



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107995913 B

(45) 授权公告日 2022.02.11

(21) 申请号 201680032042.0

(22) 申请日 2016.05.18

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 107995913 A

(43) 申请公布日 2018.05.04

(30) 优先权数据  
62/163,342 2015.05.18 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2017.12.01

(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/US2016/033146 2016.05.18

(87) PCT国际申请的公布数据  
W02016/187349 EN 2016.11.24

(73) 专利权人 T细胞受体治疗公司  
地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 帕特里克·博伊尔勒  
格雷戈里·西兹克维克兹  
罗伯特·霍夫梅斯特

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262

代理人 郑霞

(51) Int.Cl.  
C07K 14/705 (2006.01)  
C07K 14/725 (2006.01)  
C07K 19/00 (2006.01)

(56) 对比文件  
US 2011189141 A1, 2011.08.04  
CN 102209728 A, 2011.10.05  
CN 103492406 A, 2014.01.01  
施小山等.T细胞抗原受体的结构域功能研究进展.《中国细胞生物学学报》.2011,第33卷(第9期),第955-963页.  
Daniel Sommermeyer, et al..Designer T cells by T cell receptor replacement.《Eur. J. Immunol.》.2006,第36卷(第11期), 3052-3059.

审查员 高赞

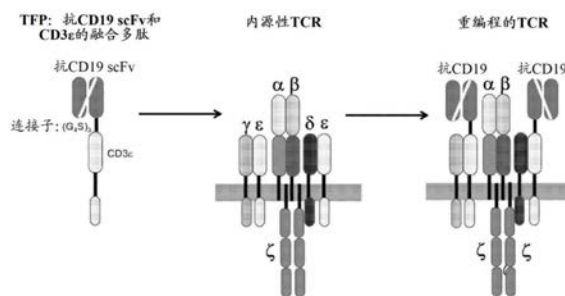
权利要求书7页 说明书103页  
序列表147页 附图27页

(54) 发明名称

使用融合蛋白对TCR重编程的组合物和方法

(57) 摘要

本文提供了T细胞受体(TCR)融合蛋白(TFP)、被工程改造成表达一种或多种TFP的T细胞以及使用其治疗包括癌症在内的疾病的方法。



1. 一种编码T细胞受体 (TCR) 融合蛋白 (TFP) 的分离的重组核酸分子, 所述融合蛋白包含

(a) TCR亚基, 所述TCR亚基由以下组成:

(i) TCR细胞外结构域,

(ii) TCR跨膜域, 和

(iii) 包含来自CD3 $\epsilon$ 的细胞内信号传导结构域的刺激性结构域的TCR细胞内结构域; 及

(b) 包含抗原结合结构域的鼠类、人或人源化抗体结构域;

其中所述抗体结构域可操作地连接至所述TCR亚基的N-末端; 其中所述TFP当在T细胞中表达时并入TCR中; 并且其中所述TCR细胞外结构域、所述TCR跨膜域和所述TCR细胞内信号传导结构域来自CD3 $\epsilon$ 。

2. 一种编码T细胞受体 (TCR) 融合蛋白 (TFP) 的分离的重组核酸分子, 所述融合蛋白包含

(a) TCR亚基, 所述TCR亚基由以下组成:

(i) TCR细胞外结构域,

(ii) TCR跨膜域, 和

(iii) 包含来自CD3 $\gamma$ 的细胞内信号传导结构域的刺激性结构域的TCR细胞内结构域;

及

(b) 包含抗原结合结构域的鼠类、人或人源化抗体结构域;

其中所述抗体结构域可操作地连接至所述TCR亚基的N-末端; 并且其中所述TFP当在T细胞中表达时并入TCR中, 并且其中所述TCR细胞外结构域、所述TCR跨膜域和所述TCR细胞内信号传导结构域来自CD3 $\gamma$ 。

3. 根据权利要求1或2所述的分离的重组核酸分子, 其中所述抗原结合结构域是抗CD19结合结构域。

4. 根据权利要求1或2所述的分离的重组核酸分子, 其中所述抗原结合结构域是抗B细胞成熟抗原 (BCMA) 结合结构域。

5. 根据权利要求1或2所述的分离的核酸分子, 其中所述编码的抗原结合结构域通过连接子序列连接至所述TCR细胞外结构域。

6. 根据权利要求5所述的分离的核酸分子, 其中所述编码的连接子序列包括  $(G_4S)_n$ , 其中  $n=1$  至  $4$ 。

7. 根据权利要求1或2所述的分离的核酸分子, 其中所述鼠类、人或人源化抗体结构域包括抗体片段。

8. 根据权利要求1或2所述的分离的核酸分子, 其中所述鼠类、人或人源化抗体结构域包括scFv或V<sub>H</sub>结构域。

9. 根据权利要求1所述的分离的核酸分子, 所述核酸分子编码 (i) 分别具有SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 27及SEQ ID NO: 29的抗CD19轻链结合结构域氨基酸序列的轻链CDR1、轻链CDR2及轻链CDR3, 和/或 (ii) 分别具有SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 33及SEQ ID NO: 35的抗CD19重链结合结构域氨基酸序列的重链CDR1、重链CDR2及重链CDR3。

10. 根据权利要求9所述的分离的核酸分子, 所述核酸分子编码轻链可变区, 其中所述轻链可变区包含SEQ ID NO: 49的氨基酸序列。

11. 根据权利要求9所述的分离的核酸分子,所述核酸分子编码重链可变区,其中所述重链可变区包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列。

12. 根据权利要求1或2所述的分离的核酸分子,所述核酸分子编码(i)分别具有SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:39及SEQ ID NO:41的抗BCMA轻链结合结构域氨基酸序列的轻链CDR1、轻链CDR2及轻链CDR3,和/或(ii)分别具有SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:45及SEQ ID NO:47的抗BCMA重链结合结构域氨基酸序列的重链CDR1、重链CDR2及重链CDR3。

13. 根据权利要求12所述的分离的核酸分子,所述核酸分子编码轻链可变区,其中所述轻链可变区包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列。

14. 根据权利要求12所述的分离的核酸分子,所述核酸分子编码重链可变区,其中所述重链可变区包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列。

15. 根据权利要求1或2所述的分离的核酸分子,其还包含编码共刺激性结构域的序列。

16. 根据权利要求15所述的分离的核酸分子,其中所述共刺激性结构域是从选自由以下组成的组的蛋白质获得的功能性信号传导结构域:OX40、CD2、CD27、CD28、CDS、ICAM-1、LFA-1 (CD11a/CD18)、ICOS (CD278) 及4-1BB (CD137),以及其具有至少一个但不超过20个修饰的氨基酸序列。

17. 根据权利要求16所述的分离的核酸分子,其中所述至少一个但不超过20个修饰包括介导细胞信号传导的氨基酸修饰,或响应于配体结合至所述TFP而磷酸化的氨基酸修饰。

18. 根据权利要求1或2所述的分离的核酸分子,其中所述分离的核酸分子是mRNA。

19. 根据权利要求1或2所述的分离的核酸分子,其中所述TFP包括TCR亚基的免疫受体酪氨酸活化基序(ITAM),所述ITAM包括选自由以下组成的组的蛋白质的ITAM或其部分:CD3 $\zeta$ TCR亚基、CD3 $\epsilon$ TCR亚基、CD3 $\gamma$ TCR亚基、CD3 $\delta$ TCR亚基、TCR $\zeta$ 链、Fc $\epsilon$ 受体1链、Fc $\epsilon$ 受体2链、Fc $\gamma$ 受体1链、Fc $\gamma$ 受体2a链、Fc $\gamma$ 受体2b1链、Fc $\gamma$ 受体2b2链、Fc $\gamma$ 受体3a链、Fc $\gamma$ 受体3b链、Fc $\beta$ 受体1链、TYROBP (DAP12)、CD5、CD16a、CD16b、CD22、CD23、CD32、CD64、CD79a、CD79b、CD89、CD278、CD66d、其功能片段,及其具有至少一个但不超过20个修饰的氨基酸序列。

20. 根据权利要求19所述的分离的核酸分子,其中所述ITAM替代CD3 $\gamma$ 、CD3 $\delta$ 或CD3 $\epsilon$ 的ITAM。

21. 根据权利要求19所述的分离的核酸分子,其中所述ITAM选自由以下组成的组:CD3 $\zeta$ TCR亚基、CD3 $\epsilon$ TCR亚基、CD3 $\gamma$ TCR亚基及CD3 $\delta$ TCR亚基,并且替代选自由以下组成的组的不同ITAM:CD3 $\zeta$ TCR亚基、CD3 $\epsilon$ TCR亚基、CD3 $\gamma$ TCR亚基及CD3 $\delta$ TCR亚基。

22. 根据权利要求1或2所述的分离的核酸分子,其中所述核酸分子包含核苷酸类似物。

23. 根据权利要求22所述的分离的核酸分子,其中所述核苷酸类似物选自由以下组成的组:2'-O-甲基、2'-O-甲氧基乙基(2'-O-MOE)、2'-O-氨基丙基、2'-脱氧、2'-脱氧-2'-氟、2'-O-氨基丙基(2'-O-AP)、2'-O-二甲基氨基乙基(2'-O-DMAOE)、2'-O-二甲基氨基丙基(2'-O-DMAP)、2'-O-二甲基氨基乙氧基乙基(2'-O-DMAEOE)、2'-O-N-甲基乙酰氨基(2'-O-NMA)修饰的核苷酸、锁核酸(LNA)、乙烯核酸(ENA)、肽核酸(PNA)、1',5'-脱水己糖醇核酸(HNA)、吗啉基、甲基磷酸酯核苷酸、硫代磷酸酯核苷酸及2'-氟N3-P5'-亚磷酰胺。

24. 根据权利要求1或2所述的分离的核酸分子,其还包含前导序列。

25. 一种分离的多肽分子,其由如权利要求1-24中任一项所述的核酸分子编码。

26. 一种分离的重组TFP分子,其包含鼠类、人或人源化抗CD19结合结构域、TCR细胞外

结构域、TCR跨膜结构域及TCR细胞内结构域,其中所述鼠类、人或人源化抗CD19结合域可操作地连接至所述TCR亚基的N-末端,其中所述TCR细胞内结构域是包含来自CD3 $\epsilon$ 或CD3 $\gamma$ 的细胞内信号传导结构域的刺激结构域的细胞内结构域,其中所述TFP分子能够与内源性TCR复合物和/或至少一种内源性TCR多肽功能性相互作用,并且其中所述TCR细胞外结构域、所述TCR跨膜域和所述TCR细胞内信号传导结构域来自相同的CD3亚基。

27. 根据权利要求26所述的分离的TFP分子,其中所述抗CD19结合结构域是scFv或VH结构域。

28. 根据权利要求26或27所述的分离的TFP分子,其中所述抗CD19结合结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:51的重链。

29. 根据权利要求26或27所述的分离的TFP分子,其中所述抗CD19结合结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:49的轻链。

30. 根据权利要求26或27所述的分离的TFP分子,其中所述抗CD19结合结构域通过连接子序列连接至所述TCR细胞外结构域。

31. 根据权利要求30所述的分离的TFP分子,其中所述连接子区包括(G4S) $_n$ ,其中 $n=1$ 至4。

32. 一种分离的重组TFP分子,其包含鼠类、人或人源化抗BCMA结合结构域、TCR细胞外结构域、TCR跨膜结构域及TCR细胞内信号传导结构域,其中所述鼠类、人或人源化抗BCMA结合域可操作地连接至所述TCR亚基的N-末端,其中所述TCR细胞内结构域是包含来自CD3 $\epsilon$ 或CD3 $\gamma$ 的细胞内信号传导结构域的刺激结构域的细胞内结构域,其中所述TFP分子能够与内源性TCR复合物和/或至少一种内源性TCR多肽功能性相互作用,并且其中所述TCR细胞外结构域、所述TCR跨膜域和所述TCR细胞内信号传导结构域来自相同的CD3亚基。

33. 根据权利要求32所述的分离的TFP分子,其中所述抗BCMA结合结构域是scFv或VH结构域。

34. 根据权利要求32或33所述的分离的TFP分子,其中所述抗BCMA结合结构域包含SEQ ID NO:55的重链。

35. 根据权利要求32或33所述的分离的TFP分子,其中所述抗BCMA结合结构域包含SEQ ID NO:53的轻链。

36. 根据权利要求32或33所述的分离的TFP分子,其中所述抗BCMA结合结构域通过连接子序列连接至所述TCR细胞外结构域。

37. 根据权利要求36所述的分离的TFP分子,其中所述连接子区包括(G4S) $_n$ ,其中 $n=1$ 至4。

38. 根据权利要求26或27所述的分离的TFP分子,其还包含编码共刺激性结构域的序列。

39. 根据权利要求38所述的分离的TFP分子,其还包含编码细胞内信号传导结构域的序列。

40. 根据权利要求26或27所述的分离的TFP分子,其还包含前导序列。

41. 一种核酸,其包含编码根据权利要求26-40中任一项所述的TFP的序列。

42. 根据权利要求41所述的核酸,其中所述核酸选自由DNA和RNA组成的组。

43. 根据权利要求42所述的核酸,其中所述核酸是mRNA。

44. 根据权利要求41所述的核酸,其中所述核酸包含核苷酸类似物。

45. 根据权利要求44所述的核酸,其中所述核苷酸类似物选自由以下组成的组:2'-O-甲基、2'-O-甲氧基乙基(2'-O-MOE)、2'-O-氨基丙基、2'-脱氧、2'-脱氧-2'-氟、2'-O-氨基丙基(2'-O-AP)、2'-O-二甲基氨基乙基(2'-O-DMAOE)、2'-O-二甲基氨基丙基(2'-O-DMAP)、2'-O-二甲基氨基乙氧基乙基(2'-O-DMAEOE)、2'-O-N-甲基乙酰氨基(2'-O-NMA)修饰的核苷酸、锁核酸(LNA)、乙烯核酸(ENA)、肽核酸(PNA)、1',5'-脱水己糖醇核酸(HNA)、吗啉基、甲基膦酸酯核苷酸、硫代膦酸酯核苷酸及2'-氟N3-P5'-亚磷酰胺。

46. 根据权利要求41所述的核酸,其还包含启动子。

47. 根据权利要求41所述的核酸,其中所述核酸是在体外转录的核酸。

48. 根据权利要求41所述的核酸,其中所述核酸还包含编码多聚腺苷酸尾的序列。

49. 根据权利要求41所述的核酸,其中所述核酸还包含3' UTR序列。

50. 一种载体,包含编码根据权利要求26-40中任一项所述的TFP的核酸分子。

51. 根据权利要求50所述的载体,其中所述载体选自由以下组成的组:DNA、RNA、质粒、慢病毒载体、腺病毒载体、劳氏肉瘤病毒(RSV)载体或逆转录病毒载体。

52. 根据权利要求51所述的载体,还包含启动子。

53. 根据权利要求51所述的载体,其中所述载体是在体外转录的载体。

54. 根据权利要求51所述的载体,其中所述载体中的核酸序列还包含多聚腺苷酸尾。

55. 根据权利要求51所述的载体,其中所述载体中的核酸序列还包含3' UTR。

56. 一种细胞,其包含根据权利要求1-24中任一项所述的分离的核酸分子、根据权利要求25所述的多肽分子、根据权利要求26-40中任一项所述的TFP分子、根据权利要求41-49中任一项所述的核酸、根据权利要求50-55中任一项所述的载体。

57. 根据权利要求56所述的细胞,其中所述细胞是人T细胞。

58. 根据权利要求57所述的细胞,其中所述T细胞是CD8+或CD4+T细胞。

59. 根据权利要求56-58中任一项所述的细胞,其还包含编码抑制性分子的核酸,所述抑制性分子包含含抑制性分子的至少一部分的第一多肽以及含来自细胞内信号传导结构域的阳性信号的第二多肽。

60. 根据权利要求59所述的细胞,其中所述抑制性分子包含含PD1的至少一部分的第一多肽及含共刺激性结构域和初级信号传导结构域的第二多肽。

61. 一种人CD8+或CD4+T细胞,其包含至少两个TFP分子,所述TFP分子包含鼠类、人或人源化抗CD19或抗BCMA结合结构域、TCR细胞外结构域、TCR跨膜结构域及TCR细胞内结构域,其中所述鼠类、人或人源化抗CD19结合域可操作地连接至所述TCR亚基的N-末端,其中所述TCR细胞内结构域是包含来自CD3 $\epsilon$ 或CD3 $\gamma$ 的细胞内信号传导结构域的刺激结构域的细胞内结构域,其中所述TFP分子能够与所述人CD8+或CD4+T细胞中、表面处和/或所述表面上的内源性TCR复合物和/或至少一种内源性TCR多肽功能性相互作用,并且其中所述TCR细胞外结构域、所述TCR跨膜域和所述TCR细胞内信号传导结构域来自相同的CD3亚基。

62. 一种蛋白质复合物,其包含:

i) TFP分子,所述TFP分子包含鼠类、人或人源化抗CD19结合结构域、TCR细胞外结构域、TCR跨膜结构域及TCR细胞内结构域,其中所述鼠类、人或人源化抗CD19或抗BCMA结合域可操作地连接至所述TCR亚基的N-末端,其中所述TCR细胞内结构域是包含来自CD3 $\epsilon$ 或CD3 $\gamma$

的细胞内信号传导结构域的刺激结构域的细胞内结构域,并且其中所述TCR细胞外结构域、所述TCR跨膜域和所述TCR细胞内信号传导结构域来自相同的CD3亚基;和

ii) 至少一种内源性TCR亚基或内源性TCR复合物。

63. 根据权利要求62所述的蛋白质复合物,其中所述抗CD19结合结构域通过连接子序列连接至所述TCR细胞外结构域。

64. 根据权利要求63所述的蛋白质复合物,其中所述连接子区包括(G4S)<sub>n</sub>,其中n=1至4。

65. 一种蛋白质复合物,其包含:

(a) 由根据权利要求1-24中任一项所述的分离的核酸分子编码的TFP,和

(b) 至少一种内源性TCR亚基或内源性TCR复合物。

66. 一种蛋白质复合物,其包含:

i) TFP分子,所述TFP分子包含鼠类、人或人源化抗BCMA结合结构域、TCR细胞外结构域、TCR跨膜结构域及TCR细胞内结构域,其中所述鼠类、人或人源化抗BCMA结合域可操作地连接至所述TCR亚基的N-末端,其中所述TCR细胞内结构域是包含来自CD3 $\epsilon$ 或CD3 $\gamma$ 的细胞内信号传导结构域的刺激结构域的细胞内结构域,并且其中所述TCR细胞外结构域、所述TCR跨膜域和所述TCR细胞内信号传导结构域来自相同的CD3亚基;和

ii) 至少一种内源性TCR亚基或内源性TCR复合物。

67. 根据权利要求66所述的蛋白质复合物,其中所述抗BCMA结合结构域通过连接子序列连接至所述TCR细胞外结构域。

68. 根据权利要求67所述的蛋白质复合物,其中所述连接子区包括(G4S)<sub>n</sub>,其中n=1至4。

69. 一种人CD8<sup>+</sup>或CD4<sup>+</sup>T细胞,其包含每一根据权利要求62-68中任一项所述的蛋白质复合物至少两种不同的TFP蛋白质。

70. 一种人CD8<sup>+</sup>或CD4<sup>+</sup>T细胞,其包含至少两个不同的由根据权利要求1-24中任一项所述的分离的核酸分子编码的TFP分子。

71. 一种人CD8<sup>+</sup>或CD4<sup>+</sup>T细胞群,其中所述群的T细胞个别地或共同地包含至少两个TFP分子,所述TFP分子包含鼠类、人或人源化抗CD19或抗BCMA结合结构域、TCR细胞外结构域、TCR跨膜结构域及TCR细胞内结构域,其中所述鼠类、人或人源化抗CD19或抗BCMA结合域可操作地连接至所述TCR亚基的N-末端,其中所述TCR细胞内结构域是包含来自CD3 $\epsilon$ 或CD3 $\gamma$ 的细胞内信号传导结构域的刺激结构域的细胞内结构域,其中所述TFP分子能够与所述人CD8<sup>+</sup>或CD4<sup>+</sup>T细胞中、表面处和/或所述表面上的内源性TCR复合物和/或至少一种内源性TCR多肽功能性相互作用,并且其中所述TCR细胞外结构域、所述TCR跨膜域和所述TCR细胞内信号传导结构域来自相同的CD3亚基。

72. 一种人CD8<sup>+</sup>或CD4<sup>+</sup>T细胞群,其中所述群的T细胞个别地或共同地包含至少两个由根据权利要求1-24中任一项所述的分离的核酸分子编码的TFP分子。

73. 一种制备细胞的方法,所述方法包括用根据权利要求1-24中任一项所述的分离的核酸分子、根据权利要求41-49中任一项所述的核酸或根据权利要求50-55中任一项所述的载体转导T细胞。

74. 一种产生RNA工程改造的细胞群的方法,所述方法包括将体外转录的RNA或合成RNA

引入细胞中,其中所述RNA包括编码根据权利要求26-40中任一项所述的TFP分子的核酸。

75. 根据权利要求1-24中任一项所述的分离的核酸分子、根据权利要求25所述的多肽分子、表达根据权利要求25所述的多肽分子的细胞、根据权利要求26-40中任一项所述的TFP分子、根据权利要求41-49中任一项所述的核酸、根据权利要求50-55中任一项所述的载体或根据权利要求56-61及69-73中任一项所述的细胞在制备用于在哺乳动物中提供抗肿瘤免疫性的药物中的用途。

76. 根据权利要求75所述的用途,其中所述细胞是自体T细胞。

77. 根据权利要求75所述的用途,其中所述细胞是同种异体T细胞。

78. 根据权利要求75-77中任一项所述的用途,其中所述哺乳动物是人。

79. 根据权利要求1-24中任一项所述的分离的核酸分子、根据权利要求25所述的多肽分子、表达根据权利要求25所述的多肽分子的细胞、根据权利要求26-40中任一项所述的TFP分子、根据权利要求41-49中任一项所述的核酸、根据权利要求50-55中任一项所述的载体或根据权利要求56-61及69-73中任一项所述的细胞在制备用于治疗具有与CD19或BCMA表达相关的疾病的哺乳动物的药物中的用途。

80. 根据权利要求79所述的用途,其中所述与CD19或BCMA表达有关的疾病选自由以下组成的组:增生性疾病、癌症、恶性疾病、骨髓发育不良、骨髓发育不良综合症、白血病前期、与CD19表达有关的非癌症相关适应症。

81. 根据权利要求79所述的用途,其中所述疾病是选自由以下组成的组的血液癌症:B细胞急性淋巴细胞白血病(B-ALL)、T细胞急性淋巴细胞白血病(T-ALL)、慢性骨髓性白血病(CML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、B细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树突状细胞瘤、伯基特氏淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、毛细胞白血病、小细胞-滤泡性淋巴瘤、大细胞-滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴组织增生疾病、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓发育不良、骨髓发育不良综合症、非霍奇金氏淋巴瘤、浆母细胞性淋巴瘤、浆细胞样树突状细胞瘤、威尔姆氏巨球蛋白血症、白血病前期、与CD19或BCMA表达有关的疾病,及其组合。

82. 根据权利要求79所述的用途,其中所述表达TFP分子的细胞和增加表达TFP分子的细胞的功效的药剂组合施用。

83. 根据权利要求79-82中任一项所述的用途,其中相较于施用有效量表达抗CD19嵌合抗原受体(CAR)或抗BCMACAR的T细胞的哺乳动物,所述哺乳动物中释放的细胞因子较少。

84. 根据权利要求79-83中任一项所述的用途,其中所述表达TFP分子的细胞和改善与施用表达TFP分子的细胞有关的一种或多种副作用的药剂组合施用。

85. 根据权利要求79-84中任一项所述的用途,其中所述表达TFP分子的细胞和治疗所述与CD19或BCMA相关的疾病的药剂组合施用。

86. 根据权利要求1-24中任一项所述的分离的核酸分子、根据权利要求25所述的分离的多肽分子、表达根据权利要求25所述的多肽分子的细胞、根据权利要求26-40中任一项所述的分离的TFP分子、根据权利要求41-49中任一项所述的核酸、根据权利要求50-56中任一项所述的载体、根据权利要求62-68中任一项所述的复合物,或根据权利要求56-61及69-73中任一项所述的细胞,其用作药物。

87. 根据权利要求1-24中任一项所述的分离的核酸分子、根据权利要求25所述的多肽

分子、表达根据权利要求25所述的多肽分子的细胞、根据权利要求26-40中任一项所述的TFP分子、根据权利要求41-49中任一项所述的核酸、根据权利要求50-55中任一项所述的载体或根据权利要求56-61及69-73中任一项所述的细胞在制备用于治疗具有与CD19或BCMA表达相关的疾病的哺乳动物的药物中的用途,其中相较于施用有效量表达抗CD19嵌合抗原受体(CAR)或抗BCMACAR的T细胞的哺乳动物,所述哺乳动物中释放的细胞因子较少。

## 使用融合蛋白对TCR重编程的组合物和方法

[0001] 交叉引用

[0002] 本申请要求2015年5月18日提交的美国临时专利申请号62/163,342的权益,该案由引用的方式整体并入本文中。

[0003] 发明背景

[0004] 大多数患有血液恶性疾病或晚期实体肿瘤的患者都无法用标准疗法治愈。此外,传统的治疗选项通常具有严重的副作用。已经作出多种尝试来使患者的免疫系统排斥癌细胞,这种方法统称为癌症免疫疗法。然而,存在的若干障碍使得很难实现临床效用。尽管已经鉴别出数百种所谓的肿瘤抗原,但这些抗原通常是来源于自身,并因此会使癌症免疫疗法针对健康组织,或者具有较差免疫原性。此外,癌细胞使用了多种机制来使其自身不可见或抵抗癌症免疫疗法免疫攻击的起始和传播。

[0005] 近期有关使用嵌合抗原受体(CAR)修饰的自体T细胞疗法的研究在利用免疫系统的能力治疗B细胞恶性疾病方面显示出颇具前景的结果,该疗法依赖于将基因工程改造的T细胞重新引导至癌细胞上的适合细胞表面分子(参见例如,Sadelain等人,Cancer Discovery 3:388-398(2013))。利用CD19特异性CAR T细胞(称为CTL019)得到的临床结果显示,罹患慢性淋巴细胞性白血病(CLL)以及儿童急性淋巴母细胞白血病(ALL)的患者完全缓解(参见例如,Kalos等人,Sci Transl Med 3:95ra73(2011);Porter等人,NEJM 365:725-733(2011);Grupp等人,NEJM 368:1509-1518(2013))。一种替代方法是使用针对肿瘤相关肽抗原选择的T细胞受体(TCR) $\alpha$ 和 $\beta$ 链对自体T细胞进行基因工程改造。这些TCR链将形成完整的TCR复合物并且使含TCR的T细胞具有第二种指定的特异性。在患有滑膜癌瘤的患者中,利用表达NY-ESO-1特异性TCR $\alpha$ 和 $\beta$ 链的工程改造的自体T细胞获得了振奋人心的结果。

[0006] 除表达CAR或第二TCR的基因修饰的T细胞在体外/离体识别并破坏对应靶细胞的能力外,利用工程改造的T细胞的成功患者疗法还需要T细胞能够强活化、扩增、随时间推移持续存在,并且在复发性疾病情况下,实现‘记忆’反应。CAR T细胞的较高并且可管理的临床功效当前局限于CD19阳性B细胞恶性疾病及表达NY-ESO-1-肽并且表达HLA-A2的滑膜肉瘤患者。显然,需要改善基因工程改造的T细胞以使其更广泛地作用于多种人恶性疾病。本文描述了TCR亚基,包括CD3 $\epsilon$ 、CD3 $\gamma$ 及CD3 $\delta$ ,以及TCR $\alpha$ 和TCR $\beta$ 链与细胞表面抗原特异性结合结构域形成的新型融合蛋白,这些融合蛋白具有克服现有方法的缺点的潜力。本文描述了比CAR更有效地杀灭靶细胞,但释放的促炎性细胞因子量与CAR相当或更少的新型融合蛋白。这些融合蛋白及其使用方法代表了TFP相对于CAR的优势,因为这些细胞因子的水平升高与过继性CAR-T疗法的剂量限制性毒性有关。

[0007] 发明概述

[0008] 本文提供了T细胞受体(TCR)融合蛋白(TFP)、被工程改造成表达一种或多种TFP的T细胞,以及使用其治疗疾病的方法。

[0009] 在一个方面,本文提供了一种编码T细胞受体(TCR)融合蛋白(TFP)的分离的重组核酸分子,该融合蛋白包含:TCR亚基,该TCR亚基包含TCR细胞外结构域的至少一部分,和包

含来自CD3 $\epsilon$ 的细胞内信号传导结构域的刺激性结构域的TCR细胞内结构域；及包含抗原结合结构域的人或人源化抗体结构域，其中该TCR亚基和该抗体结构域可操作地连接，并且其中该TFP当在T细胞中表达时并入TCR中。

[0010] 在一个方面，本文提供了一种编码T细胞受体 (TCR) 融合蛋白 (TFP) 的分离的重组核酸分子，该融合蛋白包含：TCR亚基，该TCR亚基包含TCR细胞外结构域的至少一部分，和包含来自CD3 $\gamma$ 的细胞内信号传导结构域的刺激性结构域的TCR细胞内结构域；及包含抗原结合结构域的人或人源化抗体结构域，其中该TCR亚基和该抗体结构域可操作地连接，并且其中该TFP当在T细胞中表达时并入TCR中。

[0011] 在一个方面，本文提供了一种编码T细胞受体 (TCR) 融合蛋白 (TFP) 的分离的重组核酸分子，该融合蛋白包含：TCR亚基，该TCR亚基包含TCR细胞外结构域的至少一部分，和包含来自CD3 $\delta$ 的细胞内信号传导结构域的刺激性结构域的TCR细胞内结构域；及包含抗原结合结构域的人或人源化抗体结构域，其中该TCR亚基和该抗体结构域可操作地连接，并且其中该TFP当在T细胞中表达时并入TCR中。

[0012] 在一个方面，本文提供了一种编码T细胞受体 (TCR) 融合蛋白 (TFP) 的分离的重组核酸分子，该融合蛋白包含：TCR亚基，该TCR亚基包含TCR细胞外结构域的至少一部分，和包含来自TCR $\alpha$ 的细胞内信号传导结构域的刺激性结构域的TCR细胞内结构域；及包含抗原结合结构域的人或人源化抗体结构域，其中该TCR亚基和该抗体结构域可操作地连接，并且其中该TFP当在T细胞中表达时并入TCR中。

[0013] 在一个方面，本文提供了一种编码T细胞受体 (TCR) 融合蛋白 (TFP) 的分离的重组核酸分子，该融合蛋白包含：TCR亚基，该TCR亚基包含TCR细胞外结构域的至少一部分，和包含来自TCR $\beta$ 的细胞内信号传导结构域的刺激性结构域的TCR细胞内结构域；及包含抗原结合结构域的人或人源化抗体结构域，其中该TCR亚基和该抗体结构域可操作地连接，并且其中该TFP当在T细胞中表达时并入TCR中。

[0014] 在一个方面，本文提供了一种编码T细胞受体 (TCR) 融合蛋白 (TFP) 的分离的重组核酸分子，该融合蛋白包含TCR亚基以及包含抗原结合结构域的人或人源化抗体结构域，该抗原结合结构域是抗CD19结合结构域。

[0015] 在一个方面，本文提供了一种编码T细胞受体 (TCR) 融合蛋白 (TFP) 的分离的重组核酸分子，该融合蛋白包含TCR亚基以及包含抗原结合结构域的人或人源化抗体结构域，该抗原结合结构域是抗B细胞成熟抗原 (BCMA) 结合结构域。

[0016] 在一些情形中，所述TCR亚基和所述抗体结构域可操作地连接。在一些情形中，所述TFP当在T细胞中表达时并入TCR中。在一些情形中，编码的抗原结合结构域通过连接子序列连接至TCR细胞外结构域。在一些情形中，编码的连接子序列包括 $(G_4S)_n$ ，其中 $n=1$ 至4。在一些情形中，TCR亚基包含TCR细胞外结构域。在一些情形中，TCR亚基包含TCR跨膜结构域。在一些情形中，TCR亚基包含TCR细胞内结构域。在一些情形中，TCR亚基包含(i) TCR细胞外结构域；(ii) TCR跨膜结构域；及(iii) TCR细胞内结构域，其中(i)、(ii)及(iii)中至少两个是来自同一TCR亚基。在一些情形中，TCR亚基包含含刺激性结构域的TCR细胞内结构域，该刺激性结构域选自CD3 $\epsilon$ 、CD3 $\gamma$ 或CD3 $\delta$ 的细胞内信号传导结构域，或其具有至少一个、两个或三个修饰的氨基酸序列。在一些情形中，TCR亚基包含含刺激性结构域的细胞内结构域，该刺激性结构域选自4-1BB的功能性信号传导结构域和/或CD3 $\zeta$ 的功能性信号传导结构域，

或其具有至少一个修饰的氨基酸序列。在一些情形中,所述人或人源化抗体结构域包括抗体片段。在一些情形中,该人或人源化抗体结构域包括scFv或V<sub>H</sub>结构域。在一些情形中,所述分离的核酸分子编码(i)分别与SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:27及SEQ ID NO:29具有70-100%序列同一性的抗CD19轻链结合结构域氨基酸序列的轻链(LC)CDR1、LC CDR2及LC CDR3,和/或(ii)分别与SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:33及SEQ ID NO:35具有70-100%序列同一性的抗CD19重链结合结构域氨基酸序列的重链(HC)CDR1、HC CDR2及HC CDR3。在一些情形中,所述分离的核酸分子编码轻链可变区,其中所述轻链可变区包含在轻链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:49中具有至少一个但不超过30个修饰的氨基酸序列,或与轻链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:49具有95-99%同一性的序列。在一些情形中,所述分离的核酸分子编码重链可变区,其中所述重链可变区包含在重链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:51中具有至少一个但不超过30个修饰的氨基酸序列,或与重链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:51具有95-99%同一性的序列。在一些情形中,所述分离的核酸分子编码(i)分别与SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:39及SEQ ID NO:41具有70-100%序列同一性的抗BCMA轻链结合结构域氨基酸序列的轻链(LC)CDR1、LC CDR2及LC CDR3,和/或(ii)分别与SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:45及SEQ ID NO:47具有70-100%序列同一性的抗BCMA重链结合结构域氨基酸序列的重链(HC)CDR1、HC CDR2及HC CDR3。在一些情形中,所述分离的核酸分子编码轻链可变区,其中所述轻链可变区包含在轻链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:53中具有至少一个但不超过30个修饰的氨基酸序列,或与轻链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:53具有95-99%同一性的序列。在一些情形中,所述分离的核酸分子编码重链可变区,其中所述重链可变区包含在重链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:55中具有至少一个但不超过30个修饰的氨基酸序列,或与重链可变区氨基酸序列SEQ ID NO:55具有95-99%同一性的序列。在一些情形中,所述TFP包含TCR亚基的细胞外结构域,所述细胞外结构域包括选自由以下组成的组的蛋白质的细胞外结构域或其部分:TCR $\alpha$ 链、TCR $\beta$ 链、CD3 $\epsilon$ TCR亚基、CD3 $\gamma$ TCR亚基、CD3 $\delta$ TCR亚基、其功能片段,及其具有至少一个但不超过20个修饰的氨基酸序列。在一些情形中,所编码的TFP包含跨膜结构域,所述跨膜结构域包括选自由以下组成的组的蛋白质的跨膜结构域:TCR $\alpha$ 链、TCR $\beta$ 链、CD3 $\epsilon$ TCR亚基、CD3 $\gamma$ TCR亚基、CD3 $\delta$ TCR亚基、其功能片段,及其具有至少一个但不超过20个修饰的氨基酸序列。在一些情形中,所编码的TFP包含跨膜结构域,所述跨膜结构域包括选自由以下组成的组的蛋白质的跨膜结构域:TCR $\alpha$ 链、TCR $\beta$ 链、TCR $\zeta$ 链、CD3 $\epsilon$ TCR亚基、CD3 $\gamma$ TCR亚基、CD3 $\delta$ TCR亚基、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD28、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154、其功能片段,及其具有至少一个但不超过20个修饰的氨基酸序列。在一些情形中,分离的核酸分子还包含编码共刺激性结构域的序列。在一些情形中,所述共刺激性结构域是从选自由以下组成的组的蛋白质获得的功能性信号传导结构域:OX40、CD2、CD27、CD28、CDS、ICAM-1、LFA-1(CD11a/CD18)、ICOS(CD278)及4-1BB(CD137),及其具有至少一个但不超过20个修饰的氨基酸序列。在一些情形中,分离的核酸分子还包含前导序列。在一些情形中,分离的核酸分子是mRNA。

[0017] 在一些情形中,所述TFP包括TCR亚基的免疫受体酪氨酸活化基序(ITAM),所述ITAM包括选自由以下组成的组的蛋白质的ITAM或其部分:CD3 $\zeta$ TCR亚基、CD3 $\epsilon$ TCR亚基、CD3 $\gamma$ TCR亚基、CD3 $\delta$ TCR亚基、TCR $\zeta$ 链、Fc $\epsilon$ 受体1链、Fc $\epsilon$ 受体2链、Fc $\gamma$ 受体1链、Fc $\gamma$ 受体2a链、Fc $\gamma$ 受体2b1链、Fc $\gamma$ 受体2b2链、Fc $\gamma$ 受体3a链、Fc $\gamma$ 受体3b链、Fc $\beta$ 受体1链、TYROBP

(DAP12)、CD5、CD16a、CD16b、CD22、CD23、CD32、CD64、CD79a、CD79b、CD89、CD278、CD66d、其功能片段,及其具有至少一个但不超过20个修饰的氨基酸序列。在一些情形中,该ITAM替代CD3 $\gamma$ 、CD3 $\delta$ 或CD3 $\epsilon$ 的ITAM。在一些情形中,该ITAM选自由以下组成的组:CD3 $\zeta$ TCR亚基、CD3 $\epsilon$ TCR亚基、CD3 $\gamma$ TCR亚基及CD3 $\delta$ TCR亚基,并且替代选自由以下组成的组的不同ITAM:CD3 $\zeta$ TCR亚基、CD3 $\epsilon$ TCR亚基、CD3 $\gamma$ TCR亚基及CD3 $\delta$ TCR亚基。

[0018] 在一些情形中,该核酸包含核苷酸类似物。在一些情形中,该核苷酸类似物选自由以下组成的组:2'-O-甲基、2'-O-甲氧基乙基(2'-O-MOE)、2'-O-氨基丙基、2'-脱氧、T-脱氧-2'-氟、2'-O-氨基丙基(2'-O-AP)、2'-O-二甲基氨基乙基(2'-O-DMAOE)、2'-O-二甲基氨基丙基(2'-O-DMAP)、T-0-二甲基氨基乙氧基乙基(2'-O-DMAEOE)、2'-O-N-甲基乙酰氨基(2'-O-NMA)修饰的核苷酸、锁核酸(LNA)、乙烯核酸(ethylene nucleic acid,ENA)、肽核酸(PNA)、1',5'-脱水己糖醇核酸(HNA)、吗啉基、甲基磷酸酯核苷酸、硫代磷酸酯核苷酸及2'-氟N3-P5'-亚磷酰胺

[0019] 在一个方面,本文提供了一种由本文所提供的核酸分子编码的分离的多肽分子。

[0020] 在一个方面,本文提供了一种分离的TFP分子,该TFP分子包含人或人源化抗CD19结合结构域、TCR细胞外结构域、跨膜结构域及细胞内结构域。

[0021] 在一个方面,本文提供了一种分离的TFP分子,该TFP分子包含人或人源化抗CD19结合结构域、TCR细胞外结构域、跨膜结构域及细胞内信号传导结构域,其中所述TFP分子能够与内源性TCR复合物和/或至少一种内源性TCR多肽功能性相互作用。

[0022] 在一个方面,本文提供了一种分离的TFP分子,该TFP分子包含人或人源化抗CD19结合结构域、TCR细胞外结构域、跨膜结构域及细胞内信号传导结构域,其中所述TFP分子能够功能性整合至内源性TCR复合物中

[0023] 在一些情形中,该分离的TFP分子包括含人或人源化抗CD19结合结构域、TCR细胞外结构域、跨膜结构域及细胞内结构域的抗体或抗体片段。在一些情形中,该抗CD19结合结构域是scFv或V<sub>H</sub>结构域。在一些情形中,该抗CD19结合结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:51具有95-100%同一性的重链、其功能片段,或其具有至少一个但不超过30个修饰的氨基酸序列。在一些情形中,该抗CD19结合结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:49具有95-100%同一性的轻链、其功能片段,或其具有至少一个但不超过30个修饰的氨基酸序列。在一些情形中,该分离的TFP分子包含TCR细胞外结构域,该细胞外结构域包括选自由以下组成的组的蛋白质的细胞外结构域或其部分:TCR $\alpha$ 链、TCR $\beta$ 链、CD3 $\epsilon$ TCR亚基、CD3 $\gamma$ TCR亚基、CD3 $\delta$ TCR亚基、其功能片段,及其具有至少一个但不超过20个修饰的氨基酸序列。在一些情形中,抗CD19结合结构域通过连接子序列连接至TCR细胞外结构域。在一些情形中,连接子区包括(G<sub>4</sub>S)<sub>n</sub>,其中n=1至4。

[0024] 在一个方面,本文提供了一种分离的TFP分子,该TFP分子包含人或人源化抗BCMA结合结构域、TCR细胞外结构域、跨膜结构域及细胞内结构域。

[0025] 在一个方面,本文提供了一种分离的TFP分子,该TFP分子包含人或人源化抗BCMA结合结构域、TCR细胞外结构域、跨膜结构域及细胞内信号传导结构域,其中所述TFP分子能够与内源性TCR复合物和/或至少一种内源性TCR多肽功能性相互作用。

[0026] 在一个方面,本文提供了一种分离的TFP分子,该TFP分子包含人或人源化抗BCMA结合结构域、TCR细胞外结构域、跨膜结构域及细胞内信号传导结构域,其中所述TFP分子能

够功能性整合至内源性TCR复合物中。

[0027] 在一些情形中,该分离的TFP分子包含抗体或抗体片段,所述抗体或抗体片段包含人或人源化抗BCMA结合结构域、TCR细胞外结构域、跨膜结构域及细胞内结构域。在一些情形中,该抗BCMA结合结构域是scFv或 $V_H$ 结构域。在一些情形中,该抗BCMA结合结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:55具有95-100%同一性的重链、其功能片段,或其具有至少一个但不超过30个修饰的氨基酸序列。在一些情形中,该抗BCMA结合结构域包含与氨基酸序列SEQ ID NO:53具有95-100%同一性的轻链、其功能片段,或其具有至少一个但不超过30个修饰的氨基酸序列。在一些情形中,该分离的TFP分子包含TCR细胞外结构域,该细胞外结构域包括选自以下组成的组的蛋白质的细胞外结构域或其部分:TCR $\alpha$ 链、TCR $\beta$ 链、CD3 $\epsilon$ TCR亚基、CD3 $\gamma$ TCR亚基、CD3 $\delta$ TCR亚基、其功能片段,及其具有至少一个但不超过20个修饰的氨基酸序列。在一些情形中,抗BCMA结合结构域通过连接子序列连接至TCR细胞外结构域。在一些情形中,连接子区包括 $(G_4S)_n$ ,其中 $n=1$ 至4。在一些情形中,分离的TFP分子还包含编码共刺激性结构域的序列。在一些情形中,分离的TFP分子还包含编码细胞内信号传导结构域的序列。在一些情形中,分离的TFP分子还包含前导序列。

[0028] 在一个方面,本文提供了一种载体,该载体包含编码本文所提供的TFP的核酸分子。在一些情形中,所述载体选自以下组成的组:DNA、RNA、质粒、慢病毒载体、腺病毒载体、劳氏肉瘤病毒(Rous sarcoma viral,RSV)载体或逆转录病毒载体。在一些情形中,该载体还包含启动子。在一些情形中,该载体是在体外转录的载体。在一些情形中,该载体中的核酸序列还包含多聚腺苷酸尾。在一些情形中,该载体中的核酸序列还包含3' UTR。

[0029] 在一个方面,本文提供了一种包含本文所提供的载体的细胞。在一些情形中,该细胞是人T细胞。在一些情形中,该T细胞是CD8+或CD4+T细胞。在一些情形中,该细胞还包含编码抑制性分子的核酸,该抑制性分子包含抑制性分子的至少一部分的第一多肽以及与其缔合的含来自细胞内信号传导结构域的阳性信号的第二多肽。在一些情形中,所述抑制性分子包含含PD1的至少一部分的第一多肽以及含共刺激性结构域和主要信号传导结构域的第二多肽。

[0030] 在一个方面,本文提供了一种人CD8+或CD4+T细胞,该细胞包含至少两个TFP分子,所述TFP分子包含人或人源化抗CD19结合结构域、TCR细胞外结构域、跨膜结构域及细胞内结构域,其中所述TFP分子能够与所述人CD8+或CD4+T细胞中,细胞表面处和/或所述表面上的内源性TCR复合物和/或至少一种内源性TCR多肽功能性相互作用。

[0031] 在一个方面,本文提供了一种蛋白质复合物,该复合物包含:含人或人源化抗CD19结合结构域、TCR细胞外结构域、跨膜结构域及细胞内结构域的TFP分子;以及至少一种内源性TCR复合物。

[0032] 在一些情形中,所述TCR包含选自以下组成的组的蛋白质的细胞外结构域或其部分:TCR $\alpha$ 链、TCR $\beta$ 链、CD3 $\epsilon$ TCR亚基、CD3 $\gamma$ TCR亚基及CD3 $\delta$ TCR亚基。在一些情形中,抗CD19结合结构域通过连接子序列连接至TCR细胞外结构域。在一些情形中,连接子区包括 $(G_4S)_n$ ,其中 $n=1$ 至4。

[0033] 在一个方面,本文提供了一种蛋白质复合物,该复合物包含:含人或人源化抗BCMA结合结构域、TCR细胞外结构域、跨膜结构域及细胞内结构域的TFP分子;以及至少一种内源性TCR复合物。

[0034] 在一些情形中,所述TCR包含选自由以下组成的组的蛋白质的细胞外结构域或其部分:TCR $\alpha$ 链、TCR $\beta$ 链、CD3 $\epsilon$ TCR亚基、CD3 $\gamma$ TCR亚基及CD3 $\delta$ TCR亚基。在一些情形中,抗BCMA结合结构域通过连接子序列连接至TCR细胞外结构域。在一些情形中,连接子区包括(G<sub>4</sub>S)<sub>n</sub>,其中n=1至4。

[0035] 在一个方面,本文提供了一种人CD8<sup>+</sup>或CD4<sup>+</sup>T细胞,该细胞包含每一本文所提供的蛋白质复合物至少两种不同的TFP蛋白。

[0036] 在一个方面,本文提供了一种制备细胞的方法,该方法包括用本文所提供的载体转导T细胞。

[0037] 在一个方面,本文提供了一种产生RNA工程改造的细胞群的方法,该方法包括将体外转录的RNA或合成RNA引入细胞中,其中该RNA包括编码本文所提供的TFP分子的核酸。

[0038] 在一个方面,本文提供了一种在哺乳动物体内提供抗肿瘤免疫性的方法,该方法包括向该哺乳动物施用有效量的表达本文所提供的TFP分子,或表达本文所提供的多肽分子的细胞。

[0039] 在一些情形中,该细胞是自体T细胞。在一些情形中,该细胞是同种异体T细胞。在一些情形中,所述哺乳动物是人。

[0040] 在一个方面,本文提供了一种治疗患有与CD19或BCMA表达有关的疾病的哺乳动物的方法,该方法包括向该哺乳动物施用有效量的本文所提供的TFP分子,本文所提供的细胞,或本文所提供的多肽分子。

[0041] 在一些情形中,所述与CD19或BCMA表达有关的疾病选自由以下组成的组:增生性疾病、癌症、恶性疾病、骨髓发育不良、骨髓发育不良综合症、白血病前期、与CD19表达有关的非癌症相关适应症。在一些情形中,该疾病是选自由以下组成的组的血液癌症:B细胞急性淋巴细胞白血病(B-ALL)、T细胞急性淋巴细胞白血病(T-ALL)、急性淋巴母细胞白血病(ALL);慢性骨髓性白血病(CML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、B细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树突状细胞瘤、伯基特氏淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、毛细胞白血病、小细胞-滤泡性淋巴瘤、大细胞-滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴组织增生疾病、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓发育不良、骨髓发育不良综合症、非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma)、浆母细胞性淋巴瘤、浆细胞样树突状细胞瘤、威尔姆氏巨球蛋白血症(Waldenstrom macroglobulinemia)、白血病前期、与CD19或BCMA表达有关的疾病,及其组合。在一些情形中,所述表达TFP分子的细胞和增加表达TFP分子的细胞的功效的药剂组合施用。在一些情形中,相较于施用有效量表达抗CD19嵌合抗原受体(CAR)或抗BCMA CAR的T细胞的哺乳动物,所述哺乳动物中释放的细胞因子较少。在一些情形中,所述表达TFP分子的细胞和改善与施用表达TFP分子的细胞有关的一种或多种副作用的药剂组合施用。在一些情形中,所述表达TFP分子的细胞和治疗与CD19或BCMA有关的疾病的药剂组合施用。

[0042] 在一个方面,本文所提供的分离的核酸分子、本文所提供的分离的多肽分子、本文所提供的分离的TFP、本文所提供的复合物、本文所提供的载体或本文所提供的细胞用作药物。

[0043] 在一个方面,本文提供了一种治疗患有与CD19或BCMA表达有关的疾病的哺乳动物的方法,该方法包括向该哺乳动物施用有效量的本文所提供的TFP分子、本文所提供的细胞

或本文所提供的多肽分子,其中相较于施用有效量的表达抗CD19嵌合抗原受体(CAR)或抗BCMA CAR的T细胞的哺乳动物,所述哺乳动物中释放的细胞因子较少。

[0044] 以引用的方式并入

[0045] 本说明书中所提到的所有公布、专利及专利申请均以引用的方式并入本文中,其引用程度就如同具体且个别地指示每一个别公布、专利或专利申请以引用的方式并入一般。

[0046] 附图简述

[0047] 本发明的新颖特征将根据所附权利要求书中的特性陈述。通过参照以下陈述说明性实施方案的详述将更好地了解本发明的特征和优势,在以下详述中,利用了本发明的原理并且其随附图式如下:

[0048] 图1是展示本发明的T细胞受体融合多肽(TFP)的使用的示意性说明。示例性TFP含有通过 $(G_4S)_3$ 连接子序列融合的抗CD19scFv和全长CD3 $\epsilon$ 多肽。当利用T细胞产生TFP或将TFP引入T细胞中时,该TFP与内源性T细胞受体(TCR)(被显示成包括两个CD3 $\epsilon$ 多肽、一个CD3 $\gamma$ 多肽、一个CD3 $\delta$ 多肽、两个CD3 $\zeta$ 多肽、一个TCR $\alpha$ 亚基及一个TCR $\beta$ 亚基,其中水平的灰色区段表示质膜)的其它多肽缔合形成重编程的TCR,其中一个或两个内源性CD3 $\epsilon$ 多肽被TFP取代。

[0049] 图2A是展示本发明的重编程T细胞受体融合多肽(TFP)的示例性变型的示意性说明。

[0050] 图2A示出了含有TFP的示例性重编程TCR,该TFP含有通过 $(G_4S)_3$ 连接子序列融合的抗CD19scFv和全长TCR V $\alpha$ 多肽。

[0051] 图2B示出了含有多个TFP的一系列示例性重编程TCR,所述TFP包括i)通过 $(G_4S)_3$ 连接子序列融合的抗CD19scFv和全长TCR V $\alpha$ 多肽;和ii)通过 $(G_4S)_3$ 连接子序列融合的抗CD19scFv和全长TCR V $\beta$ 多肽。

[0052] 图2C示出了含有多个TFP的示例性重编程TCR,所述TFP包括i)通过 $(G_4S)_3$ 连接子序列融合的抗CD19scFv和截短的( $\Delta$ )TCR多肽;和ii)通过 $(G_4S)_3$ 连接子序列融合的抗CD19scFv和全长CD3 $\epsilon$ 多肽。截短的( $\Delta$ )TCR多肽是因缺失V $\alpha$ 而截短的。

[0053] 图2D示出了含有多个TFP的示例性重编程TCR,所述TFP包括i)通过 $(G_4S)_3$ 连接子序列融合的抗CD19scFv和截短的( $\Delta$ )TCR V $\alpha$ 多肽;和ii)通过 $(G_4S)_3$ 连接子序列融合的抗CD19scFv和截短的( $\Delta$ )TCR V $\beta$ 多肽。截短的( $\Delta$ )TCR多肽是因缺失V $\beta$ 而截短的。

[0054] 图3是展示本发明的T细胞受体融合多肽(TFP)的使用的示意性说明。示例性TFP含有通过 $(G_4S)_3$ 连接子序列融合的抗CD19V $_H$ 结构域和全长CD3 $\epsilon$ 多肽。当利用T细胞产生TFP或将TFP引入T细胞中时,该TFP与内源性T细胞受体(TCR)(被显示成包括两个CD3 $\epsilon$ 多肽、一个CD3 $\gamma$ 多肽、一个CD3 $\delta$ 多肽、两个CD3 $\zeta$ 多肽、一个TCR $\alpha$ 亚基及一个TCR $\beta$ 亚基,其中水平的灰色区段表示质膜)的其它多肽缔合形成重编程的TCR,其中一个或两个内源性CD3 $\epsilon$ 多肽被TFP取代。

[0055] 图4是展示编码各种TFP的DNA构建体的一系列示意性说明。

[0056] 图5是描绘在慢病毒转导后T细胞上抗CD19LL(长连接子)TFP的表面表达的示例性柱形图。效应T细胞未被转导或用抗CD19-28 $\zeta$ CAR或指定的抗CD19LL TFP构建体转导。在IL-2中扩增10天后,通过流式细胞术测定其表面的适当CAR或TFP构建体的表达。

[0057] 图6是描绘在慢病毒转导后T细胞上抗CD19SL(短连接子)TFP的表面表达的示例性

柱形图。效应T细胞未被转导或用抗CD19-28 $\zeta$ CAR或指定的抗CD19SL TFP构建体转导。在IL-2中扩增7天后,通过流式细胞术测定其表面的适当CAR或TFP构建体的表达。

[0058] 图7是描绘在慢病毒转导后T细胞上抗BCMA TFP的表面表达的示例性柱形图。效应T细胞未被转导或用抗BCMA-CD3 $\epsilon$ 或抗BCMA-CD3 $\gamma$  TFP构建体转导。在IL-2中扩增10天后,通过流式细胞术测定其表面的TFP表达。

[0059] 图8是描绘抗CD19LL TFP杀灭表达CD19的Raji靶细胞的示例性柱形图。使转导的效应T细胞扩增14天,随后与 $1 \times 10^4$ 个Raji靶细胞一起以20:1、10:1或5:1的E:T比孵育18小时。在流式细胞术细胞毒性测定中测定细胞毒性百分比。

[0060] 图9是描绘抗BCMA TFP杀灭表达BCMA的RPMI8226靶细胞的示例性柱形图。使转导的效应T细胞扩增12天,随后与 $1 \times 10^4$ 个RPMI8226靶细胞一起以10:1或5:1的E:T比孵育4小时。在流式细胞术细胞毒性测定中测定细胞毒性百分比。

[0061] 图10A是描绘抗CD19-28 $\zeta$ CAR构建体随时间杀灭CD19转导的HeLa靶细胞的示例性曲线图。使转导的效应T细胞扩增14天,随后与 $1 \times 10^4$ 个CD19转导的HeLa靶细胞一起孵育。在RTCA中测定细胞指数,该细胞指数指示细胞毒性。

[0062] 图10B是描绘抗CD19-CD3 $\epsilon$ LL TFP构建体随时间杀灭CD19转导的HeLa靶细胞的示例性曲线图。使转导的效应T细胞扩增14天,随后与 $1 \times 10^4$ 个CD19转导的HeLa靶细胞一起孵育。在RTCA测定中测定细胞指数,该细胞指数指示细胞毒性。

[0063] 图10C是描绘抗CD19-CD3 $\gamma$ LL TFP构建体随时间杀灭CD19转导的HeLa靶细胞的示例性曲线图。使转导的效应T细胞扩增14天,随后与 $1 \times 10^4$ 个CD19转导的HeLa靶细胞一起孵育。在RTCA测定中测定细胞指数,该细胞指数指示细胞毒性。

[0064] 图10D是描绘抗CD19-TCR $\alpha$ c LL TFP构建体随时间杀灭CD19转导的HeLa靶细胞的示例性曲线图。使转导的效应T细胞扩增14天,随后与 $1 \times 10^4$ 个CD19转导的HeLa靶细胞一起孵育。在RTCA测定中测定细胞指数,该细胞指数指示细胞毒性。

[0065] 图10E是描绘抗CD19-TCR $\beta$ c LL TFP构建体随时间杀灭CD19转导的HeLa靶细胞的示例性曲线图。使转导的效应T细胞扩增14天,随后与 $1 \times 10^4$ 个CD19转导的HeLa靶细胞一起孵育。在RTCA测定中测定细胞指数,该细胞指数指示细胞毒性。

[0066] 图10F是描绘抗CD19-TCR $\alpha$ LL TFP构建体随时间杀灭CD19转导的HeLa靶细胞的示例性曲线图。使转导的效应T细胞扩增14天,随后与 $1 \times 10^4$ 个CD19转导的HeLa靶细胞一起孵育。在RTCA测定中测定细胞指数,该细胞指数指示细胞毒性。

[0067] 图10G是描绘抗CD19-TCR $\beta$ LL TFP构建体随时间杀灭CD19转导的HeLa靶细胞的示例性曲线图。使转导的效应T细胞扩增14天,随后与 $1 \times 10^4$ 个CD19转导的HeLa靶细胞一起孵育。在RTCA测定中测定细胞指数,该细胞指数指示细胞毒性。

[0068] 图11是描绘抗CD19TFP杀灭CD19转导的HeLa靶细胞的示例性曲线图。使转导的效应T细胞扩增7天,随后与 $1 \times 10^4$ 个CD19转导的HeLa靶细胞一起孵育。在RTCA测定中测定细胞指数,该细胞指数指示细胞毒性。

[0069] 图12是描绘抗BCMA TFP随时间杀灭BCMA转导的HeLa靶细胞的示例性曲线图。使未被转导或用抗BCMA-CD3 $\epsilon$ 或抗BCMA-CD3 $\gamma$  TFP转导的效应T细胞扩增7天,随后与 $1 \times 10^4$ 个HeLa或HeLa-BCMA靶细胞一起孵育。在RTCA测定中测定细胞指数,该细胞指数指示细胞毒性。

[0070] 图13是描绘用不同量的编码抗CD19-CD3 $\epsilon$ LL TFP的慢病毒转导的T细胞随时间的杀灭活性的示例性曲线图。使指定MOI的编码抗CD19-CD3 $\epsilon$ LL TFP的慢病毒转导的T细胞扩增14天,随后与 $1 \times 10^4$ 个CD19转导的HeLa靶细胞一起孵育。测定细胞指数,该细胞指数指示细胞毒性。

[0071] 图14是描绘通过用体外转录 (IVT) 的编码抗CD19-CD3 $\epsilon$ SL或抗CD19-CD3 $\gamma$  SL TRuC的mRNA电穿孔转染的T细胞的杀灭活性的示例性图。通过用体外转录 (IVT) 的编码GFP对照物、抗CD19-CD3 $\epsilon$ SL或抗CD19-CD3 $\gamma$  SL TruC的mRNA电穿孔活化的PBMC来对效应T细胞转染。在扩增3天后,将效应物与 $1 \times 10^4$ 个Raji细胞或K562细胞一起以10:1的E:T比率孵育4小时。在流式细胞术细胞毒性测定中测定细胞毒性百分比。

[0072] 图15A是描绘用抗CD19LL TFP转导的T细胞响应于带有CD19的靶细胞而释放IL-2的示例性图。使未被转导、用对照CAR、抗CD19-28 $\zeta$ CAT或指定抗CD19LL TFP转导的效应T细胞扩增14天,随后与 $1 \times 10^4$ 个Raji细胞或K562靶细胞一起孵育。通过ELISA测定IL-2水平。

[0073] 图15B是描绘用抗CD19LL TFP转导的T细胞响应于带有CD19的靶细胞而释放IFN- $\gamma$ 的示例性图。使未被转导、用对照CAR、抗CD19-28 $\zeta$ CAT或指定抗CD19LL TFP转导的效应T细胞扩增14天,随后与 $1 \times 10^4$ 个Raji细胞或K562靶细胞一起孵育。通过ELISA测定IFN- $\gamma$ 水平。

[0074] 图15C是描绘用抗CD19LL TFP转导的T细胞响应于带有CD19的靶细胞而释放IL-2的示例性图。使未被转导、用对照CAR、抗CD19-28 $\zeta$ CAT或指定抗CD19LL TFP转导的效应T细胞扩增14天,随后与 $1 \times 10^4$ 个HeLa细胞或CD19-HeLa靶细胞一起孵育。通过ELISA测定IL-2水平。

[0075] 图15D是描绘用抗CD19LL TFP转导的T细胞响应于带有CD19的靶细胞而释放IFN- $\gamma$ 的示例性图。使未被转导、用对照CAR、抗CD19-28 $\zeta$ CAT或指定抗CD19LL TFP转导的效应T细胞扩增14天,随后与 $1 \times 10^4$ 个HeLa细胞或CD19-HeLa靶细胞一起孵育。通过ELISA测定IFN- $\gamma$ 水平。

[0076] 图16是描绘用抗CD19TFP转导的T细胞响应于带有CD19的靶细胞而释放IFN- $\gamma$ 的示例性图。使未被转导或用指定抗CD19TFP转导的效应T细胞扩增7天,随后与 $1 \times 10^4$ 个HeLa或CD19-HeLa靶细胞一起孵育。通过ELISA测定IFN- $\gamma$ 水平。

[0077] 图17A是描绘用抗BCMA TFP转导的T细胞响应于带有BCMA的靶细胞而释放IL-2的示例性图。使未被转导或用抗BCMA-CD3 $\epsilon$ 或抗BCMA-CD3 $\gamma$  TFP转导的效应T细胞扩增7天,随后与 $1 \times 10^4$ 个HeLa或HeLa-BCMA靶细胞一起孵育。通过2-plex Luminex测定IL-2产量。

[0078] 图17B是描绘用抗BCMA TFP转导的T细胞响应于带有BCMA的靶细胞而释放IFN- $\gamma$ 的示例性图。使未被转导或用抗BCMA-CD3 $\epsilon$ 或抗BCMA-CD3 $\gamma$  TFP转导的效应T细胞扩增7天,随后与 $1 \times 10^4$ 个HeLa或HeLa-BCMA靶细胞一起孵育。通过2-plex Luminex测定IFN- $\gamma$ 产量。

[0079] 图18是描绘用抗CD19TFP转导的T细胞响应于带有CD19的靶细胞而失调的示例性图。使未被转导或用抗CD19-28 $\zeta$ CAR、抗BCMA-CD3 $\epsilon$ LL TFP或抗BCMA-CD3 $\gamma$  LL TFP转导的效应T细胞扩增14天,随后与 $1 \times 10^4$ 个指定的CD19+ve或CD19-ve靶细胞一起孵育。测定在CD3+CD8+设门下CD107+细胞的百分比。在荧光标记的抗CD107a抗体存在下,共培养靶细胞和效应细胞。接着,通过流式细胞术测定细胞表面CD107a染色呈阳性的在CD3和CD4/CD8设门内的T细胞的百分比。

[0080] 图19是描绘用抗BCMA TFP转导的T细胞响应于带有BCMA的靶细胞而失调的示例性图。使未被转导或用50MOI抗BCMA-CD3 $\epsilon$ 或抗BCMA-CD3 $\gamma$  TFP转导的效应T细胞扩增13天,随后与 $1 \times 10^4$ 个指定的BCMA+ve RPMI8226靶细胞一起孵育。测定在CD3+CD8+设门下CD107+细胞的百分比。

[0081] 图20A描绘了在播散性人白血病异种移植模型中用抗CD19LL TFP转导的T细胞的体内功效的示例性图。用 $5 \times 10^5$ 个Raji细胞经静脉内激发NSG小鼠三天,随后过继转移 $5 \times 10^6$ 个未被转导或用抗CD19-28 $\zeta$ CAR、抗CD19-CD3 $\epsilon$ LL TFP或抗CD19-CD3 $\gamma$  LL TFP转导的T细胞。

[0082] 图20B描绘了在播散性人白血病异种移植模型中用抗CD19LL TFP转导的T细胞的体内功效的示例性图。用 $1 \times 10^6$ 个Na1m-6细胞(右图)经静脉内激发NSG小鼠三天,随后过继转移 $5 \times 10^6$ 个未被转导或用抗CD19-28 $\zeta$ CAR、抗CD19-CD3 $\epsilon$ LL TFP或抗CD19-CD3 $\gamma$  LL TFP转导的T细胞。通过对数秩(Mantel-Cox)检验比较存活曲线显示, $p=0.0001$ (第4组对比第1、2、3组), $p=0.0001$ (第1组对比第2、3组),及 $p=0.0004$ (第2组对比第3组)。通过Gehan-Breslow-Wilcoxon检验比较存活曲线显示, $p=0.0001$ (第4组对比第1、2、3组), $p=0.0001$ (第1组对比第2、3组),及 $p=0.0005$ (第2组对比第3组)。发明详述

[0083] 在一个方面,本文描述了一种编码T细胞受体(TCR)融合蛋白(TFP)的分离的核酸分子,该融合蛋白包含TCR亚基以及包含抗CD19结合结构域的人或人源化抗体结构域。在一些实施方案中,TCR亚基包含TCR细胞外结构域。在其它实施方案中,TCR亚基包含TCR跨膜结构域。在又其它实施方案中,TCR亚基包含TCR细胞内结构域。在其它实施方案中,TCR亚基包含(i) TCR细胞外结构域;(ii) TCR跨膜结构域;及(iii) TCR细胞内结构域,其中(i)、(ii)及(iii)中至少两个是来自同一TCR亚基。在又其它实施方案中,TCR亚基包含TCR细胞内结构域,该TCR细胞内结构域包括选自以下的刺激性结构域:CD3 $\epsilon$ 、CD3 $\gamma$ 或CD3 $\delta$ 的细胞内信号传导结构域,或其具有至少一个、两个或三个修饰的氨基酸序列。在又其它实施方案中,TCR亚基包含细胞内结构域,该细胞内结构域包括选自以下的刺激性结构域:4-1BB的功能性信号传导结构域和/或CD3 $\zeta$ 的功能性信号传导结构域,或其具有至少一个、两个或三个修饰的氨基酸序列。

[0084] 在一些实施方案中,所述人或人源化抗体结构域包括抗体片段。在一些实施方案中,该人或人源化抗体结构域包括scFv或V<sub>H</sub>结构域。

[0085] 在一些实施方案中,所述分离的核酸分子包含(i) 本文所提供的任何抗CD19轻链结合结构域氨基酸序列的轻链(LC)CDR1、LC CDR2及LC CDR3,和/或(ii) 本文所提供的任何抗CD19重链结合结构域氨基酸序列的重链(HC)CDR1、HC CDR2及HC CDR3。

[0086] 在一些实施方案中,轻链可变区包含在本文所提供的轻链可变区的氨基酸序列中具有至少一个、两个或三个修饰但不超过30、20或10个修饰的氨基酸序列,或与本文所提供的氨基酸序列具有95-99%同一性的序列。在其它实施方案中,重链可变区包含在本文所提供的重链可变区的氨基酸序列中具有至少一个、两个或三个修饰但不超过30、20或10个修饰的氨基酸序列,或与本文所提供的氨基酸序列具有95-99%同一性的序列。

[0087] 在一些实施方案中,TFP包括TCR亚基的细胞外结构域,该细胞外结构域包括选自以下组成的组的蛋白质的细胞外结构域或其部分:T细胞受体的 $\alpha$ 或 $\beta$ 链、CD3 $\delta$ 、CD3 $\epsilon$ 或CD3 $\gamma$ ,或其功能片段,或其具有至少一个、两个或三个修饰但不超过20、10或5个修饰的氨基酸

序列。在其它实施方案中,编码的TFP包括跨膜结构域,该跨膜结构域包括选自由以下组成的组的蛋白质的跨膜结构域:TCR $\alpha$ 、 $\beta$ 链,或TCR亚基CD3 $\epsilon$ 、CD3 $\gamma$ 及CD3 $\delta$ ,或其功能片段,或其具有至少一个、两个或三个修饰但不超过20、10或5个修饰的氨基酸序列。

[0088] 在一些实施方案中,编码的TFP包括跨膜结构域,该跨膜结构域包括选自由以下组成的组的蛋白质的跨膜结构域:TCR $\alpha$ 、 $\beta$ 或 $\zeta$ 链,或CD3 $\epsilon$ 、CD3 $\gamma$ 及CD3 $\delta$ CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD28、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137及CD154,或其功能片段,或其具有至少一个、两个或三个修饰但不超过20、10或5个修饰的氨基酸序列。

[0089] 在一些实施方案中,编码的抗CD19结合结构域通过连接子序列连接至TCR细胞外结构域。在一些情形中,编码的连接子序列包括 $(G_4S)_n$ ,其中 $n=1$ 至4。在一些情形中,编码的连接子序列包含长连接子(LL)序列。在一些情形中,编码的长连接子序列包括 $(G_4S)_n$ ,其中 $n=2$ 至4。在一些情形中,编码的连接子序列包含短连接子(SL)序列。在一些情形中,编码的短连接子序列包括 $(G_4S)_n$ ,其中 $n=1$ 至3。

[0090] 一些实施方案中,分离的核酸分子还包含编码共刺激性结构域的序列。在一些情形中,所述共刺激性结构域是从选自由以下组成的组的蛋白质获得的功能性信号传导结构域:OX40、CD2、CD27、CD28、CDS、ICAM-1、LFA-1 (CD11a/CD18)、ICOS (CD278) 及4-1BB (CD137),或其具有至少一个、两个或三个修饰但不超过20、10或5个修饰的氨基酸序列。

[0091] 在一些实施方案中,分离的核酸分子还包含前导序列。

[0092] 本文还提供了由任何先前所描述的核酸分子编码的分离的多肽分子。

[0093] 在另一方面,本文还提供了分离的T细胞受体融合蛋白(TFP)分子,这些TFP分子包含人或人源化抗CD19结合结构域、TCR细胞外结构域、跨膜结构域及细胞内结构域。在一些实施方案中,这些分离的TFP分子包括含人或人源化抗CD19结合结构域、TCR细胞外结构域、跨膜结构域及细胞内结构域的抗体或抗体片段。

[0094] 在一些实施方案中,该抗CD19结合结构域是scFv或 $V_H$ 结构域。在其它实施方案中,该抗CD19结合结构域包含轻链和重链,该轻链和重链具有本文所提供的氨基酸序列,或其功能片段,或在本文所提供的轻链可变区氨基酸序列中具有至少一个、两个或三个修饰但不超过30、20或10个修饰的氨基酸序列,或与本文所提供的氨基酸序列具有95-99%同一性的序列。

[0095] 在一些实施方案中,分离的TFP分子包含TCR细胞外结构域,该细胞外结构域包括选自由以下组成的组的蛋白质的细胞外结构域或其部分:T细胞受体的 $\alpha$ 或 $\beta$ 链、CD3 $\delta$ 、CD3 $\epsilon$ 或CD3 $\gamma$ ,或其具有至少一个、两个或三个修饰但不超过20、10或5个修饰的氨基酸序列。

[0096] 在一些实施方案中,抗CD19结合结构域通过连接子序列连接至TCR细胞外结构域。在一些情形中,连接子区包括 $(G_4S)_n$ ,其中 $n=1$ 至4。在一些情形中,该连接子序列包括长连接子(LL)序列。在一些情形中,该长连接子序列包括 $(G_4S)_n$ ,其中 $n=2$ 至4。在一些情形中,该连接子序列包括短连接子(SL)序列。在一些情形中,该短连接子序列包括 $(G_4S)_n$ ,其中 $n=1$ 至3。

[0097] 在一些实施方案中,分离的TFP分子还包含编码共刺激性结构域的序列。在其它实施方案中,分离的TFP分子还包含编码细胞内信号传导结构域的序列。在又其它实施方案中,分离的TFP分子还包含前导序列。

[0098] 本文还提供了载体,这些载体包含编码任何先前所描述的TFP分子的核酸分子。在

一些实施方案中,所述载体选自由以下组成的组:DNA、RNA、质粒、慢病毒载体、腺病毒载体或逆转录病毒载体。在一些实施方案中,该载体还包含启动子。在一些实施方案中,该载体是在体外转录的载体。在一些实施方案中,该载体中的核酸序列还包含多聚腺苷酸尾。在一些实施方案中,该载体中的核酸序列还包含3' UTR。

[0099] 本文还提供了包含所述载体中的任一种的细胞。在一些实施方案中,该细胞是人T细胞。在一些实施方案中,该细胞是CD8+或CD4+T细胞。在其它实施方案中,这些细胞还包含编码抑制性分子的核酸,该抑制性分子包含抑制性分子的至少一部分的第一多肽以及与其缔合的含来自细胞内信号传导结构域的阳性信号的第二多肽。在一些情形中,所述抑制性分子包含含PD1的至少一部分的第一多肽以及含共刺激性结构域和主要信号传导结构域的第二多肽。

[0100] 在另一方面,本文提供了分离的TFP分子,这些TFP分子包含人或人源化抗CD19结合结构域、TCR细胞外结构域、跨膜结构域及细胞内结构域,其中该TFP分子能够与内源性TCR复合物和/或至少一种内源性TCR多肽功能性相互作用。

[0101] 在另一方面,本文提供了分离的TFP分子,这些TFP分子包含人或人源化抗CD19结合结构域、TCR细胞外结构域、跨膜结构域及细胞内信号传导结构域,其中该TFP分子能够功能性整合至内源性TCR复合物中。

[0102] 在另一方面,本文提供了人CD8+或CD4+T细胞,该细胞包含至少两个TFP分子,所述TFP分子包含人或人源化抗CD19结合结构域、TCR细胞外结构域、跨膜结构域及细胞内结构域,其中所述TFP分子能够与人CD8+或CD4+T细胞中、所述细胞表面处和/或所述表面上的内源性TCR复合物和/或至少一种内源性TCR多肽功能性相互作用。

[0103] 在另一方面,本文提供了蛋白质复合物,所述复合物包含:i) 含人或人源化抗CD19结合结构域、TCR细胞外结构域、跨膜结构域及细胞内结构域的TFP分子;以及ii) 至少一种内源性TCR复合物。

[0104] 在一些实施方案中,所述TCR包含选自由以下组成的组的蛋白质的细胞外结构域或其部分:T细胞受体的 $\alpha$ 或 $\beta$ 链、CD3 $\delta$ 、CD3 $\epsilon$ 或CD3 $\gamma$ 。在一些实施方案中,抗CD19结合结构域通过连接子序列连接至TCR细胞外结构域。在一些情形中,连接子区包括 $(G_4S)_n$ ,其中 $n=1$ 至4。在一些情形中,该连接子序列包括长连接子(LL)序列。在一些情形中,该长连接子序列包括 $(G_4S)_n$ ,其中 $n=2$ 至4。在一些情形中,该连接子序列包含短连接子(SL)序列。在一些情形中,该短连接子序列包括 $(G_4S)_n$ ,其中 $n=1$ 至3。

[0105] 本文还提供了人CD8+或CD4+T细胞,这些细胞包含每一所述蛋白质复合物中的任一种至少两种不同的TFP蛋白。

[0106] 在另一方面,本文提供了一种人CD8+或CD4+T细胞群,其中所述群的T细胞个别地或共同地包含至少两个TFP分子,所述TFP分子包含人或人源化抗CD19或抗BCMA结合结构域、TCR细胞外结构域、跨膜结构域及细胞内结构域,其中所述TFP分子能够与所述人CD8+或CD4+T细胞中、所述细胞表面处和/或所述表面上的内源性TCR复合物和/或至少一种内源性TCR多肽功能性相互作用。

[0107] 在另一方面,本文提供了一种人CD8+或CD4+T细胞群,其中所述群的T细胞个别地或共同地包含至少两个由本文所提供的分离的核酸分子编码的TFP分子。

[0108] 在另一方面,本文提供了制备细胞的方法,所述方法包括用任何所述载体转导T细

胞。

[0109] 在另一方面,本文提供了一种产生RNA工程改造的细胞群的方法,所述方法包括将体外转录的RNA或合成RNA引入细胞中,其中该RNA包括编码任何所述TFP分子的核酸。

[0110] 在另一方面,本文提供了在哺乳动物中提供抗肿瘤免疫性的方法,所述方法包括向该哺乳动物施用有效量的表达任何所述TFP分子的细胞。在一些实施方案中,该细胞是自体T细胞。在一些实施方案中,该细胞是同种异体T细胞。在一些实施方案中,所述哺乳动物是人。

[0111] 在另一方面,本文提供了治疗患有与CD19表达有关的疾病的哺乳动物的方法,所述方法包括向该哺乳动物施用有效量的包含任何所述TFP分子的细胞。在一些实施方案中,该与CD19表达有关的疾病是选自增生性疾病,如癌症或恶性疾病,或癌前病况,如骨髓发育不良、骨髓发育不良综合症或白血病前期,或是与CD19表达有关的非癌症相关适应症。在一些实施方案中,该疾病是血液癌症,该血液癌症选自由以下组成的组:一种或多种急性白血病,包括但不限于B细胞急性淋巴细胞白血病(“B-ALL”)、T细胞急性淋巴细胞白血病(“T-ALL”)、急性淋巴母细胞白血病(ALL);一种或多种慢性白血病,包括但不限于慢性骨髓性白血病(CML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL);额外的血液癌症或血液病症,包括但不限于B细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树突状细胞瘤、伯基特氏淋巴瘤、弥散性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、毛细胞白血病、小细胞或大细胞滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴组织增生性疾病、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓发育不良和骨髓发育不良综合症、非霍奇金氏淋巴瘤、浆母细胞性淋巴瘤、浆细胞样树突状细胞瘤、威尔姆氏巨球蛋白血症,以及“白血病前期”(伴有无效产生骨髓血细胞(或发育不良)的一组不同的血液病症),并且与CD19表达有关的疾病包括但不限于非典型性和/或非经典癌症、恶性疾病、癌前病症或表达CD19的增生性疾病;及其组合。

[0112] 在一些实施方案中,表达任何所述TFP分子的细胞和改善与施用表达TFP分子的细胞有关的一种或多种副作用的药剂组合施用。在一些实施方案中,表达任何所述TFP分子的细胞和治疗与CD19有关的疾病的药剂组合施用。

[0113] 本文还提供了用作药物的任何所述分离的核酸分子、任何所述分离的多肽分子、任何所述分离的TFP、任何所述蛋白质复合物、任何所述载体或任何所述细胞。

[0114] 定义

[0115] 除非另作定义,否则本文中所使用的所有技术和科学术语都具有与本发明所属领域的普通技术人员通常所了解相同的含义。

[0116] 术语“一个(种)”是指一个(种)或多于一个(种)(即,至少一个(种))所述冠词的语法宾语。举例来说,“一个要素”意思指一个要素或多于一个要素。

[0117] 如本文所使用,“约”可以取决于状况以及本领域技术人员所了解或可了解而表示加或减小于1%或1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、25%、30%或超过30%。

[0118] 如本说明书中所使用,“受试者”或“个体”可以包括但不限于,哺乳动物,如人或非人哺乳动物,例如家畜、农业动物或野生动物,以及鸟类和水生动物。“患者”是罹患疾病、病症或病况,或有发展疾病、病症或病况的风险,或在其它方面需要本文所提供的组合物和方法的受试者。

[0119] 如本文所使用,“治疗”是指成功治疗或改善疾病或病况的任何指征。治疗可以包括例如减轻、延迟或缓解疾病或病况的一种或多种症状的严重程度,或者其可以包括降低患者所经历的疾病、缺陷、病症或不良状况等的症状的频率。如本文所使用,“治疗或预防”有时在本文中用于指在一定程度上治疗或改善疾病或病况的方法,并且涵盖指向该目的一系列结果,包括但不限于,完全预防该病况。

[0120] 如本文所使用,“预防”是指患者疾病或病况,例如肿瘤形成的预防。举例来说,如果有发展肿瘤或其它形式癌症的风险的个体用本发明的方法治疗并且后续未发展该肿瘤或其它形式癌症,则至少在一段时间内该疾病在该个体中得到预防。

[0121] 如本文所使用,“治疗有效量”是足以向施用组合物的个体提供有益作用或以其它方式减少有害的非有益事件的组合物或其活性化合物的量。“治疗有效剂量”在本文中意思指由于其施用而产生一种或多种所希望或期望(例如有益)作用的剂量,该施用在规定时间段内实行一次或多次。确切剂量将取决于治疗目的,并且可以由本领域技术人员使用已知技术确定(参见例如,Lieberman,Pharmaceutical Dosage Forms(第1-3卷,1992);Lloyd,The Art,Science and Technology of Pharmaceutical Compounding(1999);及Pickar,Dosage Calculations(1999))。

[0122] 如本文所使用,“T细胞受体(TCR)融合蛋白”或“TFP”包括来源于组成TCR的各种多肽的重组多肽,该TFP一般能够i)结合至靶细胞上的表面抗原;及ii)典型地当共定位于T细胞表面中或表面上时与完整TCR复合物的其它多肽组分相互作用。

[0123] 如本文所使用,术语“CD19”是指分化19蛋白簇(Cluster of Differentiation 19protein),其是在B细胞白血病前体细胞、其它恶性B细胞以及正常B细胞系的大多数细胞上可检测到的抗原决定子。人和鼠类氨基酸和核酸序列可以见于公共数据库,如GenBank、UniProt及Swiss-Prot。举例来说,人CD19的氨基酸序列可以见于UniProt/Swiss-Prot登录号P15391。人CD19多肽规范序列(canonical sequence)是UniProt登录号P15391(或P15391-1):MPPRLLFFLLFLTPMEVRPEEPLVVKVEEGDNAVLQCLKGTS DGPTQQLTWSRESPLKPKLKLGLPGLGIHMRPLAIWLFIFNVSQQMGGFYLCQPGPPSEKAWQPGWTVNVEGSGELFRWNVSDLGGLGCKLNRSSEGPSSPSGKLMSPKLYVWAKDRPEIWE GEPCLPPRDSL NQSLSQDLTMAPGSTLWLSCGVPPDSVSRGPLSWTHVHPKGPKSLLSLELKDDRPARDMWMETGLLLPRATAQDAGKYCHRGNTMSFHLEITARPVLWHWLLRTGGWKVSAVTLAYLIFCLCSLVGILHLQRALVLRKRKRMTDPTRRFFKVT PPPGSGPQNQYGNVLSLPTPTSGLGRAQRWAAGLGGTAPSYGNPSSDVQADGALGSRSPPGVGPEEEEGEGYEEDSEEDSEFYENDSNLQDQLSQDGSYENPEDEPLGPEDEDSFSNAESYENEDEELTQP VARTMDFLSPHGS AWDP SREATSLG SQSYEDMRGILYAAPQLRSIRGQPGPNHEEDADSYENMDNPDGPDPAWGGGGRMG TWSTR (SEQ ID NO:1)。

[0124] 编码人CD19的核苷酸序列可以见于登录号NM001178098。CD19是在大多数B细胞谱系癌症,包括例如ALL、CLL及非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)上表达。其它表达CD19的细胞提供于以下“与CD19表达相关的疾病”的定义中。它还是正常B细胞祖细胞的早期标志物。参见例如,Nicholson等人,Mol. Immun. 34(16-17):1157-1165(1997)。在一个实例中,TFP的抗原结合部分识别并结合如在恶性和正常B细胞上表达的CD19蛋白质的细胞外结构域内的表位。

[0125] 如本文所使用,术语“BCMA”是指B细胞成熟抗原,又称为肿瘤坏死因子受体超家族成员17(TNFRSF17)并且分化269蛋白簇(CD269)是人中由TNFRSF17基因编码的蛋白质。TNFRSF17是识别B细胞活化因子(BAFF)的TNF受体超家族的细胞表面受体(参见例如,Laabi

等人,EMBO 11(11):3897-904(1992))。该受体在成熟B淋巴细胞中表达,并且对于B细胞发育和自体免疫反应很重要。人和鼠类氨基酸和核酸序列可以见于公共数据库,如GenBank、UniProt及Swiss-Prot。举例来说,人BCMA的氨基酸序列可以见于UniProt/Swiss-Prot登录号Q02223。人BCMA多肽规范序列是UniProt登录号Q02223(或Q02223-1):MLQMAGQCSQNEYFD SLLHACIPCQLRCSSNTPPLTCQRYCNASVTNSVKGTNAILWTCLGLSLIIISLAVFVLMFLLRKINSEPLKDEFKN TGSGLLGMANIDLEKSRTGDEIILPRGLEYTVEECTCEDCIKSKPKVSDHCFPLPAMEEGATILVTTKTNDYCKSLPAALSATEIEKSISAR(SEQ ID NO:2)。

[0126] 编码人BCMA的核苷酸序列可以见于登录号NM001192。BCMA在大多数B细胞谱系癌症,包括例如白血病、淋巴瘤及多发性骨髓瘤上表达。其它表达BCMA的细胞提供于以下“与BCMA表达相关的疾病”的定义中。经显示,该受体特异性结合至肿瘤坏死因子(配体)超家族成员13b(TNFSF13B/TALL-1/BAFF),并且引起NF- $\kappa$ B和MAPK8/JNK活化。此受体还结合至各种TRAF家族成员,并因此可以转导有关细胞存活和增殖的信号(参见例如,Laabi等人,Nucleic Acids Research 22(7):1147-54(1994))。在一个实例中,TFP的抗原结合部分识别并结合如在恶性和正常B细胞上表达的BCMA蛋白质的细胞外结构域内的表位。

[0127] 如本文所使用,术语“抗体”是指来源于免疫球蛋白分子的特异性结合至抗原的蛋白质或多肽序列。抗体可以是多克隆或单克隆来源的完整免疫球蛋白,或其片段,并且可以来源于天然来源或重组来源。

[0128] 术语“抗体片段”或“抗体结合结构域”是指含有抗原结合结构域,即,完整抗体的抗原决定可变区的抗体的至少一部分,或其重组变体,其足以使抗体片段识别并特异性结合靶标,如抗原及其指定表位。抗体片段的实例包括但不限于,Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>及Fv片段、单链(sc)Fv(“scFv”)抗体片段、线性抗体、单结构域抗体如sdAb(V<sub>L</sub>或V<sub>H</sub>)、骆驼V<sub>H</sub>结构域,及由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0129] 术语“scFv”是指包含至少一个含轻链可变区的抗体片段及至少一个含重链可变区的抗体片段的融合蛋白,其中该轻链和重链可变区通过短柔性多肽连接子连续地连接,并且能够表达为单一多肽链的形式,并且其中该scFv保持其来源的完整抗体的特异性。

[0130] 就抗体来说,“重链可变区”或“V<sub>H</sub>”是指在称为框架区的侧接链段中杂有三个CDR的重链片段,这些框架区一般比CDR保守性高并且形成支架以支撑CDR。

[0131] 除非具体说明,否则如本文所使用,scFv可以具有关于多肽的N末端和C末端呈任一次序的V<sub>L</sub>和V<sub>H</sub>可变区,该scFv可以包含V<sub>L</sub>-连接子-V<sub>H</sub>或者可以包含V<sub>H</sub>-连接子-V<sub>L</sub>。

[0132] 本发明的TFP组合物中包含抗体或其片段的部分可以呈多种形式存在,其中抗原结合结构域是作为连续多肽链,包括例如单结构域抗体片段(sdAb),来源于鼠类、人源化或人抗体的单链抗体(scFv)的一部分表达(Harlow等人,1999,Using Antibodies:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory Press,N.Y.;Harlow等人,1989,Antibodies:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor,N.Y.;Houston等人,1988,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879-5883;Bird等人,1988,Science 242:423-426)。在一个方面,本发明的TFP组合物的抗原结合结构域包括抗体片段。在另一方面,TFP包括含scFv或sdAb的抗体片段。

[0133] 术语“抗体重链”是指呈天然存在的构象的抗体分子中存在的两类多肽链中的较大链,并且通常决定抗体所属的类别。

[0134] 术语“抗体轻链”是指呈天然存在的构象的抗体分子中存在的两类多肽链中的较小链。 $\kappa$ 和 $\lambda$ 轻链是指两种主要的抗体轻链同种型。

[0135] 术语“重组抗体”是指使用重组DNA技术产生的抗体,如由噬菌体或酵母表达系统表达的抗体。该术语也应解释为指通过合成编码抗体的DNA分子而产生的抗体并且该DNA分子表达抗体蛋白,或通过合成指定该抗体的氨基酸序列产生的抗体,其中该DNA或氨基酸序列是使用本领域中可用并且众所周知的重组DNA或氨基酸序列技术获得。

[0136] 术语“抗原”或“Ag”是指能够被抗体特异性结合,或以其它方式激发免疫反应的分子。这一免疫反应可能涉及抗体产生,或特定免疫活性细胞的活化,或两种。

[0137] 熟练技术人员应了解,任何大分子,包括实际上所有蛋白质或肽在内,都可以用作抗原。另外,抗原可以来源于重组或基因组DNA。熟练技术人员应了解,包含了编码引起免疫反应的蛋白质的核苷酸序列或部分核苷酸序列的任何DNA因此编码“抗原”,该术语如本文所使用。另外,本领域技术人员应了解,抗原不必仅由基因的全长核苷酸序列编码。显而易见的是,本发明包括但不限于,使用超过一个基因的部分核苷酸序列并且这些核苷酸序列以各种组合形式布置以编码引起所希望的免疫反应的多肽。此外,熟练技术人员还应了解,抗原根本不必由“基因”编码。很显然,抗原可以是合成产生的,或者可以来源于生物样品,或者可能是除多肽外的大分子。此类生物样品可以包括但不限于组织样品、肿瘤样品、细胞或含其它生物组分的流体。

[0138] 术语“抗肿瘤作用”是指可以通过各种方式表现的生物作用,包括但不限于,例如肿瘤体积减小、肿瘤细胞数量减少、转移数量减少、期望寿命增加、肿瘤细胞增殖减少、肿瘤细胞存活率降低,或与癌性病况相关的各种生理症状改善。“抗肿瘤作用”还可以由本发明的肽、多核苷酸、细胞及抗体在首先防止肿瘤发生方面的能力来表现。

[0139] 术语“自体”是指来源于个体的任何材料稍后将被再引入该相同个体中。

[0140] 术语“同种异体”是指任何材料来源于与引入该材料的个体相同物种的不同动物或不同患者。当在一个或多个基因座处的基因不同时,认为两个或更多个体彼此为同种异体的。在一些方面,来自同一物种的各个体的同种异体材料在基因上的不同可能足以发生抗原相互作用。

[0141] 术语“异种”是指移植物来源于不同物种的动物。

[0142] 术语“癌症”是指以异常细胞的快速且不受控制的生长为特征的疾病。癌细胞可以局部扩散或通过血流和淋巴系统扩散至身体的其它部分。本文中描述了多种癌症的实例,并且包括但不限于,乳癌、前列腺癌、卵巢癌、子宫颈癌、皮肤癌、胰腺癌、结肠直肠癌、肾癌、肝癌、脑癌、淋巴瘤、白血病、肺癌等。

[0143] 短语“与CD19表达有关的疾病”和“与BCMA表达有关的疾病”包括但不限于,与CD19或BCMA表达有关的疾病,或与表达CD19或BCMA的细胞有关的病况,包括例如增生性疾病,如癌症或恶性疾病,或癌前病况,如骨髓发育不良、骨髓发育不良综合症或白血病前期;或者与表达CD19或BCMA的细胞有关的非癌症相关适应症。在一个方面,与CD19或BCMA表达有关的癌症是血液癌症。在一个方面,该血液癌症是白血病或淋巴瘤。在一个方面,与CD19或BCMA表达有关的癌症包括癌症和恶性疾病,包括但不限于,例如一种或多种急性白血病,包括但不限于,例如B细胞ALL、T细胞急性淋巴细胞性白血病(TALL);一种或多种慢性白血病,包括但不限于,例如CLL或慢性骨髓性白血病(CML)。其它与CD19表达有关的癌症或血液病

况包含但不限于,例如B细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树突状细胞瘤、伯基特氏淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、毛细胞白血病、小细胞或大细胞滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴组织增生疾病、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓发育不良和骨髓发育不良综合症、非霍奇金氏淋巴瘤、浆母细胞性淋巴瘤、浆细胞样树突状细胞瘤、威尔姆氏巨球蛋白血症,以及“白血病前期”,即伴有无效产生骨髓血细胞(或发育不良)的一组不同的血液病症,等等。与CD19的表达或BCMA表达有关的其它疾病包括但不限于,例如与CD19或BCMA表达有关的非典型性和/或非经典癌症、恶性疾病、癌前病况或增生性疾病。与CD19或BCMA表达有关的非癌症相关适应症包括但不限于,例如自身免疫性疾病(例如狼疮、类风湿性关节炎、结肠炎)、炎症性病症(过敏和哮喘)及移植。

[0144] 术语“保守性序列修饰”是指不会明显影响或改变含有该氨基酸序列的抗体或抗体片段的结合特征的氨基酸修饰。这些保守修饰包括氨基酸取代、添加及缺失。修饰可以通过本领域中已知的标准技术,如定点诱变和PCR介导的诱变而引入本发明的抗体或抗体片段中。保守氨基酸取代是氨基酸残基被具有类似侧链的氨基酸残基置换的取代。具有类似侧链的氨基酸残基的家族在本领域中已有定义。这些家族包括具有碱性侧链的氨基酸(例如赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、具有酸性侧链的氨基酸(例如天冬氨酸、谷氨酸)、具有不带电荷极性侧链的氨基酸(例如甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸)、具有非极性侧链的氨基酸(例如丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸)、具有 $\beta$ -分支侧链的氨基酸(例如苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)及具有芳香族侧链的氨基酸(例如酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。因此,在本发明的TFP内的一个或多个氨基酸残基可以被来自相同侧链家族的其它氨基酸残基置换,并且改变的TFP可以使用本文所描述的功能测定进行测试。

[0145] 术语“刺激”是指由刺激性结构域或刺激性分子(例如TCR/CD3复合物)与其同源配体结合,由此介导信号转导事件,如但不限于,通过TCR/CD3复合物进行的信号转导所诱导的初次反应。刺激可以介导某些分子表达的改变,和/或细胞骨架结构的重新组织等。

[0146] 术语“刺激性分子”或“刺激性结构域”是指T细胞所表达的提供初级细胞质信号传导序列的分子或其部分,所述初级细胞质信号传导序列以针对T细胞信号传导途径的至少某一方面刺激的方式调控TCR复合物的初次活化。在一个方面,初级信号是由例如TCR/CD3复合物与装载有肽上MHC分子结合起始,并由此介导T细胞反应,包括但不限于,增殖、活化、分化等。以刺激性方式作用的初级细胞质信号传导序列(又称为“初级信号传导结构域”)可以含有信号传导基序,该基序称为免疫受体酪氨酸活化基序或“ITAM”。特别适用于本发明中的含有ITAM的初级细胞质信号传导序列的实例包括但不限于,来源于TCR $\zeta$ 、FcR $\gamma$ 、FcR $\beta$ 、CD3 $\gamma$ 、CD3 $\delta$ 、CD3 $\epsilon$ 、CD5、CD22、CD79a、CD79b、CD278(又称为“ICOS”)及CD66d的那些。

[0147] 术语“抗原呈递细胞”或“APC”是指在表面上展示外来抗原与主要组织相容性复合物(MHC)的复合物的免疫系统细胞,如辅助细胞(例如B细胞、树突状细胞等)。T细胞可以使用其T细胞受体(TCR)识别这些复合物。APC加工抗原并将其呈递至T细胞。

[0148] 如本文所使用的术语“细胞内信号传导结构域”是指分子的细胞内部分。细胞内信号传导结构域产生了促进含有TFP的细胞,例如表达TFP的T细胞的免疫效应功能的信号。免疫效应功能,例如在表达TFP的T细胞中的免疫效应功能的实例包括细胞溶解活性和T辅助细胞活性,包括细胞因子的分泌。在一个实施方案中,细胞内信号传导结构域可以包含初级

细胞内信号传导结构域。示例性初级细胞内信号传导结构域包括来源于负责初次刺激或抗原依赖性刺激的分子的那些。在一个实施方案中,细胞内信号传导结构域可以包含共刺激细胞内结构域。示例性共刺激细胞内信号传导结构域包括来源于负责共刺激信号或不依赖于抗原的刺激的分子的那些。

[0149] 初级细胞内信号传导结构域可以包含ITAM(“免疫受体酪氨酸活化基序”)。含有ITAM的初级细胞质信号传导序列的实例包括但不限于,来源于CD3 $\zeta$ 、FcR $\gamma$ 、FcR $\beta$ 、CD3 $\gamma$ 、CD3 $\delta$ 、CD3 $\epsilon$ 、CD5、CD22、CD79a、CD79b以及CD66d DAP10和DAP12的那些。

[0150] 术语“共刺激分子”是指在T细胞上与共刺激配体特异性结合,由此介导T细胞的共刺激反应,如但不限于增殖的同源结合配偶体。共刺激分子是高效免疫反应所需的除抗原受体或其配体外的细胞表面分子。共刺激分子包括但不限于,1类MHC分子、BTLA和To11配体受体,以及OX40、CD2、CD27、CD28、CDS、ICAM-1、LFA-1(CD11a/CD18)及4-1BB(CD137)。共刺激细胞内信号传导结构域可以是共刺激分子的细胞内部分。共刺激分子可以通过以下蛋白质家族表示:TNF受体蛋白、免疫球蛋白样蛋白、细胞因子受体、整合素、信号传导淋巴细胞活化分子(SLAM蛋白)及活化NK细胞受体。这些分子的实例包括CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、GITR、CD30、CD40、ICOS、BAFFR、HVEM、淋巴细胞功能相关抗原-1(LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、SLAMF7、NKp80、CD160、B7-H3,以及与CD83特异性结合的配体等。细胞内信号传导结构域可以包含作为该结构域的来源的分子的整个细胞内部分,或整个天然细胞内信号传导结构域,或其功能片段。术语“4-1BB”是指具有如GenBank登录号AAA62478.2所提供的氨基酸序列或来自非人物种,例如小鼠、啮齿动物、猴、猿等的等效残基的TNFR超家族的成员;并且“4-1BB共刺激性结构域”定义为GenBank登录号AAA62478.2的氨基酸残基214-255,或来自非人物种,例如小鼠、啮齿动物、猴、猿等的等效残基。

[0151] 术语“编码”是指多核苷酸,如基因、cDNA或mRNA中特定核苷酸序列的固有特性,这些核苷酸序列在生物过程中用作合成具有指定核苷酸序列(例如rRNA、tRNA及mRNA)或指定氨基酸序列并且具有由此引起的生物特性的其它聚合物和大分子的模板。因此,如果对应于一个基因的mRNA在细胞或其它生物系统中转录和翻译产生蛋白质,则该基因、cDNA或RNA编码该蛋白质。核苷酸序列与mRNA序列相同并且通常被提供于序列表中的编码链,以及用作基因或cDNA的转录模板的非编码链,可以称为编码该基因或cDNA的蛋白质或其它产物。

[0152] 除非另外说明,否则“编码氨基酸序列的核苷酸序列”包括彼此互为简并形式并且编码相同氨基酸序列的所有核苷酸序列。就编码蛋白质的核苷酸序列的一些形式可能含有一个或多个内含子来说,短语编码蛋白质或RNA的核苷酸序列还可以包括内含子。

[0153] 术语“有效量”或“治疗有效量”在本文中可互换使用,并且指有效实现特定生物或治疗结果的如本文所述的化合物、配制物、材料或组合物的量。

[0154] 术语“内源性”是指来自生物体、细胞、组织或系统,或在生物体、细胞、组织或系统内产生的任何材料。

[0155] 术语“外源性”是指从生物体、细胞、组织或系统引入,或在生物体、细胞、组织或系统外部产生的任何材料。

[0156] 术语“表达”是指由启动子驱动的特异性核苷酸序列的转录和/或翻译。

[0157] 术语“转移载体”是指包含分离的核酸并且可以用于将该分离的核酸递送至细胞内部的物质组合物。本领域中已知多种载体,包括但不限于,线性多核苷酸、与离子性或两

性化合物关联的多核苷酸、质粒及病毒。因此，术语“转移载体”包括自主复制的质粒或病毒。该术语还应解释为进一步包括有助于核酸转移至细胞中的非质粒和非病毒化合物，如聚赖氨酸化合物、脂质体等。病毒转移载体的实例包括但不限于，腺病毒载体、腺相关病毒载体、逆转录病毒载体、慢病毒载体等。

[0158] 术语“表达载体”是指包含重组多核苷酸的载体，该重组多核苷酸包含可操作地连接至待表达的核苷酸序列的表达控制序列。表达载体包含足以进行表达的顺式作用元件；其它表达元件可以由宿主细胞或体外表达系统提供。表达载体包括本领域中已知的并入重组多核苷酸的所有表达载体，包括粘粒、质粒（例如裸质粒或包含在脂质体中）和病毒（例如慢病毒、逆转录病毒、腺病毒及腺相关病毒）。

[0159] 术语“慢病毒”是指逆转录病毒科的一个属。慢病毒是独特的逆转录病毒，能够感染非分裂细胞；这些病毒能够将大量的遗传信息递送至宿主细胞DNA中，由此它们是基因递送载体的最高效方法之一。HIV、SIV及FIV是慢病毒的所有实例。

