



(21)申請案號：108133859

(22)申請日：中華民國 104 (2015) 年 06 月 17 日

(51)Int. Cl.：

C07K16/24 (2006.01)

C07K14/705 (2006.01)

C07K14/725 (2006.01)

C12N15/62 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

(30)優先權：2014/06/18 美國 62/013,715

2015/06/15 世界智慧財產權組織 PCT/US15/35777

(71)申請人：耶奇華大學艾柏特艾因斯坦醫學院 (美國) ALBERT EINSTEIN COLLEGE OF MEDICINE OF YESHIVA UNIVERSITY (US)

美國

(72)發明人：西德爾三世 羅納德 SEIDEL, III, RONALD D. (US)；加帕洛 羅多弗 CHAPARRO, RODOLFO J. (US)；席勒瑞奇 布蘭登 HILLERICH, BRANDAN S. (US)；加佛士 史考特 GARFORTH, SCOTT J. (GB)；艾爾莫 史蒂芬 ALMO, STEVEN C. (US)

(74)代理人：林志剛

(56)參考文獻：

US 2011/0318380A1

審查人員：顏逸瑜

申請專利範圍項數：19 項 圖式數：34 共 299 頁

(54)名稱

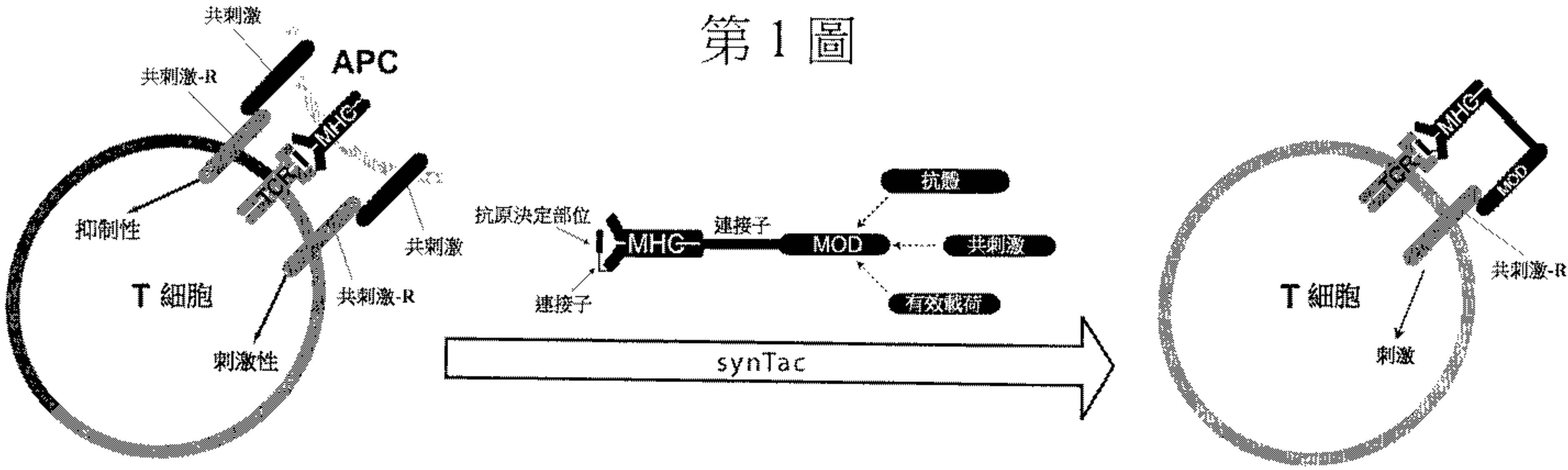
用於T細胞活化之突觸（synTac）多肽類及彼等之用途

(57)摘要

本發明提供用於選殖抑制或選殖刺激 T 細胞之方法和組成物。

Methods and compositions for clonally inhibiting or clonally stimulating T-cells are provided.

指定代表圖：



發明摘要

【發明名稱】(中文/英文)

用於 T 細胞活化之突觸 (s y n T a c) 多肽類及彼等之用途

SYNTAC POLYPEPTIDES AND USES THEREOF

【中文】

本發明提供用於選殖抑制或選殖刺激 T 細胞之方法和組成物。

【英文】

Methods and compositions for clonally inhibiting or clonally stimulating T-cells are provided.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第(1)圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：無

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

用於 T 細胞活化之突觸 (s y n T a c) 多肽類及彼等之用途

SYNTAC POLYPEPTIDES AND USES THEREOF

交叉參考資料

[0001] 本申請案主張 2014 年 6 月 18 日提出申請之美國臨時專利申請案號 62/013,715 的權益，該申請案之全部內容以引用方式被併入本文。

政府支持聲明

[0002] 本發明係在國家健康機構 NIGMS 所頒發之補助金編號 3U54GM094662-02 和 5U01GM094665-02 的資助下藉助政府的支持完成。政府對本發明具有某些權利。

以引用方式併入之以文本檔案形式提供的序列表

[0003] 序列表係以 2015 年 6 月 10 日創建，大小為 142 KB 之文本檔案“IMGN-EO03WO_ST25.txt”形式隨同本文一起提供。該文本檔案之全部內容以引用方式被併入本文。

【技術領域】

[0004] 本申請案之全文中引用之各種出版物係以方

括號指出。這些參考資料之全部引文可在本專利說明書之文末找到。這些出版物之揭示內容及本文所引用之所有專利案、專利申請出版物及書籍之全部揭示內容以引用方式被併入本申請案中，以更充分地描述與本發明相關之技藝。

【先前技術】

[0005] 過去十年，在用於發現臨床相關之生物標記物的高通量技術之研發方面的迅速進展已與生物製劑(其中該活性物質係由生物來源製造或從生物來源萃取之藥物，例如單株抗體、治療性蛋白質和肽)之逐步發展和應用並行，且已徹底改革免疫源性病況之治療。然而，目前之生物療法以彼等之合成對應物的雙倍比率(生物製品 17%，合成製品 8.5%)促成安全控管行動[1]。這被認為是從這些免疫調節生物製劑之作用模式體現：在自體免疫的情況下為全面免疫抑制(例如復邁(Humira)[2])及在治療癌症之情況下為全面免疫刺激(例如 Yervoy[3])。這些治療未適當地將免疫調節限制在致病性相關細胞上，因而使患者易發生可能之致命性感染及一系列麻煩的副作用[4-6]。此外，這些藥物之中等療效和安全性變化形廓[7]已引出近來朝向靶向治療的趨勢。第一代“靶向”生物製劑將作用針對更侷限之 T 細胞亞群(例如抗體和蛋白質治療劑，諸如抗 4-1BB、抗 CD27、LAG-3 及 TIM-3)[8-11]。然而，如同先前之療法，這些“第一代”努力仍然無法僅針對疾病

相關之細胞。

[0006] 包含適應性免疫反應之分子事件的核心為 T 細胞受體 (TCR) 與主要組織相容性複合體 (MHC) 分子所呈現之小肽抗原非共價接合。這代表免疫系統之靶向機制且為 T 細胞活化和效應子運作之必要的分子交互作用。抗原決定部位特異性細胞針對目標後，被招募之 T 細胞透過在抗原呈遞細胞上發現之共刺激分子的一般性接合被活化。二種信號對驅動 T 細胞特異性及活化或抑制都是必要的。重要的是，在 T 細胞發展期間，基因組編輯過程導致每個 T 細胞上均有獨特之 TCR 表現[12]，而該共刺激分子通常表現在所有 T 細胞(或大'T 細胞亞群')上。目前的方法幾乎完全依賴該共刺激分子之一般性接合，而導致“全面性療法”。這些全面性免疫療法非常有效，但無差別地針對 T 細胞而導致重大毒性。若共刺激分子能優先結合攜帶疾病相關 TCR 之 T 細胞，其效力將從不利推進成優點。

[0007] 現有多種調節 T 細胞的方法，其包括使用通常以 Fc 融合物形式表現之可溶性共刺激分子或能阻斷共刺激功能之針對共刺激分子的抗體[13，14]、抗體-藥物共軛結合物(ADC)[15]、雙特異性抗體(BsAb)[16，17]及游離肽抗原[18]。值得注意的是，ADC(通常稱為魔術子彈)確保將毒素(或其他藥物有效載荷)直接投遞在病理細胞之靶向投遞。然而，ADC 目前苦於缺乏用於抗體靶向之較佳的生物標記物及不良的內化率(投予之劑量被發現僅有~1.5%在腫瘤細胞內部)。雙特異性抗體提供有吸引力的機

會來結合多種單株抗體之加成和協同作用，並可用於橋聯腫瘤細胞與 T 細胞[17]，因此，不需要內化以引出反應。雖然已研發出雙特異性抗體以具有與二種不同抗原之二價交互作用[19]，這些構建體仍然缺乏模組性且與母 mAb 相較下，苦於親和力降低[20]。過繼性 T 細胞(CAR-T)療法部分解決這些問題，且為上述傳統療法之有吸引力的替代法[21]。CAR-T 利用經基因工程修飾之初級 T 細胞，該初級 T 細胞之表面上帶有嵌合型抗原受體(CAR)之轉基因：萃取患者之 T 細胞、純化及基因工程修飾以透過使用 CAR 瞄準腫瘤特異性抗原。該 CAR 通常具有針對病理細胞之外部單鏈可變結構域(抗體片段)，但底有傳統之共刺激分子細胞質結構域。一旦該經基因工程改造之 T 細胞結合靶抗原，該內部刺激性結構域提供必要的信號使 T 細胞變成完全活躍。在這種完全活躍狀態，該 T 細胞可更有效地增殖和攻擊癌細胞。調和此反應以避免細胞因子釋出症候群和相關之副作用，及目前阻止此技術進入主流使用之可擴展性問題(例如與萃取和修改 T 細胞相關之大量花費和難度)[22]。

[0008] 生物製劑(亦稱為生物藥品)為其中該活性物質係由生物來源製造或從生物來源萃取之藥物(與“小分子”藥物相反)。生物製劑新近加入全球治療市場，多半為透過基因工程製造之重組蛋白；這些包括單株抗體、治療性蛋白和肽類。目前銷售之生物藥物大多數係用於緩和罹患慢性疾病(諸如癌症、糖尿病、心血管疾病、不孕症和囊

性纖維化)之患者。2012 年全球生物藥品市場之總值為 1630 億，預計在 2017 年將達到 2520 億，支持五年複合年均增長率(compound annual growth rate)為 9%。推動此增長的為對於更多之在研藥物(drug pipeline)的需求、對抗挑戰性疾病之有吸引力的靶的之識別及追求後續生物藥品(生物仿製藥(biosimilar)、仿製生物製劑(generic biologic))之推力，其實例為近期引入之縮短的 FDA 核准通路。

[0009] 本發明解決對於用於免疫腫瘤學和自體免疫之精確治療劑的需求-與目前市場上或研發中之全面性和“偽靶向”調節劑相反之用於上調(例如在癌症的情況中)或抑制(例如在自體免疫之情況下)之訂製治療劑，該訂製治療劑係選殖上僅針對該與疾病相關之 T 細胞。

概要

【發明內容】

[0010] 本發明提供包含下列者之重組多肽：與第一 B2M 前導序列相一致之胺基酸序列，該與第一 B2M 前導序列相一致之胺基酸序列鄰接候選抗原決定部位肽，該候選抗原決定部位肽鄰接第一胺基酸連接子序列，該第一胺基酸連接子序列鄰接與人天然 B2M 肽序列相一致之胺基酸序列，該與人天然 B2M 肽序列相一致之胺基酸序列鄰接第二胺基酸連接子序列，該第二胺基酸連接子序列鄰接 T 細胞調節結構域肽序列，該 T 細胞調節結構域肽序列鄰

接第三胺基酸連接子序列，該第三胺基酸連接子序列鄰接第二 B2M 前導序列，該第二 B2M 前導序列鄰接與 MHC 重鏈相一致之胺基酸序列，該與 MHC 重鏈相一致之胺基酸序列鄰接與免疫球蛋白 Fc 結構域相一致之胺基酸序列。

[0011] 本發明亦提供包含下列者之重組多肽：與第一 B2M 前導序列相一致之胺基酸序列，該第一 B2M 前導序列鄰接候選抗原決定部位肽，該候選抗原決定部位肽鄰接第一胺基酸連接子序列，該第一胺基酸連接子序列鄰接與人天然 B2M 肽序列相一致之胺基酸序列，該與人天然 B2M 肽序列相一致之胺基酸序列鄰接第二胺基酸連接子序列，該第二胺基酸連接子序列鄰接第二 B2M 前導序列，該第二 B2M 前導序列鄰接 T 細胞調節結構域肽序列，該 T 細胞調節結構域肽序列鄰接第三胺基酸連接子，該第三胺基酸連接子鄰接與 MHC 重鏈相一致之胺基酸序列，該與 MHC 重鏈相一致之胺基酸序列鄰接與免疫球蛋白 Fc 結構域相一致之胺基酸序列。

[0012] 本發明亦提供抑制能識別抗原決定部位肽之 T 細胞選殖株的方法，其包含將該選殖株之 T 細胞與能有效抑制 T 細胞選殖株之量的如本文所描述之重組肽接觸，其中該重組肽包含該抗原決定部位肽且包含為抑制性結構域之 T 細胞調節結構域。

[0013] 本發明亦提供藉由抑制能識別抗原決定部位肽之自體反應性 T 細胞選殖株來治療自體免疫疾病之方

法，其包含將該選殖株之 T 細胞與能有效治療自體免疫疾病之量的如本文所描述之重組肽接觸，其中該重組肽包含該抗原決定部位肽且包含為抑制性結構域之 T 細胞調節結構域。

[0014] 本發明亦提供刺激能識別抗原決定部位肽之 T 細胞選殖株的方法，其包含將該選殖株之 T 細胞與能有效刺激 T 細胞選殖株之量的如本文所描述之重組肽接觸，其中該重組肽包含該抗原決定部位肽且包含為刺激性結構域之 T 細胞調節結構域。

[0015] 本發明亦提供藉由刺激能識別在癌症上之抗原決定部位肽的 T 細胞選殖株來治療癌症之方法，其包含將該選殖株之 T 細胞與能有效治療癌症之量的如本文所描述之重組肽接觸，其中該重組肽包含該抗原決定部位肽且包含為刺激性結構域之 T 細胞調節結構域。

[0016] 本發明亦提供重組多肽構建體，其包含(i)與第一胺基酸連接子序列結合之候選抗原決定部位肽，該第一胺基酸連接子序列鄰接包含與人天然 B2M 肽序列相一致之序列的胺基酸序列，該包含與人天然 B2M 肽序列相一致之序列的胺基酸序列鄰接第二胺基酸連接子序列，該第二胺基酸連接子序列鄰接 T 細胞調節結構域肽，其中(i)係藉由一個或一個以上之二硫鍵與(ii)結合，該(ii)包含具有 MHC 重鏈序列之胺基酸序列，該具有 MHC 重鏈序列之胺基酸序列鄰接第三胺基酸連接子序列，該第三胺基酸連接子序列鄰接與免疫球蛋白 Fc 結構域相一致之胺基酸

序列。

[0017] 本發明亦提供重組多肽構建體，其包含(i) 與第一胺基酸連接子序列結合之候選抗原決定部位肽，該第一胺基酸連接子序列鄰接包含與人天然 B2M 肽序列相一致之序列的胺基酸序列，其中(i)係藉由一個或一個以上之二硫鍵與(ii)結合，該(ii)包含 T 細胞調節結構域肽，該 T 細胞調節結構域肽鄰接第二胺基酸連接子序列，該第二胺基酸連接子序列鄰接具有 MHC 重鏈序列之胺基酸序列，該具有 MHC 重鏈序列之胺基酸序列鄰接第三胺基酸連接子序列，該第三胺基酸連接子序列鄰接與免疫球蛋白 Fc 結構域相一致之胺基酸序列。

[0018] 本發明亦提供包含二個本文所描述之重組多肽構建體的蛋白質，該二個構建體係藉由一或多個介於彼等之各別免疫球蛋白 Fc 結構域之間的二硫鍵聯結。

[0019] 本發明亦提供包含二個本文所描述之重組多肽構建體的蛋白質，該二個構建體係藉由一或多個介於彼等之各別免疫球蛋白 Fc 結構域之間的二硫鍵聯結。

[0020] 本發明提供藉由異源核酸轉導或以異源核酸轉染之經分離的懸浮適應細胞(suspension adapted cell)，其依 5'至 3'之順序包含編碼如本文所描述之重組多肽的序列。

[0021] 本發明提供包含下列者之重組多肽：與第一 B2M 前導序列相一致之胺基酸序列，該與第一 B2M 前導序列相一致之胺基酸序列鄰接候選抗原決定部位肽，該候

選抗原決定部位肽鄰接第一胺基酸連接子序列，該第一胺基酸連接子序列鄰接與人天然 B2M 肽序列相一致之胺基酸序列，該與人天然 B2M 肽序列相一致之胺基酸序列鄰接第二胺基酸連接子序列，該第二胺基酸連接子序列鄰接 T 細胞調節結構域肽序列，該 T 細胞調節結構域肽序列鄰接第三胺基酸連接子序列，該第三胺基酸連接子序列鄰接第二 B2M 前導序列，該第二 B2M 前導序列鄰接與 MHC 重鏈相一致之胺基酸序列，該與 MHC 重鏈相一致之胺基酸序列鄰接與免疫球蛋白 Fc 結構域相一致之胺基酸序列。於一些情況中，該候選抗原決定部位包含 7 至 20 個胺基酸。於一些情況中，該第三胺基酸連接子為自裂解的。於一些情況中，該第二胺基酸連接子為自裂解的。於一些情況中，該自裂解肽為病毒 2A 肽或具有其序列。於一些情況中，該第一及/或第二 B2M 前導序列具有人 B2M 前導序列之序列。於一些情況中，該 MHC 重鏈為人 MHC 重鏈。於一些情況中，該 MHC 重鏈為 MHC I 分子。於一些情況中，該 MHC 重鏈為 HLA-A02：01。於一些情況中，該 MHC 重鏈為 MHC II 分子。於一些情況中，該免疫球蛋白 Fc 結構域為 IgG Fc 結構域。於一些情況中，該免疫球蛋白 Fc 結構域為 IgA Fc 結構域。於一些情況中，該免疫球蛋白 Fc 結構域為 IgM Fc 結構域。於一些情況中，該免疫球蛋白 Fc 結構域為人免疫球蛋白 Fc 結構域。於一些情況中，該免疫球蛋白 Fc 結構域為 IgG1 Fc 結構域。於一些情況中，該重組多肽包含與其 C-端鄰接之

His-8 標記物。於一些情況中，該 T 細胞調節結構域為抑制性結構域。於一些情況中，該 T 細胞調節結構域為刺激性結構域。於一些情況中，該 T 細胞調節結構域為抗體和抗體片段、肽配體、T 細胞共刺激肽、細胞因子或毒素。於一些情況中，該 T 細胞調節結構域包含 PD-L1 肽、PD-L1 肽之 Ig 可變結構域，該 T 細胞調節結構域包含 4-1BBL，該 T 細胞調節結構域包含 B7-1W88A 或者該 T 細胞調節結構域包含抗 CD28 單鏈 Fv。於一些情況中，該重組多肽在其人天然 B2M 肽序列及其重鏈序列中包含突變從而使介於該 B2M 肽序列和重鏈序列之間的二硫鍵發生作用。

[0022] 本發明提供包含下列者之重組多肽：與第一 B2M 前導序列相一致之胺基酸序列，該與第一 B2M 前導序列相一致之胺基酸序列鄰接候選抗原決定部位肽，該候選抗原決定部位肽鄰接第一胺基酸連接子序列，該第一胺基酸連接子序列鄰接與人天然 B2M 肽序列相一致之胺基酸序列，該與人天然 B2M 肽序列相一致之胺基酸序列鄰接第二胺基酸連接子序列，該第二胺基酸連接子序列鄰接第二 B2M 前導序列，該第二 B2M 前導序列鄰接 T 細胞調節結構域肽序列，該 T 細胞調節結構域肽序列鄰接第三胺基酸連接子，該第三胺基酸連接子鄰接與 MHC 重鏈相一致之胺基酸序列，該與 MHC 重鏈相一致之胺基酸序列鄰接與免疫球蛋白 Fc 結構域相一致之胺基酸序列。於一些情況中，該候選抗原決定部位包含 7 至 20 個胺基酸。於

一些情況中，該第三胺基酸連接子為自裂解的。於一些情況中，該第二胺基酸連接子為自裂解的。於一些情況中，該自裂解肽為病毒 2A 肽或具有其序列。於一些情況中，該第一及/或第二 B2M 前導序列具有人 B2M 前導序列之序列。於一些情況中，該 MHC 重鏈為人 MHC 重鏈。於一些情況中，該 MHC 重鏈為 MHC I 分子。於一些情況中，該 MHC 重鏈為 HLA-A02:01。於一些情況中，該 MHC 重鏈為 MHC II 分子。於一些情況中，該免疫球蛋白 Fc 結構域為 IgG Fc 結構域。於一些情況中，該免疫球蛋白 Fc 結構域為 IgA Fc 結構域。於一些情況中，該免疫球蛋白 Fc 結構域為 IgM Fc 結構域。於一些情況中，該免疫球蛋白 Fc 結構域為人免疫球蛋白 Fc 結構域。於一些情況中，該免疫球蛋白 Fc 結構域為 IgG1 Fc 結構域。於一些情況中，該重組多肽包含與其 C-端鄰接之 His-8 標記物。於一些情況中，該 T 細胞調節結構域為抑制性結構域。於一些情況中，該 T 細胞調節結構域為刺激性結構域。於一些情況中，該 T 細胞調節結構域為抗體和抗體片段、肽配體、T 細胞共刺激肽、細胞因子或毒素。於一些情況中，該 T 細胞調節結構域包含 PD-L1 肽、PD-L1 肽之 Ig 可變結構域，該 T 細胞調節結構域包含 4-1BBL，該 T 細胞調節結構域包含 B7-1W88A 或者該 T 細胞調節結構域包含抗 CD28 單鏈 Fv。於一些情況中，該重組多肽在其人天然 B2M 肽序列及其重鏈序列中包含突變從而使介於該 B2M 肽序列和重鏈序列之間的二硫鍵發生作用。

[0023] 於一些情況中，該重組多肽在其人天然 B2M 肽序列及其重鏈序列中包含突變從而使介於該 B2M 肽序列和重鏈序列之間的二硫鍵發生作用。於一些情況中，該重鏈序列為 HLA 且其中該二硫鍵聯接下列殘基對的其中一者：B2M 殘基 12，HLA 殘基 236；B2M 殘基 12，HLA 殘基 237；B2M 殘基 8，HLA 殘基 234；B2M 殘基 10，HLA 殘基 235；B2M 殘基 24，HLA 殘基 236；B2M 殘基 28，HLA 殘基 232；B2M 殘基 98，HLA 殘基 192；B2M 殘基 99，HLA 殘基 234；B2M 殘基 3，HLA 殘基 120；B2M 殘基 31，HLA 殘基 96；B2M 殘基 53，HLA 殘基 35；B2M 殘基 60，HLA 殘基 96；B2M 殘基 60，HLA 殘基 122；B2M 殘基 63，HLA 殘基 27；B2M 殘基 Arg3，HLA 殘基 Gly120；B2M 殘基 His31，HLA 殘基 Gln96；B2M 殘基 Asp53，HLA 殘基 Arg35；B2M 殘基 Trp60，HLA 殘基 Gln96；B2M 殘基 Trp60，HLA 殘基 Asp122；B2M 殘基 Tyr63，HLA 殘基 Tyr27；B2M 殘基 Lys6，HLA 殘基 Glu232；B2M 殘基 Gln8，HLA 殘基 Arg234；B2M 殘基 Tyr10，HLA 殘基 Pro235；B2M 殘基 Ser11，HLA 殘基 Gln242；B2M 殘基 Asn24，HLA 殘基 Ala236；B2M 殘基 Ser28，HLA 殘基 Glu232；B2M 殘基 Asp98，HLA 殘基 His192；和 B2M 殘基 Met99，HLA 殘基 Arg234。

[0024] 於一些情況中，該重組多肽在其人天然 B2M 肽序列及其重鏈序列中包含突變從而使介於該 B2M 肽序列和重鏈序列之間的二硫鍵發生作用。於一些情況中，該

重鏈序列為 HLA 且其中該二硫鍵聯接下列殘基對的其中之一者：第一連接子位置 Gly2，重鏈(HLA)位置 Tyr84；輕鏈(B2M)位置 Arg12，HLA A1a236；及/或 B2M 殘基 Arg12，HLA 殘基 Gly237。

[0025] 於一些情況中，該 T 細胞調節結構域為抑制性結構域。於一些情況中，該 T 細胞調節結構域為刺激性結構域。於一些情況中，該 T 細胞調節結構域為抗體和抗體片段、肽配體、T 細胞共刺激肽、細胞因子或毒素。於一些情況中，該 T 細胞調節結構域包含 PD-L1 肽、PD-L1 肽之 Ig 可變結構域，該 T 細胞調節結構域包含 4-1BBL，該 T 細胞調節結構域包含 B7-1W88A 或者該 T 細胞調節結構域包含抗 CD28 單鏈 Fv。

[0026] 本發明提供編碼上文或本文他處所描述之任一重組多肽的核酸。本發明提供以編碼上文或本文他處所描述之任一重組多肽的核酸轉化的細胞。

[0027] 本發明提供抑制能識別抗原決定部位肽之 T 細胞選殖株的方法，其包含將該選殖株之 T 細胞與能有效抑制 T 細胞選殖株之量的上文或本文他處所描述之任一重組多肽接觸，其中該重組肽包含該抗原決定部位肽且包含為抑制性結構域之 T 細胞調節結構域。

[0028] 本發明提供藉由抑制能識別抗原決定部位肽之自體反應性 T 細胞選殖株來治療自體免疫病症之方法，其包含將該選殖株的 T 細胞與能有效治療自體免疫病症之量的上文或本文他處所描述之任一重組多肽接觸，其中該

重組肽包含該抗原決定部位肽且包含為抑制性結構域之 T 細胞調節結構域。

[0029] 本發明提供刺激能識別抗原決定部位肽之 T 細胞選殖株的方法，其包含將該選殖株的 T 細胞與能有效刺激 T 細胞選殖株之量的上文或本文他處所描述之任一重組多肽接觸，其中該重組肽包含該抗原決定部位肽且包含為刺激性結構域的 T 細胞調節結構域。

[0030] 本發明提供藉由刺激能識別在癌症上之抗原決定部位肽的 T 細胞選殖株來治療癌症的方法，其包含將該選殖株的 T 細胞與能有效治療該癌症之量的上文或本文他處所描述之任一重組多肽接觸，其中該重組肽包含該抗原決定部位肽且包含為刺激性結構域之 T 細胞調節結構域。

[0031] 本發明提供重組多肽構建體，其包含(i)與第一胺基酸連接子序列結合之候選抗原決定部位肽，該第一胺基酸連接子序列鄰接包含與人天然 B2M 肽序列相一致之序列的胺基酸序列，該包含與人天然 B2M 肽序列相一致之序列的胺基酸序列鄰接第二胺基酸連接子序列，該第二胺基酸連接子序列鄰接 T 細胞調節結構域肽，其中(i)係藉由一個或一個以上之二硫鍵與(ii)結合，該(ii)包含具有 MHC 重鏈序列之胺基酸序列，該具有 MHC 重鏈序列之胺基酸序列鄰接第三胺基酸連接子序列，該第三胺基酸連接子序列鄰接與免疫球蛋白 Fc 結構域相一致之胺基酸序列。本發明提供包含二個重組多肽構建體之蛋白質，該二

個重組多肽構建體係藉由一或多個介於彼等之各別免疫球蛋白 Fc 結構域之間的二硫鍵聯結。

[0032] 本發明亦提供重組多肽構建體，其包含(i) 與第一胺基酸連接子序列結合之候選抗原決定部位肽，該第一胺基酸連接子序列鄰接包含與人天然 B2M 肽序列相一致之序列的胺基酸序列，其中(i)係藉由一個或一個以上之二硫鍵與(ii)結合，該(ii)包含 T 細胞調節結構域肽，該 T 細胞調節結構域肽鄰接第二胺基酸連接子序列，該第二胺基酸連接子序列鄰接具有 MHC 重鏈序列之胺基酸序列，該具有 MHC 重鏈序列之胺基酸序列鄰接第三胺基酸連接子序列，該第三胺基酸連接子序列鄰接與免疫球蛋白 Fc 結構域相一致之胺基酸序列。本發明提供包含二個重組多肽構建體之蛋白質，該二個重組多肽構建體係藉由一或多個介於彼等之各別免疫球蛋白 Fc 結構域之間的二硫鍵聯結。

[0033] 本發明提供包含至少一個第一多肽和第二多肽之多聚體多肽，其中該第一多肽依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 抗原決定部位；及 ii) 第一主要組織相容性複合體(major histocompatibility complex)(MHC)多肽；且其中該第二多肽依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第二 MHC 多肽；及 ii) 免疫球蛋白(Ig)Fc 多肽，其中該多聚體多肽在該第一多肽之 C 端或該第二多肽之 N 端包含免疫調節結構域。本發明提供包含編碼該多聚體多肽之核苷酸序列的核酸。本發明提供包含該核酸之重組表現載體。本發明

提供經基因工程修飾之宿主細胞，其中該經基因工程修飾之宿主細胞係經本發明之核酸或本發明之重組表現載體基因工程修飾。本發明提供包含該多聚體多肽之組成物，包括醫藥組成物。本發明提供調節 T 細胞之活性的方法，該方法涉及將 T 細胞與本發明之多聚體多肽接觸。本發明提供治療方法，該方法涉及投予有此需要之個體有效量之本發明之多聚體多肽。本發明提供含有本發明之多聚體多肽或包含本發明之多聚體多肽的組成物(例如醫藥組成物)之容器。

[0034] 本發明提供一種多聚體多肽，其包含：a)第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 抗原決定部位；和 ii) 第一 MHC 多肽；及 b)第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 免疫調節結構域；ii) 第二 MHC 多肽；及 iii) Ig Fc 多肽。本發明提供一種多聚體多肽，其包含：a)第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 抗原決定部位；ii) 第一 MHC 多肽；和 iii) 免疫調節結構域；及 b)第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第二 MHC 多肽；和 ii) 免疫球蛋白(Ig)Fc 多肽。於一些情況中，該第一 MHC 多肽為 $\beta 2$ 微球蛋白多肽；且其中該第二 MHC 多肽為第 I 型 MHC 重鏈多肽。於一些情況中，該 $\beta 2$ 微球蛋白多肽包含與 SEQ ID NO：4 所列之胺基酸序列具有至少 85%胺基酸序列同一性的胺基酸序列。於一些情況中，該第 I 型 MHC 重鏈多肽為 HLA-A、HLA-B 或 HLA-C 重鏈。於一些情況中，該第 I 型 MHC 重鏈多肽包

含與 SEQ ID NO: 5 所列之胺基酸序列具有至少 85%、至少 90%、至少 95% 或 100% 胺基酸序列同一性的胺基酸序列。於一些情況中，該第一 MHC 多肽為第 II 型 MHC α 鏈多肽；且其中該第二 MHC 多肽為第 II 型 MHC β 鏈多肽。於一些情況中，該抗原決定部位為 T 細胞抗原決定部位。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG1 Fc 多肽、IgG2 Fc 多肽、IgG3 Fc 多肽、IgG4 Fc 多肽、IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽包含與 24A-24C 圖中所描述之胺基酸序列具有至少 85%、至少 90%、至少 95% 或 100% 胺基酸序列同一性的胺基酸序列。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽係非共價性聯結。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽係共價性聯結。於一些情況中，該共價鍵聯係經由二硫鍵。於一些情況中，該第一 MHC 多肽或介於該抗原決定部位與第一 MHC 多肽之間的連接子包含胺基酸取代以提供第一 Cys 殘基，該第二 MHC 多肽包含胺基酸取代以提供第二 Cys 殘基，且其中該二硫鍵聯係介於該第一和第二 Cys 殘基之間。於一些情況中，該多聚體多肽包含介於該抗原決定部位與第一 MHC 多肽之間的第一連接子。於一些情況中，該免疫調節多肽係選自：4-1BBL 多肽、B7-1 多肽、B7-2 多肽、ICOS-L 多肽、OX-40L 多肽、CD80 多肽、CD86 多肽、PD-L1 多肽、FasL 多肽及 PD-L2 多肽。於一些情況中，該第一多肽或第二多肽包含二或多個免疫調節多肽。於一些情況中，該 2 或多個免疫調節多肽為串列的。於一些情

況中，該多聚體多肽包含第三多肽，其中該第三多肽包含免疫調節多肽，此免疫調節多肽包含與該第一多肽之免疫調節多肽具有至少 90% 胺基酸序列同一性的胺基酸序列。於一些情況中，該第三多肽係與該第一多肽共價連接。於一些情況中，其中該第二多肽依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第二 MHC 多肽；ii) 免疫球蛋白(Ig)Fc 多肽；和 iii) 親和標記物。

[0035] 本發明提供一種多聚體多肽，其包含：a) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 抗原決定部位；ii) 第一 MHC 多肽；和 b) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第二 MHC 多肽；及 ii) 選擇性地，Ig Fc 多肽或非 Ig 支架，其中該多聚體多肽選擇性地包含免疫球蛋白(Ig)Fc 多肽或非 Ig 支架，其中該多聚體多肽包含一或多個免疫調節結構域，其中該一或多個免疫調節結構域為：A) 在第一多肽之 C 端；B) 在第二多肽之 N 端；C) 在第二多肽之 C 端；或 D) 在第一多肽之 C 端和第二多肽之 N 端。於一些情況中，多聚體多肽包含單一免疫調節多肽。於一些情況中，多聚體多肽包含二個免疫調節多肽(例如同一免疫調節多肽的二個複本)。於一些情況中，多聚體多肽包含三個免疫調節多肽(例如同一免疫調節多肽的三個複本)。於一些情況中，多聚體多肽包括四個免疫調節多肽(例如同一免疫調節多肽的四個複本)。於一些情況中，多聚體多肽包含單一免疫調節多肽。於一些情況中，多聚體多肽包含二個免疫調節多肽(例如同一免

疫調節多肽的二個複本)。於一些情況中，多聚體多肽包含三個免疫調節多肽(例如同一免疫調節多肽的三個複本)。於一些情況中，多聚體多肽包括四個免疫調節多肽(例如同一免疫調節多肽的四個複本)。於一些情況中，該多聚體多肽包含：a)第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 抗原決定部位；ii) 第一 MHC 多肽；和 iii) 免疫調節結構域；及 b)第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含 i) 第二 MHC 多肽；和 ii) Ig Fc 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽包含：a)第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 抗原決定部位；和 ii) 第一 MHC 多肽；及 b)第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 免疫調節結構域；ii) 第二 MHC 多肽；和 iii) 免疫球蛋白(Ig)Fc 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽包含：a)第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 抗原決定部位；和 ii) 第一 MHC 多肽；及 b)第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第二 MHC 多肽；和 ii) Ig Fc 多肽；及 iii) 免疫調節結構域。於一些情況中，該多聚體多肽包含：a)第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 抗原決定部位；和 ii) 第一 MHC 多肽；及 b)第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第二 MHC 多肽；和 ii) 免疫調節結構域。於一些情況中，該多聚體多肽包含：a)第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 抗原決定部位；和 ii) 第一 MHC 多肽；及 b)第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 免疫調節結構域；和

ii) 第二 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽包含：a)第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 抗原決定部位；ii) 第一 MHC 多肽；和 iii) 免疫調節結構域；及 b)第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第二 MHC 多肽。於一些情況中，該非 Ig 支架為 XTEN 多肽、轉鐵蛋白(transferrin)多肽、Fc 受體多肽、彈性蛋白樣多肽、絲綢樣多肽或絲綢彈性蛋白樣多肽。於一些情況中，該第一 MHC 多肽為 $\beta 2$ 微球蛋白多肽；且其中該第二 MHC 多肽為第 I 型 MHC 重鏈多肽。於一些情況中，該 $\beta 2$ 微球蛋白多肽包含與 SEQ ID NO：4 所列之胺基酸序列具有至少 85%胺基酸序列同一性的胺基酸序列。於一些情況中，該第 I 型 MHC 重鏈多肽為 HLA-A、HLA-B 或 HLA-C 重鏈。於一些情況中，該第 I 型 MHC 重鏈多肽包含與 SEQ ID NO：5 所列之胺基酸序列具有至少 85%胺基酸序列同一性的胺基酸序列。於一些情況中，該第一 MHC 多肽為第 II 型 MHC α 鏈多肽；且其中該第二 MHC 多肽為第 II 型 MHC β 鏈多肽。於一些情況中，該抗原決定部位為 T 細胞抗原決定部位。於一些情況中，該多聚體多肽包含 Fc 多肽，且其中該 Ig Fc 多肽為 IgG1 Fc 多肽、IgG2 Fc 多肽、IgG3 Fc 多肽、IgG4 Fc 多肽、IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽包含與第 24A-24C 圖中所描述之胺基酸序列具有至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 100%胺基酸序列同一性的胺基酸序列。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽係非共

價聯結。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽係共價聯結。於一些情況中，該共價鍵聯係經由二硫鍵。於一些情況中，該第一 MHC 多肽或介於該抗原決定部位與第一 MHC 多肽之間的連接子包含胺基酸取代以提供第一 Cys 殘基，該第二 MHC 多肽包含胺基酸取代以提供第二 Cys 殘基，且其中該二硫鍵聯係介於該第一和第二 Cys 殘基之間。於一些情況中，該多聚體多肽包含介於抗原決定部位和第一 MHC 多肽之間的第一連接子。於一些情況中，該免疫調節多肽係選自：4-1BBL 多肽、B7-1 多肽、B7-2 多肽、ICOS-L 多肽、OX-40L 多肽、CD80 多肽、CD86 多肽、PD-L1 多肽、FasL 多肽及 PD-L2 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽包含 2 或多個免疫調節多肽。於一些情況中，該 2 或多個免疫調節多肽為串聯的。於一些情況中，該多聚體多肽包含第三多肽，其中該第三多肽包含免疫調節多肽，此免疫調節多肽包含與該第一多肽或第二多肽之免疫調節多肽具有至少 90% 胺基酸序列同一性的胺基酸序列。於一些情況中，該第三多肽係與第一多肽共價連接。於一些情況中，該第二多肽依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第二 MHC 多肽；ii) Ig Fc 多肽；和 iii) 親和標記物。

[0036] 本發明提供包含編碼本發明之多聚體多肽的多肽鏈之核苷酸序列的核酸；於一些情況中，該核酸係存在於重組表現載體中。本發明提供包含編碼重組多肽之核苷酸序列的核酸，i) 其中該重組多肽依從 N 端至 C 端之順

序包含：a)抗原決定部位；b)第一 MHC 多肽；c)免疫調節多肽；d)蛋白水解可裂解之連接子或核糖體跳躍信號；e)第二 MHC 多肽；和 f)免疫球蛋白(Ig) Fc 多肽或基於非 Ig 之支架；或 ii)其中該重組多肽依從 N 端至 C 端之順序包含：a)抗原決定部位；b)第一 MHC 多肽；c)蛋白水解可裂解之連接子或核糖體跳躍信號；d)免疫調節多肽；e)第二 MHC 多肽；和 f)Ig Fc 多肽或基於非 Ig 之支架。於一些情況中，該第一 MHC 多肽為 $\beta 2$ 微球蛋白多肽；且其中該第二 MHC 多肽為第 I 型 MHC 重鏈多肽。於一些情況中，該 $\beta 2$ 微球蛋白多肽包含與 SEQ ID NO：4 所列之胺基酸序列具有至少 85%胺基酸序列同一性的胺基酸序列。於一些情況中，該第 I 型 MHC 重鏈多肽為 HLA-A、HLA-B 或 HLA-C 重鏈。於一些情況中，該第 I 型 MHC 重鏈多肽包含與 SEQ ID NO：5 所列之胺基酸序列具有至少 85%胺基酸序列同一性的胺基酸序列。於一些情況中，該第一 MHC 多肽為第 II 型 MHC α 鏈多肽；且其中該第二 MHC 多肽為第 II 型 MHC β 鏈多肽。於一些情況中，該抗原決定部位為 T 細胞抗原決定部位。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG1 Fc 多肽、IgG2 Fc 多肽、IgG3 Fc 多肽、IgG4 Fc 多肽、IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽包含與 24A-24C 圖中所描述之胺基酸序列具有至少 85%胺基酸序列同一性的胺基酸序列。於一些情況中，該免疫調節多肽係選自：4-1BBL 多肽、B7-1 多肽、B7-2 多肽、ICOS-L 多肽、OX-40L 多肽、CD80 多肽、

CD86 多肽、PD-L1 多肽、FasL 多肽及 PD-L2 多肽。於一些情況中，該免疫調節多肽係選自：CD7、CD30L、CD40、CD70、CD83、HLA-G、MICA、MICB、HVEM、淋巴毒素(lymphotoxin) β 受體、3/TR6、ILT3、ILT4 及 HVEM。於一些情況中，該蛋白水解可裂解之連接子或核糖體跳躍信號包含選自下列群組之胺基酸序列：a) LEVLFQGP (SEQ ID NO：37)；b) ENLYTQS (SEQ ID NO：34)；c) 弗林蛋白酶(furin)裂解位點；d) LVPR (SEQ ID NO：36)；e) GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO：64)；f) GSGEGRGSLTCTGDVEENPGP (SEQ ID NO：65)；g) GSGQCTNYALLKLAGDVESNP GP (SEQ ID NO：66)；及 h) GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNP GP (SEQ ID NO：67)。於一些情況中，該重組多肽依從 N 端至 C 端之順序包含：a)第一前導肽；b)抗原決定部位；c)第一 MHC 多肽；d)免疫調節多肽；e)蛋白水解可裂解之連接子或核糖體跳躍信號；f)第二前導肽；g)第二 MHC 多肽；和 h)免疫球蛋白(Ig)Fc 多肽。於一些情況中，該第一前導肽和第二前導肽為 β 2-M 前導肽。於一些情況中，核苷酸序列係可操作地連接轉錄控制元件。於一些情況中，該轉錄控制元件為在真核細胞中作用之啟動子。於一些情況中，該第一 MHC 多肽或介於該抗原決定部位和第一 MHC 多肽之間的連接子包含胺基酸取代以提供第一 Cys 殘基，該第二 MHC 多肽包含胺基酸取代以提供第二 Cys 殘基，且其中該第一和第二 Cys 殘基提供介於該第一

MHC 多肽和第二 MHC 多肽之間的二硫鍵。本發明提供包含上文或本文他處所描述之任一核酸的重組表現載體。於一些情況中，該重組表現載體為病毒載體。於一些情況中，該重組表現載體為非病毒載體。本發明提供經如上文或本文他處所描述之重組表現載體基因工程修飾的宿主細胞。於一些情況中，該宿主細胞係在試管內。於一些情況中，該宿主細胞係經基因工程修飾從而使該細胞不會製造內源性 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽。於一些情況中，該宿主細胞為 T 淋巴細胞。

[0037] 本發明提供一種組成物，其包含：a) 第一核酸，其包含編碼第一多肽之核苷酸序列，該第一多肽依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 抗原決定部位；ii) 第一 MHC 多肽；和 iii) 免疫調節結構域；及 b) 包含編碼第二多肽之核苷酸序列的第一核酸，該第二多肽依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第二 MHC 多肽；和 ii) Ig Fc 多肽或基於非 Ig 之支架。本發明提供一種組成物，其包含：a) 第一核酸，其包含編碼第一多肽之核苷酸序列，該第一多肽依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 抗原決定部位；和 ii) 第一 MHC 多肽；及 b) 包含編碼第二多肽之核苷酸序列的第一核酸，該第二多肽依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 免疫調節結構域；ii) 第二 MHC 多肽；和 iii) Ig Fc 多肽。於一些情況中，該第一及/或第二核酸係存在於重組表現載體中。本發明提供經上文或本文他處所描述之核酸組成物基因工程修飾的宿主細胞。

[0038] 本發明提供製造如上文或本文他處所描述之多聚體多肽的方法，該方法包含：a) 令如上文或本文他處所描述之宿主細胞在能使該宿主細胞合成該多聚體多肽的條件下培養在試管之培養基；及 b) 從宿主細胞及/或培養基分離該多聚體多肽。於一些情況中，該第二多肽包含親和標記物且其中該分離步驟包括將該由細胞製造之多聚體多肽與用於該親和標記物之結合配體(binding partner)接觸，其中該結合配體係被固定化，從而固定該多聚體多肽。於一些情況中，該方法包含將該經固定之多聚體多肽洗提出。

[0039] 本發明提供選擇性調節抗原決定部位特異性 T 細胞之活性的方法，該方法包含將該 T 細胞與如上文或本文他處所描述之多聚體多肽接觸，其中該接觸選擇性地調節該抗原決定部位特異性 T 細胞之活性。於一些情況中，該免疫調節多肽為活化多肽且其中該多聚體多肽活化該抗原決定部位特異性 T 細胞。於一些情況中，該免疫調節多肽為抑制多肽，且其中該多聚體多肽抑制該抗原決定部位特異性 T 細胞。於一些情況中，該接觸係在玻管內進行。於一些情況中。該接觸係在活體內進行。

[0040] 本發明提供選擇性調節個體中之抗原決定部位特異性 T 細胞之活性的方法，該方法包含投予該個體有效量之如上文或本文他處所描述之多聚體多肽，該有效量之多聚體多肽能有效選擇性地調節個體中之抗原決定部位特異性 T 細胞之活性。於一些情況中，該免疫調節多肽為

活化多肽，且其中該多聚體多肽活化該抗原決定部位特異性 T 細胞。於一些情況中，該抗原決定部位為與癌症相關之抗原決定部位，且其中該投藥選擇性地增加特異於該與癌症相關之抗原決定部位的 T 細胞之活性。於一些情況中，該免疫調節多肽為抑制性多肽，且其中該多聚體多肽抑制該抗原決定部位特異性 T 細胞之活性。於一些情況中，該抗原決定部位為自體抗原決定部位，且其中該投藥選擇性地抑制特異於該自體抗原決定部位之 T 細胞的活性。

[0041] 本發明提供治療個體之感染的方法，該方法包含投予該個體有效量之 a) 如上文或本文他處所描述之多聚體多肽；或 b) 一或多個包含編碼該多聚體多肽之核苷酸序列的重組表現載體；或 c) 一或多個包含編碼該多聚體多肽之核苷酸序列的 mRNA，其中該抗原決定部位為病原體相關之抗原決定部位，其中該免疫調節多肽為活化多肽，且其中該投予能有效選擇性地調節個體特異於與病原體相關之抗原決定部位的 T 細胞之活性。於一些情況中，該病原體為病毒、細菌或原生動物。於一些情況中，該投予為皮下投予(即，該投予係經由皮下投予進行)。於一些情況中，該投予為靜脈內投予(即，該投予係經由靜脈內投予進行)。於一些情況中，該投予為肌肉內投予(即，該投予係經由肌肉內投予進行)。於一些情況中，該投予為全身性的。於一些情況中，該投予係在治療部位遠端(即，該投予係經由皮下投予進行)，該投予為局部投予

(即，該投予係經由皮下投予進行)，該投予係在治療部位或接近治療部位進行。

[0042] 本發明提供一種組成物，其包含：a) 如上文或本文他處所描述之多聚體多肽；及 b) 醫藥上可接受之賦形劑。

[0043] 本發明提供一種組成物，其包含：a) 如上文或本文他處所描述之核酸或如上文或本文他處所描述之重組表現載體；及 b) 醫藥上可接受之賦形劑。

【圖式簡單說明】

[0044] 第 1 圖：SynTac：用於 T 細胞活化之人工免疫突觸。左側圖板描繪用於 T 細胞活化之傳統二-信號假說。即，透過 T 細胞和抗原呈遞細胞(APC)之間的獨特 TCR：MHC-抗原決定部位交互作用進行靶的 T 細胞接合，隨後透過共刺激分子接合進行刺激或抑制。中間圖板為 synTac 分子之示意圖，隨後為 synTac(右)之作用模式。類似於自然反應(左)，該 synTac 融合蛋白透過 MHC-抗原決定部位而容許高度特異性細胞之靶向作用。隨後為 T 細胞調節結構域(“MOD”)，其經由共刺激分子接合來作用，且能提供活化或抑制作用。此引出選殖株，而非全面性之 T 細胞反應。值得注意的是，該 MOD 可為任何已知或核准之抗體、抗體片段—共刺激分子或其他文獻驗證之有效載荷(細胞因子、毒素，等)以及新加入項。

[0045] 第 2A-2C 圖：構建 SynTac Fc 融合物。一種

策略係利用構建 Fc 融合物來增加該相關產品之效價、穩定性和治療窗。簡單地說，該 Fc 區為天然共價同型二聚體，其係透過二個完全相同之免疫球蛋白 CH₂-CH₃ 結構域交互作用形成(稱為 Fc)，並透過二個介於 CH₂ 結構域之間的二硫鍵穩定化(以二條細線顯示)。第 2A 圖顯示出單鏈肽 MHC 蛋白質，其羧基端連接 IgG Fc 區。為了引入替代之蛋白鏈聯(諸如 MOD)，將該構建體拆分成各別之重鏈和輕鏈，並將肽和蛋白質二者融合至不同端。一種構建法(第 2B 圖)導致該肽之胺基端聯結至輕鏈(β 2 微球蛋白，B2M)，其後為該輕鏈延伸至 MOD 效應分子之羧基端。在此情況中，該重鏈(HLA-分子，HC)係融合至 Fc 區。構建體係透過二硫橋(標記為 SS)共價連接。一種替代方位(第 2C 圖)係將 Fc 之 MOD 胺基端與重鏈融合，但該肽仍連接 B2M 輕鏈。

[0046] 第 3A-3B 圖：二種基礎 synTac 分子之整體設計。此構建體利用天然人 B2M 前導序列(LEADER)以允許有效分泌及 ER 加工，緊接在後為候選抗原決定部位(標記為肽(PEPTIDE))。在“輕鏈”鏈聯(LC，第 3A 圖)方面，其係透過連接子 L1 與天然 B2M 偶聯，而 MOD 係透過連接子 L2 結合。此完整盒係藉由豬捷申病毒-1(P2A)“自裂解”肽鏈接至另一 B2M 前導序列、MHC 重鏈及 IgG1 Fc 結構域以允許每個鏈之化學計量表現。該重鏈(HC，第 3B 圖)鏈聯為類似情況，然而，現在該病毒 P2A 肽接續在 B2M 之後，而 MOD 接續在第二前導肽之後。此二種構建體終

止於 8x His 標記物。

[0047] 第 4 圖：CRISPR/CAS 介導內源性 β -2 微球蛋白之剔除。設計針對內源性 B2M 之指導 RNA，與編碼 CRISPR/CAS 之質粒一起轉染並將其培養三天。將培養之細胞對 B2M 細胞表面進染色並藉由螢光活化之細胞分選術(FACS)反選擇(根據螢光損失分選)。回收分選出之細胞並進行二或更多輪之染色、反分選及回收(共三輪)以確保有效剔除。經由 FACS(如上所示)監測 B2M 的表面表現來檢查最終匯集體之品質。

[0048] 第 5A-5B 圖：製造及測試具有經基因工程處理之二硫鍵的 synTac 構建體之活性。一個構建體(H236-L12，標記為 synTac 18)被證明具高度表現，第二個構建體(H237-L12，synTac 17)被證明具中度表現。使用 dt-SCT 二硫化物架構作為陽性對照組(標記為 synTac 2)。非還原 PAGE 表明形成如預期之高分子量、經二硫鍵連接之部分(第 5A 圖)。將所有表現構建體規模放大成 100 毫升之尺度，純化之並透過結合表現在 HEK 細胞(稱為 A6)表面上之同源 TCR 來測試活性，藉由 FACS 螢光監測之結果表明具有正確折疊和活性(第 5B 圖)。使用表現非同源 TC 之細胞(稱為 HEK-AS01)作為陰性對照組。使用表現非同源 TCR(稱為 AS01)之細胞作為陰性對照組。

[0049] 第 6A-6C 圖：各種 synTac 融合蛋白的表現。成功表現連接 synTac 融合體之輕鏈(第 6A 圖)，該 synTac 融合體具有各種靶向肽和具有 PD-L1 MOD 結構域之 HLA

同種型，具體地說 1) HTLV-人 HLA-A02、2)IGRP-鼠 H2-Kd 及 3)TUM-鼠 H2-Kd(第 6B 圖) (其為以 IGRP 為基礎，具變異 MOD 結構域之 synTac 融合體)、4) PD-L1 之 Ig 可變結構域、5)4-1BBL、6)抗 CD28 單鏈 Fv 及 7)B7-1 W88A(第 6C 圖) (其為以 IGRP 為基礎，攜帶各種 MOD，以重鏈鍵聯格式表現之 synTac 融合體)、8) PD-L1 及 9)抗 CD28 單鏈 Fv。

[0050] 第 7A-7B 圖：TCR-synTac-PD1 橋聯：驗證該 synTac 蛋白成分之完整性。使用表現同源 TCR 之 HEK 細胞(A6)作為陽性對照，生成表現非同源 TCR(AS01)之細胞並與未經轉導之親代細胞一起作為陰性對照組。以非螢光純化之 HTLV-PD-L1 synTac 變異體挑戰細胞並與其同源受體 PD1(其融合至鼠 IgG2a)一起培養。使用經 FITC 標記之抗小鼠二級抗體檢測該 PD1-Fc 融合物。第 7A 圖為反應示意圖。FAC 結果顯示在第 7B 圖中。如所預期者，僅在以呈遞具有 PD-L1 MOD 之 synTac 的 HTLV 對同源(A6)HEK 細胞株進行挑戰時才可觀察到共定位化螢光。值得注意的是，當對攜帶非同源 TCR 之 HEK 細胞或親本細胞進行挑戰時、當僅對 FITC-PDL-Fc 挑戰時或當 MOD 不存在時並未觀察到螢光。

[0051] 第 8A-8D 圖：作用中之 SynTac：玻管內 T 細胞分析。在固定化之抗 CD3 抗體的存在下培養來自 8.3 轉基因 NOD 小鼠之 CD8⁺T 細胞以刺激多株 T 細胞活化。以可溶性形式之 synTac IGRP-PD-L1(第 8A 圖)或 synTac

TUM-PD-L1(第 8C 圖)處理經刺激的培養物以檢查具有任何抑制作用之抗原特異性。在接種前，以羧基螢光琥珀醯亞胺酯(CFSE)標記細胞以監測經 T 細胞活化誘導之細胞增殖程度。5 天後收穫細胞並使用流式細胞儀檢測存活力和增殖情況。亦使用複合式流式細胞儀小珠分析檢查上清液中 CD8+T 細胞效應子細胞因子 IFN γ 和 TNF α 的表現。有檢查之 CD8+T 細胞活化參數係以抗原特異性及效應子(即，MOD)結構域依賴方式受遏制(第 8D 圖)。

[0052] 第 9A-9F 圖提供 synTac 多肽之胺基酸序列和結構域結構。

[0053] 第 10A-10C 圖描繪用於表現 4-1BBL 三聚體之構建體。這些草圖為天然 4-1BBL 胞外域(殘基 50-254)之單體形式(第 10A 圖)，其顯示近膜(Memb Prox, MP)和 TN 同源性(TNF-H)結構域、(第圖 10B) 4-1BBL 二聚體 synTac 及(第 10C 圖) 4-1BBL synTac 之全活性雙三聚體形式，該三聚體形式係透過共同表現習知之 synTac 構建體與不具有親和標記物之“游離”4-1BBL 胞外域(殘基 50-254，第 10A 圖)來產生。所有構建體係在一起表現在哺乳動物細胞中時組裝。通過 Fc 區純化(A/G 蛋白)，隨後進行尺寸排阻，從而可允許 4-1BBL 三聚體型 synTac 從游離 BBL 分離出。

[0054] 第 11A-11B 圖攜帶三聚體 4-1BBL 之 synTac 蛋白質的多角度光散射(MALS)分析。(第 11A 圖)透過 MALS 鑑定之主要種類的分子量，其顯示數個獨立測量之

實例。(第 11B 圖) 來自 synTac40+51 之 MALS 的代表性痕跡，其具有相對高水準之光散射及低紫外線吸收，反映出存有少量具高分子量之蛋白質。低分子量緩衝成分導致折射率之大變化(正或負)，UV 吸收中無相關變化。

[0055] 第 12 圖.SynTac 4-1BBL 受體結合。以重組人或小鼠 4-1BB-Fc 融合蛋白(來自商業來源)將蛋白 A 微珠塗層至飽和並用於結合攜帶 4-1BB 配體(二聚體和三聚體形式)的 synTac 構建體(為共調節結構域)，接著為特異於 synTac 重鏈同種型之螢光檢測抗體。然後，藉由高通量流式細胞儀測量 synTac 4-1BBL 特異結合珠源性 4-1BB 的程度。使用此系統探查在 synTac 支架之背景下，4-1BBL 對人和鼠 4-1BB 二者之交叉反應程度和相對親和力。攜帶 4-1BBL 之 synTac 顯示出結合同源受體，但不結合“無受體”(被稱為無 MOD)之 Fc 結合微珠，表明為折疊良好且活性之蛋白試劑。值得注意的是，該三聚體以預期為雙重三聚體型接合之親和力範圍結合，而原始二聚體顯示出結合親和力降低 10 倍，且所有構建體在鼠和人受體之間發生交叉反應。

[0056] 第 13 圖.在固定抗化 CD3 抗體的存在下培養來自 8.3 轉基因 NOD 小鼠之 CD8⁺T 細胞以刺激多株 T 細胞活化。將經刺激之培養分別以可溶性形式之 synTac TUM-41BBL(A)或 synTac IGRP-41BBL(B 和 C)處理以檢查任何刺激作用之抗原特異性。對照處理為單獨之培養基(-CNTRL)或固定化之抗 CD3(+CNTRL)對基準反應幅度。

以羧基螢光素琥珀醯亞胺酯(CFSE)標記細胞以監測由 T 細胞活化誘導之細胞增殖的程度。4 天後，收穫細胞並使用流式細胞儀檢測存活力和增殖情況。亦使用複合式流式細胞儀微珠分析檢查上清液中 $CD8^+$ T 細胞效應子細胞因子 $IFN\gamma$ 和 $TNF\alpha$ 的表現。所有檢查之 $CD8^+$ T 細胞活化參數係以抗原特異性及效應子(即，MOD)結構域依賴方式被活化。

[0057] 第 14 圖.單一劑量活體內 T 細胞刺激分析。在活體內之 T 細胞刺激實驗。經由腹膜內途徑為 NOD 小鼠注射 synTac IGRP-41BBL、synTac TUM-41BBL 或 PBS。注射後 6 天，處死小鼠並使用適當之肽-MHC 五聚體染色，經由流式細胞術檢查脾細胞之 IGRP 特異性 $CD8$ T 細胞的相對頻率。相對於對照組，IGRP-41BBL 處理與 IGRP 特異性 $CD8$ T 細胞之頻率高出很多有關，此結果支持由單一劑量引起之明顯活體內擴充。

[0058] 第 15 圖.多劑量活體內 T 細胞刺激分析。在二週之期間內經由腹膜內途徑為 NOD 小鼠注射三個 synTac IGRP-41BBL、synTac TUM-41BBL 或 PBS 之劑量。注射後 7 天，處死小鼠並使用適當之肽-MHC 五聚體染色，經由流式細胞術檢查 PBMC (來自血液)之 IGRP-特異性 $CD8$ T 細胞的相對頻率。相對於對照組，IGRP-41BBL 處理與 IGRP 特異性 $CD8$ T 細胞之頻率高出很多有關，此支持由多劑量引起之明顯活體內擴充，包括罕見腫瘤特異性 T 細胞(TUM)。

[0059] 第 16A-16B 圖.4-1BBL 三聚體型表現之優化的構建體之示意圖。二硫化物鎖定(第 16A 圖，DL)和單鏈三聚體(第 16B 圖，SCT)。

[0060] 第 17 圖.SynTac 4-1BBL 受體結合。以重組人或小鼠 4-1BB-Fc 融合蛋白將蛋白 A 微珠塗層至飽和並用於結合攜帶 4-1BB 配體(二硫鍵鎖定之三聚體(69、70 和 71)和單鏈三聚體(SCT))的 synTac 構建體(為共調節結構域)，接著為特異於 synTac 重鏈同種型之螢光檢測抗體。所顯示之天然三聚體為結合對照組(三聚體)。然後，藉由高通量流式細胞儀測量 synTac 4-1BBL 特異結合珠源性 4-1BB 的程度。攜帶 4-1BBL 之 synTac 顯示出結合同源受體，但不結合“無受體”(被稱為無 MOD)之 Fc 結合微珠，表明為折疊良好且活性之蛋白試劑。所有構建體在鼠和人受體之間發生交叉反應。

[0061] 第 18 圖.優化之 4-1BBL 構建體的表現驗證。藉由共同表現製造之 SynTac，具有原始 4-1BBL 調節子(synTac40/51，無二硫鍵鎖定，標記為“O”(用於表示原始))及三個含有經基因工程處理之二硫鍵鎖定，限制該三聚體構形的優化之構建體。每個構建體中有二個天然殘基被半胱氨酸殘基取代(Q94C：P245C(在凝膠中標記為“DL1”)、Q94C：P242C“DL2”和 Q89C：L115C“DL3”，分別稱為 synTac 69、70 和 71)，其在人細胞中與底有該相同突變(分別稱為 98、99、100)之“游離”非標記形式共同表現以允許在細胞中共價鎖定。在非還原性 SDS-PAGE 分

析中藉由釋出之(非共價結合的)“游離”4-1BBL 量來觀察二硫鍵結合程度。游離 BBL 會在~20 kDa 移行(BOX)，確認經基因工程處理之二硫鍵鎖定。攜帶單鏈三聚體形式(SCT)之 4-1BBL 的 SynTac 亦顯示出下列親和力和凝膠過濾純化(標記為“SCT”)。藉由多角度光散射(MALS)證實準確之質量。

[0062] 第 19A-19I 圖.本發明之 synTac 構建體的實施態樣之示意圖。第 19A-19C 圖分別描繪相關於第 2A-2C 圖中描述之構建體。第 19B 和 19C 圖中描繪該 P2A 未裂解之多肽(頂端)和經裂解之多肽(透過 P2A 介導之自裂解)(底部)(其具有圖中說明之由半胱胺酸取代介導的(*)二硫鍵結(SS))。第 19D-19F 圖分別描繪相關於上文中第 8A-8C 圖中所描述之構建體；在第 19D-19F 圖之各個圖中，該 P2A 未裂解形式描繪於上方(頂端)，該 P2A 介導之自裂解多肽(底部)具有圖中說明之由半胱胺酸取代介導的(*)二硫鍵結(SS)。第 19G 圖描繪相關於第 9B 圖中之 synTac40 構建體的一般化形式，圖中說明未裂解的(頂部)和自裂解的/二硫鍵聯結(底部)之多肽。第 19H 圖描繪相關於第 9C-9E 圖中之 synTac69、synTac70 和 synTac71 構建體的一般化形式，圖中說明未裂解的(頂部)和自裂解的/二硫鍵聯結(底部)之多肽，亦指出(*)4-1BBL 結構域中額外之半胱胺酸取代。圖。第 19I 描繪相關於第 9F 圖中之 synTac 4-1BBL 單鏈三聚體(SCT) 的一般化形式，圖中說明未裂解的(頂部)和自裂解的/二硫鍵聯結(底部)之多肽。

