

# (12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织  
国际局

(43) 国际公布日  
2022年2月3日 (03.02.2022)



(10) 国际公布号  
**WO 2022/022719 A1**

(51) 国际专利分类号:

C07K 14/715 (2006.01) C12N 15/867 (2006.01)  
C12N 15/12 (2006.01) C12N 5/10 (2006.01)  
C07K 19/00 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)  
C12N 15/62 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2021/109864

(22) 国际申请日: 2021年7月30日 (30.07.2021)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:  
202010760960.3 2020年7月31日 (31.07.2020) CN

(71) 申请人: 北京市神经外科研究所 (BEIJING NEUROSURGICAL INSTITUTE) [CN/CN]; 中国北京市丰台区南四环西路119号, Beijing 100070 (CN)。

(72) 发明人: 张伟 (ZHANG, Wei); 中国北京市丰台区南四环西路119号, Beijing 100070 (CN)。 江涛 (JIANG, Tao); 中国北京市丰台区南四环西路119号, Beijing 100070 (CN)。 翟优 (ZHAI, You); 中国北京市丰台区南四环西路119号, Beijing 100070 (CN)。 李冠璋 (LI, Guanzhang); 中国北京市丰台区南四环西路119号, Beijing 100070 (CN)。

(74) 代理人: 北京英创嘉友知识产权代理事务所 (普通合伙) (INNOTRACK INTELLECTUAL PROPERTY LAW FIRM); 中国北京市朝阳区德胜门外北沙滩1号院31号楼A1108室, Beijing 100083 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG,

BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

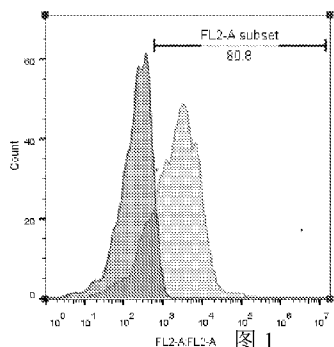
(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。
- 包括说明书序列列表部分(细则5.2(a))。

(54) Title: TRUNCATED BODY OF IL7R $\alpha$  AND USE THEREOF IN PREPARATION OF MEDICATION FOR TREATING TUMOR

(54) 发明名称: IL7R $\alpha$ 的截短体及其在制备治疗肿瘤的药物中的用途



(57) Abstract: The present invention provides a truncated body of IL7R $\alpha$ . The amino acid sequence of the truncated body of IL7R $\alpha$  comprises a sequence as shown in SEQ ID NO.1. A T cell expressing a chimeric antigen receptor comprising an IL7R $\alpha$  truncated body can effectively kill a tumor cell.

(57) 摘要: 本发明提供了一种IL7R $\alpha$ 的截短体, 该IL7R $\alpha$ 的截短体的氨基酸序列包含SEQ ID NO.1所示的序列; 表达含有上述IL7R $\alpha$ 截短体的嵌合抗原受体的T细胞, 能够有效杀伤肿瘤细胞。

WO 2022/022719 A1

## IL7R $\alpha$ 的截短体及其在制备治疗肿瘤的药物中的用途

### 技术领域

本公开涉及医药生物技术领域，具体地，涉及一种 IL7R $\alpha$  的截短体、其编码核酸、  
5 表达载体、细胞、药物组合物和它们的用途。

### 背景技术

嵌合抗原受体（Chimeric antigen receptor, CAR）是人工合成的 T 细胞受体，由  
抗原结合结构域、跨膜结构域和胞内信号传导结构域组成。抗原结合结构域位于 T 细  
10 胞膜外，包括单链抗体或配体，用于特异性地结合靶抗原。胞内信号传导结构域位于  
T 细胞膜内，用于向 T 细胞内传导信号以刺激 T 细胞产生免疫反应。

CAR 能够靶向识别肿瘤细胞表面的靶抗原，因此，表达 CAR 的 T 细胞能够用于  
靶向杀伤肿瘤细胞。然而，现有的表达嵌合抗原受体 CAR 的 T 细胞对肿瘤细胞的杀  
伤能力仍然较弱。

15

### 发明内容

本公开的目的是克服现有的表达嵌合抗原受体 CAR 的 T 细胞对肿瘤细胞的杀伤  
能力仍然较弱的问题，提供一种 IL7R $\alpha$  的截短体。

为了实现上述目的，第一方面，本公开提供一种 IL7R $\alpha$  的截短体，该 IL7R $\alpha$  的截  
20 短体的氨基酸序列包括 SEQ ID NO. 1 所示的序列。

第二方面，本公开提供一种核酸，该核酸编码第一方面所述的 IL7R $\alpha$  的截短体；  
优选地，所述核酸具有 SEQ ID NO. 2 所示的核苷酸序列。

第三方面，本公开提供一种融合蛋白，所述融合蛋白含有依次连接的抗原结合结  
构域、跨膜结构域和胞内信号传导结构域；所述胞内信号传导结构域的氨基酸序列包  
25 括第一方面所述的 IL7R $\alpha$  的截短体的氨基酸序列；优选地，所述抗原结合结构域包括  
抗 CD44 的单链抗体和/或抗 CD133 的单链抗体，所述胞内信号传导结构域包括 IL7R $\alpha$   
的截短体；更优选地，所述融合蛋白具有 SEQ ID NO. 3 所示的氨基酸序列。

第四方面，本公开提供一种融合核酸，所述融合核酸编码第三方面所述的融合蛋  
白；优选地，所述融合核酸具有 SEQ ID NO. 4 所示的核苷酸序列。

30 第五方面，本公开提供一种表达载体，所述表达载体插入有表达框，所述表达框

包括编码抗原结合分子的第一核酸片段和编码胞内信号传导分子的第二核酸片段，所述胞内信号传导分子中含有第一方面所述的 IL7R $\alpha$  的截短体，所述第一核酸片段与所述第二核酸片段之间插入有 IRES 元件或 2A 肽编码序列；优选地，所述表达框为第四方面所述的融合核酸。

5 第六方面，本公开提供一种表达嵌合抗原受体的细胞，该表达嵌合抗原受体的细胞由宿主细胞转染第五方面所述的表达载体后得到，所述嵌合抗原受体中含有第一方面所述的 IL7R $\alpha$  的截短体。

