



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112004825 A

(43) 申请公布日 2020.11.27

(21) 申请号 201980025483.1

(22) 申请日 2019.02.12

(30) 优先权数据

62/629,648 2018.02.12 US

62/630,198 2018.02.13 US

62/667,207 2018.05.04 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2020.10.12

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2019/017708 2019.02.12

(87) PCT国际申请的公布数据

W02019/157524 EN 2019.08.15

(71) 申请人 弗雷德哈钦森癌症研究中心

地址 美国华盛顿州

(72) 发明人 R·佩雷特 P·D·格林伯格

(74) 专利代理机构 深圳市百瑞专利商标事务所

(普通合伙) 44240

代理人 金辉

(51) Int.Cl.

C07K 14/725 (2006.01)

C12N 5/0783 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

权利要求书11页 说明书35页

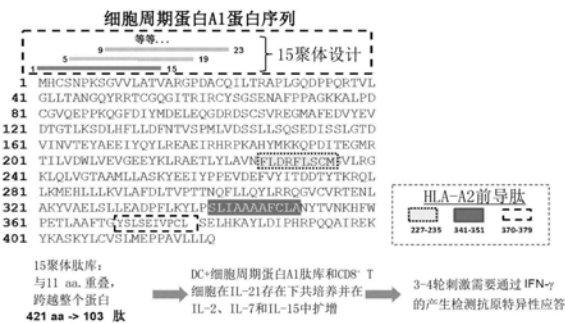
序列表138页 附图10页

(54) 发明名称

细胞周期蛋白A1特异性T细胞受体及其用途

(57) 摘要

本发明提供了特异性结合人细胞周期蛋白A1 (CCNA1) 的包含TCR的结合蛋白、表达这种抗原特异性结合蛋白的宿主细胞、编码这种结合蛋白的核酸、以及用于治疗细胞过度表达CCNA1的疾病或病症(例如癌症)的组合物。



1. 一种结合蛋白, 包含:

(a) T细胞受体 (TCR) α 链可变 (V α) 结构域以及TCR β 链可变 (V β) 结构域, 所述TCR V α 结构域包含SEQ ID NO: 5、7、9、11、11、13、15、17和19中任一项所示的互补决定区3 (CDR3) 氨基酸序列或SEQ ID NO: 5、7、9、11、13、15、17和19中任一项所示的并且具有最多五个氨基酸取代、插入和/或缺失的CDR3氨基酸序列;

(b) TCR V α 结构域和TCR V β 结构域, 所述TCR V β 结构域包含SEQ ID NO: 6、8、10、12、14、16、18、20和189中任一项所示的互补决定区3 (CDR3) 氨基酸序列或SEQ ID NO: 6、8、10、12、14、16、18、20和189中任一项所示的并且具有最多五个氨基酸取代、插入和/或缺失的CDR3氨基酸序列; 或者

(c) (a) 的V α 结构域和 (b) 的V β ,

其中所述结合蛋白能够特异性结合人细胞周期蛋白A1 (CCNA1) 肽FLDRFLSCM (SEQ ID NO: 1): 人白细胞抗原 (HLA) 复合物。

2. 根据权利要求1所述的结合蛋白, 其中:

(a) 所述V α 结构域包含SEQ ID NO: 5的CDR3氨基酸序列, 并且所述V β 结构域包含SEQ ID NO: 6的CDR3氨基酸序列;

(b) 所述V α 结构域包含SEQ ID NO: 7的CDR3氨基酸序列, 并且所述V β 结构域包含SEQ ID NO: 8的CDR3氨基酸序列;

(c) 所述V α 结构域包含SEQ ID NO: 9的CDR3氨基酸序列, 并且所述V β 结构域包含SEQ ID NO: 10的CDR3氨基酸序列;

(d) 所述V α 结构域包含SEQ ID NO: 11的CDR3氨基酸序列, 并且所述V β 结构域包含SEQ ID NO: 12的CDR3氨基酸序列;

(e) 所述V α 结构域包含SEQ ID NO: 13的CDR3氨基酸序列, 并且所述V β 结构域包含SEQ ID NO: 14的CDR3氨基酸序列;

(f) 所述V α 结构域包含SEQ ID NO: 15的CDR3氨基酸序列, 并且所述V β 结构域包含SEQ ID NO: 16的CDR3氨基酸序列;

(g) 所述V α 结构域包含SEQ ID NO: 17的CDR3氨基酸序列, 并且所述V β 结构域包含SEQ ID NO: 18的CDR3氨基酸序列;

(h) 所述V α 结构域包含SEQ ID NO: 19的CDR3氨基酸序列, 并且所述V β 结构域包含SEQ ID NO: 20的CDR3氨基酸序列; 或者

(i) 所述V α 结构域包含SEQ ID NO: 7的CDR3氨基酸序列, 并且所述V β 结构域包含SEQ ID NO: 189的CDR3氨基酸序列。

3. 根据权利要求1所述的结合蛋白, 其中:

(a) 所述V β 结构域包含SEQ ID NO: 6的CDR3氨基酸序列和由TRBV9*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列; 并且所述V α 结构域包含SEQ ID NO: 5的CDR3氨基酸序列和由TRAV30*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列;

(b) 所述V β 结构域包含SEQ ID NO: 8的CDR3氨基酸序列和由TRBV2*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列; 并且所述V α 结构域包含SEQ ID NO: 7的CDR3氨基酸序列和由TRAV10*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列;

(c) 所述V β 结构域包含SEQ ID NO: 10的CDR3氨基酸序列和由TRBV6-6*01基因编码的

CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列;并且所述V α 结构域包含SEQ ID NO:9的CDR3氨基酸序列和由TRAV24*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列;

(d) 所述V β 结构域包含SEQ ID NO:12的CDR3氨基酸序列和由TRBV5-6*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列;并且所述V α 结构域包含SEQ ID NO:11的CDR3氨基酸序列和由TRAV21*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列;

(e) 所述V β 结构域包含SEQ ID NO:14的CDR3氨基酸序列和由TRBV7-3*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列;并且所述V α 结构域包含SEQ ID NO:13的CDR3氨基酸序列和由TRAV21*02基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列;

(f) 所述V β 结构域包含SEQ ID NO:16的CDR3氨基酸序列和由TRBV7-3*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列;并且所述V α 结构域包含SEQ ID NO:15的CDR3氨基酸序列和由TRAV12-2*02基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列;

(g) 所述V β 结构域包含SEQ ID NO:18的CDR3氨基酸序列和由TRBV7-3*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列;并且所述V α 结构域包含SEQ ID NO:17的CDR3氨基酸序列和由TRAV17*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列;

(h) 所述V β 结构域包含SEQ ID NO:20的CDR3氨基酸序列和由TRBV7-2*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列;并且所述V α 结构域包含SEQ ID NO:19的CDR3氨基酸序列和由TRAV17*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列;或者

(i) 所述V β 结构域包含SEQ ID NO:189或101的CDR3氨基酸序列和TRBV10-2*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列;并且所述V α 结构域包含SEQ ID NO:7或97的CDR3氨基酸序列和由TRAV10*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列。

4. 根据权利要求1或2所述的结合蛋白,其中,所述结合蛋白包含:

(a) 与SEQ ID NO:36、38、40、42、44、86、49、51、53、57、59、63、65、67、81、83、162、165、170、172、174、176、178、180和186中任一项所包含的V α 氨基酸序列至少约90%相同的V α 结构域;

(b) 与SEQ ID NO:36、38、40、42、46、86、49、51、55、57、61、63、67、81、83、162、165、170、172、174、176、178、180和186任一项所包含的V β 氨基酸序列至少约90%相同的V β 结构域;或者

(c) (a) 的V α 结构域和(b)的V β ;

其中所述CDR中的至少三个或四个不具有突变,而具有突变的CDR具有三个或更少的氨基酸取代、插入和/或缺失。

5. 根据权利要求4所述的结合蛋白,其中,所述结合蛋白包含:

(a) V α 结构域,其包含或由SEQ ID NO:36、38、40、42、44、86、49、51、53、57、59、63、65、67、81、83、162、165、170、172、174、176、178、180和186中任一项所包含的V α 氨基酸序列组成;

(b) V β 结构域,其包含或由SEQ ID NO:36、38、40、42、46、86、49、51、55、57、61、63、67、81、83、162、165、170、172、174、176、178、180和186中任一项所包含的V β 氨基酸序列组成;或者

(c) (a) 的V α 结构域和(b)的V β 。

6. 根据权利要求5所述的结合蛋白,其中,所述结合蛋白包含:

(a) 包含SEQ ID NO:36中所包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:36中所包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域;

(b) 包含SEQ ID NO:38中所包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:38中所包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域;

(c) 包含SEQ ID NO:40中所包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:40中所包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域;

(d) 包含SEQ ID NO:42中所包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:42中所包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域;

(e) 包含SEQ ID NO:44中所包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:46中所包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域;

(f) 包含SEQ ID NO:86中所包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:86中所包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域;

(g) 包含SEQ ID NO:49中所包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:49中所包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域;

(h) 包含SEQ ID NO:51中所包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:51中所包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域;

(i) 包含SEQ ID NO:53中所包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:55中所包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域;

(j) 包含SEQ ID NO:57中所包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:57中所包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域;

(k) 包含SEQ ID NO:59中所包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:61中所包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域;

(l) 包含SEQ ID NO:63中所包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:63中所包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域;

(m) 包含SEQ ID NO:65中所包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:67中所包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域;

(n) 包含SEQ ID NO:67中所包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:67中所包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域;

(o) 包含在SEQ ID NO:81中所包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含在SEQ ID NO:81中所包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域;

(p) 包含SEQ ID NO:83中所包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:83中所包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域;

(q) 包含SEQ ID NO:162中所包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:162中所包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域;

(r) 包含SEQ ID NO:165中所包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:165中所包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域;

(s) 包含SEQ ID NO:170中所包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:170中所包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域;

(t) 包含SEQ ID NO:172中所包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:172中

所包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域;

(u) 包含SEQ ID NO:174中所包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:174中所包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域;

(v) 包含SEQ ID NO:176中所包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:176中所包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域;

(w) 包含SEQ ID NO:178中所包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:178中所包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域;

(x) 包含SEQ ID NO:180中所包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:180中所包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域;或者

(y) 包含SEQ ID NO:186中所包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:186中所包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域。

7. 一种结合蛋白, 包含:

(a) T细胞受体 (TCR) α 链可变 (V α) 结构域以及TCR β 链可变 (V β) 结构域, 所述TCR V α 结构域包含SEQ ID NO:21所示的互补决定区3 (CDR3) 氨基酸序列或SEQ ID NO:21所示的并且具有最多五个氨基酸取代、插入和/或缺失的CDR3氨基酸序列;

(b) TCR V α 结构域和TCR V β 结构域, 所述TCR V β 结构域包含SEQ ID NO:22所示的互补决定区3 (CDR3) 氨基酸序列或SEQ ID NO:22所示的并且具有最多五个氨基酸取代、插入和/或缺失的CDR3氨基酸序列;或者

(c) (a) 的V α 结构域和 (b) 的V β ,

其中所述结合蛋白能够特异性结合人细胞周期蛋白A1 (CCNA1) 肽SLIAAAAFCLA (SEQ ID NO:2): 人白细胞抗原 (HLA) 复合物。

8. 根据权利要求7所述的结合蛋白, 其中, 所述V α 结构域包含SEQ ID NO:21的CDR3氨基酸序列, 并且所述V β 结构域包含SEQ ID NO:22的CDR3氨基酸序列。

9. 根据权利要求7或8所述的结合蛋白, 其中:

所述V β 结构域包含SEQ ID NO:22的CDR3氨基酸序列和由TRBV19*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序; 并且

所述V α 结构域包含SEQ ID NO:21的CDR3氨基酸序列和由TRAV24*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列。

10. 根据权利要求7-9中任一项所述的结合蛋白, 其中, 所述结合蛋白包含:

(a) 与SEQ ID NO:69或73中所包含的V α 氨基酸序列至少约90%相同的V α 结构域;

(b) 与SEQ ID NO:71或73中所包含的V β 氨基酸序列至少约90%相同的V β 结构域;或者

(c) (a) 的V α 结构域和 (b) 的V β ;

其中所述CDR中的至少三个或四个不具有突变, 而具有突变的CDR具有三个或更少的氨基酸取代、插入和/或缺失。

11. 根据权利要求10所述的结合蛋白, 其中, 所述结合蛋白包含:

(a) V α 结构域, 其包含或由SEQ ID NO:69或73中所包含的V α 氨基酸序列组成;

(b) V β 结构域, 其包含或由SEQ ID NO:71或73所示的氨基酸序列组成;或者

(c) (a) 的V α 结构域和 (b) 的V β 。

12. 根据权利要求11所述的结合蛋白, 其中, 所述结合蛋白包含:

(a) 包含SEQ ID NO:69中所包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:71中所包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域;或者

(b) 包含SEQ ID NO:73中所包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:73中所包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域。

13. 一种结合蛋白, 包含:

(a) T细胞受体 (TCR) α 链可变 (V α) 结构域以及TCR β 链可变 (V β) 结构域, 所述TCR V α 结构域包含SEQ ID NO:23所示的互补决定区3 (CDR3) 氨基酸序列或SEQ ID NO:23所示的并且具有最多五个氨基酸取代、插入和/或缺失的CDR3氨基酸序列;

(b) TCR V α 结构域和TCR V β 结构域, 所述TCR V β 结构域包含SEQ ID NO:24所示的互补决定区3 (CDR3) 氨基酸序列或SEQ ID NO:24所示的并且具有最多五个氨基酸取代、插入和/或缺失的CDR3氨基酸序列;或者

(c) (a) 的V α 结构域和 (b) 的V β ,

其中所述结合蛋白能够特异性结合人细胞周期蛋白A1 (CCNA1) 肽YSLSEIVPCL (SEQ ID NO:3): 人白细胞抗原 (HLA) 复合物。

14. 根据权利要求13所述的结合蛋白, 其中, 所述V α 结构域包含SEQ ID NO:23的CDR3氨基酸序列, 并且所述V β 结构域包含SEQ ID NO:24的CDR3氨基酸序列。

15. 根据权利要求13或14所述的结合蛋白, 其中:

所述V β 结构域包含SEQ ID NO:24的CDR3氨基酸序列和由TRBV5-6*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列; 并且

所述V α 结构域包含SEQ ID NO:23的CDR3氨基酸序列和由TRAV19*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列。

16. 根据权利要求13-15中任一项所述的结合蛋白, 其中, 所述结合蛋白包含:

(a) 与SEQ ID NO:75或79中所包含的V α 氨基酸序列至少约90%相同的V α 结构域;

(b) 与SEQ ID NO:77或79中所包含的V β 氨基酸序列至少约90%相同的V β 结构域; 或者

(c) (a) 的V α 结构域和 (b) 的V β ;

其中所述CDR中的至少三个或四个不具有突变, 而具有突变的CDR具有三个或更少的氨基酸取代、插入和/或缺失。

17. 根据权利要求16所述的结合蛋白, 其中, 所述结合蛋白包含:

(a) V α 结构域, 其包含或由SEQ ID NO:75或79中所包含的V α 氨基酸序列组成;

(b) V β 结构域, 其包含或由SEQ ID NO:77或79中所包含的V β 氨基酸序列组成; 或者

(c) (a) 的V α 结构域和 (b) 的V β 。

18. 根据权利要求17所述的结合蛋白, 其中, 所述结合蛋白包含:

(a) 包含SEQ ID NO:75中所包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:77中所包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域; 或者

(b) 包含SEQ ID NO:79中所包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:79中所包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域。

19. 根据权利要求1至18中任一项所述的结合蛋白, 其中, 所述结合蛋白为TCR、TCR的抗原结合片段或嵌合抗原受体。

20. 根据权利要求19所述的结合蛋白, 其中, 所述TCR的抗原结合片段包含单链TCR

(scTCR)。

21. 根据权利要求19所述的结合蛋白,其中,所述结合蛋白是TCR。

22. 根据权利要求21所述的结合蛋白,其中,所述TCR包含 α 链恒定(C α)结构域,所述C α 结构域与SEQ ID NO:33的氨基酸序列具有至少90%的序列同一性。

23. 根据权利要求22所述的结合蛋白,其中,所述C α 结构域包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列。

24. 根据权利要求21所述的结合蛋白,其中,所述TCR包含截短的C α 结构域。

25. 根据权利要求24所述的结合蛋白,其中,所述截短的C α 结构域在其N末端、C末端或两者处包含与SEQ ID NO:33的氨基酸序列对应的1、2、3、4或更多个氨基酸的截短。

26. 根据权利要求19至25中任一项所述的结合蛋白,其中,所述TCR包含 β 链恒定(C β)结构域,所述C β 结构域与SEQ ID NO:34或SEQ ID NO:84的氨基酸序列具有至少90%的序列同一性。

27. 根据权利要求26所述的结合蛋白,其中,所述C β 结构域包含SEQ ID NO:34或SEQ ID NO:84的氨基酸序列。

28. 根据权利要求19-27中任一项所述的结合蛋白,其中,所述TCR包含:

(a) C α 结构域,其在SEQ ID NO:33的位置49处包含半胱氨酸取代,

(b) C β 结构域,其在SEQ ID NO:34的位置57处或在SEQ ID NO:84的位置56处包含半胱氨酸取代,或者

(c) (a) 和 (b) 两者。

29. 根据权利要求21所述的结合蛋白,其中,所述TCR包含:

(a) 与SEQ ID NO:36、38、40、42、44、86、49、51、53、57、59、63、65、67、81、83、162、165、170、172、174、176、178、180和186中任一项所包含的链氨基酸序列具有至少90%序列同一性的 α 链;

(b) 与SEQ ID NO:36、38、40、42、46、86、49、51、55、57、61、63、67、81、83、162、165、170、172、174、176、178、180和186中任一项所包含的链氨基酸序列具有至少90%序列同一性的 β 链;或者

(c) (a) 的 α 链和 (b) 的 β 链。

30. 根据权利要求29所述的结合蛋白,其中,所述TCR包含:

(a) 包含SEQ ID NO:36中所包含的 α 链氨基酸序列的所述TCR α 链以及包含SEQ ID NO:36中所包含的 β 链氨基酸序列的所述TCR β 链;

(b) 包含SEQ ID NO:38中所包含的 α 链氨基酸序列的所述TCR α 链以及包含SEQ ID NO:38中所包含的 β 链氨基酸序列的所述TCR β 链;

(c) 包含SEQ ID NO:40中所包含的 α 链氨基酸序列的所述TCR α 链以及包含SEQ ID NO:40中所包含的 β 链氨基酸序列的所述TCR β 链;

(d) 包含SEQ ID NO:42中所包含的 α 链氨基酸序列的所述TCR α 链以及包含SEQ ID NO:42中所包含的 β 链氨基酸序列的所述TCR β 链;

(e) 包含SEQ ID NO:44中所包含的 α 链氨基酸序列的所述TCR α 链以及包含SEQ ID NO:46中所包含的 β 链氨基酸序列的所述TCR β 链;

(f) 包含SEQ ID NO:86中所包含的 α 链氨基酸序列的所述TCR α 链以及包含SEQ ID NO:

86中所包含的β链氨基酸序列的所述TCR β链；

(g) 包含SEQ ID NO:49中所包含的α链氨基酸序列的所述TCR α链以及包含SEQ ID NO:49中所包含的β链氨基酸序列的所述TCR β链；或者

(h) 包含SEQ ID NO:51中所包含的α链氨基酸序列的所述TCR α链以及包含SEQ ID NO:51中所包含的β链氨基酸序列的所述TCR β链；

(i) 包含SEQ ID NO:53中所包含的α链氨基酸序列的所述TCR α链以及包含SEQ ID NO:55中所包含的β链氨基酸序列的所述TCR β链；

(j) 包含SEQ ID NO:57中所包含的α链氨基酸序列的所述TCR α链以及包含SEQ ID NO:57中所包含的β链氨基酸序列的所述TCR β链；

(k) 包含SEQ ID NO:59中所包含的α链氨基酸序列的所述TCR α链以及包含SEQ ID NO:61中所包含的β链氨基酸序列的所述TCR β链；

(l) 包含SEQ ID NO:63中所包含的α链氨基酸序列的所述TCR α链以及包含SEQ ID NO:63中所包含的β链氨基酸序列的所述TCR β链；

(m) 包含SEQ ID NO:65中所包含的α链氨基酸序列的所述TCR α链以及包含SEQ ID NO:67中所包含的β链氨基酸序列的所述TCR β链；

(n) 包含SEQ ID NO:67中所包含的α链氨基酸序列的所述TCR α链以及包含SEQ ID NO:67中所包含的β链氨基酸序列的所述TCR β链；

(o) 包含SEQ ID NO:81中所包含的α链氨基酸序列的所述TCR α链以及包含SEQ ID NO:81中所包含的β链氨基酸序列的所述TCR β链；

(p) 包含SEQ ID NO:83中所包含的α链氨基酸序列的所述TCR α链以及包含SEQ ID NO:83中所包含的β链氨基酸序列的所述TCR β链；

(q) 包含SEQ ID NO:162中所包含的α链氨基酸序列的所述TCR α链以及包含SEQ ID NO:162中所包含的β链氨基酸序列的所述TCR β链；

(r) 包含SEQ ID NO:165中所包含的α链氨基酸序列的所述TCR α链以及包含SEQ ID NO:165中所包含的β链氨基酸序列的所述TCR β链；

(s) 包含SEQ ID NO:170中所包含的α链氨基酸序列的所述TCR α链以及包含SEQ ID NO:170中所包含的β链氨基酸序列的所述TCR β链；

(t) 包含SEQ ID NO:172中所包含的α链氨基酸序列的所述TCR α链以及包含SEQ ID NO:172中所包含的β链氨基酸序列的所述TCR β链；

(u) 包含SEQ ID NO:174中所包含的α链氨基酸序列的所述TCR α链以及包含SEQ ID NO:174中所包含的β链氨基酸序列的所述TCR β链；

(v) 包含SEQ ID NO:176中所包含的α链氨基酸序列的所述TCR α链以及包含SEQ ID NO:176中所包含的β链氨基酸序列的所述TCR β链；

(w) 包含SEQ ID NO:178中所包含的α链氨基酸序列的所述TCR α链以及包含SEQ ID NO:178中所包含的β链氨基酸序列的所述TCR β链；

(x) 包含SEQ ID NO:180中所包含的α链氨基酸序列的所述TCR α链以及包含SEQ ID NO:180中所包含的β链氨基酸序列的所述TCR β链；或者

(y) 包含SEQ ID NO:186中所包含的α链氨基酸序列的所述TCR α链以及包含SEQ ID NO:186中所包含的β链氨基酸序列的所述TCR β链。

31. 根据权利要求21所述的结合蛋白, 其中, 所述TCR包含:

(a) 与SEQ ID NO:69的氨基酸序列或SEQ ID NO:73中所包含的 α 链氨基酸序列具有至少90%序列同一性的 α 链;

(b) 与SEQ ID NO:71的氨基酸序列或SEQ ID NO:73中所包含的 α 链氨基酸序列具有至少90%的序列同一性的 β 链; 或者

(c) (a) 的 α 链和 (b) 的 β 链。

32. 根据权利要求31所述的结合蛋白, 其中, 所述TCR包含:

(a) 包含SEQ ID NO:69中所包含的氨基酸序列的所述TCR α 链以及包含SEQ ID NO:71中所包含的氨基酸序列的所述TCR β 链;

(b) 包含SEQ ID NO:73中所包含的 α 链氨基酸序列的所述TCR α 链以及包含SEQ ID NO:73中所包含的 β 链氨基酸序列的所述TCR β 链; 或者

(c) 包含SEQ ID NO:182中所包含的 α 链氨基酸序列的所述TCR α 链以及包含SEQ ID NO:182中所包含的 β 链氨基酸序列的所述TCR β 链。

33. 根据权利要求21所述的结合蛋白, 其中, 所述TCR包含:

(a) 与SEQ ID NO:75的氨基酸序列或SEQ ID NO:79中所包含的 α 链氨基酸序列具有至少90%序列同一性的 α 链;

(b) 与SEQ ID NO:77的氨基酸序列或SEQ ID NO:79中所包含的 α 链氨基酸序列具有至少90%的序列同一性的 β 链; 或者

(c) (a) 的 α 链和 (b) 的 β 链。

34. 权利要求33的结合蛋白, 其中所述TCR包含:

(a) 包含SEQ ID NO:75中所包含的氨基酸序列的所述TCR α 链以及包含SEQ ID NO:77中所包含的氨基酸序列的所述TCR β 链;

(b) 包含SEQ ID NO:79中所包含的 α 链氨基酸序列的所述TCR α 链以及包含SEQ ID NO:79中所包含的 β 链氨基酸序列的所述TCR β 链; 或者

(c) 包含SEQ ID NO:184中所包含的 α 链氨基酸序列的所述TCR α 链以及包含SEQ ID NO:184中所包含的 β 链氨基酸序列的所述TCR β 链。

35. 权利要求1-34中任一项的结合蛋白, 其中, 所述HLA包含HLA-A*02:01。

36. 权利要求1-35中任一项的结合蛋白, 其中, 所述结合蛋白是嵌合、人源化或人TCR, TCR的抗原结合片段或嵌合抗原受体。

37. 一种多核苷酸, 其编码包含T细胞受体 (TCR)、 α 链可变 (V α) 结构域和TCR β 链可变 (V β) 结构域的结合蛋白, 其中编码的结合蛋白能够特异性结合人细胞周期蛋白A1 (CCNA1) 肽YSLSEIVPCL (SEQ ID NO:3), 其中多核苷酸经密码子优化以在宿主细胞中表达。

38. 根据权利要求37所述的多核苷酸, 其中, 所述编码的结合蛋白能够特异性结合CCNA1肽YSLSEIVPCL (SEQ ID NO:3):HLA复合物。

39. 根据权利要求38所述的多核苷酸, 其中, 所述ELLA包含HLA-A*02:01。

40. 一种多核苷酸, 其编码权利要求1-36中任一项的结合蛋白。

41. 根据权利要求40所述的多核苷酸, 其中, 编码所述结合蛋白的所述多核苷酸经密码子优化以在目的宿主细胞中表达。

42. 一种载体, 其包含权利要求37-41中任一项的多核苷酸。

43. 根据权利要求42所述的载体,其中,所述载体是病毒载体。
44. 根据权利要求43所述的载体,其中,所述病毒载体是慢病毒载体或 γ -逆转录病毒载体。
45. 一种宿主细胞,其包含权利要求37-41中任一项的多核苷酸或权利要求42-44中任一项的载体,其中所述宿主细胞在其细胞表面上表达由所述多核苷酸编码的结合蛋白。
46. 根据权利要求45所述的宿主细胞,其中,所述宿主细胞是造血祖细胞或免疫细胞。
47. 根据权利要求46所述的宿主细胞,其中,所述免疫细胞是CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞、CD4-CD8-T细胞、 $\gamma\delta$ T细胞、天然杀伤细胞、树突状细胞或其任意组合。
48. 根据权利要求46所述的宿主细胞,其中,所述免疫细胞是T细胞。
49. 根据权利要求48所述的宿主细胞,其中,所述T细胞是幼稚T细胞、中央记忆T细胞、效应子记忆T细胞或其任意组合。
50. 根据权利要求45-49中任一项所述的宿主细胞,其中,所述宿主细胞是人。
51. 一种组合物,其包含权利要求45-50中任一项的宿主细胞以及药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。
52. 一种治疗过度增殖性疾病的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用组合物,所述组合物包含对权利要求1-36中任一项的对CCNA1肽具有特异性的结合蛋白、权利要求37-41中任一项的编码对CCNA1肽具有特异性的结合蛋白的多核苷酸、权利要求42-44中任一项的载体、权利要求45-50中任一项的宿主细胞或权利要求51的组合物。
53. 根据权利要求52所述的方法,其中,所述过度增殖性疾病是血液系统恶性肿瘤或实体癌。
54. 根据权利要求53所述的方法,其中,所述血液恶性肿瘤选自急性淋巴细胞白血病(ALL)、急性髓细胞性白血病(AML)、慢性粒细胞性白血病(CML)、慢性嗜酸性粒细胞白血病(CEL)、骨髓增生异常综合症(MDS)、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)和多发性骨髓瘤(MM)。
55. 根据权利要求53所述的方法,其中,所述实体癌选自胆道癌、膀胱癌、骨和软组织癌、脑肿瘤、乳腺癌、宫颈癌、结肠癌、结肠直肠癌、结肠直肠癌、类胶质瘤、胚胎癌、子宫内膜癌、食道癌、胃癌、胃腺癌、多形性胶质母细胞瘤、妇科肿瘤、头颈鳞状细胞癌、肝癌、肺癌、间皮瘤、恶性黑色素瘤、骨肉瘤、卵巢癌、胰腺癌、胰腺导管癌、原发性星形细胞癌、原发性甲状腺癌、前列腺癌、肾癌、肾细胞癌、横纹肌肉瘤、皮肤癌、软组织肉瘤、睾丸生殖细胞肿瘤、尿路上皮癌、子宫肉瘤或子宫癌。
56. 根据权利要求52-55中任一项所述的方法,其中,所述结合蛋白能够以I类HLA限制的方式促进针对人细胞周期蛋白A1的抗原特异性T细胞应答。
57. 根据权利要求56所述的方法,其中,所述抗原特异性T细胞应答包含CD4⁺辅助性T淋巴细胞(Th)应答和CD8⁺细胞毒性T淋巴细胞(CTL)应答中的至少一种。
58. 根据权利要求57所述的方法,其中,所述CTL应答针对CCNA1过表达的细胞。
59. 根据权利要求52-58中任一项的方法,其中,所述宿主细胞是肠外给药的。
60. 根据权利要求52-59中任一项所述的方法,其中,所述方法包括向所述受试者施用多个剂量的所述宿主细胞。
61. 根据权利要求60所述的方法,其中,所述多个剂量在大约两周至大约四周的施用之间的间隔内被施用。

62. 根据权利要求52-61中任一项所述的方法,其中,以大约 10^7 细胞/ m^2 到大约 10^{11} 细胞/ m^2 的剂量向所述受试者施用所述宿主细胞。

63. 根据权利要求52-62中任一项所述的方法,其中,所述方法进一步包括向所述受试者施用细胞因子。

64. 根据权利要求63所述的方法,其中,所述细胞因子是IL-2、IL-15、IL-21或其任意组合。

65. 根据权利要求64所述的方法,其中,所述细胞因子是IL-2并且与所述宿主细胞同时或相继施用。

66. 根据权利要求65所述的方法,其中,所述细胞因子是连续施用的,条件是所述受试者在施用细胞因子之前被施用了至少三或四次所述宿主细胞。

67. 根据权利要求63-66中任一项的方法,其中,所述细胞因子是IL-2并且是皮下给药的。

68. 根据权利要求52-67中任一项所述的方法,其中,所述受试者进一步接受免疫抑制疗法。

69. 根据权利要求68所述的方法,其中,所述免疫抑制疗法选自钙调神经磷酸酶抑制剂、皮质类固醇、微管抑制剂、低剂量的霉酚酸前药或其任意组合。

70. 根据权利要求52-69中任一项所述的方法,其中,所述受试者已经接受了非清髓性或清髓性造血细胞移植。

71. 根据权利要求70所述的方法,其中,在所述非清髓性造血细胞移植后至少三个月向所述受试者施用所述宿主细胞。

72. 根据权利要求71所述的方法,其中,在清髓性造血细胞移植后至少两个月向受试者施用宿主细胞。

73. 根据权利要求51-72中任一项所述的方法,其进一步包括向所述受试者施用免疫抑制剂的抑制剂。

74. 根据权利要求73所述的方法,其中,所述免疫抑制剂的抑制剂抑制PD-1、PD-L1、PD-L2、LAG3、CTLA4、B7-H3、B7-H4、CD244/2B4、HVEM、BTLA、CD160、TIM3、GAL9、腺苷、A2aR、免疫抑制性细胞因子、IDO、精氨酸酶、VISTA、TIGIT、PVRIG、PVRL2、KIR、LAIR1、CEACAM-1、CEACAM-3、CEACAM-5、CD160、Treg细胞或其任意组合。

75. 根据权利要求73或74所述的方法,其中,所述免疫抑制剂的抑制剂选自抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、小分子、RNAi分子、核酶、适体、反义寡核苷酸或其任意组合。

76. 根据权利要求75所述的方法,其中,所述免疫抑制剂的抑制剂包含吡吡珠单抗、尼武单抗、派姆单抗、MEDI0680、AMP-224、BMS-936558、BMS-936559、德瓦鲁单抗、阿特朱单抗、阿维鲁单抗、MPDL3280A、LAG525、IMP321、IMP701、9H12、BMS-986016、伊匹单抗、tremelimumab、阿巴西普、贝拉西普、enoblituzumab、376.96、抗B7-H4抗体或抗原结合片段、lirilumab、左旋1-甲基色氨酸、依帕妥司他、依布硒仑、吡啶莫德、NLG919、1-甲基-色氨酸(1-MT)-替拉-扎明、N(ω)-硝基-L-精氨酸甲酯(L-NAME)、N- ω -羟基-nor-1-精氨酸(nor-NOHA)、L-NOHA、2(S)-氨基-6-硼己酸(ABH)、S-(2-硼乙基)-L-半胱氨酸(BEC)、CA-170、COM902、COM701或其抗原结合片段、或其任意组合。

77. 根据权利要求52-76中任一项所述的方法,其进一步包括向所述受试者施用治疗有

效量的刺激性免疫检查点分子的激动剂。

78. 根据权利要求77所述的方法, 其中, 所述激动剂选自 urelumab、MEDI6469、MEDI6383、MEDI0562、来那度胺、泊马利度胺、CDX-1127、TGN1412、CD80、CD86、CP-870893、rhuCD40L、SGN-40、IL-2、GSK3359609、mAb 88.2、JTX-2011、Icos 145-1、Icos 314-8或其任意组合。

79. 根据权利要求52-78中任一项所述的方法, 其进一步包括向所述受试者施用以下一种或多种: 治疗性抗体、化学疗法、放射疗法、手术或其任意组合。

80. 根据权利要求52-79中任一项的方法, 其中所述受试者是人类。

81. 一种单位剂型, 其包含权利要求45-50中任一项的宿主细胞。

82. 根据权利要求81所述的单位剂型, 其中, 所述宿主细胞的剂量为大约 10^7 细胞/ m^2 到大约 10^{11} 细胞/ m^2 。

细胞周期蛋白A1特异性T细胞受体及其用途

[0001] 关于序列表的陈述

[0002] 与本申请相关联的序列表以文本格式代替纸质副本提供,并且在此通过引用结合到说明书中。包含序列表的文本文件的名称为360056_460WO_SEQUENCE_LISTING.txt。文本文件为269KB,创建于2019年2月10日,正在通过EFS-Web电子提交。

背景技术

[0003] 涉及离体细胞扩增和输注肿瘤反应性T细胞的过继免疫疗法是一种新兴的治疗方式,特别是在常规治疗失败的患者中(Stromnes等,Immunol.版本号257:145-64,2014)。在一些情况下,肿瘤反应性T细胞包含对肿瘤特异或在肿瘤上过表达的抗原具有特异性的内源性、外源性和/或工程化的受体。

[0004] 癌症-睾丸抗原细胞周期蛋白A1(CCNA1)是一种替代性的A型细胞周期蛋白,由于其在急性髓细胞白血病(AML)和许多上皮癌(包含睾丸癌、子宫内膜癌和卵巢癌)中过度表达,因此是治疗各种癌症的有吸引力的靶标。细胞周期蛋白A1被认为促进细胞增殖和存活,已被证明在小鼠中是致白血病的,并且在超过50%的AML患者的白血病干细胞中被检测到。

[0005] 本文提供了鉴定与细胞周期蛋白A1反应的肿瘤反应性T细胞的方法、鉴定对细胞周期蛋白A1特异的T细胞受体(TCR)的方法、以及使用本文描述的方法鉴定的特异性TCR。

附图说明

[0006] 图1描绘了针对HLA-A2限制性表位的细胞周期蛋白A1 TCR发现方案。示出了HLA-A2前导肽227-235(SEQ ID NO:1)、341-351(SEQ ID NO:2)和370-379(SEQ ID NO:3)在细胞周期蛋白A1蛋白序列(SEQ ID NO:4)的位置。

[0007] 图2示出了用细胞周期蛋白A1重叠肽库刺激CD8⁺ T细胞导致抗原特异性细胞系的产生。

[0008] 图3A-图3B示出了通过计算单个T细胞克隆的四聚体解离常数(K_d)来鉴定高亲和力HLA-A2:01/细胞周期蛋白A1 TCR。

[0009] 图4示出了用于分离、鉴定和表达选自高亲和力克隆的高亲和力TCR的示意图。

[0010] 图5A-图5D示出了HLA-A2:01/细胞周期蛋白A1 TCR识别肽脉冲靶标并杀死HLA匹配的细胞周期蛋白A1+白血病细胞系和原代AML细胞。

[0011] 图6示出了用于体内安全性测试的顶部HLA-A2:01/细胞周期蛋白A1 TCR候选物的诱变示意图。

具体实施方式

[0012] 在某些方面,本公开提供了细胞周期蛋白A1特异性的结合蛋白(例如,T细胞受体(TCR)),其与主要组织相容性复合物(MHC)(例如,人白细胞抗原(HLA))有关,用于例如过继免疫疗法来治疗癌症。

[0013] 在某些实施例中,本文所述的组合物和方法将具有治疗效用,用于治疗与CCNA1过

表达(例如,以统计学上显著的方式,可检测到的CCNA1表达的水平大于在正常或无病的细胞中可检测到的CCNA-1的表达水平)相关的疾病和病症。此类疾病包含各种形式的过度增殖性疾病,例如急性髓细胞性白血病。这些和相关用途的非限制性实例在本文中进行了描述,包含体外、离体和体内刺激CCNA1抗原特异性T细胞反应,例如通过使用表达对CCNA1肽具有特异性的TCR的重组T细胞(例如,FLDRFLSCM(SEQ ID NO:1)、SLIAAAAFCLA(SEQ ID NO:2)或YSLSEIVPCL(SEQ ID NO:3))。

[0014] 在更详细地阐述本公开之前,提供在本文中使用的某些术语的定义可能有助于理解本公开。贯穿本公开阐述了附加定义。

[0015] 在本说明书中,除非另有说明,否则任何浓度范围、百分比范围、比率范围或整数范围应理解为包含所述范围内的任何整数的值并且在适当的时候包含其分数(例如,整数的十分之一和十分之一)。同样,除非另有说明,否则本文所叙述的与任何物理特征,例如聚合物亚基、尺寸或厚度有关的任何数值范围应理解为包含所叙述的范围内的任何整数。如本文所用,除非另外指出,否则术语“大约”是指所指示的范围、值或结构的 $\pm 20\%$ 。应当理解,本文所用的术语“一个”和“一种”是指所列举的组分中的“一个或多个”。替代方案(例如“或”)的使用应理解为是指替代方案之一、两者或它们的任意组合。如本文所用,术语“包括(include)”、“具有”和“包含(comprise)”是同义使用的,这些术语和其变体旨在被解释为非限制性的。

[0016] 另外,应当理解,本申请公开了衍生自本文所述的结构和取代基的各种组合的单个化合物或化合物组,其程度与单独阐述每种化合物或化合物组的程度相同。因此,特定结构或特定取代基的选择在本公开的范围之内。

[0017] 术语“基本上由...组成”将权利要求的范围限制为指定的材料或步骤,或者限制为实质上不影响要求保护的发明的基本特征的材料或步骤。例如,当结构域、区域、模块或蛋白质的氨基酸序列包含其延伸、删除、突变或其组合(例如,氨基酸或羧基末端或结构域之间的氨基酸),其共同起作用时贡献结构域、区域、模块或蛋白质的长度的最多20%(例如,15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%或1%),并且基本上不会影响结构域、区域、模块或蛋白质的活性(例如,结合蛋白的靶结合亲和力)(即,将活性降低的幅度不超过50%,例如不超过40%、30%、25%、20%、15%、10%、5%或1%)时,蛋白质结构域、区域或模块(例如,结合结构域、铰链区、接头模块)或蛋白质(可以具有一个或多个结构域、区域或模块)“基本上由特定氨基酸序列组成”。

[0018] 如本文所用,“免疫系统细胞”是指源自骨髓的造血干细胞的免疫系统的任何细胞,其产生两个主要谱系,即髓系祖细胞(其产生诸如单核细胞、巨噬细胞、树突状细胞、巨核细胞和粒细胞)和淋巴样祖细胞(会产生淋巴样细胞,例如T细胞、B细胞和自然杀伤(NK)细胞)。示例性的免疫系统细胞包含CD4⁺ T细胞、CD8⁺ T细胞、CD4-CD8-双重阴性T细胞、gdT细胞、调节性T细胞、天然杀伤细胞和树突状细胞。巨噬细胞和树突状细胞可以称为“抗原呈递细胞”或“APC”,它们是当与肽复合的APC表面上的主要组织相容性复合物(MHC)受体与T细胞表面上的TCR相互作用时可以激活T细胞的专门细胞。

[0019] 如本文所用,“造血祖干细胞”是指未分化的造血细胞,其能够在体内自我更新,在体外基本上无限制地繁殖,并且能够分化为其他细胞类型,包括T细胞谱系的细胞。造血干细胞可以为例如但不限于从胎儿肝脏、骨髓、脐带血分离。

[0020] 如本文所用,“造血祖细胞”是可以衍生自造血干细胞或胎儿组织并且能够进一步分化成成熟细胞类型(例如免疫系统细胞)的细胞。示例性的造血祖细胞包含具有CD24^{Lo}Lin⁻CD117⁺表型或在胸腺中发现的那些(称为祖细胞)。

[0021] 如本文所用,术语“宿主”是指以异源或外源核酸分子进行遗传修饰以产生目的多肽(例如,高亲和力或增强亲和力的抗CCNA-1 TCR)的细胞(例如,T细胞)或微生物。在某些实施例中,宿主细胞可任选地具有或被修饰以包含赋予与异源或外源蛋白质的生物合成相关或不相关的所需特性的其他遗传修饰(例如,包含可检测的标记;删除、改变或截短的内源TCR;增加的共刺激因子表达)。在某些实施例中,宿主细胞是用编码CCNA-1抗原肽特异的TCR B β 、TCR α 链或两者的异源或外源核酸分子转导的人造血祖细胞。在某些实施例中,宿主细胞是自体的、同种异体的或同基因的,以使其接受包含编码本发明的结合蛋白的多核苷酸的宿主细胞。

[0022] “T细胞”或“T淋巴细胞”是在胸腺中成熟并产生T细胞受体(TCR)的免疫系统细胞,其可以从例如外周血单核细胞(PBMC)中获得(富集或分离)并且在本文中被称作“块(bulk)”T细胞。分离T细胞后,可以在扩增之前或之后将细胞毒性(CD8⁺)和辅助(CD4⁺)T细胞分为幼稚T细胞亚群、记忆T细胞亚群和效应T细胞亚群。T细胞可以是幼稚的(不暴露于抗原;与T_{CM}相比,CD62L、CCR7、CD28、CD3、CD127和CD45RA的表达增加,而CD45RO的表达减少),记忆T细胞(T_M) (经历过抗原性和长寿的)和效应细胞(经历过抗原的和有细胞毒性的)。T_M可以进一步分为中央记忆T细胞(与幼稚T细胞相比,TCM、CD62L、CCR7、CD28、CD127、CD45RO和CD95的表达增加,而CD54RA的表达减少)和效应记忆T细胞(T_{EM},与幼稚T细胞或T_{CM}相比,CD62L、CCR7、CD28、CD45RA的表达减少,而CD127的表达增加)。效应T细胞(T_E)是指经历过抗原的CD8⁺细胞毒性T淋巴细胞,与T_{CM}相比,其CD62L、CCR7、CD28的表达降低,并且颗粒酶和穿孔素呈阳性。辅助T细胞(T_H)为CD4⁺细胞,其通过释放细胞因子来影响其他免疫细胞的活性。CD4⁺ T细胞可以激活和抑制适应性免疫应答,而诱导哪种作用将取决于其他细胞和信号的存在。可以根据已知技术收集T细胞,并且可以通过已知技术,例如通过与抗体的亲和力结合、流式细胞术或免疫磁选择来富集和耗尽各种亚群及其组合。其他示例性T细胞包含调节性T细胞,例如CD4⁺CD25⁺(Foxp3⁺)调节性T细胞和Treg17细胞,以及Tr1、Th3、CD8⁺CD28⁺和Qa-1限制性T细胞。

[0023] “T细胞受体”(TCR)是指免疫球蛋白超家族成员(具有可变的结合结构域、恒定结构域、跨膜区域和短的细胞质尾巴;参见,例如,Janeway et al., Immunobiology: The Immune System in Health and Disease, 3rd Ed., Current Biology Publications, p.4: 33, 1997),其能够特异性结合与MHC受体结合的抗原肽。TCR可以发现在细胞表面或呈可溶性形式,通常由具有 α 和 β 链(分别称为TCR α 和TCR β)或 γ 链和 δ 链(也称为TCR γ 和TCR δ)的异二聚体组成。与免疫球蛋白一样,TCR链的细胞外部分(例如, α 链、 β 链)包含两个免疫球蛋白结构域、位于N端的可变结构域(例如, α 链可变结构域或V α , β 链可变结构域或V β ;通常基于Kabat编号的氨基酸1至116, Rabat et al., "Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health and Human Services, Public Health Service National Institutes of Health, 1991, 5th ed.)和与细胞膜相邻的一个恒定域(例如, α 链恒定域或C α , 通常是基于Rabat的氨基酸117至259, β 链恒定结构域或C β , 通常是基于Rabat的氨基酸117至295)。同样与免疫球蛋白类似,可变结构域包含由构架区(FR)隔

开的互补决定区(CDR)(Jores et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. U.S.A. 87:9138, 1990; Chothia et al., EMBO J. 7:3745, 1988; 也参见 Lefranc et al., Dev. Comp. Immunol. 27:55, 2003)。在某些实施例中, TCR在T细胞(或T淋巴细胞)的表面上发现并与CD3复合物缔合。如本公开中使用的TCR的来源可以来自各种动物物种, 诸如人、小鼠、大鼠、兔或其他哺乳动物。

[0024] 术语“可变区”或“可变结构域”是指和TCR与抗原的结合相关的TCR α 链或 β 链(或 γ δ TCR的 γ 链和 δ 链)的结构域。幼稚TCR的 α 链和 β 链(分别为V α 和V β)的可变结构域通常具有相似的结构, 每个结构域包含四个保守框架区(FR)和三个CDR。V α 结构域由两个独立的DNA片段(可变基因片段和连接基因片段(V-J))编码; V β 结构域由三个独立的DNA片段(可变基因片段、多样性基因片段和连接基因片段(V-D-J))编码。

[0025] 与“高变区”或“HVR”同义的术语“互补决定区”和“CDR”在本领域中已知是指赋予抗原特异性和/或结合亲和力的TCR可变区内的氨基酸的非连续序列。通常, 在每个 α 链可变区(α CDR1、 α CDR2、 α CDR3)中存在三个CDR, 在每个 β 链可变区(β CDR1、 β CDR2、 β CDR3)中存在三个CDR。CDR3被认为是负责识别经处理抗原的主要CDR。CDR1和CDR2主要与MHC相互作用。但是, 也已示出 α 链和 β 链的CDR1环分别与抗原肽的N末端和C末端相互作用, 并且可能有助于肽特异性和MHC结合。

[0026] 如本文所用, “TCR复合物”是指通过CD3与TCR的缔合形成的复合物。例如, TCR复合物可以由CD3 γ 链、CD3 δ 链、两条CD3 ϵ 链、CD3 ζ 链的同二聚体、TCR α 链和TCR β 链组成。或者, TCR复合物可以由CD3 γ 链、CD3 δ 链、两条CD3 ϵ 链、CD3 ζ 链的同二聚体、TCR γ 链和TCR δ 链组成。

[0027] 如本文所用, “TCR复合物的组分”是指TCR链(即TCR α 、TCR β 、TCR γ 或TCR δ)、CD3链(即CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 或CD3 ζ)或由两条或更多条TCR链或CD3链(例如TCR α 和TCR β 的复合体、TCR γ 和TCR δ 的复合体、CD3 ϵ 和CD3 δ 的复合体、CD3 γ 和CD3 ϵ 的复合体或TCR α 、TCR β 、CD3 γ 、CD3 δ 和两条CD3 ϵ 链的亚TCR复合体)。

[0028] 如本文所用, “抗原”或“Ag”是指引起免疫应答的免疫原性分子。这种免疫应答可能涉及抗体的产生、特定免疫学上具有活性的细胞(例如, T细胞)的激活或两者。抗原(免疫原性分子)可以是例如肽、糖肽、多肽、糖多肽、多核苷酸、多糖、脂质等。显而易见, 抗原可以合成, 重组产生或衍生自生物样品。可以包含一种或多种抗原的示例性生物样品包含组织样品、肿瘤样品、细胞、生物液或其组合。抗原可以由经过修饰或基因工程表达抗原的细胞产生。示例性抗原包含CCNA-1。

[0029] 术语“表位”或“抗原表位”包含被关联结合分子识别并特异性结合的任何分子、结构、氨基酸序列或蛋白质决定簇, 例如免疫球蛋白、T细胞受体(TCR)、嵌合抗原受体、或其他结合分子、结构域或蛋白质。抗原决定簇通常包含分子的化学活性表面基团, 例如氨基酸或糖侧链, 并且可以具有特定的三维结构特征以及特定的电荷特征。例如, CCNA-1蛋白或其片段可以是包含一个或多个抗原表位的抗原。

[0030] “主要组织相容性复合物”(MHC)是指将肽抗原递送至细胞表面的糖蛋白。MHC I类分子是异质二聚体, 其具有跨链的膜(具有三个 α 结构域)和非共价结合的 β 2微球蛋白。MHC II类分子由两个跨膜糖蛋白 α 和 β 组成, 两者都跨膜。每个链都有两个结构域。MHC I类分子将起源于细胞液的肽传递到细胞表面, 在该细胞表面, 肽:MHC复合物被CD8⁺ T细胞识别出。

MHC II类分子将起源于囊泡系统的肽传递到细胞表面,在该细胞表面,它们被CD4⁺ T细胞识别。人MHC被称为人白细胞抗原(HLA)。

[0031] 如本文所用,“结合结构域”(也称为“结合区”或“结合部分”)是指具有以下能力的分子或其部分(例如,肽、寡肽、多肽、蛋白质):特异性地且非共价地与靶标(例如,CCNA-1、CCNA-1肽:MHC复合物)缔合、联合或结合。结合结构域包含用于生物分子、分子复合物(即,包含两个或更多个生物分子的复合物)或其他目的靶标的任何天然存在的、合成的、半合成的或重组产生的结合伴侣。示例性结合域包含单链免疫球蛋白可变区(例如scTCR、scFv)、受体胞外域、配体(例如细胞因子、趋化因子)或合成多肽,它们由于其与生物分子、分子复合物或其他目标靶标结合的特异性能力而被选出。

[0032] 如本文所用,“特异性结合”或“特异性地”是指结合蛋白(例如,TCR受体)或结合结构域(或其融合蛋白)与靶分子(例如,CCNA-1肽)的缔合或结合。HLA或四聚体(例如HLA络合物),其亲和力或 K_a (即具有1/M单位的特定结合相互作用的平衡缔合常数)等于或大于 $10^5 M^{-1}$ (等于-缔合反应的解离速率 $[k_{off}]$ 至解离速率 $[k_{off}]$,而不会与样品中的任何其他分子或组分显著缔合或结合。结合蛋白或结合结构域(或其融合蛋白)可分类为“高亲和力”结合蛋白或结合结构域(或其融合蛋白)或“低亲和力”结合蛋白或结合结构域(或其融合蛋白)。“高亲和力”结合蛋白或结合结构域是指 K_a 至少为 $10^7 M^{-1}$,至少 $10^8 M^{-1}$,至少 $10^9 M^{-1}$,至少 $10^{10} M^{-1}$,至少 $10^{11} M^{-1}$ 的那些结合蛋白或结合结构域,至少 $10^{12} M^{-1}$ 或至少 $10^{13} M^{-1}$ 。“低亲和力”结合蛋白或结合结构域是指 K_a 最高为 $10^7 M^{-1}$,最高为 $10^6 M^{-1}$,最高为 $10^5 M^{-1}$ 的那些结合蛋白或结合结构域。或者,亲和力可以定义为与M单元(例如 $10^5 M^{-1}$ 至 $10^{13} M^{-1}$)的特定结合相互作用的平衡解离常数(K_d)。

[0033] 在某些实施例中,受体或结合结构域可具有“增强的亲和力”,这是指与野生型(或亲本)结合结构域相比对靶抗原具有更强结合的选择或工程化的受体或结合结构域。例如,增强的亲和力可能是由于对靶抗原的 K_a (平衡缔合常数)高于野生型结合域,是由于对靶抗原的 K_d (解离常数)小于野生型结合域,或是由于靶抗原的解离速率(k_{off})小于野生型结合域的解离速率(k_{off}),或它们的组合。在某些实施例中,增强的亲和力TCR可以被密码子优化以增强在特定宿主细胞例如T细胞中的表达(Scholten等,Clin.Immunol.119:135,2006)。

[0034] 已知多种测定法用于鉴定与特定靶标特异性结合的本发明的结合域,以及测定结合域或结合蛋白亲和力,例如蛋白质印迹、ELISA、分析超速离心、光谱法、表面等离子共振(Biacore®)分析、MHC四聚体分析(参见,例如,Scatchard等,Ann.NY Acad.Sci.57:660,1949;Wilson,Science 295:2103,2002;Wolff等,Cancer Res.53:2560,参见,例如,例如,J.Med.,1993;Altman等人,Science 274:94-96,1996;和美国专利号5,283,173、5,468,614或等效物)。

[0035] 术语“CCNA-1特异性结合蛋白”是指与CCNA-1或其肽或片段特异性结合的蛋白或多肽。在一些实施例中,蛋白质或多肽以或至少以大约某个特定亲和力结合于例如细胞表面上CCNA-1或其肽,例如与MHC或HLA分子复合的CCNA-1肽。在某些实施例中,CCNA-1特异性结合蛋白以 K_d 或以亲和力结合CCNA-1衍生的肽:HLA复合物(或CCNA-1衍生的肽:MHC复合物), K_d 小于约 $10^{-8} M$ 、小于约 $10^{-9} M$ 、小于约 $10^{-10} M$ 、小于约 $10^{-11} M$ 、小于约 $10^{-12} M$ 或小于约 $10^{-13} M$,该亲和力约等于、至少约等于例如通过相同的测定法测定的或大于或等于本文提供的示例性CCNA-1特异性结合蛋白(例如本文提供的任何CCNA-1特异性TCR)所表现出的亲和力。在

某些实施例中,CCNA-1特异性结合蛋白包含CCNA-1特异性免疫球蛋白超家族结合蛋白或其结合部分。

[0036] 评估亲和力或表观亲和力或相对亲和力的测定法是已知的。在某些实例中,通过评估与各种浓度的四聚体的结合来测量对TCR的表观亲和力,例如,通过使用标记的四聚体的流式细胞术。在某些实例中,TCR的表观 K_D 使用标记的四聚体在一定浓度范围内的2倍稀释度进行测量,然后通过非线性回归确定结合曲线,表观 K_D 被确定为产生最大半结合的配体的浓度。

[0037] 术语“CCNA-1结合结构域”或“CCNA-1结合片段”是指负责特异性CCNA-1结合的CCNA-1特异性结合蛋白的结构域或部分。单独的CCNA-1特异性结合域(即,没有CCNA-1特异性结合蛋白的任何其他部分)可以是可溶的,并且可以以 K_d 与CCNA-1结合, K_d 小于约 $10^{-8}M$ 、小于约 $10^{-9}M$ 、小于约 $10^{-10}M$ 、小于约 $10^{-11}M$ 、小于约 $10^{-12}M$ 或小于约 $10^{-13}M$ 。示例性CCNA-1特异性结合域包括CCNA-1特异性scTCR(例如单链 $\alpha\beta$ TCR蛋白,例如 $V\alpha-L-V\beta$ 、 $V\beta-L-V\alpha$ 、 $V\alpha-C\alpha-L-V\beta$ 或 $V\alpha L-V\beta-C\beta$,其中 $V\alpha$ 和 $V\beta$ 分别是TCR α 和 β 可变结构域, $C\alpha$ 和 $C\beta$ 分别是TCR α 和 β 恒定结构域,并且L是本文所述的接头和scFv片段,其可以衍生自抗CCNA-1TCR或抗体。

[0038] 抗原呈递细胞(APC)(例如树突状细胞、巨噬细胞、淋巴细胞或其他细胞类型)进行抗原加工的原理,以及APC向T细胞呈递抗原的原理,包括主要的组织相容性复合物(MHC)在免疫相容性APC和T细胞之间的受限呈递(例如,至少共享与抗原呈递相关的MHC基因的一种等位基因形式)已经建立(参见例如Murphy, Janeway's Immunobiology (8th Ed.) 2011 Garland Science, NY; 第6、9和16章)。例如,起源于细胞质的加工抗原肽(例如肿瘤抗原、细胞内病原体)的长度通常为约7个氨基酸至约11个氨基酸,并将与I类MHC分子缔合,而在囊泡系统中加工的肽(例如细菌,病毒)的长度将在约10个氨基酸至约25个氨基酸之间变化并且与II类MHC分子缔合。

[0039] “细胞周期蛋白A1”或“CCNA-1”是指属于细胞周期蛋白家族的蛋白,其参与雄性生殖系减数分裂细胞周期的细胞周期控制。细胞周期蛋白A1在睾丸以外的正常组织中最少表达,在许多癌症中过表达,包括急性髓细胞性白血病(AML)和许多上皮癌,包括睾丸癌,子宫内膜癌和卵巢癌。在某些实施例中,CCNA1指蛋白质的同工型3,其与同工型1的区别在于氨基酸1-44缺失。在一个特定的实施例中,CCNA1包含SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列。

