



(21) 申请号 201880029045.8

(22) 申请日 2018.03.30

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 110603044 A

(43) 申请公布日 2019.12.20

(30) 优先权数据  
62/479,930 2017.03.31 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2019.10.31

(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/US2018/025459 2018.03.30

(87) PCT国际申请的公布数据  
W02018/183888 EN 2018.10.04

(73) 专利权人 小利兰·斯坦福大学托管委员会  
地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 瑞秋·琳恩 克里斯托·麦考尔  
汤姆·J·万德莱斯 埃文·温伯

(74) 专利代理机构 北京弘权知识产权代理有限公司 11363  
专利代理师 郭放 许伟群

(51) Int.Cl.

C07K 16/30 (2006.01)

A61K 35/17 (2015.01)

C07K 14/00 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 106536563 A, 2017.03.22

Juillerat A等.Design of chimeric antigen receptors with integrated controllable transient functions.Sci Rep.2016,第6卷18950:1-7.

Iwamoto M等.A general chemical method to regulate protein stability in the mammalian central nervous system.Chem Biol.2010,第17卷(第9期),第981-988页.

Juillerat A等.Design of chimeric antigen receptors with integrated controllable transient functions.Sci Rep.2016,第6卷18950:1-7.

审查员 李丹阳

权利要求书2页 说明书43页  
序列表73页 附图43页

(54) 发明名称

通过抑制或调节T细胞受体信号转导治疗T细胞耗竭的方法

(57) 摘要

本发明涉及T细胞组合物及其在疗法和治疗情形下的使用方法。具体地说,本发明提供嵌合抗原受体(CAR)T细胞,其被修饰以在其中未修饰的CAR T细胞展示耗竭的条件下保持功能。本文所公开的组合物和方法应用于抑制或逆转CAR T细胞耗竭(例如,通过调节CAR表面表达),由此增强CAR T细胞功能。本发明的组合物和方法应用于临床和研究环境中,例如生物学、免疫学、医学和肿瘤学领域内。

1. 一种嵌合抗原受体CAR,其包含:
  - a) 胞外配体结合结构域;
  - b) 跨膜结构域;
  - c) 包含一个或多个信号转导结构域的胞质结构域;及
  - d) 可调节的去稳定结构域RDD,其中所述RDD由以下组成:

大肠杆菌二氢叶酸还原酶去稳定结构域ecDHFR DD,其氨基酸替代由R12Y、G67S和Y100I组成;或

FK506结合蛋白12去稳定结构域FKBP DD,其氨基酸替代由E31G、F36V、R71G和K105E组成。
2. 如权利要求1所述的CAR,其中所述胞外配体结合结构域特异性结合肿瘤抗原。
3. 如权利要求2所述的CAR,其中所述肿瘤抗原为双唾液酸神经节苷脂GD2、CD19或Her 2。
4. 如权利要求1所述的CAR,其中所述胞外配体结合结构域包含单链可变片段scFv结构域。
5. 如权利要求4所述的CAR,其中所述scFv包含特异性结合至双唾液酸神经节苷脂GD2的抗体的重链VH和轻链VL的可变区。
6. 如权利要求5所述的CAR,其中特异性结合至双唾液酸神经节苷脂GD2的所述抗体选自自由以下组成的组:14G2a、ch14.18、hu14.18K322A、m3F8、hu3F8-IgG1、hu3F8-IgG4、HM3F8、UNITUXIN和DMAb-20。
7. 如权利要求1所述的CAR,其中所述跨膜结构域为CD28跨膜结构域。
8. 如权利要求1所述的CAR,其中所述胞质结构域包含4-1BB信号转导结构域。
9. 如权利要求1所述的CAR,其中所述胞质结构域包含CD28信号转导结构域。
10. 如权利要求1所述的CAR,其中所述胞质结构域包含CD3- $\zeta$ 信号转导结构域。
11. 如权利要求1所述的CAR,其中所述胞质结构域包含4-1BB信号转导结构域和CD3- $\zeta$ 信号转导结构域。
12. 如权利要求1所述的CAR,其中所述RDD由人FKBP DD组成。
13. 如权利要求1所述的CAR,其中所述胞外配体结合结构域包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列。
14. 如权利要求1所述的CAR,其中所述跨膜结构域包含SEQ ID NO: 48的氨基酸序列。
15. 如权利要求1所述的CAR,其中所述信号转导结构域包含CD28结构域,所述CD28结构域包含SEQ ID NO: 50的氨基酸序列。
16. 如权利要求1所述的CAR,其中一个或更多个信号转导结构域包含CD28结构域和CD3- $\zeta$ 结构域,所述CD28结构域包含SEQ ID NO: 50的氨基酸序列,而CD3- $\zeta$ 结构域包含SEQ ID NO: 52的氨基酸序列。
17. 如权利要求1所述的CAR,其中所述信号转导结构域包含CD3- $\zeta$ 结构域,所述CD3- $\zeta$ 结构域包含SEQ ID NO: 52氨基酸序列。
18. 如权利要求1所述的CAR,其中所述ecDHFR DD由SEQ ID NO: 70的氨基酸序列组成。
19. 如权利要求1所述的CAR,其中所述嵌合抗原受体包含SEQ ID NO: 56的氨基酸序

列。

20. 如权利要求1所述的CAR,其中对肿瘤抗原特异性的所述胞外配体结合结构域表现抗原非依赖性的滋养的信号转导。

21. 一种基因修饰的T细胞,其包含编码如权利要求1-20中任一项所述的CAR的核酸序列。

22. 如权利要求21所述的基因修饰的T细胞,其中所述核酸序列为人、小鼠或人源化小鼠核酸序列。

23. 如权利要求21所述的基因修饰的T细胞,其中所述核酸序列包含用于编码所述胞外配体结合结构域的SEQ ID NO: 39的核酸序列。

24. 如权利要求21所述的基因修饰的T细胞,其中所述核酸序列包含用于编码所述跨膜结构域的SEQ ID NO: 47的核酸序列。

25. 如权利要求21所述的基因修饰的T细胞,其中所述核酸序列包含SEQ ID NO: 49的核酸序列。

26. 如权利要求21所述的基因修饰的T细胞,其中所述核酸序列包含SEQ ID NO: 49的核酸序列,以及SEQ ID NO: 51的核酸序列。

27. 如权利要求21所述的基因修饰的T细胞,其中所述核酸序列包含SEQ ID NO: 51的核酸序列。

28. 如权利要求21所述的基因修饰的T细胞,其中所述核酸序列包含用于编码ecDHFR DD的SEQ ID NO: 69的核酸序列。

29. 如权利要求21所述的基因修饰的T细胞,其中所述嵌合抗原受体包含SEQ ID NO: 55的氨基酸序列。

30. 权利要求21-29中任一项所述的基因修饰的T细胞在制备用于治疗哺乳动物的癌症的药物中的应用。

31. 如权利要求30所述的应用,其中所述癌症选自由以下组成的组:神经母细胞瘤、胶质母细胞瘤、中线神经胶质瘤、骨肉瘤、肉瘤、B系急性淋巴母细胞性白血病、B细胞慢性淋巴细胞性白血病、B细胞非霍奇金氏淋巴瘤、白血病和淋巴瘤、急性淋巴母细胞性白血病、霍奇金氏淋巴瘤和儿童急性淋巴母细胞性白血病。

32. 如权利要求30所述的应用,其中所述治疗减少患者中的癌细胞数量。

33. 如权利要求30所述的应用,其中所述治疗降低患者中的肿瘤负荷和/或清除肿瘤。

34. 一种治疗有效量的组合物,所述组合物包含被基因修饰以表达权利要求1-20中任一项所述的CAR的T细胞,用于治疗受试者的癌症或延缓其进展。

35. 如权利要求34所述组合物,其中所述组合物提供一种或多种以下效果:

- 减少所述受试者中的癌细胞数量,
- 降低所述受试者中的肿瘤负荷和/或清除肿瘤。

## 通过抑制或调节T细胞受体信号转导治疗T细胞耗竭的方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2017年3月31日提交的美国临时申请序列号62/479,930的权益,所述申请以引用的方式整体并入本文。

### 发明领域

[0003] 本发明涉及治疗T细胞耗竭的方法。具体地说,本发明涉及通过瞬时抑制T细胞受体 (TCR) 信号转导以恢复T细胞功能来阻止或逆转T细胞耗竭的方法。

### 背景技术

[0004] T细胞是一种免疫细胞,在与抗原结合后,通过T细胞受体 (TCR) 信号转导和共刺激被激活。通过T细胞受体的生理激活使T细胞能够介导有效的抗肿瘤和/或抗感染作用。在急性炎症反应消退期间,活化的效应T细胞的子集分化成为长期记忆细胞。相比之下,在患有慢性感染或癌症的患者中,T细胞可能会针对功能障碍状态进行病理分化,这被称为T细胞耗竭。T细胞耗竭的特征为在以下方面的明显变化:代谢功能、转录编程、效应子功能(例如细胞因子分泌、杀伤能力)丧失、及多重表面抑制受体的共表达。T细胞耗竭的根本原因是持续的抗原暴露,由此造成连续的TCR信号转导。长期以来,阻止或逆转T细胞耗竭一直被视为提高T细胞效能的一种手段(例如,在患有癌症或慢性感染的患者中)。

### 发明内容

[0005] 本发明涉及通过瞬时抑制T细胞受体 (TCR) 信号转导来治疗T细胞耗竭的方法。一方面,本发明提供用于阻止嵌合抗原受体 (CAR) T细胞耗竭的组合物和方法。具体地说,本发明提供被修饰以在其中未修饰的CAR T细胞变得功能异常(例如展示耗竭)的条件下保持功能的CAR T细胞。根据本发明(例如经由调节CAR表面表达)修饰的CAR T细胞、含有其的组合物及其使用方法增强T细胞功能,包括例如对抗癌症或感染性疾病的活性。

[0006] 在一些实施方案中,经由调节CAR表面表达抑制或逆转CAR T细胞耗竭。在一些实施方案中,可能经由可调节的去稳定结构域 (RDD) 与CAR T细胞的融合进行CAR表面表达的调节。在一些实施方案中,所述RDD是配体可调节的去稳定结构域。例如,在一些实施方案中,通过CAR与RDD的融合实现了CAR表达的调节,所述融合致使生成的修饰的CAR蛋白不稳定且倾向于蛋白酶体降解。通过添加配体如小分子或药物(例如,Shield-1或甲氧苄啶 (TMP)),修饰的CAR蛋白受到保护以免降解,并且包含RDD的CAR构建体稳定地表达(参见 Banaszynski等人,(2006) Cell 126:995-1004; Banaszynski等人,(2008) Nat Med 14: 1123-1127; Iwamoto等人,(2010) .Chem Biol 17:981-988)。

[0007] 在一些实施方案中,所述RDD包含来源于二氢叶酸还原酶 (DHFR) RDD的结合结构域。在一些实施方案中,DHFR来源的RDD包含来自细菌DHFR的结合结构域。在一些实施方案中,细菌DHFR是大肠杆菌DHFR。在一些实施方案中,DHFR来源的RDD包含来自人DHFR的结合结构域。在一些实施方案中,所述RDD包含来源于FK506结合蛋白 (FKBP) 的结合结构域。在一

些实施方案中,FKBP是FKBP12。在一些实施方案中,FKBP DD的核酸序列包含SEQ ID NO:1中列出的序列。在一个实施方案中,所述FKBP DD包含编码SEQ ID NO:2的氨基酸序列的核酸序列。在另一实施方案中,本发明的CAR的FKBP DD部分包含SEQ ID NO.2中列出的氨基酸序列。

[0008] 在一些实施方案中,使用ecDHFR去稳定结构域。在一些实施方案中,ecDHFR DD的核酸序列包含SEQ ID NO:3中列出的序列。在一个实施方案中,所述ecDHFR DD包含编码SEQ ID NO:4的氨基酸序列的核酸序列。在另一实施方案中,本发明的CAR的ecDHFR DD部分包含SEQ ID NO.4中列出的氨基酸序列。在其它实施方案中,ecDHFR DD的核酸序列包含SEQ ID NO:5中列出的序列。在一个实施方案中,所述ecDHFR DD包含编码SEQ ID NO:6的氨基酸序列的核酸序列。在另一实施方案中,本发明的CAR的ecDHFR DD部分包含SEQ ID NO.6中列出的氨基酸序列。

[0009] 本发明不受配体类型的限制。在一些实施方案中,Shield-1或甲氧苄啶 (TMP) 用于稳定含有DHFR RDD或FKBP RDD的融合蛋白的表面表达并且促进所述稳定的表面表达。

[0010] 在一些实施方案中,提供一种T细胞,其被基因工程化以表达包含RDD (例如,融合至CAR) 的CAR,所述RDD标记CAR的降解 (例如,泛素介导的和/或蛋白酶体降解) 以便与RDD直接相互作用 (例如结合) 的稳定小分子药物的添加或存在阻止CAR降解,并且与RDD直接相互作用的稳定小分子药物的移除 (例如,通过代谢清除) 或不存在允许CAR发生降解。虽然本发明的实践不需要对机制的理解,且虽然本发明不限于任何特定机制,在一些实施方案中,滋养CAR信号转导 (tonic CAR signaling) 通过允许降解或破坏CAR而得以阻止,CAR的降解或破坏使得任何CAR蛋白的表面表达水平低于允许滋养CAR信号转导所必需的浓度。在一些实施方案中,经由将这种“药物开启 (drug on)”RDD用于CAR所实现的CAR蛋白水平和CAR表面表达的调节 (例如,降低) 使得已耗竭的T细胞恢复活力,已经开发了由于滋养CAR信号转导所致的T细胞耗竭的标志。例如,暴露于稳定小分子的CAR T细胞表现出T细胞耗竭的所有表型和功能标志。然而,当通过蛋白质降解除去稳定小分子且使CAR蛋白水平降低时,T细胞耗竭的表型和功能指标被逆转且效应T细胞功能得以恢复。

[0011] 另一方面,本发明提供一种基因修饰的T细胞,其包含编码嵌合抗原受体 (CAR) 的分离的核酸序列,其中所述分离的核酸序列包含肿瘤抗原结合结构域 (例如,单链可变片段或scFv) 的核酸序列 (例如,人、小鼠或人源化小鼠核酸序列)、跨膜结构域的核酸序列、一个或多个共刺激分子的胞内结构域的核酸序列、CD3 $\zeta$ 信号转导结构域的核酸序列、及RDD结构域的核酸序列。

[0012] 本发明另外包括一种载体,其包含编码嵌合抗原受体 (CAR) 的分离的核酸序列,其中所述分离的核酸序列包含肿瘤抗原结合结构域 (例如,单链可变片段或scFv) 的核酸序列 (例如,人、小鼠或人源化小鼠核酸序列)、跨膜结构域的核酸序列、一个或多个共刺激分子的胞内结构域的核酸序列、CD3 $\zeta$ 信号转导结构域的核酸序列、及RDD结构域的核酸序列。

[0013] 另外,本发明包括用于在患有癌症的受试者中提供抗肿瘤免疫的方法。所述方法包括向受试者施用有效量的基因修饰的T细胞,所述基因修饰的T细胞包含编码嵌合抗原受体 (CAR) 的分离的核酸序列,其中所述分离的核酸序列包含肿瘤抗原结合结构域 (例如,单链可变片段或scFv) 的核酸序列 (例如,人、小鼠或人源化小鼠核酸序列)、跨膜结构域的核酸序列、一个或多个共刺激分子的胞内结构域的核酸序列、CD3 $\zeta$ 信号转导结构域的核酸序

列、及RDD结构域的核酸序列,由此在所述受试者中提供抗肿瘤免疫。在一些实施方案中,所述受试者是人。

[0014] 本发明还包括一种用于刺激针对受试者中的细胞群、肿瘤或组织的有益和/或治疗性T细胞介导的免疫应答的方法。所述方法包括向受试者施用有效量的基因修饰的T细胞,所述基因修饰的T细胞包含编码嵌合抗原受体(CAR)的分离的核酸序列,其中所述分离的核酸序列包含肿瘤抗原结合结构域(例如,单链可变片段或scFv)的核酸序列(例如,人、小鼠或人源化小鼠核酸序列)、跨膜结构域的核酸序列、一个或多个共刺激分子的胞内结构域的核酸序列、CD3 $\zeta$ 信号转导结构域的核酸序列、及RDD结构域的核酸序列,由此在所述受试者中刺激T细胞介导的免疫应答。

[0015] 本文还提供治疗受试者的癌症的方法。所述方法包括向患有癌症的受试者施用治疗有效量的基因修饰的T细胞,所述基因修饰的T细胞包含编码嵌合抗原受体(CAR)的分离的核酸序列,其中所述分离的核酸序列包含肿瘤抗原结合结构域(例如,单链可变片段或scFv)的核酸序列(例如,人、小鼠或人源化小鼠核酸序列)、跨膜结构域的核酸序列、一个或多个共刺激分子的胞内结构域的核酸序列、CD3 $\zeta$ 信号转导结构域的核酸序列、及RDD结构域的核酸序列,由此治疗受试者的癌症。

[0016] 本发明还包括一种在诊断有癌症的受试者中产生基因工程化T细胞(例如记忆T细胞)的持续群的方法,所述方法包括:向受试者施用有效量的基因修饰的T细胞,所述基因修饰的T细胞包含编码嵌合抗原受体(CAR)的分离的核酸序列,其中所述分离的核酸序列包含肿瘤抗原结合结构域(例如,单链可变片段或scFv)的核酸序列(例如,人、小鼠或人源化小鼠核酸序列)、跨膜结构域的核酸序列、一个或多个共刺激分子的胞内结构域的核酸序列、CD3 $\zeta$ 信号转导结构域的核酸序列、及RDD结构域的核酸序列,其中所述基因工程化T细胞的持续群在施用之后在受试者中持续存在(例如,数周、一个月、数月等)。在一些实施方案中,基因工程化T细胞的持续群在人中持续存在施用之后至少三个月。

[0017] 本发明不受表达含有RDD的CAR的方式的限制。在一些实施方案中,组成型表达CAR。在其它实施方案中,CAR以受调节的方式(例如,使用经由小分子调节表达的系统或使用内源调节系统)表达。在另一实施方案中,使用逆转录病毒、慢病毒或其它病毒载体或经由基于CRISPR/Cas9 CAR的系统将CAR基因整合到细胞DNA中。在又一实施方案中,CAR经由RNA或溶瘤病毒或本领域中已知的其它瞬时表达系统进行表达。CAR可被离体递送到T细胞中用于过继转移,或经由体内基因转移来递送。

[0018] 本发明不限于被基因修饰以表达和/或含有本发明的CAR的T细胞的类型。在一些实施方案中,T细胞是CD3 $^{+}$  T细胞(例如,CD4 $^{+}$ 和/或CD8 $^{+}$  T细胞)。在某些实施方案中,T细胞是CD8 $^{+}$  T细胞。在其它实施方案中,T细胞是CD4 $^{+}$  T细胞。在一些实施方案中,T细胞是自然杀伤(NK) T细胞。在一些实施方案中,T细胞是 $\alpha\beta$  T细胞。在一些实施方案中,T细胞是 $\gamma\delta$  T细胞。在一些实施方案中,T细胞是CD4 $^{+}$ 与CD8 $^{+}$  T+细胞的组合(例如CD3 $^{+}$ )。在某些实施方案中,T细胞是记忆T细胞。在某些实施方案中,记忆T细胞是中央记忆T细胞。在其它实施方案中,记忆T细胞是效应记忆T细胞。在一些实施方案中,T细胞是肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)。在某些实施方案中,T细胞是CD8 $^{+}$  T细胞、CD4 $^{+}$  T细胞、NK T细胞、记忆T细胞和/或 $\gamma\delta$  T细胞的组合。在一些实施方案中,T细胞是细胞因子诱导的杀伤细胞。

[0019] 在一些实施方案中,CAR T细胞包括CAR基因修饰的外周血来源的T细胞,所述CAR

识别并对肿瘤抗原有反应。这种受体一般由以下各物构成：包含对肿瘤抗原有特异性的单链抗体(scFv)的胞外结构域、跨膜结构域和胞内信号转导结构域(参见,例如Westwood, J.A.等人,2005,Proc.Natl.Acad.Sci.,USA,102(52):19051-19056)。在其它实施方案中,T细胞被工程化以表达识别肿瘤抗原的人或鼠来源的CAR。本发明不受所识别的肿瘤抗原类型的限制。实际上,识别肿瘤抗原的任何CAR应用于本发明的组合物和方法中。实例包括但不限于识别选自以下的抗原的CAR:HER2、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33/IL3R $\alpha$ 、CD123、CD38、受体酪氨酸激酶样孤儿受体1(ROR1)、ErbB3/4、糖脂F77、表皮生长因子受体(EGFR)、EGFR变体III(EGFRvIII)、由T细胞1识别的黑色素瘤抗原1(MART-1)、EphA2、FAP、人癌胚抗原(CEA)、EGP2、EGP40、间皮素、TAG72、前列腺特异性膜抗原(PSMA)、NKG2D配体、B7-H6、IL-13受体 $\alpha$ 2、IL-11受体 $\alpha$ 、MUC1、MUC16、CA9、双唾液酸神经节苷脂2(GD2)、GD3、酪氨酸蛋白激酶Met(c-Met)或肝细胞生长因子受体(HGFR)、HMW-MAA、CD171、Lewis Y、G250/CAIX、黑色素瘤抗原基因(MAGE)家族成员A3(MAGE-A3)、HLA-AI、MAGE A1、NY-ESO-1、PSC1、叶酸受体- $\alpha$ 、CD44v7/8、8H9、NCAM、VEGF受体、胎儿AchR、NKG2D配体、CD44v6、TEM1、TEM8、GP1000、p53、埃-巴二氏病毒(EBV)蛋白或抗原、或由肿瘤表达的其它病毒相关抗原。

[0020] 本发明不受CAR类型的限制。实际上,以特异性结合至所需抗原(例如,肿瘤抗原或其它抗原类型)的任何CAR可如本文所公开或描述被修饰以调节CAR的表面表达。在某些实施方案中,CAR包含抗原结合结构域。在某些实施方案中,抗原结合结构域是单链可变片段(scFv),其含有以特异性结合至所需抗原的重链和轻链可变区。在一些实施方案中,所述CAR包含跨膜结构域和信号转导结构域,其包含一个或多个基于免疫受体酪氨酸的活化基序(ITAM)。在一些实施方案中,跨膜结构域包含选自由以下组成的组的蛋白质的跨膜结构域:T细胞受体(TCR) $\alpha$ 链、TCR $\beta$ 链、CD3 $\zeta$ 、CD28、CD3 $\epsilon$ 、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137和CD154。在一些实施方案中,胞内信号转导结构域包含4-1BB多肽的功能信号转导结构域、CD3 $\zeta$ 多肽的功能信号转导结构域、或这两者。在一些实施方案中,所述CAR包含一个或多个共刺激结构域(例如,提供第二信号以刺激T细胞活化的结构域)。本发明不受共刺激结构域类型的限制。实际上,可使用本领域中已知的任何共刺激结构域,包括但不限于CD28、OX40/CD134、4-1BB/CD137/TNFRSF9、高亲和力免疫球蛋白E受体- $\gamma$ 亚基(Fc $\epsilon$ RI $\gamma$ )、ICOS/CD278、白介素2亚基 $\beta$ (ILR $\beta$ )或CD122、细胞因子受体共同亚基 $\gamma$ (IL-2R $\gamma$ )或CD132、及CD40。在一个实施方案中,共刺激结构域是4-1BB。

[0021] 本发明不限于任何具体的RDD或所述RDD所融合至的CAR内的结构域。在一些实施方案中,所述RDD融合至CAR抗原结合结构域。在其它实施方案中,所述RDD融合至铰链或跨膜CAR结构域。在还有其它实施方案中,所述RDD融合至胞质CAR刺激结构域,如但不限于CD28、4-1BB、OX-40。在仍一些其它实施方案中,所述RDD融合至CAR CD3 $\zeta$ 结构域。实际上,根据本发明方法和组合物,包含含有RDD的CAR的细胞可具有附着于CAR的任何部分上的RDD,只要CAR保留抗原特异性活性。

[0022] 另一方面,本发明提供一种治疗受试者的疾病或病状的方法,所述方法包括向患有疾病或病状的受试者(例如患者)施用有效量的CAR T细胞,所述CAR T细胞包含含有或融合至RDD的CAR。本发明不受所治疗的疾病或病状类型的限制。实际上,通过施用CAR T细胞可治疗(例如,治疗后,疾病的体征或症状得以缓解)的任何疾病或病状可使用本发明的组合物和方法以改善的及更有效的方式被治疗。在一个实施方案中,所述疾病或病状是癌症。

在另一实施方案中,所述疾病或病状是感染性疾病。本发明不受癌症类型或感染性疾病类型的限制。实际上,本领域中已知的CAR T细胞疗法用于治疗的任何癌症或疾病可用本发明的组合物和方法治疗。举例来说,本发明的组合物和方法可经由将RDD基因引入治疗性CAR T细胞的CAR中来修饰本领域中已知的任何CAR T细胞疗法。在一些实施方案中,向患有疾病或病状的受试者(例如患者)施用有效量的本发明的CAR T细胞抑制或逆转患者中的T细胞耗竭(例如,与接受相同量的缺少DD的CAR T细胞的受试者相比)。

[0023] 另一方面,本发明提供一种经由选择性调节(例如减少)CAR细胞表面表达来保持、恢复或提高CAR T细胞(例如,否则将在治疗疾病或病状的情形下经历抗原诱导的滋养信号转导和耗竭的CAR T细胞)功能的方法。在一些实施方案中,RDD并入CAR中允许在体外或离体培养和扩增T细胞期间调节(例如减少)CAR表达,这又提高了在治疗受试者的疾病或病状的情形下CAR T细胞的功能(例如效应子功能)。本发明不受得以保持、恢复或提高的功能类型的限制。在一些实施方案中,所述功能是抗原诱导的细胞因子产生。在其它实施方案中,所述功能是CAR T细胞的细胞毒性(例如,肿瘤靶标识别的提高)。在还有一些实施方案中,所述功能是响应于抗原的记忆细胞形成的增加和/或增殖的增加。在一些实施方案中,CAR细胞表面表达的调节(例如减少)引起指示耗竭的标记物在CAR T细胞中可测量的减少,所述标记物包括但不限于PD-1、TIM-3和LAG-3。在其它实施方案中,CAR细胞表面表达的调节(例如减少)引起CAR T细胞程序性细胞死亡水平的降低。在还有其它实施方案中,CAR细胞在CAR T细胞上的表面表达的调节(例如减少)显著地增强CAR T细胞疗法的临床效果。

[0024] 另一方面,本发明提供用于治疗患者的癌症或延缓其进展的方法,所述方法包括向患者施用治疗有效量的包含CAR T细胞的组合物,所述CAR T细胞被修饰(例如基因上)以表达含有或融合至RDD的CAR。在某些实施方案中,治疗有效量的包含修饰的CAR T细胞的组合物在这种治疗之后减少患者中的癌细胞数量。在某些实施方案中,治疗有效量的包含修饰的CAR T细胞的组合物在这种治疗之后降低和/或消除患者中的肿瘤负荷。在某些实施方案中,所述方法还包括向患者施用放射疗法。在某些实施方案中,在患者接受治疗有效量的包含修饰的CAR T细胞的组合物之前、同时和/或之后施用放射疗法。在某些实施方案中,所述方法还包括向患者施用一种或多种抗癌剂和/或一种或多种化疗剂。在某些实施方案中,在患者接受治疗有效量的包含修饰的CAR T细胞的组合物之前、同时和/或之后施用一种或多种抗癌剂和/或一种或多种化疗剂。在某些实施方案中,用治疗有效量的修饰的CAR T细胞和抗癌剂疗程治疗患者与用修饰的CAR T细胞或抗癌药/放射线单独治疗相比在此类患者中产生更大的肿瘤反应和临床益处。由于所有经批准的抗癌药和放射治疗的剂量都是已知的,本发明包括它们与修饰的CAR T细胞的各种组合。

[0025] 在某些实施方案中,本发明提供治疗有效量的组合物,所述组合物包含根据本公开被修饰的CAR T细胞(例如,用于治疗受试者的癌症或延缓其进展)。如本文所述,组合物可在其它类型的癌症治疗(例如,化疗、癌症的手术切除或放射疗法)之前、期间或之后施用。本发明还提供了组合物诱导细胞周期抑制和/或细胞凋亡的用途。本发明还涉及组合物使细胞对额外试剂如细胞凋亡和/或细胞周期抑制的诱导剂敏感化及通过诱导细胞周期抑制来化学保护正常细胞的用途。本发明组合物适用于治疗、改善或预防病症如任何类型的癌症或感染性疾病及另外对诱导凋亡性细胞死亡有反应的任何细胞(例如,以细胞凋亡失调为特征的病症,包括过度增殖性疾病,如癌症)。在某些实施方案中,所述组合物可用于治



疗、缓解或预防另外特征为对癌症疗法有抗性的癌症(例如,具有化疗抗性、放射线抗性、激素抗性等的那些癌细胞)。本发明还提供了包括组合物(例如免疫治疗性组合物)的药物组合物,所述组合物包含在药学上可接受的载剂中的本发明的修饰的CAR T细胞。

[0026] 在另一实施方案中,本发明提供一种治疗患者的癌症或延缓其进展的方法,所述方法包括向患者施用治疗有效量的包含根据本公开修饰(例如基因)的CAR T细胞的组合物与治疗有效量的TCR信号转导抑制剂(例如,用于阻止T细胞耗竭)组合。可向受试者施用多个治疗周期。在某些实施方案中,根据标准给药方案(例如,每日或间歇地)施用TCR信号转导抑制剂。在另一实施方案中,施用TCR信号转导抑制剂持续足以恢复至少部分T细胞功能的一段时间,然后停止。

[0027] 本领域技术人员考虑到本文的公开内容将容易想起本发明的这些及其它实施方案。

## 附图说明

[0028] 图1:GD2.28z.FKBP CAR的表征。在激活之后第1天用编码GD2.28z.FKBP CAR的慢病毒转导T细胞且随后在生长培养基中用各种浓度的shield-1培养。第7天,经由FACS量化CAR表达。

[0029] 图2:S1从培养基中的除去造成T细胞耗竭标记物表面表达的逆转。

[0030] 图3:S1从培养基中的除去维持了CD62L表达并且阻止了细胞凋亡。

[0031] 图4:S1从培养基中的除去造成功能T细胞耗竭的逆转。

[0032] 图5:表面CAR的移除造成比PD-1/PDL-1阻断更有效的T细胞耗竭的阻止。

[0033] 图6:表面CAR的移除仅在4天后挽救PD-1/TIM-3/LAG-3三阳性CAR T细胞中的耗竭。

[0034] 图7:达沙替尼抑制CAR T细胞响应于肿瘤抗原的细胞因子分泌。

[0035] 图8:达沙替尼逆转耗竭标记物表达和共表达。

[0036] 图9:达沙替尼治疗造成CD62L表达的维持。

[0037] 图10:达沙替尼治疗造成响应于肿瘤抗原的IL-2和IFN  $\gamma$  分泌的增强。

[0038] 图11描绘了在本发明的一个实施方案中的嵌合抗原受体(CAR)的示意图。举例来说,CAR可含有胞外抗原结合结构域(例如、单链可变片段(scFv))和胞外绞链区、跨膜结构域、胞内共刺激结构域(例如,含有CD28或4-1BB结构域)、胞内CD3 $\zeta$ 结构域、及可调节的去稳定结构域(RDD)。

[0039] 图12示出了含有在C端位置处融合的RDD的多个尺寸的若干不同CAR的剂量依赖性调节。A)融合至可由rapalog shield-1调节的FKBP12 DD的CAR。B)融合至可由甲氧苄啶调节的大肠杆菌来源的DHFR DD的CAR。

[0040] 图13示出了分别在稳定药物/小分子的存在或不存在下的快速CAR蛋白稳定或去稳定。一般说来,IC<sub>50</sub>,即50%表面CAR降解所要耗费的时间,小于2小时。

[0041] 图14示出了稳定药物调节RDD-CAR抗肿瘤活性。稳定药物的不存在造成与在稳定药物和高CAR表面表达存在下培养的CAR T细胞相比的低体外CAR表面表达,伴随有在对肿瘤的反应中的细胞因子分泌的削弱及细胞毒性的减弱。

[0042] 图15示出了甲氧苄啶活体内调节CAR表面表达及DHFR DD-CAR的活性。图15A示出

了CAR表达在体内可调节,且体外实现的CAR表面表达的动态范围类似于体内所观察到的。图15B示出了接受稳定药物甲氧苄啶(TMP)注射的小鼠不仅展现CAR表达,而且在此组中更高表达的CAR T细胞还展现更高的CD69表面表达,表明它们变得在体内响应于肿瘤被激活。图15C示出了接受媒介物每日注射的小鼠对比接受TMP的小鼠在肿瘤负荷上的差异。接受TMP且由此在表面上表达CAR的小鼠展现出比模拟和媒介物对照更强的控制肿瘤生长的能力。

[0043] 图16示出了在HA-GD2.28z中的滋养信号转导经由融合的RDD被阻止或逆转。当通过蛋白质印迹所证明(其中CAR CD3 $\zeta$ 结构域在基线处被磷酸化)CAR在T细胞表面上表达时,在肿瘤抗原不存在下HA-GD2.28z.FKBP CAR进行滋养信号转导。滋养信号转导导致T细胞耗竭,这致使这些CAR T细胞不太有效。滋养信号转导在RDD-CAR T细胞中通过在稳定药物不存在下对所述细胞进行扩增得以阻止。当CAR表达减少或受抑制且不在T细胞表面上表达(在shield-1不存在下,CAR总是关闭)时,或如果CAR在某一点时表达,但随后从表面移走并持续72小时(CAR关闭D7),那么观察到CD3 $\zeta$ 磷酸化的减弱。

[0044] 图17示出了典型的耗竭标记物在HA-GD2.28z.FKBP上的共表达在从培养基中移除shield-1后迅速下调且滋养信号转导的阻止或逆转改善CAR T细胞的耗竭表型。PD-1/TIM-3/LAG-3的共表达与效应子功能降低有关。当CAR总是表达(用shield-1培养,“CAR总是开启”)时,这些标记物在大多数细胞中共表达。然而,当CAR不在表面上表达(无shield-1,“CAR总是关闭”)或在shield-1中培养7天然后除去时,仅观察到一小部分共表达耗竭标记物的细胞。图17B示出了细胞共表达Tbet和Blimp-1的类似趋势,它们是与T细胞耗竭有关的转录因子。

[0045] 图18示出了滋养信号转导的抑制或移除挽救记忆表型。T细胞耗竭抑制T细胞形成记忆的能力。耗竭的(CAR总是开启)细胞具有高百分比的效应T细胞(Teff)和低百分比的干细胞记忆(Tscm)。相反,非耗竭的细胞(CAR总是关闭)或其中通过从培养物中除去稳定药物逆转耗竭的那些细胞(CAR关闭D7或CAR关闭D10)展现干细胞记忆区室的增加。

[0046] 图19示出了CAR表面表达经由融合的FKBP或大肠杆菌来源的DHFR去稳定结构域(DD)的时间依赖性调节。耗竭的CAR T细胞未能响应于肿瘤分泌效应细胞因子IL-2和IFN  $\gamma$ 。然而,其中耗竭被阻止或逆转的CAR T细胞展现增强的分泌IL-2和IFN  $\gamma$ 的能力。

[0047] 图20示出了已耗竭的CAR T细胞具有显著降低的细胞毒性。然而,其中耗竭被阻止或逆转的CAR T细胞展现提高的细胞毒性。

[0048] 图21示出了暴露于用稳定药物重复给药的小鼠。提供四天的T细胞“静息”,其中注射媒介物而不是TMP。然后恢复TMP注射再持续3天。数据显示在“静息”期之后肿瘤负荷下降至低于“静息”期之前时深度的功能挽救。

[0049] 图22示出了各种可调节的DD-CAR的剂量反应曲线和EC<sub>50</sub>值。通过首先对CAR+和CAR-细胞进行门控,然后从CAR+群中减去CAR-群的MFI来计算CAR中值荧光强度(MFI)。在药物滴定研究中针对最大CAR MFI对值进行归一化,并且生成非线性回归和最小二乘拟合曲线。在条形图中绘制每条曲线的EC<sub>50</sub>值。对于GD2.28z.FKBP、HA-GD2.28z.FKBP、GD2.28z.ecDHFR,n=3个供体。对于CD19.28z.FKBP、CD19.28z.ecDHFR和HA-GD2.28z.ecDHFR,n=2个供体。

[0050] 图23示出了某些去稳定结构域对于CAR表达的药物依赖性调节更佳。(A)用慢病毒

转导T细胞以表达GD2.28z.ecDHFR,其中ecDHFR结构域含有以下突变:R12H、N18T、V19A和G67S。将T细胞从培养物中移走并用荧光缀合的抗独特型抗体染色,且随后经由FACS评估CAR表面表达。由于在稳定药物不存在下的高背景表达,观察到轻微的药物依赖性CAR调节。

(B) 用慢病毒转导T细胞以表达GD2.28z.ecDHFR,其中ecDHFR结构域含有以下突变:R12Y、G67S、Y100I。将T细胞再次从培养物中移走,用抗独特型抗体染色,且经由FACS评估CAR表达。在合并了不同ecDHFR结构域的此DD-CAR重复中,观察到CAR表面表达的药物依赖性调节。在两个子图中绘出虚线以突出0 $\mu$ M TMP与10 $\mu$ M TMP之间在CAR表达水平上的差异。

[0051] 图24示出了Her.28z CAR经由融合的FKBP DD的药物依赖性调节。FKBP12 DD结构域融合至Her2.28z CAR的远处c端。用慢病毒转导T细胞以表达Her2.28z.FKBP。在活化后第7天,在shield-1存在或不存在下培养CAR T细胞。添加药物后24小时,用蛋白L染色CAR T细胞并经由FACS评估CAR表达。在用0.1 $\mu$ M或1 $\mu$ M Shield-1(S1) 培育后,CAR+细胞(用直方图量化)以及CAR MFI的百分比都增加。

[0052] 图25提供了适用于本文所述的本发明的实施方案中的核酸和氨基酸序列的表。

[0053] 定义

[0054] 为了说明本说明书,将应用以下定义并且适当时,以单数形式使用的术语也包括复数形式,反之亦然。一旦下文阐述的任何定义与以引用的方式并入本文中的任何文献有冲突,将以下文阐述的定义为准。

[0055] 还应理解,本文所用的术语仅用于描述具体实施方案,而不意图限制。

[0056] 本文中所用的冠词“一个(a)”和“一种(an)”是指一个或一个以上(即,至少一个)该冠词的语法对象。举例来说,“一个要素”意指一个要素或一个以上要素。

[0057] 如本文所用,术语“约”当涉及可测量的值(如量、持续时间等)时,意在包括指定值的+/-20%或+/-10%、更优选+/-5%、甚至更优选+/-1%、且仍更优选+/-0.1%的变化,只要这种变化对于实施所公开的方法是适当的。

[0058] “T细胞耗竭”是指T细胞功能的降低,其可作为感染(例如慢性感染)或疾病的结果而发生。T细胞耗竭与PD-1、TIM-3和LAG-3的表达增加及细胞因子分泌减少有关。因此,术语“减轻T细胞耗竭”、“抑制T细胞耗竭”、“减少T细胞耗竭”等是指以下面一项或多项为特征的T细胞功能恢复的情况:减少PD-1、TIM-3和LAG-3中的一个或多个的表达和/或水平;增加记忆细胞形成和/或保持记忆标记物(例如CD62L);阻止细胞凋亡;增加抗原诱导的细胞因子(例如IL-2)产生和/或分泌;提高细胞毒性/杀伤能力;提高对低表面抗原的肿瘤靶标的识别;增强响应于抗原的增殖。

[0059] 如本文所用,如在“GD2结合结构域”中的术语“抗原结合结构域”可指的是本领域技术人员已知的任何抗原特异性结合结构域(例如,GD2特异性结合结构域)。在一个实施例中,GD2结合结构域包含单链可变片段(scFv),scFv包含抗体特异性结合至GD2的重链( $V_H$ )和轻链( $V_L$ )的可变区。抗GD2抗体、抗体片段及其变体是本领域中公知的且包括例如14G2a、ch14.18、hu14.18K322A、m3F8、hu3F8-IgG1、hu3F8-IgG4、HM3F8、UNITUXIN、DMAb-20或特异性结合至GD2的任何其它抗体。在一个实施方案中,GD2结合结构域是抗GD2抗体的同源、变体、异构体或功能片段。每种可能性都代表本发明的单独实施方案。

[0060] 如本文所用,“活化”是指T细胞已被充分刺激以诱导可检测的细胞增殖的状态。活化还可与所诱导的细胞因子产生和可检测的效应子功能有关。术语“活化的T细胞”尤其是

指正在经历细胞分裂的T细胞。

[0061] 如本文所用,术语“抗体”是指与抗原特异性结合的免疫球蛋白分子。抗体可以是衍生自天然来源或重组来源的完整免疫球蛋白且可以是完整免疫球蛋白的免疫反应性部分。抗体可以是单个免疫球蛋白分子的多聚体。本发明的抗体可以多种形式存在,包括例如多克隆抗体、单克隆抗体、Fv、Fab和F(ab)<sub>2</sub>以及单链抗体、人抗体和人源化抗体(参见Harlow等人,1999,In:Using Antibodies:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory Press,NY;Harlow等人,1989,In:Antibodies:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor,N.Y.;Houston等人,1988,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879-5883;Bird等人,1988,Science 242:423-426)。

[0062] 术语“抗体片段”是指完整抗体的一部分且优选是指完整抗体的抗原决定可变区。抗体片段的实例包括但不限于:Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>和Fv片段、线性抗体、scFv抗体、及由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0063] 如本文所用,“抗体重链”是指以其天然存在的构象存在于所有抗体分子中的两种类型多肽链中的更大那条。如本文所用,“抗体轻链”是指以其天然存在的构象存在于所有抗体分子中的两种类型多肽链中的较小那条。 $\kappa$ 和 $\lambda$ 轻链是指两个主要抗体轻链同型。

[0064] 如本文所用,术语“合成抗体”意指使用重组DNA技术产生的抗体,例如,由如本文所述的噬菌体表达的抗体。该术语还应解释为意指通过合成编码抗体的DNA分子产生的抗体,所述DNA分子表达抗体蛋白质或指定抗体的氨基酸序列,其中所述DNA或氨基酸序列已使用本领域中可利用或公知的合成DNA或氨基酸序列技术获得。

[0065] 如本文所用,术语“抗原”或“Ag”被定义为引起免疫应答的分子。此免疫应答可涉及抗体产生、或特异性免疫活性细胞的活化、或这两者。熟练技术人员应理解任何大分子(包括实际上所有蛋白质或肽)都可充当抗原。此外,抗原可来源于重组或基因组DNA。熟练技术人员应理解,包含编码引发免疫应答的蛋白质的核苷酸序列或部分核苷酸序列的任何DNA因此编码如本文中所用的术语“抗原”。此外,本领域技术人员应理解,抗原不一定仅由基因的全长核苷酸序列编码。此外,熟练技术人员应理解抗原根本不需要由“基因”编码。很明显,抗原可从生物样品中产生、合成或得到。这种生物样品可包括但不限于组织样品、肿瘤样品、细胞或生物体液。

[0066] 如本文所用,术语“抗肿瘤作用”是指可表现为以下各项的生物效应:肿瘤体积缩小、肿瘤细胞数量减少、转移数量减少、预期寿命延长、或与癌病有关的各种生理症状的改善。“抗肿瘤作用”也可由本发明的肽、多核苷酸、抗体(或其抗原结合部分)和CAR T细胞预防肿瘤在第一位置出现的能力表现。

[0067] 如本文所用,术语“自身免疫疾病”被定义为由自身免疫反应引起的病症。自身免疫疾病是对自身抗原的不当和过度反应的结果。自身免疫疾病的实例包括但不限于爱迪生氏病、斑秃、强直性脊柱炎、自身免疫性肝炎、自身免疫性腮腺炎、克罗恩氏病、糖尿病(I型)、营养不良大疱性表皮松解、附睾炎、肾小球性肾炎、格雷夫斯氏病、格林巴利综合征、淋巴细胞性甲状腺肿、溶血性贫血、全身性红斑狼疮、多发性硬化症、重症肌无力、寻常天疱疮、银屑病、风湿热、类风湿性关节炎、结节病、硬皮病、干燥综合征、脊柱关节病、甲状腺炎、血管炎、白斑病、粘液性水肿、恶性贫血、溃疡性结肠炎等。

[0068] 如本文所用,术语“自体”意指来源于个体的任何物质,所述物质稍后被再引入到

同一个体中。“同种异体”是指来源于相同物种的不同动物的移植物。“异种”是指来源于不同物种的动物的移植物。

[0069] 如本文所用,术语“癌症”被定义为以异常细胞的快速和不受控制的生长为特征的疾病。癌细胞可局部扩散或通过血流和淋巴系统扩散到身体的其它部分。各种癌症的实例包括但不限于乳腺癌、前列腺癌、卵巢癌、子宫颈癌、皮肤癌、胰腺癌、结肠直肠癌、肾癌、肝癌、脑癌、淋巴瘤、白血病、肺癌等。

[0070] 如本文所用,“共刺激配体”包括在抗原呈递细胞(APC)(例如,树突细胞、B细胞等)上的特异性结合T细胞上的同源共刺激分子由此提供信号的分子,除了通过例如TCR/CD3复合物与负载有肽的MHC分子结合所提供的第一信号之外,所述信号也介导T细胞应答,包括但不限于增殖、激活、分化等等。共刺激配体可包括但不限于CD7、B7-1(CD80)、B7-2(CD86)、PD-L1、PD-L2、4-1BBL、OX40L、诱导型共刺激配体(ICOS-L)、细胞间粘附分子(ICAM)、CD30L、CD40、CD70、CD83、HLA-G、MICA、MICB、HVEM、淋巴毒素 $\beta$ 受体、3/ TR6、ILT3、ILT4、HVEM、结合Toll配体受体的激动剂或抗体及与B7-H3特异性结合的配体。共刺激配体尤其还涵盖与T细胞上存在的共刺激分子特异性结合的抗体,如但不限于CD27、CD28、4-1BB、OX40、CD30、CD40、PD-1、ICOS、淋巴细胞功能相关抗原-1(LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、及与CD83特异性结合的配体。

[0071] “共刺激分子”是指在T细胞上与共刺激配体特异性结合的同源结合配偶体,由此介导通过T细胞的共刺激反应,如但不限于增殖。共刺激分子包括但不限于MHC I类分子、BTLA和Toll配体受体。

[0072] 如本文所用,“共刺激信号”是指与第一信号如TCR/CD3联接组合的信号,导致T细胞增殖和/或关键分子的上调或下调。

[0073] 如本文所用,“有效量”意指提供治疗或预防益处的量。

[0074] 如本文所用,术语“治疗性(therapeutic)”意指治疗(treatment)和/或预防。通过抑制、缓解或根除疾病状态获得治疗效果。

[0075] 术语“治疗有效量”是指研究人员、兽医、医生或其它临床医师所寻求的将引发组织、系统或受试者的生物或医学反应的本发明化合物的量。术语“治疗有效量”包括化合物的量,当施用所述量的化合物时,足以预防被治疗的病症或疾病的一种或多种体征或症状的进展或在一定程度上减轻所述一种或多种体征或症状。治疗有效量将根据化合物、疾病和其严重程度以及待治疗的受试者的年龄、体重等而变化。

[0076] 如本文所用,术语“治疗”疾病意指降低受试者所经历的疾病或病症的至少一种体征或症状的发生率或严重程度。

[0077] “编码”是指多核苷酸中的特定核苷酸序列如基因、cDNA或mRNA用作生物过程中合成具有所定义的核苷酸序列(例如rRNA、tRNA和mRNA)或所定义的氨基酸序列的其它聚合物和大分子的模板的固有性质及由此得到的生物性质。因此,如果与基因相对应的mRNA的转录和翻译在细胞或其它生物系统中产生蛋白质,则该基因对该蛋白质进行编码。编码链(其核苷酸序列与mRNA序列相同且通常提供于序列表中)和非编码链(用作基因或cDNA转录的模板)皆可被称为对基因或cDNA的蛋白质或其它产物进行编码。

[0078] 如本文所用,“内源”是指来自或在生物体、细胞、组织或系统内产生的任何物质。如本文所用,术语“外源”是指从生物体、细胞、组织或系统引入或在生物体、细胞、组织或系

统外产生的任何物质。

[0079] 如本文所用,术语“表达”是指由其启动子驱动的特定核苷酸序列的转录和/或翻译。“表达也指的是蛋白质存在于细胞的表面上(例如,在T细胞表面上的CAR表达)。

[0080] 如本文所用,术语“转染”或“转化”或“转导”是指外源性核酸转移或引入宿主细胞中的过程。“转染”或“转化”或“转导”的细胞是已用外源性核酸转染、转化或转导的细胞。细胞包括原代受试者细胞及其子代。

[0081] “载体”是物质的组合物,其包含分离的核酸且可用于将所分离的核酸递送到细胞内。本领域中已知许多载体,包括但不限于线性多核苷酸、与离子或两亲化合物有关的多核苷酸、质粒和病毒。因此,术语“载体”包括自主复制质粒或病毒。该术语也应解释为包括非质粒和非病毒化合物,它们促进核酸转移到细胞中,例如像,聚赖氨酸化合物、脂质体等。病毒载体的实例包括但不限于腺病毒载体、腺相关病毒载体、逆转录病毒载体等。

[0082] “表达载体”是指包含重组多核苷酸的载体,所述重组多核苷酸包含可操作地连接到有待表达的核苷酸序列上的表达控制序列。表达载体包含足以用于表达的顺式作用元件;用于表达的其它元件可由宿主细胞或在体外表达系统中提供。表达载体包括本领域中已知的所有表达载体,如粘粒、质粒(例如,裸的或包含在脂质体中的)和病毒(例如慢病毒、逆转录病毒、腺病毒和腺相关病毒),其合并有重组多核苷酸。

[0083] 如本文所用,“慢病毒”是指逆转录病毒科的一个属。慢病毒在逆转录病毒中是独特的,它能够感染非分裂的细胞。慢病毒来源的载体可将显著数量的遗传信息传递到宿主细胞的DNA中,因此它们是基因递送载体的最有效方法之一。HIV、SIV和FIV都是慢病毒的实例。

[0084] “同源”是指两个多肽或两个核酸分子之间的序列相似性或序列同一性。当两个比较序列中的一个位置都被相同的碱基或氨基酸单体亚基占据时,例如,如果两个DNA分子每个中的一个位置都被腺嘌呤占据,那么分子在这个位置上就是同源的。两个序列之间的同源性百分比是以下的函数:两个序列共享的匹配或同源位置的数目除以所比较位置的数目 $\times 100$ 。例如,如果两个序列中的10个位置中有6个是匹配的或同源的,那么这两个序列的同源性为60%。举例来说,DNA序列ATTGCC与TATGGC享有50%的同源性。通常,当比对两个序列时,会进行比较,以获得最大的同源性。

[0085] 如本文所用,术语“免疫球蛋白”或“Ig”被定义为一类用作抗体的蛋白质。由B细胞表达的抗体有时被称为B细胞受体(BCR)或抗原受体。包括在此类蛋白质中的5个成员是IgA、IgG、IgM、IgD和IgE。IgA是存在于以下身体分泌物中的第一抗体:如唾液、泪液、乳汁、胃肠分泌物及呼吸和泌尿生殖道的粘液分泌物。IgG是最常见的循环抗体。IgM是在大多数受试者的初次免疫应答中产生的主要免疫球蛋白。它是凝集、补体固定及其它抗体应答中最有效的免疫球蛋白并且对于防御细菌和病毒很重要。IgD是没有已知抗体功能但可充当抗原受体的免疫球蛋白。IgE是通过暴露于过敏原后引起从肥大细胞和嗜碱性粒细胞释放介体来介导速发型超敏反应的免疫球蛋白。

[0086] “分离的”意指与自然状态相比的改变或从自然状态中移走。举例来说,天然地存在于活的动物中的核酸或肽不是“分离的”,但部分或完全与其自然状态的共存物质分离的相同核酸或肽是“分离的”。分离的核酸或蛋白质可以大体上纯化的形式存在,或可在非天然环境如宿主细胞中存在。

[0087] 如本文所用,“大体上纯化的”细胞是基本上不含其它细胞类型的细胞。大体上纯化的细胞还指的是已与其它细胞类型分离的细胞,这些细胞通常在其天然存在的状态下与所述其它细胞类型相关联。在一些情况下,大体上纯化的细胞群是指同质细胞群。在其它情况下,此术语仅指的是已与在其自然状态下天然地相关联的细胞分离的细胞。在一些实施方案中,对细胞进行体外培养。在其它实施方案中,不对细胞进行体外培养。

[0088] 除非另有规定,“编码氨基酸序列的核苷酸序列”包括所有核苷酸序列,它们相互呈简并形式并且编码相同的氨基酸序列。短语编码蛋白质或RNA的核苷酸序列也可包括内含子,在某种程度上,编码蛋白质的核苷酸序列可呈含有内含子的某种形式。

[0089] 术语“可操作地连接”是指调控序列与异源核酸序列之间的功能键,导致异源核酸序列的表达。例如,当将第一核酸序列置于与第二核酸序列的功能关系中时,第一核酸序列与第二核酸序列可操作地连接。例如,如果启动子影响编码序列的转录或表达,那么启动子可操作地连接至编码序列。通常,可操作连接的DNA序列是连续的,且必要时,在同一阅读框中连接两个蛋白质编码区。

[0090] 如本文所用,术语“多核苷酸”被定义为核苷酸链。此外,核酸是核苷酸的聚合物。因此,如本文所用的核酸与多核苷酸是可互换的。本领域技术人员具有以下常识,核酸是多核苷酸,其可被水解为单体“核苷酸”。单体核苷酸可被水解为核苷。如本文所用,多核苷酸包括但不限于通过本领域中可利用的任何手段获得的所有核酸序列,包括但不限于重组手段,即,使用普通克隆技术和PCR等从重组文库或细胞基因组中克隆核酸序列;及通过合成手段。

[0091] 如本文所用,术语“肽”、“多肽”和“蛋白质”可互换使用,并且指的是由通过肽键共价连接的氨基酸残基构成的化合物。蛋白质或肽必须含有至少两个氨基酸,并且对可构成蛋白质或肽序列的最大氨基酸数目没有限制。多肽包括由两个或更多个氨基酸通过肽键彼此连接而构成的任何肽或蛋白质。如本文所用,该术语是指短链,其在本领域中通常也称为例如肽、寡肽和低聚物;和更长的链,其在本领域中一般被称为蛋白质,其中有很多类型。“多肽”尤其包括例如生物活性片段、大体上同源的多肽、寡肽、同二聚体、异二聚体、多肽变体、修饰的多肽、衍生物、类似物、融合蛋白。多肽包括天然肽、重组肽、合成肽或其组合。

[0092] 如本文所用,术语“启动子”被定义为由细胞的合成机构所识别或引入合成机构中的DNA序列,其是起始多核苷酸序列的特定转录所需的。如本文所用,术语“启动子/调控序列”意指可操作地连接至启动子/调控序列的基因产物的表达所需的核酸序列。在一些情况下,此序列可为核心启动子序列,且在其它情况下,此序列还可包括增强子序列及基因产物表达所需的其它调控元件。启动子/调控序列可为例如以组织特异性方式表达基因产物的序列。“组成型”启动子是以下核苷酸序列,其在与编码基因产物的多核苷酸可操作地连接时,造成基因产物在细胞的大多数或所有生理条件下在细胞中产生。“诱导型”启动子是以下核苷酸序列,其在与编码或指定基因产物的多核苷酸可操作地连接时,造成基因产物大体上只有当对应于启动子的诱导剂存在于细胞中时在细胞中产生。“组织特异性”启动子是以下核苷酸序列,其在与编码基因的多核苷酸可操作地连接时,造成基因产物大体上只有当细胞是对应于启动子的组织类型的细胞时在细胞中产生。

[0093] 术语“过度表达的”肿瘤抗原或肿瘤抗原的“过度表达”意在指示相对于来自组织或器官的正常细胞中的表达水平,在来自患者的疾病区域(像特定组织或器官内的实体肿

瘤)的细胞中肿瘤抗原的异常表达水平。患有以肿瘤抗原过度表达为特征的实体肿瘤或血液恶性肿瘤的患者可通过本领域中已知的标准测定来确定。

[0094] 如本文所用,术语“调节”是指介导受试者中的活性(例如,受试者中的反应或细胞中蛋白质的表达)水平的可检测的提高或降低。调节活性水平可在治疗或化合物存在下或是在治疗或化合物不存在下进行。举例来说,调节在用含有可调节的去稳定结构域(RDD)的CAR基因修饰的CAR T细胞表面上的嵌合抗原受体(CAR)表达水平意味着与在小分子/药物不存在下的CAR表达水平相比使CAR T细胞暴露于小分子/药物(其使RDD稳定)增加CAR的表达。类似地,有可能通过与在小分子/药物存在下的CAR表达水平相比经由除去稳定小分子/药物(其使RDD稳定)减少CAR的表达,调节在用含有可调节的去稳定结构域(RDD)的CAR基因修饰的CAR T细胞表面上的嵌合抗原受体(CAR)表达水平。该术语涵盖干扰和/或影响天然信号或反应或非调节的表达,由此在受试者(优选人)中介导有益的治疗反应。

[0095] 免疫原性组合物的“胃肠外”施用包括例如皮下(s.c.)、静脉内(i.v.)、肌肉内(i.m.)或胸骨内注射、或输注技术。

[0096] 术语“患者”、“受试者”、“个体”等在本文中可互换使用且意图包括其中可引发免疫应答的活的生物体(例如哺乳动物)。受试者的实例包括人、狗、猫、小鼠、大鼠及其转基因物种。

[0097] 如本文所用,术语“特异性结合”关于抗体时意指识别特定的抗原但大体上不识别或结合样品中的其它分子的抗体。例如,特异性结合至来自一个物种的抗原的抗体也可结合至来自一个或多个物种的抗原。但是,这种交叉物种反应性本身不会改变抗体的特异性分类。在另一实施例中,特异性结合至抗原的抗体也可结合至抗原的不同等位基因形式。然而,这种交叉反应性本身不会改变抗体的特异性分类。在一些情况下,术语“特异性结合”或“特异性地结合”可关于抗体、蛋白质或肽与第二化学物种的相互作用使用,意味着该相互作用依赖于在化学物种上存在特定结构(例如,抗原决定簇或表位);例如,抗体一般识别并结合至特定的蛋白质结构而非蛋白质。如果抗体对表位“A”有特异性,那么在含有标记的“A”和抗体的反应中存在含有表位A(或游离的、未标记的A)的分子将减少结合至抗体的标记的A的量。

[0098] 术语“刺激”意指通过以下方式诱导的初次应答:刺激性分子(例如TCR/CD3复合物)与其同源配体结合,由此介导信号转导事件,如但不限于经由TCR/CD3复合物进行的信号转导。刺激可介导某些分子的改变表达,如TGF- $\beta$ 的下调、IL-2和/或IFN- $\gamma$ 的表达增加、和/或细胞骨架结构的重构等等。

[0099] 如本文所用的术语“刺激分子”意指与抗原呈递细胞上存在的同源刺激配体特异性结合的T细胞上的分子。

[0100] 如本文所用,“刺激配体”意指以下配体:当存在于抗原呈递细胞(例如树突细胞、B细胞等)上时可与T细胞上的同源结合配偶体特异性结合,由此由T细胞介导初次应答,包括但不限于激活、免疫应答的引发、增殖等等。刺激配体是本领域中公知的且尤其涵盖负载有肽的MHC I类分子、抗CD3抗体、超激动剂抗CD28抗体、及超激动剂抗CD2抗体。

[0101] 如本文所用,术语“敏感化”和“敏化”是指通过施用第一试剂使动物或动物内的细胞对第二试剂的生物效应(例如,促进或阻碍细胞功能的一个方面,包括但不限于细胞分裂、细胞生长、增殖、侵袭、血管生成、坏死或细胞凋亡)更易感或更有反应性。第一试剂对靶



细胞的敏化效应可被量度为在施用和不施用第一试剂的情况下施用第二试剂后观察到的预期生物效应(例如,促进或阻碍细胞功能的一个方面,包括但不限于细胞生长、增殖、侵袭、血管生成或细胞凋亡)的差异。敏化细胞的反应与在第一试剂不存在下的反应相比增强了至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约100%、至少约150%、至少约200%、至少约250%、至少约300%、至少约350%、至少约400%、至少约450%、或至少约500%。

[0102] 如本文所用,术语“疑似患有癌症的受试者”是指表现出指示癌症(例如,明显的肿块或包块)的一种或多种症状或正在就癌症进行筛选(例如在常规体检期间)的受试者。疑似患有癌症的受试者也可能具有发生癌症的一个或多个风险因素。疑似患有癌症的受试者通常没有接受过癌症检查。然而,“疑似患有癌症的受试者”包括已接受初步诊断(例如,示出包块的CT扫描)但尚未进行确证试验(例如活检和/或组织学)或癌症的类型和/或阶段未知的个体。该术语还包括先前患有癌症的人(例如,处于缓解中的个体)。“疑似患有癌症的受试者”有时被诊断为癌症,有时被发现没有癌症。

[0103] 如本文所用,术语“诊断有癌症的受试者”是指已经测试并发现有癌细胞的受试者。癌症可使用任何合适的方法诊断,包括但不限于活检、x射线、血液检查等。

[0104] 如本文所用,术语“处于癌症风险中的受试者”是指具有发生特定癌症的一个或多个风险因素的受试者。风险因素包括但不限于性别、年龄、遗传易感性、环境暴露、及先前的癌症事件、先前存在的非癌疾病、和生活方式。

[0105] 如本文所用,术语“表征受试者中的癌症”是指鉴别受试者中的癌症样品的一种或多种特性,包括但不限于良性、癌前或癌组织的存在及癌症的阶段。

## 具体实施方式

[0106] 本发明是基于以下发现:经由调节CAR T细胞中的嵌合抗原受体(CAR)表面表达瞬时抑制或调节TCR信号转导,由此可阻止或逆转CAR T细胞耗竭并恢复CAR T细胞功能。表达CAR的T细胞由于受体成簇而经历滋养的、抗原非依赖性信号转导并且复制T细胞耗竭的基础生物过程,如由以下所示:PD-1、TIM-3和LAG-3的高水平表达;抗原诱导的细胞因子产生减少及过度的程序性细胞死亡。产生融合至FKBP12去稳定结构域(DD)的GD2.28z CAR(GD2.28z.FKBP)并且可调节的DD(RDD)使CAR不稳定并诱导快速的CAR蛋白质降解(参见Banaszynski等人,Cell 2006)。观察到表面表达通过在培养基中添加或减少甲氧苄啶或稳定rapalog shield-1(S1)而受到快速及剂量依赖性的调节。CAR表达的类似可调节能力也可使用融合至CAR的大肠杆菌DHFR突变体(GD2.28z.DHFR)实现,用甲氧苄啶以剂量依赖性方式进行调节(参见实施例1和2,图2、12-13、22-24)。

[0107] 因为滋养信号转导高度取决于CAR T细胞中的CAR受体水平,所以对CAR表达水平的控制可用于调节滋养信号转导的水平(例如体外或体内)。由于滋养信号转导高度取决于CAR受体水平,所以对CAR表达水平的精确控制也能精确地调节滋养信号转导的水平。药物调节对CAR表达水平的控制,由此允许调节GD2.28z CAR滋养信号转导的持续时间和强度。使用此系统,一旦停止CAR信号转导,与耗竭有关的表型和功能变化便被逆转(参见实施例1和2)。从培养基中除去小分子或药物(S1或甲氧苄啶)且随后在激活后第7天除去表面CAR,到第10天时典型的耗竭标记物表达将被逆转至控制水平(参见实施例1,图2)。这将通过测

量PD-1/TIM-3/LAG-3三重表达细胞的水平得到证明,所述三重表达细胞对功能异常的耗竭的T细胞有高度特异性。到第10天时,三重表达的耗竭细胞水平升高,但在第7天除去S1后,将造成到第10天时这些水平的归一化。在第14天时获得类似结果(参见实施例1)。

[0108] 因此,在一些实施方案中,本发明提供了经由调节CAR的表面表达精确地控制CAR T细胞信号转导和/或活性的能力。举例来说,如本文中所详述(参见实施例2),本发明提供了以下能力:向下滴定稳定药物的剂量,引起CAR表达的快速减少,这又抑制和/或消除了CAR T细胞信号转导和/或活性。

[0109] 因此,在一些实施方案中,可调节的DD-CAR技术可用于解决目前CAR T细胞治疗领域所面临的几个重要难题。首先,DD-CAR表面表达响应于药物的快速开启/关闭允许对CAR活性的精确调节,且因此提供一个机会来减轻CAR T细胞毒性(例如,细胞因子释放综合征(CRS)或中靶脱肿瘤毒性),同时保持在毒性消退后对继续治疗的选择(参见实施例2)。其次,在稳定药物不存在下CAR T细胞的扩增阻止了CAR滋养信号转导且又提高这些细胞的功能能力(参见实施例2)。最后,经由重复给药在体内切换(toggling)DD-CAR表达可以是一种阻止或逆转CAR T细胞耗竭和/或诱导记忆的方法(参见实施例2)。

[0110] 因此,本发明提供了被修饰以表达融合至RDD(例如FKBP RDD或DHFR RDD)的CAR的CAR T细胞,所述RDD以剂量和时间依赖性方式提供对CAR T细胞表面上的CAR表达的控制。控制CAR T细胞表面上的CAR表达的能力又允许在未修饰的CAR T细胞(即缺少融合至RDD结构域的CAR的CAR T细胞)展现T细胞耗竭或功能缺乏的条件下保持CAR T细胞功能的能力。以此方式,本发明的组合物和方法可用于阻止CAR T细胞的耗竭和CAR T细胞功能(例如,对抗癌症或感染性疾病的活性)的提高。

[0111] 本发明不受得以保持、恢复或提高(例如延长)的CAR T细胞功能类型的限制。实际上,包含被修饰以表达融合至RDD结构域的CAR的CAR T细胞的组合物及其使用方法可用于保持、恢复或提高CAR T细胞功能,包括但不限于:针对肿瘤细胞的细胞毒活性;促进CAR T细胞存活和功能;诱导细胞因子表达如白介素-2(IL-2)的表达以促进T细胞存活、Fas配体(FasL)和/或肿瘤坏死因子相关细胞凋亡诱导配体(TRAIL)的表达以诱导肿瘤细胞凋亡、和/或诱导干扰素(IFN)- $\gamma$ 激活先天性免疫应答(例如抗癌);和/或加强细胞周期抑制和/或细胞凋亡的诱导。在一些实施方案中,本发明的CAR T细胞敏化癌细胞以诱导细胞周期抑制和/或细胞凋亡,包括通常对这种诱导刺激有抗性的细胞。

[0112] 修饰CAR T细胞以表达融合至RDD结构域(例如,突变体FKBP或DHFR)的CAR,由此显著提高暴露于诱导CAR T细胞耗竭的条件的CAR T细胞的功能(参见,例如实施例1和2)。虽然本发明的实践不需要对机制的理解,且虽然本发明不限于任何特定的作用机制,但CAR在CAR T细胞表面上表达的减少阻止与CAR T细胞耗竭有关的CAR T细胞的功能失调。在一些实施方案中,使用被修饰以表达包含本发明RDD的CAR的T细胞与表达相同CAR但无RDD的CAR T细胞相比延长CAR T细胞的抗肿瘤应答。

[0113] 因此,本发明提供了用于减少CAR T细胞耗竭的组合物和方法,其包含被修饰以表达融合至RDD结构域(例如,FKBP12或突变体DHFR)的CAR的CAR T细胞,由此提供严格调节CAR T细胞表面上的CAR表达水平的能力。本发明不受可使用本发明的修饰的CAR T细胞治疗的疾病或病状的限制。实际上,本文所提供的组合物和方法可适用于治疗CAR T细胞活性的提高可为其提供治疗益处的任何疾病。

[0114] 因此,本发明提供一种包含CAR T细胞的组合物,所述CAR T细胞被修饰以表达融合至RDD结构域的CAR。本发明不受修饰的CAR T细胞类型的限制。在一些实施方案中,CAR T细胞是CD3<sup>+</sup> T细胞(例如,CD4<sup>+</sup>和/或CD8<sup>+</sup> T细胞)。在某些实施方案中,CAR T细胞是CD8<sup>+</sup> T细胞。在其它实施方案中,CAR T细胞是CD4<sup>+</sup> T细胞。在一些实施方案中,CAR T细胞是自然杀伤(NK) T细胞。在一些实施方案中,CAR T细胞是 $\gamma\delta$ T细胞。在一些实施方案中,CAR T细胞是 $\alpha\beta$ T细胞。在一些实施方案中,CAR T细胞是CD4<sup>+</sup>与CD8<sup>+</sup> T细胞的组合(例如,是CD3<sup>+</sup>)。在某些实施方案中,CAR T细胞是记忆T细胞。在某些实施方案中,CAR T细胞是CD8<sup>+</sup> T细胞、CD4<sup>+</sup> T细胞、NK T细胞、记忆T细胞、 $\alpha\beta$ T细胞和/或 $\gamma\delta$ T细胞的组合。在一些实施方案中,CAR T细胞是细胞因子诱导的杀伤T细胞。在一些实施方案中,CAR T细胞是肿瘤浸润淋巴细胞。在一些实施方案中,CAR T细胞被工程化以表达肿瘤抗原特异性CAR。在另一实施方案中,CAR T细胞被工程化以表达对感染性疾病抗原具有特异性的CAR。在一些实施方案中,CAR T细胞是抗肿瘤T细胞。在一些实施方案中,所述组合物还包含药学上可接受的载剂(例如缓冲液)。

