



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116322734 A

(43) 申请公布日 2023. 06. 23

(21) 申请号 202180061706.7

(22) 申请日 2021.07.13

(30) 优先权数据

63/050,931 2020.07.13 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.03.08

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2021/041375 2021.07.13

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/015694 EN 2022.01.20

(71) 申请人 美国卫生和人力服务部

地址 美国马里兰州

(72) 发明人 诺姆·莱文 拉米·约瑟夫

盖尔·卡弗里

史蒂文·A·罗森伯格

(74) 专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理

有限责任公司 11204

专利代理师 王达佐 洪欣

(51) Int.Cl.

A61K 38/00 (2006.01)

权利要求书13页 说明书47页

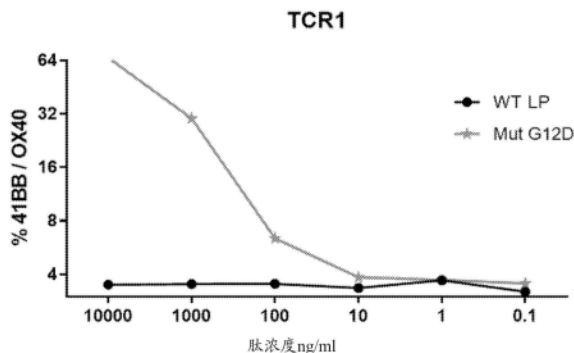
序列表77页 附图9页

(54) 发明名称

针对具有G12D突变的RAS的HLA II类限制性
DRB T细胞受体

(57) 摘要

本文公开了分离的或纯化的T细胞受体(TCR),其中所述TCR对于突变的人类RAS氨基酸序列具有抗原特异性,所述突变的人类RAS氨基酸序列在位置12处的甘氨酸被天冬氨酸取代。所述TCR可识别HLA-DR异二聚体呈递的G12DRAS。还提供了相关的多肽和蛋白质,以及相关的核酸、重组表达载体、宿主细胞、细胞群体和药物组合物。还公开了检测哺乳动物中癌症存在的方法,以及治疗或预防哺乳动物的癌症的方法。



1. 分离的或纯化的T细胞受体(TCR),其包含以下氨基酸序列:

- (a) SEQ ID NO 1-3的全部,
- (b) SEQ ID NO:4-6的全部,
- (c) SEQ ID NO:1-6的全部,
- (d) SEQ ID NO:11-13的全部,
- (e) SEQ ID NO:14-16的全部,
- (f) SEQ ID NO:11-16的全部,
- (g) SEQ ID NO:21-23的全部,
- (h) SEQ ID NO:24-26的全部,
- (i) SEQ ID NO:21-26的全部,
- (j) SEQ ID NO:31-33的全部,
- (k) SEQ ID NO:34-36的全部,或
- (l) SEQ ID NO:31-36的全部,

其中所述TCR对于突变的人类RAS氨基酸序列具有抗原特异性,所述突变的人类RAS氨基酸序列在位置12处的甘氨酸被天冬氨酸取代,

其中所述突变的人类RAS氨基酸序列是突变的人Kirsten大鼠肉瘤病毒癌基因同源物(KRAS)、突变的人Harvey大鼠肉瘤病毒癌基因同源物(HRAS)或突变的人神经母细胞瘤大鼠肉瘤病毒癌基因同源物(NRAS)氨基酸序列,以及

其中位置12分别参照野生型人KRAS蛋白、野生型人HRAS蛋白或野生型人NRAS蛋白被定义。

2. 如权利要求1所述的TCR,其中所述突变的人类RAS氨基酸序列是MTEYKLVVVGADGVGKSALTIQLI(SEQ ID NO:88)。

3. 如权利要求1或2所述的TCR,其中所述TCR对MTEYKLVVVGAGGVGKSALTIQLI(SEQ ID NO:89)的野生型人类RAS氨基酸序列不具有抗原特异性。

4. 如权利要求1-3中任一项所述的TCR,其中所述突变的人类RAS氨基酸序列由人白细胞抗原(HLA)II类分子呈递。

5. 如权利要求4所述的TCR,其中所述HLA II类分子是HLA-DR异二聚体。

6. 如权利要求4所述的TCR,其中所述HLA II类分子包含由HLA-DRB1基因、HLA-DRB3基因或HLA-DRB4基因中的任一种编码的HLA-DR α 链与HLA-DR β 链的组合。

7. 如权利要求4所述的TCR,其中所述HLA II类分子是HLA-DRB1*03:HLA-DRA*01异二聚体、HLA-DRB1*11:HLA-DRA*01异二聚体、HLA-DRB3*01:HLA-DRA*01异二聚体、HLA-DRB3*03:HLA-DRA*01异二聚体、HLA-DRB4*03:HLA-DRA*01异二聚体或HLA-DRB4*01:HLA-DRA*01异二聚体。

8. 如权利要求1-7中任一项所述的TCR,其包含以下氨基酸序列:

- (i) SEQ ID NO:7,
- (ii) SEQ ID NO:8,
- (iii) SEQ ID NO:9,
- (iv) SEQ ID NO:10,
- (v) SEQ ID NO:17,

(vi)SEQ ID NO:18,
(vii)SEQ ID NO:19,
(viii)SEQ ID NO:20,
(ix)SEQ ID NO:27,
(x)SEQ ID NO:28,
(xi)SEQ ID NO:29,
(xii)SEQ ID NO:30,
(xiii)SEQ ID NO:37,
(xiv)SEQ ID NO:38,
(xv)SEQ ID NO:39,
(xvi)SEQ ID NO:40,
(xvii)SEQ ID NO:7和8两者,
(xviii)SEQ ID NO:9和10两者,
(xix)SEQ ID NO:17和18两者,
(xx)SEQ ID NO:19和20两者,
(xxi)SEQ ID NO:27和28两者,
(xxii)SEQ ID NO:29和30两者,
(xxiii)SEQ ID NO:37和38两者,或
(xxiv)SEQ ID NO:39和40两者。

9.如权利要求1-8中任一项所述的TCR,其还包含:

(a)包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列的 α 链恒定区,其中:

(i)SEQ ID NO:49的位置48处的X是Thr或Cys;

(ii)SEQ ID NO:49的位置112处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;

(iii)SEQ ID NO:49的位置114处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;和

(iv)SEQ ID NO:49的位置115处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;

(b)包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列的 β 链恒定区,其中SEQ ID NO:50的位置57处的X是Ser或Cys;或

(c) (a) 和 (b) 两者。

10.如权利要求1-9中任一项所述的分离的或纯化的TCR,其包含:

(a)包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的 α 链,其中:

(i)SEQ ID NO:55的位置184处的X是Thr或Cys;

(ii)SEQ ID NO:55的位置248处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;

(iii)SEQ ID NO:55的位置250处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;和

(iv)SEQ ID NO:55的位置251处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;

(b)包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的 β 链,其中SEQ ID NO:56的位置199处的X是Ser或Cys;

(c) (a) 和 (b) 两者;

(d)包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的 α 链,其中:

(i)SEQ ID NO:57的位置165处的X是Thr或Cys;

- (ii) SEQ ID NO:57的位置229处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;
- (iii) SEQ ID NO:57的位置231处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;和
- (iv) SEQ ID NO:57的位置232处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;
- (e) 包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的 β 链,其中SEQ ID NO:58的位置175处的X是Ser或Cys;
- (f) (d) 和(e) 两者;
- (g) SEQ ID NO:59;
- (h) SEQ ID NO:60;
- (i) SEQ ID NO:61;
- (j) SEQ ID NO:62;
- (k) (g) 和(h) 两者;
- (l) (i) 和(j) 两者;
- (m) 包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列的 α 链,其中:
 - (i) SEQ ID NO:63的位置182处的X是Thr或Cys;
 - (ii) SEQ ID NO:63的位置246处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;
 - (iii) SEQ ID NO:63的位置248处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;和
 - (iv) SEQ ID NO:63的位置249处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;
- (n) 包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的 β 链,其中SEQ ID NO:64的位置197处的X是Ser或Cys;
- (o) (m) 和(n) 两者;
- (p) 包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列的 α 链,其中:
 - (i) SEQ ID NO:65的位置164处的X是Thr或Cys;
 - (ii) SEQ ID NO:65的位置228处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;
 - (iii) SEQ ID NO:65的位置230处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;和
 - (iv) SEQ ID NO:65的位置231处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;
- (q) 包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的 β 链,其中SEQ ID NO:66的位置173处的X是Ser或Cys;
- (r) (p) 和(q) 两者;
- (s) SEQ ID NO:67;
- (t) SEQ ID NO:68;
- (u) SEQ ID NO:69;
- (v) SEQ ID NO:70;
- (w) (s) 和(t) 两者;
- (x) (u) 和(v) 两者;
- (y) 包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的 α 链,其中:
 - (i) SEQ ID NO:71的位置187处的X是Thr或Cys;
 - (ii) SEQ ID NO:71的位置251处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;
 - (iii) SEQ ID NO:71的位置253处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;和
 - (iv) SEQ ID NO:71的位置254处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;

(z) 包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的 β 链,其中SEQ ID NO:72的位置191处的X是Ser或Cys;

(aa) (y) 和 (z) 两者;

(bb) 包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的 α 链,其中:

(i) SEQ ID NO:73的位置168处的X是Thr或Cys;

(ii) SEQ ID NO:73的位置232处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;

(iii) SEQ ID NO:73的位置234处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;和

(iv) SEQ ID NO:73的位置235处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;

(cc) 包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的 β 链,其中SEQ ID NO:74的位置173处的X是Ser或Cys;

(dd) (bb) 和 (cc) 两者;

(ee) SEQ ID NO:75;

(ff) SEQ ID NO:76;

(gg) SEQ ID NO:77;

(hh) SEQ ID NO:78;

(ii) (ee) 和 (ff) 两者;

(jj) (gg) 和 (hh) 两者;

(kk) 包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列的 α 链,其中:

(i) SEQ ID NO:79的位置175处的X是Thr或Cys;

(ii) SEQ ID NO:79的位置239处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;

(iii) SEQ ID NO:79的位置241处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;和

(iv) SEQ ID NO:79的位置242处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;

(ll) 包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列的 β 链,其中SEQ ID NO:80的位置190处的X是Ser或Cys;

(mm) (kk) 和 (ll) 两者;

(nn) 包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列的 α 链,其中:

(i) SEQ ID NO:81的位置159处的X是Thr或Cys;

(ii) SEQ ID NO:81的位置223处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;

(iii) SEQ ID NO:81的位置225处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;和

(iv) SEQ ID NO:81的位置226处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;

(oo) 包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列的 β 链,其中SEQ ID NO:82的位置172处的X是Ser或Cys;

(pp) (nn) 和 (oo) 两者;

(qq) SEQ ID NO:83;

(rr) SEQ ID NO:84;

(ss) SEQ ID NO:85;

(tt) SEQ ID NO:86;

(uu) (qq) 和 (rr) 两者;或

(vv) (ss) 和 (tt) 两者。

11. 分离的或纯化的多肽,其包含权利要求1-10中任一项所述的TCR的功能部分,其中所述功能部分包含以下氨基酸序列:

- (a) SEQ ID NO:1-3的全部,
- (b) SEQ ID NO:4-6的全部,
- (c) SEQ ID NO:1-6的全部,
- (d) SEQ ID NO:11-13的全部,
- (e) SEQ ID NO:14-16的全部,
- (f) SEQ ID NO:11-16的全部,
- (g) SEQ ID NO:21-23的全部,
- (h) SEQ ID NO:24-26的全部,
- (i) SEQ ID NO:21-26的全部,
- (j) SEQ ID NO:31-33的全部,
- (k) SEQ ID NO:34-36的全部,或
- (l) SEQ ID NO:31-36的全部。

12. 如权利要求11所述的分离的或纯化的多肽,其中所述功能部分包含以下氨基酸序列:

- (i) SEQ ID NO:7,
- (ii) SEQ ID NO:8,
- (iii) SEQ ID NO:9,
- (iv) SEQ ID NO:10,
- (v) SEQ ID NO:17,
- (vi) SEQ ID NO:18,
- (vii) SEQ ID NO:19,
- (viii) SEQ ID NO:20,
- (ix) SEQ ID NO:27,
- (x) SEQ ID NO:28,
- (xi) SEQ ID NO:29,
- (xii) SEQ ID NO:30,
- (xiii) SEQ ID NO:37,
- (xiv) SEQ ID NO:38,
- (xv) SEQ ID NO:39,
- (xvi) SEQ ID NO:40,
- (xvii) SEQ ID NO:7和8两者,
- (xviii) SEQ ID NO:9和10两者,
- (xix) SEQ ID NO:17和18两者,
- (xx) SEQ ID NO:19和20两者,
- (xxi) SEQ ID NO:27和28两者,
- (xxii) SEQ ID NO:29和30两者,
- (xxiii) SEQ ID NO:37和38两者,或

(xxiv) SEQ ID NO:39和40两者。

13. 如权利要求11或12所述的分离的或纯化的多肽,其还包含:

(a) SEQ ID NO:49的氨基酸序列,其中:

(i) SEQ ID NO:49的位置48处的X是Thr或Cys;

(ii) SEQ ID NO:49的位置112处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;

(iii) SEQ ID NO:49的位置114处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;和

(iv) SEQ ID NO:49的位置115处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;

(b) SEQ ID NO:50的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:50的位置57处的X是Ser或Cys;或

(c) (a) 和 (b) 两者。

14. 如权利要求11-13中任一项所述的分离的或纯化的多肽,其包含:

(a) 包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的 α 链,其中:

(i) SEQ ID NO:55的位置184处的X是Thr或Cys;

(ii) SEQ ID NO:55的位置248处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;

(iii) SEQ ID NO:55的位置250处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;和

(iv) SEQ ID NO:55的位置251处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;

(b) 包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的 β 链,其中SEQ ID NO:56的位置199处的X是Ser或Cys;

(c) (a) 和 (b) 两者;

(d) 包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的 α 链,其中:

(i) SEQ ID NO:57的位置165处的X是Thr或Cys;

(ii) SEQ ID NO:57的位置229处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;

(iii) SEQ ID NO:57的位置231处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;和

(iv) SEQ ID NO:57的位置232处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;

(e) 包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的 β 链,其中SEQ ID NO:58的位置175处的X是Ser或Cys;

(f) (d) 和 (e) 两者;

(g) SEQ ID NO:59;

(h) SEQ ID NO:60;

(i) SEQ ID NO:61;

(j) SEQ ID NO:62;

(k) (g) 和 (h) 两者;

(l) (i) 和 (j) 两者。

(m) 包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列的 α 链,其中:

(i) SEQ ID NO:63的位置182处的X是Thr或Cys;

(ii) SEQ ID NO:63的位置246处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;

(iii) SEQ ID NO:63的位置248处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;和

(iv) SEQ ID NO:63的位置249处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;

(n) 包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的 β 链,其中SEQ ID NO:64的位置197处的X是Ser或Cys;

- (o) (m) 和 (n) 两者;
- (p) 包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列的 α 链,其中:
 - (i) SEQ ID NO:65的位置164处的X是Thr或Cys;
 - (ii) SEQ ID NO:65的位置228处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;
 - (iii) SEQ ID NO:65的位置230处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;和
 - (iv) SEQ ID NO:65的位置231处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;
- (q) 包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的 β 链,其中SEQ ID NO:66的位置173处的X是Ser或Cys;
- (r) (p) 和 (q) 两者;
- (s) SEQ ID NO:67;
- (t) SEQ ID NO:68;
- (u) SEQ ID NO:69;
- (v) SEQ ID NO:70;
- (w) (s) 和 (t) 两者;
- (x) (u) 和 (v) 两者;
- (y) 包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的 α 链,其中:
 - (i) SEQ ID NO:71的位置187处的X是Thr或Cys;
 - (ii) SEQ ID NO:71的位置251处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;
 - (iii) SEQ ID NO:71的位置253处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;和
 - (iv) SEQ ID NO:71的位置254处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;
- (z) 包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的 β 链,其中SEQ ID NO:72的位置191处的X是Ser或Cys;
- (aa) (y) 和 (z) 两者;
- (bb) 包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的 α 链,其中:
 - (i) SEQ ID NO:73的位置168处的X是Thr或Cys;
 - (ii) SEQ ID NO:73的位置232处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;
 - (iii) SEQ ID NO:73的位置234处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;和
 - (iv) SEQ ID NO:73的位置235处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;
- (cc) 包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的 β 链,其中SEQ ID NO:74的位置173处的X是Ser或Cys;
- (dd) (bb) 和 (cc) 两者;
- (ee) SEQ ID NO:75;
- (ff) SEQ ID NO:76;
- (gg) SEQ ID NO:77;
- (hh) SEQ ID NO:78;
- (ii) (ee) 和 (ff) 两者;
- (jj) (gg) 和 (hh) 两者;
- (kk) 包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列的 α 链,其中:
 - (i) SEQ ID NO:79的位置175处的X是Thr或Cys;

(ii) SEQ ID NO:79的位置239处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;
(iii) SEQ ID NO:79的位置241处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;和
(iv) SEQ ID NO:79的位置242处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;
(ll) 包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列的 β 链,其中SEQ ID NO:80的位置190处的X是Ser或Cys;

(mm) (kk) 和 (ll) 两者;

(nn) 包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列的 α 链,其中:

(i) SEQ ID NO:81的位置159处的X是Thr或Cys;

(ii) SEQ ID NO:81的位置223处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;

(iii) SEQ ID NO:81的位置225处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;和

(iv) SEQ ID NO:81的位置226处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;

(oo) 包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列的 β 链,其中SEQ ID NO:82的位置172处的X是Ser或Cys;

(pp) (nn) 和 (oo) 两者;

(qq) SEQ ID NO:83;

(rr) SEQ ID NO:84;

(ss) SEQ ID NO:85;

(tt) SEQ ID NO:86;

(uu) (qq) 和 (rr) 两者;或

(vv) (ss) 和 (tt) 两者。

15. 分离的或纯化的蛋白质,其包含:

(a) 含有SEQ ID NO:1-3的氨基酸序列的第一多肽链和含有SEQ ID NO:4-6的氨基酸序列的第二多肽链;

(b) 含有SEQ ID NO:11-13的氨基酸序列的第一多肽链和含有SEQ ID NO:14-16的氨基酸序列的第二多肽链;

(c) 含有SEQ ID NO:21-23的氨基酸序列的第一多肽链和含有SEQ ID NO:24-26的氨基酸序列的第二多肽链;或者

(d) 含有SEQ ID NO:31-33的氨基酸序列的第一多肽链和含有SEQ ID NO:34-36的氨基酸序列的第二多肽链。

16. 如权利要求15所述的分离的或纯化的蛋白质,其中:

(i) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,以及所述第二多肽链包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列;

(ii) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列,以及所述第二多肽链包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列;

(iii) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列,以及所述第二多肽链包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列;

(iv) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列,以及所述第二多肽链包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列;

(v) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列,以及所述第二多肽链包含SEQ

ID NO:28的氨基酸序列;

(vi) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列,以及所述第二多肽链包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列;

(vii) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列,以及所述第二多肽链包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列;或

(viii) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列,以及所述第二多肽链包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列。

17. 如权利要求15或16所述的分离的或纯化的蛋白质,其中:

(a) 所述第一多肽链还包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列,其中:

(i) SEQ ID NO:49的位置48处的X是Thr或Cys;

(ii) SEQ ID NO:49的位置112处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;

(iii) SEQ ID NO:49的位置114处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;和

(iv) SEQ ID NO:49的位置115处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;

(b) 所述第二多肽链还包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:50的位置57处的X是Ser或Cys;或

(c) (a) 和 (b) 两者。

18. 如权利要求15-17中任一项所述的分离的或纯化的蛋白质,其中:

(a) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列,其中:

(i) SEQ ID NO:55的位置184处的X是Thr或Cys;

(ii) SEQ ID NO:55的位置248处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;

(iii) SEQ ID NO:55的位置250处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;和

(iv) SEQ ID NO:55的位置251处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;

(b) 所述第二多肽链包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:56的位置199处的X是Ser或Cys;

(c) (a) 和 (b) 两者;

(d) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列,其中:

(i) SEQ ID NO:57的位置165处的X是Thr或Cys;

(ii) SEQ ID NO:57的位置229处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;

(iii) SEQ ID NO:57的位置231处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;和

(iv) SEQ ID NO:57的位置232处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;

(e) 所述第二多肽链包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:58的位置175处的X是Ser或Cys;

(f) (d) 和 (e) 两者;

(g) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列;

(h) 所述第二多肽链包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列;

(i) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列;

(j) 所述第二多肽链包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列;

(k) (g) 和 (h) 两者;

(l) (i) 和 (j) 两者;

- (m) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列,其中:
 - (i) SEQ ID NO:63的位置182处的X是Thr或Cys;
 - (ii) SEQ ID NO:63的位置246处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;
 - (iii) SEQ ID NO:63的位置248处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;和
 - (iv) SEQ ID NO:63的位置249处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;
- (n) 所述第二多肽链包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列,其中SEQ IDNO:64的位置197处的X是Ser或Cys;
 - (o) (m) 和(n) 两者;
- (p) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列,其中:
 - (i) SEQ ID NO:65的位置164处的X是Thr或Cys;
 - (ii) SEQ ID NO:65的位置228处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;
 - (iii) SEQ ID NO:65的位置230处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;和
 - (iv) SEQ ID NO:65的位置231处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;
- (q) 所述第二多肽链包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列,其中SEQ IDNO:66的位置173处的X是Ser或Cys;
 - (r) (p) 和(q) 两者;
- (s) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列;
- (t) 第二条多肽链包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列;
- (u) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列;
- (v) 第二条多肽链包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列;
- (w) (s) 和(t) 两者;
- (x) (u) 和(v) 两者;
- (y) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列,其中:
 - (i) SEQ ID NO:71的位置187处的X是Thr或Cys;
 - (ii) SEQ ID NO:71的位置251处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;
 - (iii) SEQ ID NO:71的位置253处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;和
 - (iv) SEQ ID NO:71的位置254处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;
- (z) 所述第二多肽链包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列,其中SEQ IDNO:72的位置191处的X是Ser或Cys
 - (aa) (y) 和(z) 两者;
- (bb) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列,其中:
 - (i) SEQ ID NO:73的位置168处的X是Thr或Cys;
 - (ii) SEQ ID NO:73的位置232处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;
 - (iii) SEQ ID NO:73的位置234处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;和
 - (iv) SEQ ID NO:73的位置235处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;
- (cc) 所述第二多肽链包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列,其中SEQ IDNO:74的位置173处的X是Ser或Cys;
 - (dd) (bb) 和(cc) 两者;
- (ee) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列;

- (ff) 所述第二条多肽链包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列;
- (gg) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列;
- (hh) 所述第二条多肽链包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列;
- (ii) (ee) 和 (ff) 两者;
- (jj) (gg) 和 (hh) 两者;
- (kk) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列, 其中:
- (i) SEQ ID NO:79的位置175处的X是Thr或Cys;
- (ii) SEQ ID NO:79的位置239处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;
- (iii) SEQ ID NO:79的位置241处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp; 和
- (iv) SEQ ID NO:79的位置242处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;
- (ll) 所述第二多肽链包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列, 其中SEQ IDNO:80的位置190处的X是Ser或Cys;
- (mm) (kk) 和 (ll) 两者;
- (nn) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列, 其中:
- (i) SEQ ID NO:81的位置159处的X是Thr或Cys;
- (ii) SEQ ID NO:81的位置223处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;
- (iii) SEQ ID NO:81的位置225处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp; 和
- (iv) SEQ ID NO:81位置226处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;
- (oo) 所述第二多肽链包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列, 其中SEQ IDNO:82的位置172处的X是Ser或Cys;
- (pp) (nn) 和 (oo) 两者;
- (qq) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:83的氨基酸序列;
- (rr) 所述第二条多肽链包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列;
- (ss) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列;
- (tt) 所述第二条多肽链包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列;
- (uu) (qq) 和 (rr) 两者; 或
- (vv) (ss) 和 (tt) 两者。

19. 分离的或纯化的核酸, 其包含编码权利要求1-10中任一项所述的TCR、权利要求11-14中任一项所述的多肽或权利要求15-18中任一项所述的蛋白质的核苷酸序列。

20. 分离的或纯化的核酸, 其自5'至3'包含第一核苷酸序列和第二核苷酸序列, 其中所述第一核苷酸序列和所述第二核苷酸序列分别编码以下氨基酸序列: SEQ ID NO:7和8; SEQ ID NO:8和7; SEQ ID NO:9和10; SEQ ID NO:10和9; SEQ ID NO:17和18; SEQ ID NO:18和17; SEQ ID NO:19和20; SEQ ID NO:20和19; SEQ ID NO:27和28; SEQ ID NO:28和27; SEQ ID NO:29和30; SEQ ID NO:30和29; SEQ ID NO:37和38; SEQ ID NO:38和37; SEQ ID NO:39和40; SEQ ID NO:40和39; SEQ ID NO:55和56; SEQ ID NO:56和55; SEQ ID NO:57和58; SEQ ID NO:58和57; SEQ ID NO:59和60; SEQ ID NO:60和59; SEQ ID NO:61和62; SEQ ID NO:62和61; SEQ ID NO:63和64; SEQ ID NO:64和63; SEQ ID NO:65和66; SEQ ID NO:66和65; SEQ ID NO:67和68; SEQ ID NO:68和67; SEQ ID NO:69和70; SEQ ID NO:70和69; SEQ ID NO:71和72; SEQ ID NO:72和71; SEQ ID NO:73和74; SEQ ID NO:74和73; SEQ ID NO:75和76; SEQ ID

NO:76和75;SEQ ID NO:77和78;SEQ ID NO:78和77;SEQ ID NO:79和80;SEQ ID NO:80和79;SEQ ID NO:81和82;SEQ ID NO:82和81;SEQ ID NO:83和84;SEQ ID NO:84和83;SEQ ID NO:85和86;或SEQ ID NO:86和85。

21. 如权利要求20所述的分离的或纯化的核酸,其还包含插入在所述第一核苷酸序列和所述第二核苷酸序列之间的第三核苷酸序列,其中所述第三核苷酸序列编码可切割接头肽。

22. 如权利要求21所述的分离的或纯化的核酸,其中所述可切割接头肽包含RAKRSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO:87)的氨基酸序列。

23. 重组表达载体,其包含权利要求19-22中任一项所述的核酸。

24. 如权利要求23所述的重组表达载体,其是转座子或慢病毒载体。

25. 分离的或纯化的TCR、多肽或蛋白质,其由权利要求19-22中任一项所述的核酸或者权利要求23或24所述的载体编码。

26. 分离的或纯化的TCR、多肽或蛋白质,其由权利要求19-22中任一项所述的核酸或者权利要求23或24所述的载体在细胞中的表达产生。

27. 产生表达TCR的宿主细胞的方法,所述TCR对MTEYKLVVVGADGVGKSALTIQLI (SEQ ID NO:88)的肽具有抗原特异性,所述方法包括在允许权利要求23或24所述的载体导入细胞的条件下使所述细胞与所述载体接触。

28. 分离的或纯化的宿主细胞,其包含权利要求19-22中任一项所述的核酸或者权利要求23或24所述的重组表达载体。

29. 如权利要求28所述的宿主细胞,其中所述细胞是人淋巴细胞。

30. 如权利要求28或29所述的宿主细胞,其中所述细胞选自T细胞、自然杀伤T (NKT) 细胞、不变的自然杀伤T (iNKT) 细胞和自然杀伤(NK) 细胞。

31. 分离的或纯化的细胞群体,其包含权利要求28-30中任一项所述的宿主细胞。

32. 产生权利要求1-10、25或26中任一项所述的TCR、权利要求11-14、25或26中任一项所述的多肽、或者权利要求15-18、25或26中任一项所述的蛋白质的方法,所述方法包括培养权利要求28-30中任一项所述的宿主细胞或权利要求31所述的宿主细胞群体,从而产生所述TCR、多肽或蛋白质。

33. 药物组合物,其包含 (a) 权利要求1-10、25或26中任一项所述的TCR、权利要求11-14、25或26中任一项所述的多肽、权利要求15-18、25或26中任一项所述的蛋白质、权利要求19-22中任一项所述的核酸、权利要求23或24所述的重组表达载体、权利要求28-30中任一项所述的宿主细胞或者权利要求31所述的细胞群体,以及 (b) 药学上可接受的载体。

34. 检测哺乳动物中癌症存在的方法,所述方法包括:

(a) 使包含癌细胞的样品与权利要求1-10、25或26中任一项所述的TCR、权利要求11-14、25或26中任一项所述的多肽、权利要求15-18、25或26中任一项所述的蛋白质、权利要求19-22中任一项所述的核酸、权利要求23或24所述的重组表达载体、权利要求28-30中任一项所述的宿主细胞、权利要求31所述的细胞群体或权利要求33的药物组合物接触,从而形成复合物;以及

(b) 检测所述复合物,

其中检测到所述复合物指示所述哺乳动物中存在癌症。

35. 如权利要求1-10、25或26中任一项所述的TCR、如权利要求11-14、25或26中任一项所述的多肽、如权利要求15-18、25或26中任一项所述的蛋白质、如权利要求19-22中任一项所述的核酸、如权利要求23或24所述的重组表达载体、如权利要求28-30中任一项所述的宿主细胞、如权利要求31所述的细胞群体或者如权利要求33的药物组合物,其用于诱导哺乳动物中针对癌症的免疫应答的用途中。

36. 如权利要求1-10、25或26中任一项所述的TCR、如权利要求11-14、25或26中任一项所述的多肽、如权利要求15-18、25或26中任一项所述的蛋白质、如权利要求19-22中任一项所述的核酸、如权利要求23或24所述的重组表达载体、如权利要求28-30中任一项所述的宿主细胞、如权利要求31所述的细胞群体或者如权利要求33的药物组合物,其用于治疗或预防哺乳动物的癌症的用途中。

37. 如权利要求34所述的方法,或者用于权利要求35或36所述用途的TCR、多肽、蛋白质、核酸、重组表达载体、宿主细胞、细胞群体或药物组合物,其中所述癌症表达突变的人类RAS氨基酸序列,所述突变的人类RAS氨基酸序列在位置12处的甘氨酸被天冬氨酸取代,

其中所述突变的人类RAS氨基酸序列是突变的人Kirsten大鼠肉瘤病毒癌基因同源物(KRAS)、突变的人Harvey大鼠肉瘤病毒癌基因同源物(HRAS)或突变的人神经母细胞瘤大鼠肉瘤病毒癌基因同源物(NRAS)氨基酸序列,以及

其中位置12分别参照野生型人KRAS蛋白、野生型人HRAS蛋白或野生型人NRAS蛋白被定义。

38. 如权利要求37所述的方法,或者用于权利要求37所述用途的TCR、多肽、蛋白质、核酸、重组表达载体、宿主细胞、细胞群体或药物组合物,其中所述突变的人类RAS氨基酸序列是突变的人Kirsten大鼠肉瘤病毒癌基因同源物(KRAS)氨基酸序列。

39. 如权利要求37所述的方法,或者用于权利要求37所述用途的TCR、多肽、蛋白质、核酸、重组表达载体、宿主细胞、细胞群体或药物组合物,其中所述突变的人类RAS氨基酸序列是突变的人神经母细胞瘤大鼠肉瘤病毒癌基因同源物(NRAS)氨基酸序列。

40. 如权利要求37所述的方法,或者用于权利要求37所述用途的TCR、多肽、蛋白质、核酸、重组表达载体、宿主细胞、细胞群体或药物组合物,其中所述突变的人类RAS氨基酸序列是突变的人Harvey大鼠肉瘤病毒癌基因同源物(HRAS)氨基酸序列。

41. 如权利要求34和37-40中任一项所述的方法,或者用于权利要求35-40中任一项所述用途的TCR、多肽、蛋白质、核酸、重组表达载体、宿主细胞、细胞群体或药物组合物,其中所述癌症是胰腺癌、结肠直肠癌、肺癌、子宫内膜癌、卵巢癌或前列腺癌。

针对具有G12D突变的RAS的HLA II类限制性DRB T细胞受体

相关申请的交叉引用

[0001] 本专利申请要求2020年7月13日提交的第63/050,931号美国临时专利申请的权益,将所述美国临时专利申请通过引用以其整体并入本文。

关于联邦资助的研究或开发的声明

[0002] 本发明是在政府支持下由美国国立卫生研究院的国家癌症研究所在项目编号ZIABC010984下完成的。政府对本发明享有一定的权利。以电子方式提交的材料的引用并入

[0003] 与本文同时提交并如下鉴定的计算机可读核苷酸/氨基酸序列表通过引用以其整体并入本文:一个名称为“754395_ST25.txt”的160,788字节ASCII(文本)文件,日期为2021年7月13日。

发明背景

[0004] 一些癌症可能具有极有限的治疗选择,尤其在癌症发生转移和不可切除时。尽管在诸如例如手术、化学疗法及放射疗法的治疗中取得一定进展,但许多癌症(诸如例如胰腺癌、结肠直肠癌、肺癌、子宫内膜癌、卵巢癌和前列腺癌)的预后可能较差。因此,存在对于癌症的另外治疗的未满足的需求。

发明概述

[0005] 本发明的一个实施方案提供了分离的或纯化的T细胞受体(TCR),其包含以下氨基酸序列:(a) SEQ ID NO:1-3的全部,(b) SEQ ID NO:4-6的全部,(c) SEQ ID NO:1-6的全部,(d) SEQ ID NO:11-13的全部,(e) SEQ ID NO:14-16的全部,(f) SEQ ID NO:11-16的全部,(g) SEQ ID NO:21-23的全部,(h) SEQ ID NO:24-26的全部,(i) SEQ ID NO:21-26的全部,(j) SEQ ID NO:31-33的全部,(k) SEQ ID NO:34-36的全部,或(l) SEQ ID NO:31-36的全部,其中TCR对于突变的人类RAS氨基酸序列具有抗原特异性,所述突变的人类RAS氨基酸序列在位置12处的甘氨酸被天冬氨酸取代,其中突变的人类RAS氨基酸序列是突变的人Kirsten大鼠肉瘤病毒癌基因同源物(KRAS)、突变的人Harvey大鼠肉瘤病毒癌基因同源物(HRAS)或突变的人神经母细胞瘤大鼠肉瘤病毒癌基因同源物(NRAS)氨基酸序列,以及其中位置12分别参照野生型人KRAS蛋白、野生型人HRAS蛋白或野生型人NRAS蛋白被定义。

[0006] 本发明的另一个实施方案提供了包含本发明的TCR的功能部分的分离的或纯化的多肽,其中所述功能部分包含以下氨基酸序列:(a) SEQ ID NO:1-3的全部,(b) SEQ ID NO:4-6的全部,(c) SEQ ID NO:1-6的全部,(d) SEQ ID NO:11-13的全部,(e) SEQ ID NO:14-16的全部,(f) SEQ ID NO:11-16的全部,(g) SEQ ID NO:21-23的全部,(h) SEQ ID NO:24-26的全部,(i) SEQ ID NO:21-26的全部,(j) SEQ ID NO:31-33的全部,(k) SEQ ID NO:34-36的全部,或(l) SEQ ID NO:31-36的全部。

[0007] 本发明的另一个实施方案提供了分离的或纯化的蛋白质,其包含(a)含有SEQ ID NO:1-3的氨基酸序列的第一多肽链和含有SEQ ID NO:4-6的氨基酸序列的第二多肽链;(b)含有SEQ ID NO:11-13的氨基酸序列的第一多肽链和含有SEQ ID NO:14-16的氨基酸序列的第二多肽链;(c)含有SEQ ID NO:21-23的氨基酸序列的第一多肽链和含有SEQ ID NO:24-26的氨基酸序列的第二多肽链;或(d)含有SEQ ID NO:31-33的氨基酸序列的第一多肽

链和含有SEQ ID NO:34-36的氨基酸序列的第二多肽链。

[0008] 本发明的实施方案还提供了与本发明的TCR、多肽及蛋白质相关的核酸、重组表达载体、宿主细胞、细胞群体和药物组合物。

[0009] 本发明的一个实施方案提供了自5'至3'包含第一核苷酸序列和第二核苷酸序列的分离的或纯化的核酸,其中第一核苷酸序列和第二核苷酸序列分别编码以下的氨基酸序列:SEQ ID NO:7和8;SEQ ID NO:8和7;SEQ ID NO:9和10;SEQ ID NO:10和9;SEQ ID NO:17和18;SEQ ID NO:18和17;SEQ ID NO:19和20;SEQ ID NO:20和19;SEQ ID NO:27和28;SEQ ID NO:28和27;SEQ ID NO:29和30;SEQ ID NO:30和29;SEQ ID NO:37和38;SEQ ID NO:38和37;SEQ ID NO:39和40;SEQ ID NO:40和39;SEQ ID NO:55和56;SEQ ID NO:56和55;SEQ ID NO:57和58;SEQ ID NO:58和57;SEQ ID NO:59和60;SEQ ID NO:60和59;SEQ ID NO:61和62;SEQ ID NO:62和61;SEQ ID NO:63和64;SEQ ID NO:64和63;SEQ ID NO:65和66;SEQ ID NO:66和65;SEQ ID NO:67和68;SEQ ID NO:68和67;SEQ ID NO:69和70;SEQ ID NO:70和69;SEQ ID NO:71和72;SEQ ID NO:72和71;SEQ ID NO:73和74;SEQ ID NO:74和73;SEQ ID NO:75和76;SEQ ID NO:76和75;SEQ ID NO:77和78;SEQ ID NO:78和77;SEQ ID NO:79和80;SEQ ID NO:80和79;SEQ ID NO:81和82;SEQ ID NO:82和81;SEQ ID NO:83和84;SEQ ID NO:84和83;SEQ ID NO:85和86;或SEQ ID NO:86和85。

[0010] 本发明的实施方案还提供了检测哺乳动物癌症存在的方法、治疗或预防哺乳动物的癌症的方法、诱导哺乳动物中针对癌症的免疫应答的方法、产生表达对MTEYKLVVVGADGVGKSALTIQLI(SEQ ID NO:88)的肽具有抗原特异性的TCR的宿主细胞的方法以及产生本发明的TCR、多肽和蛋白质的方法。

附图若干视图的简要说明

[0011] 图1A-1B显示了在用G12D 24-mer肽(G12D LP)脉冲的DC对来自结肠直肠癌患者4271的PBL进行体外刺激(IVS)后的反应性结果。通过与已经用G12D 24-mer肽(星形)或相应的WT 24-mer肽(菱形)脉冲的DC共培养来测试这些细胞。与用DMSO(正方形)处理的DC共培养和与单独的DC(▲)共培养用作阴性对照。在PMA(▼)存在下培养的PBL用作阳性对照。图1A是显示如通过IFN- γ ELISPOT测定测量的反应性的图(斑点/2.5e4个细胞)。图1B是显示如通过流式细胞术测定(FACS)中检测到的4-1BB⁺和/或OX40⁺细胞百分比测量的反应性的图。

[0012] 图1C显示了已经用G12D 24-mer肽脉冲的DC对来自结肠直肠癌患者4271的PBL进行IVS后的4-1BB和/或OX40表达的FACS分析的结果,其通过与G12D 24-mer肽或相应的WT 24-mer肽脉冲的自体DC共培养进行测试。箭头表示在用G12D 24-mer肽进行IVS后上调4-1BB和/或OX40表达并用G12D 24-mer再刺激的那些细胞经历单细胞聚合酶链式反应(scPCR)以确定TCR序列。

[0013] 图2A-2D是显示在效应细胞与靶细胞共培养后测量的4-1BB⁺和/或OX40⁺细胞的百分比的图。效应细胞是用4271TCR1(2A)、4271TCR2(2B)、4271TCR3(2C)或4271TCR4(2D)独立转导的自体PBL。靶细胞是用指定浓度(ng/ml)的G12D 24-mer肽(星形)或相应的WT 24-mer肽(圆形)脉冲的自体DC。

[0014] 图3A是显示在靶细胞与效应细胞共培养后如通过IFN- γ ELISPOT测定测量的反应性的图(斑点数量/3e4个细胞)。效应细胞是用4271TCR1、4271TCR2、4271TCR3或4271TCR4独

