



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114174325 A

(43) 申请公布日 2022.03.11

(21) 申请号 202080053244.X

(22) 申请日 2020.06.02

(30) 优先权数据

62/857,167 2019.06.04 US

62/943,697 2019.12.04 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.01.24

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2020/035752 2020.06.02

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/247392 EN 2020.12.10

(71) 申请人 恩卡尔塔公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 J.B.特雷格 L.G.布伦 C.郭

黎广南 刘道峰 I.陈

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

代理人 张文辉

(51) Int.Cl.

C07K 14/54 (2006.01)

C07K 14/705 (2006.01)

C12N 5/00 (2006.01)

C12N 5/10 (2006.01)

权利要求书6页 说明书77页

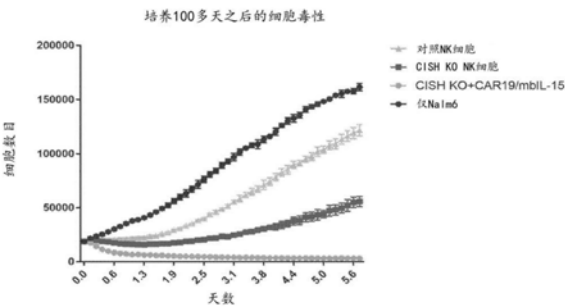
序列表156页 附图82页

(54) 发明名称

用于免疫疗法的工程化自然杀伤细胞和工程化T细胞的组合

(57) 摘要

本文公开的方法和组合物的若干实施方案涉及免疫细胞,该免疫细胞经工程化改造以表达嵌合抗原受体和/或经遗传修饰以增强该免疫细胞在细胞免疫疗法中的功效的一个或多个方面。若干实施方案涉及减少细胞免疫疗法的潜在副作用的遗传修饰。在若干实施方案中,细胞的组合物用于实现迅速和长期的肿瘤减少,且减少或消除的移植物抗宿主效应的潜力。



1. 一种用于癌症免疫疗法的遗传工程化自然杀伤 (NK) 细胞群体, 其包含:
多个NK细胞,
其中所述多个NK细胞经工程化改造以表达包含细胞外配体结合域、跨膜域和细胞毒性信号传导复合物的细胞毒性受体,
其中所述细胞毒性信号传导复合物包含OX-40亚域和CD3 ζ 亚域,
其中所述NK细胞经工程化改造以表达膜结合型IL-15,
其中与非工程化NK细胞相比, 所述NK细胞经遗传编辑以表达减少水平的由CISH基因编码的细胞因子诱导型含SH2 (CIS) 蛋白,
其中通过对CISH基因进行编辑对减少的CIS表达进行工程化改造,
并且其中与表达天然水平的CIS的NK细胞相比, 所述遗传工程化NK细胞表现出增强的扩增能力、增强的对靶细胞的细胞毒性和增强的持久性中的一种或多种。
2. 权利要求1所述的遗传工程化NK细胞群体, 其中所述细胞外配体结合域包含针对选自下组的肿瘤标志物的受体, 所述组由以下各项组成: MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5和ULBP6。
3. 权利要求1所述的遗传工程化NK细胞群体, 其中由所述NK细胞表达的所述细胞毒性受体包含: (i) NKG2D配体结合域; (ii) CD8跨膜域; 以及 (iii) 包含OX40共刺激亚域和CD3 ζ 共刺激亚域的信号传导复合物。
4. 权利要求1所述的遗传工程化NK细胞群体, 其中所述细胞毒性受体由与SEQ ID NO: 145具有至少95%序列同一性的多核苷酸编码。
5. 权利要求1所述的遗传工程化NK细胞群体, 其中所述细胞毒性受体与SEQ ID NO: 174具有至少95%序列同一性。
6. 权利要求1所述的遗传工程化NK细胞群体, 其中由所述NK细胞表达的所述细胞毒性受体包含嵌合抗原受体 (CAR), 所述嵌合抗原受体包含: (i) 包含抗CD19抗体片段的肿瘤结合域; (ii) CD8跨膜域; 以及 (iii) 包含OX40共刺激亚域和CD3 ζ 共刺激亚域的信号传导复合物。
7. 权利要求6所述的遗传工程化NK细胞群体, 其中所述抗CD19抗体包含单链可变片段 (scFv) 的可变重 (VH) 域和scFv的可变轻 (VL) 域, 其中所述VH域包含SEQ ID NO: 120的氨基酸序列, 并且其中编码的VL域包含SEQ ID NO: 118的氨基酸序列。
8. 权利要求7所述的遗传工程化NK细胞群体, 其中由所述T细胞表达的所述CAR与SEQ ID NO: 178中所阐述的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。
9. 权利要求1至8中任一项所述的遗传工程化NK细胞, 其中与非工程化NK细胞相比, CIS的表达实质性减少。
10. 权利要求1至8中任一项所述的遗传工程化NK细胞, 其中所述NK细胞不表达可检测水平的CIS蛋白。
11. 权利要求1至8中任一项所述的遗传工程化NK细胞, 其中与非工程化NK细胞相比, 所述NK细胞进一步经遗传工程化改造以表达减少水平的转化生长因子 β 受体 (TGFBR)。
12. 权利要求1至8中任一项所述的遗传工程化NK细胞, 其中与非工程化NK细胞相比, 所述NK细胞进一步经遗传编辑以表达减少水平的 β -2微球蛋白 (B2M)。
13. 权利要求1至8中任一项所述的遗传工程化NK细胞, 其中与非工程化NK细胞相比, 所

述NK细胞进一步经遗传编辑以表达减少水平的CIITA (II类主要组织相容性复合物反式激活因子)。

14. 权利要求1至8中任一项所述的遗传工程化NK细胞,其中与非工程化NK细胞相比,所述NK细胞进一步经遗传编辑以表达减少水平的自然杀伤组2成员A (NKG2A) 受体。

15. 权利要求1至8中任一项所述的遗传工程化NK细胞,其中与非工程化NK细胞相比,所述NK细胞进一步经遗传编辑以表达减少水平的由CBLB基因编码的Cb1原致癌基因B蛋白。

16. 权利要求1至8中任一项所述的遗传工程化NK细胞,其中与非工程化NK细胞相比,所述NK细胞进一步经遗传编辑以表达减少水平的由TRIM29基因编码的含三联基序蛋白29蛋白。

17. 权利要求1至8中任一项所述的遗传工程化NK细胞,其中与非工程化NK细胞相比,所述NK细胞进一步经遗传编辑以表达减少水平的由SOCS2基因编码的细胞因子信号传导抑制因子2蛋白。

18. 权利要求1至8中任一项所述的遗传工程化NK细胞,其中所述NK细胞进一步经遗传编辑以表达CD47。

19. 权利要求1至8所述的遗传工程化NK细胞,其中所述NK细胞进一步经遗传工程化改造以表达HLA-E。

20. 权利要求1至8所述的遗传工程化NK细胞,其中所述NK细胞进一步经遗传编辑以破坏所述NK细胞的至少一种免疫检查点蛋白的表达。

21. 权利要求20所述的遗传工程化NK细胞,其中所述至少一种免疫检查点蛋白选自CTLA4、PD-1、淋巴细胞活化基因 (LAG-3)、NKG2A受体、KIR2DL-1、KIR2DL-2、KIR2DL-3、KIR2DS-1和/或KIR2DA-2及其组合。

22. 根据权利要求1至8中任一项所述的遗传工程化NK细胞群体,其进一步包含遗传工程化T细胞群体,

其中所述T细胞群体基本上是非同种异体反应性的,

其中所述非同种异体反应性T细胞包含T细胞受体 (TCR) 的至少一个经遗传编辑的亚单位,使得所述非同种异体反应性T细胞对受者受试者的细胞不表现出同种异体反应性效应,

其中所述T细胞群体经工程化改造以表达针对肿瘤标志物的嵌合抗原受体 (CAR),

其中所述肿瘤标志物选自下组,所述组由以下各项组成:CD19、CD123、CD70、Her2、间皮素、密蛋白6、BCMA、PD-L1、EGFR及其组合。

23. 权利要求22所述的遗传工程化NK细胞群体,其中由所述T细胞表达的所述CAR针对CD19。

24. 权利要求22所述的遗传工程化NK细胞群体,其中由所述T细胞表达的所述CAR与SEQ ID NO:178中所阐述的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。

25. 权利要求22所述的遗传工程化NK细胞群体,其中修饰的T细胞的TCR亚单位是TCR α 。

26. 权利要求22所述的遗传工程化NK细胞群体,其中对所述T细胞的所述TCR的修饰导致至少90%的所述T细胞群体不表达可检测水平的所述TCR。

27. 权利要求22所述的遗传工程化NK细胞群体,其中所述T细胞进一步经遗传编辑以与非工程化T细胞相比减少CIS、TGFB β 、B2M和CIITA中的一种或多种的表达,或者以表达CD47或HLA-E。

28. 权利要求22所述的遗传工程化NK细胞群体,其中与非工程化T细胞相比,所述T细胞进一步经遗传编辑以减少TRIM29和SOCS2中的一种或多种的表达。

29. 权利要求22所述的遗传工程化NK细胞群体,其中所述T细胞进一步经遗传编辑以破坏所述T细胞的至少一种免疫检查点蛋白的表达,其中所述至少一种免疫检查点蛋白选自CTLA4、PD-1和淋巴细胞活化基因(LAG-3)。

30. 根据权利要求1至29中任一项所述的遗传工程化NK细胞群体,其中使用CRISPR-Cas系统进行用于减少表达的基因编辑或进行用于诱导表达的基因编辑。

31. 权利要求30所述的遗传工程化NK细胞群体,其中所述CRISPR-Cas系统包含选自Cas9、Csn2、Cas4、Cpf1、C2c1、C2c3、Cas13a、Cas13b、Cas13c及其组合的Cas。

32. 权利要求31所述的遗传工程化NK细胞群体,其中所述Cas是Cas9。

33. 权利要求32所述的遗传工程化NK细胞群体,其中所述CRISPR-Cas系统包含选自Cas3、Cas8a、Cas5、Cas8b、Cas8c、Cas10d、Cse1、Cse2、Csy1、Csy2、Csy3、GSU0054、Cas10、Csm2、Cmr5、Cas10、Csx11、Csx10、Csf1及其组合的Cas。

34. 根据权利要求1至29中任一项所述的遗传工程化NK细胞群体,其中使用锌指核酸酶(ZFN)进行用于减少表达的基因编辑或进行用于诱导表达的基因编辑。

35. 根据权利要求1至29中任一项所述的遗传工程化NK细胞群体,其中使用转录激活因子样效应子核酸酶(TALEN)进行用于减少表达的基因编辑或进行用于诱导表达的基因编辑。

36. 根据前述权利要求中任一项所述的遗传工程化NK细胞群体,其中所述OX40亚域由与SEQ ID NO.5具有至少95%序列同一性的序列编码。

37. 根据前述权利要求中任一项所述的遗传工程化NK细胞群体,其中所述CD3 ζ 亚域由与SEQ ID NO.7具有至少95%序列同一性的序列编码。

38. 根据前述权利要求中任一项所述的遗传工程化NK细胞群体,其中mbIL15由与SEQ ID NO.11具有至少95%序列同一性的序列编码。

39. 一种在受试者中治疗癌症的方法,其包含将根据前述权利要求中任一项所述的遗传工程化NK细胞群体施用于所述受试者。

40. 根据前述权利要求中任一项所述的遗传工程化NK细胞群体在治疗癌症中的用途。

41. 根据前述权利要求中任一项所述的免疫细胞混合群体在制造用于治疗癌症的药物中的用途。

42. 一种用于在受试者中治疗癌症的方法,其包含,

将遗传工程化免疫细胞群体施用于所述受试者,所述遗传工程化免疫细胞群体包含:

(i) 多个NK细胞,

其中所述多个NK细胞经工程化改造以表达包含细胞外配体结合域、跨膜域和细胞毒性信号传导复合物的细胞毒性受体,

其中所述细胞毒性信号传导复合物包含OX-40亚域和CD3 ζ 亚域,

其中所述NK细胞经工程化改造以表达膜结合型IL-15,

其中与非工程化NK细胞相比,所述NK细胞经遗传编辑以表达减少水平的所述细胞的由CISH基因编码的细胞因子诱导型含SH2(CIS)蛋白,

其中通过对CISH基因进行遗传编辑对减少的CIS表达进行工程化改造,

并且其中与表达天然水平的CIS的NK细胞相比,所述遗传工程化NK细胞表现出增强的扩增能力、增强的对靶细胞的细胞毒性和增强的持久性中的一种或多种;以及任选地

(ii) 多个T细胞,

其中所述多个T细胞基本上是非同种异体反应性的,

其中所述非同种异体反应性T细胞包含至少一种对T细胞受体 (TCR) 的亚单位的修饰,使得所述非同种异体反应性T细胞对受者受试者的细胞不表现出同种异体反应性效应,

其中所述T细胞群体经工程化改造以表达针对肿瘤标志物的嵌合抗原受体 (CAR),

其中所述肿瘤标志物选自下组,所述组由以下各项组成:CD19、CD123、CD70、Her2、间皮素、密蛋白6、BCMA、PD-L1、EGFR及其组合。

43. 权利要求42所述的方法,其中由所述NK细胞表达的所述细胞毒性受体包含:(i) NKG2D配体结合域;(ii) CD8跨膜域;以及(iii) 包含OX40共刺激亚域和CD3z共刺激亚域的信号传导复合物。

44. 权利要求42或43所述的方法,其中所述细胞毒性受体由与SEQ ID NO:145具有至少95%序列同一性的多核苷酸编码。

45. 权利要求42至44中任一项所述的方法,其中所述细胞毒性受体与SEQ ID NO:174具有至少95%序列同一性。

46. 权利要求42所述的方法,其中由所述NK细胞表达的所述细胞毒性受体针对CD19。

47. 权利要求46所述的方法,其中由所述NK细胞表达的所述细胞毒性受体与SEQ ID NO:178中所阐述的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。

48. 权利要求42所述的方法,其中由所述T细胞表达的所述CAR针对CD19。

49. 根据权利要求42至48中任一项所述的方法,其中由所述T细胞表达的所述CAR包含:(i) 包含抗CD19抗体片段的肿瘤结合域;(ii) CD8跨膜域;以及(iii) 包含OX40共刺激亚域和CD3z共刺激亚域的信号传导复合物;以及(iv) 膜结合型IL15。

50. 权利要求49所述的方法,其中所述抗CD19抗体包含单链可变片段(scFv)的可变重(VH)域和scFv的可变轻(VL)域。

51. 权利要求50所述的方法,其中所述VH域包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列,并且其中所述VL域包含SEQ ID NO:118的氨基酸序列。

52. 根据权利要求42至51中任一项所述的方法,其中所述NK细胞和/或所述T细胞进一步经遗传编辑以与非工程化T细胞相比减少CIS、TGFBR、B2M和CIITA中的一种或多种的表达,或者以表达CD47或HLA-E。

53. 根据权利要求42至51中任一项所述的方法,其中与非工程化NK细胞或T细胞相比,所述NK细胞和/或所述T细胞进一步经遗传编辑以减少TRIM29和SOCS2中的一种或多种的表达。

54. 根据权利要求42至53中任一项所述的方法,其中所述NK细胞和/或所述T细胞进一步经遗传编辑以破坏所述细胞的至少一种免疫检查点蛋白的表达,其中所述至少一种免疫检查点蛋白选自CTLA4、PD-1和淋巴细胞活化基因(LAG-3)、NKG2A受体、KIR2DL-1、KIR2DL-2、KIR2DL-3、KIR2DS-1和/或KIR2DA-2。

55. 根据权利要求42至54中任一项所述的方法,其中所述OX40亚域由与SEQ ID NO.5具有至少95%序列同一性的序列编码。

56. 根据权利要求42至55中任一项所述的方法,其中所述CD3 ζ 亚域由与SEQ ID NO.7具有至少95%序列同一性的序列编码。

57. 根据权利要求42至56中任一项所述的方法,其中所述mbIL15由与SEQ ID NO.11具有至少95%序列同一性的序列编码。

58. 根据权利要求42至57中任一项所述的方法,其中使用CRISPR-Cas系统进行用于减少表达的基因编辑或进行用于诱导表达的基因编辑。

59. 权利要求58所述的方法,其中所述CRISPR-Cas系统包含选自Cas9、Csn2、Cas4、Cpf1、C2c1、C2c3、Cas13a、Cas13b、Cas13c及其组合的Cas。

60. 权利要求59所述的方法,其中所述Cas是Cas9。

61. 权利要求58所述的方法,其中所述CRISPR-Cas系统包含选自Cas3、Cas8a、Cas5、Cas8b、Cas8c、Cas10d、Cse1、Cse2、Csy1、Csy2、Csy3、GSU0054、Cas10、Csm2、Cmr5、Cas10、Csx11、Csx10、Csf1及其组合的Cas。

62. 根据权利要求42至56中任一项所述的方法,其中使用锌指核酸酶(ZFN)进行用于减少表达的基因编辑或进行用于诱导表达的基因编辑。

63. 根据权利要求42至56中任一项所述的方法,其中使用转录激活因子样效应子核酸酶(TALEN)进行用于减少表达的基因编辑或进行用于诱导表达的基因编辑。

64. 一种用于癌症免疫疗法的工程化免疫细胞混合群体,其包含:

(i) 多个NK细胞,

其中所述多个NK细胞经工程化改造以表达包含细胞外配体结合域、跨膜域和细胞毒性信号传导复合物的细胞毒性受体,

其中所述细胞毒性信号传导复合物包含OX-40亚域和CD3 ζ 亚域,

其中所述NK细胞经工程化改造以表达膜结合型IL-15,

其中与非工程化NK细胞相比,所述NK细胞经遗传编辑以表达减少水平的所述细胞的由CISH基因编码的细胞因子诱导型含SH2(CIS)蛋白,

其中通过对CISH基因进行遗传编辑对减少的CIS表达进行工程化改造,

并且其中与表达天然水平的CIS的NK细胞相比,所述遗传工程化NK细胞表现出增强的扩增能力、增强的对靶细胞的细胞毒性和增强的持久性中的一种或多种;以及

(ii) 多个T细胞,

其中所述多个T细胞基本上是非同种异体反应性的,

其中所述非同种异体反应性T细胞包含至少一种对T细胞受体(TCR)的亚单位的修饰,使得所述非同种异体反应性T细胞对受者受试者的细胞不表现出同种异体反应性效应,

其中所述T细胞群体经工程化改造以表达针对肿瘤标志物的嵌合抗原受体(CAR),并且

其中所述肿瘤标志物选自下组,所述组由以下各项组成:CD19、CD123、CD70、Her2、间皮素、密蛋白6、BCMA、PD-L1、EGFR及其组合。

65. 权利要求64所述的免疫细胞混合群体,其中由所述NK细胞表达的所述细胞毒性受体与SEQ ID NO:174具有至少95%序列同一性。

66. 权利要求64所述的免疫细胞混合群体,其中由所述NK细胞表达的所述细胞毒性受体与SEQ ID NO:178中所阐述的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。

67. 权利要求64所述的免疫细胞混合群体,其中由所述T细胞表达的所述CAR与SEQ ID

NO:178中所阐述的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。

用于免疫疗法的工程化自然杀伤细胞和工程化T细胞的组合

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求于2019年6月4日提交的美国临时专利申请号62/857,167和于2019年12月4日提交的美国临时专利申请号62/943,697的优先权的权益,它们各自的全部内容都通过引用并入本文。

技术领域

[0003] 本文公开的若干实施方案涉及包含用于癌症免疫疗法的遗传工程化细胞,尤其是工程化免疫细胞类型的组合的方法和组合。在若干实施方案中,本公开涉及经工程化改造以表达嵌合抗原受体的细胞。在若干实施方案中,当细胞用于癌症免疫疗法时,进行进一步的工程化改造以增强功效和/或减少潜在的副作用。

背景技术

[0004] 随着对各种癌症以及癌性细胞具有哪些可以用于特异性区分该细胞与健康细胞的特征的进一步了解,正在开发利用癌性细胞的独特特征的治疗剂。采用工程化免疫细胞的免疫疗法是治疗癌症的一种方案。

[0005] 通过引用并入ASCII文本文件中的材料

[0006] 本申请通过引用并入了含在与本申请同时提交的以下ASCII文本文件中的序列表:文件名:NKT043W0_ST25.txt;创建于2020年6月1日,大小为327KB。

发明内容

[0007] 在疾病治疗中,免疫疗法代表一种新的技术进步,其中免疫细胞经工程化改造以表达某些靶向和/或效应分子,这些分子特异性地识别患病或受损细胞并对其起反应。与所有细胞都受到影响的更传统的方法(如化学疗法)相反,这代表一种有希望的进展,至少部分地是由于具有特异性地靶向患病或受损细胞的潜能所致,并且预期的结果是有足够的健康细胞存活以允许患者生存。一种免疫疗法方案是在免疫细胞中重组表达嵌合受体,以实现感兴趣的异常细胞的靶向识别和破坏。

[0008] 在若干实施方案中,用于免疫疗法的细胞经遗传修饰以增强细胞的一种或多种特征,从而导致更有效的治疗性。在若干实施方案中,经遗传修饰的免疫细胞的扩增潜力、细胞毒性和/或持久性中的一种或多种得到增强。在若干实施方案中,免疫细胞还经工程化改造以表达靶向肿瘤的细胞毒性受体。在若干实施方案中,本文提供了用于癌症免疫疗法的遗传工程化自然杀伤(NK)细胞群体,其包含多个NK细胞,其中该多个NK细胞经工程化改造以表达包含细胞外配体结合域、跨膜域和细胞毒性信号传导复合物的细胞毒性受体,其中与非工程化NK细胞相比,该NK细胞经基因编辑以表达减少水平的由CISH基因编码的细胞因子诱导型含SH2(cytokine-inducible SH2-containing,CIS)蛋白,其中通过对CISH基因进行编辑来对减少的CIS表达进行了工程化改造,并且其中与表达天然水平的CIS的NK细胞相比,该遗传工程化NK细胞表现出增强的扩增能力、增强的对靶细胞的细胞毒性和增强的持

久性中的一种或多种。在若干实施方案中,该细胞毒性信号传导复合物包含OX-40亚域和CD3 ζ 亚域。在若干实施方案中,该NK细胞经工程化改造以表达膜结合型IL-15。在若干实施方案中,T细胞经工程化改造并且代替NK细胞使用或在NK细胞外进行使用。在若干实施方案中,NKT细胞不包括在该工程化免疫细胞群体中。在若干实施方案中,该免疫细胞群体包含工程化NK细胞、由工程化NK细胞组成或基本上由工程化NK细胞组成。

[0009] 在若干实施方案中,该细胞外配体结合域包含针对选自下组的肿瘤标志物的受体,该组由以下各项组成:MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5和ULBP6。在若干实施方案中,由该NK细胞表达的细胞毒性受体包含以下各项、由以下各项组成或基本上由以下各项组成:(i) NKG2D配体结合域;(ii) CD8跨膜域;以及(iii) 包含OX40共刺激亚域和CD3 ζ 共刺激亚域的信号传导复合物。在若干实施方案中,该细胞毒性受体由与SEQ ID NO:145具有至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的多核苷酸编码。在若干实施方案中,该细胞毒性受体与SEQ ID NO:174具有至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性。

[0010] 在若干实施方案中,由该NK细胞表达的细胞毒性受体包含嵌合抗原受体(CAR),该嵌合抗原受体包含以下各项、由以下各项组成或基本上由以下各项组成:(i) 包含抗CD19抗体片段的肿瘤结合域;(ii) CD8跨膜域;以及(iii) 包含OX40共刺激亚域和CD3 ζ 共刺激亚域的信号传导复合物。在若干实施方案中,抗CD19抗体包含单链可变片段(scFv)的可变重(VH)域和scFv的可变轻(VL)域,其中该VH域包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列,并且其中经编码的VL域包含SEQ ID NO:118的氨基酸序列。在若干实施方案中,由该T细胞表达的CAR与SEQ ID NO:178中所阐述的氨基酸序列具有至少95%序列同一性。在若干实施方案中,抗CD19抗体片段经设计(例如,工程化改造)以减少编码的蛋白质的潜在抗原性和/或增强编码的蛋白质的一种或多种特征(例如,靶物识别和/或结合特征)。因此,根据若干实施方案,抗CD19抗体片段不包含某些序列。例如,根据若干实施方案,抗CD19抗体片段既不由SEQ ID NO:116编码,它也不包含SEQ ID NO:105或107的VL区或者SEQ ID NO:104或106的VH区。在若干实施方案中,抗CD19抗体片段不包含一个或多个选自SEQ ID NO:108至115的CDR。

[0011] 在若干实施方案中,与非工程化NK细胞相比,CIS的表达实质性减少。根据本文提供的某些实施方案,基因编辑可以使靶蛋白(如CIS(或本文公开的其他靶蛋白))的表达减少约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约97%、约98%、约99%或更多(包括所列数值之间的任何量)。在若干实施方案中,基因被完全敲除,使得靶蛋白的表达是检测不到的。因此,在若干实施方案中,免疫细胞(例如,NK细胞)不表达可检测水平的CIS蛋白。