[0115] 因此,一方面,本发明提供用于治疗癌症及其它疾病的组合物和方法。所述癌症可以是血液恶性肿瘤、实体肿瘤、原发性或转移性肿瘤。可用本发明的组合物和方法治疗的其它疾病包括病毒、细菌和寄生虫感染以及自身免疫疾病。

[0116] 在一些实施方案中,本发明提供了一种被工程化以表达CAR的T细胞,其中所述CAR T细胞展现抗肿瘤特性。本发明的CAR可被工程化以包含具有抗原结合结构域的胞外结构域,所述抗原结合结构域融合至CD3 $\zeta$ 链的胞内信号转导结构域。本发明的CAR当在T细胞中表达时能够基于抗原结合特异性重定向抗原识别。一个示例性抗原是GD2,因此抗原在包括神经母细胞瘤、骨肉瘤和一些肉瘤的多种癌症上表达(参见,例如Thomas等人,PLoS One, 2016.11(3):p.e0152196;Long等人,Nature Medicine, 2015.21(6):p.581-590;Long等人,Cancer Immunology Research, 2016.4(10):p.869-880;Yu等人,N Engl J Med, 2010.363(14):p.1324-34;Perez Horta等人,Immunotherapy, 2016.8(9):p.1097-117;Heczey等人,Molecular Therapy)。然而,本发明不限于靶向GD2。更确切些,本发明包括任何抗原结合部分,当它们结合至其同源抗原时影响肿瘤细胞以使得肿瘤细胞不能生长、趋于死亡或以其它方式受影响,由此降低或消除患者中的肿瘤负荷。抗原结合部分优选与胞内结构域融合,所述胞内结构域来自共刺激分子、CD3 $\zeta$ 链和RDD中的一个或多个。

[0117] 本发明提供了包含胞外和胞内结构域的嵌合抗原受体(CAR)。在一些实施方案中,本发明的CAR是全人的。胞外结构域包含靶标特异性结合元件,另外被称为抗原结合部分。胞内结构域或另外胞质结构域包含共刺激信号转导区和 $\zeta$ 链部分。共刺激信号转导区是指包含共刺激分子的胞内结构域的CAR的一部分。共刺激分子是淋巴细胞对抗原的有效应答所需的细胞表面分子,而非抗原受体或其配体。

[0118] 在CAR的胞外结构域与跨膜结构域之间,或在CAR的胞质结构域与跨膜结构域之间,可合并有间隔结构域。如本文所用,术语“间隔结构域”一般意指用于连接结构域(例如,在多肽链中将跨膜结构域连接至胞外结构域或胞质结构域)的任何寡肽或多肽。间隔结构域可包含至多300个氨基酸,优选10至100个氨基酸且最优选25至50个氨基酸。

[0119] 嵌合抗原受体构建体

[0120] 如本文所述,本发明的CAR T细胞被基因修饰以表达融合至RDD的CAR,所述CAR T

细胞可含有包含靶标特异性结合元件的CAR,所述元件另外被称为抗原结合部分。部分的选择取决于界定靶细胞表面的配体的类型和数量。例如,抗原结合结构域可被选出以识别配体,该配体用作与特定疾病状态有关的靶细胞上的细胞表面标记物。可充当CAR的抗原部分结构域的配体的细胞表面标记物的实例包括与病毒、细菌和寄生虫感染、自身免疫疾病和癌细胞有关的那些。

[0121] 如本文所用,术语“抗原”是指能够被抗体或T细胞受体结合的分子。另外,抗原能够诱导体液免疫应答和/或细胞免疫应答,导致产生B和/或T淋巴细胞。本发明的实施方案涉及核酸,包括编码以下各物质的核酸:抗原特异性嵌合抗原受体(CAR)多肽,包括已被人源化以降低免疫原性的CAR(hCAR);跨膜结构域;一个或多个胞内信号转导结构域(例如,共刺激结构域和/或CD3 $\zeta$ );及RDD结构域。预期人CAR核酸是增强对人患者的细胞免疫疗法的人基因。在某些实施方案中,CAR识别由一个或多个抗原之间的共享空间构成的表位。在一些实施方案中,CAR对糖抗原具有特异性。

[0122] 非人抗原结合区通常已用于构建嵌合抗原受体。然而,使用非人抗原结合区如鼠单克隆抗体的一个潜在问题是缺乏人效应子功能。此外,非人单克隆抗体可由人宿主识别为外来蛋白,且因此,这种外来抗体的重复注射可诱导免疫应答,导致产生有害的超敏反应。对于基于鼠的单克隆抗体,这通常被称为人抗小鼠抗体(HAMA)应答。因此,在一些实施方案中,使用人抗体的抗原结合区(例如,因为它们不引发强HAMA应答)。在一些实施方案中,抗原结合结构域可以是嵌合的(即,人/小鼠嵌合体)或人源化的以使这种免疫原性降至最低。然而,在其它实施方案中,使用鼠抗体的抗原结合区。

[0123] 在一些实施方案中,所述CAR包含:a)包含抗原结合区的胞外结构域,b)跨膜结构域,c)胞内信号转导结构域,及d)RDD。例如,在一些实施方案中,所述CAR包含抗GD2抗原结合结构域;CD28跨膜结构域;CD3- $\zeta$ 、CD28和/或4-1BB刺激结构域;及RDD(例如DHFR或FKBP DD)。如本文所详述,含有RDD的许多不同CAR及其使用方法是有可能的。在一个实施方案中,所述CAR包含:a)包含含有SEQ ID NO:44的抗原结合区的胞外结构域,b)包含SEQ ID NO:48的跨膜结构域,c)包含SEQ ID NO:50和/或SEQ ID NO:52的胞内信号转导结构域,及d)包含SEQ ID NO:54的RDD。在另一实施方案中,CAR包含:a)包含含有SEQ ID NO:60的抗原结合区的胞外结构域,b)包含SEQ ID NO:64的跨膜结构域,c)包含SEQ ID NO:66和/或SEQ ID NO:68的胞内信号转导结构域,及d)包含SEQ ID NO:70的RDD。在另一实施方案中,CAR包含:a)包含含有SEQ ID NO:76的抗原结合区的胞外结构域,b)包含SEQ ID NO:80的跨膜结构域,c)包含SEQ ID NO:82和/或SEQ ID NO:84的胞内信号转导结构域,及d)包含SEQ ID NO:86的RDD。在仍另一实施方案中,CAR包含:a)包含含有SEQ ID NO:92的抗原结合区的胞外结构域,b)包含SEQ ID NO:96的跨膜结构域,c)包含SEQ ID NO:98和/或SEQ ID NO:100的胞内信号转导结构域,及d)包含SEQ ID NO:102的RDD。在另一实施方案中,CAR包含:a)包含含有SEQ ID NO:108的抗原结合区的胞外结构域,b)包含SEQ ID NO:112的跨膜结构域,c)包含SEQ ID NO:114和/或SEQ ID NO:116的胞内信号转导结构域,及d)包含SEQ ID NO:118的RDD。在另一实施方案中,CAR包含:a)包含含有SEQ ID NO:124的抗原结合区的胞外结构域,b)包含SEQ ID NO:130的跨膜结构域,c)包含SEQ ID NO:132和/或SEQ ID NO:134的胞内信号转导结构域,及d)包含SEQ ID NO:136的RDD。

[0124] 抗原结合区

[0125] 在某些实施方案中,结合区包含单克隆抗体的互补决定区(CDR)、单克隆抗体的可变区、和/或其抗原结合片段。CDR是见于抗原受体(例如,免疫球蛋白和T细胞受体)蛋白的可变结构域中的短氨基酸序列,其与抗原互补且由此提供对那个具体抗原有特异性的受体。抗原受体的每条多肽链含有三个CDR(CDR1、CDR2和CDR3)。由于抗原受体通常由两条多肽链构成,可与抗原接触的每个抗原受体(例如抗体或TCR)有6个CDR--每条重链和轻链含有三个CDR。因为大多数与免疫球蛋白和T细胞受体相关的序列变化都存在于CDR中,因此这些区域有时被称为高变结构域。

[0126] CAR可被工程化以便通过工程化特异性地结合至肿瘤细胞上的抗原的所需抗原结合部分靶向目标肿瘤抗原。如本文所用,“肿瘤抗原”或“过度增殖性病征抗原”或“与过度增殖性病征有关的抗原”或“癌症抗原”是指特定的过度增殖性病征如癌症所共有的抗原。本文所提及的示例性抗原是作为示例包括在内的。这些例子不是排他性的,进一步的例子将容易为本领域技术人员显而易见。

[0127] 肿瘤抗原是由肿瘤细胞产生的部分(例如蛋白质、糖等),其引发免疫应答,特别是T细胞介导的免疫应答。因此,可基于有待治疗的具体癌症的类型选择抗原结合部分。肿瘤抗原是本领域中公知的且包括例如神经胶质瘤相关抗原、癌胚抗原(CEA)、 $\beta$ -人绒毛膜促性腺激素、甲胎蛋白(AFP)、凝集素反应性AFP、甲状腺球蛋白、RAGE-1、MN-CAIX、人端粒酶逆转录酶、RU1、RU2(AS)、肠羧基酯酶、mut hsp70-2、M-CSF、前列腺特异性抗原(PSA)、PAP、NY-ESO-1、LAGE-1a、p53、prostein、PSMA、Her2/neu、生存素和端粒酶、前列腺癌肿瘤抗原-1(PCTA-1)、MAGE、ELF2M、中性粒细胞弹性蛋白酶、ephrinB2、CD22、胰岛素生长因子(IGF)-I、IGF-II、IGF-I受体、间皮素、及本文所述或本领域中已知的其它肿瘤抗原。

[0128] 肿瘤抗原可包含与恶性肿瘤有关的一个或多个抗原性癌抗原/表位。恶性肿瘤表达可充当免疫攻击的靶抗原的许多蛋白质。这些分子包括但不限于组织特异性抗原,如在黑色素瘤中由T细胞识别的黑色素瘤抗原1(MART-1)、酪氨酸酶和GP100以及在前列腺癌中的前列腺酸性磷酸酶(PAP)和前列腺特异性抗原(PSA)。其它靶分子属于转化相关分子的组,如致癌基因HER-2/Neu/ErbB-2。靶抗原的又一组为癌胚抗原,如癌胚抗原(CEA)。在B细胞淋巴瘤中,肿瘤特异性独特型免疫球蛋白构成真正的肿瘤特异性免疫球蛋白抗原,其为个别肿瘤所特有。B细胞分化抗原如CD19、CD20和CD37是B细胞淋巴瘤中的靶抗原的其它候选物。

[0129] 肿瘤抗原也可作为肿瘤特异性抗原(TSA)或肿瘤相关抗原(TAA)。TSA是肿瘤细胞所特有并且未在体内的其它细胞上出现。TAA不是肿瘤细胞所特有,且相反,也在未能诱导针对抗原之免疫耐受状态的条件下去一些正常细胞上表达。抗原在肿瘤上的表达可在免疫系统能够对抗原的应答的条件下发生。TAA可为在胎儿发育期间当免疫系统未成熟且不能响应时在正常细胞上表达的抗原,或者其可为通常在正常细胞上以极低水平存在但在肿瘤细胞上以高得多的水平表达的抗原。

[0130] TSA或TAA的实例包括但不限于分化抗原如MART-1/MelanA(MART-1)、gp100(Pmel17)、酪氨酸酶、TRP-1、TRP-2和肿瘤特异性多谱系抗原如MAGE-1、MAGE-3、BAGE、GAGE-1、GAGE-2、p15;过度表达的胚胎抗原如CEA;过度表达的致癌基因和突变的肿瘤抑制基因如p53、Ras、HER-2/neu;由染色体易位产生的独特型肿瘤抗原;如BCR-ABL、E2A-PRL、H4-RET、IGH-IGK、MYL-RAR;以及病毒抗原,如EB病毒抗原EBVA和人乳头状瘤病毒(HPV)抗原E6和E7。

其它基于大蛋白质的抗原包括TSP-180、MAGE-4、MAGE-5、MAGE-6、RAGE、NY-ESO-1、p185erbB2、p180erbB-3、c-met、nm-23H1、PSA、TAG-72、CA 19-9、CA 72-4、CAM 17.1、NuMa、K-ras、 $\beta$ -连环蛋白、CDK4、Mum-1、p 15、p 16、43-9F、5T4、791Tgp72、甲胎蛋白、 $\beta$ -HCG、BCA225、BTAA、CA 125、CA 15-3、CA 27.291、BCAA、CA 195、CA 242、CA-50、CAM43、CD68、P1、CO-029、FGF-5、G250、Ga733、EpCAM、HTgp-175、M344、MA-50、MG7-Ag、MOV18、NB/70K、NY-CO-1、RCAS1、SDCCAG16、TA-90、Mac-2结合蛋白、亲环蛋白C相关蛋白、TAAL6、TAG72、TLP和TPS。

[0131] 在一些实施方案中,靶向胞内肿瘤相关抗原,如HA-1、生存素、WT1和p53。这可通过在T细胞上表达的CAR完成,CAR在HLA的情形下识别来源于胞内肿瘤相关抗原的加工肽。

[0132] 取决于有待靶向的所需抗原,CAR可被工程化以包括对所需抗原靶标有特异性的适当的抗原结合部分。例如,如果GD2是有待靶向的所需抗原,那么GD2的抗体(例如,14G2a、ch14.18、hu14.18K322A、m3F8、hu3F8-IgG1、hu3F8-IgG4、HM3F8、UNITUXIN、DMAb-20或特异性结合至GD2的任何其它抗体)可用作抗原结合部分以并入本发明的CAR中。

[0133] 在一些实施方案中,所述抗原是病原体特异性抗原。本发明不受病原体特异性抗原类型的限制。病原体特异性抗原可来自包括但不限于真菌、细菌或病毒的任何病原体。示例性病毒病原体包括以下病毒科的那些:腺病毒科、EB病毒科(EBV)、巨细胞病毒科(CMV)、呼吸道合胞病毒科(RSV)、JC病毒科、BK病毒科、HSV、HHV病毒科、小核糖核酸病毒科、疱疹病毒科、嗜肝DNA病毒科、黄病毒科、逆转录病毒科、正粘病毒科、副粘病毒科、乳多空病毒科、多瘤病毒科、弹状病毒科和披膜病毒科。示例性致病病毒引起天花、流感、腮腺炎、麻疹、水痘、埃博拉和风疹。示例性致病真菌包括假丝酵母属、曲霉属、隐球菌属、组织胞浆菌属、肺孢子虫属和葡萄状穗霉属。示例性致病细菌包括链球菌属、假单胞菌属、志贺氏菌属、弯曲杆菌属、葡萄球菌属、螺杆菌属、大肠杆菌、立克次氏体、杆菌属、博代杆菌属、衣原体、螺旋体和沙门氏菌属。在一个实施方案中,病原体受体Dectin-1用于产生CAR,CAR识别真菌细胞壁上的糖结构。被基因修饰以基于Dectin-1的特异性表达CAR的T细胞识别曲霉菌并靶向(例如抑制)菌丝生长。在另一实施方案中,CAR是基于识别病毒决定簇(例如,来自CMV或埃博拉的糖蛋白)的抗体制得,该抗体阻断病毒感染和病理状态。

[0134] 在一些实施方案中,本发明包括全长CAR cDNA或编码区。抗原结合区或结构域可包含来源于特定的人单克隆抗体的单链可变片段(scFv)的VH和VL链的片段,如以下文献中所述的那些:美国专利号7,109,304;8,822,196;9,868,774;9,790,282;9,765,342;9,624,306;9,522,915;9,359,447;9,845,362;9,815,901;9,777,061;9,598,489;9,394,368;9,446,105;及9,334,330,这些专利各自以引用的方式并入本文。所述片段也可以是人抗原特异性抗体的许多不同抗原结合结构域。在一个更具体的实施方案中,片段是由为人密码子用于在人细胞中的表达而优化的序列编码的抗原特异性scFv。

[0135] 抗体可为多聚的,如双体或多聚体。多聚体可通过轻链和重链的可变部分交叉配对到所提及的双体中而形成(参见Winter等人,Protein Eng.1996Mar;9(3):299-305)。构建体的铰链部分可具有多种替代:完全缺失、保留第一半胱氨酸、脯氨酸而非丝氨酸取代、截短至第一半胱氨酸。Fc部分可缺失。稳定和/或二聚化的任何蛋白质都可用于此目的(例如,可使用单一的Fc结构域,例如来自人免疫球蛋白的CH2或CH3)。也可使用被修饰以改善二聚化的人免疫球蛋白的铰链、CH2和CH3区。

[0136] CAR的抗原结合结构域可以是结合至抗原的任何结构域,包括但不限于单克隆抗

体、多克隆抗体、合成抗体、人抗体、人源化抗体及其片段。在一些情况下,抗原结合结构域衍生自其中最终将使用CAR的相同物种将是有利的。例如,对于人来说,CAR的抗原结合结构域包含人抗体或其片段可为有利的。因此,在一个实施方案中,抗原结合结构域部分包含人抗体或其片段。

[0137] 对于在人中体内使用抗体,最好使用人抗体。完全人抗体特别适用于人受试者的治疗性治疗。人抗体可通过本领域中已知的多种方法制得,包括使用衍生自人免疫球蛋白序列的抗体文库进行的噬菌体展示方法,包括对这些技术的改进。也参见美国专利号4,444,887和4,716,111;及PCT公布WO 98/46645、WO 98/50433、WO 98/24893、WO98/16654、WO 96/34096、WO 96/33735和WO 91/10741;其各自以引用的方式整体并入本文。人抗体也可以是其中重链和轻链由来源于人DNA的一个或多个来源的核苷酸序列编码的抗体。

[0138] 人抗体也可使用转基因小鼠产生,所述转基因小鼠不能表达功能性内源性免疫球蛋白,但可表达人免疫球蛋白基因。例如,人重链和轻链免疫球蛋白基因复合物可随机或通过同源重组引入小鼠胚胎干细胞中。或者,除人重链和轻链基因之外,人可变区、恒定区和多样性区也可引入小鼠胚胎干细胞中。小鼠重链和轻链免疫球蛋白基因可呈现出非功能性,单独或与通过同源重组引入人免疫球蛋白基因座同时。例如,已经描述嵌合及种系突变小鼠中抗体重链连接区(JH)基因的纯合性缺失使内源性抗体产生受到完全抑制。修饰的胚胎干细胞扩增并被显微注射到胚泡中以产生嵌合小鼠。然后,对嵌合小鼠进行养育以产生能表达人抗体的纯合子后代。用所选的抗原,以正常方式对转基因小鼠进行免疫。针对肿瘤抗原的抗肿瘤抗原抗体可使用常规的杂交瘤技术由免疫的转基因小鼠获得。由转基因小鼠载有的人免疫球蛋白转基因在B细胞分化期间重排且随后经历类别转换和体细胞突变。关于用于产生人抗体和人单克隆抗体的此项技术以及用于产生这种抗体的方案的详细论述,参见,例如PCT公布号WO 98/24893、WO 96/34096和WO 96/33735;及美国专利号5,413,923;5,625,126;5,633,425;5,569,825;5,661,016;5,545,806;5,814,318;和5,939,598,其各自以引用的方式整体并入本文。另外,如Abgenix, Inc. (Freemont, Calif.) 和Genpharm (San Jose, Calif.) 的公司可使用类似于如上所述的技术提供针对所选抗原的人抗体。关于在种系突变小鼠中转移人种系免疫球蛋白基因阵列由此在抗原激发后产生人抗体的具体论述,参见,例如Jakobovits等人,Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:2551 (1993); Jakobovits等人, Nature, 362:255-258 (1993); Bruggermann等人, Year in Immunol., 7:33 (1993); 及 Duchosal等人, Nature, 355:258 (1992)。

[0139] 人抗体也可来源于噬菌体展示文库(Hoogenboom等人, J. Mol. Biol., 227:381 (1991); Marks等人, J. Mol. Biol., 222:581-597 (1991); Vaughan等人, Nature Biotech., 14:309 (1996))。噬菌体展示技术(McCafferty等人, Nature, 348:552-553 (1990))可用于由来自未经免疫的供体的免疫球蛋白可变(V)结构域基因谱系体外产生人抗体和抗体片段。根据此项技术,将抗体V结构域基因在框内克隆到丝状噬菌体之主要或次要外壳蛋白基因如M13或fd中,并且展示为噬菌体粒子表面上的功能性抗体片段。因为丝状粒子含有噬菌体基因组的单链DNA拷贝,所以基于抗体功能特性的选择还实现了编码展现那些特性的抗体的基因的选择。因此,噬菌体模拟B细胞之一些特性。噬菌体展示可以多种形式进行;关于其综述,参见,例如Johnson, Kevin S, and Chiswell, David J., Current Opinion in Structural Biology 3:564-571 (1993)。可使用V-基因区段的若干来源进行噬菌体展示。

Clackson等人, *Nature*, 352:624-628 (1991) 由来源于未经免疫的小鼠的脾脏的V基因的小随机组合文库中分离出一系列不同的抗恶唑酮抗体。可构建来自未经免疫的人供体的V基因谱系并且可根据由Marks等人, *J. Mol. Biol.*, 222:581-597 (1991) 或Griffith等人, *EMBO J.*, 12:725-734 (1993) 所述的技术基本上分离针对一系列不同抗原(包括自身抗原)的抗体。也参见美国专利号5,565,332和5,573,905,其各自以引用的方式整体并入本文。

[0140] 人抗体也可由体外活化的B细胞产生(参见美国专利号5,567,610和5,229,275,其各自以引用的方式整体并入本文)。人抗体也可使用如但不限于由Roder等人(*Methods Enzymol.*, 121:140-167 (1986))所述的杂交瘤技术体外产生。

[0141] 或者,在一些实施方案中,非人抗体是人源化的,其中抗体的特定序列或区域被修饰以提高与在人中天然产生的抗体的相似性。在一个实施方案中,抗原结合结构域部分是人源化的。

[0142] 人源化抗体可使用本领域中已知的多种技术产生,包括但不限于CDR移植(参见,例如欧洲专利号EP 239,400;国际公布号W0 91/09967;及美国专利号5,225,539、5,530,101和5,585,089,其各自以引用的方式整体并入本文);镶饰或重塑(参见,例如欧洲专利号EP 592,106和EP 519,596;Padlan, 1991, *Molecular Immunology*, 28 (4/5):489-498; Studnicka等人, 1994, *Protein Engineering*, 7 (6):805-814;及Roguska等人, 1994, *PNAS*, 91:969-973,其各自以引用的方式整体并入本文);链改组(参见,例如美国专利号5,565,332,其以引用的方式整体并入本文);以及在以下文献中所公开的技术:例如美国专利申请公布号US2005/0042664、美国专利申请公布号US2005/0048617、美国专利号6,407,213、美国专利号5,766,886、国际公布号W0 9317105;Tan等人, *J. Immunol.*, 169:1119-25 (2002); Caldas等人, *Protein Eng.*, 13 (5):353-60 (2000); Morea等人, *Methods*, 20 (3):267-79 (2000); Baca等人, *J. Biol. Chem.*, 272 (16):10678-84 (1997); Roguska等人, *Protein Eng.*, 9 (10):895-904 (1996); Couto等人, *Cancer Res.*, 55 (23增刊):5973s-5977s (1995); Couto等人, *Cancer Res.*, 55 (8):1717-22 (1995); Sandhu J S, *Gene*, 150 (2):409-10 (1994);及Pedersen等人, *J. Mol. Biol.*, 235 (3):959-73 (1994),其各自以引用的方式整体并入本文。通常,框架区内的框架残基会被来自CDR供体抗体的相应残基取代,从而改变、优选改善抗原结合。这些框架取代是通过本领域中公知的方法来鉴别,例如,通过对CDR与框架残基之间的相互作用进行建模来鉴别对抗原结合很重要的框架残基,并通过序列比较来鉴别特定位置处的不寻常的框架残基。(参见,例如Queen等人,美国专利号5,585,089;及Riechmann等人, 1988, *Nature*, 332:323,其以引用的方式整体并入本文)。

[0143] 人源化抗体具有从非人来源引入的一个或多个氨基酸残基。这些非人氨基酸残基常被称为“输入”残基,其通常取自“输入”可变结构域。因此,人源化抗体包含来自非人免疫球蛋白分子的一个或多个CDR和来自人的框架区。抗体的人源化是本领域中公知的且基本上可按照Winter和其同事(Jones等人, *Nature*, 321:522-525 (1986); Riechmann等人, *Nature*, 332:323-327 (1988); Verhoeyen等人, *Science*, 239:1534-1536 (1988))的方法进行,通过用人抗体的相应序列取代啮齿动物CDR或CDR序列,即CDR移植(EP 239,400;PCT公布号W0 91/09967;及美国专利号4,816,567;6,331,415;5,225,539;5,530,101;5,585,089;6,548,640,其内容以引用的方式整体并入本文)。在这种人源化嵌合抗体中,大体上小于完整的人可变结构域已被来自非人物种的相应序列取代。实际上,人源化抗体通常是人



抗体,其中一些CDR残基及可能的一些框架(FR)残基被来自啮齿动物抗体中的类似位点的残基取代。抗体的人源化也可通过镶饰或重塑(EP 592,106;EP 519,596;Padlan,1991, *Molecular Immunology*,28(4/5):489-498;Studnicka等人,*Protein Engineering*,7(6):805-814(1994);及Roguska等人,*PNAS*,91:969-973(1994))或链重组(美国专利号5,565,332)完成,这些文献的内容以引用的方式整体并入本文。

[0144] 在一些情况下,人scFv也可来源于酵母展示文库。

[0145] 在制备人源化抗体时选择使用人可变结构域(轻链和重链)是为了降低抗原性。根据所谓的“最佳拟合”方法,针对已知的人可变结构域序列的整个文库筛选啮齿动物抗体的可变结构域序列。最接近啮齿动物序列的人序列则被视作人源化抗体的人框架(FR)(Sims等人,*J.Immunol.*,151:2296(1993);Chothia等人,*J.Mol.Biol.*,196:901(1987),其内容以引用的方式整体并入本文)。另一种方法使用特定框架,所述框架衍生自特定轻链或重链亚组的所有人抗体的共有序列。相同的框架可用于若干不同的人源化抗体(Carter等人,*Proc.Natl.Acad.Sci.USA*,89:4285(1992);Presta等人,*J.Immunol.*,151:2623(1993),其内容以引用的方式整体并入本文)。

[0146] 抗体可被人源化,同时对靶抗原保持高亲和力且具有其它有利的生物特性。根据本发明的一方面,人源化抗体是通过使用亲本和人源化序列的三维模型分析亲本序列和各种概念上的人源化产物的方法来制备。三维免疫球蛋白模型是本领域技术人员常见和熟知的。可用的计算机程序说明并展示了所选候选免疫球蛋白序列的可能三维构象结构。对这些展示的检查允许分析残基在候选免疫球蛋白序列功能中的可能作用,即分析影响候选免疫球蛋白结合靶抗原的能力的残基。以此方式,可从接受者和输入序列中选择FR残基并将其组合,从而获得所需抗体特征,如对靶抗原的提高了的亲和力。一般说来,CDR残基直接且最大体上参与了影响抗原结合的过程。

[0147] “人源化”抗体保留与原始抗体相似的抗原特异性,即在本发明中结合人GD2的能力。然而,使用某些人源化方法,抗体对人GD2的结合亲和力和/或特异性可使用如由Wu等人,*J.Mol.Biol.*,294:151(1999)所述的“定向进化”方法来提高,该文献内容以引用的方式整体并入本文。

[0148] 在一个实施方案中,本发明CAR的抗原结合部分靶向GD2。在一些实施方案中,在本发明CAR中的抗原结合部分是全人抗GD2 scFv。在一些实施方案中,抗GD2 scFv的核酸序列包含SEQ ID NO:43中列出的序列。在一个实施方案中,抗GD2 scFv包含编码SEQ ID NO:44的氨基酸序列的核酸序列。在另一实施方案中,本发明的CAR的抗GD2 scFv部分包含SEQ ID NO:44中列出的氨基酸序列。在其它实施方案中,抗GD2 scFv的核酸序列包含SEQ ID NO:87中列出的序列。在一个实施方案中,抗GD2 scFv包含编码SEQ ID NO:88的氨基酸序列的核酸序列。在另一实施方案中,本发明的CAR的抗GD2 scFv部分包含SEQ ID NO:88中列出的氨基酸序列。

[0149] 在其它实施方案中,本发明CAR的抗原结合部分靶向Her2。在一些实施方案中,抗Her2 scFv的核酸序列包含SEQ ID NO:123中列出的序列。在一个实施方案中,抗Her2 scFv包含编码SEQ ID NO:124的氨基酸序列的核酸序列。在另一实施方案中,本发明的CAR的抗Her2 scFv部分包含SEQ ID NO:124中列出的氨基酸序列。

[0150] 在其它实施方案中,本发明的CAR的抗原结合部分靶向CD19。在一些实施方案中,

抗CD19 scFV的核酸序列包含SEQ ID NO:11中列出的序列。在一个实施方案中,抗CD19 scFV包含编码SEQ ID NO:12的氨基酸序列的核酸序列。在另一实施方案中,本发明的CAR的抗CD19 scFV部分包含SEQ ID NO:12中列出的氨基酸序列。

#### [0151] 跨膜结构域

[0152] 关于跨膜结构域,CAR可被设计以包含融合至CAR的胞外结构域的跨膜结构域。在一个实施方案中,使用与CAR中的一个结构域天然地结合的跨膜结构域。在一些实施方案中,跨膜结构域通过氨基酸取代被选择或修饰以避免这类结构域结合至相同或不同表面膜蛋白的跨膜结构域,以便与受体复合物的其它成员的相互作用最小化。

[0153] 跨膜结构域可衍生自天然或合成来源。当来源为天然的时,结构域可衍生自任何膜结合的或跨膜蛋白。在本发明中具有特定用途的跨膜区包括但不限于衍生自以下各物质的跨膜区(即至少包含以下各物质的跨膜区):T细胞受体的 $\alpha$ 或 $\beta$ 链、CD28、CD3 $\zeta$ 、CD3 $\epsilon$ 、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137或CD154。在一些实施方案中,可采用多种人铰链,也包括人Ig(免疫球蛋白)铰链。

[0154] 在一些实施方案中,跨膜结构域是合成的,在此情况下,其主要包含疏水性残基,如亮氨酸和缬氨酸。在一些实施方案中,苯丙氨酸、色氨酸和缬氨酸的三联体将见于合成跨膜结构域的每个末端处。任选地,短的寡肽或多肽接头(优选地,长度介于2与10个氨基酸之间)在CAR的跨膜结构域与胞质信号转导结构域之间形成键。

[0155] 在一个实施方案中,本发明的CAR中的跨膜结构域是CD28跨膜结构域。在一个实施方案中,CD28跨膜结构域包含SEQ ID NO:15的核酸序列。在一个实施方案中,CD28跨膜结构域包含编码SEQ ID NO:16的氨基酸序列的核酸序列。在另一实施方案中,CD28跨膜结构域包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

[0156] 在一些实施方案中,CD28铰链区连接到CAR的CD28跨膜结构域上。在一个实施方案中,CD28铰链结构域包含SEQ ID NO:13的核酸序列。在一个实施方案中,CD28铰链结构域包含编码SEQ ID NO:14的氨基酸序列的核酸序列。在另一实施方案中,CD28铰链结构域包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列。

#### [0157] 胞内或胞质结构域

[0158] 本发明CAR的胞内信号转导结构域负责激活其中已放置嵌合受体的T细胞的至少一种正常效应子功能。术语“效应子功能”是指分化细胞的特殊功能。例如,T细胞的效应子功能可为细胞溶解活性或辅助活性,包括细胞因子的分泌。幼稚、记忆或记忆型T细胞中的效应子功能包括抗原依赖性增殖。因此,术语“胞内信号转导结构域”是指蛋白质转导效应子功能信号并指导细胞执行特殊功能的部分。尽管通常采用整个胞内信号转导结构域,但在很多情况下不必使用整个胞内多肽。如果胞内信号转导结构域的截短部分可被利用,那么这种截短部分可用来代替完整的链,只要它仍转导效应子功能信号。该术语胞内信号转导结构域因此意图包括胞内信号转导结构域足以转导效应子功能信号的任何截短部分。

[0159] 胞内信号转导结构域的实例包括但不限于T细胞受体(TCR)和共受体的胞质序列(它们在抗原受体结合之后协调用于引发信号转导)以及这些序列的任何衍生物或变体及具有相同功能能力的任何合成序列。已知经由TCR单独产生的信号不足以完全激活T细胞并且还需要第二或共刺激信号。因此,T细胞激活可通过两种不同类别的胞质信号转导序列来介导:通过TCR引发抗原依赖性第一激活的那些(第一胞质信号转导序列)和以抗原非依赖

性方式起作用以提供第二或共刺激信号的那些(第二胞质信号转导序列)。

[0160] 第一胞质信号转导序列以刺激性方式或抑制性方式调节TCR复合物的第一激活。以刺激性方式起作用的第一胞质信号转导序列可含有信号转导基序,被称为基于免疫受体酪氨酸的活化基序或ITAM。

[0161] 特别用于本发明中的含有ITAM的第一胞质信号转导序列的实例包括来源于以下各物质的那些:CD3 $\zeta$ 、FcR  $\gamma$ 、FcR $\beta$ 、CD3  $\gamma$ 、CD3 $\delta$ 、CD3 $\epsilon$ 、CD5、CD22、CD79a、CD79b和CD66d。在一些实施方案中,本发明CAR中的胞质信号转导分子包含来源于CD3 $\zeta$ 的胞质信号转导序列。

[0162] CAR的胞质结构域可被设计以包含CD3- $\zeta$ 信号转导结构域单独或与适用于本发明CAR的情形下的任何其它所需胞质结构域组合。例如,CAR的胞质结构域可包含CD3- $\zeta$ 链部分和共刺激信号转导区或结构域。共刺激信号转导区是指包含共刺激分子的胞内结构域的CAR的一部分。共刺激分子是淋巴细胞对抗原的有效应答所需的细胞表面分子,而非抗原受体或其配体。这种分子的实例包括CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30、CD40、PD-1、ICOS、淋巴细胞功能相关抗原-1(LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、与CD83特异性结合的配体等等。在一些实施方案中,本文所述的CAR包含含有ITAM的CD3- $\zeta$ 结构域与CD28或4-1BB组合作为共刺激信号转导元件。在一些实施方案中,本文所述的CAR包含含有ITAM的CD3- $\zeta$ 结构域与在本发明范围内的至少一个其它共刺激结构域组合。

[0163] 胞内信号转导结构域可包含CD3- $\zeta$ 或其同系物中的任一个(例如, $\eta$ 、 $\delta$ 、 $\gamma$ 或 $\epsilon$ )、MB1链、B29、Fc RIII、Fc RI、及信号转导分子的组合,如,CD3- $\zeta$ 和CD28、CD27、4-1BB、DAP-10、OX40及其组合。可使用活化蛋白家族的其它成员的胞内信号转导部分,如Fc  $\gamma$  RIII和Fc  $\gamma$  RI(关于使用这些替代跨膜和胞内结构域的cTCR的公开内容,参见Gross等人(1992)、Stancovski等人(1993)、Moritz等人(1994)、Hwu等人(1995)、Weijtens等人(1996)及Hekele等人(1996)。

[0164] 本发明CAR的胞质信号转导部分内的胞质信号转导序列可以任何顺序彼此连接。任选地,氨基酸长度优选介于2与10个之间的短的寡肽或多肽接头可形成键。甘氨酸-丝氨酸双联体提供特别合适的接头。抗原特异性胞外结构域与胞内信号转导结构域可通过跨膜结构域如人IgG4Fc铰链和Fc区连接。替代物包括人CD4跨膜结构域、人CD28跨膜结构域、人CD3- $\zeta$ 跨膜结构域、或半胱氨酸突变的人CD3- $\zeta$ 跨膜、或来自其它人跨膜信号转导蛋白的其它跨膜结构域,如CD16和CD8和促红细胞生成素受体。

[0165] 在一些实施方案中,在胞内结构域中利用内源性T细胞受体复合物的任何部分。可采用一个或多个胞质结构域,如所谓的第三代CAR,其具有例如出于相加或协同作用而融合在一起的至少两个或三个信号转导结构域。

[0166] 在一个实施方案中,胞质结构域包含CD3- $\zeta$ 的信号转导结构域和CD28的信号转导结构域。在另一实施方案中,胞质结构域包含CD3- $\zeta$ 的信号转导结构域和4-1BB和/或OX-40的信号转导结构域。

[0167] 在一个实施方案中,本发明的CAR中的胞质结构域包含CD28的信号转导结构域和CD3- $\zeta$ 的信号转导结构域,其中CD28的信号转导结构域包含SEQ ID NO:17中列出的核酸序列且CD3- $\zeta$ 的信号转导结构域包含SEQ ID NO:19中列出的核酸序列。在一个实施方案中,CD28的信号转导结构域包含编码SEQ ID NO:18的氨基酸序列的核酸序列。在另一实施方案中,CD28的信号转导结构域包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列。在一个实施方案中,CD3- $\zeta$ 的

信号转导结构域包含编码SEQ ID NO:20的氨基酸序列的核酸序列。在另一实施方案中,CD3- $\zeta$ 的信号转导结构域包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列。

[0168] 可调节的去稳定结构域

[0169] 利用本发明CAR的可调节的去稳定结构域(RDD)来以时间和/或剂量依赖性方式调节(例如减少)CAR在T细胞表面上的表达。以此方式,CAR T细胞耗竭可被阻止/抑制或逆转,使得CAR T细胞的功能得以保持、恢复或提高(例如,延长的效应子功能)。

[0170] 例如,在一些实施方案中,被基因工程化以表达含有RDD(例如融合至CAR)的CAR的CAR T细胞标记CAR的泛素介导的降解,以便当在结合RDD的稳定小分子存在时,CAR降解得以阻止,且结合RDD的稳定小分子的除去或不存在允许CAR发生降解。在一些实施方案中,经由RDD与CAR的融合调节CAR蛋白水平和CAR表面表达,由此逆转CAR T细胞的耗竭,已经开发了由于滋养CAR信号转导所致的T细胞耗竭的标志。例如,暴露于稳定小分子的CAR T细胞表现出T细胞耗竭的所有表型和功能标志。然而,当通过蛋白质降解除去稳定小分子且使CAR蛋白水平降低时,T细胞耗竭的表型和功能指标被逆转且T细胞功能得以恢复。

[0171] 本发明不限于任何具体的RDD。实际上,在本发明中可使用以下任何RDD,其赋予CAR不稳定性,以便当通过其同源小分子的存在使RDD不稳定(但其在CAR内的结构或存在不会破坏CAR功能)时,发生快速蛋白质降解。RDD的一个非限制性实例衍生自FKBP DD(参见Banaszynski等人,Cell 2006)。含有FKBP RDD的CAR的表面表达可通过在CAR T细胞或用包含FKBP DD的CAR T细胞治疗的生物体中添加或减少稳定rapalog shield-1(S1)而被快速和剂量依赖性调节。RDD的另一非限制性实例衍生自大肠杆菌二氢叶酸还原酶(DHFR),在本文中被称为DHFR DD,其可用稳定小分子药物甲氧苄啶快速和剂量依赖性地调节。如本文所用,在一些实施方案中,使用临床上确定和最佳耐受剂量的甲氧苄啶在体内实现CAR表达(参见Kremers等人,J Clin Pharmacol.1974Feb-Mar; 14(2):112-7)。例如,包含甲氧苄啶控制的DHFR RDD的CAR的最大表达是在约500nM甲氧苄啶下出现,充分在50nM的化合物的EC<sub>50</sub>内。当每天两次给予160mg(1.72 $\mu$ g/mL,约6 $\mu$ M)时,这将充分在甲氧苄啶的平均稳态血浆浓度内。在一些实施方案中,使用低于临床上确定的甲氧苄啶剂量的剂量在体内实现CAR表达。

[0172] 在一些实施方案中,DHFR DD衍生自大肠杆菌DHFR。在一些实施方案中,DHFR DD衍生自人DHFR。类似地,本发明不受所用RDD类型的限制。例如,可使用含有突变的任何DHFR,所述突变实现DHFR结构域及由此附着的任何蛋白质的去稳定。例如,可使用以下任何RDD(DHFR或FKBP DD),其赋予不稳定性/去稳定化,以便当使用例如甲氧苄啶或S1使RDD不稳定(但其在CAR内的结构或存在不会破坏CAR效应子功能)时,发生快速蛋白质降解。在一些实施方案中,使用SEQ ID NO.6的大肠杆菌DHFR DD,其在氨基酸12和100处含有突变。

[0173] 本发明不受RDD在CAR内的位置的限制。例如,在一些实施方案中,RDD在CAR的N端或C端上融合(例如基因连接)。CAR可在RDD融合至CAR的胞内组分、融合至CAR的胞外组分或融合至铰链或跨膜区的情况下表达。CAR的示例性胞内组分包括但不限于共刺激结构域或CD3- $\zeta$ 结构域。在一些实施方案中,胞内结构域是CD3- $\zeta$ 结构域。

[0174] CAR的胞内组分(例如CD3- $\zeta$ )可以随机或指定顺序连接至RDD。任选地,短的寡肽或多肽接头可形成键,所述接头长度优选介于2与10个氨基酸之间。

[0175] CAR表达载体和基因修饰的T细胞

[0176] 本发明包括一种DNA构建体,其包含CAR的序列,其中所述序列包含抗原结合部分的核酸序列(例如肿瘤抗原结合结构域或病原体抗原结合结构域),其可操作地连接至胞内结构域的核酸序列,所述胞内结构域可操作地连接至RDD的核酸序列。可用于本发明CAR中的示例性胞内结构域包括但不限于CD3- $\zeta$ 、CD27、CD28等的胞内结构域。在一些情况下,CAR可包含CD3- $\zeta$ 、CD28、4-1BB等的任何组合。可用于本发明CAR中的示例性DD包括但不限于DHFR DD和FKBP DD。

[0177] 在一个实施方案中,本发明的CAR包含抗GD2 scFv、人CD28铰链和跨膜结构域、及CD28和CD3- $\zeta$ 信号转导结构域。在一个实施方案中,抗GD2 scFv是全人的。在一个实施方案中,本发明的CAR包含SEQ ID NO:7中列出的核酸序列。在另一实施方案中,本发明的CAR包含编码SEQ ID NO:8的氨基酸序列的核酸序列。在另一实施方案中,本发明的CAR包含SEQ ID NO:8中列出的氨基酸序列。

[0178] 在一些实施方案中,本发明的CAR包含SEQ ID NO:23中列出的核酸序列。在另一实施方案中,本发明的CAR包含编码SEQ ID NO:24的氨基酸序列的核酸序列。在另一实施方案中,本发明的CAR包含SEQ ID NO:24中列出的氨基酸序列。

[0179] 在其它实施方案中,本发明的CAR包含SEQ ID NO:39中列出的核酸序列。在另一实施方案中,本发明的CAR包含编码SEQ ID NO:40的氨基酸序列的核酸序列。在另一实施方案中,本发明的CAR包含SEQ ID NO:40中列出的氨基酸序列。

[0180] 在还有一些实施方案中,本发明的CAR包含SEQ ID NO:55中列出的核酸序列。在其它实施方案中,本发明的CAR包含编码SEQ ID NO:56的氨基酸序列的核酸序列。在其它实施方案中,本发明的CAR包含SEQ ID NO:56中列出的氨基酸序列。

[0181] 在还有一些实施方案中,本发明的CAR包含SEQ ID NO:71中列出的核酸序列。在其它实施方案中,本发明的CAR包含编码SEQ ID NO:72的氨基酸序列的核酸序列。在其它实施方案中,本发明的CAR包含SEQ ID NO:72中列出的氨基酸序列。

[0182] 在其它实施方案中,本发明的CAR包含SEQ ID NO:87中列出的核酸序列。在其它实施方案中,本发明的CAR包含编码SEQ ID NO:88的氨基酸序列的核酸序列。在其它实施方案中,本发明的CAR包含SEQ ID NO:88中列出的氨基酸序列。

[0183] 在其它实施方案中,本发明的CAR包含SEQ ID NO:103中列出的核酸序列。在其它实施方案中,本发明的CAR包含编码SEQ ID NO:104的氨基酸序列的核酸序列。在其它实施方案中,本发明的CAR包含SEQ ID NO:104中列出的氨基酸序列。

[0184] 在一些实施方案中,本发明的CAR包含SEQ ID NO:119中列出的核酸序列。在其它实施方案中,本发明的CAR包含编码SEQ ID NO:120的氨基酸序列的核酸序列。在其它实施方案中,本发明的CAR包含SEQ ID NO:120中列出的氨基酸序列。

[0185] 在一些实施方案中,本发明提供分离的核酸区段和并入有DNA序列的表达盒,所述DNA序列编码融合至RDD的CAR。本发明的载体主要被设计用来在调控型真核启动子(例如EF1 $\alpha$ 启动子、MNDU3启动子、CMV启动子或泛素启动子)控制下将所需基因递送到免疫细胞(优选T细胞)。如果没有其它原因,载体也可含有可选标记物,以促进其在体外的操控。在其它实施方案中,CAR可由mRNA表达,mRNA在体外由DNA模板转录。

[0186] 融合至RDD的CAR分子是重组的,并且特征为其经由它们的胞质尾中存在的免疫受体活化基序(ITAM's)结合抗原并转导激活信号的能力。利用抗原结合部分(例如,由单链抗

体(scFv)产生)的CAR构建体提供HLA非依赖性的额外优势:它们不需要通过主要组织相容性复合体(MHC)蛋白呈递抗原,而是以HLA非依赖性方式结合靶细胞表面上的天然抗原。

[0187] 编码所需分子的核酸序列可使用本领域中已知的重组方法获得,例如通过从表达基因的细胞中筛选文库、通过使用标准技术从已知包含所述基因的载体中衍生基因、或通过从含有所述基因的细胞和组织中直接分离。或者,目标基因可合成产生,而非克隆产生。

[0188] 本发明还提供了其中插入有本发明的DNA的载体。衍生自逆转录病毒如慢病毒的载体是实现长期基因转移的合适工具,因为它们允许转殖基因的长期、稳定整合及其在子细胞中的增殖。慢病毒载体比衍生自肿瘤逆转录病毒如鼠白血病病毒的载体具有额外的优势,因为它们可转导非增殖细胞,如肝细胞。它们还具有低免疫原性的额外优势。在另一实施方案中,所需CAR可通过转座子在细胞中表达。

[0189] 编码CAR的天然或合成核酸的表达通常通过将编码CAR多肽或其部分的核酸可操作地连接到启动子上并将构建体并入到表达载体中来实现。载体可适用于复制并整合到真核生物中。典型的克隆载体含有适用于调节所需核酸序列的表达的转录和翻译终止子、起始序列和启动子。

[0190] 本发明的表达构建体还可使用标准基因递送方案用于核酸免疫和基因疗法。基因递送方法是本领域中已知的。参见,例如美国专利号5,399,346、5,580,859、5,589,466,它们以引用的方式整体并入本文。在另一实施方案中,本发明提供了一种基因治疗载体。

[0191] 核酸可被克隆到许多类型的载体中。例如,核酸可被克隆到包括但不限于以下的载体中:质粒、噬菌粒、噬菌体衍生物、动物病毒和粘粒。特别关注的载体包括表达载体、复制载体、探测生成载体和测序载体。

[0192] 此外,表达载体可提供给呈病毒载体形式的细胞。病毒载体技术是本领域中公知的并且描述于例如Sambrook等人(2001,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory,New York)及其它病毒学和分子生物学手册中。适用作载体的病毒包括但不限于逆转录病毒、腺病毒、腺相关病毒、疱疹病毒和慢病毒。一般说来,合适的载体含有在至少一个生物体中有功能的复制起点、启动子序列、方便的限制性内切酶位点和一个或多个可选标记物(例如,WO 01/96584;WO 01/29058;和美国专利号6,326,193)。

[0193] 已经开发了许多基于病毒的系统,用于将基因转移到哺乳动物细胞中。例如,逆转录病毒为基因递送系统提供了一个方便的平台。可将所选基因插入载体中并使用本领域中已知的技术包装于逆转录病毒粒子中。接着可将重组病毒分离并在体内或离体递送到受试者的细胞中。许多逆转录病毒系统是本领域中已知的。在一些实施方案中,使用慢病毒载体。在其它实施方案中,使用腺病毒载体。许多腺病毒载体是本领域中已知的。

[0194] 额外的启动子元件,例如增强子,可用来调节转录起始的频率。通常,这些启动子位于起始位点上游30-110bp的区域,尽管最近发现许多启动子也含有起始位点下游的功能元件。启动子元件之间的间距通常是灵活的,以便当元件相对倒置或移动时,启动子的功能得以保留。在胸苷激酶(tk)启动子中,启动子元件之间的间距可在活性开始减退之前增至相隔50bp。单一元件可以协同或独立地激活转录。

[0195] 在一些实施方案中,载体包含启动子。在一些实施方案中,启动子是组成型启动子。在一些实施方案中,组成型启动子包含立即早期巨细胞病毒(CMV)启动子序列。此启动子序列是强组成型启动子序列,其能够驱动与其可操作连接的任何多核苷酸序列的高水平

表达。在一些实施方案中,组成型启动子包含真核翻译延伸因子-1 $\alpha$ 启动子序列。在一些实施方案中,组成型启动子选自由以下组成的组:猿猴病毒40(SV40)早期启动子、小鼠乳腺肿瘤病毒(MMTV)、人免疫缺陷病毒(HIV)长末端重复(LTR)启动子、MoMuLV启动子、禽白血病病毒启动子、埃-巴二氏病毒立即早期启动子、及劳氏肉瘤病毒启动子。在一些实施方案中,组成型启动子选自由以下组成的组:肌动蛋白I启动子、肌球蛋白启动子、血红蛋白启动子、及肌酸激酶启动子。在一些实施方案中,启动子是诱导型启动子。诱导型启动子的使用提供一种分子开关,能够在需要这种表达时开启与其可操作连接的多核苷酸序列的表达,或在不需要表达时关闭表达。诱导型启动子的实例包括但不限于金属硫蛋白启动子、糖皮质激素启动子、黄体酮启动子、及四环素启动子。

[0196] 为了评估CAR多肽或其部分的表达,有待引入细胞中的表达载体还可含有可选标记物基因或报告基因或这两者以促进来自设法通过病毒载体转染或感染的细胞群的表达细胞的鉴别和选择。在其它方面中,可选标记物可携带于单独的DNA片上并用于共转染工序中。可选标记物和报告基因皆可侧接有适当的调控序列以便在宿主细胞中实现表达。有用的可选标记物包括例如抗生素抗性基因,如neo等。

[0197] 报告基因用于鉴别潜在转染的细胞并用于评价调控序列的功能。一般说来,报告基因是不存在于接受者生物体或组织中或不由其表达的基因,其编码一种多肽,该多肽的表达通过一些容易检测的特性(例如酶活性)来表现。在DNA已被引入接受者细胞中之后的合适时间下测定报告基因的表达。合适的报告基因可包括编码荧光素酶、 $\beta$ -半乳糖苷酶、氯霉素乙酰转移酶、分泌型碱性磷酸酶的基因、或绿色荧光蛋白基因(例如,Ui-Tei等人,2000FEBS Letters 479:79-82)。合适的表达系统是公知的并且可使用已知的技术制备或可商购获得。一般说来,具有示出了报告基因的最高表达水平的最小5'侧翼区的构建体被鉴定为启动子。这种启动子区可连接到报告基因上并用于评价因子调节启动子驱动的转录的能力。

[0198] 将基因引入并在细胞中表达的方法是本领域中已知的。在表达载体的情形下,载体可易于通过本领域中的任何方法引入宿主细胞(例如哺乳动物、细菌、酵母或昆虫细胞)中。例如,表达载体可通过物理、化学或生物手段转移到宿主细胞中。

[0199] 用于将多核苷酸引入到宿主细胞中的物理方法包括磷酸钙沉淀、脂质转染、粒子轰击、显微注射、电穿孔等等。产生包含载体和/或外源性核酸的细胞的方法是本领域中公知的。参见,例如Sambrook等人(2001,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory,New York)。用于将多核苷酸引入到宿主细胞中的一种优选方法是磷酸钙转染。

[0200] 用于将多核苷酸引入到宿主细胞中的化学手段包括胶体分散系统,如大分子复合物、纳米胶囊、微球体、珠粒、和基于脂质的系统,包括水包油乳液、胶束、混合胶束和脂质体。用作体外和体内递送媒介物的示例性胶体系统是脂质体(例如,人工膜囊泡)。

[0201] 在其中利用非病毒递送系统的情况下,示例性递送媒介物是脂质体。预期使用脂质制剂将核酸引入到宿主细胞中(体外、离体或体内)。另一方面,核酸可与脂质相关。与脂质相关的核酸可被封装于脂质体的水性内部;散布于脂质体的脂质双层内;经由与脂质体和寡核苷酸相关的连接分子附着于脂质体;截留于脂质体中;与脂质体复合;分散在含有脂质的溶液中;与脂质混合;与脂质组合;以悬浮液形式包含在脂质中;与胶束一起包含或复



合;或以其它方式与脂质相关。脂质、脂质/DNA或脂质/表达载体相关的组合物不限于溶液中的任何具体结构。例如,它们可以胶束形式存在于双层结构中,或以“塌陷”结构存在。它们也可仅散布于溶液中,可能形成尺寸或形状不均匀的聚集体。脂质是可天然存在的脂肪物质或合成脂质。例如,脂质包括天然存在于胞质中的脂肪液滴以及包含长链脂肪烃及其衍生物(如脂肪酸、醇类、胺类、氨基醇类和醛类)的化合物类别。

[0202] 适合使用的脂质可从商业来源获得。举例来说,二肉豆蔻基磷脂酰胆碱(“DMPC”)可获自Sigma, St. Louis, Mo.; 磷酸二鲸蜡脂(“DCP”)可获自K&K Laboratories (Plainview, N.Y.); 胆固醇(“Choi”)可获自Calbiochem-Behring; 二肉豆蔻基磷脂酰甘油(“DMPG”)及其它脂质可获自Avanti Polar Lipids, Inc. (Birmingham, Ala.)。“脂质体”是一个通用术语,包括各种单层和多层脂质媒介物,它们是通过生成封闭的脂质双层或聚集体而形成。脂质体可表征为具有囊泡结构,具有磷脂双层膜和内部水介质。多层脂质体具有由水介质分隔的多个脂质层。当磷脂悬浮于过量的水溶液中时,它们会自发形成。脂质组分在形成封闭结构之前经历自身重排并在脂质双层之间截留水和溶解溶质(Ghosh等人, 1991Glycobiology 5:505-10)。然而,还涵盖在溶液中具有与正常多孔结构不同的结构的组合物。例如,脂质可呈现胶束结构,或者仅仅作为脂质分子的不均匀聚集体而存在。还包括脂质体转染-核酸复合物。

[0203] 在一些实施方案中,使用慢病毒或逆转录病毒载体将编码CAR构建体的核酸递送到细胞中。可使用转导细胞作为传递体或封装、结合或裸载体的无细胞局部或全身递送将表达CAR的慢病毒或腺病毒载体递送到不同类型的真核细胞以及组织和完整的生物体中。所用的方法可用于需要或充分使用稳定表达的目的。

[0204] 在另一实施方案中,所需CAR可经由转座子在细胞中表达。

[0205] 所公开的方法可用于基础研究和疗法中T细胞活性的调节,用于癌症、干细胞、急性和慢性感染、及自身免疫疾病的领域中,包括评估基因修饰的T细胞杀灭靶癌细胞的能力。

[0206] T细胞的类型和来源

[0207] 一方面,本文所提供的CAR T细胞是自体CAR T细胞。在一些实施方案中,自体CAR T细胞是由从有待治疗的受试者或患者处获得的T细胞制成。在一些实施方案中,从包括以下的样品中分离由受试者获得的T细胞:外周血单核细胞、骨髓、淋巴结组织、脐带血、胸腺组织、来自感染部位的组织、腹水、胸腔积液、脾脏组织、和肿瘤。在某些实施方案中,可使用本领域中可获得的许多T细胞株。在本发明的某些实施方案中,T细胞可使用熟练技术人员已知的许多技术(如FICOLL™分离)由从受试者处收集的血液单位获得。在一些实施方案中,通过单采获得来自个体的循环血液的细胞。单采产物通常含有淋巴细胞,包括T细胞、单核细胞、粒细胞、B细胞、其它有核白细胞、红细胞和血小板。在一个实施方案中,可对通过单采收集的细胞进行洗涤以除去血浆部分并将细胞置于适当的缓冲液或介质用于后续加工步骤。在本发明的一个实施方案中,用磷酸盐缓冲盐水(PBS)洗涤细胞。在一个替代实施方案中,洗涤溶液缺少钙、镁及其它二价阳离子。洗涤之后,可将细胞再悬浮于多种生物相容性缓冲液中,例如像无Ca<sup>2+</sup>、无Mg<sup>2+</sup>的PBS、PlasmaLyte A或有或没有缓冲液的其它盐水溶液。或者,可除去单采样品的不需要的组分并将细胞直接再悬浮于培养基中。

[0208] 在另一实施方案中,通过溶解红细胞并耗尽单核细胞,例如通过经由PERCOLL™梯



度的离心或通过逆流离心淘析从外周血单核细胞中分离T细胞。

[0209] 可通过阳性或阴性选择技术进一步分离T细胞的特定亚群。T细胞的示例性亚群包括CD3<sup>+</sup>、CD28<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD45RA<sup>+</sup>和CD45RO<sup>+</sup>T细胞。例如,在一个实施方案中,T细胞通过用抗CD3/抗CD28缀合的珠粒如DYNABEADS™ M-450 CD3/CD28 T培育持续足以阳性选择所需T细胞的时期来分离。在一个实施方案中,时期为约30分钟。在又一实施方案中,时期在30分钟至36小时或更长的范围内及介于其间的所有整数值。在又一实施方案中,时期是至少1、2、3、4、5或6小时。在仍另一优选实施方案中,时期是10至24小时。在一个优选实施方案中,培育时期是24小时。对于从患有白血病的患者中分离T细胞,使用更长的培育时间如24小时可提高细胞产率。更长的培育时间可在以下任何情形下用于分离T细胞:与其它细胞类型相比存在较少的T细胞,如在从肿瘤组织或从免疫低下的个体中分离肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)时。此外,使用更长的培育时间可提高捕获CD8<sup>+</sup> T细胞的效率。因此,仅仅通过缩短或延长允许T细胞结合至CD3/CD28珠粒的时间和/或通过提高或降低珠粒与T细胞的比率,T细胞亚群可优先地在培养开始时或在过程期间的其它时间点进行选择。另外,通过提高或降低在珠粒或其它表面上的抗CD3和/或抗CD28抗体的比率,T细胞亚群可优先地在培养开始时或在其它所需时间点进行选择。熟练技术人员认识到在本发明的情形下也可进行多轮选择。在某些实施方案中,希望进行选择工序并在激活及扩增过程中使用“未选择的”细胞。“未选择的”细胞还可经受更多轮的选择。

[0210] 通过阴性选择富集T细胞群可通过针对阴性选择的细胞特有的表面标记物的抗体的组合来实现。一种方法是经由负磁性免疫粘附或流式细胞术进行的细胞分选和/或选择,其使用针对存在于阴性选择的细胞上的细胞表面标记物的单克隆抗体的混合物。例如,为了通过阴性选择富集CD4<sup>+</sup>细胞,单克隆抗体混合物通常包含针对CD14、CD20、CD11b、CD16、HLA-DR和CD8的抗体。在某些实施方案中,有望富集或阳性选择调节性T细胞,其通常表达CD4<sup>+</sup>、CD25<sup>+</sup>、CD62L<sup>hi</sup>、GITR<sup>+</sup>和FoxP3<sup>+</sup>。或者,在某些实施方案中,T调节性细胞通过抗C25缀合的珠粒或其它类似的选择方法而耗尽。

[0211] T细胞也可在洗涤步骤之后被冷冻。在一些实施方案中,冷冻及随后的解冻步骤通过除去细胞群中的粒细胞及某种程度上的单核细胞,提供了更均匀的产物。在除去血浆和血小板的洗涤步骤之后,可将细胞悬浮于冷冻溶液中。

[0212] 在某些实施方案中,如本文所述对低温保存的细胞解冻并洗涤并且允许其在根据本发明方法使用之前在室温下静息(例如,持续一小时或更久)。

[0213] 本发明的情形还涵盖在可能需要如本文所述的扩增细胞之前的一段时间从受试者中收集血液样品或单采产物。因而,有待扩增的细胞的来源可在任何必需的时点下收集,且分离并冷冻所需细胞如T细胞以备后面在用于将受益于T细胞疗法的许多疾病或病状(如本文所述的那些)的T细胞疗法中使用。在一个实施方案中,血液样品或单采是取自总体健康的受试者。在某些实施方案中,血液样品或单采成分是取自处于发生疾病的风险中但尚未发生疾病的总体健康的受试者,并且将目标细胞分离并冷冻待用。在某些实施方案中,T细胞可被扩增、冷冻并在以后使用。在某些实施方案中,样品是在诊断出如本文所述的特定疾病之后不久,但在任何治疗之前,从患者处采集。

[0214] T细胞的激活和扩增

[0215] 不管是在为了表达所需CAR而对T细胞进行基因修饰之前抑或之后,一般可使用如

以下专利中所述的方法来激活并扩增T细胞:美国专利号6,352,694;6,534,055;6,905,680;6,692,964;5,858,358;6,887,466;6,905,681;7,144,575;7,067,318;7,172,869;7,232,566;7,175,843;5,883,223;6,905,874;6,797,514;6,867,041;及美国专利申请公布号20060121005,其各自以引用的方式并入。

[0216] 一般说来,本发明的T细胞可通过与其上连接有的刺激CD3/TCR复合物相关信号的因子及刺激T细胞表面上的共刺激分子的配体的表面接触而扩增。具体地说,T细胞群可如本文所述被刺激,如通过与抗CD3抗体或其抗原结合片段或固定在表面上的抗CD28抗体接触,或通过与蛋白激酶C激动剂(例如苔藓抑素)连同钙离子载体一起接触。对于T细胞表面上的辅助分子的共刺激,使用结合辅助分子的配体。例如,T细胞群可与抗CD3抗体和抗CD28抗体在适于刺激T细胞增殖的条件下接触。为了刺激CD4<sup>+</sup> T细胞或CD8<sup>+</sup> T细胞的增殖,使用抗CD3抗体和抗CD28抗体。可使用抗CD28抗体的实例如B-T3、XR-CD28(Diaclone, Besancon, France),以及本领域中通常已知的其它方法(参见Berg等人,Transplant Proc.30(8):3975-3977,1998;Haanen等人,J.Exp.Med.190(9):1319-1328,1999;Garland等人,J.Immunol Meth.227(1-2):53-63,1999)。

[0217] 在某些实施方案中,T细胞的第一刺激信号和共刺激信号可由不同方案提供。例如,提供每个信号的因子可在溶液中或偶联到表面上。当偶联到表面上时,因子可偶联到相同的表面(即,“顺式”构造)或单独的表面(即,“反式”构造)上。或者,一种因子可偶联到表面上且另一种因子在溶液中。在一个实施方案中,提供共刺激信号的因子结合到细胞表面上,而提供第一激活信号的因子在溶液中或偶联到表面上。在某些实施方案中,两种因子可都在溶液中。在另一实施方案中,这些因子可呈可溶形式,然后交联到表面上,如表达Fc受体或抗体或将结合至因子的其它结合因子的细胞。就此而言,关于预期在本发明中用于激活并扩增T细胞的人工抗原呈递细胞(aAPC),参见例如美国专利申请公布号20040101519和20060034810。

[0218] 在一个实施方案中,将两种因子固定在珠粒上,在同一珠粒上,即“顺式”,或单独的珠粒上,即“反式”。举例来说,提供第一激活信号的因子是抗CD3抗体或其抗原结合片段且提供共刺激信号的因子是抗CD28抗体或其抗原结合片段;且两种因子以相等的分子量共固定于同一珠粒上。

[0219] 在本发明的其它实施方案中,T细胞与包被因子的珠粒组合,随后将珠粒与细胞分离,然后培养细胞。在一个替代实施方案中,在培养之前,不分离包被因子的珠粒与细胞,但在一起培养。在又一实施方案中,首先将珠粒和细胞通过施加力如磁力来浓缩,使得细胞表面标记物的联接增强,由此诱导细胞刺激。

[0220] 例如,细胞表面蛋白可通过允许抗CD3和抗CD28所连接的顺磁性珠粒与T细胞接触而被联接。在一个实施方案中,将细胞(例如,10<sup>4</sup>至10<sup>9</sup>个T细胞)与珠粒(例如,DYNABEADS<sup>TM</sup> M-450 CD3/CD28 T顺磁性珠粒,比率1:1)在缓冲液、优选PBS(无二价阳离子,如钙和镁)中组合。因此,任何细胞数目都在本发明的情形中。在某些实施方案中,希望显著减小粒子与细胞混合在一起的体积(即,提高细胞的浓度),以确保细胞与粒子的最大接触。例如,在一个实施方案中,使用约20亿个细胞/ml的浓度。在另一实施方案中,使用大于1亿个细胞/ml。在又一实施方案中,使用10、15、20、25、30、35、40、45或50百万个细胞/ml的细胞浓度。在仍另一实施方案中,使用75、80、85、90、95或100百万个细胞/ml的细胞浓度。在其它实施方案

中,可使用125或150百万个细胞/ml的浓度。

[0221] 在本发明的一个实施方案中,可培养混合物若干小时(约3小时)至约14天或其间的任何小时整数值。在另一实施方案中,可培养混合物21天。在本发明的一个实施方案中,将珠粒与T细胞一起培养约8天。在另一实施方案中,将珠粒与T细胞一起培养2-3天。也可能需要几个周期的刺激,以使T细胞的培养时间可达60天或更长。适于T细胞培养的条件包括适当的培养基(例如,最低必需培养基或RPMI培养基1640或X-vivo 15(Lonza)),其可含有增殖和生存力所必需的因子,包括血清(例如,胎牛或人血清)、白介素-2(IL-2)、胰岛素、IFN- $\gamma$ 、IL-4、IL-7、GM-CSF、IL-10、IL-12、IL-15、TGF $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 或熟练技术人员已知用于细胞生长的任何其他添加剂。用于细胞生长的其他添加剂包括但不限于表面活性剂、人血浆蛋白粉、和还原剂,如N-乙酰基-半胱氨酸和2-巯基乙醇。培养基可包括RPMI 1640、AIM-V、DMEM、MEM、 $\alpha$ -MEM、F-12、X-Vivo 15、和X-Vivo 20、Optimizer,添加有氨基酸、丙酮酸钠和维生素,无血清或补充有适量的血清(或血浆)或确定的激素组、和/或对于T细胞的生长和扩增来说足够的细胞因子之量。也可包括抗生素,例如青霉素和链霉素。靶细胞在支持生长所必需的条件下维持,例如适当的温度(例如37C)和氛围(例如空气加上5%CO<sub>2</sub>)。

[0222] 如本文所述,当CAR在T细胞表面上表达时,CAR T细胞在肿瘤抗原不存在下进行滋养信号转导。滋养信号转导通过蛋白质印迹来证明,其中CAR CD3- $\zeta$ 结构域在基线处被磷酸化(参见实施例2,图16)。滋养信号转导造成T细胞耗竭,致使CAR T细胞无效。滋养信号转导在RDD-CAR T细胞中通过在稳定药物不存在下对所述细胞进行扩增得以阻止。当CAR表达减少或受抑制且不在T细胞表面上表达(在适当的小分子不存在下-在此情况下,shield-1-CAR不在细胞表面上表达-“总是关闭”)时,或如果CAR在某点处表达,但随后从表面处移走并持续一段时间(例如,72小时-CAR关闭D7),则观察到CD3- $\zeta$ 磷酸化的减弱。此外,当CAR不在表面上表达(无shield-1,“CAR总是关闭”)或在shield-1中培养7天然后除去时,仅观察到一小部分共表达耗竭标记物的细胞(参见实施例2,图17)。因此,在一些实施方案中,本发明提供一种使用本发明的RDD-CAR抑制CAR表达的方法,通过阻止或逆转CAR滋养信号转导,对CAR T细胞如何在转录水平上被调控产生深远的影响。

[0223] 因此,在一些实施方案中,因为CAR在抗原不存在下(例如培养期间)进行滋养信号转导,所以在无稳定药物下扩增RDD-CAR T细胞以使表面上的CAR表达受到抑制,这将在RDD-CAR T细胞被治疗性地用于患者时加强与其中CAR连续表达(例如当在体外或离体扩增时)的T细胞相比CAR T细胞的效应子功能。

