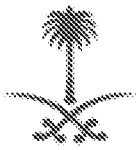
الهيئة السعودية للملكية الفكرية
Saudi Authority for Intellectual Property



المملكة العربية السعودية
Kingdom of Saudi Arabia

براءة اختراع

إن الرئيس التنفيذي للهيئة السعودية للملكية الفكرية و بموجب أحكام نظام براءات الإختراع و التصميمات التخطيطية للدارات المتكاملة و الأصناف النباتية و النماذج الصناعية الصادر بالمرسوم الملكي الكريم رقم م/27 وتاريخ 1425/05/29هـ و المعدل بقرار مجلس الوزراء رقم 536 و تاريخ 1439/10/19هـ ، و لائحته التنفيذية.
يقرر منح :

فريد هوتشينسون كانسر ريسيرش سنتر
FRED HUTCHINSON CANCER RESEARCH CENTER

براءة اختراع رقم : SA 11519

بتاريخ : 1444/05/06 هـ
الموافق : 2022/11/30 م

عن الإختراع المسمى :

بروتينات دمج التعديل المناعي واستخداماتها

IMMUNOMODULATORY FUSION PROTEINS AND USES THEREOF

وفق ما هو موضح في وصف الاختراع المرفق، ولمالك البراءة الحق في الانتفاع بكامل الحقوق النظامية في المملكة العربية السعودية خلال فترة سريان الحماية.

الرئيس التنفيذي

د. عبدالعزيز بن محمد السويلم

الهيئة السعودية للملكية الفكرية
Saudi Authority for Intellectual Property

[19] **الهيئة السعودية للملكية الفكرية**
[11] **رقم البراءة:** SA 11519 B1

[12] **براءة اختراع**

[45] **تاريخ المنح:** 1444/05/06 هـ
الموافق: 2022/11/30 م

[21] رقم الطلب: 517382216
[22] تاريخ دخول المرحلة الوطنية: 1438/12/08 هـ
الموافق: 2017/08/30 م
[30] بيانات الأسبقية:
128,979/62 US 2015/03/05 م
[72] اسم المخترع: أودا، شانون، كيه. ، جرينبيرغ، فيليب، دي. ، شميت، ثوماس، أم.
[73] مالك البراءة: فريد هوتشينسون كانسر ريسيرش سنتر
عنوانه: 1100 فيرفيو أفينيو نورث، سياتل، واشنطن 98109، أمريكا
جنسيته: امريكية
[74] الوكيل: مكتب الدكتور حسن الملا (محامون ومستشارون قانونيون)

[86] رقم الطلب الدولي: PCT/US2016/021064
تاريخ إيداع الطلب الدولي: 2016/03/04 م
[87] رقم النشر الدولي: WO/2016/141357
تاريخ النشر الدولي: 2016/09/09 م
[51] التصنيف الدولي(IPC[8]):
C07K 014/005
[56] المراجع:
WO 2013123061,

Copyright Journal of Stem Cells and Regenerative Medicine. All rights reserved

Immunotherapy for chronic lymphocytic leukemia in the era of BTK inhibitors

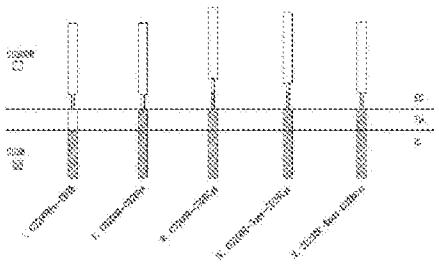
Review Series ANTIBODY DERIVATIVES AS NEW THERAPEUTICS FOR HEMATOLOGIC MALIGNANCIES Antibody-modified T cells: CARs take the front seat for hematologic malignancies

الفاحص: ماجد بن غرم الله الغامدي

[54] اسم الاختراع: بروتينات دمج التعديل المناعي واستخداماتها

IMMUNOMODULATORY FUSION PROTEINS AND USES THEREOF

[57] الملخص: يتعلق الكشف الحالي ببروتينات دمج التعديل المناعي immunomodulatory fusion proteins التي تحتوي على مجال ربط binding domain خارج الخلية ومجال الإشارة داخل الخلية، حيث يمكن أن يؤدي ربط هدف إلى توليد إشارة تعديل في خلية عائلة host cell، مثل خلية T. ويتعلق الكشف الحالي أيضا باستخدامات الخلايا المناعية immune cells التي تعبر عن بروتينات دمج التعديل المناعي هذه لعلاج أمراض معينة، مثل السرطان cancer أو الأمراض المعدية infectious disease. الشكل (1أ)



عدد عناصر الحماية (25)، عدد الأشكال (13)

بروتينات دمج التعديل المناعي واستخداماتها

IMMUNOMODULATORY FUSION PROTEINS AND USES THEREOF

الوصف الكامل

خلفية الاختراع

تم تطوير الخلايا المناعية المستندة إلى الخلايا T عندما وجدت الخلايا T المنشطة للورم بين البشر بتسلل الورم إلى الخلايا الليمفاوية (TILs) (Clark *et al.*, *Cancer Res. 29*:705, 1969). استراتيجية واحدة، تعرف بتبني نقل الخلايا T، في بعض السياقات تتضمن على عزل الخلايا الليمفاوية السرطانية المتسللة المحددة مسبقا لنشاط الورم، والتوسع النسيلي لخلايا T-المنشطة للورم الناجم عن مضاد-CD3 والأجسام المضادة لمضاد-CD28 في وجود IL-2، وأخيرا دمج الخلية البشرية الموسعة مرة أخرى إلى المريض الحامل للورم (سوياً مع العلاج الكيميائي والتعاطي المتكرر لـ IL-2) (Dudley *et al.*, *Science 298*:850, 2002). يمكن أن يكون هذا النوع من العلاج بتبني نقل الخلايا T مع تسلل الورم إلى الخلايا الليمفاوية مرهقا من الناحية التقنية ويؤدي إلى التخفيف الكامل إلا في نسبة ضئيلة من المرضى الذين يعانون من سرطان الجلد ونادرا ما يكون فعالا في أنواع أخرى من السرطان (Besser *et al.*, *Clin. Cancer Res. 16*:2646, 2010).

أدى عزل الخلايا المستنسخة من الخلايا T المتفاعلة للورم إلى تطوير علاج مناعي أخر لتوليد مستقبل الخلية T المؤتلفة (TCRs) الخاصة بمستضدات antigens معينة، والتي يمكن إدخالها في الخلايا T، على سبيل المثال، باستخدام نظام توصيل ناقل، لإعطاء خصوصية للهدف المطلوب مثل الببتيد المرتبط بالورم المقدم بواسطة مركب رئيسي في أنسجة الجسم (MHC) الذي تم التعبير عنه على خلية ورم (تعرف كجزيء مستضد لكريات الدم البيضاء البشرية (HLA) في البشر). أسلوب آخر يدخل في مستقبل اصطناعي، ويسمى مستقبل شيميري مستضد chimeric antigen receptor (CAR)، والذي يحتوي عموما على مجال ربط مستضد، والذي، على سبيل المثال، في سياق العلاج المضاد للورم يمكن أن يرتبط بورم محدد أو المستضد المرتبط به، يتصل بمكون داخل الخلية intracellular component واحد أو أكثر ويشتمل على النطاقات المستجيبة، مثل مجال إشارة أساسي مثل مجال إشارة TCR أو في بعض سياقات مجالات الإشارة التكميلية. وخلافا لإدارة TILs، والإجراء الأساسي لهندسة الخلية المناعية TCR أو CAR T بشكل عام

للتعديل الجيني لخلايا T البشرية مع جين تحوير لتشفير شق استهداف الورم، توسع الجسم مسبقاً للخلايا T المؤتلفة، وتخلل الخلايا T المؤتلفة المنتشرة داخل المرضى.

وقد تبين أن العلاج بتبني الخلية T باستخدام الخلايا T التي تعبر عن TCRs المؤتلف له فوائد سريرية هامة، وخاصة في بعض سرطانات الخلايا B. ومع ذلك، فعالة في تنشيط الخلية T غالبا ما تتطلب أو يتم تعزيزها من قبل إشارة التحفيز العامة المتزامنة (Chen and Flies, *Nat. Rev. Immunol. 13*: 227-242, 2013). في المكروية الورمية، تكون جزيئات التحفيز العامة عموما منظمة سفلياً. ونتيجة لذلك، هناك حاجة عادة إلى التحفيز الخارجي عن طريق IL-2 للخلايا T التي تعبر عن TCR المؤتلف خاصة بمستضدات السرطان cancer antigens.

يبدأ تنشيط الخلايا T عندما يشترك TCR مع الببتيد المحدد في MHC على خلية تقديم مستضد (Rossy *et al.*, *Frontiers in Immunol. 3*: 1-12, 2012). تصبح نقطة التفاعل بين الخلايا T وAPC هي التشابك العصبي المناعي، المشتمل على تنشيط ثلاثة مجموعات عنقودية جزيئية متحدة المركز (SMACs)، تتضمن Csmac المركزي، pSMAC الطرفي، وDSMAC الأقصى (Rossy *et al.*, *Frontiers in Immunol. 3*: 1-12, 2012). داخل cSMAC، يمكن لمستقبلات التحفيز العامة أن توظف جزيئات الإشارة لتضخيم إشارة TCR. ويمكن أن تشمل هذه المستقبلات التحفيز العامة CD28، وفي بعض السياقات تشكل مستقبلات عنقودية صغيرة مع TCR لخفض درجة التفعيل (Chen and Flies, *Nat. Rev. Immunol. 13*: 227-242, 2013). الوصول إلى cSMAC بواسطة البروتينات الغشائية المعبر عنها بواسطة الخلايا T قد تكون محددة من قبل حجم المجال خارج الخلية. على سبيل المثال، CD45 تحتوي على مجال خارجي كبير، ويستثنى عموما من التشابك العصبي المناعي، وبالتالي منع قدرتها على منع الإشارات TCR (James and Vale, *Nature 487*:64-69, 2012).

لا تزال هناك حاجة في مجال العلاج المناعي إلى تركيبات بديلة والطرق التي توفر إشارات مناعية للخلايا العائلة لعلاج الأمراض المختلفة، مثل السرطان أو العدوى. وتكشف التجسيمات التي يتم الكشف عنها حاليا عن هذه الاحتياجات وتوفر مزايا أخرى ذات صلة.

الوصف العام للاختراع

يتم تقديم قائمة التتابعات المرتبطة بهذا الطلب في شكل نص بدلا من نسخة ورقية، ويتم تضمينها هنا بالمرجعية إلى الوصف. اسم الملف النصي الذي يحتوي على قائمة التتابعات هو

360056_433WO_SEQUENCE_LISTING.txt. ويكون الملف النصي بحجم 286 كيلوبايت، تم إنشاؤه في 4 مارس 2016، ويتم تقديمه إلكترونيا عبر EFS-Web.

في بعض الجوانب، يوجه الكشف الحالي إلى بروتين دمج، يشتمل على مكون خارج الخلية extracellular component والذي يحتوي على مجال ربط والذي يرتبط على وجه التحديد بهدف، يشتمل مكون داخل الخلية على مجال إشارة داخل الخلية، ومكون كاره للماء hydrophobic component يربط المكونات داخل الخلية وخارج الخلية، بشرط أن طول بروتين الدمج The fusion protein :: المركب المستهدف يمتد لمسافة مماثلة للمسافة بين الأغشية في التشابك العصبي المناعي.

في بعض التجسيمات، طول أو المسافة المكانية لمركب مشكل بين بروتين الدمج والهدف أو جزء من بروتين الدمج:: المركب المستهدف (عموما الجزء خارج الخلية من هذا المركب) عبارة عن أو يغطي مسافة معينة، على سبيل المثال، في بعض التجسيمات، هي مسافة تقل عن أو تقل عن مسافة معينة. في بعض النواحي، تكون المسافة بين بروتين الدمج :: المركب المستهدف (أو عادة الجزء خارج الخلية منه) أقل من حوالي 50 نانومتر، أي أقل من أو حوالي 40 نانومتر، أي أقل من أو حوالي 30 نانومتر، أو أقل من أو حوالي 20 نانومتر أو يساوي أو أقل من في أو حوالي 15 نانومتر. في بعض التجسيمات، يكون عند أو حوالي 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19، أو 20 نانومتر، مثل حوالي 14 أو 15 نانومتر. في بعض الجوانب، والمسافة هي واحدة مماثلة لمسافة بين الأغشية في التشابك العصبي المناعي أو هي المسافة التي هي نفسها، حول نفسه، أو جوهرياً نفس المسافة بين الغشاء القريبة معظم جزء، على سبيل المثال، بقايا، من المجال خارج الخلية من TCR والغشاء المنخفض معظم جزء، على سبيل المثال، بقايا، من MHC (على سبيل المثال، HLA، مثل MHCI أو MHCII) جزيء، فيما يتعلق مركب بيبتيد-MHC /TCR أو المسافة التي تمتد من الأجزاء خارج الخلية من هذا المركب (أو المسافة المكانية الممتدة بواسطة الجزء خارج الخلية المعروف أن تكون موجودة ضمن التشابك العصبي، مثل مركب يحتوي على CD8، CD4، CD28، ورابط مشارك منه أو ليجاند منه). في بعض التجسيمات، تشير المسافات المكانية للمجمعات إلى مسافة بين أغشية خليتين مختلفتين، حيث تعبر الخلية الأولى والخلية الثانية على سطحها عن رابط مشارك يمكن أن يشكل معقدا بين الأغشية عندما تكون الخلايا قريبة من بعضهم البعض. في بعض الجوانب، والمسافة هي المسافة التي هي نفسها، حول نفسه، أو نفس الشيء، على مسافة امتدت من أجزاء خارج الخلية من مركب

مشكل بين TCR والتفاعل المشترك مع جزيء التوافق النسيجي الكبير. في بعض الجوانب، مثل حيث يتضمن بروتين الدمج مجال ربط من جزيء قادر عادة على دخول التشابك العصبي المناعي أو التمركز العام مع مستقبلات مستضد، والمسافة تشبه أو نفس التي امتدت من قبل مركب مشكل بين جزيء (وجود مجال الربط المستخدم في بروتين الدمج)، ورابط طبيعي مشارك منه. في بعض الجوانب، مثل حيث يحتوي بروتين الدمج على مجال ربط من جزيء عادة لا تكون قادرة على دخول التشابك العصبي المناعي أو عادة لا تكون قادرة على التوطين المشترك مع مستقبلات مستضد، والمسافة تختلف عن، على سبيل المثال، أقل من أو جوهرياً أقل من، التي امتدت من قبل مركب مشكل بين جزيء (وجود مجال ربط أو جزء وظيفي منه المستخدم في بروتين الدمج)، ورابط طبيعي مشارك منه.

في بعض التجسيمات، يحتوي مجال ربط داخل المكون خارج الخلية لبروتين دمج من هذا الكشف على جزء ربط الهدف من جزيء قادر على تقديم إشارة مثبطة، مثل جزيء مثبط، على سبيل المثال، جزيء مناعي، مثل المستقبل، أو، المناعي، الحاجز. في بعض الجوانب، مثل هذا الجزيء هو جليكوبروتين، عضو عائلة حاجز. في تجسيمات معينة، فإن بروتين الدمج يشتمل على مجال ربط من جليكوبروتين، عضو عائلة في نقطة الفحص أو ليس جزيء ربط B7 أو B7 أو ليس عضوا في العائلة الفائقة CD28-B7- (على سبيل المثال، ليس CD28، CTLA4، ICOS، أو عائلة جزئ ربط أخرى B7)، يتضمن الجليكوبروتين نموذجي، أعضاء عائلة نقطة الفحص CD200R, SIRPα, CD279 (PD-1), CD2, CD95 (Fas), CTLA4 (CD152), CD223 (LAG3), CD272 (BTLA), A2aR, KIR, TIM3, CD300 أو LPA5، أو متغير ربط لأي جزيء من ذلك. في بعض التجسيمات، يكون مجال الربط داخل المكون خارج الخلوي لبروتين دمج من هذا الكشف يتضمن رابط مشارك لأي مما سبق، أو متغير ربط لأي جزيء من ذلك. في بعض جوانب هذه التجسيمات، يتضمن الجزء داخل الخلية من بروتين الدمج مجال إشارة قادر على تقديم منبه، مثل إشارة استكمالية، إلى خلية ليمفاوية، مثل خلية T، مثل منطقة استكمالية لـ CD28، 41BB، ICOS، أو غيرها من جزيئات التكاليف. في بعض الجوانب، الجزء داخل الخلية من بروتين الدمج لا يشمل مجال الإشارة داخل الخلية intracellular signaling domain من الجزيء المثبط the inhibitory molecule، مثل نقطة الفحص أو جزيء المناعي، عندما يكون الجزء الربط خارج الخلية من نقطة الفحص أو جزيء المناعي. في بعض الجوانب، لا يتضمن بروتين الدمج مجال إشارة أساسي مثل مجال إشارة CD3 أو مجال آخر قادر على توصيل إشارة أولية إلى خلية T.

في بعض الجوانب، يحتوي المكون خارج الخلية أو الجزء الربط منه أو هو مجال ربط لجزيء أو مجال خارجي قادر على الربط على وجه التحديد مع CD200، مثل جزء ربط من CD200R أو البديل منه. في بعض التجسيمات، يكون مجال الربط أو يتضمن منطقة ربط لجزيء أو مجال خارجي قادر على الارتباط بشكل خاص ب CD47، مثل SIRPα إكتودومين أو منطقة ربط CD47 منه، مثل SIRPα إكتودومين أو CD47- منطقة ربط منها. في بعض التجسيمات، يكون مجال الربط قادرا على ربط PD-L1 أو PD-L2 أو جزيء LAG3. قد تكون الأهداف النموذجية واحدة أو أكثر من البروتينات التي يتم زيادة التعبير أو التنظيم في خلايا معينة أو الأنسجة المرتبطة أو من مرض أو حالة أن يعامل أو تحسنت مع بروتينات الدمج والتركيبات المنصوص عليها هنا، مثل خلية ورم أو المكروية الورم، أو ملتزمة مستقبلات التنظيم عموما على الخلايا المناعية مثل الخلايا الليمفاوية التسلل إلى الأنسجة المريضة، مثل الورم.

في بعض التجسيمات، يشتمل المكون خارج الخلية أيضا على منطقة أو أكثر من المناطق أو المجالات الإضافية، على سبيل المثال، من جزيء آخر غير تلك التي يستمد منها نطاق الربط أو بخلاف الجزيء الذي يشترك فيه نطاق الربط. ويمكن أن يشتمل نطاق واحد أو أكثر من المجالات خارج الخلية الإضافية على منطقة فاصل، مثل منطقة واحدة من جزيء مناعي، قد يحتوي على كل أو جزء من المفصلي، أو مجال منطقة ثابت مثل المجال CH2 أو CH3، أو من خلية أخرى جزيء السطح مثل مستقبلات تحفيزي عام، مثل CD28. وقد يتضمن المجال (المجالات) خارج الخلية الإضافية، في بعض النواحي، مجال متعدد، على سبيل المثال، مجال أو إطار سسلسلة يمكن أن يعزز التماثل المتجانس أو غير المتجانس مع جزيء آخر، مثل تعدد تعدد اثنين أو أكثر من بروتينات الدمج. في بعض التجسيمات، يتضمن هذا المجال جزءا من نطاق خارج الخلية لجزيء CD28 تتضمن على الأقل الغشاء القريب المنخفض معظم السيستين، وعموما جزء خارج الخلية بين هذا السيستين والغشاء، أو تعديلها من ذلك. في بعض الجوانب، يتضمن هذا المجال سلسلة أحماض أمينية كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 32، أو جزء منه، أو متغير منه مثل وجود 90% على الأقل، 95%، أو 99% تعريف له. وفي بعض الجوانب، يمكن إدراج هذا المجال من أجل تيسير أو تشجيع تعدد العمليات. في بعض التجسيمات، يحتوي بروتين الدمج على مكون خارج الخلية تتضمن مجال ربط CD200، مثل جزء خارج الخلية (أو جزء منه، مثل مجال الربط منه) لـ CD200R، مثل جزء خارج الخلية من CD200R وجود حمض أميني كما هو مبين في سلسلة تعريف رقم: 25 أو المشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي nucleic acid

molecule كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 2 أو جزء ربط من CD200 منه أو متغير منه أو جزء ربط منه.

في بعض جوانب هذه التجسيمات، الجزء خارج الخلية من بروتين الدمج يشمل أيضا جزء من منطقة خارج الخلية لـ CD28، مثلاً حوالي 9 إلى حوالي 12 الأحماض الأمينية منها (على سبيل المثال، 9 الأحماض الأمينية أو 12 الأحماض الأمينية)، و في بعض الجوانب تتضمن بقايا الغشاء–معظم معظم السيستين من منطقة CD28 خارج الخلية. في بعض هذه التجسيمات، يتم تقليل طول الجزء CD200R من المنطقة خارج الخلية في طول المقابلة لعدد من المخلفات إضافية في الجزء المستمد لـ CD28، مثل حوالي 9 إلى حوالي 12 الأحماض الأمينية (على سبيل المثال، 9 الأحماض الأمينية أو 12 الأحماض الأمينية)، أو من قبل عدد كاف من الأحماض الأمينية أن المسافة التي امتدت من قبل خارج الخلية جزء من مركب بين بروتين الدمج وجزيء CD200 مشابه، مشابهة جوهرياً، أو مماثلة والتي امتدت من الجزء خارج الخلية من مركب بين CD200R البشري، على سبيل المثال، CD200R، و CD200. أو الممتدة بواسطة الجزء خارج الخلية من مركب بين TCR في تفاعل مماثل مع جزيء التوافق النسيجي الكبير (على سبيل المثال، MHC I أو MHCII) في ربط إلى ما يعادل الببتيد– MHC المعقدة. أو من التشابك العصبي المناعي. وفي بعض الجوانب، يتضمن بروتين الدمج كذلك مجالا غريبا، مثل غشاء CD28، مثل مجال غشائي مشفر بالتسلسل المبين في سلسلة التعريف رقم: 4 أو جزء منه، أو نسخة معدلة منه، مثل البديل تعديل لاحتواء المناطق اتهم إضافية أو مخلفات أو مخلفات ماء لتسهيل التفاعلات بين الجزيئات. في بعض التجسيمات، يتضمن البروتين أيضا مجال إشارات CD28 داخل الخلية، مثل مجال لـ CD28، مثل واحد قادر على توظيف جزيء محول واحد أو أكثر إلى CD28 استجابة للربط. في بعض الجوانب، يتضمن المجال داخل الخلية CD28 أو هو سلسلة مشفرة بسلسلة النيوكليوتيدات من سلسلة تعريف رقم: 5 أو جزء أو البديل الوظيفي منه.

في بعض التجسيمات، يتم توجيه الكشف الحالي إلى بروتين دمج يشتمل على مكون خارج الخلية يتكون من مجال ربط يرتبط على وجه التحديد بالمستهدف، مكون داخل الخلية مشتمل على مجال الإشارة داخل الخلية، وعنصر كاره للماء يربط بين المكونات خارج الخلية وداخل الخلية، ويكون طول بروتين الدمج: المركب المستهدف يغطي مسافة مماثلة للمسافة بين الأغشية في التشابك العصبي المناعي، حيث (أ) المكون خارج الخلية يشمل جزء خارج الخلية من CD200R، (ب) المكون الكاره للماء يشمل مجال الغشاء و CD28، و (ج) مكون داخل الخلية يشمل مجال الإشارة داخل الخلية لـ CD28.

في بعض التجسيمات، يتم توجيه الكشف الحالي إلى بروتين دمج يشتمل على مكون خارج الخلية يتكون من مجال ربط يرتبط على وجه التحديد بالمستهدف، مكون داخل الخلية مشتمل على مجال الإشارة داخل الخلية، وعنصر كاره للماء يربط بين المكونات خارج الخلية وداخل الخلية، أن طول بروتين الدمج: المركب المستهدف يغطي مسافة مماثلة لمسافة بين الأغشية في التشابك العصبي المناعي، حيث (أ) المكون خارج الخلية يشمل جزء خارج الخلية من CD200R، (ب) المكون الكاره للماء يشمل مجال الغشاء و CD28، و (ج) مكون داخل الخلية يشمل مجال الإشارة داخل الخلية لـ CD28 ومجال الإشارة داخل الخلية من CD137(4-1BB).

في بعض التجسيمات، يتم توجيه الكشف الحالي إلى بروتين دمج يشتمل على مكون خارج الخلية يتكون من مجال ربط يرتبط على وجه التحديد بالمستهدف، مكون داخل الخلية مشتمل على مجال الإشارة داخل الخلية، وعنصر كاره للماء يربط بين المكونات خارج الخلية وداخل الخلية، أن طول بروتين الدمج :: المركب المستهدف يغطي مسافة مماثلة لمسافة بين الأغشية في التشابك العصبي المناعي، حيث (أ) المكون خارج الخلية يشمل جزء خارج الخلية من CD200R، (ب) مكون كاره للماء يشمل مجال الغشاء لـ CD28، و (ج) المكون داخل الخلية يشمل مجال الإشارة داخل الخلية من CD137 (4-1BB).

في بعض التجسيمات، يتم توجيه الكشف الحالي إلى بروتين دمج يشتمل على مكون خارج الخلية يتكون من مجال ربط يرتبط على وجه التحديد بالمستهدف، مكون داخل الخلية مشتمل على مجال الإشارة داخل الخلية، وعنصر كاره للماء يربط بين المكونات خارج الخلية وداخل الخلية، أن طول بروتين الدمج: المركب المستهدف يغطي مسافة مماثلة لمسافة بين الأغشية في التشابك العصبي المناعي، حيث (أ) المكون خارج الخلية يشمل جزء خارج الخلية من SIRPα، (ب) المكون الكاره للماء يشمل مجال الغشاء و CD28، و (ج) مكون داخل الخلية يشمل مجال الإشارة داخل الخلية لـ CD28.

في بعض التجسيمات، يتم توجيه الكشف الحالي إلى بروتين دمج يشتمل على مكون خارج الخلية يتكون من مجال ربط يرتبط على وجه التحديد بالمستهدف، مكون داخل الخلية مشتمل على مجال الإشارة داخل الخلية، وعنصر كاره للماء يربط بين المكونات خارج الخلية وداخل الخلية، أن طول بروتين الدمج :: المركب المستهدف يغطي مسافة مماثلة لمسافة بين الأغشية في التشابك العصبي المناعي، حيث (أ) المكون خارج الخلية يشمل جزء خارج الخلية من CD279 (PD-1)، (ب) كاره للماء يتكون المكون من مجال الغشاء لـ CD28، و (ج) مكون داخل الخلية يشمل مجال الإشارة داخل الخلية لـ CD28.

في بعض التجسيمات، يتم توجيه الكشف الحالي إلى بروتين دمج يشتمل على مكون خارج الخلية يتكون من مجال ربط يرتبط على وجه التحديد بالمستهدف، مكون داخل الخلية مشتمل على مجال الإشارة داخل الخلية، وعنصر كاره للماء يربط بين المكونات خارج الخلية وداخل الخلية، أن طول بروتين الدمج :: المركب المستهدف يغطي مسافة مماثلة لمسافة بين الأغشية في التشابك العصبي المناعي، حيث (أ) المكون خارج الخلية يشمل جزء خارج الخلية من CD95 (FAS)، (ب) المكون الكاره للماء the hydrophobic component يشمل مجال الغشاء لـ CD28، و (ج) مكون داخل الخلية يشمل مجال الإشارة داخل الخلية لـ CD28.

في بعض التجسيمات، يتم توجيه الكشف الحالي إلى بروتين دمج يشتمل على مكون خارج الخلية يتكون من مجال ربط يرتبط على وجه التحديد بالمستهدف، مكون داخل الخلية مشتمل على مجال الإشارة داخل الخلية، وعنصر كاره للماء يربط بين المكونات خارج الخلية وداخل الخلية، أن طول بروتين الدمج: المركب المستهدف يغطي مسافة مماثلة لمسافة بين الأغشية في التشابك العصبي المناعي، حيث (أ) المكون خارج الخلية يشمل جزء خارج الخلية من TIM3، (ب) المكون الكاره للماء يشمل مجال الغشاء و CD28، و (ج) مكون داخل الخلية يشمل مجال الإشارة داخل الخلية لـ CD28.

في بعض التجسيمات، يتم توجيه الكشف الحالي إلى بروتين دمج يشتمل على مكون خارج الخلية يتكون من مجال ربط يرتبط على وجه التحديد بالمستهدف، مكون داخل الخلية مشتمل على مجال الإشارة داخل الخلية، وعنصر كاره للماء يربط بين المكونات خارج الخلية وداخل الخلية، أن طول بروتين الدمج: المركب المستهدف يغطي مسافة مماثلة لمسافة بين الأغشية في التشابك العصبي المناعي، حيث (أ) المكون خارج الخلية يشمل جزء خارج الخلية من LAG3، (ب) المكون الكاره للماء يشمل مجال الغشاء و CD28، و (ج) مكون داخل الخلية يشمل مجال الإشارة داخل الخلية لـ CD28.

في بعض التجسيمات، يتم توجيه الكشف الحالي إلى بروتين دمج يشتمل على مكون خارج الخلية يتكون من مجال ربط يرتبط على وجه التحديد بالمستهدف، مكون داخل الخلية مشتمل على مجال الإشارة داخل الخلية، وعنصر كاره للماء يربط بين المكونات خارج الخلية وداخل الخلية، أن طول بروتين الدمج :: المركب المستهدف يغطي مسافة مماثلة لمسافة بين الأغشية في التشابك العصبي المناعي، حيث (أ) المكون خارج الخلية يشمل جزء خارج الخلية من CD2، (ب) مكون كاره للماء يشمل مجال الغشاء لـ CD28، و (ج) يشمل المكون داخل الخلية مجال الإشارة داخل الخلية لـ CD28.

في جوانب معينة، يتم توجيه الكشف الحالي إلى جزيء تشفير الحمض النووي بروتين الدمج كما هو موضح هنا.

في بعض الجوانب، يتم توجيه الكشف الحالي إلى ناقل يشتمل على جزيء نووي يشفر بروتين الدمج كما هو موضح هنا.

في جوانب أخرى معينة، يتم توجيه الكشف الحالي إلى خلية عائلة تشتمل على بروتين دمج أو حمض نووي أو ناقلات كما هو موضح هنا.

في بعض الجوانب الأخرى، يتم توفير طريقة لزيادة نشاط خلية مناعية، وتشمل إعطاء لكائن بحاجة إلى زيادة نشاط الخلايا المناعية كمية فعالة من خلية العائل كما هو موضح هنا.

في جوانب أخرى، يتم توجيه الكشف الحالي إلى طريقة لتعزيز أو إطالة الاستجابة المناعية، التي تشمل الإعطاء لكائن بحاجة إلى نشاط الخلايا المناعية المحسنة أو لفترات طويلة كمية فعالة من خلية العائل كما هو موضح هنا.

أيضاً في جوانب أخرى، يوفر الكشف الحالي وسيلة لتحفيز استجابة الخلايا T المستضدة المحددة، والتي تشمل إعطاء لكائن بحاجة إلى زيادة نشاط الخلايا المناعية كمية فعالة من خلية العائل كما هو موضح هنا.

في جوانب أخرى، يتم توجيه الكشف الحالي إلى طريقة تثبيط مسار الإشارات المثبطة للمناعة، والتي تشمل إعطاء مادة بحاجة إلى كمية فعالة من خلية العائل كما هو موضح هنا.

في جوانب أخرى، يتم توجيه الكشف الحالي إلى طريقة لعلاج السرطان، وتشمل إعطاء لمرض سرطان كمية فعالة علاجيا من خلية العائل كما هو موضح هنا.

في جوانب أخرى، يتم توجيه الكشف الحالي إلى طريقة تثبيط المقاومة المناعية للخلايا السرطانية، والتي تشمل إعطاء مادة تحتاج إلى كمية فعالة من الخلية العائلة كما هو موضح هنا.

أيضاً في جوانب أخرى، فإن الكشف الحالي يوفر طريقة لعلاج الورم، وتشمل إعطاء لكائن وجود ورم كمية فعالة علاجيا من خلية العائل كما هو موضح هنا، حيث الخلية العائلة المتعاطاه قادرة على التكاثر في المكروية الورمية المثبطة للمناعة.

وهناك طريقة لعلاج العدوى، التي تشمل إعطاء لمرض وجود عدوى كمية علاجية فعالة من خلية العائل كما هو موضح هنا، كما يتم توفيرها من قبل الكشف الحالي.

وتصبح هذه الجوانب والجوانب الأخرى للاختراع الحالي واضحة عند الإشارة إلى الوصف التفصيلي التالي والرسومات المرفقة.

شرح مختصر للرسومات

الأشكال 1أ و 1ب تبين تركيبات CD200R-CD28 المعبر عنها في مستويات عالية على خلايا الفئران $CD8^+$ T الأساسية. (A) تمثيل تخطيطي من تركيبات CD200R-CD28 النموذجية. تركيب "I" يحتوي على CD200R خارج الخلية ("EC") والغشاء ("TM") المجالات و CD28 داخل الخلية ("EC") مجال الإشارة (CD200Rtm-CD28). تركيب "II" يحتوي على المجال خارج الخلية من CD200R والمجالات والنطاقات داخل الخلية لـ CD28 (CD200R-CD28tm). تركيبات "III-V" أيضا دمج جزء من المجال خارج الخلية لـ CD28 إلى سيستين الغشاء المنخفض لتعزيز التعدد وتعزيز إشارات CD28. لحساب أي الأحماض الأمينية خارج الخلية إضافية (على سبيل المثال، من واحد إلى حوالي 50 الأحماض الأمينية؛ مثل البنايات الفئران النموذجية التي تم الكشف عنها هنا تحتوي على تسعة اضافية (9) من الأحماض الأمينية والبنية البشرية النموذجية التي تم الكشف عنها هنا تحتوي على اثني عشر (12) من الأحماض الأمينية)، بعض التركيبات لديها جزء مقطعة من نطاق خارج الخلية أو داخل الخلية (على سبيل المثال، CD200R الذي يحافظ على N يرتبط جليكوسيلاتيون الموقع). على سبيل المثال، تركيب الرابع لديه جزء قطع من CD200R الذي يتم قطعه من قبل 3 الأحماض الأمينية. تركيب V لديه جزء قطع من CD200R الذي يتم قطعه 9 الأحماض الأمينية. تركيبات "I"، "II"، و "V" الحفاظ على المسافة المكانية قصيرة بين الخلايا (على سبيل المثال، بين الخلايا T وخلايا تقديم مستضد)، ويمكن أن تشارك في توطين مع TCR داخل cSMAC وتقديم إشارة عامة قوية –تحفيزية. (B) تركيبات التعبير المعدلة جينياً من CD200R-CD28 الفئران على خلايا TCR_{gag} T كما تم الكشف عنها بواسطة الأجسام المضادة لمضاد CD200R. ناقلات التحكم يحتوي على البروتين الفلوري الأخضر (GFP).

الأشكال 2أ إلى 2ز تبين أن تركيبات CD200R-CD28 تعزز الانتشار، وتراكم، وظيفة المستجيب استجابة لخلايا الورم المستهدفة $CD200^+$ في المختبر، وتتراكم في التشابك العصبي المناعي. تم تحفيز الخلايا الطحالية من الفئران TCR_{gag} ساذجة في المختبر مع مضاد CD3، ومضاد CD28، والمؤتلف البشري IL-2 (100 U/ مل) و متحولة مع الفيروسات الطافية لمدة 2 يوما. تم إعادة تحفيز الخلايا كل 7 أيام مع FBL المشع و خلايا الطحال والاستزراع مع rhIL-2 (50 U/ مل) لمدة تصل إلى ثلاثة التحفيز. تم استخدام الخلايا T لفحوصات اليوم 5–7 بعد التحفيز الأخير. (A) انتشار CD200R-CD28 و GFP التحكم خلايا TCR_{gag} T كما يقاس

بواسطة CellTrace التخفيف البنفسجي. تم تحفيز الخلايا T مع FBL −CD200 (لوحات العلوي) أو FBL $CD200^+$ (لوحات أقل) لمدة 3 أيام. (B) التوسع التفضيلي/ البقاء من TCR_{gag} خلايا T TCR_{gag} خلال شارك في الاستزراع مع غير خلايا متحولة T TCR_{gag} خلال الدورات الأسبوعية من التحفيز مع FBL $CD200^+$ المشع وخلايا الطحال. (C) إثراء الخلايا T متحولة. ريبيمولاتيون المتكررة مع CD200 + الخلايا السرطانية المشعة إثراء الخلايا المتحولة مع CD200R-9aas-CD28Cys بالمقارنة مع الشديد من نوع الخلايا T متحولة مع ناقلات التحكم GFP فارغة. (D) زيادة CD200R و CD200 كثافة الإشارة في الخلية T: تشابك عصبى FBL. يتم زيادة المواد الدهنية الطافية في التشابك العصبي المناعي (I). CD200R-9aas-CD28Cys بروتينات الدمج المشترك المترجمة مع المواد الدهنية الطافية، بالاشارة إلى أن بروتينات الدمج تركز داخل التشابك العصبي المناعي (III، IV). (E) CD200R-CD28 + CD8 + خلايا T تعزيز القدرة على تحلل خلايا FBL $CD200^+$ في المختبر. وقد وصفت الخلايا السرطانية المستهدفة مع التخفيفات المختلفة من صبغ الفلورسنت 5، 6- كربوكسي فلورسين ديسيتات سوتسينيميديل استر (CFSE)، كما هو مبين. تم تحضين خلايا T TCR_{gag} المؤثرة مع بروتين الدمج CD200R-CD28 المشار إليه أو التحكم الناقلة الفارغة على المستجيب المحدد لاستهداف نسبة مع مزيج 1: 1 من $CD200^+$ FBL ($CFSE^{hi}$) وأهداف التحكم EL4 ($CFSE^{lo}$) غير محددة لمدة 5 ساعات. تم تحديد نسبة FBL من مجموع FBL والتحكم في الخلايا السرطانية عن طريق التدفق الخلوي. تم تحديد نسبة التحلل عن طريق قسمة النسبة المئوية من FBL المحضنة مع الخلايا T بنسبة FBL المحضنة بدون خلايا T. (F) استهداف الخلايا السرطانية لفحص CFSE في (G). وقد وصفت الخلايا السرطانية المستهدفة مع التخفيفات المختلفة من الأصباغ الفلورية CellTrace البنفسجي (CTV) أو CFSE. تم إنشاء 1: 1: 1 مزيج من خلايا EL4 (+CTV)، FBL $CD200^+$ ($CFSE^{hi}$) وأهداف التحكم EL4 ($CFSE^{lo}$) غير محددة. (G) CFSE فحص السمية. تم تحول الخلايا T TCR_{gag} مع مستقبلات CD200R-CD28 أو ناقلات التحكم GFP. تم تحضين خلايا T TCR_{gag} المؤثرة عند المستجيب المحدد لاستهداف نسبة مع مزيج 1: 1 من FBL −CD200 أو FBL $CD200^+$ وأهداف التحكم EL4 غير محددة لمدة 4 ساعات. تم تحديد نسبة FBL من مجموع FBL والتحكم في الخلايا السرطانية عن طريق التدفق الخلوي. تم تحديد نسبة التحلل عن طريق قسمة النسبة المئوية من FBL المحضنة مع الخلايا T بنسبة FBL المحضنة من دون خلايا T.

الأشكال 3أ إلى 3د تظهر أن الخلايا T متحولة مع CD200R-9aas-CD28Cys تتراكم بشكل تفضيلي بالإستجابة إلى تحدي الورم في الجسم الحي والبروتينات السطحية صريحة بما يتفق

مع النمط الظاهري المستجيب بعد الحقن في سيتوكسان المعالجة، FBL تحمل الفئران. تم إنشاء خلايا متحولة TCR_{gag} T كما هو موضح في المثال 2. (A) التخطيطي التجريبي. تم حقن C57BL/ 6 الفئران مع 4×10^6 CD200 + الخلايا FBL. بعد خمسة أيام، تم حقن CD200R-9aas-CD28Cys (Thy1.1 متماثل متماثل) و eGFP (Thy1.1 متجانس) خلايا TCR_{gag} T في سيتوكسان المعالجة FBL تحمل B6 الفئران في 4×10^6 خلايا/ فأرية. تم إعطاء IL-2 كل يومين (2×10^4 U/ جرعة). في يوم 8 بعد نقل الخلايا T، الموت الرحيم للفئران وتم تجميع الطحال والغدد الليمفاوية الأربية. (B)CD200R-9aas-CD28Cys تتراكم خلايا TCR_{gag} T في الطحال بالإستجابة إلى FBL. (لن = العقدة الليمفاوية؛ Spl = الطحال). (C) مقارنة البروتينات السطحية 3 أيام بعد نقل للخلايا T متحولة للتعبير عن CD200R-9aas-CD28Cys، الخلايا T متحولة مع ناقلات فارغة، والخلايا T الذاتية. CD200R-9aas-CD28Cys التعبير عن الخلايا TCR_{gag} T انخفاض CD62L مقارنة للتحكم على خلايا TCR_{gag} T، مما يشير إلى المستجيب T النمط الظاهري الخلية. (D) مقارنة البروتينات السطحية 15 يوما بعد نقل للخلايا متحولة للتعبير عن خلايا T + CD200R -9aas-CD28Cys، الخلايا T متحولة مع ناقلات فارغة، والخلايا T الذاتية. CD200R-9aas-CD28Cys خلايا TCR_{gag} T تعبر عن مستويات مماثلة من بروتينات سطح الخلية مقارنة بالتحكم على خلايا TCR_{gag} T.

وتظهر الأشكال 4أ إلى 4د أن العلاج المناعي المتحد مع الخلايا T متحولة CD200R-CD28 يمكن القضاء على سرطان الدم المنتشر. (A) تجربة تخطيطية. تم حقن C57BL/ 6 الفئران مع 4×10^6 CD200 + الخلايا FBL. بعد خمسة أيام، CD200R-CD28tm، CD200R-CD28Cys، CD200R-9aas-CD28Cys، أو eGFP الخلايا TCR_{gag} T تم حقن I.p. في الفئران تحمل FBL تحمل سي في 105 خلايا/ فأرية. تم إعطاء IL-2 كل يومين (2×10^4 U/ جرعة) في مجموعة من الفئران كما هو مبين. (ب) مثال ممثل للتعبير عن بروتينات سطح الخلية في CD200R-CD28tm تحول الخلايا T وغير تحول الخلايا T في يوم من الحقن مع IL-2، كما يحددها التدفق الخلوي. (C) البقاء من الفئران المعالجة في وجود حقن IL-2. (D) البقاء من الفئران المعالجة في غياب حقن IL-2. نقل CD200R-9aas-CD28Cys خلايا TCR_{gag} T تحسنت بشكل ملحوظ البقاء في غياب حقن IL-2 ($P < 0.05$، log-rank Mantel-Cox test).

الأشكال 5أ إلى 5ج تبين أن الخلايا T التي تعبر عن CD200R-9aas-CD28Cys لا تحفز الكشف عن تلف الكبد المناعي الذاتي أو التسلل الأنسجة الطبيعية. (A) تجربة تخطيطية. تم حقن سيتوكسان إلى فئران Alb:Gag المعالجة مع خلايا 4×10^6 FBL $CD200^+$. وبعد خمسة

أيام، تم حقن CD200R-9aas-CD28Cys، و TCR_{gag} eGFP خلايا T i.p. في الفئران تحمل سيتوكسان المعالجة FBL في 105 خلايا/ فأرية. تم إعطاء IL-2 كل يومين (2×10^4 U/ جرعة) في مجموعة من الفئران كما هو مبين. بعد ثلاثة و 7 أيام بعد نقل، تم تقييم تلف الكبد عن طريق القياس الكمي لمستويات المصل من انزيمات الكبد أسبارتات أمينو ترانسفيريز (AST) و ألانين أمينو ترانسفيريز (ALT). (B) تم قياس مستويات AST و ALT في الايام 3 و 7 بعد نقل الفئران تلقي أي خلايا T، خلايا T التحكم للتعبير عن GFP، أو خلايا T للتعبير عن CD200R-9aas-CD28Cys لم تختلف عن طريق العلاج. (C) تقييم تسلل خلية T من الأنسجة الطبيعية. وقد لوحظ وجود محدود من الخلايا T في أنسجة الكبد باستخدام الأجسام المضادة المحددة لـ CD3 إشارة الخلايا CD3 (اللوحة اليسرى)، مع عدم وجود فرق كبير بين المتلقيين CD200R-9aas-CD28Cys TCR_{gag} أو التحكم على خلايا T TCR_{gag} (اللوحة اليمنى).

وتظهر الأشكال من 6أ إلى 6د أن مجالات الإشارة التحفيزية المشتركة بين 4-1BB تعزز تراكم ووظيفة المستجيب للخلايا T المستحثة في المختبر وتعزز بقاء المتلقي الحامل للورم للخلايا T المستحثة للورم استجابة للخلايا المستهدفة للورم + CD200. (A) التمثيل التخطيطي لـ CD200R-CD28 ("V")، 4-1BB ("VI")، و CD28-4-1BB- ("السابع") تركيبات. (B) التوسع تحول الخلايا T TCR_{gag} نسبة إلى تحول الخلايا T TCR_{gag} بعد التحفيز الأسبوعي مع $CD200^+$ FBL المشع و خلايا الطحال. CD200R-4-1BB و CD200R-CD28-4-1BB أيضا تعزيز تراكم تحول الخلايا T في المختبر. (C) $CD8^+$ T + CD200R-9aas-4-1BB خلايا وضحت تعزيز القدرة على تحلل خلايا $CD200^+$ FBL في المختبر بالنسبة للضوابط، وذلك باستخدام معيار CFSE القائم على مقايسة السمية الخلوية cytotoxicity. تم تحديد نسبة FBL من مجموع FBL والتحكم في الخلايا السرطانية عن طريق التدفق الخلوي. تم تحديد نسبة التحلل عن طريق قسمة النسبة المئوية من FBL المحضنة مع الخلايا T بنسبة FBL المحضنة من دون خلايا T. (D) CD200R-41BB-تحول الخلايا T أيضا تعزيز البقاء بالنسبة للضوابط. تم حقن C57BL/ 6 الفئران مع 4×10^6 CD200 + الخلايا FBL. وبعد خمسة أيام، تم حقن CD200R-9aas-CD28، CD200R-9aas-4-1BB، CD200R-9aas-CD28-4-1BB، أو الخلايا T eGFP TCR_{gag}. إلى سيتوكسان المعالجة FBL تحمل الفئران في 105 خلايا/ فأرية.

وتظهر الأشكال 7أ إلى 7د أن الخلايا T الأولية البشرية متحولة للتعبير عن TCR WT1 محددة و CD200Rtm-CD28 بروتين الدمج المعرض لتعزيز الانتشار لاستهداف الخلايا التي تعبر عن CD200 وزيادة إنتاج السيتوكينات cytokine بالإستجابة إلى الخلايا السرطانية التي تعبر

عن CD200. (A) التعبير عن TT1126 محددة TCR، C4، و CD200Rtm-CD28. (B) التعبير عن CD200 في الخلايا T2 و K562. الخلايا T2 يحمل مستوى منخفض التعبير CD200 الذاتية. (C) انتشار الخلايا T كما هو مبين من قبل CFSE. الخلايا التي تتكاثر في استجابة لاستضداد المعرض خفض CFSE كثافة مضان. خلايا T متحولة مع كل من C4 و IFP تظهر انتشارا معززا إلى الخلايا المستهدفة للتعبير عن مستويات منخفضة من CD200 نسبة إلى الخلايا T متحولة مع C4 فقط. (D) إنتاج السيتوكين بالإستجابة إلى التعرض للخلايا السرطانية CD200dim، كما يقاس التدفق الخلوي. النسبية للتحكم على الخلايا T متحولة مع TCR C4 وحدها، والخلايا T متحولة مع كل من C4 و IFP CD200Rtm-CD28 تظهر زيادة إنتاج السيتوكينات.

وتبين الأشكال 8أ إلى 8هـ أن بروتينات الدمج التي تتضمن مكونات خارج الخلية SIRPα والنطاقات التشجيعية التحفيز CD28 تعزز تراكم وانتشار الخلايا T متحولة في المختبر. (A) التمثيل التخطيطي للبناء SIRPα-CD28 النموذجية. تركيب "I" يحتوي على SIRPα خارج الخلية ("EC") والغشاء ("TM") المجالات و CD28 داخل الخلية ("EC") مجال الإشارة (سيربتم–CD28). تركيب "II" يحتوي على المجال خارج الخلية من SIRPα ومجال الغشاء والنطاقات داخل الخلية لـ CD28 (SIRPα-CD28tm)CD28. تركيبات "إي–في" أيضا دمج جزء من المجال خارج الخلية لـ CD28 إلى سيستين الغشاء المنخفض لتعزيز التعدد وتعزيز إشارات CD28. لحساب الأحماض الأمينية خارج الخلية اضافية (على سبيل المثال، تسعة اضافية (9) الأحماض الأمينية للفئران الإناث، أو اثني عشر (12) الأحماض الأمينية للبنية البشرية)، وبعض منشآت لديها جزء قطع من خارج الخلية أو المجال داخل الخلية (على سبيل المثال، SIRPα الذي يحافظ على N يرتبط موقع جليكوسيلاتيون). التركيب الرابع لديه جزء قطع من SIRPα التي يتم قطعها 6 الأحماض الأمينية للحفاظ على N يرتبط ارتباط جليكوسيلاتيون. تركيب V يحتوي على جزء قطع من SIRPα التي يتم قطعها 9 الأحماض الأمينية. التركيب 6 لديه جزء قطع من SIRPα التي يتم قطعها 23 الأحماض الأمينية. تركيبات "I"، "II"، و "V" الحفاظ على المسافة المكانية قصيرة بين الخلايا (على سبيل المثال، بين الخلايا T وخلايا تقديم مستضد)، ويمكن أن تشارك في توطين مع TCR داخل cSMAC وتقديم إشارة عامة قوية–تحفيزية. (B) التوسع تحول الخلايا T TCR_{gag} نسبة إلى تحول الخلايا T TCR_{gag} بعد التحفيز الأسبوعي مع SIRPα + FBL المشع و خلايا الطحال. تركيبات SIRPα-CD28 تعزيز تراكم تحول الخلايا T في المختبر، مع SIRPα-9aas-CD28Cys تعرض تراكم معزز. (C) انتشار الخلايا T متحولة مع SIRPα-CD28 تركيبات في CellTrace البنفسجية (CTV) تخفيف انتشار الفحص. خلايا T للتعبير عن SIRPα-CD28 تركيبات هندسية

للحفاظ على الخلية T من الخلايا السرطانية المسافة أظهرت تعزيز الانتشار بالنسبة إلى الخلايا T غير متحولة. (D) قتل CD47 + الخلايا السرطانية بعد شارك في الاستزراع مع الخلايا SIRPα- CD28 + T متحولة للتعبير عن سيربتم–CD28 أو تركيبات SIRPα-9aas-CD28Cys. في المقابل، لم يتم القضاء على الخلايا السرطانية عندما المستزرعة مع الخلايا T تلقي ناقلات فارغة، أو SIRPα قطع تفتقر إلى مجال داخل الخلية. (E) نتائج مقايسة إنكوسيت تستخدم لقياس قتل الخلايا الورم CD47 +. تم تحول CD47 + FBL الخلايا السرطانية مع مشيري. فقدان إشارة حمراء يشير إلى قتل الخلايا السرطانية. تم اختبار قتل الخلايا السرطانية في المستجيب: نسب الهدف من 10: 1، 2: 1، و 0.4: 1. SIRPα-CD28 + خلايا T قتل CD47 + الخلايا السرطانية، حتى في أدنى نسبة المستجيب إلى الهدف اختبارها.

ويبين الشكلان 9 أ و 9 ب أن بروتينات الدمج المكونة من مكونات PD-1 خارج الخلية ونطاقات التشفير التحفيزي CD28 تعزز إنتاج السيتوكينات في المختبر. (A) التمثيل التخطيطي للبناء CD28–PD-1 النموذجية. تركيب "I" يحتوي على PD-1 خارج الخلية ("EC") والغشاء ("TM") المجالات و CD28 داخل الخلية ("EC") مجال الإشارة (PD1tm-CD28). تركيب "II" يحتوي على مجال خارج الخلية من PD-1 والنطاقات عبر الغشاء وداخل الخلية لـ CD28(-PD1 CD28tm). تركيبات "إي–في" أيضا دمج جزء من المجال خارج الخلية لـ CD28 المجاورة للسيستين الغشاء المنخفض لتعزيز التعدد وتعزيز إشارات CD28. لحساب الأحماض الأمينية خارج الخلية إضافية (على سبيل المثال، تسعة إضافية (9) الأحماض الأمينية للبنايات الفئران، أو اثني عشر (12) الأحماض الأمينية للبنية البشرية)، تركيبات الرابع–السابع لها جزء قطع من PD-1. تركيب الرابع لديه جزء قطع من PD-1 التي يتم قطعها 9 الأحماض الأمينية. تركيب V لديه جزء قطع من PD-1 الذي يتم قطع 12 الأحماض الأمينية. التركيب 6 لديه جزء قطع من PD-1 الذي يتم قطعه 15 الأحماض الأمينية. تركيب 7 لديه جزء قطع من PD-1 التي يتم قطعها 21 الأحماض الأمينية. تركيبات "I"، "II"، و "V" الحفاظ على المسافة المكانية قصيرة بين الخلايا (على سبيل المثال، بين الخلايا T وخلايا تقديم مستضد)، ويمكن أن تشارك في توطين مع TCR داخل cSMAC وتقديم إشارة عامة قوية –تحفيزيةT + PD1-CD28 (B) . خلايا عرضت زيادة إنتاج السيتوكينات بالإستجابة إلى التحفيز لمدة 5 ساعات في وجود بريفيلدين A مع الخلايا FBL التي تعبر داخليا PD-1 بروابط، PD-L1 و PD-L2. تم تقييم الخلايا T المحفزة للتعبير داخل الخلية من السيتوكينات المستجيب، IFNγ و TNFα، عن طريق التدفق الخلوي.

ويبين الشكل 10 التعبير المشترك عن TCR C4 و PD-1 IFP (PD1-12aas-CD28Cys أو PD1-15aas-CD28Cys أو PD1-21aas-CD28Cys). خلايا T متحولة مع C4 و PD1-12aas-CD28Cys أو PD1-15aas-CD28Cys عرضت كفاءة تحول عالية والتعبير عن كل من البروتينات.

وتبين الأشكال 11أ إلى 11ج أن بروتينات الدمج مشتملة على المكونات خارج الخلية FAS والمجالات التشخيصية العامة CD28 متجمعة في المختبر للتحفيز مع الخلايا FBL المشعة. (A) تمثيل تخطيطي من تركيبات CD28–FAS النموذجية. تركيب "I" يحتوي على FAS خارج الخلية ("EC") والغشاء ("TM") المجالات و CD28 داخل الخلية ("EC") مجال الإشارة (Fastm – CD28). تركيب "II" يحتوي على المجال خارج الخلية من FAS والنطاقات الغشاء والنطاقات داخل الخلية لـ CD28 (CD28tm–FAS). تركيبات "الثالث" و "الرابع" أيضا دمج جزء من المجال خارج الخلية لـ CD28 المجاورة للسيستين الغشاء القريب لتعزيز التعدد وتعزيز إشارات CD28. لحساب الأحماض الأمينية خارج الخلية إضافية (على سبيل المثال، تسعة إضافية (9) الأحماض الأمينية للبنات الفئران، أو اثني عشر (12) الأحماض الأمينية للبنية البشرية)، والتركيب الرابع لديه جزء قطع من FAS، حيث يتم قطع المجال خارج الخلية FAS 9 الأحماض الأمينية. تركيبات "I"، "II"، و "IV" الحفاظ على المسافة المكانية قصيرة بين الخلايا (على سبيل المثال، بين الخلايا T وخلايا تقديم مستضد)، ويمكن أن تشارك في توطين مع TCR داخل cSMAC وتقديم إشارة عامة قوية – تحفيزية. (ب) تراكم الخلايا T TCR_{gag} متحولة مع FAS تركيبات على التحفيز متعددة مع الخلايا FBL المشع. كل من تركيبات تراكمت تراكم الخلايا T بالنسبة للتحكم على الخلايا T. (C) التعبير عن CD28–FAS تركيبات ولكن ليس كامل الطول (FL) تعزيز FAS بقاء أو توسيع الخلايا T على التحفيز متعددة في المختبر.

الأشكال 12أ و 12ب تظهر هيكل والتعبير عن بروتينات الدمج المشتمل على مكونات خارج الخلية LAG3 والنطاقات التشفير التحفيز CD28 المشتركة. (A) التمثيل التخطيطي للبناء LAG3-CD28 النموذجية. تركيب "I" يحتوي على LAG3 خارج الخلية ("EC") والغشاء ("TM") المجالات و CD28 داخل الخلية ("EC") مجال الإشارة (LAG3tm-CD28). تركيب "II" يحتوي على المجال خارج الخلية من LAG3 والنطاقات الغشاء والنطاقات داخل الخلية لـ CD28 (LAG3-CD28tm). تركيبات "iii" و "iv" أيضا دمج جزء من المجال خارج الخلية لـ CD28 المجاورة للسيستين الغشاء القريب لتعزيز التعدد وتعزيز إشارات CD28. لحساب الأحماض الأمينية خارج الخلية (على سبيل المثال، تسعة إضافية (9) الأحماض الأمينية للبنات الفئران، أو اثني عشر

(12) الأحماض الأمينية للبنية البشرية)، والتركيب الرابع لديه جزء قطع من LAG3، حيث يتم قطع المجال خارج الخلية LAG3 9 الأحماض الأمينية. تركيبات "I"، "II"، و "IV" الحفاظ على المسافة المكانية قصيرة بين الخلايا (على سبيل المثال، بين الخلايا T وخلايا تقديم مستضد)، ويمكن أن تشارك في توطين مع TCR داخل cSMAC وتقديم إشارة عامة قوية –تحفيزية. (B) التعبير عن LAG3-CD28 تركيبات من قبل خلايا الفئران $CD8^+$ T، على النحو الذي يحدده المضادة LAG3 تلطيخ الأجسام المضادة وتدفق الخلوي. (LAG3tm-CD28؛ LAG3-CD28tm؛ LAG3-CD28Cys؛ LAG3-9aas-CD28Cys) تعبير عن التركيبات، على النقيض من الخلايا T التحكم التي تلقت ناقلات فارغة.

ويبين الشكلان 13أ و 13ب هيكل وتعبير بروتينات الدمج المشتمل على المكونات خارج الخلية TIM3 والنطاقات التشفير التحفيزي CD28. (A) تمثيل تخطيطي من نموذجي TIM3-CD28 تركيبات. تركيب "I" يحتوي على TIM3 خارج الخلية ("EC") والغشاء ("TM") المجالات و CD28 داخل الخلية ("EC") مجال الإشارة (TIM3tm-CD28). تركيب "II" يحتوي على المجال خارج الخلية من TIM3 والنطاقات الغشاء والنطاقات داخل الخلية لـ CD28 (TIM3-CD28tm). تركيبات "الثالث" و "الرابع" أيضا دمج جزء من المجال خارج الخلية لـ CD28 المجاورة للسيستين الغشاء القريب لتعزيز التعدد وتعزيز إشارات CD28. لحساب الأحماض الأمينية خارج الخلية (على سبيل المثال، تسعة إضافية (9) الأحماض الأمينية للبنات الفئران، أو اثني عشر (12) الأحماض الأمينية للبناء البشري)، والتركيب الرابع لديه جزء قطع من TIM3، حيث يتم قطع المجال خارج الخلية TIM3 9 الأحماض الأمينية. تركيبات "I"، "II"، و "IV" الحفاظ على المسافة المكانية قصيرة بين الخلايا (على سبيل المثال، بين الخلايا T وخلايا تقديم مستضد)، ويمكن أن تشارك في توطين مع TCR داخل cSMAC وتقديم إشارة عامة قوية –تحفيزية. (B) التعبير عن TIM3-CD28 تركيبات من قبل خلايا الفئران $CD8^+$ T، على النحو الذي يحدده المضادة لـ TIM3 تلطيخ الأجسام المضادة وتدفق الخلوي. (TIM3tm-CD28؛ TIM3-CD28tm؛ TIM3-CD28Cys؛ TIM3-9aas-CD28Cys) عادة ما تعبر عن التركيبات، على النقيض من الخلايا T التحكم التي تلقت ناقلات فارغة.

<u>الوصف التفصيلي:</u>

يقدم الكشف الحالي بروتينات الدمج والتي تعدل الإشارات في خلية العائل، مثل خلية مناعية. على سبيل المثال، يمكن للبروتينات الدمجية من هذا الكشف أن توفر تنشيط أو إشارة تحفيز مشترك في خلية T البشرية، حيث يمكن أن تكون هندسية T اختياريا أن يكون لها TCR المفضلة لمستضد محددة. هذه بروتينات دمج التعديل المناعي (إفبس) يمكن أن تتفاعل مع الأهداف التعبيرية في كل أو مع الأهداف التي عادة أوبريغريسولاتد أو أوفيركسرسد في الخلايا غير طبيعية (على سبيل المثال، خلية سرطان). مثل هذه الأطراف لديها مجال ربط خارج الخلية ومجال الإشارة داخل الخلية. عن طريق نقل الخلايا T مع ترس هندسيا (على سبيل المثال، TCR تقارب عالية) وبروتينات الدمج من هذا الكشف التي تولد إشارات التنشيط، قد لا تتطلب تجسيمات معينة من الخلايا T في وقت لاحق التحفيز العامة على التفاعل مع، على سبيل المثال، خلية ورم.

في بعض الجوانب، يوفر الكشف الحالي الخلايا العائلة (على سبيل المثال، الخلايا المناعية مثل الخلايا T، والخلايا الجذعية، والخلايا نك أو ما شابه ذلك) التي تشمل إف، ناقلات تشفير IFPs، وطرق تفعيل الخلايا T التي تتضمن IFP لمختلف التطبيقات العلاجية، تتضمن علاج مرض في الكائن (مثل السرطان، والأمراض المعدية).

قبل وضع هذا الكشف بمزيد من التفصيل، قد يكون من المفيد فهم ذلك لتوفير تعريفات لبعض المصطلحات التي سيتم استخدامها هنا. وترد تعاريف إضافية في هذا الكشف.

وفي الوصف الحالي، ينبغي فهم أي مدى تركيز أو مدى مئوي أو مدى نسبة أو مدى صحيح بحيث يشمل قيمة أي عدد صحيح ضمن المدى المكرر، وعند الحاجة، فإن أجزاء منه (مثل عشرة ومائة لعدد صحيح)، مالم يذكر خلاف ذلك. كما ينبغي فهم أي نطاق عدد يتكرر هنا فيما يتعلق بأي سمة طبيعية، مثل وحدات البوليمر الفرعية أو حجمها أو سمكها، على أنها تتضمن أي عدد صحيح داخل النطاق المكرر، مالم يذكر خلاف ذلك. وكما هو مستخدم هنا، يعني المصطلح "حوالي" ± 20% من النطاق، القيمة أو التركيبة المشار إليها، ما لم يذكر خلاف ذلك. وينبغي أن يكون مفهوما أن المصطلحات "a" و "an" كما هو مستخدم هنا تشير إلى "واحد أو أكثر" من المكونات التي تم ذكرها. وينبغي فهم استخدام البديل (على سبيل المثال "أو") على أنه يعني إما واحد أو كليهما أو أي مزيج من البدائل. وكما هو مستخدم هنا، فإن المصطلحات "يتضمن" و "تحتوي على" و "يشمل" تستخدم بشكل مترادف، حيث يقصد بتعبير المصطلحات ومشتقاتها على أنها غير مقيدة.

ويحد المصطلح "المكون جوهرياً" من نطاق عنصر إلى المواد أو الخطوات المحددة، أو تلك التي لا تؤثر جوهريا على الخصائص الأساسية للاختراع المذكور. على سبيل المثال، يتكون مجال بروتين أو منطقة أو وحدة نمطية (على سبيل المثال، مجال ربط، منطقة مفصلية، أو وحدة ربط) أو بروتين (والتي قد تحتوي على واحد أو أكثر من المجالات، المناطق، أو الوحدات) "تحتوي جوهرياً على" سلسلة حمض أميني معينة عندما تشمل سلسلة الأحماض الأمينية نطاق أو منطقة، وحدة، تمديد بروتينات، الحذف، الطفرات أو أي إتحاد من ذلك (على سبيل المثال، الأحماض الأمينية في الأطراف الأمينية أو أطراف الكربوكسي أو بين النطاقات) التي تساهم كلياً (على سبيل المثال، على الأكثر 15%, 10%, 8%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%، أو 1 %) لطول نطاق أو منطقة أو وحدة نمطية (أي لا تقلل من النشاط بأكثر من 50%، مثلاً لا يزيد عن 40%، 30%، 25%، 20%، 15%، 10%، 5%، أو 1%) نشاط المجال (المجالات)، المنطقة (المناطق)، وحدة (وحدات)، أو البروتين (على سبيل المثال، تقارب ربط الهدف من بروتين ربط).

كما هو مستخدم هنا، يشير مصطلح "غير متجانسة" أو "غير ذاتي المنشأ" أو "خارجي المنشأ" إلى أي جين، بروتين، مركب، جزيء أو نشاط غير أصلي إلى خلية عائلة أو كائن، أو أي جين، بروتين، مركب، أو جزيء، أو نشاط أصلي إلى عائل أو خلية عائلة تم تغييرها أو تحويرها بحيث يكون التركيب، النشاط أو كليهما مختلفين بين الجزيئات الأصلية والمتحولة. في تجسيمات معينة، قد لا تكون الجزيئات غير المتجانسة أو غير الذاتية المنشأ أو خارجية المنشأ (مثل المستقبلات أو الأربطة) ذاتية الخلية أو خلية عائلة، ولكن بدلا من ذلك يمكن إضافة الأحماض النووية التي تشفر هذه الجزيئات إلى خلية عائلة عن طريق الاقتران، التحول، أو ما شابه ذلك، حيث يمكن أن يتكامل جزيء الحمض النووي المضافة في جينوم الخلية العائلة أو يمكن أن توجد كمواد جينية إضافية كروموسومية (على سبيل المثال، البلازميد أو ناقلات أخرى متماثلة ذاتيا). المصطلح "متشابه" أو "متجانس" يشير إلى جزيء أو نشاط موجود في أو مشتق من خلية أو نوع أو سلالة عائلة. على سبيل المثال، قد يكون جزيء أو جين غير متجانسة أو خارجي المنشأ لتشفير الجزيء نموذجياً لعائل أصلي أو جزيء الخلية العائلة أو الجين الذي يشفر الجزيء، على التوالي، ولكن قد يكون له بنية أو سلسلة أو مستوى تعبير أو مجموعات متغيرة. قد يكون جزيء غير ذاتي المنشأ من نفس النوع، أو بنوع مختلف، أو مزيج منها.

كما هو مستخدم هنا، يشير مصطلح "ذاتي المنشأ" أو "أصلي" إلى جين، بروتين، مركب أو جزيء أو نشاط موجود عادة في عائل أو خلية عائلة وليس له أي تعديلات وراثية.

"مجال الربط" (يشار إليه أيضا باسم "منطقة الربط" أو "شق الربط")، كما هو مستخدم هنا، يشير إلى جزيء، مثل الببتيد، أوليجوببتيد، ببتيد أو بروتين، التي تمتلك القدرة على وجه التحديد وغير – ربط أو توحيد أو الجمع مع الجزئ المستهدف (على سبيل المثال، CD200، CD47، CD19، CD20، CD22، ROR1، ميسوثيلين mesothelin، PD-L1، PD-L2، نصف PSMA، WT-1، سيكلين-A1). يشمل مجال الربط أي رابط مشارك طبيعيا أو اصطناعيا أو شبه اصطناعي أو متجدد بشكل مركب لجزيء بيولوجي أو هدف آخر من الفائدة أو بروتين ربط منه. في بعض التجسيمات، مجال الربط هو مجال ربط مستضد، مثل الأجسام المضادة أو مستقبل الخلية T (TCR) أو مجال الربط الوظيفي أو جزء ربط مستضد منه. وتشمل مجالات الربط النموذجية مستقبل مجالات خارجية (على سبيل المثال، CD200R، PD-1، CTLA4، BTLA، CD2، FAS) أو أجزاء ربط منها، بروابط (مثل السيتوكينات مثل IL35، شيموكينات chemokines) أو أجزاء ربط منها، منطق جسم مضاد أحادي السلسلة (مثل الأجسام المضادة للنطاق sFv, scFv, Fab) أو أجزاء ربط منها، ومناطق ربط مولد المستضدات لمستقبل الخلية T (TCR) مثل سلاسل TCR ذات السلسلة المفردة TCRs (scTCRs) أو ببتيدات التركيب الاصطناعية المحددة للقدرة المحددة على الارتباط جزيء بيولوجي.

في بعض التجسيمات، يشير "ارتباط معين" إلى ارتباط أو اتحاد مجال ربط، أو بروتين دمج منه، إلى جزيء مستهدف ذو تقارب أو K_a (أي ثابت رابطة التوازن لتفاعل ارتباط معين مع وحدات من 1/M) يساوي أو يزيد عن $10^5\ M^{-1}$، أو يربط هذا الجزيء المستهدف في حين لا يرتبط بشكل كبير أو توحيد مع أي جزيئات أو مكونات أخرى في العينة. ويمكن تصنيف مجالات الربط (أو بروتينات الدمج منها) على أنها نطاقات ارتباط "عالية التقارب" (أو بروتينات الدمج منها) أو مجالات الربط "منخفضة الترابط" (أو بروتينات الدمج منها). وتشير النطاقات الربط "ذات التقارب العالي" إلى تلك النطاقات الربط التي تحتوي على K_a على الأقل $10^7\ M^{-1}$، على الأقل $10^8\ M^{-1}$، على الأقل $10^9\ M^{-1}$، على الأقل $10^{10}\ M^{-1}$، على الأقل $10^{11}\ M^{-1}$، عند أقل $10^{12}\ M^{-1}$، أو $10^{13}\ M^{-1}$ على الأقل. وتشير النطاقات الربط "منخفضة الترابط" إلى تلك النطاقات الربط مع K_a تصل إلى $10^7\ M^{-1}$، وتصل إلى $10^6\ M^{-1}$ ، وتصل إلى $10^5\ M^{-1}$. بدلا من ذلك، يمكن تعريف التقارب على أنه ثابت تفكك التوازن (K_d) لتفاعل ارتباط معين مع وحدات M (على سبيل المثال، 10-5 M إلى $10^{13}\ M^{-1}$). في تجسيمات معينة، قد يكون لـ "مجال الربط" "تقارب محسن"، يشير إلى مجال ربط محدد أو هندسي مع ارتباط أقوى بمستضد مستهدف من نطاق الربط الشديد (أو الأصل). على سبيل المثال، قد يكون تقارب معززة بسبب K_a (ثابت رابطة التوازن) للمستضد

الهدف الذي هو أعلى من نطاق الارتباط نوع الشديد، أو بسبب K_d (التفكك ثابت) للمستضد الهدف الذي هو أقل من ذلك من نوع نطاق الربط الشديد، أو بسبب معدل خارج (K_{off}) للمستضد الهدف الذي يكون أقل من ذلك من مجال الربط من نوع الشديد. ومن المعروف أن مجموعة متنوعة من المقايسات لتحديد مجالات الربط من الكشف الحالي الذي يرتبط على وجه التحديد هدف معين، وكذلك تحديد مجال الربط أو الدمج بروتين الدمج، مثل صبغة غربية، إليسا، و Biacore® تحليل (انظر أيضا، على سبيل المثال، Scatchard *et al., Ann. N.Y. Acad. Sci.* *51*:660, 1949; and U.S. Patent Nos. 5,283,173, 5,468,614، أو ما يكافئها).

كما هو مستخدم هنا، يشير "بروتين الدمج" إلى عديد ببتيد، في سلسلة واحدة، له مجالين مختلفين على الأقل، حيث لا توجد المجالات بشكل طبيعي معا في البروتين. ويمكن إنشاء جزيء تشفير الحمض النووي بروتين الدمج باستخدام PCR، ريكومبينانتلي هندسيا، أو ما شابه ذلك، أو يمكن إجراء هذه بروتينات الدمج باستخدام طرق تخليق البروتين. قد يحتوي بروتين الدمج أيضا على مكونات أخرى (على سبيل المثال، ربط تساهمية)، مثل علامة أو جزيء نشط بيولوجيا. في تجسيمات معينة، يوجد بروتين دمج معبر عنه أو منتجه بواسطة خلية عائلة (على سبيل المثال، الخلية T) يقع على سطح الخلية، حيث يرتكز بروتين الدمج على غشاء الخلية مع جزء من بروتين الدمج الموجود خارج الخلية (على سبيل المثال، يحتوي على ربط المجال) وجزء من بروتين الدمج تقع داخل الخلية (على سبيل المثال، التي تحتوي على مجال الإشارة).

و "مكون كاره للماء"، كما هو مستخدم هنا، يعني أي سلسلة من الأحماض الأمينية وجود بنية ثلاثية الأبعاد التي هي مستقرة ثيرموديناميكالي في غشاء الخلية، وتتراوح عادة في الطول من حوالي 15 الأحماض الأمينية إلى حوالي 30 الأحماض الأمينية. هيكل مكون كاره للماء قد تشمل الحلزون ألفا، برميل بيتا، ورقة بيتا، الحلزون بيتا، أو أي مزيج منها. في تجسيمات معينة، المكون الكاره للماء يشمل "مجال الغشاء" من بروتين غشائي معروف، وعبارة عن جزء من بروتين الغشاء الذي يمكن إدراجه في غشاء الخلية أو امتداده. في تجسيمات أخرى، يمكن التخلص من عنصر كاره للماء أو المجال الغشائي بين وربط الأجزاء خارج الخلية وداخل الخلية من بروتين الدمج. بالإضافة إلى ذلك، يمكن تعديل مكون كاره للماء لاحتواء المناطق المشحونة أو بقايا ماء لتسهيل التفاعلات بين الجزيئات.

كما هو مستخدم هنا، فإن "مجال الإشارة داخل الخلية" عبارة عن جزء داخل الخلية من الجزيء، مثل واحد يستخدم في بروتين الدمج من هذا الكشف، التي يمكن أن تعزز بشكل مباشر أو غير مباشر استجابة مثل التحفيز العامة، إيجابية، أو تنشيط البيولوجية أو استجابة الفسيولوجية

في خلية عند تلقي إشارة مناسبة. في تجسيمات معينة، يكون مجال إشارات الخلايا داخل الخلية جزءا من بروتين أو بروتين معقد يتلقى إشارة عند ربطه أو يمكن ربطه مباشرة بجزيء مستهدف لنقل إشارة إلى مكونات أخرى في الخلية. وقد يشجع مجال الإشارة داخل الخلية مباشرة على الاستجابة الخلوية عندما يحتوي على نطاق أو أكثر من مجالات الإشارة أو الزخارف، مثل عزر التنشيط القائم على التيروزين المناعي (إيتام) أو مجال كيناز أو مجال تحفيز مشترك أو ما شابه ذلك. في تجسيمات أخرى، فإن مجال إشارات داخل الخلية سيعزز بشكل غير مباشر استجابة خلوية من خلال الربط مع واحد أو أكثر من البروتينات الأخرى التي بدورها تعزز مباشرة استجابة الخلوية. في بعض التجسيمات، يمكن أن يكون نطاق الإشارات داخل الخلية أو جزء وظيفي منه من الأقراص المضغوطة CD3ε, CD3δ, CD3ζ, CD25, CD27, CD28, CD40, CD47, CD79A, CD79B, CD134 (OX40), CD137 (4 1BB), CD150 (SLAMF1), CD278 (ICOS), CD357 (GITR), CARD11, DAP10, DAP12, FcRα, FcRβ, FcRγ, Fyn, Lck, LAT, LRP, NKG2D, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, ROR2, Ryk, Slp76, pTα, TCRα, TCRβ, TRIM, Zap70, PTCH2، أو أي مزيج منها. في بعض التجسيمات، لا يشتمل مجال الإشارة داخل الخلية أو جزء وظيفي منه على CD3ζ.

يشير "نطاق تعدد النطاقات"، كما هو مستخدم هنا، إلى جزيء متعدد الببتيد أو المنطقة التي تتفاعل أو تربط بشكل تفضيلي مع جزيء أو عديد ببتيد آخر، بشكل مباشر أو غير مباشر، حيث يساهم تفاعل نطاقات تعدد الوسائط إسهاما كبيرا في تعزيز تعدد الوسائط (أي تشكيل ديمر، تريمر، تيترامر، أو مولتيمرز ترتيب أعلى، والتي قد تكون هومو ديمر، هيتيروديمر، هوموتريمر، هيتيروتريمر، هومولتيمير، هيتيرومولتيمر، أو ما شابه ذلك). على سبيل المثال، قد يرجع تعدد الأشكال إلى نوع واحد أو أكثر من القوى الجزيئية، تتضمن السندات التساهمية (على سبيل المثال، السندات ثنائية الكبريتيد أو الجسور)، والسندات الأيونية، والسندات المعدنية، والتفاعلات الكهروستاتيكية، وجسور الملح، وقوى ثنائي القطب ثنائي القطب، والروابط الهيدروجينية، فان دير قوى وال، تفاعلات كاره للماء، أو أي مزيج منها. و مولتيمر مستقرة في ظل ظروف مناسبة (على سبيل المثال، الظروف الفسيولوجية، في محلول مائي مناسبة للتعبير عن، وتنقية، أو تخزين البروتينات المؤتلف أو هندسيا، أو في ظل ظروف لعدم التشويه أو عدم تخفيض الكهربائي). ويمكن أن تشتمل نطاقات تعدد التماثيل النموذجية على واحد أو أكثر من السندات ثنائية الكبريتيد، أو عزر الزنك، أو عزر سحاب ليوسين، أو الحلزون، أو الحلزون، أو الحلزون الحلقي، أو ما شابه ذلك.

في نماذج معينة، قد يحتوي بروتين الدمج على "رابط"، والذي يمكن أن يوفر وظيفة فاصل لتسهيل التفاعل بين اثنين من بروتينات الدمج سلسلة واحدة، أو المواقع من واحد أو أكثر من مجالات الربط، بحيث يحافظ هيكل ببتيد الناتجة ربط محددة تقارب الجزئ المستهدف أو يحافظ على نشاط الإشارات (على سبيل المثال، نشاط المجال المستجيب) أو كليهما. وتشمل الروابط النموذجية من واحد إلى حوالي عشرة تكرار من غليكسري، حيث x و y بشكل مستقل عدد صحيح من 1 إلى 5.

تشير "الأحماض الأمينية المفصلية" أو "بقايا الأحماض الأمينية المفصلية" إلى واحد أو أكثر من مخلفات الأحماض الأمينية (على سبيل المثال حوالي 2–20) بين زخارف متجاورتين أو مناطق أو مجالات بروتين دمج، مثل ما بين مجال الربط و عنصر كاره للماء المجاورة، أو على واحد أو طرفي عنصر كاره للماء. ويمكن أن تنتج الأحماض الأمينية المفصلية من تصميم تركيب بروتين دمج (على سبيل المثال، مخلفات الأحماض الأمينية الناتجة عن استخدام موقع انزيم مقيد أثناء تركيب جزيء الحمض النووي الذي يشفر بروتين الدمج). في تجسيمات معينة، تشكل الأحماض الأمينية في الوصلات رابطا، مثل تلك التي تحتوي من واحد إلى حوالي عشرة تكرارات من غليكسري، حيث x و y بشكل مستقل عدد صحيح من 1 إلى 5.

كما هو مستخدم هنا، فإن "خلية الجهاز المناعي" تعني أي خلية في الجهاز المناعي تنبع من خلية جذعية مكونة للدم في نخاع العظم، مما يؤدي إلى سلالتين رئيسيتين هما خلية السلف النخاعي (التي تؤدي إلى خلايا نخاعية مثل وحيدات، والضامة، والخلايا الجذعية، الخلايا الضخمة، والخلايا المحببة) والخلايا اللمفاوية (التي تؤدي إلى الخلايا اللمفاوية مثل الخلايا T والخلايا B والخلايا القاتلة الطبيعية (NK)). وتشمل خلايا النظام المناعي النموذجي خلية CD4 + T، وخلايا CD8 + T، وخلايا T مزدوجة CD4 CD8، وخلايا γδ T، وخلايا T تنظيمية، وخلايا قاتلة طبيعية، وخلايا شجيري. قد يشار إلى الضامة والخلايا الجذعية باسم "خلايا تقديم المستضد" أو "APCs"، وهي الخلايا المتخصصة التي يمكن تنشيط الخلايا T عندما مستقبلات التوافق النسيجي الرئيسي (MHC) مستقبلات على سطح APC معقدة مع الببتيد يتفاعل مع TCR على سطح خلية T.

"خلية T" هي خلية نظام المناعة التي تنضج في الغدة الزعترية وتنتج مستقبل الخلية T (TCRs). يمكن أن تكون الخلايا naïve T (غير معرضة لمستضد؛ زيادة في التعبير عن CD62L، CCR7، CD28، CD3، CD127، CD45RA، وانخفاض التعبير عن CD45RO بالمقارنة مع T_{CM})، والخلايا T للذاكرة (T_M) (المستضد من ذوي الخبرة وطويلة العمر)، والخلايا

المستجيب (المستضد من ذوي الخبرة، السامة للخلايا). يمكن أن تنقسم T_M إلى مزيد من مجموعات فرعية من الخلايا T الذاكرة المركزية (T_{CM})، وزيادة التعبير عن CD62L، CCR7، CD28، CD127، CD45RO، و CD95، وانخفض التعبير عن CD54RA بالمقارنة مع الخلايا T naïve) والخلايا T الذاكرة المستجيبة (T_{EM})، وانخفاض التعبير عن CD62L، CCR7، CD28، CD45RA، وزيادة التعبير عن CD127 بالمقارنة مع الخلايا T naïve أو T_{CM}). تشير الخلايا T المنشطة (T_E) إلى الخلايا اللمفاوية الT السامة للخلايا +CD8 المستضد المستضد التي انخفضت في التعبير عن CD62L، CCR7، CD28، وهي إيجابية للجرانزيم granzyme والبيرفورين perforin بالمقارنة مع T_{CM}. وتشمل الخلايا T النموذجية الأخرى الخلايا T التنظيمية، مثل الخلايا T التنظيمية (Foxp3+) CD4+ CD25+ والخلايا Treg17، وكذلك الخلايا T Tr1, Th3, CD8+CD28- و Qa-1.

"مستقبل الخلية T" (TCR) يشير إلى جزيء موجود على سطح الخلايا T (أو الخلايا اللمفاوية الT) التي، بالاشتراك مع CD3، هي المسؤولة عموما عن التعرف على المستضدات المرتبطة بجزيئات معقدة التوافق النسيجي الرئيسية (MHC). و TCR له هيتيروديمر مرتبط ثنائي كبريتيد من سلاسل α و highly متغير للغاية (المعروف أيضا باسم TCRα و TCRβ، على التوالي) في معظم الخلايا T. في مجموعة فرعية صغيرة من الخلايا T، يتكون TCR من هيتيروديمر من متغير γ و δ سلاسل (المعروف أيضا باسم TCRγ و TCRδ، على التوالي). كل سلسلة من TCR هي عضو في الفصيلة المناعية الفطرية وتمتلك نطاق واحد من نون-ترمينال المناعي المتغير، ومجال ثابت واحد من الغلوبولين المناعي، ومنطقة غشائية، طرف سيتوبلازمي قصير في نهاية الطرف C (انظر Janeway *et al.*, *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*, 3rd Ed., Current Biology Publications, p. 4:33, 1997). TCR، كما هو مستخدم في الكشف الحالي، قد تكون من مختلف الأنواع الحيوانية، تتضمن الإنسان، والفأر، الفئران، القط، الكلب، الماعز، الحصان، أو الثدييات الأخرى. قد تكون TCR ذات صلة بالخلية (أي أن تكون لها منطقة أو مجال غشائي) أو في شكل قابل للذوبان.

"الجزيئات المعقدة التوافق النسيجي الرئيسية" (جزيئات MHC)، والذي يستخدم بالتبادل ومفهوم أن تشير أيضا إلى المستضد البشري لكريات الدم البيضاء (جزيئات HLA)، تشير إلى البروتينات السكرية التي تقدم مستضدات الببتيد إلى سطح الخلية. جزيئات الفئة الأولى من الهيدروكربونات MHC هي هيتيروديمرز تتكون من غشاء تمتد سلسلة α (مع ثلاثة مجالات α) و β2 ميكروغلوبولين غير تساهمية. تتكون جزيئات MHC من الفئة الثانية من جليكوبروتين غشائي،

α و β، وكلاهما يمتد الغشاء. كل سلسلة لها مجالين. جزيئات الطبقة الأولى من الهيدروكربونات الهيدروكربونية (HLA) تقدم الببتيدات التي تنشأ في الخلية الخلوية إلى سطح الخلية، حيث يتم التعرف على الببتيد: MHC (أو الببتيد: HLA في البشر) من الخلايا T + CD8. MHC (HLA) جزيئات الفئة الثانية توصيل الببتيدات الناشئة في النظام الحويصلي إلى سطح الخلية، حيث يتم التعرف عليها من قبل خلايا T + CD4. قد يكون جزيء التوافق النسيجي الكبير من الأنواع الحيوانية المختلفة، تتضمن الإنسان، الجرذان، والفئران، أو الثدييات الأخرى.

"جزيء الحمض النووي"، أو بولي نيوكليوتيد، قد يكون في شكل الحمض النووي الريبي أو الحمض النووي، الذي يتضمن [cDNA]، الحمض النووي الجيني، والحمض النووي الاصطناعية. جزيء الحمض النووي قد يكون أحادي أو مزدوج، وإذا واحد فقط، قد يكون سلسلة تسفير أو غير مشفرة (مضاد-سلسلة حسية). ويمكن أن يحتوي جزيء التشفير على تتابع تشفير مطابق لسلسلة تشفير معروف في المجال أو قد يكون له سلسلة تشفير مختلف، مما يؤدي إلى تشفير نفس الببتيد نتيجة للتكرار أو الانخفاض في الشفرة الجينية أو عن طريق الربط.