[0012] 在若干实施方案中,与非工程化NK细胞相比,该NK细胞进一步经遗传工程化改造以表达减少水平的转化生长因子 β 受体(TGFBR)。在若干实施方案中,至少50%的该NK细胞群体不表达可检测水平的TGFBR。在若干实施方案中,与非工程化NK细胞相比,该NK细胞进一步经遗传编辑以表达减少水平的 β -2微球蛋白(B2M)。在若干实施方案中,至少50%的NK细胞群体不表达可检测水平的B2M表面蛋白。在若干实施方案中,与非工程化NK细胞相比,该NK细胞进一步经遗传编辑以表达减少水平的CIITA(II类主要组织相容性复合物反式激活因子)。在若干实施方案中,至少50%的NK细胞群体不表达可检测水平的CIITA。在若干实施方案中,与非工程化NK细胞相比,该NK细胞进一步经遗传编辑以表达减少水平的自然杀

伤组2成员A (NKG2A) 受体。在若干实施方案中,至少50%的NK细胞群体不表达可检测水平的NKG2A。在若干实施方案中,与非工程化NK细胞相比,该NK细胞进一步经遗传编辑以表达减少水平的由CBLB基因编码的Cbl原致癌基因B蛋白。在若干实施方案中,至少50%的NK细胞群体不表达可检测水平的Cbl原致癌基因B蛋白。在若干实施方案中,与非工程化NK细胞相比,该NK细胞进一步经遗传编辑以表达减少水平的由TRIM29基因编码的含三联基序蛋白29蛋白(tripartite motif-containing protein 29protein)。在若干实施方案中,至少50%的NK细胞群体不表达可检测水平的TRIM29蛋白。在若干实施方案中,与非工程化NK细胞相比,该NK细胞进一步经遗传编辑以表达减少水平的由SOCS2基因编码的细胞因子信号传导抑制因子2蛋白(suppressor of cytokine signaling 2protein)。在若干实施方案中,至少50%的NK细胞群体不表达可检测水平的SOCS2蛋白。取决于实施方案,可以将上述靶蛋白/基因的任何组合编辑至期望水平,其包括与CIS组合,包括使得蛋白质不在可检测到的水平上表达。在若干实施方案中,可能保持了一定量的可检测到的蛋白质,但蛋白质的功能被破坏、基本上破坏、消除或基本上消除。在若干实施方案中,即使保持了一些功能性,但赋予工程化免疫细胞(例如,NK细胞或T细胞)的积极作用仍然保持并且用来增强细胞的一个或多个抗癌方面。

[0013] 在若干实施方案中,该NK细胞进一步经遗传编辑以破坏该NK细胞的至少一种免疫检查点蛋白的表达。在若干实施方案中,该至少一种免疫检查点蛋白选自CTLA4、PD-1、淋巴细胞活化基因(LAG-3)、NKG2A受体、KIR2DL-1、KIR2DL-2、KIR2DL-3、KIR2DS-1和/或KIR2DA-2及其组合。

[0014] 在若干实施方案中,基因编辑用于“敲入”或以其他方式增强靶蛋白的表达。在若干实施方案中,靶蛋白的表达可以增强约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约97%、约98%、约99%或更多(包括所列数值之间的任何量)。例如,在若干实施方案中,该NK细胞进一步经遗传编辑以表达CD47。在若干实施方案中,该NK细胞进一步经遗传工程化改造以表达HLA-E。任何敲入的基因都可以与任何敲除或以其他方式破坏的基因组合敲入。

[0015] 在若干实施方案中,该遗传工程化NK细胞群体进一步包含遗传工程化T细胞群体。在若干实施方案中,该T细胞群体至少部分地(若非实质上)是非同种异体反应性的。在若干实施方案中,该非同种异体反应性T细胞包含T细胞受体(TCR)的至少一个经遗传编辑的亚单位,使得该非同种异体反应性T细胞对受者受试者的细胞不表现出同种异体反应性效应。在若干实施方案中,该T细胞群体经工程化改造以表达针对肿瘤标志物的嵌合抗原受体(CAR),其中该肿瘤标志物是CD19、CD123、CD70、Her2、间皮素、密蛋白6、BCMA、PD-L1、EGFR中的一种或多种。在一些实施方案中,可以靶向这些肿瘤标志物中的两种或更多种的组合。在若干实施方案中,由该T细胞表达的CAR针对CD19。在若干实施方案中,由该T细胞表达的CAR与SEQ ID NO:178中所阐述的氨基酸序列具有至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性。在若干实施方案中,该CAR靶向CD19。在若干实施方案中,该CAR经设计(例如,工程化改造)以减少经编码的蛋白质的潜在抗原性和/或增强经编码的蛋白质的一种或多种特征(例如,靶物识别和/或结合特征)。因此,根据若干实施方案,抗CD19 CAR不包含某些序列。例如,根据若干实施方案,抗CD19 CAR不包含:SEQ ID NO:116;SEQ ID NO:105、107、104或106。在若干实施方案中,抗CD19抗体片段不包含一个或多个选自SEQ ID NO:108

至115的CDR。

[0016] 在若干实施方案中,所修饰的T细胞的TCR亚单位是TCR α 。在若干实施方案中,对该T细胞的TCR的修饰导致至少80%、85%或90%的T细胞群体不表达可检测水平的TCR。与本文公开的经编辑的NK细胞一样,在若干实施方案中,该T细胞进一步经遗传编辑以与非工程化T细胞相比减少CIS、TGFB β 、B2M、CIITA、TRIM29和SOCS2中的一种或多种的表达,或者以表达CD47或HLA-E。在若干实施方案中,该T细胞进一步经遗传编辑以破坏T细胞的至少一种免疫检查点蛋白的表达,其中该至少一种免疫检查点蛋白选自CTLA4、PD-1和淋巴细胞活化基因(LAG-3)。

[0017] 取决于实施方案,使用CRISPR-Cas系统进行NK细胞和/或T细胞的基因编辑以便减少表达和/或进行基因编辑以诱导表达。在若干实施方案中,该CRISPR-Cas系统包含选自Cas9、Csn2、Cas4、Cpf1、C2c1、C2c3、Cas13a、Cas13b、Cas13c及其组合的Cas。在若干实施方案中,该Cas是Cas9。在若干实施方案中,该CRISPR-Cas系统包含选自Cas3、Cas8a、Cas5、Cas8b、Cas8c、Cas10d、Cse1、Cse2、Csy1、Csy2、Csy3、GSU0054、Cas10、Csm2、Cmr5、Cas10、Csx11、Csx10、Csf1及其组合的Cas。在若干实施方案中,使用锌指核酸酶(ZFN)进行NK细胞和/或T细胞的基因编辑以便减少表达和/或进行基因编辑以诱导表达。在若干实施方案中,使用转录激活因子样效应子核酸酶(TALEN)进行NK细胞和/或T细胞的基因编辑以便减少表达和/或进行基因编辑以诱导表达。

[0018] 在若干实施方案中,该遗传工程化NK细胞和/或工程化T细胞具有OX40亚域,其由与SEQ ID NO.5具有至少85%、90%或95%序列同一性的序列编码。在若干实施方案中,该遗传工程化NK细胞和/或工程化T细胞具有CD3 ζ 亚域,其由与SEQ ID NO.7具有至少85%、90%或95%序列同一性的序列编码。在若干实施方案中,该遗传工程化NK细胞和/或工程化T细胞具有mbIL15,其由与SEQ ID NO.11具有至少85%、90%或95%序列同一性的序列编码。

[0019] 本文还提供了在受试者中治疗癌症的方法,其包含将如本文所公开的遗传工程化NK细胞群体(和/或遗传工程化T细胞群体)施用于该受试者。本文还提供了如本文所公开的遗传工程化NK细胞群体(和/或遗传工程化T细胞群体)在治疗癌症中的用途。本文还提供了如本文所公开的遗传工程化NK细胞群体(和/或遗传工程化T细胞群体)在制造用于治疗癌症的药物中的用途。

[0020] 本文还提供了治疗癌症的方法。在若干实施方案中,提供了一种用于在受试者中治疗癌症的方法,其包含将遗传工程化免疫细胞群体施用于该受试者,该遗传工程化免疫细胞群体包含:(i)多个NK细胞,其中该多个NK细胞经工程化改造以表达包含细胞外配体结合域、跨膜域和细胞毒性信号传导复合物的细胞毒性受体,其中与非工程化NK细胞相比,该NK细胞经基因编辑以通过该细胞来表达减少水平的由CISH基因编码的细胞因子诱导型含SH2(CIS)蛋白,其中通过对CISH基因进行基因编辑来对减少的CIS表达进行了工程化改造,并且其中与表达天然水平的CIS的NK细胞相比,该遗传工程化NK细胞表现出增强的扩增能力、增强的对靶细胞的细胞毒性和增强的持久性中的一种或多种;以及任选地(ii)多个T细胞。

[0021] 在若干实施方案中,该细胞毒性信号传导复合物包含OX-40亚域和CD3 ζ 亚域。在若干实施方案中,该NK细胞还经工程化改造以表达膜结合型IL-15。

[0022] 在若干实施方案中,当包括多个T细胞时,这些细胞基本上是非同种异体反应性的。有利地,在若干实施方案中,该非同种异体反应性T细胞包含至少一种对T细胞受体(TCR)的亚单位的修饰,使得该非同种异体反应性T细胞对受者受试者的细胞不表现出同种异体反应性效应。在若干实施方案中,该T细胞还经工程化改造以表达针对肿瘤标志物的嵌合抗原受体(CAR),该肿瘤标志物可以选自CD19、CD123、CD70、Her2、间皮素、密蛋白6、BCMA、PD-L1、EGFR及其组合。

[0023] 在若干实施方案中,由该NK细胞表达的细胞毒性受体包含:(i) NKG2D配体结合域;(ii) CD8跨膜域;以及(iii) 包含OX40共刺激亚域和CD3 ζ 共刺激亚域的信号传导复合物。在若干实施方案中,该细胞毒性受体由与SEQ ID NO:145具有至少80%、85%、90%或95%序列同一性的多核苷酸编码。在若干实施方案中,该细胞毒性受体与SEQ ID NO:174具有至少80%、85%、90%或95%序列同一性。在若干实施方案中,由该NK细胞表达的细胞毒性受体针对CD19。在若干实施方案中,由该NK细胞表达的细胞毒性受体与SEQ ID NO:178中所阐述的氨基酸序列具有至少80%、85%、90%或95%序列同一性。在若干实施方案中,由该T细胞表达的CAR针对CD19。在若干实施方案中,由该T细胞(和或该NK细胞)表达的CAR包含:(i) 包含抗CD19抗体片段的肿瘤结合域;(ii) CD8跨膜域;以及(iii) 包含OX40共刺激亚域和CD3 ζ 共刺激亚域的信号传导复合物。在若干实施方案中,编码CAR的多核苷酸还编码膜结合型IL15。在若干实施方案中,抗CD19抗体片段包含单链可变片段(scFv)的可变重(VH)域和scFv的可变轻(VL)域。在若干实施方案中,该VH域包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列,并且其中该VL域包含SEQ ID NO:118的氨基酸序列。

[0024] 在若干实施方案中,该NK细胞和/或该T细胞进一步经遗传编辑以与非工程化T细胞相比减少CIS、TGFB β 、B2M、CIITA、TRIM29和SOCS2中的一种或多种的表达,或者以表达CD47或HLA-E。

[0025] 在若干实施方案中,该NK细胞和/或该T细胞进一步经遗传编辑以破坏该细胞的至少一种免疫检查点蛋白的表达,其中该至少一种免疫检查点蛋白选自CTLA4、PD-1和淋巴细胞活化基因(LAG-3)、NKG2A受体、KIR2DL-1、KIR2DL-2、KIR2DL-3、KIR2DS-1和/或KIR2DA-2。

[0026] 在若干实施方案中,该OX40亚域由与SEQ ID NO.5具有至少80%、85%、90%或95%序列同一性的序列编码。在若干实施方案中,该CD3 ζ 亚域由与SEQ ID NO.7具有至少80%、85%、90%或95%序列同一性的序列编码。在若干实施方案中,mbIL15由与SEQ ID NO.11具有至少80%、85%、90%或95%序列同一性的序列编码。

[0027] 取决于所应用的本文公开的方法的实施方案,使用CRISPR-Cas系统进行NK细胞和/或T细胞的基因编辑以便减少表达和/或进行基因编辑以诱导表达。在若干实施方案中,该CRISPR-Cas系统包含选自Cas9、Csn2、Cas4、Cpf1、C2c1、C2c3、Cas13a、Cas13b、Cas13c及其组合的Cas。在若干实施方案中,该Cas是Cas9。在若干实施方案中,该CRISPR-Cas系统包含选自Cas3、Cas8a、Cas5、Cas8b、Cas8c、Cas10d、Cse1、Cse2、Csy1、Csy2、Csy3、GSU0054、Cas10、Csm2、Cmr5、Cas10、Csx11、Csx10、Csf1及其组合的Cas。在若干实施方案中,使用锌指核酸酶(ZFN)进行NK细胞和/或T细胞的基因编辑以便减少表达和/或进行基因编辑以诱导表达。在若干实施方案中,使用转录激活因子样效应子核酸酶(TALEN)进行NK细胞和/或T细胞的基因编辑以便减少表达和/或进行基因编辑以诱导表达。

[0028] 另外,本文提供了一种用于癌症免疫疗法的工程化免疫细胞混合群体,其包含:多

个NK细胞,其中该多个NK细胞经工程化改造以表达包含细胞外配体结合域、跨膜域和细胞毒性信号传导复合物的细胞毒性受体,其中与非工程化NK细胞相比,该NK细胞经基因编辑以通过该细胞来表达减少水平的由CISH基因编码的细胞因子诱导型含SH2(CIS)蛋白,其中通过对CISH基因进行基因编辑对减少的CIS表达进行工程化改造,并且其中与表达天然水平的CIS的NK细胞相比,该遗传工程化NK细胞表现出增强的扩增能力、增强的对靶细胞的细胞毒性和增强的持久性中的一种或多种;以及多个T细胞,其通过至少一种对T细胞受体(TCR)的亚单位的修饰而基本上是非同种异体反应性的,其中该T细胞群体经工程化改造以表达针对肿瘤标志物的嵌合抗原受体(CAR),该肿瘤标志物选自CD19、CD123、CD70、Her2、间皮素、密蛋白6、BCMA、PD-L1和EGFR中的一种或多种。在若干实施方案中,该细胞毒性受体和/或CAR的细胞毒性信号传导复合物包含OX-40亚域和CD3 ζ 亚域。在若干实施方案中,该NK细胞和/或该T细胞经工程化改造以表达膜结合型IL-15。在若干实施方案中,由该NK细胞表达的细胞毒性受体与SEQ ID NO:174具有至少80%、85%、90%或95%序列同一性。在若干实施方案中,由该NK细胞表达的细胞毒性受体与SEQ ID NO:178中所阐述的氨基酸序列具有至少80%、85%、90%或95%序列同一性。在若干实施方案中,由该T细胞表达的CAR与SEQ ID NO:178中所阐述的氨基酸序列具有至少80%、85%、90%或95%序列同一性。

[0029] 在若干实施方案中,本文提供了一种用于癌症免疫疗法的遗传改变型免疫细胞群体,其包含免疫细胞群体,该免疫细胞群体经遗传修饰以减少免疫细胞的由CISH基因编码的细胞因子诱导型含SH2蛋白的表达、经遗传修饰以减少免疫细胞的转化生长因子 β 受体的表达、经遗传修饰以减少免疫细胞的自然杀伤组2成员A(NKG2A)受体的表达、经遗传修饰以减少免疫细胞的由CBLB基因编码的Cbl原致癌基因B蛋白的表达、经遗传修饰以减少免疫细胞的由TRIM29基因编码的含三联基序蛋白29蛋白的表达和/或经遗传修饰以减少免疫细胞的由SOCS2基因编码的细胞因子信号传导抑制因子2蛋白的表达、以及经遗传工程化改造以表达针对存在于靶肿瘤细胞上的肿瘤标志物的嵌合抗原受体(CAR)。在若干实施方案中,该群体包含自然杀伤细胞、由自然杀伤细胞组成或基本上由自然杀伤细胞组成。在一些实施方案中,该群体进一步包含T细胞。在若干实施方案中,该CAR针对CD19。在若干实施方案中,该CAR包含一个或多个个人源化CDR序列。在若干实施方案中,该CAR针对NKG2D配体。在若干实施方案中,使用CRISPR-Cas系统进行对细胞的遗传修饰。在若干实施方案中,该CRISPR-Cas系统包含选自Cas9、Csn2、Cas4、Cpf1、C2c1、C2c3、Cas13a、Cas13b、Cas13c及其组合的Cas。在若干实施方案中,该Cas是Cas9。在若干实施方案中,修饰针对CISH,并且CRISPR-Cas系统由一种或多种引导RNA引导,该一种或多种引导RNA选自包含SEQ ID NO.153、154、155、156或157的序列的那些RNA;修饰针对TGFB2,并且CRISPR-Cas系统由一种或多种引导RNA引导,该一种或多种引导RNA选自包含SEQ ID NO.147、148、149、150、151或152的序列的那些RNA;修饰针对NKG2A,并且CRISPR-Cas系统由一种或多种引导RNA引导,该一种或多种引导RNA选自包含SEQ ID NO.158、159或160的序列的那些RNA;修饰针对CBLB,并且CRISPR-Cas系统由一种或多种引导RNA引导,该一种或多种引导RNA选自包含SEQ ID NO.164、165或166的序列的那些RNA;修饰针对TRIM29,并且CRISPR-Cas系统由一种或多种引导RNA引导,该一种或多种引导RNA选自包含SEQ ID NO.167、168或169的序列的那些RNA;和/或修饰针对SOCS2,并且CRISPR-Cas系统由一种或多种引导RNA引导,该一种或多种引导RNA选自包含SEQ ID NO.171、172或173的序列的那些RNA。

[0030] 在若干实施方案中,使用锌指核酸酶(ZFN)进行遗传修饰。在若干实施方案中,使用转录激活因子样效应子核酸酶(TALEN)进行遗传修饰。

[0031] 在若干实施方案中,与未经修饰的免疫细胞相比,遗传改变型免疫细胞表现出增加的细胞毒性、增加的生存力和/或增加的抗肿瘤细胞因子释放概况。在若干实施方案中,当施用于不作为细胞供体的受试者时,遗传改变型免疫细胞已进一步经遗传修饰以减少对细胞的同种异体反应性。

[0032] 本文还提供了一种用于癌症免疫疗法的免疫细胞混合群体,该免疫细胞混合群体包含:T细胞群体,其通过至少一种对选自TCR α 、TCR β 、TCR γ 和TCR δ 的T细胞受体(TCR)亚单位的修饰,使得TCR不识别被施用免疫细胞混合群体的受者受试者的T细胞之间的主要组织相容性复合物差异,而基本上是非同种异体反应性的,其中该T细胞群体经工程化改造以表达针对肿瘤标志物的嵌合抗原受体(CAR),其中该肿瘤标志物选自CD19、CD123、CD70、Her2、间皮素、密蛋白6、BCMA、PD-L1、EGFR及其组合;以及自然杀伤(NK)细胞群体,其中该NK细胞群体经工程化改造以表达包含细胞外配体结合域、跨膜域、细胞毒性信号传导复合物的嵌合受体,并且其中该细胞外配体结合域针对选自下组的肿瘤标志物,该组由以下各项组成:MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5和ULBP6。在若干实施方案中,所修饰的TCR亚单位是TCR α 。

[0033] 在若干实施方案中,该T细胞和/或该NK细胞经修饰以使得它们表达减少水平的MHC I和/或MHC II分子,并且从而诱导受者受试者的免疫系统的免疫应答减少,对于该免疫系统而言,该NK细胞和T细胞是同种异体的。在若干实施方案中,MHC I和/或MHC II分子是 β -微球蛋白和/或CIITA(II类主要组织相容性复合物反式激活因子)。在若干实施方案中,该T细胞和/或该NK细胞进一步包含破坏该T细胞和/或该NK细胞的至少一种免疫检查点蛋白的表达的修饰。取决于实施方案,该至少一种免疫检查点蛋白选自CTLA4、PD-1、淋巴细胞活化基因(LAG-3)、NKG2A受体、KIR2DL-1、KIR2DL-2、KIR2DL-3、KIR2DS-1和/或KIR2DA-2及其组合。

[0034] 在若干实施方案中,该NK细胞和/或该T细胞进一步经修饰以减少或基本上消除CIS的表达和/或功能。在若干实施方案中,该NK细胞进一步经工程化改造以表达膜结合型IL-15。

[0035] 在若干实施方案中,由该T细胞表达的CAR包含:(i)包含抗CD19抗体片段的肿瘤结合域;(ii)CD8跨膜域;以及(iii)包含OX40共刺激亚域和CD3 ζ 共刺激亚域的信号传导复合物。在若干实施方案中,该T细胞也表达膜结合型IL15。在若干实施方案中,mbIL15由编码CAR的相同多核苷酸编码。在若干实施方案中,抗CD19抗体包含单链可变片段(scFv)的可变重(VH)域和scFv的可变轻(VL)域。在一些此类实施方案中,该VH域包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列、由其组成或基本上由其组成。在若干实施方案中,经编码的VL域包含SEQ ID NO:118的氨基酸序列、由其组成或基本上由其组成。在若干实施方案中,该OX40亚域由与SEQ ID NO.5具有至少80%、85%、90%或95%序列同一性的序列编码。在若干实施方案中,该CD3 ζ 亚域由与SEQ ID NO.7具有至少80%、85%、90%或95%序列同一性的序列编码。在若干实施方案中,mbIL15由与SEQ ID NO.11具有至少80%、85%、90%或95%序列同一性的序列编码。在若干实施方案中,由该T细胞表达的CAR与SEQ ID NO:178中所阐述的氨基酸序列具有至少80%、85%、90%或95%序列同一性。在若干实施方案中,由该NK细胞表达的嵌合

受体包含：(i) NKG2D配体结合域；(ii) CD8跨膜域；以及(iii) 包含OX40共刺激亚域和CD3 ζ 共刺激亚域的信号传导复合物。在若干实施方案中，该NK细胞进一步经工程化改造以表达膜结合型IL15(其任选地由编码该嵌合受体的相同多核苷酸编码)。在若干实施方案中，该嵌合受体由与SEQ ID NO:145具有至少80%、85%、90%或95%序列同一性的多核苷酸编码。在若干实施方案中，该嵌合受体与SEQ ID NO:174具有至少80%、85%、90%或95%序列同一性。

[0036] 在若干实施方案中，对TCR的修饰导致至少80%的T细胞群体不表达可检测水平的TCR，但至少70%的T细胞群体表达可检测水平的CAR。在若干实施方案中，该T细胞和/或NK细胞进一步经修饰以减少该T细胞和/或NK细胞对以下中的一种或多种的表达：细胞B2M表面蛋白、由CISH基因编码的细胞因子诱导型含SH2蛋白(CIS)、转化生长因子 β 受体、自然杀伤组2成员A(NKG2A)受体、由CBLB基因编码的Cbl原致癌基因B蛋白、由TRIM29基因编码的含三联基序蛋白29蛋白、由SOCS2基因编码的细胞因子信号传导抑制因子2蛋白。在若干实施方案中，基因编辑可以使这些靶蛋白中的任何一种的表达减少约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约97%、约98%、约99%或更多(包括所列数值之间的任何量)。在若干实施方案中，基因被完全敲除，使得靶蛋白的表达是检测不到的。在若干实施方案中，靶蛋白表达可以增强约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约97%、约98%、约99%或更多(包括所列数值之间的任何量)。例如，在若干实施方案中，该T细胞和/或NK细胞进一步经遗传编辑以表达CD47。在若干实施方案中，该NK细胞进一步经遗传工程化改造以表达HLA-E。任何敲入的基因都可以与任何敲除或以其他方式破坏的基因组合敲入。

[0037] 在若干实施方案中，使用CRISPR-Cas系统进行对TCR的修饰或者对该NK细胞或T细胞的进一步修饰。在若干实施方案中，该CRISPR-Cas系统包含选自Cas9、Csn2、Cas4、Cpf1、C2c1、C2c3、Cas13a、Cas13b、Cas13c及其组合的Cas。在若干实施方案中，该Cas是Cas9。在若干实施方案中，该CRISPR-Cas系统包含选自Cas3、Cas8a、Cas5、Cas8b、Cas8c、Cas10d、Cse1、Cse2、Csy1、Csy2、Csy3、GSU0054、Cas10、Csm2、Cmr5、Cas10、Csx11、Csx10、Csf1及其组合的Cas。在若干实施方案中，使用锌指核酸酶(ZFN)进行对TCR的修饰或者对该NK细胞或T细胞的进一步修饰。在若干实施方案中，使用转录激活因子样效应子核酸酶(TALEN)进行对TCR的修饰或者对该NK细胞或T细胞的进一步修饰。