立转导的T细胞。在用抗HLA DP(正方形)、抗HLA DQ(▲)或抗HLA DR(星形)阻断抗体或没有抗体(圆形)的情况下进行MHC阻断之后,将效应细胞与用G12D24-mer肽脉冲的自体DC共培养。与DMSO处理的DC(菱形)共培养的效应细胞用作阴性对照。在抗CD3/抗CD28 Dynabeads(▼)存在下培养的效应细胞用作阳性对照。

[0015] 图3B是显示在靶细胞与效应细胞共培养后测量的CD3⁺/CD4⁺群体中4-1BB⁺和/或OX40⁺细胞的百分比的图。效应细胞是用4271TCR1、4271TCR2、4271TCR3或4271TCR4独立转导的T细胞。在用抗HLA DP(正方形)、抗HLA DQ(▲)或抗HLA DR(星形)抗体或没有阻断抗体(圆形)的情况下进行MHC阻断之后,将效应细胞与用G12D 24-mer肽脉冲的自体DC共培养。与DMSO处理的DC(菱形)共培养的效应细胞用作阴性对照。在抗CD3/抗CD28 Dynabeads(▼)存在下培养的效应细胞用作阳性对照。

发明详述

[0016] RAS家族蛋白属小GTPase的大家族。不受限于特定理论或机制,认为在突变时,RAS蛋白可参与许多人类癌症的瘤形成早期的信号转导。单一氨基酸取代可活化蛋白质。突变的RAS蛋白产物可组成型活化。突变的RAS蛋白可表达于多种人类癌症(诸如例如胰腺癌(例如胰腺癌瘤)、结肠直肠癌、肺癌(例如肺腺癌)、子宫内膜癌、卵巢癌(例如上皮卵巢癌)和前列腺癌)中的任一种中。人RAS家族蛋白包括KRAS、HRAS和NRAS。

[0017] KRAS也称为GTPase KRas、V-Ki-Ras2 Kirsten大鼠肉瘤病毒癌基因或KRAS2。存在KRAS的两种转录变体:KRAS变体A和KRAS变体B。野生型(WT)KRAS变体A具有SEQ ID NO:41的氨基酸序列。WT KRAS变体B具有SEQ ID NO:42的氨基酸序列。在下文中,除非另外指定,否则提及“KRAS”(突变的或未突变的(WT))是指变体A和变体B二者。在活化时,突变的KRAS结合5'-三磷酸鸟苷(GTP)并且将GTP转化成5'-二磷酸鸟苷(GDP)。

[0018] HRAS是RAS蛋白家族的另一成员。HRAS也称为Harvey大鼠肉瘤病毒癌蛋白、V-Ha-Ras Harvey大鼠肉瘤病毒癌基因同源物或Ras家族小GTP结合蛋白H-Ras。WT HRAS具有SEQ ID NO:43的氨基酸序列。

[0019] NRAS是RAS蛋白家族的另一成员。NRAS也称为GTPase NRas、V-Ras神经母细胞瘤RAS病毒癌基因同源物或NRAS1。WT NRAS具有SEQ ID NO:44的氨基酸序列。

[0020] 本发明的一个实施方案提供了分离的或纯化的TCR,其中TCR对于突变的人类RAS氨基酸序列具有抗原特异性,所述突变的人类RAS氨基酸序列在位置12处的甘氨酸被天冬氨酸取代,其中突变的人类RAS氨基酸序列是突变的人KRAS、突变的人HRAS或突变的人NRAS氨基酸序列,以及其中位置12分别参照WT人KRAS蛋白、WT人HRAS蛋白或WT人NRAS蛋白被定义。在下文中,除非另外指定,否则提及“TCR”也是指TCR的功能部分和功能变体。

[0021] 突变的人类RAS氨基酸序列可为突变的人KRAS氨基酸序列、突变的人HRAS氨基酸序列或突变的人NRAS氨基酸序列。WT人KRAS、NRAS和HRAS蛋白的氨基酸序列各自具有188或189个氨基酸残基的长度且彼此具有高度同一性。例如,WT人NRAS蛋白的氨基酸序列与WT人KRAS蛋白的氨基酸序列是86.8%相同的。WT人NRAS蛋白和WT人KRAS蛋白的氨基酸残基1-86是100%相同的。WT人HRAS蛋白的氨基酸序列与WT人KRAS蛋白的氨基酸序列是86.3%相同的。WT人HRAS蛋白与WT人KRAS蛋白的氨基酸残基1-94是100%相同的。在下文中,除非另外指定,否则提及“RAS”(突变的或未突变的(WT))共同地指KRAS、HRAS和NRAS。

[0022] 在本发明的一个实施方案中,突变的人类RAS氨基酸序列包含在位置12处的甘氨酸

酸被天冬氨酸取代的人类RAS氨基酸序列,其中位置12参照相应的WT RAS蛋白所定义。WT RAS蛋白可为WT KRAS蛋白(SEQ ID NO:41或42)、WT HRAS蛋白(SEQ ID NO:43)或WT NRAS蛋白(SEQ ID NO:44)中的任一种,因为如上文所说明的,WT人NRAS蛋白和WT人KRAS蛋白的氨基酸残基1-86是100%相同的,并且WT人HRAS蛋白和WT人KRAS蛋白的氨基酸残基1-94是100%相同的。因此,WT KRAS、WT HRAS和WT NRAS蛋白中的每一种的位置12处的氨基酸残基是相同的,即为甘氨酸。

[0023] 突变的人类RAS氨基酸序列在位置12处的甘氨酸被天冬氨酸取代。在这方面,本发明的实施方案提供了对含有G12D突变的任一人RAS蛋白、多肽或肽氨基酸序列具有抗原特异性的TCR。

[0024] RAS的突变和取代在本文中参照相应WT RAS蛋白的氨基酸序列定义。因此,RAS的突变和取代在本文中参照以下形式描述:存在于WT RAS蛋白中的特定位置(即位置12)的氨基酸残基,随后是位置编号,随后是在所论述特定突变或取代中代替该残基的氨基酸残基。RAS氨基酸序列(例如RAS肽)可包含少于全长WT RAS蛋白的所有氨基酸残基的氨基酸残基。因此,在理解相应残基在RAS氨基酸序列的特定实例中的实际位置可为不同的情况下,位置12在本文中通过参照WT全长RAS蛋白(即SEQ ID NO:41-44中的任一个)定义。在位置是根据SEQ ID NO:41-44中的任一个所定义时,术语“G12”是指通常存在于SEQ ID NO:41-44中任一个的位置12处的甘氨酸,并且“G12D”指示通常存在于SEQ ID NO:11-14中任一个的位置12处的甘氨酸被天冬氨酸代替。例如,在RAS氨基酸序列的特定实例是例如TEYKLVVVGAGGVGKSALTIQLI(SEQ ID NO:90)(对应于SEQ ID NO:41的连续氨基酸残基2至24的实例性WT KRAS肽)时,“G12D”是指SEQ ID NO:90中加下划线的甘氨酸被天冬氨酸取代,即使SEQ ID NO:90中加下划线的甘氨酸的实际位置是11亦如此。含有G12D突变的人类RAS氨基酸序列在下文中称为“G12D RAS”。

[0025] 含有G12D突变的全长RAS蛋白的实例示于以下表1中。

表1

突变的全长RAS蛋白	SEQ ID NO:
G12D KRAS变体A	45
G12D KRAS变体B	46
G12D HRAS	47
G12D NRAS	48

[0026] 在本发明的一个实施方案中,TCR对上文所述的含有G12D突变的RAS肽具有抗原特异性,其中G12D RAS肽具有任意长度。在本发明的一个实施方案中,G12D RAS肽具有适于结合至本文所述的任何HLA II类分子的任意长度。例如,TCR可对含有G12D突变的RAS肽具有抗原特异性,该RAS肽具有约11至约30个氨基酸残基、约12至约24个氨基酸残基或约18至约20个氨基酸残基的长度。G12D RAS肽可包含突变RAS蛋白中包含G12D突变的任何连续氨基酸残基。在本发明的一个实施方案中,TCR可对含有G12D突变的RAS肽具有抗原特异性,该突变的RAS肽具有以下长度:约30个氨基酸残基、约29个氨基酸残基、约28个氨基酸残基、约27个氨基酸残基、约26个氨基酸残基、约25个氨基酸残基、约24个氨基酸残基、约23个氨基酸残基、约22个氨基酸残基、约21个氨基酸残基、约20个氨基酸残基、约19个氨基酸残基、约18个氨基酸残基、约17个氨基酸残基、约16个氨基酸残基、约15个氨基酸残基、约14个氨基酸

残基、约13个氨基酸残基、约12个氨基酸残基、约11个氨基酸残基或前述值中的任意两个的范围。可由本发明的TCR识别的含有G12D突变的具体肽的实例是MTEYKLVVVGADGVGKSALTIQLI (SEQ ID NO:88)。在本发明的一个实施方案中,TCR对SEQ ID NO:88的突变的人类RAS氨基酸序列具有抗原特异性。在本发明的一个实施方案中,TCR对MTEYKLVVVGAGGVGKSALTIQLI (SEQ ID NO:89)的野生型人类RAS氨基酸序列不具有抗原特异性。

[0027] 在本发明的一个实施方案中,本发明的TCR能够识别由HLA II类分子呈递的G12D RAS。在这方面,TCR可在HLA II类分子的背景内结合G12D RAS时引发免疫应答。本发明的TCR能够识别由HLA II类分子呈递的G12D RAS并且可结合除G12D RAS之外的HLA II类分子。

[0028] 在本发明的一个实施方案中,HLA II类分子是HLA-DR异二聚体。HLA-DR异二聚体是包含 α 链和 β 链的细胞表面受体。HLA-DR α 链由HLA-DRA基因编码。HLA-DR β 链由HLA-DRB1基因、HLA-DRB3基因、HLA-DRB4基因或HLA-DRB5基因编码。由HLA-DRB1基因编码的分子的实例可包括(但不限于)HLA-DR1、HLA-DR2、HLA-DR3、HLA-DR4、HLA-DR5、HLA-DR6、HLA-DR7、HLA-DR8、HLA-DR9、HLA-DR10、HLA-DR11、HLA-DR12、HLA-DR13、HLA-DR14、HLA-DR15、HLA-DR16和HLA-DR17。HLA-DRB3基因编码HLA-DR52。HLA-DRB4基因编码HLA-DR53。HLA-DRB5基因编码HLA-DR51。在本发明的一个实施方案中,HLA II类分子包含由HLA-DRB1基因、HLA-DRB3基因或HLA-DRB4基因中的任一种编码的HLA-DR α 链与HLA-DR β 链的组合。在尤其优选的实施方案中,HLA II类分子是HLA-DRB1*03:HLA-DRA*01异二聚体、HLA-DRB1*11:HLA-DRA*01异二聚体、HLA-DRB3*01:HLA-DRA*01异二聚体、HLA-DRB3*03:HLA-DRA*01异二聚体、HLA-DRB4*03:HLA-DRA*01异二聚体或HLA-DRB4*01:HLA-DRA*01异二聚体(即由HLA-DRB1*03:HLA-DRA*01、HLA-DRB1*11:HLA-DRA*01、HLA-DRB3*01:HLA-DRA*01、HLA-DRB3*03:HLA-DRA*01、HLA-DRB4*03:HLA-DRA*01或HLA-DRB4*01:HLA-DRA*01等位基因编码)。在一个实施方案中,HLA-DR β 链由HLA-DRB1*03:01、HLA-DRB1*11:01、HLA-DRB3*01:01:02、HLA-DRB3*03:01:01、HLA-DRB4*01:01或HLA-DRB4*03:01等位基因编码。

[0029] 本发明的TCR可提供多种优点中的任一种或多种,包括在由细胞表达时用于过继性细胞转移。G12D RAS由癌细胞表达且正常非癌性细胞不表达。不受限于特定理论或机制,认为本发明的TCR有利地靶向癌细胞的破坏,同时最小化或消除对正常非癌性细胞的破坏,从而减小(例如通过最小化或消除)毒性。此外,因为G12D突变可能发生于肿瘤发生的早期,所以G12D RAS突变可在基本上所有患者的癌细胞上表达。本发明的TCR可有利地成功地治疗或预防不响应于其它类型的治疗(诸如例如化学疗法、手术或辐射)的G12D RAS阳性癌症。另外,本发明的TCR可提供对G12D RAS的高度亲合性识别,其可提供识别未被处理的肿瘤细胞(例如未用干扰素(IFN)- γ 处理的、用编码G12D RAS以及本文所述的任何HLA-DR异二聚体中的一种或两种的载体转染的、用G12D RAS肽脉冲的或以上组合的肿瘤细胞)的能力。在约70%的胰腺癌、36%的结肠直肠癌和20%的肺癌中发现了KRAS突变。最常见的是,突变发生在密码子12(编码甘氨酸,G)中。分别在约40%和约12%的患有胰腺癌和结肠直肠癌的患者中发现G12D RAS突变。此外,HLA-DRB1*03、HLA-DRB1*11、HLA-DRB3*01、HLA-DRB3*03、HLA-DRB4*01和HLA-DRB4*03等位基因是常见的。这些等位基因在美国由超过10%的具有高加索人种族的人表达,并且也通常由具有其它种族的人表达。因此,本发明的TCR可增加符

合免疫疗法条件的癌症患者的数量,以包括表达HLA-DRB1*03、HLA-DRB1*11、HLA-DRB3*01、HLA-DRB3*03、HLA-DRB4*01或HLA-DRB4*03等位基因的那些患者,其可能不符合使用识别由其它MHC分子呈递的RAS的TCR的免疫疗法。此外,本发明的TCR、多肽和蛋白质包含人CDR和可变区氨基酸序列,其与例如包含小鼠CDR和可变区氨基酸序列的TCR、多肽和蛋白质相比,可降低人类免疫系统排斥的风险。

[0030] 本文所用的词组“抗原特异性”意指TCR可以以高亲和力特异性结合且免疫性识别G12D RAS。例如,在与(a)用低浓度的G12D RAS肽(例如约0.05ng/mL至约10ng/mL、1ng/mL、2ng/mL、5ng/mL、8ng/mL、10ng/mL或由前述值中的任两个限定的范围)脉冲的抗原阴性HLA II类分子阳性靶细胞或(b)抗原阴性HLA II类分子阳性靶细胞(其中已经引入编码G12D RAS的核苷酸序列使得靶细胞表达G12D RAS)一起共培养后,如果约 1×10^4 至约 1×10^5 个表达TCR的T细胞分泌至少约200pg/mL或更多(例如200pg/mL或更多、300pg/mL或更多、400pg/mL或更多、500pg/mL或更多、600pg/mL或更多、700pg/mL或更多、1000pg/mL或更多、5,000pg/mL或更多、7,000pg/mL或更多、10,000pg/mL或更多、20,000pg/mL或更多或由前述值中的任两个限定的范围)的IFN- γ ,则可认为TCR对G12D RAS具有“抗原特异性”。在与用较高浓度的G12D RAS肽脉冲的抗原阴性HLA II类分子阳性靶细胞一起共培养后,表达本发明的TCR的细胞也可分泌IFN- γ 。HLA II类分子可为本文所述的HLA II类分子中的任一种。

[0031] 可选地或另外,在与(a)用低浓度的G12D RAS肽脉冲的抗原阴性HLA II类分子阳性靶细胞或(b)引入编码G12D RAS的核苷酸序列使得靶细胞表达G12D RAS的抗原阴性HLA II类分子阳性靶细胞一起共培养后,如果与由阴性对照表达的IFN- γ 的量相比表达TCR的T细胞分泌至少两倍(例如5倍)的IFN- γ ,则可认为TCR对G12D RAS具有“抗原特异性”。阴性对照可为例如(i)与(a)用相同浓度的不相关肽(例如具有来自G12D RAS肽的不同序列的一些其它肽)脉冲的抗原阴性HLA II类分子阳性靶细胞或(b)引入编码不相关肽的核苷酸序列使得靶细胞表达不相关肽的抗原阴性HLA II类分子阳性靶细胞一起共培养的表达TCR的T细胞;或(ii)与(a)用相同浓度的G12D RAS肽脉冲的抗原阴性HLA II类分子阳性靶细胞或(b)引入编码G12D RAS的核苷酸序列使得靶细胞表达G12D RAS的抗原阴性HLA II类分子阳性靶细胞一起共培养的未转导的T细胞(例如衍生自不表达TCR的PBMC)。由阴性对照的靶细胞表达的HLA II类分子与由与所测试的T细胞一起共培养的靶细胞表达的HLA II类分子相同。HLA II类分子可为本文所述的HLA II类分子中的任一种。可通过本领域已知的方法(诸如例如酶联免疫吸附测定(ELISA))测量IFN- γ 分泌。

[0032] 可选地或另外,在与(a)用低浓度的G12D RAS肽脉冲的抗原阴性HLA II类分子阳性靶细胞或(b)引入编码G12D RAS的核苷酸序列使得靶细胞表达G12D RAS的抗原阴性HLA II类分子阳性靶细胞一起共培养后,与分泌IFN- γ 的阴性对照T细胞的数量相比,如果至少两倍(例如5倍)数量的表达TCR的T细胞分泌IFN- γ ,则可认为TCR对G12D RAS具有“抗原特异性”。HLA II类分子、肽浓度和阴性对照可如本文针对本发明的其它方面所述。可通过本领域已知的方法(诸如例如ELISPOT)测量分泌IFN- γ 的细胞数量。

[0033] 可选地或另外,在用表达G12D RAS的靶细胞刺激之后,如果表达TCR的T细胞上调一种或多种T细胞活化标志物的表达(如例如通过流式细胞术所测量的),则可认为TCR对G12D RAS具有“抗原特异性”。T细胞活化标志物的实例包括4-1BB、OX40、CD107a、CD69以及在抗原刺激时上调的细胞因子(例如肿瘤坏死因子(TNF)、白介素(IL)-2等)。

[0034] 本发明的一个实施方案提供了包括两条多肽(即多肽链)的TCR,所述多肽是诸如(例如)TCR的阿尔法(α)链、TCR的贝塔(β)链、TCR的伽马(γ)链、TCR的德尔塔(δ)链或其组合。本发明的TCR的多肽可包含任何氨基酸序列,条件是TCR对G12D RAS具有抗原特异性。在一些实施方案中,TCR是非天然存在的。

[0035] 在本发明的一个实施方案中,TCR包含两条多肽链,所述多肽链各自包含含有TCR的互补决定区(CDR)1、CDR2和CDR3的可变区。在本发明的一个实施方案中,TCR包含第一多肽链和第二多肽链,所述第一多肽链包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的CDR1(4271TCR1的 α 链的CDR1)、含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR2(4271TCR1的 α 链的CDR2)和含有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的CDR3(4271TCR1的 α 链的CDR3);所述第二多肽链包含含有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR1(4271TCR1的 β 链的CDR1)、含有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR2(4271TCR1的 β 链的CDR2)和含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的CDR3(4271TCR1的 β 链的CDR3)。

[0036] 在本发明的另一个实施方案中,TCR包含第一多肽链和第二多肽链,所述第一多肽链包含含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的CDR1(4271TCR2的 α 链的CDR1),含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR2(4271TCR2的 α 链的CDR2)和含有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR3(4271TCR2的 α 链的CDR3),所述第二多肽链含有SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1(4271TCR2的 β 链的CDR1),含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR2(4271TCR2的 β 链的CDR2)和含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR3(4271TCR2的 β 链的CDR3)。

[0037] 在本发明的另一个实施方案中,TCR包含第一多肽链和第二多肽链,所述第一多肽链包含含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR1(4271TCR3的 α 链的CDR1),含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR2(4271TCR3的 α 链的CDR2)和含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR3(4271TCR3的 α 链的CDR3),所述第二多肽链含有SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR1(4271TCR3的 β 链的CDR1),含有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR2(4271TCR3的 β 链的CDR2)和含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR3(4271TCR3的 β 链的CDR3)。

[0038] 在本发明的另一个实施方案中,TCR包含第一多肽链和第二多肽链,所述第一多肽链包含含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR1(4271TCR4的 α 链的CDR1),含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR2(4271TCR4的 α 链的CDR2)和含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR3(4271TCR4的 α 链的CDR3),所述第二多肽链含有SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR1(4271TCR4的 β 链的CDR1),含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的CDR2(4271TCR4的 β 链的CDR2)和含有SEQ ID NO:36的氨基酸序列的CDR3(4271TCR4的 β 链的CDR3)。

[0039] 在这方面,本发明的TCR可包含选自SEQ ID NO:1-6、11-16、21-26和31-36的氨基酸序列中的任一个或多个。在本发明的一个实施方案中,TCR包含以下氨基酸序列:(a) SEQ ID NO:1-3的全部,(b) SEQ ID NO:4-6的全部,(c) SEQ ID NO:1-6的全部,(d) SEQ ID NO:11-13的全部,(e) SEQ ID NO:14-16的全部,(f) SEQ ID NO:11-16的全部,(g) SEQ ID NO:21-23的全部,(h) SEQ ID NO:24-26的全部,(i) SEQ ID NO:21-26的全部,(j) SEQ ID NO:31-33的全部,(k) SEQ ID NO:34-36的全部或(l) SEQ ID NO:31-36的全部。在尤其优选的实施方案中,TCR包含以下氨基酸序列:(a) SEQ ID NO:1-6的全部,(b) SEQ ID NO:11-16的全部,(c) SEQ ID NO:21-26的全部或(d) SEQ ID NO:31-36的全部。

[0040] 在本发明的一个实施方案中,TCR包含含有以上示出的CDR的TCR的可变区的氨基

酸序列。在这方面,TCR可包含以下氨基酸序列:(i)SEQ ID NO:7(不具有N端信号肽的4271TCR1的 α 链的可变区的预测序列);(ii)SEQ ID NO:8(不具有N端信号肽的4271TCR1的 β 链的可变区的预测序列);(iii)SEQ ID NO:9(具有N端信号肽的4271TCR1的 α 链的可变区);(iv)SEQ ID NO:10(具有N端信号肽的4271TCR1的 β 链的可变区);(v)(SEQ ID NO:17(不具有N端信号肽的4271TCR2的 α 链的可变区的预测序列);(vi)(SEQ ID NO:18(不具有N端信号肽的4271TCR2的 β 链的可变区的预测序列);(vii)SEQ ID NO:19(具有N端信号肽的4271TCR2的 α 链的可变区);(viii)SEQ ID NO:20(具有N端信号肽的4271TCR2的 β 链的可变区);(ix)SEQ ID NO:27(不具有N端信号肽的4271TCR3的 α 链的可变区的预测序列);(x)SEQ ID NO:28(不具有N端信号肽的4271TCR3的 β 链的可变区的预测序列);(xi)SEQ ID NO:29(具有N端信号肽的4271TCR3的 α 链的可变区);(xii)SEQ ID NO:30(具有N端信号肽的4271TCR3的 β 链的可变区);(xiii)SEQ ID NO:37(不具有N端信号肽的4271TCR4的 α 链的可变区的预测序列);(xiv)SEQ ID NO:38(不具有N端信号肽的4271TCR4的 β 链的可变区的预测序列);(xv)SEQ ID NO:39(具有N端信号肽的4271TCR4的 α 链的可变区);(xvi)SEQ ID NO:40(具有N端信号肽的4271TCR4的 β 链的可变区);(xvii)SEQ ID NO:7和8两者;(xviii)SEQ ID NO:9和10两者;(xix)SEQ ID NO:17和18两者;(xx)SEQ ID NO:19和20两者;(xxi)SEQ ID NO:27和28两者;(xxii)SEQ ID NO:29和30两者;(xxiii)SEQ ID NO:37和38两者;或(xxiv)SEQ ID NO:39和40两者。优选地,所述TCR包含以下氨基酸序列:(i)SEQ ID NO:7和8两者,(ii)SEQ ID NO:9和10两者,(iii)SEQ ID NO:17和18两者,(iv)SEQ ID NO:19和20两者,(v)SEQ ID NO:27和28两者,(vi)SEQ ID NO:29和30两者,(vii)SEQ ID NO:37和38两者,或(viii)SEQ ID NO:39和40两者。

[0041] 本发明的TCR还可包含 α 链恒定区和 β 链恒定区。恒定区可来源于任何合适的物种,诸如例如人类或小鼠。在本发明的一个实施方案中,TCR还包含鼠类 α 和 β 链恒定区或人类 α 和 β 链恒定区。如本文所用,在提及TCR或本文所述TCR的任意组分(例如CDR、可变区、恒定区、 α 链和/或 β 链)时,术语“鼠类”或“人类”意指分别来源于小鼠或人类的TCR(或其组分),即分别源自小鼠T细胞或人类T细胞或者由其一次性表达的TCR(或其组分)。

[0042] 本发明的一个实施方案提供了包含人类可变区和鼠类恒定区的嵌合TCR,其中TCR对于突变的人类RAS氨基酸序列具有抗原特异性,所述突变的人类RAS氨基酸序列在位置12处的甘氨酸被天冬氨酸取代。鼠类恒定区可提供任一种或多种优点。例如,鼠类恒定区可减少本发明的TCR与引入本发明TCR的宿主细胞的内源性TCR的错配。可选地或另外,与具有人类恒定区的相同TCR相比,鼠类恒定区可增加本发明TCR的表达。嵌合TCR可包含SEQ ID NO:53(WT鼠类 α 链恒定区)、SEQ ID NO:54(WT鼠类 β 链恒定区)或SEQ ID NO:53和54的氨基酸序列。优选地,本发明的TCR包含SEQ ID NO:53和54的氨基酸序列。嵌合TCR可包含本文所述的任何鼠类恒定区与如本文针对本发明的其它方面所述的任何CDR区的组合。在这方面,TCR可包含以下氨基酸序列:(a)SEQ ID NO:1-3和53的全部,(b)SEQ ID NO:4-6和54的全部,(c)SEQ ID NO:1-6和53-54的全部,(d)SEQ ID NO:11-13和53的全部,(e)SEQ ID NO:14-16和54的全部,(f)SEQ ID NO:11-16和53-54的全部,(g)SEQ ID NO:21-23和53的全部,(h)SEQ ID NO:24-26和54的全部,(i)SEQ ID NO:21-26和53-54的全部,(j)SEQ ID NO:31-33和53的全部,(k)SEQ ID NO:34-36和54的全部,或(l)SEQ ID NO:31-36和53-54的全部。在本发明的另一个实施方案中,嵌合TCR可包含本文所述的任何鼠类恒定区与本文针对本发

明的其它方面所述的任何可变区的组合。在这方面,TCR可包含以下氨基酸序列:(i)SEQ ID NO:7和53两者,(ii)SEQ ID NO:8和54两者,(iii)SEQ ID NO:9和53两者,(iv)SEQ ID NO:10和54两者,(v)SEQ ID NO:17和53两者,(vi)SEQ ID NO:18和54两者,(vii)SEQ ID NO:19和53两者,(viii)SEQ ID NO:20和54两者,(ix)SEQ ID NO:27和53两者,(x)SEQ ID NO:28和54两者,(xi)SEQ ID NO:29和53两者,(xii)SEQ ID NO:30和54两者,(xiii)SEQ ID NO:37和53两者,(xiv)SEQ ID NO:38和54两者,(xv)SEQ ID NO:39和53两者,(xvi)SEQ ID NO:40和54两者,(xvii)SEQ ID NO:7-8和53-54的全部,(xviii)SEQ ID NO:9-10和53-54的全部,(xix)SEQ ID NO:17-18和53-54的全部,(xx)SEQ ID NO:19-20和53-54的全部,(xxi)SEQ ID NO:27-28和53-54的全部,(xxii)SEQ ID NO:29-30和53-54的全部,(xxiii)SEQ ID NO:37-38和53-54的全部,或(xxiv)SEQ ID NO:39-40和53-54的全部。

[0043] 在本发明的一个实施方案中,TCR包含取代的恒定区。在这方面,TCR可包含本文所述的任何TCR的氨基酸序列,其中在 α 和 β 链之一或两者的恒定区中具有一个、两个、三个或四个氨基酸取代。优选地,TCR包含鼠类恒定区,其中在 α 和 β 链之一或两者的鼠类恒定区中具有一个、两个、三个或四个氨基酸取代。在一个尤其优选的实施方案中,TCR包含鼠类恒定区,其中在 α 链的鼠类恒定区中具有一个、两个、三个或四个氨基酸取代以及在 β 链的鼠类恒定区中具有一个氨基酸取代。在一些实施方案中,与包含未取代(野生型)恒定区的亲本TCR相比,含取代的恒定区的TCR有利地提供增加的G12D RAS⁺靶标的识别、增加的宿主细胞表达、减少的与内源性TCR的错配和增加的抗肿瘤活性中的一种或多种。一般而言,TCR α 和 β 链的鼠类恒定区的取代的氨基酸序列SEQ ID NO:49和50分别对应于未取代的鼠类恒定区氨基酸序列SEQ ID NO:53和54的全部或一部分,其中SEQ ID NO:49在与SEQ ID NO:53相比时具有一个、两个、三个或四个氨基酸取代以及SEQ ID NO:50在与SEQ ID NO:54相比时具有一个氨基酸取代。在这方面,本发明的一个实施方案提供了包含以下氨基酸序列的TCR:(a)SEQ ID NO:49(α 链的恒定区),其中(i)位置48处的X是Thr或Cys;(ii)位置112处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;(iii)位置114处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;以及(iv)位置115处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;(b)SEQ ID NO:50(β 链的恒定区),其中位置57处的X是Ser或Cys;或(c)SEQ ID NO:19和20两者。在本发明的一个实施方案中,包含SEQ ID NO:49的TCR不包含SEQ ID NO:53(α 链的未取代的鼠类恒定区)。在本发明的一个实施方案中,包含SEQ ID NO:50的TCR不包含SEQ ID NO:54(β 链的未取代的鼠类恒定区)。

[0044] 在本发明的一个实施方案中,TCR包含含有可变区和恒定区的 α 链和含有可变区和恒定区的 β 链。在这方面,TCR可包含:(a)含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的 α 链(具有N端信号肽的4271TCR1的 α 链),其中:(i)SEQ ID NO:55的位置184处的X为Thr或Cys;(ii)SEQ ID NO:55的位置248处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;(iii)SEQ ID NO:55的位置250处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;以及(iv)SEQ ID NO:55的位置251处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;(b)含有SEQ ID NO:56的氨基酸序列的 β 链(具有N端信号肽的4271TCR1的 β 链),其中SEQ ID NO:56的位置199处的X是Ser或Cys;(c)SEQ ID NO:55和56两者;(d)含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的 α 链(不具有N端信号肽的4271TCR1的 α 链的预测序列),其中:(i)SEQ ID NO:57的位置165处的X是Thr或Cys;(ii)SEQ ID NO:57的位置229处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;(iii)SEQ ID

NO:57的位置231处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;以及(iv)SEQ ID NO:57的位置232处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;(e)含有SEQ ID NO:58的氨基酸序列的 β 链(不具有N端信号肽的4271TCR1的 β 链的预测序列),其中SEQ ID NO:58的位置175处的X是Ser或Cys;(f)SEQ ID NO:57和58两者;(g)SEQ ID NO:59(具有N端信号序列的半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR1的 α 链);(h)SEQ ID NO:60(具有N端信号序列的半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR1的 β 链);(i)SEQ ID NO:61(不具有N端信号序列的半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR1的 α 链的预测序列);(j)SEQ ID NO:62(不具有N端信号序列的半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR1的 β 链的预测序列);(k)SEQ ID NO:59和60两者;(l)SEQ ID NO:61和62两者;(m)含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的 α 链(具有N端信号肽的4271TCR2的 α 链),其中:(i)SEQ ID NO:63的位置182处的X是Thr或Cys;(ii)SEQ ID NO:63的位置246处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;(iii)SEQ ID NO:63的位置248处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;以及(iv)SEQ ID NO:63的位置249处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;(n)含有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的 β 链(具有N端信号肽的4271TCR2的 β 链),其中SEQ ID NO:64的位置197处的X是Ser或Cys;(o)SEQ ID NO:63和64两者;(p)含有SEQ ID NO:65的氨基酸序列的 α 链(不具有N端信号肽的4271TCR2的 α 链的预测序列),其中:(i)SEQ ID NO:65的位置164处的X是Thr或Cys;(ii)SEQ ID NO:65的位置228处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;(iii)SEQ ID NO:65的位置230处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;以及(iv)SEQ ID NO:65的位置231处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;(q)含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的 β 链(不具有N端信号肽的4271TCR2的 β 链的预测序列),其中SEQ ID NO:66的位置173处的X是Ser或Cys;(r)SEQ ID NO:65和66两者;(s)SEQ ID NO:67(α 链of半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR2具有N端信号序列的);(t)SEQ ID NO:68(β 链of半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR2具有N端信号序列的);(u)SEQ ID NO:69(不具有N端信号序列的半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR2的 α 链的预测序列);(v)SEQ ID NO:70(不具有N端信号序列的半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR2的 β 链的预测序列);(w)SEQ ID NO:67和68两者;(x)SEQ ID NO:69和70两者;(y)含有SEQ ID NO:71的氨基酸序列的 α 链(具有N端信号肽的4271TCR3的 α 链),其中:(i)SEQ ID NO:71的位置187处的X是Thr或Cys;(ii)SEQ ID NO:71的位置251处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;(iii)SEQ ID NO:71的位置253处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;以及(iv)SEQ ID NO:71的位置254处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;(z)含有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的 β 链(具有N端信号肽的4271TCR3的 β 链),其中SEQ ID NO:72的位置191处的X是Ser或Cys;(aa)SEQ ID NO:71和72两者;(bb)含有SEQ ID NO:73的氨基酸序列的 α 链(不具有N端信号肽的4271TCR3的 α 链的预测序列),其中:(i)SEQ ID NO:73的位置168处的X是Thr或Cys;(ii)SEQ ID NO:73的位置232处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;(iii)SEQ ID NO:73的位置234处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;以及(iv)SEQ ID NO:73的位置235处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;(cc)含有SEQ ID NO:74的氨基酸序列的 β 链(不具有N端信号肽的4271TCR3的 β 链的预测序列),其中SEQ ID NO:74的位置173处的X是Ser或Cys;(dd)SEQ ID NO:73和74两者;(ee)SEQ ID NO:75(具有N端信号序列的半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR3的 α 链);

(ff) SEQ ID NO:76 (具有N端信号序列的半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR3的 β 链); (gg) SEQ ID NO:77 (不具有N端信号序列的半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR3的 α 链的预测序列); (hh) SEQ ID NO:78 (不具有N端信号序列的半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR3的 β 链的预测序列); (ii) SEQ ID NO:75和76两者; (jj) SEQ ID NO:77和78两者; (kk) 含有SEQ ID NO:79的氨基酸序列的 α 链 (具有N端信号肽的4271TCR4的 α 链), 其中: (i) SEQ ID NO:79的位置175处的X是Thr或Cys; (ii) SEQ ID NO:79的位置239处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp; (iii) SEQ ID NO:79的位置241处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp; 以及 (iv) SEQ ID NO:79的位置242处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp; (ll) 含有SEQ ID NO:80的氨基酸序列的 β 链 (具有N端信号肽的4271TCR4的 β 链), 其中SEQ ID NO:80的位置190处的X是Ser或Cys; (mm) SEQ ID NO:79和80两者; (nn) 含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的 α 链 (不具有N端信号肽的4271TCR4的 α 链的预测序列), 其中: (i) SEQ ID NO:81的位置159处的X是Thr或Cys; (ii) SEQ ID NO:81的位置223处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp; (iii) SEQ ID NO:81的位置225处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp; 以及 (iv) SEQ ID NO:81的位置226处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp; (oo) 含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的 β 链 (不具有N端信号肽的4271TCR4的 β 链的预测序列), 其中SEQ ID NO:82的位置172处的X是Ser或Cys; (pp) SEQ ID NO:81和82两者; (qq) SEQ ID NO:83 (具有N端信号序列的半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR4的 α 链); (rr) SEQ ID NO:84 (具有N端信号序列的半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR4的 β 链); (ss) SEQ ID NO:85 (不具有N端信号序列的半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR4的 α 链的预测序列); (tt) SEQ ID NO:86 (不具有N端信号序列的半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR4的 β 链的预测序列); (uu) SEQ ID NO:83和84两者; 或 (vv) SEQ ID NO:85和86两者。

[0045] 在本发明的一个实施方案中, 取代的恒定区包含 α 和 β 链之一或两者的恒定区中的半胱氨酸取代以提供半胱氨酸取代的TCR。 α 链和 β 链中的相对半胱氨酸提供二硫键, 该二硫键使取代的TCR的 α 链和 β 链的恒定区彼此连接并且不存在于包含未取代的鼠类恒定区的TCR中。在这方面, TCR可为半胱氨酸取代的TCR, 其中SEQ ID NO:53的位置48处的天然Thr (Thr48) 和SEQ ID NO:54的位置57处的天然Ser (Ser57) 之一或两者可以被Cys取代。优选地, SEQ ID NO:53的天然Thr48和SEQ ID NO:54的天然Ser57都被Cys取代。半胱氨酸取代的TCR恒定区序列的实例示于表2中。在本发明的一个实施方案中, 半胱氨酸取代的TCR包含 (i) SEQ ID NO:49、(ii) SEQ ID NO:50或 (iii) SEQ ID NO:49和50两者, 其中SEQ ID NO:49和50均如表2中所定义。除本文所述的任何CDR或可变区之外, 本发明的半胱氨酸取代的TCR也可包含取代的恒定区。

[0046] 在本发明的一个实施方案中, 半胱氨酸取代的嵌合TCR包含全长 α 链和全长 β 链。半胱氨酸取代的嵌合TCR α 链和 β 链序列的实例示于表2中。在本发明的一个实施方案中, TCR包含 (i) SEQ ID NO:49, (ii) SEQ ID NO:50, (iii) SEQ ID NO:55, (iv) SEQ ID NO:56, (v) SEQ ID NO:57, (vi) SEQ ID NO:58, (vii) SEQ ID NO:63, (viii) SEQ ID NO:64, (ix) SEQ ID NO:65, (x) SEQ ID NO:66, (xi) SEQ ID NO:71, (xii) SEQ ID NO:72, (xiii) SEQ ID NO:73, (xiv) SEQ ID NO:74, (xv) SEQ ID NO:79, (xvi) SEQ ID NO:80, (xvii) SEQ ID NO:81, (xviii) SEQ ID NO:82, (xix) SEQ ID NO:49和50两者, (xx) SEQ ID NO:55和56两者, (xxi)

SEQ ID NO:57和58两者,(xxii)SEQ ID NO:63和64两者,(xxiii)SEQ ID NO:65和66两者,(xxiv)SEQ ID NO:71和72两者,(xxv)SEQ ID NO:73和74两者,(xxvi)SEQ ID NO:79和80两者,或(xxvii)SEQ ID NO:81和82两者,其中SEQ ID NO:49-50、55-58、63-66、71-74、和79-82全部如表2中所定义。

表2

SEQ ID NO:	“X”的定义
SEQ ID NO: 49 (恒定区 α 链)	位置 48 处的 X 是 Cys, 位置 112 处的 X 是 Ser, 位置 114 处的 X 是 Met, 以及 位置 115 处的 X 是 Gly。
SEQ ID NO: 50 (恒定区 β 链)	位置 57 处的 X 是 Cys
SEQ ID NO: 55 (具有 N 端信号肽的 4271 TCR1 α 链)	位置 184 处的 X 是 Cys, 位置 248 处的 X 是 Ser, 位置 250 处的 X 是 Met, 以及 位置 251 处的 X 是 Gly。
SEQ ID NO: 56 (具有 N 端信号肽的 4271 TCR1 β 链)	位置 199 处的 X 是 Cys
SEQ ID NO: 57 (不具有 N 端信号肽的 4271 TCR1 α 链预测序列)	位置 165 处的 X 是 Cys, 位置 229 处的 X 是 Ser, 位置 231 处的 X 是 Met, 以及 位置 232 处的 X 是 Gly。
SEQ ID NO: 58 (不具有 N 端信号肽的 4271 TCR1 β 链预测序列)	位置 175 处的 X 是 Cys
SEQ ID NO: 63 (具有 N 端信号肽的 4271 TCR2 α 链)	位置 182 处的 X 是 Cys, 位置 246 处的 X 是 Ser, 位置 248 处的 X 是 Met, 以及 位置 249 处的 X 是 Gly。
SEQ ID NO: 64 (具有 N 端信号肽的 4271 TCR2 β 链)	位置 197 处的 X 是 Cys