可选地，所述宿主细胞为 T 细胞。

10 第七方面，本公开提供第一方面所述的 IL7R $\alpha$  的截短体、第二方面所述的核酸、第三方面所述的融合蛋白、第四方面所述的融合核酸、第五方面所述的表达载体、第六方面所述的表达嵌合抗原受体的细胞在制备治疗肿瘤的药物中的用途。

可选地，所述肿瘤为脑胶质瘤。

第八方面，本公开提供一种药物组合物，该组合物的有效成分包括第六方面所述的表达含有 IL7R $\alpha$  截短体的嵌合抗原受体的细胞。

15 通过上述技术方案，本公开提供的表达含有上述 IL7R $\alpha$  截短体的嵌合抗原受体的 T 细胞，能够有效杀伤肿瘤细胞。

本公开的其他特征和优点将在随后的具体实施方式部分予以详细说明。

## 附图说明

20 附图是用来提供对本公开的进一步理解，并且构成说明书的一部分，与下面的具体实施方式一起用于解释本公开，但并不构成对本公开的限制。在附图中：

图 1 是本公开实施例提供的 CAR-T 1 细胞的流式细胞仪检测结果图；

图 2 是本公开实施例提供的 CAR-T 2 细胞的流式细胞仪检测结果图；

图 3 是本公开实施例提供的 CAR-T 3 细胞的流式细胞仪检测结果图；

25 图 4 是本公开实施例提供的 CAR-T 4 细胞的流式细胞仪检测结果图。

## 具体实施方式

以下结合附图对本公开的具体实施方式进行详细说明。应当理解的是，此处所描述的具体实施方式仅用于说明和解释本公开，并不用于限制本公开。

30 本公开的第一方面提供一种 IL7R $\alpha$  的截短体，该 IL7R $\alpha$  的截短体的氨基酸序列包括 SEQ ID NO. 1 所示的序列。

其中，SEQ ID NO. 1 所示的序列如下所示：

KKRIKPIVWPSLPDHKKTLEHLCKKPRKNLNVSFNPESFLDCQIHRVDDIQARD  
EVEGFLQDTFPQQLSESEKQRLGSLNQEEAYVTMSSFYQNQ。

本公开发明人发现，上述 IL7R $\alpha$  的截短体能够有效增加活化后 T 细胞的存活期，  
5 因此，表达含有上述 IL7R $\alpha$  截短体的嵌合抗原受体的 T 细胞的存活期较长，能够有效  
杀伤肿瘤细胞。

本公开的第二方面提供一种核酸，该核酸编码第一方面所述的 IL7R $\alpha$  的截短体；  
优选地，所述核酸具有 SEQ ID NO. 2 所示的核苷酸序列。

其中，SEQ ID NO. 2 所示的核苷酸序列如下所示：

10 aaaaaaggattaagcctatcgatggcccagctctccccgatcacaagaagactctggaacaccttgaagaaccaagaa  
aaatttaaatgtgagtttcaatcctgaaagtttctggactgccagattcatagggtggatgacattcaagctagagatgaagtggaag  
gttttctgcaagatactttcctcagcaactagaagaatctgagaagcagaggcttctgggatcaaataagaagaagcatatgtcac  
catgtccagcttctacaaaaccag。

本公开的第三方面提供一种融合蛋白，所述融合蛋白含有依次连接的抗原结合结  
15 构域、跨膜结构域和胞内信号传导结构域；所述胞内信号传导结构域的氨基酸序列包  
括第一方面所述的 IL7R $\alpha$  的截短体的氨基酸序列。优选地，所述抗原结合结构域包括  
抗 CD44 的单链抗体和/或抗 CD133 的单链抗体，所述胞内信号传导结构域包括 IL7R $\alpha$   
的截短体。更优选地，所述融合蛋白具有 SEQ ID NO. 3 所示的氨基酸序列。

其中，SEQ ID NO. 3 所示的融合蛋白由抗 CD44 的单链抗体、抗 CD133 的单链抗  
20 体、CD28、IL7R $\alpha$  的截短体和 CD3 组成。

其中，SEQ ID NO. 3 所示的氨基酸序列如下所示：

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIW  
YDGSNKFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRSDYRGYYG  
MDVWGQGTTVTVSSGSTSGGGSGGGSGGGSSSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA  
25 SQSVINYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRRASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFA  
VYYCQQRNWLPLTFGGGTKVEIKGGGGSGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGA  
SVKVSCKASGYTFTDFEMHWVRQAPGQGLEWMGDIDPGTGD TAYNLKFKGRVTM  
TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCALGAFVYWGQGLVTVSSGSTSGGGSGGGGS  
GGGGSSDVVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLANSYGNTYLSWYLQKPGQSPQL  
30 LIYGISNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCLQGTHQPYTFGQGTK  
LEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGT  
CGVLLLSLVITLYCRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSKK



gggaccagaaatgggcggaagccgcgcagaaagaatccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggc  
agaagcctatagcgagattggatgaaaggggaacgcagaagaggcaaggccacgacggactgtaccagggactcagcaccg  
ccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgctcgg。

本公开的第五方面提供一种表达载体，所述表达载体插入有表达框，所述表达框  
5 包括编码抗原结合分子的第一核酸片段和编码胞内信号传导分子的第二核酸片段，所  
述胞内信号传导分子中含有第一方面所述的 IL7R $\alpha$  的截短体，所述第一核酸片段与所  
述第二核酸片段之间插入有 IRES 元件或 2A 肽编码序列；优选地，所述表达框为第四  
方面所述的融合核酸。

本公开的第六方面提供一种表达嵌合抗原受体的细胞，该表达嵌合抗原受体的细  
10 胞由宿主细胞转染第五方面所述的表达载体后得到，所述嵌合抗原受体中含有第一方  
面所述的 IL7R $\alpha$  的截短体。

可选地，所述宿主细胞为 T 细胞。

本公开的第七方面提供第一方面所述的 IL7R $\alpha$  的截短体、第二方面所述的核酸、  
第三方面所述的融合蛋白、第四方面所述的融合核酸、第五方面所述的表达载体、第  
15 六方面所述的表达嵌合抗原受体的细胞在制备治疗肿瘤的药物中的用途。