[0063] 第 20 圖提供來自現代人(NP_004039.1；SEQ ID NO：78)、黑猩猩(NP_001009066.1；SEQ ID NO：79)、獼猴(NP_001040602.1；SEQ ID NO：80)、普通牛(NP_000776318.1；SEQ ID NO：81)和小家鼠(NP_000033865.2；SEQ ID NO：82)之 β -2 微球蛋白(B2M)前體(即，包括前導序列)的多個胺基酸序列比對。

[0064] 第 21 圖提供 SEQ ID NO：6 之構建體的結構域結構。

[0065] 第 22 圖提供 SEQ ID NO：7 之構建體的結構域結構。

[0066] 第 23 圖描繪活體內投予 synTac IGRP-PDL1、synTac TUM-PDL1 或磷酸鹽緩衝之生理鹽水(PBS)對 IGRP 特異性 CD8⁺T 細胞之頻率的效果上。

[0067] 第 24A-24C 圖提供免疫球蛋白 Fc 多肽之胺基酸序列。

[0068] 第 25A-25C 圖提供人第 I 類白血球抗原(HLA)重鏈多肽之胺基酸序列。

[0069] 第 26A-26B 圖提供 PD-L1 多肽之胺基酸序列。

[0070] 第 27 圖提供 4-1BBL 多肽之胺基酸序列。

[0071] 第 28 圖提供 ICOS-L 多肽之胺基酸序列。

[0072] 第 29 圖提供 OX40L 多肽之胺基酸序列。

[0073] 第 30 圖提供 PD-L2 多肽之胺基酸序列。

[0074] 第 31 圖提供 CD80(B7-1)多肽之胺基酸序列。

[0075] 第 32 圖提供 CD86(B7-2)多肽之胺基酸序列。

[0076] 第 33 圖提供 Fas 配體(FAS-L)多肽之胺基酸序列。

[0077] 第 34A-34H 圖提供本發明之 synTac 構建體的實施態樣之示意圖，圖中說明由半胱胺酸取代(*)介導之二硫鍵聯結(SS)。在這些實施態樣中，二硫鍵係在存在於分開之多肽中的 MHC(例如 HLA)多肽之間形成。

【實施方式】

定義

[0078] 如本文所使用之“前導序列”包括可由哺乳動物細胞處理之任何信號肽，包括人 B2M 前導序列。該等序列為本技藝所周知。

[0079] 除非另外具體指明，如本文所使用之關於，例如元件 A 和元件 B 的“相鄰”意指元件 A 與元件 B 相鄰且結合至元件 B，較佳地，經由共價鍵結合。例如，對於鄰接第二胺基酸序列之第一胺基酸序列而言，該第一胺基酸序列之 C 端可藉由肽鍵連接該第二胺基酸序列之 N 端。

[0080] 本文中，術語“肽”、“多肽”及“蛋白質”可互換使用，且係指任何長度之聚合型胺基酸，其可包括編碼和非編碼之胺基酸、經化學或生物化學修飾或衍生之胺基酸及具有修飾之肽主鏈的多肽。該術語亦包括具有共轉譯之多肽(例如信號肽裂解)及該多肽之轉譯後修飾，諸如，例如形成二硫鍵、糖基化、乙醯化、磷酸化、蛋白水解裂

解，等。此外，如本文所使用之“多肽”係指包括修飾之蛋白質，例如在天然序列中進行刪除、添加及取代(通常為本技藝之人士已知之保守性質的取代)，只要該蛋白質維持所需之活性。這些修飾可為故意的(如透過定點誘變者)或可為偶然的(諸如透過製造該蛋白質之宿主的突變或由於 PCR 擴增或其他重組 DNA 方法的錯誤)。

[0081] 如本文所使用之用於描述核酸分子的術語“重組”係指基因組、cDNA、病毒、半合成及/或合成來源之多核苷酸，憑藉著該多核苷酸之起源或操作，該多核苷酸不與其天然連結之所有或一部分多核苷酸序列相聯結。如本文所使用之關於蛋白質或多肽的術語“重組”係指藉由重組多核苷酸之表現而製造的多肽。如本文所使用之關於宿主細胞或病毒的術語“重組”係指其中已引入重組多核苷酸之宿主細胞或病毒。本文中之關於物質(例如細胞、核酸、蛋白質或載體)的術語“重組”亦指已藉由引入異源物質(例如細胞、核酸、蛋白質或載體)而修飾之物質。

[0082] 本文中，術語“多核苷酸”、“寡核苷酸”、“核酸”及“核酸分子”可互換使用以包括聚合型之核苷酸(不論是核糖核苷酸或去氧核糖核苷酸)。該術語僅指分子之一級結構。因此，該術語包括三股、雙股和單股 DNA，以及三股、雙股和單股 RNA。該術語亦包括該等具有修飾之分子(諸如藉由甲基化及/或藉由封端修飾者)及未修飾型多核苷酸。更特別地，術語“多核苷酸”、“寡核苷酸”、“核酸”及“核酸分子”包括多聚去氧核苷酸(含有 2-脫氧基-

D-核糖)、多聚核糖核苷酸(含有 D-核糖)、任何其他類型之具有嘌呤或嘧啶鹼基之 N-或 C-糖苷的多核苷酸和含有非核苷酸主鏈、聚合物之其他聚合物,以及其他合成之序列特異性核酸聚合物,惟其該聚合物含有核鹼基,該核鹼基之構形允許進行鹼基配對和鹼基堆積(諸如在 DNA 和 RNA 中所發現者)。

[0083] 如本文所使用之術語“載體”係指能將核酸序列轉移至靶細胞之載劑。例如載體可包含能在靶細胞中表現的編碼序列。如本文所使用之“載體構建體”、“表現載體”及“基因轉移載體”通常指能夠指導所欲基因表現之任何核酸構建體且其可用於將所欲基因轉移入靶細胞。因此,該術語包括選殖和表現載劑,以及整合載體和非整合載體。因此,載體能夠將核酸序列轉移入靶細胞,且於一些情況中,載體係用於操作核酸序列,例如重組核酸序列(即,用於製造重組核酸序列),等。用於本發明目的之載體實例包括,但不限於質粒、噬菌體、轉座子(transposon)、黏粒(cosmid)、病毒,等。

[0084] 如本文所使用之“表現盒”包含任何能夠指導任何 RNA 轉錄子(包括所欲之基因/編碼序列以及非轉譯之 RNA)表現的核酸構建體。該等表現盒可被構建成“載體”、“載體構建體”、“表現載體”或“基因轉移載體”以將該表現盒轉移入靶細胞內。因此,該術語包括選殖和表現載體,以及病毒載體。表現盒之轉錄子可穩定或瞬時地表現且可從被整合入宿主基因組(以針對性或無針對性方式)

中之表現盒表現出或依需要保持未經整合的。

[0085] “可操作地連接”係指並排，其中該如此描述之成分係處於允許它們以其所意圖之方式運作的關係。例如，若啟動子影響編碼序列之轉錄或表現，該啟動子係可操作地連接於該編碼序列。如本文所使用之術語“異源啟動子”和“異源控制區”係指在自然界中通常不與特定核酸聯結之啟動子和其他控制區。例如，“對編碼區為異源之轉錄控制區域”為在自然界中通常不與該編碼區聯結之轉錄控制區。

[0086] 如本文所使用之術語“免疫性突觸”或“免疫突觸”通常係指介於二個適應性免疫反應之交互作用免疫細胞之間的天然接觸面，包括，例如介於抗原呈遞細胞(APC)或靶細胞與效應子細胞(例如淋巴細胞、效應子 T 細胞、天然殺手細胞，等)之間的接觸面。介於 APC 和 T 細胞之間的免疫性突觸通常係藉由 T 細胞抗原受體和主要組織相容性複合體分子之間的交互作用起始(例如，如 Bromley et al., Annu Rev Immunol. 2001; 19:375-96 中所描述者；其全部內容以引用方式併入本文)。

[0087] 如本文所使用者，該關於核酸序列、蛋白質或多肽的術語“異源的”意指這些分子並非天然存在於該衍生這些異源核酸序列、蛋白質或多肽之細胞中。例如，該被插入非人類細胞之細胞中的編碼人多肽之核酸序列在此特定之背景中為異源核酸序列。雖然異源核酸可源自不同的生物體或動物物種，該等核酸不需要自分別之生物物種

衍生才算是異源。例如，於一些情況中，合成之核酸序列或由其編碼之多肽對引入此核酸序列或由其編碼之多肽的細胞而言可能為異源的，因該細胞先前並未包含該合成之核酸。因此，合成之核酸序列或由其編碼之多肽對人細胞而言可被認為是異源的，例如，即使該合成之核酸序列或由其編碼之多肽中的一或多種成分最初係源自人類細胞。

[0088] 如本文所使用之“宿主細胞”係指活體內或玻璃管內之真核細胞或來自以單細胞實體培養之多細胞生物體(例如細胞株)的細胞，該真核細胞可作為或已作為核酸接受者(例如包含編碼本發明之多聚體多肽的核苷酸序列之表現載體)，且包括已藉由該核酸基因工程修飾之原始細胞的後代。可理解的是，由於天然、偶然或蓄意之突變，單細胞之後代在形態或基因組或全部 DNA 互補序列上不一定與原始母細胞完全一致。“重組宿主細胞”(亦稱為“經基因工程修飾之宿主細胞”)為其中已經引入異源核酸(例如表現載體)之宿主細胞。例如，經基因工程修飾之真核宿主細胞係憑藉著將異源核酸(例如，對該真核宿主細胞而言為外來之外源核酸或通常不會在真核宿主細胞中找到之重組核酸)引進合適之真核宿主細胞來基因工程修飾。

[0089] 於一些情況中，核酸或胺基酸序列(包括多肽和編碼多肽之核酸)係根據“序列相似性”或“序列同一性”(例如與一或多個參考序列作相比較)指稱。在其他情況下，突變體或變異體序列可根據與一或多個參考序列之比較來指稱。為了比較序列，通常一個序列作為參考序列，

再將測試序列與其進行比較。當使用序列比較算法時，將測試和參考序列輸入電腦中，若需要時，指明子序列坐標，並指明序列算法程式參數。然後，該序列比較算法根據指明之程式參數計算該測試序列相對於參考序列之序列同一性百分比。

[0090] 當必要或需要時，可進行用於比較之序列的最佳比對，例如藉由 Smith 和 Waterman 之局部同源性算法(Adv. Appl. Math. 2:482 (1981)，其以引用方式被併入本文)、藉由 Needleman 和 Wunsch 之同源性比對算法(J. Mol. Biol. 48:443-53 (1970)，其以引用方式被併入本文)、藉由 Pearson 和 Lipman 之相似性搜索方法(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444-48 (1988)，其以引用方式被併入本文)、藉由電腦這執行些算法(例如在 Wisconsin 遺傳學軟體包中之 GAP、BESTFIT、FASTA 和 TFASTA，Genetics Computer Group，575 Science Dr., Madison, Wis.)或藉由目視檢查。(一般參見 Ausubel et al.(eds)，Current Protocols in Molecular Biology, 4th ed., John Wiley and Sons, New York (1999))。

[0091] “T 細胞”包括所有表現 CD3 之免疫細胞類型，包括 T 輔助者細胞(CD4⁺細胞)、細胞毒性 T 細胞(CD8⁺細胞)、T 調節細胞(Treg) 及 NK-T 細胞。

[0092] 本文中所使用之術語“共刺激配體”包括一種在抗原呈遞細胞(例如 APC、樹突細胞、B 細胞，等)上之分子，其特異結合 T 細胞上之同源共刺激分子，從而在，

例如由 TCR/CD3 複合物與裝載肽之 MHC 分子結合時所提供主信號之外，另外提供可介導 T 細胞反應之信號，該 T 細胞反應包括，但不限於增殖、活化、分化，等。共刺激配體可包括，但不限於 CD7、B7-1(CD80)、B7-2(CD86)、PD-L1、PD-L2、4-1BBL、OX40L 和 Fas 配體(FasL)、誘導型共刺激配體(ICOS-L)、細胞間黏附分子(ICAM)、CD30L、CD40、CD70、CD83、HLA-G、MICA、MICB、HVEM、淋巴毒素 β 受體、3/TR6、ILT3、ILT4、HVEM、結合 Toll 配體受體之激動劑或抗體和特異結合 B7-H3 之配體。除其他外，共刺激配體亦包含特異結合呈遞在 T 細胞上之共刺激分子的抗體，諸如，但不限於 CD27、CD28、4-1BB、OX40、CD30、CD40、PD-1、ICOS、與淋巴細胞功能相關之抗原-1(LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3 和特異結合 CD83 之配體。

[0093] 術語“純化”、“分離”，等係指從含有不欲有之物質(例如污染物)的溶液移出所需物質(例如重組蛋白)或從含有所需物質之溶液中除去不欲有之物質，基本上只留下所需物質。於一些情況中，純化之物質可基本上不含其他物質，例如污染物。如本文所使用之純化可指一系列所產生的不同純度，例如其中該純化之物質組成溶液中所有物質之 80%以上，包括 85%以上、90%以上、91%以上、92%以上、93%以上、94%以上、95%以上、96%以上、97%以上、98%以上、99%以上、99.5%以上、99.9%以上，等。本技藝之技術熟習人員將可理解，一般而言，當

決定物質之純度時不考慮溶液本身之成分(例如水或緩衝液或鹽類)。

[0094] 如本文所使用之術語“治療(treatment、treating)”，等係指獲致所需之藥理學及/或生理學效果。就完全或部分預防疾病或其症狀而言，該效果可為預防性的及/或就部分或完全治癒疾病及/或歸因於該疾病之不利影響而言，該效果可為治療性的。如本文所使用之術語“治療”係涵蓋在哺乳動物中(例如在人類中)之任何疾病的治療，且包括：(a)預防疾病在可能易罹患該疾病，但尚未被診斷已患有該疾病之個體中發作；(b)抑制該疾病，即，阻止其發展；和(c)緩解該疾病，即，使該疾病消退。

[0095] 本文中可互換使用之術語“個人”、“個體”、“宿主”及“患者”係指哺乳動物，包括，但不限於鼠類(例如大鼠、小鼠)、兔類(例如兔子)、非人靈長類動物、人類、犬、貓、有蹄類動物(例如馬、牛、綿羊、豬、山羊)，等。

[0096] “治療有效量”或“有效量”係指一種試劑之量或二種試劑之組合量在投予哺乳動物或其他個體以用於治療疾病時足以使該等用於疾病之治療生效。該“治療有效量”將根據該作用劑、疾病及其嚴重性、欲接受治療之個體的年齡和體重，等而有所不同。

[0097] 在進一步描述本發明前，需理解：本發明並不限於所描述之特定實施態樣，因為這些實施態樣當然可能會有所不同。亦可理解的是，本文所使用之術語僅用於

描述特定實施態樣，且不意圖有所限制，因為本發明之範圍僅由所附之申請專利範圍限定。

[0098] 當提供一個數值範圍時，需理解：除非上下文另有明確說明，在該範圍之上限和下限之間的各中間值(到該下限單位的十分之一)及該陳述範圍中之任何其他陳述之數值或中間值係包含在本發明之內。這些較小範圍之上限和下限可獨立地包括在該較小的範圍內且亦包括在本發明內，受制於該陳述之範圍中任何被具體排除的極限值。當該陳述之範圍包括一或二個極限值時，排除一或二個那些被包括在內之極限值的範圍亦包括在本發明中。

[0099] 除非另外定義，本文所使用之所有技術和科學術語具有與本發明所屬之技藝中的一般技術人員所普遍理解者相同的含義。雖然亦可使用與本文所描述者類似或相等之任何方法和材料來實行或測試本發明，現在所描述者為較佳之方法和材料。本文所提及之所有出版物均以引用方式併入本文以揭示和描述與該出版物所列出者相關的方法及/或材料。

[0100] 必須注意的是，除非上下文另有明確說明，如本文和所附之申請專利範圍中所使用之單數型“一(a、an)”和“該”包括複數指稱對象。因此，例如，引用“一多聚體多肽”時係包括多個該等多肽，而引用“該免疫調節多肽”時係包括對一或多個免疫調節多肽及本技藝之技術熟習人士所已知之等同物，等之引用。須進一步指明的是，該申請專利範圍可經制定以排除任何選擇性元件。因此，

此陳述旨在作為使用該等如“單獨地”、“僅”，等與申請專利範圍元件之敘述相關的排除性術語或使用“否定”限制時的前置基礎。

[0101] 可察知的是，本發明之某些為了清楚起見而在分別之實施態樣的背景下描述的特性亦可在單一實施態樣中組合提供。相反地，本發明之各種為了簡單起見而在單一實施態樣的背景下描述的特性亦可分別提供或在任何合適之次組合中提供。與本發明有關之實施態樣的所有組合被明確涵蓋在本發明中且揭示於本文中，如同各個及每一組合被單獨且明確地揭示。此外，各種實施態樣及其元件的所有次組合亦明確涵蓋在本發明中且揭示於本文中，如同各個及每一次組合被單獨且明確地揭示於本文中。

[0102] 本文所討論之出版物均僅提供其先於本申請案之申請日前的揭示內容。本文中沒有任何內容可被解釋為承認本發明沒有權利憑藉先前之發明而先於該等出版物。再者，所提供之出版物的日期可能不同於實際出版日期，該實際出版日期可能需要被獨立證實。

發明之詳細描述

[0103] 本文中描述新穎之基於蛋白質的治療平台，此治療平台重現傳統之免疫反應；用於 T 細胞活化之人工免疫突觸 (synTac)。一種新穎之融合蛋白，其連接共刺激分子與 MHC 抗原決定部位，以根據 MOD 分子部分允許精確之 T 細胞接合及選殖株 T 細胞活化或抑制。

多聚體多肽

[0104] 本發明提供多聚體(例如異源二聚體、異源三聚體)多肽。本發明提供本發明之多聚體多肽的多聚蛋白前體。本發明提供前體基因產物，例如本發明之多聚體多肽的多聚蛋白前體以及編碼本發明之多聚體多肽的二或多個多肽鏈的 mRNA 基因產物。

[0105] 本發明亦提供重組多肽構建體，其包含(i)結合至第一胺基酸連接子序列之候選抗原決定部位肽，該第一胺基酸連接子序列鄰接包含與人天然 B2M 肽序列相一致之序列的胺基酸序列，該包含與人天然 B2M 肽序列相一致之序列的胺基酸序列鄰接第二胺基酸連接子序列，該第二胺基酸連接子序列鄰接 T 細胞調節結構域肽，其中(i)係藉由一個或一個以上之二硫鍵結合(ii)具有 MHC 重鏈序列之胺基酸序列，該具有 MHC 重鏈序列之胺基酸序列鄰接第三胺基酸連接子序列，該第三胺基酸連接子序列鄰接與免疫球蛋白 Fc 結構域相一致之胺基酸序列。於一實施態樣中，該重組多肽構建體包含

[0106] LLFGYPVYVGCGGSGGGGSGGGGSIQRTPKIQ
VYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEK
VEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNHVTLS
QPKIVKWDRDMGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSFTITAPKD
LYVVEYGSNVTMECRFPVERELDLLALVVYWEKEDEQVI
QFVAGEEDLKPQHSNFRGRASLPKDQLLKGNAAALQITDVK

LQDAGVYCCIISYGGADYKRITLKVNPYRKINQRISVDPA
TSEHELICQAEGYPEAEVIWTNSDHQPVSGKRSVTTSRTEG
MLLNVTSSLRVNATANDVFYCTFWRSQPGQNHTAELIPE
LPATHPPQNRRTSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPMSRSVA
LAVLALLSLSGLEAGSHSMRYFFTSVSRPGRGEPFIAVGY
VDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRK
VKAHSQTHRVDLGTLRGCYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGS
DWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTT
KHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRT
DAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFP AEITLTWQRDG
EDQTQDTELVETRPAGDGT FQKWAAVVVPSGQEQRYTCH
VQHEGLPKPLTLRWEPAAGGDKTHTCPPCPAPPELLGGPS
VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS
DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQ
KSLSLSPGKGGSHHHHHHHH (SEQ ID NO:6)。

[0107] 本發明亦提供重組多肽構建體，其包含(i)結合至第一胺基酸連接子序列之候選抗原決定部位肽，該第一胺基酸連接子序列鄰接包含與人天然 B2M 肽序列相一致之序列的胺基酸序列，其中(i)係藉由一個或一個以上之二硫鍵結合(ii) T 細胞調節結構域肽，該 T 細胞調節結構域肽鄰接第二胺基酸連接子序列，該第二胺基酸連接子序

列鄰接具有 MHC 重鏈序列之胺基酸序列，該具有 MHC 重鏈序列之胺基酸序列鄰接第三胺基酸連接子序列，該第三胺基酸連接子序列鄰接與免疫球蛋白 Fc 結構域相一致之胺基酸序列。於一實施態樣中，該重組多肽構建體包含

[illegible]

TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK
AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA
VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGSHHHHHHH
H (SEQ ID NO:7)。

[0109] 本發明亦提供包含二個本文所描述之重組多肽構建體的蛋白質，該二個重組多肽構建體係藉由一或多個介於彼等分別之免疫球蛋白 Fc 結構域之間的二硫鍵聯結。

[0110] 本發明亦提供包含二個本文所描述之重組多肽構建體的蛋白質，該二個重組多肽構建體係藉由一或多個介於彼等分別之免疫球蛋白 Fc 結構域之間的二硫鍵聯結。

[0111] 本發明亦提供 synTac 平台：用於靶向 T 細胞活化之人工免疫突觸。

[0112] 於一實施態樣中，該 $\beta 2$ 微球蛋白具有與人 $\beta 2$ 微球蛋白相同之序列。於一實施態樣中，該組織相容性複合重鏈序列具有與人 HLA-A 序列相同之序列。於一實施態樣中，該組織相容性複合體重鏈跨膜結構域具有與人主要組織相容性複合體 I (MHC I)重鏈跨膜結構域相同之序列。於一實施態樣中，該組織相容性複合體重鏈跨膜結構域具有與人主要組織相容性複合體 II (MHC II)重鏈跨膜結構域相同之序列。

[0113] 本發明亦提供包含多個構建體之組成物。

[0114] 於一實施態樣中，該候選抗原決定部位肽為 8、9、10、11 或 12 個胺基酸的肽。於一實施態樣中，該候選抗原決定部位肽為 13、14、15、16 或 17 個胺基酸的肽。於一實施態樣中，該候選抗原決定部位肽為九聚體(長度為 9 個胺基酸)。

[0115] 本發明提供包含二或多個(例如 2、3、4 或更多個)多肽鏈之多聚體多肽。於一些情況中，本發明之多聚體多肽包含：a)第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 抗原決定部位；ii) 第一主要組織相容性複合體(MHC)多肽；及 b)第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第二 MHC 多肽；和 ii) 選擇性地，免疫球蛋白(Ig)Fc 多肽或非 Ig 支架，其中該多聚體多肽包含一或多個免疫調節結構域，其中該一或多個免疫調節結構域為：A)在第一多肽之 C 端；B)在第二多肽之 N-端；C)在第二多肽之 C 端；或 D)在第一多肽之 C 端和在第二多肽之 N 端。

[0116] 於一些情況中，本發明之多聚體多肽包含第一多肽和第二多肽，其中該第一多肽包含(依從胺基端(N 端)至羧基端(C 端)之順序)：a)抗原決定部位(例如 T 細胞抗原決定部位)；b)第一主要組織相容性複合體(MHC)多肽和 c)免疫調節多肽；且其中該第二多肽依從 N 端至 C 端之順序包含：a)第二 MHC 多肽；和 b)免疫球蛋白(Ig)Fc 多肽。於其他情況中，本發明之多聚體多肽包含第一多肽和第二多肽，其中該第一多肽依從 N 端至 C 端之順序包

含：a) 抗原決定部位(例如 T 細胞抗原決定部位)；和 b) 第一 MHC 多肽；且其中該第二多肽依從 N 端至 C 端之順序包含：a) 免疫調節多肽；b) 第二 MHC 多肽；和 c) Ig Fc 多肽。於一些情況中，該第一和第二 MHC 多肽為第 I 型 MHC 多肽；例如，於一些情況中，該第一 MHC 多肽為第 I 型 MHC 多肽 $\beta 2$ 微球蛋白(B2M)多肽且該第二 MHC 多肽為第 I 型 MHC 重鏈(H 鏈)。在其他情況中，該第一和第二 MHC 多肽為第 II 型 MHC 多肽；例如，於一些情況中，該第一 MHC 多肽為第 II 型 MHC α -鏈多肽，且該第二 MHC 多肽為第 II 型 MHC β -鏈多肽。於其他情況中，該第一多肽為第 II 型 MHC β -鏈多肽，且該第二 MHC 多肽為第 II 型 MHC α -鏈多肽。情況中，該多聚體多肽包括二或多個免疫調節多肽。於一些情況中，當本發明之多聚體多肽包括二或多個免疫調節多肽時，該二或多個免疫調節多肽係存在於同一多肽鏈中，且可為串列的。於一些情況中，當本發明之多聚體多肽包括二或多個免疫調節多肽時，該二或多個免疫調節多肽係存在於分開的多肽中。於一些情況中，本發明之多聚體多肽為異源二聚體。於一些情況中，本發明之多聚體多肽為三聚體多肽。

[0117] 於一些情況中，本發明之多聚體多肽包含：a) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 抗原決定部位；和 ii) 第一 MHC 多肽；及 b) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第二 MHC 多肽；和 ii) Ig Fc 多肽；及 iii) 免疫調節結構域。於一些情況中，本發明之

多聚體多肽包含：a)第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 抗原決定部位；和 ii) 第一 MHC 多肽；及 b)第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第二 MHC 多肽；和 ii) 免疫調節結構域。於一些情況中，本發明之多聚體多肽包含：a)第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 抗原決定部位；和 ii) 第一 MHC 多肽；及 b)第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 免疫調節結構域；和 ii) 第二 MHC 多肽。於一些情況中，本發明之多聚體多肽包含：a)第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 抗原決定部位；ii) 第一 MHC 多肽；和 iii) 免疫調節結構域；及 b)第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第二 MHC 多肽。於一些情況中，當本發明之多聚體多肽包含非 Ig 支架時，該非 Ig 支架為 XTEN 多肽、轉鐵蛋白多肽、Fc 受體多肽、彈性蛋白樣多肽、絲綢樣多肽或絲綢彈性蛋白樣多肽。

[0118] 於一些情況中，本發明之多聚體多肽為單價的。於一些情況中，本發明之多聚體多肽為多價的。例如，根據存在於本發明之多聚體多肽中的 Fc 多肽，該多聚體多肽可為同型二聚體，其中該多聚體多肽的二個分子係存在於該同型二聚體中，其中該多聚體多肽之二個分子可為，例如經由存在於該二個分子中之 Fc 多肽彼此連接的二硫化物。另一實例為，本發明之多聚體多肽可包含該多聚體多肽之三、四或五個分子，其中該多聚體多肽之分子可為，例如經由存在於該分子中之 Fc 多肽彼此連接的

二硫化物。

連接子

[0119] 本發明之多聚體多肽可包括，例如介於抗原決定部位和 MHC 多肽之間、介於 MHC 多肽和免疫調節多肽之間或介於 MHC 多肽和 Ig Fc 多肽之間的連接子肽。

[0120] 合適之連接子(也稱為“間隔子”)可輕易地選出且可為多種合適長度的任一者，諸如從 1 個胺基酸(例如甘胺酸)至 20 個胺基酸、從 2 個胺基酸至 15 個胺基酸、從 3 個胺基酸至 12 個胺基酸，包括 4 個胺基酸至 10 個胺基酸、5 個胺基酸至 9 個胺基酸、6 個胺基酸至 8 個胺基酸或 7 個胺基酸至 8 個胺基酸，且可為 1、2、3、4、5、6 或 7 個胺基酸。

[0121] 示例性連接子包括甘胺酸聚合物(G)_n、甘胺酸-絲胺酸聚合物(包括，例如(GS)_n、(GSGGS)_n(SEQ ID NO: 8)和(GGGGS)_n(SEQ ID NO: 9)，其中 n 為至少 1 之整數)、甘胺酸-丙胺酸聚合物、丙胺酸-絲胺酸聚合物及本技藝中已知之其他彈性連接子。甘胺酸及甘胺酸-絲胺酸聚合物均可使用；甘胺酸和絲胺酸二者均為相對非結構化的，因此可以作為成分之間的中性繫鏈。可使用甘胺酸聚合物；甘胺酸甚至較丙胺酸更明顯接近 phi-psi 空間，且較具有長側鏈之殘基不受限制(參見 Scheraga, Rev. *Computational Chem.* 11173-142 (1992))。示例性連接子可

包含胺基酸序列，包括，但不限於：GGSG(SEQ ID NO：10)、GGSGG(SEQ ID NO：11)、GSGSG(SEQ ID NO：12)、GSGGG(SEQ ID NO：13)、GGGSG(SEQ ID NO：14)、GSSSG(SEQ ID NO：15)，等。

[0122] 於一些情況中，存在於本發明之多聚體多肽的第一多肽中之連接子多肽包括可與存在於本發明之多聚體多肽的第二多肽中之半胱胺酸殘基形成二硫鍵的半胱胺酸殘基。例如，於一些情況中，合適之連接子包含胺基酸序列 GCGASGGGGSGGGGS(SEQ ID NO：16)。

抗原決定部位

[0123] 存在於本發明之多聚體多肽中的抗原決定部位可具有約 4 個胺基酸至約 25 個胺基酸之長度，例如該抗原決定部位可具有 4 個胺基酸(aa)至 10aa、10aa 至 15aa、15aa 至 20aa 或 20aa 至 25aa。例如，存在於本發明之多聚體多肽中的抗原決定部位之長度可為 4 個胺基酸(aa)、5aa、6 aa、7 aa、8 aa、9 aa、10 aa、11 aa、12 aa、13 aa、14 aa、15 aa、16 aa、17 aa、18 aa、19 aa、20 aa、21 aa、22 aa、23 aa、24 aa 或 25 aa。於一些情況中，存在於本發明之多聚體多肽中的抗原決定部位之長度為 5 個胺基酸至 10 個胺基酸，例如 5aa、6 aa、7 aa、8 aa、9 aa 或 10 aa。

[0124] 存在於本發明之多聚體多肽中的抗原決定部位與 T 細胞特異結合，即，該抗原決定部位與抗原決定部

位特異性 T 細胞特異結合。抗原決定部位特異性 T 細胞結合具有參考胺基酸序列之抗原決定部位，但基本上不結合與該參考胺基酸序列相異之抗原決定部位。例如，抗原決定部位特異性 T 細胞結合具有參考胺基酸序列之抗原決定部位，若結合與該參考胺基酸序列相異之抗原決定部位的話係以低於 10^{-6} M、低於 10^{-5} M 或低於 10^{-4} M 之親和力與之結合。抗原決定部位特異性 T 細胞可以至少 10^{-7} M、至少 10^{-8} M、至少 10^{-9} M 或至少 10^{-10} M 之親和力結合其特異之抗原決定部位。

[0125] 抗原決定部位之非限制性實例包括，例如人類親 T 淋巴細胞病毒-1 抗原決定部位 LLFGYPVYV(SEQ ID NO: 17)；腫瘤抗原抗原決定部位 KYQAVTTTL(SEQ ID NO: 18)；及胰島特異性葡萄糖-6-磷酸酶催化性次單位相關蛋白(IGRP)抗原決定部位 VYLKTNVFL(SEQ ID NO: 19)或 TYLKTNLFL(SEQ ID NO: 20)。Yang et al. (2006) *J. Immunol.* 176:2781。

MHC 多肽

[0126] 如上述，本發明之多聚體多肽包括 MHC 多肽。在本發明之目的方面，術語“主要組織相容性複合體(MHC)多肽”意圖包括各種物種之 MHC 多肽，包括人 MHC(亦稱為人白血球抗原(HLA))多肽、嚙齒動物(例如小鼠、大鼠，等) MHC 多肽和其他哺乳動物物種(例如兔類動物、非人靈長類動物、犬、貓、有蹄類動物，例如馬、

牛、綿羊、山羊，等)，等之 MHC 多肽。術語“MHC 多肽”意圖包括第 I 型 MHC 多肽(例如 β -2 微球蛋白和第 I 型 MHC 重鏈)和第 II 型 MHC 多肽(例如第 II 型 MHC α 多肽及第 II 型 MHC β 多肽)。

[0127] 如上述，於本發明之多聚體多肽的一些實施態樣中，該第一和第二 MHC 多肽為第 I 型 MHC 多肽；例如，於一些情況中，該第一 MHC 多肽為第 I 型 MHC β 2 微球蛋白(B2M)多肽，且該第二 MHC 多肽為第 I 型 MHC 重鏈(H 鏈)。於其他情況中，該第一和第二 MHC 多肽為第 II 型 MHC 多肽；例如，於一些情況中，該第一 MHC 多肽為第 II 型 MHC α 鏈多肽且該第二 MHC 多肽為第 II 型 MHC β -鏈多肽。於其他情況中，該第一多肽為第 II 型 MHC β 鏈多肽且該第二 MHC 多肽為第 II 型 MHC α 鏈多肽。

[0128] 於一些情況中，本發明之多聚體多肽的 MHC 多肽為人 MHC 多肽，其中人 MHC 多肽亦稱為“人白血球抗原”(“HLA”)多肽。於一些情況中，本發明之多聚體多肽的 MHC 多肽為第 I 類 HLA 多肽，例如 β 2 微球蛋白多肽或第 I 類 HLA 重鏈多肽。第 I 類 HLA 重鏈多肽包括 HLA-A 重鏈多肽、HLA-B 重鏈多肽、HLA-C 重鏈多肽、HLA-E 重鏈多肽、HLA-F 重鏈多肽及 HLA-G 重鏈多肽。於一些情況中，本發明之多聚體多肽的 MHC 多肽為第 II 類 HLA 多肽，例如第 II 類 HLA α 鏈或第 II 類 HLA β 鏈。第 II 型 MHC 多肽包括第 II 類 MCH DP α 和 β 多肽、DM α 和 β

多肽、DOA α 和 β 多肽、DOB α 和 β 多肽、DQ α 和 β 多肽及 DR α 和 β 多肽。

[0129] 舉例而言，本發明之多聚體多肽的第 I 型 MHC 重鏈多肽可包含與第 25A 圖中所描繪之人 HLA-A 重鏈多肽的胺基酸序列之胺基酸 25-365 具有至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99% 或 100% 胺基酸序列同一性的胺基酸序列。

[0130] 舉例而言，本發明之多聚體多肽的第 I 型 MHC 重鏈多肽可包含與下列人 HLA-A 重鏈胺基酸序列之胺基酸序列的胺基酸 25-365 具有至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、在至少 95%、至少 98%、至少 99% 或 100% 胺基酸序列同一性的胺基酸序列：

GSISMRYFFTSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFDSDA
ASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKYKAHSQTHRVDLG
TLRGYYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYA
YDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQ
LRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAV
SDHEATLRCWALSFPYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETR
PAGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLR
WEP (SEQ ID NO:5)。

[0131] 舉例而言，本發明之多聚體多肽的第 I 型 MHC 重鏈多肽可包含與第 25B 圖中描繪之人 HLA-B 重鏈多肽的胺基酸序列之胺基酸 25-362 具有至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少

99%或 100%胺基酸序列同一性的胺基酸序列。

[0132] 另一實例，本發明之多聚體多肽的第 I 型 MHC 重鏈多肽可包含與第 25C 圖中所描繪之人 HLA-C 重鏈多肽的胺基酸序列之胺基酸 25-362 具有至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99%或 100%胺基酸序列同一性的胺基酸序列。

[0133] 另一實例，本發明之多聚體多肽的第 I 型 MHC 重鏈多肽可包含與下列胺基酸序列具有至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、在至少 95%、至少 98%、至少 99%或 100%胺基酸序列同一性的胺基酸序列：

[0134] GPHSLRYFVTAVSRPGLGEPRFIAVGYVDDTQ
FVRFDSDADNPRFEPRAPWMEQEGPEYWEEQTQRAKSDE
QWFRVSLRTAQRYYNQSKGGSHTFQRMFGCDVGSDWRL
RGYQQFAYDGRDYIALNEDLKTWTAADTAALITRRKWEQ
AGDAEYYRAYLEGECEVWLRRYLELGNETLLRTDSPKAH
VTYHPRSQVDVTLRCWALGFYPADITLTWQLNGEDLTQD
MELVETRPAGDGTFQKWAAVVVPLGKEQNYTCHVHHKG
LPEPLTLRW (SEQ ID NO:22)。

[0135] 本發明之多聚體多肽的 $\beta 2$ 微球蛋白(B2M)多肽可為人 B2M 多肽、非人靈長類 B2M 多肽、鼠 B2M 多肽，等。於一些情況中，B2M 多肽包含與第 20 圖中新描繪之 B2M 胺基酸序列具有至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99%或

100%胺基酸序列同一性的胺基酸序列。

[0136] 於一些情況中，MHC 多肽相對於參考 MHC 多肽(其中參考 MHC 多肽可為野生型 MHC 多肽)包含單一胺基酸取代，其中該單一胺基酸取代係以半胱胺酸(Cys)殘基取代胺基酸。該等半胱胺酸殘基，當存在於本發明之多聚體多肽的第一多肽之 MHC 多肽中時可與存在於本發明之多聚體多肽的第二多肽鏈中之半胱胺酸殘基形成二硫鍵。

[0137] 於一些情況中，本發明之多聚體多肽的第一多肽中之第一 MHC 多肽及/或本發明之多聚體多肽的第二多肽中之第二 MHC 多肽包括以半胱胺酸取代胺基酸之胺基酸取代，其中在第一 MHC 多肽中之經取代的半胱胺酸與在第二 MHC 多肽中之半胱胺酸形成二硫鍵，其中在第一 MHC 多肽中之半胱胺酸與在第二 MHC 多肽中之經取代的半胱胺酸一起形成二硫鍵或者其中在第一 MHC 多肽中之經取代的半胱胺酸與在第二 MHC 多肽中之經取代的半胱胺酸一起形成二硫鍵。

[0138] 例如，於一些情況中，在 HLA β 2-微球蛋白和第 I 類 HLA 重鏈中之下列殘基對之一被半胱胺酸所取代：1)B2M 殘基 12，第 I 類 HLA 重鏈殘基 236；2)B2M 殘基 12，第 I 類 HLA 重鏈殘基 237；3)B2M 殘基 8，第 I 類 HLA 重鏈殘基 234；4)B2M 殘基 10，第 I 類 HLA 重鏈殘基 235；5)B2M 殘基 24，第 I 類 HLA 重鏈殘基 236；6)B2M 殘基 28，第 I 類 HLA 重鏈殘基 232；7)B2M 殘基

98，第 I 類 HLA 重鏈殘基 192；8)B2M 殘基 99，第 I 類 HLA 重鏈殘基 234；9)B2M 殘基 3，第 I 類 HLA 重鏈殘基 120；10)B2M 殘基 31，第 I 類 HLA 重鏈殘基 96；11)B2M 殘基 53，第 I 類 HLA 重鏈殘基 35；12)B2M 殘基 60，第 I 類 HLA 重鏈殘基 96；13)B2M 殘基 60，第 I 類 HLA 重鏈殘基 122；14)B2M 殘基 63，第 I 類 HLA 重鏈殘基 27；15)B2M 殘基 Arg3，第 I 類 HLA 重鏈殘基 Gly120；16)B2M 殘基 His31，第 I 類 HLA 重鏈殘基 Gln96；17)B2M 殘基 Asp53，第 I 類 HLA 重鏈殘基 Arg35；18)B2M 殘基 Trp60，第 I 類 HLA 重鏈殘基 Gln96；19)B2M 殘基 Trp60，第 I 類 HLA 重鏈殘基 Asp122；20)B2M 殘基 Tyr63，第 I 類 HLA 重鏈殘基 Tyr27；21)B2M 殘基 Lys6，第 I 類 HLA 重鏈殘基 Glu232；22)B2M 殘基 Gln8，第 I 類 HLA 重鏈殘基 Arg234；23)B2M 殘基 Tyr10，第 I 類 HLA 重鏈殘基 Pro235；24)B2M 殘基 Ser11，第 I 類 HLA 重鏈殘基 Gln242；25)B2M 殘基 Asn24，第 I 類 HLA 重鏈殘基 Ala236；26)B2M 殘基 Ser28，第 I 類 HLA 重鏈殘基 Glu232；27)B2M 殘基 Asp98，第 I 類 HLA 重鏈殘基 His192；28)B2M 殘基 Met99，第 I 類 HLA 重鏈殘基 Arg234。MHC/第 I 類 HLA 重鏈之胺基酸編號係參考無信號肽之成熟 MHC/第 I 類 HLA 重鏈。例如，在第 25A 圖中所描繪之包括信號肽的胺基酸序列中，Gly120 為 Gly144；Gln96 為 Gln120；等。

免疫調節多肽

[0139] 本發明之多聚體多肽的免疫調節多肽可為活化性免疫調節多肽或抑制性免疫調節多肽。於一些情況中，本發明之多聚體多肽包括單一免疫調節多肽。於一些情況中，本發明之多聚體多肽包括二個免疫調節多肽。於一些情況中，該二個免疫調節多肽係串列在一個多肽鏈中。於一些情況中，該二個免疫調節多肽係在分別之多肽鏈中。於一些情況中，該二個免疫調節多肽係在分別之多肽鏈中且為彼此連接之二硫化物。

[0140] 於一些情況中，本發明之多聚體多肽的免疫調節多肽為 T 細胞調節多肽。於一些情況中，該 T 細胞調節多肽為刺激性(活化性) T 細胞調節多肽。於一些情況中，該 T 細胞調節多肽為抑制性 T 細胞調節多肽。T 細胞調節多肽可為抗體、肽配體、T 細胞共刺激性多肽、細胞因子或毒素。

[0141] 於一些情況中，本發明之多聚體多肽的免疫調節多肽為特異結合表現在抗原決定部位特異性 T 細胞之表面上的共刺激性多肽之基於抗體或非基於抗體的識別部分。基於抗體之識別部分包括，例如抗體；保留對抗原之特異性結合的抗體片段，包括，但不限於 Fab、Fv、單鏈 Fv(scFv) 及和 Fd 片段；嵌合型抗體；人化抗體；單鏈抗體(scAb)、單一結構域抗體(dAb)；單一結構域重鏈抗體；單一結構域輕鏈抗體；等。合適之非基於抗體的識別

部分包括，例如親和體；經基因工程處理之 Kunitz 結構域；單體(纖連蛋白(adnectin))；抗運載蛋白(anticalin)；適體(aptamer)；經設計之錨蛋白(ankyrin)重複結構域(DARPin)；富含半胱胺酸之多肽(例如富含半胱胺酸之打結素(knottin)肽)的結合位點；高親和性多聚體(avimer)；afflin；等。基於抗體的或非基於抗體之識別部分特異性結合表現在抗原決定部位特異性 T 細胞之表面上的共刺激性多肽，其中該等共刺激性多肽包括，但不限於 CTLA4、PD1、ICOS、OX40、CD20 及 4-1BB。該表現在抗原決定部位特異性 T 細胞之表面上的共刺激性多肽為本技藝所已知。

[0142] 於一些情況中，本發明之多聚體多肽的免疫調節多肽為 T 細胞共刺激性多肽。於一些情況中，本發明之多聚體多肽的免疫調節多肽為 T 細胞共刺激性多肽且為腫瘤壞死因子(TNF)超家族之成員；例如 FasL 多肽、41BBL 多肽、CD40 多肽、OX40L 多肽、CD30L 多肽、CD70 多肽，等。於一些情況中，本發明之多聚體多肽的免疫調節多肽為 T 細胞共刺激性多肽且為免疫球蛋白(Ig)超家族的成員；例如 CD7 多肽、CD86 多肽、ICAM 多肽，等。

[0143] 本發明之多聚體多肽的合適之免疫調節多肽包括，但不限於 CD80(B7-1)、CD86(B7-2)、4-1BBL、OX40L、ICOS-L、ICAM、PD-L1、FasL 及 PD-L2。本發明之多聚體多肽的合適之免疫調節多肽包括，例如 CD7、

CD3OL、CD40、CD70、CD83、HLA-G、MICA、MICB、HVEM、淋巴毒素 β 受體、3/TR6、ILT3、ILT4 及 HVEM。

[0144] 於一些情況中，本發明之多聚體多肽的 T 細胞調節多肽為 PD-L1 多肽。於一些情況中，本發明之多聚體多肽的 PD-L1 多肽包含與第 26A 或 26B 圖中所描繪之 PD-L1 胺基酸序列的胺基酸 19-290 具有至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99% 或 100% 胺基酸序列同一性之胺基酸序列。

[0145] 於一些情況中，本發明之多聚體多肽的 T 細胞調節多肽為 4-1BBL 多肽。於一些情況中，本發明之多聚體多肽的 4-1BBL 多肽包含與第 27 圖中所描繪之 4-1BBL 胺基酸序列的胺基酸 50-254 具有至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99% 或 100% 胺基酸序列同一性的胺基酸序列。

[0146] 於一些情況中，本發明之多聚體多肽的 T 細胞調節多肽為 ICOS-L 多肽。於一些情況中，本發明之多聚體多肽的 ICOS-L 多肽包含與第 28 圖中所描繪之 ICOS-L 胺基酸序列的胺基酸 19-302 具有至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99% 或 100% 胺基酸序列同一性的胺基酸序列。

[0147] 於一些情況中，本發明之多聚體多肽的 T 細胞調節多肽為 OX40 多肽。於一些情況中，本發明之多聚體多肽的 OX40 多肽包含與第 29 圖中所描繪之 OX40L 胺

基酸序列的胺基酸 1-183 具有至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99%或 100%胺基酸序列同一性的胺基酸序列。

[0148] 於一些情況中，本發明之多聚體多肽的 T 細胞調節多肽為 PD-L2 多肽。於一些情況中，本發明之多聚體多肽的 PD-L2 多肽包含與第 30 圖中所描繪之 PD-L2 胺基酸序列的胺基酸 20-273 具有至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99%或 100%胺基酸序列同一性的胺基酸序列。

[0149] 於一些情況中，本發明之多聚體多肽的 T 細胞調節多肽為 CD80(B7-1)多肽。於一些情況中，本發明之多聚體多肽的 CD80 多肽包含與第 31 圖中所描繪之 CD80 胺基酸序列的胺基酸 35-288 具有至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99%或 100%胺基酸序列同一性的胺基酸序列。

[0150] 於一些情況中，本發明之多聚體多肽的 T 細胞調節多肽為 CD86 多肽。於一些情況中，本發明之多聚體多肽的 CD86 多肽包含與第 32 圖中所描繪之 CD86 胺基酸序列的胺基酸 31-329 具有至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99%或 100%胺基酸序列同一性的胺基酸序列。

[0151] 於一些情況中，本發明之多聚體多肽的 T 細胞調節多肽為 FasL 多肽。於一些情況中，本發明之多聚體多肽的 FasL 多肽包含與第 33 圖中所描繪之 FasL 胺基

酸序列的胺基酸 1-281 具有至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99%或 100%胺基酸序列同一性的胺基酸序列。

[0152] 可用於本發明中之另外的 T 細胞調節結構域 (MOD)包括天然存在或合成之人基因產物(蛋白質)、針對人基因產物之親和試劑(例如抗體、抗體片段、單鏈 Fv、適體、奈米抗體)，包括，但不限於來自典型和非典型(例如 FGF2、IL1、S100A4)分泌機制之所有分泌蛋白及藉由天然存在之基因編碼的蛋白質節段(單一或多個跨膜)或轉譯後修飾(諸如 GPI 鍵聯)錨定之所有細胞表面蛋白質的胞外結構域。針對細胞表面聚醣或其他轉譯後修飾(例如硫酸化)之任何天然存在或合成之親和試劑(例如抗體、抗體片段、單鏈 Fv、適體、奈米抗體、凝集素(lectin)，等)。實例包括，但不限於 TNF/TNFR 族之成員(OX40L、ICOSL、FASL、LTA、LTB TRAIL、CD153、TNFSF9、RANKL、TWEAK、TNFSF13、TNFSF13b、TNFSF14、TNFSF15、TNFSF18、CD40LG、CD70)或針對 TN/TNFR 族成員之親和試劑；免疫球蛋白超家族之成員(VISTA、PD1、PD-L1、PD-L2、B71、B72、CTLA4、CD28、TIM3、CD4、CD8、CD19、T 細胞受體鏈、ICOS、ICOS 配體、HHLA2、嗜乳脂蛋白(butyrophilin)、BTLA、B7-H3、B7-H4、CD3、CD79a、CD79b、IgSF CAMS(包括 CD2、CD58、CD48、CD150、CD229、CD244、ICAM-1)、白血球免疫球蛋白樣受體(LILR)、殺手細胞免疫球蛋

白樣受體(KIR))、凝集素超家族成員、選擇素(selectin)、細胞因子/趨化因子和細胞因子/趨化因子受體、生長因子和生長因子受體)、黏連分子(整合素(integrin)、纖連蛋白、鈣黏著蛋白(cadherin))或多跨膜蛋白之胞外結構域或針對免疫球蛋白超家族及表列之基因產物的親和試劑。此外，這些基因產物之活性同系物/直系同源物包括，但不限於病毒序列(例如 CMV、EBV)、細菌序列、真菌序列、真核病原體(例如血吸蟲(*Schistosoma*)、瘧原蟲(*Plasmodium*)、巴貝斯蟲(*Babesia*)、艾美球蟲(*Eimeria*)、泰勒蟲(*Theileria*)、弓形蟲(*Toxoplasma*)、內阿米巴(*Entamoeba*)、利什曼原蟲(*Leishmania*)和錐蟲(*Trypanosoma*))及哺乳動物來源之編碼區。此外，MOD 可包含針對人基因產物之小分子藥物。

Fc 多肽

[0153] 本發明之多聚體多肽包含 Fc 多肽或其他合適之支架多肽。

[0154] 合適之支架多肽包括基於抗體之支架多肽和非基於抗體之支架。非基於抗體之支架包括，例如白蛋白、XTEN(延伸之重組體)多肽、轉鐵蛋白、Fc 受體多肽、彈性蛋白樣多肽(參見，例如 Hassouneh et al. (2012) *Methods Enzymol.* 502:215；例如包含(Val-Pro-Gly-X-Gly)之五肽重複單位的多肽，其中 X 為脯胺酸以外之任何胺基酸)、白蛋白結合多肽、絲綢樣多肽(參見，例如 Valluzzi

et al. (2002) *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 357:165)、絲綢彈性蛋白樣多肽(SELP; 參見, 例如 Megeed et al. (2002) *Adv Drug Deliv Rev.* 54:1075), 等。合適之 XTEN 多肽包括, 例如那些揭示於 WO 2009/023270、WO 2010/091122、WO2007/103515、US 2010/0189682 及 US 2009/0092582 中; 亦參見 Schellenberger et al. (2009) *Nat Biotechnol.* 27:1186)。合適之白蛋白多肽包括, 例如人血清白蛋白。

[0155] 於一些情況中, 本發明之合適的支架多肽將為半衰期延長的多肽。因此, 於一些情況中, 相較於缺乏該支架多肽之對照組多聚體多肽, 合適之支架多肽增加多聚體多肽之活體內半衰期(例如血清半衰期)。例如, 於一些情況中, 相較於缺乏該支架多肽之對照組多聚體多肽, 支架多肽使該多聚體多肽之活體內半衰期(例如血清半衰期)增加至少約 10%、至少約 15%、至少約 20%、至少約 25%、至少約 50%、至少約 2 倍、至少約 2.5 倍、至少約 5 倍、至少約 10 倍、至少約 25 倍、至少約 50 倍、至少約 100 倍或超過 100 倍。舉例而言, 於一些情況中, 相較於缺乏該 Fc 多肽之對照組多聚體多肽, Fc 多肽使該多聚體多肽之活體內半衰期(例如血清半衰期)增加至少約 10%、至少約 15%、至少約 20%、至少約 25%、至少約 50%、至少約 2 倍、至少約 2.5 倍、至少約 5 倍、至少約 10 倍、至少約 25 倍、至少約 50 倍、至少約 100 倍或超過 100 倍。

[0156] 本發明之多聚體多肽的 Fc 多肽可為人 IgG1 Fc、人 IgG2 Fc、人 IgG3 Fc、人 IgG4 Fc，等。於一些情況中，該 Fc 多肽包含與第 24A-C 圖中所描繪之 Fc 區的胺基酸序列具有至少約 70%、至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 98%、至少約 99%或 100%胺基酸序列同一性的胺基酸序列。於一些情況中，該 Fc 區包含與第 24A 圖中所描繪之人 IgG1 Fc 多肽具有至少約 70%、至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 98%、至少約 99%或 100%胺基酸序列同一性的胺基酸序列。於一些情況中，該 Fc 多肽包含與第 24A 圖中所描繪之人 IgG2 Fc 多肽具有至少約 70%、至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 98%、至少約 99%或 100%胺基酸序列同一性的胺基酸序列；例如，該 Fc 多肽包含與第 24A 圖中所描繪之人 IgG2 Fc 多肽的胺基酸 99-325 具有至少約 70%、至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 98%、至少約 99%或 100%胺基酸序列同一性的胺基酸序列。於一些情況中，該 Fc 多肽包含與第 24A 圖中所描繪之人 IgG3 Fc 多肽具有至少約 70%、至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 98%、至少約 99%或 100%胺基酸序列同一性的胺基酸序列；例如，該 Fc 多肽包含與第 24A 圖中所描繪之人 IgG3 Fc 多肽的胺基酸 19-246 具有至少約 70%、至少約 75%、

至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 98%、至少約 99%或 100%胺基酸序列同一性的胺基酸序列。於一些情況中，該 Fc 多肽包含與第 24B 圖中所描繪之人 IgM Fc 多肽具有至少約 70%、至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 98%、至少約 99%或 100%胺基酸序列同一性的胺基酸序列；例如，該 Fc 多肽包含與第 24B 圖中所描繪之人 IgM Fc 多肽的胺基酸 1-276 具有至少約 70%、至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 98%、至少約 99%或 100%胺基酸序列同一性的胺基酸序列。於一些情況中，該 Fc 多肽包含與第 24C 圖中所描繪之人 IgA Fc 多肽具有至少約 70%、至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 98%、至少約 99%或 100%胺基酸序列同一性的胺基酸序列；例如，該 Fc 多肽包含與第 24C 圖中所描繪之人 IgA Fc 多肽的胺基酸 1-234 具有至少約 70%、至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 98%、至少約 99%或 100%胺基酸序列同一性的胺基酸序列。

另外之多肽

[0157] 除了上述者外，本發明之多聚體多肽的多肽鏈可包括一或多個多肽。合適之另外的多肽包括抗原決定部位標記物和親和性結構域。該一或多個另外之多肽可包

含在本發明之多聚體多肽的多肽鏈之 N 端、本發明之多聚體多肽的多肽鏈之 C 端或本發明之多聚體多肽的多肽鏈之內部。

抗原決定部位標記物

[0158] 合適之抗原決定部位標記物包括，但不限於血球凝集素(HA；例如 YPYDVDPDYA(SEQ ID NO：23)；FLAG(例如 DYKDDDDDK(SEQ ID NO：24)；c-myc 基因(例如 EQKLISEEDL；SEQ ID NO：25)，等。

親和性結構域

[0159] 親和性結構域包括可與結合伴侶交互作用之肽序列，例如，諸如固定在固體支持物上，用於鑑定或純化者。編碼數個連續單一胺基酸(諸如組胺酸)之 DNA 序列當融合至該表現出之蛋白質時，可藉由結合至樹脂交換柱(諸如鎳瓊脂糖)之高親和力而用於單步驟純化該重組蛋白。示例性親和性結構域包括 His5(HHHHH)(SEQ ID NO：26)、HisX6(HHHHHH)(SEQ ID NO：27)、C-myc(EQKLISEEDL)(SEQ ID NO：25)、Flag(DYKDDDDDK)(SEQ ID NO：24)、StrepTag (WSHPQFEK)(SEQ ID NO：28)、血球凝集素，例如 HA 標記物(YPYDVDPDYA)(SEQ ID NO：23)、麩胱甘肽 S-轉移酶(GST)、硫氧還原蛋白、纖維素結合結構域、RYIRS(SEQ ID NO：30)、Phe-His-His-Thr(SEQ ID NO：31)、幾丁質結合結構域、S-肽、T7

肽、SH2 結構域、C 端 RNA 標記物、WEAAAREACCRECCARA(SEQ ID NO: 32)、金屬結合結構域，例如鋅結合結構域或鈣結合結構域，諸如來自鈣結合蛋白者，例如鈣調蛋白(calmodulin)、肌鈣蛋白 C(troponin C)、鈣調磷酸酶 B(calcineurin B)、肌球蛋白輕鏈(myosin light chain)、恢復蛋白(recoverin)、S-調節蛋白(S-modulin)、視錐蛋白(visinin)、VILIP、神經鈣蛋白(neurocalcin)、海馬鈣蛋白(hippocalcin)、神經元鈣傳感蛋白(frequenin)、鈣收縮蛋白(caltractin)、鈣蛋白酶大次單位(calpain large-subunit)、S100 蛋白、小白蛋白(parvalbumin)、鈣結合蛋白 D9K(calbindin D9K)、鈣結合蛋白 D28K(calbindin D28K)及鈣視網膜蛋白(calretinin)、內含肽(inteins)、生物素(biotin)、鏈黴親和素(streptavidin)、MyoD、Id、白胺酸拉鍊序列(leucine zipper sequence) 及麥芽糖結合蛋白(maltose binding protein)。

修飾

[0160] 本發明之多聚體多肽可包括一或多個共價連接該多聚體多肽之非多肽部分。合適之非多肽部分包括，例如生物相容性脂肪酸及其衍生物；羥烷基澱粉(HAS)，例如羥乙基澱粉(HES)；聚(乙二醇)；透明質酸(HA)；合成肝素(heparosan)聚合物(HEP)；基於磷醯膽鹼之聚合物；葡聚糖；聚唾液酸(PSA)；等。於一些情況中，與不

包含該非多肽部分之對照組多聚體多肽比較，該非多肽部分增加多聚體多肽之活體內半衰期。

[0161] 於一些情況中，本發明之多聚體多肽包括可檢測之標記。合適之可檢測的標記包括放射性同位素，諸如 ^{123}I (碘)、 ^{18}F (氟)、 ^{99}Tc (鎝)、 ^{111}In (銲)、 ^{67}Ga (鎳)、放射活性 Gd 同位素(^{153}Gd)；造影劑，諸如釷(Gd)、鐳和鐵；產生可檢測之產物的酶(例如螢光素酶、 β -半乳糖苷酶、辣根過氧化物酶、鹼性磷酸酶，等)；螢光蛋白；生色蛋白，染料(例如異硫氰酸螢光素、若丹明、藻紅蛋白(phycoerythrin)，等)；螢光發射金屬，例如 ^{152}Eu 或其他鐳系元素；化學發光化合物，例如魯米諾(luminol)、異魯米諾、吡啶鹽，等；生物發光化合物；等。

活性

[0162] 根據存在於本發明之多聚體多肽中的免疫調節(“MOD”)多肽之性質，該多聚體多肽可活化或抑制靶的 T 細胞。本發明之多聚體多肽選擇性地活化或抑制特異於存在於該多聚體多肽中之抗原決定部位的靶的 T 細胞。“靶的 T 細胞”包括抗原決定部位特異性 CD4^+ T 細胞、抗原特異性 CD8^+ T 細胞。於一些情況中，該靶的 CD4^+ T 細胞為輔助性 T 細胞(例如 Th1、Th2 或 Th17 細胞)。於一些情況中，該靶的 CD4^+ T 細胞為 $\text{CD4}^+/\text{CD25}^+/\text{FoxP3}^+$ 調節性 T(Treg)細胞。於一些情況中，該靶的 T 細胞為 CD8^+ T 細胞且為細胞毒性 T 細胞。於一些情況中，該靶的 T 細胞

為記憶性 T 細胞，其可為 $CD4^+$ T 細胞或 $CD8^+$ T 細胞，其中記憶性 T 細胞通常為 $CD45RO^+$ 。於一些情況中，該靶的 T 細胞為 NK-T 細胞。

[0163] 於一些情況中，本發明之多聚體多肽增進 T 細胞歸巢和運輸。例如，於一些情況中，本發明之多聚體多肽當與靶的 T 細胞接觸時會增加該靶的 T 細胞外滲到治療部位。於一些情況中，相對於該未與本發明之多聚體多肽接觸之靶的 T 細胞的外滲水準，當本發明之多聚體多肽與靶的 T 細胞接觸時可使外滲到治療部位之靶的 T 細胞增加至少 10%、至少 15%、至少 25%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 75%、至少 2 倍、至少 5 倍、至少 10 倍、至少 15 倍、至少 20 倍、至少 25 倍、至少 50 倍、至少 100 倍或超過 100 倍。增加之外滲可增加在治療部位之 T 細胞的數目。於一些情況中，本發明之多聚體多肽當與靶的 T 細胞接觸時可增加在治療部位之 T 細胞的數目。

[0164] 於一些情況中，本發明之多聚體多肽增加由靶的 T 細胞表現之一或多種介導或調節靶的 T 細胞運輸淋巴細胞之蛋白質的表現。例如，於一些情況中，本發明之多聚體多肽當與靶的 T 細胞接觸時可增加在靶的 T 細胞中之一或多種黏附分子及/或趨化因子受體分子的量。例如，於一些情況中，與由未接觸本發明之多聚體多肽的靶的 T 細胞製造之黏附分子及/或趨化因子受體分子的量相比較時，本發明之多聚體多肽當與靶的 T 細胞接觸時可使

一或多種黏附分子及/或趨化因子受體之表現增加至少 2 倍、至少 5 倍、至少 10 倍、至少 15 倍、至少 20 倍、至少 25 倍、至少 50 倍、至少 100 倍或超過 100 倍。黏附分子之實例包括由 CD8 T 細胞製造之黏附分子，其中該等黏附分子之實例包括，但不限於 CD44、LFA-1 及 VLA-4。趨化因子受體之實例包括由 CD8 T 細胞製造之趨化因子受體，其中該等趨化因子受體之實例包括，但不限於 CCR5、CCR7 和 CXCR3。

[0165] 於一些情況中，本發明之多聚體多肽導致能對先前經驗之抗原決定部位產生快速之細胞毒性反應的記憶性 T 細胞產生。例如，於一些情況中，本發明之多聚體多肽當與靶的 T 細胞接觸時導致產生包含 0.5%或更多之抗原特異性 T 細胞匯集體的記憶性 T 細胞。例如，於一些情況中，本發明之多聚體多肽當與靶的 T 細胞接觸時導致產生包含 0.5%或更多、1%或更多、2%或更多、3%或更多、4%或更多、5%或更多、10%或更多、15%或更多或 20%或更多之抗原特異性 T 細胞匯集體的記憶性 T 細胞。記憶性 T 細胞之細胞表面標記的實例為 CD45RO。

[0166] 於一些情況中，本發明之多聚體多肽增加靶的 T 細胞增殖。例如，於一些情況中，相較於未與本發明之多聚體多肽接觸之靶的 T 細胞的增殖情況，本發明之多聚體多肽當與靶的 T 細胞接觸時能使靶的 T 細胞之增殖增加至少 10%、至少 15%、至少 20%、至少 25%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 75%、至少 2 倍、至少