SEQ ID NO: 65 (不具有 N 端信号肽的 4271 TCR2 α 链预测序列)	位置 164 处的 X 是 Cys, 位置 228 处的 X 是 Ser, 位置 230 处的 X 是 Met, 以及 位置 231 处的 X 是 Gly。
SEQ ID NO: 66 (不具有 N 端信号肽的 4271 TCR2 β 链预测序列)	位置 173 处的 X 是 Cys
SEQ ID NO: 71 (具有 N 端信号肽的 4271 TCR3 α 链)	位置 187 处的 X 是 Cys, 位置 251 处的 X 是 Ser, 位置 253 处的 X 是 Met, 以及 位置 254 处的 X 是 Gly。
SEQ ID NO: 72 (具有 N 端信号肽的 4271 TCR3 β 链)	位置 191 处的 X 是 Cys
SEQ ID NO: 73 (不具有 N 端信号肽的 4271 TCR3 α 链预测序列)	位置 168 处的 X 是 Cys, 位置 232 处的 X 是 Ser, 位置 234 处的 X 是 Met, 以及 位置 235 处的 X 是 Gly。
SEQ ID NO: 74 (不具有 N 端信号肽的 4271 TCR3 β 链预测序列)	位置 173 处的 X 是 Cys
SEQ ID NO: 79 (具有 N 端信号肽的 4271 TCR4 α 链)	位置 175 处的 X 是 Cys, 位置 239 处的 X 是 Ser, 位置 241 处的 X 是 Met, 以及 位置 242 处的 X 是 Gly。
SEQ ID NO: 80 (具有 N 端信号肽的 4271 TCR4 β 链)	位置 190 处的 X 是 Cys
SEQ ID NO: 81 (不具有 N 端信号肽的 4271 TCR4 α 链预测序列)	位置 159 处的 X 是 Cys, 位置 223 处的 X 是 Ser, 位置 225 处的 X 是 Met, 以及 位置 226 处的 X 是 Gly。
SEQ ID NO: 82 (不具有 N 端信号肽的 4271 TCR4 β 链预测序列)	位置 172 处的 X 是 Cys

[0047] 在本发明的一个实施方案中,取代的氨基酸序列包含用疏水性氨基酸取代 α 链的恒定区的跨膜(TM)结构域中的一个、两个或三个氨基酸以提供疏水性氨基酸取代的TCR(在本文中也称为“LVL修饰的TCR”)。与在TM结构域中缺乏疏水性氨基酸取代的TCR相比,TCR

的TM结构域中的疏水性氨基酸取代可增加TCR的TM结构域的疏水性。在这方面,TCR是LVL修饰的TCR,其中SEQ ID NO:53的天然Ser112、Met114和Gly115中的一个、两个或三个可独立地被Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp、优选被Leu、Ile或Val取代。优选地,SEQ ID NO:53中的天然Ser112、Met114和Gly115的所有三个均可独立地被Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp,优选被Leu、Ile或Val取代。在本发明的一个实施方案中,LVL修饰的TCR包含(i) SEQ ID NO:49, (ii) SEQ ID NO:50或(iii) SEQ ID NO:49和50两者,其中SEQ ID NO:4和50均如表3中所定义。除本文所述的任何CDR或可变区之外,本发明的LVL修饰的TCR可包含取代的恒定区。

[0048] 在本发明的一个实施方案中,LVL修饰的TCR包含全长 α 链和全长 β 链。LVL修饰的TCR α 链和 β 链序列的实例示于表3中。在本发明的一个实施方案中,所述TCR包含(i) SEQ ID NO:49, (ii) SEQ ID NO:50, (iii) SEQ ID NO:55, (iv) SEQ ID NO:56, (v) SEQ ID NO:57, (vi) SEQ ID NO:58, (vii) SEQ ID NO:63, (viii) SEQ ID NO:64, (ix) SEQ ID NO:65, (x) SEQ ID NO:66, (xi) SEQ ID NO:71, (xii) SEQ ID NO:72, (xiii) SEQ ID NO:73, (xiv) SEQ ID NO:74, (xv) SEQ ID NO:79, (xvi) SEQ ID NO:80, (xvii) SEQ ID NO:81, (xviii) SEQ ID NO:82, (xix) SEQ ID NO:49和50两者, (xx) SEQ ID NO:55和56两者, (xxi) SEQ ID NO:57和58两者, (xxii) SEQ ID NO:63和64两者, (xxiii) SEQ ID NO:65和66两者, (xxiv) SEQ ID NO:71和72两者, (xxv) SEQ ID NO:73和74两者, (xxvi) SEQ ID NO:79和80两者, (xxvii) SEQ ID NO:81和82两者,其中SEQ ID NO:49-50、55-58、63-66、71-74和79-82全部如表3中所定义。

表3

SEQ ID NO:	“X”的定义
SEQ ID NO: 49(恒定区 α 链)	位置 48 处的 X 是 Thr; 位置 112 处的 X 是 Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 112 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 112 处的 X 是 Leu; 位置 114 处的 X 是 Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe 或 Trp; 优选地其中位置 114 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 114 处的 X 是 Ile; 以及 位置 115 处的 X 是 Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 115 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 115 处的 X 是 Val; 其中 SEQ ID NO: 49 不包含 SEQ ID NO: 53(未取代的 α 链恒定区)
SEQ ID NO: 50(恒定区 β 链)	位置 57 处的 X 是 Ser
SEQ ID NO: 55(4271 TCR1 α 链)(具有 N 端信号肽)	位置 184 处的 X 是 Thr; 位置 248 处的 X 是 Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 248 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 248 处的 X 是 Leu; 位置 250 处的 X 是 Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe 或 Trp; 优选地其中位置 250 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 250 处的 X 是 Ile; 以及 位置 251 处的 X 是 Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 251 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 251 处的 X 是 Val, 其中 SEQ ID NO: 55 不包含 SEQ ID NO: 53(未取代的 α 链恒定区)
SEQ ID NO: 56(4271 TCR1 β 链)(具有 N 端信号肽)	位置 199 处的 X 是 Ser
SEQ ID NO: 57(4271 TCR1 α 链)(不具有 N 端信号肽的预测序列)	位置 165 处的 X 是 Thr; 位置 229 处的 X 是 Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 229 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 229 处的 X 是 Leu; 位置 231 处的 X 是 Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe 或 Trp; 优选地其中位置 231 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 231 处的 X 是 Ile; 以及

SEQ ID NO:	“X”的定义
	位置 232 处的 X 是 Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 232 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 232 处的 X 是 Val, 其中 SEQ ID NO: 57 不包含 SEQ ID NO: 53(未取代的 α 链恒定区)
SEQ ID NO: 58(4271 TCR1 β 链)(不具有 N 端信号肽的预测序列)	位置 175 处的 X 是 Ser
SEQ ID NO: 63 (具有 N 端信号肽的 4271 TCR2 α 链)	位置 182 处的 X 是 Thr; 位置 246 处的 X 是 Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 246 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 246 处的 X 是 Leu; 位置 248 处的 X 是 Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe 或 Trp; 优选地其中位置 248 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 248 处的 X 是 Ile; 以及 位置 249 处的 X 是 Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 249 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 249 处的 X 是 Val, 其中 SEQ ID NO: 63 不包含 SEQ ID NO: 53(未取代的 α 链恒定区)
SEQ ID NO: 64 (具有 N 端信号肽的 4271 TCR2 β 链)	位置 197 处的 X 是 Ser
SEQ ID NO: 65 (不具有 N 端信号肽的预测序列的 4271 TCR2 α 链)	位置 164 处的 X 是 Thr; 位置 228 处的 X 是 Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 228 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 228 处的 X 是 Leu; 位置 230 处的 X 是 Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe 或 Trp; 优选地其中位置 230 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 230 处的 X 是 Ile; 以及 位置 231 处的 X 是 Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 231 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 231 处的 X 是 Val, 其中 SEQ ID NO: 65 不包含 SEQ ID NO: 53(未取代的 α 链恒定区)
SEQ ID NO: 66 (不具有 N 端信号肽的预测序列的 4271 TCR2	位置 173 处的 X 是 Ser

SEQ ID NO:	“X”的定义
β 链)	
SEQ ID NO: 71 (具有 N 端信号肽的 4271 TCR3 α 链)	位置 187 处的 X 是 Thr; 位置 251 处的 X 是 Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 251 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 251 处的 X 是 Leu; 位置 253 处的 X 是 Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe 或 Trp; 优选地其中位置 253 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 253 处的 X 是 Ile; 以及 位置 254 处的 X 是 Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 254 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 254 处的 X 是 Val, 其中 SEQ ID NO: 71 不包含 SEQ ID NO: 53(未取代的 α 链恒定区)
SEQ ID NO: 72 (具有 N 端信号肽的 4271 TCR3 β 链)	位置 191 处的 X 是 Ser
SEQ ID NO: 73 (不具有 N 端信号肽的 预测序列的 4271 TCR3 α 链)	位置 168 处的 X 是 Thr; 位置 232 处的 X 是 Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 232 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 232 处的 X 是 Leu; 位置 234 处的 X 是 Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe 或 Trp; 优选地其中位置 234 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 234 处的 X 是 Ile; 以及 位置 235 处的 X 是 Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 235 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 235 处的 X 是 Val, 其中 SEQ ID NO: 73 不包含 SEQ ID NO: 53(未取代的 α 链恒定区)
SEQ ID NO: 74 (不具有 N 端信号肽的 预测序列的 4271 TCR3 β 链)	位置 173 处的 X 是 Ser
SEQ ID NO: 79 (具有 N 端信号肽的 4271 TCR4 α 链)	位置 175 处的 X 是 Thr; 位置 239 处的 X 是 Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 239 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 239 处的 X 是 Leu; 位置 241 处的 X 是 Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe 或 Trp;

SEQ ID NO:	“X”的定义
	优选地其中位置 241 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 241 处的 X 是 Ile; 以及 位置 242 处的 X 是 Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 242 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 242 处的 X 是 Val, 其中 SEQ ID NO: 79 不包含 SEQ ID NO: 53(未取代的 α 链恒定区)
SEQ ID NO: 80 (具有 N 端信号肽的 4271 TCR4 β 链)	位置 190 处的 X 是 Ser
SEQ ID NO: 81 (不具有 N 端信号肽的 预测序列的 4271 TCR4 α 链)	位置 159 处的 X 是 Thr; 位置 223 处的 X 是 Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 223 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 223 处的 X 是 Leu; 位置 225 处的 X 是 Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe 或 Trp; 优选地其中位置 225 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 225 处的 X 是 Ile; 以及 位置 226 处的 X 是 Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 226 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 226 处的 X 是 Val, 其中 SEQ ID NO: 81 不包含 SEQ ID NO: 53(未取代的 α 链恒定区)
SEQ ID NO: 82 (不具有 N 端信号肽的 预测序列的 4271 TCR4 β 链)	位置 172 处的 X 是 Ser

[0049] 在本发明的一个实施方案中,取代的氨基酸序列包含 α 和 β 链之一或两者的恒定区中的半胱氨酸取代与疏水性氨基酸取代 α 链的恒定区的跨膜(TM)结构域中的一个、两个或三个氨基酸的组合(在本文中也称为“半胱氨酸取代的LVL修饰的TCR”)。在这方面,TCR是半胱氨酸取代的LVL修饰的嵌合TCR,其中SEQ ID NO:53的天然Thr48被Cys取代;SEQ ID NO:53的天然Ser112、Met114和Gly115中的一个、两个或三个独立地被Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp、优选被Leu、Ile或Val取代;以及SEQ ID NO:54的天然Ser57被Cys取代。优选地,SEQ ID NO:53中的天然Ser112、Met114和Gly115所有三个可独立地被Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp,优选被Leu、Ile或Val取代。在本发明的一个实施方案中,半胱氨酸取代的LVL修饰的TCR包含(i) SEQ ID NO:49,(ii) SEQ ID NO:50或(iii) SEQ ID NO:49和50两者,其中SEQ ID NO:49和50均如表4中所定义。除本文所述的任何CDR或可变区之外,本发明的半胱氨酸取代的LVL修饰的TCR可包含取代的恒定区。

[0050] 在一个实施方案中,半胱氨酸取代的LVL修饰的TCR包含全长 α 链和全长 β 链。半胱氨酸取代的LVL修饰的TCR α 链和 β 链序列的实例示于表4和7中。在本发明的一个实施方案

中,所述TCR包含(1)SEQ ID NO:49,(2)SEQ ID NO:50,(3)SEQ ID NO:55,(4)SEQ ID NO:56,(5)SEQ ID NO:57,(6)SEQ ID NO:58,(7)SEQ ID NO:63,(8)SEQ ID NO:64,(9)SEQ ID NO:65,(10)SEQ ID NO:66,(11)SEQ ID NO:71,(12)SEQ ID NO:72,(13)SEQ ID NO:73,(14)SEQ ID NO:74,(15)SEQ ID NO:79,(16)SEQ ID NO:80,(17)SEQ ID NO:81,(18)SEQ ID NO:82,(19)SEQ ID NO:49和50两者,(20)SEQ ID NO:55和56两者,(21)SEQ ID NO:57和58两者,(22)SEQ ID NO:63和64两者,(23)SEQ ID NO:65和66两者,(24)SEQ ID NO:71和72两者,(25)SEQ ID NO:73和74两者,(26)SEQ ID NO:79和80两者,(27)SEQ ID NO:81和82两者,(28)SEQ ID NO:59,(29)SEQ ID NO:60,(30)SEQ ID NO:59和60两者,(31)SEQ ID NO:61,(32)SEQ ID NO:62,(33)SEQ ID NO:61和62两者,(34)SEQ ID NO:67,(35)SEQ ID NO:68,(36)SEQ ID NO:67和68两者,(37)SEQ ID NO:69,(38)SEQ ID NO:70,(39)SEQ ID NO:69和70两者,(40)SEQ ID NO:75,(41)SEQ ID NO:76,(42)SEQ ID NO:75和76两者,(43)SEQ ID NO:77,(44)SEQ ID NO:78,(45)SEQ ID NO:77和78两者,(46)SEQ ID NO:83,(47)SEQ ID NO:84,(48)SEQ ID NO:83和84两者,(49)SEQ ID NO:85,(50)SEQ ID NO:86或(51)SEQ ID NO:85和86两者,其中SEQ ID NO:49-50、55-58、63-66、71-74和79-82全部如表4中所定义。

表4

SEQ ID NO:	“X”的定义
SEQ ID NO: 49(恒定区 α 链)	位置 48 处的 X 是 Cys; 位置 112 处的 X 是 Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 112 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 112 处的 X 是 Leu; 位置 114 处的 X 是 Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe 或 Trp; 优选地其中位置 114 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 114 处的 X 是 Ile; 以及 位置 115 处的 X 是 Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 115 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 以及尤其优选地其中位置 115 处的 X 是 Val, 其中 SEQ ID NO: 49 不同时包含在位置 112 处的 Ser、在位置 114 处的 Met 以及在位置 115 处的 Gly 的全部。
SEQ ID NO: 50(恒定区 β 链)	位置 57 处的 X 是 Cys
SEQ ID NO: 55(4271 TCR1 α 链)(具有 N 端信号肽)	位置 184 处的 X 是 Cys; 位置 248 处的 X 是 Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 248 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 248 处的 X 是 Leu; 位置 250 处的 X 是 Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe 或 Trp; 优选地其中位置 250 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 250 处的 X 是 Ile; 以及 位置 251 处的 X 是 Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 251 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 以及尤其优选地其中位置 251 处的 X 是 Val, 其中 SEQ ID NO: 55 不同时包含在位置 248 处的 Ser、在位置 250 处的 Met 以及在位置 251 处的 Gly 的全部。
SEQ ID NO: 56(4271 TCR1 β 链)(具有 N 端信号肽)	位置 199 处的 X 是 Cys
SEQ ID NO: 57(4271 TCR1 α 链)(不具有 N 端信号肽的预测序列)	位置 165 处的 X 是 Cys; 位置 229 处的 X 是 Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 229 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 229 处的 X 是 Leu;

SEQ ID NO:	“X”的定义
	位置 231 处的 X 是 Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe 或 Trp; 优选地其中位置 231 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 231 处的 X 是 Ile; 以及 位置 232 处的 X 是 Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 232 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 以及尤其优选地其中位置 232 处的 X 是 Val, 其中 SEQ ID NO: 57 不同时包含在位置 229 处的 Ser、在位置 231 处的 Met 以及在位置 232 处的 Gly 的全部。
SEQ ID NO: 58(4271 TCR1 β 链)(不具有 N 端信号肽的预测序列)	位置 175 处的 X 是 Cys;
SEQ ID NO: 63 (具有 N 端信号肽的 4271 TCR2 α 链)	位置 182 处的 X 是 Cys; 位置 246 处的 X 是 Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 246 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 246 处的 X 是 Leu; 位置 248 处的 X 是 Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe 或 Trp; 优选地其中位置 248 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 248 处的 X 是 Ile; 以及 位置 249 处的 X 是 Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 249 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 以及尤其优选地其中位置 249 处的 X 是 Val, 其中 SEQ ID NO: 63 不同时包含在位置 246 处的 Ser、在位置 248 处的 Met 以及在位置 249 处的 Gly 的全部。
SEQ ID NO: 64 (具有 N 端信号肽的 4271 TCR2 β 链)	位置 197 处的 X 是 Cys
SEQ ID NO: 65 (不具有 N 端信号肽的预测序列的 4271 TCR2 α 链)	位置 164 处的 X 是 Cys; 位置 228 处的 X 是 Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 228 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 228 处的 X 是 Leu; 位置 230 处的 X 是 Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe 或 Trp; 优选地其中位置 230 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 230 处的 X 是 Ile; 以及 位置 231 处的 X 是 Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 231 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 以及尤其优选地其

SEQ ID NO:	“X”的定义
	中位置 231 处的 X 是 Val, 其中 SEQ ID NO: 65 不同时包含在位置 228 处的 Ser、在位置 230 处的 Met 以及在位置 231 处的 Gly 的全部。
SEQ ID NO: 66 (不具有 N 端信号肽的预测序列的 4271 TCR2 β 链)	位置 173 处的 X 是 Cys
SEQ ID NO: 71 (具有 N 端信号肽的 4271 TCR3 α 链)	位置 187 处的 X 是 Cys; 位置 251 处的 X 是 Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 251 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 251 处的 X 是 Leu; 位置 253 处的 X 是 Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe 或 Trp; 优选地其中位置 253 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 253 处的 X 是 Ile; 以及 位置 254 处的 X 是 Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 254 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 以及尤其优选地其中位置 254 处的 X 是 Val, 其中 SEQ ID NO: 71 不同时包含在位置 251 处的 Ser、在位置 253 处的 Met 以及在位置 254 处的 Gly 的全部。
SEQ ID NO: 72 (具有 N 端信号肽的 4271 TCR3 β 链)	位置 191 处的 X 是 Cys
SEQ ID NO: 73 (不具有 N 端信号肽的预测序列的 4271 TCR3 α 链)	位置 168 处的 X 是 Cys; 位置 232 处的 X 是 Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 232 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 232 处的 X 是 Leu; 位置 234 处的 X 是 Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe 或 Trp; 优选地其中位置 234 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 尤其优选地其中位置 234 处的 X 是 Ile; 以及 位置 235 处的 X 是 Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 或 Trp; 优选地其中位置 235 处的 X 是 Leu、Ile 或 Val; 以及尤其优选地其中位置 235 处的 X 是 Val, 其中 SEQ ID NO: 73 不同时包含在位置 232 处的 Ser、在位置 234 处的 Met 以及在位置 235 处的 Gly 的全部。
SEQ ID NO: 74	位置 173 处的 X 是 Cys。

SEQ ID NO:	“X”的定义
(不具有 N 端信号肽的预测序列的 4271 TCR3 β 链)	

[0051] 在本发明的一个实施方案中,半胱氨酸取代的LVL修饰的TCR包含 (a) SEQ ID NO: 51(半胱氨酸取代的LVL修饰的TCR的 α 链恒定区); (b) SEQ ID NO: 52(半胱氨酸取代的LVL修饰的TCR的 β 链恒定区); 或(c) (a) 和(b)两者。

[0052] 本发明还提供了包含本文所述的任何TCR的功能部分的多肽。本文所用的术语“多肽”包括寡肽并且是指通过一个或多个肽键连接的氨基酸单链。

[0053] 就本发明的多肽而言,功能部分可为包含作为其一部分的TCR的连续氨基酸的任何部分,条件是功能部分特异性结合G12D RAS。术语“功能部分”在提及TCR使用时是指本发明的TCR的任何部分或片段,所述部分或片段保留所述部分或片段所来源的TCR(亲本TCR)的生物活性。功能部分涵盖例如TCR中的那些部分,其保留以与亲本TCR类似的程度、相同的程度或更高的程度特异性结合G12D RAS(例如在本文所述的HLA II类分子的背景内),或者检测、治疗或预防癌症的能力。关于亲本TCR,功能部分可包含所述亲本TCR的例如约10%、约25%、约30%、约50%、约70%、约80%、约90%、约95%或更多。

[0054] 功能部分可在该部分的氨基或羧基末端或两个末端处包含另外的氨基酸,在亲本TCR的氨基酸序列中没有发现所述另外的氨基酸。期望地,另外的氨基酸并不干扰功能部分的生物功能,例如特异性结合G12D RAS和/或能够检测、治疗或预防癌症等。更期望地,与亲本TCR的生物活性相比,另外的氨基酸增强生物活性。

[0055] 多肽可包含本发明的TCR的 α 链和 β 链之一或两者的功能部分,如包含本发明的TCR的 α 链和/或 β 链的可变区的CDR1、CDR2和CDR3中的一个或多个的功能部分。在本发明的一个实施方案中,多肽可包含SEQ ID NO:1(4271TCR1的 α 链的CDR1)、SEQ ID NO:2(4271TCR1的 α 链的CDR2)、SEQ ID NO:3(4271TCR1的 α 链的CDR3)、SEQ ID NO:4(4271TCR1的 β 链的CDR1)、SEQ ID NO:5(4271TCR1的 β 链的CDR2)、SEQ ID NO:6(4271TCR1的 β 链的CDR3)、SEQ ID NO:11(4271TCR2的 α 链的CDR1)、SEQ ID NO:12(4271TCR2的 α 链的CDR2)、SEQ ID NO:13(4271TCR2的 α 链的CDR3)、SEQ ID NO:14(4271TCR2的 β 链的CDR1)、SEQ ID NO:15(4271TCR2的 β 链的CDR2)、SEQ ID NO:16(4271TCR2的 β 链的CDR3)、SEQ ID NO:21(4271TCR3的 α 链的CDR1)、SEQ ID NO:22(4271TCR3的 α 链的CDR2)、SEQ ID NO:23(4271TCR3的 α 链的CDR3)、SEQ ID NO:24(4271TCR3的 β 链的CDR1)、SEQ ID NO:25(4271TCR3的 β 链的CDR2)、SEQ ID NO:26(4271TCR3的 β 链的CDR3)、SEQ ID NO:31(4271TCR4的 α 链的CDR1)、SEQ ID NO:32(4271TCR4的 α 链的CDR2)、SEQ ID NO:33(of 4271TCR4的 α 链的CDR3)、SEQ ID NO:34(4271TCR4的 β 链的CDR1)、SEQ ID NO:35(4271TCR4的 β 链的CDR2)、SEQ ID NO:36(4271TCR4的 β 链的CDR3)的氨基酸序列或其组合。在这方面,本发明的多肽可包含选自SEQ ID NO:1-6、11-16、21-26和31-36的任何一个或多个氨基酸序列。在本发明的一个实施方案中,TCR包含以下氨基酸序列: (a) SEQ ID NO:1-3的全部, (b) SEQ ID NO:4-6的全部, (c) SEQ ID NO:1-6的全部, (d) SEQ ID NO:11-13的全部, (e) SEQ ID NO:14-16的全部, (f) SEQ ID NO:11-16的全部, (g) SEQ ID NO:21-23的全部, (h) SEQ ID NO:24-26的全部, (i) SEQ ID NO:21-26的全部, (j)

SEQ ID NO:31-33的全部, (k)SEQ ID NO:34-36的全部或(l)SEQ ID NO:31-36的全部。在一个优选的实施方案中, 多肽包含(i)SEQ ID NO:1-6, (ii)SEQ ID NO:11-16, (iii)SEQ ID NO:21-26或(iv)SEQ ID NO:31-36的全部的氨基酸序列。

[0056] 在本发明的一个实施方案中, 本发明的多肽可包含(例如)含有上文示出的CDR区的组合的本发明的TCR的可变区。在这方面, 多肽可包含以下氨基酸序列: (i)SEQ ID NO:7(不具有N端信号肽的4271TCR1的 α 链的可变区的预测序列); (ii)SEQ ID NO:8(不具有N端信号肽的4271TCR1的 β 链的可变区的预测序列); (iii)SEQ ID NO:9(具有N端信号肽的4271TCR1的 α 链的可变区); (iv)SEQ ID NO:10(具有N端信号肽的4271TCR1的 β 链的可变区); (v)SEQ ID NO:17(不具有N端信号肽的4271TCR2的 α 链的可变区的预测序列); (vi)SEQ ID NO:18(不具有N端信号肽的4271TCR2的 β 链的可变区的预测序列); (vii)SEQ ID NO:19(具有N端信号肽的4271TCR2的 α 链的可变区); (viii)SEQ ID NO:20(具有N端信号肽的4271TCR2的 β 链的可变区); (ix)SEQ ID NO:27(不具有N端信号肽的4271TCR3的 α 链的可变区的预测序列); (x)SEQ ID NO:28(不具有N端信号肽的4271TCR3的 β 链的可变区的预测序列); (xi)SEQ ID NO:29(具有N端信号肽的4271TCR3的 α 链的可变区); (xii)SEQ ID NO:30(具有N端信号肽的4271TCR3的 β 链的可变区); (xiii)SEQ ID NO:37(不具有N端信号肽的4271TCR4的 α 链的可变区的预测序列); (xiv)SEQ ID NO:38(不具有N端信号肽的4271TCR4的 β 链的可变区的预测序列); (xv)SEQ ID NO:39(具有N端信号肽的4271TCR4的 α 链的可变区); (xvi)SEQ ID NO:40(具有N端信号肽的4271TCR4的 β 链的可变区); (xvii)SEQ ID NO:7和8两者; (xviii)SEQ ID NO:9和10两者; (xix)SEQ ID NO:17和18两者; (xx)SEQ ID NO:19和20两者; (xxi)SEQ ID NO:27和28两者; (xxii)SEQ ID NO:29和30两者; (xxiii)SEQ ID NO:37和38两者; 或(xxiv)SEQ ID NO:39和40两者。优选地, 所述多肽包含以下氨基酸序列: (i)SEQ ID NO:7和8两者, (ii)SEQ ID NO:9和10两者, (iii)SEQ ID NO:17和18两者, (iv)SEQ ID NO:19和20两者, (v)SEQ ID NO:27和28两者, (vi)SEQ ID NO:29和30两者, (vii)SEQ ID NO:37和38两者或(viii)SEQ ID NO:39和40两者。

[0057] 在本发明的一个实施方案中, 本发明的多肽还可包含上文示出的本发明的TCR的恒定区。在这方面, 多肽还可包含以下氨基酸序列: SEQ ID NO:53(α 链的WT鼠类恒定区)、SEQ ID NO:54(β 链的WT鼠类恒定区)、SEQ ID NO:49(α 链的取代的鼠类恒定区)、SEQ ID NO:50(β 链的取代的鼠类恒定区)、SEQ ID NO:51(半胱氨酸取代的LVL修饰的TCR的 α 链恒定区); SEQ ID NO:52(半胱氨酸取代的LVL修饰的TCR的 β 链恒定区); SEQ ID NO:49和50两者、SEQ ID NO:51和52两者或SEQ ID NO:53和54两者。优选地, 多肽还包含SEQ ID NO:49和50两者、SEQ ID NO:51和52两者或SEQ ID NO:53和54两者的氨基酸序列与本文针对本发明的其它方面所述的任何CDR区或可变区的组合。在本发明的一个实施方案中, 多肽的SEQ ID NO:49和50中的一个或两者如表2-4中的任一个中所定义。

[0058] 在本发明的一个实施方案中, 本发明的多肽可以包含本文所述的TCR的 α 链或 β 链的全长。在这方面, 本发明的多肽可以包含以下氨基酸序列: SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:79、SEQ ID

NO:80、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:85或SEQ ID NO:86。可选地,本发明的多肽可以包含本文所述的TCR的两条链。例如,所述多肽可以包含SEQ ID NO:55-56两者、SEQ ID NO:57-58两者、SEQ ID NO:59-60、SEQ ID NO:61-62两者、SEQ ID NO:63-64两者、SEQ ID NO:65-66两者、SEQ ID NO:67-68两者、SEQ ID NO:69-70两者、SEQ ID NO:71-72两者、SEQ ID NO:73-74两者、SEQ ID NO:75-76两者、SEQ ID NO:77-78两者、SEQ ID NO:79-80两者、SEQ ID NO:81-82两者、SEQ ID NO:83-84两者或SEQ ID NO:85-86两者。

[0059] 例如,本发明的多肽可包含(a) SEQ ID NO:55的氨基酸序列(具有N端信号肽的4271TCR1的 α 链),其中:(i) SEQ ID NO:55的位置184处的X是Thr或Cys;(ii) SEQ ID NO:55的位置248处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;(iii) SEQ ID NO:55的位置250处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;以及(iv) SEQ ID NO:55的位置251处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;(b) SEQ ID NO:56的氨基酸序列(具有N端信号肽的4271TCR1的 β 链),其中SEQ ID NO:56的位置199处的X是Ser或Cys;(c) SEQ ID NO:55和56两者;(d) SEQ ID NO:57的氨基酸序列(不具有N端信号肽的4271TCR1的 α 链的预测序列),其中:(i) SEQ ID NO:57的位置165处的X是Thr或Cys;(ii) SEQ ID NO:57的位置229处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;(iii) SEQ ID NO:57的位置231处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;以及(iv) SEQ ID NO:57的位置232处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;(e) SEQ ID NO:58的氨基酸序列(不具有N端信号肽的4271TCR1的 β 链的预测序列),其中SEQ ID NO:58的位置175处的X是Ser或Cys;(f) SEQ ID NO:57和58两者;(g) SEQ ID NO:59(具有N端信号序列的半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR1的 α 链);(h) SEQ ID NO:60(具有N端信号序列的半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR1的 β 链);(i) SEQ ID NO:61(不具有N端信号序列的半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR1的 α 链的预测序列);(j) SEQ ID NO:62(不具有N端信号序列的半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR1的 β 链的预测序列);(k) SEQ ID NO:59和60两者;(l) SEQ ID NO:61和62两者;(m) SEQ ID NO:63的氨基酸序列(具有N端信号肽的4271TCR2的 α 链),其中:(i) SEQ ID NO:63的位置182处的X是Thr或Cys;(ii) SEQ ID NO:63的位置246处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;(iii) SEQ ID NO:63的位置248处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;以及(iv) SEQ ID NO:63的位置249处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;(n) SEQ ID NO:64的氨基酸序列(具有N端信号肽的4271TCR2的 β 链),其中SEQ ID NO:64的位置197处的X是Ser或Cys;(o) SEQ ID NO:63和64两者;(p) SEQ ID NO:65的氨基酸序列(不具有N端信号肽的4271TCR2的 α 链的预测序列),其中:(i) SEQ ID NO:65的位置164处的X是Thr或Cys;(ii) SEQ ID NO:65的位置228处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;(iii) SEQ ID NO:65的位置230处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;以及(iv) SEQ ID NO:65的位置231处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;(q) SEQ ID NO:66的氨基酸序列(不具有N端信号肽的4271TCR2的 β 链的预测序列),其中SEQ ID NO:66的位置173处的X是Ser或Cys;(r) SEQ ID NO:65和66两者;(s) SEQ ID NO:67(具有N端信号序列的半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR2的 α 链);(t) SEQ ID NO:68(具有N端信号序列的半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR2的 β 链);(u) SEQ ID NO:69(不具有N端信号序列的半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR2的 α 链的预测序列);(v) SEQ ID NO:70

(不具有N端信号序列的半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR2的β链的预测序列); (w) SEQ ID NO:67和68两者; (x) SEQ ID NO:69和70两者; (y) SEQ ID NO:71的氨基酸序列(具有N端信号肽的4271TCR3的α链), 其中: (i) SEQ ID NO:71的位置187处的X是Thr或Cys; (ii) SEQ ID NO:71的位置251处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp; (iii) SEQ ID NO:71的位置253处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp; 以及(iv) SEQ ID NO:71的位置254处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp; (z) SEQ ID NO:72的氨基酸序列(具有N端信号肽的4271TCR3的β链), 其中SEQ ID NO:72的位置191处的X是Ser或Cys; (aa) SEQ ID NO:71和72两者; (bb) SEQ ID NO:73的氨基酸序列(不具有N端信号肽的4271TCR3的α链的预测序列), 其中: (i) SEQ ID NO:73的位置168处的X是Thr或Cys; (ii) SEQ ID NO:73的位置232处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp; (iii) SEQ ID NO:73的位置234处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp; 以及(iv) SEQ ID NO:73的位置235处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp; (cc) SEQ ID NO:74的氨基酸序列(不具有N端信号肽的4271TCR3的β链的预测序列), 其中SEQ ID NO:74的位置173处的X是Ser或Cys; (dd) SEQ ID NO:73和74两者; (ee) SEQ ID NO:75(具有N端信号序列的半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR3的α链); (ff) SEQ ID NO:76(具有N端信号序列的半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR3的β链); (gg) SEQ ID NO:77(不具有N端信号序列的半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR3的α链的预测序列); (hh) SEQ ID NO:78(不具有N端信号序列的半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR3的β链的预测序列); (ii) SEQ ID NO:75和76两者; (jj) SEQ ID NO:77和78两者; (kk) SEQ ID NO:79的氨基酸序列(具有N端信号肽的4271TCR4的α链), 其中: (i) SEQ ID NO:79的位置175处的X是Thr或Cys; (ii) SEQ ID NO:79的位置239处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp; (iii) SEQ ID NO:79的位置241处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp; 以及(iv) SEQ ID NO:79的位置242处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp; (ll) SEQ ID NO:80的氨基酸序列(具有N端信号肽的4271TCR4的β链), 其中SEQ ID NO:80的位置190处的X是Ser或Cys; (mm) SEQ ID NO:79和80两者; (nn) of SEQ ID NO:81的氨基酸序列(不具有N端信号肽的4271TCR4的α链的预测序列), 其中: (i) SEQ ID NO:81的位置159处的X是Thr或Cys; (ii) SEQ ID NO:81的位置223处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp; (iii) SEQ ID NO:81的位置225处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp; 以及(iv) SEQ ID NO:81的位置226处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp; (oo) SEQ ID NO:82的氨基酸序列(不具有N端信号肽的4271TCR4的β链的预测序列), 其中SEQ ID NO:82的位置172处的X是Ser或Cys; (pp) SEQ ID NO:81和82两者; (qq) SEQ ID NO:83(具有N端信号序列的半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR4的α链); (rr) SEQ ID NO:84(具有N端信号序列的半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR4的β链); (ss) SEQ ID NO:85(不具有N端信号序列的半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR4的α链的预测序列); (tt) SEQ ID NO:86(不具有N端信号序列的半胱氨酸取代的LVL修饰的4271TCR4的β链的预测序列); (uu) SEQ ID NO:83和84两者; 或(vv) SEQ ID NO:85和86两者。在本发明的一个实施方案中, 所述多肽的SEQ ID NO:55-58、63-66、71-74和79-82中的任何一个或多个如表2-4中的任一个所定义。

[0060] 本发明还提供了包含本文所述的至少一种多肽的蛋白质。“蛋白质”意指包含一个或多个多肽链的分子。

[0061] 在一个实施方案中,本发明的蛋白质可以包含(a)含有SEQ ID NO:1-3的氨基酸序列的第一多肽链和含有SEQ ID NO:4-6的氨基酸序列的第二多肽链;(b)含有SEQ ID NO:11-13的氨基酸序列的第一多肽链和含有SEQ ID NO:14-16的氨基酸序列的第二多肽链;(c)含有SEQ ID NO:21-23的氨基酸序列的第一多肽链和含有SEQ ID NO:24-26的氨基酸序列的第二多肽链;或(d)含有SEQ ID NO:31-33的氨基酸序列的第一多肽链和含有SEQ ID NO:34-36的氨基酸序列的第二多肽链。

[0062] 在本发明的另一个实施方案中,(i)所述第一多肽链包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,以及所述第二多肽链包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列,(ii)所述第一多肽链包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列,以及所述第二多肽链包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列;(iii)所述第一多肽链包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列,以及所述第二多肽链包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列;(iv)所述第一多肽链包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列,以及所述第二多肽链包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列;(v)所述第一多肽链包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列,以及所述第二多肽链包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列;(vi)所述第一多肽链包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列,以及所述第二多肽链包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列;(vii)所述第一多肽链包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列,以及所述第二多肽链包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列;或(viii)所述第一多肽链包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列,以及所述第二多肽链包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列。

[0063] 本发明的蛋白质还可包含本文针对本发明的其它方面所述的任何恒定区。在这方面,在本发明的一个实施方案中,(i)所述第一多肽链还可包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列以及所述第二多肽链还可包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列;(ii)所述第一多肽链还可包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列以及所述第二多肽链还可包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列;或(ii)所述第一多肽链可包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列以及所述第二多肽链可包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列。在本发明的一个实施方案中,蛋白质的SEQ ID NO:49和50中的一个或两者如表2-4中的任一个中所定义。

[0064] 如本文关于本发明的其它方面所述,本发明的蛋白质可包含全长 α 链或 β 链。在这方面,在本发明的一个实施方案中,(a)所述第一多肽链包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列,其中:(i)SEQ ID NO:55的位置184处的X是Thr或Cys;(ii)SEQ ID NO:55的位置248处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;(iii)SEQ ID NO:55的位置250处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;以及(iv)SEQ ID NO:55的位置251的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;(b)所述第二多肽链包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:56的位置199处的X是Ser或Cys;(c)所述第一多肽链包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列,以及所述第二多肽链包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列;(d)所述第一多肽链包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列,其中:(i)SEQ ID NO:57的位置165处的X是Thr或Cys;(ii)SEQ ID NO:57的位置229处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;(iii)SEQ ID NO:57的位置231处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp;以及(iv)SEQ ID NO:57的位置232处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp;(e)所述第二多肽链包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列,其中SEQ ID NO:58的位置175处的X是Ser或Cys;(f)所述第一多肽链包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列,以及所述第二多肽链包含58的氨基酸序列;(g)所述第一多肽链包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列;(h)所述第二多肽链包含SEQ ID NO:60的氨基酸