ويتوخى أيضا تنوع جزيئات الحمض النووي أو بولي نكليوتيدات هذا الكشف. وتكون بولي نكليوتيدات متغيرة 90% على الأقل، ويفضل أن تكون 95%، 99%، أو 99.9% مماثلة لأحد البولي نكليوتيدات من سلسلة محدد كما هو موضح هنا، أو أن تهجين إلى واحدة من تلك النيوكليوتيدات المحددة في سلسلة محدد تحت ظروف التهجين الصارمة من M0.015 كلوريد الصوديوم، M0.0015 سيترات الصوديوم في حوالي 65-68ºم أو M0.015 كلوريد الصوديوم، M0.0015 سيترات الصوديوم، و 50% الفورماميد في حوالي 42ºم. تحتفظ المتغيرات بولينوكليوتيد القدرة على تشفير مجال ربط أو بروتين الدمج منه وجود وظيفة الموصوفة هنا.

يستخدم مصطلح "صارم" للإشارة إلى الشروط التي يتم فهمها بشكل عام في المجال على أنها صارمة. التهجين التتابع يتم تحديدها أساسا من قبل درجة الحرارة، والقوة الأيونية، وتركيز وكلاء تغيير طبيعة مثل الفورماميد. أمثلة على الشروط الصارمة للتهجين والغسيل هي كلوريد الصوديوم M0.015، 0.0015M سيترات الصوديوم في حوالي 65-68ºم أو كلوريد الصوديوم M0.015، 0.0015M سيترات الصوديوم، و 50% الفورماميد في حوالي 42ºم (انظر Sambrook *et al.*, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989).

ويمكن أيضا استخدام ظروف أكثر صرامة (مثل ارتفاع درجة الحرارة، وانخفاض القوة الأيونية، وارتفاع الفورماميد، أو عامل تغيير طبيعة أخرى). ومع ذلك، فإن معدل التهجين سوف

تتأثر. في الحالات التي يتعلق فيها التهجين من ديوكسي أوليجونكليوتيدات، وتشمل شروط التهجين صارمة نموذجية إضافية غسل في سك X6، 0.05% بيروفوسفات الصوديوم عند 37ºم (ل أوليجونكليوتيدات 14 قاعدة)، 48ºم (لأوليجونكليوتيدات 17 قاعدة)، 55ºم (لنيغليوكليوتيدات 20 قاعدة)، و 60ºم (ل أوليجونكليوتيدات 23 قاعدة).

"ناقل" هو جزيء الحمض النووي القادر على نقل حمض نووي آخر. قد تكون ناقلات، على سبيل المثال، البلازميدات، الكوزميد، الفيروسات، أو فج. "ناقلات التعبير" هو ناقل قادر على توجيه التعبير عن بروتين مشفر بواسطة واحد أو أكثر من الجينات التي يحملها الناقل عندما يكون موجودا في البيئة المناسبة.

"الفيروسات العكسية" هي فيروسات لها جينوم الحمض النووي الريبي. "غاماريتروفيروس" يشير إلى جنس من عائلة ريتروفيريداي. وتشمل الفيروسات المثبطة للجراثيم فيروس الخلايا الجذعية الفأر، وفيروس اللوكيميا الفئران، فيروس سرطان الدم القطط، فيروس ساركوما القطط، والفيروسات الشبكية ريفيكولوثيليوسيس الطيور.

"العدوى" يشير إلى جنس من الفيروسات العكسية التي هي قادرة على إصابة الخلايا تقسيم وغير تقسيم. وتشمل عدة أمثلة ل ليفيفيروسيس فيروس نقص المناعة البشرية (فيروس نقص المناعة البشرية: تتضمن فيروس نقص المناعة البشرية من النوع 1، ونوع فيروس نقص المناعة البشرية 2). فيروس فقر الدم المعدية الخيلي؛ فيروس نقص المناعة البشرية (FIV)؛ فيروس نقص المناعة البقرية (بيف)؛ وفيروس نقص المناعة المكتسبة (SIV).

المصطلح "متطابق" أو "تعريف في المئة"، في سياق اثنين أو أكثر من ببتيد أو سلاسل جزيء الحمض النووي، يعني سلسلتين أو أكثر أو سوبسنسس التي هي نفسها أو لديها نسبة محددة من بقايا الأحماض الأمينية أو النيوكليوتيدات التي هي (% 60 و 65% و 70% و 75% و 80% و 85% و 90% و 91% و 92% و 93% و 94% و 95% و 96% و 97% 98%، 99%، أو 100% تعريف)، عند مقارنتها ومحاذاة لأقصى قدر من المراسلات على نافذة مقارنة، أو منطقة معينة، كما تم قياسها باستخدام الطرق المعروفة في الفن، مثل خوارزمية مقارنة سلسلة ، بواسطة المحاذاة اليدوية، أو عن طريق الفحص البصري. على سبيل المثال، الخوارزميات المفضلة لتحديد النسبة المئوية لتعريف سلسلة وتشابه السلسلة هي خوارزميات BLAST و BLAST 2.0، الموصوفة في Altschul *et al.* (1977) Nucleic Acids Res. 25:3389 and Altschul *et al.* (1990) J. Mol. Biol. 215:403, respectively، على التوالي.

"العلاج" أو "العلاج" أو "تحسين" يشير إلى التعاطي الطبي لمرض أو اضطراب أو حالة الكائن (على سبيل المثال، الثدييات البشرية أو غير البشرية، مثل الرئيسيات، الخيول، الكلب، الجرذان، أو الفئران). بشكل عام، يتم إعطاء جرعة مناسبة أو نظام علاج يتضمن خلية عائلة تعبر عن بروتين الدمج من هذا الكشف، واختياريا مساعد أو عامل مساعد، بكمية كافية لاستخلاص الفوائد العلاجية أو وقائية. وتشمل الفوائد العلاجية أو الوقائية/ الوقائية تحسين النتائج السريرية. تخفيف أو تخفيف الأعراض المرتبطة بمرض؛ انخفاض حدوث الأعراض. تحسين نوعية الحياة؛ أطول حالة خالية من الأمراض. وتقلص مدى المرض، وتحقيق استقرار حالة المرض؛ تأخير تطور المرض؛ التخفيف. الاستمرار ؛ البقاء لفترة طويلة. أو أي مجموعة من ذلك.

"كمية فعالة علاجيا" أو "كمية فعالة" من بروتين الدمج أو خلية تعبر عن بروتين الدمج من هذا الكشف (على سبيل المثال، CD200R-CD28، SIRPα-CD28، CD200R 41BB، SIRPα-41BB، CD200R-CD28-41BB، SIRPα- CD28-4-1BB أو غيرها من بروتينات الدمجية)، في سياق المرض أو الحالة التي يتم علاجها، يشير إلى هذا الكم من بروتين الدمج أو عدد الخلايا يكفي أن يؤدي إلى تحسين واحد أو أكثر من أعراض المرض الذي يعالج في (على سبيل المثال، الحد من العدوى، والحد من حجم الورم، وتثبيط نمو السرطان أو ما شابه ذلك).

بروتينات دمج التعديل المناعي (IFPs):

في جوانب معينة، ويوفر الكشف الحالي بروتين الدمج، المشتمل على مكون خارج الخلية، مكون كاره للماء، وعنصر داخل الخلية. في بعض التجسيمات، يشمل المكون خارج الخلية مجال ربط مثل المجال الذي يرتبط تحديدا بالهدف. في بعض التجسيمات، يكون نطاق الربط من جزيء عادة، في ظروفه الطبيعية، يكون قادرا على توصيل إشارة سالبة أو مثبطة عند ربطه بالرابط المشارك أو ليجاند أو مستقبلات، مثل مستقبلات مناعية أو جزيء نقطة الفحص، أو الهدف هو مستقبلات مثبطة أو ليجاند أو جزيء نقطة الفحص أو ليجاند أخرى مثبطة. في بعض التجسيمات، يشتمل المكون داخل الخلية على نطاق إشارة، مثل مجال إشارة تكميلي أو منطقة إشارة لجزيء قادر عموما على تقديم إشارة استكمالية أو إيجابية، على سبيل المثال، إلى خلية مناعية. وبالتالي، في بعض الجوانب، وبروتينات الدمج هي قادرة على تقديم إشارة موجبة أو تكلف بالإستجابة إلى حدث ربط التي في بيئة طبيعية من شأنه أن يؤدي إلى إشارة مثبطة.

في بعض التجسيمات، بروتين الدمج هو أن يتم تحقيق مسافة معينة. على سبيل المثال، في بعض التجسيمات، بروتين الدمج :: المركب المستهدف (مثل واحد يتكون من جزء خارج الخلية من مركب تشكل بين بروتين الدمج والهدف من قبل ربط محددة لها) هو من طول معين أو يغطي

مسافة معينة، مثل مسافة تصل إلى مسافة بين الأغشية في التشابك العصبي المناعي، أو التي امتدت من خارج الخلية جزء من مركب مماثل بين TCR و MHC جزيء، على سبيل المثال، بعد الاعتراف المحدد من قبل TCR، أو المسافة التي امتدت من قبل جزء خارج الخلية من مركب مشكل بين جزيء طبيعي natural molecule ورابط طبيعي مشارك لها. في بعض التجسيمات، تكون المسافة أو الطول كافية للترويج للبروتين الدمجي مع مستقبل مستضد أو جزيء إشارات آخر عند التعبير عنه في خلية مناعية، مثل خلية T، أو الدخول في تشابك عصبى مناعي.

على سبيل الخلفية، التشابك العصبي المناعي هو واجهة بين الخلايا، والتي يمكن أن تشكل بين مجموعة متنوعة من الخلايا، مثل بين الخلايا المناعية (Rossy *et al.*, *Frontiers in Immunol. 3*: 1-12, 2012; Hatherley *et al.*, *Structure 21*:820, 2013). على سبيل المثال، في حالة خلية T تتواصل مع خلية تقديم مستضد (APC)، يمكن تشكيل تشابك عصبى مناعي من خلال ربط TCR (موجود على سطح خلية T) مع ببتيد HLA (MHC-ببتيد (على سطح، على سبيل المثال، APCs المدمنين؛ جزيئات HLA من الفئة الأولى يمكن ايجاد سطح جميع الخلايا النووية، في حين أن HLA الفئة الثانية يمكن التعبير عن مشروط على جميع أنواع الخلايا ولكن يتم بانتظام إيجاد APCs المدرعة). وبالإضافة إلى ذلك، يمكن تنظيم التشابك العصبي المناعي في مجموعات التنشيط جزئ فائق (SMACs)، والتي يمكن أن تؤثر على تفعيل الخلايا اللمفاوية، مستضد المباشر HLA (أو المستضد MHC) عرضا على الخلايا الليمفاوية، وإفراز مباشر من السيتوكينات أو حبيبات ليتيك بين الخلايا. يمكن أن يتكون SMAC من ثلاثة هياكل مرتبة في دوائر متحدة المركز: منطقة مركزية (cSMAC) تحتوي على عدد كبير من TCR وكذلك الجزيئات التحفيزية والمثبطة المشتركة، وهي منطقة محيطية (pSMAC) حيث تتجمع لفا-1 و تالين، (dSMAC) التي يتم إثراءها لجزيئات CD43 و CD45. في تجسيمات معينة، سوف التشابك العصبي المناعي تمتد من حوالي 10 نانومول إلى حوالي 15 نانومول. على سبيل المثال، التفاعلات البروتين وجدت داخل التشابك العصبي المناعي، مثل TCR :: HLA الببتيد التفاعل أو الدمج التفاعل البروتين الهدف، وعموما تمتد حوالي 14 نانومول بين الأغشية. في نماذج معينة، لا يتجاوز عرض SMAC في تشابك عصبى مناعي 15 نانومول.

في بعض التجسيمات، تمتد خارج الخلية من بروتين الدمج :: الهدف المركب هو أنه يمكن أن توطين إلى حجرة معينة من التشابك العصبي المناعي. بعض المركبات يعتقد أن توطين إلى حجرات مختلفة من التشابك العصبي المناعي تتميز جيدا فيما يتعلق طول فترة خارج الخلية. على سبيل المثال، يعتقد أن مركب MHC-تر يحتوي على فترة خارج الخلية من حوالي 10-15

نانومتر ويعتقد أن أكثر المركبات القائمة على إنتغرين أن تمتد خارج الخلية على أمر من حوالي 40 نانومتر (Alakoskela *et al.*, *Biophys J 100*:2865, 2011). وتشمل المركبات النموذجية الإضافية مركب CD2-CD48، الذي يعتقد أن لديه فترة خارج الخلية حوالي 12.8 نانومتر (Milstein *et al.*, *J Biol Chem 283*:34414, 2008). بالإضافة إلى ذلك، جزيئات ربط ليجاند النموذجية يعتقد أن توطين ل cSMAC تشمل مجمعات TCR و MHC، CD2، CD4، CD8، CD28، وأربطة منها (Dustin *et al.*, *CSH Perspectives in Biology 2*:a002311, 2010). وبالتالي، فمن المتوخى أن هذه الجزيئات المعقدة مع بروابط الطبيعية لها من الحجم المناسب للتوطين إلى cSMAC.

في بعض الجوانب، يمكن تحديد طول أو مسافة أو طول تقريبي أو مسافة من بنية معينة أو جزء خارج الخلية هندسيا منها مثل جزء خارج الخلية من بروتين الدمج، أو مركب من أي مما سبق مثل مع رابط مشارك منه، أو على غرار الطرق المعروفة. وفي بعض النماذج النموذجية، يمكن تقريب البنية الثلاثية للبروتين، ومجالات الربط، وغيرها من الخصائص باستخدام حمض أميني أو سلسلة حمض نووي. ويمكن استخدام الهيكل الثالث للبروتين لتقريب حجم الجزء خارج الخلية، والمرونة، وغيرها من الخصائص المفيدة لتحديد طول تقريبي للجزء خارج الخلية من البروتين أو مركب منه. بشكل عام، طرق النمذجة أو تقريب طول الجزء خارج الخلية من البروتين معروفة. على سبيل المثال، mulbiol-tools.ca والسويسري نموذج يحتوي على أدوات متعددة مفيدة للتنبؤ هيكل البروتين (انظر أيضا Schwede, T., *Structure 21*:1531, 2013

في تجسيمات معينة، يمكن للبروتين الدمجي من هذا الكشف المركب أو المرتبط أو المتفاعل مع الهدف أن يقيم داخل تشابك عصبى مناعي. في بعض التجسيمات، الجزء خارج الخلية من بروتين الدمج :: المركب المستهدف يمتد التشابك العصبي المناعي. في تجسيمات أخرى، يتم ترجمة بروتين الدمج :: المركب المستهدف في كتلة تفعيل جزئ فائق (SMAC)، مثل cSMAC. في تجسيمات أخرى، الجزء خارج الخلية من بروتين الدمج :: المركب المستهدف يمتد التشابك العصبي المناعي التي يحددها الجزء خارج الخلية من TCR :: HLA–الببتيد التفاعل. في تجسيمات أخرى، وطول الجزء خارج الخلية من بروتين الدمج :: المركب المستهدف حوالي 12 نانومول إلى حوالي 15 نانومول، أو حوالي 14 نانومتر.

ويمكن قياس المسافة بين أغشية الخلايا من الخلايا المتفاعلة في التشابك العصبي المناعي بأي طريقة معروفة في الفن. على سبيل المثال، في تجسيمات معينة، يمكن قياس المسافة

عن طريق طريقة تحليل شبه حيوي أو المجهر الإلكتروني (James and Vale, *Nature 487*:64-69, 2012).

في تجسيمات معينة، بروتين الدمج كما هو موضح هنا يحتوي على جزء خارج الخلية التي تمتد أقل من 40 نانومتر من غشاء الخلية. في بعض التجسيمات، بروتين الدمج كما هو موضح هنا يحتوي على جزء خارج الخلية التي تمتد أقل من 30 نانومتر من غشاء الخلية. في بعض التجسيمات، بروتين الدمج كما هو موضح هنا يحتوي على جزء خارج الخلية التي تمتد أقل من 20 نانومتر من غشاء الخلية. في بعض التجسيمات، بروتين الدمج كما هو موضح هنا يحتوي على جزء خارج الخلية التي تمتد أقل من 15 نانومتر من غشاء الخلية.

في بعض التجسيمات، توفر بروتينات الدمج المقدمة ميزة وجود طول خارج الخلية أو المسافة المكانية بالمقارنة مع المسافة بين غشاء (أغشية) الخلية التي تسمح للدخول في التشابك العصبي أو التوطين المشترك مع مستقبل المستضد، أو التي تحاكي مسافة أو طول موجودة في البروتينات الطبيعية. في بعض التجسيمات، حيث يتضمن الجزء خارج الخلية من بروتين الدمج المجال (المجالات) من جزيء إضافي، والذي هو من جزيء مختلف من الذي يتم الحصول على المجال ربط، يتم تقليل طول المكون خارج الخلية التي تحتوي على مجال الربط، على سبيل المثال، قطع، بالمقارنة مع المنطقة خارج الخلية من جزيء طبيعي، لتوفير مثل هذا طول مماثل أو المسافة. في بعض التجسيمات، يشتمل بروتين الدمج كما هو موضح هنا على مكون خارج الخلية يتضمن نطاق خارج الخلية لمستقبلات سطح الخلية ونطاق ثان (على سبيل المثال، رابط أو نطاق خارج الخلية لمستقبل ثاني لسطح الخلية). في بعض هذه التجسيمات، للحفاظ على عنصر خارج الخلية قادرة على الإقامة داخل التشابك العصبي المناعي أو تمتد التشابك العصبي المناعي عندما تركب مع الجزئ المستهدف، قد يتم قطع واحد أو أكثر من المجالات المكون خارج الخلية.

في بعض الأمراض (على سبيل المثال، سرطان)، اتساع وجودة استجابة الخلايا T الناتجة عن التعرف على مستضد من مستقبل الخلية T (TCR) يمكن أن يكون ديسريغولاتد (على سبيل المثال، انخفاض) بسبب عدم التوازن بين التحفيز العامة وإشارات المثبطة، والتي يمكن أن تؤدي إلى مقاومة مناعية. وتتمثل إحدى مزايا بعض بروتينات الاندماج في الكشف الحالي في إمكانية تحويل الإشارة الأولى إلى إشارة ثانية مختلفة نوعيا. على سبيل المثال، في بعض التجسيمات، تكون بروتينات الدمج بحيث يمكن تحويل إشارة سالبة أو مثبطة بشكل فعال إلى إشارة موجبة أو تحفيزية مشتركة لتخفيف أو تقليل المقاومة المناعية المرتبطة بمرض مثل السرطان. على سبيل المثال، عند الربط إلى الهدف الذي، إذا كان مرتبطا برابط طبيعي مشارك منه، سيؤدي إلى تثبيط

أو توصيل إشارة سالبة، فإن بروتين الدمج كما هو موضح هنا، في بعض التجسيمات، يمكنه أن يقدم بدلا من ذلك إيجابية، إشارة استكمالية، إلى خلية يعبر عنها، كما هو الحال في خلية T. في تجسيمات معينة، يتكون بروتين الدمج من هذا الكشف مكونا خارج الخلية مرتبطا بإشارة سالبة ومكون داخل الخلية يرتبط بإشارة موجبة. مستقبلات مثالية وجدت على سطح الخلايا T، مستضد الخلايا اللمفاوية الT السامة للخلايا 4 (CTLA4 أو CD152)، ويمكن الحصول على إشارة مثبطة عند ربط واحدة من بروابط لها، CD80 أو CD86، وجدت على APCs. CTLA4 ينظم اتساع المرحلة الأولى من تنشيط الخلايا T عن طريق مضادة للمستقبلات التحفيزية للخلية T CD28 (انظر Rudd *et al.*, *Immunol. Rev. 229*:12, 2009). مستقبلات نموذجية أخرى وجدت على سطح الخلايا T، بروتين موت الخلية المبرمج 1 (PD-1 أو CD279)، يمكن أن تحصل على إشارة مثبطة عندما تكون مرتبطة بأحد روابطها، PD-L1(B7-H1، CD274) أو PD- L2 (B7-DC, CD73)، وجدت على APCs. ويعمل PD-1 على تقييد نشاط الخلايا T في الأنسجة الطرفية أثناء الالتهاب والتقليل من المناعة الذاتية (انظر Keir *et al.*, *Annu. Rev. Immunol. 26*:677, 2008). وتشمل بروتينات الدمج التمثيلية لهذا الكشف المكون خارج الخلية المرتبطة بإشارة سالبة (على سبيل المثال، CTLA4 أو PD-1) وعنصر داخل الخلية المرتبط بإشارة موجبة (على سبيل المثال، CD28، CD137) بروتين دمج CTLA4 CD28، عبارة عن CDLA37 CTLA4 بروتين الدمج، بروتين الدمج CTLA4 CD28-CD137، بروتين الدمج PD1-CD28، بروتين الدمج PD1-CD137، أو بروتين الدمج PD1-CD28-CD137.

بروتينات الدمج في الكشف الحالي قد تمنع أو تقلل من عدد الإشارات المثبطة التي تتلقاها الخلايا المناعية. على سبيل المثال، في بعض التجسيمات، يحول بروتين الدمج كما تم الكشف عنه هنا إشارة مثبطة إلى إشارة موجبة، مما يقلل العدد الإجمالي للإشارات المثبطة التي تتلقاها خلية مناعية أو يحول إشارة سالبة أو مثبطة عادة إلى إشارة موجبة. في تجسيمات أخرى، فإن بروتين الدمج كما هو موضح هنا يمنع الإشارات من مستقبلات من النوع الشديد. على سبيل المثال، يتم تضمين بروتينات الدمج السلبية المذكورة ضمن نطاق الكشف. في بعض التجسيمات، يرتبط بروتين الدمج كما هو موضح هنا بمستقبلات من النوع الشديد وكتل تشير إلى المستقبلات الشديد من خلال تشكيل أوليجومر مع مستقبلات من النوع الشديد.

وهناك ميزة أخرى لبعض بروتينات الاندماج في الكشف الحالي هي أن أكثر من بروتين واحد من هذا الدمج يمكن التعبير عنه بواسطة خلية، مما يوفر إشارات تحفيز متعددة. ولوحظ أنه لا يمكن لمركبات TCR المؤتلفة التي تمتلك نطاقات تحفيز مشتركة متعددة أن تنتج إشارات

تشجيعية مشتركة كافية. يمكن للتعبير المشترك عن البروتينات دمج التعديل المناعي متعددة، وخاصة تلك قادرة على الإقامة داخل التشابك العصبي المناعي، وتوفير الإشارات التحفيز العامة اللازمة للخلايا T لتجنب الحساسية وتكاثر.

في بعض التجسيمات، يعمل بروتين الاندماج في الكشف الحالي في ترانز بالنسبة لمستقبل مستضد TCR أو مستشعر كيميائي (CAR) أو مستقبل مستضد أخرى. في بعض التجسيمات، بروتين الدمج كما هو موضح هنا يعمل خارج التشابك العصبي المناعي.

في جانب آخر، وبروتين الدمج من الكشف الحالي يسمح لإثراء الخلايا T متحولة عن طريق إعادة التشكيل مع الخلايا السرطانية للتعبير عن ليجاند الذي يربط بروتين الدمج، دون الحاجة إلى الفرز.

في تجسيم نموذجي واحد، يتم تضمين بروتين دمج يتضمن (أ) جزء خارج الخلية من CD200R، (ب) مجال الغشاء لـ CD28، و (ج) مجال الإشارة داخل الخلية لـ CD28. في بعض التجسيمات، يشتمل الجزء خارج الخلية أيضا على جزء خارج الخلية لـ CD28 يمتد من مجال الغشاء CD28. وفي تجسيمات أخرى، يتكون الجزء خارج الخلية من CD200R على الأقل من حوالي 231 من الأحماض الأمينية من الطرف-N CD200R. وفي تجسيمات أخرى، يشتمل بروتين الدمج كذلك على مجال إشارات داخل الخلية لـ CD137(4-1BB).

وفي تجسيم نموذجي آخر، يوفر الكشف الحالي بروتينا اندماجيا يشتمل على (أ) جزء خارج الخلية من SIRPα، (ب) مجال غشائي ل CD28، و (ج) مجال إشارة داخل الخلية ل CD28. في بعض التجسيمات، يتكون بروتين الدمج كذلك من جزء خارج الخلية لـ CD28 يمتد من مجال الغشاء CD28. في تجسيمات أخرى، يتضمن الجزء خارج الخلية من SIRPα على الأقل حوالي 361 من الأحماض الأمينية من الطرف-N SIRPα. وفي تجسيمات أخرى، يشتمل بروتين الدمج كذلك على مجال إشارات داخل الخلية لـ CD137(4-1BB).

ويقدم وصف تفصيلي لأجزاء المكونات من بروتينات الاندماج في الكشف الحالي بالتفصيل هنا.

مكون خارج الخلية

كما هو موضح هنا، بروتين الدمج من الكشف الحالي يتكون عموما مكون خارج الخلية التي تتضمن مجال ربط الذي يرتبط على وجه التحديد بالمستهدف. الربط بين الهدف من قبل الدمج البروتين ربط المجال قد (1) منع تفاعل الهدف مع جزيء آخر (على سبيل المثال، كتلة أو تتداخل مع مستقبلات ليجاند التفاعل)، (2) التدخل، والحد من أو القضاء على وظائف معينة من

الهدف (على سبيل المثال، تحول إشارة مثبطة)، (3) تحفز مسارات بيولوجية معينة لا تحدث عادة عندما يكون الهدف ربطا (على سبيل المثال، تحويل إشارة مثبطة أو سلبية إلى إشارة تحفيز أو إيجابية)، كما هو الحال في الخلية التي يكون فيها بروتين الدمج أعرب، أو أي مزيج منها. في بعض التجسيمات، بروتينات الدمج كما هو موضح هنا تشمل جزء خارج الخلية، حيث يشمل الجزء خارج الخلية على جزء خارج الخلية من البروتين المرتبطة إشارة سالبة.

ويمكن أن تكون مجالات الربط النموذجية لهذا الكشف هي الأقطاب الخارجية لمستقبل الخلية السطحية أو أجزاء ربط منها، والأقطاب الخارجية لروابط سطح الخلية، والسيتوكينات (على سبيل المثال، IL35)، والكيموكينات، ومجالات الارتباط القائمة على الأجسام المضادة، ومجالات الارتباط القائمة على TCR، نطاقات الربط التقليدية، أو أي مزيج منها. على سبيل المثال، النطاقات الربط التي تشتمل على مجال خارجي من CD200R و SIRPα و CD279 (PD-1) و CD2 و CD95 (FAS) و CTLA4(CD152) و LAG3 (CD223) و CD272 (BTLA) و A2aR و كير و TIM3 و CD300، أو LPA5 ضمن نطاق هذا الكشف. كما هو مستخدم هنا، فإن "مجال خارجي" من مستقبلات سطح الخلية أو ليجاند يشمل مجال خارج الخلية كاملة أو وظيفية (ربط) جزء منه. في تجسيمات معينة، يتكون مجال خارجي من نطاق خارج الخلية متحور أو جزء وظيفي (ربط) منه يحتوي على نسبة أعلى من الهدف بالمقارنة مع نوع بري أو بروتين مرجعي. في نماذج معينة، يشتمل مجال خارجي على مجال تشبه متغير أو سدر لنطاق متغير.

في بعض التجسيمات، يحتوي بروتين الدمج على مكون خارج الخلية يشمل مجال ربط CD200، مثل CD60R إكتودومين أو جزء CD200 ربط منه. من خلال الخلفية، CD200R هو مستقبلات التي تربط CD200، عبارة عن نوع من البروتين 1 غشاء من عظم الفئران المناعي (Tonks *et al.*, *Leukemia 21*:566-568, 2007). وقد تم تسجيل CD200 على مختلف الأورام الخبيثة، تتضمن اللوكيميا، المايلوما المتعددة، والأورام الصلبة المختلفة (على سبيل المثال، سرطان الجلد، الثدي، وسرطان الخلايا الحرشفية). في الواقع، تم ربط مستويات عالية من التعبير CD200 مع سوء التشخيص ل سرطان الدم النخاعي الحاد (AML)، وقد تبين أن CD200R يشير إلى تأثير مثبط على الخلايا T (Coles *et al.*, *Leukemia* 26: 2148-2151, 2012). في تجسيمات معينة، يشتمل إكتودومين CD200R على جزء كامل خارج الخلية بطول كامل من بروتين CD200R، وجزء كامل خارج الخلية ناضج كامل من بروتين CD200R، وجزء ربط من جزء خارج الخلية من بروتين CD200R، أو جزء ربط من جزء خارج الخلية من وبروتين CD200R سوياً مع جزء من مجال الغشاء من CD200R، أو أي مزيج منها.

في تجسيمات أخرى، يتم تشفير CD200R بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 2. في نماذج أخرى معينة، يشتمل إتكودومين CD200R على الأقل 200 من الأحماض الأمينية من طرف N- من CD200R. في بعض النماذج الأخرى، يتم تشفير CD200R بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 11. وفي تجسيمات أخرى أيضا، يشتمل جزء خارج الخلية من CD200R على 180, 190, 200, 210, 220, 230, 231, 234، أو 243 حمض أميني على الأقل من الطرف N- من CD200R. على سبيل المثال، في تجسيمات معينة، يتم تشفير CD200R بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 8. في أي من التجسيمات المذكورة أعلاه، CD200R، CD60R إكتودومين، أو أي جزء CD200R منه المستخدمة في بروتين الدمج من هذا الكشف عبارة عن CD200R بشري. وفي تجسيمات أخرى، توجد مركبات إلكترودية CD200R ذات سلسلة 80% على الأقل، 85% على الأقل، 90% على الأقل، 91% على الأقل، 92% على الأقل، 93% على الأقل، 94% على الأقل، على الأقل 95%، على الأقل 96%، على الأقل 97%، على الأقل 98%، على الأقل 98%، 99% على الأقل، على الأقل 99.5%، أو على الأقل 100% مماثلة لمجال خارجي من جزيء به سلسلة الأحماض الأمينية المشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو موضح في سلسلة التعريف رقم: 2.

في بعض التجسيمات، يتضمن CD200R سلسلة الأحماض الأمينية كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 25. في بعض التجسيمات، يتضمن CD200R سلسلة الأحماض الأمينية كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 34. في نماذج معينة، يتضمن CD200R سلسلة الأحماض الأمينية كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 31. في أي من التجسيمات المذكورة أعلاه، CD200R، CD60R إكتودومين، أو أي جزء CD200R منه المستخدمة في بروتين الدمج من هذا الكشف عبارة عن CD200R بشري. وفي تجسيمات أخرى، توجد مركبات إلكترودية CD200R ذات سلسلة على الأقل 80%، 85% على الأقل، 90% على الأقل، 91% على الأقل، 92% على الأقل، 93% على الأقل، 94% على الأقل، على الأقل 95%، على الأقل 96%، على الأقل 97%، على الأقل 98%، على الأقل 98%، 99% على الأقل، على الأقل 99.5%، أو على الأقل 100% مماثلة لمجال خارجي من جزيء به سلسلة الأحماض الأمينية كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 25.

في بعض التجسيمات، يحتوي بروتين الدمج على مكون خارج الخلية يشتمل على مجال ربط CD47 مثل SIRPα إكتودومين أو جزء ربط منه. على خلفية، CD47 هو بروتين الغشاء عبر

الحدود على نطاق واسع أن يلعب دورا في حماية الخلايا من البلعمة (Willingham *et al.*, *PNAS* *109*: 6662–6667, 2012). ربط CD47 إلى SIRPα يبدأ الإشارات SIRPα، الذي يمنع البلعمة بواسطة الضامة. وبالتالي، دونرغولاتيون من SIRPα سوف يؤدي إلى زيادة البلعمة من قبل الضامة. يتم التعبير عن SIRPα على عدة أنواع الورم البشري تتضمن مضاد سرطان الدم، سرطان الدم النقوي المزمن (CML)، سرطان الدم الليمفاوي الحاد (ALL)، سرطان الغدد الليمفاوية غير هودجكين (NHL)، الورم النخاعي المتعدد (MM) والرئة والمثانة والأورام الصلبة الأخرى. في نماذج معينة، يتضمن SIRPα مجال خارجي جزء كامل خارج الخلية كامل من بروتين SIRPα، جزء كامل خارج الخلية ناضجة كامل من بروتين SIRPα، جزء ربط من جزء خارج الخلية من بروتين SIRPα، وجزء ربط من جزء خارج الخلية من بروتين SIRPα سوياً مع جزء من مجال الغشاء من SIRPα، أو أي مزيج منها.

في تجسيمات أخرى، يتم تشفير SERPα إكتودومين أو جزء ربط منه بجزيء الحمض النووي كما هو موضح في سلسلة تعريف رقم: 17. في نماذج معينة، يحتوي SERPα إكتودومين على 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 361, 370, 373، أو أكثر من الأحماض الأمينية على الأقل من الطرف N– لـ SIRPα. في بعض النماذج الأخرى، يتم تشفير SIRPα بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو موضح في سلسلة تعريف رقم: 21. في أي من التجسيمات المذكورة أعلاه، SIRPα، SERPα إكتودومين، أو أي جزء SIRPα منه المستخدمة في بروتين الدمج من هذا الكشف هو SIRPα البشري. وفي تجسيمات أخرى، هناك SERPα إتكودومينز ذات سلسلة على الأقل 80%، 85% على الأقل، 90% على الأقل، 91% على الأقل، 92% على الأقل، 93% على الأقل، 94% على الأقل، على الأقل 95%، على الأقل 96%، على الأقل 97%، على الأقل 98%، على الأقل 98%، 99% على الأقل، على الأقل 99.5%، أو على الأقل 100% مماثلة لمجال خارجي من جزيء به سلسلة الأحماض الأمينية المشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو موضح في سلسلة تعريف رقم: 17.

في نماذج أخرى، يتضمن SERPα إكتودومين سلسلة الأحماض الأمينية كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 40. في بعض التجسيمات، يتضمن SIRPα سلسلة أحماض أمينية كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 44: في أي من التجسيمات المذكورة أعلاه، SIRPα، SERPα إكتودومين، أو أي جزء SIRPα منه المستخدمة في بروتين الدمج من هذا الكشف هو SIRPα البشري. وفي تجسيمات أخرى، هناك SERPα إتكودومينز ذو سلسلة على الأقل 80%، 85% على الأقل، 90% على الأقل، 91% على الأقل، 92% على الأقل، 93% على الأقل، 94%

على الأقل، على الأقل 95%، على الأقل 96%، على الأقل 97%، على الأقل 98%، على الأقل 98%، 99% على الأقل، على الأقل 99.5%، أو على الأقل 100% مماثلة لمجال خارجي من جزيء به سلسلة الأحماض الأمينية كما هو مبين في سلسلة تعريف رقم: 40.

في بعض التجسيمات، يحتوي بروتين الدمج على مكون خارج الخلية يشتمل على مجال ربط يربط PD-L1 أو PD-L2 أو كليهما. في بعض التجسيمات، يحتوي بروتين الدمج على مكون خارج الخلية يشتمل على بد 1 إكتودومين أو جزء ربط ليجاند منه. في نماذج معينة، يشمل مجال خارجي PD-1 جزء خارج الخلية كامل الطول من بروتين PD-1، جزء كامل خارج الخلية ناضجة كامل من PD-1 البروتين، جزء ربط من جزء خارج الخلية من بروتين PD-1، أو جزء ربط من جزء خارج الخلية من بروتين PD-1 سوياً مع جزء من مجال الغشاء من PD-1، أو أي مزيج منها. في نماذج معينة، يشتمل مجال خارجي PD-1 على الأقل 80, 90, 100, 110, 120, 125, 130, 132, 135, 137, 140, 149, 150, 155, 158, 160، أو 170 أحماض أمينية من الطرف N- لـ PD-1. على سبيل المثال، في تجسيمات معينة، يتم تشفير دالة مجال خارجي PD-1 بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 91 أو 93 أو 95. وفي نماذج أخرى، يتكون مجال خارجي PD-1 على الأقل من حوالي 90 الأحماض الأمينية على الأقل حوالي 130 الأحماض الأمينية من PD-1 كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 60. وفي تجسيمات أخرى أيضا، يشتمل مجال خارجي PD-1 على 170 من الأحماض الأمينية من الطرف N- من مجال خارجي PD-1، كما هو مبين في سلسلة تعريف رقم: 90. في بعض التجسيمات، يتم تشفير PD-1 بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 89. في أي من التجسيمات المذكورة أعلاه، PD-1، PD-1 إكتودومين، أو أي جزء PD-1 منه المستخدمة في بروتين الدمج من هذا الكشف هو PD-1 البشري. وفي تجسيمات أخرى، هناك بدائل إكتودومينز PD-1 ذو سلسلة على الأقل 80%، 85% على الأقل، 90% على الأقل، 91% على الأقل، 92% على الأقل، 93% على الأقل، 94 على الأقل على الأقل 95%، على الأقل 96%، على الأقل 97%، على الأقل 97%، 98% على الأقل، 99% على الأقل، 99.5% على الأقل، أو على الأقل 100% مماثلة لمجال خارجي من جزيء به سلسلة الأحماض الأمينية المنصوص عليها في سلسلة التعريف رقم: 60. وفي تجسيمات أخرى، هناك بدائل إكتودومينز PD-1 ذو سلسلة على الأقل 80%، 85% على الأقل، 90% على الأقل، 91% على الأقل، 92% على الأقل، 93% على الأقل، 94 على الأقل على الأقل 95%، على الأقل 96%، على الأقل 97%، على الأقل 97%، 98% على الأقل، 99% على الأقل، 99.5% على الأقل، أو على الأقل

100% مماثلة لمجال خارجي من جزيء به سلسلة الأحماض الأمينية المنصوص عليها في سلسلة التعريف رقم: 90. وفي تجسيمات أخرى أيضا، توجد مجالات ربط PD-1 لها سلسلة على الأقل 80%، 85% على الأقل، 90% على الأقل، 91% على الأقل، 92% على الأقل، 93% على الأقل، عند على الأقل 94%، على الأقل 95%، على الأقل 96%، على الأقل 97%، على الأقل 97%، 98% على الأقل، 99% على الأقل، 99.5% على الأقل، أو 100% على الأقل مماثلة لمجال خارجي من جزيء له سلسلة حمض أميني مشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 89.

في تجسيمات معينة، يشتمل مجال خارجي PD-1 على سلسلة أحماض أمينية كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 92 أو 94 أو 96. وفي تجسيمات أخرى، هناك بدالات إيكولوجية ذات PD-1 لها تسلسل على الأقل 80 و% 85 على الألقل و% 90 على الألقل و% 91 على الألقل و% 92 على الألقل و% 93 على الألقل و% 94 على الألقل و% 95 على الألقل و% 96 على الألقل و% 97 على الألقل و 98 %، 99% على الأقل، على الأقل 99.5%، أو على الأقل 100% مماثلة لمجال خارجي من جزيء به سلسلة الأحماض الأمينية كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 92، 94، أو 96. في أي من المذكورة أعلاه تجسيمات، PD-1، PD-1 إكتودومين، أو أي PD-1 جزء منه المستخدمة في بروتين الدمج من هذا الكشف هو PD-1 البشري.

في بعض التجسيمات، يحتوي بروتين الدمج على مكون خارج الخلية يتضمن CD2 إكتودومين. في تجسيمات معينة، يتم تشفير إكتودومين CD2 بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 61. في تجسيمات معينة، يشتمل إكتودومين على CD2 على جزء كامل خارج الخلية من بروتين CD2، وجزء كامل خارج الخلية ناضج كامل من بروتين CD2، وجزء ربط من جزء خارج الخلية من بروتين CD2، أو جزء ربط من جزء خارج الخلية من بروتين CD2 سوياً مع جزء من مجال الغشاء من CD2، أو أي مزيج منها. في أي من التجسيمات المذكورة أعلاه، فإن CD2، إتكودومين CD2، أو أي جزء CD2 منه المستخدمة في بروتين الدمج من هذا الكشف هو CD2 البشري. وفي تجسيمات أخرى، هناك أقطاب أكتود CD2 ذو سلسلة على الأقل 80%، 85% على الأقل، 90% على الأقل، 91% على الأقل، 92% على الأقل، 93% على الأقل، 94% على الأقل، على الأقل 95%، على الأقل 96%، على الأقل 97%، على الأقل 98%، على الأقل 98%، 99% على الأقل، على الأقل 99.5%، أو على الأقل 100% مماثلة لمجال خارجي من جزيء به سلسلة الأحماض الأمينية المشفرة بواسطة نوكليك، حامض، الجزيء، برغم، أجبر العظم، إرتكاس، إلى داخل، جينبانك، إنضمام، No.،

NM_001767.3. وفي تجسيمات أخرى، يتم توفير سمات إيكودوينز CD2 ذو سلسلة على الأقل 80%، 85% على الأقل، 90% على الأقل، 91% على الأقل، 92% على الأقل، 93% على الأقل، 94% على الأقل.، على الأقل 95%، على الأقل 96%، على الأقل 97%، على الأقل 98%، على الأقل 98%، 99% على الأقل، 99.5% على الأقل، أو على الأقل 100% مماثلة لمجال خارجي من جزيء به سلسلة الأحماض الأمينية المشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 61.

في بعض التجسيمات، يشتمل إتكودومين CD2 على سلسلة أحماض أمينية كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 62. وفي تجسيمات أخرى، هناك أقطاب أكتود CD2 ذو سلسلة على الأقل 80%، 85% على الأقل، 90% على الأقل، 91% على الأقل، 92% على الأقل، 93% على الأقل، 94% على الأقل، على الأقل 95%، على الأقل 96%، على الأقل 97%، على الأقل 98%، على الأقل 98%، 99% على الأقل، على الأقل 99.5%، أو على الأقل 100% مماثلة لمجال خارجي من جزيء به سلسلة الأحماض الأمينية كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 62. في أي من التجسيمات المذكورة أعلاه، فإن CD2، إتكودومين CD2، أو أي جزء CD2 منه المستخدمة في بروتين الدمج من هذا الكشف هو CD2 البشري.

في بعض التجسيمات، يحتوي بروتين الدمج على مكون خارج الخلية يشتمل على مجال ربط يربط بين فاسل. في بعض التجسيمات، يحتوي بروتين الدمج على مكون خارج الخلية يتضمن FAS (CD95) إكتودومين. يتم التعبير عن FAS على الأوعية الدموية المرتبطة الورم ويمنع تسلل خلية CD8 عن طريق إحداث موت الخلايا. في نماذج معينة، يتضمن FAS مجال خارجي جزء كامل خارج الخلية من بروتين FAS، وعبارة عن جزء كامل خارج الخلية ناضجة كاملة من بروتين FAS، جزء ربط من جزء خارج الخلية من بروتين FAS، وجزء ربط من جزء خارج الخلية من بروتين FAS سوياً مع جزء من المجال الغشائي FAS، أو أي مزيج منها. في بعض التجسيمات، يتم تشفير FAS إتكودومين بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 71. في تجسيمات أخرى أيضا، يشتمل FAS إتكودومين على 150 أو 160 أو 161 أو 166 أو 170 أو 173 من الأحماض الأمينية على الأقل من الطرف N- من FAS. على سبيل المثال، في تجسيمات معينة، يتم تشفير FAS بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 73. في تجسيمات أخرى معينة، يتم تشفير FAS بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 75: في أي من التجسيمات المذكورة أعلاه، FAS، أو إكتودومين FAS، أو أي جزء FAS منه المستخدمة في بروتين الدمج من هذا الكشف هو FAS

البشري. وفي تجسيمات أخرى، يتم توفير FAS إتكودومينز التي لها تسلسل على الأقل 80%، 85% على الأقل، 90% على الأقل، 91% على الأقل، 92% على الأقل، 93% على الأقل، 94% على الأقل، على الأقل 95%، على الأقل 96%، على الأقل 97%، على الأقل 98%، على الأقل 98%، 99% على الأقل، على الأقل 99.5%، أو على الأقل 100% مماثلة لمجال خارجي من جزيء به سلسلة الأحماض الأمينية المشفرة رقم، NM_000043.4. وفي تجسيمات أخرى أيضا، يتم توفير FAS إتكودومينز التي لها تسلسل على الأقل 80%، 85% على الأقل، 90% على الأقل، 91% على الأقل، 92% على الأقل، 93% على الأقل، 94% على الأقل،، على الأقل 95%، على الأقل 96%، على الأقل 97%، على الأقل 98%، على الأقل 98%، 99% على الأقل، 99.5% على الأقل، أو على الأقل 100% مماثلة لمجال خارجي من جزيء به سلسلة الأحماض الأمينية المشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو موضح في سلسلة التعريف رقم: 71.

في بعض التجسيمات، يتضمن FAS إكتودومين سلسلة أحماض أمينية كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 72. في تجسيمات معينة، يشتمل FAS إتكودومين على سلسلة أحماض أمينية كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 74. في تجسيمات أخرى معينة، يشتمل FAS إتكودومين على سلسلة أحماض أمينية كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 76. في أي من التجسيمات المذكورة أعلاه، FAS، أو إكتودومين FAS، أو أي جزء FAS منه المستخدمة في بروتين الدمج من هذا الكشف هو FAS البشري. وفي تجسيمات أخرى، يتم توفير FAS إتكودومينز التي لها تسلسل على الأقل 80%، 85% على الأقل، 90% على الأقل، 91% على الأقل، 92% على الأقل، 93% على الأقل، 94% على الأقل، على الأقل 95%، على الأقل 96%، على الأقل 97%، على الأقل 98%، على الأقل 98%، 99% على الأقل، على الأقل 99.5%، أو على الأقل 100% مماثلة لمجال خارجي من جزيء به سلسلة الأحماض الأمينية كما هو مبين في سلسلة تعريف رقم: 72.

في بعض التجسيمات، يحتوي بروتين الدمج على مكون خارج الخلية يتضمن LAG3 (CD223) إكتودومين. في تجسيمات معينة، يشتمل مجال خارجي LAG3 على جزء خارج الخلية كامل الطول من بروتين LAG3، وجزء كامل خارج الخلية ناضج كامل من بروتين LAG3، وجزء ربط من جزء خارج الخلية من بروتين LAG3، وجزء ربط من جزء خارج الخلية من بروتين LAG3 سوياً مع جزء من المجال الغشائي LAG3، أو أي مزيج منها. على سبيل المثال، في بعض التجسيمات، يشتمل مجال خارجي LAG3 على 420 أو 416 أو 415 أو 413 أو 410 من

الأحماض الأمينية من الطرف-N من LAG3. في أي من التجسيمات المذكورة أعلاه، LAG3، LT3 إكتودومين، أو أي جزء LAG3 منه المستخدمة في بروتين الدمج من هذا الكشف هو LAG3 البشري. وفي تجسيمات أخرى، يتم توفير LA3 إتكودومينز ذو سلسلة على الأقل 80%، 85% على الأقل، 90% على الأقل، 91% على الأقل، 92% على الأقل، 93% على الأقل، 94% على الأقل، على الأقل 95%، على الأقل 96%، على الأقل 97%، على الأقل 98%، على الأقل 98%، 99% على الأقل، على الأقل 99.5%، أو على الأقل 100% مماثلة لمجال خارجي من جزيء به سلسلة الأحماض الأمينية المشفرة بواسطة نوكليك، حامض، الجزيء، برغم، أجبر العظم، إرتكاس، إلى داخل، جينبانك، إنضمام، .No، _NM، 002286.5.

في تجسيمات أخرى، يتم تشفير LAG3 بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة تعريف رقم: 153. في نماذج أخرى معينة، يشتمل مجال خارجي LAG3 على 430 أو 435 أو 438 أو 440 أو 445 أو 450 من الأحماض الأمينية على الأقل من الطرف N- من LAG3. على سبيل المثال، في تجسيمات معينة، يتم تشفير LAG3 بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو موضح في سلسلة التعريف رقم: 161. في أي من التجسيمات المذكورة أعلاه، فإن LAG3، LAG3 إكتودومين، أو أي جزء LAG3 منه المستخدمة في بروتين الدمج من هذا الكشف هو LAG3 البشري. وفي تجسيمات أخرى، يتم توفير LA3 إتكودومينز ذو سلسلة على الأقل 80%، 85% على الأقل، 90% على الأقل، 91% على الأقل، 92% على الأقل، 93% على الأقل، 94% على الأقل، على الأقل 95%، على الأقل 96%، على الأقل 97%، على الأقل 98%، على الأقل 98%، 99% على الأقل، على الأقل 99.5%، أو على الأقل 100% مماثلة لمجال خارجي من جزيء به سلسلة الأحماض الأمينية المشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو موضح في سلسلة تعريف رقم: 153.

في بعض التجسيمات، يتضمن LAG3 سلسلة أحماض أمينية كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 154. في بعض التجسيمات، يتضمن LAG3 سلسلة أحماض أمينية كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 162. في أي من التجسيمات المذكورة أعلاه، LAG3، LT3 إكتودومين، أو أي جزء LAG3 منه المستخدمة في بروتين الدمج من هذا الكشف هو LAG3 البشري. وفي تجسيمات أخرى، يتم توفير LA3 إتكودومينز ذو سلسلة على الأقل 80%، 85% على الأقل، 90% على الأقل، 91% على الأقل، 92% على الأقل، 93% على الأقل، 94% على الأقل، على الأقل 95%، على الأقل 96%، على الأقل 97%، على الأقل 98%، على الأقل 98%،

99% على الأقل، على الأقل 99.5%، أو على الأقل 100% مماثلة لمجال خارجي من جزيء به سلسلة الأحماض الأمينية كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 154.

في بعض التجسيمات، يحتوي بروتين الدمج على مكون خارج الخلية يتضمن TEM3 إكتودومين. في تجسيمات معينة، يشتمل إكتودومين TIM3 على جزء خارج الخلية كامل الطول من بروتين TIM3، وجزء كامل خارج الخلية ناضج كامل من البروتين TIM3، وجزء ربط من جزء خارج الخلية من بروتين TIM3، وجزء ربط من جزء خارج الخلية من بروتين TIM3 سوياً مع جزء من مجال الغشاء من TIM3، أو أي مزيج منها. في أي من التجسيمات المذكورة أعلاه، TIM3، TIM3، أو أي جزء TIM3 منه المستخدمة في بروتين الدمج من هذا الكشف هو TIM3 البشري. وفي تجسيمات أخرى، يتم توفير TEM3 إكتوكودينز ذو سلسلة على الأقل 80%، 85% على الأقل، 90% على الأقل، 91% على الأقل، 92% على الأقل، 93% على الأقل، 94% على الأقل، على الأقل 95%، على الأقل 96%، على الأقل 97%، على الأقل 98%، على الأقل 98%، 99% على الأقل، على الأقل 99.5%، أو على الأقل 100% مماثلة لمجال خارجي من جزيء به سلسلة الأحماض الأمينية المشفرة بواسطة نوكليك، حامض، الجزيء، برغم، أجبر العظم، إرتكاس، إلى داخل، جينبانك، إنضمام، No.، NM_032782.4.

وفي تجسيمات أخرى، يتم تشفير TIM3 بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة تعريف رقم: 167. في تجسيمات أخرى معينة، يشتمل إكتودومين TIM3 على 180 أو 185 أو 190 أو 195 على الأقل أو 200 من الأحماض الأمينية من الطرف N- من TIM3. على سبيل المثال، في تجسيمات معينة، يتم تشفير TIM3 بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو موضح في سلسلة تعريف رقم: 177. في أي من التجسيمات المذكورة أعلاه، TEM3، TIM3 إكتودين، أو أي جزء TIM3 منه المستخدمة في بروتين الدمج من هذا الكشف هو TIM3 البشري. وفي تجسيمات أخرى، يتم توفير TEM3 إكتوكودينز ذو سلسلة على الأقل 80%، 85% على الأقل، 90% على الأقل، 91% على الأقل، 92% على الأقل، 93% على الأقل، 94% على الأقل، على الأقل 95%، على الأقل 96%، على الأقل 97%، على الأقل 98%، على الأقل 98%، 99% على الأقل، على الأقل 99.5%، أو على الأقل 100% مماثلة لمجال خارجي من جزيء به سلسلة الأحماض الأمينية المشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو موضح في سلسلة تعريف رقم: 167.

في بعض التجسيمات، يتضمن TIM3 سلسلة أحماض أمينية كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 168. في بعض التجسيمات، يشتمل TIM3 على سلسلة أحماض أمينية كما هو

مبين في سلسلة تعريف رقم: 178. في أي من التجسيمات المذكورة أعلاه، TIM3، إيمتودين TIM3، أو أي جزء TIM3 منه المستخدمة في بروتين الدمج من هذا الكشف هو TIM3 البشري. وفي تجسيمات أخرى، يتم توفير TEM3 إكتوكودينز ذو سلسلة على الأقل 80%، 85% على الأقل، 90% على الأقل، 91% على الأقل، 92% على الأقل، 93% على الأقل، 94% على الأقل، على الأقل 95%، على الأقل 96%، على الأقل 97%، على الأقل 98%، على الأقل 98%، 99% على الأقل، على الأقل 99.5%، أو على الأقل 100% مماثلة لمجال خارجي من جزيء به سلسلة الأحماض الأمينية كما هو مبين في رقم التعريف المتسلسل: 168.

قد يكون مجال الربط أي الببتيد الذي يربط على وجه التحديد هدفا للاهتمام. وتشمل مصادر مجالات الربط مناطق متغيرة الأجسام المضادة من مختلف الأنواع (والتي يمكن أن تكون في شكل أجسام مضادة، sFvs, scFvs, Fabs, scFv، أو نطاق VH القابلة للذوبان أو الأجسام المضادة المجال)، تتضمن الإنسان والقوارض والطيران أو أوفين. وتشمل المصادر الإضافية لنطاقات الربط مناطق متغيرة من الأجسام المضادة من الأنواع الأخرى، مثل الجمل (من camels, dromedaries, or llamas; Ghahroudi *et al.*, *FEBS Lett. 414*:521, 1997; Vincke *et al.*, *J. Biol. Chem. 284*:3273, 2009; Hamers-Casterman *et al.*, *Nature 363*:446, 1993 and Nguyen *et al.*, *J. Mol. Biol. 275*:413, 1998), nurse sharks (Roux *et al.*, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. (USA) 95*:11804, 1998), spotted ratfish (Nguyen *et al.*, *Immunogen. 54*:39, 2002), or lamprey (Herrin *et al.*, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. (USA) 105*:2040, 2008 and Alder *et al.* *Nat. Immunol. 9*:319, 2008). يمكن أن تشكل هذه الأجسام المضادة مناطق ربط لمستضد باستخدام منطقة متغيرة لسلسلة ثقيلة فقط، أي أن هذه الأجسام المضادة الوظيفية هي هوموديمرات سلاسل ثقيلة فقط (يشار إليها باسم "الأجسام المضادة لسلسلة ثقيلة") (Jespers *et al.*, *Nat. Biotechnol. 22*:1161, 2004; Cortez-Retamozo *et al.*, *Cancer Res. 64*:2853, 2004; Baral *et al.*, *Nature Med. 12*:580, 2006; and Barthelemy *et al.*, *J. Biol. Chem. 283*:3639, 2008).

يتضمن مصدر بديل للنطاقات الربط غير التقليدية لهذا الكشف تسلسل تشفير مكتبات الببتيد العشوائية أو سلاسل تشفير تنوع هندسي للأحماض الأمينية في مناطق حلقة من السقالات البديلة غير المضادة، مثل scTCR (انظر على سبيل المثال، Lake *et al.*, *Int. Immunol.*11:745, 1999; Maynard *et al.*, *J. Immunol. Methods 306*:51, 2005; U.S. Patent No. 8,361,794)، مجالات الفيبرينوجين (انظر، على سبيل المثال، Weisel *et al.*, *Science*

US 6,423,498)، صممت البروتينات تكرار أنكرين (DARPins)، مجالات كونيتز (انظر، على سبيل المثال، البراءة الأمريكية رقم (*230*:1388, 1985)

(Binz *et al.*, *J. Mol. Biol. 332*:489, 2003 and Binz *et al.*, *Nat. Biotechnol. 22*:575, 2004)

فبرونيكتين مجالات ربط (أديكتينز أو الأجسام المضادة)

(Richards *et al.*, *J. Mol. Biol. 326*:1475, 2003; Parker *et al.*, *Protein Eng. Des. Selec. 18*:435, 2005 and Hackel *et al.* (2008) *J. Mol. Biol. 381*:1238-1252), سيستين عقدة البروتينات الصغيرة (Vita *et al.* (1995) *Proc. Nat'l. Acad. Sci. (USA) 92*:6404-6408; Martin *et al.* (2002) *Nat. Biotechnol. 21*:71, 2002 and Huang *et al.* (2005) *Structure 13*:755, 2005), مجالات تكرار رابع-ثالث بيبتيد مشارك (Main *et al.*, *Structure 11*:497, 2003 and Cortajarena *et al.*, *ACS Chem. Biol. 3*:161, 2008), ليوسين الغنية مجالات تكرار (Stumpp *et al.*, *J. Mol. Biol. 332*:471, 2003)، مجالات شحمية (انظر، على سبيل المثال، WO 2006/095164, Beste *et al.*, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. (USA) 96*:1898, 1999 and Schönfeld *et al.*, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. (USA) 106*:8198, 2009)، مجالات تشابه V (انظر، على سبيل المثال، US Patent Application Publication No. 2007/0065431) ومجالات لكتين من النوع C- (Zelensky and Gready, *FEBS J. 272*:6179, 2005; Beavil *et al.*, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. (USA) 89*:753, 1992 and Sato *et al.*, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. (USA) 100*:7779, 2003)، PCT Patent Application Publication Nos. WO 2007/098934; WO 2006/072620)، بروتينات تكرار أرماديلو (انظر، على سبيل المثال، Madhurantakam *et al.*, *Protein Sci. 21*: 1015, 2012; PCT Patent Application Publication No. WO 2009/040338)، أفيلين (Ebersbach *et al.*, *J. Mol. Biol. 372*: 172, 2007)، أفيبودي، أفيم إرس، نوتينز، فينوميرس، أتريمرز، سامة للخلايا اللمفاوية الT المرتبطة بالبروتين 4- (Weidle *et al.*, *Cancer Gen. Proteo. 10*:155, 2013) أو ما شابه ذلك، mAb^2 أو Fcab™ (انظر، على سبيل المثال،

(Nord *et al.*, *Protein Eng. 8*:601, 1995; Nord *et al.*, *Nat. Biotechnol. 15*:772, 1997; Nord *et al.*, *Euro. J. Biochem. 268*:4269, 2001; Binz *et al.*, *Nat. Biotechnol. 23*:1257, 2005; Boersma and Plückthun, *Curr. Opin. Biotechnol. 22*:849, 2011).

في بعض التجسيمات، يكون مجال الربط عبارة عن مستقبل خلية T سلسلة واحدة (scTCR) مشتمل على سلاسل $V_{\alpha/\beta}$ و $C_{\alpha/\beta}$ (على سبيل المثال V_α-C_α, V_β-C_β, V_α-V_β) أو تشتمل

على V_α-C_α, V_β-C_β, V_α-V_β زوج محددة لهدف من الفائدة (على سبيل المثال، peptide-MHC complex or peptide-HLA complex).

في تجسيمات معينة، يتكون نطاق الربط أو هو تسلسل على الأقل 90%، على الأقل 91%، 92% على الأقل، 93% على الأقل، 94% على الأقل، 95% على الأقل، 96% على الأقل، عند على الأقل 97%، على الأقل 98%، على الأقل 99%، على الأقل 99.5%، أو 100% مماثلة لمجال خارجي من جزيء به سلسلة الأحماض الأمينية من TCR Vα، Vβ، Cα، أو Cβ، حيث يتكون كل سدر صفر التغييرات أو على الأكثر واحد أو اثنين أو ثلاثة تغييرات، من TCR أو جزء أو مشتق منه الذي يرتبط على وجه التحديد إلى هدف من الفائدة.

في تجسيمات معينة، يمكن اشتقاق مجال الربط Vα أو Vβ أو Cα أو C of من الكشف الحالي أو استنادا إلى Vα أو Vβ أو Cα أو Cβ ل TCR المعروف (على سبيل المثال، TCR تقارب عالية) ويحتوي على واحد أو أكثر (مثل 2، 3، 4، 5، 6، 7، 8، 9، 10)، واحد أو أكثر (على سبيل المثال، 2، 3، 4، 5، 6، 7، 8، 9، 10) (على سبيل المثال، 2، 3، 4، 5، 6، 7، 8، 9، 10) بدائل الأحماض الأمينية (مثل بدائل الأحماض الأمينية المحافظة أو بدائل الأحماض الأمينية غير المحافظة)، أو مزيج من التغييرات المذكورة أعلاه، بالمقارنة مع Vα، Vβ، Cα، أو Cβ من TCR معروفة. يمكن أن يكون الإدراج أو الحذف أو الاستبدال في أي مكان في منطقة Vα أو Vβ أو Cα أو C،، تتضمن في الطرف أمينو أو كربوكسي أو طرفي هذه المناطق، بشرط أن يشتمل كل سدر على صفر تغييرات أو على الأكثر واحد، أو ثلاثة تغييرات ووفر مجال ربط يحتوي على منطقة Vα أو Vβ أو Cα أو C معدلة يمكن أن يربط تحديدا هدفه مشابه بشكل كبير للنوع الشديد. في تجسيمات معينة، TCR يحتوي على تقارب للببتيد–HLA معقدة تتراوح من حوالي 10 ميكرومتر إلى حوالي 500 ميكرومتر. في تجسيمات أخرى، فإن TCR لديه تقارب عالية لمركب الببتيد–HLA تتراوح من حوالي 10 نانومول إلى حوالي 200 بيكومول.

في بعض الجوانب، بروتين الدمج وفقا للكشف الحالي يحتوي على مكون خارج الخلية مشتمل على مجال ربط الذي يرتبط على وجه التحديد بالمستهدف (على سبيل المثال، ليجاند أو مستقبلات)، حيث يشمل المكون خارج الخلية اختياريا واحد أو أكثر من المكونات الفرعية الوظيفية أو المجالات الأخرى، مثل نطاق متعدد المراحل، رابط، أحماض أمينية تقاطع، أو أي إتحاد من ذلك.

في تجسيمات معينة، يشتمل بروتين الدمج المذكور هنا على منطقة إضافية خارج الخلية بالإضافة إلى مجال الربط أو بالإضافة إلى الجزء المستمد من الجزيء الذي يستمد منه نطاق

الربط، مثل فاصل أو نطاق متعدد الإستخدامات. على سبيل المثال، في بعض الجوانب يوجد نطاق متعدد الإستخدامات أو جزء من المكون خارج الخلية للبروتين الدمج. على سبيل المثال، قد يتم إنشاء نطاق متعدد المراحل عن طريق تغيير (على سبيل المثال، تحور) المكون خارج الخلية، أو يمكن إنشاء مجال متعدد الإستخدامات بإضافة 1 إلى حوالي 50 بقايا حمض أميني إلى المكون خارج الخلية. يمكن أن يوجد نطاق متعدد المراحل بين مجال الربط المكون خارج الخلية ومكون كاره للماء من بروتين الدمج من هذا الكشف. في تجسيمات معينة، يتكون بروتين الدمج المعبر عنه على سطح الخلية من مجال متعدد النطاقات داخل المكون خارج الخلية، يكون قريب من غشاء الخلية، خلال 1 إلى 50 من الأحماض الأمينية من المكون الكاره للماء. على سبيل المثال، يمكن أن يشتمل نطاق متعدد بروتينات الدمج على واحد أو أكثر من بقايا سيستين cysteine residue الموجودة ضمن 30، 25، 20، 15، 14، 13، 12، 11، 10، 9 8، 7، 6، 5، 4، 3، 2، 1 أو 0 الأحماض الأمينية من عنصر البروتين كاره للماء الدمج، حيث مثل واحد أو أكثر من بقايا السيستين من بروتين الدمج واحد يمكن أن تشكل واحد أو أكثر من جسور ثاني كبريتيد مع واحد أو أكثر من بروتينات الدمج الأخرى. في بعض التجسيمات، يتم اشتقاق جزء إضافي خارج الخلية من نفس الجزيء الذي يتم اشتقاق المنطقة الغشائية أو التنشيطية من بروتين الدمج.

في تجسيمات أخرى، فإن التفاعل (التفاعلات) بين نطاقات تعدد الميادين لبروتينات دمج أو أكثر يسهم بشكل كبير في تعزيز تحول الإشارة (مثل تحفيز الخلايا المناعية أو تنشيطها) أو بالمقارنة مع بروتين مونومر الدمج. في تجسيمات معينة، العديد من بروتينات الدمج لتعزيز إشارة التحول في خلية العائل بطريقة ذات دلالة إحصائية على مونومرات بروتين الدمج. وفي تجسيمات أخرى، يكون التعدد من بروتينات الدمج التي تعزز أو تعزز نقل الإشارة في خلية عائلة عبر جسر ثنائي الكبريتيد.

و مولتيمر المثالي هو "ديمر"، الذي يشير إلى كيان بيولوجي يحتوي على جزيئين، مثل اثنين من بروتينات الدمج، المرتبطة بعضها البعض. ويعتبر هذا ديمر "هومو‌ديمر" عندما اثنين من بروتينات الدمج المرتبطة لها متشابهة جوهرياً أو متطابقة سلسلة أحماض أمينية. وبالمثل، ويشار إلى تعدد تعدد ثلاثة بروتينات الدمج متطابقة بشكل كبير أو كليا باسم "هوموتريمر". في بعض التجسيمات، يشتمل نطاق متعدد المراحل على بقايا سيستين واحدة على الأقل، حيث يمكن أن تشكل بقايا سيستين متعددة المجال من بروتين دمج أول جسر ثنائي الكبريتيد مع بقايا سيستين متعدد المجال من بروتين دمج ثاني. في تجسيمات معينة، يشكل ديمر بروتين دمج عبر جسر

ثاني كبريتيد. في تجسيمات أخرى، يتم تشكيل بروتين دمج من خلال جسرين أو أكثر من الكبريتيد. وبدلا من ذلك، قد يتعدد لونه ديمر، هومو‌ديمر، تريمر أو هوموتريمر عن طريق عزر الزنك أو عزر سحاب ليوسين. في مزيد من التجسيمات، بروتين الدمج يتكون من مجموعة من المجالات التعدد، والتي يمكن أن تقع خارج الخلية، داخل الخلية أو كليهما.

في بعض التجسيمات، يتضمن نطاق متعدد المراحل الوارد في المكون خارج الخلية لبروتين دمج جزء خارج الخلية يمتد من المكون الكاره للماء. على سبيل المثال، في بعض التجسيمات، يحتوي نطاق متعدد المراحل الموجود في المكون خارج الخلية لبروتين الدمج على جزء خارج الخلية لـ CD28 يمتد من مجال الغشاء CD28. في بعض التجسيمات، يتكون الجزء خارج الخلية لـ CD28 حوالي 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15، أو تصل إلى حوالي 25 من الأحماض الأمينية المجاورة للمجال الغشائي. في بعض التجسيمات، يتكون الجزء خارج الخلية لـ CD28 من 9 أحماض أمينية أو 12 من الأحماض الأمينية المجاورة للنطاق الغشائي. في بعض التجسيمات، يتكون الجزء خارج الخلية لـ CD28 من سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 9: في بعض التجسيمات، يشتمل الجزء خارج الخلية لـ CD28 على سلسلة أحماض أمينية كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 32. وفي تجسيم نموذجي آخر، يشتمل نطاق متعدد التضمين الوارد في المكون خارج الخلوي للبروتين الدمج على جزء خارج الخلية من CD137 (4-1BB) (على سبيل المثال، يتراوح من واحد إلى حوالي 50 من الأحماض الأمينية) يمتد من CD137 (4 1BB) المجال الغشائي. في نماذج معينة، يكون نطاق التعدد والمكون الكاره للماء من بروتينات مختلفة. على سبيل المثال، يتضمن نطاق متعدد المراحل الموجود في المكون خارج الخلوي للبروتين الدمج جزءا خارج الخلية لـ CD28 يمتد من مجال الغشاء CD137، أو يشتمل على جزء خارج الخلية من CD137 يمتد من مجال الغشاء CD28. في أي من التجسيمات المذكورة أعلاه، يمكن أن يشتمل نطاق متعدد الإستخدامات أيضا على موقع جليكوسيلاتيون.

في بعض التجسيمات، قد يحتوي بروتين الدمج على رابط أو أحماض أمينية تقاطع تربط، على سبيل المثال، مكون خارج الخلية مع مجال التعدد أو توصيل مكون خارج الخلية مع مكون كاره للماء أو توصيل مكون كاره للماء مع مكون داخل الخلية. في بعض التجسيمات، الوصلة هي غليكسري، حيث x و y بشكل صحيح عدد صحيح من 1 إلى 5.

يمكن ايجاد الجزئ المستهدف، والذي يرتبط على وجه التحديد من قبل مجال ربط الواردة في بروتين الدمج من الكشف الحالي، على أو بالاشتراك مع خلية من الفائدة ("الخلية المستهدفة").

وتشمل الخلايا المستهدفة النموذجية خلية مناعية أو خلية سرطانية أو خلية مرتبطة بمرض المناعة الذاتية أو اضطراب أو بمرض التهاب أو اضطراب أو كائن حي أو خلية معدية (مثل البكتيريا أو الفيروسات أو الخلايا المصابة بالفيروس) أو أي خلية مستضد معقدة مع MHC أو مستضد كريات الدم البيضاء البشرية (HLA). ومن المتوخى أيضا خلية من كائن حي معدي، مثل طفيليات الثدييات، كخلايا مستهدفة. في بعض التجسيمات، الهدف هو ليجاند المثبطة للمناعة. في بعض التجسيمات، يتم تحديد الهدف من CD47, CD58, CD80, CD86, CD95L (FasL), CD200, CD270 (HVEM), CD274 (PD-L1) أو GAL9.

مكون داخل الخلية

سوف مكون داخل الخلية الواردة في بروتين الدمج من الكشف الحالي يكون مجال الإشارة داخل الخلية، مثل مجال تنشيط أو مجال التحفيز العامة، قادرة على نقل إشارات وظيفية إلى خلية. في تجسيمات معينة، فإن مجال إشارات داخل الخلية سيعزز بشكل غير مباشر استجابة خلوية من خلال الربط مع واحد أو أكثر من البروتينات الأخرى التي تعزز مباشرة الاستجابة الخلوية. ويمكن أن يشتمل مجال الإشارة داخل الخلية على نطاق واحد أو اثنين أو ثلاثة أو أكثر من مستقبلات إشارة المستقبلات أو نطاقات التكاليف أو توليفات منها. ويمكن استخدام أي مكون داخل الخلية يشمل مجالا نشطا أو مجالا تحفيزيا مشتركا أو كليهما من أي مجموعة من جزيئات الإشارة (مثل مستقبلات تحول الإشارة) في بروتينات الاندماج في هذا الكشف.

كما هو مستخدم هنا، فإن "نطاق الإشارات داخل الخلية" من مستقبلات سطح الخلية أو ليجاند يشمل مجال كامل داخل الخلية، جزء مشتمل على مجال إشارات داخل الخلية، أو جزء وظيفي (إشارة) منه. وفي تجسيمات معينة، يشتمل مجال إشارات داخل الخلية على مجال داخل الخلية محور أو جزء وظيفي (إشارة) منه يزيد من نشاط الإشارة بالمقارنة بمجال إشارات من نوع بري أو مرجعي داخل الخلية.

A "جزيء تحفيز مشترك" كما هو مستخدم هنا يشير إلى مستقبلات أو جزيء سطح الخلية التي يمكن أن تنقل الإشارات إلى الخلايا T لتعديل إيجابي تنشيط الخلايا T (Chen and Flies, *Nat. Rev. Immunol. 13*: 227-242, 2013). على سبيل الخلفية، يتطلب تنشيط الخلايا T وانتشارها إشارتين بواسطة من خلال تفاعل مستقبل المستضدات الTT الخاصة بالمستضدات الTT (TCR) وإشارة تحفيزية مشتركة، ترتبط بشكل أكثر نموذجياً بـ CD28 بواسطة CD80 و CD86 (Ledbetter *et al.*, *Blood 75*:1531, 1990).

يمكن أن يكون مجال إشارات داخل الخلية أو جزء وظيفي منه مفيد في بروتينات الدمج لهذا الكشف من CD3ε, CD3δ, CD3ζ, CD25, CD27, CD28, CD40, CD47, CD79A, CD79B, CD134 (OX40), CD137 (4-1BB), CD150 (SLAMF1), CD278 (ICOS), CD357 (GITR), CARD11, DAP10, DAP12, FcRα, FcRβ, FcRγ, Fyn, Lck, LAT, LRP, NKG2D, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, ROR2, Ryk, Slp76, pTα, TCRα, TCRβ, TRIM, Zap70, PTCH2، أو أي مجموعة منها. وفي بعض التجسيمات، لا يشتمل مجال الإشارة داخل الخلية أو جزء وظيفي منه على إشارة أولية. في بعض التجسيمات، لا يشمل مجال الإشارة داخل الخلية CD3ζ.

في بعض التجسيمات، يشتمل نطاق الإشارات داخل الخلية لبروتين دمج من هذا الكشف على CD28. وتشجع الإشارات CD28 على انتشار الخلايا T المحفزة عبر TCR (Chen and Flies, *Nat. Rev. Immunol. 13*: 227-242, 2013). CD28 أشكال هوموديميرز مرتبطة ثاني كبريتيد، نتيجة لبقايا السيستين القريبة من المجال الغشائي (Lazar-Molnar *et al.*, *Cell Immunol. 244*: 125–129, 2006). في تجسيمات معينة، يتضمن نطاق الإشارة CD28 جزء داخل الخلية كامل الطول من بروتين CD28، وجزء كامل داخل الخلية ناضجة كامل من بروتين CD28، وجزء إشارة لجزء داخل الخلية من بروتين CD28، وجزء إشارة من جزء داخل الخلية من البروتين CD28 سوياً مع مجال الغشاء أو جزء منه لـ CD28، أو أي مزيج منها.

في بعض التجسيمات، مجال الإشارة داخل الخلية لبروتين الدمج يحتوي على مجال الإشارة داخل الخلية من CD137 (4-1BB). CD137 هو جزيء تحفيز مشترك، حيث يرتبط ارتباط CD137 بجندته (CD137L أو 1-4BBL) مع تنشيط الخلايا T وانتشارها (Cheuk *et al.*, *Cancer Gene Therapy* 11: 215-226, 2004). في تجسيمات معينة، يتضمن نطاق الإشارة CD137 جزء داخل الخلية كامل الطول من بروتين CD137، وجزء كامل داخل الخلية ناضجة كامل من بروتين CD137، وجزء إشارة جزء داخل الخلية من بروتين CD137، وشظية إشارة جزء من الخلايا من بروتين CD137 سوياً مع مجال الغشاء أو جزء منه من CD137، أو أي مزيج منها.

في تجسيمات معينة، يشتمل مجال إشارات داخل الخلية على مجال إشارات مستقبلات لمفاوية أو يحتوي على سلاسل الأحماض الأمينية التي تحتوي على واحد أو مجموعة من عناصر التنشيط المستندة إلى التيروزين المناعي (ITAMs). وفي تجسيمات أخرى أيضا، يشتمل نطاق الإشارات داخل الخلية على جزء سيتوبلازمي يرتبط ببروتين إشارات سيتوبلازمي، حيث بروتين

الإشارات السيتوبلازمية هو مستقبلات لمفاوية أو مجال إشارات منه، عبارة عن بروتين يشتمل على مجموعة من إيتامز أو عامل استكمالي أو أي مجموعة منها.

في بعض التجسيمات النموذجية، يوفر الكشف الحالي بروتين دمج يحتوي على مكون خارج الخلية يتضمن جزء خارج الخلية من CD200R الذي يربط على وجه التحديد CD200، مكون داخل الخلية التي تتضمن جزءا داخل الخلية لـ CD28، وعنصر كاره للماء يربط بين المكونات داخل الخلية وخارج الخلية المقدمة أن بروتين الدمج :: المركب المستهدف يغطي مسافة مماثلة لمسافة بين الأغشية في التشابك العصبي المناعي.

في تجسيمات معينة، مكون داخل الخلية من بروتين الدمج من الكشف الحالي يتضل CD28، و CD137(4-1BB) أو كليهما. على سبيل المثال، في بعض التجسيمات، يتكون المكون داخل الخلية من سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 5. في بعض التجسيمات الأخرى، يشتمل المكون داخل الخلية على سلسلة حمض أميني مشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو موضح في سلسلة تعريف رقم: 13. في بعض التجسيمات، يتكون المكون داخل الخلية من اثنين من مجالات الإشارات داخل الخلية، على سبيل المثال، CD28 و CD137 (4-1BB). في بعض التجسيمات، يشتمل المكون داخل الخلية على سلسلة حمض أميني مشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة تعريف رقم: 57 وسلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة تسلسل النيوكليوتيدات على النحو المحدد بالتتابع رقم 13.

مكون كاره للماء

وهناك جزء كاره للماء الواردة في بروتين الدمج سلسلة واحدة من الكشف الحالي تسمح للبروتين الدمج من هذا الكشف لربط مع غشاء الخلوي بحيث أن جزء من بروتين الدمج سيكون موجودا خارج الخلية وسوف يكون موجودا جزء داخل الخلية (على سبيل المثال، نطاق الإشارات داخل الخلية). وعادة ما يتم التخلص من عنصر كاره للماء داخل طبقة ثنائية فوسفوليبيد الغشاء الخلوي. في تجسيمات معينة، يمكن التخلص من واحد أو أكثر من الأحماض الأمينية من الوصل بين وربط جزء كاره للماء بمجال إشارات داخل الخلية.

في تجسيمات معينة، يكون المجال كاره للماء مجالا غريبا، مثل واحد مشتق من بروتين غشاء متكامل (على سبيل المثال، مستقبلات، جزيء التمايز (CD)، إنزيم، ناقل، جزيء التصاق الخلية، أو ما شابه ذلك). في بعض التجسيمات، يتكون المجال كاره للماء من مجال الغشاء وجدت في أو مشتقة من بروتين غشاء متكامل، حيث تم تعديل المجال الغشائي عن طريق إضافة

أو إزالة أو استبدال واحد أو أكثر من الأحماض الأمينية مع واحد على الأقل من الأحماض الأمينية المختلفة، أو أي مزيج منها، مثل المخلفات المحملة أو ماء التي تسهل التفاعلات بين الجزيئات. وبالتالي، فإن مصطلح "المجال كاره للماء" يشمل المجالات الغشائية وجود، على سبيل المثال، التعديلات التي قد تقلل من كاره للماء.

في بعض التجسيمات، المكون الكاره للماء يشمل مجال الغشاء CD2, CD3ε, CD3δ, CD3ζ, CD25, CD27, CD28, CD40, CD47, CD79A, CD79B, CD80, CD86, CD95 (Fas), CD134 (OX40), CD137 (4-1BB), CD150 (SLAMF1), CD152 (CTLA4), CD200R, CD223 (LAG3), CD270 (HVEM), CD272 (BTLA), CD273 (PD-L2), CD274 (PD-L1), CD278 (ICOS), CD279 (PD-1), TIM3, CD300, CD357 (GITR), A2aR, DAP10, FcRα, FcRβ, FcRγ, Fyn, GAL9, KIR, Lck, LAT, LPA5, LRP, NKG2D, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, PTCH2, ROR2, Ryk, Slp76, SIRPα, pTα, TCRα, TCRβ, TIM3, TRIM, or Zap70.

في تجسيمات معينة، جزء كاره للماء هو مجال الغشاء لـ CD28، CD4، CD8، CD27، أو CD137 (4-1BB). في تجسيمات معينة، المجال الغشائي هو مجال غشاء CD28 يحتوي على سلسلة حمض أميني مشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 4: في تجسيمات أخرى معينة، يكون المجال الغشائي هو مجال غشاء CD200R يحتوي على سلسلة حمض أميني مشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو موضح في سلسلة تعريف رقم: 3. وفي تجسيمات أخرى أيضا، فإن المجال الغشائي هو مجال غشائي SIRPα له سلسلة حمض أميني مشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة تعريف رقم: 18. وفي تجسيمات أخرى، يكون المجال الغشائي مجالا للغشاء CD2 يحتوي على سلسلة حمض أميني مشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 63. وفي تجسيمات أخرى أيضا، فإن المجال الغشائي هو مجال غشائي FAS يحتوي على سلسلة حمض أميني مشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة تعريف رقم: 77. وفي تجسيمات أخرى أيضا، فإن المجال الغشائي هو مجال غشاء TIM3. وفي تجسيمات أخرى أيضا، فإن المجال الغشائي هو مجال غشاء TIM3 له سلسلة حمض أميني مشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة تعريف رقم: 169. وفي تجسيمات أخرى، يكون المجال الغشائي مجال غشاء LAG3. في بعض التجسيمات، مجال الغشاء هو مجال غشاء LAG3 يحتوي على سلسلة حمض أميني مشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 155.

الأحماض النووية والخلايا العائلة

في بعض الجوانب، يوفر الكشف الحالي جزيئات الحمض النووي التي تشفر أي واحد أو أكثر من بروتينات الدمج الموصوفة هنا، والتي قد تكون البروتينات دمج التعديل المناعي (IFPs). ويمكن إدراج جزيئات الحمض النووي هذه في ناقل مناسب (على سبيل المثال، ناقلات فيروسية أو ناقلات البلازميد غير الفيروسية) لإدخالها في خلية عائلة ذات اهتمام (على سبيل المثال، خلية السلف المكونة للدم، الخلية T).

وكما هو مستخدم هنا، يشير المصطلح "المؤتلف" أو "غير الطبيعي" إلى كائن حي أو كائن حيوي أو خلية أو جزيء الحمض النووي أو ناقل يتضمن تغييرا جينيا واحدا على الأقل أو تم تعديله عن طريق إدخال جزيء الحمض النووي الخارجي، حيث يتم إدخال هذه التعديلات أو التعديلات من قبل الهندسة الوراثية. وتشمل التعديلات الوراثية، على سبيل المثال، التعديلات التي تدخل جزيئات الحمض النووي القابلة للتشفير البروتينات المشفرة، والبروتينات الانزيمية أو الانزيمات، أو غيرها من الإضافات جزيء الحمض النووي، والحذف، واستبدال أو غيرها من تعطيل وظيفي للمادة الوراثية للخلية. وتشمل التعديلات الإضافية، على سبيل المثال، المناطق التنظيمية غير المشفرة التي تغير فيها التعديلات تعبير الجين أو الأوبرون. في نماذج معينة، يمكن تحويل خلية، مثل خلية T، التي تم الحصول عليها من مادة ما، إلى خلية غير طبيعية أو مؤتلفة (على سبيل المثال، خلية T غير طبيعية أو مؤتلفة) عن طريق إدخال حمض نووي يشفر بروتين الدمج كما هو موضح هنا، حيث تعبر الخلية عن بروتين دمج.

في تجسيمات معينة، قد تكون جزيئات الحمض النووي التي تشفر بروتينات الدمج هي الكودون الأمثل لتعزيز أو تعظيم التعبير في أنواع معينة من الخلايا، مثل الخلايا T (Scholten *et al.*, *Clin. Immunol. 119*: 135-145, 2006).

في تجسيم نموذجي واحد، يوفر الكشف الحالي جزيء الحمض النووي الذي يشفر تركيب (huCD200Rtm-CD28 CD200R-CD28)، حيث يحتوي المكون خارج الخلية على إكتودومين CD200R، مكون مكون كاره للماء مجال الغشاء من CD200R، والمكون داخل الخلية يتكون من مجال الإشارة داخل الخلية لـ CD28. على سبيل المثال، في أحد التجسيمات، يتم توفير جزيء الحمض النووي كما هو موضح في سلسلة تعريف رقم: 1.

في تجسيم نموذجي آخر، يوفر الكشف الحالي جزيء الحمض النووي الذي يشفر تركيب CD200R-CD28(huCD200R-CD28tm)، حيث يشمل المكون الكاره للماء المجال الغشائي ل

CD28. على سبيل المثال، في أحد التجسيمات، يوفر الكشف جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 6:

في تجسيمات نموذجية أخرى، يوفر الكشف الحالي جزيء الحمض النووي الذي يشفر تركيب CD200R-CD28، حيث يحتوي خارج الخلية على نطاق مقتطع خارج الخلية CD200R وجزء خارج الخلية لـ CD28. على سبيل المثال، قد يتم قطع المجال خارج الخلية CD200R بواسطة 9 الأحماض الأمينية (على سبيل المثال، huCD200R-9aas-CD28Cys، سلسلة تعريف رقم: 7) أو 12 من الأحماض الأمينية (على سبيل المثال، huCD200R-12aas-CD28Cys، سلسلة تعريف رقم: 10).

في تجسيم نموذجي واحد، يوفر الكشف الحالي جزيء الحمض النووي الذي يشفر تركيب CD200R-CD28-4-1BB (huCD200R-9aas-CD28Cystm-41BBic أو huCD200R-12aas-CD28Cystm-41BBic)، حيث يشتمل المكون داخل الخلية على المجال إشارة داخل الخلية CD137 (4-1BB). على سبيل المثال، في أحد التجسيمات، يحتوي جزيء الحمض النووي على تسلسل النيوكليوتيدات كما هو موضح في سلسلة تعريف رقم: 12 أو سلسلة تعريف رقم: 14.

في تجسيم نموذجي آخر، يوفر الكشف الحالي جزيء الحمض النووي الذي يشفر تركيب CD200R-CD28-4-1BB (huCD200R-9aas-CD28Cys تم BBic41 EC أو huCD200R-12aas-CD28Cys تم BBic41-EC)، حيث يشمل المكون داخل الخلية مجال الإشارة داخل الخلية لـ CD28 و 4-1BB) CD137). في أحد التجسيمات، على سبيل المثال، يحتوي الحمض النووي للكشف الحالي على تسلسل النيوكليوتيدات كما هو موضح في سلسلة تعريف رقم: 9 أو سلسلة تعريف رقم: 15.