[0038] 本文还提供了一种用于癌症免疫疗法的免疫细胞混合群体，该免疫细胞混合群体包含：T细胞群体，其由于至少一种对T细胞受体(TCR)的亚单位的修饰，使得该非同种异体反应性T细胞对受者受试者的细胞不表现出同种异体反应性效应而基本上是非同种异体反应性的，其中该T细胞群体经工程化改造以表达针对肿瘤标志物的嵌合抗原受体(CAR)，该肿瘤标志物选自CD19、CD123、CD70、Her2、间皮素、密蛋白6、BCMA、PD-L1、EGFR及其组合；以及自然杀伤(NK)细胞群体，其中该NK细胞群体经工程化改造以表达包含细胞外配体结合域、跨膜域、细胞毒性信号传导复合物的嵌合受体，并且其中该细胞外配体结合域针对选自下组的肿瘤标志物，该组由以下各项组成：MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5和ULBP6。

[0039] 本文还提供了用于在不诱导移植物抗宿主疾病的情况下在受试者中治疗癌症的方法，其包含将根据本公开的免疫细胞混合群体施用于该受试者。本文提供了根据本公开

的免疫细胞混合群体在治疗癌症中的用途。本文提供了根据本公开的免疫细胞混合群体在制造用于治疗癌症的药物中的用途。

[0040] 在若干实施方案中,提供了一种用于在受试者中治疗癌症的方法,该方法包含将至少第一剂免疫细胞混合群体施用于该受试者,其中该细胞混合群体包含:经工程化改造以表达针对肿瘤标志物的嵌合抗原受体(CAR)的基本上非同种异体反应性T细胞的群体,该肿瘤标志物选自CD19、CD123、CD70、Her2、间皮素、密蛋白6、BCMA、PD-L1、EGFR及其组合;以及自然杀伤(NK)细胞群体,其经工程化改造以表达包含细胞外配体结合域、跨膜域、细胞毒性信号传导复合物的嵌合受体,并且其中该细胞外配体结合域针对选自下组的肿瘤标志物,该组由以下各项组成:MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5和ULBP6。

[0041] 在若干实施方案中,该非同种异体反应性T细胞包含至少一种对T细胞受体(TCR)的亚单位的修饰,使得该非同种异体反应性T细胞对受者受试者的细胞不表现出同种异体反应性效应。在若干实施方案中,由该T细胞表达的CAR针对CD19。在若干实施方案中,由该T细胞表达的CAR包含:(i)包含抗CD19抗体片段的肿瘤结合域;(ii)CD8跨膜域;以及(iii)包含OX40共刺激亚域和CD3 ζ 共刺激亚域的信号传导复合物。在若干实施方案中,编码CAR的多核苷酸还编码膜结合型IL15。在若干实施方案中,抗CD19抗体包含单链可变片段(scFv)的可变重(VH)域和scFv的可变轻(VL)域。在若干实施方案中,该VH域包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列、由其组成或基本上由其组成,并且其中该VL域包含SEQ ID NO:118的氨基酸序列、由其组成或基本上由其组成。在若干实施方案中,由该T细胞表达的CAR与SEQ ID NO:178中所阐述的氨基酸序列具有至少80%、85%、90%或95%序列同一性。在若干实施方案中,由该NK细胞表达的嵌合受体包含:(i)NKG2D配体结合域;(ii)CD8跨膜域;以及(iii)包含OX40共刺激亚域和CD3 ζ 共刺激亚域的信号传导复合物。在若干实施方案中,编码嵌合受体的多核苷酸还编码膜结合型IL15。在若干实施方案中,该嵌合受体由与SEQ ID NO:145具有至少80%、85%、90%或95%序列同一性的多核苷酸编码。在若干实施方案中,该嵌合受体与SEQ ID NO:174具有至少95%80%、85%、90%或95%序列同一性。在若干实施方案中,CAR和/或嵌合受体的OX40亚域由与SEQ ID NO.5具有至少80%、85%、90%或95%序列同一性的序列编码。在若干实施方案中,CAR和/或嵌合受体的CD3 ζ 亚域由与SEQ ID NO.7具有至少80%、85%、90%或95%序列同一性的序列编码。在若干实施方案中,由该T细胞和/或该NK细胞表达的mbIL15由与SEQ ID NO.11具有至少80%、85%、90%或95%序列同一性的序列编码。

[0042] 在若干实施方案中,提供了一种用于癌症免疫疗法的免疫细胞混合群体,其中该混合群体包含:T细胞群体,其表达针对肿瘤抗原的CAR,该T细胞已经经遗传修饰为基本上非同种异体反应性的;以及NK细胞群体,其表达针对相同的肿瘤抗原的CAR。在若干实施方案中,提供了一种用于癌症免疫疗法的免疫细胞混合群体,其中该混合群体包含:T细胞群体,其表达针对肿瘤抗原的CAR,该T细胞已经经遗传修饰而为基本上非同种异体反应性的;以及NK细胞群体,其表达针对额外的肿瘤抗原的CAR。在若干实施方案中,提供了一种用于癌症免疫疗法的免疫细胞混合群体,其中该混合群体包含:T细胞群体,其基本上是非同种异体反应性的;以及NK细胞群体,其表达靶向肿瘤配体的嵌合受体。

[0043] 在若干实施方案中,该非同种异体反应性T细胞包含至少一种对T细胞受体(TCR)的亚单位的修饰,使得TCR识别抗原且不会识别被施用免疫细胞混合群体的受试者的T细胞

之间的主要组织相容性复合物差异。在若干实施方案中,该非同种异体反应性T细胞群体经工程化改造以表达针对肿瘤标志物(例如,肿瘤相关联抗原或肿瘤抗原)的嵌合抗原受体(CAR)。取决于实施方案,该CAR可以经工程化改造以靶向CD19、CD123、CD70、Her2、间皮素、密蛋白6(但不是其他密蛋白)、BCMA、PD-L1、EGFR中的一种或多种。

[0044] 在若干实施方案中,该NK细胞群体经工程化改造以表达嵌合受体,该嵌合受体包含细胞外配体结合域、跨膜域、细胞毒性信号传导复合物,并且其中该细胞外配体结合域针对选自下组的肿瘤标志物,该组由以下各项组成:MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5和ULBP6。在若干实施方案中,该NK细胞还可以经工程化改造以表达CAR,该CAR可以经工程化改造以靶向CD19、CD123、CD70、Her2、间皮素、密蛋白6(但不是其他密蛋白)、BCMA、PD-L1、EGFR中的一种或多种(或任何其他抗原,使得T细胞和NK细胞二者都靶向相同的感兴趣的抗原)。

[0045] 在若干实施方案中,该T细胞进一步包含破坏该T细胞的至少一种免疫检查点蛋白的表达的突变。例如,该T细胞可以相对于选自CTLA4、PD-1及其组合的免疫检查点蛋白而发生突变。在若干实施方案中,对B7-1/B7-2至CTLA4的阻断也用于减少保持在非活性状态下的T细胞。因此,在若干实施方案中,T细胞经修饰以使得它们表达错配或突变的CTLA4,而在一些实施方案中,外源性制剂可以用于例如结合和/或以其他方式抑制抗原呈递细胞上的B7-1/B7-2与CTLA4相互作用的能力。同样地,在若干实施方案中,NK细胞可以经修饰以破坏至少一种检查点抑制剂的表达。在若干实施方案中,例如CDTLA4或PD-1被修饰(突变),以便降低此类检查点抑制剂减少NK细胞细胞毒性应答的能力。在若干实施方案中,淋巴细胞活化基因3(LAG-3,CD223)在NK细胞(和/或T细胞)中被破坏。在若干实施方案中,抑制性NKG2A受体例如被抗体突变、敲除或抑制。作为非限制性实例,莫那利珠单抗(Monalizumab)在若干实施方案中用于破坏NKG2A受体的抑制性信号传导。在若干实施方案中,NK细胞上的杀伤抑制性受体(KIR)中的一种或多种被破坏(例如,通过遗传修饰)和/或阻断。例如,在若干实施方案中,KIR2DL-1、KIR2DL-2、KIR2DL-3、KIR2DS-1和/或KIR2DA-2中的一种或多种被破坏或阻断,从而阻止它们与HLA-C MHC I分子的结合。另外,在若干实施方案中,TIM3被修饰、被突变(例如,通过基因编辑)或以其他方式在功能上被破坏(例如,被抗体阻断),使得其抑制配体结合后免疫细胞的应答的正常功能被破坏。在若干此类实施方案中,对TIM3表达或功能的破坏(例如,通过本文公开的CRISPr或其他方法)任选地与对一种或多种免疫检查点调节剂的破坏组合,施用的T细胞和/或NK细胞具有增强的抗肿瘤活性。Tim-3参与半乳糖凝集素-9的分泌,后者的功能是削弱细胞毒性淋巴细胞(包括自然杀伤(NK)细胞)的抗癌活性。TIM3还可以可溶性形式表达,这阻止白细胞介素2(IL-2)的分泌。因此,在若干实施方案中,TIM3、表达、分泌或通路功能性的破坏提供增强的T细胞和/或NK细胞活性。

[0046] 在若干实施方案中,TIGIT(也被称为VSTM3)被修饰、被突变(例如,通过基因编辑)或以其他方式在功能上被破坏(例如,被抗体阻断),使得其抑制配体结合后免疫细胞的应答的正常功能被破坏。CD155是TIGIT的配体。在若干实施方案中,TIGIT表达被减少或敲除。在若干实施方案中,TIGIT被非活化性配体阻断,或者其活性通过CD155的竞争性抑制剂(该抑制剂不活化TIGIT)来减少。TIGIT含有抑制ITIM基序,其在一些实施方案中例如通过用本文公开的CRISPr或其他方法进行基因编辑来切除。在此类实施方案中,TIGIT的功能被减少,这允许增强的T细胞和/或NK细胞活性。

[0047] 在若干实施方案中,腺苷受体A1被修饰、被突变(例如,通过基因编辑)或以其他方式在功能上被破坏(例如,被抗体阻断),使得其抑制配体结合后免疫细胞的应答的正常功能被破坏。腺苷信号传导参与肿瘤免疫,这是由于其作为免疫抑制代谢物的功能所致。因此,在若干实施方案中,腺苷受体A1表达被减少或敲除。在若干实施方案中,腺苷受体A1被非活化性配体阻断,或者其活性通过腺苷的竞争性抑制剂(该抑制剂不活化腺苷信号传导通路)来减少。在若干实施方案中,腺苷受体例如通过用本文公开的CRISPr或其他方法进行基因编辑来修饰以减少其功能或表达,这允许增强的T细胞和/或NK细胞活性。

[0048] 在若干实施方案中,所修饰的TCR亚单位选自TCR α 、TCR β 、TCR γ 和TCR δ 。在若干实施方案中,所修饰的TCR亚单位是TCR α 。

[0049] 在若干实施方案中,使用CRISPR-Cas系统进行对TCR的修饰。在若干实施方案中,使用CRISPR-Cas系统进行该T细胞或NK细胞的至少一种免疫检查点蛋白的表达的破坏。例如,Cas可以选自Cas9、Csn2、Cas4、Cpf1、C2c1、C2c3、Cas13a、Cas13b、Cas13c及其组合。在若干实施方案中,该Cas是Cas9。在若干实施方案中,该CRISPR-Cas系统包含选自Cas3、Cas8a、Cas5、Cas8b、Cas8c、Cas10d、Cse1、Cse2、Csy1、Csy2、Csy3、GSU0054、Cas10、Csm2、Cmr5、Cas10、Csx11、Csx10、Csf1及其组合的Cas。

[0050] 在若干实施方案中,使用锌指核酸酶(ZFN)进行对TCR的修饰。在若干实施方案中,使用锌指核酸酶(ZFN)进行针对该T细胞或NK细胞对至少一种免疫检查点蛋白的表达的破坏。在若干实施方案中,使用转录激活因子样效应子核酸酶(TALEN)进行对TCR的修饰。在若干实施方案中,使用转录激活因子样效应子核酸酶(TALEN)进行针对该T细胞或NK细胞对至少一种免疫检查点蛋白的表达的破坏。在若干实施方案中,ZFN和TALEN(以及任选的CRISPR-Cas)的组合用于修饰NK细胞和T细胞任一者或二者。

[0051] 根据若干实施方案,该NK细胞、该非同种异体反应性T细胞或二者进一步经工程化改造以表达膜结合型IL-15。

[0052] 有利地,混合细胞群体可用于本文提供的方法,其中可以治疗受试者的癌症且不会诱导移植抗宿主疾病。在若干实施方案中,该方法包含将表达CAR的非同种异体反应性T细胞和表达嵌合受体的工程化NK细胞的混合群体施用于该受试者。还提供了表达CAR的非同种反应性T细胞和表达嵌合受体的工程化NK细胞的混合群体在治疗癌症中和/或在制造用于治疗癌症的药物中的用途。在其他额外的实施方案中,该NK细胞和T细胞相对于接受它们的受试者是同种异体的。在若干实施方案中,此类组合物涉及针对相同靶抗原的NK细胞和T细胞。例如,在若干实施方案中,该NK细胞和T细胞(例如,非同种异体反应性T细胞)二者相对于接受它们的受试者都是同种异体的,并且经工程化改造以表达靶向相同抗原(例如CD19)的CAR。在一些实施方案中,该NK细胞和T细胞经配置以都靶向表达另一标志物的细胞,该另一标志物如CD123、CD70、Her2、间皮素、密蛋白6(但不是其他密蛋白)、BCMA、PD-L1、EGFR(或任何其他抗原,使得T细胞和NK细胞二者都靶向相同的感兴趣的抗原)。

[0053] 在若干实施方案中,对TCR的修饰导致至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%的T细胞群体不表达可检测水平的TCR,而同时,至少55%、至少60%、至少65%、至少70%或至少75%的T细胞群体表达可检测水平的CAR。因此,这些细胞主要是非同种异体反应性的,并且配备有抗肿瘤导向的CAR。进一步有助于限制来自同种异体T细胞的免疫反应,在若干实施方案中,其中至少50%的工程化T细胞表达可检测水平的CAR并且不表达可

检测水平的TCR表面蛋白或B2M表面蛋白。

[0054] 在若干实施方案中,NK细胞经遗传修饰以减少同种异体宿主可能针对非自身NK细胞产生的免疫应答。在若干实施方案中,该NK细胞经工程化改造以使得它们表现出一种或多种MCH I类和/或一种或多种MHC II类分子的表达减少。在若干实施方案中,在至少一部分表达(或将经修饰以表达)针对肿瘤抗原(如CD19(或本文公开的任何其他抗原))的CAR的NK细胞中, β -微球蛋白的表达基本上、显著地或完全地被减少。在若干实施方案中,在至少一部分表达(或将经修饰以表达)针对肿瘤抗原(如CD19(或本文公开的任何其他抗原))的CAR的NK细胞中,CIITA(II类主要组织相容性复合物反式激活因子)的表达基本上、显著地或完全地被减少。在若干实施方案中,使用CRISPr-Cas系统、TALEN、锌指、RNAi或其他基因编辑技术来生成此类经遗传修饰的NK细胞。如本文所讨论的,在若干实施方案中,具有减少的同种异体性的NK细胞与非同种异体反应性T细胞组合使用。在若干实施方案中,NK细胞经修饰以表达CD47,这有助于经修饰的NK细胞避免被受者的内源性先天免疫细胞检测到。在若干实施方案中,T细胞以类似的方式被修饰。在若干实施方案中,NK细胞和T细胞二者都经修饰以表达CD47,这有助于受者中NK和/或T细胞的持久性,从而增强抗肿瘤作用。在若干实施方案中,NK细胞经修饰以表达HLA-G,这有助于经修饰的NK细胞避免被受者的内源性先天免疫细胞检测到。在若干实施方案中,T细胞以类似的方式被修饰。在若干实施方案中,NK细胞和T细胞二者都经修饰以表达HLA-G,这有助于受者中NK和/或T细胞的持久性,从而增强抗肿瘤作用。在若干实施方案中,具有减少的同种异体反应性且经工程化改造以表达针对相同抗原的CAR的T细胞和NK细胞用于在同种异体患者中治疗癌症。

[0055] 在若干实施方案中,提供了一种用于癌症免疫疗法的遗传改变型免疫细胞群体,其包含免疫细胞群体,该免疫细胞群体经遗传修饰以减少该免疫细胞的转化生长因子 β 受体的表达,并且经遗传工程化改造以表达针对存在于靶肿瘤细胞上的肿瘤标志物的嵌合抗原受体(CAR)。在额外的实施方案中,提供了一种用于癌症免疫疗法的遗传改变型免疫细胞群体,其包含免疫细胞群体,该免疫细胞群体经遗传修饰以减少该免疫细胞的自然杀伤组2成员A(NKG2A)受体的表达,并且经遗传工程化改造以表达针对存在于靶肿瘤细胞上的肿瘤标志物的嵌合抗原受体(CAR)。在额外的实施方案中,提供了一种用于癌症免疫疗法的遗传改变型免疫细胞群体,其包含免疫细胞群体,该免疫细胞群体经遗传修饰以减少该免疫细胞的由CISH基因编码的细胞因子诱导型含SH2蛋白的表达,并且经遗传工程化改造以表达针对存在于靶肿瘤细胞上的肿瘤标志物的嵌合抗原受体(CAR)。CISH是NK细胞介导的细胞毒性中的抑制性检查点。在额外的实施方案中,提供了一种用于癌症免疫疗法的遗传改变型免疫细胞群体,其包含免疫细胞群体,该免疫细胞群体经遗传修饰以减少该免疫细胞的由CBLB基因编码的Cbl原致癌基因B蛋白的表达,并且经遗传工程化改造以表达针对存在于靶肿瘤细胞上的肿瘤标志物的嵌合抗原受体(CAR)。CBLB是一种E3泛素连接酶,并且是NK细胞活化的负调控因子。在额外的实施方案中,提供了一种用于癌症免疫疗法的遗传改变型免疫细胞群体,其包含免疫细胞群体,该免疫细胞群体经遗传修饰以减少该免疫细胞的由TRIM29基因编码的含三联基序蛋白29蛋白的表达,并且经遗传工程化改造以表达针对存在于靶肿瘤细胞上的肿瘤标志物的嵌合抗原受体(CAR)。TRIM29是一种E3泛素连接酶,并且是活化后NK细胞功能的负调控因子。在额外的实施方案中,提供了一种用于癌症免疫疗法的遗传改变型免疫细胞群体,其包含免疫细胞群体,该免疫细胞群体经遗传修饰以减少该免

疫细胞的由SOCS2基因编码的细胞因子信号传导抑制因子2蛋白的表达,并且经遗传工程化改造以表达针对存在于靶肿瘤细胞上的肿瘤标志物的嵌合抗原受体(CAR)。SOCS2是NK细胞功能的负调控因子。在若干实施方案中,遗传改变型免疫细胞群体包含NK细胞、T细胞或其组合。在若干实施方案中,还包括额外的免疫细胞,如 $\gamma\delta$ T细胞、NK T细胞等。在若干实施方案中,该CAR针对CD19。在一些此类实施方案中,该CAR包含一个或多个个人源化CDR序列。在额外的实施方案中,该CAR针对CD123。在若干实施方案中,该经遗传修饰的细胞经工程化改造以表达多于一种CAR,其针对多于一种靶标。任选地,使用T细胞和NK细胞的混合群体,其中该T细胞和NK细胞各自可以表达至少一种CAR,其可以或不针对相同的癌症标志物,这取决于实施方案。在若干实施方案中,该细胞表达针对NKG2D配体的CAR。

[0056] 如上文所讨论,在若干实施方案中,使用基于CRISPR的方法来编辑该细胞。在若干实施方案中,修饰针对TGFB2,并且CRISPR-Cas系统由一种或多种引导RNA引导,该一种或多种引导RNA选自包含以下项的那些RNA:SEQ ID NO.147、148、149、150、151或152的序列;或者与包含SEQ ID NO.147、148、149、150、151或152的序列的序列具有至少80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同源性的序列。在若干实施方案中,修饰针对NKG2A,并且CRISPR-Cas系统由一种或多种引导RNA引导,该一种或多种引导RNA选自包含以下项的那些RNA:SEQ ID NO.158、159或160的序列;或者与包含SEQ ID NO.158、159或160的序列的序列具有至少80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同源性的序列。在若干实施方案中,修饰针对CISH,并且CRISPR-Cas系统由一种或多种引导RNA引导,该一种或多种引导RNA选自包含以下项的那些RNA:SEQ ID NO.153、154、155、156或157的序列;或者与包含SEQ ID NO.153、154、155、156或157的序列的序列具有至少80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同源性的序列。在若干实施方案中,修饰针对CBLB,并且CRISPR-Cas系统由一种或多种引导RNA引导,该一种或多种引导RNA选自包含以下项的那些RNA:SEQ ID NO.164、165或166的序列;或者与包含SEQ ID NO.164、165或166的序列的序列具有至少80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同源性的序列。在若干实施方案中,修饰针对TRIM29,并且CRISPR-Cas系统由一种或多种引导RNA引导,该一种或多种引导RNA选自包含以下项的那些RNA:SEQ ID NO.167、168或169的序列;或者与包含SEQ ID NO.167、168或169的序列的序列具有至少80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同源性的序列。在若干实施方案中,修饰针对SOCS2,并且CRISPR-Cas系统由一种或多种引导RNA引导,该一种或多种引导RNA选自包含以下项的那些RNA:SEQ ID NO.171、172或173的序列;或者与包含SEQ ID NO.171、172或173的序列的序列具有至少80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同源性的序列。在一些实施方案中,引导RNA的长度为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、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或100个核苷酸。

[0057] 在若干实施方案中,提供了一种用于产生适合于同种异体移植的工程化T细胞的

方法,该方法包含:将RNA引导的核酸酶、靶向T细胞受体基因的gRNA和包含供体模板的载体递送到T细胞,该供体模板包含编码CAR的核酸,其中该CAR包含(i)包含抗CD19抗体片段的肿瘤结合域、(ii)CD8跨膜域、以及(iii)包含OX40共刺激亚域和CD3z共刺激亚域的信号传导复合物、以及(iv)膜结合型IL15,其中编码该CAR的核酸侧接有T细胞受体基因座的左和右同源臂;以及(b)在培养物中扩增该工程化T细胞。

[0058] 还提供了一种用于适合于同种异体移植的工程化T细胞的额外方法,该方法包含:将RNA引导的核酸酶和靶向T细胞受体基因的gRNA递送到T细胞,以便破坏TCR的至少一个亚单位的表达;以及将包含编码CAR的核酸的载体递送到该T细胞,其中该CAR包含(i)包含抗CD19抗体片段的肿瘤结合域、(ii)CD8跨膜域、以及(iii)包含OX40共刺激亚域和CD3z共刺激亚域的信号传导复合物、以及(iv)膜结合型IL15;以及在培养物中扩增该工程化T细胞。

[0059] 还提供了进一步的方法,例如一种用于产生适合于同种异体移植的工程化T细胞的方法,该方法包含:将能够在T细胞受体基因的靶标区域处诱导靶向双链DNA断裂的核酸酶递送到T细胞,以便破坏TCR的至少一个亚单位的表达;将包含编码CAR的核酸的载体递送到该T细胞,其中该CAR包含(i)包含识别CD19、CD123、CD70、Her2、间皮素、密蛋白6、BCMA、PD-L1和EGFR中的一种或多种的抗体片段的肿瘤结合域、(ii)CD8跨膜域、以及(iii)包含OX40共刺激亚域和CD3z共刺激亚域的信号传导复合物、以及(iv)膜结合型IL15;以及在培养物中扩增该工程化T细胞。在若干实施方案中,该方法进一步包含通过灭活编码免疫检查点蛋白的至少第一基因来修饰T细胞。在若干实施方案中,免疫检查点基因选自下组,该组由以下各项组成:PD1、CTLA-4、LAG3、Tim3、BTLA、BY55、TIGIT、B7H5、LAIR1、SIGLEC10和2B4。

[0060] 提供了用于治疗癌症的方法,该方法包含:生成适合于根据本文公开的实施方案的同种异体移植物的T细胞,其中该T细胞来自供体;转导从同一供体扩增的NK细胞群体以表达活化性嵌合受体以生成工程化NK细胞群体,该活化性嵌合受体包含针对选自下组的肿瘤标志物的细胞外配体结合域,该组由以下各项组成:MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5和ULBP6;任选地进一步扩增该T细胞和/或该工程化NK细胞群体;将该适合于同种异体移植物的T细胞与该工程化NK细胞群体组合;以及将组合的NK和T细胞群体施用于相对于该供体是同种异体的受试者。

[0061] 提供了用于治疗癌症的方法,该方法包含:生成适合于根据本文公开的实施方案的同种异体移植物的T细胞,其中该T细胞来自供体并经修饰以表达针对CD19、CD123、CD70、Her2、间皮素、密蛋白6(但不是其他密蛋白)、BCMA、PD-L1或EGFR的CAR;转导从同一供体扩增的NK细胞群体以表达针对CD19、CD123、CD70、Her2、间皮素、密蛋白6(但不是其他密蛋白)、BCMA、PD-L1或EGFR的CAR以生成工程化NK细胞群体;任选地进一步扩增该T细胞和/或该工程化NK细胞群体;将该适合于同种异体移植物的T细胞与该工程化NK细胞群体组合;以及将组合的NK和T细胞群体施用于相对于该供体是同种异体的受试者。