可选地，所述肿瘤为脑胶质瘤。

本公开的第八方面提供一种药物组合物，该药物组合物的有效成分包括第六方面  
所述的表达含有 IL7R $\alpha$  截短体的嵌合抗原受体的细胞。

20 下面通过实施例来进一步说明本公开，但是本公开并不因此而受到任何限制。

#### 实施例 1

本实施例用于说明表达载体的构建。

(1)采用全序列合成方法，分别合成如 SEQ ID NO. 4、SEQ ID NO. 5 和 SEQ ID NO.  
6 所示的核苷酸序列。SEQ ID NO. 4 所示的核苷酸序列用于编码 SEQ ID NO. 3 所示的  
25 融合蛋白。SEQ ID NO. 5 所示的核苷酸序列用于编码 SEQ ID NO.7 所示的融合蛋白。  
SEQ ID NO.6 所示的核苷酸序列用于编码 SEQ ID NO.8 所示的融合蛋白。其中，SEQ ID  
NO. 3、SEQ ID NO. 7 和 SEQ ID NO. 8 所示的融合蛋白的组成如下：

G1: SEQ ID NO. 3 所示的融合蛋白由抗 CD44 的单链抗体、抗 CD133 的单链抗  
体、CD28、IL7R $\alpha$  截短体和 CD3 组成；

30 G2: SEQ ID NO.7 所示的融合蛋白由抗 CD44 的单链抗体、抗 CD133 的单链抗体、  
CD28 和 CD3 组成；



acatcagccgtacacgtttggccaggggaccaagctggagatcaaaaccactaccccagcaccgagggccacccaccccggtcc  
 taccatcgctcccagcctctgtccctgcgtccggagcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgactt  
 cgcctgcgatatctacattgggcccctctggctggtacttgcggggctctgctgctttcactcgtgatcactctttactgtaggagtaag  
 aggagcaggctcctgcacagtgactacatgaacatgactccccgcgccccggggccacccgcaagcattaccagccctatgcc  
 5 caccacgcgacttcgcagcctatcgtccccgcgtgaaatcagccgcagcgcagatgctccagcctacaagcagggggcagaacca  
 gctctacaacgaactcaatcttggctggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggagaggacgggaccagaaatgggcg  
 ggaagccgcgagaaagaatccccaagaggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgagattg  
 gtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaagccacgacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaagacacctatgac  
 gctcttcacatgcaggccctgccgctcgg。

10 SEQ ID NO.8 所示的融合蛋白的氨基酸序列如下所示：

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIW  
 YDGSNKFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRSDYRGYYG  
 MDVWGQGTTVTVSSGSTSGGSGGGSGGGSSSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA  
 SQSVINYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN RASGIPARFSGSGGTDFLTISLPEP DFA  
 15 VYYCQQRNWPLTFGGGTKVEIKGGGSGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGA  
 SVKVSKASGYTFTDFEMHWVRQAPGQGLEWMGDIDPGTGD TAYNLKFKGRVTM  
 TTDSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCALGAFVYW GQGTLVTVSSGSTSGGSGGGSG  
 GGGSSDVVMTQSPLSLPVTPEP ASISCRSSQSLANSYGNTYLSWYLQKPGQSPQL  
 LIYGISNRFSGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCLQGTHQPYTFGQGTK  
 20 LEIKTTTPAPRPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGT  
 CGVLLLSLVITLYCRSKRSRL LHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSKK  
 RIKPIVWPSLPDHKKTLEHLCKKPRKNLNV SFNPESFLDCQIHRVDDIQARDEVEGF  
 LQDTFPQQLEESEKQRLGGDVQSPNCPS EDVVITPESFGRDSSLTCLAGNVSACDAPI  
 LSPSRSLDCRESGKNGPHVYQDLLLSL GTTNSTLPPPSLQSGILTLNPVAQGQPILTS  
 25 LGSNQEEAYVTMSSFYQNQRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLD  
 KRRGRDPEMGGKPRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQ  
 GLSTATKDTYDALHMQUALPPR。

SEQ ID NO. 6 所示的核苷酸序列如下所示：

caggtgcagctggtggagctctgggggagggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcgtctggattc  
 30 accttcagtagctatggcatgcactgggtccgccaggtccaggcaaggggctggagtggtggcagttatattggtatgatggaag  
 taataaattctatgcagactcctgaagggccgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagc  
 ctgagagccgaggacacggctgtgtattactgtgcgaggagaagtgactacaggggctactacggtatggacgtctggggccaag  
 ggaccacggctaccgtctcctcaggcagtactagcgggtggtgctccggggggcgggtccggtggggggcggcagcagcgaattg  
 tgttgacacagctctccagccacctgtctttgtctccaggggaaagagccacctctcctgcagggccagtcagagtggtatcaacta