في تجسيمات نموذجية أخرى، يوفر الكشف الحالي جزيء الحمض النووي الذي يشفر تركيب SIRPα-CD28. على سبيل المثال، يتضمن الكشف الحالي جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 16 (huSIRPαtm-CD28) أو سلسلة تعريف رقم: 19 (huSIRPα-CD28tm).

في تجسيمات نموذجية أخرى، يوفر الكشف الحالي جزيء الحمض النووي الذي يشفر تركيب SIRPα-CD28، حيث المكون خارج الخلية يشمل من نطاق مقتطع خارج الخلية من SIRPα وجزء خارج الخلية لـ CD28. على سبيل المثال، قد يتم قطع المجال خارج الخلية SIRPα بواسطة 12 الأحماض الأمينية (على سبيل المثال، huSIRPα-12aas-CD28Cys، سلسلة تعريف رقم: 20).

في تجسيم نموذجي واحد، يوفر الكشف الحالي جزيء الحمض النووي الذي يشفر تركيب SIRPα-CD28-4-1BB (huSIRPα-12aas-CD28Cystm-41BBic)، حيث يتألف المكون داخل الخلية من مجال الإشارة داخل الخلية من CD137 (4-1BB). على سبيل المثال، في أحد التجسيمات، يحتوي الحمض النووي للكشف الحالي على تسلسل النيوكليوتيدات كما هو موضح في سلسلة تعريف رقم: 22.

في تجسيم نموذجي آخر، يوفر الكشف الحالي جزيء الحمض النووي الذي يشفر تركيب SIRPα-CD28-4-1BB (huSIRPα-12aas-CD28Cys tm ic-41BBic)، حيث يشمل المكون داخل الخلية مجال الإشارة داخل الخلية لـ CD28 ومن CD137 (4-1BB). في أحد التجسيمات، على سبيل المثال، يحتوي الحمض النووي للكشف الحالي على تسلسل النيوكليوتيدات كما هو مبين في سلسلة تعريف رقم: 23:

في تجسيمات نموذجية أخرى، يوفر الكشف الحالي جزيء الحمض النووي الذي يشفر تركيب CD28–PD-1. على سبيل المثال، يتضمن الكشف الحالي جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 97 (huPD1-CD28Cys).

في تجسيمات نموذجية أخرى، يوفر الكشف الحالي جزيء الحمض النووي الذي يشفر تركيب CD28–PD-1، حيث المكون خارج الخلية يشمل من نطاق خارج الخلية مقطوع من PD-1 وجزء خارج الخلية لـ CD28. على سبيل المثال، قد يتم قطع المجال خارج الخلية PD-1 من قبل 12 الأحماض الأمينية (على سبيل المثال، huPD1-12aas-CD28Cys، سلسلة التعريف رقم: 99)، 15 الأحماض الأمينية (على سبيل المثال، huPD1-15aas-CD28Cys، سلسلة تعريف رقم: 101)، أو 21 الأحماض الأمينية (على سبيل المثال، huPD1-21aas-CD28Cys، سلسلة التعريف رقم: 103).

في تجسيمات نموذجية أخرى، يوفر الكشف الحالي جزيء الحمض النووي الذي يشفر تركيب CD2-CD28. على سبيل المثال، يتضمن الكشف الحالي جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 69 (huCD2-CD28Cys).

في تجسيمات نموذجية أخرى، يوفر الكشف الحالي جزيء الحمض النووي الذي يشفر تركيب CD28–FAS. على سبيل المثال، يتضمن الكشف الحالي جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 83 (huFas-CD28Cys).

في تجسيمات نموذجية أخرى، يوفر الكشف الحالي جزيء الحمض النووي الذي يشفر تركيب CD28–FAS، حيث المكون خارج الخلية يشمل من نطاق خارج الخلية مقطعة من FAS

وجزء خارج الخلية لـ CD28. على سبيل المثال، قد يتم قطع المجال خارج الخلية FAS من خلال 7 الأحماض الأمينية (على سبيل المثال، huFas-7aas-CD28Cys، رقم التسلسل: 85) أو 12 الأحماض الأمينية (على سبيل المثال، huFas-12aas-CD28Cys، سلسلة تعريف رقم: 87).

في تجسيمات نموذجية أخرى، يوفر الكشف الحالي جزيء الحمض النووي الذي يشفر تركيب TIM3-CD28. على سبيل المثال، يتضمن الكشف الحالي جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة تعريف رقم: 173 (huTIM3-CD28Cys). وتضمنت أيضاً في نطاق الكشف هو بروتين الدمج TIM3-CD28، حيث المكون خارج الخلية يشمل على نطاق مقتطع خارج الخلية TIM3 وجزء خارج الخلية لـ CD28. على سبيل المثال، قد يتم قطع المجال خارج الخلية TIM3 بواسطة 12 الأحماض الأمينية (على سبيل المثال، huTIM3-12aas-CD28Cys، سلسلة التعريف رقم: 175).

في تجسيمات نموذجية أخرى، يوفر الكشف الحالي جزيء الحمض النووي الذي يشفر تركيب LAG3-CD28. على سبيل المثال، يتضمن الكشف الحالي جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 163 (huLAG3-CD28Cys). وتضمنت أيضاً في نطاق الكشف هي بروتين الدمج LAG3-CD28، حيث المكون خارج الخلية يشمل على نطاق مقتطع خارج الخلية من LAG3 وجزء خارج الخلية لـ CD28. على سبيل المثال، قد يتم قطع المجال خارج الخلية LAG3 بواسطة 12 الأحماض الأمينية (على سبيل المثال، huLAG3-12aas-CD28Cys، سلسلة تعريف رقم: 159).

ويشار إلى الناقل الذي يشفر فيروس أساسي هنا "ناقلات فيروسية". هناك عدد كبير من النواقل الفيروسية المتاحة المناسبة للاستخدام مع تركيبات الكشف الحالي، تتضمن تلك التي تم تحديدها لتطبيقات العلاج الجيني البشري (انظر Pfeifer and Verma, *Ann. Rev. Genomics Hum. Genet.* 2:177, 2001). وتشمل النواقل الفيروسية المناسبة ناقلات تعتمد على فيروسات الحمض النووي الريبي، مثل ناقلات الفيروسات المشتقة من الفيروسات العكسية، مثل ناقلات مشتقة لفيروس اللوكيميا في فئران مولوني (MLV)، وتشمل ناقلات أكثر تعقيدا من الفيروسات العكسية، مثل النواقل المشتقة من الفيروسات. تنتمي النواقل المشتقة من فيروس نقص المناعة البشرية إلى هذه الفئة. ومن الأمثلة الأخرى على ذلك نواقل العدوى الفطرية المشتقة من فيروس نقص المناعة البشرية (2)، وفيروس نقص المناعة البشرية (FIV)، وفيروس فقر الدم المعدى الخيلي، SIV، وفيروس Maedi-Visna (فيروس اللثة). تعتبر طرق استخدام النواقل الفيروسية من ناقل عدوى فيروسية وفيروسي عكسي وخلايا التعبئة لنقل الخلايا العائلة للثدييات مع الجسيمات

الفيروسية المحتوية على جينات مستضدية لمستضدات كيميائية معروفة في المجال وتم وصفها سابقا، على سبيل المثال، في البراءة الأمريكية U.S. Patent 8,119,772; Walchli *et al.*, *PLoS One* 6:327930, 2011; Zhao *et al.*, *J. Immunol. 174*:4415, 2005; Engels *et al.*, *Hum. Gene Ther. 14*:1155, 2003; Frecha *et al.*, *Mol. Ther. 18*:1748, 2010; Verhoeyen *et al.*, *Methods Mol. Biol. 506*:97, 2009. كما أن هناك حاجة تجاريا إلى إنشاء نظم ناقلات الفيروسات المضادة للفيروسات ومضادات الفيروسات اللتوائية.

في تجسيمات معينة، يتم استخدام ناقل فيروسي لإدخال تسلسل الحمض النووي غير الذاتي الذي يشفر بروتين دمج أو تسلسل الحمض النووي غير الذاتية الذي يشفر بروتين دمج محدد لهدف. قد يكون ناقلات فيروسية ناقلات فيروس النسخ الاحتياطي أو ناقل عدوى فيروسي. ويمكن أن يتضمن ناقل الفيروس أيضا سلاسل تشفير الحمض النووي علامة لتحول. ومن المعروف علامات انتقالية للنواقل الفيروسية في المجال وتشمل علامات الاختيار، والتي قد تمنح مقاومة الدواء، أو علامات الكشف عنها، مثل علامات الفلورسنت أو بروتينات سطح الخلية التي يمكن الكشف عن طريق طرق مثل التدفق الخلوي. في تجسيمات خاصة، يتكون ناقل الفيروس أيضا من علامة الجينات لتحول مشتمل على بروتين الفلورسنت الأخضر (GFP)، مجال خارج الخلية من CD2 البشري، أو EGFR البشري قطع (huEGFRt; *see* Wang *et al.*, *Blood* *118*:1255, 2011). عندما يتضمن الجينوم الناقل الفيروسي مجموعة من سلاسل الحمض النووي ليتم التعبير عنها في خلية عائلة كنسخ منفصلة، قد يتضمن الناقل الفيروسي أيضا تسلسلات إضافية بين النصين (أو أكثر) مما يسمح التعبير بيسيسترونيك أو مولتيسترونيك. ومن أمثلة هذه التتابعات المستخدمة في النواقل الفيروسية مواقع دخول الريبوسوم الداخلية (IRES)، ومواقع الانقسام فورين، والببتيد 2A الفيروسي، أو أي مزيج منها.

ناقلات أخرى أيضا يمكن أن تستخدم في توصيل بولينوكليوتيد تتضمن ناقلات الفيروس الحمض النووي، تتضمن، على سبيل المثال ناقلات المستندة إلى الغدية والفيروسات المرتبطة الغدة (AAV) ناقلات. (HSVs)، تتضمن ناقلات أمبليكون amplicon، HSV المتكررة و HSV الضعيفة (Krisky *et al.*, *Gene Ther. 5*: 1517, 1998).

ويمكن أيضا استخدام ناقلات أخرى وضعت مؤخرا لاستخدامات العلاج الجيني مع التركيبات وطرق هذا الكشف. وتشمل هذه النواقل تلك المشتقة من baculovirusesوالفيروسات α (Jolly, D J. 1999. Emerging Viral Vectors. pp 209-40 in Friedmann T. ed. The Development of Human Gene Therapy. New York: Cold Spring Harbor Lab)، أو ناقلات

البلازميد (مثل sleeping beauty or other transposon vectors). في بعض التجسيمات، يتشكل ناقل الفيروس أو البلازميد كذلك من علامة الجينات لتحول (على سبيل المثال بروتين فلوري أخضر، huEGFRt).

في بعض التجسيمات، يمكن أن يشفر الناقل الذي يشفر بروتين الدمج كما هو موضح هنا إلى أكثر من بروتين دمج واحد. على سبيل المثال، قد يقوم الناقل بتشفير بروتينات دمج مختلفة (على سبيل المثال، بروتين دمج أول يشتمل على إكتودومين PD-1 وبروتين دمج ثان يشتمل على ectodomain TIM3).

في بعض التجسيمات، يمكن أن يشتمل الناقل المشفر لبروتين الدمج كما هو مبين هنا على مزيد من TCR الخاص بمستضد. في بعض التجسيمات، يكون TCR الخاص بمستضد خارجيا. في بعض التجسيمات، يكون TCR الخاص بمستضد محددا لمستضد مستضد من الفئة الأولى HLA (MHC). في بعض التجسيمات، يكون المستضد مستضد خاص بالسرطان. التجسيمات التي يكون فيها المستضد السرطاني المكون من WT-1، ميسوثيلين، أو سيكلين-A1 هي أيضا ضمن نطاق الكشف. في تجسيمات أخرى أيضا، فإن الناقل الذي يشفر بروتين الدمج كما هو موضح هنا يزيد من تشفير ليجاند، والتي قد تكون CD200، CD47، PD-L1، أو CD58. في تجسيمات أخرى أيضا، فإن الناقل الذي يشفر بروتين الدمج كما هو موضح هنا يزيد من تشفير siRNA للحد من التعبير عن مستقبلات الذاتية. في بعض التجسيمات الخاصة، تكون المستقبلات الذاتية CD200R، SIRPα، CD279 (PD-1)، CD95 (FAS) أو CD2.

في بعض التجسيمات، الخلايا العائلة القادرة على التعبير عن بروتين دمج من هذا الكشف على سطح الخلية هي خلايا مناعية. في بعض التجسيمات، الخلايا العائلة القادرة على التعبير عن بروتين دمج من هذا الكشف على سطح الخلية هي الخلايا T، تتضمن الخلايا الأولية أو خطوط الخلايا المشتقة من الإنسان أو الفأر أو الفئران أو الثدييات الأخرى. إذا تم الحصول عليها من الثدييات، ويمكن الحصول على خلية T من مصادر عديدة، تتضمن الدم ونخاع العظام والعقدة الليمفاوية والغدة الزعترية، أو غيرها من الأنسجة أو السوائل. قد تكون تخصيب خلية T أو تنقيتها. خطوط الخلايا T معروفة جيدا في الفن، وبعضها موصوف في Sandberg *et al.*, *Leukemia* *21*:230, 2000. في تجسيمات معينة، يتم استخدام الخلايا T التي تفتقر إلى التعبير الداخلي لسلسلة TCRα و β. هذه الخلايا T قد تفتقر بشكل طبيعي التعبير الذاتية من TCRα وسلاسل β أو قد تم تعديلها لمنع التعبير (على سبيل المثال، الخلايا T من الفأر المعدلة جينياً التي لا تعبر عن TCR α وسلاسل β أو الخلايا المتحورة لمنع التعبير عن سلاسل TCR α و β) أو إلى خروج

سلسلة TCRα، سلسلة TCR، أو كل من الجينات. في بعض التجسيمات، يمكن تصميم الخلايا T للتعبير عن TCR خاص بمولد مضاد معين.

في تجسيمات معينة، خلية عائلة محولة للتعبير عن بروتين دمج من هذا الكشف هي خلية T وظيفية، مثل خلية T محددة بالفيروس، خلية T سامة للخلايا المستضدية للورم، خلية naïve T، خلية T جذعية للذاكرة، أو خلايا T، خلايا γδ T، أو خلايا T التنظيمية +CD4 CD25+. في تجسيمات أخرى، يتم إدخال جزيء الحمض النووي الذي يشفر بروتين الدمج من هذا الكشف إلى خلايا CD8 + T السائبة والخلايا الناضجة CD8 + T والخلايا CD8+ T_{CM} وخلايا CD8+ T_{EM} أو أي إتحاد من ذلك. وفي تجسيمات أخرى، يتم إدخال جزيء الحمض النووي الذي يشفر بروتين من هذا الكشف إلى خلايا CD4+ T السائبة وخلايا naïve CD4 + T وخلايا CD4+ T cells, CD4+ T_{CM} cells, CD4+ T_{EM} أو أي إتحاد من ذلك. في تجسيمات أخرى، يتم إدخال جزيء الحمض النووي الذي يشفر بروتين الدمج من هذا الكشف إلى مجموعة من الخلايا T المخصبة للخلايا naïve CD8 + T والخلايا CD8+ T_{CM}. في تجسيمات أخرى أيضا، يتم إدخال جزيء الحمض النووي الذي يشفر بروتين الدمج من هذا الكشف إلى مجموعة من الخلايا T المخصبة للخلايا naïve + CD4 T وخلايا CD4+ T_{CM}. في أي من التجسيمات المذكورة أعلاه، تحتوي الخلايا T أيضا على جزيء الحمض النووي الذي يرمز إلى مستقبل الخلية T الخاصة بمولد المستضد (TCR)، وهو عبارة عن TCR ذات تقارب عالي خاص بمستضد، وهو جزيء تحفيز مشترك خارجي، ومستقبل مستضد مستضد، مستقبل مستضد شيميري (CAR)، أو أي مزيج منها.

في نماذج معينة، خلية عائلة محولة للتعبير عن بروتين الدمج من هذا الكشف هو خلية القاتل الطبيعي الوظيفية.

ويمكن إضافة واحد أو أكثر من عوامل نمو السيتوكينات التي تعزز انتشار الخلايا T التي تعبر عن بروتين الدمج من هذا الكشف إلى الاستزراع المستخدمة لتوسيع الخلايا T. قد تكون السيتوكينات بشرية أو غير بشرية. عامل نمو نموذجي السيتوكينات التي يمكن استخدامها تعزيز تكاثر الخلايا تشمل IL2، IL15، أو ما شابه ذلك.

في تجسيمات معينة، تكون خلية T العائلة التي تم نقلها للتعبير عن بروتين الدمج من هذا الكشف هي خلية CD4 + T التي تعبر أيضا عن TCR ذات تقارب عالي لمستضد معين لمستضد مستضد من الفئة الأولى HLA (MHC) (انظر Soto *et al.*, *Cancer Immunol Immunother.* (62: 359–369, 2013).

في تجسيمات معينة، تعبر الخلايا T العائلة التي تم نقلها للتعبير عن بروتين دمج من هذا الكشف أيضا عن TCR مؤتلف خاص بمولد مضاد للسرطان. في بعض التجسيمات، مستضد السرطان هو "WT1. "WT1" يشير إلى ورم ويلم 1، وهو عامل النسخ الذي يحتوي على أربعة أشكال الزنك الاصبع في الطرف-C ومجال الربط الحمض النووي الغنية برولين/ الجلوتامين في الطرف-N. WT1 له دور أساسي في التطور الطبيعي للنظام البولي التناسلي ويتم تحور في مجموعة فرعية صغيرة من المرضى الذين يعانون من أورام ويلم. وقد لوحظ ارتفاع تعبير WT1 في مختلف أنواع السرطان تتضمن سرطان الثدي وسرطان المبيض وسرطان الدم الحاد والأورام الوعائية والأورام الميلانينية وسرطان القولون وسرطان الرئة وسرطان الغدة الدرقية والعظام وسرطان الأنسجة الرخوة وسرطان المريء. وقد لوحظ الربط البديل لـ WT1.

في تجسيمات معينة، تعبر خلية T العائلة التي يتم نقلها للتعبير عن بروتين دمج من هذا الكشف أيضا عن TCR مؤتلف خاص بالميسوثلين. "ميسوثيلين" (MSLN) يشير إلى الجين الذي يشفر بروتين السلائف المشتق إلى اثنين من المنتجات، عامل تنشيط النواة وميسوثيلين. عامل عوامل التقوية ميجاكاريوسيت كما السيتوكين التي يمكن أن تحفز تشكيل عائل في النخاع العظمي النخاع. ميسوثيلين هو جليكوسلفوسفاتيديل إينوسيتول glycosylphosphatidylinositol لبروتين الخلية السطحية التي قد تعمل كبروتين التصاق الخلية. هذا أوفيركسرسد هذا البروتين في الظهارة المتوسطة الظهارية، سرطان المبيض وفي سرطان الخلايا الحرشفية محددة. نتائج الربط البديلة في متغيرات نسخ متعددة.

في تجسيمات معينة، تعبر خلية T العائلة التي تم نقلها للتعبير عن بروتين دمج من هذا الكشف أيضا عن TCR مؤتلف خاص بسيكلين-A1.

في تجسيمات معينة، تعبر خلية T العائلة التي يتم نقلها للتعبير عن بروتين دمج من هذا الكشف أيضا عن CAR.

في تجسيمات أخرى أيضا، تتضمن الخلية العائلة التي تعبر عن بروتين دمج كما هو موضح هنا المزيد من الليجاند، والذي قد يكون CD200، CD47، PD-L1، أو CD58. وفي تجسيمات أخرى، تعبر الخلية العائلة التي تعبر عن بروتين دمج كما هو مبين هنا عن siRNA لتقليل تعبير مستقبلات داخلية. في بعض التجسيمات الخاصة، تكون المستقبلات الذاتية CD200R أو SIRPα أو CD279 (PD-1) أو CD95 (FAS) أو CD2.

في بعض التجسيمات، قد تعبر الخلية العائلة التي تعبر عن بروتين دمج كما تم الكشف عنه هنا عن أكثر من بروتين دمج واحد. على سبيل المثال، قد تعبر الخلية العائلة عن بروتينين

دمجين مختلفين (على سبيل المثال، بروتين دمج أول يشتمل على إكتودومين PD-1 وبروتين دمج ثان يشتمل على TEM3 إكتودومين).

الاستخدامات

الأمراض التي يمكن علاجها بالخلايا التي تعبر عن بروتينات الدمج كما هو موضح في الكشف الحالي تشمل السرطان، والأمراض المعدية (الفيروسية، والبكتيرية، والالتهابات البروتوزونية)، والأمراض المناعية (مثل المناعة الذاتية)، أو الأمراض المرتبطة بالشيخوخة (على سبيل المثال، الشيخوخة). العلاج المناعي والعلاج الجيني هو العلاجات الواعدة لأنواع مختلفة من السرطان (Morgan *et al.*, *Science 314*:126, 2006; Schmitt *et al.*, *Hum. Gene Ther.* *20*:1240, 2009; June, *J. Clin. Invest. 117*:1466, 2007) والأمراض المعدية (Kitchen *et al.*, *PLoS One 4*:38208, 2009; Rossi *et al.*, *Nat. Biotechnol. 25*:1444, 2007; Zhang *et al.*, *PLoS Pathog. 6*:e1001018, 2010; Luo *et al.*, *J. Mol. Med. 89*:903, 2011).

مجموعة واسعة من أنواع السرطان، تتضمن الأورام الصلبة وداء اللوكيميا هي قابلة للتركيبات والطرق التي تم الكشف عنها هنا. أنواع نموذجية من السرطان التي يمكن علاجها تشمل غدية الثدي، البروستاتا، والقولون. جميع أشكال سرطان قصبي من الرئة. سرطان الدم النخاعي. سرطان الجلد؛ الكبدي. العصبية. الورم الحليمي. ورم الخلايا الأبودية. ورم أرومي اغترابي. ورم خيشومي. متلازمة سرطانية خبيثة. مرض القلب السرطاني. والسرطان (على سبيل المثال، ووكر، والخلايا القاعدية، باسوسكاموس، براون بيرس، الأقنية، ورم إرليخ، كريبس 2، خلية ميركل، موسينوس، غير صغيرة الرئة الخلية، خلية الشوفان، حليمي، سيرهوس، القصبات، قصبي، خلية الحرشفية، و الخلية الانتقالية). أنواع إضافية من السرطانات التي يمكن علاجها تشمل الاضطرابات المنسجات. كثرة المنسجات الخبيثة. سرطان الدم. مرض هودكنز؛ المناعية الصغيرة؛ غير هودجكن ليمفوما ل؛ البلازماويات. شباك بطاني. سرطان الجلد؛ ورم أرومي غضروفي. ورم غضروفي. غضروفية. الورم الليفي؛ ليفية. أورام الخلايا العملاقة؛ المنسجات. الورم الشحمي. ساركومة. ورم الظهارة المتوسطة. المخاطي. ساركومة مخاطية؛ ورم عظمي. عظمية. ورم حبلي. ورم قحفي بلعومي. ورم إنتاشي. عابي؛ ورم متوسطي. ورم كلوي موسطي. ساركومة عضلية. الورم الأرومي الميتائي. الورم الملاطي؛ التوتية. ورم الأرومة الغاذية. وعلاوة على ذلك، فإن الأنواع التالية من السرطانات كما هو متوقع على أنها قابلة للعلاج: الورم الحميد. ورم الأقنية الصفراوية. الكوليستيرولي؛ سرطانة غدية كيسية. ورم غدي كيسي. ورم الخلايا الحبيبية. ورم أرومي خنثوي. الكبدي. ورم غدي عرقي. ورم الخلية جزيرة. ليديغ ورم الخلية. الورم الحليمي. سيرتولي ورم الخلية.

ورم الخلية؛ ساركومة عضلية ملساء. الورم الأرومي العضلي؛ ساركومة عضلية. الورم العضلي المخطط. العضلية المخططة. بطاني عصبي. ورم عصبي عقدي. دبقي؛ نخاعي. سحائي؛ ورم ظهاري عصبي. ورم ليفي عصبي. العصب؛ ورم جنيب العقدة العصبية؛ أنواع السرطان التي يمكن علاجها تشمل أيضا ورم وعائي. تضخم وعائي مع فرط الحمضات. ورم وعائي المصلب. ورام وعائي. ورم وعائي كروي. ورم بطاني وعائي. ورم وعائي. ورم الخلايا الحولية. ساركومة وعائية. الورم اللمفي؛ ورم الغدة الصنوبرية. ساركومة سرطانية. غضروفية. ساركومة ساركومة. ليفية. ساركومة وعائية. ساركومة عضلية ملساء. ساركومة ابيضاضية؛ ساركومة عضلية؛ ساركومة مخاطية؛ سرطان المبيض. العضلية المخططة. ساركوما. الأورام؛ وعسر تنسج عنق الرحم.

تجسد مجموعة متنوعة من الاضطرابات، قابلة للبروتين الدمج T العلاج بالخلايا والسرطان B-الخلية، تتضمن الأورام اللمفاوية B-الخلية (مثل أشكال مختلفة من مرض هودجكين، غير هودغكينز-سرطان الغدد الليمفاوية (NHL) أو الليمفوما الجهاز العصبي المركزي)، اللوكيميا (مثل سرطان الدم الحاد الليمفاوي (ALL)، وسرطان الدم الليمفاوي المزمن (CLL)، وسرطان الدم الخلايا المشعرة، B انفجار الخلية التحول من سرطان الدم النخاعي المزمن) والمايلوما المتعددة. وتشمل سرطان الخلايا B إضافية سرطان الغدد الليمفاوية صغيرة الليمفاوي وسرطان الدم، B-خلية متعددة، سرطان الغدد الليمفاوية، الطحال الغدد الليمفاوية منطقة هامشية، المايلوما خلية بلازما، البلازماويات الانفرادي من العظام، البلازماويات خارج العظم، خارج العقدي منطقة هامشية B-خلية سرطان الغدد الليمفاوية من الغشاء المخاطي المرتبطة (MALT) الأنسجة اللمفاوية، العقدي منطقة هامشية سرطان الغدد الليمفاوية B-الخلية، وسرطان الغدد الليمفاوية الجريبي، عباءة خلية سرطان الغدد الليمفاوية، منتشر كبير سرطان الغدد الليمفاوية B-الخلية، المنصفية (التوتية) سرطان الغدد الليمفاوية الكبيرة B-الخلية، داخل الأوعية الدموية الكبيرة سرطان الغدد الليمفاوية B-الخلية، وسرطان الغدد الليمفاوية انصباب الابتدائي، لمفومة بيركت/ وسرطان الدم، وتكاثر الخلايا B من إمكانات خبيثة غير مؤكدة، الورم الحبيبي اللمفاوي، واضطراب تكاثري لمرحلة ما بعد الزرع.

الأمراض الالتهابية والمناعية الذاتية تشمل التهاب المفاصل والتهاب المفاصل الروماتويدي والتهاب المفاصل الروماتويدي والتهاب المفاصل الصدفي والتهاب المفاصل الصدفي والصدفية والتهاب الجلد والتهاب عضلات الجلد والتهاب عضلات الجسم والتهاب العضلات الالتهابي والانحلال الباطني السمي وتصلب الجلد والتصلب ومتلازمة كريست والأمعاء الالتهابية مرض، مرض كرون والتهاب القولون التقرحي، ومتلازمة الضائقة التنفسية، الكبار متلازمة الضائقة

التنفسية (ARDS)، والتهاب السحايا والتهاب الدماغ والتهاب القزحية والتهاب القولون، التهاب كبيبات الكلى، وظروف الحساسية والأكزيما والربو والظروف التي تتضمن على تسلل خلايا T والاستجابات الالتهابية المزمنة، وتصلب الشرايين، التهاب عضلة القلب المناعة الذاتية، نقص التصاق الكريات البيضاء، الذئبة الحمامية الجهازية (SLE)، الذئبة الحمامية تحت الجلد، الذئبة الحمامية، الذئبة النخاعية، التهاب الدماغ الذئبي، مرض السكري، مرض التصلب المتعدد، التهاب الدماغ والنخاع التحسسي، التهاب العصب البصري، الحمى الروماتيزمية، رقص سيدينهام، الاستجابات المناعية المرتبطة بالفرط الحساسية الحادة والمتأخرة بواسطة السيتوكينات والخلايا اللمفية الT الساركويد، الورم الحبيبي تتضمن الورم الحبيبي فيجنر ومرض تشورغ شتراوس، ندرة المحببات، التهاب الأوعية الدموية (تتضمن التهاب الأوعية الدموية فرط الحساسية/ التهاب الأوعية الدموية، أنكا والتهاب الأوعية الدموية الروماتويدي)، فقر الدم اللاتنسجي، فقر الدم، فقر الدم الانحلالي المناعي تتضمن فقر الدم الانحلالي المناعي (AIHA)، فقر الدم الخبيث، (PRCA) والعامل الثامن نقص، الهيموفيليا A، العدلات المناعة الذاتية، قلة الكريات الشاملة، نقص الكريات البيض، والأمراض التي تتضمن على ديابديسيس الكريات البيض، الجهاز العصبي المركزي (CNS) اضطرابات التهابية، ومتلازمة إصابة الجهاز متعددة، الوهن العضلي الوبيل،، مضاد الكبيبي باس ومرض بسهيت، ومتلازمة كاستليمان، ومتلازمة غودباستيور، ومتلازمة ماماسينيك لامبرتإيتون، ومتلازمة رينود، ومتلازمة سورجين، ومتلازمة ستيفنز جونسون، ورفض الأعضاء المزمنين، والطعن مقابل المرض العائل (GVHD)، الفقاعي الفقاعي، الفقاع الفقاعي، الفقاع الفقاعي، الفقاع الفقاعي، الفقاع الفقاعي، المناعي الذاتي، IgA اعتلال الأعصاب المناعي، IgM بواسطة الاعتلال العصبي، فرفرية نقص الصفيحات المجهولة السبب (ITP)، نقص الصفيحات الخثارية (TTP) نقص الصفيحات الذاتية المناعة، وأمراض المناعة الذاتية للخصية والمبيض تتضمن التهاب الخصية المناعة الذاتية والمبيض، قصور الغدة الدرقية الابتدائي. أمراض الغدد الصماء المناعي الذاتي، تتضمن الغدة الدرقية المناعة الذاتية، التهاب الغدة الدرقية المزمن (التهاب الغدة الدرقية Hashimoto's)، الغدة الدرقية تحت الحاد، الغدة الدرقية تحت المجهر مجهول السبب، مرض أديسون، مرض Grave's، متلازمات الأضلاع المناعية الذاتية (أو متلازمات الغدد الصماء المضلعة)، النوع الأول من مرض السكري كما يشار إلى الأنسولين المعتمد على مرض السكري (IDDM) ومتلازمة Sheehan's. التهاب الكبد الرئوي الخلالي اللمفاوي (HIV)، التهاب القصيبات المسدودة (غير مستزرع)، الالتهاب الرئوي الخلالي غير محددة (NSIP)، متلازمة Guillain-Barré، التهاب الأوعية الدموية الكبيرة (تتضمن الروماتيزم البولي مالجيا والخلية العملاقة الشرايين

(Takayasu's)، التهاب الأوعية الدموية والتهاب الأوعية الدموية (مرض كاواساكي والتهاب الشرايين العقدي) والتهاب الفقار اللاصق (PAN) التهاب الفقار اللاصق ومرض بيرجر (اعتلال الكلية IgA) والتهاب كبيبات الكلى التدريجي السريع وتليف الكبد الصفراوي الابتدائي وذوبان البطن (الجلوتين المعوي)، كريوجلوبولين الدم، كريوغلوبولين الدم المرتبطة بالتهاب الكبد، التصلب الجانبي الضموري (ALS)، مرض الشريان التاجي، حمى البحر الأبيض المتوسط العائلية، التهاب الأوعية الدموية المجهري، متلازمة Cogan's، متلازمة Whiskott-Aldrich و التهاب الغدة الدرقية المسد.

في تجسيمات خاصة، هناك طريقة لعلاج كائن مع بروتين الدمج كما هو موضح هنا تشمل سرطان الدم النخاعي الحاد، سرطان الدم الليمفاوي الحاد، وسرطان الدم النقوي المزمن.

وتشمل الأمراض المعدية تلك المرتبطة بالعوامل المعدية وتشمل أي من مجموعة متنوعة من البكتيريا (على سبيل المثال، *E. coli, S. typhimurium, P. aeruginosa, B. anthracis, C. botulinum, C. difficile, C. perfringens, H. pylori, V. cholerae, Listeria spp., Rickettsia spp., Chlamydia spp.*، وما شابه ذلك)، المتفطرة، والطفيليات (تتضمن أي عضو طفيلي معروف من البروتوزوا). وتشمل الفيروسات المعدية فيروسات حقيقية النواة، مثل اتش، الفيروسة البنياوية، هربس، الفيروسة البابوفية، فيروس الورم الحليمي (على سبيل المثال، HPV)، الفيروسة المخاطانية، فيروسة بيكورناوية، الفيروسة الربدية (على سبيل المثال، وداء الكلب)، الفيروسة المخاطية (على سبيل المثال، أنفلونزا)، الفيروسة الجدرية (على سبيل المثال، الوقس)، فيروس ريوي، (مثل فيروس نقص المناعة البشرية)، والفيلا فيروس (على سبيل المثال، HCV, HBV) أو ما شابه ذلك. في تجسيمات معينة، يتم التعامل مع العدوى مع مسببات الأمراض الخلوية الخلوية التي تتم معالجة مستضداتها وعرضها مع HLA (MHC) جزيئات الفئة الأولى، مع بروتينات الدمج من هذا الكشف.

ويمكن إعطاء بروتين دمج من هذا الكشف لكائن في شكل متعلق بالخلايا (على سبيل المثال، العلاج الجيني لسكان الخلايا المستهدفة (خلايا T ناضجة (على سبيل المثال، خلايا CD8 + أو CD4 + T) أو خلايا أخرى من سلالة الخلايا T)). في تجسيم خاص، خلايا الخلايا T التي تعبر عن بروتينات الدمج التي تتعاطى إلى مادة هي خلايا متجانسة، خيفية، أو ذاتية.

ويمكن إعطاء التركيبات الصيدلانية تتضمن بروتينات الدمجية من هذا الكشف بطريقة ملائمة للمرض أو الحالة التي يتعين معالجتها (أو منعها) على النحو الذي يحدده الأشخاص المهرة في المجال الطبي. يتم تحديد الجرعة المناسبة، والمدة المناسبة، وتردد إدارة التركيبات من خلال عوامل مثل حالة المريض وحجمه ونوعه وشدته، وشكل معين من العنصر النشط، وطريقة

التعاطي. يوفر الكشف الحالي التركيبات الصيدلانية التي تحتوي على خلايا تعبر عن بروتين دمج كما هو موضح هنا وحامل مقبول دوائيا أو مواد مخففة أو سواغ. وتشمل سواغ مناسبة المياه، المحلول الملحي، دكستروز، الجلسرين، أو ما شابه ذلك ومجموعات منها.

في بعض تجسيمات، يتم توجيه الكشف إلى وسيلة لزيادة نشاط خلية المناعة، وتعزيز أو إطالة استجابة مناعية، وتحفيز استجابة خلايا T مستضد معين، مما يعوق مسارا مناعة الإشارات، علاج سرطان أو ورم، ومنع المناعة ومقاومة الخلايا السرطانية، أو علاج العدوى، التي تشمل إعطاء لكائن بحاجة إليها كمية فعالة من الخلية العائلة تعبر عن بروتين الدمج كما هو موضح هنا. وفي تجسيمات أخرى، تعبر خلية عائلة لاستخدامها في أي من الطرق المذكورة آنفا عن TCR خاص بالمولد المستضد، أو TCR ذو تقارب عال خاص بمستضد، أو CAR، أو جزيء تحفيز مشترك، أو أي إتحاد من ذلك. في تجسيمات معينة، يتم توفير طرق علاج سرطان الدم، والتي تشمل التعبير المشترك عن بروتين الدمج كما هو موضح هنا و TCR المؤتلف، TCR محددة مستضد.

في بعض التجسيمات، توجد طرق لتحريض أو تعزيز استجابة HLA من الفئة الأولى من خلية T + T4، والتي تشمل إعطاء مادة تحتاج إلى كمية فعالة من خلايا T + CD4 تعبر عن بروتين دمج كما هو موضح هنا. في مزيد من تجسيمات، خلية العائل لاستخدامها في إحداث أو تعزيز استجابة HLA من الفئة الأولى من قبل خلية T + CD4 يعبر عن مزيد من TCR هندسة مستضد معين، والمهندسة مستضد معين عالية تقارب TCR، وCAR، وهو جزيء شارك في تنشيطية، أو أي مجموعة منها.

في أي من التجسيمات المذكورة أعلاه، تكون الطرق فعالة في غياب إدارة خارجية IL-2.

في تجسيمات أخرى أيضا، يتم التعامل مع أي كائن من أي من الطرق المذكورة أعلاه مع العلاج المساعد، مثل العلاج الكيميائي. وتشمل عوامل العلاج الكيميائي النموذجية، على سبيل المثال، عوامل مؤلكلة مثل ثيوتيبا وسيكلوسفوسفاميد؛ ألكيل سلفونات مثل البولفان، إمبروسلفان وبيبوسلفان؛ أزيريدين مثل بنزودوبا، كاربكون، ميتوريدوبا، والأوريدوبا. الإيثيلينيمينات و ميثيلاميلامينس تتضمن التريتامين، ثلاثي إيثيلين إملامين، تريتيلينيفوسفورامايد، ثلاثي إثيلين إيثيوفوسفورامايد و ثلاثي ميثيل لوميلامين؛ نيتروجين مثل الكلورامبوسيل، كلورافازين، الكولوفوسفاميد، إستراموستين، إيفوسفاميد، ميكلوريثامين، ميكلوريثامين أكسيد هيدروكلوريد، مالفالان، نوفيمبيشين، الفينسترين، بريدنيموستين، تروفوسفاميد، خردل يوراسيل؛ نتروسوريات مثل كارموستين، كلوروزوتوسين، فوتيموستين، لوموستين، نيموستين، رانيموستين. المضادات الحيوية

مثل أكلاسينوميسينز، أكتينوميسين، أوترامايسين، أزازيرين، بليوميسين، كاكتينوميسين، كاليشيميسين، كارابيسين، كامينوميسين، كارزينوفيلين، كروموميسينز، داكتينوميسين، داونوروبيسين، ديتوروبيسين، 6-ديازو-5 أوكسو- L- نورلوسين، دوكسوروبيسين، إيبيروبيسين، إسوروبيسين، إيداروبيسين، مارسيلوميسين، ميتوميسينز، حمض ميكوفينوليك، نوغالاميسين، أوليفوميسينز، بيبلوميسين، بوتفيروميسين، بوروميسين، كويلاميسين، رودوروبيسين، ستريبتونيغرين، ستريبتوزوسين، توبيرسيدين، أوبينيمكس، زينوستاتين، زوروبيسين؛ مضادات الأيض مثل الميثوتريكسيت و 5- فلوروراسيل (5-FU). نظائر حمض الفوليك مثل دينوبتيرين، ميثوتريكسات، بتيروبتيرين، ثلاثي ميتركسات؛ النظير بورين مثل فلودرابين، 6-ميركابتوبورين، ثياميبرين، ثيوغوانين؛ بيريميدين النظير مثل أنسيتابين، أزاسيتيدين، 6- أزوريدين، كارموفور، سيتارابين، ديديوكسيوريدين، دوكسيفلوريدين، إنوسيتابين، فلوكسوريدين، 5-FU . الاندروجين مثل كالستيرون، بروبيونات دروموستانولون، إبيتيوستانول، ميبيتيوستان، تستولاكتون. المضادة- الكظرية مثل أمينوغلوتيثيميد، ميتوتان، تريلوستين؛ حمض الفوليك ريبلينشر مثل حمض فرولينيك. aceglatone. ألدوفوسفاميد جليكوسيد. حمض أمينوليفولينيك؛ bestrabucil. bisantrene. Amsacrine. خلات إلبتينيوم؛ edatraxate. defofamine. demecolcine. diaziquone. elformithine etoglucid. نترات الغاليوم. هيدروكسي يوريا؛ lentinan. lonidamine. mitoguazone. حمض mitoxantrone. mopidamol. nitracrine. pentostatin. phenamet. pirarubicin بودوفيلينيك. 2-ethylhydrazide. بروكاربازين. PSKTM. razoxane. sizofiran. spirogermanium. حمض تينوازونيك؛ 2، 2'، 2"- ثلاثي كلورو ثلاثي إثيل أمين؛ يوريثان؛ فينديزين؛ داكاربازين. mannomustine. Mitobronitol؛ mitolactol؛ بيبوبرومان. gacytosine. أرابينوسيد ("أرا-C")؛ سيكلوفوسفاميد. ثيوتيبا. تاكسانيس، على سبيل المثال. باكليتاكسيل (Taxol™, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.) و دوسيتاكسيل (Taxotere™, Rhone-Poulenc Rorer, Antony, France)؛ الكلورامبوسيل. جيمسيتابين. 6-ثيوجوانين. ميركابتوبورين. ميثوتريكسات. البلاتين النظير مثل سيسبلاتين و كاربوبلاتين. فينبلاستين. البلاتين. إتوبوسيد (VP-16)؛ ifosfamide. ميتوميسين C؛ mitoxantrone. فينكريستين. vinorelbine. navelbine. novantrone. teniposide. داونوميسين؛ أمينوبترين؛ xeloda. يخفف Ibandronate. CPT-11؛ توبويسوميراز المانع RFS 2000؛ ثلاثي فلورو ميثيلورنيثين (DMFO)؛ حمض الريتينويك؛ إسبيراميسينات، كابيسيتابين؛ والأملاح المقبولة صيدلانيا، والأحماض أو مشتقات أي من ما سبق.

في بعض التجسيمات، العلاج المساعد هو لقاح، مثبط لإشارة مناعة، مثبط B-راف، مثبط ميك، مثبط كيناز التيروزين، عامل سامة للخلايا، علاج كيميائي، أو أي إتحاد من ذلك. في بعض التجسيمات، مثبط إشارة مناعة هو الأجسام المضادة أو siRNA. في بعض التجسيمات، يكون الجسم المضاد أو siRNA محددا لـ PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, LAG3, KIR, CD244, B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, GAL9, TIM3, A2aR أو أي مجموعة منها.

أمثلة

مثال 1

تركيبات بروتين الدمج CD200R-CD28

يتم توضيح بروتينات الدمج النموذجية كما هو موضح هنا باستخدام التمثيل التخطيطي في الشكل 1أ. وتشمل بروتينات الدمج النموذجية بروتينات دمج التعديل المناعي (IFPs) مشتمل على المجال خارج الخلية من CD200R أو جزء منه، ومجال إشارة داخل الخلية لـ CD28 أو جزء منه (الشكل 1أ، تركيبات I V). ويمكن أن المكون الكاره للماء يشمل المجال الغشائي إما CD200R (الشكل 1أ، تركيب I) أو CD28 (الشكل 1أ، تركيبات III-V)، أو أجزاء منه. في بعض بروتينات الدمج CD200R-CD28 نموذجية، المكون الكاره للماء يشمل مجال الغشاء لـ CD28 والمكون خارج الخلية يتضمن أيضا جزء خارج الخلية لـ CD28، وخاصة بقايا السيستين خارج الخلية المجاورة للمكون كاره للماء (على سبيل المثال، الشكل 1أ تركيب الثالث، CD200R- CD28Cys؛ تركيب IV، CD200R-3aas-CD28Cys؛ وبناء V، CD200R-9aas-CD28Cys). قد يكون مكون خارج الخلية كل أو جزء من المجال خارج الخلية من CD200R. في بعض التجسيمات، يتكون المكون خارج الخلية المجال الكامل خارج الخلية من CD200R (الشكل 1أ، تركيبات II-V). في أمثلة أخرى، المكون خارج الخلية يتضمن أول 235 الأحماض الأمينية (الحفاظ على N- مرتبطة جليكوسيلاتيون الموقع) (على سبيل المثال، الشكل 1أ، تركيب IV، CD200R-3aas-CD28Cys) أو أول 229 الأحماض الأمينية (على سبيل المثال، الشكل 1أ، تركيب V، CD200R-9aas-CD28Cys) من الطرف-N CD200R. حجم المكون خارج الخلية، والتي قد يتم تحويرها عن طريق تعديل بروتين الدمج تركيب، قد تؤثر على قدرة بروتين الدمج لدخول التشابك العصبي المناعي والتعاون في التوطين مع TCR داخل cSMAC لتقديم إشارة تحفيز عامة قوية. بالإضافة إلى ذلك، فإن تركيب CD200R-CD28 لديه القدرة على تحويل عادة إشارة مثبطة لربط CD200R إلى هدفها في إشارة موجبة مولدة من مجال الإشارة داخل الخلية CD28.

جزيء الحمض النووي النموذجي لتشفير بروتين الدمج CD200R-CD28 يتضمن العناصر التالية (5 'إلى 3'): مكون خارج الخلية (CD200R) Multimerization- المجال (CD28 سيستين) مكون –Hydophobic (CD28 الغشاء) مكون –Intracellular (CD28 داخل الخلية). في بعض التجسيمات، يحتوي جزيء الحمض النووي الذي يشفر بروتين دمج CD200R-CD28 على جزيء الحمض النووي كما هو موضح في أي من تعريف السلاسل رقم: 47–51 أو 1, 6, 7, 10, 12, 14، أو 15.

قامت الأحماض النووية بإعطاء أمر تشفير التركيبات من إنفيتروجين أو مولدة في المنزل عن طريق PCR ثم توجيهيا إلى TOPO المستنسخة في ناقلات بينترتم/ D-TOPO® (إنفيتروجين)، ونقلها إلى ناقلات الفيروس العكسية pMP71-attR باستخدام تقنية Gateway® (إنفيتروجين). في تجسيمات معينة، كانت جزيئات الحمض النووي التي ترمز IFPs من الكشف الحالي هي كودون الأمثل قبل الاستنساخ في ناقل فيروسي pMP71-attR.

مثال 2

التعبير معدل جينياً من التركيب CD200R-CD28

تم استخدام نموذج ما قبل السريرية لفئران الدم المنتشر، استنادا إلى الفئران المعدلة جينياً C57BL/ 6 صديق الفئران التي يسببها (FBL) و TCR_{gag} الفئران المعدلة جينياً، لتحديد ما إذا كان مستقبلات CD200R-CD28 شيميرية يمكن أن تحسن وظيفة الخلية T.

تم إنشاء TCR الفئران المعدلة جينياً لإنتاج خلايا T + CD8 محددة لإبيتوب gag (TCR_{gag}). تم شراء الفئران C57BL/6 (B6) من مختبر جاكسون. تعبر الفئران المعدلة جينياً TCR_{gag} عن التحوير TCR محددة لإبيتوب gag فيروس صديق في الخلايا $CD8^+$ T (Öhlén *et al., J. Immunol. 166*: 2863-2870, 2001). تمت الموافقة على جميع الدراسات الحيوانية أجريت تحت جامعة واشنطن رعاية الحيوان المؤسسية واستخدام بروتوكول اللجنة (Protocol # 2013-01). الفيروس B6 صديق الفئران الناجم عن إريثروليوكيميا erythroleukemia (FBL) يعبر عن F-MuLV المشفر لإبيتوب gag (ببتيد CCLCLTVFL).

تم إدراج CD200R-CD28 تركيبات شيميرية على أساس الجينات الفئران في ناقلات الفيروس PMP71 وتستخدم لانتاج خلايا الطحال الفأر الأولية حفز مع مضاد CD3 والأجسام المضادة المضاد CD28. تم تصميم كونستروكتس كما هو موضح في المثال 1، وأمرت من إنفيتروجين أو مولدة في المنزل عن طريق ير. وبعد ذلك تم تركيب المستعمرات TOPO بشكل استنساخي في ناقلات بينترتم/ D-TOPO® (إنفيتروجين)، وتم نقلها إلى ناقل فيروسي pMP71-

attR باستخدام تقنية Gateway® (إنفيتروجين). وتم تحول خط الخلية الفيروسي العكسي Plat-E (Morita *et al.*, 2000, *Gene Therapy* 7:1063-1066, 2000; Cell Biolabs, Inc.) باستخدام كاشف تأثير تبادل المادة الوراثية (Qiagen). تم جمع الفيروسات الطافية في اليوم 2 و 3 ثم تستخدم لتحول الخلايا TCR_{gag} T.

قبل يوم واحد من التحول، تم تحفيز الخلايا TCR_{gag} T مع مضاد CD3/ CD28 و 100 U/ مل rhIL-2. تم إجراء تحول من خلايا TCR_{gag} T في 12 من طبقات البئر في وجود IL-2 و البولي برين عن طريق سبينفكتيون لمدة 90 دقيقة في 1000*g*. تم تحول الخلايا FBL مع CD200 مع تطهير البولي برين، بنفس طريقة تحول الخلايا T، وبعد ذلك فرزها لتوليد تجانس بشري.

بعد خمسة أيام من التحول، تم تحليل الخلايا CD8 + T لبناء التعبير عن طريق مضاد CD200R الأجسام المضادة تلطيخ والتدفق الخلوي (الشكل 1ب). تم استخدام ناقلات تشفير البروتين الفلورسنت الأخضر (GFP) كعنصر تحكم. تراوحت كفاءة التناقض من 4-36% وكان متوسط كثافة الفلورسنت (MFI) من الخلايا تتحول مماثلة بين التركيبات.

مثال 3

تعزيز تركيبات CD200R-CD28 الإنتشار والتراكم في المختبر ووظيفة فعالة من الخلايا T المتحولة

تم تقييم التركيبات CD200R-CD28 الموصوفة في المثالين 1 و 2 لقدراتها على تعزيز انتشار وتراكم ووظيفة المستجيب للخلايا TCR_{gag} T.

توسع الخلايا المستجيبة في المختبر

تم توليد خلايا TCR_{gag} المستجيبة في المختبر كما هو موضح سابقا (Stromnes *et al.*, *J. Clin. Invest. 120*: 3722-34, 2010)، وقد تم استزراع المستضد المشع عرض الطحال ($5x10^6$)، المشع FBL ($3x10^6$)، وخلايا TCR_{gag} *tg* (10^6) سوياً مع IL-2 (50 U/ مل) في 10 مل من وسائط الاستزراع (إدمم تستكمل مع الأحماض الأمينية غير الضرورية، 2 ميكرومتر الجلوتامين، 100 U/ مل البنسلين/ الستربتومايسين، 10% FBS، و 50 ميكرومتر 2-ميركاباتو إيثانول). تم إعادة تحفيز الخلايا T أسبوعيا وتجريبها من قبل التدفق الخلوي لليوم 5-7 بعد التحفيز السابق.

تجربة تكاثر الخلية T في المختبر

تم تحول الخلايا TCR_{gag} T كما هو الحال في المثال 2. لتقييم تكاثر الخلايا T في المختبر، وتم صبغ الخلايا TCR_{gag} T مع CellTrace البنفسجي (CTV، تقنيات الحياة) وفقا لبروتوكول الشركة الصانعة. تم تحفيز الخلايا CTV-labeled Tg T (10^5) والخلايا T التحكم

GFP مع معايرة أرقام الخلايا FBL −CD200 أو FBL +CD200. بعد 3 أيام، تم تقييم CTV التخفيف من خلايا TCR_{gag} T عن طريق التدفق الخلوي.

وتظهر نتائج التدفق الخلوي بالاشارة إلى عدد الخلايا TCR_{gag} T بعد التحفيز مع أرقام المعايرة من خلايا FBL −CD200 (أعلى) أو FBL +CD200 (أقل) في الشكل 2أ. أربعة من أصل 5 تركيب CD200R-CD28 اختبار تحسنت بشكل كبير انتشار خلايا TCR_{gag} T بالإستجابة إلى FBL +CD200 (خطوط زرقاء) مقارنة GFP تحكم تحول الخلايا T (خطوط حمراء).

تجربة تراكم الخلايا T في المختبر

لتحديد إذا كان الانتشار المعزز أدى أيضا إلى زيادة تراكم الخلايا المتحولة، تم قياس نسبة الخلايا تتحول في إجمالي سكان TCR_{gag} على دورات متعددة من التحفيز مع FBL +CD200 المشع.

العديد من التركيبات تعزيز تراكم تحول الخلايا T، تتضمن CD200R-CD28tm، CD200R-CD28Cys، CD200R-3aas-CD28Cys، و CD200R-9aas-CD28Cys (الشكل 2ب). من هذه التركيبات، أظهرت CD200R-9aas-CD28Cys أكبر زيادة في الخلايا T المتحولة بالتحفيز المتعدد، مما أدى إلى أكثر من التوسع 3 أضعاف خلال التحفيز 3.

اختبار تخصيب الخلايا T في المختبر

تم إعادة تشكيل خلايا مختلطة من خلايا T + CD8 تتحول و نونترانزدوس مع خلايا CD200 أو CD200 المشعة FBL لتحديد ما إذا كانت إعادة التركيب سوف تثري السكان لخلايا T + CD200R-9aas-CD28Cys IFP. تكرار إعادة التشكيل مع CD200 + الخلايا السرطانية المشعة إثراء الخلايا المتحولة مع IFP مقارنة مع نوع الخلايا T، مما يدل على تأكيد هدف التعبير عن ليجاند لـ IR200R-9Aas-CD28Cys إيرب يعزز الاستجابة (الشكل 2ج).

تجربة *colocalization* في المختبر

تم تصوير الخلايا T المتحولة بواسطة المجهر لتحديد ما إذا كان CD200R-9aas-CD28Cys IFP التحلل مع ليجاند مماثل في التشابك العصبي المناعي (IS) خلال تنشيط الخلايا T. تم استخدام CTxB لصبغة دهنية داخل غشاء الخلية، والتي تخصب في التشابك العصبي (الشكل 2د، اللوحة I). تم استخدام الأجسام المضادة التي تستهدف CD200 المعبر عنها بواسطة خلية FBL (الشكل 2د، لوحة II) أو CD200R المعبر عنها بواسطة الخلايا T (الشكل 2د، لوحة III) لتصور موقع الجزيئات فيما يتعلق بـ IS. يتم تحلل ليجاند CD200 و CD200R داخل IS

(الشكل 2د، لوحة إيف)، مما يشير إلى أن التركيب هو الحجم المناسب للاستيعاب بواسطة التشابك العصبي المناعي.

تجربة السمية الخلوية القائمة على CFSE

زيادة الإشارات CD28 أيضا يعزز وظيفة المستجيب (Chen and Flies, *Nat. Rev. Immunol. 13*: 227-242, 2013). CD200R-CD28 دمج البروتين-المتحول تم اختبار خلايا T لزيادة قتل الخلايا السرطانية المستهدفة. تم تحضين FBL ومراقبة أورام EL4 لمدة 10 دقيقة في درجة حرارة الغرفة مع 2.5 ميكرومتر ($CFSE_{hi}$) أو 0.25 ميكرومتر ($CFSE^{lo}$) CFSE في برنامج تلفزيوني، على التوالي. تمت إزالة الصبغة الزائدة عن طريق غسل الخلايا السرطانية في الوسائط التي تحتوي على مصل الدم. تم تحضين خليط 1: 1 من خلايا الورم EL4 و FBL مع أرقام معايرة من CD200R-CD28 أو ناقلات GFP متحولة TCR_{gag} في المختبر توسيع الخلايا المستجيب T لمدة 4 ساعات في 96- من طبقات البئر، مستديرة القاع في 37ºم و 5% CO2. تم تحديد تحلل FBL محددة من خلال تحليل سايتوميتريك التدفق من% $CFSE^{hi}$ (FBL) من مجموع الخلايا الإيجابية CFSE (EL4 + FBL) المتبقية في البئر.

خلايا T TCR_{gag} متحولة مع تركيبات CD200R-CD28 عرض تعزيز القدرة على تحلل FBL الورم في المختبر مقارنة مع خلايا T TCR_{gag} متحولة مع ناقلات فارغة (الاشكال 2هـ، 2ز). وقد وصفت الخلايا السرطانية المستهدفة مع التخفيفات المختلفة من الأصباغ الفلورية CellTrace البنفسجي (CTV) أو CFSE لتوليد 1: 1: 1 مزيج من خلايا EL4 (+CTV)، $CD200^+$ FBL ($CFSE^{hi}$) وأهداف التحكم EL4 ($CFSE^{lo}$) غير محددة (الشكل 2و). بالإضافة إلى ذلك، التحكم GFP-ترانزسدوس خلايا T TCR_{gag} متحللة $CD200^-$ FBL و $CD200^+$ FBL على قدم المساواة الكفاءة (الشكل 2ز). على النقيض من ذلك، الخلايا T TCR_{gag} متحولة مع CD200R-9Aas-CD28Cys أظهرت زيادة قتل الخلايا $CD200^+$ FBL مقارنة الخلايا التحكم T، ليسينغ أكثر من 40% من $CD200^+$ FBL عند أدنى E: T نسبة اختبار (الشكل 2ز).

مجتمعة، وتظهر هذه البيانات أن CD200R-CD28 تركيبات وظيفة لزيادة التراكم والنشاط التحفيزي من الخلايا T المتحولة بالإستجابة إلى تحفيز الخلايا السرطانية.

مثال 4

خلايا T المحولة مع CD200R-9AAS-CD28CYS تعرض تعزيز التراكم في الجسم بالاستجابة للاعتراف من FBL

تم حقن الفئران B6 مع 4 × 10^6 الحية FBL سرطان الدم داخل البريتوني (I.p.) كما هو موضح سابقا (Stromnes *et al.*, *J. Clin. Invest. 120*: 3722-34, 2010). بعد السماح 5 أيام ل FBL لنشر، تلقت الفئران 180 مجم/ كجم سيكلوفوسفاميد (Cy، "سيتوكسان") i.p. 6 ساعات على الأقل قبل نقل الخلايا T المستجيب. لدراسات البقاء، تم نقل 10^5 خلايا TCR_{gag} T التي خضعت سابقا 1-3 للتحفيز في المختبر في الفئران الحاملة للورم. لتقييم الانتشار على المدى القصير وتراكم، تم حقن 2 × 10^6 من كل من بروتين الدمج تتحول وخلايا GFP T-تتحول-متحولة في حقن الفئران الحاملة للورم والفئران الموت الرحيم للتحليل بعد 8 أيام. تم رصد الفئران بانتظام للورم والقتل الرحيم إذا كان هناك دليل على تطور الورم وتوقع حدوث الوفيات خلال 24-48 ساعة.

لتقييم إذا كان CD200R-9aas-CD28Cys الدمج البروتين تتحول الخلايا T أظهرت زيادة الانتشار وتراكم في الجسم الحي بالإستجابة إلى الاعتراف من FBL، تم نقل مجموعة مختلطة من بروتين الدمج تتحول وخلايا التحكم في الفئران الحاملة للورم ونسبة تمت مقارنة الخلايا من قبل السابقين تحليل الجسم الحي بعد 8 أيام نقل (الشكل 3أ). عن طريق استخدام علامات متجانسة، تم الكشف عن الخلايا المتحولة T في نسبة أكبر 1.2-1.4 أضعاف على خلايا التحكم في كل من الطحال والغدد الليمفاوية نسبة إلى النسبة التي تم حقنها (الشكل 3ب). تتحول CD200R-9aas-CD28Cys + خلايا TCR_{gag} T عرضت انخفاض CD62L التعبير 3 أيام بعد نقل إلى الفئران الحاملة للورم، مما يشير إلى المستجيب T النمط الظاهري الخلية (الشكل 3ج). قبل يوم 15، متحولة والتحكم الخلايا T أظهرت مظاهر مماثلة، تتضمن عدم وجود علامات استنفاد (الشكل 3د). على غرار النتائج في المختبر، الخلايا T التي أعربت CD200R-9aas-CD28Cys عرض تراكم متزايد استجابة لتحفيز الورم في الجسم الحي. وعلاوة على ذلك، فإنها أظهرت أنماط التعبير البروتين متسقة مع النمط الظاهري T المستجيب لمدة 3 أيام على الأقل بعد نقل إلى الفئران الحاملة للورم.

مثال 5

العلاج المناعي التفاعلي مع خلية T + CD200R-CD28 تعرض نشاط كبير في علاج الليوكيميا المنزوعة

تبنى العلاج المناعي مع الخلايا T متحولة مع CD200R-CD28 بواسطة زيادة النشاط العلاجي في نموذج الفأر قبل السريرية من سرطان الدم المنتشر.

تم حقن الفئران مع جرعة قاتلة من سرطان الدم FBL $CD200^+$ وبعد خمسة أيام، تلقت أترابيات الفئران المعالجة بالحركة علاج إضافي مع 105 خلايا T (الشكل 4أ). تم تقييم مساهمة

السندات السيستين CD28 إلى فعالية بواسطة تركيب CD200R-CD28 عن طريق مقارنة الخلايا T متحولة مع CD200R-CD28tm، CD200R-9aas-CD28Cys، وبنية تحكم GFP كما هو مبين في الشكل 1أ. تم إعطاء IL-2 لمدة 10 أيام ككاشف علاجي إضافي لمجموعة من الفئران لتعزيز نشاط الخلايا T (Stromnes *et al.*, *J. Clin. Invest. 120*: 3722-34, 2010). قبل الحقن، تم تقييم الخلايا T للبروتينات السطحية المختلفة عن طريق التدفق الخلوي. متحولة والتحكم خلايا T TCR_{gag} عرض مماثل، بالاشارة إلى أن التحول لم يغير النمط الظاهري للخلايا قبل الحقن (الشكل 4ب).

في مجموعة صغيرة من الفئران التي تلقت حقن IL-2، تحسنت الخلايا T البقاء ولكن لا يمكن الكشف عن اختلاف كبير في بقاء الفئران التي تلقت مجموعات مختلفة من الخلايا T (الشكل 4ج). ومع ذلك، في مجموعة من الفئران التي لم تتلق حقن IL-2، كان هناك تحسن كبير في بقاء الفئران التي تلقت الخلايا T متحولة مع CD200R-CD28 تركيبات الحجم المناسب لتناسب داخل التشابك العصبي المناعي (الشكل 4د). غالبية الفئران التي لا تتلقى الخلايا T، وتلقي الخلايا T متحولة مع ناقلات تحكم GFP أو الخلايا T متحولة مع أكبر إكتودومين (CD200R-CD28Cys IFP) لا يبقى بعد يوم 30 (الاشكال 4ج و 4د، صلبة سوداء، متقطعة، وخطوط برتقالية، على التوالي). في المقابل، 71% من الفئران التي تلقت CD200R-CD28tm + T الخلايا و 83% من الفئران التي تلقت CD200R-9aas-CD28Cys + T الخلايا نجا أكثر من 100 يوما بعد العلاج (أرقام C4 و D 4 والخطوط الخضراء والأحمر، على التوالي). وتشير هذه البيانات إلى أن تحول الخلايا T مع تركيبات CD200R-CD28 التي تمتد مسافة مماثلة لمسافة بين الأغشية في التشابك العصبي المناعي يوفر تكلف كافية للتغلب على اعتماد العلاج المناعي الخلايا T على حقن IL-2 الخارجية. وعلاوة على ذلك، على الرغم من وجود اختلافات في الانتشار والتراكم بين CD200Rtm-CD28 و CD200R-9aas-CD28Cys تركيبات اختبارها في الفئران التي لم تتلق حقن IL-2 خارجي، على حد سواء IFPs فعالية تعزيز العلاج المناعي الخلايا T إلى تحسن كبير في النتيجة السريرية بدون سرطان الدم التقدمي.

المثال 6

الخلايا T $CD200R\text{-}9AAS\text{-}CD28CYS^{+}$ لا تسبب القدرة التلقائية مع الأنسجة الذاتية ولا تعرضظ تسلل الأنسجة الطبيعية داخل الجسم

لتحديد ما إذا كان تحول الخلايا T TCR_{gag} قد خفض درجة التفعيل بدرجة كافية ليؤدي إلى التفاعل الذاتي مع الأنسجة الذاتية، تم تقييم سمية المناعة الذاتية في الفئران المعدلة جينياً المهندسة للتعبير عن ورم FBL gag Ag كمستضد ذاتي في خلايا الكبد، تحت تحكم الألبومين المحفز (الشكل 5أ). تم توليد المؤثرات TCR_{gag} في المختبر و 106 تم نقلها إلى سيتوكسان فئران Alb:Gag المعالجة مع سرطان الدم المنتشر. في الايام 3 و 7 بعد نقل، تم تقييم تلف الكبد عن طريق تحديد كمي لمستويات المصل من انزيمات الكبد أسبارتات أمينو ترانسفيريز aspartate aminotransferase (AST) و ألانين أمينو ترانسفيريز (ALT). العلاج المتحد مع تحكم أو CD200R-9aas-CD28Cys + خلايا TCR_{gag} في الفئران لم تؤثر على مستويات المصل من AST أو ALT في الأيام 3 أو 7 بعد النقل، بالاشارة إلى أن CD200R-9aas-CD28Cys لا يسبب للكشف عن تلف المناعة الذاتية للكشف في فئران Alb:Gag (الشكل 5ب).

الخلايا T متحولة مع IFP لا تظهر زيادة تسلل الأنسجة الطبيعية مقارنة مع الخلايا T التحكم. تم الموت الرحيم الفئران 7 أيام بعد نقل وتم صبغ أقسام الكبد مع الأجسام المضادة ل CD3 علامة الخلية T لتحديد تسلل خلية T. لوحظ وجود محدود من الخلايا T في أنسجة الكبد، مع عدم وجود فرق كبير بين متلقي CD200R-9aas-CD28Cys + أو التحكم TCR_{gag}، بالاشارة إلى عدم زيادة تسلل الخلايا اللمفاوية نتيجة التعبير IFP (الشكل 5ج).

المثال 7

مجال إشارة تحفيزي عام 4-1BB يحفز تراكم الخلايا T المتحولة في المختبر

مستقبلات التحفيز 4-1BB هو تنظيم الخلايا T المنشطة، التي تعزز بقاء الخلايا T وإنتاج السيتوكينات (Chen and Flies, *Nat. Rev. Immunol. 13*: 227-242, 2013). لتقييم ما إذا كان مجال الإشارة داخل الخلية من 4-1BB، مع أو بدون مجال الإشارة داخل الخلية لـ CD28، يمكن أن تحفز زيادة تكاثر الخلايا T وتراكم، IFPs باستخدام 1-4BB (CD200R-9aas-4-1BB) أو الجمع بين 1-4BB مع CD28(CD200R-9aas-CD28-4-1BB) (الشكل 6أ) باستخدام الطرق الموصوفة في المثال 2. تم تحول الخلايا T TCR_{gag} كما هو الحال في المثال 2، وتولد خلايا المستجيب TCR_{gag} في المختبر كما هو موضح في المثال 3.

كما لوحظ مع CD200R-9aas-CD28Cys، تحول الخلايا T مع التركيبات 1-4BB المتراكمة على دورات متعددة من التحفيز في المختبر (الشكل 6ب). وتشير هذه البيانات إلى أن IFPs 1-4BB أيضا تعزيز انتشار وبقاء الخلايا T.

خلايا T TCR_{gag} متحولة مع CD200R-4-1BB عرض تعزيز القدرة على تحلل FBL الورم في المختبر باستخدام مقايسة السمية الخلوية CFSE الموصوفة في المثال 3 (الشكل 6ج). خلايا CD200R-41BB–متحولة أيضا لتعزيز البقاء (الشكل 6د).

المثال 8

تعبير مشترك من CD200RTM-CD28 يعزز وظائف TT1 محددة TCR في خلايا T الأولية

تم إنشاء تركيب CD200Rtm-CD28 البشري (سلسلة تعريف رقم: 1) لتحديد ما إذا كان التعبير IFP تعزيز وظيفة الخلايا T من الخلايا T الأولية البشرية. تم الجمع بين التركيب مع سلاسل بيتا وألفا من HLA-A2-restricted $WT1_{126}$-specific TCR "C4" من خلال ربط الجينات مع عناصر P2A (الشكل 7أ). وكان أول تسلسل P2A كودون الأمثل لمنع إعادة التركيب الجيني مع تسلسل P2A الثاني. لتوليد مضاد فيروسي، تم نقل الخلايا المتحولة 293 T/17 (3× 10^6 الخلايا/ لوحة) مع التركيبات البشرية في برلسين وناقلات التعبئة pMDLg/pRRE، PMD2-G، و pRSV-REV باستخدام إفكتين (Qiagen). تم تغيير وسائط الاستزراع في اليوم 1 بعد التحول والفيروسات التي تحتوي على المواد الطافية المجمعة في اليوم 2 و 3، والمجمدة للاستخدام في المستقبل.

تم استخدام الخلية T Jurkat subline البشرية، التي تفتقر إلى TCR الذاتية، لاختبار التعبير عن IFP و TCR. وقد تم تحول هذه الخلايا T Jurkat عن طريق تطويق الخلايا 2 ×10^6 مع 2 مل من فيروسات الطافية في 1000 جرام لمدة 90 دقيقة عند 32°م. نقل خط الخلايا البشرية T Jurkat مع تركيب ثلاثة الجينات أدى إلى التعبير عالية من IFP و التعبير عن TCR في مؤسسة التمويل الأصغر مماثلة كما تحول الخلايا T مع TCR فقط (الشكل 7أ).

لانتاج الخلايا T البشرية الأولية، تم حصاد خلايا الدم وحيدات النوى المحيطية (PBMC) من المانح +HLA-A2. تم تنقية الخلايا $CD8^+$ T باستخدام الخرز المغناطيسي Miltenyi وحفزت مع الخلية T البشرية المتوسعة CD3/CD28 Dynabeads (تقنيات الحياة) و 50 وحدة دولية/ مل IL-2. بعد أربع ساعات من التحفيز، تم تحول الخلايا T كما هو موضح أعلاه لخلايا T Jurkat. تم إعادة تشخيص الخلايا T كل 10–14 يوما مع بروتوكول التوسع السريع (REP)، كما سبق وصفها (Ho et al., *J Immunol Methods 310*:40-52, 2006).

تم استخدام خط الخلية البشرية T2 باعتباره APC، بسبب نقصه في TAP، وبالتالي لا يمكن أن تقدم الببتيدات الذاتية، في حين أن التعبير MHCI منخفض المستوى يسمح بعرض

البيتيدات المحملة خارجيا. تم تقييم التعبير عن CD200 من الخلايا T2 عن طريق التدفق الخلوي (الشكل 7ب). أظهرت الخلايا T2 مستوى منخفض من التعبير CD200 الذاتية (الشكل 7ب).

تم تحفيز الخلايا T متحولة مع خلايا T2 WT1126 نابض. على الرغم من انخفاض مستوى CD200 التعبير على الخلايا المستهدفة، CD200Rtm-CD28–تحول الخلايا T أظهرت انتشارا معززا بالمقارنة مع الخلايا T متحولة مع C4 TCR وحدها (الشكل C7). بالإضافة إلى ذلك، أنتجت الخلايا المحفزة CD200Rtm-CD28–متحولة (أي، IFP + T الخلايا) مستويات متزايدة من IFNγ و IL-2 مقارنة الخلايا التحكم T عندما تتعرض لخلايا الورم CD200dim (الشكل 7د).

عموما، أظهرت هذه النتائج أن الخلايا T الأولية متحولة للتعبير عن تركيب CD200Rtm-CD28 البشري وسلسلة سلاسل بيتا وألفا من TCR WT1126 محددة أظهرت انتشارا معززا وزيادة إنتاج السيتوكينات نسبة إلى الخلايا T متحولة مع تركيب TCR وحدها.

مثال 9 تركيبات دمج بروتين محفز التراكم للخلية المحولة T في المختبر

وتشمل بروتينات الدمج النموذجية كما هو موضح هنا أيضا IFPs مشتمل على المجال خارج الخلية من SIRPα، أو أجزاء منها، ومجال الإشارة داخل الخلية لـ CD28 (الشكل 8أ). قد المكون الكاره للماء يشمل المجال الغشائي إما SIRPα أو CD28، أو أجزاء منه. في بعض بروتينات الدمج SIRPα-CD28 النموذجية، المكون الكاره للماء يشمل مجال الغشاء لـ CD28 والمكون خارج الخلية يتضمن أيضا جزء خارج الخلية لـ CD28، وخاصة بقايا السيستين خارج الخلية المجاورة للمكون كاره للماء (على سبيل المثال، SIRPα-CD28Cys، SIRPα-6aas - CD28Cys، SIRPα-9aas-CD28Cys، و SIRPα-9aas-CD28Cys). قد يكون مكون خارج الخلية كل أو جزء من المجال خارج الخلية من SIRPα. في بعض التجسيمات، يتكون المكون خارج الخلية من المجال الكامل خارج الخلية من SIRPα. في أمثلة أخرى، يتكون المكون خارج الخلية من أول 367 الأحماض الأمينية (على سبيل المثال، SIRPα-6aas-CD28Cys)، الأول 364 الأحماض الأمينية (على سبيل المثال، SIRPα-9aas-CD28Cys)، أو الأول 350 (SIRPα-23aas-CD28Cys) الأمينية الأحماض من الطرف–N SIRPα. حجم المكون خارج الخلية قد تؤثر على قدرة بروتين الدمج للدخول في التشابك العصبي المناعي وتشارك في توطين مع TCR داخل cSMAC لتقديم إشارة تحفيز مشترك قوي. في بعض الأمثلة، يتكون مكون خارج الخلية SIRPα قطع، والتي قد تغير حجم المكون خارج الخلية. على سبيل المثال، لحساب الأحماض الأمينية خارج الخلية إضافية من المجال خارج الخلية من بروتين الدمج (على سبيل المثال، إضافية 9 أو

12 الأحماض الأمينية)، SIRPα-6aas-CD28 لديه جزء قطع من SIRPα الذي يحافظ على جليكوسيلاتيون N- المرتبطة الطبيعية موقع. في مثال آخر، SIRPα-23aas-CD28 يحتوي على جزء قطع من SIRPα الذي يفتقر إلى المنطقة الجذعية بأكملها من المجال خارج الخلية SIRPα. بالإضافة إلى ذلك، تركيب SIRPα-CD28 لديه القدرة على تحويل إشارة التي بدأها ربط SIRPα إلى هدفها إلى إشارة موجبة (على سبيل المثال، تحفيزي عام) التي تم إنشاؤها بواسطة CD28 مجال الإشارة داخل الخلية.

تم إنشاء IFPs باستخدام مكونات SIRPα خارج الخلية (الشكل 8أ) باستخدام الطرق الموصوفة في المثال 2. تم تحول الخلية T TCR_{gag} كما هو الحال في المثال 2، وتولد خلايا المستجيب TCR_{gag} في المختبر كما هو الحال في المثال 3. تم تحول الخلايا FBL مع CD47 أو مشيري مع تطهير البوليبرين، على غرار تحول الخلايا T، وبعد ذلك فرزها لتوليد تجانس بشري.

كما لوحظ مع CD200R-9aas-CD28Cys، تحول الخلايا T مع تركيبات SIRPα المتراكمة على دورات متعددة من التحفيز في المختبر (الشكل 8ب). وتشير هذه البيانات إلى أن IFPs SIRPα-CD28 أيضا تعزيز انتشار وبقاء الخلايا T.

لتقييم تكاثر الخلايا T في المختبر، تم إجراء فحص CTV التخفيف من الانتشار كما هو موضح في المثال 2. كما لوحظ مع CD200R-9aas-CD28Cys، تحول الخلايا T مع SIRPα تركيبات هندسيا للحفاظ على الخلية T من الخلايا السرطانية مسافة التشابك العصبي أظهرت تعزيز الانتشار بالمقارنة مع خلايا T التحكم (الشكل 8ج). بالإضافة إلى ذلك، تم قتل الخلايا السرطانية CD47 + بكفاءة بعد 3 أيام من الاستزراع المشتركة مع الخلايا T + SIRPα-CD28 ولكن لا التحكم خلايا T أو الخلايا T متحولة مع تركيب SIRPα التي تفتقر إلى مجال الإشارة داخل الخلية (الشكل 8د). لمزيد من تقييم القدرة التحليلية للخلايا T + SIRPα-CD28، تم استخدام مقايسة إنكوسيت لقياس قتل CD47 + FBL. وقد شارك ما مجموعه 105 مشيري + CD47 + FBL شارك في تربيتها في لوحات 24 جيدا مع معايرة من خلايا T البشرية متحولة مع تركيبات SIRPα-CD28. تم تحضين لوحة في IncuCyte (Essen BioScience) داخل حضانة استزراع الخلية لمدة 70 ساعة. تم التقاط الصور كل ساعة لمراقبة قتل الخلايا السرطانية، كما هو محدد من قبل فقدان إشارة حمراء. SIRPα-CD28 + خلايا T قتلت CD47 + الخلايا السرطانية، حتى في أدنى نسبة المستجيب إلى الهدف اختبار (0.4: 1؛ الشكل 8هـ).

مثال 10

بروتين دمج PD-1-CD28 يبني تعزيز إنتاج السيتوكين في الخلايا T المحولة في المختبر

تشمل بروتينات الدمج النموذجية كما هو موضح هنا أيضا IFPs مشتمل على المجال خارج الخلية من PD-1، أو أجزاء منها، ومجال إشارة الخلايا لـ CD28 (الشكل 9أ). ويمكن أن يتألف المكون الغشائي من المجال الغشائي إما PD-1 أو CD28 أو أجزاء منه. في بعض بروتينات الدمج PD1-CD28 النموذجية، يتكون المكون عبر الغشاء مجال الغشاء لـ CD28 والمكون خارج الخلية يتضمن أيضا جزء خارج الخلية لـ CD28، وخاصة بقايا السيستين خارج الخلية المجاورة للمكون عبر الغشاء (على سبيل المثال، PD1-CD28Cys، PD1-9aas - CD28Cys، و PD1-21aas-CD28Cys) لتعزيز ديمريزاتيون بين السلسلة. يمكن أن المكون خارج الخلية يشمل كل أو جزء من المجال خارج الخلية من PD-1، أو قد يتم قطعه (على سبيل المثال، 9aas- في بنايات الفئران، 12aas- أو 15aas- في التركيبات البشرية؛ تفتقر إلى المنطقة الجذعية من PD-1، 21aas-) للحفاظ على المسافة المكانية قصيرة بين الخلايا لتسهيل وصول مستقبلات ليجاندد إلى التشابك العصبي المناعية. بالإضافة إلى ذلك، تركيب PD1-CD28 لديه القدرة على تحويل ما يمكن أن يكون عادة إشارة مثبطة من ربط PD1 إلى هدفها إلى إشارة موجبة (على سبيل المثال، تحفيزي عام) التي تم إنشاؤها من قبل CD28 مجال الإشارة داخل الخلية.

تم توليد IFPs المشتمل على PD-1 مكونات خارج الخلية (الشكل 9أ) باستخدام الطرق الموصوفة في المثال 2. تم تحول الخلايا T TCR_{gag} كما هو الحال في المثال 2، وتولد الخلايا المستجيب TCR_{gag} في المختبر كما هو الحال في المثال 3.

الفئران PD1-CD28 تم إنشاء IFPs باستخدام بنيات I-IV و VII (الشكل 9أ). تم إعادة تحفيز PD1-CD28 + الخلايا T في وجود بريفيلدين A (للحفاظ على السيتوكينات المنتجة) مع الخلايا FBL التعبير عن داخلي بروابط PD-1، PD-L1 و PD-L2. بعد 5 ساعات، تم إصلاح الخلايا ومعالجتها مع BD Cytofix/Cytoperm kit، للسماح بتلطيخ الخلايا من السيتوكينات المستجيب، IFNγ و TNFα. تحول مع كل من خمس PD1-CD28 تركيبات تعزيز إنتاج السيتوكينات داخل الخلية مقارنة الخلايا التحكم T (الشكل 9ب).

تم توليد PD1-CD28 IFPs البشري باستخدام بنيات I-III و V-VII (الشكل 9أ). تم إنشاء النواقل التي تحتوي على PD1-CD28 IFP و C4 TCR كما هو موضح أعلاه. تم نقل تتحول الخلايا Jurkat T كما هو موضح أعلاه. خلايا T متحولة مع TCR و PD1-12aas-CD28Cys أو PD1-15aas-CD28Cys أظهرت كفاءة تبادل المادة الوراثية عالية والتعبير عن كل من البروتينات (الشكل 10).

مثال 11

بروتين دمج CD28–FAS لبناء محفز تراكم وتحسين الوظيفة في الخلايا T المتحولة في المختبر

تشمل بروتينات الدمج النموذجية كما هو موضح هنا أيضا IFPs مشتمل على المجال خارج الخلية من FAS، أو أجزاء منها، ومجال الإشارة داخل الخلية لـ CD28 (الشكل 11أ). ويمكن أن يتألف المكون الغشائي من مجال إما FAS أو CD28 أو أجزاء منه. في بعض بروتينات الدمج CD28–FAS النموذجية، يتكون المكون عبر الغشاء مجال الغشاء لـ CD28 والمكون خارج الخلية يتضمن أيضا جزء خارج الخلية لـ CD28، وخاصة بقايا السيستين خارج الخلية المجاورة للمكون عبر الغشاء (على سبيل المثال، Fas-CD28Cys و Fas-9aas-CD28Cys). ويمكن أن يشمل المكون خارج الخلية كل أو جزء من المجال خارج الخلية من FAS أو قد يتم قطعه للحفاظ على مسافة مكانية قصيرة بين الخلايا (–9aas) على التفاعل مستقبلات ليجاند. بالإضافة إلى ذلك، تركيب CD28–FAS لديه القدرة على تحويل إشارة التي بدأها ربط FAS إلى هدفها إلى إشارة موجبة (على سبيل المثال، تحفيزي عام) التي تم إنشاؤها بواسطة CD28 مجال الإشارة داخل الخلية.

تم توليد IFPs المكونة من مكونات FAS خارج الخلية (الشكل 11أ) باستخدام الطرق الموصوفة في المثال 2. تم تحول الخلايا T TCR_{gag} كما هو الحال في المثال 2، وتولد خلايا المستجيب TCR_{gag} في المختبر كما هو الحال في المثال 3.

لتحديد ما إذا كان التعبير عن النتائج CD28 IFP–FAS في زيادة تراكم الخلايا المتحولة، تم قياس نسبة الخلايا تتحول من السكان المختلطة في مجموع السكان TCR_{gag} على مدى دورات متعددة من التحفيز مع FBL المشع، كما هو موضح في المثال 3. جميع من تركيبات تراكمت تحول الخلايا T مقارنة الخلايا التحكم T (الشكل 11ب). وبالإضافة إلى ذلك، التعبير عن FAS–CD28 تركيبات ولكن ليس كامل طول (FL) FAS تعزيز البقاء أو توسيع الخلايا T على التحفيز متعددة في المختبر الشكل 11ج).

المثال 12

بناء بروتين الدمج LAG3-CD28

وتشمل بروتينات الدمج النموذجية كما هو موضح هنا أيضا IFPs مشتمل على المجال خارج الخلية من LAG3، أو أجزاء منه، ومجال الإشارة داخل الخلية لـ CD28 (الشكل 12أ). ويمكن أن يتألف المكون من الغشاء من المجال إما LAG3 أو CD28، أو أجزاء منه. في بعض بروتينات الدمج LAG3-CD28 النموذجية، يتكون المكون عبر الغشاء مجال الغشاء لـ CD28 والمكون خارج الخلية يتضمن أيضا جزء خارج الخلية لـ CD28، وخاصة بقايا السيستين خارج

الخلية المجاورة للمكون عبر الغشاء (على سبيل المثال، LAG3-CD28Cys و - LAG3-9aas CD28Cys). ويمكن أن المكون خارج الخلية يشمل كل أو جزء من المجال خارج الخلية من LAG3 أو قد يتم قطعه للحفاظ على مسافة مكانية قصيرة بين الخلايا (على سبيل المثال، −9aas) عند تفاعل المستقبلات. بالإضافة إلى ذلك، تركيب LAG3-CD28 لديه القدرة على تحويل ما يمكن أن يكون عادة إشارة مثبطة من ربط LAG3 إلى هدفها إلى إشارة موجبة (على سبيل المثال، تحفيزي عام) التي تم إنشاؤها من قبل CD28 مجال الإشارة داخل الخلية.

تم إنشاء IFPs باستخدام مكونات خارج الخلية LAG3 (الشكل 12أ) باستخدام الطرق الموصوفة في المثال 2. تحول الخلايا T مع تركيبات eGFP−LAG3 كما هو موضح. بعد خمسة أيام من التحول، تم تحليل الخلايا T + CD8 لبناء التعبير عن طريق مضاد LAG3 تلطيخ الأجسام المضادة والتدفق الخلوي (الشكل 12ب). تم استخدام ناقلات تشفير فقط البروتين الفلورسنت الأخضر (GFP) كعنصر تحكم. جميع تركيبات عرضت التعبير عن LAG3 (الشكل 12ب).

المثال 13

بناء بروتين الدمج TIM3-CD28

وتشمل بروتينات الدمج النموذجية كما هو موضح هنا أيضا IFPs مشتمل على المجال خارج الخلية من TIM3، أو أجزاء منها، ومجال إشارة الخلايا لـ CD28 (الشكل 13أ). ويمكن أن يتألف المكون الغشائي من مجال إما TIM3 أو CD28 أو أجزاء منه. في بعض بروتينات الدمج نموذجي TIM3-CD28، يتكون المكون عبر الغشاء مجال الغشاء لـ CD28 والمكون خارج الخلية يتضمن أيضا جزء خارج الخلية لـ CD28، وخاصة بقايا السيستين خارج الخلية المجاورة للمكون عبر الغشاء (على سبيل المثال، TIM3-CD28Cys و TIM3-9aas -CD28Cys). يمكن أن المكون خارج الخلية يشمل كل أو جزء من المجال خارج الخلية من TIM3 أو قد يتم قطعه للحفاظ على المسافة المكانية القصيرة بين الخلايا (على سبيل المثال، −9aas). بالإضافة إلى ذلك، تركيب TIM3-CD28 لديه القدرة على تحويل ما يمكن أن يكون عادة إشارة مثبطة من ربط TIM3 إلى هدفها إلى إشارة موجبة مولدة لـ CD28 مجال الإشارة داخل الخلية.