[0040] “CCNA-1抗原”或“CCNA-1肽抗原”是指CCNA-1蛋白的天然或合成产生的部分,其长度为约7个氨基酸至约15个氨基酸,其可以与MHC(例如,HLA)分子形成复合物并且这种复合物可以与对CCNA-1肽:MHC(例如,HLA)复合物具有特异性的TCR结合。CCNA-1抗原肽在I类MHC的背景下呈现。在特定实施例中,CCNA-1肽是FLDRFLSCM(SEQ ID NO:1)、SLIAAAAFCLA(SEQ ID NO:2)或YSLSEIVPCL(SEQ ID NO:3),其与人I类HLA缔合,并且更具体地,与等位基因HLA-A*02:01缔合。

[0041] “接头”是指连接两个蛋白质、多肽、肽、结构域、区域或基序的氨基酸序列,并且可以提供与两个亚结合域的相互作用相容的间隔子功能,从而使得所得的多肽保留特异性结合。对靶分子的亲和力(例如,scTCR)或保留信号传导活性(例如,TCR复合物)。在某些实施例中,接头包含例如约2至约35个氨基酸、或约4至约20个氨基酸或约8至约15个氨基酸或约15至约25个氨基酸。

[0042] “连接氨基酸”或“连接氨基酸残基”是指多肽的两个相邻基序,区域或结构域之间

的一个或多个(例如,约2-10个)氨基酸残基,例如在结合结构域和相邻常数之间。结构域或TCR链和相邻的自我切割肽之间。连接氨基酸可以由结合蛋白的构建体设计产生(例如,在编码结合蛋白的核酸分子的构建过程中使用限制酶位点产生的氨基酸残基)。

[0043] “改变的结构域”或“改变的蛋白质”是指基序、区域、结构域、肽、多肽或蛋白质,其与野生型基序、区域、域、肽、多肽或蛋白质(例如,野生型TCR α 链、TCR链、TCR α 恒定域、TCR β 恒定域)至少为85%(例如86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.1%、99.2%、99.3%、99.4%、99.5%、99.6%、99.7%、99.8%、99.9%、100%)的同一性。

[0044] 如本文所用,“核酸”或“核酸分子”是指例如通过聚合酶链反应(PCR)或DNA产生的脱氧核糖核酸(DNA)、核糖核酸(RNA)、寡核苷酸、多核苷酸、其片段中的任何一种。通过体外转录,以及通过连接、切割、核酸内切酶作用或核酸外切酶作用产生的片段。在某些实施例中,本公开的核酸通过PCR产生。核酸可以由天然存在的核苷酸的单体(例如脱氧核糖核苷酸和核糖核苷酸)、天然存在的核苷酸的类似物(例如天然存在的核苷酸的 α -对映体形式)或两者的组合组成。修饰的核苷酸可以对糖部分、嘧啶或嘌呤碱基部分进行修饰或替代。核酸单体可以通过磷酸二酯键或这种连接的类似物连接。磷酸二酯键的类似物包括硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、亚硒代磷酸酯、二硒代磷酸酯、苯硫代磷酸酯、苯胺基磷酸酯、氨基磷酸酯等。核酸分子可以是单链或双链的。

[0045] 术语“分离的”是指将材料从其原始环境(例如,如果是天然存在的自然环境)中除去。例如,没有分离出存在于活体动物中的天然存在的核酸或多肽,而是分离了与天然系统中的一些或全部共存物质分离的相同核酸或多肽。这样的核酸可以是载体的一部分和/或这样的核酸或多肽可以是组合物(例如,细胞裂解物)的一部分,并且仍然被分离,因为这样的载体或组合物不是天然环境核酸或多肽的一部分。术语“基因”是指与产生多肽链有关的DNA片段;它包括编码区之前和之后的区域(“前导区和尾区”)以及各个编码段(外显子)之间的插入序列(内含子)。

[0046] 术语“构建体”是指含有重组核酸分子的任何多核苷酸。构建体可以存在于载体(例如细菌载体、病毒载体)中或可以整合到基因组中。

[0047] “载体”是能够转运另一种核酸的核酸分子。载体可以是例如质粒、粘粒、病毒、噬菌体、RNA载体或线性或环状DNA或RNA分子,其可以包括染色体、非染色体、半合成或合成核酸分子。示例性载体是那些能够自主复制的载体(附加载体)或表达与其连接的核酸分子的载体(表达载体)。

[0048] “逆转录病毒”是具有RNA基因组的病毒。“ γ 逆转录病毒”是指逆转录病毒科的属。 γ 逆转录病毒的例子包括小鼠干细胞病毒、鼠白血病病毒、猫白血病病毒、猫肉瘤病毒和禽网状内皮病病毒。

[0049] “慢病毒”是指能够感染分裂细胞和非分裂细胞的逆转录病毒属。慢病毒的几个例子包括HIV(人类免疫缺陷病毒:包括1型和2型HIV);马传染性贫血病毒;猫免疫缺陷病毒(FIV);牛免疫缺陷病毒(BIV);和猿猴免疫缺陷病毒(SIV)。

[0050] 如本文所用,“慢病毒载体”是指用于基因递送的基于HIV的慢病毒载体,其可以是整合的或非整合的、具有相对大的包装能力、并且可以转导多种不同的细胞类型。慢病毒载体通常是在三个(包装、包膜和转移)或更多质粒瞬时转染到生产细胞后产生的。像HIV一

样,慢病毒载体通过病毒表面糖蛋白与细胞表面受体的相互作用进入靶细胞。进入时,病毒RNA进行逆转录,该逆转录由病毒逆转录酶复合体介导。逆转录产物是双链线性病毒DNA,它是病毒整合到感染细胞DNA中的底物。

[0051] 术语“可操作地连接”是指单个核酸片段上两个或更多个核酸分子的缔合,从而一个的功能受到另一个的影响。例如,当启动子能够影响该编码序列的表达时(即,该编码序列在该启动子的转录控制下),该启动子与该编码序列可操作地连接。“未连锁”是指相关的遗传要素彼此之间不紧密关联,并且其中一个的功能不影响另一个。

[0052] 如本文所用,术语“表达”是指基于核酸分子例如基因的编码序列产生多肽的过程。该过程可以包括转录、转录后控制、转录后修饰、翻译、翻译后控制、翻译后修饰或其任意组合。

[0053] 如本文所用,“表达载体”是指包含核酸分子的DNA构建体,该核酸分子可操作地连接至能够影响核酸分子在合适宿主中表达的合适控制序列。此类控制序列包括实现转录的启动子,控制此类转录的任选操纵子序列,编码合适的mRNA核糖体结合位点的序列以及控制转录和翻译终止的序列。载体可以是质粒、噬菌体颗粒、病毒或仅是潜在的基因组插入物。一旦转化为合适的宿主,载体就可以独立于宿主基因组复制和发挥作用,或者在某些情况下可以整合到基因组本身中。在本说明书中,“质粒”、“表达质粒”、“病毒”和“载体”经常互换使用。

[0054] 在将核酸分子插入细胞中的上下文中的术语“引入”是指“转染”或“转化”或“转导”,并且包括提及将核酸分子掺入真核或原核细胞中,其中核酸分子可以掺入细胞的基因组(例如,染色体、质粒、质体或线粒体DNA)中、转化为自主复制子、或瞬时表达(例如,转染的mRNA)。

[0055] 如本文所用,“异源”核酸分子,构建体或序列是指不是宿主细胞天然的但可以与核酸分子或核酸的一部分同源的核酸分子或核酸分子的一部分。来自宿主细胞的酸性分子。异源核酸分子、构建体或序列的来源可以来自不同的属或种。在某些实施例中,通过例如缀合、转化、转染、转导、电穿孔等将异源核酸分子添加至宿主细胞或宿主基因组(即,不是内源的或天然的),其中添加的分子可以整合入宿主基因组或作为染色体外遗传物质存在(例如,作为质粒或其他形式的自我复制载体),并可以多拷贝形式存在。另外,“异源”是指由导入宿主细胞的非内源性核酸分子编码的非天然酶、蛋白质或其他活性,即使宿主细胞编码同源蛋白质或活性也是如此。

[0056] 术语“同源的”或“同源”是指在宿主细胞,物种或菌株中发现或衍生自宿主细胞、物种或菌株的分子或活性。例如,异源分子或编码该分子的基因可以分别与天然宿主或宿主细胞分子或编码该分子的基因同源,并且可以任选地具有改变的结构、序列、表达水平或其组合。

[0057] 如本文所用,术语“内源的”或“幼稚”是指通常存在于宿主或宿主细胞中的基因、蛋白质、化合物、分子或活性。此外,与亲本基因、蛋白质或活性相比,突变、过度表达、改组、复制或以其他方式改变的基因、蛋白质或活性仍被认为是该特定宿主细胞的内源性或天然性。例如,来自第一基因的内源控制序列(例如,启动子、翻译衰减序列)可用于改变或调节第二天然基因或核酸分子的表达,其中第二天然基因的表达或调控或核酸分子不同于亲代细胞中的正常表达或调控。

[0058] 如本文所用,术语“工程化的”、“重组的”、“修饰的”或“非天然的”是指已通过引入异源核酸分子而被修饰的生物、微生物、细胞、核酸分子或载体,或指通过人为干预进行了基因工程改造的细胞或微生物,即通过引入异源核酸分子进行修饰的细胞或微生物,或指经过改变使得内源核酸分子或基因是受控的、失控的或组成型的,其中这种改变或修饰可以通过基因工程引入。人类产生的遗传改变可以包括,例如,引入核酸分子的修饰(其可以包括表达控制元件,例如启动子),所述核酸分子编码一种或多种蛋白质,结合蛋白或酶,或其他核酸分子的添加,缺失细胞遗传物质的替代,替代或其他功能破坏或增加。示例性修饰包括来自参考或亲本分子的异源或同源多肽的编码区或其功能片段中的修饰。其他示例性修饰包括例如非编码调控区中的修饰,其中所述修饰改变基因或操纵子的表达。

[0059] 如本文所用,“突变”是指分别与参考或野生型核酸分子或多肽分子相比,核酸分子或多肽分子的序列变化。突变可导致几种不同类型的序列变化,包括核苷酸或氨基酸的取代、插入或缺失。

[0060] 在本领域中,“保守取代”被认为是一个氨基酸被具有相似特性的另一氨基酸取代。示例性的保守取代是本领域众所周知的(参见,例如,WO 97/09433,第10页;Lehninger,生物化学,第二版;Worth Publishers, Inc. NY, NY,第71-77页,1975;Lewin, Genes IV, 纽约牛津大学出版社,细胞出版社,马萨诸塞州剑桥,1990年第8页)。

[0061] 如本文所用,“序列同一性”是指在比对序列并引入缺口以达到最大百分比序列后,一个序列中与另一参考多肽序列中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分比。同一性,并且不考虑将任何保守取代作为序列同一性的一部分。序列同一性百分比值可以使用Altschul等人定义的NCBI BLAST 2.0软件生成,如由Altschul et al. (1997), Nucl. Acids Res. 25:3389-3402所限定的,其中参数设置为默认值。

[0062] 如本文所用,“过度增殖性疾病”是指与正常或未患病的细胞相比过度生长或增殖。示例性的过度增殖性疾病包括肿瘤、癌症、血液系统恶性肿瘤、赘生性组织、癌、肉瘤、恶性细胞、恶性前细胞、以及非肿瘤性或非恶性过度增殖性疾病(例如、腺瘤、纤维瘤、脂肪瘤、平滑肌瘤、血管瘤、纤维化、再狭窄以及自身免疫性疾病、例如类风湿性关节炎、骨关节炎、牛皮癣、炎症性肠病等)。在某些实施例中,过度增殖性疾病是急性骨髓性白血病。

[0063] “过继细胞免疫疗法”或“过继免疫疗法”是指施用天然存在或基因工程的疾病抗原特异性免疫细胞(例如,T细胞)。过继细胞免疫疗法可以是自体的(免疫细胞来自受体)、同种异体的(免疫细胞来自相同物种的供体)或同基因的(免疫细胞来自与受体基因上相同的供体)。

[0064] “治疗(treat)”或“治疗(treatment)”或“改善”是指对受试者(例如人类或非人类哺乳动物,例如灵长类、马、狗、小鼠、大鼠)的疾病、病症或病状的医学管理。通常,以足以引起治疗或预防益处的量施用包含表达本公开内容的CCNA1特异性结合蛋白的宿主细胞的合适剂量或治疗方案。治疗或预防/预防益处包括改善临床预后;减轻或减轻与疾病有关的症状;减少症状的发生;改善生活质量;更长的无病状态;疾病程度的减少,疾病状态的稳定;疾病进展延迟;缓解;生存;延长生存期或其任意组合。

[0065] 表达本公开内容的结合蛋白或细胞的“治疗有效量”或“有效量”是指足以在统计上改善所治疗疾病的一种或多种症状的化合物或细胞的量。重要的方式。当涉及单独施用的单个活性成分或表达单一活性成分的细胞时,治疗有效剂量是指该成分或单独表达该成

分的细胞的作用。当提及组合时,治疗有效剂量是指活性成分或辅助活性成分与表达导致治疗效果的细胞的组合的组合量,无论是连续施用还是同时施用。另一种组合可以是表达一种以上活性成分的细胞,例如两种不同的结合蛋白或其他相关治疗剂。

[0066] CCNA-1特异性结合蛋白

[0067] 细胞周期蛋白A1是指由CCNA1基因编码的蛋白质。CCNA1是细胞周期蛋白家族的成员,其表达通常限于睾丸,在睾丸中它参与调节精子发生。CCNA1在白血病细胞和其他恶性肿瘤中高表达,并可能促进细胞增殖和存活。已知CCNA1蛋白的几种肽是与肿瘤相关的抗原肽,它们是HLAA*02:01限制性抗原。由于这些特性,CCNA1蛋白是临床开发的诱人靶标。

[0068] 在某些方面,本公开提供特异性结合CCNA1肽FLDRFLSCM(SEQ ID NO:1)、CCNA1肽SLIAAAAFCLA(SEQ ID NO:2)或CCNA1肽YSLSEIVPCL(SEQ ID NO:3)的结合蛋白(例如,免疫球蛋白超家族结合蛋白或其部分)。

[0069] 一方面,本公开提供了结合蛋白(例如免疫球蛋白超家族结合蛋白或其部分),其包含:(a) T细胞受体(TCR) α 链可变(V α)域,其包含SEQ ID NO:5、7、9、11、13、15、15、17和19中任何一个所示的互补决定区3(CDR3)氨基酸序列或SEQ ID NO:5、7、9、11、13、15、17和19中任何一个所示的且具有最多五个氨基酸取代、插入和/或缺失的CDR3氨基酸序列,以及TCR β 链可变(V β)域;(b) TCR V α 结构域和TCR V β 结构域,TCR V β 包含SEQ ID NO:6、8、10、12、14、16、16、18、20和189中任一项所示的CDR3氨基酸序列,或SEQ ID NO:6、8、10、12、14、16、18、20和189中任一项所述的且具有最多五个氨基酸取代、插入和/或缺失CDR3氨基酸序列;或(c) (a)的V α 结构域和(b)的V β 结构域,其中结合蛋白能够特异性结合人细胞周期蛋白A1(CCNA1)肽227-235FLDRFLSCM(SEQ ID NO:1):人白细胞抗原(HLA)复合物。

[0070] 在某些实施例中,(a) V α 结构域包含SEQ ID NO:5的CDR3氨基酸序列,而V β 结构域包含SEQ ID NO:6的CDR3氨基酸序列;(b) V α 结构域包含SEQ ID NO:7的CDR3氨基酸序列,并且V β 结构域包含SEQ ID NO:8的CDR3氨基酸序列;(c) V α 结构域包含SEQ ID NO:9的CDR3氨基酸序列,而V β 结构域包含SEQ ID NO:10的CDR3氨基酸序列;(d) V α 结构域包含SEQ ID NO:11的CDR3氨基酸序列,而V β 结构域包含SEQ ID NO:12的CDR3氨基酸序列;(e) V α 结构域包含SEQ ID NO:13的CDR3氨基酸序列,而V β 结构域包含SEQ ID NO:14的CDR3氨基酸序列;(f) V α 结构域包含SEQ ID NO:15的CDR3氨基酸序列,而V β 结构域包含SEQ ID NO:16的CDR3氨基酸序列;(g) V α 结构域包含SEQ ID NO:17的CDR3氨基酸序列,V β 结构域包含SEQ ID NO:18的CDR3氨基酸序列;(h) V α 结构域包含SEQ ID NO:19的CDR3氨基酸序列,而V β 结构域包含SEQ ID NO:20的CDR3氨基酸序列;或(i) V α 结构域包含SEQ ID NO:7的CDR3氨基酸序列,而V β 结构域包含SEQ ID NO:189的CDR3氨基酸序列。

[0071] 一方面,本公开提供了结合蛋白(例如,免疫球蛋白超家族结合蛋白或其部分),其包括:(a) T细胞受体(TCR) α 链可变(V α)结构域以及TCR β 链可变(V β)结构域,V α 结构域包含SEQ ID NO:89、97、105、113、119、127、133和137中任一个的互补决定区3(CDR3)氨基酸序列,或SEQ ID NO:89、97、105、113、119、127、133和137中任一个所示且具有多达五个氨基酸取代、插入和/或缺失的CDR3氨基酸序列;(b) TCR V α 结构域和TCR V β 结构域,V β 结构域包含SEQ ID NO:93、101、109、117、123、129、140和190中任一个所示的CDR3氨基酸序列,或SEQ ID NO:93、101、109、117、123、129、140和190中任一个所示且具有多达五个氨基酸取代、插入和/或缺失的CDR3氨基酸序列;或(c) (a)的V α 结构域和(b)的V β 结构域,其中结合蛋白能

够特异性结合人细胞周期蛋白A1 (CCNA1) 肽227-235FLDRFLSCM (SEQ ID NO:1): 人白细胞抗原 (HLA) 复合物。

[0072] 在某些实施例中, (a) V α 结构域包含SEQ ID NO:89的CDR3氨基酸序列, 并且V β 结构域包含SEQ ID NO:93的CDR3氨基酸序列; (b) V α 结构域包含SEQ ID NO:97的CDR3氨基酸序列, 而V β 结构域包含SEQ ID NO:101的CDR3氨基酸序列; (c) V α 结构域包含SEQ ID NO:105的CDR3氨基酸序列, 而V β 结构域包含SEQ ID NO:109的CDR3氨基酸序列; (d) V α 结构域包含SEQ ID NO:113的CDR3氨基酸序列, 而V β 结构域包含SEQ ID NO:117的CDR3氨基酸序列; (e) V α 结构域包含SEQ ID NO:119的CDR3氨基酸序列, 而V β 结构域包含SEQ ID NO:123的CDR3氨基酸序列; (f) V α 结构域包含SEQ ID NO:127的CDR3氨基酸序列, 并且V β 结构域包含SEQ ID NO:129的CDR3氨基酸序列; (g) V α 结构域包含SEQ ID NO:133的CDR3氨基酸序列, V β 结构域包含SEQ ID NO:129的CDR3氨基酸序列; (h) V α 结构域包含SEQ ID NO:137的CDR3氨基酸序列, 并且V β 结构域包含SEQ ID NO:140的CDR3氨基酸序列; (i) V α 结构域包含SEQ ID NO:97的CDR3氨基酸序列, 而V β 结构域包含SEQ ID NO:190的CDR3氨基酸序列。

[0073] 肽-MHC复合物, 例如CCNA1肽:MHC复合物, 可被TCR V α 和TCR V β 结构域识别并结合。在淋巴细胞发育过程中, V α 外显子由不同的可变和连接基因区段 (V-J) 组装而成, V β 外显子由不同的可变的多样性和连接基因区段 (V-D-J) 组装而成。TCR α 染色体基因座具有70-80个可变基因区段和61个连接基因区段。TCR β 染色体基因座具有52个可变基因区段, 并且两个单独的簇包含单个多样性基因区段, 以及六个或七个连接基因区段。功能性V α 和V β 基因外显子是通过可变基因区段与V α 的连接基因区段以及可变基因区段与V β 的多样性基因区段和连接基因区段的重组产生的。

[0074] V α 和V β 结构域各自包含三个高变环, 也称为接触肽-MHC复合物的互补决定区 (CDR)。CDR1和CDR2编码在可变基因区段内, 而CDR3通过跨越V α 的可变和连接区段的区域编码或者通过跨链V β 的可变的多样性和连接区段的区域编码。因此, 如果已知V α 或V β 的可变基因区段的身份, 则可以推导其相应的CDR1和CDR2的序列。与CDR1和CDR2相比, 由于重组过程中核苷酸的添加和丢失, CDR3的多样性大大提高。

[0075] TCR可变结构域序列可以与编号方案 (国际免疫遗传学信息系统 (IMGT) 和Aho) 对齐, 从而可以使用抗原受体编号和受体分类 (ANARCI) 软件工具对等效残基位置进行注释并比较不同的分子 (2016, Bioinformatics 15:298-300)。编号方案提供了TCR可变结构域中框架区和CDR的标准化描述。

[0076] 表1提供了包含CDR3的TCR V α 的可变基因区段和连接基因区段的身份, 该CDR3包含SEQ ID NO:5、7、9、11、13、15、17、19、21和23的任一个所示的氨基酸序列, 以及包含CDR3的TCR V β 的可变基因区段和连接基因区段的身份, 该CDR3包含SEQ ID NO:6、8、10、12、14、16、18、20、22、24和189的任一个所示的氨基酸序列。因此, 可以从相应的可变基因片段推导V α 和V β 结构域的CDR1和CDR2序列。

[0077] 在一些实施例中, (a) V β 结构域包含由TRBV9*01基因编码的CDR1氨基酸序列; 而V α 结构域包含TRAV30*01基因编码的CDR1氨基酸序列; (b) V β 结构域包含由TRBV2*01基因编码的CDR1氨基酸序列; 而V α 结构域包含TRAV10*01基因编码的CDR1氨基酸序列; (c) V β 结构域包含由TRBV6-6*01基因编码的CDR1氨基酸序列; 二V α 结构域包含TRAV24*01基因编码的CDR1氨基酸序列; (d) V β 结构域包含由TRBV5-6*01基因编码的CDR1氨基酸序列; 而V α 结构域

包含TRAV21*01基因编码的CDR1氨基酸序列；(e) V β 结构域包含由TRBV7-3*01基因编码的CDR1氨基酸序列；而V α 结构域包含TRAV21*02基因编码的CDR1氨基酸序列；(f) V β 结构域包含由TRBV7-3*01基因编码的CDR1氨基酸序列；而V α 结构域包含TRAV12-2*02基因编码的CDR1氨基酸序列；(g) V β 结构域包含由TRBV7-3*01基因编码的CDR1氨基酸序列；而V α 结构域包含TRAV17*01基因编码的CDR1氨基酸序列；(h) V β 结构域包含由TRBV7-2*01基因编码的CDR1氨基酸序列；而V α 结构域包含TRAV17*01基因编码的CDR1氨基酸序列；或者(i) V β 结构域包含由TRB VI 0-2*01基因编码的CDR1氨基酸序列；而V α 结构域包含TRAV10*01基因编码的CDR1氨基酸序列。

[0078] 在一些实施例中，(a) V β 结构域包含SEQ ID NO:91的CDR1氨基酸序列，并且V α 结构域包含SEQ ID NO:87的CDR1氨基酸序列；(b) V β 结构域包含SEQ ID NO:99的CDR1氨基酸序列，而V α 结构域包含SEQ ID NO:95的CDR1氨基酸序列；(c) V β 结构域包含SEQ ID NO:107的CDR1氨基酸序列，而V α 结构域包含SEQ ID NO:103的CDR1氨基酸序列；(d) V β 结构域包含SEQ ID NO:115的CDR1氨基酸序列，而V α 结构域包含SEQ ID NO:111的CDR1氨基酸序列；(e) V β 结构域包含SEQ ID NO:121的CDR1氨基酸序列，而V α 结构域包含SEQ ID NO:111的CDR1氨基酸序列；(f) V β 结构域包含SEQ ID NO:121的CDR1氨基酸序列，而V α 结构域包含SEQ ID NO:125的CDR1氨基酸序列；(g) V β 结构域包含SEQ ID NO:121的CDR1氨基酸序列，而V α 结构域包含SEQ ID NO:131的CDR1氨基酸序列；(h) V β 结构域包含SEQ ID NO:167的CDR1氨基酸序列，而V α 结构域包含SEQ ID NO:95的CDR1氨基酸序列。

[0079] 在一些实施例中，(a) V β 结构域包含由TRBV9*01基因编码的CDR2氨基酸序列；而V α 结构域包含TRAV30*01基因编码的CDR2氨基酸序列；(b) V β 结构域包含由TRBV2*01基因编码的CDR2氨基酸序列；而V α 结构域包含TRAV10*01基因编码的CDR2氨基酸序列；(c) V β 结构域包含由TRBV6-6*01基因编码的CDR2氨基酸序列；而V α 结构域包含TRAV24*01基因编码的CDR2氨基酸序列；(d) V β 结构域包含由TRBV5-6*01基因编码的CDR2氨基酸序列；而V α 结构域包含TRAV21*01基因编码的CDR2氨基酸序列；(e) V β 结构域包含由TRBV7-3*01基因编码的CDR2氨基酸序列；而V α 结构域包含TRAV21*02基因编码的CDR2氨基酸序列；(f) V β 结构域包含由TRBV7-3*01基因编码的CDR2氨基酸序列；而V α 结构域包含TRAV12-2*02基因编码的CDR2氨基酸序列；(g) V β 结构域包含由TRBV7-3*01基因编码的CDR2氨基酸序列；而V α 结构域包含TRAV17*01基因编码的CDR2氨基酸序列；(h) V β 结构域包含由TRBV7-2*01基因编码的CDR2氨基酸序列；而V α 结构域包含TRAV17*01基因编码的CDR2氨基酸序列；或者(i) V β 结构域包含由TRB V10-2*01基因编码的CDR2氨基酸序列；而V α 结构域包含TRAV10*01基因编码的CDR2氨基酸序列。

[0080] 在一些实施例中，(a) V β 结构域包含SEQ ID NO:92的CDR2氨基酸序列，而V α 结构域包含SEQ ID NO:88的CDR2氨基酸序列；(b) V β 结构域包含SEQ ID NO:100的CDR2氨基酸序列，而V α 结构域包含SEQ ID NO:96的CDR2氨基酸序列；(c) V β 结构域包含SEQ ID NO:108的CDR2氨基酸序列，而V α 结构域包含SEQ ID NO:104的CDR2氨基酸序列；(d) V β 结构域包含SEQ ID NO:116的CDR2氨基酸序列，而V α 结构域包含SEQ ID NO:112的CDR2氨基酸序列；(e) V β 结构域包含SEQ ID NO:122的CDR2氨基酸序列，而V α 结构域包含SEQ ID NO:112的CDR2氨基酸序列；(f) V β 结构域包含SEQ ID NO:122的CDR2氨基酸序列，而V α 结构域包含SEQ ID NO:126的CDR2氨基酸序列；(g) V β 结构域包含SEQ ID NO:122的CDR2氨基酸序列，而V α 结构域包含

SEQ ID NO:132的CDR2氨基酸序列; (h) V β 结构域包含SEQ ID NO:129的CDR2氨基酸序列, 而V α 结构域包含SEQ ID NO:132的CDR2氨基酸序列; 或 (i) V β 结构域包含SEQ ID NO:168的CDR2氨基酸序列, 而V α 结构域包含SEQ ID NO:96的CDR2氨基酸序列。

[0081] 因此, 在某些实施例中, (a) V β 结构域包含SEQ ID NO:6或93的CDR3氨基酸序列以及由TRBV9*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列; 而V α 结构域包含SEQ ID NO:5或89的CDR3氨基酸序列和TRAV30*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列; (b) V β 结构域包含SEQ ID NO:8或190的CDR3氨基酸序列和由TRBV2*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列; 而V α 结构域包含SEQ ID NO:7或97的CDR3氨基酸序列和TRAV10*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列; (c) V β 结构域包含SEQ ID NO:10或109的CDR3氨基酸序列以及由TRBV6-6*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列; 而V α 结构域包含SEQ ID NO:9或105的CDR3氨基酸序列以及TRAV24*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列; (d) V β 结构域包含SEQ ID NO:12或117的CDR3氨基酸序列和由TRBV5-6*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列; 而V α 结构域包含SEQ ID NO:11或113的CDR3氨基酸序列以及TRAV21*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列; (e) V β 结构域包含SEQ ID NO:14或123的CDR3氨基酸序列以及由TRBV7-3*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列; 而V α 结构域包含SEQ ID NO:13或119的CDR3氨基酸序列以及TRAV21*02基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列; (f) V β 结构域包含SEQ ID NO:16或129的CDR3氨基酸序列以及由TRBV7-3*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列; 而V α 结构域包含SEQ ID NO:15或127的CDR3氨基酸序列以及TRAV12-2*02基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列; (g) V β 结构域包含SEQ ID NO:18或129的CDR3氨基酸序列以及由TRBV7-3*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列; 而V α 结构域包含SEQ ID NO:17或133的CDR3氨基酸序列以及TRAV17*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列; (h) V β 结构域包含SEQ ID NO:20或140的CDR3氨基酸序列以及由TRBV7-2*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列; 而V α 结构域包含SEQ ID NO:19或137的CDR3氨基酸序列和TRAV17*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列; 或者 (i) V β 结构域包含SEQ ID NO:189或101的CDR3氨基酸序列和由TRBV10-2*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列; 而V α 结构域包含SEQ ID NO:7或97的CDR3氨基酸序列和TRAV10*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列。

[0082] 在某些实施例中, (a) V β 结构域包含SEQ ID NO:91的CDR1氨基酸序列, SEQ ID NO:92的CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:6或93的CDR3氨基酸序列; 而V α 结构域包含SEQ ID NO:87的CDR1氨基酸序列, SEQ ID NO:88的CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:5或89的CDR3氨基酸序列; (b) V β 结构域包含SEQ ID NO:99的CDR1氨基酸序列, SEQ ID NO:100的CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:189或101的CDR3氨基酸序列; 而V α 结构域包含SEQ ID NO:95的CDR1氨基酸序列, SEQ ID NO:96的CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:7或97的CDR3氨基酸序列; (c) V β 结构域包含SEQ ID NO:107的CDR1氨基酸序列, SEQ ID NO:108的CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:10或109的CDR3氨基酸序列; 而V α 结构域包含SEQ ID NO:103的CDR1氨基酸序列, SEQ ID NO:104的CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:9或105的CDR3氨基酸序列; (d) V β 结构域包含SEQ ID NO:115的CDR1氨基酸序列, SEQ ID NO:116的CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:12或117的CDR3氨基酸序列; 而V α 结构域包含SEQ ID NO:111的CDR1氨基酸序列, SEQ ID NO:112的

CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:11或113的CDR3氨基酸序列；(e) V β 结构域包含SEQ ID NO:121的CDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:122的CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:14或123的CDR3氨基酸序列；而V α 结构域包含SEQ ID NO:111的CDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:112的CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:13或119的CDR3氨基酸序列；(f) V β 结构域包含SEQ ID NO:121的CDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:122的CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:16或129的CDR3氨基酸序列；而V α 结构域包含SEQ ID NO:125的CDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:126的CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:15或127的CDR3氨基酸序列；(g) V β 结构域包含SEQ ID NO:121的CDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:122的CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:18或129的CDR3氨基酸序列；而V α 结构域包含SEQ ID NO:131的CDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:132的CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:17或133的CDR3氨基酸序列；(h) V β 结构域包含SEQ ID NO:121的CDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:139的CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:20或140的CDR3氨基酸序列；而V α 结构域包含SEQ ID NO:131的CDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:132的CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:19或137的CDR3氨基酸序列；或(i) V β 结构域包含SEQ ID NO:167的CDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:168的CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:8或190的CDR3氨基酸序列；而V α 结构域包含SEQ ID NO:95的CDR1氨基酸序列,SEQ ID NO:96的CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:7或97的CDR3氨基酸序列。

[0083] 在某些实施例中,结合蛋白包含:(a)与SEQ ID NO:36、38、40、42、44、86、49、51、53、57、59、63、65、67、81和83中任何一个所含的V α 氨基酸序列具有至少约75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的V α 结构域；(b)与SEQ ID NO:36、38、40、42、46、86、49、51、55、57、61、63、67、81和83中任何一个所含的V β 氨基酸序列具有至少约75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的V β 结构域；(c) (a)的V α 结构域和(b)的V β ；其中至少三个或四个CDR没有突变,而具有突变的CDR具有三个或更少的氨基酸取代、插入和/或缺失。此类变体V α 和V β 可用于本文所述的结合蛋白中,条件是结合蛋白保留或基本上保留特异性结合CCNA1肽(SEQ ID NO:1):HLA复合物的能力。

[0084] 在其他实施例中,结合蛋白包含:(a)V α 结构域,其包含或由SEQ ID NO:36、38、40、42、44、44、86、49、51、53、57、59、63、65、67、81、83、162、165、170、172、174、176、178、180和186中任一个所包含的V α 氨基酸序列组成；(b)V β 结构域,其包含或由SEQ ID NO:36、38、40、42、46、86、49、51、55、57、61、63、67、81、83、162、165、170、172、174、176、178、180和186中任一个的V β 氨基酸组成；(c) (a)的V α 结构域和(b)的V β 。

[0085] 在一些实施例中,结合蛋白包含:(a)与SEQ ID NO:90、98、106、114、120、128、134和138中任一个的氨基酸序列具有至少约75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的V α 结构域；(b)与SEQ ID NO:94、102、110、118、124、130、136、141和166中任一个的氨基酸序列具有至少约75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同一性的V β 结构域；(c) (a)的V α 结构域和(b)的V β 结构域,其中至少三个或四个CDR没有突变,而具有突变的CDR具有三个或更少的氨基酸取代、插入和/或缺失。此类变体V α 和V β 可用于本文所述的结合蛋白中,条件是结合蛋白保留或基本上保留特异性结合CCNA1肽(SEQ ID NO:1):HLA复合物的能力。

[0086] 在一些实施例中,结合蛋白包含:(a)V α 结构域,其包含或由SEQ ID NO:90、98、

106、114、120、128、134和138中任一个的氨基酸序列组成；或(b)VB结构域，其包含或由SEQ ID NO:94、102、110、118、124、130、136、141和166中任一个的VB氨基酸序列组成；(c) (a)的V α 结构域和(b)的VB。

[0087] 示例性的结合蛋白包括：(a)包含SEQ ID NO:36中包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:36中包含的VB氨基酸序列的VB结构域；(b)包含SEQ ID NO:38中包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:38中包含的VB氨基酸序列的VB结构域；(c)包含SEQ ID NO:40中包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:40中包含的VB氨基酸序列的VB结构域；(d)包含SEQ ID NO:42中包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:42中包含的VB氨基酸序列的VB结构域；(e)包含SEQ ID NO:44中包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:46中包含的VB氨基酸序列的VB结构域；(f)包含SEQ ID NO:86中包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:86中包含的VB氨基酸序列的VB结构域；(g)包含SEQ ID NO:49中包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:49中包含的VB氨基酸序列的VB结构域；(h)包含SEQ ID NO:51中包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:51中包含的VB氨基酸序列的VB结构域；(i)包含SEQ ID NO:53中包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:55中包含的VB氨基酸序列的VB结构域；(j)包含SEQ ID NO:57中包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:57中包含的VB氨基酸序列的VB结构域；(k)包含SEQ ID NO:59中包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:61中包含的VB氨基酸序列的VB结构域；(l)包含SEQ ID NO:63中包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:63中包含的VB氨基酸序列的VB结构域；(m)包含SEQ ID NO:65中包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:67中包含的VB氨基酸序列的VB结构域；(n)包含SEQ ID NO:67中包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:67中包含的VB氨基酸序列的VB结构域；(o)包含SEQ ID NO:81的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:81的VB氨基酸序列的VB结构域；(p)包含SEQ ID NO:83中包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:83中包含的VB氨基酸序列的VB结构域；(q)包含SEQ ID NO:162中包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:162中包含的VB氨基酸序列的VB结构域；(r)包含SEQ ID NO:165中包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:165中包含的VB氨基酸序列的VB结构域；(s)包含SEQ ID NO:170中包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:170中包含的VB氨基酸序列的VB结构域；(t)包含SEQ ID NO:172中包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:172中包含的VB氨基酸序列的VB结构域；(u)包含SEQ ID NO:174中包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:174中包含的VB氨基酸序列的VB结构域；(v)包含SEQ ID NO:176中包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:176中包含的VB氨基酸序列的VB结构域；(w)包含SEQ ID NO:178中包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:178中包含的VB氨基酸序列的VB结构域；(x)包含SEQ ID NO:180中包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:180中包含的VB氨基酸序列的VB结构域；或(y)包含SEQ ID NO:186中包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:186中包含的VB氨基酸序列的VB结构域。

[0088] 示例性结合蛋白包括：(a)包含SEQ ID NO:90的氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列的VB结构域；(b)包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:102的氨基酸序列的VB结构域；(c)包含SEQ ID NO:106的氨基酸序列的V α 结

构域和包含SEQ ID NO:110的氨基酸序列的V β 结构域；(d) 包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:118的氨基酸序列的V β 结构域；(e) 包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的V β 结构域；(f) 包含SEQ ID NO:128的氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的V β 结构域；(g) 包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:136的氨基酸序列的V β 结构域；(h) 包含SEQ ID NO:138的氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:141的氨基酸序列的V β 结构域；或(i) 具有氨基酸序列SEQ ID NO:98的V α 结构域和具有氨基酸序列SEQ ID NO:166的V β 结构域。

[0089] 在另一方面，本公开提供了结合蛋白（例如，免疫球蛋白超家族结合蛋白或其部分），其包含：(a) T细胞受体 (TCR) α 链可变 (V α) 结构域，其包含互补决定区3 (CDR3) SEQ ID NO:21或143中列出的氨基酸序列，或SEQ ID NO:21或143中列出的CDR3氨基酸序列，具有最多五个氨基酸取代、插入和/或缺失以及TCR β 链变量 (V β) 域；(b) TCR V α 结构域和TCR V β 结构域，其包含SEQ ID NO:22或147所示的CDR3氨基酸序列或SEQ ID NO:22或147所示的CDR3氨基酸序列，且具有最多五个氨基酸取代、插入和/或缺失；或(c) (a) 的V α 结构域和(b) 的V β 结构域，其中结合蛋白能够与人细胞周期蛋白A1 (CCNA1) 肽341-351SLIAAAAFCLA (SEQ ID NO:2) :人特异性结合白细胞抗原 (HLA) 复合物。在特定实施例中，V α 结构域包含SEQ ID NO:21或143的CDR3氨基酸序列，并且V β 结构域包含SEQ ID NO:22或147的CDR3氨基酸序列。

[0090] 在一些实施例中，(a) V β 结构域包含由TRBV19*01基因编码的CDR1氨基酸序列；V α 结构域包含TRAV24*01基因编码的CDR1氨基酸序列。在一些实施例中，(a) V β 结构域包含SEQ ID NO:145的CDR1氨基酸序列，并且V α 结构域包含SEQ ID NO:103的CDR1氨基酸序列。

[0091] 在一些实施例中，(a) V β 结构域包含由TRBV19*01基因编码的CDR2氨基酸序列；V α 结构域包含TRAV24*01基因编码的CDR2氨基酸序列。在一些实施例中，(a) V β 结构域包含SEQ ID NO:146的CDR2氨基酸序列，而V α 结构域包含SEQ ID NO:142的CDR2氨基酸序列。

[0092] 在某些实施例中，V β 结构域包含：(a) SEQ ID NO:22或147的CDR3氨基酸序列以及由TRBV19*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列；(b) V α 结构域包含SEQ ID NO:21或143的CDR3氨基酸序列以及由TRAV24*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列；或(a) 和(b) 两者。

[0093] 在某些实施例中，(a) V β 结构域包含SEQ ID NO:145的CDR1氨基酸序列，SEQ ID NO:146的CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:147的CDR3氨基酸序列；而V α 结构域包含SEQ ID NO:103的CDR1氨基酸序列，SEQ ID NO:142的CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:143的CDR3氨基酸序列。

[0094] 在某些实施例中，结合蛋白包含(a) 与SEQ ID NO:69或包含在SEQ ID NO:73或182中的V α 氨基酸序列具有至少约75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的V α 结构域；(b) 与SEQ ID NO:71或包含在SEQ ID NO:73或182中的V β 氨基酸序列具有至少约75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的V β 结构域；或(c) (a) 的V α 结构域和(b) 的V β 结构域；其中至少三个或四个CDR没有突变，而具有突变的CDR具有三个或更少的氨基酸取代、插入和/或缺失。此类变体V α 和V β 结构域可用于本文所述的结合蛋白中，条件是结合蛋白保留或基本上保留特异性结合CCNA1肽 (SEQ ID NO:2) :HLA复合物的能力。

[0095] 在一些实施例中,结合蛋白包含:(a)与SEQ ID NO:144的氨基酸序列具有至少约75%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同一性的V α 结构域;(b)与SEQ ID NO:148的氨基酸序列具有至少约75%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同一性的V β 结构域;(c) (a)的V α 结构域和(b)的V β 。

[0096] 在一些实施例中,结合蛋白包含:(a)V α 结构域,其包含SEQ ID NO:144的氨基酸序列或由其组成;(b)V β ,其包含或由SEQ ID NO:148的氨基酸序列组成;(c) (a)的V α 结构域和(b)的V β 。在一些方面,示例性结合蛋白包含包含SEQ ID NO:144的氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:148的氨基酸序列的V β 结构域。

[0097] 在某些实施例中,结合蛋白包含:(a)V α 结构域,其包含SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:73的V α 氨基酸序列或由其组成;或(b)V β 结构域,其包含SEQ ID NO:71或SEQ ID NO:73的V β 氨基酸序列或由其组成;(c) (a)的V α 结构域和(b)的V β 。在具体的实施例中,结合蛋白包含:(a)包含SEQ ID NO:69的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:71的V β 氨基酸序列的V β 结构域;或(b)包含SEQ ID NO:73中的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:73中的V β 氨基酸序列的V β 结构域。

[0098] 在另一方面,本公开提供了结合蛋白(例如,免疫球蛋白超家族结合蛋白或其部分),其包含:(a)T细胞受体(TCR) α 链可变(V α)结构域,其包含SEQ ID NO:23或151中列出的互补决定区3(CDR3)氨基酸序列或SEQ ID NO:23或151中列出的具有最多五个氨基酸取代、插入和/或缺失的CDR3氨基酸序列,以及TCR β 链变量(V β)域;(b)TCR V α 结构域和TCR V β 结构域,TCR V β 结构域包含SEQ ID NO:24或153所示的CDR3氨基酸序列或SEQ ID NO:24或153所示的CDR3氨基酸序列,且最多五个氨基酸取代、插入和/或缺失;或(c) (a)的V α 结构域和(b)的V β 结构域,其中结合蛋白能够与人细胞周期蛋白A1(CCNA1)肽370-379YSLSEIVPCL(SEQ ID NO:3):人特异性结合白细胞抗原(HLA)复合物。

[0099] 在某些实施例中,V α 结构域包含SEQ ID NO:23或151的CDR3氨基酸序列,并且V β 结构域包含SEQ ID NO:24或153的CDR3氨基酸序列。

[0100] 在一些实施例中,(a)V β 结构域包含由TRBV5-6*01基因编码的CDR1氨基酸序列;而V α 结构域包含TRAV19*01基因编码的CDR1氨基酸序列。在一些实施例中,(a)V β 结构域包含SEQ ID NO:115的CDR1氨基酸序列,而V α 结构域包含SEQ ID NO:149的CDR1氨基酸序列。

[0101] 在一些实施例中,(a)V β 结构域包含由TRBV5-6*01基因编码的CDR2氨基酸序列;而V α 结构域包括TRAV19*01基因编码的CDR2氨基酸序列。在一些实施例中,(a)V β 结构域包含SEQ ID NO:116的CDR2氨基酸序列,而V α 结构域包含SEQ ID NO:150的CDR2氨基酸序列。

[0102] 在某些实施例中,(a)V β 结构域包含SEQ ID NO:24或153的CDR3氨基酸序列以及由TRBV5-6*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列;(b)V α 结构域包含SEQ ID NO:23或151的CDR3氨基酸序列以及由TRAV19*01基因编码的CDR1氨基酸序列和CDR2氨基酸序列;或(a)和(b)两者。

[0103] 在某些实施例中,(a)V β 结构域包含SEQ ID NO:115的CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:116的CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:153的CDR3氨基酸序列;所述V α 结构域包含SEQ ID NO:149的CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:150的CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:151的CDR3氨基酸序列。

[0104] 在某些实施例中,结合蛋白包含:(a)与SEQ ID NO:75、79或184中包含的V α 氨基酸序列具有至少约75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同一性的V α 结构域;(b)与SEQ ID NO:77、79或184中包含的V β 氨基酸序列具有至少约75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同一性的V β 结构域;或(c) (a)的V α 结构域和(b)的V β ;其中至少三个或四个CDR没有突变,而具有突变的CDR具有三个或更少的氨基酸取代、插入和/或缺失。此类变体V α 和V β 结构域可用于本文所述的结合蛋白中,条件是结合蛋白保留或基本上保留特异性结合CCNA1肽(SEQ ID NO:3):HLA复合物的能力。

[0105] 在一些实施例中,结合蛋白包含:(a)与SEQ ID NO:152的氨基酸序列具有至少约75%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同一性的V α 结构域;(b)与SEQ ID NO:154的氨基酸序列具有至少约75%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同一性的V β 结构域;(c) (a)的V α 结构域和(b)的V β 。在一些实施例中,结合蛋白包含:(a) V α 结构域,其包含或由SEQ ID NO:152的氨基酸序列组成;(b) V β 结构域,其包含或由SEQ ID NO:154的氨基酸序列组成;(c) (a)的V α 结构域和(b)的V β 。在一些方面,示例性结合蛋白包含包含SEQ ID NO:152的氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列的V β 结构域。

[0106] 在某些实施例中,结合蛋白包含:(a) V α 结构域,其包含或由SEQ ID NO:75、79或184中包含的V α 氨基酸序列组成;或(b) V β 结构域,其包含或由SEQ ID NO:77、79或184中包含的V β 氨基酸序列组成;(c) (a)的V α 结构域和(b)的V β 。在特定的实施例中,结合蛋白包含:(a)包含SEQ ID NO:75中包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:77中包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域;(b)包含SEQ ID NO:79中包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:79中包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域;(c))包含SEQ ID NO:184中包含的V α 氨基酸序列的V α 结构域和包含SEQ ID NO:184中包含的V β 氨基酸序列的V β 结构域。

[0107] 在另一方面,本公开提供了能够特异性结合CCNA1肽YSLSEIVPCL(SEQ ID NO:3)的结合蛋白。在某些实施例中,结合蛋白能够结合CCNA1肽YSLSEIVPCL(SEQ ID NO:3):HLA复合物。

[0108] 鉴定TCR V α 和V β 结构域的结合对的方法是本领域已知的,并且包括,例如,PCT专利公开号W0 2016/161273;和PCT公开号W02016/161273.Redmond等,2016,Genome Med.8:80;Munson等人,2016,美国国家科学院院刊.Nat1.学院科学113:8272-7;Kim et al.,2012,PLoS ONE 7:e37338(每种方法的全部内容都通过引用结合到本文中)。因此,本文所述的用于CCNA1特异性V β 结构域(例如,包含如SEQ ID NO:6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、93、101、109、117、123、129、140、147、153、189或190中任一所示的CDR3的V β 结构域)的V α 结构域,反之亦然(例如,包含SEQ ID NO:5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、89、97、105、113、119、127、133、137、143或151中任意一个所示的CDR3的V α 结构域),可以使用本领域已知方法进行识别。

[0109] 氨基酸的保守取代是众所周知的,并且可以天然发生,或者可以在重组产生结合蛋白或TCR时引入。可以使用本领域已知的诱变方法将氨基酸取代、缺失和添加引入蛋白质中(参见,例如,Sambrook等,分子克隆:实验室手册,第3版,冷泉港实验室出版社,纽约,

2001)。寡核苷酸定向的位点特异性(或片段特异性)诱变方法可用于提供改变的多核苷酸,其具有根据所需的取代、缺失或插入而改变的特定密码子。或者,可以使用随机或饱和诱变技术,例如丙氨酸扫描诱变、易错聚合酶链反应诱变和寡核苷酸定向诱变来制备免疫原多肽变体(参见,例如,Sambrook等,同上)。

[0110] 本领域技术人员已知的多种标准表明在肽或多肽的特定位置被取代的氨基酸是否是保守的(或相似的)。例如,相似氨基酸或保守氨基酸取代是其中氨基酸残基被具有相似侧链的氨基酸残基取代的氨基酸。相似的氨基酸可包括在以下类别中:具有碱性侧链的氨基酸(例如赖氨酸、精氨酸、组氨酸);具有酸性侧链的氨基酸(例如天冬氨酸、谷氨酸);具有不带电荷的极性侧链的氨基酸(例如甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸、组氨酸);具有非极性侧链的氨基酸(例如丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸、色氨酸);具有 β 支链侧链的氨基酸(例如苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)和具有芳香族侧链的氨基酸(例如酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸)。被认为更难以分类的脯氨酸与具有脂族侧链的氨基酸(例如亮氨酸、缬氨酸、异亮氨酸和丙氨酸)具有相同的特性。在某些情况下,可以认为谷氨酰胺代替谷氨酸或天冬酰胺代替天冬氨酸,因为谷氨酰胺和天冬酰胺分别是谷氨酸和天冬氨酸的酰胺衍生物。如本领域中所理解的,两个多肽之间的“相似性”是通过比较该多肽的氨基酸序列和保守的氨基酸替代物与第二个多肽的序列来确定的(例如,使用GENEWORKS, Align, BLAST算法或其他方法)本文所述和本领域中实践的算法)。

[0111] 在某些实施例中,本公开中提供的CCNA1特异性结合蛋白能够以HLA*02:01限制性方式特异性结合CCNA1肽。

[0112] 本公开的示例性结合蛋白包括TCR, TCR的抗原结合片段和嵌合抗原受体。示例性的TCR包括 $\alpha\beta$ TCR、 $\gamma\delta$ TCR、单链TCR(scTCR)、可溶性TCR和单结构域TCR。本公开的结合蛋白可以是嵌合的、人源化的或人的。

[0113] 另一示例性结合蛋白是TCR-CAR。TCR-CAR是异源二聚体融合蛋白,通常包含可溶性TCR(V α C α 多肽链和V β C β 多肽链),其中V β C β 多肽链与跨膜结构域和细胞内信号传导成分(例如,包含ITAM的T细胞活化域和任选的共刺激信号传导域)(参见例如Walseng等人, 2017Scientific Reports 7:10713,通过引用整体并入)。

[0114] 在本文所述的任何实施例中,本发明的结合蛋白,例如TCR,可以进一步包含TCR恒定结构域,该TCR恒定结构域例如连接至V α 结构域、V β 结构域或两者的C末端。TCR β 链恒定结构域可以由TRBC1基因或TRBC2基因编码。示例性的TCR β 链恒定结构域(C β)是与SEQ ID NO: 34的氨基酸序列具有至少约75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同一性的TRBC1恒定结构域,或与SEQ ID NO:84的氨基酸序列具有至少约75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同一性的TRBC2恒定域。TCR α 链恒定域(C α)可以由TRAC基因编码。示例性的TCR α 链恒定结构域是包含至少约75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 与SEQ ID NO:33、156或157的氨基酸序列具有98%, 99%或100%的同一性。

[0115] 在某些实施例中,TCR C α 结构域、C β 结构域或两者包含半胱氨酸取代,以在恒定结构域半胱氨酸残基之间产生天然TCR中不存在的链间二硫键。在特定实施例中,结合蛋白包含:(a)在对应于SEQ ID NO:33的位置49的位置、在对应于SEQ ID NO:156的位置48的位置

处、在对应于SEQ ID NO:157 (Thr→Cys) 的位置47的位置处包含半胱氨酸取代的C α 结构域, (b) 在对应于SEQ ID NO:34的位置57的位置处或SEQ ID NO:84的位置56 (Ser→Cys) 的位置处包含半胱氨酸取代的C β 结构域, 或 (c) (a) 和 (b) 两者。

[0116] 在本文所述的任何实施例中, 本发明的结合蛋白, 例如TCR, 可以进一步包含TCR恒定结构域, 该TCR恒定结构域例如连接至V α 结构域、V β 结构域或两者的C末端。示例性的TCR β 链恒定域 (CQ) 是与SEQ ID NO:155的氨基酸序列具有至少约75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同一性的TRBC1恒定域、或与SEQ ID NO:135的氨基酸序列具有至少约75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同一性的TRBC2恒定域。TCR α 链恒定域 (C α) 可以由TRAC基因编码。示例性的TCR α 链恒定结构域与SEQ ID NO:158、159或160的氨基酸序列具有至少约75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同一性。

[0117] 在某些实施例中, TCR C α 结构域是截短的TCR C α 结构域。在特定的实施例中, 截短的TCR α 链恒定结构域在其C末端被截短。在一些实施例中, 截短的TCR α 链恒定结构域可在其C末端具有1、2、3、4或更多个氨基酸的截短, 其对应于SEQ ID NO:33的氨基酸序列。在一个特定的实施例中, 截短的TCR α 链恒定结构域在其N末端被截短。在一些实施例中, 截短的TCR α 链恒定结构域可在其N端具有与SEQ ID NO:33的氨基酸序列相对应的1、2、3、4或更多个氨基酸的截短。

[0118] 在某些实施例中, TCR C β 结构域是截短的TCR C β 结构域。在特定的实施例中, 截短的TCR β 链恒定结构域在其C末端被截短。在一些实施例中, 截短的TCR α 链恒定结构域可在其C末端具有1、2、3、4或更多个氨基酸的截短, 其对应于SEQ ID NO:34或84的氨基酸序列。在特定实施例中, 截短的TCR β 链恒定结构域在其N末端被截短。在一些实施例中, 截短的TCR β 链恒定结构域可在其N端具有1、2、3、4或更多个氨基酸的截短, 其对应于SEQ ID NO:34或84的氨基酸序列。

[0119] 在一些实施例中, 本公开的结合蛋白是TCR, 其包含: (a) 与SEQ ID NO:36、38、40、42、44、86、49、51、53、57、59、63、65、67、81、83、162、165、170、172、174、176、178、180和186中任一个所含的 α 链氨基酸序列具有至少约75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同一性的 α 链; (b) 与SEQ ID NO:36、38、40、42、46、86、49、51、55、57、61、63、67、81、83、162、165、170、172、174、176、178、180和186中任一个所含的 β 链氨基酸序列具有至少约75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100的同一性的 β 链; 或 (c) (a) 的 α 链和 (b) 的 β 链, 其中结合蛋白能够特异性结合人CCNA1肽FLDRFLSCM (SEQ ID NO:1):HLA复合物。

[0120] 示例性的TCR包括TCR, 其包括: (a) 包含SEQ ID NO:36中包含的链氨基酸序列的TCR α 链和包含SEQ ID NO:36中的 β 链氨基酸序列的TCR β 链; (b) 包含SEQ ID NO:38中包含的 α 链氨基酸序列的TCR α 链和包含SEQ ID NO:38中包含的 β 链氨基酸序列的TCR β 链; (c) 包含SEQ ID NO:40中包含的 α 链氨基酸序列的TCR α 链和包含SEQ ID NO:40中包含的 β 链氨基酸序列的TCR β 链; (d) 包含SEQ ID NO:42中包含的 α 链氨基酸序列的TCR α 链和包含SEQ ID NO:42中包含的 β 链氨基酸序列的TCR β 链; (e) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:44的TCR α 链和包含氨基酸序列SEQ ID NO:46的TCR β 链; (f) 包含SEQ ID NO:86中包含的 α 链氨基酸序列的TCR α 链

和包含SEQ ID NO:86中包含的β链氨基酸序列的TCRβ链；(g) 包含SEQ ID NO:49中包含的α链氨基酸序列的TCRα链和包含SEQ ID NO:49中包含的β链氨基酸序列的TCRβ链；(h) 包含SEQ ID NO:51中包含的α链氨基酸序列的TCRα链和包含SEQ ID NO:51中包含的β链氨基酸序列的TCRβ链；(i) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:53的TCRα链和包含氨基酸序列SEQ ID NO:55的TCRβ链；(j) 包含SEQ ID NO:57中包含的α链氨基酸序列的TCRα链和包含SEQ ID NO:57中包含的β链氨基酸序列的TCRβ链；(k) 包含氨基酸序列SEQ ID NO:59的TCRα链和包含氨基酸序列SEQ ID NO:61的TCRβ链；(l) 包含SEQ ID NO:63中包含的α链氨基酸序列的TCRα链和包含SEQ ID NO:63中包含的β链氨基酸序列的TCRβ链；(m) 包含SEQ ID NO:65中包含的α链氨基酸序列的TCRα链和包含SEQ ID NO:67中包含的β链氨基酸序列的TCRβ链；(n) 包含SEQ ID NO:67中包含的α链氨基酸序列的TCRα链和包含SEQ ID NO:67中包含的β链氨基酸序列的TCRβ链；(o) 包含SEQ ID NO:81中包含的α链氨基酸序列的TCRα链和包含SEQ ID NO:81中包含的β链氨基酸序列的TCRβ链；(p) 包含SEQ ID NO:83中包含的α链氨基酸序列的TCRα链和包含SEQ ID NO:83中包含的β链氨基酸序列的TCRβ链；(q) 包含SEQ ID NO:162中包含的α链氨基酸序列的TCRα链和包含SEQ ID NO:162中包含的β链氨基酸序列的TCRβ链；(r) 包含SEQ ID NO:165中包含的α链氨基酸序列的TCRα链和包含SEQ ID NO:165中包含的β链氨基酸序列的TCRβ链；(s) 包含SEQ ID NO:170中包含的α链氨基酸序列的TCRα链和包含SEQ ID NO:170中包含的β链氨基酸序列的TCRβ链；(t) 包含SEQ ID NO:172中包含的α链氨基酸序列的TCRα链和包含SEQ ID NO:172中包含的β链氨基酸序列的TCRβ链；(u) 包含SEQ ID NO:174中包含的α链氨基酸序列的TCRα链和包含SEQ ID NO:174中包含的β链氨基酸序列的TCRβ链；(v) 包含SEQ ID NO:176中包含的α链氨基酸序列的TCRα链和包含SEQ ID NO:176中包含的β链氨基酸序列的TCRβ链；(w) 包含SEQ ID NO:178中包含的α链氨基酸序列的TCRα链和包含SEQ ID NO:178中包含的β链氨基酸序列的TCRβ链；(x) 包含SEQ ID NO:180中包含的α链氨基酸序列的TCRα链和包含SEQ ID NO:180中包含的β链氨基酸序列的TCRβ链；或(y) 包含SEQ ID NO:186中包含的α链氨基酸序列的TCRα链和包含SEQ ID NO:186中包含的β链氨基酸序列的TCRβ链。