[0160] 术语“慢病毒载体”是指来源于至少一部分慢病毒基因组的载体，包括特别是如Milone等人，*Mol. Ther.* 17 (8) :1453-1464 (2009) 中所提供的自灭活慢病毒载体。可以用于临床的其它慢病毒载体的实例包括但不限于，例如来自Oxford BioMedica的LENTIVECTOR™基因递送技术、来自Lentigen的LENTIMAX™载体系统等。非临床型慢病毒载体也可使用并且是本领域技术人员所知的。

[0161] 术语“同源”或“同一性”是指两个聚合物分子之间，例如两个核酸分子，如两个DNA分子或两个RNA分子之间，或两个多肽分子之间的亚基序列同一性。当两个分子中的亚基位置被相同单体亚基占据时；例如，如果两个DNA分子各自的位置都被腺嘌呤占据，则这两个分子在该位置处同源或同一。两个序列之间的同源性与匹配或同源位置的数量直接相关；例如，如果两个序列中的半数位置（例如长度是十个亚基的聚合物中的五个位置）是同源的，则这两个序列50%同源；如果90%的位置（例如10个中的9个）是匹配或同源的，则这两个序列90%同源。

[0162] 非人（例如鼠类）抗体的“人源化”形式是含有来源于非人免疫球蛋白的最小序列的嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白链或其片段（如Fv、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>或抗体的其它抗原结合子序列）。在很大程度上，人源化抗体和其抗体片段是来自受体的互补决定区（CDR）的残基被来自具有所需特异性、亲和力和容量的非人物种（供体抗体；如小鼠、大鼠或兔）的CDR的残基置换的人免疫球蛋白（受体抗体或抗体片段）。在一些情形中，人免疫球蛋白的Fv框架区（FR）残基被相应非人残基置换。此外，人源化抗体/抗体片段还可以包含在受体抗体和引入的CDR或框架序列中都未发现的残基。这些修饰可以进一步改善和优化抗体或抗体片段的性能。一般来说，人源化抗体或抗体片段将包含至少一个且典型地两个可变结构域的基本上全部，其中所有或基本上所有CDR区都与非人免疫球蛋白的CDR区对应并且所有FR区或大部分FR区都是人免疫球蛋白序列的FR区。人源化抗体或抗体片段还可以包含免疫球蛋白恒定区（Fc）的至少一部分，典型地是人免疫球蛋白恒定区的至少一部分。有关更多详情，参见Jones等人，*Nature*, 321:522-525, 1986; Reichmann等人，*Nature*, 332:323-329, 1988; Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.*, 2:593-596, 1992。

[0163] “人”或“完全人”是指这样一种免疫球蛋白，如抗体或抗体片段，在该免疫球蛋白中，整个分子都是人来源的或者由与该抗体或免疫球蛋白的人形式相同的氨基酸序列组

成。

[0164] 术语“分离的”意思指从天然状态改变或取出的。举例来说,活体动物中天然存在的核酸或肽不是“分离的”,但与其天然状态的共存材料部分或完全分离的肽是“分离的”。分离的核酸或蛋白质可以呈大体上纯化的形式存在,或者可以存在于非原生环境,如宿主细胞中。

[0165] 在本发明的上下文中,使用以下常见核酸碱基缩写。“A”是指腺苷,“C”是指胞苷,“G”是指鸟苷,“T”是指胸苷,并且“U”是指尿苷。

[0166] 术语“可操作地连接”或“转录控制”是指调控序列与异源核酸序列之间的功能性连接,该连接引起异源核酸序列的表达。举例来说,当第一核酸序列与第二核酸序列呈功能关系时,该第一核酸序列与该第二核酸序列可操作地连接。例如,如果启动子影响编码序列的转录或表达,则该启动子可操作地连接至编码序列。可操作地连接的DNA序列可以彼此相邻,并且例如在需要接合两个蛋白质编码区时是处于同一阅读框中。

[0167] 术语“肠胃外”施用免疫原性组合物包括例如皮下(s.c.)、静脉内(i.v.)、肌肉内(i.m.)或胸骨内注射、肿瘤内或输注技术。

[0168] 术语“核酸”或“多核苷酸”是指呈单链或双链形式的脱氧核糖核酸(DNA)或核糖核酸(RNA)及其聚合物。除非明确限制,否则该术语涵盖含有天然核苷酸的已知类似物的核酸,这些核酸的结合特性与参考核酸类似并且以与天然存在的核苷酸类似的方式代谢。除非另外指示,否则特定核酸序列也隐含地其保守修饰变体(例如简并密码子取代)、等位基因、直系同源物、SNP及互补序列以及明确指明的序列。确切地说,可以通过产生一个或多个所选(或所有)密码子的第三个位置被混合碱基和/或脱氧肌苷残基取代的序列来实现简并密码子取代(Batzer等人,Nucleic Acid Res.19:5081(1991);Ohtsuka等人,J.Biol.Chem.260:2605-2608(1985);及Rossolini等人,Mol.Cell.Probes8:91-98(1994))。

[0169] 术语“肽”、“多肽”和“蛋白质”可互换使用,并且指包含通过肽键共价连接的氨基酸残基的化合物。蛋白质或肽必须含有至少两个氨基酸,并且对可以构成蛋白质或肽序列的氨基酸的最大数量没有限制。多肽包括含通过肽键彼此接合的两个或更多个氨基酸的任何肽或蛋白质。如本文所使用,该术语是指在本领域中通常又称为肽、寡肽和寡聚物的短链,以及在本领域中一般称为蛋白质的较长链,所述蛋白质存在许多类型。“多肽”包括例如生物活性片段、基本上同源的多肽、寡肽、同二聚体、异二聚体、多肽变体、修饰的多肽、衍生物、类似物、融合蛋白等。多肽包括天然肽、重组肽或其组合。

[0170] 术语“启动子”是指由细胞的转录机构,或引入的合成机构识别的起始多核苷酸序列的特定转录所需的DNA序列。

[0171] 术语“启动子/调控序列”是指表达可操作地连接至启动子/调控序列的基因产物所需的核酸序列。在一些情形中,这一序列可以是核心启动子序列,并且在其它情形中,这一序列还可以包括增强子序列及表达基因产物所需的其它调控元件。启动子/调控序列可以是例如以组织特异性方式表达基因产物的启动子/调控序列。

[0172] 术语“组成型”启动子是指这样一种核苷酸序列,该核苷酸序列当与编码或指定基因产物的多核苷酸可操作地连接时,在细胞中在大多数或所有细胞生理条件下产生基因产物。

[0173] 术语“诱导型”启动子是指这样一种核苷酸序列,该核苷酸序列当与编码或指定基因产物的多核苷酸可操作地连接时,基本上仅在对应于启动子的诱导子存在于细胞中时才在该细胞中产生基因产物。

[0174] 术语“组织特异性”启动子是指这样一种核苷酸序列,该核苷酸序列当与基因编码或指定的多核苷酸可操作地连接时,基本上仅在细胞是对应于该启动子的组织类型的细胞时才在该细胞中产生基因产物。

[0175] 在scFv的情形中使用的术语“连接子”和“柔性多肽连接子”是指由氨基酸,如单独或组合使用的甘氨酸和/或丝氨酸残基组成的用以将可变重链区和可变轻链区连接在一起的肽连接子。在一个实施方案中,柔性多肽连接子是Gly/Ser连接子并且包含氨基酸序列(Gly-Gly-Gly-Ser)<sub>n</sub>,其中n是等于或大于1的正整数。例如,n=1、n=2、n=3、n=4、n=5、n=6、n=7、n=8、n=9及n=10。在一个实施方案中,柔性多肽连接子包括但不限于,(Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>4</sub>或(Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>3</sub>。在另一实施方案中,连接子包括多个(Gly<sub>2</sub>Ser)、(GlySer)或(Gly<sub>3</sub>Ser)的重复。本发明的范围内还包括W02012/138475(以引用的方式并入本文中)中所描述的连接子。在一些情形中,该连接子序列包括长连接子(LL)序列。在一些情形中,该长连接子序列包括(G<sub>4</sub>S)<sub>n</sub>,其中n=2至4。在一些情形中,该连接子序列包括短连接子(SL)序列。在一些情形中,该短连接子序列包括(G<sub>4</sub>S)<sub>n</sub>,其中n=1至3。

[0176] 如本文所使用,5'帽(又称为RNA帽、RNA 7-甲基鸟苷帽或RNA m7G帽)是在开始转录后不久即添加至真核生物信使RNA的“前部”或5'端的经过修饰的鸟嘌呤核苷酸。5'帽由连接至第一个转录的核苷酸的末端基团组成。其存在对于核糖体识别以及防止RNA酶作用至关重要。帽的添加与转录相结合,并且与转录地共同发生,由此彼此相互影响。在开始转录后不久,所合成的mRNA的5'端就被与RNA聚合酶缔合的帽合成复合物结合。这一酶复合物催化mRNA戴帽所需的化学反应。合成是以多步骤生物化学反应进行的。戴帽部分可以经过修饰以调节mRNA的功能,如其稳定性或翻译效率。

[0177] 如本文所使用,“体外转录的RNA”是指在体外合成的RNA,优选mRNA。一般来说,体外转录的RNA由体外转录载体产生。体外转录载体包含用于产生体外转录的RNA的模板。

[0178] 如本文所使用,“多聚腺苷酸”是通过聚腺苷酸化连接至mRNA的一系列腺苷。在用于短暂表达的构建体的优选实施方案中,多聚腺苷酸是介于50与5000个之间,优选超过64个,更优选超过100个,最优选超过300或400个。多聚腺苷酸序列可以通过化学方式或酶方式修饰以调节mRNA功能,如定位、稳定性或翻译效率。

[0179] 如本文所使用,“聚腺苷酸化”是指聚腺苷酰基部分,或其修饰变体与信使RNA分子的共价键联。在真核生物体中,大多数的信使RNA(mRNA)分子在3'端处聚腺苷酸化。3'多聚腺苷酸尾是通过酶,即聚腺苷酸化聚合酶的作用添加至前体mRNA中的较长腺嘌呤核苷酸序列(通常数百个腺嘌呤核苷酸)。在高级真核生物中,多聚腺苷酸尾被添加至含有特定序列,即聚腺苷酸化信号的转录物上。多聚腺苷酸尾及其所结合的蛋白质有助于保护mRNA免于被外切核酸酶降解。聚腺苷酸化对于转录终止、mRNA从核输出以及翻译也很重要。聚腺苷酸化是在DNA转录成RNA之后立即在核中发生,但另外也可以稍后在细胞质中发生。在转录终止后,mRNA链通过与RNA聚合酶缔合的内切核酸酶复合物作用裂解。裂解位点通常以裂解位点附近碱基序列AAUAAA的存在为特征。在mRNA裂解后,腺苷残基被添加至游离3'端的裂解位点处。

[0180] 如本文所使用,“短暂”是指在数小时、数天或数周时间内非整合转基因的表达,其中该表达时间段小于该基因在整合至宿主细胞中的基因组中或包含在稳定质粒复制子内时表达的时间段。

[0181] 术语“信号转导途径”是指在信号从细胞的一部分传播至细胞另一部分中起作用的多个信号转导分子之间的生物化学关系。短语“细胞表面受体”包括能够跨细胞膜接收信号并传播信号的分子和分子复合物。

[0182] 术语“受试者”意图包括在其中可引起免疫反应的活生物体(例如哺乳动物、人)。

[0183] 术语“大体上纯化的”细胞是指基本上不含其它细胞类型的细胞。大体上纯化的细胞还指已经与在其天然存在状态下通常与其相关联的其它细胞类型分离的细胞。在一些情形中,一群大体上纯化的细胞是指一群同源细胞。在其它情形中,这一术语简单地指已经与在其天然状态下天然相关联的细胞分离的细胞。在一些方面,细胞是在体外培养的。在其它方面,细胞不是在体外培养的。

[0184] 如本文所使用,术语“治疗性(therapeutic)”意思指治疗(treatment)。治疗作用是通过减轻、抑制、缓解或根除疾病状态获得。

[0185] 如本文所使用,术语“预防”意思指疾病或疾病状态的预防或防护性治疗。

[0186] 在本发明的上下文中,“肿瘤抗原”或“过度增生性病征抗原”或“与过度增生性病征有关的抗原”是指特定过度增生性病征共有的抗原。在某些方面,本发明的过度增生性病征抗原是来源于癌症,包括但不限于,原发性或转移性黑色素瘤、胸腺瘤、淋巴瘤、肉瘤、肺癌、肝癌、NHL、白血病、子宫癌、子宫颈癌、膀胱癌、肾癌,以及腺癌,如乳癌、前列腺癌、卵巢癌、胰腺癌等。

[0187] 术语“转染”或“转化”或“转导”是指将外源性核酸转移或引入宿主细胞中的过程。“转染”或“转化”或“转导”的细胞是被外源性核酸转染、转化或转导的细胞。细胞包括原代受试者细胞和其后代。

[0188] 术语“特异性结合”是指识别并结合样品中存在的同源结合配偶体(例如CD19),但未必并且基本上不识别或结合样品中的其它分子的抗体、抗体片段或特定配体。

[0189] 范围:在本公开通篇,本发明的各个方面可以通过范围形式呈现。应了解,呈范围形式的描述仅为了便利和简洁起见,而不应解释为对本发明范围的固定限制。因此,对范围的描述应视为具体地公开所有可能的子范围以及在该范围内的个别数字值。举例来说,对范围,如从1至6的描述应视为具体地公开子范围,如从1至3、从1至4、从1至5、从2至4、从2至6、从3至6等,以及在该范围内的个别数字,例如1、2、2.7、3、4、5、5.3及6。作为另一举例,一个范围,如95-99%同一性,包括具有95%、96%、97%、98%或99%同一性的事物,并且包括如96-99%、96-98%、96-97%、97-99%、97-98%及98-99%同一性等子范围。无论范围宽度如何,此均适用。

[0190] 描述

[0191] 本文提供了使用T细胞受体(TCR)融合蛋白的物质组合物以及使用T细胞受体(TCR)融合蛋白治疗如癌症等疾病的方法。如本文所使用,“T细胞受体(TCR)融合蛋白”或“TFP”包括来源于组成TCR的各种多肽的重组多肽,该重组多肽一般能够i)结合至靶细胞上的表面抗原;及ii)典型地当共定位于T细胞中或表面上时与完整TCR复合物的其它多肽组分相互作用。如本文所提供,相较于嵌合抗原受体,TFP提供了相当大的益处。术语“嵌合抗

原受体”或替代地“CAR”是指包含呈scFv形式的细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域及细胞质信号传导结构域(在本文中又称为“细胞内信号传导结构域”)的重组多肽,所述细胞质信号传导结构域包含来源于如下所定义的刺激性分子的功能性信号传导结构域。一般来说,CAR的中心细胞内信号传导结构域来源于通常发现与TCR复合物相缔合的CD3 $\zeta$ 链。CD3 $\zeta$ 信号传导结构域可以与来源于至少一个共刺激分子,如4-1BB(即,CD137)、CD27和/或CD28的一个或多个功能性信号传导结构域融合。

[0192] T细胞受体(TCR)融合蛋白(TFP)

[0193] 本发明涵盖编码TFP的重组DNA构建体,其中该TFP包含特异性结合至CD19,例如人CD19的抗体片段,其中抗体片段的序列与编码TCR亚基或其部分的核酸序列相邻并且在同一阅读框中。本发明涵盖编码TFP的重组DNA构建体,其中该TFP包含特异性结合至BCMA,例如人BCMA的抗体片段,其中抗体片段的序列与编码TCR亚基或其部分的核酸序列相邻并且在同一阅读框中。本文提供的TFP能够与一个或多个内源性TCR亚基(或替代地,一个或多个外源性TCR亚基,或内源性TCR亚基和外源性TCR亚基的组合)缔合以便形成功能性TCR复合物。

[0194] 在一个方面,本发明的TFP包含靶特异性结合元件,又称为抗原结合结构域。部分的选择取决于界定靶细胞表面的靶抗原的类型和数量。举例来说,可选择抗原结合结构域以识别在与特定疾病状态有关的靶细胞上充当细胞表面标志物的靶抗原。因此,可以充当本发明TFP中的抗原结合结构域的靶抗原的细胞表面标志物的实例包括与病毒、细菌和寄生虫感染;自身免疫疾病;及癌性疾病(例如恶性疾病)有关的那些。

[0195] 在一个方面,通过将抗原结合结构域工程改造至特异性结合所需抗原的TFP中,可以使TFP介导的T细胞反应针对所关注抗原。

[0196] 在一个方面,TFP中包含抗原结合结构域的部分包含靶向CD19的抗原结合结构域。在一个方面,抗原结合结构域靶向人CD19。在一个方面,TFP中包含抗原结合结构域的部分包含靶向BCMA的抗原结合结构域。在一个方面,抗原结合结构域靶向人BCMA。

[0197] 抗原结合结构域可以是结合至该抗原的任何结构域,包括但不限于单克隆抗体、多克隆抗体、重组抗体、人抗体、人源化抗体及其功能片段,包括但不限于单结构域抗体,如重链可变结构域( $V_H$ )、轻链可变结构域( $V_L$ )及骆驼源性纳米抗体的可变结构域( $V_{HH}$ ),以及本领域中已知可用作抗原结合结构域的替代性支架,如重组纤连蛋白结构域、anticalin、DARPIN等。同样,特异性识别并结合靶抗原的天然或合成配体也可以用作TFP的抗原结合结构域。在一些情形中,抗原结合结构域宜来源于与最终将使用TFP相同的物种。举例来说,对于人来说,TFP的抗原结合结构域在抗体或抗体片段的抗原结合结构域中包含人或人源化残基可能是有益的。

[0198] 因此,在一个方面,抗原结合结构域包含人源化或人抗体或抗体片段,或者鼠类抗体或抗体片段。在一个实施方案中,人源化或人抗CD19或抗BCMA结合结构域包含本文所述的人源化或人抗CD19或抗BCMA结合结构域的一个或多个(例如全部三个)轻链互补决定区1(LC CDR1)、轻链互补决定区2(LC CDR2)及轻链互补决定区3(LC CDR3),和/或本文所述的人源化或人抗CD19结合结构域的一个或多个(例如全部三个)重链互补决定区1(HC CDR1)、重链互补决定区2(HC CDR2)及重链互补决定区3(HC CDR3),例如该人源化或人抗CD19或抗BCMA结合结构域包含一个或多个,例如全部三个LC CDR以及一个或多个,例如全部三个HC

CDR。在一个实施方案中,人源化或人抗CD19结合结构域包含本文所述的人源化或人抗CD19或抗BCMA结合结构域的一个或多个(例如全部三个)重链互补决定区1(HC CDR1)、重链互补决定区2(HC CDR2)及重链互补决定区3(HC CDR3),例如该人源化或人抗CD19或抗BCMA结合结构域具有两个可变重链区,各自包含本文所述的HC CDR1、HC CDR2及HC CDR3。在一个实施方案中,人源化或人抗CD19或抗BCMA结合结构域包含本文所述的人源化或人轻链可变区和/或本文所述的人源化或人重链可变区。在一个实施方案中,人源化或人抗CD19或抗BCMA结合结构域包含本文所述的人源化重链可变区,例如至少两个本文所述的人源化或人重链可变区。在一个实施方案中,抗CD19或抗BCMA结合结构域是scFv,该scFv包含具有本文所提供的氨基酸序列的轻链和重链。在一个实施方案中,该抗CD19或抗BCMA结合结构域(例如scFv)包含:包含在本文所提供的轻链可变区的氨基酸序列中具有至少一个、两个或三个修饰(例如取代)但不超过30、20或10个修饰(例如取代)的氨基酸序列,或与本文所提供的氨基酸序列具有95-99%同一性的序列的轻链可变区;和/或包含在本文所提供的重链可变区氨基酸序列中具有至少一个、两个或三个修饰(例如取代)但不超过30、20或10个修饰(例如取代)的氨基酸序列,或与本文所提供的氨基酸序列具有95-99%同一性的序列的重链可变区。在一个实施方案中,人源化或人抗CD19或抗BCMA结合结构域是scFv,并且包含本文所述的氨基酸序列的轻链可变区通过连接子,例如本文所述的连接子连接至包含本文所述的氨基酸序列的重链可变区。在一个实施方案中,人源化抗CD19或抗BCMA结合结构域包括 $(Gly_4-Ser)_n$ 连接子,其中n是1、2、3、4、5或6,优选是3或4。scFv的轻链可变区和重链可变区可以例如呈以下取向中的任一种:轻链可变区-连接子-重链可变区,或重链可变区-连接子-轻链可变区。在一些情形中,该连接子序列包括长连接子(LL)序列。在一些情形中,该长连接子序列包括 $(G_4S)_n$ ,其中n=2至4。在一些情形中,该连接子序列包括短连接子(SL)序列。在一些情形中,该短连接子序列包括 $(G_4S)_n$ ,其中n=1至3。

[0199] 在一些方面,当抗体的特定序列或区域被修饰成使得与人体中天然产生的抗体或其片段类似性增加时,非人抗体被人源化。在一个方面,抗原结合结构域被人源化。

[0200] 人源化抗体可以使用本领域中已知的众多技术产生,包括但不限于,CDR移植(参见例如,欧洲专利号EP 239,400;国际公布号WO 91/09967;以及美国专利号5,225,539、5,530,101和5,585,089,各自以引用的方式整体并入本文中)、镶饰(veneering)或表面重塑(resurfacing)(参见例如,欧洲专利号EP 592,106和EP 519,596;Padlan,1991,Molecular Immunology,28(4/5):489-498;Studnicka等人,1994,Protein Engineering,7(6):805-814;以及Roguska等人,1994,PNAS,91:969-973,各自以引用的方式整体并入本文中)、链改组(参见例如,美国专利号5,565,332,以引用的方式整体并入本文中),以及例如美国专利申请公布号US2005/0042664、美国专利申请公布号US2005/0048617、美国专利号6,407,213、美国专利号5,766,886、国际公布号WO 9317105;Tan等人,J.Immunol.,169:1119-25(2002);Caldas等人,Protein Eng.,13(5):353-60(2000);Morea等人,Methods,20(3):267-79(2000);Baca等人,J.Biol.Chem.,272(16):10678-84(1997);Roguska等人,Protein Eng.,9(10):895-904(1996);Couto等人,Cancer Res.,55(23增刊):5973s-5977s(1995);Couto等人,Cancer Res.,55(8):1717-22(1995);Sandhu J S,Gene,150(2):409-10(1994),以及Pedersen等人,J.Mol.Biol.,235(3):959-73(1994)中所公开的技术,所述参考文献各自以引用的方式整体并入本文中。通常,框架区中的框架残基将被来自CDR供体抗

体的相应残基取代,以改变,例如改善抗原结合。这些框架取代是通过本领域中众所周知的方法鉴别,例如通过对CDR与框架残基相互作用进行建模以鉴别对于抗原结合很重要的框架残基以及进行序列比较以鉴别在特定位置处的不常见框架残基(参见例如,Queen等人,美国专利号5,585,089;和Riechmann等人,1988,Nature,332:323,以引用的方式整体并入本文中)。

[0201] 人源化抗体或抗体片段保留有一个或多个来自非人来源的氨基酸残基。这些非人氨基酸残基通常称为“输入”残基,这些残基典型地是从“输入”可变结构域获得。如本文所提供,人源化抗体或抗体片段包含一个或多个来自非人免疫球蛋白分子的CDR,以及框架区,其中构成框架的氨基酸残基完全或主要来源于人种系。用于使抗体或抗体片段人源化的多种技术是本领域中众所周知的并且基本上可以遵循Winter和同事的方法(Jones等人,Nature,321:522-525(1986);Riechmann等人,Nature,332:323-327(1988);Verhoeyen等人,Science,239:1534-1536(1988)),通过用啮齿动物的CDR或CDR序列取代人抗体的相应序列,即CDR移植进行(EP 239,400;PCT公布号WO 91/09967;以及美国专利号4,816,567、6,331,415、5,225,539、5,530,101、5,585,089、6,548,640,其内容以引用的方式整体并入本文中)。在此类人源化抗体和抗体片段中,基本上少于完整的人可变结构域被来自非人物种的相应序列取代。人源化抗体通常是一些CDR残基并且可能一些框架(FR)残基被来自啮齿动物抗体中类似位点的残基取代的人抗体。也可以通过镶饰或表面重塑(EP 592,106;EP 519,596;Padlan,1991,Molecular Immunology,28(4/5):489-498;Studnicka等人,Protein Engineering,7(6):805-814(1994);以及Roguska等人,PNAS,91:969-973(1994))或链改组(美国专利号5,565,332)使抗体和抗体片段人源化,所述文献的内容以引用的方式整体并入本文中。

[0202] 选择用于制备人源化抗体的人轻链和重链可变结构域应降低抗原性。根据所谓的“最佳配合(best-fit)”方法,针对已知人可变结构域序列的完整文库筛选啮齿动物抗体的可变结构域的序列。最接近啮齿动物序列的人序列则被接受作为人源化抗体的人框架(FR)(Sims等人,J.Immunol.,151:2296(1993);Chothia等人,J.Mol.Biol.,196:901(1987),其内容以引用的方式整体并入本文中)。另一方法使用了来源于具有特定轻链或重链亚组的所有人抗体的共同序列的特定框架。该相同框架可以用于若干不同的人源化抗体(参见例如,Nicholson等人,Mol.Immun.34(16-17):1157-1165(1997);Carter等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,89:4285(1992);Presta等人,J.Immunol.,151:2623(1993),其内容以引用的方式整体并入本文中)。在一些实施方案中,重链可变区的框架区,例如全部四个框架区来源于V<sub>H</sub>4-4-59种系序列。在一个实施方案中,该框架区可以例如在相应鼠类序列的氨基酸中包含一个、两个、三个、四个或五个修饰,例如取代。在一些实施方案中,轻链可变区的框架区,例如全部四个框架区来源于VK3-1.25种系序列。在一个实施方案中,该框架区可以例如在相应鼠类序列的氨基酸中包含一个、两个、三个、四个或五个修饰,例如取代。

[0203] 在一些方面,本发明的TFP组合中包含抗体片段的部分被人源化而保持对靶抗原的高亲和力及其它有利的生物特性。根据本发明的一个方面,人源化抗体和抗体片段是通过使用亲本和人源化序列的三维模型分析亲本序列和各种概念性人源化产物的方法来制备。三维免疫球蛋白模型通常是可得的并且是本领域技术人员所熟悉的。可用计算机程

序图解并展示了所选候选免疫球蛋白序列的可能的三维构象结构。检查这些展示允许分析残基在候选免疫球蛋白序列功能中的可能作用,例如分析影响候选免疫球蛋白结合靶抗原的能力的残基。以此方式,可以从受体序列和输入序列中选出FR残基并组合,以获得所希望的抗体或抗体片段特征,如对靶抗原增加的亲和力。一般来说,CDR残基直接并且最充分地参与影响抗原结合。

[0204] 人源化抗体或抗体片段可以保持与原始抗体类似的抗原特异性,例如在本发明中,结合人CD19的能力。在一些实施方案中,人源化抗体或抗体片段可以具有改善的结合至人CD19或人BCMA的亲和力和/或特异性。

[0205] 在一个方面,抗CD19或抗BCMA结合结构域是以抗体或抗体片段的特定功能特征或特性表征。举例来说,在一个方面,本发明的TFP组合物中包含抗原结合结构域的部分特异性结合人CD19或人BCMA。在一个方面,抗原结合结构域与人CD19的结合特异性与Nicholson等人, *Mol. Immun.* 34 (16-17) :1157-1165 (1997) 中所述的FMC63scFv相同或类似。在一个方面,本发明涉及构成抗体或抗体片段的抗原结合结构域,其中该抗原结合结构域特异性结合至CD19或BCMA蛋白或其片段,其中该抗体或抗体片段包括含本文所提供的氨基酸序列的可变轻链和/或可变重链。在某些方面,scFv与前导序列相邻并在同一阅读框中。

[0206] 在一个方面,抗CD19或抗BCMA结合结构域是一个片段,例如单链可变片段(scFv)。在一个方面,抗CD19结合结构域是Fv、Fab、(Fab')<sub>2</sub>或双功能(例如双特异性)杂合抗体(例如Lanzavecchia等人, *Eur. J. Immunol.* 17, 105 (1987))。在一个方面,本发明的抗体和其片段以野生型或增强的亲和力结合CD19蛋白。

[0207] 本文还提供了用于获得对于靶抗原(例如CD19、BCMA或本文别处关于融合部分结合结构域的标所描述的任何靶抗原)具有特异性的抗体抗原结合结构域的方法,该方法包括通过在本文所陈述的V<sub>H</sub>结构域氨基酸序列中添加、缺失、取代或插入一个或多个氨基酸来提供作为该V<sub>H</sub>结构域的氨基酸序列变体的V<sub>H</sub>结构域,任选将由此获得的V<sub>H</sub>结构域与一个或多个V<sub>L</sub>结构域组合,并测试V<sub>H</sub>结构域或一个或多个V<sub>H</sub>/V<sub>L</sub>组合以鉴别对所关注的靶抗原(例如CD19或BCMA)具有特异性并任选具有一种或多种所希望的特性的特异性结合成员或抗体抗原结合结构域。

[0208] 在一些情形中,V<sub>H</sub>结构域和scFv可以根据本领域中已知的方法制备(参见例如, Bird等人(1988) *Science* 242:423-426和Huston等人,(1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883)。scFv分子可以通过使用柔性多肽连接子将V<sub>H</sub>区和V<sub>L</sub>区连接在一起产生。scFv分子包含具有最佳长度和/或氨基酸组成的连接子(例如Ser-Gly连接子)。连接子长度会明显影响scFv的可变区折叠和相互作用情况。事实上,如果使用较短的多肽连接子(例如在5-10个氨基酸之间),则防止链内折叠。链间折叠还是使两个可变区连在一起形成功能性表位结合位点所需的。在一些情形中,该连接子序列包括长连接子(LL)序列。在一些情形中,该长连接子序列包括(G<sub>4</sub>S)<sub>n</sub>,其中n=2至4。在一些情形中,该连接子序列包括短连接子(SL)序列。在一些情形中,该短连接子序列包括(G<sub>4</sub>S)<sub>n</sub>,其中n=1至3。关于连接子取向和大小的实例,参见例如,Hollinger等人,1993 *Proc Natl Acad. Sci. U.S.A.* 90:6444-6448;美国专利申请公布号2005/0100543、2005/0175606、2007/0014794;以及PCT公布号W02006/020258和W02007/024715,以引用的方式并入本文中。

[0209] scFv可以在其V<sub>L</sub>区与V<sub>H</sub>区之间包含约10、11、12、13、14、15或超过15个残基的连接

子。该连接子序列可以包含任何天然存在的氨基酸。在一些实施方案中,该连接子序列包含氨基酸甘氨酸和丝氨酸。在另一实施方案中,该连接子序列包含数组甘氨酸和丝氨酸重复序列,如  $(\text{Gly}_4\text{Ser})_n$ , 其中n是等于或大于1的正整数。在一个实施方案中,连接子可以是  $(\text{Gly}_4\text{Ser})_4$  或  $(\text{Gly}_4\text{Ser})_3$ 。改变连接子长度可以保持或增强活性,由此在活性研究中产生优良功效。在一些情形中,该连接子序列包括长连接子(LL)序列。在一些情形中,该长连接子序列包括  $(\text{G}_4\text{S})_n$ , 其中n=2至4。在一些情形中,该连接子序列包括短连接子(SL)序列。在一些情形中,该短连接子序列包括  $(\text{G}_4\text{S})_n$ , 其中n=1至3。

#### [0210] 稳定性和突变

[0211] 可以参照常规划对照scFv分子或全长抗体的生物物理特性(例如热稳定性)评价抗CD19或抗BCMA结合结构域,例如scFv分子(例如可溶性scFv)的稳定性。在一个实施方案中,人源化或人scFv在所描述的测定中的热稳定性比亲本scFv高约0.1℃、约0.25℃、约0.5℃、约0.75℃、约1℃、约1.25℃、约1.5℃、约1.75℃、约2℃、约2.5℃、约3℃、约3.5℃、约4℃、约4.5℃、约5℃、约5.5℃、约6℃、约6.5℃、约7℃、约7.5℃、约8℃、约8.5℃、约9℃、约9.5℃、约10℃、约11℃、约12℃、约13℃、约14℃或约15℃。

[0212] 抗CD19或抗BCMA结合结构域,例如scFv的改善的热稳定性随后被赋予完整CD19-TFP构建体,由此改善抗CD19或抗BCMA TFP构建体的治疗特性。相较于常规抗体,抗CD19或抗BCMA结合结构域,例如scFv的热稳定性可以有至少约2℃或3℃的改善。在一个实施方案中,相较于常规抗体,抗CD19或抗BCMA结合结构域,例如scFv的热稳定性有1℃的改善。在另一实施方案中,相较于常规抗体,抗CD19结合结构域,例如scFv的热稳定性有2℃的改善。在另一实施方案中,相较于常规抗体,scFv的热稳定性有4℃、5℃、6℃、7℃、8℃、9℃、10℃、11℃、12℃、13℃、14℃或15℃的改善。比较可以例如在本文所公开的scFv分子与作为scFv  $V_H$  和  $V_L$  来源的抗体的scFv分子或Fab片段之间进行。热稳定性可以使用本领域中已知的方法测量。例如,在一个实施方案中,可以测量 $T_M$ 。用于测量 $T_M$ 的方法以及测定蛋白质稳定性的其它方法于下文更详细地描述。

[0213] scFv中的突变(通过可溶性scFv的人源化或直接诱变引起)改变scFv的稳定性并且改善scFv和抗CD19或抗BCMA TFP构建体的总体稳定性。使用如 $T_M$ 、变性温度和聚集温度等测量值来比较人源化scFv与鼠类scFv的稳定性。在一个实施方案中,抗CD19或抗BCMA结合结构域,例如scFv包含至少一个由人源化过程引起的突变,由此突变的scFv赋予抗CD19TFP构建体改善的稳定性。在另一实施方案中,抗CD19结合结构域,例如scFv包含至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个由人源化过程引起的突变,由此突变的scFv赋予CD19-TFP或BCMA-TFP构建体改善的稳定性。

[0214] 在一个方面,TFP的抗原结合结构域包含与本文所述的抗原结合结构域氨基酸序列同源的氨基酸序列,并且该抗原结合结构域保持本文所述的抗CD19或抗BCMA抗体片段所希望的功能特性。在一个具体方面中,本发明的TFP组合物包含抗体片段。在另一方面,该抗体片段包含scFv。

[0215] 在各个方面,通过修饰一个或两个可变区(例如 $V_H$ 和/或 $V_L$ )内,例如一个或多个CDR区内和/或一个或多个框架区内的一个或多个氨基酸残基来对TFP的抗原结合结构域进行工程改造。在一个具体方面中,本发明的TFP组合物包含抗体片段。在另一方面,该抗体片段包含scFv。

[0216] 本领域的普通技术人员应了解,本发明的抗体或抗体片段可以被进一步进行修饰以使其氨基酸序列改变(例如相对于野生型),但不改变所希望的活性。举例来说,可以在该蛋白质中进行额外核苷酸取代,由此在“非必需”氨基酸残基处进行氨基酸取代。举例来说,一个分子中的非必需氨基酸残基可以被来自同一侧链家族的另一氨基酸残基置换。在另一实施方案中,一连串氨基酸可以被结构类似但侧链家族成员的次序和/或组成不同的序列置换,例如可以进行保守取代,其中氨基酸残基被具有类似侧链的氨基酸残基置换。

[0217] 具有类似侧链的氨基酸残基家族已在本领域中有定义,包括碱性侧链(例如赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、酸性侧链(例如天冬氨酸、谷氨酸)、不带电荷极性侧链(例如甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸)、非极性侧链(例如丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、色氨酸)、 $\beta$ -分支侧链(例如苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)及芳香族侧链(例如酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。

[0218] 在两个或更多个核酸或多肽序列情形中,同一性百分比是指相同的两个或更多个序列。当在比较窗或指定区内比较且对准以达到最大对应性时,如使用以下序列比较算法之一或通过手动对准和目测检查所测量,如果两个序列具有指定百分比的氨基酸残基或核苷酸相同(例如,在指定区内,或在未指定时在整个序列内具有60%同一性,任选地70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性),则两个序列为“大体上同一”。任选地,同一性存在于长度是至少约50个核苷酸(或10个氨基酸)的区域内,或更优选存在于长度是100至500或1000或更多个核苷酸(或20、50、200或更多个氨基酸)的区域内。

[0219] 为进行序列比较,典型地一个序列充当参考序列,用以与测试序列相比较。当使用序列比较算法时,将测试序列和参考序列输入计算机,必要时指定子序列座标,并且指定序列算法程序参数。可以使用默认的程序参数或者可以指定替代性参数。随后序列比较算法基于程序参数计算测试序列相对于参考序列的序列同一性百分比。供比较序列的比对方法是本领域中众所周知的。可以利用Smith和Waterman(1970) *Adv. Appl. Math.* 2:482c的局部同源算法;Needleman和Wunsch, (1970) *J. Mol. Biol.* 48:443的同源比对算法;Pearson和Lipman, (1988) *Proc. Nat' l. Acad. Sci. USA* 85:2444的相似性搜索方法;这些算法的计算机执行(Wisconsin Genetics软件包中的GAP、BESTFIT、FASTA及TFASTA, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI);或者人工比对和目测检查(参见例如, Brent等人, (2003) *Current Protocols in Molecular Biology*), 来进行供比较序列的最佳比对。适用于测定序列同一性和序列相似性百分比的算法的两个实例是BLAST及BLAST 2.0算法, 分别描述于Altschul等人, (1977) *Nuc. Acids Res.* 25:3389-3402; 及Altschul等人, (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-410中。执行BLAST分析的软件通过National Center for Biotechnology Information公开可用。

[0220] 在一个方面,本发明涵盖起始抗体或片段(例如scFv)氨基酸序列的修饰,这些修饰产生功能等效的分子。举例来说,TFP中包含的抗CD19或抗BCMA结合结构域,例如scFv的 $V_H$ 或 $V_L$ 可以经过修饰以与抗CD19结合结构域,例如scFv的起始 $V_H$ 或 $V_L$ 框架保持至少约70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%同一性。

为了产生功能等效的分子,本发明涵盖完整TFP构建体的修饰,例如在TFP构建体各种结构域的一个或多个氨基酸序列中的修饰。TFP构建体可以经过修饰以与起始TFP构建体保持至少约70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%同一性。

#### [0221] 细胞外结构域

[0222] 细胞外结构域可以来源于天然来源或重组来源。在该来源是天然来源的情况下,该结构域可以来源于任何蛋白质,而且特别是膜结合或跨膜蛋白。在一个方面,细胞外结构域能够与跨膜结构域缔合。特别适用于本发明中的细胞外结构域可以至少包括例如T细胞受体 $\alpha$ 、 $\beta$ 或 $\zeta$ 链,或CD3 $\epsilon$ 、CD3 $\gamma$ 或CD3 $\delta$ ,或在替代实施方案中CD28、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154的细胞外区域。

#### [0223] 跨膜结构域

[0224] 一般来说,TFP序列含有由单一基因组序列编码的细胞外结构域和跨膜结构域。在替代性实施方案中,TFP可以被设计成包含与TFP细胞外结构域异源的跨膜结构域。跨膜结构域可以包括与跨膜区邻近的一个或多个额外氨基酸,例如与作为跨膜蛋白来源的蛋白质的细胞外区域缔合的一个或多个氨基酸(例如细胞外区域的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或超过15个氨基酸)和/或与作为跨膜蛋白来源的蛋白质的细胞内区域缔合的一个或多个额外氨基酸(例如细胞内区域的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或超过15个氨基酸)。在一个方面,跨膜结构域是与所用TFP的其它结构域之一缔合的跨膜结构域。在一些情形中,跨膜结构域可以经过选择或通过氨基酸取代进行修饰以避免此类结构域结合至相同或不同表面膜蛋白的跨膜结构域,例如以使与受体复合物的其它成员的相互作用减到最少。在一个方面,跨膜结构域能够与TFP-T细胞表面上的另一TFP发生同二聚化。在一个不同方面,跨膜结构域的氨基酸序列可以经过修饰或取代,由此使与同一TFP中存在的天然结合配偶体的结合结构域的相互作用减到最小。

[0225] 跨膜结构域可以来源于天然来源或重组来源。在该来源是天然来源的情况下,该结构域可以来源于任何膜结合或跨膜蛋白。在一个方面,跨膜结构域能够向细胞内结构域进行信号传导,只要TFP结合至靶标。特别适用于本发明中的跨膜结构域可以至少包括例如T细胞受体 $\alpha$ 、 $\beta$ 或 $\zeta$ 链、CD28、CD3 $\epsilon$ 、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154的跨膜区域。

[0226] 在一些情形中,跨膜结构域可以通过铰链,例如来自人蛋白质的铰链连接至TFP的细胞外区域,例如TFP的抗原结合结构域。举例来说,在一个实施方案中,铰链可以是人免疫球蛋白(Ig)铰链,例如IgG4铰链,或CD8a铰链。

#### [0227] 连接子

[0228] 任选地,长度介于2与10个氨基酸之间的短寡肽或多肽连接子可以在TFP的跨膜结构域与细胞质区域之间形成连接。甘氨酸-丝氨酸对提供特别适合的连接子。举例来说,在一个方面,连接子包含氨基酸序列GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:3)。在一些实施方案中,连接子是由核苷酸序列GGTGGCGGAGGTTCTGGAGGTGGAGGTTCC (SEQ ID NO:4) 编码。

#### [0229] 细胞质结构域

[0230] 如果TFP含有CD3 $\gamma$ 、 $\delta$ 或 $\epsilon$ 多肽,则TFP的细胞质结构域可以包括细胞内信号传导结

构域;TCR $\alpha$ 和TCR $\beta$ 亚基一般没有信号传导结构域。细胞内信号传导结构域一般负责引入了TFP的免疫细胞的至少一种正常效应功能的活化。术语“效应功能”是指细胞的专有功能。T细胞的效应功能可以例如是细胞溶解活性或辅助活性,包括细胞因子的分泌。因此,术语“细胞内信号传导结构域”是指蛋白质中转导效应功能信号并引导细胞执行专门功能的部分。尽管通常可以采用完整的细胞内信号传导结构域,但在许多情况中不必使用完整链。就使用细胞内信号传导结构域的截短部分来说,可以使用此截短部分替代完整链,只要该截短部分转导效应功能信号即可。因此,术语细胞内信号传导结构域意图包括足以转导效应功能信号的细胞内信号传导结构域的任何截短部分。

[0231] 用于本发明的TFP中的细胞内信号传导结构域的实例包括T细胞受体(TCR)和一起作用以在抗原受体接合后起始信号转导的辅助受体的细胞质序列,以及这些序列的任何衍生物或变体,和具有相同功能能力的任何重组序列。

[0232] 已知由单独TCR产生的信号不足以完全活化天然T细胞并且需要二次信号和/或共刺激信号。因此,天然T细胞活化可以被认为是由两类截然不同的细胞质信号传导序列介导:通过TCR起始抗原依赖性初次活化的序列(初级细胞内信号传导结构域)以及以不依赖于抗原的方式作用以提供二次或共刺激信号的序列(二级细胞质结构域,例如共刺激性结构域)。

[0233] 初级信号传导结构域以刺激性方式或以抑制性方式调控TCR复合物的初次活化。以刺激性方式作用的初级细胞内信号传导结构域可以含有信号传导基序,称为免疫受体酪氨酸活化基序(ITAM)。

[0234] 特别适用于本发明中的含有ITAM的初级细胞质信号传导序列的实例包括CD3 $\zeta$ 、FcR $\gamma$ 、FcR $\beta$ 、CD3 $\gamma$ 、CD3 $\delta$ 、CD3 $\epsilon$ 、CD5、CD22、CD79a、CD79b以及CD66d的那些。在一个实施方案中,本发明的TFP包含细胞内信号传导结构域,例如CD3 $\epsilon$ 的初级信号传导结构域。在一个实施方案中,初级信号传导结构域包含修饰的ITAM结构域,例如活性相较于天然ITAM结构域有所改变(例如增加或降低)的突变的ITAM结构域。在一个实施方案中,初级信号传导结构域包括含修饰的ITAM的初级细胞内信号传导结构域,例如含优化和/或截短的ITAM的初级细胞内信号传导结构域。在一个实施方案中,初级信号传导结构域包含一个、两个、三个、四个或更多个ITAM基序。

[0235] TFP的细胞内信号传导结构域可包含CD3 $\zeta$ 信号传导结构域本身,或者该结构域可以与可用于本发明的TFP情形中的任何其它所希望的细胞内信号传导结构域组合。举例来说,TFP的细胞内信号传导结构域可以包含CD3 $\epsilon$ 链部分和共刺激信号传导结构域。共刺激信号传导结构域是指TFP中包含共刺激分子细胞内结构域的部分。共刺激分子是淋巴细胞对抗原高效反应所需的除抗原受体或其配体外的细胞表面分子。这些分子的实例包括CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30、CD40、PD1、ICOS、淋巴细胞功能相关抗原-1(LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3,以及与CD83特异性结合的配体等。举例来说,经展示,CD27共刺激可在体外增强人TFP-T细胞的扩增、效应功能及存活,并且在体内加强人T细胞存留时间和抗肿瘤活性(Song等人,Blood.2012;119(3):696-706)。

[0236] 在本发明TFP的细胞质部分内的细胞内信号传导序列可以按随机或指定次序相互连接。任选地,长度在例如2与10个氨基酸之间(例如2、3、4、5、6、7、8、9或10个氨基酸)的短寡肽或多肽连接子可以在细胞内信号传导序列之间形成连接。

[0237] 在一个实施方案中,可以使用甘氨酸-丝氨酸对作为适合连接子。在一个实施方案中,可以使用单一氨基酸,例如丙氨酸、甘氨酸,作为适合连接子。

[0238] 在一个方面,本文所描述的表达TFP的细胞还可以包含第二TFP,例如包括针对例如相同靶标(CD19或BCMA)或不同靶标(例如CD123)的不同抗原结合结构域的第二TFP。在一个实施方案中,当表达TFP的细胞包含两种或更多种不同TFP时,这些不同TFP的抗原结合结构域可以使得这些抗原结合结构域不会彼此相互作用。举例来说,表达第一和第二TFP的细胞可以具有呈例如片段形式(例如scFv)的第一TFP的抗原结合结构域,该抗原结合结构域不与第二TFP的抗原结合结构域形成缔合,例如该第二TFP的抗原结合结构域是V<sub>HH</sub>。

[0239] 在另一方面,本文所述的表达TFP的细胞还可以表达另一试剂,例如增强表达TFP的细胞的活性的试剂。举例来说,在一个实施方案中,该试剂可以是对抑制性分子进行抑制的试剂。在一些实施方案中,抑制性分子,例如PD1,可以降低表达TFP的细胞产生免疫效应反应的能力。抑制性分子的实例包括PD1、PD-L1、CTLA4、TIM3、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4及TGFR $\beta$ 。在一个实施方案中,对抑制性分子进行抑制的试剂包含第一多肽,例如抑制性分子,以及与其缔合的向细胞提供阳性信号的第二多肽,例如本文所述的细胞内信号传导结构域。在一个实施方案中,该试剂包含第一多肽,例如抑制性分子,如PD1、LAG3、CTLA4、CD160、BTLA、LAIR1、TIM3、2B4及TIGIT,或这些分子中任一个的片段(例如这些分子中任一个的细胞外结构域的至少一部分),以及第二多肽,即本文所述的细胞内信号传导结构域(例如包含共刺激性结构域(例如4-1BB、CD27或CD28,例如,如本文所描述)和/或初级信号传导结构域(例如本文所述的CD3 $\zeta$ 信号传导结构域)。在一个实施方案中,该试剂包含第一多肽PD1或其片段(例如PD1细胞外结构域的至少一部分),和本文所述的细胞内信号传导结构域第二多肽(例如本文所述的CD28信号传导结构域和/或本文所述的CD3 $\zeta$ 信号传导结构域)。PD1是CD28受体家族的抑制性成员,该家族还包括CD28、CTLA-4、ICOS及BTLA。PD-1在活化的B细胞、T细胞和骨髓细胞上表达(Agata等人,1996Int. Immunol 8:765-75)。经显示,PD1的两个配体PD-L1和PD-L2当结合至PD1时使T细胞活化下调(Freeman等人,2000J Exp Med 192:1027-34;Latchman等人,2001Nat Immunol 2:261-8;Carter等人,2002Eur J Immunol 32:634-43)。PD-L1在人癌症中含量丰富(Dong等人,2003J Mol Med 81:281-7;Blank等人,2005Cancer Immunol.Immunother 54:307-314;Konishi等人,2004Clin Cancer Res 10:5094)。通过抑制PD1与PD-L1的局部相互作用可以保持免疫抑制。

[0240] 在一个实施方案中,该试剂包含抑制性分子的细胞外结构域(ECD),例如程序性死亡蛋白1(PD1)可以与跨膜结构域以及任选地细胞内信号传导结构域如41BB和CD3 $\zeta$ 融合(在本文中又称为PD1TFP)。在一个实施方案中,PD1TFP当与本文所述的抗CD19TFP组合使用时,改善T细胞的存留时间。在一个实施方案中,该TFP是包含PD 1细胞外结构域的PD1TFP。或者,提供了含有特异性结合至程序性死亡配体1(PD-L1)或程序性死亡配体2(PD-L2)的抗体或抗体片段如scFv的TFP。

[0241] 在另一方面,本发明提供了表达TFP的T细胞(例如TFP-T细胞)群。在一些实施方案中,该表达TFP的T细胞群包含表达不同TFP的细胞的混合物。举例来说,在一个实施方案中,该TFP-T细胞群可以包括:第一细胞,该第一细胞表达具有本文所述的抗CD19或抗BCMA结合结构域的TFP;以及第二细胞,该第二细胞表达具有不同抗CD19或抗BCMA结合结构域,例如

不同于第一细胞所表达的TFP中的抗CD19结合结构域的本文所述的抗CD19或抗BCMA结合结构域的TFP。作为另一个实例,该表达TFP的细胞群可以包括:第一细胞,该第一细胞表达包括例如本文所述的抗CD19或抗BCMA结合结构域的TFP;以及第二细胞,该第二细胞表达包括针对除CD19或BCMA外的靶标(例如另一肿瘤相关抗原)的抗原结合结构域的TFP。

[0242] 在另一方面,本发明提供一种细胞群,其中该细胞群中至少一个细胞表达具有本文所述的抗CD19或抗BCMA结构域的TFP,并且第二细胞表达另一试剂,例如增强表达TFP的细胞的活性的试剂。举例来说,在一个实施方案中,该试剂可以是对抑制性分子进行抑制的试剂。在一些实施方案中,抑制性分子例如可以降低表达TFP的细胞产生免疫效应反应的能力。抑制性分子的实例包括PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4及TGFR $\beta$ 。在一个实施方案中,对抑制性分子进行抑制的试剂包含第一多肽,例如抑制性分子,和与其缔合的向细胞提供阳性信号的第二多肽,例如本文所述的细胞内信号传导结构域。

[0243] 本文公开了用于产生编码TFP的体外转录的RNA的方法。本发明还包括编码TFP的RNA构建体,该构建体可以直接转染至细胞中。产生用于转染的mRNA的方法可以涉及在体外转录(IVT)带有专门设计的引物的模板,随后添加多聚腺苷酸,以产生含有3'和5'非翻译序列(“UTR”)、5'帽和/或内部核糖体进入位点(IRES)、待表达的核酸以及长度典型地是50-2000个碱基的多聚腺苷酸尾的构建体。由此产生的RNA可以高效地转染不同种类的细胞。在一个方面,该模板包括TFP的序列。

[0244] 在一个方面,抗CD19或抗BCMA TFP由信使RNA(mRNA)编码。在一个方面,将编码抗CD19或抗BCMA TFP的mRNA引入T细胞中以产生TFP-T细胞。在一个实施方案中,体外转录的RNA TFP可以通过短暂转染形式引入细胞中。该RNA使用聚合酶链式反应(PCR)产生的模板,通过体外转录产生。来自任何来源的所关注DNA都可以通过PCR直接转化成模板,以使用适当引物和RNA聚合酶在体外合成mRNA。DNA的来源可以是例如基因组DNA、质粒DNA、噬菌体DNA、cDNA、合成DNA序列或任何其它适当的DNA来源。所希望的体外转录模板是本发明的TFP。在一个实施方案中,打算用于PCR的DNA含有开放阅读框。该DNA可以来自生物体基因组的天然存在的DNA序列。在一个实施方案中,核酸可以包括5'和/或3'非翻译区(UTR)的一部分或全部。该核酸可以包括外显子和内含子。在一个实施方案中,打算用于PCR的DNA是人核酸序列。在另一实施方案中,打算用于PCR的DNA是包括5'和3'UTR的人核酸序列。该DNA可以替代地是通常不在天然存在的生物体中表达的人工DNA序列。示例性人工DNA序列是含有连接在一起形成编码融合蛋白的开放阅读框的基因部分的序列。连接在一起的DNA部分可以来自单一生物体或来自不止一种生物体。

[0245] 使用PCR产生模板以在体外转录用于转染的mRNA。用于执行PCR的方法是本领域中众所周知的。用于PCR中的引物被设计成具有与用作PCR模板的DNA区域大体上互补的区域。如本文所使用,“大体上互补”是指其中引物序列中的大部分或所有碱基都互补,或者一个或多个碱基不互补,或错配的核苷酸序列。大体上互补的序列能够与预定DNA靶在用于PCR的退火条件下退火或杂交。引物可以被设计成与DNA模板的任何部分大体上互补。举例来说,引物可以被设计成扩增核酸中通常在细胞中转录的部分(开放阅读框),包括5'和3'UTR。引物还可以被设计成扩增核酸中编码所关注的特定结构域的一部分。在一个实施方案中,引物被设计成扩增人cDNA的编码区,包括5'和3'UTR的全部或部分。可用于PCR的引物可

以通过本领域中众所周知的合成方法产生。“正向引物”是位于待扩增DNA序列上游的含有与DNA模板上核苷酸大体上互补的核苷酸区域的引物。“上游”在本文中用于指相对于编码链,在待扩增DNA序列的5'位。“反向引物”是位于待扩增DNA序列下游的含有与双链DNA模板大体上互补的核苷酸区域的引物。“下游”在本文中用于指相对于编码链,在待扩增DNA序列的3'位。

[0246] 可用于PCR的任何DNA聚合酶都可以用于本文所公开的方法中。试剂和聚合酶可购自众多来源。

[0247] 也可以使用能够促进稳定性和/或翻译效率的化学结构。RNA优选具有5'和3' UTR。在一个实施方案中,5' UTR的长度介于一个与3000个核苷酸之间。打算添加至编码区中的5'和3' UTR序列的长度可以通过不同方法改变,包括但不限于,设计出与UTR的不同区域退火的PCR引物。使用这一方法,本领域的普通技术人员可以改变在转录的RNA转染后获得最佳翻译效率所需的5'和3' UTR长度。

[0248] 5'和3' UTR可以是所关注核酸的天然存在的内源性5'和3' UTR。或者,可以通过将UTR序列并入正向和反向引物中或通过任何其它模板修饰来添加不是所关注核酸内源性的UTR序列的UTR序列。使用不是所关注核酸内源性的UTR序列的UTR序列可用于改变RNA的稳定性和/或翻译效率。举例来说,已知3' UTR序列中富含AU的元件可以降低mRNA的稳定性。因此,3' UTR可以基于本领域中众所周知的UTR特性进行选择或设计以增加转录的RNA的稳定性。

[0249] 在一个实施方案中,5' UTR可以含有内源性核酸的Kozak序列。或者,当通过如上文所述的PCR添加不是所关注核酸的内源序列的5' UTR时,可以通过该5' UTR序列重新设计共同Kozak序列。Kozak序列可以增加某些RNA转录物的翻译效率,但看来并非所有RNA都需要该序列才能够高效翻译。需要Kozak序列的许多mRNA是本领域中已知的。在其它实施方案中,5' UTR可以是RNA基因组在细胞中稳定的RNA病毒的5' UTR。在其它实施方案中,可以在3'或5' UTR中使用各种核苷酸类似物以阻止外切核酸酶降解mRNA。

[0250] 为了在不需要基因克隆情况下能由DNA模板合成RNA,转录启动子应连接至DNA模板中在待转录序列上游。当将用作RNA聚合酶启动子的序列添加至正向引物的5'端时, RNA聚合酶启动子被并入PCR产物中,在待转录的开放阅读框的上游。在一个优选实施方案中,启动子是T7聚合酶启动子,如本文别处所描述。其它有用的启动子包括但不限于,T3和SP6RNA聚合酶启动子。T7、T3及SP6启动子的共同核苷酸序列是本领域中已知的。

[0251] 在一个优选实施方案中,mRNA具有5'端帽和3'多聚腺苷酸尾,由此决定核糖体结合、翻译起始以及细胞中mRNA的稳定性。在环状DNA模板,例如质粒DNA上, RNA聚合酶产生不适于在真核细胞中表达的较长连接产物。在3' UTR端处线性化的质粒DNA的转录产生正常大小的mRNA,该mRNA不能有效转染真核细胞,即使它在转录之后进行了聚腺苷酸化。

[0252] 在线性DNA模板上,噬菌体T7RNA聚合酶可以使转录物的3'端延伸超过模板的最后一个碱基(Schenborn和Mierendorf, *Nuc Acids Res.*, 13:6223-36 (1985); Nacheva和Berzal-Herranz, *Eur. J. Biochem.*, 270:1485-65 (2003)。

[0253] 将多聚A/T链段整合至DNA模板中的常规方法是分子克隆。不过,整合至质粒DNA中的多聚A/T序列可能使质粒不稳定,这就是从细菌细胞获得的质粒DNA模板通常大量掺杂缺失和其它异常的原因。这使得克隆程序不仅繁杂耗时,而且通常是不可靠的。这就是允许构

建含多聚A/T 3' 链段的DNA模板的方法特别不希望克隆的原因。

[0254] 转录DNA模板的多聚A/T区段可以在PCR期间,通过使用含多聚T尾,如有100个T的尾(大小可以是50-5000个T)的反向引物产生,或在PCR之后,通过任何其它方法,包括但不限于DNA连接或体外重组产生。多聚腺苷酸尾也使RNA稳定并减少其降解。一般来说,多聚腺苷酸尾的长度与转录的RNA的稳定性呈正相关。在一个实施方案中,多聚腺苷酸尾是在100与5000个之间的腺苷。

[0255] RNA的多聚腺苷酸尾可以在体外转录之后,使用多聚腺苷酸聚合酶,如大肠杆菌多聚腺苷酸聚合酶(E-PAP)进一步延伸。在一个实施方案中,将多聚腺苷酸尾的长度从100个核苷酸增加至在300与400个核苷酸之间使RNA的翻译效率增加约两倍。另外,将不同化学基团连接至3'端可以增加mRNA的稳定性。此连接可以含有修饰/人工的核苷酸、适体及其它化合物。举例来说,可以使用多聚腺苷酸聚合酶将ATP类似物并入多聚腺苷酸尾中。ATP类似物可以进一步增加RNA的稳定性。

[0256] 5'帽也使RNA分子稳定。在一个优选实施方案中,由本文所公开的方法产生的RNA包括5'帽。5'帽是使用本领域中已知并且本文所描述的技术提供(Cougot等人,Trends in Biochem.Sci.,29:436-444(2001);Stepinski等人,RNA,7:1468-95(2001);Elango等人,Biochim.Biophys.Res.Comm.,330:958-966(2005))。

[0257] 由本文所公开的方法产生的RNA还可以含有内部核糖体进入位点(IRES)序列。IRES序列可以是起始核糖体与mRNA的不依赖于帽的结合并促进翻译起始的任何病毒序列、染色体序列或人工设计的序列。可以包括适于细胞电穿孔的任何溶质,这些溶质可以含有促进细胞渗透和活力的因子,如糖、肽、脂质、蛋白质、抗氧化剂以及表面活性剂。

[0258] RNA可以使用多种不同的方法引入靶细胞中,例如可商购的方法,包括但不限于,电穿孔(Amaxa Nucleofector-II(Amaxa Biosystems,Cologne,Germany))、(ECM 830(BTX)(Harvard Instruments,Boston,Mass.))或Gene Pulser II(BioRad,Denver,Colo.)、Multiporator(Eppendorf,Hamburg Germany)、使用脂质转染进行的阳离子脂质体介导的转染、聚合物包封、肽介导的转染,或biolistic粒子递送系统,如“基因枪”(参见例如,Nishikawa等人,Hum Gene Ther.,12(8):861-70(2001))。

[0259] 编码TFP的核酸构建体

[0260] 本发明还提供了编码一个或多个本文所述的TFP构建体的核酸分子。在一个方面,该核酸分子是以信使RNA转录物的形式提供。在一个方面,该核酸分子是以DNA构建体的形式提供。

[0261] 编码所希望的分子的核酸序列可以使用本领域中已知的重组方法获得,如通过筛选由表达该基因的细胞构成的文库;通过从已知包括该基因的载体得到该基因;或通过使用标准技术直接从含有该基因的细胞和组织分离。或者,可以通过合成产生而非克隆所关注基因。

[0262] 本发明还提供插入了本发明的DNA的载体。来源于逆转录病毒如慢病毒的载体是实现长期基因转移的适合工具,因为这些载体能够长期、稳定地整合转基因并且在其子代细胞中繁殖。相对于来源于致癌逆转录病毒,如鼠类白血病病毒的载体,慢病毒载体的附加益处在于,这些载体可以转导非增殖性细胞,如肝细胞。这些载体还具有低免疫原性的附加益处。

[0263] 在另一实施方案中,包含编码所需本发明TFP的核酸的载体是腺病毒载体(A5/35)。在另一实施方案中,编码TFP的核酸可以使用转座子,如sleeping beauty、crisper、CAS9及锌指核酸酶进行表达。参见以下June等人,2009Nature Reviews Immunology 9.10:704-716,以引用的方式并入本文中。

[0264] 本发明的表达构建体还可以用于使用标准基因递送方案进行的核酸免疫和基因疗法。基因递送方法是本领域中已知的(参见例如,美国专利号5,399,346、5,580,859、5,589,466,以引用的方式整体并入本文中)。在另一实施方案中,本发明提供了基因疗法载体。

[0265] 可以将核酸克隆至多种类型的载体中。举例来说,可以将核酸克隆至载体中,包括但不限于质粒、噬菌粒、噬菌体衍生物、动物病毒及粘粒。特别值得关注的载体包括表达载体、复制载体、探针产生载体及测序载体。

[0266] 另外,表达载体可以呈病毒载体形式提供至细胞中。病毒载体技术是本领域中众所周知的并且描述于例如Sambrook等人,2012,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,第1-4卷,Cold Spring Harbor Press,NY)以及其它病毒学和分子生物学指南中。可用作载体的病毒包括但不限于,逆转录病毒、腺病毒、腺相关病毒、疱疹病毒及慢病毒。一般来说,适合的载体含有在至少一种生物体中起作用的复制起点、启动子序列、常规限制性内切核酸酶位点,以及一种或多种选择性标志物(例如WO 01/96584、WO 01/29058,以及美国专利号6,326,193)。

[0267] 已经开发出多种基于病毒的系统用于将基因转移至哺乳动物细胞中。举例来说,逆转录病毒为基因递送系统提供了一个适宜的平台。所选基因可以使用本领域中已知的技术插入载体中并包装于逆转录病毒粒子中。重组病毒接着可以被分离并在体内或离体递送至受试者的细胞中。本领域中已知多种逆转录病毒系统。在一些实施方案中,使用了腺病毒载体。本领域中已知多种腺病毒载体。在一个实施方案中,使用了慢病毒载体。

[0268] 其它的启动子元件,例如增强子,调控转录起始的频率。典型地,这些都位于在起始位点上游30-110bp的区域中,不过经显示,很多启动子还在起始位点的下游含有功能元件。启动子元件之间的间距通常很灵活,因此当各元件相对于彼此倒转或移动时,启动子的功能得到保持。在胸苷激酶(tk)启动子中,启动子元件之间的间距在活性开始下降前可以增加至间隔50bp。取决于启动子,似乎个别元件可以协同或独立作用以活化转录。

[0269] 能够在哺乳动物T细胞中表达TFP转基因的启动子的实例是EF1a启动子。天然的EF1a启动子驱动伸长因子-1复合物的 $\alpha$ 亚基的表达,该复合物负责将氨酰基tRNA通过酶递送至核糖体。EF1a启动子已被广泛用于哺乳动物表达质粒中,并且经显示,该启动子可有效驱动被克隆至慢病毒载体中的转基因表达TFP(参见例如,Milone等人,Mol. Ther. 17(8):1453-1464(2009))。启动子的另一个实例是立即早期巨细胞病毒(CMV)启动子序列。这一启动子序列是能够驱动与其可操作地链接的任何多核苷酸序列高水平表达的强组成型启动子序列。不过,也可以使用其它组成型启动子序列,包括但不限于猿猴病毒40(SV40)早期启动子、小鼠乳腺肿瘤病毒(MMTV)、人免疫缺陷病毒(HIV)长末端重复(LTR)启动子、MoMuLV启动子、禽白血病毒启动子、Epstein-Barr病毒立即早期启动子、劳氏肉瘤病毒启动子,以及人基因启动子,如但不限于,肌动蛋白启动子、肌球蛋白启动子、伸长因子-1a启动子、血红蛋白启动子以及肌酸激酶启动子。另外,本发明不应局限于使用组成型启动子。也涵盖诱

导型启动子作为本发明的一部分。诱导型启动子的使用提供了一个分子开关,该分子开关能够在希望该启动子可操作地链接的多核苷酸表达时开启此表达,或在不希望表达时关闭该表达。诱导型启动子的实例包括但不限于金属硫蛋白 (metallothionine) 启动子、糖皮质激素启动子、孕酮启动子及四环素调控的启动子。

[0270] 为了评估TFP多肽或其部分的表达,打算引入细胞中的表达载体还可以含有选择性标志物基因或报告基因或这两种,以帮助从打算用病毒载体转染或感染的细胞群中鉴别和选出表达细胞。在其它方面,选择性标志物可以被携带于独立DNA片段上并用于共转染程序中。选择性标志物和报告基因都可以侧接适当的调控序列以便能在宿主细胞中表达。有用的选择性标志物包括例如抗生素抗性基因,如neo等。

[0271] 报告基因被用于鉴别可能转染的细胞以及评价调控序列的功能。一般来说,报告基因是不存在于受体生物体或组织中或不由受体生物体或组织表达的基因,并且该基因编码的多肽的表达是通过一些容易检测的特性,例如酶活性表现出来。报告基因的表达是在DNA引入受体细胞中之后的适合时间测定。适合报告基因可以包括编码荧光素酶、 $\beta$ -半乳糖苷酶、氯霉素乙酰转移酶、分泌型碱性磷酸酶的基因或绿色荧光蛋白基因(例如Ui-Tei等人,2000FEBS Letters 479:79-82)。适合的表达系统是众所周知的并且可以使用已知技术制备或商购获得。一般来说,将带有显示最高报告基因表达水平的最小5'侧接区的构建体鉴别为启动子。此类启动子区可以连接至报告基因并且用于评价能够调节启动子驱动的转录的试剂。

[0272] 将基因引入细胞中并进行表达的方法是本领域中已知的。在表达载体的情况下,该载体可以通过本领域中的任何方法容易地引入宿主细胞,例如哺乳动物、细菌、酵母或昆虫细胞中。举例来说,表达载体可以通过物理、化学或生物方式转移至宿主细胞中。

[0273] 用于将多核苷酸引入宿主细胞中的物理方法包括磷酸钙沉淀法、脂质转染法、粒子轰击法、显微注射法、电穿孔法等。用于产生包含载体和/或外源性核酸的细胞的方法是本领域中众所周知的。参见例如,Sambrook等人,2012,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,第1-4卷,Cold Spring Harbor Press,NY。用于将多核苷酸引入宿主细胞中的优选方法是磷酸钙转染法。

[0274] 用于将所关注的多核苷酸引入宿主细胞中的生物方法包括使用DNA和RNA载体。病毒载体,尤其是逆转录病毒载体,已经成为将基因插入哺乳动物,例如人细胞中的最常用方法。其它病毒载体可以来源于慢病毒、痘病毒、单纯疱疹病毒I、腺病毒及腺相关病毒等(参见例如,美国专利号5,350,674和5,585,362)。

[0275] 用于将多核苷酸引入宿主细胞中的化学方式包括胶体分散系统,如大分子复合物、纳米胶囊、微球、珠粒以及基于脂质的系统,包括水包油乳液、胶束、混合胶束及脂质体。在体外和体内用作递送媒介物的示例性胶体系统是脂质体(例如人工膜囊泡)。现有技术靶向递送核酸的其它方法是可用的,如用靶向性纳米粒子或其它适合的亚微米大小的递送系统递送多核苷酸。

[0276] 在利用非病毒递送系统的情况下,示例性递送媒介物是脂质体。涵盖使用脂质体配制物将核酸引入宿主细胞中(体外、离体或体内)。在另一方面,核酸可以与脂质缔合。与脂质缔合的核酸可以被包封于脂质体的水性内部中、散布于脂质体的脂质双层内、通过同时与脂质体和寡聚核苷酸缔合的连接分子连接至脂质体、夹在脂质体中、与脂质体形成复

合物、分散于含有脂质的溶液中、与脂质混合、与脂质组合、包含在脂质中呈悬浮液形式、包含胶束或与胶束形成复合物,或以其它方式与脂质缔合。脂质、脂质/DNA或脂质/表达载体相关组合物不限于在溶液中的任何特定结构。举例来说,它们可以呈双层结构形式、呈胶束形式,或具有“塌缩的(collapsed)”结构存在。它们还可以简单地散布于溶液中,可能形成大小或形状不均一的聚集体。脂质是脂肪性物质,这些脂肪性物质可以是天然存在或合成的脂质。举例来说,脂质包括天然存在于细胞质中的脂肪小滴,以及含有长链脂肪烃和其衍生物,如脂肪酸、醇、胺、氨基醇及醛的化合物类别。

[0277] 适合使用的脂质可以从商业来源获得。举例来说,二棕榈酰基磷脂酰胆碱(“DMPC”)可以从Sigma(St.Louis,Mo.)获得;磷酸二鲸蜡酯(“DCP”)可以从K&K Laboratories(Plainview,N.Y.)获得;胆固醇(“Choi”)可以从Calbiochem-Behring获得;二棕榈酰基磷脂酰甘油(“DMPG”)和其它脂质可以从Avanti Polar Lipids,Inc.(Birmingham,Ala.)获得。脂质于氯仿或氯仿/甲醇中的储备液可以在约-20℃储存。氯仿被用作唯一溶剂,这是因为它比甲醇更易蒸发。“脂质体”是涵盖通过产生封闭的脂质双层或聚集体所形成的多种单层和多层脂质媒介物的通用术语。脂质体的特征可以在于具有含磷脂双层膜和内部水性介质的囊泡结构。多层脂质体具有由水性介质分隔的多个脂质层。这些脂质体是在磷脂悬浮于过量水溶液中时自发形成的。脂质组分经历自我重排,随后形成密闭结构并将水和溶解的溶质夹在脂质双层之间(Ghosh等人,1991Glycobiology 5:505-10)。不过,也涵盖在溶液中的结构不同于正常囊泡结构的组合物。举例来说,脂质可以呈现胶束结构或仅以不均一脂质分子聚集体形式存在。还涵盖脂转染胺(lipofectamine)-核酸复合物。

[0278] 不管用于将外源性核酸引入宿主细胞或以其它方式使细胞暴露于本发明抑制剂的方法如何,为了确定宿主细胞中重组DNA序列的存在,可以进行多种测定。这些测定包括例如本领域技术人员众所周知的“分子生物”测定法,如Southern印迹法和Northern印迹法、RT-PCR及PCR;“生物化学”测定法,如例如通过免疫方式(ELISA和Western印迹法),或通过本文所描述的用于鉴别在本发明范围内的试剂的测定法检测特定肽的存在或不存在。

[0279] 本发明还提供了一种载体,该载体包含编码TFP的核酸分子。在一个方面,TFP载体可以直接转导至细胞,例如T细胞中。在一个方面,载体是克隆或表达载体,例如包括但不限于一种或多种质粒(例如表达质粒、克隆载体、小环分子、微型载体、双微染色体)、逆转录病毒和慢病毒载体构建体的载体。在一个方面,载体能够在哺乳动物T细胞中表达TFP构建体。在一个方面,哺乳动物T细胞是人T细胞。

[0280] T细胞来源

[0281] 在进行扩增和基因修饰之前,从受试者获得T细胞来源。术语“受试者”意图包括能够引起免疫反应的活生物体(例如哺乳动物)。受试者的实例包括人、狗、猫、小鼠、大鼠及其转基因物种。T细胞可以从多种来源获得,包括外周血单核细胞、骨髓、淋巴结组织、脐血、胸腺组织、来自感染部位的组织、腹水、胸膜积液、脾组织及肿瘤。在本发明的某些方面,可以使用本领域中可得到的多种T细胞系。在本发明的某些方面,T细胞可以使用熟练技术人员已知的多种技术,如Ficoll™分离从受试者收集的一单位血液获得。在一个优选方面,通过单采血液成分术(apheresis)从个体的循环血获得细胞。单采血液成分术产物典型地含有淋巴细胞,包括T细胞、单核细胞、粒细胞、B细胞、其它有核白细胞、红细胞及血小板。在一个

方面,可以对通过单采血液成分术收集的细胞进行洗涤以去除血浆部分并将细胞放入适当缓冲液或介质中用于后续加工步骤。在本发明的一个方面,用磷酸盐缓冲生理盐水(PBS)洗涤细胞。在一个替代性方面,洗涤溶液不含钙并且可以不含镁或可以不含许多(如果不是全部)二价阳离子。在无钙存在下的初始活化步骤可以引起活化放大。本领域普通技术人员应易于理解,洗涤步骤可以通过本领域技术人员已知的方法实现,如根据制造商的说明书,使用半自动“流通”离心管(例如Cobe 2991细胞处理器、Baxter CytoMate或Haemonetics Cell Saver 5)。洗涤后,可以将细胞再悬浮于多种生物相容性缓冲液,如无钙、无镁PBS、PlasmaLyte A,或者含或不含缓冲剂的其它生理盐水溶液中。或者,可以去除单采血液成分术样品的不想要组分并将细胞直接再悬浮于培养基中。

[0282] 在一个方面,通过将红细胞溶解并例如经PERCOLL™梯度离心或逆流离心淘选耗尽单核细胞,从外周血淋巴细胞分离出T细胞。特定T细胞亚群,如CD3<sup>+</sup>、CD28<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD45RA<sup>+</sup>及CD45RO<sup>+</sup>T细胞可以通过阳性或阴性选择技术进一步分离。举例来说,在一个方面,T细胞通过与抗CD3/抗CD28(例如3×28)偶联珠粒,如DYNABEADS™ M-450CD3/CD28T一起孵育一段足以对所希望的T细胞进行阳性选择的时间来分离。在一个方面,该时间段是约30分钟。在另一方面,该时间段在30分钟至36小时或更长以及其间的任何整数值的范围内。在另一方面,该时间段是至少1、2、3、4、5或6小时。在又另一优选方面,该时间段是10至24小时。在一个方面,孵育时间段是24小时。在T细胞比其它细胞类型少的情况下,如在从肿瘤组织分离肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)或从免疫力低下的个体分离时,可以使用更长孵育时间来分离T细胞。另外,使用较长孵育时间可以增加捕捉CD8<sup>+</sup>T细胞的效率。因此,通过简单地缩短或延长时间,使T细胞能够结合至CD3/CD28珠粒,和/或通过增加或减小珠粒与T细胞的比率(如本文另外描述),可以在培养起始或该过程期间的其它时间点关于或针对T细胞亚群进行优先选择。另外,通过增加或减小珠粒或其它表面上抗CD3和/或抗CD28抗体的比率,可以在培养起始或其它所希望的时间点关于或针对T细胞亚群进行优先选择。熟练技术人员将认识到,在本发明的情况下还可以使用多轮选择。在某些方面,可能希望执行选择程序并且在活化和扩增过程中使用“未被选择”的细胞。“未被选择”的细胞也可以经历另外数轮选择。

[0283] 通过阴性选择来富集T细胞群可以用针对阴性选择的细胞独有的表面标志物的抗体组合实现。一种方法是通过负磁性免疫吸附或流式细胞术进行的细胞分选和/或选择,该方法使用了针对阴性选择的细胞上存在的细胞表面标志物的单克隆抗体的混合物。举例来说,为了能通过阴性选择富集CD4<sup>+</sup>细胞,单克隆抗体混合物典型地包括针对CD14、CD20、CD11b、CD16、HLA-DR及CD8的抗体。在某些方面,可能希望富集或阳性选择通常表达CD4<sup>+</sup>、CD25<sup>+</sup>、CD62L<sup>hi</sup>、GITR<sup>+</sup>及FoxP3<sup>+</sup>的调控T细胞。或者,在某些方面,通过抗C25偶联珠粒或其它类似的选择方法耗尽T调控细胞。

[0284] 在一个实施方案中,可以选出表达以下一种或多种的T细胞群:IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-17A、IL-2、IL-3、IL-4、GM-CSF、IL-10、IL-13、粒酶B及穿孔素,或其它适当的分子,例如其它细胞因子。针对细胞表达进行筛选的方法可以例如通过PCT公布号WO 2013/126712中所描述的方法确定。

[0285] 对于通过阳性或阴性选择来分离所希望的细胞群,可以变化细胞浓度和表面(例如粒子,如珠粒)。在某些方面,可能希望明显减小其中珠粒与细胞混合在一起的体积(例如

增加细胞浓度)以确保细胞与珠粒的最大接触。举例来说,在一个方面,使用了 $2 \times 10^9$ 个细胞/毫升的浓度。在一个方面,使用了 $1 \times 10^9$ 个细胞/毫升的浓度。在又一方面,使用了每毫升超过 $1 \times 10^8$ 个细胞。在又一方面,使用了10、15、20、25、30、35、40、45或 $50 \times 10^6$ 个细胞/毫升的浓度。在另一方面,使用了75、80、85、90、95或 $100 \times 10^6$ 个细胞/毫升的浓度。在其它方面,使用了125或 $150 \times 10^6$ 个细胞/毫升的浓度。使用较高浓度可以增加细胞产率、细胞活化及细胞扩增。另外,使用较高细胞浓度允许更高效地捕捉可能较弱表达所关注靶抗原的细胞,如CD28阴性T细胞,或从存在许多肿瘤细胞的样品(例如白血病的血液、肿瘤组织等)捕捉细胞。此类细胞群可能具有治疗价值并且是希望获得的。举例来说,使用较高的细胞浓度允许更高效地选择通常具有较弱CD28表达的CD8+T细胞。

[0286] 在一个相关方面,可能希望使用较低的细胞浓度。通过明显稀释T细胞与表面(例如粒子,如珠粒)的混合物,使粒子与细胞之间的相互作用减到最低。由此选出表达大量有待结合至粒子的所需抗原的细胞。举例来说,相较于CD8+T细胞,在较稀浓度下,CD4+T细胞表达较高水平的CD28并且更高效地被捕捉。在一个方面,所用细胞的浓度是 $5 \times 10^6$ /mL。在其它方面,所用浓度可以是约 $1 \times 10^5$ /mL至 $1 \times 10^6$ /mL,及其间任何整数。在其它方面,细胞可以在2-10°C或室温下,在旋转器上以不同速度孵育不同时间长度。

[0287] 供刺激用的T细胞还可以在洗涤步骤之后冷冻。不希望受理论束缚,冷冻和后续的解冻步骤通过去除细胞群中的粒细胞以及在一定程度上去除单核细胞而提供更均一的产物。在洗涤步骤去除血浆和血小板之后,可以将细胞悬浮于冷冻溶液中。尽管本领域中已知许多冷冻溶液和参数并且可用于此情形中,但一种方法涉及使用含20%DMSO和8%人血清白蛋白的PBS,或含10%葡聚糖40和5%右旋糖、20%人血清白蛋白及7.5%DMSO,或31.25%Plasmalyte-A、31.25%右旋糖5%、0.45%NaCl、10%葡聚糖40及5%右旋糖、20%人血清白蛋白及7.5%DMSO的培养基,或含有例如Hespan和PlasmaLyte A的其它适合的细胞冷冻介质,细胞接着以1分钟的速率冷冻至-80°C并储存于液氮储罐的气相中。可以使用其它控制性冷冻方法以及直接在-20°C或液氮中不受控制冷冻。在某些方面,将低温保存的细胞解冻并如本文所描述进行洗涤,并且在使用本发明的方法活化之前使其在室温下保持一小时。

[0288] 在本发明的上下文中还涵盖在可能需要如本文所述扩增细胞之前的时间段,从受试者收集血液样品或单采血液成分产物。因此,待扩增的细胞来源可以在任何所需时间点收集,并且将所希望的细胞,如T细胞分离并冷冻以待用于针对多种疾病或病况的T细胞疗法中,这些疾病或病况将得益于T细胞疗法,如本文所描述的那些。在一个方面,血液样品或单采血液成分是从大体上健康的受试者取得。在某些方面,血液样品或单采血液成分是从有发生疾病的风险但尚未发展该疾病的大体上健康的受试者取得,并且分离所关注细胞并冷冻待用。在某些方面,T细胞可以被扩增、冷冻并在稍后时间使用。在某些方面,在如本文所述诊断出特定疾病之后不久但在任何治疗之前从患者收集样品。在另一方面,细胞是在多种相关治疗措施之前来自受试者的血液样品或单采血液成分分离,所述相关治疗措施包括但不限于用如那他珠单抗(natalizumab)、依法珠单抗(efalizumab)等药剂、抗病毒剂、化学疗法、放射、免疫抑制剂如环孢霉素(cyclosporin)、硫唑嘌呤(azathioprine)、甲氨蝶呤(methotrexate)、霉芬酸酯(mycophenolate)及FK506、抗体,或其它免疫消融剂如CAMPATH、抗CD3抗体、环磷酰胺(cytoxan)、氟达拉滨(fludarabine)、环孢霉素、FK506、雷帕霉素(rapamycin)、霉芬酸、类固醇、FR901228,以及辐射治疗的治疗。

[0289] 在本发明的另一方面，T细胞是在向受试者施用功能性T细胞的治疗之后立即从患者获得。就这一点来说，据观察在某些癌症治疗之后，特别是在用破坏免疫系统的药物治疗之后，在治疗后不久且患者从治疗正常恢复期间，所获得的T细胞的质量可能是最佳的或其离体扩增的能力得到改善。同样，在使用本文所述的方法离体操作时，这些细胞可以处于用于增强移植和体内扩增的优选状态。因此，在本发明的情形内涵盖在此恢复期间收集血液细胞，包括T细胞、树突状细胞或造血细胞系的其它细胞。另外，在某些方面，可以使用动员（例如用GM-CSF动员）和调理方案在受试者体内建立有利于特定细胞类型再增殖、再循环、再生和/或扩增的条件，尤其是在治疗之后的指定时间范围内。示范性细胞类型包括T细胞、B细胞、树突状细胞以及免疫系统的其它细胞。

[0290] T细胞活化和扩增

[0291] T细胞可以大体上使用例如美国专利号6,352,694、6,534,055、6,905,680、6,692,964、5,858,358、6,887,466、6,905,681、7,144,575、7,067,318、7,172,869、7,232,566、7,175,843、5,883,223、6,905,874、6,797,514、6,867,041；以及美国专利申请公布号20060121005中所描述的方法活化和扩增。

[0292] 一般来说，本发明的T细胞可以通过接触连接有刺激CD3/TCR复合物相关信号的试剂和刺激T细胞表面上的共刺激分子的配体的表面来进行扩增。具体地说，T细胞群可以如本文所述，如通过接触抗CD3抗体或其抗原结合片段，或固定在表面上的抗CD2抗体，或通过接触蛋白质激酶C活化剂（例如苔藓抑素）与钙离子载体缀合来实现刺激。对于共刺激T细胞表面上的辅助分子，使用了结合该辅助分子的配体。举例来说，可以使T细胞群与抗CD3抗体和抗CD28抗体在适于刺激T细胞增殖的条件下接触。为了刺激CD4<sup>+</sup>T细胞或CD8<sup>+</sup>T细胞增殖，使用了抗CD3抗体和抗CD28抗体。抗CD28抗体的实例包括9.3、B-T3，可以使用XR-CD28（Diaclone, Besancon, France）以及本领域中通常所了解的其它方法（Berg等人，Transplant Proc.30(8):3975-3977,1998；Haanen等人，J.Exp.Med.190(9):13191328,1999；Garland等人，J.Immunol.Meth.227(1-2):53-63,1999）。

[0293] 暴露不同刺激时间的T细胞可以展现不同的特征。举例来说，典型的血液或单采血液成分得到的外周血单核细胞产物具有的辅助T细胞群（TH,CD4<sup>+</sup>）大于细胞毒性或抑制性T细胞群（TC,CD8<sup>+</sup>）。通过刺激CD3和CD28受体离体扩增T细胞产生这样一群T细胞，该细胞群在约第8-9天前主要由TH细胞组成，而在约第8-9天之后，该T细胞群包含大量增加的TC细胞群。因此，取决于治疗目的，向受试者输注主要包含TH细胞的T细胞群可能是有利的。类似地，如果分离出抗原特异性TC细胞亚群，则将此亚群扩增较高程度可能是有利的。

[0294] 另外，除CD4和CD8标志物外，其它表型标志物也明显不同，但在较大程度上，在细胞扩增过程期间可再现。因此，此再现性使得能针对特定目的定制活化的T细胞产物。

[0295] 一旦构建出抗CD19或抗BCMA TFP，则可以使用多种测定法评价该分子的活性，如但不限于，在抗原刺激后扩增T细胞、在无再刺激存在下保持T细胞扩增的能力，以及在适当体外和动物模型中的抗癌活性。评价抗CD19或抗BCMA TFP的作用的测定法于下文更详细地描述。

[0296] 可以使用原代T细胞中TFP表达的Western印迹分析来检测单体和二聚体的存在（参见例如，Milone等人，Molecular Therapy 17(8):1453-1464(2009)）。简单点说，在体外扩增表达TFP的T细胞（CD4<sup>+</sup>T细胞与CD8<sup>+</sup>T细胞的1:1混合物）超过10天，随后溶解并在还原条

件下进行SDS-PAGE。使用针对TCR链的抗体,通过Western印迹法检测TFP。相同的T细胞亚群在非还原条件下进行SDS-PAGE分析以评价共价二聚体的形成。

[0297] 在抗原刺激后TFP<sup>+</sup>T细胞的体外扩增情况可以用流式细胞术测量。举例来说,用 $\alpha$ CD3/ $\alpha$ CD28和APC刺激CD4<sup>+</sup>T细胞与CD8<sup>+</sup>T细胞的混合物,随后用在待分析启动子控制下表达GFP的慢病毒载体转导。示范性启动子包括CMV IE基因、EF-1 $\alpha$ 、泛素C或甘油磷酸激酶(PGK)启动子。在培养第6天,通过流式细胞术评价CD4<sup>+</sup>和/或CD8<sup>+</sup>T细胞亚群中的GFP荧光(参见例如,Milone等人,Molecular Therapy 17(8):1453-1464(2009))。或者,在第0天利用涂有 $\alpha$ CD3/ $\alpha$ CD28的磁珠刺激CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T细胞混合物,并在第1天,使用表达TFP和eGFP的双顺反子慢病毒载体,利用2A核糖体跳跃序列,用TFP进行转导。洗涤后,用CD19+K562细胞(K562-CD19)、野生型K562细胞(K562野生型)或在抗CD3和抗CD28抗体存在下表达hCD32和4-1BBL的K562细胞(K562-BBL-3/28)再刺激培养物。每隔一天以100IU/mL将外源性IL-2添加至培养物中。通过流式细胞术,使用基于珠粒的计数法对GFP<sup>+</sup>T细胞进行计数(参见例如,Milone等人,Molecular Therapy 17(8):1453-1464(2009))。

[0298] 还可以测量在无再刺激存在下TFP<sup>+</sup>T细胞的持续扩增情况(参见例如,Milone等人,Molecular Therapy 17(8):1453-1464(2009))。简单点说,在第0天用涂有 $\alpha$ CD3/ $\alpha$ CD28的磁珠刺激并在第1天用指定TFP转导之后,在培养第8天,使用Coulter Multisizer III粒子计数器测量平均T细胞容积(f1)。

[0299] 也可以使用动物模型测量TFP-T活性。举例来说,使用人CD19特异性TFP<sup>+</sup>T细胞治疗免疫缺陷小鼠的原发性人前体B ALL的异种移植模型可以使用(参见例如,Milone等人,Molecular Therapy 17(8):1453-1464(2009))。简单点说,在确定ALL之后,将小鼠随机分入治疗组。将不同数量的经过工程改造的T细胞以1:1比率共注射至患有B-ALL的NOD/SCID/ $\gamma$ <sup>-/-</sup>小鼠中。在T细胞注射后的各种时间点,评价来自小鼠的脾DNA中每个载体的拷贝数。以每周时间间隔评估动物的白血病。测量注射了 $\alpha$ CD19- $\zeta$ TFP<sup>+</sup>T细胞或mock转导的T细胞的小鼠中外周血CD19+B-ALL母细胞数量。使用对数秩检验比较各组的存活率曲线。此外,还可以在T细胞注射后4周,分析NOD/SCID/ $\gamma$ <sup>-/-</sup>小鼠中的绝对外周血CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T细胞计数。对小鼠注射白血病细胞并在3周后,注射被编码连接至eGFP的TFP的双顺反子慢病毒载体工程改造成表达TFP的T细胞。T细胞通过与mock转导的细胞混合,随后注射而归一化至45-50%输入GFP<sup>+</sup>T细胞,并利用流式细胞术确定。以1周的时间间隔评估动物的白血病。使用对数秩检验比较TFP<sup>+</sup>T细胞组的存活率曲线。

[0300] 可以评价剂量依赖性TFP治疗反应(参见例如,Milone等人,Molecular Therapy 17(8):1453-1464(2009))。举例来说,在确定白血病之后35-70天,从第21天注射了TFP T细胞、等量mock转导的T细胞或未注射T细胞的小鼠获得外周血。对来自各组的小鼠随机抽血以测定外周血CD19+ALL母细胞数量,然后在第35天和第49天将其杀灭。在第57天和第70天评价剩余动物。

[0301] 先前例如在Milone等人,Molecular Therapy 17(8):1453-1464(2009)中已描述有关细胞增殖和细胞因子产生的评估。简单点说,在微量滴定板中,通过将洗涤过的T细胞与表达CD19的K562细胞(K19)或表达CD32和CD137的K562细胞(KT32-BBL)以2:1的最终T细胞:K562比率混合来评估TFP介导的增殖情况。在使用前,用 $\gamma$ 放射照射K562细胞。将抗CD3(克隆OKT3)和抗CD28(克隆9.3)单克隆抗体添加至含KT32-BBL细胞的培养物中以用作刺激

T细胞增殖的阳性对照,因为这些信号支持长期CD8+T细胞离体扩增。根据制造商的描述,使用CountBright™荧光珠粒(Invitrogen)和流式细胞术对培养物中的T细胞进行计数。使用以表达eGFP-2A连接的TFP的慢病毒载体工程改造的T细胞,通过GFP表达来鉴别TFP+T细胞。对于不表达GFP的TFP+T细胞,用生物素化重组CD19蛋白和二次抗生物素蛋白-PE偶联物检测TFP+T细胞。另外,用特定单克隆抗体(BD Biosciences)同时检测T细胞上的CD4+和CD8+表达。根据制造商的说明书,使用人TH1/TH2细胞因子细胞测量珠测定试剂盒(BD Biosciences)对再刺激后24小时收集到的上清液进行细胞因子测量。使用FACScalibur流式细胞仪评估荧光度,并根据制造商的说明书分析数据。

[0302] 可以通过标准<sup>51</sup>Cr释放测定法评估细胞毒性(参见例如,Milone等人,Molecular Therapy 17(8):1453-1464(2009))。简单点说,在37°C下,在频繁搅动下向靶细胞(K562细胞系和原代原B-ALL细胞)中装载<sup>51</sup>Cr(呈NaCrO<sub>4</sub>形式,New England Nuclear),保持2小时,在完全RPMI中洗涤两次并涂铺于微量滴定板中。在各孔中的完全RPMI中将效应T细胞与靶细胞以不同的效应细胞:靶细胞(E:T)比率混合。另外,准备仅含培养基(自发释放,SR)或含triton-X 100清洁剂的1%溶液(总释放,TR)的额外孔。在37°C下孵育4小时后,从各孔收集上清液。然后,使用γ粒子计数器(Packard Instrument Co.,Waltham,Mass.)测量<sup>51</sup>Cr的释放量。每一条件一式三份执行,并且使用下式计算溶解百分比:%溶解=(ER-SR)/(TR-SR),其中ER表示每一实验条件的平均<sup>51</sup>Cr释放量。

[0303] 可以使用成像技术评价带有肿瘤的动物模型中TFP的具体运输和增殖情况。此类测定法描述于例如Barrett等人,Human Gene Therapy 22:1575-1586(2011)中。简单点说,向NOD/SCID/γc<sup>-/-</sup>(NSG)小鼠静脉内注射NaIm-6细胞,7天后注射电穿孔放入TFP构建体4小时后的T细胞。用慢病毒构建体稳定转染T细胞以使其表达萤火虫荧光素酶,并获取小鼠的生物发光影像。或者,可以如下所述,在NaIm-6异种移植模型中测量单次注射TFP+T细胞的治疗功效和特异性:向NSG小鼠注射被转导成稳定表达萤火虫荧光素酶的NaIm-6,随后,在7天后,单侧尾静脉注射经电穿孔放入CD19TFP的T细胞。在注射后的各种时间点,获取动物影像。举例来说,可以在第5天(治疗前2天)和第8天(TFP+PBL后24小时),生成代表性小鼠中萤火虫荧光素酶阳性白血病的光子密度热图。

[0304] 也可以使用其它测定法,包括本文实施例部分中所描述的测定法以及本领域中已知的测定法,评价本发明的抗CD19或抗BCMA TFP构建体。

#### [0305] 治疗应用

[0306] CD19或BCMA相关疾病和/或病症

[0307] 在一个方面,本发明提供了用于治疗与CD19或BCMA表达有关的疾病的方法。在一个方面,本发明提供了治疗其中部分肿瘤对CD19或BCMA呈阴性且部分肿瘤对CD19或BCMA呈阳性的疾病的方法。举例来说,本发明的TFP可用于治疗经历了CD19或BCMA表达升高相关疾病的治疗的受试者,其中经历了针对CD19或BCMA水平升高的治疗的受试者展现与CD19或BCMA水平升高有关的疾病。

[0308] 在一个方面,本发明涉及一种载体,该载体包含可操作地连接至启动子的抗CD19或BCMA TFP,用于在哺乳动物T细胞中表达。在一个方面,本发明提供了一种表达CD19或BCMA TFP的重组T细胞,该TFP用于治疗表达CD19或BCMA的肿瘤,其中该表达CD19或BCMA TFP的重组T细胞称为CD19或BCMA TFP-T。在一个方面,本发明的CD19或BCMA TFP-T能够使

肿瘤细胞与其表面上表达的至少一种本发明的CD19或BCMA TFP接触,由此使TFP-T靶向肿瘤细胞并抑制肿瘤细胞生长。

[0309] 在一个方面,本发明涉及一种抑制表达CD19或BCMA的肿瘤细胞生长的方法,该方法包括使肿瘤细胞与本发明的CD19或BCMA TFP T细胞接触,由此使TFP-T响应于抗原而活化并靶向癌细胞,其中肿瘤的生长受到抑制。

[0310] 在一个方面,本发明涉及一种治疗受试者的癌症的方法。该方法包括向受试者施用本发明的CD19或BCMA TFP T细胞,由此治疗受试者的癌症。能用本发明的CD19或BCMA TFP T细胞治疗的癌症的实例是与CD19或BCMA表达有关的癌症。在一个方面,与CD19或BCMA表达有关的癌症是血液癌症。在一个方面,该血液癌症是白血病或淋巴瘤。在一个方面,与CD19表达有关的癌症包括癌症和恶性疾病,包括但不限于,例如一种或多种急性白血病,包括但不限于,例如B细胞急性淋巴细胞性白血病(“BALL”)、T细胞急性淋巴细胞性白血病(“TALL”)、急性淋巴细胞性白血病(ALL);一种或多种慢性白血病,包括但不限于,例如慢性骨髓性白血病(CML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)。其它与CD19或BCMA表达有关的癌症或血液病况包括但不限于,例如B细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树突状细胞瘤、伯基特氏淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、毛细胞白血病、小细胞或大细胞滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴组织增生疾病、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓发育不良和骨髓发育不良综合症、非霍奇金氏淋巴瘤、浆母细胞性淋巴瘤、浆细胞样树突状细胞瘤、威尔姆氏巨球蛋白血症,以及“白血病前期”,即伴有无效产生骨髓血细胞(或发育不良)的一组不同的血液病症,等等。与CD19或BCMA表达有关的其它疾病包括但不限于,例如与CD19或BCMA表达有关的非典型性和/或非经典癌症、恶性疾病、癌前病况或增生性疾病。

[0311] 在一些实施方案中,可以用例如本文所述的CD19或BCMA TFP治疗的癌症是多发性骨髓瘤。多发性骨髓瘤是以浆细胞集落在骨髓中积累为特征的血液癌症。当前的多发性骨髓瘤疗法包括但不限于,用来那度胺(lenalidomide),即沙利度胺(thalidomide)类似物治疗。来那度胺的活性包括抗肿瘤活性、血管生成抑制及免疫调节。一般来说,根据流式细胞术,骨髓瘤细胞被认为对CD19或BCMA表达呈阴性。本发明涵盖认识到少量的骨髓瘤肿瘤细胞表达CD19或BCMA。因此,在一些实施方案中,可以使用例如本文所描述的CD19或BCMA TFP靶向骨髓瘤细胞。在一些实施方案中,CD19或BCMA TFP疗法可以与一种或多种额外疗法,例如来那度胺治疗组合使用。

[0312] 本发明包括这样一类细胞疗法,其中T细胞被基因修饰成表达TFP并且表达TFP的T细胞被输注给有需要的受体。输注的细胞能够杀灭受体中的肿瘤细胞。与抗体疗法不同,表达TFP的T细胞能够在体内复制,引起长期存留,由此可以导致持续的肿瘤控制。在各个方面,在将T细胞施用给患者之后,施用给患者的T细胞,或其子代在患者体内持续存在至少四个月、五个月、六个月、七个月、八个月、九个月、十个月、十一个月、十二个月、十三个月、十四个月、十五个月、十六个月、十七个月、十八个月、十九个月、二十个月、二十一个月、二十二个月、二十三个月、两年、三年、四年或五年。

[0313] 本发明还包括这样一类细胞疗法,其中T细胞通过例如体外转录的RNA修饰成短暂地表达TFP并且表达TFP的T细胞被输注给有需要的受体。输注的细胞能够杀灭受体中的肿瘤细胞。因此,在各种方面,在将T细胞施用给患者之后,施用给患者的T细胞存在不到一个

月,例如三周、两周或一周。

[0314] 不希望受任何特定理论束缚,由表达TFP的T细胞引起的抗肿瘤免疫反应可以是主动或被动免疫反应,或替代地,可以归于直接与间接免疫反应。在一个方面,TFP转导的T细胞响应于表达CD19或BCMA抗原的人癌细胞而展现特异性促炎性细胞因子分泌和有效的细胞溶解活性,抵抗可溶性CD19或BCMA抑制,介导旁观者杀灭作用并且介导确定的人肿瘤的消退。举例来说,在表达CD19或表达BCMA的肿瘤的异质区内的低抗原肿瘤细胞可能易于被先前针对相邻抗原阳性癌细胞具有反应的CD19重定向或BCMA重定向的T细胞间接破坏。

[0315] 在一个方面,本发明的人TFP修饰的T细胞可以是一类用于离体免疫的疫苗和/或哺乳动物的体内疗法。在一个方面,该哺乳动物是人。

[0316] 就离体免疫来说,在将细胞施用给哺乳动物之前,以下至少一种情形在体外发生:i) 细胞扩增;ii) 将编码TFP的核酸引入细胞中;或iii) 低温保存细胞。

[0317] 离体程序是本领域中众所周知的并且在下文更完整地论述。简单点说,从哺乳动物(例如人)分离细胞并用表达本文所公开的TFP的载体进行基因修饰(即,在体外转导或转染)。可以将TFP修饰的细胞施用给哺乳动物受体以提供治疗益处。哺乳动物受体可以是人并且TFP修饰的细胞可以关于受体是自体的。或者,细胞可以关于受体是同种异体细胞、同基因细胞或异种细胞。

[0318] 离体扩增造血干细胞和祖细胞的程序描述于以引用的方式并入本文中的美国专利号5,199,942中,该程序可以用于本发明的细胞。其它适合的方法是本领域中已知的,因此本发明不限于任何特定的离体细胞扩增方法。简单点说,T细胞的离体培养和扩增包括:(1) 通过采集外周血或骨髓外植体,从哺乳动物收集CD34+造血干细胞和祖细胞;及(2) 离体扩增这些细胞。除美国专利号5,199,942中所描述的细胞生长因子外,还可以使用其它因子,如flt3-L、IL-1、IL-3及c-kit配体培养并扩增细胞。

[0319] 就离体免疫来说,除使用基于细胞的疫苗外,本发明还提供了用于体内免疫以引起针对患者体内抗原的免疫反应的组合物和方法。

[0320] 一般来说,可以用如本文所述活化并扩增的细胞治疗和预防免疫受损的个体中发生的疾病。确切地说,使用本发明的TFP修饰的T细胞治疗与CD19或BCMA表达有关的疾病、病症和病况。在某些方面,使用本发明的细胞来治疗有发生与CD19或BCMA表达有关的疾病、病症和病况风险的患者。因此,本发明提供了用于治疗或预防与CD19或BCMA表达有关的疾病、病症和病况的方法,这些方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的本发明的TFP修饰的T细胞。