[0224] 在一些实施方案中,与其中在体外扩增期间CAR表达不受抑制的CAR T细胞相比,在体外扩增期间CAR表达受抑制将产生和/或得到更健康的、更具功能性的CAR T细胞(例如,具有正常的效应子功能)。因此,在一些实施方案中,在培养和扩增期间,通过添加药物以增加表达或除去药物以减少表达来调节(例如减少)含有包含RDD(例如,受甲氧苄啶调节的DHFR DD)的本发明CAR的T细胞中的CAR表达。在一些实施方案中,在培养和/或扩增期间抑制CAR表达将在体外抑制滋养信号转导,得到或产生在治疗受试者的病状或疾病的情形下具有与其中滋养信号转导不受抑制的T细胞相比更佳的效应子功能的T细胞。

[0225] 暴露于不同刺激时间的T细胞可能表现出不同的特征。例如,典型的血液或单采的外周血单核细胞产物具有大于细胞毒性或抑制性T细胞群(T<sub>C</sub>,CD8+)的辅助T细胞群(T<sub>H</sub>,CD4+ )。通过刺激CD3和CD28受体来离体扩增T细胞将产生T细胞群,在约8-9天之前,其主要由T<sub>H</sub>

细胞组成,而在约8-9天之后,T细胞群包含越来越多的T<sub>C</sub>细胞群。因此,根据治疗目的,将主要包含T<sub>H</sub>细胞的T细胞群注入受试者可为有利的。类似地,如果已分离出T<sub>C</sub>细胞的抗原特异性子集,则以更大程度扩增此子集可为有益的。

[0226] 此外,除CD4和CD8标记物之外,其它表型标记也有显著差异,但在很大程度上,在细胞扩增过程中是可重现的。因此,这种重现性使得能够为特定目的定制活化的T细胞产物。

[0227] 治疗应用

[0228] 在一些实施方案中,本发明提供一种细胞(例如T细胞),其被修饰以表达CAR,所述CAR将特异性抗体的抗原识别结构域与CD3- $\zeta$ 、CD28、4-1BB或其任何组合的胞内结构域和RDD组合在一起。因此,在其靶抗原存在下,修饰的T细胞引发CAR介导的T细胞应答。

[0229] 本发明提供了CAR将原代T细胞的特异性重定向到肿瘤抗原的用途。因此,本发明还提供了一种用于在受试者中刺激针对靶细胞群或组织的T细胞介导的免疫应答的方法,所述方法包括向受试者施用表达CAR的T细胞,其中所述CAR包含与预定靶标特异性相互作用的结合部分、包含例如人CD3- $\zeta$ 的胞内结构域的 $\zeta$ 链部分、共刺激信号转导区、和RDD。

[0230] 在一些实施方案中,本发明提供了一种细胞疗法,其中T细胞被基因修饰以表达含有RDD的CAR并且向有此需要的接受者输注CAR T细胞。所输注的细胞能够杀灭接受者中表达CAR T细胞靶抗原的肿瘤细胞。与其它生物疗法不同,CAR T细胞能够在体内复制,产生长期的持久性,从而实现对肿瘤的持续控制。在一些实施方案中,包含含有RDD的CAR的CAR T细胞展示延长的抗肿瘤应答(例如,与包含缺少RDD的CAR的CAR T细胞相比)。在一些实施方案中,在CAR内包含RDD充当一种安全开关来抑制CAR T细胞活性/功能(例如用于减轻CAR毒性)。例如,在一些实施方案中,稳定小分子或药物(例如甲氧苄啶)从CAR T细胞中的除去造成CAR在CAR T细胞表面上的表达快速减少或抑制,由此有效地关闭或阻止CAR T细胞的靶向和效应子功能。具体地说,如实施例2中所示,观察到IC<sub>50</sub> (50%表面CAR降解所耗费的时间)在稳定药物/分子不存在下小于2小时(参见实施例2,图13)。因此,在一些实施方案中,从接受DD-CAR的患者处移除稳定药物,可以充当快速和可逆的安全开关。因此,在一些实施方案中,本发明提供了减轻或消除可能在CAR T细胞疗法时发生的毒性事件的能力,如但不限于细胞因子释放综合征(CRS)或中靶脱肿瘤毒性。此外,在中靶脱肿瘤毒性的情形下,在一些实施方案中,本发明使得可能实现以下能力:向下滴定稳定药物的剂量以便CAR T细胞疗法识别所需靶标(例如肿瘤抗原)而不识别健康组织。

[0231] 在一个实施方案中,本发明的CAR T细胞经历稳固的体内T细胞扩增并且持续一段延长的时间。在另一实施方案中,本发明的CAR T细胞进化为特异性记忆T细胞,其可被重新激活以抑制任何另外的肿瘤形成或生长。例如,本发明的GD2特异性CAR T细胞可经历稳固的体内T细胞扩增并且以高水平在血液和骨髓中持续一段延长的时间并形成特异性记忆T细胞。

[0232] 由CAR修饰的T细胞引发的抗肿瘤免疫应答可以是主动或被动的免疫应答。另外,CAR介导的免疫应答可以是过继性免疫疗法的一部分,其中CAR修饰的T细胞诱导对CAR中的抗原结合部分有特异性的免疫应答。例如,GD2特异性CAR T细胞引发针对表达GD2的细胞有特异性的免疫应答。

[0233] 虽然本文所公开的数据具体地描述了包含抗GD2 scFv(例如14G2a scFv)、CD28铰

链和跨膜结构域、CD28和CD3- $\zeta$ 信号转导结构域、及FKBP或DHFR的RDD的慢病毒载体,但本发明应被解释为包括如本文别处所述的构建体的每种组分的许多变型。也就是说,本发明包括CAR中的任何抗原结合部分产生对所述抗原结合部分有特异性的CAR介导的T细胞应答的用途。例如,本发明CAR中的抗原结合部分出于治疗癌症的目的可靶向肿瘤抗原。类似地,本发明包括CAR中的任何铰链、跨膜结构域、刺激结构域和/或可调节的去稳定结构域产生CAR介导的T细胞应答的用途。实际上,本文所述的方法提供了表征及鉴别CAR T细胞的能力,所述CAR T细胞具有所需的效应子功能并且可经由将RDD并入CAR中被调节。

[0234] 在一个实施方案中,本发明的CAR的抗原结合部分被设计来治疗特定癌症。GD2在包括神经母细胞瘤、骨肉瘤及一些肉瘤的多种癌症上表达(参见,例如Thomas等人,PLoS One,2016.11(3):p.e0152196;Long等人,Nature Medicine,2015.21(6):p.581-590;Long等人,Cancer Immunology Research,2016.4(10):p.869-880;Yu等人,N Engl J Med,2010.363(14):p.1324-34;Perez Horta等人,Immunotherapy,2016.8(9):p.1097-117;Heczey等人,Molecular Therapy)。因此,被设计来靶向GD2的CAR可用于治疗任何疾病或病症,包括神经母细胞瘤、骨肉瘤及其它肉瘤,它们都以展示或过度表达GD2的细胞和/或组织为特征。然而,本发明不限于靶向GD2。实际上,本发明包括任何抗原结合部分,当它们结合至其同源抗原时影响肿瘤细胞以使得肿瘤细胞不能生长、趋于死亡,或以其它方式受影响以使得患者中的肿瘤负荷降低或消除。例如,FR $\alpha$ 是糖基磷脂酰肌醇锚定的蛋白,其在多种上皮恶性肿瘤的癌细胞表面上过度表达,但在正常组织中受限。因而,被设计来靶向FR $\alpha$ 的CAR可用于治疗任何疾病或病症,包括但不限于上皮癌,其以展示FR $\alpha$ 过度表达的细胞和/或组织为特征。举例来说,被设计来靶向FR $\alpha$ 的CAR可用于治疗癌症和病症,包括但不限于卵巢癌、肺癌、乳腺癌、肾癌、结肠直肠癌、其它实体癌等。

[0235] 本发明的CAR修饰的T细胞也可充当一种用于哺乳动物中的离体免疫和/或体内治疗的疫苗类型。哺乳动物优选是人。关于离体免疫,在向哺乳动物施用细胞之前,以下至少一项在体外发生:i) 扩增细胞,ii) 将编码CAR的核酸引入细胞中,和/或iii) 低温保存细胞。

[0236] 离体工序是本领域中公知的。简言之,将细胞从哺乳动物(优选人)中分离并用表达本文所公开的CAR的载体进行基因修饰(即体外转导或转染)。向哺乳动物接受者施用CAR修饰的细胞以提供治疗益处。所述哺乳动物接受者可为人并且CAR修饰的细胞对于接受者可为自体的。或者,细胞对于接受者可为同种异体的、同系的或异种的。

[0237] 用于离体扩增造血干细胞和祖细胞的工序描述于美国专利号5,199,942中,该专利以引用的方式并入本文,并且所述工序可用于本发明的细胞。本发明不限于细胞离体扩增的任何具体方法。简言之,T细胞的离体培养和扩增包括:(1) 从哺乳动物的外周血收获物或骨髓外植体中收集CD34+造血干细胞和祖细胞;及(2) 离体扩增这种细胞。除了美国专利号5,199,942中所述的细胞生长因子之外,其它因子如flt3-L、IL-1、IL-3及c-kit配体也可用于培养和扩增细胞。

[0238] 除使用基于细胞的疫苗进行离体免疫之外,本发明还提供用于体内免疫以在患者中引发针对抗原的免疫应答的组合物和方法。

[0239] 具体地说,本发明的CAR修饰的T细胞用于治疗癌症。在某些实施方案中,本发明的细胞用于治疗处于发生癌症的风险中的患者。因此,本发明提供用于治疗或预防癌症的方法,所述方法包括向有此需要的受试者施用治疗有效量的本发明的CAR修饰的T细胞。

[0240] 本发明的CAR修饰的T细胞可单独或作为与稀释剂和/或其它组分如IL-2或其它细胞因子或细胞群组合的药物组合物来施用。简言之,本发明的药物组合物可包含如本文所述的CAR T细胞与一种或多种药学上或生理上可接受的载剂、稀释剂或赋形剂组合。这类组合物可包含缓冲液,如中性缓冲盐水、磷酸盐缓冲盐水等;糖,如葡萄糖、甘露糖、蔗糖或葡聚糖、甘露醇;蛋白质;多肽或氨基酸,如甘氨酸;抗氧化剂;螯合剂,如EDTA或谷胱甘肽;佐剂(例如氢氧化铝);及防腐剂。本发明组合物优选被配制用于静脉内施用。

[0241] 本发明的药物组合物可以适于待治疗(或预防)的疾病的方式施用。施用的量和频率将由以下因素决定,如患者的状况、及患者的疾病类型和严重程度,不过适当的剂量可通过临床试验确定。

[0242] 当指出“免疫有效量”、“抗肿瘤有效量”、“肿瘤抑制有效量”或“治疗量”时,有待施用的本发明组合物的精确量可由医师在考虑了以下个体差异后确定:患者(受试者)的年龄、体重、肿瘤大小、感染或转移的程度、及情况。包含本文所述的CAR T细胞的药物组合物可以如下剂量施用: $10^4$ 至 $10^9$ 个细胞/公斤体重、优选 $10^5$ 至 $10^6$ 个细胞/公斤体重,包括在这些范围内的所有整数值。T细胞组合物也可以这些剂量多次施用。这些细胞可通过使用免疫疗法中通常已知的输注技术来施用(参见,例如Rosenberg等人,New Eng.J.of Med.319:1676,1988)。对于特定患者的最佳剂量和治疗方案可容易由本领域普通技术人员通过监测患者的疾病体征并相应地调整治疗来确定。

[0243] 在某些实施方案中,可能希望向受试者施用基因修饰的T细胞,然后重新抽取血液(或执行单采),激活根据本发明由此获得的T细胞,并且将这些激活和扩增的T细胞重新注入患者中。这个过程可以每隔几周进行多次。

[0244] 本文所述的组合物的施用可以任何便利的方式进行。在一些实施方案中,本发明的T细胞组合物优选通过静脉内注射施用。然而,所述施用不仅限于此途径。T细胞组合物可直接注射到肿瘤、淋巴结或感染部位中。本文所述的组合物可向患者皮下、真皮内、肿瘤内、结内、髓内、肌内、通过静脉内(i.v.)注射或腹膜内施用。组合物还可例如通过注射、输注、植入或移植施用。

[0245] 在本发明的某些实施方案中,向患者施用使用本文所述的方法或本领域中已知的其它方法(其中T细胞被扩增到治疗水平)激活并扩增的细胞连同(例如,之前、同时或之后)许多治疗模式(例如用于癌症或感染性疾病)一起。示例性治疗模式包括但不限于用试剂如抗病毒剂、西多福韦和白介素-2的治疗;用于MS患者的阿糖胞苷(也称为ARA-C)或那他珠单抗治疗;或用于银屑病患者的依法珠单抗治疗。在其它实施方案中,本发明的T细胞可与以下治疗组合使用:化疗、放射线、免疫抑制剂如环孢素、硫唑嘌呤、甲氨蝶呤、霉酚酸和FK506;抗体或其它免疫清除剂如CAM PATH、抗CD3抗体或其它抗体疗法、细胞毒素、氟达拉滨、环孢素、FK506、雷帕霉素、霉酚酸、类固醇、FR901228、细胞因子和辐射。这些药物抑制钙依赖性磷酸酶-钙调磷酸酶(环孢素和FK506)或抑制对于生长因子诱导的信号转导来说重要的p70S6激酶(雷帕霉素)(Liu等人,Cell 66:807-815,1991;Henderson等人,Immun.73:316-321,1991;Bierer等人,Curr.Opin.Immun.5:763-773,1993)。在又一实施方案中,向患者施用本发明的细胞组合物连同(例如,之前、同时或之后)以下治疗一起:骨髓移植;使用化疗剂如氟达拉滨、体外射束放射治疗(XRT)、环磷酰胺或抗体如OKT3或CAMPATH的T细胞清除疗法。在另一实施方案中,在B细胞清除疗法如与CD20反应的试剂(例如Rituxan)之后施

用本发明的细胞组合物。例如,在一个实施方案中,受试者可接受高剂量化疗的标准治疗,继之外周血干细胞移植。在某些实施方案中,移植之后,受试者接受本发明的扩增免疫细胞的输注。在一额外的实施方案中,在手术之前或之后施用扩增的细胞。

[0246] 本文所述的任何方法的效果可在本领域中已知的各种模型(如临床或临床前模型)中测试。合适的临床前模型在本文中例示。对于任何示例性模型,在发生肿瘤后,将小鼠随机纳入接受治疗或对照治疗的治疗组中。在治疗过程中测量肿瘤大小(例如肿瘤体积),并且还监测总体生存率。

[0247] 在一些实施方案中,在用T细胞(例如,单独或与本文所述的另一疗法组合)治疗之前获得样品作为用于测量对治疗的反应的基线。在一些实施方案中,样品是组织样品(例如,福尔马林固定和石蜡包埋的(FFPE)、存档的、新鲜或冷冻的)。在一些实施方案中,样品是全血。在一些实施方案中,全血包含免疫细胞、循环肿瘤细胞及其任何组合。

[0248] 对治疗的反应性可指的是以下一项或多项:延长生存期(包括总体生存期和无进展生存期);产生目标反应(包括完全反应或部分反应);或改善癌症的体征或症状。在一些实施方案中,反应性可指的是根据已发布的RECIST指南集合的一个或多个因素的改善,即反应、稳定或进展,其是来确定癌症患者的肿瘤状态。关于对这些指南的更详细论述,参见Eisenhauer等人,Eur J Cancer 2009;45:228-47;Topalian等人,N Engl J Med 2012;366:2443-54;Wolchok等人,Clin Can Res 2009;15:7412-20;及Therasse,P.,等人J.Natl.Cancer Inst.92:205-16(2000)。反应性受试者可指的是其癌症表现出改善的受试者,例如,根据基于RECIST标准的一个或多个因素。非反应性受试者可指的是其癌症不表现出改善的受试者,例如,根据基于RECIST标准的一个或多个因素。

[0249] 常规的反应标准可能不足以表征免疫治疗剂的抗肿瘤活性,因为免疫治疗剂可产生延迟反应,在此之前可能会出现最初的明显放射学进展,包括新病变的出现。因此,已制定了修改的反应标准,以解释可能出现的新病变,并允许在后续评估中确认放射学进展。因此,在一些实施方案中,反应性可指的是根据免疫相关反应标准2(irRC)的一个或多个因素的改善。参见,例如Wolchok等人,Clin Can Res 2009;15:7412-20。在一些实施方案中,新病变被加入到已定义的肿瘤负荷中,且在随后的评估中用于放射学进展。在一些实施方案中,非靶病变的存在包括在完全反应评估中,而不包括在放射学进展的评估中。在一些实施方案中,放射学进展可仅基于可测量的疾病来确定和/或可通过从首次记录之日起连续评估>4周得到证实。

[0250] 本发明可以在不背离本发明的精神或基本特征的前提下以其它特定方式实现。因此,在所有方面认为上述实施方案是示例性的而不是对本文所述发明的限制。因此,本发明的范围由所附权利要求而不是由前述说明来指示,并且在权利要求的等同含义和范围内的所有变化都被包括在其中。在本文中引用的所有公布、专利和专利申请出于所有目的以引用的方式整体并入。

[0251] 实施例

[0252] 以下实施例说明但不限制本发明的化合物、组合物和方法。对在临床治疗中通常遇到且对本领域技术人员显而易见的各种条件和参数的其它适当修改和改进在本发明的精神和范围内。

[0253] 实施例1



[0254] 通过抑制或调节TCR信号转导来阻止或逆转T细胞耗竭的方法

[0255] 引言

[0256] 我们先前已报道,表达GD2-CAR的T细胞在培养的10天内发生功能性耗竭且其特征为抑制性受体的共表达、无法响应于肿瘤抗原分泌细胞因子、及异常的代谢功能 (Long等人, Nat Med 2015)。对照培养物包括未转导的T细胞 (模拟) 和表达CD19-CAR的那些,其不表现出滋养信号转导或在体外发生耗竭。先前研究还证明 $\zeta$ 链在此系统中是耗竭所需的,其中CD28信号转导提高信号刺激诱导耗竭的效力。使用此模型系统,现在优化了稳固的、可操控的及可再现的T细胞耗竭的体外模型,以便评价阻止或逆转T细胞耗竭的方法。

[0257] 结果

[0258] 我们对融合至FKBP12突变体去稳定结构域的GD2.28z CAR进行工程化 (Banaszynski等人, Cell 2006) (GD2.28z.FKBP), 所述去稳定结构域使CAR不稳定并诱导快速的蛋白质降解。观察到表面表达可通过在培养基中添加或减少稳定rapalog shield-1 (S1) 而被快速和剂量依赖性地调节 (图1)。CAR表达的类似可调节能力也可使用大肠杆菌DHFR突变体 (GD2.28z.DHFR, 未示出) 实现,这可通过甲氧苄啶来调节,甲氧苄啶是一种临床上常用的抗生素。

[0259] 由于滋养信号转导高度取决于GD2-CAR受体水平,所以对CAR表达水平的精确控制也精确地调节滋养信号转导的水平。药物调节对CAR表达水平的控制,由此还允许调节GD2.28z滋养信号转导的持续时间和强度。使用此系统,我们证明了一旦停止CAR信号转导,与耗竭有关的表型和功能变化便被逆转。如图2所示,从培养基中除去S1药物且随后在激活后第7天除去表面CAR,到第10天时典型的耗竭标记物表达将被逆转至控制水平 (图2, n=3)。这将通过测量PD-1/TIM-3/LAG-3三重表达细胞的水平得到最好的证明,所述三重表达细胞对功能异常的耗竭的T细胞有高度特异性。我们证明,第10天的清除诱导了三重表达的耗竭细胞水平的升高,但在第7天除去S1后则造成到第10天时这些水平的归一化。在第14天对于其中S1在第7天或第10天从培养基中除去的细胞获得类似的结果 (未示出)。

[0260] 另外,在第7天或第10天除去S1,由此允许CAR蛋白的瞬时降解,从而与整个培养持续期接受S1的T细胞 (S1) 相比到第14天时保留记忆标记物 (例如CD62L) 并阻止细胞凋亡 (即膜联蛋白V染色) (图3)。

[0261] 由于表型标记物可能不能完全预测T细胞功能,我们还对培养中瞬时药物暴露的CAR T细胞执行了功能实验。将CAR T细胞洗涤,再悬浮于含有S1的培养基中,并以1:1的比率与稳定表达表面GD2的Na1m6白血病细胞混合。大约24小时后收集培养上清液并经由ELISA评价细胞因子水平。

[0262] 类似于缺少去稳定结构域且因此具有持续高水平的CAR信号转导的GD2.28z CAR,接受连续药物处理的表达GD2.28z.FKBP CAR的细胞 (图4, 灰色柱) 在激活后第10天和第14天都分泌最少量的IL-2,与T细胞耗竭一致。或者,在培养期间不暴露于药物 (黑色柱) 且因此不经历滋养信号转导的CAR T细胞显示出显著的生物活性,如通过IL-2产生所量度。最终,在培养最初的7天或10天期间暴露于药物且因此取得T细胞耗竭的表型和功能证据但在第7天或第10天 (分别是蓝色柱和红色柱) 从培养基中除去药物的CAR T细胞展示出恢复的响应于肿瘤抗原分泌IL-2的能力。

[0263] 明显地,在第10天 (灰色柱,第10天ELISA) 耗竭的T细胞可通过从培养基中除去S1



而恢复活力且仅“静息”4天(红色柱,第14天ELISA)。在其中S1从培养基中除去的条件下还观察到IFN  $\gamma$  分泌的类似但较不显著的增强。这些功能数据不能归因于差异的CAR表面表达,因为所有组都在此共培养测定结束时表现出类似的表面CAR水平(未示出)。

[0264] 然后,我们比较了通过除去表面CAR阻止或逆转T细胞衰竭是否比使用充分表征的抗PD-1检查点抑制剂纳武单抗(Nivo)处理更有效或更无效。将CAR T细胞用连续S1(且由此展现连续的滋养信号转导)、连续S1+纳武单抗、或无S1处理直到共培养测定之时。有趣的是,纳武单抗处理在第10天时仅造成IL-2分泌的适度增强,这持续直到第14天,提示纳武单抗仅部分地阻止此系统中T细胞耗竭的开始(图5)。

[0265] 相反,在无S1下培养CAR T细胞,然后在共培养测定即将开始之前将其添加回到培养基中(左图,蓝色柱),造成远远更优的耗竭阻止(黑色柱),因为与接受连续S1的CAR T细胞(黑色柱)相比IL-2分泌增强了5-10倍。此外,在第7天通过从培养基中除去S1来去除滋养信号转导,还造成与接受连续S1的CAR T细胞及接受连续S1且同时用S1处理的那些相比更优的IL-2分泌。总的来说,这些数据说明,与PD-1阻断相比,对滋养信号转导的调节展现对耗竭的阻止或逆转更有效的作用。

[0266] 由若干小组进行的功能研究(包括我们的实验室)已经验证了PD-1、TIM-3和LAG-3的共表达(三阳性,TP)代表高度功能异常的耗竭细胞子集。我们因此设法分析在此细胞子集中滋养信号转导的停止是否可以逆转它们的表型并且恢复它们响应于肿瘤抗原分泌IL-2的能力。将展现甚至更显著的耗竭表型的GD2.28z CAR(HA-GD2.28z的高亲和力形式融合至FKBP12突变体去稳定结构域以控制其表面表达。在激活后第10天,对已接受连续S1处理的HA-GD2.28z.FKBP CAR T细胞进行分选以便分离纯的PD-1/TIM-3/LAG-3耗竭群。接着在有或没有S1的情况下再培养“三阳性”耗竭细胞以便测试滋养信号转导的去除是否可以恢复它们的功能。在4天后进行FACS和共培养测定。

[0267] S1的去除造成耗竭表型的显著逆转。在培养基中无S1的情况下仅4天之后,预分选的三阳性细胞在CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>CAR T细胞中都展现少得多的耗竭标记物的表达(图6)。重要的是,这些表型变化也在IL-2分泌上赋予功能性增强,因为S1的去除与从第10-14天起接受连续S1处理的三阳性细胞相比在IL-2分泌上造成2倍增加(图6)。

[0268] 我们猜测,仅通过抑制TCR信号转导途径(也整合到CAR信号转导中)中的激酶便可重现除去表面CAR的效应,及由此的滋养信号转导。一种这样的激酶是Lck,其用于响应于TCR或CAR联接来磷酸化CD3- $\zeta$ 。达沙替尼,一种有效的受体酪氨酸激酶抑制剂和BCR/ABL拮抗剂,也已显示通过以低浓度结合至并抑制Lck来抑制T细胞激活、增殖和细胞因子分泌(Schade等人,Blood,2008和Lee等人,Leukemia,2010)。

[0269] 在100nM和1 $\mu$ M浓度下,达沙替尼在激活后第14天响应于肿瘤抗原有效地抑制CD19.28z CAR T细胞的细胞因子分泌(图7),证明了达沙替尼破坏CAR信号转导。

[0270] 我们则想知道瞬时的达沙替尼暴露是否可以在激活后第10-14天通过用达沙替尼处理HA-GD2.28z CAR T细胞而逆转T细胞耗竭。用达沙替尼处理细胞持续4天,然后从培养基中大范围地洗涤出药物,并且再培养细胞24小时,之后经由FACS和肿瘤共培养测定检查它们的表型和功能。有趣的是,达沙替尼的4天处理以剂量依赖性方式逆转耗竭标记物表达和共表达(图8)。

[0271] 此外,达沙替尼处理经由以剂量依赖性方式维持CD62L表达来保留T细胞记忆(图

9)。

[0272] 最终,类似于表面CAR的去除,达沙替尼处理以功能上显著的方式使耗竭的T细胞恢复活力,因为达沙替尼处理的CAR T细胞响应于肿瘤抗原与从未接受达沙替尼的那些相比分泌更多的IL-2(且以较小的程度,分泌IFN  $\gamma$ ) (图10)。

[0273] 总的来说,这些数据说明,TCR信号转导的选择性抑制或调节可大体上提高在癌症或慢性感染的情形下经历连续抗原暴露的耗竭T细胞的功能。在未来的研究中,我们将进行体内研究以评估在此背景下的耗竭逆转的可行性并且这种逆转是否可以增强鼠模型中的抗肿瘤效应。

[0274] 实施例2

[0275] 经由引入去稳定结构域到CAR中阻止CAR T细胞耗竭并提高CAR T细胞效应子功能

[0276] 进行实验以测试是否可能通过调整CAR T细胞表面表达来控制CAR T细胞活性,由此提供一种可在经历毒性而没有完全消除细胞的患者中“关闭”CAR T细胞的方法(与自杀开关形成鲜明对比)。在本发明实施方案的开发过程中还进行了实验,以确定在没有表面CAR的情况下,CAR T细胞在体外的扩增是否会减轻CAR的滋养信号转导,从而可能产生更健康、更有效的输注产物。最终,进行实验以测试使用可调节的药物敏感性去稳定结构域调节CAR表面表达是否能阻止或逆转T细胞耗竭和/或保持/诱导T细胞记忆。

[0277] 材料和方法

[0278] 细胞和培养条件

[0279] 将NALM6-GL(急性淋巴细胞性白血病细胞株,用GFP和荧光素酶稳定转染)和NALM6-GL-GD2(被稳定转染以过度表达GD2合成酶)细胞株在RPMI-1640中培养。将293T和143B细胞株在DMEM(Life Technologies)中培养。DMEM和RPMI-1640中补充有10%热灭活的FBS(Gibco,Life Technologies)、10mM HEPES、100U/mL青霉素、100 $\mu$ g/ml链霉素和2mM L-谷氨酰胺(Gibco,Life Technologies)。

[0280] 原代人T细胞是使用Pan T细胞阴性选择试剂盒(Miltenyi Biotec)从健康供体血沉棕黄层中获得。接着对供体T细胞进行等分并保存在液氮中的Cryostor(StemCell Technologies)中。将T细胞在补充有5%热灭活的FBS、10mM HEPES、1%glutamax(Gibco,Life Technologies)和100u/uL重组人IL-2(Peprotech)的AimV(Gibco,Life Technologies)中培养。除非另有规定,在1 $\mu$ M下培养Shield-1和乳酸甲氧苄啶(Sigma Aldrich或Alfa Aesar)。

[0281] 慢病毒产生和T细胞转导

[0282] 经由293T细胞株的瞬时转染产生所有DD-CAR慢病毒上清液。简言之,用编码CAR的质粒和编码包装蛋白Gag-Pol、REV和包膜蛋白VSVG的质粒,经由Lipofectamine 2000(Life Technologies)转染293T细胞。在转染后24和48小时收集上清液并且立即冷冻或首先经由超速离心机在30,000RPM下旋转来浓缩然后冷冻并储存在-80C下。

[0283] 一旦解冻,便使用抗CD3/抗CD28包被的磁性珠粒(Dynabeads,Thermo Fisher)以1x10<sup>6</sup>个细胞/mL的浓度在3:1的珠粒:细胞比率下激活T细胞。激活后第1天,将慢病毒直接添加到T细胞中。激活后第4天,从培养处移走磁性珠粒,并在此后每天以0.5x10<sup>6</sup>个细胞/mL培养T细胞。每隔一天更换补充有IL-2和稳定药物的培养基。对于所有CAR,转导效率常规地为70-90%。

**[0284] 流式细胞术**

**[0285]** 用LSR Fortessa (BD Bioscience) 或Cytoflex (Beckman Coulter) 分析所有样品并使用FlowJo分析数据。将细胞用PBS洗涤两次并在PBS中以 $1 \times 10^6$ 个细胞/mL用染色剂标记,继之用FACS缓冲液(补充有2%FBS和0.4%0.5M EDTA的PBS)洗涤两次。用14g2a抗独特型抗体(克隆1A7)检测GD2 CAR。用FMC63抗独特型抗体(克隆136.20.1)检测CD19 CAR。经由以下各物来评价T细胞表型:CD4 (OKT4, Biolegend)、CD8 (SK1, Biolegend)、PD-1 (eBioJ105, eBioscience)、TIM-3 (F38-2E2, Biolegend)、LAG-3 (3DS223H, eBioscience)、CD45RO (UCHL1, eBioscience)、CCR7 (150503, BD Biosciences)、CD69 (FN50, Biolegend)、IL-2 (MQ1-17H12, Biolegend) 及IFN  $\gamma$  (4S.B3, Biolegend)。对于其中评估细胞因子产生的共培养测定来说,将肿瘤细胞和CAR T细胞在1:1000莫能菌素(eBioscience)存在下共培养至少6小时。当评估IL-2和IFN  $\gamma$ 时,对细胞进行表面染色,然后固定并透性化处理(eBioscience),之后与胞内抗体一起培育。所有展示CAR T细胞表型数据的FACS图都是在CAR+细胞上预先门控的。对于模拟转导的T细胞,将全T细胞群用于分析。

**[0286] CyTOF**

**[0287]** 将T细胞从培养处移走,在室温下固定于2%PFA中持续10分钟,沉淀并在-80C下冷冻。解冻后,用20-plex Pd条形码试剂盒(Fluidigm)将每个样品条码化。然后将细胞样品汇集并在室温下就重金属缀合的抗体的表面标记物表达进行染色持续30分钟。接着在甲醇中对细胞进行透性化且随后在室温下用重金属缀合的抗人T-bet (4B10, Biolegend) 和抗人Blimp-1 (R0S195G, Biolegend) 染色持续30分钟。样品在Helios mass血细胞计数器(Fluidigm)上运行并且使用Cytobank在线软件完成分析。

**[0288] Incucyte测定**

**[0289]** 将50,000个NALM6-GL-GD2肿瘤细胞与T细胞以1:2或1:8的E:T比率在96孔板的各孔中在200uL没有补充IL-2的完全AimV培养基中共培养。将板加载到incucyte中并且每2小时采集488nm荧光图像持续48-72小时。通过大小和荧光强度掩膜鉴别GFP+肿瘤细胞,并对各单个孔的所有计数肿瘤细胞的总积分GFP强度进行量化。将值归一化至 $t=0$ ,并且取复制孔的平均值用于数据展示。

**[0290]** 对于其中HA-GD2.28z.FKBP T细胞在shield-1不存在下扩增的实验,在与肿瘤细胞共培养之前18-24小时将 $1\mu\text{M}$  shield-1添加到CAR T细胞中。

**[0291] 细胞因子释放测定**

**[0292]** 将50,000个NALM6-GL-GD2肿瘤细胞与T细胞以1:1的E:T比率在96孔板的各孔中在200 $\mu\text{L}$ 没有补充IL-2的完全AimV培养基中共培养。24小时之后,除去上清液并在-20C下储存。经由ELISA (Biolegend) 评估IL-2和IFN  $\gamma$  分泌。

**[0293]** 对于其中HA-GD2.28z.FKBP T细胞在shield-1不存在下扩增的实验,在与肿瘤细胞共培养之前18-24小时将 $1\mu\text{M}$  shield-1添加到CAR T细胞中。

**[0294] 蛋白质印迹**

**[0295]** 将 $2 \times 10^6$ 个CAR T细胞从培养处移走,沉淀并再悬浮于100uL补充有磷酸酶和蛋白酶抑制剂(Thermo Fisher)的RIPA溶解缓冲液(10mM Tris-Cl pH 8.0、1mM EDTA、1% Triton X-100、0.1%脱氧胆酸钠、0.1%SDS、140mM NaCl)中。在4C下培育30分钟之后,通过在4C下以14,000RPM离心20分钟清除上清液。通过比色反应(BioRad)测量清除的溶解液中

的蛋白质浓度。

[0296] 将15 $\mu$ g蛋白质溶解液与6x加样缓冲液混合并加载到10%SDS-PAGE凝胶上,所述凝胶被组装到mini-protean电泳系统(BioRad)中。在100V下在三-甘氨酸-SDS缓冲液(BioRad)中进行电泳20分钟,稍后增至150V并持续50分钟。在100V下在三-甘氨酸缓冲液(BioRad#1610771)中1小时将蛋白质转移到Immobilon-FL PVDF膜中。使用靶向CD3- $\zeta$  (Cell signaling)和pY142-CD3- $\zeta$  (Cell Signaling)的第一抗体。将Odyssey (LI-COR) 成像系统、LI-COR缓冲液和LI-COR第二抗体(山羊抗小鼠IgG抗体-800CW-缀合的和山羊抗兔IgG抗体-680LT-缀合的)用于蛋白质检测。

[0297] 体内实验

[0298] 经由静脉内注射将 $1 \times 10^6$ 个NALM6-GL-GD2植入到6-8周龄的NSG小鼠中。在植入后第7天,静脉内输注 $1-5 \times 10^6$ 个GD2.28z.DHFR或HA-GD2.28z.DHFR CAR<sup>+</sup> T细胞。使用Xenogen IVIS Lumina (Caliper Life Sciences) 评价NALM6-GL-GD2肿瘤负荷。首先用3mg D-荧光素 (Caliper Life Sciences) 腹膜内注射小鼠,然后在30秒的暴露时间下4分钟后成像,或在30秒造成信号饱和的情况下,选择“自”暴露。使用Living Image软件 (Caliper Life Sciences) 分析发光图像。

[0299] 以300mg/kg的浓度腹膜内注射用甲氧苄啶治疗的小鼠。用相等体积的水腹膜内注射用媒介物治疗的小鼠。

[0300] 经由眶后放血采集血液样品并且短暂地保存在EDTA包被的microvette (Kent Scientific) 中。经由通过70- $\mu$ m滤器 (BD Biosciences) 以机械方式打碎脾脏。将血液和脾脏在ACK溶解缓冲液 (Fisher Scientific) 中溶解5分钟且随后用表面标记物抗体染色以供FACS分析之用。

[0301] CAR载体的构建

[0302] 将所有CAR序列在EF-1 $\alpha$ 启动子的控制下插入pELNS慢病毒主链中。通过亚克隆定制的基因片段 (IDT Technologies) 将去稳定结构域序列插入CD3 $\zeta$ 结构域的下游,所述定制的基因片段包含一部分CD3 $\zeta$ 序列(从内在BmgBI限制位点开始)、继之以去稳定结构域序列、终止密码子、和SalI限制位点。避免了不存在于CD3 $\zeta$ 或DD序列中的额外限制位点。

[0303] 各CAR包含信号肽、单链可变片段(scFv)、胞外铰链区、跨膜结构域、胞内共刺激结构域、和胞内CD3- $\zeta$ 结构域。

[0304] 结果

[0305] 首先,对于与2个不同RDD融合的3个不同CAR,测试DD-CAR表面表达的剂量依赖性调节。CD19.28z、GD2.28z和高亲和力GD2.28z (HA-GD2.28z) 各自融合至12kDa FKBP DD或大肠杆菌来源的二氢叶酸还原酶 (DHFR) DD。在单独的实验中,还测试了融合至FKBP DD的Her2.28z CAR的调节(图24)。将rapalog shield-1 (S1) 用于使FKBP融合的CAR稳定,而FDA批准的抗生素甲氧苄啶 (TMP) 用于使DHFR融合的CAR稳定。将稳定药物与DD-CAR T细胞一起培育至少48小时,之后经由FACS评估表面CAR表达。数据表明,对于所有7个测试的CAR,都存在表面CAR的精确的剂量依赖性调节(参见图12、24)。DD-CAR的差异EC<sub>50</sub>值(图22B) 显示出在给定的DD-CAR蛋白对稳定药物的敏感性上的异质性,而不考虑CAR融合至的DD。这些研究还显示DD的内在差异,因为DHFR融合的CAR表现出与其FKBP融合的对对应物相比对稳定药物的更大敏感性(参见图22)。此外,观察到不是所有RDD都对CAR蛋白赋予不稳定

性,即使它们对其它蛋白质是这样(参见图23)。对GD2.28z CAR测试DHFR DD的两个先前公开的重复(参见Iwamoto等人,Chemistry&Biology 17,981-988(2010)),并且它们中之一者允许药物依赖性调节(参见图12、22、23)。

[0306] 接下来,测试并表征DD-CAR的药物依赖性调节的动力学。在1 $\mu$ M稳定药物存在或不存在下培养DD-CAR T细胞至少48小时。对于在药物不存在下培养的DD-CAR T细胞,将药物引入培养中并且经48小时的过程除去样品以评估CAR表面表达的增加(参见图13,各图的左侧)。相反,对于在药物存在下培养的DD-CAR T细胞,从培养中除去药物以评估CAR表面表达的减少(参见图13,各图的右侧)。这些研究指出DD-CAR表面表达在暴露于药物之后的24小时过程中逐渐增加。然而,药物的除去在头2小时内诱导大约一半DD-CAR表面表达的快速丧失,然后在接下来的46小时内逐渐丧失剩余的表面CAR。DD-CAR的快速“解离”动力学指出,此CAR调节方法提供了在临床背景下减轻CAR毒性的现实治疗机会。

[0307] 接下来是确定DD-CAR表面表达的差异是否会引起不同的抗肿瘤应答。因此,评估DD-CAR表面表达的药物依赖性调节是否也能调节T细胞激活。实际上,当将DD-CAR T细胞与携带抗原的肿瘤细胞在药物不存在下共培养时,与在稳定药物存在下共培养的DD-CAR T细胞相比,观察到可忽略水平的细胞因子分泌(参见图14A)和细胞毒性(参见图14B)。实验也在体内环境中进行。

[0308] 将携带抗原的肿瘤植入小鼠中,随后输注CAR T细胞。此后每天用稳定药物或媒介物对照注射小鼠。在仅1个剂量的稳定药物之后,观察到类似于在体外所观察到的CAR表达的药物依赖性上调(参见图15A)。还在给予稳定药物的小鼠中观察到更高水平的CD69,表明具有更高表面表达的DD-CAR T细胞响应于肿瘤变得更激活。最终,在CAR输注后第7天,在接受稳定药物的小鼠中观察到与接受媒介物对照的那些相比肿瘤负荷的显著降低。总的来说,这些数据提供,CAR表面表达与CAR T细胞活性密切相关,且因此,RDD-CAR T细胞活性可由施用稳定药物(或缺少其)而被精确调节。

[0309] 如本文所述,许多组成型表达的CAR在抗原不存在下展现滋养信号转导,由此使它们变得耗竭(参见Long等人,Nature Medicine 21,581-590(2015))。确定在稳定药物不存在下扩增DD-CAR T细胞是否会减弱此滋养信号转导且由此产生更健康、更有效的CAR T细胞输注产物。滋养信号转导的一个读出是在抗原不存在下CAR CD3- $\zeta$ 结构域的组成型磷酸化。HA-GD2.28z.FKBP CAR T细胞当在S1存在下培养时呈现出此表型(参见图16,CAR总是开启)。然而,CD3- $\zeta$ 磷酸化在S1不存在(CAR总是关闭)下培养的DD-CAR T细胞中是不存在的,说明低CAR表面表达减轻了滋养信号转导。此表型也是可逆的,如通过以下事实所说明,在最初用S1培养但随后在培养第7天去除药物的DD-CAR T细胞中缺乏CD3- $\zeta$ 磷酸化(图16,CAR关闭D7)。

[0310] 接下来确定在表达HA-GD2.28z.FKBP的CAR T细胞中阻止或逆转滋养信号转导是否会改变它们的耗竭表型。在药物存在(CAR总是开启)下扩增的DD-CAR T细胞呈现出多个抑制性受体(参见图17A)和通常与T细胞耗竭有关的转录因子(图17B)的共表达。然而,在药物不存在(CAR总是关闭)下扩增的DD-CAR T细胞或在第1-7天于药物中扩增但此后不是的那些细胞呈现出显著较少的耗竭标记物共表达(图17)。类似地,在药物存在下扩增的耗竭的DD-CAR T细胞展示出高出现率的效应T细胞和伴随的低出现率的记忆细胞(图18),类似于在文献中所观察到的(参见Wherry和Kurachi,Nature Reviews Immunology 15,nri3862

(2015)。然而,仅通过在稳定药物不存在下扩增细胞至少4天便可观察到DD-CAR T细胞记忆的挽救,表明在CAR T细胞中滋养信号转导的减轻可同时阻止耗竭并促进记忆形成。

[0311] 接着,确定当滋养信号转导减轻时观察到的显著表型变化是否也可与T细胞功能增强一致。为了测试这点,在稳定药物存在(CAR总是开启)或不存在(CAR总是关闭)下扩增DD-CAR T细胞。为了探究耗竭的CAR T细胞变得恢复活力的可塑性,将细胞在药物存在下扩增7天或10天,然后去除药物,且T细胞“静息”(分别是CAR关闭D7和CAR关闭D10)。然后将CAR T细胞与携带抗原的肿瘤共培养24小时,且经由ELISA评估细胞因子分泌(图19)或将它们在评估细胞毒性期间在incucyte中共培养72小时(图20)。重要的是,不考虑培养DD-CAR T细胞的条件,在共培养测定之前18-24小时将药物添加到每个条件中以确保测定期间CAR表达的归一化。在药物(CAR总是开启)下扩增的CAR T细胞响应于肿瘤分泌低水平的IL-2和IFN $\gamma$ (图19)且呈现削弱的细胞毒性(图20),与耗竭的T细胞的表型一致。相反,在药物不存在下生长的CAR T细胞分泌2-10倍更多的细胞因子(图19)且能够限制肿瘤生长(图20),表明滋养信号转导的减轻深深地强化CAR T细胞的功能能力。此外,经历滋养信号转导持续7天或10天但在共培养测定之前提供4-7天“静息”的CAR T细胞在功能上恢复活力(图19和20, CAR关闭D7和CAR关闭D10)。这些观察结果表明DD-CAR T细胞受益于“静息”期,在此期间DD-CAR表达较低且允许细胞静止并形成记忆。

[0312] 基于体外功能研究,确定体内切换DD-CAR T细胞表达是否可提供通过限制慢性抗原暴露并减轻CAR T细胞耗竭来延长CAR T细胞抗肿瘤应答的机会。为了测试这点,将携带抗原的肿瘤细胞植入NSG小鼠中,且随后输注表达2-5E6 HA-GD2.28z.DHFR的T细胞。此后每天向小鼠给予TMP。

[0313] 在输注DD-CAR后,观察到快速的抗肿瘤应答,但最终疾病复发,提示CAR T细胞可变得功能异常或耗竭(参见图21)。然后向小鼠给予媒介物持续4天以提供一段时间,在此期间DD-CAR T细胞可恢复(参见图21,“静息”)。在此时间期间,肿瘤负荷以与TMP给药前期相比更快的速率增加,表明实际上抗肿瘤应答正在下调。再输注TMP持续3天后(图21,“restim”),在所有测试的小鼠中都观察到抗肿瘤应答的深度恢复活力(图21),类似于体外的观察结果(图19、20)。此外,3只小鼠中有2只在再输注TMP之后呈现出比静息期之前降低的肿瘤负荷,表明重复给药的益处可胜过媒介物输注期间肿瘤生长的临时加速。

[0314] 在以上说明书中提及的所有出版物和专利以引用的方式并入本文。在不脱离本发明的范围和精神下,对本发明的所述方法和系统的各种修改和变动将为本领域技术人员显而易见。虽然已联系具体的优选实施方案描述了本发明,但应理解,所要求保护的发明不应不当地限于这些具体的实施方案。当然,对相关领域技术人员来说显而易见的是,可在以下权利要求书的范围内对实施本发明所述的方式进行各种修改。

- [0001] 序列表
- [0002] <110> 小利兰·斯坦福大学托管委员会 (THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY)
- [0003] <120> 通过抑制或调节T细胞受体信号转导治疗T细胞耗竭的方法
- [0004] <130> STDU2-35233/WO-1/ORD
- [0005] <150> US 62/479,930
- [0006] <151> 2017-03-31
- [0007] <160> 136
- [0008] <170> PatentIn version 3.5
- [0009] <210> 1
- [0010] <211> 321
- [0011] <212> DNA
- [0012] <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
- [0013] <220>
- [0014] <223> 合成
- [0015] <400> 1
- [0016] atggtgcagg tggaaacat ctccccagga gacgggcgca ctttcccaaa gcgcggccag 60
- [0017] acctgcgtgg tgcactacac cgggatgctt ggagatggaa agaaagttga ctctctcccg 120
- [0018] gacagaaaca agccctttaa gtttatgcta ggcaagcagg aggtgatccg aggctgggaa 180
- [0019] gaaggggttg cccagatgag tgtgggtcag ggagccaaac tgactatatc tccagattat 240
- [0020] gcctatggtg ccaactggga cccaggcatc atcccaccac atgccactet cgtcttcgat 300
- [0021] gtggagcttc tagaactgga a 321
- [0022] <210> 2
- [0023] <211> 107
- [0024] <212> PRT
- [0025] <213> 人工序列 (Artificial Sequence)
- [0026] <220>
- [0027] <223> 合成
- [0028] <400> 2
- [0029] Met Val Gln Val Glu Thr Ile Ser Pro Gly Asp Gly Arg Thr Phe Pro
- [0030] 1 5 10 15
- [0031] Lys Arg Gly Gln Thr Cys Val Val His Tyr Thr Gly Met Leu Gly Asp
- [0032] 20 25 30
- [0033] Gly Lys Lys Val Asp Ser Ser Arg Asp Arg Asn Lys Pro Phe Lys Phe
- [0034] 35 40 45
- [0035] Met Leu Gly Lys Gln Glu Val Ile Arg Gly Trp Glu Glu Gly Val Ala
- [0036] 50 55 60
- [0037] Gln Met Ser Val Gly Gln Gly Ala Lys Leu Thr Ile Ser Pro Asp Tyr
- [0038] 65 70 75 80
- [0039] Ala Tyr Gly Ala Thr Gly His Pro Gly Ile Ile Pro Pro His Ala Thr
- [0040] 85 90 95

|        |                                                                        |
|--------|------------------------------------------------------------------------|
| [0041] | Leu Val Phe Asp Val Glu Leu Leu Glu Leu Glu                            |
| [0042] | 100 105                                                                |
| [0043] | <210> 3                                                                |
| [0044] | <211> 477                                                              |
| [0045] | <212> DNA                                                              |
| [0046] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                        |
| [0047] | <220>                                                                  |
| [0048] | <223> 合成                                                               |
| [0049] | <400> 3                                                                |
| [0050] | atgatcagtc tgattgcggc gttagcggta gatcacgtta tcggcatgga aaccgtcatg 60   |
| [0051] | ccgtggaacc tgccctgccga tctcgcttgg tttaaagca acaccttaaa taaaccctg 120   |
| [0052] | attatggggc gccataacctg ggaatcaatc ggtcgtccgt tgccaggacg caaaaatatt 180 |
| [0053] | atcctcagca gtcaaccgag tacggacgat cgcgtaacgt gggatgaagtc ggtgatgaa 240  |
| [0054] | gccatcgcgg cgtgtggtga cgtaccagaa atcatggta ttggcggcgg tcgcgtttat 300   |
| [0055] | gaacagttct tgccaaaagc gcaaaaactg tatctgacgc atatcgacgc agaagtggaa 360  |
| [0056] | ggcgacaccc atttcccga ttacgagccg gatgactggg aatcggtatt cagcgaattc 420   |
| [0057] | cacgatgctg atgcgcagaa ctctcacagc tattgcttg agattctgga gcggcga 477      |
| [0058] | <210> 4                                                                |
| [0059] | <211> 159                                                              |
| [0060] | <212> PRT                                                              |
| [0061] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                        |
| [0062] | <220>                                                                  |
| [0063] | <223> 合成                                                               |
| [0064] | <400> 4                                                                |
| [0065] | Met Ile Ser Leu Ile Ala Ala Leu Ala Val Asp His Val Ile Gly Met        |
| [0066] | 1 5 10 15                                                              |
| [0067] | Glu Thr Val Met Pro Trp Asn Leu Pro Ala Asp Leu Ala Trp Phe Lys        |
| [0068] | 20 25 30                                                               |
| [0069] | Arg Asn Thr Leu Asn Lys Pro Val Ile Met Gly Arg His Thr Trp Glu        |
| [0070] | 35 40 45                                                               |
| [0071] | Ser Ile Gly Arg Pro Leu Pro Gly Arg Lys Asn Ile Ile Leu Ser Ser        |
| [0072] | 50 55 60                                                               |
| [0073] | Gln Pro Ser Thr Asp Asp Arg Val Thr Trp Val Lys Ser Val Asp Glu        |
| [0074] | 65 70 75 80                                                            |
| [0075] | Ala Ile Ala Ala Cys Gly Asp Val Pro Glu Ile Met Val Ile Gly Gly        |
| [0076] | 85 90 95                                                               |
| [0077] | Gly Arg Val Tyr Glu Gln Phe Leu Pro Lys Ala Gln Lys Leu Tyr Leu        |
| [0078] | 100 105 110                                                            |
| [0079] | Thr His Ile Asp Ala Glu Val Glu Gly Asp Thr His Phe Pro Asp Tyr        |
| [0080] | 115 120 125                                                            |
| [0081] | Glu Pro Asp Asp Trp Glu Ser Val Phe Ser Glu Phe His Asp Ala Asp        |
| [0082] | 130 135 140                                                            |



|        |                                                                       |
|--------|-----------------------------------------------------------------------|
| [0083] | Ala Gln Asn Ser His Ser Tyr Cys Phe Glu Ile Leu Glu Arg Arg           |
| [0084] | 145 150 155                                                           |
| [0085] | <210> 5                                                               |
| [0086] | <211> 477                                                             |
| [0087] | <212> DNA                                                             |
| [0088] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                       |
| [0089] | <220>                                                                 |
| [0090] | <223> 合成                                                              |
| [0091] | <400> 5                                                               |
| [0092] | atgatcagtc tgattgcggc gttagcggta gattacgtta tcggcatgga aaacgccatg 60  |
| [0093] | ccgtggaacc tgctgccga tctcgcttg tttaaacgca acaccttaaa taaaccctg 120    |
| [0094] | attatgggcc gccatacctg ggaatcaatc ggtcgctcgt tgccaggacg caaaaatatt 180 |
| [0095] | atcctcagca gtcaaccgag tacggacgat cgcgtaacgt gggatgaagtc ggtgatgaa 240 |
| [0096] | gccatcgccg cgtgtggtga cgtaccagaa atcatggtga ttggcggcgg tcgcgttatt 300 |
| [0097] | gaacagttct tgccaaaagc gcaaaaactg tatctgacgc atatcgacgc agaagtggaa 360 |
| [0098] | ggcgacaccc atttcccga ttacgagccg gatgactggg aatcggtatt cagcgaattc 420  |
| [0099] | cacgatgctg atgcgcagaa ctctcacagc tattgctttg agattctgga gcggcga 477    |
| [0100] | <210> 6                                                               |
| [0101] | <211> 159                                                             |
| [0102] | <212> PRT                                                             |
| [0103] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                       |
| [0104] | <220>                                                                 |
| [0105] | <223> 合成                                                              |
| [0106] | <400> 6                                                               |
| [0107] | Met Ile Ser Leu Ile Ala Ala Leu Ala Val Asp Tyr Val Ile Gly Met       |
| [0108] | 1 5 10 15                                                             |
| [0109] | Glu Asn Ala Met Pro Trp Asn Leu Pro Ala Asp Leu Ala Trp Phe Lys       |
| [0110] | 20 25 30                                                              |
| [0111] | Arg Asn Thr Leu Asn Lys Pro Val Ile Met Gly Arg His Thr Trp Glu       |
| [0112] | 35 40 45                                                              |
| [0113] | Ser Ile Gly Arg Pro Leu Pro Gly Arg Lys Asn Ile Ile Leu Ser Ser       |
| [0114] | 50 55 60                                                              |
| [0115] | Gln Pro Ser Thr Asp Asp Arg Val Thr Trp Val Lys Ser Val Asp Glu       |
| [0116] | 65 70 75 80                                                           |
| [0117] | Ala Ile Ala Ala Cys Gly Asp Val Pro Glu Ile Met Val Ile Gly Gly       |
| [0118] | 85 90 95                                                              |
| [0119] | Gly Arg Val Ile Glu Gln Phe Leu Pro Lys Ala Gln Lys Leu Tyr Leu       |
| [0120] | 100 105 110                                                           |
| [0121] | Thr His Ile Asp Ala Glu Val Glu Gly Asp Thr His Phe Pro Asp Tyr       |
| [0122] | 115 120 125                                                           |
| [0123] | Glu Pro Asp Asp Trp Glu Ser Val Phe Ser Glu Phe His Asp Ala Asp       |
| [0124] | 130 135 140                                                           |

|        |                                                                         |
|--------|-------------------------------------------------------------------------|
| [0125] | Ala Gln Asn Ser His Ser Tyr Cys Phe Glu Ile Leu Glu Arg Arg             |
| [0126] | 145 150 155                                                             |
| [0127] | <210> 7                                                                 |
| [0128] | <211> 1806                                                              |
| [0129] | <212> DNA                                                               |
| [0130] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                         |
| [0131] | <220>                                                                   |
| [0132] | <223> 合成                                                                |
| [0133] | <400> 7                                                                 |
| [0134] | atgctgctgc tcgtgacatc tctgctgctg tgcgagctgc cccaccccgc ctttctgctg 60    |
| [0135] | atccccgata tcgacatcca gatgacacag actacatcct ccctgtctgc ctctctggga 120   |
| [0136] | gacagagtca ccatcagttg cagggcaagt caggacatta gtaaataatt aaattggtat 180   |
| [0137] | cagcagaaac cagatggaac tgttaaacct ctgatctacc atacatcaag attacactca 240   |
| [0138] | ggagtcccat caaggttcag tggcagtggg tctggaacag attattctct caccattagc 300   |
| [0139] | aacctggagc aagaagatat tgccacttac ttttgccaac agggtaatac gcttccgtac 360   |
| [0140] | acgttcggag gggggactaa gttggaata acaggtcca cctctggatc cggcaagccc 420     |
| [0141] | ggatctggcg agggatccac caagggcgag gtgaaactgc aggagtcagg acctggcctg 480   |
| [0142] | gtggcgccct cacagagcct gtccgtcaca tgtactgtct caggggtctc attacccgac 540   |
| [0143] | tatgggtgtaa gctggattcg ccagcctcca cgaaagggtc tggagtggct gggagtaata 600  |
| [0144] | tgggtagtg aaaccacata ctataattca gctctcaaat ccagactgac catcatcaag 660    |
| [0145] | gacaactcca agagccaagt tttcttaaaa atgaacagtc tgcaaactga tgacacagcc 720   |
| [0146] | atttactact gtgccaacaa ttattactac ggtgtagct atgctatgga ctactggggt 780    |
| [0147] | caaggaacct cagtcaccgt ctccctcagct agcttcgaaa ttgaagtat gtatcctcct 840   |
| [0148] | ccttacctag acaatgagaa gagcaatgga accattatcc atgtgaaagg gaaacacctt 900   |
| [0149] | tgtccaagtc ccctatttcc cggaccttct aagccctttt ggggtgctggt ggtggttggg 960  |
| [0150] | ggagtccctgg cttgctatag cttgctagta acagtggcct ttattatttt ctgggtgagg 1020 |
| [0151] | agtaagagga gcaggctcct gcacagtac tacatgaaca tgactccccg ccgccccggg 1080   |
| [0152] | ccccccgca agcattacca gccctatgcc ccaccacgcg acttcgcagc ctatcgctcc 1140   |
| [0153] | catatgagag tgaagttcag caggagcgca gacgccccg cgtacaagca gggccagaac 1200   |
| [0154] | cagctctata acgagctcaa tctaggacga agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga 1260  |
| [0155] | cgtggccggg acctgagat ggggggaaag ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg 1320   |
| [0156] | tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc 1380  |
| [0157] | gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag 1440  |
| [0158] | gacacctacg acgcccttca catgcaggcc ctgccccctc gcggagtga ggtggaaacc 1500   |
| [0159] | atctccccag gagacggcg caccttcccc aagcgcgcc agacctgcgt ggtgcactac 1560    |
| [0160] | accgggatgc ttggagatgg aaagaaagtt gactcctccc gggacagaaa caagcccttt 1620  |
| [0161] | aagtttatgc taggcaagca ggaggtgatc cgaggctggg aagaaggggt tgcccagatg 1680  |
| [0162] | agtgtgggtc agggagccaa actgactata tctccagatt atgcctatgg tgccactggg 1740  |
| [0163] | caccaggca tcatcccacc acatgccact ctctgtcttc atgtggagct tctagaactg 1800   |
| [0164] | gaatga 1806                                                             |
| [0165] | <210> 8                                                                 |
| [0166] | <211> 601                                                               |

|        |                                                                 |                           |
|--------|-----------------------------------------------------------------|---------------------------|
| [0167] | <212>                                                           | PRT                       |
| [0168] | <213>                                                           | 人工序列(Artificial Sequence) |
| [0169] | <220>                                                           |                           |
| [0170] | <223>                                                           | 合成                        |
| [0171] | <400>                                                           | 8                         |
| [0172] | Met Leu Leu Leu Val Thr Ser Leu Leu Leu Cys Glu Leu Pro His Pro |                           |
| [0173] | 1 5 10 15                                                       |                           |
| [0174] | Ala Phe Leu Leu Ile Pro Asp Ile Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr |                           |
| [0175] | 20 25 30                                                        |                           |
| [0176] | Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg |                           |
| [0177] | 35 40 45                                                        |                           |
| [0178] | Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro |                           |
| [0179] | 50 55 60                                                        |                           |
| [0180] | Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser |                           |
| [0181] | 65 70 75 80                                                     |                           |
| [0182] | Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser |                           |
| [0183] | 85 90 95                                                        |                           |
| [0184] | Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys |                           |
| [0185] | 100 105 110                                                     |                           |
| [0186] | Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu |                           |
| [0187] | 115 120 125                                                     |                           |
| [0188] | Glu Ile Thr Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu |                           |
| [0189] | 130 135 140                                                     |                           |
| [0190] | Gly Ser Thr Lys Gly Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu |                           |
| [0191] | 145 150 155 160                                                 |                           |
| [0192] | Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Ser Gly Val |                           |
| [0193] | 165 170 175                                                     |                           |
| [0194] | Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg Lys |                           |
| [0195] | 180 185 190                                                     |                           |
| [0196] | Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr |                           |
| [0197] | 195 200 205                                                     |                           |
| [0198] | Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser Lys |                           |
| [0199] | 210 215 220                                                     |                           |
| [0200] | Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala |                           |
| [0201] | 225 230 235 240                                                 |                           |
| [0202] | Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met |                           |
| [0203] | 245 250 255                                                     |                           |
| [0204] | Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Phe |                           |
| [0205] | 260 265 270                                                     |                           |
| [0206] | Glu Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser |                           |
| [0207] | 275 280 285                                                     |                           |
| [0208] | Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro |                           |

|        |                                                                 |     |         |
|--------|-----------------------------------------------------------------|-----|---------|
| [0209] | 290                                                             | 295 | 300     |
| [0210] | Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly |     |         |
| [0211] | 305                                                             | 310 | 315 320 |
| [0212] | Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile |     |         |
| [0213] |                                                                 | 325 | 330 335 |
| [0214] | Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met |     |         |
| [0215] |                                                                 | 340 | 345 350 |
| [0216] | Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro |     |         |
| [0217] |                                                                 | 355 | 360 365 |
| [0218] | Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser His Met Arg Val |     |         |
| [0219] | 370                                                             | 375 | 380     |
| [0220] | Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn |     |         |
| [0221] | 385                                                             | 390 | 395 400 |
| [0222] | Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val |     |         |
| [0223] |                                                                 | 405 | 410 415 |
| [0224] | Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg |     |         |
| [0225] |                                                                 | 420 | 425 430 |
| [0226] | Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys |     |         |
| [0227] |                                                                 | 435 | 440 445 |
| [0228] | Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg |     |         |
| [0229] |                                                                 | 450 | 455 460 |
| [0230] | Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys |     |         |
| [0231] | 465                                                             | 470 | 475 480 |
| [0232] | Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg Gly Val |     |         |
| [0233] |                                                                 | 485 | 490 495 |
| [0234] | Gln Val Glu Thr Ile Ser Pro Gly Asp Gly Arg Thr Phe Pro Lys Arg |     |         |
| [0235] |                                                                 | 500 | 505 510 |
| [0236] | Gly Gln Thr Cys Val Val His Tyr Thr Gly Met Leu Gly Asp Gly Lys |     |         |
| [0237] |                                                                 | 515 | 520 525 |
| [0238] | Lys Val Asp Ser Ser Arg Asp Arg Asn Lys Pro Phe Lys Phe Met Leu |     |         |
| [0239] |                                                                 | 530 | 535 540 |
| [0240] | Gly Lys Gln Glu Val Ile Arg Gly Trp Glu Glu Gly Val Ala Gln Met |     |         |
| [0241] | 545                                                             | 550 | 555 560 |
| [0242] | Ser Val Gly Gln Gly Ala Lys Leu Thr Ile Ser Pro Asp Tyr Ala Tyr |     |         |
| [0243] |                                                                 | 565 | 570 575 |
| [0244] | Gly Ala Thr Gly His Pro Gly Ile Ile Pro Pro His Ala Thr Leu Val |     |         |
| [0245] |                                                                 | 580 | 585 590 |
| [0246] | Phe Asp Val Glu Leu Leu Glu Leu Glu                             |     |         |
| [0247] |                                                                 | 595 | 600     |
| [0248] | <210> 9                                                         |     |         |
| [0249] | <211> 66                                                        |     |         |
| [0250] | <212> DNA                                                       |     |         |

- [0251] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [0252] <220>
- [0253] <223> 合成
- [0254] <400> 9
- [0255] atgctgctgc tcgtgacatc tctgctgctg tgcgagctgc cccacccgc ctttctgctg 60
- [0256] atcccc 66
- [0257] <210> 10
- [0258] <211> 22
- [0259] <212> PRT
- [0260] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [0261] <220>
- [0262] <223> 合成
- [0263] <400> 10
- [0264] Met Leu Leu Leu Val Thr Ser Leu Leu Leu Cys Glu Leu Pro His Pro
- [0265] 1 5 10 15
- [0266] Ala Phe Leu Leu Ile Pro
- [0267] 20
- [0268] <210> 11
- [0269] <211> 735
- [0270] <212> DNA
- [0271] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [0272] <220>
- [0273] <223> 合成
- [0274] <400> 11
- [0275] gacatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctgggaga cagagtcacc 60
- [0276] atcagttgca gggcaagtca ggacattagt aaatatTTAA attggtatca gcagaaacca 120
- [0277] gatggaactg ttaaactcct gatctaccat acatcaagat tacactcagg agtcccatca 180
- [0278] aggttcagtg gcagtgggtc tggaacagat tattctctca ccattagcaa cctggagcaa 240
- [0279] gaagatattg ccacttactt ttgccaacag ggtaatacgc ttccgtacac gtteggaggg 300
- [0280] gggactaagt tggaataaac aggtccacc tctggatccg gcaagcccgg atctggcgag 360
- [0281] ggatccacca agggcgaggt gaaactgcag gagtcaggac ctggcctggt ggcgcctca 420
- [0282] cagagcctgt ccgtcacatg tactgtctca ggggtctcat taccgacta tgggtgaagc 480
- [0283] tggattcgcc agcctccacg aaagggtctg gagtggctgg gagtaatatg gggtagtga 540
- [0284] accacatact ataattcagc tctcaaatcc agactgacca tcatcaagga caactccaag 600
- [0285] agccaagttt tcttaaaaat gaacagtctg caaactgatg acacagccat ttactactgt 660
- [0286] gccaaacatt attactacgg tggtagctat gctatggact actggggtca aggaacctca 720
- [0287] gtcaccgtct cctca 735
- [0288] <210> 12
- [0289] <211> 245
- [0290] <212> PRT
- [0291] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [0292] <220>

|        |                                                                      |
|--------|----------------------------------------------------------------------|
| [0293] | <223> 合成                                                             |
| [0294] | <400> 12                                                             |
| [0295] | Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly      |
| [0296] | 1 5 10 15                                                            |
| [0297] | Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr      |
| [0298] | 20 25 30                                                             |
| [0299] | Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile      |
| [0300] | 35 40 45                                                             |
| [0301] | Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly      |
| [0302] | 50 55 60                                                             |
| [0303] | Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln      |
| [0304] | 65 70 75 80                                                          |
| [0305] | Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr      |
| [0306] | 85 90 95                                                             |
| [0307] | Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Ser Thr Ser Gly      |
| [0308] | 100 105 110                                                          |
| [0309] | Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr Lys Gly Glu Val Lys      |
| [0310] | 115 120 125                                                          |
| [0311] | Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser      |
| [0312] | 130 135 140                                                          |
| [0313] | Val Thr Cys Thr Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser      |
| [0314] | 145 150 155 160                                                      |
| [0315] | Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile      |
| [0316] | 165 170 175                                                          |
| [0317] | Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu      |
| [0318] | 180 185 190                                                          |
| [0319] | Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn      |
| [0320] | 195 200 205                                                          |
| [0321] | Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr      |
| [0322] | 210 215 220                                                          |
| [0323] | Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser      |
| [0324] | 225 230 235 240                                                      |
| [0325] | Val Thr Val Ser Ser                                                  |
| [0326] | 245                                                                  |
| [0327] | <210> 13                                                             |
| [0328] | <211> 117                                                            |
| [0329] | <212> DNA                                                            |
| [0330] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                      |
| [0331] | <220>                                                                |
| [0332] | <223> 合成                                                             |
| [0333] | <400> 13                                                             |
| [0334] | attgaagtta tgtatcctcc tccttaccta gacaatgaga agagcaatgg aaccattatc 60 |

[0335] catgtgaaag ggaaacacct ttgtccaagt cccctatttc ccggaccttc taagccc 117  
 [0336] <210> 14  
 [0337] <211> 39  
 [0338] <212> PRT  
 [0339] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [0340] <220>  
 [0341] <223> 合成  
 [0342] <400> 14  
 [0343] Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn  
 [0344] 1 5 10 15  
 [0345] Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu  
 [0346] 20 25 30  
 [0347] Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro  
 [0348] 35  
 [0349] <210> 15  
 [0350] <211> 81  
 [0351] <212> DNA  
 [0352] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [0353] <220>  
 [0354] <223> 合成  
 [0355] <400> 15  
 [0356] ttttgggtgc tgggtgggtg tgggggagtc ctggcttgct atagcttgct agtaacagtg 60  
 [0357] gcctttatta ttttctgggt g 81  
 [0358] <210> 16  
 [0359] <211> 27  
 [0360] <212> PRT  
 [0361] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [0362] <220>  
 [0363] <223> 合成  
 [0364] <400> 16  
 [0365] Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu  
 [0366] 1 5 10 15  
 [0367] Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val  
 [0368] 20 25  
 [0369] <210> 17  
 [0370] <211> 123  
 [0371] <212> DNA  
 [0372] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [0373] <220>  
 [0374] <223> 合成  
 [0375] <400> 17  
 [0376] aggagtaaga ggagcaggct cctgcacagt gactacatga acatgactcc ccgccgcccc 60