[0121] 在其他实施例中，本公开的结合蛋白是TCR，其包含：(a) α链，与SEQ ID NO:69的氨基酸序列或SEQ ID NO:73或182中包含的α氨基酸序列具有至少约75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同一性；(b) α、β链，与SEQ ID NO:71的氨基酸序列或SEQ ID NO:73或182中包含的β链氨基酸序列具有至少约75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同一性；或(c) (a)的α链和(b)的β链，其中所述结合蛋白能够特异性结合人CCNA1肽SLIAAAAFCLA (SEQ ID NO:2) :HLA复合物。

[0122] 示例性的TCR包括：(a) 包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列TCRα链和包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的TCRβ链；(b) 包含SEQ ID NO:73中包含的氨基酸序列的TCRα链和包含SEQ ID NO:73中包含的氨基酸序列的TCRβ链；(c) 包含SEQ ID NO:182的氨基酸序列TCRα链和包含SEQ ID NO:182的氨基酸序列的TCRβ链。

[0123] 在另外的实施例中，本公开的结合蛋白是TCR，其包含：(a) α链，与SEQ ID NO:75的氨基酸序列或SEQ ID NO:79或184中包含的α链氨基酸序列具有至少约75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同一性；(b) α、β链，与

SEQ ID NO:77的氨基酸序列或SEQ ID NO:79或184中所包含的β链氨基酸序列具有至少约75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同一性；或(c) (a)的α链和(b)的β链，其中所述结合蛋白能够与人CCNA1肽YSLSEIVPCL (SEQ ID NO:3) :HLA复合物特异性结合。

[0124] 示例性的TCR包括：(a) 包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列的TCRα链和包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列分TCRβ链；(b) 包含SEQ ID NO:79中包含的氨基酸序列的TCRα链和包含SEQ ID NO:79中包含的氨基酸序列的TCRβ链；(c) 包含SEQ ID NO:184中包含的氨基酸序列的TCRα链和包含SEQ ID NO:184中包含的氨基酸序列的TCRβ链。

[0125] 多核苷酸、载体和宿主细胞

[0126] 在某些方面，提供了编码本文所述的任何一种或多种结合蛋白的核酸分子。

[0127] 在另一方面，本公开提供了编码结合蛋白的多核苷酸，其包含T细胞受体 (TCR) α链可变 (Vα) 结构域和TCRβ链可变 (Vβ) 结构域，其中编码的结合蛋白能够特异性与人细胞周期蛋白A1 (CCNA1) 肽YSLSEIVPCL (SEQ ID NO:3) 结合，其中所述异源多核苷酸经密码子优化以在宿主细胞中表达。

[0128] 在某些实施例中，编码TCRα链或其部分的多核苷酸和编码TCRβ链或其部分的多核苷酸包含在工程宿主细胞 (例如，免疫细胞) 所包含的单个开放阅读框中，其中单个开放阅读框进一步包含编码自切割多肽的多核苷酸，该自切割多肽位于编码α链的多核苷酸和编码β链的多核苷酸之间。在某些实施例中，自切割多肽选自内部核糖体进入位点 (IRES)、弗林蛋白酶切割位点、病毒2A肽或其任意组合。示例性的病毒自我切割多肽包括来自猪破伤风病毒-1 (P2A)、Thosea asigna病毒 (T2A)、马鼻炎A病毒 (E2A)、口蹄疫病毒 (F2A) 或其变体的病毒2A肽。在某些实施例中，示例性的T2A肽序列包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列。其他示例性的核酸和氨基酸序列例如Kim等人 (PLOS One 6:e18556, 2011, 其2A核酸和氨基酸序列通过引用整体并入本文) 中阐述。示例性的P2A肽包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列。示例性的T2A肽包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列。示例性的E2A肽包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列。示例性的F2A肽包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列。

[0129] 编码所需结合蛋白的多核苷酸可通过使用本领域已知的任何合适的分子生物学工程技术来完成，包括使用限制性核酸内切酶消化、连接、转化、质粒纯化和DNA测序，例如Sambrook等人 (1989年和2001年版；《分子克隆：实验室手册》，冷泉港实验室出版社，纽约) 和Ausubel等人 (分子生物学的当前方案，2003) 所述。或者，可以合成产生目的序列。

[0130] 本公开内容的核酸可以指任何形式的单链或双链DNA、cDNA或RNA，并且可以包括彼此互补的核酸的正链和负链，包括反义DNA、cDNA和RNA。还包括siRNA、microRNA、RNA-DNA杂种、核酶以及其他各种天然或合成形式的DNA或RNA。

[0131] 在某些实施例中，编码TCRα链的异源多核苷酸和编码TCRβ链的异源多核苷酸包含在工程免疫细胞中包含的单个开放阅读框中，其中该单个开放阅读框还包含编码自切割多肽的多核苷酸，自切割多肽位于编码α链的多核苷酸和编码β链的多核苷酸之间。

[0132] 在本文所述的任何实施例中，可以对本公开内容的多核苷酸进行密码子优化以在包含多核苷酸的宿主细胞 (例如免疫细胞) 中有效表达 (参见例如Scholten等，Clin.Immunol.779:135-145 (2006))。如本文所用，“密码子优化的”多核苷酸包括异源多核苷酸，所述异源多核苷酸具有经沉默突变修饰的密码子，所述沉默突变对应于目的宿主细

胞中tRNA水平的丰度。

[0133] 根据本文公开的任何实施例,单个多核苷酸分子可以编码一个、两个或多个结合蛋白。编码多于一个转录物的多核苷酸可包含位于每个转录物之间的用于多顺反子表达的序列(例如,病毒2A肽)。

[0134] 在某些实施例中,本公开的结合蛋白可以可操作地连接至载体的某些元件。例如,可以操作地连接实现多核苷酸序列所连接的编码序列的表达和加工所需的多核苷酸序列。表达控制序列可包括适当的转录起始、终止、启动子和增强子序列;有效的RNA处理信号,例如剪接和聚腺苷酸化信号;稳定细胞质mRNA的序列;增强翻译效率的序列(即Kozak共有序列);增强蛋白质稳定性的序列;以及可能的增强蛋白质分泌的序列。如果表达控制序列与目的基因和表达控制序列邻接,则它们可被有效连接,所述表达控制序列以反式或远距离作用来控制目的基因。

[0135] 某些实施例包括载体中包含的本公开的多核苷酸。本领域技术人员可以容易地确定适用于本文公开的某些实施例的载体。示例性载体可包含能够转运与其连接的另一核酸分子或能够在宿主生物中复制的核酸分子。载体的一些实例包括质粒、病毒载体、粘粒和其他。一些载体可能能够在引入它们的宿主细胞中自主复制(例如,具有细菌复制起点的细菌载体和附加型哺乳动物载体),而其他载体可能整合到多核苷酸的宿主细胞的基因组中或促进其整合,多核苷酸在引入宿主细胞时插入并且从而与宿主基因组(例如慢病毒载体)一起复制。另外,一些载体能够指导与其可操作连接的基因的表达(这些载体可以称为“表达载体”)。根据相关实施例,还应理解,如果将一种或多种试剂(例如,如本文所述的编码结合蛋白的多核苷酸)共同施用给受试者,则每种试剂可存在于分开的或相同的载体中,并且多种载体(各自包含不同的试剂或相同的试剂)可以包含在细胞或细胞群中或施用于受试者。

[0136] 载体可以是例如质粒、粘粒、病毒、RNA载体或线性或环状DNA或RNA分子,其可以包括染色体、非染色体、半合成或合成的核酸分子。示例性载体是那些能够自主复制的载体(附加载体)或能够表达与其连接的核酸分子的载体(表达载体)。

[0137] 病毒载体包括逆转录病毒、腺病毒、细小病毒(例如腺相关病毒)、冠状病毒、负链RNA病毒(例如正粘液病毒(例如流感病毒)、弹状病毒(例如狂犬病和水疱性口炎病毒)、副粘病毒(例如麻疹和仙台)、正链RNA病毒(例如小瘤病毒和alpha病毒)以及双链DNA病毒、包括腺病毒、疱疹病毒(例如1型和2型单纯疱疹病毒、EB病毒、巨细胞病毒)和痘病毒(例如痘苗、鸡痘和金丝雀痘)。其他病毒包括诺沃克病毒、披膜病毒、黄病毒、呼肠孤病毒、巴波病毒、肝炎病毒和肝炎病毒。逆转录病毒的实例包括禽白血病肉瘤、哺乳动物C型、B型病毒、D型病毒、HTLV-BLV组、慢病毒、泡沫病毒(Coffin, J.M., 逆转录病毒:病毒及其复制,《基础病毒学》第三版, BN Fields等编辑, Lippincott-Raven Publishers, 费城, 1996)。

[0138] 在某些实施例中,病毒载体可以是 γ 逆转录病毒,例如莫洛尼氏鼠白血病病毒(MLV)衍生的载体。在其他实施例中,病毒载体可以是更复杂的逆转录病毒来源的载体,例如慢病毒来源的载体。HIV-1衍生的载体属于这一类。其他实例包括源自HIV-2、FIV、马传染性贫血病毒、SIV和Maedi-Visna病毒(绵羊慢病毒)的慢病毒载体。使用逆转录病毒和慢病毒载体和包装细胞以用含有转基因的病毒颗粒转导哺乳动物宿主细胞的方法是本领域已知的,并且先前已在例如美国专利8,119,772;Walchli等人, PLoS One 6:327930, 2011;Zhao等, J. Immunol. 174:4415, 2005;恩格斯等, Hum. Gene Ther. 14:1155, 2003;Frecha等

人, Mol. Ther. 18:1748, 2010; 和 Verhoeyen 等人, Methods Mol. Biol. 506:91, 2009 中描述。逆转录病毒和慢病毒载体构建体和表达系统也是可商购的。其他病毒载体也可用于多核苷酸递送, 包括 DNA 病毒载体, 包括例如基于腺病毒的载体和基于腺伴随病毒 (AAV) 的载体; 源自单纯疱疹病毒 (HSV) 的载体, 包括扩增子载体、复制缺陷型 HSV 和减毒的 HSV (Krisky 等, Gene Ther. 5:1517, 1998)。

[0139] 最近开发的用于基因治疗用途的其他载体也可以与本公开的组合物和方法一起使用。这样的载体包括衍生自杆状病毒和 α -病毒的那些 (Jolly, D J. 1999. Friedmann T. ed. Emerging Viral Vectors pp 209-40, Development of Human Gene Therapy. 纽约: 冷泉港实验室), 或质粒载体 (例如睡美人或其他转座子载体)。

[0140] 用于基因工程和产生目的结合蛋白的表达载体的构建可以通过使用本领域已知的任何合适的分子生物学工程技术来完成。为了获得有效的转录和翻译, 每个重组表达构建体中的多核苷酸包括至少一个合适的表达控制序列 (也称为调节序列), 例如与编码结合蛋白的核苷酸序列可操作 (即可操作地) 连接的前导序列, 特别是启动子。

[0141] 有时使用标记以鉴定或监测异源多核苷酸的转导宿主细胞表达, 或检测表达目的结合蛋白的细胞。在某些实施例中, 多核苷酸还包含编码标记的多核苷酸。标记可以是赋予抗药性的选择标记, 也可以是可通过诸如流式细胞术之类的方法检测的可检测标记, 例如荧光标记或细胞表面蛋白。在某些实施例中, 编码标记的多核苷酸位于编码结合蛋白的多核苷酸的 3'。在其他实施例中, 编码标记的多核苷酸位于编码结合蛋白的多核苷酸的 5'。示例性标记包括绿色荧光蛋白 (GFP)、人 CD2 的胞外域、截短的人 EGFR (huEGFRt; 参见 Wang 等, Blood 118:1255 (2011))、截短的人 CD 19 (huCD19t), 截短的人 CD34 (huCD34t) 或截短的人 NGFR (huNGFRt)。在某些实施例中, 编码的标记物包括 EGFRt、CD19t、CD34t 或 NGFRt。示例性的截短的人 EGFR 序列包含 SEQ ID NO:85 的氨基酸序列。

[0142] 在某些实施例中, 载体可以进一步包含自杀基因, 其中自杀基因的表达导致包含载体的宿主细胞死亡。例如, 在某些情况下, 本发明结合蛋白的延长表达是不希望的。载体中包含自杀基因允许对受试者中结合蛋白表达的更好控制。在某些实施例中, 自杀基因的表达是可诱导的, 例如通过使用调节自杀基因表达的诱导型启动子。在一个具体的实施例中, 自杀基因是诱导型胱天蛋白酶 9 基因 (参见美国专利公开号 2013/0071414, 通过引用整体并入)。

[0143] 当病毒载体基因组在单个转基因内包含多个多核苷酸以作为分离的蛋白质在宿主细胞中表达时, 病毒载体还可在两个 (或更多个) 多核苷酸之间包含允许双顺反子或多顺反子表达的其他序列。病毒载体中使用的此类序列的实例包括内部核糖体进入位点 (IRES)、弗林蛋白酶切割位点、病毒 2A 肽或其任意组合。

[0144] 在本文描述的任何实施例中, 多核苷酸可进一步包含编码自切割多肽的多核苷酸, 其中编码自切割多肽的多核苷酸位于编码结合蛋白的多核苷酸和编码标记的多核苷酸之间。

[0145] 在某些实施例中, 自切割多肽包含来自猪破伤风病毒-1 (P2A)、Thosea asigna 病毒 (T2A)、马鼻肺炎病毒 (E2A)、口蹄疫病毒 (F2A) 或其变体。在某些实施例中, 示例性的 T2A 肽序列包含 SEQ ID NO:16 的氨基酸序列。2A 肽的进一步的示例性核酸和氨基酸序列在例如 Kim 等人 (PLOS One 6:e18556, 2011, 其 2A 核酸和氨基酸序列通过引用整体并入本文) 中描

述。示例性的P2A肽包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列。示例性的T2A肽包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列。示例性的E2A肽包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列。示例性的F2A肽包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列。

[0146] 在某些方面,本发明的结合蛋白可以在宿主细胞的表面上表达或由宿主细胞分泌或从宿主细胞分离。宿主细胞可以包括可以接受载体或掺入核酸或表达蛋白质的任何单个细胞或细胞培养物。该术语还涵盖宿主细胞的后代,无论在遗传上还是在表型上相同或不同。合适的宿主细胞可以取决于载体,并且可以包括哺乳动物细胞、动物细胞、人细胞、猿猴细胞、昆虫细胞、酵母细胞和细菌细胞。可以通过使用病毒载体、通过磷酸钙沉淀的转化、DEAE-葡聚糖、电穿孔、显微注射或其他方法诱导这些细胞掺入载体或其他材料。参见,例如,Sambrook等人,Molecular Cloning第2版.(冷泉港实验室,1989年)。

[0147] 除载体外,某些实施例还涉及经修饰(即,基因改造)以包含目前公开的编码结合蛋白(例如,TCR)的异源多核苷酸的宿主细胞或包括编码结合蛋白(例如,TCR)的异源多核苷酸的载体。包含编码至少一种结合蛋白的异源多核苷酸的修饰的或基因工程的宿主细胞在其细胞表面上表达本发明的至少一种结合蛋白。修饰的宿主细胞可表达本公开的单一类型的结合蛋白或两种或更多种不同类型的结合蛋白。宿主细胞可以离体或体内修饰。宿主细胞可以包括可以接受载体或核酸或蛋白质掺入的任何单个细胞或细胞培养物以及任何子代细胞。该术语还涵盖宿主细胞的后代,无论在遗传上还是在表型上相同或不同。合适的宿主细胞可以取决于载体,并且可以包括哺乳动物细胞、动物细胞、人细胞、猿猴细胞、昆虫细胞、酵母细胞和细菌细胞。可以通过使用病毒载体、通过磷酸钙沉淀的转化、DEAE-葡聚糖、电穿孔、显微注射或其他方法诱导这些细胞掺入载体或其他材料。参见例如,Sambrook等,Molecular Cloning第2版.(冷泉港实验室,1989年)。在任何上述实施例中,包含编码本公开内容的结合蛋白的多核苷酸的宿主细胞由与例如在过继免疫疗法程序中接受修饰的宿主细胞的受试者自体、异源或同基因的细胞组成。

[0148] 在某些实施例中,转导以表达本公开内容的结合蛋白的宿主细胞是造血祖细胞或人免疫系统细胞。如本文所用,“造血祖细胞”是可以衍生自造血干细胞或胎儿组织并且能够进一步分化成成熟细胞类型(例如免疫系统细胞)的细胞。示例性的造血祖细胞包括具有CD24^{Lo} Lin⁻CD117⁺表型的那些或在胸腺中发现的那些(称为祖细胞)。

[0149] 在某些实施例中,宿主细胞是免疫系统细胞,包括B细胞、CD4⁺ T细胞、CD8⁺ T细胞、CD4⁻CD8⁻双阴性T细胞、gdT细胞、调节性T细胞、天然杀伤细胞(例如,NK细胞或NK-T细胞)和树突状细胞。

[0150] 在某些实施例中,宿主细胞是T细胞。T细胞可以是幼稚T细胞、记忆T细胞(T_M)、辅助T细胞(T_H)、效应T细胞(TE)、 γ δ T细胞、调节性T细胞(Treg)、自然杀伤性T细胞(NKT)或其任意组合。T_M可以进一步分为中央记忆T细胞(与幼稚T细胞相比,T_{CM}、CD62L、CCR7、CD28、CD127、CD45RO和CD95的表达增加,而CD54RA的表达减少)和效应记忆T细胞(T_{EM},与幼稚T细胞或T_{CM}相比,CD62L、CCR7、CD28、CD45RA的表达降低,而CD127的表达增加)。

[0151] 可以使用已知技术收集T细胞,并且可以通过已知技术,例如通过与抗体的亲和结合、流式细胞术或免疫磁选择来富集或消除各种亚群或其组合。

[0152] 用所需核酸转染/转导T细胞的方法已经描述(例如,在美国专利申请公开号US 2004/0087025;美国专利号6,410,319;PCT公开号W02014/031687;Brentjens等人,2007,

Clin.Cancer Res.13:5426中)为使用具有期望靶特异性的T细胞的过继转移程序(例如,Schmitt等,Hum.Gen.20:1240,2009;Dossett等,Mol.Ther.17:742,2009;Till等人,Blood 112:2261,2008;Wang等人,Hum.Gene Ther.18:712,2007;Kuball等人,Blood 109:2331,2007;US 2011/0243972;Leen等人,Ann.Rev.Immunol.25:243,2007;Kalos等人,Sci Transl.Med.3:95ra73,2011;Porter等人,2011,N.Engl.J.Med.365:725-33,2011),从而基于本文的教导,包括针对本发明结合蛋白的那些,构想了将这些方法应用于当前公开的实施例。

[0153] 当包含根据本发明的多核苷酸、载体或蛋白质时,作为本发明的一个方面考虑的真核宿主细胞除人类免疫细胞(例如人类患者自身的免疫细胞)外,还包括VERO细胞、希拉细胞、中国人仓鼠卵巢(CHO)细胞系(包括能够修饰表达的多价结合分子的糖基化模式的修饰CHO细胞,请参见美国专利申请公开号2003/0115614)、COS细胞(例如COS-7)、W138、BEK、HepG2、3T3、RIN、MDCK、A549、PC12、K562、HEK293细胞、HepG2细胞、N细胞、3T3细胞、草地贪夜蛾细胞(例如Sf9细胞)、酿酒酵母细胞和本领域已知的任何其他真核细胞可用于表达和任选地分离根据本公开的蛋白质或肽。还考虑了原核细胞,包括大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、鼠伤寒沙门氏菌、链霉菌或本领域已知适合表达和任选分离根据本公开的蛋白质或肽的任何原核细胞。特别地,在从原核细胞中分离蛋白质或肽时,可以考虑使用本领域已知的从包涵体提取蛋白质的技术。考虑了糖基化本公开的结合蛋白的宿主细胞。

[0154] 根据常规方法,在含有营养物质和所选宿主细胞生长所需的其他成分的培养基中培养转化或转染的宿主细胞。多种合适的介质,包括确定的介质和复合介质,在本领域中是已知的,并且通常包括碳源、氮源、必需氨基酸、维生素和矿物质。根据需要,培养基还可以包含诸如生长因子或血清的成分。生长培养基通常将通过例如药物选择或必需营养素的缺乏来选择含有异源多核苷酸的细胞,所述必需营养素由表达载体上携带的或共同转染到宿主细胞中的选择标记来补充。

[0155] 在某些实施例中,本公开的结合蛋白在宿主细胞的表面上表达,使得与靶抗原的结合引起来自宿主细胞的活性或应答。可以根据许多本领域公认的用于测定宿主细胞(例如T细胞)活性的方法来对这类表达的蛋白质进行功能表征,所述方法包括确定T细胞结合、激活或诱导,还包括确定抗原特异性的T细胞反应。实例包括确定T细胞增殖、T细胞细胞因子释放、抗原特异性T细胞刺激、MHC限制性T细胞刺激、CTL活性(例如,通过检测从预载靶细胞的⁵¹Cr或Europium释放)、T细胞表型变化标记表达和其他T细胞功能指标。例如,可以在Lefkovits(Immunology Methods Manual:Technical Sourcebook of Techniques,1998)中找到进行这些和类似测定的程序。还参见,Current Protocols in Immunology;Weir, Handbook of Experimental Immunology,Blackwell Scientific,Boston,MA(1986); Mishell and Shigii(ed.) Selected Methods in Cellular Immunology,Freeman Publishing,San Francisco,CA(1979);Green and Reed,Science 281:1309(1998)及其中引用的参考文献。

[0156] 可以根据本文所述和本领域中实践的方法确定细胞因子的水平,包括例如ELISA、ELISPOT、细胞内细胞因子染色和流式细胞术及其组合(例如,细胞内细胞因子染色和流式细胞术)。可以通过分离淋巴细胞,例如外周血细胞样本中的循环淋巴细胞或淋巴结细胞中的循环淋巴细胞,用抗原刺激细胞并测量抗原,来确定由抗原特异性引发或刺激免疫应答

引起的免疫细胞增殖和克隆扩增。细胞因子的产生、细胞增殖和/或细胞活力,例如通过掺入氘化的胸腺嘧啶核苷或非放射性测定,例如MTT测定等。可以例如通过确定Th1细胞因子(例如IFN- γ 、IL-12、IL-2和TNF- β)和2型细胞因子(例如IL-4、IL-5、IL-9、IL-10和IL-13)的水平来检查本文所述的免疫原对Th1免疫应答和Th2免疫应答之间的平衡的作用。

[0157] 在其他方面,提供了试剂盒,其包含(a)如本文所述的载体或表达构建体和用于将载体或表达构建体转导至宿主细胞中的任选试剂,和(b)(i)本文公开的结合蛋白、分离的多核苷酸、载体或表达载体,和(ii)用于将多核苷酸或表达载体转导到宿主细胞中的任选试剂,和(c)本公开的宿主细胞。

[0158] 使用方法

[0159] 在某些方面,本公开中提供的组合物可以用于治疗以过度表达CCNA-1为特征的过度增殖性疾病或病症的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用结合蛋白、包含编码结合蛋白的多核苷酸的载体、表达结合蛋白的修饰宿主细胞或其药物组合物。在某些实施例中,该疾病是癌症。

[0160] 如本文所用,术语“癌症”包括实体瘤和血液系统恶性肿瘤(例如,白血病)。可以治疗的示例性癌症包括胆道癌、膀胱癌、骨和软组织癌、脑肿瘤、乳腺癌、宫颈癌、结肠癌、结肠直肠癌、结肠直肠癌、桥粒状肿瘤、胚胎癌、子宫内膜癌、食道癌、胃癌癌症、胃腺癌、多形性胶质母细胞瘤、妇科肿瘤、头颈鳞状细胞癌、肝癌、肺癌、间皮瘤、恶性黑色素瘤、骨肉瘤、卵巢癌、胰腺癌、胰腺导管腺癌、原发性星形细胞肿瘤、原发性甲状腺癌、前列腺癌、肾癌、肾细胞癌、横纹肌肉瘤、皮肤癌、软组织肉瘤、睾丸生殖细胞肿瘤、尿路上皮癌、子宫肉瘤和子宫癌。

[0161] 典型的血液系统恶性肿瘤包括急性淋巴细胞白血病(ALL)、急性髓细胞性白血病(AML)、慢性粒细胞性白血病(CML)、慢性嗜酸性粒细胞白血病(CEL)、骨髓增生异常综合症(MDS)、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤(NHL)(滤泡性淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤或慢性淋巴细胞性白血病)、骨髓瘤和多发性骨髓瘤(MM)。

[0162] 在某些实施例中,受试者是人类或非人类动物,例如非人类灵长类动物、牛、马、绵羊、猪、猫、狗、山羊、小鼠、大鼠、兔或豚鼠。在一个实施例中,受试者是人,例如成人、青少年、儿童或婴儿。

[0163] 在某些实施例中,给予受试者的修饰的宿主细胞是自体的、同种异体的或同基因的。

[0164] CTL免疫应答的水平可以通过本文所述和本领域常规实践的多种免疫学方法中的任何一种来确定。可以在施用由例如T细胞表达的本文描述的任何CCNA1特异性结合蛋白之前和之后确定CTL免疫应答的水平。可以使用本领域常规实践的几种技术和方法中的任何一种来进行用于确定CTL活性的细胞毒性测定(参见例如Henkart等人,“Cytotoxic T-Lymphocytes” in *Fundamental Immunology*, Paul (ed.) (2003 Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, PA), 第1127-50页,以及其中引用的参考文献)。

[0165] 抗原特异性T细胞可以通过根据本文所述的任何T细胞功能参数(例如,增殖、细胞因子释放、CTL活性、改变的细胞表面标志物表型等)通过比较观察到的T细胞反应来确定。在适当情况下暴露于同源抗原的T细胞(例如,当由免疫相容性抗原呈递细胞呈递时用于引发或激活T细胞的抗原)与来自相同来源群体的T细胞之间的接触结构上不同或无关的对照

抗原。具有统计学显著性的对同源抗原的应答大于对对照抗原的应答表示抗原特异性。

[0166] 可以从受试者获得生物学样品,用于确定对疾病抗原肽的免疫应答的存在和水平。如本文所用,“生物样品”可以是血液样品(可以从中制备血清或血浆)、活检样品、体液(例如,肺灌洗、腹水、粘膜洗涤液、滑液)、骨髓、淋巴结、组织外植体、器官培养物或受试者或生物学来源的任何其他组织或细胞制剂。也可以在接受任何免疫原性组合物之前从受试者获得生物样品,该生物样品可用作建立基线(即免疫前治疗)数据的对照。

[0167] 本文所述的结合蛋白、多核苷酸、载体或修饰的宿主细胞可以在药学或生理学上可接受或合适的赋形剂或载体中施用于受试者。药学上可接受的赋形剂是生物相容性载体,例如生理盐水,其在本文中更详细地描述,其适合于施用于人类或其他非人类哺乳动物受试者。在过继细胞疗法的上下文中,治疗有效剂量是在治疗的人类或非人类哺乳动物中能够以统计学上显著的方式产生临床上期望的结果(例如,细胞毒性T细胞应答)的过继转移中使用的宿主细胞(表达根据本发明的结合蛋白)的量。如医学领域所公知的,任何一位患者的剂量取决于许多因素,包括患者的身材、体重、体表面积、年龄、所要施用的特定疗法、性别、施用时间和途径、总体健康状况以及同时在服用的其他药物。剂量会变化,但是施用包含本文所述的重组表达载体的宿主细胞的优选剂量为约 10^7 细胞/ m^2 、约 5×10^7 细胞/ m^2 、约 10^8 细胞/ m^2 、约 5×10^8 细胞/ m^2 、大约 10^9 细胞/ m^2 、大约 5×10^9 细胞/ m^2 、大约 10^{10} 细胞/ m^2 、大约 5×10^{10} 细胞/ m^2 或大约 10^{11} 细胞/ m^2 。

[0168] 如医学领域技术人员所确定的,可以以适合于待治疗(或预防)的疾病或状况的方式施用药物组合物。组合物的合适剂量以及合适的持续时间和施用频率将由诸如患者的健康状况、患者的大小(即重量、体重或体表面积)、患者疾病的类型和严重程度、活性成分的特定形式以及给药方法等因素来确定。通常,合适的剂量和治疗方案以足以提供治疗和/或预防益处的量提供组合物(例如本文所述,包括改善的临床结果,例如更频繁的完全或部分缓解、或更长无疾病和/或总体生存率、或症状严重程度减轻)。为了预防使用,剂量应足以预防、延迟与疾病或病症相关的疾病的发作或减轻其严重性。可以通过进行临床前(包括体外和体内动物研究)和临床研究,并分析通过适当的统计学、生物学和临床方法及技术从中获得的数据,来确定根据本文所述方法施用的免疫治疗组合物的预防益处,所有这些都可以由本领域技术人员容易地实践。

[0169] 本文描述的药物组合物可以存在于单位剂量或多剂量容器中,例如密封的安瓿或小瓶中。这样的容器可以冷冻以保持制剂的稳定性直到使用。在某些实施例中,单位剂量包含本文所述的重组宿主细胞,其剂量为约 10^7 细胞/ m^2 至约 10^{11} 细胞/ m^2 。本领域技术人员可以确定在各种治疗方案中使用本文所述的特定组合物的合适的剂量和治疗方案(包括例如肠胃外或静脉内给药或制剂)的开发。

[0170] 如果本发明的组合物肠胃外给药,则该组合物还可包含无菌的水性或油性溶液或悬浮液。合适的无毒胃肠外可接受的稀释剂或溶剂包括水、林格氏溶液、等渗盐溶液、1,3-丁二醇、乙醇、丙二醇或聚乙二醇与水的混合物。水溶液或悬浮液可进一步包含一种或多种缓冲剂,例如乙酸钠、柠檬酸钠、硼酸钠或酒石酸钠。当然,用于制备任何剂量单位制剂的任何材料应该是药学上纯的,并且在使用量上基本上是无毒的。另外,可以将活性化合物掺入缓释制剂和制剂中。如本文所用,剂量单位形式是指物理上离散的单位,其适合于作为待治疗对象的单位剂量。每个单元可以包含预定量的重组细胞或活性化合物,所述重组细胞或

活性化合物经计算可与合适的药物载体结合产生期望的治疗效果。

[0171] 通常,适当的剂量和治疗方案以足以提供治疗或预防益处的量提供活性分子或细胞。与未治疗的受试者相比,可以通过在治疗的受试者中建立改善的临床结局(例如,更频繁的缓解、完全或部分或更长的无病生存期)来监测这种反应。预先存在的针对肿瘤蛋白的免疫反应的增加通常与改善的临床结果相关。通常可以使用标准增殖、细胞毒性或细胞因子测定法来评估这种免疫应答,其可以使用在治疗之前和之后从受试者获得的样品来进行。

[0172] 在某些实施例中,治疗疾病的方法包括与一种或多种其他试剂组合施用修饰的免疫细胞。

[0173] 在某些实施例中,将本公开的修饰的免疫细胞与免疫抑制组分的抑制剂一起施用于受试者。

[0174] 如本文所用,术语“免疫抑制成分”或“免疫抑制组分”是指提供抑制信号以帮助控制或抑制免疫应答的一种或多种细胞、蛋白质、分子、化合物或复合物。例如,免疫抑制成分包括部分或全部阻断免疫刺激;减少、预防或延迟免疫激活;或增加、激活或上调免疫抑制的分子。示例性免疫抑制组分靶标在本文中进一步详细描述,并且包括免疫检查点分子,例如PD-1、PD-L1、PD-L2、CD80、CD86、B7-H3、B7-H4、HVEM、腺苷、GAL9、VISTA、CEACAM-1、PVRL2、CTLA-4、BTLA、KIR、LAG3、TIM3、A2aR、CD244/2B4、CD 160、TIGIT、LAIR-1、PVRIG/CD112R;代谢酶,例如精氨酸酶、吡哆胺2,3-二加氧酶(IDO);免疫抑制细胞因子,例如IL-10、IL-4、IL-1RA、IL-35;Treg细胞,或其任意组合。

[0175] 免疫抑制成分的抑制剂可以是化合物、抗体、抗体片段或融合多肽(例如Fc融合物,例如CTLA4-Fc或LAG3-Fc)、反义分子、核酶或RNAi分子、或低分子量有机分子。在本文公开的任何实施例中,方法可以包括将修饰的免疫细胞与以下免疫抑制组分中的任一种的一种或多种抑制剂单独或以任意组合给予。

[0176] 在某些实施例中,修饰的免疫细胞与PD-1抑制剂(例如PD-1特异性抗体或其结合片段)组合使用,所述抗体例如是pidilizumab、nivolumab(Keytruda,以前称为MDX-1106)、pembrolizumab(Opdivo,以前称为MK-3475)、MEDI0680(以前称为AMP-514)、AMP-224、BMS-936558或其任意组合。

[0177] 在某些实施例中,修饰的免疫细胞与PD-L1特异性抗体或其结合片段组合使用,例如BMS-936559、德瓦鲁单抗(MEDI4736)、阿特朱单抗(RG7446)、avelumab(MSB0010718C)、MPDL3280A或其任意组合。

[0178] 在某些实施例中,修饰的免疫细胞与LAG3抑制剂例如LAG525、IMP321、IMP701、9H12、BMS-986016或其任意组合组合使用。

[0179] 在某些实施例中,修饰的免疫细胞与CTLA4的抑制剂组合使用。在特定的实施例中,修饰的免疫细胞与CTLA4特异性抗体或其结合片段结合使用,所述抗体或其结合片段例如易普利姆玛、tremelimumab、CTLA4-Ig融合蛋白(例如ababatcept、贝拉西普)或其任意组合。

[0180] 在某些实施例中,修饰的免疫细胞与B7-H3特异性抗体或其结合片段,例如依诺妥珠单抗(MGA271)、376.96或两者结合使用。

[0181] 在某些实施例中,修饰的免疫细胞与B7-H4特异性抗体或其结合片段,例如scFv或

其融合蛋白结合使用,如在例如Dangaj等,Cancer Res.73:4820,2013,以及美国专利第9,574,000号和PCT专利公开号W02016/40724和W0 2013/025779中所述。

[0182] 在一些实施例中,修饰的免疫细胞与CD244的抑制剂组合使用。

[0183] 在某些实施例中,修饰的免疫细胞与BLTA、HVEM、CD 160或其任意组合的抑制剂组合使用。抗CD-160抗体在例如PCT公开号W02010/084158中描述。

[0184] 在更多的实施例中,修饰的免疫细胞与TIM3的抑制剂组合使用。

[0185] 在更多实施例中,修饰的免疫细胞与Gal9的抑制剂组合使用。

[0186] 在某些实施例中,修饰的免疫细胞与腺苷信号传导抑制剂如诱饵腺苷受体组合使用。

[0187] 在某些实施例中,修饰的免疫细胞与A2aR抑制剂组合使用。

[0188] 在某些实施例中,修饰的免疫细胞与KIR抑制剂,例如lirilumab (BMS-986015) 组合使用。

[0189] 在某些实施例中,修饰的免疫细胞与抑制性细胞因子(通常是除TGF β 以外的细胞因子)或Treg发育或活性的抑制剂组合使用。

[0190] 在某些实施例中,修饰的免疫细胞与IDO抑制剂例如左旋-1-甲基色氨酸、依帕克司他(INCB024360;Liu等人,Blood 115:3520-30,2010)、ebselen(Terentis等人,Biochem.49:591-600,2010)、吡啶莫德、NLG919(Mautino等人,美国癌症研究协会第104届年会2013;2013年4月6-10日)、1-甲基色氨酸(1-MT)-tira-pazamine或其任意组合组合使用。

[0191] 在某些实施例中,修饰的免疫细胞与精氨酸酶抑制剂组合使用,所述精氨酸酶抑制剂例如N(ω)-硝基-L-精氨酸甲酯(L-NAME)、N- ω -羟基-nor-1-精氨酸(nor-NOHA)、L-NOHA、2(S)-氨基-6-硼代己酸(ABH)、S-(2-硼代乙基)-L-半胱氨酸(BEC)或其任意组合。

[0192] 在某些实施例中,修饰的免疫细胞与VISTA的抑制剂例如CA-170(Curis, Lexington,MA)组合使用。

[0193] 在某些实施例中,修饰的免疫细胞与LAIR1抑制剂组合使用。

[0194] 在某些实施例中,修饰的免疫细胞与CEACAM-1、CEACAM-3、CEACAM-5或其任意组合的抑制剂组合使用。

[0195] 在某些实施例中,修饰的免疫细胞与增加刺激性免疫检查点分子的活性的试剂(即,激动剂)组合使用。例如,修饰的免疫细胞可以与CD137(4-1BB)激动剂(例如urelumab)、CD134(OX-40)激动剂(例如MEDI6469、MEDI6383、或MEDI0562)、来那度胺、泊马利度胺、CD27激动剂(例如CDX-1127)、CD28激动剂(例如TGN1412、CD80或CD86)、CD40激动剂(例如,CP-870,893、rhuCD40L或SGN-40)、CD122激动剂(例如IL-2)、GITR激动剂(例如PCT专利公开No.W0 2016/054638)、ICOS(CD278)的激动剂(例如GSK3359609、mAb 88.2、JTX-2011、Icos145-1或Icos 314-8)或其任意组合。在本文公开的任何实施例中,一种方法可以包括将修饰的免疫细胞与一种或多种刺激性免疫检查点分子(包括上述任何一种)的激动剂单独或任意组合施用。

[0196] 在其他实施例中,本公开的方法进一步包括给予包括以下中的一种或多种的次级疗法:对由所靶向的癌细胞表达的癌症抗原具有特异性的抗体或抗原结合片段;化学治疗剂;手术;放射治疗;细胞因子;RNA干扰疗法,或其任意组合。

[0197] 可用于癌症治疗的示例性单克隆抗体包括例如在Galluzzi等人,Oncotarget 5 (24):12472-12508,2014中描述的单克隆抗体,这些抗体通过引用整体并入本文。

[0198] 在某些实施例中,联合治疗方法包括向受试者施用修饰的免疫细胞并进一步进行放射治疗或手术。放射疗法包括X射线疗法(例如 γ 射线)和放射性药物疗法。适用于治疗给定的癌症或非发炎的实体瘤的手术和外科技术可以与本公开的修饰的免疫细胞组合用于受试者。

[0199] 在某些实施例中,组合疗法方法包括将修饰的免疫细胞和化学治疗剂给予受试者。化学治疗剂包括但不限于染色质功能抑制剂、拓扑异构酶抑制剂、微管抑制药物、DNA损伤剂、抗代谢物(例如叶酸拮抗剂、嘧啶类似物、嘌呤类似物和糖修饰的类似物)、DNA合成抑制剂、DNA交互作用剂(例如嵌入剂)和DNA修复抑制剂。示例性化学治疗剂包括但不限于以下组:抗代谢物/抗癌剂,例如嘧啶类似物(5-氟尿嘧啶、氟尿苷、卡培他滨、吉西他滨和阿糖胞苷)和嘌呤类似物、叶酸拮抗剂和相关抑制剂(巯基嘌呤、硫鸟嘌呤、喷司他丁和2-氯脱氧腺苷(克拉屈滨));抗增殖/抗有丝分裂剂包括长春花生物碱(长春碱、长春新碱和长春瑞滨)、微管干扰物、如紫杉烷(紫杉醇、多西紫杉醇)、长春新碱、长春花碱、诺考达唑、埃博霉素和茚韦尔宾、表鬼臼毒素(鬼臼乙叉甙、依托泊苷、氮苄青霉素、蒽环类、博来霉素、白消安、喜树碱、卡铂、苯丁酸氮芥、顺铂、环磷酰胺、环磷酰胺、放线菌素、柔红霉素、阿霉素、表柔比星、六甲基三聚氰胺草酸铂、异磷酰胺、美育素、三聚氰胺、三聚氰胺、三聚氰胺、四氢呋喃、四氢呋喃替莫唑胺、替尼泊苷、三亚乙基硫代磷酰胺和依托泊苷(VP 16));抗生素、如放线菌素(放线菌素D)、柔红霉素、阿霉素(阿霉素)、伊达比星、蒽环类、米托蒽醌、博来霉素、普卡霉素(线霉素)和丝裂霉素;酶(L-天冬酰胺酶可全身性代谢L-天冬酰胺、并剥夺没有能力合成其自身天冬酰胺的细胞);抗血小板药;抗增殖/抗有丝分裂的烷基化剂、例如氮芥子碱(甲氯乙胺、环磷酰胺及其类似物、美法仑、苯丁酸氮芥)、亚乙基亚胺和甲基三聚氰胺(六甲基三聚氰胺和噻替帕)、烷基磺酸盐-白硫丹、亚硝基脲(卡莫司汀(BCNU)和类似物、链脲佐星一(DTIC);抗增殖/抗有丝分裂抗代谢物、例如叶酸类似物(甲氨蝶呤);铂配位配合物(顺铂、卡铂)、丙卡巴嗪、羟基脲、米托坦、氨基谷氨酰胺;激素、激素类似物(雌激素、他莫昔芬、戈舍瑞林、比卡鲁胺、尼鲁米特)和芳香酶抑制剂(来曲唑、阿那曲唑);抗凝剂(肝素、合成肝素盐和其他凝血酶抑制剂);纤维蛋白溶解剂(例如组织纤溶酶原激活剂、链激酶和尿激酶)、阿司匹林、双嘧达莫、噻氯匹定、氯吡格雷、阿昔单抗;抗转移剂;抗分泌剂(breveldin);免疫抑制剂(环孢霉素、他克莫司(FK-506)、西罗莫司(雷帕霉素)、硫唑嘌呤、霉酚酸酯);抗血管生成化合物(TNP470、染料木黄酮)和生长因子抑制剂(血管内皮生长因子(VEGF)抑制剂、成纤维细胞生长因子(FGF)抑制剂);血管紧张素受体阻滞剂;一氧化氮供体;反义寡核苷酸;抗体(曲妥珠单抗、利妥昔单抗);嵌合抗原受体;细胞周期抑制剂和分化诱导剂(维甲酸);mTOR抑制剂、拓扑异构酶抑制剂(阿霉素(阿霉素)、氨水扁桃碱、喜树碱、柔红霉素、放线菌素、依尼泊苷、表柔比星、依托泊苷、伊达柔比星、伊立替康(CPT-11)和米托蒽醌、氢可酮、甾体酮、可替康可、依地替康、依地替康甲基prednisolone、泼尼松和泼尼松);生长因子信号转导激酶抑制剂线粒体功能障碍诱导剂、霍乱毒素、蓖麻毒蛋白、假单胞菌外毒素、百日咳博德特氏菌腺苷酸环化酶毒素或白喉毒素等毒素、以及胱天蛋白酶激活剂;和染色质破坏剂。

[0200] 细胞因子可用于操纵宿主针对抗癌活性的免疫反应。参见例如Floros和Tarhini,

Semin.Oncol.42,539,2015。可用于促进抗癌或抗肿瘤反应的细胞因子包括,例如IFN- α 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-10、IL-12、IL-13、IL-15、IL-16、IL-17、IL-18、IL-21、IL-24和GM-CSF可以单独使用或组合使用。

[0201] 另一种癌症治疗方法涉及减少癌基因以及癌细胞生长、维持、增殖和免疫逃避所需的其他基因的表达。RNA干扰,尤其是microRNA(miRNA)小型抑制性RNA(siRNA)的使用提供了一种降低癌基因表达的方法。参见例如,Larsson等,Cancer Treat.Rev.16:128,2017。

[0202] 在本文公开的任何实施例中,任何治疗剂(例如,修饰的免疫细胞、免疫抑制成分的抑制剂、刺激性免疫检查点分子的激动剂、化学治疗剂、放射疗法、外科手术、细胞因子或抑制性RNA)可以在治疗过程中一次或多次施用于受试者,并且可以以任何顺序(例如,同时、并发或以任何顺序)组合施用于受试者或任意组合。组合物的合适剂量、合适的持续时间和施用频率将由诸如患者的状况;肿瘤或癌症的大小、类型、扩散、生长和严重性;活性成分的特定形式;和施用方法等因素来确定。

[0203] 在某些实施例中,向受试者施用多种剂量的本文所述的修饰的免疫细胞,其可以在约两周至约四周的施用之间的间隔内施用。在进一步的实施例中,依序给予细胞因子(例如IL-2、IL-15、IL-21),条件是在给予细胞因子之前至少向受试者给予重组宿主细胞至少三或四次。在某些实施例中,细胞因子与宿主细胞同时施用。在某些实施例中,皮下施用细胞因子。

[0204] 在另外的实施例中,被治疗的受试者进一步接受免疫抑制疗法,例如钙调神经磷酸酶抑制剂、皮质类固醇、微管抑制剂、低剂量的霉酚酸前药或其任意组合。在另外的实施例中,被治疗的受试者已经接受了非骨髓性或造血性造血细胞移植,其中可以在所述非骨髓性的造血细胞移植后至少两至至少三个月施用所述治疗。

[0205] 如本文所述,治疗或药物组合物的有效量是指在所需剂量和所需时间段内足以达到所需临床结果或有益治疗的量。有效量可以一次或多次给药方式递送。如果对已知或已确认患有某种疾病或疾病状态的受试者给药,则术语“治疗量”可以用于治疗,而“预防有效量”可以用于描述对作为预防性过程易感或有患疾病或疾病状态(例如复发)的风险的受试者的给予的有效量。

[0206] 示例

[0207] 示例1:

[0208] 细胞周期蛋白A1 TCR

[0209] 选择最保守的细胞周期蛋白A1同工型的人细胞周期蛋白A1同工型3的蛋白质序列(SEQ ID NO:4),以最大化癌症表达目标表位的机会。通过用跨越整个CCNA1蛋白序列的重叠肽库刺激供体CD8⁺ T细胞来发现细胞周期蛋白A1特异性TCR,所述重叠肽库被设计为覆盖所有可能的MHC-1表位。当在大约3轮肽刺激后观察到针对完整肽库的反应性T细胞时,通过用表达单个目标HLA等位基因的单个肽和细胞系进行筛选来确定最小的肽表位和呈递的HLA等位基因(参见图1)。

[0210] 在对几种不同的HLA-A2+供体细胞进行3轮刺激后,检测到细胞周期蛋白A1(227-235)特异性T细胞反应。通过用HLA-A2/细胞周期蛋白A1(227-235)荧光标记的多聚体标记来检测抗原特异性应答(图2第一行)。通过将T细胞与转导表达细胞周期蛋白A1的721.221

白血病细胞系以及作为阴性对照的HLA-A1 (图2的第二行) 或HLA-A2 (图2的第三行) 一起培养 (incubate) 来确认HLA限制和效应子功能)。将游离肽作为阳性对照添加至T细胞 (图2的第4行)。在高尔基抑制剂存在下共同培养4小时后, 固定T细胞并使其通透, 然后用抗IFN γ 抗体标记并通过流式细胞仪进行分析。几种T细胞系不仅表现出抗原特异性 (通过四聚体结合), 而且对表达肿瘤抗原和HLA等位基因正确组合的细胞系所呈现的游离肽和天然加工的肽都具有效应子功能。

[0211] HLA-A2/细胞周期蛋白A1 (227-235) 特异性T细胞系按其四聚体结合亲和力排名, 以选择最高亲和力的TCR进行进一步分析。在一系列单独的实验中, 从12个不同的供体中产生了大约150个不同的T细胞系或克隆。这些的子集如图3A-3B示出。仔细计数T细胞, 并用递减浓度的HLA-A2/细胞周期蛋白A1 (227-235) 荧光标记的多聚体标记来自每个T细胞系的相等数目的T细胞。将每条线的多聚体染色的平均荧光强度相对于四聚体浓度作图 (图3A)。从该图进行线性回归分析以确定最大结合系数, 将其应用于原始数据以生成每条线的相对解离常数 (K_d), 即提供50%最大结合的四聚体浓度。这些值与TCR亲和力成反比, 其中最低的 K_d 对应于最高的预测亲和力 (图3B)。在不同的供体和测试的T细胞系之间, MHC-肽多聚体具有一系列不同的亲和力。选择了10种最佳候选基因用于RACE PCR、TCR测序和慢病毒TCR基因转移载体的产生。

[0212] 图4示出了如何从供体CD8⁺ T细胞中分离、鉴定和表达预测具有高亲和力TCR的高亲和力抗原特异性T细胞系的TCR, 并在功能上进行比较。在测试的10个HLA-A2/细胞周期蛋白A1 (227-235) 特异性TCR中, 有5个成功克隆到慢病毒载体中, 在CD8⁺ T细胞中表达, 并与MHC-CCNA1肽多聚体结合。包括一个先前生成的HLA-A2/细胞周期蛋白A1 (227-235) 特异性TCR#4进行比较, 以及HLA-A2/细胞周期蛋白A1 (341-351), TCR#7和HLA-A2/细胞周期蛋白A1 (370-379), TCR#8另外两个特有的TCR也被克隆、表达和测试。将成功转导的CD8⁺ T细胞与相关的MHC-肽多聚体进行分选, 并在进行功能分析之前进行扩增。表1提供了CDR3序列以及T细胞受体 α 和 β 基因的使用。

[0213] 表1. 细胞周期蛋白A1特异性TCR

[0214]

TCR 名 称	TCR α (TRA) 基因	Vα CDR3	TCRβ (TRB) 基 因	Vβ CDR3
5	TRAV30*01 J20*01	CGTEEANDYKLSF (SEQ ID NO:5)	TRBV9*01 J2-7*01	CASSVGQGSSYEQYF (SEQ ID NO:6)
9	TRAV10*01 J34*01	CVVWGGDTDKLIF (SEQ ID NO:7)	TRBV2*01 J1-6*01	CAILDGEGSPLHF (SEQ ID NO:8)
6	TRAV24*01 J20*01	CALGPYNDYKLSF (SEQ ID NO:9)	TRBV6-6*01 J2-2*01	CASSDRSNTGELFF (SEQ ID NO:10)
1	TRAV21*01 J12*01	CAVEGDSSYKLIF (SEQ ID NO:11)	TRBV5-6*01 J2-5*01	CASSFFSQETQYF (SEQ ID NO:12)
2	TRAV21*02 J26*01	CAVIGEQNFVF (SEQ ID NO:13)	TRBV7-3*01 J2-6*01	CASSLSGLGSGANVLTF (SEQ ID NO:14)
3	TRAV12-2*02 J13*02	CAVDSGGYQKVTF (SEQ ID NO:15)	TRBV7-3*01 J1-1*01	CASSLNMTAEAFF (SEQ ID NO:16)
10	TRAV17*01 J53*01	CATDESSNYKLTF (SEQ ID NO:17)	TRBV7-3*01 J1-1*01	CASSLNMTAEAFF (SEQ ID NO:18)
4	TRAV17*01 J48*01	CATDAWESNFGNEKLTF (SEQ ID NO:19)	TRBV7-2*01 J2-7*01	CASSLVVGSYEQYF (SEQ ID NO:20)

[0215]

7	TRAV24*01 J49*01	CAYLGAGNQFYF (SEQ ID NO:21)	TRBV19*01 J1-2*01	CASSLNRRGRYGYTF (SEQ ID NO:22)
8	TRAV19*01 J6*01	CALSELASGGSYIPTF (SEQ ID NO:23)	TRBV5-6*01 J2-3*01	CASSFRLAGGPSTDTQYF (SEQ ID NO:24)
11	TRAV10*01 J34*01	CVVWGGDTDKLIF (SEQ ID NO:7)	TRBV10-2*01 J2-7*01	CASSDGGGQYF (SEQ ID NO:189)

[0216] TCR#5、9、6、1、2、3、10、11和4对与HLA*02:01复合的细胞周期蛋白A1 (227-235) FLDRFLSCM肽 (SEQ ID NO:1) 具有特异性。TCR#7特异于与HLA*02:01复合的细胞周期蛋白A1 (341-351) SLIAAAAFCLA (SEQ ID NO:2)。TCR#8特异于与HLA*02:01复合的细胞周期蛋白A1 (370-379)。

[0217] 在高尔基抑制剂存在下,将第一T细胞与不同浓度的特定肽配体培养4小时,然后固定T细胞并使其通透并用抗IFN γ 抗体标记,以进行流式细胞术分析(图5A)。然后,通过将T细胞与HLA-A2+细胞周期蛋白A1+KCL22白血病细胞靶标以不同比例共培养,来测试TCR转导的T细胞的细胞毒性功能。用荧光染料标记靶标,并与抗原阴性对照细胞等比例混合(图5B)。在6小时的培养结束时,通过流式细胞术确定剩余的标记靶的频率(相对于对照细胞),并从该数据计算抗原特异性杀伤的百分比。使用几种开放获取在线算法预测了不同肽表位与HLA-A2的结合强度以及这些表位将由全长蛋白的蛋白质体加工产生的可能性(图5C)。如图5B所示,进行了第二次细胞毒性试验,但是这次比较了最有希望的细胞周期蛋白A1 (227-

235) 特异性TCR (#3) 杀死肽负载的T2靶细胞HLA-A2+细胞周期蛋白A1+AML细胞系 (ML1) 和HLA-A2+细胞周期蛋白A1+原发性AML样品的能力(图5D)。将未转导的T细胞与相同靶标在单独的孔中培养,以控制杀伤的特异性。

[0218] 图5A显示当用低剂量的游离肽刺激时,识别肽341和370的TCR优于227特异性TCR。在图5B中,使用内源性表达细胞周期蛋白A1蛋白的靶细胞进行的杀伤测定通过227特定的TCR中的至少一个表现出优异的杀伤力,该细胞周期蛋白A1蛋白经蛋白质组加工,装载到MHC分子上并转运到细胞表面以被T细胞识别。这表明,与其他表位相比,肿瘤细胞系可能更有效地处理227肽,而当作为游离配体引入时,341和370可能在溶液中更稳定或与MHC结合更牢固,从而导致卓越的T细胞功能。图5C显示,有一些生物信息学数据表明,肽370确实比肽227更牢固地结合HLA-A2,但该227是预测的三种CCNA1肽中预计将被细胞的一般蛋白体加工机制切割的仅有的一种。该信息支持肽227是癌症治疗的良好靶标。图5D显示表现最佳的227TCR候选物能够杀死载有肽的靶细胞,表达细胞周期蛋白A1的AML细胞系和主要AML样品,尽管肿瘤细胞表面的肽浓度可能比载肽的情况低得多。

[0219] 由于细胞周期蛋白A1蛋白序列在人和小鼠中高度保守,并且小鼠和人在肺和大脑中均显示低水平的CCNA1 mRNA表达(通过qPCR),因此小鼠是测试细胞周期蛋白A1特异性安全性的良好模型体内TCR。为了使人类HLA*A02:01限制性TCRs在小鼠中识别其同源抗原,已进行基因工程改造以表达HLA*A0:012分子的转基因小鼠用于体内测试。因此,人TCR可变结构域维持其识别肽和呈递的MHC分子的能力。为了在小鼠T细胞表面上有效表达人TCR,已设计了鼠类TCR恒定域来代替人TCR的人TCR恒定域,从而使小鼠TCR发挥正常功能(请参见图6)。

[0220] 可以将上述各种实施例组合以提供其他实施例。本说明书中提及和/或在应用数据表中列出的所有美国专利、美国专利申请出版物、美国专利申请、外国专利、外国专利申请和非专利出版物的全部内容通过引用合并于此,包括2018年2月12日提交的美国临时专利申请号62/629,648,2018年2月13日提交的美国临时专利申请号62/630,198和2018年5月4日提交的美国临时专利申请号62/667,207。如果需要采用各种专利、申请和出版物的理念以提供进一步的实施例,则可以修改实施例的各方面。

[0221] 可以根据以上详细描述对实施例进行这些和其他改变。通常,在以下权利要求书中,所使用的术语不应解释为将权利要求书限制为说明书和权利要求书中公开的特定实施例,而是应解释为包括所有可能的实施例以及权利要求等同物的全部范围。因此,权利要求不受公开内容的限制。

