肽可产生活化/刺激效应或抑制/抑制性效应。在一些情况下,所述至少一种免疫调节多肽为亲和力减小的变体,如本文别处所述。在一些情况下,第一多肽或第二多肽包含Ig Fc多肽。

[0205] 在一些情况下,本公开的多二硫键连接的TMMP(例如,双二硫键连接的TMMP)包含HLA-A I类重链多肽。在一些情况下,存在于本公开的多二硫键连接的TMMP(例如,双二硫键连接的TMMP)中的HLA-A重链多肽包含与图7A中描绘的HLA-A*0101、HLA-A*0201、HLA-A*0202、HLA-A*1101、HLA-A*2301、HLA-A*2402、HLA-A*2407、HLA-A*3303或HLA-A*3401氨基酸序列具有至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中HLA-A重链多肽包含Y84C和A236C取代。

[0206] HLA-A*0101(Y84C;A236C)

[0207] 在一些情况下,存在于本公开的多二硫键连接的TMMP(例如,双二硫键连接的TMMP)中的HLA-A重链多肽包含与以下HLA-A*0101(Y84C;A236C)氨基酸序列具有至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0208] GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFSDAASQKMEPRAPWIEQEGPEYWDQETRNMK
AHSQTDRLNGLTLRGCYNQSEDSHTIQIMYGCDVGPDRFLRGYRQDAYDGKDYIALNEDLRSWTAADMAAQITK
RKWEAVHAAEQRRVYLEGRCDGLRRYLENGKETLQRTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRD
GEDQTQDTELVETRPCDGTGTFQKWA AVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:343),其中氨基酸84为Cys且氨基酸236为Cys。

[0209] HLA-A*0201(Y84C;A236C)

[0210] 在一些情况下,存在于本公开的多二硫键连接的TMMP(例如,双二硫键连接的TMMP)中的HLA-A重链多肽包含与以下HLA-A*0201(Y84C;A236C)氨基酸序列具有至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0211] GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKKV
AHSQTHRVDLGLTLRGCYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGS DWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTK
HKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALS FYPAEITLTWQRD
GEDQTQDTELVETRPCDGTGTFQKWA AVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:341),其中氨基酸84为Cys且氨基酸236为Cys。

[0212] HLA-A*0202(Y84C;A236C)

[0213] 在一些情况下,存在于本公开的多二硫键连接的TMMP(例如,双二硫键连接的TMMP)中的HLA-A重链多肽包含与以下HLA-A*0202(Y84C;A236C)氨基酸序列具有至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0214] GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKKV
AHSQTHRVDLGLTLRGCYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGS DWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTK

HKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVWLRRLRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRD
GEDQTQDTELVETRPGDGTGFKWAAVVVPSGQEQRYSYCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:341), 其中氨
基酸84为Cys且氨基酸236为Cys。

[0215] HLA-A*1101 (Y84C;A236C)

[0216] 在一些情况下, 存在于本公开的多二硫键连接的TMMP (例如, 双二硫键连接的
TMMP) 中的HLA-A重链多肽包含与以下HLA-A*1101 (Y84C;A236C) 氨基酸序列具有至少95%、
至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0217] GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDQETRNVK
AQSQTDRVDLGTLRGCYNQSEDSHTIQIMYGCDVGPDRFLRGYRQDAYDGKDYIALNEDLRSWTAADMAAQITK
RKWEAAHAAEQRAYLEGRCVWLRRLRYLENGKETLQRTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRD
GEDQTQDTELVETRPGDGTGFKWAAVVVPSGEEQRYSYCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:344), 其中氨
基酸84为Cys且氨基酸236为Cys。

[0218] HLA-A*2301 (Y84C;A236C)

[0219] 在一些情况下, 存在于本公开的多二硫键连接的TMMP (例如, 双二硫键连接的
TMMP) 中的HLA-A重链多肽包含与以下HLA-A*2301 (Y84C;A236C) 氨基酸序列具有至少95%、
至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0220] GSHSMRYFSTSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDEETGKVK
AHSQTDRENLRALRCYNQSEAGSHTLQMMFGCDVGS DGRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQITQ
RKWEAARVAEQLRAYLEGTCVDGLRRYLENGKETLQRTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRD
GEDQTQDTELVETRPGDGTGFKWAAVVVPSGEEQRYSYCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:345), 其中氨
基酸84为Cys且氨基酸236为Cys。

[0221] HLA-A*2402 (Y84C;A236C)

[0222] 在一些情况下, 存在于本公开的多二硫键连接的TMMP (例如, 双二硫键连接的
TMMP) 中的HLA-A重链多肽包含与以下HLA-A*2402 (Y84C;A236C) 氨基酸序列具有至少95%、
至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0223] GSHSMRYFSTSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDEETGKVK
AHSQTDRENLRALRCYNQSEAGSHTLQMMFGCDVGS DGRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQITK
RKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVDGLRRYLENGKETLQRTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRD
GEDQTQDTELVETRPGDGTGFKWAAVVVPSGEEQRYSYCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:346), 其中氨
基酸84为Cys且氨基酸236为Cys。

[0224] HLA-A*2407 (Y84C;A236C)

[0225] 在一些情况下, 存在于本公开的多二硫键连接的TMMP (例如, 双二硫键连接的
TMMP) 中的HLA-A重链多肽包含与以下HLA-A*2407 (Y84C;A236C) 氨基酸序列具有至少95%、
至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0226] GSHSMRYFSTSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDEETGKVK
AQSQTDRENLRALRCYNQSEAGSHTLQMMFGCDVGS DGRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQITK
RKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVDGLRRYLENGKETLQRTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRD
GEDQTQDTELVETRPGDGTGFKWAAVVVPSGEEQRYSYCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:347), 其中氨
基酸84为Cys且氨基酸236为Cys。

[0227] HLA-A*3303 (Y84C;A236C)

[0228] 在一些情况下,存在于本公开的多二硫键连接的TMMP(例如,双二硫键连接的TMMP)中的HLA-A重链多肽包含与以下HLA-A*3303 (Y84C;A236C)氨基酸序列具有至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0229] GSHSMRYFTTSVSRPGRGEPRLFIAVG YVDDTQFVRFSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDRNTRNVK
AHSQIDRVLDGLTRGCYNQSEAGSHTIQMMYGCDVGS DGRFLRGYQQDAYDYGKDYIALNEDLRSWTAADMAAQITQ
RKWEAARVAEQRLRAYLEGTCVEWLRRLRYLENGKETLQRTDPPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALS FYPAEITLTWQRD
GEDQTQDTELVETRPGDGTGTFQK WASVVVPSGQEQR YTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:348),其中氨
基酸84为Cys且氨基酸236为Cys。

[0230] HLA-A*3401 (Y84C;A236C)

[0231] 在一些情况下,存在于本公开的多二硫键连接的TMMP(例如,双二硫键连接的TMMP)中的HLA-A重链多肽包含与以下HLA-A*3401 (Y84C;A236C)氨基酸序列具有至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0232] GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRLFIAVG YVDDTQFVRFSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDRNTRKVK
AQSQTDRVDLGLTRGCYNQSEDSHTIQRM YGCDVGP DGRFLRGYQQDAYDYGKDYIALNEDLRSWTAADMAAQITQ
RKWETAHEAEQWRAYLEGTCVEWLRRLRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALS FYPAEITLTWQRD
GEDQTQDTELVETRPGDGTGTFQK WASVVVPSGQEQR YTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:349),其中氨
基酸84为Cys且氨基酸236为Cys。

[0233] HLA-B

[0234] 在一些情况下,本公开的多二硫键连接的TMMP(例如,双二硫键连接的TMMP)包含:
a) 第一多肽,所述第一多肽包含:i) 肽(例如,当所述肽与MHC多肽复合时,被TCR结合的具有4个氨基酸至约25个氨基酸的肽);及ii) 第一MHC多肽,其中所述第一多肽包含介于所述肽与第一MHC多肽之间的肽接头,其中所述肽接头包含Cys残基,且其中所述第一MHC多肽为包含引入Cys残基的氨基酸取代的 β 2M多肽;和b) 第二多肽,所述第二多肽包含HLA-B I类MHC重链,所述重链包含与以下氨基酸序列具有至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0235] GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRLFISVGYVDDTQFVRFSDAASPREEP RAPWIEQEGPEYWDRNTQIYK
AQAQTDRESLRNLRGCYNQSEAGSHTLQSMY GCDVGP DGRLLRGHDQYAYDYGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQ
RKWEAAREAEQRRAYLEGECEVEWLRRLRYLENGKDKLERADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYP AEITLTWQRD
GEDQTQDTELVETRPGDRTFQKWA AVVVPSGEEQR YTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:350),其中
氨基酸84为Cys且氨基酸236为Cys;及c) 至少一种免疫调节多肽,其中所述第一多肽和/或
所述第二多肽包含所述至少一个免疫调节多肽。在一些情况下,肽接头包含氨基酸序列
GCGGS (SEQ ID NO:318)。在一些情况下,肽接头包含氨基酸序列GCGGS (GGGS)_n (SEQ ID
NO:342),其中n为1至10的整数。在一些情况下, β 2M多肽包含R12C取代。举例来说, β 2M多肽
可包含与以下氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序
列同一性的氨基酸序列: IQRTPKIQVYSCHPAENGKSNFLN CYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLS
FSKDW SFYLLYTFEFTPEKDEYACRVNHVTL SQPKIVKWRDM (SEQ ID NO:314),其中氨基酸12为
Cys。所述至少一种免疫调节多肽可为对靶T细胞发挥活化/刺激作用或对靶T细胞发挥抑
制/抑制性(suppressing/inhibitory)作用的多肽。举例来说,所述至少一种免疫调节多肽

可为细胞因子(例如,IL2多肽、IL7多肽、IL12多肽、IL15多肽、IL17多肽、IL21多肽、IL27多肽、IL-23多肽、TGFβ多肽等;且包括全部家族成员,例如IL17A、IL-17B、IL-17C、IL-17D、IL-17E、IL-17F、IL-17E)、4-1BBL多肽、ICOS-L多肽、OX-40L多肽、CD80多肽、CD86多肽(CD80和CD86也分别称为B7-1和B7-2)、CD40多肽、CD70多肽、JAG1(CD339)多肽、ICAM(CD54多肽)、PD-L1多肽、FasL多肽、PD-L2多肽、PD-1H(VISTA)多肽、ICOS-L(CD275)多肽、GITRL多肽、HVEM多肽、CXCL10多肽、CXCL9多肽、CXCL11多肽、CXCL13多肽、及CX3CL1多肽、半乳糖凝集素-9多肽、CD83多肽、CD30L多肽、HLA-G多肽、MICA多肽、MICB多肽、HVEM(CD270)多肽、淋巴瘤毒素β受体多肽、3/TR6多肽、ILT3多肽、ILT4多肽、CXCL10多肽、CXCL9多肽、CXCL11多肽、CXCL13多肽或CX3CL1多肽。这些免疫调节多肽可为野生型多肽或野生型多肽的变体。在一些情况下,免疫调节多肽为活化(“刺激”)免疫调节多肽;例如,免疫调节多肽可对T细胞产生活化/刺激效应。活化免疫调节多肽的实例包括例如CD80、CD86、4-1BBL、OX40L、CD70、ICOS-L、CD40、ICAM(CD54)、IL2、IL7、IL12、IL15、IL17、IL21、IL27、IL23、GITRL、TGFβ及淋巴瘤毒素β受体。在一些情况下,免疫调节多肽为抑制(“抑制性”)免疫调节多肽;例如,免疫调节多肽可对T细胞产生抑制/抑制性效应。抑制性免疫调节多肽的实例包括例如PD-1H、PD-L1、PD-L2、TGFβ、FasL、HVEM、半乳糖凝集素-9、ILT3及ILT4。视情形而定,TGFβ多肽可产生活化/刺激效应或抑制/抑制性效应。在一些情况下,所述至少一种免疫调节多肽为亲和力减小的变体,如本文别处所述。在一些情况下,第一多肽或第二多肽包含Ig Fc多肽。

[0236] 在一些情况下,本公开的多二硫键连接的TMMP包含HLA-B I类重链多肽。在一些情况下,存在于本公开的多二硫键连接的TMMP(例如,双二硫键连接的TMMP)中的HLA-B重链多肽包含与图8A中描绘的HLA-B*0702、HLA-B*0801、HLA-B*1502、HLA-B*3802、HLA-B*4001、HLA-B*4601或HLA-B*5301氨基酸序列具有至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,其中HLA-B重链多肽包含Y84C和A236C取代。

[0237] HLA-B*0702(Y84C;A236C)

[0238] 在一些情况下,存在于本公开的多二硫键连接的TMMP(例如,双二硫键连接的TMMP)中的HLA-B重链多肽包含与以下HLA-B*0702(Y84C;A236C)氨基酸序列具有至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0239] GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRLFISVGYVDDTQFVRFDSDAASPREEPRAPWIEQEGPEYWRNTQIYK
AQAQTDRESLRNLRGCYNQSEAGSHTLQSMYGCDVGPDRLLRGHDQYAYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQ
RKWEAAREAEQRRAYLEGECEVWLRRLRYLNGKDKLERADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRD
GEDQTQDTELVETRPCGDRTFQKWA AVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO: 350),其中氨
基酸84为Cys且氨基酸236为Cys。

[0240] HLA-B*0801(Y84C;A236C)

[0241] 在一些情况下,存在于本公开的多二硫键连接的TMMP(例如,双二硫键连接的TMMP)中的HLA-B重链多肽包含与以下HLA-B*0801(Y84C;A236C)氨基酸序列具有至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0242] GSHSMRYFDTAMSRPGRGEPRLFISVGYVDDTQFVRFDSDAASPREEPRAPWIEQEGPEYWRNTQIFK
TNTQTDRESLRNLRGCYNQSEAGSHTLQSMYGCDVGPDRLLRGHNQYAYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQ
RKWEAARVAEQDRAYLEGTCEVWLRRLRYLNGKDTLERADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRD
GEDQTQDTELVETRPCGDRTFQKWA AVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO: 351),其中氨

氨酸84为Cys且氨酸236为Cys。

[0243] HLA-B*1502 (Y84C;A236C)

[0244] 在一些情况下,存在于本公开的多二硫键连接的TMMP(例如,双二硫键连接的TMMP)中的HLA-B重链多肽包含与以下HLA-B*1502 (Y84C;A236C)氨酸序列具有至少95%、至少98%、至少99%或100%氨酸序列同一性的氨酸序列:

[0245] GSHSMRYFYTAMSRPGRGEPFIAVGYVDDTQFVRFSDAASPRMAPRAPWIEQEGPEYWDRNTQISK
TNTQTYRESLRNLRGCYNQSEAGSHIIQRMYGCDVGPDRLLRGYDQSAIDGKDYIALNEDLSSWTAADTAAQITQ
RKWEAAREAEQLRAYLEGLCWEWLRRLRYLENGKETLQRADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRD
GEDQTQDTELVETRPGDRTFQKWA AVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:352),其中氨酸84为Cys且氨酸236为Cys。

[0246] HLA-B*3802 (Y84C;A236C)

[0247] 在一些情况下,存在于本公开的多二硫键连接的TMMP(例如,双二硫键连接的TMMP)中的HLA-B重链多肽包含与以下HLA-B*3802 (Y84C;A236C)氨酸序列具有至少95%、至少98%、至少99%或100%氨酸序列同一性的氨酸序列:

[0248] GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPFISVGYVDDTQFVRFSDAASPREEPRAPWIEQEGPEYWDRNTQICK
TNTQTYRENLRALRCYNQSEAGSHTLQRMYGCDVGPDRLLRGHNQFAYDQKDYIALNEDLSSWTAADTAAQITQ
RKWEAARVAEQRLTYLEGTCWEWLRRLRYLENGKETLQRADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRD
GEDQTQDTELVETRPGDRTFQKWA AVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:353),其中氨酸84为Cys且氨酸236为Cys。

[0249] HLA-B*4001 (Y84C;A2346C)

[0250] 在一些情况下,存在于本公开的多二硫键连接的TMMP(例如,双二硫键连接的TMMP)中的HLA-B重链多肽包含与以下HLA-B*4001 (Y84C;A236C)氨酸序列具有至少95%、至少98%、至少99%或100%氨酸序列同一性的氨酸序列:

[0251] GSHSMRYFHTAMSRPGRGEPFITVGYVDDTLFVRFSDATSPRKEPRAPWIEQEGPEYWDRETQISK
TNTQTYRESLRNLRGCYNQSEAGSHTLQRMYGCDVGPDRLLRGHNQYAYDQKDYIALNEDLRSWTAADTAAQISQ
RKLEAARVAEQRLRAYLEGECEWEWLRRLRYLENGKDKLERADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRD
GEDQTQDTELVETRPGDRTFQKWA AVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:354),其中氨酸84为Cys且氨酸236为Cys。

[0252] HLA-B*4601 (Y84C;A236C)

[0253] 在一些情况下,存在于本公开的多二硫键连接的TMMP(例如,双二硫键连接的TMMP)中的HLA-B重链多肽包含与以下HLA-B*4601 (Y84C;A236C)氨酸序列具有至少95%、至少98%、至少99%或100%氨酸序列同一性的氨酸序列:

[0254] GSHSMRYFYTAMSRPGRGEPFIAVGYVDDTQFVRFSDAASPRMAPRAPWIEQEGPEYWDRETQKYK
RQAQTDREVSLRNLRGCYNQSEAGSHTLQRMYGCDVGPDRLLRGHDQSAIDGKDYIALNEDLSSWTAADTAAQITQ
RKWEAAREAEQWRAYLEGLCWEWLRRLRYLENGKETLQRADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRD
GEDQTQDTELVETRPGDRTFQKWA AVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:355),其中氨酸84为Cys且氨酸236为Cys。

[0255] HLA-B*5301 (Y84C;A236C)

[0256] 在一些情况下,存在于本公开的多二硫键连接的TMMP(例如,双二硫键连接的

TMMP) 中的HLA-B重链多肽包含与以下HLA-B*5301 (Y84C;A236C) 氨基酸序列具有至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0257] GSHSMRYFYTAMSRPGRGEPFIAVG YVDDTQFVRFSDAASPRTEPRAPWIEQEGPEYWRNTQIFK
TNTQTYRENLRALRCYNQSEAGSHIIQRM YGCDLGPDRLLRGHDQSAYDGKDYIALNEDLSSWTAADTAAQITQ
RKWEAARVAEQLRAYLEGLCV EWLRRYLENGKETLQRADPPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRD
GEDQTQDTELVETRPCGDRTFQKWA AVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:356), 其中氨
基酸84为Cys且氨基酸236为Cys。

[0258] HLA-C

[0259] 在一些情况下, 本公开的多二硫键连接的TMMP (例如, 双二硫键连接的TMMP) 包含:

a) 第一多肽, 所述第一多肽包含: i) 肽 (例如, 当所述肽与MHC多肽复合时, 被TCR结合的具有4个氨基酸至约25个氨基酸的肽); 及ii) 第一MHC多肽, 其中所述第一多肽包含介于所述肽与第一MHC多肽之间的肽接头, 其中所述肽接头包含Cys残基, 且其中所述第一MHC多肽为包含引入Cys残基的氨基酸取代的 β 2M多肽; 和b) 第二多肽, 其包含HLA-C I类MHC重链, 所述重链包含与以下氨基酸序列具有至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0260] CSHSMRYFDTA VSRPGRGEPFISVGYVDDTQFVRFSDAASPRGEPRAPWVEQEGPEYWDRETQNYK
RQAQADRVSRLNLRGCYNQSE DGSHTLQRM YGCDLGPDRLLRGYDQSAYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQ
RKLEAARAAEQLRAYLEGTCV EWLRRYLENGKETLQRAEPPKTHVTHHPLSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRD
GEDQTQDTELVETRPCGDGTFQKWA AVVVPSGQEQR YTCHMQHEGLQEPLTL SWEP (SEQ ID NO:357), 其中
氨基酸84为Cys且氨基酸236为Cys; 及c) 至少一种免疫调节多肽, 其中所述第一多肽和/或
所述第二多肽包含所述至少一种免疫调节多肽。在一些情况下, 肽接头包含氨基酸序列
GCGGS (SEQ ID NO:318)。在一些情况下, 肽接头包含氨基酸序列GCGGS (GGGG) $_n$ (SEQ ID
NO:342), 其中 n 为1至10的整数。在一些情况下, β 2M多肽包含R12C取代。举例来说, β 2M多肽
可包含与以下氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序
列同一性的氨基酸序列: IQRTPKIQVYSCHPAENGKSNFLN CYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLS
FSKDW SFYLLYYTEFTPT EKDEYACRVNHVTL SQPKIVKWDRDM (SEQ ID NO:314), 其中氨基酸12为
Cys。所述至少一种免疫调节多肽可为对靶T细胞发挥活化/刺激作用或对靶T细胞发挥抑制/
抑制性 (suppressing/inhibitory) 作用的多肽。举例来说, 所述至少一种免疫调节多肽
可为细胞因子 (例如, IL2多肽、IL7多肽、IL12多肽、IL15多肽、IL17多肽、IL21多肽、IL27多
肽、IL-23多肽、TGF β 多肽等; 且包括全部家族成员, 例如IL17A、IL-17B、IL-17C、IL-17D、IL-
17E、IL-17F、IL-17E)、4-1BBL多肽、ICOS-L多肽、OX-40L多肽、CD80多肽、CD86多肽 (CD80和
CD86也分别称为B7-1和B7-2)、CD40多肽、CD70多肽、JAG1 (CD339) 多肽、ICAM (CD540多肽、
PD-L1多肽、FasL多肽、PD-L2多肽、PD-1H (VISTA) 多肽、ICOS-L (CD275) 多肽、GITRL多肽、
HVEM多肽、CXCL10多肽、CXCL9多肽、CXCL11多肽、CXCL13多肽、及CX3CL1多肽、半乳糖凝集
素-9多肽、CD83多肽、CD30L多肽、HLA-G多肽、MICA多肽、MICB多肽、HVEM (CD270) 多肽、淋巴
毒素 β 受体多肽、3/TR6多肽、ILT3多肽、ILT4多肽、CXCL10多肽、CXCL9多肽、CXCL11多肽、
CXCL13多肽或CX3CL1多肽。这些免疫调节多肽可为野生型多肽或野生型多肽的变体。在一
些情况下, 免疫调节多肽为活化 (“刺激”) 免疫调节多肽; 例如, 免疫调节多肽可对T细胞产
生活化/刺激效应。活化免疫调节多肽的实例包括例如CD80、CD86、4-1BBL、OX40L、CD70、

ICOS-L、CD40、ICAM (CD54)、IL2、IL7、IL12、IL15、IL17、IL21、IL27、IL23、GITRL、TGFβ及淋巴毒素β受体。在一些情况下，免疫调节多肽为抑制（“抑制性”）免疫调节多肽；例如，免疫调节多肽可对T细胞产生抑制/抑制性效应。抑制性免疫调节多肽的实例包括例如PD-1H、PD-L1、PD-L2、TGFβ、FasL、HVEM、半乳糖凝集素-9、ILT3及ILT4。视情形而定，TGFβ多肽可产生活化/刺激效应或抑制/抑制性效应。在一些情况下，所述至少一种免疫调节多肽为亲和力减小的变体，如本文别处所述。在一些情况下，第一多肽或第二多肽包含Ig Fc多肽。

[0261] 在一些情况下，本公开的多二硫键连接的TMMP（例如，双二硫键连接的TMMP）包含HLA-C I类重链多肽。在一些情况下，存在于本公开的多二硫键连接的TMMP（例如，双二硫键连接的TMMP）中的HLA-C重链多肽包含与图9A中描绘的HLA-C*0102、HLA-C*0303、HLA-C*0304、HLA-C*0401、HLA-C*0602、HLA-C*0701、HLA-C*0702、HLA-C*0801或HLA-C*1502氨基酸序列具有至少95%、至少98%或至少99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列，其中HLA-C重链多肽包含Y84C和A236C取代。

[0262] HLA-C*01:02 (Y84C;A236C)

[0263] 在一些情况下，存在于本公开的多二硫键连接的TMMP（例如，双二硫键连接的TMMP）中的HLA-C重链多肽包含与以下HLA-C*01:02 (Y84C;A236C)氨基酸序列具有至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列：

[0264] CSHSMKYFFTSVSRPGRGEPRLFISVGYVDDTQFVRFSDAASPRGEPRAPWVEQEGPEYWDRETQKYK RQAQTDREVSLRNLRCYQSEAGSHTLQWMCGLDGPDRLLRGYDQYAYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQ RKWEAAREAEQRRAYLEGTVCVEWLRRLYLENGKETLQRAEHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQWD GEDQTQDTELVETRCPGDGTFQKWAAMVPSGEEQRYTCHVQHEGLPEPLTLRWEP (SEQ ID NO:358)，其中氨基酸84为Cys且氨基酸236为Cys。

[0265] HLA-C*0303 (Y84C;A236C)

[0266] 在一些情况下，存在于本公开的多二硫键连接的TMMP（例如，双二硫键连接的TMMP）中的HLA-C重链多肽包含与以下HLA-C*03:03 (Y84C;A236C)氨基酸序列具有至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列：

[0267] GSHSMRYFYTAVSRPGRGEPHFIAVGYVDDTQFVRFSDAASPRGEPRAPWVEQEGPEYWDRETQKYK RQAQTDREVSLRNLRCYQSEARSHIIQRMYGCDVGPDRLLRGYDQYAYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQ RKWEAAREAEQLRAYLEGLCVEWLRRLKNGKETLQRAEHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQWD GEDQTQDTELVETRCPGDGTFQKWAAMVPSGEEQRYTCHVQHEGLPEPLTLRWEP (SEQ ID NO:359)，其中氨基酸84为Cys且氨基酸236为Cys。

[0268] HLA-C*0304 (Y84C;A236C)

[0269] 在一些情况下，存在于本公开的多二硫键连接的TMMP（例如，双二硫键连接的TMMP）中的HLA-C重链多肽包含与以下HLA-C*03:04 (Y84C;A236C)氨基酸序列具有至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列：

[0270] GSHSMRYFYTAVSRPGRGEPHFIAVGYVDDTQFVRFSDAASPRGEPRAPWVEQEGPEYWDRETQKYK RQAQTDREVSLRNLRCYQSEAGSHIIQRMYGCDVGPDRLLRGYDQYAYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQ RKWEAAREAEQLRAYLEGLCVEWLRRLKNGKETLQRAEHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQWD GEDQTQDTELVETRCPGDGTFQKWAAMVPSGEEQRYTCHVQHEGLPEPLTLRWEP (SEQ ID NO:360)，其中氨基酸84为Cys且氨基酸236为Cys。

[0271] HLA-C*0401 (Y84C;A236C)

[0272] 在一些情况下,存在于本公开的多二硫键连接的TMMP(例如,双二硫键连接的TMMP)中的HLA-C重链多肽包含与以下HLA-C*04:01(Y84C;A236C)氨基酸序列具有至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0273] GSHSMRYFSTSVSWPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFSDAASPRGEPREPWVEQEGPEYWDRETQKYK
RQAQADRVNLRKLRGCYNQSEDSHTLQRMFGCDLGPDRLLRGYNQFAYDQKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQ
RKWEAAREAEQRRAYLEGTCVEWLRRLYLENGKETLQRAEHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQWD
GEDQTQDTELVETRPGDGTQKWA AVVVP SGEEQRYTCHVQHEGLPEPLTLRWKP (SEQ ID NO:361),其中
氨基酸84为Cys且氨基酸236为Cys。

[0274] HLA-C*0602 (Y84C;A236C)

[0275] 在一些情况下,存在于本公开的多二硫键连接的TMMP(例如,双二硫键连接的TMMP)中的HLA-C重链多肽包含与以下HLA-C*06:02(Y84C;A236C)氨基酸序列具有至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0276] CSHSMRYFDTA VSRPGRGEPRI SVGYVDDTQFVRFSDAASPRGEP RAPWVEQEGPEYWDRETQKYK
RQAQADRVNLRKLRGCYNQSEDSHTLQWMYGCDLGPDRLLRGYDQSAYDQKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQ
RKWEAAREAEQWRAYLEGTCVEWLRRLYLENGKETLQRAEHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRD
GEDQTQDTELVETRPGDGTQKWA AVVVP SGEEQRYTCHVQHEGLPEPLTLR WEP (SEQ ID NO:362),其中
氨基酸84为Cys且氨基酸236为Cys。

[0277] HLA-C*0701 (Y84C;A236C)

[0278] 在一些情况下,存在于本公开的多二硫键连接的TMMP(例如,双二硫键连接的TMMP)中的HLA-C重链多肽包含与以下HLA-C*07:01(Y84C;A236C)氨基酸序列具有至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0279] CSHSMRYFDTA VSRPGRGEPRI SVGYVDDTQFVRFSDAASPRGEP RAPWVEQEGPEYWDRETQNYK
RQAQADRVSLRNL RGCYNQSEDSHTLQRMYGCDLGPDRLLRGYDQSAYDQKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQ
RKLEAARAAEQRAYLEGTCVEWLRRLYLENGKETLQRAEPPKTHVTHHPLSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRD
GEDQTQDTELVETRPGDGTQKWA AVVVP SGEEQRYTCHMQHEGLQEPLTL SWEP (SEQ ID NO:357),其中
氨基酸84为Cys且氨基酸236为Cys。

[0280] HLA-C*0702 (Y84C;A236C)

[0281] 在一些情况下,存在于本公开的多二硫键连接的TMMP(例如,双二硫键连接的TMMP)中的HLA-C重链多肽包含与以下HLA-C*07:02(Y84C;A236C)氨基酸序列具有至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0282] CSHSMRYFDTA VSRPGRGEPRI SVGYVDDTQFVRFSDAASPRGEP RAPWVEQEGPEYWDRETQKYK
RQAQADRVSLRNL RGCYNQSEDSHTLQRMSGCDLGPDRLLRGYDQSAYDQKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQ
RKLEAARAAEQRAYLEGTCVEWLRRLYLENGKETLQRAEPPKTHVTHHPLSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRD
GEDQTQDTELVETRPGDGTQKWA AVVVP SGEEQRYTCHMQHEGLQEPLTL SWEP (SEQ ID NO:404),其中
氨基酸84为Cys且氨基酸236为Cys。

[0283] HLA-C*0801 (Y84C;A236C)

[0284] 在一些情况下,存在于本公开的多二硫键连接的TMMP(例如,双二硫键连接的TMMP)中的HLA-C重链多肽包含与以下HLA-C*08:01(Y84C;A236C)氨基酸序列具有至少

95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0285] CSHSMRYFYTAVSRPGRGEPFIAVGYVDDTQFVQFSDAASPRGEPRAPWVEQEGPEYWDRETQKYK
RQAQTDRVSLRNLRCYINQSEAGSHTLQRMYGCDLPGDGRLLRGYNQFAYDQKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQ
RKWEAARTAEQLRAYLEGTCEVWLRRLRYLENGKKTQRAEHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRD
GEDQTQDTELVETRCPGDGTFQKWAAVVVPSPGEEQRYTCHVQHEGLPEPLTLRWGP (SEQ ID NO:363), 其中
氨基酸84为Cys且氨基酸236为Cys。

[0286] HLA-C*1502 (Y84C;A236C)

[0287] 在一些情况下,存在于本公开的多二硫键连接的TMMP (例如,双二硫键连接的TMMP) 中的HLA-C重链多肽包含与以下HLA-C*15:02 (Y84C;A236C) 氨基酸序列具有至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0288] CSHSMRYFYTAVSRPGRGEPHFIAVGYVDDTQFVRFSDAASPRGEPRAPWVEQEGPEYWDRETQNYK
RQAQTDRVNLKRLRCYINQSEAGSHIIQRMYGCDLPGDGRLLRGHDQLAYDQKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQ
RKWEAAREAEQLRAYLEGTCEVWLRRLRYLENGKETLQRAEHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRD
GEDQTQDTELVETRCPGDGTFQKWAAVVVPSPGEEQRYTCHVQHEGLPEPLTLRWEP (SEQ ID NO:364), 其中
氨基酸84为Cys且氨基酸236为Cys。

[0289] 支架多肽

[0290] TMMP可包含Fc多肽或可包含另一种适合的支架多肽。

[0291] 适合的支架多肽包括基于抗体之支架多肽及非基于抗体的支架。非基于抗体的支架包括例如白蛋白、XTEN (延长重组) 多肽、运铁蛋白、Fc受体多肽、弹性蛋白样多肽 (参见, 例如Hassouneh等人 (2012) *Methods Enzymol.* 502:215; 例如, 包含五肽重复单元 (Val-Pro-Gly-X-Gly; SEQ ID NO:59) 的多肽, 其中X为除了脯氨酸以外的任何氨基酸)、白蛋白结合多肽、丝样多肽 (参见, 例如Valluzzi等人 (2002) *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 357:165), 丝-弹性蛋白-样多肽 (SELP; 参见, 例如Megeed等人 (2002) *Adv Drug Deliv Rev.* 54:1075) 等。适合的XTEN多肽包括例如WO 2009/023270、WO 2010/091122、WO 2007/103515、US 2010/0189682及US 2009/0092582中公开的那些; 还参见Schellenberger等人 (2009) *Nat Biotechnol.* 27:1186)。适合的白蛋白多肽包括例如人血清白蛋白。

[0292] 适合的支架多肽在一些情况下将为半衰期延长的多肽。因此, 在一些情况下, 与缺乏支架多肽的对照TMMP相比, 适合的支架多肽增加TMMP的体内半衰期 (例如, 血清半衰期)。举例来说, 在一些情况下, 与缺乏支架多肽的对照TMMP相比, 支架多肽使TMMP的体内半衰期 (例如, 血清半衰期) 增加了至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约50%、至少约2倍、至少约2.5倍、至少约5倍、至少约10倍、至少约25倍、至少约50倍、至少约100倍或大于100倍。作为一个实例, 在一些情况下, 与缺乏Fc多肽的对照TMMP相比, Fc多肽使TMMP的体内半衰期 (例如, 血清半衰期) 增加了至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约50%、至少约2倍、至少约2.5倍、至少约5倍、至少约10倍、至少约25倍、至少约50倍、至少约100倍或大于100倍。

[0293] Fc多肽

[0294] 在一些情况下, 本公开的TMMP的第一多肽链和/或第二多肽链包含Fc多肽。本公开的TMMP的Fc多肽可为人IgG1 Fc、人IgG2 Fc、人IgG3 Fc、人IgG4 Fc等。在一些情况下, Fc多肽包含与图3A-3G中描绘的Fc区的氨基酸序列具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、

至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况下,Fc区包含与图3A中描绘的人IgG1 Fc多肽具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况下,Fc区包含与图3A中描绘的人IgG1 Fc多肽具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列;且包含N77取代;例如,Fc多肽包含N77A取代。在一些情况下,Fc多肽包含与图3A中描绘的人IgG2 Fc多肽具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列;例如,Fc多肽包含与图3A中描绘的人IgG2 Fc多肽的氨基酸99-325具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况下,Fc多肽包含与图3A中描绘的人IgG3 Fc多肽具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列;例如,Fc多肽包含与图3A中描绘的人IgG3 Fc多肽的氨基酸19-246具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况下,Fc多肽包含与图3B中描绘的人IgM Fc多肽具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列;例如,Fc多肽包含与图3B中描绘的人IgM Fc多肽的氨基酸1-276具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况下,Fc多肽包含与图3C中描绘的人IgA Fc多肽具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列;例如,Fc多肽包含与图3C中描绘的人IgA Fc多肽的氨基酸1-234具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0295] 在一些情况下,Fc多肽包含与图3C中描绘的人IgG4Fc多肽具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况下,Fc多肽包含与图3C中描绘的人IgG4 Fc多肽的氨基酸100至327具有至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0296] 在一些情况下,IgG4Fc多肽包含以下氨基酸序列:

[0297] PPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:365)。

[0298] 在一些情况下,存在于TMMP中的Fc多肽包含图3A中描绘的氨基酸序列(人IgG1 Fc)。在一些情况下,存在于TMMP中的Fc多肽包含图3A中描绘的氨基酸序列(人IgG1 Fc),例外之处为以除天冬酰胺以外的氨基酸进行的N297取代(图3A中描绘的氨基酸序列的N77)。

在一些情况下,存在于TMMP中的Fc多肽包含图3C中描绘的氨基酸序列(包含N297A取代的人IgG1 Fc,所述取代为图3A中描绘的氨基酸序列的N77)。在一些情况下,存在于TMMP中的Fc多肽包含图3A中描绘的氨基酸序列(人IgG1 Fc),例外之处为以除亮氨酸以外的氨基酸进行的L234取代(图3A中描绘的氨基酸序列的L14)。在一些情况下,存在于TMMP中的Fc多肽包含图3A中描绘的氨基酸序列(人IgG1 Fc),例外之处为以除亮氨酸以外的氨基酸进行的L235取代(图3A中描绘的氨基酸序列的L15)。

[0299] 在一些情况下,存在于TMMP中的Fc多肽包含图3E中描绘的氨基酸序列。在一些情况下,存在于TMMP中的Fc多肽包含图3F中描绘的氨基酸序列。在一些情况下,存在于TMMP中的Fc多肽包含图5G中描绘的氨基酸序列(包含L234A取代和L235A取代的人IgG1 Fc,这些取代对应于图3G中描绘的氨基酸序列的位置14和15)。在一些情况下,存在于TMMP中的Fc多肽包含图3A中描绘的氨基酸序列(人IgG1 Fc),例外之处为以除脯氨酸以外的氨基酸进行的P331取代(图3A中描绘的氨基酸序列的P111);在一些情况下,所述取代为P331S取代。在一些情况下,存在于TMMP中的Fc多肽包含图3A中描绘的氨基酸序列(人IgG1 Fc),例外之处为以除亮氨酸以外的氨基酸进行的L234和L235取代(图3A中描绘的氨基酸序列的L14和L15)。在一些情况下,存在于TMMP中的Fc多肽包含图3A中描绘的氨基酸序列(人IgG1 Fc),例外之处为以除亮氨酸以外的氨基酸进行的L234和L235取代(图3A中描绘的氨基酸序列的L14和L15)及以除脯氨酸以外的氨基酸进行的P331取代(图3A中描绘的氨基酸序列的P111)。在一些情况下,存在于TMMP中的Fc多肽包含图3E中描绘的氨基酸序列(包含L234F、L235E及P331S取代(对应于图3E中描绘的氨基酸序列的氨基酸位置14、15及111)的人IgG1 Fc)。在一些情况下,存在于TMMP中的Fc多肽为包含L234A和L235A取代(以Ala对图3A中描绘的氨基酸序列的L14和L15进行的取代)的IgG1 Fc多肽,如图3G所描绘。