[0377] gggccccc gcaagcatta ccagccctat gccccaccac ggcacttcgc agcctatcgc 120  
 [0378] tcc 123  
 [0379] <210> 18  
 [0380] <211> 41  
 [0381] <212> PRT  
 [0382] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [0383] <220>  
 [0384] <223> 合成  
 [0385] <400> 18  
 [0386] Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr  
 [0387] 1 5 10 15  
 [0388] Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro  
 [0389] 20 25 30  
 [0390] Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser  
 [0391] 35 40  
 [0392] <210> 19  
 [0393] <211> 336  
 [0394] <212> DNA  
 [0395] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [0396] <220>  
 [0397] <223> 合成  
 [0398] <400> 19  
 [0399] agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtaca agcagggcca gaaccagctc 60  
 [0400] tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gactacgatg ttttggacaa gagacgtggc 120  
 [0401] cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180  
 [0402] gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240  
 [0403] cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300  
 [0404] tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc 336  
 [0405] <210> 20  
 [0406] <211> 112  
 [0407] <212> PRT  
 [0408] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [0409] <220>  
 [0410] <223> 合成  
 [0411] <400> 20  
 [0412] Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly  
 [0413] 1 5 10 15  
 [0414] Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr  
 [0415] 20 25 30  
 [0416] Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys  
 [0417] 35 40 45  
 [0418] Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys



|        |                                                                   |     |     |
|--------|-------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| [0419] | 50                                                                | 55  | 60  |
| [0420] | Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg   |     |     |
| [0421] | 65                                                                | 70  | 75  |
| [0422] | Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala   |     |     |
| [0423] | 85                                                                | 90  | 95  |
| [0424] | Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg   |     |     |
| [0425] | 100                                                               | 105 | 110 |
| [0426] | <210> 21                                                          |     |     |
| [0427] | <211> 321                                                         |     |     |
| [0428] | <212> DNA                                                         |     |     |
| [0429] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                   |     |     |
| [0430] | <220>                                                             |     |     |
| [0431] | <223> 合成                                                          |     |     |
| [0432] | <400> 21                                                          |     |     |
| [0433] | ggagtgcagg tggaaccat ctccccagga gacgggcgca cttccccaa gcgcggccag   | 60  |     |
| [0434] | acctgcgtgg tgcactacac cgggatgctt ggagatggaa agaaagttga ctctccccg  | 120 |     |
| [0435] | gacagaaaca agccctttaa gtttatgcta ggcaagcagg aggtgatccg aggctgggaa | 180 |     |
| [0436] | gaaggggttg cccagatgag tgtgggtcag ggagccaaac tgactataac tccagattat | 240 |     |
| [0437] | gcctatggtg ccaactggga cccaggcatc atcccaccac atgccactct cgtcttcgat | 300 |     |
| [0438] | gtggagcttc tagaactgga a                                           | 321 |     |
| [0439] | <210> 22                                                          |     |     |
| [0440] | <211> 107                                                         |     |     |
| [0441] | <212> PRT                                                         |     |     |
| [0442] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                   |     |     |
| [0443] | <220>                                                             |     |     |
| [0444] | <223> 合成                                                          |     |     |
| [0445] | <400> 22                                                          |     |     |
| [0446] | Gly Val Gln Val Glu Thr Ile Ser Pro Gly Asp Gly Arg Thr Phe Pro   |     |     |
| [0447] | 1                                                                 | 5   | 10  |
| [0448] | Lys Arg Gly Gln Thr Cys Val Val His Tyr Thr Gly Met Leu Gly Asp   |     |     |
| [0449] | 20                                                                | 25  | 30  |
| [0450] | Gly Lys Lys Val Asp Ser Ser Arg Asp Arg Asn Lys Pro Phe Lys Phe   |     |     |
| [0451] | 35                                                                | 40  | 45  |
| [0452] | Met Leu Gly Lys Gln Glu Val Ile Arg Gly Trp Glu Glu Gly Val Ala   |     |     |
| [0453] | 50                                                                | 55  | 60  |
| [0454] | Gln Met Ser Val Gly Gln Gly Ala Lys Leu Thr Ile Ser Pro Asp Tyr   |     |     |
| [0455] | 65                                                                | 70  | 75  |
| [0456] | Ala Tyr Gly Ala Thr Gly His Pro Gly Ile Ile Pro Pro His Ala Thr   |     |     |
| [0457] | 85                                                                | 90  | 95  |
| [0458] | Leu Val Phe Asp Val Glu Leu Leu Glu Leu Glu                       |     |     |
| [0459] | 100                                                               | 105 |     |
| [0460] | <210> 23                                                          |     |     |

|        |                                                                         |
|--------|-------------------------------------------------------------------------|
| [0461] | <211> 1959                                                              |
| [0462] | <212> DNA                                                               |
| [0463] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                         |
| [0464] | <220>                                                                   |
| [0465] | <223> 合成                                                                |
| [0466] | <400> 23                                                                |
| [0467] | atgctgctgc tcgtgacatc tctgctgctg tgcgagctgc cccaccccg ctttctgctg 60     |
| [0468] | atccccgata tcgacatcca gatgacacag actacatcct ccctgtctgc ctctctggga 120   |
| [0469] | gacagagtca ccatcagttg cagggcaagt caggacatta gtaaataattt aaattggtat 180  |
| [0470] | cagcagaaac cagatggaac tgttaaactc ctgatctacc atacatcaag attacactca 240   |
| [0471] | ggagtcccat caaggttcag tggcagtggg tctggaacag attattctct caccattagc 300   |
| [0472] | aacctggagc aagaagatat tgccacttac ttttgccaac agggtaatac gcttccgtac 360   |
| [0473] | acgttcggag gggggactaa gttggaata acaggctcca cctctggatc cggcaagccc 420    |
| [0474] | ggatctggcg agggatccac caaggcgag gtgaaactgc aggagtcagg acctggcctg 480    |
| [0475] | gtggcgccct cacagagcct gtccgtcaca tgtactgtct caggggtctc attacccgac 540   |
| [0476] | tatggtgtaa gctggattcg ccagcctcca cgaaagggtc tggagtggct gggagtaata 600   |
| [0477] | tgggtagtg aaaccacata ctataattca gctctcaaat ccagactgac catcatcaag 660    |
| [0478] | gacaactcca agagccaagt tttcttaaaa atgaacagtc tgcaaactga tgacacagcc 720   |
| [0479] | atttactact gtgccaacaa ttattactac ggtgtagct atgctatgga ctactgggg 780     |
| [0480] | caaggaacct cagtaccgt ctctcagct agcttcgaaa ttgaagttat gtatcctcct 840     |
| [0481] | ccttacctag acaatgagaa gagcaatgga accattatcc atgtgaaagg gaaacacctt 900   |
| [0482] | tgtccaagtc ccctatttcc cggaccttct aagccctttt ggggtgctgtt ggtggttggg 960  |
| [0483] | ggagtccctgg cttgctatag cttgctagta acagtggcct ttattatttt ctgggtgagg 1020 |
| [0484] | agtaagagga gcaggctcct gcacagtgcac tacatgaaca tgactccccg ccgccccggg 1080 |
| [0485] | ccccccgca agcattacca gccctatgcc ccaccacgcg acttcgcagc ctatcgctcc 1140   |
| [0486] | catatgagag tgaagttcag caggagcgca gacgccccg cgtacaagca gggccagaac 1200   |
| [0487] | cagctctata acgagctcaa tctaggacga agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga 1260  |
| [0488] | cgtggccggg acctgagat ggggggaaag ccgagaagga agaacctca ggaaggcctg 1320    |
| [0489] | tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc 1380  |
| [0490] | gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag 1440  |
| [0491] | gacacctacg acgcccctca catgcaggcc ctgccccctc gcatcagtct gattgcggcg 1500  |
| [0492] | ttagcggtag attacgttat cggcatgga aacgccatgc cgtggaacct gcctgccgat 1560   |
| [0493] | ctcgcttgtt ttaaagcaa caccttaaat aaacccgtga ttatgggccc ccatacctgg 1620   |
| [0494] | gaatcaatcg gtcgtccgtt gccaggacgc aaaaatatta tcctcagcag tcaaccgagt 1680  |
| [0495] | acggacgatc gcgtaacgtg ggtgaagtcg gtggatgaag ccatcgcggc gtgtggtgac 1740  |
| [0496] | gtaccagaaa tcatggtgat tggcggcggc cgcgttattg aacagttctt gccaaaagcg 1800  |
| [0497] | caaaaactgt atctgacgca tatcgacgca gaagtggga gcgacacca tttcccgat 1860     |
| [0498] | tacgagccgg atgactggga atcggtattc agcgaattcc acgatgctga tgcgcagaa 1920   |
| [0499] | tctcacagct attgctttga gattctggag cggcgatga 1959                         |
| [0500] | <210> 24                                                                |
| [0501] | <211> 652                                                               |
| [0502] | <212> PRT                                                               |

|        |                                 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|--------|---------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| [0503] | <213> 人工序列(Artificial Sequence) |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [0504] | <220>                           |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [0505] | <223> 合成                        |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [0506] | <400> 24                        |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [0507] | Met                             | Leu | Leu | Leu | Val | Thr | Ser | Leu | Leu | Leu | Cys | Glu | Leu | Pro | His | Pro |
| [0508] | 1                               |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| [0509] | Ala                             | Phe | Leu | Leu | Ile | Pro | Asp | Ile | Asp | Ile | Gln | Met | Thr | Gln | Thr | Thr |
| [0510] |                                 |     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |
| [0511] | Ser                             | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Leu | Gly | Asp | Arg | Val | Thr | Ile | Ser | Cys | Arg |
| [0512] |                                 |     |     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |
| [0513] | Ala                             | Ser | Gln | Asp | Ile | Ser | Lys | Tyr | Leu | Asn | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro |
| [0514] |                                 |     |     |     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |
| [0515] | Asp                             | Gly | Thr | Val | Lys | Leu | Leu | Ile | Tyr | His | Thr | Ser | Arg | Leu | His | Ser |
| [0516] | 65                              |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| [0517] | Gly                             | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly | Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Tyr | Ser |
| [0518] |                                 |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     |     | 95  |
| [0519] | Leu                             | Thr | Ile | Ser | Asn | Leu | Glu | Gln | Glu | Asp | Ile | Ala | Thr | Tyr | Phe | Cys |
| [0520] |                                 |     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     | 110 |
| [0521] | Gln                             | Gln | Gly | Asn | Thr | Leu | Pro | Tyr | Thr | Phe | Gly | Gly | Gly | Thr | Lys | Leu |
| [0522] |                                 |     |     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     |     | 125 |
| [0523] | Glu                             | Ile | Thr | Gly | Ser | Thr | Ser | Gly | Ser | Gly | Lys | Pro | Gly | Ser | Gly | Glu |
| [0524] |                                 |     |     |     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     |     | 140 |
| [0525] | Gly                             | Ser | Thr | Lys | Gly | Glu | Val | Lys | Leu | Gln | Glu | Ser | Gly | Pro | Gly | Leu |
| [0526] | 145                             |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| [0527] | Val                             | Ala | Pro | Ser | Gln | Ser | Leu | Ser | Val | Thr | Cys | Thr | Val | Ser | Gly | Val |
| [0528] |                                 |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     |     | 175 |
| [0529] | Ser                             | Leu | Pro | Asp | Tyr | Gly | Val | Ser | Trp | Ile | Arg | Gln | Pro | Pro | Arg | Lys |
| [0530] |                                 |     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     |     | 190 |
| [0531] | Gly                             | Leu | Glu | Trp | Leu | Gly | Val | Ile | Trp | Gly | Ser | Glu | Thr | Thr | Tyr | Tyr |
| [0532] |                                 |     |     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     |     | 205 |
| [0533] | Asn                             | Ser | Ala | Leu | Lys | Ser | Arg | Leu | Thr | Ile | Ile | Lys | Asp | Asn | Ser | Lys |
| [0534] |                                 |     |     |     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     |     | 220 |
| [0535] | Ser                             | Gln | Val | Phe | Leu | Lys | Met | Asn | Ser | Leu | Gln | Thr | Asp | Asp | Thr | Ala |
| [0536] | 225                             |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| [0537] | Ile                             | Tyr | Tyr | Cys | Ala | Lys | His | Tyr | Tyr | Tyr | Gly | Gly | Ser | Tyr | Ala | Met |
| [0538] |                                 |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     |     | 255 |
| [0539] | Asp                             | Tyr | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Ser | Val | Thr | Val | Ser | Ser | Ala | Ser | Phe |
| [0540] |                                 |     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     |     | 270 |
| [0541] | Glu                             | Ile | Glu | Val | Met | Tyr | Pro | Pro | Pro | Tyr | Leu | Asp | Asn | Glu | Lys | Ser |
| [0542] |                                 |     |     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     |     | 285 |
| [0543] | Asn                             | Gly | Thr | Ile | Ile | His | Val | Lys | Gly | Lys | His | Leu | Cys | Pro | Ser | Pro |
| [0544] |                                 |     |     |     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     |     | 300 |

|        |                                                                 |         |         |
|--------|-----------------------------------------------------------------|---------|---------|
| [0545] | Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly |         |         |
| [0546] | 305                                                             | 310     | 315 320 |
| [0547] | Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile |         |         |
| [0548] |                                                                 | 325 330 | 335     |
| [0549] | Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met |         |         |
| [0550] |                                                                 | 340 345 | 350     |
| [0551] | Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro |         |         |
| [0552] |                                                                 | 355 360 | 365     |
| [0553] | Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser His Met Arg Val |         |         |
| [0554] | 370                                                             | 375     | 380     |
| [0555] | Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn |         |         |
| [0556] | 385                                                             | 390 395 | 400     |
| [0557] | Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val |         |         |
| [0558] |                                                                 | 405 410 | 415     |
| [0559] | Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg |         |         |
| [0560] |                                                                 | 420 425 | 430     |
| [0561] | Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys |         |         |
| [0562] |                                                                 | 435 440 | 445     |
| [0563] | Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg |         |         |
| [0564] | 450                                                             | 455     | 460     |
| [0565] | Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys |         |         |
| [0566] | 465                                                             | 470 475 | 480     |
| [0567] | Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg Ile Ser |         |         |
| [0568] |                                                                 | 485 490 | 495     |
| [0569] | Leu Ile Ala Ala Leu Ala Val Asp Tyr Val Ile Gly Met Glu Asn Ala |         |         |
| [0570] |                                                                 | 500 505 | 510     |
| [0571] | Met Pro Trp Asn Leu Pro Ala Asp Leu Ala Trp Phe Lys Arg Asn Thr |         |         |
| [0572] |                                                                 | 515 520 | 525     |
| [0573] | Leu Asn Lys Pro Val Ile Met Gly Arg His Thr Trp Glu Ser Ile Gly |         |         |
| [0574] | 530                                                             | 535     | 540     |
| [0575] | Arg Pro Leu Pro Gly Arg Lys Asn Ile Ile Leu Ser Ser Gln Pro Ser |         |         |
| [0576] | 545                                                             | 550 555 | 560     |
| [0577] | Thr Asp Asp Arg Val Thr Trp Val Lys Ser Val Asp Glu Ala Ile Ala |         |         |
| [0578] |                                                                 | 565 570 | 575     |
| [0579] | Ala Cys Gly Asp Val Pro Glu Ile Met Val Ile Gly Gly Gly Arg Val |         |         |
| [0580] |                                                                 | 580 585 | 590     |
| [0581] | Ile Glu Gln Phe Leu Pro Lys Ala Gln Lys Leu Tyr Leu Thr His Ile |         |         |
| [0582] |                                                                 | 595 600 | 605     |
| [0583] | Asp Ala Glu Val Glu Gly Asp Thr His Phe Pro Asp Tyr Glu Pro Asp |         |         |
| [0584] | 610                                                             | 615     | 620     |
| [0585] | Asp Trp Glu Ser Val Phe Ser Glu Phe His Asp Ala Asp Ala Gln Asn |         |         |
| [0586] | 625                                                             | 630 635 | 640     |

|        |                                                                        |
|--------|------------------------------------------------------------------------|
| [0587] | Ser His Ser Tyr Cys Phe Glu Ile Leu Glu Arg Arg                        |
| [0588] | 645 650                                                                |
| [0589] | <210> 25                                                               |
| [0590] | <211> 66                                                               |
| [0591] | <212> DNA                                                              |
| [0592] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                        |
| [0593] | <220>                                                                  |
| [0594] | <223> 合成                                                               |
| [0595] | <400> 25                                                               |
| [0596] | atgctgctgc tcgtgacatc tctgctgctg tgcgagctgc cccaccccg ctttctgctg 60    |
| [0597] | atcccc 66                                                              |
| [0598] | <210> 26                                                               |
| [0599] | <211> 22                                                               |
| [0600] | <212> PRT                                                              |
| [0601] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                        |
| [0602] | <220>                                                                  |
| [0603] | <223> 合成                                                               |
| [0604] | <400> 26                                                               |
| [0605] | Met Leu Leu Leu Val Thr Ser Leu Leu Leu Cys Glu Leu Pro His Pro        |
| [0606] | 1 5 10 15                                                              |
| [0607] | Ala Phe Leu Leu Ile Pro                                                |
| [0608] | 20                                                                     |
| [0609] | <210> 27                                                               |
| [0610] | <211> 735                                                              |
| [0611] | <212> DNA                                                              |
| [0612] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                        |
| [0613] | <220>                                                                  |
| [0614] | <223> 合成                                                               |
| [0615] | <400> 27                                                               |
| [0616] | gacatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctgggaga cagagtcacc 60   |
| [0617] | atcagttgca gggcaagtca ggacattagt aaatatataa attggtatca gcagaaacca 120  |
| [0618] | gatggaactg ttaaaactcct gatctaccat acatcaagat tacactcagg agtcccatca 180 |
| [0619] | aggttcagtg gcagtgggtc tggaacagat tattctctca ccattagcaa cctggagcaa 240  |
| [0620] | gaagatatcg ccacttactt ttgccaacag ggtaatacgc ttccgtacac gttcggaggg 300  |
| [0621] | gggactaagt tggaataaac aggtccacc tctggatccg gcaagcccgg atctggcgag 360   |
| [0622] | ggatccacca agggcgaggt gaaactgcag gagtcaggac ctggcctggt ggcgcctca 420   |
| [0623] | cagagcctgt ccgtcacatg tactgtctca ggggtctcat taccgacta tgggtgaagc 480   |
| [0624] | tggattcgcc agcctccacg aaagggtctg gagtggctgg gagtaatatg gggtagttaa 540  |
| [0625] | accacatact ataattcagc tctcaaatcc agactgacca tcatcaagga caactccaag 600  |
| [0626] | agccaagttt tcttaaaaat gaacagtctg caaactgatg acacagccat ttactactgt 660  |
| [0627] | gccaaacatt attactacgg tggtagctat gctatggact actggggtca aggaacctca 720  |
| [0628] | gtcaccgtct cctca 735                                                   |

|        |       |                           |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|--------|-------|---------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| [0629] | <210> | 28                        |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [0630] | <211> | 245                       |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [0631] | <212> | PRT                       |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [0632] | <213> | 人工序列(Artificial Sequence) |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [0633] | <220> |                           |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [0634] | <223> | 合成                        |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [0635] | <400> | 28                        |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [0636] | Asp   | Ile                       | Gln | Met | Thr | Gln | Thr | Thr | Ser | Ser | Leu | Ser | Ala | Ser | Leu | Gly |
| [0637] | 1     |                           |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |     |
| [0638] | Asp   | Arg                       | Val | Thr | Ile | Ser | Cys | Arg | Ala | Ser | Gln | Asp | Ile | Ser | Lys | Tyr |
| [0639] |       |                           | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| [0640] | Leu   | Asn                       | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Asp | Gly | Thr | Val | Lys | Leu | Leu | Ile |
| [0641] |       |                           | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| [0642] | Tyr   | His                       | Thr | Ser | Arg | Leu | His | Ser | Gly | Val | Pro | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly |
| [0643] |       | 50                        |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| [0644] | Ser   | Gly                       | Ser | Gly | Thr | Asp | Tyr | Ser | Leu | Thr | Ile | Ser | Asn | Leu | Glu | Gln |
| [0645] | 65    |                           |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     | 80  |     |
| [0646] | Glu   | Asp                       | Ile | Ala | Thr | Tyr | Phe | Cys | Gln | Gln | Gly | Asn | Thr | Leu | Pro | Tyr |
| [0647] |       |                           |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| [0648] | Thr   | Phe                       | Gly | Gly | Gly | Thr | Lys | Leu | Glu | Ile | Thr | Gly | Ser | Thr | Ser | Gly |
| [0649] |       |                           |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| [0650] | Ser   | Gly                       | Lys | Pro | Gly | Ser | Gly | Glu | Gly | Ser | Thr | Lys | Gly | Glu | Val | Lys |
| [0651] |       |                           | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| [0652] | Leu   | Gln                       | Glu | Ser | Gly | Pro | Gly | Leu | Val | Ala | Pro | Ser | Gln | Ser | Leu | Ser |
| [0653] |       | 130                       |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| [0654] | Val   | Thr                       | Cys | Thr | Val | Ser | Gly | Val | Ser | Leu | Pro | Asp | Tyr | Gly | Val | Ser |
| [0655] | 145   |                           |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| [0656] | Trp   | Ile                       | Arg | Gln | Pro | Pro | Arg | Lys | Gly | Leu | Glu | Trp | Leu | Gly | Val | Ile |
| [0657] |       |                           |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| [0658] | Trp   | Gly                       | Ser | Glu | Thr | Thr | Tyr | Tyr | Asn | Ser | Ala | Leu | Lys | Ser | Arg | Leu |
| [0659] |       |                           |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| [0660] | Thr   | Ile                       | Ile | Lys | Asp | Asn | Ser | Lys | Ser | Gln | Val | Phe | Leu | Lys | Met | Asn |
| [0661] |       |                           | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| [0662] | Ser   | Leu                       | Gln | Thr | Asp | Asp | Thr | Ala | Ile | Tyr | Tyr | Cys | Ala | Lys | His | Tyr |
| [0663] |       | 210                       |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| [0664] | Tyr   | Tyr                       | Gly | Gly | Ser | Tyr | Ala | Met | Asp | Tyr | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr | Ser |
| [0665] | 225   |                           |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| [0666] | Val   | Thr                       | Val | Ser | Ser |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [0667] |       |                           |     | 245 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [0668] | <210> | 29                        |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [0669] | <211> | 117                       |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [0670] | <212> | DNA                       |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

- [0671] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [0672] <220>
- [0673] <223> 合成
- [0674] <400> 29
- [0675] attgaagtta tgtatcctcc tccttaccta gacaatgaga agagcaatgg aaccattatc 60
- [0676] catgtgaaag ggaaacacct ttgtccaagt cccctatttc ccggaccttc taagccc 117
- [0677] <210> 30
- [0678] <211> 39
- [0679] <212> PRT
- [0680] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [0681] <220>
- [0682] <223> 合成
- [0683] <400> 30
- [0684] Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn
- [0685] 1 5 10 15
- [0686] Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu
- [0687] 20 25 30
- [0688] Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro
- [0689] 35
- [0690] <210> 31
- [0691] <211> 81
- [0692] <212> DNA
- [0693] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [0694] <220>
- [0695] <223> 合成
- [0696] <400> 31
- [0697] ttttgggtgc tgggtggtggt tgggggagtc ctggcttgct atagcttgct agtaacagtg 60
- [0698] gcctttatta ttttctgggt g 81
- [0699] <210> 32
- [0700] <211> 27
- [0701] <212> PRT
- [0702] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [0703] <220>
- [0704] <223> 合成
- [0705] <400> 32
- [0706] Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu
- [0707] 1 5 10 15
- [0708] Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val
- [0709] 20 25
- [0710] <210> 33
- [0711] <211> 123
- [0712] <212> DNA

- [0713] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [0714] <220>
- [0715] <223> 合成
- [0716] <400> 33
- [0717] aggagtaaga ggagcaggct cctgcacagt gactacatga acatgactcc ccgccgcccc 60
- [0718] gggcccaccc gcaagcatta ccagccctat gccccaccac gcgacttcgc agcctatcgc 120
- [0719] tcc 123
- [0720] <210> 34
- [0721] <211> 41
- [0722] <212> PRT
- [0723] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [0724] <220>
- [0725] <223> 合成
- [0726] <400> 34
- [0727] Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr
- [0728] 1 5 10 15
- [0729] Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro
- [0730] 20 25 30
- [0731] Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
- [0732] 35 40
- [0733] <210> 35
- [0734] <211> 336
- [0735] <212> DNA
- [0736] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [0737] <220>
- [0738] <223> 合成
- [0739] <400> 35
- [0740] agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtaca agcagggcca gaaccagctc 60
- [0741] tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gactacgatg ttttggacaa gagacgtggc 120
- [0742] cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180
- [0743] gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240
- [0744] cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300
- [0745] tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc 336
- [0746] <210> 36
- [0747] <211> 112
- [0748] <212> PRT
- [0749] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [0750] <220>
- [0751] <223> 合成
- [0752] <400> 36
- [0753] Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly
- [0754] 1 5 10 15



|        |                                                                   |          |
|--------|-------------------------------------------------------------------|----------|
| [0755] | Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr   |          |
| [0756] | 20                                                                | 25 30    |
| [0757] | Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys   |          |
| [0758] | 35                                                                | 40 45    |
| [0759] | Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys   |          |
| [0760] | 50                                                                | 55 60    |
| [0761] | Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg   |          |
| [0762] | 65                                                                | 70 75 80 |
| [0763] | Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala   |          |
| [0764] | 85                                                                | 90 95    |
| [0765] | Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg   |          |
| [0766] | 100                                                               | 105 110  |
| [0767] | <210> 37                                                          |          |
| [0768] | <211> 474                                                         |          |
| [0769] | <212> DNA                                                         |          |
| [0770] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                   |          |
| [0771] | <220>                                                             |          |
| [0772] | <223> 合成                                                          |          |
| [0773] | <400> 37                                                          |          |
| [0774] | atcagtctga ttgcggcggt agcggtagat tacgttatcg gcatggaaaa cgccatgccg | 60       |
| [0775] | tggaacctgc ctgccgatct cgcttggttt aaacgcaaca ccttaaataa acccgtgatt | 120      |
| [0776] | atgggccgcc atacctggga atcaatcggc cgtccgttgc caggacgcaa aaatattatc | 180      |
| [0777] | ctcagcagtc aaccgagtac ggacgatcgc gtaacgtggg tgaagtcggt ggatgaagcc | 240      |
| [0778] | atcgcggcgt gtggtgacgt accagaaatc atggtgattg gcggcggtcg cgttattgaa | 300      |
| [0779] | cagtcttgc caaaagcgca aaaactgtat ctgacgcata tcgacgcaga agtgaaggc   | 360      |
| [0780] | gacacccatt tcccggatta cgagccggat gactgggaat cggatttcag cgaattccac | 420      |
| [0781] | gatgctgatg cgcagaactc tcacagctat tgctttgaga ttctggagcg gcga       | 474      |
| [0782] | <210> 38                                                          |          |
| [0783] | <211> 158                                                         |          |
| [0784] | <212> PRT                                                         |          |
| [0785] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                   |          |
| [0786] | <220>                                                             |          |
| [0787] | <223> 合成                                                          |          |
| [0788] | <400> 38                                                          |          |
| [0789] | Ile Ser Leu Ile Ala Ala Leu Ala Val Asp Tyr Val Ile Gly Met Glu   |          |
| [0790] | 1                                                                 | 5 10 15  |
| [0791] | Asn Ala Met Pro Trp Asn Leu Pro Ala Asp Leu Ala Trp Phe Lys Arg   |          |
| [0792] | 20                                                                | 25 30    |
| [0793] | Asn Thr Leu Asn Lys Pro Val Ile Met Gly Arg His Thr Trp Glu Ser   |          |
| [0794] | 35                                                                | 40 45    |
| [0795] | Ile Gly Arg Pro Leu Pro Gly Arg Lys Asn Ile Ile Leu Ser Ser Gln   |          |
| [0796] | 50                                                                | 55 60    |

|        |                                                                        |
|--------|------------------------------------------------------------------------|
| [0797] | Pro Ser Thr Asp Asp Arg Val Thr Trp Val Lys Ser Val Asp Glu Ala        |
| [0798] | 65 70 75 80                                                            |
| [0799] | Ile Ala Ala Cys Gly Asp Val Pro Glu Ile Met Val Ile Gly Gly Gly        |
| [0800] | 85 90 95                                                               |
| [0801] | Arg Val Ile Glu Gln Phe Leu Pro Lys Ala Gln Lys Leu Tyr Leu Thr        |
| [0802] | 100 105 110                                                            |
| [0803] | His Ile Asp Ala Glu Val Glu Gly Asp Thr His Phe Pro Asp Tyr Glu        |
| [0804] | 115 120 125                                                            |
| [0805] | Pro Asp Asp Trp Glu Ser Val Phe Ser Glu Phe His Asp Ala Asp Ala        |
| [0806] | 130 135 140                                                            |
| [0807] | Gln Asn Ser His Ser Tyr Cys Phe Glu Ile Leu Glu Arg Arg                |
| [0808] | 145 150 155                                                            |
| [0809] | <210> 39                                                               |
| [0810] | <211> 1791                                                             |
| [0811] | <212> DNA                                                              |
| [0812] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                        |
| [0813] | <220>                                                                  |
| [0814] | <223> 合成                                                               |
| [0815] | <400> 39                                                               |
| [0816] | atgtctgtgc tcgtgacatc tctgtctgtg tgcgagctgc cccaccccg ctttctgtctg 60   |
| [0817] | atccccgata tctgtctgac ccagaccct ctgagcctgc ctgtgtctct gggcgatcag 120   |
| [0818] | gccagcatca gctgcagatc cagccagagc ctggtgcacc ggaacggcaa cacctacctg 180  |
| [0819] | cactggtatc tgcagaagcc cggccagagc cccaagctgc tgattcaca ggtgtccaac 240   |
| [0820] | cggttcagcg gcgtgcccga cagattttct ggcagcggct ccggcaccga cttcacctg 300   |
| [0821] | aagatcagcc ggggtggaagc cgaggacctg ggcgtgtact tctgcagcca gtccaccac 360  |
| [0822] | gtgccccccc tgacatttgg cgccggaaca aagctggaac tgaaggcgag cacaagcggc 420  |
| [0823] | agcggcaagc ctggatctgg cgagggaagc accaaggcg aagtgaagct gcagcagagc 480   |
| [0824] | ggccctctc tgggtggaacc tggcgctct gtgatgatct cctgcaaggc cagcggcagc 540   |
| [0825] | tccttcaccg gctacaacat gaactgggtg cgccagaaca tcggcaagag cctggaatgg 600  |
| [0826] | atcggcgcca tcgacccta ctacggcggc accagctaca accagaagtt caagggcaga 660   |
| [0827] | gccaccctga ccgtggacaa gagcagctcc accgcctaca tgcacctgaa gtccctgacc 720  |
| [0828] | agcgaggaca gcgccgtgta ctactgcgtg tccggcatgg aatactgggg ccagggcaca 780  |
| [0829] | agcgtgaccg tgctctctgc tagcttcgaa attgaagtta tgtatcctcc tccttaccta 840  |
| [0830] | gacaatgaga agagcaatgg aaccattatc catgtgaaag ggaaacacct ttgtccaagt 900  |
| [0831] | cccctatttc ccggaccttc taagcccttt tgggtgctgg tgggtggttg gggagtcctg 960  |
| [0832] | gcttgctata gcttgctagt aacagtggcc tttattattt tctgggtgag gagtaagagg 1020 |
| [0833] | agcaggctcc tgcacagtga ctacatgaac atgactcccc gccgccccg gccaccgcg 1080   |
| [0834] | aagcattacc agccctatgc cccaccacgc gacttcgcag cctatcgctc cagagtgaag 1140 |
| [0835] | ttcagcagga gcgcagacgc ccccgctac aagcagggcc agaaccagct ctataacgag 1200  |
| [0836] | ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat gttttggaca agagacgtgg ccgggacct 1260  |
| [0837] | gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac cctcaggaag gcctgtacaa tgaactgcag 1320 |
| [0838] | aaagataaga tggcggaggc ctacagttag attgggatga aaggcgagcg ccggaggggc 1380 |

[0839] aaggggcacg atggccttta ccagggtctc agtacagcca ccaaggacac ctacgacgcc 1440  
 [0840] cttcacatgc aggccctgcc ccctcgcgga gtgcaggtgg aaaccatctc cccaggagac 1500  
 [0841] gggcgcacct tccccaagcg cggccagacc tgcgtggtgc actacaccgg gatgcttgga 1560  
 [0842] gatggaaaga aagttgactc ctcccgggac agaaacaagc cctttaagtt tatgctaggc 1620  
 [0843] aagcaggagg tgatccgagg ctgggaagaa ggggttgccc agatgagtgt gggtcaggga 1680  
 [0844] gccaaactga ctatatctcc agattatgcc tatggtgcca ctgggcaccc aggcattatc 1740  
 [0845] ccaccacatg ccactctcgt cttecatgtg gagcttctag aactggaatg a 1791  
 [0846] <210> 40  
 [0847] <211> 596  
 [0848] <212> PRT  
 [0849] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [0850] <220>  
 [0851] <223> 合成  
 [0852] <400> 40  
 [0853] Met Leu Leu Leu Val Thr Ser Leu Leu Leu Cys Glu Leu Pro His Pro  
 [0854] 1 5 10 15  
 [0855] Ala Phe Leu Leu Ile Pro Asp Ile Leu Leu Thr Gln Thr Pro Leu Ser  
 [0856] 20 25 30  
 [0857] Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser  
 [0858] 35 40 45  
 [0859] Gln Ser Leu Val His Arg Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu  
 [0860] 50 55 60  
 [0861] Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile His Lys Val Ser Asn  
 [0862] 65 70 75 80  
 [0863] Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr  
 [0864] 85 90 95  
 [0865] Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val  
 [0866] 100 105 110  
 [0867] Tyr Phe Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Pro Leu Thr Phe Gly Ala  
 [0868] 115 120 125  
 [0869] Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro  
 [0870] 130 135 140  
 [0871] Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr Lys Gly Glu Val Lys Leu Gln Gln Ser  
 [0872] 145 150 155 160  
 [0873] Gly Pro Ser Leu Val Glu Pro Gly Ala Ser Val Met Ile Ser Cys Lys  
 [0874] 165 170 175  
 [0875] Ala Ser Gly Ser Ser Phe Thr Gly Tyr Asn Met Asn Trp Val Arg Gln  
 [0876] 180 185 190  
 [0877] Asn Ile Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Tyr Tyr  
 [0878] 195 200 205  
 [0879] Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr  
 [0880] 210 215 220

|        |                                                                 |         |         |
|--------|-----------------------------------------------------------------|---------|---------|
| [0881] | Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met His Leu Lys Ser Leu Thr |         |         |
| [0882] | 225                                                             | 230     | 235 240 |
| [0883] | Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Val Ser Gly Met Glu Tyr Trp |         |         |
| [0884] |                                                                 | 245 250 | 255     |
| [0885] | Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Phe Glu Ile Glu |         |         |
| [0886] |                                                                 | 260 265 | 270     |
| [0887] | Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr |         |         |
| [0888] |                                                                 | 275 280 | 285     |
| [0889] | Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro |         |         |
| [0890] | 290                                                             | 295     | 300     |
| [0891] | Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu |         |         |
| [0892] | 305                                                             | 310     | 315 320 |
| [0893] | Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val |         |         |
| [0894] |                                                                 | 325 330 | 335     |
| [0895] | Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr |         |         |
| [0896] |                                                                 | 340 345 | 350     |
| [0897] | Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro |         |         |
| [0898] |                                                                 | 355 360 | 365     |
| [0899] | Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser |         |         |
| [0900] | 370                                                             | 375     | 380     |
| [0901] | Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu |         |         |
| [0902] | 385                                                             | 390     | 395 400 |
| [0903] | Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg |         |         |
| [0904] |                                                                 | 405 410 | 415     |
| [0905] | Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln |         |         |
| [0906] |                                                                 | 420 425 | 430     |
| [0907] | Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr |         |         |
| [0908] |                                                                 | 435 440 | 445     |
| [0909] | Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp |         |         |
| [0910] | 450                                                             | 455     | 460     |
| [0911] | Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala |         |         |
| [0912] | 465                                                             | 470     | 475 480 |
| [0913] | Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg Gly Val Gln Val Glu Thr Ile |         |         |
| [0914] |                                                                 | 485 490 | 495     |
| [0915] | Ser Pro Gly Asp Gly Arg Thr Phe Pro Lys Arg Gly Gln Thr Cys Val |         |         |
| [0916] |                                                                 | 500 505 | 510     |
| [0917] | Val His Tyr Thr Gly Met Leu Gly Asp Gly Lys Lys Val Asp Ser Ser |         |         |
| [0918] |                                                                 | 515 520 | 525     |
| [0919] | Arg Asp Arg Asn Lys Pro Phe Lys Phe Met Leu Gly Lys Gln Glu Val |         |         |
| [0920] | 530                                                             | 535     | 540     |
| [0921] | Ile Arg Gly Trp Glu Glu Gly Val Ala Gln Met Ser Val Gly Gln Gly |         |         |
| [0922] | 545                                                             | 550     | 555 560 |

|        |                                                                        |
|--------|------------------------------------------------------------------------|
| [0923] | Ala Lys Leu Thr Ile Ser Pro Asp Tyr Ala Tyr Gly Ala Thr Gly His        |
| [0924] | 565 570 575                                                            |
| [0925] | Pro Gly Ile Ile Pro Pro His Ala Thr Leu Val Phe Asp Val Glu Leu        |
| [0926] | 580 585 590                                                            |
| [0927] | Leu Glu Leu Glu                                                        |
| [0928] | 595                                                                    |
| [0929] | <210> 41                                                               |
| [0930] | <211> 66                                                               |
| [0931] | <212> DNA                                                              |
| [0932] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                        |
| [0933] | <220>                                                                  |
| [0934] | <223> 合成                                                               |
| [0935] | <400> 41                                                               |
| [0936] | atgctgctgc tcgtgacatc tctgctgctg tgcgagctgc cccacccgc ctttctgctg 60    |
| [0937] | atcccc 66                                                              |
| [0938] | <210> 42                                                               |
| [0939] | <211> 22                                                               |
| [0940] | <212> PRT                                                              |
| [0941] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                        |
| [0942] | <220>                                                                  |
| [0943] | <223> 合成                                                               |
| [0944] | <400> 42                                                               |
| [0945] | Met Leu Leu Leu Val Thr Ser Leu Leu Leu Cys Glu Leu Pro His Pro        |
| [0946] | 1 5 10 15                                                              |
| [0947] | Ala Phe Leu Leu Ile Pro                                                |
| [0948] | 20                                                                     |
| [0949] | <210> 43                                                               |
| [0950] | <211> 732                                                              |
| [0951] | <212> DNA                                                              |
| [0952] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                        |
| [0953] | <220>                                                                  |
| [0954] | <223> 合成                                                               |
| [0955] | <400> 43                                                               |
| [0956] | gatatcctgc tgaccagac ccctctgagc ctgcctgtgt ctctgggcga tcaggccagc 60    |
| [0957] | atcagctgca gatccagcca gagcctggtg caccggaacg gcaacaccta cctgcactgg 120  |
| [0958] | tatctgcaga agcccggcca gagccccaag ctgctgattc acaaggtgtc caaccggttc 180  |
| [0959] | agcggcgtgc ccgacagatt ttctggcagc ggctccggca ccgacttcac cctgaagatc 240  |
| [0960] | agccgggtgg aagccgagga cctgggcgtg tactttctgca gccagtccac ccacgtgccc 300 |
| [0961] | cccctgacat ttggcgccgg aacaaagctg gaactgaagg gcagcacaag cggcagcggc 360  |
| [0962] | aagcctggat ctggcgaggg aagcaccaag ggccaagtga agctgcagca gagcggcccc 420  |
| [0963] | tctctggtgg aacctggcgc ctctgtgatg atctcctgca aggccagcgg cagctccttc 480  |
| [0964] | accggctaca acatgaactg ggtgcgccag aacatcggca agagcctgga atggatcggc 540  |

[0965] gccatcgacc cctactacgg cggcaccagc tacaaccaga agttcaaggg cagagccacc 600  
 [0966] ctgaccgtgg acaagagcag ctccaccgcc tacatgcacc tgaagtcctt gaccagcgag 660  
 [0967] gacagcgccg tgtactactg cgtgtccggc atggaatact ggggccaggg cacaagcgtg 720  
 [0968] accgtgtcct ct 732  
 [0969] <210> 44  
 [0970] <211> 244  
 [0971] <212> PRT  
 [0972] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [0973] <220>  
 [0974] <223> 合成  
 [0975] <400> 44  
 [0976] Asp Ile Leu Leu Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly  
 [0977] 1 5 10 15  
 [0978] Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Arg  
 [0979] 20 25 30  
 [0980] Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 [0981] 35 40 45  
 [0982] Pro Lys Leu Leu Ile His Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro  
 [0983] 50 55 60  
 [0984] Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 [0985] 65 70 75 80  
 [0986] Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser  
 [0987] 85 90 95  
 [0988] Thr His Val Pro Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu  
 [0989] 100 105 110  
 [0990] Lys Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser  
 [0991] 115 120 125  
 [0992] Thr Lys Gly Glu Val Lys Leu Gln Gln Ser Gly Pro Ser Leu Val Glu  
 [0993] 130 135 140  
 [0994] Pro Gly Ala Ser Val Met Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Ser Ser Phe  
 [0995] 145 150 155 160  
 [0996] Thr Gly Tyr Asn Met Asn Trp Val Arg Gln Asn Ile Gly Lys Ser Leu  
 [0997] 165 170 175  
 [0998] Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn  
 [0999] 180 185 190  
 [1000] Gln Lys Phe Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser  
 [1001] 195 200 205  
 [1002] Thr Ala Tyr Met His Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val  
 [1003] 210 215 220  
 [1004] Tyr Tyr Cys Val Ser Gly Met Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val  
 [1005] 225 230 235 240  
 [1006] Thr Val Ser Ser

|        |                                                                      |
|--------|----------------------------------------------------------------------|
| [1007] | <210> 45                                                             |
| [1008] | <211> 117                                                            |
| [1009] | <212> DNA                                                            |
| [1010] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                      |
| [1011] | <220>                                                                |
| [1012] | <223> 合成                                                             |
| [1013] | <400> 45                                                             |
| [1014] | attgaagtta tgtatcctcc tccttaccta gacaatgaga agagcaatgg aaccattatc 60 |
| [1015] | catgtgaaag ggaaacacct ttgtccaagt cccctatttc ccggaccttc taagccc 117   |
| [1016] | <210> 46                                                             |
| [1017] | <211> 39                                                             |
| [1018] | <212> PRT                                                            |
| [1019] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                      |
| [1020] | <220>                                                                |
| [1021] | <223> 合成                                                             |
| [1022] | <400> 46                                                             |
| [1023] | Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn      |
| [1024] | 1 5 10 15                                                            |
| [1025] | Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu      |
| [1026] | 20 25 30                                                             |
| [1027] | Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro                                          |
| [1028] | 35                                                                   |
| [1029] | <210> 47                                                             |
| [1030] | <211> 81                                                             |
| [1031] | <212> DNA                                                            |
| [1032] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                      |
| [1033] | <220>                                                                |
| [1034] | <223> 合成                                                             |
| [1035] | <400> 47                                                             |
| [1036] | ttttgggtgc tgggtggtgt tgggggagtc ctggcttgct atagcttgct agtaacagtg 60 |
| [1037] | gcctttatta ttttctgggt g 81                                           |
| [1038] | <210> 48                                                             |
| [1039] | <211> 27                                                             |
| [1040] | <212> PRT                                                            |
| [1041] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                      |
| [1042] | <220>                                                                |
| [1043] | <223> 合成                                                             |
| [1044] | <400> 48                                                             |
| [1045] | Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu      |
| [1046] | 1 5 10 15                                                            |
| [1047] | Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val                          |
| [1048] | 20 25                                                                |

[1049] <210> 49  
 [1050] <211> 123  
 [1051] <212> DNA  
 [1052] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [1053] <220>  
 [1054] <223> 合成  
 [1055] <400> 49  
 [1056] aggagtaaga ggagcagget cctgcacagt gactacatga acatgactcc ccgccgcccc 60  
 [1057] gggcccaccc gcaagcatta ccagccctat gccccaccac gcgacttcgc agcctatcgc 120  
 [1058] tcc 123  
 [1059] <210> 50  
 [1060] <211> 41  
 [1061] <212> PRT  
 [1062] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [1063] <220>  
 [1064] <223> 合成  
 [1065] <400> 50  
 [1066] Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr  
 [1067] 1 5 10 15  
 [1068] Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro  
 [1069] 20 25 30  
 [1070] Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser  
 [1071] 35 40  
 [1072] <210> 51  
 [1073] <211> 336  
 [1074] <212> DNA  
 [1075] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [1076] <220>  
 [1077] <223> 合成  
 [1078] <400> 51  
 [1079] agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtaca agcagggcca gaaccagctc 60  
 [1080] tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gactacgatg ttttggacaa gagacgtggc 120  
 [1081] cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180  
 [1082] gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240  
 [1083] cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300  
 [1084] tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc 336  
 [1085] <210> 52  
 [1086] <211> 112  
 [1087] <212> PRT  
 [1088] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [1089] <220>  
 [1090] <223> 合成



|        |                                                                        |
|--------|------------------------------------------------------------------------|
| [1091] | <400> 52                                                               |
| [1092] | Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly        |
| [1093] | 1 5 10 15                                                              |
| [1094] | Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr        |
| [1095] | 20 25 30                                                               |
| [1096] | Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys        |
| [1097] | 35 40 45                                                               |
| [1098] | Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys        |
| [1099] | 50 55 60                                                               |
| [1100] | Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg        |
| [1101] | 65 70 75 80                                                            |
| [1102] | Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala        |
| [1103] | 85 90 95                                                               |
| [1104] | Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg        |
| [1105] | 100 105 110                                                            |
| [1106] | <210> 53                                                               |
| [1107] | <211> 321                                                              |
| [1108] | <212> DNA                                                              |
| [1109] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                        |
| [1110] | <220>                                                                  |
| [1111] | <223> 合成                                                               |
| [1112] | <400> 53                                                               |
| [1113] | ggagtgcagg tggaaacat ctccccagga gacgggcgca ccttcccaa gcgcggccag 60     |
| [1114] | acctgcgtgg tgcactacac cgggatgctt ggagatggaa agaaagttga ctctcccgg 120   |
| [1115] | gacagaaaca agccctttaa gtttatgcta ggcaagcagg aggtgatccg aggcctgggaa 180 |
| [1116] | gaaggggttg cccagatgag tgtgggtcag ggagccaaac tgactatatc tccagattat 240  |
| [1117] | gcctatggtg ccaactgggca cccaggcatc atcccaccac atgccactct cgtcttcgat 300 |
| [1118] | gtggagcttc tagaactgga a 321                                            |
| [1119] | <210> 54                                                               |
| [1120] | <211> 107                                                              |
| [1121] | <212> PRT                                                              |
| [1122] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                        |
| [1123] | <220>                                                                  |
| [1124] | <223> 合成                                                               |
| [1125] | <400> 54                                                               |
| [1126] | Gly Val Gln Val Glu Thr Ile Ser Pro Gly Asp Gly Arg Thr Phe Pro        |
| [1127] | 1 5 10 15                                                              |
| [1128] | Lys Arg Gly Gln Thr Cys Val Val His Tyr Thr Gly Met Leu Gly Asp        |
| [1129] | 20 25 30                                                               |
| [1130] | Gly Lys Lys Val Asp Ser Ser Arg Asp Arg Asn Lys Pro Phe Lys Phe        |
| [1131] | 35 40 45                                                               |
| [1132] | Met Leu Gly Lys Gln Glu Val Ile Arg Gly Trp Glu Glu Gly Val Ala        |

|        |                                                                    |      |    |
|--------|--------------------------------------------------------------------|------|----|
| [1133] | 50                                                                 | 55   | 60 |
| [1134] | Gln Met Ser Val Gly Gln Gly Ala Lys Leu Thr Ile Ser Pro Asp Tyr    |      |    |
| [1135] | 65                                                                 | 70   | 75 |
| [1136] | Ala Tyr Gly Ala Thr Gly His Pro Gly Ile Ile Pro Pro His Ala Thr    |      |    |
| [1137] | 85                                                                 | 90   | 95 |
| [1138] | Leu Val Phe Asp Val Glu Leu Leu Glu Leu Glu                        |      |    |
| [1139] | 100                                                                | 105  |    |
| [1140] | <210> 55                                                           |      |    |
| [1141] | <211> 1944                                                         |      |    |
| [1142] | <212> DNA                                                          |      |    |
| [1143] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                    |      |    |
| [1144] | <220>                                                              |      |    |
| [1145] | <223> 合成                                                           |      |    |
| [1146] | <400> 55                                                           |      |    |
| [1147] | atgtctgctgc tctgtgacatc tctgctgctg tgcgagctgc cccaccccg ctttctgctg | 60   |    |
| [1148] | atccccgata tcttctgac ccagaccct ctgagcctgc ctgtgtctct gggcgatcag    | 120  |    |
| [1149] | gccagcatca gctgcagatc cagccagagc ctggtgcacc ggaacggcaa cacctacctg  | 180  |    |
| [1150] | cactggtatc tgcagaagcc cggccagagc cccaagctgc tgattcaciaa ggtgtccaac | 240  |    |
| [1151] | cgggttcagcg gcgtgcccga cagattttct ggcagcggct ccggcaccga cttcacctg  | 300  |    |
| [1152] | aagatcagcc ggggtggaagc cgaggacctg ggctgtact tctgcagcca gtccaccac   | 360  |    |
| [1153] | gtgccccccc tgacatttg cgccggaaca aagctggaac tgaaggcgag cacaagcggc   | 420  |    |
| [1154] | agcggcaagc ctggtatctg cgagggaagc accaaggcg aagtgaagct gcagcagagc   | 480  |    |
| [1155] | ggccccctctc tgggtggaacc tggcgctct gtgatgatct cctgcaaggc cagcggcagc | 540  |    |
| [1156] | tccttcaccg gctacaacat gaactgggtg cgccagaaca tcggcaagag cctggaatgg  | 600  |    |
| [1157] | atcggcgcca tcgacccta ctacggcggc accagctaca accagaagt caagggcaga    | 660  |    |
| [1158] | gccaccctga ccgtggacaa gagcagctcc accgcctaca tgcacctgaa gtccctgacc  | 720  |    |
| [1159] | agcaggagca gcgccgtgta ctactgcgtg tccggcatgg aatactgggg ccagggcaca  | 780  |    |
| [1160] | agcgtgaccg tgcctctgct tagcttcgaa attgaagtta tgtatcctcc tccttaccta  | 840  |    |
| [1161] | gacaatgaga agagcaatgg aaccattatc catgtgaaag ggaacacct ttgtccaagt   | 900  |    |
| [1162] | cccctatttc ccggaccttc taagccctt tgggtgctgg tgggtggttg gggagtcctg   | 960  |    |
| [1163] | gcttgcata gcttgcagc aacagtggcc tttattatt tctgggtgag gagtaagagg     | 1020 |    |
| [1164] | agcaggctcc tgcacagtga ctacatgaac atgactccc gccgccccg gccacccgc     | 1080 |    |
| [1165] | aagcattacc agccctatgc cccaccacgc gacttcgcag cctatcgctc cagagtgaag  | 1140 |    |
| [1166] | ttcagcagga gcgcagacgc ccccgctac aagcagggcc agaaccagct ctataacgag   | 1200 |    |
| [1167] | ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat gttttggaca agagacgtgg ccgggacct   | 1260 |    |
| [1168] | gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac cctcaggaag gcctgtacaa tgaactgcag  | 1320 |    |
| [1169] | aaagataaga tggcggagcg ctacagttag attgggatga aaggcgagcg ccggaggggc  | 1380 |    |
| [1170] | aaggggcacg atggccttta ccagggtctc agtacagcca ccaaggacac ctacgacgc   | 1440 |    |
| [1171] | cttcacatgc aggcctgcc ccctcgcac agtctgattg cggcgttagc ggtagattac    | 1500 |    |
| [1172] | gttatcggca tggaaaacgc catgccgtgg aacctgcctg ccgatctcgc ctggtttaaa  | 1560 |    |
| [1173] | cgcaacacct taaataaacc cgtgattatg ggccgccata cctgggaatc aatcggtcgt  | 1620 |    |
| [1174] | ccgttgccag gacgcaaaaa tattatctc agcagtcaac cgagtacgga cgatcgcgta   | 1680 |    |

|        |                                                                   |                           |
|--------|-------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| [1175] | acgtgggtga agtcggtgga tgaagccatc gcggcgtgtg gtgacgtacc agaaatcatg | 1740                      |
| [1176] | gtgattggcg gcggtcgcgt tattgaacag ttcttgccaa aagcgcaaaa actgtatctg | 1800                      |
| [1177] | acgcatatcg acgcagaagt ggaaggcgac acccatttcc cggattacga gccggatgac | 1860                      |
| [1178] | tgggaatcgg tattcagcga attccacgat gctgatgcgc agaactctca cagctattgc | 1920                      |
| [1179] | tttgagattc tggagcggcg atga                                        | 1944                      |
| [1180] | <210>                                                             | 56                        |
| [1181] | <211>                                                             | 647                       |
| [1182] | <212>                                                             | PRT                       |
| [1183] | <213>                                                             | 人工序列(Artificial Sequence) |
| [1184] | <220>                                                             |                           |
| [1185] | <223>                                                             | 合成                        |
| [1186] | <400>                                                             | 56                        |
| [1187] | Met Leu Leu Leu Val Thr Ser Leu Leu Leu Cys Glu Leu Pro His Pro   |                           |
| [1188] | 1 5 10 15                                                         |                           |
| [1189] | Ala Phe Leu Leu Ile Pro Asp Ile Leu Leu Thr Gln Thr Pro Leu Ser   |                           |
| [1190] | 20 25 30                                                          |                           |
| [1191] | Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser   |                           |
| [1192] | 35 40 45                                                          |                           |
| [1193] | Gln Ser Leu Val His Arg Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu   |                           |
| [1194] | 50 55 60                                                          |                           |
| [1195] | Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile His Lys Val Ser Asn   |                           |
| [1196] | 65 70 75 80                                                       |                           |
| [1197] | Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr   |                           |
| [1198] | 85 90 95                                                          |                           |
| [1199] | Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val   |                           |
| [1200] | 100 105 110                                                       |                           |
| [1201] | Tyr Phe Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Pro Leu Thr Phe Gly Ala   |                           |
| [1202] | 115 120 125                                                       |                           |
| [1203] | Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro   |                           |
| [1204] | 130 135 140                                                       |                           |
| [1205] | Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr Lys Gly Glu Val Lys Leu Gln Gln Ser   |                           |
| [1206] | 145 150 155 160                                                   |                           |
| [1207] | Gly Pro Ser Leu Val Glu Pro Gly Ala Ser Val Met Ile Ser Cys Lys   |                           |
| [1208] | 165 170 175                                                       |                           |
| [1209] | Ala Ser Gly Ser Ser Phe Thr Gly Tyr Asn Met Asn Trp Val Arg Gln   |                           |
| [1210] | 180 185 190                                                       |                           |
| [1211] | Asn Ile Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Tyr Tyr   |                           |
| [1212] | 195 200 205                                                       |                           |
| [1213] | Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr   |                           |
| [1214] | 210 215 220                                                       |                           |
| [1215] | Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met His Leu Lys Ser Leu Thr   |                           |
| [1216] | 225 230 235 240                                                   |                           |

|        |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|--------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| [1217] | Ser | Glu | Asp | Ser | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys | Val | Ser | Gly | Met | Glu | Tyr | Trp |
| [1218] |     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| [1219] | Gly | Gln | Gly | Thr | Ser | Val | Thr | Val | Ser | Ser | Ala | Ser | Phe | Glu | Ile | Glu |
| [1220] |     |     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |
| [1221] | Val | Met | Tyr | Pro | Pro | Pro | Tyr | Leu | Asp | Asn | Glu | Lys | Ser | Asn | Gly | Thr |
| [1222] |     |     |     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |
| [1223] | Ile | Ile | His | Val | Lys | Gly | Lys | His | Leu | Cys | Pro | Ser | Pro | Leu | Phe | Pro |
| [1224] |     |     |     |     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |
| [1225] | Gly | Pro | Ser | Lys | Pro | Phe | Trp | Val | Leu | Val | Val | Val | Gly | Gly | Val | Leu |
| [1226] | 305 |     |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     | 320 |
| [1227] | Ala | Cys | Tyr | Ser | Leu | Leu | Val | Thr | Val | Ala | Phe | Ile | Ile | Phe | Trp | Val |
| [1228] |     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     |     | 335 |
| [1229] | Arg | Ser | Lys | Arg | Ser | Arg | Leu | Leu | His | Ser | Asp | Tyr | Met | Asn | Met | Thr |
| [1230] |     |     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     |     | 350 |
| [1231] | Pro | Arg | Arg | Pro | Gly | Pro | Thr | Arg | Lys | His | Tyr | Gln | Pro | Tyr | Ala | Pro |
| [1232] |     |     |     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |
| [1233] | Pro | Arg | Asp | Phe | Ala | Ala | Tyr | Arg | Ser | Arg | Val | Lys | Phe | Ser | Arg | Ser |
| [1234] |     |     |     |     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |
| [1235] | Ala | Asp | Ala | Pro | Ala | Tyr | Lys | Gln | Gly | Gln | Asn | Gln | Leu | Tyr | Asn | Glu |
| [1236] | 385 |     |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     | 400 |
| [1237] | Leu | Asn | Leu | Gly | Arg | Arg | Glu | Glu | Tyr | Asp | Val | Leu | Asp | Lys | Arg | Arg |
| [1238] |     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     |     | 415 |
| [1239] | Gly | Arg | Asp | Pro | Glu | Met | Gly | Gly | Lys | Pro | Arg | Arg | Lys | Asn | Pro | Gln |
| [1240] |     |     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |
| [1241] | Glu | Gly | Leu | Tyr | Asn | Glu | Leu | Gln | Lys | Asp | Lys | Met | Ala | Glu | Ala | Tyr |
| [1242] |     |     |     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |
| [1243] | Ser | Glu | Ile | Gly | Met | Lys | Gly | Glu | Arg | Arg | Arg | Gly | Lys | Gly | His | Asp |
| [1244] |     |     |     |     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |
| [1245] | Gly | Leu | Tyr | Gln | Gly | Leu | Ser | Thr | Ala | Thr | Lys | Asp | Thr | Tyr | Asp | Ala |
| [1246] | 465 |     |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     | 480 |
| [1247] | Leu | His | Met | Gln | Ala | Leu | Pro | Pro | Arg | Ile | Ser | Leu | Ile | Ala | Ala | Leu |
| [1248] |     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     |     | 495 |
| [1249] | Ala | Val | Asp | Tyr | Val | Ile | Gly | Met | Glu | Asn | Ala | Met | Pro | Trp | Asn | Leu |
| [1250] |     |     |     |     | 500 |     |     |     |     | 505 |     |     |     |     | 510 |     |
| [1251] | Pro | Ala | Asp | Leu | Ala | Trp | Phe | Lys | Arg | Asn | Thr | Leu | Asn | Lys | Pro | Val |
| [1252] |     |     |     |     | 515 |     |     |     |     | 520 |     |     |     |     | 525 |     |
| [1253] | Ile | Met | Gly | Arg | His | Thr | Trp | Glu | Ser | Ile | Gly | Arg | Pro | Leu | Pro | Gly |
| [1254] |     |     |     |     | 530 |     |     |     |     | 535 |     |     |     |     | 540 |     |
| [1255] | Arg | Lys | Asn | Ile | Ile | Leu | Ser | Ser | Gln | Pro | Ser | Thr | Asp | Asp | Arg | Val |
| [1256] | 545 |     |     |     |     |     | 550 |     |     |     |     | 555 |     |     |     | 560 |
| [1257] | Thr | Trp | Val | Lys | Ser | Val | Asp | Glu | Ala | Ile | Ala | Ala | Cys | Gly | Asp | Val |
| [1258] |     |     |     |     | 565 |     |     |     |     | 570 |     |     |     |     |     | 575 |

|        |                                                                        |
|--------|------------------------------------------------------------------------|
| [1259] | Pro Glu Ile Met Val Ile Gly Gly Gly Arg Val Ile Glu Gln Phe Leu        |
| [1260] | 580 585 590                                                            |
| [1261] | Pro Lys Ala Gln Lys Leu Tyr Leu Thr His Ile Asp Ala Glu Val Glu        |
| [1262] | 595 600 605                                                            |
| [1263] | Gly Asp Thr His Phe Pro Asp Tyr Glu Pro Asp Asp Trp Glu Ser Val        |
| [1264] | 610 615 620                                                            |
| [1265] | Phe Ser Glu Phe His Asp Ala Asp Ala Gln Asn Ser His Ser Tyr Cys        |
| [1266] | 625 630 635 640                                                        |
| [1267] | Phe Glu Ile Leu Glu Arg Arg                                            |
| [1268] | 645                                                                    |
| [1269] | <210> 57                                                               |
| [1270] | <211> 66                                                               |
| [1271] | <212> DNA                                                              |
| [1272] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                        |
| [1273] | <220>                                                                  |
| [1274] | <223> 合成                                                               |
| [1275] | <400> 57                                                               |
| [1276] | atgctgctgc tcgtgacatc tctgctgctg tgcgagctgc cccaccccg ctttctgctg 60    |
| [1277] | atcccc 66                                                              |
| [1278] | <210> 58                                                               |
| [1279] | <211> 22                                                               |
| [1280] | <212> PRT                                                              |
| [1281] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                        |
| [1282] | <220>                                                                  |
| [1283] | <223> 合成                                                               |
| [1284] | <400> 58                                                               |
| [1285] | Met Leu Leu Leu Val Thr Ser Leu Leu Leu Cys Glu Leu Pro His Pro        |
| [1286] | 1 5 10 15                                                              |
| [1287] | Ala Phe Leu Leu Ile Pro                                                |
| [1288] | 20                                                                     |
| [1289] | <210> 59                                                               |
| [1290] | <211> 732                                                              |
| [1291] | <212> DNA                                                              |
| [1292] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                        |
| [1293] | <220>                                                                  |
| [1294] | <223> 合成                                                               |
| [1295] | <400> 59                                                               |
| [1296] | gatatcctgc tgaccagac ccctctgagc ctgcctgtgt ctctgggcga tcaggccagc 60    |
| [1297] | atcagctgca gatccagcca gagcctggtg caccggaacg gcaacaccta cctgcactgg 120  |
| [1298] | tatctgcaga agcccgcca gagccccaag ctgctgattc acaaggtgtc caaccggttc 180   |
| [1299] | agcggcgtgc cgcacagatt ttctggcagc ggctccggca ccgacttcac cctgaagatc 240  |
| [1300] | agccgggtgg aagccgagga cctgggcgtg tactttctgca gccagtccac ccacgtgccc 300 |

|        |                                                                    |                           |
|--------|--------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| [1301] | ccccctgacat ttggcgccgg aacaaagctg gaactgaagg gcagcacaag cggcagcggc | 360                       |
| [1302] | aagcctggat ctggcgaggg aagcaccaag ggcgaaagtga agctgcagca gagcggtccc | 420                       |
| [1303] | tctctggtgg aacctggcgc ctctgtgatg atctctgca aggccagcgg cagctccttc   | 480                       |
| [1304] | accggctaca acatgaactg ggtgcgccag aacatcggca agagcctgga atggatcggc  | 540                       |
| [1305] | gccatcgacc cctactacgg cggcaccagc tacaaccaga agttcaaggg cagagccacc  | 600                       |
| [1306] | ctgaccgtgg acaagagcag ctccaccgcc tacatgcacc tgaagtcct gaccagcgag   | 660                       |
| [1307] | gacagcgccg tgtactactg cgtgtccggc atggaatact ggggccaggg cacaagcgtg  | 720                       |
| [1308] | accgtgtcct ct                                                      | 732                       |
| [1309] | <210>                                                              | 60                        |
| [1310] | <211>                                                              | 244                       |
| [1311] | <212>                                                              | PRT                       |
| [1312] | <213>                                                              | 人工序列(Artificial Sequence) |
| [1313] | <220>                                                              |                           |
| [1314] | <223>                                                              | 合成                        |
| [1315] | <400>                                                              | 60                        |
| [1316] | Asp Ile Leu Leu Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly    |                           |
| [1317] | 1 5 10 15                                                          |                           |
| [1318] | Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Arg    |                           |
| [1319] | 20 25 30                                                           |                           |
| [1320] | Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser    |                           |
| [1321] | 35 40 45                                                           |                           |
| [1322] | Pro Lys Leu Leu Ile His Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro    |                           |
| [1323] | 50 55 60                                                           |                           |
| [1324] | Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile    |                           |
| [1325] | 65 70 75 80                                                        |                           |
| [1326] | Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser    |                           |
| [1327] | 85 90 95                                                           |                           |
| [1328] | Thr His Val Pro Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu    |                           |
| [1329] | 100 105 110                                                        |                           |
| [1330] | Lys Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser    |                           |
| [1331] | 115 120 125                                                        |                           |
| [1332] | Thr Lys Gly Glu Val Lys Leu Gln Gln Ser Gly Pro Ser Leu Val Glu    |                           |
| [1333] | 130 135 140                                                        |                           |
| [1334] | Pro Gly Ala Ser Val Met Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Ser Ser Phe    |                           |
| [1335] | 145 150 155 160                                                    |                           |
| [1336] | Thr Gly Tyr Asn Met Asn Trp Val Arg Gln Asn Ile Gly Lys Ser Leu    |                           |
| [1337] | 165 170 175                                                        |                           |
| [1338] | Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn    |                           |
| [1339] | 180 185 190                                                        |                           |
| [1340] | Gln Lys Phe Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser    |                           |
| [1341] | 195 200 205                                                        |                           |
| [1342] | Thr Ala Tyr Met His Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val    |                           |

|        |                                                                      |     |         |
|--------|----------------------------------------------------------------------|-----|---------|
| [1343] | 210                                                                  | 215 | 220     |
| [1344] | Tyr Tyr Cys Val Ser Gly Met Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val      |     |         |
| [1345] | 225                                                                  | 230 | 235 240 |
| [1346] | Thr Val Ser Ser                                                      |     |         |
| [1347] | <210> 61                                                             |     |         |
| [1348] | <211> 117                                                            |     |         |
| [1349] | <212> DNA                                                            |     |         |
| [1350] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                      |     |         |
| [1351] | <220>                                                                |     |         |
| [1352] | <223> 合成                                                             |     |         |
| [1353] | <400> 61                                                             |     |         |
| [1354] | attgaagtta tgtatcctcc tccttaccta gacaatgaga agagcaatgg aaccattatc 60 |     |         |
| [1355] | catgtgaaag ggaaacacct ttgtccaagt cccctatttc ccgaccttc taagccc 117    |     |         |
| [1356] | <210> 62                                                             |     |         |
| [1357] | <211> 39                                                             |     |         |
| [1358] | <212> PRT                                                            |     |         |
| [1359] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                      |     |         |
| [1360] | <220>                                                                |     |         |
| [1361] | <223> 合成                                                             |     |         |
| [1362] | <400> 62                                                             |     |         |
| [1363] | Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn      |     |         |
| [1364] | 1 5 10 15                                                            |     |         |
| [1365] | Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu      |     |         |
| [1366] | 20 25 30                                                             |     |         |
| [1367] | Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro                                          |     |         |
| [1368] | 35                                                                   |     |         |
| [1369] | <210> 63                                                             |     |         |
| [1370] | <211> 81                                                             |     |         |
| [1371] | <212> DNA                                                            |     |         |
| [1372] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                      |     |         |
| [1373] | <220>                                                                |     |         |
| [1374] | <223> 合成                                                             |     |         |
| [1375] | <400> 63                                                             |     |         |
| [1376] | ttttgggtgc tgggtggtgt tgggggagtc ctggcttgct atagcttgct agtaacagtg 60 |     |         |
| [1377] | gcctttatta ttttctgggt g 81                                           |     |         |
| [1378] | <210> 64                                                             |     |         |
| [1379] | <211> 27                                                             |     |         |
| [1380] | <212> PRT                                                            |     |         |
| [1381] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                      |     |         |
| [1382] | <220>                                                                |     |         |
| [1383] | <223> 合成                                                             |     |         |
| [1384] | <400> 64                                                             |     |         |

|        |                                                                       |
|--------|-----------------------------------------------------------------------|
| [1385] | Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu       |
| [1386] | 1 5 10 15                                                             |
| [1387] | Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val                           |
| [1388] | 20 25                                                                 |
| [1389] | <210> 65                                                              |
| [1390] | <211> 123                                                             |
| [1391] | <212> DNA                                                             |
| [1392] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                       |
| [1393] | <220>                                                                 |
| [1394] | <223> 合成                                                              |
| [1395] | <400> 65                                                              |
| [1396] | aggagtaaga ggagcagget cctgcacagt gactacatga acatgactcc ccgccgcccc 60  |
| [1397] | ggggccaccc gcaagcatta ccagccctat gcccaccac gcgacttcgc agcctatcgc 120  |
| [1398] | tcc 123                                                               |
| [1399] | <210> 66                                                              |
| [1400] | <211> 41                                                              |
| [1401] | <212> PRT                                                             |
| [1402] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                       |
| [1403] | <220>                                                                 |
| [1404] | <223> 合成                                                              |
| [1405] | <400> 66                                                              |
| [1406] | Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr       |
| [1407] | 1 5 10 15                                                             |
| [1408] | Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro       |
| [1409] | 20 25 30                                                              |
| [1410] | Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser                                   |
| [1411] | 35 40                                                                 |
| [1412] | <210> 67                                                              |
| [1413] | <211> 336                                                             |
| [1414] | <212> DNA                                                             |
| [1415] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                       |
| [1416] | <220>                                                                 |
| [1417] | <223> 合成                                                              |
| [1418] | <400> 67                                                              |
| [1419] | agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtaca agcagggccca gaaccagctc 60 |
| [1420] | tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gactacgatg ttttggacaa gagacgtggc 120 |
| [1421] | cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180 |
| [1422] | gaactgcaga aagataagat ggcgagggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240 |
| [1423] | cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300 |
| [1424] | tacgacgcc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc 336                            |
| [1425] | <210> 68                                                              |
| [1426] | <211> 112                                                             |