cttagcctggtaccaacagaaacctggccaggtcccaggctcctcatctatgatgcatccaacagggcctctggcatcccagccag  
 gttcagtgaggcagtggtgctgggacagacttcaactcaccatcagcagcctagagcctgaagatttgcagtttattactgtcagcagc  
 gtcgcaactggccgctcactttcggcggaggaccgaaggtggagatcaaaggaggtggggatccggaggtgggtggctccggag  
 gtggggatcccagggtcagctgggtcagctggagctgaggtgaagaagcctggggcctcagtgaaaggtctcctgcaaggttct  
 5 ggttacacctttaccgactttgaaatgactgggtgcagcaggccccctggacaagggcttgagtgatgggagatattgatcctgga  
 actggtgatactgcctacaatctgaagttcaagggcagagtcaccatgaccacagacacatccacgagcacagcctacatggagct  
 gaggagcctgaggtctgacgacacggccgtgtattactgtgcgttggggcctttgtttactggggccagggaaccctggtcaccgt  
 ctctcaggcagtagcgggtgggtccggggcggttccgggtggggcggcagcagcagatgtgtgatgactcagctcca  
 ctctccctgcccgtcaccctggagagccggcctccatctcctcaggtctagtcagagcttgcaaacagttatgggaacacctattt  
 10 gtcttggtacctgcagaagccaggcagctccacagctcctgatctatgggatttccaacagattttctggggctcctgacaggttca  
 gtggcagtgatcaggcacagattttactgaaaatcagcagagtgagggtgaggacgttggggtttattactgcttacaaggtac  
 acatcagccgtacagtttggccaggggaccaagctggagatcaaaaccactacccagcaccgaggccaccaccccggtcc  
 taccatgcctcccagcctctgtccctgcgtccggagcatgtagaccgcagctggtggggccgtgcatacccggttcttgactt  
 cgctgcgatatctacatttggcccctctggctggtacttgcgggctcctgctgctttcactcgtgatcacttttactgtaggagtaag  
 15 aggagcaggtcctgcacagtgactacatgaacatgactccccgcgccccgggcccaccgcaagcattaccagccctatgcc  
 caccacgcgacttcgcagcctatcgtccaaaaaaggattaagcctatcgtatggcccagctccccgatcataagaagactctgg  
 aacatctttgtaagaaccaagaaaaaatttaaatgtgagtttcaatcctgaaagtttctggactccagattcatagggtggatgacat  
 tcaagctagagatgaagtggaaggttttctgcaagatacgttctcagcaactagaagaatctgagaagcagaggcttggagggga  
 tgtgcagagcccaactgccatctgaggatgtatcactccagaaagcttgggaagagattcatccctcacatgcctggctggg  
 20 aatgtcagtgcatgtgacgccctattctctcccctccaggtccctagactgcagggagagtggaagaatgggcctcatgtgtacc  
 aggacctctgcttagccttgggactacaaacagcagctgccccctcattttctccaatctggaatcctgacattgaaccagttg  
 ctcagggtcagcccatttacttccctgggatcaaatcaagaagaagcatatgtcaccatgtccagcttaccaaaaccagcgcgt  
 gaaattcagccgagcgcagatgctccagcctacaagcaggggcagaaccagcttacaacgaactcaatcttggctggagagag  
 gactacgacgtgctggacaagcggagaggacgggaccagaaatgggcgggaagccgcgagaaagaatccccaagagggc  
 25 ctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaggc  
 cacgacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctttcacatgcaggccctgccgcctcgg。

30

(2) 采用 pLVX-IRES-ΔNGFR (购自 Clontech 公司, 货号为 631982) 作为载体, 采用常规方法分别插入步骤 (1) 中合成的 3 种核苷酸序列, 得到本实施例的 3 种慢病毒表达载体。

实施例 2

本实施例用于说明表达嵌合抗原受体的 T 细胞的制备和检测。

(1) 将实施例 1 构建的 3 种慢病毒表达载体和 pLVX-IRES-ΔNGFR 空载体分别进行慢病毒包装，然后按照下述方法分别进行 T 细胞的体外培养、转染和扩增。

(2) 按照下述方法分离血液中的 T 细胞：将 1mL 无菌 PBS 与 1mL 血液混匀，然后缓慢加入到淋巴细胞分离液 Ficoll 的上层，并于 4℃、400g 条件下离心 30min，加减速分别设置为 0。离心结束后，去掉上层血浆，吸取中间白膜层细胞，加入 PBS 重悬洗涤，并于 100g 条件下离心 10min，加减速正常。离心结束后，去掉上层洗涤液，加入 1mL 的 1640+10%FBS+1%双抗+1×Glutamine 培养基重悬细胞，然后利用抗人 CD3/CD28 磁珠（购自 Thermo Fisher 公司）刺激扩增，其中，重悬后细胞浓度为 1×10<sup>6</sup> 细胞/mL，磁珠加入量为 100μL，再加入 100IU/mL rhIL-2 (Peprotech)，刺激培养 2 天，得到 T 细胞。

(3) 按照下述方法进行慢病毒转染：取 4 份上述分离得到的 T 细胞，分别加入步骤(1)包装好的慢病毒，然后加入终浓度为 6μg/mL 的 polybrene，混匀，并于 32℃、800g 的条件下离心 100min。离心结束后放入培养箱中继续培养 24h。培养结束后将培养物于 1500rpm 的条件下离心 15min，并将离心得到的细胞以 1×10<sup>6</sup>/mL 的密度接种于培养板内，以 rhIL2-100IU/mL 刺激培养，以后每 2-3 天换液一次，直至 2-4 周，得到转染后的 T 淋巴细胞 CAR-T 1、CAR-T 2、CAR-T 3 和 CAR-T 4。其中，CAR-T 1 转染有 SEQ ID NO. 4 所示的核苷酸序列，能够表达 SEQ ID NO. 3 所示的融合蛋白；CAR-T 2 转染有 SEQ ID NO.5 所示的核苷酸序列，能够表达 SEQ ID NO.7 所示的融合蛋白；CAR-T 3 转染有 SEQ ID NO.6 所示的核苷酸序列，能够表达 SEQ ID NO.8 所示的融合蛋白；CAR-T 4 转染有空载体。

培养结束后，用 PBS 重悬细胞，并用流式细胞仪检测上述 4 种转染后的 T 淋巴细胞的比例及表面 CAR 蛋白的表达。检测方法为：分别离心收集转染后的待检测 T 细胞，PBS 洗涤 1 次后弃上清，按抗体说明书加入相应检测量的单抗避光 30min 后，利用 PBS 洗涤、重悬，过膜后采用流式细胞仪进行夹心法检测，检测时使用的抗体为 His-tag 标记的 CD44 和 PE 标记的抗 His-tag 的抗体的混合物。结果如图 1~4 所示。

图 1 是本公开实施例提供的 CAR-T 1 细胞的流式细胞仪检测结果图；

图 2 是本公开实施例提供的 CAR-T 2 细胞的流式细胞仪检测结果图；

图 3 是本公开实施例提供的 CAR-T 3 细胞的流式细胞仪检测结果图；

图 4 是本公开实施例提供的 CAR-T 4 细胞的流式细胞仪检测结果图。

从图 1~3 可以看出，CAR-T 1 细胞、CAR-T 2 细胞和 CAR-T 3 细胞中均检测出

区别于正常 T 淋巴细胞的其它细胞；由图 4 可以看出，CAR-T 4 细胞并未检测出区别于正常 T 淋巴细胞的其它细胞。由此说明本实施例中转染有融合基因的 CAR-T 细胞均已成功表达目标融合蛋白。