序列表

<110> 弗雷德哈钦森癌症研究中心

R • 佩雷特

P • D • 格林伯格

<120> 细胞周期蛋白A1特异性T细胞受体及其用途

<130> 360056.460W0

<140> PCT

<141> 2019-02-12

<150> US 62/667,207

<151> 2018-05-04

<150> US 62/630,198

<151> 2018-02-13

<150> US 62/629,648

<151> 2018-02-12

<160> 190

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> CCNA1 227-235肽

<400> 1

Phe Leu Asp Arg Phe Leu Ser Cys Met

1 5

<210> 2

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> CCNA1 341-351肽

<400> 2

Ser Leu Ile Ala Ala Ala Ala Phe Cys Leu Ala

1 5 10

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> CCNA1 370-379肽

<400> 3

Tyr Ser Leu Ser Glu Ile Val Pro Cys Leu

1 5 10

<210> 4

<211> 421

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> CCNA1蛋白同工型3

<400> 4

Met His Cys Ser Asn Pro Lys Ser Gly Val Val Leu Ala Thr Val Ala

1 5 10 15

Arg Gly Pro Asp Ala Cys Gln Ile Leu Thr Arg Ala Pro Leu Gly Gln

20 25 30

Asp Pro Pro Gln Arg Thr Val Leu Gly Leu Leu Thr Ala Asn Gly Gln

35 40 45

Tyr Arg Arg Thr Cys Gly Gln Gly Ile Thr Arg Ile Arg Cys Tyr Ser

50 55 60

Gly Ser Glu Asn Ala Phe Pro Pro Ala Gly Lys Lys Ala Leu Pro Asp

65 70 75 80

Cys Gly Val Gln Glu Pro Pro Lys Gln Gly Phe Asp Ile Tyr Met Asp

85 90 95

Glu Leu Glu Gln Gly Asp Arg Asp Ser Cys Ser Val Arg Glu Gly Met

100 105 110

Ala Phe Glu Asp Val Tyr Glu Val Asp Thr Gly Thr Leu Lys Ser Asp

115 120 125

Leu His Phe Leu Leu Asp Phe Asn Thr Val Ser Pro Met Leu Val Asp

130 135 140

Ser Ser Leu Leu Ser Gln Ser Glu Asp Ile Ser Ser Leu Gly Thr Asp

145 150 155 160

Val Ile Asn Val Thr Glu Tyr Ala Glu Glu Ile Tyr Gln Tyr Leu Arg

165 170 175

Glu Ala Glu Ile Arg His Arg Pro Lys Ala His Tyr Met Lys Lys Gln

180 185 190

Pro Asp Ile Thr Glu Gly Met Arg Thr Ile Leu Val Asp Trp Leu Val

195 200 205

Glu Val Gly Glu Glu Tyr Lys Leu Arg Ala Glu Thr Leu Tyr Leu Ala

210	215	220
Val Asn Phe Leu Asp Arg Phe Leu Ser Cys Met Ser Val Leu Arg Gly		
225	230	235
Lys Leu Gln Leu Val Gly Thr Ala Ala Met Leu Leu Ala Ser Lys Tyr		240
	245	250
Glu Glu Ile Tyr Pro Pro Glu Val Asp Glu Phe Val Tyr Ile Thr Asp		255
	260	265
Asp Thr Tyr Thr Lys Arg Gln Leu Leu Lys Met Glu His Leu Leu Leu		270
	275	280
Lys Val Leu Ala Phe Asp Leu Thr Val Pro Thr Thr Asn Gln Phe Leu		285
290	295	300
Leu Gln Tyr Leu Arg Arg Gln Gly Val Cys Val Arg Thr Glu Asn Leu		
305	310	315
Ala Lys Tyr Val Ala Glu Leu Ser Leu Leu Glu Ala Asp Pro Phe Leu		320
	325	330
Lys Tyr Leu Pro Ser Leu Ile Ala Ala Ala Phe Cys Leu Ala Asn		335
	340	345
Tyr Thr Val Asn Lys His Phe Trp Pro Glu Thr Leu Ala Ala Phe Thr		350
355	360	365
Gly Tyr Ser Leu Ser Glu Ile Val Pro Cys Leu Ser Glu Leu His Lys		
370	375	380
Ala Tyr Leu Asp Ile Pro His Arg Pro Gln Gln Ala Ile Arg Glu Lys		
385	390	395
Tyr Lys Ala Ser Lys Tyr Leu Cys Val Ser Leu Met Glu Pro Pro Ala		400
	405	410
Val Leu Leu Leu Gln		415
420		

<210> 5

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 5号V α CDR3

<400> 5

Cys Gly Thr Glu Glu Ala Asn Asp Tyr Lys Leu Ser Phe

1

5

10

<210> 6

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 5号V β CDR3

<400> 6

Cys Ala Ser Ser Val Gly Gln Gly Ser Ser Tyr Glu Gln Tyr Phe

1 5 10 15

<210> 7

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 9号和TCR 11号V α CDR3

<400> 7

Cys Val Val Trp Gly Gly Asp Thr Asp Lys Leu Ile Phe

1 5 10

<210> 8

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 9号V β CDR3

<400> 8

Cys Ala Ile Leu Asp Gly Glu Gly Ser Pro Leu His Phe

1 5 10

<210> 9

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 6号V α CDR3

<400> 9

Cys Ala Leu Gly Pro Tyr Asn Asp Tyr Lys Leu Ser Phe

1 5 10

<210> 10

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 6号V β CDR3

<400> 10

Cys Ala Ser Ser Asp Arg Ser Asn Thr Gly Glu Leu Phe Phe

1 5 10

<210> 11

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 1号V α CDR3

<400> 11

Cys Ala Val Glu Gly Asp Ser Ser Tyr Lys Leu Ile Phe

1 5 10

<210> 12

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 1号V β CDR3

<400> 12

Cys Ala Ser Ser Phe Phe Ser Gln Glu Thr Gln Tyr Phe

1 5 10

<210> 13

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 2号V α CDR3

<400> 13

Cys Ala Val Ile Gly Glu Gln Asn Phe Val Phe

1 5 10

<210> 14

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 2号V β CDR3

<400> 14

Cys Ala Ser Ser Leu Ser Gly Leu Gly Ser Gly Ala Asn Val Leu Thr

1 5 10 15

Phe

<210> 15

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 3号V α CDR3

<400> 15

Cys Ala Val Asp Ser Gly Gly Tyr Gln Lys Val Thr Phe

1 5 10

<210> 16

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 3号V β CDR3

<400> 16

Cys Ala Ser Ser Leu Asn Met Asn Thr Glu Ala Phe Phe

1 5 10

<210> 17

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 10号V α CDR3

<400> 17

Cys Ala Thr Asp Glu Ser Ser Asn Tyr Lys Leu Thr Phe

1 5 10

<210> 18

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 10号V β CDR3

<400> 18

Cys Ala Ser Ser Leu Asn Met Asn Thr Glu Ala Phe Phe

1 5 10

<210> 19

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 4号V α CDR3

<400> 19

Cys Ala Thr Asp Ala Trp Glu Ser Asn Phe Gly Asn Glu Lys Leu Thr

1 5 10 15

Phe

<210> 20

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 4号V β CDR3

<400> 20

Cys Ala Ser Ser Leu Val Val Gly Ser Tyr Glu Gln Tyr Phe

1 5 10

<210> 21

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 7号V α CDR3

<400> 21

Cys Ala Tyr Leu Gly Ala Gly Asn Gln Phe Tyr Phe

1 5 10

<210> 22

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 7号V β CDR3

<400> 22

Cys Ala Ser Ser Leu Asn Arg Gly Arg Tyr Gly Tyr Thr Phe

1 5 10

<210> 23

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 8号V α CDR3

<400> 23

Cys Ala Leu Ser Glu Leu Ala Ser Gly Gly Ser Tyr Ile Pro Thr Phe

1 5 10 15

<210> 24

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 8号V β CDR3

<400> 24

Cys Ala Ser Ser Phe Arg Leu Ala Gly Gly Pro Ser Thr Asp Thr Gln

1 5 10 15

Tyr Phe

<210> 25

<211> 66

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> P2A肽编码核酸

<400> 25

ggttccggag ccacgaactt ctctctgtta aagcaagcag gagacgtgga agaaaacccc 60

ggtccc 66

<210> 26

<211> 63

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> T2A肽编码核酸

<400> 26

ggaagcggag agggcagagg aagtctgcta acatgcggtg acgtcgagga gaatcctgga 60

cct 63

<210> 27

<211> 69

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> E2A肽编码核酸

$\langle 220 \rangle$

<223> E2A肽

<400> 31

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> 32

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> F2A肽

<400> 32

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> 33

<211> 142

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR α 恒定结构域多肽

<400> 33

Pro Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser

1 5 10 15

Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln

20 25 30

Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys

35 40 45

Thr Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val

50 55 60

Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn

65 70 75 80

Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys

85 90 95

Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn

100 105 110

Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val

115	120	125
Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser		
130	135	140
<210> 34		
<211> 177		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> TCRβ1恒定结构域多肽		
<400> 34		
Glu Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro		
1 5 10 15		
Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu		
20 25 30		
Ala Thr Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn		
35 40 45		
Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys		
50 55 60		
Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu		
65 70 75 80		
Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys		
85 90 95		
Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp		
100 105 110		
Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg		
115 120 125		
Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser		
130 135 140		
Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala		
145 150 155 160		
Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp		
165 170 175		
Phe		
<210> 35		
<211> 1821		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> TCR 5号构建体; β链-P2A-α链		

<400> 35

atgggcttca ggctcctctg ctgtgtggcc ttttgtctcc tgggagcagg cccagtggat 60
tctggagtca cacaaacccc aaagcacctg atcacagcaa ctggacagcg agtgacgctg 120
agatgctccc ctaggtctgg agacctctct gtgtactggg accaacagag cctggaccag 180
ggcctccagt tcctcattca gtattataat ggagaagaga gagcaaaagg aaacattctt 240
gaacgattct ccgcacaaca gttccctgac ttgcactctg aactaaacct gagctctctg 300
gagctggggg actcagcttt gtatttctgt gccagcagcg tagggcaggg gtcctcctac 360
gagcagtact tcgggccggg caccaggctc acggtcacag aggacctgaa aaacgtgttc 420
ccaccgagg tcgctgtgtt tgagccatca gaagcagaga tctcccacac caaaaggcc 480
acactgggtg gcctggccac aggcttctac cccgaccag tggagctgag ctgggtgggtg 540
aatgggaagg aggtgcacag tggggtcagc acagaccgc agccctcaa ggagcagccc 600
gccctcaatg actccagata ctgcctgagc agccgctga gggctctggc caccttctgg 660
cagaaccccc gcaaccactt ccgctgtcaa gtccagttct acgggctctc ggagaatgac 720
gagtggaacc aggatagggc caaacctgtc acccagatcg tcagcgccga ggcctggggt 780
agagcagact gtggcttcac ctccgagtct taccagcaag gggctctgtc tgccaccatc 840
ctctatgaga tcttgctagg gaaggccacc ttgtatgccg tgctggtcag tgccctcgtg 900
ctgatggcca tggtaagag aaaggattcc agaggcgggt ccggagccac gaacttctct 960
ctgttaaagc aagcaggaga cgtggaagaa aaccccggtc ccatggagac tctcctgaaa 1020
gtgctttcag gcacctgtt gtggcagttg acctgggtga gaagccaaca accagtgcag 1080
agtctcaag ccgtgatcct ccgagaagg gaagatgctg tcatcaactg cagttctctc 1140
aaggctttat attctgtaca ctggtacagg cagaagcatg gtgaagcacc cgtcttctctg 1200
atgatattac tgaagggtgg agaacagaag ggtcatgaaa aaatatctgc ttcatttaat 1260
gaaaaaaagc agcaaagctc cctgtacctt acggcctccc agctcagtta ctcaggaacc 1320
tacttctgcg gcacagagga agctaacgac tacaagctca gctttggagc cggaaccaca 1380
gtaactgtaa gagcaaatat ccagaacct gacctgccg tgtaccagct gagagactct 1440
aaatccagtg acaagtctgt ctgcctattc accgattttg attctcaaac aaatgtgtca 1500
caaagtaagg attctgatgt gtatatcaca gacaaaactg tgctagacat gaggtctatg 1560
gacttcaaga gcaacagtgc tgtggcctgg agcaacaaat ctgactttgc atgtgcaaac 1620
gccttcaaca acagcattat tccagaagac accttcttcc ccagcccaga aagttctctg 1680
gatgtcaagc tggtcgagaa aagctttgaa acagatacga acctaaactt tcaaaacctg 1740
tcagtgattg ggttccgaat cctcctcctg aaagtggccg ggtttaatct gctcatgacg 1800
ctgcggctgt ggtccagctg a 1821

<210> 36

<211> 606

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 5号构建体; β 链-P2A- α 链

<400> 36

Met	Gly	Phe	Arg	Leu	Leu	Cys	Cys	Val	Ala	Phe	Cys	Leu	Leu	Gly	Ala
1				5					10					15	
Gly	Pro	Val	Asp	Ser	Gly	Val	Thr	Gln	Thr	Pro	Lys	His	Leu	Ile	Thr
			20					25					30		
Ala	Thr	Gly	Gln	Arg	Val	Thr	Leu	Arg	Cys	Ser	Pro	Arg	Ser	Gly	Asp
		35					40					45			
Leu	Ser	Val	Tyr	Trp	Tyr	Gln	Gln	Ser	Leu	Asp	Gln	Gly	Leu	Gln	Phe
	50					55					60				
Leu	Ile	Gln	Tyr	Tyr	Asn	Gly	Glu	Glu	Arg	Ala	Lys	Gly	Asn	Ile	Leu
65					70					75				80	
Glu	Arg	Phe	Ser	Ala	Gln	Gln	Phe	Pro	Asp	Leu	His	Ser	Glu	Leu	Asn
				85					90					95	
Leu	Ser	Ser	Leu	Glu	Leu	Gly	Asp	Ser	Ala	Leu	Tyr	Phe	Cys	Ala	Ser
			100					105					110		
Ser	Val	Gly	Gln	Gly	Ser	Ser	Tyr	Glu	Gln	Tyr	Phe	Gly	Pro	Gly	Thr
		115						120					125		
Arg	Leu	Thr	Val	Thr	Glu	Asp	Leu	Lys	Asn	Val	Phe	Pro	Pro	Glu	Val
	130					135					140				
Ala	Val	Phe	Glu	Pro	Ser	Glu	Ala	Glu	Ile	Ser	His	Thr	Gln	Lys	Ala
145					150					155				160	
Thr	Leu	Val	Cys	Leu	Ala	Thr	Gly	Phe	Tyr	Pro	Asp	His	Val	Glu	Leu
			165					170						175	
Ser	Trp	Trp	Val	Asn	Gly	Lys	Glu	Val	His	Ser	Gly	Val	Ser	Thr	Asp
			180					185					190		
Pro	Gln	Pro	Leu	Lys	Glu	Gln	Pro	Ala	Leu	Asn	Asp	Ser	Arg	Tyr	Cys
		195				200						205			
Leu	Ser	Ser	Arg	Leu	Arg	Val	Ser	Ala	Thr	Phe	Trp	Gln	Asn	Pro	Arg
	210					215					220				
Asn	His	Phe	Arg	Cys	Gln	Val	Gln	Phe	Tyr	Gly	Leu	Ser	Glu	Asn	Asp
225					230					235				240	
Glu	Trp	Thr	Gln	Asp	Arg	Ala	Lys	Pro	Val	Thr	Gln	Ile	Val	Ser	Ala
			245						250					255	
Glu	Ala	Trp	Gly	Arg	Ala	Asp	Cys	Gly	Phe	Thr	Ser	Glu	Ser	Tyr	Gln
		260						265					270		
Gln	Gly	Val	Leu	Ser	Ala	Thr	Ile	Leu	Tyr	Glu	Ile	Leu	Leu	Gly	Lys
		275						280					285		
Ala	Thr	Leu	Tyr	Ala	Val	Leu	Val	Ser	Ala	Leu	Val	Leu	Met	Ala	Met
	290					295						300			
Val	Lys	Arg	Lys	Asp	Ser	Arg	Gly	Gly	Ser	Gly	Ala	Thr	Asn	Phe	Ser

305	310	315	320
Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Glu			
	325	330	335
Thr Leu Leu Lys Val Leu Ser Gly Thr Leu Leu Trp Gln Leu Thr Trp			
	340	345	350
Val Arg Ser Gln Gln Pro Val Gln Ser Pro Gln Ala Val Ile Leu Arg			
	355	360	365
Glu Gly Glu Asp Ala Val Ile Asn Cys Ser Ser Ser Lys Ala Leu Tyr			
	370	375	380
Ser Val His Trp Tyr Arg Gln Lys His Gly Glu Ala Pro Val Phe Leu			
385	390	395	400
Met Ile Leu Leu Lys Gly Gly Glu Gln Lys Gly His Glu Lys Ile Ser			
	405	410	415
Ala Ser Phe Asn Glu Lys Lys Gln Gln Ser Ser Leu Tyr Leu Thr Ala			
	420	425	430
Ser Gln Leu Ser Tyr Ser Gly Thr Tyr Phe Cys Gly Thr Glu Glu Ala			
	435	440	445
Asn Asp Tyr Lys Leu Ser Phe Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Arg			
450	455	460	
Ala Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser			
465	470	475	480
Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln			
	485	490	495
Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys			
	500	505	510
Thr Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val			
	515	520	525
Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn			
	530	535	540
Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys			
545	550	555	560
Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn			
	565	570	575
Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val			
	580	585	590
Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser			
	595	600	605

<210> 37

<211> 1493

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 5号构建体;在β和α链恒定结构域(部分序列)中有半胱氨酸取代的β链-P2A-α链

<400> 37

```

ctcaataaaa gagccccacaa cccctcactc ggcgcgccac catgggcttc agactgttgt 60
gttgcgtggc cttttgcctt cttggagctg gacctgtgga ttctggagtt acacagaccc 120
ctaagcacct gattacagcc acaggacaga gactgacctt gagatgtagc cctagaagcg 180
gagatctgag cgtgtatttg taccagcaga gcctggatca aggactccag tttctgatcc 240
agtactacaa cggcgaggag agagccaagg gcaatattct ggagaggttt tctgcccagc 300
agttccctga tctgcaactct gaactgaacc tgtctagcct ggaactggga gattctgccc 360
tgtacttttg tgctctagc gttggacagg gcagctctta tgagcagtag tttggacctg 420
gcaccagact gacagtgaca gaagacctga agaactgttt cccccagag gtggccgtgt 480
tcgagcctag cgaggccgag atcagccaca ccagaaaagc caccctcgtg tgcttgcca 540
ccggctttta ccccgaccac gtggaactgt cttggtgggt caacggcaaa gaggtgcaca 600
gcggcgtctg caccgacccc cagcccctga aagagcagcc cgccctgaac gacagccggt 660
actgtctgag cagcagactg agagtgtccg ccaccttctg gcagaacccc cggaaccact 720
tcagatgcca ggtgcagttc tacggcctga gcgagaacga cgagtggacc caggaccggg 780
ccaagcccgt gaccagatc gtgtctgctg aggcctgggg cagagccgat tgcggcttca 840
ccagcgagag ctaccagcag ggcgtgctga gcgccacat cctgtacgag atcctgctgg 900
gcaaggccac cctgtacgcc gtgctggtgt ccgccctggt gctgatggcc atggtcaagc 960
ggaaggacag ccggggcggt tccggagcca cgaacttctc tctgttaaag caagcaggag 1020
acgtggaaga aaaccccgtt cccatggaaa ccctgctgaa agtgctgagc ggaacactgt 1080
tatggcagct tacatgggtg aggtctcagc aacctgtgca atctccacag gccgttatcc 1140
tgagagaagg agaagatgcc gtgatcaact gctctagctc taaagccctg tacagcgtgc 1200
actggtacag acagaaacac ggagaagctc ccgtgttctt gatgattctg ctgaaaggag 1260
gcgagcagaa gggacacgag aagatttctg ccagcttcaa cgagaagaag cagcagtcta 1320
gcctgtacct gacagcttct cagctgagct atagcggcac ctacttttgt ggcacagagg 1380
aagccaacga ctacaaactg agctttggag ccggcacaac agtgacagtt agagccaata 1440
tccagaaccc cgatcctgct gtgtaccagc tgcgggacag caagagcagc gac 1493

```

<210> 38

<211> 495

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 5号构建体;在β和α链恒定结构域(部分序列)中有半胱氨酸取代的β链-P2A-α链

<400> 38

Lys	Ser	Pro	Gln	Pro	Leu	Thr	Arg	Arg	Ala	Thr	Met	Gly	Phe	Arg	Leu
1			5						10					15	
Leu	Cys	Cys	Val	Ala	Phe	Cys	Leu	Leu	Gly	Ala	Gly	Pro	Val	Asp	Ser
			20						25					30	
Gly	Val	Thr	Gln	Thr	Pro	Lys	His	Leu	Ile	Thr	Ala	Thr	Gly	Gln	Arg
			35					40					45		
Val	Thr	Leu	Arg	Cys	Ser	Pro	Arg	Ser	Gly	Asp	Leu	Ser	Val	Tyr	Trp
			50				55					60			
Tyr	Gln	Gln	Ser	Leu	Asp	Gln	Gly	Leu	Gln	Phe	Leu	Ile	Gln	Tyr	Tyr
65					70					75					80
Asn	Gly	Glu	Glu	Arg	Ala	Lys	Gly	Asn	Ile	Leu	Glu	Arg	Phe	Ser	Ala
				85					90					95	
Gln	Gln	Phe	Pro	Asp	Leu	His	Ser	Glu	Leu	Asn	Leu	Ser	Ser	Leu	Glu
			100						105					110	
Leu	Gly	Asp	Ser	Ala	Leu	Tyr	Phe	Cys	Ala	Ser	Ser	Val	Gly	Gln	Gly
			115					120					125		
Ser	Ser	Tyr	Glu	Gln	Tyr	Phe	Gly	Pro	Gly	Thr	Arg	Leu	Thr	Val	Thr
			130				135					140			
Glu	Asp	Leu	Lys	Asn	Val	Phe	Pro	Pro	Glu	Val	Ala	Val	Phe	Glu	Pro
145					150					155					160
Ser	Glu	Ala	Glu	Ile	Ser	His	Thr	Gln	Lys	Ala	Thr	Leu	Val	Cys	Leu
				165					170					175	
Ala	Thr	Gly	Phe	Tyr	Pro	Asp	His	Val	Glu	Leu	Ser	Trp	Trp	Val	Asn
			180					185						190	
Gly	Lys	Glu	Val	His	Ser	Gly	Val	Cys	Thr	Asp	Pro	Gln	Pro	Leu	Lys
			195					200				205			
Glu	Gln	Pro	Ala	Leu	Asn	Asp	Ser	Arg	Tyr	Cys	Leu	Ser	Ser	Arg	Leu
			210				215				220				
Arg	Val	Ser	Ala	Thr	Phe	Trp	Gln	Asn	Pro	Arg	Asn	His	Phe	Arg	Cys
225					230					235					240
Gln	Val	Gln	Phe	Tyr	Gly	Leu	Ser	Glu	Asn	Asp	Glu	Trp	Thr	Gln	Asp
				245					250					255	
Arg	Ala	Lys	Pro	Val	Thr	Gln	Ile	Val	Ser	Ala	Glu	Ala	Trp	Gly	Arg
			260					265					270		
Ala	Asp	Cys	Gly	Phe	Thr	Ser	Glu	Ser	Tyr	Gln	Gln	Gly	Val	Leu	Ser
			275					280				285			
Ala	Thr	Ile	Leu	Tyr	Glu	Ile	Leu	Leu	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Tyr	Ala
			290				295				300				
Val	Leu	Val	Ser	Ala	Leu	Val	Leu	Met	Ala	Met	Val	Lys	Arg	Lys	Asp

305	310	315	320
Ser Arg Gly Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala			
	325	330	335
Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Glu Thr Leu Leu Lys Val			
	340	345	350
Leu Ser Gly Thr Leu Leu Trp Gln Leu Thr Trp Val Arg Ser Gln Gln			
	355	360	365
Pro Val Gln Ser Pro Gln Ala Val Ile Leu Arg Glu Gly Glu Asp Ala			
	370	375	380
Val Ile Asn Cys Ser Ser Ser Lys Ala Leu Tyr Ser Val His Trp Tyr			
385	390	395	400
Arg Gln Lys His Gly Glu Ala Pro Val Phe Leu Met Ile Leu Leu Lys			
	405	410	415
Gly Gly Glu Gln Lys Gly His Glu Lys Ile Ser Ala Ser Phe Asn Glu			
	420	425	430
Lys Lys Gln Gln Ser Ser Leu Tyr Leu Thr Ala Ser Gln Leu Ser Tyr			
	435	440	445
Ser Gly Thr Tyr Phe Cys Gly Thr Glu Glu Ala Asn Asp Tyr Lys Leu			
	450	455	460
Ser Phe Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Arg Ala Asn Ile Gln Asn			
465	470	475	480
Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys Ser Ser Asp			
	485	490	495

<210> 39

<211> 1813

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 11号构建体; β 链-P2A- α

链

<400> 39

```

atgggcacca ggctcttctt ctatgtggcc ctttgtctgc tgtgggcagg acacagggat 60
gctggaatca cccagagccc aagatacaag atcacagaga caggaaggca ggtgaccttg 120
atgtgtcacc agacttggag ccacagctat atgttctggt atcgacaaga cctgggacat 180
gggctgaggc tgatctatta ctacagcagct gctgatatta cagataaagg agaagtcccc 240
gatggctatg ttgtctccag atccaagaca gagaatttcc ccctcactct ggagtcagct 300
acccgctccc agacatctgt gtatttctgc gccagcagtg acgggggcgg gcagtacttc 360
gggccgggca ccaggctcac ggtcacagag gacctgaaaa acgtgttccc acccgaggtc 420
gctgtgtttg agccatcaga agcagagatc tcccacaccc aaaaggccac actggtgtgc 480

```

ctggccacag gcttctaccc cgaccacgtg gagctgagct ggtgggtgaa tgggaaggag 540
 gtgcacagtg gggctcagcac agacccgcag cccctcaagg agcagcccg cctcaatgac 600
 tccagatact gcctgagcag ccgcctgagg gtctcggcca ccttctggca gaacccccgc 660
 aaccacttcc gctgtcaagt ccagttctac gggctctcgg agaatgacga gtggaccag 720
 gatagggcca aacctgtcac ccagatcgtc agcgccgagg cctggggtag agcagactgt 780
 ggcttcacct ccgagtctta ccagcaaggg gtctgtctg ccaccatcct ctatgagatc 840
 ttgctaggga aggccacctt gtatgccgtg ctggtcagt ccctcgtgct gatggccatg 900
 gtcaagagaa aggattccag aggcgggtcc ggagccacga acttctctct gttaaagcaa 960
 gcaggagacg tggaagaaaa ccccggtccc atgaaaaagc atctgacgac cttcttggtg 1020
 attttgtggc tttattttta tagggggaat ggcaaaaacc aagtggagca gagtccctcag 1080
 tccctgatca tcctggaggg aaagaactgc actcttcaat gcaattatac agtgagcccc 1140
 ttcagcaact taaggtggtg taagcaagat actgggagag gtctgtttc cctgacaatc 1200
 atgactttca gtgagaacac aaagtccaac ggaagatata cagcaactct ggatgcagac 1260
 acaaagcaaa gctctctgca catcacagcc tcccagctca gcgattcagc ctctacatc 1320
 tgtgtggtgt ggggggggga caccgacaag ctcatctttg ggactgggac cagattacaa 1380
 gtctttccaa atatccagaa ccctgaccct gccgtgtacc agctgagaga ctctaaatcc 1440
 agtgacaagt ctgtctgcct attcaccgat tttgattctc aaacaaatgt gtcacaaagt 1500
 aaggattctg atgtgtatat cacagacaaa actgctagac atgaggtcta tggacttcaa 1560
 gagcaacagt gctgtggcct ggagcaacaa atctgacttt gcatgtgcaa acgccttcaa 1620
 caacagcatt attccagaag acaccttctt cccagccca gaaagttcct gtgatgtcaa 1680
 gctggtcgag aaaagctttg aaacagatac gaacctaaac tttcaaaacc tgtcagtgat 1740
 tgggttccga atcctcctcc tgaaagtggc cgggtttaat ctgctcatga cgctgcggct 1800
 gtggtccagc tga 1813

<210> 40

<211> 531

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 11号构建体; β 链-P2A- α

链

<400> 40

Met Gly Thr Arg Leu Phe Phe Tyr Val Ala Leu Cys Leu Leu Trp Ala

1 5 10 15

Gly His Arg Asp Ala Gly Ile Thr Gln Ser Pro Arg Tyr Lys Ile Thr

20 25 30

Glu Thr Gly Arg Gln Val Thr Leu Met Cys His Gln Thr Trp Ser His

35 40 45

Ser Tyr Met Phe Trp Tyr Arg Gln Asp Leu Gly His Gly Leu Arg Leu

50 55 60

Ile Tyr Tyr Ser Ala Ala Ala Asp Ile Thr Asp Lys Gly Glu Val Pro			
65	70	75	80
Asp Gly Tyr Val Val Ser Arg Ser Lys Thr Glu Asn Phe Pro Leu Thr			
	85	90	95
Leu Glu Ser Ala Thr Arg Ser Gln Thr Ser Val Tyr Phe Cys Ala Ser			
	100	105	110
Ser Asp Gly Gly Gly Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val			
	115	120	125
Thr Glu Asp Leu Lys Asn Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu			
	130	135	140
Pro Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys			
145	150	155	160
Leu Ala Thr Gly Phe Tyr Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val			
	165	170	175
Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro Gln Pro Leu			
	180	185	190
Lys Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg			
	195	200	205
Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe Arg			
	210	215	220
Cys Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln			
225	230	235	240
Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly			
	245	250	255
Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Glu Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu			
	260	265	270
Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr			
	275	280	285
Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys			
	290	295	300
Asp Ser Arg Gly Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln			
305	310	315	320
Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Lys Lys His Leu Thr			
	325	330	335
Thr Phe Leu Val Ile Leu Trp Leu Tyr Phe Tyr Arg Gly Asn Gly Lys			
	340	345	350
Asn Gln Val Glu Gln Ser Pro Gln Ser Leu Ile Ile Leu Glu Gly Lys			
	355	360	365
Asn Cys Thr Leu Gln Cys Asn Tyr Thr Val Ser Pro Phe Ser Asn Leu			

370	375	380
Arg Trp Tyr Lys Gln Asp Thr Gly Arg Gly Pro Val Ser Leu Thr Ile		
385	390	395
Met Thr Phe Ser Glu Asn Thr Lys Ser Asn Gly Arg Tyr Thr Ala Thr		400
	405	410
Leu Asp Ala Asp Thr Lys Gln Ser Ser Leu His Ile Thr Ala Ser Gln		415
	420	425
Leu Ser Asp Ser Ala Ser Tyr Ile Cys Val Val Trp Gly Gly Asp Thr		430
	435	440
Asp Lys Leu Ile Phe Gly Thr Gly Thr Arg Leu Gln Val Phe Pro Asn		445
	450	455
Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys Ser		460
465	470	475
Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Thr Asn		480
	485	490
Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys Thr Ala		495
	500	505
Arg His Glu Val Tyr Gly Leu Gln Glu Gln Gln Cys Cys Gly Leu Glu		510
	515	520
Gln Gln Ile		525

530

<210> 41

<211> 1484

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 11号构建体;在β和α链恒定结构域(部分序列)中有半胱氨酸取代的β链-P2A-α链

<400> 41

```

ctcaataaaa gagccacaaa cccctcactc ggcgcgccac catgggcaca cggcttttct 60
tctacgttgc cctttgcctg ctgtgggctg gacatagaga tgctggaatc acacagagcc 120
ccaggtacaa gatcacagag acaggaagac aggtgaccct gatgtgtcac caaacatgga 180
gccacagcta catgttcttg tacagacagg atctgggaca cggactgaga ctgatctact 240
attctgctgc cgccgacatc accgataaag gagaagtcc tgacggctac gtggtgtcta 300
gaagcaaaac cgagaacttc cccctgacac tggaatctgc cacaagatct cagaccagcg 360
tgtacttttg cgctcttct gatggaggag gccagtatct tccaggcaca agactgacag 420
tgaccgagga cctgaagaac gtgttcccc cagaggtggc cgtgttcgag cctagcgagg 480
ccgagatcag ccacaccag aaagccacc tcgtgtgcct ggccaccggc ttttaccgag 540
accacgtgga actgtcttgg tgggtcaacg gcaaagaggt gcacagcggc gtctgcaccg 600

```

acccccagcc cctgaaagag cagcccgccc tgaacgacag ccggtactgt ctgagcagca 660
 gactgagagt gtccgccacc ttctggcaga acccccgaa ccacttcaga tgccaggtgc 720
 agttctacgg cctgagcgag aacgacgagt ggaccagga ccgggccaag cccgtgacct 780
 agatcgtgtc tgctgaggcc tggggcagag ccgattgcgg cttcaccagc gagagctacc 840
 agcagggcgt gctgagcgcc accatcctgt acgagatcct gctgggcaag gccaccctgt 900
 acgccgtgct ggtgtccgcc ctggtgctga tggccatggt caagcggaag gacagccggg 960
 gcggttccgg agccacgaac ttctctctgt taaagcaagc aggagacgtg gaagaaaacc 1020
 ccggtcccat gaagaagcac ctgaccacgt tcttggtgat tctttggctg tactttctacc 1080
 ggggcaacgg caaaaatcag gtggaacaaa gccccagag cctgattatt ctggagggca 1140
 agaactgcac cctccagtgt aattacaccg tgagcccttt cagcaacctg agatggtaca 1200
 agcaggatac cggaagagga cctgtgtctc tgaccatcat gacctttagc gagaacacca 1260
 agagcaacgg caggtataca gccacactgg atgccgatac caagcagtct tctctgcaca 1320
 ttaccgcctc tcagctgtct gattctgcca gctacatctg tgtggtgtgg ggaggagata 1380
 ccgataagct gatctttggc acaggcacca gactgcaagt gttccctaac atccagaacc 1440
 ctgatcctgc cgtgtaccag ctgcgggaca gcaagagcag cgac 1484

<210> 42

<211> 492

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 11号构建体;在 β 和 α 链恒定结构域(部分序列)中有半胱氨酸取代的 β 链-P2A- α 链

<400> 42

Lys	Ser	Pro	Gln	Pro	Leu	Thr	Arg	Arg	Ala	Thr	Met	Gly	Thr	Arg	Leu
1				5					10					15	
Phe	Phe	Tyr	Val	Ala	Leu	Cys	Leu	Leu	Trp	Ala	Gly	His	Arg	Asp	Ala
			20						25					30	
Gly	Ile	Thr	Gln	Ser	Pro	Arg	Tyr	Lys	Ile	Thr	Glu	Thr	Gly	Arg	Gln
			35						40					45	
Val	Thr	Leu	Met	Cys	His	Gln	Thr	Trp	Ser	His	Ser	Tyr	Met	Phe	Trp
			50						55					60	
Tyr	Arg	Gln	Asp	Leu	Gly	His	Gly	Leu	Arg	Leu	Ile	Tyr	Tyr	Ser	Ala
65					70					75					80
Ala	Ala	Asp	Ile	Thr	Asp	Lys	Gly	Glu	Val	Pro	Asp	Gly	Tyr	Val	Val
					85					90					95
Ser	Arg	Ser	Lys	Thr	Glu	Asn	Phe	Pro	Leu	Thr	Leu	Glu	Ser	Ala	Thr
			100						105					110	
Arg	Ser	Gln	Thr	Ser	Val	Tyr	Phe	Cys	Ala	Ser	Ser	Asp	Gly	Gly	Gly
			115						120					125	

Gln Tyr Phe Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr Glu Asp Leu Lys Asn		
130	135	140
Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro Ser Glu Ala Glu Ile		
145	150	155
Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala Thr Gly Phe Tyr		
	165	170
Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His		
	180	185
Ser Gly Val Cys Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys Glu Gln Pro Ala Leu		
	195	200
Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr		
	210	215
Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe Tyr		
225	230	235
Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp Arg Ala Lys Pro Val		
	245	250
Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe		
	260	265
Thr Ser Glu Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr		
	275	280
Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala		
	290	295
Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Ser Arg Gly Gly Ser		
305	310	315
Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu		
	325	330
Asn Pro Gly Pro Met Lys Lys His Leu Thr Thr Phe Leu Val Ile Leu		
	340	345
Trp Leu Tyr Phe Tyr Arg Gly Asn Gly Lys Asn Gln Val Glu Gln Ser		
	355	360
Pro Gln Ser Leu Ile Ile Leu Glu Gly Lys Asn Cys Thr Leu Gln Cys		
	370	375
Asn Tyr Thr Val Ser Pro Phe Ser Asn Leu Arg Trp Tyr Lys Gln Asp		
385	390	395
Thr Gly Arg Gly Pro Val Ser Leu Thr Ile Met Thr Phe Ser Glu Asn		
	405	410
Thr Lys Ser Asn Gly Arg Tyr Thr Ala Thr Leu Asp Ala Asp Thr Lys		
	420	425
Gln Ser Ser Leu His Ile Thr Ala Ser Gln Leu Ser Asp Ser Ala Ser		

	485	490
<210>	43	
<211>	828	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	TCR 6号α链	
<400>	43	

<210> 44
 <211> 275
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> TCR 6号 α 链
 <400> 44

70

Leu His Val Gln Glu Gly Asp Ser Thr Asn Phe Thr Cys Ser Phe Pro		
35	40	45
Ser Ser Asn Phe Tyr Ala Leu His Trp Tyr Arg Trp Glu Thr Ala Lys		
50	55	60
Ser Pro Glu Ala Leu Phe Val Met Thr Leu Asn Gly Asp Glu Lys Lys		
65	70	75
Lys Gly Arg Ile Ser Ala Thr Leu Asn Thr Lys Glu Gly Tyr Ser Tyr		
85	90	95
Leu Tyr Ile Lys Gly Ser Gln Pro Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys		
100	105	110
Ala Leu Gly Pro Tyr Asn Asp Tyr Lys Leu Ser Phe Gly Ala Gly Thr		
115	120	125
Thr Val Thr Val Arg Ala Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr		
130	135	140
Gln Leu Arg Asp Ser Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr		
145	150	155
Asp Phe Asp Ser Gln Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val		
165	170	175
Tyr Ile Thr Asp Lys Thr Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys		
180	185	190
Ser Asn Ser Ala Val Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala		
195	200	205
Asn Ala Phe Asn Asn Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser		
210	215	220
Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr		
225	230	235
Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile		
245	250	255
Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu		
260	265	270
Trp Ser Ser		
275		

<210> 45

<211> 936

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 6号β链

<400> 45

atgagcatca gcctcctgtg ctgtgcagcc tttcctctcc tgtgggcagg tccagtgaat 60
 gctggtgtca ctgagacccc aaaattccgc atcctgaaga taggacagag catgacactg 120
 cagtgtaccc aggatatgaa ccataactac atgtactggt atcgacaaga cccaggcatg 180
 gggctgaagc tgatttatta ttcagttggt gctggtatca ctgataaagg agaagtcccc 240
 aatggctaca acgtctccag atcaaccaca gaggatttcc cgctcaggct ggagttggct 300
 gctccctccc agacatctgt gtacttctgt gccagcagtg acaggtctaa caccggggag 360
 ctgttttttg gagaaggctc taggctgacc gtactggagg acctgaaaaa cgtgttccca 420
 cccgaggtcg ctgtgtttga gccatcagaa gcagagatct cccacacca aaaggccaca 480
 ctgggtgtgcc tggccacagg cttctacccc gaccacgtgg agctgagctg gtgggtgaat 540
 gggaaggagg tgcacagtgg ggtcagcaca gaccgcagc ccctcaagga gcagccccgc 600
 ctcaatgact ccagatactg cctgagcagc cgctgaggg tctcggccac cttctggcag 660
 aacccccgca accacttccg ctgtcaagtc cagttctac ggctctcgga gaatgacgag 720
 tggaccagg atagggccaa acctgtcacc cagatcgta gcgccaggc ctggggtaga 780
 gcagactgtg gcttcacctc cgagtcttac cagcaagggg tcctgtctgc caccatctc 840
 tatgagatct tgctaggga ggccacctg tatgccgtgc tggtcagtgc cctcgtgctg 900
 atggccatgg tcaagagaaa ggattccaga ggctag 936

<210> 46

<211> 311

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 6号β链

<400> 46

Met	Ser	Ile	Ser	Leu	Leu	Cys	Cys	Ala	Ala	Phe	Pro	Leu	Leu	Trp	Ala
1				5						10				15	
Gly	Pro	Val	Asn	Ala	Gly	Val	Thr	Gln	Thr	Pro	Lys	Phe	Arg	Ile	Leu
				20						25				30	
Lys	Ile	Gly	Gln	Ser	Met	Thr	Leu	Gln	Cys	Thr	Gln	Asp	Met	Asn	His
				35						40				45	
Asn	Tyr	Met	Tyr	Trp	Tyr	Arg	Gln	Asp	Pro	Gly	Met	Gly	Leu	Lys	Leu
				50						55				60	
Ile	Tyr	Tyr	Ser	Val	Gly	Ala	Gly	Ile	Thr	Asp	Lys	Gly	Glu	Val	Pro
65				70						75				80	
Asn	Gly	Tyr	Asn	Val	Ser	Arg	Ser	Thr	Thr	Glu	Asp	Phe	Pro	Leu	Arg
				85						90				95	
Leu	Glu	Leu	Ala	Ala	Pro	Ser	Gln	Thr	Ser	Val	Tyr	Phe	Cys	Ala	Ser
				100						105				110	
Ser	Asp	Arg	Ser	Asn	Thr	Gly	Glu	Leu	Phe	Phe	Gly	Glu	Gly	Ser	Arg
				115						120				125	

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

<210> 47

<211> 1499

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 6号构建体;在 β 和 α 链恒定结构域(部分序列)中有半胱氨酸取代的 β 链-P2A- α 链

<400> 47

ctcaataaaa gagcccacaa cccctcactc ggcgcgccac catgagcatc agcctcctgt 60
 gctgtgcagc ctttcctctc ctgtgggcag gtccagtga tgctggtgtc actcagaccc 120
 caaaattccg catcctgaag ataggacaga gcatgacact gcagtgtacc caggatatga 180
 accataacta catgtactgg tatcgacaag acccaggcat ggggctgaag ctgattttatt 240
 attcagttgg tgctggtatc actgataaag gagaagtccc gaatggctac aacgtctcca 300
 gatcaaccac agaggatttc ccgctcaggc tggagttggc tgctccctcc cagacatctg 360
 tgtacttctg tgccagcagt gacaggtcta acaccgggga gctgtttttt ggagaaggct 420

ctaggctgac cgtactggag gacctgaaaa acgtgttccc acccgaggtc gctgtgtttg 480
 agccatcaga agcagagatc tcccacaccc aaaaggccac actggtgtgc ctggccacag 540
 gcttctaccc cgaccacgtg gagctgagct ggtgggtgaa tgggaaggag gtgcacagt 600
 gggtcagcac agacccgcag cccctcaagg agcagccgc cctcaatgac tccagatact 660
 gcctgagcag ccgcctgagg gtctcggcca cttctggca gaacccccgc aaccacttcc 720
 gctgtcaagt ccagttctac gggctctcgg agaatgacga gtggaccag gatagggcca 780
 aacctgtcac ccagatcgtc agcgccgagg cctggggtag agcagactgt ggcttcacct 840
 ccgagtctta ccagcaaggg gtccgtcttg ccaccatcct ctatgagatc ttgctagga 900
 aggccacctt gtatgccgtg ctggtcagtg ccctcgtgct gatggccatg gtcaagagaa 960
 aggattccag aggcggttcc ggagccacga acttctctct gttaaagcaa gcaggagacg 1020
 tggaagaaaa ccccggtccc atggagaaga atcctttggc agccccatta ctaatcctct 1080
 ggtttcatct tgactgcgtg agcagcatac tgaacgtgga acaaagtcct cagtactgc 1140
 atgttcagga gggagacagc accaatttca cctgcagctt cccttcagc aatTTTTatg 1200
 ccttacctg gtacagatgg gaaactgcaa aaagccccga ggccttgttt gtaatgactt 1260
 taaatgggga tgaaaagaag aaaggacgaa taagtccac tcttaatacc aaggagggtt 1320
 acagctatTT gtacatcaaa ggatcccagc ctgaagactc agccacatac ctctgtgcct 1380
 tagggcctta taacgactac aagctcagct ttggagccgg aaccacagta actgtaagag 1440
 caaatatcca gaaccctgac cctgccgtgt accagctgcg ggacagcaag agcagcgac 1499

<210> 48

<211> 1815

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 1号构建体; β 链-P2A- α 链

<400> 48

atgggccccg ggctcctctg ctgggcactg ctttgtctcc tgggagcagg cttagtggac 60
 gctggagtca cccaaagtcc cacacacctg atcaaaacga gaggacagca agtgactctg 120
 agatgctctc ctaagtctgg gcatgacact gtgtcctggg accaacaggc cctgggtcag 180
 gggccccagt ttatctttca gtattatgag gaggaagaga gacagagagg caacttccct 240
 gatcgattct caggtcacca gttccctaac tatagtctctg agctgaatgt gaacgccttg 300
 ttgctggggg actcggccct ctatctctgt gccagcagct tcttcagcca agagaccag 360
 tacttcgggc caggcacgcg gctcctgggt ctcgaggacc tgaaaaacgt gttccaccc 420
 gaggtcgctg tgtttgagcc atcagaagca gagatctccc acacccaaaa ggccacactg 480
 gtgtgcctgg ccacaggctt ctaccccgac cacgtggagc tgagctggtg ggtgaatggg 540
 aaggaggtgc acagtgggtg cagcacagac ccgcagcccc tcaaggagca gcccgccttc 600
 aatgactcca gatactgcct gagcagccgc ctgagggtct cggccacctt ctggcagaac 660
 ccccgcaacc acttccgctg tcaagtccag ttctacgggc tctcggagaa tgacgagtgg 720
 acccaggata gggccaaacc tgtcaccag atcgtcagcg ccgaggcctg gggtagagca 780
 gactgtggct tcacctccga gtcttaccag caagggtcc tgtctgccac catcctctat 840

gagatcttgc tagggaaggc caccttgtat gccgtgctgg tcagtgcctt cgtgctgatg 900
 gccatggtca agagaaagga ttccagaggc ggttccggag ccacgaactt ctctctgtta 960
 aagcaagcag gagacgtgga agaaaacccc ggtcccatgg agaccctctt gggcctgctt 1020
 atccttttggc tgcagctgca atgggtgagc agcaaacagg aggtgacaca gattcctgca 1080
 gctctgagtg tcccagaagg agaaaacttg gttctcaact gcagtttcac tgatagcgct 1140
 atttacaacc tccagtgggt taggcaggac cctgggaaag gtctcacatc tctgttgctt 1200
 attcagtcaa gtcagagaga gcaaacaagt ggaagactta atgcctcgct ggataaatca 1260
 tcaggacgta gtactttata cattgcagct tctcagcctg gtgactcagc cacctacctc 1320
 tgtgccgtgg agggggatag cagctataaa ttgatcttcg ggagtgggac cagactgctg 1380
 gtcaggcctg atatccagaa ccctgaccct gccgtgtacc agctgagaga ctctaaatcc 1440
 agtgacaagt ctgtctgcct attcaccgat tttgattctc aaacaaatgt gtcacaaagt 1500
 aaggattctg atgtgtatat cacagacaaa actgtgctag acatgaggtc tatggacttc 1560
 aagagcaaca gtgctgtggc ctggagcaac aaatctgact ttgcatgtgc aaacgccttc 1620
 aacaacagca ttattccaga agacaccttc ttccccagcc cagaaagttc ctgtgatgtc 1680
 aagctggtcg agaaaagctt tgaaacagat acgaacctaa actttcaaaa cctgtcagtg 1740
 attgggttcc gaatcctcct cctgaaagtg gccgggttta atctgctcat gacgctgcgg 1800
 ctgtggtcca gctga 1815

<210> 49

<211> 604

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 1号构建体; β 链-P2A- α 链

<400> 49

Met	Gly	Pro	Gly	Leu	Leu	Cys	Trp	Ala	Leu	Leu	Cys	Leu	Leu	Gly	Ala
1				5				10						15	
Gly	Leu	Val	Asp	Ala	Gly	Val	Thr	Gln	Ser	Pro	Thr	His	Leu	Ile	Lys
				20				25						30	
Thr	Arg	Gly	Gln	Gln	Val	Thr	Leu	Arg	Cys	Ser	Pro	Lys	Ser	Gly	His
				35				40						45	
Asp	Thr	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Ala	Leu	Gly	Gln	Gly	Pro	Gln	Phe
				50				55						60	
Ile	Phe	Gln	Tyr	Tyr	Glu	Glu	Glu	Arg	Gln	Arg	Gly	Asn	Phe	Pro	
65				70				75						80	
Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	His	Gln	Phe	Pro	Asn	Tyr	Ser	Ser	Glu	Leu	Asn
				85				90						95	
Val	Asn	Ala	Leu	Leu	Leu	Gly	Asp	Ser	Ala	Leu	Tyr	Leu	Cys	Ala	Ser
				100				105						110	
Ser	Phe	Phe	Ser	Gln	Glu	Thr	Gln	Tyr	Phe	Gly	Pro	Gly	Thr	Arg	Leu

115	120	125
Leu Val Leu Glu Asp Leu Lys Asn Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val		
130	135	140
Phe Glu Pro Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu		
145	150	155
Val Cys Leu Ala Thr Gly Phe Tyr Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp		
165	170	175
Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro Gln		
180	185	190
Pro Leu Lys Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser		
195	200	205
Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His		
210	215	220
Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp		
225	230	235
Thr Gln Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala		
245	250	255
Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Glu Ser Tyr Gln Gln Gly		
260	265	270
Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr		
275	280	285
Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys		
290	295	300
Arg Lys Asp Ser Arg Gly Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu		
305	310	315
Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Glu Thr Leu		
325	330	335
Leu Gly Leu Leu Ile Leu Trp Leu Gln Leu Gln Trp Val Ser Ser Lys		
340	345	350
Gln Glu Val Thr Gln Ile Pro Ala Ala Leu Ser Val Pro Glu Gly Glu		
355	360	365
Asn Leu Val Leu Asn Cys Ser Phe Thr Asp Ser Ala Ile Tyr Asn Leu		
370	375	380
Gln Trp Phe Arg Gln Asp Pro Gly Lys Gly Leu Thr Ser Leu Leu Leu		
385	390	395
Ile Gln Ser Ser Gln Arg Glu Gln Thr Ser Gly Arg Leu Asn Ala Ser		
405	410	415
Leu Asp Lys Ser Ser Gly Arg Ser Thr Leu Tyr Ile Ala Ala Ser Gln		
420	425	430

Pro Gly Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Val Glu Gly Asp Ser Ser
 435 440 445
 Tyr Lys Leu Ile Phe Gly Ser Gly Thr Arg Leu Leu Val Arg Pro Asp
 450 455 460
 Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys Ser
 465 470 475 480
 Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Thr Asn
 485 490 495
 Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys Thr Val
 500 505 510
 Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val Ala Trp
 515 520 525
 Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn Ser Ile
 530 535 540
 Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val
 545 550 555 560
 Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln
 565 570 575
 Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly
 580 585 590
 Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
 595 600

<210> 50

<211> 1487

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 1号构建体；在β和α链恒定结构域(部分序列)中有半胱氨酸取代的β链-P2A-α链

<400> 50

ctcaataaaa gagcccacaa cccctcactc ggcgcgccac catgggacct ggactgcttt 60
 gttgggctct tctgtgtctg cttggagctg gactggttga tgctggagtt acacagagcc 120
 ctacacacct gatcaagaca agaggacagc aggtgacct gagatgtagc cctaaatctg 180
 gccacgatac cgtgagctgg tatcaacagg ctctgggaca aggacctcag ttcattcttc 240
 agtactacga ggaggaggag agacagagag gcaatttccc tgacaggttt agcggacacc 300
 agttcccca ttacagctct gagctgaacg tgaatgccct tcttctggga gattctgccc 360
 tgtatctgtg tgccagcagc ttcttttagcc aggaaaccca gtacttcggc ccaggaacaa 420
 gactgctggc tcttgaagac ctgaagaacg tgttcccccc agaggtggcc gtgttcgagc 480
 ctagcgaggc cgagatcagc cacaccacaga aagccaccct cgtgtgcctg gccaccggct 540

```

tttacccccga ccacgtggaa ctgtcttgggt ggggtcaacgg caaagaggtg cacagcggcg 600
tctgcaccga cccccagccc ctgaaagagc agccccccct gaacgacagc cggtactgtc 660
tgagcagcag actgagagtg tccgccacct tctggcagaa cccccggaac cacttcagat 720
gccaggtgca gttctacggc ctgagcgaga acgacagtg gaccagagc cgggccaagc 780
ccgtgaccca gatcgtgtct gctgaggcct ggggcagagc cgattgcggc ttcaccagcg 840
agagctacca gcagggcgtg ctgagcgcca ccattctgta cgagatcctg ctgggcaagg 900
ccaccctgta cgccgtgctg gtgtccgccc tgggtgctgat ggccatggtc aagcggaagg 960
acagccgggg cggttccgga gccacgaact tctctctggt aaagcaagca ggagacgtgg 1020
aagaaaaccc cggtcccatg gaaaccctgt taggcctgct cattctgtgg ttacagctcc 1080
aatgggtgag cagcaaacag gaagtgacct agattcctgc tgccttatct gtgcctgaag 1140
gcgaaaatct ggtgctgaat tgcagcttca ccgattctgc catctacaac ctccagtgg 1200
tcagacagga tccaggaaaa ggctgacat ctcttctgct gatccagtct agccagagag 1260
agcagacaag cggaagactg aatgcctctc tggacaagag cagcggaaga tctaccctgt 1320
atattgccgc ctctcagcct ggagattctg ccacatatct gtgtgccgtg gagggagata 1380
gcagctataa gctgatcttc ggcagcgga caagattact ggtgagacct gacatccaga 1440
accctgatcc tgctgtgtac cagctgcggg acagcaagag cagcgac 1487

```

<210> 51

<211> 493

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 1号构建体;在β和α链恒定结构域(部分序列)中有半胱氨酸取代的β链-P2A-α链

<400> 51

```

Lys Ser Pro Gln Pro Leu Thr Arg Arg Ala Thr Met Gly Pro Gly Leu
1           5           10           15
Leu Cys Trp Ala Leu Leu Cys Leu Leu Gly Ala Gly Leu Val Asp Ala
           20           25           30
Gly Val Thr Gln Ser Pro Thr His Leu Ile Lys Thr Arg Gly Gln Gln
           35           40           45
Val Thr Leu Arg Cys Ser Pro Lys Ser Gly His Asp Thr Val Ser Trp
           50           55           60
Tyr Gln Gln Ala Leu Gly Gln Gly Pro Gln Phe Ile Phe Gln Tyr Tyr
65           70           75           80
Glu Glu Glu Glu Arg Gln Arg Gly Asn Phe Pro Asp Arg Phe Ser Gly
           85           90           95
His Gln Phe Pro Asn Tyr Ser Ser Glu Leu Asn Val Asn Ala Leu Leu
           100          105          110
Leu Gly Asp Ser Ala Leu Tyr Leu Cys Ala Ser Ser Phe Phe Ser Gln

```

115	120	125
Glu Thr Gln Tyr Phe Gly Pro	Gly Thr Arg Leu Leu Val	Leu Glu Asp
130	135	140
Leu Lys Asn Val Phe Pro Pro	Glu Val Ala Val Phe Glu Pro	Ser Glu
145	150	155
Ala Glu Ile Ser His Thr Gln	Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu	Ala Thr
165	170	175
Gly Phe Tyr Pro Asp His Val	Glu Leu Ser Trp Trp Val	Asn Gly Lys
180	185	190
Glu Val His Ser Gly Val Cys	Thr Asp Pro Gln Pro Leu	Lys Glu Gln
195	200	205
Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg	Tyr Cys Leu Ser Ser Arg	Leu Arg Val
210	215	220
Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn	Pro Arg Asn His Phe Arg	Cys Gln Val
225	230	235
Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu	Asn Asp Glu Trp Thr Gln	Asp Arg Ala
245	250	255
Lys Pro Val Thr Gln Ile Val	Ser Ala Glu Ala Trp Gly	Arg Ala Asp
260	265	270
Cys Gly Phe Thr Ser Glu Ser	Tyr Gln Gln Gly Val Leu	Ser Ala Thr
275	280	285
Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu	Gly Lys Ala Thr Leu Tyr	Ala Val Leu
290	295	300
Val Ser Ala Leu Val Leu Met	Ala Met Val Lys Arg Lys	Asp Ser Arg
305	310	315
Gly Gly Ser Gly Ala Thr Asn	Phe Ser Leu Leu Lys Gln	Ala Gly Asp
325	330	335
Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro	Met Glu Thr Leu Leu Gly	Leu Leu Ile
340	345	350
Leu Trp Leu Gln Leu Gln Trp	Val Ser Ser Lys Gln Glu	Val Thr Gln
355	360	365
Ile Pro Ala Ala Leu Ser Val	Pro Glu Gly Glu Asn Leu	Val Leu Asn
370	375	380
Cys Ser Phe Thr Asp Ser Ala	Ile Tyr Asn Leu Gln Trp	Phe Arg Gln
385	390	395
Asp Pro Gly Lys Gly Leu Thr	Ser Leu Leu Leu Ile Gln	Ser Ser Gln
405	410	415
Arg Glu Gln Thr Ser Gly Arg	Leu Asn Ala Ser Leu Asp	Lys Ser Ser
420	425	430

Gly Arg Ser Thr Leu Tyr Ile Ala Ala Ser Gln Pro Gly Asp Ser Ala
 435 440 445
 Thr Tyr Leu Cys Ala Val Glu Gly Asp Ser Ser Tyr Lys Leu Ile Phe
 450 455 460
 Gly Ser Gly Thr Arg Leu Leu Val Arg Pro Asp Ile Gln Asn Pro Asp
 465 470 475 480
 Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys Ser Ser Asp
 485 490

<210> 52

<211> 813

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 2号 α 链

<400> 52

atggagaccc tcttgggcct gcttatacctt tggctgcagc tgcaatgggt gagcagcaaa 60
 caggaggtga cgcagattcc tgcagctctg agtgtcccag aaggagaaaa cttggttctc 120
 aactgcagtt tcaactgatag cgctatttac aacctccagt ggtttaggca ggaccctggg 180
 aaaggtctca catctctgtt gcttattcag tcaagtcaga gagagcaaac aagtgaaga 240
 cttaatgcct cgctggataa atcatcagga cgtagtactt tatacattgc agcttctcag 300
 cctggtgact cagccaccta cctctgtgct gtgatcggcg aacagaattt tgtctttggt 360
 cccggaacca gattgtccgt gctgccctat atccagaacc ctgaccctgc cgtgtaccag 420
 ctgagagact ctaaattccag tgacaagtct gtctgcctat tcaccgattt tgattctcaa 480
 acaaatgtgt cacaaagtaa ggattctgat gtgtatatca cagacaaaac tgtgctagac 540
 atgaggtcta tggacttcaa gagcaacagt gctgtggcct ggagcaacaa atctgacttt 600
 gcatgtgcaa acgccttcaa caacagcatt attccagaag acaccttctt cccagccca 660
 gaaagttcct gtgatgtcaa gctggtcgag aaaagctttg aaacagatac gaacctaaac 720
 tttcaaaacc tgtcagtgat tgggttccga atcctcctcc tgaaagtggc cgggtttaat 780
 ctgctcatga cgctgcggct gtggtccagc tga 813