تم إنشاء IFPs جديدة باستخدام مكونات خارج الخلية TIM3 (الشكل 13أ) باستخدام الطرق الموصوفة في المثال 2. تم تحول الخلايا T مع TIM3−GFP تركيبات كما هو موضح. بعد خمسة أيام من التحول، تم تحليل الخلايا T + CD8 لبناء التعبير عن طريق مضاد TIM3 تلطيخ الأجسام المضادة وتدفق الخلوي (الشكل 13ب). تم استخدام ناقلات تشفير فقط البروتين

الفلورسنت الأخضر (GFP) كعنصر تحكم. معظم تركيبات عرضت تعبير مماثل من TIM3 (الشكل 13ب).

بينما تم توضيح وتوصيف تجسيمات محددة للاختراع، سيكون من السهل تقدير مختلف التجسيمات الموصوفة أعلاه لتوفير مزيد من التجسيمات، ويمكن إجراء تغييرات مختلفة فيها دون الخروج عن روح ونطاق الاختراع.

جميع براءات الاختراع الأمريكية، منشورات طلبات براءات الاختراع الأمريكية، طلبات براءات الاختراع الأمريكية، براءات الاختراع الأجنبية، طلبات براءات الاختراع الأجنبية، منشورات غير براءات الاختراع المشار إليها في هذه المواصفات أو المدرجة في ورقة بيانات التطبيق، تتضمن على سبيل المثال لا الحصر، إلى البراءة الأمريكية U.S. 62/128,979، المقدمة هنا على سبيل المرجعية في مجملها. ويمكن تعديل جوانب التجسيمات، إذا لزم الأمر، لاستخدام مفاهيم مختلفة من البراءات والتطبيقات والمنشورات لتقديم مزيد من التجسيمات.

ويمكن إجراء هذه التغييرات وغيرها على التجسيمات في ضوء الوصف الوارد أعلاه. وبصفة عامة، لا ينبغي تفسير المصطلحات المستخدمة في العناصر التالية على أنها تقتصر على حماية التجسيمات المحددة التي تم الكشف عنها في الوصف والعناصر، ولكن ينبغي تفسيرها على أنها تشمل جميع التجسيمات الممكنة سوياً مع النطاق الكامل للمكافئات المستحقة لعناصر الحماية. وبناء على ذلك، فإن عناصر الحماية لا تقتصر على الكشف.

قائمة التتابع

<110> **مركز فريد هاتشينسون لأبحاث السرطان**

أودا، شانون كيه.

جرينبرج، فيليب د.

<120> IMMUNOMODULATORY FUSION PROTEINS AND USES THEREOF

<130> البراءة الدولية 360056.433

<140> بي سي تي

<141> 04-03-2016

<150> البراءة الأمريكية US 62/128,979

<151> 05-03-2015

<160> 178

<170> FastSEQ لإصدار الويندوز 4.0

<210> 1

<211> 915

<212> DNA

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> تركيب huCD200Rtm-CD28

<400> 1

atgctgtgcc cttggagaac cgccaacctg ggcctgctgc tgatcctgac catcttcctg 60

gtggccgcca gcagcagcct gtgcatggac gagaagcaga tcacccagaa ctacagcaag 120

gtgctggccg aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc 180

tgccctccta tcgccctgcg gaacctgatc atcatcacct gggagatcat cctgcggggc 240

cagcccagct gtaccaaggc ctaccggaaa gagacaaacg agacaaaaga aacaaactgc 300

accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcgacct gcagatcaga 360

cccgtggcca tcacccacga cggctactac cggtgcatca tggtcacccc cgatggcaac 420

ttccaccggg gataccatct gcaggtgctc gtgacccccg aagtgaccct gttccagaac 480

cggaacagaa ccgccgtgtg caaggccgtg gccggaaaac ctgccgccca gatctcttgg 540

atccccgagg gcgattgcgc caccaagcag gaatactggt ccaacggcac cgtgaccgtg 600

aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccg tgacatgcca cgtgtcccac 660

ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctgctgcctg tgcctggcgc caagaagtcc 720

gccaagctgt acatccccta catcatcctg acaatcatca ttctgaccat cgtgggcttc 780

atctggctgc tgcgcagcaa gcggagcaga ggcggccaca gcgactacat gaacatgacc 840

cctagacggc ctggccccac cagaaagcac taccagccct acgcccctcc ccgggacttt 900

gccgcctaca gaagc 915

<210> 2

<211> 728

<212> DNA

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> نطاق كامل خارج الخلية huCD200R

<400> 2

tgctgtgccc ttggagaacc gccaacctgg gcctgctgct gatcctgacc atcttcctgg 60

tggccgccag cagcagcctg tgcatggacg agaagcagat cacccagaac tacagcaagg 120

tgctggccga agtgaacacc agctggcccg tgaagatggc caccaacgcc gtgctgtgct 180

gccctcctat cgccctgcgg aacctgatca tcatcacctg ggagatcatc ctgcggggcc 240

agcccagctg taccaaggcc taccggaaag agacaaacga gacaaaagaa acaaactgca 300

ccgacgagcg gatcacatgg gtgtccagac ccgaccagaa cagcgacctg cagatcagac 360

ccgtggccat cacccacgac ggctactacc ggtgcatcat ggtcaccccc gatggcaact 420

tccaccgggg ataccatctg caggtgctcg tgacccccga agtgaccctg ttccagaacc 480

ggaacagaac cgccgtgtgc aaggccgtgg ccggaaaacc tgccgcccag atctcttgga 540

tccccgaggg cgattgcgcc accaagcagg aatactggtc caacggcacc gtgaccgtga 600

agtccacctg tcactgggag gtgcacaacg tgtccaccgt gacatgccac gtgtcccacc 660

tgaccggcaa caagagcctg tacatcgagc tgctgcctgt gcctggcgcc aagaagtccg 720

ccaagctg 728

<210> 3

<211> 63

<212> DNA

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> huCD200R مجال الغشاء

<400> 3

tacatcccct acatcatcct gacaatcatc attctgacca tcgtgggctt catctggctg 60

ctg 63

<210> 4

<211> 81

<212> DNA

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> CD28 مجال الغشاء

<400> 4

ttctgggtgc tggtggtggt cggaggcgtg ctggcctgct acagcctgct ggtcaccgtg 60

gccttcatca tcttttgggt c 81

<210> 5

123 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

CD28 بروتين داخل الخلايا <223>

5 <400>

cgcagcaagc ggagcagagg cggccacagc gactacatga acatgacccc tagacggcct 60

ggccccacca gaaagcacta ccagccctac gcccctcccc gggactttgc cgcctacaga 120

agc 123

6 <210>

933 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huCD200R-CD28tm تركيب <223>

6 <400>

atgctgtgcc cttggagaac cgccaacctg ggcctgctgc tgatcctgac catcttcctg 60

gtggccgcca gcagcagcct gtgcatggac gagaagcaga tcacccagaa ctacagcaag 120

gtgctggccg aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc 180

tgccctccta tcgccctgcg gaacctgatc atcatcacct gggagatcat cctgcggggc 240

cagcccagct gtaccaaggc ctaccggaaa gagacaaacg agacaaaaga aacaaactgc 300

accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcgacct gcagatcaga 360

cccgtggcca tcacccacga cggctactac cggtgcatca tggtcacccc cgatggcaac 420

ttccaccggg gataccatct gcaggtgctc gtgacccccg aagtgaccct gttccagaac 480

cggaacagaa ccgccgtgtg caaggccgtg gccggaaaac ctgccgccca gatctcttgg 540

atccccgagg gcgattgcgc caccaagcag gaatactggt ccaacggcac cgtgaccgtg 600

aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccg tgacatgcca cgtgtcccac 660

ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctgctgcctg tgcctggcgc caagaagtcc 720

gccaagctgt tctgggtgct ggtggtggtc ggaggcgtgc tggcctgcta cagcctgctg 780

gtcaccgtgg ccttcatcat cttttgggtc cgcagcaagc ggagcagagg cggccacagc 840

gactacatga acatgacccc tagacggcct ggccccacca gaaagcacta ccagccctac 900

gcccctcccc gggactttgc cgcctacaga agc 933

7 <210>

942 <211>

DNA <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> تركيب huCD200R-9aas-CD28Cys

7 <400>

atgctgtgcc cttggagaac cgccaacctg ggcctgctgc tgatcctgac catcttcctg 60

gtggccgcca gcagcagcct gtgcatggac gagaagcaga tcacccagaa ctacagcaag 120

gtgctggccg aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc 180

tgccctccta tcgccctgcg gaacctgatc atcatcacct gggagatcat cctgcggggc 240

cagcccagct gtaccaaggc ctaccggaaa gagacaaacg agacaaaaga aacaaactgc 300

accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcgacct gcagatcaga 360

cccgtggcca tcacccacga cggctactac cggtgcatca tggtcacccc cgatggcaac 420

ttccaccggg gataccatct gcaggtgctc gtgacccccg aagtgaccct gttccagaac 480

cggaacagaa ccgccgtgtg caaggccgtg gccggaaaac ctgccgccca gatctcttgg 540

atccccgagg gcgattgcgc caccaagcag gaatactggt ccaacggcac cgtgaccgtg 600

aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccg tgacatgcca cgtgtcccac 660

ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctgctgcctg tgtgtcccag ccctctgttt 720

cccggcccta gcaagccttt ctgggtgctg gtggtggtcg gaggcgtgct ggcctgctac 780

agcctgctgg tcaccgtggc cttcatcatc ttttgggtcc gcagcaagcg gagcagaggc 840

ggccacagcg actacatgaa catgacccct agacggcctg gccccaccag aaagcactac 900

cagccctacg cccctccccg ggactttgcc gcctacagaa gc 942

<210> 8

<211> 702

<212> DNA

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> huCD200R-9aas بروتين نطاق خارج الخلية

<400> 8

atgctgtgcc cttggagaac cgccaacctg ggcctgctgc tgatcctgac catcttcctg 60

gtggccgcca gcagcagcct gtgcatggac gagaagcaga tcacccagaa ctacagcaag 120

gtgctggccg aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc 180

tgccctccta tcgccctgcg gaacctgatc atcatcacct gggagatcat cctgcggggc 240

cagcccagct gtaccaaggc ctaccggaaa gagacaaacg agacaaaaga aacaaactgc 300

accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcgacct gcagatcaga 360

cccgtggcca tcacccacga cggctactac cggtgcatca tggtcacccc cgatggcaac 420

ttccaccggg gataccatct gcaggtgctc gtgacccccg aagtgaccct gttccagaac 480

cggaacagaa ccgccgtgtg caaggccgtg gccggaaaac ctgccgccca gatctcttgg 540

atccccgagg gcgattgcgc caccaagcag gaatactggt ccaacggcac cgtgaccgtg 600

aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccg tgacatgcca cgtgtcccac 660

ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctgctgcctg tg 702

9 <210>

36 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

CD28Cys multimerization domain <223>

9 <400>

tgtcccagcc ctctgtttcc cggccctagc aagcct 36

10 <210>

933 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

تركيب huCD200R-12aas-CD28Cys <223>

10 <400>

atgctgtgcc cttggagaac cgccaacctg ggcctgctgc tgatcctgac catcttcctg 60

gtggccgcca gcagcagcct gtgcatggac gagaagcaga tcacccagaa ctacagcaag 120

gtgctggccg aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc 180

tgccctccta tcgccctgcg gaacctgatc atcatcacct gggagatcat cctgcggggc 240

cagcccagct gtaccaaggc ctaccggaaa gagacaaacg agacaaaaga aacaaactgc 300

accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcgacct gcagatcaga 360

cccgtggcca tcacccacga cggctactac cggtgcatca tggtcacccc cgatggcaac 420

ttccaccggg gataccatct gcaggtgctc gtgacccccg aagtgaccct gttccagaac 480

cggaacagaa ccgccgtgtg caaggccgtg gccggaaaac ctgccgccca gatctcttgg 540

atccccgagg gcgattgcgc caccaagcag gaatactggt ccaacggcac cgtgaccgtg 600

aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccg tgacatgcca cgtgtcccac 660

ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctgtgtccca gccctctgtt tcccggccct 720

agcaagcctt tctgggtgct ggtggtggtc ggaggcgtgc tggcctgcta cagcctgctg 780

gtcaccgtgg ccttcatcat cttttgggtc cgcagcaagc ggagcagagg cggccacagc 840

gactacatga acatgacccc tagacggcct ggccccacca gaaagcacta ccagccctac 900

gcccctcccc gggactttgc cgcctacaga agc 933

<210> 11

<211> 693

<212> DNA

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> بروتين نطاق خارج الخلية huCD200R-12aas

<400> 11

atgctgtgcc cttggagaac cgccaacctg ggcctgctgc tgatcctgac catcttcctg 60

gtggccgcca gcagcagcct gtgcatggac gagaagcaga tcacccagaa ctacagcaag 120

gtgctggccg aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc 180

tgccctccta tcgccctgcg gaacctgatc atcatcacct gggagatcat cctgcggggc 240

cagcccagct gtaccaaggc ctaccggaaa gagacaaacg agacaaaaga aacaaactgc 300

accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcgacct gcagatcaga 360

cccgtggcca tcacccacga cggctactac cggtgcatca tggtcacccc cgatggcaac 420

ttccaccggg gataccatct gcaggtgctc gtgacccccg aagtgaccct gttccagaac 480

cggaacagaa ccgccgtgtg caaggccgtg gccggaaaac ctgccgccca gatctcttgg 540

atccccgagg gcgattgcgc caccaagcag gaatactggt ccaacggcac cgtgaccgtg 600

aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccg tgacatgcca cgtgtcccac 660

ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctg 693

12 <210>

945 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

تركيب <223> huCD200R-9aas-CD28Cys tm-41BBic

12 <400>

atgctgtgcc cttggagaac cgccaacctg ggcctgctgc tgatcctgac catcttcctg 60

gtggccgcca gcagcagcct gtgcatggac gagaagcaga tcacccagaa ctacagcaag 120

gtgctggccg aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc 180

tgccctccta tcgccctgcg gaacctgatc atcatcacct gggagatcat cctgcggggc 240

cagcccagct gtaccaaggc ctaccggaaa gagacaaacg agacaaaaga aacaaactgc 300

accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcgacct gcagatcaga 360

cccgtggcca tcacccacga cggctactac cggtgcatca tggtcacccc cgatggcaac 420

ttccaccggg gataccatct gcaggtgctc gtgacccccg aagtgaccct gttccagaac 480

cggaacagaa ccgccgtgtg caaggccgtg gccggaaaac ctgccgccca gatctcttgg 540

atccccgagg gcgattgcgc caccaagcag gaatactggt ccaacggcac cgtgaccgtg 600

aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccg tgacatgcca cgtgtcccac 660

ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctgctgcctg tgtgtcccag ccctctgttt 720

cccggcccta gcaagccttt ctgggtgctg gtggtggtcg gaggcgtgct ggcctgctac 780

agcctgctgg tcaccgtggc cttcatcatc ttttgggtca agcggggcag aaagaagctg 840

ctgtacatct tcaagcagcc tttcatgcgg cccgtgcaga ccacccagga agaggacggc 900

tgctcctgca gattccccga ggaagaagaa ggcggctgcg agctg 945

13 <210>

126 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

1-4BB المكون داخل خلايا <223>

13 <400>

aagcggggca gaaagaagct gctgtacatc ttcaagcagc ctttcatgcg gcccgtgcag 60

accacccagg aagaggacgg ctgctcctgc agattccccg aggaagaaga aggcggctgc 120

gagctg 126

14 <210>

936 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

تركيب huCD200R-12aas-CD28Cys tm-41BBic <223>

14 <400>

atgctgtgcc cttggagaac cgccaacctg ggcctgctgc tgatcctgac catcttcctg 60

gtggccgcca gcagcagcct gtgcatggac gagaagcaga tcacccagaa ctacagcaag 120

gtgctggccg aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc 180

tgccctccta tcgccctgcg gaacctgatc atcatcacct gggagatcat cctgcggggc 240

cagcccagct gtaccaaggc ctaccggaaa gagacaaacg agacaaaaga aacaaactgc 300

accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcgacct gcagatcaga 360

cccgtggcca tcacccacga cggctactac cggtgcatca tggtcacccc cgatggcaac 420

ttccaccggg gataccatct gcaggtgctc gtgacccccg aagtgaccct gttccagaac 480

cggaacagaa ccgccgtgtg caaggccgtg gccggaaaac ctgccgccca gatctcttgg 540

atccccgagg gcgattgcgc caccaagcag gaatactggt ccaacggcac cgtgaccgtg 600

aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccg tgacatgcca cgtgtcccac 660

ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctgtgtccca gccctctgtt tcccggccct 720

agcaagcctt tctgggtgct ggtggtggtc ggaggcgtgc tggcctgcta cagcctgctg 780

gtcaccgtgg ccttcatcat cttttgggtc aagcggggca gaaagaagct gctgtacatc 840

ttcaagcagc ctttcatgcg gcccgtgcag accacccagg aagaggacgg ctgctcctgc 900

agattccccg aggaagaaga aggcggctgc gagctg 936

<210> 15

<211> 1059

<212> DNA

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> تركيب huCD200R-12aas-CD28Cys tm ic-41BBic

<400> 15

atgctgtgcc cttggagaac cgccaacctg ggcctgctgc tgatcctgac catcttcctg 60

gtggccgcca gcagcagcct gtgcatggac gagaagcaga tcacccagaa ctacagcaag 120

gtgctggccg aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc 180

tgccctccta tcgccctgcg gaacctgatc atcatcacct gggagatcat cctgcggggc 240

cagcccagct gtaccaaggc ctaccggaaa gagacaaacg agacaaaaga aacaaactgc 300

accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcgacct gcagatcaga 360

cccgtggcca tcacccacga cggctactac cggtgcatca tggtcacccc cgatggcaac 420

ttccaccggg gataccatct gcaggtgctc gtgacccccg aagtgaccct gttccagaac 480

cggaacagaa ccgccgtgtg caaggccgtg gccggaaaac ctgccgccca gatctcttgg 540

atccccgagg gcgattgcgc caccaagcag gaatactggt ccaacggcac cgtgaccgtg 600

aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccg tgacatgcca cgtgtcccac 660

ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctgtgtccca gccctctgtt tcccggccct 720

agcaagcctt tctgggtgct ggtggtggtc ggaggcgtgc tggcctgcta cagcctgctg 780

gtcaccgtgg ccttcatcat cttttgggtc cgcagcaagc ggagcagagg cggccacagc 840

gactacatga acatgacccc tagacggcct ggccccacca gaaagcacta ccagccctac 900

gcccctcccc gggactttgc cgcctacaga agcaagcggg gcagaaagaa gctgctgtac 960

atcttcaagc agcctttcat gcggcccgtg cagaccaccc aggaagagga cggctgctcc 1020

tgcagattcc ccgaggaaga agaaggcggc tgcgagctg 1059

16 <210>

1305 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huSIRPalphatm-CD28 تركيب <223>

16 <400>

atggaacctg ccggacctgc tcctggcaga ctgggacctc tgctgtgtct gctgctggcc 60

gcctcttgtg cttggagcgg agtggctggc gaagaggaac tgcaagtgat ccagcccgac 120

aagagcgtgc tggtggccgc tggcgaaacc gccaccctga gatgtacagc caccagcctg 180

atccccgtgg gccccatcca gtggtttaga ggcgctggcc ctggcagaga gctgatctac 240

aaccagaaag agggccactt ccccagagtg accaccgtgt ccgacctgac caagcggaac 300

aacatggact tcagcatccg gatcggcaac atcacccctg ccgatgccgg cacctactac 360

tgcgtgaagt tccggaaggg cagccccgac gacgtggaat tcaaaagcgg agccggcacc 420

gagctgagcg tgcgggctaa accttctgcc cctgtggtgt ctggacctgc cgccagagct 480

acacctcagc acaccgtgtc ttttacctgc gagagccacg gcttcagccc cagagacatc 540

accctgaagt ggttcaagaa cggcaacgag ctgtccgact tccagaccaa cgtggaccct 600

gtgggcgaga gcgtgtccta cagcatccac agcaccgcca aggtggtgct gacccgcgaa 660

gatgtgcaca gccaagtgat ctgcgaggtg gcccacgtga cactgcaggg cgatcctctg 720

agaggaaccg ccaacctgtc cgagacaatc agagtgcccc ccaccctgga agtgacccag 780

cagcctgtgc gggccgagaa ccaagtgaac gtgacctgcc aagtgcggaa gttctacccc 840

cagcggctgc agctgacctg gctggaaaac ggcaatgtgt cccggaccga gacagccagc 900

accgtgaccg agaacaagga tggcacctac aattggatga gctggctgct cgtgaacgtg 960

tccgcccacc gggacgatgt gaagctgaca tgccaggtgg aacacgacgg ccagcctgcc 1020

gtgtccaaga gccacgatct gaaggtgtca gcccatccca aagagcaggg ctccaacaca 1080

gccgccgaga acaccggcag caacgagcgg aacatctaca tcgtcgtggg cgtcgtgtgc 1140

accctgctgg tggcactgct gatggccgct ctgtacctcg tgcgcagcaa gcggagcaga 1200

ggcggccaca gcgactacat gaacatgacc cctagacggc ctggccccac cagaaagcac 1260

taccagccct acgcccctcc ccgggacttt gccgcctaca gaagc 1305

17 <210>

1119 <211>

DNA <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> مجال ألفا كامل huSIRP خارج الخلية

17 <400>

atggaacctg ccggacctgc tcctggcaga ctgggacctc tgctgtgtct gctgctggcc 60

gcctcttgtg cttggagcgg agtggctggc gaagaggaac tgcaagtgat ccagcccgac 120

aagagcgtgc tggtggccgc tggcgaaacc gccaccctga gatgtacagc caccagcctg 180

atccccgtgg gccccatcca gtggtttaga ggcgctggcc ctggcagaga gctgatctac 240

aaccagaaag agggccactt ccccagagtg accaccgtgt ccgacctgac caagcggaac 300

aacatggact tcagcatccg gatcggcaac atcacccctg ccgatgccgg cacctactac 360

tgcgtgaagt tccggaaggg cagccccgac gacgtggaat tcaaaagcgg agccggcacc 420

gagctgagcg tgcgggctaa accttctgcc cctgtggtgt ctggacctgc cgccagagct 480

acacctcagc acaccgtgtc ttttacctgc gagagccacg gcttcagccc cagagacatc 540

accctgaagt ggttcaagaa cggcaacgag ctgtccgact tccagaccaa cgtggaccct 600

gtgggcgaga gcgtgtccta cagcatccac agcaccgcca aggtggtgct gacccgcgaa 660

gatgtgcaca gccaagtgat ctgcgaggtg gcccacgtga cactgcaggg cgatcctctg 720

agaggaaccg ccaacctgtc cgagacaatc agagtgcccc ccaccctgga agtgacccag 780

cagcctgtgc gggccgagaa ccaagtgaac gtgacctgcc aagtgcggaa gttctacccc 840

cagcggctgc agctgacctg gctggaaaac ggcaatgtgt cccggaccga gacagccagc 900

accgtgaccg agaacaagga tggcacctac aattggatga gctggctgct cgtgaacgtg 960

tccgcccacc gggacgatgt gaagctgaca tgccaggtgg aacacgacgg ccagcctgcc 1020

gtgtccaaga gccacgatct gaaggtgtca gcccatccca aagagcaggg ctccaacaca 1080

gccgccgaga acaccggcag caacgagcgg aacatctac 1119

18 <210>

63 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

مجال غشاء ألفا huSIRP <223>

18 <400>

atcgtcgtgg gcgtcgtgtg caccctgctg gtggcactgc tgatggccgc tctgtacctc 60

gtg 63

19 <210>

1323 <211>

DNA <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> تركيب huSIRP alpha-CD28tm

19 <400>

atggaacctg ccggacctgc tcctggcaga ctgggacctc tgctgtgtct gctgctggcc 60

gcctcttgtg cttggagcgg agtggctggc gaagaggaac tgcaagtgat ccagcccgac 120

aagagcgtgc tggtggccgc tggcgaaacc gccaccctga gatgtacagc caccagcctg 180

atccccgtgg gccccatcca gtggtttaga ggcgctggcc ctggcagaga gctgatctac 240

aaccagaaag agggccactt ccccagagtg accaccgtgt ccgacctgac caagcggaac 300

aacatggact tcagcatccg gatcggcaac atcacccctg ccgatgccgg cacctactac 360

tgcgtgaagt tccggaaggg cagccccgac gacgtggaat tcaaaagcgg agccggcacc 420

gagctgagcg tgcgggctaa accttctgcc cctgtggtgt ctggacctgc cgccagagct 480

acacctcagc acaccgtgtc ttttacctgc gagagccacg gcttcagccc cagagacatc 540

accctgaagt ggttcaagaa cggcaacgag ctgtccgact tccagaccaa cgtggaccct 600

gtgggcgaga gcgtgtccta cagcatccac agcaccgcca aggtggtgct gacccgcgaa 660

gatgtgcaca gccaagtgat ctgcgaggtg gcccacgtga cactgcaggg cgatcctctg 720

agaggaaccg ccaacctgtc cgagacaatc agagtgcccc ccaccctgga agtgacccag 780

cagcctgtgc gggccgagaa ccaagtgaac gtgacctgcc aagtgcggaa gttctacccc 840

cagcggctgc agctgacctg gctggaaaac ggcaatgtgt cccggaccga gacagccagc 900

accgtgaccg agaacaagga tggcacctac aattggatga gctggctgct cgtgaacgtg 960

tccgcccacc gggacgatgt gaagctgaca tgccaggtgg aacacgacgg ccagcctgcc 1020

gtgtccaaga gccacgatct gaaggtgtca gcccatccca aagagcaggg ctccaacaca 1080

gccgccgaga acaccggcag caacgagcgg aacatctact tctgggtgct ggtggtggtc 1140

ggaggcgtgc tggcctgcta cagcctgctg gtcaccgtgg ccttcatcat cttttgggtc 1200

cgcagcaagc ggagcagagg cggccacagc gactacatga acatgacccc tagacggcct 1260

ggccccacca gaaagcacta ccagccctac gcccctcccc gggactttgc cgcctacaga 1320

agc 1323

<210> 20

<211> 1323

<212> DNA

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> تركيب huSIRP alpha 12aas-CD28Cys

<400> 20

atggaacctg ccggacctgc tcctggcaga ctgggacctc tgctgtgtct gctgctggcc 60

gcctcttgtg cttggagcgg agtggctggc gaagaggaac tgcaagtgat ccagcccgac 120

aagagcgtgc tggtggccgc tggcgaaacc gccaccctga gatgtacagc caccagcctg 180

atccccgtgg gccccatcca gtggtttaga ggcgctggcc ctggcagaga gctgatctac 240

aaccagaaag agggccactt ccccagagtg accaccgtgt ccgacctgac caagcggaac 300

aacatggact tcagcatccg gatcggcaac atcacccctg ccgatgccgg cacctactac 360

tgcgtgaagt tccggaaggg cagccccgac gacgtggaat tcaaaagcgg agccggcacc 420

gagctgagcg tgcgggctaa accttctgcc cctgtggtgt ctggacctgc cgccagagct 480

acacctcagc acaccgtgtc ttttacctgc gagagccacg gcttcagccc cagagacatc 540

accctgaagt ggttcaagaa cggcaacgag ctgtccgact tccagaccaa cgtggaccct 600

gtgggcgaga gcgtgtccta cagcatccac agcaccgcca aggtggtgct gacccgcgaa 660

gatgtgcaca gccaagtgat ctgcgaggtg gcccacgtga cactgcaggg cgatcctctg 720

agaggaaccg ccaacctgtc cgagacaatc agagtgcccc ccaccctgga agtgacccag 780

cagcctgtgc gggccgagaa ccaagtgaac gtgacctgcc aagtgcggaa gttctacccc 840

cagcggctgc agctgacctg gctggaaaac ggcaatgtgt cccggaccga gacagccagc 900

accgtgaccg agaacaagga tggcacctac aattggatga gctggctgct cgtgaacgtg 960

tccgcccacc gggacgatgt gaagctgaca tgccaggtgg aacacgacgg ccagcctgcc 1020

gtgtccaaga gccacgatct gaaggtgtca gcccatccca aagagcaggg ctccaacaca 1080

gcctgtccca gccctctgtt tcccggccct agcaagcctt tctgggtgct ggtggtggtc 1140

ggaggcgtgc tggcctgcta cagcctgctg gtcaccgtgg ccttcatcat cttttgggtc 1200

cgcagcaagc ggagcagagg cggccacagc gactacatga acatgacccc tagacggcct 1260

ggccccacca gaaagcacta ccagccctac gcccctcccc gggactttgc cgcctacaga 1320

agc 1323

21 <210>

1083 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

بروتين نطاق خارج الخلية huSIRP alpha 12aas <223>

21 <400>

atggaacctg ccggacctgc tcctggcaga ctgggacctc tgctgtgtct gctgctggcc 60

gcctcttgtg cttggagcgg agtggctggc gaagaggaac tgcaagtgat ccagcccgac 120

aagagcgtgc tggtggccgc tggcgaaacc gccaccctga gatgtacagc caccagcctg 180

atccccgtgg gccccatcca gtggtttaga ggcgctggcc ctggcagaga gctgatctac 240

aaccagaaag agggccactt ccccagagtg accaccgtgt ccgacctgac caagcggaac 300

aacatggact tcagcatccg gatcggcaac atcacccctg ccgatgccgg cacctactac 360

tgcgtgaagt tccggaaggg cagccccgac gacgtggaat tcaaaagcgg agccggcacc 420

gagctgagcg tgcgggctaa accttctgcc cctgtggtgt ctggacctgc cgccagagct 480

acacctcagc acaccgtgtc ttttacctgc gagagccacg gcttcagccc cagagacatc 540

accctgaagt ggttcaagaa cggcaacgag ctgtccgact tccagaccaa cgtggaccct 600

gtgggcgaga gcgtgtccta cagcatccac agcaccgcca aggtggtgct gacccgcgaa 660

gatgtgcaca gccaagtgat ctgcgaggtg gcccacgtga cactgcaggg cgatcctctg 720

agaggaaccg ccaacctgtc cgagacaatc agagtgcccc ccaccctgga agtgacccag 780

cagcctgtgc gggccgagaa ccaagtgaac gtgacctgcc aagtgcggaa gttctacccc 840

cagcggctgc agctgacctg gctggaaaac ggcaatgtgt cccggaccga gacagccagc 900

accgtgaccg agaacaagga tggcacctac aattggatga gctggctgct cgtgaacgtg 960

tccgcccacc gggacgatgt gaagctgaca tgccaggtgg aacacgacgg ccagcctgcc 1020

gtgtccaaga gccacgatct gaaggtgtca gcccatccca aagagcaggg ctccaacaca 1080

gcc 1083

22 <210>

1326 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huSIRP alpha-12aas-CD28Cys tm-41BBic تركيب <223>

22 <400>

atggaacctg ccggacctgc tcctggcaga ctgggacctc tgctgtgtct gctgctggcc 60

gcctcttgtg cttggagcgg agtggctggc gaagaggaac tgcaagtgat ccagcccgac 120

aagagcgtgc tggtggccgc tggcgaaacc gccaccctga gatgtacagc caccagcctg 180

atccccgtgg gccccatcca gtggtttaga ggcgctggcc ctggcagaga gctgatctac 240

aaccagaaag agggccactt ccccagagtg accaccgtgt ccgacctgac caagcggaac 300

aacatggact tcagcatccg gatcggcaac atcacccctg ccgatgccgg cacctactac 360

tgcgtgaagt tccggaaggg cagccccgac gacgtggaat tcaaaagcgg agccggcacc 420

gagctgagcg tgcgggctaa accttctgcc cctgtggtgt ctggacctgc cgccagagct 480

acacctcagc acaccgtgtc ttttacctgc gagagccacg gcttcagccc cagagacatc 540

accctgaagt ggttcaagaa cggcaacgag ctgtccgact tccagaccaa cgtggaccct 600

gtgggcgaga gcgtgtccta cagcatccac agcaccgcca aggtggtgct gacccgcgaa 660

gatgtgcaca gccaagtgat ctgcgaggtg gcccacgtga cactgcaggg cgatcctctg 720

agaggaaccg ccaacctgtc cgagacaatc agagtgcccc ccaccctgga agtgacccag 780

cagcctgtgc gggccgagaa ccaagtgaac gtgacctgcc aagtgcggaa gttctacccc 840

cagcggctgc agctgacctg gctggaaaac ggcaatgtgt cccggaccga gacagccagc 900

accgtgaccg agaacaagga tggcacctac aattggatga gctggctgct cgtgaacgtg 960

tccgcccacc gggacgatgt gaagctgaca tgccaggtgg aacacgacgg ccagcctgcc 1020

gtgtccaaga gccacgatct gaaggtgtca gcccatccca aagagcaggg ctccaacaca 1080

gcctgtccca gccctctgtt tcccggccct agcaagcctt tctgggtgct ggtggtggtc 1140

ggaggcgtgc tggcctgcta cagcctgctg gtcaccgtgg ccttcatcat cttttgggtc 1200

aagcggggca gaaagaagct gctgtacatc ttcaagcagc ctttcatgcg gcccgtgcag 1260

accacccagg aagaggacgg ctgctcctgc agattccccg aggaagaaga aggcggctgc 1320

gagctg 1326

<210> 23

<211> 1449

<212> DNA

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> تركيب huSIRP alpha-12aas-CD28Cys tm ic-41BBic

<400> 23

atggaacctg ccggacctgc tcctggcaga ctgggacctc tgctgtgtct gctgctggcc 60

gcctcttgtg cttggagcgg agtggctggc gaagaggaac tgcaagtgat ccagcccgac 120

aagagcgtgc tggtggccgc tggcgaaacc gccaccctga gatgtacagc caccagcctg 180

atccccgtgg gccccatcca gtggtttaga ggcgctggcc ctggcagaga gctgatctac 240

aaccagaaag agggccactt ccccagagtg accaccgtgt ccgacctgac caagcggaac 300

aacatggact tcagcatccg gatcggcaac atcacccctg ccgatgccgg cacctactac 360

tgcgtgaagt tccggaaggg cagccccgac gacgtggaat tcaaaagcgg agccggcacc 420

gagctgagcg tgcgggctaa accttctgcc cctgtggtgt ctggacctgc cgccagagct 480

acacctcagc acaccgtgtc ttttacctgc gagagccacg gcttcagccc cagagacatc 540

accctgaagt ggttcaagaa cggcaacgag ctgtccgact tccagaccaa cgtggaccct 600

gtgggcgaga gcgtgtccta cagcatccac agcaccgcca aggtggtgct gacccgcgaa 660

gatgtgcaca gccaagtgat ctgcgaggtg gcccacgtga cactgcaggg cgatcctctg 720

agaggaaccg ccaacctgtc cgagacaatc agagtgcccc ccaccctgga agtgacccag 780

cagcctgtgc gggccgagaa ccaagtgaac gtgacctgcc aagtgcggaa gttctacccc 840

cagcggctgc agctgacctg gctggaaaac ggcaatgtgt cccggaccga gacagccagc 900

accgtgaccg agaacaagga tggcacctac aattggatga gctggctgct cgtgaacgtg 960

tccgcccacc gggacgatgt gaagctgaca tgccaggtgg aacacgacgg ccagcctgcc 1020

gtgtccaaga gccacgatct gaaggtgtca gcccatccca aagagcaggg ctccaacaca 1080

gcctgtccca gccctctgtt tcccggccct agcaagcctt tctgggtgct ggtggtggtc 1140

ggaggcgtgc tggcctgcta cagcctgctg gtcaccgtgg ccttcatcat cttttgggtc 1200

cgcagcaagc ggagcagagg cggccacagc gactacatga acatgacccc tagacggcct 1260

ggccccacca gaaagcacta ccagccctac gcccctcccc gggactttgc cgcctacaga 1320

agcaagcggg gcagaaagaa gctgctgtac atcttcaagc agcctttcat gcggcccgtg 1380

cagaccaccc aggaagagga cggctgctcc tgcagattcc ccgaggaaga agaaggcggc 1440

tgcgagctg 1449

24 <210>

305 <211>

PRT <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> بروتين huCD200Rtm-CD28

24 <400>

Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu
15 10 5 1

Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys
30 25 20

Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser
45 40 35

Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile
60 55 50

Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly
80 75 70 65

Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys
95 90 85

Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp
110 105 100

Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro Val Ala Ile Thr His Asp Gly
125 120 115

Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly
140 135 130

Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn
160 155 150 145

Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala

175 170 165

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

190 185 180

Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val

205 200 195

His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn

220 215 210

Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro Val Pro Gly Ala Lys Lys Ser

240 235 230 225

Ala Lys Leu Tyr Ile Pro Tyr Ile Ile Leu Thr Ile Ile Ile Leu Thr

255 250 245

Ile Val Gly Phe Ile Trp Leu Leu Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly

270 265 260

His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg

285 280 275

Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg

300 295 290

Ser

305

25 <210>

243 <211>

PRT <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> نطاق كامل خارج الخلية huCD200R

نطاق كامل خارج الخلية huCD200R

25 <400>

Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu
15 10 5 1

Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys
30 25 20

Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser
45 40 35

Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile
60 55 50

Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly
80 75 70 65

Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys
95 90 85

Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp
110 105 100

Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro Val Ala Ile Thr His Asp Gly
125 120 115

Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly
140 135 130

Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn
160 155 150 145

Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala
175 170 165

Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp Cys Ala Thr Lys Gln Glu Tyr
190 185 180

Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val
205 200 195

His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn

220 215 210

Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro Val Pro Gly Ala Lys Lys Ser

240 235 230 225

Ala Lys Leu 5

26 <210>

21 <211>

PRT <212> 10

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

مجال الغشاء huCD200R <223>

15

26 <400>

Tyr Ile Pro Tyr Ile Ile Leu Thr Ile Ile Ile Leu Thr Ile Val Gly

15 10 5 1

Phe Ile Trp Leu Leu

20 20

27 <210>

27 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213> 25

<220>

بروتين المجال الغشائي CD28 <223>

27 <400>

Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu

15 10 5 1

Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val

25 20

28 <210>

41 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

البروتين داخل نطاق الخلايا CD28 <223>

28 <400>

Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr

15 10 5 1

Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro

30 25 20

Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

40 35

29 <210>

311 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

<223> پروتین huCD200R-CD28tm

<400> 29

Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu
1 5 10 15

Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys
20 25 30

Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser
35 40 45

Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile
50 55 60

Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly
65 70 75 80

Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys
85 90 95

Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp
100 105 110

Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro Val Ala Ile Thr His Asp Gly
115 120 125

Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly
130 135 140

Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn
145 150 155 160

Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala
165 170 175

Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp Cys Ala Thr Lys Gln Glu Tyr
180 185 190

Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val

205 200 195

His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn

220 215 210

Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro Val Pro Gly Ala Lys Lys Ser

240 235 230 225

Ala Lys Leu Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys

255 250 245

Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser

270 265 260

Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg

285 280 275

Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg

300 295 290

Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

310 305

<210> 30

<211> 314

<212> PRT

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> بروتين huCD200R-9aas-CD28Cys

<400> 30

Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu

15 10 5 1

Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys

30 25 20

Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser

45 40 35

Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile

60 55 50

Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly

80 75 70 65

Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys

95 90 85

Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp

110 105 100

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

125 120 115

Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly

140 135 130

Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn

160 155 150 145

Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala

175 170 165

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

190 185 180

Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val

205 200 195

His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn

220 215 210

Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro Val Cys Pro Ser Pro Leu Phe

240 235 230 225

Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val

255 250 245

Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp

270 265 260

Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met

285 280 275

Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala

300 295 290

Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

310 305

31 <210>

234 <211>

PRT <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> بروتين huCD200R-9aas

31 <400>

Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu

15 10 5 1

Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys

30 25 20

Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser

45 40 35

Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile

60 55 50

Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly

80 75 70 65

Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys

95 90 85

Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp

110 105 100

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

125 120 115

Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly

140 135 130

Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn

160 155 150 145

Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala

175 170 165

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

190 185 180

Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val

205 200 195

His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn

220 215 210

Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro Val

230 225

32 <210>

12 <211>

PRT <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> بروتين (جزء خارج الخلية) CD28Cys

<400> 32

Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro

1 5 10

<210> 33

<211> 311

<212> PRT

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> بروتين huCD200R-12aas-CD28Cys

<400> 33

Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu

1 5 10 15

Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys

20 25 30

Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser

35 40 45

Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile

50 55 60

Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly

65 70 75 80

Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys

95 90 85

Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp

110 105 100

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

125 120 115

Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly

140 135 130

Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn

160 155 150 145

Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala

175 170 165

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

190 185 180

Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val

205 200 195

His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn

220 215 210

Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro

240 235 230 225

Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys

255 250 245

Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser

270 265 260

Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg

285 280 275

Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg

300 295 290

Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

310 305

34 <210>

231 <211>

PRT <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> بروتين huCD200R-12aas

34 <400>

Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu

15 10 5 1

Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys

30 25 20

Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser

45 40 35

Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile

60 55 50

Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly

80 75 70 65

Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys

95 90 85

Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp

110 105 100

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

125 120 115

Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly

140 135 130

Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn

160 155 150 145

Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala

175 170 165

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

190 185 180

Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val

205 200 195

His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn

220 215 210

Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu

230 225

35 <210>

315 <211>

PRT <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> بروتين huCD200R-9aas-CD28Cys tm-41BBic

35 <400>

Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu

15 10 5 1

Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys

30 25 20

Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser

45 40 35

Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile

60 55 50

Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly

80 75 70 65

Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys

95 90 85

Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp

110 105 100

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

125 120 115

Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly

140 135 130

Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn

160 155 150 145

Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala

175 170 165

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

190 185 180

Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val

205 200 195

His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn

220 215 210

Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro Val Cys Pro Ser Pro Leu Phe

240 235 230 225

Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val

255 250 245

Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp

270 265 260

Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe

285 280 275

Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg

300 295 290

Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu

315 310 305

36 <210>

42 <211>

PRT <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> 1-4BB البروتين المكون داخل الخلايا

36 <400>

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met

15 10 5 1

Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe

30 25 20

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu

40 35

37 <210>

312 <211>

PRT <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> بروتين huCD200R-12aas-CD28Cys tm-41BBic

37 <400>

Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu
15 10 5 1

Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys
30 25 20

Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser
45 40 35

Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile
60 55 50

Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly
80 75 70 65

Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys
95 90 85

Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp
110 105 100

Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro Val Ala Ile Thr His Asp Gly
125 120 115

Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly
140 135 130

Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn
160 155 150 145

Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala

175 170 165

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

190 185 180

Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val

205 200 195

His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn

220 215 210

Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro

240 235 230 225

Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys

255 250 245

Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Lys Arg

270 265 260

Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro

285 280 275

Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu

300 295 290

Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu

310 305

38 <210>

353 <211>

PRT <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> بروتين huCD200R-12aas-CD28Cys tm ic-41BBic

38 <400>

Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu
15 10 5 1

Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys
30 25 20

Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser
45 40 35

Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile
60 55 50

Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly
80 75 70 65

Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys
95 90 85

Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp
110 105 100

Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro Val Ala Ile Thr His Asp Gly
125 120 115

Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly
140 135 130

Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn
160 155 150 145

Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala
175 170 165

Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp Cys Ala Thr Lys Gln Glu Tyr
190 185 180

Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val
205 200 195

His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn

220 215 210

Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro

240 235 230 225

Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys

255 250 245

Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser

270 265 260

Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg

285 280 275

Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg

300 295 290

Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr

320 315 310 305

Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu

335 330 325

Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu

350 345 340

Leu

39 <210>

435 <211>

PRT <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> بروتين huSIRP alpha tm-CD28

39 <400>

Met Glu Pro Ala Gly Pro Ala Pro Gly Arg Leu Gly Pro Leu Leu Cys
15 10 5 1

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

Glu Leu Gln Val Ile Gln Pro Asp Lys Ser Val Leu Val Ala Ala Gly
45 40 35

Glu Thr Ala Thr Leu Arg Cys Thr Ala Thr Ser Leu Ile Pro Val Gly
60 55 50

Pro Ile Gln Trp Phe Arg Gly Ala Gly Pro Gly Arg Glu Leu Ile Tyr
80 75 70 65

Asn Gln Lys Glu Gly His Phe Pro Arg Val Thr Thr Val Ser Asp Leu
95 90 85

Thr Lys Arg Asn Asn Met Asp Phe Ser Ile Arg Ile Gly Asn Ile Thr
110 105 100

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

Pro Asp Asp Val Glu Phe Lys Ser Gly Ala Gly Thr Glu Leu Ser Val
140 135 130

Arg Ala Lys Pro Ser Ala Pro Val Val Ser Gly Pro Ala Ala Arg Ala
160 155 150 145

Thr Pro Gln His Thr Val Ser Phe Thr Cys Glu Ser His Gly Phe Ser
175 170 165

Pro Arg Asp Ile Thr Leu Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Ser
190 185 180

Asp Phe Gln Thr Asn Val Asp Pro Val Gly Glu Ser Val Ser Tyr Ser
205 200 195

Ile His Ser Thr Ala Lys Val Val Leu Thr Arg Glu Asp Val His Ser
220 215 210

Gln Val Ile Cys Glu Val Ala His Val Thr Leu Gln Gly Asp Pro Leu
240 235 230 225

Arg Gly Thr Ala Asn Leu Ser Glu Thr Ile Arg Val Pro Pro Thr Leu
255 250 245

Glu Val Thr Gln Gln Pro Val Arg Ala Glu Asn Gln Val Asn Val Thr
270 265 260

Cys Gln Val Arg Lys Phe Tyr Pro Gln Arg Leu Gln Leu Thr Trp Leu
285 280 275

Glu Asn Gly Asn Val Ser Arg Thr Glu Thr Ala Ser Thr Val Thr Glu
300 295 290

Asn Lys Asp Gly Thr Tyr Asn Trp Met Ser Trp Leu Leu Val Asn Val
320 315 310 305

Ser Ala His Arg Asp Asp Val Lys Leu Thr Cys Gln Val Glu His Asp
335 330 325

Gly Gln Pro Ala Val Ser Lys Ser His Asp Leu Lys Val Ser Ala His
350 345 340

Pro Lys Glu Gln Gly Ser Asn Thr Ala Ala Glu Asn Thr Gly Ser Asn
365 360 355

Glu Arg Asn Ile Tyr Ile Val Val Gly Val Val Cys Thr Leu Leu Val
380 375 370

Ala Leu Leu Met Ala Ala Leu Tyr Leu Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg
400 395 390 385

Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro
415 410 405

Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala

430 425 420

Tyr Arg Ser

435

40 <210>

373 <211>

PRT <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> بروتين ألفا كامل huSIRP خارج الخلية

40 <400>

Met Glu Pro Ala Gly Pro Ala Pro Gly Arg Leu Gly Pro Leu Leu Cys

15 10 5 1

Leu Leu Leu Ala Ala Ser Cys Ala Trp Ser Gly Val Ala Gly Glu Glu

30 25 20

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

45 40 35

Glu Thr Ala Thr Leu Arg Cys Thr Ala Thr Ser Leu Ile Pro Val Gly

60 55 50

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

80 75 70 65

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

95 90 85

Thr Lys Arg Asn Asn Met Asp Phe Ser Ile Arg Ile Gly Asn Ile Thr

110 105 100

Pro Ala Asp Ala Gly Thr Tyr Tyr Cys Val Lys Phe Arg Lys Gly Ser

125 120 115

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

140 135 130

Arg Ala Lys Pro Ser Ala Pro Val Val Ser Gly Pro Ala Ala Arg Ala

160 155 150 145

Thr Pro Gln His Thr Val Ser Phe Thr Cys Glu Ser His Gly Phe Ser

175 170 165

Pro Arg Asp Ile Thr Leu Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Ser

190 185 180

Asp Phe Gln Thr Asn Val Asp Pro Val Gly Glu Ser Val Ser Tyr Ser

205 200 195

Ile His Ser Thr Ala Lys Val Val Leu Thr Arg Glu Asp Val His Ser

220 215 210

Gln Val Ile Cys Glu Val Ala His Val Thr Leu Gln Gly Asp Pro Leu

240 235 230 225

Arg Gly Thr Ala Asn Leu Ser Glu Thr Ile Arg Val Pro Pro Thr Leu

255 250 245

Glu Val Thr Gln Gln Pro Val Arg Ala Glu Asn Gln Val Asn Val Thr

270 265 260

Cys Gln Val Arg Lys Phe Tyr Pro Gln Arg Leu Gln Leu Thr Trp Leu

285 280 275

Glu Asn Gly Asn Val Ser Arg Thr Glu Thr Ala Ser Thr Val Thr Glu

300 295 290

Asn Lys Asp Gly Thr Tyr Asn Trp Met Ser Trp Leu Leu Val Asn Val

320 315 310 305

Ser Ala His Arg Asp Asp Val Lys Leu Thr Cys Gln Val Glu His Asp

335 330 325

Gly Gln Pro Ala Val Ser Lys Ser His Asp Leu Lys Val Ser Ala His

350 345 340

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

365 360 355

Glu Arg Asn Ile Tyr

370

41 <210>

21 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

ألفا بروتين المجال الغشائي huSIRP <223>

41 <400>

Ile Val Val Gly Val Val Cys Thr Leu Leu Val Ala Leu Leu Met Ala

15 10 5 1

Ala Leu Tyr Leu Val

20

42 <210>

441 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

بروتين huSIRP ألفا -CD28tm <223>

42 <400>

Met Glu Pro Ala Gly Pro Ala Pro Gly Arg Leu Gly Pro Leu Leu Cys
15 10 5 1

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

Glu Leu Gln Val Ile Gln Pro Asp Lys Ser Val Leu Val Ala Ala Gly
45 40 35

Glu Thr Ala Thr Leu Arg Cys Thr Ala Thr Ser Leu Ile Pro Val Gly
60 55 50

Pro Ile Gln Trp Phe Arg Gly Ala Gly Pro Gly Arg Glu Leu Ile Tyr
80 75 70 65

Asn Gln Lys Glu Gly His Phe Pro Arg Val Thr Thr Val Ser Asp Leu
95 90 85

Thr Lys Arg Asn Asn Met Asp Phe Ser Ile Arg Ile Gly Asn Ile Thr
110 105 100

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

Pro Asp Asp Val Glu Phe Lys Ser Gly Ala Gly Thr Glu Leu Ser Val
140 135 130

Arg Ala Lys Pro Ser Ala Pro Val Val Ser Gly Pro Ala Ala Arg Ala
160 155 150 145

Thr Pro Gln His Thr Val Ser Phe Thr Cys Glu Ser His Gly Phe Ser
175 170 165

Pro Arg Asp Ile Thr Leu Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Ser
190 185 180

Asp Phe Gln Thr Asn Val Asp Pro Val Gly Glu Ser Val Ser Tyr Ser
205 200 195

Ile His Ser Thr Ala Lys Val Val Leu Thr Arg Glu Asp Val His Ser
220 215 210

Gln Val Ile Cys Glu Val Ala His Val Thr Leu Gln Gly Asp Pro Leu
240 235 230 225

Arg Gly Thr Ala Asn Leu Ser Glu Thr Ile Arg Val Pro Pro Thr Leu
255 250 245

Glu Val Thr Gln Gln Pro Val Arg Ala Glu Asn Gln Val Asn Val Thr
270 265 260

Cys Gln Val Arg Lys Phe Tyr Pro Gln Arg Leu Gln Leu Thr Trp Leu
285 280 275

Glu Asn Gly Asn Val Ser Arg Thr Glu Thr Ala Ser Thr Val Thr Glu
300 295 290

Asn Lys Asp Gly Thr Tyr Asn Trp Met Ser Trp Leu Leu Val Asn Val
320 315 310 305

Ser Ala His Arg Asp Asp Val Lys Leu Thr Cys Gln Val Glu His Asp
335 330 325

Gly Gln Pro Ala Val Ser Lys Ser His Asp Leu Lys Val Ser Ala His
350 345 340

Pro Lys Glu Gln Gly Ser Asn Thr Ala Ala Glu Asn Thr Gly Ser Asn
365 360 355

Glu Arg Asn Ile Tyr Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu
380 375 370

Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val
400 395 390 385

Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr
415 410 405

Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro

430 425 420

Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

440 435

43 <210>

441 <211>

PRT <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> بروتين huSIRP ألفا -12aas-CD28Cys

43 <400>

Met Glu Pro Ala Gly Pro Ala Pro Gly Arg Leu Gly Pro Leu Leu Cys

15 10 5 1

Leu Leu Leu Ala Ala Ser Cys Ala Trp Ser Gly Val Ala Gly Glu Glu

30 25 20

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

45 40 35

Glu Thr Ala Thr Leu Arg Cys Thr Ala Thr Ser Leu Ile Pro Val Gly

60 55 50

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

80 75 70 65

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

95 90 85

Thr Lys Arg Asn Asn Met Asp Phe Ser Ile Arg Ile Gly Asn Ile Thr

110 105 100

Pro Ala Asp Ala Gly Thr Tyr Tyr Cys Val Lys Phe Arg Lys Gly Ser

125 120 115

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

140 135 130

Arg Ala Lys Pro Ser Ala Pro Val Val Ser Gly Pro Ala Ala Arg Ala

160 155 150 145

Thr Pro Gln His Thr Val Ser Phe Thr Cys Glu Ser His Gly Phe Ser

175 170 165

Pro Arg Asp Ile Thr Leu Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Ser

190 185 180

Asp Phe Gln Thr Asn Val Asp Pro Val Gly Glu Ser Val Ser Tyr Ser

205 200 195

Ile His Ser Thr Ala Lys Val Val Leu Thr Arg Glu Asp Val His Ser

220 215 210

Gln Val Ile Cys Glu Val Ala His Val Thr Leu Gln Gly Asp Pro Leu

240 235 230 225

Arg Gly Thr Ala Asn Leu Ser Glu Thr Ile Arg Val Pro Pro Thr Leu

255 250 245

Glu Val Thr Gln Gln Pro Val Arg Ala Glu Asn Gln Val Asn Val Thr

270 265 260

Cys Gln Val Arg Lys Phe Tyr Pro Gln Arg Leu Gln Leu Thr Trp Leu

285 280 275

Glu Asn Gly Asn Val Ser Arg Thr Glu Thr Ala Ser Thr Val Thr Glu

300 295 290

Asn Lys Asp Gly Thr Tyr Asn Trp Met Ser Trp Leu Leu Val Asn Val

320 315 310 305

Ser Ala His Arg Asp Asp Val Lys Leu Thr Cys Gln Val Glu His Asp

335 330 325

Gly Gln Pro Ala Val Ser Lys Ser His Asp Leu Lys Val Ser Ala His

350 345 340

Pro Lys Glu Gln Gly Ser Asn Thr Ala Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro

365 360 355

Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu

380 375 370

Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val

400 395 390 385

Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr

415 410 405

Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro

430 425 420

Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

440 435

44 <210>

361 <211>

PRT <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> بروتين huSIRP ألفا 12aas-

44 <400>

Met Glu Pro Ala Gly Pro Ala Pro Gly Arg Leu Gly Pro Leu Leu Cys

15 10 5 1

Leu Leu Leu Ala Ala Ser Cys Ala Trp Ser Gly Val Ala Gly Glu Glu

30 25 20

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

45 40 35

Glu Thr Ala Thr Leu Arg Cys Thr Ala Thr Ser Leu Ile Pro Val Gly

60 55 50

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

80 75 70 65

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

95 90 85

Thr Lys Arg Asn Asn Met Asp Phe Ser Ile Arg Ile Gly Asn Ile Thr

110 105 100

Pro Ala Asp Ala Gly Thr Tyr Tyr Cys Val Lys Phe Arg Lys Gly Ser

125 120 115

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

140 135 130

Arg Ala Lys Pro Ser Ala Pro Val Val Ser Gly Pro Ala Ala Arg Ala

160 155 150 145

Thr Pro Gln His Thr Val Ser Phe Thr Cys Glu Ser His Gly Phe Ser

175 170 165

Pro Arg Asp Ile Thr Leu Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Ser

190 185 180

Asp Phe Gln Thr Asn Val Asp Pro Val Gly Glu Ser Val Ser Tyr Ser

205 200 195

Ile His Ser Thr Ala Lys Val Val Leu Thr Arg Glu Asp Val His Ser

220 215 210

Gln Val Ile Cys Glu Val Ala His Val Thr Leu Gln Gly Asp Pro Leu

240 235 230 225

Arg Gly Thr Ala Asn Leu Ser Glu Thr Ile Arg Val Pro Pro Thr Leu

255 250 245

Glu Val Thr Gln Gln Pro Val Arg Ala Glu Asn Gln Val Asn Val Thr

270 265 260

Cys Gln Val Arg Lys Phe Tyr Pro Gln Arg Leu Gln Leu Thr Trp Leu

285 280 275

Glu Asn Gly Asn Val Ser Arg Thr Glu Thr Ala Ser Thr Val Thr Glu

300 295 290

Asn Lys Asp Gly Thr Tyr Asn Trp Met Ser Trp Leu Leu Val Asn Val

320 315 310 305

Ser Ala His Arg Asp Asp Val Lys Leu Thr Cys Gln Val Glu His Asp

335 330 325

Gly Gln Pro Ala Val Ser Lys Ser His Asp Leu Lys Val Ser Ala His

350 345 340

Pro Lys Glu Gln Gly Ser Asn Thr Ala

360 355

45 <210>

442 <211>

PRT <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> بروتين huSIRP ألفا -12aas-CD28Cys tm-41BBic

45 <400>

Met Glu Pro Ala Gly Pro Ala Pro Gly Arg Leu Gly Pro Leu Leu Cys

15 10 5 1

Leu Leu Leu Ala Ala Ser Cys Ala Trp Ser Gly Val Ala Gly Glu Glu

30 25 20

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

45 40 35

Glu Thr Ala Thr Leu Arg Cys Thr Ala Thr Ser Leu Ile Pro Val Gly

60 55 50

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

80 75 70 65

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

95 90 85

Thr Lys Arg Asn Asn Met Asp Phe Ser Ile Arg Ile Gly Asn Ile Thr

110 105 100

Pro Ala Asp Ala Gly Thr Tyr Tyr Cys Val Lys Phe Arg Lys Gly Ser

125 120 115

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

140 135 130

Arg Ala Lys Pro Ser Ala Pro Val Val Ser Gly Pro Ala Ala Arg Ala

160 155 150 145

Thr Pro Gln His Thr Val Ser Phe Thr Cys Glu Ser His Gly Phe Ser

175 170 165

Pro Arg Asp Ile Thr Leu Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Ser

190 185 180

Asp Phe Gln Thr Asn Val Asp Pro Val Gly Glu Ser Val Ser Tyr Ser

205 200 195

Ile His Ser Thr Ala Lys Val Val Leu Thr Arg Glu Asp Val His Ser

220 215 210

Gln Val Ile Cys Glu Val Ala His Val Thr Leu Gln Gly Asp Pro Leu

240 235 230 225

Arg Gly Thr Ala Asn Leu Ser Glu Thr Ile Arg Val Pro Pro Thr Leu
255 250 245

Glu Val Thr Gln Gln Pro Val Arg Ala Glu Asn Gln Val Asn Val Thr
270 265 260

Cys Gln Val Arg Lys Phe Tyr Pro Gln Arg Leu Gln Leu Thr Trp Leu
285 280 275

Glu Asn Gly Asn Val Ser Arg Thr Glu Thr Ala Ser Thr Val Thr Glu
300 295 290

Asn Lys Asp Gly Thr Tyr Asn Trp Met Ser Trp Leu Leu Val Asn Val
320 315 310 305

Ser Ala His Arg Asp Asp Val Lys Leu Thr Cys Gln Val Glu His Asp
335 330 325

Gly Gln Pro Ala Val Ser Lys Ser His Asp Leu Lys Val Ser Ala His
350 345 340

Pro Lys Glu Gln Gly Ser Asn Thr Ala Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro
365 360 355

Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu
380 375 370

Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val
400 395 390 385

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
415 410 405

Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
430 425 420

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
440 435

46 <210>

<211> 483

<212> PRT

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> بروتين ألفا huSIRP ic-41BBic tm Cys-CD28-12aas-

<400> 46

Met Glu Pro Ala Gly Pro Ala Pro Gly Arg Leu Gly Pro Leu Leu Cys
1 5 10 15

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

Glu Leu Gln Val Ile Gln Pro Asp Lys Ser Val Leu Val Ala Ala Gly
35 40 45

Glu Thr Ala Thr Leu Arg Cys Thr Ala Thr Ser Leu Ile Pro Val Gly
50 55 60

Pro Ile Gln Trp Phe Arg Gly Ala Gly Pro Gly Arg Glu Leu Ile Tyr
65 70 75 80

Asn Gln Lys Glu Gly His Phe Pro Arg Val Thr Thr Val Ser Asp Leu
85 90 95

Thr Lys Arg Asn Asn Met Asp Phe Ser Ile Arg Ile Gly Asn Ile Thr
100 105 110

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

Pro Asp Asp Val Glu Phe Lys Ser Gly Ala Gly Thr Glu Leu Ser Val
130 135 140

Arg Ala Lys Pro Ser Ala Pro Val Val Ser Gly Pro Ala Ala Arg Ala
145 150 155 160

Thr Pro Gln His Thr Val Ser Phe Thr Cys Glu Ser His Gly Phe Ser
175 170 165

Pro Arg Asp Ile Thr Leu Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Ser
190 185 180

Asp Phe Gln Thr Asn Val Asp Pro Val Gly Glu Ser Val Ser Tyr Ser
205 200 195

Ile His Ser Thr Ala Lys Val Val Leu Thr Arg Glu Asp Val His Ser
220 215 210

Gln Val Ile Cys Glu Val Ala His Val Thr Leu Gln Gly Asp Pro Leu
240 235 230 225

Arg Gly Thr Ala Asn Leu Ser Glu Thr Ile Arg Val Pro Pro Thr Leu
255 250 245

Glu Val Thr Gln Gln Pro Val Arg Ala Glu Asn Gln Val Asn Val Thr
270 265 260

Cys Gln Val Arg Lys Phe Tyr Pro Gln Arg Leu Gln Leu Thr Trp Leu
285 280 275

Glu Asn Gly Asn Val Ser Arg Thr Glu Thr Ala Ser Thr Val Thr Glu
300 295 290

Asn Lys Asp Gly Thr Tyr Asn Trp Met Ser Trp Leu Leu Val Asn Val
320 315 310 305

Ser Ala His Arg Asp Asp Val Lys Leu Thr Cys Gln Val Glu His Asp
335 330 325

Gly Gln Pro Ala Val Ser Lys Ser His Asp Leu Lys Val Ser Ala His
350 345 340

Pro Lys Glu Gln Gly Ser Asn Thr Ala Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro
365 360 355

Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu

380 375 370

Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val

400 395 390 385

Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr

415 410 405

Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro

430 425 420

Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu

445 440 435

Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln

460 455 450

Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly

480 475 470 465

Cys Glu Leu

47 <210>

900 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muCD200Rtm-CD28 <223>

47 <400>

atgttctgct tctggcggac aagcgccctg gccgtgctgc tgatctgggg agtgtttgtg 60

gccggcagca gctgcaccga caagaaccag accacccaga acaacagcag cagccccctg 120

acccaagtga acaccaccgt gtccgtgcag atcggcacca aggccctgct gtgctgtttc 180

agcatccctc tgaccaaggc tgtgctgatc acctggatca tcaagctgag aggcctgccc 240

agctgcacaa tcgcctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctgggcaga 300

aacatcacct gggccagcac cccagaccac agccctgagc tgcagatcag cgccgtgaca 360

ctgcagcacg agggcaccta cacatgcgag acagtgaccc ccgagggcaa cttcgagaag 420

aactacgatc tgcaggtgct ggtgcccccc gaagtgacct acttccccga gaagaataga 480

agcgccgtgt gcgaggccat ggctggcaaa cctgccgccc agatctcttg gagccctgac 540

ggcgactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgaccgt gcggagcacc 600

tgtcactggg agcagaacaa cgtgtccgac gtgtcctgca tcgtgtccca cctgaccggc 660

aaccagagcc tgagcatcga gctgagcaga ggcggaaacc agtccctgag gccctacatc 720

ccttacatca tccccagcat catcatcctg atcatcatcg gctgcatctg cctgctgaac 780

agcagaagaa acagaggcgg ccagagcgac tacatgaaca tgaccccccag aaggcctggc 840

ctgaccagaa agccctacca gccttacgcc cctgccagag acttcgccgc ctacagacct 900

48 <210>

918 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muCD200R-CD28tm <223>

48 <400>

atgttctgct tctggcggac aagcgccctg gccgtgctgc tgatctgggg agtgtttgtg 60

gccggcagca gctgcaccga caagaaccag accacccaga acaacagcag cagccccctg 120

acccaagtga acaccaccgt gtccgtgcag atcggcacca aggccctgct gtgctgtttc 180

agcatccctc tgaccaaggc tgtgctgatc acctggatca tcaagctgag aggcctgccc 240

agctgcacaa tcgcctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctgggcaga 300

aacatcacct gggccagcac cccagaccac agccctgagc tgcagatcag cgccgtgaca 360

ctgcagcacg agggcaccta cacatgcgag acagtgaccc ccgagggcaa cttcgagaag 420

aactacgatc tgcaggtgct ggtgcccccc gaagtgacct acttccccga gaagaataga 480

agcgccgtgt gcgaggccat ggctggcaaa cctgccgccc agatctcttg gagccctgac 540

ggcgactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgaccgt gcggagcacc 600

tgtcactggg agcagaacaa cgtgtccgac gtgtcctgca tcgtgtccca cctgaccggc 660

aaccagagcc tgagcatcga gctgagcaga ggcggaaacc agtccctgag gcccttctgg 720

gccctggtgg tggtggccgg cgtgctgttt tgttacggcc tgctcgtgac cgtggccctg 780

tgcgtgatct ggaccaacag cagaagaaac agaggcggcc agagcgacta catgaacatg 840

acccccagaa ggcctggcct gaccagaaag ccctaccagc cttacgcccc tgccagagac 900

ttcgccgcct acagacct 918

49 <210>

945 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muCD200R-CD28Cys <223>

49 <400>

atgttctgct tctggcggac aagcgccctg gccgtgctgc tgatctgggg agtgtttgtg 60

gccggcagca gctgcaccga caagaaccag accacccaga acaacagcag cagccccctg 120

acccaagtga acaccaccgt gtccgtgcag atcggcacca aggccctgct gtgctgtttc 180

agcatccctc tgaccaaggc tgtgctgatc acctggatca tcaagctgag aggcctgccc 240

agctgcacaa tcgcctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctgggcaga 300

aacatcacct gggccagcac cccagaccac agccctgagc tgcagatcag cgccgtgaca 360

ctgcagcacg agggcaccta cacatgcgag acagtgaccc ccgagggcaa cttcgagaag 420

aactacgatc tgcaggtgct ggtgcccccc gaagtgacct acttccccga gaagaataga 480

agcgccgtgt gcgaggccat ggctggcaaa cctgccgccc agatctcttg gagccctgac 540

ggcgactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgaccgt gcggagcacc 600

tgtcactggg agcagaacaa cgtgtccgac gtgtcctgca tcgtgtccca cctgaccggc 660

aaccagagcc tgagcatcga gctgagcaga ggcggaaacc agtccctgag gccctgccac 720

acccagagca gccccaagct gttctgggcc ctggtggtgg tggccggcgt gctgttttgt 780

tacggcctgc tcgtgaccgt ggccctgtgc gtgatctgga ccaacagcag aagaaacaga 840

ggcggccaga gcgactacat gaacatgacc cccagaaggc ctggcctgac cagaaagccc 900

taccagcctt acgcccctgc cagagacttc gccgcctaca gacct 945

<210> 50

<211> 936

<212> DNA

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> muCD200R-3aas-CD28Cys

<400> 50

atgttctgct tctggcggac aagcgccctg gccgtgctgc tgatctgggg agtgtttgtg 60

gccggcagca gctgcaccga caagaaccag accacccaga acaacagcag cagccccctg 120

acccaagtga acaccaccgt gtccgtgcag atcggcacca aggccctgct gtgctgtttc 180

agcatccctc tgaccaaggc tgtgctgatc acctggatca tcaagctgag aggcctgccc 240

agctgcacaa tcgcctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctgggcaga 300

aacatcacct gggccagcac cccagaccac agccctgagc tgcagatcag cgccgtgaca 360

ctgcagcacg agggcaccta cacatgcgag acagtgaccc ccgagggcaa cttcgagaag 420

aactacgatc tgcaggtgct ggtgcccccc gaagtgacct acttccccga gaagaataga 480

agcgccgtgt gcgaggccat ggctggcaaa cctgccgccc agatctcttg gagccctgac 540

ggcgactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgaccgt gcggagcacc 600

tgtcactggg agcagaacaa cgtgtccgac gtgtcctgca tcgtgtccca cctgaccggc 660

aaccagagcc tgagcatcga gctgagcaga ggcggaaacc agtcctgcca cacccagagc 720

agccccaagc tgttctgggc cctggtggtg gtggccggcg tgctgttttg ttacggcctg 780

ctcgtgaccg tggccctgtg cgtgatctgg accaacagca gaagaaacag aggcggccag 840

agcgactaca tgaacatgac ccccagaagg cctggcctga ccagaaagcc ctaccagcct 900

tacgcccctg ccagagactt cgccgcctac agacct 936

51 <210>

918 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muCD200R-9aas-CD28Cys <223>

51 <400>

atgttctgct tctggcggac aagcgccctg gccgtgctgc tgatctgggg agtgtttgtg 60

gccggcagca gctgcaccga caagaaccag accacccaga acaacagcag cagccccctg 120

acccaagtga acaccaccgt gtccgtgcag atcggcacca aggccctgct gtgctgtttc 180

agcatccctc tgaccaaggc tgtgctgatc acctggatca tcaagctgag aggcctgccc 240

agctgcacaa tcgcctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctgggcaga 300

aacatcacct gggccagcac cccagaccac agccctgagc tgcagatcag cgccgtgaca 360

ctgcagcacg agggcaccta cacatgcgag acagtgaccc ccgagggcaa cttcgagaag 420

aactacgatc tgcaggtgct ggtgcccccc gaagtgacct acttccccga gaagaataga 480

agcgccgtgt gcgaggccat ggctggcaaa cctgccgccc agatctcttg gagccctgac 540

ggcgactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgaccgt gcggagcacc 600

tgtcactggg agcagaacaa cgtgtccgac gtgtcctgca tcgtgtccca cctgaccggc 660

aaccagagcc tgagcatcga gctgagctgc cacacccaga gcagccccaa gctgttctgg 720

gccctggtgg tggtggccgg cgtgctgttt tgttacggcc tgctcgtgac cgtggccctg 780

tgcgtgatct ggaccaacag cagaagaaac agaggcggcc agagcgacta catgaacatg 840

acccccagaa ggcctggcct gaccagaaag ccctaccagc cttacgcccc tgccagagac 900

ttcgccgcct acagacct 918

52 <210>

939 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muCD200R-9aas-CD28Cys tm-41BBic <223>

52 <400>

atgttctgct tctggcggac aagcgccctg gccgtgctgc tgatctgggg agtgtttgtg 60

gccggcagca gctgcaccga caagaaccag accacccaga acaacagcag cagccccctg 120

acccaagtga acaccaccgt gtccgtgcag atcggcacca aggccctgct gtgctgtttc 180

agcatccctc tgaccaaggc tgtgctgatc acctggatca tcaagctgag aggcctgccc 240

agctgcacaa tcgcctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctgggcaga 300

aacatcacct gggccagcac cccagaccac agccctgagc tgcagatcag cgccgtgaca 360

ctgcagcacg agggcaccta cacatgcgag acagtgaccc ccgagggcaa cttcgagaag 420

aactacgatc tgcaggtgct ggtgcccccc gaagtgacct acttccccga gaagaataga 480

agcgccgtgt gcgaggccat ggctggcaaa cctgccgccc agatctcttg gagccctgac 540

ggcgactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgaccgt gcggagcacc 600

tgtcactggg agcagaacaa cgtgtccgac gtgtcctgca tcgtgtccca cctgaccggc 660

aaccagagcc tgagcatcga gctgagctgc cacacccaga gcagccccaa gctgttctgg 720

gccctggtgg tggtggccgg cgtgctgttt tgttacggcc tgctcgtgac cgtggccctg 780

tgcgtgatct ggaccagcgt gctgaagtgg atcagaaaga agttccccca catcttcaag 840

cagcccttca agaaaaccac cggcgctgcc caggaagagg acgcctgcag ctgtagatgc 900

cctcaggaag aagaaggcgg cggaggcggc tacgagctg 939

53 <210>

1062 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muCD200R-9aas-CD28Cys tm ic-41BBic <223>

53 <400>

atgttctgct tctggcggac aagcgccctg gccgtgctgc tgatctgggg agtgtttgtg 60

gccggcagca gctgcaccga caagaaccag accacccaga acaacagcag cagccccctg 120

acccaagtga acaccaccgt gtccgtgcag atcggcacca aggccctgct gtgctgtttc 180

agcatccctc tgaccaaggc tgtgctgatc acctggatca tcaagctgag aggcctgccc 240

agctgcacaa tcgcctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctgggcaga 300

aacatcacct gggccagcac cccagaccac agccctgagc tgcagatcag cgccgtgaca 360

ctgcagcacg agggcaccta cacatgcgag acagtgaccc ccgagggcaa cttcgagaag 420

aactacgatc tgcaggtgct ggtgcccccc gaagtgacct acttccccga gaagaataga 480

agcgccgtgt gcgaggccat ggctggcaaa cctgccgccc agatctcttg gagccctgac 540

ggcgactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgaccgt gcggagcacc 600

tgtcactggg agcagaacaa cgtgtccgac gtgtcctgca tcgtgtccca cctgaccggc 660

aaccagagcc tgagcatcga gctgagctgc cacacccaga gcagccccaa gctgttctgg 720

gccctggtgg tggtggccgg cgtgctgttt tgttacggcc tgctcgtgac cgtggccctg 780

tgcgtgatct ggaccaacag cagaagaaac agaggcggcc agagcgacta catgaacatg 840

acccccagaa ggcctggcct gaccagaaag ccctaccagc cttacgcccc tgccagagac 900

ttcgccgcct acagacctag cgtgctgaag tggatcagaa agaagttccc ccacatcttc 960

aagcagccct tcaagaaaac caccggcgct gcccaggaag aggacgcctg cagctgtaga 1020

tgccctcagg aagaagaagg cggcggaggc ggctacgagc tg 1062

54 <210>

1305 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muSIRP alpha tm-CD28 <223>

54 <400>

atggaacctg ctggacctgc ccctggcaga ctgggacctc tgctgctgtg cctgctgctg 60

agcgccagct gtttctgtac cggcgccacc ggcaaagaac tgaaagtgac ccagcccgag 120

aagtccgtgt ctgtggccgc tggcgacagc accgtgctga actgtaccct gaccagcctg 180

ctgcccgtgg gccccatcag atggtataga ggcgtgggcc ctagcagact gctgatctac 240

agcttcgctg gcgagtacgt gcccagaatc agaaacgtgt ccgacaccac caagcggaac 300

aacatggact tcagcatcag gatcagcaac gtgacccctg ccgacgccgg catctactac 360

tgcgtgaagt tccagaaggg cagcagcgag cccgacaccg agattcagtc tggcggcgga 420

accgaggtgt acgtgctggc taagcccagc cctcctgagg tgtccggccc tgctgataga 480

ggcatccccg accagaaagt gaacttcaca tgcaagagcc acggcttcag ccccagaaac 540

atcaccctga agtggttcaa ggacggccag gaactgcacc ccctggaaac caccgtgaac 600

cccagcggca agaacgtgtc ctacaacatc agctccaccg tgcgggtggt gctgaacagc 660

atggacgtga acagcaaagt gatctgcgag gtggcccaca tcacactgga cagaagcccc 720

ctgagaggaa tcgccaacct gagcaacttc atcagagtgt ccccaaccgt gaaagtgaca 780

cagcagagcc ccaccagcat gaaccaagtg aacctgacct gcagagccga gagattctac 840

cccgaggacc tgcagctgat ctggctggaa aacggcaacg tgtccagaaa cgacaccccc 900

aagaacctga caaagaacac cgacggcacc tacaactaca cctccctgtt tctcgtgaac 960

tcctccgccc accgcgagga cgtggtgttc acgtgccaag tgaagcacga ccagcagccc 1020

gccatcacca gaaaccacac agtgctgggc ttcgcccaca gcagcgacca gggcagcatg 1080

cagaccttcc ccgacaacaa cgccacccac aactggaacg tgttcatcgg cgtgggcgtg 1140

gcctgtgctc tgctggtggt gctgctgatg gccgccctgt ataacagcag aagaaacaga 1200

ggcggccaga gcgactacat gaacatgacc cccagaaggc ctggcctgac cagaaagccc 1260

taccagcctt acgcccctgc cagagacttc gccgcctaca gacct 1305

<210> 55

<211> 1323

<212> DNA

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> muSIRP ألفا -CD28tm

<400> 55

atggaacctg ctggacctgc ccctggcaga ctgggacctc tgctgctgtg cctgctgctg 60

agcgccagct gtttctgtac cggcgccacc ggcaaagaac tgaaagtgac ccagcccgag 120

aagtccgtgt ctgtggccgc tggcgacagc accgtgctga actgtaccct gaccagcctg 180

ctgcccgtgg gccccatcag atggtataga ggcgtgggcc ctagcagact gctgatctac 240

agcttcgctg gcgagtacgt gcccagaatc agaaacgtgt ccgacaccac caagcggaac 300

aacatggact tcagcatcag gatcagcaac gtgacccctg ccgacgccgg catctactac 360

tgcgtgaagt tccagaaggg cagcagcgag cccgacaccg agattcagtc tggcggcgga 420

accgaggtgt acgtgctggc taagcccagc cctcctgagg tgtccggccc tgctgataga 480

ggcatccccg accagaaagt gaacttcaca tgcaagagcc acggcttcag ccccagaaac 540

atcaccctga agtggttcaa ggacggccag gaactgcacc ccctggaaac caccgtgaac 600

cccagcggca agaacgtgtc ctacaacatc agctccaccg tgcgggtggt gctgaacagc 660

atggacgtga acagcaaagt gatctgcgag gtggcccaca tcacactgga cagaagcccc 720

ctgagaggaa tcgccaacct gagcaacttc atcagagtgt ccccaaccgt gaaagtgaca 780

cagcagagcc ccaccagcat gaaccaagtg aacctgacct gcagagccga gagattctac 840

cccgaggacc tgcagctgat ctggctggaa aacggcaacg tgtccagaaa cgacaccccc 900

aagaacctga caaagaacac cgacggcacc tacaactaca cctccctgtt tctcgtgaac 960

tcctccgccc accgcgagga cgtggtgttc acgtgccaag tgaagcacga ccagcagccc 1020

gccatcacca gaaaccacac agtgctgggc ttcgcccaca gcagcgacca gggcagcatg 1080

cagaccttcc ccgacaacaa cgccacccac aactggaact tctgggccct ggtggtggtg 1140

gccggcgtgc tgttttgtta cggcctgctc gtgaccgtgg ccctgtgcgt gatctggacc 1200

aacagcagaa gaaacagagg cggccagagc gactacatga acatgacccc cagaaggcct 1260

ggcctgacca gaaagcccta ccagccttac gcccctgcca gagacttcgc cgcctacaga 1320

cct 1323

56 <210>

1350 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

-CD28cys ألفا muSIRP <223>

56 <400>

atggaacctg ctggacctgc ccctggcaga ctgggacctc tgctgctgtg cctgctgctg 60

agcgccagct gtttctgtac cggcgccacc ggcaaagaac tgaaagtgac ccagcccgag 120

aagtccgtgt ctgtggccgc tggcgacagc accgtgctga actgtaccct gaccagcctg 180

ctgcccgtgg gccccatcag atggtataga ggcgtgggcc ctagcagact gctgatctac 240

agcttcgctg gcgagtacgt gcccagaatc agaaacgtgt ccgacaccac caagcggaac 300

aacatggact tcagcatcag gatcagcaac gtgacccctg ccgacgccgg catctactac 360

tgcgtgaagt tccagaaggg cagcagcgag cccgacaccg agattcagtc tggcggcgga 420

accgaggtgt acgtgctggc taagcccagc cctcctgagg tgtccggccc tgctgataga 480

ggcatccccg accagaaagt gaacttcaca tgcaagagcc acggcttcag ccccagaaac 540

atcaccctga agtggttcaa ggacggccag gaactgcacc ccctggaaac caccgtgaac 600

cccagcggca agaacgtgtc ctacaacatc agctccaccg tgcgggtggt gctgaacagc 660

atggacgtga acagcaaagt gatctgcgag gtggcccaca tcacactgga cagaagcccc 720

ctgagaggaa tcgccaacct gagcaacttc atcagagtgt ccccaaccgt gaaagtgaca 780

cagcagagcc ccaccagcat gaaccaagtg aacctgacct gcagagccga gagattctac 840

cccgaggacc tgcagctgat ctggctggaa aacggcaacg tgtccagaaa cgacaccccc 900

aagaacctga caaagaacac cgacggcacc tacaactaca cctccctgtt tctcgtgaac 960

tcctccgccc accgcgagga cgtggtgttc acgtgccaag tgaagcacga ccagcagccc 1020

gccatcacca gaaaccacac agtgctgggc ttcgcccaca gcagcgacca gggcagcatg 1080

cagaccttcc ccgacaacaa cgccacccac aactggaact gccacaccca gagcagcccc 1140

aagctgttct gggctctggt ggtggtggcc ggcgtgctgt tttgttacgg cctgctcgtg 1200

accgtggccc tgtgcgtgat ctggaccaac agcagaagaa acagaggcgg ccagagcgac 1260

tacatgaaca tgaccccag aaggcctggc ctgacccgga agccttacca gccttacgcc 1320

cctgccagag acttcgccgc ctacagacct 1350

57 <210>

1332 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muSIRP ألفا -6aas-CD28cys <223>

57 <400>

atggaacctg ctggacctgc ccctggcaga ctgggacctc tgctgctgtg cctgctgctg 60

agcgccagct gtttctgtac cggcgccacc ggcaaagaac tgaaagtgac ccagcccgag 120

aagtccgtgt ctgtggccgc tggcgacagc accgtgctga actgtaccct gaccagcctg 180

ctgcccgtgg gccccatcag atggtataga ggcgtgggcc ctagcagact gctgatctac 240

agcttcgctg gcgagtacgt gcccagaatc agaaacgtgt ccgacaccac caagcggaac 300

aacatggact tcagcatcag gatcagcaac gtgacccctg ccgacgccgg catctactac 360

tgcgtgaagt tccagaaggg cagcagcgag cccgacaccg agattcagtc tggcggcgga 420

accgaggtgt acgtgctggc taagcccagc cctcctgagg tgtccggccc tgctgataga 480

ggcatccccg accagaaagt gaacttcaca tgcaagagcc acggcttcag ccccagaaac 540

atcaccctga agtggttcaa ggacggccag gaactgcacc ccctggaaac caccgtgaac 600

cccagcggca agaacgtgtc ctacaacatc agctccaccg tgcgggtggt gctgaacagc 660

atggacgtga acagcaaagt gatctgcgag gtggcccaca tcacactgga cagaagcccc 720

ctgagaggaa tcgccaacct gagcaacttc atcagagtgt ccccaaccgt gaaagtgaca 780

cagcagagcc ccaccagcat gaaccaagtg aacctgacct gcagagccga gagattctac 840

cccgaggacc tgcagctgat ctggctggaa aacggcaacg tgtccagaaa cgacaccccc 900

aagaacctga caaagaacac cgacggcacc tacaactaca cctccctgtt tctcgtgaac 960

tcctccgccc accgcgagga cgtggtgttc acgtgccaag tgaagcacga ccagcagccc 1020

gccatcacca gaaaccacac agtgctgggc ttcgcccaca gcagcgacca gggcagcatg 1080

cagaccttcc ccgacaacaa ctgccacacc cagagcagcc ccaagctgtt ctgggctctg 1140

gtggtggtgg ccggcgtgct gttttgttac ggcctgctcg tgaccgtggc cctgtgcgtg 1200

atctggacca acagcagaag aaacagaggc ggccagagcg actacatgaa catgacccca 1260

agaaggcctg gcctgacccg gaagccttac cagccttacg cccctgccag agacttcgcc 1320

gcctacagac ct 1332

58 <210>

1323 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

-9aas-CD28cys ألفا muSIRP <223>

58 <400>

atggaacctg ctggacctgc ccctggcaga ctgggacctc tgctgctgtg cctgctgctg 60

agcgccagct gtttctgtac cggcgccacc ggcaaagaac tgaaagtgac ccagcccgag 120

aagtccgtgt ctgtggccgc tggcgacagc accgtgctga actgtaccct gaccagcctg 180

ctgcccgtgg gccccatcag atggtataga ggcgtgggcc ctagcagact gctgatctac 240

agcttcgctg gcgagtacgt gcccagaatc agaaacgtgt ccgacaccac caagcggaac 300

aacatggact tcagcatcag gatcagcaac gtgacccctg ccgacgccgg catctactac 360

tgcgtgaagt tccagaaggg cagcagcgag cccgacaccg agattcagtc tggcggcgga 420

accgaggtgt acgtgctggc taagcccagc cctcctgagg tgtccggccc tgctgataga 480

ggcatccccg accagaaagt gaacttcaca tgcaagagcc acggcttcag ccccagaaac 540

atcaccctga agtggttcaa ggacggccag gaactgcacc ccctggaaac caccgtgaac 600

cccagcggca agaacgtgtc ctacaacatc agctccaccg tgcgggtggt gctgaacagc 660

atggacgtga acagcaaagt gatctgcgag gtggcccaca tcacactgga cagaagcccc 720

ctgagaggaa tcgccaacct gagcaacttc atcagagtgt ccccaaccgt gaaagtgaca 780

cagcagagcc ccaccagcat gaaccaagtg aacctgacct gcagagccga gagattctac 840

cccgaggacc tgcagctgat ctggctggaa aacggcaacg tgtccagaaa cgacaccccc 900

aagaacctga caaagaacac cgacggcacc tacaactaca cctccctgtt tctcgtgaac 960

tcctccgccc accgcgagga cgtggtgttc acgtgccaag tgaagcacga ccagcagccc 1020

gccatcacca gaaaccacac agtgctgggc ttcgcccaca gcagcgacca gggcagcatg 1080

cagaccttcc cctgccacac ccagagcagc cccaagctgt tctgggctct ggtggtggtg 1140

gccggcgtgc tgttttgtta cggcctgctc gtgaccgtgg ccctgtgcgt gatctggacc 1200

aacagcagaa gaaacagagg cggccagagc gactacatga acatgacccc cagaaggcct 1260

ggcctgaccc ggaagcctta ccagccttac gcccctgcca gagacttcgc cgcctacaga 1320

cct 1323

59 <210>

1281 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muSIRP ألفا <223>
-23aas-CD28cys