[0062] 还提供了一种用于对受试者治疗癌症的额外方法,该方法包含:生成适合于根据本文公开的实施方案的同种异体移植物的T细胞,其中该T细胞来自第一供体;转导从第二供体扩增的NK细胞群体以表达活化性嵌合受体以生成工程化NK细胞群体,该活化性嵌合受体包含针对选自下组的肿瘤标志物的细胞外配体结合域,该组由以下各项组成:MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5和ULBP6;任选地进一步扩增该T细胞和/或该工程化NK细胞群体;将该适合于同种异体移植物的T细胞与该工程化NK细胞群体组合;将组合的

NK和T细胞群体施用于相对于第一和第二供体是同种异体的受试者。

[0063] 在若干实施方案中,本文提供了表达CD19导向的嵌合受体的免疫细胞以及还有免疫细胞群体,该嵌合受体包含细胞外抗CD19结合部分、铰链和/或跨膜域、以及细胞内信号传导域。本文还提供了编码CD19导向的嵌合抗原受体的多核苷酸(以及用于使用其转染细胞的载体),该嵌合抗原受体包含细胞外抗CD19结合部分、铰链和/或跨膜域、以及细胞内信号传导域。

[0064] 在若干实施方案中,本文还提供了编码CD19导向的嵌合抗原受体的多核苷酸,该嵌合抗原受体包含:细胞外抗CD19结合部分,其中该抗CD19结合部分包含scFv;铰链,其中该铰链是CD8 α 铰链;跨膜域;以及细胞内信号传导域,其中该细胞内信号传导域包含CD3 ζ ITAM。

[0065] 在若干实施方案中,本文还提供了编码CD19导向的嵌合抗原受体的多核苷酸,该嵌合抗原受体包含:细胞外抗CD19结合部分,其中该抗CD19结合部分包含scFv的可变重链或scFv的可变轻链;铰链,其中该铰链是CD8 α 铰链;跨膜域,其中该跨膜域包含CD8 α 跨膜域;以及细胞内信号传导域,其中该细胞内信号传导域包含CD3 ζ ITAM。

[0066] 在若干实施方案中,该跨膜域包含CD8 α 跨膜域。在若干实施方案中,该跨膜域包含NKG2D跨膜域。在若干实施方案中,该跨膜域包含CD28跨膜域。

[0067] 在若干实施方案中,该细胞内信号传导域包含或进一步包含CD28信号传导域。在若干实施方案中,该细胞内信号传导域包含或进一步包含4-1BB信号传导域。在若干实施方案中,该细胞内信号传导域包含或进一步包含OX40域。在若干实施方案中,该细胞内信号传导域包含或进一步包含4-1BB信号传导域。在若干实施方案中,该细胞内信号传导域包含或进一步包含选自ICOS、CD70、CD161、CD40L、CD44及其组合的域。

[0068] 在若干实施方案中,该多核苷酸还编码截短的表皮生长因子受体(EGFRt)。在若干实施方案中,该EGFRt在细胞中表达为可溶性因子。在若干实施方案中,该EGFRt以膜结合的形式表达。在若干实施方案中,该多核苷酸还编码膜结合型白介素-15(mbIL15)。本文还提供了工程化免疫细胞(例如,NK或T细胞或其混合物),其表达由本文公开的多核苷酸编码的CD19导向的嵌合抗原受体。进一步提供了用于在受试者中治疗癌症的方法,该方法包含将本文公开的表达嵌合抗原受体的工程化免疫细胞施用于患有癌症的受试者。在若干实施方案中,提供了本文公开的多核苷酸在治疗癌症中和/或在制造用于治疗癌症的药物中的用途。

[0069] 在若干实施方案中,抗CD19结合部分包含重链可变(VH)域和轻链可变(VL)域。在若干实施方案中,该VH域与SEQ ID NO:33中所阐述的VH域氨基酸序列具有至少95%同一性。在若干实施方案中,该VL域与SEQ ID NO:32中所阐述的VL域氨基酸序列具有至少95%同一性。在若干实施方案中,抗CD19结合部分衍生自SEQ ID NO:33或32的VH和/或VL序列。例如,在若干实施方案中,SEQ ID NO:33和/或32的VH和VL序列经受人源化改造,并且因此在施用于人受试者时更容易表达和/或免疫原性更小。在若干实施方案中,抗CD19结合部分包含靶向CD19的scFv,其中该scFv包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO.35的序列或与SEQ ID NO:35至少95%相同的序列。在若干实施方案中,抗CD19结合部分包含靶向CD19的scFv,其中该scFv包含轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO.36的序列或与SEQ ID NO:36至少95%相同的序列。在若干实施方案中,抗CD19结合部分包含轻链CDR和/或重

链CDR,该轻链CDR包含第一、第二和第三互补决定区(分别为LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3),并且该重链CDR包含第一、第二和第三互补决定区(分别为HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3)。取决于实施方案,使用LC CDR和HC CDR的各种组合。例如,在一个实施方案中,抗CD19结合部分包含LC CDR1、LC CDR3、HC CDR2和HC CDR3。在一些实施方案中,使用其他组合。在若干实施方案中,LC CDR1包含SEQ ID NO.37的序列或与SEQ NO.37的序列至少约95%同源的序列。在若干实施方案中,LC CDR2包含SEQ ID NO.38的序列或与SEQ NO.38的序列至少约95%同源的序列。在若干实施方案中,LC CDR3包含SEQ ID NO.39的序列或与SEQ NO.39的序列至少约95%同源的序列。在若干实施方案中,HC CDR1包含SEQ ID NO.40的序列或与SEQ NO.40的序列至少约95%同源的序列。在若干实施方案中,HC CDR2包含SEQ ID NO.41、42或43的序列或与SEQ NO.41、42或43的序列至少约95%同源的序列。在若干实施方案中,HC CDR3包含SEQ ID NO.44的序列或与SEQ NO.44的序列至少约95%同源的序列。

[0070] 在若干实施方案中,还提供了包含轻链可变区(VL)和重链可变区(HL)的抗CD19结合部分,该VL区包含第一、第二和第三互补决定区(分别为VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3),并且该VH区包含第一、第二和第三互补决定区(分别为VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3)。在若干实施方案中,该VL区包含SEQ ID NO.45、46、47或48的序列或与SEQ NO.45、46、47或48的序列至少约95%同源的序列。在若干实施方案中,该VH区包含SEQ ID NO.49、50、51或52的序列或与SEQ NO.49、50、51或52的序列至少约95%同源的序列。

[0071] 在若干实施方案中,还提供了包含轻链CDR的抗CD19结合部分,该轻链CDR包含第一、第二和第三互补决定区(分别为LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3)。在若干实施方案中,抗CD19结合部分进一步包含重链CDR,该重链CDR包含第一、第二和第三互补决定区(分别为HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3)。在若干实施方案中,LC CDR1包含SEQ ID NO.53的序列或与SEQ NO.53的序列至少约95%同源的序列。在若干实施方案中,LC CDR2包含SEQ ID NO.54的序列或与SEQ NO.54的序列至少约95%同源的序列。在若干实施方案中,LC CDR3包含SEQ ID NO.55的序列或与SEQ NO.55的序列至少约95%同源的序列。在若干实施方案中,HC CDR1包含SEQ ID NO.56的序列或与SEQ NO.56的序列至少约95%同源的序列。在若干实施方案中,HC CDR2包含SEQ ID NO.57的序列或与SEQ NO.57的序列至少约95%同源的序列。在若干实施方案中,HC CDR3包含SEQ ID NO.58的序列或与SEQ NO.58的序列至少约95%同源的序列。

[0072] 在若干实施方案中,该嵌合受体的细胞内信号传导域包含OX40亚域。在若干实施方案中,该细胞内信号传导域进一步包含CD3 ζ 亚域。在若干实施方案中,该OX40亚域包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列(或与SEQ ID NO.6的序列至少约95%同源的序列),并且该CD3 ζ 亚域包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:8的序列至少约95%同源的序列)。

[0073] 在若干实施方案中,该铰链域包含CD8a铰链域。在若干实施方案中,该CD8a铰链域包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列或与SEQ ID NO:2的序列至少约95%同源的序列)。

[0074] 在若干实施方案中,该免疫细胞还表达膜结合型白介素-15(mbIL15)。在若干实施方案中,该mbIL15包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列或与SEQ ID NO:12的序列至少约95%同源的序列。

[0075] 在若干实施方案中,其中该嵌合受体进一步包含NKG2D受体的细胞外域。在若干实施方案中,该免疫细胞表达第二嵌合受体,该第二嵌合受体包含NKG2D受体的细胞外域、跨

膜域、细胞毒性信号传导复合物和任选的mbIL15。在若干实施方案中,该NKG2D受体的细胞外域包含NKG2D的功能片段,该功能片段包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列或与SEQ ID NO:26的序列至少约95%同源的序列。在各种实施方案中,经工程化改造以表达本文公开的嵌合抗原受体和/或嵌合受体的免疫细胞是NK细胞。在一些实施方案中,使用T细胞。在若干实施方案中,使用NK细胞和T细胞(和/或其他免疫细胞)的组合。

[0076] 在若干实施方案中,本文提供了在受试者中治疗癌症的方法,该方法包含将如本文所公开的靶向CD19的工程化免疫细胞施用于患有癌症的受试者。本文还提供了如本文所公开的靶向CD19的免疫细胞用于治疗癌症的用途。同样地,本文还提供了如本文所公开的靶向CD19的免疫细胞在制备用于治疗癌症的药物中的用途。在若干实施方案中,所治疗的癌症是急性成淋巴细胞白血病。

[0077] 本文描述的方法和组合物的一些实施方案涉及免疫细胞。在一些实施方案中,该免疫细胞表达CD19导向的嵌合受体,该嵌合受体包含细胞外抗CD19部分、铰链和/或跨膜域、和/或细胞内信号传导域。在一些实施方案中,该免疫细胞是自然杀伤(NK)细胞。在一些实施方案中,该免疫细胞是T细胞。

[0078] 在一些实施方案中,该铰链域包含CD8a铰链域。在一些实施方案中,该铰链域包含Ig4 SH域。

[0079] 在一些实施方案中,该跨膜域包含CD8a跨膜域。在一些实施方案中,该跨膜域包含CD28跨膜域。在一些实施方案中,该跨膜域包含CD3跨膜域。

[0080] 在一些实施方案中,该信号传导域包含OX40信号传导域。在一些实施方案中,该信号传导域包含4-1BB信号传导域。在一些实施方案中,该信号传导域包含CD28信号传导域。在一些实施方案中,该信号传导域包含NKp80信号传导域。在一些实施方案中,该信号传导域包含CD16 IC信号传导域。在一些实施方案中,该信号传导域包含CD3 ζ 或CD3 ζ ITAM信号传导域。在一些实施方案中,该信号传导域包含mbIL-15信号传导域。在一些实施方案中,该信号传导域包含2A切割域。在一些实施方案中,通过2A切割域将该mIL-15信号传导域与CD19导向的嵌合受体的剩余物或另一部分分开。

[0081] 一些实施方案涉及包含将如本文所描述的免疫细胞施用于有需要的受试者的方法。在一些实施方案中,该受试者患有癌症。在一些实施方案中,该施用治疗、抑制或预防癌症的进展。

附图说明

[0082] 图1描绘了肿瘤导向的嵌合抗原受体的非限制性实例。

[0083] 图2描绘了肿瘤导向的嵌合抗原受体的额外非限制性实例。

[0084] 图3描绘了肿瘤导向的嵌合抗原受体的额外非限制性实例。

[0085] 图4描绘了肿瘤导向的嵌合抗原受体的额外非限制性实例。

[0086] 图5描绘了肿瘤导向的嵌合抗原受体的额外非限制性实例。

[0087] 图6描绘了针对肿瘤标志物的非限制性实例的肿瘤导向的嵌合抗原受体的非限制性实例。

[0088] 图7描绘了针对肿瘤标志物的非限制性实例的肿瘤导向的嵌合抗原受体的额外非限制性实例。

[0089] 图8A至8I示意性地描绘了通过本文公开的基因编辑技术改变的各种通路。图8A示出了对肿瘤微环境中肿瘤细胞的TGF- β 释放的抑制效应的示意图。图8B示出了对IL-15功能的CIS/CISH负调控通路的示意图。图8C描绘了用于生成在根据本文公开的若干实施方案的组合疗法中使用的工程化非同种异体反应性T细胞和工程化NK细胞的非限制性示意性工艺流程。图8D示出了可以导致移植物抗宿主疾病的信号传导通路的示意图。图8E示出了本文公开的若干实施方案如何可以减少和/或消除移植物抗宿主疾病的示意图。图8F示出了可以导致宿主抗移植物排斥反应的信号传导通路的示意图。图8G示出了本文公开的可以减少和/或消除宿主抗移植物排斥反应的若干实施方案的示意图。图8H示出了经编辑的免疫细胞如何可以相对于混合细胞产物中的其他经编辑的免疫细胞起作用的示意图。图8I示出了本文公开的若干实施方案如何可以减少和/或消除针对经编辑的免疫细胞的宿主免疫效应的示意图。

[0090] 图9A至9G示出了与使用各种引导RNA以减少NK细胞对TGFB2R的表达相关的流式细胞术数据。图9A示出了对照数据。图9B示出了通过使用引导RNA 1而得到的数据；图9C示出了通过使用引导RNA 2而得到的数据；图9D示出了通过使用引导RNA 3而得到的数据；图9E示出了通过使用引导RNA 1和引导RNA 2而得到的数据；图9F示出了通过使用引导RNA 1和引导RNA 3而得到的数据；并且图9G示出了通过使用引导RNA 2和引导RNA 3而得到的数据。在用所指示的引导RNA进行电穿孔之后7天对表达进行评价。

[0091] 图10A至10G示出了与响应于用各种导向RNA进行的电穿孔，NK细胞的TGFB2R表达减少相关的下一代序列数据。。图10A示出了对照数据。图10B示出了通过使用引导RNA 1而得到的数据；图10C示出了通过使用引导RNA 2而得到的数据；图10D示出了通过使用引导RNA 3而得到的数据；图10E示出了通过使用引导RNA 1和引导RNA 2而得到的数据；图10F示出了通过使用引导RNA 1和引导RNA 3而得到的数据；并且图10G示出了通过使用引导RNA 2和引导RNA 3而得到的数据。

[0092] 图11A至11D示出了在通过CRISPr/Cas9敲低TGFB2R表达之后，在存在或不存在TGFb的情况下比较NK细胞对肿瘤细胞的细胞毒性的数据。图11A示出了使用引导RNA 1和2进行TGFB2R敲低之后细胞毒性的变化。图11B示出了使用引导RNA 1和3进行TGFB2R敲低之后细胞毒性的变化。图11C示出了使用引导RNA 2和3进行TGFB2R敲低之后细胞毒性的变化。图11D示出了模拟TGFB2R敲低的数据。

[0093] 图12A至12F示出了与额外的引导RNA对TGFB2R的表达减少相关的流式细胞术数据。图12A示出了表达TGFB2R的相同细胞的未染色对照。图12B示出了在不存在用CRISPr/Cas9基因编辑元件进行电穿孔的情况下表达TGFB2R的NK细胞的阳性对照数据。图12C示出了当使用引导RNA 4时TGFB2R表达的敲低。图12D示出了当使用引导RNA 5时TGFB2R表达的敲低。图12E示出了当使用引导RNA 6时TGFB2R表达的敲低。图12F示出了当使用1:1比率的引导RNA 2和3时TGFB2R表达的敲低。在用CRISPr/Cas9基因编辑元件进行电穿孔后4天收集数据。

[0094] 图13A至13F示出了与当经受CRISPr/Cas9介导的TGFB2R敲低时NK细胞对嵌合抗原受体的非限制性实例(此处为抗CD19 CAR, NK19-1)的表达相关的流式细胞术数据。图13A示出了未经工程化改造以表达NK19-1的NK细胞的阴性对照。图13B示出了经工程化改造以表达NK19-1但未用CRISPr/Cas9基因编辑元件进行电穿孔的NK细胞的阳性对照数据。图13C示

出了与经受用引导RNA 4进行的电穿孔以敲低TGFB2R表达的NK细胞上的NK19-1表达相关的数据。图13D示出了与经受用引导RNA 5进行的电穿孔以敲低TGFB2R表达的NK细胞上的NK19-1表达相关的数据。图13E示出了与经受用引导RNA 6进行的电穿孔以敲低TGFB2R表达的NK细胞上的NK19-1表达相关的数据。图13F示出了与经受用引导RNA 2和3进行的电穿孔以敲低TGFB2R表达的NK细胞上的NK19-1表达相关的数据。在用编码NK19-1的载体转导后4天收集数据。

[0095] 图14A至14D示出了与表达CAR的非限制性实例(此处为抗CD19 CAR, NK19-1)的NK细胞对作为TGFB2R表达的单引导RNA敲低的结果的TGFb抑制的抗性相关的数据。图14A示出了NK细胞对NaIm6肿瘤细胞的细胞毒性, 其中该NK细胞与TGFB中的NaIm6细胞一起培养以便重现肿瘤微环境。图14B和14C示出了对照数据(14C), 其中TGFB2受体未被敲除, 并且图14C示出了从14A中提取的所选数据曲线, 以便更清楚地示出所选曲线。图14D示出了NK细胞处理的示意图。NK细胞在第0天经受用CRISPr/Cas9和单引导RNA进行的电穿孔, 并且在高IL-2培养基中培养1天, 随后与饲养细胞(例如, 表达例如4-1BBL和/或mbIL15的经修饰的K562细胞)一起进行低IL-2培养。在第7天, 用编码NK19-1 CAR构建体的病毒转导NK细胞。在第14天, 评价所得NK细胞的细胞毒性。

[0096] 图15A至15D示出了与原代和表达NK19-1的NK细胞的细胞因子分泌增强相关的数据。图15A示出了与IFN γ 的分泌相关的数据。图15B示出了与GM-CSF的分泌相关的数据。图15C示出了与粒酶B的分泌相关的数据。图15D示出了与TNF- α 的分泌相关的数据。

[0097] 图16A至16D示出了与通过使用CRISPr/Cas9来敲除NK细胞的NKG2A表达相关的数据。图16A示出了经受模拟基因编辑方案的NK细胞对NKG2A的表达。图16B示出了在用CRISPr/Cas9和引导RNA 1进行编辑之后NK细胞的NKG2A表达。图16C示出了在用CRISPr/Cas9和引导RNA 2进行编辑之后NK细胞的NKG2A表达。图16D示出了在用CRISPr/Cas9和引导RNA 3进行编辑之后NK细胞的NKG2A表达。

[0098] 图17A至17B示出了与NKG2A表达被敲除的NK细胞的细胞毒性相关的数据(与模拟细胞相比)。图17A示出了在用CRISPr/Cas9基因编辑元件进行电穿孔后7天, NKG2A编辑的NK细胞对REH细胞的细胞毒性。图17B示出了与REH细胞上HLA-E表达的程度相关的流式细胞术数据。

[0099] 图18示出了与模拟NK细胞或如下的NK细胞的细胞毒性相关的数据, 所述NK细胞中细胞因子诱导型含SH2蛋白(CIS)表达通过对CISH基因进行基因编辑来敲除, 该CISH基因编码人中的CIS。CIS是NK细胞介导的细胞毒性中的抑制性检查点。在用CRISPr/Cas9基因编辑元件进行电穿孔后7天测量NK细胞对REH肿瘤细胞的细胞毒性。

[0100] 图19A至19E示出了与CISH敲除影响NK细胞对嵌合抗原受体构建体的非限制性实例(此处为抗CD19 CAR, NK19-1)的表达相关的数据。图19A示出了对照(未被转导的)NK细胞中的CD19 CAR表达(如通过FLAG表达所测量的, 其包含在该构建体中以用于检测目的, 而CAR的额外实施方案不包含标签)。图19B示出了经受使用CRISPr/Cas9和引导RNA 1进行的CISH敲低的NK细胞中的抗CD19 CAR表达。图19C示出了经受使用CRISPr/Cas9和引导RNA 2进行的CISH敲低的NK细胞中的抗CD19 CAR表达。图19D示出了经受模拟基因编辑条件(仅电穿孔)的NK细胞中的抗CD19 CAR表达。图19E示出了描绘35kDa处CIS蛋白条带的丢失的蛋白质印迹(Western blot), 其指示CISH基因的敲除。

[0101] 图20A至20B示出了来自使用供体NK细胞进行的细胞毒性测定的数据,该供体NK细胞通过基因编辑来修饰和/或经工程化改造以表达针对Na1m6肿瘤细胞的CAR。图20A示出了来自以1:2效应子:靶标比率进行的单次攻击测定的数据,其中数据是在所指示的CAR构建体转导后7天收集的。图20B示出了来自双重攻击模型的数据,其中在两个时间点处用Na1m6肿瘤细胞对对照、经编辑的和/或经编辑的/工程化的NK细胞进行攻击。

[0102] 图21A至21B示出了与CISH敲除NK细胞随延长的培养时间的存活和细胞毒性相关的数据。图21A示出了当NK细胞如所指示的那样处理时随时间推移的NK细胞存活数据。图21B示出了在培养100天之后NK细胞对肿瘤细胞的细胞毒性数据。

[0103] 图22A至22E示出了用所指示的对照、基因编辑或基因编辑+经工程化改造以表达CAR条件处理的NK细胞的细胞因子释放数据。图22A示出了与干扰素 γ 释放相关的数据。图22B示出了与肿瘤坏死因子 α 释放相关的数据。图22C示出了与GM-CSF释放相关的数据。图22D示出了与粒酶B释放相关的数据。图22E示出了与穿孔素释放相关的数据。

[0104] 图23A至23C示出了来自模拟NK细胞或如下的NK细胞的细胞毒性测定的数据,所述NK细胞中Cbl原致癌基因B (CBLB) 或含三联基序蛋白29 (tripartite motif-containing protein 29, TRIM29) 表达被CRISPR/Cas9基因编辑敲除。图23A示出了用三种不同的CBLB gRNA, CISH gRNA 5敲除的NK细胞或模拟NK细胞的细胞毒性数据。图23B示出了用三种不同的TRIM19 gRNA, CISH gRNA 5敲除的NK细胞或模拟NK细胞的细胞毒性数据。图23C示出了电穿孔和细胞毒性测定的时间线。

[0105] 图24A至24C示出了来自模拟NK细胞或如下的NK细胞的时间进程细胞毒性测定的数据,所述NK细胞中细胞因子信号传导抑制因子2 (SOCS2) 或CISH表达被CRISPR/Cas9基因编辑敲除。图24A示出了使用MaxCyte电穿孔系统,用三种不同的SOCS2 gRNA、CISH gRNA 2或CD45 gRNA敲除的NK细胞的时间进程细胞毒性数据。图24B示出了使用Lonza电穿孔系统,用三种不同的SOCS2 gRNA、CISH gRNA 2或CD45 gRNA敲除的NK细胞的时间进程细胞毒性数据。图24C示出了电穿孔和细胞毒性测定的时间线。

具体实施方式

[0106] 本文提供的方法和组合物的一些实施方案涉及用于免疫疗法的工程化免疫细胞及其组合。在若干实施方案中,以多种方式对工程化细胞进行工程化改造,例如,以表达诱导细胞毒性的受体复合物。如本文所用,术语“细胞毒性受体复合物”应被给予其普通含义,并且还应指(除非另有指示)嵌合抗原受体(CAR)、嵌合受体(在NKG2D嵌合受体的情况下也被称为活化性嵌合受体)。在若干实施方案中,细胞进一步经工程化改造以实现对该细胞针对非肿瘤组织的反应性的修饰。若干实施方案涉及通过各种遗传工程化改造方法对T细胞进行修饰,使得所得T细胞的同种异体反应性减少和/或消除。此类非同种异体反应性T细胞还可以经工程化改造以表达嵌合抗原受体(CAR),其使该非同种异体反应性T细胞能够赋予针对肿瘤细胞的细胞毒性作用。在若干实施方案中,自然杀伤(NK)细胞也经工程化改造以表达诱导细胞毒性的受体复合物(例如,嵌合抗原受体或嵌合受体)。在若干实施方案中,将这些工程化免疫细胞类型的组合用于免疫疗法,这导致迅速(基于NK细胞)和持久(基于T细胞)的抗肿瘤作用二者,同时有利地几乎不发生移植物抗宿主疾病。一些实施方案包括在免疫疗法中使用组合物或细胞的方法。

[0107] 术语“抗癌作用”是指可以通过多种手段表现出来的生物学作用,包括但不限于肿瘤体积降低、癌细胞数目降低、转移数目降低、预期寿命增加、癌细胞增殖降低、癌细胞存活降低和/或与癌性病况相关联的各种生理症状的改善。