[0300] 接头

[0301] 本公开的TMMP可包括一个或多个接头,其中所述一个或多个接头介于以下一个或多个之间:i) I类MHC多肽和Ig Fc多肽,其中此接头在本文中称为“L1”;ii) 免疫调节多肽和I类MHC多肽,其中此接头在本文中称为“L2”;iii) 第一免疫调节多肽和第二免疫调节多肽,其中此接头在本文中称为“L3”;iv) 肽抗原(“表位”)和I类MHC多肽;v) I类MHC多肽和二聚化多肽(例如,二聚化对的第一成员或第二成员);以及vi) 二聚化多肽(例如,二聚化对的第一成员或第二成员)和IgFc多肽。

[0302] 适合的接头(也称为“间隔子”)可容易选择且可具有许多适合长度中的任一个,诸如1个氨基酸至25个氨基酸、3个氨基酸至20个氨基酸、2个氨基酸至15个氨基酸、3个氨基酸至12个氨基酸,包括4个氨基酸至10个氨基酸、5个氨基酸至9个氨基酸、6个氨基酸至8个氨基酸、或7个氨基酸至8个氨基酸。适合的接头长度可为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个氨基酸。在一些情况下,接头具有的长度为25个氨基酸至50个氨基酸,例如长度为25至30、30至35、35至40、40至45、或45至50个氨基酸。

[0303] 示例性接头包括甘氨酸聚合物(G)_n、甘氨酸-丝氨酸聚合物(包括例如(GS)_n、(GSGGS)_n(SEQ ID NO:366)及(GGGS)_n(SEQ ID NO:367),其中n为至少1的整数)、甘氨酸-丙氨酸聚合物、丙氨酸-丝氨酸聚合物及本领域中已知的其他柔性接头。可使用甘氨酸和甘氨酸-丝氨酸聚合物;Gly和Ser皆相对未结构化,且因此可充当组分之间的中性系链。可使用甘氨酸聚合物;甘氨酸甚至比丙氨酸显著更易进入phi-psi空间,且比具有更长侧链的残基

受限少得多(参见Scheraga, Rev. Computational Chem. 11173-142 (1992))。示范性接头可包含氨基酸序列,包括但不限于GGSG (SEQ ID NO:368)、GGSGG (SEQ ID NO:369)、GSGSG (SEQ ID NO:370)、GSGGG (SEQ ID NO:371)、GGGSG (SEQ ID NO:372)、GSSSG (SEQ ID NO:373)等。示范性接头可包括例如Gly (Ser₄)_n (SEQ ID NO:374),其中n为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。在一些情况下,接头包含氨基酸序列(GSSSS)_n (SEQ ID NO:375),其中n为4。在一些情况下,接头包含氨基酸序列(GSSSS)_n (SEQ ID NO:376),其中n为5。在一些情况下,接头包含氨基酸序列(GGGGS)_n (SEQ ID NO:377),其中n为1。在一些情况下,接头包含氨基酸序列(GGGGS)_n (SEQ ID NO:378),其中n为2。在一些情况下,接头包含氨基酸序列(GGGGS)_n (SEQ ID NO:379),其中n为3。在一些情况下,接头包含氨基酸序列(GGGGS)_n (SEQ ID NO:380),其中n为4。在一些情况下,接头包含氨基酸序列(GGGGS)_n (SEQ ID NO:381),其中n为5。在一些情况下,接头包含氨基酸序列(GGGGS)_n (SEQ ID NO:382),其中n为6。在一些情况下,接头包含氨基酸序列(GGGGS)_n (SEQ ID NO:383),其中n为7,在一些情况下,接头包含氨基酸序列(GGGGS)_n (SEQ ID NO:384),其中n为8,在一些情况下,接头包含氨基酸序列(GGGGS)_n (SEQ ID NO:385),其中n为9,在一些情况下,接头包含氨基酸序列(GGGGS)_n (SEQ ID NO:386),其中n为10。在一些情况下,接头包含氨基酸序列AAAGG (SEQ ID NO:387)。

[0304] 在一些情况下,存在于本公开的TMMP的第一多肽中的接头多肽所包括的半胱氨酸残基可与存在于本公开的TMMP的第二多肽中的半胱氨酸残基形成二硫键。在一些情况下,举例来说,适合的接头包含氨基酸序列GCGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:317)。作为另一实例,适合的接头可包含氨基酸序列GCGGS (G4S)_n (SEQ ID NO:315),其中n为1、2、3、4、5、6、7、8或9。举例来说,在一些情况下,接头包含氨基酸序列GCGGSGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:316)。作为另一实例,接头包含氨基酸序列GCGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:317)。

[0305] 表位

[0306] 本公开的TMMP包含多种肽表位中的任一种。所述TMMP包含一种肽,当在MHC/肽复合物(例如,HLA/肽复合物)中时,所述肽向T细胞递呈表位。存在于本公开的TMMP的肽(当在MHC/肽复合物(例如,HLA/肽复合物)中时,所述肽向T细胞递呈表位)在本文中被称为“肽表位”,或简称为“表位”。

[0307] 存在于本公开的TMMP中的表位可具有的长度为约4个氨基酸至约25个氨基酸,例如,表位可具有的长度为4个氨基酸(aa)至10aa、10aa至15aa、15aa至20aa、或20aa至25aa。举例来说,存在于本公开的TMMP中的表位可具有的长度为4个氨基酸(aa)、5aa、6aa、7aa、8aa、9aa、10aa、11aa、12aa、13aa、14aa、15aa、16aa、17aa、18aa、19aa、20aa、21aa、22aa、23aa、24aa或25aa。在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的表位具有的长度为5个氨基酸至10个氨基酸,例如5aa、6aa、7aa、8aa、9aa或10aa。

[0308] 存在于本公开的TMMP中的表位为T细胞特异性结合的肽,即,表位由表位特异性T细胞特异性结合。表位特异性T细胞结合具有参考氨基酸序列的表位,但大体上不结合与参考氨基酸序列不同的表位。举例来说,表位特异性T细胞结合具有参考氨基酸序列的表位,且结合与参考氨基酸序列不同的表位,如果有的话,则其亲和力小于 10^{-6} M、小于 10^{-5} M或小于 10^{-4} M。表位特异性T细胞可结合对其具有特异性的表位,其亲和力为至少 10^{-7} M、至少 10^{-8} M、至少 10^{-9} M或至少 10^{-10} M。

[0309] 适合的表位包括但不限于癌症相关抗原中的表位。癌症相关抗原是本领域中已知

的;参见,例如Cheever等人(2009)Clin.Cancer Res.15:5323。癌症相关抗原包括但不限于 α -叶酸受体;碳酸酐酶IX(CAIX);CD19;CD20;CD22;CD30;CD33;CD44v7/8;癌胚抗原(CEA);上皮糖蛋白-2(EGP-2);上皮糖蛋白-40(EGP-40);叶酸结合蛋白(FBP);胎儿乙酰胆碱受体;神经节苷脂抗原GD2;Her2/neu;IL-13R-a2; κ 轻链;LeY;L1细胞粘附分子;黑色素瘤相关抗原(MAGE);MAGE-A1;间皮素;MUC1;NKG2D配体;癌胚抗原(h5T4);前列腺干细胞抗原(PSCA);前列腺特异性膜抗原(PSMA);肿瘤相关糖蛋白-72(TAG-72);血管内皮生长因子受体-2(VEGF-R2)。参见,例如Vigneron等人(2013)Cancer Immunity 13:15;及Vigneron(2015)BioMed Res.Int'l Article ID 948501;以及表皮生长因子受体(EGFR)vIII多肽(参见,例如Wong等人(1992)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89:2965;及Miao等人(2014)PLoSOne 9:e94281)。

[0310] 在一些情况下,适合的肽表位是在以下各物的长度中具有约4个氨基酸至约20个氨基酸(例如,4个氨基酸(aa)、5aa、6aa、7aa、8aa、9aa、10aa、11aa、12aa、13aa、14aa、15aa、16aa、17aa、18aa、19aa或20aa)的肽片段:MUC1多肽、LMP2多肽、表皮生长因子受体(EGFR)vIII多肽、HER-2/neu多肽、黑色素瘤抗原家族A₃(MAGE A₃)多肽、p53多肽、突变的p53多肽、NY-ESO-1多肽、叶酸水解酶(前列腺特异性膜抗原;PSMA)多肽、癌胚抗原(CEA)多肽、T细胞识别的黑色素瘤抗原(melanA/MART1)多肽、Ras多肽、gp100多肽、蛋白酶3(PR1)多肽、bcr-abl多肽、酪氨酸酶多肽、生存素多肽、前列腺特异性抗原(PSA)多肽、hTERT多肽、肉瘤易位断点多肽、滑膜肉瘤X(SSX)断点多肽、EphA2多肽、酸性磷酸酶、前列腺(PAP)多肽、黑色素瘤细胞凋亡抑制剂(ML-IAP)多肽、上皮细胞粘附分子(EpCAM)多肽、ERG(TMPRSS2 ETS融合)多肽、NA17多肽、配对盒-3(PAX3)多肽、间变性淋巴瘤激酶(ALK)多肽、雄激素受体多肽、细胞周期素B1多肽、N-myc原癌基因(MYCN)多肽、Ras同源基因家族成员C(RhoC)多肽、酪氨酸酶相关蛋白-2(TRP-2)多肽、间皮素多肽、前列腺干细胞抗原(PSCA)多肽、黑色素瘤相关抗原-1(MAGE A1)多肽、细胞色素P450 1B1(CYP1B1)多肽、胎盘特异性蛋白1(PLAC1)多肽、BORIS多肽(也称为CCCTC-结合因子或CTCF)、ETV6-AML多肽、乳腺癌抗原NY-BR-1多肽(也称为含锚蛋白重复结构域的蛋白30A)、G蛋白信号调节因子(RGS5)多肽、T细胞识别的鳞状细胞癌抗原(SART3)多肽、碳酸酐酶IX多肽、配对盒-5(PAX5)多肽、OY-TES1(睾丸抗原;也称为丙烯醛结合蛋白)多肽、精子蛋白17多肽、淋巴细胞特异性蛋白酪氨酸激酶(LCK)多肽、高分子量黑色素瘤相关抗原(HMW-MAA)、A-激酶锚定蛋白-4(AKAP-4)、滑膜肉瘤X断点2(SSX2)多肽、X抗原家族成员1(XAGE1)多肽、B7同源物3(B7H3;也称为CD276)多肽、豆荚蛋白多肽(LGMN1;也称为天冬酰胺内肽酶)、具有Ig和EGF同源结构域2的酪氨酸激酶(Tie-2;也称为血管生成素-1受体)多肽、P抗原家族成员4(PAGE4)多肽、血管内皮生长因子受体2(VEGF2)多肽、MAD-CT-1多肽、成纤维细胞活化蛋白(FAP)多肽、血小板衍生生长因子受体 β (PDGF β)多肽、MAD-CT-2多肽或Fos-相关抗原-1(FOSL)多肽。在一些情况下,人乳头瘤病毒(HPV)抗原被明确排除在外。在一些情况下,甲胎蛋白(AFP)抗原被明确排除在外。在一些情况下,威尔姆氏瘤-1(WT1)抗原被明确排除在外。

[0311] 癌症相关抗原的氨基酸序列是本领域中已知的;参见,例如MUC1(GenBank CAA56734);LMP2(GenBank CAA47024);EGFRvIII(GenBank NP_001333870);HER-2/neu(GenBank AAI67147);MAGE-A3(GenBank AAH11744);p53(GenBank BAC16799);NY-ESO-1(GenBank CAA05908);PSMA(GenBank AAH25672);CEA(GenBank AAA51967);melan/MART1

(GenBank NP_005502); Ras (GenBank NP_001123914); gp100 (GenBank AAC60634); bcr-ab1 (GenBank AAB60388); 酪氨酸酶 (GenBank AAB60319); 生存素 (GenBank AAC51660); PSA (GenBank CAD54617); hTERT (GenBank BAC11010); SSX (GenBank NP_001265620); Eph2A (GenBank NP_004422); PAP (GenBank AAH16344); ML-IAP (GenBank AAH14475); EpCAM (GenBank NP_002345); ERG (TMPRSS2 ETS融合) (GenBank ACA81385); PAX3 (GenBank AAI01301); ALK (GenBank NP_004295); 雄激素受体 (GenBank NP_000035); 细胞周期素B1 (GenBank CA099273); MYCN (GenBank NP_001280157); RhoC (GenBank AAH52808); TRP-2 (GenBank AAC60627); 间皮素 (GenBank AAH09272); PSCA (GenBank AAH65183); MAGE A1 (GenBank NP_004979); CYP1B1 (GenBank AAM50512); PLAC1 (GenBank AAG22596); BORIS (GenBank NP_001255969); ETV6 (GenBank NP_001978); NY-BR1 (GenBank NP_443723); SART3 (GenBank NP_055521); 碳酸酐酶IX (GenBank EAW58359); PAX5 (GenBank NP_057953); OY-TES1 (GenBank NP_115878); 精子蛋白17 (GenBank AAK20878); LCK (GenBank NP_001036236); HMW-MAA (GenBank NP_001888); AKAP-4 (GenBank NP_003877); SSX2 (GenBank CAA60111); XAGE1 (GenBank NP_001091073; XP_001125834; XP_001125856; 和XP_001125872); B7H3 (GenBank NP_001019907; XP_947368; XP_950958; XP_950960; XP_950962; XP_950963; XP_950965; 和XP_950967); LGMN1 (GenBank NP_001008530); TIE-2 (GenBank NP_000450); PAGE4 (GenBank NP_001305806); VEGFR2 (GenBank NP_002244); MAD-CT-1 (GenBank NP_005893NP_056215); FAP (GenBank NP_004451); PDGFB (GenBank NP_002600); MAD-CT-2 (GenBank NP_001138574); 以及FOSL (GenBank NP_005429)。这些多肽还论述于例如Cheever等人(2009) Clin. Cancer Res. 15:5323及其中引用的参考文献; Wagner等人(2003) J. Cell. Sci. 116:1653; Matsui等人(1990) Oncogene 5:249; Zhang等人(1996) Nature 383:168中。

[0312] 适合的表位包括但不限于传染性疾病病原体中存在的表位, 例如, 由病毒编码多肽递呈的表位。病毒传染性疾病病原体的实例包括例如: 腺病毒、腺相关病毒、甲病毒(囊膜病毒)、东部马脑炎病毒、东部马脑脊髓炎病毒、委内瑞拉马脑脊髓炎疫苗株TC-83、西部马脑脊髓炎病毒、沙粒病毒、淋巴细胞性脉络膜脑膜炎病毒(嗜神经性毒株)、塔卡里伯(Tacaribe)病毒复合体、布尼亚病毒(Bunyaviruses)、布尼奥罗(Bunyamwera)病毒、裂谷热病毒疫苗株MP-12、基孔肯雅热(Chikungunya)病毒、卡西病毒(Calciviruses)、冠状病毒、牛痘病毒、黄病毒(囊膜病毒)-B组虫媒病毒、登革热病毒血清型1、2、3和4、黄热病病毒疫苗株17D、甲型、乙型、丙型、丁型和戊型肝炎病毒、巨细胞病毒、爱泼斯坦巴尔病毒、东方马脑炎病毒、1型和2型单纯疱疹、带状疱疹、6型和7型人类疱疹病毒、丙型肝炎病毒(HVC)、乙型肝炎病毒(HBV)、甲型、乙型和丙型流感病毒、乳多空病毒、新城鸡瘟病毒、麻疹病毒、腮腺炎病毒、1、2、3和4型副流感病毒、多瘤病毒(JC病毒, BK病毒)、呼吸道合胞病毒、人类细小病毒(B 19)、柯萨奇病毒A型和B型、艾柯病毒、脊髓灰质炎病毒、鼻病毒、亚天花(小天花病毒)、天花(重型天花病毒)、白痘呼肠孤病毒、科婢病毒(Coltivirus)、人轮状病毒和环状病毒(科罗拉多婢传热病毒)、狂犬病病毒、水泡性口炎病毒、风疹病毒(风疹)、塞姆利基森林病毒、圣路易斯脑炎病毒、委内瑞拉马脑炎病毒、委内瑞拉马脑脊髓炎病毒、沙粒病毒(又称南美出血热病毒)、淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒(LCM)(嗜神经性毒株)、汉坦病毒属包括汉坦病毒、裂谷热病毒、日本脑炎病毒、黄热病病毒、猴痘病毒、人免疫缺陷病毒(HIV) 1型和2

型、人类嗜T淋巴细胞病毒 (HTLV) 1型和2型、猿猴免疫缺陷病毒 (SIV)、水泡性口炎病毒、瓜纳里托病毒 (Guanarito virus)、拉沙热病毒 (Lassa fever virus)、胡宁病毒 (Junin virus)、马丘波病毒 (Machupo virus)、萨比亚 (Sabia)、克里米亚-刚果出血热病毒、埃博拉病毒、马尔堡病毒、蜱传脑炎病毒复合体 (黄病毒) 包括中欧蜱传脑炎、远东蜱传脑炎、汉扎洛瓦 (Hanzalova)、海普 (Hypr)、库姆灵厄 (Kumlinge)、科萨努尔 (Kyasanur) 森林病、鄂木斯克 (Omsk) 出血热和俄罗斯春夏季脑炎病毒、猴疱疹病毒 (疱疹B病毒或猴B病毒)、猕猴疱疹病毒1 (Herpes B病毒)、马脑脊髓灰质炎病毒 (亨德拉和类亨德拉病毒)、尼帕病毒、重型天花病毒 (天花病毒)、小天花病毒 (亚天花)、非洲猪瘟病毒、非洲马瘟病毒、赤羽病病毒、禽流感病毒 (高致病性)、蓝舌病毒、骆驼痘病毒、古典猪瘟病毒、反刍动物考德里氏体 (心水病)、口蹄疫病毒、山羊痘病毒、日本脑炎病毒、结节性皮肤病病毒、恶性卡他热病毒、梅南高病毒 (Menangle virus)、新城疫病毒 (VVND)、水泡性口炎病毒 (外来) 和寨卡病毒。由这种病毒编码的抗原是本领域中已知的; 适用于本公开的TMMP中的肽表位可以包括来自任何已知病毒抗原的肽。在一些情况下, HPV抗原被明确排除在外。在一些情况下, HBV抗原被明确排除在外。

[0313] 在一些情况下, 存在于本公开的TMMP中的表位肽递呈对HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-E、HLA-F或HLA-G等位基因有特异性的表位。在一个实施方案中, 存在于TMMP中的表位肽递呈限于HLA-A*0101、A*0201、A*0301、A*1101、A*2301、A*2402、A*2407、A*3303和/或A*3401的表位。在一个实施方案中, 存在于TMMP中的表位肽递呈限于HLA-B*0702、B*0801、B*1502、B*3802、B*4001、B*4601和/或B*5301的表位。在一个实施方案中, 存在于TMMP中的表位肽递呈限于C*0102、C*0303、C*0304、C*0401、C*0602、C*0701、C*702、C*0801和/或C*1502的表位。

[0314] HLA/肽结合测定

[0315] 给定肽 (例如, 包含表位的肽) 是否结合I类HLA (包含HLA重链和B2M多肽) 及在结合至HLA复合物时是否可有效递呈表位至TCR可使用许多公知方法中的任一种来确定。测定包括结合测定和T细胞活化测定。

[0316] 基于细胞的结合测定

[0317] 作为一个实例, 基于细胞的肽诱导稳定性测定可用于确定肽-HLA I类结合。在此测定中, 允许目标肽结合至TAP缺陷型细胞, 即具有与抗原加工 (TAP) 机构相关的缺陷型转运蛋白且因此具有更少表面I类分子的细胞。此类细胞包括例如人T2细胞系 (T2 (174xCEM.T2; 美国模式培养物保藏中心 (ATCC) 编号CRL-1992)。Henderson等人 (1992) Science 255:1264。在未将胞质肽缺陷型TAP介导转运至内质网中的情况下, 组装的I类复合物是结构上不稳定的, 且在细胞表面上仅瞬时保留。然而, 当T2细胞与能够结合I类的外源肽一起培育时, 表面肽-HLA I类复合物为稳定的且可通过流动式细胞测量术, 使用例如泛抗I类单克隆抗体来检测。通过添加肽使细胞表面上的肽-HLA复合物具有稳定性及随之而来的延长的寿命, 由此验证了其身份。分析可使用流动式细胞测量术进行, 例如其中pan-HLA I类抗体包含荧光标记。肽与HLA H链的各种等位基因形式的结合可通过基因修饰T2细胞以表达目标等位基因HLA H链来进行测试。

[0318] 以下为T2测定评定肽与HLA A*0201的结合的用途的非限制性实例。将T2细胞在细胞培养基中洗涤, 且浓缩至 10^6 个细胞/ml。将目标肽在细胞培养基中制备且连续稀释, 从而

提供浓度200 μ M、100 μ M、20 μ M及2 μ M。将细胞与各肽稀释液1:1混合以得到200 μ L最终体积及100 μ M、50 μ M、10 μ M及1 μ M最终肽浓度。HLA A*0201结合肽、GILGFVFTL及非-HLA A*0201-限制性肽、HPVGEADYF (HLA-B*3501) 分别作为阳性对照和阴性对照包括在内。将细胞/肽混合物保持在37 $^{\circ}$ C 5%CO₂下十分钟;接着在室温下培育过夜。随后将细胞在37 $^{\circ}$ C下培育2小时且用荧光标记的抗人HLA抗体染色。接着将细胞用磷酸盐缓冲盐水洗涤两次且使用流动式细胞测量术分析。使用抗-HLA抗体染色的平均荧光强度(MFI)测量结合强度。

[0319] 生物化学结合测定

[0320] 可在无细胞的体外测定系统中对HLA多肽(HLA重链多肽与 β 2M多肽的复合物)与目标肽的结合进行测试。举例来说,使标记的参考肽(例如,荧光标记)结合至HLA多肽(HLA重链多肽与 β 2M多肽之复合物),以形成HLA-参考肽复合物。对目标测试肽置换来自HLA-参考肽复合物的标记的参考肽的能力进行测试。相对结合亲和力被计算为置换所结合的参考肽所需的测试肽的量。参见,例如van der Burg等人(1995)Human Immunol.44:189。

[0321] 作为另一实例,目标肽可与HLA分子(HLA重链与 β 2M多肽的复合物)一起培育,且可以免疫测定形式测量HLA/肽复合物的稳定性。将目标肽稳定化HLA分子的能力与递呈已知T细胞表位的对照肽的能力相比较。稳定性的检测是基于使用抗HLA抗体所检测的HLA/肽复合物的天然构象的存在或不存在。参见,例如Westrop等人(2009)J.Immunol.Methods 341:76;Steinitz等人(2012)Blood119:4073;及美国专利号9,205,144。

[0322] T细胞活化测定

[0323] 给定肽是否结合I类HLA(包含HLA重链和 β 2M多肽)及在结合至HLA复合物时是否可有效递呈表位至TCR可通过评定T细胞对肽-HLA复合物的反应来确定。可测量的T细胞反应包括例如干扰素- γ (IFN γ)产生、细胞毒性活性等。

[0324] ELISPOT测定

[0325] 适合的测定包括例如酶联免疫斑点(ELISPOT)测定。在此测定中,在递呈目标肽与HLA I类的复合物的抗原递呈细胞(APC)之后测量CD8⁺T细胞的IFN γ 产生。将IFN γ 的抗体固定在多孔板的孔上。将APC添加至孔中,且将其与目标肽一起培育一段时间,使得该肽结合APC表面上的HLA I类。将该肽具有特异性的CD8⁺T细胞添加至孔中,且将该板培育约24小时。接着洗涤这些孔,且使用可检测标记的抗IFN γ 抗体检测结合至固定的抗IFN γ 抗体的任何IFN γ 。可使用比色测定。举例来说,可检测标记的抗IFN γ 抗体可为生物素标记的抗IFN γ 抗体,其可使用例如缀合至碱性磷酸酶的链亲和素来检测。添加BCIP/NBT(5-溴-4-氯-3-吡啶基磷酸酯/硝基蓝四唑鎓)溶液,以使测定显色。IFN γ 分泌T细胞的存在通过色斑来鉴定。阴性对照包括未与该肽接触的APC。可使用表达各种HLA H链等位基因的APC来确定目标肽是否有效结合至包含特定HLA H链的HLA I类分子。

[0326] 细胞毒性测定

[0327] 给定肽是否结合至特定HLA I类H链及在结合至包含H链的HLA I类复合物时是否可有效递呈表位至TCR也可使用细胞毒性测定来确定。细胞毒性测定涉及将靶细胞与细胞毒性CD8⁺T细胞一起培育。靶细胞在其表面上展示出包含目标肽的肽/HLA I类复合物及包含有待测试的HLA H链的HLA I类分子。靶细胞可被放射性标记,例如⁵¹Cr放射性标记。靶细胞是否有效递呈表位至细胞毒性CD8⁺T细胞上的TCR,从而由CD8⁺T细胞诱导针对靶细胞的细胞毒性活性,是通过测量⁵¹Cr从裂解的靶细胞的释放来确定。特异性细胞毒性可被计算为肽

存在下细胞毒性活性的量减去肽不存在下细胞毒性活性的量。

[0328] 用肽-HLA四聚体检测抗原特异性T细胞

[0329] 作为另一实例,使用荧光或重金属标签生成肽-HLA复合物的多聚体(例如,四聚体)。接着可使用多聚体经由流动式细胞测量术(FACS)或质量细胞计数(CyTOF)鉴别及定量特异性T细胞。表位特异性T细胞之检测提供肽结合的HLA分子能够结合至抗原特异性T细胞子集上的特异性TCR的直接证据。参见,例如Klenerman等人(2002)Nature Reviews Immunol.2:263。

[0330] 免疫调节多肽

[0331] 在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的免疫调节多肽为野生型免疫调节多肽。在其他情况下,存在于本公开的TMMP中的免疫调节多肽为对共免疫调节多肽的亲合力与相应野生型免疫调节多肽对共免疫调节多肽的亲合力相比有所减小的变异免疫调节多肽。呈现出对共免疫调节结构域的减小亲和力的适合的免疫调节结构域可具有与野生型免疫调节结构域相比的1个氨基酸(aa)至20aa差异。举例来说,在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽的氨基酸序列与相应野生型免疫调节多肽相差1aa、2aa、3aa、4aa、5aa、6aa、7aa、8aa、9aa或10aa。作为另一实例,在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽的氨基酸序列与相应野生型免疫调节多肽相差11aa、12aa、13aa、14aa、15aa、16aa、17aa、18aa、19aa或20aa。作为一个实例,在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽与相应参考(例如野生型)免疫调节多肽相比包括1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽与相应参考(例如野生型)免疫调节多肽相比包括单一氨基酸取代。在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽与相应参考(例如野生型)免疫调节多肽相比包括2个氨基酸取代(例如,不多于2个氨基酸取代)。在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽与相应参考(例如野生型)免疫调节多肽相比包括3个氨基酸取代(例如,不多于3个氨基酸取代)。在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽与相应参考(例如野生型)免疫调节多肽相比包括4个氨基酸取代(例如,不多于4个氨基酸取代)。在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽与相应参考(例如野生型)免疫调节多肽相比包括5个氨基酸取代(例如,不多于5个氨基酸取代)。在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽与相应参考(例如野生型)免疫调节多肽相比包括6个氨基酸取代(例如,不多于6个氨基酸取代)。在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽与相应参考(例如野生型)免疫调节多肽相比包括7个氨基酸取代(例如,不多于7个氨基酸取代)。在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽与相应参考(例如野生型)免疫调节多肽相比包括8个氨基酸取代(例如,不多于8个氨基酸取代)。在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽与相应参考(例如野生型)免疫调节多肽相比包括9个氨基酸取代(例如,不多于9个氨基酸取代)。在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽与相应参考(例如野生型)免疫调节多肽相比包括10个氨基酸取代(例如,不多于10个氨基酸取代)。

[0332] 在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽与相应参考(例如野生型)免疫调节多肽相比包括11个氨基酸取代(例如,不多于11个氨基酸取代)。

[0333] 在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽与相应参考(例如野

生型)免疫调节多肽相比包括12个氨基酸取代(例如,不多于12个氨基酸取代)。

[0334] 在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽与相应参考(例如野生型)免疫调节多肽相比包括13个氨基酸取代(例如,不多于13个氨基酸取代)。

[0335] 在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽与相应参考(例如野生型)免疫调节多肽相比包括14个氨基酸取代(例如,不多于14个氨基酸取代)。

[0336] 在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽与相应参考(例如野生型)免疫调节多肽相比包括15个氨基酸取代(例如,不多于15个氨基酸取代)。

[0337] 在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽与相应参考(例如野生型)免疫调节多肽相比包括16个氨基酸取代(例如,不多于16个氨基酸取代)。

[0338] 在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽与相应参考(例如野生型)免疫调节多肽相比包括17个氨基酸取代(例如,不多于17个氨基酸取代)。

[0339] 在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽与相应参考(例如野生型)免疫调节多肽相比包括18个氨基酸取代(例如,不多于18个氨基酸取代)。

[0340] 在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽与相应参考(例如野生型)免疫调节多肽相比包括19个氨基酸取代(例如,不多于19个氨基酸取代)。

[0341] 在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽与相应参考(例如野生型)免疫调节多肽相比包括20个氨基酸取代(例如,不多于20个氨基酸取代)。

[0342] 如上文所讨论,适于包含在本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽呈现出的对同源共免疫调节多肽的亲合力与相应野生型免疫调节多肽对同源共免疫调节多肽的亲合力相比有所减小。

[0343] 免疫调节多肽与同源共免疫调节多肽的示例性对包括但不限于:

[0344] a) 4-1BBL(免疫调节多肽)与4-1BB(同源共免疫调节多肽);

[0345] b) PD-L1(免疫调节多肽)与PD1(同源共免疫调节多肽);

[0346] c) IL-2(免疫调节多肽)与IL-2受体(同源共免疫调节多肽);

[0347] d) CD80(免疫调节多肽)与CD86(同源共免疫调节多肽);

[0348] e) CD86(免疫调节多肽)与CD28(同源共免疫调节多肽);

[0349] f) OX40L(CD252)(免疫调节多肽)与OX40(CD134)(同源共免疫调节多肽);

[0350] g) Fas配体(免疫调节多肽)与Fas(同源共免疫调节多肽);

[0351] h) ICOS-L(免疫调节多肽)与ICOS(同源共免疫调节多肽);

[0352] i) ICAM(免疫调节多肽)与LFA-1(同源共免疫调节多肽);

[0353] j) CD30L(免疫调节多肽)与CD30(同源共免疫调节多肽);

[0354] k) CD40(免疫调节多肽)与CD40L(同源共免疫调节多肽);

[0355] l) CD83(免疫调节多肽)与CD83L(同源共免疫调节多肽);

[0356] m) HVEM(CD270)(免疫调节多肽)与CD160(同源共免疫调节多肽);

[0357] n) JAG1(CD339)(免疫调节多肽)与Notch(同源共免疫调节多肽);

[0358] o) JAG1(免疫调节多肽)与CD46(同源共免疫调节多肽);

[0359] p) CD80(免疫调节多肽)与CTLA4(同源共免疫调节多肽);

[0360] q) CD86(免疫调节多肽)与CTLA4(同源共免疫调节多肽);及

[0361] r) CD70(免疫调节多肽)与CD27(同源共免疫调节多肽)。

[0362] 在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽对同源共免疫调节多肽具有的结合亲和力为100nM至100 μ M。举例来说,在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽对同源共免疫调节多肽具有的结合亲和力为约100nM至150nM、约150nM至约200nM、约200nM至约250nM、约250nM至约300nM、约300nM至约350nM、约350nM至约400nM、约400nM至约500nM、约500nM至约600nM、约600nM至约700nM、约700nM至约800nM、约800nM至约900nM、约900nM至约1 μ M至约1 μ M至约5 μ M、约5 μ M至约10 μ M、约10 μ M至约15 μ M、约15 μ M至约20 μ M、约20 μ M至约25 μ M、约25 μ M至约50 μ M、约50 μ M至约75 μ M、或约75 μ M至约100 μ M。

[0363] 存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽呈现出对同源共免疫调节多肽的减小的亲和力。类似地,本公开的包含变异免疫调节多肽的TMMP呈现出对同源共免疫调节多肽的减小的亲和力。因此,举例来说,本公开的包含变异免疫调节多肽的TMMP对同源共免疫调节多肽具有的结合亲和力为100nM至100 μ M。举例来说,在一些情况下,本公开的包含变异免疫调节多肽的TMMP对同源共免疫调节多肽具有以下结合亲和力:约100nM至150nM、约150nM至约200nM、约200nM至约250nM、约250nM至约300nM、约300nM至约350nM、约350nM至约400nM、约400nM至约500nM、约500nM至约600nM、约600nM至约700nM、约700nM至约800nM、约800nM至约900nM、约900nM至约1 μ M至约1 μ M至约5 μ M、约5 μ M至约10 μ M、约10 μ M至约15 μ M、约15 μ M至约20 μ M、约20 μ M至约25 μ M、约25 μ M至约50 μ M、约50 μ M至约75 μ M、或约75 μ M至约100 μ M。

[0364] 如图14示意性示出,免疫调节多肽(即,一种或多种免疫调节多肽)可存在于本公开的TMMP的多个位置中的任一个处。图14描绘变异IL-2多肽的两个副本的位置;然而,免疫调节多肽可为如本文所述的多种免疫调节多肽中的任一种。如图14所描绘,免疫调节多肽可:1)在I类MHC重链的N端;2)在I类MHC重链的C端和Ig Fc多肽的N端;换句话说,介于I类MHC重链与Ig Fc多肽之间;3)在Ig Fc多肽的C端;4)在肽表位的N端;或5)在 β 2M多肽的C端。

[0365] PD-L1变体

[0366] 作为一非限制性实例,在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽为变体PD-L1多肽。野生型PD-L1结合至PD1。

[0367] 野生型人PD-L1多肽可包含以下氨基酸序列:MRIFAVFIFM TYWHELLNAFT VTVPKDLVYV EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL AALIVYWEME DKNIIQFVHG EEDLKVQHSS YRQRARLLKD QLSLGNAALQ ITDVKLQDAG VYRCMISYGG ADYKRITVKV NAPYNKINQR ILVVDPTSE HELTCQAEGY PKAEVIWTSS DHQVLSGKTT TTNSKREEKL FNVSTLRIN TTTNEIFYCT FRRLDPEENH TAEVIPGNI LNVSIIKICLT LSPST (SEQ ID NO:1)。

[0368] 野生型人PD-L1胞外结构域可包含以下氨基酸序列:FT VTVPKDLVYV EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL AALIVYWEME DKNIIQFVHG EEDLKVQHSS YRQRARLLKD QLSLGNAALQ ITDVKLQDAG VYRCMISYGG ADYKRITVKV NAPYNKINQR ILVVDPTSE HELTCQAEGY PKAEVIWTSS DHQVLSGKTT TTNSKREEKL FNVSTLRIN TTTNEIFYCT FRRLDPEENH TAEVIPGNI LNVSIIKI (SEQ ID NO:2)。

[0369] 野生型PD-1多肽可包含以下氨基酸序列:PGWFLDSPDR PWNPTFSPA LLVTEGDNA TFTCSFSNTS ESFVLNRYM SPSNQTDKLA AFPEDRSQPG QDCFRFVTQL PNGRDFHMSV VRARRNDSGT YLCGAISLAP KAQIKESLRA ELRVTERRAE VPTAHPSPSP RPAGQFQTLV VGVVGGLLGS LVLLVWVLAV ICSRAARGTI GARRTGQPLK EDPSAVPVFS VDYGELDFQW REKTPEPPVP CVPEQTEYAT IVFPSGMGTS SPARRGSADG PRSAQPLRPE DGHCSWPL (SEQ ID NO:3)。在一些情况下,在本公开的TMMP包含变体PD-L1多肽时,“同源共免疫调节多肽”为包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的PD-1多肽。

[0370] 在一些情况下,变体PD-L1多肽呈现出与PD-1(例如,包含SEQ ID NO:3中列出的氨基酸序列的PD-1多肽)的结合亲和力与包含SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2中列出的氨基酸序列的PD-L1多肽的结合亲和力相比有所减小。举例来说,在一些情况下,本公开的变体PD-L1多肽结合PD-1(例如,包含SEQ ID NO:3中列出的氨基酸序列的PD-1多肽)的结合亲和力比包含SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2中列出的氨基酸序列的PD-L1多肽的结合亲和力小至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、小至少50%、小至少55%、小至少60%、小至少65%、小至少70%、小至少75%、小至少80%、小至少85%、小至少90%、小至少95%或小大于95%。

[0371] 在一些情况下,变体PD-L1多肽对PD-1具有的结合亲和力为1nM至1mM。在一些情况下,本公开的变体PD-L1多肽对PD-1具有的结合亲和力为100nM至100μM。作为另一实例,在一些情况下,变体PD-L1多肽对PD1(例如,包含SEQ ID NO:3中列出的氨基酸序列的PD1多肽)具有的结合亲和力为约100nM至150nM、约150nM至约200nM、约200nM至约250nM、约250nM至约300nM、约300nM至约350nM、约350nM至约400nM、约400nM至约500nM、约500nM至约600nM、约600nM至约700nM、约700nM至约800nM、约800nM至约900nM、约900nM至约1μM至约1μM至约5μM、约5μM至约10μM、约10μM至约15μM、约15μM至约20μM、约20μM至约25μM、约25μM至约50μM、约50μM至约75μM、或约75μM至约100μM。

[0372] 在一些情况下,变体PD-L1多肽与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2中列出的PD-L1氨基酸序列相比具有单一氨基酸取代。在一些情况下,变体PD-L1多肽与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2中列出的PD-L1氨基酸序列相比具有2至10个氨基酸取代。在一些情况下,变体PD-L1多肽与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2中列出的PD-L1氨基酸序列相比具有2个氨基酸取代。在一些情况下,变体PD-L1多肽与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2中列出的PD-L1氨基酸序列相比具有3个氨基酸取代。在一些情况下,变体PD-L1多肽与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2中列出的PD-L1氨基酸序列相比具有4个氨基酸取代。在一些情况下,变体PD-L1多肽与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2中列出的PD-L1氨基酸序列相比具有5个氨基酸取代。在一些情况下,变体PD-L1多肽与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2中列出的PD-L1氨基酸序列相比具有6个氨基酸取代。在一些情况下,变体PD-L1多肽与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2中列出的PD-L1氨基酸序列相比具有7个氨基酸取代。在一些情况下,变体PD-L1多肽与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2中列出的PD-L1氨基酸序列相比具有8个氨基酸取代。在一些情况下,变体PD-L1多肽与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2中列出的PD-L1氨基酸序列相比具有9个氨基酸取代。在一些情况下,变体PD-L1多肽与SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2中列出的PD-L1氨基酸序列相比具有10个氨基酸取代。

[0373] 适合的PD-L1变体包括一种多肽,其包含与以下氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

FT VTPVK~~X~~LYVV EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL AALIVYWEME DKNIIQFVHG