59 <400>

atggaacctg ctggacctgc ccctggcaga ctgggacctc tgctgctgtg cctgctgctg 60

agcgccagct gtttctgtac cggcgccacc ggcaaagaac tgaaagtgac ccagcccgag 120

aagtccgtgt ctgtggccgc tggcgacagc accgtgctga actgtaccct gaccagcctg 180

ctgcccgtgg gccccatcag atggtataga ggcgtgggcc ctagcagact gctgatctac 240

agcttcgctg gcgagtacgt gcccagaatc agaaacgtgt ccgacaccac caagcggaac 300

aacatggact tcagcatcag gatcagcaac gtgacccctg ccgacgccgg catctactac 360

tgcgtgaagt tccagaaggg cagcagcgag cccgacaccg agattcagtc tggcggcgga 420

accgaggtgt acgtgctggc taagcccagc cctcctgagg tgtccggccc tgctgataga 480

ggcatccccg accagaaagt gaacttcaca tgcaagagcc acggcttcag ccccagaaac 540

atcaccctga agtggttcaa ggacggccag gaactgcacc ccctggaaac caccgtgaac 600

cccagcggca agaacgtgtc ctacaacatc agctccaccg tgcgggtggt gctgaacagc 660

atggacgtga acagcaaagt gatctgcgag gtggcccaca tcacactgga cagaagcccc 720

ctgagaggaa tcgccaacct gagcaacttc atcagagtgt ccccaaccgt gaaagtgaca 780

cagcagagcc ccaccagcat gaaccaagtg aacctgacct gcagagccga gagattctac 840

cccgaggacc tgcagctgat ctggctggaa aacggcaacg tgtccagaaa cgacaccccc 900

aagaacctga caaagaacac cgacggcacc tacaactaca cctccctgtt tctcgtgaac 960

tcctccgccc accgcgagga cgtggtgttc acgtgccaag tgaagcacga ccagcagccc 1020

gccatcacca gaaaccacac agtgctgggc tgccacaccc agagcagccc caagctgttc 1080

tgggctctgg tggtggtggc cggcgtgctg ttttgttacg gcctgctcgt gaccgtggcc 1140

ctgtgcgtga tctggaccaa cagcagaaga aacagaggcg gccagagcga ctacatgaac 1200

atgaccccca gaaggcctgg cctgacccgg aagccttacc agccttacgc ccctgccaga 1260

gacttcgccg cctacagacc t 1281

<210> 60

<211> 137

<212> PRT

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> huPD-1 مجال خارجي (اكتودومين)

<400> 60

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

Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val Leu
20 25 30

Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala Ala
35 40 45

Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg Val
50 55 60

Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg Ala
65 70 75 80

Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu Ala
85 90 95

Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val Thr
100 105 110

Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro Arg
115 120 125

Ser Ala Gly Gln Phe Gln Thr Leu Val

135 130

61 <210>

627 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huCD2 نطاق كامل خارج الخلية <223>

61 <400>

atgagctttc catgtaaatt tgtagccagc ttccttctga ttttcaatgt ttcttccaaa 60

ggtgcagtct ccaaagagat tacgaatgcc ttggaaacct ggggtgcctt gggtcaggac 120

atcaacttgg acattcctag ttttcaaatg agtgatgata ttgacgatat aaaatgggaa 180

aaaacttcag acaagaaaaa gattgcacaa ttcagaaaag agaaagagac tttcaaggaa 240

aaagatacat ataagctatt taaaaatgga actctgaaaa ttaagcatct gaagaccgat 300

gatcaggata tctacaaggt atcaatatat gatacaaaag gaaaaaatgt gttggaaaaa 360

atatttgatt tgaagattca agagagggtc tcaaaaccaa agatctcctg gacttgtatc 420

aacacaaccc tgacctgtga ggtaatgaat ggaactgacc ccgaattaaa cctgtatcaa 480

gatgggaaac atctaaaact ttctcagagg gtcatcacac acaagtggac caccagcctg 540

agtgcaaaat tcaagtgcac agcagggaac aaagtcagca aggaatccag tgtcgagcct 600

gtcagctgtc cagagaaagg tctggac 627

62 <210>

209 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

<223> نطاق كامل خارج الخلية huCD2

<400> 62

Met Ser Phe Pro Cys Lys Phe Val Ala Ser Phe Leu Leu Ile Phe Asn
15 10 5 1

Val Ser Ser Lys Gly Ala Val Ser Lys Glu Ile Thr Asn Ala Leu Glu
30 25 20

Thr Trp Gly Ala Leu Gly Gln Asp Ile Asn Leu Asp Ile Pro Ser Phe
45 40 35

Gln Met Ser Asp Asp Ile Asp Asp Ile Lys Trp Glu Lys Thr Ser Asp
60 55 50

Lys Lys Lys Ile Ala Gln Phe Arg Lys Glu Lys Glu Thr Phe Lys Glu
80 75 70 65

Lys Asp Thr Tyr Lys Leu Phe Lys Asn Gly Thr Leu Lys Ile Lys His
95 90 85

Leu Lys Thr Asp Asp Gln Asp Ile Tyr Lys Val Ser Ile Tyr Asp Thr
110 105 100

Lys Gly Lys Asn Val Leu Glu Lys Ile Phe Asp Leu Lys Ile Gln Glu
125 120 115

Arg Val Ser Lys Pro Lys Ile Ser Trp Thr Cys Ile Asn Thr Thr Leu
140 135 130

Thr Cys Glu Val Met Asn Gly Thr Asp Pro Glu Leu Asn Leu Tyr Gln
160 155 150 145

Asp Gly Lys His Leu Lys Leu Ser Gln Arg Val Ile Thr His Lys Trp
175 170 165

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

190 185 180

Ser Lys Glu Ser Ser Val Glu Pro Val Ser Cys Pro Glu Lys Gly Leu

205 200 195

Asp

5

63 <210>

78 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213> 10

<220>

مجال الغشاء huCD2 <223>

63 <400> 15

atctatctca tcattggcat atgtggagga ggcagcctct tgatggtctt tgtggcactg 60

ctcgttttct atatcacc 78

64 <210>

26 <211> 20

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

مجال الغشاء huCD2 <223> 25

64 <400>

Ile Tyr Leu Ile Ile Gly Ile Cys Gly Gly Gly Ser Leu Leu Met Val

15 10 5 1

Phe Val Ala Leu Leu Val Phe Tyr Ile Thr

25 20

65 <210>

828 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huCD2tm-CD28 DNA <223>

65 <400>

atgagctttc catgtaaatt tgtagccagc ttccttctga ttttcaatgt ttcttccaaa 60

ggtgcagtct ccaaagagat tacgaatgcc ttggaaacct ggggtgcctt gggtcaggac 120

atcaacttgg acattcctag ttttcaaatg agtgatgata ttgacgatat aaaatgggaa 180

aaaacttcag acaagaaaaa gattgcacaa ttcagaaaag agaaagagac tttcaaggaa 240

aaagatacat ataagctatt taaaaatgga actctgaaaa ttaagcatct gaagaccgat 300

gatcaggata tctacaaggt atcaatatat gatacaaaag gaaaaaatgt gttggaaaaa 360

atatttgatt tgaagattca agagagggtc tcaaaaccaa agatctcctg gacttgtatc 420

aacacaaccc tgacctgtga ggtaatgaat ggaactgacc ccgaattaaa cctgtatcaa 480

gatgggaaac atctaaaact ttctcagagg gtcatcacac acaagtggac caccagcctg 540

agtgcaaaat tcaagtgcac agcagggaac aaagtcagca aggaatccag tgtcgagcct 600

gtcagctgtc cagagaaagg tctggacatc tatctcatca ttggcatatg tggaggaggc 660

agcctcttga tggtctttgt ggcactgctc gttttctata tcacccgcag caagcggagc 720

agaggcggcc acagcgacta catgaacatg acccctagac ggcctggccc caccagaaag 780

cactaccagc cctacgcccc tccccgggac tttgccgcct acagaagc 828

66 <210>

276 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huCD2tm-CD28 <223>

66 <400>

Met Ser Phe Pro Cys Lys Phe Val Ala Ser Phe Leu Leu Ile Phe Asn
15 10 5 1

Val Ser Ser Lys Gly Ala Val Ser Lys Glu Ile Thr Asn Ala Leu Glu
30 25 20

Thr Trp Gly Ala Leu Gly Gln Asp Ile Asn Leu Asp Ile Pro Ser Phe
45 40 35

Gln Met Ser Asp Asp Ile Asp Asp Ile Lys Trp Glu Lys Thr Ser Asp
60 55 50

Lys Lys Lys Ile Ala Gln Phe Arg Lys Glu Lys Glu Thr Phe Lys Glu
80 75 70 65

Lys Asp Thr Tyr Lys Leu Phe Lys Asn Gly Thr Leu Lys Ile Lys His
95 90 85

Leu Lys Thr Asp Asp Gln Asp Ile Tyr Lys Val Ser Ile Tyr Asp Thr
110 105 100

Lys Gly Lys Asn Val Leu Glu Lys Ile Phe Asp Leu Lys Ile Gln Glu
125 120 115

Arg Val Ser Lys Pro Lys Ile Ser Trp Thr Cys Ile Asn Thr Thr Leu
140 135 130

Thr Cys Glu Val Met Asn Gly Thr Asp Pro Glu Leu Asn Leu Tyr Gln

160 155 150 145

Asp Gly Lys His Leu Lys Leu Ser Gln Arg Val Ile Thr His Lys Trp

175 170 165

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

190 185 180

Ser Lys Glu Ser Ser Val Glu Pro Val Ser Cys Pro Glu Lys Gly Leu

205 200 195

Asp Ile Tyr Leu Ile Ile Gly Ile Cys Gly Gly Gly Ser Leu Leu Met

220 215 210

Val Phe Val Ala Leu Leu Val Phe Tyr Ile Thr Arg Ser Lys Arg Ser

240 235 230 225

Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly

255 250 245

Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala

270 265 260

Ala Tyr Arg Ser

275

67 <210>

831 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huCD2-CD28tm <223>

67 <400>

atgagctttc catgtaaatt tgtagccagc ttccttctga ttttcaatgt ttcttccaaa 60

ggtgcagtct ccaaagagat tacgaatgcc ttggaaacct ggggtgcctt gggtcaggac 120

atcaacttgg acattcctag ttttcaaatg agtgatgata ttgacgatat aaaatgggaa 180

aaaacttcag acaagaaaaa gattgcacaa ttcagaaaag agaaagagac tttcaaggaa 240

aaagatacat ataagctatt taaaaatgga actctgaaaa ttaagcatct gaagaccgat 300

gatcaggata tctacaaggt atcaatatat gatacaaaag gaaaaaatgt gttggaaaaa 360

atatttgatt tgaagattca agagagggtc tcaaaaccaa agatctcctg gacttgtatc 420

aacacaaccc tgacctgtga ggtaatgaat ggaactgacc ccgaattaaa cctgtatcaa 480

gatgggaaac atctaaaact ttctcagagg gtcatcacac acaagtggac caccagcctg 540

agtgcaaaat tcaagtgcac agcagggaac aaagtcagca aggaatccag tgtcgagcct 600

gtcagctgtc cagagaaagg tctggacttc tgggtgctgg tggtggtcgg aggcgtgctg 660

gcctgctaca gcctgctggt caccgtggcc ttcatcatct tttgggtccg cagcaagcgg 720

agcagaggcg gccacagcga ctacatgaac atgaccccta gacggcctgg ccccaccaga 780

aagcactacc agccctacgc ccctccccgg gactttgccg cctacagaag c 831

68 <210>

277 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huCD2-CD28tm <223>

68 <400>

Met Ser Phe Pro Cys Lys Phe Val Ala Ser Phe Leu Leu Ile Phe Asn

15 10 5 1

Val Ser Ser Lys Gly Ala Val Ser Lys Glu Ile Thr Asn Ala Leu Glu

30 25 20

Thr Trp Gly Ala Leu Gly Gln Asp Ile Asn Leu Asp Ile Pro Ser Phe

45 40 35

Gln Met Ser Asp Asp Ile Asp Asp Ile Lys Trp Glu Lys Thr Ser Asp

60 55 50

Lys Lys Lys Ile Ala Gln Phe Arg Lys Glu Lys Glu Thr Phe Lys Glu

80 75 70 65

Lys Asp Thr Tyr Lys Leu Phe Lys Asn Gly Thr Leu Lys Ile Lys His

95 90 85

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

110 105 100

Lys Gly Lys Asn Val Leu Glu Lys Ile Phe Asp Leu Lys Ile Gln Glu

125 120 115

Arg Val Ser Lys Pro Lys Ile Ser Trp Thr Cys Ile Asn Thr Thr Leu

140 135 130

Thr Cys Glu Val Met Asn Gly Thr Asp Pro Glu Leu Asn Leu Tyr Gln

160 155 150 145

Asp Gly Lys His Leu Lys Leu Ser Gln Arg Val Ile Thr His Lys Trp

175 170 165

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

190 185 180

Ser Lys Glu Ser Ser Val Glu Pro Val Ser Cys Pro Glu Lys Gly Leu

205 200 195

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

220 215 210

Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg

240 235 230 225

Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro

255 250 245

Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe

270 265 260

Ala Ala Tyr Arg Ser

275

69 <210>

969 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huCD200R-CD28Cys <223>

69 <400>

atgctgtgcc cttggagaac cgccaacctg ggcctgctgc tgatcctgac catcttcctg 60

gtggccgcca gcagcagcct gtgcatggac gagaagcaga tcacccagaa ctacagcaag 120

gtgctggccg aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc 180

tgccctccta tcgccctgcg gaacctgatc atcatcacct gggagatcat cctgcggggc 240

cagcccagct gtaccaaggc ctaccggaaa gagacaaacg agacaaaaga aacaaactgc 300

accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcgacct gcagatcaga 360

cccgtggcca tcacccacga cggctactac cggtgcatca tggtcacccc cgatggcaac 420

ttccaccggg gataccatct gcaggtgctc gtgacccccg aagtgaccct gttccagaac 480

cggaacagaa ccgccgtgtg caaggccgtg gccggaaaac ctgccgccca gatctcttgg 540

atccccgagg gcgattgcgc caccaagcag gaatactggt ccaacggcac cgtgaccgtg 600

aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccg tgacatgcca cgtgtcccac 660

ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctgctgcctg tgcctggcgc caagaagtcc 720

gccaagctgt gtcccagccc tctgtttccc ggccctagca agcctttctg ggtgctggtg 780

gtggtcggag gcgtgctggc ctgctacagc ctgctggtca ccgtggcctt catcatcttt 840

tgggtccgca gcaagcggag cagaggcggc cacagcgact acatgaacat gacccctaga 900

cggcctggcc ccaccagaaa gcactaccag ccctacgccc ctccccggga ctttgccgcc 960

tacagaagc 969

<210> 70

<211> 323

<212> PRT

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> huCD200R-CD28Cys

<400> 70

Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu
1 5 10 15

Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys
20 25 30

Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser
35 40 45

Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile
50 55 60

Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly
65 70 75 80

Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys
85 90 95

Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp
100 105 110

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

125 120 115

Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly

140 135 130

Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn

160 155 150 145

Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala

175 170 165

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

190 185 180

Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val

205 200 195

His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn

220 215 210

Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro Val Pro Gly Ala Lys Lys Ser

240 235 230 225

Ala Lys Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe

255 250 245

Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu

270 265 260

Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg

285 280 275

Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro

300 295 290

Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala

320 315 310 305

Tyr Arg Ser

71 <210>

519 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huFas نطاق كامل خارج الخلية <223>

71 <400>

atgctgggca tctggaccct gctgcctctg gtgctgacaa gcgtggccag actgagcagc 60

aagagcgtga acgcccaagt gaccgacatc aacagcaagg gcctggaact gagaaagacc 120

gtgaccaccg tggaaaccca gaacctggaa ggcctgcacc acgacggcca gttctgccac 180

aagccttgtc cccctggcga gcggaaggcc agagactgta ctgtgaacgg cgacgagccc 240

gactgcgtgc cctgtcagga aggcaaagag tacaccgaca aggcccactt cagcagcaag 300

tgccggcggt gcagactgtg tgatgagggc cacggcctgg aagtggaaat caactgcacc 360

cggacccaga acaccaagtg cagatgcaag cccaacttct tctgcaacag caccgtgtgc 420

gagcactgcg acccctgtac caagtgcgaa cacggcatca tcaaagagtg caccctgacc 480

tccaacacaa agtgcaaaga ggaaggcagc agaagcaac 519

72 <210>

173 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huFas نطاق كامل خارج الخلية <223>

72 <400>

Met Leu Gly Ile Trp Thr Leu Leu Pro Leu Val Leu Thr Ser Val Ala

15 10 5 1

Arg Leu Ser Ser Lys Ser Val Asn Ala Gln Val Thr Asp Ile Asn Ser

30 25 20

Lys Gly Leu Glu Leu Arg Lys Thr Val Thr Thr Val Glu Thr Gln Asn

45 40 35

Leu Glu Gly Leu His His Asp Gly Gln Phe Cys His Lys Pro Cys Pro

60 55 50

Pro Gly Glu Arg Lys Ala Arg Asp Cys Thr Val Asn Gly Asp Glu Pro

80 75 70 65

Asp Cys Val Pro Cys Gln Glu Gly Lys Glu Tyr Thr Asp Lys Ala His

95 90 85

Phe Ser Ser Lys Cys Arg Arg Cys Arg Leu Cys Asp Glu Gly His Gly

110 105 100

Leu Glu Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Thr Gln Asn Thr Lys Cys Arg

125 120 115

Cys Lys Pro Asn Phe Phe Cys Asn Ser Thr Val Cys Glu His Cys Asp

140 135 130

Pro Cys Thr Lys Cys Glu His Gly Ile Ile Lys Glu Cys Thr Leu Thr

160 155 150 145

Ser Asn Thr Lys Cys Lys Glu Glu Gly Ser Arg Ser Asn

170 165

73 <210>

498 <211>

DNA <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> huFas نطاق خارج الخلية 7aas-

<400> 73

atgctgggca tctggaccct gctgcctctg gtgctgacaa gcgtggccag actgagcagc 60

aagagcgtga acgcccaagt gaccgacatc aacagcaagg gcctggaact gagaaagacc 120

gtgaccaccg tggaaaccca gaacctggaa ggcctgcacc acgacggcca gttctgccac 180

aagccttgtc cccctggcga gcggaaggcc agagactgta ctgtgaacgg cgacgagccc 240

gactgcgtgc cctgtcagga aggcaaagag tacaccgaca aggcccactt cagcagcaag 300

tgccggcggt gcagactgtg tgatgagggc cacggcctgg aagtggaaat caactgcacc 360

cggacccaga acaccaagtg cagatgcaag cccaacttct tctgcaacag caccgtgtgc 420

gagcactgcg acccctgtac caagtgcgaa cacggcatca tcaaagagtg caccctgacc 480

tccaacacaa agtgcaaa 498

<210> 74

<211> 166

<212> PRT

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> huFas نطاق خارج الخلية 7aas-

<400> 74

Met Leu Gly Ile Trp Thr Leu Leu Pro Leu Val Leu Thr Ser Val Ala

1 5 10 15

Arg Leu Ser Ser Lys Ser Val Asn Ala Gln Val Thr Asp Ile Asn Ser

20 25 30

Lys Gly Leu Glu Leu Arg Lys Thr Val Thr Thr Val Glu Thr Gln Asn

45 40 35

Leu Glu Gly Leu His His Asp Gly Gln Phe Cys His Lys Pro Cys Pro

60 55 50

Pro Gly Glu Arg Lys Ala Arg Asp Cys Thr Val Asn Gly Asp Glu Pro

80 75 70 65

Asp Cys Val Pro Cys Gln Glu Gly Lys Glu Tyr Thr Asp Lys Ala His

95 90 85

Phe Ser Ser Lys Cys Arg Arg Cys Arg Leu Cys Asp Glu Gly His Gly

110 105 100

Leu Glu Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Thr Gln Asn Thr Lys Cys Arg

125 120 115

Cys Lys Pro Asn Phe Phe Cys Asn Ser Thr Val Cys Glu His Cys Asp

140 135 130

Pro Cys Thr Lys Cys Glu His Gly Ile Ile Lys Glu Cys Thr Leu Thr

160 155 150 145

Ser Asn Thr Lys Cys Lys

165

<210> 75

<211> 483

<212> DNA

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> huFas نطاق خارج الخلية 12aas-

<400> 75

atgctgggca tctggaccct gctgcctctg gtgctgacaa gcgtggccag actgagcagc 60

aagagcgtga acgcccaagt gaccgacatc aacagcaagg gcctggaact gagaaagacc 120

gtgaccaccg tggaaaccca gaacctggaa ggcctgcacc acgacggcca gttctgccac 180

aagccttgtc cccctggcga gcggaaggcc agagactgta ctgtgaacgg cgacgagccc 240

gactgcgtgc cctgtcagga aggcaaagag tacaccgaca aggcccactt cagcagcaag 300

tgccggcggt gcagactgtg tgatgagggc cacggcctgg aagtggaaat caactgcacc 360

cggacccaga acaccaagtg cagatgcaag cccaacttct tctgcaacag caccgtgtgc 420

gagcactgcg acccctgtac caagtgcgaa cacggcatca tcaaagagtg caccctgacc 480

tcc 483

<210> 76

<211> 161

<212> PRT

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> huFas نطاق خارج الخلية 12aas-

<400> 76

Met Leu Gly Ile Trp Thr Leu Leu Pro Leu Val Leu Thr Ser Val Ala

1 5 10 15

Arg Leu Ser Ser Lys Ser Val Asn Ala Gln Val Thr Asp Ile Asn Ser

20 25 30

Lys Gly Leu Glu Leu Arg Lys Thr Val Thr Thr Val Glu Thr Gln Asn

35 40 45

Leu Glu Gly Leu His His Asp Gly Gln Phe Cys His Lys Pro Cys Pro

50 55 60

Pro Gly Glu Arg Lys Ala Arg Asp Cys Thr Val Asn Gly Asp Glu Pro

65 70 75 80

Asp Cys Val Pro Cys Gln Glu Gly Lys Glu Tyr Thr Asp Lys Ala His

95 90 85

Phe Ser Ser Lys Cys Arg Arg Cys Arg Leu Cys Asp Glu Gly His Gly

110 105 100

Leu Glu Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Thr Gln Asn Thr Lys Cys Arg

125 120 115

Cys Lys Pro Asn Phe Phe Cys Asn Ser Thr Val Cys Glu His Cys Asp

140 135 130

Pro Cys Thr Lys Cys Glu His Gly Ile Ile Lys Glu Cys Thr Leu Thr

160 155 150 145

Ser

77 <210>

51 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

مجال الغشاء huFas <223>

77 <400>

ctgggctggc tgtgcctcct gctgctgccc atccctctga tcgtgtgggt c 51

78 <210>

17 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

<223> huFas مجال الغشاء

<400> 78

Leu Gly Trp Leu Cys Leu Leu Leu Leu Pro Ile Pro Leu Ile Val Trp
1 5 10 15

Val

<210> 79

<211> 693

<212> DNA

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> huFAStm-CD28

<400> 79

atgctgggca tctggaccct gctgcctctg gtgctgacaa gcgtggccag actgagcagc 60

aagagcgtga acgcccaagt gaccgacatc aacagcaagg gcctggaact gagaaagacc 120

gtgaccaccg tggaaaccca gaacctggaa ggcctgcacc acgacggcca gttctgccac 180

aagccttgtc cccctggcga gcggaaggcc agagactgta ctgtgaacgg cgacgagccc 240

gactgcgtgc cctgtcagga aggcaaagag tacaccgaca aggcccactt cagcagcaag 300

tgccggcggt gcagactgtg tgatgagggc cacggcctgg aagtggaaat caactgcacc 360

cggacccaga acaccaagtg cagatgcaag cccaacttct tctgcaacag caccgtgtgc 420

gagcactgcg acccctgtac caagtgcgaa cacggcatca tcaaagagtg caccctgacc 480

tccaacacaa agtgcaaaga ggaaggcagc agaagcaacc tgggctggct gtgcctcctg 540

ctgctgccca tccctctgat cgtgtgggtc cgcagcaagc ggagcagagg cggccacagc 600

gactacatga acatgacccc tagacggcct ggccccacca gaaagcacta ccagccctac 660

gcccctcccc gggactttgc cgctacaga agc 693

80 <210>

231 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huFAStm-CD28 <223>

80 <400>

Met Leu Gly Ile Trp Thr Leu Leu Pro Leu Val Leu Thr Ser Val Ala

15 10 5 1

Arg Leu Ser Ser Lys Ser Val Asn Ala Gln Val Thr Asp Ile Asn Ser

30 25 20

Lys Gly Leu Glu Leu Arg Lys Thr Val Thr Thr Val Glu Thr Gln Asn

45 40 35

Leu Glu Gly Leu His His Asp Gly Gln Phe Cys His Lys Pro Cys Pro

60 55 50

Pro Gly Glu Arg Lys Ala Arg Asp Cys Thr Val Asn Gly Asp Glu Pro

80 75 70 65

Asp Cys Val Pro Cys Gln Glu Gly Lys Glu Tyr Thr Asp Lys Ala His

95 90 85

Phe Ser Ser Lys Cys Arg Arg Cys Arg Leu Cys Asp Glu Gly His Gly

110 105 100

Leu Glu Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Thr Gln Asn Thr Lys Cys Arg

125 120 115

Cys Lys Pro Asn Phe Phe Cys Asn Ser Thr Val Cys Glu His Cys Asp

140 135 130

Pro Cys Thr Lys Cys Glu His Gly Ile Ile Lys Glu Cys Thr Leu Thr

160 155 150 145

Ser Asn Thr Lys Cys Lys Glu Glu Gly Ser Arg Ser Asn Leu Gly Trp

175 170 165

Leu Cys Leu Leu Leu Leu Pro Ile Pro Leu Ile Val Trp Val Arg Ser

190 185 180

Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg

205 200 195

Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg

220 215 210

Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

230 225

81 <210>

723 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huFAS-CD28tm <223>

81 <400>

atgctgggca tctggaccct gctgcctctg gtgctgacaa gcgtggccag actgagcagc 60

aagagcgtga acgcccaagt gaccgacatc aacagcaagg gcctggaact gagaaagacc 120

gtgaccaccg tggaaaccca gaacctggaa ggcctgcacc acgacggcca gttctgccac 180

aagccttgtc cccctggcga gcggaaggcc agagactgta ctgtgaacgg cgacgagccc 240

gactgcgtgc cctgtcagga aggcaaagag tacaccgaca aggcccactt cagcagcaag 300

tgccggcggt gcagactgtg tgatgagggc cacggcctgg aagtggaaat caactgcacc 360

cggacccaga acaccaagtg cagatgcaag cccaacttct tctgcaacag caccgtgtgc 420

gagcactgcg acccctgtac caagtgcgaa cacggcatca tcaaagagtg caccctgacc 480

tccaacacaa agtgcaaaga ggaaggcagc agaagcaact tctgggtgct ggtggtggtc 540

ggaggcgtgc tggcctgcta cagcctgctg gtcaccgtgg ccttcatcat cttttgggtc 600

cgcagcaagc ggagcagagg cggccacagc gactacatga acatgacccc tagacggcct 660

ggccccacca gaaagcacta ccagccctac gcccctcccc gggactttgc cgcctacaga 720

agc 723

82 <210>

241 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huFAS-CD28tm <223>

82 <400>

Met Leu Gly Ile Trp Thr Leu Leu Pro Leu Val Leu Thr Ser Val Ala

15 10 5 1

Arg Leu Ser Ser Lys Ser Val Asn Ala Gln Val Thr Asp Ile Asn Ser

30 25 20

Lys Gly Leu Glu Leu Arg Lys Thr Val Thr Thr Val Glu Thr Gln Asn

45 40 35

Leu Glu Gly Leu His His Asp Gly Gln Phe Cys His Lys Pro Cys Pro

60 55 50

Pro Gly Glu Arg Lys Ala Arg Asp Cys Thr Val Asn Gly Asp Glu Pro
80 75 70 65

Asp Cys Val Pro Cys Gln Glu Gly Lys Glu Tyr Thr Asp Lys Ala His
95 90 85

Phe Ser Ser Lys Cys Arg Arg Cys Arg Leu Cys Asp Glu Gly His Gly
110 105 100

Leu Glu Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Thr Gln Asn Thr Lys Cys Arg
125 120 115

Cys Lys Pro Asn Phe Phe Cys Asn Ser Thr Val Cys Glu His Cys Asp
140 135 130

Pro Cys Thr Lys Cys Glu His Gly Ile Ile Lys Glu Cys Thr Leu Thr
160 155 150 145

Ser Asn Thr Lys Cys Lys Glu Glu Gly Ser Arg Ser Asn Phe Trp Val
175 170 165

Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr
190 185 180

Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly
205 200 195

His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg
220 215 210

Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg
240 235 230 225

Ser

83 <210>

759 <211>

DNA <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> huFAS-CD28Cys

<400> 83

atgctgggca tctggaccct gctgcctctg gtgctgacaa gcgtggccag actgagcagc 60

aagagcgtga acgcccaagt gaccgacatc aacagcaagg gcctggaact gagaaagacc 120

gtgaccaccg tggaaaccca gaacctggaa ggcctgcacc acgacggcca gttctgccac 180

aagccttgtc cccctggcga gcggaaggcc agagactgta ctgtgaacgg cgacgagccc 240

gactgcgtgc cctgtcagga aggcaaagag tacaccgaca aggcccactt cagcagcaag 300

tgccggcggt gcagactgtg tgatgagggc cacggcctgg aagtggaaat caactgcacc 360

cggacccaga acaccaagtg cagatgcaag cccaacttct tctgcaacag caccgtgtgc 420

gagcactgcg acccctgtac caagtgcgaa cacggcatca tcaaagagtg caccctgacc 480

tccaacacaa agtgcaaaga ggaaggcagc agaagcaact gtcccagccc tctgtttccc 540

ggccctagca agcctttctg ggtgctggtg gtggtcggag gcgtgctggc ctgctacagc 600

ctgctggtca ccgtggcctt catcatcttt tgggtccgca gcaagcggag cagaggcggc 660

cacagcgact acatgaacat gacccctaga cggcctggcc ccaccagaaa gcactaccag 720

ccctacgccc ctccccggga ctttgccgcc tacagaagc 759

<210> 84

<211> 253

<212> PRT

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> huFAS-CD28Cys

84 <400>

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

Arg Leu Ser Ser Lys Ser Val Asn Ala Gln Val Thr Asp Ile Asn Ser
30 25 20

Lys Gly Leu Glu Leu Arg Lys Thr Val Thr Thr Val Glu Thr Gln Asn
45 40 35

Leu Glu Gly Leu His His Asp Gly Gln Phe Cys His Lys Pro Cys Pro
60 55 50

Pro Gly Glu Arg Lys Ala Arg Asp Cys Thr Val Asn Gly Asp Glu Pro
80 75 70 65

Asp Cys Val Pro Cys Gln Glu Gly Lys Glu Tyr Thr Asp Lys Ala His
95 90 85

Phe Ser Ser Lys Cys Arg Arg Cys Arg Leu Cys Asp Glu Gly His Gly
110 105 100

Leu Glu Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Thr Gln Asn Thr Lys Cys Arg
125 120 115

Cys Lys Pro Asn Phe Phe Cys Asn Ser Thr Val Cys Glu His Cys Asp
140 135 130

Pro Cys Thr Lys Cys Glu His Gly Ile Ile Lys Glu Cys Thr Leu Thr
160 155 150 145

Ser Asn Thr Lys Cys Lys Glu Glu Gly Ser Arg Ser Asn Cys Pro Ser
175 170 165

Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val
190 185 180

Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile
205 200 195

Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr

220 215 210

Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln

240 235 230 225

Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

250 245

85 <210>

738 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huFAS-7aas-CD28Cys <223>

85 <400>

atgctgggca tctggaccct gctgcctctg gtgctgacaa gcgtggccag actgagcagc 60

aagagcgtga acgcccaagt gaccgacatc aacagcaagg gcctggaact gagaaagacc 120

gtgaccaccg tggaaaccca gaacctggaa ggcctgcacc acgacggcca gttctgccac 180

aagccttgtc cccctggcga gcggaaggcc agagactgta ctgtgaacgg cgacgagccc 240

gactgcgtgc cctgtcagga aggcaaagag tacaccgaca aggcccactt cagcagcaag 300

tgccggcggt gcagactgtg tgatgagggc cacggcctgg aagtggaaat caactgcacc 360

cggacccaga acaccaagtg cagatgcaag cccaacttct tctgcaacag caccgtgtgc 420

gagcactgcg acccctgtac caagtgcgaa cacggcatca tcaaagagtg caccctgacc 480

tccaacacaa agtgcaaatg tcccagccct ctgtttcccg gccctagcaa gcctttctgg 540

gtgctggtgg tggtcggagg cgtgctggcc tgctacagcc tgctggtcac cgtggccttc 600

atcatctttt gggtccgcag caagcggagc agaggcggcc acagcgacta catgaacatg 660

acccctagac ggcctggccc caccagaaag cactaccagc cctacgcccc tccccgggac 720

tttgccgcct acagaagc 738

86 <210>

246 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huFAS-7aas-CD28Cys <223>

86 <400>

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

Arg Leu Ser Ser Lys Ser Val Asn Ala Gln Val Thr Asp Ile Asn Ser
30 25 20

Lys Gly Leu Glu Leu Arg Lys Thr Val Thr Thr Val Glu Thr Gln Asn
45 40 35

Leu Glu Gly Leu His His Asp Gly Gln Phe Cys His Lys Pro Cys Pro
60 55 50

Pro Gly Glu Arg Lys Ala Arg Asp Cys Thr Val Asn Gly Asp Glu Pro
80 75 70 65

Asp Cys Val Pro Cys Gln Glu Gly Lys Glu Tyr Thr Asp Lys Ala His
95 90 85

Phe Ser Ser Lys Cys Arg Arg Cys Arg Leu Cys Asp Glu Gly His Gly
110 105 100

Leu Glu Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Thr Gln Asn Thr Lys Cys Arg
125 120 115

Cys Lys Pro Asn Phe Phe Cys Asn Ser Thr Val Cys Glu His Cys Asp

140 135 130

Pro Cys Thr Lys Cys Glu His Gly Ile Ile Lys Glu Cys Thr Leu Thr

160 155 150 145

Ser Asn Thr Lys Cys Lys Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser

175 170 165

Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr

190 185 180

Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys

205 200 195

Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg

220 215 210

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

240 235 230 225

Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

245

87 <210>

723 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

FAS-12aas-CD28Cys <223>

87 <400>

atgctgggca tctggaccct gctgcctctg gtgctgacaa gcgtggccag actgagcagc 60

aagagcgtga acgcccaagt gaccgacatc aacagcaagg gcctggaact gagaaagacc 120

gtgaccaccg tggaaaccca gaacctggaa ggcctgcacc acgacggcca gttctgccac 180

aagccttgtc cccctggcga gcggaaggcc agagactgta ctgtgaacgg cgacgagccc 240

gactgcgtgc cctgtcagga aggcaaagag tacaccgaca aggcccactt cagcagcaag 300

tgccggcggt gcagactgtg tgatgagggc cacggcctgg aagtggaaat caactgcacc 360

cggacccaga acaccaagtg cagatgcaag cccaacttct tctgcaacag caccgtgtgc 420

gagcactgcg acccctgtac caagtgcgaa cacggcatca tcaaagagtg caccctgacc 480

tcctgtccca gccctctgtt tcccggccct agcaagcctt tctgggtgct ggtggtggtc 540

ggaggcgtgc tggcctgcta cagcctgctg gtcaccgtgg ccttcatcat cttttgggtc 600

cgcagcaagc ggagcagagg cggccacagc gactacatga acatgacccc tagacggcct 660

ggccccacca gaaagcacta ccagccctac gcccctcccc gggactttgc cgcctacaga 720

agc 723

88 <210>

241 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

FAS-12aas-CD28Cys <223>

88 <400>

Met Leu Gly Ile Trp Thr Leu Leu Pro Leu Val Leu Thr Ser Val Ala

15 10 5 1

Arg Leu Ser Ser Lys Ser Val Asn Ala Gln Val Thr Asp Ile Asn Ser

30 25 20

Lys Gly Leu Glu Leu Arg Lys Thr Val Thr Thr Val Glu Thr Gln Asn

45 40 35

Leu Glu Gly Leu His His Asp Gly Gln Phe Cys His Lys Pro Cys Pro

60 55 50

Pro Gly Glu Arg Lys Ala Arg Asp Cys Thr Val Asn Gly Asp Glu Pro
80 75 70 65

Asp Cys Val Pro Cys Gln Glu Gly Lys Glu Tyr Thr Asp Lys Ala His
95 90 85

Phe Ser Ser Lys Cys Arg Arg Cys Arg Leu Cys Asp Glu Gly His Gly
110 105 100

Leu Glu Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Thr Gln Asn Thr Lys Cys Arg
125 120 115

Cys Lys Pro Asn Phe Phe Cys Asn Ser Thr Val Cys Glu His Cys Asp
140 135 130

Pro Cys Thr Lys Cys Glu His Gly Ile Ile Lys Glu Cys Thr Leu Thr
160 155 150 145

Ser Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val
175 170 165

Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr
190 185 180

Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly
205 200 195

His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg
220 215 210

Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg
240 235 230 225

Ser

89 <210>

510 <211>

DNA <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> نطاق كامل خارج الخلية 2 huPD1

<400> 89

atgcagatcc ctcaggcccc ttggcctgtc gtgtgggctg tgctgcagct gggatggcgg 60

cctggctggt ttctggacag ccccgacaga ccctggaacc cccctacatt ttcccctgcc 120

ctgctggtcg tgaccgaggg cgacaatgcc accttcacct gtagcttcag caacaccagc 180

gagagcttcg tgctgaactg gtacagaatg agccccagca accagaccga caagctggcc 240

gccttccccg aggatagatc tcagcccggc caggactgcc ggttcagagt gacccagctg 300

cccaacggcc gggacttcca catgtctgtc gtgcgggcca gacggaacga cagcggcaca 360

tatctgtgcg gcgccatcag cctggccccc aaggcccaga tcaaagagag cctgagagcc 420

gagctgagag tgaccgagag aagggccgaa gtgcctaccg cccaccctag cccatctcca 480

agacctgccg gccagttcca gacactggtc 510

<210> 90

<211> 170

<212> PRT

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> نطاق كامل خارج الخلية 2 huPD1

<400> 90

Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln

1 5 10 15

Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp

30 25 20

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

45 40 35

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val

60 55 50

Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala

80 75 70 65

Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg

95 90 85

Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg

110 105 100

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

125 120 115

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

140 135 130

Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro

160 155 150 145

Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln Thr Leu Val

170 165

91 <210>

474 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huPD1 2 -12aas <223>

91 <400>

atgcagatcc ctcaggcccc ttggcctgtc gtgtgggctg tgctgcagct gggatggcgg 60

cctggctggt ttctggacag ccccgacaga ccctggaacc cccctacatt ttcccctgcc 120

ctgctggtcg tgaccgaggg cgacaatgcc accttcacct gtagcttcag caacaccagc 180

gagagcttcg tgctgaactg gtacagaatg agccccagca accagaccga caagctggcc 240

gccttccccg aggatagatc tcagcccggc caggactgcc ggttcagagt gacccagctg 300

cccaacggcc gggacttcca catgtctgtc gtgcgggcca gacggaacga cagcggcaca 360

tatctgtgcg gcgccatcag cctggccccc aaggcccaga tcaaagagag cctgagagcc 420

gagctgagag tgaccgagag aagggccgaa gtgcctaccg cccaccctag ccca 474

92 <210>

158 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huPD1 2 -12aas <223>

92 <400>

Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln

15 10 5 1

Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp

30 25 20

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

45 40 35

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val

60 55 50

Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala

80 75 70 65

Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg

95 90 85

Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg

110 105 100

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

125 120 115

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

140 135 130

Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro

155 150 145

93 <210>

465 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huPD1 2 -15aas <223>

93 <400>

atgcagatcc ctcaggcccc ttggcctgtc gtgtgggctg tgctgcagct gggatggcgg 60

cctggctggt ttctggacag ccccgacaga ccctggaacc cccctacatt ttcccctgcc 120

ctgctggtcg tgaccgaggg cgacaatgcc accttcacct gtagcttcag caacaccagc 180

gagagcttcg tgctgaactg gtacagaatg agccccagca accagaccga caagctggcc 240

gccttccccg aggatagatc tcagcccggc caggactgcc ggttcagagt gacccagctg 300

cccaacggcc gggacttcca catgtctgtc gtgcgggcca gacggaacga cagcggcaca 360

tatctgtgcg gcgccatcag cctggccccc aaggcccaga tcaaagagag cctgagagcc 420

gagctgagag tgaccgagag aagggccgaa gtgcctaccg cccac 465

94 <210>

155 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huPD1 2 -15aas <223>

94 <400>

Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln
15 10 5 1

Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp
30 25 20

Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp
45 40 35

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val
60 55 50

Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala
80 75 70 65

Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg
95 90 85

Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg
110 105 100

Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu
125 120 115

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

140 135 130

Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His

155 150 145

95 <210>

447 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huPD1 2 -21aas <223>

95 <400>

atgcagatcc ctcaggcccc ttggcctgtc gtgtgggctg tgctgcagct gggatggcgg 60

cctggctggt ttctggacag ccccgacaga ccctggaacc cccctacatt ttcccctgcc 120

ctgctggtcg tgaccgaggg cgacaatgcc accttcacct gtagcttcag caacaccagc 180

gagagcttcg tgctgaactg gtacagaatg agccccagca accagaccga caagctggcc 240

gccttccccg aggatagatc tcagcccggc caggactgcc ggttcagagt gacccagctg 300

cccaacggcc gggacttcca catgtctgtc gtgcgggcca gacggaacga cagcggcaca 360

tatctgtgcg gcgccatcag cctggccccc aaggcccaga tcaaagagag cctgagagcc 420

gagctgagag tgaccgagag aagggcc 447

96 <210>

149 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huPD1 2 -21aas <223>

96 <400>

Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln

15 10 5 1

Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp

30 25 20

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

45 40 35

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val

60 55 50

Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala

80 75 70 65

Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg

95 90 85

Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg

110 105 100

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

125 120 115

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

140 135 130

Thr Glu Arg Arg Ala

145

97 <210>

750 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huPD1-CD28Cys <223>

97 <400>

atgcagatcc ctcaggcccc ttggcctgtc gtgtgggctg tgctgcagct gggatggcgg 60

cctggctggt ttctggacag ccccgacaga ccctggaacc cccctacatt ttcccctgcc 120

ctgctggtcg tgaccgaggg cgacaatgcc accttcacct gtagcttcag caacaccagc 180

gagagcttcg tgctgaactg gtacagaatg agccccagca accagaccga caagctggcc 240

gccttccccg aggatagatc tcagcccggc caggactgcc ggttcagagt gacccagctg 300

cccaacggcc gggacttcca catgtctgtc gtgcgggcca gacggaacga cagcggcaca 360

tatctgtgcg gcgccatcag cctggccccc aaggcccaga tcaaagagag cctgagagcc 420

gagctgagag tgaccgagag aagggccgaa gtgcctaccg cccaccctag cccatctcca 480

agacctgccg gccagttcca gacactggtc tgtcccagcc ctctgtttcc cggccctagc 540

aagcctttct gggtgctggt ggtggtcgga ggcgtgctgg cctgctacag cctgctggtc 600

accgtggcct tcatcatctt ttgggtccgc agcaagcgga gcagaggcgg ccacagcgac 660

tacatgaaca tgaccctag acggcctggc cccaccagaa agcactacca gccctacgcc 720

cctccccggg actttgccgc ctacagaagc 750

98 <210>

250 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huPD1-CD28Cys <223>

98 <400>

Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln
15 10 5 1

Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp
30 25 20

Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp
45 40 35

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val
60 55 50

Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala
80 75 70 65

Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg
95 90 85

Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg
110 105 100

Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu
125 120 115

Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val
140 135 130

Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro
160 155 150 145

Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln Thr Leu Val Cys Pro Ser Pro Leu Phe
175 170 165

Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val
190 185 180

Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp
205 200 195

Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met

220 215 210

Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala

240 235 230 225

Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

250 245

99 <210>

714 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huPD1-12aas-CD28Cys <223>

99 <400>

atgcagatcc ctcaggcccc ttggcctgtc gtgtgggctg tgctgcagct gggatggcgg 60

cctggctggt ttctggacag ccccgacaga ccctggaacc cccctacatt ttcccctgcc 120

ctgctggtcg tgaccgaggg cgacaatgcc accttcacct gtagcttcag caacaccagc 180

gagagcttcg tgctgaactg gtacagaatg agccccagca accagaccga caagctggcc 240

gccttccccg aggatagatc tcagcccggc caggactgcc ggttcagagt gacccagctg 300

cccaacggcc gggacttcca catgtctgtc gtgcgggcca gacggaacga cagcggcaca 360

tatctgtgcg gcgccatcag cctggccccc aaggcccaga tcaaagagag cctgagagcc 420

gagctgagag tgaccgagag aagggccgaa gtgcctaccg cccaccctag cccatgtccc 480

agccctctgt ttcccggccc tagcaagcct ttctgggtgc tggtggtggt cggaggcgtg 540

ctggcctgct acagcctgct ggtcaccgtg gccttcatca tcttttgggt ccgcagcaag 600

cggagcagag gcggccacag cgactacatg aacatgaccc ctagacggcc tggccccacc 660

agaaagcact accagcccta cgcccctccc cgggactttg ccgcctacag aagc 714

100 <210>

238 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huPD1-12aas-CD28Cys <223>

100 <400>

Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln
15 10 5 1

Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp
30 25 20

Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp
45 40 35

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val
60 55 50

Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala
80 75 70 65

Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg
95 90 85

Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg
110 105 100

Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu
125 120 115

Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val
140 135 130

Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Cys Pro

160 155 150 145

Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val

175 170 165

Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe

190 185 180

Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp

205 200 195

Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr

220 215 210

Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

235 230 225

101 <210>

705 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huPD1-15aas-CD28Cys <223>

101 <400>

atgcagatcc ctcaggcccc ttggcctgtc gtgtgggctg tgctgcagct gggatggcgg 60

cctggctggt ttctggacag ccccgacaga ccctggaacc cccctacatt ttcccctgcc 120

ctgctggtcg tgaccgaggg cgacaatgcc accttcacct gtagcttcag caacaccagc 180

gagagcttcg tgctgaactg gtacagaatg agccccagca accagaccga caagctggcc 240

gccttccccg aggatagatc tcagcccggc caggactgcc ggttcagagt gacccagctg 300

cccaacggcc gggacttcca catgtctgtc gtgcgggcca gacggaacga cagcggcaca 360

tatctgtgcg gcgccatcag cctggccccc aaggcccaga tcaaagagag cctgagagcc 420

gagctgagag tgaccgagag aagggccgaa gtgcctaccg cccactgtcc agccctctg 480

tttcccggcc ctagcaagcc tttctgggtg ctggtggtgg tcggaggcgt gctggcctgc 540

tacagcctgc tggtcaccgt ggccttcatc atcttttggg tccgcagcaa gcggagcaga 600

ggcggccaca gcgactacat gaacatgacc cctagacggc ctggccccac cagaaagcac 660

taccagccct acgcccctcc ccgggacttt gccgcctaca gaagc 705

102 <210>

235 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huPD1-15aas-CD28Cys <223>

102 <400>

Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln

15 10 5 1

Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp

30 25 20

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

45 40 35

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val

60 55 50

Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala

80 75 70 65

Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg

95 90 85

Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg

110 105 100

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

125 120 115

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

140 135 130

Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Cys Pro Ser Pro Leu

160 155 150 145

Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly

175 170 165

Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe

190 185 180

Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn

205 200 195

Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr

220 215 210

Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

235 230 225

103 <210>

687 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huPD1-21aas-CD28Cys <223>

103 <400>

atgcagatcc ctcaggcccc ttggcctgtc gtgtgggctg tgctgcagct gggatggcgg 60

cctggctggt ttctggacag ccccgacaga ccctggaacc cccctacatt ttcccctgcc 120

ctgctggtcg tgaccgaggg cgacaatgcc accttcacct gtagcttcag caacaccagc 180

gagagcttcg tgctgaactg gtacagaatg agccccagca accagaccga caagctggcc 240

gccttccccg aggatagatc tcagcccggc caggactgcc ggttcagagt gacccagctg 300

cccaacggcc gggacttcca catgtctgtc gtgcgggcca gacggaacga cagcggcaca 360

tatctgtgcg gcgccatcag cctggccccc aaggcccaga tcaaagagag cctgagagcc 420

gagctgagag tgaccgagag aagggcctgt cccagccctc tgtttcccgg ccctagcaag 480

cctttctggg tgctggtggt ggtcggaggc gtgctggcct gctacagcct gctggtcacc 540

gtggccttca tcatcttttg ggtccgcagc aagcggagca gaggcggcca cagcgactac 600

atgaacatga cccctagacg gcctggcccc accagaaagc actaccagcc ctacgccccc 660

ccccgggact ttgccgccta cagaagc 687

104 <210>

229 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huPD1-21aas-CD28Cys <223>

104 <400>

Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln

15 10 5 1

Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp

30 25 20

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

45 40 35

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val

60 55 50

Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala

80 75 70 65

Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg

95 90 85

Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg

110 105 100

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

125 120 115

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

140 135 130

Thr Glu Arg Arg Ala Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys

160 155 150 145

Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser

175 170 165

Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg

190 185 180

Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro

205 200 195

Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe

220 215 210

Ala Ala Tyr Arg Ser

225

105 <210>

810 <211>

DNA <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

muCD2tm-CD28 <223>

105 <400>

atgaagtgca agttcctggg ctcattcttc ctgctgttca gcctgagcgg caagggcgcc 60

gactgcagag acaacgagac aatctggggc gtgctgggcc acggcatcac cctgaacatc 120

cccaacttcc agatgaccga cgacatcgac gaagtgcgct gggtgcgaag aggcacactg 180

gtggccgagt tcaagagaaa gaagccccca ttcctgatca gcgagacata cgaggtgctg 240

gccaacggca gcctgaagat caagaaaccc atgatgagaa acgacagcgg cacctacaac 300

gtgatggtgt acggcaccaa cggcatgacc agactggaaa aggacctgga cgtgcggatc 360

ctggaaaggg tgtccaagcc catgatccac tgggagtgcc ccaacaccac cctgacctgt 420

gctgtgctgc agggcaccga cttcgagctg aagctgtacc agggcgagac actgctgaac 480

tccctgcccc agaaaaacat gagctaccag tggaccaacc tgaacgcccc cttcaagtgc 540

gaggccatca accccgtgtc caaagaaagc aagatggaag tcgtgaactg ccccgagaag 600

ggcctgagct tctacgtgac agtgggcgtg ggagctggcg gactgctgct ggtgctgctg 660

gtggccctgt tcatcttctg catctgcaac agcagacgga acagaggcgg ccagagcgac 720

tacatgaaca tgaccccag aaggcctggc ctgaccagaa agccctacca gccttacgcc 780

cctgccagag acttcgccgc ctacagacct 810

106 <210>

270 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muCD2tm-CD28 <223>

106 <400>

Met Lys Cys Lys Phe Leu Gly Ser Phe Phe Leu Leu Phe Ser Leu Ser

15 10 5 1

Gly Lys Gly Ala Asp Cys Arg Asp Asn Glu Thr Ile Trp Gly Val Leu

30 25 20

Gly His Gly Ile Thr Leu Asn Ile Pro Asn Phe Gln Met Thr Asp Asp

45 40 35

Ile Asp Glu Val Arg Trp Val Arg Arg Gly Thr Leu Val Ala Glu Phe

60 55 50

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

80 75 70 65

Ala Asn Gly Ser Leu Lys Ile Lys Lys Pro Met Met Arg Asn Asp Ser

95 90 85

Gly Thr Tyr Asn Val Met Val Tyr Gly Thr Asn Gly Met Thr Arg Leu

110 105 100

Glu Lys Asp Leu Asp Val Arg Ile Leu Glu Arg Val Ser Lys Pro Met

125 120 115

Ile His Trp Glu Cys Pro Asn Thr Thr Leu Thr Cys Ala Val Leu Gln

140 135 130

Gly Thr Asp Phe Glu Leu Lys Leu Tyr Gln Gly Glu Thr Leu Leu Asn

160 155 150 145

Ser Leu Pro Gln Lys Asn Met Ser Tyr Gln Trp Thr Asn Leu Asn Ala

175 170 165

Pro Phe Lys Cys Glu Ala Ile Asn Pro Val Ser Lys Glu Ser Lys Met

190 185 180

Glu Val Val Asn Cys Pro Glu Lys Gly Leu Ser Phe Tyr Val Thr Val

205 200 195

Gly Val Gly Ala Gly Gly Leu Leu Leu Val Leu Leu Val Ala Leu Phe

220 215 210

Ile Phe Cys Ile Cys Asn Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp

240 235 230 225

Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr

255 250 245

Gln Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro

270 265 260

107 <210>

813 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muCD2-CD28tm <223>

107 <400>

atgaagtgca agttcctggg ctcattcttc ctgctgttca gcctgagcgg caagggcgcc 60

gactgcagag acaacgagac aatctggggc gtgctgggcc acggcatcac cctgaacatc 120

cccaacttcc agatgaccga cgacatcgac gaagtgcgct gggtgcgaag aggcacactg 180

gtggccgagt tcaagagaaa gaagccccca ttcctgatca gcgagacata cgaggtgctg 240

gccaacggca gcctgaagat caagaaaccc atgatgagaa acgacagcgg cacctacaac 300

gtgatggtgt acggcaccaa cggcatgacc agactggaaa aggacctgga cgtgcggatc 360

ctggaaaggg tgtccaagcc catgatccac tgggagtgcc ccaacaccac cctgacctgt 420

gctgtgctgc agggcaccga cttcgagctg aagctgtacc agggcgagac actgctgaac 480

tccctgcccc agaaaaacat gagctaccag tggaccaacc tgaacgcccc cttcaagtgc 540

gaggccatca accccgtgtc caaagaaagc aagatggaag tcgtgaactg ccccgagaag 600

ggcctgagct tctgggccct ggtggtggtg gccggcgtgc tgttttgtta cggcctgctc 660

gtgaccgtgg ccctgtgcgt gatctggacc aacagcagaa gaaacagagg cggccagagc 720

gactacatga acatgacccc cagaaggcct ggcctgacca gaaagcccta ccagccttac 780

gcccctgcca gagacttcgc cgcctacaga ccc 813

<210> 108

<211> 271

<212> PRT

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> muCD2-CD28tm

<400> 108

Met Lys Cys Lys Phe Leu Gly Ser Phe Phe Leu Leu Phe Ser Leu Ser
1 5 10 15

Gly Lys Gly Ala Asp Cys Arg Asp Asn Glu Thr Ile Trp Gly Val Leu
20 25 30

Gly His Gly Ile Thr Leu Asn Ile Pro Asn Phe Gln Met Thr Asp Asp
35 40 45

Ile Asp Glu Val Arg Trp Val Arg Arg Gly Thr Leu Val Ala Glu Phe
50 55 60

Lys Arg Lys Lys Pro Pro Phe Leu Ile Ser Glu Thr Tyr Glu Val Leu
65 70 75 80

Ala Asn Gly Ser Leu Lys Ile Lys Lys Pro Met Met Arg Asn Asp Ser
85 90 95

Gly Thr Tyr Asn Val Met Val Tyr Gly Thr Asn Gly Met Thr Arg Leu
100 105 110

Glu Lys Asp Leu Asp Val Arg Ile Leu Glu Arg Val Ser Lys Pro Met

125 120 115

Ile His Trp Glu Cys Pro Asn Thr Thr Leu Thr Cys Ala Val Leu Gln

140 135 130

Gly Thr Asp Phe Glu Leu Lys Leu Tyr Gln Gly Glu Thr Leu Leu Asn

160 155 150 145

Ser Leu Pro Gln Lys Asn Met Ser Tyr Gln Trp Thr Asn Leu Asn Ala

175 170 165

Pro Phe Lys Cys Glu Ala Ile Asn Pro Val Ser Lys Glu Ser Lys Met

190 185 180

Glu Val Val Asn Cys Pro Glu Lys Gly Leu Ser Phe Trp Ala Leu Val

205 200 195

Val Val Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala

220 215 210

Leu Cys Val Ile Trp Thr Asn Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser

240 235 230 225

Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro

255 250 245

Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro

270 265 260

109 <210>

840 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muCD2-CD28Cys <223>

109 <400>

atgaagtgca agttcctggg ctcattcttc ctgctgttca gcctgagcgg caagggcgcc 60

gactgcagag acaacgagac aatctggggc gtgctgggcc acggcatcac cctgaacatc 120

cccaacttcc agatgaccga cgacatcgac gaagtgcgct gggtgcgaag aggcacactg 180

gtggccgagt tcaagagaaa gaagccccca ttcctgatca gcgagacata cgaggtgctg 240

gccaacggca gcctgaagat caagaaaccc atgatgagaa acgacagcgg cacctacaac 300

gtgatggtgt acggcaccaa cggcatgacc agactggaaa aggacctgga cgtgcggatc 360

ctggaaaggg tgtccaagcc catgatccac tgggagtgcc ccaacaccac cctgacctgt 420

gctgtgctgc agggcaccga cttcgagctg aagctgtacc agggcgagac actgctgaac 480

tccctgcccc agaaaaacat gagctaccag tggaccaacc tgaacgcccc cttcaagtgc 540

gaggccatca accccgtgtc caaagaaagc aagatggaag tcgtgaactg ccccgagaag 600

ggcctgagct gccacaccca gagcagcccc aagctgttct gggccctggt ggtggtggcc 660

ggcgtgctgt tttgttacgg cctgctcgtg accgtggccc tgtgcgtgat ctggaccaac 720

agcagaagaa acagaggcgg ccagagcgac tacatgaaca tgaccccccag aaggcctggc 780

ctgaccagaa agccctacca gccttacgcc cctgccagag acttcgccgc ctacagacct 840

110 <210>

280 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muCD2-CD28Cys <223>

110 <400>

Met Lys Cys Lys Phe Leu Gly Ser Phe Phe Leu Leu Phe Ser Leu Ser

15 10 5 1

Gly Lys Gly Ala Asp Cys Arg Asp Asn Glu Thr Ile Trp Gly Val Leu

30 25 20

Gly His Gly Ile Thr Leu Asn Ile Pro Asn Phe Gln Met Thr Asp Asp

45 40 35

Ile Asp Glu Val Arg Trp Val Arg Arg Gly Thr Leu Val Ala Glu Phe

60 55 50

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

80 75 70 65

Ala Asn Gly Ser Leu Lys Ile Lys Lys Pro Met Met Arg Asn Asp Ser

95 90 85

Gly Thr Tyr Asn Val Met Val Tyr Gly Thr Asn Gly Met Thr Arg Leu

110 105 100

Glu Lys Asp Leu Asp Val Arg Ile Leu Glu Arg Val Ser Lys Pro Met

125 120 115

Ile His Trp Glu Cys Pro Asn Thr Thr Leu Thr Cys Ala Val Leu Gln

140 135 130

Gly Thr Asp Phe Glu Leu Lys Leu Tyr Gln Gly Glu Thr Leu Leu Asn

160 155 150 145

Ser Leu Pro Gln Lys Asn Met Ser Tyr Gln Trp Thr Asn Leu Asn Ala

175 170 165

Pro Phe Lys Cys Glu Ala Ile Asn Pro Val Ser Lys Glu Ser Lys Met

190 185 180

Glu Val Val Asn Cys Pro Glu Lys Gly Leu Ser Cys His Thr Gln Ser

205 200 195

Ser Pro Lys Leu Phe Trp Ala Leu Val Val Val Ala Gly Val Leu Phe

220 215 210

Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys Val Ile Trp Thr Asn

240 235 230 225

Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro

255 250 245

Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Ala

270 265 260

Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro

280 275

111 <210>

861 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muCD2-CD28Cys-41BBic <223>

111 <400>

atgaagtgca agttcctggg ctcattcttc ctgctgttca gcctgagcgg caagggcgcc 60

gactgcagag acaacgagac aatctggggc gtgctgggcc acggcatcac cctgaacatc 120

cccaacttcc agatgaccga cgacatcgac gaagtgcgct gggtgcgaag aggcacactg 180

gtggccgagt tcaagagaaa gaagccccca ttcctgatca gcgagacata cgaggtgctg 240

gccaacggca gcctgaagat caagaaaccc atgatgagaa acgacagcgg cacctacaac 300

gtgatggtgt acggcaccaa cggcatgacc agactggaaa aggacctgga cgtgcggatc 360

ctggaaaggg tgtccaagcc catgatccac tgggagtgcc ccaacaccac cctgacctgt 420

gctgtgctgc agggcaccga cttcgagctg aagctgtacc agggcgagac actgctgaac 480

tccctgcccc agaaaaacat gagctaccag tggaccaacc tgaacgcccc cttcaagtgc 540

gaggccatca accccgtgtc caaagaaagc aagatggaag tcgtgaactg ccccgagaag 600

ggcctgagct gccacaccca gagcagcccc aagctgttct gggccctggt ggtggtggcc 660

ggcgtgctgt tttgttacgg cctgctcgtg accgtggccc tgtgcgtgat ctggaccagc 720

gtgctgaagt ggatcagaaa gaagttcccc cacatcttca agcagccctt caagaaaacc 780

accggcgctg cccaggaaga ggacgcctgc agctgtagat gccctcagga agaagaaggc 840

ggcggaggcg gctacgagct g 861

112 <210>

287 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muCD2-CD28Cys-41BBic <223>

112 <400>

Met Lys Cys Lys Phe Leu Gly Ser Phe Phe Leu Leu Phe Ser Leu Ser

15 10 5 1

Gly Lys Gly Ala Asp Cys Arg Asp Asn Glu Thr Ile Trp Gly Val Leu

30 25 20

Gly His Gly Ile Thr Leu Asn Ile Pro Asn Phe Gln Met Thr Asp Asp

45 40 35

Ile Asp Glu Val Arg Trp Val Arg Arg Gly Thr Leu Val Ala Glu Phe

60 55 50

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

80 75 70 65

Ala Asn Gly Ser Leu Lys Ile Lys Lys Pro Met Met Arg Asn Asp Ser

95 90 85

Gly Thr Tyr Asn Val Met Val Tyr Gly Thr Asn Gly Met Thr Arg Leu

110 105 100

Glu Lys Asp Leu Asp Val Arg Ile Leu Glu Arg Val Ser Lys Pro Met

125 120 115

Ile His Trp Glu Cys Pro Asn Thr Thr Leu Thr Cys Ala Val Leu Gln

140 135 130

Gly Thr Asp Phe Glu Leu Lys Leu Tyr Gln Gly Glu Thr Leu Leu Asn

160 155 150 145

Ser Leu Pro Gln Lys Asn Met Ser Tyr Gln Trp Thr Asn Leu Asn Ala

175 170 165

Pro Phe Lys Cys Glu Ala Ile Asn Pro Val Ser Lys Glu Ser Lys Met

190 185 180

Glu Val Val Asn Cys Pro Glu Lys Gly Leu Ser Cys His Thr Gln Ser

205 200 195

Ser Pro Lys Leu Phe Trp Ala Leu Val Val Val Ala Gly Val Leu Phe

220 215 210

Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys Val Ile Trp Thr Ser

240 235 230 225

Val Leu Lys Trp Ile Arg Lys Lys Phe Pro His Ile Phe Lys Gln Pro

255 250 245

Phe Lys Lys Thr Thr Gly Ala Ala Gln Glu Glu Asp Ala Cys Ser Cys

270 265 260

Arg Cys Pro Gln Glu Glu Glu Gly Gly Gly Gly Gly Tyr Glu Leu

285 280 275

113 <210>

1080 <211>

DNA <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

muCD200R-3aas-CD28Cys tm ic-41BB <223>

113 <400>

atgttctgct tctggcggac aagcgccctg gccgtgctgc tgatctgggg agtgtttgtg 60

gccggcagca gctgcaccga caagaaccag accacccaga acaacagcag cagccccctg 120

acccaagtga acaccaccgt gtccgtgcag atcggcacca aggccctgct gtgctgtttc 180

agcatccctc tgaccaaggc tgtgctgatc acctggatca tcaagctgag aggcctgccc 240

agctgcacaa tcgcctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctgggcaga 300

aacatcacct gggccagcac cccagaccac agccctgagc tgcagatcag cgccgtgaca 360

ctgcagcacg agggcaccta cacatgcgag acagtgaccc ccgagggcaa cttcgagaag 420

aactacgatc tgcaggtgct ggtgcccccc gaagtgacct acttccccga gaagaataga 480

agcgccgtgt gcgaggccat ggctggcaaa cctgccgccc agatctcttg gagccctgac 540

ggcgactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgaccgt gcggagcacc 600

tgtcactggg agcagaacaa cgtgtccgac gtgtcctgca tcgtgtccca cctgaccggc 660

aaccagagcc tgagcatcga gctgagcaga ggcggaaacc agtcctgcca cacccagagc 720

agccccaagc tgttctgggc cctggtggtg gtggccggcg tgctgttttg ttacggcctg 780

ctcgtgaccg tggccctgtg cgtgatctgg accaacagca gaagaaacag aggcggccag 840

agcgactaca tgaacatgac ccccagaagg cctggcctga ccagaaagcc ctaccagcct 900

tacgcccctg ccagagactt cgccgcctac agacctagcg tgctgaagtg gatcagaaag 960

aagttccccc acatcttcaa gcagcccttc aagaaaacca ccggcgctgc ccaggaagag 1020

gacgcctgca gctgtagatg ccctcaggaa gaagaaggcg gcggaggcgg ctacgagctg 1080

114 <210>

360 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muCD200R-3aas-CD28Cys tm ic-41BB <223>

114 <400>

Met Phe Cys Phe Trp Arg Thr Ser Ala Leu Ala Val Leu Leu Ile Trp
15 10 5 1

Gly Val Phe Val Ala Gly Ser Ser Cys Thr Asp Lys Asn Gln Thr Thr
30 25 20

Gln Asn Asn Ser Ser Ser Pro Leu Thr Gln Val Asn Thr Thr Val Ser
45 40 35

Val Gln Ile Gly Thr Lys Ala Leu Leu Cys Cys Phe Ser Ile Pro Leu
60 55 50

Thr Lys Ala Val Leu Ile Thr Trp Ile Ile Lys Leu Arg Gly Leu Pro
80 75 70 65

Ser Cys Thr Ile Ala Tyr Lys Val Asp Thr Lys Thr Asn Glu Thr Ser
95 90 85

Cys Leu Gly Arg Asn Ile Thr Trp Ala Ser Thr Pro Asp His Ser Pro
110 105 100

Glu Leu Gln Ile Ser Ala Val Thr Leu Gln His Glu Gly Thr Tyr Thr
125 120 115

Cys Glu Thr Val Thr Pro Glu Gly Asn Phe Glu Lys Asn Tyr Asp Leu
140 135 130

Gln Val Leu Val Pro Pro Glu Val Thr Tyr Phe Pro Glu Lys Asn Arg
160 155 150 145

Ser Ala Val Cys Glu Ala Met Ala Gly Lys Pro Ala Ala Gln Ile Ser
175 170 165

Trp Ser Pro Asp Gly Asp Cys Val Thr Thr Ser Glu Ser His Ser Asn

190 185 180

Gly Thr Val Thr Val Arg Ser Thr Cys His Trp Glu Gln Asn Asn Val

205 200 195

Ser Asp Val Ser Cys Ile Val Ser His Leu Thr Gly Asn Gln Ser Leu

220 215 210

Ser Ile Glu Leu Ser Arg Gly Gly Asn Gln Ser Cys His Thr Gln Ser

240 235 230 225

Ser Pro Lys Leu Phe Trp Ala Leu Val Val Val Ala Gly Val Leu Phe

255 250 245

Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys Val Ile Trp Thr Asn

270 265 260

Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro

285 280 275

Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Ala

300 295 290

Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro Ser Val Leu Lys Trp Ile Arg Lys

320 315 310 305

Lys Phe Pro His Ile Phe Lys Gln Pro Phe Lys Lys Thr Thr Gly Ala

335 330 325

Ala Gln Glu Glu Asp Ala Cys Ser Cys Arg Cys Pro Gln Glu Glu Glu

350 345 340

Gly Gly Gly Gly Gly Tyr Glu Leu

360 355

115 <210>

966 <211>

DNA <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

muCD200R-CD28Cys tm ic-41BB <223>

115 <400>

atgttctgct tctggcggac aagcgccctg gccgtgctgc tgatctgggg agtgtttgtg 60

gccggcagca gctgcaccga caagaaccag accacccaga acaacagcag cagccccctg 120

acccaagtga acaccaccgt gtccgtgcag atcggcacca aggccctgct gtgctgtttc 180

agcatccctc tgaccaaggc tgtgctgatc acctggatca tcaagctgag aggcctgccc 240

agctgcacaa tcgcctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctgggcaga 300

aacatcacct gggccagcac cccagaccac agccctgagc tgcagatcag cgccgtgaca 360

ctgcagcacg agggcaccta cacatgcgag acagtgaccc ccgagggcaa cttcgagaag 420

aactacgatc tgcaggtgct ggtgcccccc gaagtgacct acttccccga gaagaataga 480

agcgccgtgt gcgaggccat ggctggcaaa cctgccgccc agatctcttg gagccctgac 540

ggcgactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgaccgt gcggagcacc 600

tgtcactggg agcagaacaa cgtgtccgac gtgtcctgca tcgtgtccca cctgaccggc 660

aaccagagcc tgagcatcga gctgagcaga ggcggaaacc agtccctgag gccctgccac 720

acccagagca gccccaagct gttctgggcc ctggtggtgg tggccggcgt gctgttttgt 780

tacggcctgc tcgtgaccgt ggccctgtgc gtgatctgga ccagcgtgct gaagtggatc 840

agaaagaagt tcccccacat cttcaagcag cccttcaaga aaaccaccgg cgctgcccag 900

gaagaggacg cctgcagctg tagatgccct caggaagaag aaggcggcgg aggcggctac 960

gagctg 966

116 <210>

322 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muCD200R-CD28Cys tm ic-41BB <223>

116 <400>

Met Phe Cys Phe Trp Arg Thr Ser Ala Leu Ala Val Leu Leu Ile Trp
15 10 5 1

Gly Val Phe Val Ala Gly Ser Ser Cys Thr Asp Lys Asn Gln Thr Thr
30 25 20

Gln Asn Asn Ser Ser Ser Pro Leu Thr Gln Val Asn Thr Thr Val Ser
45 40 35

Val Gln Ile Gly Thr Lys Ala Leu Leu Cys Cys Phe Ser Ile Pro Leu
60 55 50

Thr Lys Ala Val Leu Ile Thr Trp Ile Ile Lys Leu Arg Gly Leu Pro
80 75 70 65

Ser Cys Thr Ile Ala Tyr Lys Val Asp Thr Lys Thr Asn Glu Thr Ser
95 90 85

Cys Leu Gly Arg Asn Ile Thr Trp Ala Ser Thr Pro Asp His Ser Pro
110 105 100

Glu Leu Gln Ile Ser Ala Val Thr Leu Gln His Glu Gly Thr Tyr Thr
125 120 115

Cys Glu Thr Val Thr Pro Glu Gly Asn Phe Glu Lys Asn Tyr Asp Leu
140 135 130

Gln Val Leu Val Pro Pro Glu Val Thr Tyr Phe Pro Glu Lys Asn Arg
160 155 150 145

Ser Ala Val Cys Glu Ala Met Ala Gly Lys Pro Ala Ala Gln Ile Ser
175 170 165

Trp Ser Pro Asp Gly Asp Cys Val Thr Thr Ser Glu Ser His Ser Asn
190 185 180

Gly Thr Val Thr Val Arg Ser Thr Cys His Trp Glu Gln Asn Asn Val

205 200 195

Ser Asp Val Ser Cys Ile Val Ser His Leu Thr Gly Asn Gln Ser Leu

220 215 210

Ser Ile Glu Leu Ser Arg Gly Gly Asn Gln Ser Leu Arg Pro Cys His

240 235 230 225

Thr Gln Ser Ser Pro Lys Leu Phe Trp Ala Leu Val Val Val Ala Gly

255 250 245

Val Leu Phe Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys Val Ile

270 265 260

Trp Thr Ser Val Leu Lys Trp Ile Arg Lys Lys Phe Pro His Ile Phe

285 280 275

Lys Gln Pro Phe Lys Lys Thr Thr Gly Ala Ala Gln Glu Glu Asp Ala

300 295 290

Cys Ser Cys Arg Cys Pro Gln Glu Glu Glu Gly Gly Gly Gly Gly Tyr

320 315 310 305

Glu Leu

117 <210>

681 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muFas tm-CD28 <223>

117 <400>

atgctgtgga tctgggccgt gctgcctctg gtgctggctg gatcacagct gagagtgcac 60

acccagggca ccaacagcat cagcgagagc ctgaagctga gaagaagagt gcgcgagaca 120

gacaagaact gcagcgaggg cctgtaccag ggcggaccct tctgctgtca gccttgccag 180

cccggcaaga aaaaggtgga agattgcaag atgaacggcg gcacccctac ctgcgccct 240

tgtacagagg gcaaagagta catggacaag aaccactacg ccgacaagtg cagacggtgc 300

accctgtgcg acgaggaaca cggcctggaa gtggaaacaa actgcaccct gacccagaac 360

accaagtgca agtgcaaacc cgacttctac tgcgacagcc ccggctgcga gcactgcgtc 420

agatgtgcct cttgcgagca cggcaccctg gaaccttgta ccgccaccag caacaccaac 480

tgccggaagc agagccccag aaacagactg tggctgctga ccatcctggt gctgctgatc 540

cccctggtgt tcatctacaa cagcagaaga aacagaggcg gccagagcga ctacatgaac 600

atgaccccca gaaggcctgg cctgaccaga aagccctacc agccttacgc ccctgccaga 660

gacttcgccg cctacagacc t 681

118 <210>

227 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muFas tm-CD28 <223>

118 <400>

Met Leu Trp Ile Trp Ala Val Leu Pro Leu Val Leu Ala Gly Ser Gln

15 10 5 1

Leu Arg Val His Thr Gln Gly Thr Asn Ser Ile Ser Glu Ser Leu Lys

30 25 20

Leu Arg Arg Arg Val Arg Glu Thr Asp Lys Asn Cys Ser Glu Gly Leu

45 40 35

Tyr Gln Gly Gly Pro Phe Cys Cys Gln Pro Cys Gln Pro Gly Lys Lys
60 55 50

Lys Val Glu Asp Cys Lys Met Asn Gly Gly Thr Pro Thr Cys Ala Pro
80 75 70 65

Cys Thr Glu Gly Lys Glu Tyr Met Asp Lys Asn His Tyr Ala Asp Lys
95 90 85

Cys Arg Arg Cys Thr Leu Cys Asp Glu Glu His Gly Leu Glu Val Glu
110 105 100

Thr Asn Cys Thr Leu Thr Gln Asn Thr Lys Cys Lys Cys Lys Pro Asp
125 120 115

Phe Tyr Cys Asp Ser Pro Gly Cys Glu His Cys Val Arg Cys Ala Ser
140 135 130

Cys Glu His Gly Thr Leu Glu Pro Cys Thr Ala Thr Ser Asn Thr Asn
160 155 150 145

Cys Arg Lys Gln Ser Pro Arg Asn Arg Leu Trp Leu Leu Thr Ile Leu
175 170 165

Val Leu Leu Ile Pro Leu Val Phe Ile Tyr Asn Ser Arg Arg Asn Arg
190 185 180

Gly Gly Gln Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Leu
205 200 195

Thr Arg Lys Pro Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp Phe Ala Ala
220 215 210

Tyr Arg Pro
225

119 <210>

711 <211>

DNA <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> muFas-CD28tm

<400> 119

atgctgtgga tctgggccgt gctgcctctg gtgctggctg gatcacagct gagagtgcac 60

acccagggca ccaacagcat cagcgagagc ctgaagctga gaagaagagt gcgcgagaca 120

gacaagaact gcagcgaggg cctgtaccag ggcggaccct tctgctgtca gccttgccag 180

cccggcaaga aaaaggtgga agattgcaag atgaacggcg gcacccctac ctgcgccct 240

tgtacagagg gcaaagagta catggacaag aaccactacg ccgacaagtg cagacggtgc 300

accctgtgcg acgaggaaca cggcctggaa gtggaaacaa actgcaccct gacccagaac 360

accaagtgca agtgcaaacc cgacttctac tgcgacagcc ccggctgcga gcactgcgtc 420

agatgtgcct cttgcgagca cggcaccctg gaaccttgta ccgccaccag caacaccaac 480

tgccggaagc agagccccag aaacagattc tgggccctgg tggtggtggc cggcgtgctg 540

ttttgttacg gcctgctcgt gaccgtggcc ctgtgcgtga tctggaccaa cagcagaaga 600

aacagaggcg gccagagcga ctacatgaac atgaccccca gaaggcctgg cctgaccaga 660

aagccctacc agccttacgc ccctgccaga gacttcgccg cctacagacc t 711

<210> 120

<211> 237

<212> PRT

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> muFas-CD28tm

<400> 120

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

Leu Arg Val His Thr Gln Gly Thr Asn Ser Ile Ser Glu Ser Leu Lys
30 25 20

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

Tyr Gln Gly Gly Pro Phe Cys Cys Gln Pro Cys Gln Pro Gly Lys Lys
60 55 50

Lys Val Glu Asp Cys Lys Met Asn Gly Gly Thr Pro Thr Cys Ala Pro
80 75 70 65

Cys Thr Glu Gly Lys Glu Tyr Met Asp Lys Asn His Tyr Ala Asp Lys
95 90 85

Cys Arg Arg Cys Thr Leu Cys Asp Glu Glu His Gly Leu Glu Val Glu
110 105 100

Thr Asn Cys Thr Leu Thr Gln Asn Thr Lys Cys Lys Cys Lys Pro Asp
125 120 115

Phe Tyr Cys Asp Ser Pro Gly Cys Glu His Cys Val Arg Cys Ala Ser
140 135 130

Cys Glu His Gly Thr Leu Glu Pro Cys Thr Ala Thr Ser Asn Thr Asn
160 155 150 145

Cys Arg Lys Gln Ser Pro Arg Asn Arg Phe Trp Ala Leu Val Val Val
175 170 165

Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys
190 185 180

Val Ile Trp Thr Asn Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr
205 200 195

Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr Gln

220 215 210

Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro

235 230 225

121 <210>

738 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muFas-CD28Cys <223>

121 <400>

atgctgtgga tctgggccgt gctgcctctg gtgctggctg gatcacagct gagagtgcac 60

acccagggca ccaacagcat cagcgagagc ctgaagctga gaagaagagt gcgcgagaca 120

gacaagaact gcagcgaggg cctgtaccag ggcggaccct tctgctgtca gccttgccag 180

cccggcaaga aaaaggtgga agattgcaag atgaacggcg gcacccctac ctgcgccct 240

tgtacagagg gcaaagagta catggacaag aaccactacg ccgacaagtg cagacggtgc 300

accctgtgcg acgaggaaca cggcctggaa gtggaaacaa actgcaccct gacccagaac 360

accaagtgca agtgcaaacc cgacttctac tgcgacagcc ccggctgcga gcactgcgtc 420

agatgtgcct cttgcgagca cggcaccctg gaaccttgta ccgccaccag caacaccaac 480

tgccggaagc agagccccag aaacagatgc cacacccaga gcagccccaa gctgttctgg 540

gccctggtgg tggtggccgg cgtgctgttt tgttacggcc tgctcgtgac cgtggccctg 600

tgcgtgatct ggaccaacag cagaagaaac agaggcggcc agagcgacta catgaacatg 660

acccccagaa ggcctggcct gaccagaaag ccctaccagc cttacgcccc tgccagagac 720

ttcgccgcct acagacct 738

122 <210>

246 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muFas-CD28Cys <223>

122 <400>

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

Leu Arg Val His Thr Gln Gly Thr Asn Ser Ile Ser Glu Ser Leu Lys
30 25 20

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

Tyr Gln Gly Gly Pro Phe Cys Cys Gln Pro Cys Gln Pro Gly Lys Lys
60 55 50

Lys Val Glu Asp Cys Lys Met Asn Gly Gly Thr Pro Thr Cys Ala Pro
80 75 70 65

Cys Thr Glu Gly Lys Glu Tyr Met Asp Lys Asn His Tyr Ala Asp Lys
95 90 85

Cys Arg Arg Cys Thr Leu Cys Asp Glu Glu His Gly Leu Glu Val Glu
110 105 100

Thr Asn Cys Thr Leu Thr Gln Asn Thr Lys Cys Lys Cys Lys Pro Asp
125 120 115

Phe Tyr Cys Asp Ser Pro Gly Cys Glu His Cys Val Arg Cys Ala Ser
140 135 130

Cys Glu His Gly Thr Leu Glu Pro Cys Thr Ala Thr Ser Asn Thr Asn
160 155 150 145

Cys Arg Lys Gln Ser Pro Arg Asn Arg Cys His Thr Gln Ser Ser Pro

175 170 165

Lys Leu Phe Trp Ala Leu Val Val Val Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr

190 185 180

Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys Val Ile Trp Thr Asn Ser Arg

205 200 195

Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg

220 215 210

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

240 235 230 225

Phe Ala Ala Tyr Arg Pro

245

123 <210>

711 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muFas-9aas-CD28Cys <223>

123 <400>

atgctgtgga tctgggccgt gctgcctctg gtgctggctg gatcacagct gagagtgcac 60

acccagggca ccaacagcat cagcgagagc ctgaagctga gaagaagagt gcgcgagaca 120

gacaagaact gcagcgaggg cctgtaccag ggcggaccct tctgctgtca gccttgccag 180

cccggcaaga aaaaggtgga agattgcaag atgaacggcg gcacccctac ctgcgccccc 240

tgtacagagg gcaaagagta catggacaag aaccactacg ccgacaagtg cagacggtgc 300

accctgtgcg acgaggaaca cggcctggaa gtggaaacaa actgcaccct gacccagaac 360

accaagtgca agtgcaaacc cgacttctac tgcgacagcc ccggctgcga gcactgcgtc 420

agatgtgcct cttgcgagca cggcaccctg gaaccttgta ccgccaccag caacaccaac 480

tgccacaccc agagcagccc caagctgttc tgggccctgg tggtggtggc cggcgtgctg 540

ttttgttacg gcctgctcgt gaccgtggcc ctgtgcgtga tctggaccaa cagcagaaga 600

aacagaggcg gccagagcga ctacatgaac atgaccccca gaaggcctgg cctgaccaga 660

aagccctacc agccttacgc ccctgccaga gacttcgccg cctacagacc t 711

124 <210>

237 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muFas-9aas-CD28Cys <223>

124 <400>

Met Leu Trp Ile Trp Ala Val Leu Pro Leu Val Leu Ala Gly Ser Gln

15 10 5 1

Leu Arg Val His Thr Gln Gly Thr Asn Ser Ile Ser Glu Ser Leu Lys

30 25 20

Leu Arg Arg Arg Val Arg Glu Thr Asp Lys Asn Cys Ser Glu Gly Leu

45 40 35

Tyr Gln Gly Gly Pro Phe Cys Cys Gln Pro Cys Gln Pro Gly Lys Lys

60 55 50

Lys Val Glu Asp Cys Lys Met Asn Gly Gly Thr Pro Thr Cys Ala Pro

80 75 70 65

Cys Thr Glu Gly Lys Glu Tyr Met Asp Lys Asn His Tyr Ala Asp Lys

95 90 85

Cys Arg Arg Cys Thr Leu Cys Asp Glu Glu His Gly Leu Glu Val Glu

110 105 100

Thr Asn Cys Thr Leu Thr Gln Asn Thr Lys Cys Lys Cys Lys Pro Asp

125 120 115

Phe Tyr Cys Asp Ser Pro Gly Cys Glu His Cys Val Arg Cys Ala Ser

140 135 130

Cys Glu His Gly Thr Leu Glu Pro Cys Thr Ala Thr Ser Asn Thr Asn

160 155 150 145

Cys His Thr Gln Ser Ser Pro Lys Leu Phe Trp Ala Leu Val Val Val

175 170 165

Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys

190 185 180

Val Ile Trp Thr Asn Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr

205 200 195

Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr Gln

220 215 210

Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro

235 230 225

125 <210>

693 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muPD1tm-CD28 <223>

125 <400>

atgtgggtgc gacaggtgcc ctggtctttc acctgggctg tgctgcagct gagctggcag 60

tctggctggc tgctggaagt gcctaacggc ccttggagaa gcctgacctt ctaccccgct 120

tggctgaccg tgtctgaggg cgccaacgcc accttcacct gtagcctgag caattggagc 180

gaggacctga tgctgaactg gaacagactg agccccagca accagaccga gaagcaggcc 240

gccttctgca acggcctgtc tcagcctgtg caggacgcca gattccagat catccagctg 300

cccaacagac acgacttcca catgaacatc ctggacacca gaagaaacga cagcggcatc 360

tacctgtgcg gcgccatcag cctgcacccc aaggccaaga tcgaggaatc tcctggcgcc 420

gagctggtcg tgaccgagag aatcctggaa acctccacca gataccccag ccccagccct 480

aagcccgagg gcagatttca gggcatggtc atcggcatca tgagcgccct cgtgggcatc 540

ccagtgttgc tgctgctggc ctgggccctg aacagcagaa gaaacagagg cggccagagc 600

gactacatga acatgacccc cagaaggcct ggcctgacca gaaagcccta ccagccttac 660

gcccctgcca gagacttcgc cgcctacaga cct 693

126 <210>

231 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muPD1tm-CD28 <223>

126 <400>

Met Trp Val Arg Gln Val Pro Trp Ser Phe Thr Trp Ala Val Leu Gln

15 10 5 1

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

30 25 20

Arg Ser Leu Thr Phe Tyr Pro Ala Trp Leu Thr Val Ser Glu Gly Ala

45 40 35

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Leu Ser Asn Trp Ser Glu Asp Leu Met
60 55 50