[0108] 细胞类型

[0109] 本文提供的方法和组合物的一些实施方案涉及细胞,如免疫细胞。例如,免疫细胞(如T细胞)可以经工程化改造以包括嵌合受体(如CD19导向的嵌合受体),或经工程化改造以包括编码如本文所描述的所述嵌合受体的核酸。额外的实施方案涉及对第二组细胞进行工程化改造以表达另一细胞毒性受体复合物,例如如本文所公开的NKG2D嵌合受体复合物。其他额外的实施方案涉及进一步对T细胞(例如,供体T细胞)进行基因操作,以减少、破坏、最小化和/或消除供体T细胞对受者细胞具有同种异体反应性(移植物抗宿主疾病)的能力。

[0110] 传统的抗癌疗法依赖于手术方案、放射疗法、化学疗法或这些方法的组合。由于研究导致对某些癌症的机制中的一些的更大了解,利用此知识来开发癌症靶向疗法。靶向疗法是一种癌症治疗,其采用靶向存在于癌细胞或支持癌生长的细胞(如血管细胞)中的特定基因或蛋白质以减少或阻止癌细胞生长的某些药物。最近,遗传工程化改造已经使得能够利用免疫系统的某些方面来对抗癌症的方案得到发展。在一些情况下,患者自身的免疫细胞经修饰以特异性地根除该患者的癌症类型。可以使用各种类型的免疫细胞,如T细胞或自然杀伤细胞(NK细胞)或其组合,如下文更详细地描述的。

[0111] 为了促进癌症免疫疗法,本文提供了编码嵌合抗原受体(CAR)的多核苷酸、多肽和载体,该嵌合抗原受体包含靶结合部分(例如,配体的细胞外结合剂或者肿瘤标志物导向的嵌合受体,它们由癌细胞表达)和细胞毒性信号传导复合物。例如,一些实施方案包括编码例如针对肿瘤标志物(例如,CD19、CD123、CD70、Her2、间皮素、密蛋白6、BCMA、EGFR等)的嵌合抗原受体的多核苷酸、多肽或载体,以促进将免疫细胞靶向癌症并对癌细胞发挥细胞毒性作用。还提供了表达此类CAR的工程化免疫细胞(例如,T细胞或NK细胞)。在若干实施方案中,本文还提供了编码包含细胞外域和细胞毒性信号传导复合物的构建体的多核苷酸、多肽和载体,该细胞外域包含两个或更多个亚域,例如,第一CD19靶向性亚域和第二亚域,该第一CD19靶向性亚域包含如本文所公开的CD19结合部分,该第二亚域包含C型凝集素样受体。还提供了表达此类双特异性构建体的工程化免疫细胞(例如,T细胞或NK细胞)。本文还提供了治疗癌症的方法以及此类细胞用于癌症免疫疗法的其他用途。

[0112] 为了促进癌症免疫疗法,本文还提供了编码嵌合受体的多核苷酸、多肽和载体,该嵌合受体包含靶结合部分(例如,配体的细胞外结合剂,其由癌细胞表达)和细胞毒性信号传导复合物。例如,一些实施方案包括编码例如包含针对肿瘤标志物(例如,MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5和ULBP6等)的NKG2D细胞外域的活化性嵌合抗原受体的多核苷酸、多肽或载体,以促进将免疫细胞靶向癌症并对癌细胞发挥细胞毒性作用。还提供了表达此类嵌合受体的工程化免疫细胞(例如,T细胞或NK细胞)。在若干实施方案中,本文还提供了编码包含细胞外域和细胞毒性信号传导复合物的构建体的多核苷酸、多肽和载体,该细胞外域包含两个或更多个亚域,例如,第一和第二亚域。还提供了表达此类双特异性构建体(在一些实施方案中,第一和第二配体结合域靶向相同配体)的工程化免疫细胞(例如,T细胞或NK细胞)。本文还提供了治疗癌症的方法以及此类细胞用于癌症免疫疗法的其他用途。

[0113] 用于免疫疗法的工程化细胞

[0114] 在若干实施方案中,免疫系统的细胞经工程化改造以对靶细胞(如肿瘤细胞)具有增强的细胞毒性作用。例如,免疫系统的细胞可以经工程化改造以包括如本文所描述的肿瘤导向的嵌合受体和/或肿瘤导向的CAR。在若干实施方案中,使用白细胞或白血球,因为其天然功能是保护身体对抗异常细胞的生长和感染性疾病。存在有多种类型的白细胞,它们在人免疫系统中起着特定作用,因此是本文公开的细胞工程化改造的优选起点。白细胞包括粒细胞和无粒细胞(分别为细胞质中存在或不存在颗粒)。粒细胞包括嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜中性粒细胞和肥大细胞。无粒细胞包括淋巴细胞和单核细胞。细胞(如本文随后或以其他方式描述的那些细胞)可以经工程化改造以包括嵌合受体(如NKG2D嵌合受体)和/或CAR(如CD19导向的CAR)或编码嵌合受体或CAR的核酸。在若干实施方案中,细胞任选地经工程化改造以共表达膜结合型白介素15(mbIL15)共刺激域。如下文更详细地讨论的,在若干实施方案中,细胞(特别是T细胞)进一步经遗传修饰以减少和/或消除该细胞的同种异体反应性。

[0115] 用于免疫疗法的单核细胞

[0116] 单核细胞是白细胞的亚型。单核细胞可以分化成巨噬细胞和髓系谱系树突细胞。单核细胞与适应性免疫系统相关联,并且提供以下主要功能:吞噬作用、抗原呈递和细胞因子产生。吞噬作用是摄取细胞物质或整个细胞,然后消化和破坏被吞没的细胞物质的过程。在若干实施方案中,单核细胞与如本文所公开的一种或多种额外的工程化细胞结合使用。本文描述的方法和组合物的一些实施方案涉及包括肿瘤导向的CAR或编码该肿瘤导向的CAR的核酸的单核细胞。本文公开的方法和组合物的若干实施方案涉及经工程改造以表达靶向肿瘤标志物(例如,CD19、CD123、CD70、Her2、间皮素、密蛋白6、BCMA、EGFR等)的CAR以及膜结合型白介素15(mbIL15)共刺激域的单核细胞。本文公开的方法和组合物的若干实施方案涉及经工程改造以表达靶向肿瘤细胞上的配体,例如,MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5和ULBP6(等)的活化性嵌合受体以及任选的膜结合型白介素15(mbIL15)共刺激域的单核细胞。

[0117] 用于免疫疗法的淋巴细胞

[0118] 淋巴细胞,白细胞的另一主要亚型,包括T细胞(细胞介导的细胞毒性适应性免疫)、自然杀伤细胞(细胞介导的细胞毒性先天免疫)和B细胞(体液、抗体驱动的适应性免疫)。虽然根据本文公开的若干实施方案对B细胞进行工程化改造,但若干实施方案还涉及工程化T细胞或工程化NK细胞(在一些实施方案中使用T细胞和NK细胞的混合物,这些细胞来自同一供体或不同供体)。本文公开的方法和组合物的若干实施方案涉及经工程改造以表达靶向肿瘤标志物(例如,CD19、CD123、CD70、Her2、间皮素、密蛋白6、BCMA、EGFR等)的CAR以及膜结合型白介素15(mbIL15)共刺激域的淋巴细胞。本文公开的方法和组合物的若干实施方案涉及经工程改造以表达靶向肿瘤细胞上的配体(例如,MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5和ULBP6(等))的活化性嵌合受体以及任选的膜结合型白介素15(mbIL15)共刺激域的淋巴细胞。

[0119] 用于免疫疗法的T细胞

[0120] 基于细胞表面上T细胞受体的存在,T细胞可与其他淋巴细胞亚型(例如,B细胞或NK细胞)区分开来。可以将T细胞划分为各种不同的亚型,包括效应T细胞、辅助性T细胞、细

胞毒性T细胞、记忆性T细胞、调控性T细胞、自然杀伤性T细胞、粘膜相关联不变性T细胞和 γ δ T细胞。在一些实施方案中,对T细胞的特异性亚型进行工程化改造。在一些实施方案中,对T细胞亚型的混合库进行工程化改造。在一些实施方案中,对于要经工程化改造以表达本文公开的细胞毒性受体复合物的T细胞类型没有特定选择。在若干实施方案中,使用特定技术(如使用细胞因子刺激)来增强具有特定标志物谱的T细胞的扩增/收集。例如,在若干实施方案中,通过使用作为刺激分子的CD3和/或CD28来实现某些人T细胞(例如,CD4+T细胞、CD8+T细胞)的活化。在若干实施方案中,提供了治疗或预防癌症或感染性疾病的方法,该方法包含施用治疗有效量的如本文所描述的表达细胞毒性受体复合物和/或归巢部分的T细胞。在若干实施方案中,工程化T细胞是自体细胞,而在一些实施方案中,该T细胞是同种异体细胞。本文公开的方法和组合物的若干实施方案涉及经工程改造以表达靶向肿瘤标志物(例如,CD19、CD123、CD70、Her2、间皮素、密蛋白6、BCMA、EGFR等)的CAR以及膜结合型白介素15(mbIL15)共刺激域的T细胞。本文公开的方法和组合物的若干实施方案涉及经工程改造以表达靶向肿瘤细胞上的配体(例如,MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5和ULBP6(等))的活化性嵌合受体以及任选的膜结合型白介素15(mbIL15)共刺激域的T细胞。

[0121] 用于免疫疗法的NK细胞

[0122] 在若干实施方案中,提供了治疗或预防癌症或感染性疾病的方法,该方法包含施用治疗有效量的如本文所描述的表达细胞毒性受体复合物和/或归巢部分的自然杀伤(NK)细胞。在若干实施方案中,工程化NK细胞是自体细胞,而在一些实施方案中,该NK细胞是同种异体细胞。在若干实施方案中,NK细胞是优选的,因为NK细胞的自然细胞毒性潜力相对较高。在若干实施方案中,出乎意料地有利的是,本文公开的工程化细胞可以进一步上调NK细胞的细胞毒活性,从而导致甚至更有效的对抗靶细胞(例如,肿瘤或其他患病细胞)的活性。本文公开的方法和组合物的若干实施方案涉及经工程改造以表达靶向肿瘤标志物(例如,CD19、CD123、CD70、Her2、间皮素、密蛋白6、BCMA、EGFR等)的CAR以及膜结合型白介素15(mbIL15)共刺激域的NK细胞。本文公开的方法和组合物的若干实施方案涉及经工程改造以表达靶向肿瘤细胞上的配体(例如,MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5和ULBP6(等))的活化性嵌合受体以及任选的膜结合型白介素15(mbIL15)共刺激域的NK细胞。

[0123] 用于癌症免疫疗法的造血干细胞

[0124] 在一些实施方案中,造血干细胞(HSC)用于本文公开的免疫疗法方法。在若干实施方案中,细胞经工程化改造以表达归巢部分和/或细胞毒性受体复合物。在若干实施方案中,使用HSC以利用其移植能力来进行长期血细胞产生(这可能导致靶向抗癌效应细胞的持续来源),例如以防止癌症缓解。在若干实施方案中,此种持续进行的产生有助于抵消其他细胞例如由于肿瘤微环境而引起的无反应性或耗竭。在若干实施方案中,使用同种异体HSC,而在一些实施方案中,使用自体HSC。在若干实施方案中,HSC与本文公开的一种或多种额外的工程化细胞类型组合使用。本文公开的方法和组合物的若干实施方案涉及经工程改造以表达靶向肿瘤标志物(例如,CD19、CD123、CD70、Her2、间皮素、密蛋白6、BCMA、EGFR等)的CAR以及膜结合型白介素15(mbIL15)共刺激域的干细胞,如造血干细胞。本文公开的方法和组合物的若干实施方案涉及经工程改造以表达靶向肿瘤细胞上的配体(例如,MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5和ULBP6(等))的活化性嵌合受体以及任选的膜结合型白介素15(mbIL15)共刺激域的造血干细胞。

[0125] 免疫细胞的遗传工程化改造

[0126] 如上文所讨论的,可以将多种细胞类型用于细胞免疫疗法。进一步地,如下文更详细地详述的并如在实例中所示出的,可以对这些细胞进行遗传修饰以便增强其功效(例如,细胞毒性)和/或持久性(例如,活性寿命)的一个或多个方面。如本文所讨论的,在若干实施方案中,将NK细胞用于免疫疗法。在本文提供的若干实施方案中,NK细胞的基因编辑可以有利地赋予经编辑的NK细胞抵抗和/或克服在肿瘤微环境中生成的各种抑制信号的能力。已知肿瘤会生成多种信号传导分子,这些分子旨在减少免疫细胞的抗肿瘤作用。如下文更详细地讨论的,在若干实施方案中,NK细胞的基因编辑限制了对本文提供的NK细胞、T细胞、NK和T细胞的组合或任何经编辑的/工程化免疫细胞的此肿瘤微环境抑制作用。如下文中所讨论的,在若干实施方案中,采用基因编辑以例如通过破坏编码蛋白质的潜在基因来减少或敲除靶蛋白的表达。在若干实施方案中,基因编辑可以使靶蛋白的表达减少约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约97%、约98%、约99%或更多(包括所列数值之间的任何量)。在若干实施方案中,完全敲除基因,使得靶蛋白的表达是检测不到的。在若干实施方案中,基因编辑用于“敲入”或以其他方式增强靶蛋白的表达。在若干实施方案中,靶蛋白的表达可以增强约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约97%、约98%、约99%或更多(包括所列数值之间的任何量)。

[0127] 作为非限制性实例,TGF- β 是由肿瘤细胞释放的一种此种细胞因子,其导致肿瘤微环境内的免疫抑制。该免疫抑制减少了免疫细胞(在一些情况中甚至是工程化CAR免疫细胞)破坏肿瘤细胞的能力,从而允许肿瘤进展。在若干实施方案中,如下文详细地讨论的,通过基因编辑破坏免疫检查点抑制剂。在若干实施方案中,使用肿瘤微环境中免疫抑制细胞因子的阻断剂,其包括它们释放的阻断剂或减少信号传导分子结合和抑制免疫细胞的能力的竞争性抑制剂。此类信号传导分子包括但不限于TGF- β 、IL10、精氨酸酶、诱导型NOS、反应性NOS、Arg1、吡啶胺2,3-双加氧酶(IDO)和PGE₂。然而,在额外的实施方案中,提供了免疫细胞,如NK细胞,其中NK细胞(或其他细胞)响应给定免疫抑制信号传导分子的能力被破坏和/或消除。例如,在若干实施方案中,在若干实施方案中,NK细胞或T细胞经基因编辑以变得对TGF- β 具有减少的敏感性。TGF- β 至少在增殖和细胞毒性水平上是NK细胞功能的抑制剂。参见例如图8A,其示意性地示出了TGF- β 减少NK细胞活性和/或增殖的一些抑制性通路。因此,根据一些实施方案,通过基因编辑来敲低或敲除TGF- β 受体的表达,使得经编辑的NK对肿瘤微环境中TGF- β 的免疫抑制作用具有抗性。在若干实施方案中,通过基因编辑,例如通过使用CRISPR-Cas编辑来敲低或敲除TGFB2受体。在其他实施方案中使用小干扰RNA、反义RNA、TALEN或锌指。在一些实施方案中,对TGF- β 受体的其他同种型(例如,TGF- β 1和/或TGF- β 3)进行编辑。在一些实施方案中,通过基因编辑来敲低T细胞中的TGF- β 受体。

[0128] 根据额外的实施方案,通过基因编辑来调节NK细胞(或T细胞)功能的一个或多个方面的其他调节剂。多种细胞因子向免疫细胞传递阴性(与上文的TGF- β 一样)或阳性信号。作为非限制性实例,IL15是NK细胞的正调控因子,如本文所公开的,其可以增强NK细胞归巢、NK细胞迁移、NK细胞扩增/增殖、NK细胞细胞毒性和/或NK细胞持久性中的一种或多种。为了在正常生理状况下控制NK细胞,细胞因子诱导型含SH2蛋白(CIS,其由CISH基因编码)在NK细胞中充当IL-15信号传导的关键负调控因子。如本文所讨论的,因为IL15作用方式影

响NK细胞功能的多个方面,其包括但不限于增殖/扩增、活化、细胞毒性、持久性、归巢、迁移等。因此,根据若干实施方案,对CISH进行编辑增强了NK细胞跨多种功能性的功能性,从而导致更有效和更持久的NK细胞治疗性。在若干实施方案中,CIS的抑制剂与工程化NK细胞施用结合使用。在若干实施方案中,通过对CISH基因进行基因编辑,例如通过使用CRISPR-Cas编辑来敲低或敲除CIS表达。在其他实施方案中使用小干扰RNA、反义RNA、TALEN或锌指。在一些实施方案中,通过基因编辑来敲低T细胞中的CIS表达。

[0129] 在若干实施方案中,CISH基因编辑对NK细胞赋予增强的归巢至靶位点的能力。在若干实施方案中,CISH基因编辑对NK细胞赋予增强的迁移能力,例如在组织内响应于例如化学引诱物或远离排斥剂(repellant)的迁移能力。在若干实施方案中,CISH基因编辑对NK细胞赋予增强的被活化并因此发挥例如抗肿瘤作用的能力。在若干实施方案中,CISH基因编辑对NK细胞赋予增强的增殖能力,这在若干实施方案中允许从供体血液样品中生成强健的NK细胞数目。此外,在此类实施方案中,针对CISH编辑并经工程化改造以表达CAR的NK细胞在培养时更容易、强健且一致地扩增。在若干实施方案中,CISH基因编辑对NK细胞赋予增强的细胞毒性。在若干实施方案中,对CISH进行编辑协同地增强表达CAR的工程化NK细胞和/或工程化T细胞的细胞毒性作用。

[0130] 在若干实施方案中,CISH基因编辑活化或抑制极其多种通路。CIS蛋白是IL15信号传导的负调控因子,其通过例如抑制JAK-STAT信号传导通路实现。这些通路通常会导致IL15应答基因(包括CISH)的转录。在若干实施方案中,CISH的敲低使JAK-STAT(例如,JAK1-STAT5)信号传导脱抑制(disinhibit),并且IL15应答基因的转录增强。在若干实施方案中,CISH的敲除导致增强的经由哺乳动物雷帕霉素靶标(mTOR)的信号传导,其中与细胞代谢和呼吸相关的基因表达相应增加。在若干实施方案中,CISH的敲除导致IL15诱导的IL-2R α (CD25)而非IL-15R α 或IL-2/15RB的表达增加、IL15和/或IL2的NK细胞膜结合增强、STAT-3和/或STAT-5的磷酸化增加、以及抗凋亡蛋白(如Bcl-2)的表达升高。在若干实施方案中,CISH敲除导致IL15诱导的与线粒体功能(例如,电子传递链和细胞呼吸)和细胞周期相关的所选基因的上调。因此,在若干实施方案中,基因编辑对CISH的敲除至少部分地经由代谢重编程增强NK细胞的细胞毒性和/或持久性。在若干实施方案中,细胞代谢的负调控因子(如TXNIP)响应于CISH敲除而下调。在若干实施方案中,包括BIRC5(Survivin)、TOP2A、CKS2和RACGAP1的细胞存活和增殖启动子在CISH敲除之后上调,而如TGFB1、ATM和PTCH1等抗增殖或促凋亡蛋白下调。在若干实施方案中,CISH敲除经由或通过以下中的一种或多种改变(例如,活化或灭活)信号传导状态: CXCL-10、IL2、TNF、IFN γ 、IL13、IL4、Jnk、PRF1、STAT5、PRKCQ、IL2受体 β 、SOCS2、MYD88、STAT3、STAT1、TBX21、LCK、JAK3、IL γ 受体、ABL1、IL9、STAT5A、STAT5B、Tcf7、PRDM1和/或EOMES。

[0131] 在若干实施方案中,免疫细胞的基因编辑还可以在经编辑的免疫细胞的扩增、持久性和/或细胞毒性方面中出乎意料的增强。如本文所公开的,也可以对工程化细胞(例如,表达CAR的那些)进行编辑,其组合提供用于免疫疗法的强健细胞。在若干实施方案中,编辑允许出乎意料地改善的NK细胞的扩增、持久性和/或细胞毒性。在若干实施方案中,NK细胞中CISH表达的敲除会去除NK细胞中IL15介导的信号传导的强效负调控因子,使NK细胞脱抑制,并且允许增强的NK细胞归巢、NK细胞迁移、NK细胞活化、扩增、细胞毒性和/或持久性中的一种或多种。另外,在若干实施方案中,编辑可以在其他方面下抑制性肿瘤微环境中增强

NK和/或T细胞功能。在若干实施方案中,CISH基因编辑导致增强的NK细胞扩增、持久性和/或细胞毒性,而无需以外源方式提供的Notch配体。

[0132] 如上文所讨论的,在若干实施方案中采用经工程化改造以表达CAR或嵌合受体的T细胞。同样如上文所提及的,T细胞在其表面上表达T细胞受体(TCR)。如本文所公开的,在若干实施方案中,将自体免疫细胞转移回到该细胞的原始供体体内。在此类实施方案中,从患者获得免疫细胞(如NK细胞或T细胞),扩增、遗传修饰(例如,用CAR或嵌合受体)和/或任选地进一步扩增,并且重新引入到该患者体内。如本文所公开的,在若干实施方案中,将同种异体免疫细胞转移到不作为该细胞原始供体的受试者体内。在此类实施方案中,从供体获得免疫细胞(如NK细胞或T细胞),扩增、遗传修饰(例如,用CAR或嵌合受体)和/或任选地进一步扩增,并且施用于该受试者。

[0133] 同种异体免疫疗法存在若干需要克服的障碍。在有免疫能力的宿主中,所施用的同种异体细胞是迅速排斥的,称为宿主抗移植物排斥(HvG)。这实质上限制了所施用细胞的功效,尤其是它们的持久性。在无免疫能力的宿主中,同种异体细胞能够植入。然而,如果所施用的细胞包含T细胞(本文公开的若干实施方案采用NK和T细胞的混合群体),则内源性T细胞受体(TCR)的特异性将宿主组织识别为外来的,从而导致移植物抗宿主疾病(GvHD)。GvHD可以在宿主(细胞受者)中导致显著的组织损伤。本文公开的若干实施方案解决了这两个障碍,从而允许有效且安全的同种异体免疫疗法。在若干实施方案中,基因编辑可以有利地有助于减少和/或避免移植物抗宿主疾病(GvHD)。在图8C中示意性地说明了使用NK细胞和T细胞的混合群体的此种方案的非限制性实施方案,其中NK细胞经工程化改造以表达CAR,并且T细胞经工程化改造以不仅表达CAR,而且经编辑以使T细胞呈现出非同种异体反应性。图8D示意性地示出了移植物抗宿主疾病发生的机制。将都经工程化改造以表达靶向肿瘤的CAR的同种异体T细胞和同种异体NK细胞两者引入到宿主体内。然而,该T细胞仍然带有天然T细胞受体(TCR)。该TCR将宿主细胞的HLA类型识别为“非自身”,并且可以对宿主细胞发挥细胞毒性。图8E示出了如何可以通过T细胞的基因编辑来减少或以其他方式避免移植物抗宿主疾病的非限制性实施方案。简而言之,如下文更详细地讨论该方法,可以进行基因编辑以敲除T细胞上的天然TCR。缺乏TCR,同种异体T细胞不能检测到宿主细胞的“非自身”HLA,并且因此不被触发以对宿主细胞发挥细胞毒性。因此,在若干实施方案中,T细胞经受基因编辑以减少天然T细胞的功能性和/或减少或消除其表达。在若干实施方案中,CRISPR用于敲除TCR。这些和其他实施方案在下文中讨论。

[0134] T细胞受体(TCR)是细胞表面受体,其参与响应于抗原呈递的T细胞活化。TCR由两条不同的蛋白质链构成(其是异二聚体)。大多数的人T细胞具有由 α 链和 β 链(由不同的基因编码)构成的TCR。小百分比的T细胞具有由 γ 和 δ (γ/δ)链构成的TCR(这些细胞称为 γ - δ T细胞)。

[0135] T细胞不是识别完整的抗原(与免疫球蛋白一样),而是被与MHC分子缔合关联的处理过的肽片段活化。这称为MHC限制性。当TCR识别出供体与受者MHC之间的差异时,该识别刺激T细胞增殖和GVHD的潜在发展。在一些实施方案中,编码TCR α 、TCR β 、TCR γ 和/或TCR δ 的基因被破坏或以其他方式经修饰以减少供体T细胞识别供体与宿主MHC之间的差异的趋势,从而减少对同种异体抗原和GVHD的识别。

[0136] T细胞介导的免疫涉及共刺激信号与抑制信号之间的平衡,这些信号用来对免疫

应答进行微调。抑制信号也被称为免疫检查点,允许避免自身免疫(例如,自身耐受)并还限制免疫介导的损伤。免疫检查点蛋白表达经常被肿瘤改变,从而增强肿瘤细胞的免疫抗性并限制免疫疗法功效。CTLA4下调T细胞活化的幅度。相比之下,PD1在炎症应答期间限制外周组织中的T细胞效应子功能,并且也限制自身免疫。在若干实施方案中,免疫检查点阻塞有助于克服活化功能性细胞免疫的障碍。在若干实施方案中,使用对包括细胞毒性-T-淋巴细胞相关抗原4 (CTLA-4;也被称为CD152) 和程序性细胞死亡蛋白1 (PD1或PDCD1,也被称为CD279) 的T细胞上的抑制性配体具有特异性的拮抗性抗体来增强免疫疗法。