### 5 实施例 3

本实施例用于验证实施例 2 构建的 CAR-T 细胞的扩增能力和生存期。

分别取实施例 2 中转染并培养得到的 4 种 CAR-T 细胞，分别与 CD44 和 CD133 阳性的胶质瘤干细胞 GSC20 按照效靶比=10 (T 细胞数量：胶质瘤干细胞数量) 混合。将混合后的细胞置于 24 孔板中进行培养，其中，每孔中含有胶质瘤干细胞 105 个，每  
10 孔反应体系为 1mL。培养条件包括：37°C，5% CO<sub>2</sub>，饱和湿度孵箱孵育。此后 0、4、8、12、18、26 天用细胞计数板为不同 CAR-T 细胞进行计数，探究不同 CAR-T 在靶细胞刺激下的扩增情况

表 1

CAR-T 细胞	不同 CAR-T 细胞在靶细胞刺激下的扩增情况 ( $\times 10^6$ )					
	0 天	4 天	8 天	12 天	18 天	26 天
CAR-T 1	1.029	2.860	3.995	4.533	5.364	3.788
CAR-T 2	1.147	2.435	3.151	3.080	0.665	0
CAR-T 3	1.149	2.692	3.552	3.953	3.253	0
CAR-T 4	1.135	2.494	2.999	0.464	0	0

15 由表 1 可以看出，表达有上述 IL7R $\alpha$  的截短体的 CAR-T 细胞具备更强的扩增能力和更长的生存期。

### 对比例

取实施例 2 中转染并培养得到 CAR-T 1 细胞，以及靶向经典肿瘤靶点 EGFR vIII 的传统第二代 CAR-T 细胞 (EGFR vIII-CD28-CD3)，分别与 CD44 阳性和 CD133 阳性的胶质瘤干细胞 GSC20 按照不同的效靶比 (T 细胞数量：胶质瘤干细胞数量) 混合。将混合后的细胞置于 96 孔板中进行培养，其中，每孔中含有胶质瘤干细胞  $4 \times 10^4$  个，每孔反应体系为 200 $\mu$ L。培养条件包括：37°C，5% CO<sub>2</sub>，饱和湿度孵箱孵育 4 小时。

25 乳酸脱氢酶活性测定：离心结束后，每孔吸取上清液 100 $\mu$ L 置于 96 孔酶标板中，同时，每孔加入 100 $\mu$ L LDH 底物，室温避光反应 30min。反应结束后，每孔加 50 $\mu$ L 终止液终止酶促反应。在酶标仪 490nm 测定光密度值(OD)。计算各组平均光密度值(OD)，按下式计算每种 T 细胞对胶质瘤干细胞的裂解率。结果如表 1 所示。

裂解率%=(实验组 OD-胶质瘤干细胞自发释放 OD-效应细胞自然释放 OD)/(胶质瘤干细胞最大释放 OD-胶质瘤干细胞自发释放 OD)

检测结果见表 2。

表 2

	不同效靶比下传统第二代 CAR-T 细胞对胶质瘤干细胞的裂解率 (%)			
效靶比	5:1	3:1	2:1	1:1
CAR-T 1	84.74%	67.20%	37.13%	31.48%
传统 CAR-T	17.57%	14.62%	13.97%	11.88%

5

由表 2 可以看出，靶向经典肿瘤干细胞靶点 EGFR vIII 的传统第二代 CAR-T 细胞对胶质瘤干细胞的杀伤力不如本公开提供的表达 IL7R $\alpha$  截短体的 T 细胞。

10 以上结合附图详细描述了本公开的优选实施方式，但是，本公开并不限于上述实施方式中的具体细节，在本公开的技术构思范围内，可以对本公开的技术方案进行多种简单变型，这些简单变型均属于本公开的保护范围。

另外需要说明的是，在上述具体实施方式中所描述的各个具体技术特征，在不矛盾的情况下，可以通过任何合适的方式进行组合，为了避免不必要的重复，本公开对各种可能的组合方式不再另行说明。

15 此外，本公开的各种不同的实施方式之间也可以进行任意组合，只要其不违背本公开的思想，其同样应当视为本公开所公开的内容。

## 权利要求书

1、一种 IL7R $\alpha$  的截短体，其特征在于，该 IL7R $\alpha$  的截短体的氨基酸序列包括 SEQ ID NO. 1 所示的序列。

5        2、一种核酸，其特征在于，该核酸编码权利要求 1 所述的 IL7R $\alpha$  的截短体；

      优选地，所述核酸具有 SEQ ID NO. 2 所示的核苷酸序列。

10       3、一种融合蛋白，其特征在于，所述融合蛋白含有依次连接的抗原结合结构域、跨膜结构域和胞内信号传导结构域；所述胞内信号传导结构域的氨基酸序列包括权利要求 1 所述的 IL7R $\alpha$  的截短体的氨基酸序列；

      优选地，所述抗原结合结构域包括抗 CD44 的单链抗体和/或抗 CD133 的单链抗体，所述胞内信号传导结构域包括 IL7R $\alpha$  的截短体；

      更优选地，所述融合蛋白具有 SEQ ID NO. 3 所示的氨基酸序列。

15

      4、一种融合核酸，其特征在于，所述融合核酸编码权利要求 3 所述的融合蛋白；

      优选地，所述融合核酸具有 SEQ ID NO. 4 所示的核苷酸序列。

20       5、一种表达载体，其特征在于，所述表达载体插入有表达框，所述表达框包括编码抗原结合分子的第一核酸片段和编码胞内信号传导分子的第二核酸片段，所述胞内信号传导分子中含有权利要求 1 所述的 IL7R $\alpha$  的截短体，所述第一核酸片段与所述第二核酸片段之间插入有 IRES 元件或 2A 肽编码序列；