5 倍、至少 10 倍、至少 15 倍、至少 20 倍、至少 25 倍、至少 50 倍、至少 100 倍或超過 100 倍。

[0167] 於一些情況中，本發明之多聚體多肽增加 T 細胞對靶的細胞之細胞毒性活性。例如，於一些情況中，相較於未與本發明之多聚體多肽接觸之 T 細胞對該靶的細胞的細胞毒性活性，本發明之多聚體多肽當與靶的 T 細胞接觸時可使該 T 細胞對靶的細胞之細胞毒性活性增加至少 10%、至少 15%、至少 20%、至少 25%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 75%、至少 2 倍、至少 5 倍、至少 10 倍、至少 15 倍、至少 20 倍、至少 25 倍、至少 50 倍、至少 100 倍或超過 100 倍。T 細胞之靶的包括經病毒感染之細胞、癌細胞，等。

[0168] 於一些情況中，本發明之多聚體多肽可增加靶的 T 細胞製造細胞因子。例如，於一些情況中，相較於未與本發明之多聚體多肽接觸之靶的 T 細胞所製造之細胞因子的量，本發明之多聚體多肽當與靶的 T 細胞接觸時可使靶的 T 細胞製造之細胞因子量增加至少 10%、至少 15%、至少 20%、至少 25%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 75%、至少 2 倍、至少 5 倍、至少 15 倍、至少 20 倍、至少 25 倍、至少 50 倍、至少 100 倍或超過 100 倍。細胞因子之實例包括由 Th1 細胞製造之細胞因子，例如 IL-2、IFN- γ 及 TNF- α ；由 Th17 細胞製造之細胞因子，例如 IL-17、IL-21 和 IL-22；由 Treg 細胞製造之細胞因子，例如 TGF- β 、IL-35 和 IL-10。

[0169] 於一些情況中，本發明之多聚體多肽抑制靶的 T 細胞製造細胞因子。例如，於一些情況中，相較於未與本發明之多聚體多肽接觸之靶的 T 細胞所製造之細胞因子的量，本發明之多聚體多肽當與靶的 T 細胞接觸時可抑制靶的 T 細胞製造細胞因子達至少 10%、至少 15%、至少 20%、至少 25%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%或至少 90%或超過 90%。細胞因子之實例包括由 Th2 細胞製造之細胞因子，例如 IL-4、IL-5、IL-6、IL-10 和 IL-13。

示例性實施態樣

[0170] 本發明之多聚體多肽的非限制性實例包括：

[0171] 1) 一種多聚體多肽，其包含：a)第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC β 2 微球蛋白多肽；和 iii) 4-BBL 多肽；及 b)第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 ii) Ig Fc 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 β 2 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC β 2 微球蛋白多

肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/或親和性結構域；

[0172] 2) 一種多聚體多肽，其包含：a) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；和 iii) PD-L1 多肽；及 b) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 ii) Ig Fc 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中

之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/或親和性結構域；

[0173] 3) 一種多聚體多肽，其包含：a) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；和 iii) ICOS-L 多肽；及 b) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 ii) Ig Fc 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第

I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/或親和性結構域；

[0174] 4) 一種多聚體多肽，其包含：a) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；和 iii) OX40L 多肽；及 b) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 ii) Ig Fc 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包

括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/或親和性結構域；

[0175] 5) 一種多聚體多肽，其包含：a) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；和 iii) CD80 多肽；及 b) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 ii) Ig Fc 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情

況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/或親和性結構域；

[0176] 6) 一種多聚體多肽，其包含：a) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；和 iii) CD86 多肽；及 b) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 ii) Ig Fc 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該

Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/或親和性結構域；

[0177] 7) 一種多聚體多肽，其包含：a) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；和 iii) PD-L2 多肽；及 b) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 ii) Ig Fc 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽

為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/或親和性結構域；

[0178] 8) 一種多聚體多肽，其包含：a) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；及 b) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 4-BBL 多肽；ii) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 iii) Ig Fc 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc

多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/或親和性結構域；

[0179] 9) 一種多聚體多肽，其包含：a) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；及 b) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) PD-L1 多肽；ii) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 iii) Ig Fc 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC

多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/或親和性結構域；

[0180] 10) 一種多聚體多肽，其包含：a) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；及 b) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) ICOS-L 多肽；ii) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 iii) Ig Fc 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多

肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/或親和性結構域；

[0181] 11) 一種多聚體多肽，其包含：a) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；及 b) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) OX40L 多肽；ii) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 iii) Ig Fc 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/或親和

性結構域；

[0182] 12) 一種多聚體多肽，其包含：a)第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；及 b)第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) CD80 多肽；ii) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 iii) Ig Fc 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/或親和性結構域；

[0183] 13) 一種多聚體多肽，其包含：a)第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；及 b)第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) CD86 多肽；ii) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 iii) Ig Fc 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/或親和性結構域；

[0184] 14) 一種多聚體多肽，其包含：a)第一多肽，

其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；及 b) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) PD-L2 多肽；ii) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 iii) Ig Fc 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/或親和性結構域；

[0185] 15) 一種多聚體多肽，其包含：a) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；

ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；及 b) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) FasL 多肽；ii) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 iii) Ig Fc 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/或親和性結構域；

[0186] 16) 一種多聚體多肽，其包含：a) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；和 iii) 二個串列之 4-

BBL 多肽；及 b) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 ii) Ig Fc 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/或親和性結構域；

[0187] 17) 一種多聚體多肽，其包含：a) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；和 iii) 二個串列之 PD-L1 多肽；及 b) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序

包含：i) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 ii) Ig Fc 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/或親和性結構域；

[0188] 18) 一種多聚體多肽，其包含：a) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；和 iii) 二個串列之 ICOS-L 多肽；及 b) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 ii) Ig Fc 多肽。於一

些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/或親和性結構域；

[0189] 19) 一種多聚體多肽，其包含：a) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；和 iii) 二個串列之 OX40L 多肽；及 b) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 ii) Ig Fc 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化

物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/或親和性結構域；

[0190] 20) 一種多聚體多肽，其包含：a) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；和 iii) 二個串列之 CD80 多肽；及 b) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 ii) Ig Fc 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和

$\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/或親和性結構域；

[0191] 21) 一種多聚體多肽，其包含：a) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；和 iii) 二個串列之 CD86 多肽；及 b) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 ii) Ig Fc 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該

第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/或親和性結構域；

[0192] 22) 一種多聚體多肽，其包含：a) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；和 iii) 二個串列之 PD-L2；及 b) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 ii) Ig Fc 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽

中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/或親和性結構域；

[0193] 23) 一種多聚體多肽，其包含：a) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；和 iii) 二個串列之 FasL 多肽；及 b) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 ii) Ig Fc 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽

中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/或親和性結構域；

[0194] 24) 一種多聚體多肽，其包含：a) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；和 iii) 第一 4-1BBL 多肽；b) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 ii) Ig Fc 多肽；及 c) 第三多肽，其包含第二 4-1BBL 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽和第三多肽為彼此連接之二硫化物；且該第一多肽和第三多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多

肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該第一多肽和第三多肽為二硫化物，其經由存在於(或經取代入)該第一和第二 4-1BBL 多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/或親和性結構域；

[0195] 25) 一種多聚體多肽，其包含：a)第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；和 iii) 第一 PD-L1 多肽；b)第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 ii) Ig Fc 多肽；及 c)第三多肽，其包含第二 PD-L1 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽

和 second 多肽為彼此連接之二硫化物；且該第一多肽和第三多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和 second 多肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和 second 多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該第一多肽和第三多肽為二硫化物，其經由存在於(或經取代入)該第一和 second PD-L1 多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/或親和性結構域；

[0196] 26) 一種多聚體多肽，其包含：a) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；和 iii) 第一 ICOS-L

多肽；b)第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 ii) Ig Fc 多肽；及 c)第三多肽，其包含第二 ICOS-L 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物；且該第一多肽和第三多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該第一多肽和第三多肽為二硫化物，其經由存在於(或經取代成)該第一和第二 ICOS-L 多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含

一 抗原決定部位標記物及/或親和性結構域；

[0197] 27) 一種多聚體多肽，其包含：a)第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；和 iii) 第一 OX40L 多肽；b)第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 ii) Ig Fc 多肽；及 c)第三多肽，其包含第二 OX40L 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物；且該第一多肽和第三多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該第一多肽和第三多肽為二硫化物，其經由存在於(或經取代入)該第一和第二 OX40L 多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該

Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/或親和性結構域；

[0198] 28) 一種多聚體多肽，其包含：a) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；和 iii) 第一 CD80 多肽；b) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 ii) Ig Fc 多肽；及 c) 第三多肽，其包含第二 CD80 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物；且該第一多肽和第三多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該第一

多肽和第三多肽為二硫化物，其經由存在於(或經取代入)該第一和第二 CD80 多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/或親和性結構域；

[0199] 29) 一種多聚體多肽，其包含：a)第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；和 iii) 第一 CD86 多肽；b)第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 ii) Ig Fc 多肽；及 c)第三多肽，其包含第二 CD86 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物；且該第一多肽和第三多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺

酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該第一多肽和第三多肽為二硫化物，其經由存在於(或經取代入)該第一和第二 CD86 多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/或親和性結構域；

[0200] 30) 一種多聚體多肽，其包含：a) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；和 iii) CD80 多肽；b) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 ii) Ig Fc 多肽；及 c) 第三多肽，其包含 CD86 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽和第三多肽為彼此連接之二硫化物；且該第一多肽和第三多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，

其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該第一多肽和第三多肽為二硫化物，其經由存在於(或經取代入)該 CD80 多肽和 CD86 多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/或親和性結構域；

[0201] 31) 一種多聚體多肽，其包含：a) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；和 iii) 第一 PD-L2 多肽；b) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 ii) Ig Fc 多肽；及 c) 第三多肽，其包含第二 PD-L2 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽

和 second 多肽為彼此連接之二硫化物；且該第一多肽和第三多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和 second 多肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和 second 多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該第一多肽和 third 多肽為二硫化物，其經由存在於(或經取代入)該第一和 second PD-L2 多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/或親和性結構域；

[0202] 32) 一種多聚體多肽，其包含：a) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) T 細胞抗原決定部位；ii) 第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽；和 iii) 第一 FasL 多

肽；b)第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：i) 第 I 型 MHC 重鏈多肽；和 ii) Ig Fc 多肽；及 c)第三多肽，其包含第二 FasL 多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為彼此連接之二硫化物；且該第一多肽和第三多肽為彼此連接之二硫化物。於一些情況中，該第一多肽包含一介於該抗原決定部位和 $\beta 2$ 微球蛋白多肽之間的連接子多肽。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該連接子多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該第一多肽和第二多肽為二硫化物，其經由存在於該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽中之半胱胺酸殘基及存在於該第 I 型 MHC 重鏈多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接；於某些這些實施態樣中，該第 I 型 MHC $\beta 2$ 微球蛋白多肽及/或第 I 型 MHC 重鏈多肽包括胺基酸取代以提供參與該二硫鍵之半胱胺酸。於一些情況中，該第一多肽和第三多肽為二硫化物，其經由存在於(或經取代入)該第一和第二 FasL 多肽中之半胱胺酸殘基彼此連接。於一些情況中，該 IgFc 多肽為 IgG1 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG2 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG3 Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，係使用第 II 型 MHC 多肽代替第 I 型 MHC 多肽。於一些情況中，該多聚體多肽在 Fc 多肽之 C 端包含一抗原決定部位標記物及/

或親和性結構域。

多聚蛋白前體

[0203] 本發明提供一種如下述之重組多肽，其包含鄰接候選抗原決定部位肽之與第一 B2M 前導序列相一致的胺基酸序列，該候選抗原決定部位肽鄰接第一胺基酸連接子序列，該第一胺基酸連接子序列鄰接與人天然 B2M 肽序列相一致之胺基酸序列，該與人天然 B2M 肽序列相一致之胺基酸序列鄰接第二胺基酸連接子序列，該第二胺基酸連接子序列鄰接 T 細胞調節結構域肽序列，該 T 細胞調節結構域肽序列鄰接第三胺基酸連接子，該第三胺基酸連接子鄰接第二 B2M 前導序列，該第二 B2M 前導序列鄰接與 MHC 重鏈相一致之胺基酸序列，該與 MHC 重鏈相一致之胺基酸序列鄰接與免疫球蛋白 Fc 結構域相一致之胺基酸序列。

[0204] 於一實施態樣中，該第一胺基酸可為具有 50 個胺基酸或更少至最少具有 5 個胺基酸的任何胺基酸序列。於一實施態樣中，該第二胺基酸連接子可為具有 70 個胺基酸或更少至最少具有 5 個胺基酸的任何胺基酸序列。於一實施態樣中，該第三胺基酸連接子可為病毒 2A 肽或具有已知之蛋白酶裂解能力的肽(例如於非限制性實施態樣中，弗林蛋白酶(furin)裂解位點、煙草蝕斑(Tobacco Etch)病毒[TEV]序列、Precision 蛋白酶位點或凝血酶蛋白酶)。於一實施態樣中，該第一胺基酸包含

GGGGSGGGGSGGGGS(SEQ ID NO : 1)。於一實施態樣中，該第二胺基酸連接子包含 GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS(SEQ ID NO : 2)。於一實施態樣中，該第三胺基酸連接子包含 SGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO : 3)。

[0205] 本發明亦提供一種如下述之重組多肽，其包含鄰接候選抗原決定部位肽之與第一 B2M 前導序列相一致的胺基酸序列，該候選抗原決定部位肽鄰接第一胺基酸連接子序列，該第一胺基酸連接子序列鄰接與人天然 B2M 肽序列相一致之胺基酸序列，該與人天然 B2M 肽序列相一致之胺基酸序列鄰接第二胺基酸連接子序列，該第二胺基酸連接子序列鄰接第二 B2M 前導序列，該第二 B2M 前導序列鄰接 T 細胞調控結構域肽序列，該 T 細胞調控結構域肽序列鄰接第三胺基酸連接子序列，該第三胺基酸連接子序列鄰接與 MHC 重鏈相一致之胺基酸序列，該與 MHC 重鏈相一致之胺基酸序列鄰接與免疫球蛋白 Fc 結構域相一致之胺基酸序列。

連接子

[0206] 於一實施態樣中，該第一胺基酸可為具有 50 個胺基酸或更少至最少具有 5 個胺基酸的任何胺基酸序列。於一實施態樣中，該第二胺基酸連接子可為具有 70 個胺基酸或更少至最少具有 5 個胺基酸的任何胺基酸序列。於一實施態樣中，該第三胺基酸連接子可為病毒 2A 肽或具有已知之蛋白酶裂解能力的肽(例如於非限制性實

施態樣中，弗林蛋白酶裂解位點、煙草蝕斑病毒[TEV]序列、Precision 蛋白酶位點或凝血酶蛋白酶)。於一實施態樣中，該第一胺基酸包含 GGGGSGGGGSGGGGS(SEQ ID NO: 1)。於一實施態樣中，該第二胺基酸連接子包含 GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS(SEQ ID NO: 2)。於一實施態樣中，該第三胺基酸連接子包含 SGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO: 3)。

[0207] 於該重組多肽之一實施態樣中，該第三胺基酸連接子為自裂解的。於該重組多肽之一實施態樣中，該第二胺基酸連接子為自裂解的。於該重組多肽之一實施態樣中，該自裂解肽為病毒 2A 肽或具有其序列。於一實施態樣中，該病毒 2A 肽為豬捷申病毒-1(P2A)、口蹄疫病毒(F2A)、明脈扁刺蛾 β 四體病毒 (Thosea asigna virus)(T2A)、馬 A 型鼻炎病毒(E2A)或病毒性豬捷申病毒-1(P2A)肽或具有其中一者之序列。或者，此亦可以二個完全除去該 2A 序列之分開的質粒(或病毒)形式投遞。

[0208] 該蛋白水解可裂解之連接子可包括一蛋白酶識別序列，此蛋白酶識別序列可被選自由下列所組成之群組的蛋白酶識別：丙胺酸羧基肽酶、蜜環菌蝦紅素 (Armillaria mellea astacin)、細菌白胺醯胺基肽酶、癌症促凝血質、組織蛋白酶 B(cathepsin B)、梭菌蛋白酶 (clostripain)、胞漿丙胺醯胺基肽酶 (cytosol alanyl aminopeptidase)、彈性蛋白酶、內蛋白酶 Arg-C、腸激酶、胃亞蛋白酶(gastricsin)、明膠酶、Gly-X 羧基肽酶、

甘胺醯內肽酶、人鼻病毒 3C 蛋白酶、皮蠅素 C(hypodermin C)、IgA 特異性絲胺酸內肽酶、白胺醯胺基肽酶、白胺醯內肽酶、lysC、溶酶體 pro-X 羧基肽酶、賴胺醯胺基肽酶、甲硫醯胺基肽酶、黏液菌(myxobacter)、苯乙肼裂解酶(nardilysin)、胰內肽酶 E、細小核糖核酸病毒內肽酶 2A(picornain 2A)、細小核糖核酸病毒內肽酶 3C、前內肽酶、脯胺醯胺基肽酶、前蛋白轉化酶 I、前蛋白轉化酶 II、russellysin、酵母胃蛋白酶(saccharopepsin)、精液凝固蛋白酶(semenogelase)、T-纖溶酶原活化劑、凝血酶、組織激肽釋放酶(kallikrein)、煙草蝕斑病毒(TEV)、批膜病毒素(togavirin)、色胺醯胺基肽酶、U-纖溶酶原活化劑、V8、蛇毒絲胺酸蛋白酶 A(venombin A)、蛇毒絲胺酸蛋白酶 AB 及 Xaa-PRO 胺基肽酶。於一些情況中，該蛋白水解可裂解連接子可包括可被宿主酶識別之蛋白酶識別序列，例如由該宿主細胞天然產生之酶。

[0209] 例如，該蛋白水解可裂解之連接子可包含基質金屬蛋白酶裂解位點，例如用於選自下列群組之 MMP 的裂解位點：膠原蛋白酶-1、膠原蛋白酶-2 和膠原蛋白酶-3(MMP-1、MMP-8 和 MMP-13)、明膠酶 A 和 B(MMP-2 和 -9)、溶基質素(stromelysin)1、2 和 3(MMP-3、MMP-10 和 MMP-11)、基質溶解因子(matrilysin)(MMP-7)和膜金屬蛋白酶(MT1-MMP 和 MT2-MMP)。例如，MMP-9 之裂解序列為 Pro-X-X-Hy(其中 X 代表任意殘基；Hy 為疏水殘

基)，例如 Pro-X-X-Hy-(Ser/Thr)，例如 Pro-Leu/ Gln-Gly-Met-Thr-Ser(SEQ ID NO：33)或 Pro-Leu/ Gln-Gly-Met-Thr(SEQ ID NO：21)。蛋白酶裂解位點之另一實例為纖維溶酶原活化子裂解位點，例如 uPA 或組織纖維蛋白溶酶原活化子(tPA)裂解位點。uPA 和 tPA 之裂解序列的特殊實例包括包含 Val-Gly-Arg 之序列。可包含在蛋白水解可裂解連接子中之蛋白酶裂解位點的另一實例為煙草蝕斑病毒(TEV)蛋白酶裂解位點，例如 ENLYTQS(SEQ ID NO：34)，其中該蛋白酶係在麩胺醯胺和絲胺酸之間裂解。可包含在蛋白水解可裂解之連接子中的蛋白酶裂解位點之另一實例為腸激酶裂解位點，例如 DDDDK(SEQ ID NO：35)，其中裂解係發生在賴胺酸殘基之後。可包含在蛋白水解可裂解之連接子中的蛋白酶裂解位點之另一實例為凝血酶裂解位點，例如 LVPR(SEQ ID NO：36)。可包含在蛋白水解可裂解之連接子中的蛋白酶裂解位點之另一實例為弗林蛋白酶裂解位點，例如 Arg-X-(Arg/Lys)-Arg，其中 X 為任何胺基酸。另外之包含蛋白酶裂解位點之合適的連接子包括包含一或多個下列胺基酸序列之連接子：LEVLFQGP(SEQ ID NO：37)，可被 PreScission 蛋白酶(一種融合蛋白，其包含人鼻病毒 3C 蛋白酶和麩胱甘肽-S-轉移酶；Walker et al. (1994) *Biotechnol.* 12:601)裂解；凝血酶裂解位點，例如 CGLVPAGSGP(SEQ ID NO：38)；SLLKSRMVPNFN(SEQ ID NO：39)或 SLLIARRMPNFN(SEQ ID NO：40)，可被組織蛋白酶 B 裂解；

SKLVQASASGVN(SEQ ID NO : 41)或 SSYLKASDAPDN (SEQ ID NO : 42), 可被 Epstein-Barr 病毒蛋白酶裂解 ; RPKPQQFFGLMN(SEQ ID NO : 43), 可被 MMP-3(溶基质素)裂解 ; SLRPLALWRSFN (SEQ ID NO : 44), 可被 MMP-7(基质溶解因子)裂解 ; SPQGIAGQRNFN(SEQ ID NO : 45), 可被 MMP-9 裂解 ; DVDERDVRGFASFL(SEQ ID NO : 46), 可被嗜热菌蛋白酶(thermolysin)样 MMP 裂解 ; SLPLGLWAPNFN(SEQ ID NO : 47), 可被基质金属蛋白酶 2 (MMP-2)裂解 ; SLLIFRSWANFN(SEQ ID NO : 48), 可被组织蛋白酶(cathespín) L 裂解 ; SGVVIATVIVIT (SEQ ID NO : 49), 可被组织蛋白酶 D 裂解 ; SLGPQGIWGQFN(SEQ ID NO : 50), 可被基质金属蛋白酶 1 裂解(MMP-1); KKSPGRVVGGSV(SEQ ID NO : 51), 可被尿激酶型纤溶酶原活化子裂解 ; PQGLLGAPGILG(SEQ ID NO : 52), 可被第 1 型膜基质金属蛋白酶(MT-MMP)裂解 ; HGPEGLRVGFYESDVMGRGHARLVHVEEPHT(SEQ ID NO : 53), 可被溶基质素 3 (或 MMP-11)、嗜热菌蛋白酶、纤维母细胞胶原蛋白酶及溶基质素 -1 裂解 ; GPQGLAGQRGIV(SEQ ID NO : 54), 可被基质金属蛋白酶 13(胶原蛋白酶-3)裂解 ; GGSGQRGRXALE(SEQ ID NO : 55), 可被组织型纤溶酶原活化子裂解 (tPA) ; SLSALLSSDIFN(SEQ ID NO : 56), 可被人前列腺特异性抗原裂解 ; SLPRFKIIGGFN(SEQ ID NO : 57), 可被激肽释放酶(hK3)裂解 ; SLLGIAVPGNFN(SEQ ID NO : 58), 可

被中性粒細胞彈性蛋白酶裂解；和 FFKNIVTPRTPP(SEQ ID NO：59)，可被鈣蛋白酶(鈣活化之中性蛋白酶)裂解。合適之蛋白水解可裂解連接子之另外的實例包括：

1)ATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO：60)；2)EGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO：61)；3)QCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO：62)；和4)VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO：63)。合適之蛋白水解可裂解連接子之另外的實例包括：

1)GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO：64)；2)GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO：65)；3)GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO：66)；和4)GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO：67)。

[0210] 合適之連接子的實例包括 2A 連接子(例如 T2A)、2A 樣連接子或彼等之功能等效物及彼等之組合。於一些實施態樣中，該連接子包括細小核糖核酸病毒 2A 樣連接子、豬捷申病毒(P2A)、明脈扁刺蛾 β 四體病毒(T2A)之 CHYSEL 序列，及彼等之組合、變異體和功能等效物。於其他實施態樣中，該連接子序列可包含 Asp-Val/Ile -Glu-X-Asn-Pro-Gly^{2A}-Pro^{2B} 基序，此導致介於 2A 甘胺酸和 2B 脯胺酸之間的裂解。在本發明之目的方面，P2A(GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO：64))、T2A (GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO：65))、E2A (GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO：66)) 和 F2A (GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID

NO : 67))可被視為是“蛋白裂解位點”或“核糖體跳躍信號”(CHYSEL)。參見，例如 Kim et al. (2011) *PLoS ONE* 6:e18556。產生為二條多肽鏈形式之編碼多肽的機制可能為該連接子之自行裂解、核糖體跳躍或轉譯分流。無論機制為何，本發明之多聚體多肽中之至少二條多肽鏈可使用 P2A、T2A、E2A 或 F2A 序列製造。合適之連接子包括包含諸如下列胺基酸序列的多肽：

GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO : 64)、
 GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO : 65)、
 GSGQCTNYALLKLAGDVESNP(SEQ ID NO : 66)、
 GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNP(SEQ ID NO : 67)或相對於 SEQ ID NO : 64-67 所列之胺基酸序列具有 1 至 5 個胺基酸取代的胺基酸序列(例如相對於 SEQ ID NO : 64-67 所列之胺基酸序列具有 1 至 5 個保守型胺基酸取代之胺基酸序列)。合適之連接子包括包含諸如下列胺基酸序列的多肽：

GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO : 64)、
 GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO : 65)、
 GSGQCTNYALLKLAGDVESNP(SEQ ID NO : 66)、
 GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNP(SEQ ID NO : 67)或相對於 SEQ ID NO : 64-67 所列之胺基酸序列具有 1 至 10 個胺基酸取代的胺基酸序列(例如相對於 SEQ ID NO : 64-67 所列之胺基酸序列具有 1 至 10 個保守型胺基酸取代之胺基酸序列)。

抗原決定部位

[0211] 於該重組多肽之一實施態樣中，該候選抗原決定部位包含 7-20 個胺基酸。於該重組多肽之一實施態樣中，該抗原決定部位肽為用於第 I 型 MHC 之 5-20 個胺基酸。於一實施態樣中，該抗原決定部位肽為用於第 I 型 MHC 之 8-11 個胺基酸。於一實施態樣中，該抗原決定部位肽為用於第 II 型 MHC 之 5-40 個胺基酸。於一實施態樣中，該抗原決定部位肽為用於第 II 型 MHC 之 13-17 個胺基酸。於一實施態樣中，該抗原決定部位肽為任何天然產生或突變之人序列或為任何由病原體衍生之序列。

MHC 多肽

[0212] 於該重組多肽之一實施態樣中，該第一及/或第二 B2M 前導序列具有人 B2M 前導序列之序列。

[0213] 於一些情況中，前導肽包含與下列人 B2M 前導序列具有至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99% 或 100% 胺基酸序列同一性的胺基酸序列：MSRSVALAVLALLSLSGLEA(SEQ ID NO：68)。

[0214] 於一些情況中，如本文所描述之 B2M 前導序列可為哺乳動物 B2M 前導序列，包括，但不限於，例如人 B2M 前導序列、靈長類動物 B2M 前導序列、嚙齒動物 B2M 前導序列，等。於一些情況中，如本文所描述之 B2M 前導序列包含與第 20 圖中所描繪之 B2M 前導序列之

一具有至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99%或 100%胺基酸序列同一性的胺基酸序列。

[0215] 於一實施態樣中，該 B2M 包含下列序列：

[0216] IQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHPS
DIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTE
KDEYACRVNHVTLSPKIVKWDRDM (SEQ ID NO:4)。

[0217] 於一些情況中，B2M 多肽包含與第 20 圖中所描繪之 B2M 胺基酸序列具有至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99%或 100%之序列同一性的胺基酸序列。

[0218] 於該重組多肽之一實施態樣中，該 MHC 重鏈為人 MHC 重鏈。於該重組多肽之一實施態樣中，該 MHC 重鏈為第 I 型 MHC 分子。示例性第 I 型 MHC 重鏈包括 HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-E、HLA-F、HLA-G、HLA-K 和 HLA-L 之 α 鏈。於該重組多肽之一實施態樣中，該 MHC 重鏈為 HLA-A02:01。於一實施態樣中，該 HLA 為 HLA-A02。於一實施態樣中，該 HLA-A02 包含序列：

[0219] GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQ
FVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKKVKAHS
QTHRVDLGTLRGYYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRF
LRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKW
EAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPK

THMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGEDQT
QDTELVETRPAGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYTCHVQHE
GLPKPLTLRWEP (SEQ ID NO:5)。

[0220] 於該重組多肽之一實施態樣中，該 MHC 重鏈為第 II 型 MHC 分子。示例性第 II 型 MHC 重鏈包括 HLA-D 所具者。

[0221] 於該重組多肽之一實施態樣中，該重組多肽進一步在其人天然 B2M 肽序列及其重鏈序列中包含突變以使該介於 B2M 肽序列和重鏈序列之間的二硫鍵作用。

[0222] 於該重組多肽之一實施態樣中，該重組多肽重鏈序列為 HLA 且該二硫鍵連接下列殘基對中之一者：

[0223] B2M 殘基 12，HLA 殘基 236；

[0224] B2M 殘基 12，HLA 殘基 237；

[0225] B2M 殘基 8，HLA 殘基 234；

[0226] B2M 殘基 10，HLA 殘基 235；

[0227] B2M 殘基 24，HLA 殘基 236；

[0228] B2M 殘基 28，HLA 殘基 232；

[0229] B2M 殘基 98，HLA 殘基 192；

[0230] B2M 殘基 99，HLA 殘基 234；

[0231] B2M 殘基 3，HLA 殘基 120；

[0232] B2M 殘基 31，HLA 殘基 96；

[0233] B2M 殘基 53，HLA 殘基 35；

[0234] B2M 殘基 60，HLA 殘基 96；

[0235] B2M 殘基 60，HLA 殘基 122；

- [0236] B2M 殘基 63，HLA 殘基 27；
- [0237] B2M 殘基 Arg3，HLA 殘基 Gly120；
- [0238] B2M 殘基 His31，HLA 殘基 Gln96；
- [0239] B2M 殘基 Asp53，HLA 殘基 Arg35；
- [0240] B2M 殘基 Trp60，HLA 殘基 Gln96；
- [0241] B2M 殘基 Trp60，HLA 殘基 Asp122；
- [0242] B2M 殘基 Tyr63，HLA 殘基 Tyr27；
- [0243] B2M 殘基 Lys6，HLA 殘基 Glu232；
- [0244] B2M 殘基 Gln8，HLA 殘基 Arg234；
- [0245] B2M 殘基 Tyr10，HLA 殘基 Pro235；
- [0246] B2M 殘基 Ser11，HLA 殘基 Gln242；
- [0247] B2M 殘基 Asn24，HLA 殘基 Ala236；
- [0248] B2M 殘基 Ser28，HLA 殘基 Glu232；
- [0249] B2M 殘基 Asp98，HLA 殘基 His192；和
- [0250] B2M 殘基 Met99，HLA 殘基 Arg234
- [0251] (B2M 和 HLA 序列參見 SEQ ID NO：4 和 5)。

[0252] 於該重組多肽之一實施態樣中，該重鏈序列為 HLA 且其中該二硫鍵連接下列殘基對中之一者：

[0253] 第一連接子位置 Gly2，重鏈 (HLA) 位置 Tyr84；

[0254] 輕鏈 (B2M) 位置 Arg12，HLA Ala236；及/或

[0255] B2M 殘基 Arg12，HLA 殘基 Gly237。

Fc 多肽

[0256] 於該重組多肽之一實施態樣中，該免疫球蛋白 Fc 結構域為 IgG Fc 結構域。於該重組多肽之一實施態樣中，該免疫球蛋白 Fc 結構域為 IgA Fc 結構域。於該重組多肽之一實施態樣中，該免疫球蛋白 Fc 結構域為 IgM Fc 結構域。於該重組多肽之一實施態樣中，該免疫球蛋白 Fc 結構域為人免疫球蛋白 Fc 結構域。於該重組多肽之一實施態樣中，該免疫球蛋白 Fc 結構域為 IgG1 Fc 結構域。

免疫調節多肽

[0257] 於該重組多肽之一實施態樣中，該 T 細胞調節結構域為抑制性結構域。

[0258] 於該重組多肽之一實施態樣中，該 T 細胞調節結構域為刺激性結構域。

[0259] 於該重組多肽之一實施態樣中，該 T 細胞調節結構域為抗體和抗體片段、肽配體、T 細胞共刺激肽、細胞因子或毒素。

[0260] 於該重組多肽之一實施態樣中，該 T 細胞調節結構域包括 PD-L1 肽、PD-L1 肽之 Ig 可變結構域，該 T 細胞調節結構域包含 4-1BBL，該 T 細胞調節結構域包含 B7-1W88A 或者該 T 細胞調節結構域包含抗 CD28 單鏈 Fv。

[0261] 可用於本發明中之另外的 T 細胞調節結構域 (MOD) 包括天然存在或合成之人基因產物 (蛋白質)、針對

人基因產物之親和試劑(例如抗體、抗體片段、單鏈 Fv、適體、奈米抗體)，包括，但不限於來自典型和非典型(例如 FGF2、IL1、S100A4)分泌機制之所有分泌蛋白及藉由天然存在之基因編碼的蛋白質節段(單一或多個跨膜)或轉譯後修飾(諸如 GPI 鍵聯)錨定之所有細胞表面蛋白質的胞外結構域。針對細胞表面聚醣或其他轉譯後修飾(例如硫酸化)之任何天然存在或合成之親和試劑(例如抗體、抗體片段、單鏈 Fv、適體、奈米抗體、凝集素，等)。實例包括，但不限於 TNF/TNFR 族之成員(OX40L、ICOSL、FASL、LTA、LTB TRAIL、CD153、TNFSF9、RANKL、TWEAK、TNFSF13、TNFSF13b、TNFSF14、TNFSF15、TNFSF18、CD40LG、CD70)或針對 TN/TNFR 族成員之親和試劑；免疫球蛋白超家族之成員(VISTA、PD1、PD-L1、PD-L2、B71、B72、CTLA4、CD28、TIM3、CD4、CD8、CD19、T 細胞受體鏈、ICOS、ICOS 配體、HHLA2、嗜乳脂蛋白(butyrophilin)、BTLA、B7-H3、B7-H4、CD3、CD79a、CD79b、IgSF CAMS(包括 CD2、CD58、CD48、CD150、CD229、CD244、ICAM-1)、白血球免疫球蛋白樣受體(LILR)、殺手細胞免疫球蛋白樣受體(KIR))、凝集素超家族成員、選擇素、細胞因子/趨化因子和細胞因子/趨化因子受體、生長因子和生長因子受體)、黏連分子(整合素、纖連蛋白、鈣黏著蛋白)或多跨膜蛋白之胞外結構域或針對免疫球蛋白超家族及表列之基因產物的親和試劑。此外，這些基因產物之活性同系物/直系同

源物包括，但不限於病毒序列(例如 CMV、EBV)、細菌序列、真菌序列、真核病原體(例如血吸蟲、瘧原蟲、巴貝斯蟲、艾美球蟲、泰勒蟲、弓形蟲、內阿米巴、利什曼原蟲和錐蟲)及哺乳動物來源之編碼區。此外，MOD 可包含針對人基因產物之小分子藥物。

另外之多肽

[0262] 於該重組多肽之一實施態樣中，其進一步包含鄰接該重組多肽之 C-端的 His-8 標記物。

核酸

[0263] 本發明提供編碼本文所描述之任一重組多肽的核酸。於一實施態樣中，該核酸為 DNA。於一實施態樣中，該核酸為 cDNA。於一實施態樣中，該核酸為 RNA。於一實施態樣中，該核酸為 mRNA。

[0264] 於一實施態樣中，該重組核酸為載體。於一實施態樣中，該載體為病毒載體。於一實施態樣中，該病毒載體為慢病毒(lentivirus)載體。

[0265] 本發明提供包含編碼本發明之多聚體多肽的核苷酸序列之核酸。於一些情況中，本發明之多聚體多肽的個別多肽鏈係編碼在單獨之核酸裡。於一些情況中，本發明之多聚體多肽的所有多肽鏈係編碼在單一核酸中。於一些情況中，第一核酸包含編碼本發明之多聚體多肽的第一多肽之核苷酸序列；而第二核酸包含編碼本發明之多聚

體多肽的第二多肽之核苷酸序列。於一些情況中，單一核酸包含編碼本發明之多聚體多肽的第一多肽及本發明之多聚體多肽的第二多肽之核苷酸序列。於一些情況中，核酸包含編碼如上述之多聚蛋白前體的核苷酸序列。

編碼多聚體多肽之個別多肽鏈的各別核酸

[0266] 本發明提供包含編碼本發明之多聚體多肽的核苷酸序列之核酸。如上述，於一些情況中，本發明之多聚體多肽的個別多肽鏈係編碼在各別核酸中。於一些情況中，編碼本發明之多聚體多肽的各別多肽鏈之核苷酸序列係可操作地連接轉錄控制元件，例如啟動子，諸如在真核細胞中作用之啟動子，其中該啟動子可為組成型啟動子或誘導型啟動子。

[0267] 本發明提供第一核酸和第二核酸，其中該第一核酸包含編碼本發明之多聚體多肽的第一多肽之核苷酸序列，其中該第一多肽依從 N 端至 C 端之順序包含：a) 抗原決定部位(例如 T 細胞抗原決定部位)；b) 第一 MHC 多肽；和 c) 免疫調節多肽；且其中該第二核酸包含編碼本發明之多聚體多肽的第二多肽之核苷酸序列，其中該第二多肽依從 N 端至 C 端之順序包含：a) 第二 MHC 多肽；和 b) Ig Fc 多肽。合適之 T 細胞抗原決定部位、MHC 多肽、免疫調節多肽和 Ig Fc 多肽描述於上文中。於一些情況中，該編碼第一和第二多肽之核苷酸序列係可操作地連接轉錄控制元件。於一些情況中，該轉錄控制元件為在真核

細胞中作用之啟動子。於一些情況中，該核酸為存在於各別表現載體中。

[0268] 本發明提供第一核酸和第二核酸，其中該第一核酸包含編碼本發明之多聚體多肽的第一多肽之核苷酸序列，其中該第一多肽依從 N 端至 C 端之順序包含：a) 抗原決定部位(例如 T 細胞抗原決定部位)；b) 第一 MHC 多肽；且其中該第二核酸包含編碼本發明之多聚體多肽的第二多肽之核苷酸序列，其中該第二多肽依從 N 端至 C 端之順序包含：a) 免疫調節多肽；b) 第二 MHC 多肽；和 c) Ig Fc 多肽。合適之 T 細胞抗原決定部位、MHC 多肽、免疫調節多肽和 Ig Fc 多肽描述於上文中。於一些情況中，該編碼第一和第二多肽之核苷酸序列係可操作地連接轉錄控制元件。於一些情況中，該轉錄控制元件為在真核細胞中作用之啟動子。於一些情況中，該核酸為存在於各別表現載體中。

編碼存在於多聚體多肽中之二或多種多肽之核酸

[0269] 本發明提供包含至少編碼本發明之多聚體多肽的第一多肽和第二多肽之核苷酸序列的核酸。於其中本發明之多聚體多肽包括第一、第二和第三多肽的一些情況中，該核酸包括編碼第一、第二和第三多肽之核苷酸序列。於一些情況中，該編碼本發明之多聚體多肽的第一多肽和第二多肽之核苷酸序列包括一介於編碼該第一多肽之核苷酸序列和編碼該第二多肽之核苷酸序列之間的蛋白水

解可裂解之連接子。於一些情況中，該編碼本發明之多聚體多肽的第一多肽和第二多肽之核苷酸序列包括一介於編碼該第一多肽之核苷酸序列和編碼該第二多肽之核苷酸序列之間的內部核糖體進入位點(IRES)。於一些情況中，該編碼本發明之多聚體多肽的第一多肽和第二多肽之核苷酸序列包括一介於編碼該第一多肽之核苷酸序列及編碼該第二多肽之核苷酸序列之間的核糖體跳躍信號(或順式作用水解酶元件，CHYSEL)。核酸之實例描述於下文中，其中蛋白水解可裂解之連接子係位在編碼本發明之多聚體多肽的第一多肽和第二多肽之核苷酸序列之間；於這些實施態樣之任一者中，可使用 IRES 或核糖體跳躍信號來代替編碼該蛋白水解可裂解之連接子的核苷酸序列。

[0270] 於一些情況中，第一核酸(例如重組表現載體、mRNA、病毒 RNA，等)包含編碼本發明之多聚體多肽的第一多肽鏈之核苷酸序列；而第二核酸(例如重組表現載體、mRNA、病毒 RNA，等)包含編碼本發明之多聚體多肽的第二多肽鏈之核苷酸序列。於一些情況中，編碼該第一多肽之核苷酸序列，及編碼該第二多肽之第二核苷酸序列係各自可操作地連接轉錄控制元件，例如啟動子，諸如在真核細胞中作用之啟動子，其中該啟動子可為組成性啟動子或誘導型啟動子。

[0271] 本發明提供包含編碼重組多肽之核苷酸序列的核酸，其中該重組多肽依從 N 端至 C 端之順序包含：a) 抗原決定部位(例如 T 細胞抗原決定部位)；b) 第一 MHC

多肽；c)免疫調節多肽；d)蛋白水解可裂解之連接子；e)第二 MHC 多肽；和 f)免疫球蛋白(Ig) Fc 多肽。本發明提供包含編碼重組多肽之核苷酸序列的核酸，其中該重組多肽依從 N 端至 C 端之順序包含：a)第一前導肽；b)抗原決定部位；c)第一 MHC 多肽；d)該免疫調節多肽；e)蛋白水解可裂解之連接子；f)第二前導肽；g)第二 MHC 多肽；和 h) Ig Fc 多肽。本發明提供包含編碼重組多肽之核酸，其中該重組多肽依從 N 端至 C 端之順序包含：a)抗原決定部位；b)第一 MHC 多肽；c)蛋白水解可裂解之連接子；d)免疫調節多肽；e)第二 MHC 多肽；和 f) Ig Fc 多肽。於一些情況中，該第一前導肽和第二前導肽為 β 2-M 前導肽。於一些情況中，該核苷酸序列係可操作地連接轉錄控制元件。於一些情況中，該轉錄控制元件為可在真核細胞中作用之啟動子。

[0272] 合適之 MHC 多肽描述於上文中。於一些情況中，該第一 MHC 多肽為 β 2 微球蛋白多肽；且其中該第二 MHC 多肽為第 I 型 MHC 重鏈多肽。於一些情況中，該 β 2 微球蛋白多肽包含與 SEQ ID NO：4 所列之胺基酸序列具有至少 85%胺基酸序列同一性之胺基酸序列。於一些情況中，該第 I 型 MHC 重鏈多肽為 HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-E、HLA-F、HLA-G、HLA-K 或 HLA-L 重鏈。於一些情況中，該第 I 型 MHC 重鏈多肽包含與 SEQ ID NO：5 所列之胺基酸序列具有至少 85%胺基酸序列同一性之胺基酸序列。於一些情況中，該第一 MHC 多肽為第 II

型 MHC α 鏈多肽；且其中該第二 MHC 多肽為第 II 型 MHC β 鏈多肽。

[0273] 合適之 Fc 多肽描述於上文中。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽為 IgG1 Fc 多肽、IgG2 Fc 多肽、IgG3 Fc 多肽、IgG4 Fc 多肽、IgA Fc 多肽或 IgM Fc 多肽。於一些情況中，該 Ig Fc 多肽包含與第 24A-24C 圖中所描繪之胺基酸序列具有至少 85% 胺基酸序列同一性之胺基酸序列。

[0274] 合適之免疫調節多肽描述於上文中。於一些情況中，該免疫調節多肽係選自：4-1BBL 多肽、B7-1 多肽、B7-2 多肽、ICOS-L 多肽、OX-40L 多肽、CD80 多肽、CD86 多肽、PD-L1 多肽、FasL 多肽和 PD-L2 多肽。於一些情況中，該免疫調節多肽係選自：CD7、CD30L、CD40、CD70、CD83、HLA-G、MICA、MICB、HVEM、淋巴毒素 β 受體、3/TR6、ILT3、ILT4 和 HVEM。

[0275] 合適之蛋白水解可裂解連接子描述於上文中。於一些情況中，該蛋白水解可裂解連接子包含選自下列群組之胺基酸序列：a) LEVLFQGP(SEQ ID NO：37)；b) ENLYTQS(SEQ ID NO：34)；c) DDDDK(SEQ ID NO：35)；d) LVPR(SEQ ID NO：36)；及 e) GSGATNFSLLKQA GDVEENPGP(SEQ ID NO：64)。

[0276] 於一些情況中，該介於抗原決定部位與第一 MHC 多肽之間的連接子包含第一 Cys 殘基，該第二個 MHC 多肽包含一胺基酸取代以提供第二 Cys 殘基，從而

使該第一和第二 Cys 殘基提供一介於該連接子和第二 MHC 多肽之間的二硫鍵聯。於一些情況中，該第一 MHC 多肽包含一胺基酸取代以提供第一 Cys 殘基，而該第二 MHC 多肽包含一胺基酸取代以提供第二 Cys 殘基，從而使該第一 Cys 殘基和第二 Cys 殘基提供一介於該提供第一 MHC 多肽和第二 MHC 多肽之間的二硫鍵聯。

重組表現載體

[0277] 本發明提供包含本發明之核酸的重組表現載體。於一些情況中，該重組表現載體為非病毒載體。於一些實施態樣中，該重組表現載體為病毒構建體，例如重組之腺相關病毒構建體(參見，例如 US 專利案第 7,078,387 號)、重組之腺病毒構建體、重組之慢病毒構建體、重組之逆轉錄病毒構建體、非整合病毒載體，等。

[0278] 合適之表現載體包括，但不限於病毒載體(例如基於牛痘病毒；脊髓灰質炎病毒；腺病毒(參見，例如 Li et al., Invest Ophthalmol Vis Sci 35: 2543-2549, 1994; Borrás et al., Gene Ther 6:515-524, 1999; Li and Davidson, PNAS 92:7700-7704, 1995; Sakamoto et al., Hum Gene Ther 5:1088-1097, 1999; WO 94/12649、WO 93/03769; WO 93/19191; WO 94/28938; WO 95/11984 和 WO 95/00655); 腺相關病毒(參見，例如 Ali et al., Hum Gene Ther 9:81-86, 1998; Flannery et al., PNAS 94:6916-6921, 1997; Bennett et al., Invest Ophthalmol Vis Sci 38:2857

2863, 1997 ; Jomary et al., Gene Ther 4:683-690, 1997 ; Rolling et al., Hum Gene Ther 10 : 641-648, 1999 ; Ali et al., Hum Mol Genet 5:591-594, 1996 ; Srivastava, 在 WO 93/09239 中, Samulski et al., J. Vir. (1989) 63:3822-3828 ; Mendelson et al., Virol. (1988) 166:154-165 ; 和 Flotte et al., PNAS (1993) 90:10613-10617) ; SV40 ; 單純疱疹病毒 ; 人類免疫缺陷病毒(見, 例如 Miyoshi et al., PNAS 94 : 10319-23, 1997 ; Takahashi et al., J Virol 73:7812-7816, 1999)之病毒載體) ; 逆轉錄病毒載體(例如鼠白血病病毒、脾壞死病毒之載體)及衍生自逆轉錄病毒(諸如勞氏肉瘤病毒(Rous Sarcoma Virus)、哈維肉瘤病毒(Harvey Sarcoma Virus)、禽白血病病毒(avian leukosis virus)、慢病毒(lentivirus)、人類免疫缺陷病毒、骨髓增生肉瘤病毒(myeloproliferative sarcoma virus)和乳腺腫瘤病毒)之載體 ; 等。

[0279] 本技藝之技術熟習人員已知許多合適之表現載體且其中許多為市售商品。下列載體為示範之實例 ; 用於真核宿主細胞者 : pXT1、pSG5(Stratagene)、pSVK3、pBPV、pMSG 和 pSVLSV40(Pharmacia)。然而, 可使用任何其他載體只要其與宿主細胞相容。

[0280] 根據所使用之宿主/載體系統, 可在表現載體中使用許多合適之轉錄和轉譯控制元件中之任一者, 包括組成型和誘導型啟動子、轉錄增強子元件、轉錄終止子, 等(參見, 例如 Bitter et al. (1987) *Methods in Enzymology*,

153:516-544)。

[0281] 於一些實施態樣中，編碼 DNA 靶向 RNA 及/或定點修飾多肽之核苷酸序列係可操作地連接控制元件，例如轉錄控制元件，諸如啟動子。該轉錄控制元件可在真核細胞，例如哺乳動物細胞；或原核細胞(例如細菌或古細菌細胞)中作用。於一些實施態樣中，編碼 DNA 靶向 RNA 及/或定點修飾多肽之核苷酸序列係可操作地連接允許該編碼 DNA 靶向 RNA 及/或定點修飾多肽之核苷酸序列在原核和真核細胞中表現的多個控制元件。

[0282] 合適之真核啟動子的非限制性實例(在真核細胞中作用之啟動子)包括那些來自巨細胞病毒(CMV)即刻早期、單純疱疹病毒(HSV)胸苷激酶、早期和晚期 SV40、來自逆轉錄病毒之長末端重複序列(LTR)和小鼠金屬硫蛋白-I 者。合適之載體和啟動子的選擇係在本技藝之一般技術水準內。表現載體亦可含有用於轉譯起始和轉錄終止子之核糖體結合位點。該表現載體亦可包括用於擴增表現之合適序列。

經遺傳修飾之宿主細胞

[0283] 本發明提供以編碼本文所描述之任何重組多肽的核酸轉化之細胞。可以編碼任一該重組多肽之核酸轉化的細胞之實例包括經分離之哺乳動物細胞，包括，但不限於人胚胎腎(HEK)、中國倉鼠卵巢(CHO)、NS0(鼠骨髓瘤)細胞、人羊水細胞(CAP, CAP-T)、酵母細胞(包括，但

不限於釀酒酵母 (*S. cerevisiae*)、巴斯德畢赤酵母 (*Pichia pastoris*)、植物細胞(包括，但不限於煙草 NT1、BY-2)、昆蟲細胞(包括，但不限於 SF9、S2、SF21、Tni(例如 High5))或細菌細胞(包括，但不限於大腸桿菌)。

[0284] 本發明提供經基因工程修飾之宿主細胞，其中該宿主細胞係經本發明之核酸基因工程修飾。

[0285] 合適之宿主細胞包括真核細胞，諸如酵母細胞、昆蟲細胞和哺乳動物細胞。於一些情況中，該宿主細胞為哺乳動物細胞株的細胞。合適之哺乳動物細胞株包括人細胞株、非人類靈長類動物細胞株、嚙齒動物(例如小鼠、大鼠)細胞株，等。合適之哺乳動物細胞株包括，但不限於 HeLa 細胞(例如美國典型培養物保藏中心(ATCC)編號 CCL-2)、CHO 細胞(例如 ATCC 編號 CRL9618、CCL61、CRL9096)、293 細胞(例如 ATCC 編號 CRL-1573)、Vero 細胞、NIH 3T3 細胞(例如 ATCC 編號 CRL-1658)、Huh-7 細胞、BHK 細胞(例如 ATCC 編號 CCL10)、PC12 細胞(ATCC 編號 CRL1721)、COS 細胞、COS-7 細胞(ATCC 編號 CRL1651)、RAT1 細胞、小鼠 L 細胞(ATCC 編號 CCL1.3)、人胚胎腎(HEK)細胞(ATCC 編號 CRL1573)、HLHepG2 細胞，等。

[0286] 於一些情況中，該宿主細胞為已經過遺傳修飾，從而使其不會合成內源性 MHC β 2-M 之哺乳動物細胞。

製造多聚體多肽之方法

[0287] 本發明提供製造本發明之多聚體多肽的方法。一般而言，該方法涉及將經基因工程修飾之宿主細胞與包含編碼該多聚體多肽之核苷酸序列的重組表現載體一起培養在培養基中；從經基因工程修飾之宿主細胞及/或培養基分離該多聚體多肽。以包含編碼該多聚體多肽之核苷酸序列的重組表現載體進行基因工程修飾之宿主細胞亦稱為“表現宿主”。如上述，於一些情況中，本發明之多聚體多肽的個別多肽鏈係編碼在各別之重組表現載體中。於一些情況中，本發明之多聚體多肽的所有多肽鏈係編碼在單一重組表現載體中。

[0288] 可使用標準之蛋白質純化法從該表現宿主細胞(例如從該表現宿主細胞之溶胞產物)及/或培養該宿主細胞之培養基分離多聚體多肽。

[0289] 例如，可製備表現宿主之溶胞產物並使用高效液相色層分析法(HPLC)、排阻色層分析法、凝膠電泳法、親和力色層分析法或其他純化技術純化該溶胞產物。或者，當多聚體多肽從該表現宿主細胞分泌入培養基時，可使用 HPLC、排阻色層分析法、凝膠電泳法、親和力色層分析法或其他純化技術從該培養基中純化該多聚體多肽。於一些情況中，相關於與產物製備方法及其純化有關之污染物，所使用之組成物將包含至少 80 重量%、至少約 85 重量%、至少約 95 重量%或至少約 99.5 重量%之所需產物。該百分比可按總蛋白質計。

[0290] 於一些情況中(例如其中該多聚體多肽包含親和標記物)，該多聚體多肽可使用該親和標記物之固定化結合配體(binding partner)純化。

組成物

[0291] 本發明提供組成物，包括包含本發明之多聚體多肽的醫藥組成物。本發明提供組成物，包括包含本發明之核酸或重組表現載體的醫藥組成物。

包含多聚體多肽之組成物

[0292] 除了本發明之多聚體多肽外，本發明之組成物可包含下列一或多項：鹽，例如 NaCl、MgCl、KCl、MgSO₄，等；緩衝劑，例如 Tris 緩衝液、N-(2-羥乙基)六氫吡嗪-N'-(2-乙磺酸)(HEPES)、2-(N-嗎啉代)乙磺(MES)、2-(N-嗎啉代)乙磺酸鈉鹽(MES)、3-(N-嗎啉代)丙磺酸(MOPS)、N-三[羥甲基]甲基-3-胺基丙磺酸(TAPS)，等；增溶劑；洗滌劑，例如非離子型洗滌劑，諸如吐溫-20，等；蛋白酶抑制劑；甘油；等。

[0293] 該組成物可包含醫藥上可接受之賦形劑，本技藝已知各種醫藥上可接受之賦形劑且不需要在本文中詳細討論。醫藥上可接受之賦形劑已充分描述於多種出版物中，包括，例如 “Remington: The Science and Practice of Pharmacy”，第 19 版(1995)或最新版，Mack 出版公司；A. Gennaro (2000) “Remington: The Science and Practice of

Pharmacy”，第 20 版，Lippincott、Williams & Wilkins；
Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems
(1999) H.C. Ansel 等人，第 7 版，Lippincott、Williams &
Wilkins；及 Handbook of Pharmaceutical Excipients
(2000) A.H. Kibbe 等人，第 3 版，Amer. Pharmaceutical
Assoc。

[0294] 醫藥組成物可包含本發明之多聚體多肽及醫藥上可接受之賦形劑。於一些情況中，主題醫藥組成物將適合用於投予個體，例如將為無菌的。例如，於一些實施態樣中，主題醫藥組成物將適於投予人類個體，例如其中該組成物為無菌的且不含可檢測之熱原和/或其他毒素。

[0295] 蛋白質組成物可包含其他成分，諸如藥物級甘露醇、乳糖、澱粉、硬脂酸鎂、糖精鈉、滑石、纖維素、葡萄糖、蔗糖、鎂、碳酸鹽，等。該組成物可含有為了近似生理條件所需之醫藥上可接受的輔助物質，諸如 pH 調節劑和緩衝劑、毒性調節劑，等，例如醋酸鈉、氯化鈉、氯化鉀、氯化鈣、乳酸鈉、氫氯酸鹽、硫酸鹽、溶劑化物(例如混合之離子性鹽、水、有機物)、水合物(例如水)，等。

[0296] 例如，組成物可以包括水溶液、粉末形式、顆粒、片劑、丸劑、栓劑、膠囊、懸浮液、噴霧劑，等。該組成物可根據下文中描述之各種投藥途徑配製。

[0297] 當本發明之多聚體多肽係以注射劑形式直接投予(例如經由皮下、腹膜內和/或靜脈內)至組織內時，調

製劑可以即用型劑型或非水溶液形式(例如可重構成之儲存穩定粉末)或水溶液形式(諸如由藥學上可接之載體和賦形劑所組成之液體)提供。亦可提供含蛋白質之調製劑從而提高該主題蛋白質在投藥後之血清半衰期。例如，該蛋白質可提供在脂質體調製劑中，製備成膠體或其他用於延長血清半衰期之傳統技術。用於製備脂質體之可用的方法有多種，如描述於，例如 Szoka et al. 1980 *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.* 9:467、美國專利案第 4,235,871、4,501,728 和 4,837,028 案中者。該製劑亦可以控制釋出或緩釋形式提供。

[0298] 適合用於腸胃道外投藥之調製劑的其他實例包括等張無菌注射液、抗氧化劑、抑菌劑和使該調製劑與預期之接受者的血液成為等張之溶質、懸浮劑、增溶劑、增稠劑、穩定劑和防腐劑。例如主題醫藥組成物可存在於容器中，例如無菌容器，諸如注射器。該調製劑可存在於單位劑量或多劑量密封容器(諸如安瓿和小瓶中)且可儲存在僅需在使用前不久加入無菌液態賦形劑(例如注射用水)的冷凍乾燥(凍乾)條件下。即時注射溶液和懸浮液可從無菌粉末、顆粒和片劑製備。

[0299] 調製劑中之本發明之多聚體多肽的濃度可有很大的變化(例如從少於約 0.1 重量%，通常為或至少為約 2 重量%至多達 20 重量%至 50 重量%或更多)，且通常主要係基於流體體積、黏度和基於患者之根據所選擇之特殊投予模式的因素及患者需求來選擇。

[0300] 本發明提供包含本發明之組成物(例如液體組成物)的容器。該容器可為，例如注射器、安瓿，等。於一些情況中，該容器為無菌的。於一些情況中，該容器和組成物均為無菌的。

包含核酸或重組表現載體之組成物

[0301] 本發明提供包含本發明之核酸或重組表現載體的組成物，例如醫藥組成物。本技藝已知多種醫藥上可接受之賦形劑且不需要在此詳細討論。醫藥上可接受之賦形劑已詳細描述於多種出版物中，包括，例如 A. Gennaro (2000) “Remington: The Science and Practice of Pharmacy”，第 20 版，Lippincott、Williams & Wilkins；Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (1999) H.C. Ansel 等人，第 7 版，Lippincott、Williams & Wilkins；及 Handbook of Pharmaceutical Excipients (2000) A.H. Kibbe 等人，第 3 版，Amer. Pharmaceutical Assoc。

[0302] 本發明之組成物可包括：a)一個主體核酸或重組表現載體；和 b)一或多種：緩衝劑、表面活性劑、抗氧化劑、親水性聚合物、糊精、螯合劑、懸浮劑、增溶劑、增稠劑、穩定劑、抑菌劑、潤濕劑和防腐劑。合適之緩衝劑包括，但不限於(諸如 N,N-雙(2-羥乙基)-2-胺基乙磺酸(BES)、雙(2-羥乙基)胺基-三(羥甲基)甲烷(BIS-TRIS)、N-(2-羥乙基)六氫吡嗪-N'3-丙磺酸(EPPS 或 HEPPS)、雙甘胺

肽 (glycylglycine)、N-2-羥乙基六氫吡嗪-N'-2-乙磺酸 (HEPES)、3-(N-嗎啉代)丙磺酸 (MOPS)、六氫吡嗪-N,N'-雙(2-乙磺酸)(PIPES)、碳酸氫鈉、3-(N-三(羥甲基)-甲基-胺基)-2-羥基-丙磺酸 (TAPSO)、(N-三(羥甲基)甲基-2-胺基乙磺酸 (TES)、N-三(羥甲基)甲基-甘胺酸(三羥甲基甘胺酸 (Tricine))、三(羥甲基)-胺基甲烷 (Tris)，等)。合適之鹽類包括，例如 NaCl、MgCl₂、KCl、MgSO₄，等。

[0303] 本發明之醫藥調製劑可包括含量為約 0.001% 至約 90%(w/w)之本發明的核酸或重組表現載體。在下文中之調製劑的說明中，將可理解的是，“主題核酸或重組表現載體”包括本發明之核酸或重組表現載體。例如，於一些實施態樣中，主題調製劑包含本發明之核酸或重組表現載體。

[0304] 主題核酸或重組表現載體可與其他化合物或化合物之混合物混合、包封在膠囊中、共軛結合或以其他方式聯結；該等化合物可包括，例如脂質體或受體靶向分子。主題核酸或重組表現載體可與一或多種協助攝取、分佈及/或吸收之成分組合在調製劑中。

[0305] 主題核酸或重組表現載體組成物可配製成許多可能之劑型的任一者，諸如，但不限於片劑、膠囊、凝膠膠囊、液體糖漿、軟凝膠、栓劑和灌腸劑。主題核酸或重組表現載體組成物亦可被配製成在水性、非水性或混合之介質中的懸浮液。水性懸浮液可進一步含有能增加該懸浮液之黏度的物質，包括，例如羧甲基纖維素鈉、山梨糖

醇及/或葡聚醣。該懸浮液亦可含有穩定劑。

[0306] 包含主題核酸或重組表現載體之調製劑可為脂質體調製劑。如本文所使用之術語“脂質體”意指由排列成球形雙層或雙層之二親性脂質所組成的囊泡。脂質體為單層或多層囊泡，其具有從親脂性材料形成的膜和含有該欲投遞之組成物的水溶性內部。陽離子性脂質體為帶正電荷之脂質體，其可與帶負電荷之 DNA 分子交互作用以形成穩定之複合物。pH 敏感性或帶負電荷之脂質體被認為係截留 DNA，而非與其複合。陽離子性和非陽離子性脂質體均可用來投遞主題核酸或重組表現載體。

[0307] 脂質體亦包括“立體穩定化”之脂質體，此術語在本文中係指包含一或多種專用脂質之脂質體，當該專用脂質被納入脂質體時會導致循環壽命期相對於缺乏該等專用脂質之脂質體增加。立體穩定化之脂質體的實例為那些其中該形成囊泡之脂質體的脂質部分中有部分包含一或多種醣脂或係由一或多種親水性聚合物衍生者，諸如聚乙二醇(PEG)部分。脂質體及彼等之用途進一步描述於美國專利案第 6,287,860 號(其全文以引用方式併入本文)中。

[0308] 本發明之調製劑和組成物亦可包括表面活性劑。表面活性劑在藥品、調製劑和乳劑中之用途為本技藝所周知。表面活性劑及彼等之用途進一步描述於美國專利案第 6,287,860 號中。

[0309] 於一實施態樣中，包含各種滲透增進劑以有效投遞核酸。除了協助非親脂性藥物擴散穿過細胞膜外，

滲透增進劑亦增進該親脂性藥物之滲透性。滲透增進劑可被分類成分屬五大類(即，表面活性劑、脂肪酸、膽汁鹽、螯合劑和非螯合型非表面活性劑)之一。滲透增進劑及彼等之用途進一步描述於美國專利案第 6,287,860 號(其全文以引用方式併入本文)中。