[0137] 在若干实施方案中,提供了经遗传修饰的T细胞,其是非同种异体反应性的和高活性的。在若干实施方案中,T细胞进一步经修饰以使得某些免疫检查点基因被灭活,并且免疫检查点蛋白因此不被该T细胞表达。在若干实施方案中,这是在不存在操作或破坏CD3 ζ 信号传导域的情况下完成的(例如,TCR仍然能够启动T细胞信号传导)。

[0138] 在若干实施方案中,对TCR α 和/或TCR β 进行遗传灭活与对衍生自同种异体供体的T淋巴细胞中的免疫检查点基因的灭活相结合显著地减少了GVHD的风险。在若干实施方案中,这是通过消除负责识别供体与受者细胞之间的MHC差异的一条或多条取代蛋白质链(α 、 β 、 γ 和/或 δ) 的至少一部分来完成的。在若干实施方案中,这是在仍然允许T细胞增殖和活性的情况下完成的。

[0139] 在其中施用同种异体细胞的一些实施方案中,接受型受试者可以接受一些其他辅助治疗,以支持或以其他方式增强所施用的免疫细胞的功能。在若干实施方案中,受试者可以是预先调理过的(例如,用放射或化学疗法)。在一些实施方案中,辅助治疗包含施用淋巴细胞生长因子(如IL-2)。

[0140] 此外,在若干实施方案中,编辑可以例如通过针对宿主免疫应答将细胞掩蔽改善所施用细胞(无论是NK细胞、T细胞还是其他情况)的持久性。在某些情况下,受者的免疫细胞会攻击供体细胞,尤其是来自同种异体供体的细胞,称为宿主抗移植物疾病(HvG)。图8F示出了HvG的示意性表示,其中具有天然/功能性TCR的宿主T细胞将供体T和/或供体NK细胞上的HLA识别为非自身。在此类情况下,宿主T细胞TCR与同种异体细胞HLA结合导致同种异体细胞的消除,从而减少供体工程化NK/T细胞的持久性。关于HvG,为了防止对所施用的同种异体T细胞的排斥,接受细胞的受试者需要对其免疫系统进行抑制。在若干实施方案中,使用糖皮质激素,并且包括但不限于倍氯米松、倍他米松、布地奈德、可的松、地塞米松、氢化可的松、甲泼尼龙、泼尼松龙、泼尼松、曲安西龙等。受者自身T细胞中糖皮质激素受体的活化会改变涉及免疫应答的基因的表达,并且导致细胞因子产生水平减少,这转化为T细胞无反应性和干扰T细胞活化(在受者中)。其他实施方案涉及施用可以耗尽特定类型的受者免疫细胞的抗体。一种此种靶标是CD52,其在T和B淋巴细胞上高水平表达,并且在单核细胞上低水平表达,而在粒细胞和骨髓前体上不存在。鉴于受者免疫细胞减少,使用阿仑单抗(Alemtuzumab,一种针对CD52的人源化单克隆抗体)对受者进行治疗或预防治疗,这已示出可诱导循环淋巴细胞和单核细胞的迅速耗尽,从而降低HvG的可能性。免疫抑制药物可以限制所施用的同种异体工程化T细胞的功效。因此,如本文所公开的,若干实施方案涉及对免疫抑制治疗具有抗性的遗传工程化同种异体供体细胞。在若干实施方案中,如下文更详细地讨论的,免疫细胞(如NK细胞和/或T细胞)(除经工程化改造表达CAR之外)还经编辑以避免来自宿主免疫细胞的细胞毒性应答来延长它们的持久性。在若干实施方案中,从同种

异体NK和/或T细胞中去除一种或多种HLA分子的基因编辑减少了宿主T细胞的消除。在若干实施方案中,同种异体NK和/或T细胞经编辑以敲除 β -2微球蛋白 (HLA I类分子) 和CIITA (HLA II类分子) 中的一种或多种。图8G示意性地描绘了该方案。

[0141] 在混合型同种异体细胞疗法的一些实施方案中,例如当治疗性细胞经编辑以去除HLA分子以便避免HvG时,工程化细胞群体实际上彼此靶向。对例如CAR T细胞的此种编辑可以导致经编辑的同种异体CAR T细胞易受CAR NK细胞的细胞毒性攻击以及宿主NK细胞的清除。这是由于缺少通常由KIR分子呈现的“自身”抑制信号而造成的。图8H示意性地描述了该过程。在若干实施方案中,基因编辑可以用于敲入一种或多种“掩蔽”分子的表达,这些分子掩蔽同种异体细胞而免于宿主免疫系统以及免于其他所施用的工程化细胞的杀同类行为。图8I示意性地描绘了该方案。在若干实施方案中,蛋白质可以在同种异体细胞的表面上表达以抑制NK (工程化NK和宿主NK二者) 的靶向,这有利地延长同种异体CAR-T和CAR-NK二者的持久性。在若干实施方案中,基因编辑用于敲入CD47,其表达有效地起到了“别吃我 (don't eat me)”信号的作用。在若干实施方案中,基因编辑用于敲入HLA-E的表达。HLA-E分别与存在于NK细胞表面上的抑制性和活化性受体NKG2A和NKG2C二者结合。然而,NKG2A在大多数NK细胞中的表达程度更高,因此,在若干实施方案中,HLA-E在工程化细胞上的表达导致NK细胞 (宿主和供体二者) 对经编辑成 (或自然表达) HLA-E的此类细胞的抑制效应。另外,在若干实施方案中,一种或多种病毒HLA同源物被敲入,使得它们由工程化NK和/或T细胞表达,从而赋予病毒细胞逃避宿主免疫系统的能力。在若干实施方案中,这些方案有利地延长了同种异体CAR-T和CAR-NK二者的持久性。

[0142] 在若干实施方案中,通过靶向引入DNA断裂以及随后的DNA修复机制来实现任何靶基因 (例如,本文公开的CISH、TGFB β 、TCR、B2M、CIITA、CD47、HLA-E或任何其他靶基因) 的基因编辑 (无论是敲除还是敲入)。在若干实施方案中,DNA的双链断裂通过非同源末端接合 (NHEJ) 来修复,其中使用酶来使DNA末端直接彼此接合以修复断裂。然而,在若干实施方案中,双链断裂通过同源性定向修复 (HDR) 来修复,这有利地更准确,从而允许序列特异性断裂和修复。HDR使用同源序列作为用于在断裂点处再生缺少的DNA序列的模板,如在与双链断裂的侧翼序列同源的序列内具有期望基因元件 (例如,用于破坏TCR的编码序列的插入元件) 的载体。这会导致期望的变化 (例如,插入) 被插入在DSB的位点处。

[0143] 在若干实施方案中,通过多种工程化核酸酶中的一种或多种来实现基因编辑。在若干实施方案中,使用限制性酶,特别是当在多个区域处期望双链断裂时。在若干实施方案中,使用生物工程化核酸酶。取决于实施方案,使用锌指核酸酶 (ZFN)、转录激活因子样效应子核酸酶 (TALEN)、大范围核酸酶和/或成簇规律间隔短回文重复序列 (CRISPR/Cas9) 系统中的一种或多种来特异性编辑编码一种或多种TCR亚单位的基因。

[0144] 大范围核酸酶的特征在于其识别和切割大DNA序列 (14至40个碱基对) 的能力。在若干实施方案中,使用来自LAGLIDADG家族的大范围核酸酶,并且使其经受诱变和筛选以生成识别独特序列的大范围核酸酶变体,如本文公开的TCR或CISH或任何其他靶基因中的特定位点。可以容易地鉴定TCR中的靶位点。TCR区域内的靶位点的进一步信息可以见于美国专利公开号2018/0325955和美国专利公开号2015/0017136,这些专利中的每一个都通过引用以其整体并入本文。在若干实施方案中,将两种或更多种大范围核酸酶或其功能片段融合以产生识别靶基因 (例如,CISH) 内的期望靶序列的杂合酶。

[0145] 与大范围核酸酶形成对照,ZFN和TALEN的功能基于非特异性DNA切割催化域,其与识别肽(如锌指或转录激活因子样效应子(TALE))的特定DNA序列连接。有利地,ZFN和TALEN因此允许DNA的序列不依赖性切割,其在靶识别中具有高度的序列特异性。锌指基序在转录因子中自然起作用,以识别特定的DNA序列以进行转录。每个指的C末端部分负责特异性识别DNA序列。虽然由ZFN识别的序列相对较短(例如,约3个碱基对),但在若干实施方案中,使用识别位点已被表征的2、3、4、5、6、7、8、9、10个或更多个锌指的组合,从而允许靶向特定序列,如TCR(或免疫检查点抑制剂)的一部分。然后将组合的ZFN与内切核酸酶的催化域(如FokI(任选FokI异二聚体))融合,以便诱导靶向DNA断裂。关于使用ZFN编辑TCR和/或免疫检查点抑制剂的额外信息可以见于美国专利号9,597,357,其通过引用并入本文。

[0146] 转录激活因子样效应子核酸酶(TALEN)是特异性DNA结合蛋白,其特征在于具有33或34个氨基酸重复序列的阵列。类似于ZFN,TALEN是核酸酶的DNA切割域与TALE域的融合,其允许以高度精确的靶位点识别进行双链DNA断裂的序列不依赖性引入。TALEN可以在靶位点处产生可以通过易错非同源末端接合(NHEJ)来修复的双链断裂,从而通过引入小插入或缺失导致基因破坏。有利地,在若干实施方案中使用TALEN,至少部分地是由于其在DNA结合中的较高特异性、减少的脱靶效应和易于构建DNA结合域所致。

[0147] CRISPR(成簇规律间隔短回文重复序列)是细菌用来抵御病毒的基因元件。该重复序列是源于病毒基因组且已被并入细菌基因组中的短序列。Cas(CRISPR相关联蛋白)处理这些序列并切割匹配的病毒DNA序列。通过将含有Cas基因和特异性构建的CRISPR的质粒引入到真核细胞中,可以在任何期望位置处对真核基因组进行切割。关于CRISPR的额外信息可以见于美国专利公开号2014/0068797,其通过引用并入本文。在若干实施方案中,CRISPR用于操作编码要被敲除或敲入的靶基因的基因,例如CISH、TGFB2、TCR、B2M、CIITA、CD47、HLA-E等。在若干实施方案中,CRISPR用于编辑T细胞的一种或多种TCR和/或编码一种或多种免疫检查点抑制剂的基因。在若干实施方案中,免疫检查点抑制剂选自CTLA4和PD1中的一种或多种。在若干实施方案中,CRISPR用于截短TCR α 、TCR β 、TCR γ 和TCR δ 中的一种或多种。在若干实施方案中,TCR被截短且不会影响TCR的CD3 ζ 信号传导域的功能。取决于实施方案和要被编辑的靶基因,使用1类或2类Cas。在若干实施方案中,使用1类Cas,并且Cas类型选自以下类型:I、IA、IB、IC、ID、IE、IF、IU、III、IIIA、IIIB、IIIC、IIID、IV IVA、IVB及其组合。在若干实施方案中,Cas选自下组,该组由以下各项组成:Cas3、Cas8a、Cas5、Cas8b、Cas8c、Cas10d、Cse1、Cse2、Csy1、Csy2、Csy3、GSU0054、Cas10、Csm2、Cmr5、Cas10、Csx11、Csx10、Csf1及其组合。在若干实施方案中,使用2类Cas,并且Cas类型选自以下类型:II、IIA、IIB、IIC、V、VI及其组合。在若干实施方案中,Cas选自下组,该组由以下各项组成:Cas9、Csn2、Cas4、Cpf1、C2c1、C2c3、Cas13a(先前被称为C2c2)、Cas13b、Cas13c及其组合。

[0148] 在若干实施方案中,如上文所讨论的,对CISH进行编辑有利地对经编辑的细胞(特别是经编辑的NK细胞)赋予增强的扩增、细胞毒性和/或持久性。另外,在若干实施方案中,对TCR的修饰包含对TCR α 的修饰,但不会影响通过CD3复合物的信号传导,从而允许T细胞增殖。在一个实施方案中,TCR α 通过在细胞中表达前T α 而灭活,从而在不存在功能性 α/β TCR的情况下恢复功能性CD3复合物。如本文所公开的,非同种异体反应性的经修饰的T细胞还经工程化改造以表达CAR,以将非同种异体反应性T细胞特异性重定向至肿瘤标志物,但不依赖于MHC。作为非限制性实例,在若干实施方案中使用编辑的组合,如TCR和CISH的组合敲除

或者CISH的敲除和CD47的敲入。

[0149] 细胞外域(肿瘤结合剂)

[0150] 本文描述的组合物和方法的一些实施方案涉及嵌合抗原受体,其包括细胞外域,该细胞外域包含如本文所描述的肿瘤结合域(也被称为抗原结合蛋白或抗原结合域)。取决于实施方案,肿瘤结合域靶向例如CD19、CD123、CD70、Her2、间皮素、密蛋白6、BCMA、EGFR等。本文描述的组合物和方法的若干实施方案涉及嵌合受体,其包括细胞外域,该细胞外域包含配体结合域,该配体结合域结合如本文所描述的由肿瘤细胞表达的配体(也被称为活化性嵌合受体)。取决于实施方案,配体结合域靶向例如MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5和ULBP6(等)。

[0151] 在一些实施方案中,抗原结合域衍生自或包含抗体、抗体片段、scFv、Fv、Fab、(Fab')₂、单域抗体(SDAB)、vH或vL域、骆驼科动物VHH域或非免疫球蛋白支架,如DARPIN、亲和体、affilin、adnectin、affitin、repebody、fynomer、 α 体、avimer、atrimmer、centyrin、pronectin、anticalin、kunitz域、狢狢重复蛋白、自体抗原、受体或配体。在一些实施方案中,肿瘤结合域含有多于一个的抗原结合域。在实施方案中,抗原结合域直接或经由任选的接头可操作地连接至TCR域的NH₂末端(例如,TCR- α 、TCR- β 1、TCR- β 2、前TCR- α 、前TCR- α -Del148、TCR- γ 或TCR- δ 的恒定链)。

[0152] 抗原结合蛋白

[0153] 在若干实施方案中,提供了抗原结合蛋白。如本文所用,术语“抗原结合蛋白”应被给予其普通含义,并且还指包含抗原结合片段的蛋白,该抗原结合片段与抗原和任选的支架或构架部分结合,该支架或构架部分允许抗原结合片段采用促进抗原结合蛋白与抗原的结合的构象。在一些实施方案中,抗原是癌抗原(例如,CD19)或其片段。在一些实施方案中,抗原结合片段包含来自与抗原结合的抗体的至少一个CDR。在一些实施方案中,抗原结合片段包含来自与抗原结合的抗体的重链或来自与抗原结合的抗体的轻链的所有三个CDR。在另外一些实施方案中,抗原结合片段包含来自与抗原结合的抗体的所有六个CDR(三个来自重链,并且三个来自轻链)。在若干实施方案中,抗原结合片段包含来自与抗原结合的抗体的一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR,并且在若干实施方案中,CDR可以是重链和/或轻链CDR的任何组合。在一些实施方案中,抗原结合片段是抗体片段。

[0154] 抗原结合蛋白的非限制性实例包括抗体、抗体片段(例如,抗体的抗原结合片段)、抗体衍生物和抗体类似物。进一步的具体实例包括但不限于单链可变片段(scFv)、纳米抗体(例如,骆驼科动物重链抗体的VH域;VHH片段)、Fab片段、Fab'片段、F(ab')₂片段、Fv片段、Fd片段和互补决定区(CDR)片段。这些分子可以衍生自任何哺乳动物来源,如人、小鼠、大鼠、兔或猪、狗、或骆驼科动物。抗体片段可以与完整的(例如,天然的)抗体竞争同靶抗原的结合,并且片段可以通过对完整抗体的修饰(例如,酶促或化学切割)来产生或使用重组DNA技术或肽合成来从头合成。抗原结合蛋白可以包含例如具有移植CDR或CDR衍生物的替代性蛋白支架或人工支架。此类支架包括但不限于包含突变的抗体衍生支架以及包含例如生物相容性聚合物的全合成支架,其中引入该突变以例如稳定抗原结合蛋白的三维结构。此外,可以使用肽抗体模拟物(“PAM”),以及基于利用纤连蛋白组分作为支架的抗体模拟物的支架。

[0155] 在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含并入单条多肽链中或并入多条多肽链中的

一个或多个抗体片段。举例来说,抗原结合蛋白可以包括但不限于双抗体(diabody);胞内抗体;域抗体(单个VL或VH域或者通过肽接头接合的两个或更多个VH域);大抗体(maxibody)(融合至Fc区的2个scFv);三抗体(triabody);四抗体(tetrabody);微抗体(minibody)(融合至CH3域的scFv);肽抗体(peptibody)(附接至Fc区的一个或多个肽);线性抗体(一对串联的Fd片段(VH-CH1-VH-CH1),其与互补的轻链多肽一起形成一对抗原结合区);小型模块化免疫药物;以及免疫球蛋白融合蛋白(例如,IgG-scFv、IgG-Fab、2scFv-IgG、4scFv-IgG、VH-IgG、IgG-VH和Fab-scFv-Fc)。

[0156] 在一些实施方案中,抗原结合蛋白具有免疫球蛋白的结构。如本文所用,术语“免疫球蛋白”应被给予其普通含义,并且还指四聚体分子,其中每个四聚体包含两对相同的多肽链,每对具有一条“轻”链(约25kDa)和一条“重”链(约50-70kDa)。每条链的氨基末端部分包括主要负责抗原识别的约100至110个或更多个氨基酸的可变区。每条链的羧基末端部分定义主要负责效应子功能的恒定区。

[0157] 在轻链和重链中,可变区(V)和恒定区(C)通过约12个或更多个氨基酸的“J”区接合,其中重链还包括约10多个氨基酸的“D”区。每个轻/重链对的可变区形成抗体结合位点,使得完整的免疫球蛋白具有两个结合位点。

[0158] 免疫球蛋白链表现出相同的通过三个高变区(也被称为互补决定区或CDR)接合的相对保守的构架区(FR)的一般结构。从N末端至C末端,轻链和重链均包含域FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4。

[0159] 人轻链被分类为 κ 轻链和 λ 轻链。抗体“轻链”是指以天然存在的构象存在于抗体分子中的两种类型多肽链中较小的一种。Kappa(K)轻链和lambda(λ)轻链是指两种主要的抗体轻链同种型。轻链可以包括从氨基末端至羧基末端包含以下各项的多肽:单个免疫球蛋白轻链可变区(VL)和单个免疫球蛋白轻链恒定域(CL)。

[0160] 重链被分类为 μ (μ)、 δ (Δ)、 γ (γ)、 α (α)和 ϵ (ϵ),并且将抗体的同种型分别定义为IgM、IgD、IgG、IgA和IgE。抗体“重链”是指以天然存在的构象存在于抗体分子中的两种类型多肽链中的较大者,其通常决定抗体所属的类别。重链可以包括从氨基末端至羧基末端包含以下各项的多肽:单个免疫球蛋白重链可变区(VH)、免疫球蛋白重链恒定域1(CH1)、免疫球蛋白铰链区、免疫球蛋白重链恒定域2(CH2)、免疫球蛋白重链恒定域3(CH3)和任选的免疫球蛋白重链恒定域4(CH4)。

[0161] 进一步将IgG类划分为亚类,即IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。进一步将IgA类划分为亚类,即IgA1和IgA2。IgM具有包括但不限于IgM1和IgM2的亚类。IgG、IgA和IgD抗体中的重链具有三个域(CH1、CH2和CH3),然而IgM和IgE抗体中的重链具有四个域(CH1、CH2、CH3和CH4)。免疫球蛋白重链恒定域可以来自任何免疫球蛋白同种型,其包括亚型。抗体链经由CL域与CH1域之间(例如,轻链与重链之间)以及抗体重链铰链区之间的多肽间二硫键连接在一起。

[0162] 在一些实施方案中,抗原结合蛋白是抗体。如本文所用,术语“抗体”是指衍生自与抗原特异性结合的免疫球蛋白分子的蛋白质或多肽序列。抗体可以是单克隆的或多克隆的、多链或单链的、或完整的免疫球蛋白,并且可以衍生自自然来源或衍生自重组来源。抗体可以是免疫球蛋白分子的四聚体。抗体可以是“人源化的”、“嵌合的”或非人的。抗体可以包括任何同种型的完整免疫球蛋白,并且包括例如嵌合抗体、人源化抗体、人抗体和双特异

性抗体。完整抗体通常包含至少两条全长重链和两条全长轻链。抗体序列可以仅衍生自单一物种,或者可以是“嵌合的”,也就是说,抗体的不同部分可以衍生自两个不同的物种,如下文进一步描述的。除非另有指示,否则术语“抗体”还包括包含两条基本上全长的重链和两条基本上全长的轻链的抗体,条件是这些抗体保留了与由两条全长轻链和重链构成的抗体相同或类似的结合和/或功能。例如,在重链和/或轻链的N末端和/或C末端具有1、2、3、4或5个氨基酸残基替换、插入或缺失的抗体包括在定义中,条件是这些抗体保留了与包含两条全长重链和两条全长轻链的抗体相同或类似的结合和/或功能。抗体的实例包括单克隆抗体、多克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体、人抗体、双特异性抗体和合成抗体。在一些实施方案中,提供了单克隆抗体和多克隆抗体。如本文所用,术语“多克隆抗体”应被给予其普通含义,并且还应指通常在组成和结合特异性方面广泛变化的抗体的群体。如本文所用,术语“单克隆抗体”(“mAb”)应被给予其普通含义,并且还应指具有相同序列的抗体的群体中的一个或多个。单克隆抗体在抗原上的特定表位处与抗原结合。

[0163] 在一些实施方案中,抗原结合蛋白是抗体的片段或抗原结合片段。术语“抗体片段”是指抗体的至少一部分,其保留了与抗原的表位特异性相互作用(例如,通过结合、位阻、稳定/去稳定、空间分布)的能力。抗体片段的实例包括但不限于Fab、Fab’、F(ab’)₂、Fv片段、scFv抗体片段、二硫化物连接的Fvs(sdFv)、由VH和CH1域组成的Fd片段、线性抗体、单域抗体(如sdAb(vL或vH))、骆驼科动物vHH域、由抗体片段(如包含通过铰链区处的二硫桥连接的两个Fab片段的二价片段)形成的多特异性抗体、以及抗体的分离的CDR或其他表位结合片段。还可以将抗原结合片段并入单域抗体、大抗体、微抗体、纳米抗体、胞内抗体、双抗体、三抗体、四抗体、v-NAR和双scFv中(参见,例如,Hollinger和Hudson,Nature Biotechnology 23:1126-1136,2005)。还可以将抗原结合片段移植至基于多肽(如纤连蛋白III型(Fn3))的支架中(参见美国专利第6,703,199号,其描述了纤连蛋白多肽微型体)。抗体片段可以包括Fab、Fab’、F(ab’)₂和/或Fv片段,其包含足以赋予与癌抗原(例如,CD19)的特异性抗原结合的免疫球蛋白的至少一个CDR。抗体片段可以通过重组DNA技术或通过完整抗体的酶促或化学切割来产生。

[0164] 在一些实施方案中,提供了Fab片段。Fab片段是具有VL、VH、CL和CH1域的单价片段;F(ab’)₂片段是具有通过铰链区处的二硫桥连接的两个Fab片段的二价片段;Fd片段具有VH和CH1域;Fv片段具有抗体单臂的VL和VH域;并且dAb片段具有VH域、VL域、或者VH或VL域的抗原结合片段。在一些实施方案中,可以将这些抗体片段并入单域抗体、单链抗体、大抗体、微抗体、胞内抗体、双抗体、三抗体、四抗体、v-NAR和双scFv中。在一些实施方案中,抗体包含如本文所描述的至少一个CDR。

[0165] 在若干实施方案中,本文还提供了单链可变片段。如本文所用,术语“单链可变片段”(“scFv”)应被给予其普通含义,并且还应指融合蛋白,在该融合蛋白中,VL区和VH区经由接头(例如,氨基酸残基的合成序列)接合以形成连续的蛋白质链,其中该接头足够长以允许蛋白质链自身向后折叠并形成单价抗原结合位点。为了清楚起见,除非另外如此指示,否则“单链可变片段”不是如本文所定义的抗体或抗体片段。双抗体是包含两条多肽链的二价抗体,其中每条多肽链包含通过接头接合的VH域和VL域,该接头被配置成减少或不允许同一链上的两个域之间的配对,从而允许每个域与另一条多肽链上的互补域配对。根据若干实施方案,如果双抗体的两条多肽链相同,则通过它们的配对产生的双抗体将具有两个

相同的抗原结合位点。具有不同序列的多肽链可以用于制造具有两个不同抗原结合位点的双抗体。类似地,三抗体和四抗体是分别包含三条和四条多肽链并分别形成三个和四个抗原结合位点的抗体,这些结合位点可以相同或不同。