Leu Asn Trp Asn Arg Leu Ser Pro Ser Asn Gln Thr Glu Lys Gln Ala
80 75 70 65

Ala Phe Cys Asn Gly Leu Ser Gln Pro Val Gln Asp Ala Arg Phe Gln
95 90 85

Ile Ile Gln Leu Pro Asn Arg His Asp Phe His Met Asn Ile Leu Asp
110 105 100

Thr Arg Arg Asn Asp Ser Gly Ile Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu
125 120 115

His Pro Lys Ala Lys Ile Glu Glu Ser Pro Gly Ala Glu Leu Val Val
140 135 130

Thr Glu Arg Ile Leu Glu Thr Ser Thr Arg Tyr Pro Ser Pro Ser Pro
160 155 150 145

Lys Pro Glu Gly Arg Phe Gln Gly Met Val Ile Gly Ile Met Ser Ala
175 170 165

Leu Val Gly Ile Pro Val Leu Leu Leu Leu Ala Trp Ala Leu Asn Ser
190 185 180

Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg
205 200 195

Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Ala Arg
220 215 210

Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro
230 225

127 <210>

711 <211>

DNA <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> muPD1-CD28tm

<400> 127

atgtgggtgc gacaggtgcc ctggtctttc acctgggctg tgctgcagct gagctggcag 60

tctggctggc tgctggaagt gcctaacggc ccttggagaa gcctgacctt ctaccccgct 120

tggctgaccg tgtctgaggg cgccaacgcc accttcacct gtagcctgag caattggagc 180

gaggacctga tgctgaactg gaacagactg agccccagca accagaccga gaagcaggcc 240

gccttctgca acggcctgtc tcagcctgtg caggacgcca gattccagat catccagctg 300

cccaacagac acgacttcca catgaacatc ctggacacca gaagaaacga cagcggcatc 360

tacctgtgcg gcgccatcag cctgcacccc aaggccaaga tcgaggaatc tcctggcgcc 420

gagctggtcg tgaccgagag aatcctggaa acctccacca gataccccag ccccagccct 480

aagcccgagg gcagatttca gggcatgttc tgggccctgg tggtggtggc cggcgtgctg 540

ttttgttacg gcctgctcgt gaccgtggcc ctgtgcgtga tctggaccaa cagcagaaga 600

aacagaggcg gccagagcga ctacatgaac atgaccccca gaaggcctgg cctgaccaga 660

aagccctacc agccttacgc ccctgccaga gacttcgccg cctacagacc t 711

<210> 128

<211> 237

<212> PRT

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> muPD1-CD28tm

<400> 128

Met Trp Val Arg Gln Val Pro Trp Ser Phe Thr Trp Ala Val Leu Gln
15 10 5 1

Leu Ser Trp Gln Ser Gly Trp Leu Leu Glu Val Pro Asn Gly Pro Trp
30 25 20

Arg Ser Leu Thr Phe Tyr Pro Ala Trp Leu Thr Val Ser Glu Gly Ala
45 40 35

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Leu Ser Asn Trp Ser Glu Asp Leu Met
60 55 50

Leu Asn Trp Asn Arg Leu Ser Pro Ser Asn Gln Thr Glu Lys Gln Ala
80 75 70 65

Ala Phe Cys Asn Gly Leu Ser Gln Pro Val Gln Asp Ala Arg Phe Gln
95 90 85

Ile Ile Gln Leu Pro Asn Arg His Asp Phe His Met Asn Ile Leu Asp
110 105 100

Thr Arg Arg Asn Asp Ser Gly Ile Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu
125 120 115

His Pro Lys Ala Lys Ile Glu Glu Ser Pro Gly Ala Glu Leu Val Val
140 135 130

Thr Glu Arg Ile Leu Glu Thr Ser Thr Arg Tyr Pro Ser Pro Ser Pro
160 155 150 145

Lys Pro Glu Gly Arg Phe Gln Gly Met Phe Trp Ala Leu Val Val Val
175 170 165

Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys
190 185 180

Val Ile Trp Thr Asn Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr
205 200 195

Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr Gln

220 215 210

Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro

235 230 225

129 <210>

738 <211>

DNA <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

muPD1-CD28Cys <223>

129 <400>

atgtgggtgc gacaggtgcc ctggtctttc acctgggctg tgctgcagct gagctggcag 60

tctggctggc tgctggaagt gcctaacggc ccttggagaa gcctgacctt ctaccccgct 120

tggctgaccg tgtctgaggg cgccaacgcc accttcacct gtagcctgag caattggagc 180

gaggacctga tgctgaactg gaacagactg agccccagca accagaccga gaagcaggcc 240

gccttctgca acggcctgtc tcagcctgtg caggacgcca gattccagat catccagctg 300

cccaacagac acgacttcca catgaacatc ctggacacca gaagaaacga cagcggcatc 360

tacctgtgcg gcgccatcag cctgcacccc aaggccaaga tcgaggaatc tcctggcgcc 420

gagctggtcg tgaccgagag aatcctggaa acctccacca gataccccag ccccagccct 480

aagcccgagg gcagatttca gggcatgtgc cacacccaga gcagccccaa gctgttctgg 540

gctctggtgg tggtggccgg cgtgctgttt tgttacggcc tgctcgtgac cgtggccctg 600

tgcgtgatct ggaccaacag cagacggaac agaggcggcc agagcgacta catgaatatg 660

acccccagaa ggcctggcct gaccagaaag ccctaccagc cttacgcccc tgccagagac 720

ttcgccgcct acagacct 738

130 <210>

246 <211>

PRT <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

muPD1-CD28Cys <223>

130 <400>

Met Trp Val Arg Gln Val Pro Trp Ser Phe Thr Trp Ala Val Leu Gln
15 10 5 1

Leu Ser Trp Gln Ser Gly Trp Leu Leu Glu Val Pro Asn Gly Pro Trp
30 25 20

Arg Ser Leu Thr Phe Tyr Pro Ala Trp Leu Thr Val Ser Glu Gly Ala
45 40 35

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Leu Ser Asn Trp Ser Glu Asp Leu Met
60 55 50

Leu Asn Trp Asn Arg Leu Ser Pro Ser Asn Gln Thr Glu Lys Gln Ala
80 75 70 65

Ala Phe Cys Asn Gly Leu Ser Gln Pro Val Gln Asp Ala Arg Phe Gln
95 90 85

Ile Ile Gln Leu Pro Asn Arg His Asp Phe His Met Asn Ile Leu Asp
110 105 100

Thr Arg Arg Asn Asp Ser Gly Ile Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu
125 120 115

His Pro Lys Ala Lys Ile Glu Glu Ser Pro Gly Ala Glu Leu Val Val
140 135 130

Thr Glu Arg Ile Leu Glu Thr Ser Thr Arg Tyr Pro Ser Pro Ser Pro
160 155 150 145

Lys Pro Glu Gly Arg Phe Gln Gly Met Cys His Thr Gln Ser Ser Pro

175 170 165

Lys Leu Phe Trp Ala Leu Val Val Val Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr

190 185 180

Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys Val Ile Trp Thr Asn Ser Arg

205 200 195

Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg

220 215 210

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

240 235 230 225

Phe Ala Ala Tyr Arg Pro

245

131 <210>

711 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muPD1-9aas-CD28Cys <223>

131 <400>

atgtgggtgc gacaggtgcc ctggtctttc acctgggctg tgctgcagct gagctggcag 60

tctggctggc tgctggaagt gcctaacggc ccttggagaa gcctgacctt ctaccccgct 120

tggctgaccg tgtctgaggg cgccaacgcc accttcacct gtagcctgag caattggagc 180

gaggacctga tgctgaactg gaacagactg agccccagca accagaccga gaagcaggcc 240

gccttctgca acggcctgtc tcagcctgtg caggacgcca gattccagat catccagctg 300

cccaacagac acgacttcca catgaacatc ctggacacca gaagaaacga cagcggcatc 360

tacctgtgcg gcgccatcag cctgcacccc aaggccaaga tcgaggaatc tcctggcgcc 420

gagctggtcg tgaccgagag aatcctggaa acctccacca gataccccag ccccagccct 480

tgccacaccc agagcagccc caagctgttc tgggctctgg tggtggtggc cggcgtgctg 540

ttttgttacg gcctgctcgt gaccgtggcc ctgtgcgtga tctggaccaa cagcagacgg 600

aacagaggcg gccagagcga ctacatgaat atgaccccca gaaggcctgg cctgaccaga 660

aagccctacc agccttacgc ccctgccaga gacttcgccg cctacagacc t 711

132 <210>

237 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muPD1-9aas-CD28Cys <223>

132 <400>

Met Trp Val Arg Gln Val Pro Trp Ser Phe Thr Trp Ala Val Leu Gln

15 10 5 1

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

30 25 20

Arg Ser Leu Thr Phe Tyr Pro Ala Trp Leu Thr Val Ser Glu Gly Ala

45 40 35

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

60 55 50

Leu Asn Trp Asn Arg Leu Ser Pro Ser Asn Gln Thr Glu Lys Gln Ala

80 75 70 65

Ala Phe Cys Asn Gly Leu Ser Gln Pro Val Gln Asp Ala Arg Phe Gln

95 90 85

Ile Ile Gln Leu Pro Asn Arg His Asp Phe His Met Asn Ile Leu Asp

110 105 100

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

125 120 115

His Pro Lys Ala Lys Ile Glu Glu Ser Pro Gly Ala Glu Leu Val Val

140 135 130

Thr Glu Arg Ile Leu Glu Thr Ser Thr Arg Tyr Pro Ser Pro Ser Pro

160 155 150 145

Cys His Thr Gln Ser Ser Pro Lys Leu Phe Trp Ala Leu Val Val Val

175 170 165

Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys

190 185 180

Val Ile Trp Thr Asn Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr

205 200 195

Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr Gln

220 215 210

Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro

235 230 225

133 <210>

675 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muPD1-21aas-CD28Cys <223>

133 <400>

atgtgggtgc gacaggtgcc ctggtctttc acctgggctg tgctgcagct gagctggcag 60

tctggctggc tgctggaagt gcctaacggc ccttggagaa gcctgacctt ctaccccgct 120

tggctgaccg tgtctgaggg cgccaacgcc accttcacct gtagcctgag caattggagc 180

gaggacctga tgctgaactg gaacagactg agccccagca accagaccga gaagcaggcc 240

gccttctgca acggcctgtc tcagcctgtg caggacgcca gattccagat catccagctg 300

cccaacagac acgacttcca catgaacatc ctggacacca gaagaaacga cagcggcatc 360

tacctgtgcg gcgccatcag cctgcacccc aaggccaaga tcgaggaatc tcctggcgcc 420

gagctggtcg tgaccgagag aatctgccac acccagagca gccccaagct gttctgggct 480

ctggtggtgg tggccggcgt gctgttttgt tacggcctgc tcgtgaccgt ggccctgtgc 540

gtgatctgga ccaacagcag acggaacaga ggcggccaga gcgactacat gaatatgacc 600

cccagaaggc ctggcctgac cagaaagccc taccagcctt acgcccctgc cagagacttc 660

gccgcctaca gacct 675

134 <210>

225 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muPD1-21aas-CD28Cys <223>

134 <400>

Met Trp Val Arg Gln Val Pro Trp Ser Phe Thr Trp Ala Val Leu Gln

15 10 5 1

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

30 25 20

Arg Ser Leu Thr Phe Tyr Pro Ala Trp Leu Thr Val Ser Glu Gly Ala

45 40 35

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

60 55 50

Leu Asn Trp Asn Arg Leu Ser Pro Ser Asn Gln Thr Glu Lys Gln Ala

80 75 70 65

Ala Phe Cys Asn Gly Leu Ser Gln Pro Val Gln Asp Ala Arg Phe Gln

95 90 85

Ile Ile Gln Leu Pro Asn Arg His Asp Phe His Met Asn Ile Leu Asp

110 105 100

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

125 120 115

His Pro Lys Ala Lys Ile Glu Glu Ser Pro Gly Ala Glu Leu Val Val

140 135 130

Thr Glu Arg Ile Cys His Thr Gln Ser Ser Pro Lys Leu Phe Trp Ala

160 155 150 145

Leu Val Val Val Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr

175 170 165

Val Ala Leu Cys Val Ile Trp Thr Asn Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gly

190 185 180

Gln Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg

205 200 195

Lys Pro Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg

220 215 210

Pro

225

135 <210>

1512 <211>

DNA <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> muLag3tm-CD28

<400> 135

atgagagagg acctgctgct gggctttctg ctgctgggac tgctgtggga ggcccctgtg 60

gtgtcatctg gccctggcaa agaactgccc gtcgtgtggg ctcaggaagg cgctcctgtg 120

catctgccct gcagcctgaa gtcccccaac ctggacccca acttcctgag aagaggcggc 180

gtgatctggc agcaccagcc tgattctggc cagcccacac ctatccctgc cctggatctg 240

caccagggca tgcctagccc tagacagcct gcccctggca gatacaccgt gctgtctgtg 300

gctcctggcg gcctgagaag tggcagacag cctctgcacc ctcacgtgca gctggaagag 360

aggggactgc agaggggcga cttcagcctg tggctgaggc ctgccctgag aacagatgcc 420

ggcgagtacc acgctaccgt gcggctgcct aacagagccc tgagctgctc cctgagactg 480

agagtgggcc aggccagcat gatcgcctct ccatctggcg tgctgaagct gagcgactgg 540

gtgctgctga actgcagctt ctccagaccc gacagacccg tgtccgtgca ctggttccag 600

ggacagaaca gagtgcccgt gtacaacagc cccagacact tcctggccga gacattcctg 660

ctgctgcccc aggtgtcccc tctggactct ggcacatggg gctgcgtgct gacatacagg 720

gacggcttca acgtgtccat cacctacaac ctgaaggtgc tgggcctgga acccgtggct 780

cctctgacag tgtacgccgc cgagggcagc agagtggaac tgccttgtca tctgccaccc 840

ggcgtgggca caccttctct gctgatcgcc aagtggaccc ctccaggcgg aggacctgaa 900

ctgccagtgg ctggcaagag cggcaacttc accctgcacc tggaagcagt gggcctggct 960

caggccggca cctacacctg tagcatccat ctgcagggcc agcagctgaa cgccaccgtg 1020

acactggccg tgatcaccgt gacccccaag agctttggcc tgcctggctc cagaggcaag 1080

ctgctgtgtg aagtgacccc cgccagcggc aaagaaagat tcgtgtggcg gcctctgaac 1140

aacctgagca gatcctgccc aggccccgtg ctggaaatcc aggaagccag actgctggcc 1200

gagcggtggc agtgccagct gtatgaggga cagcgactgc tgggcgccac tgtgtacgct 1260

gctgagtcta gctctggcgc ccacagcgcc agaagaatca gcggcgatct gaagggcggc 1320

cacctggtgc tggtgctgat cctgggcgct ctgagcctgt tcctgctggt ggctggcgct 1380

ttcggcttta acagcagaag aaacagaggc ggccagagcg actacatgaa catgaccccc 1440

agaaggcctg gcctgaccag aaagccctac cagccttacg cccctgccag agacttcgcc 1500

gcctacagac ct 1512

136 <210>

504 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muLag3tm-CD28 <223>

136 <400>

Met Arg Glu Asp Leu Leu Leu Gly Phe Leu Leu Leu Gly Leu Leu Trp

15 10 5 1

Glu Ala Pro Val Val Ser Ser Gly Pro Gly Lys Glu Leu Pro Val Val

30 25 20

Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Val His Leu Pro Cys Ser Leu Lys Ser

45 40 35

Pro Asn Leu Asp Pro Asn Phe Leu Arg Arg Gly Gly Val Ile Trp Gln

60 55 50

His Gln Pro Asp Ser Gly Gln Pro Thr Pro Ile Pro Ala Leu Asp Leu

80 75 70 65

His Gln Gly Met Pro Ser Pro Arg Gln Pro Ala Pro Gly Arg Tyr Thr

95 90 85

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

110 105 100

His Pro His Val Gln Leu Glu Glu Arg Gly Leu Gln Arg Gly Asp Phe
125 120 115

Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Leu Arg Thr Asp Ala Gly Glu Tyr His
140 135 130

Ala Thr Val Arg Leu Pro Asn Arg Ala Leu Ser Cys Ser Leu Arg Leu
160 155 150 145

Arg Val Gly Gln Ala Ser Met Ile Ala Ser Pro Ser Gly Val Leu Lys
175 170 165

Leu Ser Asp Trp Val Leu Leu Asn Cys Ser Phe Ser Arg Pro Asp Arg
190 185 180

Pro Val Ser Val His Trp Phe Gln Gly Gln Asn Arg Val Pro Val Tyr
205 200 195

Asn Ser Pro Arg His Phe Leu Ala Glu Thr Phe Leu Leu Leu Pro Gln
220 215 210

Val Ser Pro Leu Asp Ser Gly Thr Trp Gly Cys Val Leu Thr Tyr Arg
240 235 230 225

Asp Gly Phe Asn Val Ser Ile Thr Tyr Asn Leu Lys Val Leu Gly Leu
255 250 245

Glu Pro Val Ala Pro Leu Thr Val Tyr Ala Ala Glu Gly Ser Arg Val
270 265 260

Glu Leu Pro Cys His Leu Pro Pro Gly Val Gly Thr Pro Ser Leu Leu
285 280 275

Ile Ala Lys Trp Thr Pro Pro Gly Gly Gly Pro Glu Leu Pro Val Ala
300 295 290

Gly Lys Ser Gly Asn Phe Thr Leu His Leu Glu Ala Val Gly Leu Ala
320 315 310 305

Gln Ala Gly Thr Tyr Thr Cys Ser Ile His Leu Gln Gly Gln Gln Leu

335 330 325

Asn Ala Thr Val Thr Leu Ala Val Ile Thr Val Thr Pro Lys Ser Phe

350 345 340

Gly Leu Pro Gly Ser Arg Gly Lys Leu Leu Cys Glu Val Thr Pro Ala

365 360 355

Ser Gly Lys Glu Arg Phe Val Trp Arg Pro Leu Asn Asn Leu Ser Arg

380 375 370

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

400 395 390 385

Glu Arg Trp Gln Cys Gln Leu Tyr Glu Gly Gln Arg Leu Leu Gly Ala

415 410 405

Thr Val Tyr Ala Ala Glu Ser Ser Ser Gly Ala His Ser Ala Arg Arg

430 425 420

Ile Ser Gly Asp Leu Lys Gly Gly His Leu Val Leu Val Leu Ile Leu

445 440 435

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

460 455 450

Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro

480 475 470 465

Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Ala

495 490 485

Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro

500

137 <210>

1530 <211>

DNA <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

muLag3-CD28tm <223>

137 <400>

atgagagagg acctgctgct gggctttctg ctgctgggac tgctgtggga ggcccctgtg 60

gtgtcatctg gccctggcaa agaactgccc gtcgtgtggg ctcaggaagg cgctcctgtg 120

catctgccct gcagcctgaa gtcccccaac ctggacccca acttcctgag aagaggcggc 180

gtgatctggc agcaccagcc tgattctggc cagcccacac ctatccctgc cctggatctg 240

caccagggca tgcctagccc tagacagcct gcccctggca gatacaccgt gctgtctgtg 300

gctcctggcg gcctgagaag tggcagacag cctctgcacc ctcacgtgca gctggaagag 360

aggggactgc agaggggcga cttcagcctg tggctgaggc ctgccctgag aacagatgcc 420

ggcgagtacc acgctaccgt gcggctgcct aacagagccc tgagctgctc cctgagactg 480

agagtgggcc aggccagcat gatcgcctct ccatctggcg tgctgaagct gagcgactgg 540

gtgctgctga actgcagctt ctccagaccc gacagacccg tgtccgtgca ctggttccag 600

ggacagaaca gagtgcccgt gtacaacagc cccagacact tcctggccga gacattcctg 660

ctgctgcccc aggtgtcccc tctggactct ggcacatggg gctgcgtgct gacatacagg 720

gacggcttca acgtgtccat cacctacaac ctgaaggtgc tgggcctgga acccgtggct 780

cctctgacag tgtacgccgc cgagggcagc agagtggaac tgccttgtca tctgccaccc 840

ggcgtgggca caccttctct gctgatcgcc aagtggaccc ctccaggcgg aggacctgaa 900

ctgccagtgg ctggcaagag cggcaacttc accctgcacc tggaagcagt gggcctggct 960

caggccggca cctacacctg tagcatccat ctgcagggcc agcagctgaa cgccaccgtg 1020

acactggccg tgatcaccgt gacccccaag agctttggcc tgcctggctc cagaggcaag 1080

ctgctgtgtg aagtgacccc cgccagcggc aaagaaagat tcgtgtggcg gcctctgaac 1140

aacctgagca gatcctgccc aggccccgtg ctggaaatcc aggaagccag actgctggcc 1200

gagcggtggc agtgccagct gtatgaggga cagcgactgc tgggcgccac tgtgtacgct 1260

gctgagtcta gctctggcgc ccacagcgcc agaagaatca gcggcgatct gaagggcggc 1320

cacctgttct gggccctggt ggtggtggcc ggcgtgctgt tttgttacgg cctgctcgtg 1380

accgtggccc tgtgcgtgat ctggaccaac agcagaagaa acagaggcgg ccagagcgac 1440

tacatgaaca tgacccccag aaggcctggc ctgaccagaa agccctacca gccttacgcc 1500

cctgccagag acttcgccgc ctacagacct 1530

138 <210>

510 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muLag3-CD28tm <223>

138 <400>

Met Arg Glu Asp Leu Leu Leu Gly Phe Leu Leu Leu Gly Leu Leu Trp

15 10 5 1

Glu Ala Pro Val Val Ser Ser Gly Pro Gly Lys Glu Leu Pro Val Val

30 25 20

Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Val His Leu Pro Cys Ser Leu Lys Ser

45 40 35

Pro Asn Leu Asp Pro Asn Phe Leu Arg Arg Gly Gly Val Ile Trp Gln

60 55 50

His Gln Pro Asp Ser Gly Gln Pro Thr Pro Ile Pro Ala Leu Asp Leu

80 75 70 65

His Gln Gly Met Pro Ser Pro Arg Gln Pro Ala Pro Gly Arg Tyr Thr

95 90 85

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

110 105 100

His Pro His Val Gln Leu Glu Glu Arg Gly Leu Gln Arg Gly Asp Phe

125 120 115

Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Leu Arg Thr Asp Ala Gly Glu Tyr His

140 135 130

Ala Thr Val Arg Leu Pro Asn Arg Ala Leu Ser Cys Ser Leu Arg Leu

160 155 150 145

Arg Val Gly Gln Ala Ser Met Ile Ala Ser Pro Ser Gly Val Leu Lys

175 170 165

Leu Ser Asp Trp Val Leu Leu Asn Cys Ser Phe Ser Arg Pro Asp Arg

190 185 180

Pro Val Ser Val His Trp Phe Gln Gly Gln Asn Arg Val Pro Val Tyr

205 200 195

Asn Ser Pro Arg His Phe Leu Ala Glu Thr Phe Leu Leu Leu Pro Gln

220 215 210

Val Ser Pro Leu Asp Ser Gly Thr Trp Gly Cys Val Leu Thr Tyr Arg

240 235 230 225

Asp Gly Phe Asn Val Ser Ile Thr Tyr Asn Leu Lys Val Leu Gly Leu

255 250 245

Glu Pro Val Ala Pro Leu Thr Val Tyr Ala Ala Glu Gly Ser Arg Val

270 265 260

Glu Leu Pro Cys His Leu Pro Pro Gly Val Gly Thr Pro Ser Leu Leu

285 280 275

Ile Ala Lys Trp Thr Pro Pro Gly Gly Gly Pro Glu Leu Pro Val Ala

300 295 290

Gly Lys Ser Gly Asn Phe Thr Leu His Leu Glu Ala Val Gly Leu Ala

320 315 310 305

Gln Ala Gly Thr Tyr Thr Cys Ser Ile His Leu Gln Gly Gln Gln Leu

335 330 325

Asn Ala Thr Val Thr Leu Ala Val Ile Thr Val Thr Pro Lys Ser Phe
350 345 340

Gly Leu Pro Gly Ser Arg Gly Lys Leu Leu Cys Glu Val Thr Pro Ala
365 360 355

Ser Gly Lys Glu Arg Phe Val Trp Arg Pro Leu Asn Asn Leu Ser Arg
380 375 370

Ser Cys Pro Gly Pro Val Leu Glu Ile Gln Glu Ala Arg Leu Leu Ala
400 395 390 385

Glu Arg Trp Gln Cys Gln Leu Tyr Glu Gly Gln Arg Leu Leu Gly Ala
415 410 405

Thr Val Tyr Ala Ala Glu Ser Ser Ser Gly Ala His Ser Ala Arg Arg
430 425 420

Ile Ser Gly Asp Leu Lys Gly Gly His Leu Phe Trp Ala Leu Val Val
445 440 435

Val Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu
460 455 450

Cys Val Ile Trp Thr Asn Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp
480 475 470 465

Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr
495 490 485

Gln Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro
510 505 500

139 <210>

1557 <211>

DNA <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

muLag3-CD28Cys <223>

139 <400>

atgagagagg acctgctgct gggctttctg ctgctgggac tgctgtggga ggcccctgtg 60

gtgtcatctg gccctggcaa agaactgccc gtcgtgtggg ctcaggaagg cgctcctgtg 120

catctgccct gcagcctgaa gtcccccaac ctggacccca acttcctgag aagaggcggc 180

gtgatctggc agcaccagcc tgattctggc cagcccacac ctatccctgc cctggatctg 240

caccagggca tgcctagccc tagacagcct gcccctggca gatacaccgt gctgtctgtg 300

gctcctggcg gcctgagaag tggcagacag cctctgcacc ctcacgtgca gctggaagag 360

aggggactgc agaggggcga cttcagcctg tggctgaggc ctgccctgag aacagatgcc 420

ggcgagtacc acgctaccgt gcggctgcct aacagagccc tgagctgctc cctgagactg 480

agagtgggcc aggccagcat gatcgcctct ccatctggcg tgctgaagct gagcgactgg 540

gtgctgctga actgcagctt ctccagaccc gacagacccg tgtccgtgca ctggttccag 600

ggacagaaca gagtgcccgt gtacaacagc cccagacact tcctggccga gacattcctg 660

ctgctgcccc aggtgtcccc tctggactct ggcacatggg gctgcgtgct gacatacagg 720

gacggcttca acgtgtccat cacctacaac ctgaaggtgc tgggcctgga acccgtggct 780

cctctgacag tgtacgccgc cgagggcagc agagtggaac tgccttgtca tctgccaccc 840

ggcgtgggca caccttctct gctgatcgcc aagtggaccc ctccaggcgg aggacctgaa 900

ctgccagtgg ctggcaagag cggcaacttc accctgcacc tggaagcagt gggcctggct 960

caggccggca cctacacctg tagcatccat ctgcagggcc agcagctgaa cgccaccgtg 1020

acactggccg tgatcaccgt gacccccaag agctttggcc tgcctggctc cagaggcaag 1080

ctgctgtgtg aagtgacccc cgccagcggc aaagaaagat tcgtgtggcg gcctctgaac 1140

aacctgagca gatcctgccc aggccccgtg ctggaaatcc aggaagccag actgctggcc 1200

gagcggtggc agtgccagct gtatgaggga cagcgactgc tgggcgccac tgtgtacgct 1260

gctgagtcta gctctggcgc ccacagcgcc agaagaatca gcggcgatct gaagggcggc 1320

cacctgtgcc acacccagag cagccccaag ctgttctggg ccctggtggt ggtggccggc 1380

gtgctgtttt gttacggcct gctcgtgacc gtggccctgt gcgtgatctg gaccaacagc 1440

agaagaaaca gaggcggcca gagcgactac atgaacatga cccccagaag gcctggcctg 1500

accagaaagc cctaccagcc ttacgcccct gccagagact tcgccgccta cagacct 1557

140 <210>

519 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muLag3-CD28Cys <223>

140 <400>

Met Arg Glu Asp Leu Leu Leu Gly Phe Leu Leu Leu Gly Leu Leu Trp

15 10 5 1

Glu Ala Pro Val Val Ser Ser Gly Pro Gly Lys Glu Leu Pro Val Val

30 25 20

Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Val His Leu Pro Cys Ser Leu Lys Ser

45 40 35

Pro Asn Leu Asp Pro Asn Phe Leu Arg Arg Gly Gly Val Ile Trp Gln

60 55 50

His Gln Pro Asp Ser Gly Gln Pro Thr Pro Ile Pro Ala Leu Asp Leu

80 75 70 65

His Gln Gly Met Pro Ser Pro Arg Gln Pro Ala Pro Gly Arg Tyr Thr

95 90 85

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

110 105 100

His Pro His Val Gln Leu Glu Glu Arg Gly Leu Gln Arg Gly Asp Phe

125 120 115

Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Leu Arg Thr Asp Ala Gly Glu Tyr His
140 135 130

Ala Thr Val Arg Leu Pro Asn Arg Ala Leu Ser Cys Ser Leu Arg Leu
160 155 150 145

Arg Val Gly Gln Ala Ser Met Ile Ala Ser Pro Ser Gly Val Leu Lys
175 170 165

Leu Ser Asp Trp Val Leu Leu Asn Cys Ser Phe Ser Arg Pro Asp Arg
190 185 180

Pro Val Ser Val His Trp Phe Gln Gly Gln Asn Arg Val Pro Val Tyr
205 200 195

Asn Ser Pro Arg His Phe Leu Ala Glu Thr Phe Leu Leu Leu Pro Gln
220 215 210

Val Ser Pro Leu Asp Ser Gly Thr Trp Gly Cys Val Leu Thr Tyr Arg
240 235 230 225

Asp Gly Phe Asn Val Ser Ile Thr Tyr Asn Leu Lys Val Leu Gly Leu
255 250 245

Glu Pro Val Ala Pro Leu Thr Val Tyr Ala Ala Glu Gly Ser Arg Val
270 265 260

Glu Leu Pro Cys His Leu Pro Pro Gly Val Gly Thr Pro Ser Leu Leu
285 280 275

Ile Ala Lys Trp Thr Pro Pro Gly Gly Gly Pro Glu Leu Pro Val Ala
300 295 290

Gly Lys Ser Gly Asn Phe Thr Leu His Leu Glu Ala Val Gly Leu Ala
320 315 310 305

Gln Ala Gly Thr Tyr Thr Cys Ser Ile His Leu Gln Gly Gln Gln Leu
335 330 325

Asn Ala Thr Val Thr Leu Ala Val Ile Thr Val Thr Pro Lys Ser Phe

350 345 340

Gly Leu Pro Gly Ser Arg Gly Lys Leu Leu Cys Glu Val Thr Pro Ala

365 360 355

Ser Gly Lys Glu Arg Phe Val Trp Arg Pro Leu Asn Asn Leu Ser Arg

380 375 370

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

400 395 390 385

Glu Arg Trp Gln Cys Gln Leu Tyr Glu Gly Gln Arg Leu Leu Gly Ala

415 410 405

Thr Val Tyr Ala Ala Glu Ser Ser Ser Gly Ala His Ser Ala Arg Arg

430 425 420

Ile Ser Gly Asp Leu Lys Gly Gly His Leu Cys His Thr Gln Ser Ser

445 440 435

Pro Lys Leu Phe Trp Ala Leu Val Val Val Ala Gly Val Leu Phe Cys

460 455 450

Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys Val Ile Trp Thr Asn Ser

480 475 470 465

Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg

495 490 485

Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Ala Arg

510 505 500

Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro

515

141 <210>

1530 <211>

DNA <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

muLag3-9aas-CD28Cys <223>

141 <400>

atgagagagg acctgctgct gggctttctg ctgctgggac tgctgtggga ggcccctgtg 60

gtgtcatctg gccctggcaa agaactgccc gtcgtgtggg ctcaggaagg cgctcctgtg 120

catctgccct gcagcctgaa gtcccccaac ctggacccca acttcctgag aagaggcggc 180

gtgatctggc agcaccagcc tgattctggc cagcccacac ctatccctgc cctggatctg 240

caccagggca tgcctagccc tagacagcct gcccctggca gatacaccgt gctgtctgtg 300

gctcctggcg gcctgagaag tggcagacag cctctgcacc ctcacgtgca gctggaagag 360

aggggactgc agaggggcga cttcagcctg tggctgaggc ctgccctgag aacagatgcc 420

ggcgagtacc acgctaccgt gcggctgcct aacagagccc tgagctgctc cctgagactg 480

agagtgggcc aggccagcat gatcgcctct ccatctggcg tgctgaagct gagcgactgg 540

gtgctgctga actgcagctt ctccagaccc gacagacccg tgtccgtgca ctggttccag 600

ggacagaaca gagtgcccgt gtacaacagc cccagacact tcctggccga gacattcctg 660

ctgctgcccc aggtgtcccc tctggactct ggcacatggg gctgcgtgct gacatacagg 720

gacggcttca acgtgtccat cacctacaac ctgaaggtgc tgggcctgga acccgtggct 780

cctctgacag tgtacgccgc cgagggcagc agagtggaac tgccttgtca tctgccaccc 840

ggcgtgggca caccttctct gctgatcgcc aagtggaccc ctccaggcgg aggacctgaa 900

ctgccagtgg ctggcaagag cggcaacttc accctgcacc tggaagcagt gggcctggct 960

caggccggca cctacacctg tagcatccat ctgcagggcc agcagctgaa cgccaccgtg 1020

acactggccg tgatcaccgt gacccccaag agctttggcc tgcctggctc cagaggcaag 1080

ctgctgtgtg aagtgacccc cgccagcggc aaagaaagat tcgtgtggcg gcctctgaac 1140

aacctgagca gatcctgccc aggccccgtg ctggaaatcc aggaagccag actgctggcc 1200

gagcggtggc agtgccagct gtatgaggga cagcgactgc tgggcgccac tgtgtacgct 1260

gctgagtcta gctctggcgc ccacagcgcc agaagaatct gccacaccca gagcagcccc 1320

aagctgttct gggccctggt ggtggtggcc ggcgtgctgt tttgttacgg cctgctcgtg 1380

accgtggccc tgtgcgtgat ctggaccaac agcagaagaa acagaggcgg ccagagcgac 1440

tacatgaaca tgacccccag aaggcctggc ctgaccagaa agccctacca gccttacgcc 1500

cctgccagag acttcgccgc ctacagacct 1530

142 <210>

510 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muLag3-9aas-CD28Cys <223>

142 <400>

Met Arg Glu Asp Leu Leu Leu Gly Phe Leu Leu Leu Gly Leu Leu Trp

15 10 5 1

Glu Ala Pro Val Val Ser Ser Gly Pro Gly Lys Glu Leu Pro Val Val

30 25 20

Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Val His Leu Pro Cys Ser Leu Lys Ser

45 40 35

Pro Asn Leu Asp Pro Asn Phe Leu Arg Arg Gly Gly Val Ile Trp Gln

60 55 50

His Gln Pro Asp Ser Gly Gln Pro Thr Pro Ile Pro Ala Leu Asp Leu

80 75 70 65

His Gln Gly Met Pro Ser Pro Arg Gln Pro Ala Pro Gly Arg Tyr Thr

95 90 85

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

110 105 100

His Pro His Val Gln Leu Glu Glu Arg Gly Leu Gln Arg Gly Asp Phe

125 120 115

Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Leu Arg Thr Asp Ala Gly Glu Tyr His

140 135 130

Ala Thr Val Arg Leu Pro Asn Arg Ala Leu Ser Cys Ser Leu Arg Leu

160 155 150 145

Arg Val Gly Gln Ala Ser Met Ile Ala Ser Pro Ser Gly Val Leu Lys

175 170 165

Leu Ser Asp Trp Val Leu Leu Asn Cys Ser Phe Ser Arg Pro Asp Arg

190 185 180

Pro Val Ser Val His Trp Phe Gln Gly Gln Asn Arg Val Pro Val Tyr

205 200 195

Asn Ser Pro Arg His Phe Leu Ala Glu Thr Phe Leu Leu Leu Pro Gln

220 215 210

Val Ser Pro Leu Asp Ser Gly Thr Trp Gly Cys Val Leu Thr Tyr Arg

240 235 230 225

Asp Gly Phe Asn Val Ser Ile Thr Tyr Asn Leu Lys Val Leu Gly Leu

255 250 245

Glu Pro Val Ala Pro Leu Thr Val Tyr Ala Ala Glu Gly Ser Arg Val

270 265 260

Glu Leu Pro Cys His Leu Pro Pro Gly Val Gly Thr Pro Ser Leu Leu

285 280 275

Ile Ala Lys Trp Thr Pro Pro Gly Gly Gly Pro Glu Leu Pro Val Ala

300 295 290

Gly Lys Ser Gly Asn Phe Thr Leu His Leu Glu Ala Val Gly Leu Ala

320 315 310 305

Gln Ala Gly Thr Tyr Thr Cys Ser Ile His Leu Gln Gly Gln Gln Leu

335 330 325

Asn Ala Thr Val Thr Leu Ala Val Ile Thr Val Thr Pro Lys Ser Phe
350 345 340

Gly Leu Pro Gly Ser Arg Gly Lys Leu Leu Cys Glu Val Thr Pro Ala
365 360 355

Ser Gly Lys Glu Arg Phe Val Trp Arg Pro Leu Asn Asn Leu Ser Arg
380 375 370

Ser Cys Pro Gly Pro Val Leu Glu Ile Gln Glu Ala Arg Leu Leu Ala
400 395 390 385

Glu Arg Trp Gln Cys Gln Leu Tyr Glu Gly Gln Arg Leu Leu Gly Ala
415 410 405

Thr Val Tyr Ala Ala Glu Ser Ser Ser Gly Ala His Ser Ala Arg Arg
430 425 420

Ile Cys His Thr Gln Ser Ser Pro Lys Leu Phe Trp Ala Leu Val Val
445 440 435

Val Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu
460 455 450

Cys Val Ile Trp Thr Asn Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp
480 475 470 465

Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr
495 490 485

Gln Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro
510 505 500

143 <210>

765 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muTim3tm-CD28 <223>

143 <400>

atgttcagcg gcctgaccct gaactgcgtg ctcctgctgc tgcagctgct gctggccaga 60

agcctggaaa acgcctacgt gttcgaagtg ggcaagaacg cctacctgcc ctgcagctac 120

accctgtcta cacctggcgc cctggtgcct atgtgttggg gcaagggctt ctgcccttgg 180

agccagtgca ccaacgagct gctgagaacc gacgagagaa acgtgaccta ccagaagtcc 240

agcagatacc agctgaaggg cgacctgaac aagggcgacg tgtccctgat catcaagaac 300

gtgaccctgg acgaccacgg cacctactgc tgcagaatcc agttccccgg cctgatgaac 360

gacaagaagc tggaactgaa gctggacatc aaggccgcca aagtgacccc tgcccagaca 420

gcccacggcg actctacaac agccagcccc agaaccctga ccaccgagag gaacggcagc 480

gagacacaga ccctcgtgac actgcacaac aacaacggca ccaagatcag cacctgggcc 540

gacgagatca aggacagcgg cgagacaatc agaaccgcca tccacatcgg cgtgggcgtg 600

tccgctggac tgacactggc tctgatcatc ggagtgctga tcaacagcag aagaaacaga 660

ggcggccaga gcgactacat gaacatgacc cccagaaggc ctggcctgac cagaaagccc 720

taccagcctt acgcccctgc cagagacttc gccgcctaca gacct 765

144 <210>

255 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muTim3tm-CD28 <223>

144 <400>

Met Phe Ser Gly Leu Thr Leu Asn Cys Val Leu Leu Leu Leu Gln Leu

15 10 5 1

Leu Leu Ala Arg Ser Leu Glu Asn Ala Tyr Val Phe Glu Val Gly Lys

30 25 20

Asn Ala Tyr Leu Pro Cys Ser Tyr Thr Leu Ser Thr Pro Gly Ala Leu

45 40 35

Val Pro Met Cys Trp Gly Lys Gly Phe Cys Pro Trp Ser Gln Cys Thr

60 55 50

Asn Glu Leu Leu Arg Thr Asp Glu Arg Asn Val Thr Tyr Gln Lys Ser

80 75 70 65

Ser Arg Tyr Gln Leu Lys Gly Asp Leu Asn Lys Gly Asp Val Ser Leu

95 90 85

Ile Ile Lys Asn Val Thr Leu Asp Asp His Gly Thr Tyr Cys Cys Arg

110 105 100

Ile Gln Phe Pro Gly Leu Met Asn Asp Lys Lys Leu Glu Leu Lys Leu

125 120 115

Asp Ile Lys Ala Ala Lys Val Thr Pro Ala Gln Thr Ala His Gly Asp

140 135 130

Ser Thr Thr Ala Ser Pro Arg Thr Leu Thr Thr Glu Arg Asn Gly Ser

160 155 150 145

Glu Thr Gln Thr Leu Val Thr Leu His Asn Asn Asn Gly Thr Lys Ile

175 170 165

Ser Thr Trp Ala Asp Glu Ile Lys Asp Ser Gly Glu Thr Ile Arg Thr

190 185 180

Ala Ile His Ile Gly Val Gly Val Ser Ala Gly Leu Thr Leu Ala Leu

205 200 195

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

220 215 210

Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro

240 235 230 225

Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro

255 250 245

145 <210>

783 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muTim3-CD28tm <223>

145 <400>

atgttcagcg gcctgaccct gaactgcgtg ctcctgctgc tgcagctgct gctggccaga 60

agcctggaaa acgcctacgt gttcgaagtg ggcaagaacg cctacctgcc ctgcagctac 120

accctgtcta cacctggcgc cctggtgcct atgtgttggg gcaagggctt ctgcccttgg 180

agccagtgca ccaacgagct gctgagaacc gacgagagaa acgtgaccta ccagaagtcc 240

agcagatacc agctgaaggg cgacctgaac aagggcgacg tgtccctgat catcaagaac 300

gtgaccctgg acgaccacgg cacctactgc tgcagaatcc agttccccgg cctgatgaac 360

gacaagaagc tggaactgaa gctggacatc aaggccgcca aagtgacccc tgcccagaca 420

gcccacggcg actctacaac agccagcccc agaaccctga ccaccgagag gaacggcagc 480

gagacacaga ccctcgtgac actgcacaac aacaacggca ccaagatcag cacctgggcc 540

gacgagatca aggacagcgg cgagacaatc agaaccgcct tctgggccct ggtggtggtg 600

gccggcgtgc tgttttgtta cggcctgctc gtgaccgtgg ccctgtgcgt gatctggacc 660

aacagcagaa gaaacagagg cggccagagc gactacatga acatgacccc cagaaggcct 720

ggcctgacca gaaagcccta ccagccttac gcccctgcca gagacttcgc cgcctacaga 780

cct 783

146 <210>

261 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muTim3-CD28tm <223>

146 <400>

Met Phe Ser Gly Leu Thr Leu Asn Cys Val Leu Leu Leu Leu Gln Leu
15 10 5 1

Leu Leu Ala Arg Ser Leu Glu Asn Ala Tyr Val Phe Glu Val Gly Lys
30 25 20

Asn Ala Tyr Leu Pro Cys Ser Tyr Thr Leu Ser Thr Pro Gly Ala Leu
45 40 35

Val Pro Met Cys Trp Gly Lys Gly Phe Cys Pro Trp Ser Gln Cys Thr
60 55 50

Asn Glu Leu Leu Arg Thr Asp Glu Arg Asn Val Thr Tyr Gln Lys Ser
80 75 70 65

Ser Arg Tyr Gln Leu Lys Gly Asp Leu Asn Lys Gly Asp Val Ser Leu
95 90 85

Ile Ile Lys Asn Val Thr Leu Asp Asp His Gly Thr Tyr Cys Cys Arg
110 105 100

Ile Gln Phe Pro Gly Leu Met Asn Asp Lys Lys Leu Glu Leu Lys Leu
125 120 115

Asp Ile Lys Ala Ala Lys Val Thr Pro Ala Gln Thr Ala His Gly Asp
140 135 130

Ser Thr Thr Ala Ser Pro Arg Thr Leu Thr Thr Glu Arg Asn Gly Ser

160 155 150 145

Glu Thr Gln Thr Leu Val Thr Leu His Asn Asn Asn Gly Thr Lys Ile

175 170 165

Ser Thr Trp Ala Asp Glu Ile Lys Asp Ser Gly Glu Thr Ile Arg Thr

190 185 180

Ala Phe Trp Ala Leu Val Val Val Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr Gly

205 200 195

Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys Val Ile Trp Thr Asn Ser Arg Arg

220 215 210

Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro

240 235 230 225

Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp Phe

255 250 245

Ala Ala Tyr Arg Pro

260

147 <210>

810 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muTim3-CD28Cys <223>

147 <400> 5

atgttcagcg gcctgaccct gaactgcgtg ctcctgctgc tgcagctgct gctggccaga 60

agcctggaaa acgcctacgt gttcgaagtg ggcaagaacg cctacctgcc ctgcagctac 120

accctgtcta cacctggcgc cctggtgcct atgtgttggg gcaagggctt ctgcccttgg 180

agccagtgca ccaacgagct gctgagaacc gacgagagaa acgtgaccta ccagaagtcc 240

agcagatacc agctgaaggg cgacctgaac aagggcgacg tgtccctgat catcaagaac 300

gtgaccctgg acgaccacgg cacctactgc tgcagaatcc agttccccgg cctgatgaac 360

gacaagaagc tggaactgaa gctggacatc aaggccgcca aagtgacccc tgcccagaca 420

gcccacggcg actctacaac agccagcccc agaaccctga ccaccgagag gaacggcagc 480

gagacacaga ccctcgtgac actgcacaac aacaacggca ccaagatcag cacctgggcc 540

gacgagatca aggacagcgg cgagacaatc agaaccgcct gccacaccca gagcagcccc 600

aagctgttct gggccctggt ggtggtggcc ggcgtgctgt tttgttacgg cctgctcgtg 660

accgtggccc tgtgcgtgat ctggaccaac agcagaagaa acagaggcgg ccagagcgac 720

tacatgaaca tgaccccccag aaggcctggc ctgaccagaa agccctacca gccttacgcc 780

cctgccagag acttcgccgc ctacagacct 810

148 <210>

270 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muTim3-CD28Cys <223>

148 <400>

Met Phe Ser Gly Leu Thr Leu Asn Cys Val Leu Leu Leu Leu Gln Leu

15 10 5 1

Leu Leu Ala Arg Ser Leu Glu Asn Ala Tyr Val Phe Glu Val Gly Lys

30 25 20

Asn Ala Tyr Leu Pro Cys Ser Tyr Thr Leu Ser Thr Pro Gly Ala Leu

45 40 35

Val Pro Met Cys Trp Gly Lys Gly Phe Cys Pro Trp Ser Gln Cys Thr

60 55 50

Asn Glu Leu Leu Arg Thr Asp Glu Arg Asn Val Thr Tyr Gln Lys Ser

80 75 70 65

Ser Arg Tyr Gln Leu Lys Gly Asp Leu Asn Lys Gly Asp Val Ser Leu

95 90 85

Ile Ile Lys Asn Val Thr Leu Asp Asp His Gly Thr Tyr Cys Cys Arg

110 105 100

Ile Gln Phe Pro Gly Leu Met Asn Asp Lys Lys Leu Glu Leu Lys Leu

125 120 115

Asp Ile Lys Ala Ala Lys Val Thr Pro Ala Gln Thr Ala His Gly Asp

140 135 130

Ser Thr Thr Ala Ser Pro Arg Thr Leu Thr Thr Glu Arg Asn Gly Ser

160 155 150 145

Glu Thr Gln Thr Leu Val Thr Leu His Asn Asn Asn Gly Thr Lys Ile

175 170 165

Ser Thr Trp Ala Asp Glu Ile Lys Asp Ser Gly Glu Thr Ile Arg Thr

190 185 180

Ala Cys His Thr Gln Ser Ser Pro Lys Leu Phe Trp Ala Leu Val Val

205 200 195

Val Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu

220 215 210

Cys Val Ile Trp Thr Asn Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp

240 235 230 225

Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr

255 250 245

Gln Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro

270 265 260

149 <210>

783 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

muTim3-9aas-CD28Cys <223>

149 <400>

atgttcagcg gcctgaccct gaactgcgtg ctcctgctgc tgcagctgct gctggccaga 60

agcctggaaa acgcctacgt gttcgaagtg ggcaagaacg cctacctgcc ctgcagctac 120

accctgtcta cacctggcgc cctggtgcct atgtgttggg gcaagggctt ctgcccttgg 180

agccagtgca ccaacgagct gctgagaacc gacgagagaa acgtgaccta ccagaagtcc 240

agcagatacc agctgaaggg cgacctgaac aagggcgacg tgtccctgat catcaagaac 300

gtgaccctgg acgaccacgg cacctactgc tgcagaatcc agttccccgg cctgatgaac 360

gacaagaagc tggaactgaa gctggacatc aaggccgcca aagtgacccc tgcccagaca 420

gcccacggcg actctacaac agccagcccc agaaccctga ccaccgagag gaacggcagc 480

gagacacaga ccctcgtgac actgcacaac aacaacggca ccaagatcag cacctgggcc 540

gacgagatca agtgccacac ccagagcagc cccaagctgt tctgggccct ggtggtggtg 600

gccggcgtgc tgttttgtta cggcctgctc gtgaccgtgg ccctgtgcgt gatctggacc 660

aacagcagaa gaaacagagg cggccagagc gactacatga acatgacccc cagaaggcct 720

ggcctgacca gaaagcccta ccagccttac gcccctgcca gagacttcgc cgcctacaga 780

cct 783

<210> 150

<211> 261

<212> PRT

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> muTim3-9aas-CD28Cys

<400> 150

Met Phe Ser Gly Leu Thr Leu Asn Cys Val Leu Leu Leu Leu Gln Leu

1 5 10 15

Leu Leu Ala Arg Ser Leu Glu Asn Ala Tyr Val Phe Glu Val Gly Lys

20 25 30

Asn Ala Tyr Leu Pro Cys Ser Tyr Thr Leu Ser Thr Pro Gly Ala Leu

45 40 35

Val Pro Met Cys Trp Gly Lys Gly Phe Cys Pro Trp Ser Gln Cys Thr

60 55 50

Asn Glu Leu Leu Arg Thr Asp Glu Arg Asn Val Thr Tyr Gln Lys Ser

80 75 70 65

Ser Arg Tyr Gln Leu Lys Gly Asp Leu Asn Lys Gly Asp Val Ser Leu

95 90 85

Ile Ile Lys Asn Val Thr Leu Asp Asp His Gly Thr Tyr Cys Cys Arg

110 105 100

Ile Gln Phe Pro Gly Leu Met Asn Asp Lys Lys Leu Glu Leu Lys Leu

125 120 115

Asp Ile Lys Ala Ala Lys Val Thr Pro Ala Gln Thr Ala His Gly Asp

140 135 130

Ser Thr Thr Ala Ser Pro Arg Thr Leu Thr Thr Glu Arg Asn Gly Ser

160 155 150 145

Glu Thr Gln Thr Leu Val Thr Leu His Asn Asn Asn Gly Thr Lys Ile

175 170 165

Ser Thr Trp Ala Asp Glu Ile Lys Cys His Thr Gln Ser Ser Pro Lys

190 185 180

Leu Phe Trp Ala Leu Val Val Val Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr Gly

205 200 195

Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys Val Ile Trp Thr Asn Ser Arg Arg

220 215 210

Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro

240 235 230 225

Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp Phe

255 250 245

Ala Ala Tyr Arg Pro

260

151 <210>

1536 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huLag3tm-CD28 <223>

151 <400>

atgtgggaag cgcagtttct tggacttctt tttctccagc cgctgtgggt tgcgccagta 60

aagccgctcc aacccggtgc agaggttccg gtagtgtggg cgcaagaggg tgcaccagcg 120

cagctcccct gcagtccgac gattccgctg caagatttgt cactgcttag aagggcgggc 180

gtaacgtggc agcaccaacc ggatagtggc cctccggctg cagcaccagg gcacccactc 240

gccccccggcc ctcatcccgc agcaccgagc agctggggtc ctagaccacg cagatataca 300

gtactctcag taggtcccgg cggcctgcgg tccggtcgct tgccccttca acctagagta 360

cagctggatg aaagaggtcg acaacggggt gatttctccc tctggttgag gcctgcacga 420

cgagcagatg ctggggagta tagggctgcc gtacacctgc gagaccgcgc acttagttgt 480

agactccggc tccggctggg acaggcctct atgacagcgt ccccccctgg gtccctgcga 540

gcctctgatt gggtaatact caactgctca ttttctcggc cagatcgccc cgctagtgtt 600

cattggttcc gaaatcgcgg ccaaggtcgc gtgcctgttc gagaatctcc acaccaccat 660

ttggcggagt cttttctttt tctgcctcag gtctccccta tggactctgg accgtggggc 720

tgtattttga catatcggga tgggtttaac gtgagtataa tgtataatct cactgtcttg 780

ggtcttgagc cacctacgcc gctgacggtg tacgcgggag ccggcagccg ggttggtctg 840

ccctgcaggc tgcctgcagg agtcgggaca aggtcattcc ttacagcaaa gtggaccccg 900

ccaggtgggg ggcccgacct ccttgtaacg ggagataatg gagatttcac tctgagactt 960

gaggatgtct ctcaagctca ggctgggact tatacatgtc acattcactt gcaagaacag 1020

cagttgaatg cgacggttac cctggctatc ataacagtaa cacctaaatc tttcggtagt 1080

ccgggtagcc tgggcaaact gttgtgtgag gtaacccccg tgtcaggtca agagcggttc 1140

gtctggagct cattggacac tccctcacag cgatccttta gcggaccctg gctcgaagcc 1200

caagaagccc agctgctttc ccaaccatgg cagtgtcaac tctatcaggg tgagcgcctt 1260

ctcggtgcgg ctgtctactt caccgaattg tcctctccgg gagcgcaaag aagtggacgc 1320

gccccagggg ccctcccggc aggacacctt ctgctgtttt tgattttggg ggtacttagt 1380

ttgctgctgc ttgtcacagg cgctttcggt ttccgcagca agcggagcag aggcggccac 1440

agcgactaca tgaacatgac ccctagacgg cctggcccca ccagaaagca ctaccagccc 1500

tacgcccctc cccgggactt tgccgcctac agaagc 1536

<210> 152

<211> 512

<212> PRT

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> huLag3tm-CD28

<400> 152

Met Trp Glu Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Phe Leu Gln Pro Leu Trp
1 5 10 15

Val Ala Pro Val Lys Pro Leu Gln Pro Gly Ala Glu Val Pro Val Val
20 25 30

Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Ala Gln Leu Pro Cys Ser Pro Thr Ile

45 40 35

Pro Leu Gln Asp Leu Ser Leu Leu Arg Arg Ala Gly Val Thr Trp Gln

60 55 50

His Gln Pro Asp Ser Gly Pro Pro Ala Ala Ala Pro Gly His Pro Leu

80 75 70 65

Ala Pro Gly Pro His Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp Gly Pro Arg Pro

95 90 85

Arg Arg Tyr Thr Val Leu Ser Val Gly Pro Gly Gly Leu Arg Ser Gly

110 105 100

Arg Leu Pro Leu Gln Pro Arg Val Gln Leu Asp Glu Arg Gly Arg Gln

125 120 115

Arg Gly Asp Phe Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Arg Arg Ala Asp Ala

140 135 130

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

160 155 150 145

Arg Leu Arg Leu Arg Leu Gly Gln Ala Ser Met Thr Ala Ser Pro Pro

175 170 165

Gly Ser Leu Arg Ala Ser Asp Trp Val Ile Leu Asn Cys Ser Phe Ser

190 185 180

Arg Pro Asp Arg Pro Ala Ser Val His Trp Phe Arg Asn Arg Gly Gln

205 200 195

Gly Arg Val Pro Val Arg Glu Ser Pro His His His Leu Ala Glu Ser

220 215 210

Phe Leu Phe Leu Pro Gln Val Ser Pro Met Asp Ser Gly Pro Trp Gly

240 235 230 225

Cys Ile Leu Thr Tyr Arg Asp Gly Phe Asn Val Ser Ile Met Tyr Asn

255 250 245

Leu Thr Val Leu Gly Leu Glu Pro Pro Thr Pro Leu Thr Val Tyr Ala

270 265 260

Gly Ala Gly Ser Arg Val Gly Leu Pro Cys Arg Leu Pro Ala Gly Val

285 280 275

Gly Thr Arg Ser Phe Leu Thr Ala Lys Trp Thr Pro Pro Gly Gly Gly

300 295 290

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

320 315 310 305

Glu Asp Val Ser Gln Ala Gln Ala Gly Thr Tyr Thr Cys His Ile His

335 330 325

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

350 345 340

Val Thr Pro Lys Ser Phe Gly Ser Pro Gly Ser Leu Gly Lys Leu Leu

365 360 355

Cys Glu Val Thr Pro Val Ser Gly Gln Glu Arg Phe Val Trp Ser Ser

380 375 370

Leu Asp Thr Pro Ser Gln Arg Ser Phe Ser Gly Pro Trp Leu Glu Ala

400 395 390 385

Gln Glu Ala Gln Leu Leu Ser Gln Pro Trp Gln Cys Gln Leu Tyr Gln

415 410 405

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

430 425 420

Pro Gly Ala Gln Arg Ser Gly Arg Ala Pro Gly Ala Leu Pro Ala Gly

445 440 435

His Leu Leu Leu Phe Leu Ile Leu Gly Val Leu Ser Leu Leu Leu Leu

460 455 450

Val Thr Gly Ala Phe Gly Phe Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His

480 475 470 465

Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys

495 490 485

His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

510 505 500

153 <210>

1350 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

<223> huLag3 مجال خارجي (اكتودومين)

<400> 153

atgtgggaag cgcagtttct tggacttctt tttctccagc cgctgtgggt tgcgccagta 60

aagccgctcc aacccggtgc agaggttccg gtagtgtggg cgcaagaggg tgcaccagcg 120

cagctcccct gcagtccgac gattccgctg caagatttgt cactgcttag aagggcgggc 180

gtaacgtggc agcaccaacc ggatagtggc cctccggctg cagcaccagg gcacccactc 240

gccccccggcc ctcatcccgc agcaccgagc agctggggtc ctagaccacg cagatataca 300

gtactctcag taggtcccgg cggcctgcgg tccggtcgct tgccccttca acctagagta 360

cagctggatg aaagaggtcg acaacggggt gatttctccc tctggttgag gcctgcacga 420

cgagcagatg ctggggagta tagggctgcc gtacacctgc gagaccgcgc acttagttgt 480

agactccggc tccggctggg acaggcctct atgacagcgt ccccccctgg gtccctgcga 540

gcctctgatt gggtaatact caactgctca ttttctcggc cagatcgccc cgctagtgtt 600

cattggttcc gaaatcgcgg ccaaggtcgc gtgcctgttc gagaatctcc acaccaccat 660

ttggcggagt cttttctttt tctgcctcag gtctccccta tggactctgg accgtggggc 720

tgtattttga catatcggga tgggtttaac gtgagtataa tgtataatct cactgtcttg 780

ggtcttgagc cacctacgcc gctgacggtg tacgcgggag ccggcagccg ggttggtctg 840

ccctgcaggc tgcctgcagg agtcgggaca aggtcattcc ttacagcaaa gtggaccccg 900

ccaggtgggg ggcccgacct ccttgtaacg ggagataatg gagatttcac tctgagactt 960

gaggatgtct ctcaagctca ggctgggact tatacatgtc acattcactt gcaagaacag 1020

cagttgaatg cgacggttac cctggctatc ataacagtaa cacctaaatc tttcggtagt 1080

ccgggtagcc tgggcaaact gttgtgtgag gtaacccccg tgtcaggtca agagcggttc 1140

gtctggagct cattggacac tccctcacag cgatccttta gcggaccctg gctcgaagcc 1200

caagaagccc agctgctttc ccaaccatgg cagtgtcaac tctatcaggg tgagcgcctt 1260

ctcggtgcgg ctgtctactt caccgaattg tcctctccgg gagcgcaaag aagtggacgc 1320

gccccagggg ccctcccggc aggacacctt 1350

154 <210>

450 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huLag3 مجال خارجي (اكتودومين) <223>

154 <400>

Met Trp Glu Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Phe Leu Gln Pro Leu Trp

15 10 5 1

Val Ala Pro Val Lys Pro Leu Gln Pro Gly Ala Glu Val Pro Val Val

30 25 20

Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Ala Gln Leu Pro Cys Ser Pro Thr Ile

45 40 35 5

Pro Leu Gln Asp Leu Ser Leu Leu Arg Arg Ala Gly Val Thr Trp Gln

60 55 50

His Gln Pro Asp Ser Gly Pro Pro Ala Ala Ala Pro Gly His Pro Leu

80 75 70 65

Ala Pro Gly Pro His Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp Gly Pro Arg Pro 10

95 90 85

Arg Arg Tyr Thr Val Leu Ser Val Gly Pro Gly Gly Leu Arg Ser Gly

110 105 100

Arg Leu Pro Leu Gln Pro Arg Val Gln Leu Asp Glu Arg Gly Arg Gln

125 120 115 15

Arg Gly Asp Phe Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Arg Arg Ala Asp Ala

140 135 130

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

160 155 150 145

Arg Leu Arg Leu Arg Leu Gly Gln Ala Ser Met Thr Ala Ser Pro Pro 20

175 170 165

Gly Ser Leu Arg Ala Ser Asp Trp Val Ile Leu Asn Cys Ser Phe Ser

190 185 180

Arg Pro Asp Arg Pro Ala Ser Val His Trp Phe Arg Asn Arg Gly Gln

205 200 195

Gly Arg Val Pro Val Arg Glu Ser Pro His His His Leu Ala Glu Ser

220 215 210

Phe Leu Phe Leu Pro Gln Val Ser Pro Met Asp Ser Gly Pro Trp Gly

240 235 230 225

Cys Ile Leu Thr Tyr Arg Asp Gly Phe Asn Val Ser Ile Met Tyr Asn

255 250 245

Leu Thr Val Leu Gly Leu Glu Pro Pro Thr Pro Leu Thr Val Tyr Ala

270 265 260

Gly Ala Gly Ser Arg Val Gly Leu Pro Cys Arg Leu Pro Ala Gly Val

285 280 275

Gly Thr Arg Ser Phe Leu Thr Ala Lys Trp Thr Pro Pro Gly Gly Gly

300 295 290

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

320 315 310 305

Glu Asp Val Ser Gln Ala Gln Ala Gly Thr Tyr Thr Cys His Ile His

335 330 325

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

350 345 340

Val Thr Pro Lys Ser Phe Gly Ser Pro Gly Ser Leu Gly Lys Leu Leu

365 360 355

Cys Glu Val Thr Pro Val Ser Gly Gln Glu Arg Phe Val Trp Ser Ser

380 375 370

Leu Asp Thr Pro Ser Gln Arg Ser Phe Ser Gly Pro Trp Leu Glu Ala

400 395 390 385

Gln Glu Ala Gln Leu Leu Ser Gln Pro Trp Gln Cys Gln Leu Tyr Gln

415 410 405

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

430 425 420

Pro Gly Ala Gln Arg Ser Gly Arg Ala Pro Gly Ala Leu Pro Ala Gly

445 440 435

His Leu

450

155 <210>

63 <211>

DNA <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> huLag3 مجال الغشاء

155 <400>

ctgctgtttt tgattttggg ggtacttagt ttgctgctgc ttgtcacagg cgctttcggt 60

ttc 63

156 <210>

21 <211>

PRT <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> مجال الغشاء huLag3

156 <400>

Leu Leu Phe Leu Ile Leu Gly Val Leu Ser Leu Leu Leu Leu Val Thr
15 10 5 1

Gly Ala Phe Gly Phe
20

157 <210>

1554 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220> 5

huLag3-CD28tm <223>

157 <400>

atgtgggaag cgcagtttct tggacttctt tttctccagc cgctgtgggt tgcgccagta 60

aagccgctcc aacccggtgc agaggttccg gtagtgtggg cgcaagaggg tgcaccagcg 120

cagctcccct gcagtccgac gattccgctg caagatttgt cactgcttag aagggcgggc 180

gtaacgtggc agcaccaacc ggatagtggc cctccggctg cagcaccagg gcacccactc 240

gcccccggcc ctcatcccgc agcaccgagc agctggggtc ctagaccacg cagatataca 300

gtactctcag taggtcccgg cggcctgcgg tccggtcgct tgccccttca acctagagta 360

cagctggatg aaagaggtcg acaacggggt gatttctccc tctggttgag gcctgcacga 420

cgagcagatg ctggggagta tagggctgcc gtacacctgc gagaccgcgc acttagttgt 480

agactccggc tccggctggg acaggcctct atgacagcgt ccccccctgg gtccctgcga 540

gcctctgatt gggtaatact caactgctca ttttctcggc cagatcgccc cgctagtgtt 600

cattggttcc gaaatcgcgg ccaaggtcgc gtgcctgttc gagaatctcc acaccaccat 660

ttggcggagt cttttctttt tctgcctcag gtctccccta tggactctgg accgtggggc 720

tgtattttga catatcggga tgggtttaac gtgagtataa tgtataatct cactgtcttg 780

ggtcttgagc cacctacgcc gctgacggtg tacgcgggag ccggcagccg ggttggtctg 840

ccctgcaggc tgcctgcagg agtcgggaca aggtcattcc ttacagcaaa gtggaccccg 900

ccaggtgggg ggcccgacct ccttgtaacg ggagataatg gagatttcac tctgagactt 960

gaggatgtct ctcaagctca ggctgggact tatacatgtc acattcactt gcaagaacag 1020

cagttgaatg cgacggttac cctggctatc ataacagtaa cacctaaatc tttcggtagt 1080

ccgggtagcc tgggcaaact gttgtgtgag gtaacccccg tgtcaggtca agagcggttc 1140

gtctggagct cattggacac tccctcacag cgatccttta gcggaccctg gctcgaagcc 1200

caagaagccc agctgctttc ccaaccatgg cagtgtcaac tctatcaggg tgagcgcctt 1260

ctcggtgcgg ctgtctactt caccgaattg tcctctccgg gagcgcaaag aagtggacgc 1320

gccccagggg ccctcccggc aggacacctt ttctgggtgc tggtggtggt cggaggcgtg 1380

ctggcctgct acagcctgct ggtcaccgtg gccttcatca tcttttgggt ccgcagcaag 1440

cggagcagag gcggccacag cgactacatg aacatgaccc ctagacggcc tggccccacc 1500

agaaagcact accagcccta cgcccctccc cgggactttg ccgcctacag aagc 1554

158 <210>

518 <211>

PRT <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> huLag3-CD28tm

<400> 158

Met Trp Glu Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Phe Leu Gln Pro Leu Trp
1 5 10 15

Val Ala Pro Val Lys Pro Leu Gln Pro Gly Ala Glu Val Pro Val Val
20 25 30

Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Ala Gln Leu Pro Cys Ser Pro Thr Ile
35 40 45

Pro Leu Gln Asp Leu Ser Leu Leu Arg Arg Ala Gly Val Thr Trp Gln
50 55 60

His Gln Pro Asp Ser Gly Pro Pro Ala Ala Ala Pro Gly His Pro Leu
65 70 75 80

Ala Pro Gly Pro His Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp Gly Pro Arg Pro
85 90 95

Arg Arg Tyr Thr Val Leu Ser Val Gly Pro Gly Gly Leu Arg Ser Gly
100 105 110

Arg Leu Pro Leu Gln Pro Arg Val Gln Leu Asp Glu Arg Gly Arg Gln

125 120 115

Arg Gly Asp Phe Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Arg Arg Ala Asp Ala

140 135 130

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

160 155 150 145

Arg Leu Arg Leu Arg Leu Gly Gln Ala Ser Met Thr Ala Ser Pro Pro

175 170 165

Gly Ser Leu Arg Ala Ser Asp Trp Val Ile Leu Asn Cys Ser Phe Ser

190 185 180

Arg Pro Asp Arg Pro Ala Ser Val His Trp Phe Arg Asn Arg Gly Gln

205 200 195

Gly Arg Val Pro Val Arg Glu Ser Pro His His His Leu Ala Glu Ser

220 215 210

Phe Leu Phe Leu Pro Gln Val Ser Pro Met Asp Ser Gly Pro Trp Gly

240 235 230 225

Cys Ile Leu Thr Tyr Arg Asp Gly Phe Asn Val Ser Ile Met Tyr Asn

255 250 245

Leu Thr Val Leu Gly Leu Glu Pro Pro Thr Pro Leu Thr Val Tyr Ala

270 265 260

Gly Ala Gly Ser Arg Val Gly Leu Pro Cys Arg Leu Pro Ala Gly Val

285 280 275

Gly Thr Arg Ser Phe Leu Thr Ala Lys Trp Thr Pro Pro Gly Gly Gly

300 295 290

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

320 315 310 305

Glu Asp Val Ser Gln Ala Gln Ala Gly Thr Tyr Thr Cys His Ile His

335 330 325

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

350 345 340

Val Thr Pro Lys Ser Phe Gly Ser Pro Gly Ser Leu Gly Lys Leu Leu

365 360 355

Cys Glu Val Thr Pro Val Ser Gly Gln Glu Arg Phe Val Trp Ser Ser

380 375 370

Leu Asp Thr Pro Ser Gln Arg Ser Phe Ser Gly Pro Trp Leu Glu Ala

400 395 390 385

Gln Glu Ala Gln Leu Leu Ser Gln Pro Trp Gln Cys Gln Leu Tyr Gln

415 410 405

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

430 425 420

Pro Gly Ala Gln Arg Ser Gly Arg Ala Pro Gly Ala Leu Pro Ala Gly

445 440 435

His Leu Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr

460 455 450

Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys

480 475 470 465

Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg

495 490 485

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

510 505 500

Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

515

159 <210>

1554 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huLag3-12aas-CD28Cys <223>

159 <400>

atgtgggaag cgcagtttct tggacttctt tttctccagc cgctgtgggt tgcgccagta 60

aagccgctcc aacccggtgc agaggttccg gtagtgtggg cgcaagaggg tgcaccagcg 120

cagctcccct gcagtccgac gattccgctg caagatttgt cactgcttag aagggcgggc 180

gtaacgtggc agcaccaacc ggatagtggc cctccggctg cagcaccagg gcacccactc 240

gcccccggcc ctcatcccgc agcaccgagc agctggggtc ctagaccacg cagatataca 300

gtactctcag taggtcccgg cggcctgcgg tccggtcgct tgccccttca acctagagta 360

cagctggatg aaagaggtcg acaacggggt gatttctccc tctggttgag gcctgcacga 420

cgagcagatg ctggggagta tagggctgcc gtacacctgc gagaccgcgc acttagttgt 480

agactccggc tccggctggg acaggcctct atgacagcgt ccccccctgg gtccctgcga 540

gcctctgatt gggtaatact caactgctca ttttctcggc cagatcgccc cgctagtgtt 600

cattggttcc gaaatcgcgg ccaaggtcgc gtgcctgttc gagaatctcc acaccaccat 660

ttggcggagt cttttctttt tctgcctcag gtctccccta tggactctgg accgtggggc 720

tgtattttga catatcggga tgggtttaac gtgagtataa tgtataatct cactgtcttg 780

ggtcttgagc cacctacgcc gctgacggtg tacgcgggag ccggcagccg ggttggtctg 840

ccctgcaggc tgcctgcagg agtcgggaca aggtcattcc ttacagcaaa gtggaccccg 900

ccaggtgggg ggcccgacct ccttgtaacg ggagataatg gagatttcac tctgagactt 960

gaggatgtct ctcaagctca ggctgggact tatacatgtc acattcactt gcaagaacag 1020

cagttgaatg cgacggttac cctggctatc ataacagtaa cacctaaatc tttcggtagt 1080

ccgggtagcc tgggcaaact gttgtgtgag gtaacccccg tgtcaggtca agagcggttc 1140

gtctggagct cattggacac tccctcacag cgatccttta gcggaccctg gctcgaagcc 1200

caagaagccc agctgctttc ccaaccatgg cagtgtcaac tctatcaggg tgagcgcctt 1260

ctcggtgcgg ctgtctactt caccgaattg tcctctccgg gagcgcaaag aagttgtccc 1320

agccctctgt ttcccggccc tagcaagcct ttctgggtgc tggtggtggt cggaggcgtg 1380

ctggcctgct acagcctgct ggtcaccgtg gccttcatca tcttttgggt ccgcagcaag 1440

cggagcagag gcggccacag cgactacatg aacatgaccc ctagacggcc tggccccacc 1500

agaaagcact accagcccta cgcccctccc cgggactttg ccgcctacag aagc 1554

<210> 160

<211> 518

<212> PRT

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> huLag3-12aas-CD28Cys

<400> 160

Met Trp Glu Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Phe Leu Gln Pro Leu Trp
1 5 10 15

Val Ala Pro Val Lys Pro Leu Gln Pro Gly Ala Glu Val Pro Val Val
20 25 30

Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Ala Gln Leu Pro Cys Ser Pro Thr Ile
35 40 45

Pro Leu Gln Asp Leu Ser Leu Leu Arg Arg Ala Gly Val Thr Trp Gln

60 55 50

His Gln Pro Asp Ser Gly Pro Pro Ala Ala Ala Pro Gly His Pro Leu

80 75 70 65

Ala Pro Gly Pro His Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp Gly Pro Arg Pro

95 90 85

Arg Arg Tyr Thr Val Leu Ser Val Gly Pro Gly Gly Leu Arg Ser Gly

110 105 100

Arg Leu Pro Leu Gln Pro Arg Val Gln Leu Asp Glu Arg Gly Arg Gln

125 120 115

Arg Gly Asp Phe Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Arg Arg Ala Asp Ala

140 135 130

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

160 155 150 145

Arg Leu Arg Leu Arg Leu Gly Gln Ala Ser Met Thr Ala Ser Pro Pro

175 170 165

Gly Ser Leu Arg Ala Ser Asp Trp Val Ile Leu Asn Cys Ser Phe Ser

190 185 180

Arg Pro Asp Arg Pro Ala Ser Val His Trp Phe Arg Asn Arg Gly Gln

205 200 195

Gly Arg Val Pro Val Arg Glu Ser Pro His His His Leu Ala Glu Ser

220 215 210

Phe Leu Phe Leu Pro Gln Val Ser Pro Met Asp Ser Gly Pro Trp Gly

240 235 230 225

Cys Ile Leu Thr Tyr Arg Asp Gly Phe Asn Val Ser Ile Met Tyr Asn

255 250 245

Leu Thr Val Leu Gly Leu Glu Pro Pro Thr Pro Leu Thr Val Tyr Ala

270 265 260

Gly Ala Gly Ser Arg Val Gly Leu Pro Cys Arg Leu Pro Ala Gly Val

285 280 275

Gly Thr Arg Ser Phe Leu Thr Ala Lys Trp Thr Pro Pro Gly Gly Gly

300 295 290

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

320 315 310 305

Glu Asp Val Ser Gln Ala Gln Ala Gly Thr Tyr Thr Cys His Ile His

335 330 325

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

350 345 340

Val Thr Pro Lys Ser Phe Gly Ser Pro Gly Ser Leu Gly Lys Leu Leu

365 360 355

Cys Glu Val Thr Pro Val Ser Gly Gln Glu Arg Phe Val Trp Ser Ser

380 375 370

Leu Asp Thr Pro Ser Gln Arg Ser Phe Ser Gly Pro Trp Leu Glu Ala

400 395 390 385

Gln Glu Ala Gln Leu Leu Ser Gln Pro Trp Gln Cys Gln Leu Tyr Gln

415 410 405

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

430 425 420

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

445 440 435

Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr

460 455 450

Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys

480 475 470 465

Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg

495 490 485

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

510 505 500

Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

515

161 <210>

1314 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huLag3-12aas <223>

161 <400> 5

atgtgggaag cgcagtttct tggacttctt tttctccagc cgctgtgggt tgcgccagta 60

aagccgctcc aacccggtgc agaggttccg gtagtgtggg cgcaagaggg tgcaccagcg 120

cagctcccct gcagtccgac gattccgctg caagatttgt cactgcttag aagggcgggc 180

gtaacgtggc agcaccaacc ggatagtggc cctccggctg cagcaccagg gcacccactc 240

gcccccggcc ctcatcccgc agcaccgagc agctggggtc ctagaccacg cagatataca 300

gtactctcag taggtcccgg cggcctgcgg tccggtcgct tgccccttca acctagagta 360

cagctggatg aaagaggtcg acaacggggt gatttctccc tctggttgag gcctgcacga 420

cgagcagatg ctggggagta tagggctgcc gtacacctgc gagaccgcgc acttagttgt 480

agactccggc tccggctggg acaggcctct atgacagcgt ccccccctgg gtccctgcga 540

gcctctgatt gggtaatact caactgctca ttttctcggc cagatcgccc cgctagtgtt 600

cattggttcc gaaatcgcgg ccaaggtcgc gtgcctgttc gagaatctcc acaccaccat 660

ttggcggagt cttttctttt tctgcctcag gtctccccta tggactctgg accgtggggc 720

tgtattttga catatcggga tgggtttaac gtgagtataa tgtataatct cactgtcttg 780

ggtcttgagc cacctacgcc gctgacggtg tacgcgggag ccggcagccg ggttggtctg 840

ccctgcaggc tgcctgcagg agtcgggaca aggtcattcc ttacagcaaa gtggaccccg 900

ccaggtgggg ggcccgacct ccttgtaacg ggagataatg gagatttcac tctgagactt 960

gaggatgtct ctcaagctca ggctgggact tatacatgtc acattcactt gcaagaacag 1020

cagttgaatg cgacggttac cctggctatc ataacagtaa cacctaaatc tttcggtagt 1080

ccgggtagcc tgggcaaact gttgtgtgag gtaacccccg tgtcaggtca agagcggttc 1140

gtctggagct cattggacac tccctcacag cgatccttta gcggaccctg gctcgaagcc 1200

caagaagccc agctgctttc ccaaccatgg cagtgtcaac tctatcaggg tgagcgcctt 1260

ctcggtgcgg ctgtctactt caccgaattg tcctctccgg gagcgcaaag aagt 1314

162 <210>

438 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huLag3-12aas <223>

162 <400>

Met Trp Glu Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Phe Leu Gln Pro Leu Trp

15 10 5 1

Val Ala Pro Val Lys Pro Leu Gln Pro Gly Ala Glu Val Pro Val Val

30 25 20

Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Ala Gln Leu Pro Cys Ser Pro Thr Ile

45 40 35

Pro Leu Gln Asp Leu Ser Leu Leu Arg Arg Ala Gly Val Thr Trp Gln

60 55 50

His Gln Pro Asp Ser Gly Pro Pro Ala Ala Ala Pro Gly His Pro Leu

80 75 70 65

Ala Pro Gly Pro His Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp Gly Pro Arg Pro

95 90 85

Arg Arg Tyr Thr Val Leu Ser Val Gly Pro Gly Gly Leu Arg Ser Gly

110 105 100

Arg Leu Pro Leu Gln Pro Arg Val Gln Leu Asp Glu Arg Gly Arg Gln

125 120 115

Arg Gly Asp Phe Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Arg Arg Ala Asp Ala

140 135 130

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

160 155 150 145

Arg Leu Arg Leu Arg Leu Gly Gln Ala Ser Met Thr Ala Ser Pro Pro

175 170 165

Gly Ser Leu Arg Ala Ser Asp Trp Val Ile Leu Asn Cys Ser Phe Ser

190 185 180

Arg Pro Asp Arg Pro Ala Ser Val His Trp Phe Arg Asn Arg Gly Gln

205 200 195

Gly Arg Val Pro Val Arg Glu Ser Pro His His His Leu Ala Glu Ser

220 215 210

Phe Leu Phe Leu Pro Gln Val Ser Pro Met Asp Ser Gly Pro Trp Gly

240 235 230 225

Cys Ile Leu Thr Tyr Arg Asp Gly Phe Asn Val Ser Ile Met Tyr Asn

255 250 245

Leu Thr Val Leu Gly Leu Glu Pro Pro Thr Pro Leu Thr Val Tyr Ala

270 265 260

Gly Ala Gly Ser Arg Val Gly Leu Pro Cys Arg Leu Pro Ala Gly Val

285 280 275

Gly Thr Arg Ser Phe Leu Thr Ala Lys Trp Thr Pro Pro Gly Gly Gly

300 295 290

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

320 315 310 305

Glu Asp Val Ser Gln Ala Gln Ala Gly Thr Tyr Thr Cys His Ile His

335 330 325

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

350 345 340

Val Thr Pro Lys Ser Phe Gly Ser Pro Gly Ser Leu Gly Lys Leu Leu

365 360 355

Cys Glu Val Thr Pro Val Ser Gly Gln Glu Arg Phe Val Trp Ser Ser

380 375 370

Leu Asp Thr Pro Ser Gln Arg Ser Phe Ser Gly Pro Trp Leu Glu Ala

400 395 390 385

Gln Glu Ala Gln Leu Leu Ser Gln Pro Trp Gln Cys Gln Leu Tyr Gln

415 410 405

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

430 425 420

Pro Gly Ala Gln Arg Ser

435

163 <210>

1590 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huLag3-CD28Cys <223>

163 <400>

atgtgggaag cgcagtttct tggacttctt tttctccagc cgctgtgggt tgcgccagta 60

aagccgctcc aacccggtgc agaggttccg gtagtgtggg cgcaagaggg tgcaccagcg 120

cagctcccct gcagtccgac gattccgctg caagatttgt cactgcttag aagggcgggc 180

gtaacgtggc agcaccaacc ggatagtggc cctccggctg cagcaccagg gcacccactc 240

gccccccggcc ctcatcccgc agcaccgagc agctggggtc ctagaccacg cagatataca 300

gtactctcag taggtcccgg cggcctgcgg tccggtcgct tgccccttca acctagagta 360

cagctggatg aaagaggtcg acaacggggt gatttctccc tctggttgag gcctgcacga 420

cgagcagatg ctggggagta tagggctgcc gtacacctgc gagaccgcgc acttagttgt 480

agactccggc tccggctggg acaggcctct atgacagcgt ccccccctgg gtccctgcga 540

gcctctgatt gggtaatact caactgctca ttttctcggc cagatcgccc cgctagtgtt 600

cattggttcc gaaatcgcgg ccaaggtcgc gtgcctgttc gagaatctcc acaccaccat 660

ttggcggagt cttttctttt tctgcctcag gtctccccta tggactctgg accgtggggc 720

tgtattttga catatcggga tgggtttaac gtgagtataa tgtataatct cactgtcttg 780

ggtcttgagc cacctacgcc gctgacggtg tacgcgggag ccggcagccg ggttggtctg 840

ccctgcaggc tgcctgcagg agtcgggaca aggtcattcc ttacagcaaa gtggaccccg 900

ccaggtgggg ggcccgacct ccttgtaacg ggagataatg gagatttcac tctgagactt 960

gaggatgtct ctcaagctca ggctgggact tatacatgtc acattcactt gcaagaacag 1020

cagttgaatg cgacggttac cctggctatc ataacagtaa cacctaaatc tttcggtagt 1080

ccgggtagcc tgggcaaact gttgtgtgag gtaacccccg tgtcaggtca agagcggttc 1140

gtctggagct cattggacac tccctcacag cgatccttta gcggaccctg gctcgaagcc 1200

caagaagccc agctgctttc ccaaccatgg cagtgtcaac tctatcaggg tgagcgcctt 1260

ctcggtgcgg ctgtctactt caccgaattg tcctctccgg gagcgcaaag aagtggacgc 1320

gccccagggg ccctcccggc aggacacctt tgtcccagcc ctctgtttcc cggccctagc 1380

aagcctttct gggtgctggt ggtggtcgga ggcgtgctgg cctgctacag cctgctggtc 1440

accgtggcct tcatcatctt ttgggtccgc agcaagcgga gcagaggcgg ccacagcgac 1500

tacatgaaca tgacccctag acggcctggc cccaccagaa agcactacca gccctacgcc 1560

cctccccggg actttgccgc ctacagaagc 1590

164 <210>

530 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huLag3-CD28Cys <223>

164 <400>

Met Trp Glu Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Phe Leu Gln Pro Leu Trp

15 10 5 1

Val Ala Pro Val Lys Pro Leu Gln Pro Gly Ala Glu Val Pro Val Val

30 25 20

Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Ala Gln Leu Pro Cys Ser Pro Thr Ile

45 40 35

Pro Leu Gln Asp Leu Ser Leu Leu Arg Arg Ala Gly Val Thr Trp Gln

60 55 50

His Gln Pro Asp Ser Gly Pro Pro Ala Ala Ala Pro Gly His Pro Leu

80 75 70 65

Ala Pro Gly Pro His Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp Gly Pro Arg Pro

95 90 85

Arg Arg Tyr Thr Val Leu Ser Val Gly Pro Gly Gly Leu Arg Ser Gly

110 105 100

Arg Leu Pro Leu Gln Pro Arg Val Gln Leu Asp Glu Arg Gly Arg Gln

125 120 115

Arg Gly Asp Phe Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Arg Arg Ala Asp Ala