[0374] EEDLKVQHSS YRQRARLLKD QLSLGNAALQ ITDVKLQDAG VYRCMISYGG ADYKRITVKV
NAPYNKINQR ILVVDPTSE HELTCQAEGY PKAEVIWTSS DHQVLSGKTT TTNSKREEKL
FNVSTLRIN TTTNEIFYCT FRRLDPEENH TAEVIPGNI LNVSIKI (SEQ ID NO:
52),其中X为除了Asp以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala。在一些情况下,X为Arg。

[0375] 适合的PD-L1变体包括一种多肽,其包含与以下氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

FT VTVPKDLYVV EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL AALXVYWEME DKNIIQFVHG

[0376] EEDLKVQHSS YRQRARLLKD QLSLGNAALQ ITDVKLQDAG VYRCMISYGG ADYKRITVKV
NAPYNKINQR ILVVDPVTSE HELTCQAEGY PKAEVIWTSS DHQVLSGKTT TTNSKREEKL
FNVSTLRLIN TTTNEIFYCT FRRLDPEENH TAEIVIPGNI LNVSIKI (SEQ ID NO:
53),其中X为除了Ile以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Asp。

[0377] 适合的PD-L1变体包括一种多肽,其包含与以下氨基酸序列具有至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

FT VTVPKDLYVV EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL AALIVYWEME DKNIIQFVHG

[0378] EXDLKVQHSS YRQRARLLKD QLSLGNAALQ ITDVKLQDAG VYRCMISYGG ADYKRITVKV
NAPYNKINQR ILVVDPVTSE HELTCQAEGY PKAEVIWTSS DHQVLSGKTT TTNSKREEKL
FNVSTLRLIN TTTNEIFYCT FRRLDPEENH TAEIVIPGNI LNVSIKI (SEQ ID NO:
54),其中X为除了Glu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Arg。

[0379] CD80变体

[0380] 在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽为变体CD80多肽。野生型CD80结合至CD28。野生型CD80还结合至CD86。

[0381] 人CD80的胞外结构域的野生型氨基酸序列可为如下:

[0382] VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIIYWQKEK KMLVTMMSGD MNIWPEYKNR
TIFDITNLS IVILALRPSD EGTIECVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF EIPTSNIIRI
ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN
WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:4)。

[0383] 野生型CD28氨基酸序列可为如下:

MLRLLLALNL FPSIQVTGK

ILVKQSPMLV AYDNAVNLSK KYSYNLFSRE FRASLHKGLD SAVEVCVVYV NYSQQLQVYS

KTGFNCDGKL GNEVTFYVLY NLYVNQTDIY FCKIEVMYPP PYLDNEKSNG TIIHVKGKHL

CPSPFLFPGPS KPFWLVVVV GVLACYSLLV TVAFIIFWVR SKRSRLLHSD YMNMTPRRPG

PTRKHYPYA PPRDFAAYRS (SEQ ID NO:5)。在一些情况下,在本公开的TMMP包含

变体CD80多肽时,“同源共免疫调节多肽”为包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的CD28多肽。

[0384] 野生型CD28氨基酸序列可为如下:MLRLLLALNL FPSIQVTGK ILVKQSPMLV
AYDNAVNLSW KHLCPSPFLP GPSKPFWLV VGGVLACYS LLTVAFIIF WVRSKRSRLL HSDYMNMTPR
RPGPTRKHYPY APPRDFAA YRS (SEQ ID NO:6)

[0385] 野生型CD28氨基酸序列可为如下:MLRLLLALNL FPSIQVTGKH LCPSPFLFPGP
SKPFWLVVVV GVLACYSLL TVAFIIFWV RSKRSRLLHS DYMNMTPRRPG PTRKHYPY APPRDFAA YRS
(SEQ ID NO:7)。

[0386] 在一些情况下,变体CD80多肽表现出对CD28的结合亲和力与包含SEQ ID NO:4中列出的氨基酸序列的CD80多肽对CD28的结合亲和力相比有所减小。举例来说,在一些情况

下,变体CD80多肽结合CD28的结合亲和力比包含SEQ ID NO:4中列出的氨基酸序列的CD80多肽对CD28(例如,包含SEQ ID NO:5、6或7中的一个列出的氨基酸序列的CD28多肽)的结合亲和力小至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、小至少50%、小至少55%、小至少60%、小至少65%、小至少70%、小至少75%、小至少80%、小至少85%、小至少90%、小至少95%或小大于95%。

[0387] 在一些情况下,变体CD80多肽对CD28具有的结合亲和力为100nM至100μM。作为另一实例,在一些情况下,本公开的变体CD80多肽对CD28(例如,包含SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6或SEQ ID NO:7中列出的氨基酸序列的CD28多肽)具有的结合亲和力为约100nM至150nM、约150nM至约200nM、约200nM至约250nM、约250nM至约300nM、约300nM至约350nM、约350nM至约400nM、约400nM至约500nM、约500nM至约600nM、约600nM至约700nM、约700nM至约800nM、约800nM至约900nM、约900nM至约1μM至约1μM至约5μM、约5μM至约10μM、约10μM至约15μM、约15μM至约20μM、约20μM至约25μM、约25μM至约50μM、约50μM至约75μM、或约75μM至约100μM。

[0388] 在一些情况下,变体CD80多肽与SEQ ID NO:4中列出的CD80氨基酸序列相比具有单一氨基酸取代。在一些情况下,变体CD80多肽与SEQ ID NO:4中列出的CD80氨基酸序列相比具有2至10个氨基酸取代。在一些情况下,变体CD80多肽与SEQ ID NO:4中列出的CD80氨基酸序列相比具有2个氨基酸取代。在一些情况下,变体CD80多肽与SEQ ID NO:4中列出的CD80氨基酸序列相比具有3个氨基酸取代。在一些情况下,变体CD80多肽与SEQ ID NO:4中列出的CD80氨基酸序列相比具有4个氨基酸取代。在一些情况下,变体CD80多肽与SEQ ID NO:4中列出的CD80氨基酸序列相比具有5个氨基酸取代。在一些情况下,变体CD80多肽与SEQ ID NO:4中列出的CD80氨基酸序列相比具有6个氨基酸取代。在一些情况下,变体CD80多肽与SEQ ID NO:4中列出的CD80氨基酸序列相比具有7个氨基酸取代。在一些情况下,变体CD80多肽与SEQ ID NO:4中列出的CD80氨基酸序列相比具有8个氨基酸取代。在一些情况下,变体CD80多肽与SEQ ID NO:4中列出的CD80氨基酸序列相比具有9个氨基酸取代。在一些情况下,变体CD80多肽与SEQ ID NO:4中列出的CD80氨基酸序列相比具有10个氨基酸取代。

[0389] 适合的CD80变体包括一种多肽,其包含与以下氨基酸序列中的任一个具有至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0390] VIHGTK EVKEVATLSC GHXVSVEELA QTRIIWQKEK KMLVTMMSGD MNIWPEYKNR TIFDITNLS IVILALRPSD EGTIECVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF EIPTSNIIRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:55),其中X为除了Asn以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0391] VIHGTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIIWQKEK KMLVTMMSGD MNIWPEYKNR TIFDITXNLS IVILALRPSD EGTIECVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF EIPTSNIIRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:56),其中X为除了Asn以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0392] VIHGTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIIWQKEK KMLVTMMSGD MNIWPEYKNR

TIFDITNNLS XVILALRPSD EGYECVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF EIPTSNIIRI
ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN
WN^{TTKQEHFP} DN (SEQ ID NO:57), 其中X为除了Ile以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为
Ala;

[0393] VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIIYWQKEK KMLVTMMSGD MNIWPEYKNR
TIFDITNNLS IVILALRPSD EGYECVVLX YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF EIPTSNIIRI
ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN
WN^{TTKQEHFP} DN (SEQ ID NO:58), 其中X为除了Lys以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为
Ala;

[0394] VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIIYWQKEK KMLVTMMSGD MNIWPEYKNR
TIFDITNNLS IVILALRPSD EGYECVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF EIPTSNIIRI
ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS XDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN
WN^{TTKQEHFP} DN (SEQ ID NO:60), 其中X为除了Gln以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为
Ala;

[0395] VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIIYWQKEK KMLVTMMSGD MNIWPEYKNR
TIFDITNNLS IVILALRPSD EGYECVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF EIPTSNIIRI
ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QXPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN
WN^{TTKQEHFP} DN (SEQ ID NO:61), 其中X为除了Asp以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为
Ala;

[0396] VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSVEEXA QTRIIYWQKEK KMLVTMMSGD MNIWPEYKNR
TIFDITNNLS IVILALRPSD EGYECVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF EIPTSNIIRI
ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN
WN^{TTKQEHFP} DN (SEQ ID NO:62), 其中X为除了Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为
Ala;

[0397] VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIIXWQKEK KMLVTMMSGD MNIWPEYKNR
TIFDITNNLS IVILALRPSD EGYECVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF EIPTSNIIRI
ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN
WN^{TTKQEHFP} DN (SEQ ID NO:63), 其中X为除了Tyr以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为
Ala;

[0398] VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIIYWXKEK KMLVTMMSGD MNIWPEYKNR
TIFDITNNLS IVILALRPSD EGYECVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF EIPTSNIIRI
ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN
WN^{TTKQEHFP} DN (SEQ ID NO:64), 其中X为除了Gln以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为
Ala;

[0399] VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIIYWQKEK KXVLTMMSGD MNIWPEYKNR
TIFDITNNLS IVILALRPSD EGYECVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF EIPTSNIIRI
ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN
WN^{TTKQEHFP} DN (SEQ ID NO:65), 其中X为除了Met以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为
Ala;

[0400] VIHGTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIIWQKEK KM \underline{X} LTMMMSGD MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTIECVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF EIPTSNIIRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:66), 其中X为除了Val以外的任何氨基酸。在一些情况下, X为Ala;

[0401] VIHGTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIIWQKEK KMVLTMMMSGD MN \underline{X} WPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTIECVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF EIPTSNIIRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:67), 其中X为除了Ile以外的任何氨基酸。在一些情况下, X为Ala;

[0402] VIHGTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIIWQKEK KMVLTMMMSGD MNIWPE \underline{X} KNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTIECVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF EIPTSNIIRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:68), 其中X为除了Tyr以外的任何氨基酸。在一些情况下, X为Ala;

[0403] VIHGTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIIWQKEK KMVLTMMMSGD MNIWPEYKNR TIF \underline{X} ITNNLS IVILALRPSD EGTIECVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF EIPTSNIIRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:69), 其中X为除了Asp以外的任何氨基酸。在一些情况下, X为Ala;

[0404] VIHGTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIIWQKEK KMVLTMMMSGD MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTIECVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA D \underline{X} PTPSISDF EIPTSNIIRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:70), 其中X为除了Phe以外的任何氨基酸。在一些情况下, X为Ala;

[0405] VIHGTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIIWQKEK KMVLTMMMSGD MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTIECVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPTPSISDF EIPTSNIIRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTV \underline{X} QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:71), 其中X为除了Ser以外的任何氨基酸。在一些情况下, X为Ala;且

[0406] VIHGTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIIWQKEK KMVLTMMMSGD MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTIECVVLK YEKDAFKREH LAEVTLSVKA DFPT \underline{X} SISDF EIPTSNIIRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:72), 其中X为除了Pro以外的任何氨基酸。在一些情况下, X为Ala。

[0407] CD86变体

[0408] 在一些情况下, 存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽为变异CD86多肽。野生型CD86结合至CD28。在一些情况下, 在本公开的TMMP包含变异CD86多肽时, “同源共免疫调节多肽”为包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的CD28多肽。

[0409] 野生型人CD86的全胞外结构域的氨基酸序列可为如下：

[0410] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSELVFWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSKYMNRTSFDS
SWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHKKPTGMIRIHQMNSELSVLANSQPEIVPISNITENVYINLTCSIIHGYPEPK
KMSVLLRTKNSTIEYDGMQKSQDNVTELYDVSISLSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPP
DHIP (SEQ ID NO:8)。

[0411] 野生型人CD86的IgV结构域的氨基酸序列可为如下：

[0412] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSELVFWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSKYMNRTSFDS
SWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHKKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:9)。

[0413] 在一些情况下,变异CD86多肽呈现出对CD28的结合亲和力与包含SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:9中列出的氨基酸序列的CD86多肽对CD28的结合亲和力相比有所减小。举例来说,在一些情况下,变异CD86多肽结合CD28的结合亲和力比包含SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:9中列出的氨基酸序列的CD86多肽对CD28 (例如,包含SEQ ID NO:5、6或7中的一个列出的氨基酸序列的CD28多肽)的结合亲和力小至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、小至少50%、小至少55%、小至少60%、小至少65%、小至少70%、小至少75%、小至少80%、小至少85%、小至少90%、小至少95%或小大于95%。

[0414] 在一些情况下,变异CD86多肽对CD28具有的结合亲和力为100nM至100μM。作为另一实例,在一些情况下,本公开的变异CD86多肽对CD28 (例如,包含SEQ ID NO:5、6或7中的一个列出的氨基酸序列的CD28多肽)具有的结合亲和力为约100nM至150nM、约150nM至约200nM、约200nM至约250nM、约250nM至约300nM、约300nM至约350nM、约350nM至约400nM、约400nM至约500nM、约500nM至约600nM、约600nM至约700nM、约700nM至约800nM、约800nM至约900nM、约900nM至约1μM至约1μM至约5μM、约5μM至约10μM、约10μM至约15μM、约15μM至约20μM、约20μM至约25μM、约25μM至约50μM、约50μM至约75μM、或约75μM至约100μM。

[0415] 在一些情况下,变异CD86多肽与SEQ ID NO:8中列出的CD86氨基酸序列相比具有单一氨基酸取代。在一些情况下,变异CD86多肽与SEQ ID NO:8中列出的CD86氨基酸序列相比具有2至10个氨基酸取代。在一些情况下,变异CD86多肽与SEQ ID NO:8中列出的CD86氨基酸序列相比具有2个氨基酸取代。在一些情况下,变异CD86多肽与SEQ ID NO:8中列出的CD86氨基酸序列相比具有3个氨基酸取代。在一些情况下,变异CD86多肽与SEQ ID NO:8中列出的CD86氨基酸序列相比具有4个氨基酸取代。在一些情况下,变异CD86多肽与SEQ ID NO:8中列出的CD86氨基酸序列相比具有5个氨基酸取代。在一些情况下,变异CD86多肽与SEQ ID NO:8中列出的CD86氨基酸序列相比具有6个氨基酸取代。在一些情况下,变异CD86多肽与SEQ ID NO:8中列出的CD86氨基酸序列相比具有7个氨基酸取代。在一些情况下,变异CD86多肽与SEQ ID NO:8中列出的CD86氨基酸序列相比具有8个氨基酸取代。在一些情况下,变异CD86多肽与SEQ ID NO:8中列出的CD86氨基酸序列相比具有9个氨基酸取代。在一些情况下,变异CD86多肽与SEQ ID NO:8中列出的CD86氨基酸序列相比具有10个氨基酸取代。

[0416] 在一些情况下,变异CD86多肽与SEQ ID NO:9中列出的CD86氨基酸序列相比具有单一氨基酸取代。在一些情况下,变异CD86多肽与SEQ ID NO:9中列出的CD86氨基酸序列相比具有2至10个氨基酸取代。在一些情况下,变异CD86多肽与SEQ ID NO:9中列出的CD86氨

氨基酸序列相比具有2个氨基酸取代。在一些情况下,变异CD86多肽与SEQ ID NO:9中列出的CD86氨基酸序列相比具有3个氨基酸取代。在一些情况下,变异CD86多肽与SEQ ID NO:9中列出的CD86氨基酸序列相比具有4个氨基酸取代。在一些情况下,变异CD86多肽与SEQ ID NO:9中列出的CD86氨基酸序列相比具有5个氨基酸取代。在一些情况下,变异CD86多肽与SEQ ID NO:9中列出的CD86氨基酸序列相比具有6个氨基酸取代。在一些情况下,变异CD86多肽与SEQ ID NO:9中列出的CD86氨基酸序列相比具有7个氨基酸取代。在一些情况下,变异CD86多肽与SEQ ID NO:9中列出的CD86氨基酸序列相比具有8个氨基酸取代。在一些情况下,变异CD86多肽与SEQ ID NO:9中列出的CD86氨基酸序列相比具有9个氨基酸取代。在一些情况下,变异CD86多肽与SEQ ID NO:9中列出的CD86氨基酸序列相比具有10个氨基酸取代。

[0417] 适合的CD86变体包括一种多肽,其包含与以下氨基酸序列中的任一个具有至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0418] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSELVFWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSHYMXRTSFSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHKKPTGMIRIHQMNSELSVLNFSQPEIVPISNITENVYINLTCSSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGMQKSQDNVTELYDVSISLSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPPPPDHIP (SEQ ID NO:73),其中X为除了Asn以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0419] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSELVFWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSHYMNRTSFXSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHKKPTGMIRIHQMNSELSVLNFSQPEIVPISNITENVYINLTCSSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGMQKSQDNVTELYDVSISLSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPPPPDHIP (SEQ ID NO:74),其中X为除了Asp以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0420] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSELVFWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSHYMNRTSFSDSXTLRLHNLQIKDKGLYQCIHKKPTGMIRIHQMNSELSVLNFSQPEIVPISNITENVYINLTCSSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGMQKSQDNVTELYDVSISLSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPPPPDHIP (SEQ ID NO:75),其中X为除了Trp以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0421] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSELVFWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSHYMNRTSFSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHKKPTGMIRIHQMNSELSVLNFSQPEIVPISNITENVYINLTCSSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGMQKSQDNVTELYDVSISLSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPPPPDHIP (SEQ ID NO:76),其中X为除了His以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0422] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSELVFWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSHYMXRTSFSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHKKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:77),其中X为除了Asn以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0423] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSELVFWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSHYMNRTSFXSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHKKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:78),其中X为除了Asp以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0424] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSELVFWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSHYMNRTSFSDSXTLRLHNLQIKDKGLYQCIHKKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:79),其中X为除了Trp以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0425] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSELVFWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSHYMNRTSFSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHKKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:80),其中X为除了His以外的

任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0426] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSELVFWQDQENLXLNEVYLGKEKFDSVHSHKYMNRSTFSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVLNFSQPEIVPISNITENVYINLTCSIIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGMQKSQDNVTELYDVSISLSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSPPFSIELEDPPPPDHIP (SEQ ID NO:81),其中X为除了Val以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0427] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSELVFWQDQENLXLNEVYLGKEKFDSVHSHKYMNRSTFSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:82),其中X为除了Val以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0428] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSELVFWXDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSHKYMNRSTFSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVLNFSQPEIVPISNITENVYINLTCSIIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGMQKSQDNVTELYDVSISLSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSPPFSIELEDPPPPDHIP (SEQ ID NO:83),其中X为除了Gln以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0429] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSELVFWXDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSHKYMNRSTFSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:84),其中X为除了Gln以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0430] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSELVWXQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSHKYMNRSTFSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVLNFSQPEIVPISNITENVYINLTCSIIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGMQKSQDNVTELYDVSISLSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSPPFSIELEDPPPPDHIP (SEQ ID NO:85),其中X为除了Phe以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0431] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSELVWXQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSHKYMNRSTFSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:86),其中X为除了Phe以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0432] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSELVFWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSHKYMNRSTFSDSWTXRLHNLQIKDKGLYQCIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVLNFSQPEIVPISNITENVYINLTCSIIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGMQKSQDNVTELYDVSISLSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSPPFSIELEDPPPPDHIP (SEQ ID NO:87),其中X为除了Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0433] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSELVFWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSHKYMNRSTFSDSWTXRLHNLQIKDKGLYQCIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:88),其中X为除了Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0434] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSELVFWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSHKXMYNRSTFSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVLNFSQPEIVPISNITENVYINLTCSIIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGMQKSQDNVTELYDVSISLSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSPPFSIELEDPPPPDHIP (SEQ ID NO:89),其中X为除了Tyr以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0435] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSELVFWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSHKXMYNRSTFSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:90),其中X为除了Tyr以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0436] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSELVFWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSHKXMYNRSTFSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHXKKPTGMIRIHQMNSELSVLNFSQPEIVPISNITENVYINLTCSIIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGMQKSQDNVTELYDVSISLSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSPPFSIELEDPPPPDHIP (SEQ ID NO:91),其中X为除了Tyr以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

DHIP (SEQ ID NO:91), 其中第一X为除了Asn以外的任何氨基酸且第二X为除了His以外的任何氨基酸。在一些情况下, 第一X和第二X两者皆为Ala;

[0437] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSELVFWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSHKYMRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCI IHX₁KKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:92), 其中第一X为除了Asn以外的任何氨基酸且第二X为除了His以外的任何氨基酸。在一些情况下, 第一X和第二X两者皆为Ala;

[0438] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSELVFWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSHKYMNRTSFX₁SDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCI IHX₂KKPTGMIRIHQMNSELSVLANSQPEIVPISNITENVYINLTCSSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGMQKSQDNVTELYDVSISLSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPPQPPDHIP (SEQ ID NO:93), 其中X₁为除了Asp以外的任何氨基酸且X₂为除了His以外的任何氨基酸。在一些情况下, X₁为Ala且X₂为Ala;

[0439] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSELVFWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSHKYMNRTSFX₁SDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCI IHX₂KKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:94), 其中第一X为除了Asn以外的任何氨基酸且第二X为除了His以外的任何氨基酸。在一些情况下, 第一X和第二X两者皆为Ala;

[0440] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSELVFWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSHKYM_{X₁}RTSFX₂SDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCI IHX₃KKPTGMIRIHQMNSELSVLANSQPEIVPISNITENVYINLTCSSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGMQKSQDNVTELYDVSISLSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPPQPPDHIP (SEQ ID NO:95), 其中X₁为除了Asn以外的任何氨基酸, X₂为除了Asp以外的任何氨基酸, 且X₃为除了His以外的任何氨基酸。在一些情况下, X₁为Ala, X₂为Ala, 且X₃为Ala; 且

[0441] APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSELVFWQDQENLVLNEVYLGKEKFDSVHSHKYM_{X₁}RTSFX₂SDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCI IHX₃KKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:96), 其中X₁为除了Asn以外的任何氨基酸, X₂为除了Asp以外的任何氨基酸, 且X₃为除了His以外的任何氨基酸。在一些情况下, X₁为Ala, X₂为Ala, 且X₃为Ala。

[0442] 4-1BBL变体

[0443] 在一些情况下, 存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽为变异4-1BBL多肽。野生型4-1BBL结合至4-1BB (CD137)。

[0444] 野生型4-1BBL氨基酸序列可为如下: MEYASDASLD PEAPWP PAPRARACRVLPWALVAGLLLLLL LAAACAVFLA CPWAVSGARA SPGSAASPRL REGPELSPDD PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALALTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:10)。

[0445] 在一些情况下, 变异4-1BBL多肽为人4-1BBL的肿瘤坏死因子 (TNF) 同源结构域 (THD) 的变体。

[0446] 人4-1BBL的THD的野生型氨基酸序列可为例如如下SEQ ID NO:11-13中的一个:

[0447] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:11)。

[0448] D PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV

YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQGRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRVTPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:12)。

[0449] D PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQGRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRVTPEIPA (SEQ ID NO:13)。

[0450] 野生型4-1BB氨基酸序列可为如下:MGNSCYNIVA TLLLVLN FER TRSLQDPCSN CPAGTFCDNN RNQICSPCPP NSFSSAGGQRTCDICRQCKG VFRTRKECSS TSNAECDCTP GFHCLGAGCS MCEQDCKQGQ ELTKKGCKDC CFGTFNDQKR GICRPWTNCS LDGKSVLVNG TKERDVVCGP SPADLSPGAS SVTPPAPARE PGHSPQIISF FLALTSTALL FLLFFLTLRF SVVKRGRKKL LYIFKQPFMR PVQTTQEEDG CSCRFPPEEEE GGCEL (SEQ ID NO:14)。在一些情况下,在本公开的TMMP包含变异4-1BBL多肽时,“同源共免疫调节多肽”为包含氨基酸序列SEQ ID NO:14的4-1BB多肽。

[0451] 在一些情况下,变异4-1BBL多肽呈现出对4-1BB的结合亲和力与包含SEQ ID NO:10-13中的一个列出的氨基酸序列的4-1BBL多肽的结合亲和力相比有所减小。举例来说,在一些情况下,当在相同条件下测定时,本公开的变异4-1BBL多肽结合4-1BB的结合亲和力比包含SEQ ID NO:10-13中的一个列出的氨基酸序列的4-1BBL多肽对4-1BB多肽(例如,包含SEQ ID NO:14中列出的氨基酸序列的4-1BB多肽)的结合亲和力小至少10%、小至少15%、小至少20%、小至少25%、小至少30%、小至少35%、小至少40%、小至少45%、小至少50%、小至少55%、小至少60%、小至少65%、小至少70%、小至少75%、小至少80%、小至少85%、小至少90%、小至少95%或小大于95%。

[0452] 在一些情况下,变异4-1BBL多肽对4-1BB具有的结合亲和力为100nM至100 μ M。作为另一实例,在一些情况下,变异4-1BBL多肽对4-1BB(例如,包含SEQ ID NO:14中列出的氨基酸序列的4-1BB多肽)具有的结合亲和力为约100nM至150nM、约150nM至约200nM、约200nM至约250nM、约250nM至约300nM、约300nM至约350nM、约350nM至约400nM、约400nM至约500nM、约500nM至约600nM、约600nM至约700nM、约700nM至约800nM、约800nM至约900nM、约900nM至约1 μ M至约1 μ M至约5 μ M、约5 μ M至约10 μ M、约10 μ M至约15 μ M、约15 μ M至约20 μ M、约20 μ M至约25 μ M、约25 μ M至约50 μ M、约50 μ M至约75 μ M、或约75 μ M至约100 μ M。

[0453] 在一些情况下,变异4-1BBL多肽与SEQ ID NO:10-13中的一个列出的4-1BBL氨基酸序列相比具有单一氨基酸取代。在一些情况下,变异4-1BBL多肽与SEQ ID NO:10-13中的一个列出的4-1BBL氨基酸序列相比具有2至10个氨基酸取代。在一些情况下,变异4-1BBL多肽与SEQ ID NO:10-13中的一个列出的4-1BBL氨基酸序列相比具有2个氨基酸取代。在一些情况下,变异4-1BBL多肽与SEQ ID NO:10-13中的一个列出的4-1BBL氨基酸序列相比具有3个氨基酸取代。在一些情况下,变异4-1BBL多肽与SEQ ID NO:10-13中的一个列出的4-1BBL氨基酸序列相比具有4个氨基酸取代。在一些情况下,变异4-1BBL多肽与SEQ ID NO:10-13中的一个列出的4-1BBL氨基酸序列相比具有5个氨基酸取代。在一些情况下,变异4-1BBL多肽与SEQ ID NO:10-13中的一个列出的4-1BBL氨基酸序列相比具有6个氨基酸取代。在一些情况下,变异4-1BBL多肽与SEQ ID NO:10-13中的一个列出的4-1BBL氨基酸序列相比具有7个氨基酸取代。在一些情况下,变异4-1BBL多肽与SEQ ID NO:10-13中的一个列出的4-1BBL氨基酸序列相比具有8个氨基酸取代。在一些情况下,变异4-1BBL多肽与SEQ ID NO:10-13中的一个列出的4-1BBL氨基酸序列相比具有9个氨基酸取代。在一些情况下,变异4-1BBL多

肽与SEQ ID NO:10-13中的一个列出的4-1BBL氨基酸序列相比具有10个氨基酸取代。

[0454] 适合的4-1BBL变体包括一种多肽,其包含与以下氨基酸序列中的任一个具有至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

[0455] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYXEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:97),其中X为除了Lys以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0456] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWXLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:98),其中X为除了Gln以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0457] PAGLLDLRQG XFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:99),其中X为除了Met以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0458] PAGLLDLRQG MXAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQGRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRVTPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:100),其中X为除了Phe以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0459] PAGLLDLRQG MFAXLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:101),其中X为除了Gln以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0460] PAGLLDLRQG MFAQXVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:102),其中X为除了Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0461] PAGLLDLRQG MFAQLXAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:103),其中X为除了Val以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0462] PAGLLDLRQG MFAQLVAXNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:104),其中X为除了Gln以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0463] PAGLLDLRQG MFAQLVAQXV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:105),其中X为除了Asn以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0464] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNX LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:106), 其中X为除了Val以外的任何氨基酸。在一些情况下, X为Ala;

[0465] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV XLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:107), 其中X为除了Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下, X为Ala;

[0466] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LXIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:108), 其中X为除了Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下, X为Ala;

[0467] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLXDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQGRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRVTPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:109), 其中X为除了Ile以外的任何氨基酸。在一些情况下, X为Ala;

[0468] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIXGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:110), 其中X为除了Asp以外的任何氨基酸。在一些情况下, X为Ala;

[0469] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDXPPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:111), 其中X为除了Gly以外的任何氨基酸。在一些情况下, X为Ala;

[0470] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGXLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQGRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRVTPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:112), 其中X为除了Pro以外的任何氨基酸。在一些情况下, X为Ala;

[0471] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPXSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:113), 其中X为除了Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下, X为Ala;

[0472] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPXWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQGRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRVTPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:114), 其中X为除了Ser以外的任何氨基酸。在一些情况下, X为Ala;

[0473] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPXSY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:115), 其中X为除了

Trp以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0474] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWX SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV
YYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ
RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:116),其中X为除了
Tyr以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0475] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY XDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV
YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQGRLLHLSAGQ
RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRVTPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:117),其中X为除了Ser
以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0476] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SXPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV
YYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ
RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:118),其中X为除了
Asp以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0477] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDXGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV
YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQGRLLHLSAGQ
RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRVTPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:119),其中X为除了Pro
以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0478] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPXLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV
YYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ
RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:120),其中X为除了
Gly以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0479] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGXAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV
YYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ
RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:121),其中X为除了
Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0480] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAXVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV
YYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ
RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:122),其中X为除了
Gly以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0481] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGXSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV
YYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ
RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:123),其中X为除了
Val以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0482] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVXL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV
YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQGRLLHLSAGQ
RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRVTPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:124),其中X为除了Ser
以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0483] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSX TGGLSYKEDT KELVVAKAGV
YYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ

RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:125), 其中X为除了Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0484] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL XGGLSYKEDT KELVVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:126), 其中X为除了Thr以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0485] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TXGLSYKEDT KELVVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:127), 其中X为除了Gly以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0486] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGXLSYKEDT KELVVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:128), 其中X为除了Gly以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0487] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGXSYKEDT KELVVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:129), 其中X为除了Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0488] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLX^YKEDT KELVVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:130), 其中X为除了Ser以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0489] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSX^KKEDT KELVVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:131), 其中X为除了Tyr以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0490] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYK^XDT KELVVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:132), 其中X为除了Glu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0491] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYK^EX^T KELVVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:133), 其中X为除了Asp以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0492] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKED^X KELVVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:134), 其中X为除了Thr以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0493] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT XELVVAKAGV

YYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:135), 其中X为除了Lys以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0494] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KXLVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:136), 其中X为除了Glu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0495] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVXFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:137), 其中X为除了Phe以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0496] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFXQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:138), 其中X为除了Phe以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0497] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFXLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:139), 其中X为除了Gln以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0498] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQXELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:140), 其中X为除了Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0499] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLXLR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:141), 其中X为除了Glu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0500] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLEXR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:142), 其中X为除了Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0501] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELX RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:143), 其中X为除了Arg以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0502] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR XVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:144), 其中X为除了Arg以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0503] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RXVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:145), 其中X为除了Va1以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0504] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVXAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:146), 其中X为除了Va1以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0505] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAXEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:147), 其中X为除了Gly以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0506] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGXGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:148), 其中X为除了Glu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0507] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEXSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:149), 其中X为除了Gly以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0508] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGXGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:150), 其中X为除了Ser以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0509] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVXLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:151), 其中X为除了Asp以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0510] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDXPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:152), 其中X为除了Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0511] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLXPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:153), 其中X为除了Pro以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0512] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPAXS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:154), 其中X为除了

Ser以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0513] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV
YYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASX EARNSAFGFQ GRLHLSAGQ
RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:155),其中X为除了
Ser以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0514] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV
YYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS XARNSAFGFQ GRLHLSAGQ
RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:156),其中X为除了
Glu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0515] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV
YYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EAXNSAFGFQ GRLHLSAGQ
RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:157),其中X为除了
Arg以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0516] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV
YYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARXSAFGFQ GRLHLSAGQ
RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:158),其中X为除了
Asn以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0517] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV
YYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNXAFGFQ GRLHLSAGQ
RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:159),其中X为除了
Ser以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0518] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV
YYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAXGFQ GRLHLSAGQ
RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:160),其中X为除了
Phe以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0519] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV
YYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLHLSAGX
RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:161),其中X为除了
Gln以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0520] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV
YYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLHLSAGQ
XLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:162),其中X为除了
Arg以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0521] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV
YYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLHLSAGQ
RXGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:163),其中X为除了
Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0522] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV
YYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLHLSAGQ

RLXVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:164), 其中X为除了Gly以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0523] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGXHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:165), 其中X为除了Val以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0524] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVS

[0525] L TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLXHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:166), 其中X为除了His以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0526] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHXHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:167), 其中X为除了Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0527] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLXTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:168), 其中X为除了His以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0528] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHXEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:169), 其中X为除了Thr以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0529] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTXA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:170), 其中X为除了Glu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0530] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA XARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:171), 其中X为除了Arg以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0531] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RAXHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:172), 其中X为除了Arg以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0532] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV YVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARXAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:173), 其中X为除了His以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0533] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVAKAGV

YYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAXQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:174), 其中X为除了 Trp以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0534] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQXTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:175), 其中X为除了 Leu以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0535] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLXQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:176), 其中X为除了 Thr以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0536] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTX GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:177), 其中X为除了 Gln以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0537] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ XATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:178), 其中X为除了 Gly以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0538] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GAXVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:179), 其中X为除了 Thr以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;且

[0539] PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIGGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGSVSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHTEA RARHAWQLTQ GATXLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:180), 其中X为除了 Val以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala。

[0540] IL-2变体

[0541] 在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的变异免疫调节多肽为变异IL-2多肽。野生型IL-2结合至IL-2受体(IL-2R),即包含IL-2R α 、IL-2R β 及IL-2R γ 的异三聚体多肽。

[0542] 野生型IL-2氨基酸序列可为如下: APTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLEEELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNRWITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:15)。

[0543] 野生型IL2结合至细胞表面上的IL2受体(IL2R)。在一些情况下,IL2受体为包含 α 链(IL-2R α ;也称为CD25)、 β 链(IL-2R β ;也称为CD122;及 γ 链(IL-2R γ ;也称为CD132)的异三聚体多肽。人IL-2R α 、IL2R β 及IL-2R γ 的氨基酸序列可为如下。

[0544] 人IL-2R α : ELCDDDPPE IPHATFKAMA YKEGTMLNCE CKR GFRRIKS GSLYMLCTGN SSHSSWDNQC QCTSSATRNT TKQVTPQPEE QKERKTTEMQ SPMQPVDQAS LPGHCREPPP WENEATERIY

HFVVGQMVYY QCVQGYRALH RGAESVCKM THGKTRWTQP QLICTGEMET SQFPGEEKPQ ASPEGRPESE
TSCLVTTTDF QIQTEMAATM ETSIFTTEYQ VAVAGCVFLL ISVLLSGLT WQRRQRKSRR TI (SEQ ID
NO:16)。

[0545] 人IL-2R β :VNG TSQFTCFYNS RANISCVWSQ DGALQDTSC Q VHAWPDRRRW NQTCELLPVS
QASWACNLIL GAPDSQKLTTVDIVTLRVLC REGVRWRVMA IQDFKPFENL RLMAPISLQV VHVETHRCNI
SWEISQASHY FERHLEFEAR TLSPGHTWEE APLLTLKQKQ EWICLETLP DTQYEFQVRV KPLQGEFTTW
SPWSQPLAFR TKPAALGKDT IPWLGHLLVG LSGAFGFIL VYLLINCRNT GPWLKKVLKC NTPDPSKFSS
QLSSEHGGDV QKWLSSPFPSSSFSPGGLAP EISPLEVLER DKVTQLLLQQ DKVPEPASLS SNHSLTSCFT
NQGYFFFHLP DALEIEACQV YFTYDPYSEE DPDEGVAGAP TGSSPQLQP LSGEDDAYCT FPSRDDLLL
SPSLLGGPSPPSTAPGGSGA GEERMPPSLQ ERVPRDWDPO PLGPPTPGVP DLVDFQPPPE LVLREAGEEV
PDAGPREGVS FPWSRPPGQG EFRALNARLP LNTDAYLSLQ ELQGQDPTHL V (SEQ ID NO:17)。

[0546] 人IL-2R γ :LNTTILTP NGNEDTTADF FLTTMPTDSL SVSTLP LPEV QCFVFNVEYM
NCTWNSSESEP QPTNLTLYHW YKNSDNDKVQ KCSHYLFSEE ITSGCQLQKK EIHLTYQTFVV QLQDPREPR
QATQMLKLQN LVIPWAPENL TLHKLSLSQL ELNWNRRFLNHCLEHLVQYR TDWDHSWTEQ SVDYRHKFSL
PSVDGQKRYTFRVRSRNFPL CGSAQHWSEW SHPIHWGSNT SKENPFLFAL EAVVISVGSM GLIISLLCVY
FWLERTMPRI PTLKNLELDV TEYHGNSAW SGVSKGLAES LQPDYSERLC LVSEIPKGG ALGEGPGASP
CNQHSPYWAP PCYTLKPET (SEQ ID NO:18)。

[0547] 在一些情况下,在本公开的TMMP包含变异IL-2多肽时,“同源共免疫调节多肽”为
包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:16、17及18的多肽的IL-2R。

[0548] 在一些情况下,变异IL-2多肽呈现出对IL-2R的结合亲和力与包含SEQ ID NO:15
中列出的氨基酸序列的IL-2多肽的结合亲和力相比有所减小。举例来说,在一些情况下,当
在相同条件下测定时,变异IL-2多肽结合IL-2R的结合亲和力比包含SEQ ID NO:15中列出
的氨基酸序列的IL-2多肽对IL-2R多肽(例如,包含有包含SEQ ID NO:16-18中列出的氨基
酸序列的多肽的IL-2R)的结合亲和力小至少10%、小至少15%、小至少20%、小至少25%、
小至少30%、小至少35%、小至少40%、小至少45%、小至少50%、小至少55%、小至少60%、
小至少65%、小至少70%、小至少75%、小至少80%、小至少85%、小至少90%、小至少95%
或小大于95%。

[0549] 在一些情况下,变异IL-2多肽对IL-2R具有的结合亲和力为100nM至100 μ M。作为另
一实例,在一些情况下,变异IL-2多肽对IL-2R(例如,包含有包含SEQ ID NO:16-18中列出
的氨基酸序列的多肽的IL-2R)具有的结合亲和力为约100nM至150nM、约150nM至约200nM、
约200nM至约250nM、约250nM至约300nM、约300nM至约350nM、约350nM至约400nM、约400nM至
约500nM、约500nM至约600nM、约600nM至约700nM、约700nM至约800nM、约800nM至约900nM、
约900nM至约1 μ M至约1 μ M至约5 μ M、约5 μ M至约10 μ M、约10 μ M至约15 μ M、约15 μ M至约20 μ M、约20
 μ M至约25 μ M、约25 μ M至约50 μ M、约50 μ M至约75 μ M、或约75 μ M至约100 μ M。