[0166] 在若干实施方案中,抗原结合蛋白包含一个或多个CDR。如本文所用,术语“CDR”应被给予其普通含义,并且还指抗体可变区序列内的互补决定区(也被称为“最小识别单元”或“高变区”)。CDR允许抗原结合蛋白与感兴趣的特定抗原特异性结合。有三个重链可变区CDR(CDRH1、CDRH2和CDRH3)和三个轻链可变区CDR(CDRL1、CDRL2和CDRL3)。两条链中的每一条中的CDR通常通过构架区对齐,以形成与靶蛋白上的特定表位或域特异性结合的结构。从N末端至C末端,天然存在的轻链可变区和重链可变区二者通常遵循这些元件的以下顺序:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4。已经设计了编号系统以用于为占据这些域中的每一个中的位置的氨基酸分配编号。在Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest (1987和1991,NIH,Bethesda,MD)或Chothia&Lesk,1987,J.Mol.Biol.196:901-917;Chothia et al.,1989,Nature 342:878-883中对这种编号系统进行了定义。可以使用这种系统来鉴定给定抗体的互补决定区(CDR)和构架区(FR)。用于免疫球蛋白链中的氨基酸的其他编号系统包括IMGT®(国际免疫遗传学信息系统(the international ImMunoGeneTics information system);Lefranc et al,Dev.Comp.Immunol.29:185-203;2005)和AHO(Honegger和Pluckthun,J.Mol.Biol.309(3):657-670;2001)。可以将一个或多个CDR共价地或非共价地并入分子中以使其成为抗原结合蛋白。

[0167] 在一些实施方案中,本文提供的抗原结合蛋白包含作为较大多肽链的一部分的一个或多个CDR。在一些实施方案中,抗原结合蛋白将该一个或多个CDR共价地连接至另一多肽链。在一些实施方案中,抗原结合蛋白非共价地合并有该一个或多个CDR。在一些实施方案中,抗原结合蛋白可以包含本文描述的并入生物相容性构架结构中的CDR中的至少一种。在一些实施方案中,生物相容性构架结构包含足以形成构象稳定的结构支持物、或构架、或支架的多肽或其部分,该支持物或构架或支架能够将与抗原(例如,CDR、可变区等)结合的氨基酸序列中的一个或多个显示在局部表面区域中。此类结构可以是天然存在的多肽或多肽“折叠”(结构基序),或者可以具有相对于天然存在的多肽或折叠的一个或多个修饰,如氨基酸的添加、缺失和/或替换。取决于实施方案,支架可以衍生自多个不同物种(或多于一个物种)(如人、非人灵长类动物或其他哺乳动物、其他脊椎动物、无脊椎动物、植物、细菌或病毒)的多肽。

[0168] 取决于实施方案,生物相容性构架结构基于除免疫球蛋白域之外的蛋白质支架或骨架。在一些此类实施方案中,那些构架结构基于纤连蛋白、锚蛋白、脂质运载蛋白、新制癌菌素(neocarzinostatin)、细胞色素b、CP1锌指、PST1、卷曲螺旋、LACI-D1、Z域和/或淀粉酶抑肽域。

[0169] 在一些实施方案中,还提供了具有多于一个结合位点的抗原结合蛋白。在若干实施方案中,结合位点彼此相同,而在若干实施方案中,结合位点彼此不同。例如,抗体通常具有两个相同的结合位点,而“双特异性”或“双功能”抗体具有两个不同的结合位点。双特异性抗原结合蛋白或抗体的两个结合位点将与两个不同的表位结合,这些表位可以位于相同或不同的蛋白质靶标上。在若干实施方案中,这是特别有利的,因为双特异性嵌合抗原受体可以赋予工程化细胞靶向多个肿瘤标志物的能力。例如,本文公开的或本领域中被理解为

肿瘤特异性抗原或肿瘤相关联抗原的CD19和额外肿瘤标志物(如CD123、CD70、Her2、间皮素、密蛋白6、BCMA、EGFR、MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5和ULBP6等)或任何其他标志物都可以被双特异性抗体结合。

[0170] 如本文所用,术语“嵌合抗体”应被给予其普通含义,并且还应指含有来自一种抗体的一个或多个区域和来自一种或多种其他抗体的一个或多个区域的抗体。在一些实施方案中,CDR中的一个或多个衍生自抗癌抗原(例如,CD19、CD123、CD70、Her2、间皮素、PD-L1、密蛋白6、BCMA、EGFR等)抗体。在若干实施方案中,所有CDR均衍生自抗癌抗原抗体(如抗CD19抗体)。在一些实施方案中,将来自多于一种抗癌抗原抗体的CDR在嵌合抗体中进行混合和匹配。举例来说,嵌合抗体可以包含来自第一抗癌抗原抗体的轻链的CDR1、来自第二抗癌抗原抗体的轻链的CDR2和CDR3、以及来自第三抗癌抗原抗体的重链的CDR。进一步地,本文公开的抗原结合蛋白的构架区可以衍生自相同的抗癌抗原(例如,CD19、CD123、CD70、Her2、间皮素、密蛋白6、BCMA、EGFR等)抗体中的一种、衍生自一种或多种不同的抗体(如人抗体)或衍生自人源化抗体。在嵌合抗体的一个实例中,重链和/或轻链的一部分与来自特定物种或属于特定抗体类别或亚类的抗体相同、与其同源或衍生自其,而链的其余部分与来自另一物种或属于另一抗体类别或亚类的一个或多个抗体相同、与其同源或衍生自其。本文还提供了表现出期望生物活性的此类抗体的片段。

[0171] 在一些实施方案中,提供了抗原结合蛋白,其包含与SEQ ID NO:33中所阐述的VH域氨基酸序列具有至少90%同一性的重链可变域。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:33中所阐述的VH域氨基酸序列具有至少95%同一性的重链可变域。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:33中所阐述的VH域氨基酸序列具有至少96、97、98或99%同一性的重链可变域。在若干实施方案中,重链可变域可以具有SEQ ID NO:33中所阐述的VH域氨基酸序列中的一个或多个额外的突变(例如,出于人源化的目的),但保留了与癌抗原(例如,CD19)的特异性结合。在若干实施方案中,重链可变域可以具有SEQ ID NO:33中所阐述的VH域氨基酸序列中的一个或多个额外的突变,但已改善了与癌抗原(例如,CD19)的特异性结合。

[0172] 在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:32中所阐述的VL域氨基酸序列具有至少90%同一性的轻链可变域。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:32中所阐述的VL域氨基酸序列具有至少95%同一性的轻链可变域。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:32中所阐述的VL域氨基酸序列具有至少96、97、98或99%同一性的轻链可变域。在若干实施方案中,轻链可变域可以具有SEQ ID NO:32中所阐述的VL域氨基酸序列中的一个或多个额外的突变(例如,出于人源化的目的),但保留了与癌抗原(例如,CD19)的特异性结合。在若干实施方案中,轻链可变域可以具有SEQ ID NO:32中所阐述的VL域氨基酸序列中的一个或多个额外的突变,但已改善了与癌抗原(例如,CD19)的特异性结合。

[0173] 在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含重链可变域和轻链可变域,该重链可变域与SEQ ID NO:33中所阐述的VH域氨基酸序列具有至少90%同一性,并且该轻链可变域与SEQ ID NO:32中所阐述的VL域氨基酸序列具有至少90%同一性。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含重链可变域和轻链可变域,该重链可变域与SEQ ID NO:33中所阐述的VH域氨基酸序列具有至少95%同一性,并且该轻链可变域与SEQ ID NO:32中所阐述的VL域氨基酸

序列具有至少95%同一性。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含重链可变域和轻链可变域,该重链可变域与SEQ ID NO:33中所阐述的VH域氨基酸序列具有至少96、97、98或99%同一性,并且该轻链可变域与SEQ ID NO:32中所阐述的VL域氨基酸序列具有至少96、97、98或99%同一性。

[0174] 在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含重链可变域和轻链可变域,该重链可变域具有SEQ ID NO:33中所阐述的VH域氨基酸序列,并且该轻链可变域具有SEQ ID NO:32中所阐述的VL域氨基酸序列。在一些实施方案中,轻链可变域包含与SEQ ID NO:32的轻链可变域序列至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,轻链可变域包含与根据SEQ ID NO:33的重链可变域序列至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多相同的氨基酸序列。

[0175] 在一些实施方案中,轻链可变域包含由核苷酸序列编码的氨基酸序列,该核苷酸序列与多核苷酸序列SEQ ID NO:32至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多相同。在一些实施方案中,轻链可变域包含由多核苷酸编码的氨基酸序列,该多核苷酸在中等严格条件下与编码根据SEQ ID NO:32中的序列的轻链可变域的多核苷酸的互补物杂交。在一些实施方案中,轻链可变域包含由多核苷酸编码的氨基酸序列,该多核苷酸在严格条件下与编码根据SEQ ID NO:32中的序列的轻链可变域的多核苷酸的互补物杂交。

[0176] 在一些实施方案中,重链可变域包含与根据SEQ ID NO:33的序列的重链可变域序列至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,重链可变域包含由多核苷酸编码的氨基酸序列,该多核苷酸在中等严格条件下与编码根据SEQ ID NO:33的序列的重链可变域的多核苷酸的互补物杂交。在一些实施方案中,重链可变域包含由多核苷酸编码的氨基酸序列,该多核苷酸在严格条件下与编码根据SEQ ID NO:33的序列的重链可变域的多核苷酸的互补物杂交。

[0177] 在若干实施方案中,提供了额外的抗CD19结合构建体。例如,在若干实施方案中,提供了靶向CD19的scFv,其中该scFv包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:35的序列。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:35中所阐述的HCV域氨基酸序列具有至少95%同一性的重链可变域。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:35中所阐述的HCV域氨基酸序列具有至少96、97、98或99%同一性的重链可变域。在若干实施方案中,重链可变域可以具有SEQ ID NO:35中所阐述的HCV域氨基酸序列中的一个或多个额外的突变(例如,出于人源化的目的),但保留了与癌抗原(例如,CD19)的特异性结合。在若干实施方案中,重链可变域可以具有SEQ ID NO:35中所阐述的HCV域氨基酸序列中的一个或多个额外的突变,但已改善了与癌抗原(例如,CD19)的特异性结合。

[0178] 另外,在若干实施方案中,靶向CD19的scFv包含轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:36的序列。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:36中所阐述的LCV域氨基酸序列具有至少95%同一性的轻链可变域。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:36中所阐述的LCV域氨基酸序列具有至少96、97、98或99%同一性的轻链可变域。在若干实施方案中,轻链可变域可以具有SEQ ID NO:36中所阐述的LCV域氨基酸序列

中的一个或多个额外的突变(例如,出于人源化的目的),但保留了与癌抗原(例如,CD19)的特异性结合。在若干实施方案中,轻链可变域可以具有SEQ ID NO:36中所阐述的LCV域氨基酸序列中的一个或多个额外的突变,但已改善了与癌抗原(例如,CD19)的特异性结合。

[0179] 在若干实施方案中,还提供了包含轻链CDR的抗CD19结合部分,该轻链CDR包含第一、第二和第三互补决定区(分别为LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3)。在若干实施方案中,抗CD19结合部分进一步包含重链CDR,该重链CDR包含第一、第二和第三互补决定区(分别为HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3)。在若干实施方案中,LC CDR1包含SEQ ID NO.37的序列。在若干实施方案中,LC CDR1包含与SEQ NO.37的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。在若干实施方案中,LC CDR2包含SEQ ID NO.38的序列。在若干实施方案中,LC CDR2包含与SEQ NO.38的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。在若干实施方案中,LC CDR3包含SEQ ID NO.39的序列。在若干实施方案中,LC CDR3包含与SEQ NO.39的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。在若干实施方案中,HC CDR1包含SEQ ID NO.40的序列。在若干实施方案中,HC CDR1包含与SEQ NO.40的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。在若干实施方案中,HC CDR2包含SEQ ID NO.41、42或43的序列。在若干实施方案中,HC CDR2包含与SEQ NO.41、42或43的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。在若干实施方案中,HC CDR3包含SEQ ID NO.44的序列。在若干实施方案中,HC CDR3包含与SEQ NO.44的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。

[0180] 在若干实施方案中,还提供了包含轻链可变区(VL)和重链可变区(HL)的抗CD19结合部分,该VL区包含第一、第二和第三互补决定区(分别为VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3),并且该VH区包含第一、第二和第三互补决定区(分别为VH CDR1、VH CDR2和VH CDR3)。在若干实施方案中,VL区包含SEQ ID NO.45、46、47或48的序列。在若干实施方案中,VL区包含与SEQ NO.45、46、47或48的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。在若干实施方案中,VH区包含SEQ ID NO.49、50、51或52的序列。在若干实施方案中,VH区包含与SEQ NO.49、50、51或52的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。

[0181] 在若干实施方案中,还提供了包含轻链CDR的抗CD19结合部分,该轻链CDR包含第一、第二和第三互补决定区(分别为LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3)。在若干实施方案中,抗CD19结合部分进一步包含重链CDR,该重链CDR包含第一、第二和第三互补决定区(分别为HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3)。在若干实施方案中,LC CDR1包含SEQ ID NO.53的序列。在若干实施方案中,LC CDR1包含与SEQ NO.53的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。在若干实施方案中,LC CDR2包含SEQ ID NO.54的序列。在若干实施方案中,LC CDR2包含与SEQ NO.54的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。在若干实施方案中,LC CDR3包含SEQ ID NO.55的序列。在若干实施方案中,LC CDR3包含与SEQ NO.55的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。在若干实施方案中,HC CDR1包含SEQ ID NO.56的序列。在若干实施方案中,HC CDR1包含与SEQ NO.56的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。在若干实施方案中,HC CDR2包含SEQ ID NO.57的序列。在若干实施方案

中,HC CDR2包含与SEQ NO.57的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。在若干实施方案中,HC CDR3包含SEQ ID NO.58的序列。在若干实施方案中,HC CDR3包含与SEQ NO.58的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。

[0182] 在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含重链可变区,其包含SEQ ID NO:104的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:104中所阐述的VH域氨基酸序列具有至少90%同一性的重链可变区。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:104中所阐述的VH域氨基酸序列具有至少95%序列同一性的重链可变域。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:104中所阐述的VH域氨基酸序列具有至少96、97、98或99%序列同一性的重链可变域。在若干实施方案中,重链可变域可以具有SEQ ID NO:104中所阐述的VH域氨基酸序列中的一个或多个额外的突变(例如,出于人源化的目的),但保留了与癌抗原(例如,CD19)的特异性结合。在若干实施方案中,重链可变域可以具有SEQ ID NO:104中所阐述的VH域氨基酸序列中的一个或多个额外的突变,但已改善了与癌抗原(例如,CD19)的特异性结合。

[0183] 在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含轻链可变区,其包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:105中所阐述的VL域氨基酸序列具有至少90%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:105中所阐述的VL域氨基酸序列具有至少95%序列同一性的轻链可变域。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:105中所阐述的VL域氨基酸序列具有至少96、97、98或99%序列同一性的轻链可变域。在若干实施方案中,轻链可变域可以具有SEQ ID NO:105中所阐述的VL域氨基酸序列中的一个或多个额外的突变(例如,出于人源化的目的),但保留了与癌抗原(例如,CD19)的特异性结合。在若干实施方案中,轻链可变域可以具有SEQ ID NO:105中所阐述的VL域氨基酸序列中的一个或多个额外的突变,但已改善了与癌抗原(例如,CD19)的特异性结合。

[0184] 在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含重链可变域和轻链可变域,该重链可变域具有SEQ ID NO:104中所阐述的VH域氨基酸序列,并且该轻链可变域具有SEQ ID NO:105中所阐述的VL域氨基酸序列。在一些实施方案中,轻链可变域包含与SEQ ID NO:105的轻链可变域序列至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,重链可变域包含与根据SEQ ID NO:104的重链可变域序列至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多相同的氨基酸序列。

[0185] 在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含重链可变区,其包含SEQ ID NO:106的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:106中所阐述的VH氨基酸序列具有至少90%序列同一性的重链可变区。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:106中所阐述的VH氨基酸序列具有至少95%序列同一性的重链可变域。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:106中所阐述的VH氨基酸序列具有至少96、97、98或99%同一性的重链可变域。在若干实施方案中,重链可变域可以具有SEQ ID NO:106中所阐述的VH氨基酸序列中的一个或多个额外的突变(例如,出于人源化的目的),但保留了与癌抗原(例如,CD19)的特异性结合。在若干实施方案中,重链可变域可以具有SEQ ID NO:106

中所阐述的VH氨基酸序列中的一个或多个额外的突变,但已改善了与癌抗原(例如,CD19)的特异性结合。

[0186] 在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含轻链可变区,其包含SEQ ID NO:107的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:107中所阐述的VL氨基酸序列具有至少90%序列同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:107中所阐述的VL氨基酸序列具有至少95%序列同一性的轻链可变域。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:107中所阐述的VL氨基酸序列具有至少96、97、98或99%同一性的轻链可变域。在若干实施方案中,轻链可变域可以具有SEQ ID NO:107中所阐述的VL氨基酸序列中的一个或多个额外的突变(例如,出于人源化的目的),但保留了与癌抗原(例如,CD19)的特异性结合。在若干实施方案中,轻链可变域可以具有SEQ ID NO:107中所阐述的VL氨基酸序列中的一个或多个额外的突变,但已改善了与癌抗原(例如,CD19)的特异性结合。

[0187] 在若干实施方案中,还提供了包含轻链CDR的抗CD19结合部分,该轻链CDR包含第一、第二和第三互补决定区(分别为LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3)。在若干实施方案中,抗CD19结合部分进一步包含重链CDR,该重链CDR包含第一、第二和第三互补决定区(分别为HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3)。在若干实施方案中,LC CDR1包含SEQ ID NO.108的序列。在若干实施方案中,LC CDR1包含与SEQ NO.108的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。在若干实施方案中,LC CDR2包含SEQ ID NO.109的序列。在若干实施方案中,LC CDR2包含与SEQ NO.109的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。在若干实施方案中,LC CDR3包含SEQ ID NO.110的序列。在若干实施方案中,LC CDR3包含与SEQ NO.110的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。在若干实施方案中,HC CDR1包含SEQ ID NO.111的序列。在若干实施方案中,HC CDR1包含与SEQ NO.111的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。在若干实施方案中,HC CDR2包含SEQ ID NO.112、113或114的序列。在若干实施方案中,HC CDR2包含与SEQ NO.112、113或114的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。在若干实施方案中,HC CDR3包含SEQ ID NO.115的序列。在若干实施方案中,HC CDR3包含与SEQ NO.115的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。在若干实施方案中,抗CD19结合部分包含SEQ ID NO:116,或者是与SEQ ID NO:116的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的序列。

[0188] 在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含轻链可变区,其包含SEQ ID NO:117、118或119的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:117、118或119中所阐述的VL氨基酸序列具有至少90%同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:117、118或119中所阐述的VL氨基酸序列具有至少95%同一性的轻链可变域。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:117、118或119中所阐述的VL氨基酸序列具有至少96、97、98或99%同一性的轻链可变域。在若干实施方案中,轻链可变域可以具有SEQ ID NO:117、118或119中所阐述的VL氨基酸序列中的一个或多个额外的突变(例如,出于人源化的目的),但保留了与癌抗原(例如,CD19)的特异性结合。在若干实施方案中,轻链可变域可以具有SEQ ID NO:117、118或119中所阐述的VL氨基酸序列中的一

个或多个额外的突变,但已改善了与癌抗原(例如,CD19)的特异性结合。

[0189] 在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含重链可变区,其包含SEQ ID NO:120、121、122或123的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:120、121、122或123中所阐述的VH氨基酸序列具有至少90%同一性的重链可变区。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:120、121、122或123中所阐述的VH氨基酸序列具有至少95%同一性的重链可变域。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:120、121、122或123中所阐述的VH氨基酸序列具有至少96、97、98或99%同一性的重链可变域。在若干实施方案中,重链可变域可以具有SEQ ID NO:120、121、122或123中所阐述的VH氨基酸序列中的一个或多个额外的突变(例如,出于人源化的目的),但保留了与癌抗原(例如,CD19)的特异性结合。在若干实施方案中,重链可变域可以具有SEQ ID NO:120、121、122或123中所阐述的VH氨基酸序列中的一个或多个额外的突变,但已改善了与癌抗原(例如,CD19)的特异性结合。

[0190] 在若干实施方案中,还提供了包含轻链CDR的抗CD19结合部分,该轻链CDR包含第一、第二和第三互补决定区(分别为LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3)。在若干实施方案中,抗CD19结合部分进一步包含重链CDR,该重链CDR包含第一、第二和第三互补决定区(分别为HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3)。在若干实施方案中,LC CDR1包含SEQ ID NO.124、127或130的序列。在若干实施方案中,LC CDR1包含与SEQ NO.124、127或130的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。在若干实施方案中,LC CDR2包含SEQ ID NO.125、128或131的序列。在若干实施方案中,LC CDR2包含与SEQ NO.125、128或131的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。在若干实施方案中,LC CDR3包含SEQ ID NO.126、129或132的序列。在若干实施方案中,LC CDR3包含与SEQ NO.126、129或132的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。在若干实施方案中,HC CDR1包含SEQ ID NO.133、136、139或142的序列。在若干实施方案中,HC CDR1包含与SEQ NO.133、136、139或142的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。在若干实施方案中,HC CDR2包含SEQ ID NO.134、137、140或143的序列。在若干实施方案中,HC CDR2包含与SEQ NO.134、137、140或143的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。在若干实施方案中,HC CDR3包含SEQ ID NO.135、138、141或144的序列。在若干实施方案中,HC CDR3包含与SEQ NO.135、138、141或144的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。

[0191] 本领域已知额外的抗CD19结合部分,如公开在例如美国专利公布号8,399,645、美国专利公布号2018/0153977、美国专利公布号2014/0271635、美国专利公布号2018/0251514和美国专利公布号2018/0312588中的那些,这些专利中的每一个的全部内容均通过引用并入本文。

[0192] 若干实施方案涉及针对密蛋白6的CAR,并且示出了与密蛋白3、4或9(或其他密蛋白)很少或没有结合。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含重链可变区,其包含SEQ ID NO:88的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:88中所阐述的VH氨基酸序列具有至少90%同一性的重链可变区。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:88中所阐述的VH氨基酸序列具有至少95%同一性的重链可变域。在一些实施方

案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:88中所阐述的VH氨基酸序列具有至少96、97、98或99%同一性的重链可变域。在若干实施方案中,重链可变域可以具有SEQ ID NO:88中所阐述的VH氨基酸序列中的一个或多个额外的突变(例如,出于人源化的目的),但保留了与癌抗原(例如,CLDN6)的特异性结合。在若干实施方案中,重链可变域可以具有SEQ ID NO:88中所阐述的VH氨基酸序列中的一个或多个额外的突变,但已改善了与癌抗原(例如,CLDN6)的特异性结合。

[0193] 在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含轻链可变区,其包含SEQ ID NO:89、90或91的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:89、90或91中所阐述的VL氨基酸序列具有至少90%同一性的轻链可变区。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:89、90或91中所阐述的VL氨基酸序列具有至少95%同一性的轻链可变域。在一些实施方案中,抗原结合蛋白包含与SEQ ID NO:89、90或91中所阐述的VL氨基酸序列具有至少96、97、98或99%同一性的轻链可变域。在若干实施方案中,轻链可变域可以具有SEQ ID NO:89、90或91中所阐述的VL氨基酸序列中的一个或多个额外的突变(例如,出于人源化的目的),但保留了与癌抗原(例如,CLDN6)的特异性结合。在若干实施方案中,轻链可变域可以具有SEQ ID NO:89、90或91中所阐述的VL氨基酸序列中的一个或多个额外的突变,但已改善了与癌抗原(例如,CLDN6)的特异性结合。

[0194] 在若干实施方案中,还提供了包含轻链CDR的抗CLDN6结合部分,该轻链CDR包含第一、第二和第三互补决定区(分别为LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3)。在若干实施方案中,抗CD19结合部分进一步包含重链CDR,该重链CDR包含第一、第二和第三互补决定区(分别为HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3)。在若干实施方案中,LC CDR1包含SEQ ID NO.95、98或101的序列。在若干实施方案中,LC CDR1包含与SEQ NO.95、98或101的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。在若干实施方案中,LC CDR2包含SEQ ID NO.96、99或102的序列。在若干实施方案中,LC CDR2包含与SEQ NO.96、99或102的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。在若干实施方案中,LC CDR3包含SEQ ID NO.97、100或103的序列。在若干实施方案中,LC CDR3包含与SEQ NO.97、100或103的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。在若干实施方案中,HC CDR1包含SEQ ID NO.92的序列。在若干实施方案中,HC CDR1包含与SEQ NO.92的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。在若干实施方案中,HC CDR2包含SEQ ID NO.93的序列。在若干实施方案中,HC CDR2包含与SEQ NO.93的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。在若干实施方案中,HC CDR3包含SEQ ID NO.94的序列。在若干实施方案中,HC CDR3包含与SEQ NO.94的序列具有至少约85%、约90%、约95%或约98%序列同一性的氨基酸序列。在若干实施方案中,抗原结合蛋白不结合除CLDN6之外的密蛋白。