<210> 53

<211> 270

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 2号 α 链

<400> 53

Met Glu Thr Leu Leu Gly Leu Leu Ile Leu Trp Leu Gln Leu Gln Trp
 1 5 10 15
 Val Ser Ser Lys Gln Glu Val Thr Gln Ile Pro Ala Ala Leu Ser Val

20	25	30
Pro Glu Gly Glu Asn Leu Val	Leu Asn Cys Ser Phe Thr	Asp Ser Ala
35	40	45
Ile Tyr Asn Leu Gln Trp Phe	Arg Gln Asp Pro Gly Lys	Gly Leu Thr
50	55	60
Ser Leu Leu Leu Ile Gln Ser	Ser Gln Arg Glu Gln Thr	Ser Gly Arg
65	70	75
80		
Leu Asn Ala Ser Leu Asp Lys	Ser Ser Gly Arg Ser Thr	Leu Tyr Ile
85	90	95
Ala Ala Ser Gln Pro Gly Asp	Ser Ala Thr Tyr Leu Cys	Ala Val Ile
100	105	110
Gly Glu Gln Asn Phe Val Phe	Gly Pro Gly Thr Arg Leu	Ser Val Leu
115	120	125
Pro Tyr Ile Gln Asn Pro Asp	Pro Ala Val Tyr Gln Leu	Arg Asp Ser
130	135	140
Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val	Cys Leu Phe Thr Asp Phe	Asp Ser Gln
145	150	155
160		
Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys	Asp Ser Asp Val Tyr Ile	Thr Asp Lys
165	170	175
Thr Val Leu Asp Met Arg Ser	Met Asp Phe Lys Ser Asn	Ser Ala Val
180	185	190
Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp	Phe Ala Cys Ala Asn Ala	Phe Asn Asn
195	200	205
Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr	Phe Phe Pro Ser Pro Glu	Ser Ser Cys
210	215	220
Asp Val Lys Leu Val Glu Lys	Ser Phe Glu Thr Asp Thr	Asn Leu Asn
225	230	235
240		
Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile	Gly Phe Arg Ile Leu Leu	Leu Lys Val
245	250	255
Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met	Thr Leu Arg Leu Trp Ser	Ser
260	265	270

<210> 54

<211> 948

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 2号β链

<400> 54

atgggcacca ggctcctctg ctgggcagcc ctgtgcctcc tgggggcaga tcacacaggt 60

gctggagtct cccagacccc cagtaacaag gtcacagaga agggaaaata tgtagagctc 120
 aggtgtgata caatttcagg tcatactgcc ctttactggt accgacaaag cctggggcag 180
 ggcccagagt ttctaattta cttccaaggc acgggtgcgg cagatgactc agggctgccc 240
 aacgatcggg tctttgcagt caggcctgag ggatccgtct ctactctgaa gatccagcgc 300
 acagagcggg gggactcagc cgtgtatctc tgtgccagca gcttaagtgg gttaggctct 360
 ggggccaacg tcctgacttt cggggccggc agcaggetga ccgtgctgga ggacctgaaa 420
 aacgtgttcc caccgcaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc 480
 caaaaggcca cactgggtgt cctggccaca ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc 540
 tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagacccgca gccctcaag 600
 gagcagcccc ccctcaatga ctccagatac tgctgagca gccgcctgag ggtctcggcc 660
 accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg 720
 gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaacctgtca cccagatcgt cagcgccgag 780
 gcctggggta gagcagactg tggttcacc tccagatctt accagcaagg ggtcctgtct 840
 gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt 900
 gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag 948

<210> 55

<211> 315

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 2号β链

<400> 55

Met	Gly	Thr	Arg	Leu	Leu	Cys	Trp	Ala	Ala	Leu	Cys	Leu	Leu	Gly	Ala
1				5				10						15	
Asp	His	Thr	Gly	Ala	Gly	Val	Ser	Gln	Thr	Pro	Ser	Asn	Lys	Val	Thr
			20					25					30		
Glu	Lys	Gly	Lys	Tyr	Val	Glu	Leu	Arg	Cys	Asp	Pro	Ile	Ser	Gly	His
		35					40					45			
Thr	Ala	Leu	Tyr	Trp	Tyr	Arg	Gln	Ser	Leu	Gly	Gln	Gly	Pro	Glu	Phe
	50					55				60					
Leu	Ile	Tyr	Phe	Gln	Gly	Thr	Gly	Ala	Ala	Asp	Asp	Ser	Gly	Leu	Pro
65				70				75					80		
Asn	Asp	Arg	Phe	Phe	Ala	Val	Arg	Pro	Glu	Gly	Ser	Val	Ser	Thr	Leu
			85					90					95		
Lys	Ile	Gln	Arg	Thr	Glu	Arg	Gly	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Leu	Cys	Ala
			100					105				110			
Ser	Ser	Leu	Ser	Gly	Leu	Gly	Ser	Gly	Ala	Asn	Val	Leu	Thr	Phe	Gly
		115					120					125			
Ala	Gly	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Leu	Glu	Asp	Leu	Lys	Asn	Val	Phe	Pro

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

<210> 56

<211> 1496

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 2号构建体;在β和α链恒定结构域(部分序列)中有半胱氨酸取代的β链-P2A-α链

<400> 56

```

ctcaataaaa gagccacaaa ccctcactc ggcgcgccac catgggcacc agactgctgt 60
gttgggctgc tctgtgtctg ctgggagccg atcatacagg tgccggtgtc agccagacac 120
ctagcaacaa agtgaccgag aagggcaa atcgtggaact gagatgcgac cccatcagcg 180
gacacacagc cctgtactgg tacagacagt ctctcgcca gggacctgag ttctgtatct 240
acttccaagg caccggcgtg gccgatgata gcggcctgcc taacgataga ttcttcgccg 300
tcagacccga gggcagcgtg tccacactga agatccagag aaccgagagg ggcgacagcg 360
ccgtgtatct gtgtgcctct tctctgtctg gcctcggtc tggcgctaac gtgctgacat 420
ttggcgccgg aagcagactg accgtgctgg aagatctgaa gaacgtgttc ccacctgagg 480

```

tggccgtgtt cgagccttct gaggccgaga tcagccacac acagaaagcc acactcgtgt 540
 gtctggccac cggtcttctat cccgaccatg tggaactgtc ttggtgggtc aacggcaaag 600
 aggtgcacag cggcgtctgt acagatcccc agcctctgaa agaacagccc gctctgaacg 660
 acagccggta ctgtctgtcc tccagactga gagtgtccgc caccttctgg cagaacccca 720
 gaaaccactt cagatgccag gtgcagttct acggcctgag cgagaacgat gagtggaccc 780
 aggatagagc caagcctgtg acacagatcg tgtctgccga agcctggggc agagccgatt 840
 gtggctttac cagcgagagc taccagcagg gcgtgctgtc tgccacaatc ctgtacgaga 900
 tcctgctggg caaagccact ctgtacgccg tgctgggtgc tgccctgggtg ctgatggcca 960
 tggtaaacgc gaaggacagc agaggcgggt ccggagccac gaacttctct ctgttaaagc 1020
 aagcaggaga cgtggaagaa aaccccggtc ccatggaaac actgctgggc ctgctgatcc 1080
 tgtggctgca actgcaatgg gtgtccagca agcaagaagt gacacagatc cctgccgctc 1140
 tgtctgtgcc tgagggcgaa aacctgggtc tgaactgcag cttcaccgac agcgccatct 1200
 acaacctgca gtggttcaga caggaccccg gcaagggact gacaagcctg ctgctgattc 1260
 agagcagcca gagagagcag accagcggca gactgaatgc cagcctggat aagtcctccg 1320
 gcagaagcac cctgtatata gccgtttctc agcctggcga tagcgccaca tatctgtgtg 1380
 ccgtgatcgg cgagcagaac ttcgtgtttg gccctggcac aagactgagc gtgctgccct 1440
 acattcagaa ccccgatcct gccgtgtacc agctgcggga cagcaagagc agcgac 1496

<210> 57

<211> 496

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 2号构建体;在β和α链恒定结构域(部分序列)中有半胱氨酸取代的β链-P2A-α链

<400> 57

Lys	Ser	Pro	Gln	Pro	Leu	Thr	Arg	Arg	Ala	Thr	Met	Gly	Thr	Arg	Leu
1				5					10					15	
Leu	Cys	Trp	Ala	Ala	Leu	Cys	Leu	Leu	Gly	Ala	Asp	His	Thr	Gly	Ala
			20					25					30		
Gly	Val	Ser	Gln	Thr	Pro	Ser	Asn	Lys	Val	Thr	Glu	Lys	Gly	Lys	Tyr
			35				40						45		
Val	Glu	Leu	Arg	Cys	Asp	Pro	Ile	Ser	Gly	His	Thr	Ala	Leu	Tyr	Trp
			50				55						60		
Tyr	Arg	Gln	Ser	Leu	Gly	Gln	Gly	Pro	Glu	Phe	Leu	Ile	Tyr	Phe	Gln
65				70					75					80	
Gly	Thr	Gly	Ala	Ala	Asp	Asp	Ser	Gly	Leu	Pro	Asn	Asp	Arg	Phe	Phe
			85					90					95		
Ala	Val	Arg	Pro	Glu	Gly	Ser	Val	Ser	Thr	Leu	Lys	Ile	Gln	Arg	Thr
			100					105					110		

Glu Arg Gly Asp Ser Ala Val Tyr Leu Cys Ala Ser Ser Leu Ser Gly		
115	120	125
Leu Gly Ser Gly Ala Asn Val Leu Thr Phe Gly Ala Gly Ser Arg Leu		
130	135	140
Thr Val Leu Glu Asp Leu Lys Asn Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val		
145	150	155
Phe Glu Pro Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu		
165	170	175
Val Cys Leu Ala Thr Gly Phe Tyr Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp		
180	185	190
Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Cys Thr Asp Pro Gln		
195	200	205
Pro Leu Lys Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser		
210	215	220
Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His		
225	230	235
Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp		
245	250	255
Thr Gln Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala		
260	265	270
Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Glu Ser Tyr Gln Gln Gly		
275	280	285
Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr		
290	295	300
Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys		
305	310	315
Arg Lys Asp Ser Arg Gly Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu		
325	330	335
Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Glu Thr Leu		
340	345	350
Leu Gly Leu Leu Ile Leu Trp Leu Gln Leu Gln Trp Val Ser Ser Lys		
355	360	365
Gln Glu Val Thr Gln Ile Pro Ala Ala Leu Ser Val Pro Glu Gly Glu		
370	375	380
Asn Leu Val Leu Asn Cys Ser Phe Thr Asp Ser Ala Ile Tyr Asn Leu		
385	390	395
Gln Trp Phe Arg Gln Asp Pro Gly Lys Gly Leu Thr Ser Leu Leu Leu		
405	410	415
Ile Gln Ser Ser Gln Arg Glu Gln Thr Ser Gly Arg Leu Asn Ala Ser		

420	425	430
Leu Asp Lys Ser Ser Gly Arg Ser Thr Leu Tyr Ile Ala Ala Ser Gln		
435	440	445
Pro Gly Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Val Ile Gly Glu Gln Asn		
450	455	460
Phe Val Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Ser Val Leu Pro Tyr Ile Gln		
465	470	475
Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys Ser Ser Asp		
485	490	495

<210> 58

<211> 825

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 3号 α 链

<400> 58

atgatgaaat ccttgagagt ttactagt atcctgtggc ttcagttgag ctgggtttgg 60
agccaacaga aggaggtgga gcagaattct ggaccctca gtgttccaga gggagccatt 120
gcctctctca actgcactta cagtaccga ggttcccagt cttcttctg gtacagacaa 180
tattctggga aaagccctga gttgataatg tccatatact ccaatggtga caaagaagat 240
ggaaggttta cagcacagct caataaagcc agccagtatg tttctctgct catcagagac 300
tcccagccca gtgattcagc cacctacctc tgtgccgtcg attctggggg ttaccagaaa 360
gttacctttg gaactggaac aaagctccaa gtcatccaa atatccagaa ccctgacctt 420
gccgtgtacc agctgagaga ctctaaatcc agtgacaagt ctgtctgcct attcaccgat 480
tttgattctc aaacaaatgt gtcacaaagt aaggattctg atgtgtatat cacagacaaa 540
actgtgctag acatgaggtc tatggacttc aagagcaaca gtgctgtggc ctggagcaac 600
aaatctgact ttgcatgtgc aaacgccttc aacaacagca ttattccaga agacaccttc 660
ttccccagcc cagaaagtgc ctgtgatgtc aagctggtcg agaaaagctt tgaacagat 720
acgaacctaa actttcaaaa cctgtcagtg attgggttcc gaatcctcct cctgaaagtg 780
gccgggttta atctgctcat gacgctgcgg ctgtggtcca gctga 825

<210> 59

<211> 274

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 3号 α 链

<400> 59

Met Met Lys Ser Leu Arg Val Leu Leu Val Ile Leu Trp Leu Gln Leu

1

5

10

15

Ser	Trp	Val	Trp	Ser	Gln	Gln	Lys	Glu	Val	Glu	Gln	Asn	Ser	Gly	Pro
20				25				30							
Leu	Ser	Val	Pro	Glu	Gly	Ala	Ile	Ala	Ser	Leu	Asn	Cys	Thr	Tyr	Ser
35				40				45							
Asp	Arg	Gly	Ser	Gln	Ser	Phe	Phe	Trp	Tyr	Arg	Gln	Tyr	Ser	Gly	Lys
50				55				60							
Ser	Pro	Glu	Leu	Ile	Met	Ser	Ile	Tyr	Ser	Asn	Gly	Asp	Lys	Glu	Asp
65				70				75				80			
Gly	Arg	Phe	Thr	Ala	Gln	Leu	Asn	Lys	Ala	Ser	Gln	Tyr	Val	Ser	Leu
85				90				95							
Leu	Ile	Arg	Asp	Ser	Gln	Pro	Ser	Asp	Ser	Ala	Thr	Tyr	Leu	Cys	Ala
100				105				110							
Val	Asp	Ser	Gly	Gly	Tyr	Gln	Lys	Val	Thr	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys
115				120				125							
Leu	Gln	Val	Ile	Pro	Asn	Ile	Gln	Asn	Pro	Asp	Pro	Ala	Val	Tyr	Gln
130				135				140							
Leu	Arg	Asp	Ser	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Ser	Val	Cys	Leu	Phe	Thr	Asp
145				150				155				160			
Phe	Asp	Ser	Gln	Thr	Asn	Val	Ser	Gln	Ser	Lys	Asp	Ser	Asp	Val	Tyr
165				170				175							
Ile	Thr	Asp	Lys	Thr	Val	Leu	Asp	Met	Arg	Ser	Met	Asp	Phe	Lys	Ser
180				185				190							
Asn	Ser	Ala	Val	Ala	Trp	Ser	Asn	Lys	Ser	Asp	Phe	Ala	Cys	Ala	Asn
195				200				205							
Ala	Phe	Asn	Asn	Ser	Ile	Ile	Pro	Glu	Asp	Thr	Phe	Phe	Pro	Ser	Pro
210				215				220							
Glu	Ser	Ser	Cys	Asp	Val	Lys	Leu	Val	Glu	Lys	Ser	Phe	Glu	Thr	Asp
225				230				235				240			
Thr	Asn	Leu	Asn	Phe	Gln	Asn	Leu	Ser	Val	Ile	Gly	Phe	Arg	Ile	Leu
245				250				255							
Leu	Leu	Lys	Val	Ala	Gly	Phe	Asn	Leu	Leu	Met	Thr	Leu	Arg	Leu	Trp
260				265				270							

Ser Ser

<210> 60

<211> 930

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 3号和TCR 10号β链

<400> 60

```

atgggcacca ggctcctctg ctgggcagcc ctgtgcctcc tgggggcaga tcacacaggt 60
gctggagtct cccagacccc cagtaacaag gtcacagaga agggaaaata tgtagagctc 120
aggtgtgata caatttcagg tcatactgcc ctttactggg accgacaaag cctggggcag 180
ggcccagagt ttctaattta cttccaaggc acgggtgcgg cagatgactc agggctgccc 240
aacgatcggg tctttgcagt caggcctgag ggatccgtct ctactctgaa gatccagcgc 300
acagagcggg gggactcagc cgtgtatctc tgtgccagca gcttaaatat gaacactgaa 360
gctttctttg gacaaggcac cagactcaca gttgtagagg acctgaacaa ggtgttccca 420
cccagggtcg ctgtgtttga gccatcagaa gcagagatct cccacacca aaaggccaca 480
ctgggtgtgcc tggccacagg cttcttcccc gaccacgtgg agctgagctg gtgggtgaat 540
gggaaggagg tgcacagtgg ggtcagcacg gacccgcagc cctcaagga gcagcccgcc 600
ctcaatgact ccagatactg cctgagcagc cgctgaggg tctcgccac cttctggcag 660
aacccccgca accacttcgg ctgtcaagtc cagttctacg ggctctcgga gaatgacgag 720
tggaccagg atagggccaa acccgtcacc cagatcgta gcgccaggc ctggggtaga 780
gcagactgtg gctttacctc ggtgtcctac cagcaagggg tcctgtctgc caccatctc 840
tatgagatcc tgctagggaa ggccaccctg tatgtgtgc tggtcagcgc cttgtgttg 900
atggccatgg tcaagagaaa ggatttctga 930

```

<210> 61

<211> 309

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 3号和TCR 10号β链

<400> 61

```

Met Gly Thr Arg Leu Leu Cys Trp Ala Ala Leu Cys Leu Leu Gly Ala
1           5           10           15
Asp His Thr Gly Ala Gly Val Ser Gln Thr Pro Ser Asn Lys Val Thr
           20           25           30
Glu Lys Gly Lys Tyr Val Glu Leu Arg Cys Asp Pro Ile Ser Gly His
           35           40           45
Thr Ala Leu Tyr Trp Tyr Arg Gln Ser Leu Gly Gln Gly Pro Glu Phe
           50           55           60
Leu Ile Tyr Phe Gln Gly Thr Gly Ala Ala Asp Asp Ser Gly Leu Pro
65           70           75           80
Asn Asp Arg Phe Phe Ala Val Arg Pro Glu Gly Ser Val Ser Thr Leu
           85           90           95
Lys Ile Gln Arg Thr Glu Arg Gly Asp Ser Ala Val Tyr Leu Cys Ala
           100          105          110
Ser Ser Leu Asn Met Asn Thr Glu Ala Phe Phe Gly Gln Gly Thr Arg

```

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

Lys Arg Lys Asp Phe

305

<210> 62

<211> 1490

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 3号构建体;在β和α链恒定结构域(部分序列)中有半胱氨酸取代的β链-P2A-α链

<400> 62

```

ctcaataaaa gagccacaaa ccctcactc ggcgcgccac catgggcacc agactgctgt 60
gttggggccgc tctgtgtctg ctgggcgcgc atcatacagg cgctggcgtg tcccagaccc 120
ccagcaacaa agtgaccgag aagggc aaat acgtggaact gagatgcgac cccatcagcg 180
gccacaccgc cctgtactgg tacagacagt ctctgggcca gggccccgag ttctgatata 240
attttcaggg caccggcgct gccgacgaca gcggcctgcc taacgataga ttcttcgccg 300
tgccggcccga gggcagcgtg tccacactga agatccagag aaccgagcgg ggcgacagcg 360

```

ccgtgtatct gtgtgccagc agcctgaata tgaacaccga ggcattcttt gggcagggca 420
 cccggctgac cgtgggtgga gatctgaaca aggtgttccc cccagaggtg gccgtgttcg 480
 agccttctga ggccgagatc agccacaccc agaaagccac cctcgtgtgc ctggccaccg 540
 gctttttccc cgaccatgtg gaactgtctt ggtgggtcaa cggcaaagag gtgcacagcg 600
 gagtgtccac cgaccctcag cccctgaaag aacagcccgc cctgaacgac agccgggtact 660
 gcctgagcag cagactgaga gtgtccgcca ctttctggca gaacccccgg aaccacttca 720
 gatgccaggt gcagttctac ggcctgagcg agaacgacga gtggaccag gacagagcca 780
 agccccgtgac ccagatcgtg tctgccgaag cctggggcag agccgattgc ggctttacct 840
 ccgtgtccta tcagcagggc gtgctgagcg ccaccatcct gtacgagatc ctgctgggca 900
 aggccaccct gtacccgtg ctggtgtctg ccctgggtgt gatggccatg gtcaagcgga 960
 aggacttcgg ttccggagcc acgaacttct ctctgttaaa gcaagcagga gacgtggaag 1020
 aaaacccccg tcccatgatg aagtccttgc ggggtgtgtc cgtgatcctg tggctgcagc 1080
 tgtcttgggt gtggtcccag cagaaagagg tggaacagaa cagcggccct ctgagcgtgc 1140
 cagagggcgc cattgctagc ctgaattgca cctacagcga ccggggcagc cagagcttct 1200
 tctggtatcg gcagtacagc ggcaagagcc ccgagctgat catgagcatc tacagcaacg 1260
 gcgacaaaga ggacggccgg ttcaccgccc agctgaacaa agccagccag tacgtgtcac 1320
 tgctgatccg ggacagccag cccagcgata gcgccacata cctgtgcgcc gtggatagcg 1380
 gcggctacca gaaagtgacc ttcggcaccg gcaccaagct gcaagtgatc cccaacatcc 1440
 agaacccccga ccccgtgtg taccagctgc gggacagcaa gagcagcgac 1490

<210> 63

<211> 494

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 3号构建体;在β和α链恒定结构域(部分序列)中有半胱氨酸取代的β链-P2A-α链

<400> 63

Lys	Ser	Pro	Gln	Pro	Leu	Thr	Arg	Arg	Ala	Thr	Met	Gly	Thr	Arg	Leu
1				5					10					15	
Leu	Cys	Trp	Ala	Ala	Leu	Cys	Leu	Leu	Gly	Ala	Asp	His	Thr	Gly	Ala
				20					25					30	
Gly	Val	Ser	Gln	Thr	Pro	Ser	Asn	Lys	Val	Thr	Glu	Lys	Gly	Lys	Tyr
				35				40						45	
Val	Glu	Leu	Arg	Cys	Asp	Pro	Ile	Ser	Gly	His	Thr	Ala	Leu	Tyr	Trp
				50				55						60	
Tyr	Arg	Gln	Ser	Leu	Gly	Gln	Gly	Pro	Glu	Phe	Leu	Ile	Tyr	Phe	Gln
65					70					75					80
Gly	Thr	Gly	Ala	Ala	Asp	Asp	Ser	Gly	Leu	Pro	Asn	Asp	Arg	Phe	Phe
				85					90						95

Ala Val Arg Pro Glu Gly Ser Val Ser Thr Leu Lys Ile Gln Arg Thr		
100	105	110
Glu Arg Gly Asp Ser Ala Val Tyr Leu Cys Ala Ser Ser Leu Asn Met		
115	120	125
Asn Thr Glu Ala Phe Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Thr Val Val Glu		
130	135	140
Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro Ser		
145	150	155
Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala		
165	170	175
Thr Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn Gly		
180	185	190
Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys Glu		
195	200	205
Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu Arg		
210	215	220
Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys Gln		
225	230	235
Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp Arg		
245	250	255
Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg Ala		
260	265	270
Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala		
275	280	285
Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val		
290	295	300
Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Phe		
305	310	315
Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val		
325	330	335
Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Met Lys Ser Leu Arg Val Leu Leu Val		
340	345	350
Ile Leu Trp Leu Gln Leu Ser Trp Val Trp Ser Gln Gln Lys Glu Val		
355	360	365
Glu Gln Asn Ser Gly Pro Leu Ser Val Pro Glu Gly Ala Ile Ala Ser		
370	375	380
Leu Asn Cys Thr Tyr Ser Asp Arg Gly Ser Gln Ser Phe Phe Trp Tyr		
385	390	395
Arg Gln Tyr Ser Gly Lys Ser Pro Glu Leu Ile Met Ser Ile Tyr Ser		

405	410	415
Asn Gly Asp Lys Glu Asp Gly Arg Phe Thr Ala Gln Leu Asn Lys Ala		
420	425	430
Ser Gln Tyr Val Ser Leu Leu Ile Arg Asp Ser Gln Pro Ser Asp Ser		
435	440	445
Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Val Asp Ser Gly Gly Tyr Gln Lys Val Thr		
450	455	460
Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Gln Val Ile Pro Asn Ile Gln Asn Pro		
465	470	475
Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys Ser Ser Asp		
485	490	

<210> 64

<211> 819

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 10号α链

<400> 64

```

atggaaactc tcctgggagt gtctttggtg attctatggc ttcaactggc tagggtgaac 60
agtcaacagg gagaagagga tcctcaggcc ttgagcatcc aggagggtga aaatgccacc 120
atgaactgca gttacaaaac tagtataaac aatttacagt ggtatagaca aaattcaggt 180
agaggccttg tccacctaatt ttaatacgt tcaaatgaaa gagagaaaca cagtggaaga 240
ttaagagtca cgcttgacac ttccaagaaa agcagttcct tgttgatcac ggcttcccg 300
gcagcagaca ctgcttctta cttctgtgct acggacgaga gtagcaacta taaactgaca 360
tttgaaaaag gaactctctt aaccgtgaat ccaaatatcc agaaccctga ccctgccgtg 420
taccagctga gagactctaa atccagtgac aagtctgtct gcctattcac cgattttgat 480
tctcaaacaa atgtgtcaca aagtaaggat tctgatgtgt atatcacaga caaaactgtg 540
ctagacatga ggtctatgga cttcaagagc aacagtgtgt tggcctggag caacaaatct 600
gactttgcat gtgcaaacgc cttcaacaac agcattattc cagaagacac cttcttcccc 660
agcccagaaa gttcctgtga tgtcaagctg gtcgagaaaa gctttgaaac agatacgaac 720
ctaaactttc aaaacctgtc agtgattggg ttccgaatcc tcctcctgaa agtggccggg 780
tttaatctgc tcatgacgct gcggtgtgg tccagctga 819

```

<210> 65

<211> 272

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 10号α链

<400> 65

Met	Glu	Thr	Leu	Leu	Gly	Val	Ser	Leu	Val	Ile	Leu	Trp	Leu	Gln	Leu
1				5					10					15	
Ala	Arg	Val	Asn	Ser	Gln	Gln	Gly	Glu	Glu	Asp	Pro	Gln	Ala	Leu	Ser
			20					25					30		
Ile	Gln	Glu	Gly	Glu	Asn	Ala	Thr	Met	Asn	Cys	Ser	Tyr	Lys	Thr	Ser
		35					40					45			
Ile	Asn	Asn	Leu	Gln	Trp	Tyr	Arg	Gln	Asn	Ser	Gly	Arg	Gly	Leu	Val
	50					55					60				
His	Leu	Ile	Leu	Ile	Arg	Ser	Asn	Glu	Arg	Glu	Lys	His	Ser	Gly	Arg
65					70					75				80	
Leu	Arg	Val	Thr	Leu	Asp	Thr	Ser	Lys	Lys	Ser	Ser	Ser	Leu	Leu	Ile
			85						90					95	
Thr	Ala	Ser	Arg	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Ser	Tyr	Phe	Cys	Ala	Thr	Asp
			100					105					110		
Glu	Ser	Ser	Asn	Tyr	Lys	Leu	Thr	Phe	Gly	Lys	Gly	Thr	Leu	Leu	Thr
		115					120					125			
Val	Asn	Pro	Asn	Ile	Gln	Asn	Pro	Asp	Pro	Ala	Val	Tyr	Gln	Leu	Arg
	130					135					140				
Asp	Ser	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Ser	Val	Cys	Leu	Phe	Thr	Asp	Phe	Asp
145					150					155				160	
Ser	Gln	Thr	Asn	Val	Ser	Gln	Ser	Lys	Asp	Ser	Asp	Val	Tyr	Ile	Thr
			165						170					175	
Asp	Lys	Thr	Val	Leu	Asp	Met	Arg	Ser	Met	Asp	Phe	Lys	Ser	Asn	Ser
		180						185					190		
Ala	Val	Ala	Trp	Ser	Asn	Lys	Ser	Asp	Phe	Ala	Cys	Ala	Asn	Ala	Phe
		195					200					205			
Asn	Asn	Ser	Ile	Ile	Pro	Glu	Asp	Thr	Phe	Phe	Pro	Ser	Pro	Glu	Ser
	210					215					220				
Ser	Cys	Asp	Val	Lys	Leu	Val	Glu	Lys	Ser	Phe	Glu	Thr	Asp	Thr	Asn
225					230					235				240	
Leu	Asn	Phe	Gln	Asn	Leu	Ser	Val	Ile	Gly	Phe	Arg	Ile	Leu	Leu	Leu
			245						250				255		
Lys	Val	Ala	Gly	Phe	Asn	Leu	Leu	Met	Thr	Leu	Arg	Leu	Trp	Ser	Ser
		260						265					270		

<210> 66

<211> 1484

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 10号构建体;在 β 和 α 链恒定结构域(部分序列)中有半胱氨酸取代的 β 链-P2A- α 链

<400> 66

```

ctcaataaaa gagcccacaa cccctcactc ggcgcgccac catgggcacc agactgctgt 60
gttgggccgc tctgtgtctg ctgggcgccc atcatacagg cgctggcgtg tcccagaccc 120
ccagcaacaa agtgaccgag aagggcaa atcgtggaact gagatgcgac cccatcagcg 180
gccacaccgc cctgtactgg tacagacagt ctctgggcca gggccccgag ttcctgatat 240
atcttcaggg caccggcgct gccgacgaca gcggcctgcc taacgataga ttcttcgccg 300
tgcggccccga gggcagcgtg tccacactga agatccagag aaccgagcgg ggcgacagcg 360
ccgtgtatct gtgtgccagc agcctgaata tgaacaccga ggcattcttt gggcagggca 420
cccggctgac cgtggtggaa gatctgaaca aggtgttccc cccagaggtg gccgtgttcg 480
agccttctga ggccgagatc agccacaccc agaaagccac cctcgtgtgc ctggccaccg 540
gctttttccc cgaccatgtg gaactgtctt ggtgggtcaa cggcaaagag gtgcacagcg 600
gagtgtccac cgaccctcag cccctgaaag aacagccgc cctgaacgac agccggtact 660
gcctgagcag cagactgaga gtgtccgcca cttcttgga gaacccccg aaccatttca 720
gatgccaggt gcagttctac ggccctgagc agaacgacga gtggaccag gacagagcca 780
agcccgtagc ccagatcgtg tctgccgaag cctggggcag agccgattgc ggctttacct 840
ccgtgtccta tcagcagggc gtgctgagc ccaccatcct gtacgagatc ctgctgggca 900
aggccaccct gtacgccgtg ctggtgtctg ccctggtgct gatggccatg gtcaagcgga 960
aggacttcgg ttccggagcc acgaacttct ctctgttaaa gcaagcagga gacgtggaag 1020
aaaacccccg tccatggaa accctgctgg gagtgtccct cgtgatcctg tggctgcagc 1080
tggccagagt gaacagccag cagggggaag aggatcccca ggccctgagc attcaggaag 1140
gcgagaacgc caccatgaac tgcagctaca agaccagcat caacaacctg cagtgtgtaca 1200
ggcagaacag cggcagaggc ctggtgcacc tgatcctgat cagaagcaac gagagagaga 1260
agcactccgg acggctgaga gtgaccctgg acacctcaa gaagtccctc agcctgctga 1320
tcaccgccag cagagccgcc gataccgcca gctacttctg cgccacagac gagagcagca 1380
actacaagct gaccttcggc aagggcacac tgctgacagt gaacccaac atccagaacc 1440
ccgaccccg cgtgtaccag ctgcgggaca gcaagagcag cgac 1484

```

<210> 67

<211> 492

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 10号构建体

多肽;在 β 和 α 链恒定结构域(部分序列)中有半胱氨酸取代的 β 链-P2A- α 链

<400> 67

```

Lys Ser Pro Gln Pro Leu Thr Arg Arg Ala Thr Met Gly Thr Arg Leu
1           5           10           15
Leu Cys Trp Ala Ala Leu Cys Leu Leu Gly Ala Asp His Thr Gly Ala

```

20	25	30
Gly Val Ser Gln Thr Pro Ser Asn Lys Val Thr Glu Lys Gly Lys Tyr		
35	40	45
Val Glu Leu Arg Cys Asp Pro Ile Ser Gly His Thr Ala Leu Tyr Trp		
50	55	60
Tyr Arg Gln Ser Leu Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Ile Tyr Phe Gln		
65	70	75
Gly Thr Gly Ala Ala Asp Asp Ser Gly Leu Pro Asn Asp Arg Phe Phe		
85	90	95
Ala Val Arg Pro Glu Gly Ser Val Ser Thr Leu Lys Ile Gln Arg Thr		
100	105	110
Glu Arg Gly Asp Ser Ala Val Tyr Leu Cys Ala Ser Ser Leu Asn Met		
115	120	125
Asn Thr Glu Ala Phe Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Thr Val Val Glu		
130	135	140
Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro Ser		
145	150	155
Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala		
165	170	175
Thr Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn Gly		
180	185	190
Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys Glu		
195	200	205
Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu Arg		
210	215	220
Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys Gln		
225	230	235
Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp Arg		
245	250	255
Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg Ala		
260	265	270
Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala		
275	280	285
Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val		
290	295	300
Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Phe		
305	310	315
Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val		
325	330	335

Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Glu Thr Leu Leu Gly Val Ser Leu Val		
340	345	350
Ile Leu Trp Leu Gln Leu Ala Arg Val Asn Ser Gln Gln Gly Glu Glu		
355	360	365
Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly Glu Asn Ala Thr Met Asn		
370	375	380
Cys Ser Tyr Lys Thr Ser Ile Asn Asn Leu Gln Trp Tyr Arg Gln Asn		
385	390	395
Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu Ile Arg Ser Asn Glu Arg		
405	410	415
Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr Leu Asp Thr Ser Lys Lys		
420	425	430
Ser Ser Ser Leu Leu Ile Thr Ala Ser Arg Ala Ala Asp Thr Ala Ser		
435	440	445
Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Glu Ser Ser Asn Tyr Lys Leu Thr Phe Gly		
450	455	460
Lys Gly Thr Leu Leu Thr Val Asn Pro Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro		
465	470	475
Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys Ser Ser Asp		
485	490	

<210> 68

<211> 825

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 7号 α 链

<400> 68

```

atggagaaga atcctttggc agccccatta ctaatcctct ggtttcatct tgactgcgtg 60
agcagcatat tgaacgtgga acaaagtcct cagtcactgc atgttcagga gggagacagc 120
accaattttc cctgcagctt ccttccagc aatttttatg cttacactg gtacagatgg 180
gaaactgcaa aaagccccga ggccttgttt gtaatgactt taaatgggga tgaaaagaag 240
aaaggacgaa taagtgccac tcttaatacc aaggagggtt acagctattt gtacatcaaa 300
ggatcccagc ctgaagactc agccacatac ctctgtgcct atttaggggc cggtaaccag 360
ttctattttg ggacagggac aagtttgacg gtcattccaa atatccagaa ccctgacctt 420
gccgtgtacc agctgagaga ctctaaatcc agtgacaagt ctgtctgcct attcaccgat 480
tttgattctc aaacaaatgt gtcacaaagt aaggattctg atgtgtatat cacagacaaa 540
actgtgctag acatgaggtc tatggacttc aagagcaaca gtgctgtggc ctggagcaac 600
aaatctgact ttgcatgtgc aaacgccttc aacaacagca ttattccaga agacaccttc 660
ttccccagcc cagaaagttc ctgtgatgtc aagctggtcg agaaaagctt tgaaacagat 720

```

acgaacctaa actttcaaaa cctgtcagtg attgggttcc gaatcctcct cctgaaagtg 780

gccgggttta atctgctcat gacgctgcgg ctgtggtcca gctga 825

<210> 69

<211> 274

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 7号α链

<400> 69

Met Glu Lys Asn Pro Leu Ala Ala Pro Leu Leu Ile Leu Trp Phe His

1 5 10 15

Leu Asp Cys Val Ser Ser Ile Leu Asn Val Glu Gln Ser Pro Gln Ser

20 25 30

Leu His Val Gln Glu Gly Asp Ser Thr Asn Phe Thr Cys Ser Phe Pro

35 40 45

Ser Ser Asn Phe Tyr Ala Leu His Trp Tyr Arg Trp Glu Thr Ala Lys

50 55 60

Ser Pro Glu Ala Leu Phe Val Met Thr Leu Asn Gly Asp Glu Lys Lys

65 70 75 80

Lys Gly Arg Ile Ser Ala Thr Leu Asn Thr Lys Glu Gly Tyr Ser Tyr

85 90 95

Leu Tyr Ile Lys Gly Ser Gln Pro Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys

100 105 110

Ala Tyr Leu Gly Ala Gly Asn Gln Phe Tyr Phe Gly Thr Gly Thr Ser

115 120 125

Leu Thr Val Ile Pro Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln

130 135 140

Leu Arg Asp Ser Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp

145 150 155 160

Phe Asp Ser Gln Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr

165 170 175

Ile Thr Asp Lys Thr Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser

180 185 190

Asn Ser Ala Val Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn

195 200 205

Ala Phe Asn Asn Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro

210 215 220

Glu Ser Ser Cys Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp

225 230 235 240

Thr Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu
 245 250 255
 Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp
 260 265 270

Ser Ser

<210> 70

<211> 930

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 7号β链

<400> 70

atgagcaacc aggtgctctg ctgtgtggtc ctttgtttcc tgggagcaaa caccgtggat 60
 ggtggaatca ctcagtcccc aaagtacctg ttcagaaagg aaggacagaa tgtgaccctg 120
 agttgtgaac agaatttgaa ccacgatgcc atgtactggg accgacagga cccagggcaa 180
 gggctgagat tgatctacta ctcacagata gtaaattgact ttcagaaagg agatatagct 240
 gaagggtaca gcgtctctcg ggagaagaag gaatcctttc ctctcactgt gacatcggcc 300
 caaaagaacc cgacagcttt ctatctctgt gccagtagcc tcaacagggg ccgctatggc 360
 tacaccttcg gttcggggac cagggttaacc gttgtagagg acctgaacaa ggtgttccca 420
 cccgaggtcg ctgtgtttga gccatcagaa gcagagatct cccacacca aaaggccaca 480
 ctgggtgtgcc tggccacagg cttcttcccc gaccacgtgg agctgagctg gtgggtgaat 540
 gggaaggagg tgcacagtgg ggtcagcacg gacccgcagc ccctcaagga gcagcccgcc 600
 ctcaatgact ccagatactg cctgagcagc cgcctgaggg tctcggccac cttctggcag 660
 aacccccgca accacttccg ctgtcaagtc cagttctacg ggctctcgga gaatgacgag 720
 tggacccagg atagggccaa acccgtcacc cagatcgta gcgccgaggc ctggggtaga 780
 gcagactgtg gctttacctc ggtgtcctac cagcaagggg tcctgtctgc caccatcctc 840
 tatgagatcc tgctagggaa ggccaccctg tatgtctgtc tggtcagcgc cttgtgttg 900
 atggccatgg tcaagagaaa ggatttctga 930

<210> 71

<211> 309

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 7号β链

<400> 71

Met Ser Asn Gln Val Leu Cys Cys Val Val Leu Cys Phe Leu Gly Ala
 1 5 10 15
 Asn Thr Val Asp Gly Gly Ile Thr Gln Ser Pro Lys Tyr Leu Phe Arg
 20 25 30

Lys	Glu	Gly	Gln	Asn	Val	Thr	Leu	Ser	Cys	Glu	Gln	Asn	Leu	Asn	His
35				40				45							
Asp	Ala	Met	Tyr	Trp	Tyr	Arg	Gln	Asp	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Arg	Leu
50				55				60							
Ile	Tyr	Tyr	Ser	Gln	Ile	Val	Asn	Asp	Phe	Gln	Lys	Gly	Asp	Ile	Ala
65				70				75				80			
Glu	Gly	Tyr	Ser	Val	Ser	Arg	Glu	Lys	Lys	Glu	Ser	Phe	Pro	Leu	Thr
				85				90				95			
Val	Thr	Ser	Ala	Gln	Lys	Asn	Pro	Thr	Ala	Phe	Tyr	Leu	Cys	Ala	Ser
				100				105				110			
Ser	Leu	Asn	Arg	Gly	Arg	Tyr	Gly	Tyr	Thr	Phe	Gly	Ser	Gly	Thr	Arg
				115				120				125			
Leu	Thr	Val	Val	Glu	Asp	Leu	Asn	Lys	Val	Phe	Pro	Pro	Glu	Val	Ala
130				135				140							
Val	Phe	Glu	Pro	Ser	Glu	Ala	Glu	Ile	Ser	His	Thr	Gln	Lys	Ala	Thr
145				150				155				160			
Leu	Val	Cys	Leu	Ala	Thr	Gly	Phe	Phe	Pro	Asp	His	Val	Glu	Leu	Ser
				165				170				175			
Trp	Trp	Val	Asn	Gly	Lys	Glu	Val	His	Ser	Gly	Val	Ser	Thr	Asp	Pro
				180				185				190			
Gln	Pro	Leu	Lys	Glu	Gln	Pro	Ala	Leu	Asn	Asp	Ser	Arg	Tyr	Cys	Leu
195				200				205							
Ser	Ser	Arg	Leu	Arg	Val	Ser	Ala	Thr	Phe	Trp	Gln	Asn	Pro	Arg	Asn
210				215				220							
His	Phe	Arg	Cys	Gln	Val	Gln	Phe	Tyr	Gly	Leu	Ser	Glu	Asn	Asp	Glu
225				230				235				240			
Trp	Thr	Gln	Asp	Arg	Ala	Lys	Pro	Val	Thr	Gln	Ile	Val	Ser	Ala	Glu
				245				250				255			
Ala	Trp	Gly	Arg	Ala	Asp	Cys	Gly	Phe	Thr	Ser	Val	Ser	Tyr	Gln	Gln
				260				265				270			
Gly	Val	Leu	Ser	Ala	Thr	Ile	Leu	Tyr	Glu	Ile	Leu	Leu	Gly	Lys	Ala
275				280				285							
Thr	Leu	Tyr	Ala	Val	Leu	Val	Ser	Ala	Leu	Val	Leu	Met	Ala	Met	Val
290				295				300							
Lys	Arg	Lys	Asp	Phe											
305															
<210> 72															
<211> 1490															
<212> DNA															

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 7号构建体;在β和α链恒定结构域(部分序列)中有半胱氨酸取代的β链-P2A-α链

<400> 72

```

ctcaataaaa gagccccacaa cccctcactc ggcgcgccac catgagcaac caggtcttgt 60
gctgtgtggt gctgtgcttt cttggcgcca atacagtgga tggcggcatt acacagagcc 120
ctaagtacct gttccggaaa gaaggccaga acgtgacact gtcttgcgag caaaacctga 180
accacgatgc catgtactgg tacagacagg atcctggaca gggacttagg ctgatctact 240
atagccagat cgtgaacgac ttccagaagg gcgatattgc cgagggtat tctgtgtctc 300
gggagaaaaa ggagagcttc cctctgacag tgacatctgc ccagaagaat cctaccgcct 360
tctacctttg tgccagctct ctgaatcggg gcagatacgg atacaccttt ggatctggca 420
ccagactgac agtgggtggaa gatctgaaca aggtgttccc cccagaggtg gccgtgttcg 480
agccttctga ggccgagatc tcccacaccc agaaagccac cctcgtgtgc ctggccaccg 540
gctttttccc cgaccacgtg gaactgtctt ggtgggtcaa cggcaaagag gtgcaactcc 600
gcgtgtgcac cgatccccag cctctgaaag aacagccgc cctgaacgac agccggtact 660
gcctgagcag cagactgaga gtgtccgcca cttcttgga gaacccccgg aaccacttca 720
gatgccaggt gcagttctac ggctgagcg agaacgacga gtggaccag gacagagcca 780
agcccgtagc acagatcgtg tctgccgaag cctggggcag agccgattgc ggctttacct 840
ccgtgtccta tcagcagggc gtgctgagcg ccacaatcct gtacgagatc ctgctgggca 900
aggccaccct gtacgccgtg ctggtgtctg ccctggtgct gatggccatg gtcaagcgga 960
aggacttcgg ttccggagcc acgaacttct ctctgttaaa gcaagcagga gacgtggaag 1020
aaaacccccg tcccatggag aagaaccccc ttgcagcacc tctgcttatt ctgtggttcc 1080
acctggattg cgtgagctct atcctgaatg tggagcagtc tcctcagtct ctgcatgttc 1140
aggaaggcga tagcaccaac ttcacctgta gtttcccag cagcaacttc tatgccctgc 1200
actggtacag atgggaaaca gccaaaagcc ctgaagccct gttcgtgatg acccttaatg 1260
gcgatgagaa gaagaagggc cggatttctg ccacctgaa taaaaagag ggctacagct 1320
acctgtacat caagggatct cagcctgagg atagcgccac atatctgtgt gcctatctgg 1380
gagccggcaa tcagttctat ttcggaacag gcaccagcct gaccgtgatt cctaatatcc 1440
agaacccccg tcctgccgtg taccagctgc gggacagcaa gagcagcgac 1490

```

<210> 73

<211> 494

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 7号构建体;在β和α链恒定结构域(部分序列)中有半胱氨酸取代的β链-P2A-α链

<400> 73

Lys Ser Pro Gln Pro Leu Thr Arg Arg Ala Thr Met Ser Asn Gln Val

1	5	10	15
Leu Cys Cys Val Val Leu Cys Phe Leu Gly Ala Asn Thr Val Asp Gly			
20	25	30	
Gly Ile Thr Gln Ser Pro Lys Tyr Leu Phe Arg Lys Glu Gly Gln Asn			
35	40	45	
Val Thr Leu Ser Cys Glu Gln Asn Leu Asn His Asp Ala Met Tyr Trp			
50	55	60	
Tyr Arg Gln Asp Pro Gly Gln Gly Leu Arg Leu Ile Tyr Tyr Ser Gln			
65	70	75	80
Ile Val Asn Asp Phe Gln Lys Gly Asp Ile Ala Glu Gly Tyr Ser Val			
85	90	95	
Ser Arg Glu Lys Lys Glu Ser Phe Pro Leu Thr Val Thr Ser Ala Gln			
100	105	110	
Lys Asn Pro Thr Ala Phe Tyr Leu Cys Ala Ser Ser Leu Asn Arg Gly			
115	120	125	
Arg Tyr Gly Tyr Thr Phe Gly Ser Gly Thr Arg Leu Thr Val Val Glu			
130	135	140	
Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro Ser			
145	150	155	160
Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala			
165	170	175	
Thr Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn Gly			
180	185	190	
Lys Glu Val His Ser Gly Val Cys Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys Glu			
195	200	205	
Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu Arg			
210	215	220	
Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys Gln			
225	230	235	240
Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp Arg			
245	250	255	
Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg Ala			
260	265	270	
Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala			
275	280	285	
Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val			
290	295	300	
Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Phe			
305	310	315	320

Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val		
325	330	335
Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Glu Lys Asn Pro Leu Ala Ala Pro Leu		
340	345	350
Leu Ile Leu Trp Phe His Leu Asp Cys Val Ser Ser Ile Leu Asn Val		
355	360	365
Glu Gln Ser Pro Gln Ser Leu His Val Gln Glu Gly Asp Ser Thr Asn		
370	375	380
Phe Thr Cys Ser Phe Pro Ser Ser Asn Phe Tyr Ala Leu His Trp Tyr		
385	390	395
Arg Trp Glu Thr Ala Lys Ser Pro Glu Ala Leu Phe Val Met Thr Leu		
405	410	415
Asn Gly Asp Glu Lys Lys Lys Gly Arg Ile Ser Ala Thr Leu Asn Thr		
420	425	430
Lys Glu Gly Tyr Ser Tyr Leu Tyr Ile Lys Gly Ser Gln Pro Glu Asp		
435	440	445
Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Tyr Leu Gly Ala Gly Asn Gln Phe Tyr		
450	455	460
Phe Gly Thr Gly Thr Ser Leu Thr Val Ile Pro Asn Ile Gln Asn Pro		
465	470	475
Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys Ser Ser Asp		
485	490	

<210> 74

<211> 837

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 8号α链

<400> 74

```

atgctgactg ccagcctggt gagggcagtc atagcctcca tctgtgttgt atccagcatg 60
gctcagaagg taactcaagc gcagactgaa atttctgtgg tggagaagga ggatgtgacc 120
ttggactgtg tgtatgaaac ccgtgatact acttattact tattctggta caagcaacca 180
ccaagtggag aattggtttt cttatttcgt cggaactctt ttgatgagca aaatgaaata 240
agtggtcggt attcttgga cttccagaaa tccaccagtt cttcaactt caccatcaca 300
gcctcacaag tcgtggactc agcagtatac ttctgtgctc tgagtgagct agcatcagga 360
ggaagctaca tacctacatt tggaagagga accagcctta ttgttcatcc gtatatccag 420
aaccctgacc ctgccgtgta ccagctgaga gactctaaat ccagtgacaa gtctgtctgc 480
ctattcaccg attttgattc tcaaacaaat gtgtcacaaa gtaaggattc tgatgtgtat 540
atcacagaca aaactgtgct agacatgagg tctatggact tcaagagcaa cagtgtgtgtg 600

```

gcctggagca acaaatctga ctttgcattgt gcaaacgcct tcaacaacag cattattcca 660
 gaagacacct tcttccccag cccagaaagt tcctgtgatg tcaagctggg cgagaaaagc 720
 tttgaaacag atacgaacct aaactttcaa aacctgtcag tgattggggt ccgaatcctc 780
 ctcctgaaag tggccggggt taatctgctc atgacgctgc ggctgtgggc cagctga 837

<210> 75

<211> 278

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 8号α链

<400> 75

Met	Leu	Thr	Ala	Ser	Leu	Leu	Arg	Ala	Val	Ile	Ala	Ser	Ile	Cys	Val
1				5					10					15	
Val	Ser	Ser	Met	Ala	Gln	Lys	Val	Thr	Gln	Ala	Gln	Thr	Glu	Ile	Ser
			20					25					30		
Val	Val	Glu	Lys	Glu	Asp	Val	Thr	Leu	Asp	Cys	Val	Tyr	Glu	Thr	Arg
			35					40					45		
Asp	Thr	Thr	Tyr	Tyr	Leu	Phe	Trp	Tyr	Lys	Gln	Pro	Pro	Ser	Gly	Glu
			50				55				60				
Leu	Val	Phe	Leu	Ile	Arg	Arg	Asn	Ser	Phe	Asp	Glu	Gln	Asn	Glu	Ile
65				70					75					80	
Ser	Gly	Arg	Tyr	Ser	Trp	Asn	Phe	Gln	Lys	Ser	Thr	Ser	Ser	Phe	Asn
			85					90						95	
Phe	Thr	Ile	Thr	Ala	Ser	Gln	Val	Val	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys
			100					105					110		
Ala	Leu	Ser	Glu	Leu	Ala	Ser	Gly	Gly	Ser	Tyr	Ile	Pro	Thr	Phe	Gly
			115					120					125		
Arg	Gly	Thr	Ser	Leu	Ile	Val	His	Pro	Tyr	Ile	Gln	Asn	Pro	Asp	Pro
			130				135				140				
Ala	Val	Tyr	Gln	Leu	Arg	Asp	Ser	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Ser	Val	Cys
145				150					155					160	
Leu	Phe	Thr	Asp	Phe	Asp	Ser	Gln	Thr	Asn	Val	Ser	Gln	Ser	Lys	Asp
			165					170					175		
Ser	Asp	Val	Tyr	Ile	Thr	Asp	Lys	Thr	Val	Leu	Asp	Met	Arg	Ser	Met
			180					185					190		
Asp	Phe	Lys	Ser	Asn	Ser	Ala	Val	Ala	Trp	Ser	Asn	Lys	Ser	Asp	Phe
			195				200					205			
Ala	Cys	Ala	Asn	Ala	Phe	Asn	Asn	Ser	Ile	Ile	Pro	Glu	Asp	Thr	Phe
			210				215					220			

Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser
 225 230 235 240
 Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly
 245 250 255
 Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr
 260 265 270
 Leu Arg Leu Trp Ser Ser
 275

<210> 76

<211> 948

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 8号β链

<400> 76

atgggccccg ggctcctctg ctgggcactg ctttgtctcc tgggagcagg cttagtggac 60
 gctggagtca cccaaagtcc cacacacctg atcaaaacga gaggacagca agtgactctg 120
 agatgctctc ctaagtctgg gcatgacact gtgtcctggg accaacaggc cctgggtcag 180
 gggccccagt ttatctttca gtattatgag gaggaagaga gacagagagg caacttcctt 240
 gatcgattct caggtcacca gttccctaac tatagctctg agctgaatgt gaacgccttg 300
 ttgctggggg actcggccct ctatctctgt gccagcagct ttaggctagc gggggggcct 360
 agcacagata cgcagtatct tggcccaggc acccggtga cagtgtctga ggacctgaaa 420
 aacgtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc 480
 caaaaggcca cactggtgtg cctggccaca ggcttctacc ccgaccacgt ggagctgagc 540
 tggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cagaccgcga gccctcaag 600
 gagcagcccc ccctcaatga ctccagatac tgcttagcga gccgcctgag ggtctcggcc 660
 accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg 720
 gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaacctgtca cccagatcgt cagcgccgag 780
 gcctggggta gagcagactg tggttcacc tccagatctt accagcaagg ggtcctgtct 840
 gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctggtcagt 900
 gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag 948

<210> 77

<211> 315

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 8号β链

<400> 77

Met Gly Pro Gly Leu Leu Cys Trp Ala Leu Leu Cys Leu Leu Gly Ala

1	5	10	15
Gly Leu Val Asp Ala Gly Val Thr Gln Ser Pro Thr His Leu Ile Lys			
20	25	30	
Thr Arg Gly Gln Gln Val Thr Leu Arg Cys Ser Pro Lys Ser Gly His			
35	40	45	
Asp Thr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Ala Leu Gly Gln Gly Pro Gln Phe			
50	55	60	
Ile Phe Gln Tyr Tyr Glu Glu Glu Glu Arg Gln Arg Gly Asn Phe Pro			
65	70	75	80
Asp Arg Phe Ser Gly His Gln Phe Pro Asn Tyr Ser Ser Glu Leu Asn			
85	90	95	
Val Asn Ala Leu Leu Leu Gly Asp Ser Ala Leu Tyr Leu Cys Ala Ser			
100	105	110	
Ser Phe Arg Leu Ala Gly Gly Pro Ser Thr Asp Thr Gln Tyr Phe Gly			
115	120	125	
Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Leu Glu Asp Leu Lys Asn Val Phe Pro			
130	135	140	
Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr			
145	150	155	160
Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala Thr Gly Phe Tyr Pro Asp His			
165	170	175	
Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val			
180	185	190	
Ser Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser			
195	200	205	
Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln			
210	215	220	
Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser			
225	230	235	240
Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile			
245	250	255	
Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Glu			
260	265	270	
Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu			
275	280	285	
Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu			
290	295	300	
Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Ser Arg Gly			
305	310	315	

<210> 78

<211> 1520

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 8号构建体;在 β 和 α 链恒定结构域(部分序列)中有半胱氨酸取代的 β 链-P2A- α 链

<400> 78

```
ctcaataaaa gagccccacaa cccctcactc ggcgcgccac catgggacct ggactgcttt 60
gttgggctct tctgtgtctg cttggagctg gactggttga tgctggagtt acacagagcc 120
ctacacacct gatcaagaca agaggacagc aggtgacct gagatgtagc cctaaatctg 180
gccacgatac cgtgagctgg tatcaacagg ctctgggaca aggacctcag ttcattcttc 240
agtactacga ggaggaggag agacagagag gcaatttccc tgacaggttt agcggacacc 300
agttcccca aa ttacagctct gagctgaacg tgaatgcctt tcttctggga gattctgccc 360
tgtatctgtg tgccagcagc tttagactgg ctggaggacc tagcaccgat acacagtatt 420
ttggacctgg caccaggctg acagtgttag aagacctgaa gaacgtgttc ccccagagg 480
tgcccggtgt cgagcctagc gaggccgaga tcagccacac ccagaaagcc accctcgtgt 540
gcctggccac cggcttttac cccgaccacg tggaactgtc ttggtgggtc aacggcaaag 600
aggtgcacag cggcgtctgc accgaccccc agcccctgaa agagcagccc gccctgaacg 660
acagccggta ctgtctgagc agcagactga gagtgtccgc caccttcttg cagaaccccc 720
ggaaccactt cagatgccag gtgcagttct acggcctgag cgagaacgac gagtggaccc 780
aggaccgggc caagcccgtg acccagatcg tgtctgctga ggccctggggc agagccgatt 840
gcggcttcac cagcgagagc taccagcagg gcgtgctgag cgccaccatc ctgtacgaga 900
tcctgctggg caaggccacc ctgtacgccg tgctgggtgtc cgccctggtg ctgatggcca 960
tggtcaagcg gaaggacagc cggggcggtt ccggagccac gaacttctct ctgttaaagc 1020
aagcaggaga cgtggaagaa aaccccggtc ccatgttgac cgcttctctc ttacgtgccg 1080
tgattgccag catctgtgtg gttagctcta tggcccagaa ggtgacacaa gctcagacag 1140
agatcagcgt ggtggagaaa gaggatgtga ccctggattg cgtgtacgag accagagata 1200
ccacctacta cctgttctgg tacaagcagc ctcttcttg agaactgggtg ttctgatca 1260
gacggaacag cttcgatgag cagaacgaga ttagcggcag gtatagctgg aacttccaga 1320
agagcaccag cagcttcaac ttcaccatca cagcctctca ggtggtggat tctgccgtgt 1380
acttttgtgc cctgtctgaa ctggcctctg gaggaagcta tatccctaca ttcggcagag 1440
gcacaagcct gattgtgcac cttacatcc agaacctga tcctgctgtg taccagctgc 1500
gggacagcaa gagcagcgac 1520
```