[0550] 在一些情况下,变异IL-2多肽与SEQ ID NO:15中列出的IL-2氨基酸序列相比具有
单一氨基酸取代。在一些情况下,变异IL-2多肽与SEQ ID NO:15中列出的IL-2氨基酸序列
相比具有2至10个氨基酸取代。在一些情况下,变异IL-2多肽与SEQ ID NO:15中列出的IL-2
氨基酸序列相比具有2个氨基酸取代。在一些情况下,变异IL-2多肽与SEQ ID NO:15中列出
的IL-2氨基酸序列相比具有3个氨基酸取代。在一些情况下,变异IL-2多肽与SEQ ID NO:15

中列出的IL-2氨基酸序列相比具有4个氨基酸取代。在一些情况下,变异IL-2多肽与SEQ ID NO:15中列出的IL-2氨基酸序列相比具有5个氨基酸取代。在一些情况下,变异IL-2多肽与SEQ ID NO:15中列出的IL-2氨基酸序列相比具有6个氨基酸取代。在一些情况下,变异IL-2多肽与SEQ ID NO:15中列出的IL-2氨基酸序列相比具有7个氨基酸取代。在一些情况下,变异IL-2多肽与SEQ ID NO:15中列出的IL-2氨基酸序列相比具有8个氨基酸取代。在一些情况下,变异IL-2多肽与SEQ ID NO:15中列出的IL-2氨基酸序列相比具有9个氨基酸取代。在一些情况下,变异IL-2多肽与SEQ ID NO:15中列出的IL-2氨基酸序列相比具有10个氨基酸取代。

[0551] 适合的IL-2变体包括一种多肽,其包含与以下氨基酸序列中的任一个具有至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%氨基酸序列同一性的氨基酸序列:

APTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA

[0552]

TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE
TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:181),其中X为除了Phe以外的任何氨基酸。

在一些情况下,X为Ala。在一些情况下,X为Met。在一些情况下,X为Pro。在一些情况下,X为Ser。在一些情况下,X为Thr。在一些情况下,X为Trp。在一些情况下,X为Tyr。在一些情况下,X为Val。在一些情况下,X为His;

APTSSSTKKT QLQLEHLLLDX LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA

[0553]

TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE
TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:182),其中X为除了Asp以外的任何氨基酸。

在一些情况下,X为Ala;

APTSSSTKKT QLQLEXHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA

[0554]

TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE
TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:183),其中X为除了Glu以外的任何氨基酸。

在一些情况下,X为Ala。

[0555] APTSSSTKKT QLQLEXLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA

TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE
TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:184),其中X为除了His以外的任何氨基酸。

在一些情况下,X为Ala。在一些情况下,X为Thr。在一些情况下,X为Asn。在一些情况下,X为Cys。在一些情况下,X为Gln。在一些情况下,X为Met。在一些情况下,X为Val。在一些情况下,X为Trp;

APTSSSTKKT QLQLEXLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA

[0556]

TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE
TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:185),其中X为除了His以外的任何氨基酸。

在一些情况下,X为Ala。在一些情况下,X为Arg。在一些情况下,X为Asn。在一些情况下,X为Asp。在一些情况下,X为Cys。在一些情况下,X为Glu。在一些情况下,X为Gln。在一些情况下,X为Gly。在一些情况下,X为Ile。在一些情况下,X为Lys。在一些情况下,X为Leu。在一些情况下,X为Met。在一些情况下,X为Phe。在一些情况下,X为Pro。在一些情况下,X为

Ser。在一些情况下,X为Thr。在一些情况下,X为Tyr。在一些情况下,X为Trp。在一些情况下,X为Val;

[0557] APTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFXMPKKA
 TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE
 TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:186),其中X为除了Tyr以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0558] APTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA
 TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE
 TATIVEFLNR WITFCXSIIS TLT (SEQ ID NO:187),其中X为除了Gln以外的任何氨基酸。在一些情况下,X为Ala;

[0559] APTSSSTKKT QLQLEX₁LLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TX₂KFYMPKKA
 TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE
 TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:188),其中X₁为除了His以外的任何氨基酸,且其中X₂为除了Phe以外的任何氨基酸。在一些情况下,X₁为Ala。在一些情况下,X₂为Ala。在一些情况下,X₁为Ala;且X₂为Ala。在一些情况下,X₁为Thr;且X₂为Ala;

[0560] APTSSSTKKT QLQLEHLLLX₁ LQMILNGINN YKNPKLTRML TX₂KFYMPKKA
 TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE
 TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:189),其中X₁为除了Asp以外的任何氨基酸;且其中X₂为除了Phe以外的任何氨基酸。在一些情况下,X₁为Ala。在一些情况下,X₂为Ala。在一些情况下,X₁为Ala;且X₂为Ala;

[0561] APTSSSTKKT QLQLX₁HLLLX₂ LQMILNGINN YKNPKLTRML TX₃KFYMPKKA
 TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE
 TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:190),其中X₁为除了Glu以外的任何氨基酸;其中X₂为除了Asp以外的任何氨基酸;且其中X₃为除了Phe以外的任何氨基酸。在一些情况下,X₁为Ala。在一些情况下,X₂为Ala。在一些情况下,X₃为Ala。在一些情况下,X₁为Ala;X₂为Ala;且X₃为Ala;

[0562] APTSSSTKKT QLQLEX₁LLLX₂ LQMILNGINN YKNPKLTRML TX₃KFYMPKKA
 TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE
 TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:191),其中X₁为除了His以外的任何氨基酸;其中X₂为除了Asp以外的任何氨基酸;且其中X₃为除了Phe以外的任何氨基酸。在一些情况下,X₁为Ala。在一些情况下,X₂为Ala。在一些情况下,X₃为Ala。在一些情况下,X₁为Ala;X₂为Ala;且X₃为Ala;

[0563] APTSSSTKKT QLQLEHLLLX₁ LQMILNGINN YKNPKLTRML TX₂KFYMPKKA
 TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE
 TATIVEFLNR WITFCX₃SIIS TLT (SEQ ID NO:192),其中X₁为除了Asp以外的任何

氨基酸;其中X₂为除了Phe以外的任何氨基酸;且其中X₃为除了Gln以外的任何氨基酸。在一些情况下,X₁为Ala。在一些情况下,X₂为Ala。在一些情况下,X₃为Ala。在一些情况下,X₁为Ala;X₂为Ala;且X₃为Ala;

APTSSSTKKT QLQLEHLLLX₁ LQMILNGINN YKNPKLTRML TX₂KFX₃MPKKA

[0564]

TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE

TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:193),其中X₁为除了Asp以外的任何

氨基酸;其中X₂为除了Phe以外的任何氨基酸;且其中X₃为除了Tyr以外的任何氨基酸。在一些情况下,X₁为Ala。在一些情况下,X₂为Ala。在一些情况下,X₃为Ala。在一些情况下,X₁为Ala;X₂为Ala;且X₃为Ala;

APTSSSTKKT QLQLEX₁LLLX₂ LQMILNGINN YKNPKLTRML TX₃KFX₄MPKKA

[0565]

TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE

TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:194),其中X₁为除了His以外的任何

氨基酸;其中X₂为除了Asp以外的任何氨基酸;其中X₃为除了Phe以外的任何氨基酸;且其中X₄为除了Tyr以外的任何氨基酸。在一些情况下,X₁为Ala。在一些情况下,X₂为Ala。在一些情况下,X₃为Ala。在一些情况下,X₄为Ala。在一些情况下,X₁为Ala;X₂为Ala;X₃为Ala;且X₄为Ala;

APTSSSTKKT QLQLEHLLLX₁ LQMILNGINN YKNPKLTRML TX₂KFX₃MPKKA

[0566]

TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE

TATIVEFLNR WITFCX₄SIIS TLT (SEQ ID NO:195),其中X₁为除了Asp以外的任何

氨基酸;其中X₂为除了Phe以外的任何氨基酸;其中X₃为除了Tyr以外的任何氨基酸;且其中X₄为除了Gln以外的任何氨基酸。在一些情况下,X₁为Ala。在一些情况下,X₂为Ala。在一些情况下,X₃为Ala。在一些情况下,X₄为Ala。在一些情况下,X₁为Ala;X₂为Ala;X₃为Ala;且X₄为Ala;

APTSSSTKKT QLQLEX₁LLLX₂ LQMILNGINN YKNPKLTRML TX₃KFX₄MPKKA

[0567]

TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE

TATIVEFLNR WITFCX₅SIIS TLT (SEQ ID NO:196),其中X₁为除了His以外的任何

氨基酸;其中X₂为除了Asp以外的任何氨基酸;其中X₃为除了Phe以外的任何氨基酸;其中X₄为除了Tyr以外的任何氨基酸;且其中X₅为除了Gln以外的任何氨基酸。在一些情况下,X₁为Ala。在一些情况下,X₂为Ala。在一些情况下,X₃为Ala。在一些情况下,X₄为Ala。在一些情况下,X₅为Ala。在一些情况下,X₁为Ala;X₂为Ala;X₃为Ala;X₄为Ala;X₅为Ala;且

APTSSSTKKT QLQLEX₁LLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TX₂KFYMPKKA

[0568]

TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE

TATIVEFLNR WITFCX₃SIIS TLT (SEQ ID NO:197),其中X₁为除了His以外的任何

氨基酸;其中X₂为除了Phe以外的任何氨基酸;且其中X₃为除了Gln以外的任何氨基酸。在一些情况下,X₁为Ala。在一些情况下,X₂为Ala。在一些情况下,X₃为Ala。在一些情况下,X₁为Ala;X₂为Ala;且X₃为Ala。

[0569] 额外多肽

[0570] 除了上文所述的那些多肽之外,本公开的TMMP的多肽还可包括一种或多种多肽。适合的额外多肽包括表位标签和亲和力结构域。所述一种或多种额外多肽可包括在TMMP的多肽链的N端、在TMMP的多肽链的C端、或在TMMP的多肽链内部。

[0571] 表位标签

[0572] 适合的表位标签包括但不限于血球凝集素(HA;例如,YPYDVPDYA(SEQ ID NO:271);FLAG(例如,DYKDDDDK(SEQ ID NO:272);c-myc(例如,EQKLISEEDL;SEQ ID NO:273)等。

[0573] 亲和力结构域

[0574] 亲和力结构域包括可与结合配偶体,诸如固定在固体支撑物上可用于鉴别或纯化的结合配偶体相互作用的肽序列。编码多个连续单一氨基酸诸如组氨酸的DNA序列当融合至所表达的蛋白时可用于通过与树脂柱诸如镍琼脂糖的高亲和力结合来一步纯化重组蛋白。示例性亲和力结构域包括His5(HHHHH)(SEQ ID NO:271)、HisX6(HHHHHH)(SEQ ID NO:275)、C-myc(EQKLISEEDL)(SEQ ID NO:276)、Flag(DYKDDDDK)(SEQ ID NO:277)、StrepTag(WSHPQFEK)(SEQ ID NO:278)、血球凝集素例如HA Tag(YPYDVPDYA)(SEQ ID NO:279)、谷胱甘肽S-转移酶(GST)、硫氧化还原蛋白、纤维素结合结构域、RYIRS(SEQ ID NO:280)、Phe-His-His-Thr(SEQ ID NO:281)、甲壳素结合结构域、S-肽、T7肽、SH2域、C端RNA标签、WEAAAREACCRECCARA(SEQ ID NO:282)、金属结合结构域,例如锌结合结构域或钙结合结构域,诸如来自钙结合蛋白的那些,例如钙调蛋白、肌钙蛋白C、钙调磷酸酶B、肌凝蛋白轻链、恢复蛋白、S-调控蛋白、视锥蛋白、VILIP、神经钙蛋白、海马钙结合蛋白、神经元钙传感蛋白(frequenin)、钙牵蛋白(caltractin)、钙蛋白酶次单元、S100蛋白、小清蛋白、钙结合蛋白D9K、钙结合蛋白D28K、及钙网膜蛋白、内含肽、生物素、链亲和素、MyoD、Id、亮氨酸拉链序列及麦芽糖结合蛋白。药物缀合物

[0575] 本公开的TMMP的多肽链可包含连接(例如,共价附接)至多肽链的小分子药物。举例来说,在本公开的TMMP包含Fc多肽时,Fc多肽可包含共价连接的小分子药物。在一些情况下,小分子药物为癌症化学治疗剂,例如细胞毒性剂。本公开的TMMP的多肽链可包含连接(例如,共价附接)至多肽链的细胞毒性剂。举例来说,在本公开的TMMP包含Fc多肽时,Fc多肽可包含共价连接的细胞毒性剂。细胞毒性剂包括前药。

[0576] 药物(例如,癌症化学治疗剂)可直接或间接连接至本公开的TMMP的多肽链。举例来说,在本公开的TMMP包含Fc多肽时,药物(例如,癌症化学治疗剂)可直接或间接连接至Fc多肽。直接键联可涉及直接键联至氨基酸侧链。间接键联可为经由接头的键联。药物(例如,癌症化学治疗剂)可经由硫醚键、酰胺键、氨基甲酸酯键、二硫键或醚键来连接至本公开的TMMP的多肽链(例如,Fc多肽)。

[0577] 接头包括可裂解接头和不可裂解接头。在一些情况下,接头为蛋白酶可裂解的接头。适合的接头包括例如肽(例如,长度为2至10个氨基酸;例如,长度为2、3、4、5、6、7、8、9或10个氨基酸)、烷基链、聚(乙二醇)、二硫化物基团、硫醚基团、酸不稳定基团、光不稳定基团、肽酶不稳定基团及酯酶不稳定基团。适合的接头的非限制性实例为:i)N-琥珀酰亚胺基-[N-马来酰亚胺基丙酰胺基]-四乙二醇酯(NHS-PEG4-马来酰亚胺);ii)4-(2-吡啶基二硫代)丁酸N-琥珀酰亚胺酯(SPDB);4-(2-吡啶基二硫代)2-磺基丁酸N-琥珀酰亚胺酯(磺

基-SPDB); 4-(2-吡啶基二硫代)戊酸N-琥珀酰亚胺酯(SPP); N-琥珀酰亚胺基-4-(N-马来酰亚胺基甲基)-环己烷-1-羧基-(6-酰胺基己酸酯)(LC-SMCC); κ -马来酰亚胺基十一烷酸N-琥珀酰亚胺酯(KMUA); γ -马来酰亚胺丁酸N-琥珀酰亚胺酯(GMBS); ϵ -马来酰亚胺基己酸N-羟基琥珀酰亚胺酯(EMCS); m-马来酰亚胺苯甲酰基-N-羟基琥珀酰亚胺酯(MBS); N-(α -马来酰亚胺基乙酰氧基)-琥珀酰亚胺酯(AMAS); 琥珀酰亚胺基-6-(β -马来酰亚胺基丙酰胺)己酸酯(SMPH); 4-(p-马来酰亚胺基苯基)丁酸N-琥珀酰亚胺酯(SMPB); N-(p-马来酰亚胺基苯基)异氰酸酯(PMPI); 4(2-吡啶基硫代)戊酸N-琥珀酰亚胺酯(SPP); N-琥珀酰亚胺基(4-碘-乙酰基)氨基苯甲酸酯(SIAB); 6-马来酰亚胺基己酰基(MC); 马来酰亚胺基丙酰基(MP); 对氨基苯甲氧基羰基(PAB); 4-(马来酰亚胺基甲基)环己烷甲酸N-琥珀酰亚胺酯(SMCC); N-琥珀酰亚胺基-4-(N-马来酰亚胺基甲基)-环己烷-1-羧基-(6-酰胺基己酸酯), SMCC的“长链”类似物(LC-SMCC); 3-马来酰亚胺基丙酸N-琥珀酰亚胺酯(BMPS); 碘乙酸N-琥珀酰亚胺酯(SIA); 溴乙酸N-琥珀酰亚胺酯(SBA); 及3-(溴乙酰胺基)丙酸N-琥珀酰亚胺酯(SBAP)。

[0578] 多肽(例如, Fc多肽)可被交联试剂修饰, 以引入1-10个反应基团, 这些交联试剂是诸如4-(N-马来酰亚胺基甲基)-环己烷-1-甲酸琥珀酰亚胺酯(SMCC)、磺基-SMCC、马来酰亚胺基苯甲酰基-N-羟基琥珀酰亚胺酯(MBS)、磺基-MBS或琥珀酰亚胺基-碘乙酸酯, 如文献中所述。接着使修饰的Fc多肽与含硫醇的细胞毒性剂反应以产生缀合物。

[0579] 举例来说, 在本公开的TMMP包含Fc多肽时, 包含Fc多肽的多肽链可具有式(A)-(L)-(C), 其中(A)为包含Fc多肽的多肽链; 其中(L)如果存在, 则为接头; 且其中(C)为细胞毒性剂。(L)如果存在, 则将(A)连接至(C)。在一些情况下, 包含Fc多肽的多肽链可包含多于一种细胞毒性剂(例如, 2、3、4或5种或更多种细胞毒性剂)。

[0580] 适合的药物包括例如雷帕霉素。适合的药物包括例如类视黄醇, 诸如全反式视黄酸(ATRA); 维生素D₃; 维生素D₃类似物; 等等。如上文所述, 在一些情况下, 药物为细胞毒性剂。细胞毒性剂为本领域中已知的。适合的细胞毒性剂可为导致细胞死亡、或诱导细胞死亡、或以某种方式降低细胞活力的任何化合物, 且包括例如美登木素和美登木素类似物、苯二氮卓、类紫杉醇、CC-1065和CC-1065类似物、倍癌霉素(duocarmycin)和倍癌霉素类似物、烯二炔诸如卡利奇霉素(calicheamicin)、尾海兔素和尾海兔素类似物(包括澳瑞他汀(auristatin))、茅屋霉素(tomaymycin)衍生物、细霉素(leptomycin)衍生物、胺甲喋呤、顺铂、卡铂、道诺霉素、阿霉素、长春新碱、长春碱、美法仑、丝裂霉素C、氮芥苯丁酸及吗啉代阿霉素。

[0581] 例如, 在一些情况下, 细胞毒性剂为抑制真核细胞中的微管形成的化合物。此类试剂包括例如美登木素、苯二氮卓、类紫杉醇、CC-1065、倍癌霉素、倍癌霉素类似物、卡利奇霉素、尾海兔素、尾海兔素类似物、澳瑞他汀、茅屋霉素及细霉素、或前述任一种的前药。美登木素化合物包括例如N(2')-脱乙酰基-N(2')-(3-巯基-1-氧代丙基)-美登素(DM1); N(2')-脱乙酰基-N(2')-(4-巯基-1-氧代戊基)-美登素(DM3); 及N(2')-脱乙酰基-N(2')-(4-巯基-4-甲基-1-氧代戊基)-美登素(DM4)。苯二氮卓包括例如吲哚啉并苯二氮卓和噁唑烷并苯二氮卓。

[0582] 细胞毒性剂包括紫杉醇; 细胞迟缓素B; 短杆菌肽D; 溴化乙锭; 依米丁; 丝裂霉素; 依托泊苷; 替尼泊苷; 长春新碱; 长春花碱; 秋水仙碱; 多柔比星; 道诺霉素; 二羟基炭疽菌素二酮; 美登素或其类似物或衍生物; 澳瑞他汀或其功能肽类似物或衍生物; 尾海兔素10或15

或其类似物;依立替康或其类似物;米托蒽醌;光神霉素;放线菌素D;1-去氢睾酮;糖皮质激素;普鲁卡因;丁卡因;利多卡因;普萘洛尔;嘌呤霉素;卡利奇霉素或其类似物或衍生物;抗代谢物;6-巯嘌呤;6-硫鸟嘌呤;阿糖胞苷;氟达拉滨;5-氟尿嘧啶;达卡巴嗪;羟基脲;天冬酰胺酶;吉西他滨;克拉屈滨;烷化剂;铂衍生物;倍癌霉素A;倍癌霉素SA;拉奇霉素(rachelmycin,CC-1065)或其类似物或衍生物;抗生素;吡咯并[2,1-c][1,4]-苯二氮卓(PDB);白喉毒素;蓖麻毒素;霍乱毒素;志贺样毒素;LT毒素;C3毒素;志贺毒素;百日咳毒素;破伤风毒素;大豆Bowman-Birk蛋白酶抑制剂;假单胞菌外毒素;alorin;皂素;莫迪素(modeccin);gellanin;相思子毒素(abrin)A链;莫迪素A链; α -帚曲菌素;油桐(Aleurites fordii)蛋白;石竹素(dianthin)蛋白;美洲商陆(Phytolacca americana)蛋白;苦瓜(momordica charantia)抑制剂;麻疯树毒蛋白(curcin);巴豆毒素;肥皂草(sapaonaria officinalis)抑制剂;白树毒素(gelonin);丝裂吉菌素(mitogellin);局限曲菌素(restrictocin);酚霉素(phenomycin);伊诺霉素(enomycin)毒素;核糖核酸酶(RNA酶);DNA酶I;葡萄球菌肠毒素A;美洲商陆抗病毒蛋白;白喉毒素;及假单胞菌外毒素。

[0583] 示例性TMMP

[0584] 本公开的TMMP包含至少一种异二聚体,其包含:a)第一多肽,所述第一多肽包含:i)肽表位;和ii)第一MHC多肽;b)第二多肽,所述第二多肽包含第二MHC多肽;及c)至少一种免疫调节多肽,其中所述第一多肽和/或所述第二多肽包含免疫调节多肽。因此,在一些情况下,本公开的TMMP包含至少一种异二聚体,其包含:a)第一多肽,所述第一多肽包含:i)肽表位;ii)第一MHC多肽;和iii)至少一种免疫调节多肽;及b)第二多肽,所述第二多肽包含第二MHC多肽。在其他情况下,本公开的TMMP包含至少一种异二聚体,其包含:a)第一多肽,所述第一多肽包含:i)肽表位;及ii)第一MHC多肽;和b)第二多肽,所述第二多肽包含:i)第二MHC多肽;及ii)至少一种免疫调节多肽。在一些情况下,本公开的TMMP包含至少一种异二聚体,其包含:a)第一多肽,所述第一多肽包含:i)肽表位;ii)第一MHC多肽;及iii)至少一种免疫调节多肽;及b)第二多肽,所述第二多肽包含:i)第二MHC多肽;及ii)至少一种免疫调节多肽。在一些情况下,所述至少一种免疫调节多肽为野生型免疫调节多肽。在其他情况下,所述至少一种免疫调节多肽为呈现出与共免疫调节多肽的亲合力与相应野生型免疫调节多肽对共免疫调节多肽的亲合力相比有所减小的变异免疫调节多肽。在一些情况下,本公开的TMMP包含两种免疫调节多肽,其中这两种免疫调节多肽具有相同氨基酸序列。在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的肽表位是癌症相关肽。在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的肽表位是传染性疾病相关肽(例如,病毒编码肽)。

[0585] 在一些情况下,本公开的TMMP包含:a)第一多肽,所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:i)肽表位;ii)第一MHC多肽;及iii)至少一种免疫调节多肽;和b)第二多肽,所述第二多肽以从N端至C端的次序包含:i)第二MHC多肽;及ii) Ig Fc多肽。在一些情况下,第一MHC多肽为 β 2M多肽;且第二MHC多肽为HLA重链多肽。在一些情况下,HLA重链多肽为HLA-A24多肽。在一些情况下,HLA重链多肽为具有A236C取代的HLA-A24多肽。在一些情况下,第一多肽以从N端至C端的次序包含:i)肽表位;ii)第一MHC多肽;及iii)两种免疫调节多肽,其中这两种免疫调节多肽具有相同氨基酸序列。在一些情况下,Ig Fc多肽为人IgG1 Fc多肽。在一些情况下,Ig Fc多肽为包含L234A及L235A取代的IgG1 Fc多肽。在一些情况下,第一多肽与第二多肽两者彼此间以二硫键连接。在一些情况下,免疫调节多肽为包含H16A及F42A取

代的变异IL-2多肽。在一些情况下,免疫调节多肽为包含H16T和F42A取代的变异IL-2多肽。在一些情况下,肽接头介于以下中的一个或多个之间:i) 第二MHC多肽与Ig Fc多肽;ii) 表位与第一MHC多肽;iii) 第一MHC多肽与免疫调节多肽;及(当TMMP在第一多肽链上包含两种免疫调节多肽时)iv) 介于两种免疫调节多肽之间。在一些情况下,肽接头包含氨基酸序列AAAGG (SEQ ID NO:283)。在一些情况下,肽接头包含氨基酸序列(GGGGS)_n (SEQ ID NO”284),其中n为1至10的整数(例如,其中n为2、3或4)。在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的肽表位是癌症相关肽。在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的肽表位是传染性疾病相关肽(例如,病毒编码肽)。

[0586] 在一些情况下,本公开的TMMP包含:a) 第一多肽,所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:i) 肽表位;及ii) 第一MHC多肽;和b) 第二多肽,所述第二多肽以从N端至C端的次序包含:i) 至少一种免疫调节多肽;ii) 第二MHC多肽;及iii) Ig Fc多肽。在一些情况下,第一MHC多肽为β2M多肽;且第二MHC多肽为HLA重链多肽。在一些情况下,HLA重链多肽为HLA-A24多肽。在一些情况下,HLA重链多肽为具有A236C取代的HLA-A24多肽。在一些情况下,第二多肽以从N端至C端的次序包含:i) 两种免疫调节多肽,其中这两种免疫调节多肽具有相同氨基酸序列;ii) 第二MHC多肽;及iii) Ig Fc多肽。在一些情况下,Ig Fc多肽为人IgG1 Fc多肽。在一些情况下,Ig Fc多肽为包含L234A和L235A取代的IgG1 Fc多肽。在一些情况下,第一多肽与第二多肽两者彼此间以二硫键连接。在一些情况下,免疫调节多肽为包含H16A和F42A取代的变异IL-2多肽。在一些情况下,免疫调节多肽为包含H16T和F42A取代的变异IL-2多肽。在一些情况下,肽接头介于以下中的一个或多个之间:i) 第二MHC多肽与Ig Fc多肽;ii) 表位与第一MHC多肽;iii) 第一MHC多肽与免疫调节多肽;及(当TMMP在第二多肽链上包含两种免疫调节多肽时)iv) 介于两种免疫调节多肽之间。在一些情况下,肽接头包含氨基酸序列AAAGG (SEQ ID NO:283)。在一些情况下,肽接头包含氨基酸序列(GGGGS)_n (SEQ ID NO:284),其中n为1至10的整数(例如,其中n为2、3或4)。在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的肽表位是癌症相关肽。在一些情况下,存在于本公开的TMMP中的肽表位是传染性疾病相关肽(例如,病毒编码肽)。

[0587] 在一些情况下,本公开的TMMP包含:a) 第一多肽,所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:i) 肽表位;及ii) 第一MHC多肽;及b) 第二多肽,所述第二多肽以从N端至C端的次序包含:i) 第二MHC多肽;ii) Ig Fc多肽;及iii) 至少一种免疫调节多肽。在一些情况下,第一MHC多肽为β2M多肽;且第二MHC多肽为HLA重链多肽。在一些情况下,HLA重链多肽为HLA-A24多肽。在一些情况下,HLA重链多肽为具有A236C取代的HLA-A24多肽。在一些情况下,第二多肽以从N端至C端的次序包含:i) 第二MHC多肽;ii) Ig Fc多肽;及iii) 两种免疫调节多肽,其中这两种免疫调节多肽具有相同氨基酸序列。在一些情况下,Ig Fc多肽为人IgG1 Fc多肽。在一些情况下,Ig Fc多肽为包含L234A和L235A取代的IgG1 Fc多肽。在一些情况下,第一多肽与第二多肽两者彼此间以二硫键连接。在一些情况下,免疫调节多肽为包含H16A和F42A取代的变异IL-2多肽。在一些情况下,免疫调节多肽为包含H16T和F42A取代的变异IL-2多肽。在一些情况下,肽接头介于以下中的一个或多个之间:i) 第二MHC多肽与Ig Fc多肽;ii) 表位与第一MHC多肽;iii) Ig Fc多肽与免疫调节多肽;及(当TMMP在第二多肽链上包含两种免疫调节多肽时)iv) 介于这两种免疫调节多肽之间。在一些情况下,肽接头包含氨基酸序列AAAGG (SEQ ID NO:283)。在一些情况下,肽接头包含氨基酸序列(GGGGS)_n (SEQ ID NO:

284),其中n为1至10的整数(例如,其中n为2、3或4)。

[0588] 在一些情况下,本公开的TMMP包含:a)第一多肽,所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:i)肽表位;及ii)第一MHC多肽;和b)第二多肽,所述第二多肽以从N端至C端的次序包含:i)至少一种免疫调节多肽;ii)第二MHC多肽;及iii)Ig Fc多肽。在一些情况下,第一MHC多肽为 β 2M多肽;且第二MHC多肽为HLA重链多肽。在一些情况下,HLA重链多肽为HLA-A24多肽。在一些情况下,HLA重链多肽为具有A236C取代的HLA-A24多肽。在一些情况下,Ig Fc多肽为人IgG1 Fc多肽。在一些情况下,Ig Fc多肽为包含L234A和L235A取代的IgG1 Fc多肽。在一些情况下,第一多肽与第二多肽两者彼此间以二硫键连接。在一些情况下,免疫调节多肽为包含H16A及F42A取代的变异IL-2多肽。在一些情况下,免疫调节多肽为包含H16T及F42A取代的变异IL-2多肽。

[0589] 在一些情况下,本公开的TMMP包含:a)第一多肽,所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:i)至少一种免疫调节多肽;ii)肽表位;及iii)第一MHC多肽;及b)第二多肽,所述第二多肽以从N端至C端的次序包含:i)第二MHC多肽;及ii)Ig Fc多肽。在一些情况下,第一MHC多肽为 β 2M多肽;且第二MHC多肽为HLA重链多肽。在一些情况下,HLA重链多肽为HLA-A24多肽。在一些情况下,HLA重链多肽为具有A236C取代的HLA-A24多肽。在一些情况下,第一多肽以从N端至C端的次序包含:i)两种免疫调节多肽,其中这两种免疫调节多肽具有相同氨基酸序列;ii)肽表位;及iii)第一MHC多肽。在一些情况下,Ig Fc多肽为人IgG1 Fc多肽。在一些情况下,Ig Fc多肽为包含L234A和L235A取代的IgG1 Fc多肽。在一些情况下,第一多肽与第二多肽两者彼此间以二硫键连接。在一些情况下,免疫调节多肽为包含H16A和F42A取代的变异IL-2多肽。在一些情况下,免疫调节多肽为包含H16T和F42A取代的变异IL-2多肽。在一些情况下,肽接头介于以下中的一个或多个之间:i)第二MHC多肽与Ig Fc多肽;ii)表位与第一MHC多肽;iii)免疫调节多肽与表位;及(当TMMP在第一多肽链上包含两种免疫调节多肽时)iv)介于两种免疫调节多肽之间。在一些情况下,肽接头包含氨基酸序列AAAGG (SEQ ID NO:283)。在一些情况下,肽接头包含氨基酸序列(GGGGS)_n(SEQ ID NO:284),其中n为1至10的整数(例如,其中n为2、3或4)。

[0590] 在一些情况下,本公开的TMMP包含:a)第一多肽,所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:i)肽表位;及ii)第一MHC多肽;及b)第二多肽,所述第二多肽以从N端至C端的次序包含:i)第二MHC多肽;ii)至少一种免疫调节多肽;及iii)Ig Fc多肽。在一些情况下,第一MHC多肽为 β 2M多肽;且第二MHC多肽为HLA重链多肽。在一些情况下,HLA重链多肽为HLA-A24多肽。在一些情况下,HLA重链多肽为具有A236C取代的HLA-A24多肽。在一些情况下,第二多肽以从N端至C端的次序包含:i)第二MHC多肽;ii)两种免疫调节多肽,其中这两种免疫调节多肽具有相同氨基酸序列;及iii)Ig Fc多肽。在一些情况下,Ig Fc多肽为人IgG1 Fc多肽。在一些情况下,Ig Fc多肽为包含L234A和L235A取代的IgG1 Fc多肽。在一些情况下,第一多肽与第二多肽两者彼此间以二硫键连接。在一些情况下,免疫调节多肽为包含H16A及F42A取代的变异IL-2多肽。在一些情况下,免疫调节多肽为包含H16T及F42A取代的变异IL-2多肽。在一些情况下,肽接头介于以下中的一个或多个之间:i)第二MHC多肽与免疫调节多肽;ii)免疫调节多肽与Ig Fc多肽;iii)表位与第一MHC多肽;iii)第一MHC多肽与免疫调节多肽;及(当TMMP在第二多肽链上包含两种免疫调节多肽时)iv)介于这两种免疫调节多肽之间。在一些情况下,肽接头包含氨基酸序列AAAGG (SEQ ID NO:283)。在一些情况下,肽接头

包含氨基酸序列(GGGGS)_n(SEQ ID NO:284),其中n为1至10的整数(例如,其中n为2、3或4)。

[0591] 如上文所述且如图14示意性示出,免疫调节多肽(即,一种或多种免疫调节多肽)可存在于本公开的TMMP的多个位置中的任一个处。图14描绘变异IL-2多肽的两个副本的位置;然而,免疫调节多肽可为如本文所述的多种免疫调节多肽中的任一种。如图14所描绘,免疫调节多肽可:1)在I类MHC重链的N端(位置1);2)在I类MHC重链的C端及Ig Fc多肽的N端;换句话说,介于I类MHC重链与Ig Fc多肽之间(位置2);3)在Ig Fc多肽的C端(位置3);4)在肽表位的N端(位置4);或5)在β2M多肽的C端(位置5)。“位置1”是指免疫调节多肽在与I类MHC重链相同的多肽链上且在I类MHC重链的N端的位置;例如,其中TMMP包含:a)第一多肽,所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:i)肽表位;及ii)β2M多肽;及b)第二多肽,所述第二多肽以从N端至C端的次序包含:i)一种或多种免疫调节多肽;及ii)I类MHC重链多肽。“位置2”是指免疫调节多肽在与I类MHC重链相同的多肽链上且在I类MHC重链的C端而非多肽链的C端的位置;例如,其中TMMP包含:a)第一多肽,所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:i)肽表位;及ii)β2M多肽;和b)第二多肽,所述第二多肽以从N端至C端的次序包含:i)I类MHC重链多肽;ii)一种或多种免疫调节多肽;及iii)Ig Fc多肽。“位置3”是指免疫调节多肽在与I类MHC重链相同的多肽链上且在多肽链的C端的位置;例如,其中TMMP包含:a)第一多肽,所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:i)肽表位;及ii)β2M多肽;及b)第二多肽,所述第二多肽以从N端至C端的次序包含:i)I类MHC重链多肽;ii)Ig Fc多肽;及iii)一种或多种免疫调节多肽。“位置4”是指免疫调节多肽在与β2M多肽相同的多肽链上且在肽表位及β2M多肽的N端的位置;例如,其中TMMP包含:a)第一多肽,所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:i)一种或多种免疫调节多肽;ii)肽表位;及iii)β2M多肽;及b)第二多肽,所述第二多肽包含I类MHC重链多肽(例如,第二多肽,所述第二多肽以从N端至C端的次序包含:i)I类MHC重链多肽;及ii)Ig Fc多肽。“位置5”是指免疫调节多肽在与β2M多肽相同的多肽链上且在β2M多肽的C端(例如,多肽链的C端)的位置;例如,其中TMMP包含:a)第一多肽,所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:i)肽表位;及ii)β2M多肽;及iii)一种或多种免疫调节多肽;和b)第二多肽,所述第二多肽包含I类MHC重链多肽(例如,第二多肽,所述第二多肽以从N端至C端的次序包含:i)I类MHC重链多肽;及ii)Ig Fc多肽。

[0592] 另外,如上文所讨论且如图13A-13C示意性描绘,本公开的TMMP的第一多肽链与第二多肽链可由一个或多个二硫键连接。举例来说,本公开的TMMMP可包含:a)第一多肽链,所述第一多肽链包含具有R12C取代的β2M多肽;和b)第二多肽链,所述第二多肽链包含具有A236C取代的I类MHC重链多肽,使得二硫键在第一多肽链中β2M多肽的位置12处的Cys与第二多肽链中I类MHC重链多肽的位置236处的Cys之间形成。作为另一实例,本公开的TMMMP可包含:a)第一多肽,所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:i)肽表位;ii)肽接头,所述肽接头包含GCGG(G4S)_n序列,其中n为1、2或3;及iii)β2M多肽;和b)第二多肽,所述第二多肽包含具有Y84C取代的I类MHC重链多肽,使得二硫键在第一多肽链的肽接头中的Cys与第二多肽链的I类MHC重链多肽的位置84处的Cys之间形成。在其他实例中,本公开的TMMP可包含:a)第一多肽,所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:i)肽表位;ii)肽接头,所述肽接头包含GCGG(G4S)_n序列,其中n为1、2或3;及iii)β2M多肽,所述多肽具有R12C取代;和b)第二多肽,所述第二多肽包含具有Y84C取代和A236C取代的I类MHC重链多肽,使得:i)第一二硫键在第一多肽链的肽接头中的Cys与第二多肽链的I类MHC重链多肽的位置84处的Cys之

间形成;且ii)第二二硫键在第一多肽链的 β 2M多肽的位置12处的Cys与第二多肽链的I类MHC重链多肽的位置236处的Cys之间形成。为简明起见,第一二硫键称为“G2C/Y84C”;且第二二硫键称为“R12C/A236C”。本公开的TMMP可包括:a)G2C/Y84C二硫键而无R12C/A236C二硫键;b)R12C/A236C二硫键而无G2C/Y84C二硫键;或c)G2C/Y84C二硫键和R12C/A236C二硫键。

[0593] 本公开的TMMP可包括:a)G2C/Y84C二硫键而无R12C/A236C二硫键;和b)在位置1处的至少一种免疫调节多肽。本公开的TMMP可包括:a)G2C/Y84C二硫键而无R12C/A236C二硫键;和b)在位置2处的至少一种免疫调节多肽。本公开的TMMP可包括:a)G2C/Y84C二硫键而无R12C/A236C二硫键;及b)在位置3处的至少一种免疫调节多肽。本公开的TMMP可包括:a)G2C/Y84C二硫键而无R12C/A236C二硫键;和b)在位置4处的至少一种免疫调节多肽。本公开的TMMP可包括:a)G2C/Y84C二硫键而无R12C/A236C二硫键;和b)在位置5处的至少一种免疫调节多肽。