[0321] 在一个方面,本发明的TFP-T细胞可以用于治疗增生性疾病如癌症或恶性疾病,或癌前病况如骨髓发育不良、骨髓发育不良综合症,或白血病前期。在一个方面,癌症是血液癌症。在一个方面,该血液癌症是白血病或淋巴瘤。在一个方面,本发明的TFP-T细胞可用于治疗癌症和恶性疾病,如但不限于,例如急性白血病,包括但不限于,例如B细胞急性淋巴细胞性白血病("BALL")、T细胞急性淋巴细胞性白血病("TALL")、急性淋巴细胞性白血病(ALL);一种或多种慢性白血病,包括但不限于,例如慢性骨髓性白血病(CML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL);其它的血液癌症或血液病况,包括但不限于,例如B细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树突状细胞瘤、伯基特氏淋巴瘤、弥散性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、毛细胞白血病、小细胞或大细胞滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴组织增生疾病、MALT淋巴瘤、套

细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓发育不良和骨髓发育不良综合症、非霍奇金氏淋巴瘤、浆母细胞性淋巴瘤、浆细胞样树突状细胞瘤、威尔姆氏巨球蛋白血症,以及“白血病前期”,即伴有无效产生骨髓血细胞(或发育不良)的一组不同的血液病症,等等。与CD19或BCMA表达有关的其它疾病包括但不限于,例如表达CD19或BCMA的非典型性和/或非经典癌症、恶性疾病、癌前病况或增生性疾病。与CD19或BCMA表达有关的非癌症相关适应症包括但不限于,例如自身免疫性疾病(例如狼疮)、炎症性病症(过敏和哮喘)及移植。

[0322] 本发明的TFP修饰的T细胞可以单独施用,或与稀释剂和/或与如IL-2或其它细胞因子或细胞群等其它组分组合以药物组合物形式施用。

[0323] 血液癌症

[0324] 血液癌症病况是影响血液、骨髓和淋巴系统的癌症类型,如白血病和恶性淋巴增生性病况。

[0325] 白血病可以分为急性白血病和慢性白血病。急性白血病可以进一步分类为急性骨髓性白血病(AML)和急性淋巴细胞性白血病(ALL)。慢性白血病包括慢性骨髓性白血病(CML)和慢性淋巴细胞性白血病(CLL)。其它相关病况包括骨髓发育不良综合症(MDS,先前称为“白血病前期”),这是伴有无效产生骨髓血细胞(或发育不良)的一组不同的血液病况并且有转化成AML的风险。

[0326] 本发明提供了用于治疗癌症的组合物和方法。在一个方面,癌症是血液癌症,包括但不限于,血液癌症是白血病或淋巴瘤。在一个方面,本发明的TFP-T细胞可用于治疗癌症和恶性疾病,如但不限于,例如急性白血病,包括但不限于,例如B细胞急性淋巴细胞性白血病(“BALL”)、T细胞急性淋巴细胞性白血病(“TALL”)、急性淋巴细胞性白血病(ALL);一种或多种慢性白血病,包括但不限于,例如慢性骨髓性白血病(CML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL);其它的血液癌症或血液病况,包括但不限于,例如B细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树突状细胞瘤、伯基特氏淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、毛细胞白血病、小细胞或大细胞滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴组织增生疾病、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓发育不良和骨髓发育不良综合症、非霍奇金氏淋巴瘤、浆母细胞性淋巴瘤、浆细胞样树突状细胞瘤、威尔姆氏巨球蛋白血症,以及“白血病前期”,即伴有无效产生骨髓血细胞(或发育不良)的一组不同的血液病症,等等。与CD19或BCMA表达有关的其它疾病包括但不限于,例如表达CD19或BCMA的非典型性和/或非经典癌症、恶性疾病、癌前病况或增生性疾病。

[0327] 本发明还提供了用于抑制表达CD19或BCMA的细胞群的增殖或减少表达CD19或BCMA的细胞群的方法,这些方法包括使包含表达CD19或BCMA的细胞的细胞群与结合至该表达CD19或BCMA的细胞的本发明的抗CD19或抗BCMA TFP-T细胞接触。在一个特定方面,本发明提供了用于抑制表达CD19或BCMA的癌细胞群的增殖或减少表达CD19或BCMA的癌细胞群的方法,这些方法包括使表达CD19或BCMA的癌细胞群与结合至该表达CD19或BCMA的细胞的本发明的抗CD19或抗BCMA TFP-T细胞接触。在一个方面,本发明提供了用于抑制表达CD19或BCMA的癌细胞群的增殖或减少表达CD19或BCMA的癌细胞群的方法,这些方法包括使表达CD19或BCMA的癌细胞群与结合至该表达CD19或BCMA的细胞的本发明的抗CD19或抗BCMA TFP-T细胞接触。在某些方面,相对于阴性对照,本发明的抗CD19或抗BCMA TFP-T细胞使患有骨髓性白血病或与表达CD19或BCMA的细胞有关的另一癌症的受试者或动物模型中细胞

和/或癌细胞的数量、数目、量或百分比减少至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少65%、至少75%、至少85%、至少95%或至少99%。在一个方面,受试者是人。

[0328] 本发明还提供了用于预防、治疗和/或管理与表达CD19或BCMA的细胞有关的疾病(例如表达CD19或BCMA的血液癌症或非典型性癌症)的方法,这些方法包括向有需要的受试者施用结合至表达CD19或BCMA的细胞的本发明的抗CD19或抗BCMA TFP-T细胞。在一个方面,受试者是人。与表达CD19或BCMA的细胞有关的病症的非限制性实例包括自身免疫性病症(如狼疮)、炎症性病症(如过敏和哮喘)及癌症(如表达CD19或BCMA的血液癌症或非典型性癌症)。

[0329] 本发明还提供了用于预防、治疗和/或管理与表达CD19或BCMA的细胞有关的疾病的方法,这些方法包括向有需要的受试者施用结合至表达CD19或BCMA的细胞的本发明的抗CD19或抗BCMA TFP-T细胞。在一个方面,受试者是人。

[0330] 本发明提供了用于预防与表达CD19或BCMA的细胞有关的癌症复发的方法,这些方法包括向有需要的受试者施用结合至表达CD19或BCMA的细胞的本发明的抗CD19或抗BCMA TFP-T细胞。在一个方面,这些方法包括向有需要的受试者施用有效量的本文所述的结合至表达CD19或BCMA的细胞的本发明的抗CD19或抗BCMA TFP-T细胞于有效量的另一疗法的组合。

[0331] 组合疗法

[0332] 本文所述的表达TFP的细胞可以与其它已知的药剂和疗法组合使用。如本文所使用,“组合”施用意味着在受试者患病过程期间,向该受试者递送两种(或更多种)不同的治疗,例如在受试者被诊断患有病症之后且在该病症被治愈或消除或者出于其它原因停止治疗之前,递送两种或更多种治疗。在一些实施方案中,一种治疗的递送在开始递送另一种治疗时仍然继续,由此在施用方面存在重叠。这在本文中有时称为“同时”或“共同递送”。在其它实施方案中,一种治疗的递送在另一种治疗的递送开始之前已结束。在任一情形的一些实施方案中,归于组合施用,治疗更有效。举例来说,相较于在无第一种治疗存在下施用第二种治疗时所见到的情形或利用第一种治疗所见到的类似状况,该第二种治疗更有效,例如利用较少第二种治疗见到等效作用,或第二种治疗在较大程度上减轻症状。在一些实施方案中,递送使得症状减轻程度,或与病症相关的其它参数高于在无另一种治疗存在下递送一种治疗所观察到的情形。这两种治疗的作用可以是部分加和、完全加和或超过加和作用。该递送可以使得在递送第二种治疗时仍能检测到所递送的第一种治疗的作用。

[0333] 在一些实施方案中,“至少一种额外治疗剂”包括表达TFP的细胞。还提供了表达多个TFP的T细胞,所述TFP结合至相同或不同靶抗原,或同一靶抗原上的相同或不同表位。还提供了T细胞群,其中第一T细胞亚群表达第一TFP,并且第二T细胞亚群表达第二TFP。

[0334] 本文所述的表达TFP的细胞和该至少一种额外治疗剂可以呈相同或独立组合物形式同时或依序施用。对于依序施用,可以先施用本文所述的表达TFP的细胞,再施用该额外药剂,或施用次序可以颠倒。

[0335] 在其它方面,本文所述的表达TFP的细胞可以与手术、化学疗法、放射、免疫抑制剂如环孢霉素、硫唑嘌呤、甲氨蝶呤、霉酚酸酯和FK506、抗体,或其它免疫消融剂如CAMPATH、抗CD3抗体或其它抗体疗法、细胞毒素、氟达拉滨、环孢霉素、FK506、雷帕霉素、霉芬酸、类固醇、FR901228、细胞因子以及辐射、肽疫苗(如Izumoto等人,2008J Neurosurg 108:963-971

中所述)组合用于治疗方案中。

[0336] 在一个实施方案中,可以向受试者施用减少或改善与施用表达TFP的细胞有关的副作用的药剂。与施用表达TFP的细胞有关的副作用包括但不限于细胞因子释放综合症(CRS),以及噬血细胞性淋巴组织细胞增多症(HLH),又称为巨噬细胞活化综合症(MAS)。CRS的症状包括高烧、恶心、短暂性低血压、缺氧等。因此,本文所述的方法可以包括向受试者施用本文所述的表达TFP的细胞以及另外施用管理由表达TFP的细胞的治疗引起的可溶性因子水平升高的药剂。在一个实施方案中,受试者体内升高的可溶性因子是以下一种或多种:IFN- $\gamma$ 、TNF $\alpha$ 、IL-2及IL-6。因此,被施用于治疗此副作用的药剂可以是中和一种或多种所述可溶性因子的药剂。这些药剂包括但不限于类固醇、TNF $\alpha$ 抑制剂以及IL-6抑制剂。TNF $\alpha$ 抑制剂的一个实例是依那西普(entanercept)。IL-6抑制剂的一个实例是托珠单抗(tocilizumab,toc)。

[0337] 在一个实施方案中,可以向受试者施用增强表达TFP的细胞的活性的药剂。举例来说,在一个实施方案中,该药剂可以是对抑制性分子进行抑制的药剂。在一些实施方案中,抑制性分子,例如程序性死亡因子1(PD1),可以降低表达TFP的细胞产生免疫效应反应的能力。抑制性分子抑制性分子的实例包括PD1、PD-L1、CTLA4、TIM3、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4及TGFR $\beta$ 。通过例如在DNA、RNA或蛋白质水平上抑制来进行抑制性分子的抑制可以优化表达TFP的细胞的性能。在实施方案中,可以使用抑制性核酸,例如抑制性核酸,例如dsRNA,例如siRNA或shRNA来抑制表达TFP的细胞中抑制性分子的表达。在一个实施方案中,该抑制剂是shRNA。在一个实施方案中,表达TFP的细胞内的抑制性分子受到抑制。在这些实施方案中,抑制这些抑制性分子的表达的dsRNA分子连接至编码TFP的组分,例如TFP的所有组分的核酸。在一个实施方案中,抑制性信号的抑制剂可以是例如结合至抑制性分子的抗体或抗体片段。举例来说,所述药剂可以是结合至PD1、PD-L1、PD-L2或CTLA4的抗体或抗体片段(例如伊匹单抗(又称为MDX-010和MDX-101,并且以Yervoy<sup>TM</sup>销售;Bristol-Myers Squibb;曲美木单抗(Tremelimumab)(可购自Pfizer的IgG2单克隆抗体,先前称为替西木单抗(ticilimumab)、CP-675,206))。在一个实施方案中,该药剂是结合至TIM3的抗体或抗体片段。在一个实施方案中,该药剂是结合至LAG3的抗体或抗体片段。

[0338] 在一些实施方案中,增强表达TFP的细胞的活性的药剂可以是例如包含第一结构域和第二结构域的融合蛋白,其中该第一结构域是抑制性分子或其片段,并且该第二结构域是与阳性信号缔合的多肽,例如包含如本文所述的细胞内信号传导结构域的多肽。在一些实施方案中,与阳性信号缔合的多肽可以包括CD28、CD27、ICOS的共刺激性结构域,例如CD28、CD27和/或ICOS的细胞内信号传导结构域,和/或例如CD3 $\zeta$ 的初级信号传导结构域,例如本文所描述。在一个实施方案中,所述融合蛋白由与表达TFP相同的细胞表达。在另一实施方案中,该融合蛋白由不表达抗CD19TFP的细胞,例如T细胞表达。

[0339] 药物组合物

[0340] 本发明的药物组合物可以包含如本文所述的表达TFP的细胞,例如多个表达TFP的细胞,与一种或多种药学上或生理上可接受的载体、稀释剂或赋形剂组合。这些组合物可以包含缓冲剂,如中性缓冲生理盐水、磷酸盐缓冲生理盐水等;碳水化合物,如葡萄糖、甘露糖、蔗糖或葡聚糖、甘露糖醇;蛋白质;多肽或氨基酸,如甘氨酸;抗氧化剂;螯合剂,如EDTA或谷胱甘肽;佐剂(例如氢氧化铝);以及防腐剂。在一个方面,本发明的组合物被配制用于

静脉内施用。

[0341] 本发明的药物组合物可以通过适于待治疗(或待预防)疾病的方式施用。施用的量和频率将由如患者的状况以及患者疾病的类型和严重程度等因素决定,不过适当剂量可以由临床试验确定。

[0342] 在一个实施方案中,该药物组合物大体上不含,例如不存在可检测量的污染物,所述污染物例如选自由以下组成的组:内毒素、支原体、有复制能力的慢病毒(RCL)、p24、VSV-G核酸、HIV gag、残留的涂有抗CD3/抗CD28的珠粒、小鼠抗体、汇集的人血清、牛血清白蛋白、牛血清、培养基组分、载体包装细胞或质粒组分、细菌以及真菌。在一个实施方案中,细菌是选自由以下组成的组的至少一种:粪产碱菌(*Alcaligenes faecalis*)、白色念珠菌(*Candida albicans*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、流感嗜血杆菌(*Haemophilus influenzae*)、脑膜炎奈瑟菌(*Neisseria meningitidis*)、绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*)以及A群化脓性链球菌(*Streptococcus pyogenes* group A)。

[0343] 当指示“免疫有效量”、“抗肿瘤有效量”、“肿瘤抑制有效量”或“治疗量”时,打算施用的本发明组合物的精确量可以由医师考虑个体年龄、体重、肿瘤大小、感染或转移程度以及患者(受试者)状况的差异来决定。一般可以确定,包含本文所述的T细胞的药物组合物可以按每千克体重 $10^4$ 至 $10^9$ 个细胞,在一些情形中每千克体重 $10^5$ 至 $10^6$ 个细胞,包括这些范围内的所有整数在的剂量施用。T细胞组合物还可以按这些剂量多次施用。这些细胞可以通过使用免疫疗法中通常所知的输注技术施用(参见例如,Rosenberg等人,*New Eng. J. of Med.* 319:1676,1988)。

[0344] 在某些方面,可能希望向受试者施用活化T细胞,然后再抽血(或进行单采血液成分术),根据本发明活化由此得到的T细胞,并且向患者回输这些活化并且扩增的T细胞。此方法可以每数周进行多次。在某些方面,可以使抽取的10cc至400cc血液中的T细胞活化。在某些方面,使抽取的20cc、30cc、40cc、50cc、60cc、70cc、80cc、90cc或100cc血液中的T细胞活化。

[0345] 主题组合物的施用可以通过任何便利的方式进行,包括气雾剂吸入、注射、摄取、输注、植入或移植。本文所述的组合物可以经动脉、皮下、皮内、肿瘤内、结内、髓内、肌肉内、通过静脉内(i.v.)注射或经腹膜内施用给患者。在一个方面,本发明的T细胞组合物是通过皮内或皮下注射施用给患者。在一个方面,本发明的T细胞组合物是通过静脉内注射施用。T细胞组合物可以直接注射至肿瘤、淋巴结或注射部位中。

[0346] 在一个特定的示例性方面中,受试者可能经历白细胞去除术,其中白细胞被收集,富集或离体耗尽,以选出和/或分离所关注细胞,例如T细胞。这些T细胞分离物可以通过本领域中已知的方法扩增并处理,由此可以引入一个或多个本发明的TFP构建体,从而产生本发明的表达TFP的T细胞。有需要的受试者随后可以经历用高剂量化学疗法进行的标准治疗,随后经历外周血干细胞移植。在某些方面,在移植之后或同时,受试者接受扩增的本发明的TFP T细胞输注。在额外方面,扩增的细胞是在手术之前或之后施用。

[0347] 打算施用给患者的以上治疗的剂量将随所治疗病况的确切性质以及治疗的接受者而变化。施用给人的剂量比例可以根据本领域公认的实践执行。举例来说,对于成年患者,CAMPATH的剂量一般在1至约100mg范围内,通常每天施用,持续在1与30天之间的时间。

优选的日剂量是每天1至10mg,不过在一些情形中,每天可以使用多达40mg的较大剂量(如美国专利号6,120,766中所述)。

[0348] 在一个实施方案中,使用例如体外转录将TFP引入T细胞中,并且受试者(例如人)接受本发明的TFP T细胞的初次施用,以及本发明的TFP T细胞的一次或多次后续施用,其中该一次或多次后续施用是在前一次施用之后不到15天,例如14天、13天、12天、11天、10天、9天、8天、7天、6天、5天、4天、3天或2天施用。在一个实施方案中,每周向受试者(例如人)施用超过一次本发明的TFP T细胞,例如每周施用2、3或4次本发明的TFP T细胞。在一个实施方案中,受试者(例如人受试者)每周施用超过一次TFP T细胞(例如每周施用2、3或4次)(在本文中又称为一个周期),随后一周不施用TFP T细胞,并且然后向受试者再施用一次或多次TFP T细胞(例如每周施用超过一次TFP T细胞)。在另一实施方案中,受试者(例如人受试者)接受超过一个周期的TFP T细胞,并且每个周期之间的时间少于10、9、8、7、6、5、4或3天。在一个实施方案中,每隔一天施用TFP T细胞,每周施用3次。在一个实施方案中,将本发明的TFP T细胞施用至少两周、三周、四周、五周、六周、七周、八周或更长时间。

[0349] 在一个方面,CD19TFP T细胞是使用慢病毒载体,如慢病毒产生的。以此方式产生的TFP-T细胞将稳定表达TFP。

[0350] 在一个方面,TFP T细胞在转导后短暂表达TFP载体达4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天。TFP的短暂表达可以通过RNA TFP载体递送实现。在一个方面,通过电穿孔将TFP RNA转导至T细胞中。

[0351] 使用短暂表达TFP的T细胞(特别是带有鼠类scFv的TFP T细胞)治疗患者可能引起的潜在问题是在多次治疗之后的过敏反应。

[0352] 不受理论束缚,相信这种过敏反应可能是由患者产生体液抗TFP反应,即具有抗IgE同种型的抗TFP抗体引起。据悉,当有十至十四天暂停暴露于抗原时,患者的产抗体细胞经历从IgG同种型(不会引起过敏反应)向IgE同种型的类别转换。

[0353] 如果患者在短暂TFP疗法(如通过RNA转导产生的那些)过程期间产生抗TFP抗体反应的风险较高,则TFP T细胞输注暂停不应持续超过十至十四天。

## 实施例

[0354] 参照以下实验实施例进一步详细描述本发明。除非另外具体说明,否则这些实施例只是出于说明的目的提供,并且不打算作限制。因此,本发明不应当以任何方式解释为局限于以下实施例,而是应当解释为涵盖由于本文所提供的教导而变得显而易见的任何和所有变化。不作进一步描述,相信本领域的普通技术人员可以使用前述描述和以下说明性实施例,制备和利用本发明的化合物并实践所要求的方法。以下操作实施例具体地指出了本发明的各种方面,并且不应解释为以任何方式限制本公开的其余内容。

[0355] 实施例1:TFP构建体

[0356] 通过将利用编码短连接子(SL):AAAGGGSGGGSGGGGSLE(SEQ ID NO:5)或长连接子(LL):AAAIEVMYPPPYLGGGGSGGGSGGGGSLE(SEQ ID NO:6)的DNA序列连接至CD3或TCR DNA片段的抗CD19scFv DNA片段克隆至p510载体((System Biosciences(SBI))中XbaI和EcoRI位点处,来工程改造抗CD19TFP构建体。

[0357] 产生的抗CD19TRuC构建体是p510\_抗CD19\_LL\_TCR $\alpha$ (抗CD19scFv-长连接子-人全

长T细胞受体 $\alpha$ 链)、p510\_抗CD19\_LL\_TCR $\alpha$ C(抗CD19scFv-长连接子-人T细胞受体 $\alpha$ 恒定结构域链)、p510\_抗CD19\_LL\_TCR $\beta$ (抗CD19scFv-长连接子-人全长T细胞受体 $\beta$ 链)、p510\_抗CD19\_LL\_TCR $\beta$ C(抗CD19scFv-长连接子-人T细胞受体 $\beta$ 恒定结构域链)、p510\_抗CD19\_LL\_CD3 $\gamma$ (抗CD19scFv-长连接子-人CD3 $\gamma$ 链)、p510\_抗CD19\_LL\_CD3 $\delta$ (抗CD19scFv-长连接子-人CD3 $\delta$ 链)、p510\_抗CD19\_LL\_CD3 $\epsilon$ (抗CD19scFv-长连接子-人CD3 $\epsilon$ 链)、p510\_抗CD19\_SL\_TCR $\beta$ (抗CD19scFv-短连接子-人全长T细胞受体 $\beta$ 链)、p510\_抗CD19\_SL\_CD3 $\gamma$ (抗CD19scFv-短连接子-人CD3 $\gamma$ 链)、p510\_抗CD19\_SL\_CD3 $\delta$ (抗CD19scFv-短连接子-人CD3 $\delta$ 链)、p510\_抗CD19\_SL\_CD3 $\epsilon$ (抗CD19scFv-短连接子-人CD3 $\epsilon$ 链)。

[0358] 通过将编码抗CD19、部分CD28细胞外结构域、CD28跨膜结构域、CD28细胞内结构域及CD3 $\zeta$ 的合成DNA克隆至p510载体的XbaI和EcoR1位点处来产生抗CD19CAR构建体p510\_抗CD19\_28 $\zeta$ 。

[0359] 通过将利用编码连接子:GGGGSGGGSGGGGSLE(SEQ ID NO:7)的DNA序列连接至CD3DNA片段的抗BCMA scFv DNA片段克隆至p510载体(SBI)的XbaI和EcoR1位点来工程改造抗BCMA TFP构建体。所产生单抗BCMA TFP构建体是p510\_抗BCMA\_CD3 $\gamma$ (抗BCMA scFv-连接子-人CD3 $\gamma$ 链)和p510\_抗BCMA\_CD3 $\epsilon$ (抗BCMA scFv-连接子-人CD3 $\epsilon$ 链)。

[0360] 合成全长BCMA并克隆至p514(SBI)的BamHI和NheI位点以产生构建体p514\_BCMA,用于产生稳定靶细胞系。

[0361] 通过将利用编码连接子:GGGGSGGGSGGGGSLE(SEQ ID NO:7)的DNA序列连接至CD3DNA片段的抗FAP或抗CAIX scFv DNA片段克隆至p510载体(SBI)的XbaI和EcoR1位点来工程改造抗成纤维细胞活化蛋白(FAP)和抗碳酸酐酶-9(CAIX)TFP构建体。可以产生的抗FAP或抗CAIXTFP构建体包括p510\_抗FAP\_CD3 $\gamma$ (抗FAP scFv-连接子-人CD3 $\gamma$ 链)和p510\_抗FAP\_CD3 $\epsilon$ (抗FAP scFv-连接子-人CD3 $\epsilon$ 链)以及p510\_抗CAIX\_CD3 $\gamma$ (抗CAIX scFv-连接子-人CD3 $\gamma$ 链)和p510\_抗CAIX\_CD3 $\epsilon$ (抗CAIX scFv-连接子-人CD3 $\epsilon$ 链)。

[0362] 可以合成全长FAP和CAIX并克隆至p514(SBI)的BamHI和NheI位点以产生构建体p514\_FAP和p514\_CAIX,这些构建体可以用于产生稳定靶细胞系。

[0363] 示例性构建体序列显示于下:

[0364] 构建体序列

[0365] 靶构建体

[0366] P514\_BCMA(SEQ ID NO:8)

[0367]

```

1   acgcggtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca
61  acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taaggtggta
121 cgatcgtgcc ttattagga ggcaacagac ggtctgaca tggattggac gaaccactga
181 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacataa acgggtctct
241 ctggttagac cagatctgag cctgggagct ctctggctaa ctagggaacc cactgcttaa
301 gcctcaataa agcttgectt gactgcttca agtagtgtgt gcccgctctgt tgtgtgactc
361 tggttaactag agatccctca gaccctttaa gtcagtgtgg aaaatctcta gcagtggcgc
421 ccgaacaggg acctgaaagc gaaagggaaa ccagagctct ctgcagcag gactcggctt
481 gctgaagcgc gcacggcaag aggcgagggg cggcgactgg tgagtaacgcc aaaatatttg
541 actagcggag gctagaagga gagagatggg tgcgagagcg tcagtattaa gcgggggaga

```

[0368]

```

601 attagatcgc gatgggaaaa aattcgggta aggccagggg gaaagaaaa atataaatta
661 aaacatatag tatgggcaag cagggagcta gaacgattcg cagttaatcc tggcctgta
721 gaaacatcag aaggctgtag acaaatactg ggacagctac aaccatccct tcagacagga
781 tcagaagaac ttagatcatt atataataca gtagcaaccc tctatttgtt gcatcaaagg
841 atagagataa aagacaccaa ggaagcttta gacaagatag aggaagagca aaacaaaagt
901 aagaccaccg cacagcaagc ggccactgat cttcagacct ggaggaggag atatgagggg
961 caattggaga agtgaattat ataaatataa agtagtaaaa attgaacat taggagtagc
1021 accaccaag gcaaagagaa gagtgggtgca gagagaaaaa agagcagtgg gaataggagc
1081 tttgttccct gggttcttgg gagcagcagg aagcactatg ggccgacgct caatgacgct
1141 gacggtacag gccagacaat tattgtctgg tatagtgcag cagcagaaca atttgctgag
1201 ggctattgag gcgcaacagc atctgttgca actcacagtc tggggcatca agcagctcca
1261 ggcaagaatc ctggctgtgg aaagatacct aaaggatcaa cagctcctgg ggatttgggg
1321 ttgctctgga aaactcattt gcaccactgc tgtgccttgg aatgctagtt ggagtaataa
1381 atctctggaa cagatttgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgaa aaccagcaag aaaagaatga
1501 acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa
1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcggt
1681 tcagaccacc ctcccaacce cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggatcgggt
1801 aactttttaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttccctact tggcagtaca
1981 tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca ccccattgac gtcaatggga
2101 gtttgttttg gcaccaaagt caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag
2221 tgaaccgtca gatcgcttgg agacgccatc cacgctggtt tgacctccat agaagattct
2281 agagctagcg ccgccacct gctccagtg gctggccagt gcagccagaa cgagtacttc
2341 gacagcctgc tgcagcctg catcccttgc cagctgcggt gcagagcaa cacccccacc
2401 ctgacctgcc agcggtaact caacgccagc gtgaccaaca gcgtgaaggg caccaacgcc
2461 atcctgtgga cctgcctggg cctgagcctg atcatcagcc tggccgtggt cgtgctgatg
2521 ttctctgctg ggaagatcaa cagcagccc ctgaaggacg agttcaagaa caccggcagc
2581 ggctctgctg gcatggccaa catcgacctg gaaaagagcc ggaccggcga cgagatcatc
2641 ctgcccagag gcctggagta cacctgggaa gagtgtacct gcgaggactg catcaagagc
2701 aagcccaagg tggacagcga ccaactgctc cctctgcccg ccatggaaga gggcgcccacc
2761 atcctggtga caacaaagac caacgactac tgcaagagcc tgccctgccg cctgagcgc
2821 accgagatcg agaagtccat cagcgccaga tgaggatccg cggccgcaag gatctgcgat
2881 cgctccgggtg cccgtcagtg ggcagagcgc acatcgcca cagtcccga gaagtgggg
2941 ggaggggtcg gcaattgaac ggtgctcag agaaggtggc gcgggtaaa tgggaaagt
3001 gatgtcgtg actggctcgg ccttttccc gaggggggg gagaaccgta tataagtgca
3061 gtagtcgccc tgaacgttct tttctgcaac gggtttggcg ccagaacaca gctgaagctt
3121 cgaggggctc gcatctctcc ttacgcgccc cgcgcctcta cctgaggccg ccatccacgc
3181 cggttgagtc gcgttctgcc gctcccgc tggtgtgct cctgaactgc gtcgcgctc
3241 taggtaagtt taaagctcag gtcgagaccg ggctttgtc cggcgctccc ttggagccta
3301 cctagactca gccggctctc cacgctttgc ctgacctgc ttgctcaact ctacgtctt
3361 gtttctgttt ctgttctgcg ccgttacaga tccaagctgt gaccggcgcc tacgtcgaga
3421 tgattgaaca agatggattg cacgcaggtt ctccggccgc ttgggtggag aggctattcg
3481 gctatgactg ggcacaacag acaatcggct gctctgatgc cgccgtgttc cggctgtcag
3541 cgcaggggcg cccggttctt tttgtcaaga ccgacctgtc cggtgccctg aatgaactgc
3601 aggacgagge agcgcggcta tegtggctgg ccgcgacggg cgttccctgc gcagctgtgc
3661 tcgacgttgt cactgaagcg ggaagggact ggctgctatt gggcgaagtg ccggggcagg
3721 atctcctgtc atctcacctt gctcctgccc agaaagtatc catcatggct gatgcaatgc
3781 ggcggctgca tacgcttgat ccggctacct gccattcga ccaccaagcg aacatcgca
3841 tcgagcagag acgtactcgg atggaagccg gtcttgtcga tcaggatgat ctggacgaag
3901 agcatcaggg gctcgcgcca gccgaactgt tcgccaggct caaggcgcgc atgcccgcg
3961 gcgaggatct cgtcgtgacc catggcgatg cctgcttggc gaatatcatg gtggaaaatg
4021 gccgcttttc tggattcatc gactgtggcc ggetgggtgt ggcggaccgc tatcaggaca
4081 tagcgttggc taccctgat attgctgaag agcttggcgg cgaatgggct gaccgcttcc

```

[0369]

4141 tegtgettta cggatategc gctcccgatt cgcagcgcat cgccttctat cgccttcttg  
4201 acgagttctt ctgactegac aatcaacctc tggattacaa aatttgtgaa agattgactg  
4261 gtattcttaa ctatgttget ccttttacgc tatgtggata cgctgcttta atgcctttgt  
4321 atcatgctat tgettcccgat atggctttca tttctcctc cttgtataaa tcoctggttgc  
4381 tgtctcttta tgaggagtgt tggcccgttg tcaggcaacg tggcgtgggtg tgcactgtgt  
4441 ttgctgacgc aacccccact ggttggggca ttgccaccac ctgtcagctc ctttccggga  
4501 ctttcgcttt ccccctccct attgccacgg cggaactcat cgcgcctgc cttgcccgct  
4561 gctggacagg ggctcggtcg ttgggcaactg acaattccgt ggtgttgcg gggaaatcat  
4621 cgtcctttcc ttggctgctc gectgtgttg ccactggat tctgcgcggg acgtcctctc  
4681 gctacgtccc ttcggccctc aatccagcgg accttcctc ccgcggcctg ctgcccctc  
4741 tgcggcctct tccgctctt cgccttcgcc ctacagcagag tccgatctcc ctttgggccc  
4801 cctccccgcc tggtagcttt aagaccaatg acttacaagg cagctgtaga tcttagccac  
4861 tttttaaaag aaaagggggg actggaaggg ctaattcact cccaacgaag ataagatctg  
4921 ctttttgcct gtactgggtc tctctgggta gaccagatct gagcctggga gctctctggc  
4981 taactagggg acccactgct taagcctcaa taaagctgc cttgagtgt tcaagtagtg  
5041 tgtgcccgtc tgttgtgtga ctctggtaac tagagatccc tcagaccctt ttagtcagtg  
5101 tggaaaatct ctagcagtag tagttcatgt catcttatta ttcagtattt ataacttga  
5161 aagaaatgaa taccagagag tgagaggaac ttgtttattg cagcttataa tggttacaaa  
5221 taaagcaata gcatcacaaa tttcacaaat aaagcatttt tttcactgca tctagtgtg  
5281 ggtttgtcca aactcatcaa tgtatcttat catgtctggc tctagctatc ccgcctctaa  
5341 ctccgcccct cccgccccta actccgcccga gttccgcccga tctccgccc catggctgac  
5401 taattttttt tatttatgca gaggccgagg ccgcctcggc ctctgagcta tccagaagt  
5461 agtgaggagg cttttttgga ggccctagact tttgcagaga cggcccaaat tctaatcat  
5521 ggtcatagct gtttctctgt tgaattgtt atccgctcac aattccacac aacatacagag  
5581 ccggaagcat aaagtgtaaa gcctgggggtg cctaatgagt gagctaactc acattaattg  
5641 cgttgcgctc actgcccgcct tccagtcgg gaaacctgtc gtgccagctg cattaatgaa  
5701 teggccaacg cgcgggggaga ggcggtttgc gtattggggcg ctctccgct tccctgctca  
5761 ctgactcgct gcgctcggtc gttcggctgc ggcgagcgg atcagctcac tcaaaggcgg  
5821 taatacgggt atccacagaa tcaaggggata acgcaggaaa gaactgtga gcaaaaggcc  
5881 agcaaaaagg caggaaccgt aaaaaggccg cgttgcctggc gttttccat aggcctcggc  
5941 cccctgacga gcatcacaaa aatcgacgct caagtacagag gtggcgaaaac ccgacaggac  
6001 tataaagata ccaggcggtt cccctggaa gctccctcgt gcgctctct gtccgacce  
6061 tgccgcttac cggatacctg tccgctttc tccctcggg aagcgtggcg ctttctcata  
6121 gctcacgctg taggtatctc agttcgggtg aggtcgttcg ctccaagctg ggtgtgtg  
6181 acgaaccccc cgttcagccc gaccgctgcg ccttatccgg taactatcgt cttgagcca  
6241 acccggttag acacgactta tccgcaactg cagcagccac tggtaacagg attagcagag  
6301 cgaggtatgt aggcgggtgt acagagttct tgaagtgggt gcctaactac ggctacacta  
6361 gaaggacagt atttggtatc tgcgctctgc tgaagccagt taccttcgga aaaagagttg  
6421 gtagctcttg atccggcaaa caaacacctc ctggtagcgg tggtttttt gtttgcgaagc  
6481 agcagattac gcgcagaaaa aaaggatcc aagaagatcc tttgatcttt ttcagggggt  
6541 ctgacgctca gtggaacgaa aactcagtt aagggatttt ggtcatgaga ttatcaaaaa  
6601 ggatcttcac ctagatcctt ttaaattaaa aatgaagttt taaatcaatc taaagtatat  
6661 atgagtaaac ttggtctgac agttaccaat gcttaatcag tgaggcacct atctcagcga  
6721 tctgtctatt tegtctatc atagttgct gactccccgt cgtgtagata actacgatac  
6781 gggagggctt accatctggc cccagtgtcg caatgatacc gcgagaccca cgtcaccgg  
6841 ctccagattt atcagcaata aaccagccag ccggaagggc cgagcgcaga agtggctctg  
6901 caactttatc cgcctccatc cagtctatta atgttgccg ggaagctaga gtaagtgtt  
6961 cgcaggttaa tagtttgcgc aacgttgttg ccattgctac aggcacgtg gtgtcacgct  
7021 cgtcgtttgg tatggcttca ttcagctccg gttcccaacg atcaaggcga gttacatgat  
7081 cccccatggt gtgcaaaaaa gcggtagct ccttcggtcc tccgatcgtt ttcagaagta  
7141 agttggcgcg agtgttatca ctcatggtta tggcagcact gcataattct ctactgtca  
7201 tgccatccgt aagatgcttt tctgtgactg gtgagtactc aaccaagtca tctgagaat  
7261 agtgtatgcg gcgaccgagt tgcctctgcc cggcgtcaat acgggataat accgcgccac  
7321 atagcagaac tttaaaagtg ctcatcattg gaaaacgttc ttcggggcga aaactctcaa  
7381 ggatcttacc gctgttgaga tccagttcga tgtaaccac tctgacccc aactgatctt  
7441 cagcatcttt tactttcacc agcgtttctg ggtgagcaaa aacaggaagg caaaatgccg  
7501 caaaaaaggg aataaggggc acacggaaat gttgaatact catactcttc ctttttcaat  
7561 attattgaag catttatcag ggttattgtc tcatgagcgg atacatattt gaatgtattt  
7621 agaaaaataa acaaataggg gttccgcgca ctttccccg aaaagtgcc aactgactct

[0370] 7681 aagaaacat tattatcatg acattaacct ataaaaatag gcgtatcacg aggcctttc  
 7741 gtctcgcgcg ttctcggatg gacgggtaaa acctctgaca catgcagctc ccggagacgg  
 7801 tcacagcttg tctgtaagcg gatgccggga gcagacaagc ccgtcagggc gcgtcagcgg  
 7861 gtgttgccgg gtgtcggggc tggcttaact atgcggcatc agagcagatt gtactgagag  
 7921 tgcaccatat gcgggtgtgaa ataccgcaca gatgcgtaag gagaaaatac cgcacagggc  
 7981 gccattcgcc attcaggctg cgcaactgtt ggggaagggc atcgggtcgg gcctcttcgc  
 8041 tattacgcca gctggcgaaa gggggatgtg ctgcaaggcg attaagttag gtaacgcca  
 8101 ggttttccca gtcacgacgt tgtaaaacga cggccagtgc caagctg.

[0371] CAR构建体

[0372] p510\_抗CD19\_28z (SEQ ID NO:9)

[0373] 1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca  
 61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcattgccg ttgggtggaag taaggtggta  
 121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga  
 181 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc  
 241 tctgggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccaactgcta  
 301 agcctcaata aagcttgctt tgagtgtctc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact  
 361 ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaaatctc agcagtggcg  
 421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct  
 481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggc ggcgcgactg gtgagtacgc caaaaatttt  
 541 gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag  
 601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt  
 661 aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctggt  
 721 agaaacatca gaaggtgtg gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg  
 781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcacaaag  
 841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag  
 901 taagaccacc gcacagcaag cggcactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg  
 961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag  
 1021 caccaccaaa ggcaaagaga agagtgtgac agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag  
 1081 ctttgttcct tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc  
 1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga  
 1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcacc aagcagctcc  
 1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg  
 1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata  
 1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aattaacaa  
 1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga  
 1501 acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa  
 1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat  
 1621 agtttttgcg gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggaattcac cttatcgtt  
 1681 tcagaccacc ctcccaacc cagggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg  
 1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcgggt  
 1801 aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat  
 1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt  
 1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttccctact tggcagtaca  
 1981 tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcgggt ttggcagtac atcaatgggc  
 2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga  
 2101 gtttgttttg gcaccaaatt caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaa tccgccccat  
 2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag  
 2221 tgaaccgtca gatcgctgg agacgcatc cacgctggtt tgacctccat agaagattct  
 2281 agagcgcgca ccatgctctc cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca  
 2341 gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctcctt gctctgctct  
 2401 ctgggagaca gagtcccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat  
 2461 tggatcagc agaaaccaga tggactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta  
 2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctacc  
 2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatagcctt  
 2641 ccgtacacgt tgggagggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc  
 2701 aagcccggat ctggcgagg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct  
 2761 ggcctggtgg cgcctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta  
 2821 cccactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccaagaa agggctctgga gtggctggga  
 2881 gtaatatggg gtagtgaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc

[0374]

```

2941 atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac
3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac
3061 tgggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caattgaagt tatgtatcct
3121 cctccttacc tagacaatga gaagagcaat ggaaccatta tccatgtgaa agggaaacac
3181 ctttgtccaa gtcccctatt tcccggacct tctaagccct tttgggtgct ggtgggtggt
3241 gggggagtcc tggcttgcta tagcttgcta gtaacagtgg cctttattat tttctgggtg
3301 aggagtaaga ggagcaggct cctgcacagt gactacatga acatgactcc ccgccgcccc
3361 gggcccaccc gcaagcatta ccagccctat gccccaccac gcgacttcgc agcctatcgc
3421 tccagagtga agttcagcag gagcgcagac gcccccgctg accagcaggg ccagaaccag
3481 ctctataacg agctcaatct aggacgaaga gaggagtacg atgttttggg caagagacgt
3541 ggccgggacc ctgagatggg gggaaagccg agaaggaaga accctcagga aggcctgtac
3601 aatgaactgc agaaagataa gatggcggag gcctacagtg agattgggat gaaaggcgag
3661 cgccggaggg gcaaggggca cgatggcctt taccagggtc tcagtacagc caccaaggac
3721 acctacgacg cccttcacat gcaggccctg cccctcgtc aagaattcgg atccgcgccc
3781 gcgaaggatc tgcgatcgtc ccggtgcccg tcagtgggca gagcgcacat cgcgccacgt
3841 ccccgagaag ttggggggag gggtcggcaa ttgaacgggt gcctagagaa ggtggcggc
3901 ggtaaactgg gaaagtgatg tegtgtactg gctccgctt tttcccaggg gtgggggaga
3961 accgtatata agtgcagtag tcgccgtgaa cgttcttttt cgcaacgggt ttgccgccag
4021 aacacagctg aagcttcgag gggctcgcat ctctccttca cgcgccgccc gcctacctg
4081 aggcgcgcat ccacgcggtg tgagtgcgct tctgcgctc ccgcctctg tgcctctg
4141 aactgcgtcc ccgctctagg taagttaaaa gctcaggtcg agaccggccc ttgtccggc
4201 gctcccttgg agcctaccta gactcagccg gctctccacg ctttgctga ccctgcttgc
4261 tcaactctac gtctttgttt cgttttctgt tctgcgccgt tacagatcca agctgtgacc
4321 ggcgcctacg ctagatgacc gagtacaagc ccacggtgcg cctcgccacc cgcgacgacg
4381 tccccagggc cgtacgcacc ctgcgcccg cgttcgccga ctaccgcccc acgcgccaca
4441 ccgtcgatcc ggaccgccac atcgagcggg tcaccgagct gcaagaactc ttcctcacgc
4501 gcgtcgggct cgacatcggc aaggtgtggg tcgcggacga cggcgcccg gtggcggtct
4561 ggaccacgcc ggagagcgtc gaagcggggg cgggtgttcgc cgagatcggc ccgcgcattg
4621 ccgagttgag cgggtcccggt ctggccgcgc agcaacagat ggaaggcctc ctgcccgcgc
4681 accgcccaca ggagcccgcg tggttcctgg ccaccgtcgg cgtctgcgcc gaccaccagg
4741 ccaagggctc tggcagcgcc gtcgtgtctc ccggagtggg ggcggccgag cgcgcggggg
4801 tgcccgcctt cctggagacc tccgcgcccc gcaacctccc cttctacgag cggctcggtt
4861 tcaccgtcac cgcgcagctc gaggtgcccc aaggaccgcg cacctggtgc atgaccgca
4921 agcccgggtg ctgagtcgac aatcaacctc tggattacaa aatttgtgaa agattgactg
4981 gtattcttaa ctatgttget ccttttaacg tatgtggata cgtctcttta atgcctttgt
5041 atcatgctat tgettcccgt atggctttca tttctcctc cttgtataaa tccgtggttgc
5101 tgtctcttta tgaggagtgt tggcccgttg tcaggcaacg tggcgtgggtg tgcactgtgt
5161 ttgctgacgc aacccccact ggttggggca ttgccaccac ctgtcagctc ctttccggga
5221 ctttgccttt cccctccctt attgccaccg cggaaactcat cgcgcctgc cttgcctcgt
5281 gctggacagg ggctcggctg ttggcactg acaattccgt ggtgtgtctg ggtgaaatcat
5341 cgtcccttcc ttggctgctc gctgtgttg ccacctggat tctgcgcggg acgtcctctt
5401 gctacgtccc tteggccctc aatccagcgg acctccttc ccgcggcctg ctgccggtc
5461 tgccgctctt tccgctctt cgccttcgcc ctcagacgag tcggatctcc ctttgggccc
5521 cctccccgcc tggtagcttt aagaccaatg acttacaagg cagctgtaga tcttagccac
5581 tttttaaaag aaaagggggg actggaaggg ctaattcact cccaacgaaa ataagatctg
5641 ctttttgett gtactgggtc tctctggtta gaccagatct gagcctggga gctctctggc
5701 taactagggg acccactgct taagcctcaa taaagcttgc cttgagtgt tcaagtagtg
5761 tgtgcccgtc tgttgtgtga ctctggtaac tagagatccc tcagaccctt ttagtcagtg
5821 tggaaaatct ctagcagtag tagttcatgt catcttatta ttcagtattt ataacttga
5881 aagaaatgaa tatcagagag tgagaggaac ttgtttattg cagcttataa tggttacaaa
5941 taaagcaata gcatcacaaa tttcacaaat aaagcatttt tttcactgca tctagctatc
6001 ggtttgtcca aactcatcaa tgtatcttat catgtctggc tctagctatc ccgccctaa
6061 ctccgccag ttcgcccat tctccgcccc atggctgact aatttttttt atttatgcag
6121 aggcggaggg cgctcggcc tetgagctat tccagaagta gtgaggaggc ttttttggag
6181 gcctagactt ttgcagagac ggcccaaatt cgtaatcatg gtcatagctg tttcctgtgt
6241 gaaattgtta tccgctcaca attccacaca acatacgagc cgaagcata aagtgtaaag
6301 cctgggggtg ctaatgagt agctaactca cattaattgc gttgcgctca ctgccgctt
6361 tccagtcggg aaacctgtcg tgccagctgc attaatgaat cggccaacgc ggggggagag
6421 gcggtttgcg tattgggcgc tcttccgctt cctcgtcac tgactcgtg cgtcgggtg

```

```

6481 ttcggctgcg gcgagcggta tcagctcact caaaggcggg aatacggtta tccacagaat
6541 caggggataa cgcaggaaaag aacatgtgag caaaaggcca gcaaaaggcc aggaaccgta
6601 aaaaggccgc gttgctggcg tttttccata ggctccgccc cctgacgag catcacaaaa
6661 atcgacgctc aagtcaaggg tggcgaaacc cgacaggact ataaagatac caggcgtttc
6721 cccctggaag ctccctcgtg cgctctcctg ttccgacct gccgcttacc ggatacctgt
6781 ccgcctttct cccttcggga agcgtggcgc tttctcatag ctcacgctgt aggtatctca
6841 gttcggtgta ggtcgttcgc tccaagctgg gctgtgtgca cgaaccccc gttcagcccc
6901 accgctgccc cttatccggg aactatcgtc ttgagtccaa cccggtaaga cagcacttat
6961 cgccactggc agcagccact ggtaacagga ttagcagagc gaggtatgta ggcggtgcta
7021 cagagttctt gaagtgggtg cctaactacg gctacactag aaggacagta tttggtatct
7081 cgctctgct gaagccagtt accttcggaa aaagagttgg tagctcttga tccggcaaac
7141 aaaccaccgc tggtagcggg ggtttttttg tttgcaagca gcagattacg cgcagaaaaa
7201 aaggatctca agaagatcct ttgatctttt ctacggggtc tgacgctcag tggaaacgaaa
7261 actcacgtta agggattttg gtcattgagat tatcaaaaag gatcttcacc tagatccttt
7321 taaattaaaa atgaagtttt aatcaatct aaagtatata tgagtaaact tggctgaca
7381 gttaccaatg cttaatcagt gaggcacct tctcagcgt ctgtctattt cgttcatcca
7441 tagttgctg actccccgc gtgtagataa ctacgatacg ggagggtta ccatctggcc
7501 ccagtgtgc aatgataccg cgagaccac gctcacggc tccagattta tcagcaataa
7561 accagccagc cggaggggcc gagcgcagaa gtggctctgc aactttatcc gcctccatcc
[0375] 7621 agtctattaa ttgttgccgg gaagctagag taagtgttc gccagttaat agtttgcgca
7681 acgttgttgc cattgctaca ggcactcgtg tgcacgctc gtcgtttggg atggcttcat
7741 tcagctcgg tcccaacga tcaaggcgag ttacatgat cccctgttg tgcaaaaaag
7801 cggttagctc ctccggctct ccgactcgtt tcagaagtaa gttggccgca gtgttatcac
7861 tcatggttat ggcagcactg cataattctc ttactgtcat gccatccgta agatgctttt
7921 ctgtgactgg tgagtactca accaagtcac tctgagaata gtgtatgagg cgaccgagtt
7981 gctcttgccc ggcgtcaata cgggataata ccgcgccaca tagcagaact taaaagtgc
8041 tcatcattgg aaaacgttct tccggggcga aactctcaag gatcttaccg ctgttgagat
8101 ccagttcgat gtaaccact cgtgcacca actgatcttc agcatctttt actttacca
8161 gcgtttctgg gtgagcaaaa acaggaaggc aaaatgccg aaaaaaggga ataaggcgca
8221 cacggaaatg ttgaatactc atactcttcc tttttcaata ttattgaagc atttatcagg
8281 gttattgtct catgagcgga tacatatttg aatgtattta gaaaaataa caaatagggg
8341 tccgcgcac atttccccga aaagtgccac ctgacgtcta agaaaccatt attatcatga
8401 cattaacct taaaaatagg cgtatcacga ggccttttcg tctcgcgctt tccggtgatg
8461 acggtgaaaa cctctgacac atgcagctcc cggagacggg cacagcttgt ctgtaagcgg
8521 atgccgggag cagacaagcc cgtcagggcg cgtcagcggg tgttggcggg tgtcggggct
8581 ggcttaacta tgcggcatca gagcagattg tactgagagt gcaccatag cgggtgtaaa
8641 taccgcacag atgcgtaagg agaaaatacc gcatcaggcg ccattcgcca ttcaggctgc
8701 gcaactggtt ggaagggcga tccgtcgggg cctcttcgct attacgccag ctggcgaaa
8761 ggggatgtgc tgcaaggcga ttaagttggg taacgccagg gttttcccag tcacgacggt
8821 gtaaaacgac ggccagtgcc aagctg.

```

[0376] p526A\_19BBZ (SEQ ID NO:10)

```

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca
61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taaggtggta
121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctgaca tggattggac gaaccactga
181 attgccgat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc
241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccactgctta
301 agcctcaata aagcttgctt tgagtgtctc aagttagtgt tgcccgtctg ttgtgtgact
361 ctggtaacta gagatcctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg
421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct
[0377] 481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt
541 gactagcggg ggttagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcggggggg
601 aattagatcg cgatgggaaa aatttcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt
661 aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctggt
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaactat gggacagcta caaccatccc ttcagacagg
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatag agtagcaacc ctctattgtg ttgatcaaag
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaa
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagttagtaa aattgaacca ttaggagtag
1021 caccaccaa ggcaagaga agagtgggtc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag

```

[0378]

1081 ctttgttcct tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat ggggcgagcg tcaatgacgc  
1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga  
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcctc aagcagctcc  
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg  
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata  
1381 aatctctgga acagatttgg aatcacacga cctggatgga gtgggacaga gaaattaaca  
1441 attacacaag cttataacac tccttaattg aagaatcgca aaaccagcaa gaaaagaatg  
1501 aacaagaatt attggaatta gataaatggg caagtttgtg gaattgggtt aacataacaa  
1561 attggctgtg gtatataaaa ttattcataa tgatagtagg aggcttggtg ggtttaagaa  
1621 tagtttttgc tgtactttct atagtgaata gaggtaggca gggatattca ccattatcgt  
1681 ttcagaccca cctccaacc ccgaggggac ccgacaggcc cgaaggaata gaagaagaag  
1741 gtggagagag agacagagac agatccattc gattagttaa cggatctcga cggatcggg  
1801 taacttttaa aagaaaagg gggattgggg ggtacagtgc aggggaaaga atagtagaca  
1861 taatagcaac agacatacaa actaaagaat tacaaaaaca aattacaaaa ttcaaaattt  
1921 tatcgatact agtggatctg cgatcgctcc ggtgcccgtc agtgggcaga gcgcacatcg  
1981 cccacagctc ccgagaagt ggggggaggg gtccgcaatt gaacgggtgc ctagagaagg  
2041 tggcgcgggg taaactggga aagtgatgtc gtgtactggc tccgcctttt tcccgagggt  
2101 ggggggagaa cgtatataag tgcagtgtc gccgtgaacg ttctttttcg caacgggtt  
2161 gccgccagaa cacagctgaa gcttcgagg gctcgcctc ctccttcacg cgcctgcgcg  
2221 cctacactgag gccgccatcc acgcccgttg agtcgcgttc tgccgcctcc gcctgtggt  
2281 gcctcctgaa ctgcgtccgc cgtctaggta agtttaaagc tcaggctcag accgggctt  
2341 tgtccggcgc tccctggag cctacctaga ctccagcggc tctccacgct ttgcctgacc  
2401 ctgcttctgc aactctact ctttgtttcg tttctgttc tgccgcgtta cagatccaag  
2461 ctgtgaccgg cgcctactct agagccgcca ccatggcctt gcctgtgaca gctctgctgc  
2521 tgccctctgg cctgctgctc catgcccgca gacccgatat ccagatgacc cagaccacca  
2581 gcagcctgag cgcagcctg ggcgatagag tgaccatcag ctgcccggcc agccaggaca  
2641 tcagcaagta cctgaactgg tatcagcaga aaccgcagg caccgtgaag ctgctgatct  
2701 accacaccag cacactgcac agcggcgtgc ccagcagatt ttctggcagc ggtctcggca  
2761 ccgactacag cctgaccatc tccaacctgg aacaggaaga tatcgtacc tacttctgtc  
2821 agcaaggcaa caccctgcc tacacctcg gccgaggcac caagctggaa atcacaggcg  
2881 gccgaggatc tggcggagg ggaagtggcg gaggcggcag cgaagtgaaa ctgcaggaaa  
2941 gccgcccctg cctggtggcc ccttctcagt ctctgtccgt gacctgtacc gtgtccggcg  
3001 tgtcccctgcc cgattatggc gtgtcctgga tccggcagcc tcccagaaag ggcttggat  
3061 ggctgggctg gatctggggc agcagacaaa cctactaaa cagcgcctg aagtcccggc  
3121 tgaccatcat caaggacaac tccaagagcc aggtgttcc gaagatgaac agcctgcaga  
3181 ccgacgacac cgcctctac tactgcgcca agcactacta ctacggcggc agctacgcca  
3241 tggactactg gggccagggc accagcgtga ccgtgtctag cacaaccacc cctgcccta  
3301 gacctcccac cccagccca acaattgcca gccagcctct gtctctcggg cccgaagctt  
3361 gtagacctgc tgcggcgga gccgtgcaca ccagaggact ggatttcgcc tgcgacatct  
3421 acatctgggc cctctggcc ggcacatgtg gccgtgctgt cctcagcctg gtcctacccc  
3481 tgtactgcaa gccgggacga aagaaactgc tctacatct caagcagccc tctatcgggc  
3541 ccgtgcagac cacacaggaa gaggacggct gctcctgcag attcccagag gaagaagaag  
3601 gccgctgcga gctgagagt aagttcagca gatccgcga cgcctcctgc taccagcagg  
3661 gacagaacca gctgtacaac gagctgaacc tgggcagacg ggaagagtac gacgtgctgg  
3721 acaagcggag aggcagagat cccgagatgg gccgcaagcc cagacggaag aatcccagg  
3781 aaggcctgta taacgaactg cagaaagaca agatggcga ggcctacagc gagatcggaa  
3841 tgaagggcga gccgagaaga ggcaagggcc acgatggcct gtaccagggc ctgagaccgg  
3901 ccaccaagga cacctacgat gccctgcaca tgcaggccct gccaccaga gaattcgaag  
3961 gatccgcggc cgctgagggc agaggaagt tctaacatg ccgtgacgtg gaggagaatc  
4021 ccggcccctc cggaatggag agcgcagaga gccggcctgc cgcctaggag atcgagtgcc  
4081 gcatcaccgg caccctgaac ggcgtggagt tcgagctggg gggcggcgga gagggcaccc  
4141 ccaagcagg ccgcatgacc aacaagatga agagcaccaa aggcgcctg acctcagcc  
4201 cctacctgct gagccacgtg atgggctacg gcttctacca ctccggcacc taccaccagg  
4261 gctacgagaa ccccttctg cacgccaatc acaacggcgg ctacaccaac acccgcatcg  
4321 agaagtacga ggacggcggc gtgctgcacg tgagcttcag ctaccgctac gaggcggcc  
4381 gccgtgatcg cgacttcaag gtgggtggga ccggctccc cgaggacagc gtgacttca  
4441 ccgacaagat catccgacg aacgccaccg tggagcact gcaccatg gcgataacg  
4501 tgcgtggtgg cagcttcgcc cgcacctca ccctgcgcga cggcggtac tacagcttcg  
4561 tgggtggacag ccacatgcac ttcaagagcg ccatccacc cagcatcctg cagaacgggg

[0379]

```

4621 gccccatggt cgccttccgc cgcgtggagg agctgcacag caacaccgag ctgggcatcg
4681 tggagtacca gcaegccttc aagacccccca tcgccttcgc cagatcccgc gctcagtcgt
4741 ccaattctgc cgtggacggc accgcccggac ccggtccac cggatctcgc tagagctgaa
4801 tctaagtcca caatcaacct ctggattaca aaatttgtga aagattgact ggtattctta
4861 actatggtgc tccttttaag ctatgtggat acgctgcttt aatgcctttg tatcatgcta
4921 ttgcttcccc tatggctttc attttctcct ccttgataaa atcctgggtg ctgtctcttt
4981 atgaggagtt gtggcccgtt gtcaggcaac gtggcgtggg gtgcaactgt tttgctgacg
5041 caacccccac tggttggggc attgccacca cctgtcagct cctttccggg actttcgcct
5101 tccccctccc tattgccacg gcggaactca tcgcgcctg ccttgcccgc tegtggacag
5161 gggctcggct gttgggcact gacaattccg tgggttgtc ggggaaatca tcgtccttc
5221 cttggctgct cgcctgtgtt gccacctgga ttctgcgcgg gacgtccttc tgctacgtcc
5281 ctteggccct caatecagcg gaccttctt cccgcggcct gctgcccgtt ctgcccctc
5341 ttccgcgtct tcgccttcgc cctcagacga gtccgatctc cctttggggc gcctccccgc
5401 ctggtacctt taagaccaat gacttacaag gcagctgtag atcttagcca ctttttaaaa
5461 gaaaaggggg gactggaagg gctaattcac tcccacgaa aataagatct gctttttgct
5521 tgtactgggt ctctctggtt agaccagatc tgagcctggg agctctctgg ctaactaggg
5581 aacccactgc ttaagcctca ataaagcttg ccttgagtgc ttcaagtagt gtgtgcccgt
5641 ctggttgtgt actctggtaa cttagatcc ctcagacctt ttagtcagt gtggaaaatc
5701 tctagcagta gtagtctatg tcatcttatt attcagtatt tataacttgc aaagaaatga
5761 atatcagaga gtgagaggaa cttgtttatt gcagcttata atggttacia ataaagcaat
5821 agcatcacia atttcacaaa taaagcattt ttttcaactg attctagttg tggtttgtcc
5881 aaactcatca atgtatctta tcatgtctgg ctctagctat cccgccctta actccgcca
5941 gttccgccc ttctccgcc catggctgac taattttttt tatttatgca gaggccgagg
6001 ccgcctcggc ctctgagcta tccagaagt agtgaggagg cttttttgga ggcctagact
6061 tttgcagaga cggcccaaat tcgtaatcat ggtcatagct gtttctctgt tgaaattgtt
6121 atccgctcac aattccacac aacatacagc ccggaagcat aaagtgtaaa gcctgggggtg
6181 cctaattgag gagctaactc acattaattg cgttgcgctc actgcccgcct tccagctcgg
6241 gaaacctgtc gtgccagctg cattaatgaa ctggccaacg cgggggaga ggcggtttgc
6301 gtattgggcg ctctccgct tctcgcctca ctgactcctg gcctcggctc gctcggctgc
6361 ggcgagcggg atcagctcac tcaaaggcgg taatacgggt atccacagaa tcaggggata
6421 acgcaggaaa gaacatgtga gcaaaaaggc agcaaaaagg caggaaccgt aaaaaggccg
6481 cgttctctgg gtttttccat aggtcccgcc cccctgaaga gcatcaciaa aatcgacgtc
6541 caagtccagag gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata ccaggcgttt ccccctggaa
6601 gctccctcgt gcctctcctt gttccgacct tgcccttac cggatacctg tccgccttc
6661 tccctccggg aagcgtggcg ctttctcata gctcacgctg taggtatctc agttcgggtg
6721 aggtcgttcg ctccaagctg ggctgtgtgc acgaaccccc cgttcagccc gaccgctcgc
6781 ccttatccgg taactatcgt cttgagtcca acccggttag acacgactta tccgactgg
6841 cagcagccac tggtaacagg attagcagag cgaggtagt aggcggtgct acagacttct
6901 tgaagtgggt gcctaactac ggctacacta gaaggacagt atttggatc tgcctctgc
6961 tgaagccagt taccttcgga aaaagagttg gttagctctg atccggcaaa caaacaccg
7021 ctggttagcgg tggttttttt gtttgcaagc agcagattac ggcagaaaa aaaggatctc
7081 aagaagatcc tttgatcttt tctacggggg ctgacgctca gtggaacgaa aactcacgtt
7141 aagggatttt ggtcatgaga ttatcaaaaa ggatcttcac ctagatcctt ttaattaaa
7201 aatgaagttt taaatcaatc taaagtatat atgagtaaac ttggtctgac agttaccaat
7261 gcttaatcag tgaggcacct atctcagcga tctgtctatt tcgttcatec atagttgcct
7321 gactccccgt cgtgtagata actacgatac gggagggtt accatctggc cccagtgctg
7381 caatgatacc gcgagacca cgtcaccgg ctccagattt atcagaata aaccagcag
7441 ccggaagggc cgagcgcaga agtggctctg caactttatc cgcctccatc cagtctatta
7501 attgttgcgg ggaagctaga gtaagtagtt cgcagttaa tagtttgcgc aacgttgttg
7561 ccattgctac aggcctcgtg gtgtcacgct cgtcgtttgg tatggcttca ttcagctccg
7621 gttcccaacg atcaaggcga gttacatgat ccccatggt gtgcaaaaaa gcggttagct
7681 ccttcgggtc tccgatcgtt gtcagaagta agttggccgc agtggtatca ctcatggta
7741 tggcagcact gcataattct ctactgtca tgccatccgt aagatgcttt tctgtgactg
7801 gtgagtactc aaccaagtca ttctgagaat agtgtagcgc ggcaccaggt tgctcttgc
7861 cggcgtcaat acgggataat accgcgccac atagcagaac tttaaaagtg ctcatcttg
7921 gaaaacgttc ttccggggca aaactctcaa ggatcttacc gctgttgaga tccagttcg
7981 tgtaaccac tcgtgcacc aactgatctt cagcatcttt tactttcacc accggttctg
8041 ggtgagcaaa aacaggaagg caaaaatgccc caaaaaaggg aataagggcg acacggaat
8101 gttgaatact catactcttc ctttttcaat attattgaag catttatcag ggttattgtc

```

[0380] 8161 tcatgagcgg atacatattt gaatgtattt agaaaaataa acaaataggg gtcccgcgca  
 8221 catttccccg aaaagtgcc a cctgacgtct aagaaacccat tattatcatg acattaacct  
 8281 ataaaaatag gcgtatcacg aggccctttc gtctcgcgcg tttcggtgat gacggtgaaa  
 8341 acctctgaca catgcagctc cgggagacgg tcacagcttg tctgtaagcg gatgccggga  
 8401 gcagacaagc ccgtcagggc gcgtcagcgg gtgttggcgg gtgtcggggc tggcttaact  
 8461 atgcggcatc agagcagatt gtactgagag tgaccatat gcgggtgtgaa ataccgcaca  
 8521 gatgcgtaag gagaaaatac cgcacagggc gccattcgcc attcaggctg cgcaactggt  
 8581 gggagggcg atcgggtcgg gcctcttcgc tattacgcca gctggcgaaa gggggatgtg  
 8641 ctgcaaggcg attaagttgg gtaacgccag ggttttcca gtcacgacgt tgtaaaacga  
 8701 cggccagtgc caagctg.

[0381] TFP (TRuC) 构建体

[0382] p510\_抗CD19\_LL\_TCRα (SEQ ID NO:11)

[0383] 1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca  
 61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcacgccga ttgggtggaag taagggtgga  
 121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctcgaca tggattggac gaacctactga  
 181 attgcccgat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctaget cgatacaata aacgggtctc  
 241 tctggttaga ccagatctga gctggggagc tctctggcta actagggaac ccactgctta  
 301 agcctcaata aagcttgcc t gtagtgctc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact  
 361 ctggtaacta gagatccctc agacccttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg  
 421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct  
 481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaat  
 541 gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag  
 601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt  
 661 aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctggt  
 721 agaaacatca gaaggctgta gacaaact gggacagcta caacctccc ttcagacagg  
 781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcacaaag  
 841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag  
 901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg  
 961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagttag  
 1021 caccaccaa ggcaaagaga agagtggcgc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag  
 1081 ctttgttct tgggttcttg ggagcagcag gaagcaactat gggcgagcc tcaatgacgc  
 1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga  
 1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc  
 1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg  
 1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata  
 1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa  
 1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga  
 1501 acaagaatta ttggaattag ataaaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa  
 1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagttaga ggcttggtag gtttaagaat  
 1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcggt  
 1681 tcagaccac ctcccaacc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg  
 1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcgggt  
 1801 aactttttaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat  
 1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaat  
 1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttcctact tggcagtaca  
 1981 tctacgtatt agtcategct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc  
 2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga  
 2101 gtttgttttg gcacaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat  
 2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggg gggaggttta tataagcaga gctcgtttag  
 2221 tgaaccgtca gatcgcctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct  
 2281 agagcgcgca ccatgcttct cctggtgaca agcctctgct tctgtgagtt accacacca  
 2341 gcattctctc tgatcccaga catccagatg acacagacta catctcctct gtctgcctct  
 2401 ctgggagaca gagtcccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat  
 2461 tggatcagc agaaaccaga tggaaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta  
 2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc  
 2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatagcgtt  
 2641 ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc  
 2701 aagcccggat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct  
 2761 ggctcgtggt cgccctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta

[0384]

2821 cccgactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccacgaa aggggtctgga gtggctggga  
 2881 gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc  
 2941 atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagctctgca aactgatgac  
 3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac  
 3061 tggggctcaag gaacctcagt caccgctctcc tcagcggccg caattgaagt tatgtatcct  
 3121 cctccttacc taggtggcgg cggttctggt ggcggcggtt ctgggtggcgg cggttctctc  
 3181 gaggtgaatg gagagaatgt ggagcagcat ccttcaaccc tgagtgcca ggagggagac  
 3241 agcgctgtta tcaagtgtac ttattcagac agtgcccaa actacttccc ttggtataag  
 3301 caagaacttg gaaaaagacc tcagcttatt atagacattc gttcaaatgt gggcgaaaag  
 3361 aaagaccaac gaattgctgt tacattgaac aagacagcca aacatttctc cctgcacatc  
 3421 acagagaccc aacctgaaga ctcggtgtc tacttctgtg cagcaagtag gaaggactct  
 3481 gggggttacc agaaagttac ctttggaaact ggaacaaagc tccaagtcat cccaaatatac  
 3541 cagaacctg accctgccgt gtaccagctg agagactcta aatccagtga caagtctgtc  
 3601 tgcctattca ccgattttga ttctcaaca aatgtgtcac aaagtaagga ttctgatgtg  
 3661 tatatcacag acaaaactgt gctagacatg aggtctatgg acttcaagag caacagtgtc  
 3721 gtggcctgga gcaacaaatc tgactttgca tgtgcaaacg ccttcaacaa cagcattatt  
 3781 ccagaagaca ctttcttccc cagcccagaa agttcctgtg atgtcaagct ggtcgagaaa  
 3841 agctttgaaa cagatacga cctaaacttt caaaacctgt cagtgattgg gttccgaatc  
 3901 ctctcctga aagtggcggg gtttaactct ctcatgacgc tgcggtgtg gtccagctga  
 3961 taagaattcg atccgcgcc gcgaaggatc tgcgatcgt ccggtgccc cagtgggca  
 4021 gacgcacat cgcccacagt ccccagaag ttggggggag gggctggcaa ttgaacgggt  
 4081 gcctagagaa ggtggcggg ggtaaactgg gaaagtgatg tctgtactg gctccgcctt  
 4141 tttcccagg gtgggggaga accgtatata agtgacgtg tgcgctgaa cgttctttt  
 4201 cgcaacgggt ttgccgccag aacacagctg aagcttcgag gggctcgc atctctctca  
 4261 cgcgcccgcc gccctacctg aggcgcccat ccacgcggg tgagtcgct tctgcgcct  
 4321 cccgcctgtg gtgcctcctg aactgcgtcc gccgtctagg taagtttaaa gctcaggtcg  
 4381 agaccgggccc tttgtcgggc gctcccttgg agcctaccta gactcagccg gctctccacg  
 4441 ctttgcctga cctgtctgc tcaactctac gtctttgttt cgttttctgt tctgcgcct  
 4501 tacagatcca agctgtgacc ggcgcctacg ctagatgacc gactacaagc ccacgggtcg  
 4561 ctctgccacc cgcgacgac tccccagggc cgtacgcacc ctgcgcgcg ctcgcgcga  
 4621 ctacccgccc acgcgccaca ccgtcgtacc ggaccgccac atcgagcggg tcaccgagct  
 4681 gcaagaactc tctctcagc gcgtcgggct cgacatcggc aaggtgtggg tgcgggacga  
 4741 cggcgccgcg gtggcggtct ggaccacgcc ggagagcgtc gaagcggggg cgggtgtcgc  
 4801 cgagatcggc ccgcgcatgg ccgagttgag cggttcccgg ctggccgcgc agcaacagat  
 4861 ggaaggcctc ctggcgccgc accggcccaa ggagcccgcg tggttcctgg ccaccgtcgg  
 4921 cgtctcgcce gaccaccagg gcaagggctc gggcagcgc gtctgtctcc ccggagtgga  
 4981 ggccggccgag cgcgcggggg tgcccgcctt cctggagacc tccgcgccc gcaacctccc  
 5041 cttctacgag cggctcggct tcaccgtcac cgcgcagctc gaggtgcccg aaggaccgcg  
 5101 caacctggtg atgaccgca agcccgggtc ctgagtcgac aatcaacctc tggattacaa  
 5161 aatttgtgaa agattgactg gtattcttaa ctatgttget ccttttaacg tctgtgata  
 5221 cgctccttta atgcctttgt atctagctat tgcctcccgt atggcttca tttctctc  
 5281 cttgtataaa tcttggttgc tgtctcttta tgaggagtgt tggcccgttg tcaggcaacg  
 5341 tggcgtggtg tgcactgtgt ttgctgacgc aacccccact ggttggggca ttgccaccac  
 5401 ctgtcagctc ctttccggga ctttcgctt cccctcctt attgccacgg cggaaactcat  
 5461 cgcgcctgc cttgccgct gctggacagg ggctcggctg ttgggcaactg acaattcctg  
 5521 ggtgttgtcg gggaaatcat cgtccttccc ttggctgctc gcctgtgttg ccacctggat  
 5581 tctgcgcggg acgtccttct gctacgtccc ttcgccctc aatccagcgg accttcttc  
 5641 ccgcccctg ctgcggctc tgccgctct tccgcgtctt cgccttcgcc ctccagacgag  
 5701 tggatctcc ctttgggccc cctccccgcc tggtaacctt aagaccaatg acttacaagg  
 5761 cagctgtaga tcttagccac tttttaaag aaaagggggg actggaagg ctaattcact  
 5821 cccaacgaaa ataagatctg ctttttgett gtaactgggtc tctctgggta gaccagatct  
 5881 gagcctggga gctctctggc taactagggg acccaactgct taagcctcaa taaagcttgc  
 5941 cttgagtgct tcaagtagtg tgtgccctc tgttgtgtga ctctggtaac tagagatccc  
 6001 tcagaccctt ttagtcagtg tggaaaatct ctagcagtag tagttcatgt catcttatta  
 6061 ttcagtattt ataacttgca aagaaatgaa tatcagagag tgagaggaac ttgtttattg  
 6121 cagcttataa tggttacaaa taaagcaata gcatcacaaa tttcacaaat aaagcatttt  
 6181 tttcactgca ttctagttgt ggtttgtcca aactcatcaa tgtatcttat catgtctggc  
 6241 tctagctatc ccgccctaa ctccgccag ttccgcccat tctccgccc atggtgact  
 6301 aatttttttt atttatgcag aggcggagge cgctcggcc tctgagctat tccagaagta

```

6361 gtgaggagggc ttttttggag gcctagactt ttgagagagc ggcccaaatt cgtaatcatg
6421 gtcatagctg tttcctgtgt gaaattgtta tccgctcaca attccacaca acatacggagc
6481 cggaagcata aagtgtaaag cctgggggtgc ctaatgagtg agctaactca cattaattgc
6541 gttgcgctca ctgcccgtt tccagtcggg aaacctgtcg tgccagctgc attaatgaat
6601 cggccaacgc gcggggagag gcggtttgcg tatlggggcg tcttccgctt cctcgctcac
6661 tgactcgctg cgctcggtcg ttcggctgcg gcgagcggta tcagctcact caaaggcggg
6721 aatacggtta tccacagaat caggggataa cgcaggaaag aacatgtgag caaaaggcca
6781 gcaaaaggcc aggaaccgta aaaaggccgc gttgctggcg tttttccata ggctccgccc
6841 ccttgacgag catcacaata atcgacgtc aagtcagagg tggcgaaacc cgacaggact
6901 ataaagatac tagatccttc cccctggaag ctccctcgtg cgctctcctg ttcggacct
6961 gccgcttacc ggatacctgt ccgctttct ccttcggga agcgtggcg tttctcatag
7021 ctcacgctgt aggtatctca gttcgggtgta ggtcgttcgc tccaagctgg gctgtgtgca
7081 cgaaccccc gttcagcccc accgctgccc ctatccggg aactatcgtc ttgagtccaa
7141 cccggtaaga cagcacttat cgcactggc agcagccact ggtaacagga ttagcagagc
7201 gaggtatgta ggcggtgcta cagagttctt gaagtgggg cctaactacg gctacactag
7261 aaggacagta tttgggtatc gcgctctgct gaagccagtt accttcggaa aaagagttgg
7321 tagctcttga tccggcaaac aaaccaccgc tggtagcggg ggtttttttg tttgcaagca
7381 gcagattacg cgcagaaaaa aaggatctca agaagatcct ttgatctttt ctacgggggc
7441 tgacgctcag tggaacgaaa actcaggtta agggattttg gtcatgagat tatcaaaaag
7501 gatcttcacc tagatccttt taaattaaaa atgaagtttt aaatcaatct aaagtataata
7561 tgagtaaaact tggctcagca gttaccaatg cttaatcagt gaggcaccta tctcagcgat
7621 ctgtctatct cgttcatcca tagttgctcg actcccctgc gtgtagataa ctacgatacg
[0385] 7681 ggagggctta ccatctggcc ccagtgctgc aatgataccg cgagaccac gctcaccggc
7741 tccagattta tcagcaataa accagccagc cgggaaggcc gagcgcagaa gtggctctgc
7801 aactttatcc gcctccatcc agtctattaa ttgttgccgg gaagctagag taagtagttc
7861 gccagttaat agtttgcgca acgttgttgc cattgctaca ggcacgtggg tgtcacgctc
7921 gtcgtttggg atggttctat tcagctccgg ttcccaacga tcaaggcgag ttacatgatc
7981 ccccatggtg tgcaaaaaag cggttagctc cttcggctct ccgatcgttg tcagaagtaa
8041 gttggccgca gtgttatcac tcatggttat ggagcactg cataattctc ttactgtcat
8101 gccatccgta agatgctttt ctgtgactgg tgagtactca accaagtcat tctgagaata
8161 gttgatgcgg cgaccgagtt gctcttggcc ggcgtcaata cgggataata ccgcgccaca
8221 tagcagaact ttaaaagtgc tcatcattgg aaaaagttct tcggggcgaa aactctcaag
8281 gatcttaccg ctggttgagat ccagttcgat gtaaccact cgtgcacca actgatcttc
8341 agcatctttt actttcacca gcgtttctgg gtgagcaaaa acaggaaggc aaaatgccgc
8401 aaaaaaggga ataaggcgca cacggaaatg ttgaatactc atactcttcc tttttcaata
8461 ttattgaagc atttatcagg gttattgtct catgagcggg tacatatttg aatgtattta
8521 gaaaaataaaa caaatagggg ttccgcgcac atttccccga aaagtgccac ctgacgtcta
8581 agaaaccatt attatcatga cattaaccta taaaaatagg cgtatcacga ggccctttcg
8641 tctcgccgct ttcggtgatg acggtgaaa cctctgacac atgcagctcc cggagacggg
8701 cagcagcttg ctgtaagcgg atgccggag cagacaagcc cgtcagggcg cgtcagcggg
8761 tgttgccggg tgtcggggct ggcttaacta tgcggcatca gagcagattg tactgagagt
8821 gcaccatatg cgggtgtgaa taccgcacag atgcgtaagg agaaaaatcc gcatcagggc
8881 ccattcgcca ttcaggetgc gcaactgttg ggaaggcgga tcgggtcggg cctcttcgct
8941 attacgccag ctggcgaaag ggggatgtgc tgcaaggcga ttaagtggg taacgccagg
9001 gttttcccag tcacgacgtt gtaaaacgac ggccagtgc aagctg.

```

[0386] p510\_抗CD19\_LL\_TCRαC (SEQ ID NO:12)

```

1 acgctgttag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca
61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttgggtggaag taagggtggta
121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctcgaca tggattggac gaaccactga
181 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc
241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccactgctta
301 agcctcaata aagcttgctt tgagtgcttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact
[0387] 361 ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaaatctct agcagtgggc
421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct
481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt
541 gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcggggggag
601 aattagatcg cgatgggaaa aatttcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt
661 aaaacatata gtatgggcaa gcaggagctt agaacgattc gcagttaatc ctggcctggt
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg

```

[0388]

```

781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcatacaag
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag
1021 caccaccaa ggcaaagaga agagtgggac agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag
1081 ctttgttcc tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgagcc tcaatgacgc
1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgcg gcagcagaac aatttgctga
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcacc aagcagctcc
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa
1441 ttacacaagc ttaatacact cettaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga
1501 acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgggg aattgggtta acataacaaa
1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcggt
1681 tcagaccac ctcccaacc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt
1801 aactttttaa agaaaaggg ggattggggg gtacagtgcg ggggaaagaa tagtagacat
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttccact tggcagtaca
1981 tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgagggt ttggcagtac atcaatgggc
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga
2101 gtttgttttg gcacaaaat caacgggact tccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggg gggagggtta tataagcaga gctcgtttag
2221 tgaaccgtca gatcgctctg agacgccatc cacgctggtt tgacctccat agaagattct
2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt acccaccca
2341 gcattcctcc tgatccaga catccagatg acacagacta catcctcctt gctcctctt
2401 ctgggagaca gagtccatc cagtgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat
2461 tggatcagc agaaaccaga tggactggtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta
2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctacc
2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt
2641 cegtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc
2701 aagcccggat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct
2761 ggcttgggtg cgcctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta
2821 cccgactatg gtgtaagctg gattcggcag cctccacgaa agggctctgga gtggctggga
2881 gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc
2941 atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac
3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacgggt gtactatgct tatggactac
3061 tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caattgaagt tatgtatcct
3121 cctccttacc taggtggcgg cggttctggt ggcggcgggt ctggtggcgg cggttctctc
3181 gagccaaata tccagaacct tgaccctgcc gtgtaccagc tgagagactc taaatccagt
3241 gacaagtctg tetgectatt caccgatttt gattctcaa caaatgtgtc acaaagtaag
3301 gattctgatg tgtatatcac agacaaaact gtgctagaca tgaggctat ggacttcaag
3361 agcaacagtg ctgtggcctg gagcaacaaa tctgactttg catgtgcaaa cgccttcaac
3421 aacagcatta ttccagaaga caccttcttc cccagcccag aaagttcctg tgatgtcaag
3481 ctggctcgaga aaagctttga aacagatacg aacctaaact ttcaaaacct gtcagtgatt
3541 gggttccgaa tcctcctcct gaaagtggcc gggtttaatc tgctcatgac gctcggctg
3601 tgggtccagc gataagaatt cगतcgcgg cgcggaagga tctgcgatcg ctccggtgcc
3661 cgtcagtggg cagagcgcac atcgcccaca gtccccgaga agttgggggg aggggtcggc
3721 aattgaacgg gtgcctagag aaggtggcgc ggggtaaact gggaaagtga tgtcgtgtac
3781 tggctccgcc tttttccgga ggggtggggg gaaccgtata taagtgcagt agtcgccgtg
3841 aacgttcttt ttcgcaacgg gtttgccgcc agaacacagc tgaagcttcg aggggctcgc
3901 atctctcctt cacgcgcccg ccgcctacc tgaggccgcc atccacgcc gttgagtcgc
3961 gttctgcgcg cteccgectg tgggtgectc tgaactgctg ccgcgcteta ggttaagtta
4021 aagctcaggt cgagaccggg cctttgtccg gcgctccctt ggagcctacc tagactcagc
4081 cggctctcca cgctttgctt gaccctgctt gctcaactct acgtctttgt ttcgtttct
4141 gttctgcgcc gttacagatc caagctgtga ccggcgcta cgctagatga ccagtagaaa
4201 ccccacgggt gcctcgcca cccgcgaca cgtccccagg gccgtacgca cctcgcgcg
4261 cgcgttcgcc gactaccocg ccacgcgcca caccgtcgat ccggaccgcc acatcgagcg

```

[0389]

4321 ggtcaccgag ctgcaagaac tcttctcac gcgcgtcggg ctcgacatcg gcaagggtgtg  
4381 ggtcgcggac gacggcgccg cgggtggcgg ctggaccaac cgggagagcg tcgaagcggg  
4441 ggcgggtgttc gccgagatcg gcccgcgcat ggccgagttg agcggttccc ggctggccgc  
4501 gcagcaacag atggaaggcc tccctggcgc gcaccggccc aaggagcccg cgtggttcct  
4561 ggccaccgtc ggcgtctcgc ccgaccacca gggcaagggt ctgggcagcg ccgtcgtgct  
4621 ccccgagtg gaggcgccg agcgcgcccg ggtgcccgcc tcctggaga cctccgcgcc  
4681 ccgcaacctc cccttctacg agcggctcgg cttaccgctc accgcccagc tcgagggtgcc  
4741 cgaaggaccg cgcacctggt gcatgaccgc caagcccggg gcctgagtcg acaatcaacc  
4801 tctggattac aaaatttgtg aaagattgac tggattctt aactatggtg ctcttttac  
4861 gctatgtgga tacgtgctt taatgccttt gatatgct gtatgctccc gtaggcttt  
4921 cttttctccc tccttgata aatcctggt gctgctctt tatgaggagt tggggccgt  
4981 tgtcaggcaa cgtggcgtg tgtgcaactgt gttgctgac gcaaccccc ctggttggg  
5041 cattgccacc acctgtcagc tcctttccgg gactttcgt tccccctcc ctattgccac  
5101 ggcggaactc atcgccgct gccttgccc ctgctggaca ggggctcggc tgttgggcac  
5161 tgacaattcc gtgggtgtgt cgggaaatc atcgtcctt ccttggctgc tcgctgtgt  
5221 tgccacctgg attctgcgc ggacgtcct ctgctacgtc ccttcggccc tcaatccagc  
5281 ggaccttct tcccgcgcc tgcgtccggc tctgcggcct cttccgcgct ttcgcttcg  
5341 ccctcagacg agtcggatct cctttgggc cgctccccg cctggtacct ttaagaccaa  
5401 tgacttaciaa ggcagctgta gatctagcc actttttaa agaaaagggg gtagtggag  
5461 ggctaattca ctcccaacga aaataagat tgcctttg gtagtggg gaacctctg  
5521 tagaccgat ctgaccctgg gagctctct gtaactagg gaacctctg cttaagcctc  
5581 aataaagctt gccttgagt cttcaagtag tgtgtgccg tctggtgtg gactctggt  
5641 actagagatc cctcagacc ttttagtcag tgtgaaaa ctctagcagt agtagttcat  
5701 gtcattctat tattcagtat ttataacttg caaagaaatg aatatcagag agtgagagga  
5761 acttgtttat tgcagcttat aatggttaca aataaagcaa tagcatcaca aatttcaca  
5821 ataaagcatt ttttctactg cattctagtt gtggtttgtc caaactcctc aatgtatctt  
5881 atcatgtctg gctctagcta tcccgccct aactccgcc agttccgcc attctccgcc  
5941 ccatggctga ctaattttt ttatttatgc agaggccgag gccgcctcgg cctctgacct  
6001 attccagaag tagtgaggag gcttttttg aggcctagac ttttcgagag acggccaaa  
6061 ttcgtaatca tggctatag tgttctctg gtgaaattgt taocgctca caattccaca  
6121 caacatacga gccggaagca taaagtgtaa agcctgggg gcttaatgag tgagctaact  
6181 cacattaatt gcgttgcgct cactgccgc tttccagtc ggaaacctgt cgtgccagct  
6241 gcattaatga atcgcccaac gcgcggggag aggcggttt cgtattgggc gctctccgc  
6301 ttctcgcctc actgactcgc tgcgctcgg ctgtcggctg cggcgagcgg tatcagctca  
6361 ctcaaaggcg gtaatacggg tatccacaga atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg  
6421 agcaaaaggc cagcaaaagg ccaggaaccg taaaaaggcc gcgttgctgg cgttttcca  
6481 taggctccgc cccctgacg agcatcacia aaatcgacgc tcaagtcaaga ggtggcga  
6541 cccgacagga ctataaagat accaggcgtt tccccctgga agctccctcg tgcgctcctc  
6601 tgttccgacc ctgcccctta ccggatacct gtcgccttt ctccctcgg gaagcgtggc  
6661 gctttctcct agctcacgct gtaggtatct cagttcggtg taggtcgtc gctccaagct  
6721 gggctgtgtg cacgaacccc cgttcagcc cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg  
6781 tcttgagtcc aaccgggtaa gacacgact atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag  
6841 gattagcaga gcgaggtatg taggcggtgc tacagagttc ttgaagtgg ggctaacta  
6901 cggctacact agaaggacag tatttggtat ctgcgctctg ctgaagccag ttacctcgg  
6961 aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa acaaccacc gctggtagcg gtggttttt  
7021 tgtttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt  
7081 ttctacgggg tctgacgctc agtggaaagc aaactcacgt taagggattt tggctatgag  
7141 attatcaaaa aggatcttca cctagatcct tttaaattaa aaatgaagt ttaaataaat  
7201 ctaaaagtata tatgagtaaa cttggtctga cagttaccaa tgcttaatca gtgaggcacc  
7261 tatctcagcg atctgtctat ttcgttcctc catagttgcc tgactcccc gctgtagat  
7321 aactacgata cgggagggt taccatctgg cccagtgct gcaatgatac cgcgagacc  
7381 acgctcaccg gctccagatt tatcagcaat aaaccagcca gccggaagg cggagcgcag  
7441 aagtggtcct gcaactttat ccgctccat ccagctctat aattggtgcc ggggaagctag  
7501 agtaagtatg tcgccagtta atagtttgca caacgttgt gccattgcta caggcatcgt  
7561 ggtgtcacgc tcgctgcttg gtatggcttc attcagctcc ggttcccaac gatcaaggcg  
7621 agttacatga tccccatgt tgtgcaaaaa agcggtagc tcttcgggtc ctccgatcgt  
7681 tgtcagaagt aagttggccg cagtgttatc actcatggtt atggcagcac tgcataatc  
7741 tcttactgtc atgccatccg taagatgctt ttctgtgact ggtgagtagt caaccaagtc  
7801 attctgagaa tagtgtatgc ggcgaccgag ttgctcttgc ccggcgtcaa taocggataa

[0390] 7861 taccgcgccca catagcagaa ctttaaaagt gctcatcatt ggaaaacggt cttcggggcg  
 7921 aaaactctca aggatcttac cgctgttgag atccagttcg atgtaaccca ctctgacacc  
 7981 caactgatct tcagcatctt ttactttcac cagcgtttct gggtgagcaa aaacaggaag  
 8041 gcaaaatgcc gcaaaaaagg gaataagggc gacacggaaa tgttgaatac tcatactctt  
 8101 cctttttcaa tattattgaa gcatttatca gggttattgt ctcatgagcg gatacatatt  
 8161 tgaatgtatt tagaaaaata aacaaatagg ggttccgcgc acatttcccc gaaaagtgcc  
 8221 acctgacgtc taagaaacca ttattatcat gacattaacc tataaaaaata ggcgtatcac  
 8281 gaggcccttt cgtctcgcgc gtttcgggtga tgacggtgaa aacctctgac acatgcagct  
 8341 cccggagacg gtcacagctt gtctgtaage ggatgccggg agcagacaag cccgtcaggg  
 8401 cgcgtcagcg ggtgttggcg ggtgtcgggg ctggctaac tatgccgcat cagagcagat  
 8461 tgtactgaga gtgcaccata tgcggtgtga aataccgcac agatgcgtaa ggagaaaata  
 8521 ccgcatcagg cgcattcgc cattcaggct gcgcaactgt tgggaagggc gatcggtgcg  
 8581 ggctctctcg ctattacgcc agctggcgaa agggggatgt gctgcaaggc gattaagttg  
 8641 ggtaacgccca gggttttccc agtcacgacg ttgtaaaacg acggccagtg ccaagctg.