<210> 79

<211> 504

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 8号构建体

多肽;在β和α链恒定结构域(部分序列)中有半胱氨酸取代的β链-P2A-α链

<400> 79

Lys	Ser	Pro	Gln	Pro	Leu	Thr	Arg	Arg	Ala	Thr	Met	Gly	Pro	Gly	Leu
1				5					10					15	
Leu	Cys	Trp	Ala	Leu	Leu	Cys	Leu	Leu	Gly	Ala	Gly	Leu	Val	Asp	Ala
			20					25					30		
Gly	Val	Thr	Gln	Ser	Pro	Thr	His	Leu	Ile	Lys	Thr	Arg	Gly	Gln	Gln
			35				40					45			
Val	Thr	Leu	Arg	Cys	Ser	Pro	Lys	Ser	Gly	His	Asp	Thr	Val	Ser	Trp
			50				55				60				
Tyr	Gln	Gln	Ala	Leu	Gly	Gln	Gly	Pro	Gln	Phe	Ile	Phe	Gln	Tyr	Tyr
65				70					75					80	
Glu	Glu	Glu	Glu	Arg	Gln	Arg	Gly	Asn	Phe	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly
				85				90						95	
His	Gln	Phe	Pro	Asn	Tyr	Ser	Ser	Glu	Leu	Asn	Val	Asn	Ala	Leu	Leu
			100					105					110		
Leu	Gly	Asp	Ser	Ala	Leu	Tyr	Leu	Cys	Ala	Ser	Ser	Phe	Arg	Leu	Ala
			115				120					125			
Gly	Gly	Pro	Ser	Thr	Asp	Thr	Gln	Tyr	Phe	Gly	Pro	Gly	Thr	Arg	Leu
			130				135					140			
Thr	Val	Leu	Glu	Asp	Leu	Lys	Asn	Val	Phe	Pro	Pro	Glu	Val	Ala	Val
145				150					155					160	
Phe	Glu	Pro	Ser	Glu	Ala	Glu	Ile	Ser	His	Thr	Gln	Lys	Ala	Thr	Leu
				165					170					175	
Val	Cys	Leu	Ala	Thr	Gly	Phe	Tyr	Pro	Asp	His	Val	Glu	Leu	Ser	Trp
			180						185				190		
Trp	Val	Asn	Gly	Lys	Glu	Val	His	Ser	Gly	Val	Cys	Thr	Asp	Pro	Gln
			195				200					205			
Pro	Leu	Lys	Glu	Gln	Pro	Ala	Leu	Asn	Asp	Ser	Arg	Tyr	Cys	Leu	Ser
			210				215					220			
Ser	Arg	Leu	Arg	Val	Ser	Ala	Thr	Phe	Trp	Gln	Asn	Pro	Arg	Asn	His
225				230						235				240	
Phe	Arg	Cys	Gln	Val	Gln	Phe	Tyr	Gly	Leu	Ser	Glu	Asn	Asp	Glu	Trp
			245						250					255	
Thr	Gln	Asp	Arg	Ala	Lys	Pro	Val	Thr	Gln	Ile	Val	Ser	Ala	Glu	Ala
			260						265				270		
Trp	Gly	Arg	Ala	Asp	Cys	Gly	Phe	Thr	Ser	Glu	Ser	Tyr	Gln	Gln	Gly
			275				280						285		

Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr		
290	295	300
Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys		
305	310	315 320
Arg Lys Asp Ser Arg Gly Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu		
	325	330 335
Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Leu Thr Ala		
	340	345 350
Ser Leu Leu Arg Ala Val Ile Ala Ser Ile Cys Val Val Ser Ser Met		
	355	360 365
Ala Gln Lys Val Thr Gln Ala Gln Thr Glu Ile Ser Val Val Glu Lys		
	370	375 380
Glu Asp Val Thr Leu Asp Cys Val Tyr Glu Thr Arg Asp Thr Thr Tyr		
385	390	395 400
Tyr Leu Phe Trp Tyr Lys Gln Pro Pro Ser Gly Glu Leu Val Phe Leu		
	405	410 415
Ile Arg Arg Asn Ser Phe Asp Glu Gln Asn Glu Ile Ser Gly Arg Tyr		
	420	425 430
Ser Trp Asn Phe Gln Lys Ser Thr Ser Ser Phe Asn Phe Thr Ile Thr		
	435	440 445
Ala Ser Gln Val Val Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Leu Ser Glu		
	450	455 460
Leu Ala Ser Gly Gly Ser Tyr Ile Pro Thr Phe Gly Arg Gly Thr Ser		
465	470	475 480
Leu Ile Val His Pro Tyr Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln		
	485	490 495
Leu Arg Asp Ser Lys Ser Ser Asp		
	500	

<210> 80

<211> 1836

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 4号构建体; β 链-P2A- α 链

<400> 80

```

accatgggca ccaggtcct cttctgggtg gccttctgtc tcctgggggc agatcacaca 60
ggagctggag tctcccagtc cccagtaac aaggtcacag agaaggaaa ggatgtagag 120
ctcaggtgtg atccaatttc aggtcatact gccctttact ggtaccgaca gaggctgggg 180
cagggcctgg agtttttaat ttacttccaa ggcaacagtg caccagacaa atcagggtctg 240

```

```

cccagtgatc gcttctctgc agagaggact gggggatccg tctccactct gacgatccag 300
cgcacacagc aggaggactc ggccgtgtat ctctgtgccg gcagcttagt ggtcggctcc 360
tacgagcagt acttcggggc gggcaccagg ctacaggtca cagaggacct gaaaaacgtg 420
ttcccacccg aggtcgctgt gtttgagcca tcagaagcag agatctccca caccctaaaag 480
gccacactgg tgtgcctggc cacaggcttc taccgacg accgtggagct gagctggtgg 540
gtgaatggga aggaggtgca cagtggggtc agcacagacc cgcagcccct caaggagcag 600
cccgcctca atgactccag atactgcctg agcagccgcc tgagggtctc ggccaccttc 660
tggcagaacc cccgcaacca cttccgctgt caagtccagt tctacgggct ctcgagaat 720
gacgagtgga cccaggatag ggccaaacct gtcaccaga tcgtcagcgc cgaggcctgg 780
ggtagagcag actgtggctt cacctccgag tcttaccagc aagggtcct gtctgccacc 840
atcctctatg agatcttget agggaaggcc acctgtatg ccgtgctggt cagtgccttc 900
gtgctgatgg ccatggtcaa gagaaaggat tccagaggcg gttccggagc cacgaacttc 960
tctctgttaa agcaagcagg agacgtggaa gaaaaccccg gtcccatgga aactctcttg 1020
ggagtgtctt tgggtattct atggcttcaa ctggctaggg tgaacagtca acaggagaa 1080
gaggatcctc aggccttgag catccaggag ggtgaaaatg ccaccatgaa ctgcagttac 1140
aaaactagta taaacaattt acagtggatg agacaaaatt caggtagagg cttgtccac 1200
ctaattttta tacgttcaaa tgaaagagag aaacacagtg gaagattaag agtcacgctt 1260
gacacttcca agaaaagcag ttccttggtg atcacggctt cccgggcagc agacactgct 1320
tcttacttct gtgctacgga cgcgtgggaa tctaactttg gaaatgagaa attaaccttt 1380
gggactggaa caagactcac catcataccc aatatccaga accctgacct tgccgtgtac 1440
cagctgagag actctaaatc cagtgacaag tctgtctgcc tattaccga ttttgattct 1500
caaacaaatg tgtcacaag taaggattct gatgtgtata tcacagacaa aactgtgcta 1560
gacatgaggt ctatggactt caagagcaac agtgcgtggg cctggagcaa caaatctgac 1620
tttgcatgtg caaacgcctt caacaacagc attattccag aagacacctt cttccccagc 1680
ccgaaaagtt cctgtgatgt caagctggtc gagaaaagct ttgaaacaga tacgaacct 1740
aactttcaaa acctgtcagt gattgggttc cgaatcctcc tcctgaaagt ggccgggttt 1800
aatctgctca tgacgtgctg gctgtggtcc agctga 1836

```

<210> 81

<211> 611

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 4号构建体; β 链-P2A- α 链

<400> 81

Thr Met Gly Thr Arg Leu Leu Phe Trp Val Ala Phe Cys Leu Leu Gly

1

5

10

15

Ala Asp His Thr Gly Ala Gly Val Ser Gln Ser Pro Ser Asn Lys Val

20

25

30

Thr Glu Lys Gly Lys Asp Val Glu Leu Arg Cys Asp Pro Ile Ser Gly

	35					40					45					
His	Thr	Ala	Leu	Tyr	Trp	Tyr	Arg	Gln	Ser	Leu	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	
	50					55					60					
Phe	Leu	Ile	Tyr	Phe	Gln	Gly	Asn	Ser	Ala	Pro	Asp	Lys	Ser	Gly	Leu	
65					70					75					80	
Pro	Ser	Asp	Arg	Phe	Ser	Ala	Glu	Arg	Thr	Gly	Gly	Ser	Val	Ser	Thr	
				85					90					95		
Leu	Thr	Ile	Gln	Arg	Thr	Gln	Gln	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Leu	Cys	
			100					105					110			
Ala	Ser	Ser	Leu	Val	Val	Gly	Ser	Tyr	Glu	Gln	Tyr	Phe	Gly	Pro	Gly	
		115					120					125				
Thr	Arg	Leu	Thr	Val	Thr	Glu	Asp	Leu	Lys	Asn	Val	Phe	Pro	Pro	Glu	
	130					135					140					
Val	Ala	Val	Phe	Glu	Pro	Ser	Glu	Ala	Glu	Ile	Ser	His	Thr	Gln	Lys	
145					150					155					160	
Ala	Thr	Leu	Val	Cys	Leu	Ala	Thr	Gly	Phe	Tyr	Pro	Asp	His	Val	Glu	
				165					170					175		
Leu	Ser	Trp	Trp	Val	Asn	Gly	Lys	Glu	Val	His	Ser	Gly	Val	Ser	Thr	
		180					185					190				
Asp	Pro	Gln	Pro	Leu	Lys	Glu	Gln	Pro	Ala	Leu	Asn	Asp	Ser	Arg	Tyr	
	195					200					205					
Cys	Leu	Ser	Ser	Arg	Leu	Arg	Val	Ser	Ala	Thr	Phe	Trp	Gln	Asn	Pro	
	210					215					220					
Arg	Asn	His	Phe	Arg	Cys	Gln	Val	Gln	Phe	Tyr	Gly	Leu	Ser	Glu	Asn	
225					230					235					240	
Asp	Glu	Trp	Thr	Gln	Asp	Arg	Ala	Lys	Pro	Val	Thr	Gln	Ile	Val	Ser	
				245					250					255		
Ala	Glu	Ala	Trp	Gly	Arg	Ala	Asp	Cys	Gly	Phe	Thr	Ser	Glu	Ser	Tyr	
		260					265					270				
Gln	Gln	Gly	Val	Leu	Ser	Ala	Thr	Ile	Leu	Tyr	Glu	Ile	Leu	Leu	Gly	
		275					280					285				
Lys	Ala	Thr	Leu	Tyr	Ala	Val	Leu	Val	Ser	Ala	Leu	Val	Leu	Met	Ala	
	290					295					300					
Met	Val	Lys	Arg	Lys	Asp	Ser	Arg	Gly	Gly	Ser	Gly	Ala	Thr	Asn	Phe	
305					310					315					320	
Ser	Leu	Leu	Lys	Gln	Ala	Gly	Asp	Val	Glu	Glu	Asn	Pro	Gly	Pro	Met	
				325					330					335		
Glu	Thr	Leu	Leu	Gly	Val	Ser	Leu	Val	Ile	Leu	Trp	Leu	Gln	Leu	Ala	
		340					345					350				

Arg Val Asn Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile		
355	360	365
Gln Glu Gly Glu Asn Ala Thr Met Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ser Ile		
370	375	380
Asn Asn Leu Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His		
385	390	395
Leu Ile Leu Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu		
	405	410
Arg Val Thr Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Leu Ile Thr		
	420	425
Ala Ser Arg Ala Ala Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Ala		
	435	440
Trp Glu Ser Asn Phe Gly Asn Glu Lys Leu Thr Phe Gly Thr Gly Thr		
	450	455
Arg Leu Thr Ile Ile Pro Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr		
465	470	475
Gln Leu Arg Asp Ser Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr		
	485	490
Asp Phe Asp Ser Gln Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val		
	500	505
Tyr Ile Thr Asp Lys Thr Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys		
	515	520
Ser Asn Ser Ala Val Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala		
	530	535
Asn Ala Phe Asn Asn Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser		
545	550	555
Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr		
	565	570
Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile		
	580	585
Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu		
	595	600
Trp Ser Ser		
610		

<210> 82

<211> 1837

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 4号构建体;在 β 和 α 链恒定结构域中有半胱氨酸取代的 β 链-P2A- α 链

<400> 82

```

caccatgggc accagactgc tgttctgggt ggccttctgt ctgctgggcg ccgatcatac 60
aggcgctggc gtgtcccaga gccccagcaa caaagtgacc gagaaggga aggacgtgga 120
actgagatgc gaccccatca gcggccacac cgccctgtac tggtagagac agtctctggg 180
ccagggcctg gaattcctga tatattttca gggcaacagc gccctgaca agagcggcct 240
gccctccgat agattcagcg ccgagagaac aggcggcagc gtgtccaccc tgaccatcca 300
gagaacccag caggaagata gcgccgtgta cctgtgcgcc agcagcctgg tcgtgggcag 360
ctacgagcag tactttggcc caggcacccg gctgaccgtg accgaggatc tgaagaacgt 420
gttcccccca gaggtggccg tgttcgagcc ttctgaggcc gagatcagcc acaccagaa 480
agccaccctc gtgtgtctgg ccaccggctt ctaccccgac catgtggaac tgtcttggtg 540
ggcacaacgc aaagaggtgc actccggcgt gtgcaccgat cccagcctc tgaaagaaca 600
gcccggcctg aacgacagcc ggtactgcct gagcagcaga ctgagagtgt ccgccacctt 660
ctggcagaac ccccgaacc acttcagatg ccagggtcag ttctacggcc tgagcgagaa 720
cgacgagtgg acccaggaca gagccaagcc cgtgaccag atcgtgtctg ccgaagcctg 780
gggcagagcc gattgcggct ttaccagcga gagctaccag cagggcgtgc tgagcgccac 840
catcctgtac gagattctgc tgggaaagc cactgtgtac gccgtgctgg tgtctgcctt 900
ggtgtctgat gccatggtca agcggaagga cagcagaggc ggttccggag ccacgaactt 960
ctctctgtta aagcaagcag gagacgtgga agaaaacccc ggtcccatgg aaacctgct 1020
gggagtgtcc ctctgtatcc tgtggctgca gctggccaga gtgaacagcc agcaggggga 1080
agaggatcca caggccctga gcattcagga aggcgagaac gccacatga actgcagcta 1140
caagaccagc atcaacaacc tgcagtggta caggcagaac tccggcagag gcctggtgca 1200
cctgatcctg atcagaagca acgagagaga gaagcacagc ggacggctga gactgaccct 1260
ggacacctcc aagaagtcca gctccctgct gatcacggcc agcagagccg ccgataccgc 1320
cagctacttc tgtgccacag acgcctggga gagcaacttc ggcaacgaga agctgacctt 1380
cggcaccggc acaagactga ccatcatccc caacatccag aaccccgacc ccgccgtgta 1440
tcagctgaga gacagcaaga gcagcgacaa gtccgtgtgc ctgttcaccg acttcgacag 1500
ccagaccaat gtgtcccagt ccaaggacag cgacgtgtac atcacgata agtgcgtgct 1560
ggacatgcgc agcatggact tcaagagcaa ctccgccgtg gcctggtcca acaagagcga 1620
tttcgcctgc gccaacgcct tcaacaacag cattatcccc gaggacacat tcttcccaag 1680
ccccgagagc agctgcgacg tgaagctggg ggaaaagagc ttcgagacag acaccaacct 1740
gaacttccag aacctgagcg tgatcggtt ccggatcctg ctgctgaagg tggccggctt 1800
caacctgctg atgaccctga gactgtggtc cagctga 1837

```

<210> 83

<211> 611

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 4号构建体;在 β 和 α 链恒定结构域中有半胱氨酸取代的 β 链-P2A- α 链

<400> 83

Thr	Met	Gly	Thr	Arg	Leu	Leu	Phe	Trp	Val	Ala	Phe	Cys	Leu	Leu	Gly
1				5					10					15	
Ala	Asp	His	Thr	Gly	Ala	Gly	Val	Ser	Gln	Ser	Pro	Ser	Asn	Lys	Val
			20					25					30		
Thr	Glu	Lys	Gly	Lys	Asp	Val	Glu	Leu	Arg	Cys	Asp	Pro	Ile	Ser	Gly
		35					40					45			
His	Thr	Ala	Leu	Tyr	Trp	Tyr	Arg	Gln	Ser	Leu	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu
	50					55				60					
Phe	Leu	Ile	Tyr	Phe	Gln	Gly	Asn	Ser	Ala	Pro	Asp	Lys	Ser	Gly	Leu
65					70				75					80	
Pro	Ser	Asp	Arg	Phe	Ser	Ala	Glu	Arg	Thr	Gly	Gly	Ser	Val	Ser	Thr
			85					90					95		
Leu	Thr	Ile	Gln	Arg	Thr	Gln	Gln	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Leu	Cys
			100					105					110		
Ala	Ser	Ser	Leu	Val	Val	Gly	Ser	Tyr	Glu	Gln	Tyr	Phe	Gly	Pro	Gly
		115					120					125			
Thr	Arg	Leu	Thr	Val	Thr	Glu	Asp	Leu	Lys	Asn	Val	Phe	Pro	Pro	Glu
	130					135					140				
Val	Ala	Val	Phe	Glu	Pro	Ser	Glu	Ala	Glu	Ile	Ser	His	Thr	Gln	Lys
145					150				155					160	
Ala	Thr	Leu	Val	Cys	Leu	Ala	Thr	Gly	Phe	Tyr	Pro	Asp	His	Val	Glu
			165					170					175		
Leu	Ser	Trp	Trp	Val	Asn	Gly	Lys	Glu	Val	His	Ser	Gly	Val	Cys	Thr
		180					185						190		
Asp	Pro	Gln	Pro	Leu	Lys	Glu	Gln	Pro	Ala	Leu	Asn	Asp	Ser	Arg	Tyr
	195					200						205			
Cys	Leu	Ser	Ser	Arg	Leu	Arg	Val	Ser	Ala	Thr	Phe	Trp	Gln	Asn	Pro
	210					215					220				
Arg	Asn	His	Phe	Arg	Cys	Gln	Val	Gln	Phe	Tyr	Gly	Leu	Ser	Glu	Asn
225				230					235					240	
Asp	Glu	Trp	Thr	Gln	Asp	Arg	Ala	Lys	Pro	Val	Thr	Gln	Ile	Val	Ser
			245					250					255		
Ala	Glu	Ala	Trp	Gly	Arg	Ala	Asp	Cys	Gly	Phe	Thr	Ser	Glu	Ser	Tyr
		260					265						270		
Gln	Gln	Gly	Val	Leu	Ser	Ala	Thr	Ile	Leu	Tyr	Glu	Ile	Leu	Leu	Gly
	275						280						285		

Lys	Ala	Thr	Leu	Tyr	Ala	Val	Leu	Val	Ser	Ala	Leu	Val	Leu	Met	Ala
290							295				300				
Met	Val	Lys	Arg	Lys	Asp	Ser	Arg	Gly	Gly	Ser	Gly	Ala	Thr	Asn	Phe
305					310					315					320
Ser	Leu	Leu	Lys	Gln	Ala	Gly	Asp	Val	Glu	Glu	Asn	Pro	Gly	Pro	Met
				325					330					335	
Glu	Thr	Leu	Leu	Gly	Val	Ser	Leu	Val	Ile	Leu	Trp	Leu	Gln	Leu	Ala
				340					345					350	
Arg	Val	Asn	Ser	Gln	Gln	Gly	Glu	Glu	Asp	Pro	Gln	Ala	Leu	Ser	Ile
		355					360					365			
Gln	Glu	Gly	Glu	Asn	Ala	Thr	Met	Asn	Cys	Ser	Tyr	Lys	Thr	Ser	Ile
		370					375					380			
Asn	Asn	Leu	Gln	Trp	Tyr	Arg	Gln	Asn	Ser	Gly	Arg	Gly	Leu	Val	His
385					390					395					400
Leu	Ile	Leu	Ile	Arg	Ser	Asn	Glu	Arg	Glu	Lys	His	Ser	Gly	Arg	Leu
				405					410					415	
Arg	Val	Thr	Leu	Asp	Thr	Ser	Lys	Lys	Ser	Ser	Ser	Leu	Leu	Ile	Thr
			420						425					430	
Ala	Ser	Arg	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Ser	Tyr	Phe	Cys	Ala	Thr	Asp	Ala
		435					440					445			
Trp	Glu	Ser	Asn	Phe	Gly	Asn	Glu	Lys	Leu	Thr	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr
		450					455					460			
Arg	Leu	Thr	Ile	Ile	Pro	Asn	Ile	Gln	Asn	Pro	Asp	Pro	Ala	Val	Tyr
465					470					475					480
Gln	Leu	Arg	Asp	Ser	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Ser	Val	Cys	Leu	Phe	Thr
				485					490					495	
Asp	Phe	Asp	Ser	Gln	Thr	Asn	Val	Ser	Gln	Ser	Lys	Asp	Ser	Asp	Val
			500						505				510		
Tyr	Ile	Thr	Asp	Lys	Cys	Val	Leu	Asp	Met	Arg	Ser	Met	Asp	Phe	Lys
		515					520					525			
Ser	Asn	Ser	Ala	Val	Ala	Trp	Ser	Asn	Lys	Ser	Asp	Phe	Ala	Cys	Ala
		530					535					540			
Asn	Ala	Phe	Asn	Asn	Ser	Ile	Ile	Pro	Glu	Asp	Thr	Phe	Phe	Pro	Ser
545					550					555					560
Pro	Glu	Ser	Ser	Cys	Asp	Val	Lys	Leu	Val	Glu	Lys	Ser	Phe	Glu	Thr
				565					570					575	
Asp	Thr	Asn	Leu	Asn	Phe	Gln	Asn	Leu	Ser	Val	Ile	Gly	Phe	Arg	Ile
			580					585						590	
Leu	Leu	Leu	Lys	Val	Ala	Gly	Phe	Asn	Leu	Leu	Met	Thr	Leu	Arg	Leu

115

<400> 85

Arg	Lys	Val	Cys	Asn	Gly	Ile	Gly	Ile	Gly	Glu	Phe	Lys	Asp	Ser	Leu
1				5					10					15	
Ser	Ile	Asn	Ala	Thr	Asn	Ile	Lys	His	Phe	Lys	Asn	Cys	Thr	Ser	Ile
			20					25					30		
Ser	Gly	Asp	Leu	His	Ile	Leu	Pro	Val	Ala	Phe	Arg	Gly	Asp	Ser	Phe
		35					40					45			
Thr	His	Thr	Pro	Pro	Leu	Asp	Pro	Gln	Glu	Leu	Asp	Ile	Leu	Lys	Thr
	50					55					60				
Val	Lys	Glu	Ile	Thr	Gly	Phe	Leu	Leu	Ile	Gln	Ala	Trp	Pro	Glu	Asn
65					70				75					80	
Arg	Thr	Asp	Leu	His	Ala	Phe	Glu	Asn	Leu	Glu	Ile	Ile	Arg	Gly	Arg
				85				90					95		
Thr	Lys	Gln	His	Gly	Gln	Phe	Ser	Leu	Ala	Val	Val	Ser	Leu	Asn	Ile
		100						105					110		
Thr	Ser	Leu	Gly	Leu	Arg	Ser	Leu	Lys	Glu	Ile	Ser	Asp	Gly	Asp	Val
		115					120					125			
Ile	Ile	Ser	Gly	Asn	Lys	Asn	Leu	Cys	Tyr	Ala	Asn	Thr	Ile	Asn	Trp
		130				135					140				
Lys	Lys	Leu	Phe	Gly	Thr	Ser	Gly	Gln	Lys	Thr	Lys	Ile	Ile	Ser	Asn
145					150				155					160	
Arg	Gly	Glu	Asn	Ser	Cys	Lys	Ala	Thr	Gly	Gln	Val	Cys	His	Ala	Leu
				165					170				175		
Cys	Ser	Pro	Glu	Gly	Cys	Trp	Gly	Pro	Glu	Pro	Arg	Asp	Cys	Val	Ser
		180					185					190			
Cys	Arg	Asn	Val	Ser	Arg	Gly	Arg	Glu	Cys	Val	Asp	Lys	Cys	Asn	Leu
		195					200					205			
Leu	Glu	Gly	Glu	Pro	Arg	Glu	Phe	Val	Glu	Asn	Ser	Glu	Cys	Ile	Gln
	210					215					220				
Cys	His	Pro	Glu	Cys	Leu	Pro	Gln	Ala	Met	Asn	Ile	Thr	Cys	Thr	Gly
225					230					235				240	
Arg	Gly	Pro	Asp	Asn	Cys	Ile	Gln	Cys	Ala	His	Tyr	Ile	Asp	Gly	Pro
				245					250				255		
His	Cys	Val	Lys	Thr	Cys	Pro	Ala	Gly	Val	Met	Gly	Glu	Asn	Asn	Thr
		260						265					270		
Leu	Val	Trp	Lys	Tyr	Ala	Asp	Ala	Gly	His	Val	Cys	His	Leu	Cys	His
		275					280					285			
Pro	Asn	Cys	Thr	Tyr	Gly	Cys	Thr	Gly	Pro	Gly	Leu	Glu	Gly	Cys	Pro
	290					295					300				

210	215	220
Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys Gln		
225	230	235
Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp Arg		240
	245	250
Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg Ala		255
	260	265
Asp Cys Gly Phe Thr Ser Glu Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala		270
	275	280
Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val		285
290	295	300
Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Ser		
305	310	315
Arg Gly Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly		320
	325	330
Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Glu Lys Asn Pro Leu Ala Ala		335
	340	345
Pro Leu Leu Ile Leu Trp Phe His Leu Asp Cys Val Ser Ser Ile Leu		350
	355	360
Asn Val Glu Gln Ser Pro Gln Ser Leu His Val Gln Glu Gly Asp Ser		365
370	375	380
Thr Asn Phe Thr Cys Ser Phe Pro Ser Ser Asn Phe Tyr Ala Leu His		
385	390	395
Trp Tyr Arg Trp Glu Thr Ala Lys Ser Pro Glu Ala Leu Phe Val Met		400
	405	410
Thr Leu Asn Gly Asp Glu Lys Lys Lys Gly Arg Ile Ser Ala Thr Leu		415
	420	425
Asn Thr Lys Glu Gly Tyr Ser Tyr Leu Tyr Ile Lys Gly Ser Gln Pro		430
	435	440
Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Leu Gly Pro Tyr Asn Asp Tyr		445
	450	455
Lys Leu Ser Phe Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Arg Ala Asn Ile		460
465	470	475
Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys Ser Ser		480
	485	490
		495

Asp

<210> 87

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 5号V α CDR1

<400> 87

Lys Ala Leu Tyr Ser

1 5

<210> 88

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 5号V α CDR2

<400> 88

Leu Leu Lys Gly Gly Glu Gln

1 5

<210> 89

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 5号V α CDR3

<400> 89

Gly Thr Glu Glu Ala Asn Asp Tyr Lys Leu Ser

1 5 10

<210> 90

<211> 109

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 5号V α 可变区

<400> 90

Gln Gln Pro Val Gln Ser Pro Gln Ala Val Ile Leu Arg Glu Gly Glu

1 5 10 15

Asp Ala Val Ile Asn Cys Ser Ser Ser Lys Ala Leu Tyr Ser Val His

20 25 30

Trp Tyr Arg Gln Lys His Gly Glu Ala Pro Val Phe Leu Met Ile Leu

35 40 45

Leu Lys Gly Gly Glu Gln Lys Gly His Glu Lys Ile Ser Ala Ser Phe

50 55 60

〈223〉 TCR 5号V β 可变区

<400> 94

```

Asp Ser Gly Val Thr Gln Thr Pro Lys His Leu Ile Thr Ala Thr Gly
1           5           10           15
Gln Arg Val Thr Leu Arg Cys Ser Pro Arg Ser Gly Asp Leu Ser Val
           20           25           30
Tyr Trp Tyr Gln Gln Ser Leu Asp Gln Gly Leu Gln Phe Leu Ile Gln
           35           40           45
Tyr Tyr Asn Gly Glu Glu Arg Ala Lys Gly Asn Ile Leu Glu Arg Phe
           50           55           60
Ser Ala Gln Gln Phe Pro Asp Leu His Ser Glu Leu Asn Leu Ser Ser
65           70           75           80
Leu Glu Leu Gly Asp Ser Ala Leu Tyr Phe Cys Ala Ser Ser Val Gly
           85           90           95
Gln Gly Ser Ser Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr
           100          105          110

```

Val Thr

<210> 95

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 9号和TCR 11号V α CDR1

<400> 95

Val Ser Pro Phe Ser Asn

1 5

<210> 96

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 9号和TCR 11号V α CDR2

<400> 96

Thr Phe Ser Glu Asn Thr

1 5

<210> 97

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 9号和TCR 11号V α CDR3

<400> 97

Val Val Trp Gly Gly Asp Thr Asp Lys Leu Ile

1 5 10

<210> 98

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 9号和TCR 11号V α 可变

区

<400> 98

Lys Asn Gln Val Glu Gln Ser Pro Gln Ser Leu Ile Ile Leu Glu Gly

1 5 10 15

Lys Asn Cys Thr Leu Gln Cys Asn Tyr Thr Val Ser Pro Phe Ser Asn

20 25 30

Leu Arg Trp Tyr Lys Gln Asp Thr Gly Arg Gly Pro Val Ser Leu Thr

35 40 45

Ile Met Thr Phe Ser Glu Asn Thr Lys Ser Asn Gly Arg Tyr Thr Ala

50 55 60

Thr Leu Asp Ala Asp Thr Lys Gln Ser Ser Leu His Ile Thr Ala Ser

65 70 75 80

Gln Leu Ser Asp Ser Ala Ser Tyr Ile Cys Val Val Trp Gly Gly Asp

85 90 95

Thr Asp Lys Leu Ile Phe Gly Thr Gly Thr Arg Leu Gln Val Phe

100 105 110

<210> 99

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 11号V β CDR1

<400> 99

Trp Ser His Ser Tyr

1 5

<210> 100

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 11号V β CDR2

<400> 100

Ser Ala Ala Ala Asp Ile

1 5

<210> 101

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 11号V β CDR3

<400> 101

Ala Ser Ser Asp Gly Gly Gly Gln Tyr

1 5

<210> 102

<211> 109

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 11号V β 可变区

<400> 102

Asp Ala Gly Ile Thr Gln Ser Pro Arg Tyr Lys Ile Thr Glu Thr Gly

1 5 10 15

Arg Gln Val Thr Leu Met Cys His Gln Thr Trp Ser His Ser Tyr Met

20 25 30

Phe Trp Tyr Arg Gln Asp Leu Gly His Gly Leu Arg Leu Ile Tyr Tyr

35 40 45

Ser Ala Ala Ala Asp Ile Thr Asp Lys Gly Glu Val Pro Asp Gly Tyr

50 55 60

Val Val Ser Arg Ser Lys Thr Glu Asn Phe Pro Leu Thr Leu Glu Ser

65 70 75 80

Ala Thr Arg Ser Gln Thr Ser Val Tyr Phe Cys Ala Ser Ser Asp Gly

85 90 95

Gly Gly Gln Tyr Phe Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr

100 105

<210> 103

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 6号和TCR 7号V α CDR1

<400> 103

Ser Ser Asn Phe Tyr Ala

1 5

<210> 104

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 6号V α CDR2

<400> 104

Met Thr Leu Asn Gly Asp Glu

1 5

<210> 105

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 6号V α CDR3

<400> 105

Cys Ala Leu Gly Pro Tyr Asn Asp Tyr Lys Leu Ser Phe

1 5 10

<210> 106

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 6号V α 可变区

<400> 106

Ile Leu Asn Val Glu Gln Ser Pro Gln Ser Leu His Val Gln Glu Gly

1 5 10 15

Asp Ser Thr Asn Phe Thr Cys Ser Phe Pro Ser Ser Asn Phe Tyr Ala

20 25 30

Leu His Trp Tyr Arg Trp Glu Thr Ala Lys Ser Pro Glu Ala Leu Phe

35 40 45

Val Met Thr Leu Asn Gly Asp Glu Lys Lys Lys Gly Arg Ile Ser Ala

50 55 60

Thr Leu Asn Thr Lys Glu Gly Tyr Ser Tyr Leu Tyr Ile Lys Gly Ser

65	70	75	80
Gln Pro Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Leu Gly Pro Tyr Asn			
	85	90	95
Asp Tyr Lys Leu Ser Phe Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Arg Ala			
	100	105	110

<210> 107

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 6号V β CDR1

<400> 107

Met Asn His Asn Tyr

1 5

<210> 108

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 6号V β CDR2

<400> 108

Ser Val Gly Ala Gly Ile

1 5

<210> 109

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 6号V β CDR3

<400> 109

Ala Ser Ser Asp Arg Ser Asn Thr Gly Glu Leu Phe

1 5 10

<210> 110

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 6号V β 可变区

<400> 110

Asn	Ala	Gly	Val	Thr	Gln	Thr	Pro	Lys	Phe	Arg	Ile	Leu	Lys	Ile	Gly
1				5				10					15		
Gln	Ser	Met	Thr	Leu	Gln	Cys	Thr	Gln	Asp	Met	Asn	His	Asn	Tyr	Met
			20					25					30		
Tyr	Trp	Tyr	Arg	Gln	Asp	Pro	Gly	Met	Gly	Leu	Lys	Leu	Ile	Tyr	Tyr
			35				40						45		
Ser	Val	Gly	Ala	Gly	Ile	Thr	Asp	Lys	Gly	Glu	Val	Pro	Asn	Gly	Tyr
			50				55					60			
Asn	Val	Ser	Arg	Ser	Thr	Thr	Glu	Asp	Phe	Pro	Leu	Arg	Leu	Glu	Leu
65					70				75					80	
Ala	Ala	Pro	Ser	Gln	Thr	Ser	Val	Tyr	Phe	Cys	Ala	Ser	Ser	Asp	Arg
				85					90					95	
Ser	Asn	Thr	Gly	Glu	Leu	Phe	Phe	Gly	Glu	Gly	Ser	Arg	Leu	Thr	Val
			100					105					110		

Leu

<210> 111

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 1号和TCR 2号V α CDR1

<400> 111

Asp Ser Ala Ile Tyr Asn

1 5

<210> 112

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 1号和TCR 2号V α CDR2

<400> 112

Ile Gln Ser Ser Gln Arg Glu

1 5

<210> 113

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 1号V α CDR3

<400> 113

Ala Val Glu Gly Asp Ser Ser Tyr Lys Leu Ile

1 5 10

<210> 114

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 1号V α 可变区

<400> 114

Lys Gln Glu Val Thr Gln Ile Pro Ala Ala Leu Ser Val Pro Glu Gly

1 5 10 15

Glu Asn Leu Val Leu Asn Cys Ser Phe Thr Asp Ser Ala Ile Tyr Asn

20 25 30

Leu Gln Trp Phe Arg Gln Asp Pro Gly Lys Gly Leu Thr Ser Leu Leu

35 40 45

Leu Ile Gln Ser Ser Gln Arg Glu Gln Thr Ser Gly Arg Leu Asn Ala

50 55 60

Ser Leu Asp Lys Ser Ser Gly Arg Ser Thr Leu Tyr Ile Ala Ala Ser

65 70 75 80

Gln Pro Gly Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Val Glu Gly Asp Ser

85 90 95

Ser Tyr Lys Leu Ile Phe Gly Ser Gly Thr Arg Leu Leu Val Arg Pro

100 105 110

<210> 115

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 1号和TCR 8号V β CDR1

<400> 115

Ser Gly His Asp Thr

1 5

<210> 116

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 1号和TCR 8号V β CDR2

<400> 116

Tyr Tyr Glu Glu Glu Glu

1 5

<210> 117

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 1号V β CDR3

<400> 117

Ala Ser Ser Phe Phe Ser Gln Glu Thr Gln Tyr

1 5 10

<210> 118

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 1号V β 可变区

<400> 118

Asp Ala Gly Val Thr Gln Ser Pro Thr His Leu Ile Lys Thr Arg Gly

1 5 10 15

Gln Gln Val Thr Leu Arg Cys Ser Pro Lys Ser Gly His Asp Thr Val

20 25 30

Ser Trp Tyr Gln Gln Ala Leu Gly Gln Gly Pro Gln Phe Ile Phe Gln

35 40 45

Tyr Tyr Glu Glu Glu Glu Arg Gln Arg Gly Asn Phe Pro Asp Arg Phe

50 55 60

Ser Gly His Gln Phe Pro Asn Tyr Ser Ser Glu Leu Asn Val Asn Ala

65 70 75 80

Leu Leu Leu Gly Asp Ser Ala Leu Tyr Leu Cys Ala Ser Ser Phe Phe

85 90 95

Ser Gln Glu Thr Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Leu Val Leu

100 105 110

<210> 119

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 2号V α CDR3

<400> 119

Ala Val Ile Gly Glu Gln Asn Phe Val

1 5

<210> 120

<211> 110

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 2号Va可变区

<400> 120

Lys Gln Glu Val Thr Gln Ile Pro Ala Ala Leu Ser Val Pro Glu Gly

1 5 10 15

Glu Asn Leu Val Leu Asn Cys Ser Phe Thr Asp Ser Ala Ile Tyr Asn

20 25 30

Leu Gln Trp Phe Arg Gln Asp Pro Gly Lys Gly Leu Thr Ser Leu Leu

35 40 45

Leu Ile Gln Ser Ser Gln Arg Glu Gln Thr Ser Gly Arg Leu Asn Ala

50 55 60

Ser Leu Asp Lys Ser Ser Gly Arg Ser Thr Leu Tyr Ile Ala Ala Ser

65 70 75 80

Gln Pro Gly Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Val Ile Gly Glu Gln

85 90 95

Asn Phe Val Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Ser Val Leu Pro

100 105 110

<210> 121

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 2号, TCR 3号,和TCR 10号

Vβ CDR1

<400> 121

Ser Gly His Thr Ala

1 5

<210> 122

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 2号, TCR 3号,和TCR 10号

Vβ CDR2

<400> 122

Phe Gln Gly Thr Gly Ala

1 5

<210> 123

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 2号Vβ CDR3

<400> 123

Ala Ser Ser Leu Ser Gly Leu Gly Ser Gly Ala Asn Val Leu Thr

1 5 10 15

<210> 124

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 2号Vβ可变区

<400> 124

Gly Ala Gly Val Ser Gln Thr Pro Ser Asn Lys Val Thr Glu Lys Gly

1 5 10 15

Lys Tyr Val Glu Leu Arg Cys Asp Pro Ile Ser Gly His Thr Ala Leu

20 25 30

Tyr Trp Tyr Arg Gln Ser Leu Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Ile Tyr

35 40 45

Phe Gln Gly Thr Gly Ala Ala Asp Asp Ser Gly Leu Pro Asn Asp Arg

50 55 60

Phe Phe Ala Val Arg Pro Glu Gly Ser Val Ser Thr Leu Lys Ile Gln

65 70 75 80

Arg Thr Glu Arg Gly Asp Ser Ala Val Tyr Leu Cys Ala Ser Ser Leu

85 90 95

Ser Gly Leu Gly Ser Gly Ala Asn Val Leu Thr Phe Gly Ala Gly Ser

100 105 110

Arg Leu Thr Val Leu

115

<210> 125

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 3号V α CDR1

<400> 125

Asp Arg Gly Ser Gln Ser

1 5

<210> 126

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 3号V α CDR2

<400> 126

Ile Tyr Ser Asn Gly Asp

1 5

<210> 127

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 3号V α CDR3

<400> 127

Ala Val Asp Ser Gly Gly Tyr Gln Lys Val Thr

1 5 10

<210> 128

<211> 110

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 3号V α 可变区

<400> 128

Gln Lys Glu Val Glu Gln Asn Ser Gly Pro Leu Ser Val Pro Glu Gly

1 5 10 15

Ala Ile Ala Ser Leu Asn Cys Thr Tyr Ser Asp Arg Gly Ser Gln Ser

20 25 30

Phe Phe Trp Tyr Arg Gln Tyr Ser Gly Lys Ser Pro Glu Leu Ile Met

35 40 45

Ser Ile Tyr Ser Asn Gly Asp Lys Glu Asp Gly Arg Phe Thr Ala Gln

50	55	60
Leu Asn Lys Ala Ser Gln Tyr Val Ser Leu Leu Ile Arg Asp Ser Gln		
65	70	75
Pro Ser Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Val Asp Ser Gly Gly Tyr		80
	85	90
Gln Lys Val Thr Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Gln Val Ile		95
100	105	110

<210> 129

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 3号V β CDR3

<400> 129

Ala Ser Ser Leu Asn Met Asn Thr Glu Ala Phe
1 5 10

<210> 130

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 3号V β 可变区

<400> 130

Gly Ala Gly Val Ser Gln Thr Pro Ser Asn Lys Val Thr Glu Lys Gly
1 5 10 15
Lys Tyr Val Glu Leu Arg Cys Asp Pro Ile Ser Gly His Thr Ala Leu
20 25 30
Tyr Trp Tyr Arg Gln Ser Leu Gly Gln Gly Pro Glu Phe Leu Ile Tyr
35 40 45
Phe Gln Gly Thr Gly Ala Ala Asp Asp Ser Gly Leu Pro Asn Asp Arg
50 55 60
Phe Phe Ala Val Arg Pro Glu Gly Ser Val Ser Thr Leu Lys Ile Gln
65 70 75 80
Arg Thr Glu Arg Gly Asp Ser Ala Val Tyr Leu Cys Ala Ser Ser Leu
85 90 95
Asn Met Asn Thr Glu Ala Phe Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Thr Val
100 105 110

Val

<210> 131

<211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> TCR 10号和TCR 4号V α CDR1
 <400> 131
 Thr Ser Ile Asn Asn
 1 5
 <210> 132
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> TCR 10号和TCR 4号V α CDR2
 <400> 132
 Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu
 1 5
 <210> 133
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> TCR 10号V α CDR3
 <400> 133
 Ala Thr Asp Glu Ser Ser Asn Tyr Lys Leu Thr
 1 5 10
 <210> 134
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> TCR 10号V α 可变区
 <400> 134
 Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly
 1 5 10 15
 Glu Asn Ala Thr Met Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ser Ile Asn Asn Leu
 20 25 30
 Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu
 35 40 45

Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr
 50 55 60
 Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Leu Ile Thr Ala Ser Arg
 65 70 75 80
 Ala Ala Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Glu Ser Ser Asn
 85 90 95
 Tyr Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Thr Leu Leu Thr Val Asn
 100 105 110

<210> 135

<211> 178

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCRβ2恒定结构域,半胱氨酸修饰的

<400> 135

Asp Leu Lys Asn Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro Ser
 1 5 10 15
 Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala
 20 25 30
 Thr Gly Phe Tyr Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn Gly
 35 40 45
 Lys Glu Val His Ser Gly Val Cys Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys Glu
 50 55 60
 Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu Arg
 65 70 75 80
 Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys Gln
 85 90 95
 Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp Arg
 100 105 110
 Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg Ala
 115 120 125
 Asp Cys Gly Phe Thr Ser Glu Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala
 130 135 140
 Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val
 145 150 155 160
 Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Ser
 165 170 175

Arg Gly

<210> 136

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 10号V β 可变区

<400> 136

Gly	Ala	Gly	Val	Ser	Gln	Thr	Pro	Ser	Asn	Lys	Val	Thr	Glu	Lys	Gly
1				5					10					15	
Lys	Tyr	Val	Glu	Leu	Arg	Cys	Asp	Pro	Ile	Ser	Gly	His	Thr	Ala	Leu
			20					25					30		
Tyr	Trp	Tyr	Arg	Gln	Ser	Leu	Gly	Gln	Gly	Pro	Glu	Phe	Leu	Ile	Tyr
			35					40					45		
Phe	Gln	Gly	Thr	Gly	Ala	Ala	Asp	Asp	Ser	Gly	Leu	Pro	Asn	Asp	Arg
			50					55					60		
Phe	Phe	Ala	Val	Arg	Pro	Glu	Gly	Ser	Val	Ser	Thr	Leu	Lys	Ile	Gln
65					70					75					80
Arg	Thr	Glu	Arg	Gly	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Leu	Cys	Ala	Ser	Ser	Leu
					85					90					95
Asn	Met	Asn	Thr	Glu	Ala	Phe	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Arg	Leu	Thr	Val
					100					105					110

Val

<210> 137

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 4号V α CDR3

<400> 137

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

<210> 138

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 4号V α 可变区

<400> 138

Ser	Gln	Gln	Gly	Glu	Glu	Asp	Pro	Gln	Ala	Leu	Ser	Ile	Gln	Glu	Gly
1				5					10					15	

Glu Asn Ala Thr Met Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ser Ile Asn Asn Leu
 20 25 30
 Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu
 35 40 45
 Ile Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr
 50 55 60
 Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Leu Ile Thr Ala Ser Arg
 65 70 75 80
 Ala Ala Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Ala Trp Glu Ser
 85 90 95
 Asn Phe Gly Asn Glu Lys Leu Thr Phe Gly Thr Gly Thr Arg Leu Thr
 100 105 110

Ile Ile

<210> 139

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 4号V β CDR2

<400> 139

Phe Gln Gly Asn Ser Ala

1 5

<210> 140

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 4号V β CDR3

<400> 140

Ala Ser Ser Leu Val Val Gly Ser Tyr Glu Gln Tyr

1 5 10

<210> 141

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 4号V β 可变区

<400> 141

Gly Ala Gly Val Ser Gln Ser Pro Ser Asn Lys Val Thr Glu Lys Gly

1	5	10	15
Lys Asp Val Glu Leu Arg Cys Asp Pro Ile Ser Gly His Thr Ala Leu			
20	25	30	
Tyr Trp Tyr Arg Gln Ser Leu Gly Gln Gly Leu Glu Phe Leu Ile Tyr			
35	40	45	
Phe Gln Gly Asn Ser Ala Pro Asp Lys Ser Gly Leu Pro Ser Asp Arg			
50	55	60	
Phe Ser Ala Glu Arg Thr Gly Gly Ser Val Ser Thr Leu Thr Ile Gln			
65	70	75	80
Arg Thr Gln Gln Glu Asp Ser Ala Val Tyr Leu Cys Ala Ser Ser Leu			
85	90	95	
Val Val Gly Ser Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr			
100	105	110	

Val Thr

<210> 142

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 7号V α CDR2

<400> 142

Met Thr Leu Asn Gly Asp Glu

1	5
---	---

<210> 143

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 7号V α CDR3

<400> 143

Ala Tyr Leu Gly Ala Gly Asn Gln Phe Tyr

1	5	10
---	---	----

<210> 144

<211> 110

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 7号V α 可变区

<400> 144

Ile	Leu	Asn	Val	Glu	Gln	Ser	Pro	Gln	Ser	Leu	His	Val	Gln	Glu	Gly
1				5					10					15	
Asp	Ser	Thr	Asn	Phe	Thr	Cys	Ser	Phe	Pro	Ser	Ser	Asn	Phe	Tyr	Ala
			20					25					30		
Leu	His	Trp	Tyr	Arg	Trp	Glu	Thr	Ala	Lys	Ser	Pro	Glu	Ala	Leu	Phe
		35					40					45			
Val	Met	Thr	Leu	Asn	Gly	Asp	Glu	Lys	Lys	Lys	Gly	Arg	Ile	Ser	Ala
	50					55					60				
Thr	Leu	Asn	Thr	Lys	Glu	Gly	Tyr	Ser	Tyr	Leu	Tyr	Ile	Lys	Gly	Ser
65					70					75				80	
Gln	Pro	Glu	Asp	Ser	Ala	Thr	Tyr	Leu	Cys	Ala	Tyr	Leu	Gly	Ala	Gly
			85						90				95		
Asn	Gln	Phe	Tyr	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Ser	Leu	Thr	Val	Ile		
			100					105					110		

<210> 145

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 7号V β CDR1

<400> 145

Leu Asn His Asp Ala

1 5

<210> 146

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 7号V β CDR2

<400> 146

Ser Gln Ile Val Asn Asp

1 5

<210> 147

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 7号V β CDR3

<400> 147

Ala Ser Ser Leu Asn Arg Gly Arg Tyr Gly Tyr Thr

1 5 10

<210> 148

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 7号V β 可变区

<400> 148

Asp Gly Gly Ile Thr Gln Ser Pro Lys Tyr Leu Phe Arg Lys Glu Gly

1 5 10 15

Gln Asn Val Thr Leu Ser Cys Glu Gln Asn Leu Asn His Asp Ala Met

20 25 30

Tyr Trp Tyr Arg Gln Asp Pro Gly Gln Gly Leu Arg Leu Ile Tyr Tyr

35 40 45

Ser Gln Ile Val Asn Asp Phe Gln Lys Gly Asp Ile Ala Glu Gly Tyr

50 55 60

Ser Val Ser Arg Glu Lys Lys Glu Ser Phe Pro Leu Thr Val Thr Ser

65 70 75 80

Ala Gln Lys Asn Pro Thr Ala Phe Tyr Leu Cys Ala Ser Ser Leu Asn

85 90 95

Arg Gly Arg Tyr Gly Tyr Thr Phe Gly Ser Gly Thr Arg Leu Thr Val

100 105 110

Val

<210> 149

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 8号V α CDR1

<400> 149

Thr Arg Asp Thr Thr Tyr Tyr

1 5

<210> 150

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 8号V α CDR2

<400> 150

Arg Asn Ser Phe Asp Glu Gln Asn

1 5

<210> 151

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 8号V α CDR3

<400> 151

Ala Leu Ser Glu Leu Ala Ser Gly Gly Ser Tyr Ile Pro Thr

1 5 10

<210> 152

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 8号V α 可变区

<400> 152

Ala Gln Lys Val Thr Gln Ala Gln Thr Glu Ile Ser Val Val Glu Lys

1 5 10 15

Glu Asp Val Thr Leu Asp Cys Val Tyr Glu Thr Arg Asp Thr Thr Tyr

20 25 30

Tyr Leu Phe Trp Tyr Lys Gln Pro Pro Ser Gly Glu Leu Val Phe Leu

35 40 45

Ile Arg Arg Asn Ser Phe Asp Glu Gln Asn Glu Ile Ser Gly Arg Tyr

50 55 60

Ser Trp Asn Phe Gln Lys Ser Thr Ser Ser Phe Asn Phe Thr Ile Thr

65 70 75 80

Ala Ser Gln Val Val Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Leu Ser Glu

85 90 95

Leu Ala Ser Gly Gly Ser Tyr Ile Pro Thr Phe Gly Arg Gly Thr Ser

100 105 110

Leu Ile Val His Pro

115

<210> 153

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 8号V β CDR1

<400> 153

Ala	Ser	Ser	Phe	Arg	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Thr	Asp	Thr	Gln	Tyr
1				5					10					15	

<210> 154

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 8号V β 可变区

<400> 154

Asp	Ala	Gly	Val	Thr	Gln	Ser	Pro	Thr	His	Leu	Ile	Lys	Thr	Arg	Gly
1				5					10					15	
Gln	Gln	Val	Thr	Leu	Arg	Cys	Ser	Pro	Lys	Ser	Gly	His	Asp	Thr	Val
			20					25					30		
Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Ala	Leu	Gly	Gln	Gly	Pro	Gln	Phe	Ile	Phe	Gln
			35				40					45			
Tyr	Tyr	Glu	Glu	Glu	Glu	Arg	Gln	Arg	Gly	Asn	Phe	Pro	Asp	Arg	Phe
			50			55				60					
Ser	Gly	His	Gln	Phe	Pro	Asn	Tyr	Ser	Ser	Glu	Leu	Asn	Val	Asn	Ala
65				70					75					80	
Leu	Leu	Leu	Gly	Asp	Ser	Ala	Leu	Tyr	Leu	Cys	Ala	Ser	Ser	Phe	Arg
				85				90						95	
Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Thr	Asp	Thr	Gln	Tyr	Phe	Gly	Pro	Gly	Thr
			100					105					110		
Arg	Leu	Thr	Val	Leu											
				115											

<210> 155

<211> 177

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR β 1恒定结构域,半胱氨酸修饰的

<400> 155

Glu	Asp	Leu	Asn	Lys	Val	Phe	Pro	Pro	Glu	Val	Ala	Val	Phe	Glu	Pro
1				5					10					15	
Ser	Glu	Ala	Glu	Ile	Ser	His	Thr	Gln	Lys	Ala	Thr	Leu	Val	Cys	Leu
			20					25					30		

Ala Thr Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn		
35	40	45
Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Cys Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys		
50	55	60
Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu		
65	70	75
Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys		
85	90	95
Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp		
100	105	110
Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg		
115	120	125
Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser		
130	135	140
Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala		
145	150	155
Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp		
165	170	175

Phe

<210> 156

<211> 141

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCRα恒定结构域

<400> 156

Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys		
1	5	10
Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Thr		
20	25	30
Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys Thr		
35	40	45
Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val Ala		
50	55	60
Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn Ser		
65	70	75
Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp		
85	90	95
Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe		

	100		105		110
Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala					
	115		120		125
Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser					
	130		135		140
<210> 157					
<211> 140					
<212> PRT					
<213> 人工序列					
<220>					
<223> TCR α 恒定结构域					
<400> 157					
Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys Ser					
1	5		10		15
Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Thr Asn					
	20		25		30
Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys Thr Val					
	35		40		45
Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val Ala Trp					
	50		55		60
Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn Ser Ile					
65	70		75		80
Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val					
	85		90		95
Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln					
	100		105		110
Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly					
	115		120		125
Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser					
	130		135		140
<210> 158					
<211> 142					
<212> PRT					
<213> 人工序列					
<220>					
<223> TCR α 恒定结构域,半胱氨酸修饰的					
<400> 158					
Pro Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser					
1	5		10		15

Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln
 20 25 30
 Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys
 35 40 45
 Cys Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val
 50 55 60
 Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn
 65 70 75 80
 Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys
 85 90 95
 Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn
 100 105 110
 Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val
 115 120 125
 Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
 130 135 140
 <210> 159
 <211> 141
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> TCR α 恒定结构域,半胱氨酸修饰的
 <400> 159
 Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Thr
 20 25 30
 Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys Cys
 35 40 45
 Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val Ala
 50 55 60
 Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn Ser
 65 70 75 80
 Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp
 85 90 95
 Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe
 100 105 110
 Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala
 115 120 125

Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
130 135 140

<210> 160

<211> 140

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR α 恒定结构域,半胱氨酸修饰的

<400> 160

Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys Ser
1 5 10 15
Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Thr Asn
20 25 30
Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys Cys Val
35 40 45
Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val Ala Trp
50 55 60
Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn Ser Ile
65 70 75 80
Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val
85 90 95
Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln
100 105 110
Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly
115 120 125
Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
130 135 140

<210> 161

<211> 1821

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 5号构建体;在 β 和 α 链恒定结构域中有半胱氨酸取代的 β 链-P2A- α 链

<400> 161

atgggcttca gactgttgtg ttgcgtggcc ttttgccttc ttggagctgg acctgtggat 60
tctggagtta cacagacccc taagcacctg attacagcca caggacagag agtgaccctg 120
agatgtagcc ctagaagcgg agatctgagc gtgtattgtt accagcagag cctggatcaa 180
ggactccagt ttctgatcca gtactacaac ggcgaggaga gagccaaggg caatattctg 240

gagaggtttt ctgcccagca gttccctgat ctgcactctg aactgaacct gtctagcctg 300
 gaactgggag attctgccct gtacttttgt gcctctagcg ttggacaggg cagctcttat 360
 gagcagtact ttggacctgg caccagactg acagtacag aagacctgaa gaacgtgttc 420
 cccccagagg tggccgtgtt cgagcctagc gaggccgaga tcagccacac ccagaaagcc 480
 accctcgtgt gcctggccac cggcttttac cccgaccacg tggaactgtc ttggtgggtc 540
 aacggcaaaag aggtgcacag cggcgtctgc accgaccccc agcccctgaa agagcagccc 600
 gccctgaacg acagccggtg ctgtctgagc agcagactga gagtgtccgc caccttctgg 660
 cagaaccccc ggaaccactt cagatgccag gtgcagttct acggcctgag cgagaacgac 720
 gagtggaccc aggaccgggc caagcccgtg acccagatcg tgtctgctga ggcctggggc 780
 agagccgatt gcggcttcac cagcgagagc taccagcagg gcgtgctgag cgccaccatc 840
 ctgtacgaga tcctgctggg caaggccacc ctgtacgccg tgctgggtgc cgccctgggtg 900
 ctgatggcca tggtaagcg gaaggacagc cggggcggtt ccggagccac gaacttctct 960
 ctgttaaagc aagcaggaga cgtggaagaa aaccccggtc ccatggaaac cctgctgaaa 1020
 gtgctgagcg gaacactgtt atggcagctt acatgggtga ggtctcagca acctgtgcaa 1080
 tctccacagg ccgttatcct gagagaagga gaagatgccg tgatcaactg ctctagctct 1140
 aaagccctgt acagcgtgca ctggtacaga cagaaacacg gagaagctcc cgtgttcctg 1200
 atgattctgc tgaaaggagg cgagcagaag ggacacgaga agatttctgc cagcttcaac 1260
 gagaagaagc agcagtctag cctgtacctg acagcttctc agctgagcta tagcggcacc 1320
 tacttttgtg gcacagagga agccaacgac taaaactga gctttggagc cggcacaaca 1380
 gtgacagtta gagccaatat ccagaacccc gatcctgctg tgtaccagct gcgggacagc 1440
 aagagcagcg acaagagcgt gtgcctgttc accgacttcg acagccagac caacgtgtcc 1500
 cagagcaagg acagcgacgt gtacatcacc gataagtgcg tgctggacat gcggagcatg 1560
 gacttcaaga gcaacagcgc cgtggcctgg tccaacaaga gcgacttcgc ctgcgccaac 1620
 gccttcaaca acagcattat ccccgaggac acattcttcc caagccccga gagcagctgc 1680
 gacgtgaagc tgggtgaaaa gagcttcgag acagacacca acctgaactt ccagaacctc 1740
 agcgtgatcg gcttccgat cctgctgctg aaggtggccg gcttcaacct gctgatgacc 1800
 ctgcggctgt ggtccagctg a 1821