序列; (i) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列; (j) 所述第二多肽链包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列; (k) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列, 以及所述第二多肽链包含60的氨基酸序列; (l) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列, 以及所述第二多肽链包含62的氨基酸序列; (m) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列, 其中: (i) SEQ ID NO:63的位置182处的X是Thr或Cys; (ii) SEQ ID NO:63的位置246处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp; (iii) SEQ ID NO:63的位置248处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp; 以及 (iv) SEQ ID NO:63的位置249的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp; (n) 所述第二多肽链包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列, 其中SEQ ID NO:64的位置197处的X是Ser或Cys; (o) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列, 以及所述第二多肽链包含64的氨基酸序列; (p) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列, 其中: (i) SEQ ID NO:65的位置164的X是Thr或Cys; (ii) SEQ ID NO:65的位置228处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp; (iii) SEQ ID NO:65的位置230处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp; 以及 (iv) SEQ ID NO:65的位置231的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp; (q) 所述第二多肽链包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列, 其中SEQ ID NO:66的位置173处的X是Ser或Cys; (r) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列, 以及所述第二多肽链包含66的氨基酸序列; (s) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列; (t) 所述第二多肽链包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列; (u) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列; (v) 所述第二多肽链包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列; (w) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列, 以及所述第二多肽链包含68的氨基酸序列; (x) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列, 以及所述第二多肽链包含70的氨基酸序列; (y) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列, 其中: (i) SEQ ID NO:71的位置187处的X是Thr或Cys; (ii) SEQ ID NO:71的位置251处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp; (iii) SEQ ID NO:71的位置253的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp; 以及 (iv) SEQ ID NO:71的位置254处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp; (z) 所述第二多肽链包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列, 其中SEQ ID NO:72的位置191处的X是Ser或Cys; (aa) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列, 以及所述第二多肽链包含72的氨基酸序列; (bb) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列, 其中: (i) SEQ ID NO:73的位置168处的X是Thr或Cys; (ii) SEQ ID NO:73的位置232处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp; (iii) SEQ ID NO:73的位置234处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp; 以及 (iv) SEQ ID NO:73的位置235处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp; (cc) 所述第二多肽链包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列, 其中SEQ ID NO:74的位置173处的X是Ser或Cys; (dd) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列, 以及所述第二多肽链包含74的氨基酸序列; (ee) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列; (ff) 所述第二多肽链包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列; (gg) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列; (hh) 所述第二多肽链包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列; (ii) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列, 以及所述第二多肽链包含76的氨基酸序列; (jj) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列, 以及所述第二多肽链包含78的氨基酸序列; (kk) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列, 其中: (i) SEQ ID NO:79的位置175处的X是Thr或Cys; (ii) SEQ ID NO:79的位置239处的X是Ser、Ala、

Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp; (iii) SEQ ID NO:79的位置241处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp; 以及(iv) SEQ ID NO:79的位置242处的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp; (ll) 所述第二多肽链包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列, 其中SEQ ID NO:80的位置190处的X是Ser或Cys; (mm) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列, 以及所述第二多肽链包含80的氨基酸序列; (nn) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列, 其中: (i) SEQ ID NO:81的位置159处的X是Thr或Cys; (ii) SEQ ID NO:81的位置223处的X是Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp; (iii) SEQ ID NO:81的位置225处的X是Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp; 以及(iv) SEQ ID NO:81的位置226的X是Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp; (oo) 所述第二多肽链包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列, 其中SEQ ID NO:82的位置172处的X是Ser或Cys; (pp) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列, 以及所述第二多肽链包含82的氨基酸序列; (qq) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:83的氨基酸序列; (rr) 所述第二多肽链包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列; (ss) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列; (tt) 所述第二多肽链包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列; (uu) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:83的氨基酸序列, 以及所述第二多肽链包含84的氨基酸序列; 或(vv) 所述第一多肽链包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列, 以及所述第二多肽链包含86的氨基酸序列。在本发明的一个实施方案中, SEQ ID NO:55-58、63-66、71-74和79-82中的一个或多个如表2-4中的任一个所定义。

[0065] 本发明的蛋白质可为TCR。可选地, 例如, 如果蛋白质包含含有TCR α 链和 β 链的氨基酸序列的单一多肽链, 或如果蛋白质的第一和/或第二多肽链还包含其它氨基酸序列(例如编码免疫球蛋白或其部分的氨基酸序列), 则本发明的蛋白质可为融合蛋白。在这方面, 本发明还提供了包括本文所述的至少一种本发明的多肽以及至少一种其它多肽的融合蛋白。其它多肽可以以融合蛋白的单独多肽存在, 或可以以与本文所述的本发明多肽之一同框(串联)表达的多肽存在。其它多肽可编码任何肽或蛋白质分子或其部分, 包括但不限于免疫球蛋白, CD3, CD4, CD8, MHC分子, CD1分子, 例如CD1a、CD1b、CD1c、CD1d等。

[0066] 融合蛋白可包含一个或多个拷贝的本发明的多肽和/或一个或多个拷贝的其它多肽。例如, 融合蛋白可包含1、2、3、4、5或更多个拷贝的本发明的多肽和/或其它多肽。制备融合蛋白的合适方法为本领域已知的, 并且包括例如重组方法。

[0067] 在本发明的一些实施方案中, 本发明的TCR、多肽和蛋白质可表达为包含连接 α 链和 β 链的接头肽的单一蛋白质。在这方面, 本发明的TCR、多肽和蛋白质还可包含接头肽。接头肽可有利地促进重组TCR、多肽和/或蛋白质在宿主细胞中表达。接头肽可包含任何合适的氨基酸序列。接头肽可为可裂解的接头肽。例如, 接头肽可为包含RAKRSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO:87) 的氨基酸序列的弗林蛋白酶(furin)-SGSG-P2A接头肽。在通过宿主细胞表达包含接头肽的构建体时, 可裂解接头肽, 产生分离的 α 链和 β 链。在本发明的一个实施方案中, TCR、多肽或蛋白质可包含含有全长 α 链、全长 β 链和位于 α 链与 β 链之间的接头肽的氨基酸序列。

[0068] 本发明的蛋白质可为包含至少一种本文所述的本发明多肽的重组抗体或其抗原结合部分。如本文所用, “重组抗体”是指包含至少一种本发明的多肽和抗体或其抗原结合部分的多肽链的重组(例如基因改造)蛋白。抗体或其抗原结合部分的多肽可为抗体的重链、轻链、重链或轻链的可变或恒定区、单链可变片段(scFv), 或Fc、Fab或F(ab)₂’片段等。

抗体或其抗原结合部分的多肽链可以以重组抗体的单独多肽存在。可选地,抗体或其抗原结合部分的多肽链可以以与本发明的多肽同框(串联)表达的多肽存在。抗体或其抗原结合部分的多肽可为任何抗体或任何抗体片段(包含本文所述的任何抗体和抗体片段)的多肽。

[0069] 本发明范围包括本文所述的本发明的TCR、多肽或蛋白质的功能变体。本文所用的术语“功能变体”是指与亲本TCR、多肽或蛋白质具有大量的或显著的序列同一性或相似性的TCR、多肽或蛋白质,所述功能变体保留了产生所述变体的TCR、多肽或蛋白质的生物活性。功能变体涵盖例如本文所述的TCR、多肽或蛋白质(亲本TCR、多肽或蛋白质)的那些变体,其保留了以与亲本TCR、多肽或蛋白质类似的程度、以与亲本TCR、多肽或蛋白质相同的程度或以比亲本TCR、多肽或蛋白质更高的程度特异性结合G12D RAS(亲本TCR对其具有抗原特异性或亲本多肽或蛋白质与其特异性结合)的能力。关于亲本TCR、多肽或蛋白质,功能变体可例如分别与亲本TCR、多肽或蛋白质的氨基酸序列至少约30%、约50%、约75%、约80%、约90%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或更高相同。

[0070] 功能变体可例如包含具有至少一种保守氨基酸取代的亲本TCR、多肽或蛋白质的氨基酸序列。保守氨基酸取代为本领域内已知的,并且包含其中一种具有某些物理和/或化学性质的氨基酸交换为另一种具有相同化学或物理性质的氨基酸的氨基酸取代。例如,保守氨基酸取代可为一种酸性氨基酸取代为另一种酸性氨基酸(例如Asp或Glu),一种具有非极性侧链的氨基酸取代为另一种具有非极性侧链的氨基酸(例如Ala、Gly、Val、Ile、Leu、Met、Phe、Pro、Trp、Val等),一种碱性氨基酸取代为另一种碱性氨基酸(Lys、Arg等),一种具有极性侧链的氨基酸取代为另一种具有极性侧链的氨基酸(Asn、Cys、Gln、Ser、Thr、Tyr等)等。

[0071] 可选地或另外,功能变体可包含亲本TCR、多肽或蛋白质中具有至少一种非保守氨基酸取代的氨基酸序列。在此情形下,优选的是非保守氨基酸取代并不干扰或抑制功能变体的生物活性。优选地,非保守氨基酸取代增强功能变体的生物活性,使得与亲本TCR、多肽或蛋白质相比,功能变体的生物活性增加。

[0072] TCR、多肽或蛋白质可基本上由本文所述的一个或多个指定氨基酸序列组成,使得TCR、多肽或蛋白质的其它组分(例如其它氨基酸)并不实质性改变TCR、多肽或蛋白质的生物活性。在这方面,本发明的TCR、多肽或蛋白质可例如基本上由以下氨基酸序列组成:SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86、SEQ ID NO:55和56两者、SEQ ID NO:57和58两者、SEQ ID NO:59和60、SEQ ID NO:61和62两者、SEQ ID NO:63和64两者、SEQ ID NO:65和66两者、SEQ ID NO:67和68两者、SEQ ID NO:69和70两者、SEQ ID NO:71和72两者、SEQ ID NO:73和74两者、SEQ ID NO:75和76两者、SEQ ID NO:77和78两者、SEQ ID NO:79和80两者、SEQ ID NO:81和82两者、SEQ ID NO:83和84两者或SEQ ID NO:85和86两者。同样,例如,本发明的TCR、多肽或蛋白质可基本上由以下氨基酸序列组成:(i) SEQ ID NO:7、(ii) SEQ ID NO:8、(iii) SEQ ID NO:9、(iv) SEQ ID NO:10、(v) SEQ ID NO:17、(vi) SEQ ID NO:18、(vii) SEQ ID NO:19、

(viii)SEQ ID NO:20、(ix)SEQ ID NO:27、(x)SEQ ID NO:28、(xi)SEQ ID NO:29、(xii)SEQ ID NO:30、(xiii)SEQ ID NO:37、(xiv)SEQ ID NO:38、(xv)SEQ ID NO:39、(xvi)SEQ ID NO:40、(xvii)SEQ ID NO:7和8两者、(xviii)SEQ ID NO:9和10两者、(xix)SEQ ID NO:17和18两者、(xx)SEQ ID NO:19和20两者、(xxi)SEQ ID NO:27和28两者、(xxii)SEQ ID NO:29和30两者、(xxiii)SEQ ID NO:37和38两者或(xxiv)SEQ ID NO:39和40两者。此外,本发明的TCR、多肽或蛋白质可基本上由以下氨基酸序列组成:(a)SEQ ID NO:1-3的全部、(b)SEQ ID NO:4-6的全部、(c)SEQ ID NO:1-6的全部、(d)SEQ ID NO:11-13的全部、(e)SEQ ID NO:14-16的全部、(f)SEQ ID NO:11-16的全部、(g)SEQ ID NO:21-23的全部、(h)SEQ ID NO:24-26的全部、(i)SEQ ID NO:21-26的全部、(j)SEQ ID NO:31-33的全部、(k)SEQ ID NO:34-36的全部或(l)SEQ ID NO:31-36的全部。

[0073] 本发明的TCR、多肽和蛋白质可具有任意长度,即可包含任意数量的氨基酸,条件是TCR、多肽或蛋白质保留其生物活性,例如能够特异性结合G12D RAS;检测哺乳动物的癌症;或治疗或预防哺乳动物的癌症等。例如,多肽的长度范围可为约50至约5000个氨基酸,如约50、约70、约75、约100、约125、约150、约175、约200、约300、约400、约500、约600、约700、约800、约900、约1000或更多个氨基酸。在这方面,本发明的多肽也包括寡肽。

[0074] 本发明的TCR、多肽和蛋白质可包含合成氨基酸来代替一个或多个天然存在的氨基酸。所述合成氨基酸为本领域已知的,并且包括(例如)氨基环己烷羧酸、正亮氨酸、 α -氨基正癸酸、高丝氨酸、S-乙酰基氨基甲基-半胱氨酸、反式-3-和反式-4-羟脯氨酸、4-氨基苯丙氨酸、4-硝基苯丙氨酸、4-氯苯丙氨酸、4-羧基苯丙氨酸、 β -苯基丝氨酸、 β -羟基苯丙氨酸、苯基甘氨酸、 α -萘基丙氨酸、环己基丙氨酸、环己基甘氨酸、二氢吡啶-2-羧酸、1,2,3,4-四氢异喹啉-3-羧酸、氨基丙二酸、氨基丙二酸单酰胺、N'-苄基-N'-甲基-赖氨酸、N',N'-二苄基-赖氨酸、6-羟基赖氨酸、鸟氨酸、 α -氨基环戊烷羧酸、 α -氨基环己烷羧酸、 α -氨基环庚烷羧酸、 α -(2-氨基-2-降莰烷)-羧酸、 α,γ -二氨基丁酸、 α,β -二氨基丙酸、高苯丙氨酸和 α -叔丁基甘氨酸。

[0075] 本发明的TCR、多肽和蛋白质可被糖基化、酰胺化、羧酸化、磷酸化、酯化、N-酰化、经由例如二硫桥环化,或转化成酸加成盐和/或任选地二聚化或多聚化或缀合。

[0076] 可通过本领域已知的方法(诸如例如从头合成)获得本发明的TCR、多肽和/或蛋白质。另外,可以使用标准重组方法,使用本文所述的核酸重组产生多肽和蛋白质。参见例如Green和Sambrook,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,第4版,Cold Spring Harbor Press,Cold Spring Harbor,NY(2012)。可选地,本文所述的TCR、多肽和/或蛋白质可以由多种商业实体中的任一个合成。在这方面,本发明的TCR、多肽和蛋白质可为合成的、重组的、分离的和/或纯化的。本发明的一个实施方案提供了由本文针对本发明的其它方面所述任何核酸或载体编码的分离的或纯化的TCR、多肽或蛋白质。本发明的另一个实施方案提供了分离的或纯化的TCR、多肽或蛋白质,其是通过在细胞中表达本文针对本发明的其它方面所述的任何核酸或载体所产生。本发明的另一个实施方案提供了产生本文所述的任何TCR、多肽或蛋白质的方法,所述方法包括培养本文所述的任何宿主细胞或宿主细胞群体,从而产生TCR、多肽或蛋白质。

[0077] 本发明的范围包括缀合物(例如生物缀合物),其包含本发明的TCR、多肽或蛋白质(包含任何功能部分或其变体)、核酸、重组表达载体、宿主细胞、宿主细胞群体或抗体或其

抗原结合部分中的任一种。一般而言,缀合物以及合成缀合物的方法是本领域已知的。

[0078] 本发明的一个实施方案提供了包含编码本文所述的任何TCR、多肽或蛋白质的核苷酸序列的核酸。本文所用的“核酸”包括“多核苷酸”、“寡核苷酸”和“核酸分子”,并且通常意指DNA或RNA的聚合物,其可为单链或双链的,可含有天然、非天然或改变的核苷酸,且可含有天然、非天然或改变的核苷酸间连键(如氨基磷酸酯键或硫代磷酸酯键)来代替存在于未修饰的寡核苷酸的核苷酸之间的磷酸二酯。在一个实施方案中,核酸包括互补DNA(cDNA)。通常优选的是核酸不包括任何插入、缺失、倒置和/或取代。然而,如本文所讨论的,在一些情况下核酸包含一个或多个插入、缺失、倒置和/或取代可能是合适的。

[0079] 优选地,本发明的核酸是重组的。如本文所用,术语“重组体”是指(i)通过将天然或合成的核酸区段连接至可以在活细胞中复制的核酸分子而在活细胞外构建的分子,或(ii)来自以上(i)中所述的那些复制的分子。出于本文的目的,复制可为体外复制或体内复制。

[0080] 在本发明的一个实施方案中,核酸包含SEQ ID NO:95(编码由可裂解接头肽分开的4271TCR1的 α 链和 β 链)、SEQ ID NO:96(编码由可裂解接头肽分开的4271TCR2的 α 链和 β 链)、SEQ ID NO:97(编码由可裂解接头肽分开的4271TCR3的 α 链和 β 链)或SEQ ID NO:98(编码由可裂解接头肽分开的4271TCR4的 α 链和 β 链)。

[0081] 可基于化学合成和/或酶促连接反应使用本领域已知的程序来构建核酸。参见例如Green和Sambrook等人,同上。例如,可以使用天然存在的核苷酸或者设计以增加分子的生物稳定性或者增加杂交时所形成的双链体的物理稳定性的不同修饰的核苷酸(例如硫代磷酸酯衍生物和吡啶取代的核苷酸)来化学合成核酸。可用于生成核酸的修饰核苷酸的实例包括但不限于5-氟尿嘧啶、5-溴尿嘧啶、5-氯尿嘧啶、5-碘尿嘧啶、次黄嘌呤、黄嘌呤、4-乙酰胞嘧啶、5-(羧基羟甲基)尿嘧啶、5-羧甲基氨甲基-2-硫尿苷、5-羧甲基氨甲基尿嘧啶、二氢尿嘧啶、 β -D-半乳糖苷、肌苷、N6-异戊烯基腺嘌呤、1-甲基鸟嘌呤、1-甲基肌苷、2,2-二甲基鸟嘌呤、2-甲基腺嘌呤、2-甲基鸟嘌呤、3-甲基胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、N6-取代的腺嘌呤、7-甲基鸟嘌呤、5-甲基氨甲基尿嘧啶、5-甲氧基氨甲基-2-硫尿嘧啶、 β -D-甘葡聚糖、5'-甲氧基羧甲基尿嘧啶、5-甲氧基尿嘧啶、2-甲基硫基-N6-异戊烯基腺嘌呤、尿嘧啶-5-氧基乙酸(v)、怀丁苷(wybutoxosine)、假尿嘧啶、嘧啶(queosine)、2-硫胞嘧啶、5-甲基-2-硫尿嘧啶、2-硫尿嘧啶、4-硫尿嘧啶、5-甲基尿嘧啶、尿嘧啶-5-氧基乙酸甲酯、3-(3-氨基-3-N-2-羧基丙基)尿嘧啶和2,6-二氨基嘌呤。可选地,本发明的一种或多种核酸可购自多个商业实体中的任一个。

[0082] 核酸可包含编码本文所述的任何TCR、多肽或蛋白质的任何核苷酸序列。在本发明的一个实施方案中,核酸包含编码本文所述的任何TCR、多肽或蛋白质的密码子优化的核苷酸序列。不受限于任何特定理论或机制,认为核苷酸序列的密码子优化增加了mRNA转录物的翻译效率。核苷酸序列的密码子优化可涉及将天然密码子取代为编码相同氨基酸但可通过更易于在细胞内获得的tRNA翻译的另一密码子,从而增加翻译效率。核苷酸序列的优化也可减少干扰翻译的二级mRNA结构,从而增加翻译效率。

[0083] 本发明还提供了核酸,其包含与本文所述的任何核酸的核苷酸序列互补的核苷酸序列或在严紧条件下与本文所述的任何核酸的核苷酸序列杂交的核苷酸序列。

[0084] 在严紧条件下杂交的核苷酸序列优选在高严紧度条件下发生杂交。“高严紧条件”

意指核苷酸序列以可检测地强于非特异性杂交的量与靶序列(本文所述的任何核酸的核苷酸序列)特异性杂交。高严谨条件包括区分具有精确互补序列的多核苷酸,或仅含有少数分散错配的多核苷酸与碰巧具有匹配核苷酸序列的一些小区域(例如,3-10个碱基)的随机序列的条件。此类小的互补区域比14-17个或更多个碱基的全长互补更容易熔解,并且高严谨杂交使得它们易于被区分。相对高的严谨条件将包括,例如,低盐和/或高温条件,如在约50-70℃的温度下通过约0.02-0.1M NaCl或等同物提供的。此类高严谨条件容许如果有的话,核苷酸序列与模板或靶链之间很少的错配,并且特别适于检测任何本发明TCR的表达。通常应理解可以通过加入增加量的甲酰胺使条件更严谨。

[0085] 本发明的一个实施方案还提供了包含与本文所述的任何核酸至少约70%或更多,例如约80%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%相同的核苷酸序列的核酸。在这方面,核酸可基本上由本文所述的任何核苷酸序列组成。

[0086] 本发明的一个实施方案提供了分离的或纯化的核酸,其自5'至3'包含第一核苷酸序列和第二核苷酸序列,其中第一核苷酸序列和第二核苷酸序列分别编码以下氨基酸序列: SEQ ID NO:7和8;8和7;9和10;10和9;17和18;18和17;19和20;20和19;27和28;28和27;29和30;30和29;37和38;38和37;39和40;40和39;55和56;56和55;57和58;58和57;59和60;60和59;61和62;62和61;63和64;64和63;65和66;66和65;67和68;68和67;69和70;70和69;71和72;72和71;73和74;74和73;75和76;76和75;77和78;78和77;79和80;80和79;81和82;82和81;83和84;84和83;85和86;或86和85。

[0087] 在本发明的一个实施方案中,分离的或纯化的核酸还包含插入在第一核苷酸序列与第二核苷酸序列之间的第三核苷酸序列,其中第三核苷酸序列编码可裂解接头肽。在本发明的一个实施方案中,可裂解接头肽包含RAKRSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO: 87)的氨基酸序列。

[0088] 本发明的核酸可掺入重组表达载体中。在这方面,本发明提供了包含本发明的任何核酸的重组表达载体。在本发明的一个实施方案中,重组表达载体包含编码 α 链、 β 链和接头肽的核苷酸序列。

[0089] 出于本文的目的,术语“重组表达载体”意指经基因修饰的寡核苷酸或多核苷酸构建体,当构建体包含编码mRNA、蛋白、多肽或肽的核苷酸序列,并且在足以使mRNA、蛋白、多肽或肽在细胞内表达的条件下将载体与细胞接触时,其允许由宿主细胞表达mRNA、蛋白、多肽或肽。本发明的载体整体而言并非天然存在的。然而,载体的一部分可为天然存在的。本发明的重组表达载体可包含任何类型的核苷酸,该核苷酸包括但不限于DNA和RNA,其可为单链或双链的,合成的或者部分由天然来源获得的,并且其可以含有天然的、非天然的或改变的核苷酸。重组表达载体可以包含天然存在的、非天然存在的核苷酸间连键或这两种类型的连键。优选地,非天然存在的或改变的核苷酸或核苷酸间连键不妨碍载体的转录或复制。

[0090] 本发明的重组表达载体可为任何合适的重组表达载体,且可用于转化或转染任何合适的宿主细胞。合适的载体包括经设计用于繁殖和扩增或用于表达或用于两者的那些,如质粒和病毒。载体可选自:pUC系列(Fermentas Life Sciences)、pBluescript系列(Stratagene, La Jolla, CA)、pET系列(Novagen, Madison, WI)、pGEX系列(Pharmacia

Biotech, Uppsala, Sweden) 和 pEX 系列 (Clontech, Palo Alto, CA)。也可使用噬菌体载体, 如 λ GT10、 λ GT11、 λ ZapII (Stratagene)、 λ EMBL4 和 λ NM1149。植物表达载体的实例包括 pBI01、pBI101.2、pBI101.3、pBI121 和 pBIN19 (Clontech)。动物表达载体的实例包括 pEUK-C1、pMAM 和 pMAMneo (Clontech)。优选地, 重组表达载体是病毒载体, 例如逆转录病毒载体。在一个尤其优选的实施方案中, 重组表达载体是 MSGV1 载体。在本发明的一个实施方案中, 重组表达载体是转座子或慢病毒载体。

[0091] 可使用例如 Greem 和 Sambrook 等人 (同上) 中所述的标准重组 DNA 技术来制备本发明的重组表达载体。可将环状或线性表达载体的构建体制备为含有在原核或真核宿主细胞中发挥功能的复制系统。复制系统可来源于例如 ColE1、2 μ 质体、 λ 、SV40、牛乳头瘤病毒等。

[0092] 期望地, 重组表达载体包含调控序列, 如转录和翻译起始密码子和终止密码子, 其对待引入载体的宿主细胞类型 (例如细菌、真菌、植物或动物) 为特异的, 视情况而定并且考虑载体是否基于 DNA 或 RNA。

[0093] 重组表达载体可包含一种或多种标志物基因, 其允许选择转化或转染的宿主细胞。标志物基因包括杀虫剂抗性, 例如对抗生素、重金属等的抗性, 与营养缺陷型宿主细胞互补以提供原养型等。用于本发明的表达载体的合适的标志物基因包括, 例如新霉素/G418 抗性基因、潮霉素抗性基因、组氨酸抗性基因、四环素抗性基因以及氨苄西林抗性基因。

[0094] 重组表达载体可以包含与以下序列可操作地连接的天然或非天然的启动子: 编码 TCR、多肽或蛋白质的核苷酸序列或者与编码 TCR、多肽或蛋白质的核苷酸序列互补或杂交的核苷酸序列。启动子的选择, 例如强、弱、可诱导的、组织特异性的和发育特异性的, 在本领域技术人员的普通技术内。类似地, 核苷酸序列与启动子的组合也在本领域技术人员的普通技术内。启动子可以是非病毒启动子或病毒启动子, 例如巨细胞病毒 (CMV) 启动子、SV40 启动子、RSV 启动子和鼠干细胞病毒的长末端重复中存在的启动子。

[0095] 可将本发明的重组表达载体设计为瞬时表达、稳定表达或者设计为这两种。另外, 可将重组表达载体制备为组成型表达或诱导型表达。

[0096] 此外, 可将重组表达载体制备为包含自杀基因。如本文所用, 术语“自杀基因”是指引起表达自杀基因的细胞死亡的基因。自杀基因可以是赋予基因在其中表达的细胞对试剂 (例如药物) 的敏感性并且当细胞与所述试剂接触或者暴露于所述试剂时引起细胞死亡的基因。自杀基因在本领域是已知的, 并且包括例如单纯疱疹病毒 (HSV) 胸苷激酶 (TK) 基因、胞嘧啶脱氨酶、嘌呤核苷磷酸化酶、硝基还原酶和诱导型半胱天冬酶 9 基因系统。

[0097] 本发明的另一个实施方案还提供包含本文所述的任何核酸或重组表达载体的宿主细胞。如本文所用, 术语“宿主细胞”是指可含有本发明重组表达载体的任何类型的细胞。宿主细胞可为真核细胞 (例如植物、动物、真菌或藻类), 或可为原核细胞 (例如细菌或原生动物)。宿主细胞可为培养的细胞或原代细胞, 即自有机体, 例如人类直接分离。宿主细胞可为贴壁细胞或悬浮细胞, 即悬浮生长的细胞。合适的宿主细胞为本领域已知的并且包括例如 DH5 α 大肠杆菌 (*E. coli*) 细胞、中国仓鼠卵巢细胞、猴 VERO 细胞、COS 细胞、HEK293 细胞等。出于扩增或复制重组表达载体的目的, 宿主细胞优选是原核细胞, 例如 DH5 α 细胞。出于产生重组 TCR、多肽或蛋白质的目的, 宿主细胞优选是哺乳动物细胞。最优选地, 宿主细胞是人类细胞。尽管宿主细胞可为任何细胞类型、可源自任何类型的组织并且可处于任何发育阶段, 但宿主细胞优选是外周血淋巴细胞 (PBL) 或外周血单核细胞 (PBMC)。更优选地, 宿主细胞是

T细胞。在本发明的一个实施方案中,宿主细胞是人类淋巴细胞。在本发明的另一个实施方案中,宿主细胞选自:T细胞、自然杀伤T(NKT)细胞、不变(invariant)的自然杀伤T(iNKT)细胞和自然杀伤(NK)细胞。本发明的另一个实施方案提供了产生表达对MTEYKLVVVGADGVGKSALTIQLI(SEQ ID NO:88)的肽具有抗原特异性的TCR的宿主细胞的方法,所述方法包括使细胞与本文所述的任何载体在允许将载体引入细胞中的条件下接触。

[0098] 出于本文的目的,T细胞可为任何T细胞,如培养的T细胞,例如原代T细胞,或者来自培养的T细胞系的T细胞,例如Jurkat、SupT1等,或者从哺乳动物获得的T细胞。如果从哺乳动物获得,则T细胞可从多种来源获得,包括但不限于血液、骨髓、淋巴结、胸腺或其它组织或流体。T细胞也可以是富集的或纯化的。优选地,T细胞是人类T细胞。T细胞可为任何类型的T细胞并且可处于任何发育阶段,包括但不限于CD4⁺/CD8⁺双阳性T细胞、CD4⁺辅助T细胞(例如Th₁和Th₂细胞)、CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞(例如细胞毒性T细胞)、肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)、记忆T细胞(例如中央记忆T细胞和效应记忆T细胞)、初始T细胞等。

[0099] 本发明的实施方案还提供包含至少一种本文所述的宿主细胞的细胞群体。细胞群体可以是除了至少一种其它细胞外还包含含有所述任何重组表达载体的宿主细胞的异质群体,所述其它细胞例如不包含任何重组表达载体的宿主细胞(例如T细胞)或者除了T细胞之外的细胞,例如B细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、红细胞、肝细胞、内皮细胞、上皮细胞、肌细胞、脑细胞等。可选地,细胞群体可以是基本同质的群体,其中所述群体主要包含含有重组表达载体的宿主细胞(例如基本由含有重组表达载体的宿主细胞组成)。群体也可以是克隆细胞群体,其中群体的所有细胞均为含有重组表达载体的单个宿主细胞的克隆,以使群体的所有细胞均包含重组表达载体。在本发明的一个实施方案中,细胞群体是包含含有本文所述的重组表达载体的宿主细胞的克隆群体。

[0100] 在本发明的一个实施方案中,群体中细胞的数量可以快速扩增。T细胞数量的扩增可以通过如以下中所述的本领域已知的多种方法中的任一种来完成,例如美国专利8,034,334;美国专利8,383,099;美国专利申请公开号2012/0244133;Dudley等人,J.Immunother.,26:332-42(2003);以及Riddell等人,J.Immunol.Methods,128:189-201(1990)。在一个实施方案中,通过将T细胞与OKT3抗体、IL-2和饲养PBMC(例如受辐射的同种异体PBMC)一起培养来进行T细胞数量的扩增。

[0101] 可以分离和/或纯化本发明的TCR、多肽、蛋白质、核酸、重组表达载体和宿主细胞(包含其群体)。本文所用的术语“分离的”意指自其天然环境中移出。本文所用的术语“纯化的”意指具有增加的纯度,其中“纯度”是相对术语,且无需解释为绝对纯度。例如,纯度可为至少约50%,可大于约60%、约70%、约80%、约90%、约95%,或可为约100%。

[0102] 本发明的TCR、多肽、蛋白质、核酸、重组表达载体和宿主细胞(包含其群体),在下文中其全部被统称为“本发明的TCR物质”,可配制成组合物,如药物组合物。在这方面,本发明提供药物组合物,其包含本文所述的TCR、多肽、蛋白质、核酸、表达载体和宿主细胞(包含其群体)中的任一种和药学上可接受的载体。含有本发明TCR材料的任一种的本发明药物组合物可包含一种以上的本发明TCR材料(例如多肽和核酸)或两种或更多种不同的TCR。可选地,药物组合物可包含本发明的TCR材料与另一种药学活性药剂或药物,如化学治疗剂,例如天冬酰胺酶、白消安(busulfan)、卡铂(carboplatin)、顺铂(cisplatin)、柔红霉素(daunorubicin)、阿霉素(doxorubicin)、氟尿嘧啶、吉西他滨(gemcitabine)、羟基脲

(hydroxyurea)、甲氨蝶呤(methotrexate)、紫杉醇(paclitaxel)、利妥昔单抗(rituximab)、长春碱(vinblastine)、长春新碱(vincristine)等的组合。

[0103] 优选地,载体是药学上可接受的载体。对于药物组合物而言,载体可为通常用于所考虑的特定的本发明的TCR材料中的任一种。制备可施用组合物的方法是本领域技术人员已知的或对于本领域技术人员而言是显而易见的,并且更详细地描述在例如Remington: The Science and Practice of Pharmacy,第22版,Pharmaceutical Press(2012)中。优选地,药学上可接受的载体是在使用条件下无有害副作用或毒性的载体。

[0104] 载体的选择部分将由特定的本发明的TCR材料以及由用于施用本发明的TCR材料的具体方法决定。因此,存在多种合适的本发明的药物组合物的制剂。合适的制剂可以包括用于肠胃外、皮下、静脉内、肌肉内、动脉内、鞘内、肿瘤内或腹膜间施用的那些制剂中的任一种。可以使用多种途径来施用本发明的TCR材料,并且在某些情况下,特定途径可以比另一途径提供更直接以及更有效的应答。

[0105] 优选地,通过注射,例如静脉内注射施用本发明的TCR材料。当本发明的TCR材料是表达本发明的TCR的宿主细胞(或其群体)时,用于注射的细胞的药学可接受的载体可以包括任何等张载体,诸如例如生理盐水(含约0.90%w/v NaCl的水,含约300mOsm/L NaCl的水,或者每升水约9.0g NaCl)、NORMOSOL R电解质溶液(Abbott,Chicago,IL)、PLASMA-LYTE A(Baxter,Deerfield,IL)、含约5%葡萄糖的水或者乳酸林格氏液。在一个实施方案中,用人血清白蛋白补充药学上可接受的载体。

[0106] 出于本发明的目的,施用的本发明的TCR材料的量或剂量(例如在本发明的TCR材料是一种或多种细胞时的细胞数量)应当足以在合理的时间框内在对象或动物中产生例如治疗应答或预防应答。例如,本发明的TCR材料的剂量应当足以在离施用时间约2小时或更长,例如12至24或者更多个小时的时间段内结合癌症抗原(例如G12D RAS),或者检测、治疗或预防癌症。在某些实施方案中,时间段甚至可能更长。剂量将由特定的本发明的TCR材料的功效和动物(例如人类)的情况以及待治疗的动物(例如人类)的体重决定。

[0107] 用于确定施用剂量的许多测定是本领域已知的。出于本发明的目的,可以使用以下测定来确定向哺乳动物施用的起始剂量:其包括比较各自给予不同剂量的表达本发明的TCR、多肽或蛋白质的T细胞的一组哺乳动物中,在向哺乳动物施用给定剂量的此类T细胞时,靶细胞裂解的程度或此类T细胞分泌IFN- γ 的程度。可以通过本领域已知的方法来测定施用某一剂量时,靶细胞裂解或IFN- γ 分泌的程度。

[0108] 本发明的TCR材料的剂量也将由可伴随施用特定的本发明的TCR材料的任何不良副作用的存在、性质和程度决定。通常,在考虑各种因素,如年龄、体重、总体健康状况、饮食、性别、要施用的本发明的TCR材料、施用途径和所治疗癌症的严重程度后,主治医师将决定要治疗每名个体患者的本发明的TCR材料的剂量。在本发明的TCR材料是细胞群体的实施方案中,每次输注所施用的细胞数量可变化,例如约 1×10^6 至约 1×10^{12} 个细胞或更多。在某些实施方案中,可施用少于 1×10^6 个细胞。

[0109] 本领域的普通技术人员将容易理解本发明的发明性TCR材料可以以多种方式中的任一种进行修饰,使得通过修饰来增加本发明TCR材料的治疗性或预防性功效。例如,本发明的TCR材料可直接或通过桥而间接缀合至化学治疗剂。使化合物缀合至化学治疗剂的实践是本领域已知的。本领域技术人员认识到,本发明的TCR材料上并非本发明的TCR材料的

功能所需的位点是用于连接桥和/或化学治疗剂的合适位点,条件是桥和/或化学治疗剂在连接到本发明的TCR材料后并不干扰本发明的TCR材料的功能(即能够结合G12D RAS或检测、治疗或预防癌症)。

[0110] 预期本发明的药物组合物、TCR、多肽、蛋白质、核酸、重组表达载体、宿主细胞和细胞群体可用于治疗或预防癌症的方法中。不受限于特定理论,认为本发明的TCR特异性结合G12D RAS,使得TCR(或相关的本发明多肽或蛋白质)在由细胞表达时能够介导针对表达G12D RAS的靶细胞的免疫应答。在这方面,本发明的一个实施方案提供治疗或预防哺乳动物的癌症的方法,其包括以有效治疗或预防哺乳动物的癌症的量向哺乳动物施用本文所述的药物组合物、TCR、多肽或蛋白质中的任一种,包含编码本文所述的TCR、多肽、蛋白质中任一种的核苷酸序列的任何核酸或重组表达载体或者包含编码本文所述的TCR、多肽或蛋白质中任一种的重组载体的任何宿主细胞或细胞群体。

[0111] 本发明的一个实施方案提供了在哺乳动物中诱导针对癌症的免疫应答的方法,其包括以在哺乳动物中有效诱导针对癌症的免疫应答的量向哺乳动物施用本文所述的药物组合物、TCR、多肽或蛋白质中的任一种,包含编码本文所述的TCR、多肽、或蛋白质中任一种的核苷酸序列的任何核酸或重组表达载体或者包含编码本文所述的TCR、多肽或蛋白质中任一种的重组载体的任何宿主细胞或细胞群体。

[0112] 本发明的一个实施方案提供了本文所述的药物组合物、TCR、多肽或蛋白质中的任一种,包含编码本文所述的TCR、多肽、蛋白质中任一种的核苷酸序列的任何核酸或重组表达载体或者包含编码本文所述的TCR、多肽或蛋白质中任一种的重组载体的任何宿主细胞或细胞群体,其用于治疗或预防哺乳动物的癌症。

[0113] 本发明的一个实施方案提供了本文所述的药物组合物、TCR、多肽或蛋白质中的任一种,包含编码本文所述的TCR、多肽或蛋白质中任一种的核苷酸序列的任何核酸或重组表达载体或者包含编码本文所述的TCR、多肽或蛋白质中任一种的重组载体的任何宿主细胞或细胞群体,其用于在哺乳动物中诱导针对癌症的免疫应答。

[0114] 本文所用的术语“治疗”和“预防”以及由其衍生的措辞不一定意指100%或完全的治疗或预防。而是,存在本领域普通技术人员认为具有潜在益处或治疗效果的不同程度的治疗或预防。在这方面,本发明的方法可以提供任何量任何水平的哺乳动物中癌症的治疗或预防。此外,本发明的方法提供的治疗或预防可以包括被治疗或预防的癌症的一种或多种病况或症状的治疗或预防。例如,治疗或预防可包括促进肿瘤消退。同样,出于本文中的目的,“预防”可涵盖延迟癌症或其症状或病况的发作。可选地或另外,“预防”可涵盖预防或延迟癌症或其症状或病况的复发。

[0115] 还提供了检测哺乳动物中癌症存在的方法。所述方法包括(i)使包含来自哺乳动物的一个或多个细胞的样品与本文所述的本发明的TCR、多肽、蛋白质、核酸、重组表达载体、宿主细胞、细胞群体或药物组合物中的任一种接触,从而形成复合物,以及(ii)检测所述复合物,其中检测到所述复合物指示哺乳动物中存在癌症。

[0116] 就检测哺乳动物的癌症的本发明方法而言,细胞样品可为包括全细胞、其裂解物或全细胞裂解物的一部分(例如细胞核或细胞质部分、全蛋白部分或核酸部分)的样品。

[0117] 出于检测癌症的本发明方法的目的,接触可发生在哺乳动物的体外或体内。优选地,接触是在体外进行的。

[0118] 另外,可以通过本领域已知的多种方式中的任一种来检测复合物。例如,本文所述的本发明的TCR、多肽、蛋白质、核酸、重组表达载体、宿主细胞或细胞群体可以用可检测标记,诸如例如放射性同位素、荧光团(例如荧光黄异硫氰酸酯(FITC)、藻红蛋白(PE))、酶(例如碱性磷酸酶、辣根过氧化物酶)和元素颗粒(例如金颗粒))标记。

[0119] 出于其中施用宿主细胞或细胞群体的本发明方法的目的,细胞可为哺乳动物的同种异体或自体的细胞。优选地,细胞是哺乳动物自体的。

[0120] 就本发明方法而言,癌症可为任何癌症,包括以下中的任一种:急性淋巴细胞性癌症、急性髓样白血病、腺泡状横纹肌肉瘤、骨癌、脑癌、乳腺癌、肛门癌、肛管癌或直肠肛门癌、眼癌、肝内胆管癌、关节癌、颈癌、胆囊癌或胸膜癌、鼻癌、鼻腔癌或中耳癌、口腔癌、阴道癌、外阴癌、慢性淋巴细胞性白血病、慢性髓样癌症、结肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌、食管癌、宫颈癌、胃肠道类癌肿瘤、胶质瘤、霍奇金淋巴瘤、下咽癌、肾癌、喉癌、肝癌、肺癌、恶性间皮瘤、黑色素瘤、多发性骨髓瘤、鼻咽癌、非霍奇金淋巴瘤、口咽癌、卵巢癌、阴茎癌、胰腺癌、腹膜癌、网膜癌和肠系膜癌、咽癌、前列腺癌、直肠癌、肾癌、皮肤癌、小肠癌、软组织癌、胃癌、睾丸癌、甲状腺癌、子宫癌、输尿管癌和膀胱癌。优选的癌症是胰腺癌、结肠直肠癌、肺癌、子宫内膜癌、卵巢癌或前列腺癌。优选地,肺癌是肺腺癌,卵巢癌是上皮卵巢癌,以及胰腺癌是胰脏腺癌。在本发明的一个实施方案中,癌症表达在位置12处的甘氨酸被天冬氨酸取代的突变的人类RAS氨基酸序列,其中所述突变的人类RAS氨基酸序列是突变的人类KRAS、突变的人类HRAS或突变的人类NRAS氨基酸序列,以及其中位置12分别参照WT人类KRAS、WT人类HRAS或WT人类NRAS蛋白被定义。由癌症表达的突变的人类KRAS、突变的人类HRAS和突变的人类NRAS可如本文针对本发明的其它方面所述。