140 135 130

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

160 155 150 145

Arg Leu Arg Leu Arg Leu Gly Gln Ala Ser Met Thr Ala Ser Pro Pro

175 170 165

Gly Ser Leu Arg Ala Ser Asp Trp Val Ile Leu Asn Cys Ser Phe Ser

190 185 180

Arg Pro Asp Arg Pro Ala Ser Val His Trp Phe Arg Asn Arg Gly Gln

205 200 195

Gly Arg Val Pro Val Arg Glu Ser Pro His His His Leu Ala Glu Ser

220 215 210

Phe Leu Phe Leu Pro Gln Val Ser Pro Met Asp Ser Gly Pro Trp Gly

240 235 230 225

Cys Ile Leu Thr Tyr Arg Asp Gly Phe Asn Val Ser Ile Met Tyr Asn

255 250 245

Leu Thr Val Leu Gly Leu Glu Pro Pro Thr Pro Leu Thr Val Tyr Ala

270 265 260

Gly Ala Gly Ser Arg Val Gly Leu Pro Cys Arg Leu Pro Ala Gly Val

285 280 275

Gly Thr Arg Ser Phe Leu Thr Ala Lys Trp Thr Pro Pro Gly Gly Gly

300 295 290

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

320 315 310 305

Glu Asp Val Ser Gln Ala Gln Ala Gly Thr Tyr Thr Cys His Ile His

335 330 325

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

350 345 340

Val Thr Pro Lys Ser Phe Gly Ser Pro Gly Ser Leu Gly Lys Leu Leu

365 360 355

Cys Glu Val Thr Pro Val Ser Gly Gln Glu Arg Phe Val Trp Ser Ser

380 375 370

Leu Asp Thr Pro Ser Gln Arg Ser Phe Ser Gly Pro Trp Leu Glu Ala

400 395 390 385

Gln Glu Ala Gln Leu Leu Ser Gln Pro Trp Gln Cys Gln Leu Tyr Gln

415 410 405

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

430 425 420

Pro Gly Ala Gln Arg Ser Gly Arg Ala Pro Gly Ala Leu Pro Ala Gly

445 440 435

His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp

460 455 450

Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val

480 475 470 465

Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly

495 490 485

Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr

510 505 500

Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr

525 520 515

Arg Ser

530

165 <210>

792 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huTim3tm-CD28 <223>

165 <400>

atgttctccc atcttccctt cgactgtgtg ttgctccttc tcctcctgct tctcacccgg 60

tcaagcgaag tagagtaccg ggcggaagta ggtcagaacg catatctccc ctgtttttac 120

acacccgctg cgccgggaaa cctggttccc gtgtgttggg gaaagggggc atgccctgtt 180

ttcgagtgtg gcaacgtggt cctccggacg gatgagcgag acgtgaatta ttggacgagc 240

agatattggt tgaatggcga ttttagaaag ggtgatgtga gcttgaccat tgagaatgta 300

acgcttgctg atagcgggat atattgctgt agaattcaaa tccctggtat aatgaacgac 360

gaaaaattca atctgaagct ggtaattaag ccggccaagg tgacacccgc cccgacacga 420

cagcgcgact tcacggctgc ctttccacgc atgttgacca caaggggaca tggtccagcg 480

gagacccaga cacttggtag cctcccggac ataaacctca cacaaatatc cacgttggcg 540

aacgagctcc gagattccag gcttgcgaat gacctgaggg attctggagc taccatcaga 600

atcggtatct acataggtgc cgggatatgc gccggtctcg cacttgcctt gattttcggg 660

gcactgattc gcagcaagcg gagcagaggc ggccacagcg actacatgaa catgacccct 720

agacggcctg gccccaccag aaagcactac cagccctacg cccctccccg ggactttgcc 780

gcctacagaa gc 792

<210> 166

<211> 264

<212> PRT

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> huTim3tm-CD28

<400> 166

Met Phe Ser His Leu Pro Phe Asp Cys Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu

1 5 10 15

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

30 25 20

Asn Ala Tyr Leu Pro Cys Phe Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu

45 40 35

Val Pro Val Cys Trp Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly

60 55 50

Asn Val Val Leu Arg Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser

80 75 70 65

Arg Tyr Trp Leu Asn Gly Asp Phe Arg Lys Gly Asp Val Ser Leu Thr

95 90 85

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

110 105 100

Gln Ile Pro Gly Ile Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val

125 120 115

Ile Lys Pro Ala Lys Val Thr Pro Ala Pro Thr Arg Gln Arg Asp Phe

140 135 130

Thr Ala Ala Phe Pro Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala

160 155 150 145

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

175 170 165

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

190 185 180

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

205 200 195

Ile Cys Ala Gly Leu Ala Leu Ala Leu Ile Phe Gly Ala Leu Ile Arg

220 215 210

Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro

240 235 230 225

Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro

255 250 245

Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

260

167 <210>

606 <211>

DNA <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> huTim3 مجال خارجي (اكتودومين)

167 <400>

atgttctccc atcttccctt cgactgtgtg ttgctccttc tcctcctgct tctcacccgg 60

tcaagcgaag tagagtaccg ggcggaagta ggtcagaacg catatctccc ctgtttttac 120

acacccgctg cgccgggaaa cctggttccc gtgtgttggg gaaaggggggc atgccctgtt 180

ttcgagtgtg gcaacgtggt cctccggacg gatgagcgag acgtgaatta ttggacgagc 240

agatattggt tgaatggcga ttttagaaag ggtgatgtga gcttgaccat tgagaatgta 300

acgcttgctg atagcgggat atattgctgt agaattcaaa tccctggtat aatgaacgac 360

gaaaaattca atctgaagct ggtaattaag ccggccaagg tgacacccgc cccgacacga 420

cagcgcgact tcacggctgc ctttccacgc atgttgacca caaggggaca tggtccagcg 480

gagacccaga cacttggtag cctcccggac ataaacctca cacaaatatc cacgttggcg 540

aacgagctcc gagattccag gcttgcgaat gacctgaggg attctggagc taccatcaga 600

atcggt 606

<210> 168

<211> 202

<212> PRT

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> huTim3 مجال خارجي (اكتودومين)

168 <400>

Met Phe Ser His Leu Pro Phe Asp Cys Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu

15 10 5 1

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

30 25 20 5

Asn Ala Tyr Leu Pro Cys Phe Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu

45 40 35

Val Pro Val Cys Trp Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly

60 55 50

Asn Val Val Leu Arg Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser 10

80 75 70 65

Arg Tyr Trp Leu Asn Gly Asp Phe Arg Lys Gly Asp Val Ser Leu Thr

95 90 85

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

110 105 100 15

Gln Ile Pro Gly Ile Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val

125 120 115

Ile Lys Pro Ala Lys Val Thr Pro Ala Pro Thr Arg Gln Arg Asp Phe

140 135 130

Thr Ala Ala Phe Pro Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala 20

160 155 150 145

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

175 170 165

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

190 185 180

Arg Asp Ser Gly Ala Thr Ile Arg Ile Gly

200 195

169 <210>

63 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huTim3 الغشاء <223>

169 <400>

atctacatag gtgccgggat atgcgccggt ctcgcacttg ccttgatttt cggggcactg 60

att 63

170 <210>

21 <211>

<212> PRT

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> الغشاء huTim3

<400> 170

Ile Tyr Ile Gly Ala Gly Ile Cys Ala Gly Leu Ala Leu Ala Leu Ile

1 5 10 15

Phe Gly Ala Leu Ile

20

<210> 171

<211> 810

<212> DNA

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> huTim3-CD28tm

171 <400>

atgttctccc atcttccctt cgactgtgtg ttgctccttc tcctcctgct tctcacccgg 60

tcaagcgaag tagagtaccg ggcggaagta ggtcagaacg catatctccc ctgtttttac 120

acacccgctg cgccgggaaa cctggttccc gtgtgttggg gaaaaggggc atgccctgtt 180

ttcgagtgtg gcaacgtggt cctccggacg gatgagcgag acgtgaatta ttggacgagc 240

agatattggt tgaatggcga ttttagaaag ggtgatgtga gcttgaccat tgagaatgta 300

acgcttgctg atagcgggat atattgctgt agaattcaaa tccctggtat aatgaacgac 360

gaaaaattca atctgaagct ggtaattaag ccggccaagg tgacacccgc cccgacacga 420

cagcgcgact tcacggctgc ctttccacgc atgttgacca caaggggaca tggtccagcg 480

gagacccaga cacttggtag cctcccggac ataaacctca cacaaatatc cacgttggcg 540

aacgagctcc gagattccag gcttgcgaat gacctgaggg attctggagc taccatcaga 600

atcggtttct gggtgctggt ggtggtcgga ggcgtgctgg cctgctacag cctgctggtc 660

accgtggcct tcatcatctt ttgggtccgc agcaagcgga gcagaggcgg ccacagcgac 720

tacatgaaca tgacccctag acggcctggc cccaccagaa agcactacca gccctacgcc 780

cctccccggg actttgccgc ctacagaagc 810

172 <210>

270 <211>

PRT <212>

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> huTim3-CD28tm

<400> 172

Met Phe Ser His Leu Pro Phe Asp Cys Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu
1 5 10 15

Leu Leu Thr Arg Ser Ser Glu Val Glu Tyr Arg Ala Glu Val Gly Gln
20 25 30

Asn Ala Tyr Leu Pro Cys Phe Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu
35 40 45

Val Pro Val Cys Trp Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly
50 55 60

Asn Val Val Leu Arg Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser
65 70 75 80

Arg Tyr Trp Leu Asn Gly Asp Phe Arg Lys Gly Asp Val Ser Leu Thr
85 90 95

Ile Glu Asn Val Thr Leu Ala Asp Ser Gly Ile Tyr Cys Cys Arg Ile
100 105 110

Gln Ile Pro Gly Ile Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val

125 120 115

Ile Lys Pro Ala Lys Val Thr Pro Ala Pro Thr Arg Gln Arg Asp Phe

140 135 130

Thr Ala Ala Phe Pro Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala

160 155 150 145

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

175 170 165

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

190 185 180

Arg Asp Ser Gly Ala Thr Ile Arg Ile Gly Phe Trp Val Leu Val Val

205 200 195

Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe

220 215 210

Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp

240 235 230 225

Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr

255 250 245

Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

270 265 260

173 <210>

846 <211>

<212> DNA

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> huTim3-CD28Cys

<400> 173

atgttctccc atcttccctt cgactgtgtg ttgctccttc tcctcctgct tctcacccgg 60

tcaagcgaag tagagtaccg ggcggaagta ggtcagaacg catatctccc ctgtttttac 120

acacccgctg cgccgggaaa cctggttccc gtgtgttggg gaaaggggggc atgccctgtt 180

ttcgagtgtg gcaacgtggt cctccggacg gatgagcgag acgtgaatta ttggacgagc 240

agatattggt tgaatggcga ttttagaaag ggtgatgtga gcttgaccat tgagaatgta 300

acgcttgctg atagcgggat atattgctgt agaattcaaa tccctggtat aatgaacgac 360

gaaaaattca atctgaagct ggtaattaag ccggccaagg tgacacccgc cccgacacga 420

cagcgcgact tcacggctgc ctttccacgc atgttgacca caaggggaca tggtccagcg 480

gagacccaga cacttggtag cctcccggac ataaacctca cacaaatatc cacgttggcg 540

aacgagctcc gagattccag gcttgcgaat gacctgaggg attctggagc taccatcaga 600

atcggttgtc ccagccctct gtttcccggc cctagcaagc ctttctgggt gctggtggtg 660

gtcggaggcg tgctggcctg ctacagcctg ctggtcaccg tggccttcat catcttttgg 720

gtccgcagca agcggagcag aggcggccac agcgactaca tgaacatgac ccctagacgg 780

cctggcccca ccagaaagca ctaccagccc tacgcccctc cccgggactt tgccgcctac 840

agaagc 846

174 <210>

282 <211>

PRT <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huTim3-CD28Cys <223>

174 <400>

Met Phe Ser His Leu Pro Phe Asp Cys Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu

15 10 5 1

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

30 25 20

Asn Ala Tyr Leu Pro Cys Phe Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu

45 40 35

Val Pro Val Cys Trp Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly

60 55 50

Asn Val Val Leu Arg Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser

80 75 70 65

Arg Tyr Trp Leu Asn Gly Asp Phe Arg Lys Gly Asp Val Ser Leu Thr

95 90 85

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

110 105 100

Gln Ile Pro Gly Ile Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val

125 120 115

Ile Lys Pro Ala Lys Val Thr Pro Ala Pro Thr Arg Gln Arg Asp Phe

140 135 130

Thr Ala Ala Phe Pro Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala

160 155 150 145

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

175 170 165

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

190 185 180

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

205 200 195

Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val

220 215 210

Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp

240 235 230 225

Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met

255 250 245

Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala

270 265 260

Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

280 275

175 <210>

810 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

huTim3-12aas-CD28Cys <223>

175 <400>

atgttctccc atcttccctt cgactgtgtg ttgctccttc tcctcctgct tctcacccgg 60

tcaagcgaag tagagtaccg ggcggaagta ggtcagaacg catatctccc ctgtttttac 120

acacccgctg cgccgggaaa cctggttccc gtgtgttggg gaaaggggge atgccctgtt 180

ttcgagtgtg gcaacgtggt cctccggacg gatgagcgag acgtgaatta ttggacgagc 240

agatattggt tgaatggcga ttttagaaag ggtgatgtga gcttgaccat tgagaatgta 300

acgcttgctg atagcgggat atattgctgt agaattcaaa tccctggtat aatgaacgac 360

gaaaaattca atctgaagct ggtaattaag ccggccaagg tgacacccgc cccgacacga 420

cagcgcgact tcacggctgc ctttccacgc atgttgacca caaggggaca tggtccagcg 480

gagacccaga cacttggtag cctcccggac ataaacctca cacaaatatc cacgttggcg 540

aacgagctcc gagattccag gcttgcgaat tgtcccagcc ctctgtttcc cggccctagc 600

aagcctttct gggtgctggt ggtggtcgga ggcgtgctgg cctgctacag cctgctggtc 660

accgtggcct tcatcatctt ttgggtccgc agcaagcgga gcagaggcgg ccacagcgac 720

tacatgaaca tgacccctag acggcctggc cccaccagaa agcactacca gccctacgcc 780

cctccccggg actttgccgc ctacagaagc 810

<210> 176

<211> 270

<212> PRT

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

<223> huTim3-12aas-CD28Cys

176 <400>

Met Phe Ser His Leu Pro Phe Asp Cys Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu

15 10 5 1

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

30 25 20

Asn Ala Tyr Leu Pro Cys Phe Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu

45 40 35

Val Pro Val Cys Trp Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly

60 55 50

Asn Val Val Leu Arg Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser

80 75 70 65

Arg Tyr Trp Leu Asn Gly Asp Phe Arg Lys Gly Asp Val Ser Leu Thr

95 90 85

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

110 105 100

Gln Ile Pro Gly Ile Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val

125 120 115

Ile Lys Pro Ala Lys Val Thr Pro Ala Pro Thr Arg Gln Arg Asp Phe

140 135 130

Thr Ala Ala Phe Pro Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala

160 155 150 145

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

175 170 165

Ser Thr Leu Ala Asn Glu Leu Arg Asp Ser Arg Leu Ala Asn Cys Pro

190 185 180

Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val

205 200 195

Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe

220 215 210

Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp

240 235 230 225

Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr

255 250 245

Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

270 265 260

177 <210>

570 <211>

DNA <212>

سلسلة اصطناعية <213>

<220>

<223> huTim3-12aas

<400> 177

atgttctccc atcttccctt cgactgtgtg ttgctccttc tcctcctgct tctcacccgg 60

tcaagcgaag tagagtaccg ggcggaagta ggtcagaacg catatctccc ctgtttttac 120

acacccgctg cgccgggaaa cctggttccc gtgtgttggg gaaaggggggc atgccctgtt 180

ttcgagtgtg gcaacgtggt cctccggacg gatgagcgag acgtgaatta ttggacgagc 240

agatattggt tgaatggcga ttttagaaag ggtgatgtga gcttgaccat tgagaatgta 300

acgcttgctg atagcgggat atattgctgt agaattcaaa tccctggtat aatgaacgac 360

gaaaaattca atctgaagct ggtaattaag ccggccaagg tgacacccgc cccgacacga 420

cagcgcgact tcacggctgc ctttccacgc atgttgacca caaggggaca tggtccagcg 480

gagacccaga cacttggtag cctcccggac ataaacctca cacaaatatc cacgttggcg 540

aacgagctcc gagattccag gcttgcgaat 570

<210> 178

<211> 190

<212> PRT

<213> سلسلة اصطناعية

<220>

huTim3-12aas <223>

178 <400>

Met Phe Ser His Leu Pro Phe Asp Cys Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu 5

15 10 5 1

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

30 25 20

Asn Ala Tyr Leu Pro Cys Phe Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu

45 40 35 10

Val Pro Val Cys Trp Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly

60 55 50

Asn Val Val Leu Arg Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser

80 75 70 65

Arg Tyr Trp Leu Asn Gly Asp Phe Arg Lys Gly Asp Val Ser Leu Thr 15

95 90 85

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

110 105 100

Gln Ile Pro Gly Ile Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val

125 120 115 20

Ile Lys Pro Ala Lys Val Thr Pro Ala Pro Thr Arg Gln Arg Asp Phe

140 135 130

Thr Ala Ala Phe Pro Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala

160 155 150 145

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

175 170 165

Ser Thr Leu Ala Asn Glu Leu Arg Asp Ser Arg Leu Ala Asn 5

190 185 180

عناصر الحماية

1. بروتين دمج fusion protein، يشمل (أ) مكون خارج الخلية extracellular component يشتمل على مجال ربط binding domain والذي يربط على وجه التحديد هدف، (ب) مكون داخل الخلية intracellular component يشتمل على مجال الإشارة داخل الخلية intracellular signaling domain، و (ج) مكون كاره للماء hydrophobic component يربط مكونات خارج الخلية وداخل الخلية،

حيث المكون خارج الخلية extracellular component يشمل مجال SIRPα خارج الخلية، و يكون مجال الإشارة داخل الخلية intracellular signaling domain يشمل مجال إشارة داخل خلية intracellular signaling domain من CD28.

2. بروتين الدمج The fusion protein وفقا للعنصر 1، حيث يشمل المكون خارج الخلية extracellular component أيضا مجال متعدد الدمج multimerization domain و/ أو فاصل spacer.

3. بروتين الدمج The fusion protein وفقا للعنصر 2، حيث يتضمن المجال متعدد المراحل من مكون خارج الخلية extracellular component معدل لاحتواء بقايا السيستين داخل حوالي 2 إلى حوالي 15 الأحماض الأمينية amino acids من مكون كاره للماء hydrophobic component.

4. بروتين الدمج The fusion protein وفقا للعنصر 1، حيث المكون الكاره للماء the hydrophobic component يشمل مجال غشاء من CD28، CD137 (4-1BB)، CD2، CD3ε، CD3δ، CD3ζ، CD25، CD27، CD40، CD79A، CD79B، CD80، CD86، CD95 (Fas)، CD134 (OX40)، CD150 (SLAMF1)، CD152 (CTLA4)، CD200R، CD223 (LAG3)، CD270 (HVEM)، CD272 (BTLA)، CD273 (PD-L2)، CD274 (PD-L1)، CD278 (ICOS)، CD279 (PD-1)، CD300، CD357 (GITR)، A2aR، DAP10، FcRα، FcRβ، FcRγ، Fyn، GAL9، KIR، Lck، LAT، LRP، NKG2D، NOTCH1، NOTCH2، NOTCH3، NOTCH4، PTCH2، ROR2، Ryk، Slp76، SIRPα، pTα، TCRα، TCRβ، TIM3، TRIM، LPA5 أو Zap70.

5. بروتين الدمج The fusion protein وفقا للعنصر 1، حيث (أ) المكون الكاره للماء hydrophobic component يشمل مجال غشاء لـ CD28 أو CD137 (4-1BB).

6. بروتين الدمج The fusion protein وفقا للعنصر 5، حيث يشمل المكون خارج الخلية extracellular component أيضا مجال خارج الخلية لـ CD28 يمتد من مجال الغشاء CD28.

7. بروتين الدمج The fusion protein وفقا للعنصر 1، حيث (أ) المكون خارج الخلية extracellular component يتضمن سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي nucleic acid molecule كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 17 أو 21، (ب) المكون الكاره للماء the hydrophobic component يحتوي على سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 4 أو 18، و (ج) المكون داخل الخلية intracellular component يشمل سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 5.

8. بروتين الدمج The fusion protein وفقا للعنصر 7، حيث المكون خارج الخلية extracellular component أيضاً يتضمن مجال متعدد الدمج يحتوي على سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي nucleic acid molecule كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 9.

9. بروتين الدمج The fusion protein وفقا للعنصر 7، حيث المكون داخل الخلية intracellular component أيضاً يتضمن مجال إشارة داخل الخلية ثانيsecond intracellular signaling domain يحتوي على سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي nucleic acid molecule كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم:5.

10. بروتين الدمج The fusion protein وفقا للعنصر 1، حيث (أ) المكون خارج الخلية extracellular component يتضمن مجال ربط مع سلسلة الحمض الأميني كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 40 أو 44، و مجال متعدد الدمج multimerization domain مع سلسلة الحمض الأميني كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 32، و (ب) المكون الكاره للماء the hydrophobic component يحتوي على سلسلة الحمض الأميني كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 27 أو

41، و (ج) المكون داخل الخلية intracellular component يشمل الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 28.

11. بروتين الدمج The fusion protein وفقا للعنصر 10، حيث المكون داخل الخلية intracellular component يشمل ايضا سلسلة الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 36.

12. بروتين الدمج The fusion protein وفقا للعنصر 1، حيث (أ) المكون خارج الخلية extracellular component يتضمن مجال ربط مع سلسلة الحمض الأميني كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 40، (ب) المكون الكاره للماء the hydrophobic component يحتوي على سلسلة الحمض الأميني كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 41، و (ج) المكون داخل الخلية intracellular component يشمل الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 28.

13. بروتين الدمج The fusion protein وفقا للعنصر 1، حيث (أ) المكون خارج الخلية extracellular component يتضمن مجال ربط مع سلسلة الحمض الأميني كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 40، (ب) المكون الكاره للماء the hydrophobic component يحتوي على سلسلة الحمض الأميني كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 27، و (ج) المكون داخل الخلية intracellular component يشمل الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 28.

14. بروتين الدمج The fusion protein وفقا للعنصر 1، حيث (أ) المكون خارج الخلية extracellular component يتضمن مجال ربط مع سلسلة الحمض الأميني كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 40 و مجال متعدد الدمج multimerization domain مع سلسلة الحمض الأميني كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 32، و (ب) المكون الكاره للماء the hydrophobic component يحتوي على سلسلة الحمض الأميني كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 27، و (ج) المكون داخل الخلية intracellular component يشمل الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 28.

15. بروتين الدمج The fusion protein وفقا للعنصر 1، حيث (أ) المكون خارج الخلية extracellular component يتضمن مجال ربط مع سلسلة الحمض الأميني كما هو مبين في سلسلة

التعريف رقم: 44 و مجال متعدد الدمج multimerization domain مع سلسلة الحمض الأميني كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 32، و (ب) المكون الكاره للماء the hydrophobic component يحتوي على سلسلة الحمض الأميني كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 27، و (ج) المكون داخل الخلية intracellular component يشمل الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 28.

16. بروتين الدمج The fusion protein وفقا للعنصر 15، حيث المكون داخل الخلية intracellular component يشمل ايضا الحمض النووي كما هو مبين في سلسلة التعريف رقم: 36.

17. بروتين الدمج The fusion protein وفقا للعنصر 1، حيث:

(أ1) المكون خارج الخلية extracellular component يتضمن سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي nucleic acid molecule الذي لديه من 90% إلى 100% تطابق مع البولي نيوكليوتيد في سلسلة التعريف رقم: 17، (ب1) المكون الكاره للماء the hydrophobic component يحتوي على سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي الذي لديه من 90% إلى 100% تطابق مع البولي نيوكليوتيد في سلسلة التعريف رقم: 18، و (ج1) المكون داخل الخلية intracellular component يشمل سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي الذي لديه من 90% إلى 100% تطابق مع البولي نيوكليوتيد في سلسلة التعريف رقم: 5؛ أو

(أ2) المكون خارج الخلية extracellular component يتضمن سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة البولي نيوكليوتيد في سلسلة التعريف رقم: 17، (ب2) المكون الكاره للماء the hydrophobic component يحتوي على سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة البولي نيوكليوتيد في سلسلة التعريف رقم: 18، و (ج2) المكون داخل الخلية intracellular component يشمل سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة البولي نيوكليوتيد في سلسلة التعريف رقم: 5.

18. بروتين الدمج The fusion protein وفقا للعنصر 1، حيث:

(أ1) المكون خارج الخلية extracellular component يتضمن سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي nucleic acid molecule الذي لديه من 90% إلى 100% تطابق مع البولي نيوكليوتيد في سلسلة التعريف رقم: 17، (ب1) المكون الكاره للماء the hydrophobic

component يحتوي على سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي الذي لديه من 90% إلى 100% تطابق مع البولي نيوكليوتيد في سلسلة التعريف رقم: 4، و (ج1) المكون داخل الخلية intracellular component يشمل سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي الذي لديه من 90% إلى 100% تطابق مع البولي نيوكليوتيد في سلسلة التعريف رقم: 5؛ أو

(أ2) المكون خارج الخلية extracellular component يتضمن سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة البولي نيوكليوتيد في سلسلة التعريف رقم: 17، (ب2) المكون الكاره للماء the hydrophobic component يحتوي على سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة البولي نيوكليوتيد في سلسلة التعريف رقم: 4، و (ج2) المكون داخل الخلية intracellular component يشمل سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة البولي نيوكليوتيد في سلسلة التعريف رقم: 5.

19. بروتين الدمج The fusion protein وفقا للعنصر 1، حيث:

(أ1) المكون خارج الخلية extracellular component يتضمن سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي nucleic acid molecule الذي لديه من 90% إلى 100% تطابق مع البولي نيوكليوتيد في سلسلة التعريف رقم: 17 و مجال متعدد الدمج multimerization domain مع سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي nucleic acid molecule الذي لديه من 90% إلى 100% تطابق مع البولي نيوكليوتيد في سلسلة التعريف رقم: 9، (ب1) المكون الكاره للماء the hydrophobic component يحتوي على سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي الذي لديه من 90% إلى 100% تطابق مع البولي نيوكليوتيد في سلسلة التعريف رقم: 4، و (ج1) المكون داخل الخلية intracellular component يشمل سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي الذي لديه من 90% إلى 100% تطابق مع البولي نيوكليوتيد في سلسلة التعريف رقم: 5؛ أو

(أ2) المكون خارج الخلية extracellular component يتضمن سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة البولي نيوكليوتيد في سلسلة التعريف رقم: 17 و مجال متعدد الدمج multimerization domain مع سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة البولي نيوكليوتيد في سلسلة التعريف رقم: 9، (ب2) المكون الكاره للماء the hydrophobic component يحتوي على سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة البولي نيوكليوتيد في سلسلة التعريف رقم: 4، و (ج2) المكون داخل الخلية

intracellular component يشمل سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة البولي نيوكليوتيد في سلسلة التعريف رقم: 5.

20. بروتين الدمج The fusion protein وفقا للعنصر 1، حيث:

(أ1) المكون خارج الخلية extracellular component يتضمن سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي nucleic acid molecule الذي لديه من 90% إلى 100% تطابق مع البولي نيوكليوتيد في سلسلة التعريف رقم: 21 و مجال متعدد الدمج multimerization domain مع سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي nucleic acid molecule الذي لديه من 90% إلى 100% تطابق مع البولي نيوكليوتيد في سلسلة التعريف رقم: 9، (ب1) المكون الكاره للماء the hydrophobic component يحتوي على سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي الذي لديه من 90% إلى 100% تطابق مع البولي نيوكليوتيد في سلسلة التعريف رقم: 4، و (ج1) المكون داخل الخلية intracellular component يشمل سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي الذي لديه من 90% إلى 100% تطابق مع البولي نيوكليوتيد في سلسلة التعريف رقم: 5؛ أو

(أ2) المكون خارج الخلية extracellular component يتضمن سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة البولي نيوكليوتيد في سلسلة التعريف رقم: 21 و مجال متعدد الدمج multimerization domain مع سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة البولي نيوكليوتيد في سلسلة التعريف رقم: 9، (ب2) المكون الكاره للماء the hydrophobic component يحتوي على سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة البولي نيوكليوتيد في سلسلة التعريف رقم: 4، و(ج2) المكون داخل الخلية intracellular component يشمل سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة البولي نيوكليوتيد في سلسلة التعريف رقم: 5.

21. بروتين الدمج The fusion protein وفقا للعنصر 20، حيث المكون داخل الخلية intracellular component أيضاً يشمل (أ) سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة جزيء الحمض النووي الذي لديه من 90% إلى 100% تطابق مع البولي نيوكليوتيد في سلسلة التعريف رقم: 13 أو (ب) سلسلة الحمض الأميني المشفرة بواسطة البولي نيوكليوتيد في سلسلة التعريف رقم: 13.

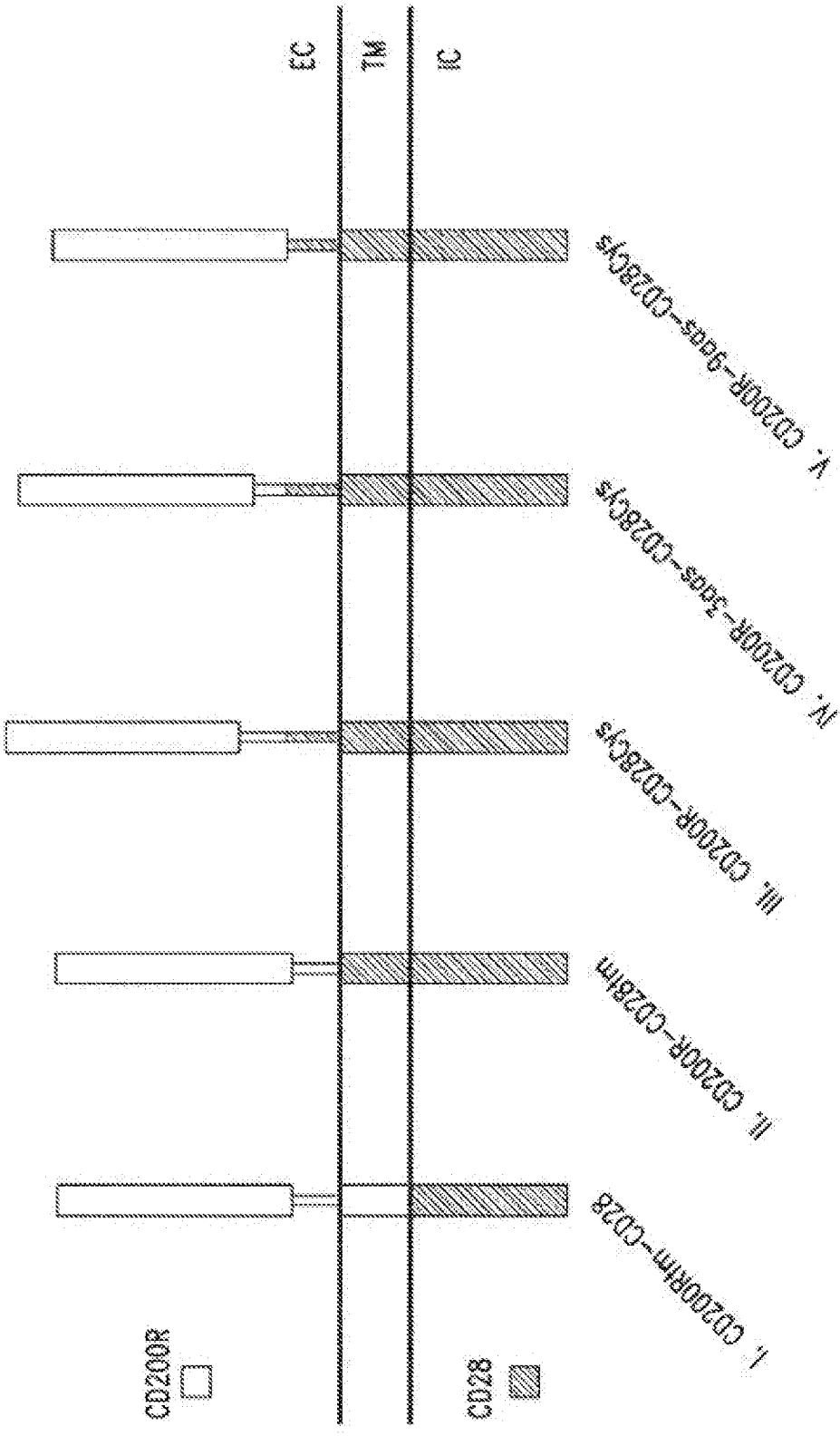
22. جزء حمض نووي nucleic acid molecule مشفر لبروتين دمج وفقاً للعنصر 1.

23. ناقل vector يشمل جزيء حمض نووي nucleic acid molecule وفقاً للعنصر 22.

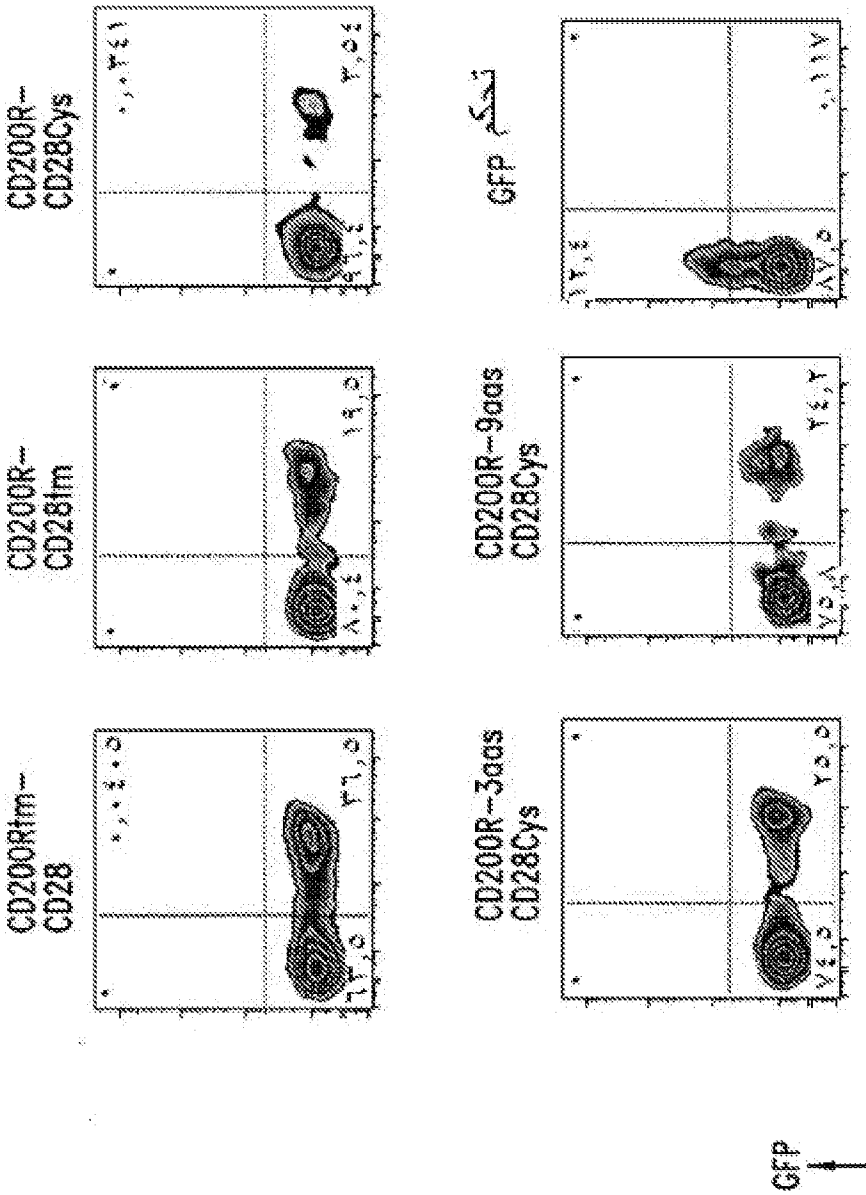
24. خلية مضيف host cell، تشمل بروتين دمج fusion protein وفقاً للعنصر 1.

5

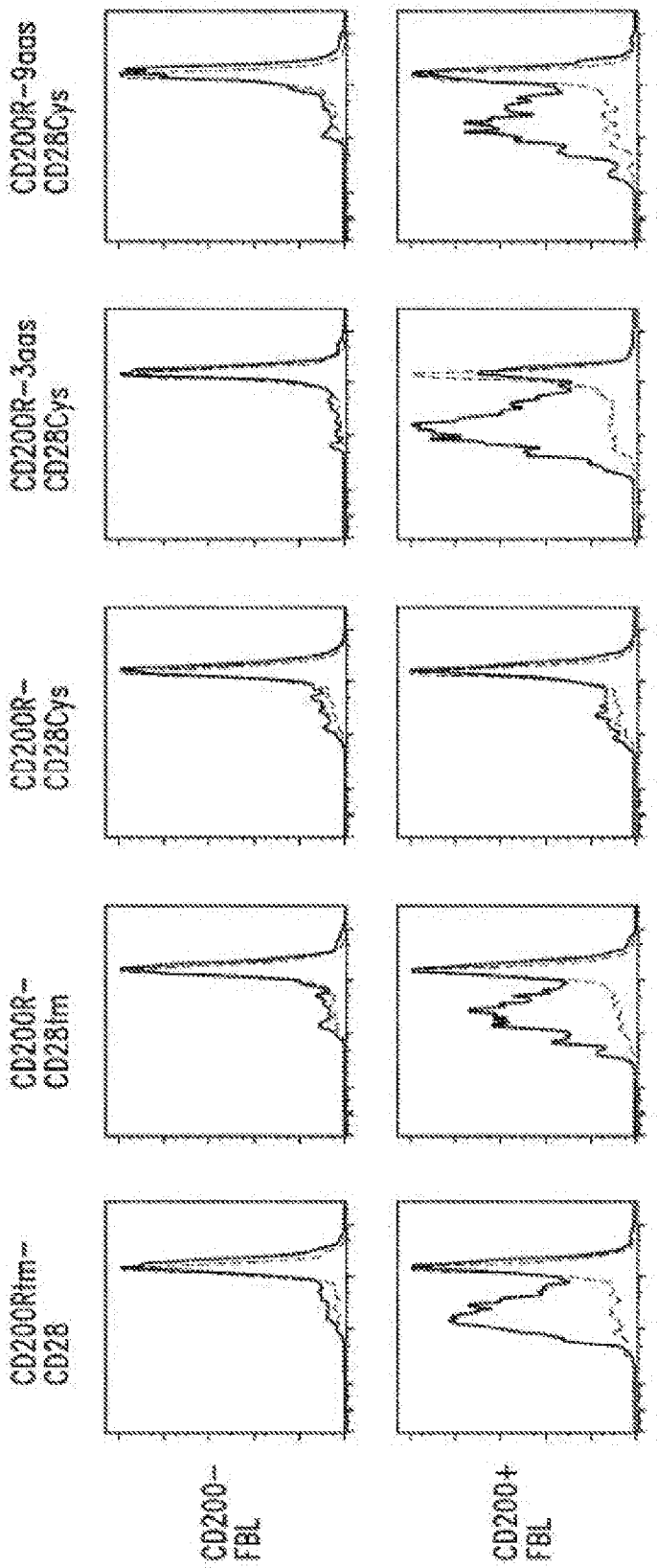
25. خلية المضيف host cell وفقاً للعنصر 24، للإستخدام في معالجة مرض في حالة subject، حيث أن المرض هو عدوى فيروسية viral infection، عدوى بكتيرية bacterial infection، سرطان cancer، مرض مهاجمة المناعة الذاتية autoimmune disease.


C1
M1
C3
CD28
CD200R
I. CD200Rhm-CD28
II. CD200R-CD28hm
III. CD200R-CD28cys
IV. CD200R-3aas-CD28cys
V. CD200R-9aas-CD28cys

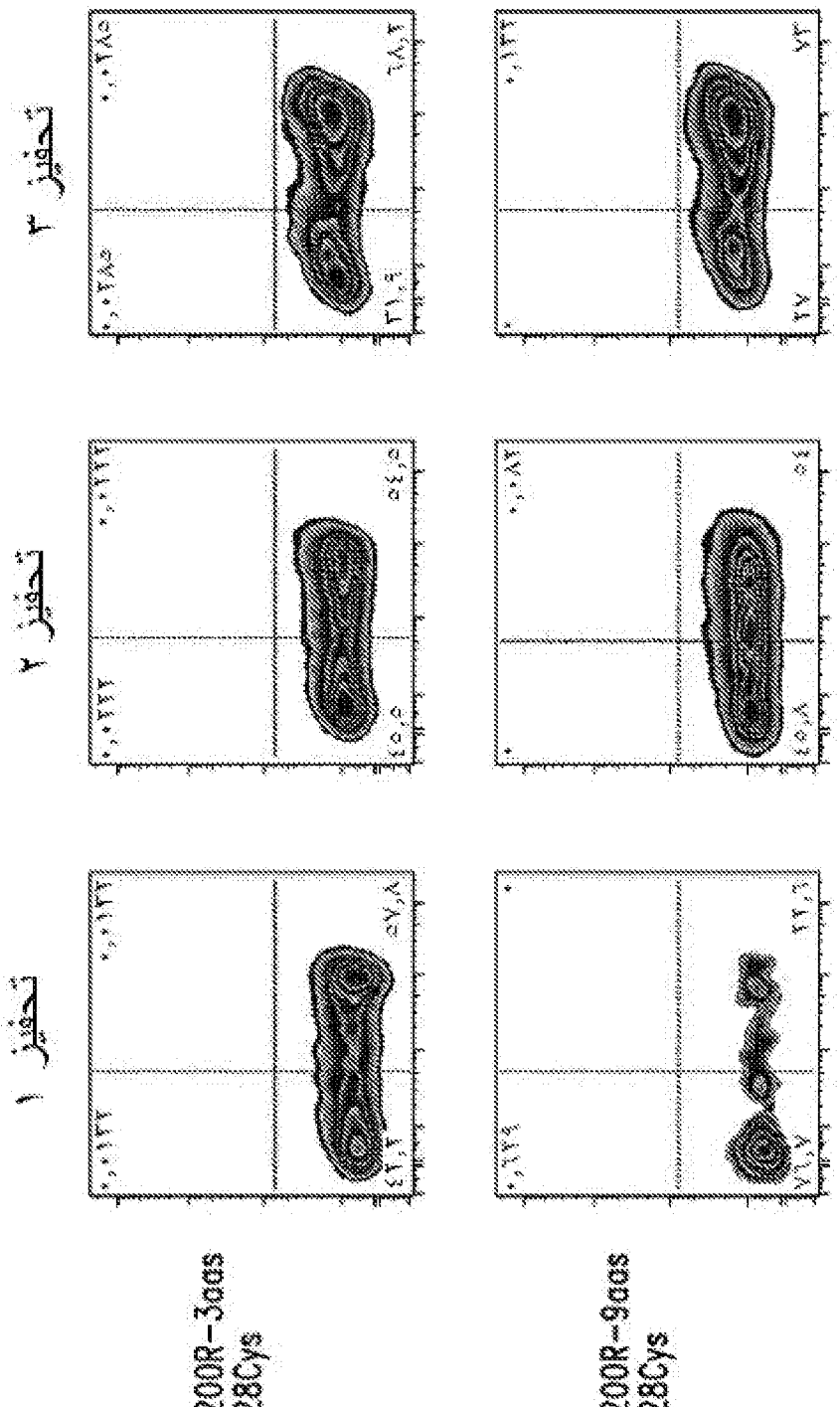
الشكل 1أ


CD200Rtm-CD28
CD200R-CD28tm
CD200R-CD28Cys
CD200R-3aas CD28Cys
CD200R-9aas CD28Cys
GFP تحكم
GFP
CD200R

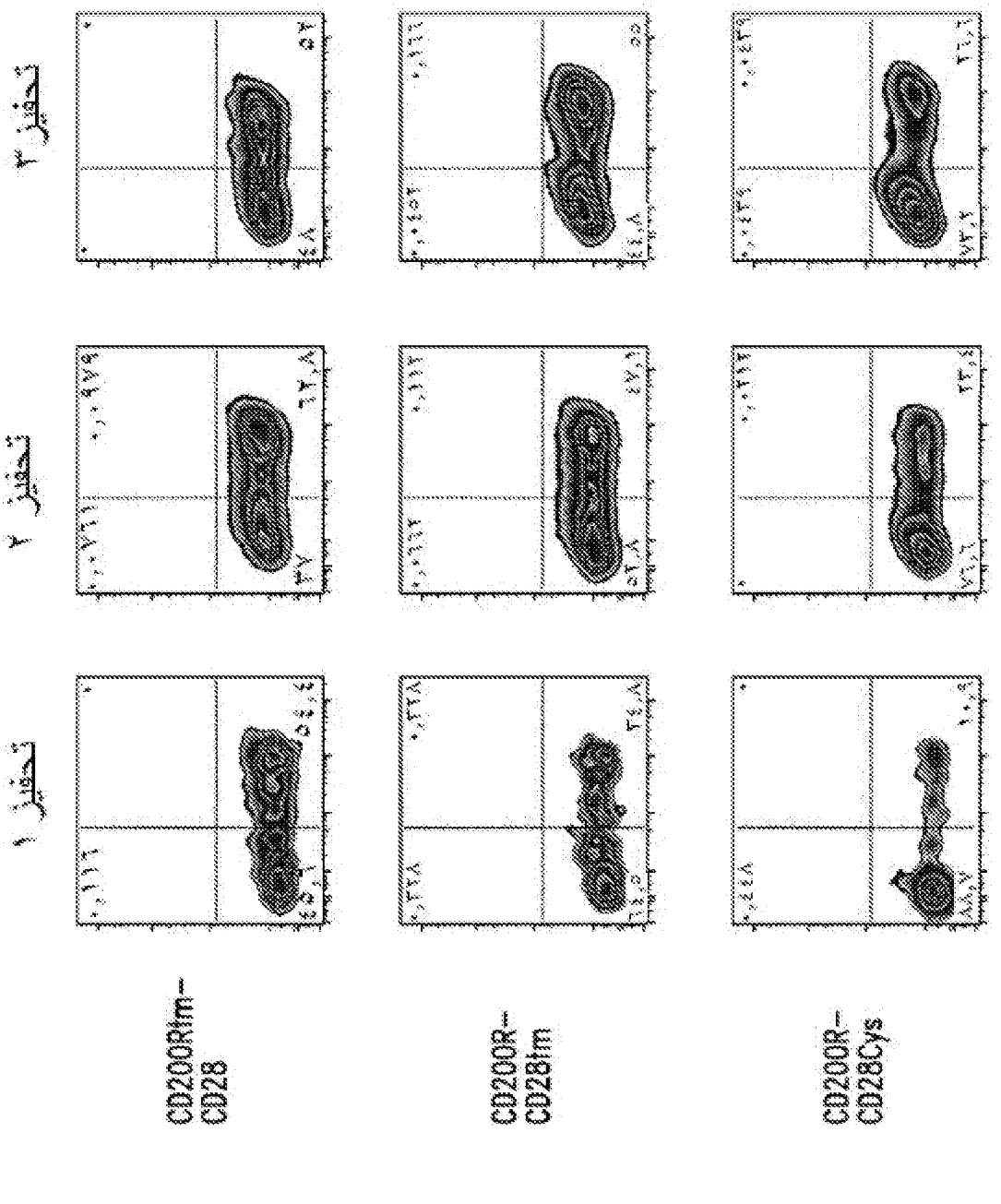
الشكل ١ب


CD200Rtm-CD28
CD200R-CD28tm
CD200R-CD28Cys
CD200R-3aas CD28Cys
CD200R-9aas CD28Cys
CD200- FBL
CD200+ FBL
CTV
GFP
متحول CD200R-CD28
تحكم

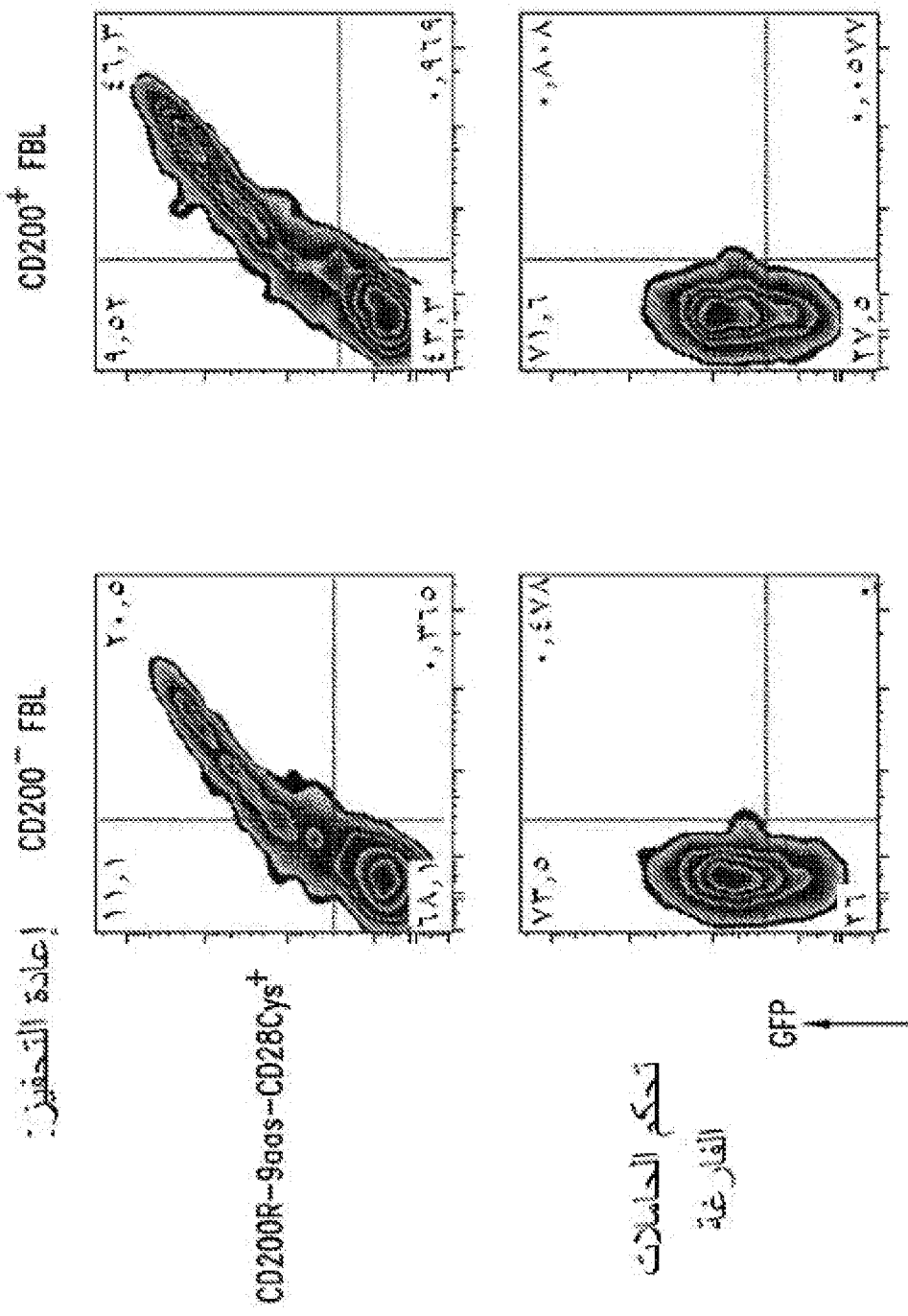
الشكل ١٢



الشكل ٢ب (استكمال)


تحفيز ١
تحفيز ٢
تحفيز ٣
CD200Rtm-CD28
CD200R-CD28tm
CD200R-CD28Cys
CD200R

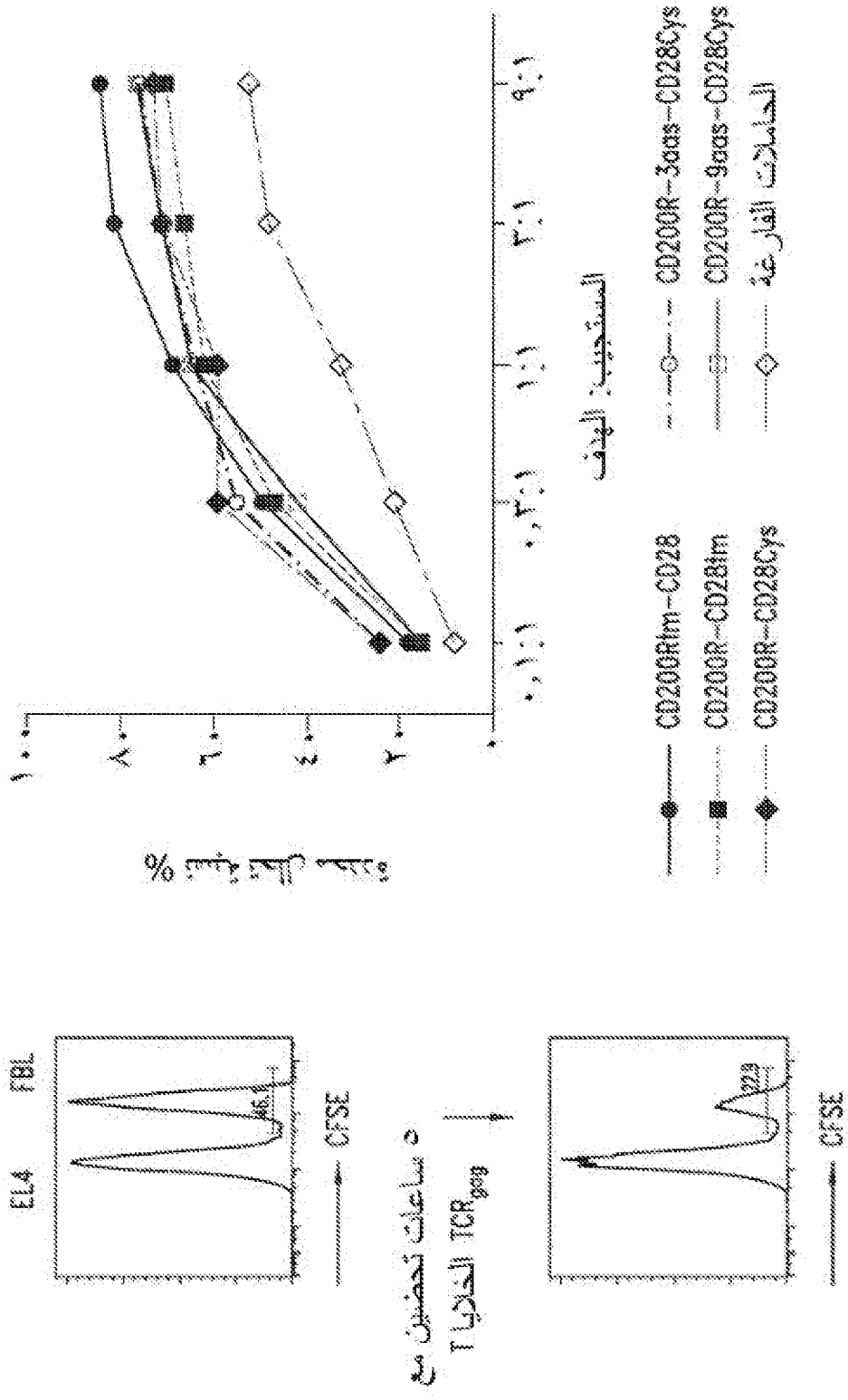
الشكل ٢ب


إعادة التحفيز:
CD200⁻ FBL
CD200⁺ FBL
CD200R-9aas-CD28Cys⁺
٢٠,٥
١١,١
٦٨,١
٠,٣٦٥
٤٦,٣
٩,٥٢
٤٣,٣
٠,٩٦٩
٠,٤٧٨
٧٣,٥
٢٦
٠,٨٠٨
٧١,٦
٢٧,٥
٠,٠٥٧٧
تحكم الحلزك
الفارغة
GFP
CD200R

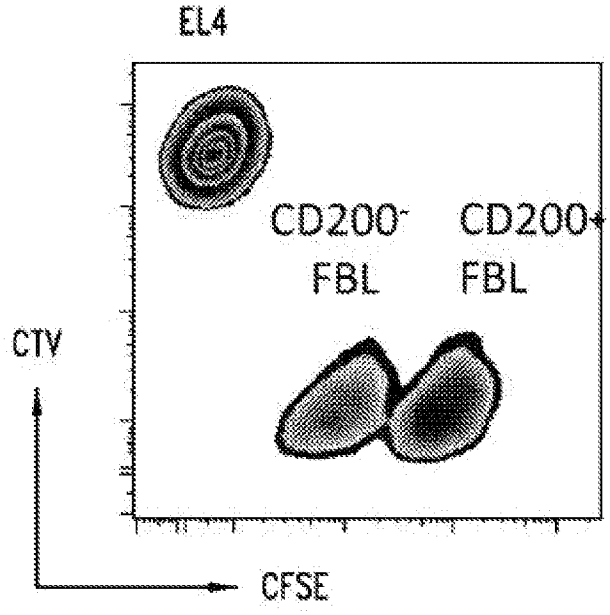
الشكل ٢ج

مجال مشع
مواد دهنية طافية (CTxB)
CD200 (FBL)
CD200R (CD200R-9aas-CD28Cys خلايا T)
غلاف
I
II
III
IV
مواد دهنية طافية المخصبة في الشابك العصبي
10X, DeltaVision

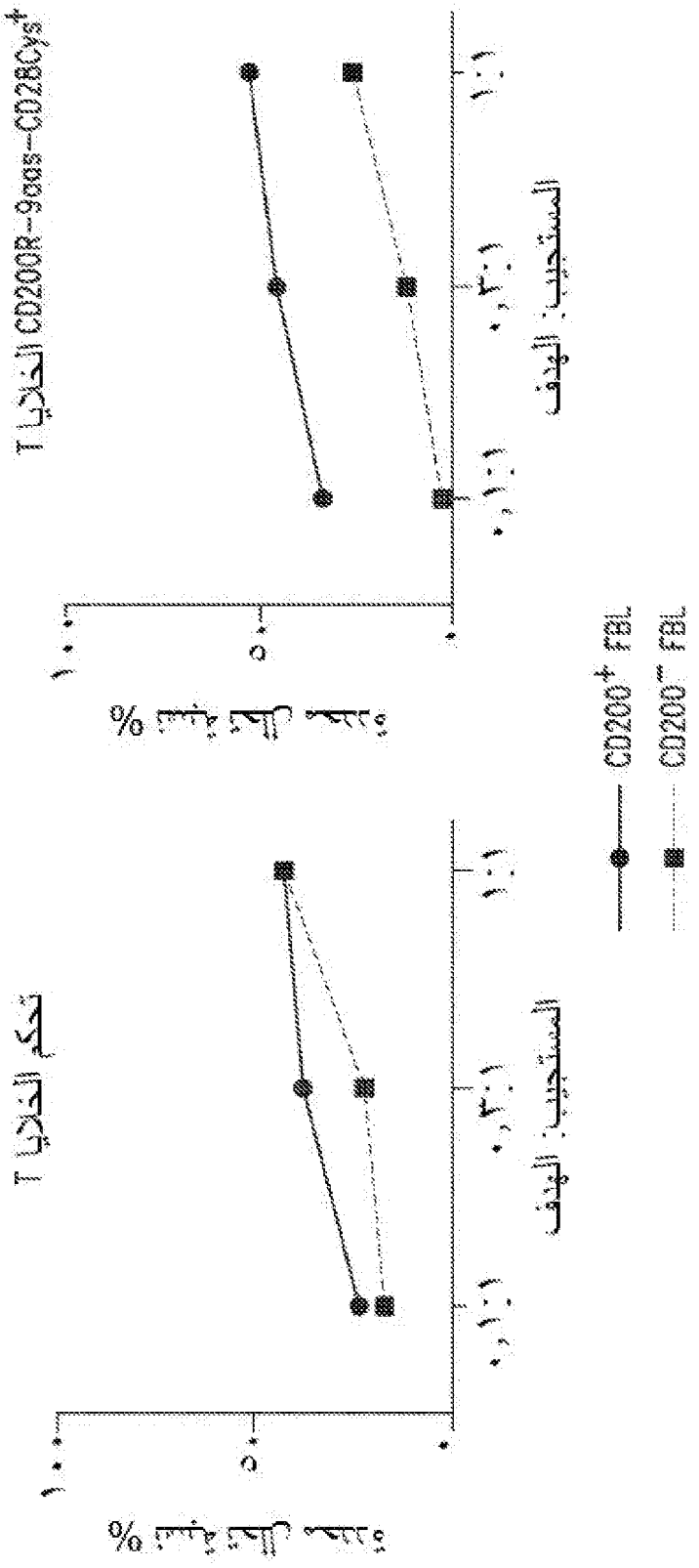
الشكل ٢د


EL4
FBL
CFSE
٥ ساعات تحضين مع
T الخلايا TCR$_{geo}$
CFSE
% خلايا T المتكاثرة
١٠٠
٨٠
٦٠
٤٠
٢٠
٠
٠,١:١
٠,٣:١
١:١
٣:١
٩:١
المستجيب: الهدف
CD200Rtm-CD28
CD200R-CD28tm
CD200R-CD28Cys
CD200R-3aas-CD28Cys
CD200R-9aas-CD28Cys
الحاملات الفارغة

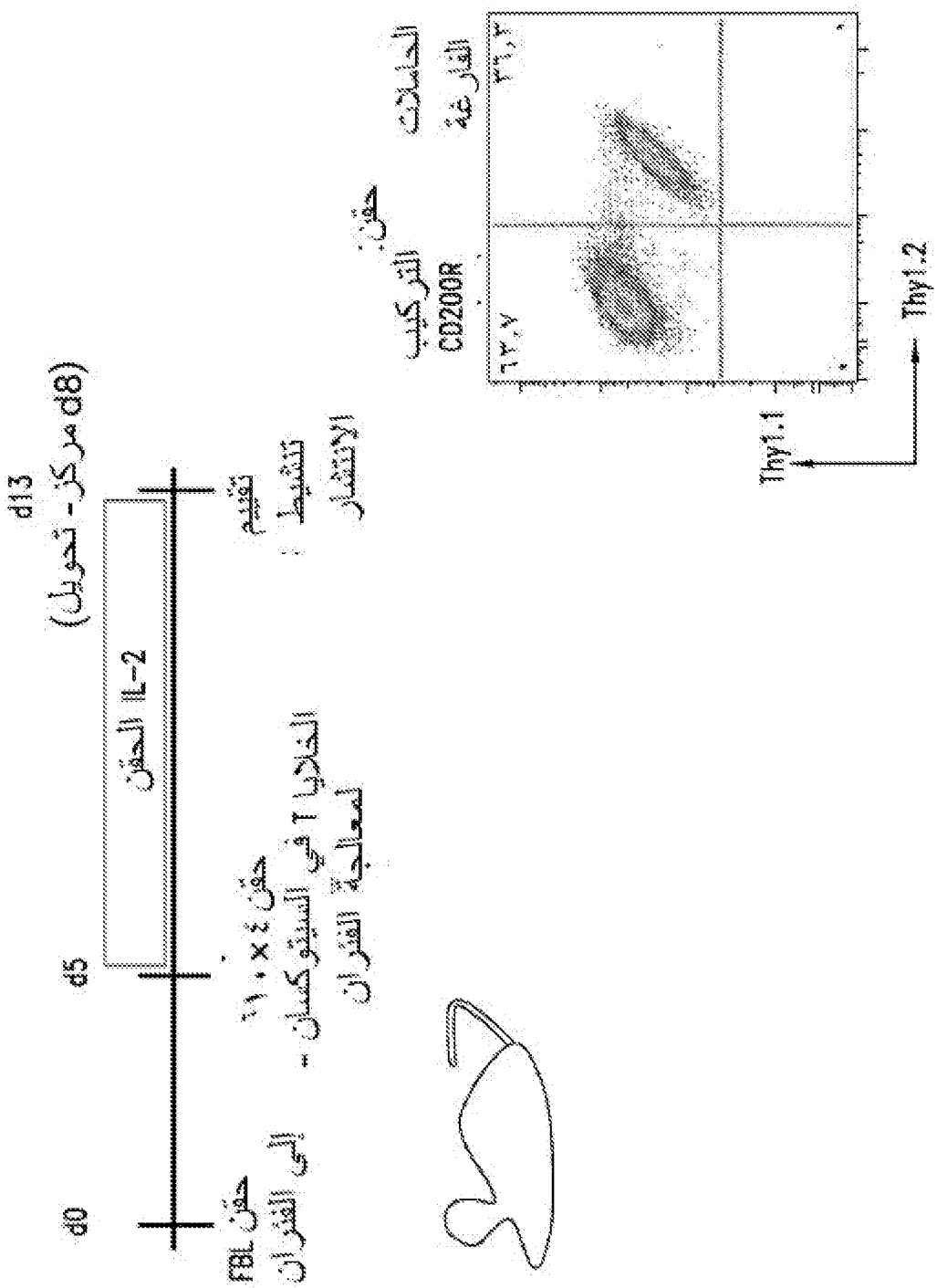
الشكل ٢هـ



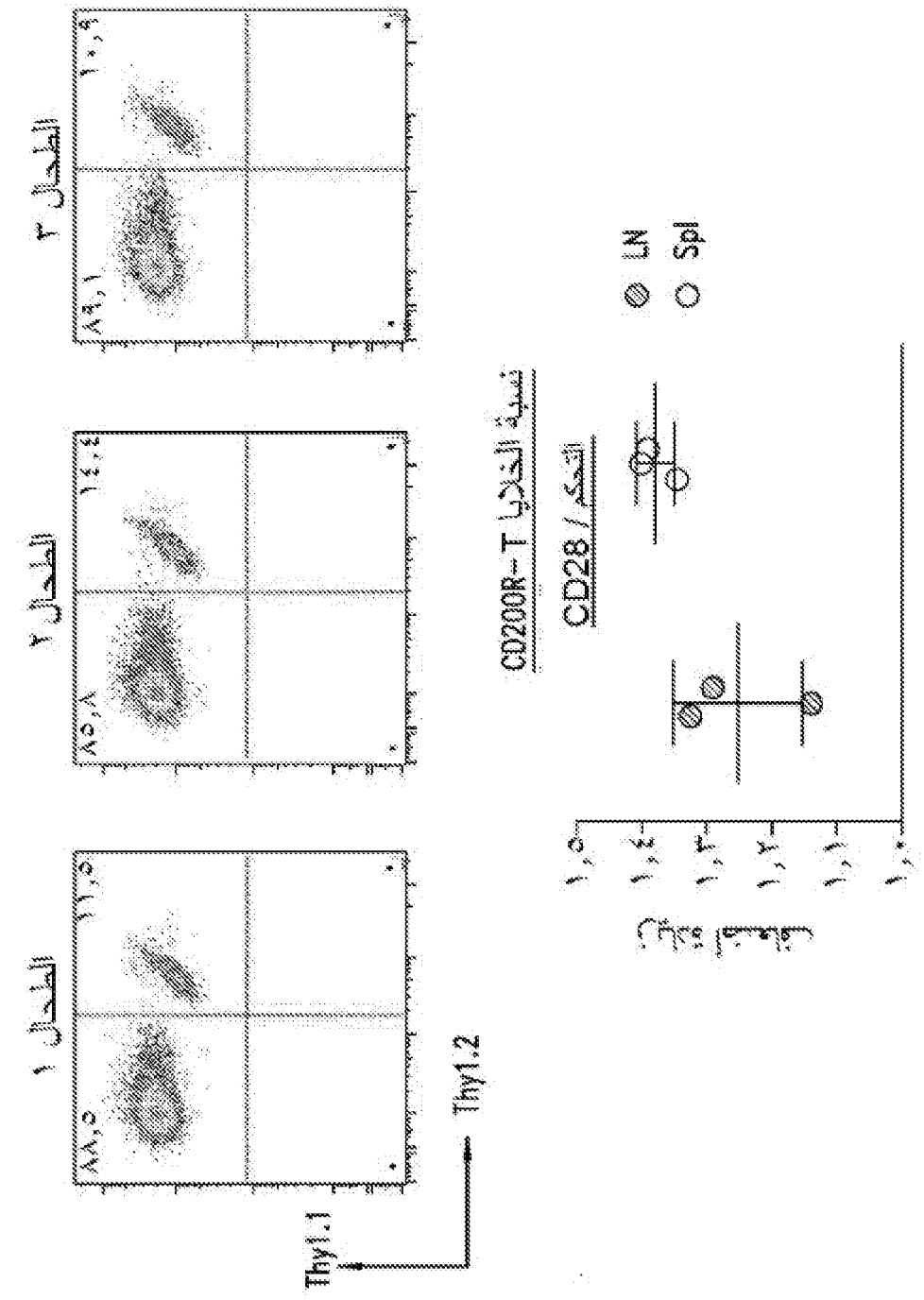
الشكل ٢و


T تحكم الخلايا
T الخلايا CD200R-9aas-CD28Cys+
% تحلل الخلايا الهدف
١٠٠
٥٠
٠
١:١
٣:١
١٠:١
المستجيب: الهدف
CD200+ FBL
CD200− FBL

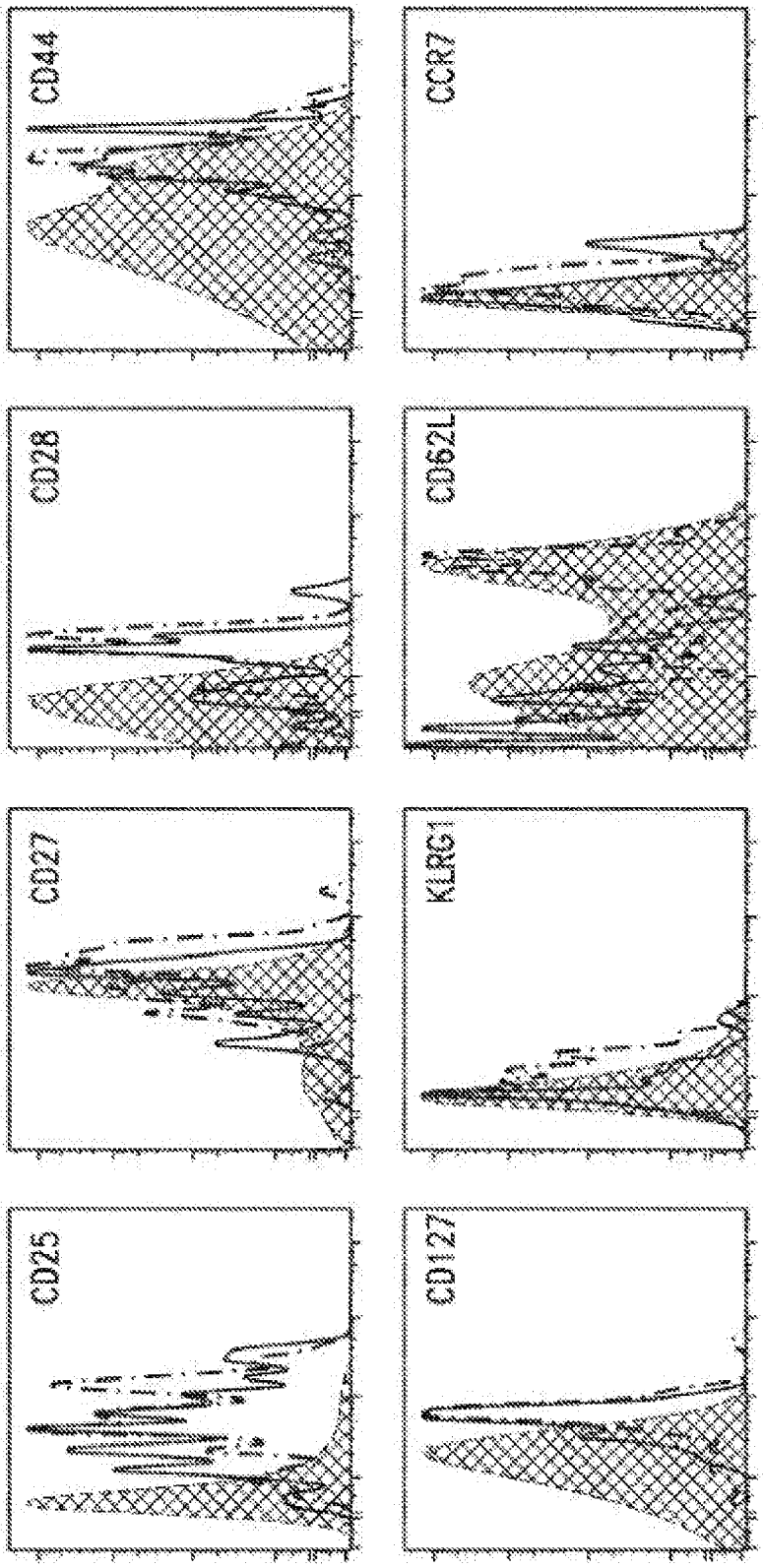
الشكل ٢ز


d0
d5
d13
(مركز - تحويل d8)
حقن FBL
B6 إلى الفئران
الحقن IL-2
حقن ٤ x ١٠^٦
الخلايا T في السيتوكسان -
لمعالجة الفئران
تقييم
تنشيط
الانتشار
حقن
التركيب
CD200R
الخلايا
الفارغة
٦٣,٧
٣٦,٣
Thy1.1
Thy1.2

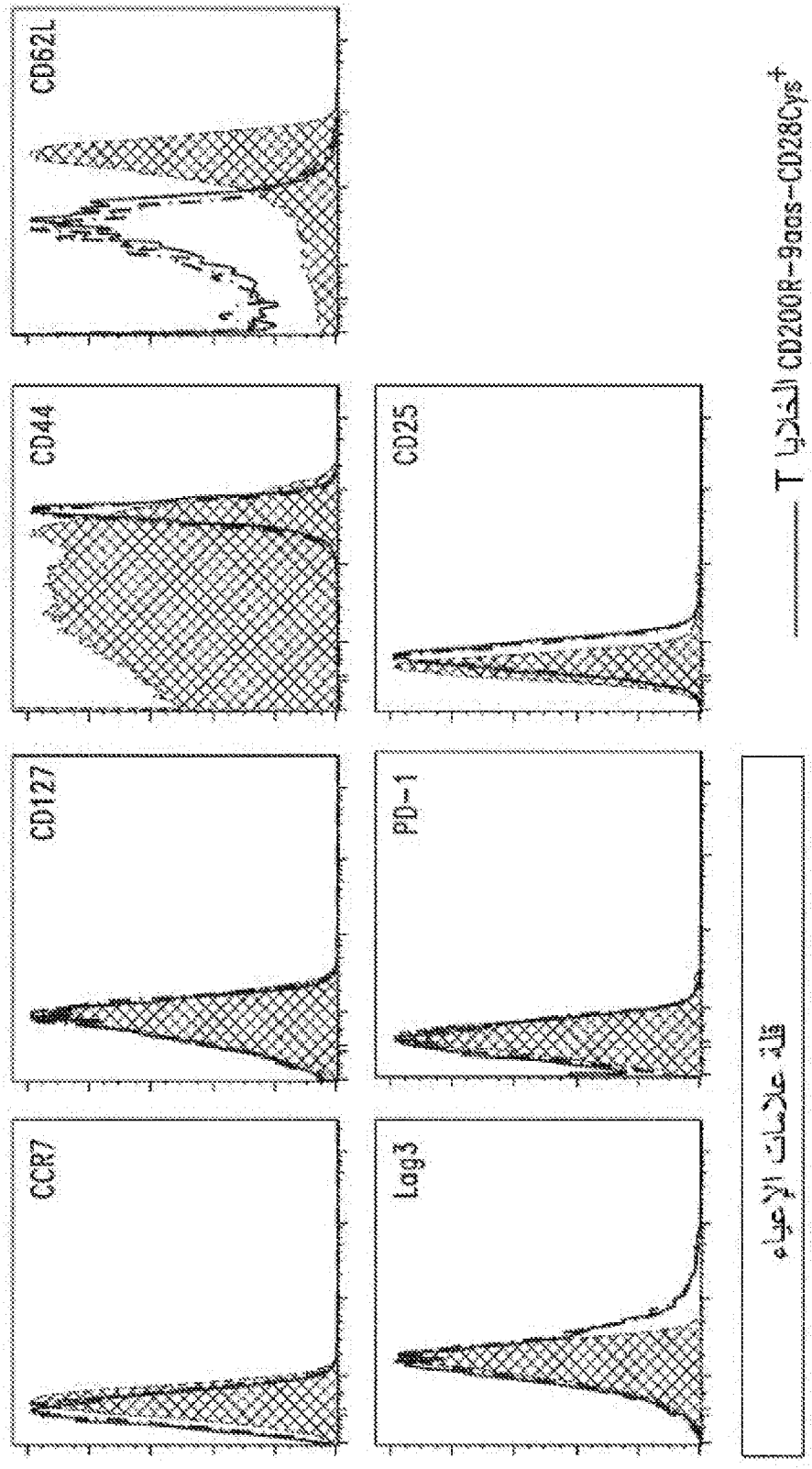
الشكل ٣أ


المحار ١
المحار ٢
المحار ٣
Thy1.1
Thy1.2
CD200R- T نسبة الخلايا
CD28 / الكم
LN
Spl

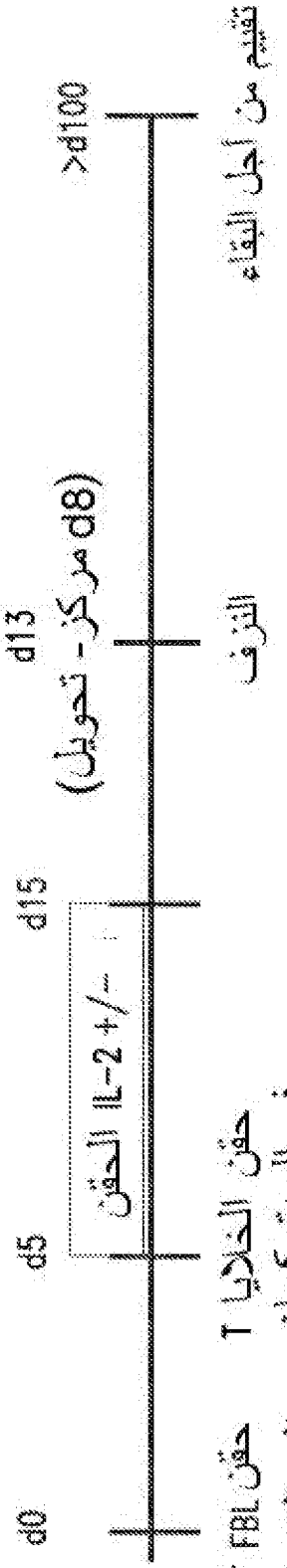
الشكل ٣ب


CD25
CD27
CD28
CD44
CD127
KLRG1
CD62L
CCR7
الخلايا T الخلايا CD200R-9aas-CD28Cys+
الخلايا T الخلايا الفارغة
الخلايا T ناتجة النمو

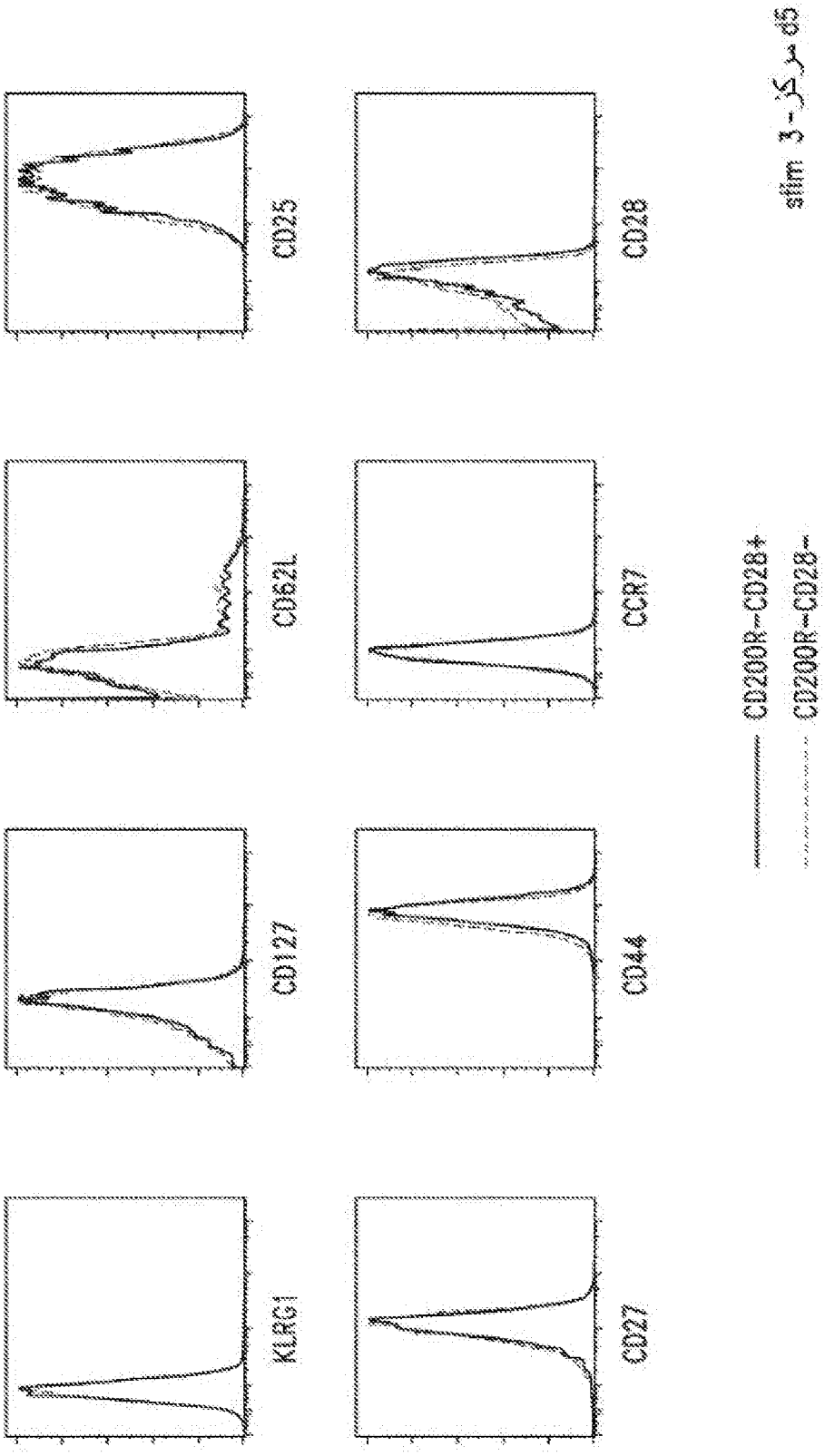
الشكل ٣ج


CD62L
CD44
CD127
CCR7
CD25
PD-1
Lag3
قلة علامات الإعياء
الخلايا T CD200R-9aas-CD28Cys+
الحاملات الفارغة الخلايا T
الخلايا T ذاتية النمو

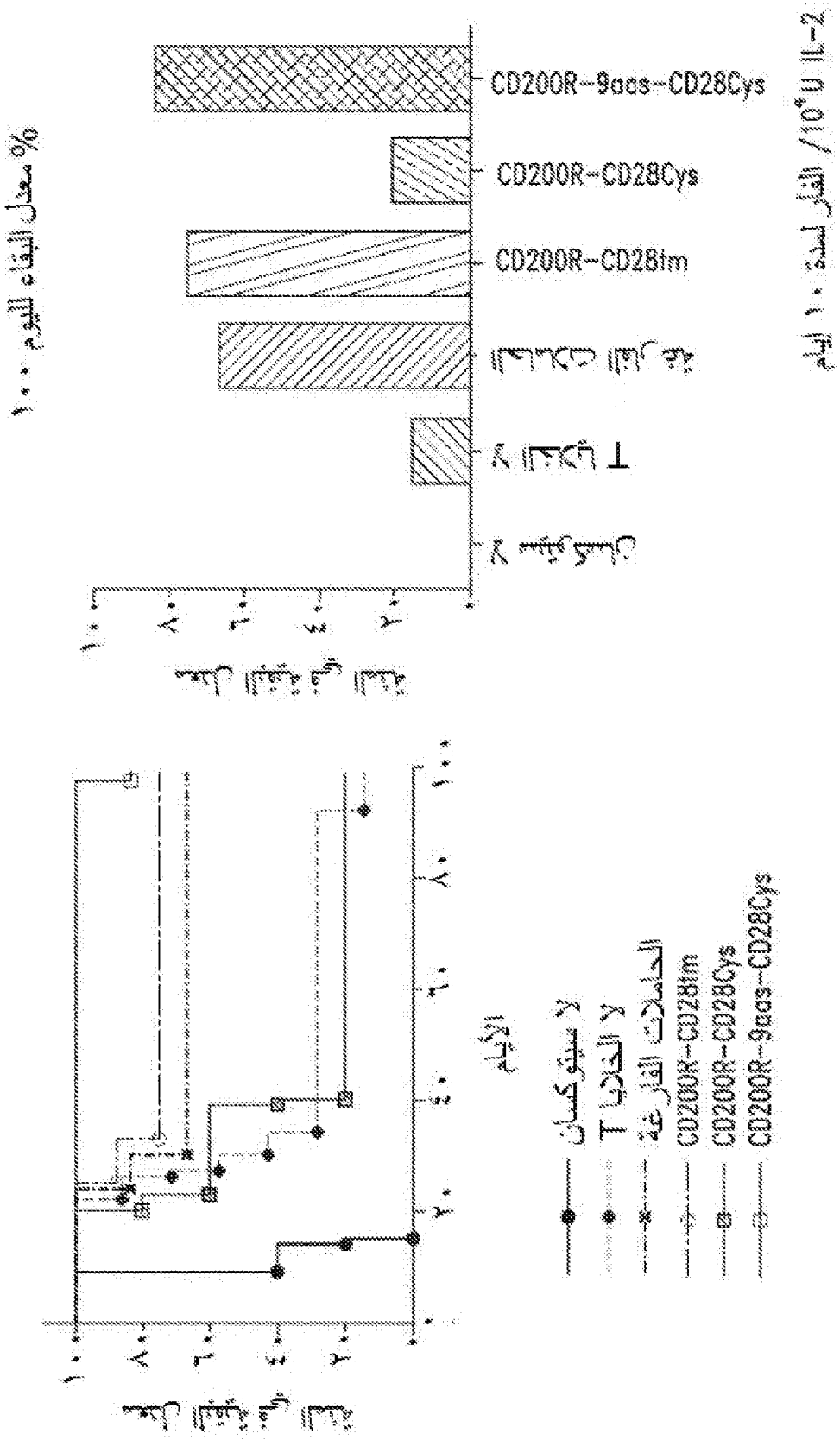
الشكل ٣د


d0
d5
d15
d13
(مركز - تحويل d8)
>d100
تقييم من أجل البقاء
النزف
حقن الخلايا T
في السيتوكسان -
لمعالجة الفئران
CD20+ FBL حقن
B6 إلى الفئران
الحقن IL-2 +/-