[0391] p510\_抗CD19\_LL\_TCRβ (SEQ ID NO:13)

[0392] 1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca  
 61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttgggtggaag taagggtgga  
 121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctcgaca tggattggac gaaccactga  
 181 attgcccgat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc  
 241 tctggttaga ccagatctga gectgggagc tctctggcta actagggaaac ccactgctta  
 301 agcctcaata aagcttgctt tgagtgcctc aagtagtggt tgcccgtctg ttgtgtgact  
 361 ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggeg  
 421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggt  
 481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt  
 541 gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcggggggag  
 601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt  
 661 aaaacatata gtatgggcaa gcaggagctc agaacgattc gcagttaatc ctggcctggt  
 721 agaaacatca gaaggctgta gacaaact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg  
 781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcataaaag  
 841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaaag  
 901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg  
 961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag  
 1021 caccaccaa ggcaaagaga agagtgtgac agagagaaaa aagacagtg gaaatagag  
 1081 ctttgttctt tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgagcc tcaatgacgc  
 1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgetga  
 1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc  
 1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg  
 1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata  
 1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa  
 1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga  
 1501 acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aatttggtta acataacaaa  
 1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat  
 1621 agtttttgcg taactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcggt  
 1681 tcagaccacc ctcccacccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg  
 1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt  
 1801 aactttttaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat  
 1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt  
 1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttctact tggcagtaca  
 1981 tctacgtatt agtcatecgt attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc  
 2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca ccccatggac gtcaatggga  
 2101 gtttgttttg gcacccaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat  
 2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtaccgt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag  
 2221 gaaaccgtca gatcgcctgg agacgcccac cacgctggtt tgaccccat agaagattct  
 2281 agagccgccca ccatgcttct cctgggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca  
 2341 gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct  
 2401 ctgggagaca gagtcccat cagttgcagg gcaagtccag acattagtaa atatttaaat  
 2461 tggatcagc agaaaccaga tggaaactgt aaactcctga tctaccatac atcaagatta  
 2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc  
 2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgtt

[0393]

```

2641 ccgtagacggt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc
2701 aagcccggat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct
2761 ggcctgggtg cgccctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta
2821 cccgactatg gtgtaagctg gattogccag cctccacgaa aggggtctgga gtggctggga
2881 gtaatatggg gtagtgaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc
2941 atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac
3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac
3061 tgggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caattgaagt tatgtatcct
3121 cctccttacc taggtggcgg cggttctggt ggcgggcgggt ctgggtggcgg cggttctctc
3181 gagctgggag caggcccagt ggattctgga gtcacacaaa ccccaaagca cctgatcaca
3241 gcaactggac agcgagtgc gctgagatgc tcccctaggt ctggagacct ctctgtgtca
3301 tggtagcaac agagcctgga ccagggcctc cagttcctca ttcagtatta taatggagaa
3361 gagagagcaa aaggaaacat tcttgaacga ttctccgcac aacagttccc tgacttgca
3421 tctgaactaa acctgagctc tctggagctg ggggactcag ctttgtatct ctgtgccagc
3481 agcccccgga caggcctgaa cactgaagct ttcttggac aaggcaccag actcacagtt
3541 gtagaggacc tgaacaaggt gttcccaccc gaggtcgctg tgtttgagcc atcagaagca
3601 gagatctccc acacccaaaa ggccacactg gtgtgcctgg ccacaggett ctccccgac
3661 cacgtggagc tgagctgggt ggtgaatggg aaggaggtgc acagtggggt cagcacggac
3721 cgcgacccc tcaaggagca gcccgccctc aatgactcca gatactgctc gacagccgc
3781 ctgagggctc cggccacctt ctggcagaac ccccgaacc acttccgctg tcaagtcag
3841 ttctacgggc tctcggagaa tgacgagtgg acccaggata gggccaaacc cgtcaccag
3901 atcgtcagcg ccgaggcctg gggtagagca gactgtggct ttacctcggg gtctaccag
3961 caaggggtcc tgtctgccac catcctctat gagatcctgc tagggaaggc caccctgtat
4021 gctgtgctgg tcagcgcctt tgtgttgatg gccatggtca agagaaagga tttctgataa
4081 gaattcgatc cgcggcccg gaggatctgc gatcgctccg gtgcccgtca gtgggcagag
4141 cgcacatcgc ccacagctcc cgagaagttg gggggagggg tcggcaattg aacgggtgcc
4201 tagagaaggt ggcgccccgt aaactgggaa agtcatgctg tgtactggct ccgcctttt
4261 cccgaggggt ggggagaacc gtatataagt gcagtagctc ccgtgaacct tctttttcgc
4321 aacgggtttg ccgcccaga acagctgaag cttcgagggg ctcgactctc tcttccagc
4381 gccgcgcgc caccctgagg cgcctcca cgcgggtga gtcgcttct gtcgctccc
4441 cctgtgtggt cctcctgaac tgcgtccgcc gtctaggtaa gtttaaagct caggtcgaga
4501 cgggacctt gtccggcgt ccctgggag ctacctagac tcagccggct ctccagctt
4561 tgctgaccc tgettgctca actctacgtc tttgtttcgt tttctgttct gcgcccgtac
4621 agatccaagc tgtgaccggc gctacgcta gatgaccgag tacaagccca cgggtgcgct
4681 cgcaccccgc gacgacgtcc ccagggcct acgcacctc gccgcgcgt tcgcccacta
4741 ccccgcacg cgcacaccg tcgatccgga ccgcccacatc gagcgggtca ccgagctgca
4801 agaactctt ctacgcgcg tcgggctcga catcggcaag gtgtgggtcg cggacgacgg
4861 cgcgcgggtg gcggtctgga ccacgcccga gagcgtcgaa gcggggggcg tgttcgccga
4921 gatcggccc cgcatggcc agttgagcgg ttcccggctg gccgcgcagc aacagatgga
4981 aggcctcct gcgcgcacc ggcacaagga ccccgcgtg gctcgcgca cgtcggcgt
5041 ctgcgccgac caccagggca agggctcgg cagcgcctc gtgctcccc gtagggaggc
5101 ggcgcagcgc gccggggtgc ccgccttct ggagacctc gcgccccgca acctcccctt
5161 ctacgagcgg ctggcttca ccgtcacgc cgacgtcgag gtgcccgaag gaccgcgac
5221 ctggtgcatg acccgcaag ccggtgctg agtcgacaat caacctctgg attacaaaat
5281 ttgtgaaaga ttgactggta ttcttaacta tgttgcctct tttacgctat gtggatacgc
5341 tgctttaatg cttttgtatc atgctattgc ttcccgtatg gctttcattt tctcctcctt
5401 gtataaatcc tggttgctgt ctctttatga ggagttgtgg cccgttgtca ggcaactggg
5461 cgtggtgtgc actgtgtttg ctgacgcaac ccccactggt tggggcattg ccaccacctg
5521 tcagctcctt tccgggactt tcgcttccc cctccctatt gccacggcg aactcatcgc
5581 gcctgcctt gcccgctgct ggacaggggc tcggctgttg ggcactgaca attcgtggg
5641 gttgtcggg aaatcatcgt ccttccctg gctgctcgc tgtgttgcca cctggattct
5701 gcgcccagc tcttctgct acgtccctc ggccctcaat ccagcggacc tctctcccg
5761 cggcctgctg ccggtctgc ggctcttcc gcgtcttgc cttcgcctc agacgagctg
5821 gatctcctt tgggcgcct cccgcctgg tacctttaag accaatgact tacaaggcag
5881 ctgtagatct tagccactt ttaaagaaa aggggggact ggaagggcta attcactccc
5941 aacgaaaata agatctgct tttgcttga ctgggtctct ctgggttagac cagatctgag
6001 cctgggagct ctctggctaa ctaggaacc cactgcttaa gcctcaataa agcttgctt
6061 gagtgttca agtagtgtgt gccgctctgt tgtgtgactc tggtaactag agatccctca
6121 gacctttta gtcagtgtg aaaatctcta gcagtagtag ttcagtgcat cttattatct

```

```

6181 agtattttata acttgcaaaag aatgaatat cagagagtga gaggaacttg tttattgcag
6241 cttataatgg ttacaaataa agcaatagca tcacaaatth cacaaataaa gcattttttt
6301 cactgcattc tagttgtggg ttgtccaaac tcatcaatgt atcttatcat gtctggctct
6361 agctatcccg cccctaactc cgcccagttc cgcccattct ccgccccatg gctgactaat
6421 tttttttatt tatgcagagg ccgaggccgc ctccggctct gagctattcc agaagtagtg
6481 aggaggcttt tttggaggcc tagacttttg cagagacggc ccaaattcgt aatcatggtc
6541 atagctgttt cctgtgtgaa attgttatcc gtcacaatt ccacacaaca tacgagccgg
6601 aagcataaag tgtaaagcct ggggtgccta atgagtgagc taactcacat taattgcggt
6661 gcgctcactg cccgctttcc agtcgggaaa cctgtcgtgc cagctgcatt aatgaatcgg
6721 ccaacgcgcg gggagaggcg gtttgcgtat tgggcgctct tccgcttcc cgtcactga
6781 ctccgctgcg ccggtcgttc ggctgcggcg agcggatca gctcactcaa aggcggtaat
6841 acggttatcc acagaatcag gggataacgc aggaaagaac atgtgagcaa aaggccagca
6901 aaaggccagg aaccgtaaaa aggcgcgctt gctggcgttt ttccatagge tccgcccccc
6961 tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg cgaaaccoga caggactata
7021 aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc tctcctgttc cgacctgce
7081 gcttaccgga tacctgtccg cctttctccc ttccgggaagc gtggcgcttt ctcatagctc
7141 acgctgtagg tatctcagtt cgggttaggt cgttcgctcc aagctgggct gtgtgcacga
7201 acccccctgt cagcccagcc gctgcgcctt atccggtaac tatcgtcttg agtccaacce
7261 ggtaaagcac gacttatcgc cactggcagc agccactggg aacaggatta gcagcagag
7321 gtagtaggag ggtgtacag agttcttgaa ggtgtggcct aactcggct cactagaag
7381 gacagtattt ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc ttccggaaaaa gagtggtag
7441 ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg tagcggtggt tttttgttt gcaagcagca
7501 gattacgcgc agaaaaaag gatctcaaga agatcctttg atcttttcta cggggtctga
7561 cgctcagtg aacgaaaact cacgttaagg gattttgttc atgagattat caaaaaggat
[0394] 7621 cttcacctag atccttttaa attaaaaatg aagttttaa tcaatctaaa gtatatatga
7681 gtaaacttgg tctgacagtt accaatgctt aatcagtgag gcacctatct cagcgatctg
7741 tctatttctg tcatccatag ttgectgact ccccgctcgtg tagataacta cgatacggga
7801 gggcttacca tctggcccc a gtgctgcaat gataccgcga gaccacgct caccggctcc
7861 agattttatca gcaataaacc agccagccgg aaggcccgag cgcagaagtg gtctgcaac
7921 tttatccgcc tccatccag ctattaatgt ttgcccggaa gctagagtaa gtagtccgcc
7981 agttaatagt ttgcgcaacg ttgttgccat tgctacaggc atcgtgggtg cacgctcgctc
8041 gtttggtagt gcttcattca gctccggttc ccaacgatca aggcgagtta catgatcccc
8101 catgtttgtgc aaaaaagcgg ttagctcctt cggctcctcg atcgttgtca gaagtaagtt
8161 ggccgcagtg ttatcactca tggttatggc agcactgcat aattctctta ctgtcatgcc
8221 atccgtaaga tgcctttctg tgaactggta gtactcaacc aagtcattct gagaatagtg
8281 tatgcggcga ccgagttgct cttgcccggc gtcaatacgg gataataccg cgccacatag
8341 cagaacttta aaagtgtc a cattggaaa acgttctctg gggcgaaaa cctcaaggat
8401 cttaccgctg ttgagatcca gttcgatgta acccactcgt gcacccaact gatcttcagc
8461 atcttttact ttcaccagcg tttctgggtg agcaaaaaa ggaaggcaaa atgcgcgaaa
8521 aaagggaata agggcgacac ggaaatgttg aatactcata ctctctctt tcaatatta
8581 ttgaagcatt tatcagggtt attgtctcat gagcggatac atatttgaat gtatttagaa
8641 aaataaacia ataggggttc cgcgcacatt tccccgaaaa gtgccacctg acgtctaaga
8701 aaccattatt atcatgacat taacctataa aaataggcgt atcacgagge cctttcgtct
8761 cgcgcgcttc ggtgatgacg gtgaaaacct ctgacacatg cagctcccgg agacggtcac
8821 agcttctctg taagcggatg ccgggagcag acaagcccgt cagggcgcgt cagcgggtgt
8881 tggcgggtgt cggggctggc ttaactatgc ggcacagag cagattgtac tgagagtgca
8941 ccatatgcgg tgtgaaatac cgcacagatg cgttaaggaga aaataccgca tcaggcgcga
9001 ttcgccattc aggctgcgca actgttggga agggcgatcg gtgcgggctt ctctcgtatt
9061 acgccagctg gcgaaagggg gatgtgctgc aaggcgatta agttgggtaa cgcagggtt
9121 tccccagtca cgacgttgta aaacgacggc cagtccaag ctg

```

[0395] p510\_抗CD19\_LL\_TCRBC (SEQ ID NO:14)

```

1 acgctgttag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagtagca
61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcagccga ttgggtggaag taagggtgta
121 cgatcgtgcc ttattagtaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga
[0396] 181 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc
241 tctggttaga ccagatctga gcttgggagc tctctggcta actagggaac ccactgctta
301 agcctcaata aagcttgctt tgagtgtctc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact
361 ctggtaacta gagatcctc agaccctttt agtcagtggt gaaaatctct agcagtggtg
421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct

```

[0397]

481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt  
541 gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcggggggg  
601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt  
661 aaaacatata gtatgggcaa gcaggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctggt  
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg  
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcataaaag  
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag  
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg  
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag  
1021 caccaccaa ggcaaagaga agagtgggag agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag  
1081 ctttgttcct tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgagcc tcaatgacgc  
1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga  
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc  
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg  
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata  
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa  
1441 ttacacaagc ttaatacact cettaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga  
1501 acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa  
1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat  
1621 agtttttgc gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattaecgtt  
1681 tcagaccac ctcccaacc cgagggacc cyacaggccc gaaggaatag aagaagaagg  
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt  
1801 aactttttaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat  
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt  
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga cctatggga ctttctact tggcagtaca  
1981 tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc  
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga  
2101 gtttgttttg gcacccaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat  
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag  
2221 tgaaccgtca gatgcctgg acagccatc cacgctggtt tgacctccat gaagattct  
2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca  
2341 gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctcctt gtctgcctt  
2401 ctgggagaca gagtcccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat  
2461 tggatcagc agaaaccaga tggaaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta  
2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc  
2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc actactttt gccaacaggg taatacgtt  
2641 cegtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc  
2701 aagcccggat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct  
2761 ggcctgggtg cgcctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta  
2821 cccgactatg gtgtaagctg gattcgcac cctccacgaa agggctcagg actggctggga  
2881 tcaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc  
2941 atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaaatga acagtctgca aactgatgac  
3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gttagctatgc tatggaactac  
3061 tggggctcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caattgaagt tatgtatcct  
3121 cctccttacc taggtggcgg cggttctggt ggcggcgggt ctgggtggcg cggttctctc  
3181 gaggaggacc tgaacaaggt gttcccacc gaggtcgctg tgtttgagcc atcagaagca  
3241 gagatctccc acacccaaaa ggccacactg gtgtgcctgg ccacaggctt ctccccgac  
3301 cacgtggagc tgagctggtg ggtgaatggg aaggaggtgc acagtggggg cagcacagac  
3361 cgcagcccc tcaaggagca gcccgccctc aatgactcca gatactgctt acttccgctg  
3421 ctgagggctc cggccacctt ctggcagaac ccccgaacc acttccgctg tcaagtccag  
3481 ttctacgggc tctcggagaa tgacgagtgg acccaggata gggccaaaacc cgtcaccag  
3541 atcgtcagcg ccgaggcctg gggtagagca gactgtggct ttacctcggg gtctaccag  
3601 caaggggtcc tgtctgccc catcctctat gagatcctgc tagggaagge caccctgtat  
3661 gctgtgctgg tcagcgcct tgtgttgatg gccatggtca agagaaagga tttctgataa  
3721 gaattcgatc cgcggcccg aaggatctgc gatcgctcc gtgcccgtca gtgggcagag  
3781 cgcacatcgc ccacagtccc cgagaagttg gggggagggg tcggcaattg aacgggtgcc  
3841 tagagaaggt ggcgccccgt aaactgggaa agttagtctg tgtactggct ccgcctttt  
3901 cccgaggggt ggggagaacc gtatataagt gcagttagtc ccgtgaacgt tctttttcgc  
3961 aacgggtttg ccgccagaac acagctgaag cttcgagggg ctgcacatctc tcttccagc

[0398]

4021 gccgcgcgcc ctacctgagg ccgccatcca cgcgcggtga gtcgcggttct gccgcctccc  
4081 gcctgtggtg cctcctgaac tgcgtccgcc gtctaggtaa gtttaaagct caggtcgaga  
4141 cggggccttt gtccggcgct cccttgagc ctacctagac tcagccggct ctccacgctt  
4201 tgctgaccc tgettgetca actctacgtc tttgtttcgt tttctggtct gccgcgttac  
4261 agatccaagc tgtgaccggc gcctacgcta gatgaccgag tacaagccca cggtgccgct  
4321 cgccaccgcg gacgacgtcc ccagggcctg acgcaccctc gccgcgcgct tcgcgcacta  
4381 cccgcgccag cgcacacccg tegatccgga ccgccacatc gagcgggtca ccgagctgca  
4441 agaactcttc ctacgcgcg ctgggctcga catcggcaag gtgtgggtcg cggacgacgg  
4501 cgccgcggtg gcggtctgga ccacgcggga gagcgtcga ggcggggcgg tgttcgcga  
4561 gatcggccc cgcatggccg agttgagcgg tcccggctg gccgcgcagc aacagatgga  
4621 aggcctcctg gcgcgcacc ggccaaggg gccgcgctg ttccggcca ccgtcggcgt  
4681 ctgcgccgac caccagggca agggctctggg cagcgcctc gtgctcccc gagtgaggc  
4741 ggccgagcgc gccggggtgc ccgcttctt ggagacctc gcgccccgca acctcccctt  
4801 ctacgagcgg ctcggttca ccgtcaccgc cgacgtcgag gtgcccgaag gaccgcgcac  
4861 ctggtgcatg acccgcaagc ccggtgcctg agtcgacaat caacctctgg attacaaaat  
4921 ttgtgaaaga ttgactggta ttcttaacta tgttgcctc tttacgctat gtggatacgc  
4981 tgctttaatg cttttgtatc atgetattgc ttccgctatg gctttcattt tctcctcctt  
5041 gtataaatcc tggttgctgt ctctttatga ggagtgtggt cccgttgtca ggcaacgtgg  
5101 cgtgggtgct actgtggttg ctgacgcaac cccactgggt tggggcattg ccaccacctg  
5161 tcagctcctt tccgggactt tegetttccc cctccctatt gccaccggcg aactcatcgc  
5221 cgctgcctt gcccgctgct ggacaggggc tcggtctgtg ggcactgaca attccgtggg  
5281 gttgtcgggg aaatcatcgt cctttccttg gctgctcgcc tgtgttgcca cctggattct  
5341 gcgcgggacg tcttctgct acgtccctc gccctcaat ccagcggacc tctctcccg  
5401 cggcctgctg ccggtctgc ggctcttcc gcgtcttgc cttcgcctc agacgagtgc  
5461 gatctccctt tgggcgcct cccgcctgg taccttaag accaatgact tacaaggcag  
5521 ctgtagatct tagccacttt ttaaaagaaa aggggggact ggaagggcta attcactccc  
5581 aacgaaaata agatctgctt tttgcttga ctgggtctct ctgggttagac cagatctgag  
5641 cctgggagct ctctggctaa ctagggaacc cactgcttaa gcctcaataa agcttgctt  
5701 gagtgttca agtagtgtgt gccgctcgt tgtgtgactc tggtactag agatcctca  
5761 gaccctttta gtcagtgtg aaaaactcta gcagtatgag ttcagtcat ctattattc  
5821 agtatattata acttgcaaa gaaatgaatat cagagagtga gaggaacttg tttattgcag  
5881 cttataatgg ttacaaaata agcaatagca tcacaaattt cacaaaataa gcattttttt  
5941 cactgcattc tagttgtggt ttgtccaaac tcatcaatgt atcttatcat gtctggctct  
6001 agctatccc ccctaactc cgcaccagtc cgcctctc ccgccccatg gctgactaat  
6061 tttttttatt tatgcagagg ccgaggcgc ctccgctct gagctattcc agaagtatg  
6121 aggaggcttt tttggaggcc tagacttttg cagagacggc ccaaatctgt aatcatggtc  
6181 atagctggtt cctgtgtgaa attggtatcc gctcacaatt ccacacaaca tacgagccgg  
6241 aagcataaag tgtaaagcct ggggtgccta atgagtgagc taactcacat taattgcgtt  
6301 gcgctcactg ccgcttctc agtcgggaaa cctgtcgtgc cagctgcatt aatgaactcg  
6361 ccaacgcgcg gggagaggcg gtttgcgtat tgggcgctct tccgctcct cgcactga  
6421 ctcgctgcgc tcggtcgttc ggtgcggcg agcggatca gctcactcaa agcgggtaat  
6481 acggttatcc acagaatcag gggataacgc aggaaaagaac atgtgagcaa aaggccagca  
6541 aaaggccagg aaccgtaaaa aggcgcgctt gctggcgttt ttccatagge tccgcccccc  
6601 tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg cgaaaccga caggactata  
6661 aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc tctcctgttc cgacctgce  
6721 gcttaccgga tacctgtccg cctttctccc ttccgggagc gtggcgcttt ctcatagctc  
6781 acgctgtagg tatctcagtt cgggtgtaggt cgttcgctcc aagctgggct gtgtgcacga  
6841 acccccctgt cagcccagcc gctgcgcctt atccggtaac tatcgtcttg agtccaacct  
6901 ggtaaagcac gacttatcgc cactggcagc agccactgggt aacaggatta gcagagcgag  
6961 gtatgtagge ggtgctacag agttctttaa gtgggtggcct aactacggct acactagaag  
7021 gacagtatth ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc ttccgaaaaa gagtggtag  
7081 ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg tagcgggtgg tttttgttt gcaagcagca  
7141 gattacgcgc agaaaaaag gatctcaaga agatcctttg atcttttcta cggggtctga  
7201 cgctcagtg aacgaaaact cacgttaagg gattttggtc atgagattat caaaaaggat  
7261 cttcacctag atccttttaa attaaaaatg aagttttaa tcaatctaaa gtatatatga  
7321 gtaaacttgg tctgacagtt accaatgctt aatcagtgag gcacctatct cagcgatctg  
7381 tctatttctg tcatccatag ttgectgact ccccgctcgt tagataacta cgatacggga  
7441 gggcttacca tctggcccc gtgctgcaat gataccgcga gaccacgct caccggctcc  
7501 agatttatca gcaataaacc agccagccgg aaggcccgag cgcagaagtg gtctgcaac

```

7561 tttatccgcc tccatccagt ctattaattg ttgccgggaa gctagagtaa gtagttcgcc
7621 agttaatagt ttgcgcaacg ttgttgccat tgctacaggc atcgtggtgt cacgctcgtc
7681 gtttggtatg gcttcattca gctccggttc ccaacgatca aggcgagtta catgatcccc
7741 catgttgtgc aaaaaagcgg ttagctcctt cggtcctccg atcgttgtca gaagtaagtt
7801 ggccgcagtg ttatcactca tggttatggc agcactgcat aattctctta ctgtcatgcc
7861 atccgtaaga tgcttttctg tgactggtga gtactcaacc aagtcattct gagaatagtg
7921 tatgcccgga ccgagttgct cttgcccggc gtcaatacgg gataataccg cgccacatag
7981 cagaacttta aaagtgctca tcattggaaa acgttctctg gggcgaaaac tctcaaggat
8041 cttaccgctg ttgagatcca gttcgatgta acccactcgt gcaccaact gatcttcagc
8101 atcttttact ttcaccagcg ttcttgggtg agcaaaaaca ggaaggcaaa atgccgcaa
[0399] 8161 aaaggaata agggcgacac ggaaatggtg aatactcata ctctcctt ttcaatatta
8221 ttgaagcatt tatcagggtt attgtctcat gagcggatac atatttgaat gtatttagaa
8281 aaataaacia ataggggttc cgcgcacatt tccccgaaaa gtgccacctg acgtctaaga
8341 aaccattatt atcatgacat taacctataa aaataggcgt atcacgaggc cctttcgtct
8401 cgcgcggttc ggtgatgacg gtgaaaacct ctgacacatg cagctcccgg agacggtcac
8461 agcttgtctg taagcggatg cggggagcag acaagcccgt cagggcgcgt cagcgggtgt
8521 tggcgggtgt cggggctggc ttaactatgc ggcatcagag cagattgtac tgagagtgca
8581 ccatatgagg tgtgaaatac cgcacagatg cgtaaggaga aaataccgca tcaggcgcca
8641 ttcgccattc aggctgcgca actgttggga agggcgatcg gtgcgggcct cttcgtatt
8701 acgccagctg gcgaaagggg gatgtgctgc aaggcgatta agttgggtaa cgcagggtt
8761 tccccagtca cgacgttgta aaacgacggc cagtgccaaag ctg.

```

[0400] p510\_抗CD19\_LL\_CD3 γ (SEQ ID NO:15)

```

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca
61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taagtggtga
121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac ggtctgaca tggattggac gaaccactga
181 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc
241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccactgctta
301 agcctcaata aagcttgctt tgagtgtctc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact
361 ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg
421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct
481 tgctgaagcg cgcacggcaa gagggcaggg ggcggcactg gtgagtaecg caaaaaattt
541 gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag
601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt
661 aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaact gggacagcta caacctccc ttcagacagg
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcataaag
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag
[0401] 1021 caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag
1081 ctttgttctt tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc
1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgcgta
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgtagt tggagtaata
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga
1501 acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa
1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt
1681 tcagaccac cteccaacce cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt
1801 aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttctact tggcagtaca
1981 tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatcgggtt ttggcagtac atcaatgggc
2041 gtggatagcg gtttgaactc cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga
2101 gtttgttttg gcaccaaaat caacgggact ttcaaaatg tcgtaacaac tccgccccat
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggg gggaggttta tataagcaga gctcgtttag

```

2221 tgaaccgtca gatcgctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct  
 2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacaccca  
 2341 gcatttctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct  
 2401 ctgggagaca gaggcaccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat  
 2461 tgggtatcagc agaaaccaga tggaaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta  
 2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc  
 2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgtct  
 2641 ccgtacacgt tccggagggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc  
 2701 aagcccggat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct  
 2761 ggcctgggtg cgccctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta  
 2821 cccgactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccacgaa aggggtctgga gtggctggga  
 2881 gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc  
 2941 atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac  
 3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac  
 3061 tggggctcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caattgaagt tatgtatcct  
 3121 cctccttacc taggtggcgg cggttctggt ggcgccggtt ctgggtggcg cggttctctc  
 3181 gagcagtcaa tcaaaggaac ccacttgggt aaggtgtatg actatcaaga agatggtctg  
 3241 gtacttctga cttgtgatgc agaagccaaa aatatcacat ggtttaaaga tgggaagatg  
 3301 atccggcttcc taactgaaga taaaaaaaaa tggaaatctgg gaagtaatgc caaggacca  
 3361 cgagggatgt atcagtgtaa aggatcacag aacaagtcaa aacctcca agtctattac  
 3421 agaatgtgtc agaactgcat tgaactaaat gcagccacca tatctggctt tctcttgct  
 3481 gaaatcgtca gcatttctgt ccttgcctgt ggggtctact tcattgctgg acaggatgga  
 3541 gttcgcagct cgagagcttc agacaagcag actctgttgc ccaatgacca gctctaccag  
 3601 cccctcaagg atcgagaaga tgaccagtac agccacctc aaggaaacca gttgaggagg  
 3661 aattgataag aattcgatcc gggccgcga aggatctgcg atcgctccg tcccctcag  
 3721 tgggcagagc gcacatcgcc cacagtcccc gagaagtgg ggggaggggt cggcaattga  
 3781 acgggtgect agagaaggtg ggcgggggtg aactgggaaa gtgatgtcgt gtactggctc  
 3841 cgcctttttc ccgaggggtg gggagaaccg tatataagtg cagtagtcgc cgtgaacctt  
 3901 cttttctgca acgggtttgc cgccagaaca cagctgaagc ttcgaggggg tccgctctct  
 [0402] 3961 ccttcaecgc cccgcgcgcc tacttgaggg cggcatccac gccggttgag gccgctctg  
 4021 cgcctcccg cctgtggtgc cctcctgaact ccttgagcc gctcgcgcg tctaggtgag tttaaagctc  
 4081 aggtcgagac cgggcctttg tccggcgtc ccttgagcc tacctagact cagccggctc  
 4141 tccacgcttt gcctgacctt gcttgetcaa ctctacgtct ttgtttcgtt ttctgtctg  
 4201 cgcggttaca gatccaaget gtgaccggcg cctacgctag atgaccgagt acaagcccac  
 4261 ggtgcgcctc gccacccgcg acgacgtccc cagggccgta cgcacctcg ccgcgcggt  
 4321 cgcgcactac cccgccacgc gccacacctg cgatccggac cgccacatcg agcgggtcac  
 4381 cgagctgcaa gaactcttcc tcacgcgcgt cgggctcgac atcggcaagg tgtgggtcgc  
 4441 ggacgacggc gccgcgggtg cggctctggac cacgcccggag agcgtcgaag cggggggcgg  
 4501 gttcgcagag atcggcccgc gcatggccga gttgagcggg tcccggctgg ccgcgcgca  
 4561 acagatggaa ggccctcctg cgcgcaccg gcccaaggag cccgcctggt cctggccac  
 4621 cgtcggcgtc tcgcccacc accagggcaa gggctcgggc cgtcctctg gagacctcg cgcgccgaa  
 4681 agtggaggcg gccgagcgcg cgggggtgcc gccttctct gagacctcg cgcgccgaa  
 4741 cctccccttc tacgagcggc tggcttccac cgtcaccgcc gacgtcgagg tgcgcgaagg  
 4801 accgcgcacc tgggtgatga cccgcaagcc cgggtgctga gtcgacaatc aaacctctgga  
 4861 ttacaaaatt tgtgaaagat tgactggtat tcttaactat gttgctcctt ttacgctatg  
 4921 tggatacgtc gctttaatgc ctttgtatca tgctattgct tcccgatagg ctttcatatt  
 4981 ctctccttg tataaatcct ggttgcctgc tctttatgag gagttgtggc ccgttgtcag  
 5041 gcaacgtggc gtgggtgtgca ctgtgtttgc tgacgcaacc cccactgggt ggggcatgct  
 5101 caccacctgt cagctccttt ccgggacttt cgctttcccc ctccctattg ccacggcgga  
 5161 actcatcgcc gcctgccttg ccgctgctg gacaggggct cggctgtgg gcactgacaa  
 5221 ttccgtgggt ttgtcgggga aatcatcgtc ctttctctg ctgtcctctg gccctcaatc  
 5281 ctggattctg cgcgggacgt ccttctgcta cgtcctctg gccctcaatc cagcggacct  
 5341 tecttcccgc ggctgctgc cggctctgc gcctctctg cgtcttctg ttcgccctca  
 5401 gacgagtcgg atctccttt gggcgcctc cccgctggt acctttaaga ccaatgactt  
 5461 acaaggcagc ttagatctt agccactttt taaaagaaaa ggggggactg gaagggctaa  
 5521 ttcactcca acgaaaataa gatctgcttt ttgctgtac tgggtctctc tgggttagacc  
 5581 agatctgagc ctgggagctc tctggctaac tagggaacct actgcttaag cctcaataaa  
 5641 gcttgecttg agtgcttcaa gtagtgtgtg cccgtctgtt gtgtgactct ggtaactaga  
 5701 gatccctcag accttttag tcagtgtgga aaatctctag cagtagtagt tcatgtcacc

```

5761 ttattattca gtatttataa cttgcaaaga aatgaatc agagagtgag aggaacttgt
5821 ttattgcagc ttataatggt tacaataaaa gcaatagcat cacaaatttc acaaataaag
5881 ctttttttct actgcattct agttgtgggt tgcctaaact catcaatgta tcttatcatg
5941 tctggctcta gctatcccgc ccctaactcc gccagttcc gccattctc cgcctatgg
6001 ctgactaatt ttttttattt atgcagaggc cgaggccgcc tcggcctctg agctattcca
6061 gaagtagtga ggaggctttt ttggaggcct agacttttgc agagacggcc caaattcgta
6121 atcatggtca tagctgtttc ctgtgtgaaa ttgttatccg ctcaaatc cacacaacat
6181 acgagccgga agcataaagt gtaaagcctg ggggtgcctaa tgagtgaact aactcacatt
6241 aattgcggtg cgtcactgc ccgcttcca gtcgggaaac ctgtcgtgcc agctgcatta
6301 atgaatcggc caacgcgcgg ggagaggcgg ttgctgatt gggcgtctt ccgctctctc
6361 gctcactgac tcgctgcgct cggctgctcg gctgcggcga gctgctcag ctactcaaa
6421 ggcggttaata cggttatcca cagaatcagg ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa
6481 aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggct
6541 cgcctccctc gacgagcatc acaaaaatcg acgctcaagt cagaggtggc gaaaccgcac
6601 aggactataa agataccagg cgtttccccc tggagctcc ctgctgcgct ctctgttcc
6661 gaccctgccg cttaccggat acctgtccgc cttctccct tcgggaagcg tggcgtttc
6721 tcatagctca cgtgttaggt atctcagttc ggtgtaggtc gttcgtcca agctggctg
6781 tgtgcacgaa cccccgctc agcccagacc ctgcccctta tccgtaact atcgtcttga
6841 gtccaaccgg gtaagacacg acttatcgcc actggcagca gccactggta acaggattag
6901 cagagcaggg tatgtaggc gtgctacaga gttcttgaag tggggccta actacggta
6961 cactagaagg acagtatttg gtatctgcgc tctgctgaag ccagttacct tcggaaaaag
7021 agttggtagc tcttgatccg gcaaacaaac caccgctggt agcggtggtt tttttgtttg
7081 caagcagcag attacgcgca gaaaaaaagg atctcaagaa gatcctttga tctttctac
7141 ggggtctgac gctcagtgga acgaaaactc acgttaaggg attttggtca tgagattatc
[0403] 7201 aaaaaggatc ttcacctaga tctttttaa ttaaaaatga agttttaa caatctaaag
7261 tatatatgag taaacttggc ctgacagtta ccaatgctta atcagtgagg cacctatctc
7321 agcgatctgt ctatttcggt catccatagt tgctgactc cccgctggt agataactac
7381 gatacgggag ggcttaccat ctggcccag tgetgcaatg ataccgcgag acccagctc
7441 accggctcca gatttatcag caataaacca gccagccgga agggccgagc gcagaagtgg
7501 tctgcaact ttatccgct ccatccagtc tattaattgt tgccgggaag ctagagttag
7561 tagttcgcca gttaatagtt tgcgcaact gttgcoatt gctacaggca togtggtgtc
7621 acgctcgtcg tttggtatgg cttcattcag ctccggttcc caacgatcaa ggcgagttac
7681 atgatcccc atgttgtgca aaaaagcggg tagctcctc ggtctccga tctgtgtcag
7741 aagtaagttg gccgcagtg tatcactcat ggttatggca gcaactgata attctcttac
7801 tgtcatgcca tccgtaagat gcttttctgt gactggtgag tactcaacca agtcattctg
7861 agaatagtg atgcggcgac cgagtgtctc ttgccggcg tcaatacggg ataataccgc
7921 gccacatagc agaactttaa aagtgtcat cattggaaaa cgttcttcgg ggcgaaaact
7981 ctcaaggatc ttaccgctgt tgagatccag ttcgatgtaa cccactcgtg cacccaactg
8041 atcttcagca tcttttact taccagcgt tctctgggtg gcaaaaacag gaaggcaaaa
8101 tccgcgcaaaa aagggaataa gggcgacag gaaatgtga atactcatac tattctttt
8161 tcaatattat tgaagcattt atcagggtta ttgtctcatg agcggataca tatttgaatg
8221 tatttagaaa aataaaciaa taggggttcc gcgcacattt ccccgaaaag tgccacctga
8281 cgtctaagaa accattatta tcatgacatt aaactataaa aataggcgta tcacgaggcc
8341 cttctgtctc gcgcgtttcg gtgatgacgg tgaaaacctc tgacacatgc agctcccgga
8401 gacggtcaca gcttgtctgt aagcggatgc cgggagcaga caagcccgtc agggcgcgtc
8461 agcgggtgtt ggccgggtgtc ggggctggct taactatgcg gcatcagagc agattgtact
8521 gagagtgcac catatgcggt gtgaaatacc gcacagatgc gtaaggagaa aataccgcat
8581 caggcgccat tcgccattca ggctgcgcaa ctgttgggaa gggcgatcgg tcggggcctc
8641 ttcgctatta cgccagctgg cgaaaggggg atgtgctgca aggcgattaa gttgggtaac
8701 gccaggggtt tcccagtcac gacgttgtaa aacgacggcc agtgccaage tg.

```

[0404] p510\_抗CD19\_LL\_CD3δ (SEQ ID NO:16)

```

1 acgctgtag tcttatgcaa tactcttcta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca
61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcctgcca ttgggtggaag taagggtgga
121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctgaca tggattggac gaaccactga
[0405] 181 attgcgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc
241 tctgggttaga ccagatctga gctgggagc tctctggcta actagggaa ccactgctta
301 agcctcaata aagcttgctt tgagtgtctc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact
361 ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtgggc
421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct

```

[0406]

481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt  
541 gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcggggggag  
601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt  
661 aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctggt  
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaactact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg  
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcatacaaag  
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaaag  
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg  
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag  
1021 caccaccaa ggcaaagaga agagtgggag agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag  
1081 ctttgttcc tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgagcc tcaatgacgc  
1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgcgta  
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc  
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg  
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata  
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa  
1441 ttacacaagc ttaatacact cettaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga  
1501 acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa  
1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat  
1621 agtttttgc gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac gaagtaagc  
1681 tcagaccac ctcccacccc cgaggggacc cyacaggccc gaaggaatag aagaagaagg  
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcgggt  
1801 aactttttaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat  
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt  
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga cctatggga ctttccact tggcagtaca  
1981 tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcggt ttggcagtac atcaatgggc  
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga  
2101 gtttgttttg gcacaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat  
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gtcggttag  
2221 tgaaccgtca gatgcctgg acagccctc cacgctggt tgacctcat gaagattct  
2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agcctctgc tctgtgagtt accacacca  
2341 gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctcct gtctgcctct  
2401 ctgggagaca gagtcccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat  
2461 tggatcagc agaaaccaga tggaaactgt aaactcctga tctaccatac atcaagatta  
2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc  
2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt  
2641 cgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc  
2701 aagcccggat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct  
2761 ggcctgggtg cgccctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta  
2821 cccgactatg gtgtaagctg gatctgcac cctccacgaa aggtctcagg actggctggga  
2881 gcaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc  
2941 atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaaatga acagtctgca aactgatgac  
3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gttagctatgc tatggactac  
3061 tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caattgaagt tatgtatcct  
3121 cctccttacc taggtggcgg cggttctggt ggcggcgggt ctgggtggcg oggttctctc  
3181 gagttcaaga tacctataga ggaacttgag gacagagtgt ttgtgaattg caataccagc  
3241 atcacatggg tagagggaaac ggtgggaaca ctgctctcag acattacaag actggacctg  
3301 ggaaaacgca tcttggaacc acgaggaata tataggtgta atgggacaga tatatacaag  
3361 gacaaagaat ctaccgtgca agttcattat cgaatgtgcc agagctgtgt ggagctggat  
3421 ccagccaccg tggctggcat cattgtcact gatgtcattg cactctgct ccttctttg  
3481 ggagtcttct gctttgctgg acatgagact ggaaggctgt ctggggctgc cgacacacaa  
3541 gctctgttga ggaatgacca ggtctatcag cccctccgag atcgagatga tgctcagtac  
3601 agccaccttg gaggaaactg ggctcggaac aagtgataag aattcgatcc gggcccgga  
3661 aggatctgcg atcgtccgg tgcccgtcag tgggcagagc gcacatcgcc cacagtccc  
3721 gagaagttgg ggggaggggt cggcaattga acgggtgcct agagaaggtg ggcgggggta  
3781 aactgggaaa gtgatgtcgt gtactggctc cgctttttc ccgaggggtg gggagaaccg  
3841 tatataagtg cagtagtcgc cgtgaacgtt ctttttcgca acgggtttgc cgccagaaca  
3901 cagctgaagc ttcgaggggc tgcactctct ccttcaecgc cccgcgccc taactgagge  
3961 cgccatccac gccggttgag tgcggtctg ccgcctccc cctgtgggtg ctctgaact

[0407]

4021 gcgctccgccg tctaggtaag tttaaagctc aggtcgagac cgggcctttg tccggcgctc  
4081 ccttgagacc tacctagact cagccggctc tccacgcttt gcctgacctt gcttgctcaa  
4141 ctctacgtct ttgtttcggt ttctgttctg cgccgttaca gatccaagct gtgaccggcg  
4201 cctacgctag atgaccgagt acaagcccac ggtgcgcctc gccaccgcg acgacgtccc  
4261 cagggccgta cgcaccctcg ccgcccgtt cgccgactac cccgccacgc gccacaccgt  
4321 cgatccggac cgccacatcg agcgggtcac cgagctgcaa gaactcttcc tcacgcgcgt  
4381 cgggctcgac atcggcaagg tgtgggtcgc ggacgacggc gccgcggtgg cggctctggac  
4441 cacgccggag agcgtcgaag cggggcggt gttcgccgag atcggcccgc gcatggccga  
4501 gttgagcggg tcccggctgg ccgcgcagca acagatggaa ggctcctggy cgcgcaccg  
4561 gcccaaggag ccgcgcgtgt tctggcccac cgtcggcgtc tcgcccgacc accagggcaa  
4621 gggctctggg agcgcctcg tgcctcccgg agtggaggcg gccgagcgc cgggggtgcc  
4681 cgccttctcg gagacctcgg cgcgccgcaa cctcccttc tacgagcggc tcggcttca  
4741 cgtcaccgcc gacgtcgagg tgcccgaagg accgcgcacc tggtgcatga ccgcaagcc  
4801 cgggtgctga gtcgacaatc aacctctgga ttacaaaatt tgtgaaagat tgactgggat  
4861 tcttaactat gttgctcctt ttacgctatg tggatacgt gctttaatgc ctttgtatca  
4921 tgctattgct tcccgtatgg ctttcatttt ctctccttg tataaatcct ggttgctgtc  
4981 tctttatgag gaggttgtgg ccggtgtcag gcaacgtggc gtgggtgtgca ctgtgtttgc  
5041 tgacgcaacc cccactggtt ggggcattgc caccacctgt cagctccttt ccgggacttt  
5101 cgtcttcccc ctccctattg ccacggcgga actcatcgcc gcctgccttg cccgctctg  
5161 gacaggggct cggctgttgg gcactgacaa tccggtggtg ttgtcgggga aatcatcgct  
5221 ttttcttgg ctgctcgcct gtgttcccac ctggattctg cggggagct ccttctgcta  
5281 cgtcccttcg gccctcaatc cagcggacct tcttcccgc ggctgctgc cggctctgcy  
5341 gcctcttccg cgtcttccgc ttgcctca gacgagtcgg atctcccttt ggccgcctc  
5401 cccgcctggg acctttaaga ccaatgactt acaaggcagc tgtagatctt agccactttt  
5461 taaaagaaaa ggggggactg gaagggctaa ttcactcca acgaaaataa gatctgcttt  
5521 ttgcttgta c tgggtctctc tggtagacc agatctgagc ctgggagctc tctggctaac  
5581 tagggaacce actgcttaag cctcaataaa gcttgcttg agtgcttcaa gtagtggtg  
5641 cccgtctgtt gtgtgactct ggtaactaga gatccctcag acccttttag tcagtggtga  
5701 aaatctctag cagtagtag tcatgtcat ttattattca gtattataa cttgcaaaga  
5761 aatgaatata agagagtgag aggaactgtt ttatgagc ttataatggt ttcaataaaa  
5821 ccaatagcat cacaaatttc acaataaag cattttttc actgcattct agttgtggtt  
5881 tgtccaaact catcaatgta tcttatcatg tctggcteta gctatcccgc ccctaactcc  
5941 gccagttcc gccattctc cgcacctgg ctgactaatt ttttttatt atgcagaggg  
6001 cgaggccgcc tcggcctctg agctattcca gaagtagtga ggaggctttt ttggaggcct  
6061 agacttttgc agagacggcc caaatctgta atcatggtca tagctgttcc ctgtgtgaaa  
6121 ttgttatccg ctcaaatc cacacaacat acgagccgga agcataaagt gtaaagcctg  
6181 ggggtgctaa tgagtgagct aactcacatt aattgcgttg cgctcactgc ccgctttcca  
6241 gtcgggaaac ctgtcgtgcc agctgcatta atgaatcggc caacgcgcgg ggagaggcgg  
6301 tttgcgtatt gggcgtctt ccgcttctc gctcactgac tcgctgcgct cggctctcg  
6361 gctgcggcga gcggtatcag ctactcaaa ggcgtaata cgggtatcca cagaatcagg  
6421 ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa agccagcaa aaggccagga accgtaaaaa  
6481 ggccgcggtg ctggcgtttt tccataggct ccgccccct gacgagcatc acaaaaaatc  
6541 acgctcaagt cagaggtggc gaaacccgac aggactataa agataaccagg cgtttcccc  
6601 tggaaagctc ctcgtgcgct ctctgttcc gaccctgcc cttaccggat acctgtccgc  
6661 ctttctccct tcgggaagcg tggcgtttc tcatagctca cgctgtagg atctcagttc  
6721 ggtgtaggte gttcgtccca agctgggctg tgtgacgaa cccccgctc agcccagccg  
6781 ctgcgcctta tccgtaact atcgtcttga gtccaaccgg gtaagacacg acttatcgcc  
6841 actggcagca gccactggta acaggattag cagagcgagg tatgtaggcg gtgctacaga  
6901 gttcttgaag tgggtggccta actacggcta cactagaagg acagtattg gtatctgcy  
6961 tctgctgaag ccagttacct tcggaaaaag agttggtagc tcttgatccg gcaaacaaac  
7021 caccgctggg agcgggtggt ttttgtttg caagcagcag attacgcgca gaaaaaagg  
7081 atctcaagaa gatccttga tcttttctac ggggtctgac gctcagtgga acgaaaactc  
7141 acgtaaggg attttggta tgagattatc aaaaaggatc ttcacctaga tctttttaa  
7201 ttaaaaatga agtttttaat caatctaaag tatatatgag taaacttgg ctgacagtta  
7261 ccaatgctta atcagtgagg cacctatctc agcgtctgt ctatttctgt catccatagt  
7321 tgctgactc cccgtcgtgt agataactac gatcgggag ggcttaccat ctggcccag  
7381 tgctgcaatg ataccgcgag acccagctc accggctcca gatattcag caataaacca  
7441 gccagccgga agggccgagc gcagaagtgg tctgcaact ttatccgct ccatccagtc  
7501 tattaattgt tgccgggaag ctagagtaag tagttcgcca gttaatagtt tgcgcaact

7561 tgttgccatt gctacaggca tegtgggtgc acgctcgtcg tttggatggt cttcattcag  
 7621 ctccggttcc caacgatcaa ggcgagttac atgatcccc atgtttgtgca aaaaagcgg  
 7681 tagctccttc ggtcctccga tegtgtcag aagtaagttg gccgcagtgt tatcactcat  
 7741 ggttatggca gcaactgcata attctcttac tgtcatgcca tccgtaagat gcttttctgt  
 7801 gactgggtgag tactcaacca agtcattctg agaatagttg atgcccgcac cgagttgctc  
 7861 ttgcccggcg tcaatacggg ataataccgc gccacatagc agaactttaa aagtgtcat  
 7921 cattggaaaa cgttcttcgg ggcgaaaact ctcaaggatc ttaccgctgt tgagatccag  
 7981 ttcgatgtaa cccactcgtg cacccaactg atcttcagca tcttttactt tcaccagcgt  
 8041 ttctgggtga gcaaaaacag gaaggcaaaa tgccgcaaaa aaggggaataa gggcgacacg  
 [0408] 8101 gaaatggtga atactcata tcttcctttt tcaatattat tgaagcattt atcagggtta  
 8161 ttgtctcatg agcggataca tatttgaatg tatttagaaa aataaacaata taggggtcc  
 8221 ggcacacattt ccccgaaaag tgccacctga cgtctaagaa accattatta tcatgacatt  
 8281 aacctataaa aataggcgta tcacgaggcc ctttctctc gcgctttctg gtgatgacgg  
 8341 tgaaaacctc tgacacatgc agctcccgga gacggtcaca gcttctctgt aagcggatgc  
 8401 cgggagcaga caagcccgtc agggcgctc agcgggtgtt ggcgggtgtc ggggctggct  
 8461 taactatgcg gcatcagagc agattgtact gagagtgcac catatgcggt gtgaaatacc  
 8521 gcacagatgc gtaaggagaa aataccgcac caggcgccat tcgccattca ggtgcgcaa  
 8581 ctggtgggaa gggcgatcgg tgccggcctc ttcgctatta cgccagctgg cgaaaagggg  
 8641 atgtgctgca aggcgattaa gttgggtaac gccaggggtt tcccagtcac gacgttgtaa  
 8701 aacgacggcc agtgccaagc tg.

[0409] p510\_抗CD19\_LL\_CD3ε (SEQ ID NO:17)

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca  
 61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttgggtggaag taagggtgga  
 121 cgatcgtgcc ttattagtaa ggcaacagac ggtctgaca tggattggac gaaccactga  
 181 attgcccgat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc  
 241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccactgctta  
 301 agcctcaata aagcttgctt tgagtgtctc aagtagttg tgcccgtctg ttgtgtgact  
 361 ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg  
 421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggtc  
 481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaattt  
 541 gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag  
 601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt  
 661 aaaacatata gtatgggcaa gcaggagctc agaacgattc gcagttaatc ctggctggt  
 721 agaaacatca gaaggctga gacaaactc gggacagcta caacctccc ttccagcagg  
 781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcataaaag  
 841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag  
 901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg  
 961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaa aattgaacca ttaggagtag  
 1021 caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag  
 [0410] 1081 ctttgttctt tgggttcttg ggagcagcag gaagcaactat gggcgagcc tcaatgacgc  
 1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgetga  
 1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc  
 1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg  
 1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtata  
 1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa  
 1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaactcga aaccagcaag aaaagaatga  
 1501 acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa  
 1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat  
 1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt  
 1681 tcagaccacac ctcccacacc cgaggggacc cgacagccc gaaggaatag aagaagaagg  
 1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcgggt  
 1801 aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat  
 1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt  
 1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttctact ttccagtag  
 1981 tctacgtatt agtcatecgt attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtag tccaatgggc  
 2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga  
 2101 gtttgttttg gcacaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgcccac  
 2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggg gggaggttta tataagcaga gctcgtttag  
 2221 tgaaccgtca gatgcctgg agacgccatc cacgctggtt tgacctccat agaagattct

[0411]

2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacaccca  
 2341 gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct  
 2401 ctgggagaca gagtcacatg cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat  
 2461 tgggtatcagc agaaaccaga tggaaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta  
 2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc  
 2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgtt  
 2641 cegtacacgt tccgaggggg gactaagtgt gaaataacag gctccacctc tggatccggc  
 2701 aagcccggat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct  
 2761 ggccctgggtg cgccctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta  
 2821 cccgactatg gtgtaagctg gattcgcag cctccacgaa agggctgga gtggctggga  
 2881 tgaatatggg gtagtgaac cacatactat aattcagctc tcaaaccag actgacctc  
 2941 atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac  
 3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gttagctatgc tatggactac  
 3061 tggggctcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caattgaagt tatgtatcct  
 3121 cctccttacc taggtggcgg cggttctggt ggccggcgtt ctgggtggcgg cggttctctc  
 3181 gaggatggta atgaagaat ggggtggtatt acacagacac catataaagt ctccatctct  
 3241 ggaaccacag taatattgac atgcctcag tatcctggat ctgaaatact atggcaaac  
 3301 aatgataaaa acataggcgg tgatgaggat gataaaaaca taggcagtga tgaggatcac  
 3361 ctgtcactga aggaattttc agaattggag caaagtgtt attatgtctg ctaccccaga  
 3421 ggaagcaaac cagaagatgc gaacttttat ctctacctga gggcaagagt gtgtgagaac  
 3481 tgcattggaga tggatgtgat gtcggtgccc acaattgtca tagtggacat ctgcatcact  
 3541 gggggcctgc tgctgctggt ttactactgg agcaagaata gaaaggccaa ggccaagcct  
 3601 gtgacacgag gagcgggtgc tggcggcagg caaaggggac aaaacaagga gaggccacca  
 3661 cctgttccca acccagacta tgagcccatc cggaaaggcc agcgggacct gtattctggc  
 3721 ctgaatcaga gacgcactg ataagaattc gatccgcggc cgcgaaggat ctgcatcgc  
 3781 tccgggtccc gtcagtgggc agagcgcaca tcgccacag tcccagagaa gtggggggga  
 3841 ggggtcggca attgaacggg tgccatagaga aggtggcgcg gggtaaacctg ggaaagtgat  
 3901 gtcgtgtact ggctccgct ttttcccgag ggtgggggag aaccgtatat aagtgcagta  
 3961 gtcgcccgtg acgttctttt tcgcaacggg tttgcccca gaacacagct gaacctcga  
 4021 gggagctcgca tctctcttc acgcgcocgc cgcctacct gaggcgcca tccacgcgg  
 4081 ttgagtcgcg ttctgcgcgc tccgcctgt ggtgcctcct ggtgcctcct cgcctctag  
 4141 gtaagtttaa agctcaggtc gagaccgggc ctttgtccgg cgtcccttg gagcctacct  
 4201 agactcagcc ggctctccac gctttgctg accctgcttg ctcaactcta cgtctttggt  
 4261 tcgttttctg ttctgcgcgc ttacagatcc aagctgtgac cggcgctac gctagatgac  
 4321 cgagtacaag cccacggtgc gctctgccac ccgcgacgac gtccccagg cgtacgcac  
 4381 cctcgcgcgc gcgttcgcgc actaccgcgc cacgcgccac accgtcgatc cggaccgcca  
 4441 catcgagcgg gtcaccgagc tgcaagaact cttcctcagc cgcgtcgggc tcgacatcgg  
 4501 caaggtgtgg gtcgcggacg acggcgccgc ggtggcggtc tggaccacgc cggagagcgt  
 4561 cgaagcgggg gcggtgttcg ccgagatcgg ccgcgcgatg gccgagttga gcggttccc  
 4621 gctggcgcgc cagcaacaga tggaaagcct cctggcgcgc caccggccca agggagcgc  
 4681 gttggttcctg gccaccgtcg gcgtctgcc ccgaccacag ggcaagggtc ggggcagcgc  
 4741 cgtcgtgctc cccggagtgg agggggccga gcgcgcggg gtgcccgcct tccgtggagac  
 4801 ctccgcgcgc cgcaacctc ccttctacga gcggctcggc ttcacctgca ccgcgacgt  
 4861 cgaggtgccc gaaggaccgc gcacctggtg catgaccgc aagccgggtg cctgagtcga  
 4921 caatcaacct ctggattaca aaatttgtga aagattgact ggtattctta actatgttgc  
 4981 tccctttacg ctatgtggat acgctgcttt aatgccttg tatcatgcta ttgcttccc  
 5041 tatgctttc attttctcct ccttgtataa atcctggttg ctgtctcttt atgaggagtt  
 5101 gtggcccgtt gtcaggcaac gtggcgtggt gtgcaactgt tttgctgacg caacccccac  
 5161 tgggtggggc attgccacca cctgtcagct cctttccggg actttcgctt tccccctcc  
 5221 tattgccacg gcggaactca tcgcgcctg ccttgcccgc tgetggacag gggctcggct  
 5281 gttgggcact gacaattccg tgggtttgtc ggggaaatca tcgtccttcc cttggctgct  
 5341 cgctgtgtt gccacctgga ttctgcgcgg gacgtcctc tgctacgtcc cttcggcct  
 5401 caatccagcg gaccttctt cccgcggcct gctgcccgtt ctgcccctc ttccgcgtct  
 5461 tcgccttcgc cctcagacga gtcggatctc cctttgggcc gctccccgc ctggtacctt  
 5521 taagaccaat gacttacaag gcagctgtag atcttagcca ctttttaaaa gaaaaggggg  
 5581 gactggaagg gctaattcac tcccacgaa aataagatct gctttttgct tgtactgggt  
 5641 ctctctggtt agaccagatc tgagcctggg agctctctgg ctaactaggg aaccactgc  
 5701 ttaagcctca ataaagcttg ccttgagtgc ttcaagtagt gtgtgcccgt ctggtgtgtg  
 5761 actctggtaa ctagagatcc ctacagacct tttagtcagt gtggaaaatc tctagcagta

5821 gtagttcatg tcatcttatt attcagtatt tataacttgc aaagaaatga atatacagaga  
5881 gtgagaggaa cttgtttatt gcagcttata atggttacaa ataaagcaat agcatcacia  
5941 atttcacaaa taaagcattt ttttcaactgc attctagtgt tggtttgtcc aaactcatca  
6001 atgtatctta tcatgtctgg ctctagctat cccgcccta actccgcca gtccgcca  
6061 ttctccgccc catggctgac taattttttt tatttatgca gaggccgagg ccgcctcggc  
6121 ctctgagcta ttccagaagt agtgaggagg cttttttgga ggcctagact tttgcagaga  
6181 cggcccaaat tcgtaatcat ggtcataget gtttctctgt tgaaattggt atccgctcac  
6241 aattccacac aacatacgag ccggaagcat aaagtgtaaa gcctgggggtg cctaagtagt  
6301 gagctaactc acattaattg cgttgcctc actgcccgtt ttccagtcgg gaaacctgtc  
6361 gtgccagctg cattaatgaa tcggccaacg cgcggggaga ggcggtttgc gtattggggc  
6421 ctcttccgct tctctcgtca ctgactcgtc gcgctcggtc gttcggctgc ggcgagcgg  
6481 atcagctcac tcaaaggcgg taatacgggt atccacagaa tcaggggata acgcaggaaa  
6541 gaacatgtga gcaaaaggcc agcaaaaggc caggaaccgt aaaaaggccg cgttgcctggc  
6601 gtttttccat aggtccgccc cccctgacga gcatcaciaa aatcgacgct caagtccagag  
6661 gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata ccaggcgtt cccctggaa gctcctcgt  
6721 gcgctctcct gttccgaccc tgcgcttac cggatacctg tccgcctttc tcccttcggg  
6781 aagcgtggcg ctttctcata gctcaecgtg taggtatctc agttcgggtg aggtcgttcg  
6841 ctccaagctg ggctgtgtgc acgaaccccc cgttcagccc gaccgctcgc ccttatccgg  
6901 taactatcgt cttgagctca acccggtaag acacgactta tcgccactgg cagcagccac  
6961 ggtaaacagg attagcagag cgaggtatgt aggcggtgct acagagtctc tgaagtggg  
7021 gcctaactac ggctacacta gaaggtagt atttggtatc tgcgctctgc tgaagccagt  
7081 taccttcgga aaaagagttg gtagctcttg atccggcaaa caaacaccg ctggtagcgg  
7141 tggttttttt gtttgcaagc agcagattac gcgcagaaaa aaaggatctc aagaagatcc  
7201 tttgatcttt tctacggggt ctgacgctca gtggaacgaa aactcacggt aagggatttt  
7261 ggtcatgaga ttatcaaaaa ggatcttcac ctatagcctt taaattaaa aatgaagttt  
[0412] 7321 taaatcaatc taaagtatat atgagtaaac ttggtctgac agttaccaat gcttaatcag  
7381 tgaggcacct atctcagcga tctgtctatt tegtctatcc atagttgctt gactccccgt  
7441 cgtgtagata actacgatac gggagggctt accatctggc cccagtgctg caatgatacc  
7501 gcgagaccca cgtcaccgg ctccagattt atcagcaata aaccagctta ccggaaggc  
7561 cgagcgcaga agtggctcct caactttatc cgcctccatc cagtctatta atgttgccg  
7621 ggaagctaga gtaagtgtt ccccagttaa tagtttgccg aacggtggtg ccatgtctac  
7681 aggcacgtg gtgtcacgct cgtcgtttgg tatggcttca ttcagctccg gttcccaacg  
7741 atcaaggcga gttacatgat cccccatgtt gtgcaaaaaa gcggttagct ccttcgggtc  
7801 tccgatcgtt gtcagaagta agttggccgc agtgttatca ctcatggta tggcagcact  
7861 gcataattct ctactgtca tgccatccgt aagatgctt tctgtgactg gtgagtactc  
7921 aaccaagtca ttctgagaat agtgtatgcg gcgaccgagt tgctcttgcc cggcgtcaat  
7981 acgggataat accgcgccac atagcagaac tttaaagtg ctcatcattg gaaaacggtc  
8041 ttccggggcga aaactctcaa ggatcttacc gctgttgaga tccagttcga tgtaaccac  
8101 tcgtgcacc aactgatctt cagcatcttt tactttcacc agcgtttctg ggtgagcaaa  
8161 aacaggaagg caaaatgccg caaaaaagg aataagggcg acacggaaat gttgaact  
8221 catactcttc ctttttcaat attattgagg catttatcag ggttattgtc tcatgagcgg  
8281 atacatattt gaatgtattt agaaaaataa acaaataggg gttccgcgca ctttccccg  
8341 aaaagtgcc cctgacgtct aagaaacat tattatcatg acattaacct ataaaaatag  
8401 gcgtatcacg aggcctttc gtctcgcgct tttcgggtgat gacggtgaaa acctctgaca  
8461 catgcagctc ccggagacgg tcacagcttg tctgtaagcg gatgccggga gcagacaagc  
8521 ccgtcagggc gcgtcagcgg gtgttgccgg gtgtcggggc tggcttaact atgcggcatc  
8581 agagcagatt gtactgagag tgcacatata gcggtgtgaa ataccgcaca gatgcgtaag  
8641 gagaaaatac cgcacaggg gccattcggc attcaggctg cgcaactgtt ggggaaggcg  
8701 atcgggtcgg gcctcttcgc tattacgcca gctggcgaaa ggggatgtg ctgcaaggcg  
8761 attaagttgg gtaacgccag ggttttccca gtcacgacgt tgtaaacgga cggccagtgc  
8821 caagctg.

[0413] p510\_抗CD19\_SL\_CD3ε (SEQ ID NO:18)

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca  
61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttgggtggaag taagggtgga  
121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctgaca tggattggac gaaccactga  
[0414] 181 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc  
241 tctggttaga ccagatctga gccctgggagc tctctggcta actagggaac cactgctta  
301 agcctcaata aagcttgctt tgagtgtctc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact  
361 ctggtaacta gagatcctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtgggc

[0415]

421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct  
481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt  
541 gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcggggggag  
601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt  
661 aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctggt  
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg  
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcatcaaag  
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag  
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg  
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata agtagtaaa aattgaacca ttaggagtag  
1021 caccaccaa ggcaaagaga agagtgggag agagagaaaa aagagcagtg gaaataggag  
1081 ctttgttctc tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgagcc tcaatgacgc  
1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgetga  
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc  
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg  
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtata  
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa  
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga  
1501 acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa  
1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagttaga ggcttggtag gttaagaat  
1621 agtttttctg gtactttcta tagtgaatag agttaggcag gaatttcac cattatcgtt  
1681 tcagaccac ctcccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaaatag caataagagg  
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt  
1801 aactttttaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat  
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt  
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttctact tggcagtaca  
1981 tetacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcgggt ttggcagtac atcaatgggc  
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga  
2101 gtttgttttg gcacccaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat  
2161 tgacgcaaat gggcggttag cgtgtacggg gggaggttta tataagcaga gctcgtttag  
2221 tgaaccgtca gatcgcttgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct  
2281 agaacggcca ccattgctct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca  
2341 gcattctctc tgatcccaga catccagatg acacagacta catectcct gtctgcctct  
2401 ctgggagaca gagtcccat cagttgcagg gcaagtccag acattagtaa atatttaaat  
2461 tggatcagc agaaaccaga tggaaactgt aaactcctga tctaccatac atcaagatta  
2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtgge agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc  
2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgtt  
2641 cgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc  
2701 aagcccggat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct  
2761 ggctcgttgg cgcctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta  
2821 cccgactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccacgaa agggctcaga gtggctggga  
2881 gtaattggg gtagtgaac cacatacat aattcagctc tcaaactcag actgaccatc  
2941 atcaaggaca actccaagag ccaagtttct ttaaaaatga acagtctgca actgatgac  
3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacgggt gtagctatgc tatggactac  
3061 tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caggtggcgg cggttctggt  
3121 ggcggcgggt ctgggtggcg cggttctctc gaggatggta atgaagaaat ggggtggtatt  
3181 acacagacac catataaagt ctccatctct ggaaccacag taatattgac atgcctcag  
3241 tatcctggat ctgaaatact atggcaacac aatgataaaa acataggcgg tgatgaggat  
3301 gataaaaaca taggcagtga tgaggatcac ctgtcactga aggaattttc agaattggag  
3361 caaagtgggt attatgtctg ctaccccaga ggaagcaaac cagaagatgc gaacttttat  
3421 ctctacctga gggcaagagt gtgtgagaac tgcattggaga tggatgtgat gtcgggtggc  
3481 acaattgtca tagtggacat ctgcatcact ggggcttgc tgctctggt ttactactgg  
3541 agcaagaata gaaaggccaa ggccaagcct gtgacacgag gagegggtgc tggcggcagg  
3601 caaaggggac aaaacaagga gagggcacca cctgttccca acccagacta tgaagccatc  
3661 cggaaaggcc agcgggacct gtattctggc ctgaatcaga gacgcatctg ataagaatc  
3721 gatccgcgcc cgcggaaggat ctgcatcgc tccgggtgcc gtcagtgggc agagcgaca  
3781 tcgcccacag tccccgagaa gttgggggga ggggtcggca attgaacggg tgcttagaga  
3841 aggtggcgcg gggtaactg ggaagtgat gtcgtgact ggctccgct tttcccag  
3901 ggtgggggag aaccgtatat aagtgcagta gtcgccgtga acgttctttt tcgcaacggg

[0416]

```

3961 tttgcccga gaacacagct gaagcttcga ggggctcgca tctctccttc acgcgcccgc
4021 cgccctacct gaggcgcgca tccacgcggg ttgagtcgcg ttctgcccgc tcccgcctgt
4081 ggtgcctcct gaactgcgtc cgccgtctag gtaagtttaa agctcaggtc gagaccgggc
4141 ctttgctcgg cgtcccttg gagcctacct agactcagcc ggctctccac gctttgctg
4201 accctgcttg ctcaactcta cgtctttggt tcgtttctg ttctgcccgc ttacagatcc
4261 aagctgtgac cggcgcctac gctagatgac cgagtacaag cccacgggtgc gcctcgccac
4321 cgcgcagcag gtccccaggg cegtaegcac cctcgcccgc gcgttcgccc actacccccgc
4381 cacgcgccac accgtcgatc cggaccgcga catcgagcgg gtccaccgagc tgcaagaact
4441 ctctctcagc cgcgtcgggc tcgacatcgg caaggtgtgg gtccgggagc accggcgcgc
4501 ggtggcggtc tggaccacgc cggagagcgt cgaagcgggg gcggtgttcg ccgagatcgg
4561 cccgcgcgat gccgagttga gcggttcccg gctggccgcg cagcaacaga tgggaaggcct
4621 cctggcgcgc caccggccca aggagcccgc gtggttctg gccaccgtcg gcgtctcgc
4681 cgaccaccag ggcaagggtc tgggcagcgc cgtcgtgctc cccggagtg agggggccga
4741 gcgcgcgggg gtgcccgcct tcctggagac ctccgcgcc cgcaacctcc cctctacga
4801 gcggtcgggc ttcaccgtca ccgcccagct cgaggtgcc gaaggaccgc gcacctggtg
4861 catgaccgcg aagcccgggt cctgagtcga caatcaacct ctggattaca aaatttgtga
4921 aagattgact ggtattctta actatggtgc tccttttacg ctatgtggat acgctgcttt
4981 aatgcctttg tatcatgcta ttgctcccgc tatggctttc attttctcct ccttgtataa
5041 atcctgggtg ctgtctcttt atgaggagt gtggccggt gtccaggcaac gtggcgtggt
5101 gtgcactgtg tttgctcag caacccccac tgggtggggc attgccacca ctgtcagct
5161 cctttccggg actttcgctt tccccctccc tattgccacg gcgggaactca tcgcgcctg
5221 ccttgcccgc tgctggacag gggctcggct gtggggcact gacaattccg tgggtgtgtc
5281 ggggaaatca tcgtcctttc cttggtgct cgctgtggt gccacctgga ttctgcccgc
5341 gacgtccttc tgetacgtcc cttcggccct caatccagcg gacctcctt ccgcggcct
5401 gctgcgggct ctgcggcctc ttcgcgctc tcgcttcgc cctcagacga gtcggatctc
5461 cctttgggccc gcctccccgc ctggtacct taagaccaat gacttacaag gcagctgtag
5521 atcttagcca ctttttaaaa gaaaaggggg gactggaagg gctaattcac tcccacgaa
5581 aataagatct gctttttgct tgtactgggt ctctctggt agaccagatc tgagcctggg
5641 agctctctgg ctaactagg aaccactgc ttaagcctca ataaagcttg ccttgagtgc
5701 ttcaagttag gtgtgcccg tctgtgtg actctggtaa ctagagatcc ctcagacct
5761 tttagtcagt gtggaaaatc cttagcagta gtagtcoatg tcoatctatt attcagtatt
5821 tataacttgc aaagaaatga atatcagaga gtgagaggaa cttgtttatt gcagcttata
5881 atggttacaa ataaagcaat agcatcacia atttcacaaa taaagcattt ttttactgc
5941 attctagttg tggtttgtcc aaactcatca atgtatctta tcatgtctgg ctctagctat
6001 cccgccccta actccgccc gttccgccc ttctccgcc catggctgac taattttttt
6061 tatttatgca gaggcgagg ccgctcggc ctctgagcta tccagaagt agtgaggagg
6121 cttttttgga ggectagact tttgcagaga cggcccaaat tcgtaatcat ggtcatagct
6181 gtttctctgt tgaattggt atccgctcac aattccacac aacatacgag ccggaagcat
6241 aaagtgtaaa gcctggggtg cctaatgagt gagctaactc acattaattg cgttgccctc
6301 actgcccgtc ttcagctgg gaaacctgc gtccagctg cattaatgaa ttggccaacg
6361 cgcggggaga ggcggtttgc gtattggcg ctctccgct tctcgtca ctgactcgt
6421 gcgtcggtc gttcggctgc ggcgagcgg atcagctcac tcaaaggcgg taatacggtt
6481 atccacagaa tcaggggata acgcaggaaa gaacatgtga gcaaaaggcc agcaaaagge
6541 caggaaccgt aaaaaggcgc cgttgcggc gtttttccat aggctccgcc cccctgacga
6601 gcatcacaaa aatcgacgct caagtccagc gtggcgaac ccgacaggac tataaagata
6661 ccaggcgttt ccccctggaa gctccctcgt gcgctcctc gttccgacct tgcgcttac
6721 cggatacctg tccgctttc tccttcggg aagcgtggcg ctttctcata gctcacgctg
6781 taggtatctc agttcgggtg aggtcgttcg ctccaagctg ggctgtgtgc acgaacccc
6841 cgttcagccc gaccgctgc cctatccgg taactatcgt cttgagtcga acccggtaag
6901 acacgactta tcgccactgg cagcagccac tggtaacagg attagcagag cgaggtatgt
6961 aggcgggtgc acagagttct tgaagtgtg ccctaactac ggctacacta gaaggacagt
7021 atttggtatc tgcgctctgc tgaagccagt taccttcgga aaaagagttg gtagctcttg
7081 atccggcaaa caaaccaccg ctggtagcgg tggttttttt gtttgcaagc agcagattac
7141 gcgcagaaaa aaaggatctc aagaagatcc tttgatctt tctacggggg ctgacgctca
7201 gtggaacgaa aactcacgct aagggatctt ggtcatgaga ttatcaaaaa ggatcttcac
7261 ctagatcctt ttaaattaaa aatgaagttt taaatcaatc taaagtatat atgagtaaac
7321 ttggtctgac agttaccaat gcttaatcag tgaggcacct atctcagcga tctgtctatt
7381 tcgctcatcc atagttgct gactcccgt cgtgtagata actacgatac gggagggctt
7441 accatctggc cccagtgtg caatgatacc gcgagacca cgtcaccgg ctcagattt

```

[0417] 7501 atcagcaata aaccagccag ccggaagggc cgagcgcaga agtggtcctg caactttatc  
7561 cgcctccatc cagtctatta attggtgccc ggaagctaga gtaagtagtt cgccagttaa  
7621 tagtttgccc aacggtgttg ccattgctac aggcacgtg gtgtcacgct cgtcgtttgg  
7681 tatggcttca ttcagctccg gttcccaacg atcaaggcga gttacatgat cccccatggt  
7741 gtgcaaaaaa gcggttagct ccttcgggtcc tccgatcgtt gtcagaagta agttggccgc  
7801 agtgttatca ctcatggtta tggcagcact gcataattct cttactgtca tgccatccgt  
7861 aagatgcttt tctgtgactg gtgagtactc aaccaagtca ttctgagaat agtgtagcgg  
7921 gcgaccgagt tgctcttgcc cggcgtcaat acgggataat accgcgccac atagcagaac  
7981 tttaaaagtg ctcatcattg gaaaacgttc ttcggggcga aaactctcaa ggcatttacc  
8041 gctggtgaga tccagttcga tgtaaccac tctgtcacc aactgatctt cagcatcttt  
8101 tactttcacc agcgtttctg ggtgagcaaa aacaggaagg caaaatgccg caaaaaaggg  
8161 aataagggcg acacggaaat gttgaatact catactcttc ctttttcaat attattgaag  
8221 cttttatcag ggttattgtc tcatgagcgg atacatattt gaatgtattt agaaaaataa  
8281 acaaataagg gttccgcgca ctttccccg aaaagtgcc aactgatctt aagaaacct  
8341 tattatcatg acattaacct ataaaaatag gcgatcacg aggcctcttc gtctcgccg  
8401 tttcggtgat gacggtgaaa acctctgaca catgcagctc ccggagacgg tcacagcttg  
8461 tctgtaagcg gatgccggga gcagacaagc ccgtcagggc gcgtcagcgg gtgttggcgg  
8521 gtgtcggggc tggcttaact atgcggcatc agagcagatt gtactgagag tgcaccat  
8581 gcgggtgtgaa ataccgcaca gatgcgtaag gagaaaatac cgcacagggc gccattcgcc  
8641 attcaggctg cgcaactgtt ggaagggcg atcgggtcgg gcctcttcgc tattacgcca  
8701 gctggcgaaa ggggatgtg ctgcaagcgg attaagtgg gtaacgccag ggttttccca  
8761 gtcacgacgt tgtaaaacga cggccagtgc caagctg.

[0418] p510\_抗CD19\_SL\_CD3 γ (SEQ ID NO:19)

[0419] 1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca  
61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttgggtggaag taaggtggta  
121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga  
181 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc  
241 tctggttaga ccagatctga gcttgggagc tctctggcta actagggaac cactgtctta  
301 agcctcaata aagcttgctc tgagtgtctc aagttagtgg tgcccgtctg ttgtgtgact  
361 ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg  
421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggcactggct  
481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt  
541 gactagcggg gctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag  
601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt  
661 aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctggt  
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg  
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcacaaag  
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaaacaaag  
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg  
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagttagtaaa aattgaacca ttaggagtag  
1021 caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag  
1081 ctttgttctc tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc  
1141 tgacggtaca ggcagacaaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttctgta  
1201 ggctattgga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc  
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg  
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata  
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa  
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaactcga aaccagcaag aaaagaatga  
1501 acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa  
1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat  
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt  
1681 tcagaccac cteccaacce cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg  
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggcactcgc ggtatcgggt  
1801 aactttttaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaaagaa tagtagacat  
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaaaaa attacaaaat tcaaaatttt  
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttctact tggcagtaca  
1981 tctacgtatt agtcategct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc  
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga  
2101 gtttgttttg gcaccaaatt caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat

[0420]

2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgttttag  
 2221 tgaaccgtca gatcgccctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct  
 2281 agagccgccca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacaccca  
 2341 gcatttctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgectct  
 2401 ctgggagaca gagtcacat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat  
 2461 tggatatcagc agaaaccaga tggaaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta  
 2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc  
 2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt  
 2641 cegtacacgt tccggagggg gactaaagtg gaaataacag gctccacctc tggatccggc  
 2701 aagccccgat ctggcgagg atccaccaag ggcgagtgga aactgcagga gtcaggacct  
 2761 ggcctggtgg cgcctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta  
 2821 cccgactatg gtgtaagctg gattegccag cctccacgaa agggctctgga gtggtcggga  
 2881 gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc  
 2941 atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac  
 3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac  
 3061 tggggtcaag gaacctcagt cacctctccc tcagcggccg caggtggcgg cggttctggg  
 3121 ggcggcgggt ctggtggcgg cggttctctc gagcagtcaa tcaaaggaaa ccacttgggt  
 3181 aagggtgatg actatcaaga agatggttcg gtacttctga cttgtgatgc agaagccaaa  
 3241 aatatcacat ggtttaaaga tgggaagatg atcggcttcc taactgaaga taaaaaaaaa  
 3301 tggaaactgg gaagtaatgc caaggacca caggggatgt atcagtgtaa aggatcacag  
 3361 aacaagtcaa aaccactcca agtgattac agaattgttc agaactgcat tgaactaat  
 3421 gcagccacca tatctggctt tctctttgct gaaatcgtca gcatttctgt ccttgtctgt  
 3481 ggggtctact tcattgctgg acaggatgga gttcggcagt cgagagcttc agacaagcag  
 3541 actctgttgc ccaatgacca gctctaccag cccctcaagg atcgagaaga tgaccagtac  
 3601 agccaccttc aaggaaacca gttgaggagg aattgataag aattcgatcc gcgcccgca  
 3661 aggatctcgg atcgcctcgg tgcccgtcag tgggcagagc gcacatcgcc cacagtcccc  
 3721 gagaagttgg ggggaggggt cggcaattga acgggtgctt agagaagggt ggcgcggggt  
 3781 aactgggaaa gtgatgtcgt gtactggctc gcctttttc ccgaggggtg gggagaaccg  
 3841 tatataagtg cagtagtcgc cgtgaacgtt cttttctgca acgggtttgc cccagaaca  
 3901 cactgaagc ttcgaggggc tcgcatctct cctcacgcg cccgcgcgcc cctgagggc  
 3961 cgcatccac gccggttgag tgcgctctg ccgctcccg cctgtggtgc ctctgaact  
 4021 gcgctcgcgg tctaggtaag tttaaagctc aggtcgagac cgggcctttg tccggcgtc  
 4081 ccttggagcc tacctagact cagccggctc tccacgcttt gcctgacctt gcttgcctca  
 4141 ctctacgtct ttgtttcgtt ttctgtctg cgccttaca gatccaagct gtgaccggcg  
 4201 cctacgctag atgaccgagt acaagcccac ggtgcgctc gccaccgcgg acgacgtccc  
 4261 cagggccgta cgcacctcg ccgcccgtt cgcgactac cccgccacgc gccacaccgt  
 4321 cgatccggac cgccacatcg agcgggtcac cgagctgcaa gaactcttcc tcacgcgcgt  
 4381 cgggctcgac atcggcaagg tgtgggtcgc ggacgcagcc gccgcgggtg cggctctggac  
 4441 cagcgggag agcgtcgaag cggggcggtt gttcggcgag atcggcccgc gcatggccga  
 4501 gttgagcggg tcccggctgg ccgcgcagca acagatgga ggctcctgg cgcgcaccgc  
 4561 gcccaaggag cccgcgtggt tccctggcac cgtcggcgtc tcgcccggacc accagggcaa  
 4621 gggctctggg agcgcctgag tgctccccgg agtggaggcg gccgagcgcg cgggggtgce  
 4681 cgccttctct gagacctcgg cgccccgcaa cctccccttc tacgagcggc tgggttcac  
 4741 cgtcacccgc gacgtcgagg tgcccgaagg accgcgcacc tggtgcatga cccgcaagcc  
 4801 cgggtgectga gtcgacaatc aacctctgga ttacaaaatt tgtgaaagat tgactgggat  
 4861 tcttaactat gttgctcctt ttacgctatg tggatacgtt gctttaatgc ctttgtatca  
 4921 tgctattgct tcccgtatgg ctttcatttt ctctccttg tataaatcct ggttgcctgc  
 4981 tctttatgag gaggttgtgg ccggtgtcag gcaacgtggc gtggtgtgca ctgtgtttgc  
 5041 tgacgcaacc cccactggtt ggggcattgc caccacctgt cagctccttt cgggacttt  
 5101 cgttttccc ctcctattg ccacggcgga actcatcgcc gctgcttg cccgctctg  
 5161 gacaggggct cggctgttgg gcactgacaa ttccgtggtg ttgtcgggga aatcatcgtc  
 5221 ctttcttgg ctgctcgcct gtgttgccac ctggattctg cgcgggacgt ccttctgcta  
 5281 cgtcccttcg gccctcaatc cagcggacct tccttcccgc ggctgctgc cggctctgcg  
 5341 gcctcttcgg cgtcttcgce ttgcctca gacgagtcgg atctccttt gggcgcctc  
 5401 cccgcctggg acctttaaga ccaatgactt acaaggcagc tgtagatctt agccacttt  
 5461 taaaagaaaa ggggggactg gaagggtctaa ttcaactcca acgaaaataa gatctgctt  
 5521 ttgcttgtag tgggtctctc tggttagacc agatctgagc ctgggagctc tctggctaac  
 5581 tagggaacct actgcttaag cctcaataaa gcttgcttg agtgcttcaa gtagtgtgtg  
 5641 cccgtctggt gtgtgactct ggtaactaga gatccctcag acccttttag tcagtgtgga

```

5701 aaatctctag cagtagtagt tcatgtcatc ttattattca gtatttataa cttgcaaaaga
5761 aatgaatatic agagagttag aggaacttgt ttattgcagc ttataatggg tacaaaataaa
5821 gcaatagcat cacaaatttc acaaataaag cttttttttc actgcattct agttgtgggt
5881 tgtccaaact catcaatgta tcttatcatg tctggctcta gctatccgc ccctaactcc
5941 gccagttcc gccattctc cgccccatgg ctgactaatt ttttttattt atgcagaggc
6001 cgaggccgcc tcggcctctg agctattcca gaagttagtga ggaggctttt ttggaggcct
6061 agacttttgc agagacggcc caaattegta atcatgggca tagctgtttc ctgtgtgaaa
6121 ttgttatccg ctcaaatc cacacaacat acgagccgga agcataaagt gtaaagcctg
6181 ggggtgctaa tgagtgaget aactcacatt aattgcgttg cgctactgc ccgctttcca
6241 gtcgggaaac ctgtcgtgcc agctgcatta atgaatcggc caacgcgcgg ggagagggcg
6301 tttgcgtatt gggcgtctct cegcttctct gctcactgac tcgctgcgct cggctgtctg
6361 gctgcggcga gcggtatcag ctactcaaa ggcggttaata cggttatcca cagaatcagg
6421 ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa
6481 ggccgcggtg ctggcgtttt tccataggct ccgccccct gacgagcatc aaaaaaatcg
6541 acgctcaagt cagaggtggc gaaaccgcac aggactataa agataccagg cgtttcccc
6601 tggaaagctcc ctcgtgcgct ctctgttcc gaccctgccg cttaccggat acctgtccgc
6661 ctttctccct tcgggaagcg tggcgctttc tcatagetca cgctgtaggg atctcagttc
6721 ggtgtagggtc gttcgtctca agctgggctg tgtgcacgaa cccccggtc agcccgaccg
6781 ctgcgctta tccggtact atcgtcttga gtccaaccg gtaagacacg acttatcgcc
6841 actggcagca gccactggta acaggattag cagagcgagg tatgtaggcg gtgtacaga
6901 gttcttgaag tgggtggccta actacggcta cactagaagg acagtatttg gttatctgcg
6961 tctgctgaag ccagttacct tcggaaaaag agttggtagc tcttgatccg gcaaaacaaac
7021 caccgctggg agcgggtgggt tttttgtttg caagcagcag attacgcgca gaaaaaaagg
7081 atctcaagaa gatcctttga tctttctac ggggtctgac gctcagtggg acgaaaactc
7141 acgttaaggg attttgggtc tgagattatc aaaaaggatc ttcacctaga tctttttaa
[0421] 7201 ttaaaaatga agttttaaat caatctaaag tataatgag taaacttggg ctgacagtta
7261 ccaatgctta atcagtgagg cacctatctc agcgatctgt ctatttcggt catccatagt
7321 tgccctgact ccgctcgtgt agataactac gatacgggag ggcttaccat ctggccccag
7381 tgctgcaatg ataccgcgag acccagctc accggctcca gatitacag caataaacca
7441 gccagccgga agggccgagc gcagaagtgg tcttgcaact ttatccgct ccatccagtc
7501 tattaattgt tgccgggaag ctagagtaag tagtctgcca gttaatagtt tgcgcaacgt
7561 tgttgccatt gctacaggca tegtgggtgc acgctcgtcg tttggtatgg cttcattcag
7621 ctccggttcc caacgatcaa ggcgagttac atgatcccc atgttggtgca aaaaagcggg
7681 tagctccttc ggtcctccga tcggtgtcag aagtaagttg gccgcagtgt tctactcat
7741 ggttatggca gcaactgcata attctcttac tgtcatgcca tccgtaagat gctttctctg
7801 gactggtgag tactcaacca agtcattctg agaatagttg atgcggcgac cgagttgctc
7861 ttgccggcg tcaatacggg ataataccgc gccacatagc agaactttaa aagtgtcat
7921 cattggaaaa cgttcttcgg ggcgaaaact ctcaaggatc ttaccgctgt tgagatccag
7981 ttcgatgtaa cccactcgtg cacccaact atcttcagca tcttttactt tcaccagcgt
8041 tctgggtga gcaaaaacag gaaggcaaaa tgcgcgcaaa aagggaataa gggcgacacg
8101 gaaatggtga atactcatac tcttctttt tcaatattat tgaagcattt atcaggggta
8161 ttgtctcatg agcggataca tatttgaatg tatttagaaa aataaacaaa taggggttcc
8221 ggcacattt cccgaaaag tgccacctga cgtctaagaa accattatta tcatgacatt
8281 aacctataaa aatagcgta tcacgaggcc ctttcgtctc gcgcgtttcg gtgatgacgg
8341 tgaaaacctc tgacacatgc agctcccgga gacggtcaca gcttgtctgt aagcggatgc
8401 cgggagcaga caagcccgctc agggcgcgctc agcgggtgtt ggcgggtgtc ggggctggct
8461 taactatgcg gcatcagagc agattgtact gagagtgcac catatgcggg gtgaaatacc
8521 gcacagatgc gtaaggagaa aataccgcat caggcgccat tcgccattca ggctgcgcaa
8581 ctggtgggaa gggcgatcgg tgccggcctc ttcgctatta cgccagctgg cgaaaggggg
8641 atgtgctgca aggcgattaa gttgggtaac gccagggtt tcccagtcac gacgttgtaa
8701 aacgacggcc agtgccaagc tg.

```

[0422] p510\_抗CD19\_SL\_CD3δ (SEQ ID NO:20)

```

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttcta gctctgcaac atggtaacga tgagttagca
61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgcca ttgggtggaag taagggtgga
121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctgaca tggattggac gaaccaactga
[0423] 181 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc
241 tctgggttaga ccagatctga gctggggagc tctctggcta actagggaac ccaactgctta
301 agcctcaata aagcttgctc tgagtgtctc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact
361 ctggtaacta gagatcctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtgggg

```

[0424]

421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct  
481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtaecg caaaaatttt  
541 gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcggggggag  
601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt  
661 aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt  
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg  
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcatcaaag  
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag  
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg  
961 acaattggag aagtgaatta tataaataa agtagtaaa aattgaacca ttaggagtag  
1021 caccaccaa ggcaaagaga agagtgggag agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag  
1081 ctttgttctc tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgagcc tcaatgacgc  
1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgetga  
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc  
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg  
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata  
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa  
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga  
1501 acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa  
1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagttaga ggcttggtag gtttaagaat  
1621 agtttttgcg gtactttcta tagtgaatag agttaggcag gaatttcac cattaatcgtt  
1681 tcagaccacac ctcccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg  
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcgggt  
1801 aactttttaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat  
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt  
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttctact tggcagtaca  
1981 tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcgggt ttggcagtac atcaatgggc  
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca ccccattgac gtcaatggga  
2101 gtttgttttg gcacccaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat  
2161 tgacgcaaat gggcggttagg cgtgtacggg gggaggttta tataagcaga gctcgtttag  
2221 tgaaccgcca gatcgcttgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct  
2281 agaacggcca ccattgctct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca  
2341 gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catectcct gtctgcctct  
2401 ctgggagaca gagtcccat cagttgcagg gcaagtccag acattagtaa atatttaaat  
2461 tggatcagc agaaaccaga tggaaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta  
2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc  
2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgtct  
2641 cgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc  
2701 aagcccggat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct  
2761 ggcctggtgg cgcctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta  
2821 cccgactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccacgaa agggtctgga gtggctggga  
2881 gtaatatggg gtagtgaac cacatacat aattcagctc tcaaatccag actgacctc  
2941 atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac  
3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacgggt gtagctatgc tatggactac  
3061 tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caggtggcgg cggttctggt  
3121 ggcggcgggt ctggtggcgg cggttctctc gagttcaaga tacctataga ggaacttgag  
3181 gacagagtgt ttgtgaattg caataccagc atcacatggg tagagggaac ggtgggaaca  
3241 ctgctctcag acattacaag actggacctg ggaaaacgca tcctggacc acgaggaata  
3301 tataggtgta atgggacaga tatatacaag gacaaagaat ctaccgtgca agttcattat  
3361 cgaatgtgcc agagctgtgt ggagctggat ccagccaccg tggtggcat cattgtcaet  
3421 gatgtcattg ccactctgct ccttgetttg ggagtcttct gctttgctgg acatgagact  
3481 ggaaggtgt ctggggctgc cgacacaaa gctctgttga ggaatgacca ggtctatcag  
3541 cccctccgag atcgagatga tgctcagtac agccacctg gaggaaactg ggctcggaac  
3601 aagtgataag aattcgatcc gggcgcgca aggatctgcg atcgctccgg tgcccgtcag  
3661 tgggcagagc gcacatcgcc cacagtcccc gagaagttgg ggggaggggt cggcaattga  
3721 acgggtgcct agagaaggtg ggcgggggta aactgggaaa gtgatgtcgt gtactggctc  
3781 cgcctttttc ccgaggggtg gggagaaccg tatataagtg cagtagtcgc cgtgaacgtt  
3841 ctttttcgca acgggtttgc cgccagaaca cagctgaagc ttcgaggggc tcgcatctct  
3901 ccttcacgcg cccgcgccc tacctgaggg cgccatccac gccggttagg tcgcttctg

[0425]

```

3961 ccgcctcccg cctgtggtgc ctccctgaact gcgtccgcgc tctaggtaag tttaaagctc
4021 aggtcgagac cgggcctttg tccggegetc ccttggagcc tacctagact cagccggctc
4081 tccacgcttt gcctgacctt gcttgetcaa ctctacgtct ttgtttcggt ttctgttctg
4141 cgccgttaca gatccaagct gtgaccggcg cctacgctag atgaccgagt acaagcccac
4201 ggtgcgcctc gccacccgcg acgacgtccc cagggccgta cgcaccctcg ccgccgcgtt
4261 cgccgactac cccgccacgc gccacaccgt cgatccggac cgccacatcg agcgggtcac
4321 cgagctgcaa gaactcttcc tcacgcgcgt cgggctcgac atcggcaagg tgtgggtcgc
4381 ggacgacggc gccgcgggtg cggctctggac cacgccggag agcgtcgaag cggggggcgtt
4441 gttcgccgag atcggcccgc gcatggccga gttgagcggg tcccggctgg ccgcgcagca
4501 acagatggaa ggctcctggt cgcgcaccgc gcccaaggag cccgcgtggt tcttggccac
4561 cgtcggcgtc tcgcccgacc accagggcaa gggctctggc agcgcgtcg tgctcccag
4621 agtggaggcg gccgagcgcg cgggggtgcc cgccttctg gagacctccg cgcgccgcaa
4681 cctccccttc tacgagcggc tggcctcac cgtcacgcgc gacgtcgagg tgcccgaagg
4741 accgcgcacc tggatgatga cccgcaagcc cgggtgcctg gtcgacaatc aacctctgga
4801 ttacaaaatt tgtgaaagat tgactgggat tcttaactat gttgctcctt ttacgctatg
4861 tggatacgtc gctttaatgc ctttgtatca tgctattgct tcccgtatgg ctttcatttt
4921 ctccctcttg tataaatcct ggttgetgtc tctttatgag gagttgtggc ccgttgtcag
4981 gcaacgtggc gtggtgtgca ctgtgtttgc tgacgcaacc cccactgggt ggggcattgc
5041 caccacctgt cagctccttt cgggactttc cgttttcccc ctccctattg ccacggcgga
5101 actcatcgcc gctgccttg cccgtctgtg gacagggggt cggtgttgg gcactgacaa
5161 ttccgtggtg ttgtcgggga aatcatcgtc ctttcttgg ctgtcgcct gtgttggcc
5221 ctggattctg cgcgggacgt ccttctgcta cgtcccttgc gccctcaatc cagcggacct
5281 tecttcccgc ggctgctgc cggctctgcg gcctcttccg cgtcttccgc ttgcctca
5341 gacgagtcgg atctcccttt gggccgcctc cccgcctggt acctttaaga ccaatgactt
5401 acaaggcagc tgtagatctt agccactttt taaaagaaaa ggggggactg gaagggctaa
5461 ttcactccca acgaaaataa gatctgcttt ttgcttgtac tgggtctctc tggtagacc
5521 agatctgagc ctgggagctc tctggetaac tagggaacct actgcttaag cctcaataaa
5581 gcttgccttg agtgettcaa gtagtgtgtg cccgtctggt gtgtgactct ggtaactaga
5641 gatecctcag acccttttag tcagtgtgga aaatctctag cagtagtagt tcatgtcatc
5701 ttattattca gtatttataa cttgcaaaga aatgaatctc agagagttag aggaacttgt
5761 ttattgcagc ttataatggt tacaataaaa gcaatagcat cacaaatttc acaataaag
5821 catttttttc actgcattct agttgtggtt tgtccaaact catcaatgta tcttatcatg
5881 tctggetcta gctatcccgc cctaatctcc gccagttcc gccattctc cgcctcatg
5941 ctgactaatt ttttttatt atgcagaggc cgaggccgcc tgggctctg agctattcca
6001 gaagttagtga ggaggctttt ttggaggcct agacttttgc agagacggcc caaattcgta
6061 atcatggtca tagctgtttc ctgtgtgaaa ttgttatccg ctcaaatc cacacaacat
6121 acgagccgga agcataaagt gtaaagcctg ggggtgcctaa tgagttagct aactcacatt
6181 aattgcggtg cgtcactgc cgcctttcca gtccggaaac ctgctcgtgc agctgcatta
6241 atgaatcggc caacgcgcgg ggagaggcgg tttgcgtatt gggcgtctt ccgcttctc
6301 gctcactgac tcgctgcgct cggctcgttc gctgcggcga gcggtatcag ctcaactcaa
6361 ggcggtaata cggttatcca cagaatcagg ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaa
6421 aggcagcaaa aaggccagga accgtaaaaa ggccgcgttg ctggcctttt tccattggct
6481 cgccccctc gacgagcatc acaaaaatcg acgtcaagt cagaggtggc gaaaccgcac
6541 aggactataa agataccagg cgtttcccc tggaaagctc ctctgcgct ctctgttcc
6601 gacctgcgcg cttaccggat acctgtccgc ctttctccct tggggaagcg tggcgtttc
6661 tcatagctca cgtgtagggt atctcagttc ggtgtaggtc gttcgtcca agctgggctg
6721 tgtgcacgaa cccccgttc agcccagccg ctgcgcctta tccggttaact atcgtcttga
6781 gtccaaccgc gtaagacacg acttatcgc actggcagca gccactggtg acaggattag
6841 cagagcgagg tatgtaggcg gtgctacaga gttcttgaag tgggtggccta actacggcta
6901 cactagaagg acagtatttg gtatctgcgc tctgctgaag ccagttacct tcggaaaaag
6961 agttggtagc tcttgatccg gcaaaacaa caccgctggt agcgggtggt tttttgtttg
7021 caggcagcag attacgcgca gaaaaaaagg atctcaagaa gatccttga tctttctac
7081 ggggtctgac gctcagtgga acgaaaactc acgttaaggg attttggca ttgatattc
7141 aaaaaggatc ttcacctaga tctttttaa ttaaaaatga agttttaaat caatctaaag
7201 tataatagag taaacttgg ctgacagtta ccaatgctta atcagtgagg cacctatctc
7261 agcgatctgt ctatttctgt catccatagt tgctgactc cccgtcgtgt agataactac
7321 gataccggag ggcttaccat ctggccccag tgctgcaatg ataccgcgag acccacgctc
7381 accggtcca gatttatcag caataaacca gccagccgga agggccgagc gcagaagtgg
7441 tectgcaact ttatccgct ccatccagtc tattaattgt tgccgggaag ctagagtaag

```

[0426]

```

7501 tagttcgcca gttaatagtt tgcgcaacgt tgttgccatt gctacaggca tctgtggtgc
7561 acgctcgctg tttggtatgg cttcattcag ctccggttcc caacgatcaa ggcgagttac
7621 atgatcccc atgtttgtgca aaaaagcggg tagctccttc ggtcctccga tctgtgtcag
7681 aagtaagttg gccgcagtg tatcactcat ggttatggca gcactgcata attctcttac
7741 tgtcatgcca tccgtaagat gcttttctgt gactggtgag tactcaacca agtcattctg
7801 agaatagtg atgcggcgac cgagttgctc ttgcccggcg tcaatacggg ataataccgc
7861 gccacatagc agaactttaa aagtgtcat cattggaaaa cgttcttcgg ggcgaaaact
7921 ctcaaggatc ttaccgctgt tgagatccag ttcgatgtaa cccactcgtg cacccaactg
7981 atcttcagca tcttttactt tcaccagcgt ttctgggtga gcaaaaacag gaaggcaaaa
8041 tgccgcaaaa aagggaataa gggcgacacg gaaatgtga atactcatic tcttctttt
8101 tcaatattat tgaagcattt atcagggtta ttgtctcatg agcggataca tatttgaatg
8161 tatttagaaa aataaaciaa taggggttcc gcgcacattt ccccgaaaag tgccacctga
8221 cgtctaagaa accattatta tcatgacatt aacctataaa aataggcgta tcacgaggcc
8281 ctttcgtctc gcgcgtttcg gtgatgacgg tgaaaacctc tgacacatgc agctcccgga
8341 gacggtcaca gcttgtctgt aagcggatgc cgggagcaga caagcccgtc agggcgctc
8401 agcgggtgtt ggcggtgtc ggggctggct taactatgcy gcatcagagc agattgtact
8461 gagagtgcac catatgcggt gtgaaatacc gcacagatgc gtaaggagaa aataccgcat
8521 caggcgccat tcgccattca ggctgcgcaa ctgttgggaa ggcgatcgg tgccggcctc
8581 ttcgctatta cgcagctgg cgaaagggg atgtgtgca aggcgattaa gttgggtaac
8641 gccagggttt tcccagtcac gacgttgtaa aacgacggcc agtgccaagc tg.

```

[0427] p510\_抗CD19\_SL\_TCRβ (SEQ ID NO:21)

[0428]

```

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca
61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taagggtgta
121 cgatcggtcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaacctactga
181 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc
241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccactgctta
301 agcctcaata aagcttgctt tgagtgtctc aagtagtggtg tgcccgtctg ttgtgtgact
361 ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg
421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaggggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct
481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gccggcactg gtgagtacgc caaaaatttt
541 gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcggggggag
601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt
661 aaaacatata gtatgggcaa gcaggagctc agaacgatc gcagttatc tggactgtt
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcatacaag
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag
1021 caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag
1081 ctttgttctc tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgagcc tcaatgacgc
1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga
1501 acaagaatta ttggaattag ataaaatggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa
1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt
1681 tcagaccac ctcccaacc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggtatcagac ggtatcgggt
1801 aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttctact tggcagtaca
1981 tctacgtatt agtcatcgtc attaccatgg tgatgcgggt ttggcagtac atcaatgggc
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gccaatggga
2101 gtttgttttg gcacaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat
2161 tgacgcaaat ggcggtagg cgtgtacggg gggagggtta tataagcaga gctcgtttag
2221 tgaaccgtca gatcgctcgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct

```

[0429]

```

2281 agagccgccca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacaccca
2341 gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct
2401 ctgggagaca gagtcccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat
2461 tgggtatcagc agaaaccaga tggaaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta
2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc
2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt
2641 cegtacacgt tcggaggggg gactaagtgt gaaataacag gctccacctc tggatccggc
2701 aagcccggat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct
2761 ggccctgggtg cgcctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta
2821 cccgactatg gtgtaagctg gattcgcag cctccacgaa agggctgga gtggctggga
2881 ttaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaataccag actgaccatc
2941 atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac
3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gttagctatgc tatggaactac
3061 tggggctcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caggtggcgg cggttctggg
3121 ggcggcgggt ctgggtggcg cggttctctc gagctgggag caggcccagt ggattctgga
3181 gtcacacaaa ccccaaagca cctgatcaca gcaactggac agcgagtgc gctgagatgc
3241 tcccctaggt ctggagacct ctctgtgtca tggtaaccaac agagcctgga ccagggctc
3301 cagttcctca ttcagtatta taatggagaa gagagagcaa aaggaaacat tcttgaacga
3361 ttctccgcac aacagttccc tgacttgcac tctgaactaa acctgagctc tctggagctg
3421 ggggactcag cttgtattt ctgtgccag agccccgga caggcctgaa caatgagct
3481 ttctttggag aaggcaccag actcacagt gttagaggacc tgaacaagggt gtcccacc
3541 gaggtcgtcg tgtttgagcc atcagaagca gagatctccc acacccaaaa ggccacactg
3601 gtgtgcctgg ccacaggctt ctccccgac cacgtggagc tgagctggtg ggtgaatggg
3661 aaggaggtgc acagtgggt cagcacggac ccgagcccc tcaaggagca gccgcctc
3721 aatgactcca gatactgcct gagcagccgc ctgaggtct cggccacctt ctggcagaac
3781 ccccgcaacc acttccgctg tcaagtccag ttctacgggc tctcggagaa tgacgagtgg
3841 acccaggata gggccaaacc cgtcaccag atcgtcagcg ccgaggcctg gggtagagca
3901 gactgtggct ttacctgggt gtccctaccg caaggggtcc tgtctgccac catcctctat
3961 gagatcctgc taggaaaggc caccctgat gctgtgctgg tcagcgcct tgtgtgatg
4021 gccatggcca agagaaagga tttctgataa gaattcgatc cgcggcggc cgcagctgc
4081 gatcgctccg gtgcccgtca gtggcgagag cgcacatcgc ccacagtccc cgaagaagtg
4141 gggggagggg tcggcaattg aacgggtgcc tagagaaggt ggcgcggggg aaactgggaa
4201 agtgatgtcg tgtactggct ccgcctttt cccgagggtg ggggagaacc gtatataagt
4261 gcagtagtgc ccgtgaacgt tctttttcgc aacgggtttg ccgcagAAC ctacctgagg ccgccatcca
4321 ctccgagggg ctgcctctc tcttccagc gcccgccgc ctacctgagg cctcctgaac tgcgtccgcc
4381 cgcgggttga gtcgcttct gccgcctccc gctgtggtg cctcctgaac tgcgtccgcc
4441 gtctaggtaa gtttaaagct caggtcgaga ccgggcctt gtccggcgt cccttggagc
4501 ctacctagac tcagccggct ctccacgct tgctgacct tgcttgtca actctacgtc
4561 tttgtttcgt tttctgtct gcgccttac agatccaagc tgtgaccggc gctacgcta
4621 gatgaccgag tacaagccca cgtgctcct cgcacccgc gaccagctcc ccaggcctg
4681 acgcacctc gccgcgcgt tcgcctacta cccgcacag cccacaccg togatccgga
4741 ccgccacatc gagcgggtca ccgagctgca agaactctc ctacgcgcg tgggtctga
4801 catcggcaag gtgtgggtcg cggacgacgg cgcgcgggtg gcggtctgga ccacgcgga
4861 gagcgtcgaa gcgggggagg tgttcgccga gatcggccc cgcattggcc agttgagcgg
4921 tccccggtg gccgcgcagc aacagatgga aggcctctg gcgcgcacc ggcccaagga
4981 gccgcggtg ttctggcca ccgtcggcgt ctgcgccgac caccagggca agggctcggg
5041 cagcgcctc gtgctccccg gagtggaggc ggccgagcgc gccgggtgc ccgcctctc
5101 ggagacctc gcgccccgca acctcccct ctacgagcgg ctcggcttca ccgtcaccgc
5161 cgacgtcgag gtgcccgaag gaccgcgcac ctggtgcatg acccgcaagc ccggtgctg
5221 agtcgacaat caacctctgg attacaaaat ttgtgaaaga ttgactggt tcttaacta
5281 tgttctcct tttacgctat gttgatacgc tcttctcct gtataaatcc tggttgctgt
5341 tccccgtatg gctttcattt tctcctcct gtataaatcc tggttgctgt ctctttatga
5401 ggagttgtgg cccgttgtca ggcaacgtgg cgtggtgtgc actgtgtttg ctgacgcaac
5461 cccactgggt tggggcattg ccaccacct tcagctcct tccgggact toctttccc
5521 cctccctatt gccacggcgg aactcatcgc cgcctgctt gcccgctgct ggacaggggc
5581 tcggctgttg ggcactgaca attccgtggt gtgtcgggg aaatcatcgt cctttccttg
5641 gctgctcgc tgtgttgcca cctggattct gcgcgggacg tcttctgct acgtccctc
5701 ggcctcaat ccagcggacc ttcctcccgc cggcctgct cggctctgc ggctcttc
5761 gcgtcttcgc cttgcctc agacagatcg gatctcctt tgggcgcct cccgcctgg

```

```

5821 tacctttaag accaatgact tacaaggcag ctgtagatct tagccacttt ttaaaagaaa
5881 aggggggact ggaagggcta attcactccc aacgaaaata agatctgctt tttgcttgta
5941 ctgggtctct ctgggttagac cagatctgag cctgggagct ctctggctaa ctagggaaacc
6001 cactgcttaa gcctcaataa agcttgccct gagtgcttca agtagtgtgt gcccgctctgt
6061 tgtgtgactc tggtaactag agatccctca gacccttta gtcagtgtgg aaaatctcta
6121 gcagtagtag ttcatgtcat cttattatc agtatttata acttgcaaag aaatgaatat
6181 cagagagtga gaggaacttg tttattgcag ctataatgg ttacaaataa agcaatagca
6241 tcacaaatth cacaaataaa gcattttttt cactgcattc tagttgtggg ttgtccaaac
6301 tcatcaatgt atcttatcat gtctggctct agctatccc cccctaactc cgcocagttc
6361 cgccattctc cgccccctc gctgactaat ttttttatt tatgcagagg ccgaggccgc
6421 ctcgccctct gagctattcc agaagtagtg aggaggctt tttggaggcc tagacttttg
6481 cagagacggc ccaaattcgt aatcatggtc atagctgtt cctgtgtgaa attgttatcc
6541 gctcacaatt ccacacaaca tacgagccgg aagcataaag tgtaaagcct ggggtgcta
6601 atgagtgagc taactcatat taattgcgtt gcgctcactg cccgctttcc agtcgggaaa
6661 cctgtcgtgc cagctgcatt aatgaatcgg ccaacgcgcg gggagaggcg gtttgcgtat
6721 tgggcgctct tccgcttctc cgtcactga ctgctgccc tccgctgttc ggtgcccgcg
6781 agcggatca gctcactcaa agcgggtaat acggttatcc acagaatcag gggataacgc
6841 aggaaagaac atgtgagcaa aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa aggcgcggtt
6901 gctggcgttt tccataggc tccgcccccc tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag
6961 tcagagtggt cgaaaccoga caggactata aagataaccag gcgtttccc cgttaagctc
7021 cctcgtgcgc tctcctgttc cgaccctgcc gcttaccgga tacctgtccg cctttctccc
7081 ttcgggaagc gtggcgcttt ctcatagctc acgctgtagg tatctcagtt cgggttaggt
7141 cgttcgctcc aagctgggct gtgtgcacga acccccgtt cagcccagcc gctgcgctt
7201 atccggtaac tatcgtcttg agtccaacc ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc
7261 agccactggg aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa
7321 gtggtggcct aactacggct aactagaag gacagtattt ggtatctgcg ctctgctgaa
7381 gccagttacc ttcggaaaaa gagttggtag ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg
7441 tagcgggtgg ttttttgttt gcaagcagca gattacgcgc agaaaaaaag gatctcaaga
[0430] 7501 agatcctttg atctttteta cggggtctga cgtcagtggt aacgaaaaatc cacgttaagg
7561 gattttggtc atgagattat caaaaaggat cttcacctag atcttttaa attaaaaatg
7621 aagttttaaa tcaatctaaa gtatatatga gtaaacttgg tctgacagtt accaatgctt
7681 aatcagtgag gcacctatct cagcgatctg tctatttctg tcatccatag ttgcctgact
7741 ccccgctcgt tagataacta cgatacggga gggcttacca tctggcccca gtgctgcaat
7801 gataccgcga gaccacgct caccggctcc agatttatca gcaataaacc agccagccgg
7861 aagggccgag cgcagaagtg gtccctgcaac ttatccgcc tccatccagt ctattaattg
7921 ttgccgggaa gctagagtaa gtagtccgcc agttaatagt ttgcccaacg ttggtgccat
7981 tgctacagge atcgtgggtg cacgctcgtc gtttggtagt gcttcattca gctccgggtc
8041 ccaacgatca aggcgagtta catgatcccc catgttgctg aaaaaagcgg ttagctcctt
8101 cggctcctcc atcgttgctc gaagtaagtt ggccgcagtg ttatcactca tggttatggc
8161 agcactgcat aattctctta ctgtcatgcc atccgtaaga tgcctttctg tgcattgtga
8221 gtaactcaacc aagtcattct gagaatagt tatgcggcga ccgagttgct ctgcccggc
8281 gtcaatacgg gataatacgg cgcacatag cagaacttta aaagtgtca tcattggaaa
8341 acgcttcttc gggcgaaaac tctcaaggat cttaccgctg ttgagatcca gttcagatga
8401 acccactcgt gcaccaact gatcttcagc atcttttact ttcaccagcg tttctgggtg
8461 agcaaaaaca ggaaggcaaa atgccgcaa aaaggaata agggcgacac ggaaatggtg
8521 aatactcata ctcttctctt tcaatatta ttgaagcatt tatcagggtt attgtctcat
8581 gagcggatac atatttgaat gtatttagaa aaataaacia ataggggttc cgcgcacatt
8641 tccccgaaaa gtgccacctg acgtctaaga aaccattatt atcatgacat taacctataa
8701 aaataggcgt atcacgagc cctttcgtct cgcgctttc ggtgatgacg gtgaaaacct
8761 ctgacacatg cagctcccgg agacggtcac agcttctctg taagcggatg ccgggagcag
8821 acaagcccgat aagggcgcgt cagcgggtgt tggcgggtgt cggggctggc ttaactatgc
8881 ggcatcagag cagattgtac tgagagtgca ccatatgcgg tgtgaaatac cgcacagatg
8941 cgtaaggaga aaatacgcga tcaggcgcca ttcgccattc aggtctgcga actgttggga
9001 agggcgatcg gtgcgggctt ctctcgtatt acgccagctg gcgaaagggg gatgtgctgc
9061 aaggcgatta agttgggtaa cgccagggtt tcccagtea cgacgttgta aaacgacggc
9121 cagtgccaaag ctg.