[0121] 本发明方法中所提及的哺乳动物可为任何哺乳动物。如本文所用,术语“哺乳动物”是指任何哺乳动物,包括但不限于啮齿目的哺乳动物(如小鼠和仓鼠)和兔形目的哺乳动物(如兔)。优选的是哺乳动物来自食肉目,包括猫科动物(猫)和犬科动物(狗)。更优选的是哺乳动物来自偶蹄目(包括牛科动物(牛)和猪科动物(猪))或奇蹄目(包括马科动物(马))。最优选地的是哺乳动物是灵长目、猿目或猴目(猴)或类人猿目(人类和猿)。尤其优选的哺乳动物是人类。

[0122] 以下实施例进一步说明本发明,但当然不应解释为以任何方式限制其范围。

实施例1

[0123] 本实施例证实了从结肠直肠癌患者4271的外周血淋巴细胞(PBL)中分离抗G12D RAS TCR。

[0124] 来自结肠直肠癌患者4271的PBL在体外(IVS)用自体树突细胞(DC)刺激。用G12D 24-mer肽MTEYKLVVVGADGVGKSALTIQLI(SEQ ID NO:88)脉冲DC。通过与已经用G12D 24-mer肽或相应的WT 24-mer肽MTEYKLVVVGAGGVGKSALTIQLI(SEQ ID NO:89)脉冲的自体DC共培养来测试细胞。将与用DMSO处理的DC共培养和与单独的DC共培养用作阴性对照。将在PMA存在下培养的PBL用作阳性对照。使用酶联免疫斑点(ELISpot)测定通过IFN γ 分泌来测试反应性。结果显示在图1A中。如图1A所示,在与已经用G12D 24-mer肽脉冲的DC共培养后,观察到反应性细胞。

[0125] 还通过流式细胞术测定测量4-1BB和/或OX40表达的上调来测试反应性。结果显示在图1B-1C中。如图1B-1C所示,在与已经用G12D24-mer肽脉冲的DC共培养后,观察到反应性

细胞。

[0126] 将阳性细胞再刺激并通过4-1BB上调分选到96孔板中用于单细胞T细胞受体 (TCR) 测序。发现了四种TCR,即4271TCR1、4271TCR2、4271TCR3和4271TCR4(表5)。

表5

TCR 名称	β 链	α 链
4271 TCR1	TRBV20-1*01 / TRBJ2-1*01	TRAV14/DV4*02 / TRAJ10*01
4271 TCR2	TRBV20-1*01 / TRBJ1-4*01	TRAV13-1*01 / TRAJ18*01
4271 TCR3	TRBV11-2*01 / TRBJ1-1*01	TRAV19*01 / TRAJ53*01
4271 TCR4	TRBV4-2*01 / TRBJ2-2*01	TRAV1-2*01 / TRAJ22*01

[0127] 通过单细胞TCR测序鉴定TCR α 和 β 链可变区的序列。 α 和 β 链可变区的氨基酸序列显示于表6中。CDR被加下划线。N端信号肽被加粗。

表6

TCR 名称	TCR 链	氨基酸序列
4271 TCR1	可变 α (不具有 N 端信号肽的预测序列)	AQKITQTQPGMFVQEKEAVTLDCTYDTS <u>SDQSYGLFWYKQPSS</u> GEMIFLIYQGSYDEQNATEGRYSLNFQKARKSANLVISASQLG DSAMYFCAMREGPRGGGNKLTFTGTGTQLKVEL (SEQ ID NO: 7)
	可变 β (不具有 N 端信号肽的预测序列)	GAVVSQHPSWVICKSGTSVKIECRSLDFQATTMFWYRQFPKQS LMLMATSNESKATYEQGVEKDKFLINHASLTSTLTVTSAHP EDSSFYICSANPIAANSYNEQFFGPGTRLTVL (SEQ ID NO: 8)
	可变 α (具有 N 端信号肽)	<u>MSLSSLLKVVTASLWLP</u> GIAQKITQTQPGMFVQEKEAVTLDCTYDTS <u>SDQSYGLFWYKQPSS</u> GEMIFLIYQGSYDEQNATEGRYSLNFQKARKSANLVISASQLGDSAMYFCAMREGPRGGGNKLTFTGTGTQLKVEL (SEQ ID NO: 9)
	可变 β (具有 N 端信号肽)	<u>MALLLLLLLPGISLLLPGSLG</u> SGLGAVVSQHPSWVICKSGTSVKIECRSLDFQATTMFWYRQFPKQSLMLMATSNESKATYEQGVEKDKFLINHASLTSTLTVTSAHPEDSSFYICSANPIAANSYNEQFFGPGTRLTVL (SEQ ID NO: 10)
4271 TCR2	可变 α (不具有 N 端信号肽的预测序列)	GENVEQHPSTLSVQEGDSAVIKCTYSDSASNYFPWYKQELGKGPQLIIDIRSNVGEKKDQRIAVTLNKTAKHFSLHITETQPEDSAVYFCAATSTDRGSTLGRLYFGRGTQLTVWP (SEQ ID NO: 17)
	可变 β (不具有 N 端信号肽的预测序列)	GAVVSQHPSWVICKSGTSVKIECRSLDFQATTMFWYRQFPKQSLMLMATSNESKATYEQGVEKDKFLINHASLTSTLTVTSAHPEDSSFYICSARDPATNEKLFFGSGTQLSVL (SEQ ID NO: 18)
	可变 α (具有 N 端信号肽)	<u>MTSIRAVFIFLWLQLDV</u> NGENVEQHPSTLSVQEGDSAVIKCTYSDSASNYFPWYKQELGKGPQLIIDIRSNVGEKKDQRIAVTLNKTAKHFSLHITETQPEDSAVYFCAATSTDRGSTLGRLYFGRGTQLTVWP (SEQ ID NO: 19)
	可变 β (具有 N 端信号肽)	<u>MALLLLLLLPGISLLLPGSLG</u> SGLGAVVSQHPSWVICKSGTSVKIECRSLDFQATTMFWYRQFPKQSLMLMATSNESKATYEQGVEKDKFLINHASLTSTLTVTSAHPEDSSFYICSARDPATNEKLFFGSGTQLSVL (SEQ ID NO: 20)
4271 TCR3	可变 α (不具有 N 端信号肽的预测序列)	AQKVTAQTEISVVEKEDVTLDVCYETRDTTYLYFWYKQPPSGELVFLIRNSFDEQNEISGRYSWNFQKSTSSFNFTITASQVVD SAVYFCALSEAGAFSGGSNYKLTFGKGTLTVNP (SEQ ID NO: 27)
	可变 β (不具有 N 端信号肽的预测序列)	EAGVAQSPRYKIIKRQSVAFWCNPISGHATLYWYQQILGQPKLLIQFNNGVVDSDQLPKDRFSAERLKGVDSTLKIQPAKLED SAVYLCASSLALGQGDTEAFFGQGTRLTVV (SEQ ID NO: 28)
	可变 α (具有 N 端信号肽)	<u>MLTASLLRAVIASICVSSMAQKVTQAQTEISVVEKEDVTLD</u> CVYETRDTTYLYFWYKQPPSGELVFLIRNSFDEQNEISGRYSWNFQKSTSSFNFTITASQVVD SAVYFCALSEAGAFSGGSNYKLTFGKGTLTVNP (SEQ ID NO: 29)
	可变 β	<u>MATRLLCWAALCLLGALTEAGVAQSPRYKIIKRQSVAFWCNPISGHATLYWYQQILGQPKLLIQFNNGVVDSDQLPKDRFS</u>

TCR 名称	TCR 链	氨基酸序列
	(具有 N 端信号肽)	AERLKGV DSTLKI QPAKLEDSAVYLCASSLALGQGDTEAFFGQ GTRLTVV (SEQ ID NO: 30)
4271 TCR4	可变 α (不具有 N 端信号肽的预测序列)	GQNIDQPTMTATEGAIVQINCTYQTSGFNGLFWYQQHAGEA PTFLSYNVLDGLEEKGRFSSFLSRSGYSYLLKELQMKDSAS YLCAVFSSGSARQLTFGSGTQLTVLP (SEQ ID NO: 37)
	可变 β (不具有 N 端信号肽的预测序列)	ETGVTQTPRHLVMGMTNKKSLKCEQHLGHNAMYWYKQSAK KPLELMFVYNFKEQTENNSVPSRFSPECNSSLFLHLHTLQPE DSALYLCASSQAWGGADGELFFGEGSRLTVL (SEQ ID NO: 38)
	可变 α (具有 N 端信号肽)	MWGVFLLYVSMKMGTTGQNIDQPTMTATEGAIVQINCTY QTSGFNGLFWYQQHAGEAPTFLSYNVLDGLEEKGRFSSFLSR KGYSYLLKELQMKDSASYLCALVFSSGSARQLTFGSGTQLTVL P (SEQ ID NO: 39)
	可变 β (具有 N 端信号肽)	MACRLCCAVLCLLGAPMETGVTQTPRHLVMGMTNKKSLK CEQHLGHNAMYWYKQSAKKPLELMFVYNFKEQTENNSVPSR FSPECNSSLFLHLHTLQPEDSALYLCASSQAWGGADGELFF GEGSRLTVL (SEQ ID NO: 40)

实施例2

[0128] 本实施例证实了编码实施例1的相应TCR的逆转录病毒载体的构建。

[0129] 获得了表6的编码4271TCR1、4271TCR2、4271TCR3或4271TCR4的 α 链和 β 链的可变区的核苷酸序列并进行密码子优化。将TCR β VDJ区与小鼠TCR β 恒定链融合。将TCR α VJ区与小鼠TCR α 恒定链融合。不受限于特定理论或机制,认为使用相应的鼠类恒定区替换人类TCR α 链和TCR β 链的恒定区改善了TCR表达和功能(Cohen等人,Cancer Res.,66(17):8878-86(2006))。

[0130] 另外,鼠类TCR α 和TCR β 恒定链是半胱氨酸修饰的。将跨膜疏水性突变引入到鼠类TCR α 恒定链中。不受限于特定理论或机制,认为这些修饰导致所引入的TCR链的优先配对以及增强的TCR表面表达和功能(Cohen等人,Cancer Res.,67(8):3898-903(2007);Haga-Friedman等人,J.Immu.,188:5538-5546(2012))。四种TCR中每一种的全长 α 和 β 链(包括对恒定区的这些修饰)显示在表7中。在表7中,CDR被加下划线,以及恒定区的修饰氨基酸残基被加下划线并且加粗。

表 7

SEQ ID NO:	序列
SEQ ID NO: 59 (具有 N 端信号肽的 Cys 取代的 LVL 修饰的 4271 TCR1 α 链)	MSLSLLKVV T ASLWLP G IAQKITQTQPGMFVQEKEAVTLDCTYDTS D QSYGLFWYKQPSSGEMIFLIYQGSYDEQNATEGRYSLNFQKARKSANLVISA SQLGDSAMYFCAMREGPRGGGNKLTFTGTGTQLKVELNIQNPEPAVYQLK DPRSQDSTLCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKCVLDMKAMD S KSNGAI AWSNQTSFTCQDIFKETNATYPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLFQNL L VIVLRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS
SEQ ID NO: 60 (具有 N 端信号肽的 Cys 取代的 LVL 修饰的 4271 TCR1 β 链)	MALLLLLPGISLLLPGSLGSLGAVVSQHPSWVICKSGTSVKIECRSLDFQATTMFWYRQFPKQSLMLMATSNEGSKATYEQGVEKDKFLINHASLTL STLTVTSAHPEDSSFYIC S ANPIAANSYNEQFFGPGTRLTVLEDLRNVTPPKVSLFEPKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVELSWVWNGKEVHSGVCTDPQAYKESNYSYCLSSRLRVSATFWHNPRNHFRCQVQFHGLSEEDKWPE GSPKPV T QNISAEAWGRADCGITSASYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSTLVVMAMVVRKNS
SEQ ID NO: 61 (不具有 N 端信号肽的 Cys 取代的 LVL 修饰的 4271 TCR1 α 链预测序列)	AQKITQTQPGMFVQEKEAVTLDCTYDTS D QSYGLFWYKQPSSGEMIFLIYQGSYDEQNATEGRYSLNFQKARKSANLVISASQLGDSAMYFCAMREGPRGGGNKLTFTGTGTQLKVELNIQNPEPAVYQLKDPRSQDSTLCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKCVLDMKAMD S KSNGAIAWSNQTSFTCQDIFKETNATYPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLFQNL L VIVLRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS
SEQ ID NO: 62 (不具有 N 端信号肽的 Cys 取代的 LVL 修饰的 4271 TCR1 β 链预测序列)	GAVVSQHPSWVICKSGTSVKIECRSLDFQATTMFWYRQFPKQSLMLMATSNEGSKATYEQGVEKDKFLINHASLTLSTLTVTSAHPEDSSFYIC S ANPIAANSYNEQFFGPGTRLTVLEDLRNVTPPKVSLFEPKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVELSWVWNGKEVHSGVCTDPQAYKESNYSYCLSSRLRVSATFWHNPRNHFRCQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPV T QNISAEAWGRADCGITSASYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSTLVVMAMVVRKNS
SEQ ID NO: 67 (具有 N 端信号肽的 Cys 取代的 LVL 修饰的 4271 TCR2 α 链)	MTSIRAVFIFLWLQLDVNGENVEQHPSTLSVQEGDSAVIKCTYSDSASNYFPWYKQELGKGPQLIIDIRSNVGEKKDQRIAVTLNKTAKHFS L HITETQPEDSAVYFCAATSTDRGSTLGRLYFGRGTQLTVWPNIQNPEPAVYQLKDPRSQDSTLCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKCVLDMKAMD S KSNGAIAWSNQTSFTCQDIFKETNATYPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLFQNL L VIVLRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS
SEQ ID NO: 68 (具有 N 端信号肽的 Cys 取代的 LVL 修饰的 4271 TCR2 β 链)	MALLLLLPGISLLLPGSLGSLGAVVSQHPSWVICKSGTSVKIECRSLDFQATTMFWYRQFPKQSLMLMATSNEGSKATYEQGVEKDKFLINHASLTLSTLTVTSAHPEDSSFYIC S ARDPATNEKLFFGSGTQLSVLEDLRNVTPPKVSLFEPKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVELSWVWNGKEVHSGVCTDPQAYKESNYSYCLSSRLRVSATFWHNPRNHFRCQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPV T QNISAEAWGRADCGITSASYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLV

SEQ ID NO:	序列
	STLVVMAMVVRKNS
SEQ ID NO: 69 (不具有 N 端信号肽的 Cys 取代的 LVL 修饰的 4271 TCR2 α 链预测序 列)	GENVEQHPSTLSVQEGDSAVIKCTYSDSASNYFPWYKQELGKGPQLIIDIR SNVGEKKDQRIAVTLNKTAKHFSLHITETQPEDSAVYFCAATSTD RG STL GRLYFGRGTQLTVWPNIQNPEPAVYQLKDPRSQDSTLCLFTDFDSQINVP KTMESGTFITDKC <u>V</u> LDMKAMD SK SNGAIAWSNQTSTFCQDIFKETNATY PSSDVPCDATLTEKSFETDMNLNFQNL <u>LVI</u> LRILLKLVAGFNLLMTLRL WSS
SEQ ID NO: 70 (不具有 N 端信号肽的 Cys 取代的 LVL 修饰的 4271 TCR2 β 链预测序 列)	GAVVSQHPSWVICKSGTSVKIECRSLDFQATTMFWRQFPKQSLMLMAT SNEGSKATYEQGVEKDKFLINHASLTLSTLTVTSAHPEDSSFYICSARDPA TNEKLFFGSGTQLSVLEDLRNVTPPKVSLFEPKAEIANKQKATLVCLAR GFFPDHVELSWWVNGKEVHSGV <u>C</u> TDPQAYKESNYSYCLSSRLRVSATF WHNPRNHFRQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPVTONISAEAWGRADCGITS ASYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSTLVVMAMVVRKNS
SEQ ID NO: 75 (具有 N 端信号肽的 Cys 取代的 LVL 修饰的 4271 TCR3 α 链)	MLTASLLRAVIASICVSSMAQKVTQAQTEISVVEKEDVTLDVCYETRD TT YYLFWYKQPPSGELVFLIRRN SF DEQNEISGRYSWNFQKSTSSFNFTITAS QVVD SA VYFCALSEAGAFSGGSNYKLTFGKGTLTVPNIQNPEPAVYQ LKDPRSQDSTLCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKC <u>V</u> LDMKAMD SK SNG AIAWSNQTSTFCQDIFKETNATYPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLNFQNL <u>LVI</u> LRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS
SEQ ID NO: 76 (具有 N 端信号肽的 Cys 取代的 LVL 修饰的 4271 TCR3 β 链)	MATRLCWAALCLLGALTEAGVAQSPRYKII EK RQSVAFWCNPISGHAT LYWYQQILGQGPKLLIQFQNGVVD DS QLPKDRFSAERLKGVDSTLKIQP AKLED SA VYLCASSLALGQGDTEAFGQGTRLTVVEDLRNVTPPKVSLFE PSKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVELSWWVNGKEVHSGV <u>C</u> TDPQAY KESNYSYCLSSRLRVSATFWHNPRNHFRQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPV TONISAEAWGRADCGITSASYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSTL VVMAMVVRKNS
SEQ ID NO: 77 (不具有 N 端信号肽的 Cys 取代的 LVL 修饰的 4271 TCR3 α 链预测序 列)	AQKVTQAQTEISVVEKEDVTLDVCYETRD TT YYLFWYKQPPSGELVFLIR RNSFDEQNEISGRYSWNFQKSTSSFNFTITASQVVD SA VYFCALSEAGAFS GGSNYKLTFGKGTLTVPNIQNPEPAVYQLKDPRSQDSTLCLFTDFDSQI NVPKTMESGTFITDKC <u>V</u> LDMKAMD SK SNGAIAWSNQTSTFCQDIFKETN ATYPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLNFQNL <u>LVI</u> LRILLKLVAGFNLLMT LRLWSS
SEQ ID NO: 78 (不具有 N 端信号肽的 Cys 取代的 LVL 修饰的 4271 TCR3 β 链预测序 列)	EAGVAQSPRYKII EK RQSVAFWCNPISGHATLYWYQQILGQGPKLLIQFQ NNGVVD DS QLPKDRFSAERLKGVDSTLKIQPAKLED SA VYLCASSLALG QGDTEAFGQGTRLTVVEDLRNVTPPKVSLFEPKAEIANKQKATLVCLA RGFFPDHVELSWWVNGKEVHSGV <u>C</u> TDPQAYKESNYSYCLSSRLRVSATF WHNPRNHFRQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPVTONISAEAWGRADCGITS ASYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSTLVVMAMVVRKNS

SEQ ID NO:	序列
列)	
SEQ ID NO: 83 (具有 N 端信号肽的 Cys 取代的 LVL 修饰的 4271 TCR4 α 链)	MWGVFLLYVSMKMGTTGQNIDQPTMTATEGAIVQINCTYQTSGFNGLF WYQQHAGEAPTFLSYN <u>VLDGLEEKGRFSSFLSR</u> SKGYSYLLKELQMKD SASYLCAVFSSGSARQLTFGSGTQLTVLPNIQNPEPAVYQLKDPRSQDSTL CLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDK <u>CVLDMKAMDSK</u> SNGAIAWSNQTSTFT CQDIFKETNATYPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLFQNL <u>LVI</u> LRILLKLV AGFNLLMTLRLWSS
SEQ ID NO: 84 (具有 N 端信号肽的 Cys 取代的 LVL 修饰的 4271 TCR4 β 链)	MACRLCCAVLCLLGAPMETGVTQTPRHLVMGMTNKKSLKCEQH <u>LGH</u> <u>NAMYWYKQSAKKPLELMFVYNFKEQTENNSVPSRFSPEC</u> PNSSHLFLHL HTLQPEDSALYL <u>CASSQAWGGADGELFFGEGSRLTVLED</u> LRNVTPPKVS LFEPSKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVELSWVNGKEVHSGV <u>CTDPQ</u> AYKESNYSYCLSSRLRVSATFWHNPRNHFRQCQVQFHGLSEEDKWPEGSP KPVTQNISAEAWGRADCGITSASYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVS TLVVMAMVKRKNS
SEQ ID NO: 85 (不具有 N 端信号肽的 Cys 取代的 LVL 修饰的 4271 TCR4 α 链预测序列)	GQNIDQPTMTATEGAIVQINCTYQTSGFNGLFWYQQHAGEAPTFLSYN <u>VLDGLEEKGRFSSFLSR</u> SKGYSYLLKELQMKDSASYLCAVFSSGSARQL TFGSGTQLTVLPNIQNPEPAVYQLKDPRSQDSTLCLFTDFDSQINVPKTM ESGTFITDK <u>CVLDMKAMDSK</u> SNGAIAWSNQTSTFTCQDIFKETNATYPSSDV PCDATLTEKSFETDMNLFQNL <u>LVI</u> LRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS
SEQ ID NO: 86 (不具有 N 端信号肽的 Cys 取代的 LVL 修饰的 4271 TCR4 β 链预测序列)	ETGVTQTPRHLVMGMTNKKSLKCEQH <u>LGH</u> NAMYWYKQSAKKPLELMF <u>VYNFKEQTENNSVPSRFSPEC</u> PNSSHLFLHLHTLQPEDSALYL <u>CASSQAW</u> <u>GGADGELFFGEGSRLTVLED</u> LRNVTPPKVSLFEPSKAEIANKQKATLVCL ARGFFPDHVELSWVNGKEVHSGV <u>CTDPQ</u> AYKESNYSYCLSSRLRVSA TFWHNPRNHFRQCQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPVTQNISAEAWGRADCGI TSASYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSTLVVMAMVKRKNS

[0131] 将表7的编码4271TCR1、4271TCR2、4271TCR3或4271TCR4的 α 和 β 链的可变区的核苷酸序列独立地克隆到具有以下表达盒配置的基于MSGV1的逆转录病毒载体中：5' NcoI-VDJ β -mCb-弗林蛋白酶/SerGly/P2A-VJ α -mCa-EcoRI3'。为了促进TCR表达盒克隆到MSGV1载体5' NcoI位点，将TCRV β 链的N端信号肽中的第二个氨基酸变为丙氨酸(A)。

[0132] TCR β 和TCR α 链由弗林蛋白酶Ser/Gly P2A接头肽(SEQ ID NO:87)分开。不受限于特定理论或机制，认为接头肽提供了两条链的相当的表达效率(Szymczak等人，Nat.Biotechnol., 22(5):589-94(2004))。

[0133] 逆转录病毒载体的TCR表达盒自5'至3'编码由接头肽分开的TCR β 和TCR α 链。对于各自相应的TCR，由TCR表达盒编码的氨基酸序列显示在表8中。在表8中，CDR被加下划线，恒定区是斜体的，以及接头肽以粗体示出。

表8

TCR 名称	由 TCR 表达盒编码的氨基酸序列
4271 TCR1	<u>MALLLLLLLPGISLLLP</u><u>SGSLG</u><u>SLGAVVSQHP</u><u>SWVICKSGT</u><u>SVKIECRSLDFQATT</u> <u>MF</u><u>WYRQFPKQSLMLMAT</u><u>SN</u><u>EGSKAT</u><u>YEQGVEKDKFLINHASLTLSTLT</u><u>VTSAHP</u> <u>EDSSFYICSANPIAANSYNEQ</u><u>FFGPGTR</u><u>TLTVLEDLRNVTPPKVSLFEP</u><u>SKAEIANKQK</u> <u>ATLVCLARGFFPDHVELSWWVNGKEVHSGVCTDPQ</u><u>AYKESNYSYCLSSRLRV</u><u>SATFWH</u> <u>NPRNHFR</u><u>QVQFHGLSEEDKWPEGSPK</u><u>PVTQ</u><u>NISAEAWGRADCGITSAS</u><u>YQQGVLSA</u> <u>TILYEILLGKATLYAVLVSTLVVMAMV</u><u>KRKNSRAK</u><u>RS</u><u>SGSGATNFSLLKQAGDVEENP</u> <u>GPMSLSSLLKVVTASLWLP</u><u>GIAQKITQTQ</u><u>PGMFVQEKEAVTLDCTYD</u><u>TS</u><u>DQSYGL</u> <u>FWYKQPSSGEMIFLIYQGSYDEQ</u><u>NATEGRYSLNFQKARKSANLVISASQLGDSAM</u> <u>YFCAMREGPRGGGNKLT</u><u>FGTGTQLKVELNIQN</u><u>PEPAVYQLKDPRSQDSTLCLFTDF</u> <u>DSQINVPKTMESGTFITDKCVLDMKAMD</u><u>SKSNGAIAWSNQT</u><u>SFTCQDIFKETNATYP</u><u>SSDVP</u> <u>CDATLTEKSFETDMNLFQ</u><u>NLLVIVLRILLK</u><u>VAGFNLLMTLRLWSS</u> (SEQ ID NO: 91)
4271 TCR2	<u>MALLLLLLLPGISLLLP</u><u>SGSLG</u><u>SLGAVVSQHP</u><u>SWVICKSGT</u><u>SVKIECRSLDFQAT</u> <u>TMFWYRQFPKQSLMLMAT</u><u>SN</u><u>EGSKAT</u><u>YEQGVEKDKFLINHASLTLSTLT</u><u>VTSAH</u> <u>PEDSSFYICSARDPATNEKLFFGSGTQLSVLEDLRNVTPPKVSLFEP</u><u>SKAEIANKQKA</u> <u>TLVCLARGFFPDHVELSWWVNGKEVHSGVCTDPQ</u><u>AYKESNYSYCLSSRLRV</u><u>SATFWH</u> <u>NPRNHFR</u><u>QVQFHGLSEEDKWPEGSPK</u><u>PVTQ</u><u>NISAEAWGRADCGITSAS</u><u>YQQGVLSA</u> <u>TILYEILLGKATLYAVLVSTLVVMAMV</u><u>KRKNSRAK</u><u>RS</u><u>SGSGATNFSLLKQAGDVEENP</u> <u>GPMTSIRAVFIFLWLQLDVNGENVEQHP</u><u>STLSVQEGDSAVIKCTYSDSASNYFPW</u> <u>YKQELGKGPQLIIDIRSNVGEKKDQRI</u><u>AVTLNKTAKHFS</u><u>LHITETQPEDSAVYFCA</u> <u>ATSTD</u><u>RGSTLGRLYFGRGTQLTVWPNIQN</u><u>PEPAVYQLKDPRSQDSTLCLFTDFDSQI</u> <u>NVPKTMESGTFITDKCVLDMKAMD</u><u>SKSNGAIAWSNQT</u><u>SFTCQDIFKETNATYP</u><u>SSDVP</u> <u>CDATLTEKSFETDMNLFQ</u><u>NLLVIVLRILLK</u><u>VAGFNLLMTLRLWSS</u> (SEQ ID NO: 92)
4271 TCR3	<u>MATRLLCWAALC</u><u>LLGALTEAGVAQSPRYK</u><u>IEKRQSVAFWCN</u><u>PISGHATLYWYQQ</u> <u>ILGQGP</u><u>KLLIQFQ</u><u>NNGVVDDSQLPKDRFSAERLKG</u><u>VDSTLKIQPAKLED</u><u>SAVYLC</u> <u>ASSLALGQGDTEA</u><u>FFGQGT</u><u>RLTVVEDLRNVTPPKVSLFEP</u><u>SKAEIANKQKATLVCL</u> <u>RGFFPDHVELSWWVNGKEVHSGVCTDPQ</u><u>AYKESNYSYCLSSRLRV</u><u>SATFWH</u><u>NPRNHFR</u> <u>QVQFHGLSEEDKWPEGSPK</u><u>PVTQ</u><u>NISAEAWGRADCGITSAS</u><u>YQQGVLSATILYEILL</u> <u>GKATLYAVLVSTLVVMAMV</u><u>KRKNSRAK</u><u>RS</u><u>SGSGATNFSLLKQAGDVEENP</u><u>GPMLTA</u> <u>SLLRAVIASICVSSMAQKV</u><u>TQAQTEISVVEKEDVTLDCVYET</u><u>RD</u><u>TTYLYFWYKQP</u> <u>PSGELVFLIR</u><u>RNSFEQNEISGRYSWN</u><u>FQKSTSSFN</u><u>TITASQVVD</u><u>SAVYFCALSEA</u> <u>GAFSGGSNYKLT</u><u>FGKGTLLTVNPNIQN</u><u>PEPAVYQLKDPRSQDSTLCLFTDFDSQINV</u> <u>PKTMESGTFITDKCVLDMKAMD</u><u>SKSNGAIAWSNQT</u><u>SFTCQDIFKETNATYP</u><u>SSDVP</u> <u>CDATLTEKSFETDMNLFQ</u><u>NLLVIVLRILLK</u><u>VAGFNLLMTLRLWSS</u> (SEQ ID NO: 93)
4271 TCR4	<u>MACRLLCCA</u><u>VLCLLGAPMETGVTQTPRHLV</u><u>MGMTNKKSLKCEQH</u><u>LGHNA</u><u>MYW</u> <u>YKQSAKKPLELMFVY</u><u>NFKEQ</u><u>TENNSVPSRFSPEC</u><u>PNSSHLFHLH</u><u>LTLQPEDS</u><u>ALY</u> <u>LCASSQAWGGADGELFFGEGS</u><u>RLTVLEDLRNVTPPKVSLFEP</u><u>SKAEIANKQKATLVCL</u> <u>LARGFFPDHVELSWWVNGKEVHSGVCTDPQ</u><u>AYKESNYSYCLSSRLRV</u><u>SATFWH</u><u>NPRNHFR</u> <u>QVQFHGLSEEDKWPEGSPK</u><u>PVTQ</u><u>NISAEAWGRADCGITSAS</u><u>YQQGVLSATILYEILL</u> <u>GKATLYAVLVSTLVVMAMV</u><u>KRKNSRAK</u><u>RS</u><u>SGSGATNFSLLKQAGDVEENP</u><u>GP</u> <u>WGVFLLYVSMKMGTTGQ</u><u>NIDQPT</u><u>EMTATEGAIVQINCTYQ</u><u>TSGFNGLFWYQQH</u> <u>AGEAPTFLSY</u><u>NVL</u><u>DGLEEKGRFSSFLSR</u><u>SGSYLLKELQ</u><u>MKMD</u><u>SASYLC</u><u>AVFSS</u> <u>GSARQLTFGSGTQLTVLPNIQN</u><u>PEPAVYQLKDPRSQDSTLCLFTDFDSQINV</u> <u>PKTMESGTFITDKCVLDMKAMD</u><u>SKSNGAIAWSNQT</u><u>SFTCQDIFKETNATYP</u><u>SSDVP</u> <u>CDATLTEKSFETDMNLFQ</u><u>NLLVIVLRILLK</u><u>VAGFNLLMTLRLWSS</u> (SEQ ID NO: 94)

实施例3

[0134] 本实施例证实了实施例2的逆转录病毒载体表达的TCR的亲合力。

[0135] 用实施例2的编码4271TCR1、4271TCR2、4271TCR3或4271 TCR4的逆转录病毒载体独立转导自体PBL。

[0136] 用实施例1的G12D 24-mer肽或相应的WT 24-mer肽以图2A-2D所示的多种浓度之一加载自体DC。将细胞洗涤两次，并与转导的T细胞以6e4个DC:5e4个T细胞的比例共培养过夜。通过荧光活化细胞分选(FACS)评价4-1BB和/或OX40上调。结果显示在图2A-2D中。

实施例4

[0137] 本实施例证实了实施例2的逆转录病毒载体表达的TCR识别HLA-DR分子呈递的G12D RAS。

[0138] 使用外显子组和mRNA测序测定患者4271表达的MHC II类分子。表达的MHC II类分

子显示在表9中。

表9

4271 MHC-II	
DQA1-1 - 01:02	DRB1*03:01
DQA1-2 - 05:01	DRB1*11:01
DQB1-1 - 02:01	DRB3*01:01:02
DQB1-2 - 05:02	DRB3*03:01:01
DPA-1 - 02:01	DRB4*03:01
DPA-2 - 03:03	
DPB1-1 - 01:01	
DPB1-2 - 04:02	

[0139] 在用抗HLA DP、抗HLA DQ或抗HLA DR抗体或没有阻断抗体的情况下处理靶细胞后,用G12D 24-mer肽脉冲自体DC(靶细胞)。然后将靶细胞与效应细胞共培养。效应细胞是用实施例2的编码4271TCR1、4271TCR2、4271TCR3或4271TCR4的逆转录病毒载体独立转导的自体T细胞。在抗CD3/抗CD28 Dynabeads存在下培养的效应细胞用作阳性对照。抗CD3/抗CD28 Dynabeads非特异性刺激效应细胞。在DMSO存在下培养的效应细胞用作阴性对照。

[0140] 通过ELISPOT测量IFN- γ 分泌。通过FACS测量OX40和/或4-1BB上调。结果显示在图3A-3B中。

[0141] 如图3A-3B所示,在抗-HLA DR抗体存在下阻断OX40和/或4-1BB上调和IFN- γ 分泌。

[0142] 本文引用的所有参考文献,包括出版物、专利申请和专利,均通过引用并入本文,其程度如同每篇参考文献均被单独且具体地指明为通过引入并入本文并在本文整体阐述。

[0143] 在描述本发明的上下文中(尤其是在所附权利要求的上下文中)术语“一个”和“一种”和“该”和“至少一种”以及类似指代物的使用应被解释为涵盖了单数和复数两种,除非本文另有说明或与上下文明显矛盾。术语“至少一种”之后是一项或多项的列表(例如,“A和B中的至少一种”)的使用应理解为意指选自所列项(A或B)的一项或所列项(A和B)的两种或多种的任何组合,除非本文另有说明或与上下文明显矛盾。除非另有说明,否则术语“包含”、“具有”、“包括”和“含有”应被解释为开放式术语(即,意指“包括但不限于”)。除非在本文中另外指出,否则本文中数值范围的叙述仅旨在用作分别指代落入该范围内的每个单独值的简写方法,并且每个单独值都被并入说明书中,就好像它在本文中被单独叙述一样。除非本文另外指出或另外与上下文明显矛盾,否则本文描述的所有方法可以以任何适合的顺序执行。除非另外要求保护,否则本文提供的任何和所有示例或示例性语言(如,“诸如”)的使用仅旨在更好地阐明本发明,并且不对本发明的范围构成限制。说明书中的任何语言都不应解释为指示任何未要求保护的要素对于实施本发明必不可少。

[0144] 本文描述了本发明的优选实施方案,包括发明人已知的用于实施本发明的最佳模式。在阅读前述说明书之后,那些优选实施方案的变型对于本领域普通技术人员而言将变得显而易见。本发明人期望本领域技术人员适当地采用这样的变型,并且本发明人有意以不同于本文具体描述的方式来实践本发明。因此,本发明包括适用法律所允许的所附权利

要求书中记载的主题的所有修改和等同物。此外,除非本文另外指出或另外与上下文明显矛盾,否则本发明涵盖上述要素在其所有可能的变型中的任何组合。

序列表

<110> 美国卫生和人力服务部
<120> 针对具有G12D突变的RAS的HLA II类限制性DRB T细胞受体
<130> 754395
<150> US 63/050,931
<151> 2020-07-13
<160> 98
<170> PatentIn version 3.5
<210> 1
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 1
Thr Ser Asp Gln Ser Tyr Gly
1 5
<210> 2
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 2
Gln Gly Ser Tyr Asp Glu Gln Asn
1 5
<210> 3
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 3
Cys Ala Met Arg Glu Gly Pro Arg Gly Gly Gly Asn Lys Leu Thr Phe
1 5 10 15
<210> 4
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 4
Asp Phe Gln Ala Thr Thr
1 5
<210> 5
<211> 7

<212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)
 <400> 5
 Ser Asn Glu Gly Ser Lys Ala
 1 5
 <210> 6
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)
 <400> 6
 Cys Ser Ala Asn Pro Ile Ala Ala Asn Ser Tyr Asn Glu Gln Phe
 1 5 10 15
 <210> 7
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)
 <400> 7
 Ala Gln Lys Ile Thr Gln Thr Gln Pro Gly Met Phe Val Gln Glu Lys
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Thr Leu Asp Cys Thr Tyr Asp Thr Ser Asp Gln Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Leu Phe Trp Tyr Lys Gln Pro Ser Ser Gly Glu Met Ile Phe Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gln Gly Ser Tyr Asp Glu Gln Asn Ala Thr Glu Gly Arg Tyr
 50 55 60
 Ser Leu Asn Phe Gln Lys Ala Arg Lys Ser Ala Asn Leu Val Ile Ser
 65 70 75 80
 Ala Ser Gln Leu Gly Asp Ser Ala Met Tyr Phe Cys Ala Met Arg Glu
 85 90 95
 Gly Pro Arg Gly Gly Gly Asn Lys Leu Thr Phe Gly Thr Gly Thr Gln
 100 105 110
 Leu Lys Val Glu Leu
 115
 <210> 8
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)
 <400> 8
 Gly Ala Val Val Ser Gln His Pro Ser Trp Val Ile Cys Lys Ser Gly

1	5	10	15
Thr Ser Val Lys Ile Glu Cys Arg Ser Leu Asp Phe Gln Ala Thr Thr			
20	25	30	
Met Phe Trp Tyr Arg Gln Phe Pro Lys Gln Ser Leu Met Leu Met Ala			
35	40	45	
Thr Ser Asn Glu Gly Ser Lys Ala Thr Tyr Glu Gln Gly Val Glu Lys			
50	55	60	
Asp Lys Phe Leu Ile Asn His Ala Ser Leu Thr Leu Ser Thr Leu Thr			
65	70	75	80
Val Thr Ser Ala His Pro Glu Asp Ser Ser Phe Tyr Ile Cys Ser Ala			
85	90	95	
Asn Pro Ile Ala Ala Asn Ser Tyr Asn Glu Gln Phe Phe Gly Pro Gly			
100	105	110	
Thr Arg Leu Thr Val Leu			
115			
<210>	9		
<211>	136		
<212>	PRT		
<213>	智人(Homo sapiens)		
<400>	9		
Met Ser Leu Ser Ser Leu Leu Lys Val Val Thr Ala Ser Leu Trp Leu			
1	5	10	15
Pro Gly Ile Ala Gln Lys Ile Thr Gln Thr Gln Pro Gly Met Phe Val			
20	25	30	
Gln Glu Lys Glu Ala Val Thr Leu Asp Cys Thr Tyr Asp Thr Ser Asp			
35	40	45	
Gln Ser Tyr Gly Leu Phe Trp Tyr Lys Gln Pro Ser Ser Gly Glu Met			
50	55	60	
Ile Phe Leu Ile Tyr Gln Gly Ser Tyr Asp Glu Gln Asn Ala Thr Glu			
65	70	75	80
Gly Arg Tyr Ser Leu Asn Phe Gln Lys Ala Arg Lys Ser Ala Asn Leu			
85	90	95	
Val Ile Ser Ala Ser Gln Leu Gly Asp Ser Ala Met Tyr Phe Cys Ala			
100	105	110	
Met Arg Glu Gly Pro Arg Gly Gly Gly Asn Lys Leu Thr Phe Gly Thr			
115	120	125	
Gly Thr Gln Leu Lys Val Glu Leu			
130	135		
<210>	10		