[0310] 用於口服投藥之組成物和調製劑包括粉末或顆粒、微粒、奈米顆粒、在水或非水溶性介質中之懸浮液或溶液、膠囊、凝膠膠囊、囊劑、片劑或微型片劑。增稠劑、調味劑、稀釋劑、乳化劑、分散助劑或黏合劑可能是理想的。合適之口服調製劑包括那些其中將主題反義核酸與一或多種滲透增進劑表面活性劑和螯合劑一起投予者。合適之表面活性劑包括，但不限於脂肪酸及/或其酯或鹽類、膽汁酸及/或其鹽類。合適之膽汁酸/鹽及脂肪酸和彼等之用途進一步描述於美國專利案第 6,287,860 號中。滲透增進劑之組合亦合適，例如脂肪酸/鹽與膽汁酸/鹽之組合。示例性合適組合為月桂酸、癸酸和 UDCA 之鈉鹽。另外之滲透增進劑包括，但不限於聚氧乙烯-9-月桂醚及聚氧乙烯-20-鯨蠟醚。合適之滲透增強劑亦包括丙二醇、二甲亞砷、三乙醇胺、N,N-二甲基乙醯胺、N,N-二甲基甲醯胺、2-吡咯啉酮及其衍生物、四氫呋喃醇和 AZONE™。

調節 T 細胞活性之方法

[0311] 本發明亦提供抑制能識別抗原決定部位肽之 T 細胞選殖株的方法，其包含將該選殖株之 T 細胞與本文所

描述之重組肽接觸，其中該重組肽包含抗原決定部位肽且包含能有效抑制 T 細胞選殖株之量的 T 細胞調節結構域，此 T 細胞調節結構域為抑制性結構域。

[0312] 本發明亦提供刺激能識別抗原決定部位肽之 T 細胞選殖株的方法，其包含將該選殖株之 T 細胞與本文所描述之重組肽接觸，其中該重組肽包含抗原決定部位肽且包含能有效刺激 T 細胞選殖株之量的 T 細胞調節結構域，此 T 細胞調節結構域為刺激性結構域。

[0313] 本發明提供選擇性調節抗原決定部位特異性 T 細胞之活性的方法，該方法包含將 T 細胞與本發明之多聚體多肽接觸，其中將 T 細胞與本發明之多聚體多肽接觸可選擇性地調節該抗原決定部位特異性 T 細胞之活性。於一些情況中，該接觸係發生在玻管內。於一些情況中，該接觸係發生在活體內。於一些情況中，該接觸係發生在發生活體外。

[0314] 於一些情況中(例如其中該靶的 T 細胞為 CD8⁺ T 細胞)，該多聚體多肽包含第 I 型 MHC 多肽(例如 β 2 微球蛋白和第 I 型 MHC 重鏈)。於一些情況中(例如其中該靶的 T 細胞為 CD4⁺ T 細胞)，該多聚體多肽包含第 II 型 MHC 多肽(例如第 II 型 MHC α 鏈；第 II 型 MHC β 鏈)。

[0315] 當本發明之多聚體多肽包括為活化多肽之免疫調節多肽時，將 T 細胞與本發明之多聚體多肽接觸可活化該抗原決定部位特異性 T 細胞。於一些情況中，該抗原

決定部位特異性 T 細胞為特異於存在於癌細胞上之抗原決定部位的 T 細胞且將該抗原決定部位特異性 T 細胞與該多聚體多肽接觸會增加該 T 細胞對癌細胞之細胞毒性活性。於一些情況中，該抗原決定部位特異性 T 細胞為特異於存在於癌細胞上之抗原決定部位的 T 細胞且將該抗原決定部位特異性 T 細胞與該多聚體多肽接觸會增加該抗原決定部位特異性 T 細胞的數量。

[0316] 於一些情況中，該抗原決定部位特異性 T 細胞為特異於存在於經病毒感染之細胞上之抗原決定部位的 T 細胞且將該抗原決定部位特異性 T 細胞與該多聚體多肽接觸會增加該 T 細胞對經病毒感染之細胞的細胞毒性活性。於一些情況中，該抗原決定部位特異性 T 細胞為特異於存在於經病毒感染之細胞上之抗原決定部位的 T 細胞且將該抗原決定部位特異性 T 細胞與該多聚體多肽接觸會增加該抗原決定部位特異性 T 細胞的數量。

[0317] 當本發明之多聚體多肽包括為抑制性多肽之免疫調節多肽時，將 T 細胞與該多聚體多肽接觸會抑制該抗原決定部位特異性 T 細胞。於一些情況中，該抗原決定部位特異性 T 細胞為特異於存在於自體抗原中之抗原決定部位的自體反應性 T 細胞且該接觸會減少自體反應性 T 細胞的數目。

治療方法

[0318] 本發明亦提供經由抑制能識別抗原決定部位

肽之自體反應性 T 細胞選殖株來治療自體免疫性疾病的方法，其包含將該選殖株之 T 細胞與如本文所描述之重組肽接觸，其中該重組肽包含該抗原決定部位肽且包含能有效治療自體免疫性疾病之量的 T 細胞調節結構域，此 T 細胞調節結構域為抑制性結構域。

[0319] 本發明亦提供經由刺激能識別在癌症上之抗原決定部位肽之 T 細胞選殖株來治療癌症的方法，其包含將該選殖株之 T 細胞與如本文所描述之重組肽接觸，其中該重組肽包含該抗原決定部位肽且包含能有效治療癌症之量的 T 細胞調節結構域，此 T 細胞調節結構域為刺激性結構域。

[0320] 於一實施態樣中，經轉化以表現本發明之重組多肽的細胞為分離出之懸浮適應性細胞。於多個該分離出之懸浮適應性細胞或重組核酸之一實施態樣中，該核酸包含 DNA。

[0321] 於一實施態樣中，該 T 細胞包含從個體取得之外周 T 細胞。於一實施態樣中，該 T 細胞包含個體內之 T 細胞。於一實施態樣中，該 T 細胞包含個體內之外周 T 細胞。於本文之方法的一實施態樣中，該個體為人。

[0322] 本發明提供選擇性調節個體之抗原決定部位特異性 T 細胞的活性之方法，該方法包含投予該個體能有效地選擇性調節個體之抗原決定部位特異性 T 細胞之活性的量之本發明的多聚體多肽或一或多種編碼該多聚體多肽的核酸。於一些情況中，本發明之治療方法包含投予需要

該治療之個體一或多個包含編碼本發明之多聚體多肽的核苷酸序列之重組表現載體。於一些情況中，本發明之治療方法包含投予需要該治療之個體一或多個包含編碼本發明之多聚體多肽的核苷酸序列之 mRNA 分子。於一些情況中，本發明之治療方法包含投予需要該治療之個體本發明之多聚體多肽。

[0323] 本發明提供選擇性調節個體之抗原決定部位特異性 T 細胞之活性的方法，該方法包含投予個體有效量之本發明的多聚體多肽或一或多個包含編碼該多聚體多肽之核苷酸序列的核酸(例如表現載體；mRNA，等)，其中該多聚體多肽選擇性地調節個體之抗原決定部位特異性 T 細胞之活性。選擇性地調節抗原決定部位特異性 T 細胞之活性可治療個體之疾病或病症。因此，本發明提供治療方法，其包含投予需要該治療之個體有效量之本發明的多聚體多肽。

[0324] 於一些情況中，該免疫調節多肽為活化多肽且該多聚體多肽活化該抗原決定部位特異性 T 細胞。於一些情況中，該抗原決定部位為與癌症相關之抗原決定部位，且該多聚體多肽增加特異於該與癌症相關之抗原決定部位的 T 細胞之活性。

[0325] 本發明提供治療個體之癌症的方法，該方法包含投予該個體有效量之本發明的多聚體多肽或一或多個包含編碼該多聚體多肽之核苷酸序列的核酸(例如表現載體；mRNA，等)，其中該多聚體多肽包含為癌症抗原決定

部位之 T 細胞抗原決定部位，且其中該多聚體多肽包含刺激性免疫調節多肽。於一些情況中，“有效量”之多聚體多肽為當在一或多個劑量中投予有此需要的個體時可減少該個體內之癌細胞數目的多聚體多肽量。例如，於一些情況中，本發明之多聚體多肽的“有效量”為當在一或多個劑量中投予有此需要的個體時，相較於投予該多聚體多肽前或未投予該多聚體多肽之個體內的癌細胞數目而言，該多聚體多肽的量可減少該個體內之癌細胞數目達至少 10%、至少 15%、至少 20%、至少 25%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%、至少 90%或至少 95%。於一些情況中，本發明之多聚體多肽的“有效量”為當在一或多個劑量中投予有此需要的個體時，可將該個體內之癌細胞數目減少至無法檢測之水準的量。。於一些情況中，本發明之多聚體多肽的“有效量”為當在一或多個劑量中投予有此需要的個體時，可將該個體內之腫瘤質量減少的量。例如，於一些情況中，本發明之多聚體多肽的“有效量”為當在一或多個劑量中投予有此需要的個體時，相較於投予該多聚體多肽前或未投予該多聚體多肽之個體內的腫瘤質量而言，該多聚體多肽的量可減少該個體內之腫瘤質量達至少 10%、至少 15%、至少 20%、至少 25%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%、至少 90%或至少 95%。於一些情況中，本發明之多聚體多肽的“有效量”為當在一或多個劑量中投予有此需要的個體時可增加該個體之存活時間的多聚體多肽量。

例如，於一些情況中，本發明之多聚體多肽的“有效量”為當在一或多個劑量中投予有此需要的個體時，相較於未投予該多聚體多肽之個體的預期存活時間而言，可增加該個體之存活時間達至少 1 個月、至少 2 個月、至少 3 個月、3 個月至 6 個月、6 個月至 1 年、1 年至 2 年、2 年至 5 年、5 年至 10 年或超過 10 年的多聚體多肽量。

[0326] 於一些情況中，該抗原決定部位特異性 T 細胞為特異於存在於經病毒感染之細胞上的抗原決定部位之 T 細胞，且將該抗原決定部位特異性 T 細胞與該多聚體多肽接觸時可增加該 T 細胞針對該經病毒感染之細胞毒性活性。於一些情況中，該抗原決定部位特異性 T 細胞為特異於存在於經病毒感染之細胞上的抗原決定部位的 T 細胞，且將該抗原決定部位特異性 T 細胞與該多聚體多肽接觸時可增加該抗原決定部位特異性 T 細胞之數目。

[0327] 因此，本發明提供治療個體之病毒感染的方法，該方法包含投予該個體有效量之本發明的多聚體多肽或一或多個包含編碼該多聚體多肽之核苷酸序列的核酸，其中該多聚體多肽包含為病毒抗原決定部位之 T 細胞抗原決定部位，且其中該多聚體多肽包含刺激性免疫調節多肽。於一些情況中，多聚體多肽之“有效量”為當在一或多個劑量中投予有此需要的個體時可減少該個體內之經病毒感染之細胞數目的多聚體多肽量，於一些情況中，本發明之多聚體多肽的“有效量”為當在一或多個劑量中投予有此需要的個體時，相較於投予該多聚體多肽之前或未投予該

多聚體多肽之個體的經病毒感染之細胞數目而言，可減少該個體內之經病毒感染之細胞數目達至少 10%、至少 15%、至少 20%、至少 25%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%、至少 90%或至少 95%的多聚體多肽量。於一些情況中，本發明之多聚體多肽的“有效量”為當在一或多個劑量中投予有此需要的個體時可減少該個體內之經病毒感染之細胞數目達無法檢測之水準的多聚體多肽量。

[0328] 因此，本發明提供治療個體之感染的方法，該方法包含投予該個體有效量之本發明的多聚體多肽或一或多個包含編碼該多聚體多肽之核苷酸序列的核酸，其中該多聚體多肽包含與病原體相關之抗原決定部位之 T 細胞抗原決定部位，且其中該多聚體多肽包含刺激性免疫調節多肽。於一些情況中，該多聚體多肽之“有效量”為當在一或多個劑量中投予有此需要的個體時可減少該個體內之病原體數目的多聚體多肽量。例如，於一些情況中，本發明之多聚體多肽的“有效量”為當在一或多個劑量中投予有此需要的個體時，相較於投予該多聚體多肽之前或未投予該多聚體多肽之個體內的病原體數目而言，可減少該個體內之病原體數目達至少 10%、至少 15%、至少 20%、至少 25%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%、至少 90%或至少 95%的多聚體多肽量。於一些情況中，本發明之多聚體多肽的“有效量”為當在一或多個劑量中投予有此需要的個體時可減少該個體內之病

原體數目達無法檢測之水準的多聚體多肽量。病原體包括病毒、細菌、原蟲，等。

[0329] 於一些情況中，該免疫調節多肽為抑制性多肽且該多聚體多肽抑制該抗原特異性 T 細胞之活性。於一些情況中，該抗原決定部位為自體抗原決定部位且該多聚體多肽選擇性地抑制特異於該自體抗原決定部位之 T 細胞的活性。

[0330] 本發明提供治療個體之自體免疫性疾病的方法，該方法包含投予該個體有效量之本發明的多聚體多肽或一或多個包含編碼該多聚體多肽之核苷酸序列的核酸，其中該多聚體多肽包含為自體抗原決定部位之 T 細胞抗原決定部位，且其中該多聚體多肽包含抑制性免疫調節多肽。於一些情況中，多聚體多肽之“有效量”為當在一或多個劑量中投予有此需要的個體時，相較於投予該多聚體多肽之前或未投予該多聚體多肽之個體內的自體反應性 T 細胞數目而言，可減少該個體內之自體反應性 T 細胞數目達至少 10%、至少 15%、至少 20%、至少 25%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%、至少 90%或至少 95%的多聚體多肽量。於一些情況中，本發明之多聚體多肽的“有效量”為當在一或多個劑量中投予有此需要的個體時可減少該個體內之 Th2 細胞因子製造的多聚體多肽量。於一些情況中，本發明之多聚體多肽的“有效量”為當在一或多個劑量中投予有此需要的個體時可改善該個體之一或多種與自體免疫疾病相關之症狀的多聚

體多肽量。

[0331] 如上文所指出者，於一些情況中，在執行本治療方法時，係將本發明之多聚體多肽以多肽本身之形式投予有此需要的個體。於其他情況中，在執行本治療方法時，係將一或多個包含編碼本發明之多聚體多肽的核苷酸序列之核酸投予有此需要的個體。因此，於其他情況中，係將一或多個本發明之核酸(例如一或多個本發明之重組表現載體)投予有此需要之個體。

調製劑

[0332] 上文中描述合適之調製劑，其中合適之調製劑包含醫藥上可接受之賦形劑。於一些情況中，合適之調製劑包含：a)本發明之多聚體多肽；和 b)醫藥上可接受之賦形劑。於一些情況中，合適之調製劑包含：a)核酸，其包含編碼本發明之多聚體多肽的核苷酸序列；和 b)醫藥上可接受之賦形劑；於一些情況中，該核酸為 mRNA。於一些情況中，合適之調製劑包含：a)第一核酸，其包含編碼本發明之多聚體多肽的第一多肽之核苷酸序列；b)第二核酸，其包含編碼本發明之多聚體多肽的第二多肽之核苷酸序列；和 c)醫藥上可接受之賦形劑。於一些情況中，合適之調製劑包含：a)重組表現載體，其包含編碼本發明之多聚體多肽的核苷酸序列；和 b)醫藥上可接受之賦形劑。於一些情況中，合適之調製劑包含：a)第一重組表現載體，其包含編碼本發明之多聚體多肽的第一多肽之核苷酸

序列； b)第二重組表現載體，其包含編碼本發明之多聚體多肽的第二多肽之核苷酸序列；和 c)醫藥上可接受之賦形劑。

[0333] 合適之醫藥上可接受之賦形劑描述於上文中。

劑量

[0334] 合適之劑量可由主治醫師或其他合格之醫事人員根據各種臨床因素決定。如醫學技藝中所周知者，用於任一患者之劑量取決於許多因素，包括患者之尺寸、體表面積、年齡、欲投予之特定多肽或核酸、患者之性別、投予時間和途徑、一般健康狀況及其他同時投予之藥物。本發明之多聚體多肽的投予量係介於每一劑量 1ng/kg 體重至 20mg/kg 體重之間，例如介於 0.1mg/kg 體重至 10mg/kg 體重之間，例如介於 0.5mg/kg 體重至 5mg/kg 體重之間；然而，低於或高於此示例性範圍之劑量是可預見的，尤其是考慮到前述因素。若該攝生法為連續輸注液，其亦可在每分鐘每公斤體重 1 μ g 至 10mg 之範圍內。

[0335] 於一些情況中，本發明之多聚體多肽之合適劑量為每公斤體重 0.01 μ g 至 100g、每公斤體重 0.1 μ g 至 10g、每公斤體重 1 μ g 至 1g、每公斤體重 10 μ g 至 100mg、每公斤體重 100 μ g 至 10mg 或每公斤體重 100 μ g 至 1mg。本技藝之一般技術人員可根據投予的作用劑在體液或組織中所測得之停留時間及濃度來輕易地估算出給藥

之重複率。成功治療之後，可能希望使患者經受維持療法以防止疾病狀態復發，其中本發明之多聚體多肽係以在下列範圍內之維持劑量投予：每公斤體重 0.01 μ g 至 100g、每公斤體重 0.1 μ g 至 10g、每公斤體重 1 μ g 至 1g、每公斤體重 10 μ g 至 100mg、每公斤體重 100 μ g 至 10mg 或每公斤體重 100 μ g 至 1mg。

[0336] 熟習本技藝之人士將輕易地察知劑量水準可隨著該特定之多聚體多肽、症狀之嚴重程度及個體對副作用之感受性而變化。指定之化合物的較佳劑量可由熟習本技藝之人士藉由各種方式輕易地測定。

[0337] 於一些實施態樣中係投予數個劑量之本發明之多聚體多肽、本發明之核酸或本發明之重組表現載體。本發明之多聚體多肽、本發明之核酸或本發明之重組表現載體的投予頻率可根據多種因素的其中任一者變化，例如症狀之嚴重程度，等。例如，於一些實施態樣中，本發明之多聚體多肽、本發明之核酸或本發明之重組表現載體係每月投予一次、每月投予二次、每月投予三次、隔週投予一次(qow)、每週投予一次(qw)、每週投予二次(biw)、每週投予三次(tiw)、每週投予四次、每週投予五次、每週投予六次、每隔一日投予一次(qod)、每天投予一次(qd)、每天投予二次(qid)或每天投予三次(tid)。

[0338] 本發明之多聚體多肽、本發明之核酸或本發明之重組表現載體的投予持續期間(例如本發明之多聚體多肽、本發明之核酸或本發明之重組表現載體的投予期

間)可根據多種因素(例如患者的反應，等)之其中任一者變化。例如，本發明之多聚體多肽、本發明之核酸或本發明之重組表現載體的投予期間可為約一天至約一週、約二週至約四週、約一個月至約二個月、約二個月至約四個月、約四個月至約六個月、約六個月至約八個月、約八個月至約一年、約一年至約二年或約二年至約四年或更長的時間。

投予途徑

[0339] 活性劑(本發明之多聚體多肽、本發明之核酸或本發明之重組表現載體)可使用任何可用之適合用於投遞藥物之方法和途徑投予個體，包括活體內和活體外方法，以及全身和局部投予途徑。

[0340] 習知和醫藥上可接受之投予途徑包括腫瘤內、腫瘤周圍、肌肉內、氣管內、顱內、皮下、皮內、局部施用、靜脈內、動脈內、直腸、鼻、口及其他腸內和胃腸道外投予途徑。若需要時，可組合投予途徑或根據本發明之多聚體多肽及/或期望的效果調整。本發明之多聚體多肽、本發明之核酸或本發明之重組表現載體可在單一劑量或數個劑量中投予。

[0341] 於一些實施態樣中，本發明之多聚體多肽、本發明之核酸或本發明之重組表現載體係經由靜脈內途徑投予。於一些實施態樣中，本發明之多聚體多肽、本發明之核酸或本發明之重組表現載體係經由肌肉內途徑投予。

於一些實施態樣中，本發明之多聚體多肽、本發明之核酸或本發明之重組表現載體係經由局部途徑投予。於一些實施態樣中，本發明之多聚體多肽、本發明之核酸或本發明之重組表現載體係經由腫瘤內途徑投予。於一些實施態樣中，本發明之多聚體多肽、本發明之核酸或本發明之重組表現載體係經由腫瘤周圍途徑投予。於一些實施態樣中，本發明之多聚體多肽、本發明之核酸或本發明之重組表現載體係經由顱內途徑投予。於一些實施態樣中，本發明之多聚體多肽、本發明之核酸或本發明之重組表現載體係經由皮下途徑投予。

[0342] 於一些實施態樣中，本發明之多聚體多肽係經由靜脈內途徑投予。於一些實施態樣中，本發明之多聚體多肽係經由肌肉內途徑投予。於一些實施態樣中，本發明之多聚體多肽係經由局部途徑投予。於一些實施態樣中，本發明之多聚體多肽係經由腫瘤內途徑投予。於一些實施態樣中，本發明之多聚體多肽係經由腫瘤周圍途徑投予。於一些實施態樣中，本發明之多聚體多肽係經由顱內途徑投予。於一些實施態樣中，本發明之多聚體多肽係經由皮下途徑投予。

[0343] 本發明之多聚體多肽、本發明之核酸或本發明之重組表現載體可使用任何可用之適合用於投遞習知藥物之習知方法和途徑(包括全身性或局部途徑)投予宿主。一般而言，本發明所考慮之投予途徑包括，但不一定限於腸內、腸胃道外或吸入途徑。

[0344] 除了吸入投予外之其他腸胃道外途徑包括，但不一定限於局部、透皮、皮下、肌肉內、眼眶內、囊內、脊柱內、胸骨內、腫瘤內、腫瘤周圍和靜脈內途徑，即，除了通過消化道外之任何其他投予途徑。可進行腸胃道外投予以實現全身或局部投遞本發明之多聚體多肽、本發明之核酸或本發明之重組表現載體。當需要全身投遞時，投予通常涉及侵入性或全身吸收性局部或黏膜投予醫藥製劑。

適合治療之個體

[0345] 適合以本發明方法治療之個體包括具有癌症之個人，包括已被診斷為患有癌症之個人、已接受癌症治療，但對該治療沒有反應之個人及已經接受癌症治療且最初有反應，但隨後變成對該治療而言為難治的個人。適合以本發明方法治療之個體包括具有感染之個體(例如被病原體感染，諸如細菌、病毒、原生動物，等)，包括被診斷為具有感染之個人、已接受感染治療，但對該治療沒有反應之個人。適合以本發明方法治療之個體包括具有細菌感染之個體，包括被診斷為具有細菌感染之個人及已接受細菌感染治療，但對該治療沒有反應之個人。適合以本發明方法治療之個體包括具有病毒感染之個體，包括被診斷為具有病毒感染之個人及已接受病毒感染治療，但對該治療沒有反應之個人。適合以本發明方法治療之個體包括具有自體免疫性疾病之個體，包括被診斷為具有自體免疫性

疾病之個人、已接受自體免疫性疾病治療，但對該治療沒有反應之個人。

[0346] 除非本文中另外指明或與上下文明顯矛盾，本文所描述之各種元素的所有組合都在本發明之範圍內。

[0347] 從下文中之實驗細節將更清楚地了解本發明。然而，熟習本技藝之人士將輕易地察知該具體描述之方法和所討論之結果僅用於說明本發明，其後之申請專利範圍將更完整地描述本發明。

[實施例]

[0348] 下列實施例係用於提供本技藝之一般技術人員如何製造和使用本發明的完整內容和描述且不意圖限制發明者所看待之其發明範圍，亦不意圖表示下列實驗為進行之全部或僅有的實驗。所使用之數字(例如量、溫度，等)已努力確保準確性，但應仍有一些實驗誤差和偏差。除非另外指明，份數為重量份數，分子量為重均分子量，溫度為攝氏溫度且壓力為大氣壓或接近大氣壓。可使用標準縮寫，例如 bp，鹼基對；kb，千鹼基；pl，微微升；s 或 sec，秒；min，分鐘；h 或 hr，小時；aa，胺基酸；kb，千鹼基；bp，鹼基對；nt，核苷酸；i.m.，肌肉內的(肌肉內地)；i.p.，腹膜內的(腹膜內地)；s.c.，皮下的(皮下地)；等。

實施例 1：SynTac(用於 T 細胞活化之突觸)異二聚體的生

成

[0349] 本發明之態樣關於新穎之基於蛋白質的治療性平台，“synTac”，其模仿免疫突觸之交互作用特異性和調節信號。SynTac 為融合蛋白，其連接共刺激分子和 MHC-抗原決定部位以允許精確之 T 細胞接合和選殖株 T 細胞的活化或抑制(第 1 圖)，身體自然反應之可溶形式。以此方式，synTac 結合最佳之抗原決定部位、雙特異性抗體、可溶性共刺激分子和 ADC。SynTac 允許高度特異性細胞透過 MHC-抗原決定部位瞄準，藉由“單鏈融合”設計不准游離之抗原決定部位交叉呈遞(第 2A-2C 圖)。T 細胞調節結構域(本文中有時稱為“MOD”)亦經共價連接，其根據該共刺激接合的性質而引起活化或抑制。此引起抗原特異性，而非全面之 T 細胞反應。值得注意的，該 MOD 可包括任何已知之抗體、抗體片段、共刺激分子或其他經文獻驗證之有效載荷(細胞因子、毒素，等)且不需要經內化以對 T 細胞施加效果。此外，二個靶的存在於同一細胞表面上可排除傳統雙特異性抗體之“分隔問題”。

[0350] 於一實施態樣中，該策略係利用 Fc 融合結構(第 2A-2C 圖中說明一非限制性實例)以增加該聯結產品之效價、穩定性和治療窗。簡單地說，該 Fc 區為天然共價同型二聚體並透過如第 2A-2C 圖中以二條細線說明的二個二硫鍵穩定。已知 Fc 結構域之存在可藉由增加血漿半衰期來延長治療活性，因其與新生 Fc 受體交互作用並減慢腎清除較大尺寸之二價分子[23,24]。從生物物理角度來

看，Fc 結構域獨立折疊並可改善該伴侶分子在試管內和活體內之溶解度和穩定性[25]，且該 Fc 區允許在製造期間藉由蛋白質-A/G 親和性色層分析法進行簡易之成本效益純化作用[26]。第 2A 圖顯示單鏈肽 MHC 蛋白(單鏈三聚體[27])，其羧基端連接 IgG Fc 區。如所描繪者，這些單鏈結構在透過替代之蛋白鍵聯(諸如 MOD)延伸系統之能力方面有所限制。具體地說，鍵聯較育限制在 MHC 之 C 端區，如第 2A 圖中以虛線描繪者(其在本文中稱為直接鍵聯)。可使用第 I 型 MHC 或第 II 型 MHC 分子。使用直接鍵聯方式之構建體的表現高度取決於所使用之 MOD。本文中所揭示之對此情形的解決方法為將該構建體分裂成各別重鏈和輕鏈並將肽和蛋白質二者融合至不同端(第 2B 圖和第 2C 圖)。一種結構造成肽之胺基端聯結至輕鏈($\beta 2$ 微球蛋白)，接著該輕鏈之羧基端再延伸至 MOD 效應子分子(第 2B 圖)。在此情況中，該重鏈(HLA-分子)係融合至 Fc 區。在製造過程中，所有成分係在真核細胞(例如 HEK、CHO)內聯結和自行組裝。構建體係透過二硫橋聯共價結合在一起。一種替代之定向(第 2C 圖)係將 Fc 之 MOD 胺基端融合至重鏈，而該肽仍連接 B2M 輕鏈。同樣的，所有成分自行組裝並透過二硫鍵形成穩定之共價交互作用。習知之雙特異性抗體往往試圖藉由將一個胺基端 Fc 有效載荷與一個羧基端 Fc 有效載荷二聚體化來橋聯二個細胞。相反地，本文所揭示之結構使二個不同的蛋白質有效載荷、一個 MHC 抗原決定部位靶向機制和 MOD 效應子

朝向同一細胞之表面，類似於在習知抗體內發現的 CH1-輕鏈交互作用。此外，使用 Fc 融合物可透過突變來調節對 Fc 受體之結合親和力以允許制訂執行相關之效應子功能，諸如抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)、補體依賴性細胞毒性(CDC)或吞噬作用[28]。

[0351] 第 3A-3B 圖中呈現二個基本 synTac 分子之設計。簡單地說，此構建體利用天然人 B2M 前導序列以允許有效分泌及 ER 加工，緊接在後為候選抗原決定部位(標記為肽(peptide))。一旦 ER 中之前導序列被完全除去，則允許肽呈遞在 MHC 結合袋中。在“輕鏈”鏈聯(LC，第 3A 圖)方面，其係透過連接子 L1 與天然 B2M 偶聯，而 MOD 係透過連接子 L2 結合。此完整盒係藉由豬捷申病毒-1(P2A)“自裂解”肽鏈接至另一 B2M 前導序列、MHC 重鏈(例如實施例中之人 HLA-A02:01 或鼠 H-2Kd)及 Fc 結構域(人 IgG1 或鼠 IgG2a)以允許每個鏈之化學計量表現。選擇該 P2A 肽係因為據報導其對所有表現在哺乳動物細胞中之病毒 2A 肽而言具有最高之“裂解”效率[29]。“重鏈”(HC，第 3B 圖)鏈聯為類似情況，然而，現在病毒 P2A 肽接續在 B2M 之後，而 MOD 接續在第二前導肽之後，從而導致第 2C 圖中所示之蛋白質構建體。此二種構建體可終止於 8xHis 標記物以易於純化。

[0352] 專門化之表現細胞：雖然由於該 P2A 鏈聯而使二條鏈表現且共同定位至 ER，對於來自該表現宿主(懸浮適應 HEK293 細胞)之內源性 B2M 有些其可能超過該重

組形式之顧慮，因為 HEK293 細胞天然表現 HLA 和 B2M 分子。這將導致穩定性降低(例如表現在總產率降低)或令人非常不滿意之異源蛋白質樣本。為了避免此錯雜情況，利用 CRISPR/CAS 系統以從 HEK 細胞匯集體剔除天然 B2M[30]。簡言之，設計針對內源性 B2M 之指導 RNA，與編碼 CRISPR/CAS 之質粒一起轉染並將其培養三天。將培養之細胞表面針對抗 B2M 染色並藉由螢光活化之細胞分選術(FACS)反選擇(根據螢光損失分選)。回收分選出之細胞並進行二或更多輪之染色、反分選及回收(共三輪)以確保有效(~100%)剔除。如第 4 圖中所說明者，經由 FACS 監測 B2M 的表面表現來檢查最後匯集體之品質，結果表明該內源性 B2M 已被完全除去。然後，進行利用新一代測序之實驗以量化基因組層級之剔除百分比。使用所產生之 HEK-293-B2M-KO 株(稱為 HEK-KO)進行所有後續實驗。

[0353] *經基因工程處理之二硫鍵*：為了增加蛋白質的穩定性和規避與可能之肽轉移至細胞性 MHC 分子相關的錯雜情況(交叉呈遞)和 B2M 釋出，通常採用單鏈構建體[27，31]。然而，這些單鏈結構(顯示於第 2A 圖)在透過替代蛋白質鍵聯(諸如 MOD)來延伸該系統方面的能力有所限制。一種解決方法為類似於先前的努力將該構建體拆分成各別重鏈和輕鏈[32]，但現在依描述將肽和蛋白質二者融合至不同端(第 2B 和 2C 圖)。然而，在最終構建體中，為了保留由習知單鏈系統提供之穩定性，研究可選擇之介於

該重和輕鏈之間的遺傳加工之二硫橋(如第 2 圖中所說明之 S-S)，如同在二硫鍵捕獲型單鏈三聚體中所見者[dt-SCT][33]。值得注意的是，由於開始製造 synTac 時企圖利用 dt-SCT 二硫鍵方案因而導致低表現水準，這進一步取決於呈遞之肽，dt-SCT 二硫鍵被認為不適合用於拆分蛋白質系統中。因此，有人試圖鑑別替代位置以將二硫橋加工處理更適合用於拆分蛋白質系統，諸如 synTac。從輕鏈選出二個各具有一個二硫鍵之可能的位置(2,12)以用於重鏈中之二個位置(從 PDB 2X4R 之分析中分別為 119、120 和 236、237)。值得注意的是，這些位置為高度保守型殘基，沒有已知之與肽結合槽[34]、TCR 複合物[35]或 CD8 共同受體[36]之交互作用。一個構建體(H236-L12，H 指該重鏈位置且 L 指該輕鏈，在第 5A-5B 圖中標記為 synTac 18)被證明具高度表現，第二個構建體(H237-L12，在第 5A-5B 圖中標記為 synTac 17)被證明具中度表現。使用該 dt-SCT 二硫鍵方案作為陽性對照組(標記為 synTac 2)。藉由非還原性 PAGE 凝膠可見到形成一高分子量部分，這表明形成穩定之二硫鍵(第 5A 圖)。將所有表現構建體規模放大成 100 毫升之尺度，純化之並透過結合表現在 HEK 細胞(稱為 HEK-A6)表面上之同源 TCR 來測試活性，藉由 FACS 螢光監測之結果表明具有正確折疊和活性(第 5B 圖)。使用表現非同源 TC 之細胞(稱為 HEK-AS01)作為陰性對照組。產生僅帶有 C-端 8X His 標記物(單價)之另外的構建體。

[0354] *SynTac* 對照組：先前之工作聚焦在自體免疫性糖尿病[37] 和疾病-相關模型系統，已使用從非肥胖型糖尿病(NOD)小鼠之胰島中分離的特異性自體反應性 CD8 + 8.3 T 細胞。基於此工作，產生帶有由小鼠第 I 型 H-2Kd 等位基因(稱為 IGRP)呈遞，已知與 8.3 T 細胞交互作用之肽的 *synTac* 構建體，該肽係由胰島特異性葡萄糖-6-磷酸酶催化次單位相關蛋白質之殘基 206 至 214(IGRP206-214)所組成。以同等方式(例如小鼠 H-2Kd 呈遞)製備呈遞源自腫瘤，不會被 8.3 T 細胞識別之肽(KYQAVTTTL，SEQ ID NO：18)的對照組 *synTac*，並命名為 TUM。為了測定該系統可以耐受多個 HLA 等位基因(例如鼠 H-2Kd、人 HLA-A02，等)之程度，構建攜帶先前驗證之人 HLA-A02 限制性抗原決定部位(人類嗜 T 細胞淋巴性病毒，Tax 11-19)的第三 *synTac* 變體，並稱為 HTLV。為了允許針對性耗盡 T 細胞，初始 *synTac* 構建體係使用輕鏈鍵聯格式並攜帶 PD-L1 MOD 結構域(圖示在第 2B 圖中)。各 *synTac* 變異體(IGRP、TUM 及 HTLV)在 HEK-KO 細胞中顯示出陽性表現略圖，非還原性 SDS-PAGE 結果中顯示於第 6A 圖中。為了檢查該表現系統之大致情況，探查以 IGRP 為基礎，具變異 MOD 結構域之 *synTac* 構建體，包括二個用於刺激 T 細胞之 MOD (即，人化抗 CD28 單鏈 Fv 和 TNF 配體 4-1BBL 之胞外結構域)，以及另外二個允許抑制 T 細胞之 MOD(B7-1 之單點突變[W88A]，已知具僅結合 CTLA4[38] 及 PD-L1 之截短的變異體[只有 Ig 可變結構域])。所有構

建體在 HEK-KO 細胞中表現良好，第 6B 圖。進一步探查利用重鏈鍵聯格式之 synTac 蛋白質的表現能力(圖示說明於第 2C 圖)。為此，使用 IGRP 抗原決定部位作為靶向肽並使用 PD-L1 或人化抗 CD28 scFv 作為 MOD，結果在 HEK-KO 細胞中再次顯示陽性表現變化形廓(第 6C 圖)。接著，以 1L 或更大的規模製造這些並在無內毒素的環境中透過 Ni²⁺IMAC 及尺寸排阻來純化成同質性。在 T 細胞增殖分析中使用所有 IGRP 和 TUM 構建體且在下列 TCR-synTac-PD1 橋聯實驗中使用 HTLV 構建體。

[0355] *TCR-synTac-PD1* 橋聯：雖然在尺寸排阻後之溶液變化形廓為折疊良好之蛋白質的指示，較理想的為，在活性分析中使用這些試劑之前先驗證各 synTac 成分(MHC-抗原決定部位靶向機制和 MOD 二者)的完整性。使用先前描述之 HEK-A6 細胞作為陽性對照組，生成表現非同源 TCR 之細胞(AS01，對 HLA-A0201 限制性愛潑斯坦-巴爾(Epstein-Bar)病毒抗原決定部位具反應性)，與未經轉導之親代細胞一起作為陰性對照組(分別稱為 HEK-AS01 和 PARENTAL)。進行 mCerulean 螢光(TCR 融合報告子)及 TCR 傳信複合物(CD3 ϵ 表現代替物)之表面染色以確認 TCR 表現。以非螢光純化之 HTLV-PD-L1 synTac 變異體挑戰 HEK-A6 細胞並與其同源受體 PD1(融合至鼠 IgG2a)一起培養。使用經 FITC 標記之抗小鼠二級抗體檢測該 PD-1-Fc 融合物。FITC 螢光(即，“橋聯”)係取決於同源 TCR 表面表現(如第 7A-7B 圖中所顯示者)。尤其是，當對

攜帶非同源 TCR 之 HEK 細胞或親本細胞(HEK-AS01, PARENTAL)進行挑戰時、當僅對 FITC-PDL-Fc 挑戰時或當 MOD 不存在時並未觀察到 FITC 螢光。

[0356] 作用中之 *SynTac* : T 細胞分析。在 T 細胞抑制分析中測試抑制性 *synTac* 構建體以證明 *synTac* 平台之靶向力的概念。假設融合至 PD-L1 之 *synTac* IGRP 的輕鏈形式將特異抑制 IGRP206-214 特異性 T 細胞。從非肥胖型糖尿病轉基因小鼠純化用於 8.3 T 細胞受體之 CD8⁺脾細胞。此脾細胞亞群主要含有 CD8⁺T 細胞，此 CD8⁺T 細胞特異於 H-2Kd 背景下之 IGRP206-214 肽。然後，在固定化之抗 CD3 抗體的存在下培養這些 CD8⁺T 細胞(已知可刺激多株 T 細胞活化的處理)，以可溶性形式之 *synTac* IGRP-PD-L1 或 *synTac* TUM-PD-L1 處理經刺激的培養物以檢查具有任何抑制作用之抗原特異性。以不含 PD-L1 之 *synTac* IGRP 形式作為用於 MOD 結構域之效應子對照組。在接種前，以羧基螢光琥珀醯亞胺酯(CFSE)(一種螢光胞漿染料，其強度在每次細胞分裂時減半)標記細胞以監測經 T 細胞活化誘導之細胞增殖程度。培養 5 天後，收穫細胞並使用流式細胞儀檢測存活力和增殖情況。亦使用複合式流式細胞儀微珠分析檢查上清液中 CD8⁺T 細胞效應子細胞因子 IFN γ 和 TNF α 的表現。如第 8A-8D 圖中所示，所有檢查之 CD8⁺T 細胞活化參數係以抗原特異性及效應子(即，MOD)結構域依賴方式受遏制。亦即，相對於 TUM-PD-L1 *synTac* 或 IGRP-(無 PD-L1)而言，IGRP-

PD-L1 *synTac* 受到高度遏制，這指出 *synTac* 之活性係依賴肽-MHC 和 MOD 結構域二者(第 8D 圖)。SynTac 能夠抑制 IFN γ 分泌達到約 100 倍並導致絕大多數之細胞死亡，這表明攜帶 PDL1 作為 MOD 結構域之 *synTac* 能夠功能上抑制及消除針對性特異性。

[0357] *親和力減弱*：使用 PD-L/PDL-1 系統作為調節結構域的可能問題為 PD-L1 具有結合一個以上之受體的潛力，而伴隨下游傳信之差異。PD-L1 顯示出可同時結合 B7-1 和 PD-1。當以獨立之 Fc 融合物形式進行測試時，為了避免脫靶結合的錯雜，可使用僅結合所需之目標，PD-1 (例如，具體的說，G119D 和 G119R 及其他本文中所討論者)，但同時保留其 T 細胞抑制潛力之單點突變體。值得注意的是，該單獨之突變體 PD-L1 Fc 融合物可為用於免疫調節的有用試劑。在 *synTac* 之背景下，這些突變體提供一系列之 PD-1 結合親和力。攜帶 G119D 和 G119R 之基於 IGRP 的 *synTac* 融合蛋白突變體現已被製造出。

[0358] *模組化設計*：可溶性單價 MHC 分子對其同源 T 細胞受體具有固有之低親和力，因此不曾作為用於診斷或治療的有用試劑。而二聚體型 MHC 複合物已用於各種系統中以將抗原特異性 T 細胞可視化[39]，較高親合力 MHC 四聚體及較高階之多聚體較常被使用[40]。從目前的工作可清楚知道目前的二聚體型 *synTac* 結構使折疊良好之蛋白質高度表現並引發針對性 T 細胞反應，然而，在選擇之情況中，藉由增加效價來增強 T 細胞靶向潛力以擴充

該 synTac 技術可能是有利的。為此目的，再次設計攜帶 IGRP 靶向機制之 synTac 變異體，在 IgA 和 IgM Fc 區之背景下，以 PD-L1 MOD 作為輕鏈鍵聯。透過二硫鍵與 J 鏈共價結合，該 IgA 和 IgM 支架可分別允許四聚體和十聚體為基礎之呈現。生成慢病毒，轉導入 HEK-KO 細胞並測試其表現，結果支持具有表現這些試劑的初步能力。若需要時，可將 MOD 直接連接 J-鏈成為 N 端、C 端或雙融合物，以改變 MOD 對靶向分子之效價。此外，由於該 synTac 構型的靈活性，經由使用雙重鏈/輕鏈鍵聯，可同時呈現數個肽抗原決定部位或 MOD(例如，三特异性)。此外，其他 MOD，包括，但不限於用於活化之 4-1BBL 和抗 CD28 和用於抑制之 B7W。選擇構建體可利用另外之靶向抗原決定部位。再者，可使用具有較高效價之 synTac 變異體 (IgA 和 IgM) 及所描述之非化學計量式連接之 MOD(例如 J-鏈鍵聯)。

實施例 2：三聚體 SynTac 多肽之生成

[0359] 刺激性 MOD(4-1BBL)受體三聚體表現：生成攜帶活性 4-1BBL 之 synTac 的最初努力係利用輕鏈鍵聯變異體(第 3A 圖)。此係以單一轉染形式(所有片段編碼在單一質粒上)表現，由病毒 P2A 序列分裂並導致高度表現之折疊良好的蛋白質(第 6B 圖，第 5 道)。凝膠過濾變化略圖結合多角度光散射(MALS)數據表明該初始形式為折疊良好之二聚體(如第 10B 圖、第 9B 圖中所示)。已觀察到

4-1BBL(TNF 族配體)需要三聚體化(例如相同蛋白質之三個複本，同質三聚體)以完全活化。為了實現三聚體化，將攜帶 4-1BBL 之 synTac 構建體與“游離” 4-1BBL(不具親和標記物之單獨的 4-1BBL[殘基 50-254，包括近膜區和 TNF 同源結構域，第 10A 圖；第 9A 圖])二者表現在相同細胞上(例如共同表現)以允許天然組裝和三聚體化，如第 10C 圖中所示(原始 synTac 構建體以黑色表示，游離 BBL 以灰色表示)(共同表現第 9A 圖和第 9B 圖構建體)。凝膠過濾色層分析結合多角度光散射(MALS)數據支持該新形式為所需之三聚體(第 11A-11B 圖，標記為 synTac 編號 40+ 51)。如下述(*MOD* 最優化)，可將該 4-1 BBL 構建體進一步優化以進一步改善表現和純化變化形廓並增加穩定性和再現性。

[0360] 刺激性 *MOD* 受體結合及人/鼠交叉反應：雖然尺寸排阻之後的溶液變化形廓為蛋白質折疊良好之指示，在活性分析中使用這些試劑之前先驗證各 synTac 成分(MHC-抗原決定部位靶向機制和 *MOD* 二者)之完整性較理想。此特殊靶向機制(在小鼠 Kd 之背景下為 IGRP 肽)已被徹底驗證(第 7A-7B 圖)，因而進一步研究 4-1BBL 受體結合之程度。為此，以重組人或小鼠 4-1BB-Fc 融合蛋白(來自商業來源)將蛋白 A 微珠塗層至飽和。然後，使用經 4-1BB 塗層之微珠來結合攜帶 4-1BB 配體(二聚體和三聚體形式)的 synTac 構建體(為共調節結構域)，接著為特異於 synTac 重鏈同種型之螢光檢測抗體。然後，藉由高通

量流式細胞儀測量 synTac 4-1BBL 特異結合珠源性 4-1BB 的程度。使用此系統探查在 synTac 支架之背景下，4-1BBL 對人和鼠 4-1BB 二者之交叉反應程度和相對親和力。攜帶 4-1BBL 之 synTac(稱為三聚體、二聚體)顯示出結合同源受體，但不結合“無受體”(被稱為無 MOD)之 Fc 結合微珠，表明為折疊良好且活性之蛋白試劑(第 12 圖)。此外，該三聚體以預期為雙重三聚體型接合之親和力範圍結合，而原始二聚體顯示出結合親和力降低 10 倍，再次支持二聚體型呈遞。使用無 MOD 之 synTac(標記為無 MOD)作為陰性對照組，顯示出不結合 4-1BBL 受體。值得注意的是，所有構建體均結合鼠和人受體(交叉反應)，因此將允許直接推展至老鼠活體內試驗。

[0361] 活體外 T 細胞刺激分析：為了測試 4-1BBL synTac 之活性，首先從 8.3 TCR 轉基因 NOD 小鼠純化 CD8 脾細胞並以 CFSE 進行螢光標記以在玻管內以可溶性 IGRP-4-1BBL synTac (二聚體和三聚體)或可溶性 TUM-41BBL synTac (第 13 圖)處理之前追蹤增殖情形。以單獨之培養基或固定化之抗 CD3 處理對照組。培養 4 天後，藉由 FACS 檢查細胞之存活力(排除 DAPI)和增殖情形(CFSE 稀釋)。藉由流式細胞計數性 ELISA 來檢查上清液之 IFN γ 和 TNF α 水準。如在 syntac-PDL1 的情況中(第 8A-8D 圖)，snytac-41BBL 之玻管內活性為高度抗原特異性，這導致在 syntac IGRP-41BBL 的情況中，相對於 TUM-41BBL 而言，具有高出許多之存活力、增殖及細胞

因子釋出。如所預期者，三聚體 4-1BBL 對充分的活性(例如增殖、存活力和細胞因子釋出)是必要的。此外，對 IGRP-41BBL 之反應優於對固定化之抗 CD3 基準，表明該可溶性 syntac-41BBL 可傳介高度 T 細胞活化。本文所描述之所有進一步之相關實驗係採用三聚體 syntac-41BBL。

[0362] 活體內 T 細胞之刺激-單一劑量：進一步檢查 synTac-41BBL 是否可在活體內對 T 細胞活化發揮類似的作用。以 Syntac IGRP-41BBL 處理 NOD 小鼠，並相對於 synTac TUM-41BBL 比較，且測定脾臟中之 IGRP 特異性 CD8⁺T 細胞的頻率。不像 TCR 轉基因 NOD 小鼠(其中大多數 T 細胞具有定義之選植株型)，標準 NOD 小鼠具有高度多樣性 TCR 組庫，且為較佳之逼近“自然”的免疫組庫。經由腹膜內途徑為 NOD 小鼠注射 synTac IGRP-41BBL、synTac TUM-41BBL 或 PBS，並在注射後 6 天處死小鼠。然後，使用適當之肽-MHC 五聚體染色，經由流式細胞術檢查脾細胞之 IGRP 特異性 CD8 T 細胞的相對頻率。相對於對照組，IGRP-41BBL 處理與 IGRP 特異性 CD8 T 細胞之頻率高出很多有關。此外，在活體內擴充之 IGRP 特異性細胞當在玻管內被重新刺激時能夠製造 IFN γ 。這些結果支持 syntac-41BBL 以抗原特異性方式擴充功能性 CD8 效應子 T 細胞的能力(第 14 圖)。

[0363] 活體內 T 細胞之刺激-多劑量：檢查改變之治療方案對在活體內活化 T 細胞的效果，尤其注意已建立之腫瘤抗原，“TUM”九聚體肽。在二週之期間內 使用三個

劑量(相對於先前之單劑量)之 *synTac* IGRP-41BBL 處理 NOD 小鼠並相對於 *synTac* TUM-41BBL 比較。測定 IGRP-或 TUM 特異性 CD8 T 細胞之頻率。經由腹膜內途徑為 NOD 小鼠注射 *synTac* IGRP-41BBL、*synTac* TUM-41BBL 或 PBS，並在注射後 7 天處死小鼠。然後，使用適當之肽-MHC 五聚體染色，經由流式細胞術檢查血液(PBMC)和脾細胞之 IGRP-或 TUM 特異性 CD8 T 細胞的相對頻率。同樣地，相對於不相關的抗原和 PBS 對照組，IGRP-41BBL 處理與 IGRP 特異性 CD8 T 細胞之頻率高出很多有關，而 TUM-41BBL 處理與 TUM 特異性 CD8 T 細胞之頻率高出很多有關(第 15 圖)。類似的模式可在脾臟中觀察到。這些結果支持多劑量 *synTac*-41BBL 方案以抗原特異性方式擴充功能性 CD8 效應子 T 細胞的能力，包括抗原特異性擴充罕見腫瘤特異性 T 細胞。

[0364] *活體內 T 細胞抑制作用*：經由腹膜內途徑為非肥胖型糖尿病(NOD)小鼠注射 *synTac* IGRP-41BBL、*synTac* TUM-41BBL 或 PBS，並在注射後 6 天分離出胰臟並使用適當之肽-MHC 五聚體染色，經由流式細胞術檢查胰臟細胞之 IGRP 特異性 CD8⁺ T 細胞的相對頻率。如第 23 圖所示，與對照組經 *synTac* TUM-PDL1 處理和經 PBS 處理之小鼠相比較，IGRP-41BBL 處理與 IGRP 特異性 CD8⁺ T 細胞之頻率低很多有關。這些數據證明在注射單劑量 *synTac* 後抗原特異性 T 細胞在活體內耗盡。

[0365] *MOD 最優化*：在實驗過程中可觀察到大部分

靶蛋白(4-1BBL 三聚體型 synTac)在尺寸排阻色層分析法中顯示出高階多聚體之特性且會隨時間降解，這可能是透過“游離”BBL之釋出/交換。因此，尋求穩定性增加且容易製造之4-1BBL骨架的重點在共價組裝4-1BBL。為此，探討在4-1BBL之TNF同源結構域內使用經基因工程處理之二硫鍵(第16A圖；二硫化物係以箭頭指示；第9C-9E圖)。從X射線結構(PDB 2X29)之分析，選擇三組可能具有二硫鍵潛力且不太可能干擾受體結合之可能的殘基對。各構建體中的二個天然殘基被半胱氨酸殘基(Q94C：P245C)取代，Q94C：P242C和Q89C：L115C(分別稱為synTac 69、70和71)，其在人細胞中與底有該相同突變(分別稱為98、99、100)之“游離”非標記形式共同表現以允許共價鎖定，並藉由非還原性SDS-PAGE分析來觀察二硫鍵結合程度(第18圖；下列共同表現構建體稱為DL1(二硫鍵鎖定-1，synTac69/98)、DL2(70/99)及DL3(71/100))。所有三種構建體均充分表現，允許二硫鍵鎖定並結合受體(第17圖)。雖然這些synTac-4-1BBL之共價“二硫鍵鎖定”變異體解決所討論之穩定性問題，但仍需要共同表現“游離”BBL(共同表現)以允許三聚體化，而此可使得刺激性synTac之製造和生藥製造變得複雜。這個障礙的一種解決方法被發現是將4-1BBL-TNF同源結構域以單一連續構建體，稱為單鏈三聚體之形式表現(4-1 BBL-SCT，第16B圖；第9F圖)。具體而言，藉由二個(G4S)₅連接子序列將三份4-1 BBL殘基80-246(僅TNF同源結構

域)之複本共價結合在一起(第 16B 圖，連接子係以曲線說明；第 9F 圖)。表現和凝膠過濾加上多角度光散射(MALS)數據支持該新形式為所需之共價單鏈三聚體(第 18 圖)且與 4-1 BBL 受體良好結合(第 17 圖)。

[0366] 儘管本發明已參考其特殊實施態樣描述，本技藝之技術熟習人士應理解可作出各種改變並可取代等效物，而會不偏離本發明之真正的精神和範圍。此外，可作出許多修改以使特殊情況、材料、組合物、方法、方法步驟適應本發明之目的、精神和範圍。所有該等修改係意圖包含在本文所附之申請專利範圍內。

參考資料

1. Kling, (2009) Nature Biotechnology, 2009. 27:11-12; 2. Wollheim (2002) Expert Opinion in Investigational Drugs, 11(7): 947-953.; 3. Mansh (2011) Yale J Biol Med, 84(4):381-389; 4. Scarpati et al (2014) OncoTargets and Therapy 7:203-209; 5. Rhodes (2007) Alimentary Pharmacology & Therapeutics. 27(1):19-30; 6. Amos et al. (2011) Blood. 118(3):499-509; 7. Hodi et al. (2010) New England Journal of Medicine. 363: p. 711-723; 8. Goldberg (2011) Cancer Immunology and Immunotherapy 344:269-278; 9. Kwon (2012) Molecular Cancer Therapeutics, 11:1062-1070; 10. Vitale et al. (2012) Clinical Cancer Research 18(14):3812-3812; 11. Ngiow et al. (2011) Cancer Research, 71(10):1- 12; 12. Robins et al. (2010) Sci Transl Med, 2(47):47ra64; 13. Reichert (2011) MAbs, 2011. 3(5):415-416; 14. Weiner (2010) Nature Reviews Immunology 10:317-327; 15. Senter (2013) Annual Review of Medicine, 64:15-29; 16. Chames (2009) MAbs 1: 539-547; 17. Jakobsen (2013) OncoImmunology, 2(2):e22891; 18. Sharma, et al. (2014) Immunologic Research, 58(1):132-138; 19. Wu et al. (2007) Nature Biotechnology, 25: 1290-1297; 20. Dimasi et al. (2009) Journal of Molecular Biology, 393(3):672-692; 21. Grupp, (2011) Cancer Immunology and Immunotherapy, 244:149-172; 22. Xu (2014) Cancer Letters, 343(2):172- 178; 23. Suzuki et al. (2010) Journal of Immunology, 184(4):1968-1976; 24. Sun (2014) Journal of Pharmaceutical Sciences 103(1):53-64; 25. Lo et al. (1998) Protein Engineering 11(6):495-500; 26. Flanagan et al. (2007) Methods in Molecular Biology 378:33-52; 27. Yu et al. (2002) Journal of Immunology 168(7):3145-4149; 28. Hezareh (2001) Journal of Virology 75(24):12161-12168; 29. Kim et al. (2011) PlosOne 6(4):e18556; 30. Yan et al (2014) Methods in Molecular Biology 1114:245-267; 31. Kim et al. (2010) Journal of Immunology 184:4423-4430; 32. Kozono et al. (1994) Nature 369:151-154; 33. Truscott et al. (2007) Journal of Immunology 178:6280-6289; 34. Kellenberger (2005) Journal of Immunology 175:3819-3825; 35. Marrack et al. (2008) Annual Reviews of Immunology 26:171-203; 36. Wang and Margulies (2009) Journal of Immunology 183(4):2554-2564; 37. Samanta et al. (2011). Proc Natl Acad Sci U S A, 108(33):13682-13687; 38. Zheng et al. (1998) Proc Natl Acad Sci U S A, 95:6284-6289; 39. Schneck, J.P., Slansky, J., O'Herrin, S., Greten, T.F., *Use of MHC – Ig dimers for visualizing antigen specific T cells*. Current Protocol in Immunology, 1999: p. 173; 40. Altman, et al. (1996) Science, 274:94-96.