```

[0431] p510\_抗BCMA\_CD3ε (SEQ ID NO:22)

```

[0432] 1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca
61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taaggtggta

```

[0433]

121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga  
181 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc  
241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggAAC ccactgctta  
301 agcctcaata aagcttgctt tgagtgtctc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact  
361 ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg  
421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct  
481 tgctgaagcg cgcacggcaa gagggcaggg ggcggcactg gtgagtacgc caaaaatttt  
541 gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag  
601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt  
661 aaaacatata gtatgggcaa gcaggagctc agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt  
721 agaaacatca gaaggctgta gacaataact gggacagcta caacctccc ttcagacagg  
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcataaaag  
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag  
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg  
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag  
1021 caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag  
1081 ctttgttctt tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc  
1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgtc gcagcagaac aatttgcctg  
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc  
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg  
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactc ctgtgccttg gattgctagt tggagtaata  
1381 aatctcttga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa  
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga  
1501 acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa  
1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat  
1621 agtttttgcg gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt  
1681 tcagaccacc ctcccaacc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg  
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt  
1801 aactttttaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgtc ggggaaagaa tagtagacat  
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaa tcaaaatttt  
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttctact tggcagtaca  
1981 tctatcgatt agtcacgctc attaccatgg tggatcgggt ttgatcgggt atcaatgggc  
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga  
2101 gtttgttttg gcacaaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat  
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggg gggaggttta tataagcaga gctcgttttag  
2221 tgaaccgctc gatcgcctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct  
2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca  
2341 gcattectcc tgatcccaca ggtgcagctg gtgcagagcg gcgcggaagt gaaaaaccg  
2401 ggcgcgagcg tgaaagttag ctgcaaagcg agcggctata gctttccgga ttattatatt  
2461 aactgggtgc gccaggcgcc gggccagggc ctggaatgga tgggctggat ttattttgcg  
2521 agcggcaaca gcgaatataa ccagaaattt accggccgcg tgacctgac ccgcgatacc  
2581 agcagcagca ccgcgtatat ggaactgagc agcctgcgca gcgaagatac cgcggtgat  
2641 ttttcgcgca gctgtatga ttatgattgg tattttgatg tgtgggcca ggcaccatg  
2701 gtgaccgtga gcagcggcgg cggcggcagc ggcggcggcg gcagcggcgg cggcggcagc  
2761 gatattgtga tgaccagac cccgctgagc ctgagcgtga cccggggcga accggcggagc  
2821 attagctgca aaagcagcca gagcctgggt catagcaacg gcaacaccta tctgcattgg  
2881 tatctgcaga aaccgggcca gagcccagc ctgctgattt ataaagttag caaccgcttt  
2941 agcggcgtgc cggatcgctt tagcggcagc ggcagcggcg cggattttac cctgaaaatt  
3001 agcgcgctgg aagcgggaaga tgtgggcgtg tattattgcg cggaaaccag ccattgtccg  
3061 tggacctttg gccagggcac caaactggaa attaaaagcg gtggcggcgg ttctggtggc  
3121 ggcggttctg gtggcggcgg ttctctcgag gatggtaatg aagaaatggg tggattaca  
3181 cagacacct ataaagtctc catctctgga accacagtaa tattgacatg ccctcagtat  
3241 cctggatctg aaatactatg gcaacacaat gataaaaaca taggcggtga ttgggatgat  
3301 aaaaacatag gcagtgatga ggatcacctg tcaactgaagg aattttcaga atggagcaa  
3361 agtggttatt atgtctgcta ccccagagga agcaaaccag aagatgcgaa cttttatctc  
3421 tacctgaggg caagagtgtg tgagaactgc atggagatgg atgtgatgtc ggtggccaca  
3481 attgtcatag tggacatctg catcactggg ggcttgcctg tgctggttta ctactggagc  
3541 aagaatagaa aggccaaagg caagcctgtg acacgaggag cgggtgctgg cggcaggcaa  
3601 aggggacaaa acaaggagag gccaccacct gttcccaacc cagactatga gcccatccg

[0434]

```

3661 aaagggcagc gggacctgta ttctggcctg aatcagagac gcatctgata agaattcggg
3721 tccgcggccg cgaaggatct gcgatcgctc cggtgcccgt cagtgggcag agcgacatc
3781 gcccacagtc cccgagaagt tggggggagg ggtcggcaat tgaacgggtg cctagagaag
3841 gtggcgcggg gtaaaactggg aaagtgatgt cgtgtactgg ctccgccttt ttcccgaggg
3901 tgggggagaa ccgtatataa gtgcagtagt cgcctgaaac gttctttttc gcaacggggt
3961 tgccgccaga acacagctga agcttcgagg ggctcgcatc tctccttcac gcgcccgcg
4021 cctacctga ggccgccatc cacgcgggtt gactcgctt ctgccgctc ccgctgtgg
4081 tgctctctga actgcgtccg ccgtctaggt aagtttaaaag ctccaggtcg gaccgggct
4141 ttgtccggcg ctcccttggg gctacactag actcagccgg ctctccacgc tttgctgac
4201 cctgcttgcg caactctacg ttttctgtt gtttctgtt ctgcgccgtt acagatccaa
4261 gctgtgaccg gcgcctacgc tagatgaccg agtacaagcc cacggtgccg ctgccacc
4321 ggcagcagct ccccagggcc gtaegcacc tgcgcccgc gttcgcgac taccccgca
4381 cgcgccacac cgtcgatccg gaccgccaca tcgagcgggt caccgagctg caagaactct
4441 tctcaccgcg cgtcgggctc gacatcggca aggtgtgggt cgcggacgac ggcgcccgg
4501 tggcggctcg gaccacgccg gagagcgtcg aagcgggggc ggtgttcgcc gagatcggcc
4561 cgcgcagctg cgagttgagc ggttcccggc tggccgcgca gcaacagatg gaaggcctcc
4621 tggcgcgcga ccggcccagg gagcccgggt ggttccctgg caccgtcggc gtctcgcgg
4681 accaccaggg caagggctcg ggcagcggcc tcgtgctccc cggagtggag gcggccgagc
4741 gcgcgggggt gcccgccttc ctggagacct ccgcgccccg caacctcccc ttctacgagc
4801 ggctcggctt caccgtcacc gccagctcg aggtgcccga aggaccgcgc cagagtgca
4861 tgaccggcaa gcccgggtgc tgagtgcaca atcaacctct ggattacaaa atttgtgaaa
4921 gattgactgg tattcttaac tatgttgcct cttttacgct atgtggatac gctgctttaa
4981 tgctcttgta tcatgctatt gcttcccgtg tggtttcat tttctctcc ttgtataaat
5041 cctgggtgct gtctctttat gaggagtgt ggcccgttgt caggcaactg ggcgtgggtg
5101 gcaactgtgt tgctgacgca acccccactg gttggggcat tgccaccacc tgtcagctcc
5161 tttccgggac tttcgttttc cccctcccta ttgccacggc ggaactcacc gccgctgcc
5221 ttgcccgtcg ctggacaggg gctcggctgt tgggcaactga caattccgtg gtgttgtcgg
5281 ggaaatcacc gtcttttctt tggtgctcg cctgtgttgc cacctggatt ctgcgcgga
5341 cgtccttctg ctacgtctct tcggccctca atccagcgg ccttctctcc cgcggcctgc
5401 tgccggctct gcggcccttt ccgctcttc cgcctcggcc tcagacgagt cggatctccc
5461 tttgggcccg cccccgcct ggtacctta agaccaatga cttacaaggc agctgtagat
5521 cttagccact ttttaaaaga aaagggggga ctggaagggc taattcactc ccaacgaaaa
5581 taagatctgc tttttgcttg tactgggtct ctctggtag accagatctg agcctgggag
5641 ctctctggct aactagggaa cccactgctt aagcctcaat aaagcttgc ttgagtgtt
5701 caagtgtgt gtgcccgtct gttgtgtgac tctgtaact agagatccct cagaccctt
5761 tagtcagtgt ggaaaatctc tagcagtagt agtcatgtc atcttattat tcagtattha
5821 taacttgcaa agaaatgaat atcagagagt gagaggaact tgtttattgc agcttataat
5881 ggttacaaat aaagcaatag catcacaat tcacaaaata aagcattttt ttcactgcat
5941 tctagtgtg gtttgcctaa actcatcaat gtatcttctc atgtctggct atgtatctcc
6001 cgcctctaac tcgcccagt tcgcccatt cccgcccga tggtgacta tttttttta
6061 tttatgcaga ggccgaggcc gctcggcct ctgagctatt ccagaagtag tgaggaggct
6121 tttttggagg cctagacttt tgcaagagc gcccaaatc gtaatcatgg tcatagctgt
6181 ttctgtgtg aaattgttat ccgctcaca ttccacaca catacagacc ggaagcataa
6241 agtgtaaagc ctgggggtgc taatgagtga gctaactcac attaatgctg ttgcctcac
6301 tgcccgttt ccagtcggga aacctgtcgt gccagctgca ttaatgaatc ggccaacgcg
6361 cggggagagg cggtttgcgt attggcgct ctccgcttc ctgcctcact gactcgtgc
6421 gctcggctgt tcggctcggg cgagcggat cagctcactc aaaggcggta ataccggtat
6481 ccacagaatc aggggataac gcaggaaaga acatgtgagc aaaaggccag caaaaggcca
6541 ggaaccgtaa aaaggccgcg ttgctggcgt ttttccatag gctccgccc cctgacgagc
6601 atcaaaaaa tcgacgctca agtcagaggt ggcgaaacc gacaggacta taaagatacc
6661 aggcgtttcc cctggaagc tcctcgtgc gctcctctgt tccgacctg ccgcttaccg
6721 gatacctgtc cgcctttctc ccttcgggaa gcgtggcgt tctcatagc tcacgtgta
6781 ggtatctcag ttccgtgtag gtcgttcgct ccaagctggg ctgtgtgca gaacccccg
6841 ttcagcccga ccgctgcgcc ttatccggt actatcgtct tgagtccac ccggtaaagc
6901 acgacttatc gccactggca gcagccactg gtaacaggat tagcagagcg aggtatgtag
6961 gcggtgctac agagttcttg aagtggtggc ctaactacg ctacactaga aggacagtat
7021 ttggtatctg cgtctgctg aagccagtta ccttcggaaa aagagttgg agctcttgat
7081 cgggcaaaa aaccaccgct ggtagcgggt gttttttgt ttgcaagcag cagattaccg
7141 gcagaaaaa aggatctcaa gaagatcctt tgatcttttc tacggggtct gacgctcagt

```

```

7201 ggaacgaaaa ctcacgttaa gggatttttg tcatgagatt atcaaaaagg atcttcacct
7261 agatcctttt aaattaaaaa tgaagtttta aatcaatcta aagtatatat gagtaaactt
7321 ggtctgacag ttaccaatgc ttaatcagtg aggcacctat ctcagcgatc tgtctatttc
7381 gttcatccat agttgcctga ctccccgtcg tgtagataac tacgatacgg gagggccttac
7441 catctggccc cagtgcctgca atgataccgc gagaccacg ctcaccggct ccagatttat
7501 cagcaataaa ccagccagcc ggaagggccg agcgcagaag tggtcctgca actttatccg
7561 cctccatcca gtctattaat tgttgccggg aagctagagt aagtagttcg ccagttaata
7621 gtttgcgcaa cgttgttgcc attgctacag gcatcgtggt gtcacgctcg tcgtttggtgta
7681 tggcttcatt cagctccggg tcccaacgat caagggcagt tacatgatcc cccatgttgt
7741 gcaaaaaagc ggtagctcc ttcggctctc cgatcgttgt cagaagtaag ttggccgcag
7801 tgttatcact catggttatg gcagcactgc ataattctct tactgtcatg ccatccgtaa
7861 gatgcttttc tgtgactggt gagtactcaa ccaagtcatt ctgagaatag tgtatgcygc
7921 gaccgagttg ctcttgcccc gcgtaataac gggataatac cgcgccacat agcagaactt
[0435] 7981 taaaagtgct catcattgga aaacgttctt cggggcgaaa actctcaagg atcttaccgc
8041 tgttgagatc cagttcgatg taaccctctc gtgcaccaa ctgatcttca gcatctttta
8101 ctttcaccag cgtttctggg tgagcaaaaa caggaaggca aatgcccgca aaaaagggaa
8161 taagggcgac acggaaatgt tgaatactca tactcttctt ttttcaatat tattgaagca
8221 tttatcaggg ttattgtctc atgagcggat acatatttga atgtatttag aaaaataaac
8281 aaataggggt tccgcgcaca tttccccgaa aagtgccacc tgacgtctaa gaaaccatta
8341 ttatcatgac attaacctat aaaaatagca gtatcacgag gcccttctgt ctcgcgcgtt
8401 tcggtgatga cggtgaaaac ctctgacaca tgcagctccc ggagcgggt acagctgtctc
8461 tgtaagcgga tgccgggagc agacaagccc gtcagggcgc gtcagcgggt gtggcgggt
8521 gtcggggctg gcttaactat gcgccatcag agcagattgt actgagagtg caccatatgc
8581 ggtgtgaaat accgcacaga tgcgtaagga gaaaataccg catcagggcg cattcgccat
8641 tcaggctgcg caactgttgg gaagggcgat cggtgccggc ctcttcgcta ttacgccagc
8701 tggcgaaagg gggatgtgct gcaaggggat taagttgggt aacgccaggg ttttcccagt
8761 cacgacgttg taaaacgacg gccagtgcca agctg

```

[0436] p510\_抗BCMA\_CD3  $\gamma$  (SEQ ID NO:23)

```

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca
61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttgggtggaag taaggtggtgta
121 cgatcgtgcc ttattagga ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga
181 attgcccgat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc
241 tcttggttaga ccagatctga gctctgggagc tctctggcta actgaggaac ccactgctta
301 agcctcaata aagcttgctt tgagtgcctc aagtagtgtg tgcccgtctg tctgtgact
361 ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg
421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct
481 tgctgaagcg cgcacggcaa gagggcaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt
541 gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag
601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt
661 aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctggt
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcataaaag
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaaag
[0437] 901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatagaggg
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca tttaggtag
1021 caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtg agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag
1081 ctttgttctt tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc
1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga
1501 acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgggg aattggttta acataacaaa
1561 ttggctgtgg tatataaat tattcataat gatagttaga ggcttggtga gtttaagaa
1621 agtttttctg gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt
1681 tcagacccac ctcccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcgggt
1801 aactttttaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat

```

[0438]

```

1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaaat
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttcctact tggcagtaca
1981 tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgctggt ttggcagtac atcaatgggc
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatbbc caagtctcca cccattgac gtcaatggga
2101 gtttgttttg gcacaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag
2221 tgaaccgtca gatcgccctg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct
2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca
2341 gcattcctcc tgatcccaca ggtgcagctg gtgcagagcg gcgcggaagt gaaaaaacg
2401 ggcgcgagcg tgaaagtgag ctgcaaagcg agcggctata gctttccgga ttattatatt
2461 aactgggtgc gccaggcgcc gggccagggc ctggaatgga tgggctggat ttattttgcg
2521 agcggcaaca gcgaatataa ccagaaatct accggccgcg tgacctgac ccgcgatacc
2581 agcagcagca ccgcgtatat ggaactgagc agcctgcgca gcgaagatac cgcggtgat
2641 ttttgccgca gcctgtatga ttatgattgg tattttgatg tgtggggcca gggcaccatg
2701 gtgaccgtga gcagcggcgg cggcggcagc ggcggcggcg gcagcggcgg cggcggcagc
2761 gatattgtga tgaccagac cccgctgagc ctgagcgtga ccccgggcga accggcgagc
2821 attagctgca aaagcagcca gagcctggtg catagcaacg gcaacaccta tctgcatgg
2881 tatctgcaga aaccgggcca gagcccgcag ctgctgattt ataaagtgag caaccgcttt
2941 agcggcgtgc cggatcgctt tagcggcagc ggcagcggcg cggattttac cctgaaaatt
3001 agccgcgtgg aagcggaga tgtggcgtg tattattgcg cggaaaccag ccatgtgccc
3061 tggcctttg gccaggcgac caaactggaa attaaaagcg gtggcggcgg ttctgggtggc
3121 ggcggttctg gtggcggcgg ttctctcgag cagtcaatca aaggaaacca ctgtgttaag
3181 gtgtatgact atcaagaaga tggttcggta cttctgactt gtgatgcaga agccaaaaat
3241 atcacatggg ttaaagatgg gaagatgac ggcttcctaa ctgaagataa aaaaaaatgg
3301 aatctgggaa gtaatgcaa ggaccacga gggatgatc agtgtaaagg atcacagaac
3361 aagtcaaac cactccaagt gtattacaga atgtgtcaga actgcattga actaaatgca
3421 gccaccatat ctggctttct ctttgetgaa atcgtcagca ttttctctct tgetgtggg
3481 gtctacttca ttgctggaca ggatggagtt cgcagtcga gagcttcaga caagcagact
3541 ctggttccca atgaccagct ctaccagccc ctcaaggatc gagaagatga ccagtacagc
3601 caccttcaag gaaaccagtt gagggaat tgataagaat tcggatccgc ggcgcggaag
3661 gatctcgcat cgtccgggtg cccgtcagtg ggcagagcgc acatgcccc cagtccccga
3721 gaagtgggg ggaggggtcg gcaattgaac ggggtcctag agaagggtggc gcggggtaaa
3781 ctgggaaagt gatgtcgtgt actggtcccg cctttttccc gaggggtggg gagaaaccgta
3841 tataagtgca gtagtcgcc tgaacgttct ttttcgcaac gggtttgccg ccagaacaca
3901 gctgaagctt cgaggggctc gcctctctcc ttcacgcgcc cgcgcacct a cctgaggccg
3961 ccatccacgc cggttgagtc gcgttctgcc gcctcccgcc tgtgggtgct cctgaaactgc
4021 gtccgcctgc taggtaagtt taaagctcag gtcgagaccg ggcctttgtc cggcgtccc
4081 ttggagccta cctagactca gccggctctc cacgctttgc ctgaccctgc ttgctcaact
4141 ctacgtcttt gtttcgtttt ctggttcgcg ccgttacaga tccaagctgt gaccggccc
4201 tacgctagat gaccgagtac aagcccacgg tgcgctcgc caccgcgac caacctccca
4261 ggcgcgtacg caccctcgc gccgcgttcg cgcactacc cccacgcgc cacaccgtcg
4321 atccggaccg ccacatcgag cgggtcaccg agctgcaaga actcttctc acgcgcgtcg
4381 ggctcgacat cggcaagggt tgggtcgcgg acgacggcgc cgcggtggcg gtctggacca
4441 cgcgggagag cgtcgaagcg gggcgggtgt tcgcccagat cggcccgcgc atggccagat
4501 tgagcggttc ccggtggcc gcgcagcaac agatggaagg cctcctggcg ccgcaccggc
4561 ccaaggagcc cgcgtggttc ctggccaccg tcgpcgtctc gcccgaccac cagggcaagg
4621 gtctgggcag cgcctcgtg ctcccggag tggaggcggc cgagcgcgcc ggggtgcccg
4681 ccttcttgga gacctcgcg ccccgcaacc tccccttcta cgagcggctc ggttcaccg
4741 tcaccgccga cgtcgagggt cccgaaggac cgcgcacctg gtgcatgacc cgcaagccc
4801 gtgctgagat cgacaatcaa cctctggatt acaaaattg tgaaagattg actggtatc
4861 ttaactatgt tgetcctttt acgctatgtg gatacgtgc tttaatgct ttgtatcatg
4921 ctattgcttc ccgtatggct ttcattttct cctccttgta taaactctgg ttgctgtctc
4981 tttatgagga gttgtggccc gttgtcaggc aacgtggcgt ggtgtgact gtgtttgctg
5041 acgcaacccc cactggttgg ggcattgcca ccacctgca gctccttcc gggactttcg
5101 ctttccccct ccctattgcc acggcggaac tcatgcgcc ctgcttgc ccgtgctgga
5161 caggggctcg gctggtgggc actgacaatt ccgtggtgt gtcggggaaa tcacgtcct
5221 ttcttggct gctcgcctgt gttgccacct ggattctgcg cgggacgtcc ttctgctacg
5281 tccctcggc cctcaatcca gggaccttc cttcccggc cctgctgccc gctctgccc
5341 ctcttcggc tcttcgctt cgcctcaga cgagtcggat ctccccttgg gcgcctccc

```

5401 cgcttggtac ctttaagacc aatgacttac aaggcagctg tagatcttag ccacttttta  
 5461 aaagaaaagg ggggactgga agggctaatt cactcccaac gaaaataaga tctgcttttt  
 5521 gcttgactctg ggtctctctg gtttagaccag atctgagcct gggagctctc tggctaacta  
 5581 gggaaacccac tgcttaagcc tcaataaagc ttgccttgag tgcttcaagt agtgtgtgcc  
 5641 cgtctgttgt gtgactctgg taactagaga tcctcagac ccttttagtc agtgtggaaa  
 5701 atctctagca gtagtagttc atgtcatctt attattcagt atttataact tgcaaaagaaa  
 5761 tgaatatcag agagtggagag gaacttgttt attgcagctt ataatggtta caaataaagc  
 5821 aatagcatca caaatttcac aaataaagca tttttttcac tgcattctag ttgtggtttg  
 5881 tccaaactca tcaatgtatc ttatcatgtc tggctctagc tatcccgcgc ctaactccgc  
 5941 ccagttccgc ccattctccg ccccatggct gactaatttt ttttatttat ggagggccg  
 6001 aggcgcctc gcctctgag ctattccaga agtagtgagg aggctttttt ggagggcctag  
 6061 acttttgtag agacggccca aattegtaat catggtcata gctgtttcct gtgtgaaatt  
 6121 gttatccgct cacaattcca cacacatac gagccggaag cataaagtgt aaagcctggg  
 6181 gtgcctaata agtgagctaa ctacacataa ttgctgtgag ctactgccc gctttccagt  
 6241 cgggaaacct gtcgtgccag ctgcattaat gaatcggcca acgcgcgggg agagggcgtt  
 6301 tgcgtattgg gcgctcttcc gcttccctgc tcaactgactc gctgcgctcg gtcgttcggc  
 6361 tgcggcgagc ggtatcagct cactcaaagg cggtaatcag gttatccaca gaatcagggg  
 6421 ataacgcagg aaagaacatg tgagcaaaag gccagcaaaa ggccaggaac cgtaaaaagg  
 6481 ccgcggttgc ggcggttttc cataggtccc gccccctga cgagcatcac aaaaactcac  
 6541 gctcaagtca gaggtggcga aaccgcagc gactataaag ataccaggcg tttcccctg  
 6601 gaagctccct cgtgcgctct cctgttccga cctgcgctc taccgggatac ctgtccgct  
 6661 ttctcccttc gggaaagcgtg gcgctttctc atagctcacg ctgtaggat ctcagttcgg  
 6721 tgtagggtcgt tcgctccaag ctgggctgtg tgcaacgaacc ccccgttcag cccgaccgct  
 6781 gcgcttctc cggttaactat cgtcttgagt ccaaccgggt aagacacgac ttatcgccac  
 6841 tggcagcagc cactggtaac aggattagca gagcgaggta tgtaggcggg gctacagagt  
 6901 tcttgaagtg gtggcctaac tacggctaca ctagaaggac agtatttggg atctgcgctc  
 6961 tgctgaagcc agttacctc ggaaaaagag ttggtagctc ttgatccggc aaacaaacca  
 [0439] 7021 ccgctggtag cgggtggtttt tttgtttgca agcagcagat tacgcgcaga aaaaaaggat  
 7081 ctcaagaaga tcttttgatc ttttctacgg ggtctgacgc tcagtggaac gaaaactcac  
 7141 gttaaagggat tttggctcag agattatcaa aaaggatctt cacctagatc ctttaaat  
 7201 aaaaatgaag ttttaaatca atctaaagtata tatatgagta aacttggctc gacagttacc  
 7261 aatgcttaat cagtgaggca cctatctcag cgatctgtct atttcggtca tccatagttg  
 7321 cctgactccc cgtcgtgtag ataactacga tacgggaggg cttaccatct ggcccagtg  
 7381 ctgcaatgat accgcgagac ccacgctcac cggctccaga tttatcagca ataaaccagc  
 7441 cagccggaag ggccgagcgc agaagtggtc ctgcaacttt atccgctcc atccagtcta  
 7501 ttaattggtg ccgggaagct agagtaagta gttcgcaggt taatagtttg cgcaacggtg  
 7561 ttgccattgc tacaggcatc gtgggtgtcac gctcgtcgtt tggatgggt tcattcagct  
 7621 ccggttccca acgatcaagg cgagttacat gatcccccat gttgtgcaaa aaagcgggta  
 7681 gctccttcgg tctcctcagc gttgtcagaa gtaagttggc cgcagtgta tcaactcatg  
 7741 ttatggcagc actgcataat tctcttagc tcatgcccac cgttaagatgc tttctgtga  
 7801 ctgggtgagta ctcaaccaag tcattctgag aatagtgat gcggcgaccg agttgctctt  
 7861 gccggcgctc aatacgggat aatacgcgc cacatagcag aactttaaaa gtgctcatca  
 7921 ttggaaaacg ttcttcgggg cgaaaactct caaggatctt accgctgttg agatccagtt  
 7981 cgatgtaacc cactcgtgca cccaactgat cttcagcatc ttttactttc accagcgttt  
 8041 ctgggtgagc aaaaacagga aggcaaaatg ccgcaaaaaa gggataaagg gcgacacgga  
 8101 aatggtgaat actcatactc ttcctttttc aatattattg aagcatttat caggggtatt  
 8161 gtctcatgag cggatacata tttgaatgta tttagaaaaa taacaaaata ggggttccgc  
 8221 gcacatttcc ccgaaaagtg ccacctgacg tctaagaaac cattattatc atgacattaa  
 8281 cctataaaaa taggcgtatc acgagccct ttcgctctgc gcgtttcggg gatgacgggtg  
 8341 aaaacctctg acacatgcag ctcccggaga cggtcacagc ttgtctgtaa gcggatgccg  
 8401 ggagcagaca agcccgtcag ggccgctcag cgggtgttg ggggtgtcgg gctggctta  
 8461 actatgcggc atcagagcag attgtactga gagtgcacca tatgagggtg gaaataccgc  
 8521 acagatgcgt aaggagaaaa tacgcacatc ggccgcatc gccattcagg ctgcgcaact  
 8581 gttgggaagg gcgatcgggt cgggcctctt cgctattacg ccagctggcg aaaggggat  
 8641 gtgctgcaag gcgattaagt tgggtaacgc cagggttttc ccagtcacga cgttgtaaaa  
 8701 cgacggccag tgccaagctg.

[0440] 实施例2: 抗体序列

[0441] 产生抗体序列

[0442] 人CD19多肽规范序列是UniProt登录号P15391(或P15391-1)。人BCMA多肽规范序列是UniProt登录号Q02223(或Q02223-1)。提供了能够特异性结合至人CD19多肽或人BCMA多肽或人FAP多肽或人BCMA多肽,及其片段或结构域的抗体多肽。抗CD19抗体、抗FAP抗体、

抗CAIX抗体以及抗BCMA抗体可以使用多种技术产生(参见例如,Nicholson等人,1997)。当使用鼠类抗CD19抗体、抗FAP抗体、抗CAIX抗体或抗BCMA抗体作为起始物质时,对于临床环境来说,需要对鼠类抗CD19抗体、抗FAP抗体、抗CAIX抗体或抗BCMA抗体进行人源化,其中鼠类特异性残基可以在接受T细胞受体(TCR)融合蛋白(TFP)治疗,即用TFP.CD19、TFP.FAP、TFP.CAIX或TFP.BCMA构建体转导的T细胞进行的治疗的受试者中诱导人抗小鼠抗原(HAMA)反应。通过将来自鼠类抗CD19抗体、抗FAP抗体、抗CAIX抗体或抗BCMA抗体的CDR区移植到适当人种系受体框架上,任选地包括针对CDR和/或框架区的其它修饰,来实现人源化。如本文所提供,抗体和抗体片段残基编号遵循Kabat(Kabat E.A.等人,1991;Chothia等人,1987)。

[0443] 产生scFv

[0444] 使用人或人源化抗CD19IgG、抗FAP IgG、抗CAIX IgG或抗BCMA IgG产生TFP构建体的scFv序列。获得编码人或人源化 $V_L$ 和 $V_H$ 结构域的DNA序列,并任选地针对在来自智人的细胞中表达来优化这些构建体的密码子。scFv中 $V_L$ 和 $V_H$ 结构域出现的次序是不同的(即, $V_L$ - $V_H$ 或 $V_H$ - $V_L$ 取向),并且三个“G4S”或“G<sub>4</sub>S”亚基拷贝( $G_4S$ )<sub>3</sub>连接可变结构域以产生scFv结构域。抗CD19scFv、抗FAP scFv、抗CAIX scFv以及抗BCMA scFv质粒构建体可以具有任选的Flag、His或其它亲和标签,并且通过电穿孔放入HEK293或其它适合的人或哺乳动物细胞系中,并经历纯化。验证测定包括通过FACS进行的结合分析、使用Proteon的动力学分析以及对表达CD19的细胞的染色。

[0445]  $V_L$ 和 $V_H$ 结构域的示例性抗CD19或抗BCMA CDR及编码其的核苷酸序列分别显示于下:

[0446] 抗CD19

[0447] 抗CD19轻链CDR1

[0448] 编码序列:AGGGCAAGTCAGGACATTAGTAAA (SEQ ID NO:24)。

[0449] 氨基酸序列:RASQDISK (SEQ ID NO:25)。

[0450] 抗CD19轻链CDR2

[0451] 编码序列:ATCTACCATACATCAAGATTA (SEQ ID NO:26)。

[0452] 氨基酸序列:IYHTSRL (SEQ ID NO:27)。

[0453] 抗CD19轻链CDR3

[0454] 编码序列:CAACAGGGTAATACGCTTCCGTACACG (SEQ ID NO:28)。

[0455] 氨基酸序列:QQGNTLPYT (SEQ ID NO:29)。

[0456] 抗CD19重链CDR1

[0457] 编码序列:GGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAAGC (SEQ ID NO:30)。

[0458] 氨基酸序列:GVSLPDYGVV (SEQ ID NO:31)。

[0459] 抗CD19重链CDR2

[0460] 编码序列:GTAATATGGGGTAGTGAAACCACATACTATAATTCAGCTCTC (SEQ ID NO:32)。

[0461] 氨基酸序列:VIWGSETTYNSAL (SEQ ID NO:33)。

[0462] 抗CD19重链CDR3

[0463] 编码序列:CATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTAC (SEQ ID NO:34)。

[0464] 氨基酸序列:HYYYGGSYAMDY (SEQ ID NO:35)。

[0465] 抗BCMA

- [0466] 抗BCMA轻链CDR1
- [0467] 编码序列:AAAAGCAGCCAGAGCCTGGTGCATAGCAACGGCAACACCTATCTGCAT (SEQ ID NO: 36)。
- [0468] 氨基酸序列:KSSQSLVHSNGNTYLH (SEQ ID NO:37)。
- [0469] 抗BCMA轻链CDR2
- [0470] 编码序列:AAAGTGAGCAACCGCTTTAGC (SEQ ID NO:38)。
- [0471] 氨基酸序列:KVSNRFS (SEQ ID NO:39)。
- [0472] 抗BCMA轻链CDR3
- [0473] 编码序列:GCGGAAACCAGCCATGTGCCGTGGACC (SEQ ID NO:40)
- [0474] 氨基酸序列:AETSHVPWT (SEQ ID NO:41)。
- [0475] 抗BCMA重链CDR1
- [0476] 编码序列:AAAGCGAGCGGCTATAGCTTCCGGATTATTATATTAAC (SEQ ID NO:42)。
- [0477] 氨基酸序列:KASGYSFPDYIN (SEQ ID NO:43)。
- [0478] 抗BCMA重链CDR2
- [0479] 编码序列:TGGATTATTTTGGCAGCGGCAACAGCGAATATAACCAGAAATTTACCGGC (SEQ ID NO:44)。
- [0480] 氨基酸序列:WIYFASGNSEYNQKFTG (SEQ ID NO:45)。
- [0481] 抗BCMA重链CDR3
- [0482] 编码序列:CTGTATGATTATGATTGGTATTTTGGTGTG (SEQ ID NO:46)。
- [0483] 氨基酸序列:LYDYDWYFDV (SEQ ID NO:47)。
- [0484] 抗CD19轻链可变区
- [0485] 编码序列:
- [0486] GACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTG CAGGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAACGTGTTAAACTCCTGATC TACCATACATCAAGATTACTCAGGAGTCCCATCAAGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCA CCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGGCAACAGGGTAATACGCTTCCGTACACGTTCCG AGGGGGGACTAAGTTGGAAATAACA (SEQ ID NO:48)。
- [0487] 氨基酸序列:
- [0488] DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSG TDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEIT (SEQ ID NO:49)。
- [0489] 抗CD19重链可变区
- [0490] 编码序列:
- [0491] GAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTGTCCGTCACATGCAC TGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAAGCTGGATTGCCAGCCTCCACGAAAGGTCTGGAGTGGCTG GGAGTAATATGGGGTAGTGAAACCACATACTATAATTAGCTCTCAAATCCAGACTGACCATCATCAAGGACAACT CCAAGAGCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAAGTATGACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTA TTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 50)。
- [0492] 氨基酸序列:

[0493] EVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVWSETTYYNLSALKSRLT I IKDNSKSQVFLKMNSLQTD DDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO:51)。

[0494] 抗BCMA轻链可变区

[0495] 编码序列:

[0496] GATATTGTGATGACCCAGACCCCGCTGAGCCTGAGCGTGACCCCGGGCGAACCGGCGAGCATTAGCTG CAAAAGCAGCCAGAGCCTGGTGCATAGCAACGGCAACACCTATCTGCATTGGTATCTGCAGAAACCGGGCCAGAGC CCGCAGCTGCTGATTTATAAAGTGAGCAACCGCTTTAGCGGCGTGCCGGATCGCTTTAGCGGCAGCGGCAGCGGCG CGGATTTTACCCTGAAAATTAGCCGCGTGGAAGCGGAAGATGTGGGCGTGATATTGCGCGGAAACCAGCCATGT GCCGTGGACCTTTGGCCAGGGCACCAAACCTGAAATTTAAAAGC (SEQ ID NO:52)。

[0497] 氨基酸序列:

[0498] DIVMTQTPLSLSVTPGEPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFS GSGSGADFTLKISRVEAEDVGVVYCAETSHVPWTFGQGTKLEIKS (SEQ ID NO:53)。

[0499] 抗BCMA重链可变区

[0500] 编码序列:

[0501] CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAACCGGGCGGAGCGTGAAAGTGAGCTGCAA AGCGAGCGGCTATAGCTTCCGGATTATTATATTA ACTGGGTGCGCCAGGCGCCGGGCCAGGGCCTGGAATGGATG GGCTGGATTTATTTTGCAGCGGCAACAGCGAATATAACCAGAAATTTACCGGCCGCGTGACCATGACCCGCGATA CCAGCAGCAGCACCGCGTATATGGA ACTGAGCAGCCTGCGCAGCGAAGATACCGCGGTGTATTTTGCAGCAGCCT GTATGATTATGATTGGTATTTTGTATGTGTGGGGCCAGGGCACCATGGTGACCGTGAGCAGC (SEQ ID NO:54)。

[0502] 氨基酸序列:

[0503] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFPDYIINWVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKFTGRV TMRDTSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCASLYDYDWFYDVGWQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:55)。

[0504] TCR亚基的来源

[0505] 人T细胞受体 (TCR) 复合物的亚基都含有细胞外结构域、跨膜结构域及细胞内结构域。人TCR复合物含有CD3- $\epsilon$ 多肽、CD3- $\gamma$ 多肽、CD3- $\delta$ 多肽、CD3- $\zeta$ 多肽、TCR $\alpha$ 链多肽及TCR $\beta$ 链多肽。人CD3- $\epsilon$ 多肽规范序列是Uniprot登录号P07766。人CD3- $\gamma$ 多肽规范序列是Uniprot登录号P09693。人CD3- $\delta$ 多肽规范序列是Uniprot登录号P043234。人CD3- $\zeta$ 多肽规范序列是Uniprot登录号P20963。人TCR $\alpha$ 链规范序列是Uniprot登录号Q6ISU1。人TCR $\beta$ 链C区规范序列是Uniprot登录号P01850,人TCR $\beta$ 链V区序列是P04435。

[0506] 人CD3- $\epsilon$ 多肽规范序列是MQSGTHWRVLGLCLLSVGVWQDGNEMGGITQTPYKVSISGTTVIL TCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYVVCYPRGSKPEDANFYLYLRARCENCM EMDVMSVATIVIVDICITGGLLLL VYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERPPPVPNPDYEPYRKGQRDLY SGLNQRRRI (SEQ ID NO:56)。

[0507] 人CD3- $\gamma$ 多肽规范序列是:MEQGKGLAVLILAIILLQGTLAQSIKGNHLVKVYDYQEDGSVLLT CDAEAKNITWFKDGMIGFLTEDKKKWNLGSNAKDPRGMYQCKGSQNKSKPLQVYYRMCQNCIELNAATISGFLFA EIVSIFVLAVGVYFIAGQDGVRRSRASDKQTLTPNDQLYQPLKDREDDQYSHLQGNQLRRN (SEQ ID NO:57)。

[0508] 人CD3- $\delta$ 多肽规范序列是:MEHSTFLSGLVLATLLSQVSPFKIPIEELEDVRFVNCNTSITWVEG TVGTLLSDITRLDLGKRILDPRGIYRCNGTDIYKDKESTVQVHYRMCQSCVELDPATVAGIIVTDVIATLLALGV FCFAGHETGRLSGAADTQALLRNDQVYQPLRDRDDAQYSHLGGNWARNK (SEQ ID NO:58)。

[0509] 人CD3- $\zeta$ 多肽规范序列是:MKWKALFTAAILQAQLPITEAQSFGLLDPKLCYLLDGILFIYGVIL  
TALFLRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPENGGKPKRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA  
YSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMALPPR (SEQ ID NO:59)。

[0510] 人TCR $\alpha$ 链规范序列是:MAGTWLLLLLALGCPALPTGVGGTPFSLAPPIMLLVDGKQMMVVVCLV  
LDVAPPGLDSPWFWSAGNGSALDAFTYGPSPATDGTWTNLHLSLPSEELASWEPLVCHTGPGAEGHSRSTQPMHL  
SGEASTARTCPQEPLRGTPGGALWLGVLRLLLFKLLFDLLLTCSCLCDPAGPLPSPATTTLRALGSHRLHPATE  
TGGREATSSPRPQPRDRRWGDTPPGRKPGSPVWEGESYLSSYPTCPAQAWCSRSALRAPSSSLGAFFAGDLPPPLQ  
AGAA (SEQ ID NO:60)。

[0511] 人TCR $\alpha$ 链C区规范序列是:PNIQNPDAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSVYIT  
DKTVLDMRSMDFKNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPSSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFR  
ILLKLVAGFNLLMTLRLWSS (SEQ ID NO:61)。

[0512] 人TCR $\alpha$ 链V区CTL-L17规范序列是:MAMLLGASVLILWLQPDWVNSQQKNDDQVKQNSPSSLV  
QEGRISILNCDYTNSMFDYFLWYKKYPAEGPTFLISSIKDKNEDGRFTVFLNKSARKHLSLHIVSPQPGDSAVYF  
CAAKGAGTASKLTFGTGTRLQVTL (SEQ ID NO:62)。

[0513] 人TCR $\beta$ 链C区规范序列是:EDLNKVPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWW  
VNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNP RNHFRCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTVIVS  
AEAWGRADCFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLV SALVLMAMVKRKDF (SEQ ID NO:63)。

[0514] 人TCR $\beta$ 链V区CTL-L17规范序列是:MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQNP RNHITKRGQNV  
FRCDPISEHNRLYWRQTLGGQPEFLTYFQNEAQLEKSRLSDRFS AERP KGSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCASSL  
AGLNQPQHFGDGTRLSIL (SEQ ID NO:64)。

[0515] 人TCR $\beta$ 链V区YT35规范序列是:MDSWTFCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPRHEVTEMGQEVTLRC  
KPTISGHNSLFWYRQTM MRGLELLIYFN NNVPIDDSGMPEDRFS AKMPNASFSTLKIQPSEPRDSAVYFCASSFSTC  
SANYGYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO:65)。

[0516] 示例性抗BCMA重链序列是:

[0517] 由TCR结构域和scFv产生TFP

[0518] 使用连接子序列,如 $G_4S$ 、 $(G_4S)_2$ 、 $(G_4S)_3$ 或 $(G_4S)_4$ ,将CD19或BCMA scFv重组连接至  
CD3- $\epsilon$ 或其它TCR亚基(参见1C)。利用了各种连接子和scFv构型。TCR $\alpha$ 和TCR $\beta$ 链被用于产生  
TFP的全长多肽或仅其恒定结构域。TCR $\alpha$ 和TCR $\beta$ 链的任何可变序列都能用于制备TFP。

[0519] TFP表达载体

[0520] 提供的表达载体包括:启动子(巨细胞病毒(CMV)增强子-启动子)、起始分泌的信  
号序列、多聚腺苷酸化信号及转录终止子(牛生长激素(BGH)基因)、允许游离型复制和在原  
核生物中复制的元件(例如SV40起点和ColE1或本领域中已知的其它元件)以及允许选择的  
元件(氨苄青霉素(ampicillin)抗性基因和博莱霉素(zeocin)标志物)。

[0521] 优选地,将编码TFP的核酸构建体克隆至慢病毒表达载体中,并基于TFP.CD19转导  
的T细胞("CD19.TFP"或"CD19.TFP T细胞"或"TFP.CD19"或"TFP.CD19T细胞")响应于CD19+  
靶细胞、TFP.FAP转导的T细胞("FAP.TFP"或"FAP.TFP T细胞"或"TFP.FAP"或"TFP.FAP T  
细胞")响应于FAP+靶细胞、TFP.CAIX转导的T细胞("CAIX.TFP"或"CAIX.TFP T细胞"或  
"TFP.CAIX"或"TFP.CAIX T细胞")响应CAIX+靶细胞,或TFP.BCMA转导的T细胞("BCMA.TFP"  
或"BCMA.TFP T细胞"或"TFP.BCMA"或"TFP.BCMA T细胞")响应于BCMA+靶细胞的效应T细胞

反应的数量和质量来验证表达。效应T细胞反应包括但不限于,细胞扩增、增殖、倍增、细胞因子产生以及靶细胞溶解或细胞溶解活性(即,脱粒)。

[0522] 使用TFP.CD19、TFP.FAP、TFP.CAIX或TFP.BCMA慢病毒转移载体产生包装于VSVg假型慢病毒粒子中的基因材料。将慢病毒转移载体DNA与VSVg、gag/pol和rev三种包装组分以及脂转染胺试剂混合以将其一起转移至293细胞中。24和48小时后,收集培养基,过滤并通过超速离心来浓缩。所得病毒制剂在-80C下储存。通过对SupT1细胞进行滴定来测定转导单元的数量。通过用抗CD3×抗CD28珠粒活化新鲜的原生T细胞24小时,然后添加适当数量的转导单元以获得所希望百分比的转导T细胞,由此产生重定向的TFP.CD19、TFP.FAP、TFP.CAIX或TFP.BCMA T细胞。使这些修饰过的T细胞扩增,直到这些细胞休止并且大小减小,此时将其低温保存以待分析。使用coulter multisizer III测量细胞数量和大小。在低温保存之前,利用流式细胞术分析来测定转导的细胞(在细胞表面上表达TFP.CD19、TFP.FAP、TFP.CAIX或TFP.BCMA的细胞)的百分比以及其表达的相对荧光强度。根据柱形图,通过比较转导的百分比与其相对荧光强度来检查TFP的相对表达水平。

[0523] 在一些实施方案中,通过用多种病毒载体转导T细胞来引入多个TFP。

[0524] 评价人源化TFP重定向T细胞的细胞溶解活性、增殖能力及细胞因子分泌

[0525] 使用本领域中已知的测定法测定TFP.CD19、TFP.FAP、TFP.CAIX或TFP.BCMA T细胞产生细胞表面表达的TFP以及杀灭靶肿瘤细胞的功能能力。

[0526] 用人白细胞介素2 (IL-2) 处理人PBMC (例如,来自正常进行单采血液成分的供体的血液,该供体的原生T细胞是通过针对T细胞、CD4+和CD8+淋巴细胞进行阴性选择来获得),然后在37°C和5%CO<sub>2</sub>下,例如在10%RPMI中用抗CD3×抗CD28珠粒活化,随后用编码TFP的慢病毒载体转导。利用流式细胞术测定法,如利用抗FLAG抗体或抗鼠类可变结构域抗体确定细胞表面TFP的存在。使用ELISA或其它测定法测量细胞因子(例如IFN-γ)的产生。

[0527] 实施例3:在人ALL小鼠模型中TFP T细胞的功效

[0528] 可以使原代人ALL细胞在免疫受损的小鼠(例如NSG或NOD小鼠)中生长,不必在体外对其进行培养。同样,培养的人ALL细胞系可以在这些小鼠中诱发白血病。可以使用患有ALL的小鼠,例如在HALLX5447模型中测试人TFP.CD19、TFP.FAP、TFP.CAIX或TFP.BCMA T细胞的功效。此模型中的读出是在存在和不存在静脉内(i.v.)施用的人TFP.CD19、TFP.FAP、TFP.CAIX或TFP.BCMA T细胞下在静脉内输注ALL细胞之后小鼠的存活率。

[0529] 实施例4:在体内实体肿瘤异种移植小鼠模型中进行的人TFP T细胞治疗

[0530] 还可以在带有来源于表达人CD19或BCMA的ALL、CLL或NHL人细胞系的皮下实体肿瘤的免疫受损的小鼠模型中测试人TFP.CD19或TFP.BCMA T细胞的功效。可以通过测径规测量肿瘤大小,或通过跟踪表达GFP的肿瘤细胞发射的GFP荧光信号的强度,来评估响应于人TFP.CD19、TFP.FAP、TFP.CAIX或TFP.BCMA T细胞治疗的肿瘤缩小情况。

[0531] 可以使原代人实体肿瘤细胞在免疫受损的小鼠中生长,不必在体外对其进行培养。示例性实体肿瘤细胞包括如The Cancer Genome Atlas (TCGA) 和/或Broad Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE, 参见Barretina等人, Nature 483:603 (2012)) 中所提供的实体肿瘤细胞系。示例性实体癌症细胞包括从肾细胞癌、乳癌、肺癌、卵巢癌、前列腺癌、结肠癌、子宫颈癌、脑癌、肝癌、胰腺癌、肾癌或胃癌分离的原代肿瘤细胞。在人肿瘤异种移植模型中,可以使用这些小鼠来测试TFP.CD19、TFP.FAP、TFP.CAIX或TFP.BCMA T细胞的功效

(参见例如, Morton等人, Nat. Procol. 2:247 (2007))。在通过皮下植入或注射 $1 \times 10^6$ - $1 \times 10^7$ 个原代细胞(胶原蛋白酶处理的肿块于EC基质材料中的悬浮液)或肿瘤片段(在EC基质材料中的原发性肿瘤片段)之后,在开始治疗之前,使肿瘤生长至200-500mm<sup>3</sup>。

[0532] 实施例5:多重TFP多肽的说明以及多重人源化TFP重定向T细胞的用途

[0533] 本文所提供的TFP多肽能够与内源性TCR亚基多肽功能性缔合,形成功能性TCR复合物。此处,为了产生功能性、多重重组TCR复合物,使用了慢病毒载体中的多个TFP来转导T细胞。举例来说,提供T细胞,该T细胞含有i)具有来自CD3 $\delta$ 多肽的细胞外结构域、跨膜结构域和细胞内结构域,以及CD19、FAP、CAIX或BCMA特异性scFv抗体片段的第一TFP;及ii)具有来自CD3 $\gamma$ 多肽的细胞外结构域、跨膜结构域和细胞内结构域,以及CD19、FAP、CAIX或BCMA特异性抗体片段的第二TFP。第一TFP和第二TFP能够彼此相互作用并且与内源性TCR亚基多肽相互作用,由此形成功能性TCR复合物。

[0534] 如以上实施例2和3中所提供,展现这些多重人源化TFP.CD19、TFP.FAP、TFP.CAIX或TFP.BCMA T细胞在液体和实体肿瘤中的用途。

[0535] 实施例6:TFP转导的T细胞的制备

[0536] 慢病毒产生

[0537] 编码适当构建体的慢病毒制备如下。将 $5 \times 10^6$ 个HEK293FT细胞接种于100mm培养皿中并使其达到70-90%汇合过夜。在0.5mL无血清DMEM或Opti-MEM I培养基中稀释2.5 $\mu$ g指定DNA质粒和20 $\mu$ L慢病毒包装混合液(ALSTEM,目录号VP100;参见附录B3)并轻柔地混合。在一个独立试管中,在0.5mL无血清DMEM或Opti-MEM I培养基中稀释30 $\mu$ L NanoFect转染试剂(ALSTEM,目录号NF100)并轻柔地混合。然后,将NanoFect/DMEM和DNA/DMEM溶液混合在一起并涡旋10-15秒,随后在室温下孵育DMEM-质粒-NanoFect混合物15分钟。将来自前一步骤的完全转染复合物逐滴添加至细胞板中并摇动以使转染复合物均匀地分散于该板中。然后,在含5%CO<sub>2</sub>的潮湿恒温箱中,在37 $^{\circ}$ C下孵育该板过夜。次日,用10mL新鲜培养基更换上清液并补充20 $\mu$ L ViralBoost (500x,ALSTEM,目录号VB100)。然后,在37 $^{\circ}$ C下再孵育该板24小时。接着,将含慢病毒的上清液收集至50mL带盖的无菌锥形离心管中并放在冰上。在4 $^{\circ}$ C下以3000rpm离心15分钟之后,用低蛋白质结合0.45 $\mu$ m无菌过滤器过滤澄清上清液,并且随后通过在4 $^{\circ}$ C下以25,000rpm超速离心(Beckmann,L8-70M)1.5小时来分离病毒。取出沉淀并将其再悬浮于DMEM培养基中,并使用Lenti-X qRT-PCR滴定试剂盒(Clontech;目录号631235),通过定量RT-PCR确定慢病毒浓度/滴度。通过用DNA酶I处理来去除任何残留的质粒DNA。病毒储备制剂被立即用于感染或被等分并在-80 $^{\circ}$ C下储存待用。

[0538] 可以用FAP.TFP和CAIX.TFP构建体进行类似实验。

[0539] PBMC分离

[0540] 由全血或血沉棕黄层制备外周血单核细胞(PBMC)。将全血收集于10mL肝素真空采血管(vacutainer)中并且立即处理或在4 $^{\circ}$ C下储存。在50mL锥形离心管中,约10mL抗凝全血与无菌磷酸盐缓冲生理盐水(PBS)缓冲液混合,总体积是20mL(PBS,pH 7.4,不含Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup>)。然后,将20mL此血液/PBS混合物轻柔地涂铺至15mL Ficoll-Paque PLUS(GE Healthcare,17-1440-03)的表面上,随后在室温下在无制动情况下以400g离心30-40分钟。

[0541] 血沉棕黄层是购自Research Blood Components(Boston,MA)。通过添加15mL Ficoll-Paque(GE Health Care)来准备Leucosep管(Greiner bio-one)并以1000g离心1分

钟。将血沉棕黄层在PBS (pH7.4, 不含Ca<sup>2+</sup> or Mg<sup>2+</sup>) 中以1:3稀释。将稀释的血沉棕黄层转移至Leucosep管中并在无制动情况下以1000g离心15分钟。小心地取出接种于稀释的血浆/Ficoll界面处的含有外周血单核细胞(PBMC)的细胞层以使Ficoll引起的污染减到最少。然后,通过用40mL PBS洗涤PBMC三次,随后在室温下以200g离心10分钟来去除残留的Ficoll、血小板及血浆蛋白。然后,用血细胞计数器对细胞计数。用CAR-T培养基(AIM V-AlbuMAX (BSA) (Life Technologies), 含5%AB血清和1.25μg/mL两性霉素B(Gemini Bioproducts, Woodland, CA)、100U/mL青霉素以及100μg/mL链霉素) 将经过洗涤的PBMC洗涤一次。或者,将经过洗涤的PBMC转移至隔离小瓶中并在-80℃下冷冻24小时,随后储存于液氮中待用。

[0542] 可以用FAP.TFP和CAIX.TFP构建体进行类似实验。

[0543] T细胞活化

[0544] 用抗人CD28和CD3抗体偶联的磁珠刺激由全血或血沉棕黄层制备的外周血单核细胞(PBMC),保持24小时,随后进行病毒转导。在不含huIL-2的CAR-T培养基(AIM V-AlbuMAX (BSA) (Life Technologies), 含5%AB血清和1.25μg/mL两性霉素B(Gemini Bioproducts)、100U/mL青霉素以及100μg/mL链霉素) 中洗涤新鲜分离的PBMC一次,随后将其以1×10<sup>6</sup>个细胞/毫升的最终浓度再悬浮于含300IU/mL人IL-2(来自1000×储备液;Invitrogen)的CAR-T培养基中。如果先前已冷冻PBMC,则将其解冻并在10%FBS、100U/mL青霉素和100μg/mL链霉素存在下,以1×10<sup>7</sup>个细胞/毫升再悬浮于9mL预先加温(37℃)的cDMEM培养基(Life Technologies)中,浓度是1×10<sup>6</sup>个细胞/毫升,随后如上所述,在CART培养基中洗涤一次,以1×10<sup>6</sup>个细胞/毫升再悬浮于CAR-T培养基中,并且添加IL-2。

[0545] 在活化之前,用1mL无菌1×PBS (pH7.4) 洗涤抗人CD28和CD3抗体偶联的磁珠(Invitrogen)三次,使用磁力架将珠粒从溶液分离,随后再悬浮于含300IU/mL人IL-2的CAR-T培养基中,达到4×10<sup>7</sup>个珠粒/毫升的最终浓度。然后通过将25μL(1×10<sup>6</sup>个珠粒)珠粒转移至1mL PBMC中,以1:1珠粒比细胞比率混合PBMC和珠粒。然后,将所希望数量的等分试样分配于12孔低吸附或非处理细胞培养板的各个孔中,并在37℃和5%CO<sub>2</sub>下孵育24小时,随后进行病毒转导。

[0546] 可以用FAP.TFP和CAIX.TFP构建体进行类似实验。

[0547] T细胞转导/转染和扩增

[0548] 活化后,在37℃和5%CO<sub>2</sub>下孵育PBMC细胞24小时。在冰上使慢病毒解冻,并将5×10<sup>6</sup>个慢病毒以及每毫升培养基2μL Transplus(Alstem)(最终稀释度是1:500)添加至含1×10<sup>6</sup>个细胞的每个孔中。将细胞再孵育24小时,随后重复添加病毒。或者,在冰上使慢病毒解冻,并在5μg/mL Polybrene(Sigma)存在下,添加5或50MOI的对应病毒。在室温下,以100g低速离心病毒接种细胞,保持100分钟。然后使细胞在300IU/mL人IL-2持续存在下生长6-14天时间(总孵育时间取决于所需CAR-T细胞的最终数量)。每2-3天分析细胞浓度,并且在该时间添加培养基以维持1×10<sup>6</sup>个细胞/毫升的细胞悬浮液。

[0549] 在一些情形中,通过电穿孔将体外转录(IVT)的mRNA放入活化的PBMC中(图14)。在300IU/ml重组人IL-2(R&D System)存在下,用Dyna珠粒(ThermoFisher)以1比1比率刺激人PBMC,保持3天。在电穿孔之前,取出珠粒。洗涤细胞并将其以2.5×10<sup>7</sup>个细胞/毫升的浓度再悬浮于OPTI-MEM培养基(ThermoFisher)中。将200μL细胞悬浮液(5×10<sup>6</sup>个细胞)转移至2mm间隙的Electroporation Cuvettes Plus™(Harvard Apparatus BTX)中并在冰上预冷

却。将10 $\mu$ g IVT TFP mRNA添加至细胞悬浮液中。然后,使用ECM830Electro Square Wave Porator (Harvard Apparatus BTX),在200V下电穿孔放入mRNA/细胞混合物,保持20毫秒。在电穿孔之后,立即将细胞转移至新鲜细胞培养基 (AIM V AlbuMAX (BSA) 无血清培养基+5%人AB血清+300IU/ml IL-2) 中并在37 $^{\circ}$ C下孵育。

[0550] 可以用FAP.TFP和CAIX.TFP构建体进行类似实验。

[0551] 通过细胞染色验证TFP表达

[0552] 在慢病毒转导或mRNA电穿孔之后,通过流式细胞术,使用抗小鼠Fab抗体检测鼠类抗CD19、抗FAP、抗CAIX或抗BCMA scFv来确定抗CD19、抗FAP、抗CAIX以及抗BCMA CAR和TFP的表达。在3mL染色缓冲液 (PBS, 4%BSA) 中洗涤T细胞三次,并将其以 $1 \times 10^6$ 个细胞/孔再悬浮于PBS中。为去除死细胞,将细胞与Live dead aqua (Invitrogen) 一起在冰上孵育30分钟。用PBS洗涤细胞两次并将其再悬浮于50 $\mu$ L染色缓冲液中。为阻断Fc受体,将1 $\mu$ L 1:100稀释的标准山羊IgG (LifeTechnologies) 添加至每个管中并在冰中孵育10分钟。将1.0mL FACS缓冲液添加至各管中,充分混合并通过以300g离心5分钟使细胞沉淀。通过生物素标记的多克隆山羊抗小鼠F(ab)<sub>2</sub>抗体 (Life Technologies),并以生物素标记的标准多克隆山羊IgG抗体 (Life Technologies) 用作同种型对照来检测scFv TFP的表面表达。以10 $\mu$ g/mL添加两种抗体,反应体积是100 $\mu$ L。然后,细胞在4 $^{\circ}$ C下孵育45分钟,洗涤一次,将其再悬浮于FACS缓冲液中,并通过向各管中添加100 $\mu$ L 1:1000稀释的标准小鼠IgG,用标准小鼠IgG (Invitrogen) 阻断。接着,细胞在冰上孵育10分钟,用染色缓冲液洗涤,并在再悬浮于100 $\mu$ L染色缓冲液中。然后,通过添加1.0 $\mu$ L藻红素 (PE) 标记的抗生蛋白链菌素 (BD Biosciences) 对细胞染色,并向各管中添加APC抗人CD3抗体 (Clone-UCHT1, BD Biosciences)、PerCP/Cy5.5抗人CD8抗体 (Clone-SK1, BD Biosciences) 及太平洋蓝抗人CD4抗体 (Clone-RPA-T4, BD Biosciences)。使用LSRFortessa<sup>TM</sup> X20 (BD Biosciences) 进行流式细胞术并使用FACS diva软件采集数据,并用FlowJo (Treestar, Inc. Ashland, OR) 进行分析。介于20%与40%之间的转导的T细胞表达抗CD19CAR、抗CD19LL TFP、抗CD19SL TFP或抗BCMA TFP,表明CAR和TFP构建体的转导和表面表达水平相当 (图5-7)。

[0553] 可以用FAP.TFP和CAIX.TFP构建体进行类似实验。

[0554] 实施例7:通过流式细胞术进行细胞毒性测定

[0555] 用荧光染料羧基荧光素二乙酸琥珀酰亚胺酯 (CFSE) 标记对相应CD19、FAP、CAIX或BCMA靶呈阳性或阴性的靶细胞。将这些靶细胞与未被转导、被对照CAR-T构建体转导或被TFP转导的效应T细胞混合。在指定孵育时间之后,通过流式细胞术测定各效应细胞/靶细胞培养物中死CFSE标记靶细胞相对于活CFSE标记靶细胞和阴性对照靶细胞的百分比。计算相对于仅含靶细胞的孔,各T细胞+靶细胞培养物中靶细胞存活率百分比。

[0556] 通过在共孵育效应细胞和靶细胞之后,使用流式细胞术比较不存在或存在效应T细胞下靶细胞中存活靶细胞的数量,来测量效应T细胞的细胞毒性活性。在用CD19TFP或CAR-T细胞进行的实验中,靶细胞是CD19阳性Raji伯基特氏淋巴瘤细胞 (ATCC, CCL-86),而用作阴性对照的细胞是CD19阴性K562细胞 (ATCC, CCL-243)。在用BCMA TFP T细胞进行的实验中,靶细胞是BCMA阳性RPMI-8226浆细胞瘤/骨髓瘤细胞 (ATCC, CCL-155),而用作阴性对照的细胞是BCMA阴性Raji伯基特氏淋巴瘤细胞 (ATCC, CCL-86)。

[0557] 洗涤靶细胞一次,并将其以 $1 \times 10^6$ 个细胞/毫升再悬浮于PBS中。将荧光染料羧基

荧光素二乙酸琥珀酰亚胺酯 (CFSE) (ThermoFisher) 以  $0.03\mu\text{M}$  浓度添加至细胞悬浮液中并在室温下孵育细胞 20 分钟。通过向细胞悬浮液中添加体积是反应体积 5 倍的完全细胞培养基 (RPMI-1640+10%HI-FBS) 来停止标记反应,并在室温下再孵育细胞 2 分钟。通过离心使细胞沉淀并将其以  $2 \times 10^5$  个细胞/毫升再悬浮于细胞毒性培养基 (不含酚红的 RPMI1640 (Invitrogen) 加 5% AB 血清中。向 96 孔 U 形底培养板 (Corning) 的各孔中添加五十微升 CFSE 标记的靶细胞悬浮液 (相当于 10,000 个细胞)。

[0558] 洗涤用 BCMA TFP 构建体转导的效应 T 细胞以及作为阴性对照的未被转导的 T 细胞并以  $2 \times 10^6$  个细胞/毫升或  $1 \times 10^6$  个细胞/毫升悬浮于细胞毒性培养基中。将 50  $\mu\text{L}$  效应 T 细胞悬浮液 (相当于 100,000 或 50,000 个细胞) 添加至涂铺的靶细胞中,分别达到 10:1 或 5:1 的效应细胞与靶细胞比率,总体积是 100  $\mu\text{L}$ 。然后混合培养物,离心并在  $37^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  下孵育 4 小时。在该孵育之后,根据制造商的推荐,立即将 7AAD (7-氨基放线菌素 D) (BioLegend) 添加至培养的细胞中,并用 BD Fortessa X-20 (BD Biosciences) 进行流式细胞术。使用 FlowJo 软件 (TreeStar, Inc.) 对流式细胞术数据进行分析。

[0559] 通过用含效应 T 细胞和靶细胞的样品中存活 RPMI-8226 靶细胞 (CFSE+7-AAD-) 的数量除以仅含靶细胞的样品中存活 RPMI-8226 (CFSE+7-AAD-) 细胞的数量来计算 RPMI-8226 靶细胞的存活率百分比。以杀灭 RPMI-8226 的百分比计算效应细胞的细胞毒性 =  $100\% - \text{RPMI-8226 细胞存活百分比}$ 。

[0560] 如先前所述,当与未被转导或被非 CD19 特异性 CAR 对照物转导的 T 细胞相比较时,用抗 CD19-28 $\zeta$  CAR 构建体转导的 T 细胞针对表达 CD19 的 Raji B 细胞展现出细胞毒性 (图 8)。不过,在所测试的所有效应细胞:靶细胞比率下,用抗 CD19-CD3 $\epsilon$  转导的 T 细胞诱导针对 Raji 靶的细胞毒性比抗 CD19 CAR 对照有效。在介于 5 与 10:1 之间的效应细胞:靶细胞比率下,抗 CD19-CD3  $\gamma$  TFP 还介导稳固细胞毒性,高于用抗 CD19-CAR 所观察到的细胞毒性 (图 8)。用抗 CD19-TCR $\alpha$  和抗 CD19-TCR $\beta$  TFP 观察到某种细胞毒性。利用以替代性较链区构建的抗 CD19 TFP 获得类似结果。再一次,利用抗 CD19-CD3 $\epsilon$  或抗 CD19-CD3  $\gamma$  TFP 转导的 T 细胞针对表达 CD19 的 Raji 靶细胞的细胞毒性高于抗 CD19-CAR 转导的 T 细胞。

[0561] 用编码 CD-19 特异性 TFP 的 mRNA 电穿孔的 T 细胞也针对表达 CD19 的 Raji 细胞展现出稳固的细胞毒性。用对照物或抗 CD19 TRuC 构建体未观察到明显的 CD19 阴性 K562 细胞杀灭作用,但利用被抗 CD19-CD3 $\epsilon$  SL 或抗 CD19-CD3  $\gamma$  SL TRuC 转导的 T 细胞观察到 CD19 特异性 Raji 杀灭作用 (图 14)。

[0562] 用 B 细胞成熟抗原 (BCMA) 特异性 TFP 转导的 T 细胞也针对表达 BCMA 的 RPMI8226 细胞展现出稳固的细胞毒性。用抗 BCMA-CD3 $\epsilon$  或抗 BCMA-CD3  $\gamma$  TFP 转导的 T 细胞有效介导针对表达 BCMA 的 RPMI8226 靶细胞的细胞毒性。在 10:1 的效应物比靶细胞比率下,几乎 100% 的靶细胞被杀灭 (图 9)。

[0563] 可以用 FAP.TFP 和 CAIX.TFP 构建体进行类似实验。

[0564] 实施例 8:通过实时细胞毒性测定分析细胞毒性

[0565] 在实时细胞毒性测定 (RTCA) 形式中,抗 CD19 和抗 BCMA TFP 也展现出优于抗 CD19 CAR 的细胞毒性。RTCA 测定法实时测量了专用 96 孔板各孔中粘附靶细胞单层的电阻抗,并以值形式呈现最终读出,称为细胞指数。细胞指数的改变指示靶细胞单层由于靶细胞被共孵育的 T 细胞效应物杀灭而破坏。因此,可以根据同时含靶细胞和效应 T 细胞的孔的细胞

指数相较于仅含靶细胞的孔的细胞指数的变化来评价效应T细胞的细胞毒性。

[0566] RTCA的靶细胞是表达CD19 (CD19-HeLa) 或BCMA (BCMA-HeLa) 的HeLa细胞,并以未被转导的亲本HeLa细胞作为阴性对照。通过GeneArt (ThermoFisher) 合成编码全长人CD19或BCMA的DNA,并将其插入带有新霉素作为选择标志物的双启动子慢病毒载体pCDH514B (System Bioscience) 的多个克隆位点中,处于EF1a启动子控制下。然后,包装带有CD19或BCMA编码载体的慢病毒。用CD19慢病毒或BCMA慢病毒转导HeLa细胞24小时,然后用G418 (1mg/mL) 进行选择。通过FACS分析,利用抗人CD19或BCMA抗体 (BioLegend, 克隆编号19A2; Miltenyi, 克隆编号REA315) 确定被转导的CD19-HeLa或BCMA-HeLa中CD19或BCMA的表达。

[0567] 在DMEM、10%FBS、1%抗生素-抗霉素 (Life Technologies) 中培养粘附靶细胞。为了制备RTCA,将50 $\mu$ L RPMI培养基添加至E-板 (ACEA Biosciences, Inc, 目录号: JL-10-156010-1A) 的适当孔中。然后,将板放入RTCA MP仪器 (ACEA Biosciences, Inc.) 中并如制造商手册中所述,将适当板布置和测定方案输入RTCA 2.0软件中。每15分钟进行基线测量,得到100个测量值。然后,将 $1 \times 10^4$ 个靶细胞/100 $\mu$ L体积添加至每个测定孔中并使细胞沉降15分钟。将板放回读取器中并再次读数。

[0568] 次日,洗涤效应T细胞并将其再悬浮于细胞毒性培养基 (不含酚红的RPMI1640 (Invitrogen) 加5%AB血清 (Gemini Bioproducts; 100-318)) 中。然后,从仪器中取出板并将悬浮于细胞毒性培养基 (不含酚红的RPMI1640+5%AB血清) 中的效应T细胞以100,000个细胞或50,000个细胞添加至各孔中,以分别达到10:1或5:1的效应物与靶比率。然后,将板放回仪器中。每2分钟进行测量,得到100个测量值,并且然后每15分钟测量,得到1000个测量值。

[0569] 在RTCA测定中,如添加效应细胞后的细胞指数相对于单独HeLa或与对照CAR构建体转导的T细胞共孵育的HeLa时间依赖性降低所展示,观察到被抗CD19-28 $\zeta$ CAR转导的T细胞对CD19转导的HeLa的杀灭作用 (图11)。不过,相较于用抗CD19CAR观察到的靶细胞杀灭作用,表达抗CD19-CD3 $\epsilon$ 或抗BCMA-CD3 $\gamma$  TFP的T细胞的靶细胞杀灭作用更深并且更快。举例来说,在添加被抗CD19-CD3 $\epsilon$ TFP转导的T细胞的4小时里,表达CD19的靶细胞基本上完全被杀灭。利用多种包含其它CD3的TFP构建体和TCR构建体转导的T细胞观察到极低或无杀灭作用。利用以替代性铰链区构建的抗CD19TFP获得类似结果。抗CD19-CD3 $\epsilon$ 或抗CD19-CD3 $\gamma$  TFP转导的T细胞针对CD19转导的HeLa靶细胞的细胞毒性也高于抗CD19-CAR转导的T细胞。

[0570] 用抗BCMA TFP转导的T细胞针对表达BCMA的RPMI8226细胞也展现出稳固的细胞毒性。如图9中所示,用抗BCMA-CD3 $\epsilon$ 或抗BCMA-CD3 $\gamma$  TFP转导的T细胞有效介导针对表达BCMA的RPMI8226靶细胞的细胞毒性。在10:1的效应物比靶细胞比率下,几乎100%的靶细胞被杀灭 (图12)。

[0571] TFP转导的T细胞的细胞毒性活性关于用于转导的病毒的量 (MOI) 具有剂量依赖性。利用递增MOI的抗CD19-CD3 $\epsilon$ TFP慢病毒观察到增加的CD19-HeLa杀灭作用,进一步加强了TFP转导与细胞毒性活性之间的关系 (图13)。

[0572] 可以用FAP.TFP和CAIX.TFP构建体进行类似实验。

[0573] 实施例9:通过ELISA测定IL-2和IFN- $\gamma$ 分泌

[0574] 与带有同源抗原的细胞的识别有关的效应T细胞活化和增殖的另一量度是效应细胞因子,如白细胞介素-2 (IL-2) 和干扰素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 的产生。

[0575] 如产品插页中所描述,针对人IL-2(目录号EH2IL2,Thermo Scientific)和IFN- $\gamma$ (目录号KHC4012,Invitrogen)进行ELISA测定。简单点说,将50 $\mu$ L复原的标准品或样品一式两份添加至96孔板的每个孔中,随后添加50 $\mu$ L生物素化抗体试剂。通过轻敲该板数次来混合样品。然后,将50 $\mu$ L标准稀释剂添加至不含标准品或样品的所有孔中,并用带粘合剂的板盖小心地密封该板,随后在室温(20-25 $^{\circ}$ C)下孵育3小时。接着,去除板盖,排空板内含物,并用洗涤缓冲液填满各孔。重复此洗涤程序总计3次,并将板转印至纸巾或其它吸收材料上。向各孔中添加100 $\mu$ L所制备的抗生蛋白链菌素-HRP溶液并附着新的板盖,随后在室温下孵育30分钟。再次去除板盖,丢弃板内含物,并将100 $\mu$ L TMB底物溶液添加至各孔中。使反应在室温下于暗处发生30分钟,之后向个孔中添加100 $\mu$ L停止溶液(Stop Solution)。评价该板。在停止反应的30分钟内,在设置于450nm和550nm的ELISA板读取器上测量吸光度。用450nm的值减去550nm的值并且相对于从IL-2标准曲线获得的值计算未知样品中IL-2的量。

[0576] 或者,使用人细胞因子磁珠缓冲剂试剂盒(Human Cytokine Magnetic Buffer Reagent Kit)(Invitrogen,LHB0001M)以及人IL-2磁珠试剂盒(Human IL-2Magnetic Bead Kit)(Invitrogen,LHC0021M)和人IFN- $\gamma$ 磁珠试剂盒(Human IFN- $\gamma$  Magnetic Bead Kit)(Invitrogen,LHC4031M)进行2-Plex测定。简单点说,将25 $\mu$ L人IL-2和IFN- $\gamma$ 抗体珠粒添加至96孔板各孔中并使用以下指导进行洗涤:200 $\mu$ L 1x洗涤溶液洗涤两次,将板与磁性96孔板分离器(Invitrogen,A14179)接触放置,使珠粒沉降1分钟并倾析出液体。然后,将50 $\mu$ L孵育缓冲液添加至该板中一式两份含100 $\mu$ L复原标准品或一式三份含50 $\mu$ L样品(来自细胞毒性测定的上清液)和50 $\mu$ L测定稀释剂的各孔中,总体积是150 $\mu$ L。在室温下,于暗处用轨道半径是3mm的回旋振荡器(orbital shaker)以600rpm混合样品2小时。遵循相同洗涤指导,洗涤板,并将100 $\mu$ L人IL-2和IFN- $\gamma$ 生物素化检测器抗体添加至各孔中。在室温下,于暗处用轨道半径是3mm的回旋振荡器以600rpm混合样品1小时。遵循相同洗涤指导,洗涤板,并将100 $\mu$ L抗生蛋白链菌素-R-藻红素添加至各孔中。在室温下,于暗处用轨道半径是3mm的回旋振荡器以600rpm混合样品30分钟。使用相同洗涤指导,洗涤板3次,并在倾析液体之后,将样品再悬浮于150 $\mu$ L 1x洗涤溶液中。用轨道半径是3mm的回旋振荡器以600rpm混合样品3分钟并在4 $^{\circ}$ C下储存过夜。之后,遵循相同洗涤指导,洗涤板,并将样品再悬浮于150 $\mu$ L 1x洗涤溶液中。

[0577] 使用MAGPIX系统(Luminex)和xPONENT软件读取板。使用MILLIPLEX分析软件进行数据分析,由此提供标准曲线和细胞因子浓度。

[0578] 图15显示,相对于未被转导或对照CAR转导的T细胞,用抗CD19TFP转导的T细胞当与内源性表达CD19的Raji细胞或CD19转导的HeLa细胞共培养时,产生较高水平的IL-2和IFN- $\gamma$ 。相比之下,与CD19阴性K562细胞或未被转导的HeLa细胞共培养使TFP转导的T细胞极少释放或不释放细胞因子。与先前的细胞毒性数据一致,用替代性铰链区构建的抗CD19TFP在与带有CD19的靶细胞共培养后产生类似结果(图16)。

[0579] 与先前的细胞毒性数据相符,抗CD19-CD3 $\epsilon$ 和抗CD19-CD3 $\gamma$ 的TFP构建体产生最高水平的IL-2和IFN- $\gamma$ (图15和16)。然而,用抗CD19-CD3 $\epsilon$ 和抗CD19-CD3 $\gamma$ TFP转导的T细胞的细胞因子产量与表达抗CD19-28 $\zeta$ CAR的T细胞相当,不过这些TFP展现的靶细胞杀灭水平要高得多(图8和11)。TFP比CAR更有效地杀灭靶细胞,但促炎性细胞因子释放量与CAR相当或比CAR低的可能性呈现了TFP相对于CAR的潜在优势,因为这些细胞因子的含量升高与过继

CAR-T疗法的剂量限制性毒性有关。

[0580] 用抗BCMA-CD3 $\epsilon$ 或抗BCMA-CD3 $\gamma$  TFP转导的T细胞在与BCMA-HeLa共培养时也产生IL-2和IFN- $\gamma$ ，但与不表达BCMA的对照HeLa细胞共培养时不产生(图17)。

[0581] 可以用FAP.TFP和CAIX.TFP构建体进行类似实验。

[0582] 实施例10:通过流式细胞术检测CD107a暴露

[0583] 有关T细胞活化的另一测定是CD107a的表面表达,CD107a是位于休止细胞中的细胞质细胞溶解颗粒膜中的溶酶体相关膜蛋白(LAMP-1)。效应T细胞的脱粒,作为细胞溶解活性的先决条件,使CD107a在活化诱导的颗粒胞吐之后被动员至细胞表面。因此,除细胞因子产生外,CD107a暴露提供了与细胞毒性密切相关的T细胞活化的另一量度。

[0584] 分开洗涤靶细胞和效应细胞并将其再悬浮于细胞毒性培养基(RPMI+5%人AB血清+1%抗生素抗霉素)。所述测定是通过以下方式执行:在每孔0.5 $\mu$ L PE/Cy7标记的抗人CD107a(LAMP-1)抗体(Clone-H4A3,BD Biosciences)存在下,在U形底96孔板(Corning)中,将 $2 \times 10^5$ 个效应细胞与 $2 \times 10^5$ 个靶细胞组合,最终体积是100 $\mu$ L。然后,在37 $^{\circ}$ C、5%CO $_2$ 下,将培养物孵育一小时。在此孵育之后,在不破坏细胞的情况下,立即向各孔中小心地添加10 $\mu$ L分泌抑制剂莫能霉素(monensin)(1000x溶液,BD GolgiStop<sup>TM</sup>)的1:10稀释液。然后,在37 $^{\circ}$ C、5%CO $_2$ 下,再孵育板2.5小时。在此孵育之后,用APC抗人CD3抗体(Clone-UCHT1,BD Biosciences)、PerCP/Cy5.5抗人CD8抗体(Clone-SK1,BD Biosciences)及太平洋蓝抗人CD4抗体(Clone-RPA-T4,BD Biosciences)对细胞染色,并且然后在37 $^{\circ}$ C、5%CO $_2$ 下孵育30分钟。然后,用FACS缓冲液洗涤细胞2次(并且在分析之前,将其再悬浮于100 $\mu$ L FACS缓冲液和100 $\mu$ L IC固定缓冲液中)。

[0585] 通过流式细胞术检测T细胞表面上CD107a的暴露。流式细胞术是使用LSRFortessa<sup>TM</sup> X20(BD Biosciences)进行的并且使用FlowJo软件(Treestar, Inc.Ashland,OR)分析流式细胞术的数据。测定每一效应细胞/靶细胞培养物中在CD3设门内呈CD107+ve的CD8+效应细胞的百分比。

[0586] 与先前的细胞毒性和细胞因子数据一致,表达CD19的靶细胞,如Raji或Nalm-6细胞与抗CD19-28 $\zeta$ CAR转导的效应T细胞共培养所诱导的表面CD107a表达相对于与CD19-ve靶细胞一起孵育的效应物有3至5倍增加(图18)。比较而言,在相同条件下,表达抗CD19-CD3 $\epsilon$ LL或CD19-CD3 $\gamma$ LL TFP的效应物对CD107a表达展现的诱导作用达5至7倍。用替代性铰链区构建的抗CD19TFP在与带有CD19的靶细胞共培养后产生类似的结果。

[0587] 相对于未被转导的T细胞,用抗BCMA-CD3 $\epsilon$ 或抗BCMA-CD3 $\gamma$  TFP转导的细胞在与BCMA+ve RPMI8226细胞共培养后也展现CD107a表面表达的增加(图19)。这些结果表明,TFP转导的效应T细胞在暴露于表达其同源抗原的靶细胞后变得活化并脱粒。

[0588] 可以用FAP.TFP和CAIX.TFP构建体进行类似实验。

[0589] 实施例11:体内小鼠功效研究

[0590] 为了评估用抗CD19TFP转导的效应T细胞在体内实现抗肿瘤反应的能力,将用抗CD19-28 $\zeta$ CAR、抗CD19-CD3 $\epsilon$ LL TFP或抗CD19-CD3 $\gamma$ LL TFP转导的效应T细胞过继转移至先前接种有CD19+Raji或Nalm6人白血病细胞系的NOD/SCID/IL-2R $\gamma$ <sup>-/-</sup>(NSG-JAX)小鼠中。

[0591] 从The Jackson Laboratory(库存号005557)获得在开始研究前至少6周龄的雌性NOD/SCID/IL-2R $\gamma$ <sup>-/-</sup>(NSG-JAX)小鼠,并且在用于实验之前,使其适应3天。使用于接种的

Raji和NaIm-6人白血病细胞系维持在对数期培养,随后收集并用台盼蓝计数以测定活细胞计数。在肿瘤激发当天,以300g离心细胞5分钟并将其以 $1 \times 10^6$ 个细胞/100 $\mu$ L (NaIm-6) 或 $5 \times 10^5$ 个细胞/100 $\mu$ L (Raji) 再悬浮于预先加温的无菌PBS中。制备未被转导或者被抗CD19-28 $\zeta$ CAR、抗CD19-CD3 $\epsilon$ LL TFP或抗CD3 $\gamma$ LL TFP构建体转导的T细胞以供用于过继转移。在研究第0天,用 $5 \times 10^5$ 个Raji细胞或 $1 \times 10^6$ 个NaIm-6细胞经静脉内激发每个实验组的10只动物。3天后,将 $5 \times 10^6$ 个指定效应T细胞群用100 $\mu$ L无菌PBS经静脉内转移至各动物中。每天记录下有关动物的详细临床观察结果,直到实施安乐死。每周测量所有动物的体重,直到死亡或实施安乐死。在过继转移测试物和对照物之后35天,对所有动物实施安乐死。由研究主管与兽医商议决定对研究期间看起来濒死的任何动物实施安乐死。

[0592] 相对于未被转导的T细胞,过继转移用抗CD19-28 $\zeta$ CAR、抗CD19-CD3 $\epsilon$ LLTFP或抗CD19-CD3 $\gamma$ LLTFP转导的T细胞延长带有Raji肿瘤(图20A)和带有NaIm6肿瘤(图20B)的小鼠的存活期,表明抗CD19CAR和TFP转导的T细胞都能够在这些小鼠模型中介导靶细胞杀灭并相应地增加存活期。总的说来,这些数据表明,TFP是对于在体外和体内都针对第一代CAR展现优良的抗原特异性杀灭作用的嵌合受体进行工程改造的另一平台。

[0593] 可以用FAP.TFP和CAIX.TFP构建体进行类似实验。

[0594] 尽管本文中已显示并描述本发明的优选实施方案,但本领域技术人员将显而易见,这些实施方案仅仅作为举例提供。在不偏离本发明的情况下,本领域技术人员现可以进行多种变更、改变及取代。应了解,本文所述的本发明实施方案的各种替代方案都可以用于实践本发明。预期以下权利要求书将界定本发明的范围,并且在这些权利要求和其等效物范围内的方法和结构都涵盖于其中。

## 序列表

<110> TCR2 公司

<120> 使用融合蛋白对 TCR 重编程的组合物和方法

<130> 48538-701.601

<140> PCT/US2016/033146

<141> 2016-05-18

<150> 62/163,342

<151> 2015-05-18

<160> 74

<170> PatentIn 3.5 版

<210> 1

<211> 556

[0001]

<212> PRT

<213> 智人

<400> 1

Met Pro Pro Pro Arg Leu Leu Phe Phe Leu Leu Phe Leu Thr Pro Met  
1                   5                   10                   15

Glu Val Arg Pro Glu Glu Pro Leu Val Val Lys Val Glu Glu Gly Asp  
                  20                   25                   30

Asn Ala Val Leu Gln Cys Leu Lys Gly Thr Ser Asp Gly Pro Thr Gln  
                  35                   40                   45

Gln Leu Thr Trp Ser Arg Glu Ser Pro Leu Lys Pro Phe Leu Lys Leu  
50                   55                   60

Ser Leu Gly Leu Pro Gly Leu Gly Ile His Met Arg Pro Leu Ala Ile  
65                   70                   75                   80

	Trp	Leu	Phe	Ile	Phe	Asn	Val	Ser	Gln	Gln	Met	Gly	Gly	Phe	Tyr	Leu
						85				90					95	
	Cys	Gln	Pro	Gly	Pro	Pro	Ser	Glu	Lys	Ala	Trp	Gln	Pro	Gly	Trp	Thr
				100					105					110		
	Val	Asn	Val	Glu	Gly	Ser	Gly	Glu	Leu	Phe	Arg	Trp	Asn	Val	Ser	Asp
			115					120					125			
	Leu	Gly	Gly	Leu	Gly	Cys	Gly	Leu	Lys	Asn	Arg	Ser	Ser	Glu	Gly	Pro
	130						135					140				
	Ser	Ser	Pro	Ser	Gly	Lys	Leu	Met	Ser	Pro	Lys	Leu	Tyr	Val	Trp	Ala
	145					150					155					160
[0002]	Lys	Asp	Arg	Pro	Glu	Ile	Trp	Glu	Gly	Glu	Pro	Pro	Cys	Leu	Pro	Pro
					165					170					175	
	Arg	Asp	Ser	Leu	Asn	Gln	Ser	Leu	Ser	Gln	Asp	Leu	Thr	Met	Ala	Pro
				180						185				190		
	Gly	Ser	Thr	Leu	Trp	Leu	Ser	Cys	Gly	Val	Pro	Pro	Asp	Ser	Val	Ser
			195					200					205			
	Arg	Gly	Pro	Leu	Ser	Trp	Thr	His	Val	His	Pro	Lys	Gly	Pro	Lys	Ser
	210							215				220				
	Leu	Leu	Ser	Leu	Glu	Leu	Lys	Asp	Asp	Arg	Pro	Ala	Arg	Asp	Met	Trp
	225					230					235				240	
	Val	Met	Glu	Thr	Gly	Leu	Leu	Leu	Pro	Arg	Ala	Thr	Ala	Gln	Asp	Ala
					245					250					255	

Gly Lys Tyr Tyr Cys His Arg Gly Asn Leu Thr Met Ser Phe His Leu  
 260 265 270

Glu Ile Thr Ala Arg Pro Val Leu Trp His Trp Leu Leu Arg Thr Gly  
 275 280 285

Gly Trp Lys Val Ser Ala Val Thr Leu Ala Tyr Leu Ile Phe Cys Leu  
 290 295 300

Cys Ser Leu Val Gly Ile Leu His Leu Gln Arg Ala Leu Val Leu Arg  
 305 310 315 320

Arg Lys Arg Lys Arg Met Thr Asp Pro Thr Arg Arg Phe Phe Lys Val  
 325 330 335

[0003]

Thr Pro Pro Pro Gly Ser Gly Pro Gln Asn Gln Tyr Gly Asn Val Leu  
 340 345 350

Ser Leu Pro Thr Pro Thr Ser Gly Leu Gly Arg Ala Gln Arg Trp Ala  
 355 360 365

Ala Gly Leu Gly Gly Thr Ala Pro Ser Tyr Gly Asn Pro Ser Ser Asp  
 370 375 380

Val Gln Ala Asp Gly Ala Leu Gly Ser Arg Ser Pro Pro Gly Val Gly  
 385 390 395 400

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Glu Gly Tyr Glu Glu Pro Asp Ser Glu Glu  
 405 410 415

Asp Ser Glu Phe Tyr Glu Asn Asp Ser Asn Leu Gly Gln Asp Gln Leu  
 420 425 430

Ser Gln Asp Gly Ser Gly Tyr Glu Asn Pro Glu Asp Glu Pro Leu Gly  
 435 440 445

Pro Glu Asp Glu Asp Ser Phe Ser Asn Ala Glu Ser Tyr Glu Asn Glu  
 450 455 460

Asp Glu Glu Leu Thr Gln Pro Val Ala Arg Thr Met Asp Phe Leu Ser  
 465 470 475 480

Pro His Gly Ser Ala Trp Asp Pro Ser Arg Glu Ala Thr Ser Leu Gly  
 485 490 495

Ser Gln Ser Tyr Glu Asp Met Arg Gly Ile Leu Tyr Ala Ala Pro Gln  
 500 505 510

[0004] Leu Arg Ser Ile Arg Gly Gln Pro Gly Pro Asn His Glu Glu Asp Ala  
 515 520 525

Asp Ser Tyr Glu Asn Met Asp Asn Pro Asp Gly Pro Asp Pro Ala Trp  
 530 535 540

Gly Gly Gly Gly Arg Met Gly Thr Trp Ser Thr Arg  
 545 550 555

<210> 2

<211> 184

<212> PRT

<213> 智人

<400> 2

Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser  
 1 5 10 15

Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr

	20		25		30
Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser					
	35		40		45
Val Lys Gly Thr Asn Ala Ile Leu Trp Thr Cys Leu Gly Leu Ser Leu					
	50		55		60
Ile Ile Ser Leu Ala Val Phe Val Leu Met Phe Leu Leu Arg Lys Ile					
65		70		75	80
Asn Ser Glu Pro Leu Lys Asp Glu Phe Lys Asn Thr Gly Ser Gly Leu					
	85		90		95
Leu Gly Met Ala Asn Ile Asp Leu Glu Lys Ser Arg Thr Gly Asp Glu					
	100		105		110
[0005]					
Ile Ile Leu Pro Arg Gly Leu Glu Tyr Thr Val Glu Glu Cys Thr Cys					
	115		120		125
Glu Asp Cys Ile Lys Ser Lys Pro Lys Val Asp Ser Asp His Cys Phe					
	130		135		140
Pro Leu Pro Ala Met Glu Glu Gly Ala Thr Ile Leu Val Thr Thr Lys					
	145		150		155
Thr Asn Asp Tyr Cys Lys Ser Leu Pro Ala Ala Leu Ser Ala Thr Glu					
	165		170		175
Ile Glu Lys Ser Ile Ser Ala Arg					
	180				

<210> 3

<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 3  
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
1                    5                    10

<210> 4  
<211> 30  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

[0006]

<400> 4  
ggtggcggag gttctggagg tggaggttcc                    30

<210> 5  
<211> 20  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 5  
Ala Ala Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
1                    5                    10                    15

Gly Ser Leu Glu  
                  20

<210> 6  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列的描述: 合成多肽

<400> 6  
 Ala Ala Ala Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Gly Gly Gly  
 1                   5                   10                   15

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu  
                   20                   25                   30

<210> 7  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 [0007] <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 7  
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu  
 1                   5                   10                   15