[0594] 本公开的TMMP可包括:a)R12C/A236C二硫键而无G2C/Y84C二硫键;和在位置1处的至少一种免疫调节多肽。本公开的TMMP可包括:a)R12C/A236C二硫键而无G2C/Y84C二硫键;和b)在位置2处的至少一种免疫调节多肽。本公开的TMMP可包括:a)R12C/A236C二硫键而无G2C/Y84C二硫键;和b)在位置3处的至少一种免疫调节多肽。本公开的TMMP可包括:a)R12C/A236C二硫键而无G2C/Y84C二硫键;和b)在位置4处的至少一种免疫调节多肽。本公开的TMMP可包括:a)R12C/A236C二硫键而无G2C/Y84C二硫键;和b)在位置5处的至少一种免疫调节多肽。

[0595] 本公开的TMMP可包括:a)G2C/Y84C二硫键和R12C/A236C二硫键;和b)及在位置1处的至少一种免疫调节多肽。本公开的TMMP可包括:a)G2C/Y84C二硫键和R12C/A236C二硫键;及)及在位置2处的至少一种免疫调节多肽。本公开的TMMP可包括:a)G2C/Y84C二硫键和R12C/A236C二硫键;及b)及在位置3处的至少一种免疫调节多肽。本公开的TMMP可包括:a)G2C/Y84C二硫键和R12C/A236C二硫键;及b)及在位置4处的至少一种免疫调节多肽。本公开的TMMP可包括:a)G2C/Y84C二硫键和R12C/A236C二硫键;及b)及在位置5处的至少一种免疫调节多肽。

[0596] 生成多聚体T细胞调节多肽的方法

[0597] 本公开提供一种获得包含一种或多种变异免疫调节多肽的TMMP的方法,所述一种或多种变异免疫调节多肽呈现出对同源共免疫调节多肽的亲合力与相应亲本野生型免疫调节多肽对共免疫调节多肽的亲合力相比更低,所述方法包括:A)生成包含多个成员的TMMP文库,其中各成员包含:a)第一多肽,所述第一多肽包含:i)表位;及ii)第一主要MHC多肽;和b)第二多肽,所述第二多肽包含:i)第二MHC多肽;及ii)任选的Ig Fc多肽或非Ig支架,其中各成员在第一多肽、第二多肽、或第一多肽和第二多肽两者上包含不同变异免疫调节多肽;B)确定所述文库的各成员对同源共免疫调节多肽的亲合力;以及C)选择呈现出对同源共免疫调节多肽的亲合力有所减小的成员。在一些情况下,亲合力是通过生物层干涉术(BLI),使用纯化的TMMP文库成员及同源共免疫调节多肽来确定。BLI方法为本领域技术人员所公知。BLI测定在上文中描述。参见,例如Lad等人(2015)J.Biomol.Screen.20(4):498-507;以及Shah和Duncan(2014)J.Vis.Exp.18:e51383。

[0598] 本公开提供一种获得呈现出与T细胞的选择性结合的TMMP的方法,所述方法包括:

A) 生成包含多个成员的TMMP文库,其中各成员包含:a) 第一多肽,所述第一多肽包含:i) 表位;及ii) 第一MHC多肽;和b) 第二多肽,所述第二多肽包含:i) 第二MHC多肽;及ii) 任选的免疫球蛋白(Ig)Fc多肽或非Ig支架,其中各成员在第一多肽、第二多肽、或第一多肽和第二多肽两者上包含不同变异免疫调节多肽,其中所述变异免疫调节多肽的氨基酸序列与亲本野生型免疫调节多肽相差1个氨基酸至10个氨基酸;B) 使TMMP文库成员与在其表面上表达以下各物的靶T细胞接触:i) 结合亲本野生型免疫调节多肽之同源共免疫调节多肽;及ii) 结合至表位的T细胞受体,其中所述TMMP文库成员包含表位标签,使得TMMP文库成员结合至靶T细胞;C) 使结合至靶T细胞的TMMP文库成员与结合至表位标签的荧光标记的结合剂接触,从而生成TMMP文库成员/靶T细胞/结合剂复合物;D) 使用流动式细胞测量术测量TMMP文库成员/靶T细胞/结合剂复合物的平均荧光强度(MFI),其中在TMMP文库成员的浓度范围上测量的MFI提供亲和力及表观亲合力的量度;以及E) 选择TMMP文库成员,与TMMP文库成员与对照T细胞的结合相比,所述TMMP文库成员选择性结合靶T细胞,所述对照T细胞包含i) 结合亲本野生型免疫调节多肽的同源共免疫调节多肽;及ii) 结合至除了存在于TMMP文库成员中的表位以外的表位的T细胞受体。在一些情况下,将鉴别为选择性结合至靶T细胞的TMMP文库成员从所述文库中分离。

[0599] 在一些情况下,亲本野生型免疫调节多肽与同源免疫调节多肽对选自:

[0600] IL-2与IL-2受体;

[0601] 4-1BBL与4-1BB;

[0602] PD-L1与PD-1;

[0603] CD70与CD27;

[0604] TGFβ与TGFβ受体;

[0605] CD80与CD28;

[0606] CD86与CD28;

[0607] OX40L与OX40;

[0608] FasL与Fas;

[0609] ICOS-L与ICOS;

[0610] ICAM与LFA-1;

[0611] JAG1与Notch;

[0612] JAG1与CD46;

[0613] CD80与CTLA4;及

[0614] CD86与CTLA4。

[0615] 本公开提供一种获得包含一种或多种变异免疫调节多肽的TMMP的方法,所述变异免疫调节多肽呈现出对同源共免疫调节多肽的亲和力与相应亲本野生型免疫调节多肽对共免疫调节多肽的亲和力相比有所减小,所述方法包括自包含多个成员的TMMP文库中选择呈现出对同源共免疫调节多肽的亲和力有所减小的成员,其中所述多个成员包含:a) 第一多肽,所述第一多肽包含:i) 表位;及ii) 第一MHC多肽;和b) 第二多肽,所述第二多肽包含:i) 第二MHC多肽;及ii) 任选的Ig Fc多肽或非Ig支架,其中所述文库的成员包含存在于第一多肽、第二多肽、或第一多肽和第二多肽两者中的多个变异免疫调节多肽。在一些情况下,选择步骤包含使用生物层干涉术确定TMMP文库成员与同源共免疫调节多肽之间的结合亲

和力。在一些情况下, TMMP如上文所述。

[0616] 在一些情况下, 所述方法进一步包括: a) 使选出的TMMP文库成员与在其表面上表达以下各物的靶T细胞接触: i) 结合亲本野生型免疫调节多肽的同源共免疫调节多肽; 及 ii) 结合至表位的T细胞受体, 其中TMMP文库成员包含表位标签, 使得所述TMMP文库成员结合至靶T细胞; b) 使结合至靶T细胞的选出的TMMP文库成员与结合至表位标签的荧光标记的结合剂接触, 从而生成选出的TMMP文库成员/靶T细胞/结合剂复合物; 以及c) 使用流动式细胞测量术测量选出的TMMP文库成员/靶T细胞/结合剂复合物的平均荧光强度(MFI), 其中在选出的TMMP文库成员的浓度范围上测量的MFI提供亲和力及表观亲合力的量度。与TMMP文库成员与包含以下的对照T细胞的结合相比, 选择性结合靶T细胞的选出的TMMP文库成员鉴别为选择性结合至靶T细胞: i) 结合亲本野生型免疫调节多肽的同源共免疫调节多肽; 及 ii) 结合至除了TMMP文库成员中存在的表位以外的表位的T细胞受体。在一些情况下, 结合剂为对表位标签具有特异性的抗体。在一些情况下, 变异免疫调节多肽与相应亲本野生型免疫调节多肽相比包含1至20个氨基酸取代(例如, 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个氨基酸取代)。在一些情况下, TMMP包含两种变异免疫调节多肽。在一些情况下, 这两种变异免疫调节多肽包含相同氨基酸序列。在一些情况下, 第一多肽包含这两种变异免疫调节多肽中的一种且其中第二多肽包含这两种变异免疫调节多肽中的第二种。在一些情况下, 这两种变异免疫调节多肽处于TMMP的相同多肽链上。在一些情况下, 这两种变异免疫调节多肽处于TMMP的第一多肽上。在一些情况下, 这两种变异免疫调节多肽处于TMMP的第二多肽上。

[0617] 在一些情况下, 所述方法进一步包括从文库中分离选出的TMMP文库成员。在一些情况下, 所述方法进一步包括提供包含编码选出的TMMP文库成员的核苷酸序列的核酸。在一些情况下, 所述核酸存在于重组表达载体中。在一些情况下, 核苷酸序列可操作连接至在真核细胞中起作用的转录控制元件。在一些情况下, 所述方法进一步包括将核酸引入真核宿主细胞中及在液体培养基中培养细胞以在细胞中合成所编码的选出的TMMP文库成员。在一些情况下, 所述方法进一步包括从细胞或从包含所述细胞的液体培养基中分离所合成的选出的TMMP文库成员。在一些情况下, 所选择的TMMP文库成员包含Ig Fc多肽。在一些情况下, 所述方法进一步包括将药物缀合至Ig Fc多肽。在一些情况下, 药物为选自以下的细胞毒性剂: 美登木素、苯二氮卓、类紫杉醇、CC-1065、倍癌霉素、倍癌霉素类似物、卡利奇霉素、尾海兔素、尾海兔素类似物、澳瑞他汀、茅屋霉素、及细霉素、或前述任一种的前药。在一些情况下, 药物为类视黄醇。在一些情况下, 亲本野生型免疫调节多肽和同源免疫调节多肽选自: IL-2和IL-2受体; 4-1BBL和4-1BB; PD-L1和PD-1; CD70和CD27; TGFβ和TGFβ受体; CD80和CD28; CD86和CD28; OX40L和OX40; FasL和Fas; ICOS-L和ICOS; ICAM和LFA-1; JAG1和Notch; JAG1和CD46; CD80和CTLA4; 以及CD86和CTLA4。

[0618] 本公开提供一种获得包含一种或多种变异免疫调节多肽的TMMP的方法, 所述一种或多种变异免疫调节多肽呈现出对同源共免疫调节多肽的亲和力与相应亲本野生型免疫调节多肽对共免疫调节多肽的亲和力相比有所减小, 所述方法包括: A) 提供包含多个成员的TMMP文库, 其中所述多个成员包含: a) 第一多肽, 所述第一多肽包含: i) 表位; 及 ii) 第一MHC多肽; 和b) 第二多肽, 所述第二多肽包含: i) 第二MHC多肽; 及 ii) 任选的Ig Fc多肽或非Ig支架, 其中所述文库的成员包含存在于第一多肽、第二多肽、或第一多肽和第二多肽两者

中的多个变异免疫调节多肽;以及B)从文库中选择呈现出对同源共免疫调节多肽的亲合力有所减小的成员。在一些情况下,选择步骤包含使用生物层干涉术确定TMMP文库成员与同源共免疫调节多肽之间的结合亲和力。在一些情况下,TMMP如上文所述。

[0619] 在一些情况下,所述方法进一步包括:a)使选出的TMMP文库成员与在其表面上表达以下各物的靶T细胞接触:i)结合亲本野生型免疫调节多肽的同源共免疫调节多肽;及ii)结合至表位的T细胞受体,其中TMMP文库成员包含表位标签,使得所述TMMP文库成员结合至靶T细胞;b)使结合至靶T细胞的选出的TMMP文库成员与结合至表位标签的荧光标记的结合剂接触,从而生成选出的TMMP文库成员/靶T细胞/结合剂复合物;以及c)使用流动式细胞测量术测量选出的TMMP文库成员/靶T细胞/结合剂复合物的平均荧光强度(MFI),其中在选出的TMMP文库成员的浓度范围上测量的MFI提供亲和力及表观亲合力的量度。同TMMP文库成员与包含以下的对照T细胞的结合相比,选择性结合靶T细胞的选出的TMMP文库成员被鉴别为选择性结合至靶T细胞:i)结合亲本野生型免疫调节多肽的同源共免疫调节多肽;及ii)结合至除了TMMP文库成员中存在的表位以外的表位的T细胞受体。在一些情况下,结合剂为对表位标签具有特异性的抗体。在一些情况下,变异免疫调节多肽与相应亲本野生型免疫调节多肽相比包含1至20个氨基酸取代(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个氨基酸取代)。在一些情况下,TMMP包含两种变异免疫调节多肽。在一些情况下,这两种变异免疫调节多肽包含相同氨基酸序列。在一些情况下,第一多肽包含这两种变异免疫调节多肽中的一种且其中第二多肽包含这两种变异免疫调节多肽中的第二种。在一些情况下,这两种变异免疫调节多肽处于TMMP的相同多肽链上。在一些情况下,这两种变异免疫调节多肽处于TMMP的第一多肽上。在一些情况下,这两种变异免疫调节多肽处于TMMP的第二多肽上。

[0620] 在一些情况下,所述方法进一步包括从文库中分离选出的TMMP文库成员。在一些情况下,所述方法进一步包括提供包含编码选出的TMMP文库成员的核苷酸序列的核酸。在一些情况下,所述核酸存在于重组表达载体中。在一些情况下,核苷酸序列可操作连接至在真核细胞中起作用的转录控制元件。在一些情况下,所述方法进一步包括将核酸引入真核宿主细胞中及在液体培养基中培养细胞以在细胞中合成所编码的选出的TMMP文库成员。在一些情况下,所述方法进一步包括自细胞或自包含该细胞的液体培养基中分离所合成的选出的TMMP文库成员。在一些情况下,所选的TMMP文库成员包含Ig Fc多肽。在一些情况下,所述方法进一步包括将药物缀合至Ig Fc多肽。在一些情况下,药物为选自以下的细胞毒性剂:美登木素、苯二氮卓、类紫杉醇、CC-1065、倍癌霉素、倍癌霉素类似物、卡利奇霉素、尾海兔素、尾海兔素类似物、澳瑞他汀、茅屋霉素及细霉素、或前述任一者的前药。在一些情况下,药物为类视黄醇。在一些情况下,亲本野生型免疫调节多肽和同源免疫调节多肽选自IL-2和IL-2受体;4-1BBL和4-1BB;PD-L1和PD-1;TGF β 和TGF β 受体;CD80和CD28;CD86和CD28;OX40L和OX40;FasL和Fas;ICOS-L和ICOS;CD70和CD27;ICAM和LFA-1;JAG1和Notch;JAG1和CD46;CD80和CTLA4;以及CD86和CTLA4。

[0621] 核酸

[0622] 本公开提供一种核酸,其包含编码本公开的TMMP的核苷酸序列。本公开提供一种核酸,其包含编码本公开的TMMP的核苷酸序列。

[0623] 本公开提供包含编码本公开的TMMP的核苷酸序列的核酸。在一些情况下,本公开

的TMMP的个别多肽链在单独的核酸中编码。在一些情况下,本公开的TMMP的全部多肽链均在单一核酸中编码。在一些情况下,第一核酸包含编码本公开的TMMP的第一多肽的核苷酸序列;且第二核酸包含编码本公开的TMMP的第二多肽的核苷酸序列。在一些情况下,单一核酸包含编码本公开的TMMP的第一多肽和本公开的TMMP的第二多肽的核苷酸序列。

[0624] 编码多聚体多肽的个别多肽链的单独核酸

[0625] 本公开提供包含编码本公开的TMMP的核苷酸序列的核酸。如上文所述,在一些情况下,本公开的TMMP的个别多肽链在单独的核酸中编码。在一些情况下,编码本公开的TMMP的单独多肽链的核苷酸序列可操作地连接至转录控制元件,例如启动子,诸如在真核细胞中起作用的启动子,其中所述启动子可为组成型启动子或诱导型启动子。

[0626] 本公开提供第一核酸和第二核酸,其中第一核酸包含编码本公开的TMMP的第一多肽的核苷酸序列,其中第一多肽以从N端至C端的次序包含:a)表位(例如,T细胞表位);b)第一MHC多肽;及c)免疫调节多肽(例如,如上文所述的亲和力减小的变体);且其中第二核酸包含编码本公开的TMMP的第二多肽的核苷酸序列,其中第二多肽以从N端至C端的次序包含:a)第二MHC多肽;及b)Ig Fc多肽。适合的T细胞表位、MHC多肽、免疫调节多肽及Ig Fc多肽如上文所述。在一些情况下,编码第一多肽和第二多肽的核苷酸序列可操作地连接至转录控制元件。在一些情况下,转录控制元件为在真核细胞中起作用的启动子。在一些情况下,核酸存在于单独的表达载体中。

[0627] 本公开提供第一核酸和第二核酸,其中第一核酸包含编码本公开的TMMP的第一多肽的核苷酸序列,其中第一多肽以从N端至C端的次序包含:a)表位(例如,T细胞表位);和b)第一MHC多肽;且其中第二核酸包含编码本公开的TMMP的第二多肽的核苷酸序列,其中第二多肽以从N端至C端的次序包含:a)免疫调节多肽(例如,如上文所述的亲和力减小的变体);b)第二MHC多肽;及c)Ig Fc多肽。适合的T细胞表位、MHC多肽、免疫调节多肽及Ig Fc多肽如上文所述。在一些情况下,编码第一多肽和第二多肽的核苷酸序列可操作地连接至转录控制元件。在一些情况下,转录控制元件为在真核细胞中起作用的启动子。在一些情况下,核酸存在于单独的表达载体中。

[0628] 编码存在于多聚体多肽中的两种或更多种多肽的核酸

[0629] 本公开提供一种核酸,其包含至少编码本公开的TMMP的第一多肽和第二多肽的核苷酸序列。在一些情况下,在本公开的TMMP包括第一多肽、第二多肽及第三多肽时,核酸包括编码第一多肽、第二多肽及第三多肽的核苷酸序列。在一些情况下,编码本公开的TMMP的第一多肽和第二多肽的核苷酸序列包括插入编码第一多肽的核苷酸序列与编码第二多肽的核苷酸序列之间的蛋白水解可裂解的接头。在一些情况下,编码本公开的TMMP的第一多肽和第二多肽的核苷酸序列包括插入编码第一多肽的核苷酸序列与编码第二多肽的核苷酸序列之间的内部核糖体进入位点(IRES)。在一些情况下,编码本公开的TMMP的第一多肽和第二多肽的核苷酸序列包括插入编码第一多肽的核苷酸序列与编码第二多肽的核苷酸序列之间的核糖体跳跃信号(或顺式作用水解酶元件,CHYSEL)。核酸的实例在下文中描述,在蛋白水解可裂解的接头提供于编码本公开的TMMP的第一多肽与第二多肽的核苷酸序列之间;在这些实施方案的任一个中,IRES或核糖体跳跃信号可用于代替编码蛋白水解可裂解的接头的核苷酸序列。

[0630] 在一些情况下,第一核酸(例如,重组表达载体、mRNA、病毒RNA等)包含编码本公开

的TMMP的第一多肽链的核苷酸序列;且第二核酸(例如,重组表达载体、mRNA、病毒RNA等)包含编码本公开的TMMP的第二多肽链的核苷酸序列。在一些情况下,编码第一多肽的核苷酸序列和编码第二多肽的第二核苷酸序列各自可操作地连接至转录控制元件,例如启动子,诸如在真核细胞中起作用的启动子,其中所述启动子可为组成型启动子或诱导型启动子。

[0631] 本公开提供一种核酸,所述核酸包含编码重组多肽的核苷酸序列,其中所述重组多肽以从N端至C端的次序包含:a)表位(例如,T细胞表位);b)第一MHC多肽;c)免疫调节多肽(例如,如上文所述的亲和力减小的变体);d)蛋白水解可裂解的接头;e)第二MHC多肽;及f)免疫球蛋白(Ig)Fc多肽。本公开提供一种核酸,所述核酸包含编码重组多肽的核苷酸序列,其中所述重组多肽以从N端至C端的次序包含:a)第一前导肽;b)表位;c)第一MHC多肽;d)免疫调节多肽(例如,如上文所述的亲和力减小的变体);e)蛋白水解可裂解的接头;f)第二前导肽;g)第二MHC多肽;及h)Ig Fc多肽。本公开提供一种核酸,所述核酸包含编码重组多肽的核苷酸序列,其中所述重组多肽以从N端至C端的次序包含:a)表位;b)第一MHC多肽;c)蛋白水解可裂解的接头;d)免疫调节多肽(例如,如上文所述的亲和力减小的变体);e)第二MHC多肽;及f)Ig Fc多肽。在一些情况下,第一前导肽和第二前导肽为 β 2-M前导肽。在一些情况下,核苷酸序列可操作地连接至转录控制元件。在一些情况下,转录控制元件为在真核细胞中起作用的启动子。

[0632] 适合的MHC多肽在上文中描述。在一些情况下,第一MHC多肽为 β 2-微球蛋白多肽;且其中第二MHC多肽为I类MHC重链多肽。在一些情况下, β 2-微球蛋白多肽包含与图4中描绘的 β 2M氨基酸序列具有至少85%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。在一些情况下,I类MHC重链多肽为HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-E、HLA-F、HLA-G、HLA-K或HLA-L重链。

[0633] 适合的Fc多肽在上文中描述。在一些情况下,Ig Fc多肽为IgG1Fc多肽、IgG2 Fc多肽、IgG3 Fc多肽、IgG4 Fc多肽、IgA Fc多肽或IgM Fc多肽。在一些情况下,Ig Fc多肽包含与图3A-3G中描绘的氨基酸序列具有至少85%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0634] 适合的免疫调节多肽在上文中描述。

[0635] 适合的蛋白水解可裂解的接头在上文中描述。在一些情况下,蛋白水解可裂解的接头包含选自以下的氨基酸序列:a)LEVLFFQGP (SEQ ID NO:388);b)ENLYTQS (SEQ ID NO:389);c)DDDDK (SEQ ID NO:390);d)LVPR (SEQ ID NO:391);及e)GSGATNFSL LKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO:392)。

[0636] 在一些情况下,介于表位与第一MHC多肽之间的接头包含第一Cys残基,且第二MHC多肽包含提供第二Cys残基的氨基酸取代,使得第一Cys残基及第二Cys残基提供接头与第二MHC多肽之间的二硫键联。在一些情况下,第一MHC多肽包含提供第一Cys残基的氨基酸取代,且第二MHC多肽包含提供第二Cys残基的氨基酸取代,使得第一Cys残基及第二Cys残基提供第一MHC多肽与第二MHC多肽之间的二硫键联。

[0637] 重组表达载体

[0638] 本公开提供包含本公开的核酸的重组表达载体。在一些情况下,重组表达载体为非病毒载体。在一些情况下,重组表达载体为病毒构建体,例如重组腺相关病毒构建体(参见,例如美国专利号7,078,387)、重组腺病毒构建体、重组慢病毒构建体、重组逆转录病毒构建体、非整合病毒载体等。

[0639] 适合的表达载体包括但不限于病毒载体(例如,基于以下的病毒载体:牛痘病毒;

脊髓灰质炎病毒;腺病毒(参见,例如Li等人,Invest Ophthalmol Vis Sci 35:2543 2549, 1994;Borras等人,Gene Ther 6:515524,1999;Li和Davidson,PNAS 92:7700 7704,1995; Sakamoto等人,H Gene Ther 5:1088 1097,1999;WO 94/12649、WO 93/03769;WO 93/19191;WO 94/28938;WO 95/11984及WO 95/00655);腺相关病毒(参见,例如Ali等人,Hum Gene Ther 9:81 86,1998,Flannery等人,PNAS 94:6916 6921,1997;Bennett等人,Invest Ophthalmol Vis Sci 38:2857 2863,1997;Jomary等人,Gene Ther 4:683 690,1997, Rolling等人,Hum Gene Ther 10:641 648,1999;Ali等人,Hum Mol Genet 5:591 594, 1996;Srivastava in WO 93/09239,Samulski等人,J.Vir. (1989) 63:3822-3828; Mendelson等人,Viol. (1988) 166:154-165;以及Flotte等人,PNAS (1993) 90:10613-10617);SV40;单纯疱疹病毒;人免疫缺陷病毒(参见,例如Miyoshi等人,PNAS 94:10319 23,1997;Takahashi等人,J Virol 73:7812 7816,1999);逆转录病毒载体(例如,鼠类白血病病毒、脾坏死病毒及源自逆转录病毒诸如劳斯肉瘤病毒(Rous Sarcoma Virus)、哈维肉瘤病毒(Harvey Sarcoma Virus)、禽白血病病毒、慢病毒、人免疫缺陷病毒、骨髓增殖性肉瘤病毒及乳腺肿瘤病毒的载体);等等。

[0640] 大量适合的表达载体为本领域技术人员所知,且许多表达载体为市售的。以下载体作为实例提供;对于真核宿主细胞:pXT1、pSG5 (Stratagene)、pSVK3、pBPV、pMSG及 pSVLSV40 (Pharmacia)。然而,可使用任何其他载体,只要其与宿主细胞相容。

[0641] 取决于所利用的宿主/载体系统,在表达载体中可使用许多适合的转录及转译控制元件中的任一个,包括组成型和诱导型启动子、转录增强子元件、转录终止子等(参见,例如Bitter等人(1987)Methods in Enzymology,153:516-544)。

[0642] 在一些情况下,编码DNA靶向RNA和/或定点修饰多肽的核苷酸序列可操作地连接至控制元件,例如转录控制元件,诸如启动子。转录控制元件可在真核细胞例如哺乳动物细胞;或原核细胞(例如细菌或古细菌细胞)中起作用。在一些情况下,编码DNA靶向RNA和/或定点修饰多肽的核苷酸序列可操作地连接至允许编码DNA靶向RNA和/或定点修饰多肽的核苷酸序列在原核细胞和真核细胞中表达的多个控制元件。

[0643] 适合的真核细胞启动子(在真核细胞中起作用的启动子)的非限制性实例包括来自以下的那些启动子:巨细胞病毒(CMV)即刻早期、单纯疱疹病毒(HSV)胸苷激酶、早期及晚期SV40、来自逆转录病毒的长末端重复序列(LTR)及小鼠金属硫蛋白-I。适当载体及启动子的选择正处于一般本领域技术人员的水平内。表达载体还可含有用于转译起始的核糖体结合位点和转录终止子。表达载体还可包括用于扩增表达的适当序列。

[0644] 基因修饰的宿主细胞

[0645] 本公开提供一种基因修饰的宿主细胞,其中所述宿主细胞被本公开的核酸基因修饰。

[0646] 适合的宿主细胞包括真核细胞,诸如酵母细胞、昆虫细胞及哺乳动物细胞。在一些情况下,宿主细胞为哺乳动物细胞系的细胞。适合的哺乳动物细胞系包括人细胞系、非人灵长类动物细胞系、啮齿动物(例如小鼠、大鼠)细胞系等。适合的哺乳动物细胞系包括但不限于HeLa细胞(例如,美国模式培养物保藏中心(ATCC)号CCL-2)、CHO细胞(例如,ATCC号CRL9618、CCL61、CRL9096)、293细胞(例如,ATCC号CRL-1573)、Vero细胞、NIH 3T3细胞(例如,ATCC号CRL-1658)、Huh-7细胞、BHK细胞(例如,ATCC号CCL10)、PC12细胞(ATCC号

CRL1721)、COS细胞、COS-7细胞(ATCC号CRL1651)、RAT1细胞、小鼠L细胞(ATCC号CCLI.3)、人胚胎肾(HEK)细胞(ATCC号CRL1573)、HLHepG2细胞等。

[0647] 在一些情况下,宿主细胞为已被基因修饰使得其并未合成内源性MHCβ2-M的哺乳动物细胞。

[0648] 在一些情况下,宿主细胞为已被基因修饰使得其并未合成内源性I类MHC重链的哺乳动物细胞。在一些情况下,宿主细胞为已被基因修饰使得其并未合成内源性MHCβ2-M且使得其并未合成内源性I类MHC重链的哺乳动物细胞。

[0649] 组合物

[0650] 本公开提供包含本公开的TMMP(synTac)的组合物,包括药物组合物。本公开提供包含本公开的TMMP的组合物,包括药物组合物。本公开提供包含本公开的核酸或重组表达载体的组合物,包括药物组合物。

[0651] 包含多聚体多肽的组合物

[0652] 除了本公开的TMMP以外,本公开的组合物还可包含以下中的一种或多种:盐,例如NaCl、MgCl₂、KCl、MgSO₄等;缓冲剂,例如Tris缓冲液、N-(2-羟乙基)哌嗪-N'-(2-乙烷磺酸)(HEPES)、2-(吗啉代)乙烷磺酸(MES)、2-(吗啉代)乙烷磺酸钠盐(MES)、3-(吗啉代)丙烷磺酸(MOPS)、N-三[羟乙基]甲基-3-氨基丙烷磺酸(TAPS)等;增溶剂;清洁剂,例如非离子性清洁剂,诸如Tween-20等;蛋白酶抑制剂;甘油;等等。

[0653] 组合物可包含药学上可接受的赋形剂,多种赋形剂为本领域中已知的且不必在本文中详细论述。药学上可接受的赋形剂已充分描述于多个出版物中,包括例如“Remington: The Science and Practice of Pharmacy”,第19版(1995)或最新版本,Mack Publishing Co.;A.Gennaro(2000)“Remington:The Science and Practice of Pharmacy”,第20版,Lippincott,Williams,&Wilkins;Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems(1999)H.C.Ansel等人编,第7版,Lippincott,Williams,&Wilkins;及Handbook of Pharmaceutical Excipients(2000)A.H.Kibbe等人编,第3版.Amer.Pharmaceutical Assoc。

[0654] 药物组合物可包含本公开的TMMP及药学上可接受的赋形剂。在一些情况下,本药物组合物将适用于向受试者施用,例如将为无菌的。例如,在一些情况下,本药物组合物将适用于向人受试者施用,例如其中组合物为无菌的且不含可检测的热原和/或其他毒素。

[0655] 蛋白质组合物可包含其他组分,诸如医药级的甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、滑石、纤维素、葡萄糖、蔗糖、镁、碳酸盐等。组合物可含有接近生理条件所需的药学上可接受的辅助物质,诸如pH调节剂和缓冲剂、毒性调节剂等,例如乙酸钠、氯化钠、氯化钾、氯化钙、乳酸钠、盐酸盐、硫酸盐、溶剂合物(例如,混合型离子盐、水、有机物)、水合物(例如,水)等。

[0656] 举例来说,组合物可包括水溶液、粉末形式、颗粒、片剂、丸剂、栓剂、胶囊剂、混悬液、喷雾剂等。组合物可根据下文所述的各种施用途径配制。

[0657] 在本公开的TMMP作为可注射物(例如,皮下、腹膜内、肌肉内和/或静脉内)直接施用于组织中时,制剂可以即用剂型或以非水性形式(例如,可复水的保存稳定的粉末)或水性形式(诸如,由药学上可接受的载剂和赋形剂构成的液体)提供。也可提供含蛋白质的制剂以便在施用后延长TMMP的血清半衰期。举例来说,TMMP可提供于脂质体制剂中,制备为胶

体,或使用用于延长血清半衰期的其他常规技术。多种方法可用于制备脂质体,如例如 Szoka 等人 1980 Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 9:467, 美国专利号 4,235,871、4,501,728 及 4,837,028 中所述。制剂也可以受控释放或缓慢释放形式提供。

[0658] 适用于胃肠外施用的制剂的其他实例包括等张无菌注射溶液、抗氧化剂、抑菌剂、及使制剂与预定接受者的血液等张的溶质、悬浮剂、增溶剂、增稠剂、稳定剂及防腐剂。举例来说,本药物组合物可存在于容器,例如无菌容器,诸如注射器中。制剂可于单位剂量或多剂量密封容器(诸如安瓿及小瓶)中提供,且可储存于冷冻干燥(冻干)条件下,其仅需要在临使用前添加无菌液体赋形剂,例如注射用水。临时注射溶液和混悬液可从无菌粉剂、颗粒及片剂制备。

[0659] 本公开的 TMMP 在制剂中的浓度可广泛变化(例如,自小于约 0.1 重量%(通常为或至少约 2 重量%)至多达 20 重量%至 50 重量%或更大)且通常将主要基于流体体积、粘度及基于患者的因素,根据所选的特定施用模式及患者需求而选择。

[0660] 本公开提供包含本公开的组合物(例如液体组合物)的容器。容器可为例如注射器、安瓿等。在一些情况下,容器为无菌的。在一些情况下,容器和组合物二者皆为无菌的。

[0661] 本公开提供包含本公开的 TMMP 的组合物,包括药物组合物。组合物可包含:a) 本公开的 TMMP;和 b) 如上文所述的赋形剂。在一些情况下,赋形剂为药学上可接受的赋形剂。

[0662] 在一些情况下,本公开的 TMMP 存在于液体组合物中。因此,本公开提供包含本公开的 TMMP 的组合物(例如液体组合物,包括药物组合物)。在一些情况下,本公开的组合物包含:a) 本公开的 TMMP;和 b) 盐水(例如,0.9% NaCl)。在一些情况下,组合物为无菌的。在一些情况下,组合物适用于向人受试者施用,例如其中组合物为无菌的且不含可检测的热原和/或其他毒素。因此,本公开提供一种组合物,其包含:a) 本公开的 TMMP;和 b) 盐水(例如,0.9% NaCl),其中所述组合物为无菌的且不含可检测的热原和/或其他毒素。

[0663] 包含核酸或重组表达载体的组合物

[0664] 本公开提供包含本公开的核酸或重组表达载体的组合物,例如药物组合物。多种药学上可接受的赋形剂为本领域中已知且不必在本文中详细论述。药学上可接受的赋形剂已充分描述于多个出版物中,包括例如 A. Gennaro (2000) "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 第 20 版, Lippincott, Williams, & Wilkins; Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (1999) H.C. Ansel 等人编, 第 7 版, Lippincott, Williams, & Wilkins; 以及 Handbook of Pharmaceutical Excipients (2000) A.H. Kibbe 等人编, 第 3 版. Amer. Pharmaceutical Assoc.