- [1427] <212> PRT
- [1428] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [1429] <220>
- [1430] <223> 合成
- [1431] <400> 68
- [1432] Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly
- [1433] 1 5 10 15
- [1434] Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
- [1435] 20 25 30
- [1436] Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
- [1437] 35 40 45
- [1438] Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
- [1439] 50 55 60
- [1440] Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
- [1441] 65 70 75 80
- [1442] Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
- [1443] 85 90 95
- [1444] Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
- [1445] 100 105 110
- [1446] <210> 69
- [1447] <211> 474
- [1448] <212> DNA
- [1449] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [1450] <220>
- [1451] <223> 合成
- [1452] <400> 69
- [1453] atcagtctga ttgcggcggt agcggtagat tacgttatcg gcatggaaaa cgccatgccg 60
- [1454] tggaacctgc ctgccgatct cgcctggttt aaacgcaaca ccttaaataa acccgtgatt 120
- [1455] atgggccgcc atacctggga atcaatcgggt cgtccgttgc caggacgcaa aaatattatc 180
- [1456] ctcagcagtc aaccgagtac ggacgatcgc gtaacgtggg tgaagtcggt ggatgaagcc 240
- [1457] atcgcgcgct gtggtgacgt accagaaatc atggtgattg gcggcggtcg cgttattgaa 300
- [1458] cagttcttgc caaaagcgca aaaactgtat ctgacgcata tcgacgcaga agtgaaggc 360
- [1459] gacacccatt tcccggatta cgagccggat gactgggaat cggatttcag cgaattccac 420
- [1460] gatgctgatg cgcagaactc tcacagctat tgctttgaga ttctggagcg gcga 474
- [1461] <210> 70
- [1462] <211> 158
- [1463] <212> PRT
- [1464] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [1465] <220>
- [1466] <223> 合成
- [1467] <400> 70
- [1468] Ile Ser Leu Ile Ala Ala Leu Ala Val Asp Tyr Val Ile Gly Met Glu

|        |                                                                    |     |     |     |
|--------|--------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| [1469] | 1                                                                  | 5   | 10  | 15  |
| [1470] | Asn Ala Met Pro Trp Asn Leu Pro Ala Asp Leu Ala Trp Phe Lys Arg    |     |     |     |
| [1471] |                                                                    | 20  | 25  | 30  |
| [1472] | Asn Thr Leu Asn Lys Pro Val Ile Met Gly Arg His Thr Trp Glu Ser    |     |     |     |
| [1473] |                                                                    | 35  | 40  | 45  |
| [1474] | Ile Gly Arg Pro Leu Pro Gly Arg Lys Asn Ile Ile Leu Ser Ser Gln    |     |     |     |
| [1475] |                                                                    | 50  | 55  | 60  |
| [1476] | Pro Ser Thr Asp Asp Arg Val Thr Trp Val Lys Ser Val Asp Glu Ala    |     |     |     |
| [1477] | 65                                                                 | 70  | 75  | 80  |
| [1478] | Ile Ala Ala Cys Gly Asp Val Pro Glu Ile Met Val Ile Gly Gly Gly    |     |     |     |
| [1479] |                                                                    | 85  | 90  | 95  |
| [1480] | Arg Val Ile Glu Gln Phe Leu Pro Lys Ala Gln Lys Leu Tyr Leu Thr    |     |     |     |
| [1481] |                                                                    | 100 | 105 | 110 |
| [1482] | His Ile Asp Ala Glu Val Glu Gly Asp Thr His Phe Pro Asp Tyr Glu    |     |     |     |
| [1483] |                                                                    | 115 | 120 | 125 |
| [1484] | Pro Asp Asp Trp Glu Ser Val Phe Ser Glu Phe His Asp Ala Asp Ala    |     |     |     |
| [1485] |                                                                    | 130 | 135 | 140 |
| [1486] | Gln Asn Ser His Ser Tyr Cys Phe Glu Ile Leu Glu Arg Arg            |     |     |     |
| [1487] | 145                                                                | 150 | 155 |     |
| [1488] | <210> 71                                                           |     |     |     |
| [1489] | <211> 1950                                                         |     |     |     |
| [1490] | <212> DNA                                                          |     |     |     |
| [1491] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                    |     |     |     |
| [1492] | <220>                                                              |     |     |     |
| [1493] | <223> 合成                                                           |     |     |     |
| [1494] | <400> 71                                                           |     |     |     |
| [1495] | atgctgctgc tcgtgacatc tctgctgctg tgcgagctgc cccaccccg ctttctgctg   | 60  |     |     |
| [1496] | atccccgata tctgtctgac ccagaccct ctgagcctgc ctgtgtctct gggcgatcag   | 120 |     |     |
| [1497] | gccagcatca gctgcagatc cagccagagc ctgggtgcacc ggaacggcaa cacctacctg | 180 |     |     |
| [1498] | cactgggtatc tgcagaagcc cggccagagc cccaagctgc tgattcaca ggtgtccaac  | 240 |     |     |
| [1499] | cggttcagcg gcgtgcccga cagattttct ggcagcggct ccggcaccga cttcacctg   | 300 |     |     |
| [1500] | aagatcagcc ggggtggaagc cgaggacctg ggcgtgtact tctgcagcca gtccaccac  | 360 |     |     |
| [1501] | gtgccccccc tgacatttgg cgccggaaca aagctggaac tgaagggcag cacaagcggc  | 420 |     |     |
| [1502] | agcggaagc ctggatctgg cgagggaagc accaagggcg aagtgaagct gcagcagagc   | 480 |     |     |
| [1503] | ggccccctctc tgggtgaacc tggcgcctct gtgatgatct cctgcaaggc cagcggcagc | 540 |     |     |
| [1504] | tccttcaccg gctacaacat gaactgggtg cgccagaaca tcggcaagag cctggaatgg  | 600 |     |     |
| [1505] | atcggcgcca tcgacccta ctacggcggc accagctaca accagaagtt caagggcaga   | 660 |     |     |
| [1506] | gccaccctga ccgtggacaa gagcagctcc accgcctaca tgcacctgaa gtccctgacc  | 720 |     |     |
| [1507] | agcgaggaca gcgccgtgta ctactgcgtg tccggcatgg aatactgggg ccagggcaca  | 780 |     |     |
| [1508] | agcgtgaccg tgtcctctgc tagcttcgaa attgaagtta tgtatcctcc tccttaccta  | 840 |     |     |
| [1509] | gacaatgaga agagcaatgg aaccattatc catgtgaaag ggaaacacct ttgtccaagt  | 900 |     |     |
| [1510] | cccctatttc ccggaccttc taagcccttt tgggtgctgg tgggtggttg gggagtctg   | 960 |     |     |

|        |                                                                   |                           |
|--------|-------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| [1511] | gcttgctata gcttgctagt aacagtggcc tttattatit tctgggtgag gagtaagagg | 1020                      |
| [1512] | agcaggctcc tgcacagtga ctacatgaac atgactcccc gccgccccgg gccacccgc  | 1080                      |
| [1513] | aagcattacc agccctatgc cccaccacgc gacttcgcag cctatcgctc ccatatgaga | 1140                      |
| [1514] | gtgaagttca gcaggagcgc agacgcccc gcgtacaagc agggccagaa ccagctctat  | 1200                      |
| [1515] | aacgagctca atctaggacg aagagaggag tacgatgttt tggacaagag acgtggccgg | 1260                      |
| [1516] | gacctgaga tgggggaaaa gccgagaagg aagaaccctc aggaaggcct gtacaatgaa  | 1320                      |
| [1517] | ctgcagaaag ataagatggc ggaggcctac agtgagattg ggatgaaagg cgagcgccgg | 1380                      |
| [1518] | aggggcaagg ggcacgatgg cctttaccag ggtctcagta cagccaccaa ggacacctac | 1440                      |
| [1519] | gacgcccttc acatgcaggc cctgccccct cgcacagtc tgattgcggc gttagcggta  | 1500                      |
| [1520] | gattacgtta tcggcatgga aaacgccatg ccgtggaacc tgcctgccga tctcgctgg  | 1560                      |
| [1521] | tttaaagca acaccttaaa taaaccctg attatgggcc gccatactg ggaatcaatc    | 1620                      |
| [1522] | ggctgctcgt tgccaggacg caaaaatatt atcctcagca gtcaaccgag tacggacgat | 1680                      |
| [1523] | cgcgtaacgt ggggtgaagtc ggtgatgaa gccatcgcg cgtgtgtga cgtaccagaa   | 1740                      |
| [1524] | atcatggtga ttggcgcgcg tcgcgttatt gaacagttct tgccaaaagc gcaaaaactg | 1800                      |
| [1525] | tatctgacgc atatcgacgc agaagtggaa ggcgacaccc atttcccga ttacgagccg  | 1860                      |
| [1526] | gatgactggg aatcggtatt cagcgaattc cagcatgctg atgcgcagaa ctctcacagc | 1920                      |
| [1527] | tattgctttg agattctgga gcggcgatga                                  | 1950                      |
| [1528] | <210>                                                             | 72                        |
| [1529] | <211>                                                             | 649                       |
| [1530] | <212>                                                             | PRT                       |
| [1531] | <213>                                                             | 人工序列(Artificial Sequence) |
| [1532] | <220>                                                             |                           |
| [1533] | <223>                                                             | 合成                        |
| [1534] | <400>                                                             | 72                        |
| [1535] | Met Leu Leu Leu Val Thr Ser Leu Leu Leu Cys Glu Leu Pro His Pro   |                           |
| [1536] | 1 5 10 15                                                         |                           |
| [1537] | Ala Phe Leu Leu Ile Pro Asp Ile Leu Leu Thr Gln Thr Pro Leu Ser   |                           |
| [1538] | 20 25 30                                                          |                           |
| [1539] | Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser   |                           |
| [1540] | 35 40 45                                                          |                           |
| [1541] | Gln Ser Leu Val His Arg Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu   |                           |
| [1542] | 50 55 60                                                          |                           |
| [1543] | Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile His Lys Val Ser Asn   |                           |
| [1544] | 65 70 75 80                                                       |                           |
| [1545] | Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr   |                           |
| [1546] | 85 90 95                                                          |                           |
| [1547] | Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val   |                           |
| [1548] | 100 105 110                                                       |                           |
| [1549] | Tyr Phe Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Pro Leu Thr Phe Gly Ala   |                           |
| [1550] | 115 120 125                                                       |                           |
| [1551] | Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro   |                           |
| [1552] | 130 135 140                                                       |                           |

|        |                                                                 |         |         |
|--------|-----------------------------------------------------------------|---------|---------|
| [1553] | Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr Lys Gly Glu Val Lys Leu Gln Gln Ser |         |         |
| [1554] | 145                                                             | 150     | 155 160 |
| [1555] | Gly Pro Ser Leu Val Glu Pro Gly Ala Ser Val Met Ile Ser Cys Lys |         |         |
| [1556] |                                                                 | 165 170 | 175     |
| [1557] | Ala Ser Gly Ser Ser Phe Thr Gly Tyr Asn Met Asn Trp Val Arg Gln |         |         |
| [1558] |                                                                 | 180 185 | 190     |
| [1559] | Asn Ile Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Tyr Tyr |         |         |
| [1560] |                                                                 | 195 200 | 205     |
| [1561] | Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr |         |         |
| [1562] | 210                                                             | 215     | 220     |
| [1563] | Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met His Leu Lys Ser Leu Thr |         |         |
| [1564] | 225                                                             | 230     | 235 240 |
| [1565] | Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Val Ser Gly Met Glu Tyr Trp |         |         |
| [1566] |                                                                 | 245 250 | 255     |
| [1567] | Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Phe Glu Ile Glu |         |         |
| [1568] |                                                                 | 260 265 | 270     |
| [1569] | Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr |         |         |
| [1570] |                                                                 | 275 280 | 285     |
| [1571] | Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro |         |         |
| [1572] | 290                                                             | 295     | 300     |
| [1573] | Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu |         |         |
| [1574] | 305                                                             | 310     | 315 320 |
| [1575] | Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val |         |         |
| [1576] |                                                                 | 325 330 | 335     |
| [1577] | Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr |         |         |
| [1578] |                                                                 | 340 345 | 350     |
| [1579] | Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro |         |         |
| [1580] |                                                                 | 355 360 | 365     |
| [1581] | Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser His Met Arg Val Lys Phe Ser |         |         |
| [1582] | 370                                                             | 375     | 380     |
| [1583] | Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr |         |         |
| [1584] | 385                                                             | 390     | 395 400 |
| [1585] | Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys |         |         |
| [1586] |                                                                 | 405 410 | 415     |
| [1587] | Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn |         |         |
| [1588] |                                                                 | 420 425 | 430     |
| [1589] | Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu |         |         |
| [1590] |                                                                 | 435 440 | 445     |
| [1591] | Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly |         |         |
| [1592] | 450                                                             | 455     | 460     |
| [1593] | His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr |         |         |
| [1594] | 465                                                             | 470     | 475 480 |

|        |                                                                     |
|--------|---------------------------------------------------------------------|
| [1595] | Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg Ile Ser Leu Ile Ala     |
| [1596] | 485 490 495                                                         |
| [1597] | Ala Leu Ala Val Asp Tyr Val Ile Gly Met Glu Asn Ala Met Pro Trp     |
| [1598] | 500 505 510                                                         |
| [1599] | Asn Leu Pro Ala Asp Leu Ala Trp Phe Lys Arg Asn Thr Leu Asn Lys     |
| [1600] | 515 520 525                                                         |
| [1601] | Pro Val Ile Met Gly Arg His Thr Trp Glu Ser Ile Gly Arg Pro Leu     |
| [1602] | 530 535 540                                                         |
| [1603] | Pro Gly Arg Lys Asn Ile Ile Leu Ser Ser Gln Pro Ser Thr Asp Asp     |
| [1604] | 545 550 555 560                                                     |
| [1605] | Arg Val Thr Trp Val Lys Ser Val Asp Glu Ala Ile Ala Ala Cys Gly     |
| [1606] | 565 570 575                                                         |
| [1607] | Asp Val Pro Glu Ile Met Val Ile Gly Gly Gly Arg Val Ile Glu Gln     |
| [1608] | 580 585 590                                                         |
| [1609] | Phe Leu Pro Lys Ala Gln Lys Leu Tyr Leu Thr His Ile Asp Ala Glu     |
| [1610] | 595 600 605                                                         |
| [1611] | Val Glu Gly Asp Thr His Phe Pro Asp Tyr Glu Pro Asp Asp Trp Glu     |
| [1612] | 610 615 620                                                         |
| [1613] | Ser Val Phe Ser Glu Phe His Asp Ala Asp Ala Gln Asn Ser His Ser     |
| [1614] | 625 630 635 640                                                     |
| [1615] | Tyr Cys Phe Glu Ile Leu Glu Arg Arg                                 |
| [1616] | 645                                                                 |
| [1617] | <210> 73                                                            |
| [1618] | <211> 66                                                            |
| [1619] | <212> DNA                                                           |
| [1620] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                     |
| [1621] | <220>                                                               |
| [1622] | <223> 合成                                                            |
| [1623] | <400> 73                                                            |
| [1624] | atgctgctgc tcgtgacatc tctgctgctg tgcgagctgc cccacccgc ctttctgctg 60 |
| [1625] | atccc 66                                                            |
| [1626] | <210> 74                                                            |
| [1627] | <211> 22                                                            |
| [1628] | <212> PRT                                                           |
| [1629] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                     |
| [1630] | <220>                                                               |
| [1631] | <223> 合成                                                            |
| [1632] | <400> 74                                                            |
| [1633] | Met Leu Leu Leu Val Thr Ser Leu Leu Leu Cys Glu Leu Pro His Pro     |
| [1634] | 1 5 10 15                                                           |
| [1635] | Ala Phe Leu Leu Ile Pro                                             |
| [1636] | 20                                                                  |

|        |                                                                        |
|--------|------------------------------------------------------------------------|
| [1637] | <210> 75                                                               |
| [1638] | <211> 732                                                              |
| [1639] | <212> DNA                                                              |
| [1640] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                        |
| [1641] | <220>                                                                  |
| [1642] | <223> 合成                                                               |
| [1643] | <400> 75                                                               |
| [1644] | gatatcctgc tgaccagac ccctctgagc ctgcctgtgt ctctgggcga tcaggccagc 60    |
| [1645] | atcagctgca gatccagcca gagcctggtg caccggaacg gcaacaccta cctgcactgg 120  |
| [1646] | tatctgcaga agcccgcca gagcccaag ctgctgattc acaaggtgtc caaccggttc 180    |
| [1647] | agcggcgtgc ccgacagatt ttctggcagc ggctccggca ccgacttcac cctgaagatc 240  |
| [1648] | agccgggtgg aagccgagga cctgggcgtg tactttctgca gccagtccac ccacgtgccc 300 |
| [1649] | ccccctgacat ttggcgccgg aacaaagctg gaactgaagg gcagcacaag cggcagcggc 360 |
| [1650] | aagcctggat ctggcgaggg aagcaccaag ggccaagtga agctgcagca gagcggcccc 420  |
| [1651] | tctctggtgg aacctggcgc ctctgtgatg atctcctgca aggccagcgg cagctccttc 480  |
| [1652] | accggtaca acatgaactg ggtgcgccag aacatcgga agagcctgga atggatcggc 540    |
| [1653] | gccatcgacc cctactacgg cggcaccagc tacaaccaga agttcaaggg cagagccacc 600  |
| [1654] | ctgaccgtgg acaagagcag ctccaccgcc tacatgcacc tgaagtcct gaccagcgag 660   |
| [1655] | gacagcgccg tgtactactg cgtgtccggc atggaatact ggggccaggg cacaagcgtg 720  |
| [1656] | accgtgtcct ct 732                                                      |
| [1657] | <210> 76                                                               |
| [1658] | <211> 244                                                              |
| [1659] | <212> PRT                                                              |
| [1660] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                        |
| [1661] | <220>                                                                  |
| [1662] | <223> 合成                                                               |
| [1663] | <400> 76                                                               |
| [1664] | Asp Ile Leu Leu Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly        |
| [1665] | 1 5 10 15                                                              |
| [1666] | Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Arg        |
| [1667] | 20 25 30                                                               |
| [1668] | Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser        |
| [1669] | 35 40 45                                                               |
| [1670] | Pro Lys Leu Leu Ile His Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro        |
| [1671] | 50 55 60                                                               |
| [1672] | Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile        |
| [1673] | 65 70 75 80                                                            |
| [1674] | Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser        |
| [1675] | 85 90 95                                                               |
| [1676] | Thr His Val Pro Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu        |
| [1677] | 100 105 110                                                            |
| [1678] | Lys Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser        |

|        |                                                                   |     |     |
|--------|-------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| [1679] | 115                                                               | 120 | 125 |
| [1680] | Thr Lys Gly Glu Val Lys Leu Gln Gln Ser Gly Pro Ser Leu Val Glu   |     |     |
| [1681] | 130                                                               | 135 | 140 |
| [1682] | Pro Gly Ala Ser Val Met Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Ser Ser Phe   |     |     |
| [1683] | 145                                                               | 150 | 155 |
| [1684] | Thr Gly Tyr Asn Met Asn Trp Val Arg Gln Asn Ile Gly Lys Ser Leu   |     |     |
| [1685] | 165                                                               | 170 | 175 |
| [1686] | Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn   |     |     |
| [1687] | 180                                                               | 185 | 190 |
| [1688] | Gln Lys Phe Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser   |     |     |
| [1689] | 195                                                               | 200 | 205 |
| [1690] | Thr Ala Tyr Met His Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val   |     |     |
| [1691] | 210                                                               | 215 | 220 |
| [1692] | Tyr Tyr Cys Val Ser Gly Met Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val   |     |     |
| [1693] | 225                                                               | 230 | 235 |
| [1694] | Thr Val Ser Ser                                                   |     | 240 |
| [1695] | <210> 77                                                          |     |     |
| [1696] | <211> 117                                                         |     |     |
| [1697] | <212> DNA                                                         |     |     |
| [1698] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                   |     |     |
| [1699] | <220>                                                             |     |     |
| [1700] | <223> 合成                                                          |     |     |
| [1701] | <400> 77                                                          |     |     |
| [1702] | attgaagtta tgtatcctcc tccttaccta gacaatgaga agagcaatgg aaccattatc | 60  |     |
| [1703] | catgtgaaag ggaaacacct ttgtccaagt cccctatttc cggaccttc taagccc     | 117 |     |
| [1704] | <210> 78                                                          |     |     |
| [1705] | <211> 39                                                          |     |     |
| [1706] | <212> PRT                                                         |     |     |
| [1707] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                   |     |     |
| [1708] | <220>                                                             |     |     |
| [1709] | <223> 合成                                                          |     |     |
| [1710] | <400> 78                                                          |     |     |
| [1711] | Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn   |     |     |
| [1712] | 1                                                                 | 5   | 10  |
| [1713] | Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu   |     | 15  |
| [1714] | 20                                                                | 25  | 30  |
| [1715] | Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro                                       |     |     |
| [1716] | 35                                                                |     |     |
| [1717] | <210> 79                                                          |     |     |
| [1718] | <211> 81                                                          |     |     |
| [1719] | <212> DNA                                                         |     |     |
| [1720] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                   |     |     |

[1721] <220>  
 [1722] <223> 合成  
 [1723] <400> 79  
 [1724] ttttgggtgc tgggtgggtg tgggggagtc ctggcttgct atagcttgct agtaacagtg 60  
 [1725] gcctttatta ttttctgggt g 81  
 [1726] <210> 80  
 [1727] <211> 27  
 [1728] <212> PRT  
 [1729] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [1730] <220>  
 [1731] <223> 合成  
 [1732] <400> 80  
 [1733] Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu  
 [1734] 1 5 10 15  
 [1735] Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val  
 [1736] 20 25  
 [1737] <210> 81  
 [1738] <211> 123  
 [1739] <212> DNA  
 [1740] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [1741] <220>  
 [1742] <223> 合成  
 [1743] <400> 81  
 [1744] aggagtaaga ggagcaggct cctgcacagt gactacatga acatgactcc ccgccgcccc 60  
 [1745] gggccacccc gcaagcatta ccagccctat gcccaccac ggcacttcgc agcctatcgc 120  
 [1746] tcc 123  
 [1747] <210> 82  
 [1748] <211> 41  
 [1749] <212> PRT  
 [1750] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [1751] <220>  
 [1752] <223> 合成  
 [1753] <400> 82  
 [1754] Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr  
 [1755] 1 5 10 15  
 [1756] Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro  
 [1757] 20 25 30  
 [1758] Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser  
 [1759] 35 40  
 [1760] <210> 83  
 [1761] <211> 336  
 [1762] <212> DNA



- [1763] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [1764] <220>
- [1765] <223> 合成
- [1766] <400> 83
- [1767] agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtaca agcagggcca gaaccagctc 60
- [1768] tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gactacgatg ttttgacaa gagacgtggc 120
- [1769] cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180
- [1770] gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240
- [1771] cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300
- [1772] tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc 336
- [1773] <210> 84
- [1774] <211> 112
- [1775] <212> PRT
- [1776] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [1777] <220>
- [1778] <223> 合成
- [1779] <400> 84
- [1780] Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly
- [1781] 1 5 10 15
- [1782] Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
- [1783] 20 25 30
- [1784] Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
- [1785] 35 40 45
- [1786] Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
- [1787] 50 55 60
- [1788] Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
- [1789] 65 70 75 80
- [1790] Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
- [1791] 85 90 95
- [1792] Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
- [1793] 100 105 110
- [1794] <210> 85
- [1795] <211> 477
- [1796] <212> DNA
- [1797] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [1798] <220>
- [1799] <223> 合成
- [1800] <400> 85
- [1801] atgatcagtc tgattgcggc gttagcggta gatcacgtta tcggcatgga aaccgtcatg 60
- [1802] ccgtggaacc tgctgccga tctgcctgg tttaaagca acaccttaa taaaccctg 120
- [1803] attatgggcc gccatacctg ggaatcaatc ggctgtccgt tgccaggacg caaaaatatt 180
- [1804] atcctcagca gtcaaccgag tacggacgat cgcgtaacgt gggatgaagtc ggtggatgaa 240

[1805] gccatcgcg cgtgtggtga cgtaccagaa atcatgggta ttggcggcg tcgcgtttat 300  
 [1806] gaacagttct tgccaaaagc gcaaaaactg tatctgacgc atatcgacgc agaagtggaa 360  
 [1807] ggcgacaccc atttcccga ttacgagccg gatgactggg aatcggtatt cagegaattc 420  
 [1808] cagcatgctg atgcgcagaa ctctcacagc tattgctttg agattctgga gcggcga 477  
 [1809] <210> 86  
 [1810] <211> 158  
 [1811] <212> PRT  
 [1812] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [1813] <220>  
 [1814] <223> 合成  
 [1815] <400> 86  
 [1816] Ile Ser Leu Ile Ala Ala Leu Ala Val Asp Tyr Val Ile Gly Met Glu  
 [1817] 1 5 10 15  
 [1818] Asn Ala Met Pro Trp Asn Leu Pro Ala Asp Leu Ala Trp Phe Lys Arg  
 [1819] 20 25 30  
 [1820] Asn Thr Leu Asn Lys Pro Val Ile Met Gly Arg His Thr Trp Glu Ser  
 [1821] 35 40 45  
 [1822] Ile Gly Arg Pro Leu Pro Gly Arg Lys Asn Ile Ile Leu Ser Ser Gln  
 [1823] 50 55 60  
 [1824] Pro Ser Thr Asp Asp Arg Val Thr Trp Val Lys Ser Val Asp Glu Ala  
 [1825] 65 70 75 80  
 [1826] Ile Ala Ala Cys Gly Asp Val Pro Glu Ile Met Val Ile Gly Gly Gly  
 [1827] 85 90 95  
 [1828] Arg Val Ile Glu Gln Phe Leu Pro Lys Ala Gln Lys Leu Tyr Leu Thr  
 [1829] 100 105 110  
 [1830] His Ile Asp Ala Glu Val Glu Gly Asp Thr His Phe Pro Asp Tyr Glu  
 [1831] 115 120 125  
 [1832] Pro Asp Asp Trp Glu Ser Val Phe Ser Glu Phe His Asp Ala Asp Ala  
 [1833] 130 135 140  
 [1834] Gln Asn Ser His Ser Tyr Cys Phe Glu Ile Leu Glu Arg Arg  
 [1835] 145 150 155  
 [1836] <210> 87  
 [1837] <211> 2538  
 [1838] <212> DNA  
 [1839] <213> 人工序列(Artificial Sequence)  
 [1840] <220>  
 [1841] <223> 合成  
 [1842] <400> 87  
 [1843] atggaattcg gcctgagctg gctgtttctg gtggccattc tgaaggcgt gcagtgtccc 60  
 [1844] agagacatcc tgctgacaca gacacctctg agcctgcctg tgtctctggg agatcaggcc 120  
 [1845] agcatcagct gtagaagcag ccagagcctg gtgcacagaa acggcaatac ctacctgcac 180  
 [1846] tggtatctgc agaagcccg ccagtctcct aagctgctga tccacaaggt gtccaacaga 240

|        |                                                                    |      |
|--------|--------------------------------------------------------------------|------|
| [1847] | ttcagcggcg tgcccgatag attttctggc tctggcagcg gcaccgactt caccctgaag  | 300  |
| [1848] | atctctagag tggaagccga ggacctgggc gtgtacttct gtagccagag cacacatgtg  | 360  |
| [1849] | cctccactga cttttggcgc tggcaccaaa ctggaactta aaggcggcgg aggatctggt  | 420  |
| [1850] | ggtggtggat ctggcggagg cggttctgaa gtgaaactgc agcagtctgg cccctctctg  | 480  |
| [1851] | gttgaacctg gcgcctctgt gatgatctct tgcaaggcca gcggcagcag cttcaccggc  | 540  |
| [1852] | tacaacatga actgggtccg acagaacatc ggcaagagcc tggaatggat cggcgccatc  | 600  |
| [1853] | gatccttact acggcggcac cagctacaac cagaagttca agggcagagc cacttgacc   | 660  |
| [1854] | gtggacaaga gcagcagcac agcctacatg cacctgaagt ccctgacaag cgaggacagc  | 720  |
| [1855] | gccgtgtact actgtgtgtc cggcatgaag tattggggcc agggcacaag cgtgaccgtg  | 780  |
| [1856] | tctagccta agaccacacc tcctagcgtg tacggcagag tgacagtgtc cagcgccgag   | 840  |
| [1857] | cctaagagct gcgacaagac acacacctgt cctccatgtc cagctccaga actgctcggc  | 900  |
| [1858] | ggaccctccg ttttctgtt tccacctaaag ccaaaggaca cctcatgat cagcagaacc   | 960  |
| [1859] | cctgaagtga cctgcgtggt ggtcgtgtg tcccacgagg atcccgaagt gaagttcaat   | 1020 |
| [1860] | tggtacgtgg acggcgtgga agtgacaaac gccaaagacca agcctagaga ggaacagtac | 1080 |
| [1861] | aacagcacct acagagtggg gtccgtgtg accgtgtgtc atcaggactg gctgaacggc   | 1140 |
| [1862] | aaagagtaca agtgcaaagt ctccaacaag gcctgcctg ctctatcga gaaaaccatc    | 1200 |
| [1863] | agcaaggcca agggccagcc aagagaaccc caggtttaca cactgcctcc aagcagggac  | 1260 |
| [1864] | gagctgacca agaatacagg gtccctgacc tgcctggtca agggcttcta cccttccgat  | 1320 |
| [1865] | atgccgtgg aatgggagag caatggccag cctgagaaca actacaagac aaccctctct   | 1380 |
| [1866] | gtgtctggaca gcgacggctc attcttctctg tacagcaagc tgacagtgga taagtcccg | 1440 |
| [1867] | tggcagcagg gcaatgtgtt cagctgttct gtgatgcacg aggcctgca caaccactac   | 1500 |
| [1868] | accagaaaa gcctgtctct gagccccggc aagaaggacc ctaaagctag cttcgaaatt   | 1560 |
| [1869] | gaagttatgt atcctctctc ttacctagac aatgagaaga gcaatggaac cattatccat  | 1620 |
| [1870] | gtgaaaggga aacacctttg tccaagtccc ctatttccc gaccttctaa gcccttttgg   | 1680 |
| [1871] | gtgctgggtg tggttggggg agtcctggct tgctatagct tgctagtaac agtggccttt  | 1740 |
| [1872] | attattttct gggtaggag taagaggagc aggcctctgc acagtgacta catgaacatg   | 1800 |
| [1873] | actccccgcc gccccgggcc caccgcaag cattaccagc cctatgcccc accacgcgac   | 1860 |
| [1874] | ttcgcagcct atcgtctccag agtgaagtgc agcaggagcg cagacgcccc cgcgtacaag | 1920 |
| [1875] | cagggccaga accagctcta taacagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt   | 1980 |
| [1876] | ttggacaaga gacgtggccg ggacctgag atggggggaa agccgagaag gaagaacctt   | 2040 |
| [1877] | caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagtgaatt   | 2100 |
| [1878] | gggatgaaag gcgagcgcg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca ggtctcagt    | 2160 |
| [1879] | acagccacca aggacaccta cgacgccctt cacatgcagg ccctgcccc tcgaggagt    | 2220 |
| [1880] | caggtgaaa ccatctcccc aggagacggc cgcaccttc ccaagcgcg ccagacctgc     | 2280 |
| [1881] | gtggtgcact acaccgggat gcttgagat ggaaagaaag ttgactctc ccgggacaga    | 2340 |
| [1882] | aacaagccct ttaagtttat gctaggcaag caggagtga tccgaggctg ggaagaagg    | 2400 |
| [1883] | gttcccaga tgagtgtgg tcaggagacc aaactgacta tatctccaga ttatgcctat    | 2460 |
| [1884] | ggtgccactg ggcaccagg catcatccca ccacatgcca ctctcgtctt cgatgtggag   | 2520 |
| [1885] | cttctagaac tggaatga                                                | 2538 |
| [1886] | <210>                                                              | 88   |
| [1887] | <211>                                                              | 845  |
| [1888] | <212>                                                              | PRT  |

|        |                                 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|--------|---------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| [1889] | <213> 人工序列(Artificial Sequence) |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [1890] | <220>                           |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [1891] | <223> 合成                        |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [1892] | <400> 88                        |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [1893] | Met                             | Glu | Phe | Gly | Leu | Ser | Trp | Leu | Phe | Leu | Val | Ala | Ile | Leu | Lys | Gly |
| [1894] | 1                               |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| [1895] | Val                             | Gln | Cys | Ser | Arg | Asp | Ile | Leu | Leu | Thr | Gln | Thr | Pro | Leu | Ser | Leu |
| [1896] |                                 |     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |
| [1897] | Pro                             | Val | Ser | Leu | Gly | Asp | Gln | Ala | Ser | Ile | Ser | Cys | Arg | Ser | Ser | Gln |
| [1898] |                                 |     |     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |
| [1899] | Ser                             | Leu | Val | His | Arg | Asn | Gly | Asn | Thr | Tyr | Leu | His | Trp | Tyr | Leu | Gln |
| [1900] |                                 |     |     |     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |
| [1901] | Lys                             | Pro | Gly | Gln | Ser | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile | His | Lys | Val | Ser | Asn | Arg |
| [1902] | 65                              |     |     |     |     |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |
| [1903] | Phe                             | Ser | Gly | Val | Pro | Asp | Arg | Phe | Ser | Gly | Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp |
| [1904] |                                 |     |     |     |     |     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |
| [1905] | Phe                             | Thr | Leu | Lys | Ile | Ser | Arg | Val | Glu | Ala | Glu | Asp | Leu | Gly | Val | Tyr |
| [1906] |                                 |     |     |     |     |     |     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |
| [1907] | Phe                             | Cys | Ser | Gln | Ser | Thr | His | Val | Pro | Pro | Leu | Thr | Phe | Gly | Ala | Gly |
| [1908] |                                 |     |     |     |     |     |     |     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |
| [1909] | Thr                             | Lys | Leu | Glu | Leu | Lys | Gly | Gly | Gly | Gly | Ser | Gly | Gly | Gly | Gly | Ser |
| [1910] |                                 |     |     |     |     |     |     |     |     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |
| [1911] | Gly                             | Gly | Gly | Gly | Ser | Glu | Val | Lys | Leu | Gln | Gln | Ser | Gly | Pro | Ser | Leu |
| [1912] | 145                             |     |     |     |     |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |
| [1913] | Val                             | Glu | Pro | Gly | Ala | Ser | Val | Met | Ile | Ser | Cys | Lys | Ala | Ser | Gly | Ser |
| [1914] |                                 |     |     |     |     |     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |
| [1915] | Ser                             | Phe | Thr | Gly | Tyr | Asn | Met | Asn | Trp | Val | Arg | Gln | Asn | Ile | Gly | Lys |
| [1916] |                                 |     |     |     |     |     |     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |
| [1917] | Ser                             | Leu | Glu | Trp | Ile | Gly | Ala | Ile | Asp | Pro | Tyr | Tyr | Gly | Gly | Thr | Ser |
| [1918] |                                 |     |     |     |     |     |     |     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |
| [1919] | Tyr                             | Asn | Gln | Lys | Phe | Lys | Gly | Arg | Ala | Thr | Leu | Thr | Val | Asp | Lys | Ser |
| [1920] |                                 |     |     |     |     |     |     |     |     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |
| [1921] | Ser                             | Ser | Thr | Ala | Tyr | Met | His | Leu | Lys | Ser | Leu | Thr | Ser | Glu | Asp | Ser |
| [1922] | 225                             |     |     |     |     |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |
| [1923] | Ala                             | Val | Tyr | Tyr | Cys | Val | Ser | Gly | Met | Lys | Tyr | Trp | Gly | Gln | Gly | Thr |
| [1924] |                                 |     |     |     |     |     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |
| [1925] | Ser                             | Val | Thr | Val | Ser | Ser | Ala | Lys | Thr | Thr | Pro | Pro | Ser | Val | Tyr | Gly |
| [1926] |                                 |     |     |     |     |     |     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |
| [1927] | Arg                             | Val | Thr | Val | Ser | Ser | Ala | Glu | Pro | Lys | Ser | Cys | Asp | Lys | Thr | His |
| [1928] |                                 |     |     |     |     |     |     |     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |
| [1929] | Thr                             | Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala | Pro | Glu | Leu | Leu | Gly | Gly | Pro | Ser | Val |
| [1930] |                                 |     |     |     |     |     |     |     |     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |
|        |                                 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 300 |     |

|        |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|--------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| [1931] | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys | Asp | Thr | Leu | Met | Ile | Ser | Arg | Thr |
| [1932] | 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| [1933] | Pro | Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val | Asp | Val | Ser | His | Glu | Asp | Pro | Glu |
| [1934] |     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     |     | 335 |
| [1935] | Val | Lys | Phe | Asn | Trp | Tyr | Val | Asp | Gly | Val | Glu | Val | His | Asn | Ala | Lys |
| [1936] |     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| [1937] | Thr | Lys | Pro | Arg | Glu | Glu | Gln | Tyr | Asn | Ser | Thr | Tyr | Arg | Val | Val | Ser |
| [1938] |     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| [1939] | Val | Leu | Thr | Val | Leu | His | Gln | Asp | Trp | Leu | Asn | Gly | Lys | Glu | Tyr | Lys |
| [1940] | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |     |
| [1941] | Cys | Lys | Val | Ser | Asn | Lys | Ala | Leu | Pro | Ala | Pro | Ile | Glu | Lys | Thr | Ile |
| [1942] | 385 |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     |     | 400 |
| [1943] | Ser | Lys | Ala | Lys | Gly | Gln | Pro | Arg | Glu | Pro | Gln | Val | Tyr | Thr | Leu | Pro |
| [1944] |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     |     | 415 |     |
| [1945] | Pro | Ser | Arg | Asp | Glu | Leu | Thr | Lys | Asn | Gln | Val | Ser | Leu | Thr | Cys | Leu |
| [1946] |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |     |
| [1947] | Val | Lys | Gly | Phe | Tyr | Pro | Ser | Asp | Ile | Ala | Val | Glu | Trp | Glu | Ser | Asn |
| [1948] |     | 435 |     |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| [1949] | Gly | Gln | Pro | Glu | Asn | Asn | Tyr | Lys | Thr | Thr | Pro | Pro | Val | Leu | Asp | Ser |
| [1950] | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |     |
| [1951] | Asp | Gly | Ser | Phe | Phe | Leu | Tyr | Ser | Lys | Leu | Thr | Val | Asp | Lys | Ser | Arg |
| [1952] | 465 |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     |     | 480 |
| [1953] | Trp | Gln | Gln | Gly | Asn | Val | Phe | Ser | Cys | Ser | Val | Met | His | Glu | Ala | Leu |
| [1954] |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |     |
| [1955] | His | Asn | His | Tyr | Thr | Gln | Lys | Ser | Leu | Ser | Leu | Ser | Pro | Gly | Lys | Lys |
| [1956] |     |     | 500 |     |     |     |     |     | 505 |     |     |     | 510 |     |     |     |
| [1957] | Asp | Pro | Lys | Ala | Ser | Phe | Glu | Ile | Glu | Val | Met | Tyr | Pro | Pro | Pro | Tyr |
| [1958] |     | 515 |     |     |     |     |     | 520 |     |     |     |     | 525 |     |     |     |
| [1959] | Leu | Asp | Asn | Glu | Lys | Ser | Asn | Gly | Thr | Ile | Ile | His | Val | Lys | Gly | Lys |
| [1960] | 530 |     |     |     |     |     | 535 |     |     |     |     | 540 |     |     |     |     |
| [1961] | His | Leu | Cys | Pro | Ser | Pro | Leu | Phe | Pro | Gly | Pro | Ser | Lys | Pro | Phe | Trp |
| [1962] | 545 |     |     |     | 550 |     |     |     |     | 555 |     |     |     |     |     | 560 |
| [1963] | Val | Leu | Val | Val | Val | Gly | Gly | Val | Leu | Ala | Cys | Tyr | Ser | Leu | Leu | Val |
| [1964] |     |     |     | 565 |     |     |     |     | 570 |     |     |     |     | 575 |     |     |
| [1965] | Thr | Val | Ala | Phe | Ile | Ile | Phe | Trp | Val | Arg | Ser | Lys | Arg | Ser | Arg | Leu |
| [1966] |     |     | 580 |     |     |     |     |     | 585 |     |     |     | 590 |     |     |     |
| [1967] | Leu | His | Ser | Asp | Tyr | Met | Asn | Met | Thr | Pro | Arg | Arg | Pro | Gly | Pro | Thr |
| [1968] |     | 595 |     |     |     |     |     | 600 |     |     |     |     | 605 |     |     |     |
| [1969] | Arg | Lys | His | Tyr | Gln | Pro | Tyr | Ala | Pro | Pro | Arg | Asp | Phe | Ala | Ala | Tyr |
| [1970] | 610 |     |     |     |     | 615 |     |     |     |     | 620 |     |     |     |     |     |
| [1971] | Arg | Ser | Arg | Val | Lys | Phe | Ser | Arg | Ser | Ala | Asp | Ala | Pro | Ala | Tyr | Lys |
| [1972] | 625 |     |     |     | 630 |     |     |     |     | 635 |     |     |     |     |     | 640 |

|        |                                                                   |                            |             |
|--------|-------------------------------------------------------------------|----------------------------|-------------|
| [1973] | Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu   |                            |             |
| [1974] |                                                                   | 645                        | 650 655     |
| [1975] | Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly   |                            |             |
| [1976] |                                                                   | 660                        | 665 670     |
| [1977] | Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu   |                            |             |
| [1978] |                                                                   | 675                        | 680 685     |
| [1979] | Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly   |                            |             |
| [1980] |                                                                   | 690                        | 695 700     |
| [1981] | Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser   |                            |             |
| [1982] |                                                                   | 705                        | 710 715 720 |
| [1983] | Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro   |                            |             |
| [1984] |                                                                   | 725                        | 730 735     |
| [1985] | Pro Arg Gly Val Gln Val Glu Thr Ile Ser Pro Gly Asp Gly Arg Thr   |                            |             |
| [1986] |                                                                   | 740                        | 745 750     |
| [1987] | Phe Pro Lys Arg Gly Gln Thr Cys Val Val His Tyr Thr Gly Met Leu   |                            |             |
| [1988] |                                                                   | 755                        | 760 765     |
| [1989] | Gly Asp Gly Lys Lys Val Asp Ser Ser Arg Asp Arg Asn Lys Pro Phe   |                            |             |
| [1990] |                                                                   | 770                        | 775 780     |
| [1991] | Lys Phe Met Leu Gly Lys Gln Glu Val Ile Arg Gly Trp Glu Glu Gly   |                            |             |
| [1992] |                                                                   | 785                        | 790 795 800 |
| [1993] | Val Ala Gln Met Ser Val Gly Gln Gly Ala Lys Leu Thr Ile Ser Pro   |                            |             |
| [1994] |                                                                   | 805                        | 810 815     |
| [1995] | Asp Tyr Ala Tyr Gly Ala Thr Gly His Pro Gly Ile Ile Pro Pro His   |                            |             |
| [1996] |                                                                   | 820                        | 825 830     |
| [1997] | Ala Thr Leu Val Phe Asp Val Glu Leu Leu Glu Leu Glu               |                            |             |
| [1998] |                                                                   | 835                        | 840 845     |
| [1999] | <210>                                                             | 89                         |             |
| [2000] | <211>                                                             | 63                         |             |
| [2001] | <212>                                                             | DNA                        |             |
| [2002] | <213>                                                             | 人工序列 (Artificial Sequence) |             |
| [2003] | <220>                                                             |                            |             |
| [2004] | <223>                                                             | 合成                         |             |
| [2005] | <400>                                                             | 89                         |             |
| [2006] | atggaattcg gctgagctg gctgtttctg gtggccattc tgaaggcgt gcagtgtcc 60 |                            |             |
| [2007] | aga                                                               | 63                         |             |
| [2008] | <210>                                                             | 90                         |             |
| [2009] | <211>                                                             | 21                         |             |
| [2010] | <212>                                                             | PRT                        |             |
| [2011] | <213>                                                             | 人工序列 (Artificial Sequence) |             |
| [2012] | <220>                                                             |                            |             |
| [2013] | <223>                                                             | 合成                         |             |
| [2014] | <400>                                                             | 90                         |             |

|        |                                                                         |
|--------|-------------------------------------------------------------------------|
| [2015] | Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Leu Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly         |
| [2016] | 1 5 10 15                                                               |
| [2017] | Val Gln Cys Ser Arg                                                     |
| [2018] | 20                                                                      |
| [2019] | <210> 91                                                                |
| [2020] | <211> 1482                                                              |
| [2021] | <212> DNA                                                               |
| [2022] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                         |
| [2023] | <220>                                                                   |
| [2024] | <223> 合成                                                                |
| [2025] | <400> 91                                                                |
| [2026] | gacatcctgc tgacacagac acctctgagc ctgcctgtgt ctctgggaga tcaggccagc 60    |
| [2027] | atcagctgta gaagcagcca gagcctggtg cacagaaacg gcaataccta cctgcactgg 120   |
| [2028] | tatctgcaga agcccggcca gtctcctaag ctgctgatcc acaagggtgc caacagattc 180   |
| [2029] | agcggcgtgc ccgatagatt ttctggctct ggcagcggca ccgacttcac cctgaagatc 240   |
| [2030] | tctagagtgg aagccgagga cctgggcgtg tactttctgta gccagagcac acatgtgcct 300  |
| [2031] | ccactgacct ttggcgtgga caccaaactg gaacttaaag gcggcggagg atctggtggt 360   |
| [2032] | ggtggatctg gcggagggcg ttctgaagtg aaactgcagc agtctggccc ctctctggtt 420   |
| [2033] | gaacctggcg cctctgtgat gatctcttgc aaggccagcg gcagcagctt caccggctac 480   |
| [2034] | aacatgaact ggggtccgaca gaacatcggc aagagcctgg aatggatcgg cgccatcgat 540  |
| [2035] | ccttactacg gcggcaccag ctacaaccag aagttcaagg gcagagccac actgaccgtg 600   |
| [2036] | gacaagagca gcagcacagc ctacatgcac ctgaagtccc tgacaagcga ggacagcgcc 660   |
| [2037] | gtgtactact gtgtgtccgg catgaagtat tggggccagg gcacaagcgt gaccgtgtct 720   |
| [2038] | agcgtaaga ccacacctcc tagcgtgtac ggcagagtga cagtgtccag cgccgagcct 780    |
| [2039] | aagagctgcg acaagacaca cacctgtcct ccatgtccag ctccagaact gctcggcgga 840   |
| [2040] | ccctccgttt tctgtttcc acctaaagcca aaggacaccc tcatgatcag cagaaccctt 900   |
| [2041] | gaagtgacct gcgtgggtgt cgatgtgtcc cagcaggatc ccgaagtga gttcaattgg 960    |
| [2042] | tacgtggacg gcgtggaagt gcacaacgcc aagaccaagc ctagagagga acagtacaac 1020  |
| [2043] | agcacctaca gagtgtgtgc cgtgtgacc gtgctgcac aggactggtt gaacggcaaa 1080    |
| [2044] | gagtacaagt gcaaagtctc caacaaggcc ctgcctgctc ctatcgagaa aaccatcagc 1140  |
| [2045] | aaggccaagg gccagccaag agaaccccag gtttacacac tgcctccaag cagggacgag 1200  |
| [2046] | ctgaccaaga atcaggtgtc cctgacctgc ctgggtcaagg gcttctaccc ttccgatatc 1260 |
| [2047] | gccgtggaat gggagagcaa tggccagcct gagaacaact acaagacaac ccctcctgtg 1320  |
| [2048] | ctggacagcg acggctcatt cttcctgtac agcaagctga cagtggataa gtcccgtgtg 1380  |
| [2049] | cagcagggca atgtgttcag ctgttctgtg atgcacgagg ccctgcacaa ccactacacc 1440  |
| [2050] | cagaaaagcc tgtctctgag ccccggaag aaggacccta aa 1482                      |
| [2051] | <210> 92                                                                |
| [2052] | <211> 494                                                               |
| [2053] | <212> PRT                                                               |
| [2054] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                         |
| [2055] | <220>                                                                   |
| [2056] | <223> 合成                                                                |

|        |                                                                 |
|--------|-----------------------------------------------------------------|
| [2057] | <400> 92                                                        |
| [2058] | Asp Ile Leu Leu Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly |
| [2059] | 1 5 10 15                                                       |
| [2060] | Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Arg |
| [2061] | 20 25 30                                                        |
| [2062] | Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser |
| [2063] | 35 40 45                                                        |
| [2064] | Pro Lys Leu Leu Ile His Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro |
| [2065] | 50 55 60                                                        |
| [2066] | Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile |
| [2067] | 65 70 75 80                                                     |
| [2068] | Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser |
| [2069] | 85 90 95                                                        |
| [2070] | Thr His Val Pro Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu |
| [2071] | 100 105 110                                                     |
| [2072] | Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser |
| [2073] | 115 120 125                                                     |
| [2074] | Glu Val Lys Leu Gln Gln Ser Gly Pro Ser Leu Val Glu Pro Gly Ala |
| [2075] | 130 135 140                                                     |
| [2076] | Ser Val Met Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Ser Ser Phe Thr Gly Tyr |
| [2077] | 145 150 155 160                                                 |
| [2078] | Asn Met Asn Trp Val Arg Gln Asn Ile Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile |
| [2079] | 165 170 175                                                     |
| [2080] | Gly Ala Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe |
| [2081] | 180 185 190                                                     |
| [2082] | Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr |
| [2083] | 195 200 205                                                     |
| [2084] | Met His Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys |
| [2085] | 210 215 220                                                     |
| [2086] | Val Ser Gly Met Lys Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser |
| [2087] | 225 230 235 240                                                 |
| [2088] | Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Gly Arg Val Thr Val Ser |
| [2089] | 245 250 255                                                     |
| [2090] | Ser Ala Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys |
| [2091] | 260 265 270                                                     |
| [2092] | Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro |
| [2093] | 275 280 285                                                     |
| [2094] | Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys |
| [2095] | 290 295 300                                                     |
| [2096] | Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp |
| [2097] | 305 310 315 320                                                 |
| [2098] | Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu |



|        |                                                                     |     |     |
|--------|---------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| [2099] | 325                                                                 | 330 | 335 |
| [2100] | Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu     |     |     |
| [2101] | 340                                                                 | 345 | 350 |
| [2102] | His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn     |     |     |
| [2103] | 355                                                                 | 360 | 365 |
| [2104] | Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly     |     |     |
| [2105] | 370                                                                 | 375 | 380 |
| [2106] | Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu     |     |     |
| [2107] | 385                                                                 | 390 | 395 |
| [2108] | Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr     |     |     |
| [2109] | 405                                                                 | 410 | 415 |
| [2110] | Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn     |     |     |
| [2111] | 420                                                                 | 425 | 430 |
| [2112] | Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe     |     |     |
| [2113] | 435                                                                 | 440 | 445 |
| [2114] | Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn     |     |     |
| [2115] | 450                                                                 | 455 | 460 |
| [2116] | Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr     |     |     |
| [2117] | 465                                                                 | 470 | 475 |
| [2118] | Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Lys Asp Pro Lys             |     |     |
| [2119] | 485                                                                 | 490 |     |
| [2120] | <210> 93                                                            |     |     |
| [2121] | <211> 117                                                           |     |     |
| [2122] | <212> DNA                                                           |     |     |
| [2123] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                     |     |     |
| [2124] | <220>                                                               |     |     |
| [2125] | <223> 合成                                                            |     |     |
| [2126] | <400> 93                                                            |     |     |
| [2127] | attgaagtta tgtatcctcc tcttaccta gacaatgaga agagcaatgg aaccattatc 60 |     |     |
| [2128] | catgtgaaag ggaaacacct ttgtccaagt cccctatttc ccggaccttc taagccc 117  |     |     |
| [2129] | <210> 94                                                            |     |     |
| [2130] | <211> 39                                                            |     |     |
| [2131] | <212> PRT                                                           |     |     |
| [2132] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                     |     |     |
| [2133] | <220>                                                               |     |     |
| [2134] | <223> 合成                                                            |     |     |
| [2135] | <400> 94                                                            |     |     |
| [2136] | Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn     |     |     |
| [2137] | 1                                                                   | 5   | 10  |
| [2138] | Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu     |     |     |
| [2139] | 20                                                                  | 25  | 30  |
| [2140] | Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro                                         |     |     |

|        |                                                                      |
|--------|----------------------------------------------------------------------|
| [2141] | 35                                                                   |
| [2142] | <210> 95                                                             |
| [2143] | <211> 81                                                             |
| [2144] | <212> DNA                                                            |
| [2145] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                      |
| [2146] | <220>                                                                |
| [2147] | <223> 合成                                                             |
| [2148] | <400> 95                                                             |
| [2149] | ttttgggtgc tgggtgggtg tgggggagtc ctggcttgct atagcttgct agtaacagtg 60 |
| [2150] | gcctttatta ttttctgggt g 81                                           |
| [2151] | <210> 96                                                             |
| [2152] | <211> 27                                                             |
| [2153] | <212> PRT                                                            |
| [2154] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                      |
| [2155] | <220>                                                                |
| [2156] | <223> 合成                                                             |
| [2157] | <400> 96                                                             |
| [2158] | Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu      |
| [2159] | 1 5 10 15                                                            |
| [2160] | Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val                          |
| [2161] | 20 25                                                                |
| [2162] | <210> 97                                                             |
| [2163] | <211> 123                                                            |
| [2164] | <212> DNA                                                            |
| [2165] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                      |
| [2166] | <220>                                                                |
| [2167] | <223> 合成                                                             |
| [2168] | <400> 97                                                             |
| [2169] | aggagtaaga ggagcaggt cctgcacagt gactacatga acatgactcc ccgcgcgcc 60   |
| [2170] | gggcccaccc gcaagcatta ccagccctat gcccaccac gcgacttcgc agcctatcgc 120 |
| [2171] | tcc 123                                                              |
| [2172] | <210> 98                                                             |
| [2173] | <211> 41                                                             |
| [2174] | <212> PRT                                                            |
| [2175] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                      |
| [2176] | <220>                                                                |
| [2177] | <223> 合成                                                             |
| [2178] | <400> 98                                                             |
| [2179] | Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr      |
| [2180] | 1 5 10 15                                                            |
| [2181] | Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro      |
| [2182] | 20 25 30                                                             |

|        |                                                                       |
|--------|-----------------------------------------------------------------------|
| [2183] | Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser                                   |
| [2184] | 35 40                                                                 |
| [2185] | <210> 99                                                              |
| [2186] | <211> 336                                                             |
| [2187] | <212> DNA                                                             |
| [2188] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                       |
| [2189] | <220>                                                                 |
| [2190] | <223> 合成                                                              |
| [2191] | <400> 99                                                              |
| [2192] | agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtaca agcagggcca gaaccagctc 60  |
| [2193] | tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gactacgatg ttttggacaa gagacgtggc 120 |
| [2194] | cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180 |
| [2195] | gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240 |
| [2196] | cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300 |
| [2197] | tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc 336                           |
| [2198] | <210> 100                                                             |
| [2199] | <211> 112                                                             |
| [2200] | <212> PRT                                                             |
| [2201] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                       |
| [2202] | <220>                                                                 |
| [2203] | <223> 合成                                                              |
| [2204] | <400> 100                                                             |
| [2205] | Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly       |
| [2206] | 1 5 10 15                                                             |
| [2207] | Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr       |
| [2208] | 20 25 30                                                              |
| [2209] | Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys       |
| [2210] | 35 40 45                                                              |
| [2211] | Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys       |
| [2212] | 50 55 60                                                              |
| [2213] | Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg       |
| [2214] | 65 70 75 80                                                           |
| [2215] | Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala       |
| [2216] | 85 90 95                                                              |
| [2217] | Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg       |
| [2218] | 100 105 110                                                           |
| [2219] | <210> 101                                                             |
| [2220] | <211> 321                                                             |
| [2221] | <212> DNA                                                             |
| [2222] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                       |
| [2223] | <220>                                                                 |
| [2224] | <223> 合成                                                              |

|        |                                                                       |
|--------|-----------------------------------------------------------------------|
| [2225] | <400> 101                                                             |
| [2226] | ggagtgcagg tggaaccat ctccccagga gacgggcgca ctttcccaa gcgcggccag 60    |
| [2227] | acctgcgtgg tgcactacac cgggatgctt ggagatggaa agaaagttga ctcttcccg 120  |
| [2228] | gacagaaaca agccctttaa gtttatgcta ggcaagcagg aggtgatccg aggctgggaa 180 |
| [2229] | gaaggggttg cccagatgag tgtgggtcag ggagccaaac tgactatatc tccagattat 240 |
| [2230] | gcctatggtg ccaactggga cccaggcatc atcccaccac atgccactct cgtcttcgat 300 |
| [2231] | gtggagcttc tagaactgga a 321                                           |
| [2232] | <210> 102                                                             |
| [2233] | <211> 107                                                             |
| [2234] | <212> PRT                                                             |
| [2235] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                       |
| [2236] | <220>                                                                 |
| [2237] | <223> 合成                                                              |
| [2238] | <400> 102                                                             |
| [2239] | Gly Val Gln Val Glu Thr Ile Ser Pro Gly Asp Gly Arg Thr Phe Pro       |
| [2240] | 1 5 10 15                                                             |
| [2241] | Lys Arg Gly Gln Thr Cys Val Val His Tyr Thr Gly Met Leu Gly Asp       |
| [2242] | 20 25 30                                                              |
| [2243] | Gly Lys Lys Val Asp Ser Ser Arg Asp Arg Asn Lys Pro Phe Lys Phe       |
| [2244] | 35 40 45                                                              |
| [2245] | Met Leu Gly Lys Gln Glu Val Ile Arg Gly Trp Glu Glu Gly Val Ala       |
| [2246] | 50 55 60                                                              |
| [2247] | Gln Met Ser Val Gly Gln Gly Ala Lys Leu Thr Ile Ser Pro Asp Tyr       |
| [2248] | 65 70 75 80                                                           |
| [2249] | Ala Tyr Gly Ala Thr Gly His Pro Gly Ile Ile Pro Pro His Ala Thr       |
| [2250] | 85 90 95                                                              |
| [2251] | Leu Val Phe Asp Val Glu Leu Leu Glu Leu Glu                           |
| [2252] | 100 105                                                               |
| [2253] | <210> 103                                                             |
| [2254] | <211> 2691                                                            |
| [2255] | <212> DNA                                                             |
| [2256] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                       |
| [2257] | <220>                                                                 |
| [2258] | <223> 合成                                                              |
| [2259] | <400> 103                                                             |
| [2260] | atggaattcg gcctgagctg gctgtttctg gtggccattc tgaagggcgt gcagtgtctc 60  |
| [2261] | agagacatcc tgctgacaca gacacctctg agcctgcctg tgtctctggg agatcaggcc 120 |
| [2262] | agcatcagct gtagaagcag ccagagcctg gtgcacagaa acggcaatac ctacctgcac 180 |
| [2263] | tggtatctgc agaagcccg ccagtctcct aagctgctga tccacaaggt gtccaacaga 240  |
| [2264] | ttcagcggcg tgccgatag attttctggc tctggcagcg gcaccgactt caccctgaag 300  |
| [2265] | atctctagag tggaagccga ggacctgggc gtgtacttct gtagccagag cacacatgtg 360 |
| [2266] | cctccactga cttttggcgc tggcaccaaa ctggaactta aaggcggcgg aggatctggt 420 |

|        |                                                                    |                           |
|--------|--------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| [2267] | ggtggtggat ctggcggagg cggttctgaa gtgaaactgc agcagtctgg cccctctctg  | 480                       |
| [2268] | gttgaaacctg gcgcctctgt gatgatctct tgcaaggcca gcggcagcag cttcaccggc | 540                       |
| [2269] | tacaacatga actgggtccg acagaacatc ggcaagagcc tggaatggat cggcgccatc  | 600                       |
| [2270] | gatccttact acggcggcac cagctacaac cagaagtca agggcagagc cacttgacc    | 660                       |
| [2271] | gtggacaaga gcagcagcac agcctacatg cacctgaagt ccctgacaag cgaggacagc  | 720                       |
| [2272] | gccgtgtact actgtgtgtc cggcatgaag tattggggcc agggcacaag cgtgaccgtg  | 780                       |
| [2273] | tctagcgcta agaccacacc tcttagcgtg tacggcagag tgacagtgtc cagcgccgag  | 840                       |
| [2274] | cctaagagct gcgacaagac acacacctgt cctccatgtc cagctccaga actgctcggc  | 900                       |
| [2275] | ggaccctccg ttttcctgtt tccacctaa ccaaaggaca ccctcatgat cagcagaacc   | 960                       |
| [2276] | cctgaagtga cctgcgtggt ggtcagatgtg tcccacgagg atcccgaagt gaagttcaat | 1020                      |
| [2277] | tggtacgtgg acggcgtgga agtgcacaac gccaaagcca agcctagaga ggaacagtac  | 1080                      |
| [2278] | aacagcacct acagagtgggt gtccgtgtg accgtgtgc atcaggactg gctgaacggc   | 1140                      |
| [2279] | aaagagtaca agtgcaaagt ctccaacaag gccctgcctg ctctatcga gaaaaccatc   | 1200                      |
| [2280] | agcaaggcca agggccagcc aagagaaccc caggtttaca cactgcctcc aagcagggac  | 1260                      |
| [2281] | gagctgacca agaatcaggt gtccctgacc tgcctggtca agggcttcta cccttccgat  | 1320                      |
| [2282] | atcgccgtgg aatgggagag caatggccag cctgagaaca actacaagac aaccctcct   | 1380                      |
| [2283] | gtgctggaca gcgacggctc attcttctctg tacagcaagc tgacagtgga taagtcccg  | 1440                      |
| [2284] | tggcagcagg gcaatgtgtt cagctgttct gtgatgcacg aggccctgca caaccactac  | 1500                      |
| [2285] | accagaaaaa gcctgtctct gagccccggc aagaaggacc ctaaagctag cttcgaaatt  | 1560                      |
| [2286] | gaagtatatgt atctcctcc ttacctagac aatgagaaga gcaatggaac cattatccat  | 1620                      |
| [2287] | gtgaaaggga aacacctttg tccaagtccc ctatttccc gaccttctaa gcccttttgg   | 1680                      |
| [2288] | gtgctgggtg tggttggggg agtcctggct tgctatagct tgctagtaac agtggccttt  | 1740                      |
| [2289] | attattttct gggtagaggag taagaggagc aggcctctgc acagtgacta catgaacatg | 1800                      |
| [2290] | actccccgcc gccccgggcc caccgcaag cattaccagc cctatgcccc accacgcgac   | 1860                      |
| [2291] | ttcgagcct atcgctccag agtgaagttc agcaggagcg cagacgcccc cgcgtacaag   | 1920                      |
| [2292] | cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt  | 1980                      |
| [2293] | ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag atggggggaa agccgagaag gaagaaccct  | 2040                      |
| [2294] | caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagtgagatt  | 2100                      |
| [2295] | gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca ggtctcagt   | 2160                      |
| [2296] | acagccacca aggacaccta cgacgccctt cacatgcagg ccctgcccc tcgcatcagt   | 2220                      |
| [2297] | ctgattgcgg cgtagcgggt agattacgtt atcggcgatg aaaacgcat gccgtggaac   | 2280                      |
| [2298] | ctgcctgccg atctcgctg gtttaaagc aacacctta ataaaccgt gattatgggc      | 2340                      |
| [2299] | cgccatacct gggaatcaat cggtcgtccg ttgccaggac gcaaaaatat tctctcagc   | 2400                      |
| [2300] | agtcaaccga gtacggacga tcgcgtaacg tgggtgaagt cggatgatga agccatcgcg  | 2460                      |
| [2301] | gcgtgtggtg acgtaccaga aatcatggtg attggcggcg gtcgcgttat tgaacagttc  | 2520                      |
| [2302] | ttgccaaaag cgcaaaaact gtatctgacg catatcgacg cagaagtgga aggcgacacc  | 2580                      |
| [2303] | catttcccg attacgagcc ggatgactgg gaatcggtat tcagcgaatt ccacgatgct   | 2640                      |
| [2304] | gatgcgcaga actctcacag ctattgcttt gagattctgg agcggcgatg a           | 2691                      |
| [2305] | <210>                                                              | 104                       |
| [2306] | <211>                                                              | 896                       |
| [2307] | <212>                                                              | PRT                       |
| [2308] | <213>                                                              | 人工序列(Artificial Sequence) |

|        |                                                                 |
|--------|-----------------------------------------------------------------|
| [2309] | <220>                                                           |
| [2310] | <223> 合成                                                        |
| [2311] | <400> 104                                                       |
| [2312] | Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Leu Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly |
| [2313] | 1 5 10 15                                                       |
| [2314] | Val Gln Cys Ser Arg Asp Ile Leu Leu Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu |
| [2315] | 20 25 30                                                        |
| [2316] | Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln |
| [2317] | 35 40 45                                                        |
| [2318] | Ser Leu Val His Arg Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln |
| [2319] | 50 55 60                                                        |
| [2320] | Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile His Lys Val Ser Asn Arg |
| [2321] | 65 70 75 80                                                     |
| [2322] | Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp |
| [2323] | 85 90 95                                                        |
| [2324] | Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr |
| [2325] | 100 105 110                                                     |
| [2326] | Phe Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly |
| [2327] | 115 120 125                                                     |
| [2328] | Thr Lys Leu Glu Leu Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser |
| [2329] | 130 135 140                                                     |
| [2330] | Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Gln Ser Gly Pro Ser Leu |
| [2331] | 145 150 155 160                                                 |
| [2332] | Val Glu Pro Gly Ala Ser Val Met Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Ser |
| [2333] | 165 170 175                                                     |
| [2334] | Ser Phe Thr Gly Tyr Asn Met Asn Trp Val Arg Gln Asn Ile Gly Lys |
| [2335] | 180 185 190                                                     |
| [2336] | Ser Leu Glu Trp Ile Gly Ala Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Ser |
| [2337] | 195 200 205                                                     |
| [2338] | Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser |
| [2339] | 210 215 220                                                     |
| [2340] | Ser Ser Thr Ala Tyr Met His Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser |
| [2341] | 225 230 235 240                                                 |
| [2342] | Ala Val Tyr Tyr Cys Val Ser Gly Met Lys Tyr Trp Gly Gln Gly Thr |
| [2343] | 245 250 255                                                     |
| [2344] | Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Gly |
| [2345] | 260 265 270                                                     |
| [2346] | Arg Val Thr Val Ser Ser Ala Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His |
| [2347] | 275 280 285                                                     |
| [2348] | Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val |
| [2349] | 290 295 300                                                     |
| [2350] | Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr |

|        |                                                                 |     |     |     |
|--------|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| [2351] | 305                                                             | 310 | 315 | 320 |
| [2352] | Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu |     |     |     |
| [2353] |                                                                 | 325 | 330 | 335 |
| [2354] | Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys |     |     |     |
| [2355] |                                                                 | 340 | 345 | 350 |
| [2356] | Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser |     |     |     |
| [2357] |                                                                 | 355 | 360 | 365 |
| [2358] | Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys |     |     |     |
| [2359] |                                                                 | 370 | 375 | 380 |
| [2360] | Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile |     |     |     |
| [2361] | 385                                                             | 390 | 395 | 400 |
| [2362] | Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro |     |     |     |
| [2363] |                                                                 | 405 | 410 | 415 |
| [2364] | Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu |     |     |     |
| [2365] |                                                                 | 420 | 425 | 430 |
| [2366] | Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn |     |     |     |
| [2367] |                                                                 | 435 | 440 | 445 |
| [2368] | Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser |     |     |     |
| [2369] |                                                                 | 450 | 455 | 460 |
| [2370] | Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg |     |     |     |
| [2371] | 465                                                             | 470 | 475 | 480 |
| [2372] | Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu |     |     |     |
| [2373] |                                                                 | 485 | 490 | 495 |
| [2374] | His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Lys |     |     |     |
| [2375] |                                                                 | 500 | 505 | 510 |
| [2376] | Asp Pro Lys Ala Ser Phe Glu Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr |     |     |     |
| [2377] |                                                                 | 515 | 520 | 525 |
| [2378] | Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys |     |     |     |
| [2379] |                                                                 | 530 | 535 | 540 |
| [2380] | His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp |     |     |     |
| [2381] | 545                                                             | 550 | 555 | 560 |
| [2382] | Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val |     |     |     |
| [2383] |                                                                 | 565 | 570 | 575 |
| [2384] | Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu |     |     |     |
| [2385] |                                                                 | 580 | 585 | 590 |
| [2386] | Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr |     |     |     |
| [2387] |                                                                 | 595 | 600 | 605 |
| [2388] | Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr |     |     |     |
| [2389] |                                                                 | 610 | 615 | 620 |
| [2390] | Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys |     |     |     |
| [2391] | 625                                                             | 630 | 635 | 640 |
| [2392] | Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu |     |     |     |