Glu

<210> 8  
 <211> 8147  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸

<400> 8	
acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca	60
acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcattgccga ttggtggaag taaggtggta	120
cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga	180
attgccgat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacataa acgggtctct	240
ctggttagac cagatctgag cctgggagct ctctggetaa ctagggaacc cactgcttaa	300
gcctcaataa agcttgccct gagtgcttca agtagtgtgt gcccgtctgt tgtgtgactc	360
tggttaactag agatccctca gaccctttta gtcagtgtgg aaaatctcta gcagtggcgc	420
ccgaacaggg acctgaaagc gaaagggaaa ccagagctct ctcgacgcag gactcggctt	480
gctgaagcgc gcacggcaag aggcgagggg cggcgactgg tgagtacgcc aaaaattttg	540
actagcggag gctagaagga gagagatggg tgcgagagcg tcagtattaa gcgggggaga	600
[0008] attagatcgc gatgggaaaa aattcggtta aggccagggg gaaagaaaa atataatta	660
aaacatatag taiggcaag caggagctta gaacattcg cagttaatcc tggcctgtta	720
gaaacatcag aaggctgtag acaaaactg ggacagctac aaccatccct tcagacagga	780
tcagaagaac ttagatcatt atataataca gtagcaacce tctatttgtt gcacaaagg	840
atagagataa aagacaccaa ggaagcttta gacaagatag aggaagagca aaacaaaagt	900
aagaccaccg cacagcaagc ggccactgat cttcagacct ggaggaggag atatgaggga	960
caattggaga agtgaattat ataaatataa agtagtaaaa attgaacat taggagtagc	1020
accaccaag gcaaagagaa gactggtgca gagagaaaa agagcagtgg gaataggagc	1080
ttgttctctt gggttcttgg gacgagcagg aagcactatg ggcgacgct caatgacgct	1140
gacggtacag gccagacaat tattgtctgg tatagtgcag cagcagaaca atttctgag	1200
ggctattgag gcgcaacagc atctgttgca actcacagtc tggggcatca agcagctcca	1260

	ggcaagaatc ctggctgtgg aaagatacct aaaggatcaa cagctcctgg ggatttgggg	1320
	ttgctctgga aaactcattt gcaccactgc tgtgccttgg aatgctagtt ggagtaataa	1380
	atctctggaa cagatttggga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa	1440
	ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga	1500
	acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa	1560
	ttggetgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat	1620
	agtttttgc tactttteta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt	1680
	tcagaccac ctccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg	1740
	tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaa ggatctcgac ggtatcggtt	1800
	aacttttaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtca ggggaaagaa tagtagacat	1860
	aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt	1920
[0009]	atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttctact tggcagtaca	1980
	tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc	2040
	gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga	2100
	gtttgtttg gcacaaaat caacgggact ttcaaaaatg tcgtaacaac tccgccccat	2160
	tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag	2220
	tgaaccgtca gatgcctgg agacccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct	2280
	agagctagcg ccgccaccat gctccagatg gctggccagt gcagccagaa cgagtacttc	2340
	gacagcctgc tgcagcctg catcccttgc cagctgcggt gcagcagcaa cacccaccc	2400
	ctgacctgcc agcggtagct caacgccagc gtgaccaaca gcgtgaaggg caccaacgcc	2460
	atctctgga cctgcctggg cctgagcctg atcatagcc tggccgtgtt cgtgctgatg	2520
	ttctgctgc ggaagatcaa cagcgagccc ctgaaggacg agttcaagaa caccggcagc	2580

	ggcctgctgg gcatggccaa catcgacctg gaaaagagcc ggaccggcga cgagatcatc	2640
	ctgcccagag gcttgagta caccgtggaa gactgtacct gcgaggactg catcaagagc	2700
	aagcccaagg tggacagcga cactgcttc cctctgccc ccatggaaga gggcgccacc	2760
	atcctggtga caacaaagac caacgactac tgcaagagcc tgctgccc cctgagcgc	2820
	accgagatcg agaagtccat cagcgccaga tgaggatccg cggccgcaag gatctgcgat	2880
	cgctccggtg cccgtcagtg ggcagagcgc acatgccc cagtccccga gaagttgggg	2940
	ggaggggtcg gcaattgaac ggggtcctag agaaggtggc gcggggtaaa ctgggaaagt	3000
	gatgtcgtgt actggctccg ctttttccc gaggtgggg gagaaccgta tataagtgca	3060
	gtagtcgccc tgaacgttct ttttcgaac gggtttccg ccagaacaca gctgaagctt	3120
	cgaggggctc gcatctctcc ttcacgcgcc cgccgcccta cctgaggccg ccatccacgc	3180
	cggttgagtc gcgttctgcc gcctcccgcc tgttggtcct cctgaactgc gtccgccgtc	3240
[0010]	taggiaagtt taaagctcag gtcgagaccg ggcctttgtc cggcgtccc ttggagccta	3300
	cctagactca gccggtctc cacgctttgc ctgacctgc ttgtcaact ctacgtctt	3360
	gtttcgttt ctgttctgcg ccgttacaga tccaagctgt gaccggcgcc tacgtcgaga	3420
	tgattgaaca agatggattg cacgcaggtt ctccggccgc ttgggtggag aggctattcg	3480
	gctatgactg ggcacaacag acaatcggct gctctgatgc cgccgtgttc cgctgtcag	3540
	cgcagggcg cccggttctt tttgtcaaga ccgacctgtc cgggtccctg aatgaactgc	3600
	aggacgagc agcgcggcta tcgtggtgg ccgcgacggc cgttccttgc gcagctgtgc	3660
	tcgacgttgt cactgaagcg ggaagggact ggctgctatt gggcgaagtg ccggggcagg	3720
	atctcctgtc atctcactt gctcctgcc agaaagtatc catcatggct gatgcaatgc	3780
	ggcggtgca tacgcttgat ccggetacct gccattcga ccaccaagcg aaacatgca	3840
	tcgagcgagc acgtactcgg atggaagccg gtcttgcga tcaggatgat ctggacgaag	3900

	agcatcaggg gctcgcgcca gccgaactgt tcgccaggct caaggcgcgc atgcccgcagc	3960
	gcgaggatct cgtcgtgacc catggcgatg cctgcttgcc gaatatcatg gtggaaaatg	4020
	gccgcttttc tggattcatc gactgtggcc ggctgggtgt ggcggaccgc tadcaggaca	4080
	tagcgttgcc taccctgat attgctgaag agcttgccgg cgaatgggct gaccgcttcc	4140
	tcgtgcttta cggatcgcgc gctcccgatt cgcagcgcac cgccttctat cgccttcttg	4200
	acgagttctt ctgactcgac aatcaacctc tggattacaa aatttgtgaa agattgactg	4260
	gtattcttaa ctatgttget ccttttacgc tatgtggata cgctgcttta atgcctttgt	4320
	atcatgctat tgcttcccgt atggtttca ttttctctc cttgtataaa tcctggttgc	4380
	tgtctcttta tgaggagtgt tggcccgttg tcaggcaacg tggcgtgggtg tgcactgtgt	4440
	ttgctgacgc aacccccact ggttggggca ttgccaccac ctgtcagctc ctttccggga	4500
	ctttcgcttt cccctccct attgccacgg cggaactcat cgcgcctgc cttgcccgt	4560
[0011]	gctggacagg ggctcggctg ttggcactg acaattccgt ggtgtgtcg gggaaatcat	4620
	cgctctttcc ttggctgctc gcctgtgttg ccacctggat tctgcgcggg acgtccttct	4680
	gctacgtccc ttcggccctc aatccagcgg accttcttc ccgcggcctg ctgccggctc	4740
	tgcggcctct tccgcgtctt cgccttcgcc ctcagacgag tcggatctcc ctttgggccg	4800
	cctccccgcc tggtagcttt aagaccaatg acttacaagg cagctgtaga tcttagccac	4860
	tttttaaag aaaagggggg actggaagg ctaattcact cccaacgaag ataagatctg	4920
	ctttttgctt gtactgggtc tctctggtta gaccagatct gagcctggga gctctctggc	4980
	taactagga acccactgct taagcctcaa taaagcttgc cttgagtgtc tcaagtagtg	5040
	tgtgcccgtc tgttgtgtga ctctggtaac tagagatccc tcagaccctt ttagtcagtg	5100
	tggaaaatct ctagcagtag tagttcatgt catcttatta ttcagtattt ataacttgea	5160
	aagaaatgaa tatcagagag tgagaggaac ttgtttattg cagcttataa tggttacaaa	5220

	taaagcaata gcatcacaaa tttcacaaat aaagcatttt tttcactgca ttctagttgt	5280
	ggtttgtcca aactcatcaa tgtatcttat catgtctggc tctagctatc ccgcccctaa	5340
	ctccgcccac ccgccccta actccgceca gttccgceca ttctccgccc catggctgac	5400
	taattttttt tatttatgca gaggccgagg ccgcctcggc ctctgagcta ttccagaagt	5460
	agtgaggagg cttttttgga ggcctagact ttgacagaga cggcccctaa tcgtaatcat	5520
	ggtcatagct gtttctctg tgaaattggt atccgctcac aattccacac aacatacgag	5580
	ccggaagcat aaagtgtaaa gcttggggtg cctaattgagt gagctaacct acattaattg	5640
	cgttgcgctc actgcccgtt ttccagtcgg gaaacctgtc gtgccagctg cattaatgaa	5700
	tcggccaacg cgcggggaga ggcggtttgc gtattgggcg ctcttccgct tctctgctca	5760
	ctgactcgct gcgctcggtc gttcggctgc ggcgagcggc atcagctcac tcaaaggcgg	5820
	taatacgggt atccacagaa tcaggggata acgcaggaaa gaacatgtga gcaaaaggcc	5880
[0012]	agcaaaaggc caggaaccgt aaaaaggccg cgttgctggc gtttttccat aggctccgcc	5940
	cccctgacga gcatcacaaa aatcgacgct caagtcagag gtggcgaaac ccgacaggac	6000
	tataaagata ccaggcggtt ccccctggaa gctccctcgt gcgctctctt gttccgacct	6060
	tgccgcttac cggatacctg tccgcctttc tcccttcggg aagcgtggcg ctttctcata	6120
	gctcacgctg taggtatctc agttcgggtg aggtcgttcg ctccaagctg ggctgtgtgc	6180
	acgaaccccc cgttcagccc gaccgctgcg ccttatecgg taactatcgt cttgagtcca	6240
	accggtaag acacgactta tcgccactgg cagcagccac tggtaacagg attagcagag	6300
	cgaggtatgt aggcggtgct acagattctt tgaagtgggt gcctaactac ggctacacta	6360
	gaaggacagt atttggatc tgcgctctgc tgaagccagt taccttcgga aaaagagttg	6420
	gtagetcttg atccggcaaa caaacaccg ctggtagcgg tggttttttt gtttgcaagc	6480
	agcagattac gcgcagaaaa aaaggatctc aagaagatcc tttgatcttt tctacggggt	6540

	ctgacgctca gtggaacgaa aactcacggtt aagggatttt ggtcatgaga ttatcaaaaa	6600
	ggatcttcac ctagatcctt ttaaattaaa aatgaagttt taaatcaatc taaagtatat	6660
	atgagtaaac ttggtctgac agttaccaat gcttaatcag tgaggcacct atctcagcga	6720
	tctgtctatt tcgttcatcc atagttgect gactccccgt cgtgtagata actacgatac	6780
	gggagggctt accatctggc cccagtgtg caatgatacc gcgagacca cgctcaccgg	6840
	ctccagattt atcagcaata aaccagccag ccggaagggc cgagcgaga agtggctctg	6900
	caactttatc cgctccatc cagtctatta attggtgccg ggaagctaga gtaagtagtt	6960
	cgccagttaa tagtttgcgc aacgttggtt ccattgctac aggcatcgtg gtgtcacgct	7020
	cgtcgtttgg tatggcttca ttcagctcgg gttcccaacg atcaaggcga gttacatgat	7080
	ccccatggt gtgcaaaaaa gcggttagct ccttcggctc tccgatcgtt gtcagaagta	7140
	agttggccgc agtgttatca ctcatggtta tggcagcact gcataattct cttactgtca	7200
[0013]	tgccatccgt aagatgcttt tctgtgactg gtgagtactc aaccaagtca ttctgagaat	7260
	agtgtatgcg gcgaccgagt tgctcttgcc cggcgtcaat acgggataat accgcgccac	7320
	atagcagaac tttaaaagtg ctcatcattg gaaaacgttc ttcggggcga aaactctcaa	7380
	ggatcttacc gctgttgaga tccagttcga tgtaaccac tcgtgcacce aactgatctt	7440
	cagcatcttt tactttcacc agcgtttctg ggtgagcaaa aacaggaagg caaatgccg	7500
	caaaaaagg aataaggcgc acacggaaat gttgaatact catactcttc ctttttcaat	7560
	attattgaag catttatcag ggttattgtc tcatgagcgg atacatattt gaatgtattt	7620
	agaaaaataa acaaataggg gttccgcgca catttccccg aaaagtgcca cctgacgtct	7680
	aagaaacat tattatcatg acattaacct ataaaaatag gcgtatcacg aggcctttc	7740
	gtctcgcgcg tttcggatgat gacggtgaaa acctctgaca catgcagctc ccggagacgg	7800
	tcacagcttg tctgtaagcg gatgccggga gcagacaagc ccgtcagggc gcgtcagcgg	7860

	gtgttggcgg gtgtcggggc tggcttaact atgcggcatc agagcagatt gtactgagag	7920
	tgcacatat gcggtgtgaa ataccgcaca gatgcgtaag gagaaaatac cgcatcaggc	7980
	gccattcgcc attcaggctg cgcaactggt gggaaggcg atcgggtcgg gcctcttcgc	8040
	tattacgcca gctggcgaaa ggggatgtg ctgcaaggcg attaagttgg gtaacgccag	8100
	ggttttccca gtcacgacgt tgtaaaacga cggccagtgc caagctg	8147
	<210> 9	
	<211> 8846	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸	
	<400> 9	
[0014]	acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca	60
	acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcattgccga ttggtggaag taaggtggta	120
	cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac ggtctgaca tggattggac gaaccactga	180
	attgccgat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc	240
	tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actaggaac cactgctta	300
	agcctcaata aagcttgccct tgagtgttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact	360
	ctgtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg	420
	cccgaacagg gacctgaaag cgaaaggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct	480
	tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt	540
	gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag	600
	aattagatcg cgatgggaaa aaattcggtt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt	660
	aaaacatata gtatgggcaa gcaggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctggt	720

	agaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caacatccc ttcagacagg	780
	atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcataaag	840
	gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag	900
	taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg	960
	acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag	1020
	caccaccaa ggcaaagaga agagtggcgc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag	1080
	ctttgttct tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc	1140
	tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga	1200
	gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcacc aagcagctcc	1260
	aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg	1320
	gttgcctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata	1380
[0015]	aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa	1440
	ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga	1500
	acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgttg aattggttta acataacaaa	1560
	ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat	1620
	agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt	1680
	tcagaccac ctccaacce cgaggggacc cgacagccc gaaggaatag aagaagaagg	1740
	tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt	1800
	aacttttaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat	1860
	aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt	1920
	atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttctact tggcagtaca	1980
	tctacgtatt agtcatcgt attacatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc	2040

	gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga	2100
	gtttgttttg gcacaaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat	2160
	tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggg gggaggttta tataagcaga gctcgtttag	2220
	tgaaccgtca gatgccttgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct	2280
	agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca	2340
	gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctcctt gtctgcctct	2400
	ctgggagaca gagtcacat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaa	2460
	tggtatcagc agaaaccaga tggaactggt aaactcctga tctaccatac atcaagatta	2520
	cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctacc	2580
	attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgtt	2640
	ccgtacacgt tccgaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc	2700
[0016]	aagcccgat ctggcgaggg atccaccaag ggcgagggtg aactgcagga gtcaggacct	2760
	ggcctggtgg cgcctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta	2820
	cccactatg gtgtaagctg gattcgcag cctccacgaa agggctctgga gtggctggga	2880
	gtaatatggg gtagtgaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc	2940
	atcaaggaca actccaagag ccaagtttct ttaaaaatga acagctgca aactgatgac	3000
	acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac	3060
	tgggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caattgaagt tatgtatcct	3120
	cctccttacc tagacaatga gaagagcaat ggaaccatta tccatgtgaa agggaaacac	3180
	ctttgtccaa gtcccctatt tcccggacct tctaagcct tttgggtgct ggtggtggtt	3240
	gggggagtcc tggcttgeta tagcttgcta gtaacagtgg cctttattat tttctgggtg	3300
	aggagtaaga ggagcagct cctgcacagt gactacatga acatgactcc ccgcccccc	3360

	gggcccaccc gcaagcatta ccagccctat gccccaccac gcgacttcgc agcctatcgc	3420
	tccagagtga agttcagcag gagcgcagac gccccgcgt accagcaggg ccagaaccag	3480
	ctctataacg agctcaatct aggacgaaga gaggagtacg atgttttggga caagagacgt	3540
	ggccgggacc ctgagatggg gggaaagccg agaaggaaga accctcagga aggcctgtac	3600
	aatgaactgc agaaagataa gatggcggag gcctacagtg agattgggat gaaaggcgag	3660
	cgccggaggg gcaaggggca cgatggcctt taccagggtc tcagtacagc caccaaggac	3720
	acctacgacg cccttcacat gcagccctg cccctcgcct aagaattcgg atccgcggcc	3780
	gcgaaggatc tgcgatcgc cgggtgcccg tcagtgggca gagcgcacat cgcccacagt	3840
	ccccgagaag ttggggggag gggtcggcaa ttgaacgggt gcctagagaa ggtggcgcgg	3900
	ggtaaactgg gaaagtgatg tcgtgtactg gctccgcctt tttcccagg gtgggggaga	3960
	accgtatata agtgcagtag tcgccgtgaa cgttcttttt cgcaacgggt ttgccgccag	4020
[0017]	aacacagctg aagcttcgag gggctcgcct ctctccttca cgcgcccgcc gccctacctg	4080
	aggccgccat ccacgccggt tgagtgcgct tctgccgct cccgcctgtg gtgcctcctg	4140
	aactgcgtcc gccgtctagg taagtttaaa gctcaggtcg agaccgggcc tttgtccggc	4200
	gctcccttgg agcctaccta gactcagccg gctctccacg ctttgctga ccctgcttgc	4260
	tcaactctac gtctttgitt cgttttctgt tctgcgccgt tacagatcca agctgtgacc	4320
	ggcgccctac ctagatgacc gagtacaagc ccacggtgcg cctgccacc cgcgacgacg	4380
	tccccagggc cgtacgcacc ctcgccgccc cgttcgccga ctaccccgcc acgcgccaca	4440
	ccgtcgatec ggaccgccac atcgagcggg tcaccgagct gcaagaactc ttcctcacgc	4500
	gcgtcgggct cgacatcggc aagggtgtggg tcgcggacga cggcgcgccc gtggcggtct	4560
	ggaccacgcc ggagagcgtc gaagcggggg cggtgttcgc cgagatcggc ccgcgcattg	4620
	ccgagttgag cggttcccgg ctggccgcgc agcaacagat ggaaggcctc ctggcgcgcc	4680

	accggcccaa ggagcccgcg tggttcctgg ccaccgtcgg cgtctcgccc gaccaccagg	4740
	gcaaggtctt gggcagcgcc gtcgtgctcc ccggagtgga ggccggccgag cgcgccgggg	4800
	tgcccgcctt cctggagacc tccgcgcccc gcaacctccc cttctacgag cggctcggct	4860
	tcaccgtcac cggcgacgtc gaggtgcccc aaggaccgag cacctggtgc atgaccgca	4920
	agccccgtgc ctgagtcgac aatcaacctc tggattacaa aatttgtaa agattgactg	4980
	gtattcttaa ctatgttget ccttttacgc tatgtggata cgctgcttta atgcctttgt	5040
	atcatgctat tgcttcccgt atggtttca ttttctctc cttgtataaa tctggttgc	5100
	tgtctcttta tgaggagttg tggcccgttg tcaggcaacg tggcgtggtg tgcactgtgt	5160
	ttgctgacgc aacccccact ggttggggca ttgccaccac ctgtcagctc ctttccggga	5220
	ctttcgcttt ccccctcct attgccacgg cggaactcat cggccctgc cttgcccgt	5280
	gctggacagg ggctcggctg ttggcactg acaattccgt ggtgtgtcg gggaaatcat	5340
[0018]	cgctctttcc ttggctgctc gcctgtgttg ccacctggat tctgcgctgg acgtccttct	5400
	gctacgtccc ttcggccctc aatccagcgg accttcttc ccgcggcctg ctgccgctc	5460
	tgcggcctct tccgcgtctt cgccttcgcc ctacagcagc tcggatctcc ctttgggccg	5520
	cctccccgcc tggtagcttt aagaccaatg acttacaagg cagctgtaga tcttagccac	5580
	tttttaaag aaaagggggg actggaagg ctaattcact cccaacgaaa ataagatctg	5640
	ctttttgctt gtactgggtc tctctggtta gaccagatct gagcctggga gctctctggc	5700
	taactagga acccactgct taagcctcaa taaagcttgc cttgagtgt tcaagtagtg	5760
	tgtgccctgc tgttgtgtga ctctggtaac tagagatccc tcagaccctt ttagtcagt	5820
	tggaaaatct ctagcagtag tagttcatgt catcttatta ttcagtattt ataacttga	5880
	aagaaatgaa tatcagagag tgagaggaac ttgtttattg cagcttataa tggttacaaa	5940
	taaagcaata gcatcacaaa tttcacaaat aaagcatttt tttcactgca ttctagttgt	6000

	ggtttgtcca aactcatcaa tgtatcttat catgtctggc tctagctatc cgcgccctaa	6060
	ctccgcccag ttccgcccac tctccgcccc atggctgact aatTTTTTTT atttatgcag	6120
	aggccgaggc cgcctcggcc tctgagctat tccagaagta gtgaggaggc ttttttggag	6180
	gcctagactt ttgcagagac ggcccaaatt cgtaatcatg gtcatactg tttcctgtgt	6240
	gaaattgtta tccgctcaca attccacaca acatacgagc cggaagcata aagtgtaaa	6300
	cctgggggtgc ctaatgagtg agctaactca cattaattgc gttgcgctca ctgcccgtt	6360
	tccagtcggg aaacctgtcg tgccagctgc attaatgaat cggccaacgc gcggggagag	6420
	gcggtttgcg tattggggcg tcttccgctt cctcgctcac tgactcgctg cgctcggtcg	6480
	ttcgctgcg gcgagcggta tcagctcact caaaggcggc aatacggta tccacagaat	6540
	caggggataa cgcaggaaag aacatgtgag caaaaggcca gcaaaaggcc aggaaccgta	6600
[0019]	aaaaggccgc gttgctggcg tttttccata ggctccgccc ccctgacgag catcacaaaa	6660
	atcgacgctc aagtcagagg tggcgaaacc cgacaggact ataaagatac caggcgtttc	6720
	ccccggaag ctccctcgtg cgctctctg ttccgacct gccgcttacc ggatacctgt	6780
	ccgcctttct cccttcggga agcgtggcgc tttctcatag ctacgctgt aggtatctca	6840
	gttcggtgta ggtcgttcgc tccaagctgg gctgtgtgca cgaaccccc gttcagcccc	6900
	accgctgcgc cttatccggt aactatcgtc ttgagtcaa cccgtaaga cagacttat	6960
	cgccactggc agcagccact ggtaacagga ttagcagagc gaggtatgta ggcggtgcta	7020
	cagagttctt gaagtgggtg cctaactacg gctacactag aaggacagta tttggtatct	7080
	gcgctctgct gaagccagtt accttcggaa aaagagttgg tagctcttga tccggcaaac	7140
	aaaccaccgc tggtagcggc ggtttttttg ttgcaagca gcagattacg cgcagaaaaa	7200
	aaggatctca agaagatcct ttgatctttt ctacggggtc tgacgctcag tggaacgaaa	7260
	actcacgta agggattttg gtcatgagat tatcaaaaag gatcttcacc tagatctttt	7320

	taaattaa atgaagtttt aatcaatct aaagtatata tgagtaaact tggctgaca	7380
	gttaccaatg cttaatcagt gaggcaccta tctcagegat ctgtctatctt cgttcatcca	7440
	tagttgctg actccccgtc gtgtagataa ctacgatacg ggagggetta ccatctggcc	7500
	ccagtgtgc aatgataccg cgagaccac gctcaccggc tccagattta tcagcaataa	7560
	accagccagc cggaagggcc gagcgcagaa gtggctctgc aactttatcc gcctccatcc	7620
	agtctattaa ttgttgccgg gaagctagag taagtagtcc gccagttaat agtttgcgca	7680
	acgttggtgc cattgctaca ggcatcgtgg tgtcacgctc gtcgtttggt atggcttcat	7740
	tcagetccgg ttccaacga tcaaggcgag ttacatgac ccccatggtg tgcaaaaaag	7800
	cggttagctc cttcggctct cegatcgttg tcagaagtaa gttggccgca gtgttatcac	7860
	tcattggtat ggcagcactg cataattctc ttactgtcat gccatccgta agatgctttt	7920
	ctgtgactgg tgagtactca accaagtcct tctgagaata gtgtatgagg cgaccgagtt	7980
[0020]	gctcttgccc ggcgtcaata cgggataata ccgcgccaca tagcagaact ttaaaagtgc	8040
	tcattcattgg aaaacgttct tcggggcgaa aactctcaag gatcttaccg ctgttgagat	8100
	ccagttcgat gtaaccact cgtgcacca actgatcttc agcatctttt actttcacca	8160
	gcgtttctgg gtgagcaaaa acaggaaggc aaaatgccgc aaaaaaggga ataaggcgca	8220
	cacggaaatg ttgaatactc atactcttcc tttttcaata ttattgaagc atttatcagg	8280
	gttattgtct catgagcgga tacatatttg aatgtattta gaaaaataaa caaatagggg	8340
	ttccgcgac atttccccga aaagtccac ctgacgtcta agaaaccatt attatcatga	8400
	cattaaccta taaaaatagg cgtatcacga ggccctttcg tctcgcgctt ttcggtgatg	8460
	acggtgaaaa cctctgacac atgcagctcc cggagacggt cacagcttgt ctgtaagcgg	8520
	atgccgggag cagacaagcc cgtcagggcg cgtcagcggg tgttggcggg tgtcgggct	8580
	ggcttaacta tgcggcatca gagcagattg tactgagagt gcacatattg cgggtgtaaa	8640

	taccgcacag atgcgtaagg agaaaatacc gcatcaggcg ccattcgcca ttcaggctgc	8700
	gcaactgttg ggaagggcga tcggtgcggg cctcttcgct attacgccag ctggcgaaag	8760
	ggggatgtgc tgcaaggcga ttaagttggg taacgccagg gttttccag tcacgacgtt	8820
	gtaaaacgac ggccagtgcc aagctg	8846
	<210> 10	
	<211> 8717	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸	
	<400> 10	
	acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca	60
[0021]	acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taaggtgta	120
	cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac ggtctgaca tggattggac gaaccactga	180
	attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc	240
	tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actaggaac ccaactgctta	300
	agcctcaata aagcttgcc ttagtgcttc aagtagtg tgcctgctg ttgtgtgact	360
	ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg	420
	cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct	480
	tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt	540
	gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag	600
	aattagatcg cgatgggaaa aaattcggtt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt	660
	aaaacatata gtatgggcaa gcaggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctggt	720
	agaaacatca gaagctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg	780

	atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcatacaag	840
	gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag	900
	taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg	960
	acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag	1020
	caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag	1080
	ctttgttct tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcg tcaatgacgc	1140
	tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtga gcagcagaac aatttgctga	1200
	gggtattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcacc aagcagctcc	1260
	aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg	1320
	gttgcctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata	1380
	aatctctgga acagatttgg aatcacacga cctggatgga gtgggacaga gaaattaaca	1440
[0022]	attacacaag cttatacac tccttaattg aagaatcgca aaaccagcaa gaaaagaatg	1500
	aacaagaatt attggaatta gataaatggg caagtttgtg gaattggttt aacatacaa	1560
	attggctgtg gtatataaaa ttattcataa tgatagtagg aggcttggtg ggtttaagaa	1620
	tagtttttgc tgtactttct atagtgaata gagttagca gggatattca ccattatcgt	1680
	ttcagacca cctcccaacc ccgaggggac ccgacaggcc cgaaggaata gaagaagaag	1740
	gtggagagag agacagagac agatccattc gattagtga cggatctcga cggatcggg	1800
	taacttttaa aagaaaagg gggattgggg ggtacagtgc aggggaaaga atagtagaca	1860
	taatagcaac agacatacaa actaaagaat tacaaaaaca aattacaaaa ttcaaaattt	1920
	tatcgatact agtggatctg cgatcgctcc ggtgcccgtc agtgggcaga gcgcacatcg	1980
	cccacagtcc ccgagaagt ggggggaggg gtcggcaatt gaacgggtgc ctagagaagg	2040
	tggcgcgggg taaactggga aagtgatgtc gtgtactggc tccgcctttt tcccagggt	2100

	gggggagaac cgtatataag tgcagtagtc gccgtgaacg ttctttttcg caacgggttt	2160
	gccccagaa cacagctgaa gcttcgaggg gctcgcactc ctcttcacg cgcccggcgc	2220
	cctacctgag gccgcatcc acgccggttg agtcgcgttc tgccgcctcc cgctgtggt	2280
	gcctcctgaa ctgcgtccgc cgtctaggta agtttaaagc tcaggtcag accgggcctt	2340
	tgtccggcgc tcccttgag cctacctaga ctacagccgc tctccacgt ttgcctgacc	2400
	ctgcttctc aactctacgt ctttgtttcg ttttctgttc tgcgccgta cagatccaag	2460
	ctgtgaccgg cgctactct agagccgcca ccatggcct gcctgtgaca gctctgtctc	2520
	tgctctggc cctgtctct catgccgcca gaccgatat ccagatgacc cagaccacca	2580
	gcagcctgag cgccagcctg ggcgatagag tgaccatcag ctgccgggc agccaggaca	2640
	tcagcaagta cctgaactgg tatcagcaga aaccggacgg caccgtgaag ctgctgatct	2700
	accacaccag cagactgcac agcggcgtgc ccagcagatt ttctggcagc ggctccggca	2760
[0023]	ccgactacag cctgaccatc tccaacctgg aacaggaaga tatcgtacc tacttctgtc	2820
	agcaaggcaa caccctgcc tacaccttcg gcggaggcac caagctgga atcacaggcg	2880
	gcggaggatc tggcggaggt ggaagtggcg gaggcggcag cgaagtgaaa ctgcaggaaa	2940
	gcggccctgg cctggtggcc ctttctcagt ctctgtccgt gacctgtacc gtgtccggcg	3000
	tgtccctgcc cgattatggc gtgtcctgga tccggcagcc tcccagaaag ggcttgaat	3060
	ggctgggcgt gatctggggc agcgagacaa cctactacaa cagcgcctg aagtcccggc	3120
	tgaccatcat caaggacaac tccaagagcc aggtgttctt gaagatgaac agcctgcaga	3180
	ccgacgacac cgccatctac tactgcgcca agcaactata ctacggcggc agctacgcca	3240
	tggactactg gggccagggc accagcgtga ccgtgtctag cacaaccacc cctgccccta	3300
	gacctccac cccagcccca acaattgcc aaccagcctct gtctctgagg cccgaagctt	3360
	gtagacctgc tgccggcgga gccgtgcaca ccagaggact ggatttcgcc tgcgacatct	3420

	acatctgggc ccctctggcc ggcacatgtg gcgtgctgct cctcagcctg gtcatcaccc	3480
	tgtactgcaa gcggggcaga aagaaactgc tctacatctt caagcagccc ttcattgcggc	3540
	ccgtgcagac cacacaggaa gaggacggct gctcctgcag attccccgag gaagaagaag	3600
	gcggctgcga gctgagagtg aagttcagca gatccgccga cgccccctgcc taccagcagg	3660
	gacagaacca gctgtacaac gagctgaacc tgggcagacg ggaagagtac gacgtgctgg	3720
	acaagcggag aggcagagat cccgagatgg gcggcaagcc cagacggaag aatccccagg	3780
	aaggcctgta taacgaactg cagaaagaca agatggccga ggcctacagc gagatcggaa	3840
	tgaagggcga gcggagaaga ggcaagggcc acgatggcct gtaccagggc ctgagcaccg	3900
	ccaccaagga cacctacgat gccctgcaca tgcagccct gccacccaga gaattcgaag	3960
	gatccgcggc cgctgagggc agaggaagtc ttctaacatg cggtgacgtg gaggagaatc	4020
	ccggcccttc cggaatggag agcgcagaga gcggcctgcc cgccatggag atcgagtgcc	4080
[0024]	gcatcacccg caccctgaac ggctgtggagt tcgagctggt gggcggcgga gagggcaccc	4140
	ccaagcaggg ccgcatgacc aacaagatga agagcaccaa aggcgccctg accttcagcc	4200
	cctacctgct gagccacgtg atgggctacg gctttacca cttcggcacc taccacagcg	4260
	gctacgagaa cccttctctg cacgccatca acaacggcgg ctacaccaac acccgcatcg	4320
	agaagtacga ggacggcggc gtgctgcacg tgagcttcag ctaccgctac gaggccggcc	4380
	gcgtgatcgg cgacttcaag gtggtgggca ccggttccc cgaggacagc gtgatcttca	4440
	ccgacaagat catccgcagc aacgccaccg tggagcacct gcaccccatg ggcgataacg	4500
	tgctggtggg cagcttcgcc cgcaccttca gcctgcgcga cggcggctac tacagcttcg	4560
	tggtggacag ccacatgcac ttcaagagcg ccatccacc cagcatcctg cagaacgggg	4620
	gccccatgtt cgccttccgc cgcgtggagg agctgcacag caacaccgag ctgggcatcg	4680
	tggagtacca gcacgccttc aagaccccca tcgccttcgc cagatcccgc gctcagtcgt	4740

	ccaattctgc cgtggacggc accgccggac ccggctccac cggatctcgc tagagctgaa	4800
	tctaagtcga caatcaacct ctggattaca aaatttgtga aagattgact ggtattctta	4860
	actatgttgc tccttttacg ctatgtggat acgctgcttt aatgcctttg tatcatgcta	4920
	ttgcttcccg tatggctttc attttctct ccttgtataa atcctggttg ctgtctcttt	4980
	atgaggagtt gtggcccggt gtcaggcaac gtggcgtggt gtgcactgtg tttgctgacg	5040
	caacccccac tggttggggc attgccacca cctgtcagct cctttccggg actttcgtt	5100
	tccccctccc tattgccacg gcggaactca tcgcgcctg ccttgcccgc tgctggacag	5160
	gggctcggct gttgggcact gacaattccg tgggtttgtc ggggaaatca tcgtcctttc	5220
	cttggctgct cgcctgtgtt gccacctgga ttctgcgcgg gacgtccttc tgctacgtcc	5280
	cttcggccct caatccagcg gaccttcctt cccgcggcct gctgccggct ctgcggcctc	5340
	ttcccgctct tcgccttcgc cctcagacga gtcggatctc cctttgggcc gcctccccgc	5400
[0025]	ctggtacctt taagaccaat gacttacaag gcagctgtag atcttagcca ctttttaaaa	5460
	gaaaaggggg gactggaagg gctaattcac tccaacgaa aataagatct gctttttgct	5520
	tgtactgggt ctctctggtt agaccagatc tgagcctggg agctctcttg ctaactaggg	5580
	aaccactgc ttaagcctca ataaagcttg ccttgagtgc ttcaagtagt gtgtgcccg	5640
	ctgttgtgtg actctggtaa ctagagatcc ctcagacct tttagtcagt gtggaaaatc	5700
	tctagcagta gtagttcatg tcatcttatt attcagtatt tataacttgc aaagaaatga	5760
	atatcagaga gtgagaggaa cttgtttatt gcagcttata atggttacia ataaagcaat	5820
	agcatcacia atttcacaaa taaagcattt ttttcactgc attctagttg tggtttgtcc	5880
	aaactcatca atgtatctta tcatgtctgg ctctagctat cccgcccta actccgccca	5940
	gttccgccca ttctccgcc catggctgac taattttttt tatttatgca gaggccgagg	6000
	ccgcctcggc ctctgageta ttccagaagt agtgaggagg cttttttgga ggcctagact	6060

	tttgacagaga cggcccaaat tcgtaatcat ggtcatagct gtttcctgtg tgaattgtt	6120
	atccgctcac aattccacac aacatacgag ccggaagcat aaagtgtaaa gcctgggggtg	6180
	cctaagtagt gagctaactc acattaattg cgttgcgctc actgcccgtt ttccagtcgg	6240
	gaaacctgtc gtgccagctg cattaatgaa tcggccaacg cgcggggaga ggcggtttgc	6300
	gtattgggcg ctcttccgct tectcgtca ctgactcgtc gcgctcggtc gttcggctgc	6360
	ggcgagcggg atcagctcac tcaaaggcgg taatacgggt atccacagaa tcaggggata	6420
	acgcaggaaa gaacatgtga gcaaaaggcc agcaaaaggc caggaaccgt aaaaaggccg	6480
	cgttgctggc gtttttccat aggtccgcc cccctgacga gcatcacaaa aatcgacgt	6540
	caagtcagag gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata ccaggcgtt ccccctggaa	6600
	gtccctcgt gcgctctcct gttccgacct tgccgcttac cggatacctg tccgccttc	6660
	tcccttcggg aagcgtggcg ctttctcata gctcacgctg taggtatctc agttcgggtg	6720
[0026]	aggtcgttcg ctccaagctg ggctgtgtgc acgaaccccc cgttcagccc gaccgctgcg	6780
	ccttatccgg taactatcgt cttgagtcca acccgtaag acacgactta tcgccactgg	6840
	cagcagccac tggtaacagg attagcagag cgaggtatgt aggcgggtgct acagagttct	6900
	tgaagtgggt gcctaactac ggctacacta gaaggacagt atttggatc tgcgctctgc	6960
	tgaagccagt taccttcgga aaaagagttg gtagctcttg atccggcaaa caaacaccg	7020
	ctggtagcgg tggttttttt gtttgaagc agcagattac gcgcagaaaa aaaggatctc	7080
	aagaagatcc ttgatcttt tctacggggt ctgacgtca gtggaacgaa aactcacgtt	7140
	aagggatfff ggtcatgaga ttatcaaaaa ggatcttcac ctatgcctt ttaaattaaa	7200
	aatgaagttt taaatcaatc taaagtatat atgagtaaac ttggtctgac agttaccaat	7260
	gcttaatcag tgaggcact atctcagca tctgtctatt tegtccatcc atagttgct	7320
	gactccccgt cgtgtagata actacgatac gggagggtt accatctggc cccagtgctg	7380

	caatgatacc gcgagaccca cgctcaccgg ctccagattt atcagcaata aaccagccag	7440
	ccggaagggc cgagcgaga agtggtcctg caactttatc cgctccatc cagtctatta	7500
	attgttgccg ggaagctaga gtaagtagtt cgccagttaa tagtttgccg aacgttggtg	7560
	ccattgctac aggcacgtg gtgtcacgct cgctgtttgg tatggcttca ttcagctccg	7620
	gttcccaacg atcaaggcga gttacatgat ccccatggt gtgcaaaaaa gcggttagct	7680
	ccttcggtcc tccgatcgtt gtcagaagta agttggccgc agtgttatca ctcatggtta	7740
	tggcagcaact gcataattct cttactgtca tgccatccgt aagatgcttt tctgtgactg	7800
	gtgagtactc aaccaagtca ttctgagaat agtgtatgcg gcgaccgagt tgctcttgcc	7860
	cggcgtcaat acgggataat accgcgccac atagcagaac tttaaaagtg ctcatcattg	7920
	gaaaacgttc ttcggggcga aaactctcaa ggatcttacc gctgttgaga tccagttcga	7980
	tgtaaccac tcgtgcacce aactgatctt cagcatcttt tactttcacc agcgtttctg	8040
[0027]	ggtgagcaaa aacaggaagg caaaatgccg caaaaaaggg aataaggcg acacggaat	8100
	gttgaatact catactcttc cttttcaat attattgaag catttatcag ggttattgtc	8160
	tcatgagcgg atacatattt gaatgtattt agaaaaataa acaaataggg gttccgcgca	8220
	catttccccg aaaagtgcc cctgacgtct aagaaacat tattatcatg acattaacct	8280
	ataaaaatag gcgtatcacg aggcccttct gctcgcgcg tttcggatgat gacggtgaaa	8340
	acctctgaca catgcagctc ccggagacgg tcacagcttg tctgtaagcg gatgccggga	8400
	gcagacaagc ccgtcagggc gcgtcagcgg gtgttgccgg gtgtcggggc tggttaact	8460
	atgcggcatc agagcagatt gtactgagag tgcaccatat gcggtgtgaa ataccgcaca	8520
	gatgcgtaag gagaaaatac cgcacagcgc gccattcgcc attcaggctg cgcaactgtt	8580
	gggaaggcg atcgggtcgg gcctcttcgc tattacgcca gctggcgaaa ggggatgtg	8640
	ctgcaaggcg attaagttgg gtaacgccag ggttttccca gtcacgacgt tgtaaacga	8700

	cggccagtgc caagctg	8717
	<210> 11	
	<211> 9046	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸	
	<400> 11	
	acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca	60
	acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcattgccga ttggtggaag taaggtggta	120
	cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggcttgaca tggattggac gaaccactga	180
	attgccgcat tgcagagata ttgtatthaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc	240
[0028]	tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccactgctta	300
	agcctcaata aagcttgcct tgagtgcttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact	360
	ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg	420
	cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcgget	480
	tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaattht	540
	gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag	600
	aattagatcg cgatgggaaa aaattcggtt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt	660
	aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctggt	720
	agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg	780
	atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcattcaag	840
	gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag	900

taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg	960
acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag	1020
caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtgc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag	1080
ctttgttctt tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc	1140
tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtga gcagcagaac aatttgctga	1200
gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcctc aagcagctcc	1260
aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg	1320
gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata	1380
aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa	1440
ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga	1500
acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa	1560
[0029] ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat	1620
agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt	1680
tcagaccac ctccaacce cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg	1740
tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt	1800
aacttttaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtga ggggaaagaa tagtagacat	1860
aatagcaaca gacatacaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt	1920
atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttcctact tggcagtaca	1980
tctacgtatt agtcatcgtt attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc	2040
gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga	2100
gtttgttttg gcaccaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat	2160
tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag	2220

	tgaaccgtca gatcgccctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct	2280
	agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca	2340
	gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct	2400
	ctgggagaca gagtcacat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaa	2460
	tggtatcagc agaaaccaga tggaactggt aaactcctga tctaccatac atcaagatta	2520
	cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc	2580
	attagcaacc tggagcaaga agatatgcc acttactttt gccaacaggg taatacgett	2640
	ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc	2700
	aagcccgat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggatga aactgcagga gtcaggacct	2760
	ggcctggtgg cgccctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta	2820
	cccgactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccacgaa agggctctgga gtggctggga	2880
[0030]	gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc	2940
	atcaaggaca actccaagag ccaagtttcc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac	3000
	acagccattt actactgtgc caaacattat tactacgggtg gtagctatgc tatggactac	3060
	tgggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caattgaagt tatgtatcct	3120
	cctccttacc taggtggcgg cggttctggt ggcggcggtt ctggtggcgg cggttctctc	3180
	gaggtgaatg gagagaatgt ggagcagcat ccttcaacce tgagtgtcca ggaggagac	3240
	agcgtgtta tcaagtgtac ttattcagac agtgcctcaa actacttccc ttggtataag	3300
	caagaacttg gaaaaagacc tcagcttatt atagacattc gttcaaatgt gggcgaaaag	3360
	aaagaccaac gaattgctgt tacattgaac aagacagcca aacatttctc cctgcacatc	3420
	acagagacce aacctgaaga ctcgctgtc tacttctgtg cagcaagtag gaaggactct	3480
	gggggttacc agaaagttac ctttgaact ggaacaaagc tccaagtcac cccaaatac	3540

	cagaaccctg accctgccgt gtaccagctg agagactcta aatccagtga caagtctgtc	3600
	tgcctattca ccgattttga ttctcaaca aatgtgtcac aaagtaagga ttctgatgtg	3660
	tatatcacag acaaaactgt gctagacatg aggtctatgg acttcaagag caacagtgtc	3720
	gtggcctgga gcaacaaatc tgactttgca tgtgcaaacg cttcaacaa cagcattatt	3780
	ccagaagaca ctttettccc cagcccagaa agttcctgtg atgtcaagct ggtcgagaaa	3840
	agctttgaaa cagatacgaa cctaaacttt caaaacctgt cagtgattgg gttccgaatc	3900
	ctctcctga aagtggccgg gtttaactctg ctcatgacgc tgcggctgtg gtccagctga	3960
	taagaattcg atccgcggcc gcgaaggatc tgcgatcgtc ccggtgcccg tcagtgggca	4020
	gagcgacat cgcccacagt ccccagaaag ttggggggag gggtcggcaa ttgaacgggt	4080
	gcctagagaa ggtggcgcgg ggtaaactgg gaaagtgatg tcgtgtactg gctccgcctt	4140
	tttcccaggg gtgggggaga accgtatata agtgcagtag tcgccgtgaa cgttctttt	4200
[0031]	cgcaacgggt ttgccgccag aacacagctg aagcttcgag gggctcgcat ctctcctca	4260
	cgcgcccgcc gccctacctg aggccgccat ccacgccggt tgagtcgctt tctgccgct	4320
	cccgcctgtg gtgcctcctg aactgcgtcc gccgtctagg taagtttaa gctcaggtcg	4380
	agaccgggcc tttgtccggc gctcccttgg agcctaccta gactcagccg gctctccacg	4440
	ctttgcctga cctgcttgc tcaactctac gtctttgitt cgttttctgt tctgcgccgt	4500
	tacagatcca agctgtgacc ggcgcctacg ctagatgacc gagtacaagc ccacggtgcg	4560
	cctcgccacc cgcgacgacg tccccagggc cgtacgcacc ctccgcccg cgttcgccga	4620
	ctaccccgcc acgcgccaca ccgtcgatcc ggaccgccac atcgagcggg tcaccgagct	4680
	gcaagaactc ttctcaccg gcgtcgggct cgacatcggc aaggtgtggg tcgcggacga	4740
	cggcgccgcg gtggcggctt ggaccacgcc ggagagcgtc gaagcggggg cgggtttcgc	4800
	cgagatcggc ccgcgcatgg ccgagttgag cggttcccgg ctggccgcgc agcaacagat	4860

	ggaaggcctc ctggcgccgc accggcccaa ggagcccgcg tggttcctgg ccaccgtcgg	4920
	cgtctcgcgc gaccaccagg gcaaggtctt gggcagcgcc gtcgtgctcc ccggagtgga	4980
	ggcgcccgag cgcgccgggg tgcccgcctt cctggagacc tccgcgcccc gcaacctccc	5040
	cttctacgag cggctcggtt tcaccgtcac cgccgacgtc gaggtgcccc aaggaccgcg	5100
	cacctggtgc atgaccgca agcccgggtc ctgagtcgac aatcaacctc tggattacaa	5160
	aatttgtgaa agattgactg gtattcttaa ctatgttget cttttacgc tatgtggata	5220
	cgctgcttta atgcctttgt atcatgctat tgcttcccgat atggetttca ttttctctc	5280
	cttgataaaa tcctggttgc tgtctcttta tgaggagtgg tggcccgttg tcaggcaacg	5340
	tgcgctggtg tgcactgtgt ttgctgacgc aacccccact ggttggggca ttgccaccac	5400
	ctgtcagctc ctttccggga ctttcgcttt cccctccct attgccacgg cggaactcat	5460
	cgccgcctgc cttgcccgtt gctggacagg ggctcggctg ttgggcaactg acaattccgt	5520
[0032]	ggtgtgtcgc gggaaatcat cgtcctttcc ttggctgctc gcctgtgttg ccacctggat	5580
	tctgcgcggg acgtccttct gctacgtccc ttcggccctc aatccagcgg accttcttc	5640
	ccgcggcctg ctgccggctc tgcggcctct tccgcgtctt cgcttcgcc ctcagacgag	5700
	tcggatctcc ctttgggccg cctccccgcc tggtagcttt aagaccaatg acttacaagg	5760
	cagctgtaga tcttagccac tttttaaag aaaagggggg actggaaggg ctaattcact	5820
	cccaacgaaa ataagatctg ctttttgctt gtactgggtc tctctggtta gaccagatct	5880
	gagcctggga gctctctggc taactaggga acccactgct taagcctcaa taaagcttgc	5940
	cttgagtgct tcaagtagtg tgtgcccgtc tgttgtgtga ctctggtaac tagagatccc	6000
	tcagaccctt ttagtcagtg tggaaaatct ctagcagtag tagttcatgt catcttatta	6060
	ttcagtatth ataacttgca aagaaatgaa tatcagagag tgagaggaac ttgtttattg	6120
	cagcttataa tggttacaaa taaagcaata gcatcacaaa tttcacaaat aaagcatttt	6180

	tttactgca ttctagttgt ggtttgtcca aactcatcaa tgtatcttat catgtctggc	6240
	tctagctatc ccgccctaa ctccgccag ttccgccat tctccgccc atggctgact	6300
	aattttttt atttatgcag aggccgaggc cgctcggcc tctgagctat tccagaagta	6360
	gtgaggaggc ttttttgag gcctagactt ttgcagagac ggcccaaatt cgtaatcatg	6420
	gtcatagctg tttcctgtgt gaaattgtta tccgctcaca attccacaca acatacgagc	6480
	cggaagcata aagtgtaaag cctgggggtgc ctaatgagtg agctaaactca cattaattgc	6540
	gttgcgctca ctgcccgett tccagtcggg aaacctgtcg tgccagctgc attaatgaat	6600
	cgccaacgc gcggggagag gcggtttgcg tattggggcg tcttccgett cctcgctcac	6660
	tgactcgctg cgctcggtcg ttcggctgcg gcgagcggta tcagctcact caaaggcgg	6720
	aatacggtta tccacagaat caggggataa cgcaggaag aacatgtgag caaaaggcca	6780
	gcaaaaggcc aggaaccgta aaaaggccgc gttgctggcg ttttccata ggctccgccc	6840
[0033]	ccctgacgag catcacaaa atcgacgctc aagtcagagg tggcgaacc cgacaggact	6900
	ataaagatac caggcgttc cccctggaag ctccctctg cgctctctg tccgacct	6960
	gccgcttacc ggatacctgt ccgcctttct cccttcggga agcgtggcgc tttctcatag	7020
	ctcacgctgt aggtatctca gttcggtgta ggtcgttcgc tccaagctgg gctgtgtgca	7080
	cgaaccccc gttcagcccc accgctgcgc cttatccggt aactatcgtc ttgagtccaa	7140
	cccgtaaga cagacttat cgccactggc agcagccact ggtaacagga ttagcagagc	7200
	gaggtatgta ggcggtgcta cagagttctt gaagtgttg cctaactacg gctacactag	7260
	aaggacagta ttggtatct gcgctctgct gaagccagtt accttcgga aaagagttgg	7320
	tagctcttga tccggcaaac aaaccaccgc tggtagcggg ggttttttg ttgcaagca	7380
	gcagattacg cgcagaaaa aaggatctca agaagatcct ttgatcttt ctacggggtc	7440
	tgacgctcag tggaacgaaa actcacgta agggatttg gtcatgagat tatcaaaaag	7500

	gatcttcacc tagatccttt taaattaa atgaagtttt aatcaatct aaagtatata	7560
	tgagtaaact tggcttgaca gttaccaatg cttaatcagt gaggcaccta tctcagcgat	7620
	ctgtctattht cgttcatcca tagttgectg actccccctc gtgtagataa ctacgatacg	7680
	ggagggctta ccatctggcc ccagtgtgc aatgataccg cgagaccac gctcaccggc	7740
	tccagattta tcagcaataa accagccagc cggaagggcc gagcgcagaa gtggtcctgc	7800
	aaatttatcc gctccatcc agtctattaa ttgttgccgg gaagctagag taagtagttc	7860
	gccagttaat agtttgcgca acgttggtgc cattgctaca ggcatcgtgg tgtcacgctc	7920
	gtcgtttggt atggcttcat tcagctccgg ttcccaacga tcaaggcgag ttacatgatc	7980
	ccccatgttg tgcaaaaaag cggttagctc ctccggtcct ccgatcgttg tcagaagtaa	8040
	gttgcccgca gtgttatcac tcatggttat ggcagcactg cataattctc ttactgtcat	8100
	gccatccgta agatgctttt ctgtgactgg tgagtactca accaagtcac tctgagaata	8160
[0034]	gtgtatgcgg cgaccgagtt gctcttgccc ggcgtcaata cgggataata ccgcgccaca	8220
	tagcagaact taaaagtgc tcatcattgg aaaacgttct tcggggcgaa aactctcaag	8280
	gatcttaccg ctggtgagat ccagttcgat gtaaccact cgtgcacca actgatcttc	8340
	agcatctttt actttacca gcgtttctgg gtgagcaaaa acaggaaggc aaaatgccgc	8400
	aaaaaagga ataaggcgca cacggaaatg ttgaatactc atactcttc tttttcaata	8460
	ttattgaagc atttatcagg gttattgtct catgagcgga tacatatttg aatgtattta	8520
	gaaaaataaa caaatagggg ttccgcgcac atttccccga aaagtgccac ctgacgtcta	8580
	agaaaccatt attatcatga cattaaccta taaaaatagg cgtatcacga ggccctttcg	8640
	tctcgcgctt ttccggtgatg acggtgaaaa cctctgacac atgcagctcc cggagacggt	8700
	cacagcttgt ctgtaagcgg atgccgggag cagacaagcc cgtcagggcg cgtcagcggg	8760
	tgttgccggg tgtcgggct ggcttaacta tgcggcatca gagcagattg tactgagagt	8820

	gcaccatgatg cgggtgtgaaa taccgcacag atgcgtaagg agaaaatacc gcatcaggcg	8880
	ccattcgcca ttcaggctgc gcaactgttg ggaaggcgga tcggtgcggg cctcttcgct	8940
	attacgccag ctggcgaaag ggggatgtgc tgcaaggcga ttaagttggg taacgccagg	9000
	gttttcccag tcacgacggt gtaaaacgac ggccagtgcc aagctg	9046
	<210> 12	
	<211> 8698	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸	
	<400> 12	
	acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca	60
[0035]	acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taaggtggta	120
	cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac ggtctgaca tggattggac gaaccactga	180
	attgccgat tgcaagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc	240
	tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actaggaac ccaactgctta	300
	agcctcaata aagcttgctt tgagtgttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact	360
	ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg	420
	cccgaacagg gacctgaaag cgaaaggga accagagctc tctcgacgca ggactcggct	480
	tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgagg gcgcgactg gtgagtacgc caaaaatttt	540
	gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag	600
	aattagatcg cgatgggaaa aaattcggtt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt	660
	aaaacatata gtatgggcaa gcaggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctggt	720
	agaaacatca gaagctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg	780

	atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcatacaaag	840
	gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag	900
	taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg	960
	acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag	1020
	caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag	1080
	ctttgttct tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc	1140
	tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtga gcagcagaac aatttgctga	1200
	gggtattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcacc aagcagctcc	1260
	aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg	1320
	gttgcctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata	1380
	aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa	1440
[0036]	ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga	1500
	acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa	1560
	ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat	1620
	agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt	1680
	tcagaccac ctccaaccc cgaggggacc cgacagccc gaaggaatag aagaagaagg	1740
	tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt	1800
	aacttttaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtga ggggaaagaa tagtagacat	1860
	aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt	1920
	atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttcctact tggcagtaca	1980
	tctacgtatt agtcatcget attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc	2040
	gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga	2100

	gtttgttttg gcaccaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat	2160
	tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag	2220
	tgaaccgtca gatcgcttg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct	2280
	agagccgcca ccattgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca	2340
	gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctccct gctcgcctct	2400
	ctgggagaca gagtcaccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaa	2460
	tggtatcagc agaaaccaga tggaactggt aaactcctga tctaccatac atcaagatta	2520
	cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc	2580
	attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgtt	2640
	ccgtacacgt tcggaggggg gactaagtgg gaaataacag gctccacctc tggatccggc	2700
	aagcccgat ctggcgaggg atccaccaag ggcgagggtga aactgcagga gtcaggacct	2760
[0037]	ggcctgggtg cgcctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta	2820
	cccgactatg gtgtaagctg gattcggcag cctccacgaa agggctctgga tgggctggga	2880
	gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc	2940
	atcaaggaca actccaagag ccaagtttcc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac	3000
	acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac	3060
	tgggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caattgaagt tatgtatcct	3120
	cctccttacc taggtggcgg cggttctggt ggcggcggtt ctggtggcgg cggttctctc	3180
	gagccaaata tccagaacce tgacctgcc gtgtaccagc tgagagactc taaatccagt	3240
	gacaagtctg tctgctatt caccgatttt gattctcaaa caaatgtgtc acaaagtaag	3300
	gattctgatg tgtatatcac agacaaaact gtgctagaca tgaggtctat ggacttcaag	3360
	agcaacagtg ctgtggcctg gagcaacaaa tctgactttg catgtgcaaa cgccttcaac	3420

	aacagcatta ttccagaaga caccttcttc cccagcccag aaagttcctg tgatgtcaag	3480
	ctggtcgaga aaagctttga aacagatacg aacctaaact ttcaaacct gtcagtgatt	3540
	gggttccgaa tctctctcct gaaagtggcc gggtttaatc tgctcatgac gctgcggctg	3600
	tggfccagct gataagaatt cgatccgagg ccgcgaagga tctgcgatcg ctccgggtgcc	3660
	cgtcagtgagg cagagcgcac atcgcaccaca gtccccgaga agttgggggg aggggtcggc	3720
	aattgaacgg gtgcctagag aaggtggcgc ggggtaaact gggaaagtga tgtcgtgtac	3780
	tggtccgcc tttttcccga ggggtggggga gaaccgtata taagtgcagt agtcgccgtg	3840
	aacgttcttt ttcgcaacgg gtttccgcc agaacacagc tgaagcttcg aggggtcgc	3900
	atctctctt cacgcgcccg ccgccctacc tgaggccgcc atccacgcc gttgagtcgc	3960
	gttctgccgc ctcccgctg tgggtccctc tgaactgcgt ccgccgtcta ggtaagtta	4020
	aagctcaggt cgagaccggg cctttgtccg gcgctccctt ggagcctacc tagactcagc	4080
[0038]	cggtctcca cgctttgcct gacctgctt gctcaactct acgtctttgt ttcgtttct	4140
	gttctgcgcc gttacagatc caagctgtga ccggcgccta cgctagatga ccgagtacaa	4200
	gcccacggtg cgctcgcca cccgcgacga cgtccccagg gccgtacgca ccctcgccgc	4260
	cggttcgcc gactaccccg ccacgcgcca caccgtgat ccggaccgcc acatcgagcg	4320
	ggtcaccgag ctgcaagaac tcttctcac gcgcgtcggg ctcgacatcg gcaaggtgtg	4380
	ggtcgcggac gacggcggc cggtggcggg ctggaccacg ccggagagcg tcgaagcggg	4440
	ggcgggtgtc gccgagatcg gcccgcgat ggccgagttg agcggttccc ggctggccgc	4500
	gcagcaacag atggaaggcc tcttggcgc gcaccgccc aaggagccc cgtggttct	4560
	ggccaccgtc ggcgtctcgc ccgaccacca gggcaagggt ctgggcagcg ccgtcgtgt	4620
	ccccggagtg gaggcggccg agcgcgccgg ggtgcccc ttcttgaga cctccgcgcc	4680
	ccgcaacctc cccttctacg agcggctcgg cttcacctc accgccgacg tcgaggtgcc	4740

	cgaaggaccg cgcacctggt gcatgacccg caagccccgt gcctgagtcg acaatcaacc	4800
	tctggattac aaaatttgtg aaagattgac tggatttctt aactatgttg ctccctttac	4860
	gctatgtgga tacgctgctt taatgccttt gtatcatgct attgcttccc gtatggcttt	4920
	cattttctcc tccttgata aatcctggtt gctgtctctt tatgaggagt tgtggcccgt	4980
	tgtcaggcaa cgtggcgtgg tgtgcaactgt gtttgctgac gcaacccccca ctggttgggg	5040
	cattgccacc acctgtcagc tcctttccgg gactttcget ttccccctcc ctattgccac	5100
	ggcggaacte atgcgcctt gccttgcccg ctgctggaca ggggctcggc tgttgggcac	5160
	tgacaattcc gtgggtttgt cggggaaatc atcgtccttt ccttggctgc tcgctgtgt	5220
	tgccacctgg attctgcgcg ggacgtcctt ctgctacgtc ccttcggccc tcaatccagc	5280
	ggaccttctt tcccggggcc tgctgccggc tctgcccctt cttccgcgtc ttcgccttcg	5340
	ccctcagacg agtcggatct ccctttgggc cgcctccccg cctggtacct ttaagaccaa	5400
[0039]	tgacttaciaa ggcagctgta gatcttagcc actttttaa agaaaagggg ggactggaag	5460
	ggctaattca ctcccaacga aaataagatc tgctttttgc ttgtactggg tctctctggt	5520
	tagaccagat ctgagcctgg gagctctctg gctaactagg gaaccactg cttaaagcctc	5580
	aataaagctt gccttgagtg cttcaagtag tgtgtgcccg tctgttgtgt gactctggt	5640
	actagagatc cctcagacce ttttagtcag tgtggaaaat ctctagcagt agtagttcat	5700
	gtcatcttat tattcagtat ttataacttg caaagaaatg aatatcagag agtgagagga	5760
	acttgtttat tgcagcttat aatggttaca aataaagcaa tagcatcaca aatttcacia	5820
	ataaagcatt ttttcaactg cattctagtt gtggtttgtc caaactcacc aatgtatctt	5880
	atcatgtctg gctctageta tcccgccctt aactccgccc agttccgccc attctccgcc	5940
	ccatggctga ctaatttttt ttatttatgc agaggccgag gccgcctcgg cctctgagct	6000
	attccagaag tagtgaggag gcttttttgg aggcctagac ttttgcagag acggcccaaa	6060

	ttcgtaatca tggatcatagc tgtttcctgt gtgaaattgt tatccgctca caattccaca	6120
	caacatacga gccggaagca taaagtgtaa agcctggggt gcctaatgag tgagctaact	6180
	cacattaatt gcgttgcgct cactgcccgc tttccagtcg ggaaacctgt cgtgccagct	6240
	gcattaatga atcggccaac gcgcggggag aggcggtttg cgtattgggc gctcttccgc	6300
	ttcctcgtc actgactcgc tgcgctcggt cgttcggctg cggcgagcgg tatcagctca	6360
	ctcaaaggcg gtaatacggg tatccacaga atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg	6420
	agcaaaaggc cagcaaaagg ccaggaaccg taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca	6480
	taggetccgc cccctgacg agcatcacia aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa	6540
	cccgacagga ctataaagat accaggcgtt tccccctgga agctccctcg tgcgctctcc	6600
	tgttccgacc ctgccgctta cgggatacct gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc	6660
	gctttctcat agctcacgct gtaggtatct cagttcggtg taggtcgttc gctccaagct	6720
[0040]	gggctgtgtg cacgaacccc ccgttcagcc cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg	6780
	tcttgagtcc aaccggtaa gacacgactt atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag	6840
	gattagcaga gcgaggtatg taggcggtgc tacagagttc ttgaagtggg ggcctaacta	6900
	cggctacact agaaggacag tatttggat ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg	6960
	aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa acaaaccacc gctggtagcg gtggttttt	7020
	tgtttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt	7080
	ttctacgggg tctgacgctc agtggaaacga aaactcacgt taagggattt tggatcatgag	7140
	attatcaaaa aggatcttca cctagatcct tttaaattaa aatgaagtt ttaaatcaat	7200
	ctaaagtata tatgagtaaa cttggctctga cagttaccaa tgcttaatca gtgaggcacc	7260
	tatctcagcg atctgtctat ttcgttcac catagttgcc tgactccccg tcgtgtagat	7320
	aactacgata cgggagggt taccatctgg cccagtgct gcaatgatac cgcgagacc	7380

	acgctcaccg gctccagatt tadcagcaat aaaccagcca gccggaaggc ccgagcgcag	7440
	aagtggctct gcaactttat ccgcctccat ccagtctatt aattgttgcc gggaagctag	7500
	agtaagtagt tcgccagtta atagtttgcg caacgttggt gccattgcta caggcatcgt	7560
	ggtgtcacgc tcgtcgtttg gtatggcttc attcagctcc ggttccaac gatcaaggcg	7620
	agttacatga tccccatgt tgtgcaaaaa agcggttagc tcttcggtc ctccgatcgt	7680
	tgtcagaagt aagttagccg cagtgttacc actcatggtt atggcagcac tgcataattc	7740
	tcttactgtc atgccatccg taagatgctt ttctgtgact ggtgagtact caaccaagtc	7800
	attctgagaa tagtgtatgc ggcgaccgag ttgctcttgc ccggcgtcaa tacgggataa	7860
	taccgcgcca catagcagaa ctttaaaagt gctcatcatt ggaaaacgtt cttcggggcg	7920
	aaaactctca aggatcttac cgctgttgag atccagttcg atgtaacca ctcgtgcacc	7980
[0041]	caactgatct tcagcatctt ttactttcac cagcgtttct gggtagcaa aaacaggaag	8040
	gcaaaatgcc gcaaaaaagg gaataagggc gacacggaaa tgttgaatac tcatactctt	8100
	cctttttcaa tattattgaa gcatttatca gggttattgt ctcatgagcg gatacatatt	8160
	tgaatgtatt tagaaaaata acaaatagg ggttccgcgc acatttccc gaaaagtgcc	8220
	acctgacgtc taagaaacca ttattatcat gacattaacc tataaaaata ggcgtatcac	8280
	gaggcccttt cgtctcgcgc gtttcggtga tgacggtgaa aacctctgac acatgcagct	8340
	cccggagacg gtcacagctt gtctgtaagc ggatgccggg agcagacaag cccgtcaggc	8400
	cgcgtcagcg ggtgttgcg ggtgtcgggg ctggcttaac tatgcggcat cagagcagat	8460
	tgtaactgaga gtgcaccata tgcggtgtga aataaccgac agatgcgtaa ggagaaaata	8520
	ccgcatcagg cgccattcgc cattcaggct gcgcaactgt tgggaagggc gatcggtgcg	8580
	ggcctcttcg ctattacgcc agctggcgaa aggggatgt gctgcaaggc gattaagttg	8640
	ggtaacgcca gggttttccc agtcacgac ttgtaaaacg acggccagtg ccaagctg	8698

<210> 13  
 <211> 9163  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<400> 13  
 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca 60  
 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcattgccga ttggtggaag taagggtgta 120  
 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga 180  
 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc 240  
 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actaggaac ccaactgctta 300  
 [0042] agcctcaata aagcttgccct tgagtgcttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact 360  
 ctggttaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg 420  
 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct 480  
 tgctgaagcg cgcacggcaa gagcgaggg gcgcgactg gtgagtacgc caaaaatttt 540  
 gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag 600  
 aattagatcg cgatgggaaa aaattcggtt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt 660  
 aaaacatata gtatgggcaa gcaggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctggt 720  
 agaaacatca gaaggtgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg 780  
 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcattcaag 840  
 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag 900  
 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg 960

	acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag	1020
	caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtgc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag	1080
	ctttgttctt tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc	1140
	tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtga gcagcagaac aatttctga	1200
	gggctattga ggcgcaacag catctgttg aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc	1260
	aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg	1320
	gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata	1380
	aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa	1440
	ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga	1500
	acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttggg aattggttta acataacaaa	1560
	ttggctgtgg tatataaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat	1620
[0043]	agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt	1680
	tcagaccac ctccaacce cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg	1740
	tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt	1800
	aacttttaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtga ggggaaagaa tagtagacat	1860
	aatagcaaca gacatacaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaat tcaaaatttt	1920
	atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ctttatggga ctttctact tggcagtaca	1980
	tctacgtatt agtcatcgtt attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc	2040
	gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga	2100
	gtttgttttg gcacaaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat	2160
	tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag	2220
	tgaaccgtca gatcgcttgg agacccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct	2280

	agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacaccca	2340
	gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct	2400
	ctgggagaca gagtcccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaa	2460
	tggtatcagc agaaaccaga tggaactggt aaactcctga tctaccatac atcaagatta	2520
	cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc	2580
	attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgtt	2640
	ccgtacacgt tccgaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc	2700
	aagcccgat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct	2760
	ggcctgggtg cgccctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta	2820
	cccgactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccacgaa agggctctgga gtggctggga	2880
	gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc	2940
[0044]	atcaaggaca actccaagag ccaagtttcc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac	3000
	acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac	3060
	tgggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caattgaagt tatgtatcct	3120
	cctccttacc taggtggcgg cggttctggt ggcggcggtt ctggtggcgg cggttctctc	3180
	gagctgggag caggcccagt ggattctgga gtcacacaaa ccccaaagca cctgatcaca	3240
	gcaactggac agcgagtgac gctgagatgc tcccctaggt ctggagacct ctctgtgtca	3300
	tggtaccaac agagcctgga ccaggcctc cagttctca ttcagtatta taatggagaa	3360
	gagagagcaa aaggaaacat tcttgaacga ttctccgcac aacagttccc tgacttgcac	3420
	tctgaactaa acctgagctc tctggagctg ggggactcag ctttgtattt ctgtgccagc	3480
	agccccgga caggcctgaa cactgaagct ttctttggac aaggcaccag actcacagtt	3540
	gtagaggacc tgaacaaggt gttcccacc gagtctctg tgtttgagcc atcagaagca	3600

	gagatctccc acacccaaaa ggccacactg gtgtgcctgg ccacaggctt cttcccgcac	3660
	cacgtggagc tgagctggtg ggtgaatggg aaggaggtgc acagtggggt cagcacggac	3720
	ccgcagcccc tcaaggagca gcccgcctc aatgactcca gatactgcct ggcagccgc	3780
	ctgagggtct cggccacctt ctggcagaac ccccgcaacc acttccgctg tcaagtccag	3840
	ttctacgggc tctcggagaa tgacgagtgg acccaggata gggccaaacc cgtcaccag	3900
	atcgtcagcg ccgaggcctg gggtagagca gactgtggtt ttacctcgtt gtccaccag	3960
	caaggggtcc tgtctgccac catcctctat gagatctgc tagggaagge caccctgtat	4020
	gctgtgctgg tcagcgcctt tgtgttgatg gccatggtca agagaaagga tttctgataa	4080
	gaattcgatc cgcggccgcg aaggatctgc gatcgtccg gtgcccgtca gtgggcagag	4140
	cgcacatcgc ccacagtccc cgagaagtgg gggggagggg tcggcaattg aacgggtgcc	4200
	tagagaaggt ggcgcggggt aaactgggaa agtgatgtcg tgtactggct ccgcctttt	4260
[0045]	cccgagggtg ggggagaacc gtatataagt gcagtagtgc ccgtgaacgt tctttttcgc	4320
	aacgggtttg ccgccagaac acagctgaag ctccgagggg ctccatctc tccttcacgc	4380
	gcccggccc ctacctgagg ccgccatcca cgcggttga gtcgcttct gccgcctccc	4440
	gcctgtggtg cctcctgaac tgcgtccgcc gtctaggtaa gtttaaagct caggtcgaga	4500
	ccgggccttt gtccggcgtt cccttgagc ctacctagac tcagccggtt ctccacgctt	4560
	tgctgacctg tgettgetca actctacgtc tttgtttcgt tttctgttct gcgccgttac	4620
	agatccaagc tgtgaccggc gcctacgcta gatgaccgag tacaagccca cgggtgcct	4680
	cgccaccgcg gacgacgtcc ccagggccgt acgcaccctc gccgccggtt tcgccgacta	4740
	ccccgccag cgccacaccg tcgatccgga ccgccacatc gagcgggtca ccgagctgca	4800
	agaactcttc ctacgcgcg tcgggctcga catcggcaag gtgtgggtcg cggacgacgg	4860
	cgccgcggtg gcggtctgga ccaccccga gagcgtcga gggggggcgg ttttcgccga	4920

	gatcggcccg cgcatggccg agttgagcgg ttcccggctg gccgcgcagc aacagatgga	4980
	aggcctcctg gcgccgcacc ggcccaagga gcccgcgtgg ttcttgcca ccgtcggcgt	5040
	ctcggccgac caccagggca aggtcttggg cagcgcctgc gtgctccccg gagtggagge	5100
	ggccgagcgc gccgggggtgc ccgccttctt ggagacctcc gcgccccgca acctcccctt	5160
	ctacgagcgg ctcggttca ccgtcaccgc cgacgtcgag gtgcccgaag gaccgcgcac	5220
	ctggtgcatg acccgcaagc ccggtgcctg agtcgacaat caacctctgg attacaaaat	5280
	ttgtgaaaga ttgactggta ttcttaacta tgttgctcct tttacgtat gtggatacgc	5340
	tgctttaatg cctttgtatc atgtattgc ttcccgtatg gctttcattt tctcctcctt	5400
	gtataaatcc tggttgctgt ctctttatga ggagttgtgg cccgttgta ggcaacgtgg	5460
	cgtggtgtgc actgtgtttg ctgacgcaac cccactggt tggggcattg ccaccacctg	5520
	tcagctcctt tccgggactt tcgctttccc cctccctatt gccacggcgg aactcatcgc	5580
[0046]	cgctgcctt gcccgctgct ggacaggggc tcggctgttg ggcaactgaca attccgtggt	5640
	gttgtcgggg aaatcatcgt cctttccttg gctgctcgc tgtgttgcca cctggattct	5700
	gcgcgggacg tccttctgct acgtcccttc gccctcaat ccagcggacc ttccttcccg	5760
	cgccctgctg ccggctctgc gccctcttc gcgtcttgc cttcgcctc agacgagtcg	5820
	gatctccctt tgggccgcct cccgcctgg tacctttaag accaatgact tacaaggcag	5880
	ctgtagatct tagccacttt ttaaaagaaa aggggggact ggaagggcta attcactccc	5940
	aacgaaaata agatctgctt tttgcttgta ctgggtctct ctggttagac cagatctgag	6000
	cctgggagct ctctggctaa ctaggaacc cactgcttaa gctcaataa agcttgctt	6060
	gagtgettca agtagtgtgt gccctctgt tgtgtgactc tggtaactag agatccctca	6120
	gaccctttta gtcagtgtgg aaaatctcta gcagtagtag ttcattgcat cttattatc	6180
	agtatttata acttgcaaag aatgaatat cagagagtga gaggaacttg tttattgcag	6240

	cttataatgg ttacaaataa agcaatagca tcacaaatTT cacaataaaa gcattTTTT	6300
	cactgcattc tagttTgtgt ttgtccaaac tcatcaatgt atcttatcat gtctgTctct	6360
	agctatcccg ccctaactc cgcccagTtc cgcccattct cgccccatg gctgactaat	6420
	TTTTTTtatt tatgcagagg cGaggccgc ctGgGctct gagctattcc agaagtagtg	6480
	aggaggcttt ttggaggcc tagactTTtg cagagacggc ccaaattcgt aatcatgTtc	6540
	atagetgttt cctgtgtgaa attgttatcc gTcacaatt ccacacaaca tacgagccgg	6600
	aagcataaag tgtaaagcct ggggtgccta atgagtgagc taactcacat taattgctt	6660
	gcgtcactg cccgctttcc agtcgggaaa cctgtcgtgc cagctgcatt aatgaatcg	6720
	ccaacgcgcg gggagaggcg gtttgcgtat tgggcgtct tccgcttcc cgctcactga	6780
	ctcgtgcgc tcggtcgttc ggctgcggcg agcggtatca gTcactcaa aggcgTaat	6840
	acggttatcc acagaatcag gggataacgc aggaaagaac atgtgagcaa aaggccagca	6900
[0047]	aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcgtt gctggcgttt ttccataggc tccgcccc	6960
	tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggTgg cgaaaccga caggactata	7020
	aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc tctcctgttc cgaccctgcc	7080
	gcttaccgga tacctgtccg cttttctccc ttcgggaagc gtggcgttt cTcatagctc	7140
	acgctgtagg tatctcagtt cggTtaggt cgttcctcc aagctgggct gtgtgcacga	7200
	acccccgtt cagccccacc gctgcgcctt atccgTaac tatcgtcttg agtccaacce	7260
	ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt aacaggatta gcagagcgag	7320
	gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtggtggcct aactacggct aactagaag	7380
	gacagtattt ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc ttcggaaaaa gagttgtag	7440
	ctcttgatcc ggcaaaaaa ccaccgtgg tagcggTgtt tttttgttt gcaagcagca	7500
	gattacgcgc agaaaaaag gatctcaaga agatcctttg atcttttcta cggggtctga	7560

	cgctcagtgg aacgaaaact cacgttaagg gattttggtc atgagattat caaaaaggat	7620
	cttcacctag atccttttaa attaaaaatg aagtttttaa tcaatctaaa gtatatatga	7680
	gtaaacttgg tctgacagtt accaatgctt aatcagttag gcacctatct cagcgatctg	7740
	tctatttcgt tcatccatag ttgcctgact ccccgctctg tagataacta cgatacggga	7800
	gggcttacca tctggcccca gtgctgcaat gataccgcca gaccacgct caccggctcc	7860
	agatttatca gcaataaacc agccagccgg aagggccgag cgcagaagtg gtctgcaac	7920
	tttatccgcc tccatccagt ctattaattg ttgccgggaa gctagagtaa gtagttcgcc	7980
	agttaatagt ttgcgcaacg ttgttgccat tgctacaggc atcgtgggtg cacgctctgc	8040
	gtttggtagt gcttcattca gctccggctc ccaacgatca aggcgagtta catgateccc	8100
	catgttgtgc aaaaaagcgg ttagctcctt cggctctccg atcgttgtca gaagtaagtt	8160
	ggccgcagtg ttatcactca tggttatggc agcactgcat aattctctta ctgtcatgcc	8220
[0048]	atccgtaaga tgctttctg tgactgggta gtactcaacc aagtcattct gagaatagtg	8280
	tatgcggcga cagagttgct cttgcccgcc gtcaatacgg gataataccg cgccacatag	8340
	cagaacttta aaagtgtca tcattgaaa acgttcttcg gggcgaaaac tctcaaggat	8400
	cttaccgctg ttgagatcca gttcgatgta acccactcgt gcaccaact gatcttcagc	8460
	atcttttact ttcaccagcg tttctgggtg agcaaaaaca ggaaggcaaa atgccgcaaa	8520
	aaaggaata agggcgacac ggaaatgtg aatactcata ctcttccttt ttcaatatta	8580
	ttgaagcatt tatcaggggt attgtctcat gagcggatac atatttgaat gtatttagaa	8640
	aaataaacia ataggggttc cgcgcacatt tccccgaaaa gtgccacctg acgtetaaga	8700
	aaccattatt atcatgacat taacctataa aaatagcgt atcacgagc cctttcgtct	8760
	cgcgctttc ggtgatgacg gtgaaaacct ctgacacatg cagctcccgg agacggtcac	8820
	agcttgtctg taagcggatg ccgggagcag acaagccctg caggcgcgt cagcgggtgt	8880

	tgccgggtgt cggggctggc ttaactatgc ggcacagag cagattgtac tgagagtga	8940
	ccatatgcgg tgtgaaatac cgcacagatg cgtaaggaga aaataccgca tcaggcgcca	9000
	ttgccattc aggctgcgca actgttggga agggcgatcg gtgcgggect cttcgtatt	9060
	acgccagctg gcgaaaggg gatgtgctgc aaggcgatta agttgggtaa cgccagggtt	9120
	ttcccagtca cgacgttgta aaacgacggc cagtccaag ctg	9163
	<210> 14	
	<211> 8803	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸	
	<400> 14	
[0049]	acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca	60
	acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taaggtgta	120
	cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac ggtctgaca tggattggac gaaccactga	180
	attgccgat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc	240
	tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actaggaac cactgctta	300
	agcctcaata aagcttgect tgagtgettc aagtagtggtg tgcccgtctg ttgtgtgact	360
	ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg	420
	cccgaacagg gacctgaaag cgaaaggga accagagctc tctcgacgca ggactcggct	480
	tgctgaagcg cgcacggcaa gagcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt	540
	gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag	600
	aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggtt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt	660
	aaaacatata gtatgggcaa gcaggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt	720

	agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg	780
	atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcataaag	840
	gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag	900
	taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg	960
	acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag	1020
	caccaccaa ggcaaagaga agagtggcgc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag	1080
	ctttgttct tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc	1140
	tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgea gcagcagaac aatttgctga	1200
	gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcacc aagcagctcc	1260
	aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg	1320
	gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata	1380
[0050]	aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa	1440
	ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga	1500
	acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgttg aattggttta acataacaaa	1560
	ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gttaagaat	1620
	agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt	1680
	tcagaccac ctccaacce cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg	1740
	tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcgtt	1800
	aacttttaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgea ggggaaagaa tagtagacat	1860
	aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt	1920
	atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttctact tggcagtaca	1980
	tctacgtatt agtcatcget attacatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc	2040

	gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga	2100
	gtttgttttg gcacccaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat	2160
	tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag	2220
	tgaaccgtca gatcgcttgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct	2280
	agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca	2340
	gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctcct gtctgctct	2400
	ctgggagaca gagtcacat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaa	2460
	tggtatcagc agaaaccaga tggaactggt aaactcctga tctaccatac atcaagatta	2520
	cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctacc	2580
	attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgtt	2640
	ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc	2700
[0051]	aagcccgat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggatg aactgcagga gtcaggacct	2760
	ggcctggtgg cgcctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta	2820
	cccactatg gtgtaagctg gattcgcag cctccacgaa agggctctgga gtggctggga	2880
	gtaatatggg gtagtgaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc	2940
	atcaaggaca actccaagag ccaagtttct ttaaaaatga acagctgca aactgatgac	3000
	acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac	3060
	tgggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caattgaagt tatgtatcct	3120
	cctccttacc taggtggcgg cggttctggt ggcggcggtt ctggtggcgg cggttctctc	3180
	gaggaggacc tgaacaaggt gttcccacce gaggtegetg tgtttgagcc atcagaagca	3240
	gagatctccc acacccaaaa ggccacactg gtgtgcttgg ccacaggctt cttcccgcac	3300
	cacgtggagc tgagctggtg ggtgaatggg aaggaggctc acagtggggt cagcacagac	3360

	ccgcagcccc tcaaggagca gcccgcctc aatgactcca gatactgcct ggcagccgc	3420
	ctgaggtct cgccacctt ctggcagaac ccccgcaacc acttccgctg tcaagtccag	3480
	ttctacgggc tctcggagaa tgacgagtgg acccaggata gggccaaacc cgtcaccag	3540
	atcgtcagcg ccgaggcctg gggtagagca gactgtggct ttacctggt gtctaccag	3600
	caaggggtcc tgtctgccac catcctctat gagatctgc tagggaagc caccctgtat	3660
	gctgtgctgg tcagcgcctt tgtgttgatg gccatggtca agagaaagga tttctgataa	3720
	gaattcgatc cgcggccgcg aaggatctgc gatcgctccg gtgcccgtca gtggcagag	3780
	cgcacatcgc ccacagtccc cgagaagttg gggggagggg tcggcaattg aacgggtgcc	3840
	tagagaaggt ggcgcggggt aaactgggaa agtgatgtcg tgtactggt cgcctttt	3900
	cccagggtg ggggagaacc gtatataagt gcagtagtgc ccgtgaacgt tctttttcgc	3960
	aacgggtttg ccgccagaac acagctgaag ctccgagggg ctccatctc tccttcacgc	4020
[0052]	gcccgcgcc ctacctgagg ccgccatcca cgccggttga gtcgcttct gccgcctccc	4080
	gcctgtggtg cctcctgaac tgcgtccgcc gtctaggtaa gtttaaagct caggctcaga	4140
	ccgggccttt gtccgcgct cccttgagc ctacctagac tcagccggt ctccacgctt	4200
	tgctgacctg tcttctca actctacgtc ttgtttctgt tttctgttct gcgccgttac	4260
	agatccaagc tgtgaccggc gcctacgcta gatgaccgag tacaagcca cggctgcct	4320
	cgccaccgc gacgacgtcc ccaggccgt acgaccctc gcccccgct tcgccacta	4380
	ccccccaag cgccacaccg tcgatccgga ccgccacatc gagcgggtca ccgagctgca	4440
	agaactcttc ctacgcgcg tcgggctcga catcgcaag gtgtgggtcg cggacgacgg	4500
	cgccgcggtg gcggtctgga ccaccggga gagcgtcga gggggggcg tgctgccga	4560
	gatcggccc cgcatggccg agttgagcgg ttcccgtg gccgcgacg aacagatgga	4620
	aggctctctg gcgccgacc ggccaagga gcccgctgg ttctggcca ccgtcggct	4680

	ctcgcccgac caccagggca aggtcttggg cagcgccgtc gtgctccccg gaggaggagc	4740
	ggccgagcgc gccgggggtgc ccgccttctt ggagacctcc gcgccccgca acctccccctt	4800
	ctacgagcgg ctcggttca ccgtcaccgc cgacgtcgag gtgcccgaag gaccgcgcac	4860
	ctgggtcatg acccgcaagc ccggtgcctg agtcgacaat caacctctgg attacaaaat	4920
	ttgtgaaaga ttgactggta ttcttaacta tgttgctcct tttacgtat gtggatacgc	4980
	tgctttaatg cctttgtatc atgctattgc ttcccgtatg gctttcattt tctcctcctt	5040
	gtataaatcc tggttgctgt ctctttatga ggagttgtgg cccgttgta ggcaacgtgg	5100
	cgtgggtgac actgtgtttg ctgacgcaac cccactggt tggggcattg ccaccacctg	5160
	tcagctcctt tccgggactt tegetttccc cctccctatt gccacggcgg aactcatcgc	5220
	cgctgcctt gcccgctgct ggacaggggc tcggctgttg ggcactgaca attccgtggt	5280
	gttgctgggg aaatcatcgt cctttccttg gctgctcgc tgtgttgcca cctggattct	5340
[0053]	gcgccccgac tccttctgct acgtcccttc ggcctcaat ccagcggacc ttccttcccg	5400
	cgccctgctg ccggctctgc ggctcttcc gcgtcttgc ctcccccctc agacgagtcg	5460
	gatctccctt tgggccgctt cccgccttg tacctttaag accaatgact tacaaggcag	5520
	ctgtagatct tagccacttt ttaaagaaa aggggggact ggaagggcta attcactccc	5580
	aacgaaaata agatctgctt tttgcttgta ctgggtctct ctggttagac cagatctgag	5640
	cctgggagct ctctggctaa ctaggaacc cactgcttaa gctcaataa agcttgctt	5700
	gagtgttca agtagtgtgt gcccgctgtg tgtgtgactc tggtaactag agatccctca	5760
	gacctttta gtcagtgtgg aaaatctcta gcagtagtag ttcattgcat cttattatc	5820
	agtatttata acttgcaaag aatgaatat cagagagtga gaggaacttg tttattgcag	5880
	cttataatgg ttacaaataa agcaatagca tcacaaattt cacaaataaa gcattttttt	5940
	cactgcattc tagttgtggt ttgtccaaac tcatcaatgt atcttatcat gctgtgctct	6000

	agctatcccg ccctaactc cgcccagttc cgcccattct cgcgccatg gctgactaat	6060
	tttttttatt tatgcagagg ccgaggccgc ctccgctct gagctattcc agaagtagtg	6120
	aggaggcttt ttggaggcc tagacttttg cagagacggc ccaaattcgt aatcatggtc	6180
	atagctgttt cctgtgtgaa attgttatcc gctcacaatt ccacacaaca tacgagccgg	6240
	aagcataaag tgtaaagcct ggggtgccta atgagtgagc taactcacat taattgcgtt	6300
	gcgctcaactg cccgctttcc agtcgggaaa cctgtcgtgc cagctgcatt aatgaatcgg	6360
	ccaacgcgcg gggagaggcg gtttgcgtat tgggcgtct tccgettcc cgctcaactga	6420
	ctcgtcgcgc tcggtcgttc ggctgcggcg agcggtatca gctcaactca aggcggtaat	6480
	acggttatcc acagaatcag gggataacgc aggaaagaac atgtgagcaa aaggccagca	6540
	aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcgtt gctggcgttt ttccatagc tccgcccc	6600
	tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtag cgaaaccga caggactata	6660
[0054]	aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtcgc tctcctgttc cgaccctgcc	6720
	gcttaccgga tacctgtccg cttttctccc ttcgggaagc gtggcgcttt ctcatactc	6780
	acgctgtagg tatctcagtt cgggttaggt cgttcctcc aagctgggct gtgtgcacga	6840
	acccccggt cagccccgacc gctgcgcctt atccggtaac tatcgtcttg agtccaacc	6900
	ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt aacaggatta gcagagcgag	6960
	gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtggtggcct aactacggct aactagaag	7020
	gacagtattt ggtatctcgc ctctcctgaa gccagttacc ttcggaaaa gagttgtag	7080
	ctcttgatcc ggcaaaaaa ccaccgctgg tagcggtagt tttttgttt gcaagcagca	7140
	gattacgcgc agaaaaaaag gatctcaaga agatcctttg atcttttcta cggggtctga	7200
	cgctcagtgg aacgaaaact cacgttaagg gattttggtc atgagattat caaaaaggat	7260
	cttcacctag atccttttaa attaaaaatg aagttttaaa tcaatctaaa gtatatatga	7320

	gtaaacttgg tctgacagtt accaatgctt aatcagtgag gcacctatct cagcgatctg	7380
	tctatttcgt tcatccatag ttgcctgact ccccgctcgt tagataacta cgatacggga	7440
	gggcttacca tctggcccca gtgctgcaat gataccgcga gaccacgct caccggctcc	7500
	agatttatca gcaataaacc agccagccgg aagggccgag cgcagaagtg gtctgcaac	7560
	tttatccgcc tccatccagt ctattaattg ttgccgggaa gctagagtaa gtagttcgcc	7620
	agttaatagt ttgcgcaacg ttgttgccat tgctacaggc atcgtggtgt cacgctcgtc	7680
	gtttggatg gcttcattca gctccggttc ccaacgatca aggcgagtta catgatcccc	7740
	catgttgtgc aaaaaagcgg ttagctcctt cggctctccg atcgttgta gaagtaagtt	7800
	ggccgcagtg ttatcactca tggttatggc agcactgcat aattctctta ctgtcatgcc	7860
	atccgtaaga tgcttttctg tgactggtga gtactcaacc aagtcattct gagaatagtg	7920
	tatgcggcga ccgagttgct cttgcccggc gtcaatacgg gataatacgg cgccacatag	7980
[0055]	cagaacttta aaagtgctca tcattggaaa acgttcttcg gggcgaaac tctcaaggat	8040
	cttaccgctg ttgagatcca gttcgaatga acccactcgt gcaccaact gatcttcagc	8100
	atcttttact ttcaccagcg tttctgggtg agcaaaaaca ggaaggcaaa atgccgcaaa	8160
	aaaggaata agggcgacac ggaaatggtg aatactcata ctcttccttt ttcaatatta	8220
	ttgaagcatt tatcaggggt attgtctcat gagcggatac atatttgaat gtatttagaa	8280
	aaataaacia ataggggttc cgcgcacatt tccccgaaa gtgccacctg acgtctaaga	8340
	aaccattatt atcatgacat taacctataa aaataggcgt atcacgagc cctttcgtct	8400
	cgcgctttc ggtgatgacg gtgaaaacct ctgacacatg cagctcccgg agacggtcac	8460
	agcttgtctg taagcggatg ccgggagcag acaagcccggt cagggcgcgt cagcgggtgt	8520
	tgccgggtgt cgggctggc ttaactatgc ggcatcagag cagattgtac tgagagtgca	8580
	ccatagcggg tgtgaaatac cgcacagatg cgtaaggaga aaataccgca tcagcgcca	8640

ttcgccattc aggctgcgca actgttggga agggcgatcg gtgcggcct ctcgctatt	8700
acgccagctg gcgaaaggg gatgtgctgc aaggcgatta agttgggtaa cgccagggtt	8760
ttcccagtca cgacgttgta aaacgacggc cagtccaag ctg	8803
<210> 15	
<211> 8752	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸	
<400> 15	
acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca	60
acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcattgccga ttggtggaag taaggtggta	120
[0056] cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctcgaca tggattggac gaaccactga	180
attgcccat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc	240
tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actaggaac cactgctta	300
agcctcaata aagcttgect tgagtgcttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact	360
ctggttaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg	420
cccgaacagg gacctgaaag cgaaaggaa accagagctc tctcgacga ggactcgct	480
tgctgaagcg cgcacggcaa gagcgagg gcgcgactg gtgagtacgc caaaaatctt	540
gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag	600
aattagatcg cgatgggaaa aaattcgtt aaggccagg ggaaagaaaa aatataaatt	660
aaaacatata gtatgggcaa gcaggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt	720
agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg	780

	atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcataaaag	840
	gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag	900
	taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg	960
	acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag	1020
	caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag	1080
	ctttgttct tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc	1140
	tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtga gcagcagaac aatttgctga	1200
	gggtattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcacc aagcagctcc	1260
	aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg	1320
	gttgcctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata	1380
	aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa	1440
[0057]	ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga	1500
	acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa	1560
	ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat	1620
	agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt	1680
	tcagaccac ctccaaccc cgaggggacc cgacagccc gaaggaatag aagaagaagg	1740
	tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt	1800
	aacttttaa agaaaaggg ggattgggg gtacagtga ggggaaagaa tagtagacat	1860
	aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt	1920
	atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttcctact tggcagtaca	1980
	tctacgtatt agtcatcget attaccatgg tgatcggtt ttggcagtac atcaatgggc	2040
	gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga	2100

	gtttgttttg gcacccaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat	2160
	tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag	2220
	tgaaccgtca gatcgcttg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct	2280
	agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca	2340
	gcattcctcc tgateccaga catccagatg acacagacta catcctcct gtctgectct	2400
	ctgggagaca gagtccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaa	2460
	tggtatcagc agaaaccaga tggaactggt aaactcctga tctaccatac atcaagatta	2520
	cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc	2580
	attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgett	2640
	ccgtacacgt tcggaggggg gactaagtgg gaaataacag gctccacctc tggatccggc	2700
	aagcccgat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggatga aactgcagga gtcaggacct	2760
[0058]	ggcctggtgg cgccctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta	2820
	cccactatg gtgtaagctg gattgccag cctccacgaa agggctctgga gtggctggga	2880
	gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc	2940
	atcaaggaca actccaagag ccaagtttct ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac	3000
	acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac	3060
	tgggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caattgaagt tatgtatcct	3120
	cctccttacc taggtggcgg cggttctggt ggcggcggtt ctggtggcgg cggttctctc	3180
	gagcagtcaa tcaaaggaaa ccacttggtt aagggtgatg actatcaaga agatggttcg	3240
	gtacttctga ctgtgatgc agaagccaaa aatatacat ggtttaaaga tgggaagatg	3300
	atcgcttcc taactgaaga taaaaaaaaa tggaatctgg gaagtaatgc caaggacca	3360
	cgagggatgt atcagtgtaa aggatcacag aacaagtcaa aacctcca agtgtattac	3420

	agaatgtgtc agaactgcat tgaactaaat gcagccacca tatctggctt tctctttgct	3480
	gaaatcgtca gcattttcgt ccttgctggt ggggtctact tcattgctgg acaggatgga	3540
	gttcgccagt cgagagcttc agacaagcag actctgttgc ccaatgacca gctctaccag	3600
	cccctcaagg atcgagaaga tgaccagtac agccacctc aaggaaacca gttgaggagg	3660
	aattgataag aattegatcc gcggccgcga aggatctgcg atcgctccgg tgcccgtcag	3720
	tgggcagagc gcacatcgcc cacagtcccc gagaagttgg ggggaggggt cggcaattga	3780
	acgggtgcct agagaagggt gcgcggggta aactgggaaa gtgatgtcgt gtactggetc	3840
	cgctttttc ccgagggtgg gggagaaccg tatataagtg cagtagtcgc cgtgaacgtt	3900
	ctttttcgca acgggtttgc cgccagaaca cagctgaagc ttcgaggggc tcgcatctct	3960
	ccttcacgcg cccgcgccc tacctgagge cgccatccac gccggtgag tcgcgttctg	4020
	ccgcctccc cctgtggtgc ctctgaact gcgtccgcg tctaggtag tttaaagctc	4080
[0059]	aggtcgagac cgggcctttg tccggcgctc ccttgagcc tacctagact cagccggtc	4140
	tccacgcttt gcctgacct gtttgetcaa ctctacgtct ttgtttcgtt ttctgttctg	4200
	cgccgttaca gatccaagct gtgaccggcg cctacgctag atgaccgagt acaagcccac	4260
	ggtgcgctc gccacccgcg acgacgtccc cagggccgta cgcaccctcg ccgccgctt	4320
	cgccgactac cccgccacgc gccacaccgt cgatccggac cgccacatcg agcgggtcac	4380
	cgagctgcaa gaactcttcc tcacgcgct cgggctcgac atcgcaagg tgtgggtcgc	4440
	ggacgacggc gccgcggtgg cggctctggac cacgccggag agcgtcgaag cgggggcggt	4500
	gttcgccgag atcgccccgc gcattggcca gttgagcgt tcccggctgg ccgcgcagca	4560
	acagatggaa ggctctctgg cgccgaccg gcccaaggag cccgcgtggt tcttgccac	4620
	cgtcggcgtc tcgccccacc accagggcaa gggctctgggc agcgcgctcg tgctccccgg	4680
	agtggaggcg gccgagcgcg ccggggtgcc cgccttctg gagacctcg cgccccgaa	4740

	cctccccttc tacgagcggc tcggcttcac cgtcaccgcc gacgtcgagg tgcccgaagg	4800
	accgcgcacc tggatgatga cccgcaagcc cggatgctga gtcgacaatc aacctctgga	4860
	ttacaaaatt tgtgaaagat tgactggtat tcttaactat gttgctcctt ttacgctatg	4920
	tggatacgtc gctttaatgc ctttgatca tgetattgct tcccgtatgg ctttcatttt	4980
	ctctccttg tataaatcct ggttgctgtc tctttatgag gagttgtggc ccgttgctcag	5040
	gcaacgtggc gtggtgtgca ctgtgtttgc tgacgcaacc cccactggtt ggggcattgc	5100
	caccacctgt cagctccttt cgggacttt cgtttcccc ctccctattg ccacggcgga	5160
	actcatgcc gcctgccttg cccgctgctg gacaggggct cggtgttgg gcaactgacaa	5220
	ttccgtggtg ttgtcgggga aatcatgctc ctttccttgg ctgctgcct gtgttgccac	5280
	ctggattctg cgcgggacgt cttctgcta cgtcccttcg gccctcaatc cagcggacct	5340
	tccttcccgc ggctgctgc cggtctgctg gcctcttccg cgtcttcgcc ttgcacctca	5400
[0060]	gacgagtcgg atctcccttt gggccgcctc cccgcctggt accttaaga ccaatgactt	5460
	acaagcagc ttagatctt agccactttt taaaagaaaa ggggggactg gaagggctaa	5520
	ttactccca acgaaaataa gatctgcttt ttgcttgtac tgggtctctc tggtagacc	5580
	agatctgagc ctgggagctc tctggctaac tagggaacce actgcttaag cctcaataaa	5640
	gcttgcttg agtgcttcaa gtagtgtgtg cccgtctggt gtgtgactct ggtaactaga	5700
	gatccctcag acccttttag tcagtgtgga aaatctctag cagtagtagt tcatgtcatc	5760
	ttattattca gtatttataa cttgcaaaga aatgaatc agagagttag aggaacttgt	5820
	ttattgcagc ttataatggt tacaaataaa gcaatagcat cacaatttc acaataaag	5880
	cattttttc actgcattct agttgtggtt tgcctaaact catcaatgta tcttatcatg	5940
	tctgctcta gctatcccgc ccctaactcc gccagttcc gccattctc cgcacctgg	6000
	ctgactaatt tttttattt atgcagaggc cgaggccgcc tggcctctg agctattcca	6060

	gaagtagtga ggaggctttt ttggaggcct agacttttgc agagacggcc caaatcgtga	6120
	atcatggtca tagctgtttc ctgtgtgaaa ttgttatccg ctcacaattc cacacaacat	6180
	acgagccgga agcataaagt gtaaagcctg gggcgcctaa tgagttagct aactcacatt	6240
	aattgcgttg cgctcactgc ccgctttcca gtcgggaaac ctgtcgtgcc agctgcatta	6300
	atgaatcggc caacgcgcgg ggagaggcgg ttgtcgtatt gggcgcctctt ccgcttcctc	6360
	gctcactgac tcgtcgcgt cggtcgttcg gctgcggcga gcggtatcag ctcactcaaa	6420
	ggcggtaata cggttatcca cagaatcagg ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa	6480
	aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggt	6540
	ccgccccct gacgagcatc acaaaaatcg acgctcaagt cagaggtggc gaaacccgac	6600
	aggactataa agataccagg cgtttccccc tggaagctcc ctctgtcgt ctcctgttcc	6660
	gacctgccc cttaccgat acctgtccgc ctttctcct tcgggaagcg tggcgtttc	6720
[0061]	tcatagctca cgctgtaggt atctcagttc ggtgtagtc gttcgtcca agctgggctg	6780
	tgtgcacgaa cccccgttc agcccgaccg ctgcgcctta tccgtaact atcgtcttga	6840
	gtccaacccg gtaagacacg acttatcgcc actggcagca gccactggta acaggattag	6900
	cagagcgagg tatgtaggcg gtgctacaga gttcttgaag tggcgcctta actacggcta	6960
	cactagaagg acagtatttg gtatctgcgc tctgctgaag ccagttacct tcggaaaaag	7020
	agttggtagc tcttgatccg gcaaaaaaac caccgctggt agcggtggtt tttttgttg	7080
	caagcagcag attacgcgca gaaaaaagg atctcaagaa gatcctttga tcttttctac	7140
	ggggtctgac gctcagtgga acgaaaactc acgttaaggg attttggtea tgagattatc	7200
	aaaaaggatc ttcacctaga tccttttaaa ttaaaaatga agttttaaat caatctaaag	7260
	tatatatgag taaacttggc ctgacagtta ccaatgetta atcagtgagg cacctatctc	7320
	agcgatctgt ctatttcgtt catccatagt tgccctgaact cccgtcgtgt agataactac	7380

	gatacgggag ggcttaccat ctggccccag tgctgcaatg ataccgcgag acccagctc	7440
	accggtcca gatttatcag caataaacca gccagccgga agggccgagc gcagaagtgg	7500
	tcctgcaact ttatccgcct ccattccagtc tattaattgt tgccgggaag ctagagtaag	7560
	tagttcgcca gttaatagtt tgcgcaacgt tgttgccatt gctacaggca tcgttggtgc	7620
	acgctcgtcg ttgggtatgg cttcattcag ctccggttcc caacgatcaa ggcgagttac	7680
	atgatcccc atgttgtgca aaaaagcggg tagctccttc ggtcctccga tcgttgctcag	7740
	aagtaagttg gccgcagtgt tatcaactcat ggttatggca gcaactgcata attctcttac	7800
	tgtcatgcca tccgtaagat gcttttctgt gactgggtgag tactcaacca agtcattctg	7860
	agaatagtggt atgcggcgac cgagttgctc ttgcccggcg tcaatacggg ataataccgc	7920
	gccacatagc agaactttaa aagtgctcat cattggaaaa cgttcttcgg ggcgaaaact	7980
	ctcaaggatc ttaccgctgt tgagatccag ttcgatgtaa cccactcgtg cacccaactg	8040
[0062]	atcttcagca tcttttactt tcaccagcgt ttctgggtga gcaaaaacag gaaggcaaaa	8100
	tgccgcaaaa aagggaataa gggcgacacg gaaatgttga atactcatac tcttcctttt	8160
	tcaatattat tgaagcattt atcagggtta ttgtctcatg agcggataca tatttgaatg	8220
	tatttagaaa aataaacaaa taggggttcc gcgcacattt ccccgaaaag tgccacctga	8280
	cgtctaagaa accattatta tcatgacatt aacctataaa aataggcgta tcacgaggcc	8340
	ctttcgtctc gcgcgtttcg gtgatgacgg tgaaaacctc tgacacatgc agctcccgga	8400
	gacggtcaca gcttgtctgt aagcggatgc cgggagcaga caagcccgtc agggcgcgtc	8460
	agcgggtggt ggccgggtgc ggggctggct taactatgcg gcatcagagc agattgtact	8520
	gagagtgcac catatgcggt gtgaaatacc gcacagatgc gtaaggagaa aataccgcat	8580
	cagcgccat tcgccattca ggctgcgcaa ctgttgggaa gggcgatcgg tgccggcctc	8640
	ttcgtatata cgccagctgg cgaaaggggg atgtgctgca aggcgattaa gttgggtaac	8700

	gccagggttt tcccagtcac gacgtttaa aacgacggcc agtgccaagc tg	8752
	<210> 16	
	<211> 8722	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸	
	<400> 16	
	acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca	60
	acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcattgccga ttggtggaag taaggtggta	120
	cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggcttgaca tggattggac gaaccactga	180
	attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc	240
[0063]	tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggeta actaggaac cactgctta	300
	agcctcaata aagcttgctt tgagtgttc aagtagtg tgcccgtctg ttgtgtgact	360
	ctggttaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg	420
	cccgaacagg gacctgaaag cgaaaggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct	480
	tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt	540
	gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag	600
	aattagatcg cgatgggaaa aaattcggtt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt	660
	aaaacatata gtatgggcaa gcaggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctggt	720
	agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg	780
	atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcataaag	840
	gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag	900
	taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg	960

	acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag	1020
	caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtgc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag	1080
	ctttgttctt tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc	1140
	tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtga gcagcagaac aatttgcgta	1200
	gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc	1260
	aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg	1320
	gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata	1380
	aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa	1440
	ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga	1500
	acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa	1560
	ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gttaagaat	1620
[0064]	agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt	1680
	tcagaccac ctccaacce cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg	1740
	tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt	1800
	aacttttaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtga ggggaaagaa tagtagacat	1860
	aatagcaaca gacatacaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaat tcaaaatttt	1920
	atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttctact tggcagtaca	1980
	tctacgtatt agtcatcgtt attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc	2040
	gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga	2100
	gtttgttttg gcacaaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat	2160
	tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag	2220
	tgaaccgtca gatcgcttgg agacccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct	2280

	agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacaccca	2340
	gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctcct gtctgcctct	2400
	ctgggagaca gagtccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaa	2460
	tggtatcagc agaaaccaga tggaactggt aaactcctga tctaccatac atcaagatta	2520
	cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc	2580
	attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgtt	2640
	ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc	2700
	aagcccgat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct	2760
	ggcctgggtg cgccctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta	2820
	cccactatg gtgtaagctg gattcgcag cctccacgaa agggctctgga gtggctggga	2880
	gtaatatggg gtagtgaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc	2940
[0065]	atcaaggaca actccaagag ccaagtttct ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac	3000
	acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac	3060
	tgggtcaag gaacctcagt cacctctcc tcagcgccg caattgaagt tatgtatcct	3120
	cctccttacc taggtggcgg cggttctggt ggcggcggtt ctggtggcgg cggttctctc	3180
	gagttcaaga tacctataga ggaacttgag gacagagtgt ttgtgaattg caataccagc	3240
	atcacatggg tagagggaac ggtgggaaca ctgctctcag acattacaag actggacctg	3300
	ggaaaacgca tcctggacc acgaggaata tataggtgta atgggacaga tatatacaag	3360
	gacaaagaat ctaccgtgca agttcattat cgaatgtgcc agagctgtgt ggagctggat	3420
	ccagccaccg tggctggcat cattgtcact gatgtcattg ccactctgct ccttgctttg	3480
	ggagtcttct gctttgctgg acatgagact ggaaggctgt ctggggctgc cgacacacaa	3540
	gctctgttga ggaatgacca ggtctatcag cccctccgag atcgagatga tgctcagtac	3600

	agccaccttg gaggaaactg ggctcgaac aagtataag aattcgatcc gcggccgca	3660
	aggatctgcg atcgctccgg tgcccgtcag tgggcagagc gcacatcgcc cacagtcccc	3720
	gagaagttgg ggggaggggt cggcaattga acgggtgcct agagaaggtg gcgcgggta	3780
	aactgggaaa gtgatgtcgt gtactggctc cgcctttttc ccgaggggtg gggagaaccg	3840
	tatataagtg cagtagtcgc cgtgaacgtt ctttttcgca acgggtttgc cgccagaaca	3900
	cagctgaagc ttcgaggggc tcgcatctct ccttcacgcg cccgccgcc tacctgagge	3960
	cgccatccac gccggttgag tcgctttctg ccgctcccg cctgtggtgc ctctgaact	4020
	gcgtccgccc tctaggtgag tttaaagctc aggtcgagac cgggctttg tccggcgtc	4080
	ccttgagacc tacctagact cagccggtc tccacgttt gectgaccct gcttgetcaa	4140
	ctctacgtct ttgtttcgtt tctgttctg cgccgttaca gatccaagct tgaccggcg	4200
	cctacgctag atgaccgagt acaagcccac ggtgcgcctc gccaccgcg acgacgtccc	4260
[0066]	cagggccgta cgcaccctcg ccgccggtt cgccgactac cccgccacgc gccacaccgt	4320
	cgatccggac cgccacatcg agcgggtcac cgagctgcaa gaactcttcc tcacgcgct	4380
	cgggctcgac atcggcaagg tgtgggtcgc ggacgacggc gcccggttg cggctctggac	4440
	cagccggag agcgtcgaag cggggcggtt gttcgccgag atcgcccgc gcatggccga	4500
	gttgagcggg tcccggctgg ccgcccagca acagatgaa ggcctcctgg cgccgaccg	4560
	gccaaggag ccgctgtggt tctggccac cgtcggcgtc tcgcccgacc accagggcaa	4620
	gggtctgggc agcgcctcg tgctccccgg agtggaggcg gccgagcgc cgggggtgcc	4680
	cgccttctg gagacctccg cgccccgcaa cctcccctc tacgagcggc tcggttccac	4740
	cgtaaccgcc gacgtcaggg tgcccgaagg accgcgcacc tggtgcatga cccgcaagcc	4800
	cgggtcctga gtcgacaatc aacctctgga ttacaaaatt tgtgaaagat tgactggtat	4860
	tcttaactat gttgctcctt ttacgtatg tggatacgt gctttaatgc ctttgtatca	4920

tgctattgct tcccgtatgg ctttcatttt ctctctccttg tataaatcct ggttgctgtc	4980
tctttatgag gagttgtggc cgtttgtcag gcaacgtggc gtggtgtgca ctgtgtttgc	5040
tgacgaacc cccactgggt ggggcattgc caccacctgt cagctccttt ccgggacttt	5100
cgctttcccc ctccctattg ccacggcgga actcatcgcc gctgccttg cccgctgctg	5160
gacaggggct cggtgtttgg gcaactgaaa ttccgtgggt ttgtcgggga aatcatcgtc	5220
ctttccttgg ctgctgcct gtgttgccac ctggattctg cgcgggacgt ccttctgcta	5280
cgctccctcg gccctcaatc cagcggacct tccttcccgc ggctgctgc cggtctgctg	5340
gctcttccg cgtcttccg ttcgccctca gacgagtcgg atctcccttt ggcccgctc	5400
cccgcctggt accttaaga ccaatgactt acaaggcagc tgtagatctt agccactttt	5460
taaaagaaaa ggggggactg gaagggctaa ttcactcca acgaaaataa gatctgcttt	5520
ttgctgtac tgggtctctc tggttagacc agatctgagc ctgggagctc tctggctaac	5580
[0067] tagggaacc actgcttaag cctcaataaa gcttgccttg agtgcttcaa gtagtgtgtg	5640
cccgtctgtt gtgtgactct ggtaactaga gatecctcag acccttttag tcagtgtgga	5700
aaatctctag cagtagtagt tcatgtcatc ttattattca gtattataa cttgcaaaga	5760
aatgaatc agagagtgag aggaacttgt ttattgcagc ttataatggt tacaataaa	5820
gcaatagcat cacaaattc acaataaag ctttttttc actgcattct agttgtggtt	5880
tgtccaaact catcaatgta tcttatcatg tctggctcta gctatcccgc ccctaactc	5940
gcccagttcc gccattctc cgccccatgg ctgactaatt ttttttattt atgcagaggc	6000
cgaggccgcc tcggcctctg agctattcca gaagtagtga ggagcctttt ttggaggcct	6060
agacttttgc agagacggcc caaatcgta atcatggtca tagctgtttc ctgtgtgaaa	6120
ttgttatccg ctcaaatc cacacaacat acgagccgga agcataaagt gtaaagcctg	6180
gggtgcctaa tgagtgagct aactcacatt aattgcgttg cgctcactgc ccgctttcca	6240

	gtcgggaaac ctgtcgtgcc agctgcatta atgaatcggc caacgcgcgg ggagaggcgg	6300
	tttgcgtatt gggcgctctt ccgcttcctc gctcactgac tcgctgcgct cggtcgttcg	6360
	gctgcggcga gcggtatcag ctcaactcaaa ggcggtaata cggttatcca cagaatcagg	6420
	ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa	6480
	ggccgcgctt ctggcgTTTT tccatagget ccgccccct gacgagcatc acaaaaaatcg	6540
	acgtcaagt cagaggtggc gaaacccgac aggactataa agataccagg cgTTTTcccc	6600
	tggaagctcc ctctgtcget ctctgttcc gacctgccc cttaccgat acctgtccgc	6660
	ctttctcct tcgggaagcg tggcgctttc tcatagctca cgctgtaggt atctcagttc	6720
	ggtgtaggtc gttcgtcca agctgggctg tgtgcacgaa cccccgttc agccccaccg	6780
	ctgcgcctta tccgtaact atcgtcttga gtccaaccg gtaagacacg acttatcgcc	6840
	actggcagca gccactggta acaggattag cagagcgagg tatgtagcg gtgctacaga	6900
[0068]	gttcttgaag tgggtggccta actacggcta cactagaagg acagtatttg gtatctgcgc	6960
	tctgtgaag ccagttacct tcggaaaaag agttggtagc tcttgatccg gcaaacaac	7020
	caccgtggt agcgggtggt tttttgttg caagcagcag attacgcgca gaaaaaagg	7080
	atctcaagaa gatccttga tcttttctac ggggtctgac gctcagtga acgaaaactc	7140
	acgttaaggg attttggca tgagattatc aaaaaggatc ttcacctaga tccttttaaa	7200
	ttaaaaatga agttttaaat caatctaaag tatatatgag taaacttggc ctgacagtta	7260
	ccaatgctta atcagtgagg cacctatctc agcgatctgt ctatttcggt catccatagt	7320
	tgctgactc cccgtcgtgt agataactac gatacgggag ggcttaccat ctggccccag	7380
	tgctgcaatg ataccgcgag acccaacgctc accggtcca gatttatcag caataacca	7440
	gccagccgga agggccgagc gcagaagtgg tctgcaact ttatccgct ccatccagtc	7500
	tattaattgt tgccgggaag ctagagtaag tagttcgcca gttaatagtt tgcgcaacgt	7560

	tgttgccatt gctacaggca tcgtgggtgc acgctcgtcg tttggatgg cttcattcag	7620
	ctccggttcc caacgatcaa ggcgagttac atgatcccc atgtttgca aaaaagcgg	7680
	tagctccttc ggtcctccga tcgttgcag aagtaagttg gccgcagtgt taccactcat	7740
	ggttatggca gcaactgcata attctcttac tgcatgccca tccgtaagat gcttttctgt	7800
	gactgggtgag tactcaacca agtcattctg agaatagttg atgcggcgac cgagttgctc	7860
	ttgcccggcg tcaatacggg ataataccgc gccacatagc agaactttaa aagtgtcat	7920
	cattggaaaa cgttcttcgg ggcgaaaact ctcaaggatc ttaccgctgt tgagatccag	7980
	ttcgaatgaa cccactcgtg cacccaactg atcttcagca tcttttactt tcaccagcgt	8040
	ttctgggtga gcaaaaacag gaaggcaaaa tgccgcaaaa aagggaataa gggcgacacg	8100
	gaaatgttga atactcatac tcttcctttt tcaatattat tgaagcattt atcagggtta	8160
	ttgtctcatg agcggataca tatttgaatg tatttagaaa aataa caaaa taggggttcc	8220
[0069]	gcgcacattt ccccgaaaag tgccacctga cgtctaagaa accattatta tcatgacatt	8280
	aacctataaa aataggcgta tcacaggcc ctttcgtctc gcgcgtttcg gtgatgacgg	8340
	tgaaaacctc tgacacatgc agctcccga gacggtcaca gcttgcctgt aagcggatgc	8400
	cgggagcaga caagcccgtc agggcgcgtc agcgggtgtt ggcgggtgtc ggggctggct	8460
	taactatgcg gcatcagagc agattgtact gagagtgcac catatgcggt gtgaaatacc	8520
	gcacagatgc gtaaggagaa aataccgcat caggcgccat tcgccattca ggetgcgcaa	8580
	ctgttgggaa gggcgatcgg tgcgggcctc ttcgctatta cgccagctgg cgaaagggg	8640
	atgtgctgca aggcgattaa gttgggtaac gccagggttt tcccagtcac gacgttgtaa	8700
	aacgacggcc agtgccaagc tg	8722
	<210> 17	
	<211> 8827	