<210> 162

<211> 606

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 5号构建体;在β和α链恒定结构域中有半胱氨酸取代的β链-P2A-α链

<400> 162

Met Gly Phe Arg Leu Leu Cys Cys Val Ala Phe Cys Leu Leu Gly Ala

1 5 10 15

Gly Pro Val Asp Ser Gly Val Thr Gln Thr Pro Lys His Leu Ile Thr

20 25 30

Ala Thr Gly Gln Arg Val Thr Leu Arg Cys Ser Pro Arg Ser Gly Asp		
35	40	45
Leu Ser Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Ser Leu Asp Gln Gly Leu Gln Phe		
50	55	60
Leu Ile Gln Tyr Tyr Asn Gly Glu Glu Arg Ala Lys Gly Asn Ile Leu		
65	70	75
Glu Arg Phe Ser Ala Gln Gln Phe Pro Asp Leu His Ser Glu Leu Asn		
85	90	95
Leu Ser Ser Leu Glu Leu Gly Asp Ser Ala Leu Tyr Phe Cys Ala Ser		
100	105	110
Ser Val Gly Gln Gly Ser Ser Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr		
115	120	125
Arg Leu Thr Val Thr Glu Asp Leu Lys Asn Val Phe Pro Pro Glu Val		
130	135	140
Ala Val Phe Glu Pro Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala		
145	150	155
Thr Leu Val Cys Leu Ala Thr Gly Phe Tyr Pro Asp His Val Glu Leu		
165	170	175
Ser Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Cys Thr Asp		
180	185	190
Pro Gln Pro Leu Lys Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys		
195	200	205
Leu Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg		
210	215	220
Asn His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp		
225	230	235
Glu Trp Thr Gln Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala		
245	250	255
Glu Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Glu Ser Tyr Gln		
260	265	270
Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys		
275	280	285
Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met		
290	295	300
Val Lys Arg Lys Asp Ser Arg Gly Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser		
305	310	315
Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Glu		
325	330	335
Thr Leu Leu Lys Val Leu Ser Gly Thr Leu Leu Trp Gln Leu Thr Trp		

340	345	350
Val Arg Ser Gln Gln Pro Val	Gln Ser Pro Gln Ala Val	Ile Leu Arg
355	360	365
Glu Gly Glu Asp Ala Val Ile	Asn Cys Ser Ser Ser Lys	Ala Leu Tyr
370	375	380
Ser Val His Trp Tyr Arg Gln	Lys His Gly Glu Ala Pro	Val Phe Leu
385	390	395
Met Ile Leu Leu Lys Gly Gly	Glu Gln Lys Gly His Glu	Lys Ile Ser
405	410	415
Ala Ser Phe Asn Glu Lys Lys	Gln Gln Ser Ser Leu Tyr	Leu Thr Ala
420	425	430
Ser Gln Leu Ser Tyr Ser Gly	Thr Tyr Phe Cys Gly Thr	Glu Glu Ala
435	440	445
Asn Asp Tyr Lys Leu Ser Phe	Gly Ala Gly Thr Thr Val	Thr Val Arg
450	455	460
Ala Asn Ile Gln Asn Pro Asp	Pro Ala Val Tyr Gln Leu	Arg Asp Ser
465	470	475
Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val	Cys Leu Phe Thr Asp Phe	Asp Ser Gln
485	490	495
Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys	Asp Ser Asp Val Tyr Ile	Thr Asp Lys
500	505	510
Cys Val Leu Asp Met Arg Ser	Met Asp Phe Lys Ser Asn	Ser Ala Val
515	520	525
Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp	Phe Ala Cys Ala Asn Ala	Phe Asn Asn
530	535	540
Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr	Phe Phe Pro Ser Pro Glu	Ser Ser Cys
545	550	555
Asp Val Lys Leu Val Glu Lys	Ser Phe Glu Thr Asp Thr	Asn Leu Asn
565	570	575
Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile	Gly Phe Arg Ile Leu Leu	Leu Lys Val
580	585	590
Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met	Thr Leu Arg Leu Trp Ser	Ser
595	600	605

<210> 163

<211> 1818

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 9号构建体; β 链-P2A- α 链

<400> 163

```
atggatacct ggctcgtatg ctgggcaatt tttagtctct tgaaagcagg actcacagaa 60
cctgaagtca cccagactcc cagccatcag gtcacacaga tgggacagga agtgatcttg 120
cgctgtgtcc ccatctctaa tcacttatac ttctattggg acagacaaat cttggggcag 180
aaagtcgagt ttctggtttc cttttataat aatgaaatct cagagaagtc tgaaatattc 240
gatgatcaat tctcagttga aaggcctgat ggatcaaatt tcactctgaa gatccgggtc 300
acaaagctgg aggactcagc catgtacttc tgtgccatcc tggatggaga aggttcaccc 360
ctccactttg ggaatgggac caggctcact gtgacagagg acctgaacaa ggtgttccca 420
cccgaggctg ctgtgtttga gccatcagaa gcagagatct cccacacca aaaggccaca 480
ctgggtgtgcc tggccacagg cttcttcctt gaccacgtgg agctgagctg gtgggtgaat 540
gggaaggagg tgcacagtgg ggtcagcacg gacccgcagc ccctcaagga gcagcccgcc 600
ctcaatgact ccagatactg cctgagcagc cgctgaggg tctcggccac cttctggcag 660
aacccccgca accacttcgg ctgtcaagtc cagttctacg ggctctcgga gaatgacgag 720
tggaccagg atagggccaa acccgtcacc cagatcgta gcgccaggc ctggggtaga 780
gcagactgtg gctttacctc ggtgtcctac cagcaagggg tctgtctgc caccatctc 840
tatgagatcc tgctagggaa ggccaccctg tatgctgtgc tggtcagcgc cttgtgttg 900
atggccatgg tcaagagaaa ggatttcggg tccggagcca cgaacttctc tctgttaaag 960
caagcaggag acgtggaaga aaaccccggt cccatgaaaa agcatctgac gaccttcttg 1020
gtgattttgt ggctttatct ttatagggg aatggcaaaa accaagtga gcagagtcct 1080
cagtcctga tcacctgga gggaaagaac tgcactcttc aatgcaatta tacagtgage 1140
cccttcagca acttaagtg gtataagcaa gatactggga gaggtcctgt ttccctgaca 1200
atcatgactt tcagtgagaa cacaagtcg aacggaagat atacagcaac tctggatgca 1260
gacacaaagc aaagctctct gcacatcaca gcctcccagc tcagcgattc agcctcctac 1320
atctgtgtgg tgtggggggg ggacaccgac aagctcatct ttgggactgg gaccagatta 1380
caagtctttc caaatatcca gaaccctgac cctgccgtgt accagctgag agactctaaa 1440
tccagtgaca agtctgtctg cctattcacc gatcttgatt ctcaaacaaa tgtgtcaca 1500
agtaaggatt ctgatgtgta tatcacagac aaaactgtgc tagacatgag gtctatggac 1560
ttcaagagca acagtgtgtg ggctgggagc acaaatctg actttgcatg tgcaaagccc 1620
ttcaacaaca gcattattcc agaagacacc ttcttcccca gccagaaaag ttctgtgat 1680
gtcaagctgg tcgagaaaag ctttgaaaca gatacgaacc taaactttca aaacctgtca 1740
gtgattgggt tccgaatcct cctcctgaaa gtggccgggt ttaatctgct catgacgctg 1800
cggctgtggt ccagctga 1818
```

<210> 164

<400> 164

000

<210> 165

<211> 605

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 9号构建体; β 链-P2A- α 链

<400> 165

Met	Asp	Thr	Trp	Leu	Val	Cys	Trp	Ala	Ile	Phe	Ser	Leu	Leu	Lys	Ala
1				5					10					15	
Gly	Leu	Thr	Glu	Pro	Glu	Val	Thr	Gln	Thr	Pro	Ser	His	Gln	Val	Thr
			20					25					30		
Gln	Met	Gly	Gln	Glu	Val	Ile	Leu	Arg	Cys	Val	Pro	Ile	Ser	Asn	His
		35					40					45			
Leu	Tyr	Phe	Tyr	Trp	Tyr	Arg	Gln	Ile	Leu	Gly	Gln	Lys	Val	Glu	Phe
	50					55				60					
Leu	Val	Ser	Phe	Tyr	Asn	Asn	Glu	Ile	Ser	Glu	Lys	Ser	Glu	Ile	Phe
65					70				75					80	
Asp	Asp	Gln	Phe	Ser	Val	Glu	Arg	Pro	Asp	Gly	Ser	Asn	Phe	Thr	Leu
				85				90					95		
Lys	Ile	Arg	Ser	Thr	Lys	Leu	Glu	Asp	Ser	Ala	Met	Tyr	Phe	Cys	Ala
			100					105					110		
Ile	Leu	Asp	Gly	Glu	Gly	Ser	Pro	Leu	His	Phe	Gly	Asn	Gly	Thr	Arg
		115					120					125			
Leu	Thr	Val	Thr	Glu	Asp	Leu	Asn	Lys	Val	Phe	Pro	Pro	Glu	Val	Ala
		130					135				140				
Val	Phe	Glu	Pro	Ser	Glu	Ala	Glu	Ile	Ser	His	Thr	Gln	Lys	Ala	Thr
145					150				155					160	
Leu	Val	Cys	Leu	Ala	Thr	Gly	Phe	Phe	Pro	Asp	His	Val	Glu	Leu	Ser
				165				170					175		
Trp	Trp	Val	Asn	Gly	Lys	Glu	Val	His	Ser	Gly	Val	Ser	Thr	Asp	Pro
			180					185					190		
Gln	Pro	Leu	Lys	Glu	Gln	Pro	Ala	Leu	Asn	Asp	Ser	Arg	Tyr	Cys	Leu
		195					200					205			
Ser	Ser	Arg	Leu	Arg	Val	Ser	Ala	Thr	Phe	Trp	Gln	Asn	Pro	Arg	Asn
		210				215				220					
His	Phe	Arg	Cys	Gln	Val	Gln	Phe	Tyr	Gly	Leu	Ser	Glu	Asn	Asp	Glu
225				230					235					240	
Trp	Thr	Gln	Asp	Arg	Ala	Lys	Pro	Val	Thr	Gln	Ile	Val	Ser	Ala	Glu
			245					250					255		
Ala	Trp	Gly	Arg	Ala	Asp	Cys	Gly	Phe	Thr	Ser	Val	Ser	Tyr	Gln	Gln
		260					265						270		
Gly	Val	Leu	Ser	Ala	Thr	Ile	Leu	Tyr	Glu	Ile	Leu	Leu	Gly	Lys	Ala
		275					280						285		

Thr	Leu	Tyr	Ala	Val	Leu	Val	Ser	Ala	Leu	Val	Leu	Met	Ala	Met	Val
290							295					300			
Lys	Arg	Lys	Asp	Phe	Gly	Ser	Gly	Ala	Thr	Asn	Phe	Ser	Leu	Leu	Lys
305					310					315					320
Gln	Ala	Gly	Asp	Val	Glu	Glu	Asn	Pro	Gly	Pro	Met	Lys	Lys	His	Leu
				325					330					335	
Thr	Thr	Phe	Leu	Val	Ile	Leu	Trp	Leu	Tyr	Phe	Tyr	Arg	Gly	Asn	Gly
			340					345					350		
Lys	Asn	Gln	Val	Glu	Gln	Ser	Pro	Gln	Ser	Leu	Ile	Ile	Leu	Glu	Gly
		355					360						365		
Lys	Asn	Cys	Thr	Leu	Gln	Cys	Asn	Tyr	Thr	Val	Ser	Pro	Phe	Ser	Asn
		370					375					380			
Leu	Arg	Trp	Tyr	Lys	Gln	Asp	Thr	Gly	Arg	Gly	Pro	Val	Ser	Leu	Thr
385					390					395					400
Ile	Met	Thr	Phe	Ser	Glu	Asn	Thr	Lys	Ser	Asn	Gly	Arg	Tyr	Thr	Ala
				405					410					415	
Thr	Leu	Asp	Ala	Asp	Thr	Lys	Gln	Ser	Ser	Leu	His	Ile	Thr	Ala	Ser
			420					425					430		
Gln	Leu	Ser	Asp	Ser	Ala	Ser	Tyr	Ile	Cys	Val	Val	Trp	Gly	Gly	Asp
		435						440					445		
Thr	Asp	Lys	Leu	Ile	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Arg	Leu	Gln	Val	Phe	Pro
		450				455					460				
Asn	Ile	Gln	Asn	Pro	Asp	Pro	Ala	Val	Tyr	Gln	Leu	Arg	Asp	Ser	Lys
465					470					475					480
Ser	Ser	Asp	Lys	Ser	Val	Cys	Leu	Phe	Thr	Asp	Phe	Asp	Ser	Gln	Thr
			485						490					495	
Asn	Val	Ser	Gln	Ser	Lys	Asp	Ser	Asp	Val	Tyr	Ile	Thr	Asp	Lys	Thr
			500					505					510		
Val	Leu	Asp	Met	Arg	Ser	Met	Asp	Phe	Lys	Ser	Asn	Ser	Ala	Val	Ala
		515					520						525		
Trp	Ser	Asn	Lys	Ser	Asp	Phe	Ala	Cys	Ala	Asn	Ala	Phe	Asn	Asn	Ser
		530				535					540				
Ile	Ile	Pro	Glu	Asp	Thr	Phe	Phe	Pro	Ser	Pro	Glu	Ser	Ser	Cys	Asp
545					550					555					560
Val	Lys	Leu	Val	Glu	Lys	Ser	Phe	Glu	Thr	Asp	Thr	Asn	Leu	Asn	Phe
			565					570					575		
Gln	Asn	Leu	Ser	Val	Ile	Gly	Phe	Arg	Ile	Leu	Leu	Leu	Lys	Val	Ala
		580						585					590		
Gly	Phe	Asn	Leu	Leu	Met	Thr	Leu	Arg	Leu	Trp	Ser	Ser			

595	600	605
<210> 166		
<211> 113		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> TCR 9号V β 可变区		
<400> 166		
Glu Pro Glu Val Thr Gln Thr Pro Ser His Gln Val Thr Gln Met Gly		
1 5 10 15		
Gln Glu Val Ile Leu Arg Cys Val Pro Ile Ser Asn His Leu Tyr Phe		
20 25 30		
Tyr Trp Tyr Arg Gln Ile Leu Gly Gln Lys Val Glu Phe Leu Val Ser		
35 40 45		
Phe Tyr Asn Asn Glu Ile Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Asp Asp Gln		
50 55 60		
Phe Ser Val Glu Arg Pro Asp Gly Ser Asn Phe Thr Leu Lys Ile Arg		
65 70 75 80		
Ser Thr Lys Leu Glu Asp Ser Ala Met Tyr Phe Cys Ala Ile Leu Asp		
85 90 95		
Gly Glu Gly Ser Pro Leu His Phe Gly Asn Gly Thr Arg Leu Thr Val		
100 105 110		
Thr		
<210> 167		
<211> 6		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> TCR 9号V β CDR1		
<400> 167		
Ser Asn His Leu Tyr Phe		
1 5		
<210> 168		
<211> 6		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> TCR 9号V β CDR2		
<400> 168		

Phe Tyr Asn Asn Glu Ile

1

5

<210> 169

<211> 1818

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 9号构建体;在 β 和 α 链恒定结构域中有半胱氨酸取代的 β 链-P2A- α 链

<400> 169

```

atggatacct ggctcgtgtg ttgggccatc ttttctctgc tgaaagccgg actgaccgaa 60
cctgaagtta cacaaacccc tagccaccag gtgacacaaa tgggacagga ggtgatcctg 120
agatgtgtgc ctatcagcaa ccacctgtac ttctactggt accggcagat tctgggccag 180
aaagtggagt ttctgggtgag cttctacaac aacgagatca gcgagaagag cgagatcttc 240
gatgaccagt tcagcgtgga gagaccagat ggaagcaact ttaccctgaa gatccggagc 300
accaagctgg aagattctgc catgtacttc tgcgccatcc tggatggaga gggatctcct 360
ctgcactttg gcaatggcac aagactgacc gtgacagaag atctgaacaa ggtgttcccc 420
ccagaggtgg ccgtgttcga gccttctgag gccgagatct cccacacca gaaagccacc 480
ctcgtgtgcc tggccaccgg ctttttcccc gaccacgtgg aactgtcttg gtgggtcaac 540
ggcaaagagg tgcactccgg cgtgtgcacc gatccccagc ctctgaaaga acagcccgcc 600
ctgaacgaca gccggtactg cctgagcagc agactgagag tgtccgccac cttctggcag 660
aacccccgga accacttcag atgccaggtg cagttctacg gcctgagcga gaacgacgag 720
tggacccagg acagagccaa gcccgtgaca cagatcgtgt ctgccgaagc ctggggcaga 780
gccgattgcg gctttacctc cgtgtcctat cagcagggcg tgctgagcgc cacaatcctg 840
tacgagatcc tgctgggcaa ggccaccctg tacgccgtgc tgggtgtctgc cctggtgctg 900
atggccatgg tcaagcggaa ggacttcggt tccggagcca cgaacttctc tctgttaaag 960
caagcaggag acgtggaaga aaaccccggt cccatgaaga agcacctgac cacgttcctg 1020
gtgattcttt ggctgtactt ctaccggggc aacggcaaaa atcaggtgga acaaagcccc 1080
cagagcctga ttattctgga gggcaagaac tgcaccctcc agtgtaatta caccgtgagc 1140
cctttcagca acctgagatg gtacaagcag gataccggaa gaggacctgt gtctctgacc 1200
atcatgacct ttagcgagaa caccaagagc aacggcaggt atacagccac actggatgcc 1260
gataccaagc agtcttctct gcacattacc gcctctcage tgtctgattc tgccagctac 1320
atctgtgtgg tgtggggagg agataccgat aagctgatct ttggcacagg caccagactg 1380
caagtgttcc ctaacatcca gaacctgat cctgccgtgt accagctgcg ggacagcaag 1440
agcagcgaca agagcgtgtg cctgttcacc gacttcgaca gccagaccaa cgtgtcccag 1500
agcaaggaca gcgacgtgta catcaccgat aagtgcgtgc tggacatgcg gagcatggac 1560
ttcaagagca acagcgccgt ggccctgttc aacaagagcg acttcgcctg cgccaacgcc 1620
ttcaacaaca gcattatccc cgaggacaca ttcttcccaa gcccagagag cagctgcgac 1680
gtgaagctgg tggaaaagag cttcgagaca gacaccaacc tgaacttcca gaacctcagc 1740

```

gtgatcggct tccgcatcct gctgctgaag gtggccggct tcaacctgct gatgaccctg 1800
cggctgtgggt ccagctga 1818

<210> 170

<211> 605

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 9号构建体;在β和α链恒定结构域中有半胱氨酸取代的β链-P2A-α链

<400> 170

Met	Asp	Thr	Trp	Leu	Val	Cys	Trp	Ala	Ile	Phe	Ser	Leu	Leu	Lys	Ala
1				5					10					15	
Gly	Leu	Thr	Glu	Pro	Glu	Val	Thr	Gln	Thr	Pro	Ser	His	Gln	Val	Thr
			20					25					30		
Gln	Met	Gly	Gln	Glu	Val	Ile	Leu	Arg	Cys	Val	Pro	Ile	Ser	Asn	His
			35					40					45		
Leu	Tyr	Phe	Tyr	Trp	Tyr	Arg	Gln	Ile	Leu	Gly	Gln	Lys	Val	Glu	Phe
			50					55				60			
Leu	Val	Ser	Phe	Tyr	Asn	Asn	Glu	Ile	Ser	Glu	Lys	Ser	Glu	Ile	Phe
65					70					75					80
Asp	Asp	Gln	Phe	Ser	Val	Glu	Arg	Pro	Asp	Gly	Ser	Asn	Phe	Thr	Leu
					85					90					95
Lys	Ile	Arg	Ser	Thr	Lys	Leu	Glu	Asp	Ser	Ala	Met	Tyr	Phe	Cys	Ala
					100					105					110
Ile	Leu	Asp	Gly	Glu	Gly	Ser	Pro	Leu	His	Phe	Gly	Asn	Gly	Thr	Arg
					115					120					125
Leu	Thr	Val	Thr	Glu	Asp	Leu	Asn	Lys	Val	Phe	Pro	Pro	Glu	Val	Ala
								135					140		
Val	Phe	Glu	Pro	Ser	Glu	Ala	Glu	Ile	Ser	His	Thr	Gln	Lys	Ala	Thr
145						150					155				160
Leu	Val	Cys	Leu	Ala	Thr	Gly	Phe	Phe	Pro	Asp	His	Val	Glu	Leu	Ser
						165					170				175
Trp	Trp	Val	Asn	Gly	Lys	Glu	Val	His	Ser	Gly	Val	Cys	Thr	Asp	Pro
						180					185				190
Gln	Pro	Leu	Lys	Glu	Gln	Pro	Ala	Leu	Asn	Asp	Ser	Arg	Tyr	Cys	Leu
						195					200				205
Ser	Ser	Arg	Leu	Arg	Val	Ser	Ala	Thr	Phe	Trp	Gln	Asn	Pro	Arg	Asn
						210						215			220
His	Phe	Arg	Cys	Gln	Val	Gln	Phe	Tyr	Gly	Leu	Ser	Glu	Asn	Asp	Glu

225	230	235	240
Trp Thr Gln Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu			
	245	250	255
Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln			
	260	265	270
Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala			
	275	280	285
Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val			
	290	295	300
Lys Arg Lys Asp Phe Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys			
305	310	315	320
Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Lys Lys His Leu			
	325	330	335
Thr Thr Phe Leu Val Ile Leu Trp Leu Tyr Phe Tyr Arg Gly Asn Gly			
	340	345	350
Lys Asn Gln Val Glu Gln Ser Pro Gln Ser Leu Ile Ile Leu Glu Gly			
	355	360	365
Lys Asn Cys Thr Leu Gln Cys Asn Tyr Thr Val Ser Pro Phe Ser Asn			
	370	375	380
Leu Arg Trp Tyr Lys Gln Asp Thr Gly Arg Gly Pro Val Ser Leu Thr			
385	390	395	400
Ile Met Thr Phe Ser Glu Asn Thr Lys Ser Asn Gly Arg Tyr Thr Ala			
	405	410	415
Thr Leu Asp Ala Asp Thr Lys Gln Ser Ser Leu His Ile Thr Ala Ser			
	420	425	430
Gln Leu Ser Asp Ser Ala Ser Tyr Ile Cys Val Val Trp Gly Gly Asp			
	435	440	445
Thr Asp Lys Leu Ile Phe Gly Thr Gly Thr Arg Leu Gln Val Phe Pro			
	450	455	460
Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys			
465	470	475	480
Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Thr			
	485	490	495
Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys Cys			
	500	505	510
Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val Ala			
	515	520	525
Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn Ser			
	530	535	540

Ile	Ile	Pro	Glu	Asp	Thr	Phe	Phe	Pro	Ser	Pro	Glu	Ser	Ser	Cys	Asp
545								550						555	560
Val	Lys	Leu	Val	Glu	Lys	Ser	Phe	Glu	Thr	Asp	Thr	Asn	Leu	Asn	Phe
								565						570	575
Gln	Asn	Leu	Ser	Val	Ile	Gly	Phe	Arg	Ile	Leu	Leu	Leu	Lys	Val	Ala
								580						585	590
Gly	Phe	Asn	Leu	Leu	Met	Thr	Leu	Arg	Leu	Trp	Ser	Ser			
								595						600	605

<210> 171

<211> 1827

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 6号构建体;在β和α链恒定结构域中有半胱氨酸取代的β链-P2A-α链

<400> 171

```

atgagcatca gcctcctgtg ctgtgcagcc tttcctctcc tgtgggcagg tccagtgaat 60
gctggtgtca ctcagacccc aaaattccgc atcctgaaga taggacagag catgacactg 120
cagtgtaccc aggatatgaa ccataactac atgtactggt atcgacaaga cccaggcatg 180
gggctgaagc tgatttatta ttcagttggt gctggtatca ctgataaagg agaagtcccg 240
aatggctaca acgtctccag atcaaccaca gaggatttcc cgctcaggct ggagttggct 300
gctccctccc agacatctgt gtacttctgt gccagcagtg acaggtctaa caccggggag 360
ctgttttttg gagaaggctc taggctgacc gtactggagg acctgaaaaa cgtgttccca 420
cccagggtcg ctgtgtttga gccatcagaa gcagagatct cccacacca aaaggccaca 480
ctgggtgtgcc tggccacagg cttctacccc gaccacgtgg agctgagctg gtgggtgaat 540
gggaaggagg tgcacagtgg ggtctgcaca gaccgcagc ccctcaagga gcagcccgcc 600
ctcaatgact ccagatactg cctgagcagc cgctgaggg tctcgccac cttctggcag 660
aacccccgca accacttccg ctgtcaagtc cagttctacg ggctctcgga gaatgacgag 720
tggaaccagg atagggccaa acctgtcacc cagatcgta gcgccgaggc ctggggtaga 780
gcagactgtg gcttcacctc cgagtcttac cagcaagggg tcctgtctgc caccatcctc 840
tatgagatct tgctagggaa ggccaccttg tatgccgtgc tggtcagtgc cctcgtgctg 900
atggccatgg tcaagagaaa ggattccaga ggcggttccg gagccacgaa cttctctctg 960
ttaaagcaag caggagacgt ggaagaaaac cccggtccca tggagaagaa tcctttggca 1020
gccccattac taatcctctg gtttcatctt gactgcgtga gcagcatact gaacgtggaa 1080
caaagtcctc agtcactgca tgttcaggag ggagacagca ccaatttcac ctgcagcttc 1140
ccttcagca atttttatgc cttacactgg tacagatggg aaactgcaaa aagccccgag 1200
gccttgtttg taatgacttt aaatggggat gaaaagaaga aaggacgaat aagtgccact 1260
cttaatacca aggagggtta cagctatttg tacatcaaag gatcccagcc tgaagactca 1320
gccacatacc tctgtgcctt agggccttat aacgactaca agctcagctt tggagccgga 1380

```

accacagtaa ctgtaagagc aaatatccag aaccctgacc ctgccgtgta ccagctgcgg 1440
 gacagcaaga gcagcgacaa gagcgtgtgc ctgttcaccg acttcgacag ccagaccaac 1500
 gtgtcccaga gcaaggacag cgacgtgtac atcaccgata agtgcgtgct ggacatgcgg 1560
 agcatggact tcaagagcaa cagcgccgtg gcctgggtcca acaagagcga cttcgccctgc 1620
 gccaacgcct tcaacaacag cattatcccc gaggacacat tcttccaag ccccgagagc 1680
 agctgcgacg tgaagctggt ggaaaagagc ttcgagacag acaccaacct gaacttcag 1740
 aacctcagcg tgatcggctt ccggatcctg ctgctgaagg tggccggctt caacctgctg 1800
 atgaccctgc ggctgtggtc cagctga 1827

<210> 172

<211> 608

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 6号构建体;在β和α链恒定结构域中有半胱氨酸取代的β链-P2A-α链

<400> 172

Met	Ser	Ile	Ser	Leu	Leu	Cys	Cys	Ala	Ala	Phe	Pro	Leu	Leu	Trp	Ala
1				5				10						15	
Gly	Pro	Val	Asn	Ala	Gly	Val	Thr	Gln	Thr	Pro	Lys	Phe	Arg	Ile	Leu
			20					25					30		
Lys	Ile	Gly	Gln	Ser	Met	Thr	Leu	Gln	Cys	Thr	Gln	Asp	Met	Asn	His
		35					40					45			
Asn	Tyr	Met	Tyr	Trp	Tyr	Arg	Gln	Asp	Pro	Gly	Met	Gly	Leu	Lys	Leu
	50					55				60					
Ile	Tyr	Tyr	Ser	Val	Gly	Ala	Gly	Ile	Thr	Asp	Lys	Gly	Glu	Val	Pro
65				70				75					80		
Asn	Gly	Tyr	Asn	Val	Ser	Arg	Ser	Thr	Thr	Glu	Asp	Phe	Pro	Leu	Arg
			85					90					95		
Leu	Glu	Leu	Ala	Ala	Pro	Ser	Gln	Thr	Ser	Val	Tyr	Phe	Cys	Ala	Ser
			100					105					110		
Ser	Asp	Arg	Ser	Asn	Thr	Gly	Glu	Leu	Phe	Phe	Gly	Glu	Gly	Ser	Arg
		115				120					125				
Leu	Thr	Val	Leu	Glu	Asp	Leu	Lys	Asn	Val	Phe	Pro	Pro	Glu	Val	Ala
	130					135					140				
Val	Phe	Glu	Pro	Ser	Glu	Ala	Glu	Ile	Ser	His	Thr	Gln	Lys	Ala	Thr
145				150				155					160		
Leu	Val	Cys	Leu	Ala	Thr	Gly	Phe	Tyr	Pro	Asp	His	Val	Glu	Leu	Ser
			165					170					175		
Trp	Trp	Val	Asn	Gly	Lys	Glu	Val	His	Ser	Gly	Val	Cys	Thr	Asp	Pro

	180		185		190
Gln Pro Leu Lys Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu					
195		200		205	
Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn					
210		215		220	
His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu					
225		230		235	240
Trp Thr Gln Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu					
	245		250		255
Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Glu Ser Tyr Gln Gln					
	260		265		270
Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala					
275		280		285	
Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val					
290		295		300	
Lys Arg Lys Asp Ser Arg Gly Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu					
305		310		315	320
Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Glu Lys					
	325		330		335
Asn Pro Leu Ala Ala Pro Leu Leu Ile Leu Trp Phe His Leu Asp Cys					
	340		345		350
Val Ser Ser Ile Leu Asn Val Glu Gln Ser Pro Gln Ser Leu His Val					
355		360		365	
Gln Glu Gly Asp Ser Thr Asn Phe Thr Cys Ser Phe Pro Ser Ser Asn					
370		375		380	
Phe Tyr Ala Leu His Trp Tyr Arg Trp Glu Thr Ala Lys Ser Pro Glu					
385		390		395	400
Ala Leu Phe Val Met Thr Leu Asn Gly Asp Glu Lys Lys Lys Gly Arg					
	405		410		415
Ile Ser Ala Thr Leu Asn Thr Lys Glu Gly Tyr Ser Tyr Leu Tyr Ile					
	420		425		430
Lys Gly Ser Gln Pro Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Leu Gly					
	435		440		445
Pro Tyr Asn Asp Tyr Lys Leu Ser Phe Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr					
450		455		460	
Val Arg Ala Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg					
465		470		475	480
Asp Ser Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp					
	485		490		495

Ser Gln Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr		
500	505	510
Asp Lys Cys Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser		
515	520	525
Ala Val Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe		
530	535	540
Asn Asn Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser		
545	550	555
Ser Cys Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn		
565	570	575
Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu		
580	585	590
Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser		
595	600	605

<210> 173

<211> 1815

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 1号构建体;在β和α链恒定结构域中有半胱氨酸取代的β链-P2A-α链

<400> 173

```

atgggacctg gactgctttg ttgggctctt ctgtgtctgc ttggagctgg actggttgat 60
gctggagtta cacagagccc tacacacctg atcaagacaa gaggacagca ggtgacctg 120
agatgtagcc ctaaactctgg ccacgatacc gtgagctggt atcaacaggc tctgggacaa 180
ggacctcagt tcactcttcca gtactacgag gaggaggaga gacagagagg caatttcctt 240
gacaggttta gcgacacca gttccccaat tacagctctg agctgaacgt gaatgccctt 300
cttctgggag attctgccct gtatctgtgt gccagcagct tctttagcca ggaaaccag 360
tacttcggcc caggaacaag actgctggtt cttgaagacc tgaagaacgt gttcccccca 420
gaggtggccg tgttcgagcc tagcgaggcc gagatcagcc acaccagaa agccaccctc 480
gtgtgcctgg ccaccggctt ttaccccgac cacgtggaac tgtcttggtg ggtcaacggc 540
aaagaggtgc acagcggcgt ctgcaccgac cccagcccc tgaaagagca gcccgccctg 600
aacgacagcc ggtactgtct gagcagcaga ctgagagtgt ccgccacctt ctggcagaac 660
ccccggaacc acttcagatg ccaggtgcag ttctacggcc tgagcgagaa cgacgagtgg 720
accaggacc gggccaagcc cgtgaccag atcgtgtctg ctgaggcctg gggcagagcc 780
gattgcggct tcaccagcga gagctaccag cagggcgtgc tgagcgccac catcctgtac 840
gagatcctgc tgggcaaggc caccctgtac gccgtgctgg tgtccgccct ggtgctgatg 900
gccatggtca agcgggaagga cagccggggc ggttcggag ccacgaactt ctctctgtta 960
aagcaagcag gagacgtgga agaaaacccc ggtcccatgg aaaccctgtt aggctgctc 1020

```

attctgtggt tacagctcca atgggtgagc agcaaacagg aagtgacca gattcctgct 1080
gccttatctg tgcctgaagg cgaaaatctg gtgctgaatt gcagcttcac cgattctgcc 1140
atctacaacc tccagtgggt cagacaggat ccaggaaaag gcctgacatc tcttctgctg 1200
atccagtcta gccagagaga gcagacaagc ggaagactga atgcctctct ggacaagagc 1260
agcggaagat ctaccctgta tattgccgcc tctcagcctg gagattctgc cacatatctg 1320
tgtgccgtgg agggagatag cagctataag ctgatcttcg gcagcggcac aagattactg 1380
gtgagacctg acatccagaa ccctgatacct gctgtgtacc agctgcggga cagcaagagc 1440
agcgacaaga gcgtgtgcct gttcacgcac ttcgacagcc agaccaacgt gtcccagagc 1500
aaggacagcg acgtgtacat caccgataag tgcgtgctgg acatgcggag catggacttc 1560
aagagcaaca gcgccgtggc ctgggtccaac aagagcgact tcgcctgcgc caacgccttc 1620
aacaacagca ttatccccga ggacacattc ttcccaagcc ccgagagcag ctgcgacgtg 1680
aagctggtgg aaaagagctt cgagacagac accaacctga acttccagaa cctcagcgtg 1740
atcggttcc ggatcctgct gctgaaggtg gccggttca acctgctgat gaccctgcgg 1800
ctgtggtcca gctga 1815

<210> 174

<211> 604

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 1号构建体;在β和α链恒定结构域中有半胱氨酸取代的β链-P2A-α链域

<400> 174

Met	Gly	Pro	Gly	Leu	Leu	Cys	Trp	Ala	Leu	Leu	Cys	Leu	Leu	Gly	Ala
1				5				10						15	
Gly	Leu	Val	Asp	Ala	Gly	Val	Thr	Gln	Ser	Pro	Thr	His	Leu	Ile	Lys
			20					25					30		
Thr	Arg	Gly	Gln	Gln	Val	Thr	Leu	Arg	Cys	Ser	Pro	Lys	Ser	Gly	His
			35				40					45			
Asp	Thr	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Ala	Leu	Gly	Gln	Gly	Pro	Gln	Phe
			50			55						60			
Ile	Phe	Gln	Tyr	Tyr	Glu	Glu	Glu	Arg	Gln	Arg	Gly	Asn	Phe	Pro	
65				70				75					80		
Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	His	Gln	Phe	Pro	Asn	Tyr	Ser	Ser	Glu	Leu	Asn
				85				90					95		
Val	Asn	Ala	Leu	Leu	Leu	Gly	Asp	Ser	Ala	Leu	Tyr	Leu	Cys	Ala	Ser
				100				105					110		
Ser	Phe	Phe	Ser	Gln	Glu	Thr	Gln	Tyr	Phe	Gly	Pro	Gly	Thr	Arg	Leu
				115				120					125		
Leu	Val	Leu	Glu	Asp	Leu	Lys	Asn	Val	Phe	Pro	Pro	Glu	Val	Ala	Val

130	135	140
Phe Glu Pro Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu		
145	150	155
Val Cys Leu Ala Thr Gly Phe Tyr Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp		
165	170	175
Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Cys Thr Asp Pro Gln		
180	185	190
Pro Leu Lys Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser		
195	200	205
Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His		
210	215	220
Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp		
225	230	235
Thr Gln Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala		
245	250	255
Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Glu Ser Tyr Gln Gln Gly		
260	265	270
Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr		
275	280	285
Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys		
290	295	300
Arg Lys Asp Ser Arg Gly Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu		
305	310	315
Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Glu Thr Leu		
325	330	335
Leu Gly Leu Leu Ile Leu Trp Leu Gln Leu Gln Trp Val Ser Ser Lys		
340	345	350
Gln Glu Val Thr Gln Ile Pro Ala Ala Leu Ser Val Pro Glu Gly Glu		
355	360	365
Asn Leu Val Leu Asn Cys Ser Phe Thr Asp Ser Ala Ile Tyr Asn Leu		
370	375	380
Gln Trp Phe Arg Gln Asp Pro Gly Lys Gly Leu Thr Ser Leu Leu Leu		
385	390	395
Ile Gln Ser Ser Gln Arg Glu Gln Thr Ser Gly Arg Leu Asn Ala Ser		
405	410	415
Leu Asp Lys Ser Ser Gly Arg Ser Thr Leu Tyr Ile Ala Ala Ser Gln		
420	425	430
Pro Gly Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Val Glu Gly Asp Ser Ser		
435	440	445

Tyr Lys Leu Ile Phe Gly Ser Gly Thr Arg Leu Leu Val Arg Pro Asp
 450 455 460
 Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys Ser
 465 470 475 480
 Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Thr Asn
 485 490 495
 Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys Cys Val
 500 505 510
 Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val Ala Trp
 515 520 525
 Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn Ser Ile
 530 535 540
 Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val
 545 550 555 560
 Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln
 565 570 575
 Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly
 580 585 590
 Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
 595 600

<210> 175

<211> 1824

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 2号构建体;在β和α链恒定结构域中有半胱氨酸取代的β链-P2A-α链

<400> 175

atgggcacca gactgctgtg ttgggctgct ctgtgtctgc tgggagccga tcatacaggt 60
 gccggtgtca gccagacacc tagcaacaaa gtgaccgaga agggcaaata cgtggaactg 120
 agatgcgacc ccatcagcgg acacacagcc ctgtactggg acagacagtc tctcggccag 180
 ggacctgagt tcctgatcta cttccaaggc accggcgctg ccgatgatag cggcctgcct 240
 aacgatagat tcttcgccgt cagacccgag ggcagcgtgt ccacactgaa gatccagaga 300
 accgagaggg gcgacagcgc cgtgtatctg tgtgcctctt ctctgtcttg cctcggtctt 360
 ggcgctaacg tgctgacatt tggcgccgga agcagactga ccgtgctgga agatctgaag 420
 aacgtgttcc cacctgaggt ggccgtgttc gaggcttctg aggccgagat cagccacaca 480
 cagaaagcca cactcgtgtg tctggccacc ggcttctatc ccgacctgtt ggaactgtct 540
 tgggtgggtca acggcaaaga ggtgcacagc ggcgctctgta cagatcccca gcctctgaaa 600
 gaacagcccc ctctgaacga cagccggtac tgtctgtcct ccagactgag agtgtccgcc 660

accttctggc agaaccccag aaaccacttc agatgccagg tgcagttcta cggcctgagc 720
 gagaacgatg agtggacca ggatagagcc aagcctgtga cacagatcgt gtctgccgaa 780
 gcctggggca gagccgattg tggctttacc agcgagagct accagcaggg cgtgctgtct 840
 gccacaatcc tgtacgagat cctgctgggc aaagccactc tgtacgccgt gctggtgtct 900
 gccctgggtc tgatggccat ggtcaagcgg aaggacagca gaggcggttc cggagccacg 960
 aacttctctc tgtaaagca agcaggagac gtggaagaaa accccggtcc catggaaaca 1020
 ctgctgggcc tgctgacct gtggctgcaa ctgcaatggg tgtccagcaa gcaagaagtg 1080
 acacagatcc ctgccgctct gtctgtgcct gagggcgaaa acctggtgct gaactgcagc 1140
 ttcaccgaca gcgccatcta caacctgcag tggttcagac aggaccccgg caagggactg 1200
 acaagcctgc tgctgattca gagcagccag agagagcaga ccagcggcag actgaatgcc 1260
 agcctggata agtcctccgg cagaagcacc ctgtatatcg ccgtttctca gcctggcgat 1320
 agcggccacat atctgtgtgc cgtgatcggc gagcagaact tcgtgtttgg ccctggcaca 1380
 agactgagcg tgctgcccta cattcagaac cccgatcctg ccgtgtacca gctgcgggac 1440
 agcaagagca gcgacaagag cgtgtgcctg ttcaccgact tcgacagcca gaccaacgtg 1500
 tcccagagca aggacagcga cgtgtacatc accgataagt gcgtgctgga catgcggagc 1560
 atggacttca agagcaacag cgccgtggcc tggccaaca agagcgactt cgctgcgcc 1620
 aacgccttca acaacagcat tatccccgag gacacattct tccaagccc cgagagcagc 1680
 tgcgacgtga agctgggtga aaagagcttc gagacagaca ccaacctgaa cttccagaac 1740
 ctcagcgtga tcggcttcgg gatcctgctg ctgaaggtgg ccggcttcaa cctgctgatg 1800
 accctgcggc tgtggtccag ctga 1824

<210> 176

<211> 607

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 2号构建体

多肽;在β和α链恒定结构域中有半胱氨酸取代的β链-P2A-α链

<400> 176

Met	Gly	Thr	Arg	Leu	Leu	Cys	Trp	Ala	Ala	Leu	Cys	Leu	Leu	Gly	Ala
1				5				10						15	
Asp	His	Thr	Gly	Ala	Gly	Val	Ser	Gln	Thr	Pro	Ser	Asn	Lys	Val	Thr
			20					25					30		
Glu	Lys	Gly	Lys	Tyr	Val	Glu	Leu	Arg	Cys	Asp	Pro	Ile	Ser	Gly	His
			35					40					45		
Thr	Ala	Leu	Tyr	Trp	Tyr	Arg	Gln	Ser	Leu	Gly	Gln	Gly	Pro	Glu	Phe
			50					55					60		
Leu	Ile	Tyr	Phe	Gln	Gly	Thr	Gly	Ala	Ala	Asp	Asp	Ser	Gly	Leu	Pro
65				70				75					80		
Asn	Asp	Arg	Phe	Phe	Ala	Val	Arg	Pro	Glu	Gly	Ser	Val	Ser	Thr	Leu

				85					90					95			
Lys	Ile	Gln	Arg	Thr	Glu	Arg	Gly	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Leu	Cys	Ala		
				100				105					110				
Ser	Ser	Leu	Ser	Gly	Leu	Gly	Ser	Gly	Ala	Asn	Val	Leu	Thr	Phe	Gly		
				115				120					125				
Ala	Gly	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Leu	Glu	Asp	Leu	Lys	Asn	Val	Phe	Pro		
				130				135					140				
Pro	Glu	Val	Ala	Val	Phe	Glu	Pro	Ser	Glu	Ala	Glu	Ile	Ser	His	Thr		
145					150					155					160		
Gln	Lys	Ala	Thr	Leu	Val	Cys	Leu	Ala	Thr	Gly	Phe	Tyr	Pro	Asp	His		
				165						170				175			
Val	Glu	Leu	Ser	Trp	Trp	Val	Asn	Gly	Lys	Glu	Val	His	Ser	Gly	Val		
				180						185				190			
Cys	Thr	Asp	Pro	Gln	Pro	Leu	Lys	Glu	Gln	Pro	Ala	Leu	Asn	Asp	Ser		
				195				200					205				
Arg	Tyr	Cys	Leu	Ser	Ser	Arg	Leu	Arg	Val	Ser	Ala	Thr	Phe	Trp	Gln		
				210				215					220				
Asn	Pro	Arg	Asn	His	Phe	Arg	Cys	Gln	Val	Gln	Phe	Tyr	Gly	Leu	Ser		
225					230					235				240			
Glu	Asn	Asp	Glu	Trp	Thr	Gln	Asp	Arg	Ala	Lys	Pro	Val	Thr	Gln	Ile		
				245						250				255			
Val	Ser	Ala	Glu	Ala	Trp	Gly	Arg	Ala	Asp	Cys	Gly	Phe	Thr	Ser	Glu		
				260				265					270				
Ser	Tyr	Gln	Gln	Gly	Val	Leu	Ser	Ala	Thr	Ile	Leu	Tyr	Glu	Ile	Leu		
				275				280					285				
Leu	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Tyr	Ala	Val	Leu	Val	Ser	Ala	Leu	Val	Leu		
				290				295					300				
Met	Ala	Met	Val	Lys	Arg	Lys	Asp	Ser	Arg	Gly	Gly	Ser	Gly	Ala	Thr		
305					310					315				320			
Asn	Phe	Ser	Leu	Leu	Lys	Gln	Ala	Gly	Asp	Val	Glu	Glu	Asn	Pro	Gly		
				325						330				335			
Pro	Met	Glu	Thr	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Ile	Leu	Trp	Leu	Gln	Leu	Gln		
				340						345				350			
Trp	Val	Ser	Ser	Lys	Gln	Glu	Val	Thr	Gln	Ile	Pro	Ala	Ala	Leu	Ser		
				355						360				365			
Val	Pro	Glu	Gly	Glu	Asn	Leu	Val	Leu	Asn	Cys	Ser	Phe	Thr	Asp	Ser		
				370						375				380			
Ala	Ile	Tyr	Asn	Leu	Gln	Trp	Phe	Arg	Gln	Asp	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu		
385					390					395				400			

Thr Ser Leu Leu Leu Ile Gln Ser Ser Gln Arg Glu Gln Thr Ser Gly		
405	410	415
Arg Leu Asn Ala Ser Leu Asp Lys Ser Ser Gly Arg Ser Thr Leu Tyr		
420	425	430
Ile Ala Ala Ser Gln Pro Gly Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Val		
435	440	445
Ile Gly Glu Gln Asn Phe Val Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Ser Val		
450	455	460
Leu Pro Tyr Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp		
465	470	475
Ser Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser		
485	490	495
Gln Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp		
500	505	510
Lys Cys Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala		
515	520	525
Val Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn		
530	535	540
Asn Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser		
545	550	555
Cys Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu		
565	570	575
Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys		
580	585	590
Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser		
595	600	605

<210> 177

<211> 1818

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 3号构建体;在β和α链恒定结构域中有半胱氨酸取代的β链-P2A-α链

<400> 177

```

atgggcacca gactgctgtg ttgggccgct ctgtgtctgc tgggcgccga tcatacaggc 60
gctggcggtgt ccagaccccc cagcaacaaa gtgaccgaga agggcaaata cgtggaactg 120
agatgcgacc ccatcagcgg ccacaccgcc ctgtactggt acagacagtc tctgggccag 180
ggccccgagt tcctgatata ttttcagggc accggcgctg cgcacgacag cggcctgcct 240
aacgatagat tcttcgccgt gcggccccgag ggcagcgtgt ccacactgaa gatccagaga 300

```

accgagcggg gcgacagcgc cgtgtatctg tgtgccagca gcctgaatat gaacaccgag 360
 gcattctttg ggcagggcac ccggctgacc gtggtggaag atctgaacaa ggtgttcccc 420
 ccagagggtg ccgtgttcga gccttctgag gccgagatca gccacacca gaaagccacc 480
 ctcgtgtgcc tggccaccgg ctttttcccc gaccatgtgg aactgtcttg gtgggtcaac 540
 ggcaaagagg tgcacagcgg agtgtgcacc gaccctcagc ccctgaaaga acagcccgcc 600
 ctgaacgaca gccggtactg cctgagcagc agactgagag tgtccgccac cttctggcag 660
 aacccccgga accacttcag atgccagggt cagttctacg gcctgagcga gaacgacgag 720
 tggacccagg acagagccaa gcccgtgacc cagatcgtgt ctgccgaagc ctggggcaga 780
 gccgattgcg gctttacctc cgtgtcctat cagcaggcg tgctgagcgc caccatcctg 840
 tacgagatcc tgctgggcaa ggccaccctg tacgccgtgc tgggtgtctgc cctggtgctg 900
 atggccatgg tcaagcggaa ggacttcggt tccggagcca cgaacttctc tctgttaaag 960
 caagcaggag acgtggaaga aaaccccggt cccatgatga agtccttgcg ggtgctgctc 1020
 gtgatcctgt ggctgcagct gtcttgggtg tggctccagc agaaagaggt ggaacagaac 1080
 agcggccctc tgagcgtgcc agaggcgcc attgctagcc tgaattgcac ctacagcgac 1140
 cggggcagcc agagcttctt ctggtatcgg cagtacagcg gcaagagccc cgagctgac 1200
 atgagcatct acagcaacgg cgacaaagag gacggccggt tcaccgcca gctgaacaaa 1260
 gccagccagt acgtgtcact gctgatccgg gacagccagc ccagcgatag cgccacatac 1320
 ctgtgcgccg tggatagcgg cggctaccag aaagtacct tcggcaccgg caccaagctg 1380
 caagtgatcc ccaacatcca gaaccccgac cccgctgtgt accagctgcg ggacagcaag 1440
 agcagcgaca agagcgtgtg cctgttcacc gacttcgaca gccagaccaa cgtgtccag 1500
 agcaaggaca gcgacgtgta catcacgat aagtgcgtgc tggacatgcg gagcatggac 1560
 ttcaagagca acagcgccgt ggctgtgtcc aacaagagcg acttcgcctg cgccaacgcc 1620
 ttcaacaaca gcattatccc cgaggacaca ttcttccaa gcccagagag cagctgcgac 1680
 gtgaagctgg tggaaaagag cttcgagaca gacaccaacc tgaacttcca gaacctcagc 1740
 gtgatcggct tccggatcct gctgctgaag gtggccggct tcaacctgct gatgaccctg 1800
 cggctgtggt ccagctga 1818

<210> 178

<211> 605

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 3号构建体;在 β 和 α 链恒定结构域中有半胱氨酸取代的 β 链-P2A- α 链

<400> 178

Met Gly Thr Arg Leu Leu Cys Trp Ala Ala Leu Cys Leu Leu Gly Ala

1 5 10 15

Asp His Thr Gly Ala Gly Val Ser Gln Thr Pro Ser Asn Lys Val Thr

20 25 30

Glu Lys Gly Lys Tyr Val Glu Leu Arg Cys Asp Pro Ile Ser Gly His

35	40	45
Thr Ala Leu Tyr Trp Tyr Arg Gln Ser Leu Gly Gln Gly Pro Glu Phe		
50	55	60
Leu Ile Tyr Phe Gln Gly Thr Gly Ala Ala Asp Asp Ser Gly Leu Pro		
65	70	75
Asn Asp Arg Phe Phe Ala Val Arg Pro Glu Gly Ser Val Ser Thr Leu		
85	90	95
Lys Ile Gln Arg Thr Glu Arg Gly Asp Ser Ala Val Tyr Leu Cys Ala		
100	105	110
Ser Ser Leu Asn Met Asn Thr Glu Ala Phe Phe Gly Gln Gly Thr Arg		
115	120	125
Leu Thr Val Val Glu Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro Pro Glu Val Ala		
130	135	140
Val Phe Glu Pro Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr		
145	150	155
Leu Val Cys Leu Ala Thr Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser		
165	170	175
Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Cys Thr Asp Pro		
180	185	190
Gln Pro Leu Lys Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu		
195	200	205
Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn		
210	215	220
His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu		
225	230	235
Trp Thr Gln Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu		
245	250	255
Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln		
260	265	270
Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala		
275	280	285
Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val		
290	295	300
Lys Arg Lys Asp Phe Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys		
305	310	315
Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Met Lys Ser Leu		
325	330	335
Arg Val Leu Leu Val Ile Leu Trp Leu Gln Leu Ser Trp Val Trp Ser		
340	345	350

Gln Gln Lys Glu Val Glu Gln Asn Ser Gly Pro Leu Ser Val Pro Glu		
355	360	365
Gly Ala Ile Ala Ser Leu Asn Cys Thr Tyr Ser Asp Arg Gly Ser Gln		
370	375	380
Ser Phe Phe Trp Tyr Arg Gln Tyr Ser Gly Lys Ser Pro Glu Leu Ile		
385	390	395
Met Ser Ile Tyr Ser Asn Gly Asp Lys Glu Asp Gly Arg Phe Thr Ala		
405	410	415
Gln Leu Asn Lys Ala Ser Gln Tyr Val Ser Leu Leu Ile Arg Asp Ser		
420	425	430
Gln Pro Ser Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Val Asp Ser Gly Gly		
435	440	445
Tyr Gln Lys Val Thr Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Gln Val Ile Pro		
450	455	460
Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys		
465	470	475
Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Thr		
485	490	495
Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys Cys		
500	505	510
Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val Ala		
515	520	525
Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn Ser		
530	535	540
Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp		
545	550	555
Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe		
565	570	575
Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala		
580	585	590
Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser		
595	600	605

<210> 179

<211> 1812

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 10号构建体;在β和α链恒定结构域中有半胱氨酸取代的β链-P2A-α链

<400> 179

```

atggggcacca gactgctgtg ttggggccgct ctgtgtctgc tgggcgcccga tcatacaggc 60
gctggcggtgt cccagacccc cagcaacaaa gtgaccgaga agggcaaata cgtggaactg 120
agatgcgacc ccatcagcgg ccacaccgcc ctgtactggt acagacagtc tctgggccag 180
ggccccgagt tcctgatata ttttcagggc accggcgctg ccgacgacag cggcctgcct 240
aacgatagat tcttcgccgt gcggccccgag ggcagcgtgt ccacactgaa gatccagaga 300
accgagcggg gcgacagcgc cgtgtatctg tgtgccagca gcctgaatat gaacaccgag 360
gcattctttg ggcaggggcac ccggctgacc gtggtggaag atctgaacaa ggtgttcccc 420
ccagaggtgg ccgtgttcga gccttctgag gccgagatca gccacacca gaaagccacc 480
ctcgtgtgcc tggccaccgg ctttttcccc gaccatgtgg aactgtcttg gtgggtcaac 540
ggcaaagagg tgcacagcgg agtgtgcacc gacctcagc ccctgaaaga acagcccgcc 600
ctgaacgaca gccggtactg cctgagcagc agactgagag tgtccgccac cttctggcag 660
aacccccgga accacttcag atgccaggtg cagttctacg gcctgagcga gaacgacgag 720
tggacccagg acagagccaa gcccgtgacc cagatcgtgt ctgccgaagc ctggggcaga 780
gccgattgcg gctttacctc cgtgtcctat cagcaggcg tgctgagcgc caccatcctg 840
tacgagatcc tgctgggcaa ggccaccctg tacgccgtgc tgggtgtctgc cctggtgctg 900
atggccatgg tcaagcggaa ggacttcggt tccggagcca cgaacttctc tctgttaaag 960
caagcaggag acgtggaaga aaacccccgt cccatggaaa ccctgctggg agtgtccctc 1020
gtgatcctgt ggctgcagct ggccagagtg aacagccagc agggggaaga ggatccccag 1080
gccctgagca ttcaggaagg cgagaacgcc accatgaact gcagctacaa gaccagcatc 1140
aacaacctgc agtggtacag gcagaacagc ggcagaggcc tgggtgcacct gatcctgac 1200
agaagcaacg agagagagaa gcactccgga cggctgagag tgaccctgga cacctccaag 1260
aagtcctcca gcctgctgat caccgccagc agagccgccg ataccgccag ctacttctgc 1320
gccacagacg agagcagcaa ctacaagctg accttcggca agggcacact gctgacagt 1380
aacccaaca tccagaaccc cgaccccgct gtgtaccagc tgcgggacag caagagcagc 1440
gacaagagcg tgtgcctgtt caccgacttc gacagccaga ccaacgtgtc ccagagcaag 1500
gacagcgacg tgtacatcac cgataagtgc gtgctggaca tgcggagcat ggacttcaag 1560
agcaacagcg ccgtggcctg gtccaacaag agcgacttcg cctgcgcca cgccttcaac 1620
aacagcatta tccccgagga cacattcttc ccaagccccg agagcagctg cgacgtgaag 1680
ctggttgaaa agagcttcga gacagacacc aacctgaact tccagaacct cagcgtgac 1740
ggcttccgga tcctgctgct gaaggtggcc ggcttcaacc tgctgatgac cctgcggctg 1800
tggtccagct ga 1812

```

<210> 180

<211> 603

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 10号构建体；在β和α链恒定结构域中有半胱氨酸取代的β链-P2A-α链