|        |                                                                       |     |     |
|--------|-----------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| [2393] | 645                                                                   | 650 | 655 |
| [2394] | Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly       |     |     |
| [2395] | 660                                                                   | 665 | 670 |
| [2396] | Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu       |     |     |
| [2397] | 675                                                                   | 680 | 685 |
| [2398] | Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly       |     |     |
| [2399] | 690                                                                   | 695 | 700 |
| [2400] | Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser       |     |     |
| [2401] | 705                                                                   | 710 | 715 |
| [2402] | Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro       |     |     |
| [2403] | 725                                                                   | 730 | 735 |
| [2404] | Pro Arg Ile Ser Leu Ile Ala Ala Leu Ala Val Asp Tyr Val Ile Gly       |     |     |
| [2405] | 740                                                                   | 745 | 750 |
| [2406] | Met Glu Asn Ala Met Pro Trp Asn Leu Pro Ala Asp Leu Ala Trp Phe       |     |     |
| [2407] | 755                                                                   | 760 | 765 |
| [2408] | Lys Arg Asn Thr Leu Asn Lys Pro Val Ile Met Gly Arg His Thr Trp       |     |     |
| [2409] | 770                                                                   | 775 | 780 |
| [2410] | Glu Ser Ile Gly Arg Pro Leu Pro Gly Arg Lys Asn Ile Ile Leu Ser       |     |     |
| [2411] | 785                                                                   | 790 | 795 |
| [2412] | Ser Gln Pro Ser Thr Asp Asp Arg Val Thr Trp Val Lys Ser Val Asp       |     |     |
| [2413] | 805                                                                   | 810 | 815 |
| [2414] | Glu Ala Ile Ala Ala Cys Gly Asp Val Pro Glu Ile Met Val Ile Gly       |     |     |
| [2415] | 820                                                                   | 825 | 830 |
| [2416] | Gly Gly Arg Val Ile Glu Gln Phe Leu Pro Lys Ala Gln Lys Leu Tyr       |     |     |
| [2417] | 835                                                                   | 840 | 845 |
| [2418] | Leu Thr His Ile Asp Ala Glu Val Glu Gly Asp Thr His Phe Pro Asp       |     |     |
| [2419] | 850                                                                   | 855 | 860 |
| [2420] | Tyr Glu Pro Asp Asp Trp Glu Ser Val Phe Ser Glu Phe His Asp Ala       |     |     |
| [2421] | 865                                                                   | 870 | 875 |
| [2422] | Asp Ala Gln Asn Ser His Ser Tyr Cys Phe Glu Ile Leu Glu Arg Arg       |     |     |
| [2423] | 885                                                                   | 890 | 895 |
| [2424] | <210> 105                                                             |     |     |
| [2425] | <211> 63                                                              |     |     |
| [2426] | <212> DNA                                                             |     |     |
| [2427] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                       |     |     |
| [2428] | <220>                                                                 |     |     |
| [2429] | <223> 合成                                                              |     |     |
| [2430] | <400> 105                                                             |     |     |
| [2431] | atggaattcg gcctgagctg gctgtttctg gtggccattc tgaagggcgt gcagtgtctcc 60 |     |     |
| [2432] | aga 63                                                                |     |     |
| [2433] | <210> 106                                                             |     |     |
| [2434] | <211> 21                                                              |     |     |



|        |                                                                    |      |
|--------|--------------------------------------------------------------------|------|
| [2435] | <212> PRT                                                          |      |
| [2436] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                    |      |
| [2437] | <220>                                                              |      |
| [2438] | <223> 合成                                                           |      |
| [2439] | <400> 106                                                          |      |
| [2440] | Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Leu Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly    |      |
| [2441] | 1 5 10 15                                                          |      |
| [2442] | Val Gln Cys Ser Arg                                                |      |
| [2443] | 20                                                                 |      |
| [2444] | <210> 107                                                          |      |
| [2445] | <211> 1482                                                         |      |
| [2446] | <212> DNA                                                          |      |
| [2447] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                    |      |
| [2448] | <220>                                                              |      |
| [2449] | <223> 合成                                                           |      |
| [2450] | <400> 107                                                          |      |
| [2451] | gacatcctgc tgacacagac acctctgagc ctgcctgtgt ctctgggaga tcaggccagc  | 60   |
| [2452] | atcagctgta gaagcagcca gagcctggtg cacagaaacg gcaataccta cctgcactgg  | 120  |
| [2453] | tatctgcaga agcccggcca gtctcctaag ctgctgatcc acaaggtgtc caacagattc  | 180  |
| [2454] | agcggcgtgc ccgatagatt ttctggctct ggcagcggca ccgacttcac cctgaagatc  | 240  |
| [2455] | tctagagtgg aagccgagga cctgggcgtg tactttctgta gccagagcac acatgtgcct | 300  |
| [2456] | ccactgacct ttggcgctgg caccaaactg gaacttaaag gcggcggagg atctggtggt  | 360  |
| [2457] | ggtggatctg gcggaggcgg ttctgaagtg aaactgcagc agtctggccc ctctctggtt  | 420  |
| [2458] | gaacctggcg cctctgtgat gatctcttgc aaggccagcg gcagcagctt caccggctac  | 480  |
| [2459] | aacatgaact ggggtccgaca gaacatcggc aagagcctgg aatggatcgg cgccatcgat | 540  |
| [2460] | ccttactacg gcggcaccag ctacaaccag aagttcaagg gcagagccac actgaccgtg  | 600  |
| [2461] | gacaagagca gcagcacagc ctacatgcac ctgaagtccc tgacaagcga ggacagcgcc  | 660  |
| [2462] | gtgtactact gtgtgtccgg catgaagtat tggggccagg gcacaagcgt gaccgtgtct  | 720  |
| [2463] | agcgetaaga ccacacctcc tagcgtgtac ggcagagtga cagtgtccag cgccgagcct  | 780  |
| [2464] | aagagctgcg acaagacaca cacctgtcct ccatgtccag ctccagaact gctcggcgga  | 840  |
| [2465] | ccctccgttt tcctgtttcc acctaaagcca aaggacaccc tcatgatcag cagaaccct  | 900  |
| [2466] | gaagtgacct gcgtggtggt cgatgtgtcc cagcaggatc ccgaagtga gttcaattgg   | 960  |
| [2467] | tacgtggacg gcgtggaagt gcacaacgcc aagaccaagc ctagagagga acagtacaac  | 1020 |
| [2468] | agcacctaca gagtgggtgc cgtgctgacc gtgctgcatc aggactggct gaacggcaaa  | 1080 |
| [2469] | gagtacaagt gcaaagtctc caacaaggcc ctgcctgctc ctatcgagaa aaccatcagc  | 1140 |
| [2470] | aaggccaagg gccagccaag agaaccccag gtttacacac tgcctccaag cagggacgag  | 1200 |
| [2471] | ctgaccaaga atcaggtgtc cctgacctgc ctggtcaagg gcttctaccc ttccgatatc  | 1260 |
| [2472] | gccgtggaat gggagagcaa tggccagcct gagaacaact acaagacaac ccctcctgtg  | 1320 |
| [2473] | ctggacagcg acggctcatt cttcctgtac agcaagctga cagtggataa gtccccgttg  | 1380 |
| [2474] | cagcagggca atgtgttcag ctgttctgtg atgcacgagg ccctgcacaa ccactacacc  | 1440 |
| [2475] | cagaaaagcc tgtctctgag ccccggaag aaggacccta aa 1482                 |      |
| [2476] | <210> 108                                                          |      |

|        |                                                                 |
|--------|-----------------------------------------------------------------|
| [2477] | <211> 494                                                       |
| [2478] | <212> PRT                                                       |
| [2479] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                 |
| [2480] | <220>                                                           |
| [2481] | <223> 合成                                                        |
| [2482] | <400> 108                                                       |
| [2483] | Asp Ile Leu Leu Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly |
| [2484] | 1 5 10 15                                                       |
| [2485] | Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Arg |
| [2486] | 20 25 30                                                        |
| [2487] | Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser |
| [2488] | 35 40 45                                                        |
| [2489] | Pro Lys Leu Leu Ile His Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro |
| [2490] | 50 55 60                                                        |
| [2491] | Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile |
| [2492] | 65 70 75 80                                                     |
| [2493] | Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser |
| [2494] | 85 90 95                                                        |
| [2495] | Thr His Val Pro Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu |
| [2496] | 100 105 110                                                     |
| [2497] | Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser |
| [2498] | 115 120 125                                                     |
| [2499] | Glu Val Lys Leu Gln Gln Ser Gly Pro Ser Leu Val Glu Pro Gly Ala |
| [2500] | 130 135 140                                                     |
| [2501] | Ser Val Met Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Ser Ser Phe Thr Gly Tyr |
| [2502] | 145 150 155 160                                                 |
| [2503] | Asn Met Asn Trp Val Arg Gln Asn Ile Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile |
| [2504] | 165 170 175                                                     |
| [2505] | Gly Ala Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe |
| [2506] | 180 185 190                                                     |
| [2507] | Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr |
| [2508] | 195 200 205                                                     |
| [2509] | Met His Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys |
| [2510] | 210 215 220                                                     |
| [2511] | Val Ser Gly Met Lys Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser |
| [2512] | 225 230 235 240                                                 |
| [2513] | Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Gly Arg Val Thr Val Ser |
| [2514] | 245 250 255                                                     |
| [2515] | Ser Ala Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys |
| [2516] | 260 265 270                                                     |
| [2517] | Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro |
| [2518] | 275 280 285                                                     |

|        |                                                                      |
|--------|----------------------------------------------------------------------|
| [2519] | Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys      |
| [2520] | 290 295 300                                                          |
| [2521] | Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp      |
| [2522] | 305 310 315 320                                                      |
| [2523] | Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu      |
| [2524] | 325 330 335                                                          |
| [2525] | Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu      |
| [2526] | 340 345 350                                                          |
| [2527] | His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn      |
| [2528] | 355 360 365                                                          |
| [2529] | Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly      |
| [2530] | 370 375 380                                                          |
| [2531] | Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu      |
| [2532] | 385 390 395 400                                                      |
| [2533] | Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr      |
| [2534] | 405 410 415                                                          |
| [2535] | Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn      |
| [2536] | 420 425 430                                                          |
| [2537] | Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe      |
| [2538] | 435 440 445                                                          |
| [2539] | Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn      |
| [2540] | 450 455 460                                                          |
| [2541] | Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr      |
| [2542] | 465 470 475 480                                                      |
| [2543] | Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Lys Asp Pro Lys              |
| [2544] | 485 490                                                              |
| [2545] | <210> 109                                                            |
| [2546] | <211> 117                                                            |
| [2547] | <212> DNA                                                            |
| [2548] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                      |
| [2549] | <220>                                                                |
| [2550] | <223> 合成                                                             |
| [2551] | <400> 109                                                            |
| [2552] | attgaagtta tgtatcctcc tccttaccta gacaatgaga agagcaatgg aaccattatc 60 |
| [2553] | catgtgaaag ggaaacacct ttgtccaagt cccctatttc ccggaccttc taagccc 117   |
| [2554] | <210> 110                                                            |
| [2555] | <211> 39                                                             |
| [2556] | <212> PRT                                                            |
| [2557] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                      |
| [2558] | <220>                                                                |
| [2559] | <223> 合成                                                             |
| [2560] | <400> 110                                                            |

|        |                                                                      |
|--------|----------------------------------------------------------------------|
| [2561] | Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn      |
| [2562] | 1 5 10 15                                                            |
| [2563] | Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu      |
| [2564] | 20 25 30                                                             |
| [2565] | Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro                                          |
| [2566] | 35                                                                   |
| [2567] | <210> 111                                                            |
| [2568] | <211> 81                                                             |
| [2569] | <212> DNA                                                            |
| [2570] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                      |
| [2571] | <220>                                                                |
| [2572] | <223> 合成                                                             |
| [2573] | <400> 111                                                            |
| [2574] | ttttgggtgc tgggtgggtg tgggggagtc ctggcttgct atagcttgct agtaacagtg 60 |
| [2575] | gcctttatta ttttctgggt g 81                                           |
| [2576] | <210> 112                                                            |
| [2577] | <211> 27                                                             |
| [2578] | <212> PRT                                                            |
| [2579] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                      |
| [2580] | <220>                                                                |
| [2581] | <223> 合成                                                             |
| [2582] | <400> 112                                                            |
| [2583] | Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu      |
| [2584] | 1 5 10 15                                                            |
| [2585] | Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val                          |
| [2586] | 20 25                                                                |
| [2587] | <210> 113                                                            |
| [2588] | <211> 123                                                            |
| [2589] | <212> DNA                                                            |
| [2590] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                      |
| [2591] | <220>                                                                |
| [2592] | <223> 合成                                                             |
| [2593] | <400> 113                                                            |
| [2594] | aggagtaaga ggagcaggt cctgcacagt gactacatga acatgactcc ccgccgcccc 60  |
| [2595] | gggcccaccc gcaagcatta ccagccctat gcccaccac gcgacttcgc agcctatcgc 120 |
| [2596] | tcc 123                                                              |
| [2597] | <210> 114                                                            |
| [2598] | <211> 41                                                             |
| [2599] | <212> PRT                                                            |
| [2600] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                      |
| [2601] | <220>                                                                |
| [2602] | <223> 合成                                                             |

|        |                                                                       |
|--------|-----------------------------------------------------------------------|
| [2603] | <400> 114                                                             |
| [2604] | Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr       |
| [2605] | 1 5 10 15                                                             |
| [2606] | Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro       |
| [2607] | 20 25 30                                                              |
| [2608] | Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser                                   |
| [2609] | 35 40                                                                 |
| [2610] | <210> 115                                                             |
| [2611] | <211> 336                                                             |
| [2612] | <212> DNA                                                             |
| [2613] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                       |
| [2614] | <220>                                                                 |
| [2615] | <223> 合成                                                              |
| [2616] | <400> 115                                                             |
| [2617] | agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtaca agcagggcca gaaccagctc 60  |
| [2618] | tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc 120 |
| [2619] | cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180 |
| [2620] | gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240 |
| [2621] | cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300 |
| [2622] | tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc 336                           |
| [2623] | <210> 116                                                             |
| [2624] | <211> 112                                                             |
| [2625] | <212> PRT                                                             |
| [2626] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                       |
| [2627] | <220>                                                                 |
| [2628] | <223> 合成                                                              |
| [2629] | <400> 116                                                             |
| [2630] | Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly       |
| [2631] | 1 5 10 15                                                             |
| [2632] | Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr       |
| [2633] | 20 25 30                                                              |
| [2634] | Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys       |
| [2635] | 35 40 45                                                              |
| [2636] | Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys       |
| [2637] | 50 55 60                                                              |
| [2638] | Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg       |
| [2639] | 65 70 75 80                                                           |
| [2640] | Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala       |
| [2641] | 85 90 95                                                              |
| [2642] | Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg       |
| [2643] | 100 105 110                                                           |
| [2644] | <210> 117                                                             |

|        |                                                                            |
|--------|----------------------------------------------------------------------------|
| [2645] | <211> 474                                                                  |
| [2646] | <212> DNA                                                                  |
| [2647] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                            |
| [2648] | <220>                                                                      |
| [2649] | <223> 合成                                                                   |
| [2650] | <400> 117                                                                  |
| [2651] | atcagtctga ttgcggcgtt agcggtagat tacgttatcg gcatggaaaa cgccatgccg 60       |
| [2652] | tggaacctgc ctgccgatct cgcctggttt aaacgcaaca ccttaaataa acccgtgatt 120      |
| [2653] | atgggccgcc atacctggga atcaatcggc cgtccgttgc caggacgcaa aaatattatc 180      |
| [2654] | ctcagcagtc aaccgagtac ggacgatcgc gtaacgtggg tgaagtcggt ggatgaagcc 240      |
| [2655] | atcgcggcgt gtggtgacgt accagaaatc atggtgattg gcggcggtcg cgttattgaa 300      |
| [2656] | cagttcttgc caaaagcgca aaaactgtat ctgacgcata tcgacgcaga agtgaaggc 360       |
| [2657] | gacaccatt tcccggatta cgagccggat gactgggaat cggatttcag cgaattccac 420       |
| [2658] | gatgctgatg cgcagaactc tcacagctat tgctttgaga ttctggagcg gcga 474            |
| [2659] | <210> 118                                                                  |
| [2660] | <211> 158                                                                  |
| [2661] | <212> PRT                                                                  |
| [2662] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                            |
| [2663] | <220>                                                                      |
| [2664] | <223> 合成                                                                   |
| [2665] | <400> 118                                                                  |
| [2666] | Ile Ser Leu Ile Ala Ala Leu Ala Val Asp Tyr Val Ile Gly Met Glu            |
| [2667] | 1                      5                      10                      15   |
| [2668] | Asn Ala Met Pro Trp Asn Leu Pro Ala Asp Leu Ala Trp Phe Lys Arg            |
| [2669] | 20                      25                      30                         |
| [2670] | Asn Thr Leu Asn Lys Pro Val Ile Met Gly Arg His Thr Trp Glu Ser            |
| [2671] | 35                      40                      45                         |
| [2672] | Ile Gly Arg Pro Leu Pro Gly Arg Lys Asn Ile Ile Leu Ser Ser Gln            |
| [2673] | 50                      55                      60                         |
| [2674] | Pro Ser Thr Asp Asp Arg Val Thr Trp Val Lys Ser Val Asp Glu Ala            |
| [2675] | 65                      70                      75                      80 |
| [2676] | Ile Ala Ala Cys Gly Asp Val Pro Glu Ile Met Val Ile Gly Gly Gly            |
| [2677] | 85                      90                      95                         |
| [2678] | Arg Val Ile Glu Gln Phe Leu Pro Lys Ala Gln Lys Leu Tyr Leu Thr            |
| [2679] | 100                      105                      110                      |
| [2680] | His Ile Asp Ala Glu Val Glu Gly Asp Thr His Phe Pro Asp Tyr Glu            |
| [2681] | 115                      120                      125                      |
| [2682] | Pro Asp Asp Trp Glu Ser Val Phe Ser Glu Phe His Asp Ala Asp Ala            |
| [2683] | 130                      135                      140                      |
| [2684] | Gln Asn Ser His Ser Tyr Cys Phe Glu Ile Leu Glu Arg Arg                    |
| [2685] | 145                      150                      155                      |
| [2686] | <210> 119                                                                  |

|        |                                                                        |
|--------|------------------------------------------------------------------------|
| [2687] | <211> 1818                                                             |
| [2688] | <212> DNA                                                              |
| [2689] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                        |
| [2690] | <220>                                                                  |
| [2691] | <223> 合成                                                               |
| [2692] | <400> 119                                                              |
| [2693] | atgctgctgc tcgtgacatc tctgctgctg tgcgagctgc cccaccccg ctttctgctg 60    |
| [2694] | atccccgata tccagatgac ccagtcctcg agctccctgt ccgcctctgt gggcgatagg 120  |
| [2695] | gtcaccatca cctgccgtgc cagtcaggat gtgaatactg ctgtagcctg gtatcaacag 180  |
| [2696] | aaaccaggaa aagctccgaa actactgatt tactcggcat ctttccttta ttctggagtc 240  |
| [2697] | ccttctcgct tctctggatc tagatctggg acggatttca ctctgacct cagcagctctg 300  |
| [2698] | cagccggaag acttcgcaac ttattactgt cagcaacatt atactactcc tcccacgttc 360  |
| [2699] | ggacagggtg ccaagtgga gatcaaagg tctacatctg gatctgggaa gccgggttct 420    |
| [2700] | ggtgagggtt ctggtgaggt tcagctggtg gagtctggcg gtggcctggt gcagccaggg 480  |
| [2701] | ggctcactcc gtttgcctg tgcagcttct ggcttcaaca ttaaagacac ctatatacac 540   |
| [2702] | tgggtcgctc agggcccggt taaggcgctg gaatgggttg caaggattta tcctacgaat 600  |
| [2703] | ggttatacta gatatgccga tagcgtcaag ggccgtttca ctataagcg agacacatcc 660   |
| [2704] | aaaaacacag cctacctgca gatgaacagc ctgcgtgctg aggacactgc cgtctattat 720  |
| [2705] | tgttctagat ggggagggga cggcttctat gctatggacg tgtggggtca aggaaccctg 780  |
| [2706] | gtcaccgtct cctcgctag cgaacaaaaa ctcatctcag aagaggatct gttcgaaatt 840   |
| [2707] | gaagtatgt atcctcctcc ttacctagac aatgagaaga gcaatggaac cattatccat 900   |
| [2708] | gtgaaaggga aacacctttg tccaagtccc ctatttccc gaccttctaa gcccttttgg 960   |
| [2709] | gtgctggttg tggttggggg agtcctgctg tgctatagct tgctagtaac agtggccttt 1020 |
| [2710] | attattttct gggtagggag taagaggagc aggcctctgc acagtgacta catgaacatg 1080 |
| [2711] | actccccgcc gccccgggcc caccgcaag cattaccagc cctatgcccc accacgcgac 1140  |
| [2712] | ttcgcagcct atcgtccag agtgaagttc agcaggagcg cagacgcccc cgcgtacaag 1200  |
| [2713] | cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt 1260 |
| [2714] | ttggacaaga gacgtggccg ggacctgag atggggggaa agccgagaag gaagaaccct 1320  |
| [2715] | caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagtgagatt 1380 |
| [2716] | gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca ggttctcagt 1440 |
| [2717] | acagccacca aggacaccta cgacgccctt cacatgcagg ccctgcccc tcgcggagtg 1500  |
| [2718] | caggtggaac ccatctcccc aggagacggg cgcaccttcc ccaagcgcg ccagacctgc 1560  |
| [2719] | gtggtgcact acaccgggat gcttggagat ggaaagaaag ttgactctc ccgggacaga 1620  |
| [2720] | aacaagccct ttaagtttat gctaggcaag caggaggtga tccgaggctg ggaagaaggg 1680 |
| [2721] | gttggccaga tgagtgtggg tcaggagacc aaactgacta tatctccaga ttatgcctat 1740 |
| [2722] | ggtgccactg ggcaccagg catcatccca ccacatgcca ctctcgtctt cgatgtggag 1800  |
| [2723] | cttctagaac tggaatga 1818                                               |
| [2724] | <210> 120                                                              |
| [2725] | <211> 605                                                              |
| [2726] | <212> PRT                                                              |
| [2727] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                        |
| [2728] | <220>                                                                  |

|        |           |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |  |
|--------|-----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|--|
| [2729] | <223> 合成  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |  |
| [2730] | <400> 120 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |  |
| [2731] | Met       | Leu | Leu | Leu | Val | Thr | Ser | Leu | Leu | Leu | Cys | Glu | Leu | Pro | His | Pro |  |  |  |
| [2732] | 1         |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |  |  |  |
| [2733] | Ala       | Phe | Leu | Leu | Ile | Pro | Asp | Ile | Gln | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Ser | Ser |  |  |  |
| [2734] |           |     |     |     | 20  |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |  |  |  |
| [2735] | Leu       | Ser | Ala | Ser | Val | Gly | Asp | Arg | Val | Thr | Ile | Thr | Cys | Arg | Ala | Ser |  |  |  |
| [2736] |           |     |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |  |  |  |
| [2737] | Gln       | Asp | Val | Asn | Thr | Ala | Val | Ala | Trp | Tyr | Gln | Gln | Lys | Pro | Gly | Lys |  |  |  |
| [2738] |           | 50  |     |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |  |  |  |
| [2739] | Ala       | Pro | Lys | Leu | Leu | Ile | Tyr | Ser | Ala | Ser | Phe | Leu | Tyr | Ser | Gly | Val |  |  |  |
| [2740] | 65        |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |  |  |  |
| [2741] | Pro       | Ser | Arg | Phe | Ser | Gly | Ser | Arg | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Thr |  |  |  |
| [2742] |           |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |  |  |  |
| [2743] | Ile       | Ser | Ser | Leu | Gln | Pro | Glu | Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln |  |  |  |
| [2744] |           |     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |  |  |  |
| [2745] | His       | Tyr | Thr | Thr | Pro | Pro | Thr | Phe | Gly | Gln | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile |  |  |  |
| [2746] |           |     |     |     | 115 |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |  |  |  |
| [2747] | Lys       | Gly | Ser | Thr | Ser | Gly | Ser | Gly | Lys | Pro | Gly | Ser | Gly | Glu | Gly | Ser |  |  |  |
| [2748] |           | 130 |     |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |  |  |  |
| [2749] | Gly       | Glu | Val | Gln | Leu | Val | Glu | Ser | Gly | Gly | Gly | Leu | Val | Gln | Pro | Gly |  |  |  |
| [2750] | 145       |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |  |  |  |
| [2751] | Gly       | Ser | Leu | Arg | Leu | Ser | Cys | Ala | Ala | Ser | Gly | Phe | Asn | Ile | Lys | Asp |  |  |  |
| [2752] |           |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |  |  |  |
| [2753] | Thr       | Tyr | Ile | His | Trp | Val | Arg | Gln | Ala | Pro | Gly | Lys | Gly | Leu | Glu | Trp |  |  |  |
| [2754] |           |     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |  |  |  |
| [2755] | Val       | Ala | Arg | Ile | Tyr | Pro | Thr | Asn | Gly | Tyr | Thr | Arg | Tyr | Ala | Asp | Ser |  |  |  |
| [2756] |           |     |     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |  |  |  |
| [2757] | Val       | Lys | Gly | Arg | Phe | Thr | Ile | Ser | Ala | Asp | Thr | Ser | Lys | Asn | Thr | Ala |  |  |  |
| [2758] |           |     |     |     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |  |  |  |
| [2759] | Tyr       | Leu | Gln | Met | Asn | Ser | Leu | Arg | Ala | Glu | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr | Tyr |  |  |  |
| [2760] | 225       |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |  |  |  |
| [2761] | Cys       | Ser | Arg | Trp | Gly | Gly | Asp | Gly | Phe | Tyr | Ala | Met | Asp | Val | Trp | Gly |  |  |  |
| [2762] |           |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |  |  |  |
| [2763] | Gln       | Gly | Thr | Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser | Ala | Ser | Glu | Gln | Lys | Leu | Ile |  |  |  |
| [2764] |           |     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |  |  |  |
| [2765] | Ser       | Glu | Glu | Asp | Leu | Phe | Glu | Ile | Glu | Val | Met | Tyr | Pro | Pro | Pro | Tyr |  |  |  |
| [2766] |           |     |     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |  |  |  |
| [2767] | Leu       | Asp | Asn | Glu | Lys | Ser | Asn | Gly | Thr | Ile | Ile | His | Val | Lys | Gly | Lys |  |  |  |
| [2768] |           |     |     |     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |  |  |  |
| [2769] | His       | Leu | Cys | Pro | Ser | Pro | Leu | Phe | Pro | Gly | Pro | Ser | Lys | Pro | Phe | Trp |  |  |  |
| [2770] | 305       |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |  |  |  |



|        |                                 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|--------|---------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| [2771] | Val                             | Leu | Val | Val | Val | Gly | Gly | Val | Leu | Ala | Cys | Tyr | Ser | Leu | Leu | Val |
| [2772] |                                 |     |     |     |     | 325 |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| [2773] | Thr                             | Val | Ala | Phe | Ile | Ile | Phe | Trp | Val | Arg | Ser | Lys | Arg | Ser | Arg | Leu |
| [2774] |                                 |     |     |     |     | 340 |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |
| [2775] | Leu                             | His | Ser | Asp | Tyr | Met | Asn | Met | Thr | Pro | Arg | Arg | Pro | Gly | Pro | Thr |
| [2776] |                                 |     |     |     |     | 355 |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |
| [2777] | Arg                             | Lys | His | Tyr | Gln | Pro | Tyr | Ala | Pro | Pro | Arg | Asp | Phe | Ala | Ala | Tyr |
| [2778] |                                 |     |     |     |     | 370 |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |
| [2779] | Arg                             | Ser | Arg | Val | Lys | Phe | Ser | Arg | Ser | Ala | Asp | Ala | Pro | Ala | Tyr | Lys |
| [2780] |                                 |     |     |     |     | 385 |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |
| [2781] | Gln                             | Gly | Gln | Asn | Gln | Leu | Tyr | Asn | Glu | Leu | Asn | Leu | Gly | Arg | Arg | Glu |
| [2782] |                                 |     |     |     |     | 405 |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| [2783] | Glu                             | Tyr | Asp | Val | Leu | Asp | Lys | Arg | Arg | Gly | Arg | Asp | Pro | Glu | Met | Gly |
| [2784] |                                 |     |     |     |     | 420 |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |
| [2785] | Gly                             | Lys | Pro | Arg | Arg | Lys | Asn | Pro | Gln | Glu | Gly | Leu | Tyr | Asn | Glu | Leu |
| [2786] |                                 |     |     |     |     | 435 |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |
| [2787] | Gln                             | Lys | Asp | Lys | Met | Ala | Glu | Ala | Tyr | Ser | Glu | Ile | Gly | Met | Lys | Gly |
| [2788] |                                 |     |     |     |     | 450 |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |
| [2789] | Glu                             | Arg | Arg | Arg | Gly | Lys | Gly | His | Asp | Gly | Leu | Tyr | Gln | Gly | Leu | Ser |
| [2790] |                                 |     |     |     |     | 465 |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |
| [2791] | Thr                             | Ala | Thr | Lys | Asp | Thr | Tyr | Asp | Ala | Leu | His | Met | Gln | Ala | Leu | Pro |
| [2792] |                                 |     |     |     |     | 485 |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |
| [2793] | Pro                             | Arg | Gly | Val | Gln | Val | Glu | Thr | Ile | Ser | Pro | Gly | Asp | Gly | Arg | Thr |
| [2794] |                                 |     |     |     |     | 500 |     |     |     | 505 |     |     |     |     | 510 |     |
| [2795] | Phe                             | Pro | Lys | Arg | Gly | Gln | Thr | Cys | Val | Val | His | Tyr | Thr | Gly | Met | Leu |
| [2796] |                                 |     |     |     |     | 515 |     |     |     | 520 |     |     |     |     | 525 |     |
| [2797] | Gly                             | Asp | Gly | Lys | Lys | Val | Asp | Ser | Ser | Arg | Asp | Arg | Asn | Lys | Pro | Phe |
| [2798] |                                 |     |     |     |     | 530 |     |     |     | 535 |     |     |     |     | 540 |     |
| [2799] | Lys                             | Phe | Met | Leu | Gly | Lys | Gln | Glu | Val | Ile | Arg | Gly | Trp | Glu | Glu | Gly |
| [2800] |                                 |     |     |     |     | 545 |     |     |     | 550 |     |     |     |     | 555 |     |
| [2801] | Val                             | Ala | Gln | Met | Ser | Val | Gly | Gln | Gly | Ala | Lys | Leu | Thr | Ile | Ser | Pro |
| [2802] |                                 |     |     |     |     | 565 |     |     |     | 570 |     |     |     |     | 575 |     |
| [2803] | Asp                             | Tyr | Ala | Tyr | Gly | Ala | Thr | Gly | His | Pro | Gly | Ile | Ile | Pro | Pro | His |
| [2804] |                                 |     |     |     |     | 580 |     |     |     | 585 |     |     |     |     | 590 |     |
| [2805] | Ala                             | Thr | Leu | Val | Phe | Asp | Val | Glu | Leu | Leu | Glu | Leu | Glu |     |     |     |
| [2806] |                                 |     |     |     |     | 595 |     |     |     | 600 |     |     |     |     | 605 |     |
| [2807] | <210> 121                       |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [2808] | <211> 66                        |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [2809] | <212> DNA                       |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [2810] | <213> 人工序列(Artificial Sequence) |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [2811] | <220>                           |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| [2812] | <223> 合成                        |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

- [2813] <400> 121
- [2814] atgctgctgc tcgtgacatc tctgctgctg tgcgagctgc cccaccccgc ctttctgctg 60
- [2815] atcccc 66
- [2816] <210> 122
- [2817] <211> 22
- [2818] <212> PRT
- [2819] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [2820] <220>
- [2821] <223> 合成
- [2822] <400> 122
- [2823] Met Leu Leu Leu Val Thr Ser Leu Leu Leu Cys Glu Leu Pro His Pro
- [2824] 1 5 10 15
- [2825] Ala Phe Leu Leu Ile Pro
- [2826] 20
- [2827] <210> 123
- [2828] <211> 729
- [2829] <212> DNA
- [2830] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [2831] <220>
- [2832] <223> 合成
- [2833] <400> 123
- [2834] cagatgaccc agtccccgag ctccctgtcc gcctctgtgg gcgatagggt caccatcacc 60
- [2835] tgccgtgcca gtcaggatgt gaatactgct gtagcctggt atcaacagaa accaggaaaa 120
- [2836] gctccgaaac tactgattta ctcggcattc ttcttttatt ctggagtccc ttctcgcttc 180
- [2837] tctggatcta gatctgggac ggatttcact ctgaccatca gcagtctgca gccggaagac 240
- [2838] ttcgcaactt attactgtca gcaacattat actactctc ccacgttcgg acagggtacc 300
- [2839] aaggtggaga tcaaagggtc tacatctgga tctgggaagc cgggttctgg tgagggttct 360
- [2840] ggtgaggttc agctggtgga gtctggcggg ggcctggtgc agccaggggg ctactccgt 420
- [2841] ttgtctgtg cagcttctgg cttcaacatt aaagacacct atatactg ggtgcgtcag 480
- [2842] gccccgggta agggcctgga atgggttgc aggatttatc ctacgaatgg ttatactaga 540
- [2843] tatgccgata gcgtcaaggg ccgtttcact ataagcgag acacatcaa aaacacagcc 600
- [2844] tacctgcaga tgaacagcct gcgtgctgag gacactgccg tctattattg ttctagatgg 660
- [2845] ggaggggacg gcttctatgc tatggacgtg tggggtaag gaaccctgt caccgtctcc 720
- [2846] tcggctagc 729
- [2847] <210> 124
- [2848] <211> 243
- [2849] <212> PRT
- [2850] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [2851] <220>
- [2852] <223> 合成
- [2853] <400> 124
- [2854] Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg

|        |                                                                 |     |     |     |
|--------|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| [2855] | 1                                                               | 5   | 10  | 15  |
| [2856] | Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala Val Ala |     |     |     |
| [2857] | 20                                                              | 25  | 30  |     |
| [2858] | Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser |     |     |     |
| [2859] | 35                                                              | 40  | 45  |     |
| [2860] | Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Arg |     |     |     |
| [2861] | 50                                                              | 55  | 60  |     |
| [2862] | Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp |     |     |     |
| [2863] | 65                                                              | 70  | 75  | 80  |
| [2864] | Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr Phe |     |     |     |
| [2865] | 85                                                              | 90  | 95  |     |
| [2866] | Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly |     |     |     |
| [2867] | 100                                                             | 105 | 110 |     |
| [2868] | Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser |     |     |     |
| [2869] | 115                                                             | 120 | 125 |     |
| [2870] | Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala |     |     |     |
| [2871] | 130                                                             | 135 | 140 |     |
| [2872] | Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln |     |     |     |
| [2873] | 145                                                             | 150 | 155 | 160 |
| [2874] | Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn |     |     |     |
| [2875] | 165                                                             | 170 | 175 |     |
| [2876] | Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser |     |     |     |
| [2877] | 180                                                             | 185 | 190 |     |
| [2878] | Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg |     |     |     |
| [2879] | 195                                                             | 200 | 205 |     |
| [2880] | Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly |     |     |     |
| [2881] | 210                                                             | 215 | 220 |     |
| [2882] | Phe Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser |     |     |     |
| [2883] | 225                                                             | 230 | 235 | 240 |
| [2884] | Ser Ala Ser                                                     |     |     |     |
| [2885] | <210> 125                                                       |     |     |     |
| [2886] | <211> 30                                                        |     |     |     |
| [2887] | <212> DNA                                                       |     |     |     |
| [2888] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                 |     |     |     |
| [2889] | <220>                                                           |     |     |     |
| [2890] | <223> 合成                                                        |     |     |     |
| [2891] | <400> 125                                                       |     |     |     |
| [2892] | gaacaaaaac tcatctcaga agaggatctg 30                             |     |     |     |
| [2893] | <210> 126                                                       |     |     |     |
| [2894] | <211> 10                                                        |     |     |     |
| [2895] | <212> PRT                                                       |     |     |     |
| [2896] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                 |     |     |     |

|        |                                                                       |
|--------|-----------------------------------------------------------------------|
| [2897] | <220>                                                                 |
| [2898] | <223> 合成                                                              |
| [2899] | <400> 126                                                             |
| [2900] | Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu                               |
| [2901] | 1 5 10                                                                |
| [2902] | <210> 127                                                             |
| [2903] | <211> 117                                                             |
| [2904] | <212> DNA                                                             |
| [2905] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                       |
| [2906] | <220>                                                                 |
| [2907] | <223> 合成                                                              |
| [2908] | <400> 127                                                             |
| [2909] | attgaagtta tgtatcctcc tccttaccta gacaatgaga agagcaatgg aaccattatc 60  |
| [2910] | catgtgaaag ggaaacacct ttgtccaagt cccctatttc cggaccttc taagccc 117     |
| [2911] | <210> 128                                                             |
| [2912] | <211> 39                                                              |
| [2913] | <212> PRT                                                             |
| [2914] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                       |
| [2915] | <220>                                                                 |
| [2916] | <223> 合成                                                              |
| [2917] | <400> 128                                                             |
| [2918] | Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn       |
| [2919] | 1 5 10 15                                                             |
| [2920] | Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu       |
| [2921] | 20 25 30                                                              |
| [2922] | Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro                                           |
| [2923] | 35                                                                    |
| [2924] | <210> 129                                                             |
| [2925] | <211> 81                                                              |
| [2926] | <212> DNA                                                             |
| [2927] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                       |
| [2928] | <220>                                                                 |
| [2929] | <223> 合成                                                              |
| [2930] | <400> 129                                                             |
| [2931] | ttttgggtgc tgggtggtggt tgggggagtc ctggcttgct atagcttgct agtaacagtg 60 |
| [2932] | gcctttatta ttttctgggt g 81                                            |
| [2933] | <210> 130                                                             |
| [2934] | <211> 27                                                              |
| [2935] | <212> PRT                                                             |
| [2936] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                       |
| [2937] | <220>                                                                 |
| [2938] | <223> 合成                                                              |

- [2939] <400> 130
- [2940] Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu
- [2941] 1 5 10 15
- [2942] Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val
- [2943] 20 25
- [2944] <210> 131
- [2945] <211> 123
- [2946] <212> DNA
- [2947] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [2948] <220>
- [2949] <223> 合成
- [2950] <400> 131
- [2951] aggagtaaga ggagcaggct cctgcacagt gactacatga acatgactcc ccgccgcccc 60
- [2952] gggcccaccc gcaagcatta ccagccctat gccccaccac gcgacttcgc agcctatcgc 120
- [2953] tcc 123
- [2954] <210> 132
- [2955] <211> 41
- [2956] <212> PRT
- [2957] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [2958] <220>
- [2959] <223> 合成
- [2960] <400> 132
- [2961] Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr
- [2962] 1 5 10 15
- [2963] Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro
- [2964] 20 25 30
- [2965] Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
- [2966] 35 40
- [2967] <210> 133
- [2968] <211> 336
- [2969] <212> DNA
- [2970] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [2971] <220>
- [2972] <223> 合成
- [2973] <400> 133
- [2974] agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtaca agcagggcca gaaccagctc 60
- [2975] tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gactacgatg ttttggacaa gagacgtggc 120
- [2976] cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180
- [2977] gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240
- [2978] cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300
- [2979] tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc 336
- [2980] <210> 134

|        |                                                                        |
|--------|------------------------------------------------------------------------|
| [2981] | <211> 112                                                              |
| [2982] | <212> PRT                                                              |
| [2983] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                        |
| [2984] | <220>                                                                  |
| [2985] | <223> 合成                                                               |
| [2986] | <400> 134                                                              |
| [2987] | Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly        |
| [2988] | 1 5 10 15                                                              |
| [2989] | Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr        |
| [2990] | 20 25 30                                                               |
| [2991] | Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys        |
| [2992] | 35 40 45                                                               |
| [2993] | Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys        |
| [2994] | 50 55 60                                                               |
| [2995] | Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg        |
| [2996] | 65 70 75 80                                                            |
| [2997] | Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala        |
| [2998] | 85 90 95                                                               |
| [2999] | Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg        |
| [3000] | 100 105 110                                                            |
| [3001] | <210> 135                                                              |
| [3002] | <211> 321                                                              |
| [3003] | <212> DNA                                                              |
| [3004] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                        |
| [3005] | <220>                                                                  |
| [3006] | <223> 合成                                                               |
| [3007] | <400> 135                                                              |
| [3008] | ggagtgcagg tggaaaccat ctccccagga gacgggcgca ccttcccca ggcgcggccag 60   |
| [3009] | acctgcgtgg tgcactacac cgggatgctt ggagatggaa agaaagttga ctctctcccg 120  |
| [3010] | gacagaaaca agccctttaa gtttatgcta ggcaagcagg aggtgatccg aggctgggaa 180  |
| [3011] | gaaggggttg cccagatgag tgtgggtcag ggagccaaac tgactatatc tccagattat 240  |
| [3012] | gcctatggtg ccaactgggca cccaggcatc atcccaccac atgccactct cgtcttcgat 300 |
| [3013] | gtggagcttc tagaactgga a 321                                            |
| [3014] | <210> 136                                                              |
| [3015] | <211> 107                                                              |
| [3016] | <212> PRT                                                              |
| [3017] | <213> 人工序列(Artificial Sequence)                                        |
| [3018] | <220>                                                                  |
| [3019] | <223> 合成                                                               |
| [3020] | <400> 136                                                              |
| [3021] | Gly Val Gln Val Glu Thr Ile Ser Pro Gly Asp Gly Arg Thr Phe Pro        |
| [3022] | 1 5 10 15                                                              |

---

|        |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|--------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| [3023] | Lys | Arg | Gly | Gln | Thr | Cys | Val | Val | His | Tyr | Thr | Gly | Met | Leu | Gly | Asp |
| [3024] |     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| [3025] | Gly | Lys | Lys | Val | Asp | Ser | Ser | Arg | Asp | Arg | Asn | Lys | Pro | Phe | Lys | Phe |
| [3026] |     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| [3027] | Met | Leu | Gly | Lys | Gln | Glu | Val | Ile | Arg | Gly | Trp | Glu | Glu | Gly | Val | Ala |
| [3028] |     | 50  |     |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |
| [3029] | Gln | Met | Ser | Val | Gly | Gln | Gly | Ala | Lys | Leu | Thr | Ile | Ser | Pro | Asp | Tyr |
| [3030] | 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| [3031] | Ala | Tyr | Gly | Ala | Thr | Gly | His | Pro | Gly | Ile | Ile | Pro | Pro | His | Ala | Thr |
| [3032] |     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| [3033] | Leu | Val | Phe | Asp | Val | Glu | Leu | Leu | Glu | Leu | Glu |     |     |     |     |     |
| [3034] |     |     |     | 100 |     |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     |     |

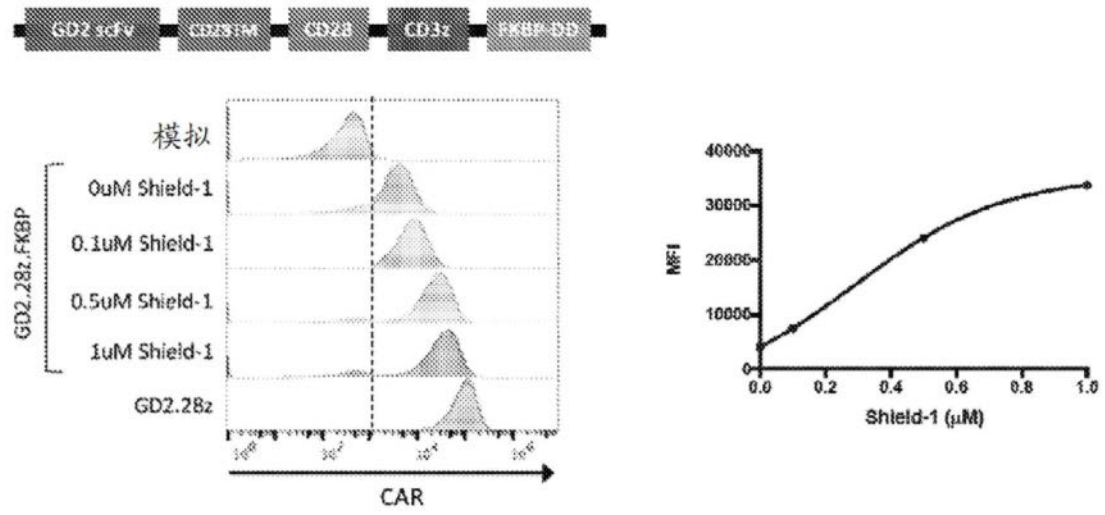
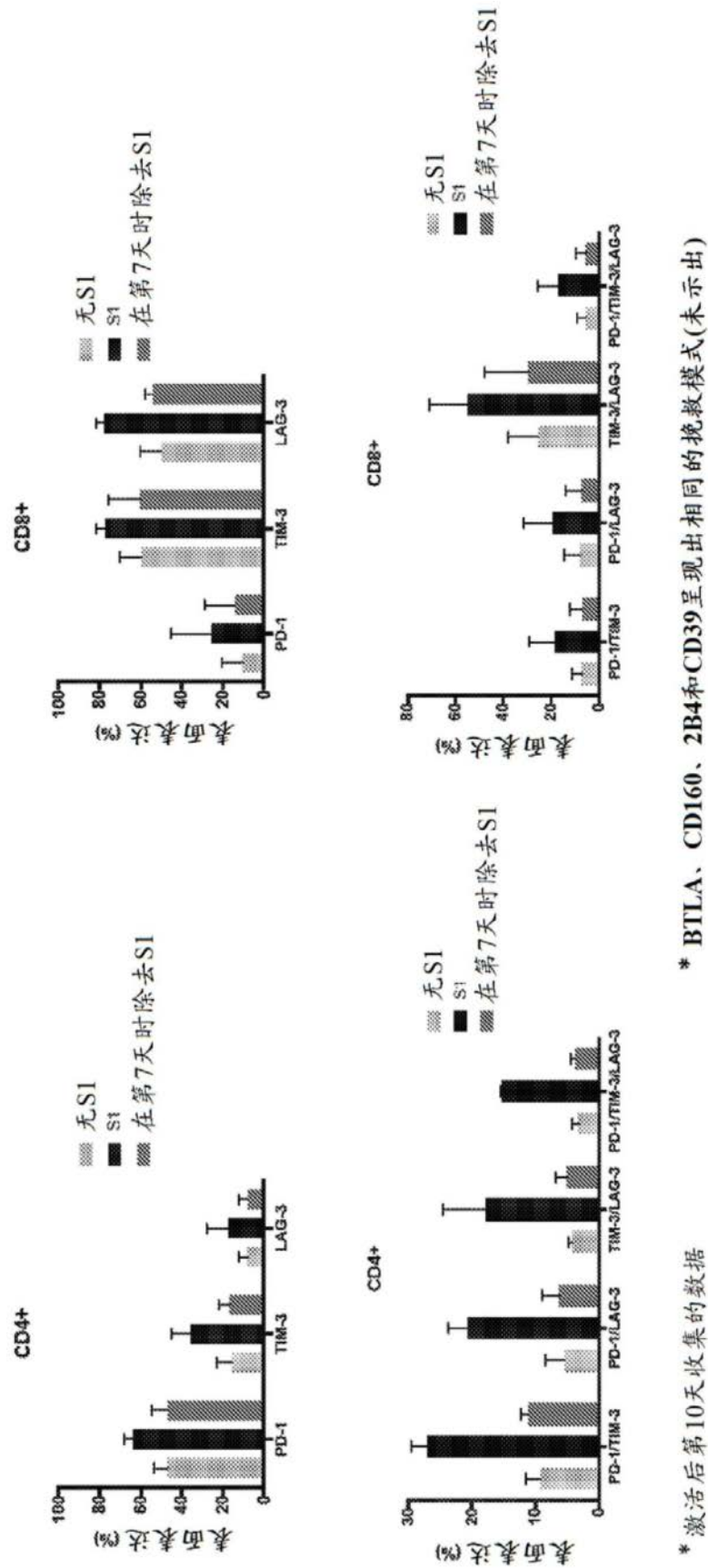


图1





\* BTLA、CD160、2B4和CD39呈现出相同的挽救模式(未示出)