<211> 142
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)
 <400> 10
 Met Ala Leu Leu Leu Leu Leu Gly Pro Gly Ile Ser Leu Leu Leu
 1 5 10 15
 Pro Gly Ser Leu Gly Ser Gly Leu Gly Ala Val Val Ser Gln His Pro
 20 25 30
 Ser Trp Val Ile Cys Lys Ser Gly Thr Ser Val Lys Ile Glu Cys Arg
 35 40 45
 Ser Leu Asp Phe Gln Ala Thr Thr Met Phe Trp Tyr Arg Gln Phe Pro
 50 55 60
 Lys Gln Ser Leu Met Leu Met Ala Thr Ser Asn Glu Gly Ser Lys Ala
 65 70 75 80
 Thr Tyr Glu Gln Gly Val Glu Lys Asp Lys Phe Leu Ile Asn His Ala
 85 90 95
 Ser Leu Thr Leu Ser Thr Leu Thr Val Thr Ser Ala His Pro Glu Asp
 100 105 110
 Ser Ser Phe Tyr Ile Cys Ser Ala Asn Pro Ile Ala Ala Asn Ser Tyr
 115 120 125
 Asn Glu Gln Phe Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Leu
 130 135 140
 <210> 11
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)
 <400> 11
 Asp Ser Ala Ser Asn Tyr
 1 5
 <210> 12
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)
 <400> 12
 Ile Arg Ser Asn Val Gly Glu
 1 5
 <210> 13
 <211> 16
 <212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 13

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

1 5 10 15

<210> 14

<211> 6

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 14

Asp Phe Gln Ala Thr Thr

1 5

<210> 15

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 15

Ser Asn Glu Gly Ser Lys Ala

1 5

<210> 16

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 16

Cys Ser Ala Arg Asp Pro Ala Thr Asn Glu Lys Leu Phe

1 5 10

<210> 17

<211> 116

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 17

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

1 5 10 15

Asp Ser Ala Val Ile Lys Cys Thr Tyr Ser Asp Ser Ala Ser Asn Tyr

20 25 30

Phe Pro Trp Tyr Lys Gln Glu Leu Gly Lys Gly Pro Gln Leu Ile Ile

35 40 45

Asp Ile Arg Ser Asn Val Gly Glu Lys Lys Asp Gln Arg Ile Ala Val

50 55 60

Thr Leu Asn Lys Thr Ala Lys His Phe Ser Leu His Ile Thr Glu Thr

65	70	75	80
Gln Pro Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Ala Thr Ser Thr Asp			
	85	90	95
Arg Gly Ser Thr Leu Gly Arg Leu Tyr Phe Gly Arg Gly Thr Gln Leu			
	100	105	110
Thr Val Trp Pro			
	115		
<210>	18		
<211>	116		
<212>	PRT		
<213>	智人(Homo sapiens)		
<400>	18		
Gly Ala Val Val Ser Gln His Pro Ser Trp Val Ile Cys Lys Ser Gly			
1	5	10	15
Thr Ser Val Lys Ile Glu Cys Arg Ser Leu Asp Phe Gln Ala Thr Thr			
	20	25	30
Met Phe Trp Tyr Arg Gln Phe Pro Lys Gln Ser Leu Met Leu Met Ala			
	35	40	45
Thr Ser Asn Glu Gly Ser Lys Ala Thr Tyr Glu Gln Gly Val Glu Lys			
	50	55	60
Asp Lys Phe Leu Ile Asn His Ala Ser Leu Thr Leu Ser Thr Leu Thr			
65	70	75	80
Val Thr Ser Ala His Pro Glu Asp Ser Ser Phe Tyr Ile Cys Ser Ala			
	85	90	95
Arg Asp Pro Ala Thr Asn Glu Lys Leu Phe Phe Gly Ser Gly Thr Gln			
	100	105	110
Leu Ser Val Leu			
	115		
<210>	19		
<211>	134		
<212>	PRT		
<213>	智人(Homo sapiens)		
<400>	19		
Met Thr Ser Ile Arg Ala Val Phe Ile Phe Leu Trp Leu Gln Leu Asp			
1	5	10	15
Val Asn Gly Glu Asn Val Glu Gln His Pro Ser Thr Leu Ser Val Gln			
	20	25	30
Glu Gly Asp Ser Ala Val Ile Lys Cys Thr Tyr Ser Asp Ser Ala Ser			
	35	40	45

Asn Tyr Phe Pro Trp Tyr Lys Gln Glu Leu Gly Lys Gly Pro Gln Leu
 50 55 60
 Ile Ile Asp Ile Arg Ser Asn Val Gly Glu Lys Lys Asp Gln Arg Ile
 65 70 75 80
 Ala Val Thr Leu Asn Lys Thr Ala Lys His Phe Ser Leu His Ile Thr
 85 90 95
 Glu Thr Gln Pro Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Ala Thr Ser
 100 105 110
 Thr Asp Arg Gly Ser Thr Leu Gly Arg Leu Tyr Phe Gly Arg Gly Thr
 115 120 125
 Gln Leu Thr Val Trp Pro
 130
 <210> 20
 <211> 140
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)
 <400> 20
 Met Ala Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gly Pro Gly Ile Ser Leu Leu Leu
 1 5 10 15
 Pro Gly Ser Leu Gly Ser Gly Leu Gly Ala Val Val Ser Gln His Pro
 20 25 30
 Ser Trp Val Ile Cys Lys Ser Gly Thr Ser Val Lys Ile Glu Cys Arg
 35 40 45
 Ser Leu Asp Phe Gln Ala Thr Thr Met Phe Trp Tyr Arg Gln Phe Pro
 50 55 60
 Lys Gln Ser Leu Met Leu Met Ala Thr Ser Asn Glu Gly Ser Lys Ala
 65 70 75 80
 Thr Tyr Glu Gln Gly Val Glu Lys Asp Lys Phe Leu Ile Asn His Ala
 85 90 95
 Ser Leu Thr Leu Ser Thr Leu Thr Val Thr Ser Ala His Pro Glu Asp
 100 105 110
 Ser Ser Phe Tyr Ile Cys Ser Ala Arg Asp Pro Ala Thr Asn Glu Lys
 115 120 125
 Leu Phe Phe Gly Ser Gly Thr Gln Leu Ser Val Leu
 130 135 140
 <210> 21
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 21

Thr Arg Asp Thr Thr Tyr Tyr

1 5

<210> 22

<211> 8

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 22

Arg Asn Ser Phe Asp Glu Gln Asn

1 5

<210> 23

<211> 19

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 23

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

1 5 10 15

Leu Thr Phe

<210> 24

<211> 5

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 24

Ser Gly His Ala Thr

1 5

<210> 25

<211> 6

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 25

Phe Gln Asn Asn Gly Val

1 5

<210> 26

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 26

Cys Ala Ser Ser Leu Ala Leu Gly Gln Gly Asp Thr Glu Ala Phe

1 5 10 15

<210> 27

<211> 120

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 27

```

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

```

<210> 28

<211> 116

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 28

```

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

```

	100	105	110
Leu Thr Val Val			
115			
<210> 29			
<211> 139			
<212> PRT			
<213> 智人(Homo sapiens)			
<400> 29			
Met Leu Thr Ala Ser Leu Leu Arg Ala Val Ile Ala Ser Ile Cys Val			
1 5 10 15			
Ser Ser Met Ala Gln Lys Val Thr Gln Ala Gln Thr Glu Ile Ser Val			
20 25 30			
Val Glu Lys Glu Asp Val Thr Leu Asp Cys Val Tyr Glu Thr Arg Asp			
35 40 45			
Thr Thr Tyr Tyr Leu Phe Trp Tyr Lys Gln Pro Pro Ser Gly Glu Leu			
50 55 60			
Val Phe Leu Ile Arg Arg Asn Ser Phe Asp Glu Gln Asn Glu Ile Ser			
65 70 75 80			
Gly Arg Tyr Ser Trp Asn Phe Gln Lys Ser Thr Ser Ser Phe Asn Phe			
85 90 95			
Thr Ile Thr Ala Ser Gln Val Val Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala			
100 105 110			
Leu Ser Glu Ala Gly Ala Phe Ser Gly Gly Ser Asn Tyr Lys Leu Thr			
115 120 125			
Phe Gly Lys Gly Thr Leu Leu Thr Val Asn Pro			
130 135			
<210> 30			
<211> 134			
<212> PRT			
<213> 智人(Homo sapiens)			
<400> 30			
Met Ala Thr Arg Leu Leu Cys Trp Ala Ala Leu Cys Leu Leu Gly Ala			
1 5 10 15			
Leu Thr Glu Ala Gly Val Ala Gln Ser Pro Arg Tyr Lys Ile Ile Glu			
20 25 30			
Lys Arg Gln Ser Val Ala Phe Trp Cys Asn Pro Ile Ser Gly His Ala			
35 40 45			
Thr Leu Tyr Trp Tyr Gln Gln Ile Leu Gly Gln Gly Pro Lys Leu Leu			
50 55 60			

Leu Gly His Asn Ala
1 5
<210> 35

<211> 6
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)
 <400> 35
 Tyr Asn Phe Lys Glu Gln
 1 5
 <210> 36
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)
 <400> 36
 Cys Ala Ser Ser Gln Ala Trp Gly Gly Ala Asp Gly Glu Leu Phe
 1 5 10 15
 <210> 37
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)
 <400> 37
 Gly Gln Asn Ile Asp Gln Pro Thr Glu Met Thr Ala Thr Glu Gly Ala
 1 5 10 15
 Ile Val Gln Ile Asn Cys Thr Tyr Gln Thr Ser Gly Phe Asn Gly Leu
 20 25 30
 Phe Trp Tyr Gln Gln His Ala Gly Glu Ala Pro Thr Phe Leu Ser Tyr
 35 40 45
 Asn Val Leu Asp Gly Leu Glu Glu Lys Gly Arg Phe Ser Ser Phe Leu
 50 55 60
 Ser Arg Ser Lys Gly Tyr Ser Tyr Leu Leu Leu Lys Glu Leu Gln Met
 65 70 75 80
 Lys Asp Ser Ala Ser Tyr Leu Cys Ala Val Phe Ser Ser Gly Ser Ala
 85 90 95
 Arg Gln Leu Thr Phe Gly Ser Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu Pro
 100 105 110
 <210> 38
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)
 <400> 38
 Glu Thr Gly Val Thr Gln Thr Pro Arg His Leu Val Met Gly Met Thr
 1 5 10 15

Asn	Lys	Lys	Ser	Leu	Lys	Cys	Glu	Gln	His	Leu	Gly	His	Asn	Ala	Met
20				25				30							
Tyr	Trp	Tyr	Lys	Gln	Ser	Ala	Lys	Lys	Pro	Leu	Glu	Leu	Met	Phe	Val
35				40				45							
Tyr	Asn	Phe	Lys	Glu	Gln	Thr	Glu	Asn	Asn	Ser	Val	Pro	Ser	Arg	Phe
50				55				60							
Ser	Pro	Glu	Cys	Pro	Asn	Ser	Ser	His	Leu	Phe	Leu	His	Leu	His	Thr
65				70				75				80			
Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Ser	Ala	Leu	Tyr	Leu	Cys	Ala	Ser	Ser	Gln	Ala
85				90				95							
Trp	Gly	Gly	Ala	Asp	Gly	Glu	Leu	Phe	Phe	Gly	Glu	Gly	Ser	Arg	Leu
100				105				110							
Thr	Val	Leu													
115															
<210>	39														
<211>	127														
<212>	PRT														
<213>	智人(Homo sapiens)														
<400>	39														
Met	Trp	Gly	Val	Phe	Leu	Leu	Tyr	Val	Ser	Met	Lys	Met	Gly	Thr	Thr
1				5				10				15			
Gly	Gln	Asn	Ile	Asp	Gln	Pro	Thr	Glu	Met	Thr	Ala	Thr	Glu	Gly	Ala
20				25				30							
Ile	Val	Gln	Ile	Asn	Cys	Thr	Tyr	Gln	Thr	Ser	Gly	Phe	Asn	Gly	Leu
35				40				45							
Phe	Trp	Tyr	Gln	Gln	His	Ala	Gly	Glu	Ala	Pro	Thr	Phe	Leu	Ser	Tyr
50				55				60							
Asn	Val	Leu	Asp	Gly	Leu	Glu	Glu	Lys	Gly	Arg	Phe	Ser	Ser	Phe	Leu
65				70				75				80			
Ser	Arg	Ser	Lys	Gly	Tyr	Ser	Tyr	Leu	Leu	Leu	Lys	Glu	Leu	Gln	Met
85				90				95							
Lys	Asp	Ser	Ala	Ser	Tyr	Leu	Cys	Ala	Val	Phe	Ser	Ser	Gly	Ser	Ala
100				105				110							
Arg	Gln	Leu	Thr	Phe	Gly	Ser	Gly	Thr	Gln	Leu	Thr	Val	Leu	Pro	
115				120				125							
<210>	40														
<211>	133														
<212>	PRT														
<213>	智人(Homo sapiens)														

<400> 40

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

<210> 41

<211> 189

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 41

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

115	120	125
Gln Ala Gln Asp Leu Ala Arg Ser Tyr Gly Ile Pro Phe Ile Glu Thr		
130	135	140
Ser Ala Lys Thr Arg Gln Arg Val Glu Asp Ala Phe Tyr Thr Leu Val		
145	150	155
Arg Glu Ile Arg Gln Tyr Arg Leu Lys Lys Ile Ser Lys Glu Glu Lys		
165	170	175
Thr Pro Gly Cys Val Lys Ile Lys Lys Cys Ile Ile Met		
180	185	
<210> 42		
<211> 188		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 42		
Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Gly Gly Val Gly Lys		
1	5	10
Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile Gln Asn His Phe Val Asp Glu Tyr		
20	25	30
Asp Pro Thr Ile Glu Asp Ser Tyr Arg Lys Gln Val Val Ile Asp Gly		
35	40	45
Glu Thr Cys Leu Leu Asp Ile Leu Asp Thr Ala Gly Gln Glu Glu Tyr		
50	55	60
Ser Ala Met Arg Asp Gln Tyr Met Arg Thr Gly Glu Gly Phe Leu Cys		
65	70	75
Val Phe Ala Ile Asn Asn Thr Lys Ser Phe Glu Asp Ile His His Tyr		
85	90	95
Arg Glu Gln Ile Lys Arg Val Lys Asp Ser Glu Asp Val Pro Met Val		
100	105	110
Leu Val Gly Asn Lys Cys Asp Leu Pro Ser Arg Thr Val Asp Thr Lys		
115	120	125
Gln Ala Gln Asp Leu Ala Arg Ser Tyr Gly Ile Pro Phe Ile Glu Thr		
130	135	140
Ser Ala Lys Thr Arg Gln Gly Val Asp Asp Ala Phe Tyr Thr Leu Val		
145	150	155
Arg Glu Ile Arg Lys His Lys Glu Lys Met Ser Lys Asp Gly Lys Lys		
165	170	175
Lys Lys Lys Lys Ser Lys Thr Lys Cys Val Ile Met		
180	185	
<210> 43		

<211> 189

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 43

```

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

```

<210> 44

<211> 189

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 44

```

Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Gly Gly Val Gly Lys
1           5           10           15
Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile Gln Asn His Phe Val Asp Glu Tyr
           20           25           30
Asp Pro Thr Ile Glu Asp Ser Tyr Arg Lys Gln Val Val Ile Asp Gly
           35           40           45

```

Glu Thr Cys Leu Leu Asp Ile Leu Asp Thr Ala Gly Gln Glu Glu Tyr
 50 55 60
 Ser Ala Met Arg Asp Gln Tyr Met Arg Thr Gly Glu Gly Phe Leu Cys
 65 70 75 80
 Val Phe Ala Ile Asn Asn Ser Lys Ser Phe Ala Asp Ile Asn Leu Tyr
 85 90 95
 Arg Glu Gln Ile Lys Arg Val Lys Asp Ser Asp Asp Val Pro Met Val
 100 105 110
 Leu Val Gly Asn Lys Cys Asp Leu Pro Thr Arg Thr Val Asp Thr Lys
 115 120 125
 Gln Ala His Glu Leu Ala Lys Ser Tyr Gly Ile Pro Phe Ile Glu Thr
 130 135 140
 Ser Ala Lys Thr Arg Gln Gly Val Glu Asp Ala Phe Tyr Thr Leu Val
 145 150 155 160
 Arg Glu Ile Arg Gln Tyr Arg Met Lys Lys Leu Asn Ser Ser Asp Asp
 165 170 175
 Gly Thr Gln Gly Cys Met Gly Leu Pro Cys Val Val Met
 180 185

<210> 45

<211> 189

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 45

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

Gln Ala Gln Asp Leu Ala Arg Ser Tyr Gly Ile Pro Phe Ile Glu Thr
 130 135 140
 Ser Ala Lys Thr Arg Gln Arg Val Glu Asp Ala Phe Tyr Thr Leu Val
 145 150 155 160
 Arg Glu Ile Arg Gln Tyr Arg Leu Lys Lys Ile Ser Lys Glu Glu Lys
 165 170 175
 Thr Pro Gly Cys Val Lys Ile Lys Lys Cys Ile Ile Met
 180 185

<210> 46

<211> 188

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 46

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

<210> 47

<211> 189

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 47

```

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

```

<210> 48

<211> 189

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 48

```

Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Asp Gly Val Gly Lys
1           5           10           15
Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile Gln Asn His Phe Val Asp Glu Tyr
           20           25           30
Asp Pro Thr Ile Glu Asp Ser Tyr Arg Lys Gln Val Val Ile Asp Gly
           35           40           45
Glu Thr Cys Leu Leu Asp Ile Leu Asp Thr Ala Gly Gln Glu Glu Tyr

```

50	55	60
Ser Ala Met Arg Asp Gln Tyr Met Arg Thr Gly Glu Gly Phe Leu Cys		
65	70	75
Val Phe Ala Ile Asn Asn Ser Lys Ser Phe Ala Asp Ile Asn Leu Tyr		
85	90	95
Arg Glu Gln Ile Lys Arg Val Lys Asp Ser Asp Asp Val Pro Met Val		
100	105	110
Leu Val Gly Asn Lys Cys Asp Leu Pro Thr Arg Thr Val Asp Thr Lys		
115	120	125
Gln Ala His Glu Leu Ala Lys Ser Tyr Gly Ile Pro Phe Ile Glu Thr		
130	135	140
Ser Ala Lys Thr Arg Gln Gly Val Glu Asp Ala Phe Tyr Thr Leu Val		
145	150	155
Arg Glu Ile Arg Gln Tyr Arg Met Lys Lys Leu Asn Ser Ser Asp Asp		
165	170	175
Gly Thr Gln Gly Cys Met Gly Leu Pro Cys Val Val Met		
180	185	

<210> 49

<211> 137

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (48) .. (48)

<223> X是Thr或Cys

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (112) .. (112)

<223> X是Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met,或Trp

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (114) .. (114)

<223> X是Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe,或Trp

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (115) .. (115)

<223> X是Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met,或Trp

<400> 49

```

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

```

<210> 50

<211> 173

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (57) .. (57)

<223> X是Ser或Cys

<400> 50

```

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

```

65	70	75	80
Thr Phe Trp His Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe			
	85	90	95
His Gly Leu Ser Glu Glu Asp Lys Trp Pro Glu Gly Ser Pro Lys Pro			
	100	105	110
Val Thr Gln Asn Ile Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly			
	115	120	125
Ile Thr Ser Ala Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu			
	130	135	140
Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser			
145	150	155	160
Thr Leu Val Val Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asn Ser			
	165	170	

<210> 51

<211> 137

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 51

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

<210> 52

Val	Leu	Asp	Met	Lys	Ala	Met	Asp	Ser	Lys	Ser	Asn	Gly	Ala	Ile	Ala
50						55					60				
Trp	Ser	Asn	Gln	Thr	Ser	Phe	Thr	Cys	Gln	Asp	Ile	Phe	Lys	Glu	Thr
65						70					75				80
Asn	Ala	Thr	Tyr	Pro	Ser	Ser	Asp	Val	Pro	Cys	Asp	Ala	Thr	Leu	Thr
						85					90				95
Glu	Lys	Ser	Phe	Glu	Thr	Asp	Met	Asn	Leu	Asn	Phe	Gln	Asn	Leu	Ser
						100					105				110
Val	Met	Gly	Leu	Arg	Ile	Leu	Leu	Leu	Lys	Val	Ala	Gly	Phe	Asn	Leu
						115									125
Leu	Met	Thr	Leu	Arg	Leu	Trp	Ser	Ser							
						130									135
<210>	54														
<211>	173														
<212>	PRT														
<213>	小鼠 (Mus musculus)														
<400>	54														
Glu	Asp	Leu	Arg	Asn	Val	Thr	Pro	Pro	Lys	Val	Ser	Leu	Phe	Glu	Pro
1					5					10				15	
Ser	Lys	Ala	Glu	Ile	Ala	Asn	Lys	Gln	Lys	Ala	Thr	Leu	Val	Cys	Leu
					20					25				30	
Ala	Arg	Gly	Phe	Phe	Pro	Asp	His	Val	Glu	Leu	Ser	Trp	Trp	Val	Asn
					35					40				45	
Gly	Lys	Glu	Val	His	Ser	Gly	Val	Ser	Thr	Asp	Pro	Gln	Ala	Tyr	Lys
						50				55				60	
Glu	Ser	Asn	Tyr	Ser	Tyr	Cys	Leu	Ser	Ser	Arg	Leu	Arg	Val	Ser	Ala
65						70					75				80
Thr	Phe	Trp	His	Asn	Pro	Arg	Asn	His	Phe	Arg	Cys	Gln	Val	Gln	Phe
						85					90				95
His	Gly	Leu	Ser	Glu	Glu	Asp	Lys	Trp	Pro	Glu	Gly	Ser	Pro	Lys	Pro
						100					105				110
Val	Thr	Gln	Asn	Ile	Ser	Ala	Glu	Ala	Trp	Gly	Arg	Ala	Asp	Cys	Gly
						115					120				125
Ile	Thr	Ser	Ala	Ser	Tyr	Gln	Gln	Gly	Val	Leu	Ser	Ala	Thr	Ile	Leu
						130					135				140
Tyr	Glu	Ile	Leu	Leu	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Tyr	Ala	Val	Leu	Val	Ser
145						150					155				160
Thr	Leu	Val	Val	Met	Ala	Met	Val	Lys	Arg	Lys	Asn	Ser			
						165									170

<210> 55
 <211> 273
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成的
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (184) .. (184)
 <223> X是Thr或Cys
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (248) .. (248)
 <223> X是Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met,或Trp
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (250) .. (250)
 <223> X是Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe,或Trp
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (251) .. (251)
 <223> X是Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met,或Trp
 <400> 55
 Met Ser Leu Ser Ser Leu Leu Lys Val Val Thr Ala Ser Leu Trp Leu
 1 5 10 15
 Pro Gly Ile Ala Gln Lys Ile Thr Gln Thr Gln Pro Gly Met Phe Val
 20 25 30
 Gln Glu Lys Glu Ala Val Thr Leu Asp Cys Thr Tyr Asp Thr Ser Asp
 35 40 45
 Gln Ser Tyr Gly Leu Phe Trp Tyr Lys Gln Pro Ser Ser Gly Glu Met
 50 55 60
 Ile Phe Leu Ile Tyr Gln Gly Ser Tyr Asp Glu Gln Asn Ala Thr Glu
 65 70 75 80
 Gly Arg Tyr Ser Leu Asn Phe Gln Lys Ala Arg Lys Ser Ala Asn Leu
 85 90 95
 Val Ile Ser Ala Ser Gln Leu Gly Asp Ser Ala Met Tyr Phe Cys Ala
 100 105 110
 Met Arg Glu Gly Pro Arg Gly Gly Gly Asn Lys Leu Thr Phe Gly Thr
 115 120 125

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

Ser

<210> 56

<211> 315

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (199) .. (199)

<223> X是Ser或Cys

<400> 56

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

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

<210> 57

<211> 254

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (165) .. (165)

<223> X是Thr或Cys

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (229) .. (229)

<223> X是Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met,或Trp

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (231) .. (231)

<223> X是Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe,或Trp

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (232) .. (232)

<223> X是Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met,或Trp

<400> 57

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

Ile Phe Lys Glu Thr Asn Ala Thr Tyr Pro Ser Ser Asp Val Pro Cys
195 200 205
Asp Ala Thr Leu Thr Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Met Asn Leu Asn
210 215 220
Phe Gln Asn Leu Xaa Val Xaa Xaa Leu Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val
225 230 235 240
Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
245 250

<210> 58
 <211> 291
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成的
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (175) .. (175)
 <223> X是Ser或Cys
 <400> 58

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

Leu Ser Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Xaa Thr		
	165	170 175
Asp Pro Gln Ala Tyr Lys Glu Ser Asn Tyr Ser Tyr Cys Leu Ser Ser		
	180	185 190
Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp His Asn Pro Arg Asn His Phe		
	195	200 205
Arg Cys Gln Val Gln Phe His Gly Leu Ser Glu Glu Asp Lys Trp Pro		
	210	215 220
Glu Gly Ser Pro Lys Pro Val Thr Gln Asn Ile Ser Ala Glu Ala Trp		
225	230	235 240
Gly Arg Ala Asp Cys Gly Ile Thr Ser Ala Ser Tyr Gln Gln Gly Val		
	245	250 255
Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu		
	260	265 270
Tyr Ala Val Leu Val Ser Thr Leu Val Val Met Ala Met Val Lys Arg		
	275	280 285
Lys Asn Ser		
	290	
<210>	59	
<211>	273	
<212>	PRT	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	合成的	
<400>	59	
Met Ser Leu Ser Ser Leu Leu Lys Val Val Thr Ala Ser Leu Trp Leu		
1	5	10 15
Pro Gly Ile Ala Gln Lys Ile Thr Gln Thr Gln Pro Gly Met Phe Val		
	20	25 30
Gln Glu Lys Glu Ala Val Thr Leu Asp Cys Thr Tyr Asp Thr Ser Asp		
	35	40 45
Gln Ser Tyr Gly Leu Phe Trp Tyr Lys Gln Pro Ser Ser Gly Glu Met		
	50	55 60
Ile Phe Leu Ile Tyr Gln Gly Ser Tyr Asp Glu Gln Asn Ala Thr Glu		
65	70	75 80
Gly Arg Tyr Ser Leu Asn Phe Gln Lys Ala Arg Lys Ser Ala Asn Leu		
	85	90 95
Val Ile Ser Ala Ser Gln Leu Gly Asp Ser Ala Met Tyr Phe Cys Ala		
	100	105 110

Met	Arg	Glu	Gly	Pro	Arg	Gly	Gly	Gly	Asn	Lys	Leu	Thr	Phe	Gly	Thr
115				120				125							
Gly	Thr	Gln	Leu	Lys	Val	Glu	Leu	Asn	Ile	Gln	Asn	Pro	Glu	Pro	Ala
130				135				140							
Val	Tyr	Gln	Leu	Lys	Asp	Pro	Arg	Ser	Gln	Asp	Ser	Thr	Leu	Cys	Leu
145				150				155				160			
Phe	Thr	Asp	Phe	Asp	Ser	Gln	Ile	Asn	Val	Pro	Lys	Thr	Met	Glu	Ser
				165				170				175			
Gly	Thr	Phe	Ile	Thr	Asp	Lys	Cys	Val	Leu	Asp	Met	Lys	Ala	Met	Asp
				180				185				190			
Ser	Lys	Ser	Asn	Gly	Ala	Ile	Ala	Trp	Ser	Asn	Gln	Thr	Ser	Phe	Thr
195				200				205							
Cys	Gln	Asp	Ile	Phe	Lys	Glu	Thr	Asn	Ala	Thr	Tyr	Pro	Ser	Ser	Asp
210				215				220							
Val	Pro	Cys	Asp	Ala	Thr	Leu	Thr	Glu	Lys	Ser	Phe	Glu	Thr	Asp	Met
225				230				235				240			
Asn	Leu	Asn	Phe	Gln	Asn	Leu	Leu	Val	Ile	Val	Leu	Arg	Ile	Leu	Leu
				245				250				255			
Leu	Lys	Val	Ala	Gly	Phe	Asn	Leu	Leu	Met	Thr	Leu	Arg	Leu	Trp	Ser
260				265				270							

Ser

<210> 60

<211> 315

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 60

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

	85		90		95
Ser Leu Thr Leu Ser Thr Leu Thr Val Thr Ser Ala His Pro Glu Asp					
	100		105		110
Ser Ser Phe Tyr Ile Cys Ser Ala Asn Pro Ile Ala Ala Asn Ser Tyr					
	115		120		125
Asn Glu Gln Phe Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Leu Glu Asp					
	130		135		140
Leu Arg Asn Val Thr Pro Pro Lys Val Ser Leu Phe Glu Pro Ser Lys					
145		150		155	160
Ala Glu Ile Ala Asn Lys Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala Arg					
	165		170		175
Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn Gly Lys					
	180		185		190
Glu Val His Ser Gly Val Cys Thr Asp Pro Gln Ala Tyr Lys Glu Ser					
	195		200		205
Asn Tyr Ser Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe					
	210		215		220
Trp His Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe His Gly					
225		230		235	240
Leu Ser Glu Glu Asp Lys Trp Pro Glu Gly Ser Pro Lys Pro Val Thr					
	245		250		255
Gln Asn Ile Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Ile Thr					
	260		265		270
Ser Ala Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu					
	275		280		285
Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Thr Leu					
	290		295		300
Val Val Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asn Ser					
305		310		315	
<210>	61				
<211>	254				
<212>	PRT				
<213>	人工序列(Artificial Sequence)				
<220>					
<223>	合成的				
<400>	61				
Ala Gln Lys Ile Thr Gln Thr Gln Pro Gly Met Phe Val Gln Glu Lys					
1		5		10	15
Glu Ala Val Thr Leu Asp Cys Thr Tyr Asp Thr Ser Asp Gln Ser Tyr					

$\langle 210 \rangle$	62
$\langle 211 \rangle$	291
$\langle 212 \rangle$	PRT
$\langle 213 \rangle$	人工序列 (Artificial Sequence)
$\langle 220 \rangle$	
$\langle 223 \rangle$	合成的
$\langle 400 \rangle$	62

94

<220>
 <223> 合成的
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (182) .. (182)
 <223> X是Thr或Cys
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (246) .. (246)
 <223> X是Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met,或Trp
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (248) .. (248)
 <223> X是Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe,或Trp
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (249) .. (249)
 <223> X是Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met,或Trp
 <400> 63
 Met Thr Ser Ile Arg Ala Val Phe Ile Phe Leu Trp Leu Gln Leu Asp
 1 5 10 15
 Val Asn Gly Glu Asn Val Glu Gln His Pro Ser Thr Leu Ser Val Gln
 20 25 30
 Glu Gly Asp Ser Ala Val Ile Lys Cys Thr Tyr Ser Asp Ser Ala Ser
 35 40 45
 Asn Tyr Phe Pro Trp Tyr Lys Gln Glu Leu Gly Lys Gly Pro Gln Leu
 50 55 60
 Ile Ile Asp Ile Arg Ser Asn Val Gly Glu Lys Lys Asp Gln Arg Ile
 65 70 75 80
 Ala Val Thr Leu Asn Lys Thr Ala Lys His Phe Ser Leu His Ile Thr
 85 90 95
 Glu Thr Gln Pro Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Ala Thr Ser
 100 105 110
 Thr Asp Arg Gly Ser Thr Leu Gly Arg Leu Tyr Phe Gly Arg Gly Thr
 115 120 125
 Gln Leu Thr Val Trp Pro Asn Ile Gln Asn Pro Glu Pro Ala Val Tyr
 130 135 140
 Gln Leu Lys Asp Pro Arg Ser Gln Asp Ser Thr Leu Cys Leu Phe Thr
 145 150 155 160

Asp Phe Asp Ser Gln Ile Asn Val Pro Lys Thr Met Glu Ser Gly Thr		
	165	170
Phe Ile Thr Asp Lys Xaa Val Leu Asp Met Lys Ala Met Asp Ser Lys		
	180	185
Ser Asn Gly Ala Ile Ala Trp Ser Asn Gln Thr Ser Phe Thr Cys Gln		
	195	200
Asp Ile Phe Lys Glu Thr Asn Ala Thr Tyr Pro Ser Ser Asp Val Pro		
	210	215
Cys Asp Ala Thr Leu Thr Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Met Asn Leu		
225	230	235
Asn Phe Gln Asn Leu Xaa Val Xaa Xaa Leu Arg Ile Leu Leu Lys		
	245	250
Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser		
	260	265
		270

<210> 64

<211> 313

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (197) .. (197)

<223> X是Ser或Cys

<400> 64

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

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

<210> 65

<211> 253

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (164) .. (164)

<223> X是Thr或Cys

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (228) .. (228)

<223> X是Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met,或Trp
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (230) .. (230)
 <223> X是Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe,或Trp
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (231) .. (231)
 <223> X是Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met,或Trp
 <400> 65
 Gly Glu Asn Val Glu Gln His Pro Ser Thr Leu Ser Val Gln Glu Gly
 1 5 10 15
 Asp Ser Ala Val Ile Lys Cys Thr Tyr Ser Asp Ser Ala Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Trp Tyr Lys Gln Glu Leu Gly Lys Gly Pro Gln Leu Ile Ile
 35 40 45
 Asp Ile Arg Ser Asn Val Gly Glu Lys Lys Asp Gln Arg Ile Ala Val
 50 55 60
 Thr Leu Asn Lys Thr Ala Lys His Phe Ser Leu His Ile Thr Glu Thr
 65 70 75 80
 Gln Pro Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Ala Thr Ser Thr Asp
 85 90 95
 Arg Gly Ser Thr Leu Gly Arg Leu Tyr Phe Gly Arg Gly Thr Gln Leu
 100 105 110
 Thr Val Trp Pro Asn Ile Gln Asn Pro Glu Pro Ala Val Tyr Gln Leu
 115 120 125
 Lys Asp Pro Arg Ser Gln Asp Ser Thr Leu Cys Leu Phe Thr Asp Phe
 130 135 140
 Asp Ser Gln Ile Asn Val Pro Lys Thr Met Glu Ser Gly Thr Phe Ile
 145 150 155 160
 Thr Asp Lys Xaa Val Leu Asp Met Lys Ala Met Asp Ser Lys Ser Asn
 165 170 175
 Gly Ala Ile Ala Trp Ser Asn Gln Thr Ser Phe Thr Cys Gln Asp Ile
 180 185 190
 Phe Lys Glu Thr Asn Ala Thr Tyr Pro Ser Ser Asp Val Pro Cys Asp
 195 200 205
 Ala Thr Leu Thr Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Met Asn Leu Asn Phe
 210 215 220
 Gln Asn Leu Xaa Val Xaa Xaa Leu Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala

225	230	235	240
Gly Phe Asn Leu	Leu Met Thr Leu Arg	Leu Trp Ser Ser	
	245	250	
<210> 66			
<211> 289			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 合成的			
<220>			
<221> MISC_FEATURE			
<222> (173) .. (173)			
<223> X是Ser或Cys			
<400> 66			
Gly Ala Val Val Ser Gln His Pro Ser Trp Val Ile Cys Lys Ser Gly			
1	5	10	15
Thr Ser Val Lys Ile Glu Cys Arg Ser Leu Asp Phe Gln Ala Thr Thr			
	20	25	30
Met Phe Trp Tyr Arg Gln Phe Pro Lys Gln Ser Leu Met Leu Met Ala			
	35	40	45
Thr Ser Asn Glu Gly Ser Lys Ala Thr Tyr Glu Gln Gly Val Glu Lys			
	50	55	60
Asp Lys Phe Leu Ile Asn His Ala Ser Leu Thr Leu Ser Thr Leu Thr			
65	70	75	80
Val Thr Ser Ala His Pro Glu Asp Ser Ser Phe Tyr Ile Cys Ser Ala			
	85	90	95
Arg Asp Pro Ala Thr Asn Glu Lys Leu Phe Phe Gly Ser Gly Thr Gln			
	100	105	110
Leu Ser Val Leu Glu Asp Leu Arg Asn Val Thr Pro Pro Lys Val Ser			
	115	120	125
Leu Phe Glu Pro Ser Lys Ala Glu Ile Ala Asn Lys Gln Lys Ala Thr			
	130	135	140
Leu Val Cys Leu Ala Arg Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser			
145	150	155	160
Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Xaa Thr Asp Pro			
	165	170	175
Gln Ala Tyr Lys Glu Ser Asn Tyr Ser Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu			
	180	185	190
Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp His Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys			

195	200	205
Gln Val Gln Phe His Gly Leu Ser Glu Glu Asp Lys Trp Pro Glu Gly		
210	215	220
Ser Pro Lys Pro Val Thr Gln Asn Ile Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg		
225	230	235
Ala Asp Cys Gly Ile Thr Ser Ala Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser		
245	250	255
Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala		
260	265	270
Val Leu Val Ser Thr Leu Val Val Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asn		
275	280	285
Ser		
<210> 67		
<211> 271		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成的		
<400> 67		
Met Thr Ser Ile Arg Ala Val Phe Ile Phe Leu Trp Leu Gln Leu Asp		
1	5	10
Val Asn Gly Glu Asn Val Glu Gln His Pro Ser Thr Leu Ser Val Gln		
20	25	30
Glu Gly Asp Ser Ala Val Ile Lys Cys Thr Tyr Ser Asp Ser Ala Ser		
35	40	45
Asn Tyr Phe Pro Trp Tyr Lys Gln Glu Leu Gly Lys Gly Pro Gln Leu		
50	55	60
Ile Ile Asp Ile Arg Ser Asn Val Gly Glu Lys Lys Asp Gln Arg Ile		
65	70	75
Ala Val Thr Leu Asn Lys Thr Ala Lys His Phe Ser Leu His Ile Thr		
85	90	95
Glu Thr Gln Pro Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Ala Thr Ser		
100	105	110
Thr Asp Arg Gly Ser Thr Leu Gly Arg Leu Tyr Phe Gly Arg Gly Thr		
115	120	125
Gln Leu Thr Val Trp Pro Asn Ile Gln Asn Pro Glu Pro Ala Val Tyr		
130	135	140
Gln Leu Lys Asp Pro Arg Ser Gln Asp Ser Thr Leu Cys Leu Phe Thr		
145	150	155
		160

Asp Phe Asp Ser Gln Ile Asn Val Pro Lys Thr Met Glu Ser Gly Thr		
	165	170
Phe Ile Thr Asp Lys Cys Val Leu Asp Met Lys Ala Met Asp Ser Lys		
	180	185
Ser Asn Gly Ala Ile Ala Trp Ser Asn Gln Thr Ser Phe Thr Cys Gln		
	195	200
Asp Ile Phe Lys Glu Thr Asn Ala Thr Tyr Pro Ser Ser Asp Val Pro		
	210	215
Cys Asp Ala Thr Leu Thr Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Met Asn Leu		
	225	230
Asn Phe Gln Asn Leu Leu Val Ile Val Leu Arg Ile Leu Leu Leu Lys		
	245	250
Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser		
	260	265
		270

<210> 68

<211> 313

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 68

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

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

<210> 69

<211> 253

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 69

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

Gln Pro Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Ala Thr Ser Thr Asp
 85 90 95
 Arg Gly Ser Thr Leu Gly Arg Leu Tyr Phe Gly Arg Gly Thr Gln Leu
 100 105 110
 Thr Val Trp Pro Asn Ile Gln Asn Pro Glu Pro Ala Val Tyr Gln Leu
 115 120 125
 Lys Asp Pro Arg Ser Gln Asp Ser Thr Leu Cys Leu Phe Thr Asp Phe
 130 135 140
 Asp Ser Gln Ile Asn Val Pro Lys Thr Met Glu Ser Gly Thr Phe Ile
 145 150 155 160
 Thr Asp Lys Cys Val Leu Asp Met Lys Ala Met Asp Ser Lys Ser Asn
 165 170 175
 Gly Ala Ile Ala Trp Ser Asn Gln Thr Ser Phe Thr Cys Gln Asp Ile
 180 185 190
 Phe Lys Glu Thr Asn Ala Thr Tyr Pro Ser Ser Asp Val Pro Cys Asp
 195 200 205
 Ala Thr Leu Thr Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Met Asn Leu Asn Phe
 210 215 220
 Gln Asn Leu Leu Val Ile Val Leu Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala
 225 230 235 240
 Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
 245 250