序 列 表

<110> 耶奇華大學艾柏特艾因斯坦醫學院
(Albert Einstein College of Medicine of Yeshiva University)

<120> 用於 T 細胞活化之突觸(synTac)多肽類及彼等之用途

<140>
<141> 2015-06-17

<150> US 62/013715
<151> 2014-06-18

<160> 102

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 1

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 2
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 2

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser
20

<210> 3
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 3

Ser Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp
1 5 10 15

Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
20

<210> 4
<211> 99
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 4

Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Arg His Pro Ala Glu
1 5 10 15

Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser Gly Phe His Pro
20 25 30

Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu Arg Ile Glu Lys
35 40 45

Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Leu
50 55 60

Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Lys Asp Glu Tyr Ala Cys
65 70 75 80

Arg Val Asn His Val Thr Leu Ser Gln Pro Lys Ile Val Lys Trp Asp
85 90 95

Arg Asp Met

<210> 5
<211> 276
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 5

Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Phe Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly
1 5 10 15

Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln
20 25 30

Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser Gln Arg Met Glu Pro Arg
35 40 45

Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Asp Gly Glu Thr
50 55 60

Arg Lys Val Lys Ala His Ser Gln Thr His Arg Val Asp Leu Gly Thr
65 70 75 80

Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser Glu Ala Gly Ser His Thr Val Gln
85 90 95

Arg Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Phe Leu Arg Gly
100 105 110

Tyr His Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Lys Glu
115 120 125

Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met Ala Ala Gln Thr Thr Lys
130 135 140

His Lys Trp Glu Ala Ala His Val Ala Glu Gln Leu Arg Ala Tyr Leu
145 150 155 160

Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys
165 170 175

Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Ala Pro Lys Thr His Met Thr His His
180 185 190

Ala Val Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Ser Phe
195 200 205

Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln

210

215

220

Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr
225 230 235 240

Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Ser Gly Gln Glu Gln Arg
245 250 255

Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu
260 265 270

Arg Trp Glu Pro
275

<210> 6
<211> 925
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 6

Leu Leu Phe Gly Tyr Pro Val Tyr Val Gly Cys Gly Gly Ser Gly Gly
1 5 10 15

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln
20 25 30

Val Tyr Ser Arg His Pro Ala Glu Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn
35 40 45

Cys Tyr Val Ser Gly Phe His Pro Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu
50 55 60

Lys Asn Gly Glu Arg Ile Glu Lys Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe
65 70 75 80

Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Leu Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro
85 90 95

Thr Glu Lys Asp Glu Tyr Ala Cys Arg Val Asn His Val Thr Leu Ser
100 105 110

Gln Pro Lys Ile Val Lys Trp Asp Arg Asp Met Gly Gly Gly Gly Ser

115		120		125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Phe	130	135	140	
Thr Ile Thr Ala Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr Gly Ser Asn	145	150	155	160
Val Thr Met Glu Cys Arg Phe Pro Val Glu Arg Glu Leu Asp Leu Leu	165	170	175	
Ala Leu Val Val Tyr Trp Glu Lys Glu Asp Glu Gln Val Ile Gln Phe	180	185	190	
Val Ala Gly Glu Glu Asp Leu Lys Pro Gln His Ser Asn Phe Arg Gly	195	200	205	
Arg Ala Ser Leu Pro Lys Asp Gln Leu Leu Lys Gly Asn Ala Ala Leu	210	215	220	
Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr Cys Cys Ile	225	230	235	240
Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Leu Lys Val Asn	245	250	255	
Ala Pro Tyr Arg Lys Ile Asn Gln Arg Ile Ser Val Asp Pro Ala Thr	260	265	270	
Ser Glu His Glu Leu Ile Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro Glu Ala Glu	275	280	285	
Val Ile Trp Thr Asn Ser Asp His Gln Pro Val Ser Gly Lys Arg Ser	290	295	300	
Val Thr Thr Ser Arg Thr Glu Gly Met Leu Leu Asn Val Thr Ser Ser	305	310	315	320
Leu Arg Val Asn Ala Thr Ala Asn Asp Val Phe Tyr Cys Thr Phe Trp	325	330	335	
Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asn His Thr Ala Glu Leu Ile Ile Pro Glu	340	345	350	

Leu Pro Ala Thr His Pro Pro Gln Asn Arg Thr Ser Gly Ser Gly Ala
355 360 365

Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro
370 375 380

Gly Pro Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser
385 390 395 400

Leu Ser Gly Leu Glu Ala Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Phe Thr
405 410 415

Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly
420 425 430

Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser
435 440 445

Gln Arg Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu
450 455 460

Tyr Trp Asp Gly Glu Thr Arg Lys Val Lys Ala His Ser Gln Thr His
465 470 475 480

Arg Val Asp Leu Gly Thr Leu Arg Gly Cys Tyr Asn Gln Ser Glu Ala
485 490 495

Gly Ser His Thr Val Gln Arg Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp
500 505 510

Trp Arg Phe Leu Arg Gly Tyr His Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly Lys Asp
515 520 525

Tyr Ile Ala Leu Lys Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met
530 535 540

Ala Ala Gln Thr Thr Lys His Lys Trp Glu Ala Ala His Val Ala Glu
545 550 555 560

Gln Leu Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg
565 570 575

Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Ala Pro Lys

580										585										590									
Thr	His	Met	Thr	His	His	Ala	Val	Ser	Asp	His	Glu	Ala	Thr	Leu	Arg														
		595					600					605																	
Cys	Trp	Ala	Leu	Ser	Phe	Tyr	Pro	Ala	Glu	Ile	Thr	Leu	Thr	Trp	Gln														
	610					615					620																		
Arg	Asp	Gly	Glu	Asp	Gln	Thr	Gln	Asp	Thr	Glu	Leu	Val	Glu	Thr	Arg														
625					630					635					640														
Pro	Ala	Gly	Asp	Gly	Thr	Phe	Gln	Lys	Trp	Ala	Ala	Val	Val	Val	Pro														
				645					650						655														
Ser	Gly	Gln	Glu	Gln	Arg	Tyr	Thr	Cys	His	Val	Gln	His	Glu	Gly	Leu														
			660					665					670																
Pro	Lys	Pro	Leu	Thr	Leu	Arg	Trp	Glu	Pro	Ala	Ala	Ala	Gly	Gly	Asp														
		675					680					685																	
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly														
	690					695					700																		
Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile														
705					710					715					720														
Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu														
				725					730					735															
Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His														
			740					745					750																
Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg														
		755					760					765																	
Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys														
	770					775					780																		
Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu														
785					790					795					800														
Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr														
				805					810						815														

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
820 825 830

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
835 840 845

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
850 855 860

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
865 870 875 880

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
885 890 895

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
900 905 910

Gly Lys Gly Gly Ser His His His His His His His His
915 920 925

<210> 7
<211> 945
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 7

Leu Leu Phe Gly Tyr Pro Val Tyr Val Gly Cys Gly Gly Ser Gly Gly
1 5 10 15

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln
20 25 30

Val Tyr Ser Arg His Pro Ala Glu Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn
35 40 45

Cys Tyr Val Ser Gly Phe His Pro Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu
50 55 60

Lys Asn Gly Glu Arg Ile Glu Lys Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe
65 70 75 80

Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Leu Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro
85 90 95

Thr Glu Lys Asp Glu Tyr Ala Cys Arg Val Asn His Val Thr Leu Ser
100 105 110

Gln Pro Lys Ile Val Lys Trp Asp Arg Asp Met Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser
130 135 140

Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val
145 150 155 160

Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu
165 170 175

Ala Leu Leu Ser Leu Ser Gly Leu Glu Ala Phe Thr Ile Thr Ala Pro
180 185 190

Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr Gly Ser Asn Val Thr Met Glu Cys
195 200 205

Arg Phe Pro Val Glu Arg Glu Leu Asp Leu Leu Ala Leu Val Val Tyr
210 215 220

Trp Glu Lys Glu Asp Glu Gln Val Ile Gln Phe Val Ala Gly Glu Glu
225 230 235 240

Asp Leu Lys Pro Gln His Ser Asn Phe Arg Gly Arg Ala Ser Leu Pro
245 250 255

Lys Asp Gln Leu Leu Lys Gly Asn Ala Ala Leu Gln Ile Thr Asp Val
260 265 270

Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr Cys Cys Ile Ile Ser Tyr Gly Gly
275 280 285

Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Leu Lys Val Asn Ala Pro Tyr Arg Lys
290 295 300

Ile Asn Gln Arg Ile Ser Val Asp Pro Ala Thr Ser Glu His Glu Leu

I722576

305 310 315 320

Ile Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro Glu Ala Glu Val Ile Trp Thr Asn
325 330 335

Ser Asp His Gln Pro Val Ser Gly Lys Arg Ser Val Thr Thr Ser Arg
340 345 350

Thr Glu Gly Met Leu Leu Asn Val Thr Ser Ser Leu Arg Val Asn Ala
355 360 365

Thr Ala Asn Asp Val Phe Tyr Cys Thr Phe Trp Arg Ser Gln Pro Gly
370 375 380

Gln Asn His Thr Ala Glu Leu Ile Ile Pro Glu Leu Pro Ala Thr His
385 390 395 400

Pro Pro Gln Asn Arg Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
405 410 415

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser His Ser Met Arg
420 425 430

Tyr Phe Phe Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe
435 440 445

Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser
450 455 460

Asp Ala Ala Ser Gln Arg Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln
465 470 475 480

Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Asp Gly Glu Thr Arg Lys Val Lys Ala His
485 490 495

Ser Gln Thr His Arg Val Asp Leu Gly Thr Leu Arg Gly Cys Tyr Asn
500 505 510

Gln Ser Glu Ala Gly Ser His Thr Val Gln Arg Met Tyr Gly Cys Asp
515 520 525

Val Gly Ser Asp Trp Arg Phe Leu Arg Gly Tyr His Gln Tyr Ala Tyr
530 535 540

Asp Gly Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Lys Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr
545 550 555 560

Ala Ala Asp Met Ala Ala Gln Thr Thr Lys His Lys Trp Glu Ala Ala
565 570 575

His Val Ala Glu Gln Leu Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu
580 585 590

Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Thr
595 600 605

Asp Ala Pro Lys Thr His Met Thr His His Ala Val Ser Asp His Glu
610 615 620

Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Ser Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr
625 630 635 640

Leu Thr Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu
645 650 655

Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala
660 665 670

Val Val Val Pro Ser Gly Gln Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln
675 680 685

His Glu Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu Arg Trp Glu Pro Ala Ala
690 695 700

Ala Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
705 710 715 720

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
725 730 735

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
740 745 750

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
755 760 765

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn

770

775

780

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
785 790 795 800

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
805 810 815

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
820 825 830

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
835 840 845

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
850 855 860

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
865 870 875 880

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
885 890 895

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
900 905 910

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
915 920 925

Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Ser His His His His His His His
930 935 940

His
945

<210> 8
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> 重複子

<222> (1)..(5)
<223> 當 n 為至少 1 之整數時重複 n 次

<400> 8

Gly Ser Gly Gly Ser
1 5

<210> 9
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> 重複子
<222> (1)..(4)
<223> 當 n 為至少 1 之整數時重複 n 次

<400> 9

Gly Gly Gly Ser
1

<210> 10
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 10

Gly Gly Ser Gly
1

<210> 11
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 11

Gly Gly Ser Gly Gly
1 5

<210> 12

<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 12

Gly Ser Gly Ser Gly
1 5

<210> 13
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 13

Gly Ser Gly Gly Gly
1 5

<210> 14
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 14

Gly Gly Gly Ser Gly
1 5

<210> 15
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 15

Gly Ser Ser Ser Gly
1 5

<210> 16
<211> 15
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 16

Gly Cys Gly Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 17

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 17

Leu Leu Phe Gly Tyr Pro Val Tyr Val
1 5

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 18

Lys Tyr Gln Ala Val Thr Thr Thr Leu
1 5

<210> 19

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 19

Val Tyr Leu Lys Thr Asn Val Phe Leu
1 5

<210> 20

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 20

Thr Tyr Leu Lys Thr Asn Leu Phe Leu
1 5

<210> 21
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X can be L or Q

<400> 21

Pro Xaa Gly Met Thr
1 5

<210> 22
<211> 274
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 22

Gly Pro His Ser Leu Arg Tyr Phe Val Thr Ala Val Ser Arg Pro Gly
1 5 10 15

Leu Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln
20 25 30

Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Asp Asn Pro Arg Phe Glu Pro Arg
35 40 45

Ala Pro Trp Met Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Glu Glu Gln Thr
50 55 60

Gln Arg Ala Lys Ser Asp Glu Gln Trp Phe Arg Val Ser Leu Arg Thr
65 70 75 80

Ala Gln Arg Tyr Tyr Asn Gln Ser Lys Gly Gly Ser His Thr Phe Gln
85 90 95

Arg Met Phe Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Leu Leu Arg Gly
100 105 110

Tyr Gln Gln Phe Ala Tyr Asp Gly Arg Asp Tyr Ile Ala Leu Asn Glu
115 120 125

Asp Leu Lys Thr Trp Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Leu Ile Thr Arg
130 135 140

Arg Lys Trp Glu Gln Ala Gly Asp Ala Glu Tyr Tyr Arg Ala Tyr Leu
145 150 155 160

Glu Gly Glu Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Leu Gly Asn
165 170 175

Glu Thr Leu Leu Arg Thr Asp Ser Pro Lys Ala His Val Thr Tyr His
180 185 190

Pro Arg Ser Gln Val Asp Val Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe
195 200 205

Tyr Pro Ala Asp Ile Thr Leu Thr Trp Gln Leu Asn Gly Glu Asp Leu
210 215 220

Thr Gln Asp Met Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr
225 230 235 240

Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Leu Gly Lys Glu Gln Asn
245 250 255

Tyr Thr Cys His Val His His Lys Gly Leu Pro Glu Pro Leu Thr Leu
260 265 270

Arg Trp

<210> 23
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 23

Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala
1 5

<210> 24
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 24

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
1 5

<210> 25
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 25

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
1 5 10

<210> 26
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 26

His His His His His
1 5

<210> 27
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 27

His His His His His His
1 5

<210> 28
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 28

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
1 5

<210> 29
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 29

Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala
1 5

<210> 30
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 30

Arg Tyr Ile Arg Ser
1 5

<210> 31
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 31

Phe His His Thr
1

<210> 32
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 32

Trp Glu Ala Ala Ala Arg Glu Ala Cys Cys Arg Glu Cys Cys Ala Arg
1 5 10 15

Ala

<210> 33
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> SITE
<222> (2)..(2)
<223> X 可為 L 或 Q

<400> 33

Pro Xaa Gly Met Thr Ser
1 5

<210> 34
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 34

Glu Asn Leu Tyr Thr Gln Ser
1 5

<210> 35

<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 35

Asp Asp Asp Asp Lys
1 5

<210> 36
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 36

Leu Val Pro Arg
1

<210> 37
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 37

Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro
1 5

<210> 38
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 38

Cys Gly Leu Val Pro Ala Gly Ser Gly Pro
1 5 10

<210> 39
<211> 12
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 39

Ser Leu Leu Lys Ser Arg Met Val Pro Asn Phe Asn
1 5 10

<210> 40
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 40

Ser Leu Leu Ile Ala Arg Arg Met Pro Asn Phe Asn
1 5 10

<210> 41
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 41

Ser Lys Leu Val Gln Ala Ser Ala Ser Gly Val Asn
1 5 10

<210> 42
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 42

Ser Ser Tyr Leu Lys Ala Ser Asp Ala Pro Asp Asn
1 5 10

<210> 43
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 43

Arg Pro Lys Pro Gln Gln Phe Phe Gly Leu Met Asn
1 5 10

<210> 44
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 44

Ser Leu Arg Pro Leu Ala Leu Trp Arg Ser Phe Asn
1 5 10

<210> 45
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 45

Ser Pro Gln Gly Ile Ala Gly Gln Arg Asn Phe Asn
1 5 10

<210> 46
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 46

Asp Val Asp Glu Arg Asp Val Arg Gly Phe Ala Ser Phe Leu
1 5 10

<210> 47
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 47

Ser Leu Pro Leu Gly Leu Trp Ala Pro Asn Phe Asn
1 5 10

<210> 48
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 48

Ser Leu Leu Ile Phe Arg Ser Trp Ala Asn Phe Asn
1 5 10

<210> 49
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 49

Ser Gly Val Val Ile Ala Thr Val Ile Val Ile Thr
1 5 10

<210> 50
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 50

Ser Leu Gly Pro Gln Gly Ile Trp Gly Gln Phe Asn
1 5 10

<210> 51
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 51

Lys Lys Ser Pro Gly Arg Val Val Gly Gly Ser Val
1 5 10

<210> 52
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 52

Pro Gln Gly Leu Leu Gly Ala Pro Gly Ile Leu Gly
1 5 10

<210> 53
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 53

His Gly Pro Glu Gly Leu Arg Val Gly Phe Tyr Glu Ser Asp Val Met
1 5 10 15

Gly Arg Gly His Ala Arg Leu Val His Val Glu Glu Pro His Thr
20 25 30

<210> 54
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 54

Gly Pro Gln Gly Leu Ala Gly Gln Arg Gly Ile Val
1 5 10

<210> 55
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 55

Gly Gly Ser Gly Gln Arg Gly Arg Lys Ala Leu Glu
1 5 10

<210> 56
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 56

Ser Leu Ser Ala Leu Leu Ser Ser Asp Ile Phe Asn
1 5 10

<210> 57
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 57

Ser Leu Pro Arg Phe Lys Ile Ile Gly Gly Phe Asn
1 5 10

<210> 58
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 58

Ser Leu Leu Gly Ile Ala Val Pro Gly Asn Phe Asn
1 5 10

<210> 59
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 59

Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg Thr Pro Pro
1 5 10

<210> 60
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 60

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn
1 5 10 15

Pro Gly Pro

<210> 61
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 61

Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro
1 5 10 15

Gly Pro

<210> 62
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 62

Gln Cys Thr Asn Tyr Ala Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser
1 5 10 15

Asn Pro Gly Pro
20

<210> 63
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 63

Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val
1 5 10 15

Glu Ser Asn Pro Gly Pro
20

<210> 64
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 64

Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val
1 5 10 15

Glu Glu Asn Pro Gly Pro
20

<210> 65
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 65

Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu
1 5 10 15

Glu Asn Pro Gly Pro
20

<210> 66
<211> 23
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 66

Gly Ser Gly Gln Cys Thr Asn Tyr Ala Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp
1 5 10 15

Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro
20

<210> 67

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 67

Gly Ser Gly Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala
1 5 10 15

Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro
20 25

<210> 68

<211> 20

<212> PRT

<213> 現代人

<400> 68

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser
1 5 10 15

Gly Leu Glu Ala
20

<210> 69

<211> 225

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 69

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser
1 5 10 15

Gly Leu Glu Ala Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser
20 25 30

Pro Gly Ser Ala Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser
35 40 45

Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala
50 55 60

Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp
65 70 75 80

Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser
85 90 95

Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr
100 105 110

Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly
115 120 125

Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala
130 135 140

Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser
145 150 155 160

Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His
165 170 175

Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg
180 185 190

Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu
195 200 205

Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser
210 215 220

Glu
225

<210> 70
<211> 939
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 70

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser
1 5 10 15

Gly Leu Glu Ala Val Tyr Leu Lys Thr Asn Val Phe Leu Gly Cys Gly
20 25 30

Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met Ile Gln Lys
35 40 45

Thr Pro Gln Ile Gln Val Tyr Ser Arg His Pro Pro Glu Asn Gly Lys
50 55 60

Pro Asn Ile Leu Asn Cys Tyr Val Thr Gln Phe His Pro Pro His Ile
65 70 75 80

Glu Ile Gln Met Leu Lys Asn Gly Lys Lys Ile Pro Lys Val Glu Met
85 90 95

Ser Asp Met Ser Phe Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Ile Leu Ala His
100 105 110

Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Thr Asp Thr Tyr Ala Cys Arg Val Lys
115 120 125

His Ala Ser Met Ala Glu Pro Lys Thr Val Tyr Trp Asp Arg Asp Met
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
145 150 155 160

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser
165 170 175

Gly Ala Arg Ala Ser Pro Gly Ser Ala Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu
180 185 190

Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg
195 200 205

Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp
210 215 220

Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu
225 230 235 240

Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala
245 250 255

Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val
260 265 270

Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln
275 280 285

Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp
290 295 300

Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln
305 310 315 320

Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu
325 330 335

His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala
340 345 350

Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu
355 360 365

Pro Ser Pro Arg Ser Glu Ser Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu
370 375 380

Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ser Arg
385 390 395 400

Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser Gly Leu Glu
405 410 415

Ala Gly Pro His Ser Leu Arg Tyr Phe Val Thr Ala Val Ser Arg Pro
420 425 430

Gly Leu Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr
435 440 445

Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Asp Asn Pro Arg Phe Glu Pro
450 455 460

Arg Ala Pro Trp Met Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Glu Glu Gln
465 470 475 480

Thr Gln Arg Ala Lys Ser Asp Glu Gln Trp Phe Arg Val Ser Leu Arg
485 490 495

Thr Ala Gln Arg Cys Tyr Asn Gln Ser Lys Gly Gly Ser His Thr Phe
500 505 510

Gln Arg Met Phe Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Leu Leu Arg
515 520 525

Gly Tyr Gln Gln Phe Ala Tyr Asp Gly Arg Asp Tyr Ile Ala Leu Asn
530 535 540

Glu Asp Leu Lys Thr Trp Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Leu Ile Thr
545 550 555 560

Arg Arg Lys Trp Glu Gln Ala Gly Asp Ala Glu Tyr Tyr Arg Ala Tyr
565 570 575

Leu Glu Gly Glu Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Leu Gly
580 585 590

Asn Glu Thr Leu Leu Arg Thr Asp Ser Pro Lys Ala His Val Thr Tyr
595 600 605

His Pro Arg Ser Gln Val Asp Val Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly
610 615 620

Phe Tyr Pro Ala Asp Ile Thr Leu Thr Trp Gln Leu Asn Gly Glu Asp
625 630 635 640

Leu Thr Gln Asp Met Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly
645 650 655

Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Leu Gly Lys Glu Gln
660 665 670

Asn Tyr Thr Cys His Val His His Lys Gly Leu Pro Glu Pro Leu Thr
675 680 685

Leu Arg Trp Ala Ala Ala Gly Gly Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro
690 695 700

Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser
705 710 715 720

Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu
725 730 735

Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro
740 745 750

Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala
755 760 765

Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val
770 775 780

Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe
785 790 795 800

Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr
805 810 815

Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu
820 825 830

Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys
835 840 845

Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn
850 855 860

Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp
865 870 875 880

Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys
885 890 895

Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly
900 905 910

Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
915 920 925

Gly Gly Ser His His His His His His His His
930 935

- <210> 71
- <211> 939
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 合成多肽
- <400> 71

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser
1 5 10 15

Gly Leu Glu Ala Val Tyr Leu Lys Thr Asn Val Phe Leu Gly Cys Gly
20 25 30

Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met Ile Gln Lys
35 40 45

Thr Pro Gln Ile Gln Val Tyr Ser Arg His Pro Pro Glu Asn Gly Lys
50 55 60

Pro Asn Ile Leu Asn Cys Tyr Val Thr Gln Phe His Pro Pro His Ile
65 70 75 80

Glu Ile Gln Met Leu Lys Asn Gly Lys Lys Ile Pro Lys Val Glu Met
85 90 95

Ser Asp Met Ser Phe Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Ile Leu Ala His
100 105 110

Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Thr Asp Thr Tyr Ala Cys Arg Val Lys
115 120 125

His Ala Ser Met Ala Glu Pro Lys Thr Val Tyr Trp Asp Arg Asp Met
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
145 150 155 160

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser
165 170 175

Gly Ala Arg Ala Ser Pro Gly Ser Ala Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu
180 185 190

Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg
195 200 205

Gln Gly Met Phe Ala Cys Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp
210 215 220

Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu
225 230 235 240

Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala
245 250 255

Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val
260 265 270

Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln
275 280 285

Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp
290 295 300

Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln
305 310 315 320

Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu
325 330 335

His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala
340 345 350

Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Cys Ala Gly Leu
355 360 365

Pro Ser Pro Arg Ser Glu Ser Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu
370 375 380

Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ser Arg
385 390 395 400

Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser Gly Leu Glu
405 410 415

Ala Gly Pro His Ser Leu Arg Tyr Phe Val Thr Ala Val Ser Arg Pro
420 425 430

Gly Leu Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr
435 440 445

Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Asp Asn Pro Arg Phe Glu Pro
450 455 460

Arg Ala Pro Trp Met Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Glu Glu Gln
465 470 475 480

Thr Gln Arg Ala Lys Ser Asp Glu Gln Trp Phe Arg Val Ser Leu Arg
485 490 495

Thr Ala Gln Arg Cys Tyr Asn Gln Ser Lys Gly Gly Ser His Thr Phe
500 505 510

Gln Arg Met Phe Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Leu Leu Arg
515 520 525

Gly Tyr Gln Gln Phe Ala Tyr Asp Gly Arg Asp Tyr Ile Ala Leu Asn
530 535 540

Glu Asp Leu Lys Thr Trp Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Leu Ile Thr
545 550 555 560

Arg Arg Lys Trp Glu Gln Ala Gly Asp Ala Glu Tyr Tyr Arg Ala Tyr
565 570 575

Leu Glu Gly Glu Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Leu Gly
580 585 590

Asn Glu Thr Leu Leu Arg Thr Asp Ser Pro Lys Ala His Val Thr Tyr
595 600 605

His Pro Arg Ser Gln Val Asp Val Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly
610 615 620

Phe Tyr Pro Ala Asp Ile Thr Leu Thr Trp Gln Leu Asn Gly Glu Asp
625 630 635 640

Leu Thr Gln Asp Met Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly
645 650 655

Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Leu Gly Lys Glu Gln
660 665 670

Asn Tyr Thr Cys His Val His His Lys Gly Leu Pro Glu Pro Leu Thr
675 680 685

Leu Arg Trp Ala Ala Ala Gly Gly Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro
690 695 700

Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser
705 710 715 720

Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu
725 730 735

Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro
740 745 750

Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala
755 760 765

Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val
770 775 780

Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe
785 790 795 800

Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr
805 810 815

Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu
820 825 830

Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys
835 840 845

Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn
850 855 860

Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp
865 870 875 880

Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys
885 890 895

Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly
900 905 910

Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
915 920 925

Gly Gly Ser His His His His His His His His
930 935

<210> 72
<211> 225
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 72

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser
1 5 10 15

Gly Leu Glu Ala Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser
20 25 30

Pro Gly Ser Ala Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser
35 40 45

Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala
50 55 60

Cys Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp
65 70 75 80

Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser
85 90 95

Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr
100 105 110

Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly
115 120 125

Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala
130 135 140

Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser
145 150 155 160

Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His
165 170 175

Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg
180 185 190

Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu
195 200 205

Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Cys Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser
210 215 220

Glu
225

<210> 73
<211> 939
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 73

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser
1 5 10 15

Gly Leu Glu Ala Val Tyr Leu Lys Thr Asn Val Phe Leu Gly Cys Gly
20 25 30

Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met Ile Gln Lys
35 40 45

Thr Pro Gln Ile Gln Val Tyr Ser Arg His Pro Pro Glu Asn Gly Lys
50 55 60

Pro Asn Ile Leu Asn Cys Tyr Val Thr Gln Phe His Pro Pro His Ile
65 70 75 80

Glu Ile Gln Met Leu Lys Asn Gly Lys Lys Ile Pro Lys Val Glu Met
85 90 95

Ser Asp Met Ser Phe Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Ile Leu Ala His
100 105 110

Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Thr Asp Thr Tyr Ala Cys Arg Val Lys
115 120 125

His Ala Ser Met Ala Glu Pro Lys Thr Val Tyr Trp Asp Arg Asp Met
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
145 150 155 160

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser
165 170 175

Gly Ala Arg Ala Ser Pro Gly Ser Ala Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu
180 185 190

Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg
195 200 205

Gln Gly Met Phe Ala Cys Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp
210 215 220

Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu
225 230 235 240

Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala
245 250 255

Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val
260 265 270

Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln
275 280 285

Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp
290 295 300

Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln
305 310 315 320

Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu
325 330 335

His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala
340 345 350

Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Cys Glu Ile Pro Ala Gly Leu
355 360 365

Pro Ser Pro Arg Ser Glu Ser Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu
370 375 380

Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ser Arg
385 390 395 400

Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser Gly Leu Glu
405 410 415

Ala Gly Pro His Ser Leu Arg Tyr Phe Val Thr Ala Val Ser Arg Pro
420 425 430

Gly Leu Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr
435 440 445

Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Asp Asn Pro Arg Phe Glu Pro
450 455 460

Arg Ala Pro Trp Met Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Glu Glu Gln
465 470 475 480

Thr Gln Arg Ala Lys Ser Asp Glu Gln Trp Phe Arg Val Ser Leu Arg
485 490 495

Thr Ala Gln Arg Cys Tyr Asn Gln Ser Lys Gly Gly Ser His Thr Phe
500 505 510

Gln Arg Met Phe Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Leu Leu Arg
515 520 525

Gly Tyr Gln Gln Phe Ala Tyr Asp Gly Arg Asp Tyr Ile Ala Leu Asn
530 535 540

Glu Asp Leu Lys Thr Trp Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Leu Ile Thr
545 550 555 560

Arg Arg Lys Trp Glu Gln Ala Gly Asp Ala Glu Tyr Tyr Arg Ala Tyr
565 570 575

Leu Glu Gly Glu Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Leu Gly
580 585 590

Asn Glu Thr Leu Leu Arg Thr Asp Ser Pro Lys Ala His Val Thr Tyr
595 600 605

His Pro Arg Ser Gln Val Asp Val Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly
610 615 620

Phe Tyr Pro Ala Asp Ile Thr Leu Thr Trp Gln Leu Asn Gly Glu Asp
625 630 635 640

Leu Thr Gln Asp Met Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly
645 650 655

Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Leu Gly Lys Glu Gln
660 665 670

Asn Tyr Thr Cys His Val His His Lys Gly Leu Pro Glu Pro Leu Thr
675 680 685

Leu Arg Trp Ala Ala Ala Gly Gly Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro
690 695 700

Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser
705 710 715 720

Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu
725 730 735

Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro
740 745 750

Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala
755 760 765

Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val
770 775 780

Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe
785 790 795 800

Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr
805 810 815

Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu
820 825 830

Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys
835 840 845

Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn
850 855 860

Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp
865 870 875 880

Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys
885 890 895

Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly
900 905 910

Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
915 920 925

Gly Gly Ser His His His His His His His His
930 935

<210> 74
<211> 225

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 74

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser
1 5 10 15

Gly Leu Glu Ala Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser
20 25 30

Pro Gly Ser Ala Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser
35 40 45

Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala
50 55 60

Cys Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp
65 70 75 80

Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser
85 90 95

Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr
100 105 110

Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly
115 120 125

Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala
130 135 140

Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser
145 150 155 160

Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His
165 170 175

Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg
180 185 190

Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu
195 200 205

Phe Arg Val Thr Cys Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser
210 215 220

Glu
225

<210> 75
<211> 939
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 75

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser
1 5 10 15

Gly Leu Glu Ala Val Tyr Leu Lys Thr Asn Val Phe Leu Gly Cys Gly
20 25 30

Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met Ile Gln Lys
35 40 45

Thr Pro Gln Ile Gln Val Tyr Ser Arg His Pro Pro Glu Asn Gly Lys
50 55 60

Pro Asn Ile Leu Asn Cys Tyr Val Thr Gln Phe His Pro Pro His Ile
65 70 75 80

Glu Ile Gln Met Leu Lys Asn Gly Lys Lys Ile Pro Lys Val Glu Met
85 90 95

Ser Asp Met Ser Phe Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Ile Leu Ala His
100 105 110

Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Thr Asp Thr Tyr Ala Cys Arg Val Lys
115 120 125

His Ala Ser Met Ala Glu Pro Lys Thr Val Tyr Trp Asp Arg Asp Met
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
145 150 155 160

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser
165 170 175

Gly Ala Arg Ala Ser Pro Gly Ser Ala Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu
180 185 190

Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg
195 200 205

Cys Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp
210 215 220

Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Cys Ala Gly Val Ser Leu
225 230 235 240

Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala
245 250 255

Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val
260 265 270

Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln
275 280 285

Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp
290 295 300

Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln
305 310 315 320

Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu
325 330 335

His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala
340 345 350

Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Cys Ala Gly Leu
355 360 365

Pro Ser Pro Arg Ser Glu Ser Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu
370 375 380

Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ser Arg
385 390 395 400

Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser Gly Leu Glu
405 410 415

Ala Gly Pro His Ser Leu Arg Tyr Phe Val Thr Ala Val Ser Arg Pro
420 425 430

Gly Leu Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr
435 440 445

Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Asp Asn Pro Arg Phe Glu Pro
450 455 460

Arg Ala Pro Trp Met Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Glu Glu Gln
465 470 475 480

Thr Gln Arg Ala Lys Ser Asp Glu Gln Trp Phe Arg Val Ser Leu Arg
485 490 495

Thr Ala Gln Arg Cys Tyr Asn Gln Ser Lys Gly Gly Ser His Thr Phe
500 505 510

Gln Arg Met Phe Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Leu Leu Arg
515 520 525

Gly Tyr Gln Gln Phe Ala Tyr Asp Gly Arg Asp Tyr Ile Ala Leu Asn
530 535 540

Glu Asp Leu Lys Thr Trp Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Leu Ile Thr
545 550 555 560

Arg Arg Lys Trp Glu Gln Ala Gly Asp Ala Glu Tyr Tyr Arg Ala Tyr
565 570 575

Leu Glu Gly Glu Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Leu Gly
580 585 590

Asn Glu Thr Leu Leu Arg Thr Asp Ser Pro Lys Ala His Val Thr Tyr
595 600 605

His Pro Arg Ser Gln Val Asp Val Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly
610 615 620

Phe Tyr Pro Ala Asp Ile Thr Leu Thr Trp Gln Leu Asn Gly Glu Asp
625 630 635 640

Leu Thr Gln Asp Met Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly
645 650 655

Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Leu Gly Lys Glu Gln
660 665 670

Asn Tyr Thr Cys His Val His His Lys Gly Leu Pro Glu Pro Leu Thr
675 680 685

Leu Arg Trp Ala Ala Ala Gly Gly Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro
690 695 700

Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser
705 710 715 720

Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu
725 730 735

Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro
740 745 750

Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala
755 760 765

Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val
770 775 780

Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe
785 790 795 800

Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr
805 810 815

Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu
820 825 830

Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys
835 840 845

Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn
850 855 860

Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp
865 870 875 880

Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys
885 890 895

Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly
900 905 910

Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
915 920 925

Gly Gly Ser His His His His His His His His
930 935

<210> 76
<211> 225
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 76

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser
1 5 10 15

Gly Leu Glu Ala Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser
20 25 30

Pro Gly Ser Ala Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser
35 40 45

Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Cys Gly Met Phe Ala
50 55 60

Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp
65 70 75 80

Tyr Ser Asp Pro Gly Cys Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser
85 90 95

Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr
100 105 110

Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly
115 120 125

Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala
130 135 140

Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser
145 150 155 160

Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His
165 170 175

Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg
180 185 190

Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu
195 200 205

Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Cys Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser
210 215 220

Glu
225

- <210> 77
- <211> 1285
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 合成多肽
- <400> 77

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser
1 5 10 15

Gly Leu Glu Ala Val Tyr Leu Lys Thr Asn Val Phe Leu Gly Cys Gly
20 25 30

Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met Ile Gln Lys
35 40 45

Thr Pro Gln Ile Gln Val Tyr Ser Arg His Pro Pro Glu Asn Gly Lys
50 55 60

Pro Asn Ile Leu Asn Cys Tyr Val Thr Gln Phe His Pro Pro His Ile
65 70 75 80

Glu Ile Gln Met Leu Lys Asn Gly Lys Lys Ile Pro Lys Val Glu Met
85 90 95

Ser Asp Met Ser Phe Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Ile Leu Ala His
100 105 110

Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Thr Asp Thr Tyr Ala Cys Arg Val Lys
115 120 125

His Ala Ser Met Ala Glu Pro Lys Thr Val Tyr Trp Asp Arg Asp Met
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
145 150 155 160

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp
165 170 175

Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu
180 185 190

Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val
195 200 205

Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val
210 215 220

Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg
225 230 235 240

Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His
245 250 255

Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr
260 265 270

Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly
275 280 285

Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val
290 295 300

His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln
305 310 315 320

Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala
325 330 335

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
340 345 350

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp
355 360 365

Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu
370 375 380

Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val
385 390 395 400

Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val
405 410 415

Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg
420 425 430

Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His
435 440 445

Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr
450 455 460

Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly
465 470 475 480

Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val
485 490 495

His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln
500 505 510

Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala
515 520 525

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
530 535 540

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp
545 550 555 560

Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu
565 570 575

Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val
580 585 590

Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val
595 600 605

Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg
610 615 620

Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His
625 630 635 640

Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr
645 650 655

Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly
660 665 670

Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val
675 680 685

His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln
690 695 700

Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala
705 710 715 720

Ser Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp
725 730 735

Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val
740 745 750

Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser Gly Leu Glu Ala Gly Pro His Ser Leu
755 760 765

Arg Tyr Phe Val Thr Ala Val Ser Arg Pro Gly Leu Gly Glu Pro Arg
770 775 780

Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp
785 790 795 800

Ser Asp Ala Asp Asn Pro Arg Phe Glu Pro Arg Ala Pro Trp Met Glu
805 810 815

Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Glu Glu Gln Thr Gln Arg Ala Lys Ser
820 825 830

Asp Glu Gln Trp Phe Arg Val Ser Leu Arg Thr Ala Gln Arg Cys Tyr
835 840 845

Asn Gln Ser Lys Gly Gly Ser His Thr Phe Gln Arg Met Phe Gly Cys
850 855 860

Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Leu Leu Arg Gly Tyr Gln Gln Phe Ala
865 870 875 880

Tyr Asp Gly Arg Asp Tyr Ile Ala Leu Asn Glu Asp Leu Lys Thr Trp
885 890 895

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Leu Ile Thr Arg Arg Lys Trp Glu Gln
900 905 910

Ala Gly Asp Ala Glu Tyr Tyr Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Glu Cys Val
915 920 925

Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Leu Gly Asn Glu Thr Leu Leu Arg
930 935 940

Thr Asp Ser Pro Lys Ala His Val Thr Tyr His Pro Arg Ser Gln Val
945 950 955 960

Asp Val Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Asp Ile
965 970 975

Thr Leu Thr Trp Gln Leu Asn Gly Glu Asp Leu Thr Gln Asp Met Glu
980 985 990

Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala
995 1000 1005

Ala Val Val Val Pro Leu Gly Lys Glu Gln Asn Tyr Thr Cys His
1010 1015 1020

Val His His Lys Gly Leu Pro Glu Pro Leu Thr Leu Arg Trp Ala
1025 1030 1035

Ala Ala Gly Gly Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro
1040 1045 1050

Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
1055 1060 1065

Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser
1070 1075 1080

Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro
1085 1090 1095

Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr
1100 1105 1110

Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg
1115 1120 1125

Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly
1130 1135 1140

Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro
1145 1150 1155

Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro
1160 1165 1170

Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys
1175 1180 1185

Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp
1190 1195 1200

Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr
1205 1210 1215

Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met
1220 1225 1230

Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn
1235 1240 1245

Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His
1250 1255 1260

Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys Gly Gly Ser His
1265 1270 1275

His His His His His His His
1280 1285

<210> 78
<211> 119
<212> PRT
<213> 現代人

<400> 78

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser
1 5 10 15

Gly Leu Glu Ala Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Arg
20 25 30

His Pro Ala Glu Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser
35 40 45

Gly Phe His Pro Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu
50 55 60

Arg Ile Glu Lys Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp
65 70 75 80

Ser Phe Tyr Leu Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Lys Asp
85 90 95

Glu Tyr Ala Cys Arg Val Asn His Val Thr Leu Ser Gln Pro Lys Ile

100105110

Val Lys Trp Asp Arg Asp Met
115

<210> 79
<211> 119
<212> PRT
<213> 黑猩猩

<400> 79

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser
151015

Gly Leu Glu Ala Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Arg
202530

His Pro Ala Glu Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser
354045

Gly Phe His Pro Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu
505560

Arg Ile Glu Lys Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp
65707580

Ser Phe Tyr Leu Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Lys Asp
859095

Glu Tyr Ala Cys Arg Val Asn His Val Thr Leu Ser Gln Pro Lys Ile
100105110

Val Lys Trp Asp Arg Asp Met
115

<210> 80
<211> 119
<212> PRT
<213> 彌猴

<400> 80

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser
151015

Gly Leu Glu Ala Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Arg

20 25 30

His Pro Pro Glu Asn Gly Lys Pro Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser
35 40 45

Gly Phe His Pro Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu
50 55 60

Lys Met Gly Lys Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp
65 70 75 80

Ser Phe Tyr Leu Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro Asn Glu Lys Asp
85 90 95

Glu Tyr Ala Cys Arg Val Asn His Val Thr Leu Ser Gly Pro Arg Thr
100 105 110

Val Lys Trp Asp Arg Asp Met
115

<210> 81
<211> 118
<212> PRT
<213> 家牛

<400> 81

Met Ala Arg Phe Val Ala Leu Val Leu Leu Gly Leu Leu Ser Leu Ser
1 5 10 15

Gly Leu Asp Ala Ile Gln Arg Pro Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Arg
20 25 30

His Pro Pro Glu Asp Gly Lys Pro Asn Tyr Leu Asn Cys Tyr Val Tyr
35 40 45

Gly Phe His Pro Pro Gln Ile Glu Ile Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu
50 55 60

Lys Ile Lys Ser Glu Gln Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp Ser
65 70 75 80

Phe Tyr Leu Leu Ser His Ala Glu Phe Thr Pro Asn Ser Lys Asp Gln
85 90 95

Tyr Ser Cys Arg Val Lys His Val Thr Leu Glu Gln Pro Arg Ile Val
100 105 110

Lys Trp Asp Arg Asp Leu
115

<210> 82
<211> 119
<212> PRT
<213> 小家鼠

<400> 82

Met Ala Arg Ser Val Thr Leu Val Phe Leu Val Leu Val Ser Leu Thr
1 5 10 15

Gly Leu Tyr Ala Ile Gln Lys Thr Pro Gln Ile Gln Val Tyr Ser Arg
20 25 30

His Pro Pro Glu Asn Gly Lys Pro Asn Ile Leu Asn Cys Tyr Val Thr
35 40 45

Gln Phe His Pro Pro His Ile Glu Ile Gln Met Leu Lys Asn Gly Lys
50 55 60

Lys Ile Pro Lys Val Glu Met Ser Asp Met Ser Phe Ser Lys Asp Trp
65 70 75 80

Ser Phe Tyr Ile Leu Ala His Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Thr Asp
85 90 95

Thr Tyr Ala Cys Arg Val Lys His Ala Ser Met Ala Glu Pro Lys Thr
100 105 110

Val Tyr Trp Asp Arg Asp Met
115

<210> 83
<211> 227
<212> PRT
<213> 現代人

<400> 83

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 84
<211> 325

<212> PRT
<213> 現代人

<400> 84

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser
1 5 10 15
Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
20 25 30
Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
35 40 45
Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
50 55 60
Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr
65 70 75 80
Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr
85 90 95
Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro
100 105 110
Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
115 120 125
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
130 135 140
Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
145 150 155 160
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
165 170 175
Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu
180 185 190
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala
195 200 205
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro

210	215	220
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln 225 230 235 240		
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala 245 250 255		
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr 260 265 270		
Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu 275 280 285		
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser 290 295 300		
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser 305 310 315 320		
Leu Ser Pro Gly Lys 325		

<210> 85
 <211> 246
 <212> PRT
 <213> 現代人

<400> 85

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Leu Lys Thr 1 5 10 15
Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu 20 25 30
Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp 35 40 45
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp 50 55 60
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly 65 70 75 80

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
85 90 95

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
100 105 110

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
115 120 125

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
130 135 140

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
145 150 155 160

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
165 170 175

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
180 185 190

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
195 200 205

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
210 215 220

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
225 230 235 240

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245

<210> 86
<211> 383
<212> PRT
<213> 現代人

<400> 86

Pro Thr Lys Ala Pro Asp Val Phe Pro Ile Ile Ser Gly Cys Arg His
1 5 10 15

Pro Lys Asp Asn Ser Pro Val Val Leu Ala Cys Leu Ile Thr Gly Tyr
20 25 30

His Pro Thr Ser Val Thr Val Thr Trp Tyr Met Gly Thr Gln Ser Gln
35 40 45

Pro Gln Arg Thr Phe Pro Glu Ile Gln Arg Arg Asp Ser Tyr Tyr Met
50 55 60

Thr Ser Ser Gln Leu Ser Thr Pro Leu Gln Gln Trp Arg Gln Gly Glu
65 70 75 80

Tyr Lys Cys Val Val Gln His Thr Ala Ser Lys Ser Lys Lys Glu Ile
85 90 95

Phe Arg Trp Pro Glu Ser Pro Lys Ala Gln Ala Ser Ser Val Pro Thr
100 105 110

Ala Gln Pro Gln Ala Glu Gly Ser Leu Ala Lys Ala Thr Thr Ala Pro
115 120 125

Ala Thr Thr Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys Glu
130 135 140

Lys Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys
145 150 155 160

Pro Ser His Thr Gln Pro Leu Gly Val Tyr Leu Leu Thr Pro Ala Val
165 170 175

Gln Asp Leu Trp Leu Arg Asp Lys Ala Thr Phe Thr Cys Phe Val Val
180 185 190

Gly Ser Asp Leu Lys Asp Ala His Leu Thr Trp Glu Val Ala Gly Lys
195 200 205

Val Pro Thr Gly Gly Val Glu Glu Gly Leu Leu Glu Arg His Ser Asn
210 215 220

Gly Ser Gln Ser Gln His Ser Arg Leu Thr Leu Pro Arg Ser Leu Trp
225 230 235 240

Asn Ala Gly Thr Ser Val Thr Cys Thr Leu Asn His Pro Ser Leu Pro
245 250 255

Pro Gln Arg Leu Met Ala Leu Arg Glu Pro Ala Ala Gln Ala Pro Val

260 265 270

Lys Leu Ser Leu Asn Leu Leu Ala Ser Ser Asp Pro Pro Glu Ala Ala
275 280 285

Ser Trp Leu Leu Cys Glu Val Ser Gly Phe Ser Pro Pro Asn Ile Leu
290 295 300

Leu Met Trp Leu Glu Asp Gln Arg Glu Val Asn Thr Ser Gly Phe Ala
305 310 315 320

Pro Ala Arg Pro Pro Pro Gln Pro Arg Ser Thr Thr Phe Trp Ala Trp
325 330 335

Ser Val Leu Arg Val Pro Ala Pro Pro Ser Pro Gln Pro Ala Thr Tyr
340 345 350

Thr Cys Val Val Ser His Glu Asp Ser Arg Thr Leu Leu Asn Ala Ser
355 360 365

Arg Ser Leu Glu Val Ser Tyr Val Thr Asp His Gly Pro Met Lys
370 375 380

<210> 87
<211> 276
<212> PRT
<213> 現代人

<400> 87

Val Thr Ser Thr Leu Thr Ile Lys Glx Ser Asp Trp Leu Gly Glu Ser
1 5 10 15

Met Phe Thr Cys Arg Val Asp His Arg Gly Leu Thr Phe Gln Gln Asn
20 25 30

Ala Ser Ser Met Cys Val Pro Asp Gln Asp Thr Ala Ile Arg Val Phe
35 40 45

Ala Ile Pro Pro Ser Phe Ala Ser Ile Phe Leu Thr Lys Ser Thr Lys
50 55 60

Leu Thr Cys Leu Val Thr Asp Leu Thr Thr Tyr Asx Ser Val Thr Ile
65 70 75 80

Ser Trp Thr Arg Glu Glu Asn Gly Ala Val Lys Thr His Thr Asn Ile
85 90 95

Ser Glu Ser His Pro Asn Ala Thr Phe Ser Ala Val Gly Glu Ala Ser
100 105 110

Ile Cys Glu Asp Asx Asp Trp Ser Gly Glu Arg Phe Thr Cys Thr Val
115 120 125

Thr His Thr Asp Leu Pro Ser Pro Leu Lys Gln Thr Ile Ser Arg Pro
130 135 140

Lys Gly Val Ala Leu His Arg Pro Asx Val Tyr Leu Leu Pro Pro Ala
145 150 155 160

Arg Glx Glx Leu Asn Leu Arg Glu Ser Ala Thr Ile Thr Cys Leu Val
165 170 175

Thr Gly Phe Ser Pro Ala Asp Val Phe Val Glu Trp Met Gln Arg Gly
180 185 190

Glu Pro Leu Ser Pro Gln Lys Tyr Val Thr Ser Ala Pro Met Pro Glu
195 200 205

Pro Gln Ala Pro Gly Arg Tyr Phe Ala His Ser Ile Leu Thr Val Ser
210 215 220

Glu Glu Glu Trp Asn Thr Gly Gly Thr Tyr Thr Cys Val Val Ala His
225 230 235 240

Glu Ala Leu Pro Asn Arg Val Thr Glu Arg Thr Val Asp Lys Ser Thr
245 250 255

Gly Lys Pro Thr Leu Tyr Asn Val Ser Leu Val Met Ser Asp Thr Ala
260 265 270

Gly Thr Cys Tyr
275

<210> 88
<211> 353
<212> PRT
<213> 現代人

<400> 88

Ala Ser Pro Thr Ser Pro Lys Val Phe Pro Leu Ser Leu Cys Ser Thr
1 5 10 15

Gln Pro Asp Gly Asn Val Val Ile Ala Cys Leu Val Gln Gly Phe Phe
20 25 30

Pro Gln Glu Pro Leu Ser Val Thr Trp Ser Glu Ser Gly Gln Gly Val
35 40 45

Thr Ala Arg Asn Phe Pro Pro Ser Gln Asp Ala Ser Gly Asp Leu Tyr
50 55 60

Thr Thr Ser Ser Gln Leu Thr Leu Pro Ala Thr Gln Cys Leu Ala Gly
65 70 75 80

Lys Ser Val Thr Cys His Val Lys His Tyr Thr Asn Pro Ser Gln Asp
85 90 95

Val Thr Val Pro Cys Pro Val Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro
100 105 110

Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro Ser Cys Cys His Pro Arg Leu Ser
115 120 125

Leu His Arg Pro Ala Leu Glu Asp Leu Leu Leu Gly Ser Glu Ala Asn
130 135 140

Leu Thr Cys Thr Leu Thr Gly Leu Arg Asp Ala Ser Gly Val Thr Phe
145 150 155 160

Thr Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Ser Ala Val Gln Gly Pro Pro Glu
165 170 175

Arg Asp Leu Cys Gly Cys Tyr Ser Val Ser Ser Val Leu Pro Gly Cys
180 185 190

Ala Glu Pro Trp Asn His Gly Lys Thr Phe Thr Cys Thr Ala Ala Tyr
195 200 205

Pro Glu Ser Lys Thr Pro Leu Thr Ala Thr Leu Ser Lys Ser Gly Asn
210 215 220

Thr Phe Arg Pro Glu Val His Leu Leu Pro Pro Pro Ser Glu Glu Leu

225230235240

Ala Leu Asn Glu Leu Val Thr Leu Thr Cys Leu Ala Arg Gly Phe Ser
245250255

Pro Lys Asp Val Leu Val Arg Trp Leu Gln Gly Ser Gln Glu Leu Pro
260265270

Arg Glu Lys Tyr Leu Thr Trp Ala Ser Arg Gln Glu Pro Ser Gln Gly
275280285

Thr Thr Thr Phe Ala Val Thr Ser Ile Leu Arg Val Ala Ala Glu Asp
290295300

Trp Lys Lys Gly Asp Thr Phe Ser Cys Met Val Gly His Glu Ala Leu
305310315320

Pro Leu Ala Phe Thr Gln Lys Thr Ile Asp Arg Leu Ala Gly Lys Pro
325330335

Thr His Val Asn Val Ser Val Val Met Ala Glu Val Asp Gly Thr Cys
340345350

Tyr

<210> 89
<211> 222
<212> PRT
<213> 現代人

<400> 89

Ala Asp Pro Cys Asp Ser Asn Pro Arg Gly Val Ser Ala Tyr Leu Ser
151015

Arg Pro Ser Pro Phe Asp Leu Phe Ile Arg Lys Ser Pro Thr Ile Thr
202530

Cys Leu Val Val Asp Leu Ala Pro Ser Lys Gly Thr Val Asn Leu Thr
354045

Trp Ser Arg Ala Ser Gly Lys Pro Val Asn His Ser Thr Arg Lys Glu
505560

Glu Lys Gln Arg Asn Gly Thr Leu Thr Val Thr Ser Thr Leu Pro Val
65 70 75 80

Gly Thr Arg Asp Trp Ile Glu Gly Glu Thr Tyr Gln Cys Arg Val Thr
85 90 95

His Pro His Leu Pro Arg Ala Leu Met Arg Ser Thr Thr Lys Thr Ser
100 105 110

Gly Pro Arg Ala Ala Pro Glu Val Tyr Ala Phe Ala Thr Pro Glu Trp
115 120 125

Pro Gly Ser Arg Asp Lys Arg Thr Leu Ala Cys Leu Ile Gln Asn Phe
130 135 140

Met Pro Glu Asp Ile Ser Val Gln Trp Leu His Asn Glu Val Gln Leu
145 150 155 160

Pro Asp Ala Arg His Ser Thr Thr Gln Pro Arg Lys Thr Lys Gly Ser
165 170 175

Gly Phe Phe Val Phe Ser Arg Leu Glu Val Thr Arg Ala Glu Trp Glu
180 185 190

Gln Lys Asp Glu Phe Ile Cys Arg Ala Val His Glu Ala Ala Ser Pro
195 200 205

Ser Gln Thr Val Gln Arg Ala Val Ser Val Asn Pro Gly Lys
210 215 220

<210> 90
<211> 327
<212> PRT
<213> 現代人

<400> 90

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 91
<211> 365
<212> PRT
<213> 現代人
<400> 91.

Met Ala Val Met Ala Pro Arg Thr Leu Leu Leu Leu Ser Gly Ala
1 5 10 15
Leu Ala Leu Thr Gln Thr Trp Ala Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe
20 25 30
Phe Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala
35 40 45
Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala
50 55 60
Ala Ser Gln Lys Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly
65 70 75 80
Pro Glu Tyr Trp Asp Gln Glu Thr Arg Asn Met Lys Ala His Ser Gln
85 90 95
Thr Asp Arg Ala Asn Leu Gly Thr Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser
100 105 110
Glu Asp Gly Ser His Thr Ile Gln Ile Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly
115 120 125
Pro Asp Gly Arg Phe Leu Arg Gly Tyr Arg Gln Asp Ala Tyr Asp Gly
130 135 140

Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Asn Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala
145 150 155 160

Asp Met Ala Ala Gln Ile Thr Lys Arg Lys Trp Glu Ala Val His Ala
165 170 175

Ala Glu Gln Arg Arg Val Tyr Leu Glu Gly Arg Cys Val Asp Gly Leu
180 185 190

Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Pro
195 200 205

Pro Lys Thr His Met Thr His His Pro Ile Ser Asp His Glu Ala Thr
210 215 220

Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr
225 230 235 240

Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu
245 250 255

Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val
260 265 270

Val Pro Ser Gly Glu Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu
275 280 285

Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu Arg Trp Glu Leu Ser Ser Gln Pro
290 295 300

Thr Ile Pro Ile Val Gly Ile Ile Ala Gly Leu Val Leu Leu Gly Ala
305 310 315 320

Val Ile Thr Gly Ala Val Val Ala Ala Val Met Trp Arg Arg Lys Ser
325 330 335

Ser Asp Arg Lys Gly Gly Ser Tyr Thr Gln Ala Ala Ser Ser Asp Ser
340 345 350

Ala Gln Gly Ser Asp Val Ser Leu Thr Ala Cys Lys Val
355 360 365

<210> 92
<211> 362

<212> PRT
<213> 現代人

<400> 92

Met Leu Val Met Ala Pro Arg Thr Val Leu Leu Leu Leu Ser Ala Ala
1 5 10 15

Leu Ala Leu Thr Glu Thr Trp Ala Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe
20 25 30

Tyr Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ser
35 40 45

Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala
50 55 60

Ala Ser Pro Arg Glu Glu Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly
65 70 75 80

Pro Glu Tyr Trp Asp Arg Asn Thr Gln Ile Tyr Lys Ala Gln Ala Gln
85 90 95

Thr Asp Arg Glu Ser Leu Arg Asn Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser
100 105 110

Glu Ala Gly Ser His Thr Leu Gln Ser Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly
115 120 125

Pro Asp Gly Arg Leu Leu Arg Gly His Asp Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly
130 135 140

Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Asn Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala
145 150 155 160

Asp Thr Ala Ala Gln Ile Thr Gln Arg Lys Trp Glu Ala Ala Arg Glu
165 170 175

Ala Glu Gln Arg Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Glu Cys Val Glu Trp Leu
180 185 190

Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Asp Lys Leu Glu Arg Ala Asp Pro
195 200 205

Pro Lys Thr His Val Thr His His Pro Ile Ser Asp His Glu Ala Thr

210	215	220
Leu Arg Cys Trp Ala	Leu Gly Phe Tyr Pro	Ala Glu Ile Thr Leu Thr
225	230	235 240
Trp Gln Arg Asp	Gly Glu Asp Gln Thr	Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu
	245	250 255
Thr Arg Pro	Ala Gly Asp Arg Thr	Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val
	260	265 270
Val Pro	Ser Gly Glu Glu Gln	Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu
	275	280 285
Gly Leu Pro	Lys Pro Leu Thr	Leu Arg Trp Glu Pro Ser Ser Gln Ser
	290	295 300
Thr Val Pro	Ile Val Gly Ile Val	Ala Gly Leu Ala Val Leu Ala Val
	305	310 315 320
Val Val Ile Gly	Ala Val Val Ala Ala	Val Met Cys Arg Arg Lys Ser
	325	330 335
Ser Gly Gly	Lys Gly Gly Ser Tyr	Ser Gln Ala Ala Cys Ser Asp Ser
	340	345 350
Ala Gln Gly	Ser Asp Val Ser	Leu Thr Ala
	355	360

<210> 93
 <211> 366
 <212> PRT
 <213> 現代人

<400> 93

Met Arg Val Met	Ala Pro Arg Ala	Leu Leu Leu Leu Ser Gly Gly
1	5	10 15
Leu Ala Leu Thr	Glu Thr Trp Ala	Cys Ser His Ser Met Arg Tyr Phe
	20	25 30
Asp Thr Ala	Val Ser Arg Pro	Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ser
	35	40 45

Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala
50 55 60

Ala Ser Pro Arg Gly Glu Pro Arg Ala Pro Trp Val Glu Gln Glu Gly
65 70 75 80

Pro Glu Tyr Trp Asp Arg Glu Thr Gln Asn Tyr Lys Arg Gln Ala Gln
85 90 95

Ala Asp Arg Val Ser Leu Arg Asn Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser
100 105 110

Glu Asp Gly Ser His Thr Leu Gln Arg Met Tyr Gly Cys Asp Leu Gly
115 120 125

Pro Asp Gly Arg Leu Leu Arg Gly Tyr Asp Gln Ser Ala Tyr Asp Gly
130 135 140

Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Asn Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala
145 150 155 160

Asp Thr Ala Ala Gln Ile Thr Gln Arg Lys Leu Glu Ala Ala Arg Ala
165 170 175

Ala Glu Gln Leu Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu
180 185 190

Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Ala Glu Pro
195 200 205

Pro Lys Thr His Val Thr His His Pro Leu Ser Asp His Glu Ala Thr
210 215 220

Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr
225 230 235 240

Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu
245 250 255

Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val
260 265 270

Val Pro Ser Gly Gln Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Met Gln His Glu
275 280 285

Gly Leu Gln Glu Pro Leu Thr Leu Ser Trp Glu Pro Ser Ser Gln Pro
290 295 300

Thr Ile Pro Ile Met Gly Ile Val Ala Gly Leu Ala Val Leu Val Val
305 310 315 320

Leu Ala Val Leu Gly Ala Val Val Thr Ala Met Met Cys Arg Arg Lys
325 330 335

Ser Ser Gly Gly Lys Gly Gly Ser Cys Ser Gln Ala Ala Cys Ser Asn
340 345 350

Ser Ala Gln Gly Ser Asp Glu Ser Leu Ile Thr Cys Lys Ala
355 360 365

<210> 94
<211> 290
<212> PRT
<213> 現代人

<400> 94

Met Arg Ile Phe Ala Gly Ile Ile Phe Thr Ala Cys Cys His Leu Leu
1 5 10 15

Arg Ala Phe Thr Ile Thr Ala Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr
20 25 30

Gly Ser Asn Val Thr Met Glu Cys Arg Phe Pro Val Glu Arg Glu Leu
35 40 45

Asp Leu Leu Ala Leu Val Val Tyr Trp Glu Lys Glu Asp Glu Gln Val
50 55 60

Ile Gln Phe Val Ala Gly Glu Glu Asp Leu Lys Pro Gln His Ser Asn
65 70 75 80

Phe Arg Gly Arg Ala Ser Leu Pro Lys Asp Gln Leu Leu Lys Gly Asn
85 90 95

Ala Ala Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr
100 105 110

Cys Cys Ile Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Leu

115

120

125

Lys Val Asn Ala Pro Tyr Arg Lys Ile Asn Gln Arg Ile Ser Val Asp
130 135 140

Pro Ala Thr Ser Glu His Glu Leu Ile Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro
145 150 155 160

Glu Ala Glu Val Ile Trp Thr Asn Ser Asp His Gln Pro Val Ser Gly
165 170 175

Lys Arg Ser Val Thr Thr Ser Arg Thr Glu Gly Met Leu Leu Asn Val
180 185 190

Thr Ser Ser Leu Arg Val Asn Ala Thr Ala Asn Asp Val Phe Tyr Cys
195 200 205

Thr Phe Trp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asn His Thr Ala Glu Leu Ile
210 215 220

Ile Pro Glu Leu Pro Ala Thr His Pro Pro Gln Asn Arg Thr His Trp
225 230 235 240

Val Leu Leu Gly Ser Ile Leu Leu Phe Leu Ile Val Val Ser Thr Val
245 250 255

Leu Leu Phe Leu Arg Lys Gln Val Arg Met Leu Asp Val Glu Lys Cys
260 265 270

Gly Val Glu Asp Thr Ser Ser Lys Asn Arg Asn Asp Thr Gln Phe Glu
275 280 285

Glu Thr
290

<210> 95
<211> 290
<212> PRT
<213> 現代人

<400> 95

Met Arg Ile Phe Ala Val Phe Ile Phe Met Thr Tyr Trp His Leu Leu
1 5 10 15

Asn Ala Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr
20 25 30

Gly Ser Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu
35 40 45

Asp Leu Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile
50 55 60

Ile Gln Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser
65 70 75 80

Tyr Arg Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn
85 90 95

Ala Ala Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr
100 105 110

Arg Cys Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val
115 120 125

Lys Val Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val
130 135 140

Asp Pro Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr
145 150 155 160

Pro Lys Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser
165 170 175

Gly Lys Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn
180 185 190

Val Thr Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr
195 200 205

Cys Thr Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu
210 215 220

Val Ile Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg Thr His
225 230 235 240

Leu Val Ile Leu Gly Ala Ile Leu Leu Cys Leu Gly Val Ala Leu Thr
245 250 255

Phe Ile Phe Arg Leu Arg Lys Gly Arg Met Met Asp Val Lys Lys Cys
260 265 270

Gly Ile Gln Asp Thr Asn Ser Lys Lys Gln Ser Asp Thr His Leu Glu
275 280 285

Glu Thr
290

<210> 96
<211> 254
<212> PRT
<213> 現代人

<400> 96

Met Glu Tyr Ala Ser Asp Ala Ser Leu Asp Pro Glu Ala Pro Trp Pro
1 5 10 15

Pro Ala Pro Arg Ala Arg Ala Cys Arg Val Leu Pro Trp Ala Leu Val
20 25 30

Ala Gly Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ala Ala Ala Cys Ala Val Phe
35 40 45

Leu Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser Pro Gly Ser
50 55 60

Ala Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp
65 70 75 80

Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val
85 90 95

Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp
100 105 110

Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu
115 120 125

Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe
130 135 140

Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser

145 150 155 160

Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala
165 170 175

Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala
180 185 190

Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala
195 200 205

Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His
210 215 220

Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val
225 230 235 240

Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu
245 250

<210>	97
<211>	302
<212>	PRT
<213>	現代人

<400> 97

Met Arg Leu Gly Ser Pro Gly Leu Leu Phe Leu Leu Phe Ser Ser Leu
1 5 10 15

Arg Ala Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp
20 25 30

Val Glu Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn
35 40 45

Asp Val Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr
50 55 60

Tyr His Ile Pro Gln Asn Ser Ser Leu Glu Asn Val Asp Ser Arg Tyr
65 70 75 80

Arg Asn Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe
85 90 95

Ser Leu Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His
100 105 110

Cys Leu Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val
115 120 125

Glu Val Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser
130 135 140

Ala Pro His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser
145 150 155 160

Ile Asn Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp
165 170 175

Asn Ser Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn
180 185 190

Met Arg Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr
195 200 205

Pro Ser Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln
210 215 220

Asn Leu Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp
225 230 235 240

Lys Ile Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr
245 250 255

Trp Ser Ile Leu Ala Val Leu Cys Leu Leu Val Val Val Ala Val Ala
260 265 270

Ile Gly Trp Val Cys Arg Asp Arg Cys Leu Gln His Ser Tyr Ala Gly
275 280 285

Ala Trp Ala Val Ser Pro Glu Thr Glu Leu Thr Gly His Val
290 295 300

<210> 98
<211> 183
<212> PRT
<213> 現代人

<400> 98

Met Glu Arg Val Gln Pro Leu Glu Glu Asn Val Gly Asn Ala Ala Arg
1 5 10 15

Pro Arg Phe Glu Arg Asn Lys Leu Leu Leu Val Ala Ser Val Ile Gln
20 25 30

Gly Leu Gly Leu Leu Leu Cys Phe Thr Tyr Ile Cys Leu His Phe Ser
35 40 45

Ala Leu Gln Val Ser His Arg Tyr Pro Arg Ile Gln Ser Ile Lys Val
50 55 60

Gln Phe Thr Glu Tyr Lys Lys Glu Lys Gly Phe Ile Leu Thr Ser Gln
65 70 75 80

Lys Glu Asp Glu Ile Met Lys Val Gln Asn Asn Ser Val Ile Ile Asn
85 90 95

Cys Asp Gly Phe Tyr Leu Ile Ser Leu Lys Gly Tyr Phe Ser Gln Glu
100 105 110

Val Asn Ile Ser Leu His Tyr Gln Lys Asp Glu Glu Pro Leu Phe Gln
115 120 125

Leu Lys Lys Val Arg Ser Val Asn Ser Leu Met Val Ala Ser Leu Thr
130 135 140

Tyr Lys Asp Lys Val Tyr Leu Asn Val Thr Thr Asp Asn Thr Ser Leu
145 150 155 160

Asp Asp Phe His Val Asn Gly Gly Glu Leu Ile Leu Ile His Gln Asn
165 170 175

Pro Gly Glu Phe Cys Val Leu
180

<210> 99
<211> 273
<212> PRT
<213> 現代人

<400> 99

Met Ile Phe Leu Leu Leu Met Leu Ser Leu Glu Leu Gln Leu His Gln
1 5 10 15

Ile Ala Ala Leu Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Glu Leu Tyr Ile Ile
20 25 30

Glu His Gly Ser Asn Val Thr Leu Glu Cys Asn Phe Asp Thr Gly Ser
35 40 45

His Val Asn Leu Gly Ala Ile Thr Ala Ser Leu Gln Lys Val Glu Asn
50 55 60

Asp Thr Ser Pro His Arg Glu Arg Ala Thr Leu Leu Glu Glu Gln Leu
65 70 75 80

Pro Leu Gly Lys Ala Ser Phe His Ile Pro Gln Val Gln Val Arg Asp
85 90 95

Glu Gly Gln Tyr Gln Cys Ile Ile Ile Tyr Gly Val Ala Trp Asp Tyr
100 105 110

Lys Tyr Leu Thr Leu Lys Val Lys Ala Ser Tyr Arg Lys Ile Asn Thr
115 120 125

His Ile Leu Lys Val Pro Glu Thr Asp Glu Val Glu Leu Thr Cys Gln
130 135 140

Ala Thr Gly Tyr Pro Leu Ala Glu Val Ser Trp Pro Asn Val Ser Val
145 150 155 160

Pro Ala Asn Thr Ser His Ser Arg Thr Pro Glu Gly Leu Tyr Gln Val
165 170 175

Thr Ser Val Leu Arg Leu Lys Pro Pro Pro Gly Arg Asn Phe Ser Cys
180 185 190

Val Phe Trp Asn Thr His Val Arg Glu Leu Thr Leu Ala Ser Ile Asp
195 200 205

Leu Gln Ser Gln Met Glu Pro Arg Thr His Pro Thr Trp Leu Leu His
210 215 220

Ile Phe Ile Pro Phe Cys Ile Ile Ala Phe Ile Phe Ile Ala Thr Val
225 230 235 240

Ile Ala Leu Arg Lys Gln Leu Cys Gln Lys Leu Tyr Ser Ser Lys Asp
245 250 255

Thr Thr Lys Arg Pro Val Thr Thr Thr Lys Arg Glu Val Asn Ser Ala
260 265 270

Ile

- <210> 100
- <211> 288
- <212> PRT
- <213> 現代人
- <400> 100

Met Gly His Thr Arg Arg Gln Gly Thr Ser Pro Ser Lys Cys Pro Tyr
1 5 10 15

Leu Asn Phe Phe Gln Leu Leu Val Leu Ala Gly Leu Ser His Phe Cys
20 25 30

Ser Gly Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu
35 40 45

Ser Cys Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile
50 55 60

Tyr Trp Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp
65 70 75 80

Met Asn Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr
85 90 95

Asn Asn Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly
100 105 110

Thr Tyr Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg
115 120 125

Glu His Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr
130 135 140

Pro Ser Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile
145 150 155 160

Ile Cys Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu
165 170 175

Glu Asn Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp
180 185 190

Pro Glu Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met
195 200 205

Thr Thr Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg
210 215 220

Val Asn Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro
225 230 235 240

Asp Asn Leu Leu Pro Ser Trp Ala Ile Thr Leu Ile Ser Val Asn Gly
245 250 255

Ile Phe Val Ile Cys Cys Leu Thr Tyr Cys Phe Ala Pro Arg Cys Arg
260 265 270

Glu Arg Arg Arg Asn Glu Arg Leu Arg Arg Glu Ser Val Arg Pro Val
275 280 285

<210> 101
<211> 329
<212> PRT
<213> 現代人

<400> 101

Met Asp Pro Gln Cys Thr Met Gly Leu Ser Asn Ile Leu Phe Val Met
1 5 10 15

Ala Phe Leu Leu Ser Gly Ala Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe
20 25 30

Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Gln
35 40 45

Ser Leu Ser Glu Leu Val Val Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val
50 55 60

Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly Lys Glu Lys Phe Asp Ser Val His Ser
65 70 75 80

Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg
85 90 95

Leu His Asn Leu Gln Ile Lys Asp Lys Gly Leu Tyr Gln Cys Ile Ile
100 105 110

His His Lys Lys Pro Thr Gly Met Ile Arg Ile His Gln Met Asn Ser
115 120 125

Glu Leu Ser Val Leu Ala Asn Phe Ser Gln Pro Glu Ile Val Pro Ile
130 135 140

Ser Asn Ile Thr Glu Asn Val Tyr Ile Asn Leu Thr Cys Ser Ser Ile
145 150 155 160

His Gly Tyr Pro Glu Pro Lys Lys Met Ser Val Leu Leu Arg Thr Lys
165 170 175

Asn Ser Thr Ile Glu Tyr Asp Gly Ile Met Gln Lys Ser Gln Asp Asn
180 185 190

Val Thr Glu Leu Tyr Asp Val Ser Ile Ser Leu Ser Val Ser Phe Pro
195 200 205

Asp Val Thr Ser Asn Met Thr Ile Phe Cys Ile Leu Glu Thr Asp Lys
210 215 220

Thr Arg Leu Leu Ser Ser Pro Phe Ser Ile Glu Leu Glu Asp Pro Gln
225 230 235 240

Pro Pro Pro Asp His Ile Pro Trp Ile Thr Ala Val Leu Pro Thr Val
245 250 255

Ile Ile Cys Val Met Val Phe Cys Leu Ile Leu Trp Lys Trp Lys Lys
260 265 270

Lys Lys Arg Pro Arg Asn Ser Tyr Lys Cys Gly Thr Asn Thr Met Glu
275 280 285

Arg Glu Glu Ser Glu Gln Thr Lys Lys Arg Glu Lys Ile His Ile Pro
290 295 300

Glu Arg Ser Asp Glu Ala Gln Arg Val Phe Lys Ser Ser Lys Thr Ser
305 310 315 320

Ser Cys Asp Lys Ser Asp Thr Cys Phe
325

<210> 102
<211> 281
<212> PRT
<213> 現代人

<400> 102

Met Gln Gln Pro Phe Asn Tyr Pro Tyr Pro Gln Ile Tyr Trp Val Asp
1 5 10 15

Ser Ser Ala Ser Ser Pro Trp Ala Pro Pro Gly Thr Val Leu Pro Cys
20 25 30

Pro Thr Ser Val Pro Arg Arg Pro Gly Gln Arg Arg Pro Pro Pro Pro
35 40 45

Pro Pro Pro Pro Pro Leu Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Leu Pro
50 55 60

Pro Leu Pro Leu Pro Pro Leu Lys Lys Arg Gly Asn His Ser Thr Gly
65 70 75 80

Leu Cys Leu Leu Val Met Phe Phe Met Val Leu Val Ala Leu Val Gly
85 90 95

Leu Gly Leu Gly Met Phe Gln Leu Phe His Leu Gln Lys Glu Leu Ala
100 105 110

Glu Leu Arg Glu Ser Thr Ser Gln Met His Thr Ala Ser Ser Leu Glu
115 120 125

Lys Gln Ile Gly His Pro Ser Pro Pro Pro Glu Lys Lys Glu Leu Arg
130 135 140

Lys Val Ala His Leu Thr Gly Lys Ser Asn Ser Arg Ser Met Pro Leu
145 150 155 160

Glu Trp Glu Asp Thr Tyr Gly Ile Val Leu Leu Ser Gly Val Lys Tyr
165 170 175

Lys Lys Gly Gly Leu Val Ile Asn Glu Thr Gly Leu Tyr Phe Val Tyr
180 185 190

Ser Lys Val Tyr Phe Arg Gly Gln Ser Cys Asn Asn Leu Pro Leu Ser
195 200 205

His Lys Val Tyr Met Arg Asn Ser Lys Tyr Pro Gln Asp Leu Val Met
210 215 220

Met Glu Gly Lys Met Met Ser Tyr Cys Thr Thr Gly Gln Met Trp Ala
225 230 235 240

Arg Ser Ser Tyr Leu Gly Ala Val Phe Asn Leu Thr Ser Ala Asp His
245 250 255

Leu Tyr Val Asn Val Ser Glu Leu Ser Leu Val Asn Phe Glu Glu Ser
260 265 270

Gln Thr Phe Phe Gly Leu Tyr Lys Leu
275 280

申請專利範圍

1. 一種多聚體多肽，其包含：

異源二聚體多肽，該異源二聚體多肽包含

a) 第一多肽，該第一多肽依從 N 端至 C 端之順序包含：

i) 自體抗原決定部位；和

ii) 第一第 II 型主要組織相容性複合體 (major histocompatibility complex)(MHC)多肽；

b) 第二多肽，該第二多肽包含第二第 II 型 MHC 多肽；及

c) 至少一個免疫調節多肽；

其中該第一及/或第二多肽包含該至少一個免疫調節多肽，

其中該自體抗原決定部位為與自體免疫性疾病有關之抗原決定部位，且

選擇性地，其中該多聚體多肽包含免疫球蛋白(Ig) Fc 多肽或非 Ig 支架。

2. 如申請專利範圍第 1 項之多聚體多肽，其中該多聚體多肽包含：

a1) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：

i) 自體抗原決定部位；和

ii) 第一第 II 型 MHC 多肽；及

b1) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：

i) 至少一個免疫調節多肽；

- ii) 第二第 II 型 MHC 多肽；及
- iii) 免疫球蛋白(Ig) Fc 多肽；或
- a2) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：
 - i) 自體抗原決定部位；
 - ii) 第一第 II 型 MHC 多肽；及
 - iii) 至少一個免疫調節多肽；及
- b2) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：
 - i) 第二第 II 型 MHC 多肽；和
 - ii) Ig Fc 多肽；或
- a3) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：
 - i) 自體抗原決定部位；和
 - ii) 第一第 II 型 MHC 多肽；及
- b3) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：
 - i) 第二第 II 型 MHC 多肽；
 - ii) Ig Fc 多肽；及
 - iii) 至少一個免疫調節多肽；或
- a4) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：
 - i) 自體抗原決定部位；和
 - ii) 第一第 II 型 MHC 多肽；及
- b4) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：
 - i) 第二第 II 型 MHC 多肽；和
 - ii) 至少一個免疫調節多肽；或
- a5) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：
 - i) 自體抗原決定部位；和

- ii) 第一第 II 型 MHC 多肽；及
- b5) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：
 - i) 至少一個免疫調節多肽；和
 - ii) 第二第 II 型 MHC 多肽；或
- a6) 第一多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：
 - i) 自體抗原決定部位；
 - ii) 第一第 II 型 MHC 多肽；及
 - iii) 至少一個免疫調節多肽；及
- b6) 第二多肽，其依從 N 端至 C 端之順序包含：
 - i) 第二第 II 型 MHC 多肽。

3. 如申請專利範圍第 1 項之多聚體多肽，其中該非 Ig 支架為 XTEN 多肽、轉鐵蛋白(transferrin)多肽、Fc 受體多肽、彈性蛋白樣多肽、絲綢樣多肽或絲綢彈性蛋白樣多肽。

4. 如申請專利範圍第 1 至 3 項中任一項之多聚體多肽，其中該第一第 II 型 MHC 多肽為第 II 型 MHC β 鏈多肽；且其中該第二第 II 型 MHC 多肽為第 II 型 MHC α 鏈多肽。

5. 如申請專利範圍第 1 至 3 項中任一項之多聚體多肽，其中該第一第 II 型 MHC 多肽為第 II 型 MHC α 鏈多肽；且其中該第二第 II 型 MHC 多肽為第 II 型 MHC β 鏈多肽。

6. 如申請專利範圍第 1 至 3 項中任一項之多聚體多肽，其中該至少一個免疫調節多肽係選自：4-1BBL 多

肽、B7-1 多肽、B7-2 多肽、ICOS-L 多肽、OX-40L 多肽、CD80 多肽、CD86 多肽、PD-L1 多肽、FasL 多肽、細胞因子及 PD-L2 多肽。

7. 如申請專利範圍第 6 項之多聚體多肽，其中該至少一個免疫調節多肽係選自：PD-L1 多肽、FasL 多肽及細胞因子。

8. 如申請專利範圍第 1 至 3 項中任一項之多聚體多肽，其包含 2 或多個免疫調節多肽。

9. 如申請專利範圍第 8 項之多聚體多肽，其中該 2 或多個免疫調節多肽為串列的。

10. 一種蛋白質，其包含 2 個如申請專利範圍第 1 至 9 項中任一項之多聚體多肽，其中該 2 個多聚體多肽之每一者包含免疫球蛋白(Ig) Fc 多肽，且其中該 2 個多聚體多肽係經由各別 Ig Fc 多肽之間的一或多個二硫鍵聯結。

11. 一種核酸，其包含核苷酸序列，該核苷酸序列編碼如申請專利範圍第 1 至 9 項中任一項之多聚體多肽的第一及/或第二多肽。

12. 一種表現載體，其包含如申請專利範圍第 11 項之核酸。

13. 一種宿主細胞，其係經如申請專利範圍第 12 項之表現載體基因工程修飾。

14. 一種選擇性抑制自體反應性 T 細胞之活性及/或減少自體反應性 T 細胞之數量之方法，該方法包含令該 T 細胞在活體外與如申請專利範圍第 1 至 9 項中任一項之多

聚體多肽或如申請專利範圍第 10 項之蛋白質接觸，其中該接觸選擇性地抑制該自體反應性 T 細胞之活性及/或減少該自體反應性 T 細胞之數量。

15. 如申請專利範圍第 1 至 3 項中任一項之多聚體多肽或如申請專利範圍第 10 項之蛋白質，其係用於選擇性抑制個體內自體反應性 T 細胞之活性及/或減少個體內自體反應性 T 細胞之數量之方法，其中投予該多聚體多肽或該蛋白質以選擇性抑制該個體內自體反應性 T 細胞之活性及/或減少該個體內自體反應性 T 細胞之數量。

16. 如申請專利範圍第 1 至 3 項中任一項之多聚體多肽或如申請專利範圍第 10 項之蛋白質或如申請專利範圍第 11 項之核酸或如申請專利範圍第 12 項之表現載體，其係用於治療個體之自體免疫性疾病之方法。

17. 一種醫藥組成物，其包含：

a) 如申請專利範圍第 1 至 9 項中任一項之多聚體多肽或如申請專利範圍第 10 項之蛋白質；及

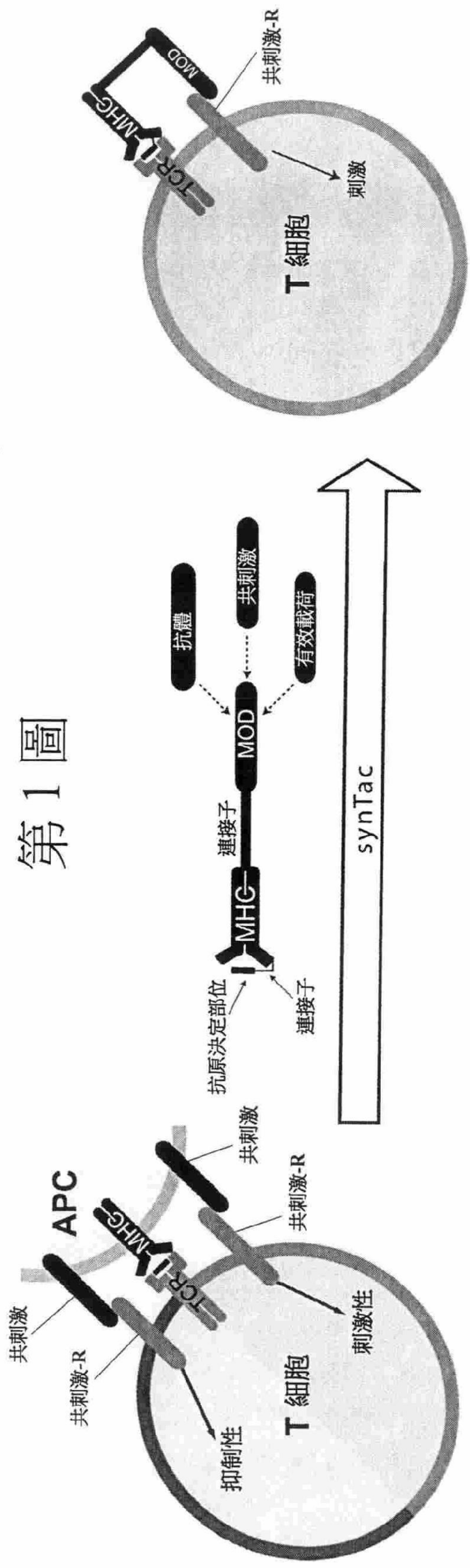
b) 醫藥上可接受之賦形劑。

18. 如申請專利範圍第 1 至 3 項中任一項之多聚體多肽或如申請專利範圍第 10 項之蛋白質，其係用於選擇性抑制靶的 T 細胞之方法，該靶的 T 細胞係特異於存在於該多聚體多肽中之該自體抗原決定部位，其中該靶的 T 細胞係自體抗原決定部位特異性 CD4⁺ T 細胞。

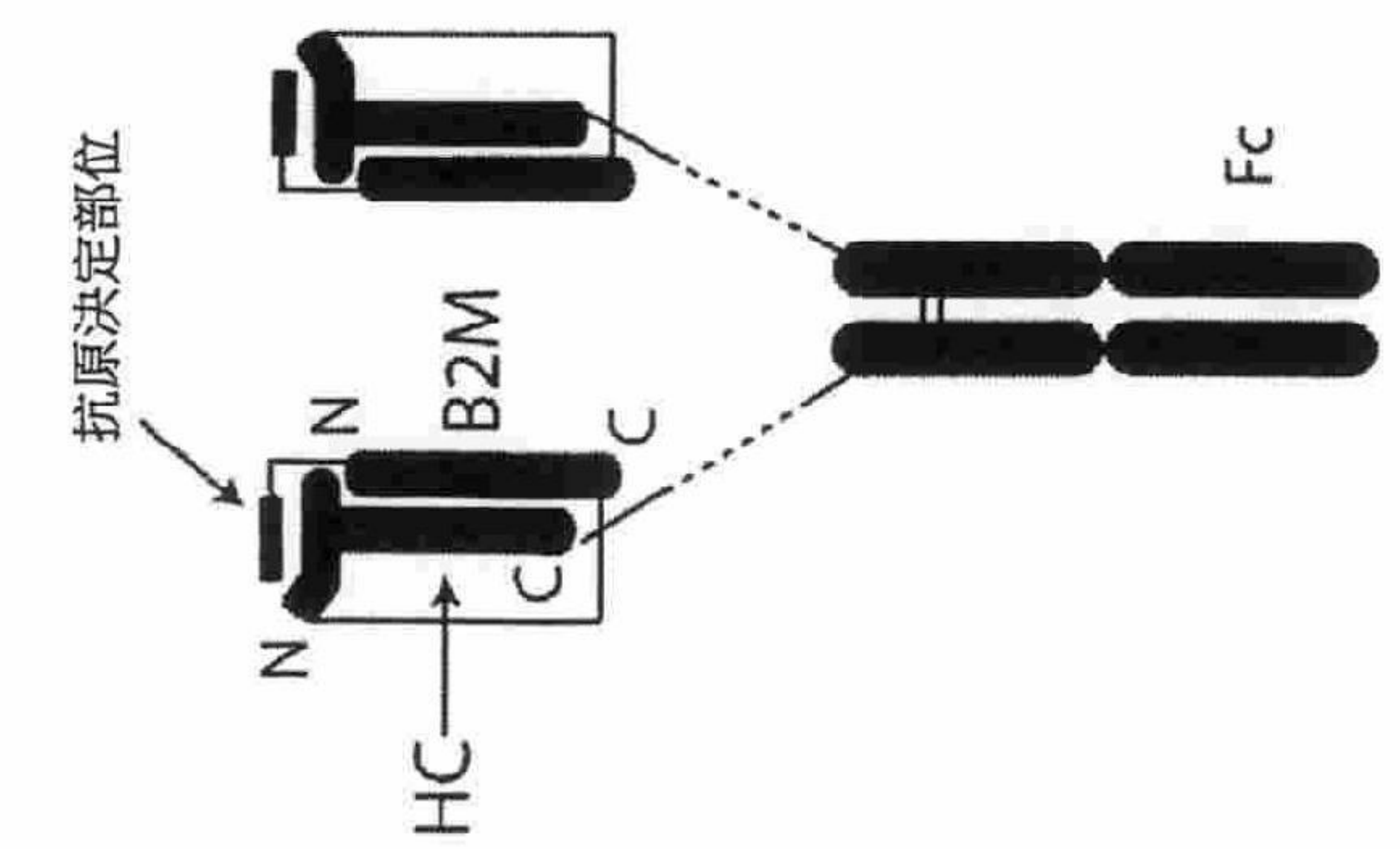
19. 如申請專利範圍第 18 項之多聚體多肽或蛋白質，其中該自體抗原決定部位特異性 CD4⁺ T 細胞係

CD4⁺/CD25⁺/FoxP3⁺調節性 T 細胞。

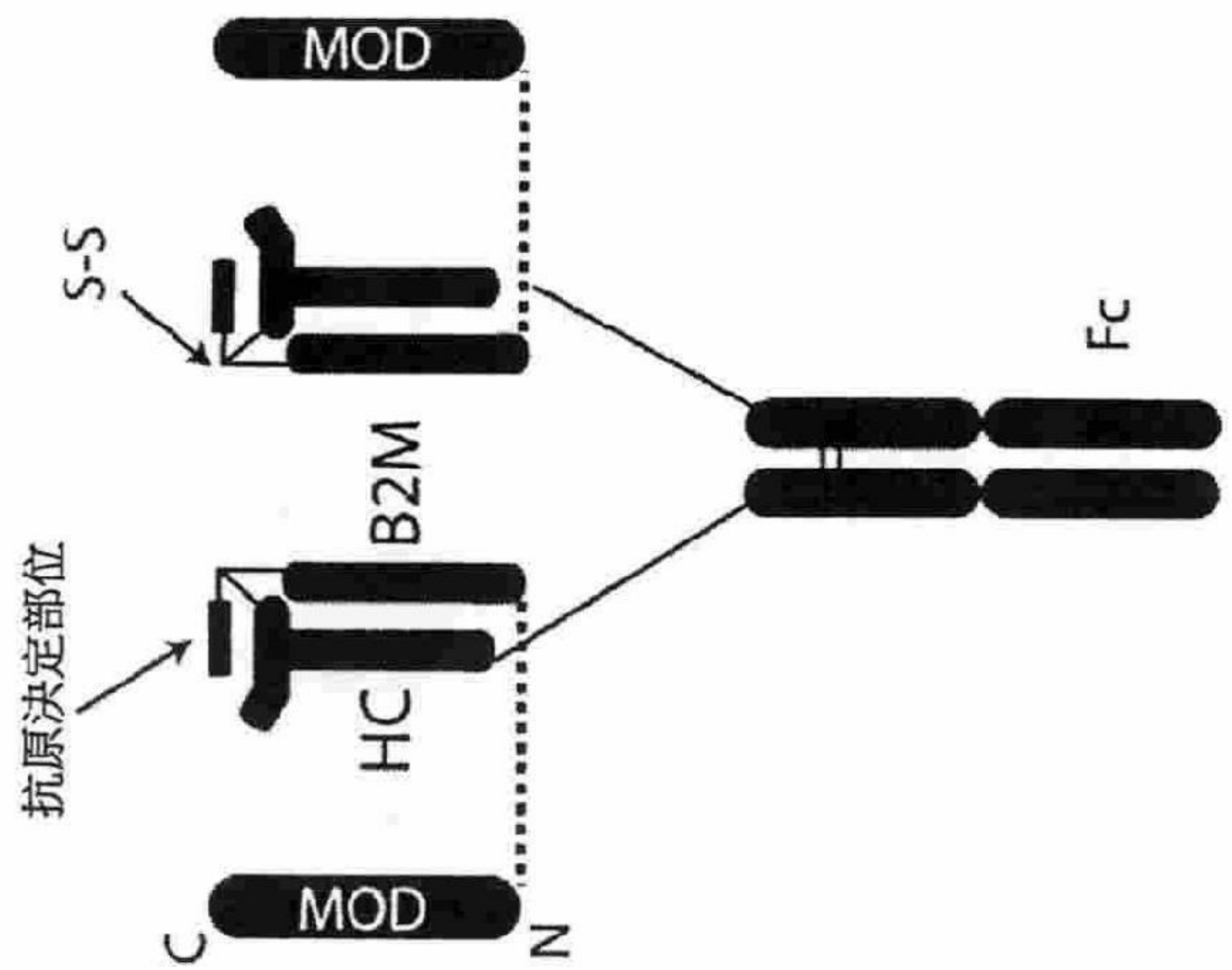
第1圖



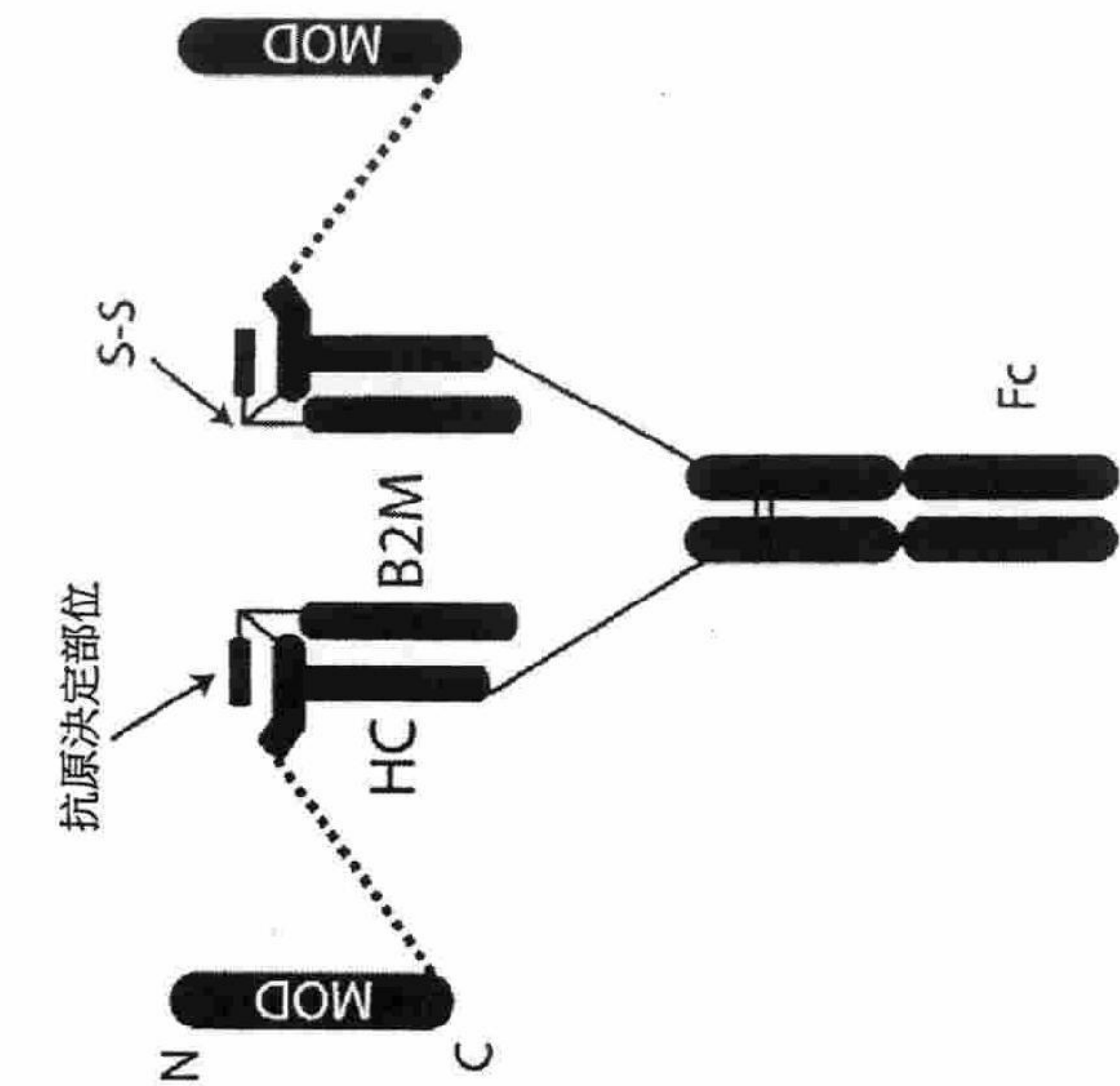
第2A圖



第2B圖



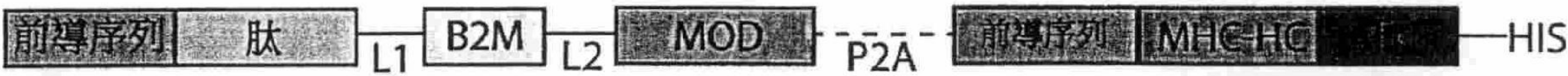
第2C圖



圖式

第 3A 圖

輕鏈 (LC)

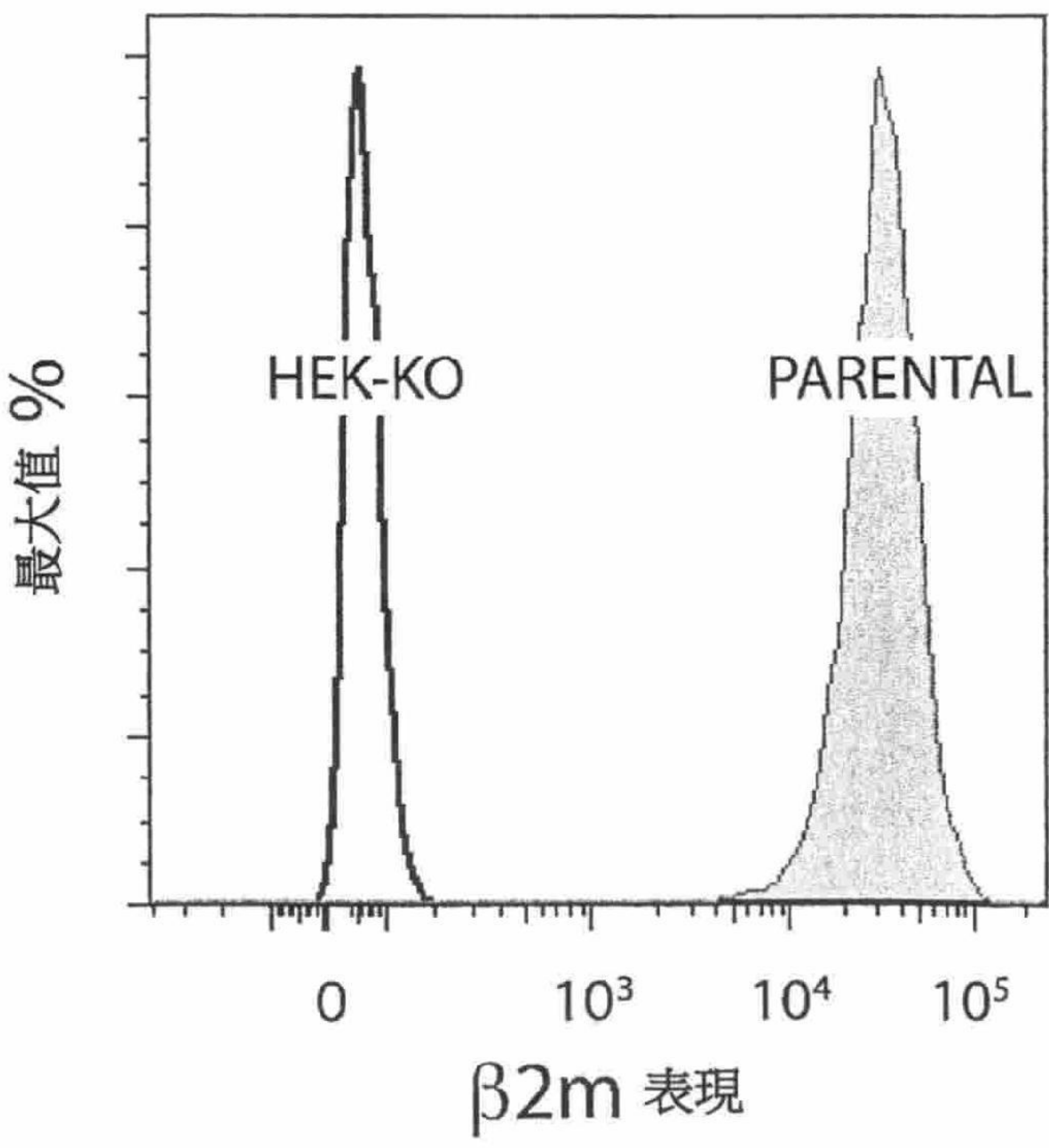


第 3B 圖

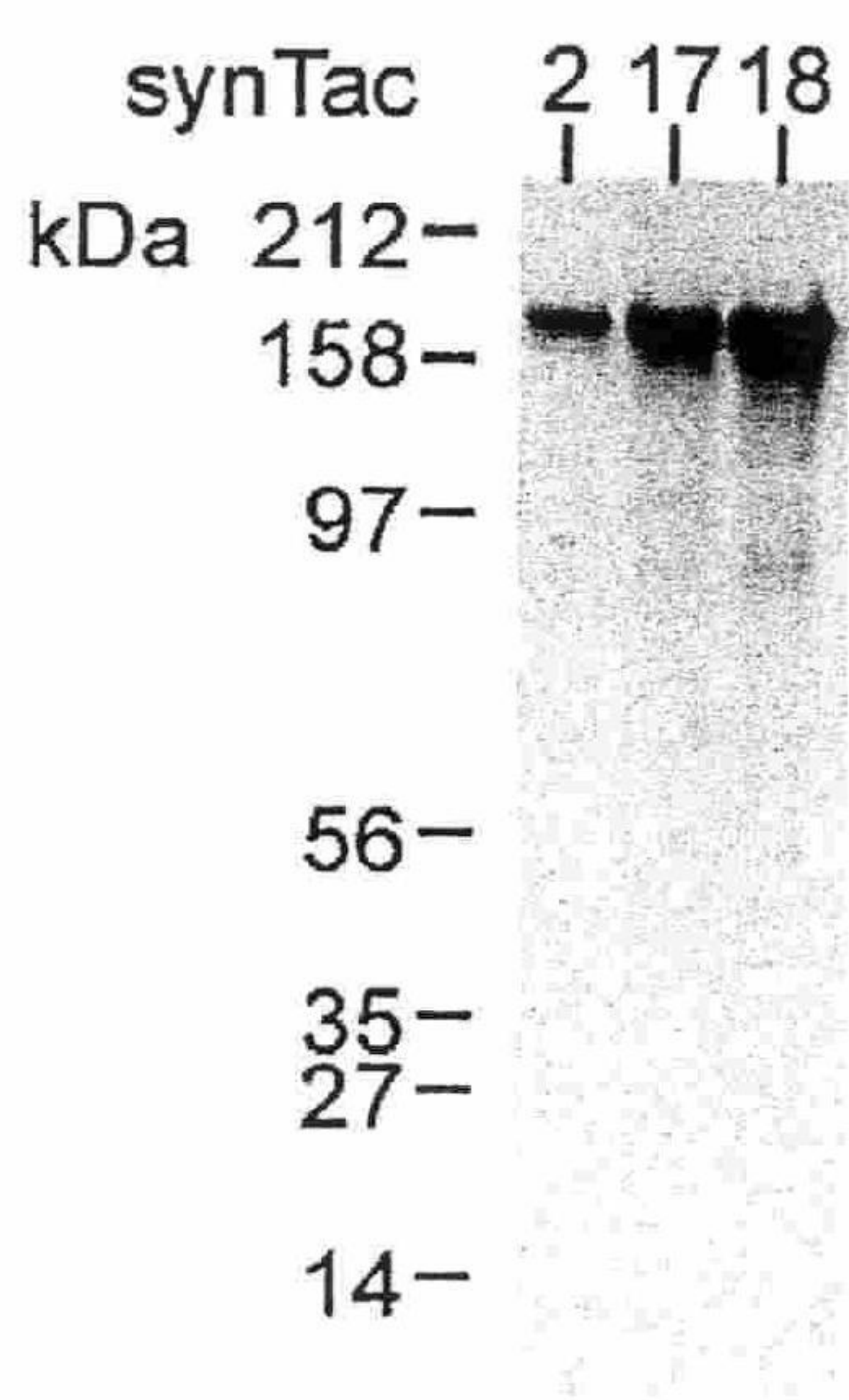
重鏈 (HC)



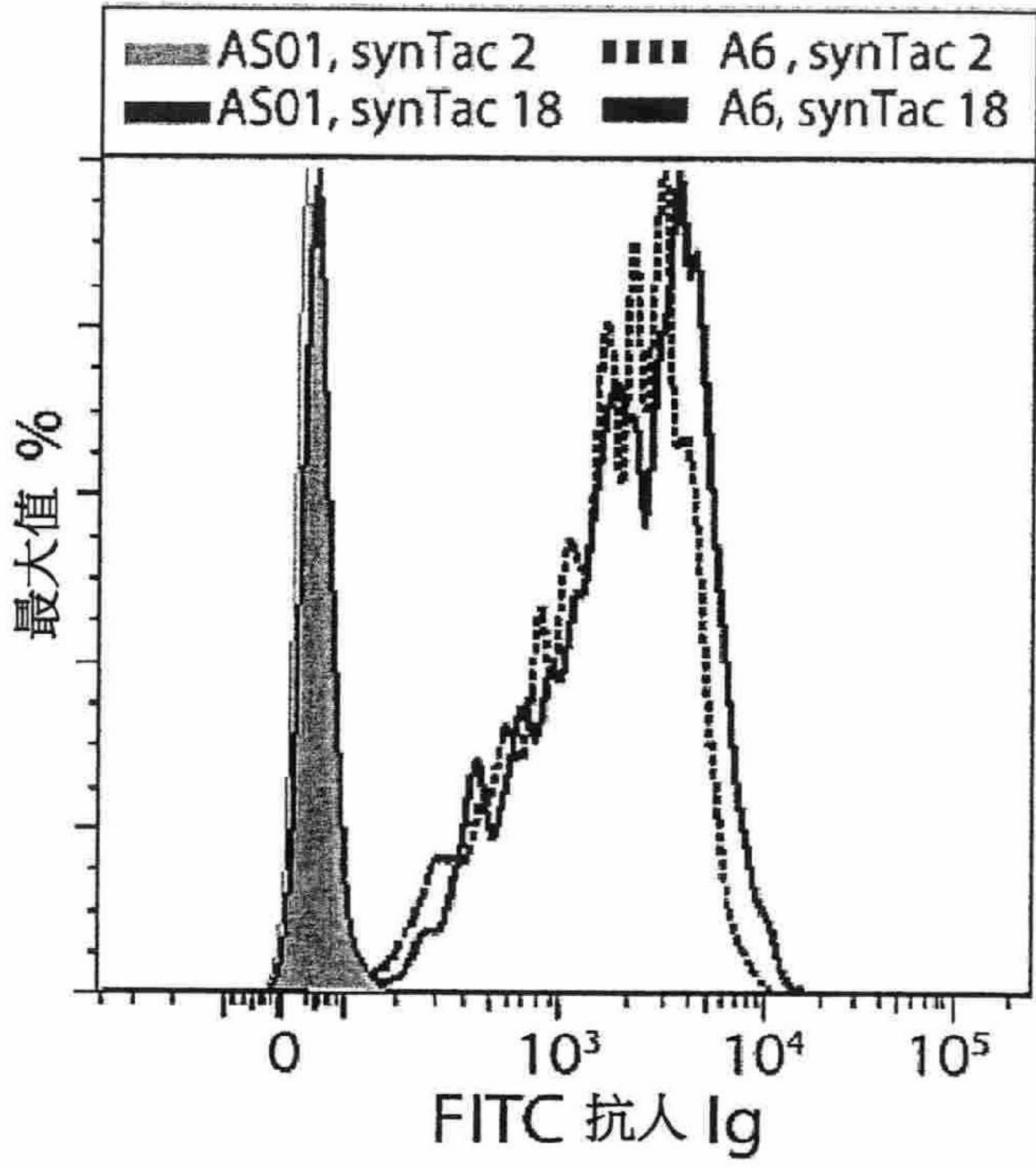
第 4 圖



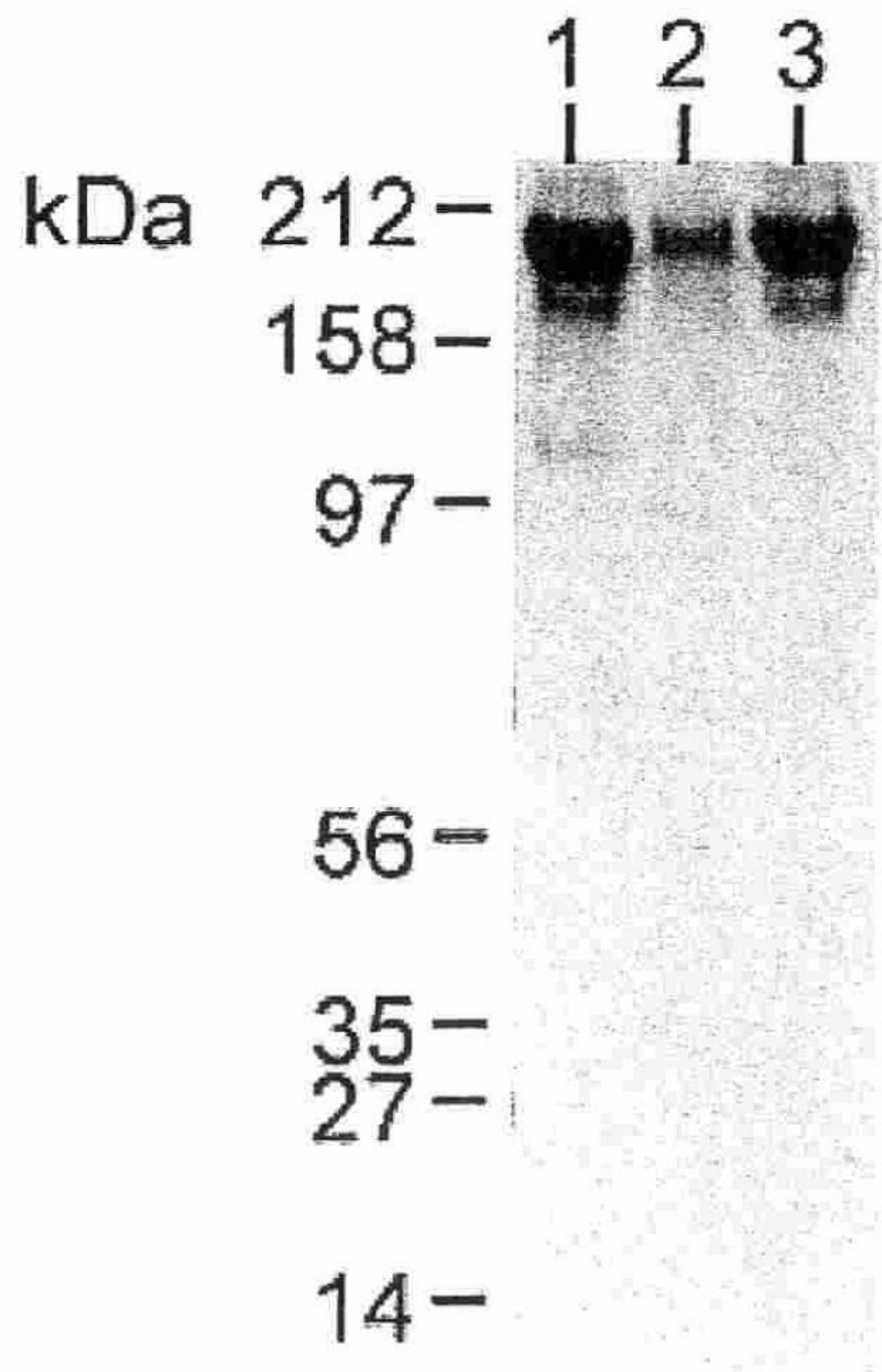
第 5A 圖



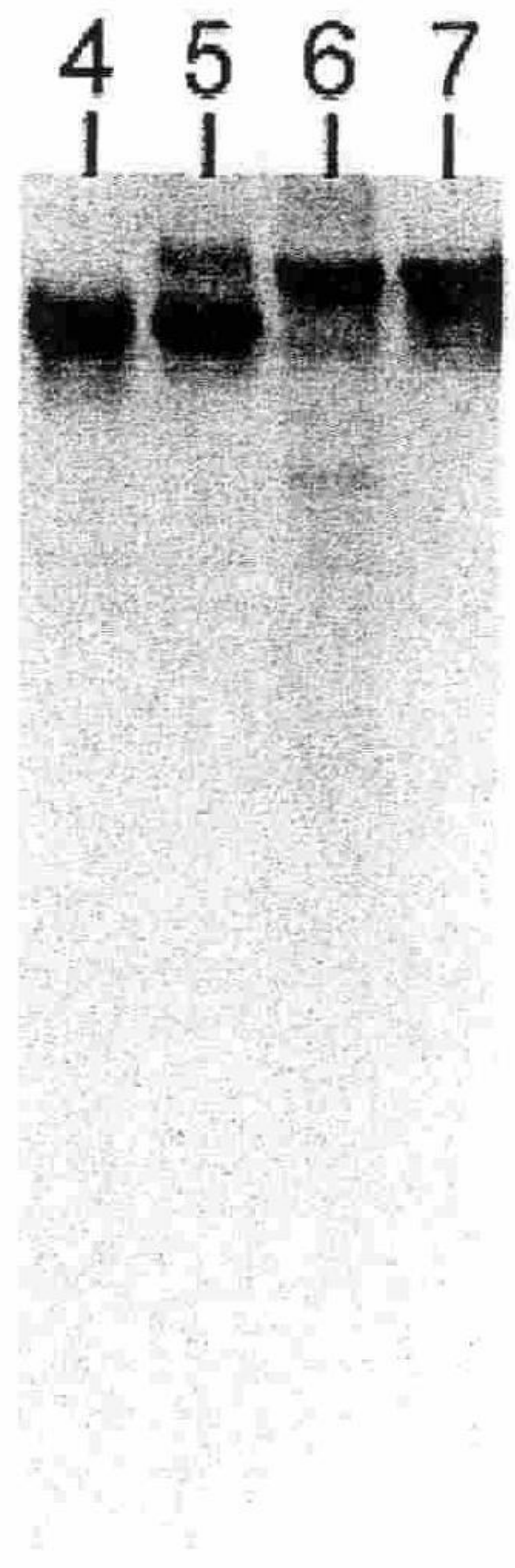
第 5B 圖



第 6A 圖



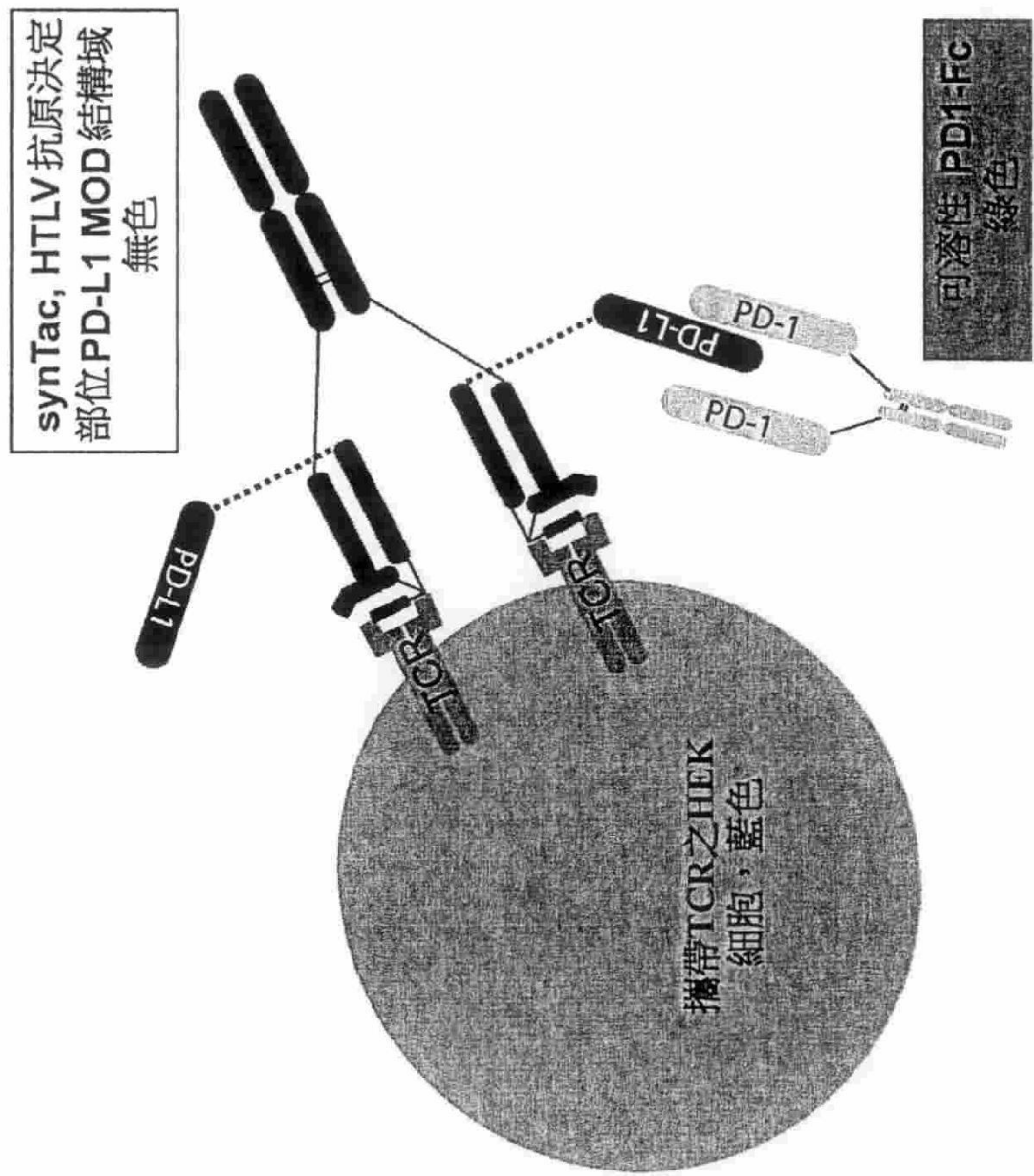
第 6B 圖



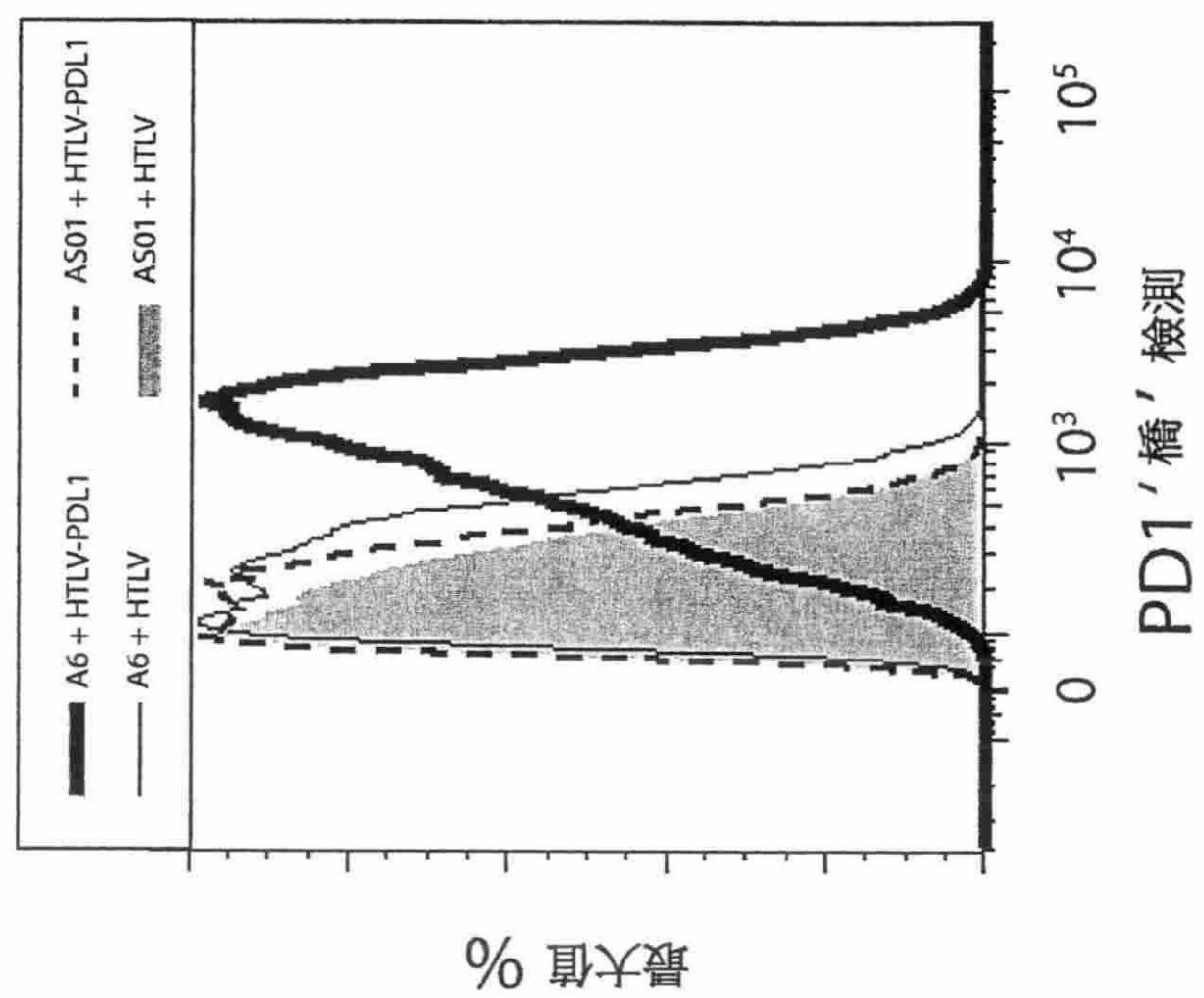
第 6C 圖



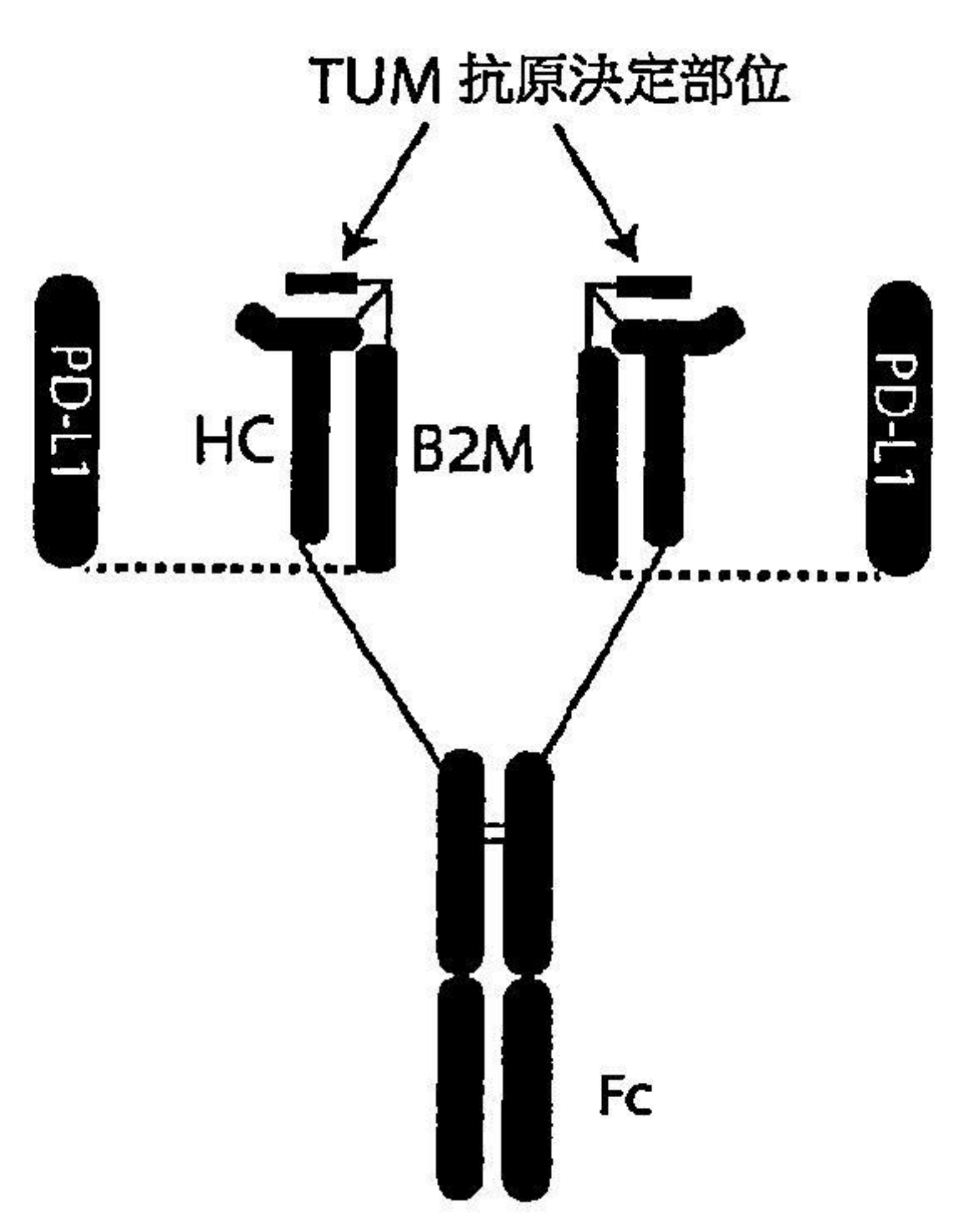
第7A圖



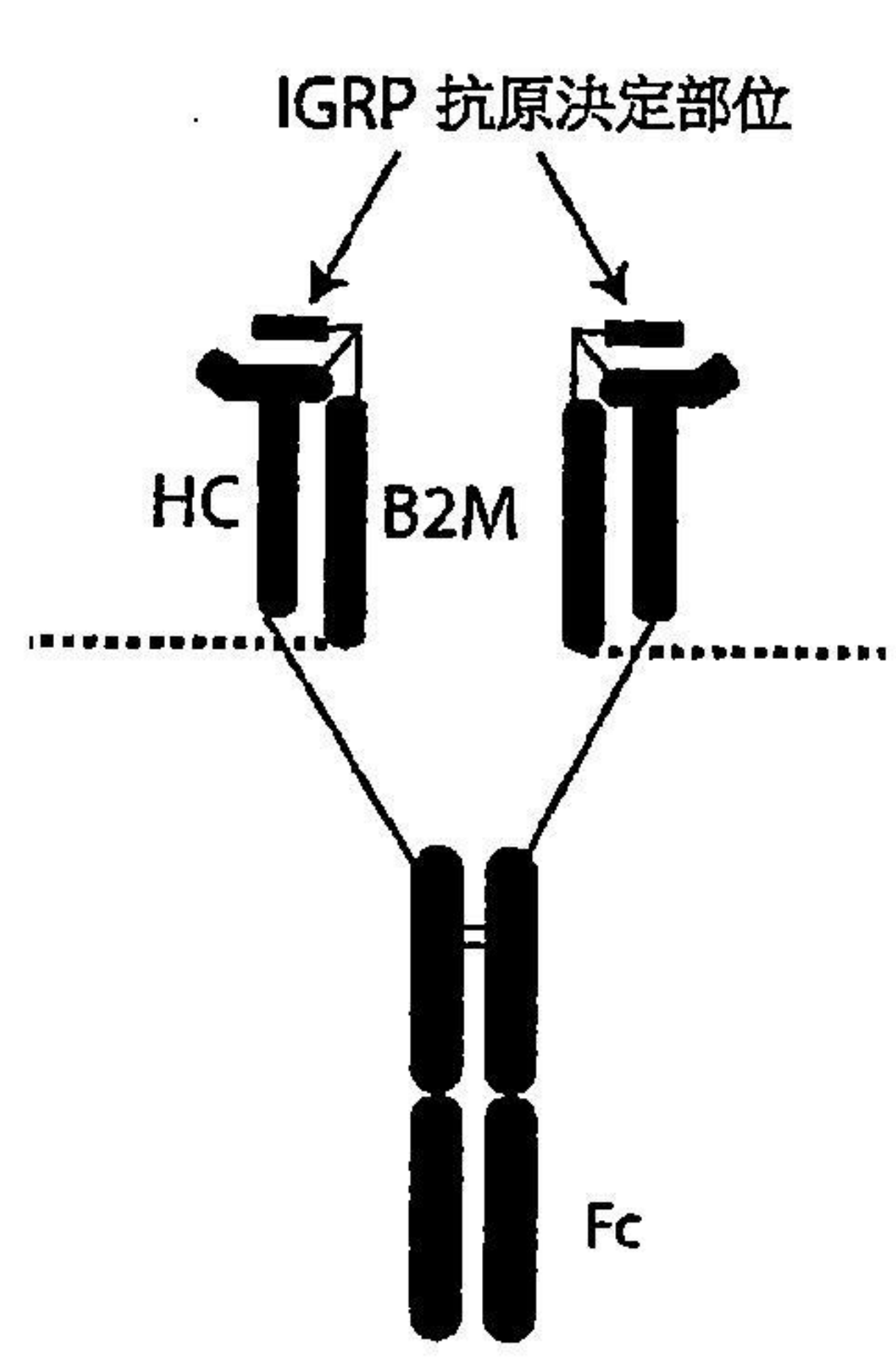
第7B圖



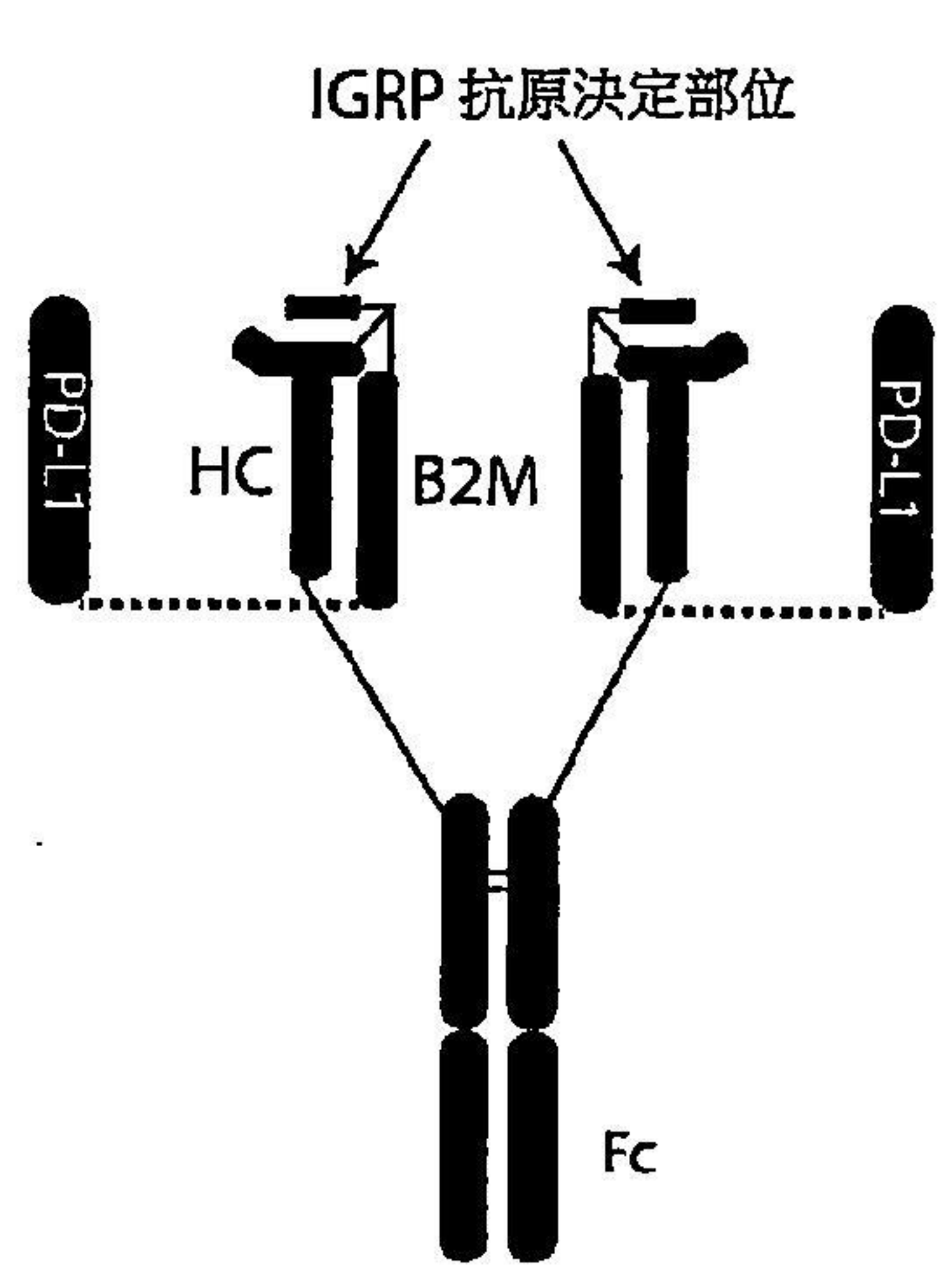
第 8A 圖



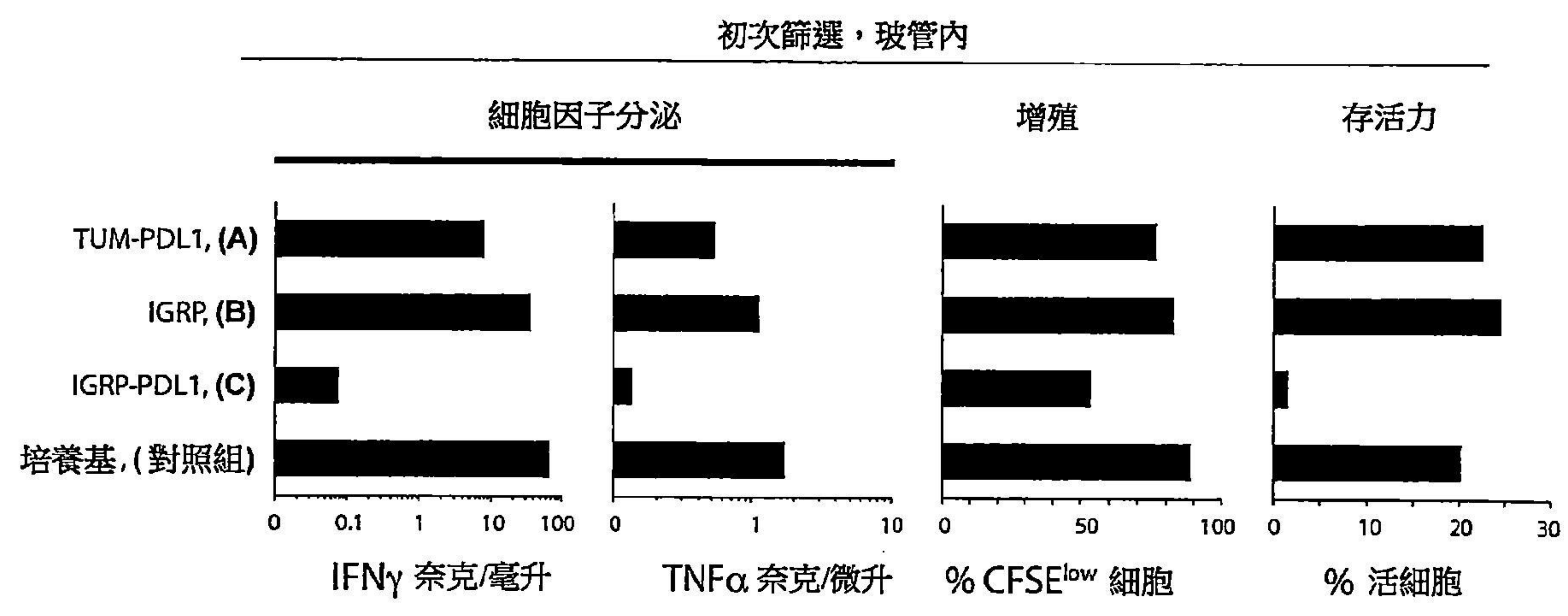
第 8B 圖



第 8C 圖



第 8D 圖



第 9A 圖

synTac 51 - 游離 BBL (SEQ ID NO:69)