\* 激活后第10天收集的数据

图2

\*在第14天收集的数据，对CD8+进行门控

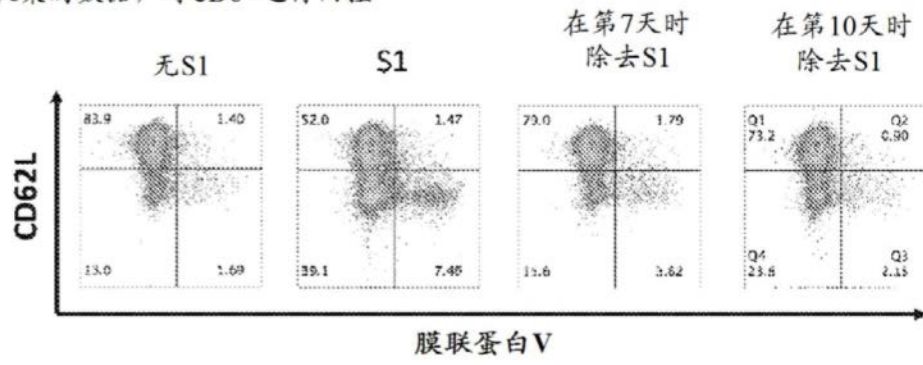


图3

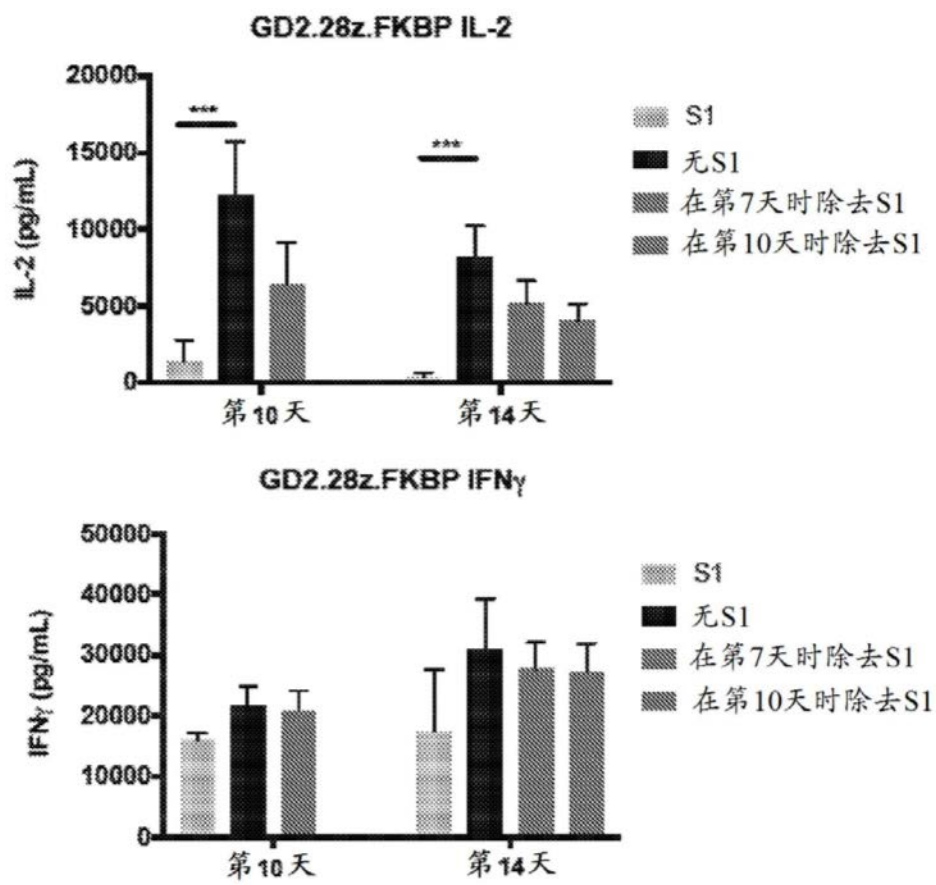


图4

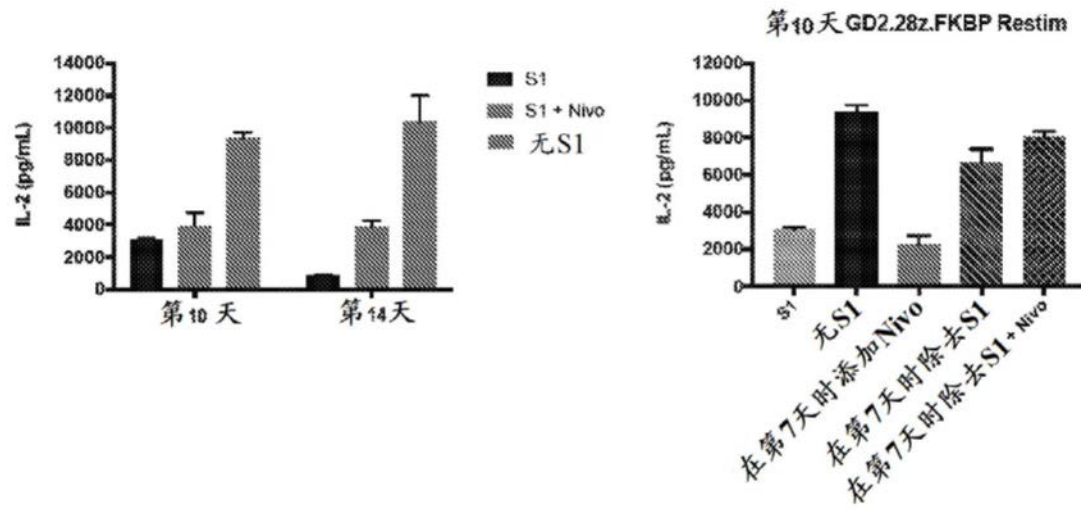


图5

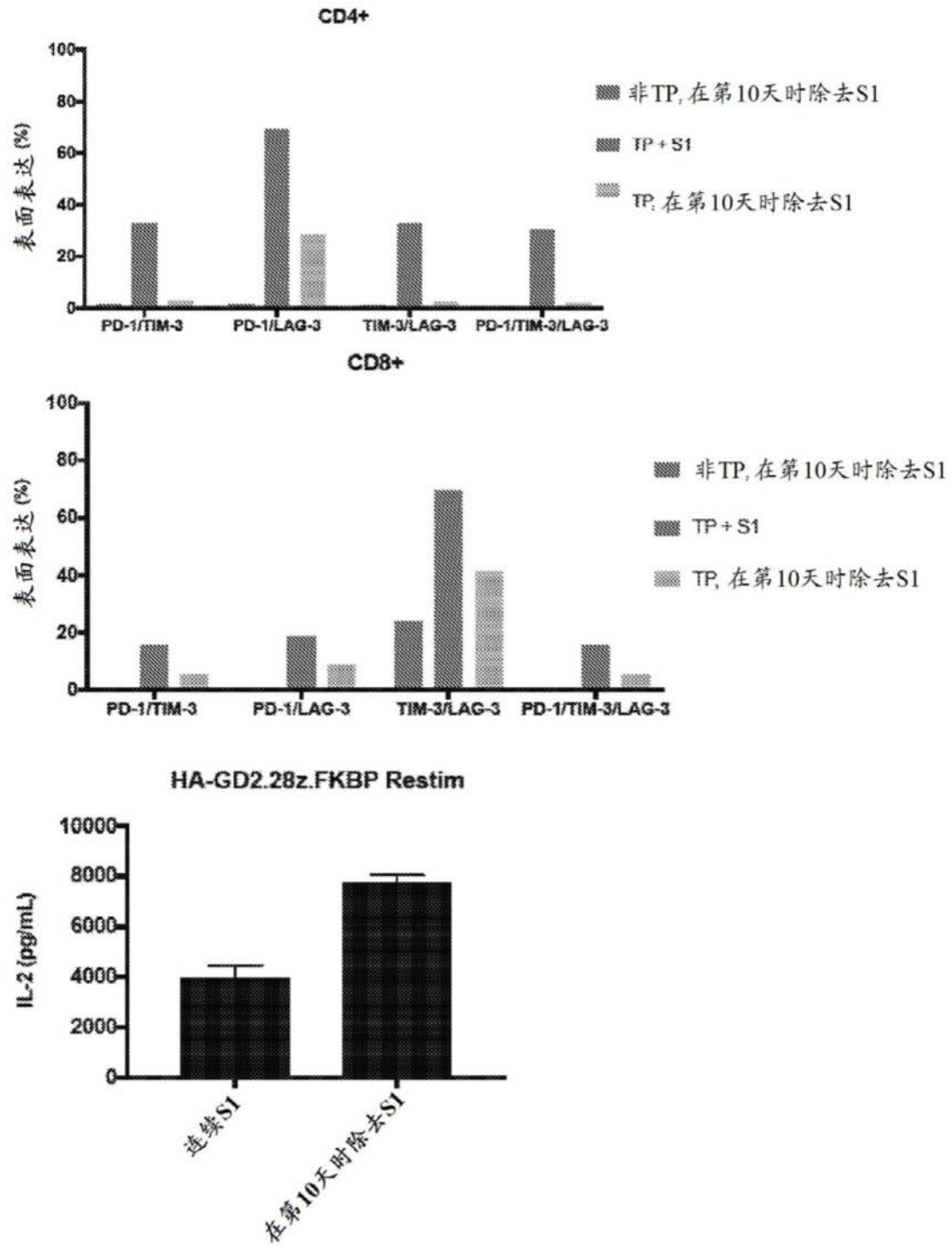


图6

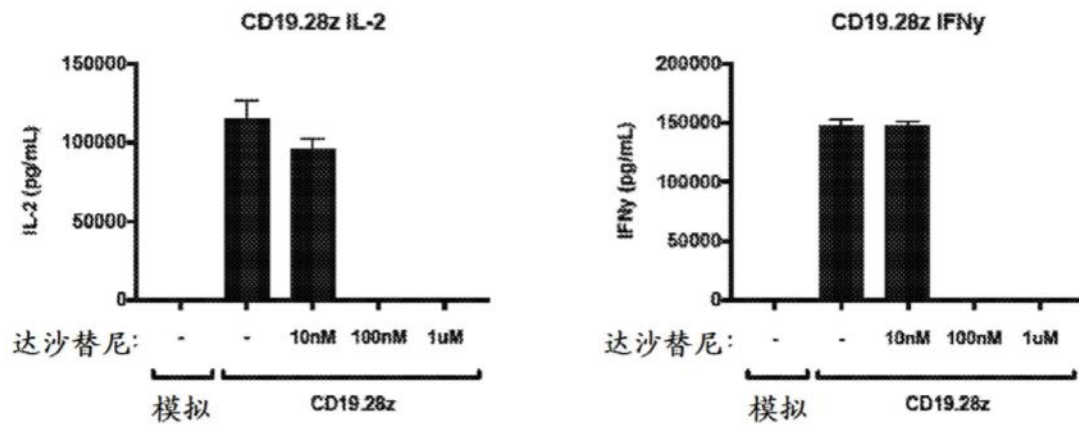


图7

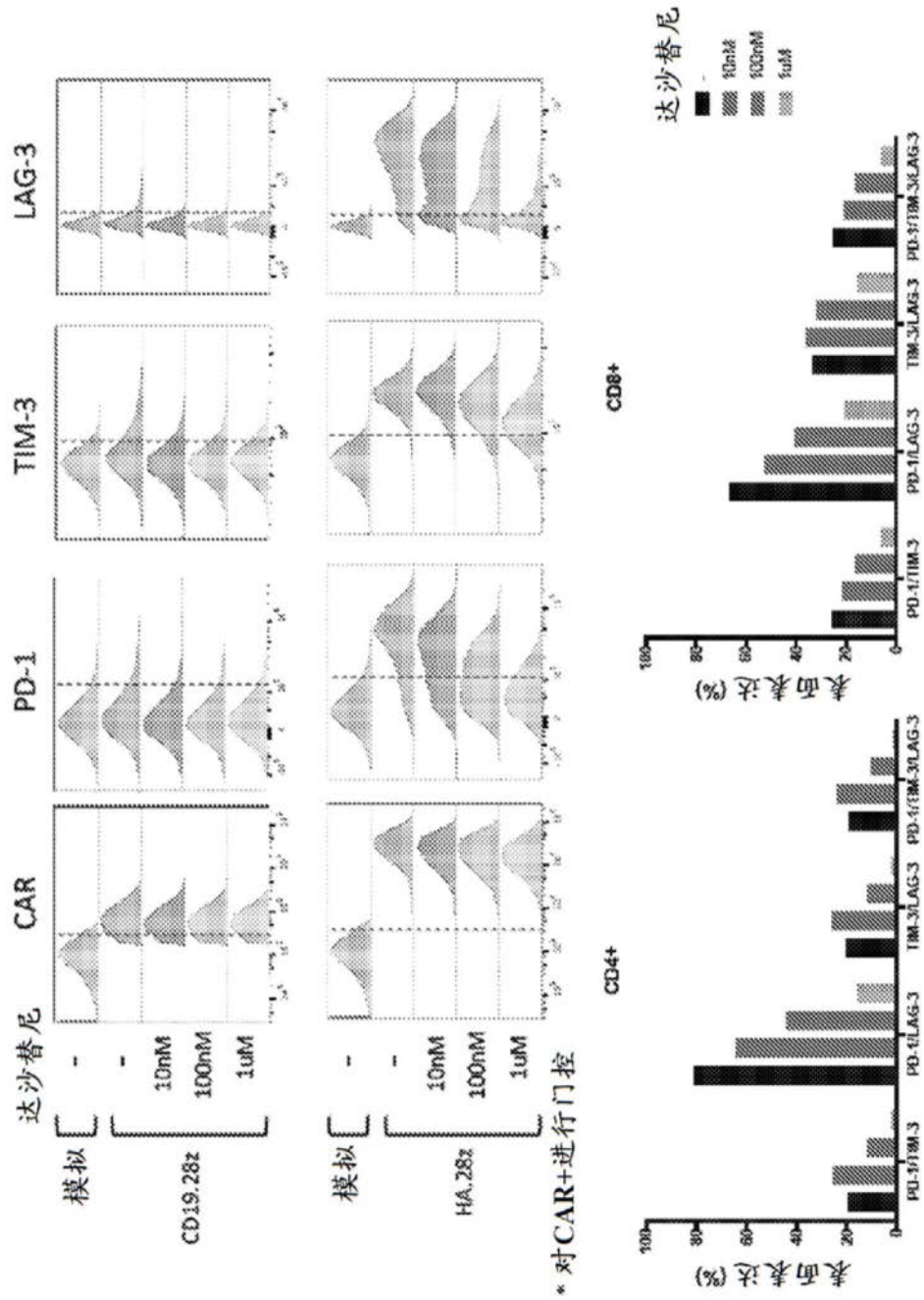


图8

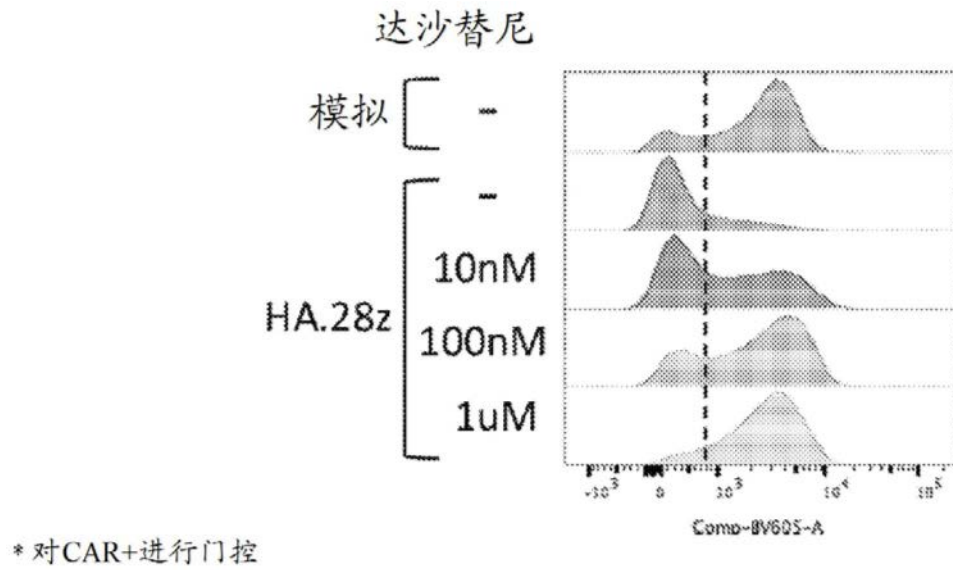


图9

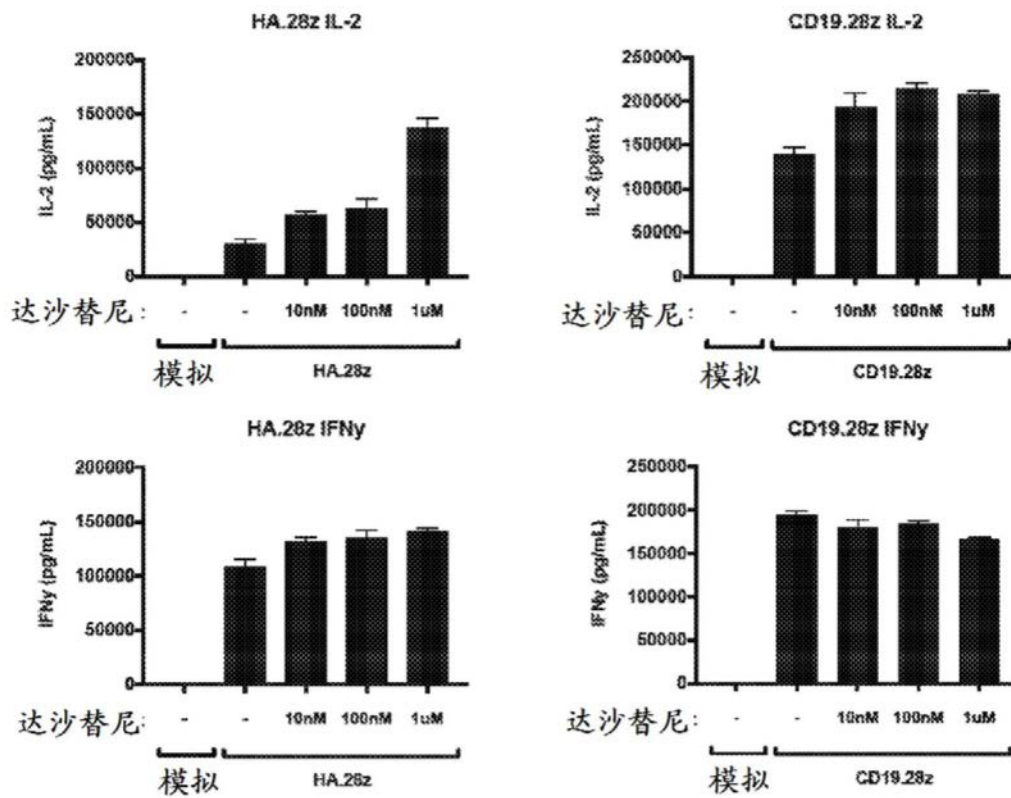


图10



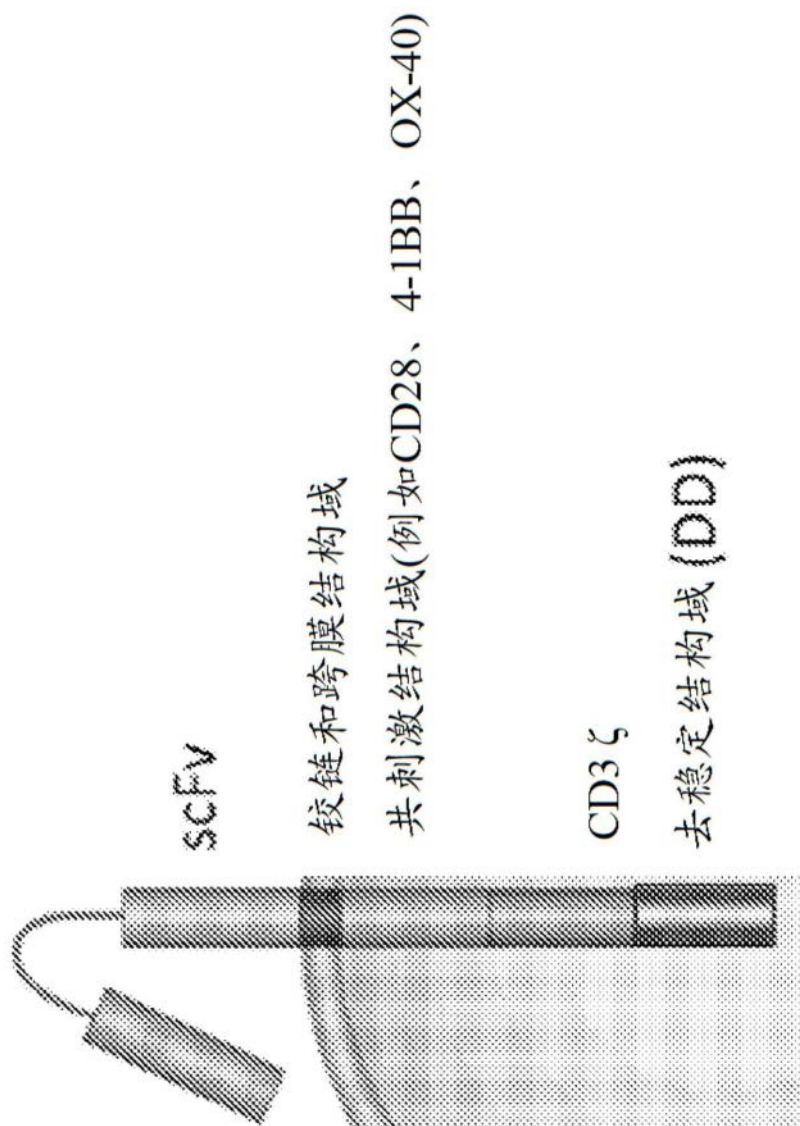


图11



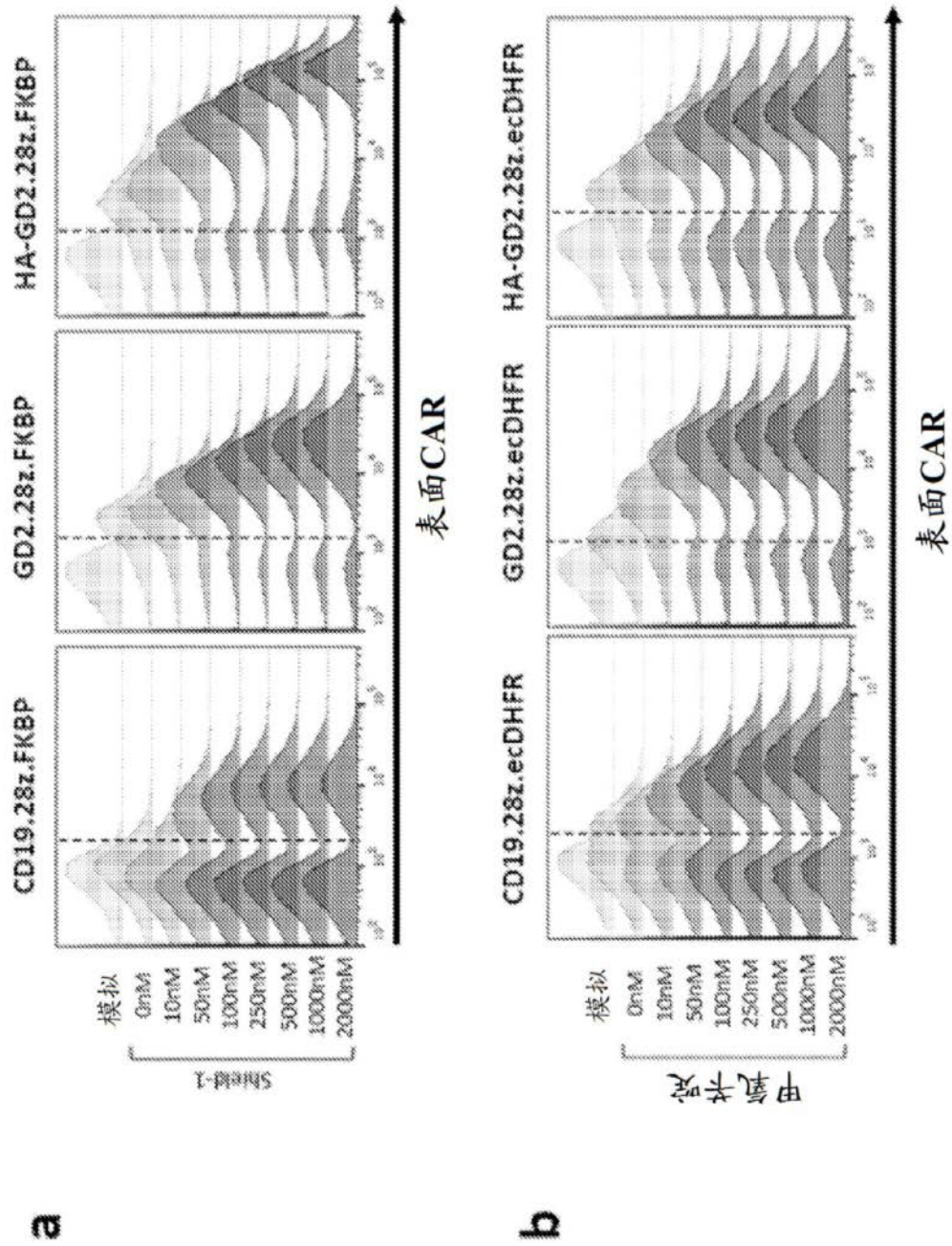


图12

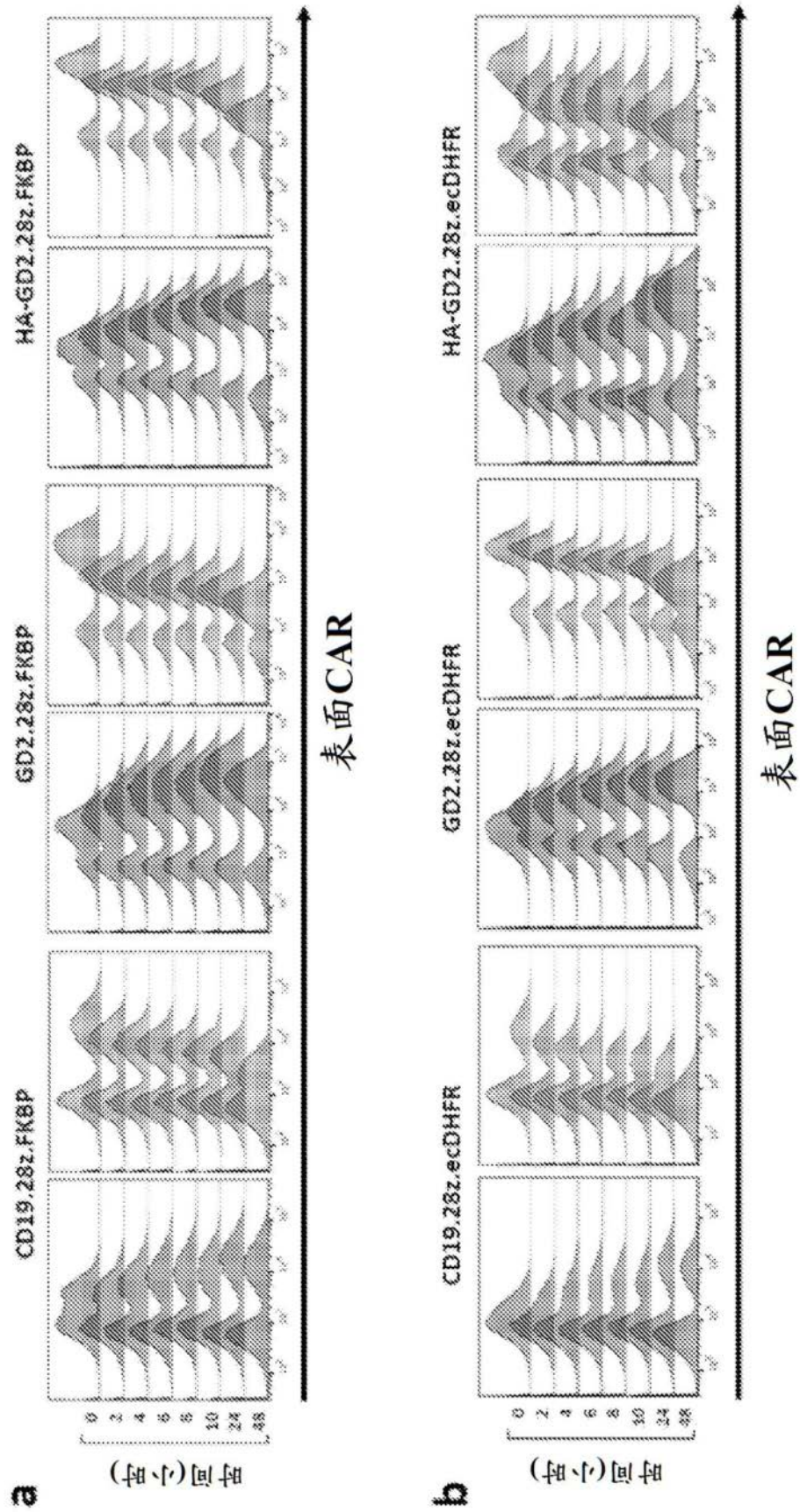


图13

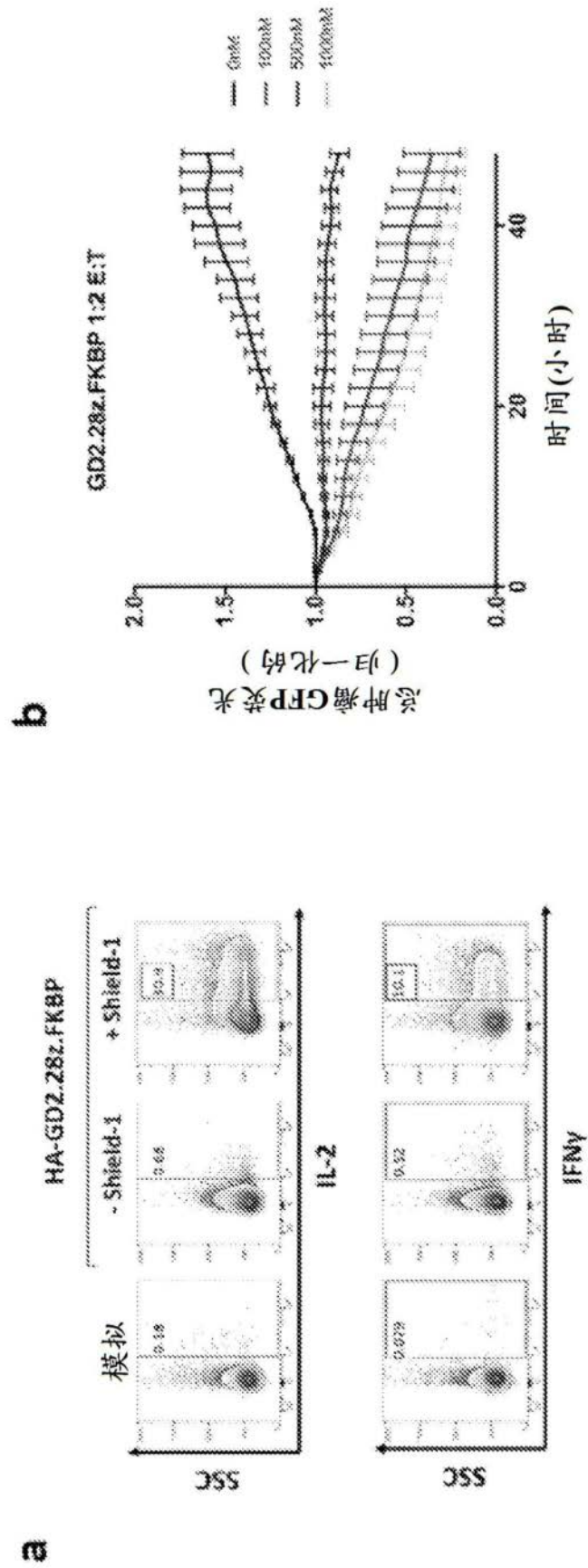


图14



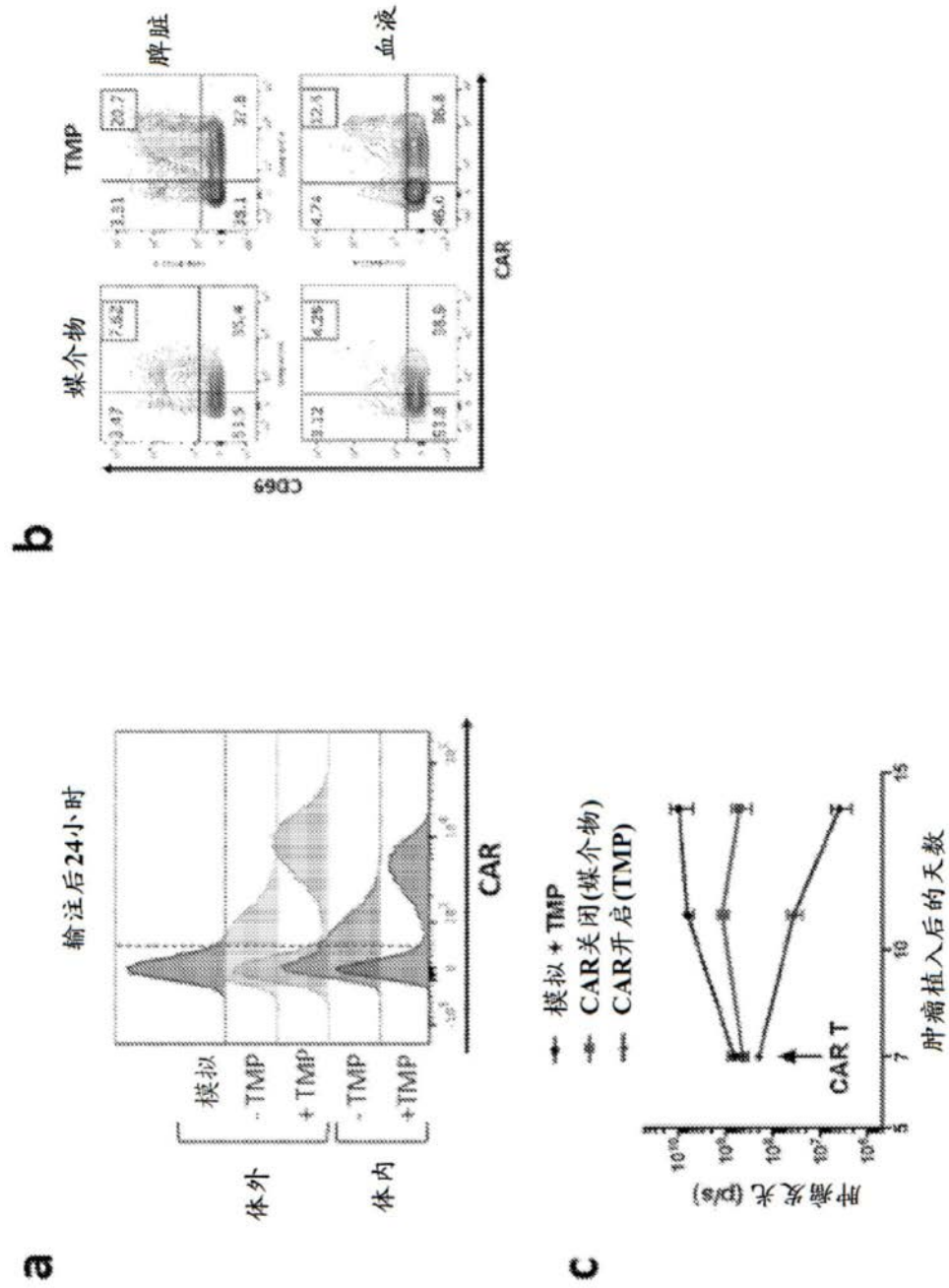


图15

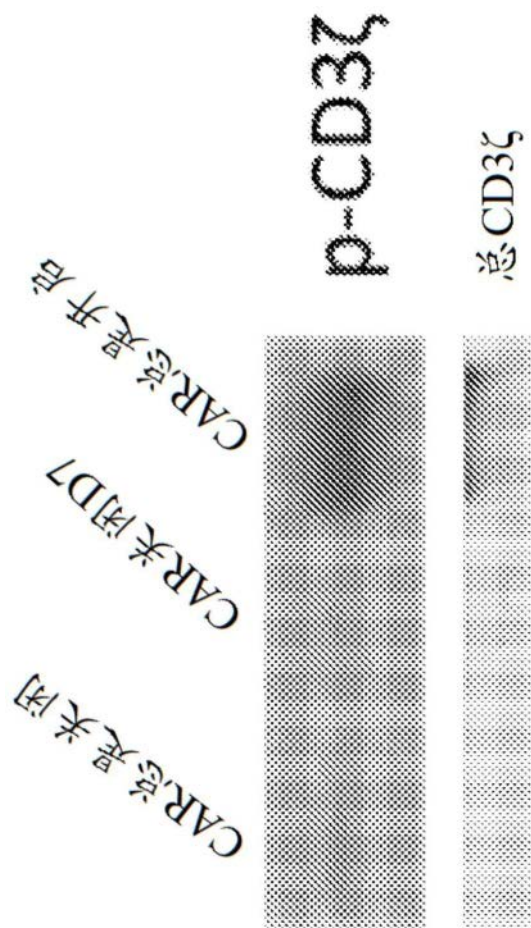


图16

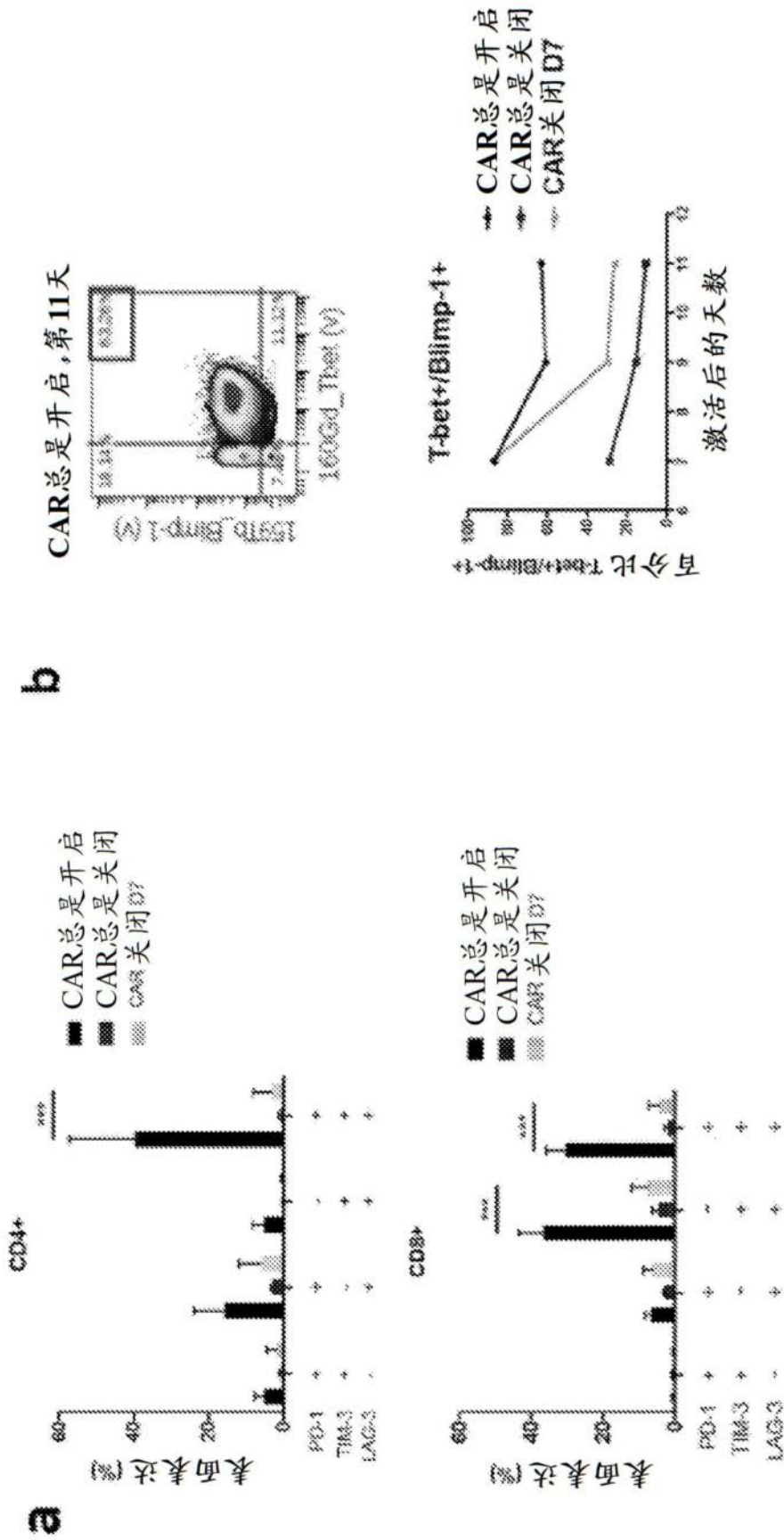


图17

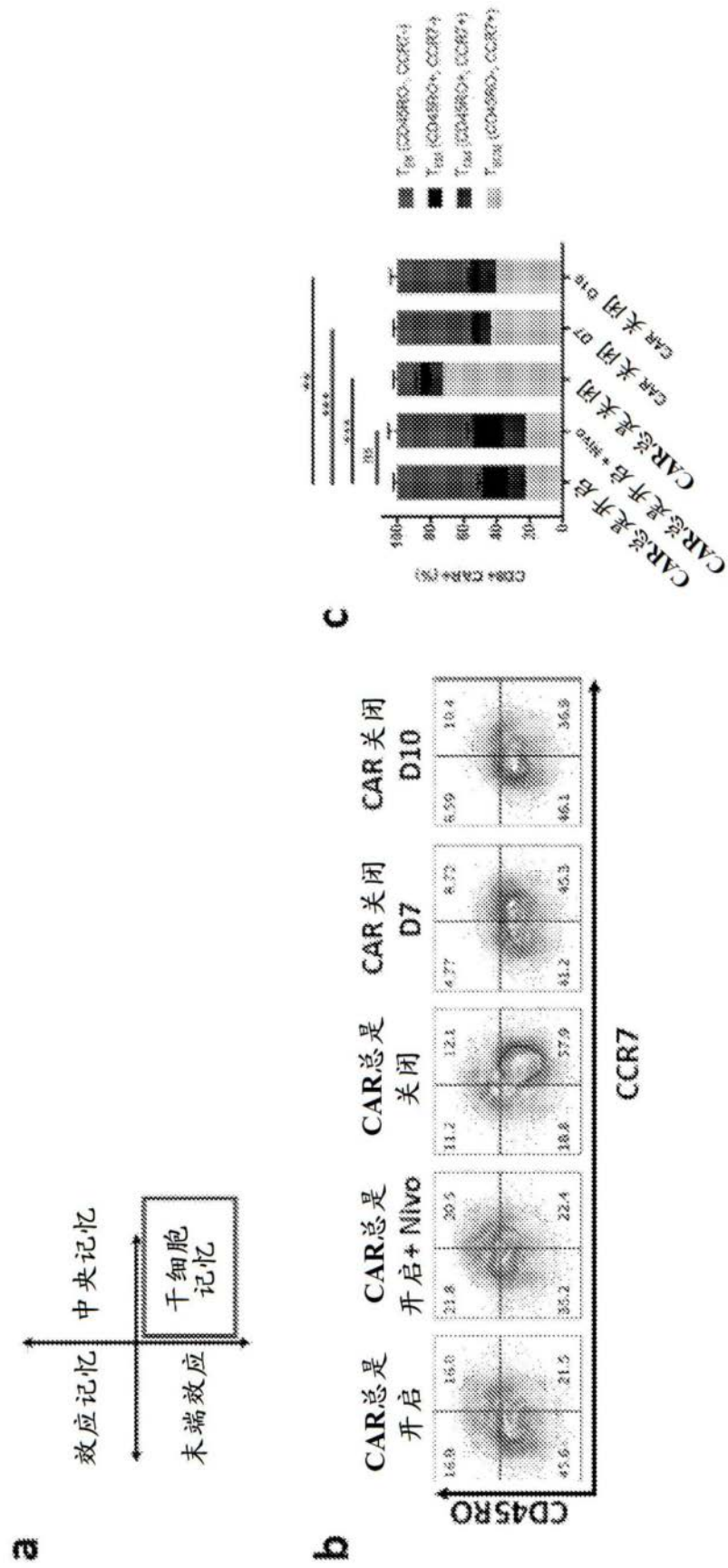


图18

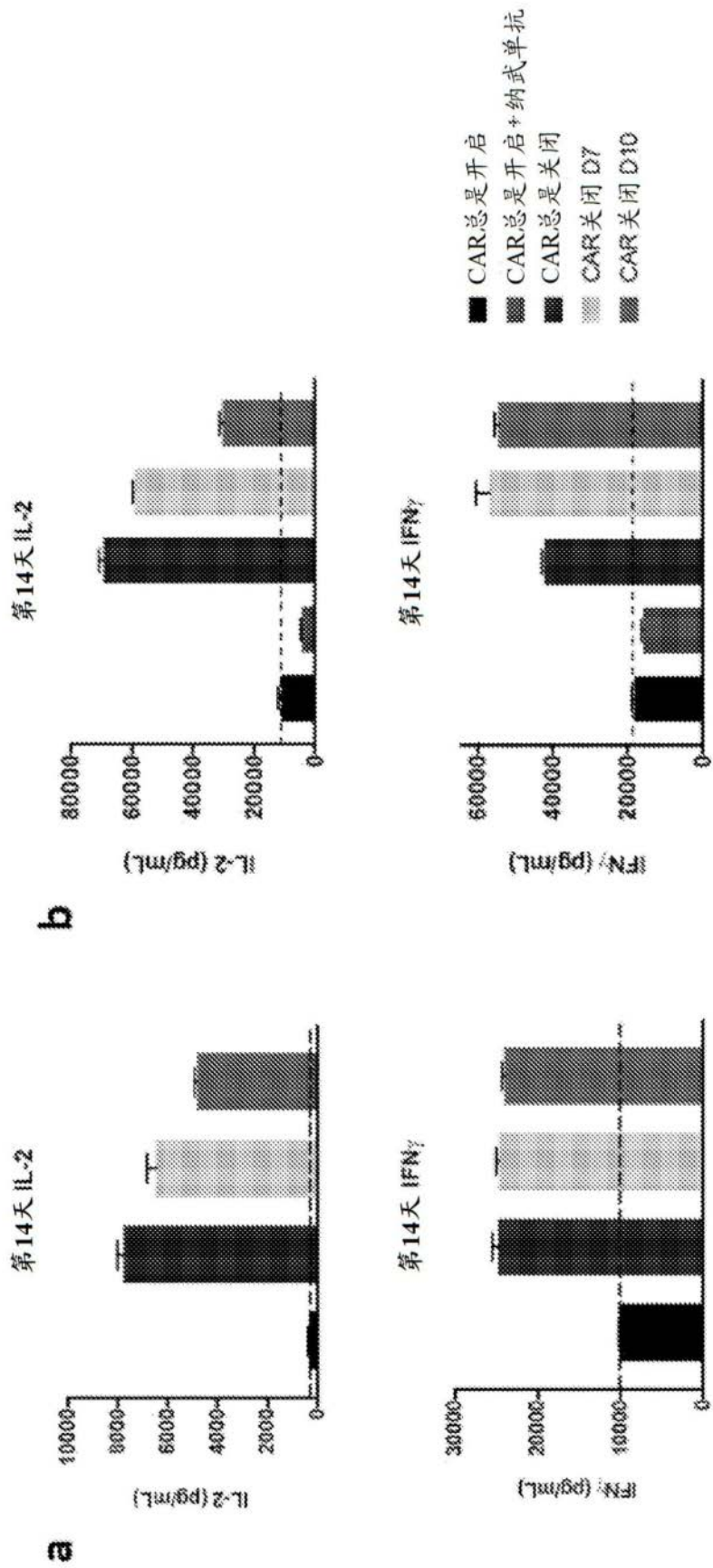


图19



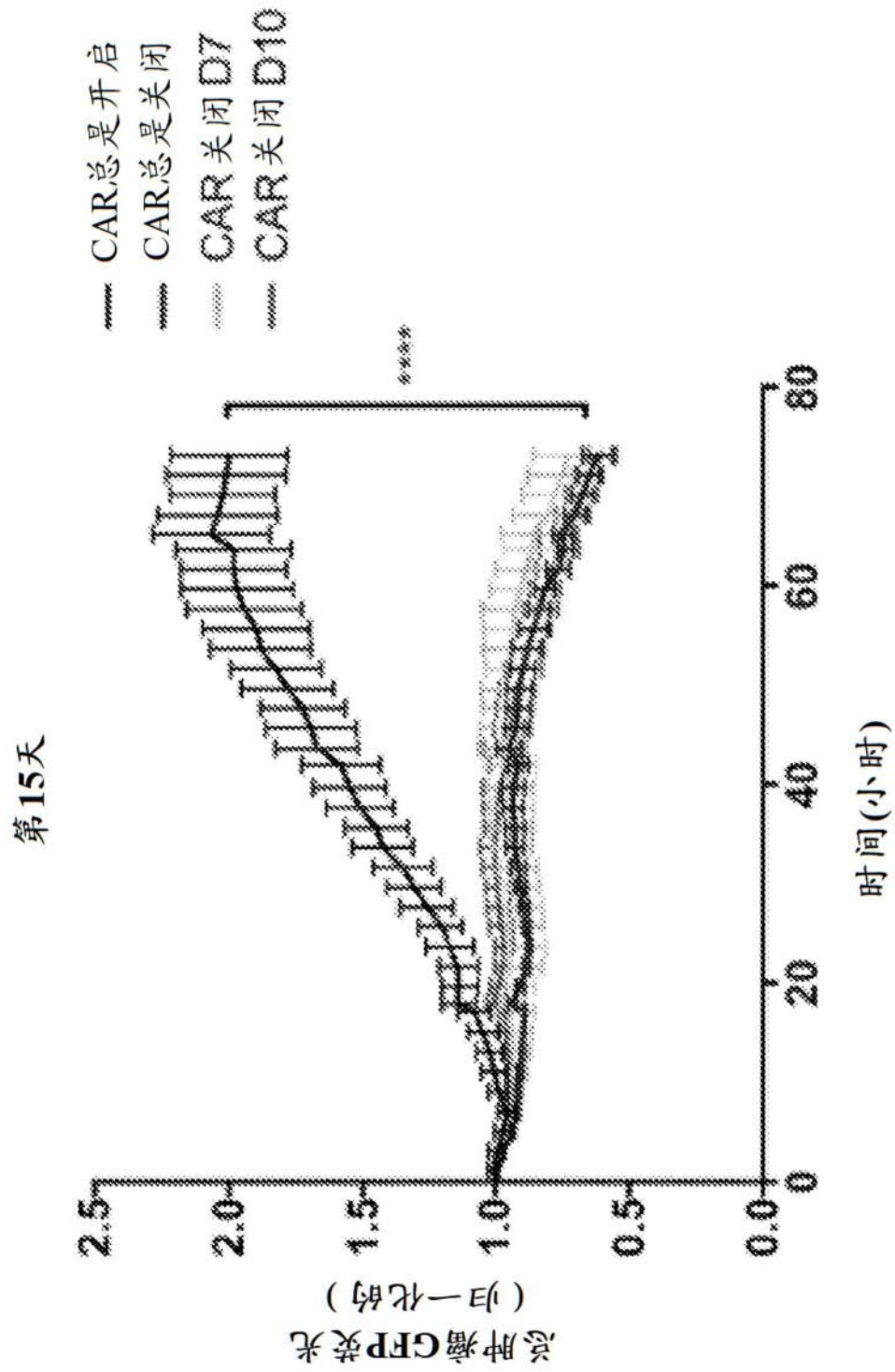


图20

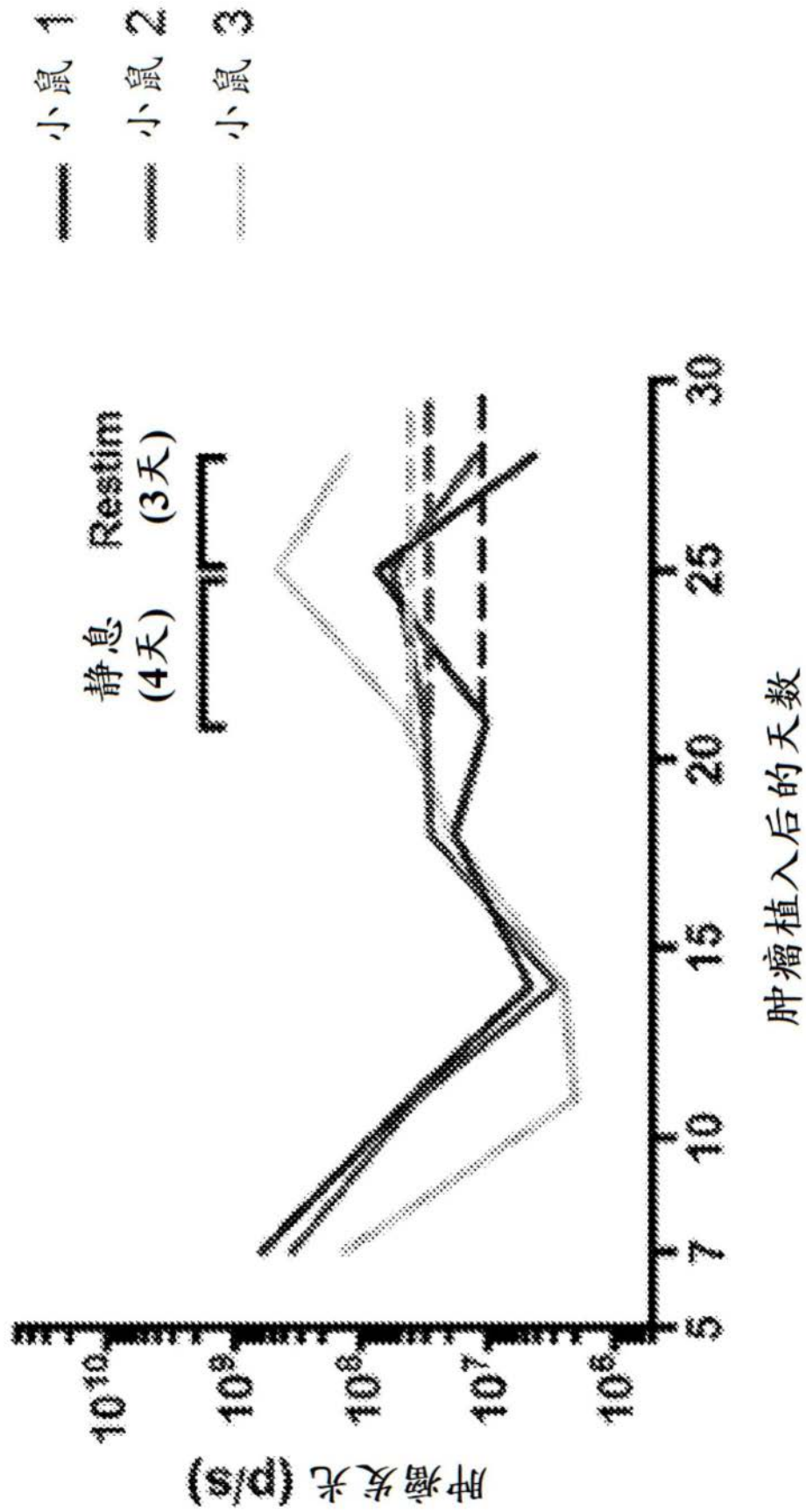


图21

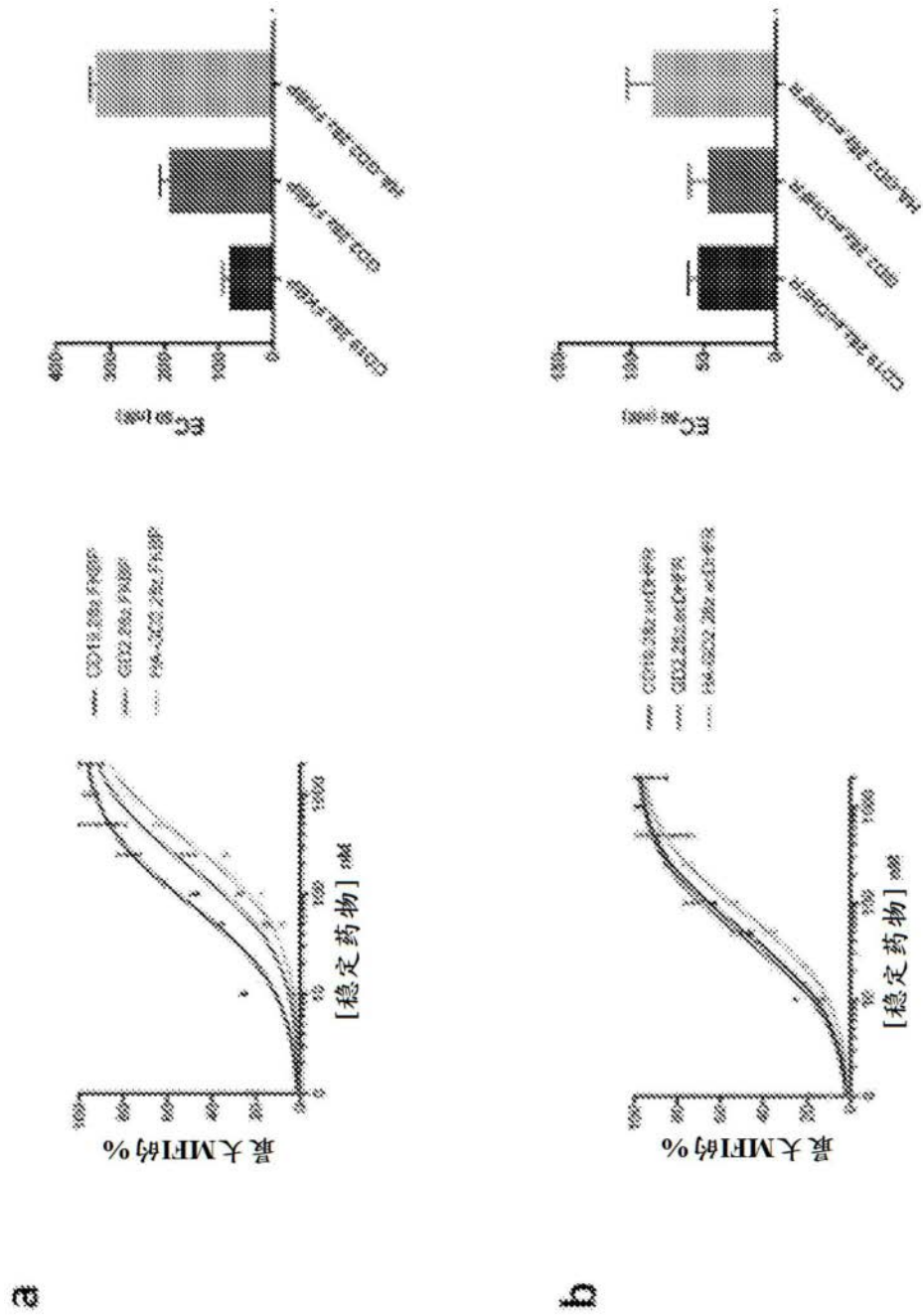


图22

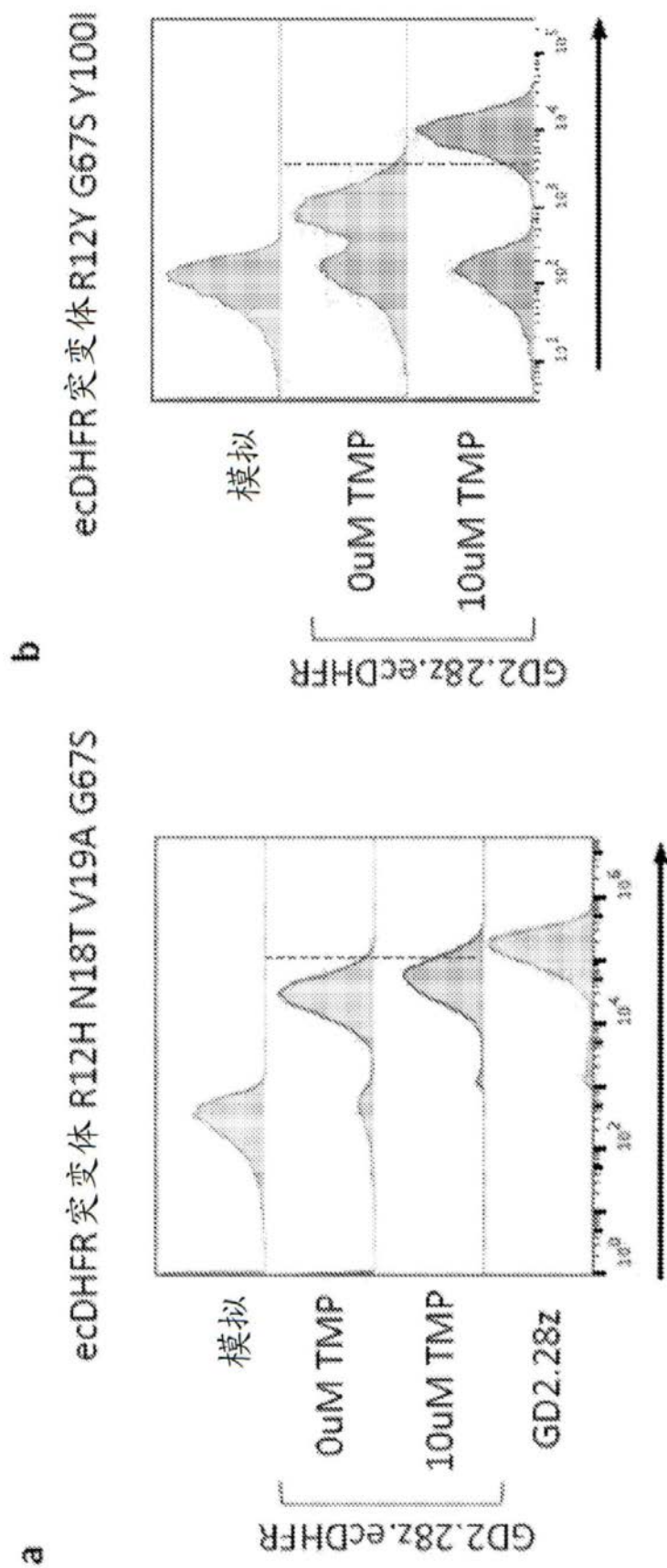


图23

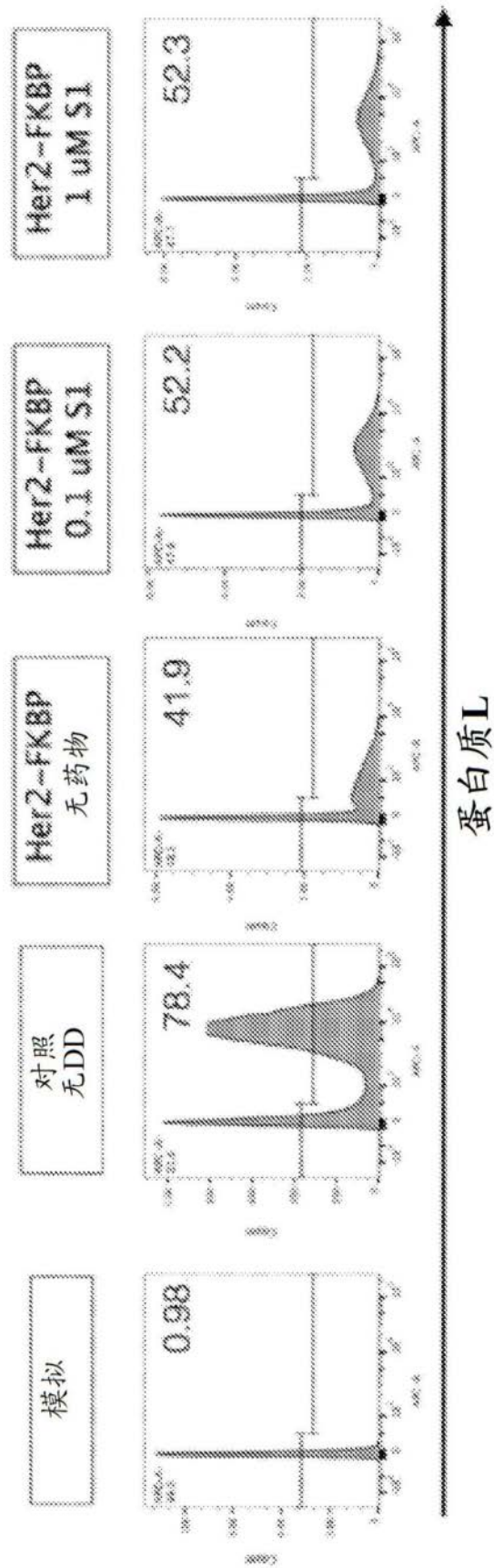


图24



| SEQ ID NO: |                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|------------|---------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1          | <b>FKBP12 去稳定结构域 (E31G, F36V, R71G, K105E)</b><br>核酸序列  | ATGGTGCAGGTGGAAACCATCTCCCCAGGAGACGGGCGCACC<br>TTCCCCAAGCGCGGCCAGACCTGCGTGGTGCCTACACCGGG<br>ATGCTTGGAGATGGAAAGAAAGTTGACTCCTCCCGGGACAGA<br>AACAAGCCCTTTAAGTTTATGCTAGGCAAGCAGGAGGTGATC<br>CGAGGCTGGGAAGAAGGGGTTGCCAGATGAGTGTGGGTCA<br>GGGAGCCAACTGACTATATCTCCAGATTATGCCTATGGTGC<br>CACTGGGCACCCAGGCATCATCCACCACATGCCACTCTCGT<br>CTTCGATGTGGAGCTTCTAGAACTGGAA                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 2          | <b>FKBP12 去稳定结构域 (E31G, F36V, R71G, K105E)</b><br>氨基酸序列 | MVQVETISPGDGRFTFPKRQTCVVHYTGMLGDGKKVDSSDRN<br>KPFKFM LGKQEVIRGWEEGVAQMSVGGQAKLTISPDYAYGATG<br>HPGIIPPHATLVFDVLELE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 3          | <b>ecDHFR 去稳定结构域 (R12H, N18T, V19A, G67S)</b><br>核酸序列   | ATGATCAGTCTGATTGCGGCGTTAGCGGTAGATCACGTTATC<br>GGCATGGAAACCGTCATGCCGTGGAACCTGCCTGCCGATCTC<br>GCCTGGTTTAAACGCAACACCTTAAATAAACCCGTGATTATG<br>GGCCGCCATACCTGGGAATCAATCGGTCTGCTCCGTTGCCAGGA<br>CGCAAAAATATTATCCTCAGCAGTCAACCGAGTACGGACGAT<br>CGCGTAACGTGGGTGAAGTCGGTGGATGAAGCCATCGCGGCG<br>TGTGGTGACGTACCAGAAATCATGGTTATTGGCGGCGGTCTCG<br>GTTTATGAACAGTTCTTGCCAAAAGCGCAAAAACCTGTATCTG<br>ACGCATATCGACGCAGAAGTGGAAGGCGACACCCATTTCCCG<br>GATTACGAGCCGGATGACTGGGAATCGGTATTACAGCGAATTC<br>CACGATGCTGATGCGCAGAACTCTCACAGCTATTGCTTTGAG<br>ATTCTGGAGCGGCGA                                                                                                                         |
| 4          | <b>ecDHFR 去稳定结构域 (R12H, N18T, V19A, G67S)</b><br>氨基酸序列  | MISLIAALAVDHVIGMETVMPWNL PADLAWFKRNTLNKPVIMG<br>RHTWESIGRPLPGRKNILSSQPSTDDRVTWVKSVD EIAIACGDV<br>PEIMVIGGGRRVYEQFLPKAQKLYLTHIDAEVEGDTHFPDYE PDD<br>WESVFSEFHDADAQNSHSYCFEILERR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 5          | <b>ecDHFR 去稳定结构域 (R12Y, G67S, Y100I)</b><br>核酸序列        | ATGATCAGTCTGATTGCGGCGTTAGCGGTAGATTACGTTATC<br>GGCATGGAAACGCCATGCCGTGGAACCTGCCTGCCGATCTC<br>GCCTGGTTTAAACGCAACACCTTAAATAAACCCGTGATTATG<br>GGCCGCCATACCTGGGAATCAATCGGTCTGCTCCGTTGCCAGGA<br>CGCAAAAATATTATCCTCAGCAGTCAACCGAGTACGGACGAT<br>CGCGTAACGTGGGTGAAGTCGGTGGATGAAGCCATCGCGGCG<br>TGTGGTGACGTACCAGAAATCATGGTGATTGGCGGCGGTCTCG<br>GTTATTGAACAGTTCTTGCCAAAAGCGCAAAAACCTGTATCTG<br>ACGCATATCGACGCAGAAGTGGAAGGCGACACCCATTTCCCG<br>GATTACGAGCCGGATGACTGGGAATCGGTATTACAGCGAATTC<br>CACGATGCTGATGCGCAGAACTCTCACAGCTATTGCTTTGAG<br>ATTCTGGAGCGGCGA                                                                                                                          |
| 6          | <b>ecDHFR 去稳定结构域 (R12Y, G67S, Y100I)</b><br>氨基酸序列       | MISLIAALAVDYVIGMENAMPWNL PADLAWFKRNTLNKPVIMG<br>RHTWESIGRPLPGRKNILSSQPSTDDRVTWVKSVD EIAIACGDV<br>PEIMVIGGGRRVIEQFLPKAQKLYLTHIDAEVEGDTHFPDYE PDD<br>WESVFSEFHDADAQNSHSYCFEILERR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 7          | <b>CD19.28z.FKBP</b><br>核酸序列                            | ATGCTGCTGCTCGTGACATCTCTGCTGCTGTGCGAGCTGCCCC<br>ACCCCGCCTTTCTGCTGATCCCCGATATCGACATCCAGATGAC<br>ACAGACTACATCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGT<br>CACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTT<br>AAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAACCTGTTAAACTCCT<br>GATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAG<br>GTTCA GTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATT<br>AGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAA<br>CAGGGTAATACGCTTCCGTACACGTTCCGAGGGGGGACTAAG<br>TTGGAAATAACAGGCTCCACCTCTGGATCCGGCAAGCCCGGA<br>TCTGGCGAGGGATCCACCAAGGGCGAGGTGAAACTGCAGGA<br>GTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTGTCCGT<br>CACATGTACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTGA<br>AGCTGGATTCCGCCAGCCTCCACGAAAGGGTCTGGAGTGGCTG |

图25

|    |                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|----|--------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    |                                            | GGAGTAATATGGGGTAGTGAAACACATACTATAATTCAGCT<br>CTCAAATCCAGACTGACCATCATCAAGGACAACTCCAAGAGC<br>CAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACCTGATGACACA<br>GCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCT<br>ATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCT<br>CCTCAGCTAGCTTCGAAATTGAAGTTATGTATCCTCCTCCTTA<br>CCTAGACAATGAGAAGAGCAATGGAACCATTATCCATGTGAA<br>AGGGAAACACCTTTGTCCAAGTCCCCTATTTCCCGACCTTCT<br>AAGCCCTTTTGGGTGCTGGTGGTGGTTGGGGGAGTCCTGGCT<br>TGCTATAGCTTGCTAGTAACAGTGGCCTTTATTATTTCTGGG<br>TGAGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATG<br>AACATGACTCCCCGCCGCCCGGGCCACCCGCAAGCATTAC<br>CAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCCC<br>ATATGAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCT<br>ACAAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAG<br>GACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGC<br>CGGGACCCTGAGATGGGGGGAAGGCCGAGAAGGAAGAACC<br>TCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGG<br>CGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGG<br>AGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACA<br>GCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTG<br>CCCCCTCGCGAGTGCAGGTGGAACCATCTCCCAGGAGAC<br>GGGCGCACCTTCCCCAAGCGCGGCCAGACCTGCGTGGTGCAC<br>TACACCGGGATGCTTGGAGATGGAAGAAAGTTGACTCCTCC<br>CGGGACAGAAACAAGCCCTTTAAGTTTATGCTAGGCAAGCAG<br>GAGGTGATCCGAGGCTGGGAAGAAGGGTTGCCAGATGAG<br>TGTGGGTGAGGAGCCAACTGACTATATCTCCAGATTATGC<br>CTATGGTGCCACTGGGCACCCAGGCATCATCCACCACATGC<br>CACTCTCGTCTTCGATGTGGAGCTTCTAGAACTGGAATGA |
| 8  | <b>CD19.28z.FKBP</b><br>氨基酸序列              | MLLLVTSLLLCELPHPAFLIPDIDIQMTQTSSLSASLGDRTIS<br>RASQDISKYLNWYQKQPDGTVKLLIYHLSRLHSGVPSRFSGSGS<br>GTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEITGSTSGS<br>GKPGSGEGSTKGEVKLQESGPGLVAPSQLSVTCTVSGVSLPDY<br>GVSWIRQPPRKGLEWLGVWGETTYYNALKSRLTIKDNSKS<br>QVFLKMNSLQTDITAIYYCAKHYYGGSYAMDYWGQTSVT<br>VSSASFEIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKP<br>FWVLVVVGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNM<br>PRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSHMRVKFSRSADAPAYKQG<br>QNQLYNELNLGRREEYDVLDRGRDPEMGGKPRRKNPQEG<br>YNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDT<br>YDALHMQALPPRGVQVETISPGDGRTPFKRGQTCVHYTGMLG<br>DGKKVDSSDRNKPFGKFMKGQEVIRGWEEGVAQMSVGGQAK<br>LTISPDYAYGATGHPGIIIPPHATLVFDVLELE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 9  | <b>CD19.28z.FKBP</b><br>前导序列<br>核酸序列       | ATGCTGCTGCTCGTGACATCTCTGCTGCTGTGCGAGCTGCCCC<br>ACCCCGCCTTTCTGCTGATCCCC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 10 | <b>CD19.28z.FKBP</b><br>前导序列<br>氨基酸序列      | MLLLVTSLLLCELPHPAFLIP                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 11 | <b>FMC63 scFv (CD19<br/>结合结构域)</b><br>核酸序列 | GACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTC<br>TGGGAGACAGAGTCAACATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGAC<br>ATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGA<br>ACTGTTAACTCCTGATCTACCATAACATCAAGATTACACTCAG<br>GAGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATT<br>ATTCTCTACCATTAAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCA<br>CTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCGTACACGTTCCG<br>AGGGGGGACTAAGTTGGAATAACAGGCTCCACCTCTGGATC<br>CGGCAAGCCCGGATCTGGCGAGGGATCCACCAAGGGCGAGG<br>TGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCAC<br>AGAGCCTGTCCGTCACATGTACTGTCTCAGGGGTCTCATTACC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |

图25 (续)



|    |                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|----|------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    |                                                                  | CGACTATGGTGTAAGCTGGATTCCGCCAGCCTCCACGAAAGGG<br>TCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTAGTGAAACCACATA<br>CTATAATTCAGCTCTCAAATCCAGACTGACCATCATCAAGGA<br>CAACTCCAAGAGCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCA<br>AACTGATGACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATTA<br>CTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAAC<br>CTCAGTCACCGTCTCCTCA                                                                   |
| 12 | <b>FMC63 scFv (CD19<br/>结合结构域)<br/>氨基酸序列</b>                     | DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTV<br>KLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQ<br>GNTLPYTFGGGKLEITGSTSGSGKPGSGEGSTKGEVKLQESGPG<br>LVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGS<br>ETTYYNALKSRLTIKDNKSQVFLKMNSLQTDITAIYYCAKH<br>YYYGGSYAMDYWGQTSVTVSS                                                                                                         |
| 13 | <b>CD28 铰链区<br/>核酸序列</b>                                         | ATTGAAGTTATGTATCCTCCTCCTTACCTAGACAATGAGAAG<br>AGCAATGGAACCATTAATCCATGTGAAAGGGAACACCTTTGT<br>CCAAGTCCCTATTTCCCGACCTTCTAAGCCC                                                                                                                                                                                                                                                |
| 14 | <b>CD28 铰链区<br/>氨基酸序列</b>                                        | IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKP                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 15 | <b>CD28 跨膜区<br/>核酸序列</b>                                         | TTTTGGGTGCTGGTGGTGGTTGGGGGAGTCCTGGCTTGCTATA<br>GCTTGCTAGTAACAGTGGCCTTTATTATTTTCTGGGTG                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 16 | <b>氨基酸序列</b>                                                     | FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 17 | <b>CD28 胞内结构域<br/>核酸序列</b>                                       | AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAA<br>CATGACTCCCGCCGCCCGGGGCCACCCGCAAGCATTACCA<br>GCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCC                                                                                                                                                                                                                                          |
| 18 | <b>CD28 跨膜区<br/>氨基酸序列</b>                                        | RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 19 | <b>CD3 ζ 胞内结构域<br/>核酸序列</b>                                      | AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCTACAA<br>GCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACG<br>AAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGG<br>ACCCTGAGATGGGGGAAAGCCGAGAAGGAACCCCTAG<br>GAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGA<br>GGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGG<br>GCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCA<br>CCAAGGACACCTACGACGCCCTTACATGCAGGCCCTGCCCC<br>CTCGC |
| 20 | <b>CD3 ζ 胞内结构域<br/>氨基酸序列</b>                                     | RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP<br>EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKG<br>HDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 21 | <b>FKBP12 去稳定结构域<br/>(E31G, F36V,<br/>R71G, K105E)<br/>核酸序列</b>  | GGAGTGCAGGTGGAACCATCTCCCCAGGAGACGGGCGCAC<br>CTTCCCCAAGCGCGGCCAGACCTGCGTGGTGCCTACACCGG<br>GATGCTTGGAGATGGAAGAAAGTTGACTCCTCCGGGACAG<br>AAACAAGCCCTTTAAGTTTATGCTAGGCAAGCAGGAGGTGAT<br>CCGAGGCTGGGAAGAAGGGGTGCCCAGATGAGTGTGGGTC<br>AGGGAGCCAACTGACTATATCTCCAGATTATGCCTATGGTG<br>CCACTGGGCACCCAGGCATCATCCACCACATGCCACTCTCG<br>TCTTCGATGTGGAGCTTCTAGAACTGGAA                     |
| 22 | <b>FKBP12 去稳定结构域<br/>(E31G, F36V,<br/>R71G, K105E)<br/>氨基酸序列</b> | GVQVETISPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLGDGKKVDSSDRDN<br>KPFKFM LGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQGA KL TISPDYAYGATG<br>HPGIIPPHATLVFDVLELE                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 23 | <b>CD19.28z.ecDHFR<br/>核酸序列</b>                                  | ATGCTGCTGCTCGTGACATCTCTGCTGCTGTGCGAGCTGCCCC<br>ACCCCGCCTTTCTGCTGATCCCCGATATCGACATCCAGATGAC<br>ACAGACTACATCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGT<br>CACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTT<br>AAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGTAAACTCCT<br>GATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAG                                                                                           |

图25 (续)



|    |                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|----|---------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    |                                 | <p>             GTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATT<br/>             AGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAA<br/>             CAGGGTAATACGCTTCCGTACACGTTTCGGAGGGGGGACTAAG<br/>             TTGGAATAACAGGCTCCACCTCTGGATCCGGCAAGCCCGGA<br/>             TCTGGCGAGGGATCCACCAAGGGCGAGGTGAAACTGCAGGA<br/>             GTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTGTCCGT<br/>             CACATGTACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGT<br/>             AGCTGGATTTCGCCAGCCTCCACGAAAGGGTCTGGAGTGGCTG<br/>             GGAGTAATATGGGGTAGTGAAACACATACTATAATTACAGCT<br/>             CTCAAATCCAGACTGACCATCATCAAGGACAACCTCCAAGAGC<br/>             CAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACCTGATGACACA<br/>             GCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCT<br/>             ATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCT<br/>             CCTCAGCTAGCTTCGAAATTGAAGTTATGTATCCTCCTCCTTA<br/>             CCTAGACAATGAGAAGAGCAATGGAACATTATCCATGTGAA<br/>             AGGGAAACACCTTTGTCCAAGTCCCCTATTTCCCGGACCTTCT<br/>             AAGCCCTTTTGGGTGCTGGTGGTGGTTGGGGGAGTCTGGCT<br/>             TGCTATAGCTTGCTAGTAACAGTGGCCTTTATTATTTCTGGG<br/>             TGAGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATG<br/>             AACATGACTCCCCGCCGCCCGGGCCACCCGCAAGCATTAC<br/>             CAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGACGCTATCGCTCCC<br/>             ATATGAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCT<br/>             ACAAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAG<br/>             GACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTGGACAAGAGACGTGGC<br/>             CGGGACCCTGAGATGGGGGGAAGCCGAGAAGGAAGAACCC<br/>             TCAGGAAGGCCTGTACAATGAAGTGCAGAAAGATAAGATGG<br/>             CGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGG<br/>             AGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACA<br/>             GCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTG<br/>             CCCCTCGCATCAGTCTGATTGCGGCGTTAGCGGTAGATTAC<br/>             GTTATCGCATGGAAAACGCCATGCCGTGGAACCTCGCTGCC<br/>             GATCTCGCCTGGTTTAAACGCAACACCTTAAATAAACCCGTG<br/>             ATTATGGGCCGCCATACCTGGGAATCAATCGGTCTGTCGTTG<br/>             CCAGGACGCAAAAATATTATCCTCAGCAGTCAACCGAGTACG<br/>             GACGATCGCGTAACGTGGGTGAAGTCGGTGGATGAAGCCATC<br/>             GCGGCGTGTGGTGACGTACCAGAAATCATGGTGTATTGGCGGC<br/>             GGTGCGCTTATTGAACAGTTCTTGCCAAAAGCGCAAAAACCTG<br/>             TATCTGACGCATATCGACGCAGAAGTGGAAGGCGACACCCAT<br/>             TTCCCGGATTACGAGCCGGATGACTGGGAATCGGTATTCAGC<br/>             GAATTCACGATGCTGATGCGCAGAAGTCTCACAGCTATTGC<br/>             TTTGAGATTCTGGAGCGGCGATGA           </p> |
| 24 | <b>CD19.28z.ecDHFR</b><br>氨基酸序列 | <p>             MLLLVTSLLLCELPHPAFLIPDIDIQMTQTSSLSASLGDRVTISC<br/>             RASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGS<br/>             GTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEITGSTSGS<br/>             GKPGSGEGSTKGEVKLQESGGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDY<br/>             GVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYNSALKSRLTIKDNSKS<br/>             QVFLKMNSLQTDITAIYYCAKHYYGGSYAMDYWGQTSVT<br/>             VSSASFEIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLPGPSKP<br/>             FWVLVVVGGLVACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMT<br/>             PRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSHMRVKFSRSADAPAYKQG<br/>             QNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGL<br/>             YNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDT<br/>             YDALHMQUALPPRISLIAALAVDYVIGMENAMPWNLPADLAWFK<br/>             RNTLNKPVIMGRHTWESIGRPLPGRKNILSSQPSTDDRVTWVKS<br/>             VDEAIAACGDVPEIMVIGGGRVIEQFLPKAQKLYLTHIDAEVEG<br/>             DTHFPDYEPDDWESVFSEFHDADAQNSHSYCFEILERR           </p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 25 | <b>CD19.28z.ecDHFR</b><br>核酸序列  | <p>             ATGCTGCTGCTCGTGACATCTCTGCTGCTGTGCGAGCTGCCCC<br/>             ACCCCGCCTTCTGCTGATCCCC           </p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 26 | <b>CD19.28z.ecDHFR</b><br>氨基酸序列 | <p>             MLLLVTSLLLCELPHPAFLIP           </p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |

图25 (续)

|    |                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|----|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 27 | <b>FMC63 scFv (CD19 结合结构域)</b><br>核酸序列           | GACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTC<br>TGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGAC<br>ATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGA<br>ACTGTTAACTCCTGATCTACCATACATCAAGATTACACTCAG<br>GAGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATT<br>ATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCA<br>CTTACTTTTGCCAAACAGGGTAATACGCTTCCGTACACGTTCCG<br>AGGGGGGACTAAGTTGGAATAACAGGCTCCACCTCTGGATC<br>CGGCAAGCCCGGATCTGGCGAGGGATCCACCAAGGGCGAGG<br>TGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCAC<br>AGAGCCTGTCCGTACATGTACTGTCTCAGGGGTCTCATTACC<br>CGACTATGGTGTAAAGCTGGATTGCCAGCCTCCACGAAAGGG<br>TCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTAGTGAAACCACATA<br>CTATAATTCAGCTCTCAAATCCAGACTGACCATCATCAAGGA<br>CAACTCCAAGAGCCAAGTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCA<br>AACTGATGACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATTA<br>CTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAAC<br>CTCAGTCACCGTCTCCTCA |
| 28 | <b>FMC63 scFv (CD19 结合结构域)</b><br>氨基酸序列          | DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTV<br>KLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQ<br>GNTLPYTFGGGKLEITGSTSGSGKPGSGEGSTKGEVKLQESGPG<br>LVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGS<br>ETTYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDITAIYYCAKH<br>YYYGGSYAMDYWGQTSVTVSS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 29 | <b>CD28 铰链区</b><br>核酸序列                          | ATTGAAGTTATGTATCCTCCTCCTTACCTAGACAATGAGAAG<br>AGCAATGGAACCATATCCATGTGAAAGGAAACACCTTTGT<br>CCAAGTCCCCTATTTCCTCGGACCTTCTAAGCCC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 30 | <b>CD28 铰链区</b><br>氨基酸序列                         | IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKP                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 31 | <b>CD28 跨膜区</b><br>核酸序列                          | TTTTGGGTGCTGGTGGTGGTGGGGGAGTCCTGGCTTGCTATA<br>GCTTGCTAGTAACAGTGGCCTTTATTATTTCTGGGTG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 32 | <b>CD28 跨膜区</b><br>氨基酸序列                         | FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 33 | <b>CD28 胞内结构域</b><br>核酸序列                        | AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGAATACATGAA<br>CATGACTCCCCGCCGCCCGGGCCACCCGCAAGCATTACCA<br>GCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 34 | <b>CD28 胞内结构域</b><br>氨基酸序列                       | RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 35 | <b>CD3<math>\zeta</math> 胞内结构域</b><br>核酸序列       | AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACAA<br>GCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACG<br>AAGAGAGGATACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGG<br>ACCCTGAGATGGGGGGAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAG<br>GAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGA<br>GGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGG<br>GCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCA<br>CCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCC<br>CTCGC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 36 | <b>CD3<math>\zeta</math> 胞内结构域</b><br>氨基酸序列      | RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRRGRDP<br>EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKG<br>HDGLYQGLSTATKDYDALHMQALPPR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 37 | <b>ecDHFR 去稳定结构域 (R12Y, G67S, Y100I)</b><br>核酸序列 | ATCAGTCTGATTGCGGCGTTAGCGGTAGATTACGTTATCGGC<br>ATGGAAAACGCCATGCCGTGGAACCTGCCTGCCGATCTCGCC<br>TGGTTTAAACGCAACACCTTAAATAAACCCGTGATTATGGGC<br>CGCCATACCTGGGAATCAATCGGTCGTCGTTGCCAGGACGC<br>AAAAATATTATCCTCAGCAGTCAACCGAGTACGGACGATCGC<br>GTAACGTGGGTGAAGTCGGTGGATGAAGCCATCGCGGCGTGT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |

图25 (续)



|    |                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|----|--------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    |                                                  | GGTGACGTACCAGAAATCATGGTGATTGGCGGCGGTCGCGTT<br>ATTGAACAGTTCTTGCCAAAAGCGCAAAAACGTATCTGACG<br>CATATCGACGCAGAAAGTGGAAAGGCGACACCCATTTCCCGGAT<br>TACGAGCCGGATGACTGGGAATCGGTATTACGCGAATTCCAC<br>GATGCTGATGCGCAGAACTCTCACAGCTATTGCTTTGAGATTC<br>TGGAGCGGCGA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 38 | ecDHFR 去稳定结构域<br>(R12Y, G67S,<br>Y100I)<br>氨基酸序列 | ISLIAALAVDYVIGMENAMPWNLPADLAWFKRNTLNKPVIMGR<br>HTWESIGRPLPGRKNILSSQPSTDDRVTVWKSVDIAACGDVP<br>EIMVIGGGRVIEQFLPKAQKLYLTHIDAEVEGDTHFPDYEPDDW<br>ESVFSEFHDADAQNSHSYCFEILERR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 39 | GD2.28z.FKBP<br>核酸序列                             | ATGCTGCTGCTCGTGACATCTCTGCTGCTGTGCGAGCTGCCCC<br>ACCCCGCCTTTCTGCTGATCCCCGATATCCTGCTGACCCAGAC<br>CCCTCTGAGCCTGCCTGTGTCTCTGGGCGATCAGGCCAGCATC<br>AGCTGCAGATCCAGCCAGAGCCTGGTGCACCGGAACGGCA<br>CACCTACCTGCACTGGTATCTGCAGAAAGCCCGCCAGAGCCC<br>CAAGCTGCTGATTACAAAGGTGTCCAACCGGTTACGCGCGT<br>GCCCCACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCAC<br>CCTGAAGATCAGCCGGGTGGAAGCCGAGGACCTGGGCGTGT<br>ACTTCTGCAGCCAGTCCACCCACGTGCCCCCCTGACATTTGG<br>CGCCGGAACAAAGCTGGAAGTGAAGGGCAGCACAAGCGGCA<br>GCGGCAAGCCTGGATCTGGCGAGGGAAGCACCAAGGCGGAA<br>GTGAAGCTGCAGCAGAGCGGCCCTCTCTGGTGGAACTGGC<br>GCCTCTGTGATGATCTCTGCAAGGCCAGCGGCAGCTCCTTC<br>ACCGGCTACAACATGAACTGGGTGCGCCAGAACATCGGCAA<br>GAGCCTGGAATGGATCGGCGCCATCGACCCCTACTACGGCGG<br>CACCAGTACAACAGAGAAGTTCAAGGGCAGAGCCACCCTGAC<br>CGTGGACAAGAGCAGCTCCACCGCTACATGCACCTGAAGTC<br>CCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTACTACTGCGTGTCCGG<br>CATGGAATACTGGGGCCAGGGCACAAGCGTGACCGTGTCTC<br>TGCTAGCTTCGAAATTGAAGTTATGTATCCTCCTCCTTACCTA<br>GACAATGAGAAGAGCAATGGAACCATTATCCATGTGAAAGG<br>GAAACACCTTTGTCCAAGTCCCCTATTTCCCGACCTTCAAG<br>CCCTTTTGGGTGCTGGTGGTGGTTGGGGAGTCTGGCTTGCT<br>ATAGCTTGCTAGTAACAGTGGCCTTTATTATTTTCTGGGTGAG<br>GAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACAT<br>GACTCCCCGCGCGCCCGGGGCCACCCGCAAGCATTACAGCC<br>CTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCCAGAGT<br>GAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCTCAAGCAGG<br>GCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAG<br>AGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTG<br>AGATGGGGGGAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGC<br>CTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTA<br>CAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGG<br>GGCAGCATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGG<br>ACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGCG<br>GAGTGCAGGTGGAACCATCTCCCCAGGAGACGGGCGCACCT<br>TCCCAAGCGCGGCCAGACCTGCGTGGTGCCTACACCGGGA<br>TGCTTGAGATGGAAGAAAGTTGACTCCTCCGGGACAGAA<br>ACAAGCCCTTTAAGTTTATGCTAGGCAAGCAGGAGGTGATCC<br>GAGGCTGGGAAGAAGGGGTTGCCAGATGAGTGTGGGTGAG<br>GGAGCCAACTGACTATATCTCCAGATTATGCCTATGGTGCC<br>ACTGGGCACCCAGGCATCATCCACCACATGCCACTCTCGTC<br>TTCGATGTGGAGCTCTAGAACTGGAATGA |
| 40 | GD2.28z.FKBP<br>氨基酸序列                            | MLLLVTSLLLCELPHPAFLIPDILLTQTPLSLPVSLGDQASISCRS<br>SQSLVHRNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIHKVSNRFSGVDPDRFSG<br>SGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHVPPLTFGAGTKLELKG<br>STSGSGKPGSGEGSTKGEVKLQQSGPSLVEPGASVMISCKASGSS<br>FTGYNMNWVRQNIKSLWIGAI DPYYGGTSYNQKFKGRATLT<br>VDKSSSTAYMHLKSLTSEDSAVYYCVSGMEYWQGQTSVTVSSA<br>SFEIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFVWL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |

图25(续)

|    |                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|----|--------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    |                                            | VVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSLRHSDYMNMTPRRP<br>GPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYKQGQNLN<br>ELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRKPNQEGLYNELQK<br>DKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM<br>QALPPRGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLGDGKKVD<br>SSDRNKPFFKMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGGQAKLTISPDY<br>AYGATGHPGIIIPPHATLVFDVELLELE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 41 | <b>GD2.28z.FKBP</b><br>前导序列<br>核酸序列        | ATGCTGCTGCTCGTGACATCTCTGCTGCTGTGCGAGCTGCCCC<br>ACCCCGCCTTTCTGCTGATCCCC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 42 | <b>GD2.28z.FKBP</b><br>前导序列<br>氨基酸序列       | MLLLVTSLLLCELPHPAFLIP                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 43 | <b>14G2a scFv (GD2</b><br>结合结构域)<br>核酸序列   | GATATCCTGCTGACCCAGACCCCTCTGAGCCTGCCTGTGTCTC<br>TGGGCGATCAGGCCAGCATCAGCTGCAGATCCAGCCAGAGCC<br>TGGTGACCCGGAACGGCAACACCTACCTGCACTGGTATCTGC<br>AGAAGCCCGGCCAGAGCCCCAAGCTGCTGATTACAAAGGTGT<br>CCAACCGGTTACAGCGGCGTGCCCGACAGATTTTCTGGCAGCG<br>GCTCCGGCACCGACTTCACCTGAAAGATCAGCCGGGTGGAAG<br>CCGAGGACCTGGGCGTGACTTCTGCAGCCAGTCCACCCACG<br>TGCCCCCCTGACATTTGGCGCCGGAACAAAGCTGGAATGA<br>AGGGCAGCACAAAGCGGCAGCGGCAAGCCTGGATCTGGCGAG<br>GGAAGCACCAAGGGCGAAGTGAAGCTGCAGCAGAGCGGCC<br>CTCTCTGGTGGAACCTGGCGCCTCTGTGATGATCTCCTGCAAG<br>GCCAGCGGCAGCTCCTTACCGGCTACAACATGAACTGGGTG<br>CGCCAGAACATCGGCAAGAGCCTGGAATGGATCGGCGCCATC<br>GACCCCTACTACGGCGGCACCAGCTACAACCAGAAAGTTCAAG<br>GGCAGAGCCACCCTGACCGTGGAACAAGAGCAGCTCCACCGCC<br>TACATGCACCTGAAGTCCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTG<br>TACTACTGCGTGTCCGGCATGGAATACTGGGGCCAGGGCACA<br>AGCGTGACCGTGTCCTCT |
| 44 | <b>14G2a scFv (GD2</b><br>结合结构域)<br>氨基酸序列  | DILLTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHRNGNTYLHWYLQKP<br>GQSPKLLIHKVSNRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGV<br>YFCSQSTHVPPLTFGAGTKLELKGSTSGSGKPGSGEGSTKGEVK<br>LQQSGPSLVEPGASVMISCKASGSSFTGYNMNVWRQNIKLSLE<br>WIGAI DPYYGGTSYNQKFKGRATLTVDKSSSTAYMHLKSLTSED<br>SAVYYCVSGMEYWGGQTSVTVSS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 45 | <b>CD28 铰链区</b><br>核酸序列                    | ATTGAAGTTATGTATCCTCCTTACCTAGACAATGAGAAG<br>AGCAATGGAACATTATCCATGTGAAAGGGAAACACCTTTGT<br>CCAAGTCCCTATTTCCTGGACCTTCTAAGCCC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 46 | <b>CD28 铰链区</b><br>氨基酸序列                   | IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLPGPSKP                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 47 | <b>CD28 跨膜区</b><br>核酸序列                    | TTTTGGGTGCTGGTGGTGGTGGGGGAGTCCTGGCTTGCTATA<br>GCTTGCTAGTAACAGTGGCCTTTATTATTTCTGGGTG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 48 | <b>CD28 跨膜区</b><br>氨基酸序列                   | FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 49 | <b>CD28 胞内结构域</b><br>核酸序列                  | AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGAATCATGAA<br>CATGACTCCCCGCCGCCCGGGCCACCCGCAAGCATTACCA<br>GCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 50 | <b>CD28 胞内结构域</b><br>氨基酸序列                 | RSKRSLRHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 51 | <b>CD3<math>\zeta</math> 胞内结构域</b><br>核酸序列 | AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACAA<br>GCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACG<br>AAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGG<br>ACCCTGAGATGGGGGGAAGCCGAGAAAGGAAGAACCTCAG<br>GAAGGCCTGTACAATGAAGTGCAGAAAGATAAGATGGCGGA<br>GGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGAGGG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |

图25 (续)



|    |                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|----|--------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    |                                                        | GCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCA<br>CCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCC<br>CTCGC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 52 | CD3 $\zeta$ 胞内结构域<br>氨基酸序列                             | RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP<br>EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKG<br>HDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 53 | FKBP12 去稳定结构域<br>(E31G, F36V,<br>R71G, K105E)<br>核酸序列  | GGAGTGCAGGTGGAACCATCTCCCCAGGAGACGGGCGCAC<br>CTTCCCAAGCGCGGCCAGACCTGCGTGGTGCACCTACACCGG<br>GATGCTTGGAGATGGAAAGAAAGTTGACTCCTCCCGGACAG<br>AAACAAGCCCTTTAAGTTTATGCTAGGCAAGCAGGAGGTGAT<br>CCGAGGCTGGGAAGAAGGGGTGCCAGATGAGTGTGGGTC<br>AGGGAGCCAAACTGACTATATCTCCAGATTATGCCTATGGTG<br>CCACTGGGCACCCAGGCATCATCCCACCACATGCCACTCTCG<br>TCTTCGATGTGGAGCTTCTAGAACTGGAA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 54 | FKBP12 去稳定结构域<br>(E31G, F36V,<br>R71G, K105E)<br>氨基酸序列 | GVQVETISPGDGRTPKRGQTCVVHYTGMLGDGKKVDSRRDN<br>KPFKFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQGAKLTISPDYAYGATG<br>HPGIIPPHATLVFDVELLELE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 55 | GD2.28z.ecDHFR (R12Y,<br>G67S, Y100I)<br>核酸序列          | ATGCTGCTGCTCGTGACATCTCTGCTGCTGTGCGAGCTGCCCC<br>ACCCCGCCTTTCTGCTGATCCCCGATATCCTGCTGACCCAGAC<br>CCCTCTGAGCCTGCGCTGTGTCTCTGGCGATCAGGCCAGATC<br>AGCTGCAGATCCAGCCAGAGCCTGGTGCACCGGAACGGCAA<br>CACCTACCTGCACTGGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGAGCCC<br>CAAGCTGCTGATTACAAGGTGTCCAACCGGTTACGCGCGCT<br>GCCCCACAGATTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCAC<br>CCTGAAGATCAGCCGGGTGGAAGCCGAGGACCTGGGCGTGT<br>ACTTCTGCAGCCAGTCCACCCACGTGCCCCCTGACATTTGG<br>CGCCGGAACAAAGCTGGAAGTGAAGGGCAGCACAAAGCGGCA<br>GCGGCAAGCCTGGATCTGGCGAGGGAAGCACCAAGGGCGAA<br>GTGAAGCTGCAGCAGAGCGGCCCTCTCTGGTGAACCTGGC<br>GCCTCTGTGATGATCTCCTGCAAGGCCAGCGGCAGCTCCTTC<br>ACCGGCTACAACATGAACTGGGTGCGCCAGAACATCGGCAA<br>GAGCTTGAATGGATCGGCGCCATCGACCCCTACTACGGCGG<br>CACCAGCTACAACCAGAAGTTCAAGGGCAGAGCCACCCTGAC<br>CGTGGACAAGAGCAGCTCCACCGCTACATGCACCTGAAGTC<br>CCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTACTACTGCGTGTCCGG<br>CATGGAATACTGGGGCCAGGGCACAAGCGTGACCGTGTCTC<br>TGCTAGCTTCGAAATTGAAGTTATGTATCCTCCTCCTTACCTA<br>GACAATGAGAAGAGCAATGGAACCATATCCATGTGAAGAG<br>GAAACACCTTTGTCCAAGTCCCTATTTCCCGACCTTCTAAG<br>CCCTTTTGGGTGCTGGTGGTGGTTGGGGGAGTCTGGCTTGCT<br>ATAGCTTGCTAGTAACAGTGGCCTTATTATTTTCTGGGTGAG<br>GAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACAT<br>GACTCCCCGCGCCCGGGGCCACCCGCAAGCATTACCAGCC<br>CTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGTCCAGAGT<br>GAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCTACAAGCAGG<br>GCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAG<br>AGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCTTG<br>AGATGGGGGGAAAGCCGAGAAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGC<br>CTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTA<br>CAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGAGGGGCAAGG<br>GGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGG<br>ACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGCA<br>TCAGTCTGATTGCGGCGTTAGCGGTAGATTACGTTATCGGCAT<br>GGAAAACGCCATGCCGTGGAACCTGCCTGCCGATCTCGCCTG<br>GTTTAAACGCAACACCTTAAATAAACCCGTGATTATGGGCCG<br>CCATACCTGGGAATCAATCGGTCTGTCGTTGCCAGGACGCAA<br>AAATATTATCCTCAGCAGTCAACCGAGTACGGACGATCGCGT<br>AACGTGGGTGAAGTCGGTGGATGAAGCCATCGCGGCGTGTGG<br>TGACGTACCAGAAATCATGGTGATTGGCGGCGGTGCGCTTAT |

图25 (续)

|    |                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|----|----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    |                                                                | TGAACAGTTCTTGCCAAAAGCGCAAAAACGTATCTGACGCA<br>TATCGACGCAGAAGTGGAAGGCGACACCCATTTCCCGGATTA<br>CGAGCCGGATGACTGGGAATCGGTATTACGCGAATTCCACGA<br>TGCTGATGCGCAGAACTCTCACAGCTATTGCTTTGAGATTCTG<br>GAGCGGCGATGA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 56 | <b>GD2.28z.ecDHFR (R12Y,<br/>G67S, Y100I)</b><br>氨基酸序列         | MLLLVTSLLLCELPHPAFLIPDILLTQTPLSLPVSLGDQASISCRS<br>SQSLVHRNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIHKVSNRFSQVDRFSG<br>SGSGTDFTLKISRVEAEDLGVIYFCSQSTHVPPLTFGAGTKLELKG<br>STSGSGKPGSGEGSTKGEVKLQQSGPSLVEPGASVMISCKASGSS<br>FTGYNMNVWRQNIKLSLEWIGAIIDPYYGGSYNQKFKGRATLT<br>VDKSSSTAYMHLKSLTSEDSAVYYCVSGMEYWGQGTSTVTVSSA<br>SFEIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFVVL<br>VVVGGVLACYSLLVTAFFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRP<br>GPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYKQGNQLYN<br>ELNLGRREYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQK<br>DKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM<br>QALPPRISLIAALAVDYVIGMENAMPWNLPADLAWFKRNTLNK<br>PVIMGRHTWESIGRPLPGRKNILSSQPSTDDRVTWVKSVDIAIA<br>ACGDVPEIMVIGGGRVIEQFLPKAQKLYLTHIDAEVEGDTHFPD<br>YEPDDWESVFSEFHDADAQNSHSYCFEILERR                                                                                                 |
| 57 | <b>GD2.28z.ecDHFR (R12Y,<br/>G67S, Y100I)</b><br>前导序列<br>核酸序列  | ATGCTGCTGCTCGTGACATCTCTGCTGCTGTGCGAGCTGCCCC<br>ACCCCGCCTTCTGCTGATCCCC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 58 | <b>GD2.28z.ecDHFR (R12Y,<br/>G67S, Y100I)</b><br>前导序列<br>氨基酸序列 | MLLLVTSLLLCELPHPAFLIP                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 59 | <b>14G2a scFv (GD2<br/>结合结构域)</b><br>核酸序列                      | GATATCCTGCTGACCCAGACCCCTCTGAGCCTGCCTGTGTCTC<br>TGGGCGATCAGGCCAGCATCAGCTGCAGATCCAGCCAGAGCC<br>TGGTGACCGGAACGGCAACACCTACCTGCACTGGTATCTGC<br>AGAAGCCCGGCCAGAGCCCCAAGCTGCTGATTACAAAGGTGT<br>CCAACCGGTTACAGCGCGTGCCCGACAGATTTCTGGCAGCG<br>GCTCCGGCACCGACTTCAACCTGAAGATCAGCCGGGTGGAAG<br>CCGAGGACCTGGGCGTGACTTCTGCAGCCAGTCCACCCACG<br>TGCCCCCCTGACATTTGGCGCCGGAACAAAGCTGGAAGTGA<br>AGGGCAGCACAAGCGGCAGCGGCAAGCCTGGATCTGGCGAG<br>GGAAGCACCAAGGGCGAAGTGAAGCTGCAGCAGAGCGGCC<br>CTCTCTGGTGGAACCTGGCGCCTCTGTGATGATCTCCTGCAAG<br>GCCAGCGGCAGCTCCTTACCGGCTACAACATGAATCGGGTG<br>CGCCAGAACATCGGCAAGAGCCTGGAATGGATCGGCGCATC<br>GACCCCTACTACGGCGGCACCAGCTACAACCAGAAGTTCAAG<br>GGCAGAGCCACCCTGACCGTGGACAAGAGCAGCTCCACCGCC<br>TACATGCACCTGAAGTCCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTG<br>TACTACTGCGTGTCCGGCATGGAATACTGGGGCCAGGGCACA<br>AGCGTGACCGTGTCCTCT |
| 60 | <b>14G2a scFv (GD2<br/>结合结构域)</b><br>氨基酸序列                     | DILLTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHRNGNTYLHWYLQKP<br>GQSPKLLIHKVSNRFSQVDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVI<br>YFCSQSTHVPPLTFGAGTKLELKGSTSGSGKPGSGEGSTKGEVK<br>LQQSGPSLVEPGASVMISCKASGSSFTGYNMNVWRQNIKLSLE<br>WIGAIIDPYYGGSYNQKFKGRATLTVDKSSSTAYMHLKSLTSED<br>SAVYYCVSGMEYWGQGTSTVTVSS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 61 | <b>CD28 铰链区</b><br>核酸序列                                        | ATTGAAGTTATGTATCCTCCTCCTTACCTAGACAATGAGAAG<br>AGCAATGGAACCATATCCATGTGAAAGGGAAACACCTTTGT<br>CCAAGTCCCCTATTTCCCGACCTTCTAAGCCC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 62 | <b>CD28 铰链区</b><br>氨基酸序列                                       | IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKP                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 63 | <b>CD28 跨膜区</b><br>核酸序列                                        | TTTGGGTGCTGGTGGTGGTGGGGGAGTCCTGGCTTGCTATA<br>GCTTGCTAGTAACAGTGGCCTTATTATTCTGGGTG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |

图25 (续)



|    |                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|----|----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 64 | CD28 跨膜区<br>氨基酸序列                                  | FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 65 | CD28 胞内结构域                                         | AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAA<br>CATGACTCCCCGCCGCCCGGGCCACCCGCAAGCATTACCA<br>GCCCTATGCCCAACACGCGACTTCGCAGCCATCGCTCC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 66 | CD28 胞内结构域<br>氨基酸序列                                | RSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 67 | CD3 $\zeta$ 胞内结构域<br>核酸序列                          | AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACAA<br>GCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACG<br>AAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGG<br>ACCTTGAGATGGGGGGAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAG<br>GAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGA<br>GGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGG<br>GCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCA<br>CCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCC<br>CTCGC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 68 | CD3 $\zeta$ 胞内结构域<br>氨基酸序列                         | RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP<br>EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKG<br>HDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 69 | ecDHFR 去稳定结构域<br>(R12Y, G67S,<br>Y100I)<br>核酸序列    | ATCAGTCTGATTGCGGCGTTAGCGGTAGATTACGTTATCGGC<br>ATGGAAAACGCCATGCCGTGGAACCTGCCTGCCGATCTCGCC<br>TGGTTTAAACGCAACACCTTAAATAAACCCGTGATTATGGGC<br>CGCCATACCTGGGAATCAATCGGTCTCGCTTGCCAGGACGC<br>AAAAATATTATCCTCAGCAGTCAACCGAGTACGGACGATCGC<br>GTAACGTGGGTGAAGTCGGTGGATGAAGCCATCGCGCGTGT<br>GGTGACGTACCAGAAATCATGGTGATTGGCGGCGGTGCGGTT<br>ATTGAACAGTTCTTGCCAAAAGCGCAAAAAGTGTATCTGACG<br>CATATCGACGCAGAAGTGGAAGGCGACACCCATTTCCCGGAT<br>TACGAGCCGGATGACTGGGAATCGGTATTCAGCGAATTCCAC<br>GATGCTGATGCGCAGAACTCTCACAGCTATTGCTTTGAGATTC<br>TGGAGCGGCGA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 70 | ecDHFR 去稳定结构域<br>(R12Y, G67S,<br>Y100I)<br>氨基酸序列   | ISLIAALAVDYVIGMENAMPWNLPADLAWFKRNTLNKPVIMGR<br>HTWESIGRPLPGRKNILSSQPSTDDRVTWVKSVDIAIAACGDVP<br>EIMVIGGGRVIEQFLPKAQKLYLTHIDAEVEGDTHFPDYEPDDW<br>ESVFSEFHDADAQNSHSYCFEILERR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 71 | GD2.28z.ecDHFR (R12H,<br>N18T, V19A, G67S)<br>核酸序列 | ATGCTGCTGCTCGTGACATCTCTGCTGCTGTGCGAGCTGCCCC<br>ACCCGCGCTTTCTGCTGATCCCCGATATCCTGCTGACCCAGAC<br>CCCTCTGAGCCTGCCTGTGTCTCTGGGCGATCAGGCCAGCATC<br>AGCTGCAGATCCAGCCAGAGCCTGGTGCACCGGAACGGCAA<br>CACCTACCTGCACTGGTATCTGCAGAAAGCCCGGCCAGAGCCC<br>CAAGCTGCTGATTCAAGGTGTCCAACCGGTTACGCGGCGT<br>GCCCCAGAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCAC<br>CCTGAAGATCAGCCGGGTGGAAGCCGAGGACCTGGGCGTGT<br>ACTTCTGCAGCCAGTCCACCCACGTGCCCCCCTGACATTTGG<br>CGCCGGAACAAAGCTGGAAGTGAAGGGCAGCACAAGCGGCA<br>GCGGCAAGCCTGGATCTGGCGAGGGAAGCACCAAGGGCGAA<br>GTGAAGCTGCAGCAGAGCGGCCCTCTCTGGTGGAACTGGC<br>GCCTCTGTGATGATCTCCTGCAAGGCCAGCGGCAGCTCCTTC<br>ACCGGCTACAACATGAACTGGGTGCGCCAGAACATCGGCAA<br>GAGCCTGGAATGGATCGGCGCCATCGACCCCTACTACGGCGG<br>CACCAGCTACAACCAGAAAGTTCAAGGGCAGAGCCACCCTGAC<br>CGTGGACAAGAGCAGCTCCACCGCTACATGCACCTGAAGTC<br>CCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTACTACTGCGTGTCCGG<br>CATGGAATACTGGGGCCAGGGCACAAGCGTGACCGTGTCTC<br>TGCTAGCTTCGAAATTGAAGTTATGTATCCTCCTCTTACCTA<br>GACAATGAGAAGAGCAATGGAACCATATCCATGTGAAAGG<br>GAAACACCTTTGTCCAAGTCCCCTATTTCCCGGACCTTCTAAG |

图25(续)

|    |                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|----|-------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    |                                                             | CCCTTTGGGTGCTGGTGGTGGTTGGGGGAGTCTGGCTTGCT<br>ATAGCTTGCTAGTAACAGTGGCCTTTATTATTTCTGGGTGAG<br>GAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACAT<br>GACTCCCCGCCGCCCGGGCCACCCGCAAGCATTACCAGCC<br>CTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCCCATATG<br>AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCTACAA<br>GCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACG<br>AAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGG<br>ACCCTGAGATGGGGGGAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAG<br>GAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGA<br>GGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGAGGG<br>GCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCA<br>CCAAGGACACCTACGACGCCCTTACATGCAGGCCCTGCCCC<br>CTCGCATCAGTCTGATTGCGGCGTTAGCGGTAGATTACGTTAT<br>CGGCATGGAAAACGCCATGCCGTGGAACCTGCCTGCCGATCT<br>CGCCTGGTTTAAACGCAACACCTTAAATAAACCCGTGATTAT<br>GGGCCGCCATACCTGGGAATCAATCGGTCTGCTCCGTTGCCAGG<br>ACGCAAAAATATTATCCTCAGCAGTCAACCGAGTACGGACGA<br>TCGCGTAACGTGGGTGAAGTGGTGGATGAAGCCATCGCGGC<br>GTGTGGTGACGTACCAGAAATCATGGTGATTGGCGGCGGTGCG<br>CGTTATTGAACAGTTCTTGCCAAAAGCGCAAAAACGTATCT<br>GACGCATATCGACGCAGAAGTGAAGGCGACACCCATTTCCT<br>GGATTACGAGCCGGATGACTGGGAATCGGTATTACGCGAATT<br>CCACGATGCTGATGCGCAGAACTCTCACAGCTATTGCTTTGA<br>GATTCTGGAGCGGCGATGA |
| 72 | ecDHFR 去稳定结构域<br>(R12Y, G67S,<br>Y100I)<br>氨基酸序列            | MLLLVTSLLLCELPHPAFLIPDILLTQTPLSLPVSLGDQASISCRS<br>SQSLVHRNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIHKVSNNRFGVPDRFSG<br>SGSGTDFTLKISRVEAEDLGYYFCSQSTHVPPLTFGAGTKLELKG<br>STSGSGKPGSGEGSTKGEVKLQQSGPSLVEPGASVMISCKASGSS<br>FTGYNMNWVRQNIKSLWIGAIIDPYYGGSYNQKFKGRATLT<br>VDKSSSTAYMHLKSLTSEDSAVYYCVSGMEYWQGQTSVTVSSA<br>SFEIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFVWL<br>VVVGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRP<br>GPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSHMRVKFSRSADAPAYKQGQNQL<br>YNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNEL<br>QKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDAL<br>HMQALPPRISLIAALAVDYVIGMENAMPWNLPADLAWFKRNTL<br>NKPVIMGRHTWESIGRPLPGRKNILSSQPSTDDRVTWVKSVD<br>EIAACGDVPEIMVIGGGRVIEQFLPKAQKLYLTHIDAEVEGDTHFP<br>DYEPDDWESVFSEFHDADAQNSHSYCFEILERR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 73 | GD2.28z.ecDHFR (R12H,<br>N18T, V19A, G67S)<br>前导序列<br>核酸序列  | ATGCTGCTGCTCGTGACATCTCTGCTGCTGTGCGAGCTGCCCC<br>ACCCCGCCTTTCTGCTGATCCCC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 74 | GD2.28z.ecDHFR (R12H,<br>N18T, V19A, G67S)<br>前导序列<br>氨基酸序列 | MLLLVTSLLLCELPHPAFLIP                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 75 | 14G2a scFv (GD2<br>结合结构域)<br>核酸序列                           | GATATCCTGCTGACCCAGACCCCTCTGAGCCTGCCTGTGTCTC<br>TGGGCGATCAGGCCAGCATCAGCTGCAGATCCAGCCAGAGCC<br>TGGTGACCCGGAACGGCAACACCTACCTGCACTGGTATCTGC<br>AGAAGCCCGGCCAGAGCCCCAAGCTGCTGATTACAAAGGTGT<br>CCAACCGGTTACAGCGCGTGCCCCGACAGATTTTCTGGCAGCG<br>GCTCCGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAAG<br>CCGAGGACCTGGGCGTGACTTCTGCAGCCAGTCCACCCACG<br>TGCCCCCCTGACATTTGGCGCCGGAACAAAGCTGGAAGTGA<br>AGGGCAGCACAAAGCGGCAGCGCAAGCCTGGATCTGGCGAG<br>GGAAGCACCAAGGGCGAAGTGAAGCTGCAGCAGAGCGGCC<br>CTCTCTGGTGGAACCTGGCGCCTCTGTGATGATCTCTGCAAG<br>GCCAGCGGCAGCTCCTTACCAGGCTACAACATGAACTGGGTG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |

图25(续)



|    |                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|----|------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    |                                                      | CGCCAGAACATCGGCAAGAGCCTGGAATGGATCGGCGCCATC<br>GACCCCTACTACGGCGGCACCAGCTACAACCAGAAGTTCAAG<br>GGCAGAGCCACCCTGACCGTGGACAAGAGCAGCTCCACCGCC<br>TACATGCACCTGAAGTCCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTG<br>TACTACTGCGTGTCCGGCATGGAATACTGGGGCCAGGGCACA<br>AGCGTGACCGTGTCTCT                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 76 | 14G2a scFv (GD2<br>结合结构域)<br>氨基酸序列                   | DILLTQTPLSLPVSLGDAQISCRSSQSLVHRNGNTYLHWYLQKP<br>GQSPKLLIHKVSNRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGV<br>YFCSQSTHVPLTFGAGTKLELKGSTSGSGKPGSGEGSTKGEVK<br>LQSGPSLVEPGASVMISCKASGSSFTGYNMNWVRQNIKLSLE<br>WIGAIDPYYGTSYNQKFKGRATLTVDKSSSTAYMHLKSLTSED<br>SAVYYCVSGMEYWGGQTSVTVSS                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 77 | CD28 铰链区<br>核酸序列                                     | ATTGAAGTTATGTATCCTCCTCCTTACCTAGACAATGAGAAG<br>AGCAATGGAACCATTATCCATGTGAAAGGGAACACCTTTGT<br>CCAAGTCCCCATTTCCCGACCTTCTAAGCCC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 78 | CD28 铰链区<br>氨基酸序列                                    | IEVMYPPPYLDNEKSNGTHHVKGKHLCPSPFPGPSKP                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 79 | CD28 跨膜区<br>核酸序列                                     | TTTTGGGTGCTGGTGGTGGTTGGGGGAGTCCTGGCTTGCTATA<br>GCTTGCTAGTAACAGTGGCCTTTATTATTTCTGGGTG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 80 | CD28 跨膜区<br>氨基酸序列                                    | FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 81 | CD28 胞内结构域<br>核酸序列                                   | AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAA<br>CATGACTCCCGCCGCCCGGGGCCACCCGCAAGCATTACCA<br>GCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 82 | CD28 胞内结构域<br>氨基酸序列                                  | RSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 83 | CD3 $\zeta$ 胞内结构域<br>核酸序列                            | AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCTACAA<br>GCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACG<br>AAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGG<br>ACCCTGAGATGGGGGGAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAG<br>GAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGA<br>GGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGAGGG<br>GCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCA<br>CCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCC<br>CTCGC                                                                                                                                                         |
| 84 | CD3 $\zeta$ 胞内结构域<br>氨基酸序列                           | RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP<br>EMGGKPRRNQPEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKG<br>HDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 85 | ecDHFR去稳定结构域<br>(R12H, N18T,<br>V19A, G67S)<br>核酸序列  | ATGATCAGTCTGATTGCGGCGTTAGCGGTAGATCACGTTATC<br>GGCATGGAAACCGTCATGCCGTGGAACCTGCCTGCCGATCTC<br>GCCTGGTTTAAACGCAACACCTTAAATAAACCCGTGATTATG<br>GGCCGCCATACCTGGGAATCAATCGGTCGTCCGTTGCCAGGA<br>CGAAAAATATTATCCTCAGCAGTCAACCGAGTACGGACGAT<br>CGCGTAACGTGGGTGAAGTCGGTGGATGAAGCCATCGCGGCG<br>TGTGGTGACGTACCAGAAATCATGGTTATTGGCGGCGGTTCGC<br>GTTTATGAACAGTCTTGCCAAAAGCGCAAAACTGTATCTG<br>ACGCATATCGACGAGAAAGTGAAGGCGACACCCATTTCCCG<br>GATTACGAGCCGGATGACTGGGAATCGGTATTACGCGAATTC<br>CACGATGCTGATGCGCAGAACTCTCACAGCTATTGCTTTGAG<br>ATTCTGAGCGCGCA |
| 86 | ecDHFR去稳定结构域<br>(R12H, N18T,<br>V19A, G67S)<br>氨基酸序列 | ISLIAALAVDYVIGMENAMPWNLPADLAWFKRNTLNKPVIMGR<br>HTWESIGRPLPGRKNILSSQPSTDDRVTWVKSVDIAIAACGDVP<br>EIMVIGGRVIEQFLPKAQKLYLTHIDAEVEGDTHFPDYEPDDW<br>ESVFSEFHDADAQNSHSYCFEILERR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 87 | HA-GD2.28z.FKBP<br>核酸序列                              | ATGGAATTCGGCCTGAGCTGGCTGTTTCTGGTGGCCATTCTGA<br>AGGGCGTGCAGTGTCTCAGAGACATCTGCTGACACAGACAC<br>CTCTGAGCCTGCCTGTGTCTCTGGGAGATCAGGCCAGCATCA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |

图25 (续)

|    |                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|----|--------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    |                          | GCTGTAGAAGCAGCCAGAGCCTGGTGCACAGAAACGGCAAT<br>ACCTACCTGCACCTGGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCTCCT<br>AAGCTGCTGATCCACAAGGTGTCCAACAGATTACGCGCGTG<br>CCCGATAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCC<br>TGAAGATCTCTAGAGTGGAAGCCGAGGACCTGGGCGTGTACT<br>TCTGTAGCCAGAGCACACATGTGCCTCCACTGACCTTTGCGG<br>CTGGCACCAAACTGGAACCTAAAGGCGGCGGAGGATCTGGTG<br>GTGGTGGATCTGGCGGAGGCGGTTCTGAAGTGAACCTGCAGC<br>AGTCTGGCCCCCTCTGTGGTTGAACCTGGCGCTCTGTGATGAT<br>CTCTTGCAAGGCCAGCGGCAGCAGCTTCACCGGCTACAACAT<br>GAACTGGGTCCGACAGAACATCGGCAAGAGCCTGGAATGGA<br>TCGGCGCCATCGATCCTTACTACGGCGGCACCAGCTACAACC<br>AGAAGTTCAAGGGCAGAGCCACACTGACCGTGGACAAGAGC<br>AGCAGCACAGCCTACATGCACCTGAAGTCCCTGACAAGCGAG<br>GACAGCGCCGTGTACTACTGTGTGTCCGGCATGAAGTATTGG<br>GGCCAGGGCACAAGCGTGACCGTGTCTAGCGCTAAGACCACA<br>CCTCCTAGCGTGTACGGCAGAGTGACAGTGTCCAGCGCCGAG<br>CCTAAGAGCTGCGACAAGACACACCTGTCTCTCCATGTCCA<br>GCTCCAGAACTGCTCGGCGGACCCCTCCGTTTTCTGTTTCCAC<br>CTAAGCCAAAGGACACCCTCATGATCAGCAGAACCCCTGAAG<br>TGACCTGCGTGGTGGTCGATGTGTCCACGAGGATCCCGAAG<br>TGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGACAACG<br>CCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACAGCACCTAC<br>AGAGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGTCATCAGGACTGGCTG<br>AACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCCT<br>GCCTGCTCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCA<br>GCCAAGAGAACCCAGGTTTACACACTGCCTCCAAGCAGGGA<br>CGAGCTGACCAAGAATCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTCAA<br>GGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAA<br>TGGCCAGCCTGAGAACAACCTACAAGACAACCCCTCCTGTGCT<br>GGACAGCGACGGCTCATTCTCCTGTACAGCAAGCTGACAGT<br>GGATAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAATGTGTTACAGTGTTC<br>TGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAAAG<br>CCTGTCTCTGAGCCCCGCAAGAAGGACCCTAAAGCTAGCTT<br>CGAAATTGAAGTTATGTATCCTCCTCCTTACCTAGACAATGAG<br>AAGAGCAATGGAACCATTATCCATGTGAAAGGGAAACACCTT<br>TGCCAAGTCCCTATTTCCCGGACCTTCTAAGCCCTTTTGGG<br>TGCTGGTGGTGGTTGGGGGAGTCCTGGCTTGCTATAGCTTGCT<br>AGTAACAGTGGCCTTTATTATTTCTGGGTGAGGAGTAAGAG<br>GAGCAGGCTCCTGCACAGTGAATCATGAACATGACTCCCCG<br>CCGCCCCGGGCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCC<br>ACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCCAGAGTGAAGTTCAG<br>CAGGAGCGCAGACGCCCCCGCTACAAGCAGGGCCAGAACC<br>AGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTAC<br>GATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCCTGAGATGGGG<br>GGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAA<br>TGAAGTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGA<br>TTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGAT<br>GGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTAC<br>GACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGCGGAGTGCAG<br>GTGGAACCATCTCCCCAGGAGACGGGCGCACCTTCCCCAAG<br>CGCGGCCAGACCTGCGTGGTGCACTACACCGGGATGCTTGGA<br>GATGGAAGAAAGTTGACTCCTCCCGGACAGAAACAAGCC<br>CTTTAAGTTTATGCTAGGCAAGCAGGAGGTGATCCGAGGCTG<br>GGAAGAAGGGGTTGCCAGATGAGTGTGGGTGAGGGAGCCA<br>AACTGACTATATCTCCAGATTATGCCTATGGTGCCACTGGGC<br>ACCCAGGCATCATCCACCACATGCCACTCTCGTCTTCGATGT<br>GGAGCTTCTAGAACTGGAATGA |
| 88 | HA-GD2.28z.FKBP<br>氨基酸序列 | MEFGLSWLFLVAILKGVQCSRDIILLTQTPLSLPVS LGDQASISCRS<br>SQSLVHRNGNTYLHWY LQKPGQSPKLLIHKVSNRFS GPDRFSG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |

图25 (续)



|    |                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|----|----------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    |                                        | SGSGTDFTLKISRVEAEDLG VYFCSQSTHVPPLTFGAGTKLELKG<br>GGGSGGGSGGGGSEVKLQQSGPSLVEPGASVMISCKASGSSFT<br>GYNMNWVRQNIQKSLWIGAI DPYYGGTSYNQKFKGRATLTVD<br>KSSSTAYMHLKSLTSEDSAVYYCVSGMKYWGQGTSTVTVSSAKT<br>TPPSVYGRVTVSSAEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGSPSVFLFPPKP<br>KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT<br>KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI<br>EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI<br>AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG<br>NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKKDPKASFEIEVMYPPPY<br>LDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLPGPSKPFVWL VVVGGLVACY<br>SLLVTVAFIIFWVRSKRSLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYA<br>PPRDFAAAYRSRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYD<br>VLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG<br>MKGERRRGKGHDLGYQLSTATKDTYDALHMQALPPRGVQVE<br>TISPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLGDGKKVDSSDRNKPFFK<br>MLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGGQAKLTISPDIAYGATGHPGII<br>PPHATLVFDVELLE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 89 | HA-GD2.28z.FKBP<br>核酸序列                | ATGGAATTCGGCCTGAGCTGGCTGTTTCTGGTGGCCATTCTGA<br>AGGGCGTGCACTGCTCCAGA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 90 | HA-GD2.28z.FKBP<br>氨基酸序列               | MEFGLSWLFLVAILKGVQCSR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 91 | 高亲和力 14G2a scFv<br>(GD2 结合结构域)<br>核酸序列 | GACATCCTGCTGACACAGACACCTCTGAGCCTGCCTGTGTCTC<br>TGGGAGATCAGGCCAGCATCAGCTGTAGAAGCAGCCAGAGC<br>CTGGTGACACAGAAACGGCAATACCTACCTGCACTGGTATCTG<br>CAGAAGCCCGGCCAGTCTCCTAAGCTGCTGATCCACAAGGTG<br>TCCAACAGATTACAGCGCGTGGCCGATAGATTTTCTGGCTCTG<br>GCAGCGGCACCGACTTCAACCTGAAGATCTCTAGAGTGAAG<br>CCGAGGACCTGGGCGTGACTTCTGTAGCCAGAGCACACATG<br>TGCCTCCACTGACCTTTGGCGCTGGCACCAAACTGGAACCTA<br>AAGGCGGCGGAGGATCTGGTGGTGGTGGATCTGGCGGAGGC<br>GGTTCTGAAGTGAAACTGCAGCAGTCTGGCCCCCTCTCTGGTT<br>GAACCTGGCGCCTCTGTGATGATCTCTTGAAGGCCAGCGGC<br>AGCAGCTTACCGGCTACAACATGAACCTGGTCCGACAGAAC<br>ATCGGCAAGAGCCTGGAATGGATCGGCGCCATCGATCCTTAC<br>TACGGCGGCACAGCTACAACCAGAAAGTTCAAGGGCAGAGC<br>CACACTGACCGTGGACAAGAGCAGCAGCACAGCCTACATGC<br>ACCTGAAGTCCCTGACAAGCGAGGACAGCGCCGTGTAATACT<br>GTGTGTCCGGCATGAAGTATTGGGGCCAGGGCACAAGCGTGA<br>CCGTGTCTAGCGCTAAGACCACACCTCCTAGCGTGTACGGCA<br>GAGTGACAGTGTCCAGCGCCGAGCCTAAGAGCTGCGACAAG<br>ACACACACCTGTCTCTCCATGTCCAGCTCCAGAACTGCTCGGC<br>GGACCCTCCGTTTTCTGTTTCCACCTAAGCCAAAGGACACCC<br>TCATGATCAGCAGAACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGG<br>ATGTGTCCACGAGGATCCCGAAGTGAAGTTCAATTGGTACG<br>TGGACGGCGTGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGA<br>GAGGAACAGTACAACAGCACCTACAGAGTGGTGTCCGTGTG<br>ACCGTGTGCATCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAA<br>GTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCCTGCCTGCTCCTATCGAGAA<br>AACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCAAGAGAACCCAGG<br>TTTACACACTGCCTCCAAGCAGGGACGAGCTGACCAAGAATC<br>AGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTCAAGGGCTTCTACCTTCCGA<br>TATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAATGGCCAGCCTCAGTACAA<br>ACTACAAGACAACCCCTCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCAT<br>TCTTCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGATAAGTCCCGGTGGC<br>AGCAGGGCAATGTGTTTCAAGCTGTTCTGTGATGCACGAGGCC<br>TGACAACCACTACACCCAGAAAAGCCTGTCTCTGAGCCCCG<br>GCAAGAAGGACCCTAAA |
| 92 | 高亲和力 14G2a scFv<br>(GD2 结合结构域)         | DILLTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHRNGNTYLHWY LQKP<br>GQSPKLLIHKVSNRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |

图25(续)

|     |                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|-----|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|     | 氨基酸序列                                                  | YFCSQSTHVPPLTFGAGTKLELKGGGSGGGGSGGGGSEVKLQ<br>QSGPSLVEPGASVMISCKASGSSFTGYNMNWVRQNIKLSLEWIG<br>AIDPYYGGTSYNQKFKGRATLTVDKSSSTAYMHLKSLTSEDSAV<br>YYCVSGMKYWGQGTSTVSSAKTTPPSVYGRVTSSAEPKSCD<br>KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV<br>SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL<br>HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP<br>SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV<br>LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFVSVMHEALHNHYTQKS<br>LSLSPGKKDPK |
| 93  | CD28 铰链区<br>核酸序列                                       | ATTGAAGTTATGTATCCTCCTTACCTAGACAATGAGAAG<br>AGCAATGGAACCATTATCCATGTGAAAGGGAAACACCTTTGT<br>CCAAGTCCCCTATTCCCAGGACCTTCTAAGCCC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 94  | CD28 铰链区<br>氨基酸序列                                      | IEVMYPPPYLDNEKSNGTIHVKGKHLCPSPLPFGPSKP                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 95  | CD28 跨膜区<br>核酸序列                                       | TTTTGGGTGCTGGTGGTGGTTGGGGGAGTCCTGGCTTGCTATA<br>GCTTGCTAGTAACAGTGGCCTTTATTATTTCTGGGTG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 96  | CD28 跨膜区<br>氨基酸序列                                      | FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 97  | CD28 胞内结构域<br>核酸序列                                     | AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAA<br>CATGACTCCCCGCCGCCCGGGCCACCCGCAAGCATTACCA<br>GCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 98  | CD28 胞内结构域<br>氨基酸序列                                    | RSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 99  | CD3 $\zeta$ 胞内结构域<br>核酸序列                              | AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCTACAA<br>GCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACG<br>AAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGG<br>ACCCTGAGATGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAG<br>GAAGGCCTGTACAATGAAGTGCAGAAAGATAAGATGGCGGA<br>GGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGG<br>GCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCA<br>CCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCC<br>CTCGC                                                                         |
| 100 | CD3 $\zeta$ 胞内结构域<br>氨基酸序列                             | RVKFSRSADAPAYKQGNQLYNELNLGRREEYDVLDRRRGRDP<br>EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKG<br>HDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 101 | FKBP12 去稳定结构域<br>(E31G, F36V,<br>R71G, K105E)<br>核酸序列  | GGAGTGCAGGTGGAACCATCTCCCCAGGAGACGGGCGCAC<br>CTTCCCAAGCGCGGCCAGACCTGCGTGGTGCACTACACCGG<br>GATGCTTGGAGATGGAAAGAAAGTTGACTCCTCCCGGACAG<br>AAACAAGCCCTTTAAGTTTATGCTAGGCAAGCAGGAGGTGAT<br>CCGAGGCTGGGAAGAAGGGGTGCCCAGATGAGTGTGGGTC<br>AGGGAGCCAAACTGACTATATCTCCAGATTATGCCTATGGTG<br>CCACTGGGCACCCAGGCATCATCCCACCACATGCCACTCTCG<br>TCTTCGATGTGGAGCTTCTAGAACTGGAA                                                                                              |
| 102 | FKBP12 去稳定结构域<br>(E31G, F36V,<br>R71G, K105E)<br>氨基酸序列 | GVQVETISPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLGDGKKVDSSDRDN<br>KPFKFM LGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQGAKLTISPDYAYGATG<br>HPGIIPPHATLVFDVELLELE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 103 | HA-GD2.28z.ecDHFR<br>核酸序列                              | ATGGAATTCGGCCTGAGCTGGCTGTTTCTGGTGGCCATTCTGA<br>AGGGCGTGCACTGCTCCAGAGACATCCTGCTGACACAGACAC<br>CTCTGAGCCTGCCTGTGTCTCTGGGAGATCAGGCCAGCATCA<br>GCTGTAGAAGCAGCCAGAGCCTGGTGACAGAAACGGCAAT<br>ACCTACCTGCACTGGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCTCCT<br>AAGCTGCTGATCCACAAGGTGTCCAACAGATTACGCGCGTG<br>CCCGATAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCC<br>TGAAGATCTCTAGAGTGGAAGCCGAGGACCTGGGCGTGTACT<br>TCTGTAGCCAGAGCACACATGTGCCTCCACTGACCTTTGGCG                              |

图25 (续)



|     |                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|-----|----------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|     |                            | CTGGCACCAAACTGGAACCTTAAAGGCGGCGGAGGATCTGGTG<br>GTGGTGGATCTGGCGGAGGCGGTTCTGAAGTAAACTGCAGC<br>AGTCTGGCCCCCTCTCTGGTTGAACCTGGCGCCTCTGTGATGAT<br>CTCTTGCAAGGCCAGCGGCAGCAGCTTCACCGGCTACAACAT<br>GAACTGGGTCCGACAGAACATCGGCAAGAGCCTGGAATGGA<br>TCGGCGCCATCGATCCTTACTACGGCGGCACCAGCTACAACC<br>AGAAGTTCAAGGGCAGAGCCACACTGACCGTGGACAAGAGC<br>AGCAGCACAGCCTACATGCACCTGAAGTCCCTGACAAGCGAG<br>GACAGCGCCGTGTACTACTGTGTGTCCGGCATGAAGTATTGG<br>GGCCAGGGCACAAGCGTGACCGTGTCTAGCGCTAAGACCACA<br>CCTCCTAGCGTGTACGGCAGAGTGACAGTGTCCAGCGCCGAG<br>CCTAAGAGCTGCGACAAGACACACCTGTCTCTCCATGTCCA<br>GCTCCAGAACTGCTCGGCGGACCCTCCGTTTTCTGTCTTCCAC<br>CTAAGCCAAAGGACACCCTCATGATCAGCAGACAACCTGAAG<br>TGACCTGCGTGGTGGTCGATGTGTCCACGAGGATCCCGAAG<br>TGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGAAGTGCACAACG<br>CCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACAGCACCTAC<br>AGAGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGTCATCAGGACTGGCTG<br>AACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCCT<br>GCCTGTCTCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCA<br>GCCAAGAGAAACCCAGGTTTACACACTGCCTCCAAGCAGGGA<br>CGAGCTGACCAAGAATCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTCAA<br>GGGCTTCTACCTTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAA<br>TGGCCAGCCTGAGAACTACAAGACAACCCCTCTGTGTCT<br>GGACAGCGACGGCTCATTCTTCTGTACAGCAAGCTGACAGT<br>GGATAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAATGTGTTACAGTGTTC<br>TGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCGAAAG<br>CCTGTCTCTGAGCCCCGCAAGAAGGACCCTAAAGCTAGCTT<br>CGAAATTGAAGTTATGTATCCTCCTTACCTAGACAATGAG<br>AAGAGCAATGGAACCATTATCCATGTGAAAGGGAAACACCTT<br>TGTTCAAGTCCCCTATTTCCCGGACCTTCTAAGCCCTTTTGGG<br>TGCTGGTGGTGGTTGGGGGAGTCTGGCTTGCTATAGCTTGCT<br>AGTAACAGTGGCCTTTATTATTTCTGGGTGAGGAGTAAGAG<br>GAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACATGACTCCCCG<br>CCGCCCCGGGCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCC<br>ACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCCAGAGTGAAGTTCAG<br>CAGGAGCGCAGACGCCCCCGCTACAAGCAGGGCCAGAACC<br>AGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGAGTAGTAC<br>GATGTTTTTGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGG<br>GGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAA<br>TGAAGTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCCTACAGTGAGA<br>TTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGAT<br>GGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTAC<br>GACGCCCTTACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGCATCAGTCTG<br>ATTGCGGCGTTAGCGGTAGATTACGTTATCGGCATGGAAAAC<br>GCCATGCCGTGGAACCTGCCTGCCGATCTCGCCTGGTTTAAA<br>CGCAACACCTTAAATAAACCCGTGATTATGGGCCGCCATACC<br>TGGGAATCAATCGGTCTGTCGTTGCCAGGACGCAAAAATATT<br>ATCCTCAGCAGTCAACCGAGTACGGACGATCGCGTAACGTGG<br>GTGAAGTCGGTGGATGAAGCCATCGCGCGTGTGGTGACGTA<br>CCAGAAATCATGGTGATTGGCGGCGGTTCGCTTATTGAACAG<br>TTCTTGCCAAAAGCGCAAAAAGTGTATCTGACGCATATCGAC<br>GCAGAAGTGAAGGCGACACCCATTTCCCGGATTACGAGCCG<br>GATGACTGGGAATCGGTATTACGCAATTCCACGATGCTGAT<br>GCGCAGAACTCTACAGCTATTGCTTTGAGATTCTGGAGCGG<br>CGATGA |
| 104 | HA-GD2.28z.ecDHFR<br>氨基酸序列 | MEFGLSWLFLVAILKGVQCSRILLTQTPLSLPVS LGDQASISCRS<br>SQSLVHRNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIHKVSNRFS GVPDRFSG<br>SGSGTDFTLKISRVEAEDLG VYFCSQSTHVPPLTFGAGTKLELKG<br>GGSGGGGSGGGGSEVKLQQSGPSLVEPGASVMISCKASGSSFT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |

图25(续)

|     |                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|-----|--------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|     |                                      | GYNMNWVRQNIKGSLEWIGPIDPYGGTSYNQKFKGRATLTVD<br>KSSSTAYMHLKSLTSEDSAVYYCVSGMKYWGQTSVTVSSAKT<br>TPPSVYGRVTVSSAEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP<br>KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT<br>KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI<br>EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI<br>AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG<br>NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSPGKKDPKASFEIEVMYPPY<br>LDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFVWLVVVGGLACY<br>SLLVTVAFIIFWVRSKSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYA<br>PPRDFAAAYRSRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLRREEYD<br>VLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG<br>MKGERRRGKGHDLGYQLSTATKDTYDALHMQALPPRISLIAA<br>LAVDYVIGMENAMPWNLPADLAWFKRNTLNKPVIMGRHTWES<br>IGRPLPGRKNILSSQPSTDDRVTWVKSVDIAAAGCDVPEIMVIG<br>GGRVIEQFLPKAQKLYLTHIDAEVEGDTHFPDYEPDDWESVFSE<br>FHDADAQNSHSYCFEILERR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 105 | HA-GD2.28z.ecDHFR<br>前导序列<br>核酸序列    | ATGGAATTCGGCCTGAGCTGGCTGTTTCTGGTGGCCATTCTGA<br>AGGGCGTGCACTGCTCCAGA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 106 | HA-GD2.28z.ecDHFR<br>前导序列<br>氨基酸序列   | MEFGLSWLFLVAILKGVQCSR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 107 | 高亲和力14G2a scFv<br>(GD2结合结构域)<br>核酸序列 | GACATCCTGCTGACACAGACACCTCTGAGCCTGCCTGTGTCTC<br>TGGGAGATCAGGCCAGCATCAGCTGTAGAAGCAGCCAGAGC<br>CTGGTGACAGAAACGGCAATACCTACCTGCATGGTATCTG<br>CAGAAGCCCGGCCAGTCTCCTAAGCTGCTGATCCACAAGGTG<br>TCCAACAGATTACAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCTCTG<br>GCAGCGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCTCTAGAGTGGAAAG<br>CCGAGGACCTGGGCGTGACTTCTGTAGCCAGAGCACACATG<br>TGCTCCACTGACCTTTGGCGCTGGCACCAAACTGGAACCTTA<br>AAGGCGGCGGAGGATCTGGTGGTGGTGGATCTGGCGGAGGC<br>GGTTCTGAAGTGAAGTGCAGCAGTCTGGCCCTCTCTGGTT<br>GAACCTGGCGCCTCTGTGATGATCTCTTGAAGGCCAGCGGC<br>AGCAGCTTCACCGGCTACAACATGAAGTGGGTCCGACAGAAC<br>ATCGGCAAGAGCCTGGAATGGATCGGCGCCATCGATCCTTAC<br>TACGGCGGCACCGACTACAACCAGAAAGTTCAAGGGCAGAGC<br>CACACTGACCGTGGACAAGAGCAGCAGCACAGCCTACATGC<br>ACCTGAAGTCCCTGACAAGCGAGGACAGCGCCGTGTACTACT<br>GTGTGTCCGGCATGAAGTATTGGGGCCAGGGCACAAGCGTGA<br>CCGTGTCTAGCGCTAAGACCACACCTCCTAGCGTGTACGGCA<br>GAGTGACAGTGTCCAGCGCCGAGCCTAAGAGCTGCGACAAG<br>ACACACACCTGTCTCCATGTCCAGCTCCAGAACTGCTCGGC<br>GGACCCTCCGTTTCTGTTTCCACCTAAGCCAAAGGACACCC<br>TCATGATCAGCAGAAACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGC<br>ATGTGTCCACGAGGATCCCGAAGTGAAGTTCAATTGGTACG<br>TGGACGGCGTGGAAGTGACAACGCCAAGACCAAGCCTAGA<br>GAGGAACAGTACAACAGCACCTACAGAGTGGTGTCCGTGCTG<br>ACCGTGCTGCATCAGGACTGGCTGAACGGCAAGAGTACAA<br>GTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCCTGCCTGCTCCTATCGAGAA<br>AACCATCAGCAAGGCCAAGGCCAGCCAAGAGAACCCAGG<br>TTTACACACTGCCTCCAAGCAGGACGAGCTGACCAAGAATC<br>AGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTCAAGGGCTTCTACCCTTCCGA<br>TATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGAGAACA<br>ACTACAAGACAACCCCTCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCAT<br>TCTTCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGATAAGTCCCGGTGGC<br>AGCAGGGCAATGTGTTTACAGTGTCTGTGATGCACGAGGCC<br>TGCACAACCACTACACCCAGAAAAGCCTGTCTCTGAGCCCCG<br>GCAAGAAGGACCCTAAA |
| 108 | 高亲和力14G2a scFv                       | DILLTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHRNGNTYLHWYLOKP                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |

图25(续)



|     |                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|-----|--------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|     | (GD2 结合结构域<br>氨基酸序列)                             | GQSPKLLIHKVSNRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGV<br>YFCSQSTHVPLTFGAGTKLELKGGGSGGGSGGGGSEVKLQ<br>QSGPSLVEPGASVMISCKASGSSFTGYNMNVWRQNIGKSLEWIG<br>AIDPYYGGTSYNQKFKGRATLTVDKSSSTAYMHLKSLTSEDSAV<br>YYCVSGMKYWGQGTSTVTVSSAKTTPPSVYGRVTVSSAEPKSCD<br>KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV<br>SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL<br>HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKISKAKGQPREPQVYTLPP<br>SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV<br>LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS<br>LSLSPGKKDPK                               |
| 109 | CD28 铰链区<br>核酸序列                                 | ATTGAAGTTATGTATCCTCCTCCTTACCTAGACAATGAGAAG<br>AGCAATGGAACCATTATCCATGTGAAAGGGAACACCTTTGT<br>CCAAGTCCCTATTTCCTGGACCTTCTAAGCCC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 110 | CD28 铰链区<br>氨基酸序列                                | IEVMYPPPYLDNEKSNGTHIHVKGKHLCPSPLPFGPSKP                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 111 | CD28 跨膜区<br>核酸序列                                 | TTTTGGGTGCTGGTGGTGGTGGGGAGTCCTGGCTTGCTATA<br>GCTTGCTAGTAACAGTGGCCTTATTATTTTCTGGGTG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 112 | CD28 跨膜区<br>氨基酸序列                                | FWVLVVVGVLACYSLLVTVAFIIFWV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 113 | CD28 胞内结构域<br>核酸序列                               | AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAA<br>CATGACTCCCGCCGCCCGGGCCACCCGCAAGCATTACCA<br>GCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 114 | CD28 胞内结构域<br>氨基酸序列                              | RSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 115 | CD3 $\zeta$ 胞内结构域<br>核酸序列                        | AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCTACAA<br>GCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACG<br>AAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGG<br>ACCCTGAGATGGGGGGAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAG<br>GAAGGCCTGTACAATGAAGTGCAGAAAGATAAGATGGCGGA<br>GGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGAGGG<br>GCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCA<br>CCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCC<br>CTCGC                                                                                                                                                         |
| 116 | CD3 $\zeta$ 胞内结构域<br>氨基酸序列                       | RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP<br>EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKG<br>HDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 117 | ecDHFR 去稳定结构域<br>(R12Y, G67S,<br>Y100I)<br>核酸序列  | ATCAGTCTGATTGCGGCGTTAGCGGTAGATTACGTTATCGGC<br>ATGGAAAACGCCATGCCGTGGAACCTGCCTGCCGATCTCGCC<br>TGGTTTAAACGCAACACCTTAAATAAACCCGTGATTATGGGC<br>CGCCATACCTGGGAATCAATCGGTCTGTCGTTGCCAGGACGC<br>AAAAATATTATCCTCAGCAGTCAACCGAGTACGGACGATCGC<br>GTAACGTGGGTGAAGTCGGTGGATGAAGCCATCGCGGCGTGT<br>GGTGACGTACCAGAAATCATGGTGAATTGGCGGCGGTGCGGTT<br>ATTGAACAGTTCTTGCCAAAAGCGCAAAAAGTGTATCTGACG<br>CATATCGACGCAGAAAGTGAAGGCGACACCCATTTCCCGGAT<br>TACGAGCCGGATGACTGGGAATCGGTATTCAGCGAATTCCAC<br>GATGCTGATGCGCAGAACTCTCAGCTATTGCTTTGAGATTC<br>TGGAGCGGCGA |
| 118 | ecDHFR 去稳定结构域<br>(R12Y, G67S,<br>Y100I)<br>氨基酸序列 | ISLIAALAVDYVIGMENAMPWNLPAFLAWFKRNTLNKPVIMGR<br>HTWESIGRPLPGRKNILSSQPSTDDRVTWVKSVDIAACGDVP<br>EIMVIGGGRVIEQFLPKAQKLYLTHIDAEVEGDTHFPDYEPDDW<br>ESVFSEFHDADAQNSHSYCFEILERR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 119 | Her2.28z.FKBP<br>核酸序列                            | ATGCTGCTGCTCGTGACATCTCTGCTGCTGTCGAGCTGCCCC<br>ACCCCGCTTTTCTGCTGATCCCCGATATCCAGATGACCCAGTC<br>CCCGAGCTCCCTGTCCGCTCTGTGGCGGATAGGGTCAACCAT<br>CACCTGCCGTGCCAGTCAGGATGTGAATACTGCTGTAGCCTG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |

图25 (续)

|     |                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|-----|---------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|     |                                       | GTATCAACAGAAACCAGGAAAAGCTCCGAAACTACTGATTTA<br>CTCGGCATCCTTCCTTTATTCTGGAGTCCCTTCTCGCTTCTCTG<br>GATCTAGATCTGGGACGGATTTCACCTCGACCATCAGCAGTC<br>TGCAGCCGGAAGACTTCGCAACTTATTACTGTCAGCAACATT<br>ATACTACTCTCCACGTTCTGGACAGGGTACCAAGGTGGAGA<br>TCAAAGGGTCTACATCTGGATCTGGGAAGCCGGGTTCTGGTG<br>AGGGTTCTGGTGAGGTTCTAGCTGGTGGAGTCTGGCCGTGGCC<br>TGGTGCAGCCAGGGGGCTCACTCCGTTTGTCTGTGCAGCTTC<br>TGGCTTCAACATTAAAGACACCTATATACACTGGGTGCGTCA<br>GGCCCCGGGTAAGGGCCTGGAATGGGTTGCAAGGATTTATCC<br>TACGAATGGTTATACTAGATATGCCGATAGCGTCAAGGGCCG<br>TTCTACTATAAGCGCAGACACATCCAAAAACACAGCCTACCT<br>GCAGATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACACTGCCGTCTATTA<br>TTGTTCTAGATGGGGAGGGGACGGCTTCTATGCTATGGACGT<br>GTGGGGTCAAGGAACCCTGGTCAACGCTCTCTCGGCTAGCGA<br>AAAAAACTCATCTCAGAAGAGGATCTGTTTCAAATTGAAGT<br>TATGTATCCTCCTCCTTACCTAGACAATGAGAAGAGCAATGG<br>AACCATTATCCATGTGAAAGGGAAACACCTTTGTCCAAGTCC<br>CCTATTTCCCGGACCTTCTAAGCCCTTTTGGGTGCTGGTGGTG<br>GTTGGGGGAGTCTGGCTTGCTATAGCTTGCTAGTAACAGTG<br>GCCTTTATTATTTCTGGGTGAGGAGTAAGAGGAGCAGGCTC<br>CTGCACAGTGAATGACATGAACATGACTCCCCGCCGCCCGGG<br>CCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGCGAC<br>TTCGCAGCCTATCGCTCCAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCA<br>GACGCCCCCGCGTACAAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAAC<br>GAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTGGAC<br>AAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAG<br>AAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGA<br>AAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAA<br>GGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCA<br>GGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCA<br>CATGCAGGCCCTGCCCCCTCGCGGAGTGCAGGTGGAAACCAT<br>CTCCCCAGGAGACGGGCGCACCTTCCCCAAGCGCGGCCAGAC<br>CTGCGTGGTGCACTACACCGGGATGCTTGGAGATGGAAAGAA<br>AGTTGACTCCTCCCGGACAGAAACAAGCCCTTTAAGTTTAT<br>GCTAGGCAAGCAGGAGGTGATCCGAGGCTGGGAAGAAGGGG<br>TTGCCAGATTATGCCCTATGGTGCCACTGGGCACCCAGCATCA<br>TCCCACCACATGCCACTCTCGTCTTCGATGTGGAGCTTCTAGA<br>ACTGGAATGA |
| 120 | <b>Her2.28z.FKBP</b><br>氨基酸序列         | MLLLVTSLLLCELPHPAFLIPDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCR<br>ASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSG<br>TDFLTITSLQPEDFATYYCQHYTTPPTFGQGTKVEIKGSTSGS<br>GKPGSGEGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYI<br>HWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKN<br>TAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDVWGQGLVTV<br>SSASEQKLISEEDLFEIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCP<br>PLFPGPSKPFVWL VVVGGLV LACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSLH<br>SDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAP<br>AYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRGRDPEMGKPRRN<br>PQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLST<br>ATKDTYDALHMQALPPRGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHY<br>TGMLGDGKKVDSSDRNKPFFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSV<br>GQGAKLITSPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVLELE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 121 | <b>Her2.28z.FKBP</b><br>前导序列<br>核酸序列  | ATGCTGCTGCTCGTGACATCTCTGCTGCTGTGCGAGCTGCCCC<br>ACCCCGCCCTTCTGCTGATCCCC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 122 | <b>Her2.28z.FKBP</b><br>前导序列<br>氨基酸序列 | MLLLVTSLLLCELPHPAFLIP                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |

图25(续)



|     |                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|-----|------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 123 | <b>4D5 scFv (Her2 结合结构域)</b><br>核酸序列           | CAGATGACCCAGTCCCCGAGCTCCCTGTCCGCCTCTGTGGGC<br>GATAGGGTCACCATCACCTGCCGTGCCAGTCAGGATGTGAAT<br>ACTGCTGTAGCCTGGTATCAACAGAAACCAGGAAAAAGCTCCG<br>AACTACTGATTTACTCGGCATCCTTCCTTTATTCTGGAGTCC<br>CTTCTCGCTTCTCTGGATCTAGATCTGGGACGGATTCTACTCT<br>GACCATCAGCAGTCTGCAGCCGGAAGACTTCGCAACTTATTA<br>CTGTCAGCAACATTATACTACTCTCTCCACGTTCCGACAGGGT<br>ACCAAGGTGGAGATCAAAGGGTCTACATCTGGATCTGGGAAG<br>CCGGGTTCTGGTGAGGGTCTGGTGAGGTTACAGCTGGTGGAG<br>TCTGGCGGTGGCCTGGTGCAGCCAGGGGGCTCACTCCGTTTG<br>TCCTGTGCAGCTTCTGGCTTCAACATTAAAGACACCTATATAC<br>ACTGGGTGCGTCAGGCCCGGGTAAGGGCCTGGAATGGGTG<br>CAAGGATTTATCCTACGAATGGTTATACTAGATATGCCGATA<br>GCGTCAAGGGCCGTTTCACTATAAGCGCAGACACATCCAAAA<br>ACACAGCCTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGTGCTGAGGACA<br>CTGCCGTCTATTATTGTTCTAGATGGGGAGGGGACGGCTTCTA<br>TGCTATGGACGTGTGGGGTCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTC<br>CTCGGCTAGC |
| 124 | <b>4D5 scFv (Her2 结合结构域)</b><br>氨基酸序列          | QMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPK<br>LLIYSASFLYSGVPSRFSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQH<br>YTPPTFGQGTKVEIKGSTSGSKPGSGEGSEVQLVESGGGLV<br>QPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNG<br>YTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCSRW<br>GGDGFYAMDVWGQGILVTVSSAS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 125 | <b>MYC标签</b><br>核酸序列                           | GAACAAAACTCATCTCAGAAGAGGATCTG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 126 | <b>MYC标签</b><br>氨基酸序列                          | EQKLISEEDL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 127 | <b>CD28 铰链区</b><br>核酸序列                        | ATTGAAGTTATGTATCCTCCTTACCTAGACAATGAGAAG<br>AGCAATGGAACATTATCCATGTGAAAGGGAAACACCTTTGT<br>CCAAGTCCCCTATTTCCTCGGACCTTCTAAGCCC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 128 | <b>CD28 铰链区</b><br>氨基酸序列                       | IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSP LFPGPSKP                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 129 | <b>CD28 跨膜区</b><br>核酸序列                        | TTTTGGGTGCTGGTGGTGGTTGGGGGAGTCCTGGCTTGCTATA<br>GCTTGCTAGTAACAGTGGCCTTTATTATTTTCTGGGTG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 130 | <b>CD28 跨膜区</b><br>氨基酸序列                       | FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 131 | <b>CD28 胞内结构域</b><br>核酸序列                      | AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAA<br>CATGACTCCCCGCCGCCCGGGCCACCCGCAAGCATTACCA<br>GCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 132 | <b>CD28 胞内结构域</b><br>氨基酸序列                     | RSKRSRL LHS DYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 133 | <b>CD3<math>\zeta</math> 胞内结构域</b><br>核酸序列     | AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCTACAA<br>GCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACG<br>AAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGG<br>ACCCTGAGATGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAG<br>GAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGA<br>GGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGG<br>GCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCA<br>CCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCC<br>CTCGC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 134 | <b>CD3<math>\zeta</math> 胞内结构域</b><br>氨基酸序列    | RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP<br>EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKG<br>HDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 135 | <b>FKBP12 去稳定结构域 (E31G, F36V, R71G, K105E)</b> | GGAGTGCAGGTGGAAACCATCTCCCCAGGAGACGGGCGCAC<br>CTTCCCCAAGCGCGCCAGACCTGCGTGGTGCCTACACCGG<br>GATGCTTGGAGATGGAAAGAAAGTTGACTCCTCCCGGGACAG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |

图25 (续)

|     |                                                       |                                                                                                                                                                                                                     |
|-----|-------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|     | 核酸序列                                                  | AAACAAGCCCTTTAAGTTTATGCTAGGCAAGCAGGAGGTGAT<br>CCGAGGCTGGGAAGAAGGGGTTGCCAGATGAGTGTGGGTC<br>AGGGAGCCAAACTGACTATATCTCCAGATTATGCCTATGGTG<br>CCACTGGGCACCCAGGCATCATCCCACCACATGCCACTCTCG<br>TCTTCGATGTGGAGCTTCTAGAACTGGAA |
| 136 | FKBP12去稳定结构域<br>(E31G, F36V,<br>R71G, K105E)<br>氨基酸序列 | GVQVETISPGDGRTFPKRQTCVVHYTGMLGDGKKVDSSDRN<br>KPFKFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQAKLTISPDYAYGATG<br>HPGIIPPHATLVFDVELLELE                                                                                                    |

图25(续)