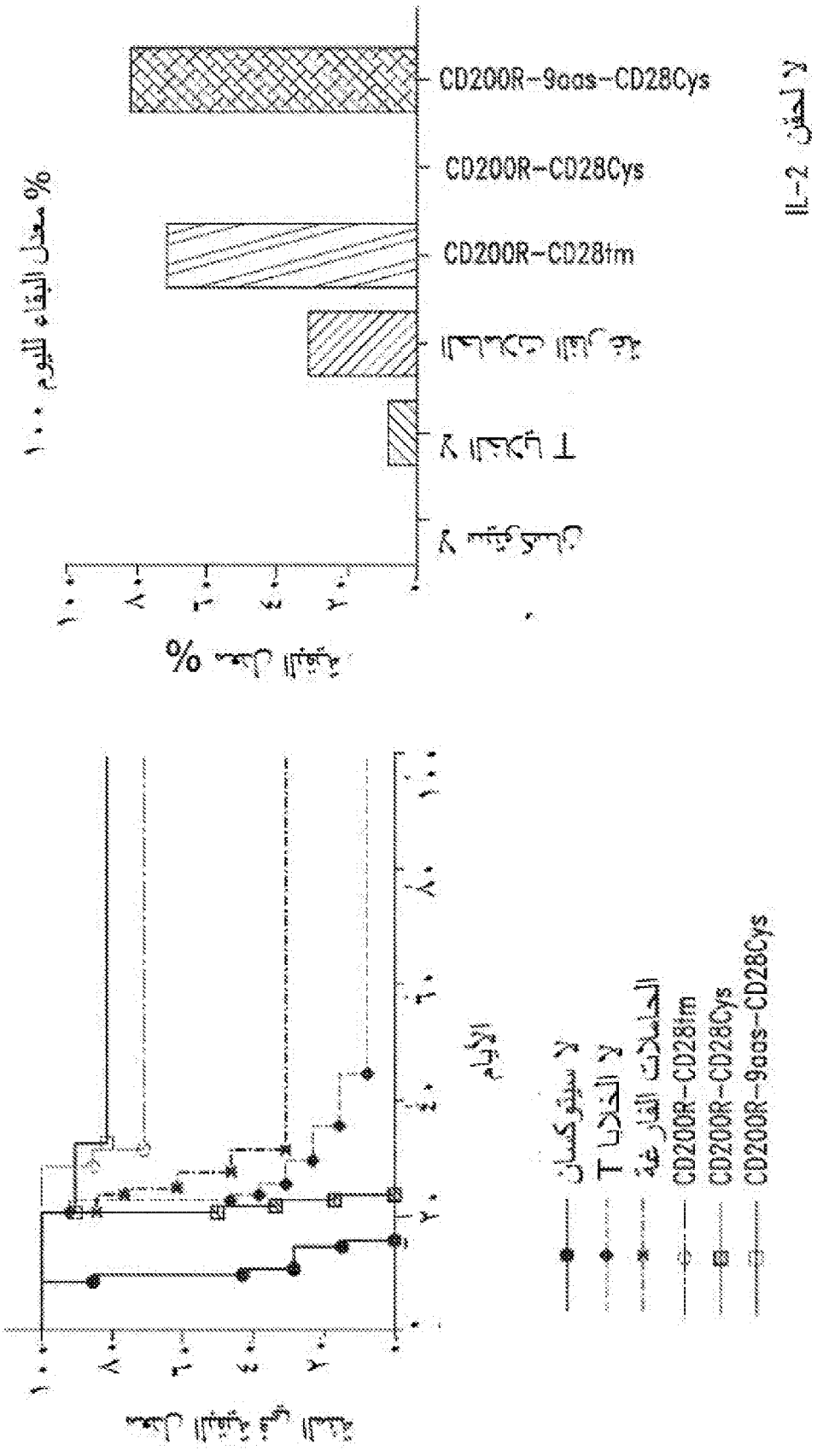
الشكل ١٤أ


CD25
CD62L
CD127
KLRG1
CD28
CCR7
CD44
CD27
CD200R-CD28+
CD200R-CD28-
sfilm 3 - مركز d5

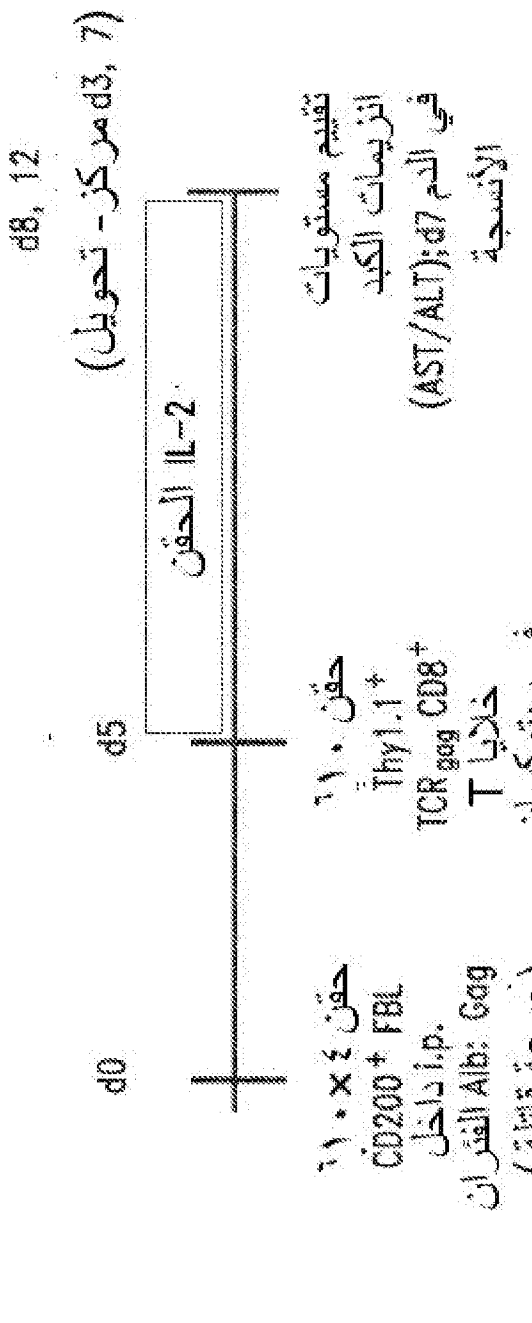
الشكل 4ب


% معدل البقاء لليوم ١٠٠
CD200R-9aas-CD28Cys
CD200R-CD28Cys
CD200R-CD28tm
الخلايا الفارغة
T الخلايا
الأيام
الخلايا الفارغة
CD200R-CD28tm
CD200R-CD28Cys
CD200R-9aas-CD28Cys
عدد الخلايا في الملي
عدد الخلايا في الملي
/10⁴ U IL-2 الفئران لمدة ١٠ أيام

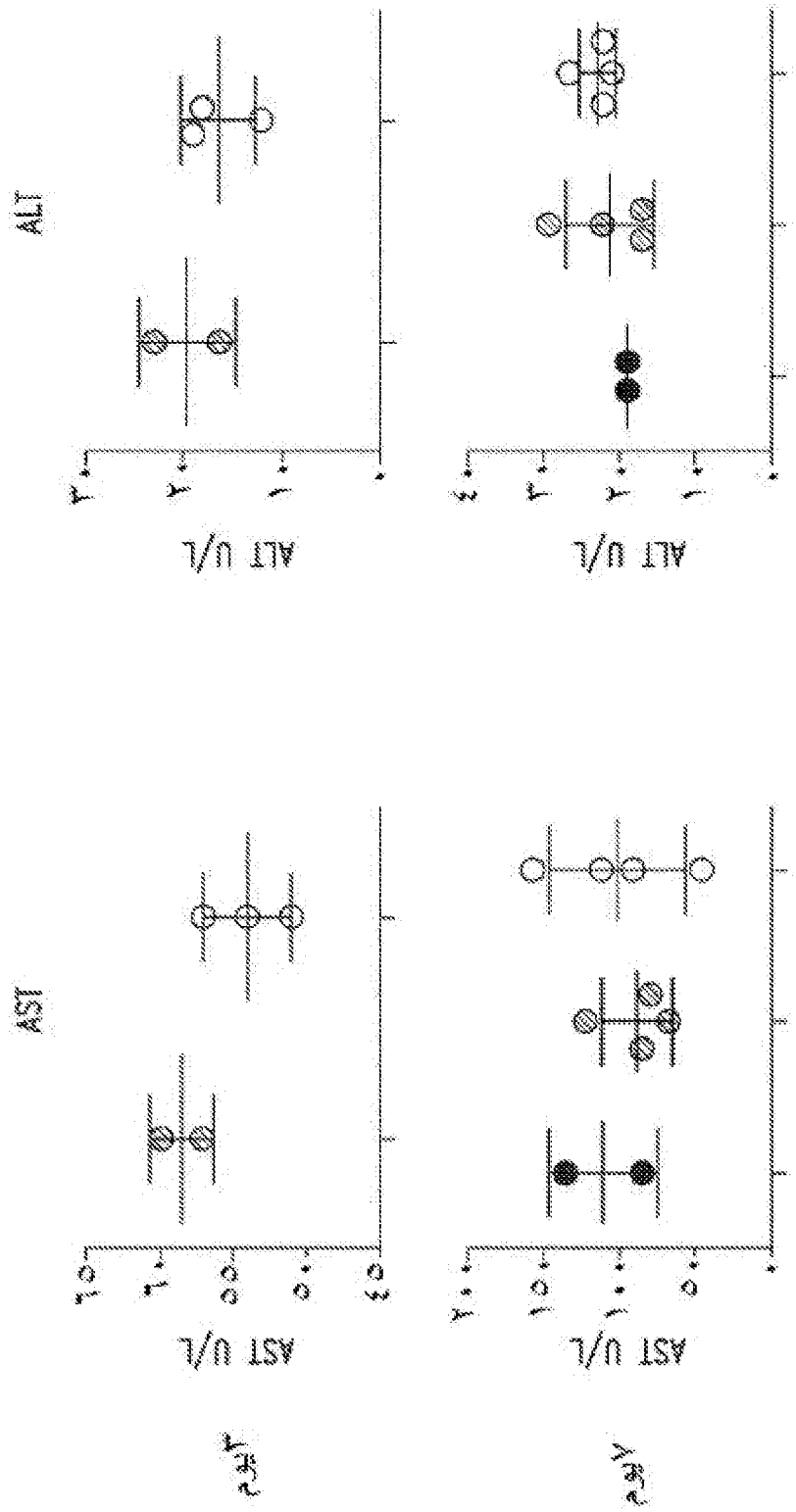
الشكل ٤ج


CD200R-9aas-CD28Cys
CD200R-CD28Cys
CD200R-CD28tm
% معدل البقاء لليوم ١٠٠
IL-2 لا لحقن
% معدل البقاء في الدم
الأيام
لا سيتوكسان
لا الخلايا T
الحلمات الفارغة
CD200R-CD28tm
CD200R-CD28Cys
CD200R-9aas-CD28Cys

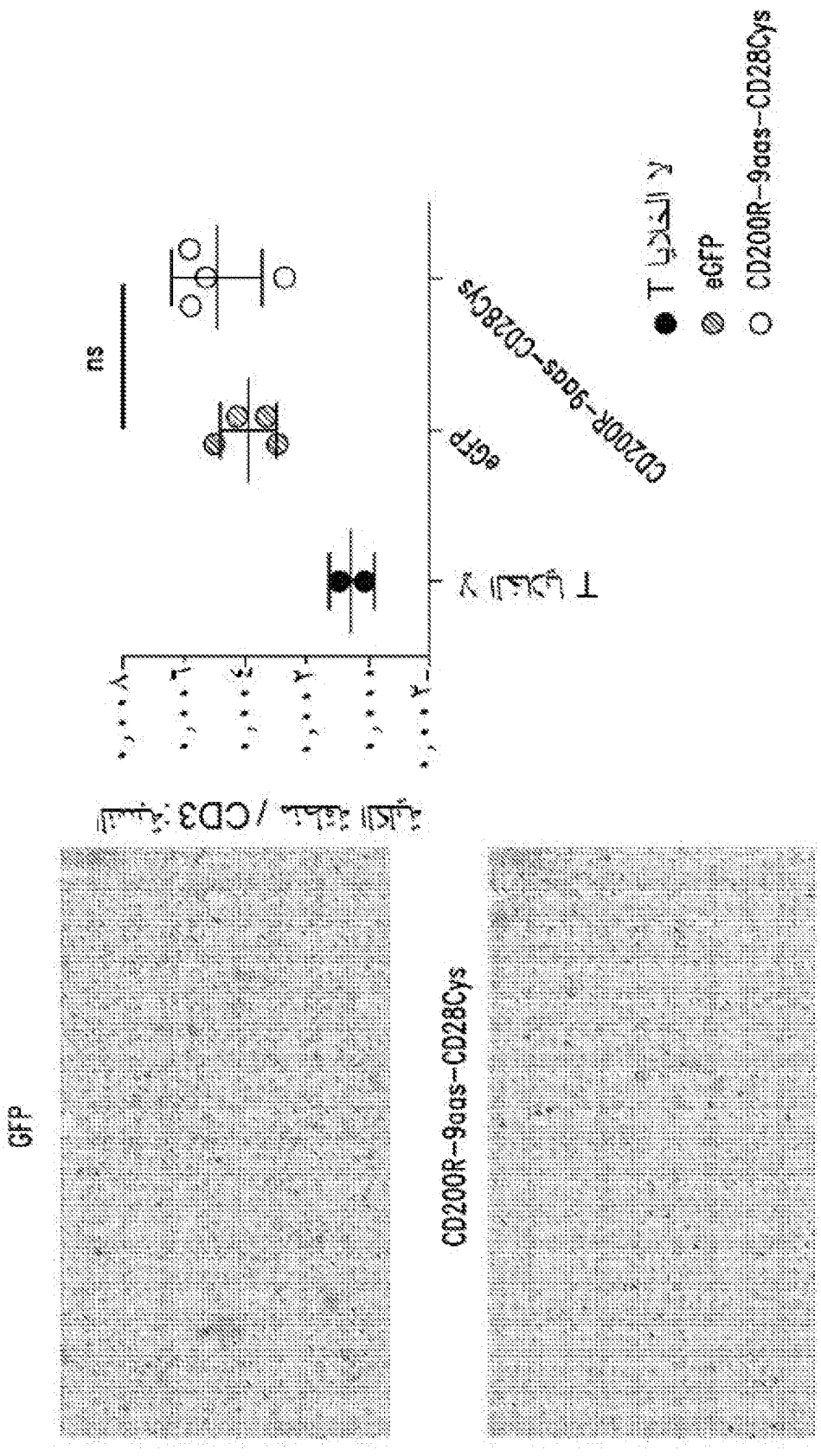
الشكل ٤د


d0
d5
d8, 12
(تحويل - مركز d3, 7)
الحقن IL-2
حقن 2×10^6 CD20D+ FBL داخل الغران Alb: Gag (جرعة قاتلة)
حقن 10^6 Thy1.1+ TCR_{gag} $CD8^+$ خلايا T في سيتوكسان- جرعة قاتلة
تقييم مستويات انزيمات الكبد (AST/ALT);d7 في الدم الأنسجة

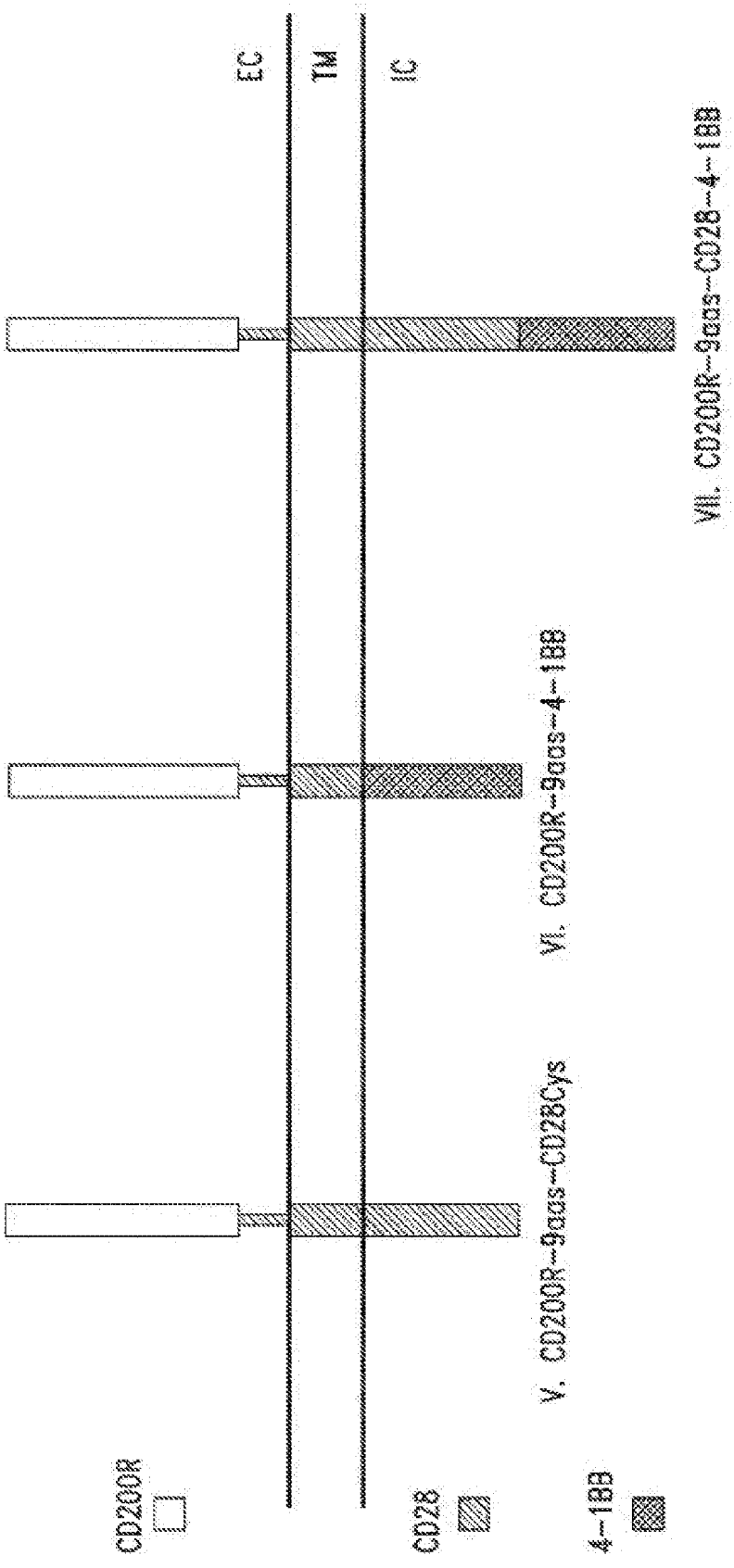
الشكل ١أ


AST
ALT
AST U/L
ALT U/L
يوم ٢
يوم ٧
لا الخلايا T
الخلايا T التحكم في GFP
الخلايا T CD200R-9aas-CD28Cys+

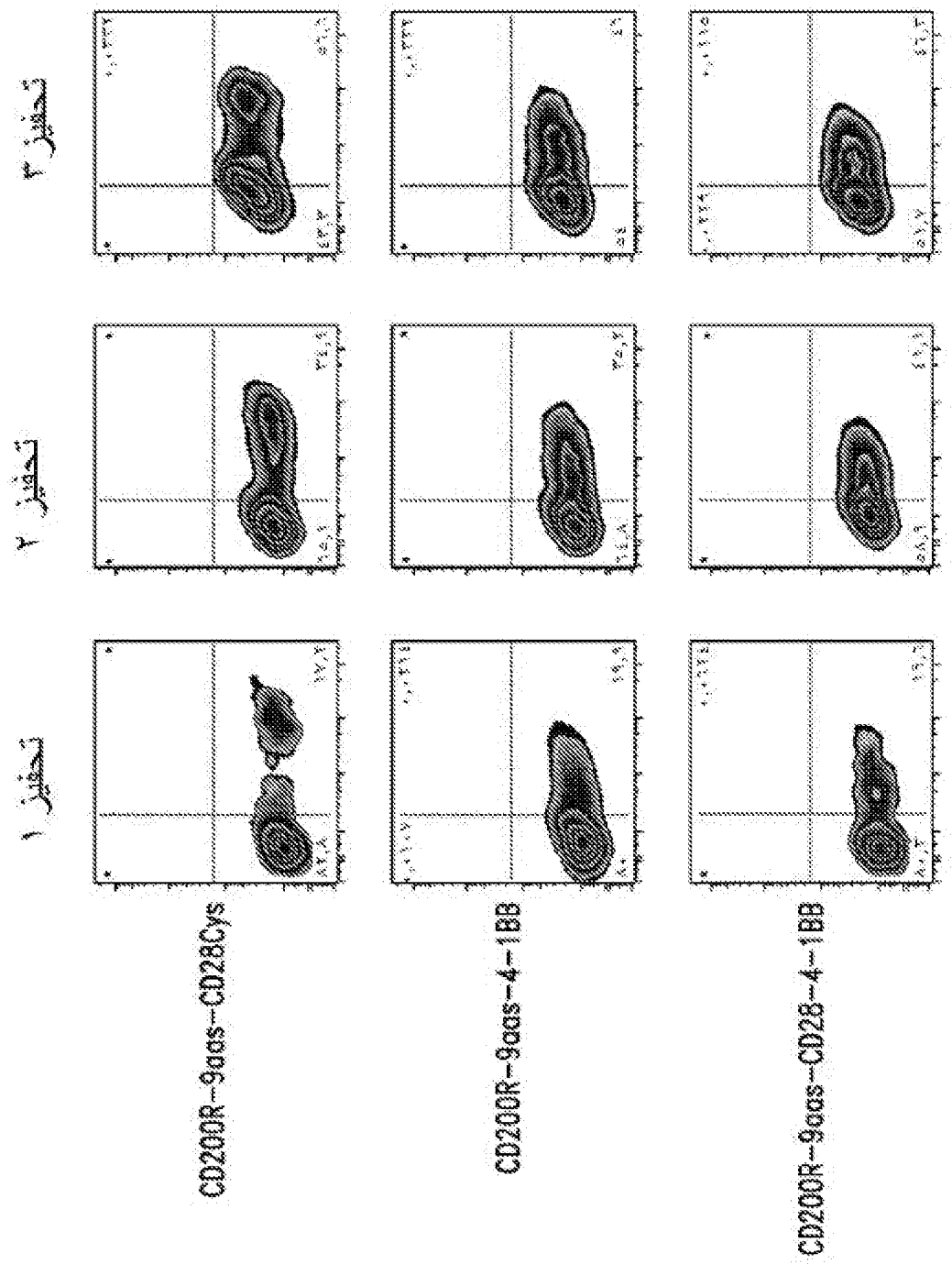
الشكل ٣ب


GFP
CD200R-9aas-CD28Cys
٧,٠٠
٥,٠٠
٤,٠٠
٣,٠٠
٢,٠٠
١,٠٠
٠,٠٠
-١,٠٠
ns
T الخلايا
eGFP
CD200R-9aas-CD28Cys
T الخلايا
eGFP
CD200R-9aas-CD28Cys

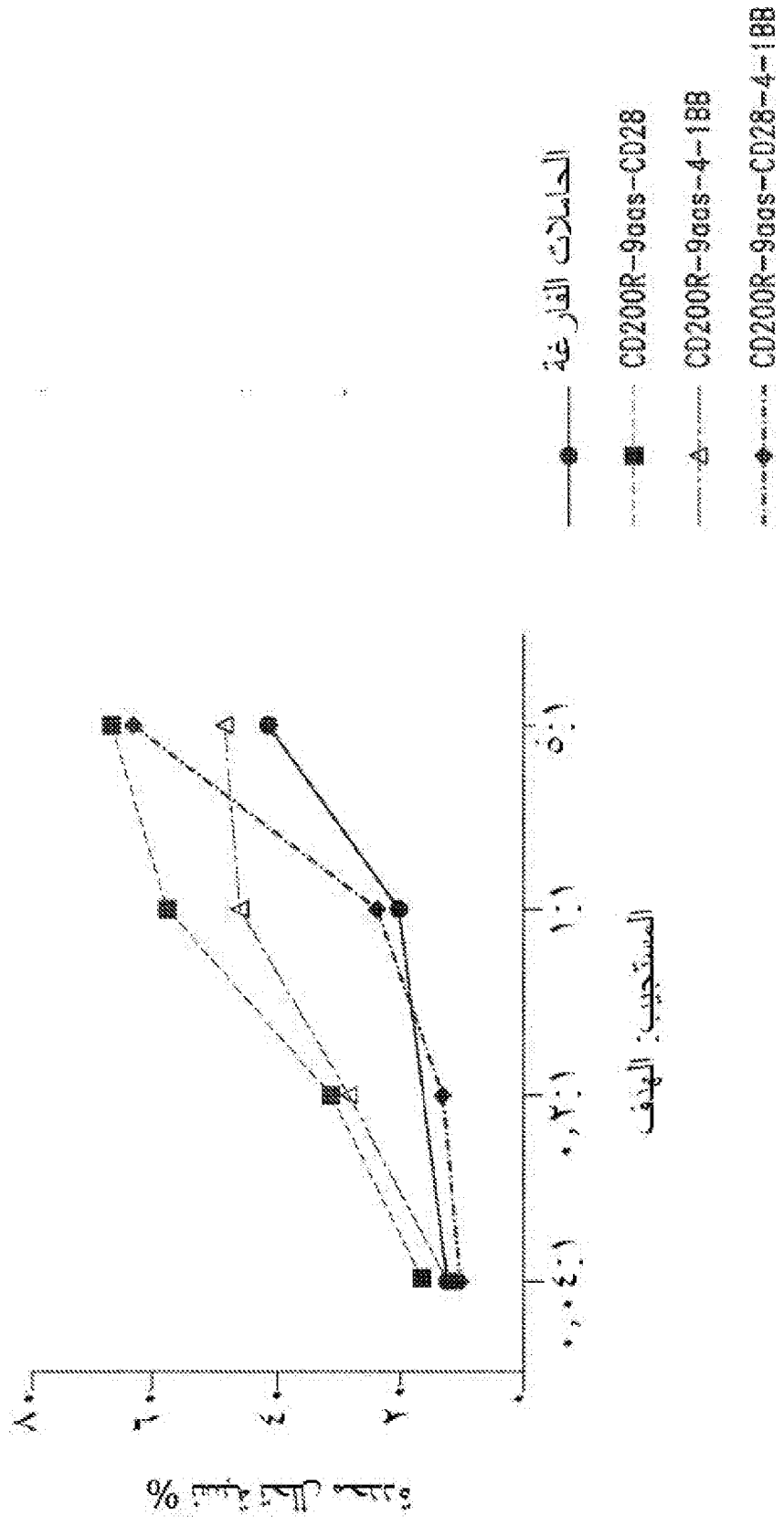
الشكل ٥ج


EC
TM
IC
CD200R
CD28
4-1BB
V. CD200R-9aas-CD28Cys
VI. CD200R-9aas-4-1BB
VII. CD200R-9aas-CD28-4-1BB

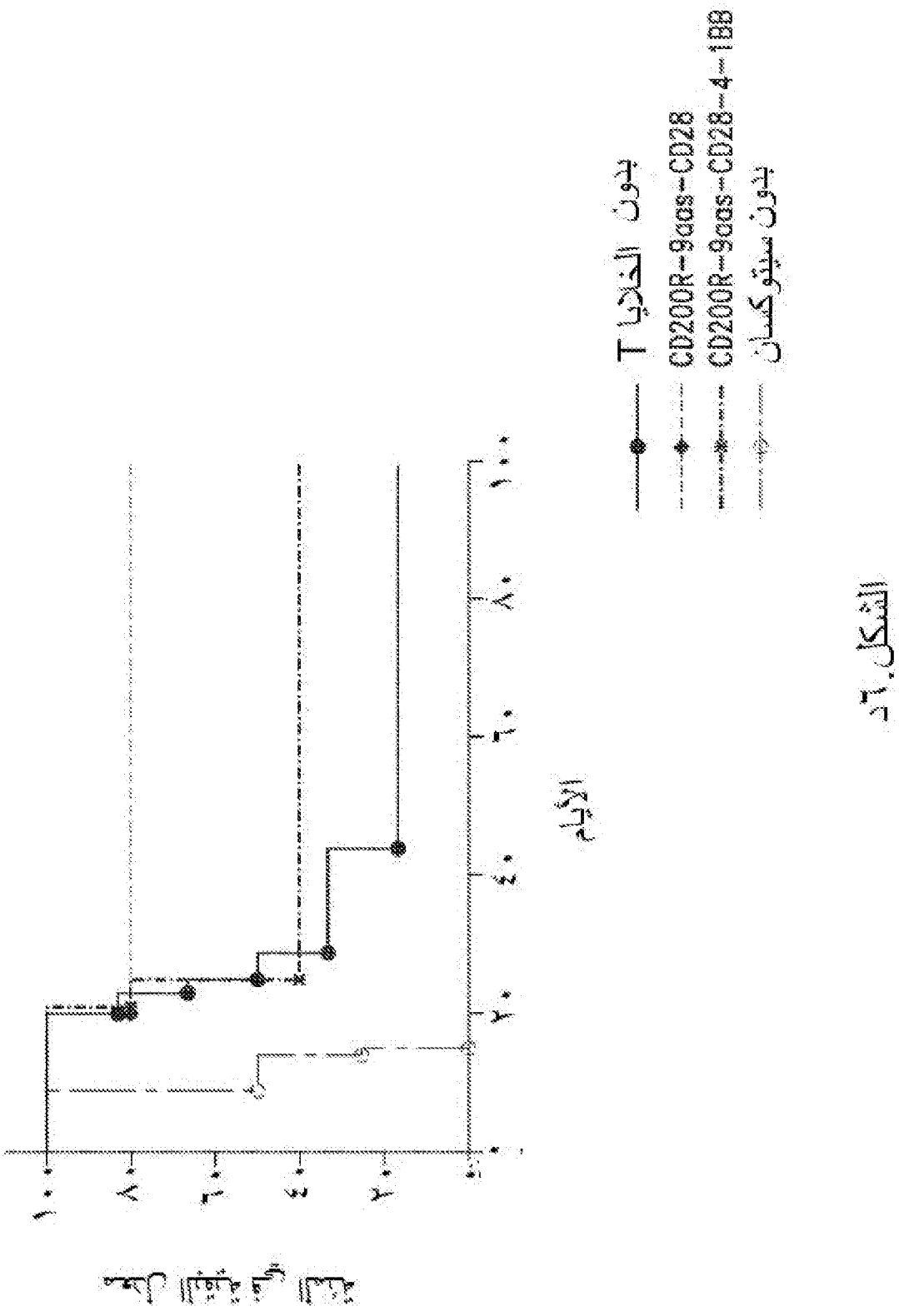
الشكل ٦


تحفيز ١
تحفيز ٢
تحفيز ٣
CD200R-9aas-CD28Cys
CD200R-9aas-4-1BB
CD200R-9aas-CD28-4-1BB
CD200R

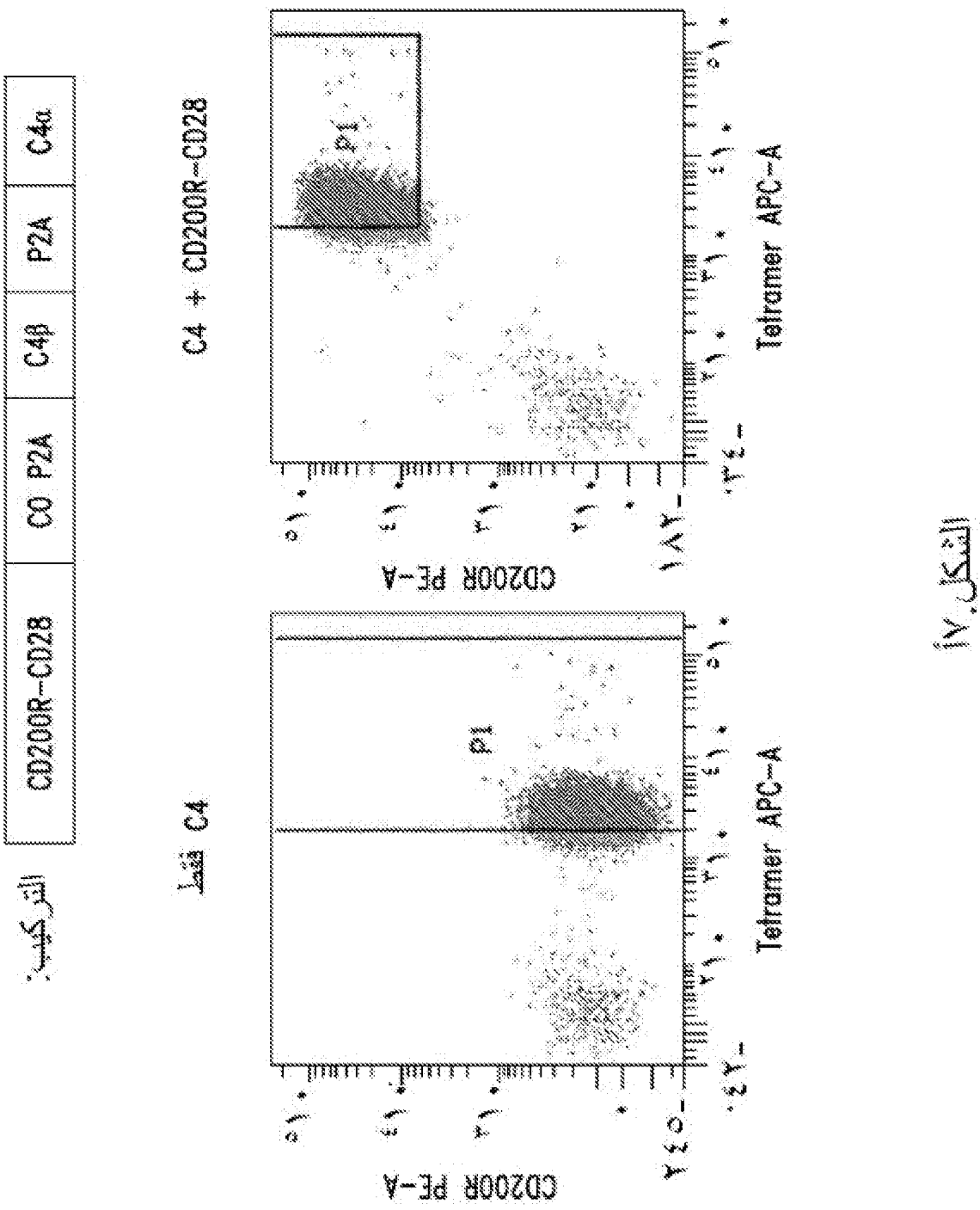
الشكل ٦ب


الخلايا الفارغة
CD200R-9aas-CD28
CD200R-9aas-4-1BB
CD200R-9aas-CD28-4-1BB
٨٠
٦٠
٤٠
٢٠
٠
٠,٠٤:١
٠,٢:١
١:١
٥:١
المستجيب: الهدف
% تحلل الهدف

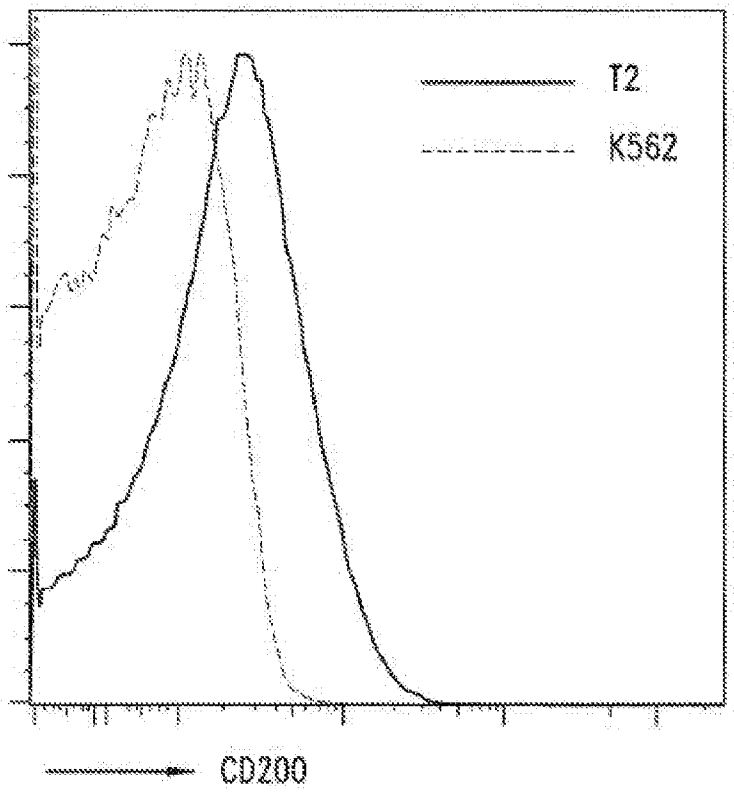
الشكل ٦ج


بدون الخلايا T
CD200R-9aas-CD28
CD200R-9aas-CD28-4-1BB
بدون سيتوكسان
الأيام

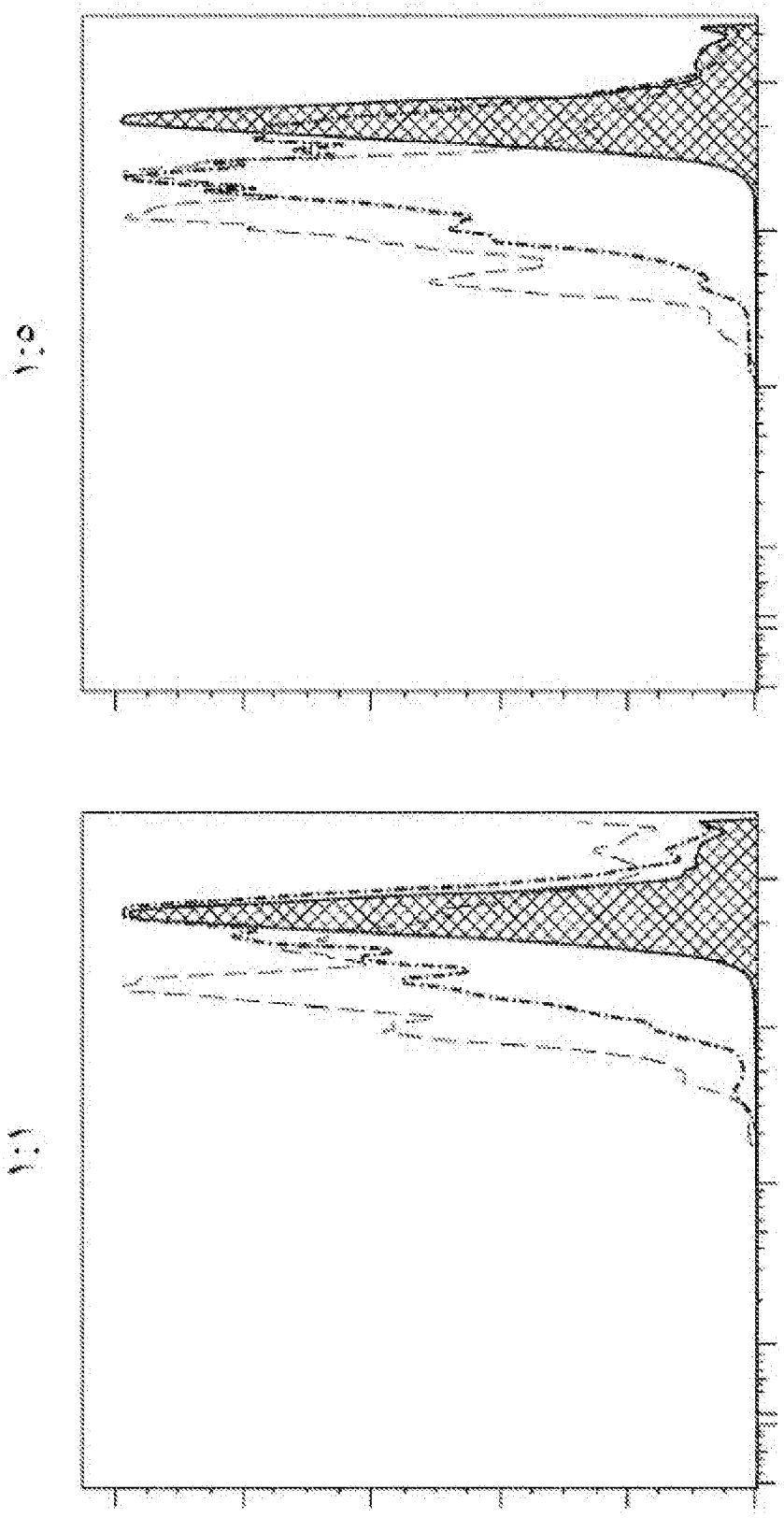
الشكل ٢٦د


التركيب:
CD200R-CD28
CO P2A
C4β
P2A
C4α
فقط C4
C4 + CD200R-CD28
P1
P1
CD200R PE-A
CD200R PE-A
Tetramer APC-A
Tetramer APC-A

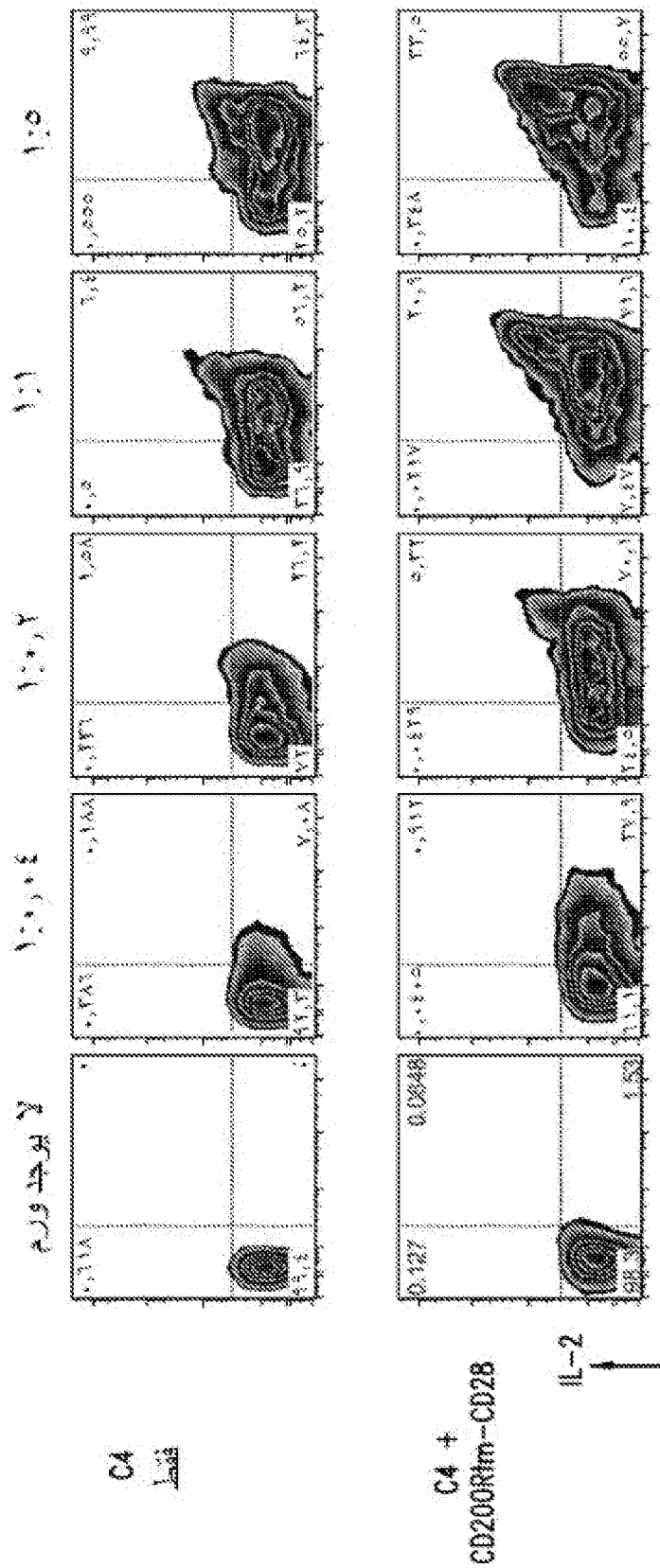
الشكل ٧أ



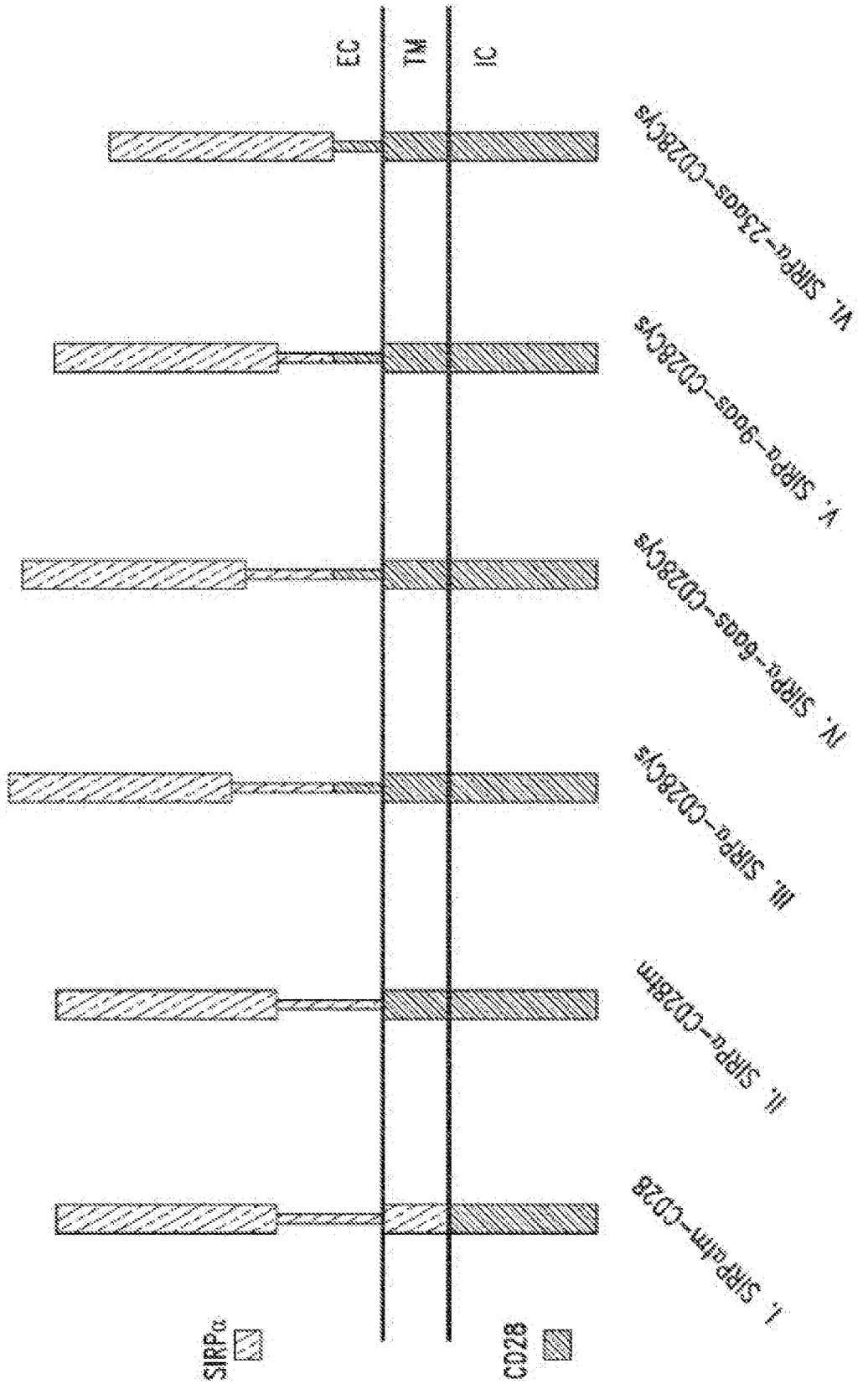
الشكل ٧ب



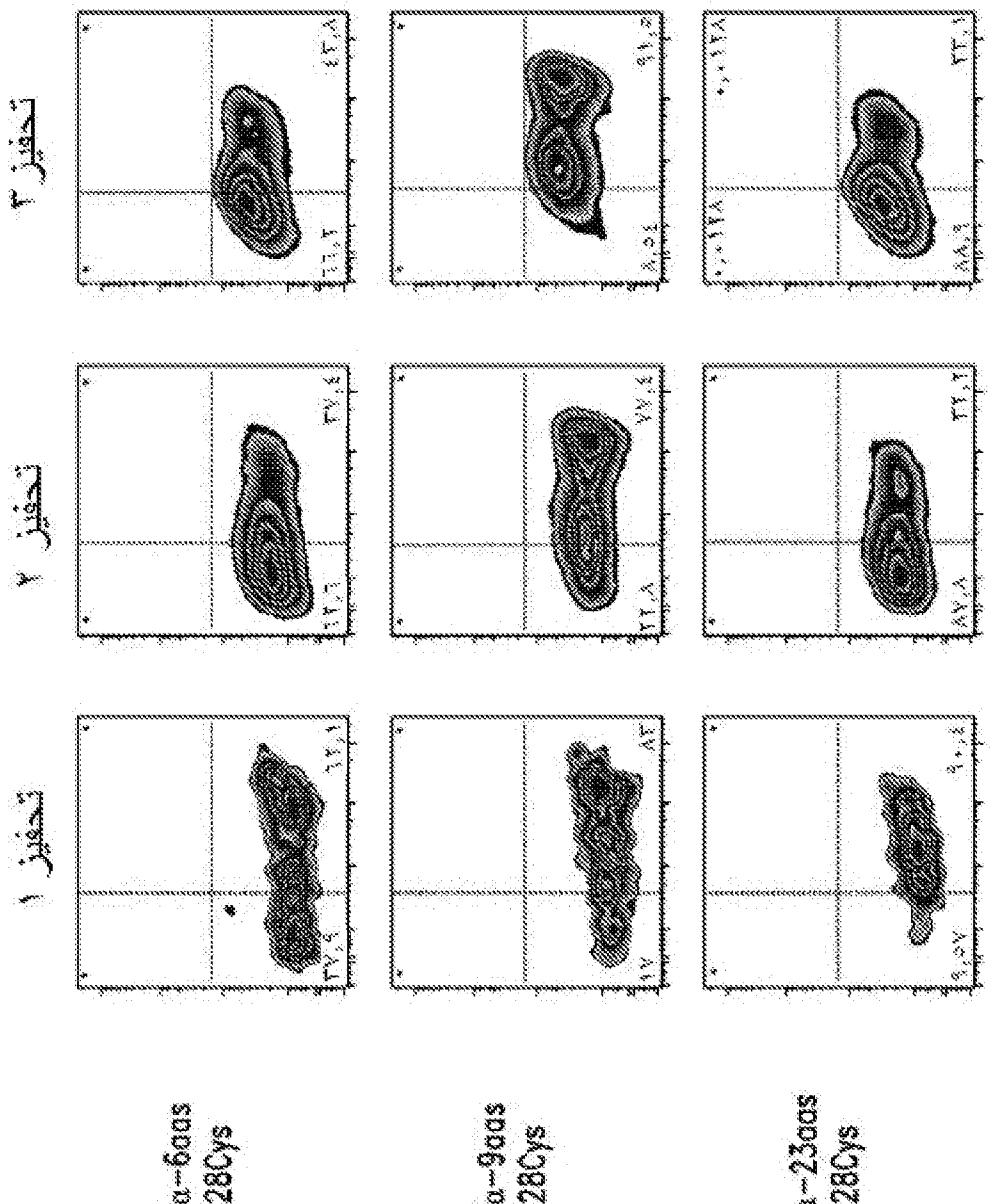
الشكل ٧ج


C4
فقط
C4 +
CD200Rhm-CD28
IL-2
IFNγ
لا يوجد ورم
1:0,4
1:0,2
1:1
1:5
الأهداف = WT1 - نابض T2

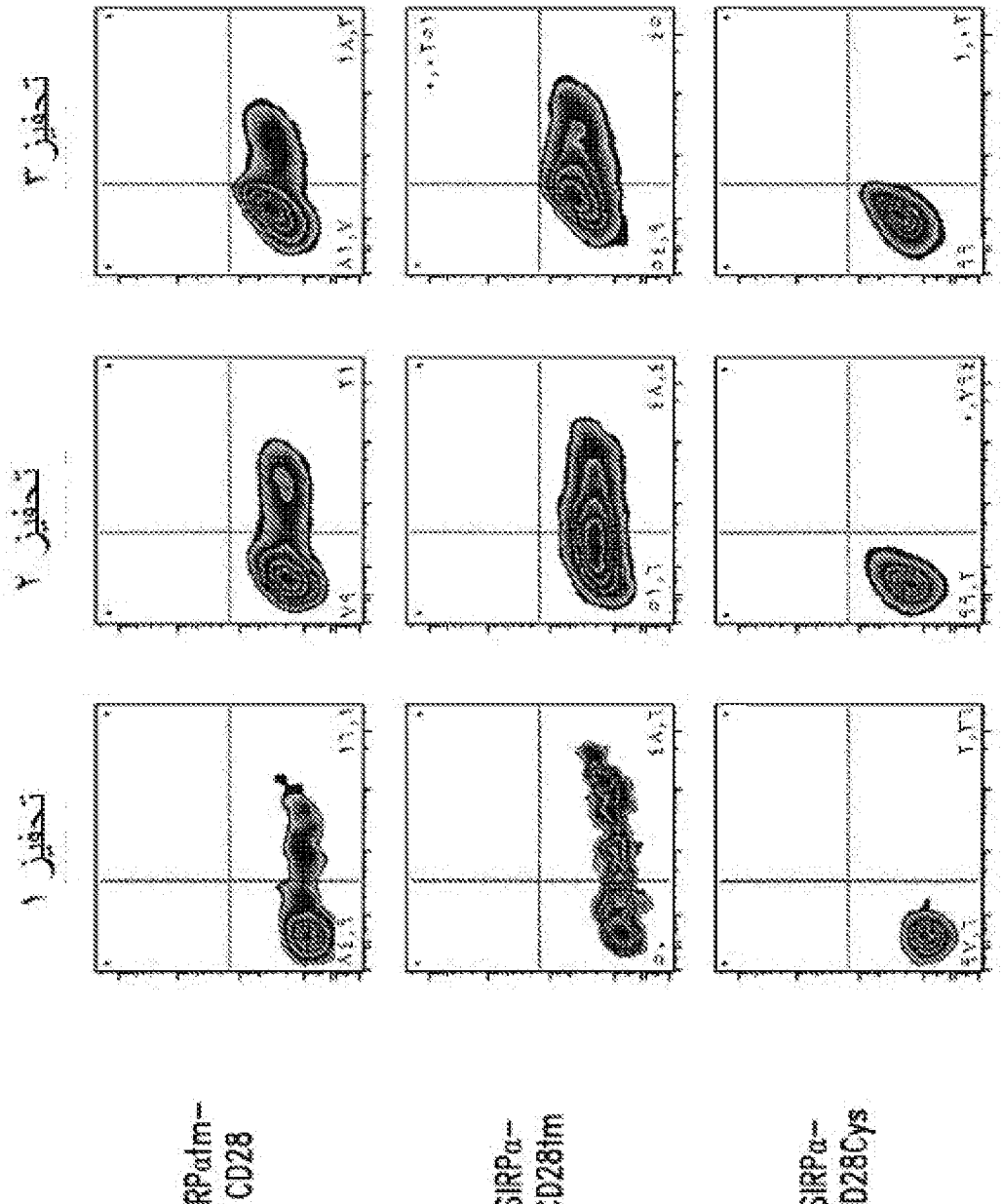
الشكل ٧أ


EC
TM
IC
SIRPα
CD28
I. SIRPαtm–CD28
II. SIRPα–CD28tm
III. SIRPα–CD28cys
IV. SIRPα–6aas–CD28cys
V. SIRPα–9aas–CD28cys
VI. SIRPα–23aas–CD28cys

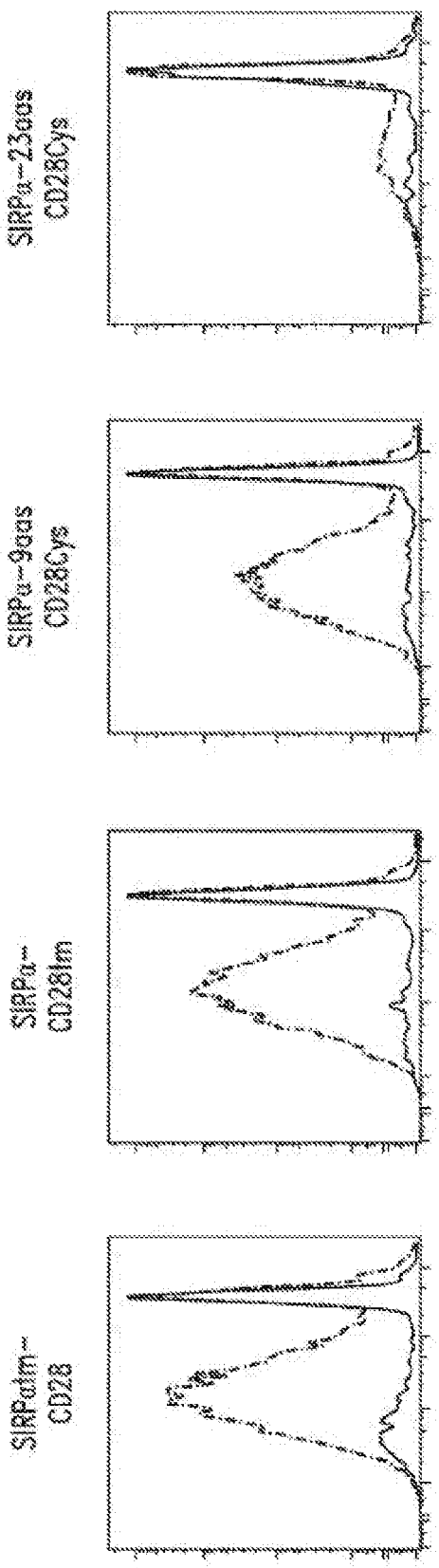
الشكل ٨أ



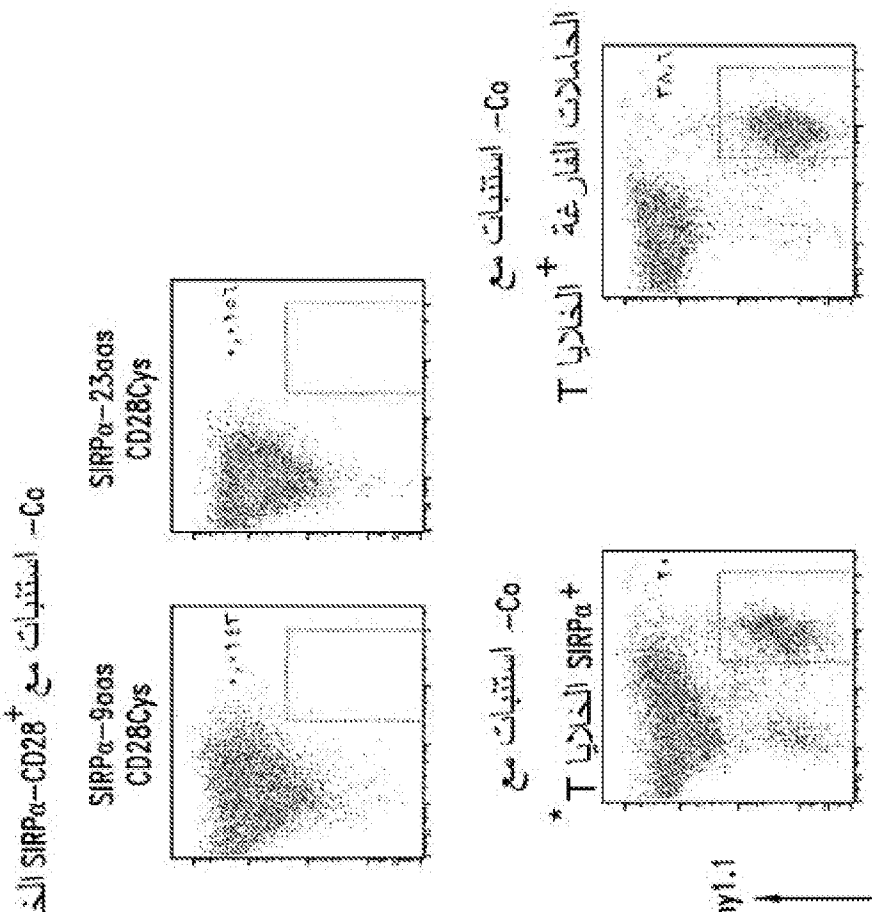
الشكل ٨ب (استكمال)


تحفيز ١
تحفيز ٢
تحفيز ٣
SIRPαtm-CD28
SIRPα-CD28tm
SIRPα-CD28Cys
SIRPα

الشكل ٨ب


SIRPαtm–CD28
SIRPα–CD28tm
SIRPα–9aas CD28Cys
SIRPα–23aas CD28Cys
CTV
SIRPα–CD28+
SIRPα–CD28–

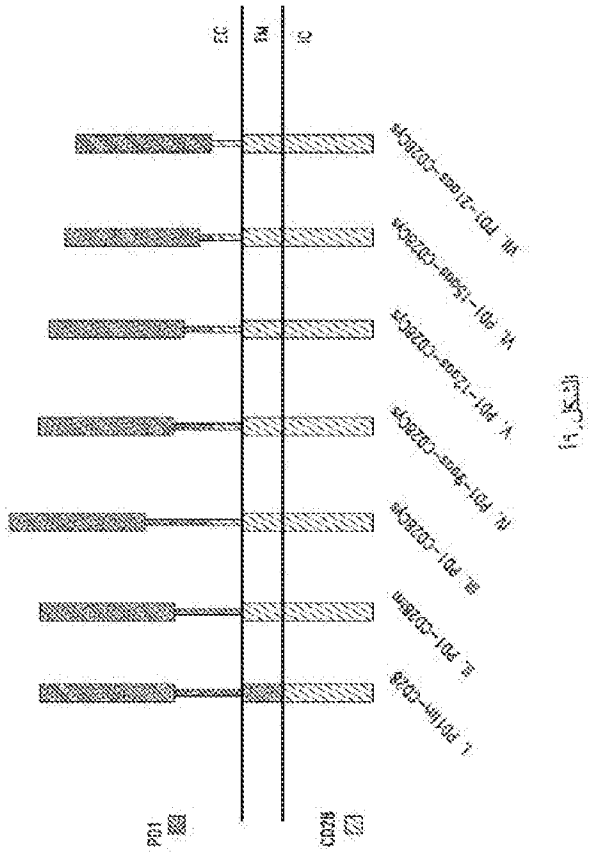
الشكل ٨ج


T الخلايا SIRPα-CD28+ مع استنبات -C5
SIRPα-CD28tm
SIRPα-9aas CD28Cys
SIRPα-23aas CD28Cys
T الخلايا
Thy1.1
CD47
الخلايا السرطانية CD47+
الإشارة لـ *CD28
المطلوب استكمال التحلل
من الخلايا السرطانية
مع استنبات -C5
T الخلايا SIRPα+ *
الحاملات الفارغة T الخلايا+
Thy1.1
CD47

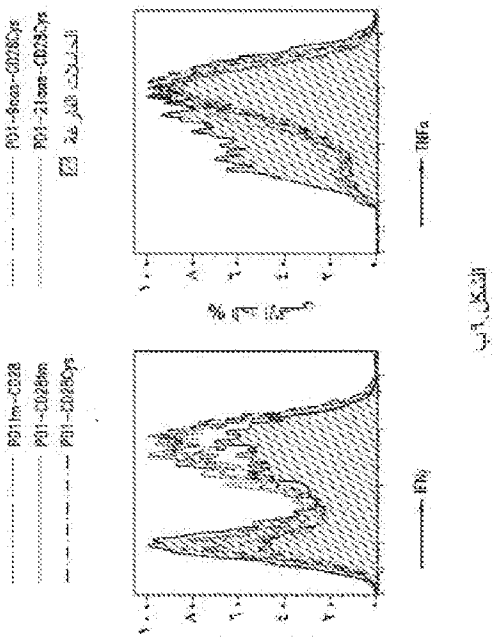
الشكل ٨د

SIRPα-9aas-CD28Cys
SIRPαtm-CD28
الزمن (بالساعات)
الزمن (بالساعات)
لا يوجد لخلايا T
لا يوجد لخلايا T
16M
14M
12M
10M
8M
6M
4M
2M
18M
0
10
20
30
40
50
60
70

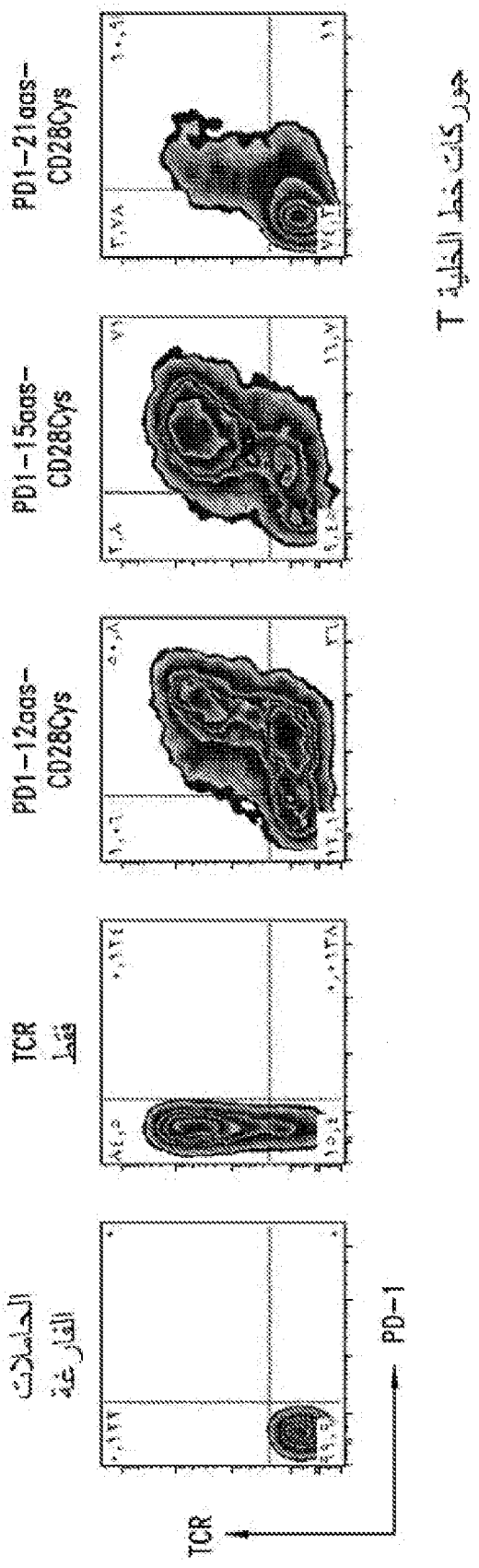
الشكل ٨هـ



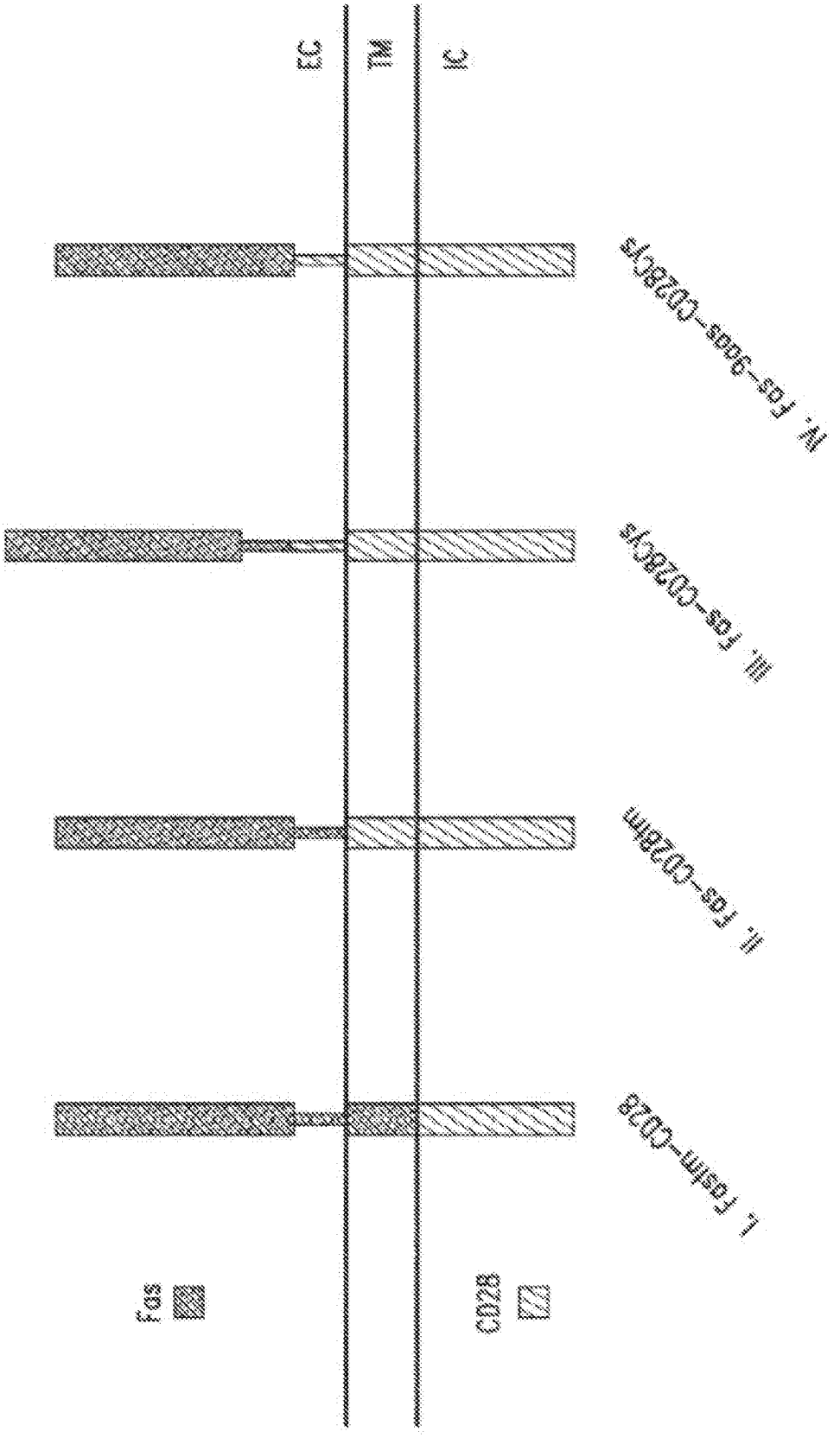
الشكل 1أ



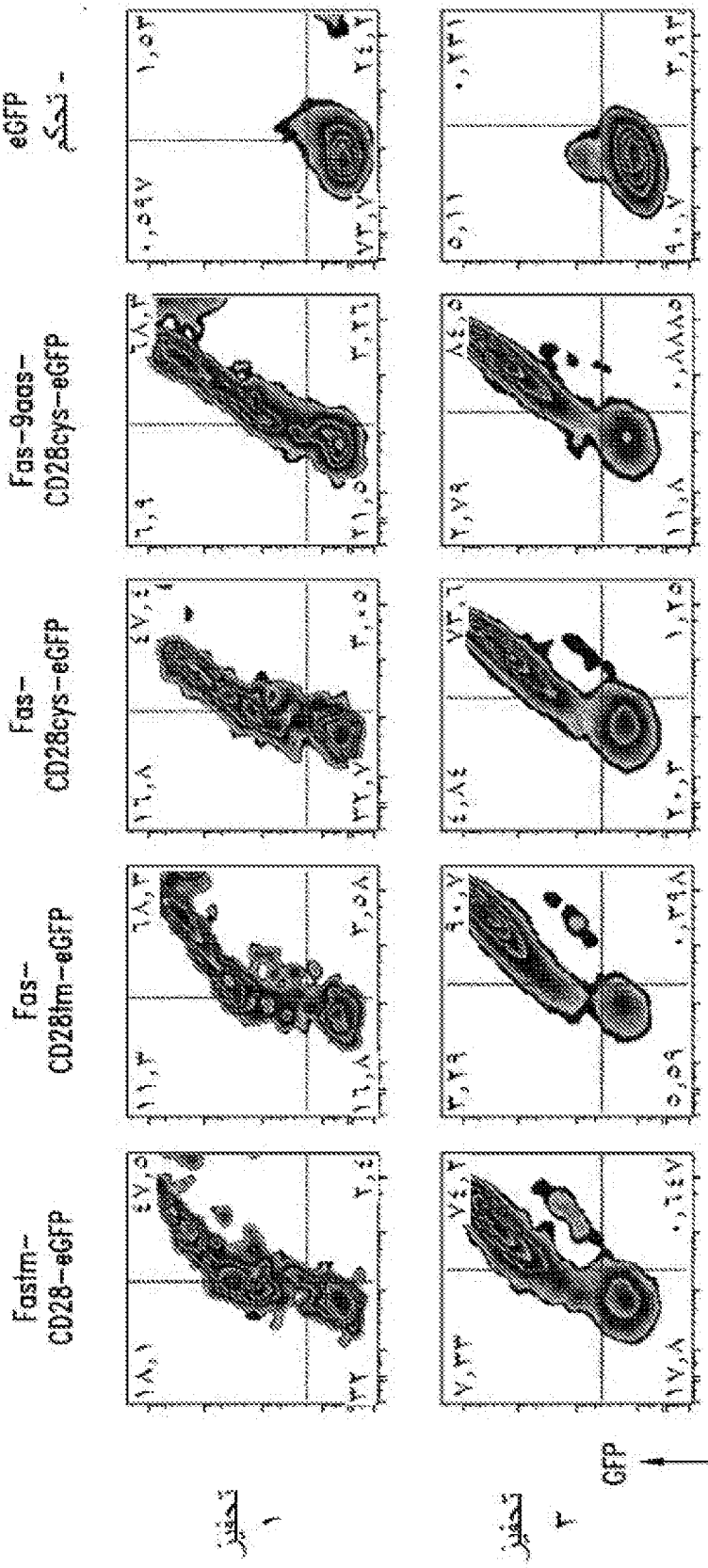
الشكل 1ب


الخلايا الفارغة
TCR فقط
PD1-12aas-CD28Cys
PD1-15aas-CD28Cys
PD1-21aas-CD28Cys
TCR
PD-1
حركات خط الخلية T

الشكل ١٠

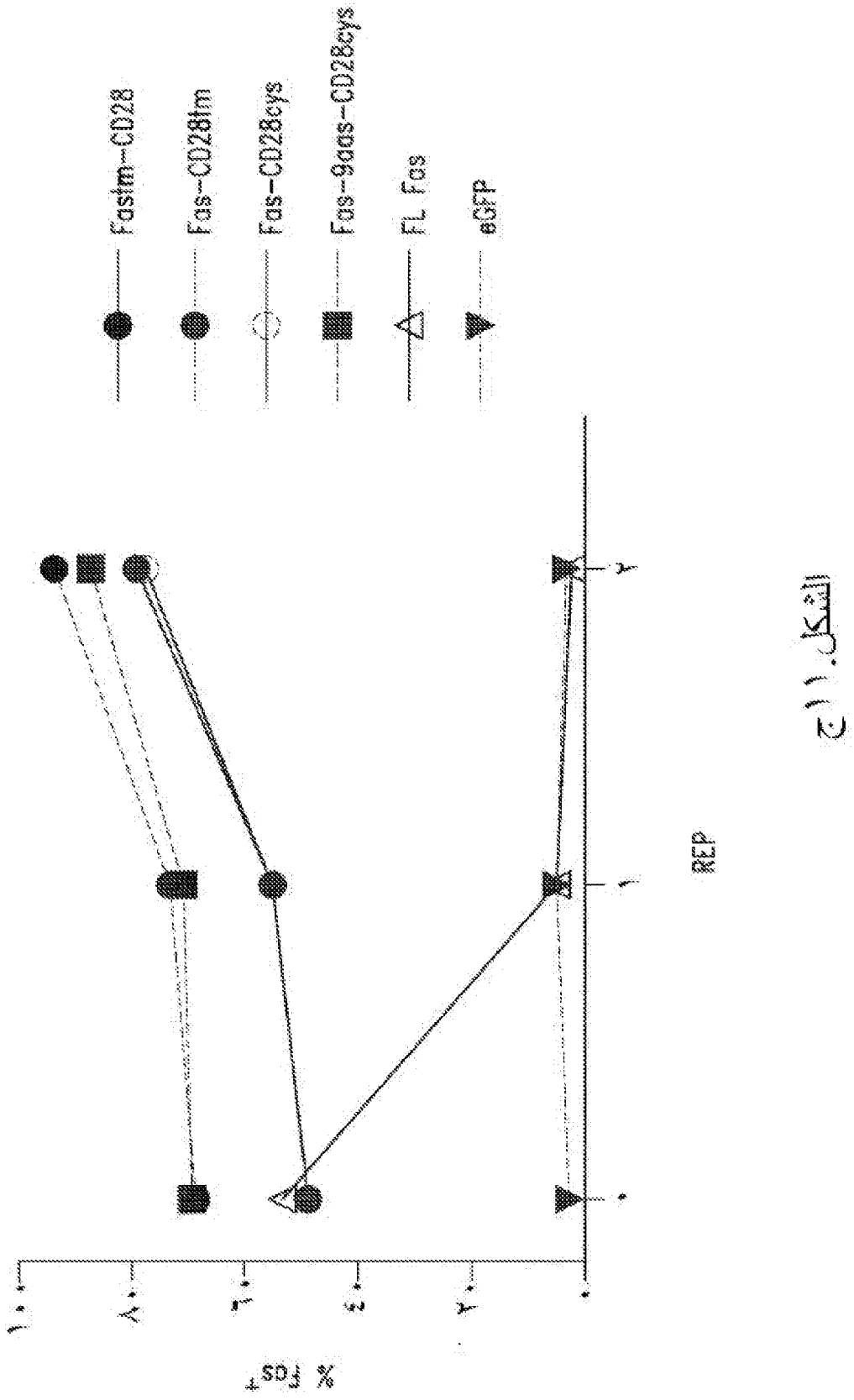

EC
TM
IC
fas
CD28
I. fasTm-CD28
II. fas-CD28m
III. fas-CD28Cyt
IV. fas-9aas-CD28Cyt

الشكل (١١)

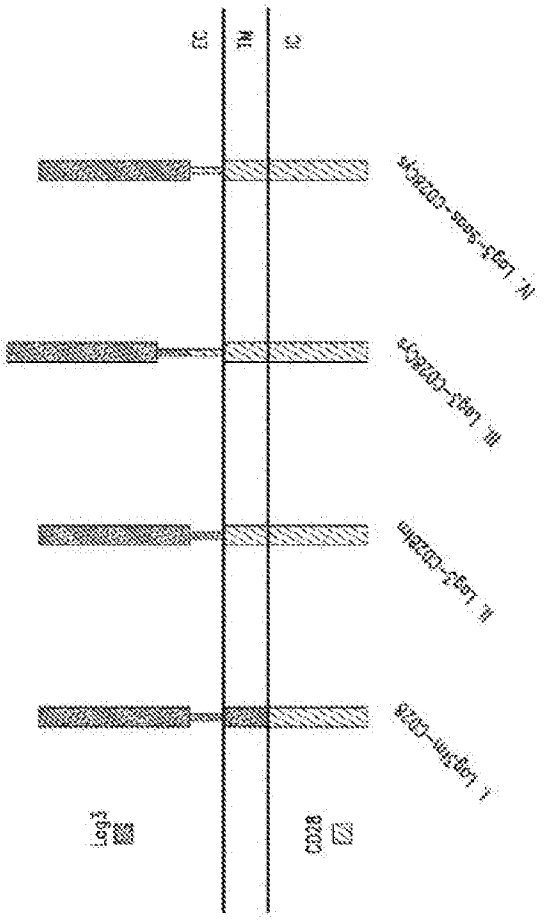


تحول TCR_{gag} الخلايا T ٥ أيام مركز - التحفيز

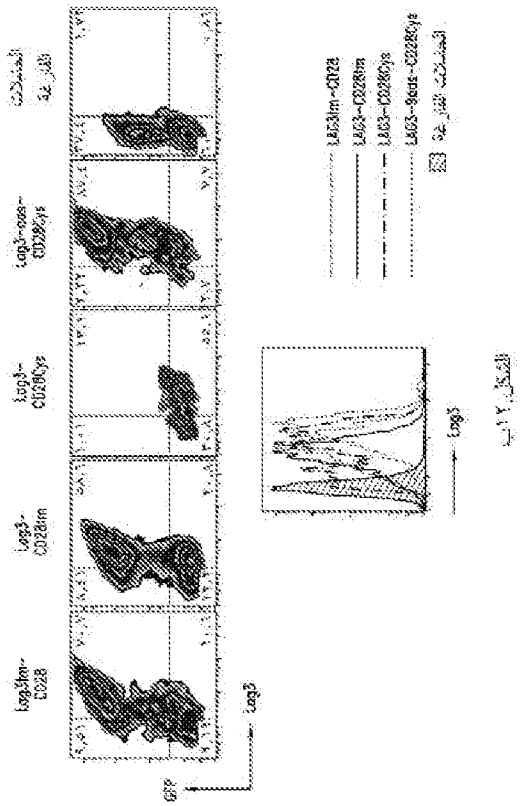
الشكل ١١ب


Fastm-CD28
Fas-CD28tm
Fas-CD28cys
Fas-9aas-CD28cys
FL Fas
eGFP
% Fas+
REP

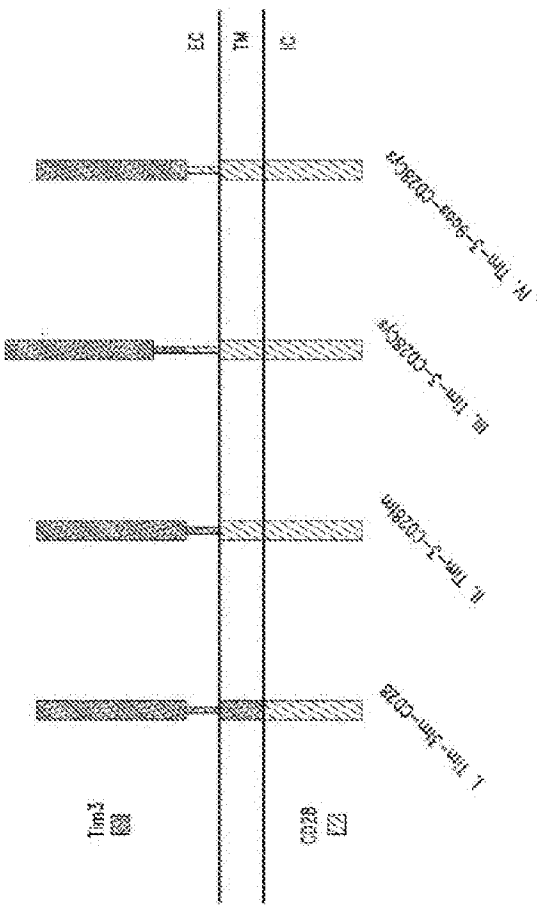
الشكل ١١ج



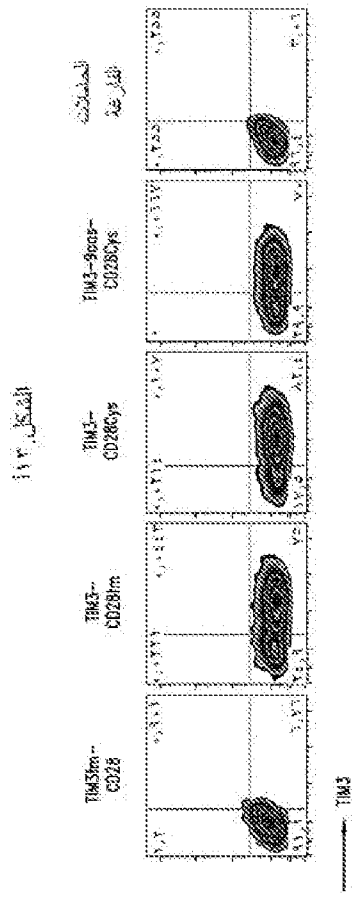
الشكل ١٢أ

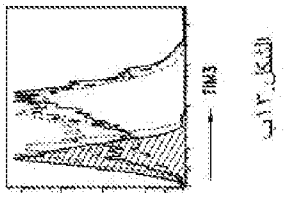


الشكل ١٢ب



الشكل ١٢أ





الشكل ١٢ب

مدة سريان هذه البراءة عشرون سنة من تاريخ إيداع الطلب

وذلك بشـرط تسـديد المقابل المالي السـنوي للبراءة وعدم بطلانها أو سـقوطها لمخالفتها لأي من أحكام نظام براءات الاختراع والتصميمات التخطيطية للدارات المتكاملة والأصناف النباتية والنماذج الصناعية أو لائحته التنفيذية.

صادرة عن

الهيئة السعودية للملكية الفكرية

ص ب ٦٥٣١ ، الرياض ١٣٣٢١ ، المملكة العربية السعودية

SAIP@SAIP.GOV.SA