[0665] 本公开的组合物可包括:a) 一种或多种核酸或一种或多种重组表达载体,其包含编码 TMMP 的核苷酸序列;和 b) 以下中的一种或多种:缓冲剂、表面活性剂、抗氧化剂、亲水性聚合物、糊精、螯合剂、悬浮剂、增溶剂、增稠剂、稳定剂、抑菌剂、润湿剂及防腐剂。适合的缓冲剂包括但不限于(诸如 N,N-双(2-羟乙基)-2-氨基乙烷磺酸(BES)、双(2-羟乙基)氨基-三(羟甲基)甲烷(BIS-Tris)、N-(2-羟乙基)哌嗪-N'3-丙烷磺酸(EPPS 或 HEPPS)、双甘氨酸、N-2-羟乙基哌嗪-N'-2-乙烷磺酸(HEPES)、3-(吗啉代)丙烷磺酸(MOPS)、哌嗪-N,N'-双(2-乙烷磺酸)(PIPES)、碳酸氢钠、3-(N-三(羟甲基)-甲基-氨基)-2-羟基-丙烷磺酸(TAPSO)、(N-三(羟甲基)甲基-2-氨基乙烷磺酸(TES)、N-三(羟甲基)甲基-甘氨酸(Tricine)、三(羟甲基)-氨基甲烷(Tris)等)。适合的盐包括例如 NaCl、MgCl₂、KCl、MgSO₄ 等。

[0666] 本公开的制剂可包括约0.001%至约90% (w/w) 的量的本公开的核酸或重组表达载体。在制剂的以下描述中,“本核酸或重组表达载体”应理解为包括本公开的核酸或重组表达载体。举例来说,在一些情况下,本制剂包含本公开的核酸或重组表达载体。

[0667] 本核酸或重组表达载体可与其他化合物或化合物混合物掺合,以其他化合物或化合物混合物包封,与其他化合物或化合物混合物缀合,或以其他方式与其他化合物或化合物混合物缔合;此类化合物可包括例如脂质体或受体靶向分子。本核酸或重组表达载体可与帮助摄取、分布和/或吸收的一种或多种组分一起组合于制剂中。

[0668] 本核酸或重组表达载体组合物可被配制成许多可能剂型中的任一个,诸如但不限于片剂、胶囊、凝胶胶囊、液体糖浆、软凝胶、栓剂及灌肠剂。本核酸或重组表达载体组合物亦可被配制成水性、非水性或混合介质中的混悬液。水性混悬液可进一步含有增加混悬液粘度的物质,包括例如羧甲基纤维素钠、山梨糖醇和/或葡聚糖。混悬液还可含有稳定剂。

[0669] 包含本核酸或重组表达载体的制剂可为脂质体制剂。如本文所用,术语“脂质体”意指由以一个或多个球形双层排列的两亲性脂质构成的囊泡。脂质体为单层或多层囊泡,其具有由亲脂性材料形成的膜及含有待递送的组合物的水性内腔。阳性脂质体为带正电脂质体,其可与带负电DNA分子相互作用以形成稳定复合物。据信pH敏感性或带负电之脂质体截留DNA,而非与其复合。阳离子和非阳离子脂质体皆可用于递送本核酸或重组表达载体。

[0670] 脂质体还包括“空间上稳定的”脂质体,如本文所用,该术语是指包含一种或多种特化脂质的脂质体,所述特化脂质当并入脂质体中时导致其循环寿命相对于缺乏此类特化脂质的脂质体有所增加。空间上稳定的脂质体的实例为如下的那些,其中脂质体之囊泡形成脂质的一部分包含一种或多种酯脂或以一种或多种亲水性聚合物诸如聚乙二醇(PEG)部分衍生化。脂质体及其用途进一步描述于美国专利号6,287,860中,其以引用方式整体并入本文。

[0671] 本公开的制剂和组合物还可包括表面活性剂。表面活性剂于药物产品、制剂及乳液中的用途为本领域中所公知。表面活性剂及其用途进一步描述于美国专利号6,287,860中。

[0672] 在一实施方案中,包括各种渗透增强剂以实现核酸的有效递送。除了帮助非亲脂性药物扩散穿过细胞膜以外,渗透增强剂还增强亲脂性药物的渗透性。渗透增强剂可被分类为属五大类别之一,即表面活性剂、脂肪酸、胆盐、螯合剂及非螯合非表面活性剂。渗透增强剂及其用途进一步描述于美国专利号6,287,860中,其以引用方式整体并入本文。

[0673] 用于经口施用的组合物和制剂包括粉剂或颗粒、微粒、纳米微粒、水或非水性介质中的混悬液或溶液、胶囊、凝胶胶囊、小药囊、片剂或微型片剂。可期望增稠剂、调味剂、稀释剂、乳化剂、分散助剂或粘合剂。适合的口服制剂包含如下的那些,其中本反义核酸与渗透增强剂表面活性剂及螯合剂中的一种或多种一起施用。适合的表面活性剂包括但不限于脂肪酸和/或其酯或盐、胆酸和/或其盐。适合的胆酸/盐及脂肪酸及其用途进一步描述于美国专利号6,287,860中。渗透增强剂,例如脂肪酸/盐与胆酸/盐组合的组合亦为适合的。示例性适合组合为月桂酸、癸酸及UDCA的钠盐。其他渗透增强剂包括但不限于聚氧乙烯-9-月桂基醚及聚氧乙烯-20-十六烷基醚。适合的渗透增强剂还包括丙二醇、二甲亚砜、三乙醇胺、N,N-二甲基乙酰胺、N,N-二甲基甲酰胺、2-吡咯啉酮及其衍生物、四氢糠醇及AZONE™。

[0674] 调节T细胞活性的方法

[0675] 本公开提供一种选择性调节表位特异性T细胞的活性的方法,所述方法包括使T细胞与本公开的TMMP接触,其中使T细胞与本公开的TMMP接触选择性调节表位特异性T细胞的活性。在一些情况下,所述接触在体外发生。在一些情况下,所述接触在体内发生。在一些情况下,所述接触离体发生。

[0676] 在一些情况下,例如,在靶T细胞为CD8⁺T细胞时,TMMP包含I类MHC多肽(例如, β 2-微球蛋白和I类MHC重链)。

[0677] 在本公开的TMMP包括作为活化多肽的免疫调节多肽时,T细胞与TMMP的接触激活表位特异性T细胞。在一些情况下,表位特异性T细胞为对存在于癌细胞上的表位有特异性的T细胞,且表位特异性T细胞与TMMP的接触提高T细胞对癌细胞的细胞毒性活性。在一些情况下,表位特异性T细胞为对存在于癌细胞上的表位有特异性的T细胞,且表位特异性T细胞与TMMP的接触增加表位特异性T细胞的数目。

[0678] 在一些情况下,表位特异性T细胞为对存在于病毒感染细胞上的表位有特异性的T细胞,且表位特异性T细胞与TMMP的接触提高T细胞对病毒感染细胞的细胞毒性活性。在一些情况下,表位特异性T细胞为对存在于病毒感染细胞上的表位有特异性的T细胞,且表位特异性T细胞与TMMP的接触增加表位特异性T细胞的数目。

[0679] 在本公开的TMMP包括作为抑制性多肽的免疫调节多肽时,T细胞与TMMP的接触抑制表位特异性T细胞。在一些情况下,表位特异性T细胞为对存在于自体抗原上的表位有特异性的自身反应性T细胞,且所述接触减少自身反应性T细胞的数目。

[0680] 本公开提供一种调节个体中的免疫反应的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的本公开的TMMP。施用TMMP诱导表位特异性T细胞反应(例如,癌症表位特异性T-细胞反应;病毒表位特异性)和表位非特异性T细胞反应,其中表位特异性T细胞反应与表位非特异性T细胞反应的比率为至少2:1。在一些情况下,表位特异性T细胞反应与表位非特异性T细胞反应的比率为至少5:1。在一些情况下,表位特异性T细胞反应与表位非特异性T细胞反应的比率为至少10:1。在一些情况下,表位特异性T细胞反应与表位非特异性T细胞反应的比率为至少25:1。在一些情况下,表位特异性T细胞反应与表位非特异性T细胞反应的比率为至少50:1。在一些情况下,表位特异性T细胞反应与表位非特异性T细胞反应的比率为至少100:1。在一些情况下,个体为人。在一些情况下,所述调节增加对癌细胞(例如,表达呈现与TMMP中存在的肽表位所呈现相同的表位的抗原的癌细胞)的细胞毒性T细胞反应。在一些情况下,所述施用为静脉内、皮下、肌肉内、全身性、淋巴管内、治疗部位远端、局部或治疗部位处或附近的施用。

[0681] 本公开提供一种选择性递送共刺激(即,免疫调节)多肽至靶T细胞的方法,所述方法包括使混合T细胞群与本公开的TMMP接触,其中所述混合T细胞群包含靶T细胞和非靶T细胞,其中靶T细胞对存在于TMMP内的表位有特异性(例如,其中靶T细胞对存在于TMMP内的表位有特异性),且其中所述接触步骤递送存在于TMMP内的一种或多种共刺激多肽(免疫调节多肽)至靶T细胞。在一些情况下,所述T细胞群在体外。在一些情况下,所述T细胞群在个体体内。在一些情况下,所述方法包括向个体施用TMMP。在一些情况下,T细胞为细胞毒性T细胞。在一些情况下,混合的T细胞群是从个体获得的体外混合的T细胞群,且接触步骤导致靶T细胞的活化和/或增殖,从而生成活化和/或增殖的靶T细胞群;在这些情况的一些下,所述方法进一步包括向个体施用活化和/或增殖的靶T细胞群。

[0682] 本公开提供一种检测从个体获得的混合T细胞群中结合目标表位(例如,癌症表位、病毒表位)的靶T细胞的存在的方法,所述方法包括:a)使混合T细胞群与本公开的TMMP在体外接触,其中TMMP包含目标表位(例如,癌症表位、病毒表位);及b)检测T细胞响应于所述接触的活化和/或增殖,其中活化和/或增殖的T细胞指示靶T细胞的存在。

[0683] 治疗方法

[0684] 本公开提供一种治疗个体的方法,所述方法包括向个体施用有效治疗个体的量的本公开的TMMP或一种或多种编码TMMP的核酸。还提供本公开的TMMP,其是用于治疗人或动物体的方法中。在一些情况下,本公开的治疗方法包括向有需要的个体施用包含编码本公开的TMMP的核苷酸序列的一种或多种重组表达载体。在一些情况下,本公开的治疗方法包括向有需要的个体施用包含编码本公开的TMMP的核苷酸序列的一种或多种mRNA分子。在一些情况下,本公开的治疗方法包括向有需要的个体施用本公开的TMMP。可治疗的病状包括例如如下文所述的癌症和自身免疫性疾病。

[0685] 在一些情况下,本公开的TMMP当向有需要的个体施用时诱导表位特异性T细胞反应及表位非特异性T细胞反应。换句话说,在一些情况下,本公开的TMMP当向有需要的个体施用时通过调节第一T细胞的活性来诱导表位特异性T细胞反应,所述第一T细胞呈现出:i)对存在于TMMP中的表位有特异性的TCR;ii)结合至存在于TMMP中的免疫调节多肽的共免疫调节多肽;且通过调节第二T细胞的活性来诱导表位非特异性T细胞反应,所述第二T细胞呈现出:i)对除了存在于TMMP中的表位以外的表位有特异性的TCR;及ii)结合至存在于TMMP中的免疫调节多肽的共免疫调节多肽。表位特异性T细胞反应与表位非特异性T细胞反应的比率为至少2:1、至少5:1、至少10:1、至少15:1、至少20:1、至少25:1、至少50:1、或至少100:1。表位特异性T细胞反应与表位非特异性T细胞反应的比率为约2:1至约5:1、约5:1至约10:1、约10:1至约15:1、约15:1至约20:1、约20:1至约25:1、约25:1至约50:1、或约50:1至约100:1、或大于100:1。“调节T细胞的活性”可包括以下各项中的一个或多个:i)激活细胞毒性(例如CD8⁺)T细胞;ii)诱导细胞毒性(例如CD8⁺)T细胞的细胞毒性活性;iii)诱导细胞毒性(例如CD8⁺)T细胞对细胞毒素(例如穿孔蛋白;颗粒酶;粒溶蛋白)的产生及释放;iv)抑制自身反应性T细胞的活性;等等。

[0686] 免疫调节多肽对其同源共免疫调节多肽的减小的亲和力与表位对TCR的亲力的组合提供了本公开的TMMP的提高了的选择性。因此,举例来说,本公开的TMMP与其结合至第二T细胞的亲合力相比以更高亲合力结合至第一T细胞,所述第一T细胞呈现出:i)对存在于TMMP中的表位具有特异性的TCR;及ii)结合至存在于TMMP中的免疫调节多肽的共免疫调节多肽,所述第二T细胞呈现出:i)对除了存在于TMMP中的表位以外的表位具有特异性的TCR;及ii)结合至存在于TMMP中的免疫调节多肽的共免疫调节多肽。

[0687] 本公开提供一种选择性调节个体中表位特异性T细胞的活性的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的本公开的TMMP或一种或多种包含编码TMMP的核苷酸序列的核酸(例如,表达载体;mRNA;等),其中TMMP选择性调节个体中表位特异性T细胞的活性。选择性调节表位特异性T细胞的活性可治疗个体的疾病或病症。因此,本公开提供一种治疗方法,其包含向有需要的个体施用有效量的本公开的TMMP。

[0688] 在一些情况下,免疫调节多肽(“MOD”)为活化多肽,且TMMP激活表位特异性T细胞。在一些情况下,表位为癌症相关表位,且TMMP提高对于癌症相关表位有特异性的T细胞的活

性。在一些情况下,MOD为活化多肽,且TMMP激活表位特异性T细胞。在一些情况下,T细胞为T辅助细胞(CD4⁺细胞)、细胞毒性T细胞(CD8⁺细胞)、或NK-T-细胞。在一些情况下,表位为癌症表位,且TMMP提高对表达癌症表位的癌细胞有特异性的T细胞(例如,T辅助细胞(CD4⁺细胞)、细胞毒性T细胞(CD8⁺细胞)和/或NK-T-细胞)的活性。CD4⁺T细胞的活化可包括增加CD4⁺T细胞的增殖和/或诱导或增加由CD4⁺T细胞释放的细胞因子。NK-T细胞和/或CD8⁺细胞的活化可包括:增加NK-T-细胞和/或CD8⁺细胞之增殖;和/或诱导由NK-T-细胞和/或CD8⁺细胞释放细胞因子诸如干扰素 γ 。在一些情况下,本公开的TMMP减少调节性T(Treg)细胞之增殖和/或活性。Treg为FoxP3⁺、CD4⁺T细胞。在一些情况下,例如,在本公开的TMMP包含抑制性免疫调节多肽(例如,PD-L1、FasL等)时,TMMP减少Treg的增殖和/或活性。

[0689] 当本公开的TMMP包含癌症肽表位时,所述TMMP可以向有此需要的个体施用以治疗个体的癌症,其中所述癌症表达TMMP中存在的癌症肽表位。本公开提供一种治疗个体的癌症的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的本公开的TMMP或一种或多种包含编码TMMP的核苷酸序列的核酸(例如,表达载体;mRNA;等),其中TMMP包含作为癌症表位的T细胞表位,且其中TMMP包含刺激性免疫调节多肽。在一些情况下,本公开的TMMP的“有效量”为当以一个或多个剂量向有需要的个体施用减少个体中癌细胞的数目的量。举例来说,在一些情况下,本公开的TMMP的“有效量”为以下的量:当以一个或多个剂量向有需要的个体施用,与在施用TMMP之前或在未以TMMP施用个体中癌细胞的数目相比使个体中癌细胞的数目减少至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%。在一些情况下,本公开的TMMP的“有效量”为当以一个或多个剂量向有需要的个体施用减少个体中癌细胞的数目至不可检测水平的量。

[0690] 在一些情况下,本公开的TMMP的“有效量”为当以一个或多个剂量向有需要的个体施用减少个体中的肿瘤质量的量。举例来说,在一些情况下,本公开的TMMP的“有效量”为以下的量:当以一个或多个剂量向有需要的个体(患有肿瘤之个体)施用,与在施用TMMP之前或在未以TMMP施用个体中的肿瘤质量相比使个体中的肿瘤质量减少至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%。在一些情况下,本公开的TMMP的“有效量”为当以一个或多个剂量向有需要的个体(患有肿瘤的个体)施用减小个体中的肿瘤体积的量。举例来说,在一些情况下,本公开的TMMP的“有效量”为以下的量:当以一个或多个剂量向有需要的个体(患有肿瘤的个体)施用,与在施用TMMP之前或在未以TMMP施用个体中的肿瘤体积相比使个体中的肿瘤体积减小至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%。在一些情况下,本公开的TMMP的“有效量”为当以一个或多个剂量向有需要的个体施用增加个体的生存时间的量。举例来说,在一些情况下,本公开的TMMP的“有效量”为以下的量:当以一个或多个剂量向有需要的个体施用,与在未以TMMP施用个体的预期生存时间相比使个体的生存时间增加至少1个月、至少2个月、至少3个月、3个月至6个月、6个月至1年、1年至2年、2年至5年、5年至10年或大于10年。

[0691] 在一些情况下,表位特异性T细胞为对存在于病毒感染细胞上的表位有特异性的T细胞,且表位特异性T细胞与TMMP的接触提高T细胞对病毒感染细胞的细胞毒性活性。在一

些情况下,表位特异性T细胞为对存在于病毒感染细胞上的表位有特异性的T细胞,且表位特异性T细胞与TMMP的接触增加表位特异性T细胞的数目。

[0692] 因此,本公开提供一种治疗个体的病毒感染的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的本公开的TMMP或一种或多种包含编码TMMP的核苷酸序列的核酸,其中TMMP包含作为病毒表位的T细胞表位,且其中TMMP包含刺激性免疫调节多肽。在一些情况下,TMMP的“有效量”为当以一个或多个剂量向有需要的个体施用减少个体中病毒感染细胞的数目的量。举例来说,在一些情况下,本公开的TMMP的“有效量”为以下的量:当以一个或多个剂量向有需要的个体施用,与在施用TMMP之前或在未以TMMP施用个体中病毒感染细胞的数目相比使个体中病毒感染细胞的数目减少至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%。在一些情况下,本公开的TMMP的“有效量”为当以一个或多个剂量向有需要的个体施用减少个体中病毒感染细胞的数目至不可检测水平的量。

[0693] 因此,本公开提供一种治疗个体的感染的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的本公开的TMMP或一种或多种包含编码TMMP的核苷酸序列的核酸,其中TMMP包含作为病原体相关表位的T细胞表位,且其中TMMP包含刺激性免疫调节多肽。在一些情况下,本公开的TMMP的“有效量”为当以一个或多个剂量向有需要的个体施用减少个体中病原体的数目的量。举例来说,在一些情况下,本公开的TMMP的“有效量”为以下的量:当以一个或多个剂量向有需要的个体施用,与在施用TMMP之前或在未以TMMP施用个体中病原体的数目相比使个体中病原体的数目减少至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%。在一些情况下,本公开的TMMP的“有效量”为当以一个或多个剂量向有需要的个体施用减少个体中病原体的数目至不可检测水平的量。病原体包括病毒、细菌、原虫等。

[0694] 在一些情况下,免疫调节多肽为抑制性多肽,且TMMP抑制表位特异性T细胞的活性。在一些情况下,表位为自身表位,且TMMP选择性抑制对自身表位有特异性的T细胞的活性。

[0695] 本公开提供一种治疗个体之自身免疫性病症的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的本公开的TMMP或一种或多种包含编码TMMP的核苷酸序列的核酸,其中TMMP包含作为自身表位的T细胞表位,且其中TMMP包含抑制性免疫调节多肽。在一些情况下,本公开的TMMP的“有效量”为以下的量:当以一个或多个剂量向有需要的个体施用,与在施用TMMP之前或在未以TMMP施用个体中自身反应性T细胞的数目相比使个体中自身反应性T细胞的数目减少至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%。在一些情况下,TMMP的“有效量”为当以一个或多个剂量向有需要的个体施用减少个体中Th2细胞因子的产生的量。在一些情况下,本公开的TMMP的“有效量”为当以一个或多个剂量向有需要的个体施用减轻个体中的一种或多种与自体免疫疾病相关的症状的量。

[0696] 如上文所述,在一些情况下,在进行本治疗方法时,作为TMMP本身向有需要的个体施用本公开的TMMP。在其他情况下,在进行本治疗方法时,向有需要的个体施用一种或多种包含编码本公开的TMMP的核苷酸序列的核酸。因此,在其他情况下,向有需要的个体施用本公开的一种或多种核酸,例如,本公开的一种或多种重组表达载体。

[0697] 制剂

[0698] 适合的制剂在上文中描述,其中适合的制剂包括药学上可接受的赋形剂。在一些情况下,适合的制剂包含:a)本公开的TMMP;和b)药学上可接受的赋形剂。在一些情况下,适合的制剂包含:a)包含编码本公开的TMMP的核苷酸序列的核酸;和b)药学上可接受的赋形剂;在一些情况下,核酸为mRNA。在一些情况下,适合的制剂包含:a)第一核酸,所述第一核酸包含编码本公开的TMMP的第一多肽的核苷酸序列;b)第二核酸,所述第二核酸包含编码本公开的TMMP的第二多肽的核苷酸序列;及c)药学上可接受的赋形剂。在一些情况下,适合的制剂包含:a)包含编码本公开的TMMP的核苷酸序列的重组表达载体;及b)药学上可接受的赋形剂。在一些情况下,适合的制剂包含:a)第一重组表达载体,其包含编码本公开的TMMP的第一多肽的核苷酸序列;b)第二重组表达载体,其包含编码本公开的TMMP的第二多肽的核苷酸序列;及c)药学上可接受的赋形剂。

[0699] 适合的药学上可接受的赋形剂在上文中所述。

[0700] 剂量

[0701] 适合的剂量可由主治医师或其他合格医务人员基于各种临床因素来确定。如医学技术中所公知,用于任一患者的剂量取决于许多因素,包括患者的体型、身体表面积、年龄、待施用的特定多肽或核酸、患者的性别、施用时间和途径、一般健康状况及同时施用的其他药物。本公开的TMMP可施用的量介于1ng/kg体重与20mg/kg体重/剂量之间,例如在0.1mg/kg体重至10mg/kg体重之间,例如在0.5mg/kg体重至5mg/kg体重之间;然而,设想低于或高于此示例性范围之剂量,特别是考虑到上述因素。如果方案为连续输注,则其也可处于1 μ g至10mg/kg体重/min的范围内。本公开的TMMP可施用的量为约1mg/kg体重至50mg/kg体重,例如约1mg/kg体重至约5mg/kg体重、约5mg/kg体重至约10mg/kg体重、约10mg/kg体重至约15mg/kg体重、约15mg/kg体重至约20mg/kg体重、约20mg/kg体重至约25mg/kg体重、约25mg/kg体重至约30mg/kg体重、约30mg/kg体重至约35mg/kg体重、约35mg/kg体重至约40mg/kg体重、或约40mg/kg体重至约50mg/kg体重。

[0702] 在一些情况下,本公开的TMMP之适合剂量为0.01 μ g至100g/kg体重、0.1 μ g至10g/kg体重、1 μ g至1g/kg体重、10 μ g至100mg/kg体重、100 μ g至10mg/kg体重、或100 μ g至1mg/kg体重。一般本领域技术人员可容易基于所测量的滞留时间及所施用的药剂在体液或组织中的浓度来估计给药的重复率。在成功治疗之后,可能期望使患者经历维持疗法以预防疾病状态的复发,其中本公开的TMMP的所施用的维持剂量的范围为0.01 μ g至100g/kg体重、0.1 μ g至10g/kg体重、1 μ g至1g/kg体重、10 μ g至100mg/kg体重、100 μ g至10mg/kg体重、或100 μ g至1mg/kg体重。

[0703] 本领域技术人员将易于了解,剂量水平可随特定TMMP、症状严重程度和受试者对副作用的易感性而变化。给定化合物的优选剂量可易于由本领域技术人员通过多种方式确定。

[0704] 在一些情况下,施用多个剂量的本公开的TMMP、本公开的核酸、或本公开的重组表达载体。本公开的TMMP、本公开的核酸、或本公开的重组表达载体之施用频率可根据多种因素中的任一种而变化,这些因素为例如症状的严重性等。举例来说,在一些情况下,本公开的TMMP、本公开的核酸、或本公开的重组表达载体每月一次、每月两次、每月三次、每隔一周一次(qow)、每周一次(qw)、每周两次(biw)、每周三次(tiw)、每周四次、每周五次、每周六

次、每隔一天一次 (qod)、每天一次 (qd)、每天两次 (qid)、或每天三次 (tid) 施用。

[0705] 本公开的TMMP、本公开的核酸、或本公开的重组表达载体的施用持续时间,例如施用本公开的TMMP、本公开的核酸、或本公开的重组表达载体的时间段,可根据多种因素中的任一种而变化,这些因素为例如患者反应等。举例来说,本公开的TMMP、本公开的核酸、或本公开的重组表达载体可施用的时间段的范围为约一天至约一周、约两周至约四周、约一个月至约两个月、约两个月至约四个月、约四个月至约六个月、约六个月至约八个月、约八个月至约1年、约1年至约2年、或约2年至约4年、或更长时间。

[0706] 施用途径

[0707] 活性剂(本公开的TMMP、本公开的核酸、或本公开的重组表达载体)是使用任何可用的方法及适用于药物递送的途径(包括体内和离体方法以及全身性及局部施用途径)向个体施用。

[0708] 常规及药学上可接受的施用途径包括肿瘤内、肿瘤周围、肌肉内、淋巴管内、气管内、颅内、皮下、皮内、局部施用、静脉内、动脉内、经直肠、经鼻、经口以及其他经肠及胃肠外施用途径。施用途径在需要时可被组合或根据TMMP和/或所要效果而调整。本公开的TMMP或本公开的核酸或重组表达载体可以单一剂量或以多个剂量施用。

[0709] 在一些情况下,静脉内施用本公开的TMMP、本公开的核酸、或本公开的重组表达载体。在一些情况下,肌肉内施用本公开的TMMP、本公开的核酸、或本公开的重组表达载体。在一些情况下,淋巴管内施用本公开的TMMP、本公开的核酸、或本公开的重组表达载体。在一些情况下,局部施用本公开的TMMP、本公开的核酸、或本公开的重组表达载体。在一些情况下,肿瘤内施用本公开的TMMP、本公开的核酸、或本公开的重组表达载体。在一些情况下,肿瘤周围施用本公开的TMMP、本公开的核酸、或本公开的重组表达载体。在一些情况下,颅内施用本公开的TMMP、本公开的核酸、或本公开的重组表达载体。在一些情况下,皮下施用本公开的TMMP、本公开的核酸或本公开的重组表达载体。

[0710] 在一些情况下,静脉内施用本公开的TMMP。在一些情况下,肌肉内施用本公开的TMMP。在一些情况下,局部施用本公开的TMMP。在一些情况下,肿瘤内施用本公开的TMMP。在一些情况下,肿瘤周围施用本公开的TMMP。在一些情况下,颅内施用本公开的TMMP。在一些情况下,皮下施用TMMP。在一些情况下,淋巴管内施用本公开的TMMP。

[0711] 本公开的TMMP、本公开的核酸、或本公开的重组表达载体可使用任何可用的常规方法及适用于递送常规药物的途径(包括全身性或局部途径)向宿主施用。一般而言,预期用于本公开的方法中的施用途径包括但不限于经肠、胃肠外及吸入途径。

[0712] 除了吸入施用以外的胃肠外施用途径包括但不限于局部、经皮、皮下、肌肉内、眼眶内、囊内、脊柱内、胸骨内、肿瘤内、淋巴管内、肿瘤周围及静脉内途径,即除通过消化道以外的任何施用途径。可进行胃肠外施用以实现本公开的TMMP、本公开的核酸、或本公开的重组表达载体的全身性或局部递送。在需要全身性递送时,递送通常涉及药物制剂的侵袭性或全身性吸附性局部或粘膜施用。

[0713] 组合疗法

[0714] 在一些情况下,本公开的用于治疗个体的癌症的方法包括:a)施用本公开的TMMP;和b)施用至少一种额外治疗剂或治疗性治疗。适合的额外治疗剂包括但不限于小分子癌症化学治疗剂和免疫检查点抑制剂。适合的额外治疗性治疗包括例如辐射、手术(例如,手术

切除肿瘤)等。

[0715] 本公开的治疗方法可包含共施用本公开的TMMP和至少一种额外治疗剂。“共施用”意指向个体施用本公开的TMMP和至少一种额外治疗剂两者,但不一定在同一时间施用,以便实现治疗作用,该治疗作用为已施用TMMP和至少一种额外治疗剂的结果。TMMP及至少一种额外治疗剂的施用可为大体上同时的,例如,可在施用至少一种额外治疗剂的约1分钟至约24小时内(例如,在约1分钟内、在约5分钟内、在约15分钟内、在约30分钟内、在约1小时内、在约4小时内、在约8小时内、在约12小时内、或在约24小时内)向个体施用TMMP。在一些情况下,向正经历使用至少一种额外治疗剂的治疗或已经历使用至少一种额外治疗剂的治疗的个体施用本公开的TMMP。TMMP的施用可在不同时间和/或以不同频率发生。

[0716] 作为一个实例,本公开的治疗方法可包含共施用本公开的TMMP和免疫检查点抑制剂,诸如对免疫检查点有特异性的抗体。“共施用”意指向个体施用本公开的TMMP和免疫检查点抑制剂(例如,对免疫检查点多肽有特异性的抗体)两者,但不一定在同一时间施用,以便实现治疗作用,该治疗作用为已施用TMMP和免疫检查点抑制剂(例如,对免疫检查点多肽有特异性的抗体)的结果。TMMP和免疫检查点抑制剂(例如,对免疫检查点多肽有特异性的抗体)的施用可为大体上同时的,例如,可在施用免疫检查点抑制剂(例如,对免疫检查点多肽有特异性的抗体)的约1分钟至约24小时内(例如,在约1分钟内、在约5分钟内、在约15分钟内、在约30分钟内、在约1小时内、在约4小时内、在约8小时内、在约12小时内、或在约24小时内)向个体施用TMMP。在一些情况下,向正经历使用免疫检查点抑制剂(例如,对免疫检查点多肽有特异性的抗体)的治疗或已经历使用该免疫检查点抑制剂的治疗的个体施用本公开的TMMP。TMMP和免疫检查点抑制剂(例如,对免疫检查点多肽有特异性的抗体)的施用可在不同时间和/或以不同频率发生。

[0717] 示例性免疫检查点抑制剂包括靶向以下免疫检查点多肽的抑制剂:诸如CD27、CD28、CD40、CD122、CD96、CD73、CD47、OX40、GITR、CSF1R、JAK、PI3K δ 、PI3K γ 、TAM、精氨酸酶、CD137(也称为4-1BB)、ICOS、A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、CTLA-4、LAG3、TIM3、VISTA、CD96、TIGIT、CD122、PD-1、PD-L1及PD-L2。在一些情况下,免疫检查点多肽为选自以下的刺激性检查点分子:CD27、CD28、CD40、ICOS、OX40、GITR、CD122及CD137。在一些情况下,免疫检查点多肽为选自以下的抑制性检查点分子:A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、CTLA-4、IDO、KIR、LAG3、PD-1、TIM3、CD96、TIGIT及VISTA。

[0718] 在一些情况下,免疫检查点抑制剂为对免疫检查点多肽有特异性的抗体。在一些情况下,抗免疫检查点抗体为单克隆抗体。在一些情况下,抗免疫检查点抗体被人源化或去人源化,使得抗体大体上未在人中引发免疫反应。在一些情况下,抗免疫检查点抗体为人源化单克隆抗体。在一些情况下,抗免疫检查点抗体为去人源化单克隆抗体。在一些情况下,抗免疫检查点抗体为全人单克隆抗体。在一些情况下,抗免疫检查点抗体抑制免疫检查点多肽与免疫检查点多肽的配体的结合。在一些情况下,抗免疫检查点抗体抑制免疫检查点多肽与免疫检查点多肽的受体的结合。

[0719] 适合的抗免疫检查点抗体包括但不限于纳武单抗(nivolumab)(Bristol-Myers Squibb)、派姆单抗(pembrolizumab)(Merck)、披地单抗(pidilizumab)(Curetech)、AMP-224(GlaxoSmithKline/Amplimmune)、MPDL3280A(Roche)、MDX-1105(Medarex, Inc./Bristol Myer Squibb)、MEDI-4736(Medimmune/AstraZeneca)、阿维鲁单抗(arelumab)

(Merck Serono)、伊匹珠单抗(ipilimumab)(YERVOY, (Bristol-Myers Squibb)、曲利木单抗(tremelimumab)(Pfizer)、披地单抗(CureTech, Ltd.)、IMP321(Immutep S.A.)、MGA271(Macrogenics)、BMS-986016(Bristol-Meyers Squibb)、利鲁单抗(lirilumab)(Bristol-Myers Squibb)、乌瑞鲁单抗(urelumab)(Bristol-Meyers Squibb)、PF-05082566(Pfizer)、IPH2101(Innate Pharma/Bristol-Myers Squibb)、MEDI-6469(MedImmune/AZ)、CP-870,893(Genentech)、莫木利珠单抗(Mogamulizumab)(Kyowa Hakko Kirin)、瓦利鲁单抗(Varlilumab)(CellDex Therapeutics)、阿维单抗(Avelumab)(EMD Serono)、加利昔单抗(Galiximab)(Biogen Idec)、AMP-514(AMPLIMMUNE/AZ)、AUNP 12(Aurigene及Pierre Fabre)、伊多莫德(Indoximod)(NewLink Genetics)、NLG-919(NewLink Genetics)、INCB024360(Incyte)、KN035;及其组合。举例来说,在一些情况下,免疫检查点抑制剂为抗PD-1抗体。适合的抗PD-1抗体包括例如纳武单抗、派姆单抗(也称为MK-3475)、披地单抗、SHR-1210、PDR001及AMP-224。在一些情况下,抗PD-1单克隆抗体为纳武单抗、派姆单抗或PDR001。适合的抗PD1抗体描述于美国专利公布第2017/0044259号中。关于披地单抗,参见,例如Rosenblatt等人(2011) J. Immunother. 34:409-18。在一些情况下,免疫检查点抑制剂为抗CTLA-4抗体。在一些情况下,抗CTLA-4抗体为伊匹珠单抗或曲利木单抗。关于曲利木单抗,参见,例如Ribas等人(2013) J. Clin. Oncol. 31:616-22。在一些情况下,免疫检查点抑制剂为抗PD-L1抗体。在一些情况下,抗PD-L1单克隆抗体为BMS-935559、MEDI4736、MPDL3280A(也称为RG7446)、KN035或MSB0010718C。在一些实施方案中,抗PD-L1单克隆抗体为MPDL3280A(阿特殊单抗)或MEDI4736(德瓦鲁单抗)。关于德瓦鲁单抗,参见,例如WO 2011/066389。关于阿特殊单抗,参见,例如美国专利号8,217,149。

[0720] 适于治疗的受试者

[0721] 适于以本公开的方法进行治疗的受试者包括患有癌症的个体,包括已被诊断为患有癌症的个体、已对癌症进行治疗但未能响应于该治疗的个体、及已对癌症进行治疗且最初响应于该治疗但随后变成该治疗难治的个体。适于以本公开的方法进行治疗的受试者包括患有感染(例如,病原体诸如细菌、病毒、原虫等的感染)的个体,包括已被诊断为患有感染的个体和已对感染进行治疗但未能响应于该治疗的个体。适于以本公开的方法进行治疗的受试者包括患有细菌感染的个体,包括已被诊断为患有细菌感染的个体和已对细菌感染进行治疗但未能响应于该治疗的个体。适于以本公开的方法进行治疗的受试者包括患有病毒感染个体,包括已被诊断为患有病毒感染的个体和已对病毒感染进行治疗但未能响应于该治疗的个体。适于以本公开的方法进行治疗的受试者包括患有自体免疫疾病的个体,包括已被诊断为患有自体免疫疾病的个体和已对自体免疫疾病进行治疗但未能响应于该治疗的个体。

[0722] 本公开的非限制性方面的实例

[0723] 上文所述的本发明主题之方面(包括实施方案)单独或在与一个或多个其他方面或实施方案组合时可为有益的。不限于以上描述,下文提供本公开的编号1-95的某些非限制性方面。如本领域技术人员在阅读本公开的后将显而易见,可使用个别编号的方面中的各者或将其与前述或以下个别编号的方面中的任一个组合。此旨在提供全部此等方面组合的支持且不限于下文明确提供的方面的组合:

[0724] 方面1. 一种T细胞调节多聚体多肽,其包含:至少一种异二聚体,所述异二聚体包

含:a) 第一多肽,所述第一多肽包含:i) 肽表位,其中所述肽的长度是至少4个氨基酸;及ii) 第一主要组织相容性复合物(MHC)多肽;b) 第二多肽,所述第二多肽包含第二MHC多肽;及c) 至少一种免疫调节多肽,其中所述第一多肽和/或所述第二多肽包含所述免疫调节多肽。

[0725] 方面2.如方面1的T细胞调节多聚体多肽,其中一个或多个免疫调节结构域中的至少一个为变异免疫调节多肽,其呈现出对同源共免疫调节多肽的亲合力与相应野生型免疫调节多肽对所述同源共免疫调节多肽的亲合力相比有所减小,且其中所述表位以至少 10^{-7} M的亲合力结合至T细胞上的T细胞受体(TCR),使得:i) 所述T细胞调节多聚体多肽结合至第一T细胞的亲合力比所述T细胞调节多聚体多肽结合第二T细胞的亲合力高至少25%,其中所述第一T细胞在其表面上表达所述同源共免疫调节多肽及以至少 10^{-7} M的亲合力结合所述表位的TCR,且其中所述第二T细胞在其表面上表达所述同源共免疫调节多肽,但在其表面上不表达以至少 10^{-7} M的亲合力结合所述表位的TCR;且/或ii) 当通过生物层干涉术测量时,对照T细胞调节多聚体多肽与同源共免疫调节多肽的结合亲合力与包含野生型免疫调节多肽变体的所述T细胞调节多聚体多肽与所述同源共免疫调节多肽的结合亲和力的比率范围为1.5:1至 10^6 :1,其中所述对照包含所述野生型免疫调节多肽。

[0726] 方面3.如方面2的T细胞调节多聚体多肽,其中:a) 所述T细胞调节多聚体多肽结合至所述第一T细胞的亲合力比其结合所述第二T细胞的亲合力高至少50%、至少2倍、至少5倍或至少10倍;且/或b) 所述变异免疫调节多肽结合所述共免疫调节多肽的亲合力为约 10^{-4} M至约 10^{-7} M、约 10^{-4} M至约 10^{-6} M、约 10^{-4} M至约 10^{-5} M;且/或c) 其中当通过生物层干涉术测量时,对照T细胞调节多聚体多肽与同源共免疫调节多肽的结合亲合力与包含野生型免疫调节多肽的变体的所述T细胞调节多聚体多肽与所述同源共免疫调节多肽的结合亲和力的比率为至少10:1、至少50:1、至少 10^2 :1或至少 10^3 :1,其中所述对照包含所述野生型免疫调节多肽。

[0727] 方面4.如方面1-3中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述第一多肽或所述第二多肽包含免疫球蛋白(Ig)Fc多肽。

[0728] 方面5.如方面4的T细胞调节多聚体多肽,其中所述Ig Fc多肽为IgG1 Fc多肽。

[0729] 方面6.如方面5的T细胞调节多聚体多肽,其中IgG1Fc多肽包含选自以下的一个或多个氨基酸取代:N297A、L234A、L235A、L234F、L235E及P331S。

[0730] 方面7.如方面1-6中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中:

[0731] a1) 所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:i) 所述肽表位;ii) 所述第一MHC多肽;及iii) 至少一种免疫调节多肽;且b1) 所述第二多肽以从N端至C端的次序包含:i) 所述第二MHC多肽;及ii) 免疫球蛋白(Ig)Fc多肽;或

[0732] a2) 所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:i) 所述肽表位;及ii) 所述第一MHC多肽;且b2) 所述第二多肽以从N端至C端的次序包含:i) 至少一种免疫调节多肽;ii) 所述第二MHC多肽;及iii) Ig Fc多肽;或

[0733] a3) 所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:i) 所述肽表位;及ii) 所述第一MHC多肽;且b3) 所述第二多肽以从N端至C端的次序包含:i) 所述第二MHC多肽;及ii) Ig Fc多肽;及iii) 至少一种免疫调节多肽;或

[0734] a4) 所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:i) 所述肽表位;及ii) 所述第一MHC多肽;且b4) 所述第二多肽以从N端至C端的次序包含:i) 所述第二MHC多肽;及ii) 至少一种免

疫调节多肽;或

[0735] a5) 所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:i) 所述肽表位;及ii) 所述第一MHC多肽;且b5) 第二多肽以从N端至C端的次序包含:i) 至少一种免疫调节多肽;及ii) 所述第二MHC多肽;或

[0736] a6) 所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:i) 所述肽表位;ii) 所述第一MHC多肽;及iii) 至少一种免疫调节多肽;且b6) 所述第二多肽包含:i) 所述第二MHC多肽。

[0737] 方面8. 如方面1-7中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述第一多肽包含介于所述表位与所述第一MHC多肽之间的肽接头且/或其中所述第二多肽包含介于所述免疫调节多肽与所述第二MHC多肽之间的肽接头。

[0738] 方面9. 如方面8的T细胞调节多聚体多肽,其中所述肽接头包含氨基酸序列(GGGGS)_n,其中n为1至10的整数。

[0739] 方面10. 如方面1-9中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述第一MHC多肽为 β 2-微球蛋白多肽;且其中所述第二MHC多肽为I类MHC重链多肽。

[0740] 方面11. 如方面1-10中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述至少一种免疫调节多肽选自自由以下组成的组:细胞因子(例如,IL2多肽、IL7多肽、IL12多肽、IL15多肽、IL17多肽、IL21多肽、IL27多肽、IL-23多肽、TGF β 多肽等;且包括全部家族成员,例如IL17A、IL-17B、IL-17C、IL-17D、IL-17E、IL-17F、IL-17E)、4-1BBL多肽、ICOS-L多肽、OX-40L多肽、CD80多肽、CD86多肽、CD40多肽、CD70多肽、JAG1 (CD339) 多肽、ICAM (CD540多肽、PD-L1多肽、FasL多肽、PD-L2多肽、PD-1H (VISTA) 多肽、ICOS-L (CD275) 多肽、GITRL多肽、HVEM多肽、CXCL10多肽、CXCL9多肽、CXCL11多肽、CXCL13多肽、及CX3CL1多肽、半乳糖凝集素-9多肽、CD83多肽、CD30L多肽、HLA-G多肽、MICA多肽、MICB多肽、HVEM (CD270) 多肽、淋巴毒素 β 受体多肽、3/TR6多肽、ILT3多肽、ILT4多肽、CXCL10多肽、CXCL9多肽、CXCL11多肽、CXCL13多肽、及CX3CL1多肽、及其组合。

[0741] 方面12. 如方面1-11中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述至少一种免疫调节多肽为IL-2多肽。

[0742] 方面13. 如方面1-12中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述多聚体多肽包含至少两种免疫调节多肽,且其中这些免疫调节多肽中的至少两个是相同的。

[0743] 方面14. 如方面13的T细胞调节多聚体多肽,其中所述两种或更多种免疫调节多肽是串联的。

[0744] 方面15. 如方面1-14中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述第一多肽与所述第二多肽彼此共价连接。

[0745] 方面16. 如方面15的T细胞调节多聚体多肽,其中所述共价键是经由二硫键。

[0746] 方面17. 如方面1-16中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述第一MHC多肽或介于所述表位与所述第一MHC多肽之间的接头包含提供第一Cys残基的氨基酸取代,其中所述第二MHC多肽包含提供第二Cys残基的氨基酸取代,且其中所述二硫键联在所述第一Cys残基与所述第二Cys残基之间。

[0747] 方面18. 如方面1-17中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述WT-1肽表位具有的长度为约4个氨基酸至约25个氨基酸。

[0748] 方面19. 如方面1-18中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述肽表位是癌症表