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<400> 17

acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca	60
acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taaggtggta	120
cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggcttgaca tggattggac gaaccactga	180
attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc	240
tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccaactgctta	300
agcctcaata aagcttgcct tgagtgcctc aagtagtggt tgcccgtctg ttgtgtgact	360
ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg	420
[0070] cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct	480
tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatfff	540
gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcggggggag	600
aattagatcg cgatgggaaa aaattcggtt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt	660
aaaacatata gtatgggcaa gcaggagct agaacgattc gcagtaatc ctggcctggt	720
agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg	780
atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcataaag	840
gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag	900
taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg	960
acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag	1020
caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag	1080

	ctttgttcct tgggttcctg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc	1140
	tgacgttaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtga gcagcagaac aatttgctga	1200
	gggctattga ggcgcaacag catctgttg aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc	1260
	aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg	1320
	gttgcctctg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata	1380
	aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa	1440
	ttacacaagc ttaatacaact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga	1500
	acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa	1560
	ttgctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gttaagaat	1620
	agtttttgcgt gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt	1680
	tcagaccac ctccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg	1740
[0071]	tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt	1800
	aacttttaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtga ggggaaagaa tagtagacat	1860
	aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt	1920
	atcgatacta gtattatgcc cagtacatga cttatggga ctttctact tggcagtaca	1980
	tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc	2040
	gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga	2100
	gtttgttttg gcacaaaaat caacgggact ttccaaaat tcgtaacaac tccgccccat	2160
	tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag	2220
	tgaaccgtca gatgcctgg agacccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct	2280
	agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca	2340
	gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagaeta catcctcct gtctgcctct	2400

	ctgggagaca gagtcacat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaa	2460
	tggtatcagc agaaaccaga tggaactggt aaactcctga tctaccatac atcaagatta	2520
	cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc	2580
	attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgtt	2640
	ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc	2700
	aagcccgat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct	2760
	ggcctggtgg cgccctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta	2820
	cccgactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccacgaa aggtctgga gtggctggga	2880
	gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc	2940
	atcaaggaca actccaagag ccaagtttcc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac	3000
	acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac	3060
[0072]	tgggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caattgaagt tatgtatcct	3120
	cctccttacc taggtggcgg cggttctggt ggcggcgggt ctggtggcgg cggttctctc	3180
	gaggatggta atgaagaaat ggggtgtatt acacagacac catataaagt ctccatctct	3240
	ggaaccacag taatattgac atgccctcag tctcctggat ctgaaatact atggcaacac	3300
	aatgataaaa acatagcggg tgatgaggat gataaaaaca taggcagtga tgaggatcac	3360
	ctgtcactga aggaatttcc agaattggag caaagtgggt attatgtctg ctaccccaga	3420
	ggaagcaaac cagaagatgc gaacttttat ctctacctga gggcaagagt gtgtgagaac	3480
	tgcatggaga tggatgtgat gtcggtggcc acaattgtca tagtggacat ctgcatcact	3540
	gggggcttgc tgctgctggt ttactactgg agcaagaata gaaaggcca ggccaagcct	3600
	gtgacacgag gagcgggtgc tggcggcagg caaaggggac aaaacaagga gaggccacca	3660
	cctgttccca acccagacta tgagcccatc cggaaaggcc agcgggacct gtattctggc	3720

	ctgaatcaga gacgcatctg ataagaattc gatccgcggc cgcaaggat ctgcgatgc	3780
	tccggtgccc gtcagtgggc agagcgcaca tcgcccacag tccccagaa gttgggggga	3840
	ggggtcggca attgaacggg tgcctagaga aggtggcgcg gggtaaactg ggaaagtgat	3900
	gtcgtgtact ggctccgct ttttcccgag ggtgggggag aaccgtatat aagtgcagta	3960
	gtcgccgtga acgttctttt tcgcaacggg ttgcccga gaacacagct gaagcttca	4020
	ggggtcgc tctctcttc acgcgcccgc cgcctacct gaggcccca tccacgccg	4080
	ttgagtcg tctgcccgc tcccgcctgt ggtgcctcct gaactgcgtc cgccgtctag	4140
	gtaagtttaa agctcaggtc gagaccgggc ctttgtccgg cgctcccttg gaccctacct	4200
	agactcagcc ggctctccac gctttgcctg accctgcttg ctcaacteta cgtctttgtt	4260
	tcgttttctg tctgcccgc ttacagatcc aagctgtgac cggcgcctac gctagatgac	4320
	cgagtacaag cccacgggtc gcctcggcac ccgcgacgac gtccccaggc cgtacgcac	4380
[0073]	cctcggccc gcgttcggc actaccccgc cagcgccac accgtcgatc cggaccgcca	4440
	catcgagcgg gtcaccgagc tgcaagaact ctctctcac cgctcgggc tcgacatcgg	4500
	caaggtgtgg gtcgcccgc acggcgggc ggtggcggtc tggaccacgc cggagagcgt	4560
	cgaagcgggg gcggtgttcg ccgagatcgg ccgcgcatg gccgagttga gcggttccc	4620
	gctgcccgc cagcaacaga tggaaggcct cctggcggc caccggcca aggagcccgc	4680
	gtggttctg gccaccgtc gcgtctgcc cgaccaccag ggcaagggtc tgggcagcgc	4740
	cgctgtgctc cccggagtgg aggcggccga gcgcgccggg gtgcccgcct tctggagac	4800
	ctccgcgcc cgcaacctcc ctttctacga gcggtcggc ttcaccgta ccgccagct	4860
	cgaggtgccc gaaggaccgc gcacctggtg catgaccgc aagcccgtg cctgagtcga	4920
	caatcaacct ctggattaca aaatttgtga aagattgact ggtattctta actatgttgc	4980
	tccttttacg ctatgtgat acgtgcttt aatgccttg tatcatgcta ttgcttccc	5040

	tatggctttc attttctcct ccttgataa atcctggtg ctgtctctt atgaggagt	5100
	gtggcccggt gtcaggcaac gtggcgtggt gtgcactgtg tttgctgacg caacccccac	5160
	tggttggggc attgccacca cctgtcagct cctttccggg actttcgctt tccccctccc	5220
	tattgccacg gcggaactca tcgccgctg ccttgcccgc tgctggacag gggctcggt	5280
	gttgggcact gacaattccg tggtgtgtc ggggaaatca tcgtccttc cttggctgt	5340
	cgctgtgtt gccacctgga ttctgcggg gacgtcctc tgctacgtcc cttcgccct	5400
	caatccagcg gaccttctt cccgcgccct gctgccggt ctgccgctc ttcccgctt	5460
	tcgcttcgc cctcagacga gtcggatctc cctttgggcc gctccccgc ctggtacct	5520
	taagaccaat gacttacaag gcagctgtag atcttagcca ctttttaaaa gaaaagggg	5580
	gactggaagg gctaattcac tccaacgaa aataagatct gctttttgct tgtactgggt	5640
	ctctctggtt agaccagatc tgagcctggg agctctctgg ctaactaggg aaccctgc	5700
[0074]	ttaagcctca ataaagctt ccttgagtgc ttcaagtagt gtgtgcccggt ctgttgtgtg	5760
	actctggtaa ctagagatcc ctgagacct ttagtcagt gtggaaaatc tctagcagta	5820
	gtagttcatg tcatcttatt attcagtatt tataacttgc aaagaaatga atatcagaga	5880
	gtgagaggaa ctgttttatt gcagcttata atggttacia ataaagcaat agcatcacia	5940
	atttcacaaa taaagcattt ttttactgc attctagttg tggtttgtcc aaactcatca	6000
	atgtatctta tcatgtctgg ctctagctat ccgccccta actccgecca gttccgecca	6060
	ttctccgcc catggctgac taatttttt tatttatgca gaggccgagg ccgctcggc	6120
	ctctgageta ttccagaagt agtgaggagg cttttttgga ggcctagact tttgcagaga	6180
	cgccccaaat tcgtaatcat ggtcatagct gtttctgtg tgaaattggt atccgctcac	6240
	aattccacac aacatacgag ccggaagcat aaagtgtaaa gcttggggtg cctaatgagt	6300
	gagctaactc acattaattg cgttgcgctc actgcccgt ttccagtcgg gaaacctgtc	6360

	gtgccagctg cattaatgaa tcggccaacg cgcggggaga ggcggtttgc gtattgggcg	6420
	ctcttccgct tcctcgetca ctgactcgtt gcgctcggtc gttcggctgc ggcgagcgg	6480
	atcagctcac tcaaaggcgg taatacggtt atccacagaa tcaggggata acgcagaaa	6540
	gaacatgtga gcaaaaggcc agcaaaaggc caggaaccgt aaaaaggccg cgttgctggc	6600
	gtttttccat aggetccgcc cccttgacga gcatcacaaa aatcgacgct caagttagag	6660
	gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata ccaggcgttt ccccttgaa gctccctcgt	6720
	gcgctctcct gtccgaccc tgcgcttac cggatacctg tccgccttc tcccttcggg	6780
	aagcgtggcg ctttctcata gctcacgctg taggtatctc agttcgggtg aggtcgttcg	6840
	ctccaagctg ggctgtgtgc acgaaccccc cgttcagccc gaccgctgag cttatccgg	6900
	taactatcgt cttgagtcca acccgtaag acacgactta tgcacttg cagcagccac	6960
	tggtaacagg attagcagag cgaggatgt aggcgggtct acagagtct tgaagtggg	7020
[0075]	gcctaactac ggctacacta gaaggacagt atttggtatc tgcgctctgc tgaagccagt	7080
	tacctcgga aaaagagttg gtagctcttg atccggcaaa caaacaccg ctggtagcgg	7140
	tggttttttt gtttgaagc agcagattac gcgcagaaaa aaaggatctc aagaagatcc	7200
	ttgatcttt tctacgggt ctgacgtca gtggaacgaa aactcacgtt aaggatctt	7260
	ggtcatgaga ttatcaaaaa gatcttcac ctgactcctt ttaaattaaa aatgaagttt	7320
	taaataatc taaagtatat atgagtaaac ttggtctgac agttaccaat gcttaatcag	7380
	tgaggcacct atctcagca tctgtctatt tcgttcaccc atagtgcct gactccccgt	7440
	cgtgtagata actacgatac gggagggett accatctggc cccagtctg caatgatacc	7500
	gcgagacca cgtcaccgg ctccagattt atcagcaata aaccagccag ccggaaggc	7560
	cgagcgcaga agtggctctg caactttatc cgcctccatc cagtctatta attgttgcg	7620
	ggaagctaga gtaagtagtt cgccagttaa tagtttgcgc aacgttggtt ccattgctac	7680

	aggcatcgtg gtgtcacgct cgtcgtttgg tatggttca ttcagctccg gttcccaacg	7740
	atcaaggcga gttacatgat ccccatgtt gtgcaaaaaa gcggttagct ccttcggtcc	7800
	tccgatcgtt gtcagaagta agttggccgc agtgttatca ctcatggta tggcagcact	7860
	gcataattct cttactgtca tgccatccgt aagatgcttt tctgtgactg gtgagtactc	7920
	aaccaagtca ttctgagaat agtgtatgcg gcgaccgagt tgctcttgcc cggcgtcaat	7980
	acgggataat accgcgccac atagcagaac tttaaaagtg ctcatcattg gaaaacgttc	8040
	ttcggggcga aaactctcaa ggatcttacc gctgttgaga tccagttcga tgtaaccac	8100
	tcgtgcaccc aactgatctt cagcatcttt tactttcacc agcgtttctg ggtgagcaaa	8160
	aacaggaagg caaaatgccg caaaaaaggg aataaggcg acacggaaat gttgaatact	8220
	catactcttc cttttcaat attattgaag catttatcag ggttattgtc tcatgagcgg	8280
	atacatattt gaatgtattht agaaaaataa acaaataggg gttccgcgca catttccccg	8340
[0076]	aaaagtgcc a cctgacgtct aagaaacat tattatcatg acattaacct ataaaaatag	8400
	gcglatcacg aggcccttc gctcgcgcg tttcggatg gacggtgaaa acctctgaca	8460
	catgcagctc ccggagacgg tcacagcttg tctgtaagcg gatgccggga gcagacaagc	8520
	ccgtcagggc gcgtcagcgg gtgttgccgg gtgtcggggc tggcttaact atgcggcacc	8580
	agagcagatt gtactgagag tgcaccatat gcggtgtgaa ataccgcaca gatgcgtaag	8640
	gagaaaatac cgcacagcgc gccattcgcc attcagcctg cgcaactgtt gggaaggcgc	8700
	atcggatcgg gcctcttcgc tattacgcca gctggcgaaa ggggatgtg ctgcaaggcg	8760
	attaagttgg gtaacgccag ggttttccca gtcacgacgt tgtaaaacga cggccagtgc	8820
	caagctg	8827
	<210> 18	
	<211> 8797	
	<212> DNA	

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<400> 18

	acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca	60
	acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcattgccga ttggtggaag taaggtggta	120
	cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggcttgaca tggattggac gaaccactga	180
	attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc	240
	tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actaggaac ccaactgctta	300
	agcctcaata aagcttgctt tgagtgtctc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact	360
	ctggttaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg	420
[0077]	cccgaacagg gacctgaaag cgaaaggaa accagagctc tctcgacgca ggactcgct	480
	tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt	540
	gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag	600
	aattagatcg cgatgggaaa aaattcggtt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt	660
	aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctggt	720
	agaacatca gaaggctgta gacaaact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg	780
	atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcattcaag	840
	gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag	900
	taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatattgagg	960
	acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag	1020
	caccaccaa ggcaaagaga agagtgtgac agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag	1080
	ctttgttctt tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc	1140

	tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga	1200
	gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc	1260
	aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg	1320
	gttgcctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata	1380
	aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa	1440
	ttacacaagc ttaatacaact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga	1500
	acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgttg aattggttta acataacaaa	1560
	ttggetgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gttaagaat	1620
	agtttttctgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt	1680
	tcagaccac ctccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg	1740
	tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaaac ggatctcgac ggtatcggtt	1800
[0078]	aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat	1860
	aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt	1920
	atcgatacta gtattatgcc cagtlacatga ccttatggga ctttctact tggcagtaca	1980
	tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc	2040
	gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga	2100
	gtttgttttg gcacaaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat	2160
	tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgttttag	2220
	tgaaccgtca gategcctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct	2280
	agagecgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca	2340
	gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagaeta catctccct gtctgctct	2400
	ctgggagaca gagtcacat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat	2460

	tggtatcagc agaaaccaga tggaactggt aaactcctga tctaccatac atcaagatta	2520
	cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc	2580
	attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatagcgtt	2640
	ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc	2700
	aagcccggat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct	2760
	ggcctggtgg cgccctcaca ggcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta	2820
	cccgactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccacgaa agggctctgga gtggctggga	2880
	gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc	2940
	atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac	3000
	acagccattt actactgtgc caaacattat tactacgggtg gtagctatgc tatggactac	3060
	tgggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caggtagcgg cggttctggt	3120
[0079]	ggcggcggtt ctggtggcgg cggttctctc gaggatggta atgaagaaat gggtagtatt	3180
	acacagacac catataaagt ctccatctct ggaaccacag taatattgac atgccctcag	3240
	tatcctggat ctgaaatact atggcaacac aatgataaaa acataggcgg tgatgaggat	3300
	gataaaaaca taggcagtga tgaggatcac ctgtcactga aggaattttc agaattggag	3360
	caaagtggtt attatgtctg ctaccccaga ggaagcaaac cagaagatgc gaacttttat	3420
	ctctacctga gggcaagagt gtgtgagaac tgcattgaga tggatgtgat gtcggtggcc	3480
	acaattgtca tagtggacat ctgcatcact gggggcttgc tgctgctggt ttactactgg	3540
	agcaagaata gaaaggccaa ggccaagcct gtgacacgag gagcgggtgc tggcggcagg	3600
	caaaggggac aaaacaagga gaggccacca cctgttccca acccagacta tgagcccatc	3660
	cggaaggcc agcgggacct gtattctggc ctgaatcaga gacgcatctg ataagaattc	3720
	gatccgcggc cgcaaggat ctgcgatcgc tccggtgccc gtcagtgggc agagcgcaca	3780

	tcgcccacag tccccgagaa gttgggggga ggggtcggca attgaacggg tgcctagaga	3840
	aggtggcgcg gggtaaactg ggaaagtgat gtcgtgtact ggctccgct ttttcccgag	3900
	ggtgggggag aaccgtatat aagtgcagta gtcgccgtga acgttctttt tcgcaacggg	3960
	tttgccgcca gaacacagct gaagcttcga ggggctcgca tctctccttc acgcgcccgc	4020
	cgccctacct gaggcgcca tccacgccg ttgagtcgcg ttctgccgc tcccgcctgt	4080
	ggtgcctcct gaactgcgtc cgccgtctag gtaagtttaa agctcaggtc gagaccgggc	4140
	ctttgtccgg cgctcccttg gagcctacct agactcagcc ggctctccac gctttgectg	4200
	acctgcttg ctcaacteta cgtctttggt tcgttttctg ttctgcgccc ttacagatcc	4260
	aagctgtgac cggcgccctac gctagatgac cgagtacaag cccacgggtgc gcctcgccac	4320
	ccgcgacgac gtccccaggg ccgtacgcac cctcgcccgc gcgttcgccc actaccccgc	4380
	cacgcgccac accgtcgatc cggaccgcca catcgagcgg gtcaccgagc tgcaagaact	4440
[0080]	cttctcagc cgcgtcgggc tcgacatcgg caaggtgtgg gtcgaggacg acggcgcccgc	4500
	ggtggcggtc tggaccacgc cggagagcgt cgaagcgggg gcggtgttcg ccgagatcgg	4560
	cccgcgatg gccgagttga gcggttcccg gctggcccgc cagcaacaga tggaaggcct	4620
	cctggcggcg caccggccca aggagcccgc gtggttctg gccaccgtcg gcgtctcgcc	4680
	cgaccaccag ggcaagggtc tgggcagcgc cgtcgtgctc cccggagtgg aggcgcccga	4740
	gcgcgccggg gtccccgct tctggagac ctccgcgccc cgcaacctcc ctttctacga	4800
	gcggtcggc ttcaccgtca ccgccagct cgaggtgcc gaaggaccgc gcacctggtg	4860
	catgaccgc aagcccgtg cctgagtcga caatcaacct ctggattaca aaatttgtga	4920
	aagattgact ggtattetta actatgttgc tctttttac ctatgtggat acgtgcttt	4980
	aatgctttg tatcatgeta ttgcttcccg tatggcttcc attttctct ccttgtataa	5040
	atcctggttg ctgtctcttt atgaggagtt gtggcccgtt gtcaggcaac gtggcgtggt	5100

	gtgactgtg tttgctgacg caacccccac tggttggggc attgccacca cctgtcagct	5160
	cctttccggg actttcgctt tccccctccc tattgccacg gcggaactca tcgccgctg	5220
	ccttgcccgc tgctggacag gggctcggct gttgggact gacaattccg tgggtttgtc	5280
	ggggaaatca tcgtcctttc cttggctgct cgctgtgtt gccacctgga ttctgcgcgg	5340
	gacgtccttc tgctacgtcc cttcggccct caatccagcg gaccttctt cccgcggcct	5400
	gctgccggt ctgcggcctc ttccgcgtct tcgccttcgc cctcagacga gtcggatctc	5460
	cctttgggcc gcctccccgc ctggtacctt taagaccaat gacttacaag gcagctgtag	5520
	atcttagcca ctttttaaaa gaaaaggggg gactggaagg gctaattcac tcccaacgaa	5580
	aataagatct gctttttgct tgtaactgggt ctctctggtt agaccagatc tgagcctggg	5640
	agctctctgg ctaactaggg aaccactgc ttaagcctca ataaagcttg ccttgagtgc	5700
	ttcaagtagt gtgtgcccgct ctgttgtgtg actctggtaa ctagagatcc ctcagaccct	5760
[0081]	tttagtcagt gtgaaaatc tctagcagta gtagttcatg tcattttatt attcagtatt	5820
	tataacttgc aaagaaatga atatcagaga gtgagaggaa cttgtttatt gcagcttata	5880
	atggttacia ataaagcaat agcatcacia atttcacaaa taaagcattt ttttactgc	5940
	attctagttg tggtttgcc aaactcatca atgtatctta tcatgtctgg ctctagctat	6000
	cccgcccta actccgccca gttccgccca ttctccgcc catggctgac taattttttt	6060
	tatttatgca gaggccgagg ccgcctcggc ctctgagcta ttccagaagt agtgaggagg	6120
	cttttttga ggctagact tttgcagaga cgcccaaat tcgtaatcat ggtcatagct	6180
	gtttcctgtg tgaattgtt atccgctcac aattccacac aacatacgag ccggaagcat	6240
	aaagtgtaaa gcctgggggtg cctaatgagt gagctaactc acattaattg cgttgcgctc	6300
	actgccgct ttccagtcgg gaaacctgtc gtgccagctg cattaatgaa tcggccaacg	6360
	cgcggggaga ggcggtttgc gtattgggcg ctcttccgct tectcgctca ctgactcgt	6420

	gcgctcggtc gttcggctgc ggcgagcggc atcagctcac tcaaagcgg taatacggtt	6480
	atccacagaa tcaggggata acgcaggaaa gaacatgtga gcaaaaggcc agcaaaaggc	6540
	caggaaccgt aaaaagccg cgttgctggc gtttttccat aggctccgcc cccctgacga	6600
	gcatcacaaa aatcgacgct caagtcagag gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata	6660
	ccaggcgttt cccctggaa gctccctcgt gcgctctcct gttccgacce tgccgcttac	6720
	cggatacctg tccgctttc tccctcggg aagcgtggcg ctttctcata gctcacgctg	6780
	taggtatctc agttcgggtg aggtcgttcg ctccaagctg ggctgtgtgc acgaaccccc	6840
	cgttcagccc gaccgctgcg ccttatccgg taactatcgt cttgagtcca acccggttaag	6900
	acacgactta tcgccactgg cagcagccac tggtaacagg attagcagag cgaggtatgt	6960
	aggcgggtgct acagagttct tgaagtgggt gcctaactac ggctacacta gaagacagt	7020
	atttggatc tgcgctctgc tgaagccagt taccttcgga aaaagagttg gtagctcttg	7080
[0082]	atccggcaaa caaaccaccg ctggtagcgg tggtttttt gtttgcaagc agcagattac	7140
	gcgcagaaaa aaagatctc aagaagatcc tttgatcttt tctacggggt ctgacgctca	7200
	gtggaacgaa aactcacgtt aagggatttt ggtcatgaga ttatcaaaaa gtagctttac	7260
	ctagatcctt ttaaattaa aatgaagttt taaatcaatc taaagtatat atgagtaaac	7320
	ttggtctgac agttaccaat gcttaatcag tgaggcacct atctcagcga tctgtctatt	7380
	tcgttcatcc atagttgcct gactccccgt cgtgtagata actacgatac gggagggtct	7440
	accatctggc cccagtgtg caatgatacc gcgagacca cgctcaccgg ctccagattt	7500
	atcagcaata aaccagccag ccggaagggc cgagcgcaga agtggtcctg caactttatc	7560
	cgctccatc cagtctatta attgttgccg ggaagctaga gtaagtagtt cgccagttaa	7620
	tagtttgcgc aacgttggtg ccattgctac aggcacgtg gtgtcacgct cgtcgtttgg	7680
	tatggttca ttcagctccg gttccaacg atcaaggcga gttacatgat ccccatggt	7740

	gtgcaaaaaa gcggttagct ccttcggtcc tccgatcgtt gtcagaagta agttggccgc	7800
	agtgttatca ctcatggtta tggcagcact gcataattct cttactgtca tgccatccgt	7860
	aagatgcttt tctgtgactg gtgagtactc aaccaagtca ttctgagaat agtgtatgcg	7920
	gcgaccgagt tgctettgcc cggcgtcaat acgggataat accgcgccac atagcagaac	7980
	tttaaaagtg ctcatcattg gaaaacgttc ttcggggcga aaactctcaa ggatcttacc	8040
	gctgttgaga tccagttcga tgtaaccac tcgtgcacc aactgatctt cagcatcttt	8100
	tactttcacc agcgtttctg ggtgagcaaa aacaggaagg caaaatgccg caaaaaaggg	8160
	aataagggcg acacggaaat gttgaatact catactcttc ctttttcaat attattgaag	8220
	catttatcag ggttattgtc tcatgagcgg atacatattt gaatgtattt agaaaaataa	8280
	acaaataggg gttccgcgca catttccccg aaaagtgcc cctgacgtct aagaaacct	8340
	tattatcatg acattaacct ataaaaatag gcgtatcacg aggccctttc gtctcgcgcg	8400
[0083]	tttcggtgat gacggtgaaa acctctgaca catgcagctc ccggagacgg tcacagcttg	8460
	tctgtaagcg gatgccggga gcagacaagc ccgtcagggc gcgtcagcgg gtgttgccgg	8520
	gtgtcggggc tggttaact atgcggcatc agagcagatt gtactgagag tgcaccatat	8580
	gcggtgtgaa ataccgcaca gatgcgtaag gagaaaatac cgcacaggc gccattgcc	8640
	attcagctg cgcaactgtt gggaagggcg atcgggtcgg gcctcttcgc tattacgcca	8700
	gctggcgaaa ggggatgtg ctgcaaggcg attaagttgg gtaacgccag ggttttccca	8760
	gtcacgacgt tgtaaacga cggccagtgc caagctg	8797

<210> 19

<211> 8722

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<400> 19

acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca	60
acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcattgccga ttggtggaag taaggtgta	120
cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga	180
attgccgcat tgcagagata ttgtatitaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc	240
tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggeta actagggaac ccaactgetta	300
agcctcaata aagcttgcct tgagtgttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact	360
ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg	420
cccgaacagg gacctgaaag cgaaaggaa accagagctc tctcgacga ggactcggct	480
tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatfff	540
[0084] gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcggggggag	600
aattagatcg cgatgggaaa aaattcggtt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt	660
aaaacatata gtatgggcaa gcaggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt	720
agaaacatca gaagctgta gacaataact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg	780
atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcattcaaag	840
gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag	900
taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatattgagg	960
acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag	1020
caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag	1080
ctttgttct tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc	1140
tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtcca gcagcagaac aatttctga	1200

	gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc	1260
	aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg	1320
	gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata	1380
	aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa	1440
	ttacacaagc ttaatacaact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga	1500
	acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa	1560
	ttggetgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat	1620
	agtttttgc tactttteta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt	1680
	tcagaccac ctccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg	1740
	tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt	1800
	aacttttaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtca ggggaaagaa tagtagacat	1860
[0085]	aatagcaaca gacatacaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt	1920
	atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttctact tggcagtaca	1980
	tctacgtatt agtcatcgct attacatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc	2040
	gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga	2100
	gtttgtttg gcacaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat	2160
	tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag	2220
	tgaaccgtca gatcgcttgg agacccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct	2280
	agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca	2340
	gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctcct gtctgctct	2400
	ctgggagaca gagtcacat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat	2460
	tggtatcagc agaaaccaga tggaactggt aaactcctga tctaccatac atcaagatta	2520

	cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc	2580
	attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgtt	2640
	ccgtacacgt tggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc	2700
	aagcccgat ctggcgagg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct	2760
	ggcctggtgg cgccctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta	2820
	cccgactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccacgaa agggctctgga ttggctggga	2880
	gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc	2940
	atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac	3000
	acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac	3060
	tgggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caggtggcgg cggttctggt	3120
	ggcggcggtt ctggtggcgg cggttctctc gagcagtcaa tcaaagaaa ccacttggtt	3180
[0086]	aaggigtatg actatcaaga agatggttcg gtacttctga ctttgtatgc agaagccaaa	3240
	aatatcacat ggtttaaaga tgggaagatg atcggcttcc taactgaaga taaaaaaaa	3300
	tggaatctgg gaagtaatgc caaggacca cgagggatgt atcagtgtaa aggatcacag	3360
	aacaagtcaa aaccactcca agtgtattac agaatgtgtc agaactgcat tgaactaat	3420
	gcagccacca tatctgctt tctctttgct gaaatcgta gcattttcgt ccttgcgtt	3480
	gggtctact tcattgctgg acaggatgga gttcgccagt cgagagcttc agacaagcag	3540
	actctgttgc ccaatgacca gctctaccag ccctcaagg atcgagaaga tgaccagtac	3600
	agccaccttc aaggaaacca gttgaggagg aattgataag aattcgatcc gcggccgca	3660
	aggatctgag atcgtctcgg tgcccgtcag tggcagagc gcacatgcc cacagtcccc	3720
	gagaagttgg ggggaggggt cggcaattga acgggtgcct agagaaggtg gcgcgggta	3780
	aactgggaaa gtgatgtcgt gtactggctc cgctttttc ccgagggtg gggagaaccg	3840

	tatataagtg cagtagtcgc cgtgaacggt ctttttcgca acgggtttgc cgccagaaca	3900
	cagctgaagc ttcgaggggc tcgcatctct ccttcacgcg cccgccgccc tacctgagge	3960
	cgccatccac gccggttgag tcgcttctg ccgcctccc cctgtggtgc ctectgaact	4020
	gcgtccgccc tctaggtaag tttaaagctc aggtcgagac cgggcctttg tccggcgtc	4080
	cettggagcc tacctagact cagccggtc tccacgttt gctgacct gcttgetcaa	4140
	ctctacgtct ttgtttcgtt ttctgttctg cgccgttaca gatccaagct gtgaccggcg	4200
	cctacgctag atgaccgagt acaagcccac ggtgcgctc gccaccgcg acgacgtccc	4260
	cagggccgta cgcacctcg ccgccggtt cgccgactac cccgccacgc gccacaccgt	4320
	cgatccggac cgccacatcg agcgggtcac cgagctgcaa gaactcttc tcacgcgct	4380
	cgggctcgac atcggcaagg tgtgggtcgc ggacgacggc gccgcggtgg cggcttggac	4440
	cacgccggag agcgtcgaag cggggcggtt gttcgccgag atcggcccgc gcatggcccga	4500
[0087]	gttgagcggg tcccggctgg ccgcgcagca acagatggaa ggctcctgg cgccgcaccg	4560
	gcccaggag ccgcgtggt tctggccac cgtcgcgctc tcgcccgacc accagggcaa	4620
	gggtctgggc agcgcctcg tgctccccgg agtggaggcg gccgagcgc cgggggtgcc	4680
	cgcttctctg gagacctccg cgccccgaa cctcccctc tacgagcggc tcggcttcac	4740
	cgtcaccgcc gacgtcagg tgcccgaagg accgcgacc tggatcatga cccgcaagcc	4800
	cggtgctga gtcgacaatc aacctctgga ttacaaaatt tgtgaaagat tgactggtat	4860
	tcttaactat gttgctcctt ttacgtatg tggatacgt gctttaatgc ctttgtatca	4920
	tgctattgct tccgatatgg ctttcatttt ctctccttg tataaatcct ggttctgtc	4980
	tctttatgag gagttgtggc ccgttgcag gcaacgtggc gtggtgtgca ctgtgtttgc	5040
	tgacgaacc cccactggtt ggggcattgc caccacctg cagctccttt ccgggacttt	5100
	cgctttccc ctccctattg ccacggcgga actcctgcc gctgccttg cccgctgctg	5160

	gacaggggct cggctgttgg gcactgacaa ttccgtggtg ttgtcgggga aatcatcgtc	5220
	ctttccttgg ctgctcgcct gtgttgccac ctggattctg cgcgggacgt ccttctgcta	5280
	cgtcccttgc gccctcaatc cagcggacct tccttcccgc ggcttctgc cggtctgcg	5340
	gcctcttccg cgtcttccgc ttccctca gacgagtcgg atctcccttt gggccgcctc	5400
	cccgcctggt acctttaaga ccaatgactt acaaggcagc tgtagatctt agccactttt	5460
	taaaagaaaa ggggggactg gaagggctaa ttcactccca acgaaaataa gatctgcttt	5520
	ttgcttgtae tgggtctctc tggttagacc agatctgagc ctgggagctc tctggctaac	5580
	tagggaaccc actgcttaag cctcaataaa gcttgccttg agtgcctcaa gtagtgtgtg	5640
	cccgtctggt gtgtgactct ggtaactaga gatccctcag acccttttag tcagtgtgga	5700
	aaatctctag cagtagtagt tcatgtcacc ttattattca gtatttataa cttgcaaaga	5760
	aatgaatata agagagttag aggaacttgt ttattgcagc ttataatggt tacaaaataa	5820
[0088]	gcaatagcat cacaaattc acaataaag catttttttc actgcattct agttgtggtt	5880
	tgtccaaact catcaatgta tcttatcatg tctggctcta gctatcccgc ccctaactcc	5940
	gcccagttcc gccattctc cgccccatgg ctgactaatt tttttattt atgcagaggc	6000
	cgagccgcc tcggcctctg agctattcca gaagtagtga ggagcctttt ttggaggcct	6060
	agacttttgc agagacggcc caaatcgta atcatggtca tagctgtttc ctgtgtgaaa	6120
	ttgttatccg ctcaaatc cacacaacat acgagccgga agcataaagt gtaaagcctg	6180
	gggtgcctaa tgagttagct aactcacatt aattgcgttg cgtcactgc ccgctttcca	6240
	gtcgggaaac ctgtctgcc agctgcatta atgaatcggc caacgcgcgg ggagaggcgg	6300
	tttgcgtatt gggcgtctt ccgcttctc gctcactgac tcgtctgctt cggctgttgc	6360
	gctgcggcga gcggtatcag ctcaactcaa ggcggtaata cggttatcca cagaatcagg	6420
	ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa	6480

	ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggct cgcccccct gacgagcatc acaaaaaatcg	6540
	acgctcaagt cagaggtggc gaaacccgac aggactataa agataccagg cgtttcccc	6600
	tggaagctcc ctctgctgct ctctgttcc gaccctgccg cttaccggat acctgtccgc	6660
	ctttctcct tcgggaagcg tggcgctttc tcatagetca cgctgtaggt atctcagttc	6720
	ggtgtaggtc gttcgtcca agctgggctg tgtgcacgaa cccccgttc agcccgaccg	6780
	ctgcgcctta tccgtaact atcgtcttga gtccaaccg gtaagacacg acttatcgcc	6840
	actggcagca gccactggta acaggattag cagagcgagg tatgtaggcg gtgctacaga	6900
	gttcttgaag tgggtggccta actacggcta cactagaagg acagtatttg gtatctgcgc	6960
	tctgctgaag ccagttacct tcggaaaaag agttggtagc tcttgatccg gcaaacaac	7020
	caccgctggt agcgggtggt ttttgtttg caagcagcag attacgcgca gaaaaaaagg	7080
	atctcaagaa gatccttga tcttttctac ggggtctgac gctcagtgga acgaaaactc	7140
[0089]	acgttaaggg attttggca tgagattatc aaaaaggatc ttcacctaga tccttttaa	7200
	ttaaaaatga agttttaa atcaatctaaag tatatatgag taaacttggc ctgacagtta	7260
	ccaatgctta atcagtgagg cacctatctc agcgatctgt ctatttcggt catccatagt	7320
	tgctgactc cccgtctgt agataactac gatacgggag ggettaccat ctggccccag	7380
	tgctgcaatg ataccgcgag acccagctc accggtcca gatttatcag caataacca	7440
	gccagccgga agggccgagc gcagaagtgg tctgcaact ttatccgct ccatccagtc	7500
	tattaattgt tgccgggaag ctagagtaag tagttcgcca gttaatagtt tgcgcaacgt	7560
	tgttgccatt gctacaggca tcgtggtgct acgctctcgc tttggtatgg cttcattcag	7620
	ctccggttcc caacgatcaa ggcgagttac atgatecccc atgttgca aaaaagcgg	7680
	tagctccttc ggtcctccga tcgttgcag aagtaagttg gccgcagtgt tatcactcat	7740
	ggttatggca gcactgcata attctcttac tgtcatgcca tccgtaagat gcttttctgt	7800

	gactggtgag tactcaacca agtcattctg agaatagtgt atgcggcgac cgagttgctc	7860
	ttgcccggcg tcaatacggg ataataccgc gccacatagc agaactttaa aagtgtcat	7920
	cattggaaaa cgttcttcgg ggcgaaaact ctcaaggatc ttaccgctgt tgagatccag	7980
	ttcgatgtaa cccactcgtg cacccaactg atcttcagca tcttttactt tcaccagcgt	8040
	ttctgggtga gcaaaaacag gaaggcaaaa tgccgcaaaa aagggaataa gggcgacacg	8100
	gaaatgttga atactcatac tcttcctttt tcaatattat tgaagcattt atcagggtta	8160
	ttgtctcatg agcggataca tatttgaatg tatttagaaa aataaaciaa taggggttcc	8220
	gcgcacattt ccccgaaaag tgccacctga cgtctaagaa accattatta tcatgacatt	8280
	aacctataaa aataggcgta tcacgaggcc ctttcgtctc gcgcgtttcg gtgatgacgg	8340
	tgaaaacctc tgacacatgc agctcccgga gacggtcaca gcttgtctgt aagcggatgc	8400
	cgggagcaga caagcccgtc agggcgcgtc agcgggtgtt ggcgggtgtc ggggctggct	8460
[0090]	taactatgcg gcatcagagc agattgtact gagagtgcac catatgcggt gtgaaatacc	8520
	gcacagatgc gtaaggagaa aataccgcat caggcgccat tcgccattca ggctgcgcaa	8580
	ctgttgggaa gggcgatcgg tgcgggcctc ttcgctatta cgccagctgg cgaaagggg	8640
	atgtgctgca aggcgattaa gttgggtaac gccagggttt tcccagtcac gacgttata	8700
	aacgacggcc agtgccaagc tg	8722
	<210> 20	
	<211> 8692	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸	
	<400> 20	
	acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca	60

	acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcattgccg ttggtggaag taaggtgta	120
	cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggcttgaca tggattggac gaaccactga	180
	attgccgat tgcagagata ttgtatntaa gtccctagct cgatacaata aacgggtctc	240
	tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccaactgctta	300
	agcctcaata aagcttgccct tgagtgttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact	360
	ctggttaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg	420
	cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcgget	480
	tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt	540
	gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag	600
	aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggtt aagccaggg ggaaagaaaa aatataaatt	660
[0091]	aaaacatata gtatgggcaa gcaggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt	720
	agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg	780
	atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcattcaaag	840
	gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag	900
	taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatattgagg	960
	acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag	1020
	caccaccaa ggcaaagaga agagtgtgc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag	1080
	ctttgttctt tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc	1140
	tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgea gcagcagaac aatttgctga	1200
	gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcacc aagcagctcc	1260
	aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctctg gggatttggg	1320
	gttgetctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata	1380

	aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa	1440
	ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga	1500
	acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa	1560
	ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gttaagaat	1620
	agtttttgcg gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcggt	1680
	tcagaccac ctccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg	1740
	tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt	1800
	aacttttaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat	1860
	aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt	1920
	atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttctact tggcagtaca	1980
	tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc	2040
[0092]	gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga	2100
	gtttgtttg gcacaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat	2160
	tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag	2220
	tgaaccgtca gatgcctgg agacccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct	2280
	agagccgcca ccattgttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca	2340
	gcattcctcc tgatccaga catccagatg acacagacta catcctcct gtctgcctct	2400
	ctgggagaca gagtcacat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaa	2460
	tggtatcagc agaaaccaga tggaactggt aaactcctga tctaccatac atcaagatta	2520
	cactcaggag tccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctacc	2580
	attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgett	2640
	ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc	2700

	aagcccgat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct	2760
	ggcctggtgg cgcctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta	2820
	cccgactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccacgaa agggctctgga gtggctggga	2880
	gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc	2940
	atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac	3000
	acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac	3060
	tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caggtggcgg cggttctggt	3120
	ggcggcggtt ctggtggcgg cggttctctc gatttcaaga tacctataga ggaacttgag	3180
	gacagagtgt ttgtgaattg caataccagc atcacatggg tagagggaac ggtgggaaca	3240
	ctgtctcag acattacaag actggacctg ggaaaacgca tcttgacctc acgaggaata	3300
	tataggtgta atgggacaga tatatacaag gacaaagaat ctaccgtgca agttcattat	3360
[0093]	cgaatgtgcc agagctgtgt ggagctggat ccagccaccg tggctggcat cattgtcact	3420
	gatgtcattg ccaactctgct ccttgccttg ggagtcttct gctttgctgg acatgagact	3480
	ggaaggctgt ctggggctgc cgacacacaa gctctgttga ggaatgacca ggtctatcag	3540
	cccctccgag atcgagatga tgctcagtac agccacctg gaggaaactg ggctcggaac	3600
	aagtgataag aattcgatcc gcggcccgga aggatctgcg atcgctccgg tgcccgtcag	3660
	tgggcagagc gcacatgcc cacagtcccc gagaagttgg ggggaggggt cggcaattga	3720
	acgggtgcct agagaaggtg gcgcggggta aactgggaaa gtgatgtcgt gtactggctc	3780
	cgctttttc ccgagggtgg gggagaaccg tatataagtg cagtagtcgc cgtgaacgtt	3840
	ctttttcgca acgggtttgc cgccagaaca cagctgaagc ttcgaggggc tcgcatctct	3900
	ccttcacgcg cccgccgccc tacctgaggc cgccatccac gccggttgag tcgcgttctg	3960
	ccgcctccc cctgtggtgc ctctgaact gcgtccgccc tctaggtgag tttaaagctc	4020

	aggctgagac cgggcctttg tccggcgctc ccttgagacc tacctagact cagccggctc	4080
	tccacgcttt gcctgaccct gcttgetcaa ctctacgtct ttgtttcggt ttctgttctg	4140
	cgccgttaca gatccaagct gtgaccggcg cctacgctag atgaccgagt acaagcccac	4200
	ggtgcgctc gccacccgcg acgacgtccc cagggccgta cgcaccctcg ccgcccggtt	4260
	cgccgactac cccgccacgc gccacaccgt cgatccggac cgccacatcg agcgggtcac	4320
	cgagctgcaa gaactcttcc tcacgcgctt cgggctcgac atcggaagg tgtgggtcgc	4380
	ggacgacggc gccgcggtgg cggctctggc cacgccggag agcgtcgaag cggggcggtt	4440
	gttcgccgag atcgccccgc gcatggccga gttgagcggg tcccggctgg ccgcgcagca	4500
	acagatgaa ggcctcttgg cgccgcaccg gcccaaggag cccgcgtggt tcctggccac	4560
	cgtcggcgctc tcgcccacc accagggcaa gggctctggc agcgcctcg tgctccccgg	4620
	agtggaggcg gccgagcgcg cgggggtgcc cgccttctg gagacctcg cgccccgaa	4680
[0094]	cctccccttc tacgagcggc tcggcttcac cgtcaccgcc gacgtcagg tgcccgaagg	4740
	accgcgacc tgggtcatga cccgcaagcc cggctcctga gtcgacaatc aacctctgga	4800
	ttacaaaatt tgtgaaagat tgactggtat tcttaactat gttgctcctt ttacgctatg	4860
	tggatacgtc gctttaatgc ctttgatca tgcatttctc tcccgtatgg ctttcatttt	4920
	ctctccttg tataaatcct ggttgetgtc tctttatgag gatttggc ccgttgtcag	4980
	gcaacgtggc gtggtgtgca ctgtgttgc tgacgcaacc cccactggtt ggggcattgc	5040
	caccacctgt cagctccttt cgggacttt cgctttccc ctcctattg ccacggcgga	5100
	actcatgcc gcctgccttg cccgetgctg gacagggget cggetgttg gcactgacaa	5160
	ttccgtggtg ttgtcgggga aatcatgctc ctttccttgg ctgctgcct gtgttgccac	5220
	ctggattctg cgcgggacgt cttctgcta cgtcccttcg gccctcaatc cagcggacct	5280
	tcctcccgc ggcctgctgc cggetctgc gcctcttcg cgtcttcgcc ttgcctca	5340

	gacgagtcgg atctcccttt gggccgcctc cccgcctggt accttaaga ccaatgactt	5400
	acaaggcagc thtagatctt agccactttt taaaagaaaa ggggggactg gaagggctaa	5460
	ttactcecca acgaaaataa gatctgcttt ttgcttgtac tgggtctctc tggttagacc	5520
	agatctgagc ctgggagctc tctggctaac tagggaaccc actgcttaag cctcaataaa	5580
	gcttgccctg agtgcttcaa gtagtgtgtg cccgtctgtt gtgtgactct ggtaactaga	5640
	gatccctcag acccttttag tcagtgtgga aaatctctag cagtagtagt tcatgtcctc	5700
	ttattattca gtatttataa cttgcaaaga aatgaatctc agagagttag aggaacttgt	5760
	ttattgcagc ttataatggt tacaaaataa gcaatagcat cacaaatttc acaaataaag	5820
	catttttttc actgcattct agttgtggtt tgtccaaact catcaatgta tcttatcatg	5880
	tctggctcta gctateccgc ccctaactcc gccagttcc gccatttctc cgccccatgg	5940
	ctgactaatt ttttttattt atgcagaggc cgaggccgcc tcggcctctg agctattcca	6000
[0095]	gaagtagtga ggaggctttt ttggaggcct agacttttgc agagacggcc caaatcgtta	6060
	atcatggtca tagctgtttc ctgtgtgaaa ttgttatccg ctcacaattc cacacaacat	6120
	acgagccgga agcataaagt gtaaagcctg gggcgcctaa tgagttagct aactcacatt	6180
	aattgcgttg cgctcactgc ccgctttcca gtcgggaaac ctgtcgtgcc agctgcatta	6240
	atgaatcggc caacgcgcgg ggagaggcgg tttgcgtatt gggcgtctt ccgcttctc	6300
	gctcactgac tcgtgcgct cggcgttctg gctgcggcga gcggtatcag ctcactcaaa	6360
	ggcggttaata cggttatcca cagaatcagg ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa	6420
	aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa ggccgcgttg ctggcgtttt tccatagget	6480
	ccgccccct gacgagcctc acaaaaatcg acgctcaagt cagaggtgga gaaacccgac	6540
	aggactataa agataccagg cgtttccccc tggaagetcc ctctgtcgtc ctctgttcc	6600
	gacctgccc cttaccggat acctgtccc ctttctcct tcgggaagcg tggcgctttc	6660

	tcatagctca cgctgtaggt atctcagttc ggtgtaggtc gttcgtcca agctgggctg	6720
	tgtgcacgaa cccccgttc agcccgaccg ctgcgcctta tccgtaact atcgtcttga	6780
	gtccaacccg gtaagacacg acttatcgcc actggcagca gccactggta acaggattag	6840
	cagagcgagg tatgtaggcg gtgctacaga gttcttgaag tgggtgccta actacggcta	6900
	cactagaagg acagtatttg gtatctgcgc tctgctgaag ccagttacct tcgaaaaag	6960
	agttggtagc tcttgatccg gcaaaaaac caccgctggt agcggtggtt tttttgtttg	7020
	caagcagcag attacgcgca gaaaaaagg atctcaagaa gatcctttga tcttttctac	7080
	ggggtctgac gctcagtgga acgaaaactc acgtaaggg attttggtea tgagattatc	7140
	aaaaaggatc ttcacctaga tctttttaa ttaaaaatga agttttaaata caatctaaag	7200
	tatatatgag taaacttggc ctgacagtta ccaatgctta atcagtgagg cacctatctc	7260
	agcgatctgt ctatttcggt catccatagt tgccctgact cccgtcgtgt agataactac	7320
[0096]	gatacgggag ggcttaccat ctggccccag tgctgcaatg ataccgcgag acccagctc	7380
	accggctcca gatttatcag caataacca gccagccgga agggccgagc gcagaagtgg	7440
	tctgcaact ttatccgct ccatccagtc tattaattgt tgccgggaag ctagagtaag	7500
	tagttcgcca gttaatagtt tgcgcaacgt tgttgccatt gctacaggca tcgtggtgtc	7560
	acgctcgtcg tttggtatgg cttcattcag ctccggttcc caacgatcaa ggcgagttac	7620
	atgatcccc atgttgtgca aaaaagcggg tagctccttc ggtcctccga tcgttgctcag	7680
	aagtaagttg gccgcagtgt taccactcat ggttatggca gcaactgcata attctcttac	7740
	tgtcatgcca tccgtaagat gcttttctgt gactggtgag tactcaacca agtcattctg	7800
	agaatagtgt atgcggcgac cgagttgctc ttgcccggcg tcaatacggg ataataccgc	7860
	gccacatagc agaactttaa aagtgctcat cattggaaaa cgttcttcgg ggcgaaaact	7920
	ctcaaggatc ttaccgctgt tgagatccag ttcgatgtaa ccaactcgtg cacccaactg	7980

	atcttcagca tcttttactt tcaccagcgt ttctgggtga gcaaaaacag gaaggcaaaa	8040
	tgccgcaaaa aaggaataa gggcgacacg gaaatgttga atactcatac tcttcctttt	8100
	tcaatattat tgaagcattt atcagggtta ttgtctcatg agcggataca tatttgaatg	8160
	tatttagaaa aataaaciaa taggggttcc gcgcacattt ccccgaaaag tgccacctga	8220
	cgtctaagaa accattatta tcatgacatt aacctataaa aataggcgta tcacgaggcc	8280
	ctttcgtctc gcgcgtttcg gtgatgacgg tgaaaacctc tgacacatgc agtcccggga	8340
	gacggtcaca gcttgtctgt aagcggatgc cgggagcaga caagcccgtc agggcgcgtc	8400
	agcgggtggt ggccgggtgtc ggggctggct taactatgcg gcatcagagc agattgtact	8460
	gagagtgcac catatgcggt gtgaaatacc gcacagatgc gtaaggagaa aataccgcat	8520
	caggcggcat tcgccattca ggctgcgcaa ctgttgggaa gggcgatcgg tgcgggcctc	8580
[0097]	ttcgttatta cgccagctgg cgaaaggggg atgtgtctgca aggcgattaa gttgggtaac	8640
	gccagggttt tcccagtcac gacgttgtaa aacgacggcc agtgccaagc tg	8692
	<210> 21	
	<211> 9133	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸	
	<400> 21	
	acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca	60
	acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taaggtgta	120
	cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga	180
	attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc	240

tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actaggaac cactgctta	300
agcctcaata aagcttgccct tgagtgttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact	360
ctggttaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg	420
cccgaacagg gacctgaaag cgaaaggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggt	480
tgctgaagcg cgcaaggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt	540
gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag	600
aattagatcg cgatgggaaa aaattcggtt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt	660
aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctggt	720
agaaacatca gaagctgta gacaaact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg	780
atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcataaag	840
gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag	900
[0098] taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg	960
acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag	1020
caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtgc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag	1080
ctttgttctt tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc	1140
tgacgttaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtga gcagcagaac aatttgctga	1200
gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc	1260
aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg	1320
gttgetctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata	1380
aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa	1440
ttacacaagc ttaatacaact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga	1500
acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa	1560

	ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttgtag gtttaagaat	1620
	agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcggt	1680
	tcagaccac ctccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaag	1740
	tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggt	1800
	aacttttaa agaaaaggg ggattgggg gtacagtga gggaaagaa tagtagacat	1860
	aatagcaaca gacatacaa ctaaagaatt acaaaaaca attacaaaat tcaaaat	1920
	atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttctact tggcagtaca	1980
	tctacgtatt agtcatcgt attaccatgg tgatgcggt ttggcagtac atcaatgggc	2040
	gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga	2100
	gtttgtttg gcacaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat	2160
	tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggtta tataagcaga gctcgttag	2220
[0099]	tgaaccgtca gatgcctgg agacccatc cacgctgtt tgacctcat agaagattct	2280
	agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca	2340
	gcattcctcc tgatccaga catccagatg acacagacta catcctcct gtctgcctct	2400
	ctgggagaca gagtcacat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaa	2460
	tggtatcagc agaaaccaga tggaactggt aaactcctga tctaccatac atcaagatta	2520
	cactcaggag tccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc	2580
	attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacagg taatacgtt	2640
	ccgtacacgt tcggagggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc	2700
	aagcccgat ctggcgagg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct	2760
	ggcctggtgg cgccctaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta	2820
	cccgactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccacgaa aggtctgga gtggctggga	2880

	gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc	2940
	atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac	3000
	acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac	3060
	tggggctcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg cagggtggcg cggttctggt	3120
	ggcggcggtt ctggtggcgg cggttctctc gagctgggag caggcccagt ggattctgga	3180
	gtcacacaaa ccccaaagca cctgatcaca gcaactggac agcgagtgac gctgagatgc	3240
	tcccttaggt ctggagacct ctctgtgtca tggtagaac agagcctgga ccagggcctc	3300
	cagttcctca ttcagtatta taatggagaa gagagagcaa aaggaaacat tcttgaacga	3360
	ttctccgcac aacagttccc tgacttgac tctgaactaa acctgagctc tctggagctg	3420
	ggggactcag ctttgtattt ctgtgccagc agccccgga caggcctgaa cactgaagct	3480
	ttctttggac aaggcaccag actcacagtt gtagaggacc tgaacaaggt gttcccacc	3540
[0100]	gaggtcgctg tgtttgagcc atcagaagca gagatctccc acacccaaaa ggccacactg	3600
	gtgtgcctgg ccacaggctt cttccccgac cacgtggagc tgagctggtg ggtgaatggg	3660
	aaggaggtgc acagtggggt cagcacggac ccgcagcccc tcaaggagca gcccgcctc	3720
	aatgactcca gatactgcct gagcagccgc ctgagggtct cggccacctt ctggcagaac	3780
	ccccgaacc acttccgctg tcaagtccag ttctacgggc tctcggagaa tgacgagtgg	3840
	accagagata ggccaaacc cgtcaccag atcgtcagcg ccgaggcctg ggtagagca	3900
	gactgtggct ttacctcggg gtctaccag caaggggtcc tgtctgccac catcctctat	3960
	gagatcctgc tagggaagc caccctgtat gctgtgctgg tcagcgcctt tgtgttgatg	4020
	gccatggtca agagaaagga tttctgataa gaattcgatc cgcggccgag aaggatctgc	4080
	gatcgtccg gtgccctca gtgggcagag cgcacatcgc ccacagtccc cgagaagttg	4140
	gggggagggg tcggcaattg aacgggtgcc tagagaaggt ggcgcggggt aaactgggaa	4200

	agtgatgtcg tgtactggct cgccttttt cccgagggtg ggggagaacc gtatataagt	4260
	gcagtagtcg ccgtgaacgt tctttttcgc aacgggtttg ccgccagaac acagctgaag	4320
	cttcgagggg ctgcacatc tccttcacgc gcccgccgcc ctacctgagg ccgccatcca	4380
	cgccggttga gtgcggttct gccgcctccc gcctgtggtg cctcctgaac tgcgtccgcc	4440
	gtctaggtaa gtttaaagct caggtcgaga ccgggccttt gtccggcgct cccttgagc	4500
	ctacctagac tcagccgget ctccacgctt tgctgaccc tgcttgetca actctacgtc	4560
	tttgtttcgt tttctgttct gcgccgttac agatccaagc tgtgaccggc gcctacgeta	4620
	gatgaccgag tacaagccca cgggtgcgct cgccaccgcc gacgacgtcc ccagggccgt	4680
	acgcaccctc gccgcgcgct tcgccgacta ccccgccacg cgccacaccg tcgatccgga	4740
	ccgccacatc gagcgggtca ccgagctgca agaactcttc ctcacgcgcg tcgggctcga	4800
	catcggcaag gtgtgggtcg cggacgacgg cgccgcggtg gcggtctgga ccacgccgga	4860
[0101]	gagcgtcga gcgggggcgg tgttcgcga gatcggcccg cgcatggccg agttgagcgg	4920
	ttcccggctg gccgcgcagc aacagatgga aggcctcctg gcgccgcacc ggcccaagga	4980
	gcccgcgtgg ttcctggcca ccgtcggcgt ctgcgccgac caccagggca agggctctggg	5040
	cagcggcgtc gtgctccccg gagtggaggc ggccgagcgc gccggggtgc ccgccttct	5100
	ggagacctcc gcgccccgca acctcccctt ctacgagcgg ctcggttca ccgtcaccgc	5160
	cgacgtcgag gtgcccgaag gaccgcgcac ctggtgcatg acccgaagc ccggtgcctg	5220
	agtcgacaat caacctctgg attacaaaat ttgtgaaaga ttgactggta ttcttaacta	5280
	tgttgctcct tttacgtat gtggatacgc tgctttaatg cctttgtatc atgctattgc	5340
	ttcccgtatg gctttcattt tctctcctt gtataaatcc tggttgctgt ctctttatga	5400
	ggagttgtgg cccgttgta ggcaacgtgg cgtggtgtgc actgtgtttg ctgacgcaac	5460
	ccccactggt tggggcattg ccaccacctg tcagctcctt tccgggactt tcgctttccc	5520

	cctccctatt gccacggcgg aactcatcgc cgctgcctt gcccgtgct ggacaggggc	5580
	tcggctgttg ggcactgaca attccgtggt gttgtcgggg aaatcatcgt cctttccttg	5640
	gctgctgcc tgtgttgcca cctggattct gcgcgggacg tccttctgct acgtcccttc	5700
	ggccctcaat ccageggacc ttcttcccg cggcctgctg ccggtctgc ggctcttcc	5760
	gcgtcttcgc cttegcctc agacgagteg gatctccctt tgggccgect ccccgcctgg	5820
	tacctttaag accaatgact tacaaggcag ctgtagatct tagccacttt ttaaaagaaa	5880
	aggggggact ggaagggeta attcactccc aacgaaaata agatctgctt ttigtcttga	5940
	ctgggtctct ctggttagac cagatctgag cctgggagct ctctggctaa ctaggaacc	6000
	cactgcttaa gcctcaataa agcttgcctt gagtgcttca agtagtgtgt gcccgtctgt	6060
	tgtgtgactc tgtaactag agatccctca gaccctttta gtcagtgtgg aaaatctcta	6120
	gcagtagtag ttcattgcat cttattattc agtatttata acttgcaaag aaatgaatat	6180
[0102]	cagagagtga gaggaacttg tttattgcag cttataatgg ttacaaataa agcaatagca	6240
	tcacaaatth cacaaataaa gcattttttt cactgcattc tagttgtggt ttgtccaaac	6300
	tcattcaatgt atcttatcat gtctggctct agctatcccg cccctaactc cgcccagttc	6360
	cgcccattct ccgcccctg gctgactaat tttttttatt tatgcagagg ccgaggccgc	6420
	ctcggcctct gagctattcc agaagtagtg aggagcctt tttggaggcc tagacttttg	6480
	cagagacggc ccaaattcgt aatcatggtc atagctgttt cctgtgtgaa attgttatcc	6540
	gctcacaatt ccacacaaca tacgagccgg aagcataaag tgtaaagcct ggggtgccta	6600
	atgagtgagc taactacat taattgcgtt gcgtcactg cccgctttcc agtcgggaaa	6660
	cctgtcgtgc cagctgcatt aatgaatcgg ccaacgcgcg gggagaggcg gtttgcgtat	6720
	tgggcgctct tccgcttccet cgctcactga ctcgctgcgc tcggctcttc ggctgcggcg	6780
	agcggtatca gctcactcaa aggcggtaat acggttatcc acagaatcag gggataacgc	6840

	aggaaagaac atgtgagcaa aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcgtt	6900
	gctggcgttt ttccatagge tccgcccc tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag	6960
	tcagaggtgg cgaaaccga caggactata aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc	7020
	cctcgtgcgc tctcctgttc cgaccctgcc gcttaccgga tacctgtccg cttttctccc	7080
	ttcgggaagc gtggcgcttt ctcatagctc acgctgtagg tatctcagtt cgggtgtaggt	7140
	cgttcgtccc aagctgggct gtgtgcacga accccccgtt cagcccgacc gctgcgcctt	7200
	atccggtaac tatcgtcttg agtccaaccc ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc	7260
	agccactggg aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa	7320
	gtgggtgcct aactacggct acactagaag gacagtatct ggtatctgcg ctctgctgaa	7380
	gccagttacc ttcggaaaaa gagttgtag ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg	7440
	tagcgggtgg ttttttgttt gcaagcagca gattacgcgc agaaaaaag gatctcaaga	7500
[0103]	agatcctttg atcttttcta cggggctctga cgctcagtgg aacgaaaact cacgttaagg	7560
	gattttggtc atgagattat caaaaaggat cttcacctag atccttttaa attaaaaatg	7620
	aagttttaa tcaatctaaa gtatatatga gtaaacttgg tctgacagtt accaatgctt	7680
	aatcagtgag gcacctatct cagcgatctg tctatctcgt tcatccatag ttgcctgact	7740
	ccccgtcgtg tagataacta cgatacggga gggcttacca tctggcccca gtgctgcaat	7800
	gataccgcga gaccacgct caccgctcc agatttatca gcaataaacc agccagccgg	7860
	aaggccgag cgcagaagtg gtcttcaac tttatccgcc tccatccagt ctattaattg	7920
	ttgccgggaa gctagagtaa gtagttcgcc agttaatagt ttgcgcaacg ttgttgccat	7980
	tgctacagge atcgtggtgt cacgctcgtc gtttggtatg gcttcattca gctccggttc	8040
	ccaacgatca aggcgagtta catgatcccc catgtttgtc aaaaaagcg ttagctcctt	8100
	cggctcctcg atcgtttgca gaagtaagtt ggccgcagtg ttatcactca tggttatggc	8160

	agcactgcat aattctctta ctgtcatgcc atccgtaaga tgcttttctg tgactggtga	8220
	gtactcaacc aagtcattct gagaatagtg tatgcggcga cggagttgct cttgcccggc	8280
	gtcaatacgg gataataccg cgccacatag cagaacttta aaagtgetca tcattggaaa	8340
	acgtttctcg gggcgaaaac tctcaaggat cttaccgctg ttgagatcca gttcgatgta	8400
	accactcgt gcacccaact gatcttcagc atcttttact ttcaccagcg tttctgggtg	8460
	agcaaaaaca ggaaggcaaa atgccgcaaa aaaggaata agggcgacac ggaaatggtg	8520
	aatactcata ctcttccttt ttcaatatta ttgaagcatt taccagggtt attgtctcat	8580
	gagcggatac atatttgaat gtatttagaa aaataaaca ataggggttc cgcgcacatt	8640
	tccccgaaaa gtgccacctg acgtctaaga aaccattatt atcatgacat taacctataa	8700
	aataggcgt atcacgagc cctttcgtct cgcgcgttcc ggtgatgacg gtgaaaacct	8760
[0104]	ctgacacatg cagctcccgg agacggcac agcttgtctg taagcggatg ccgggagcag	8820
	acaagcccgt caggcgcgt cagcgggtgt tggcgggtgt cgggctggc ttaactatgc	8880
	ggcatcagag cagattgtac tgagagtgea ccatatgcgg tgtgaaatac cgcacagatg	8940
	cgtaaggaga aaataccgca tcagcgcca ttcccatc aggetgcgca actgttggga	9000
	aggcgatcg gtgcggcct ctccgtatt acgccagctg gcgaaaggg gatgtgctgc	9060
	aaggcatta agttgggtaa cgccagggtt ttccagtcg cgacgttgta aaacgacggc	9120
	cagtccaag ctg	9133

<210> 22

<211> 8795

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

	<400> 22	
	acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca	60
	acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcattgccg ttggtggaag taaggtggta	120
	cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggcttgaca tggattggac gaaccactga	180
	attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc	240
	tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccaactgetta	300
	agcctcaata aagcttgcc ttagtgcttc aagtagtggt tgcccgtctg ttgtgtgact	360
	ctggttaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg	420
	cccgaacagg gacctgaaag cgaaaggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct	480
	tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgagg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt	540
	gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag	600
[0105]	aattagatcg cgatgggaaa aaattcggtt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt	660
	aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt	720
	agaaacatca gaaggctgta gacaaact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg	780
	atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcataaag	840
	gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag	900
	taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg	960
	acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag	1020
	caccaccaa ggcaagaga agagtgtgc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag	1080
	ctttgttctt tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc	1140
	tgacgttaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgetga	1200
	gggtattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc	1260
	aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaagatca acagctcctg gggatttggg	1320

	gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata	1380
	aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa	1440
	ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga	1500
	acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa	1560
	ttgctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttgtag gttaagaat	1620
	agtttttgc gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt	1680
	tcagaccac ctccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg	1740
	tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt	1800
	aacttttaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtca ggggaaagaa tagtagacat	1860
	aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt	1920
	atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttctact tggcagtaca	1980
[0106]	tctacgtatt agtcatcgct attacatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc	2040
	gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga	2100
	gtttgtttg gcacaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat	2160
	tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag	2220
	tgaaccgtca gatgcctgg agacccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct	2280
	agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca	2340
	gcattcctcc tgatcccaca ggtgcagctg gtgcagagcg gcgcggaagt gaaaaaacg	2400
	ggcgcgagcg tgaaagtgag ctgcaaagcg agcggctata gctttccgga ttattatatt	2460
	aactgggtgc gccaggcgcc gggccagggc ctggaatgga tgggctggat ttattttgcg	2520
	agcggcaaca gcgaatataa ccagaaattt accggccgcg tgacctgac ccgcgatacc	2580
	agcagcagca ccgcgtatat ggaactgagc agcctgcgca gcgaagatac cgcggtgtat	2640

	ttttgcgcga gcctgtatga ttatgattgg tattttgatg tgtggggcca gggcaccatg	2700
	gtgacctga gcagcggcgg cggcggcagc ggcggcggcg gcagcggcgg cggcggcagc	2760
	gatattgtga tgaccagac cccgctgagc ctgagcgtga ccccgggcca accggcagc	2820
	attagctgca aaagcagcca gagcctggtg catagcaacg gcaacaccta tctgcattgg	2880
	tatctgcaga aaccgggcca gagcccagc ctgctgattt ataaagtgag caaccgcttt	2940
	agcggcgtgc cggatcgtt tagcggcagc ggcagcggcg cggattttac cctgaaaatt	3000
	agccgcgtgg aagcgggaaga tgtgggcgtg tattattgcg cggaaaccag ccatgtgccg	3060
	tggacctttg gccagggcac caaactggaa attaaaagcg gtggcggcgg ttctggtggc	3120
	ggcggttctg gtggcggcgg ttctctcgag gatggtaatg aagaaatggg tggattaca	3180
	cagacacat ataaagtctc catctctgga accacagtaa tattgacatg ccctcagtat	3240
	cctggatctg aaatactatg gcaacacaat gataaaaaca taggcggtga tgaggatgat	3300
[0107]	aaaaacatag gcagtgatga ggatcacctg tcaactgaagg aattttcaga attggagcaa	3360
	agtggttatt atgtctgcta ccccagagga agcaaaccag aagatgcgaa cttttatctc	3420
	tacctgaggg caagagtgtg tgagaactgc atggagatgg atgtgatgtc ggtggccaca	3480
	attgcatag tggacatctg catcactggg ggcttctctc tgctggttta ctactggagc	3540
	aagaatagaa aggccaaggc caagcctgtg acacgaggag cgggtgctgg cggcaggcaa	3600
	aggggacaaa acaaggagag gccaccacct gttcccaacc cagactatga gcccacccg	3660
	aaagccagc gggacctgta ttctggcctg aatcagagac gcatctgata agaattcgga	3720
	tccgcggcgg cgaaggatct gcgacgctc cggtgcccgt cagtgggcag agcgcacatc	3780
	gcccacagtc cccgagaagt tggggggagg ggtcggcaat tgaacgggtg cctagagaag	3840
	gtggcggcgg gtaaactggg aaagtgatgt cgtgtactgg ctccgccttt ttcccagggg	3900
	tgggggagaa ccgtatataa gtgcagtagt cgccgtgaac gttctttttc gcaacgggtt	3960

	tgccgccaga acacagctga agcttcgagg ggctcgcata tctccttcac gcgccccgcg	4020
	ccctacctga ggccgccatc cacgccggtt gagtcgcgtt ctgccgcctc ccgcctgtgg	4080
	tgccctctga actgcgtccg ccgtctaggt aagtttaag ctcaggtcga gaccgggcct	4140
	ttgtccggcg ctcccttggg gcctacctag actcagccgg ctctccacgc tttgcctgac	4200
	cctgcttgct caactctacg tctttgttct gttttctgtt ctgcgccgtt acagatccaa	4260
	gctgtgaccg gcgcctacgc tagatgaccg agtacaagcc cacggtgcgc ctgccaccc	4320
	gcgacgacgt ccccagggcc gtacgcaccc tcgccgccgc gttcggcgac taccccgcca	4380
	cgcgccacac cgtcgatccg gaccgccaca tcgagcgggt caccgagctg caagaactct	4440
	tctcaccgcg cgtcgggctc gacatcggca aggtgtgggt cgcgacgac ggcgccgcgg	4500
	tggcggcttg gaccacgccg gagagcgtcg aagcgggggc ggtgttcgcc gagatcggcc	4560
	cgcgcatggc cgagttgagc ggttcccggc tggccgcgca gcaacagatg gaaggcctcc	4620
[0108]	tggcggcgca ccggcccaag gagcccgcgt ggttcctggc caccgtcggc gtctcggccg	4680
	accaccaggg caagggtctg ggcagcggc tcgtgctccc cggagtggag gcggccgagc	4740
	gcgccggggt gcccgccttc ctggagacct ccgcgccccg caacctcccc ttctacgagc	4800
	ggctcggctt caccgtcacc gccgacgtcg aggtgcccga aggaccgcgc acctggtgca	4860
	tgaccgcaa gcccggtgcc tgagtcgaca atcaacctct ggattacaaa atttgtgaaa	4920
	gattgactgg tattcttaac tatgttgcct cttttacgct atgtggatac gctgctttaa	4980
	tgcccttgta tcatgetatt gcttcccgta tggttttcat tttctctcc ttgtataaat	5040
	cctggttgct gtctctttat gaggagtgtt ggcccgttgt caggcaactg ggcgtggtgt	5100
	gcactgtggt tgctgacgca acccccactg gtgggggcat tgccaccacc tgcagctcc	5160
	tttcgggac tttcgtttc cccctcccta ttgccacggc ggaactcacc gccgcctgcc	5220
	ttccccgtg ctggacaggg gctcggctgt tgggcaactga caattccgtg gtgttgcgg	5280

	ggaaatcatc gtcctttcct tggctgctcg cctgtgttgc cacctggatt ctgcgcggga	5340
	cgtccttctg ctacgtccct tcggccctca atccagegga ctttccttcc cgcggcctgc	5400
	tgccggctct gcggcctctt ccgcgtcttc gccttcgccc tcagacgagt cggatctccc	5460
	tttgggccgc ctccccgcct ggtaccttta agaccaatga cttacaaggc agctgtagat	5520
	cttagccaact ttttaaaaga aaagggggga ctggaagggc taattcactc ccaacgaaaa	5580
	taagatctgc tttttgcttg tactgggtct ctctggttag accagatctg agcctgggag	5640
	ctctctggct aactagggaa cccactgctt aagcctcaat aaagcttgcc ttgagtgett	5700
	caagtagtgt gtgccctct gttgtgtgac tctggtaact agagatccct cagacccttt	5760
	tagtcagtgt ggaaaatctc tagcagtagt agttcatgtc atcttattat tcagtattta	5820
	taacttgcaa agaaatgaat atcagagagt gagaggaact tgtttattgc agcttataat	5880
	ggttacaaat aaagcaatag catcacaat ttcacaaata aagcattttt ttcactgcat	5940
[0109]	tctagttgtg gtttgcctca actcatcaat gtatcttate atgtctggct ctagctatcc	6000
	cgcccctaac tccgcccagt tccgcccatt ctccgcccga tggctgacta atttttttta	6060
	tttatgcaga ggccgaggcc gcctcggcct ctgagctatt ccagaagtag tgaggaggct	6120
	ttttggagg cctagacttt tgcagagacg gcccaaattc gtaatcatgg tcatagctgt	6180
	ttcctgtgtg aaattgttat ccgctcacia ttccacacia catacgagcc ggaagcataa	6240
	agtgtaaagc ctgggggtgcc taatgagtga gctaactcac attaattgcg ttgcgctcac	6300
	tgcccgcttt ccagtcggga aacctgtcgt gccagctgca ttaatgaatc ggccaacgcg	6360
	cggggagagg cggtttgcgt attgggcgct ctcccgcttc ctgctcact gactcgtctc	6420
	gctcggctgt tcggctgcgg cgagcggat cagctcactc aaagcggta atacggttat	6480
	ccacagaatc aggggataac gcagaaaga acatgtgagc aaaaggccag caaaaggcca	6540
	ggaaccgtaa aaagccgcg ttgctggcgt ttttccatag gctccgcccc cctgacgagc	6600

	atcacaaaaa tcgacgctca agtcagaggt ggcgaaacc gacaggacta taaagatacc	6660
	aggcgtttcc ccttgaagc tccctcgtgc gctctcctgt tccgaccctg ccgcttaccg	6720
	gatacctgtc cgcttttctc ccttcgggaa gcgtggcgct ttctcatagc tcacgctgta	6780
	ggtatctcag ttcggtgtag gtcgttcgct ccaagctggg ctgtgtgcac gaaccccccg	6840
	ttcagcccga ccgctgcgcc ttatccgcta actatcgtct tgagtccaac ccgtaagac	6900
	acgacttate gccactggca gcagccactg gtaacaggat tagcagagcg aggtatgtag	6960
	gcggtgctac agagttcttg aagtgggtgc ctaactacgg ctacactaga aggacagtat	7020
	ttggtatctg cgctctgctg aagccagtta ccttcggaaa aagagttggt agctcttgat	7080
	ccggcaaaaa aaccaccgct ggtagcggtg gttttttgt ttgcaagcag cagattacgc	7140
	gcagaaaaaa aggatctcaa gaagatcctt tgatcttttc tacggggtct gacgctcagt	7200
	ggaacgaaaa ctcacgttaa gggattttgg tcatgagatt atcaaaaagg atcttcacct	7260
[0110]	agatcctttt aaattaaaaa tgaagtttta aatcaatcta aagtatatat gagtaaactt	7320
	ggtctgacag ttaccaatgc ttaatcagtg aggcacctat ctcagcgatc tgtctatttc	7380
	gttcatccat agttgcctga ctccccgtcg ttagataaac tacgatacgg gagggcttac	7440
	catctggccc cagtgtgca atgataccgc gagaccacg ctcaccgct ccagatttat	7500
	cagcaataaa ccagccagcc ggaagggccg agcgcagaag tggctctgca actttatccg	7560
	cctccatcca gtctattaat tgttgccggg aagctagagt aagtagttcg ccagttaata	7620
	gtttgcgcaa cgttgttgcc attgctacag gcatcgtggt gtcacgctcg tcgtttgta	7680
	tggettatt cagctccggt tcccaacgat caaggcgagt tacatgatec cccatgttgt	7740
	gcaaaaaage ggtagctcc ttcggtcctc cgatcgttgt cagaagtaag ttggccgcag	7800
	tgttatcact catggttatg gcagcactgc ataattctct tactgtcatg ccatccgtaa	7860
	gatgettttc tgtgactggt gagtactcaa ccaagtcatt ctgagaatag tgtatgcggc	7920

	gaccgagttg ctcttgcccg gcgtaatac gggataatac cgcgccacat agcagaactt	7980
	taaaagtgct catcattgga aaacgttctt cggggcgaaa actctcaagg atcttaccgc	8040
	tgttgagatc cagttcgatg taaccactc gtgcacccaa ctgatcttca gcatctttta	8100
	ctttcaccag cgtttctggg tgagcaaaaa caggaaggca aatgccgca aaaaaggaa	8160
	taagggcgac acggaaatgt tgaatactca tactcttctt tttcaatat tattgaagca	8220
	tttatcaggg ttattgtctc atgagcggat acatatttga atgtatttag aaaaataaac	8280
	aaataggggt tccgcgcaca tttccccgaa aagtgccacc tgacgtctaa gaaaccatta	8340
	ttatcatgac attaacctat aaaaatagge gtatcacgag gccctttcgt ctcgcgcggt	8400
	tcggtgatga cggtgaaaac ctctgacaca tgcagctccc ggagacggtc acagcttgtc	8460
	tgtaagcgga tgccgggagc agacaagccc gtcagggcgc gtcagcgggt gttggcgggt	8520
[0111]	gtcggggctg gcttaactat gcggcatcag agcagattgt actgagagtg caccatatgc	8580
	ggtgtgaaat accgcacaga tgcgtaagga gaaaataccg catcaggcgc cattcgccat	8640
	tcaggtgctg caactgttgg gaagggcgat cgggtcgggc ctcttcgcta ttacgccagc	8700
	tggcgaaagg gggatgtgct gcaaggcgat taagttgggt aacgccaggg ttttcccagt	8760
	cacgacgttg taaaacgacg gccagtgcca agctg	8795
	<210> 23	
	<211> 8720	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> 人工序列的描述: 合成多核苷酸	
	<400> 23	
	acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca	60

	acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcattgccg ttggtggaag taaggtggtgta	120
	cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac ggtcttgaca tggattggac gaaccactga	180
	attgccgat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc	240
	tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccaactgctta	300
	agcctcaata aagcttgccct tgagtgttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact	360
	ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg	420
	cccgaacagg gacctgaaag cgaaaggga accagagctc tctcgacgca ggactcgget	480
	tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgagg ggcgcgactg gtgagtacgc caaaaatttt	540
	gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag	600
	aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggtt aagccaggg ggaaagaaaa aatataaatt	660
[0112]	aaaacatata gtatgggcaa gcaggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt	720
	agaaacatca gaaggctgta gacaaact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg	780
	atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcataaag	840
	gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag	900
	taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg	960
	acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag	1020
	caccaccaa ggcaaagaga agagtgtgc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag	1080
	ctttgttctt tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc	1140
	tgacgttaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttctga	1200
	gggtattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcacc aagcagctcc	1260
	aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg	1320
	gttgetctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata	1380

	aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa	1440
	ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga	1500
	acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa	1560
	ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat	1620
	agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt	1680
	tcagaccac ctccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg	1740
	tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt	1800
	aacttttaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat	1860
	aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt	1920
	atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttctact tggcagtaca	1980
	tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatcggtt ttggcagtac atcaatgggc	2040
[0113]	gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga	2100
	gtttgtttg gcacaaaat caacgggact ttcaaaaatg tcgtaacaac tccgccccat	2160
	tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag	2220
	tgaaccgtca gatcgcttg agacccatc cacgctgitt tgacctccat agaagattct	2280
	agagccgcca catgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca	2340
	gcattcctcc tgatcccaca ggtgcagctg gtgcagagcg gcgcggaagt gaaaaaccg	2400
	ggcgcgagcg tgaaagtgag ctgcaaagcg agcggctata gctttccgga ttattatatt	2460
	aactgggtgc gccaggcgcc gggccagggc ctggaatgga tgggctggat ttattttgcg	2520
	agcggcaaca gcgaatataa ccagaaatth accggccgcg tgacatgac ccgcgatacc	2580
	agcagcagca ccgcgtatat ggaactgagc agcctgcgca gcgaagatac cgcggtgtat	2640
	ttttgcgca gcctgtatga ttatgattgg tattttgatg tgtggggcca gggcaccatg	2700

	gtgaccgtga gcagcggcgg cggcggcagc ggcggcggcg gcagcggcgg cggcggcagc	2760
	gatattgtga tgaccagac cccgctgagc ctgagcgtga ccccgggcga accggcgagc	2820
	attagctgca aaagcagcca gagcctggtg catagcaacg gcaacaccta tctgcattgg	2880
	tatctgcaga aaccgggcca gagcccgagc ctgctgattt ataaagtgag caaccgcttt	2940
	agcggcgtgc cggatcgctt tagcggcagc ggcagcggcg cggattttac cctgaaaatt	3000
	agccgcgtgg aagcgggaaga tgtgggcgtg tattattgcg cggaaaccag ccatgtgccg	3060
	tggacccttg gccagggcac caaactgaa attaaaagcg gtggcggcgg ttctggtggc	3120
	ggcggttctg gtggcggcgg ttctctcgag cagtcaatca aaggaaacca cttggttaag	3180
	gtgtatgact atcaagaaga tggttcggta cttctgactt gtgatgcaga agccaaaaat	3240
	atcacatggt ttaaagatgg gaagatgac ggcttctaa ctgaagataa aaaaaaatgg	3300
	aatctgggaa gtaatgcaa ggaccacga gggatgtatc agtgtaaagg atcacagaac	3360
[0114]	aagtcaaac cactccaagt gtattacaga atgtgtcaga actgcattga actaaatgca	3420
	gccaccatat ctggctttct ctttctgaa atcgtcagca tttctgctct tctgtttggg	3480
	gtctacttca ttgctggaca ggatggagtt cgccagtcga gagcttcaga caagcagact	3540
	ctgttgccca atgaccagct ctaccagccc ctcaaggatc gagaagatga ccagtacagc	3600
	cacctcaag gaaaccagtt gaggaggaat tgataagaat tcggatccgc ggccgcgaag	3660
	gatctcgat cgctccggtg cccgtcagtg ggcagagcgc acatgccca cagtccccga	3720
	gaagttgggg ggaggggtcg gcaattgaac gggtcctag agaaggtggc gcggggtaaa	3780
	ctgggaaagt gatgtcgtgt actggctcgg cctttttccc gaggtgggg gagaaccgta	3840
	tataagtgca gtagtcgccc tgaacgttct ttttcgcaac gggtttgccg ccagaacaca	3900
	gctgaagctt cgaggggctc gcctctctcc ttcacgcgcc cgccgcccta cctgaggccg	3960
	ccatccacgc cggttgagtc gcgttctgcc gcctcccgcc tgtggtgctt cctgaactgc	4020

	gtccgccgtc taggtaagtt taaagctcag gtcgagaccg ggcctttgtc cggcgctccc	4080
	ttggagccta cctagactca gccgctctc cacgctttgc ctgacctgc ttgctcaact	4140
	ctacgtcttt gtttcgtttt ctgttctgcg ccgttacaga tccaagctgt gaccggcgcc	4200
	tacgctagat gaccgagtac aagcccacgg tgcgctcgc caccgcgac gacgtccca	4260
	gggccgtaag caccctcgcc gccgcttgc ccgactacc cgccacgcgc cacaccgtcg	4320
	atccggaccg ccacatcgag cgggtcaccg agctgcaaga actcttctc acgcgctcg	4380
	ggctcgacat cggcaagggtg tgggtcggg acgacggcg cgcggtggcg gtctggacca	4440
	cgccggagag cgtcgaagcg gggcggtgt tcgccgagat cggcccgcgc atggccgagt	4500
	tgagcggttc ccgctggcc ggcagcaac agatggaagg cctcctggcg ccgcaccggc	4560
	ccaaggagcc cgcgtggttc ctggccaccg tcggcgtctc gcccgaccac cagggaagg	4620
	gtctgggcag cgccgtcgtg ctccccggag tggaggcggc cgagcgcgc ggggtgccc	4680
[0115]	ccttctgga gacctcgcg ccccgaacc tccccttcta cgagcggctc ggcttaccg	4740
	tcaccgccga cgtcgagggtg cccgaaggac cgcgcacctg gtgcatgacc cgcaagccc	4800
	gtgcctgagt cgacaatcaa cctctggatt acaaaattg tgaaagattg actggtattc	4860
	ttaactatgt tgctccttt acgctatgtg gatacgtgc ttaaatgctt ttgtatcatg	4920
	ctattgcttc ccgatggct ttcattttct cctccttgta taaatcctgg ttgctgtctc	4980
	tttatgagga gttgtggccc gttgtcaggc aacgtggcgt ggtgtgact gtgtttgctg	5040
	acgcaacccc cactggttgg ggcaattgcca ccacctgtca gctccttcc gggactttcg	5100
	ctttcccct ccctattgcc acggcggaac tcategccgc ctgccttgc cgctgctgga	5160
	caggggctcg gctgttgggc actgacaatt ccgtggtgtt gtcgggaaa tcategtcct	5220
	ttccttggt gctcgcctgt gttgccacct ggattctgcg cgggacgtcc ttctgctacg	5280
	tccttcggc cctcaatcca gggaccttc ctcccggcg cctgctgccc gctctgccc	5340

	ctcttccgcg tcttgcctt cgcctcaga cgagtcgat ctcccttgg gccgcctccc	5400
	cgcttggtac cttaagacc aatgacttac aagcagctg tagatcttag ccacttttta	5460
	aaagaaaagg ggggactgga agggctaatt cactcccaac gaaaataaga tctgcttttt	5520
	gcttgactg ggtctctctg gttagaccag atctgagcct gggagctctc tggctaacta	5580
	gggaaccac tgcttaagcc tcaataaagc ttgccttgag tgcttcaagt agtgtgtgcc	5640
	cgtctgttgt gtgactctgg taactagaga tccctcagac ccttttagtc agtgtgaaa	5700
	atctctagca gtagtagttc atgtcatctt attattcagt atttataact tgcaaagaaa	5760
	tgaatatcag agagtgagag gaacttgttt attgcagctt ataatggtta caaataaagc	5820
	aatagcatca caaatttcac aaataaagca tttttttcac tgcattctag ttgtggtttg	5880
	tccaaactca tcaatgtatc ttatcatgtc tggctctagc tatcccgcc ctaactccgc	5940
	ccagttccgc ccattctccg ccccatggct gactaatttt tttatttat gcagaggccg	6000
[0116]	aggccgctc ggctctgag ctattccaga agtagtgagg aggtttttt ggaggcctag	6060
	acttttgcag agacggccca aattcgtaat catggtcata gctgtttcct gtgtgaaatt	6120
	gttatccgct cacaattcca cacaacatac gagccggaag cataaagtgt aaagcctggg	6180
	gtgcctaattg agtgagctaa ctacattaa ttgcgttgcg ctactgccc gctttccagt	6240
	cgggaaacct gtctgccag ctgcattaat gaatcgcca acgcgcgggg agaggcggtt	6300
	tgcgtattgg gcgtcttcc gtttctctgc tcaactgactc gctgcgctcg gtcgttcggc	6360
	tgcggcgagc ggtatcagct cactcaaagg cgtaatac gttatccaca gaatcagggg	6420
	ataacgcagg aaagaacatg tgagcaaaag gccagcaaaa ggccaggaac cgtaaaaagg	6480
	ccgcgttgcg ggcgtttttc cataggtctc gccccctga cgagcatcac aaaaatcgac	6540
	gctcaagtca gaggtggcga aaccgacag gactataaag ataccaggcg tttcccctg	6600
	gaagetccct cgtgcgctct cctgttccga ccctgcccct taccggatac ctgtccgct	6660

	ttctcccttc gggaagcgtg ggcgtttctc atagctcagc ctgtaggtat ctcagttcgg	6720
	tgtaggtcgt tcgctccaag ctggcctgtg tgcacgaacc ccccgttcag cccgaccgct	6780
	gcgcccttacc cggtaactat cgtcttgagt ccaacccggt aagacacgac ttatcgccac	6840
	tggcagcagc cactggtaac aggattagca gagcagagta tgtaggcggt gctacagagt	6900
	tcttgaagtg gtggcctaac tacggctaca ctagaaggac agtatttggg atctgcgctc	6960
	tgctgaagcc agttacctc ggaaaaagag ttggtagctc ttgatccggc aaacaaacca	7020
	ccgctggtag cgggtggtttt tttgtttgca agcagcagat tacgcgcaga aaaaaaggat	7080
	ctcaagaaga tcctttgatc tttctacgg ggtctgacgc tcagtggaac gaaaactcac	7140
	gttaagggat tttggctatg agattatcaa aaaggatctt cacctagatc cttttaaatt	7200
	aaaaatgaag ttttaaatca atctaaagta tatatgagta aacttggctt gacagttacc	7260
	aatgcttaat cagtgaggca cctatctcag cgatctgtct atttcgttca tccatagttg	7320
[0117]	cctgactccc cgctgtgtag ataactacga tacgggaggg cttaccatct ggccccagtg	7380
	ctgcaatgat accgcgagac ccacgctcac cggctccaga tttatcagca ataaaccagc	7440
	cagccggaag ggccgagcgc agaagtggtc ctgcaacttt atccgctcc atccagtcta	7500
	ttaatgtttg ccgggaagct agagtaagta gttcgccagt taatagtttg cgcaacgttg	7560
	ttgccattgc tacaggcatc gtgggtgcac gctcgtcgtt tggtatggct tcattcagct	7620
	ccggttccca acgatcaagg cgagttacat gatccccat gttgtgcaaa aaagcggtta	7680
	gctccttcgg tcctccgacg gttgtcagaa gtaagttggc cgcagtgtta tcaactatgg	7740
	ttatggcagc actgcataat tctcttactg tcatgccatc cgtaagatgc ttttctgtga	7800
	ctggtgagta ctcaaccaag tcattctgag aatagtgtat gggcgaccg agttgctctt	7860
	gccccgctc aatacgggat aataccgctc cacatagcag aactttaaaa gtgctcatca	7920
	ttgaaaacg ttcttcgggg cgaaaactct caaggatctt accgctgttg agatccagtt	7980

cgatgtaacc cactcgtgca cccaactgat cttcagcadc ttttactttc accagcgttt	8040
ctgggtgagc aaaaacagga aggcaaaatg cgcacaaaaa gggaataagg gcgacacgga	8100
aatgttgaat actcactc ttccttttcc aatattattg aagcatttat cagggttatt	8160
gtctcatgag cggatacata tttgaatgta tttagaaaaa taaacaaata ggggttccgc	8220
gcacatttcc cggaaaagtg ccacctgacg tctaagaaac cattattatc atgacattaa	8280
cctataaaaa taggcgtatc acgaggccct ttcgtctcgc gcgtttcggg gatgacggtg	8340
aaaacctctg acacatgcag ctcccggaga cggtcacagc ttgtctgtaa gcggatgccg	8400
ggagcagaca agcccgtcag ggcgcgtcag cgggtgttgg cgggtgtcgg ggctggctta	8460
actatgcggc atcagagcag attgtactga gactgcacca tatgcggtgt gaaataccgc	8520
acagatgcgt aaggagaaaa taccgcatca ggcgccattc gccattcagg ctgcgcaact	8580
gttgggaagg gcgatcggtg cgggcctctt cgtattacg ccagctggcg aaagggggat	8640
[0118] gtgetgcaag gcgattaagt tgggtaacgc cagggttttc ccagtcacga cgttgtaaaa	8700
cgacggccag tgccaagctg	8720

<210> 24

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 24

agggcaagtc aggacattag taaa

24

<210> 25

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 25

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys

1                    5

<210> 26

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

<400> 26

atctaccata catcaagatt a

21

[0119]

<210> 27

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 27

Ile Tyr His Thr Ser Arg Leu

1                    5

<210> 28

<211> 27

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

	<400> 28 caacagggta atacgcttcc gtacacg	27
	<210> 29 <211> 9 <212> PRT <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述: 合成肽	
	<400> 29 Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr 1                    5	
[0120]	<210> 30 <211> 30 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸	
	<400> 30 ggggtctcat taccgacta tgggtgaagc	30
	<210> 31 <211> 10 <212> PRT <213> 人工序列	
	<220> <223> 人工序列的描述: 合成肽	
	<400> 31 Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser	



<211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 35  
 His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr  
 1                    5                    10

<210> 36  
 <211> 48  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

[0122]

<400> 36  
 aaaagcagcc agagcctggt gcatagcaac ggcaacacct atctgcat 48

<210> 37  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 37  
 Lys Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His  
 1                    5                    10                    15

<210> 38  
 <211> 21  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

<400> 38

aaagtgagca accgctttag c

21

<210> 39

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 39

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser

1

5

[0123]

<210> 40

<211> 27

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

<400> 40

gcggaaacca gccatgtgcc gtggacc

27

<210> 41

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽



<210> 45  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 45  
 Trp Ile Tyr Phe Ala Ser Gly Asn Ser Glu Tyr Asn Gln Lys Phe Thr  
 1                    5                    10                    15

Gly

[0125]

<210> 46  
 <211> 30  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列的描述: 合成寡核苷酸

<400> 46  
 ctgtatgatt atgattggta ttttgatgtg

30

<210> 47  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列的描述: 合成肽

<400> 47  
 Leu Tyr Asp Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Val

1	5	10	
<210> 48 <211> 321 <212> DNA <213> 人工序列			
<220> <223> 人工序列的描述：合成多核苷酸			
<400> 48 gacatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctgggaga cagagtcacc 60 atcagttgca gggcaagtca ggacattagt aatatttaa attggtatca gcagaaacca 120 gatggaactg ttaaactcct gatctacat acatcaagat tacactcagg agtcccatca 180 aggttcagtg gcagtgggtc tggaacagat tattctctca ccattagcaa cctggagcaa 240 [0126] gaagatattg ccaattactt ttccaacag ggtaatacgc ttcctacac gttcggaggg 300 gggactaagt tggaaataac a 321			
<210> 49 <211> 107 <212> PRT <213> 人工序列			
<220> <223> 人工序列的描述：合成多肽			
<400> 49 Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly 1                    5                    10                    15 Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr 20                    25                    30			

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45

Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln  
 65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr  
 100 105

[0127]

&lt;210&gt; 50

&lt;211&gt; 360

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 人工序列的描述: 合成多核苷酸

&lt;400&gt; 50

gaggtgaaac tgcaggagtc aggacctggc ctggtggcgc cctcacagag cctgtcctc 60

acatgcactg tctcaggggt ctcatcacc gactatggtg taagctggat tcgccagcct 120

ccacgaaagg gtctggagtg gctgggagta atatggggta gtgaaaccac atactataat 180

tcagctctca aatccagact gaccatcacc aaggacaact ccaagagcca agttttctta 240

aaaatgaaca gtctgcaaac tgatgacaca gccatttact actgtgcca acattattac 300

tacggtggta gctatgctat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctctca 360

&lt;210&gt; 51

<211> 120  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列的描述: 合成多肽

<400> 51  
 Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln  
 1                   5                   10                   15

Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr  
                   20                   25                   30

Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu  
           35                   40                   45

[0128] Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys  
           50                   55                   60

Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu  
 65                   70                   75                   80

Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala  
                   85                   90                   95

Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln  
           100                   105                   110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser  
           115                   120

<210> 52  
 <211> 339  
 <212> DNA









Lys Glu Arg Pro Pro Pro Val Pro Asn Pro Asp Tyr Glu Pro Ile Arg  
 180 185 190

Lys Gly Gln Arg Asp Leu Tyr Ser Gly Leu Asn Gln Arg Arg Ile  
 195 200 205

<210> 57

<211> 182

<212> PRT

<213> 智人

<400> 57

Met Glu Gln Gly Lys Gly Leu Ala Val Leu Ile Leu Ala Ile Ile Leu  
 1 5 10 15

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

[0133]

Val Tyr Asp Tyr Gln Glu Asp Gly Ser Val Leu Leu Thr Cys Asp Ala  
 35 40 45

Glu Ala Lys Asn Ile Thr Trp Phe Lys Asp Gly Lys Met Ile Gly Phe  
 50 55 60

Leu Thr Glu Asp Lys Lys Lys Trp Asn Leu Gly Ser Asn Ala Lys Asp  
 65 70 75 80

Pro Arg Gly Met Tyr Gln Cys Lys Gly Ser Gln Asn Lys Ser Lys Pro  
 85 90 95

Leu Gln Val Tyr Tyr Arg Met Cys Gln Asn Cys Ile Glu Leu Asn Ala  
 100 105 110

Ala Thr Ile Ser Gly Phe Leu Phe Ala Glu Ile Val Ser Ile Phe Val  
 115 120 125

Leu Ala Val Gly Val Tyr Phe Ile Ala Gly Gln Asp Gly Val Arg Gln  
 130 135 140

Ser Arg Ala Ser Asp Lys Gln Thr Leu Leu Pro Asn Asp Gln Leu Tyr  
 145 150 155 160

Gln Pro Leu Lys Asp Arg Glu Asp Asp Gln Tyr Ser His Leu Gln Gly  
 165 170 175

Asn Gln Leu Arg Arg Asn  
 180

<210> 58

<211> 171

<212> PRT

<213> 智人

[0134]

<400> 58

Met Glu His Ser Thr Phe Leu Ser Gly Leu Val Leu Ala Thr Leu Leu  
 1 5 10 15

Ser Gln Val Ser Pro Phe Lys Ile Pro Ile Glu Glu Leu Glu Asp Arg  
 20 25 30

Val Phe Val Asn Cys Asn Thr Ser Ile Thr Trp Val Glu Gly Thr Val  
 35 40 45

Gly Thr Leu Leu Ser Asp Ile Thr Arg Leu Asp Leu Gly Lys Arg Ile  
 50 55 60

Leu Asp Pro Arg Gly Ile Tyr Arg Cys Asn Gly Thr Asp Ile Tyr Lys  
 65 70 75 80

Asp Lys Glu Ser Thr Val Gln Val His Tyr Arg Met Cys Gln Ser Cys  
 85 90 95

Val Glu Leu Asp Pro Ala Thr Val Ala Gly Ile Ile Val Thr Asp Val  
 100 105 110

Ile Ala Thr Leu Leu Leu Ala Leu Gly Val Phe Cys Phe Ala Gly His  
 115 120 125

Glu Thr Gly Arg Leu Ser Gly Ala Ala Asp Thr Gln Ala Leu Leu Arg  
 130 135 140

Asn Asp Gln Val Tyr Gln Pro Leu Arg Asp Arg Asp Ala Gln Tyr  
 145 150 155 160

Ser His Leu Gly Gly Asn Trp Ala Arg Asn Lys  
 165 170

[0135]

&lt;210&gt; 59

&lt;211&gt; 164

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 智人

&lt;400&gt; 59

Met Lys Trp Lys Ala Leu Phe Thr Ala Ala Ile Leu Gln Ala Gln Leu  
 1 5 10 15

Pro Ile Thr Glu Ala Gln Ser Phe Gly Leu Leu Asp Pro Lys Leu Cys  
 20 25 30

Tyr Leu Leu Asp Gly Ile Leu Phe Ile Tyr Gly Val Ile Leu Thr Ala  
 35 40 45

Leu Phe Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr  
 50 55 60





Ser Ser Pro Arg Pro Gln Pro Arg Asp Arg Arg Trp Gly Asp Thr Pro  
 210 215 220

Pro Gly Arg Lys Pro Gly Ser Pro Val Trp Gly Glu Gly Ser Tyr Leu  
 225 230 235 240