<210> 70

<211> 289

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 70

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

Val Thr Ser Ala His Pro Glu Asp Ser Ser Phe Tyr Ile Cys Ser Ala		
85	90	95
Arg Asp Pro Ala Thr Asn Glu Lys Leu Phe Phe Gly Ser Gly Thr Gln		
100	105	110
Leu Ser Val Leu Glu Asp Leu Arg Asn Val Thr Pro Pro Lys Val Ser		
115	120	125
Leu Phe Glu Pro Ser Lys Ala Glu Ile Ala Asn Lys Gln Lys Ala Thr		
130	135	140
Leu Val Cys Leu Ala Arg Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser		
145	150	155
Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Cys Thr Asp Pro		
165	170	175
Gln Ala Tyr Lys Glu Ser Asn Tyr Ser Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu		
180	185	190
Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp His Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys		
195	200	205
Gln Val Gln Phe His Gly Leu Ser Glu Glu Asp Lys Trp Pro Glu Gly		
210	215	220
Ser Pro Lys Pro Val Thr Gln Asn Ile Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg		
225	230	235
Ala Asp Cys Gly Ile Thr Ser Ala Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser		
245	250	255
Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala		
260	265	270
Val Leu Val Ser Thr Leu Val Val Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asn		
275	280	285

Ser

<210> 71

<211> 276

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (187) .. (187)

<223> X是Thr或Cys

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (251) .. (251)

<223> X是Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met,或Trp

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (253) .. (253)

<223> X是Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe,或Trp

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (254) .. (254)

<223> X是Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met,或Trp

<400> 71

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

Ser Ser Asp Val Pro Cys Asp Ala Thr Leu Thr Glu Lys Ser Phe Glu
 225 230 235 240
 Thr Asp Met Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Xaa Val Xaa Xaa Leu Arg
 245 250 255
 Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg
 260 265 270
 Leu Trp Ser Ser
 275
 <210> 72
 <211> 307
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成的
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (191) .. (191)
 <223> X是Ser或Cys
 <400> 72
 Met Ala Thr Arg Leu Leu Cys Trp Ala Ala Leu Cys Leu Leu Gly Ala
 1 5 10 15
 Leu Thr Glu Ala Gly Val Ala Gln Ser Pro Arg Tyr Lys Ile Ile Glu
 20 25 30
 Lys Arg Gln Ser Val Ala Phe Trp Cys Asn Pro Ile Ser Gly His Ala
 35 40 45
 Thr Leu Tyr Trp Tyr Gln Gln Ile Leu Gly Gln Gly Pro Lys Leu Leu
 50 55 60
 Ile Gln Phe Gln Asn Asn Gly Val Val Asp Asp Ser Gln Leu Pro Lys
 65 70 75 80
 Asp Arg Phe Ser Ala Glu Arg Leu Lys Gly Val Asp Ser Thr Leu Lys
 85 90 95
 Ile Gln Pro Ala Lys Leu Glu Asp Ser Ala Val Tyr Leu Cys Ala Ser
 100 105 110
 Ser Leu Ala Leu Gly Gln Gly Asp Thr Glu Ala Phe Phe Gly Gln Gly
 115 120 125
 Thr Arg Leu Thr Val Val Glu Asp Leu Arg Asn Val Thr Pro Pro Lys
 130 135 140
 Val Ser Leu Phe Glu Pro Ser Lys Ala Glu Ile Ala Asn Lys Gln Lys
 145 150 155 160

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

Lys Asn Ser

305

<210> 73

<211> 257

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (168) .. (168)

<223> X是Thr或Cys

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (232) .. (232)

<223> X是Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met,或Trp

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (234) .. (234)

<223> X是Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe,或Trp

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (235) .. (235)

<223> X是Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met,或Trp

<400> 73

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

Ser

<210> 74

<211> 289

<212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成的
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (173) .. (173)
 <223> X是Ser或Cys
 <400> 74
 Glu Ala Gly Val Ala Gln Ser Pro Arg Tyr Lys Ile Ile Glu Lys Arg
 1 5 10 15
 Gln Ser Val Ala Phe Trp Cys Asn Pro Ile Ser Gly His Ala Thr Leu
 20 25 30
 Tyr Trp Tyr Gln Gln Ile Leu Gly Gln Gly Pro Lys Leu Leu Ile Gln
 35 40 45
 Phe Gln Asn Asn Gly Val Val Asp Asp Ser Gln Leu Pro Lys Asp Arg
 50 55 60
 Phe Ser Ala Glu Arg Leu Lys Gly Val Asp Ser Thr Leu Lys Ile Gln
 65 70 75 80
 Pro Ala Lys Leu Glu Asp Ser Ala Val Tyr Leu Cys Ala Ser Ser Leu
 85 90 95
 Ala Leu Gly Gln Gly Asp Thr Glu Ala Phe Phe Gly Gln Gly Thr Arg
 100 105 110
 Leu Thr Val Val Glu Asp Leu Arg Asn Val Thr Pro Pro Lys Val Ser
 115 120 125
 Leu Phe Glu Pro Ser Lys Ala Glu Ile Ala Asn Lys Gln Lys Ala Thr
 130 135 140
 Leu Val Cys Leu Ala Arg Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser
 145 150 155 160
 Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Xaa Thr Asp Pro
 165 170 175
 Gln Ala Tyr Lys Glu Ser Asn Tyr Ser Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu
 180 185 190
 Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp His Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys
 195 200 205
 Gln Val Gln Phe His Gly Leu Ser Glu Glu Asp Lys Trp Pro Glu Gly
 210 215 220
 Ser Pro Lys Pro Val Thr Gln Asn Ile Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg
 225 230 235 240

Ala Asp Cys Gly Ile Thr Ser Ala Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser		
	245	250 255
Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala		
	260	265 270
Val Leu Val Ser Thr Leu Val Val Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asn		
	275	280 285
Ser		
<210>	75	
<211>	276	
<212>	PRT	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	合成的	
<400>	75	
Met Leu Thr Ala Ser Leu Leu Arg Ala Val Ile Ala Ser Ile Cys Val		
1	5	10 15
Ser Ser Met Ala Gln Lys Val Thr Gln Ala Gln Thr Glu Ile Ser Val		
	20	25 30
Val Glu Lys Glu Asp Val Thr Leu Asp Cys Val Tyr Glu Thr Arg Asp		
	35	40 45
Thr Thr Tyr Tyr Leu Phe Trp Tyr Lys Gln Pro Pro Ser Gly Glu Leu		
	50	55 60
Val Phe Leu Ile Arg Arg Asn Ser Phe Asp Glu Gln Asn Glu Ile Ser		
65	70	75 80
Gly Arg Tyr Ser Trp Asn Phe Gln Lys Ser Thr Ser Ser Phe Asn Phe		
	85	90 95
Thr Ile Thr Ala Ser Gln Val Val Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala		
	100	105 110
Leu Ser Glu Ala Gly Ala Phe Ser Gly Gly Ser Asn Tyr Lys Leu Thr		
	115	120 125
Phe Gly Lys Gly Thr Leu Leu Thr Val Asn Pro Asn Ile Gln Asn Pro		
	130	135 140
Glu Pro Ala Val Tyr Gln Leu Lys Asp Pro Arg Ser Gln Asp Ser Thr		
145	150	155 160
Leu Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Ile Asn Val Pro Lys Thr		
	165	170 175
Met Glu Ser Gly Thr Phe Ile Thr Asp Lys Cys Val Leu Asp Met Lys		
	180	185 190
Ala Met Asp Ser Lys Ser Asn Gly Ala Ile Ala Trp Ser Asn Gln Thr		

195	200	205
Ser Phe Thr Cys Gln Asp Ile Phe Lys Glu Thr Asn Ala Thr Tyr Pro		
210	215	220
Ser Ser Asp Val Pro Cys Asp Ala Thr Leu Thr Glu Lys Ser Phe Glu		
225	230	235
Thr Asp Met Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Leu Val Ile Val Leu Arg		
245	250	255
Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg		
260	265	270
Leu Trp Ser Ser		
275		
<210> 76		
<211> 307		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成的		
<400> 76		
Met Ala Thr Arg Leu Leu Cys Trp Ala Ala Leu Cys Leu Leu Gly Ala		
1 5 10 15		
Leu Thr Glu Ala Gly Val Ala Gln Ser Pro Arg Tyr Lys Ile Ile Glu		
20 25 30		
Lys Arg Gln Ser Val Ala Phe Trp Cys Asn Pro Ile Ser Gly His Ala		
35 40 45		
Thr Leu Tyr Trp Tyr Gln Gln Ile Leu Gly Gln Gly Pro Lys Leu Leu		
50 55 60		
Ile Gln Phe Gln Asn Asn Gly Val Val Asp Asp Ser Gln Leu Pro Lys		
65 70 75 80		
Asp Arg Phe Ser Ala Glu Arg Leu Lys Gly Val Asp Ser Thr Leu Lys		
85 90 95		
Ile Gln Pro Ala Lys Leu Glu Asp Ser Ala Val Tyr Leu Cys Ala Ser		
100 105 110		
Ser Leu Ala Leu Gly Gln Gly Asp Thr Glu Ala Phe Phe Gly Gln Gly		
115 120 125		
Thr Arg Leu Thr Val Val Glu Asp Leu Arg Asn Val Thr Pro Pro Lys		
130 135 140		
Val Ser Leu Phe Glu Pro Ser Lys Ala Glu Ile Ala Asn Lys Gln Lys		
145 150 155 160		
Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala Arg Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu		

					165						170					175	
Leu	Ser	Trp	Trp	Val	Asn	Gly	Lys	Glu	Val	His	Ser	Gly	Val	Cys	Thr		
				180							185					190	
Asp	Pro	Gln	Ala	Tyr	Lys	Glu	Ser	Asn	Tyr	Ser	Tyr	Cys	Leu	Ser	Ser		
				195							200					205	
Arg	Leu	Arg	Val	Ser	Ala	Thr	Phe	Trp	His	Asn	Pro	Arg	Asn	His	Phe		
				210												220	
Arg	Cys	Gln	Val	Gln	Phe	His	Gly	Leu	Ser	Glu	Glu	Asp	Lys	Trp	Pro		
225						230						235				240	
Glu	Gly	Ser	Pro	Lys	Pro	Val	Thr	Gln	Asn	Ile	Ser	Ala	Glu	Ala	Trp		
				245								250				255	
Gly	Arg	Ala	Asp	Cys	Gly	Ile	Thr	Ser	Ala	Ser	Tyr	Gln	Gln	Gly	Val		
				260												270	
Leu	Ser	Ala	Thr	Ile	Leu	Tyr	Glu	Ile	Leu	Leu	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu		
				275												285	
Tyr	Ala	Val	Leu	Val	Ser	Thr	Leu	Val	Val	Met	Ala	Met	Val	Lys	Arg		
				290												300	
Lys	Asn	Ser															
305																	
<210>	77																
<211>	257																
<212>	PRT																
<213>	人工序列(Artificial Sequence)																
<220>																	
<223>	合成的																
<400>	77																
Ala	Gln	Lys	Val	Thr	Gln	Ala	Gln	Thr	Glu	Ile	Ser	Val	Val	Glu	Lys		
1				5					10					15			
Glu	Asp	Val	Thr	Leu	Asp	Cys	Val	Tyr	Glu	Thr	Arg	Asp	Thr	Thr	Tyr		
				20					25					30			
Tyr	Leu	Phe	Trp	Tyr	Lys	Gln	Pro	Pro	Ser	Gly	Glu	Leu	Val	Phe	Leu		
				35					40					45			
Ile	Arg	Arg	Asn	Ser	Phe	Asp	Glu	Gln	Asn	Glu	Ile	Ser	Gly	Arg	Tyr		
				50					55					60			
Ser	Trp	Asn	Phe	Gln	Lys	Ser	Thr	Ser	Ser	Phe	Asn	Phe	Thr	Ile	Thr		
65				70					75					80			
Ala	Ser	Gln	Val	Val	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys	Ala	Leu	Ser	Glu		
				85					90					95			
Ala	Gly	Ala	Phe	Ser	Gly	Gly	Ser	Asn	Tyr	Lys	Leu	Thr	Phe	Gly	Lys		

100						105						110					
Gly	Thr	Leu	Leu	Thr	Val	Asn	Pro	Asn	Ile	Gln	Asn	Pro	Glu	Pro	Ala		
115						120						125					
Val	Tyr	Gln	Leu	Lys	Asp	Pro	Arg	Ser	Gln	Asp	Ser	Thr	Leu	Cys	Leu		
130						135						140					
Phe	Thr	Asp	Phe	Asp	Ser	Gln	Ile	Asn	Val	Pro	Lys	Thr	Met	Glu	Ser		
145						150						155					
Gly	Thr	Phe	Ile	Thr	Asp	Lys	Cys	Val	Leu	Asp	Met	Lys	Ala	Met	Asp		
165						170						175					
Ser	Lys	Ser	Asn	Gly	Ala	Ile	Ala	Trp	Ser	Asn	Gln	Thr	Ser	Phe	Thr		
180						185						190					
Cys	Gln	Asp	Ile	Phe	Lys	Glu	Thr	Asn	Ala	Thr	Tyr	Pro	Ser	Ser	Asp		
195						200						205					
Val	Pro	Cys	Asp	Ala	Thr	Leu	Thr	Glu	Lys	Ser	Phe	Glu	Thr	Asp	Met		
210						215						220					
Asn	Leu	Asn	Phe	Gln	Asn	Leu	Leu	Val	Ile	Val	Leu	Arg	Ile	Leu	Leu		
225						230						235					
Leu	Lys	Val	Ala	Gly	Phe	Asn	Leu	Leu	Met	Thr	Leu	Arg	Leu	Trp	Ser		
245						250						255					
Ser																	
<210>	78																
<211>	289																
<212>	PRT																
<213>	人工序列(Artificial Sequence)																
<220>																	
<223>	合成的																
<400>	78																
Glu	Ala	Gly	Val	Ala	Gln	Ser	Pro	Arg	Tyr	Lys	Ile	Ile	Glu	Lys	Arg		
1			5			10			15								
Gln	Ser	Val	Ala	Phe	Trp	Cys	Asn	Pro	Ile	Ser	Gly	His	Ala	Thr	Leu		
20						25						30					
Tyr	Trp	Tyr	Gln	Gln	Ile	Leu	Gly	Gln	Gly	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Gln		
35						40						45					
Phe	Gln	Asn	Asn	Gly	Val	Val	Asp	Asp	Ser	Gln	Leu	Pro	Lys	Asp	Arg		
50						55						60					
Phe	Ser	Ala	Glu	Arg	Leu	Lys	Gly	Val	Asp	Ser	Thr	Leu	Lys	Ile	Gln		
65						70						75					
Pro	Ala	Lys	Leu	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Leu	Cys	Ala	Ser	Ser	Leu		
85						90						95					

Ala Leu Gly Gln Gly Asp Thr Glu Ala Phe Phe Gly Gln Gly Thr Arg		
100	105	110
Leu Thr Val Val Glu Asp Leu Arg Asn Val Thr Pro Pro Lys Val Ser		
115	120	125
Leu Phe Glu Pro Ser Lys Ala Glu Ile Ala Asn Lys Gln Lys Ala Thr		
130	135	140
Leu Val Cys Leu Ala Arg Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser		
145	150	155
Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Cys Thr Asp Pro		
165	170	175
Gln Ala Tyr Lys Glu Ser Asn Tyr Ser Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu		
180	185	190
Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp His Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys		
195	200	205
Gln Val Gln Phe His Gly Leu Ser Glu Glu Asp Lys Trp Pro Glu Gly		
210	215	220
Ser Pro Lys Pro Val Thr Gln Asn Ile Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg		
225	230	235
Ala Asp Cys Gly Ile Thr Ser Ala Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser		
245	250	255
Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala		
260	265	270
Val Leu Val Ser Thr Leu Val Val Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asn		
275	280	285

Ser

<210> 79

<211> 264

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (175) .. (175)

<223> X是Thr或Cys

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (239) .. (239)

<223> X是Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met,或Trp

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (241) .. (241)

<223> X是Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe,或Trp

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (242) .. (242)

<223> X是Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met,或Trp

<400> 79

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

Xaa Xaa Leu Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu
 245 250 255
 Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
 260
 <210> 80
 <211> 306
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成的
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (190) .. (190)
 <223> X是Ser或Cys
 <400> 80
 Met Ala Cys Arg Leu Leu Cys Cys Ala Val Leu Cys Leu Leu Gly Ala
 1 5 10 15
 Pro Met Glu Thr Gly Val Thr Gln Thr Pro Arg His Leu Val Met Gly
 20 25 30
 Met Thr Asn Lys Lys Ser Leu Lys Cys Glu Gln His Leu Gly His Asn
 35 40 45
 Ala Met Tyr Trp Tyr Lys Gln Ser Ala Lys Lys Pro Leu Glu Leu Met
 50 55 60
 Phe Val Tyr Asn Phe Lys Glu Gln Thr Glu Asn Asn Ser Val Pro Ser
 65 70 75 80
 Arg Phe Ser Pro Glu Cys Pro Asn Ser Ser His Leu Phe Leu His Leu
 85 90 95
 His Thr Leu Gln Pro Glu Asp Ser Ala Leu Tyr Leu Cys Ala Ser Ser
 100 105 110
 Gln Ala Trp Gly Gly Ala Asp Gly Glu Leu Phe Phe Gly Glu Gly Ser
 115 120 125
 Arg Leu Thr Val Leu Glu Asp Leu Arg Asn Val Thr Pro Pro Lys Val
 130 135 140
 Ser Leu Phe Glu Pro Ser Lys Ala Glu Ile Ala Asn Lys Gln Lys Ala
 145 150 155 160
 Thr Leu Val Cys Leu Ala Arg Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu
 165 170 175
 Ser Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Xaa Thr Asp
 180 185 190

Pro	Gln	Ala	Tyr	Lys	Glu	Ser	Asn	Tyr	Ser	Tyr	Cys	Leu	Ser	Ser	Arg
195				200				205							
Leu	Arg	Val	Ser	Ala	Thr	Phe	Trp	His	Asn	Pro	Arg	Asn	His	Phe	Arg
210				215				220							
Cys	Gln	Val	Gln	Phe	His	Gly	Leu	Ser	Glu	Glu	Asp	Lys	Trp	Pro	Glu
225				230				235				240			
Gly	Ser	Pro	Lys	Pro	Val	Thr	Gln	Asn	Ile	Ser	Ala	Glu	Ala	Trp	Gly
				245				250				255			
Arg	Ala	Asp	Cys	Gly	Ile	Thr	Ser	Ala	Ser	Tyr	Gln	Gln	Gly	Val	Leu
260				265				270							
Ser	Ala	Thr	Ile	Leu	Tyr	Glu	Ile	Leu	Leu	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Tyr
275				280				285							
Ala	Val	Leu	Val	Ser	Thr	Leu	Val	Val	Met	Ala	Met	Val	Lys	Arg	Lys
290				295				300							

Asn Ser

305

<210> 81

<211> 248

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (159) .. (159)

<223> X是Thr或Cys

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (223) .. (223)

<223> X是Ser, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met,或Trp

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (225) .. (225)

<223> X是Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe,或Trp

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (226) .. (226)

<223> X是Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met,或Trp

<400> 81

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

<210> 82

<211> 288

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成的

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (172) .. (172)

<223> X是Ser或Cys

<400> 82

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

275	280	285
<210> 83		
<211> 264		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成的		
<400> 83		
Met Trp Gly Val Phe Leu Leu Tyr Val Ser Met Lys Met Gly Thr Thr		
1 5 10 15		
Gly Gln Asn Ile Asp Gln Pro Thr Glu Met Thr Ala Thr Glu Gly Ala		
20 25 30		
Ile Val Gln Ile Asn Cys Thr Tyr Gln Thr Ser Gly Phe Asn Gly Leu		
35 40 45		
Phe Trp Tyr Gln Gln His Ala Gly Glu Ala Pro Thr Phe Leu Ser Tyr		
50 55 60		
Asn Val Leu Asp Gly Leu Glu Glu Lys Gly Arg Phe Ser Ser Phe Leu		
65 70 75 80		
Ser Arg Ser Lys Gly Tyr Ser Tyr Leu Leu Leu Lys Glu Leu Gln Met		
85 90 95		
Lys Asp Ser Ala Ser Tyr Leu Cys Ala Val Phe Ser Ser Gly Ser Ala		
100 105 110		
Arg Gln Leu Thr Phe Gly Ser Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu Pro Asn		
115 120 125		
Ile Gln Asn Pro Glu Pro Ala Val Tyr Gln Leu Lys Asp Pro Arg Ser		
130 135 140		
Gln Asp Ser Thr Leu Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Ile Asn		
145 150 155 160		
Val Pro Lys Thr Met Glu Ser Gly Thr Phe Ile Thr Asp Lys Cys Val		
165 170 175		
Leu Asp Met Lys Ala Met Asp Ser Lys Ser Asn Gly Ala Ile Ala Trp		
180 185 190		
Ser Asn Gln Thr Ser Phe Thr Cys Gln Asp Ile Phe Lys Glu Thr Asn		
195 200 205		
Ala Thr Tyr Pro Ser Ser Asp Val Pro Cys Asp Ala Thr Leu Thr Glu		
210 215 220		
Lys Ser Phe Glu Thr Asp Met Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Leu Val		
225 230 235 240		
Ile Val Leu Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu		

	245	250	255
Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser			
260			
<210> 84			
<211> 306			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 合成的			
<400> 84			
Met Ala Cys Arg Leu Leu Cys Cys Ala Val Leu Cys Leu Leu Gly Ala			
1 5 10 15			
Pro Met Glu Thr Gly Val Thr Gln Thr Pro Arg His Leu Val Met Gly			
20 25 30			
Met Thr Asn Lys Lys Ser Leu Lys Cys Glu Gln His Leu Gly His Asn			
35 40 45			
Ala Met Tyr Trp Tyr Lys Gln Ser Ala Lys Lys Pro Leu Glu Leu Met			
50 55 60			
Phe Val Tyr Asn Phe Lys Glu Gln Thr Glu Asn Asn Ser Val Pro Ser			
65 70 75 80			
Arg Phe Ser Pro Glu Cys Pro Asn Ser Ser His Leu Phe Leu His Leu			
85 90 95			
His Thr Leu Gln Pro Glu Asp Ser Ala Leu Tyr Leu Cys Ala Ser Ser			
100 105 110			
Gln Ala Trp Gly Gly Ala Asp Gly Glu Leu Phe Phe Gly Glu Gly Ser			
115 120 125			
Arg Leu Thr Val Leu Glu Asp Leu Arg Asn Val Thr Pro Pro Lys Val			
130 135 140			
Ser Leu Phe Glu Pro Ser Lys Ala Glu Ile Ala Asn Lys Gln Lys Ala			
145 150 155 160			
Thr Leu Val Cys Leu Ala Arg Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu			
165 170 175			
Ser Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Cys Thr Asp			
180 185 190			
Pro Gln Ala Tyr Lys Glu Ser Asn Tyr Ser Tyr Cys Leu Ser Ser Arg			
195 200 205			
Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp His Asn Pro Arg Asn His Phe Arg			
210 215 220			
Cys Gln Val Gln Phe His Gly Leu Ser Glu Glu Asp Lys Trp Pro Glu			

225	230	235	240
Gly Ser Pro Lys Pro Val Thr Gln Asn Ile Ser Ala Glu Ala Trp Gly			
	245	250	255
Arg Ala Asp Cys Gly Ile Thr Ser Ala Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu			
	260	265	270
Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr			
	275	280	285
Ala Val Leu Val Ser Thr Leu Val Val Met Ala Met Val Lys Arg Lys			
290	295	300	
Asn Ser			
305			
<210> 85			
<211> 248			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 合成的			
<400> 85			
Gly Gln Asn Ile Asp Gln Pro Thr Glu Met Thr Ala Thr Glu Gly Ala			
1	5	10	15
Ile Val Gln Ile Asn Cys Thr Tyr Gln Thr Ser Gly Phe Asn Gly Leu			
	20	25	30
Phe Trp Tyr Gln Gln His Ala Gly Glu Ala Pro Thr Phe Leu Ser Tyr			
	35	40	45
Asn Val Leu Asp Gly Leu Glu Glu Lys Gly Arg Phe Ser Ser Phe Leu			
50	55	60	
Ser Arg Ser Lys Gly Tyr Ser Tyr Leu Leu Leu Lys Glu Leu Gln Met			
65	70	75	80
Lys Asp Ser Ala Ser Tyr Leu Cys Ala Val Phe Ser Ser Gly Ser Ala			
	85	90	95
Arg Gln Leu Thr Phe Gly Ser Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu Pro Asn			
	100	105	110
Ile Gln Asn Pro Glu Pro Ala Val Tyr Gln Leu Lys Asp Pro Arg Ser			
	115	120	125
Gln Asp Ser Thr Leu Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Ile Asn			
	130	135	140
Val Pro Lys Thr Met Glu Ser Gly Thr Phe Ile Thr Asp Lys Cys Val			
145	150	155	160
Leu Asp Met Lys Ala Met Asp Ser Lys Ser Asn Gly Ala Ile Ala Trp			

					165						170					175
Ser	Asn	Gln	Thr	Ser	Phe	Thr	Cys	Gln	Asp	Ile	Phe	Lys	Glu	Thr	Asn	
					180						185					190
Ala	Thr	Tyr	Pro	Ser	Ser	Asp	Val	Pro	Cys	Asp	Ala	Thr	Leu	Thr	Glu	
					195						200					205
Lys	Ser	Phe	Glu	Thr	Asp	Met	Asn	Leu	Asn	Phe	Gln	Asn	Leu	Leu	Val	
					210						215					220
Ile	Val	Leu	Arg	Ile	Leu	Leu	Leu	Lys	Val	Ala	Gly	Phe	Asn	Leu	Leu	
225							230				235					240
Met	Thr	Leu	Arg	Leu	Trp	Ser	Ser									
					245											
<210>	86															
<211>	288															
<212>	PRT															
<213>	人工序列(Artificial Sequence)															
<220>																
<223>	合成的															
<400>	86															
Glu	Thr	Gly	Val	Thr	Gln	Thr	Pro	Arg	His	Leu	Val	Met	Gly	Met	Thr	
1				5					10					15		
Asn	Lys	Lys	Ser	Leu	Lys	Cys	Glu	Gln	His	Leu	Gly	His	Asn	Ala	Met	
				20				25					30			
Tyr	Trp	Tyr	Lys	Gln	Ser	Ala	Lys	Lys	Pro	Leu	Glu	Leu	Met	Phe	Val	
				35				40					45			
Tyr	Asn	Phe	Lys	Glu	Gln	Thr	Glu	Asn	Asn	Ser	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	
				50				55					60			
Ser	Pro	Glu	Cys	Pro	Asn	Ser	Ser	His	Leu	Phe	Leu	His	Leu	His	Thr	
65					70				75						80	
Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Ser	Ala	Leu	Tyr	Leu	Cys	Ala	Ser	Ser	Gln	Ala	
				85					90					95		
Trp	Gly	Gly	Ala	Asp	Gly	Glu	Leu	Phe	Phe	Gly	Glu	Gly	Ser	Arg	Leu	
				100					105					110		
Thr	Val	Leu	Glu	Asp	Leu	Arg	Asn	Val	Thr	Pro	Pro	Lys	Val	Ser	Leu	
				115					120					125		
Phe	Glu	Pro	Ser	Lys	Ala	Glu	Ile	Ala	Asn	Lys	Gln	Lys	Ala	Thr	Leu	
				130					135					140		
Val	Cys	Leu	Ala	Arg	Gly	Phe	Phe	Pro	Asp	His	Val	Glu	Leu	Ser	Trp	
145					150					155					160	
Trp	Val	Asn	Gly	Lys	Glu	Val	His	Ser	Gly	Val	Cys	Thr	Asp	Pro	Gln	

	165		170		175
Ala Tyr Lys Glu Ser Asn Tyr Ser Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu Arg					
	180		185		190
Val Ser Ala Thr Phe Trp His Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys Gln					
	195		200		205
Val Gln Phe His Gly Leu Ser Glu Glu Asp Lys Trp Pro Glu Gly Ser					
	210		215		220
Pro Lys Pro Val Thr Gln Asn Ile Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg Ala					
225		230		235	240
Asp Cys Gly Ile Thr Ser Ala Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala					
	245		250		255
Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val					
	260		265		270
Leu Val Ser Thr Leu Val Val Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asn Ser					
	275		280		285
<210>	87				
<211>	27				
<212>	PRT				
<213>	人工序列(Artificial Sequence)				
<220>					
<223>	合成的				
<400>	87				
Arg Ala Lys Arg Ser Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys					
1	5		10		15
Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro					
	20		25		
<210>	88				
<211>	24				
<212>	PRT				
<213>	智人(Homo sapiens)				
<400>	88				
Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Asp Gly Val Gly Lys					
1	5		10		15
Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile					
	20				
<210>	89				
<211>	24				
<212>	PRT				
<213>	智人(Homo sapiens)				

<400> 89

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

1 5 10 15

Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile

20

<210> 90

<211> 23

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 90

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

1 5 10 15

Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile

20

<210> 91

<211> 615

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 91

Met Ala Leu Leu Leu Leu Leu Gly Pro Gly Ile Ser Leu Leu Leu

1 5 10 15

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

20 25 30

Ser Trp Val Ile Cys Lys Ser Gly Thr Ser Val Lys Ile Glu Cys Arg

35 40 45

Ser Leu Asp Phe Gln Ala Thr Thr Met Phe Trp Tyr Arg Gln Phe Pro

50 55 60

Lys Gln Ser Leu Met Leu Met Ala Thr Ser Asn Glu Gly Ser Lys Ala

65 70 75 80

Thr Tyr Glu Gln Gly Val Glu Lys Asp Lys Phe Leu Ile Asn His Ala

85 90 95

Ser Leu Thr Leu Ser Thr Leu Thr Val Thr Ser Ala His Pro Glu Asp

100 105 110

Ser Ser Phe Tyr Ile Cys Ser Ala Asn Pro Ile Ala Ala Asn Ser Tyr

115 120 125

Asn Glu Gln Phe Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Leu Glu Asp

130 135 140

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

450	455	460
Lys Leu Thr Phe Gly Thr Gly Thr Gln Leu Lys Val Glu Leu Asn Ile		
465	470	475
Gln Asn Pro Glu Pro Ala Val Tyr Gln Leu Lys Asp Pro Arg Ser Gln		480
	485	490
Asp Ser Thr Leu Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Ile Asn Val		495
	500	505
Pro Lys Thr Met Glu Ser Gly Thr Phe Ile Thr Asp Lys Cys Val Leu		510
	515	520
Asp Met Lys Ala Met Asp Ser Lys Ser Asn Gly Ala Ile Ala Trp Ser		525
	530	535
Asn Gln Thr Ser Phe Thr Cys Gln Asp Ile Phe Lys Glu Thr Asn Ala		540
545	550	555
Thr Tyr Pro Ser Ser Asp Val Pro Cys Asp Ala Thr Leu Thr Glu Lys		560
	565	570
Ser Phe Glu Thr Asp Met Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Leu Val Ile		575
	580	585
Val Leu Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met		590
	595	600
Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser		605
	610	615
<210>	92	
<211>	611	
<212>	PRT	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	合成的	
<400>	92	
Met Ala Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gly Pro Gly Ile Ser Leu Leu Leu		
1	5	10
Pro Gly Ser Leu Gly Ser Gly Leu Gly Ala Val Val Ser Gln His Pro		15
	20	25
Ser Trp Val Ile Cys Lys Ser Gly Thr Ser Val Lys Ile Glu Cys Arg		30
	35	40
Ser Leu Asp Phe Gln Ala Thr Thr Met Phe Trp Tyr Arg Gln Phe Pro		45
	50	55
Lys Gln Ser Leu Met Leu Met Ala Thr Ser Asn Glu Gly Ser Lys Ala		60
65	70	75
Thr Tyr Glu Gln Gly Val Glu Lys Asp Lys Phe Leu Ile Asn His Ala		80

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

Gly	Pro	Gln	Leu	Ile	Ile	Asp	Ile	Arg	Ser	Asn	Val	Gly	Glu	Lys	Lys	
				405					410					415		
Asp	Gln	Arg	Ile	Ala	Val	Thr	Leu	Asn	Lys	Thr	Ala	Lys	His	Phe	Ser	
			420					425					430			
Leu	His	Ile	Thr	Glu	Thr	Gln	Pro	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys	
		435					440					445				
Ala	Ala	Thr	Ser	Thr	Asp	Arg	Gly	Ser	Thr	Leu	Gly	Arg	Leu	Tyr	Phe	
	450					455					460					
Gly	Arg	Gly	Thr	Gln	Leu	Thr	Val	Trp	Pro	Asn	Ile	Gln	Asn	Pro	Glu	
465				470					475					480		
Pro	Ala	Val	Tyr	Gln	Leu	Lys	Asp	Pro	Arg	Ser	Gln	Asp	Ser	Thr	Leu	
			485					490						495		
Cys	Leu	Phe	Thr	Asp	Phe	Asp	Ser	Gln	Ile	Asn	Val	Pro	Lys	Thr	Met	
		500					505					510				
Glu	Ser	Gly	Thr	Phe	Ile	Thr	Asp	Lys	Cys	Val	Leu	Asp	Met	Lys	Ala	
	515					520					525					
Met	Asp	Ser	Lys	Ser	Asn	Gly	Ala	Ile	Ala	Trp	Ser	Asn	Gln	Thr	Ser	
	530					535				540						
Phe	Thr	Cys	Gln	Asp	Ile	Phe	Lys	Glu	Thr	Asn	Ala	Thr	Tyr	Pro	Ser	
545			550					555						560		
Ser	Asp	Val	Pro	Cys	Asp	Ala	Thr	Leu	Thr	Glu	Lys	Ser	Phe	Glu	Thr	
			565					570					575			
Asp	Met	Asn	Leu	Asn	Phe	Gln	Asn	Leu	Leu	Val	Ile	Val	Leu	Arg	Ile	
		580					585					590				
Leu	Leu	Leu	Lys	Val	Ala	Gly	Phe	Asn	Leu	Leu	Met	Thr	Leu	Arg	Leu	
	595					600					605					
Trp	Ser	Ser														
	610															
<210>	93															
<211>	610															
<212>	PRT															
<213>	人工序列(Artificial Sequence)															
<220>																
<223>	合成的															
<400>	93															
Met	Ala	Thr	Arg	Leu	Leu	Cys	Trp	Ala	Ala	Leu	Cys	Leu	Leu	Gly	Ala	
1				5				10					15			
Leu	Thr	Glu	Ala	Gly	Val	Ala	Gln	Ser	Pro	Arg	Tyr	Lys	Ile	Ile	Glu	
		20					25					30				

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

340	345	350
Met Ala Gln Lys Val Thr Gln	Ala Gln Thr Glu Ile Ser	Val Val Glu
355	360	365
Lys Glu Asp Val Thr Leu Asp	Cys Val Tyr Glu Thr Arg	Asp Thr Thr
370	375	380
Tyr Tyr Leu Phe Trp Tyr Lys	Gln Pro Pro Ser Gly Glu	Leu Val Phe
385	390	395
Leu Ile Arg Arg Asn Ser Phe	Asp Glu Gln Asn Glu Ile	Ser Gly Arg
405	410	415
Tyr Ser Trp Asn Phe Gln Lys	Ser Thr Ser Ser Phe Asn	Phe Thr Ile
420	425	430
Thr Ala Ser Gln Val Val Asp	Ser Ala Val Tyr Phe Cys	Ala Leu Ser
435	440	445
Glu Ala Gly Ala Phe Ser Gly	Gly Ser Asn Tyr Lys Leu	Thr Phe Gly
450	455	460
Lys Gly Thr Leu Leu Thr Val	Asn Pro Asn Ile Gln Asn	Pro Glu Pro
465	470	475
Ala Val Tyr Gln Leu Lys Asp	Pro Arg Ser Gln Asp Ser	Thr Leu Cys
485	490	495
Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser	Gln Ile Asn Val Pro Lys	Thr Met Glu
500	505	510
Ser Gly Thr Phe Ile Thr Asp	Lys Cys Val Leu Asp Met	Lys Ala Met
515	520	525
Asp Ser Lys Ser Asn Gly Ala	Ile Ala Trp Ser Asn Gln	Thr Ser Phe
530	535	540
Thr Cys Gln Asp Ile Phe Lys	Glu Thr Asn Ala Thr Tyr	Pro Ser Ser
545	550	555
Asp Val Pro Cys Asp Ala Thr	Leu Thr Glu Lys Ser Phe	Glu Thr Asp
565	570	575
Met Asn Leu Asn Phe Gln Asn	Leu Leu Val Ile Val Leu	Arg Ile Leu
580	585	590
Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe	Asn Leu Leu Met Thr Leu	Arg Leu Trp
595	600	605
Ser Ser		
610		
<210>	94	
<211>	597	
<212>	PRT	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	

<220>

<223> 合成的

<400> 94

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

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

595	
<210>	95
<211>	1848
<212>	DNA
<213>	人工序列(Artificial Sequence)
<220>	
<223>	合成的
<400>	95
atggcactgc tgctgctgct gctgggacct ggaatcagcc tgctgctgcc aggctctctg	60
ggaagcggcc tgggagcagt ggtgagccag caccatcct gggtcactctg caagtccggc	120
acctctgtga agatcgagtg tcggagcctg gacttccagg ccaccacaat gttctggtac	180
agacagtttc ccaagcagtc cctgatgctg atggccacat ctaatgaggg cagcaaggcc	240
acctatgagc agggcgtgga gaaggataag ttctgatca accacgcctc cctgacctg	300
tctaccctga cagtgcctc cgcccaccca gaggacagct ctttttacct ctgctccgcc	360
aatcccatcg ccgccaactc ttataatgag cagttctttg gaccaggaac aaggctgacc	420
gtgctggagg acctgagaaa tgtgacaccc cctaaggtgt ctctgttcga gccaaagcaag	480
gccgagatcg ccaacaagca gaaggccacc ctggtgtgcc tggccagggg cttctttccc	540
gatacagtggt agctgtcttg gtgggtgaat ggcaaggagg tgcacagcgg cgtgtgcaca	600
gacctcagg cctacaagga gagcaactac tcctattgtc tgtctagccg gctgagagtg	660
agcgccacct ttggcacaa ccctcggaat cacttcagat gccaggtgca gtttcacggc	720
ctgagcaggg aggataagtg gccagagggc tcccaaagc cagtgacca gaatatctct	780
gccgaggcat ggggaagggc agactgtgga atcacaagcg cctcctatca gcaggcgtg	840
ctgtccgcca ccatcctgta cgagatcctg ctgggcaagg ccacactgta tgccgtgctg	900
gtgtctaccc tgggtggtcat ggctatggtg aagagaaaga atagcagggc caagcggagc	960
ggaagcggag caacaaactt ctccctgctg aagcaggcag gcgatgtgga ggagaacctt	1020
ggaccaatga gcctgtcctc tctgctgaag gtggtgaccg cctccctgtg gctgccagga	1080
atcgcacaga agatcacaca gacctcagct ggcatgtttg tgcaggagaa ggaggcctg	1140
acactggact gcacatacga cacctctgat cagagctacg gcctgttctg gtataagcag	1200
cctagctccg gcgagatgat ctttctgacg taccagggca gctatgatga gcagaacgcc	1260
accgagggca ggtacagcct gaatttccag aaggcccga agtccgcca cctggtcatc	1320
tccgcctctc agctgggcga ctccgccatg tatttctgtg caatgaggga gggaccaga	1380
ggcggaggaa ataagctgac atttggcaca ggcaccagc tgaaggtgga gctgaacatc	1440
cagaatcccg agcctgccgt gtaccagctg aaggaccca gatcccagga ttctacactg	1500
tgctgttca ccgactttga ttcccagatc aacgtgccta agacaatgga gtctggcaca	1560
ttcatcaccg acaagtgcgt gctggacatg aaggctatgg acagcaagtc caacggcgcc	1620
atgcctgga gcaatcagac atccttcacc tgccaggata tctttaagga gacaaacgcc	1680
acctatccat ctagcgacgt gccctgtgat gccacactga ccgagaagag cttcgagaca	1740
gacatgaacc tgaattttca gaatctgctg gtcacgtgc tgaggatcct gctgctgaag	1800
gtggccggct ttaacctgct gatgacactg cgctgtggt cctcttga	1848