位。

[0749] 方面20.如方面1-18中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述肽表位是病毒表位。

[0750] 方面21.如方面1-20中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述第一MHC多肽或所述第二MHC多肽包含:a)与图7A中描绘的HLA-A*0101、HLA-A*0201、HLA-A*0201、HLA-A*1101、HLA-A*2301、HLA-A*2402、HLA-A*2407、HLA-A*3303或HLA-A*3401氨基酸序列具有至少95%氨基酸序列同一性的氨基酸序列;或b)与图8A中描绘的HLA-B*0702、HLA-B*0801、HLA-B*1502、HLA-B*3802、HLA-B*4001、HLA-B*4601或HLA-B*5301氨基酸序列具有至少95%氨基酸序列同一性的氨基酸序列;或c)与图9A中描绘的HLA-C*0102、HLA-C*0303、HLA-C*0304、HLA-C*0401、HLA-C*0602、HLA-C*0701、HLA-C*0702、HLA-C*0801或HLA-C*1502具有至少95%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0751] 方面22.如方面1-20中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述第一MHC多肽为 β 2M多肽,且其中所述第二MHC多肽包含与HLA-A*2402多肽具有至少95%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0752] 方面23.如方面1-20中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述第一MHC多肽为 β 2M多肽,且其中所述第二MHC多肽为HLA-A*1101多肽。

[0753] 方面24.如方面1-20中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述第一MHC多肽为 β 2M多肽,且其中所述第二MHC多肽包含与HLA-A*3303多肽具有至少95%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0754] 方面25.如方面1-20中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述第一MHC多肽为 β 2M多肽,且其中所述第二MHC多肽包含与HLA-A*0201多肽具有至少95%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0755] 方面26.如方面21-25中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述MHC重链多肽包含在位置236处的Cys。

[0756] 方面27.如方面21-26中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述 β 2M多肽包含在位置12处的Cys。

[0757] 方面28.如方面1-27中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述免疫调节多肽为包含以下的变异IL-2多肽:i)H16A取代和F42A取代;或ii)H16T取代和F42A取代。

[0758] 方面29.如方面1-28中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述多聚体多肽包含第一异二聚体和第二异二聚体,且其中所述第一异二聚体与所述第二异二聚体通过介于所述第一异二聚体与所述第二异二聚体的Ig Fc多肽之间的一个或多个二硫键来共价结合。

[0759] 方面30.一种核酸,其包含编码根据方面1-28中任一项的第一多肽或第二多肽的核苷酸序列,其中所述第一多肽或所述第二多肽包含至少一个免疫调节结构域。

[0760] 方面31.一种表达载体,其包含如方面30的核酸。

[0761] 方面32.一种选择性调节对于给定表位具有特异性的T细胞的活性的方法,所述方法包括使所述T细胞与根据方面1-29中任一项的T细胞调节多聚体多肽接触,其中所述接触选择性调节所述表位特异性T细胞的活性。

[0762] 方面33.一种治疗患有癌症之患者的方法,所述方法包括向所述患者施用有效量的包含根据方面1-29中任一项的T细胞调节多聚体多肽的药物组合物。

- [0763] 方面34.如方面33的方法,其中所述癌症为宫颈癌、前列腺癌或卵巢癌。
- [0764] 方面35.如方面33或34的方法,其中所述施用是肌肉内施用的。
- [0765] 方面36.如方面33或34的方法,其中所述施用是静脉内施用的。
- [0766] 方面37.一种调节个体的免疫反应的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的如方面12927中任一项的T细胞调节多聚体多肽(TMMP),其中所述施用诱导表位特异性T细胞反应(例如,对于存在于所述TMMP中的所述表位有特异性的T细胞反应)及表位非特异性T细胞反应,其中所述表位特异性T细胞反应与所述表位非特异性T细胞反应的比率为至少2:1。
- [0767] 方面38如方面37的方法,其中所述表位特异性T细胞反应与所述表位非特异性T细胞反应的比率为至少5:1。
- [0768] 方面39.如方面37的方法,其中所述表位特异性T细胞反应与所述表位非特异性T细胞反应的比率为至少10:1。
- [0769] 方面40.如方面37的方法,其中所述表位特异性T细胞反应与所述表位非特异性T细胞反应的比率为至少25:1。
- [0770] 方面41.如方面37的方法,其中所述表位特异性T细胞反应与所述表位非特异性T细胞反应的比率为至少50:1。
- [0771] 方面42.如方面37的方法,其中所述表位特异性T细胞反应与所述表位非特异性T细胞反应的比率为至少100:1。
- [0772] 方面43.如方面37-42中任一项的方法,其中所述个体为人。
- [0773] 方面44.如方面37-43中任一项的方法,其中所述调节包含增强对癌细胞(例如表达TMMP中存在的所述肽表位的癌细胞)的细胞毒性T细胞反应。
- [0774] 方面45.如方面37-44中任一项的方法,其中所述施用为静脉内、皮下、肌肉内、全身性、淋巴管内、治疗部位远端、局部、或治疗部位处或附近的施用。
- [0775] 方面47.如方面37-45中任一项的方法,其中所述表位非特异性T细胞反应小于由包含相应野生型免疫调节多肽的对照T细胞调节多聚体多肽诱导的表位非特异性T细胞反应。
- [0776] 方面48.一种选择性递送共刺激(即,免疫调节)多肽至靶T细胞的方法,所述方法包括使混合的T细胞群与如方面1-29中任一项的T细胞调节多聚体多肽(TMMP)接触,其中所述混合的T细胞群包含所述靶T细胞和非靶T细胞,其中所述靶T细胞对存在于所述TMMP内的所述表位有特异性(例如,其中所述靶T细胞对存在于所述TMMP内的所述表位有特异性),且其中所述接触递送存在于所述TMMP内的所述一种或多种共刺激多肽至所述靶T细胞。
- [0777] 方面49.如方面48的方法,其中所述T细胞群在体外。
- [0778] 方面50.如方面48的方法,其中所述T细胞群在个体体内。
- [0779] 方面51.如方面50的方法,其包含向所述个体施用所述多聚体多肽。
- [0780] 方面52.如方面48-51中任一项的方法,其中所述靶T细胞为细胞毒性T细胞。
- [0781] 方面53.如方面48的方法,其中所述混合的T细胞群为从个体获得的体外混合的T细胞群,且其中所述接触导致所述靶T细胞的活化和/或增殖,从而生成活化和/或增殖的靶T细胞群。
- [0782] 方面54.如方面53的方法,其进一步包括向所述个体施用所活化和/或增殖的靶T

细胞群。

[0783] 方面55.一种检测从个体获得的混合T细胞群中结合目标表位的靶T细胞的存在的方法,所述方法包括:a)使所述混合T细胞群与如方面1-29中任一项的T细胞调节多聚体多肽(TMMP)在体外接触,其中所述TMMP包含目标表位;及b)检测T细胞响应于所述接触的活化和/或增殖,其中活化和/或增殖的T细胞指示靶T细胞的存在。

[0784] 方面56.一种T细胞调节多聚体多肽,其包含:至少一种异二聚体,所述异二聚体包含:a)第一多肽,所述第一多肽包含:i)肽表位,其中所述肽具有的长度为约4个氨基酸至约25个氨基酸;及ii)第一主要组织相容性复合物(MHC) I类多肽;b)第二多肽,所述第二多肽包含第二I类MHC多肽,及c)至少一种免疫调节多肽,其中所述第一多肽和/或所述第二多肽包含所述免疫调节多肽,且其中所述第一多肽与所述第二多肽经由至少2个二硫键彼此共价连接。

[0785] 方面57.如方面56的T细胞调节多聚体多肽,其中所述至少一种免疫调节多肽中的至少一个为变异免疫调节多肽,其呈现出对同源共免疫调节多肽的亲合力与相应野生型免疫调节多肽对所述同源共免疫调节多肽的亲合力相比有所减小,且其中所述表位以至少 10^{-7} M的亲合力结合至T细胞上的T细胞受体(TCR),使得:i)所述T细胞调节多聚体多肽结合至第一T细胞的亲合力比所述T细胞调节多聚体多肽结合第二T细胞的亲合力高至少25%,其中所述第一T细胞在其表面上表达所述同源共免疫调节多肽及以至少 10^{-7} M的亲合力结合所述表位的TCR,且其中所述第二T细胞在其表面上表达所述同源共免疫调节多肽,但在其表面上不表达以至少 10^{-7} M的亲合力结合所述表位的TCR;且/或ii)当通过生物层干涉术测量时,对照T细胞调节多聚体多肽与同源共免疫调节多肽的结合亲合力与包含野生型免疫调节多肽变体的所述T细胞调节多聚体多肽与所述同源共免疫调节多肽的结合亲和力的比率范围为1.5:1至 10^6 :1,其中所述对照包含所述野生型免疫调节多肽。

[0786] 方面58.如方面57的T细胞调节多聚体多肽,其中:a)所述T细胞调节多聚体多肽结合至所述第一T细胞的亲合力比其结合所述第二T细胞的亲合力高至少50%、至少2倍、至少5倍或至少10倍;且/或b)所述变异免疫调节多肽结合所述共免疫调节多肽的亲合力为约 10^{-4} M至约 10^{-7} M、约 10^{-4} M至约 10^{-6} M、约 10^{-4} M至约 10^{-5} M;且/或c)其中当通过生物层干涉术测量时,对照T细胞调节多聚体多肽与同源共免疫调节多肽的结合亲合力与包含野生型免疫调节多肽变体的所述T细胞调节多聚体多肽与所述同源共免疫调节多肽的结合亲和力的比率为至少10:1、至少50:1、至少 10^2 :1或至少 10^3 :1,其中所述对照包含所述野生型免疫调节多肽。

[0787] 方面59.如方面56-58中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述第一多肽或所述第二多肽包含免疫球蛋白(Ig)Fc多肽。

[0788] 方面60.如方面59的T细胞调节多聚体多肽,其中所述Ig Fc多肽为IgG1 Fc多肽。

[0789] 方面61.如方面59的T细胞调节多聚体多肽,其中所述Ig Fc多肽为IgG4 Fc多肽。

[0790] 方面62.如方面60的T细胞调节多聚体多肽,其中IgG1Fc多肽包含选自以下的一个或多个氨基酸取代:N297A、L234A、L235A、L234F、L235E及P331S。

[0791] 方面63.如方面56-62中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中

[0792] a1)所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:

[0793] i)所述肽表位;

- [0794] ii) 所述第一I类MHC多肽;及
- [0795] iii) 至少一种免疫调节多肽;且
- [0796] b1) 所述第二多肽以从N端至C端的次序包含:
- [0797] i) 所述第二I类MHC多肽;及
- [0798] ii) 免疫球蛋白(Ig)Fc多肽;或
- [0799] a2) 所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:
- [0800] i) 所述肽表位;及
- [0801] ii) 所述第一I类MHC多肽;且
- [0802] b2) 所述第二多肽以从N端至C端的次序包含:
- [0803] i) 至少一种免疫调节多肽;
- [0804] ii) 所述第二I类MHC多肽;及
- [0805] iii) Ig Fc多肽;或
- [0806] a3) 所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:
- [0807] i) 所述肽表位;及
- [0808] ii) 所述第一I类MHC多肽;且
- [0809] b3) 所述第二多肽以从N端至C端的次序包含:
- [0810] i) 所述第二I类MHC多肽;及
- [0811] ii) Ig Fc多肽;及
- [0812] iii) 至少一种免疫调节多肽;或
- [0813] a4) 所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:
- [0814] i) 所述肽表位;及
- [0815] ii) 所述第一I类MHC多肽;且
- [0816] b4) 所述第二多肽以从N端至C端的次序包含:
- [0817] i) 所述第二I类MHC多肽;及
- [0818] ii) 至少一种免疫调节多肽;或
- [0819] a5) 所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:
- [0820] i) 所述肽表位;及
- [0821] ii) 所述第一I类MHC多肽;且
- [0822] b5) 第二多肽以从N端至C端的次序包含:
- [0823] i) 至少一种免疫调节多肽;及
- [0824] ii) 所述第二I类MHC多肽;或
- [0825] a6) 所述第一多肽以从N端至C端的次序包含:
- [0826] i) 所述肽表位;
- [0827] ii) 所述第一I类MHC多肽;及
- [0828] iii) 至少一种免疫调节多肽;且
- [0829] b6) 所述第二多肽包含:
- [0830] i) 所述第二I类MHC多肽。
- [0831] 方面64. 如方面56-63中任一项的T细胞调节多聚体多肽, 其中所述第一MHC多肽为β2-微球蛋白多肽; 且其中所述第二MHC多肽为I类MHC重链多肽。

[0832] 方面65.如方面56-64中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述至少一种免疫调节多肽选自自由以下组成的组:细胞因子(例如,IL2多肽、IL7多肽、IL12多肽、IL15多肽、IL17多肽、IL21多肽、IL27多肽、IL-23多肽、TGF β 多肽等;且包括全部家族成员,例如IL17A、IL-17B、IL-17C、IL-17D、IL-17E、IL-17F、IL-17E)、4-1BBL多肽、ICOS-L多肽、OX-40L多肽、CD80多肽、CD86多肽、CD40多肽、CD70多肽、JAG1 (CD339) 多肽、ICAM (CD540多肽、PD-L1多肽、FasL多肽、PD-L2多肽、PD-1H (VISTA) 多肽、ICOS-L (CD275) 多肽、GITRL多肽、HVEM多肽、CXCL10多肽、CXCL9多肽、CXCL11多肽、CXCL13多肽、及CX3CL1多肽、半乳糖凝集素-9多肽、CD83多肽、CD30L多肽、HLA-G多肽、MICA多肽、MICB多肽、HVEM (CD270) 多肽、淋巴毒素 β 受体多肽、3/TR6多肽、ILT3多肽、ILT4多肽、CXCL10多肽、CXCL9多肽、CXCL11多肽、CXCL13多肽及CX3CL1多肽、及其组合。

[0833] 方面66.如方面56-64中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述至少一种免疫调节多肽为IL-2多肽。

[0834] 方面67.如方面56-66中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述多聚体多肽包含至少两种免疫调节多肽,且其中所述免疫调节多肽中的至少两个为相同的。

[0835] 方面68.如方面67的T细胞调节多聚体多肽,其中所述两种或更多种免疫调节多肽是串联的。

[0836] 方面69.如方面56-68中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中:a) 第一二硫键在以下各物之间:i) 存在于所述肽表位与所述第一I类MHC多肽之间的接头中的Cys,其中所述第一I类MHC多肽为 β 2M多肽;与ii) 经由Y84C取代引入所述第二I类MHC多肽中的Cys残基,其中所述第二I类MHC多肽为I类MHC重链多肽;且b) 第二二硫键在以下各物之间:i) 经由R12C取代引入所述 β 2M多肽中的Cys残基;与ii) 经由A236C取代引入所述I类MHC重链多肽中的Cys残基。

[0837] 方面70.如方面69的T细胞调节多聚体多肽,其中所述接头包含氨基酸序列GCGGS (SEQ ID NO:318)。

[0838] 方面71.如方面70的T细胞调节多聚体多肽,其中所述接头包含氨基酸序列GCGGS (GGGS) n (SEQ ID NO:342),其中 n 为1至10的整数。

[0839] 方面72.如方面56-71中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述肽表位是癌症相关肽表位。

[0840] 方面73.如方面56-71中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述肽表位是病毒肽表位。

[0841] 方面74.如方面56-73中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述第一MHC多肽或所述第二MHC多肽包含:a) 与图7A中描绘的HLA-A*0101、HLA-A*0201、HLA-A*0201、HLA-A*1101、HLA-A*2301、HLA-A*2402、HLA-A*2407、HLA-A*3303或HLA-A*3401氨基酸序列具有至少95%氨基酸序列同一性的氨基酸序列; b) 与图8A中描绘的HLA-B*0702、HLA-B*0801、HLA-B*1502、HLA-B*3802、HLA-B*4001、HLA-B*4601或HLA-B*5301氨基酸序列具有至少95%氨基酸序列同一性的氨基酸序列;或c) 与图9A中描绘的HLA-C*0102、HLA-C*0303、HLA-C*0304、HLA-C*0401、HLA-C*0602、HLA-C*0701、HLA-C*0702、HLA-C*0801或HLA-C*1502具有至少95%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0842] 方面75.如方面56-73中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述第一MHC多肽为

β 2M多肽,且其中所述第二MHC多肽包含与HLA-A*2402多肽具有至少95%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0843] 方面76.如方面56-73中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述第一MHC多肽为 β 2M多肽,且其中所述第二MHC多肽为HLA-A*1101多肽。

[0844] 方面77.如方面56-73中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述第一MHC多肽为 β 2M多肽,且其中所述第二MHC多肽包含与HLA-A*3303多肽具有至少95%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0845] 方面78.如方面56-73中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述第一MHC多肽为 β 2M多肽,且其中所述第二MHC多肽包含与HLA-A*0201多肽具有至少95%氨基酸序列同一性的氨基酸序列。

[0846] 方面79.如方面56-78中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述MHC重链多肽包含位置236处的Cys。

[0847] 方面80.如方面56-79中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述 β 2M多肽包含位置12处的Cys。

[0848] 方面81.如方面56-80中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述免疫调节多肽为包含以下的变异IL-2多肽:i)H16A取代和F42A取代;或ii)H16T取代和F42A取代。

[0849] 方面82.如方面56-81中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述多聚体多肽包含第一异二聚体和第二异二聚体,且其中所述第一异二聚体与所述第二异二聚体通过介于所述第一异二聚体和所述第二异二聚体的Ig Fc多肽之间的一个或多个二硫键共价结合。

[0850] 方面83.一种核酸,其包含编码根据方面56-82中任一项的第一多肽或第二多肽的核苷酸序列,其中所述第一多肽或所述第二多肽包含至少一个免疫调节结构域。

[0851] 方面84.一种表达载体,其包含如方面83的核酸。

[0852] 方面85.一种选择性调节对于肽表位具有特异性的T细胞的活性的方法,所述方法包括使所述T细胞与根据方面56-82中任一项的T细胞调节多聚体多肽接触,其中所述接触选择性调节所述肽表位特异性T细胞的活性。

[0853] 方面86.一种治疗患有癌症的患者的方法,所述方法包括向所述患者施用有效量的包含根据方面56-82中任一项的T细胞调节多聚体多肽的药物组合物。

[0854] 方面87.如方面86的方法,其中所述施用是肌肉内施用的。

[0855] 方面88.如方面86的方法,其中所述施用是静脉内施用的。

[0856] 方面89.如方面86-88中任一项的方法,其进一步包括向所述个体施用一种或多种检查点抑制剂。

[0857] 方面90.如方面89的方法,其中所述检查点抑制剂为结合至选自以下组成的组的多肽的抗体:CD27、CD28、CD40、CD122、CD96、CD73、CD47、OX40、GITR、CSF1R、JAK、PI3K δ 、PI3K γ 、TAM、精氨酸酶、CD137、ICOS、A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、CTLA-4、LAG3、TIM3、VISTA、CD96、TIGIT、CD122、PD-1、PD-L1及PD-L2。

[0858] 方面91.如方面89的方法,其中所述检查点抑制剂为对PD-1、PD-L1或CTLA4有特异性的抗体。

[0859] 方面92.如方面89的方法,其中所述一种或多种检查点抑制剂选自以下组成的组:纳武单抗、派姆单抗、披地单抗、AMP-224、MPDL3280A、MDX-1105、MEDI-4736、阿维鲁单

抗、伊匹珠单抗、曲利木单抗、披地单抗、IMP321、MGA271、BMS-986016、利鲁单抗、乌瑞鲁单抗、PF-05082566、IPH2101、MEDI-6469、CP-870,893、莫木利珠单抗、瓦利鲁单抗、阿维单抗、加利昔单抗、AMP-514、AUNP 12、伊多莫德、NLG-919、INCB024360、KN035及其组合。

[0860] 方面93.一种调节个体的免疫反应的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的如方面56-82中任一项的T细胞调节多聚体多肽,其中所述施用诱导表位特异性T细胞反应和表位非特异性T细胞反应,其中所述表位特异性T细胞反应与所述表位非特异性T细胞反应的比率为至少2:1。

[0861] 方面94.一种选择性递送免疫调节多肽至靶T细胞的方法,所述方法包括使混合T细胞群与如方面56-82中任一项的T细胞调节多聚体多肽接触,其中所述混合T细胞群包含所述靶T细胞和非靶T细胞,其中所述靶T细胞对存在于所述T细胞调节多聚体多肽内的所述表位具有特异性,且其中所述接触递送存在于所述T细胞调节多聚体多肽内的所述一种或多种免疫调节多肽至所述靶T细胞。

[0862] 方面95.一种检测从个体获得的混合T细胞群中结合肽表位的靶T细胞的存在的方法,所述方法包括:a)使所述混合T细胞群与如方面56-82中任一项的T细胞调节多聚体多肽在体外接触,其中所述T细胞调节多聚体多肽包含所述肽表位;及b)检测T细胞响应于所述接触的活化和/或增殖,其中活化和/或增殖的T细胞指示所述靶T细胞的存在。

[0863] 尽管本发明已关于其具体实施方案加以描述,但本领域技术人员应了解的是可在不脱离本发明的实际精神和范围下进行各种变化且可用等效物进行替代。此外,可进行许多修改以使特定情况、材料、物质组成、方法、一个或多个方法步骤适合于本发明的目标、精神和范围。所有这些修改皆意图在随附于此的申请专利范围的范围内。

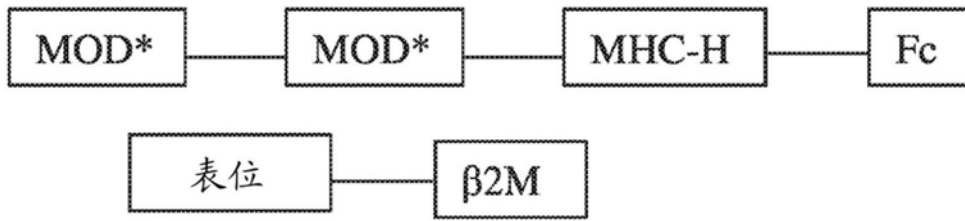


图1A

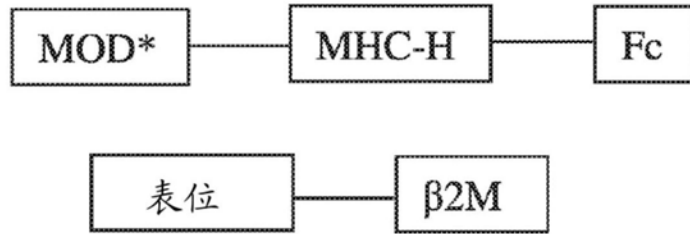


图1B

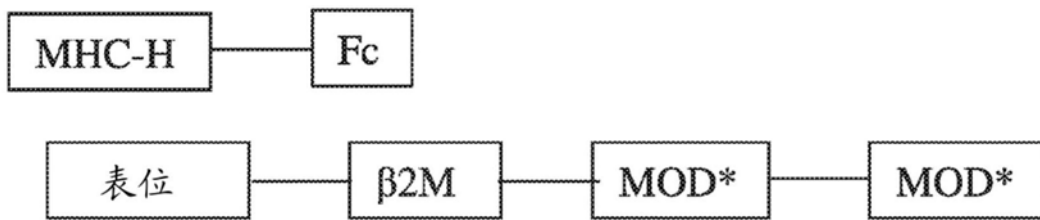


图1C

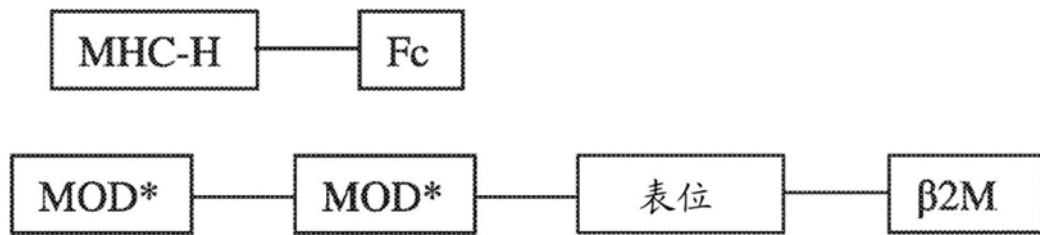


图1D

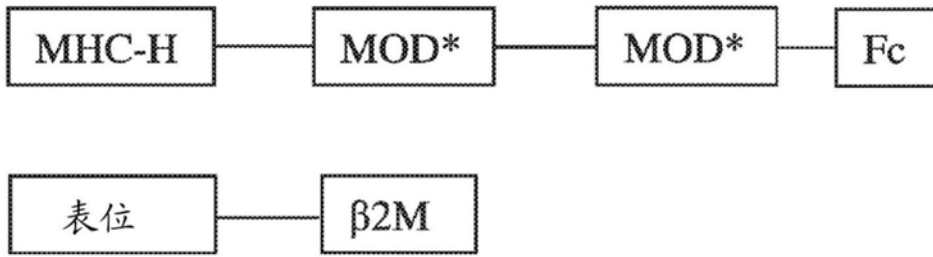


图1E

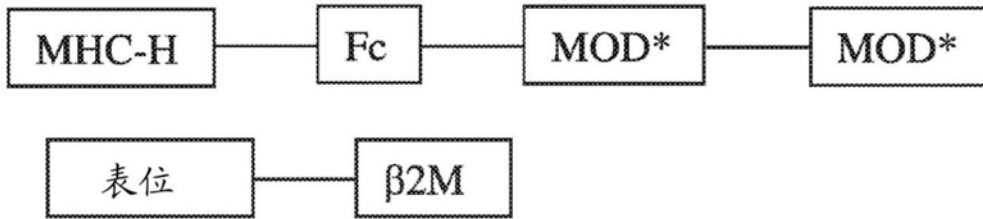


图1F

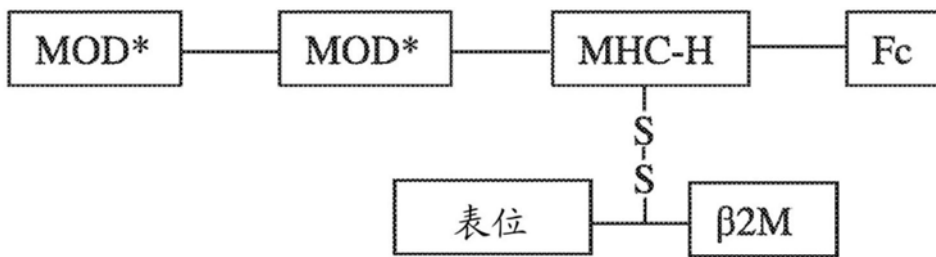


图2A

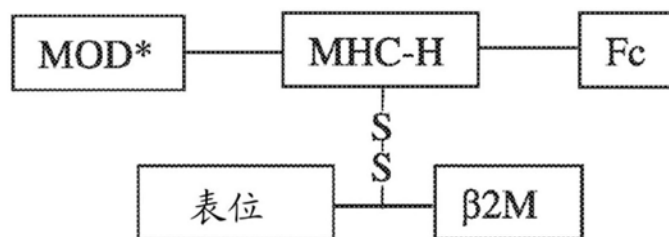


图2B

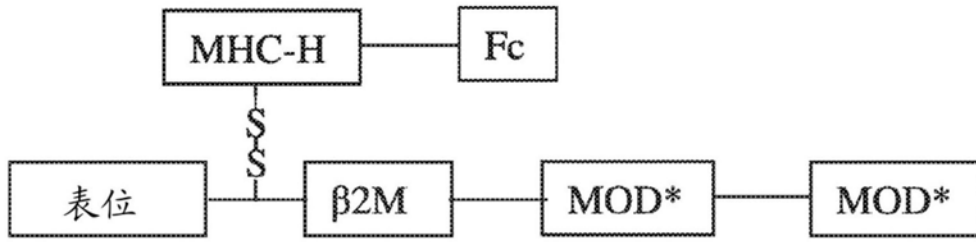


图2C

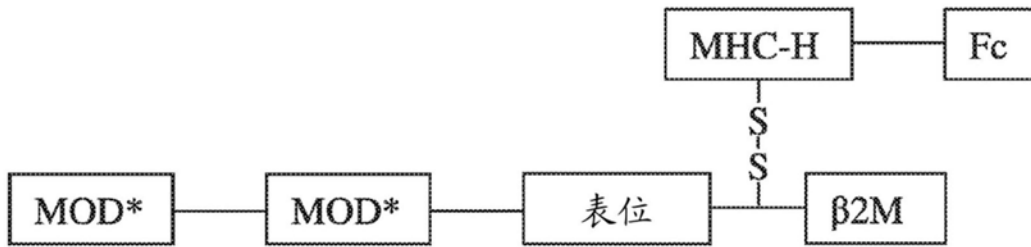


图2D

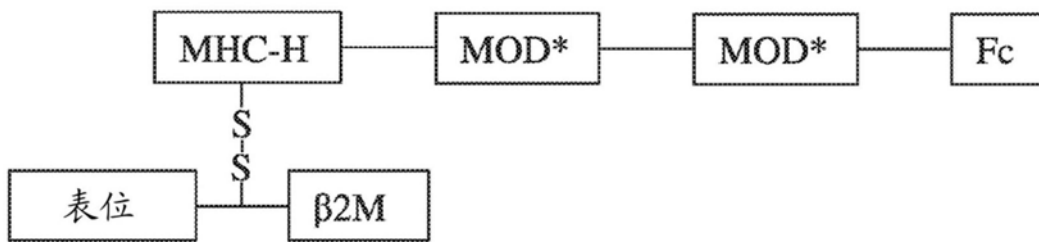


图2E

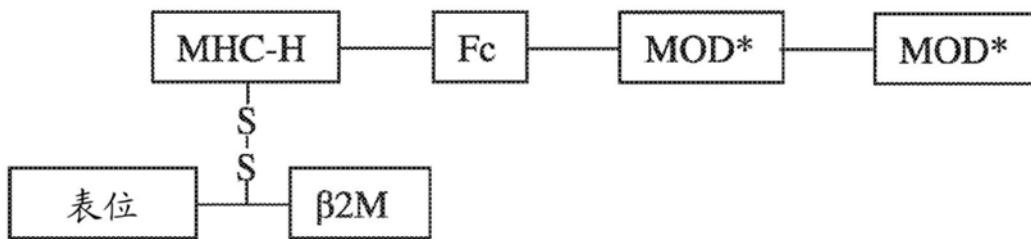


图2F

GenBank 3S7G_A

智人 IgG1 Fc (SEQ ID NO://)

227 aa

```
1 dkthtcppcp apellggpsv flfppkpkdt lmisrtpevt cvvvdvshed pevknfnyvd
61 gvevhnaktk preeqynsty rvsvltvlh qdwlngkeyk ckvsnkappa piektiskak
121 gqprepvyt lppsrdekt nqvsitclvk gfypsdiave wesngqpenn ykttppvlds
181 dgsfflyskl tvdksrwqgg nvfscsvmhe alhnhytqks lsispqk
```

GenBank AAN76044

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

227 aa

```
1 stkgpsvfpl apcsrsts taalgclvkd yfpepvtvsw nsgaltsqvh tfpavlqssg
61 lyslssvvtv pssnfgtqty tcnvdhkpsn tkvdktkverk ccvecppcpa ppvagpsvfl
121 fppkpkdtlm isrtpevtcv vdvshedpe vqfnwyvdgv evhnaktkpr eeqfnstfrv
181 vsvltvvhqd wlngkeykck vsnkglpapi ektisktkgq prepqvytlp psreemtknq
241 vsitclvkgf ypsdiavewe sngqpennyk ttppldsdg sfflyskltv dksrwqqgnv
301 fscsvmheal hnhytqksls lspqk
```

GenBank AAW65947

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

238 aa

```
1 hkpsntkvdk rvelktplgd tthtcppcpa pellggpsvf lfppkpkdtl misrtpevtc
61 vvvdvshedp evknfnyvdg vevhnaktkp reeqynstyr vsvltvlhq dwlngkeykc
121 kvsnkappa iektiskakg qprepvytl ppsrdeltn qvsitclvkg fypsdiavew
181 esngqpenny kttppvlds dsfflysklt vdksrwqqgn vfscsvmhea lnhytqksl
241 slspqk
```

图3A

GenBank AAA52770

智人 IgD Fc (氨基酸 162-383) (SEQ ID NO://)

222 aa

```
1  ptkapdvfpi isgcrhpkdn spvvlacilit gyhptsvtvt wymgtqsqpq rtfpeiqrdd
61  syymtssqls tplqqwrqge ykcvvqhtas kskkeifrwp espkaqassv ptaqpqaegs
121 lakattapat trntgrggee kkkekekeeq eeretktped pshtqplgvy lltpavqdlw
181 lrdkatftcf vvgSDLkdah ltwevagkvp tggveeglle rhsngsqsqh srllprslw
241 nagtsvtctl nhpslppqrl malrepaaqa pvklslnlla ssdppeaasw llcevsgfsp
301 pnillmwled qrevntsgfa parpppprs ttfwawsvlr vpappspqpa tytcvvhed
361 srllnasrs levsyvtdhg pmk
```

GenBank 0308221A

智人 IgM Fc (SEQ ID NO://)

276 aa

```
1  vtstltikzs dwlgesmftc rvdhrgltfq qnassmcpvd qdtairvfai ppsfasiflt
61  kstklvtclvt dltybsvti swtreengav kthtnishes pnatfsavge asicedbdws
121 gerftctvth tdlpsplkqt isrpkgvalh rpbvylppa rzzlnlresa titclvtgfs
181 padvfvevmq rgeplspqky vtsapmpepq apgryfahsi ltvseeewnt ggtytcvvhah
241 ealpnrvter tvdkstgkpt lynvslvmsd tagtcy
```

图3B

GenBank P01876

智人 IgA Fc (氨基酸120-353) (SEQ ID NO://)

234 aa

```
1 asptspkvfp lsicstopdg nvviaclvqg ffpqeplsvt wsesgqgvta rnfppsquad
61 gdlyttssql tlpatqclag ksvtchvkhy tnpsqdvtp cpvpstpptp spstpptp
121 scchprlslh rpaledlllg seanltctlt glrdasgvtf twtpssgksa vqgpperdlc
181 gcysvssvlp gcaepwnhgk tftctaaype sktpltatls ksgntfrpev hllpppseel
241 alnelvtltc largfspkdv lvrwlqgsqe lprekyltwa srqepsqgtt tfavtsilrv
301 aaedwkkgt fscmvgheal plaftqktid rlagkpthvn vsvmaevdg tcy
```

GenBank 1F6A_B

智人 IgE Fc (氨基酸6-222) (SEQ ID NO://)

212 aa

```
1 adpcdsnprg vsaylsrpsp fdlfirspt itclvvdlap skgtvnltws rasgkpvnh
61 trkeekqrng tltvtstlpv gtrdwieget yqcrvthphl pralmrsttk tsqpraapev
121 yafatpewpg srdkrtlacl iqnfmpedis vqwlhnevql pdarhsttqp rktkgsqffv
181 fsrlevtrae weqkdeficr avheaaspsq tvqravsvnp gk
```

GenBank P01861

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

228 aa

```
1 astkgpsvfp lapcsrstse staalgclvk dyfpepvtvs wnsгалtsgv htfpavqlss
61 glylssvvt vpssslgkkt ytcnvdkps ntkvdkrves kygpccpscp apeflggpsv
121 flfppkpkdt lmisrtpevt cvvvdvsqed pevqfnwyvd gvevhnaktk preeqfnsty
181 rvsvltvlh qdwlngkeyk ckvsnkglps siektiskak gqprepvyt lppsqeemtk
241 nqvsltclvk gfypsdiave wesngqpenn ykttppvlds dgsfflysrl tvdksrwqeg
301 nvfscsvmhe alhnhytqks lsislqk
```

图3C

WT人IgG1 Fc序列: (SEQ ID NO:11)
DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALTHHNYTQKLSLSLSPGK

图3D

人IgG1 Fc突变体: L234F/L235E/P331S (三重突变体“TM”) (SEQ ID NO:1)

DKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALTHHNHYTQKLSLSLSPGK

图3E

人IgG1 Fc突变体: (SEQ ID NO:11)
DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALTHHNYTQKLSLSLSPGK

图3F

人IgG1 Fc突变体: L234A/ L235A (“LALA”) (SEQ ID NO:1)

DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
 YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
 WESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK

残基根据EU索引(Kabat编号)编号

图3G

```

NP_004039.1  msrvalav1alls1sgleaiqrtpkiqvysrhpengksnflncyvsgfhpsdievdll 60
NP_001009066.1  msrvalav1alls1sgleaiqrtpkiqvysrhpengksnflncyvsgfhpsdievdll 60
NP_001040602.1  msrvalav1alls1sgleaiqrtpkiqvysrhpengkpnlncyvsgfhpsdievdll 60
NP_776318.1  marfvalvllglls1sgldaiqrppkiqvysrhppegdkpnylncyvsgfhppqieidl 60
NP_033865.2  marsvtlvflvls1tglyaiqktpqiqvysrhpengkpnlncyvtqfhhpphieiqml 60
*:*:*:*:* *:*:*:*:* *:*:*:*:* *:*:*:*:* *:*:*:*:* *:*:*:*:* *:*:*:*:*
NP_004039.1  kngeriekvehsdlsfskdwsfylllytftptekdeyacrnhvtlsqpkivkwdrdm 119 (SEQ ID NO://)
NP_001009066.1  kngeriekvehsdlsfskdwsfylllytftptekdeyacrnhvtlsqpkivkwdrdm 119 (SEQ ID NO://)
NP_001040602.1  kngckmgkvehsdlsfskdwsfylllytftptekdeyacrnhvtlsqprtvmkwdrdm 119 (SEQ ID NO://)
NP_776318.1  kngkekik-seqsdlsfskdwsfyllshaeftpnskdqyscrvkhvtleqprvkwdrdl 118 (SEQ ID NO://)
NP033865  kngkkipkvemsdmsfskdwsfyllahtftptetdtyacrkvkhasmaepktvywdrdm 119 (SEQ ID NO://)
*:*:*:*:* *:*:*:*:*:* *:*:*:*:* *:*:*:*:* *:*:*:*:* *:*:*:*:*

```

图4

智人 HLA-A

5A.1 HLA-A*01:01:01:01 NCBI(国家生物技术信息中心)

登录 NP_001229687.1

(SEQ ID NO://)

```

1 MAVMAPRTLL LLLSGALALT QTWAGSHSMR YFFTSVSRPG RGEPRFIAVG YVDDTQFVRF
61 DSDAASQKME PRAPWIEQEG PEYWDQETR N MKAHSQTDRA NLGTLRGYYN QSEDDGSHTIQ
121 IMYGCDVGPD GRFLRGYRQD AYDGKDYIAL NEDLRSWTAA DMAAQITKRK WEAVHAAEQR
181 RVYLEGRCVD GLRRYLENGK ETLQRTDPPK THMTHHPISD HEATLRCWAL GFYPAEITLT
241 WORDGEDQTQ DTELVETRPA GDGTFQKWA VVVPSGEEQR YTCHVQHEGL PKPLTLRWEL
301 SSQPTIPIVG IIAGLVLLGA VITGAVVA V MWRKSSDRK GGSYQAASS DSAQGSVDVSL
361 TACKV