25       优选地，所述表达框为权利要求 4 所述的融合核酸。

6、一种表达嵌合抗原受体的细胞，其特征在于，该表达嵌合抗原受体的细胞由宿主细胞转染权利要求 5 所述的表达载体后得到，所述嵌合抗原受体中含有权利要求 1 所述的 IL7R $\alpha$  的截短体。

5           7、根据权利要求 6 所述的细胞，其特征在于，所述宿主细胞为 T 细胞。

8、权利要求 1 所述的 IL7R $\alpha$  的截短体、权利要求 2 所述的核酸、权利要求 3 所述的融合蛋白、权利要求 4 所述的融合核酸、权利要求 5 所述的表达载体、权利要求 6 或 7 所述的表达嵌合抗原受体的细胞在制备治疗  
10 肿瘤的药物中的用途。

9、根据权利要求 8 所述的用途，其中，所述肿瘤为脑胶质瘤。

15           10、一种药物组合物，其特征在于，该药物组合物的有效成分包括权利要求 6 或 7 所述的表达含有 IL7R $\alpha$  截短体的嵌合抗原受体的细胞。

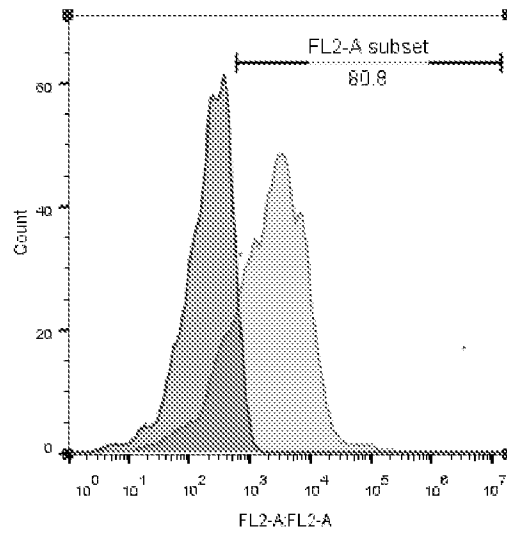


图 1

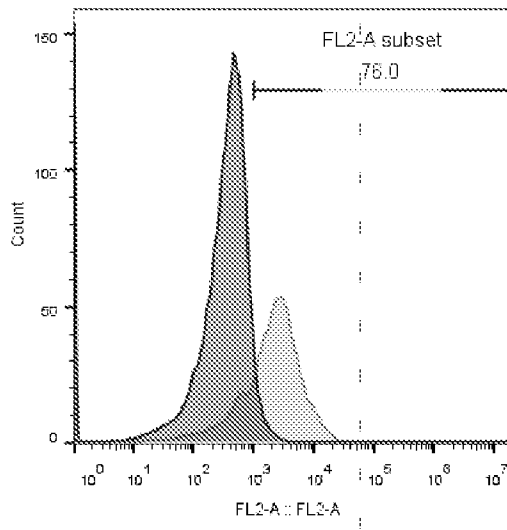


图 2

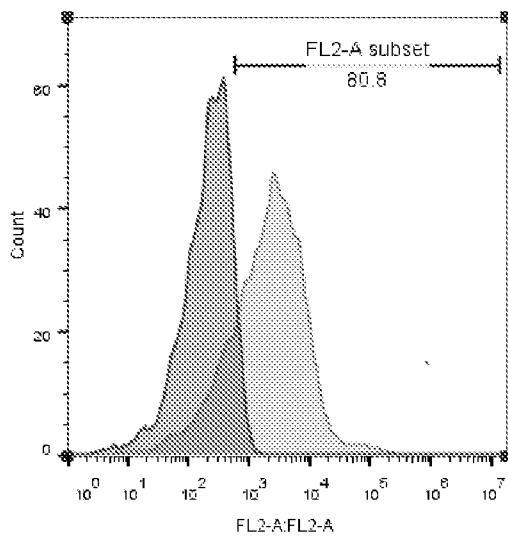


图 3

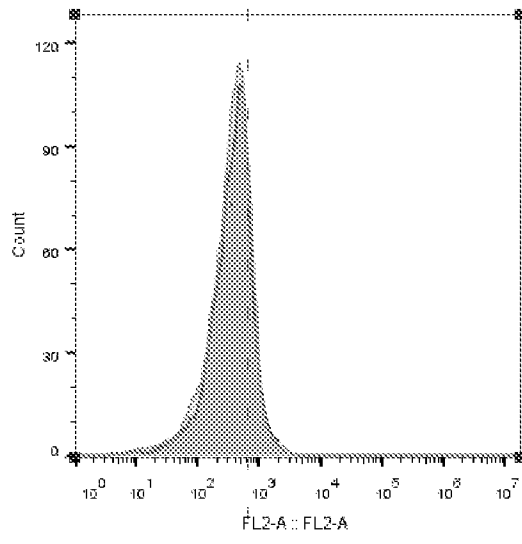


图 4

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2021/109864

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
C07K 14/715(2006.01)i; C12N 15/12(2006.01)i; C07K 19/00(2006.01)i; C12N 15/62(2006.01)i; C12N 15/867(2006.01)i; C12N 5/10(2006.01)i; A61K 39/00(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K; C12N; A61K; A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNABS; VEN; CNKI; NCBI; CNTXT; EPTXT; USTXT; WOTXT; ISI web of science和关键词: 嵌合抗原受体, 截短, 融合, chimeric antigen receptor, CAR, IL7R $\alpha$ , CD127, truncat+, fus+等 China Patent Biological Sequence Search System; Genbank; EMBL and sequences searched: SEQ ID NOs: 1-8		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 110564695 A (EAST CHINA NORMAL UNIVERSITY et al.) 13 December 2019 (2019-12-13) see entire document	1-10
A	CN 109503716 A (SHENGYAN MEDICINE TECHNOLOGY WUHAN CO., LTD.) 22 March 2019 (2019-03-22) see entire document	1-10
A	CN 110526987 A (SHENZHEN BINDE BIOTECHNOLOGY CO., LTD.) 03 December 2019 (2019-12-03) see entire document	1-10
A	WO 2017029512 A1 (AUTOLUS LTD.) 23 February 2017 (2017-02-23) see entire document	1-10
A	WO 2018078066 A1 (MILTENYI BIOTEC GMBH) 03 May 2018 (2018-05-03) see entire document	1-10
A	WO 2014124143 A1 (ANTHROGENESIS CORP.) 14 August 2014 (2014-08-14) see entire document	1-10
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search <b>22 September 2021</b>		Date of mailing of the international search report <b>08 October 2021</b>
Name and mailing address of the ISA/CN <b>China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088 China</b> Facsimile No. (86-10)62019451		Authorized officer  Telephone No.

**Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)**

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
  - a.  forming part of the international application as filed:
    - in the form of an Annex C/ST.25 text file.
    - on paper or in the form of an image file.
  - b.  furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
  - c.  furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
    - in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
    - on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2.  In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.

**PCT/CN2021/109864**

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	110564695	A	13 December 2019	None			
CN	109503716	A	22 March 2019	CN	109503716	B	27 April 2021
				US	2021000870	A1	07 January 2021
CN	110526987	A	03 December 2019	None			
WO	2017029512	A1	23 February 2017	MX	2019013204	A	21 January 2020
				US	10800854	B2	13 October 2020
				US	10800855	B2	13 October 2020
				KR	20180054625	A	24 May 2018
				US	2018244797	A1	30 August 2018
				CN	108350047	A	31 July 2018
				MX	2018002042	A	19 June 2018
				AU	2016308618	A1	08 March 2018
				SG	CN 10201909759	A	28 November 2019
					U		
				EP	3337814	A1	27 June 2018
				JP	2021035395	A	04 March 2021
				CN	110724200	A	24 January 2020
				JP	2019150066	A	12 September 2019
				RU	2018109350	A3	09 December 2019
				BR	112018003308	A2	18 September 2018
				IL	257234	D0	29 March 2018
				CL	2018000415	A1	20 July 2018
				CA	2995785	A1	23 February 2017
				HK	1252161	A1	17 May 2019
				AU	2016308618	B2	13 May 2021
				CA	3091907	A1	23 February 2017
				EP	3438123	A1	06 February 2019
				JP	2018523485	A	23 August 2018
				US	2019016820	A1	17 January 2019
				RU	2018109350	A	23 September 2019
				US	2021040227	A1	11 February 2021
				CL	2019001107	A1	05 July 2019
				GB	201514875	D0	07 October 2015
				US	2021040228	A1	11 February 2021
WO	2018078066	A1	03 May 2018	US	2019315879	A1	17 October 2019
				EP	3315511	A1	02 May 2018
				CN	109906231	A	18 June 2019
				EP	3532490	A1	04 September 2019
WO	2014124143	A1	14 August 2014	AU	2018203558	B2	01 October 2020
				SG	10201810087 Q	A	28 December 2018
				JP	6467661	B2	13 February 2019
				JP	2021072827	A	13 May 2021
				US	2018273640	A1	27 September 2018
				AU	2014214850	A1	13 August 2015
				CA	2904014	A1	14 August 2014
				ES	2748398	T3	16 March 2020
				CN	105101803	A	25 November 2015
				EP	2953475	A4	02 November 2016
				SG	11201507026 W	A	29 October 2015
				EP	3604500	A1	05 February 2020

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.

**PCT/CN2021/109864**

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		NZ 711807 A	26 June 2020
		AU 2014214850 B2	14 June 2018
		JP 2019062902 A	25 April 2019
		JP 2016506746 A	07 March 2016
		HK 1254962 A1	02 August 2019
		EP 2953475 A1	16 December 2015
		AU 2020294311 A1	18 February 2021
		AU 2018203558 A1	07 June 2018
		US 2015368360 A1	24 December 2015
		CN 107988165 A	04 May 2018
		KR 20150118977 A	23 October 2015
		CA 3115383 A1	14 August 2014
		HK 1218049 A1	03 February 2017
		NZ 750426 A	26 June 2020
		EP 2953475 B1	03 July 2019
		AU 2014214850 C1	06 December 2018

---

<p><b>A. 主题的分类</b></p> <p>C07K 14/715(2006.01)i; C12N 15/12(2006.01)i; C07K 19/00(2006.01)i; C12N 15/62(2006.01)i; C12N 15/867(2006.01)i; C12N 5/10(2006.01)i; A61K 39/00(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																							
<p><b>B. 检索领域</b></p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>C07K; C12N; A61K; A61P</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNABS; VEN; CNKI; NCBI; CNTXT; EPTXT; USTXT; WOTXT; ISI web of science和关键词: 嵌合抗原受体, 截短, 融合, chimeric antigen receptor, CAR, IL7R<math>\alpha</math>, CD127, truncat+, fus+等 中国专利生物序列检索系统; Genbank; EMBL和检索的序列: SEQ ID NOs:1-8</p>																							
<p><b>C. 相关文件</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>CN 110564695 A (华东师范大学等) 2019年 12月 13日 (2019 - 12 - 13) 见全文</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 109503716 A (生研医药科技武汉有限公司) 2019年 3月 22日 (2019 - 03 - 22) 见全文</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 110526987 A (深圳宾德生物技术有限公司) 2019年 12月 3日 (2019 - 12 - 03) 见全文</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2017029512 A1 (AUTOLUS LTD) 2017年 2月 23日 (2017 - 02 - 23) 见全文</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2018078066 A1 (MILTENYI BIOTEC GMBH) 2018年 5月 3日 (2018 - 05 - 03) 见全文</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2014124143 A1 (ANTHROGENESIS CORP) 2014年 8月 14日 (2014 - 08 - 14) 见全文</td> <td>1-10</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	A	CN 110564695 A (华东师范大学等) 2019年 12月 13日 (2019 - 12 - 13) 见全文	1-10	A	CN 109503716 A (生研医药科技武汉有限公司) 2019年 3月 22日 (2019 - 03 - 22) 见全文	1-10	A	CN 110526987 A (深圳宾德生物技术有限公司) 2019年 12月 3日 (2019 - 12 - 03) 见全文	1-10	A	WO 2017029512 A1 (AUTOLUS LTD) 2017年 2月 23日 (2017 - 02 - 23) 见全文	1-10	A	WO 2018078066 A1 (MILTENYI BIOTEC GMBH) 2018年 5月 3日 (2018 - 05 - 03) 见全文	1-10	A	WO 2014124143 A1 (ANTHROGENESIS CORP) 2014年 8月 14日 (2014 - 08 - 14) 见全文	1-10
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																					
A	CN 110564695 A (华东师范大学等) 2019年 12月 13日 (2019 - 12 - 13) 见全文	1-10																					
A	CN 109503716 A (生研医药科技武汉有限公司) 2019年 3月 22日 (2019 - 03 - 22) 见全文	1-10																					
A	CN 110526987 A (深圳宾德生物技术有限公司) 2019年 12月 3日 (2019 - 12 - 03) 见全文	1-10																					
A	WO 2017029512 A1 (AUTOLUS LTD) 2017年 2月 23日 (2017 - 02 - 23) 见全文	1-10																					
A	WO 2018078066 A1 (MILTENYI BIOTEC GMBH) 2018年 5月 3日 (2018 - 05 - 03) 见全文	1-10																					
A	WO 2014124143 A1 (ANTHROGENESIS CORP) 2014年 8月 14日 (2014 - 08 - 14) 见全文	1-10																					
<p><input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p>																							
<p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)</p> <p>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件</p> <p>“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件</p> <p>“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性</p> <p>“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性</p> <p>“&amp;” 同族专利的文件</p>																							
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2021年 9月 22日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2021年 10月 8日</p>																					
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国 北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p> <p>传真号 (86-10)62019451</p>		<p>授权官员</p> <p>王金凤</p> <p>电话号码 (86-10)-62412282</p>																					