Ser Ser Tyr Pro Thr Cys Pro Ala Gln Ala Trp Cys Ser Arg Ser Ala  
 245 250 255

Leu Arg Ala Pro Ser Ser Ser Leu Gly Ala Phe Phe Ala Gly Asp Leu  
 260 265 270

Pro Pro Pro Leu Gln Ala Gly Ala Ala  
 275 280

[0138]

<210> 61  
 <211> 142  
 <212> PRT  
 <213> 智人

<400> 61  
 Pro Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser  
 1 5 10 15

Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln  
 20 25 30

Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys  
 35 40 45

Thr Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val  
 50 55 60

Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn  
 65 70 75 80

Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys  
 85 90 95

Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn  
 100 105 110

Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val  
 115 120 125

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

<210> 62

<211> 139

<212> PRT

<213> 智人

[0139]

<400> 62

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

Asp Trp Val Asn Ser Gln Gln Lys Asn Asp Asp Gln Gln Val Lys Gln  
 20 25 30

Asn Ser Pro Ser Leu Ser Val Gln Glu Gly Arg Ile Ser Ile Leu Asn  
 35 40 45

Cys Asp Tyr Thr Asn Ser Met Phe Asp Tyr Phe Leu Trp Tyr Lys Lys  
 50 55 60

Tyr Pro Ala Glu Gly Pro Thr Phe Leu Ile Ser Ile Ser Ser Ile Lys  
 65 70 75 80

Asp Lys Asn Glu Asp Gly Arg Phe Thr Val Phe Leu Asn Lys Ser Ala  
 85 90 95

Lys His Leu Ser Leu His Ile Val Pro Ser Gln Pro Gly Asp Ser Ala  
 100 105 110

Val Tyr Phe Cys Ala Ala Lys Gly Ala Gly Thr Ala Ser Lys Leu Thr  
 115 120 125

Phe Gly Thr Gly Thr Arg Leu Gln Val Thr Leu  
 130 135

<210> 63

<211> 177

<212> PRT

<213> 智人

[0140]

<400> 63

Glu Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro  
 1 5 10 15

Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu  
 20 25 30

Ala Thr Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn  
 35 40 45

Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys  
 50 55 60

Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu  
 65 70 75 80

Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys  
 85 90 95

Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp  
 100 105 110

Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg  
 115 120 125

Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser  
 130 135 140

Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala  
 145 150 155 160

Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp  
 165 170 175

[0141]

Phe

&lt;210&gt; 64

&lt;211&gt; 133

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 智人

&lt;400&gt; 64

Met Gly Thr Ser Leu Leu Cys Trp Met Ala Leu Cys Leu Leu Gly Ala  
 1 5 10 15

Asp His Ala Asp Thr Gly Val Ser Gln Asn Pro Arg His Asn Ile Thr  
 20 25 30

Lys Arg Gly Gln Asn Val Thr Phe Arg Cys Asp Pro Ile Ser Glu His  
 35 40 45

Asn Arg Leu Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Leu Gly Gln Gly Pro Glu Phe  
50 55 60

Leu Thr Tyr Phe Gln Asn Glu Ala Gln Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu  
65 70 75 80

Ser Asp Arg Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu  
85 90 95

Glu Ile Gln Arg Thr Glu Gln Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala  
100 105 110

Ser Ser Leu Ala Gly Leu Asn Gln Pro Gln His Phe Gly Asp Gly Thr  
115 120 125

Arg Leu Ser Ile Leu  
130

[0142]

&lt;210&gt; 65

&lt;211&gt; 135

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 智人

&lt;400&gt; 65

Met Asp Ser Trp Thr Phe Cys Cys Val Ser Leu Cys Ile Leu Val Ala  
1 5 10 15

Lys His Thr Asp Ala Gly Val Ile Gln Ser Pro Arg His Glu Val Thr  
20 25 30

Glu Met Gly Gln Glu Val Thr Leu Arg Cys Lys Pro Ile Ser Gly His  
35 40 45

Asn Ser Leu Phe Trp Tyr Arg Gln Thr Met Met Arg Gly Leu Glu Leu  
50 55 60









<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (1)..(30)

<223> 此序列可以包含 1-6 个“Gly Gly Gly Gly Ser”重复单元

<400> 73

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
                  20                   25                   30

[0147]

<210> 74

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 74

Gly Gly Gly Gly Ser  
1                   5

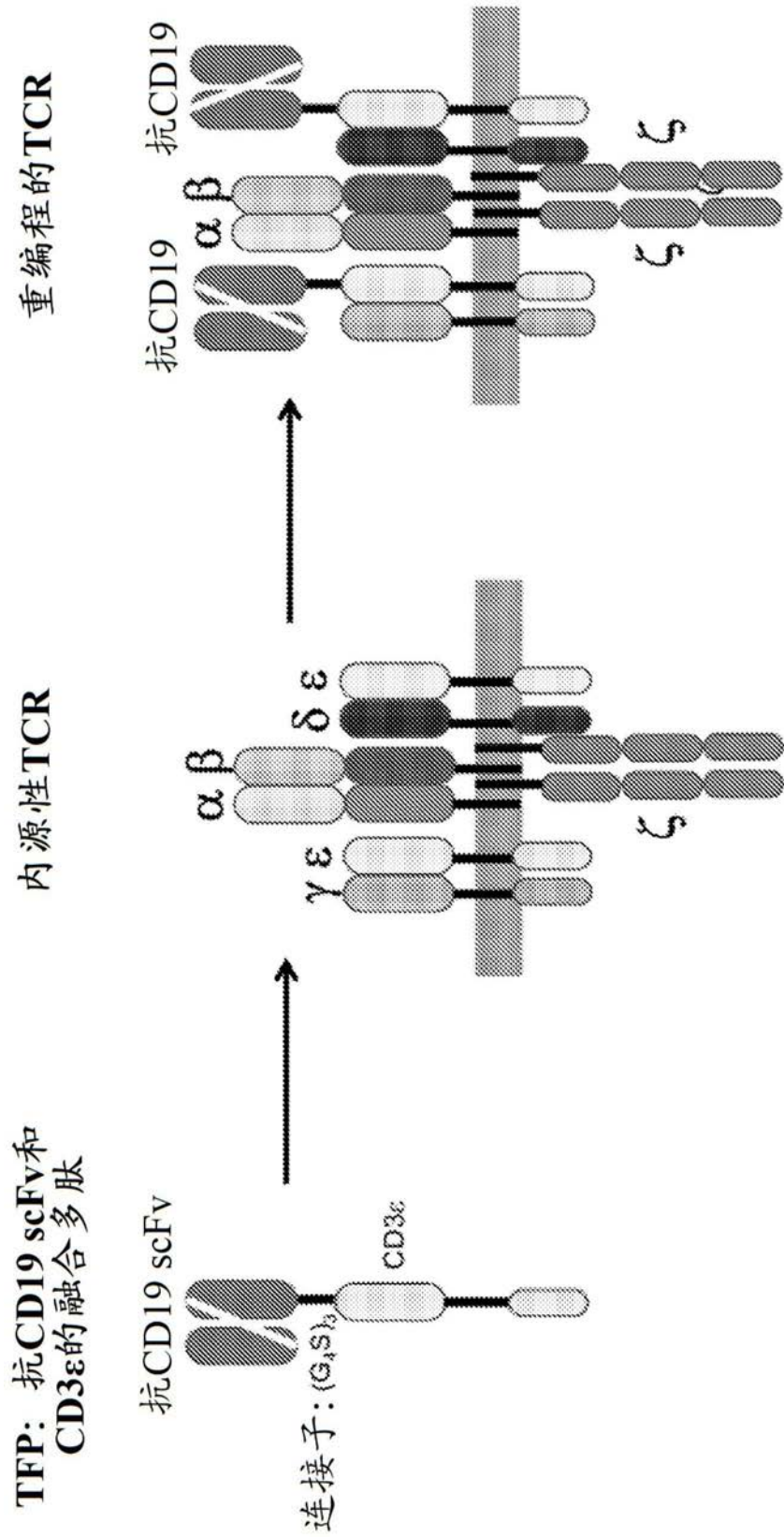


图1

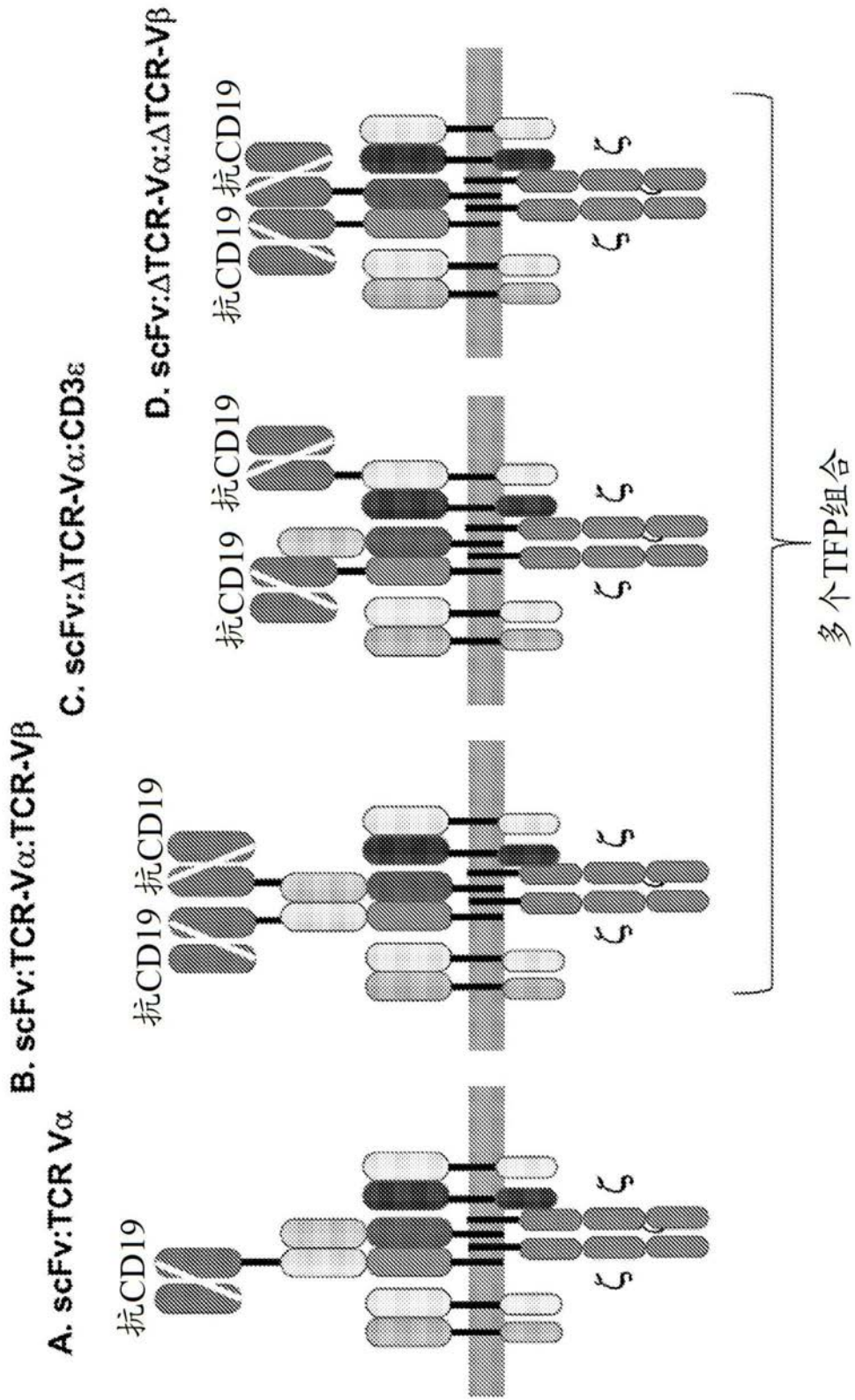


图2

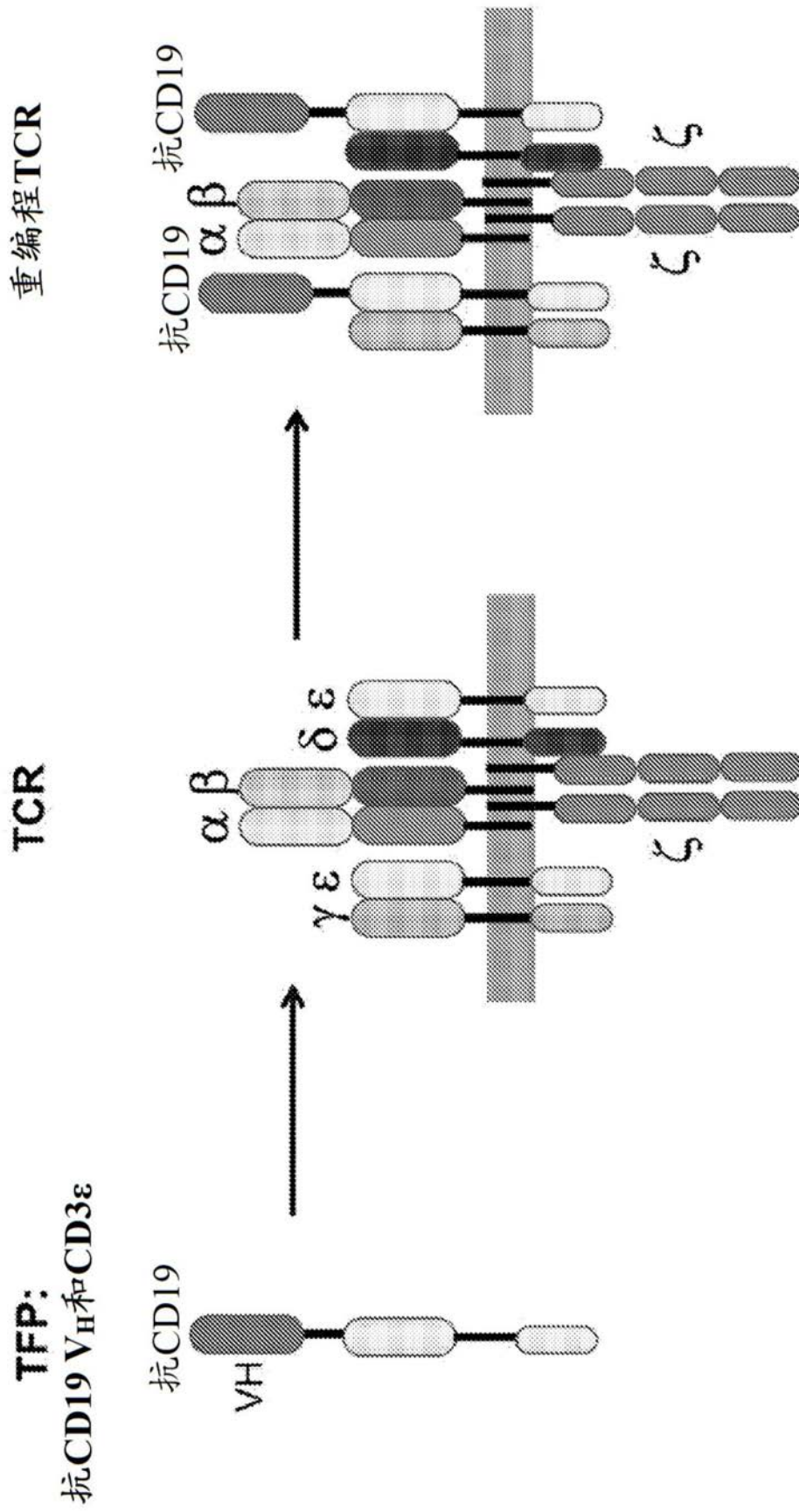


图3

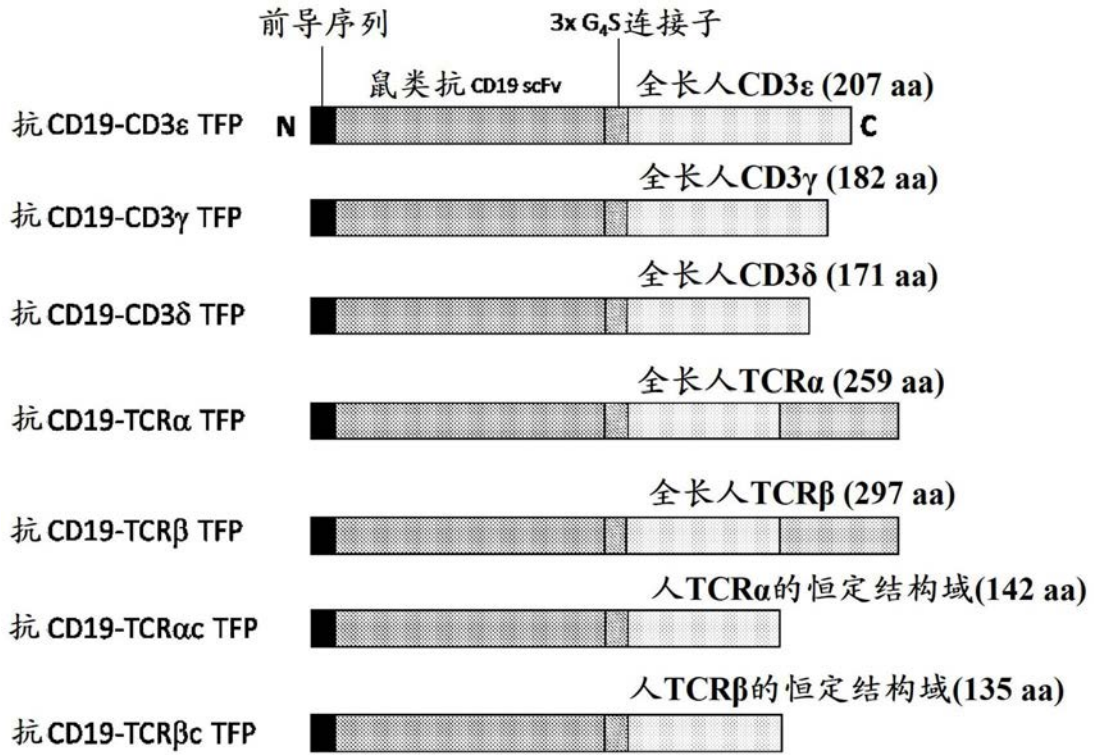


图4

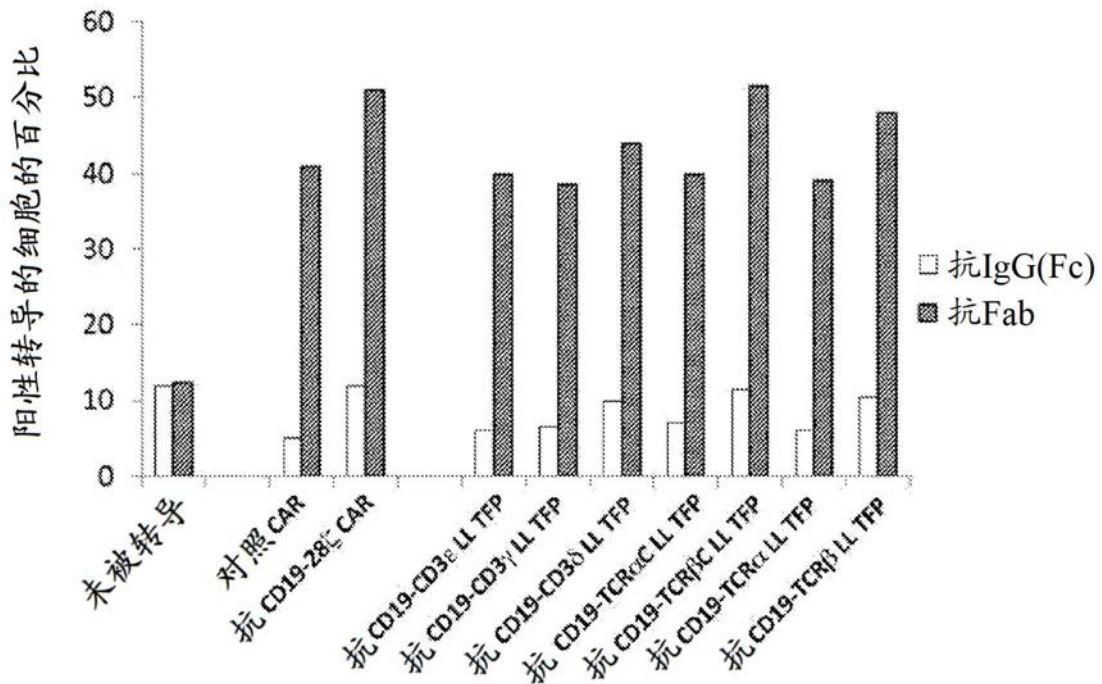


图5

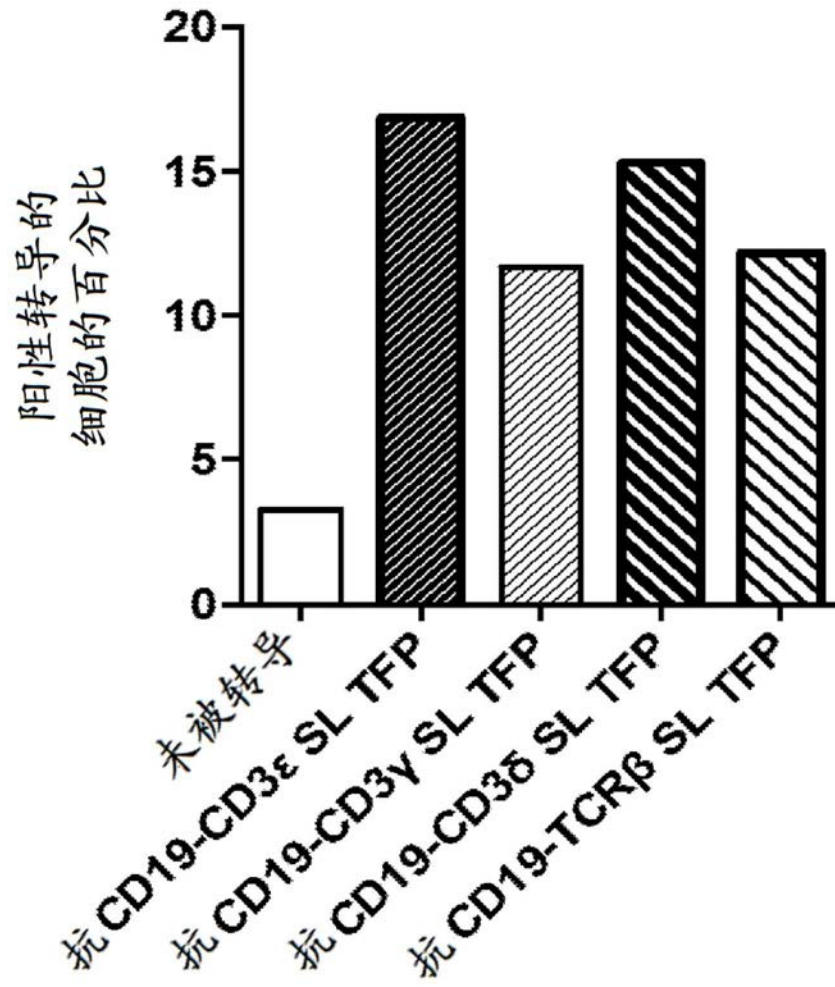


图6

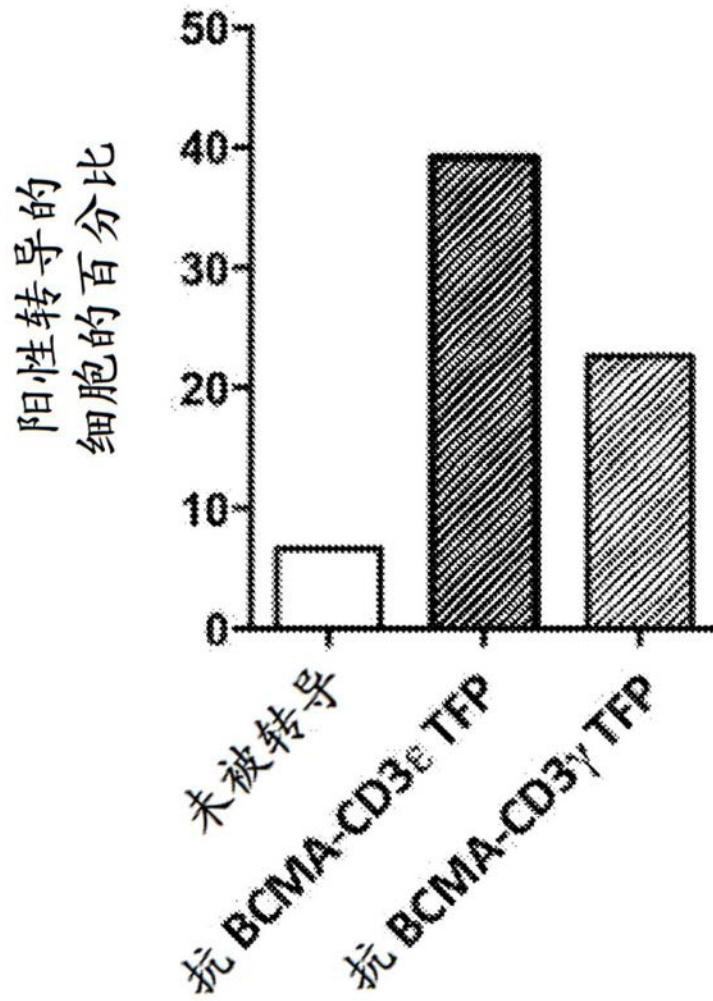


图7

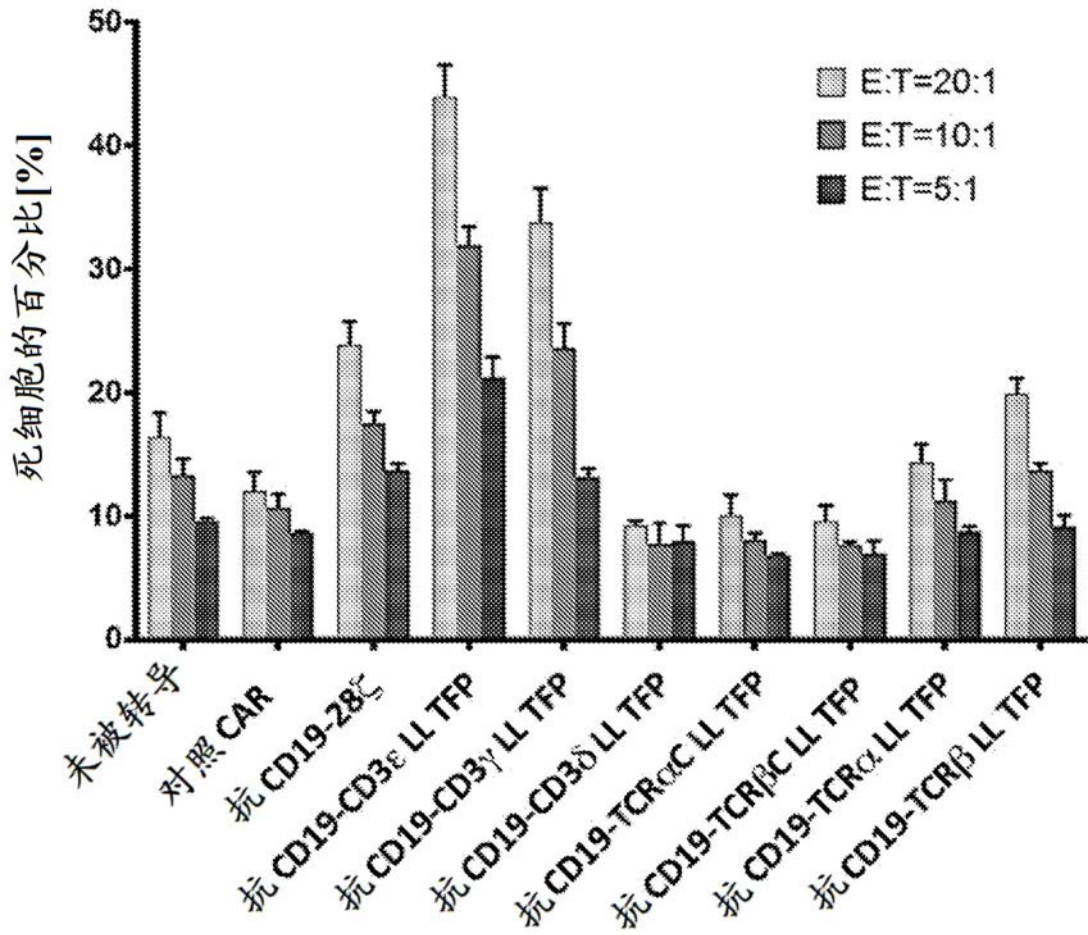


图8

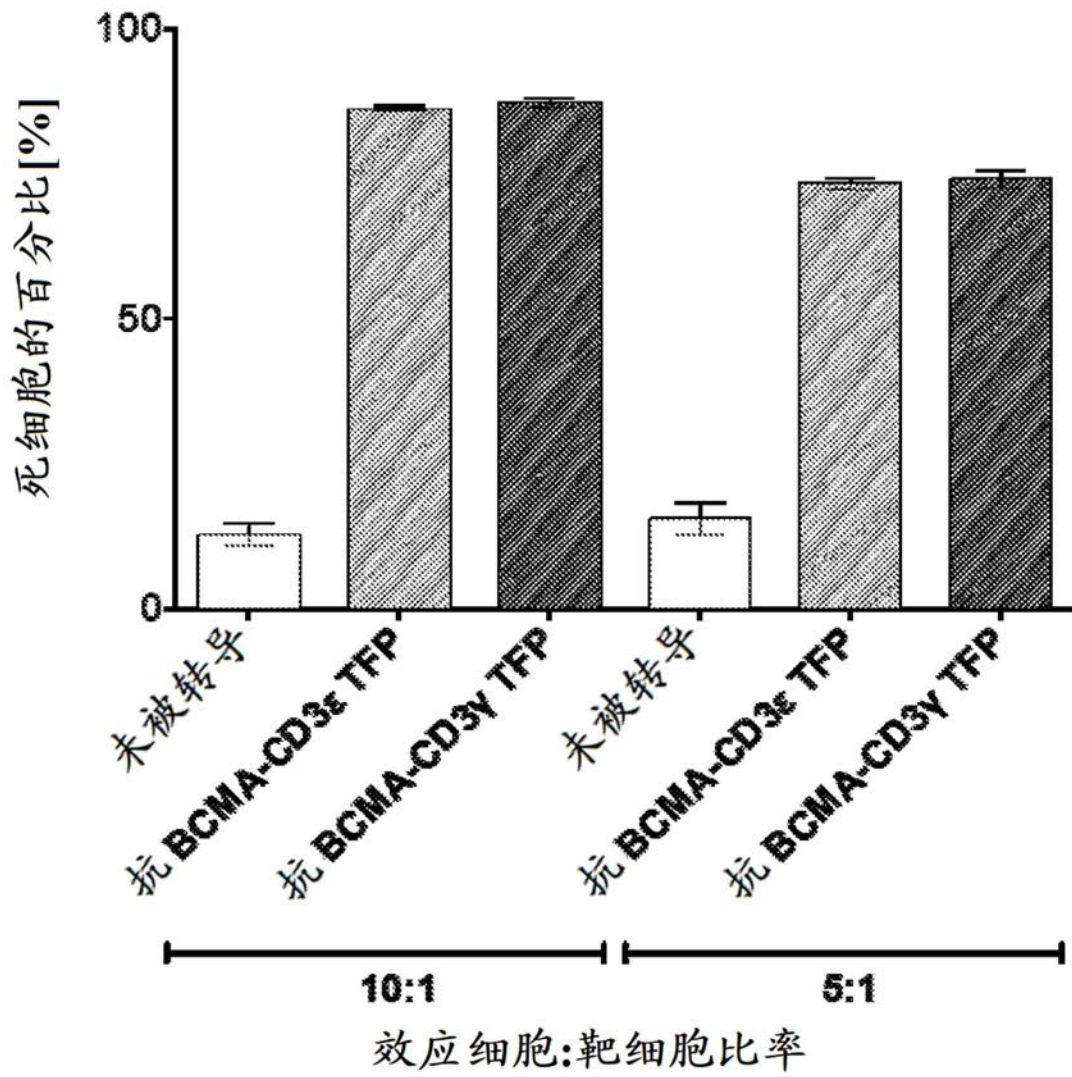


图9

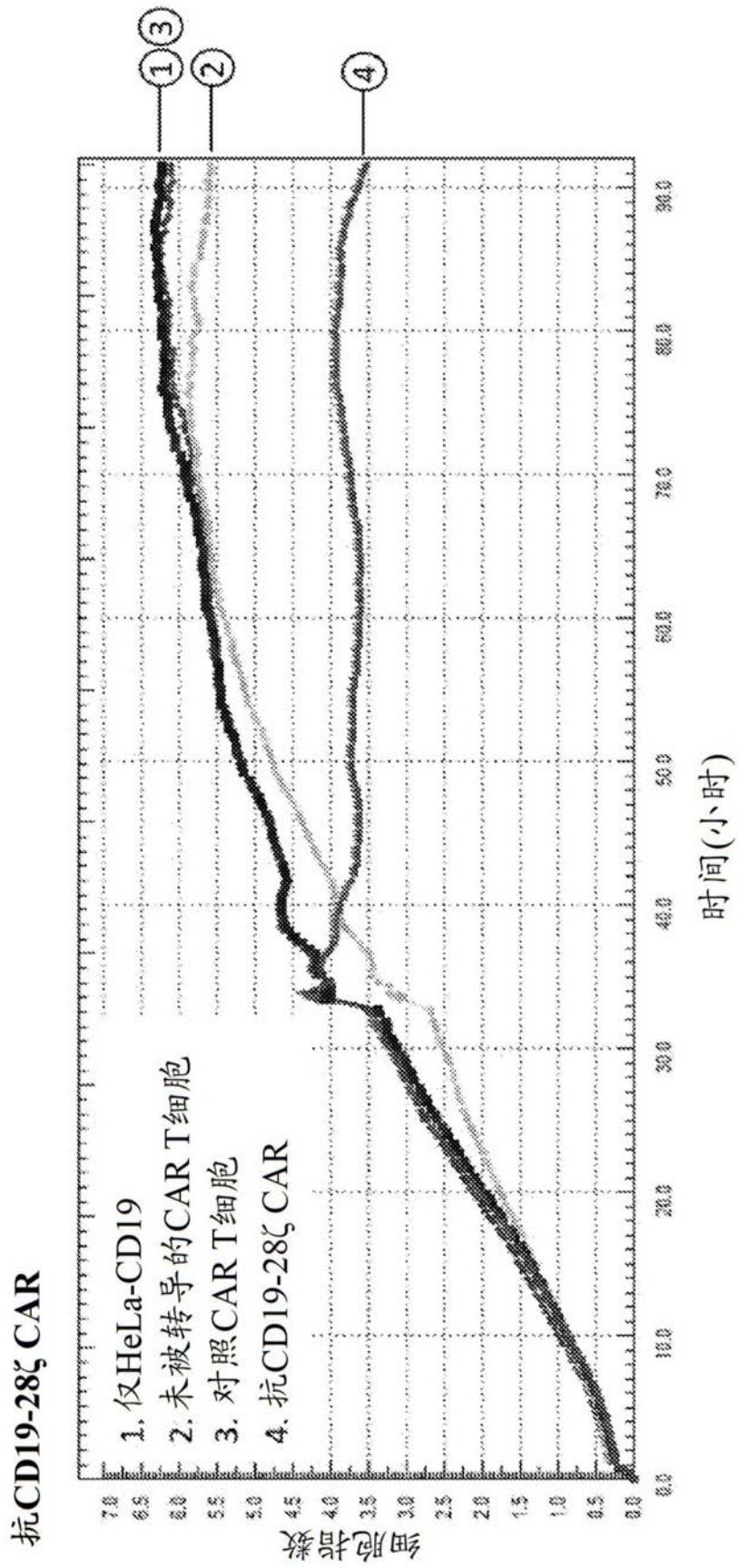


图10A

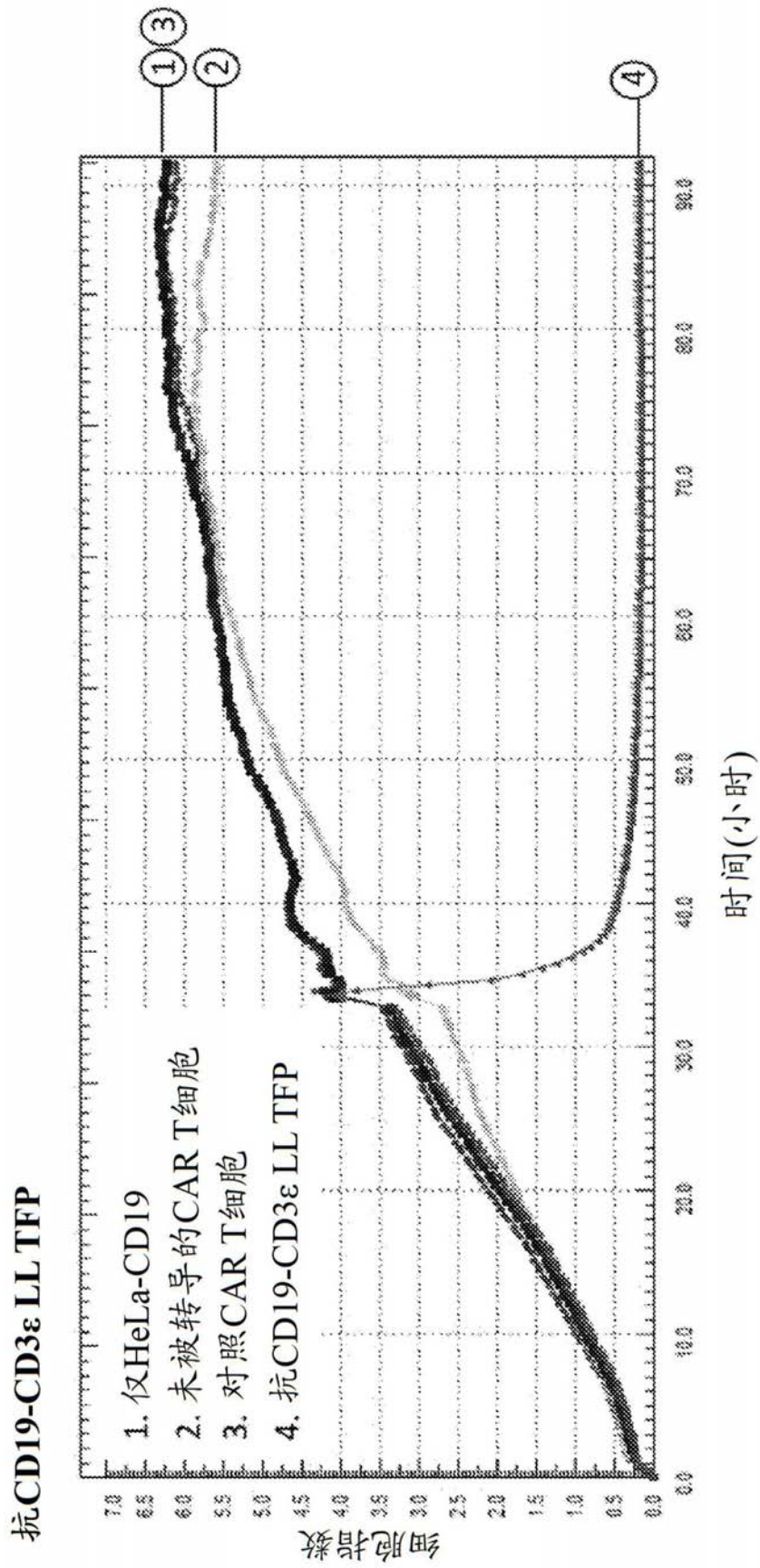


图10B

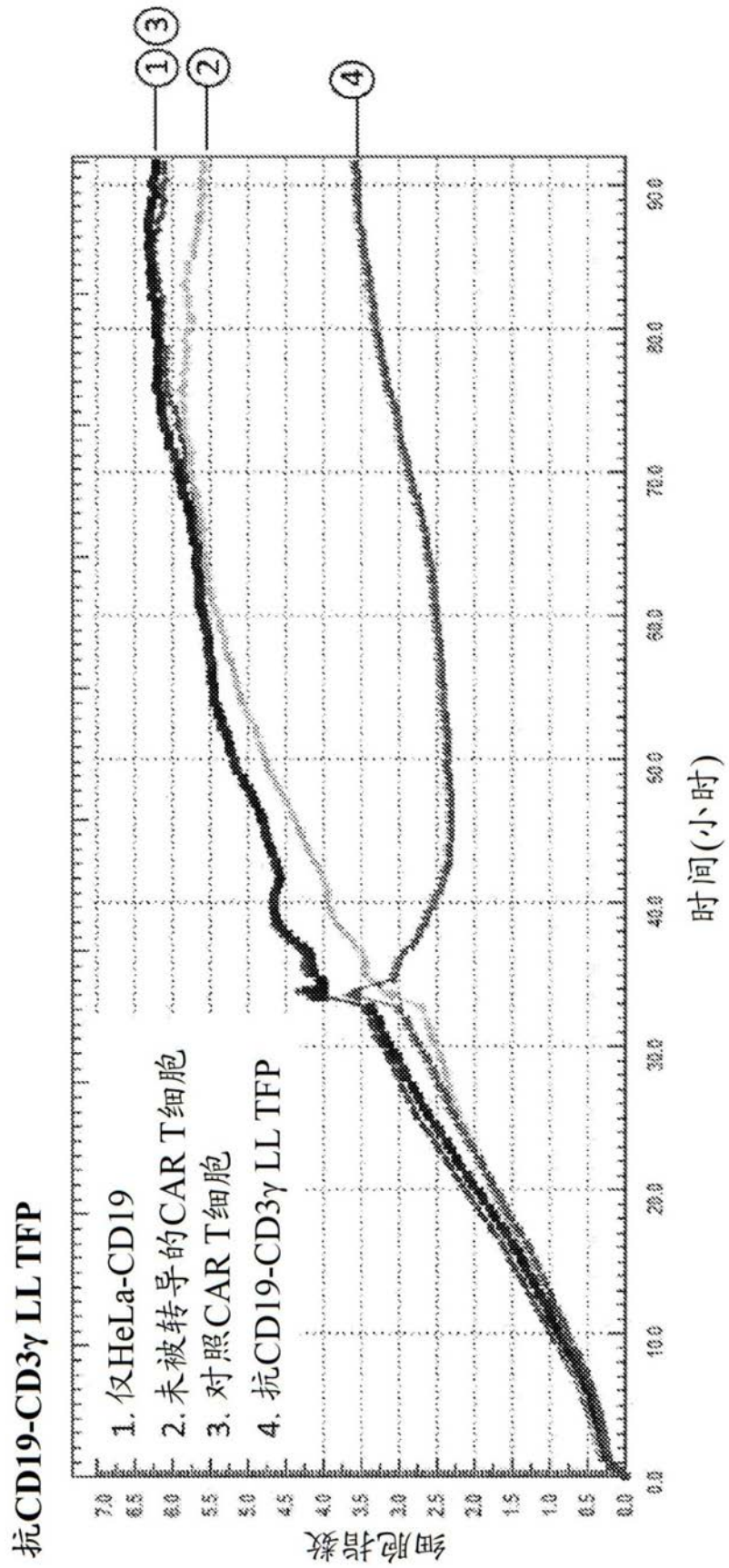


图10C

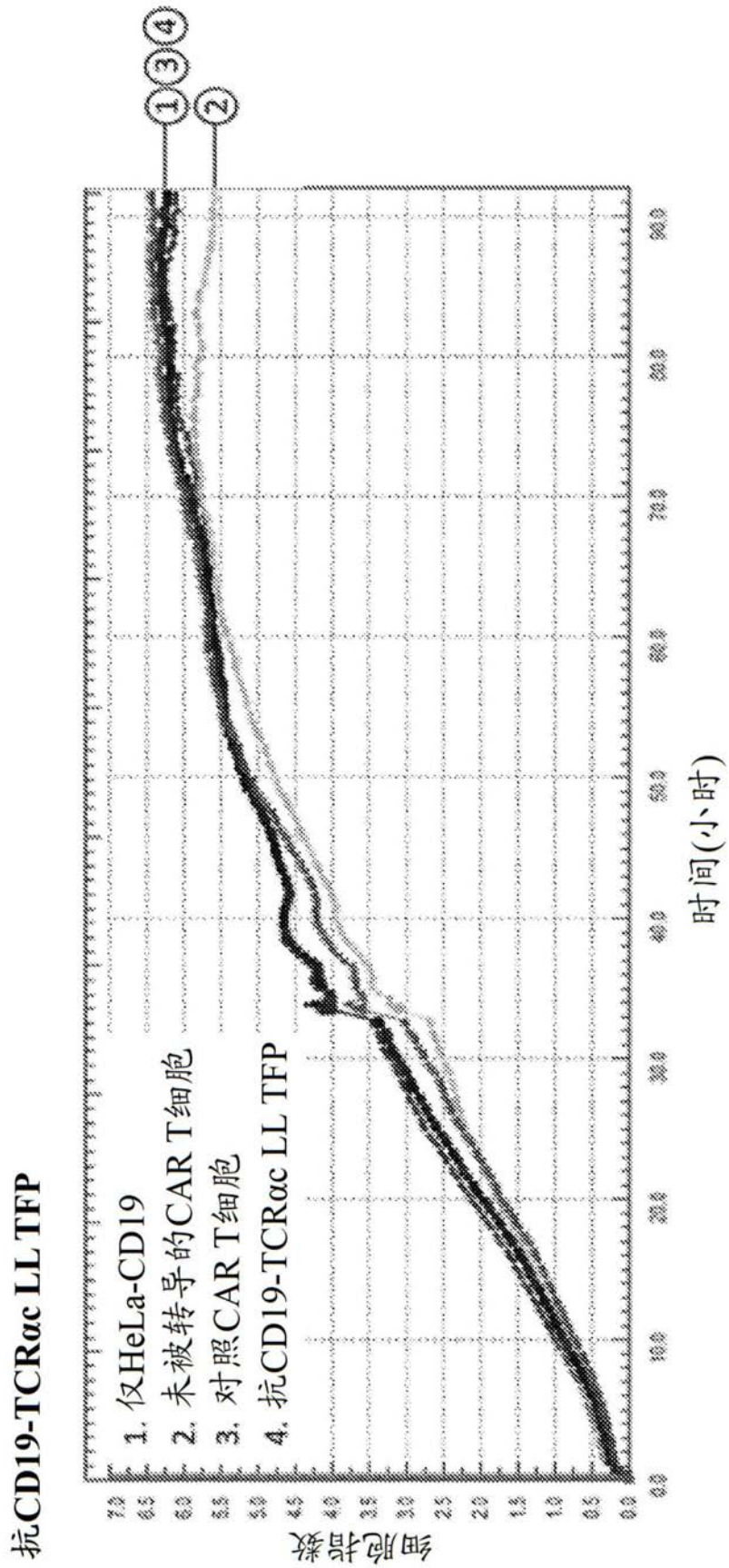


图10D

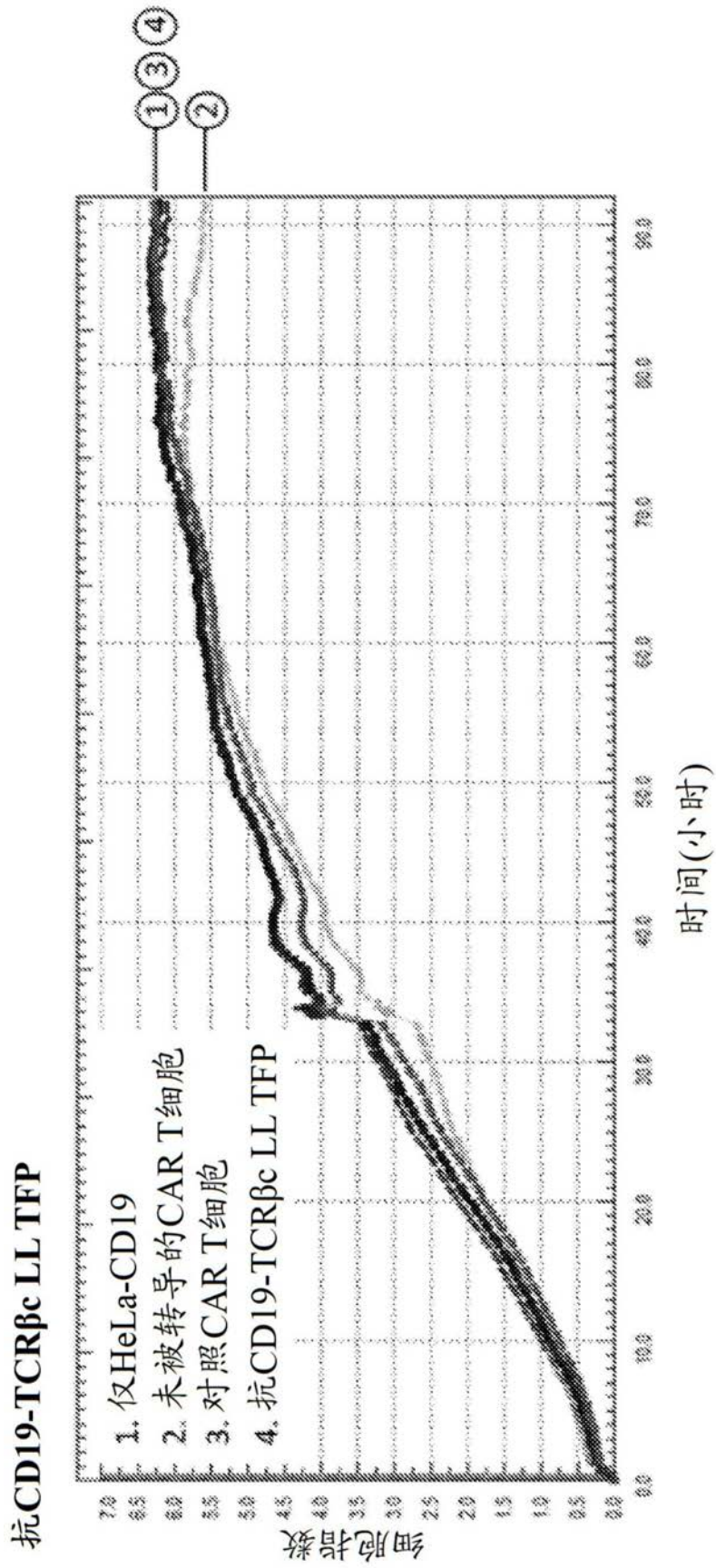


图10E

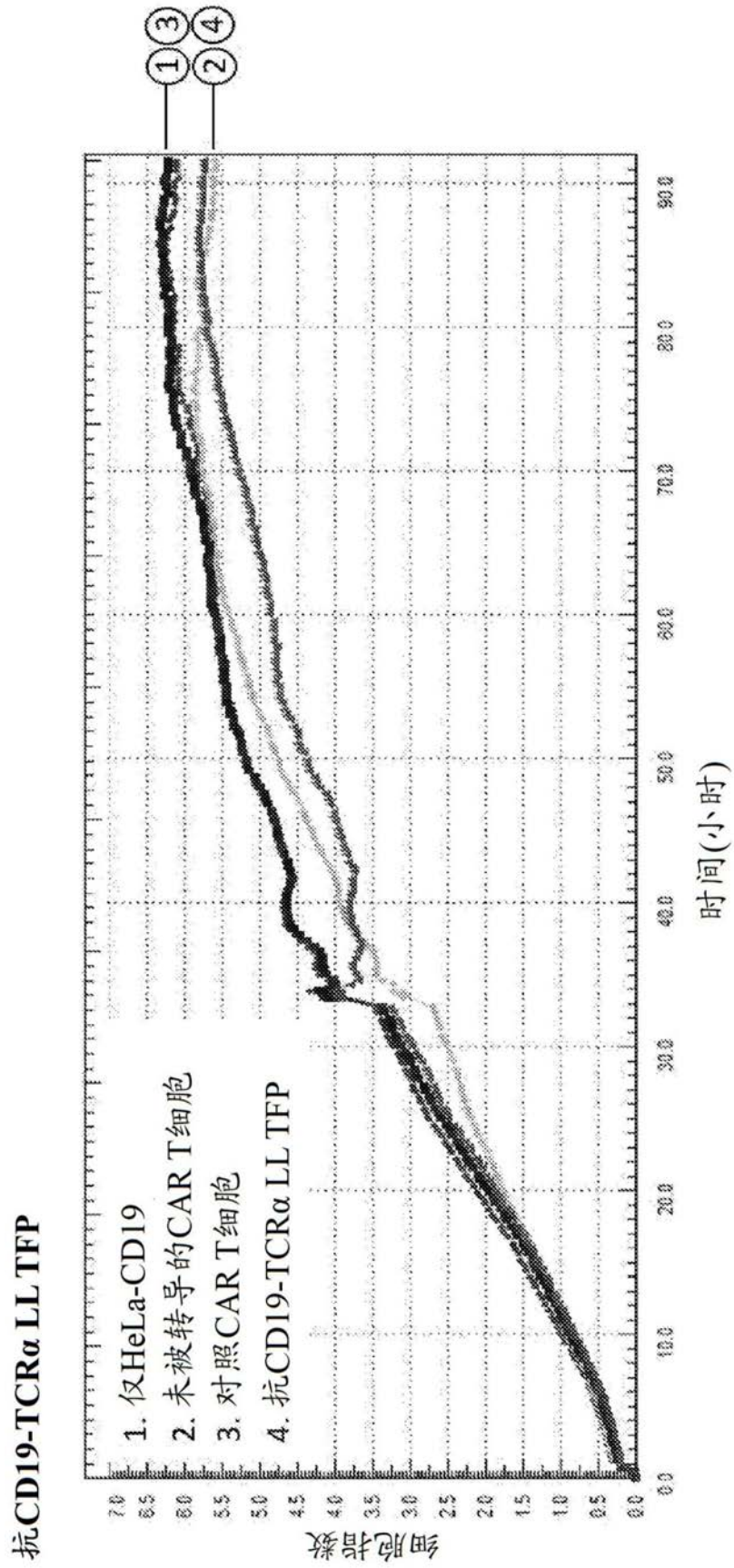


图10F

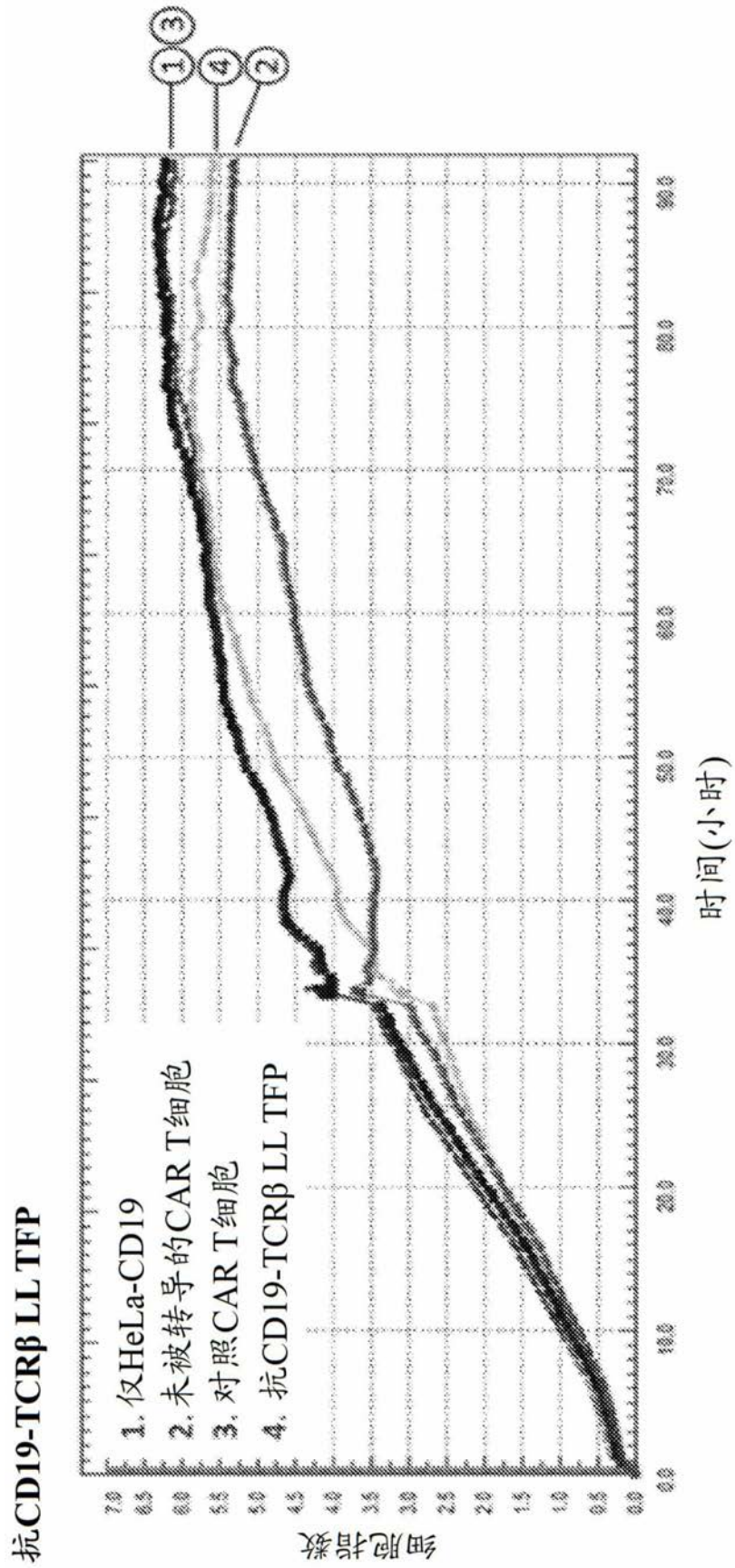


图10G

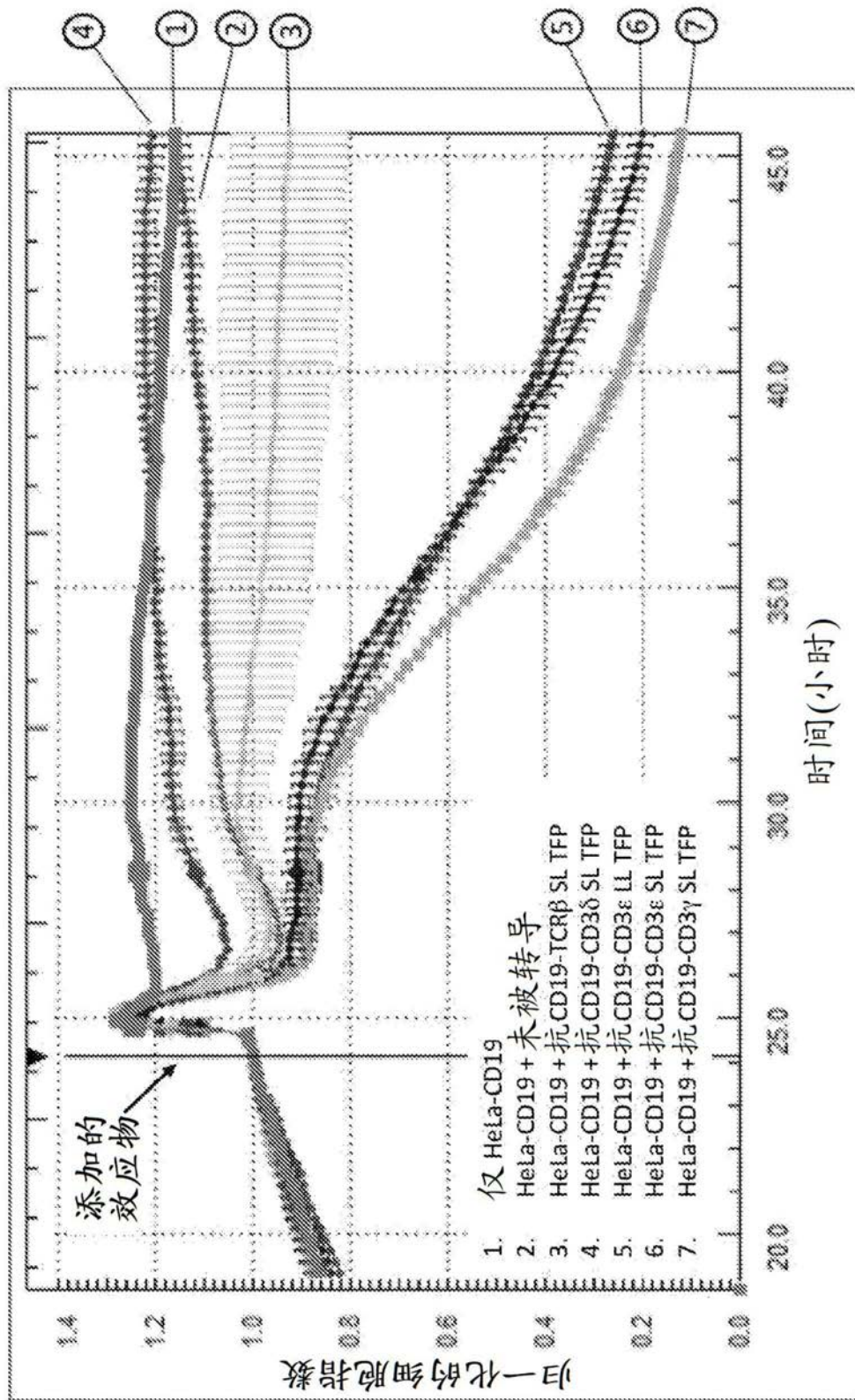


图11

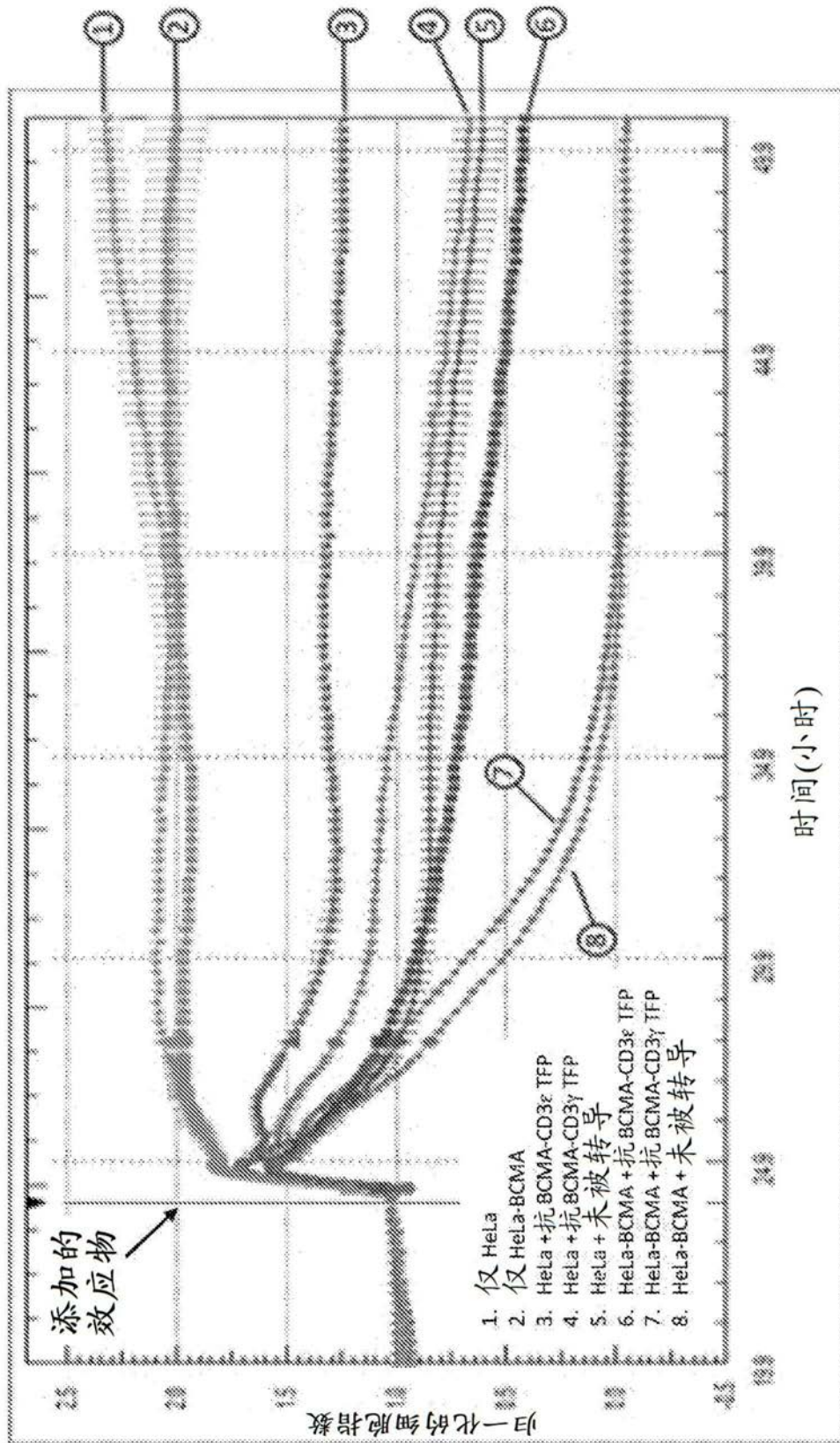


图12

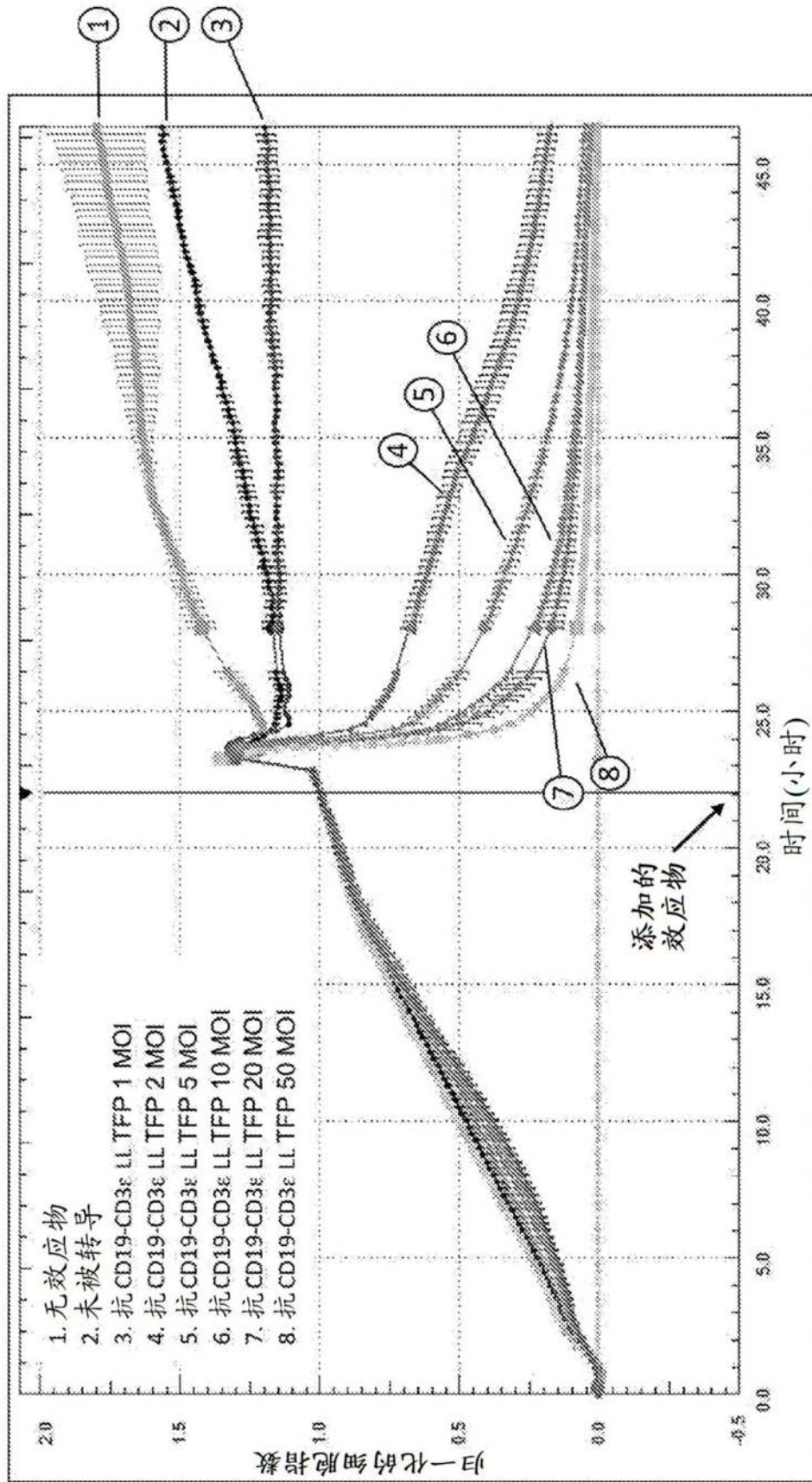


图13

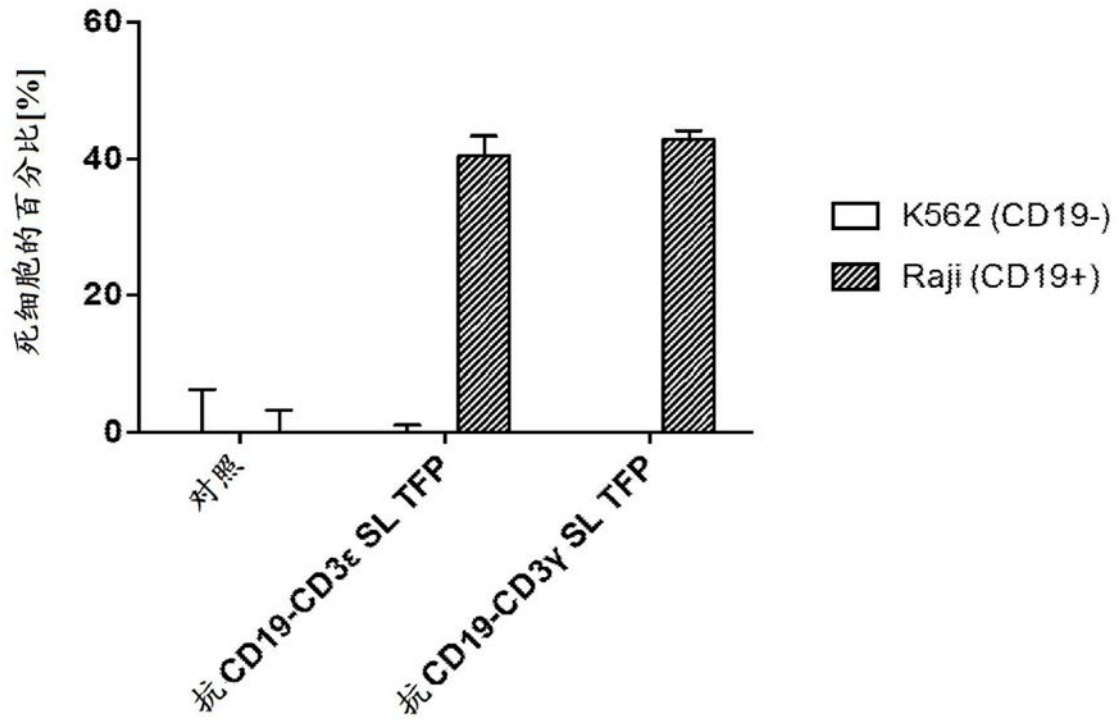


图14

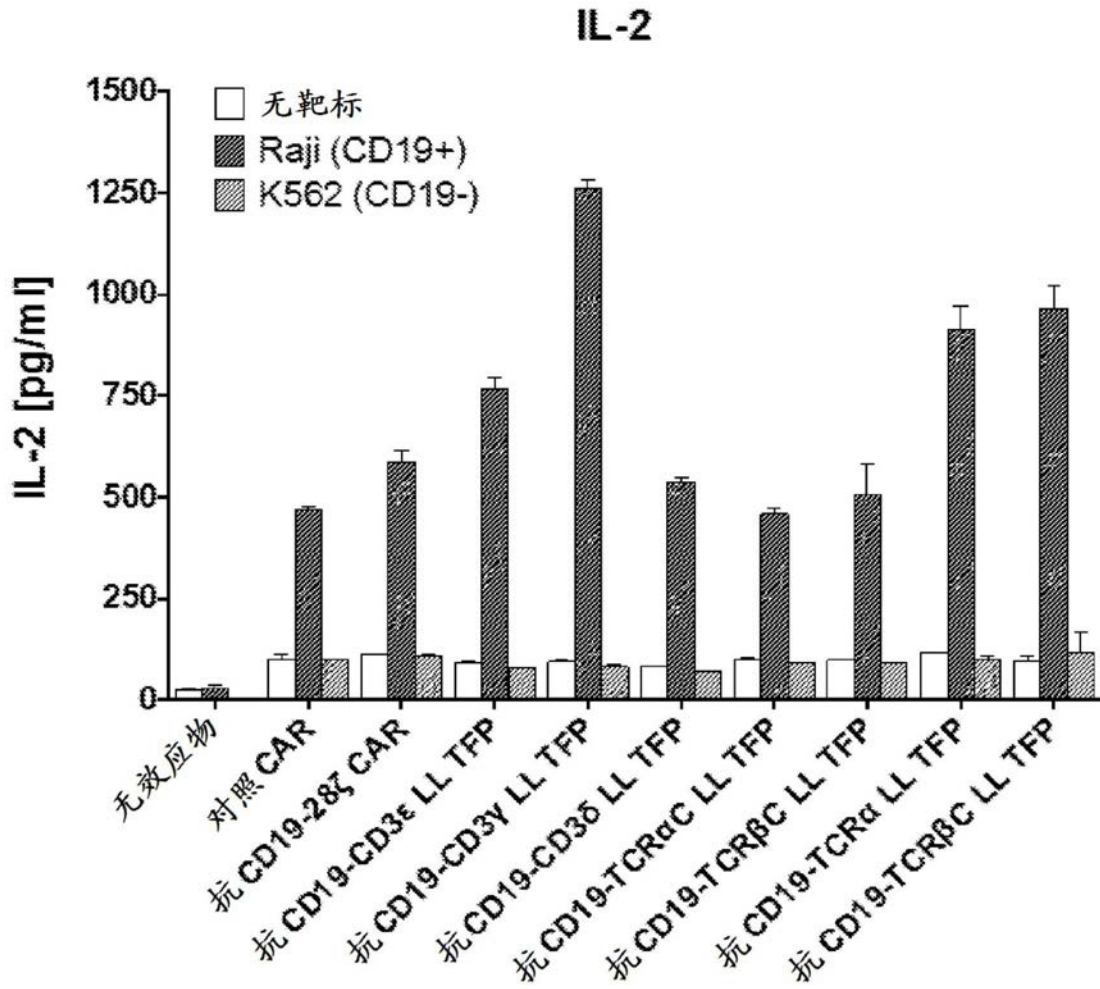


图15A

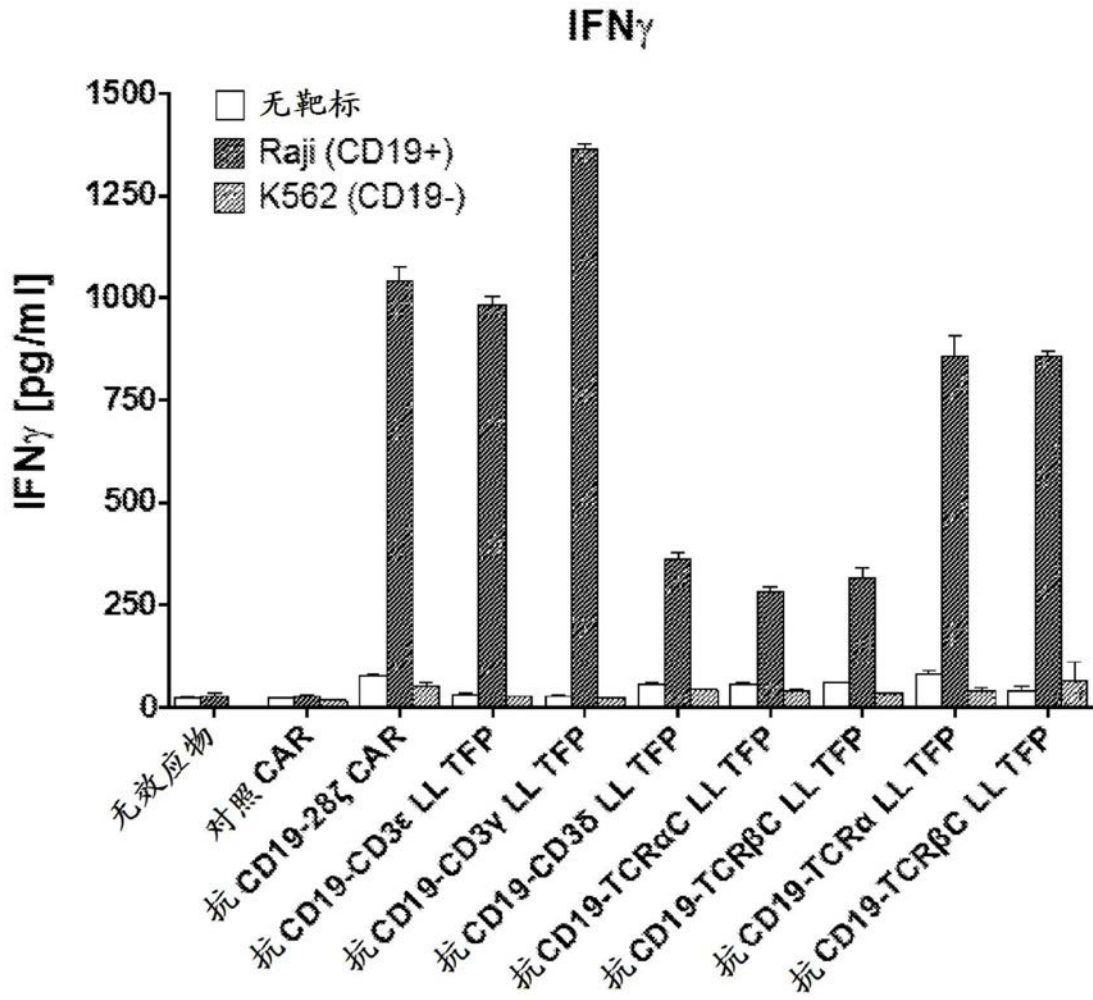


图15B

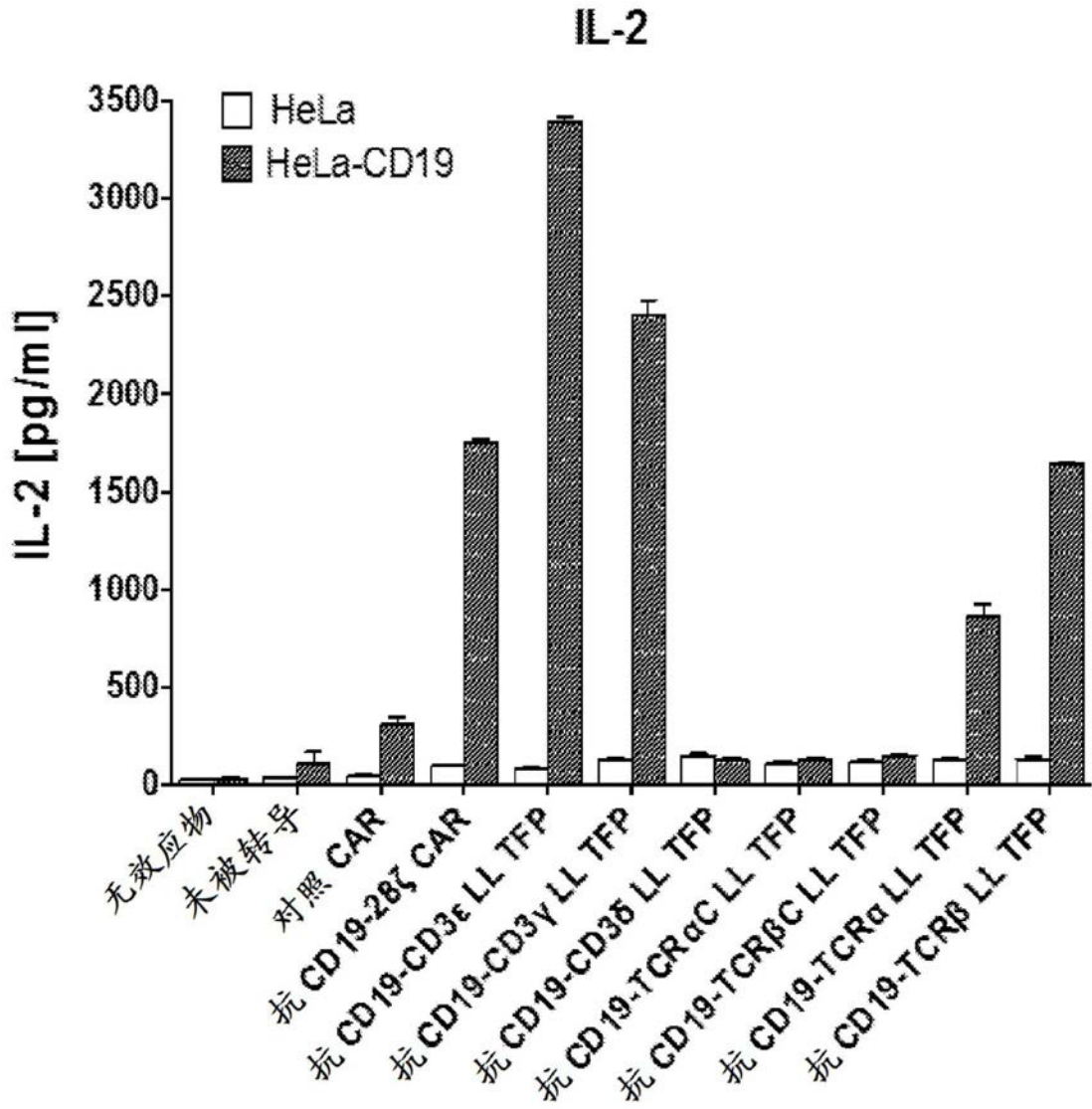


图15C

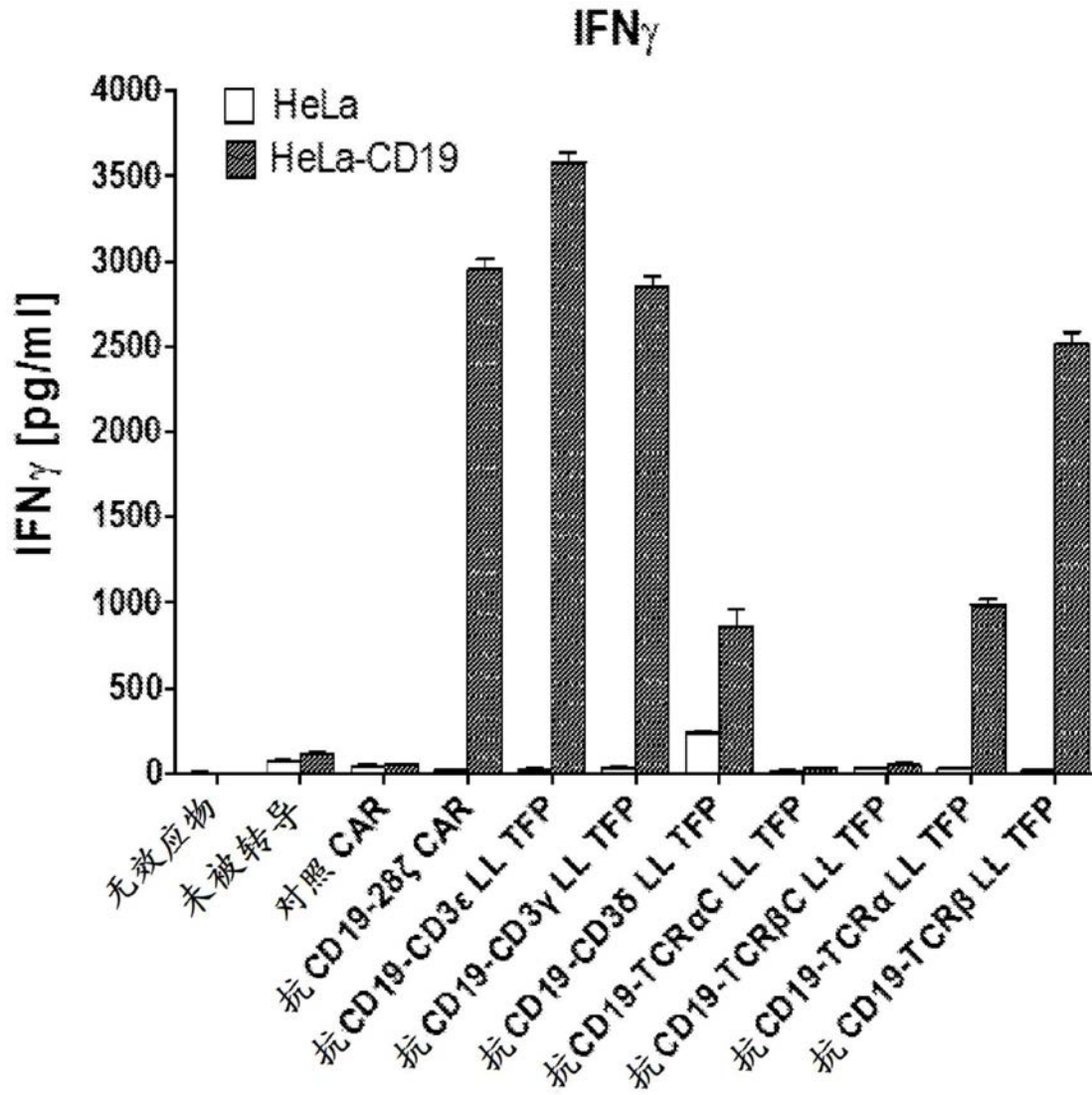


图15D

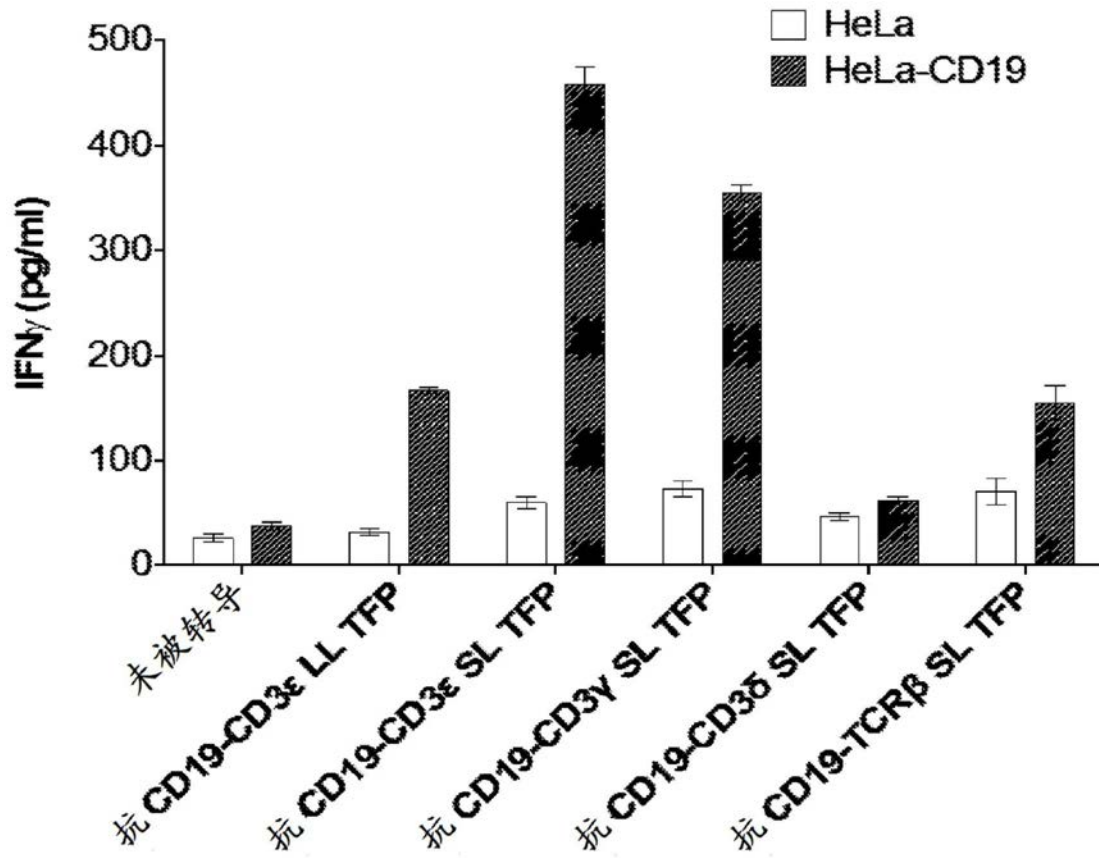


图16

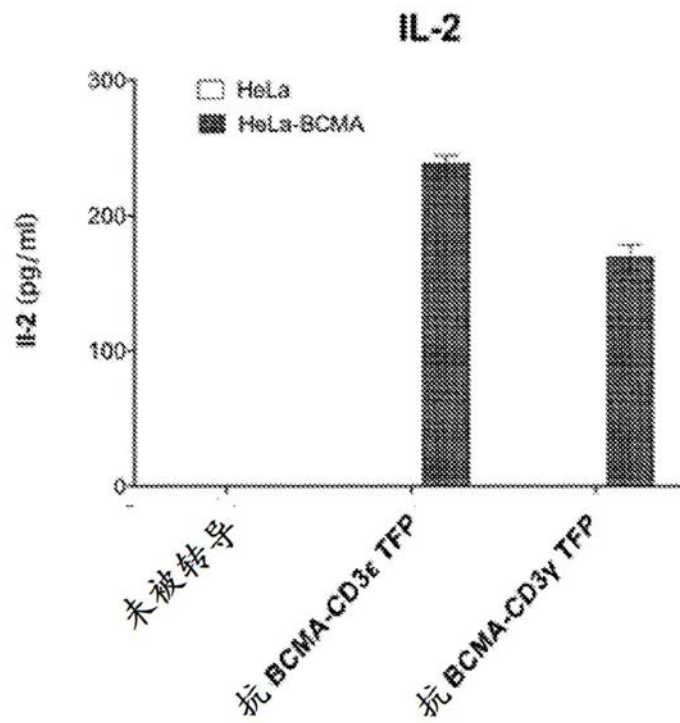


图17A

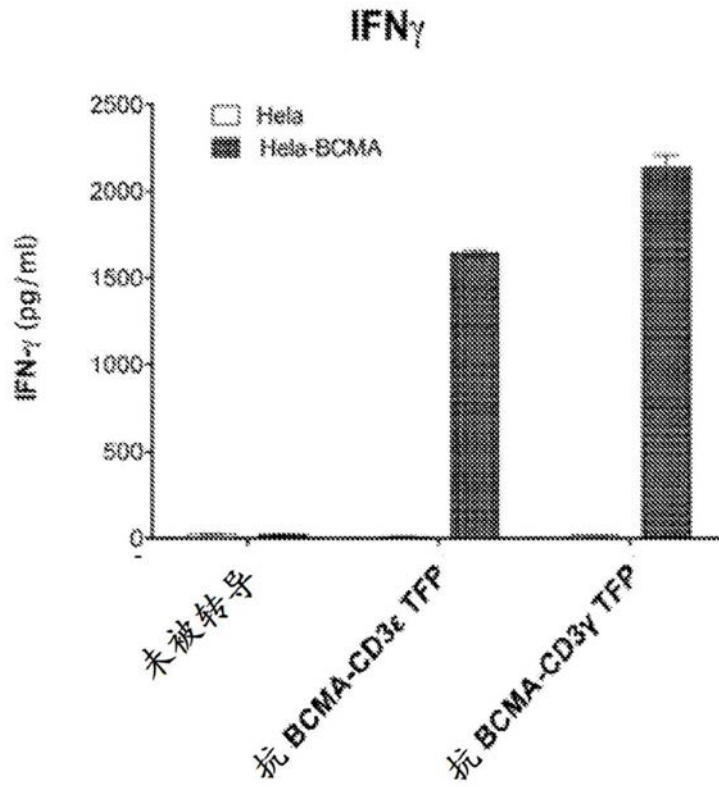


图17B

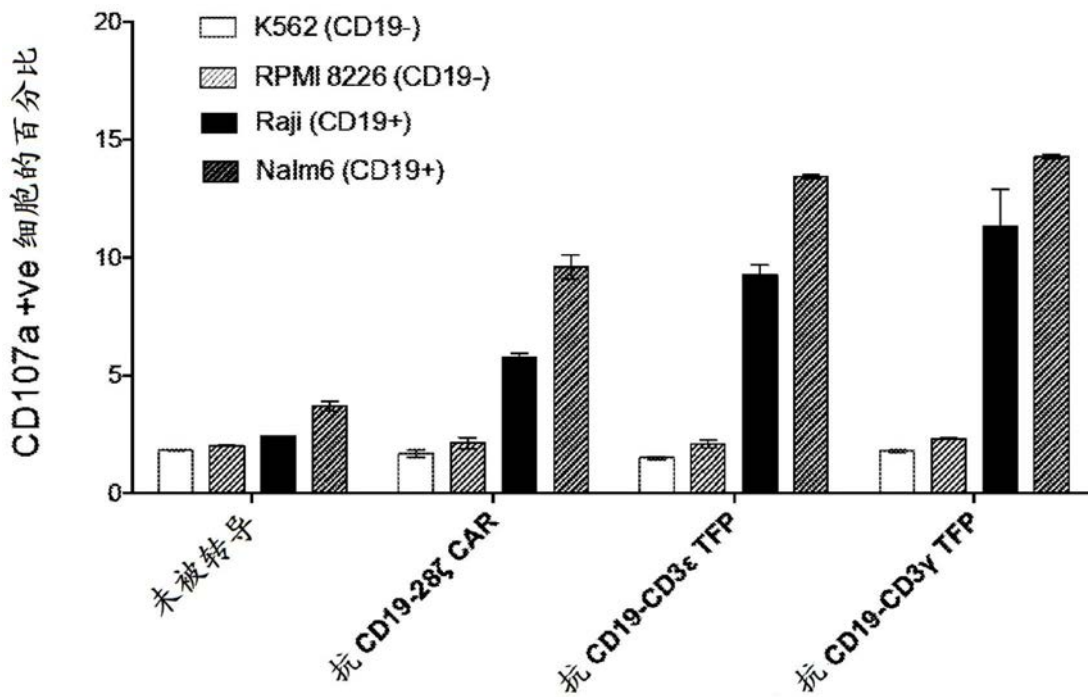


图18

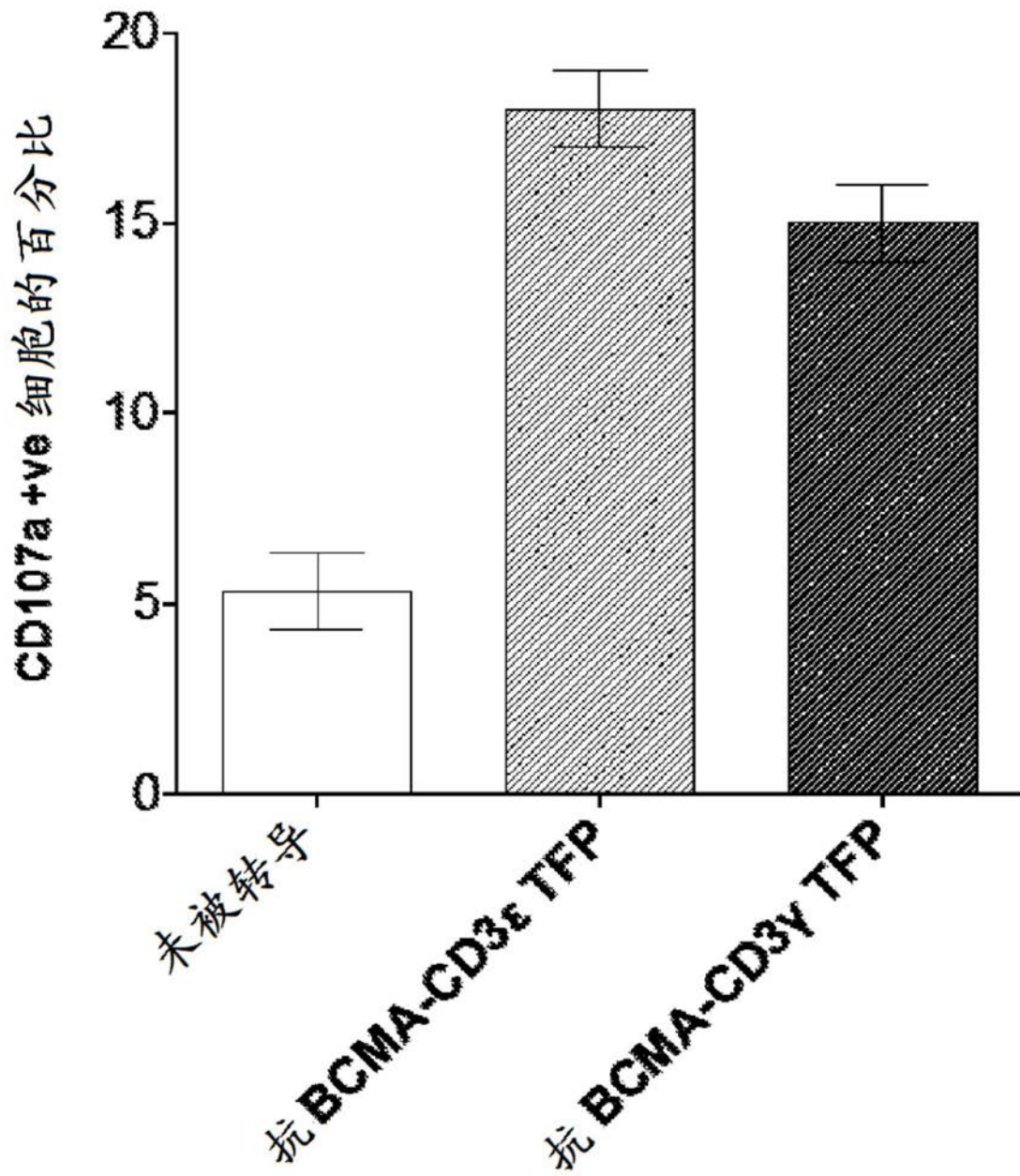


图19

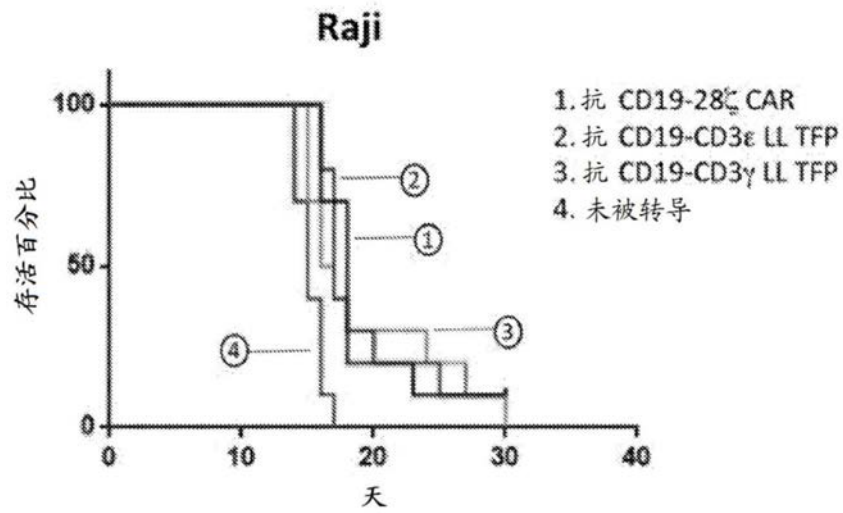


图20A

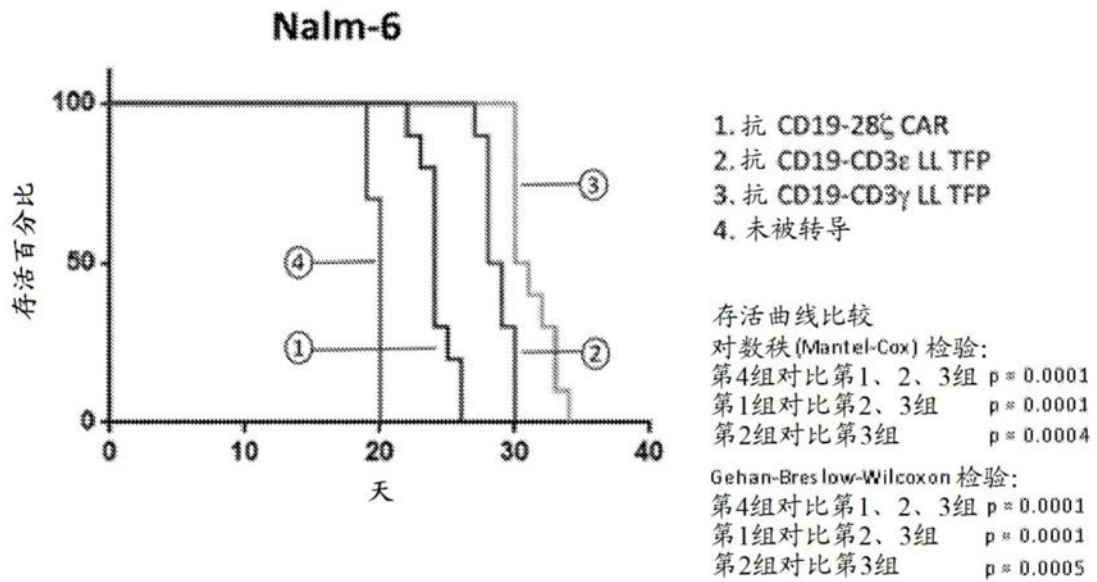


图20B