<400> 180

Met	Gly	Thr	Arg	Leu	Leu	Cys	Trp	Ala	Ala	Leu	Cys	Leu	Leu	Gly	Ala
1				5				10						15	
Asp	His	Thr	Gly	Ala	Gly	Val	Ser	Gln	Thr	Pro	Ser	Asn	Lys	Val	Thr
			20					25					30		
Glu	Lys	Gly	Lys	Tyr	Val	Glu	Leu	Arg	Cys	Asp	Pro	Ile	Ser	Gly	His
		35					40					45			
Thr	Ala	Leu	Tyr	Trp	Tyr	Arg	Gln	Ser	Leu	Gly	Gln	Gly	Pro	Glu	Phe
	50					55					60				
Leu	Ile	Tyr	Phe	Gln	Gly	Thr	Gly	Ala	Ala	Asp	Asp	Ser	Gly	Leu	Pro
65				70				75					80		
Asn	Asp	Arg	Phe	Phe	Ala	Val	Arg	Pro	Glu	Gly	Ser	Val	Ser	Thr	Leu
			85					90					95		
Lys	Ile	Gln	Arg	Thr	Glu	Arg	Gly	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Leu	Cys	Ala
		100						105					110		
Ser	Ser	Leu	Asn	Met	Asn	Thr	Glu	Ala	Phe	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Arg
		115					120					125			
Leu	Thr	Val	Val	Glu	Asp	Leu	Asn	Lys	Val	Phe	Pro	Pro	Glu	Val	Ala
		130					135				140				
Val	Phe	Glu	Pro	Ser	Glu	Ala	Glu	Ile	Ser	His	Thr	Gln	Lys	Ala	Thr
145				150				155					160		
Leu	Val	Cys	Leu	Ala	Thr	Gly	Phe	Phe	Pro	Asp	His	Val	Glu	Leu	Ser
			165					170					175		
Trp	Trp	Val	Asn	Gly	Lys	Glu	Val	His	Ser	Gly	Val	Cys	Thr	Asp	Pro
		180						185					190		
Gln	Pro	Leu	Lys	Glu	Gln	Pro	Ala	Leu	Asn	Asp	Ser	Arg	Tyr	Cys	Leu
		195					200					205			
Ser	Ser	Arg	Leu	Arg	Val	Ser	Ala	Thr	Phe	Trp	Gln	Asn	Pro	Arg	Asn
		210					215				220				
His	Phe	Arg	Cys	Gln	Val	Gln	Phe	Tyr	Gly	Leu	Ser	Glu	Asn	Asp	Glu
225				230						235				240	
Trp	Thr	Gln	Asp	Arg	Ala	Lys	Pro	Val	Thr	Gln	Ile	Val	Ser	Ala	Glu
			245						250					255	
Ala	Trp	Gly	Arg	Ala	Asp	Cys	Gly	Phe	Thr	Ser	Val	Ser	Tyr	Gln	Gln
		260						265					270		
Gly	Val	Leu	Ser	Ala	Thr	Ile	Leu	Tyr	Glu	Ile	Leu	Leu	Gly	Lys	Ala
		275					280						285		
Thr	Leu	Tyr	Ala	Val	Leu	Val	Ser	Ala	Leu	Val	Leu	Met	Ala	Met	Val
		290					295					300			

Lys Arg Lys Asp Phe Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys			
305	310	315	320
Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Glu Thr Leu Leu			
	325	330	335
Gly Val Ser Leu Val Ile Leu Trp Leu Gln Leu Ala Arg Val Asn Ser			
	340	345	350
Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser Ile Gln Glu Gly Glu			
	355	360	365
Asn Ala Thr Met Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ser Ile Asn Asn Leu Gln			
	370	375	380
Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val His Leu Ile Leu Ile			
385	390	395	400
Arg Ser Asn Glu Arg Glu Lys His Ser Gly Arg Leu Arg Val Thr Leu			
	405	410	415
Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Leu Ile Thr Ala Ser Arg Ala			
	420	425	430
Ala Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Glu Ser Ser Asn Tyr			
	435	440	445
Lys Leu Thr Phe Gly Lys Gly Thr Leu Leu Thr Val Asn Pro Asn Ile			
	450	455	460
Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys Ser Ser			
465	470	475	480
Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Thr Asn Val			
	485	490	495
Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys Cys Val Leu			
	500	505	510
Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val Ala Trp Ser			
	515	520	525
Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn Ser Ile Ile			
	530	535	540
Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val Lys			
545	550	555	560
Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln Asn			
	565	570	575
Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe			
	580	585	590
Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser			
	595	600	

<210> 181

<211> 1818

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 7号构建体；在β和α链恒定结构域中有半胱氨酸取代的β链-P2A-α链

<400> 181

```

atgagcaacc aggtcttgtg ctgtgtggtg ctgtgctttc ttggcgccaa tacagtggat 60
ggcggcatta cacagagccc taagtacctg ttccggaaag aaggccagaa cgtgacactg 120
tcttgcgagc aaaacctgaa ccacgatgcc atgtactggt acagacagga tcctggacag 180
ggacttaggc tgatctacta tagccagatc gtgaacgact tccagaaggg cgatattgcc 240
gagggctatt ctgtgtctcg ggagaaaaag gagagcttcc ctctgacagt gacatctgcc 300
cagaagaatc ctaccgcctt ctacctttgt gccagctctc tgaatcgggg cagatacgga 360
tacacctttg gatctggcac cagactgaca gtggtggaag atctgaacaa ggtgttcccc 420
ccagagggtg ccgtgttcga gccttctgag gccgagatct cccacacca gaaagccacc 480
ctcgtgtgcc tggccaccgg ctttttcccc gaccacgtgg aactgtcttg gtgggtcaac 540
ggcaaagagg tgcactccgg cgtgtgcacc gatccccagc ctctgaaaga acagcccgcc 600
ctgaacgaca gccggtactg cctgagcagc agactgagag tgtccgccac cttctggcag 660
aacccccgga accacttcag atgccagggt cagttctacg gcctgagcga gaacgacgag 720
tggacccagg acagagccaa gcccgtgaca cagatcgtgt ctgccgaagc ctggggcaga 780
gccgattgag gctttacctc cgtgtcctat cagcaggggc tgctgagcgc cacaatcctg 840
tacgagatcc tgctgggcaa ggccaccctg tacgccgtgc tgggtgtctgc cctggtgctg 900
atggccatgg tcaagcggaa ggacttcggt tccggagcca cgaacttctc tctgttaaag 960
caagcaggag acgtggaaga aaacccccgt cccatggaga agaaccctt tgcagcacct 1020
ctgcttattc tgtggttcca cctggattgc gtgagctcta tcctgaatgt ggagcagtct 1080
cctcagtctc tgcatgttca ggaaggcgat agcaccaact tcacctgtag ctttcccagc 1140
agcaacttct atgccctgca ctggtacaga tgggaaacag ccaaagccc tgaagccctg 1200
ttcgtgatga cccttaatgg cgatgagaag aagaagggcc ggatttctgc caccctgaat 1260
acaaaagagg gctacagcta cctgtacatc aagggatctc agcctgagga tagcgccaca 1320
tatctgtgtg cctatctggg agccggcaat cagttctatt tcggaacagg caccagcctg 1380
accgtgattc ctaatatcca gaacccgat cctgccgtgt accagctgcg ggacagcaag 1440
agcagcgaca agagcgtgtg cctgttcacc gacttcgaca gccagacca cgtgtcccag 1500
agcaaggaca gcgacgtgta catcacgat aagtgcgtgc tggacatgcg gagcatggac 1560
ttcaagagca acagcgccgt ggcttggtcc aacaagagcg acttcgcctg cgccaacgcc 1620
ttcaacaaca gcattatccc cgaggacaca ttcttcccaa gccccgagag cagctgcgac 1680
gtgaagctgg tggaaaagag cttcgagaca gacaccaacc tgaacttcca gaacctcagc 1740
gtgatcggtc tccggatcct gctgctgaag gtggccggtc tcaacctgct gatgaccctg 1800
cggctgtggt ccagctga 1818

```

<210> 182

<211> 605
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 密码子优化的TCR 7号构建体;在β和α链恒定结构域中有半胱氨酸取代的β链-P2A-α链
 <400> 182
 Met Ser Asn Gln Val Leu Cys Cys Val Val Leu Cys Phe Leu Gly Ala
 1 5 10 15
 Asn Thr Val Asp Gly Gly Ile Thr Gln Ser Pro Lys Tyr Leu Phe Arg
 20 25 30
 Lys Glu Gly Gln Asn Val Thr Leu Ser Cys Glu Gln Asn Leu Asn His
 35 40 45
 Asp Ala Met Tyr Trp Tyr Arg Gln Asp Pro Gly Gln Gly Leu Arg Leu
 50 55 60
 Ile Tyr Tyr Ser Gln Ile Val Asn Asp Phe Gln Lys Gly Asp Ile Ala
 65 70 75 80
 Glu Gly Tyr Ser Val Ser Arg Glu Lys Lys Glu Ser Phe Pro Leu Thr
 85 90 95
 Val Thr Ser Ala Gln Lys Asn Pro Thr Ala Phe Tyr Leu Cys Ala Ser
 100 105 110
 Ser Leu Asn Arg Gly Arg Tyr Gly Tyr Thr Phe Gly Ser Gly Thr Arg
 115 120 125
 Leu Thr Val Val Glu Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro Pro Glu Val Ala
 130 135 140
 Val Phe Glu Pro Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr
 145 150 155 160
 Leu Val Cys Leu Ala Thr Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser
 165 170 175
 Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Cys Thr Asp Pro
 180 185 190
 Gln Pro Leu Lys Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu
 195 200 205
 Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn
 210 215 220
 His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu
 225 230 235 240
 Trp Thr Gln Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu
 245 250 255

Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln		
260	265	270
Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala		
275	280	285
Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val		
290	295	300
Lys Arg Lys Asp Phe Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys		
305	310	315
Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Glu Lys Asn Pro		
325	330	335
Leu Ala Ala Pro Leu Leu Ile Leu Trp Phe His Leu Asp Cys Val Ser		
340	345	350
Ser Ile Leu Asn Val Glu Gln Ser Pro Gln Ser Leu His Val Gln Glu		
355	360	365
Gly Asp Ser Thr Asn Phe Thr Cys Ser Phe Pro Ser Ser Asn Phe Tyr		
370	375	380
Ala Leu His Trp Tyr Arg Trp Glu Thr Ala Lys Ser Pro Glu Ala Leu		
385	390	395
Phe Val Met Thr Leu Asn Gly Asp Glu Lys Lys Lys Gly Arg Ile Ser		
405	410	415
Ala Thr Leu Asn Thr Lys Glu Gly Tyr Ser Tyr Leu Tyr Ile Lys Gly		
420	425	430
Ser Gln Pro Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Tyr Leu Gly Ala		
435	440	445
Gly Asn Gln Phe Tyr Phe Gly Thr Gly Thr Ser Leu Thr Val Ile Pro		
450	455	460
Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys		
465	470	475
Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Thr		
485	490	495
Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys Cys		
500	505	510
Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val Ala		
515	520	525
Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn Ser		
530	535	540
Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp		
545	550	555
Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe		

	565	570	575
Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala			
	580	585	590
Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser			
	595	600	605
<210> 183			
<211> 1848			
<212> DNA			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 密码子优化的TCR 8号构建体;在β和α链恒定结构域中有半胱氨酸取代的β链-P2A-α链			
<400> 183			
atgggacctg gactgctttg ttgggctctt ctgtgtctgc ttggagctgg actggttgat 60			
gctggagtta cacagagccc tacacacctg atcaagacaa gaggacagca ggtgacctg 120			
agatgtagcc ctaaactctgg ccacgatacc gtgagctggt atcaacaggc tctgggacaa 180			
ggacctcagt tcactcttcca gtactacgag gaggaggaga gacagagagg caatttcctt 240			
gacaggttta gcggacacca gttccccaat tacagctctg agctgaacgt gaatgccctt 300			
cttctgggag attctgccct gtatctgtgt gccagcagct ttagactggc tggaggacct 360			
agcaccgata cacagtatth ttgacctggc accaggctga cagtgttaga agacctgaag 420			
aacgtgttcc cccagaggt ggccgtgttc gaggctagcg aggccgagat cagccacacc 480			
cagaaagcca cctcgtgtg cctggccacc ggcttttacc ccgaccacgt ggaactgtct 540			
tggtgggtca acggcaaaga ggtgcacagc ggctgtctgca ccgaccccca gccctgaaa 600			
gagcagccccg ccctgaacga cagccggtac tgtctgagca gcagactgag agtgtccgcc 660			
accttctggc agaacccccg gaaccacttc agatgccagg tgcagttcta cggcctgagc 720			
gagaacgacg agtggaccca ggaccgggcc aagcccgta cccagatcgt gtctgctgag 780			
gcctggggca gagccgattg cggttcacc agcagagct accagcagg cgtgctgagc 840			
gccaccatcc tgtacgagat cctgctgggc aaggccaccc tgtacgccgt gctggtgtcc 900			
gccctggtgc tgatggccat ggtcaagcgg aaggacagcc gggcggttc cggagccacg 960			
aacttctctc tgtaaagca agcaggagac gtggaagaaa accccggtcc catgttgacc 1020			
gcttctctct tacgtgccgt gattgccagc atctgtgtgg ttagctctat ggcccagaag 1080			
gtgacacaag ctacagacaga gatcagctg gtggagaaag aggatgtgac cctggattgc 1140			
gtgtacgaga ccagagatac cacctaactac ctgttctggt acaagcagcc tccttctgga 1200			
gaactggtgt tcctgatcag acggaacagc ttcgatgagc agaacgagat tagcggcagg 1260			
tatagctgga acttccagaa gagcaccagc agcttcaact tcaccatcac agcctctcag 1320			
gtggtggatt ctgccgtgta cttttgtgcc ctgtctgaac tggcctctgg aggaagctat 1380			
atccctacat tcggcagagg cacaagcctg attgtgcacc cttacatcca gaacctgat 1440			
cctgctgtgt accagctgcg ggacagcaag agcagcgaca agagcgtgtg cctgttcacc 1500			
gacttcgaca gccagaccaa cgtgtcccag agcaaggaca gcgacgtgta catcaccgat 1560			

aagtgcgtgc tggacatgcg gagcatggac ttcaagagca acagcgccgt ggcctggtcc 1620
 aacaagagcg acttcgcctg cgccaacgcc ttcaacaaca gcattatccc cgaggacaca 1680
 ttcttcccaa gccccgagag cagctgcgac gtgaagctgg tggaaaagag cttcgagaca 1740
 gacaccaacc tgaacttcca gaacctcagc gtgatcggct tccggatcct gctgctgaag 1800
 gtggccggct tcaacctgct gatgaccctg cggctgtggt ccagctga 1848

<210> 184

<211> 615

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 8号构建体;在β和α链恒定结构域中有半胱氨酸取代的β链-P2A-α链

<400> 184

Met	Gly	Pro	Gly	Leu	Leu	Cys	Trp	Ala	Leu	Leu	Cys	Leu	Leu	Gly	Ala
1				5					10					15	
Gly	Leu	Val	Asp	Ala	Gly	Val	Thr	Gln	Ser	Pro	Thr	His	Leu	Ile	Lys
			20					25					30		
Thr	Arg	Gly	Gln	Gln	Val	Thr	Leu	Arg	Cys	Ser	Pro	Lys	Ser	Gly	His
			35					40					45		
Asp	Thr	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Ala	Leu	Gly	Gln	Gly	Pro	Gln	Phe
			50					55					60		
Ile	Phe	Gln	Tyr	Tyr	Glu	Glu	Glu	Glu	Arg	Gln	Arg	Gly	Asn	Phe	Pro
65				70					75					80	
Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	His	Gln	Phe	Pro	Asn	Tyr	Ser	Ser	Glu	Leu	Asn
				85					90					95	
Val	Asn	Ala	Leu	Leu	Leu	Gly	Asp	Ser	Ala	Leu	Tyr	Leu	Cys	Ala	Ser
			100						105					110	
Ser	Phe	Arg	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Thr	Asp	Thr	Gln	Tyr	Phe	Gly
			115						120					125	
Pro	Gly	Thr	Arg	Leu	Thr	Val	Leu	Glu	Asp	Leu	Lys	Asn	Val	Phe	Pro
			130						135					140	
Pro	Glu	Val	Ala	Val	Phe	Glu	Pro	Ser	Glu	Ala	Glu	Ile	Ser	His	Thr
145				150						155				160	
Gln	Lys	Ala	Thr	Leu	Val	Cys	Leu	Ala	Thr	Gly	Phe	Tyr	Pro	Asp	His
				165						170				175	
Val	Glu	Leu	Ser	Trp	Trp	Val	Asn	Gly	Lys	Glu	Val	His	Ser	Gly	Val
				180					185					190	
Cys	Thr	Asp	Pro	Gln	Pro	Leu	Lys	Glu	Gln	Pro	Ala	Leu	Asn	Asp	Ser
				195					200					205	

Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln		
210	215	220
Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser		
225	230	235 240
Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile		
	245	250 255
Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Glu		
	260	265 270
Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu		
	275	280 285
Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu		
	290	295 300
Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Ser Arg Gly Gly Ser Gly Ala Thr		
305	310	315 320
Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly		
	325	330 335
Pro Met Leu Thr Ala Ser Leu Leu Arg Ala Val Ile Ala Ser Ile Cys		
	340	345 350
Val Val Ser Ser Met Ala Gln Lys Val Thr Gln Ala Gln Thr Glu Ile		
	355	360 365
Ser Val Val Glu Lys Glu Asp Val Thr Leu Asp Cys Val Tyr Glu Thr		
	370	375 380
Arg Asp Thr Thr Tyr Tyr Leu Phe Trp Tyr Lys Gln Pro Pro Ser Gly		
385	390	395 400
Glu Leu Val Phe Leu Ile Arg Arg Asn Ser Phe Asp Glu Gln Asn Glu		
	405	410 415
Ile Ser Gly Arg Tyr Ser Trp Asn Phe Gln Lys Ser Thr Ser Ser Phe		
	420	425 430
Asn Phe Thr Ile Thr Ala Ser Gln Val Val Asp Ser Ala Val Tyr Phe		
	435	440 445
Cys Ala Leu Ser Glu Leu Ala Ser Gly Gly Ser Tyr Ile Pro Thr Phe		
	450	455 460
Gly Arg Gly Thr Ser Leu Ile Val His Pro Tyr Ile Gln Asn Pro Asp		
465	470	475 480
Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val		
	485	490 495
Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys		
	500	505 510
Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys Cys Val Leu Asp Met Arg Ser		

515	520	525
Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser	Ala Val Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp	
530	535	540
Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn Ser Ile	Ile Pro Glu Asp Thr	
545	550	555
Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val	Lys Leu Val Glu Lys	
565	570	575
Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile		
580	585	590
Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met		
595	600	605
Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser		
610	615	

<210> 185

<211> 1815

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 11号构建体; β 链-P2A- α

链

<400> 185

```

atgggcacca ggctcttctt ctatgtggcc ctttgtctgc tgtgggcagg acacagggat 60
gctggaatca cccagagccc aagatacaag atcacagaga caggaaggca ggtgaccttg 120
atgtgtcacc agacttggag ccacagctat atgttctggt atcgacaaga cctgggacat 180
gggctgaggc tgatctatta ctacagcagct gctgatatta cagataaagg agaagtcccc 240
gatggctatg ttgtctccag atccaagaca gagaatttcc ccctcactct ggagtcagct 300
acccgctccc agacatctgt gtatttctgc gccagcagtg acggggggcg gcagtacttc 360
gggccgggca ccaggctcac ggtcacagag gacctgaaaa acgtgttccc acccgaggtc 420
gctgtgtttg agccatcaga agcagagatc tcccacaccc aaaaggccac actgggtgtgc 480
ctggccacag gcttctaccc cgaccacgtg gagctgagct ggtgggtgaa tgggaaggag 540
gtgcacagtg gggtcagcac agaccgcag cccctcaagg agcagcccgc cctcaatgac 600
tccagatact gcctgagcag ccgctgagg gtctcggcca cttcttgga gaacccccgc 660
aaccacttcc gctgtcaagt ccagttctac gggctctcgg agaatgacga gtggaccagg 720
gatagggcca aacctgtcac ccagatcgtc agcgccgagg cctggggtag agcagactgt 780
ggcttcacct ccgagtctta ccagcaagg gtctgtctg ccaccatcct ctatgagatc 840
ttgctaggga aggccacctt gtatgccgtg ctggctcagtg ccctcgtgct gatggccatg 900
gtcaagagaa aggattccag aggcggttcc ggagccacga acttctctct gttaaagcaa 960
gcaggagacg tggaagaaaa ccccggtccc atgaaaaagc atctgacgac cttcttggtg 1020
atthttgtggc tttatthttta tagggggaat ggcaaaaacc aagtggagca gagtctctcag 1080

```

tccctgatca tcctggaggg aaagaactgc actcttcaat gcaattatac agtgagcccc 1140
 ttcagcaact taaggtggta taagcaagat actgggagag gtcctgtttc cctgacaatc 1200
 atgactttca gtgagaacac aaagtcgaac ggaagatata cagcaactct ggatgcagac 1260
 acaaagcaaa gctctctgca catcacagcc tcccagctca gcgattcagc ctcctacatc 1320
 tgtgtgggtgt gggggggggga caccgacaag ctcatctttg ggactgggac cagattacaa 1380
 gtcttttccaa atatccagaa ccctgaccct gccgtgtacc agctgagaga ctctaaatcc 1440
 agtgacaagt ctgtctgcct attcacgat tttgattctc aaacaaatgt gtcacaaagt 1500
 aaggattctg atgtgtatat cacagacaaa acttggttag acatgaggtc tatggacttc 1560
 aagagcaaca gtgtgtggc ctggagcaac aaatctgact ttgcatgtgc aaacgccttc 1620
 aacaacagca ttattccaga agacaccttc ttccccagcc cagaaagttc ctgtgatgtc 1680
 aagctggtcg agaaaagctt tgaaacagat acgaacctaa actttcaaaa cctgtcagtg 1740
 attgggttcc gaatcctcct cctgaaagtg gccgggttta atctgctcat gacgctgcgg 1800
 ctgtggtcca gctga 1815

<210> 186

<211> 604

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 11号构建体; β 链-P2A- α

链

<400> 186

Met	Gly	Thr	Arg	Leu	Phe	Phe	Tyr	Val	Ala	Leu	Cys	Leu	Leu	Trp	Ala
1				5					10					15	
Gly	His	Arg	Asp	Ala	Gly	Ile	Thr	Gln	Ser	Pro	Arg	Tyr	Lys	Ile	Thr
			20					25					30		
Glu	Thr	Gly	Arg	Gln	Val	Thr	Leu	Met	Cys	His	Gln	Thr	Trp	Ser	His
			35				40					45			
Ser	Tyr	Met	Phe	Trp	Tyr	Arg	Gln	Asp	Leu	Gly	His	Gly	Leu	Arg	Leu
		50				55				60					
Ile	Tyr	Tyr	Ser	Ala	Ala	Ala	Asp	Ile	Thr	Asp	Lys	Gly	Glu	Val	Pro
65				70					75					80	
Asp	Gly	Tyr	Val	Val	Ser	Arg	Ser	Lys	Thr	Glu	Asn	Phe	Pro	Leu	Thr
			85					90					95		
Leu	Glu	Ser	Ala	Thr	Arg	Ser	Gln	Thr	Ser	Val	Tyr	Phe	Cys	Ala	Ser
			100					105					110		
Ser	Asp	Gly	Gly	Gly	Gln	Tyr	Phe	Gly	Pro	Gly	Thr	Arg	Leu	Thr	Val
			115				120					125			
Thr	Glu	Asp	Leu	Lys	Asn	Val	Phe	Pro	Pro	Glu	Val	Ala	Val	Phe	Glu
			130				135					140			

Pro Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys			
145	150	155	160
Leu Ala Thr Gly Phe Tyr Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val			
	165	170	175
Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro Gln Pro Leu			
	180	185	190
Lys Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg			
	195	200	205
Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe Arg			
	210	215	220
Cys Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln			
225	230	235	240
Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly			
	245	250	255
Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Glu Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu			
	260	265	270
Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr			
	275	280	285
Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys			
	290	295	300
Asp Ser Arg Gly Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln			
305	310	315	320
Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Lys Lys His Leu Thr			
	325	330	335
Thr Phe Leu Val Ile Leu Trp Leu Tyr Phe Tyr Arg Gly Asn Gly Lys			
	340	345	350
Asn Gln Val Glu Gln Ser Pro Gln Ser Leu Ile Ile Leu Glu Gly Lys			
	355	360	365
Asn Cys Thr Leu Gln Cys Asn Tyr Thr Val Ser Pro Phe Ser Asn Leu			
	370	375	380
Arg Trp Tyr Lys Gln Asp Thr Gly Arg Gly Pro Val Ser Leu Thr Ile			
385	390	395	400
Met Thr Phe Ser Glu Asn Thr Lys Ser Asn Gly Arg Tyr Thr Ala Thr			
	405	410	415
Leu Asp Ala Asp Thr Lys Gln Ser Ser Leu His Ile Thr Ala Ser Gln			
	420	425	430
Leu Ser Asp Ser Ala Ser Tyr Ile Cys Val Val Trp Gly Gly Asp Thr			
	435	440	445
Asp Lys Leu Ile Phe Gly Thr Gly Thr Arg Leu Gln Val Phe Pro Asn			

450	455	460
Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys Ser		
465	470	475
Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Thr Asn		
485	490	495
Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys Thr Trp		
500	505	510
Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val Ala Trp		
515	520	525
Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn Ser Ile		
530	535	540
Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val		
545	550	555
Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln		
565	570	575
Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly		
580	585	590
Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser		
595	600	

<210> 187

<211> 1812

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 11号构建体;在β和α链恒定结构域中有半胱氨酸取代的β链-P2A-α链

<400> 187

```

atgggcacac ggcttttctt ctacgttgcc ctttgctgc tgtgggctgg acatagagat 60
gctggaatca cacagagccc caggtacaag atcacagaga caggaagaca ggtgaccctg 120
atgtgtcacc aaacatggag ccacagctac atgttctggt acagacagga tctgggacac 180
ggactgagac tgatctacta ttctgctgcc gccgacatca ccgataaagg agaagttcct 240
gacggctacg tgggtgtctag aagcaaaacc gagaacttcc ccctgacact ggaatctgcc 300
acaagatctc agaccagcgt gtacttttgc gcctcttctg atggaggagg ccagtatttt 360
ccaggcacia gactgacagt gaccgaggac ctgaagaacg tgttcccccc agaggtggcc 420
gtgttcgagc ctagcgaggc cgagatcagc cacaccaga aagccaccct cgtgtgcctg 480
gccaccggct tttaccccga ccacgtggaa ctgtcttggt ggggtcaacgg caaagaggtg 540
cacagcggcg tctgcaccga cccccagccc ctgaaagagc agcccgccct gaacgacagc 600
cggtactgtc tgagcagcag actgagagtg tccgccacct tctggcagaa cccccggaac 660
cacttcagat gccagggtgca gttctacggc ctgagcgaga acgacgagtg gaccagagac 720

```

cgggccaagc ccgtgaccca gatcgtgtct gctgaggcct ggggcagagc cgattgcggc 780
 ttcaccagcg agagctacca gcaggcgctg ctgagcgcca ccatcctgta cgagatcctg 840
 ctgggcaagg ccaccctgta cgccgtgctg gtgtccgccc tgggtgctgat ggccatggtc 900
 aagcggaagg acagccgggg cggttccgga gccacgaact tctctctgtt aaagcaagca 960
 ggagacgtgg aagaaaaccc cgggtcccatg aagaagcacc tgaccacgtt cctgggtgatt 1020
 ctttggtgtg acttctaccg gggcaacggc aaaaatcagg tggaacaaag cccccagagc 1080
 ctgattattc tggagggcaa gaactgcacc ctccagtgtg attacaccgt gagccctttc 1140
 agcaacctga gatggtacaa gcaggatacc ggaagaggac ctgtgtctct gaccatcatg 1200
 accttttagcg agaaccacaa gagcaacggc aggtatacag ccacactgga tgccgatacc 1260
 aagcagtctt ctctgcacat taccgctctc cagctgtctg attctgccag ctacatctgt 1320
 gtggtgtggg gaggagatac cgataagctg atctttggca caggcaccag actgcaagtg 1380
 ttccctaaca tccagaaccc tgatcctgcc gtgtaccagc tgcgggacag caagagcagc 1440
 gacaagagcg tgtgcctgtt caccgaattc gacagccaga ccaacgtgtc ccagagcaag 1500
 gacagcgacg tgtacatcac cgataagtgc gtgctggaca tgcggagcat ggacttcaag 1560
 agcaacagcg ccgtggcctg gtccaacaag agcgaattcg cctgcgcca cgccttcaac 1620
 aacagcatta tccccgagga cacattcttc ccaagccccg agagcagctg cgacgtgaag 1680
 ctggtggaaa agagcttcga gacagacacc aacctgaact tccagaacct cagcgtgatc 1740
 ggcttccgga tcctgctgct gaaggtggcc ggcttcaacc tgctgatgac cctgcggctg 1800
 tggtcacgt ga 1812

<210> 188

<211> 603

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 密码子优化的TCR 11号构建体；在β和α链恒定结构域中有半胱氨酸取代的β链-P2A-α链

<400> 188

Met	Gly	Thr	Arg	Leu	Phe	Phe	Tyr	Val	Ala	Leu	Cys	Leu	Leu	Trp	Ala
1				5					10					15	
Gly	His	Arg	Asp	Ala	Gly	Ile	Thr	Gln	Ser	Pro	Arg	Tyr	Lys	Ile	Thr
			20					25					30		
Glu	Thr	Gly	Arg	Gln	Val	Thr	Leu	Met	Cys	His	Gln	Thr	Trp	Ser	His
			35				40					45			
Ser	Tyr	Met	Phe	Trp	Tyr	Arg	Gln	Asp	Leu	Gly	His	Gly	Leu	Arg	Leu
		50				55				60					
Ile	Tyr	Tyr	Ser	Ala	Ala	Ala	Asp	Ile	Thr	Asp	Lys	Gly	Glu	Val	Pro
65				70					75					80	
Asp	Gly	Tyr	Val	Val	Ser	Arg	Ser	Lys	Thr	Glu	Asn	Phe	Pro	Leu	Thr
			85						90					95	

Leu	Glu	Ser	Ala	Thr	Arg	Ser	Gln	Thr	Ser	Val	Tyr	Phe	Cys	Ala	Ser
			100					105					110		
Ser	Asp	Gly	Gly	Gly	Gln	Tyr	Phe	Pro	Gly	Thr	Arg	Leu	Thr	Val	Thr
		115					120					125			
Glu	Asp	Leu	Lys	Asn	Val	Phe	Pro	Pro	Glu	Val	Ala	Val	Phe	Glu	Pro
		130				135					140				
Ser	Glu	Ala	Glu	Ile	Ser	His	Thr	Gln	Lys	Ala	Thr	Leu	Val	Cys	Leu
145					150					155					160
Ala	Thr	Gly	Phe	Tyr	Pro	Asp	His	Val	Glu	Leu	Ser	Trp	Trp	Val	Asn
				165					170					175	
Gly	Lys	Glu	Val	His	Ser	Gly	Val	Cys	Thr	Asp	Pro	Gln	Pro	Leu	Lys
			180					185					190		
Glu	Gln	Pro	Ala	Leu	Asn	Asp	Ser	Arg	Tyr	Cys	Leu	Ser	Ser	Arg	Leu
		195					200						205		
Arg	Val	Ser	Ala	Thr	Phe	Trp	Gln	Asn	Pro	Arg	Asn	His	Phe	Arg	Cys
		210				215					220				
Gln	Val	Gln	Phe	Tyr	Gly	Leu	Ser	Glu	Asn	Asp	Glu	Trp	Thr	Gln	Asp
225					230					235					240
Arg	Ala	Lys	Pro	Val	Thr	Gln	Ile	Val	Ser	Ala	Glu	Ala	Trp	Gly	Arg
				245					250					255	
Ala	Asp	Cys	Gly	Phe	Thr	Ser	Glu	Ser	Tyr	Gln	Gln	Gly	Val	Leu	Ser
			260					265					270		
Ala	Thr	Ile	Leu	Tyr	Glu	Ile	Leu	Leu	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Tyr	Ala
		275					280						285		
Val	Leu	Val	Ser	Ala	Leu	Val	Leu	Met	Ala	Met	Val	Lys	Arg	Lys	Asp
		290					295					300			
Ser	Arg	Gly	Gly	Ser	Gly	Ala	Thr	Asn	Phe	Ser	Leu	Leu	Lys	Gln	Ala
305					310					315					320
Gly	Asp	Val	Glu	Glu	Asn	Pro	Gly	Pro	Met	Lys	Lys	His	Leu	Thr	Thr
			325						330				335		
Phe	Leu	Val	Ile	Leu	Trp	Leu	Tyr	Phe	Tyr	Arg	Gly	Asn	Gly	Lys	Asn
		340						345					350		
Gln	Val	Glu	Gln	Ser	Pro	Gln	Ser	Leu	Ile	Ile	Leu	Glu	Gly	Lys	Asn
		355					360					365			
Cys	Thr	Leu	Gln	Cys	Asn	Tyr	Thr	Val	Ser	Pro	Phe	Ser	Asn	Leu	Arg
		370				375					380				
Trp	Tyr	Lys	Gln	Asp	Thr	Gly	Arg	Gly	Pro	Val	Ser	Leu	Thr	Ile	Met
385					390					395					400
Thr	Phe	Ser	Glu	Asn	Thr	Lys	Ser	Asn	Gly	Arg	Tyr	Thr	Ala	Thr	Leu

405	410	415
Asp Ala Asp Thr Lys Gln Ser Ser Leu His Ile Thr Ala Ser Gln Leu		
420	425	430
Ser Asp Ser Ala Ser Tyr Ile Cys Val Val Trp Gly Gly Asp Thr Asp		
435	440	445
Lys Leu Ile Phe Gly Thr Gly Thr Arg Leu Gln Val Phe Pro Asn Ile		
450	455	460
Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys Ser Ser		
465	470	475
Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Thr Asn Val		
485	490	495
Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys Cys Val Leu		
500	505	510
Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val Ala Trp Ser		
515	520	525
Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn Ser Ile Ile		
530	535	540
Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val Lys		
545	550	555
Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln Asn		
565	570	575
Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe		
580	585	590
Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser		
595	600	

<210> 189

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 11号V β CDR3

<400> 189

Cys Ala Ser Ser Asp Gly Gly Gly Gln Tyr Phe

1

5

10

<210> 190

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> TCR 9号V β CDR3

<400> 190

Ala Ile Leu Asp Gly Glu Gly Ser Pro Leu His

1

5

10

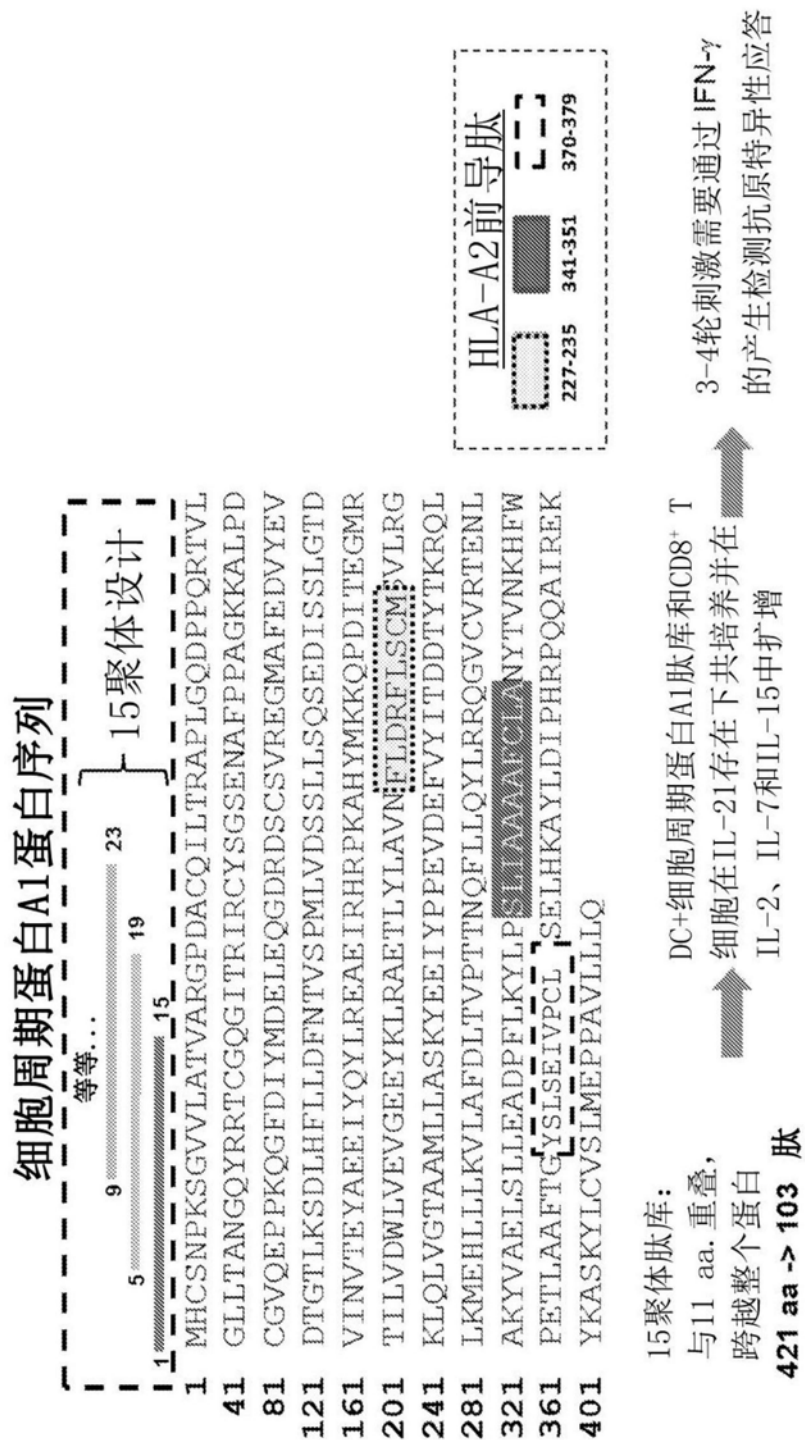


图1

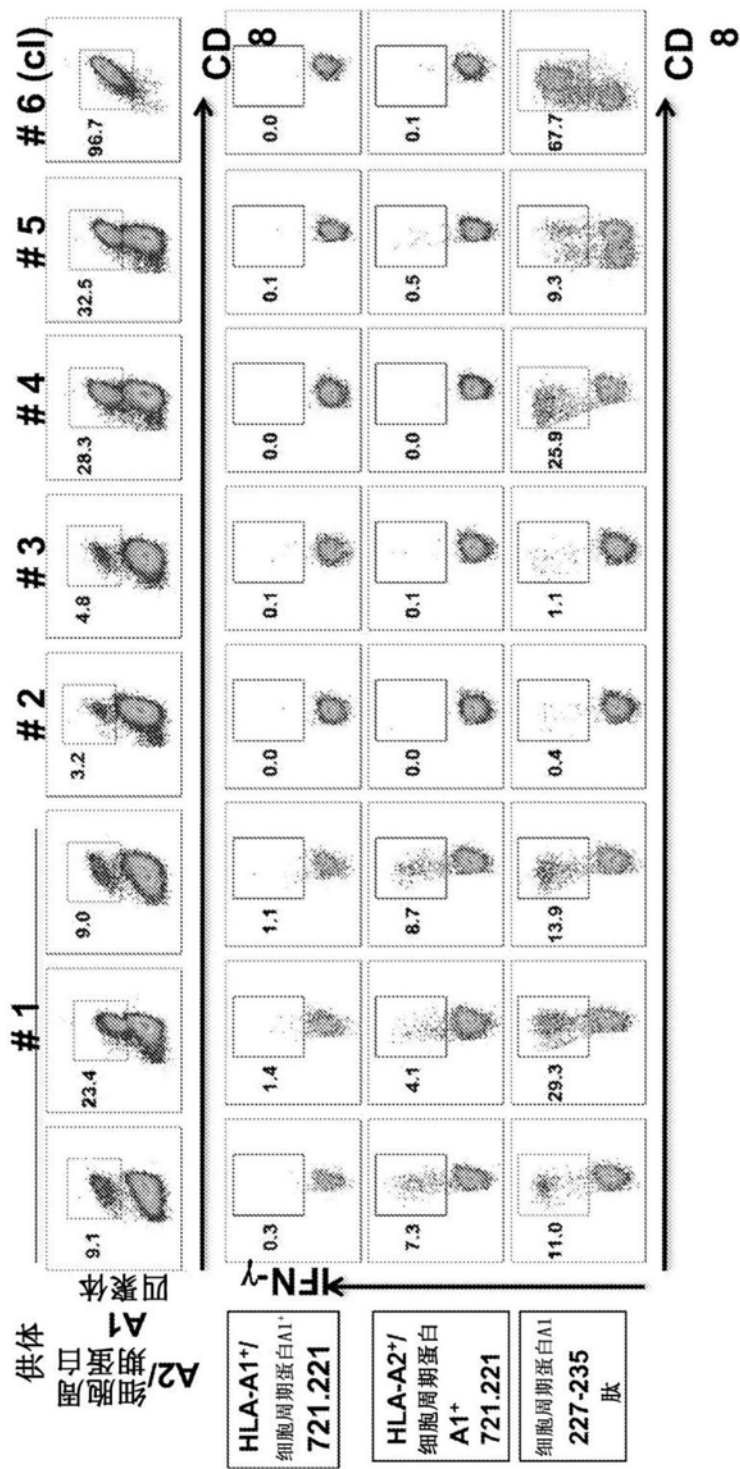


图2

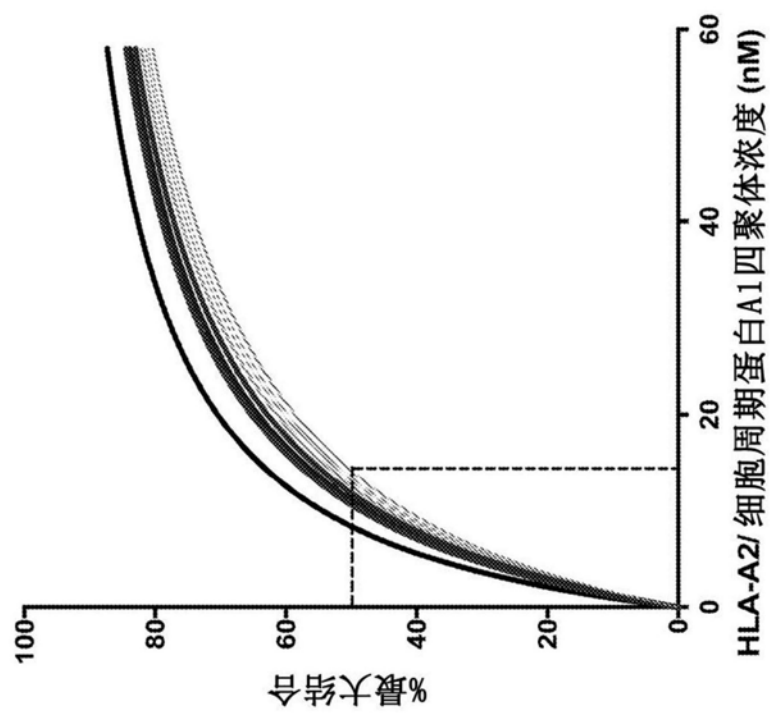


图3A

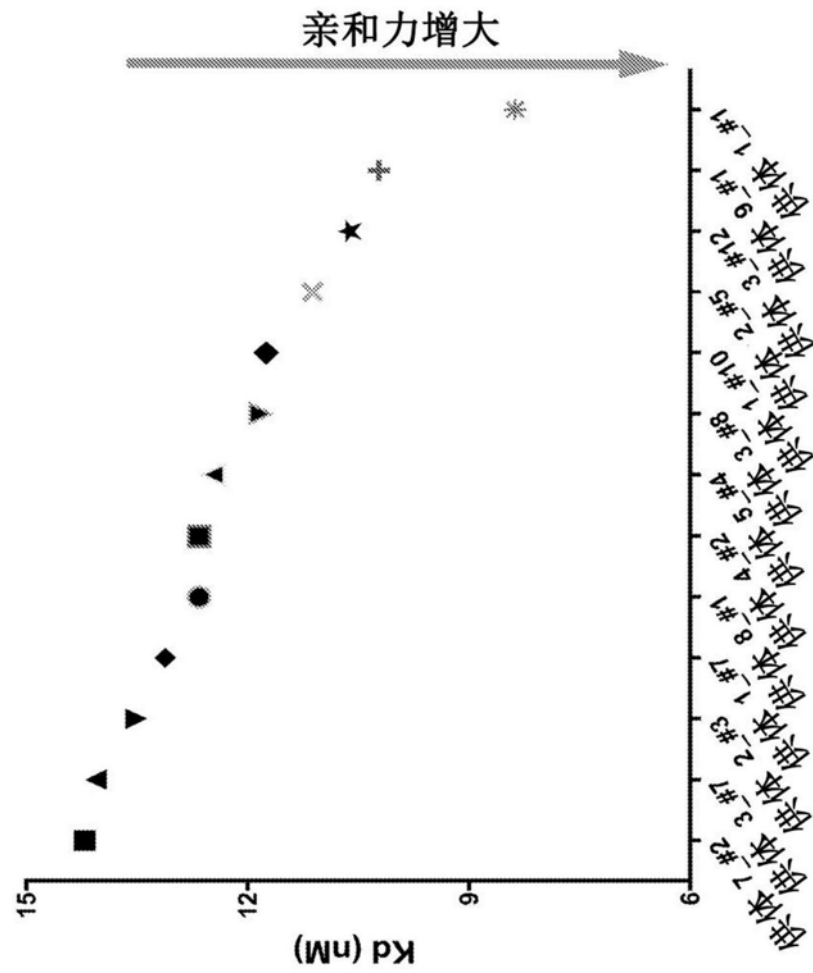


图3B

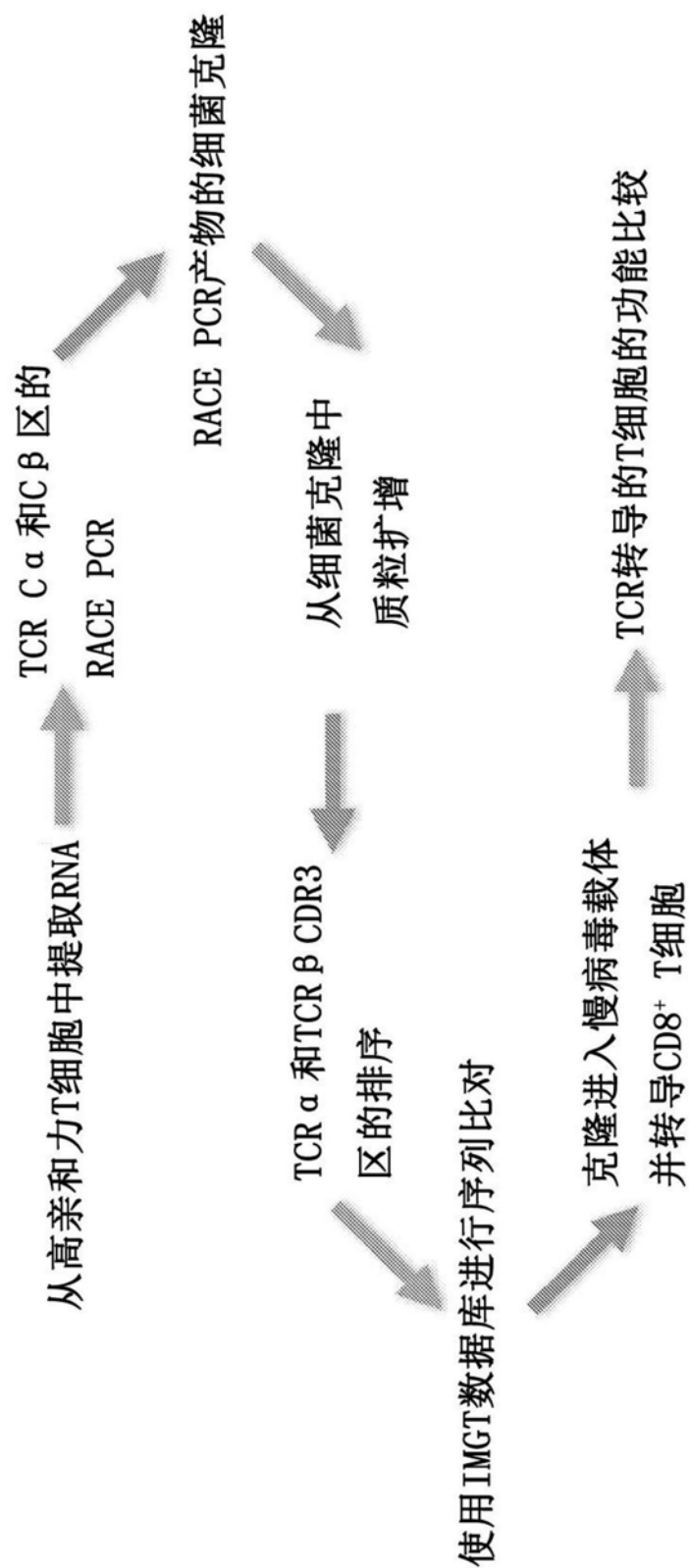


图4

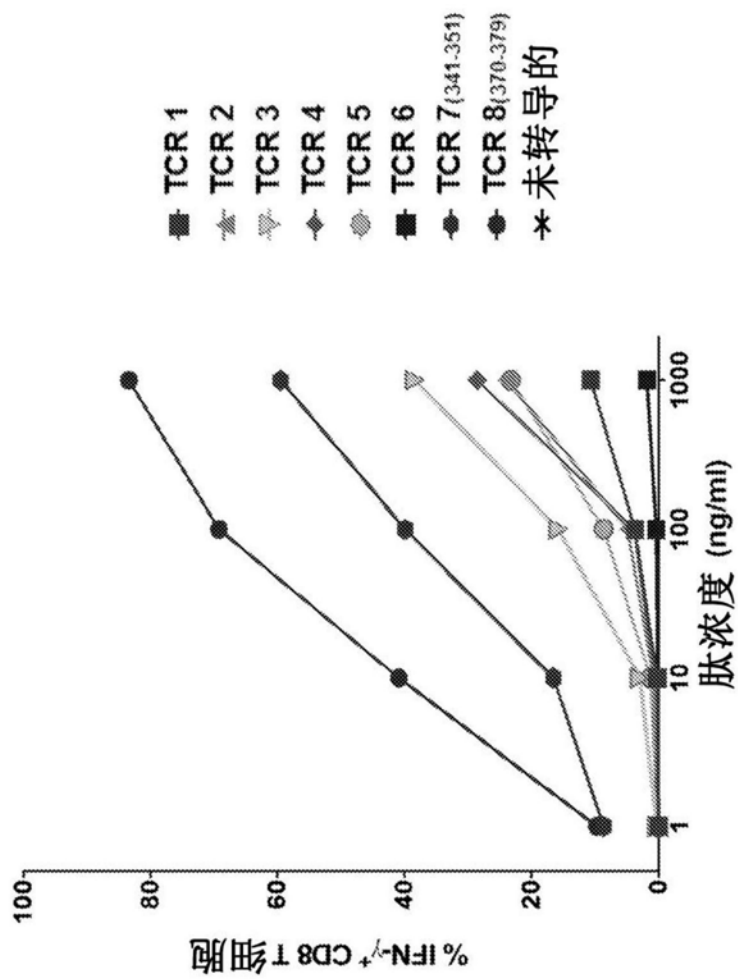


图5A

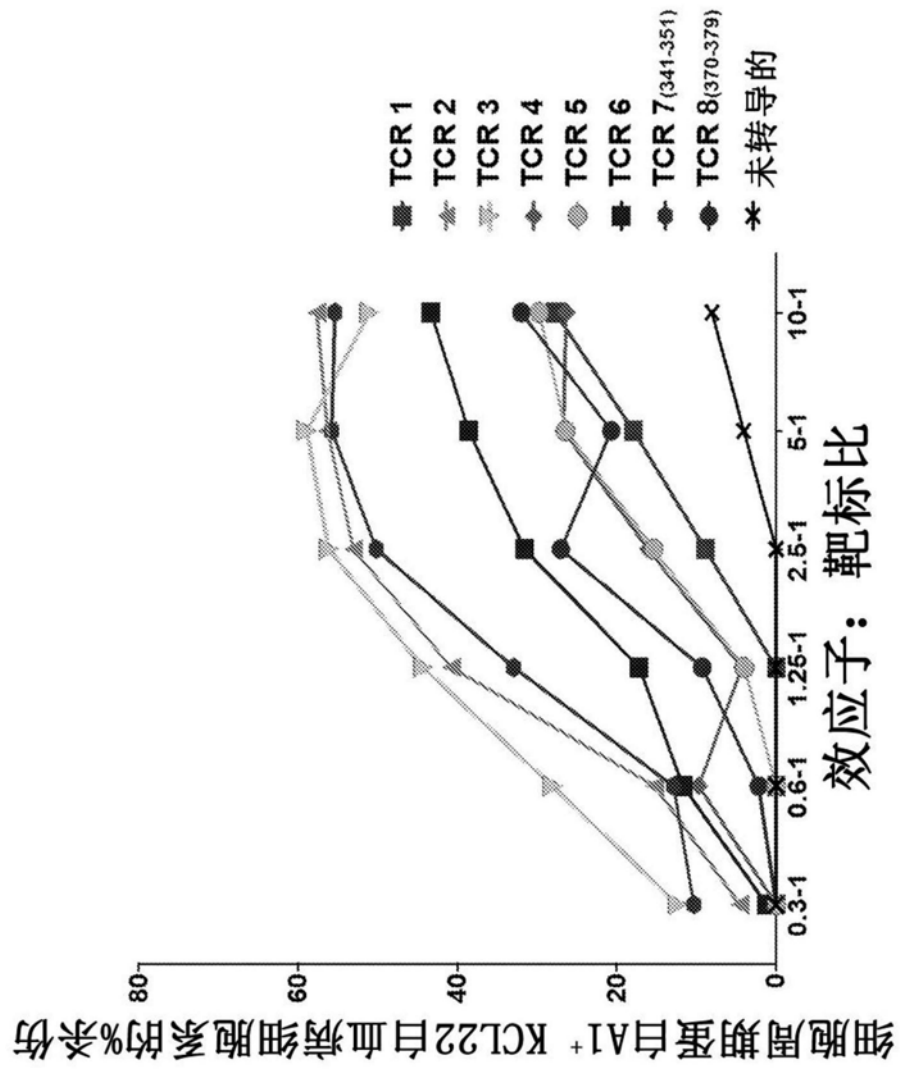


图5B

MHC结合和蛋白酶体裂解预测

算法 分数: 高- >低	肽		
	227-235	341-351	370-379
SYFPEITHI: 结合分数	20	24	29
NetMHCpan 4.0: IC ₅₀ (nM)	32.5	74.7	13.1
IEDB: ANN IC ₅₀ (nM)	27.03	113.39	12.05
BiMAS: 解离半衰期	79.89	NA	5.459
MAPPP: 裂解可能性	0.9560	0	0

*IC₅₀值<50 nM认为是高亲和力，<500 nM是中亲和力，而<5000 nM是低亲和力。

图5C

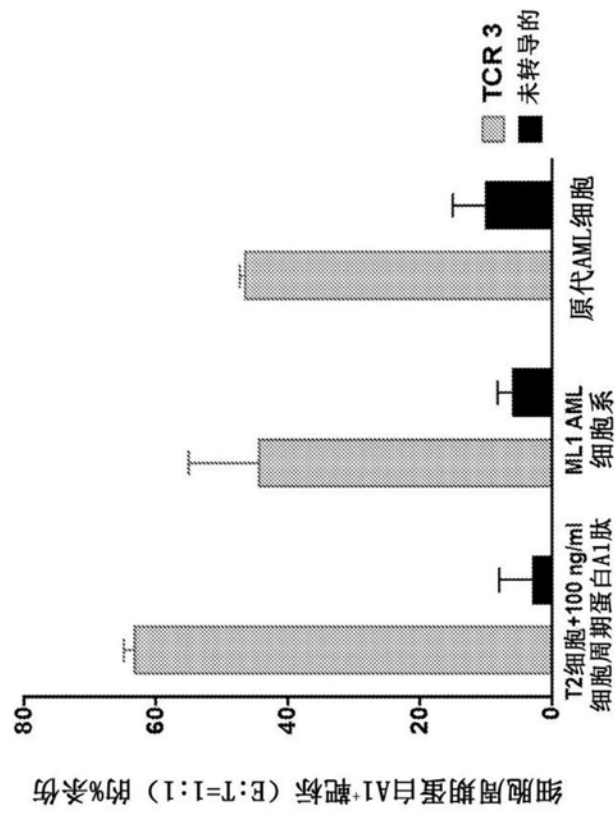


图5D

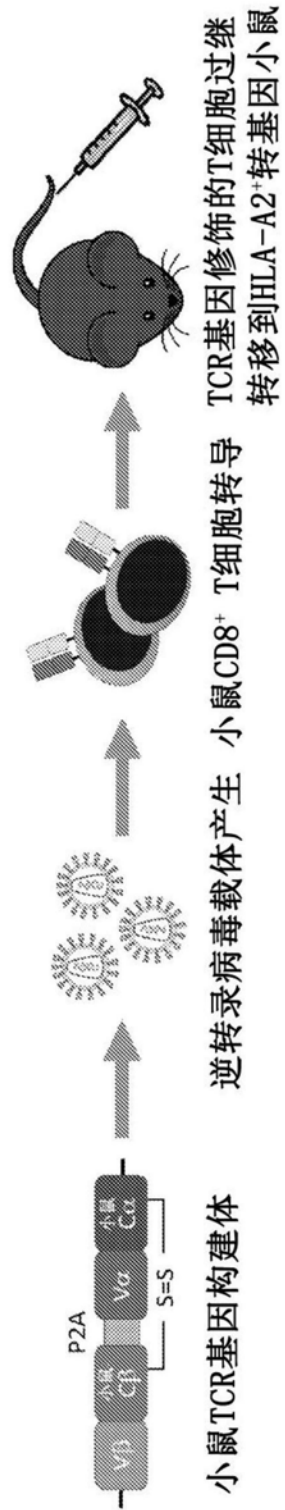


图6