<210>	96	
<211>	1836	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	合成的	
<400>	96	
atggcactgc	tgctgctgct	gctgggacct ggaatcagcc tgctgctgcc aggctctctg 60
ggaagcggcc	tgggagcagt	ggtgagccag caccatcct gggtcatctg caagtccggc 120
acctctgtga	agatcgagtg	taggtccctg gatttccagg ccaccacaat gttctggtac 180
cgccagtttc	ccaagcagtc	tctgatgctg atggccacat ctaacgaggg cagcaaggcc 240
acctatgagc	agggcggtga	gaaggacaag ttctgatca atcacgcctc cctgaccctg 300
tctaccctga	cagtgcctc	tgcccacca gaggatagct ctttttacat ctgcagcgcc 360
agggaccccc	ccacaaacga	gaagctgttc tttggctctg gcaccagct gagcgtgctg 420
gaggacctgc	gcaacgtgac	accccctaag gtgtccctgt tcgagccatc taaggccgag 480
atcgccaata	agcagaaggc	caccctggtg tgcctggccc ggggcttctt tcccgatcac 540
gtggagctgt	cttggtgggt	gaacggcaag gaggtgcaca gcggcgtgtg cacagacct 600
caggcctaca	aggagagcaa	ttactcctat tgtctgtcta gccggtgag agtgtccgcc 660
accttttggc	acaacccccg	gaatcacttc agatgccagg tgcagtttca cggcctgtct 720
gaggaggata	agtggcctga	gggcagccca aagccagtga ccagaacat ctccgccgag 780
gcatggggaa	gggcagactg	tggcatcaca tctgccagct atcagcaggg cgtgctgagc 840
gccaccatcc	tgtacgagat	cctgctgggc aaggccacac tgtatgccgt gctggtgtcc 900
accctggtgg	tcatggctat	ggtgaagcgg aagaactcta gggccaagcg gagcggatct 960
ggagccacaa	atttcagcct	gctgaagcag gcaggcgatg tggaggagaa ccctggacca 1020
atgacctcca	tcagagccgt	gttcatcttt ctgtggctgc agctggacgt gaacggcgag 1080
aatgtggagc	agcaccctc	tacactgagc gtgcaggagg gcgatagcgc cgtgatcaag 1140
tgcacctaca	gcgactccgc	ctctaattac tttccctggt ataagcagga gctgggcaag 1200
ggccctcagc	tgatcatcga	tatccggtcc aacgtgggcg agaagaagga ccagagaatc 1260
gccgtgacac	tgaataagac	cgccaagcac ttcagcctgc acatcacaga gacacagcct 1320
gaggattccg	ccgtgtactt	ttgtgccgcc acaagcaccg acaggggctc cacactgggc 1380
aggctgtatt	tcggaagggg	aacacagctg accgtgtggc ctaacatcca gaatcccag 1440
cctgccgtgt	accagctgaa	ggaccacgc tcccaggatt ctacactgtg cctgttcacc 1500
gactttgatt	cccagatcaa	cgtgcccgaag acaatggagt ctggcacctt catcaccgac 1560
aagtgcgtgc	tggacatgaa	ggctatggac agcaagtcca acggcgccat cgcttgagc 1620
aatcagacat	ccttcacctg	ccaggatata tttaaggaga caaatgccac ctatccatcc 1680
tctgacgtgc	cctgtgatgc	cacactgacc gagaagagct tcgagacaga catgaacctg 1740
aattttcaga	acctgctggt	catcgtgctg cggatcctgc tgctgaaggt ggccggcttc 1800
aatctgctga	tgaccctgag	actgtggagc tcctga 1836
<210>	97	

<211> 1833

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 97

```

atggccacca ggctgctgtg ctgggccgcc ctgtgcctgc tgggcgccct gacagaggca      60
ggagtggcac agagcccaag gtacaagatc atcgagaagc gccagagcgt ggccttctgg      120
tgcaacccaa tctccggaca cgccacctg tactggatc agcagatcct gggccagggc      180
cctaagctgc tgatccagtt ccagaacaat ggctgggtgg acgattctca gctgccaaag      240
gatcggttta gcgccgagag actgaagggc gtggactcta ccctgaagat ccagccagcc      300
aagctggagg atagcgccgt gtatctgtgc gccagctccc tggccctggg acagggcgac      360
accgaggcct tctttggaca gggaaccagg ctgacagtgg tggaggatct gagaaacgtg      420
acacccccta aggtgtccct gttcgagcca tctaaggccg agatcgccaa taagcagaag      480
gccaccctgg tgtgcctggc ccggggcttc tttccagacc acgtggagct gtcttggtgg      540
gtgaacggca aggaggtgca cagcggcgtg tgcaccgatc ctcaggccta caaggagagc      600
aattactcct attgtctgtc tagcaggctg cgcgtgagcg ccacattttg gcacaacccc      660
aggaatcact tccgctgcca ggtgcagttt cacggcctgt ctgaggagga caagtggcct      720
gagggcagcc ctaagccagt gaccagaac atctccgccg aggcattggg aagagcagat      780
tgtggcatca ccagcgctc ctatcagcag ggctgctgt cccccacaat cctgtacgag      840
atcctgctgg gcaaggccac cctgtatgcc gtgctggtgt ccacactggt ggtcatggct      900
atggtgaaga ggaagaactc tcgggccaag agatctggaa gcggagcaac caatttttcc      960
ctgctgaagc aggcaggcga cgtggaggag aatccaggac ctatgctgac agcctccctg     1020
ctgagggccg tgatcgctc tatctgcgtg tcctctatgg ccagaaggt gaccagggc     1080
cagacagaga tcagcgtggt ggagaaggag gacgtgacct tggattgcgt gtacgagaca     1140
cgggacacca catactatct gttctggtat aagcagccac ccagcggcga gctggtgttc     1200
ctgatccgga gaaactcctt tgatgagcag aatgagatca gcggcagata ctctggaac     1260
tttcagaaga gcaccagcag cttcaacttc accatcacag ccagccaggt ggtggactcc     1320
gccgtgtact tctgtgact gtccgaggca ggagcctttt ctggaggaag caactataag     1380
ctgacattcg gcaagggcac cctgctgaca gtgaacccca atatccagaa tccagagccc     1440
gccgtgtatc agctgaagga ccctcggtcc caggattcta ccctgtgcct gttcacagac     1500
tttgattccc agatcaacgt gcccaagaca atggagtctg gcacctttat cacagacaag     1560
tgcgtgctgg acatgaaggc tatggactcc aagtctaacg gcgccatcgc ctggtctaata     1620
cagaccagct tcacatgcca ggacatcttt aaggagacaa atgccacata cccttctagc     1680
gacgtgcat gtgatgccac cctgacagag aagagcttcg agacagatat gaacctgaat     1740
tttcagaacc tgctggtcat cgtgctgagg atcctgctgc tgaaggtggc cggttcaat     1800
ctgctgatga cactgcgcct gtggtcctct tga
ctgctgatga cactgcgcct gtggtcctct tga      1833

```

<210> 98

<211> 1794

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 98

atggcatgcc ggctgctgtg ctgtgccgtg ctgtgcctgc tgggagcacc tatggagaca	60
ggagtgaccc agacacctag acacctggtc atgggcatga caaacaagaa gtctctgaag	120
tgcgagcagc acctgggcca caatgccatg tactgggtata agcagagcgc caagaagcct	180
ctggagctga tgttcgtgta caactttaag gagcagaccg agaacaatag cgtgccatcc	240
aggttctctc cagagtgtcc caatagctcc cacctgtttc tgcacctgca cactactgcag	300
cctgaggatt ccgccctgta cctgtgcgcc tctagccagg catggggagg agcagacgga	360
gagctgttct ttggagaggg cagccggctg accgtgctgg aggatctgag aaacgtgaca	420
ccccctaagg tgagcctgtt cgagccatcc aaggccgaga tcgccaataa gcagaaggcc	480
accctgggtg gcctggccag aggtttcttt cccgaccacg tggagctgtc ctggtgggtg	540
aacggcaagg aggtgcactc tggcgtgtgc accgactctc aggcctacaa ggagagcaat	600
tactcctatt gtctgtcctc tcggctgaga gtgtccgcca cattttggca caacccccgg	660
aatcacttca gatgccaggt gcagtttcac ggcctgtccg aggaggacaa gtggcctgag	720
ggctctccaa agcccgtgac ccagaacatc agcggcgagg catggggaag ggcagattgt	780
ggaatcacct ctgccagcta tcagcagggc gtgctgagcg ccacaatcct gtacgagatc	840
ctgctgggca aggccaccct gtatgccgtg ctggtgtcta cactggtggt catggctatg	900
gtgaagagaa agaacagcag ggccaagcgg agcggatctg gagccaccaa tttctccctg	960
ctgaagcagg caggcgacgt ggaggagAAC cctggaccaa tgtggggcgt gtttctgctg	1020
tacgtgtcca tgaagatggg caccacaggc cagaatatcg atcagccaac cgagatgacc	1080
gccacagagg gcgccatcgt gcagatcaac tgcacctacc agacatccgg cttcaatggc	1140
ctgtttttggt atcagcagca cgcaggagag gcacccacat tcctgtctta taacgtgctg	1200
gacggcctgg aggagaaggg caggttcagc tcctttctga gccgctccaa gggctacagc	1260
tatctgctgc tgaaggagct gcagatgaag gattctgcca gctacctgtg cgccgtgttc	1320
tctagcggct ctgccaggca gctgaccttt ggcagcggca cccagctgac agtgctgcca	1380
aacatccaga atccccgagc tgccgtgtat cagctgaagg acccccgtc tcaggatagc	1440
accctgtgcc tgttcacaga ctttgatagc cagatcaacg tgcccaagac aatggagtcc	1500
ggcaccttca tcacagacaa gtgcgtgctg gacatgaagg ctatggactc caagtctaac	1560
ggcgccatcg cctgggtccaa tcagacctct ttcacatgcc aggacatctt taaggagaca	1620
aatgccacat acccttcctc tgacgtgcca tgtgatgcca ccctgacaga gaagagcttc	1680
gagacagata tgaacctgaa ttttcagaac ctgctggtca tcgtgctgag gatcctgctg	1740
ctgaaggtgg ccggctttaa tctgctgatg aactgcgcc tgtggagctc ctga	1794

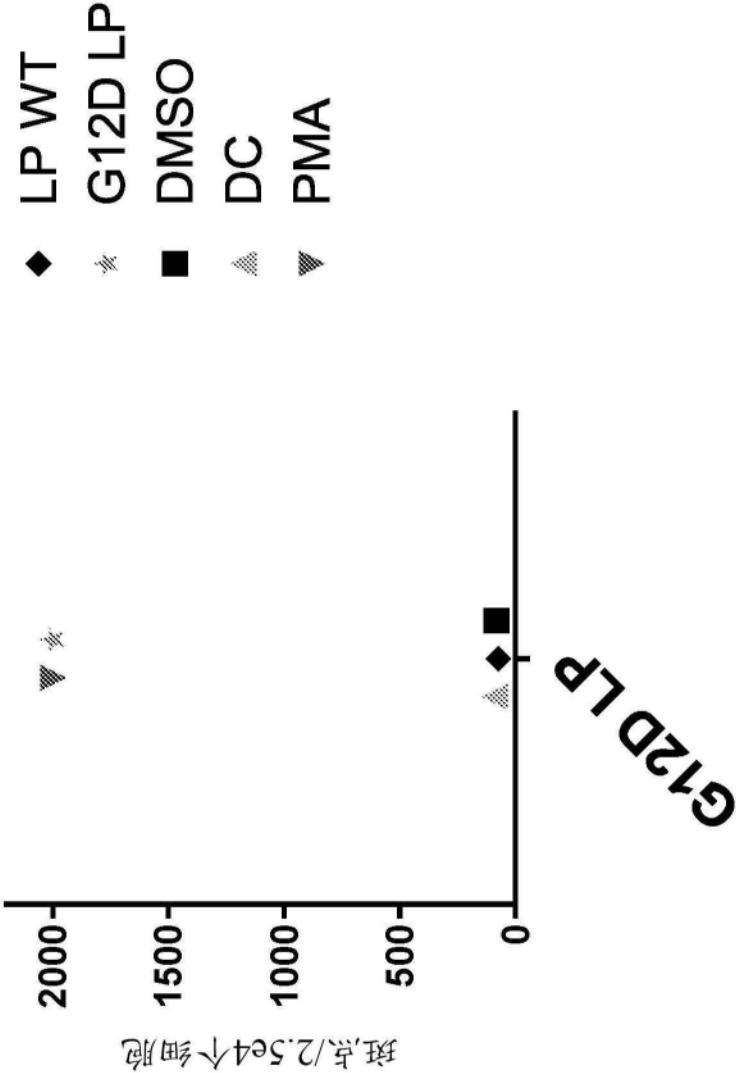


图1A

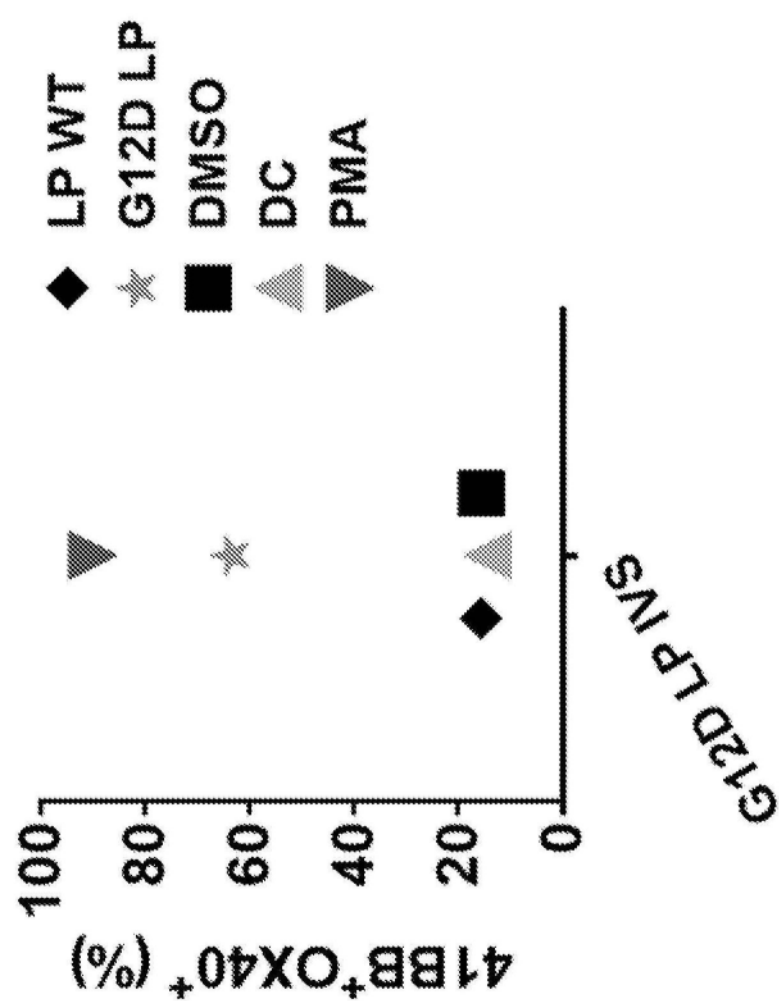


图1B

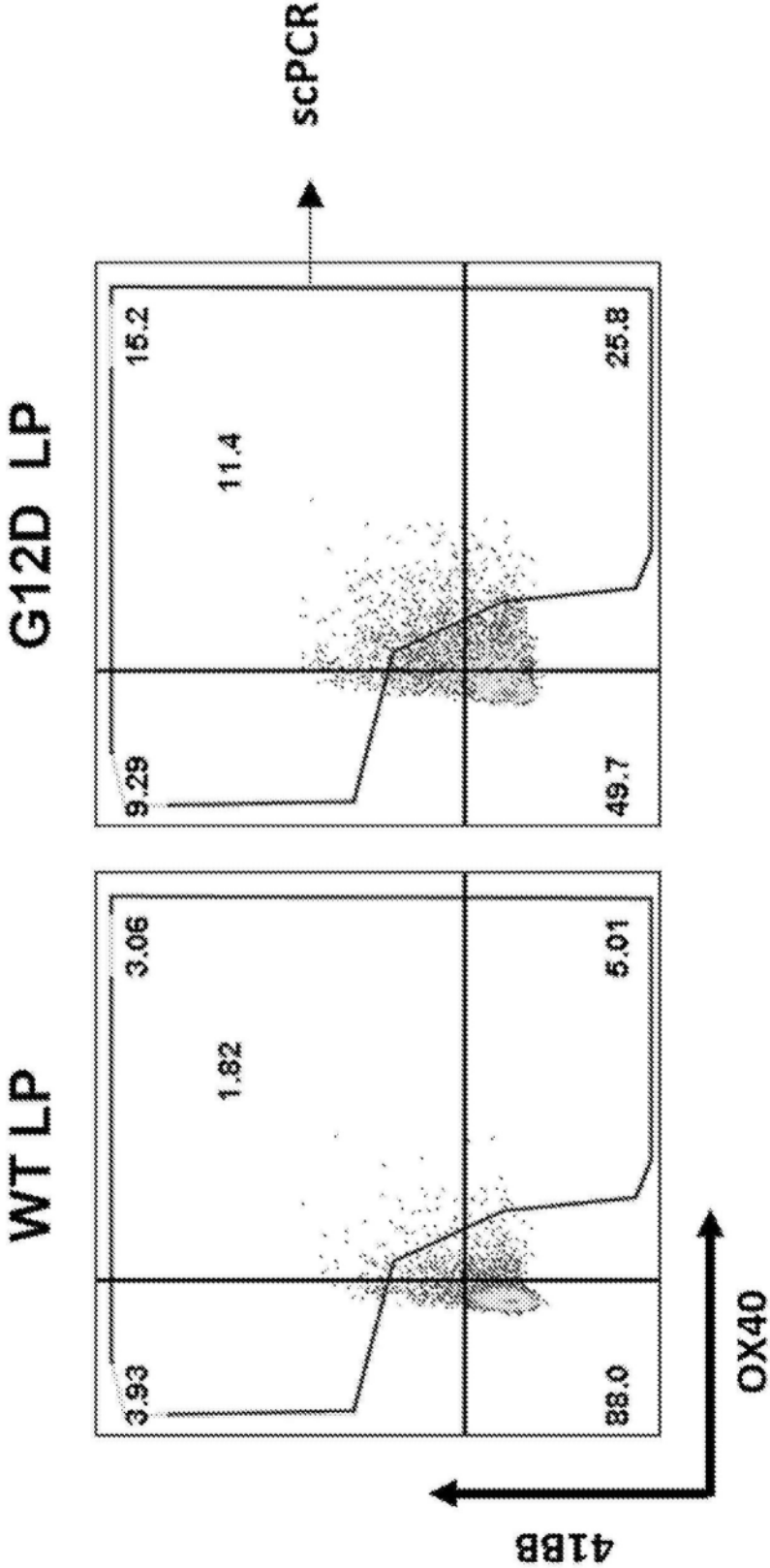


图1C

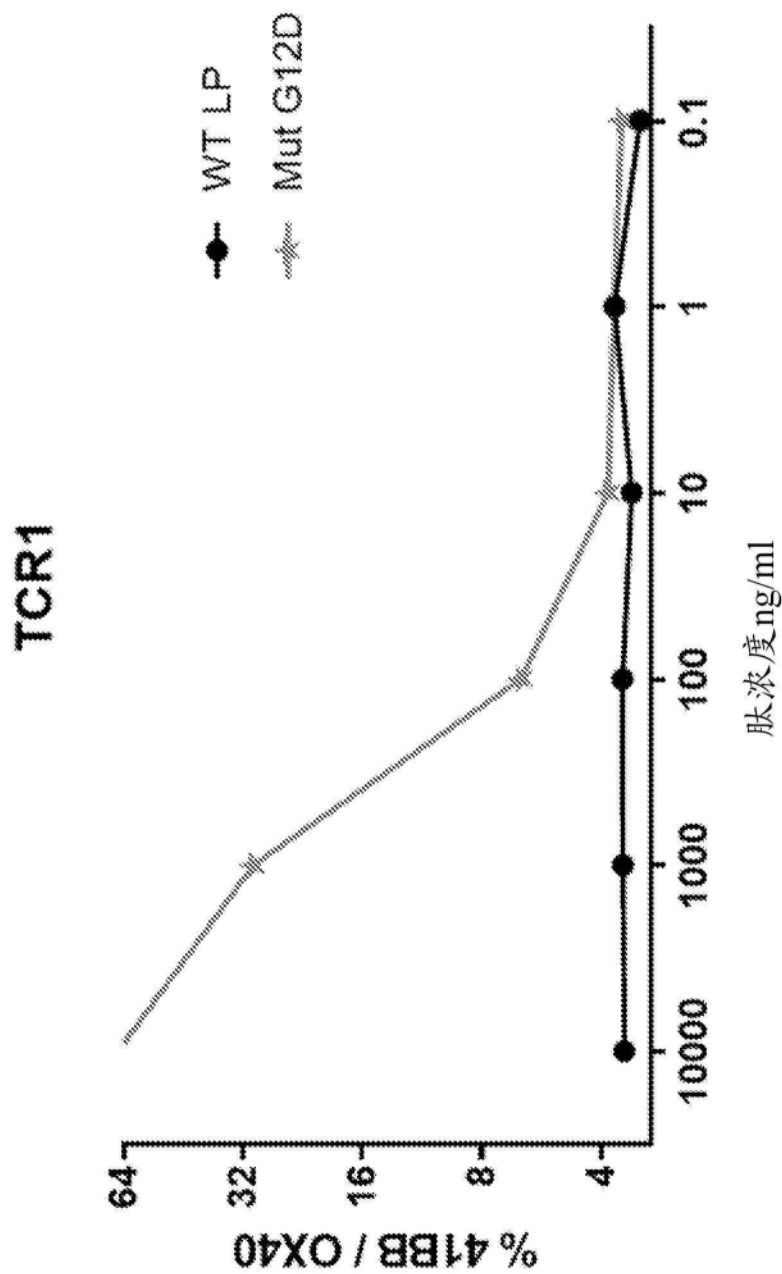


图2A

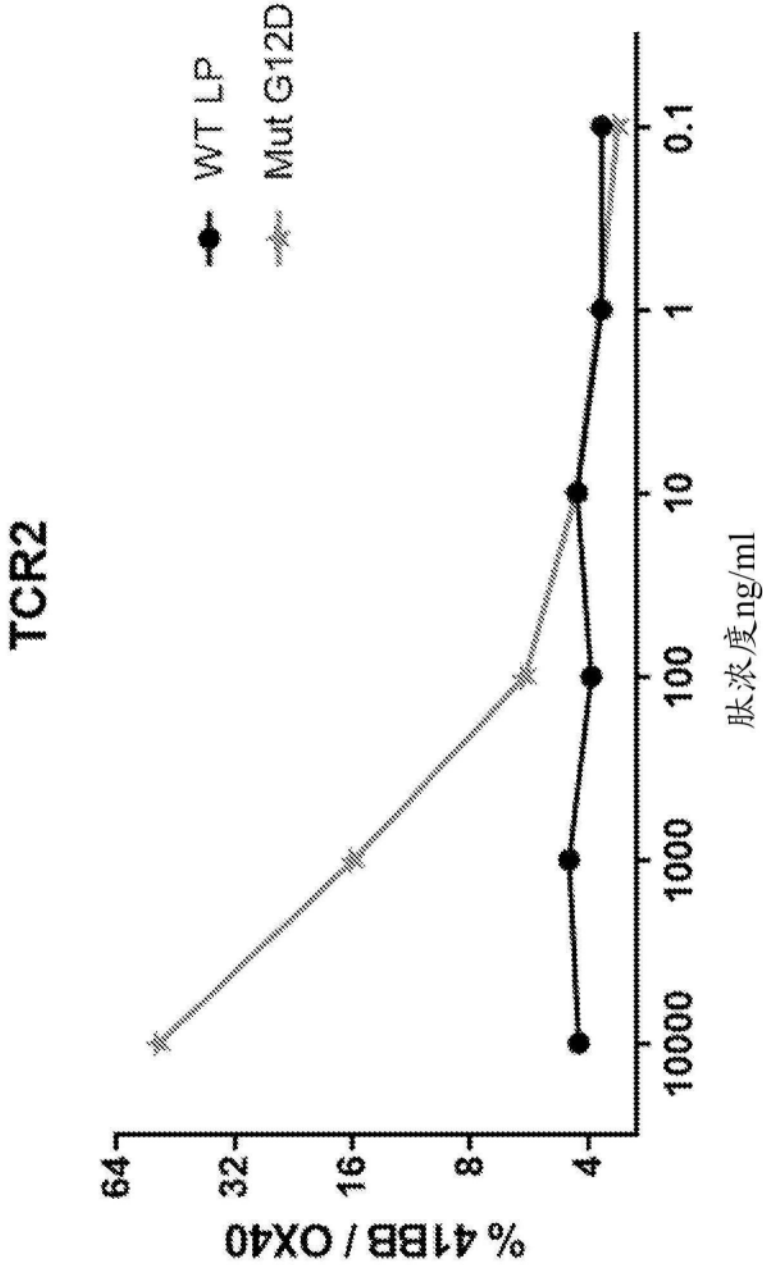


图2B

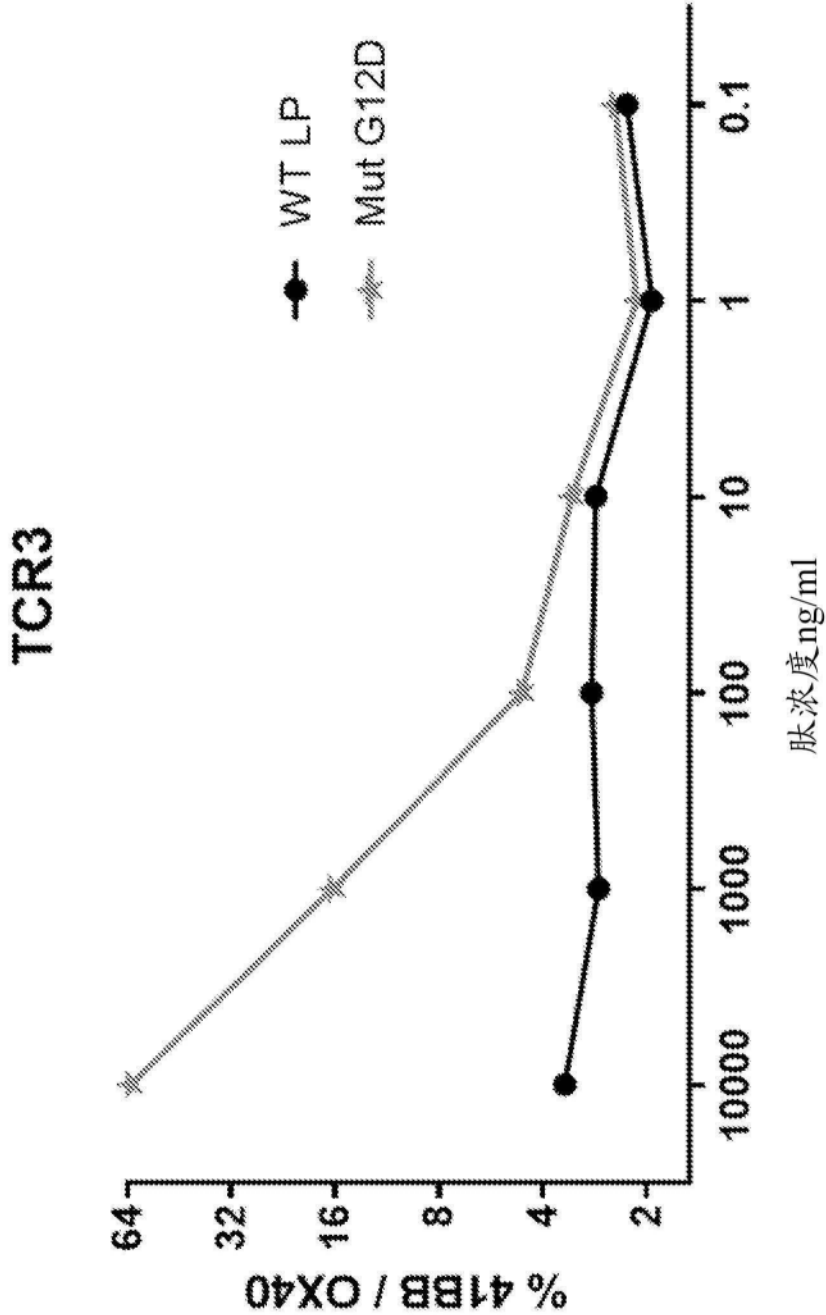


图2C

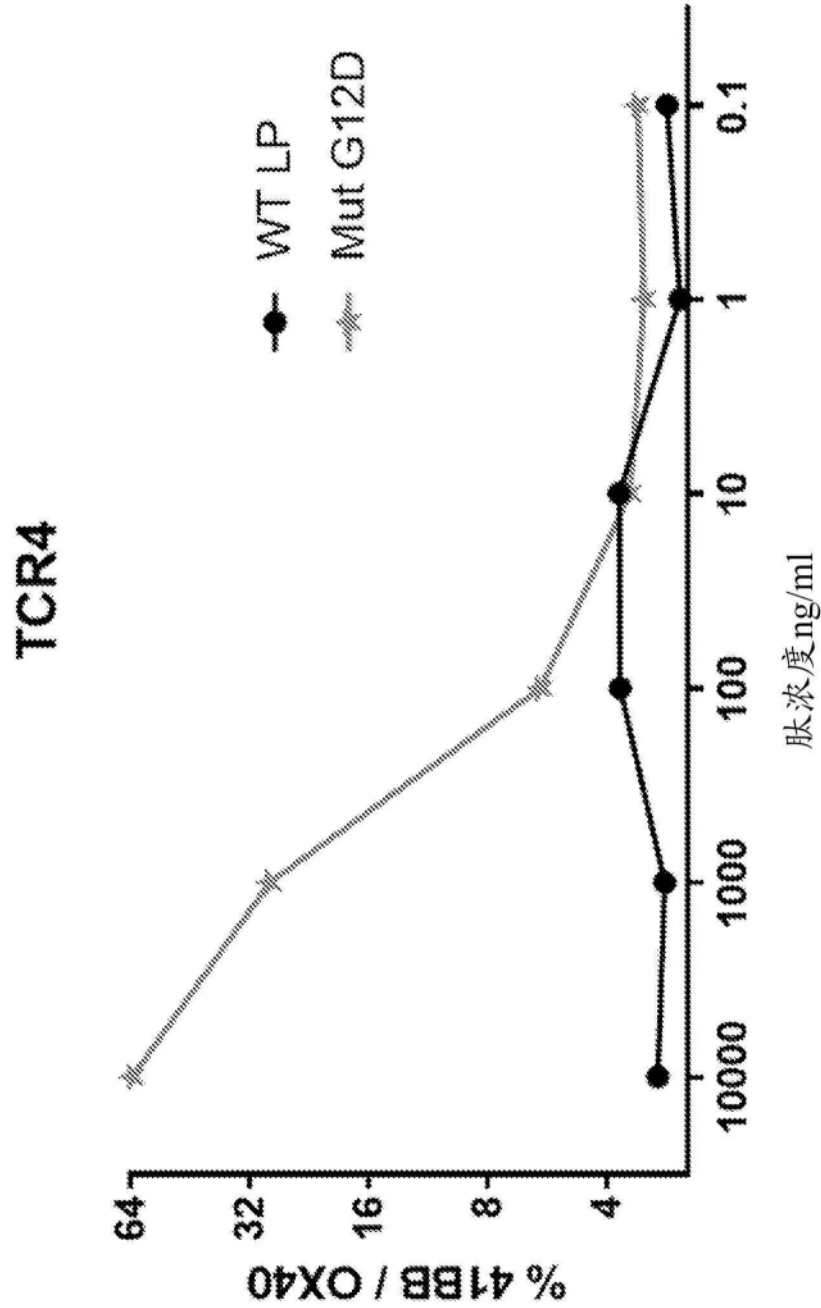


图2D

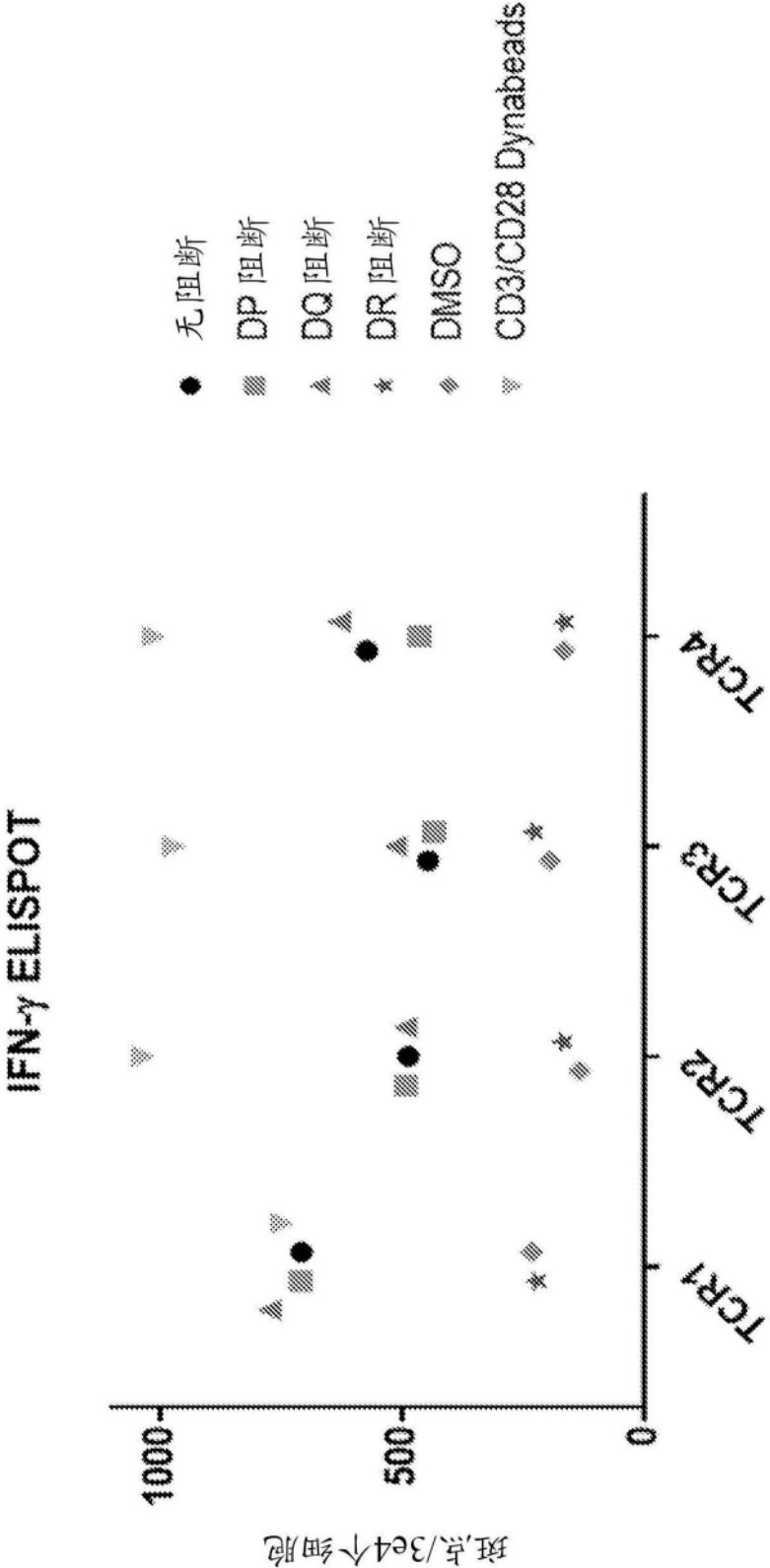


图3A

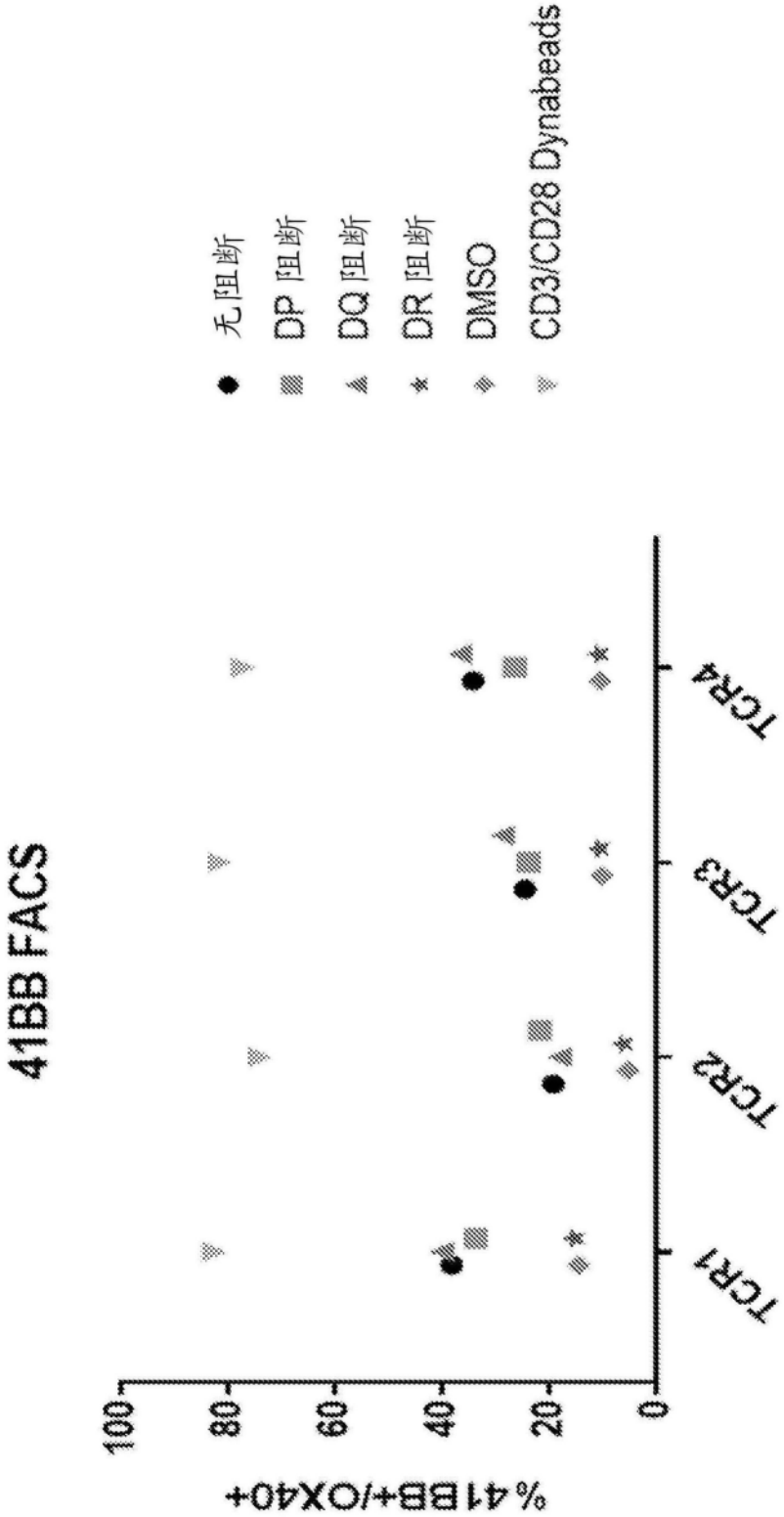


图3B