MSRSVALAVLALLSLSGLEAACPWAVSGARASPGSAASPRLREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGL
SYKEDTKELVWAKAGVYVYVFFQLRLRRVVAGEGSGVSLALHLQLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEA
RARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSPRSE

BOLD: β-2-微球蛋白前導肽
BOLD ITALIC: 人 4-1BBL, 殘基 50-254 (全胞外結構域)

第 9B 圖

synTac 40 : 二聚體型 BBL (SEQ ID NO:70)

MSRSVALAVLALLSLSGLEAVYLKTNVFLGcGASGGGGGSMIQKTPQIQVYSRHPPENGKPNILNCYVVTQFHPPHIEIQMLKNGKKIPKVMMSD
MSFSKDWFSYILAHTEFTPTETDTYACRVKHASMAEPKTVYWDRDMGGGGGGGGGGGACPWAVSGARASPGSAASPRLREG
PELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVWAKAGVYVYVFFQLRLRRVVAGEGSGVSLALHLQP
LRSAGAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSPRSESGGATNFSLL
KQAGDVEENPGPMRSVALAVLALLSLSGLEAGPHSLRYFVTAVSRPGLGEPREFIAGVYVDDTQFVRFSDADNPRFEPRAPWMEQEGPEY
WEEQTQRAKSDEQWFRVSLRTAQRcYNOSKGGSHTFQRMFGCDVGSDWRLRLRGYQQFAYDGRDYIALNEDLKTWTAADTAALITRRKW
EQAGDAEYRAYLEGECEVEWLRRYLELGNETLLRTDSPKAHVTYHPRSOVDVTLRCWALGFYPADITLTWQNGEDLTODMELVETRPA
GDGTFQKWAAVVVPLGKEQNYTCHVHHKGLPEPLTLRWAAAGGPRGPTIKPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVD
VSEDDPDVQISWFWVNNVEVHTAQQTOTHREDYNSTLRVVSALPIQHODWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPOVYVLPPEEEMT
KKQVTLTCMVTDMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFEMYSKLRVEKKNWVERNcSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSTRTPGKGGSHH
HHHHHH

粗體字 : β-2-微球蛋白前導肽
下方劃線 : 靶向抗原決定部位 (IGRP) , TUM 對照肽為 KYQAVTTTL (SEQ ID NO:18)
斜體字 : 鼠 β-2-微球蛋白
粗斜體字 : 人 4-1BBL , 殘基 50-254 (全胞外結構域)
下方劃線斜體字 : 病毒P2A序列
下方劃線粗體字 : 鼠HLA重鏈 (H-2 K^d),
下方劃線粗斜體字 : 鼠IgG2a Fc , 其後為8x HIS標記物
Y84C 突變 (小寫字母)

第 9C 圖

synTac 69 –在殘基Q94C和P245C之間形成的二硫橋 (SEQ ID NO:71)

MSRSVALAVLALLSLSGLEAVYLKTNVFLGcGASGGGGGSMIQKTPQIQVYSRHPPENGKPNILNCYVVTQFHPPHIEIQMLKNGKKIPKIVEMSD
MSFSKDWSFYILAHTEFTPTETDTYACRVKHASHMAEPKTVYWD RDMGGGGGGGGGGGSGGACPWAVSGARASPGSAAASPRLREG
PELSPDDPAGLLDLRQGMFACLV AQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVWAKAGVYVYVFFQLELRVAVAGEGSGSVSLALHLQP
LRSAAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVGLFRVTPEIcAGLPSPRSESGGATNFSL
KQAGDVEENPGPMRSVALAVLALLSLSGLEAGPHSLRYFVTAVSRPGLGEPRFIAVGYYVDDTOFVRFDSDADNPRFEPRAPWMEQEGPEY
WEEQTORAKSDEQWFRVSLRTAQRcYNQSKGGSHTFORMFGCDVGS DWRLLRGYQQFAYDGRDYIALNEDLKTWTAADTAALITRRKW
EQAGDAEYRYAYLEGECEVWELRRYLELGNETLLRTDSPKAHVTVHPRSOVDVTLRCWALGFYPADITLTWQNGEDLTODMELVETRPA
GDGTFQKWAAVVVPLGKEQNYTCHVHHKGLPEPLTLRWAAAGGPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIEPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVD
VSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSLTVVSALPIQHODWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGcSVRAPQVYVLPPEEEMT
KKQVTLTCMVTDMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDSGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHHTTKSFSRTPGKGGSHH
HHHHHHH

粗體字：β2-微球蛋白前導肽

下方劃線：靶向抗原決定部位 (IGRP)，TUM 對照肽為 KYQAVTTTL (SEQ ID NO:18)

斜體字：鼠 β2-微球蛋白

粗斜體字：二硫鍵鎖定 (DL)-人 4-1BBL，殘基 50-254 (全胞外結構域)，Q94C-P245C 雙重突變體-突變以

小寫字母顯示

下方劃線斜體字：病毒P2A序列

下方劃線粗體字：鼠 HLA 重鏈 (H-2 K^d)

下方劃線粗斜體字：鼠 IgG2a Fc，其後為8x HIS標記物

Y84C 突變 (小寫字母)

經由共同表現游離-DL-4-1BBL與庇有相同突變之synTac而形成之二硫鍵鎖定之(DL)三聚體 (SEQ ID NO:72)

MSRSVALAVLALLSLSGLEACPWAVSGARASPGSAAASPRLREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFACLV AQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGL
SYKEDTKELVWAKAGVYVYVFFQLELRVAVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEA
RARHAWQLTQGATVGLFRVTPEIcAGLPSPRSE

第 9D 圖

synTac 70 – 殘基Q94C和P242C之間形成之二硫橋 (SEQ ID NO:73)

MSRSVALAVLALLSLGLEAVYLKTNVFLGcGASGGGGGSMIQKTPQIQVYSRHPPENGKPNILNCYVTQFHPPHIEIQMLKNGKKIPKIVEMSD
MSFSKDWFSYILAHTEFTPTETDTYACRVKHASMAEPKTVYWDMDGGGGGGGGGGGGGACPWAVSGARASPGSAASPRLRREG
PELSPDDPAGLLDLRQGMFACLV AQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYVYFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALHLQP
LRSAAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGLFRVTcEIPAGLPSPRSESGGATNFSL
KQAGDVEENPGPMSRSVALAVLALLSLGLEAGPHSLRYFVTAVSRPGLGEPRFIAVGYYVDDTQFVRFSDSDADNPRFEPRAPWMEQEGPEY
WEEQTORAKSDEQWFRVSLRTAQRcYNQSKGGSHTFORMEGCDVGSDWRLLRGYQOEAYDGRDYIALNEDLKTWTAAADTAALITRRKW
EQAGDAEYYRAYLEGECEVFWLRRYLELGNETLLRTDSPKAHVTYHPRSQVDVTLRCWALGFYPADITLTWQLNGEDLTQDMELVETRPA
GDGTFQKWA AVVPLGKEQNYTCHVHHKGLPEPLTLRWAAAGGPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKKIKDVL MISLSPIVTCVVVD
VSEDDPDVQISWFFVNNVEVHTAQOTOTHREDYNSTLRVVSALPIQHODWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMT
KKQVTLTCMVTDMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGKGGSHH
HHHHHH

組體字：β2-微球蛋白前導肽

下方劃線：靶向抗原決定部位 (IGRP)，TUM 對照肽為 KYQAVTTTL (SEQ ID NO:18)

斜體字：鼠 β2-微球蛋白

粗斜體字：二硫鍵鎖定 (DL)-人 4-1BBL，殘基 50-254 (全胞外結構域)，Q94C-P245C雙重突變體-突變以

小寫字母顯示

下方劃線斜體字：病毒P2A序列

下方劃線粗體字：鼠 HLA重鏈 (H-2 K^d)

下方劃線粗斜體字：鼠 IgG2a Fc，其後為8x HIS標記物

Y84C 突變 (小寫字母)

經由共同表現游離-DL-4-1BBL與庇有相同突變之synTac而形成之二硫鍵鎖定之(DL)三聚體 (SEQ ID NO:74)

MSRSVALAVLALLSLGLEAAcPWAVSGARASPGSAASPRLRREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFACLV AQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGL
SYKEDTKELVVAKAGVYVYFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEA
RARHAWQLTQGATVLGLFRVTcEIPAGLPSRSE

第9E圖

synTac 71 – 在殘基Q89C和L115C之間形成的二硫橋 (SEQ ID NO:75)

MSRSVALAVLALLSLGLEAVYLKTNVFLGcGASGGGGGMIQTPQIQVYSRHPPENGKPNILNCYVTQFHPPHIEIQMLKNGKKIPKVMESD
MSFSKDWWSFYILAHTEFTPTETDTYACRVKHASMAEPKTVYWD RDMGGGGGGGGGGGSGGACPWAVSGARASPGSAASPRLREG
PELSPDDDPAGLLDLRcGMFAQLVAQNVLIDGPLSWYSDPGcAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYVYFFQLELRRVVAGEGSGVSLALHLQP
LRSAAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFCGQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEICAGLPSPRSESGSGATNFSLL
KQAGDVEENPGPMRSRSVALAVLALLSLGLEAGPHSLRYFVTAVSRPGLGEPRFIAVGYYVDDTQFVRFEDSDADNPRFEPRAPWMEQEGPEY
WEEQTORAKSDEQWFRVSLRTAQRcYNQSKGSGHTFORMEGCDVGS DWRLLRGYOOFAYDGRDYIALNEDLKTWTAADTAALTRRKW
EQAGDAEYYRAYLEGECEVEWLRRYLELGNETLLRTDSPKAHVTYHPRSOVDVTLRCWALGFYPADITLTWQLNGEDLTODMELVETRPA
GDGTFQKWA AVVVPLGKEONYTCHVHHKGLPEPLTLRWAAAGGPRGPTTKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVD
VSEDDPDVQISWFFVNNVEVHTAQTOTHREDYNSTLRVVSALPIQHODWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMT
KKQVTLTCMVTD~~FMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTPEVLDS~~DSGSYFMYSKL RVEKKNWVVERNSYSCSVVHIEGLHNHHTTKSFSRTPGKGGSHH
HHHHHHH

粗體字：β2-微球蛋白前導肽

下方劃線：靶向抗原決定部位 (IGRP)，TUM 對照肽為 KYQAVTTTL (SEQ ID NO:18)

斜體字：鼠 β2-微球蛋白

粗斜體字：二硫鍵鎖定 (DL)-人 4-1BBL，殘基 50-254 (全胞外結構域)，Q89C-L115C雙重突變體-突變以

小寫字母顯示

下方劃線斜體字：病毒P2A序列

下方劃線粗體字：鼠 HLA重鏈 (H-2 K^d)

下方劃線粗斜體字：鼠 IgG2a Fc，其後為8x HIS標記物

Y84C 突變 (小寫字母)

經由共同表現游離-DL-4-1BBL與庇有相同突變之synTac而形成之二硫鍵鎖定(DL)三聚體 (SEQ ID NO:76)

MSRSVALAVLALLSLGLEAACPWAVSGARASPGSAASPRLREGPELSPDDPAGLLDLRcGMFAQLVAQNVLIDGPLSWYSDPGcAGVSLTGGL
SYKEDTKELVVAKAGVYVYFFQLELRRVVAGEGSGVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEA
RARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEICAGLPSPRSE

圖 9F 第

單鏈三聚體, synTac 4-1BBL-SCT (SEQ ID NO:77)

[illegible]

組體字：β2-微球蛋白前導肽

下方劃線：靶向抗原決定部位 (IGRP)，TUM 對照肽為 KYQAVTTTL (SEQ ID NO:18)

斜體字：鼠β2-微球蛋白

組斜體字：單鏈三聚體(SCT)-人4-1BBL，殘基80-246 TNF同源結構域)，(G4S)連接子以小寫字母顯示

下方劃線斜體字：病毒P2A序列

下方劃線粗體字：鼠HLA重鏈(H-2K^d)

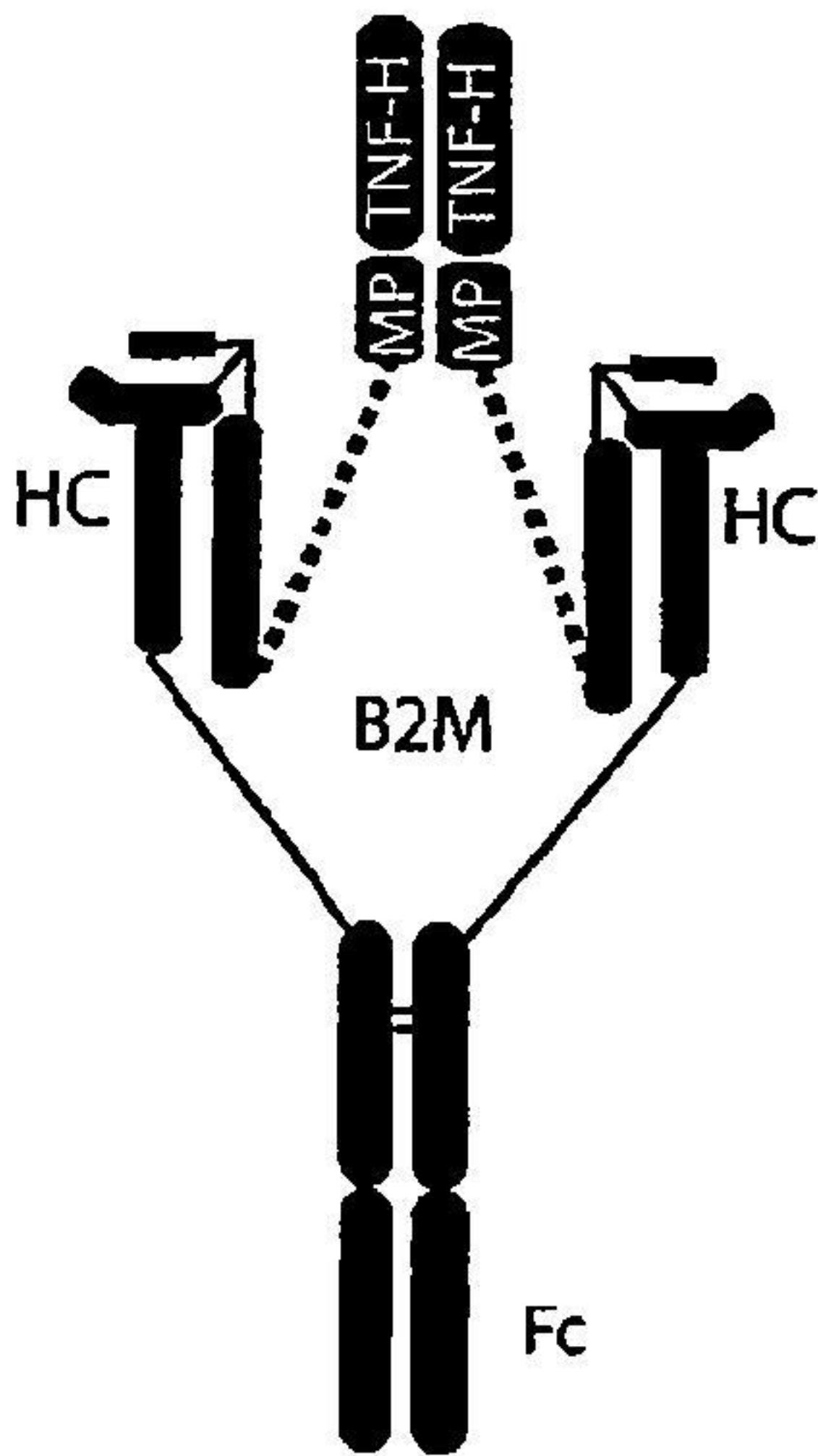
下方劃線粗斜體字: 氮 IgG2a Fc, 其後為 8x HIS 標記物

Y84C 突變(小寫字母)

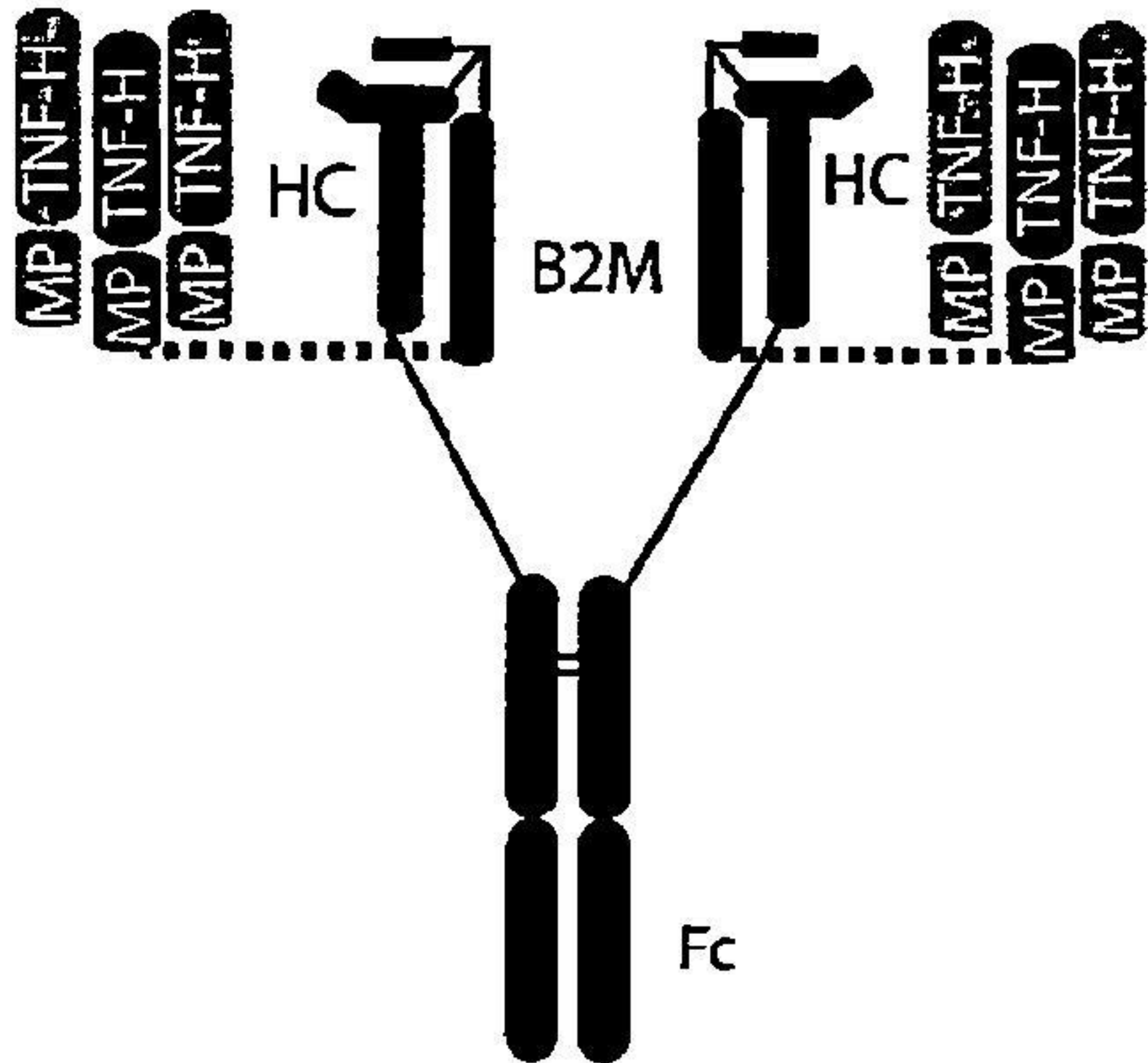
第 10A 圖



第 10B 圖



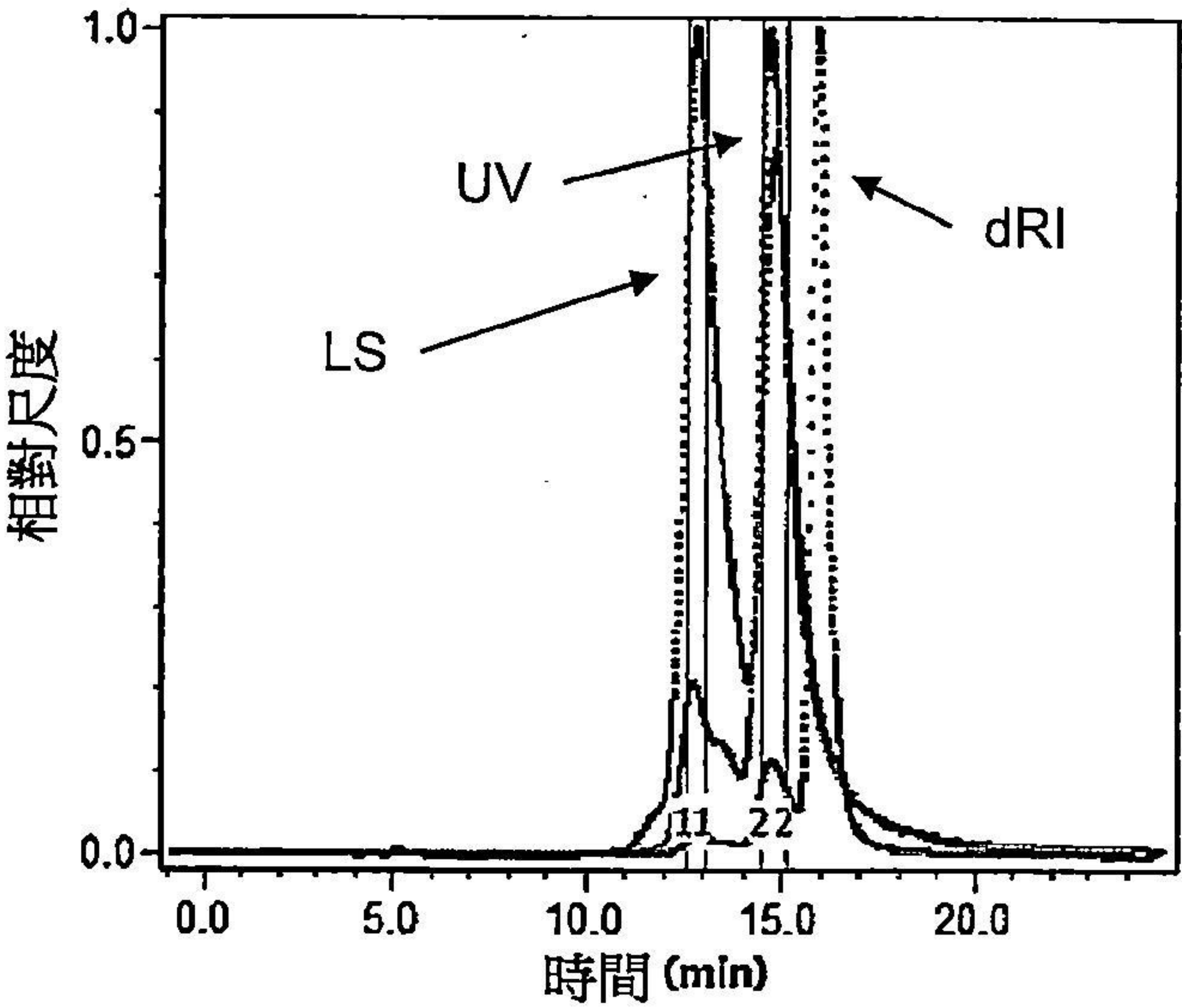
第 10C 圖



第 11B 圖

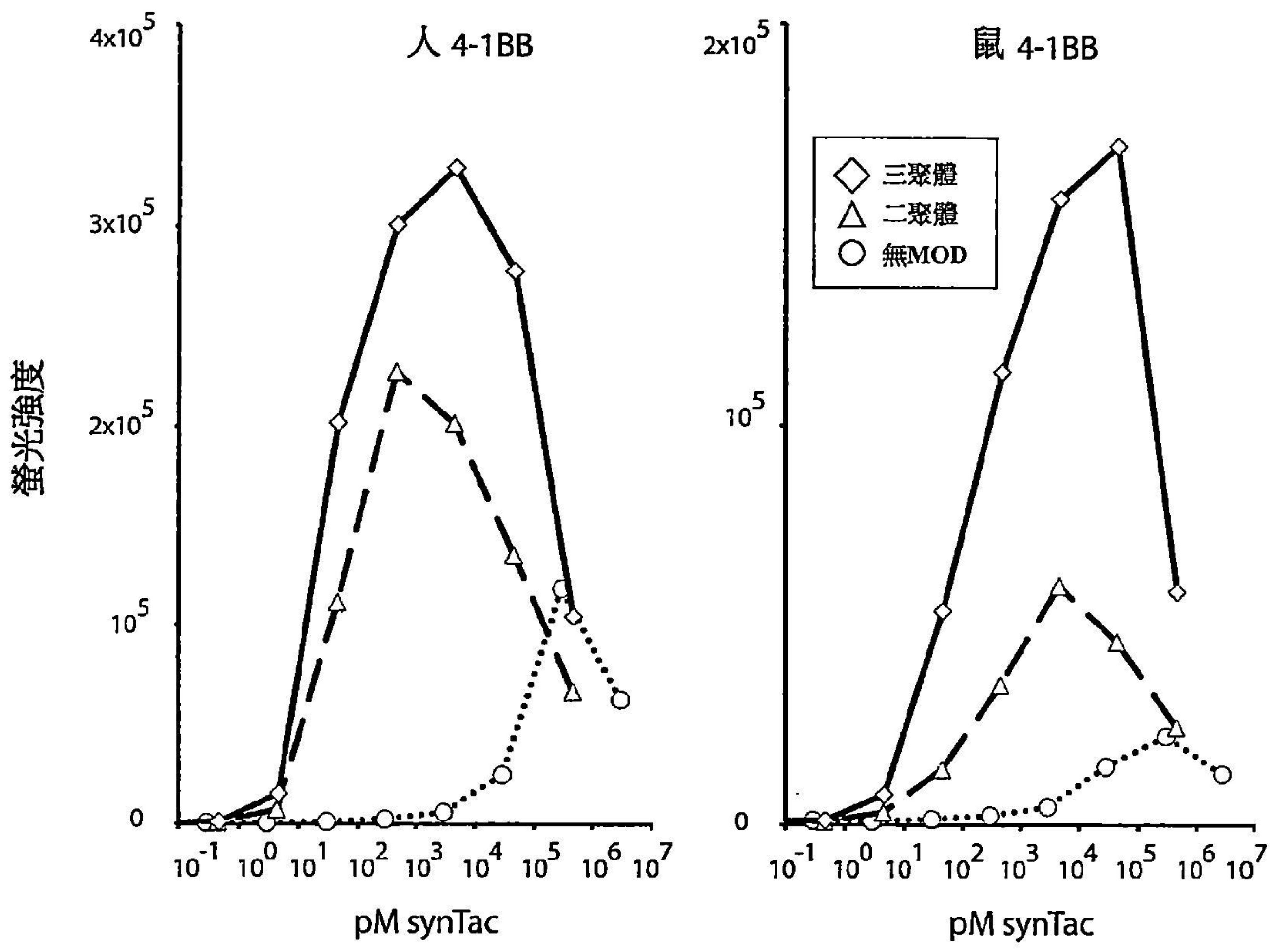
第 11A 圖

Syntac #	分子量 (kDa ±%)
40+51	236.2 (±4.9%)
40+51	257.9 (±0.5%)



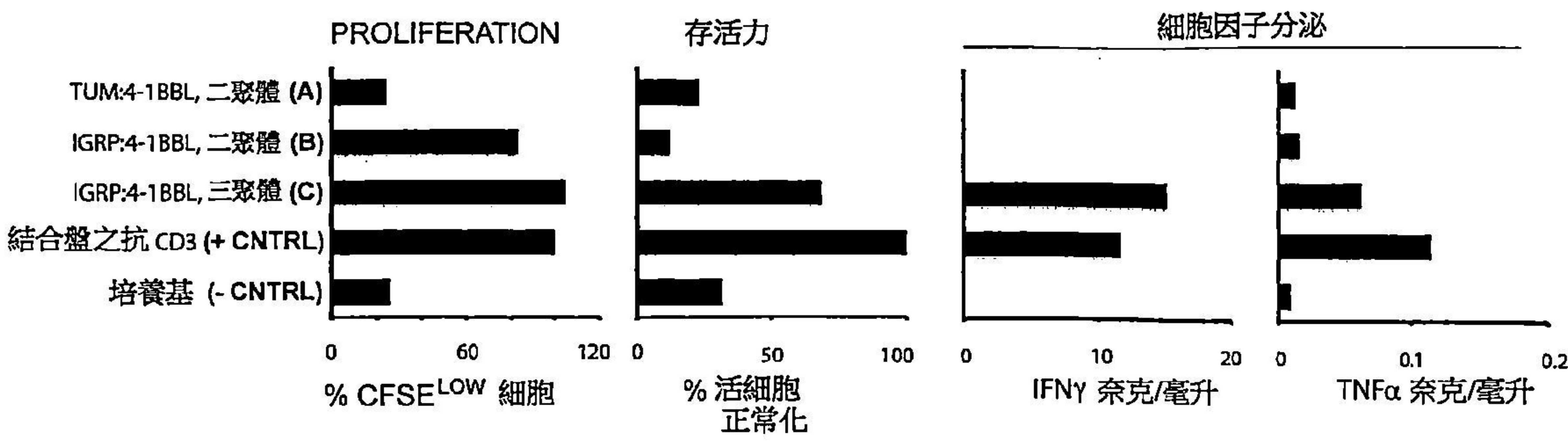
第 12 圖

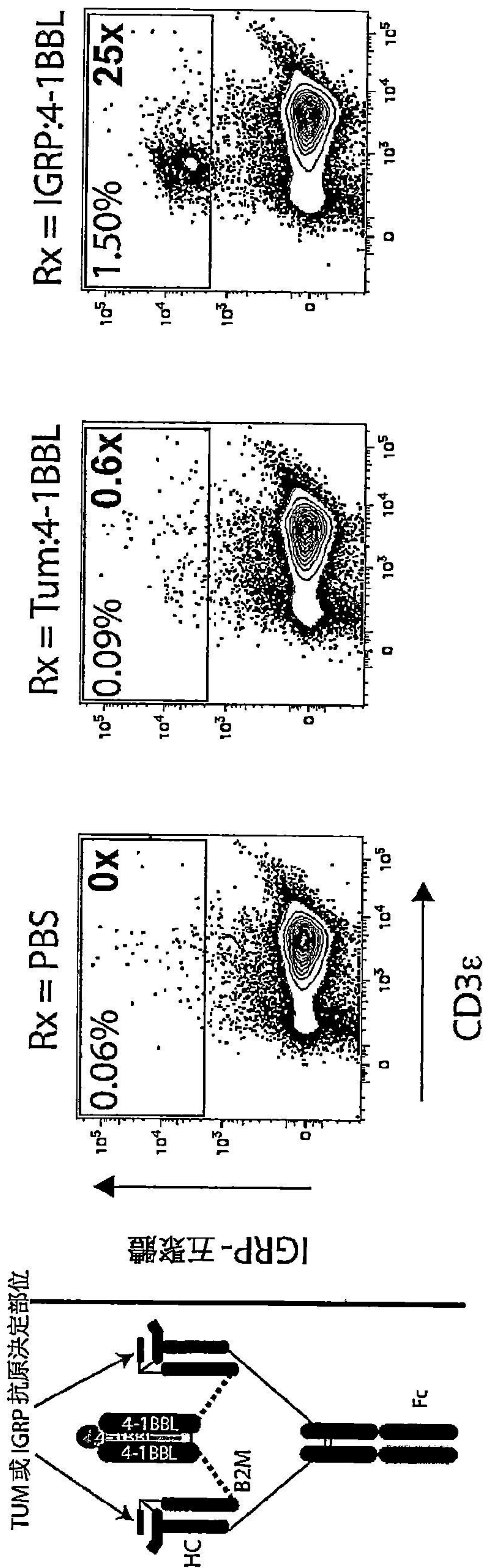
synTac 4-1BBL 變異體，小珠結合



第 13 圖

初次篩選，玻管內





第14圖

第 15 圖

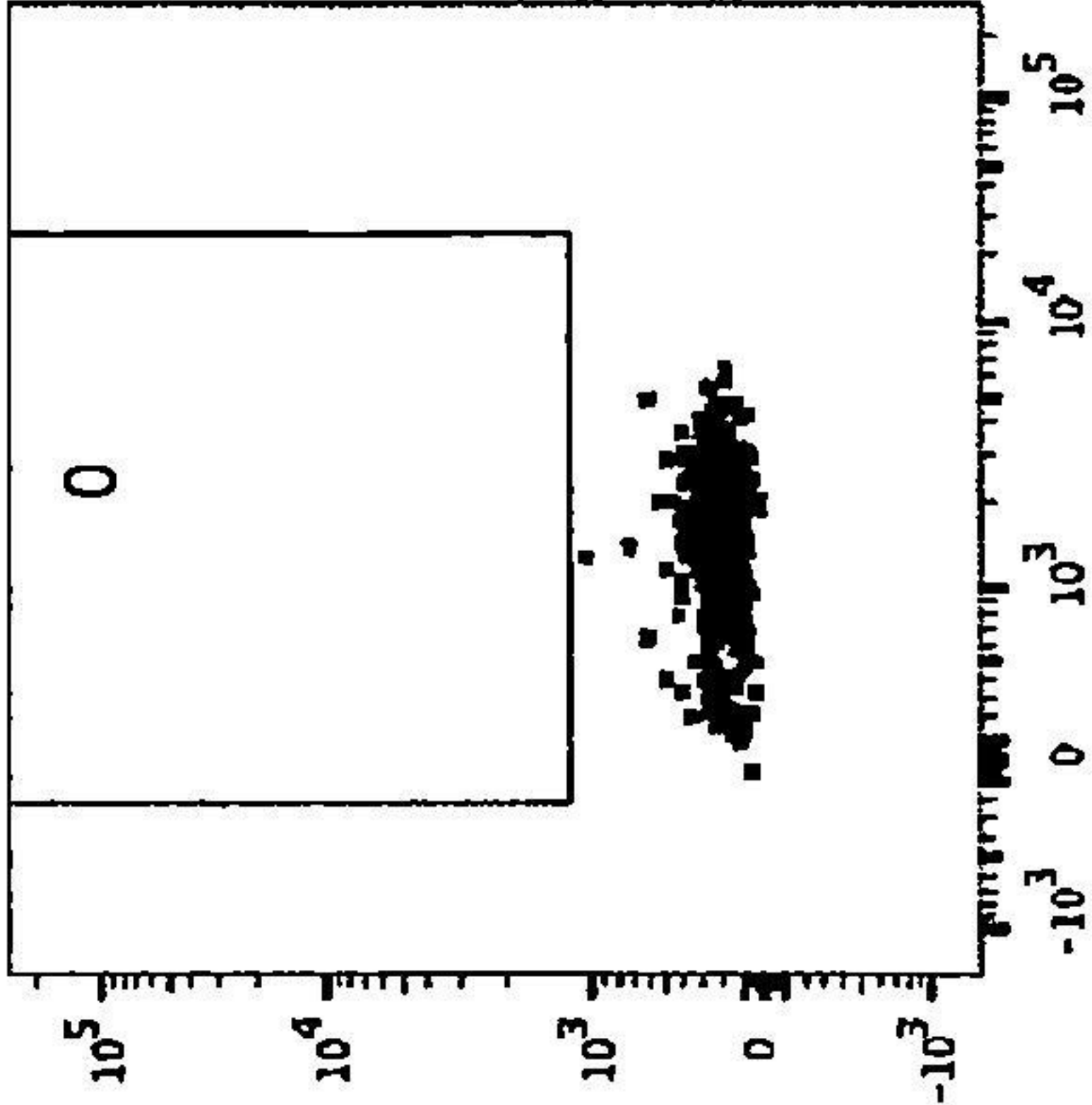
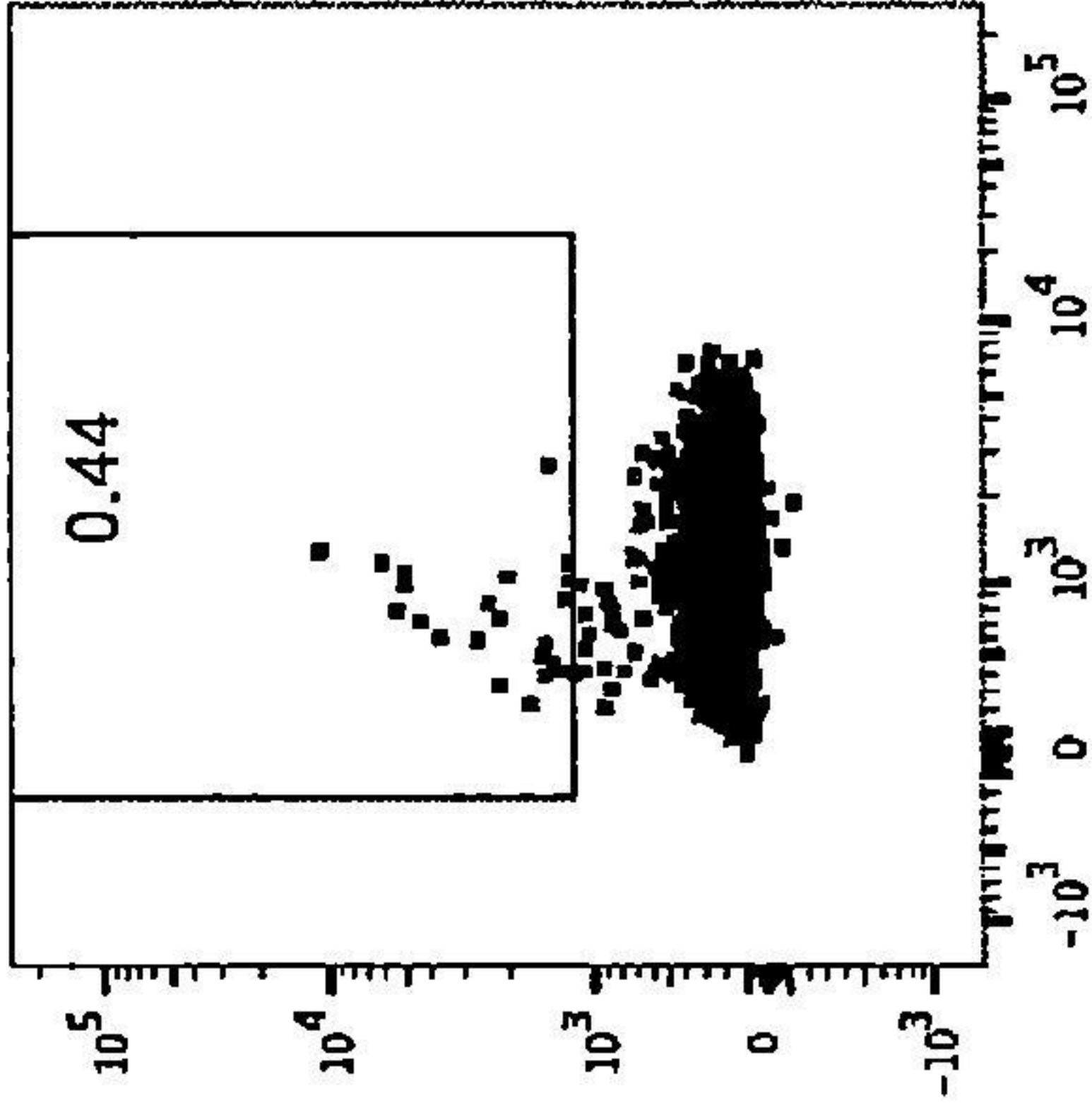
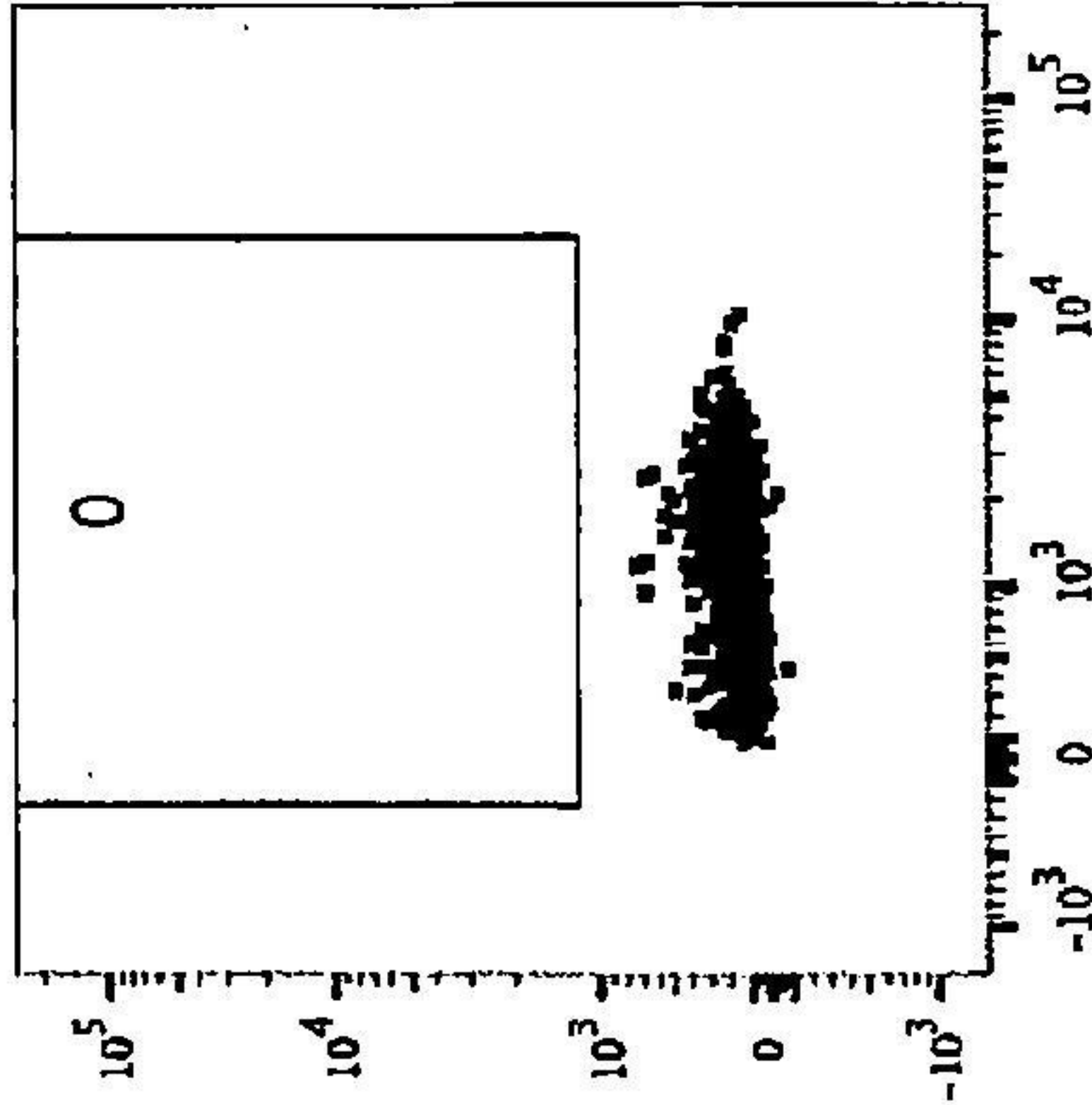
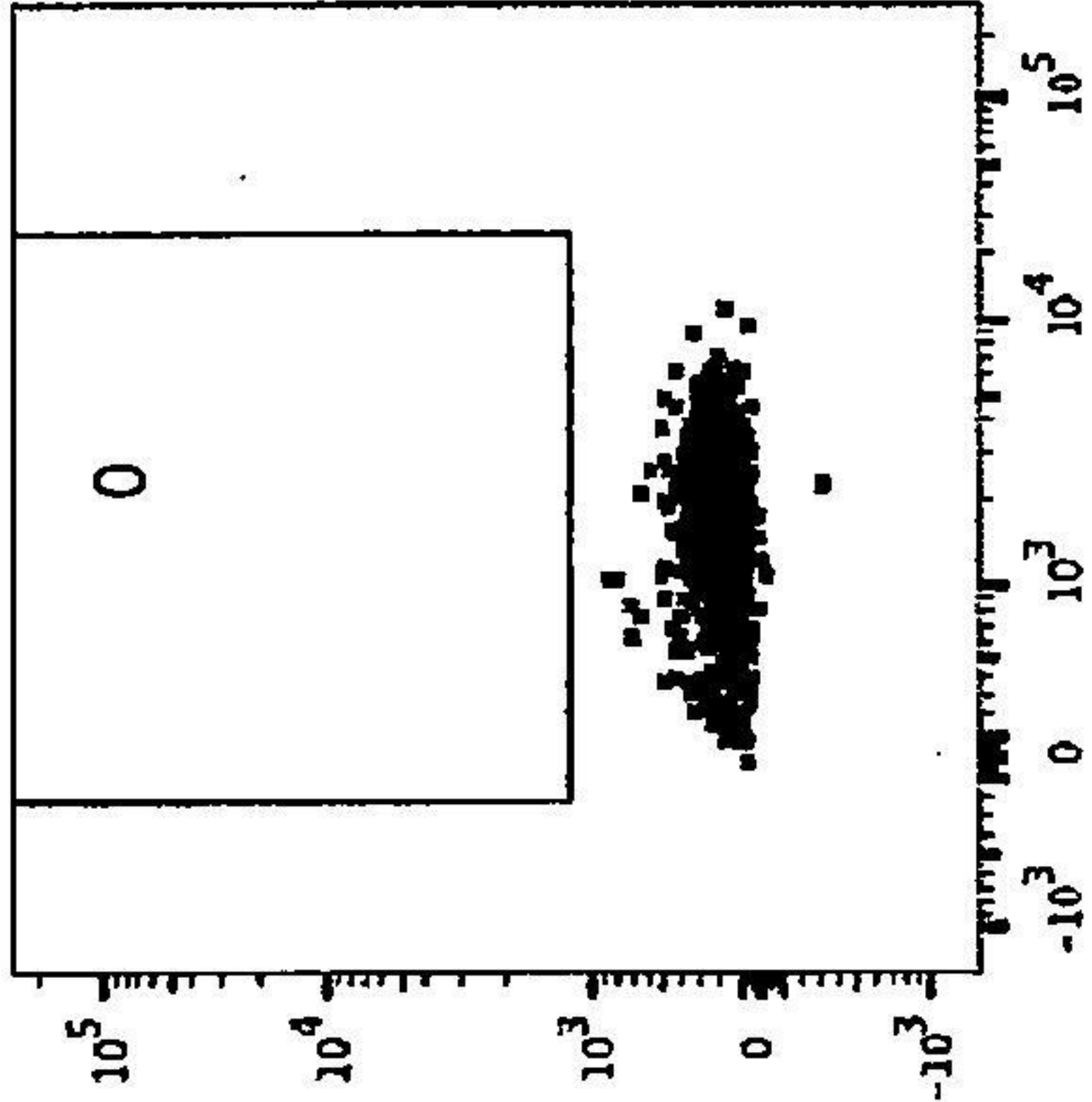
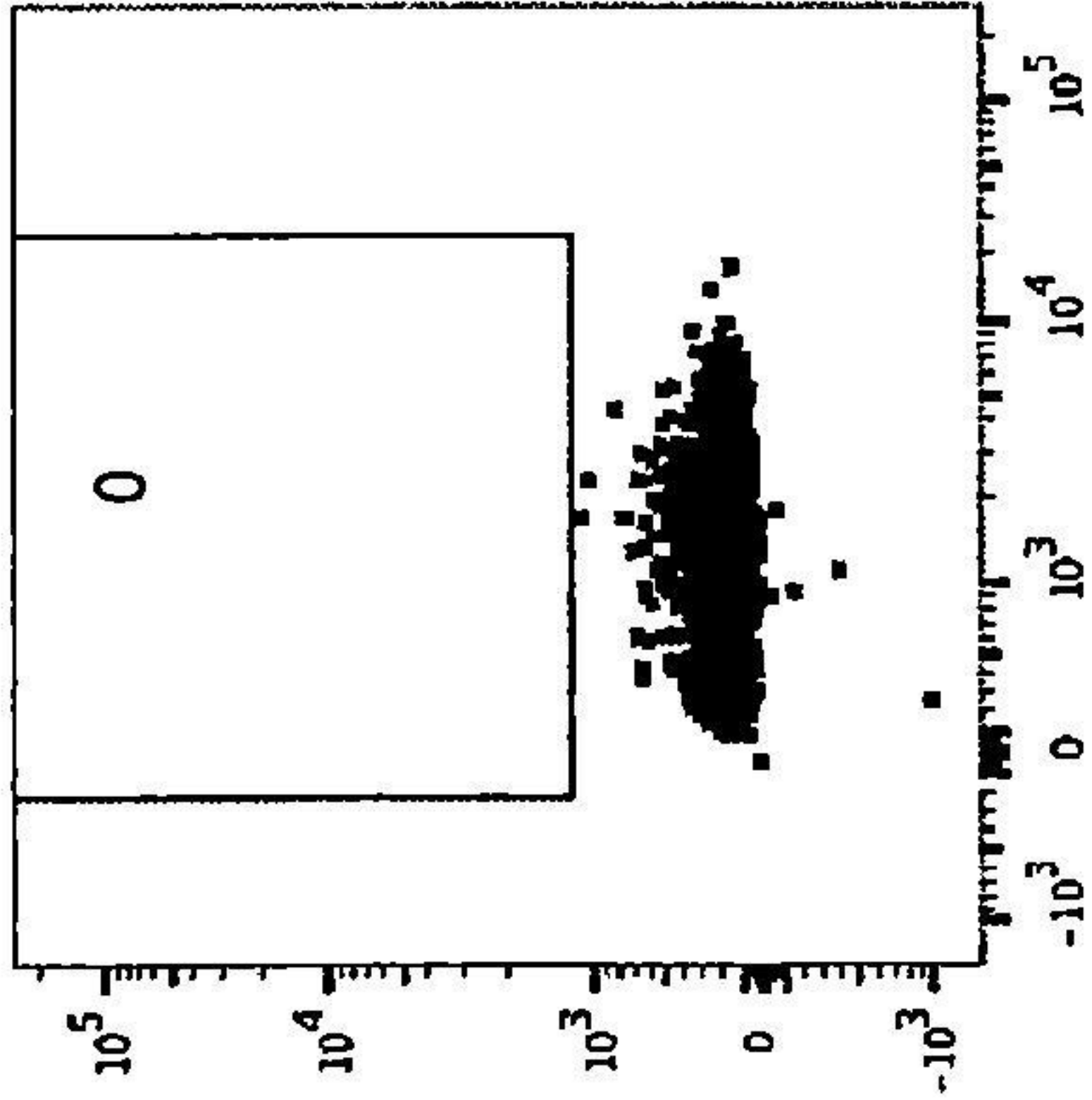
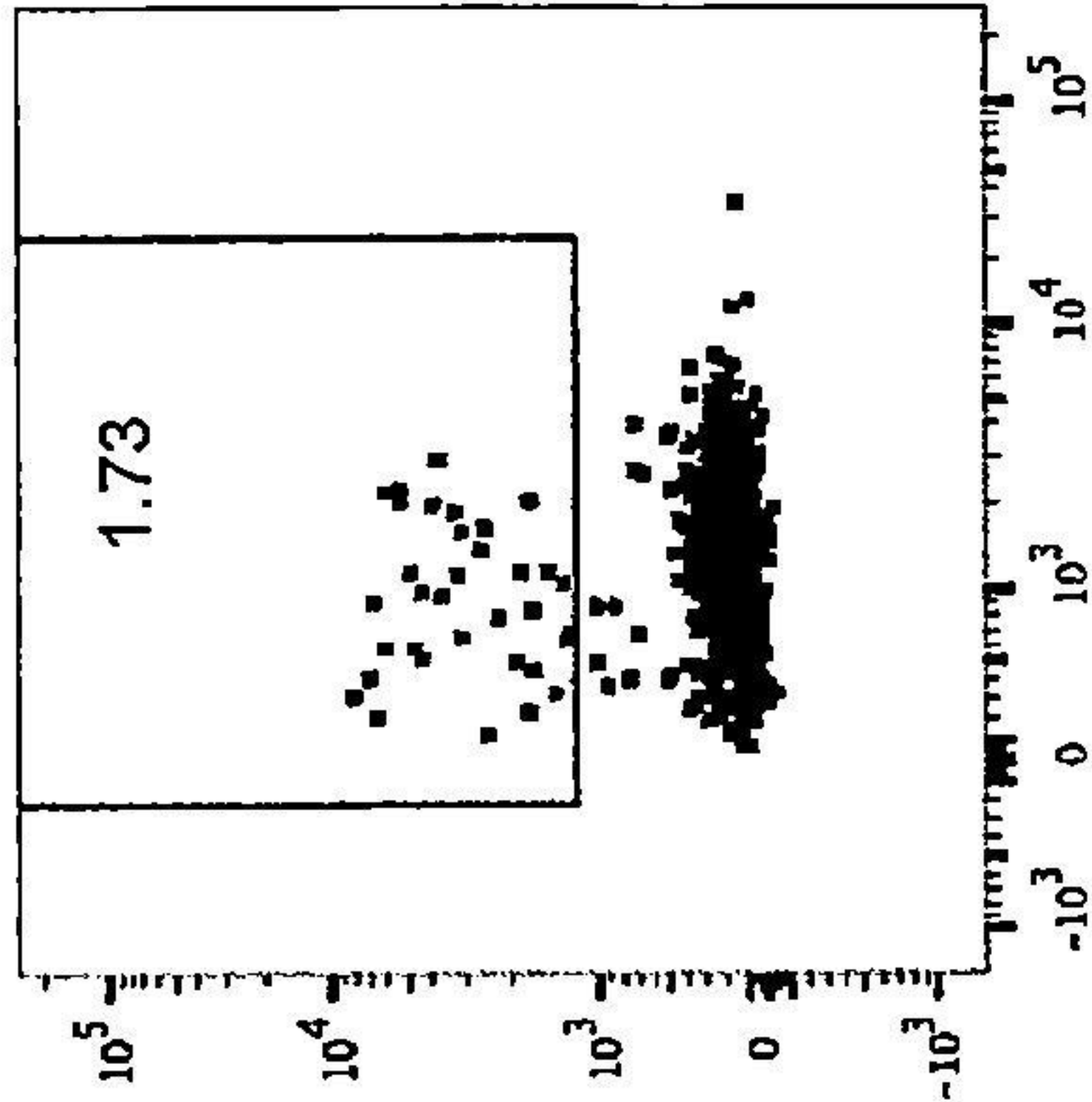
Rx = Igrp-41BBL