## 第1栏 核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1. c项)

1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列, 国际检索是基于下列序列列表进行的:

a.  作为国际申请的一部分提交的:

附件C/ST. 25文本文件形式

纸件或图形文件形式

b.  根据细则13之三. 1(a) 仅为国际检索目的以附件C/ST. 25文本文件形式与国际申请同时提交的:

c.  仅为国际检索目的在国际申请日之后提交的:

附件C/ST. 25文本文件形式(细则13之三. 1(a))

纸件或图形文件形式(细则13之三. 1(b)和行政规程第713段)

2.  另外, 在提交/提供了多个版本或副本的序列列表的情况下, 提供了关于随后提交的或附加的副本中的信息与申请时提交的作为申请一部分的序列列表的信息相同或未超出申请时提交的申请中的信息范围(如适用)的所需声明。

3. 补充意见:

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2021/109864

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	110564695	A	2019年 12月 13日	无			
CN	109503716	A	2019年 3月 22日	CN	109503716	B	2021年 4月 27日
				US	2021000870	A1	2021年 1月 7日
CN	110526987	A	2019年 12月 3日	无			
WO	2017029512	A1	2017年 2月 23日	MX	2019013204	A	2020年 1月 21日
				US	10800854	B2	2020年 10月 13日
				US	10800855	B2	2020年 10月 13日
				KR	20180054625	A	2018年 5月 24日
				US	2018244797	A1	2018年 8月 30日
				CN	108350047	A	2018年 7月 31日
				MX	2018002042	A	2018年 6月 19日
				AU	2016308618	A1	2018年 3月 8日
				SG	10201909759U	A	2019年 11月 28日
				EP	3337814	A1	2018年 6月 27日
				JP	2021035395	A	2021年 3月 4日
				CN	110724200	A	2020年 1月 24日
				JP	2019150066	A	2019年 9月 12日
				RU	2018109350	A3	2019年 12月 9日
				BR	112018003308	A2	2018年 9月 18日
				IL	257234	D0	2018年 3月 29日
				CL	2018000415	A1	2018年 7月 20日
				CA	2995785	A1	2017年 2月 23日
				HK	1252161	A1	2019年 5月 17日
				AU	2016308618	B2	2021年 5月 13日
				CA	3091907	A1	2017年 2月 23日
				EP	3438123	A1	2019年 2月 6日
				JP	2018523485	A	2018年 8月 23日
				US	2019016820	A1	2019年 1月 17日
				RU	2018109350	A	2019年 9月 23日
				US	2021040227	A1	2021年 2月 11日
				CL	2019001107	A1	2019年 7月 5日
				GB	201514875	D0	2015年 10月 7日
				US	2021040228	A1	2021年 2月 11日
WO	2018078066	A1	2018年 5月 3日	US	2019315879	A1	2019年 10月 17日
				EP	3315511	A1	2018年 5月 2日
				CN	109906231	A	2019年 6月 18日
				EP	3532490	A1	2019年 9月 4日
WO	2014124143	A1	2014年 8月 14日	AU	2018203558	B2	2020年 10月 1日
				SG	10201810087Q	A	2018年 12月 28日
				JP	6467661	B2	2019年 2月 13日
				JP	2021072827	A	2021年 5月 13日
				US	2018273640	A1	2018年 9月 27日
				AU	2014214850	A1	2015年 8月 13日
				CA	2904014	A1	2014年 8月 14日
				ES	2748398	T3	2020年 3月 16日
				CN	105101803	A	2015年 11月 25日
				EP	2953475	A4	2016年 11月 2日
				SG	11201507026W	A	2015年 10月 29日
				EP	3604500	A1	2020年 2月 5日

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2021/109864

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
		NZ	711807	A	2020年 6月 26日
		AU	2014214850	B2	2018年 6月 14日
		JP	2019062902	A	2019年 4月 25日
		JP	2016506746	A	2016年 3月 7日
		HK	1254962	A1	2019年 8月 2日
		EP	2953475	A1	2015年 12月 16日
		AU	2020294311	A1	2021年 2月 18日
		AU	2018203558	A1	2018年 6月 7日
		US	2015368360	A1	2015年 12月 24日
		CN	107988165	A	2018年 5月 4日
		KR	20150118977	A	2015年 10月 23日
		CA	3115383	A1	2014年 8月 14日
		HK	1218049	A1	2017年 2月 3日
		NZ	750426	A	2020年 6月 26日
		EP	2953475	B1	2019年 7月 3日
		AU	2014214850	C1	2018年 12月 6日

---