```

5A.2 HLA-A*1101 NCBI 登录 P13746.1 (SEQ ID NO://)

```

1 MAVMAPRTLL LLLSGALALT QTWAGSHSMR YFYTSVSRPG RGEPRFIAVG YVDDTQFVRF
61 DSDAASQRME PRAPWIEQEG PEYWDQETR N VKAQSQTDRE DLGTLRGYYN QSEDDGSHTIQ
121 IMYGCDVGPD GRFLRGYRQD AYDGKDYIAL NEDLRSWTAA DMAAQITKRK WEAHAAEQQ
181 RAYLEGRCVE WLRRYLENGK ETLQRTDPPK THMTHHPISD HEATLRCWAL GFYPAEITLT
241 WORDGEDQTQ DTELVETRPA GDGTFQKWA VVVPSGEEQR YTCHVQHEGL PKPLTLRWEL
301 SSQPTIPIVG IIAGLVLLGA VITGAVVA V MWRKSSDRK GGSYQAASS DSAQGSVDVSL
361 TACKV

```

5A.3 HLA-A*2402 NCBI 登录 P05534.2 (SEQ ID NO://)

```

1 MAVMAPRTL V LLLSGALALT QTWAGSHSMR YFSTSVSRPG RGEPRFIAVG YVDDTQFVRF
61 DSDAASQRME PRAPWIEQEG PEYWDEETGK VKAHSQTDRE NLRALRYYN QSEAGSHTLQ
121 MMFGCDVGS D GRFLRGYHQY AYDGKDYIAL KEDLRSWTAA DMAAQITKRK WEAHVAAEQQ
181 RAYLEGTCVD GLRRYLENGK ETLQRTDPPK THMTHHPISD HEATLRCWAL GFYPAEITLT
241 WORDGEDQTQ DTELVETRPA GDGTFQKWA VVVPSGEEQR YTCHVQHEGL PKPLTLRWEP
301 SSQPTVPIVG IIAGLVLLGA VITGAVVA V MWRNNSDRK GGSYQAASS DSAQGSVDVSL
361 TACKV

```

5A.4 HLA-A*3303 NCBI 登录 AAA79865.1 (SEQ ID NO://)

```

1 MAVMAPRTLL LLLLGALALT QTWAGSHSMR YFTTSVSRPG RGEPRFIAVG YVDDTQFVRF
61 DSDAASQRME PRAPWIEQEG PEYWDRNTR N VKAHSQIDRV DLGTLRGYYN QSEAGSHTIQ
121 MMYGCDVGS D GRFLRGYQD AYDGKDYIAL NEDLRSWTAA DMAAQITQRK WEAARVAEQL
181 RAYLEGTCVE WLRRYLENGK ETLQRTDPPK THMTHHAVSD HEATLRCWAL SFYPAEITLT
241 WORDGEDQTQ DTELVETRPA GDGTFQKWA VVVPSGQEQR YTCHVQHEGL PKPLTLRWEP
301 SSQPTIPIVG IIAGLVLFGA VFAGAVVA V RWRRKSSDRK GGSYQAASS DSAQGS DMSL
361 TACKV

```

图5A

智人 HLA-B*07:02:01 HLA-B GenBank 登录 NP_005505.2
(SEQ ID NO://)

```
1 mlvmaprtvl lllsaalalt etwagshsmr yfytsvsrpg rgeprfisvg yvddtqfvrf
61 dsdaaspree prapwiegeg peywdrntqi ykaqaqtdre slrnlrgyyn qseagshtlq
121 smygcdivgpd grllrghdqy aydgkdyial nedlrswwta dtaaaitqrk weaareaeqr
181 raylegecve wlrrylengk dkleradppk thvthhpisd heatlrcwal gfypaeitlt
241 wqrdgedqtq dtelvetrpa gdrtfqkwa vvvpsgeeqr ytchvqhegl pkpltlrwep
301 ssqstvpiwg ivaglavlav vvigavvaav mcrrkssgk ggsysqaacs dsaqgsdvsl
361 ta
```

图5B

智人 HLA-C
HLA-C GenBank 登录 NP_001229971.1,
w (SEQ ID NO://)

```
1 mrvmaprall lllsgglalt etwacshsmr yfdtavsrpg rgeprfisvg yvddtqfvrf
61 dsdaasprge prapwvegeg peywdretqn ykrqaqadv slrnlrgyyn qsedgshtlq
121 rmygcdlqpd grllrgydqs aydgkdyial nedlrswwta dtaaaitqrk leaaraaeql
181 raylegtve wlrrylengk etlqraepk thvthhplsd heatlrcwal gfypaeitlt
241 wqrdgedqtq dtelvetrpa gdrtfqkwa vvvpsgqeqr ytchmqhegl qepltlswep
301 ssqptipimg ivaglavlv lavlgavvta mmcrrkssg kgsqscqaac snsaggsdes
361 litck
```

图5C

```

HLA-A      GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFSDAASQKMEPRAPWIEQEGPEYW
HLA-B      GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRFISVGYVDDTQFVRFSDAASPREEPRAPWIEQEGPEYW
HLA-C      CSHSMRYFDTAVSRPGRGEPRFISVGYVDDTQFVRFSDAASPRGEPRAPWVEQEGPEYW
HLA-A*0201 GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFSDAASQRMPEPRAPWIEQEGPEYW
小鼠 H2K   GPHSLRYFVTAVSRPGLGEPRFIAVGYVDDTQFVRFSDADNPRFEPRAPWMEQEGPEYW
HLA_A(变体 2) GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFSDAASQRMPEPRAPWIEQEGPEYW
HLA_A(变体 2C) GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFSDAASQRMPEPRAPWIEQEGPEYW
HLA-A(变体 2CP) GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFSDAASQRMPEPRAPWIEQEGPEYW
HLA-A*1101 GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFSDAASQRMPEPRAPWIEQEGPEYW
HLA-A*2402 GSHSMRYFSTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFSDAASQRMPEPRAPWIEQEGPEYW
HLA-A*3303 GSHSMRYFTTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFSDAASQRMPEPRAPWIEQEGPEYW
          **:*** *:***** *****:*****

```

84

```

HLA-A      DQETRNMKAHSQTDRLNLTGLRGLYNQSEAGSHTIQIMYGCDVGPDRFLRGYRQDAYDG
HLA-B      DRNTQIYKAQAQTDRESLRNLRCGYNQSEAGSHTLQSMYGCVDGPDGRLLRGHDQYAYDG
HLA-C      DRETQNYKRQAQADRVSLRNLRCGYNQSEAGSHTLQRMYGCDLGPDRLLRGYDQSAAYDG
HLA-A*0201 DGETRKVKAHSQTHRVDLGLTRGLYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDFRFLRGYHQYAYDG
小鼠 H2K   EEQTQRAKSDEQWFRVSLRTAQRVYNQSKGGSHTFQRMFGCDVGSDFRLLRGYQQFAYDG
HLA_A(变体 2) DGETRKVKAHSQTHRVDLGLTRGLYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDFRFLRGYHQYAYDG
HLA_A(变体 2C) DGETRKVKAHSQTHRVDLGLTRGLYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDFRFLRGYHQYAYDG
HLA-A(变体 2CP) DGETRKVKAHSQTHRVDLGLTRGLYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDFRFLRGYHQYAYDG
HLA-A*1101 DQETRNVKAQSQTDRLVLTGLRGLYNQSEAGSHTIQIMYGCDVGPDRFLRGYRQDAYDG
HLA-A*2402 DEETGKVKAHSQTDRENLRALRYNQSEAGSHTLQMMFGCDVGSDFRFLRGYHQYAYDG
HLA-A*3303 DRNTRNVKAHSQIDRVLTGLRGLYNQSEAGSHTIQMMYGCDVGSDFRFLRGYQQDAYDG
          : :* * . * * . *  ***: ****.* *:***:* * *:***: * ****
          aac1  aac2

```

139

```

HLA-A      KDYIALNEDLRSWTAADMAAQITKRKWEAVHAAEQRRVYLEGRCVDGLRRYLENGKETLQ
HLA-B      KDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQRRAYLEGCVEWLRRYLENGKDKLE
HLA-C      KDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKLEAARAAEQRLRAYLEGCVEWLRRYLENGKETLQ
HLA-A*0201 KDYIALKEDLRSWTAADMAAQITTKRWEAAHVAEQRLRAYLEGCVEWLRRYLENGKETLQ
小鼠 H2K   RDYIALNEDLKTWTAADTAAALITRKRWEQAGDAEYRAYLEGCVEWLRRYLELGNETLL
HLA_A(变体 2) KDYIALKEDLRSWTAADMAAQITTKRWEAAHVAEQRLRAYLEGCVEWLRRYLENGKETLQ
HLA_A(变体 2C) KDYIALKEDLRSWTAADMCAQITTKRWEAAHVAEQRLRAYLEGCVEWLRRYLENGKETLQ
HLA-A(变体 2CP) KDYIALKEDLRSWTAADMAAQITTKRWEAAHVAEQRLRAYLEGCVEWLRRYLENGKETLQ
HLA-A*1101 KDYIALNEDLRSWTAADMAAQITKRKWEAAHAAEQRAYLEGCVEWLRRYLENGKETLQ
HLA-A*2402 KDYIALKEDLRSWTAADMAAQITKRKWEAAHVAEQRAYLEGCVDGLRRYLENGKETLQ
HLA-A*3303 KDYIALNEDLRSWTAADMAAQITQRKWEAAHVAEQRLRAYLEGCVEWLRRYLENGKETLQ
          :*****:***:***** * *: * * . ** *.**** **: ***** *: : *
          aac3  aac4

```

图6

236

HLA-A	RTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETRP	AGDGF
HLA-B	RADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETRP	AGDRF
HLA-C	RAEPPKTHVTHHPLSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETRP	AGDGF
HLA-A*0201	RTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETRP	AGDGF
小鼠 H2K	RTDSPKAHVTYHPRSQVDVTLRCWALGFYPADITLTWQLNGEDLTQDMEL	VETRP	AGDGF
HLA_A(变体 2)	RTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETRP	AGDGF
HLA_A(变体 2C)	RTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETRP	AGDGF
HLA-A(变体 2CP)	RTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETRP	AGDGF
HLA-A*1101	RTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETRP	AGDGF
HLA-A*2402	RTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETRP	AGDGF
HLA-A*3303	RTDPPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETRP	AGDGF

*:: **:***:*** * : .*****.*****:***** :*** ** ***** ** **

aac5 aac6

HLA-A	QKWAAVVVPSSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO://)
HLA-B	QKWAAVVVPSSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO://)
HLA-C	QKWAAVVVPSSGQEQRYTCHMQHEGLQEPLTLRWE (SEQ ID NO://)
HLA-A*0201	QKWAAVVVPSSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEP (SEQ ID NO://)
小鼠 H2K	QKWAAVVPLGKEQNYTCHVHHKGLPEPLTLRW (SEQ ID NO://)
HLA_A(变体 2)	QKWAAVVVPSSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO://)
HLA_A(变体 2C)	QKWAAVVVPSSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO://)
HLA-A(变体 2CP)	QKWAAVVVPSSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEP (SEQ ID NO://)
HLA-A*1101	QKWAAVVVPSSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEL (SEQ ID NO://)
HLA-A*2402	QKWAAVVVPSSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEP (SEQ ID NO://)
HLA-A*3303	QKWAASVVVPSSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEP (SEQ ID NO://)

****:**** *:** .*****:***:**** :***** *

图6(续)

		236	
A*0101	RTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEIVETREAGDGTF		241
A*0201	RTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEIVETREAGDGTF		241
A*0301	RTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEIVETREAGDGTF		241
A*1101	RTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEIVETREAGDGTF		241
A*2301	RTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEIVETREAGDGTF		241
A*2402	RTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEIVETREAGDGTF		241
A*2407	RTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEIVETREAGDGTF		241
A*3303	RTDPPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEIVETREAGDGTF		241
A*3401	RTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEIVETREAGDGTF		241
	*** ***** ,***** ,***** *****		
		aac5 aac6	
A*0101	QKWAAVVVPSSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEL	276	
A*0201	QKWAAVVVPSSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEP	276	
A*0301	QKWAAVVVPSSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEL	276	
A*1101	QKWAAVVVPSSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEL	276	
A*2301	QKWAAVVVPSSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEP	276	
A*2402	QKWAAVVVPSSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEP	276	
A*2407	QKWAAVVVPSSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEP	276	
A*3303	QKWAASVVVPSSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEP	276	
A*3401	QKWAASVVVPSSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEP	276	
	****.*****.*****		

图7A (续)

GSHSMRYFX1TSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFSDSAASQX2MEPRAPWIEQEGPEYWDX
3X4TX5X6X7KAX8SQX9X10RX11X12LX13X14X15X16X17YYNQSEX18GSHTX19QX20
MX21GCDVGX22DX23RFLRGYX24QX25AYDGKDYIALX26EDLRSWTAADMAAQX27TX287
X29KWEX30X31X32EAEQX33RX34YLX35GX36CVX37X38LRRYLENGKETLQRTDX39PK
 THMTHHX40X41SDHEATLRCWALX42FYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEIVETREAGDGTFQKW
 AX43VVVPSGX44EQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEX45

X1为F、Y、S或T; X2为K或R; X3为Q、G、E或R; X4为N或E; X5为R或G; X6为N或K; X7为M或V; X8为H或Q; X9为T或I; X10为D或H; X11为A、V或E; X12为N或D; X13为G或R; X14为T或I; X15为L或A; X16为R或L; X17为G或R; X18为A或D; X19为I、L或V; X20为I、R或M; X21为F或Y; X22为S或P; X23为W或G; X24为R、H或Q; X25为D或Y; X26为N或K; X27为T或I; X28为K或Q; X29为R或H; X30为A或T; X31为A或V; X32为H或R; X33为R、L、Q或W; X34为V或A; X35为D或E; X36为R或T; X37为D或E; X38为W或G; X39为P或A; X40为P或A; X41为V或I; X42为S或G; X43为A或S; X44为Q或E; 且X45为P或L。

图7B

B*0702	GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPFRFISVGYVDDTQFVRFDSDAASFREEPRAPWIEQEGPEYW	60
B*0801	GSHSMRYFDTAMSRPGRGEPFRFISVGYVDDTQFVRFDSDAASFREEPRAPWIEQEGPEYW	60
B*1502	GSHSMRYFYTAMSRPGRGEPFRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASPRMAPRAPWIEQEGPEYW	60
B*3802	GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPFRFISVGYVDDTQFVRFDSDAASFREEPRAPWIEQEGPEYW	60
B*4001	GSHSMRYFHTAMSRPGRGEPFRFITVGYVDDTLFVRFSDATSPRKEPRAPWIEQEGPEYW	60
B*4601	GSHSMRYFYTAMSRPGRGEPFRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASPRMAPRAPWIEQEGPEYW	60
B*5301	GSHSMRYFYTAMSRPGRGEPFRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASPRTEPRAPWIEQEGPEYW	60

***** *;:*****;***** *****;*** *****

		89	
B*0702	DRNTQIYKAQAQTDRESIRNLRGYYNQSEAGSHTLQSMYGC DVGPDGRLLRGHDQYAYDG		120
B*0801	DRNTQIFKTNTQTDRESIRNLRGYYNQSEAGSHTLQSMYGC DVGPDGRLLRGHNQYAYDG		120
B*1502	DRNTQISKNTNTQTYRESIRNLRGYYNQSEAGSHIQRMYGCDVGPDRLLRGYDQSAAYDG		120
B*3802	DRNTQICKTNTQTYRENIRLALFYINQSEAGSHTLQRMYGCDVGPDRLLRGHNQYAYDG		120
B*4001	DRETQISKNTNTQTYRESIRNLRGYYNQSEAGSHTLQRMYGCDVGPDRLLRGHNQYAYDG		120
B*4601	DRETQKYKRQAQTDVRSIRNLRGYYNQSEAGSHTLQRMYGCDVGPDRLLRGHDQSAAYDG		120
B*5301	DRNTQIFKTNTQTYRENIRLALFYINQSEAGSHIQRMYGCDLGPDRLLRGHDQSAAYDG		120

;* * :;* * .* * *** ;* *****;*****;:* ****

aac1 | aac2

		139	
B*0702	KDYIALNEDLRSWTAADTAQITQKWEAAREAEQRRAYLEGECVWLRRYLENGKDKLE		180
B*0801	KDYIALNEDLRSWTAADTAQITQKWEAARVAEQDRAYLEGTCVWLRRYLENGKDTLE		180
B*1502	KDYIALNEDLSSWTAADTAQITQKWEAAREAEQLRAYLEGLCVWLRRYLENGKETLQ		180
B*3802	KDYIALNEDLSSWTAADTAQITQKWEAARVAEQLRTYLEGTCVWLRRYLENGKETLQ		180
B*4001	KDYIALNEDLRSWTAADTAQISQKLEAARVAEQLRAYLEGECVWLRRYLENGKDKLE		180
B*4601	KDYIALNEDLSSWTAADTAQITQKWEAAREAEQWRAYLEGLCVWLRRYLENGKETLQ		180
B*5301	KDYIALNEDLSSWTAADTAQITQKWEAARVAEQLRAYLEGLCVWLRRYLENGKETLQ		180

***** *****;*** ***** ** *;***** *****;:;*

aac3 | aac4

图8A

236

B*0702	RADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDRTF	241
B*0801	RADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDRTF	241
B*1502	RADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDRTF	241
B*3802	RADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDRTF	241
B*4001	RADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDRTF	241
B*4601	RADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDRTF	241
B*5301	RADPPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDRTF	241

*****;*****
aac5 aac6

B*0702	QKWAAVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEF	276
B*0801	QKWAAVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEF	276
B*1502	QKWAAVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEF	276
B*3802	QKWAAVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEF	276
B*4001	QKWAAVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEF	276
B*4601	QKWAAVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEF	276
B*5301	QKWAAVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEF	276

图8A (续)

GSHSMRYFX1TX2X3SRPGRGEPREFIX4VGYVDDTX5FVRFDS DAX6SPRX7X8PRAPWIEQEG
 PEYWDRX9TQX10X11KTX12X13TQX14YX15X16NLX17X18X19X20YYNQSEAGSHX21X
 22QX23MYGCDLGPDRLLRGHDQSAYDGKDYIALNEDLX24SWTAADTAAQIX25QRKX26EA
 ARX27AEQX28RX29YLEGX30CVEWLRRYLENGKX31X32LX33RADPPKTHVTHHPX34SDH
 EATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDRTFQKWAAVVPSGEEQRYTCHV
 QHEGLPKPLTLRWEF

X1为H、Y或D; X2为A或S; X3为M或V; X4为A、S或T; X5为Q或L;
 X6为A或T; X7为E、MK或T; X8为A或T; X9为E或N; X10为I或K;
 X11为Y、F、S或C; X12为N或Q; X13为A或T; X14为D或Y; X15为E
 或V; X16为S或N; X17为T、N或I; X18为A或L; X19为L或R; X20为R
 或G; X21为T或I; X22为L或I; X23为R或S; X24为R或S; X25为S或
 T; X26为L或W; X27为E或V; X28为R、D、L或W; X29为A或T; X30
 为L、E或T; X31为E或D; X32为K或T; X33为E或Q; X34为I或V。

图8B

<p>HLA-E GSHSLKYFHT SVSRPGRGEP RFISVGYVDD TQFVRFNDNA ASPRMVPRAP WMEQEGSEYW DRETRSARDT AQIFRVNLRT LRG<u>Y</u>YNQ<u>S</u><u>X1</u>A GSHTLQWMHG CELGPD<u>X2</u>RFL RGYEQFAYDG KDYLTLNEDL RSWTAVDT<u>A</u>A QISEQKSND SEAEHQ<u>X3</u><u>X4</u>YL EDTCVEWLHK YLEKGETLL HLEPPKTHVT HHPISDHEAT LRCWALGFYP AEITLTWQQD GEGHTQDTEL VETRP<u>A</u>GDGT FQKWAAVVVP SGEE<u>X5</u>RYTCH VQHEGL<u>X6</u>EPV TLRWKPASQP TIPI X1=K或E; X2=R或G; X3=R或G; X4=A或V; X5=Q或P; X6=P 或S</p>			
<p>涵盖: HLA-E*0101 (HLA-E*01:01:01:01); HLA-E*01:03 (HLA-E*01:03:01:01); HLA-E*01:04; HLA-E*01:05; HLA-E*01:06; HLA-E*01:07; HLA-E*01:09; HLA-E*01:10</p>			
<p>HLA-F GSHSLR<u>X1</u>FST AVSRPGRGEP RYIAVEYVDD TQFLRFSDA AIPRMEPRE<u>X2</u> WVEQEGPQYW EWTTGYAKAN AQTDRVALRN LLR<u>R</u>YNQSEA GSHTLQGMNG CDMGPDGRLL RGYHQHAYDG KDYISLNEDL RSWTAADT<u>V</u>A QITQRFYEA EYAEFRTYL EGECLELLRR YLENGKETLQ RADPPKAHVA HHPISDHEAT LRCWALGFYP AEITLTWQRD GEEQTQDTEL VETRP<u>A</u>GDGT FQKWAAVVVP <u>X3</u>GEEQRYTCH VQHEGLPQPL ILRWEQ<u>S</u><u>X4</u>QP TIPI X1=Y或F; X2=P或Q; X3=S或P; 且X4=P或L</p>			
<p>涵盖: HLA-F*0101 (HLA-F*01:01:01:01); HLA-F*01:02; HLA-F*01:03 (HLA-F*01:03:01:01); HLA-F*01:04; HLA-F*01:05; HLA-F*01:06;</p>			
<p>HLA-G GSHSMRYFSA AV<u>X1</u>RPGRGEP RFIAMG<u>X2</u>VDD <u>X3</u>Q<u>F</u><u>X4</u>RFSDSDS ACPRMEPRAP WVE<u>X5</u>EGPEYW EEETRNTKAH AQTDRMNLQT <u>X6</u>R<u>G</u>Y<u>Y</u>YNQSEA SSHTLQWM<u>X7</u> CDL<u>X8</u><u>X9</u>DGRL<u>X10</u> RGYEQYAYDG KDYLALNEDL RSWTAADT<u>A</u>A QISKRKCEAA NVAEQRRAX<u>X11</u>L EGTCVEWL<u>X12</u>R <u>X13</u>LENGKE<u>X14</u>LQ RADP<u>X15</u>KTHVT HHPVFDYEAT LRCWALGFYP AEIILTWQ<u>X16</u>D GEDQTQDVEL VETRP<u>A</u>GDGT FQKWAAVVVP SGEEQRY<u>X17</u>CH VQHEGLPEPL MLRW<u>X18</u>QSSLP TIPI X1=S或F; X2=Y或H; X3=T、S或M; X4=L或V; X5=Q或R; X6=P或L; X7=G 或D; X8=G或V; X9=S或C; X10=L或I; X11=Y或H; X12=H或R; X13=Y或 H; X14=M或T; X15=P或A; X16=R、W或Q; X17=T或M; X18=K或E;</p>			
<p>涵盖: HLA-G*0101 (HLA-G*01:01:01:01); HLA-G*01:02; HLA-G*01:03 (HLA-G*01:03:01:01); HLA-G*01:04 (HLA-G*01:04:01:01); HLA-G*01:06; HLA-G*01:07; HLA-G*01:08; HLA-G*01:09; HLA-G*01:10; HLA-G*01:10; HLA-G*01:11; HLA-G*01:12; HLA-G*01:14; HLA-G*01:15; HLA-G*01:16; HLA-G*01:17; HLA-G*01:18; HLA-G*01:19; HLA-G*01:20; HLA-G*01:22</p>			

图10

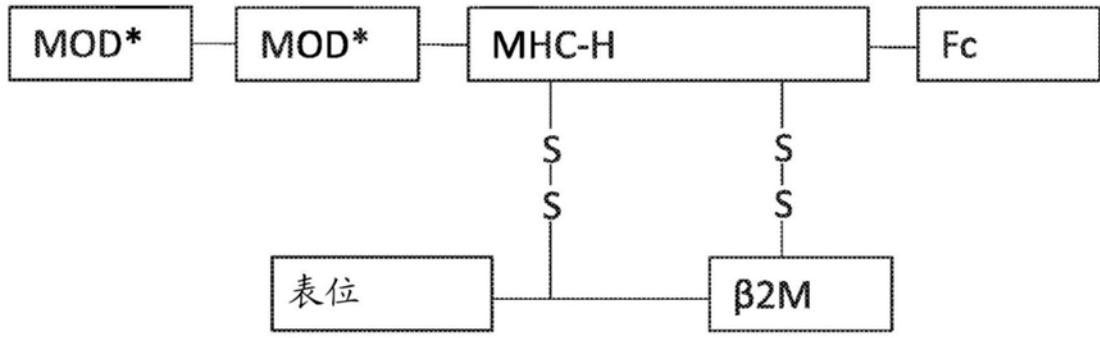


图12A

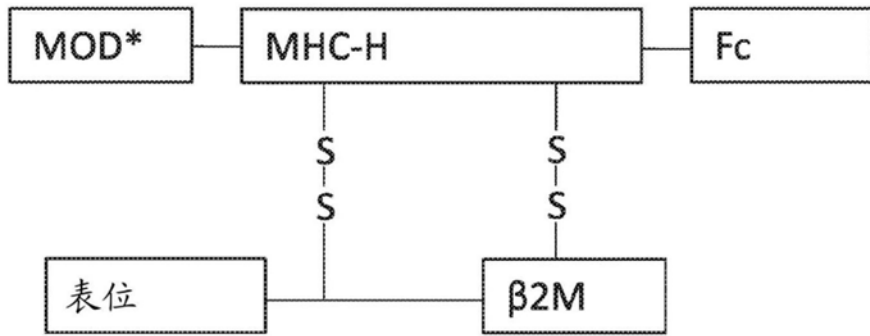


图12B

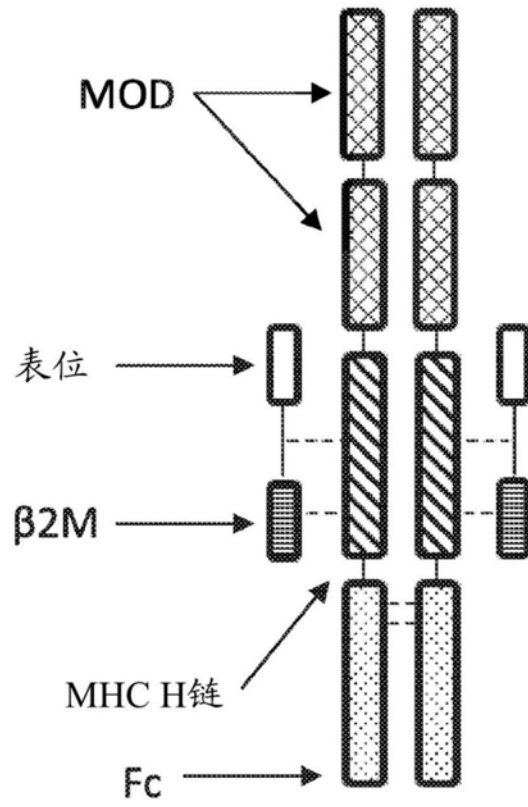


图12C

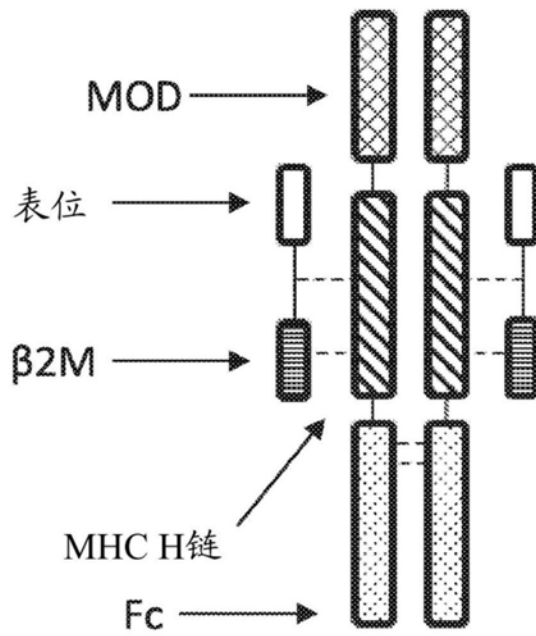


图12D

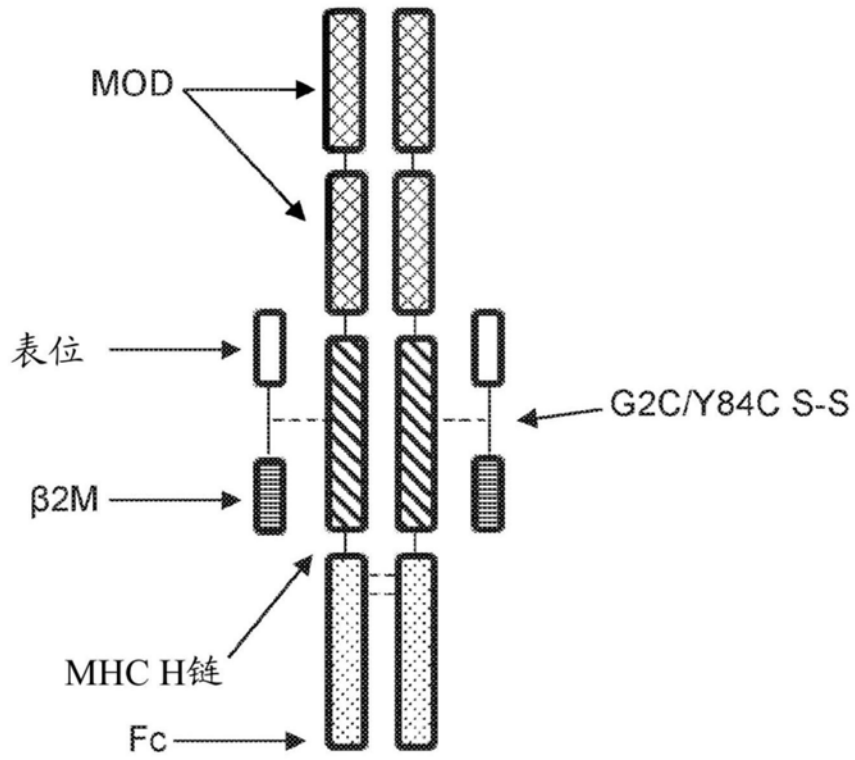


图13A

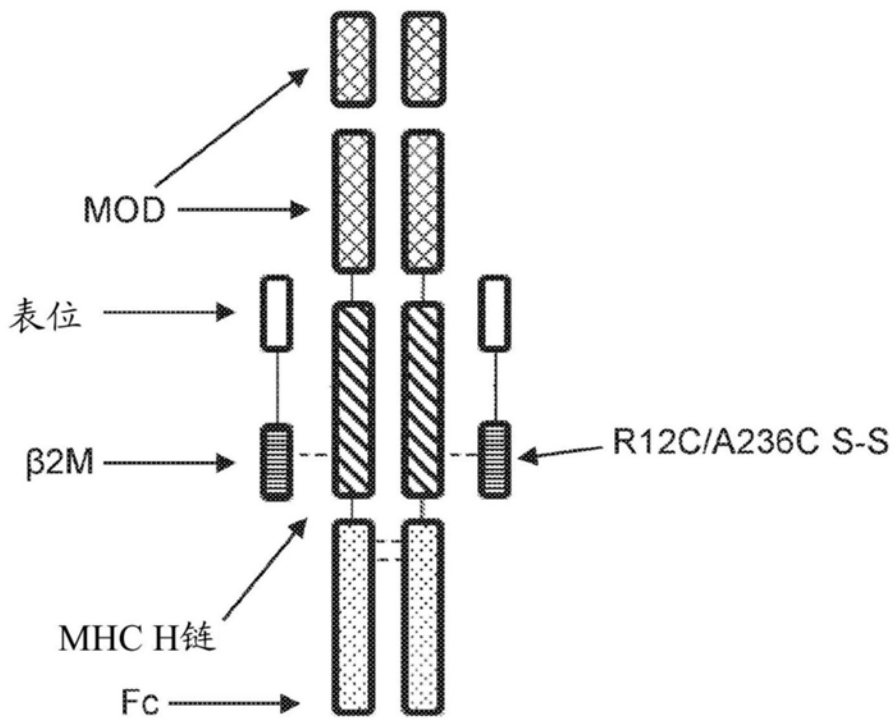


图13B

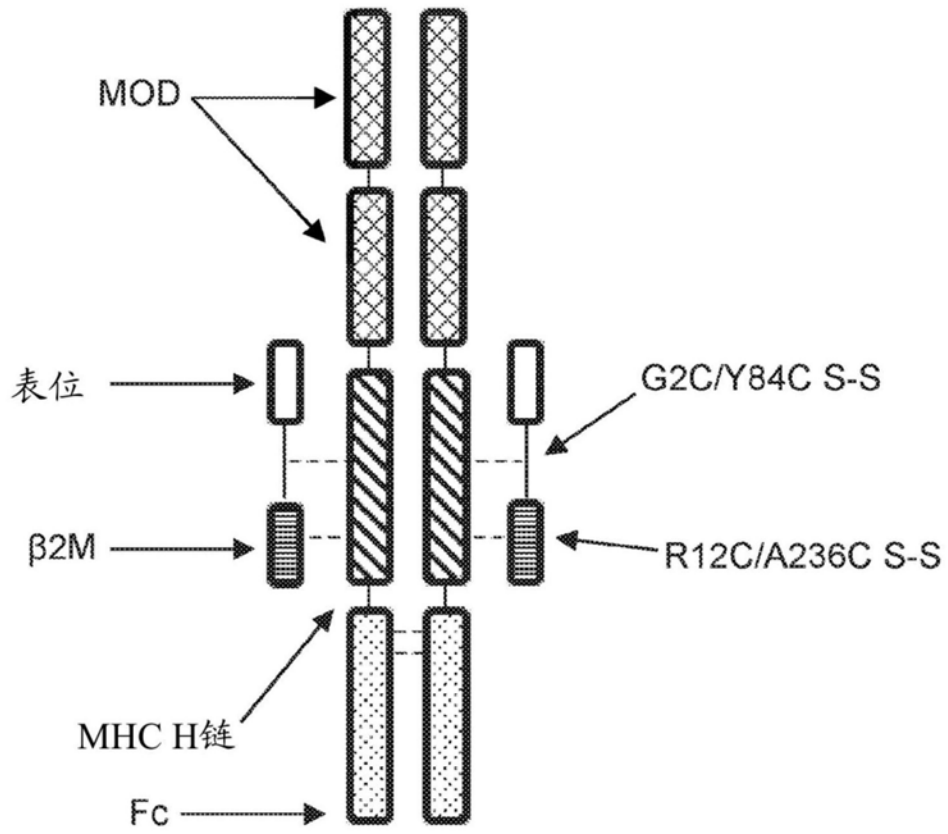


图13C

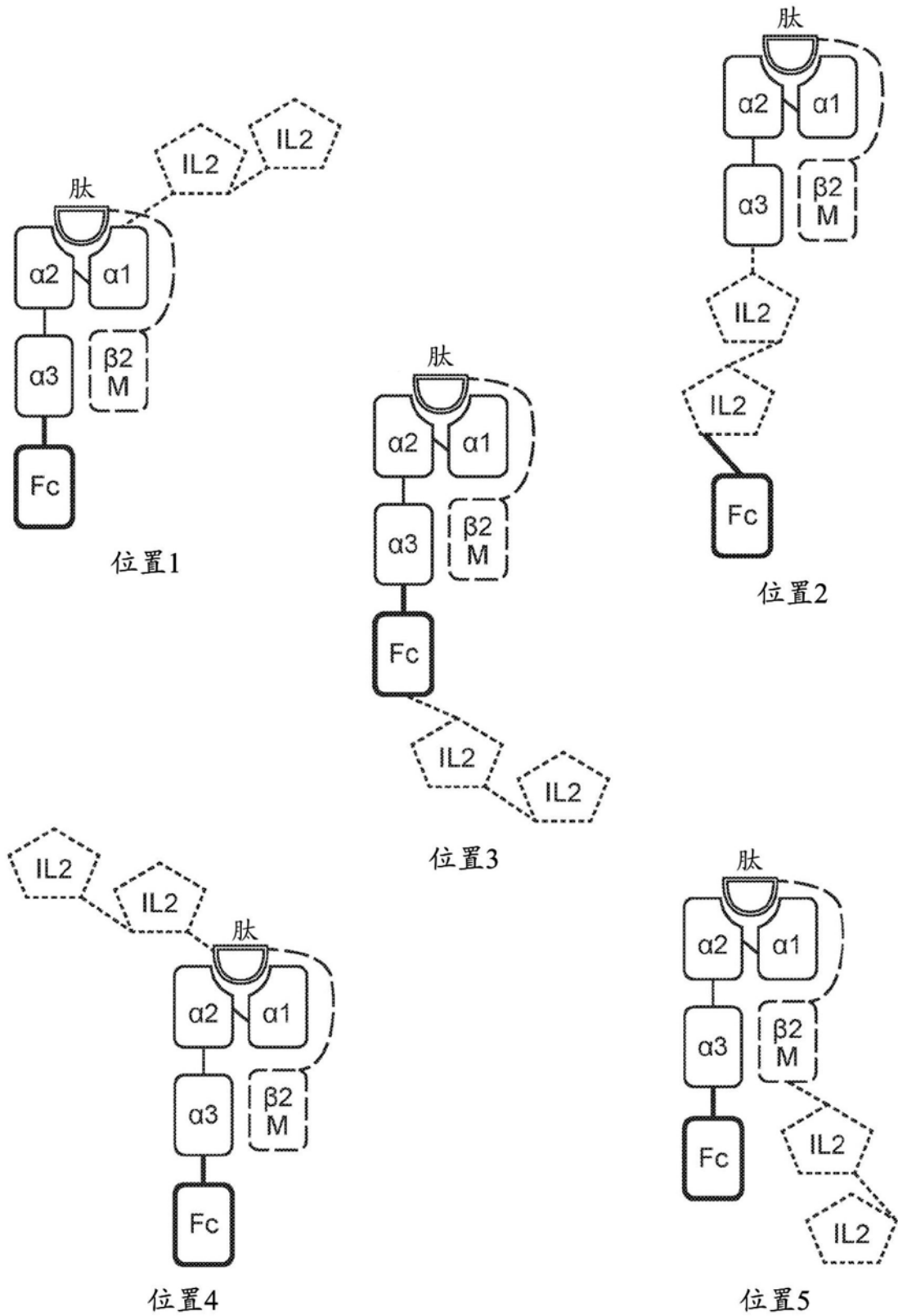


图14