Rx = Tum-41BBL

Rx = PBS

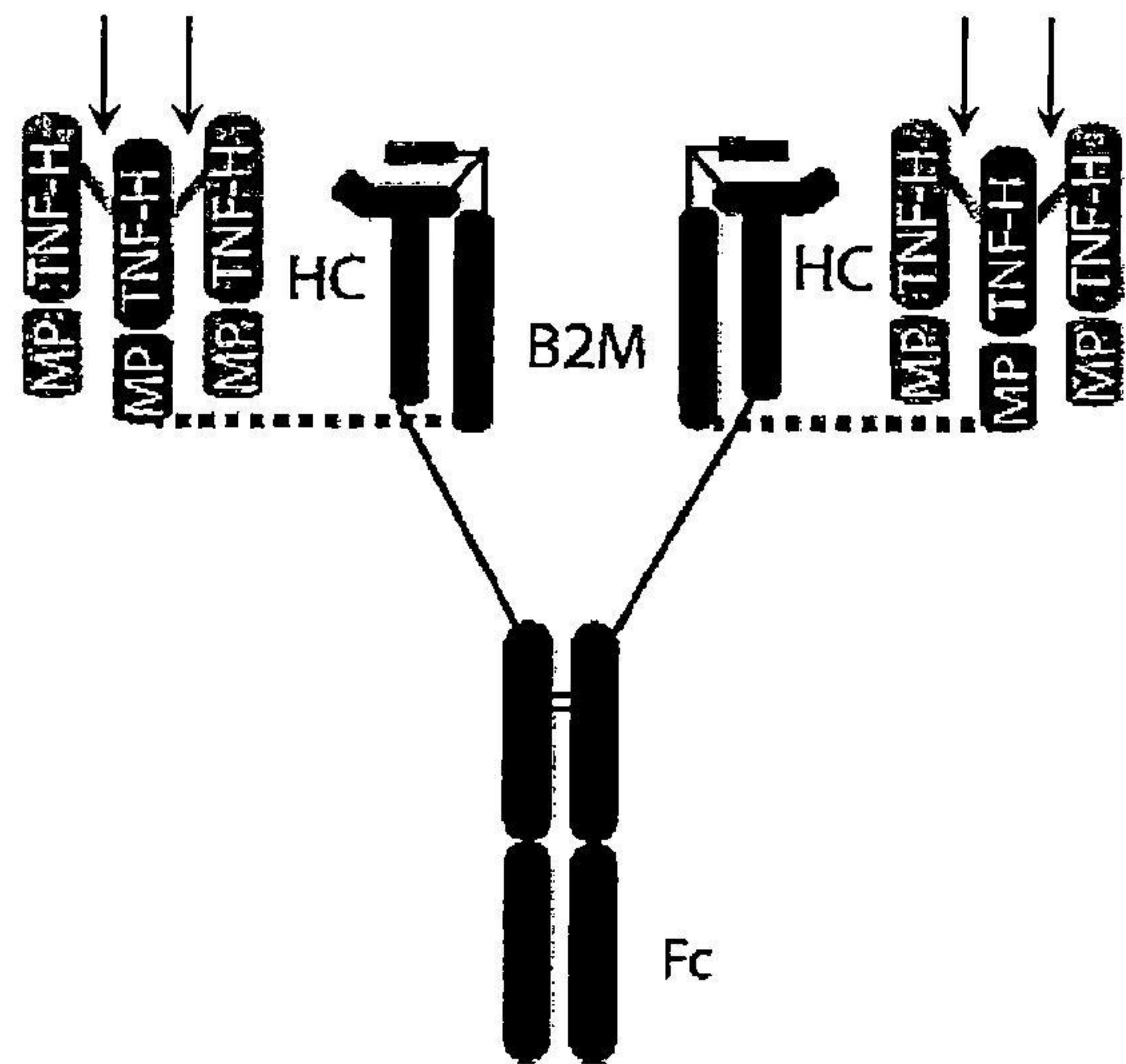
Igrp-五聚體

Tum-五聚體

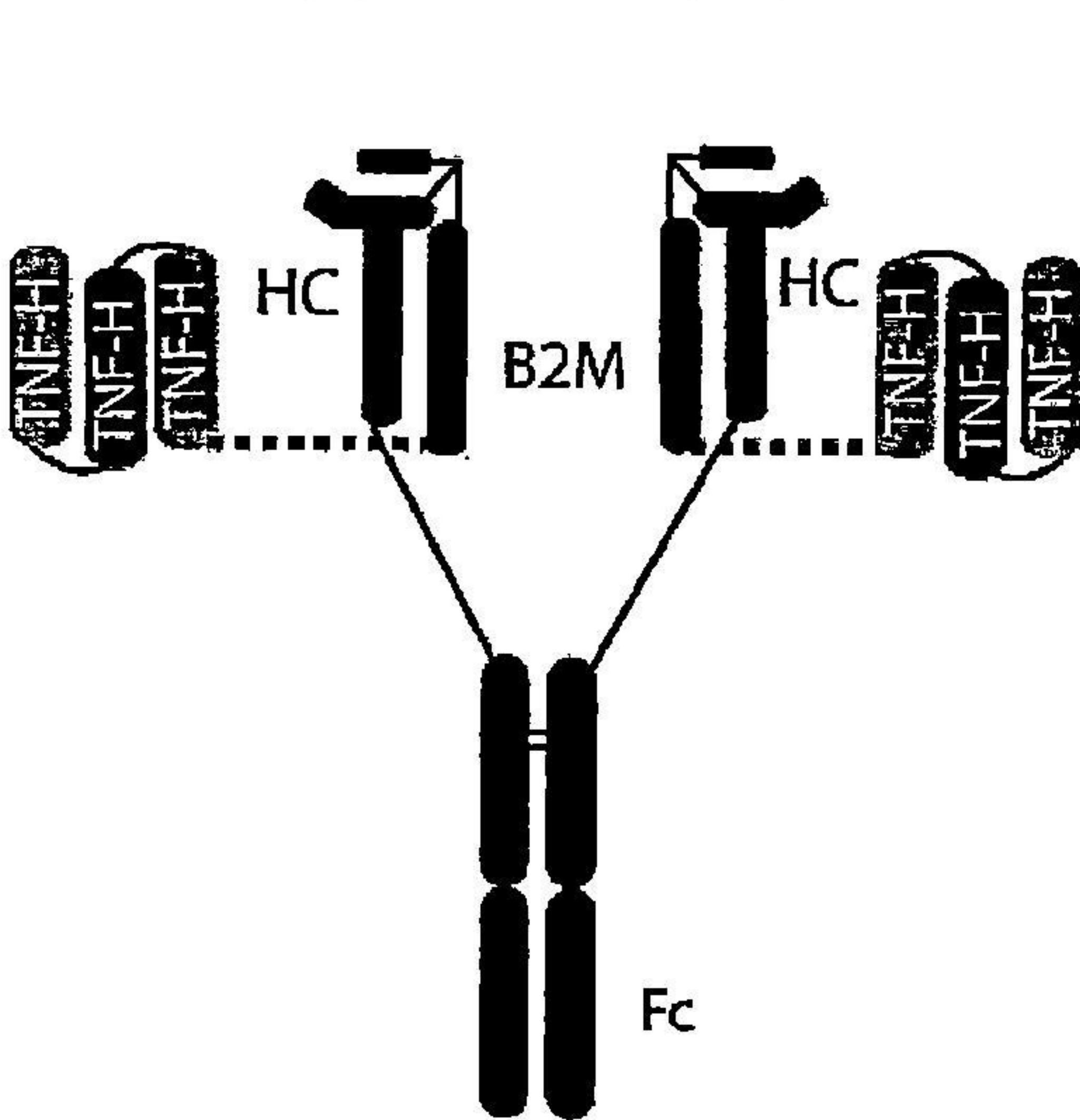


CD3ε

第 16A 圖

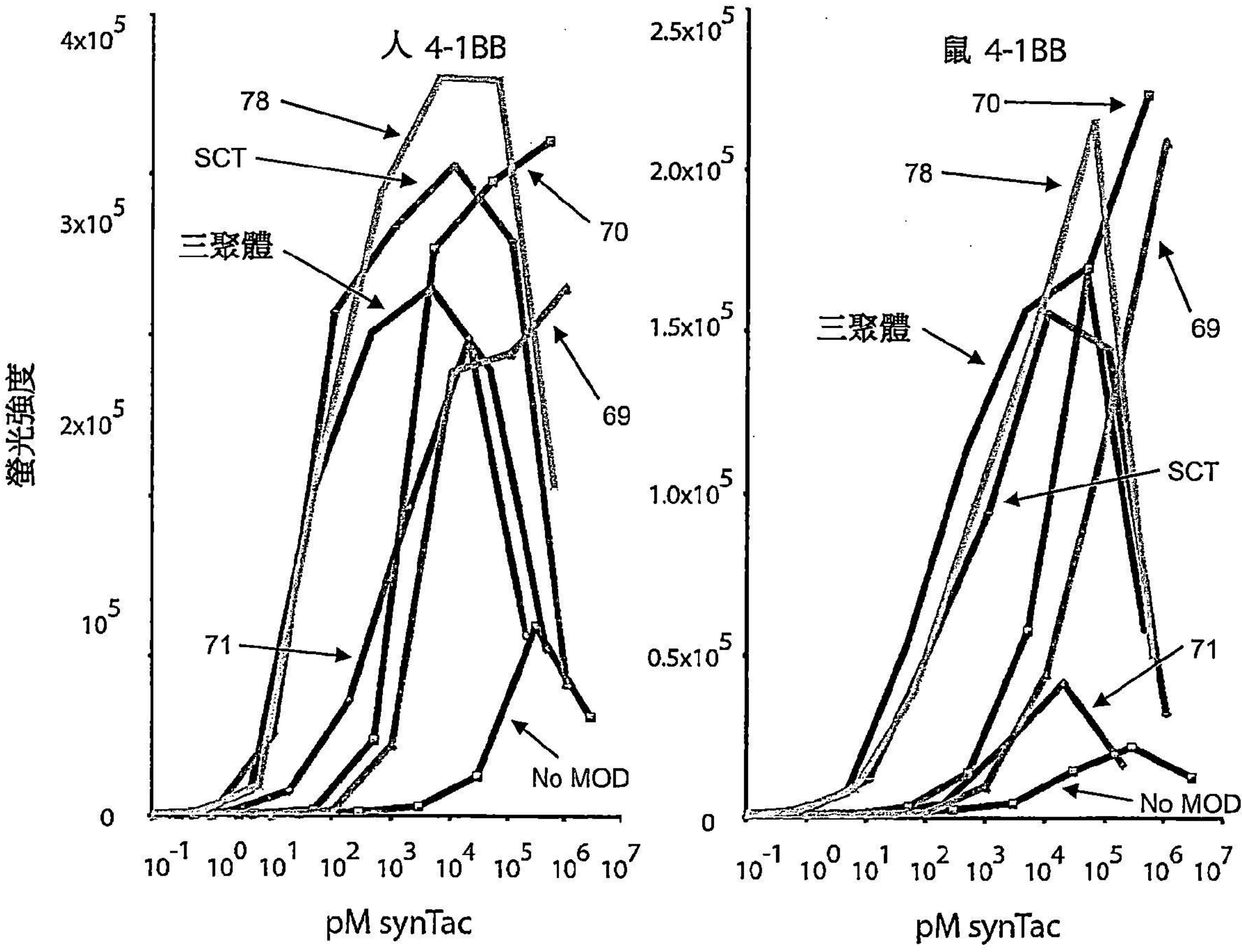


第 16B 圖

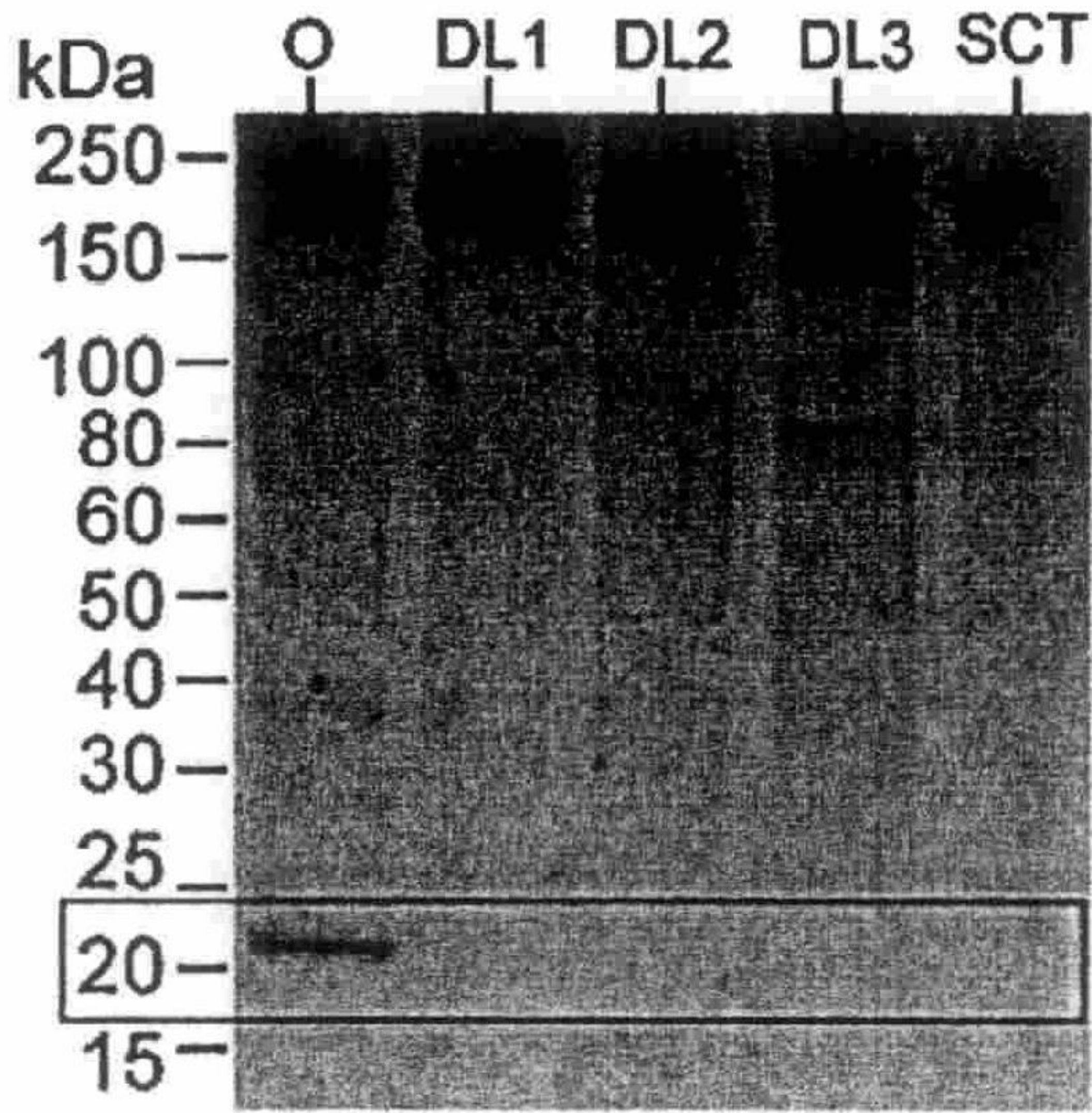


第 17 圖

synTac 4-1BBL 二硫鍵變異體，小珠結合



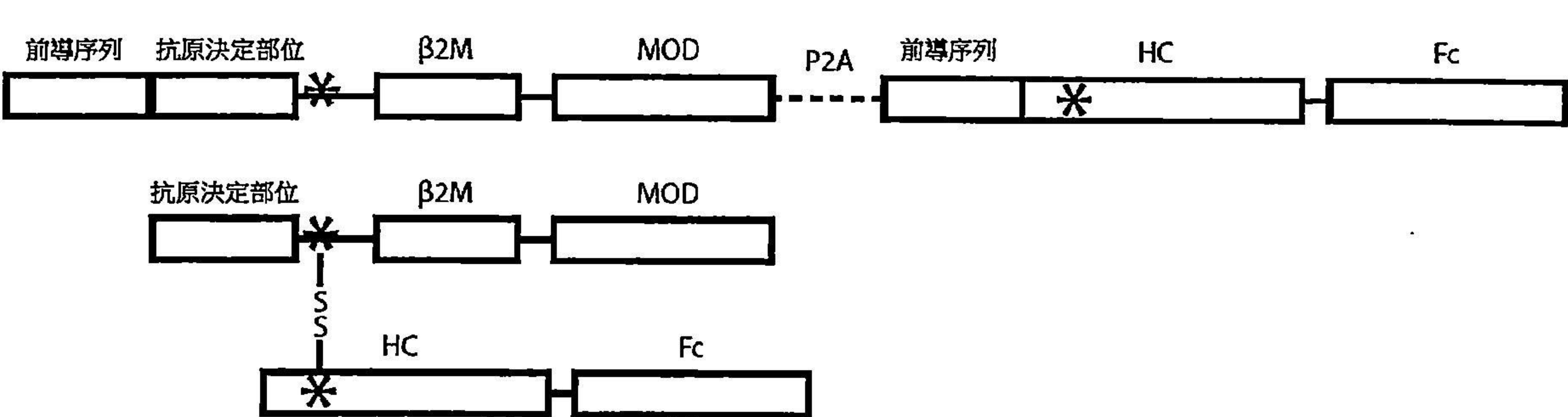
第 18 圖



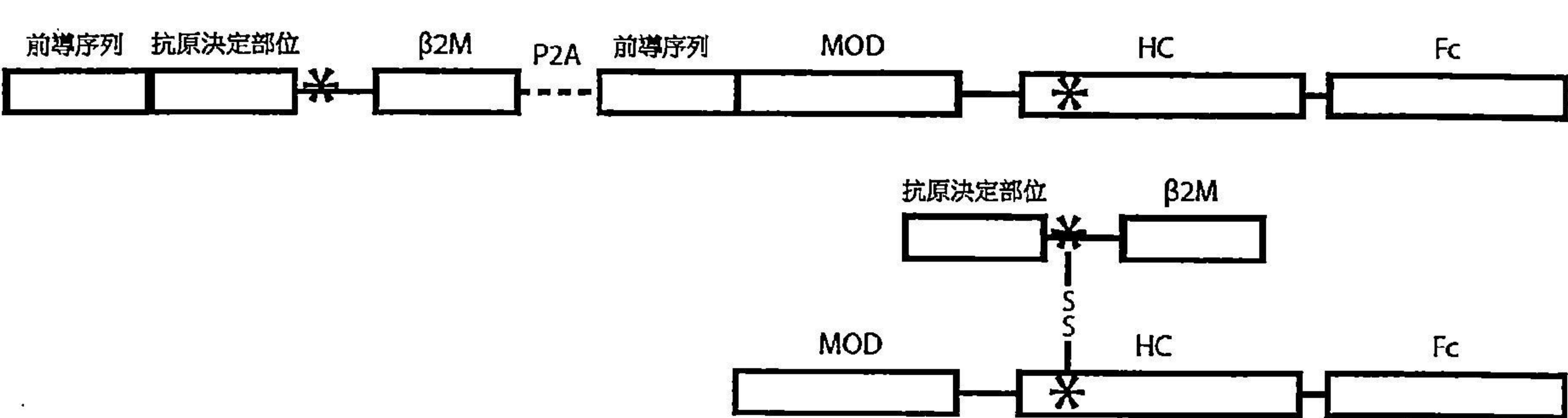
第 19A 圖



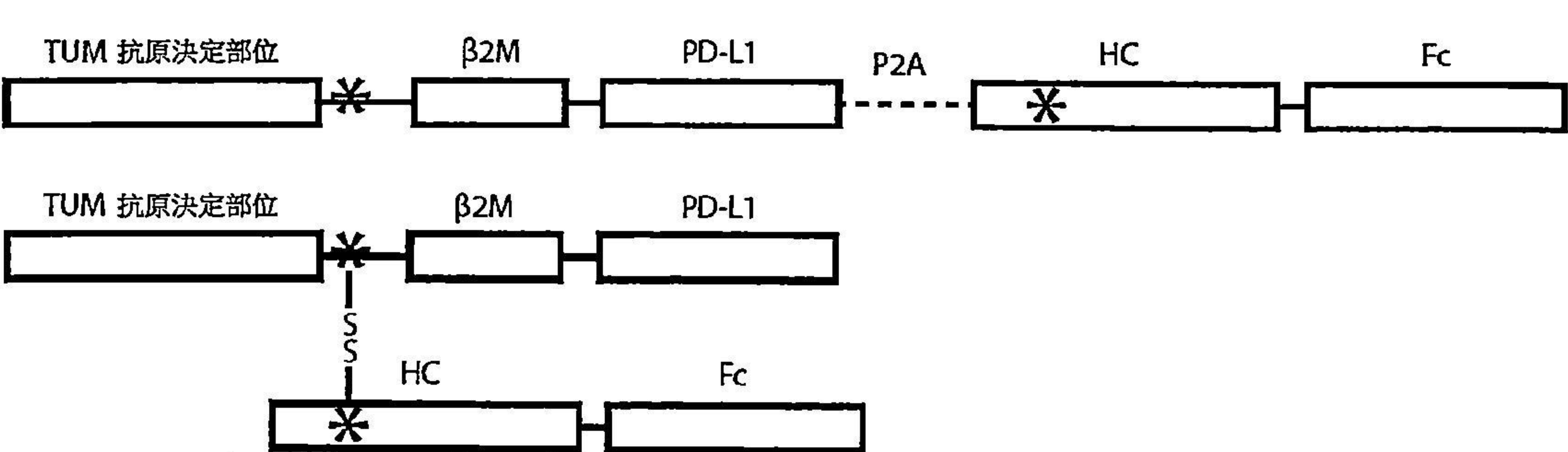
第 19B 圖



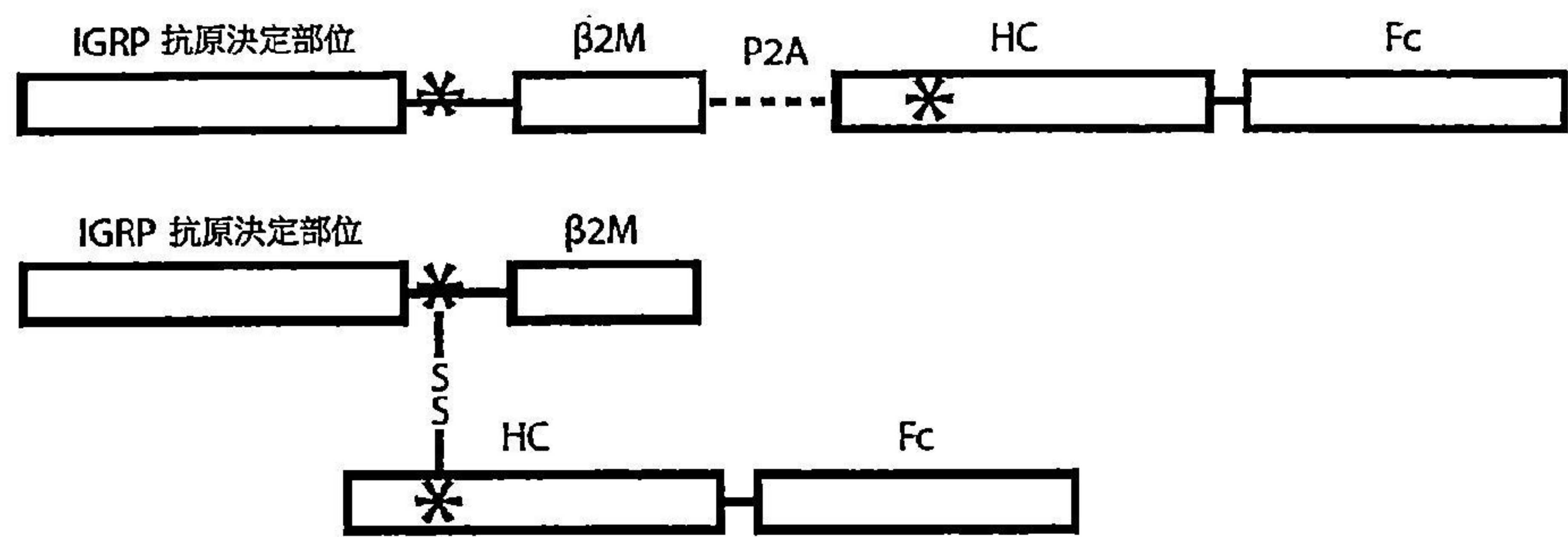
第 19C 圖



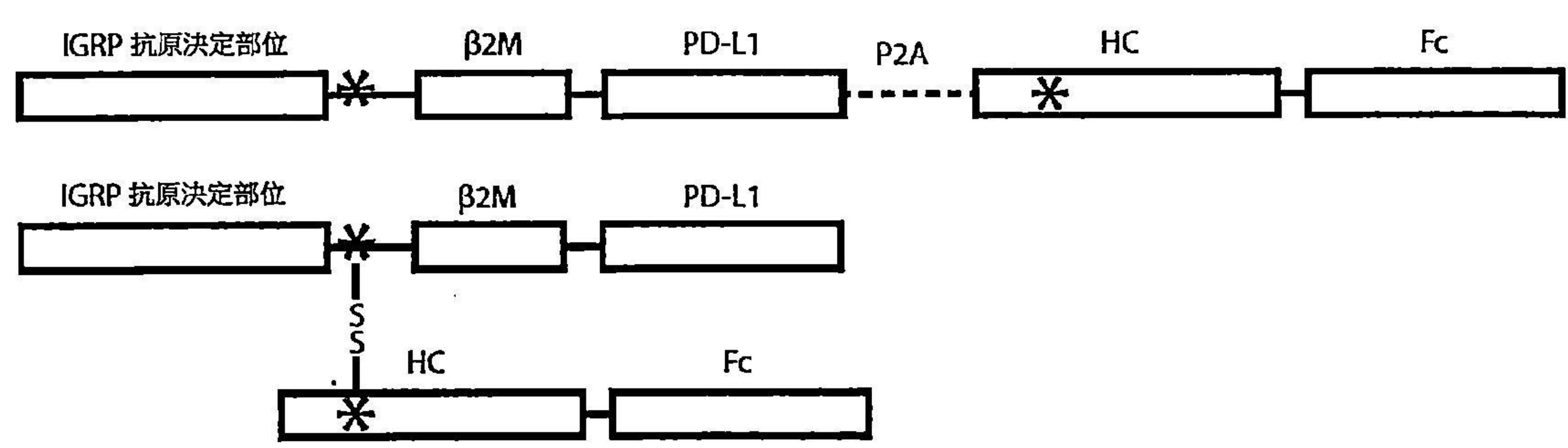
第 19D 圖



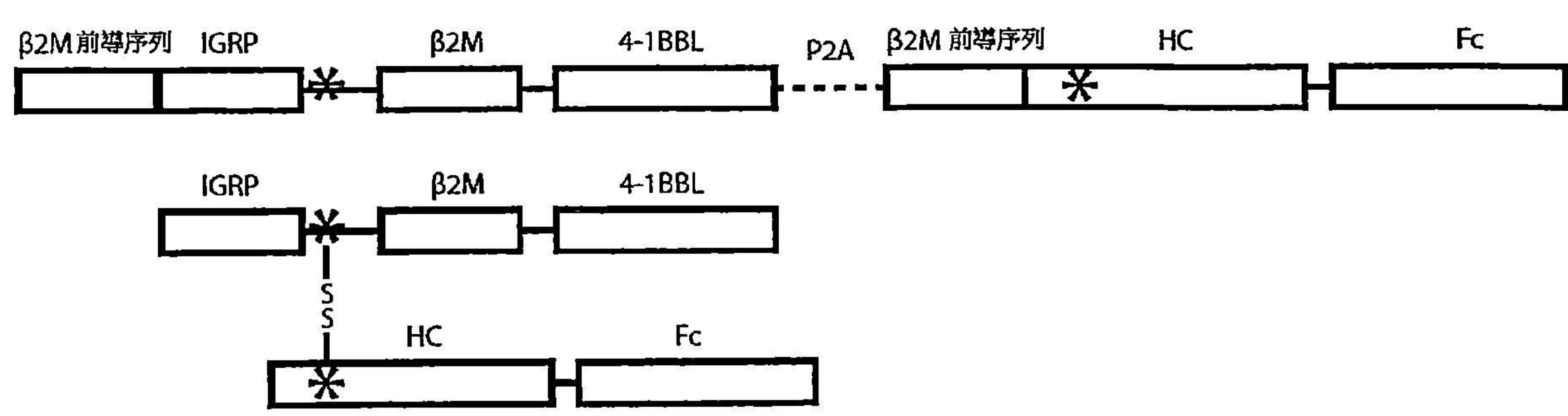
第 19E 圖



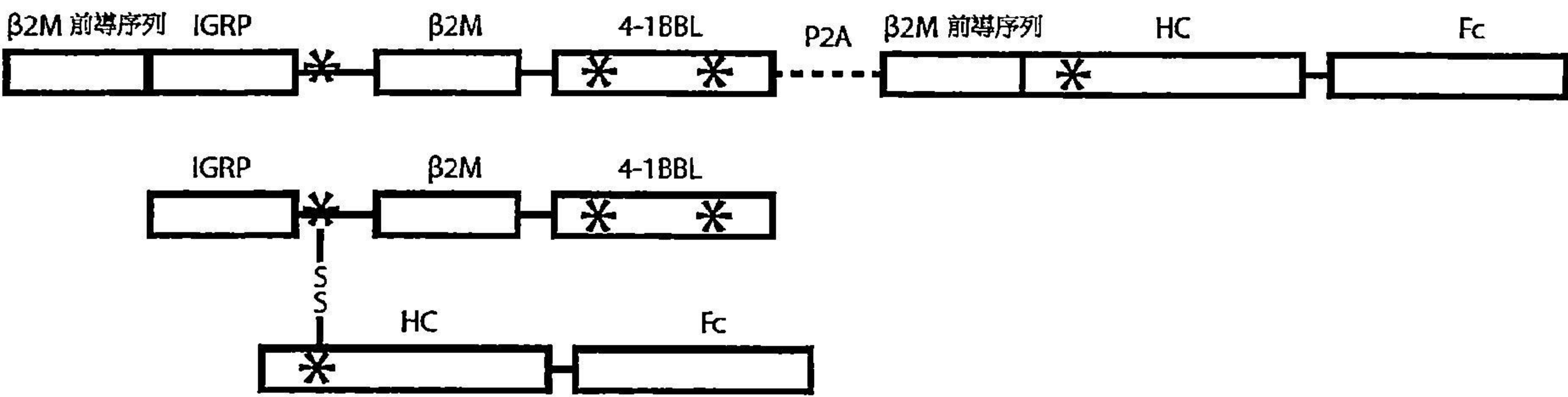
第 19F 圖



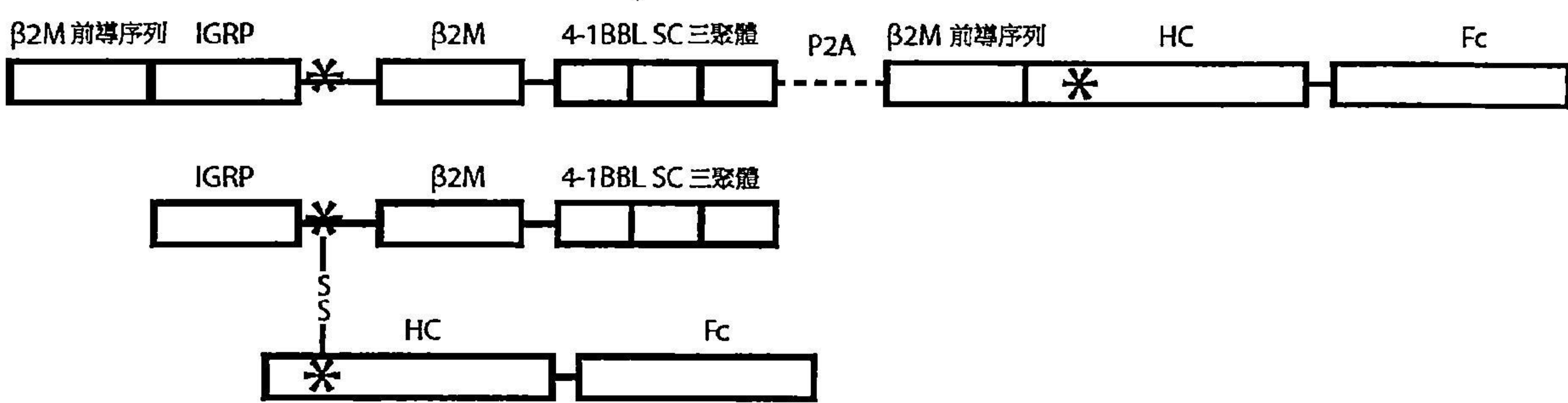
第 19G 圖



第 19H 圖



第 19I 圖



第 20 圖

NP_004039.1	MSRSVALAVLALLSLSGLEAIQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLL 60
NP_001009066.1	MSRSVALAVLALLSLSGLEAIQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLL 60
NP_001040602.1	MSRSVALAVLALLSLSGLEAIQRTPKIQVYSRHPPENGKPNFLNCYVSGFHPSDIEVDLL 60
NP_776318.1	MARFVALVLLGLLSLSGLDAIQRPPKIQVYSRHPPEDGKPNYLNCYVYGFHPPQIEIDLL 60
NP_033865.2	MARSVTLVFLVLVSLTGLYAIQKTPKIQVYSRHPPENGKPNILNCYVTQFHPPHIEIQML 60
	: *:*. * *:*** ** *:*****. *:*. * ***** ***. **::*
NP_004039.1	KNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNHVTLSQPKIVKWDRDM 119 (SEQ ID NO:78)
NP_001009066.1	KNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNHVTLSQPKIVKWDRDM 119 (SEQ ID NO:79)
NP_001040602.1	KNGEKMKGVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPNEKDEYACRVNHVTLSGPRTVKWDRDM 119 (SEQ ID NO:80)
NP_776318.1	KNGEKI-KSEQSDLSFSKDWSFYLLSHAEFTPNKSDQYSCRVKHVTLEQPRIVKWDRDL 118 (SEQ ID NO:81)
NP_033865.2	KNGKKIPKVEMSDMSFSKDWSFYILAHTFTPTETDTYACRVKHASMAEPKTVYWDRDM 119 (SEQ ID NO:82)
	::: * * **:**:* ::*****. *:***:*.:: *: * *****:

第 21 圖

SEQ ID NO:6 之重組多肽構建體的結構域結構

LLFGYPVVVVGcGGSGGGGGGSIQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTEKD
EYACRVNHVTLSQPKIVKWDRDMGGGGGGGGGFTITAPKDLVVEYGSNVTMECRFPVERELDLLALVVYWEKEDEQVIOFVAGE
EDLKPQHSNFRGRASLPKDQLLKGNAAALQITDVKLQDAGVYCCISYGGADYKRITLKVNAFYRKINQRISVDPATSEHELICQAEGYPEAEVIVT
NSDHHQPVSGKRSVTTSRTEGMLLNVTSSLRVNATANDVFYCTFWRSQPGQNHTAELIPELPATHPPQNRTSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPM
SRSVALAVLALLSLGLEAGSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYYDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKVKVKAHSQ
THRVDLGTLRGcYNQSEAGSHTTVQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAVDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAY
LEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDGTTFQKWAAV
VVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEPAAGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPOVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGSHHHHHHH

- 雙條下方劃線粗體字：HTLV-1 抗原決定部位
- 下方劃線：連接子 (半胱氨酸修飾以小寫字母顯示)
- 斜體字：B2M 結構域
- 粗斜體字：鼠PD-L1結構域
- 下方劃線斜體字：P2A 自裂解肽
- 下方劃線粗體字：B2M 前導序列
- 粗體字：人重鏈 (半胱氨酸修飾以小寫字母顯示)
- 下方劃線粗斜體字：人Fc
- 雙條下方劃線：His Tag

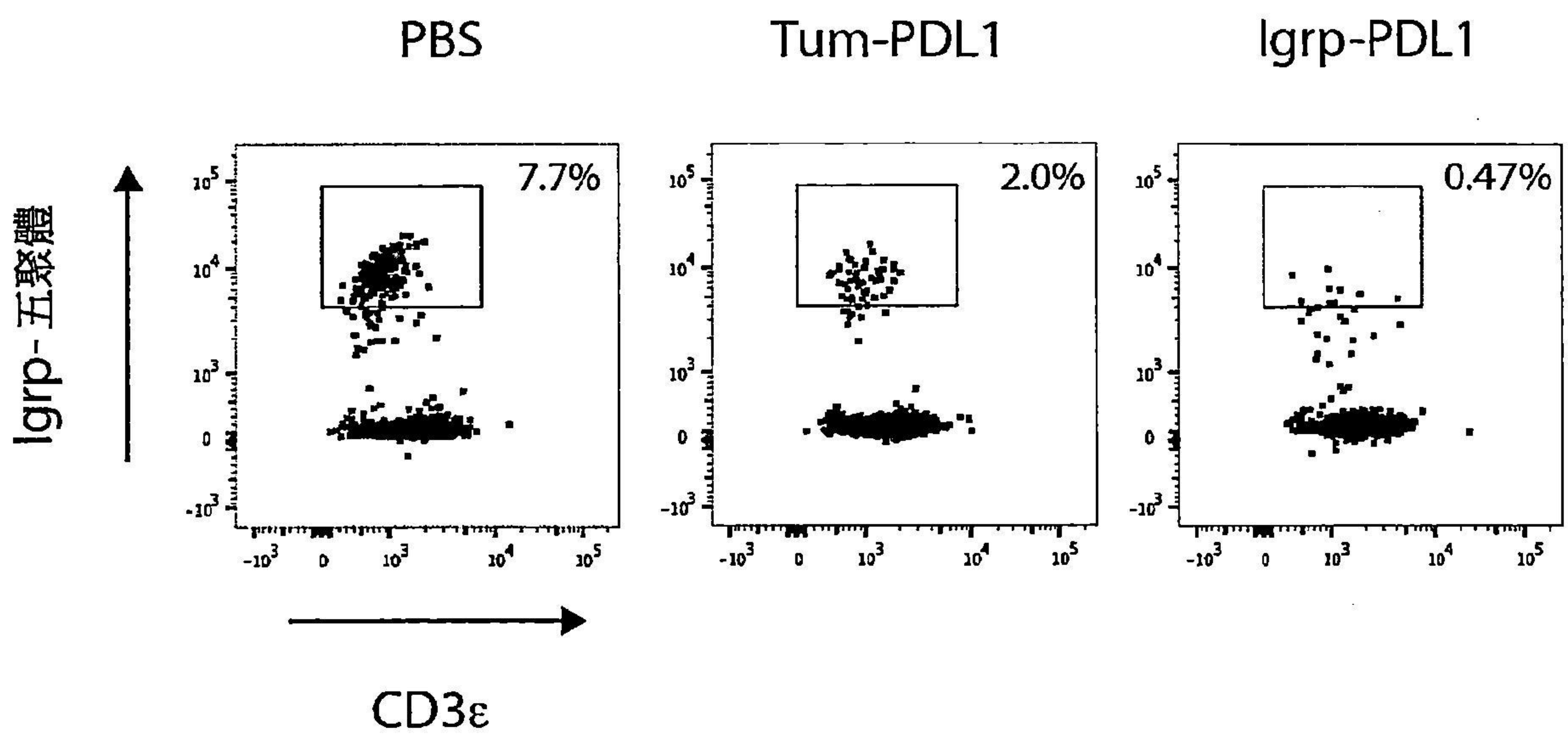
第 22 圖

SEQ ID NO:7 之重組多肽構建體的結構域結構

LLFGYPVYVYGcGGGGGGGGGGSIQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTEKD
EYACRVNHV'TLSQPKIVKWDRDMGGGGGGGGGGSGGATNFSLLKQAGDVEENPGPMRSVAALAVLALLSLSGLEAFTTTAPKDLYV
VEYGSNV'TMECRFPVERELDLLALVYWEKEDEQVIQFVAGEEDLKPKQHSNFRGRASLPKDQLLKGNAAALQITDVKLQDAGVYCCIISYGGADYK
RITLKVNAPYRKINQRISVDPATSEHELICQAEGYPEAEVIV'TNSDHQPVSGKRSTTSRTEGMLLNVTSSLRVNATANDVFYCTFWRSQPGQNH
TAELIPELPATHPPQNR'TGGGGGGGGGGSGGSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYYDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQ
EGPEYWDGETRKVKAHSQ'THRVDLGTLRGcYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQ
TTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGT'CVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFPPAEITLTWQRDGEDQTQDI
ELVETRPAGDGT'FQKWAAAVVVPSGQEQR'YTC'HVQHEGLPKPLTLRWEPAAGGDK'THTC'PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL'MISRTP
E'VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD'WL'NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK'TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD'KSRWQOGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GKGGSHHHHHHHH

- 雙條下方劃線粗體字：HTLV-1 抗原決定部位
- 下方劃線：連接子 (半胱氨酸修飾以小寫字母顯示)
- 斜體字：B2M 結構域
- 粗斜體字：鼠 PD-L1 結構域
- 下方劃線斜體字：P2A 自裂解肽
- 下方劃線粗體字：B2M 前導序列
- 粗體字：人重鏈 (半胱氨酸修飾以小寫字母顯示)
- 下方劃線粗斜體字：人 Fc
- 雙條下方劃線：His Tag

第 23 圖



第 24A 圖

GenBank 3S7G_A
現代人 IgG1 Fc (SEQ ID NO:83)
227 aa

```
1 dkthtcppcp apellggpsv flfppkpkdt lmisrtpevt cvvvdvshed pevknwyvd
61 gvevhnaktk preeqynsty rvsvltvlh qdwlngkeyk ckvsnkappa piektiskak
121 gqprepqvyt lppsrdehltk nqvsltcclvk gfypsdiave wesngqpenn ykttppvlds
181 dgsfflyskl tvdksrwqqg nvfscsvmhhe alhnhytqks lslspgk
```

GenBank AAN76044
現代人 IgG2 Fc (氨基酸 99-325) (SEQ ID NO:84)
227 aa

```
1 stkgpsvfpl apcsrstses taalgclvkd yfpepvtvsw nsgaltsgvh tfpavlqssg
61 lyslssvvtv pssnfgtqty tcnvdhkpsn tkvdktverk ccvecppcpa ppvagpsvfl
121 fppkpkdtlm isrtpevtcv vvdvshedpe vqfnwyvdgv evhnaktkpr eeqfnstfrv
181 vsvltvvhqdw lngkeykck vsnkglpapi ektisktkgq prepqvytlp psreemtknq
241 vsltclvkgf ypsdiavewe sngqpennnyk ttpmldsdg sfflyskltv dksrwqqgnv
301 fscsvmhheal hnhytqksls lspgk
```

GenBank AAW65947
現代人 IgG3 Fc (氨基酸 19-246) (SEQ ID NO:85)
238 aa

```
1 hkpsntkvdk rvelktplgd tthtcppcpa pellggpsvf lfppkpkdtl misrtpevtc
61 vvvdvshedp evknwyvdg vevhnaktkp reeqynstyr vvsvltvlhq dwlngkeykc
121 kvsnkappa iektiskakg qprepqvytl ppsrdehltk nqvsltcclvk gfypsdiavew
181 esngqpenn ykttppvlds dgsfflyskl tvdksrwqqg nvfscsvmhhe alhnhytqksl
241 slspgk
```


第 24B 圖

GenBank AAA52770

現代人 IgD Fc (胺基酸 162-383) (SEQ ID NO:86)

222 aa

```
1 ptkapdvfpi isgcrhpkdn spvvlacit gyhptsvtvt wymgtqsqqp rtfpeiqrdd
61 syymtssqls tplqqwrqge ykcvvqhtas kskkeifrwp espkaqassv ptaqpqaegs
121 lakattapat trntgrggee kkkekekeeq eeretktpec pshtqplgvy lltpavqdlw
181 lrdkatftcf vvgSDLkdah ltwevagkvp tggveeglle rhsgsgsqh srltlprslw
241 nagtsvtctl nhpslppqrl malrepaaqa pvklslnlla ssdppeaasw llcevsgfsp
301 pnillmwled qrevntsgfa parpppprs ttfwawsvlr vpappspqpa tytcvvhed
361 srllnasrs levsvtdhg pmk
```

GenBank 0308221A

現代人 IgM Fc (SEQ ID NO:87)

276 aa

```
1 vtstltikzs dwlgesmftc rvdhrgltfq qnassmcvpd qdtairvfai ppsfasiflt
61 kstklitclvt dltybsvti swtreengav kthtnisesh pnatfsavge asicedbdws
121 gerftctvth tdlpsplkqt isrpkgvalh rpbvylppa rzzlnlresa titclvtgfs
181 padvfvevmq rgeplspqky vtsapmpepq apgryfahsi ltvseeewnt ggtytcvvah
241 ealpnrvter tvdkstgkpt lynvslvmsd tagtcy
```

第 24C 圖

GenBank P01876

現代人 IgA Fc (胺基酸 120-353) (SEQ ID NO:88)

234 aa

```
1 asptspkvfp lsicstqpdg nvviacivqg ffpqeplsvt wsesgggvta rnfppsqdas
61 gdlyttssql tlpatqclag ksvtchvkhy tnpsqdvtp cpvpstpptp spstpptpsp
121 scchprlslh rpaledlllg seanltctlt glrdasgvtf twtpssgksa vggpperdlc
181 gcysvssvlp gcaepwnhgk tftctaaype sktpltatls ksgntfrpev hllpppseel
241 alnelvtltc largfspkdv lvrwlqgsqe lprekyltwa srqepsqgtt tfavtsilrv
301 aaedwkkgt fscmvgheal plaftqktid rlagkpthvn vsvvmaevdg tcy
```

GenBank 1F6A_B

現代人 IgE Fc (胺基酸 6-222) (SEQ ID NO:89)

212 aa

```
1 adpcdssnprg vsaylsrsp fdlfirspt itclvvdlap skgtvnltws rasgkpvnhs
61 trkeekqrng tltvtstlpv gtrdwieget yqcrvthphl pralmrsttk tsgpraapev
121 yafatpewpg srdkrtlacl iqnfmpedis vqwlhnevql pdarhsttqp rktkgsqffv
181 fsrlevtrae weqkdeficr avheaaspsq tvgravsvnp gk
```

GenBank P01861

現代人 IgG4 Fc (胺基酸 100-327) (SEQ ID NO:90)

228 aa

```
1 astkgpsvfp lapcsrste staalgclvk dyfpepvtvs wnsгалtsgv htfpavlqss
61 glyslssvt vpssslgtkt ytcnvdkps ntkvdkrves kygppcpscp apeflggpsv
121 flfppkpkdt lmisrtpevt cvvvdvsqed pevqfnwyvd gvevhnaktk preeqfnsty
181 rvsvltvlh qdwlngkeyk ckvsnkglps siektiskak gqprepvyt lppsqeemtk
241 nqvsltclvk gfypsdiave wesngqpenn ykttppvlds dgsfflysrl tvdksrwqeg
301 nvfscsvmhe alhnhytqks lsllslgk
```


第 25A 圖

現代人

GenBank NP_001229687

HLA-A

胺基酸 25-365 (SEQ ID NO:91)

```
1  mavmaprtl1 111sgalalt qtwagshsmr yfftsvsrpg rgeprfiavg yvddtqfvrf
61 dsdaasqkme prapwiegeg peywdgetrn mkahsqtdra nlgtlrgyyn qsedgshtiq
121 imygcdvgpd grflrgyrqd aydgkdyial nedlrswwta dmaaqitkrk weavhaaeqr
181 rvylegrcvd glrrylengk etlqrtddpk thmthhpisd heatlrcwal gfypaeitlt
241 wqrdgedqtq dtelvetrpa gdgtfkwaa vvvpsgeeqr ytchvqhegl pkpltlrwel
301 ssqptipivg iiaglvllga vitgavvaav mwrrkssdrk ggsytqaass dsaggsdvs1
361 tackv
```

第 25B 圖

現代人

GenBank NP_005505

HLA-B

胺基酸 25-362 (SEQ ID NO:92)

```
1  mlvmaprtvl 111saalalt etwagshsmr yfytsvsrpg rgeprfisvg yvddtqfvrf
61 dsdaaspree prapwiegeg peywdrtqi ykaqaqtdre slrnlrgyyn qseagshtlq
121 smygcdvgpd grllrghdqy aydgkdyial nedlrswwta dtaaqitqrk weaareaeqr
181 raylegecve wlrrylengk dkleradppk thvthhpisd heatlrcwal gfypaeitlt
241 wqrdgedqtq dtelvetrpa gdrtfkwaa vvvpsgeeqr ytchvqhegl pkpltlrwep
301 ssqstvpiwg ivaglavlav vvigavvaav mcrrkssggk ggsysqaacs dsaggsdvs1
361 ta
```

第 25C 圖

現代人

GenBank NP_001229971

HLA-C

胺基酸 25-366 (SEQ ID NO:93)

```
1  mrvmaprall 111sgglalt etwacshsmr yfdatvsrpg rgeprfisvg yvddtqfvrf
61 dsdaasprge prapwvegeg peywdretqn ykrqaqadv slrnlrgyyn qsedgshtlq
121 rmygcdlgpd grllrgyds aydgkdyial nedlrswwta dtaaqitqrk leaaraaeql
181 raylegtcve wlrrylengk etlqraepk thvthhplsd heatlrcwal gfypaeitlt
241 wqrdgedqtq dtelvetrpa gdgtfkwaa vvvpsgqeqr ytchmqhegl qepltlswep
301 ssqptipimg ivaglavlvv lavlgavvta mmcrrkssgg kggscsqaac snsaggsdes
361 litcka
```


第 26A 圖

PD-L1
小家鼠
NP_068693
胺基酸 19-290 (SEQ ID NO:94)

```
1 mrifagiift acchllraft itapkdlyvv eygsnvtmec rfpvereldl lalvvyweke
61 deqviqfvag eedlkpqhsn frgraslpkd qlkgnaalq itdvklqdag vycciisyyg
121 adykritlkv napyrkinqr isvdpatsch elicqaegyp eaeviwtnsd hqpvsgkrsv
181 ttsrtegmll nvtsslrva tandvfycf wrsqpgqght aeliipelpa thppqnrthw
241 vllgsillfl ivvstvlfl rkqvrmdve kcgvedtssk nrndtqfeet
```

第 26B 圖

PD-L1
現代人
NP_054852
胺基酸 19-290 (SEQ ID NO:95)

```
1 mrifavfifm tywhllnaft vtvpkdlyvv eygsnmtiec kfpvekqlldl aalivyweme
61 dkniiqfvhg eedlqvghss yrqrarllkd qlslgnaalq itdvklqdag vyrclisyyg
121 adykritkv napynkinqr ilvvdptse heltcgaegy pkaeviwtns dhqvlsgktt
181 ttnskreekl fnvtstlrin tttneifyct frldpeenh taelvipelp lahppnerth
241 lvilgaillc lgvaltfifr lrkgrrmdvk kcgldtnsk kgsdthleet
```

第 27 圖

4-1-BBL
現代人
GenBank NP_003802
胺基酸 50-254 = ectodomain (SEQ ID NO:96)

```
1 meyasdasld peapwppapr aracrulpwa lvagl11111 laaacavfla cpwavsgara
61 spgsaasprl regpelspdd paglldlrqg mfaqlvaqnv llidgplswy sdpglagvsl
121 tgglsykcdt kelvvakagv yyvffglelr rvvagegsgs vslalhlqpl rsaagaaala
181 ltvdlppass earnsafgfg grllhlsagq rlgvhlhtea rarhawqltq gatvlgflrv
241 tpeipaglp prse
```

第 28 圖

現代人
ICOS-L
GenBank NP_056074
胺基酸 19-302 (SEQ ID NO:97)

```
1 mrlgspgllf llfsslradt qekevramvg sdvelscacp egsrfdlndv yvywqtseks
61 tvvtyhipqn sslenvdsry rnralspag mlgdfslrl fnvtpqdeqk fhclvlsgsl
121 gfqevlsvev tlhvaanfsv pvvsaphsp qdeltftcts ingyprpnvy winktdnsl
181 dqalqndtvf lnmrglydv svlriartps vnigccienv llqqnlvgs qtgndigerd
241 kitenpvstg eknaatwsil avlc1lvva vaigwvcrdr clqhsyagaw avspeteltg
301 hv
```


第 29 圖

現代人
GenBank NP_003317
OX4L (SEQ ID NO:98)

1 mervqpleen vgnaarprfe rnklllvasv iqgglglllcf tyiclhfsal qvshrypriq
61 sikvqfteyk kekqfildsq kedeimkvqn nsviincdgf ylislkgyfs qevnislhyq
121 kdeeplfqlk kvrsvnslmv asltykdkvy lnvttcntsl ddfhvnngel ilihqnpgef
181 cvl

第 30 圖

現代人
GenBank NP_079515
PD-L2
胺基酸 20-273 (SEQ ID NO:99)

1 mifllllmlsl elqlhqiaal ftvtvpkely iiehgsnvtl ecnfdtgshv nlgaitaslq
61 kvendtsphr eratllleeql plgkasfhip qvqvrdegqy qciiiygvaw dykyltlkvk
121 asyrkinthi lkvpemdeve ltcqatgypl aevswpnvsv pantshtsrtp eglyqvtsvl
181 rlkpppggrnf scvfwnthvr eltlasidld sqmeptrthpt wllhifipfc iiafifiatv
241 ialrkqlcqk lysskdttkr pvtttkrevn sai

第 31 圖

現代人
GenBank NP_005182
CD80 (B7-1)
胺基酸 35-288 (SEQ ID NO:100)

1 mghtrrqgts psckpylnff qllvlaglsh fcsqvihvtk evkevatlsc ghnvsveela
61 qtirywqkek kmvltmmsgd mniwpeyknr tifditnnls ivilalrpsd egtyecvvlk
121 yekdafkreh laevtlsvka dfptpsisdf eiptsnirri icstsggfpe phlswleng
181 elnainttvs qdpetelyav sskldfnmtt nhsfmcliky ghrlrvnqtfn wnttkqehfp
241 dnllpswait lisvngifvi ccltycfapr crerrrnerl rresvrpv

第 32 圖

現代人
GenBank NP_787058
CD86 (B7-2)
胺基酸 31-329 (SEQ ID NO:101)

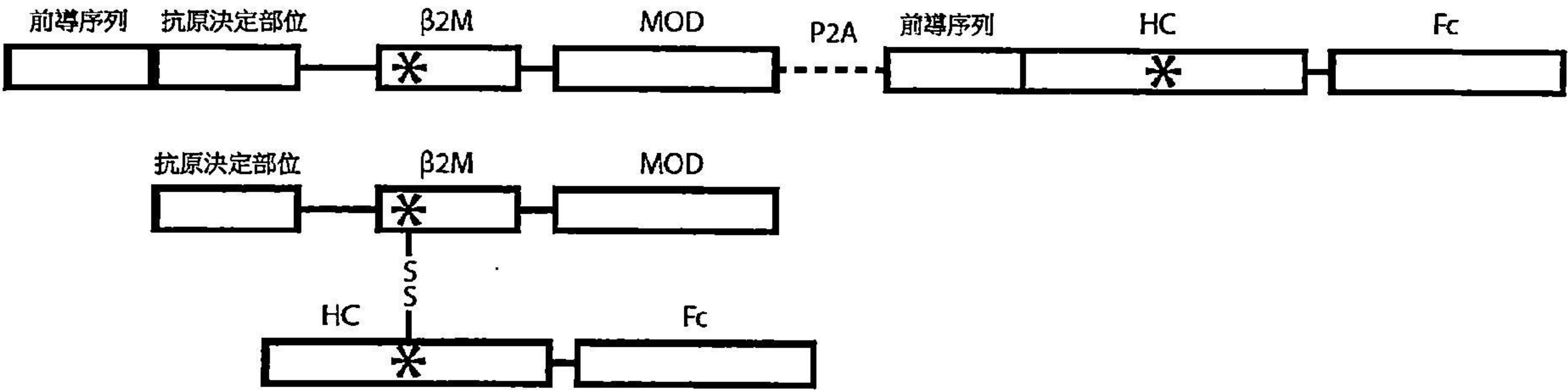
1 mdpqctmgls nilfvmafll sgaaplkiqa yfnetadlpc qfansqnqsl selvfwgdq
61 enlvlnevyl gkekfdsvhs kymgrtsfids dswtlrlhnl qikdkglyqc iihhkkptgm
121 irihqmnsel svlanfsqpe ivpisniten vyinltcssi hgypepkms vllrtknsti
181 eydgimqksq dnvteydvsl slsvsfpdv tsnmtifcil etdktrllss pfsieledpq
241 pppdhipwit avlptviicv mvfclilwkw kkkkrprnsy kcgtntmere eseqtkkrek
301 ihipersdea qrvfksskts scdksdctcf

第 33 圖

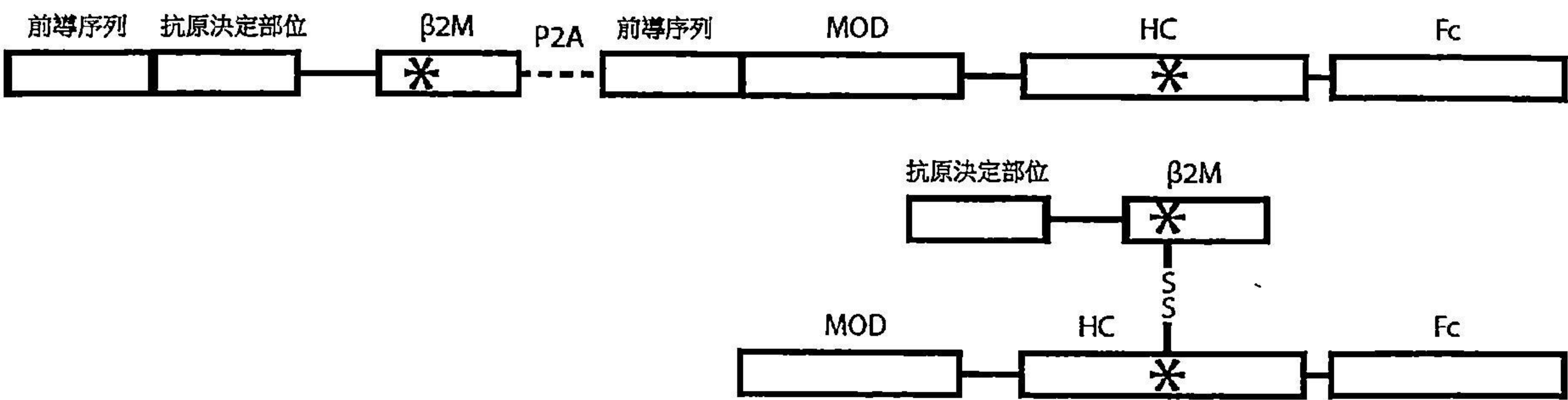
Fas 配體 (FasL)
現代人
GenBank NP_000630
胺基酸 1-281 (SEQ ID NO:102)

```
1  mqqpfnypyp  qiywvdssas  spwappgtvl  pcptsvprrp  gqrrpppppp  pplpppppp
61  pplppplpplp  lkkrgnhstg  lcilvmffmv  lvalvglglg  mfqlfhlqke  laelrestsq
121 mhtasslekq  ighpspppek  kelrkvahlt  gksnsrsmpl  ewedtygivl  lsgvkykkgg
181 lvinetglyf  vyskvyfrgq  scnlpplshk  vymrnskypq  dlvmmegkmm  sycttgqmw
241 rssylgavfn  ltsadhlyvn  vselslvnfe  esqtffglyk  l
```

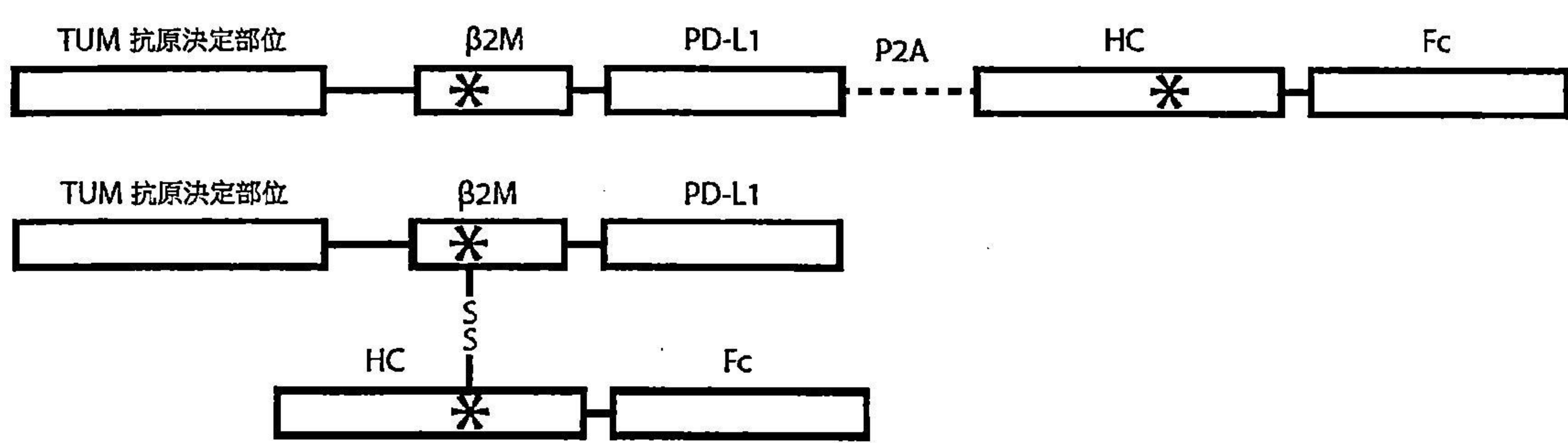
第 34A 圖



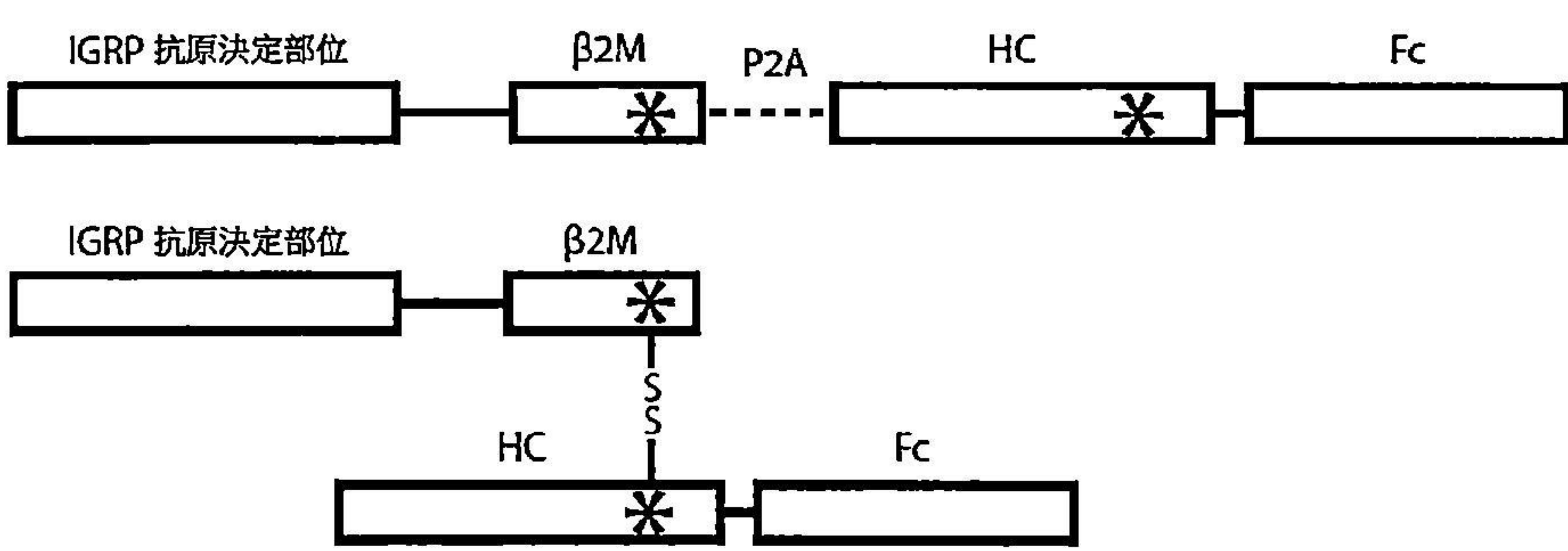
第 34B 圖



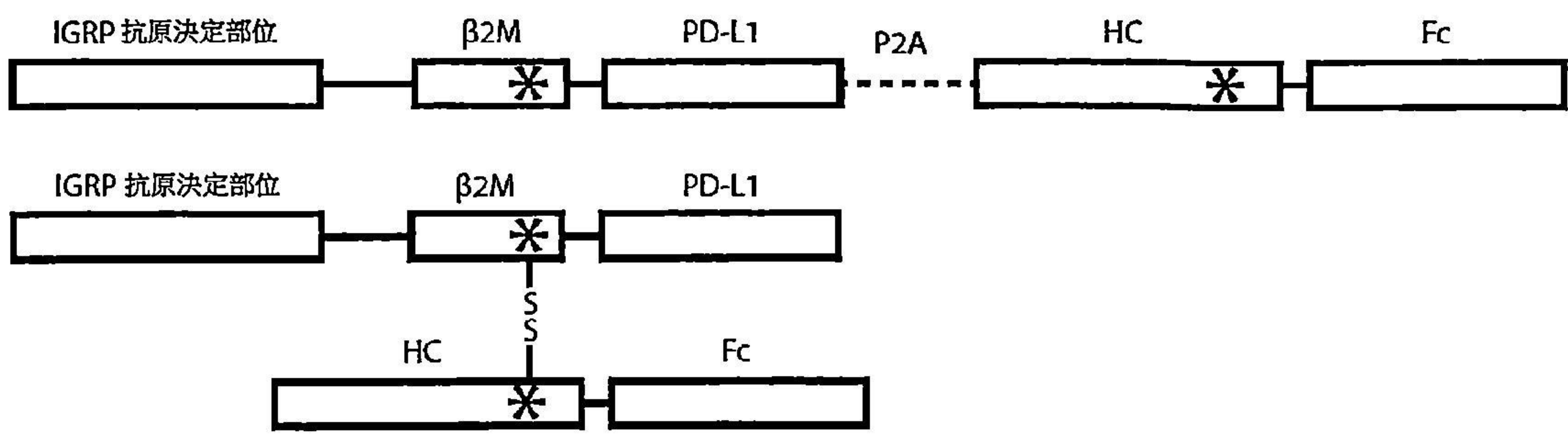
第 34C 圖



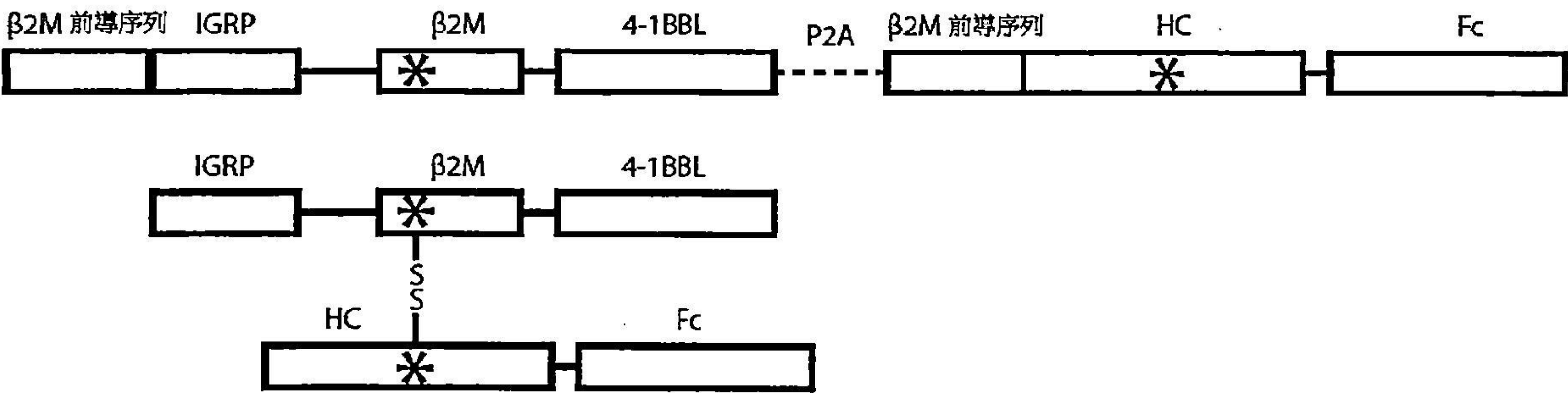
第 34D 圖



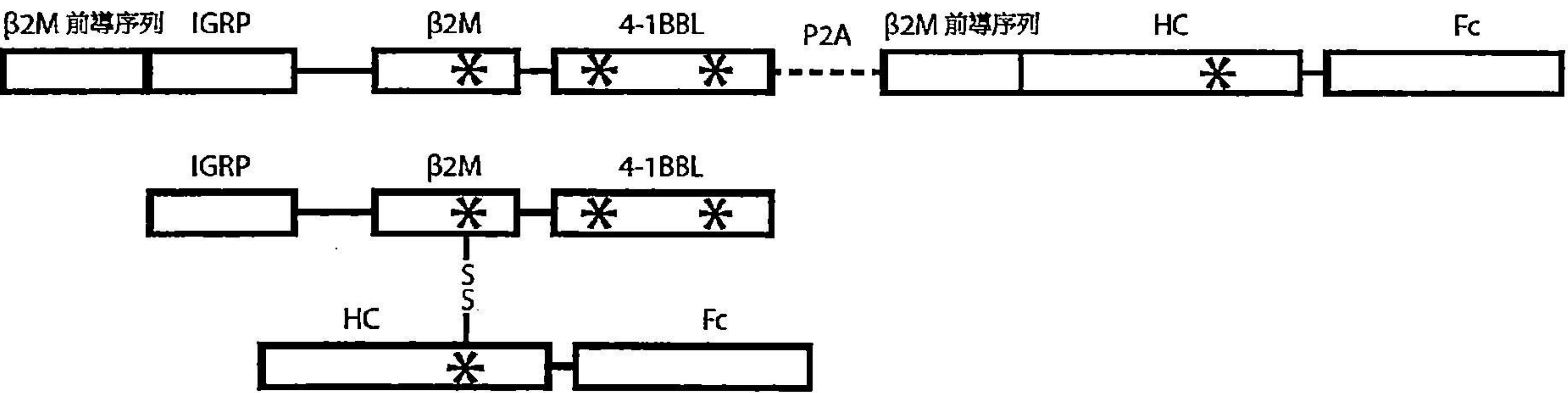
第 34E 圖



第 34F 圖



第 34G 圖



第 34H 圖