[0195] 结合肿瘤配体的自然杀伤组域

[0196] 在若干实施方案中,工程化免疫细胞(如NK细胞)因其识别和破坏肿瘤细胞的能力而被利用。例如,工程化NK细胞可以包括CD19导向的嵌合抗原受体或编码所述嵌合抗原受体(或针对例如CD123、CD70、Her2、间皮素、密蛋白6、BCMA、EGFR等中的一种或多种的CAR)的核酸。NK细胞在细胞表面上表达抑制性受体和活化性受体二者。抑制性受体结合在健康细胞表面上表达的自身分子(从而防止对抗“自身”细胞的免疫应答),而活化性受体结合在异

常细胞(如肿瘤细胞)上表达的配体。当抑制性受体活化与活化性受体活化之间的平衡有利于活化性受体时,NK细胞活化发生,并且靶(例如,肿瘤)细胞被裂解。

[0197] 自然杀伤组2成员D (NKG2D) 是一种NK细胞活化性受体,其可识别在细胞上表达的多种配体。各种NKG2D配体的表面表达在健康细胞中通常较低,但在例如恶性转化时上调。由NKG2D识别的配体的非限制性实例包括但不限于MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5和ULBP6,以及在靶细胞上表达的控制NK细胞的细胞溶解或细胞毒性功能的其他分子。在若干实施方案中,T细胞经工程化改造以表达细胞外域以与一种或多种肿瘤配体结合并活化性T细胞。例如,在若干实施方案中,T细胞经工程化改造以将NKG2D受体表达为结合剂/活化性部分。在若干实施方案中,如本文所公开的工程细胞经工程化改造以表达NKG2家族的另一成员,例如,NKG2A、NKG2C和/或NKG2E。在一些实施方案中,对此类受体的组合进行工程化改造。此外,在若干实施方案中,表达了其他受体,如杀伤细胞免疫球蛋白样受体(KIR)。

[0198] 在若干实施方案中,细胞经工程化改造以将包含全长NKG2D的细胞毒性受体复合物表达为细胞外组分,以识别肿瘤细胞(例如,肝细胞)表面上的配体。在一个实施方案中,全长NKG2D具有SEQ ID NO:27的核酸序列。在若干实施方案中,全长NKG2D或其功能片段是人NKG2D。关于用于当前公开的方法和组合物的嵌合受体的额外信息可以见于PCT专利公布号WO/2018/183385,其通过引用以其整体并入本文。

[0199] 在若干实施方案中,细胞经工程化改造以将包含全长NKG2D的功能片段的细胞毒性受体复合物表达为细胞外组分,以识别肿瘤细胞其他患病细胞表面上的配体。在一个实施方案中,NKG2D的功能片段具有SEQ ID NO:25的核酸序列。在若干实施方案中,NKG2D的片段与全长野生型NKG2D至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%同源。在若干实施方案中,该片段可以具有来自SEQ ID NO:25的一个或多个额外的突变,但保留或在一些实施方案中增强了配体结合功能。在若干实施方案中,NKG2D的功能片段包含SEQ ID NO:26的核酸序列。在若干实施方案中,NKG2D片段以二聚体、三聚体或其他多联体形式提供,此类实施方案提供增强的配体结合活性。在若干实施方案中,对编码NKG2D片段的序列任选地进行完全或部分密码子优化。在一个实施方案中,编码密码子优化的NKG2D片段的序列包含SEQ ID NO:28的序列。有利地,根据若干实施方案,功能片段缺乏其天然跨膜域或细胞内域,但保留了其结合NKG2D的配体以及在配体结合时转导活化信号的能力。此种片段的进一步优点是,表达DAP10以将NKG2D定位至细胞膜是不需要的。因此,在若干实施方案中,由本文公开的多肽编码的细胞毒性受体复合物不包含DAP10。在若干实施方案中,免疫细胞(如NK或T细胞(例如,根据本文公开的实例方案经工程化改造的非同种异体反应性T细胞))经工程化改造以表达一种或多种嵌合受体,该一种或多种嵌合受体靶向例如CD19、CD123、CD70、Her2、间皮素、密蛋白6、BCMA、EGFR和NKG2D配体,如MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5和/或ULBP6。在若干实施方案中,此类细胞还共表达mbIL15。

[0200] 在若干实施方案中,配置细胞毒性受体复合物以成为二聚物。取决于实施方案,二聚化可以包括同二聚体或异二聚体。在若干实施方案中,二聚化导致细胞毒性受体复合物(并因此表达受体的NK细胞)对配体的识别改善,从而导致不利毒性作用的减少(或缺乏)。在若干实施方案中,细胞毒性受体复合物采用内部二聚体或者一种或多种组分亚单位的重复。例如,在若干实施方案中,细胞毒性受体复合物可以任选地包含与第二NKG2D细胞外域

偶联的第一NKG2D细胞外域以及跨膜/信号传导区(或单独的跨膜区以及单独的信号传导区)。

[0201] 在若干实施方案中,各种域/亚域通过接头分开,如使用GS3接头(SEQ ID NO:15和16,分别为核苷酸和蛋白质)(或GSn接头)。根据本文公开的各种实施方案使用的其他接头包括但不限于由SEQ ID NO:17、19、21或23编码的那些。这提供了沿着多核苷酸分开受体复合物的各个组分部分的潜力,从而可以增强受体复合物的表达、稳定性和/或功能性。

[0202] 细胞毒性信号传导复合物

[0203] 本文描述的组合物和方法的一些实施方案涉及包括细胞毒性信号传导复合物的嵌合受体,如嵌合抗原受体(例如,针对CD19、CD123、CD70、Her2、间皮素、密蛋白6、BCMA或EGFR(等)的CAR,或针对NKG2D配体(如MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5和/或ULBP6)的嵌合受体)。如本文所公开的,根据若干实施方案,所提供的细胞毒性受体复合物包含一个或多个跨膜和/或细胞内域,其在细胞外域与靶细胞表面上的配体结合时启动细胞毒性信号传导级联反应。

[0204] 在若干实施方案中,细胞毒性信号传导复合物包含至少一个跨膜域、至少一个共刺激域和/或至少一个信号传导域。在一些实施方案中,多于一个组分部分构成给定域,例如,共刺激域可以包含两个亚域。此外,在一些实施方案中,域可以提供多种功能,例如,跨膜域还可以用来提供信号传导功能。

[0205] 跨膜域

[0206] 本文描述的组合物和方法的一些实施方案涉及包含跨膜域的嵌合受体(例如,肿瘤抗原导向的CAR和/或配体导向的嵌合受体)。一些实施方案包括来自NKG2D或另一跨膜蛋白的跨膜域。在其中采用跨膜域的若干实施方案中,所采用的跨膜蛋白部分保留了其正常跨膜域的至少一部分。

[0207] 然而,在若干实施方案中,跨膜域包含CD8的至少一部分,该CD8是一种在T细胞和NK细胞二者上正常表达的跨膜糖蛋白。在若干实施方案中,跨膜域包含CD8 α 。在若干实施方案中,跨膜域被称为“铰链”。在若干实施方案中,CD8 α 的“铰链”具有SEQ ID NO:1的核酸序列。在若干实施方案中,CD8 α 铰链被截短或修饰,并且与具有SEQ ID NO:1的序列的CD8 α 至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%同源。在若干实施方案中,CD8 α 的“铰链”包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列。在若干实施方案中,CD8 α 可以被截短或修饰,使得其与SEQ ID NO:2的序列至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%同源。

[0208] 在若干实施方案中,跨膜域包含CD8 α 跨膜区。在若干实施方案中,CD8 α 跨膜域具有SEQ ID NO:3的核酸序列。在若干实施方案中,CD8 α 铰链被截短或修饰,并且与具有SEQ ID NO:3的序列的CD8 α 至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%同源。在若干实施方案中,CD8 α 跨膜域包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列。在若干实施方案中,CD8 α 铰链被截短或修饰,并且与具有SEQ ID NO:4的序列的CD8 α 至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%同源。

[0209] 综合而言,在若干实施方案中,CD8铰链/跨膜复合物由SEQ ID NO:13的核酸序列编码。在若干实施方案中,CD8铰链/跨膜复合物被截短或修饰,并且与具有SEQ ID NO:13的序列的CD8铰链/跨膜复合物至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%

同源。在若干实施方案中,CD8铰链/跨膜复合物包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列。在若干实施方案中,CD8铰链/跨膜复合物铰链被截短或修饰,并且与具有SEQ ID NO:14的序列的CD8铰链/跨膜复合物至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%同源。

[0210] 在一些实施方案中,跨膜域包含CD28跨膜域或其片段。在若干实施方案中,CD28跨膜域包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列。在若干实施方案中,CD28跨膜域复合物铰链被截短或修饰,并且与具有SEQ ID NO:30的序列的CD28跨膜域至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%同源。

[0211] 共刺激域

[0212] 本文描述的组合物和方法的一些实施方案涉及包含共刺激域的嵌合受体(例如,肿瘤抗原导向的CAR和/或肿瘤配体导向的嵌合受体)。在若干实施方案中,除了各种跨膜域和信号传导域(以及组合跨膜/信号传导域),还可以提供额外的共活化分子。例如,这些可以是某些例如进一步增强免疫细胞的活性的分子。在一些实施方案中,可以使用细胞因子。例如,使用某些白介素,如作为非限制性实例的IL-2和/或IL-15。在一些实施方案中,用于疗法的免疫细胞经工程化改造以将此类分子表达为分泌型。在额外的实施方案中,此类共刺激域经工程化改造成膜结合的,从而充当自分泌刺激分子(或甚至充当针对相邻细胞的旁分泌刺激物)。在若干实施方案中,NK细胞经工程化改造以表达膜结合型白介素15(mbIL15)。在此类实施方案中,NK上的mbIL15表达通过增强NK细胞的增殖和/或寿命来增强工程化NK细胞的细胞毒性作用。在若干实施方案中,T细胞(如本文公开的遗传工程化非同种异体反应性T细胞)经工程化改造以表达膜结合型白介素15(mbIL15)。在此类实施方案中,T细胞上的mbIL15表达通过增强工程化T细胞的活性和/或繁殖(例如,寿命)来增强工程化T细胞的细胞毒性作用。在若干实施方案中,mbIL15具有SEQ ID NO:11的核酸序列。在若干实施方案中,mbIL15可以被截短或修饰,使得其与SEQ ID NO:11的序列至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%同源。在若干实施方案中,mbIL15包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列。在若干实施方案中,mbIL15被截短或修饰,并且与具有SEQ ID NO:12的序列的mbIL15至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%同源。

[0213] 在一些实施方案中,肿瘤抗原导向的CAR和/或肿瘤配体导向的嵌合受体由多核苷酸编码,该多核苷酸包括一个或多个胞质蛋白酶切割位点,例如T2A切割位点、P2A切割位点、E2A切割位点和/或F2A切割位点。此类位点被胞质蛋白酶识别并切割,这可能导致由多核苷酸编码的受体的各个组分部分的分开(和单独表达)。结果,取决于实施方案,可以在单个载体中或通过多个载体,将工程化细胞毒性受体复合物的各个成分部分递送至NK细胞或T细胞。因此,如图中示意性所示,构建体可以由单个多核苷酸编码,而且包括切割位点,使得构建体的下游元件由细胞表达为单独的蛋白质(如在一些实施方案中使用IL-15的情况一样)。在若干实施方案中,使用T2A切割位点。在若干实施方案中,T2A切割位点具有SEQ ID NO:9的核酸序列。在若干实施方案中,T2A切割位点可以被截短或修饰,使得其与SEQ ID NO:9的序列至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%同源。在若干实施方案中,T2A切割位点包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列。在若干实施方案中,T2A切割位点被截短或修饰,并且与具有SEQ ID NO:10的序列的T2A切割位点至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%同源。

[0214] 信号传导域

[0215] 本文描述的组合物和方法的一些实施方案涉及包括信号传导域的嵌合受体(例如,肿瘤抗原导向的CAR和/或肿瘤配体导向的嵌合受体)。例如,根据本文公开的若干实施方案工程化的免疫细胞可以包含CD3 T细胞受体复合物(或其片段)的至少一个亚单位。在若干实施方案中,信号传导域包含CD3 ζ 亚单位。在若干实施方案中,CD3 ζ 由SEQ ID NO:7的核酸序列编码。在若干实施方案中,CD3 ζ 可以被截短或修饰,使得其与具有SEQ ID NO:7的序列的CD3 ζ 至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%同源。在若干实施方案中,CD3 ζ 域包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。在若干实施方案中,CD3 ζ 域被截短或修饰,并且与具有SEQ ID NO:8的序列的CD3 ζ 域至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%同源。

[0216] 在若干实施方案中,通过使用其活动协同作用的多个信号传导域来实现出乎意料增强的信号传导。例如,在若干实施方案中,信号传导域进一步包含OX40域。在若干实施方案中,OX40域是细胞内信号传导域。在若干实施方案中,OX40细胞内信号传导域具有SEQ ID NO:5的核酸序列。在若干实施方案中,OX40细胞内信号传导域可以被截短或修饰,使得其与具有SEQ ID NO:5的序列的OX40至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%同源。在若干实施方案中,OX40细胞内信号传导域包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列。在若干实施方案中,OX40细胞内信号传导域被截短或修饰,并且与具有SEQ ID NO:6的序列的OX40细胞内信号传导域至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%同源。在若干实施方案中,OX40用作构建体中唯一的跨膜/信号传导域,然而,在若干实施方案中,OX40可以与一个或多个其他域一起使用。例如,在一些实施方案中,使用OX40和CD3 ζ 的组合。作为进一步的实例,在一些实施方案中,使用CD28、OX40、4-1BB和/或CD3 ζ 的组合。

[0217] 在若干实施方案中,信号传导域包含4-1BB域。在若干实施方案中,4-1BB域是细胞内信号传导域。在若干实施方案中,4-1BB细胞内信号传导域包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列。在若干实施方案中,4-1BB细胞内信号传导域被截短或修饰,并且与具有SEQ ID NO:29的序列的4-1BB细胞内信号传导域至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%同源。在若干实施方案中,4-1BB用作构建体中唯一的跨膜/信号传导域,然而,在若干实施方案中,4-1BB可以与一个或多个其他域一起使用。例如,在一些实施方案中,使用4-1BB和CD3 ζ 的组合。作为进一步的实例,在一些实施方案中,使用CD28、OX40、4-1BB和/或CD3 ζ 的组合。

[0218] 在若干实施方案中,信号传导域包含CD28域。在若干实施方案中,CD28域是细胞内信号传导域。在若干实施方案中,CD28细胞内信号传导域包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列。在若干实施方案中,CD28细胞内信号传导域被截短或修饰,并且与具有SEQ ID NO:31的序列的CD28细胞内信号传导域至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%同源。在若干实施方案中,CD28用作构建体中唯一的跨膜/信号传导域,然而,在若干实施方案中,CD28可以与一个或多个其他域一起使用。例如,在一些实施方案中,使用CD28和CD3 ζ 的组合。作为进一步的实例,在一些实施方案中,使用CD28、OX40、4-1BB和/或CD3 ζ 的组合。

[0219] 细胞毒性受体复合物构建体

[0220] 本文描述的组合物和方法的一些实施方案涉及嵌合抗原受体(如CD19导向的嵌合受体)以及嵌合受体(如靶向NKG2D的配体的活化性嵌合受体(ACR))。这些细胞毒性受体复合物在免疫细胞(如经遗传修饰的非同种异体反应性T细胞和/或NK细胞)中的表达允许靶

向和破坏特定的靶细胞,如癌性细胞。下文更详细地讨论此类细胞毒性受体复合物的非限制性实例。

[0221] 嵌合抗原受体细胞毒性受体复合物构建体

[0222] 在若干实施方案中,本文提供了多种具有嵌合抗原受体的一般结构的细胞毒性受体复合物(也被称为细胞毒性受体)。图1至7示意性地描绘了包括肿瘤结合部分的构建体的非限制性示意图,该肿瘤结合部分与在癌细胞表面上表达的肿瘤抗原或肿瘤相关联抗原结合并活化表达嵌合抗原受体的工程化细胞。图6示出了嵌合受体复合物的示意图,其中NKG2D活化性嵌合受体作为非限制性实例(参见NKG2D ACRa和ACRb)。图6示出了双特异性CAR/嵌合受体复合物的示意图,其中NKG2D活化性嵌合受体作为非限制性实例(参见双特异性CAR/ACRa和CAR/ACRb)。

[0223] 如这些图所示,嵌合受体的若干实施方案包括抗肿瘤结合剂、CD8a铰链域、Ig4 SH域(或铰链)、CD8a跨膜域、CD28跨膜域、OX40域、4-1BB域、CD28域、CD3 ζ ITAM域或亚域、CD3 ζ 域、Nkp80域、CD16 IC域、2A切割位点和膜结合型IL-15域(然而如上所述,在若干实施方案中,使用可溶性IL-15)。在若干实施方案中,结合和活化功能经工程化改造以由单独的域执行。若干实施方案涉及具有多于一个肿瘤结合剂部分或其他结合剂/活化部分的复合物。在一些实施方案中,除靶向CD19之外,结合剂/活化部分还靶向其他标志物,如本文描述的癌症靶标。例如,图6和图7描绘了靶向不同抗原(如CD123、CLDN6、BCMA、HER2、CD70、间皮素、PD-L1和EGFR)的CAR构建体的非限制性示例的示意图。在若干实施方案中,嵌合抗原受体构建体的一般结构包括铰链和/或跨膜域。在一些实施方案中,这些可以由单域来实现,或在若干实施方案中,可以使用多个亚域。受体复合物进一步包含信号传导域,其在归巢部分与靶细胞结合之后转导信号,最终导致对靶细胞的细胞毒性作用。在若干实施方案中,复合物进一步包含共刺激域,其在若干实施方案中协同地操作以增强信号传导域的功能。这些复合物在免疫细胞(如T细胞和/或NK细胞)中的表达允许靶向和破坏特定的靶细胞,如表达给定肿瘤标志物的癌性细胞。一些此类受体复合物包含细胞外域,该细胞外域包含抗CD19部分或CD19结合部分,该抗CD19部分结合靶细胞表面上的CD19并且活化工程化细胞。CD3 ζ ITAM亚域可以协同地充当信号传导域。IL-15域(例如,mbIL-15域)可以充当共刺激域。IL-15域(例如,mbIL-15域)可以使表达其的免疫细胞(例如,NK或T细胞)对靶肿瘤细胞特别有效。应当理解,根据若干实施方案,IL-15域(如mbIL-15域)可以被编码在单独的构建体上。另外,组分中的每一个都可以被编码在一个或多个单独的构建体中。在一些实施方案中,细胞毒性受体或CD19导向的受体包含与SEQ ID NO:34的序列至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多或由上述百分比中的任何两个定义的范围相同的氨基酸序列。

[0224] 取决于实施方案,可以使用各种结合剂来靶向CD19。在若干实施方案中,使用肽结合剂,而在一些实施方案中,使用抗体或其片段。在使用抗体的若干实施方案中,抗体序列被优化、人源化或者以其他方式从其天然形式进行操作或突变,以便增加抗体或片段的稳定性、亲和力、亲合力或其他特征中的一种或多种。在若干实施方案中,提供了对CD19具有特异性的抗体。在若干实施方案中,提供了对CD19具有特异性的scFv。在若干实施方案中,对CD19具有特异性的抗体或scFv包含重链可变域,其包含SEQ ID NO:104或106的氨基酸序列。在一些实施方案中,该重链可变域包含与SEQ ID NO:104或106的序列至少70%、75%、

80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,该重链可变域包含由多核苷酸编码的氨基酸序列,该多核苷酸在中等严格条件下与编码SEQ ID NO:104或106的重链可变域的多核苷酸的互补物杂交。在一些实施方案中,该重链可变域包含由多核苷酸编码的氨基酸序列,该多核苷酸在严格条件下与编码SEQ ID NO:104或106的重链可变域的多核苷酸的互补物杂交。

[0225] 在若干实施方案中,对CD19具有特异性的抗体或scFv包含轻链可变域,其包含SEQ ID NO.105或107中的任何一个的氨基酸序列。在若干实施方案中,该轻链可变域包含由核苷酸序列编码的氨基酸序列,该核苷酸序列与SEQ ID NO.105或107的序列至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多相同。在一些实施方案中,该轻链可变域包含由多核苷酸编码的氨基酸序列,该多核苷酸在中等严格条件下与编码SEQ ID NO.105或107的轻链可变域的多核苷酸的互补物杂交。在一些实施方案中,该轻链可变域包含由多核苷酸编码的氨基酸序列,该多核苷酸在严格条件下与编码SEQ ID NO.105或107的轻链可变域的多核苷酸的互补物杂交。

[0226] 在若干实施方案中,抗CD19抗体或scFv包含一个、两个或三个重链互补决定区(CDR)和一个、两个或三个轻链CDR。在若干实施方案中,第一重链CDR具有SEQ ID NO:111的氨基酸序列。在一些实施方案中,第一重链CDR包含与SEQ ID NO.111的序列至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多相同的氨基酸序列。在若干实施方案中,第二重链CDR具有SEQ ID NO:112、113或114的氨基酸序列。在一些实施方案中,第二重链CDR包含与SEQ ID NO.112、113或114的序列至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多相同的氨基酸序列。在若干实施方案中,第三重链CDR具有SEQ ID NO:115的氨基酸序列。在一些实施方案中,第三重链CDR包含与SEQ ID NO.115的序列至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多相同的氨基酸序列。

[0227] 在若干实施方案中,第一轻链CDR具有SEQ ID NO:108的氨基酸序列。在一些实施方案中,第一轻链CDR包含与SEQ ID NO.108的序列至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多相同的氨基酸序列。在若干实施方案中,第二轻链CDR具有SEQ ID NO:109的氨基酸序列。在一些实施方案中,第二轻链CDR包含与SEQ ID NO.109的序列至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多相同的氨基酸序列。在若干实施方案中,第三轻链CDR具有SEQ ID NO:110的氨基酸序列。在一些实施方案中,第三轻链CDR包含与SEQ ID NO.110的序列至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多相同的氨基酸序列。

[0228] 在若干实施方案中,提供了包含SEQ ID NO.116的氨基酸序列的抗CD19 CAR。在一些实施方案中,提供了包含与SEQ ID NO.116的序列至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多相同的氨基酸序列的抗CD19 CAR。

[0229] 在一个实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/CD8铰链-CD8TM/OX40/CD3ζ嵌合抗原受体复合物(参见图1,CAR1c)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、CD8a铰链、CD8a跨膜域、OX40域和CD3ζ域。在若干实施方案中,这种受

体复合物由包含从本文公开的序列的组合获得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组合获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0230] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/CD8铰链-CD8TM/OX40/CD3ζ/2A/mIL-15嵌合抗原受体复合物(参见图1,CAR 1d)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、CD8a铰链、CD8a跨膜域、OX40域、CD3ζ域、2A切割位点和mIL-15域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组合获得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组合获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0231] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/Ig4SH-CD8TM/4-1BB/CD3ζ嵌合抗原受体复合物(参见图4,CAR4a)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、Ig4 SH域、CD8a跨膜域、4-1BB域和CD3ζ域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组合获得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组合获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0232] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/Ig4SH-CD8TM/4-1BB/CD3ζ/2A/mIL-15嵌合抗原受体复合物(参见图4,CAR4b)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、Ig4 SH域、CD8a跨膜域、4-1BB域、CD3ζ域、2A切割位点和mIL-15域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组合获得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组合获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约

90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0233] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/CD8铰链-CD28TM/CD28/CD3 ζ 嵌合抗原受体复合物(参见图1,CAR1e)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、CD8a铰链、CD28跨膜域、CD28域和CD3 ζ 域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组合获得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组合获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组合一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0234] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/CD8铰链-CD28TM/CD28/CD3 ζ /2A/mIL-15嵌合抗原受体复合物(参见图1,CAR1f)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、CD8a铰链、CD28跨膜域、CD28域、CD3 ζ 域、2A切割位点和mIL-15域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组合获得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组合获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组合一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0235] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/Ig4SH-CD28TM/CD28/CD3 ζ 嵌合抗原受体复合物(参见图2,CAR2i)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、Ig4 SH域、CD28跨膜域、CD28域和CD3 ζ 域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组合获得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组合获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组合一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0236] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/Ig4SH-CD28TM/CD28/CD3 ζ /2A/mIL-

15嵌合抗原受体复合物(参见图2, CAR2j)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、Ig4 SH域、CD28跨膜域、CD28域、CD3 ζ 域、2A切割位点和mIL-15域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组合获得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组合获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0237] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/Ig4SH-CD8TM/OX40/CD3 ζ 嵌合抗原受体复合物(参见图4, CAR4c)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、Ig4 SH域、CD8a跨膜域、OX40域和CD3 ζ 域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组合获得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组合获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0238] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/Ig4SH-CD8TM/OX40/CD3 ζ /2A/mIL-15嵌合抗原受体复合物(参见图4, CAR4d)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、Ig4 SH域、CD8a跨膜域、OX40域、CD3 ζ 域、2A切割位点和mIL-15域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组合获得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组合获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0239] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/CD8铰链-CD3 α TM/CD28/CD3 ζ 嵌合抗原受体复合物(参见图4, CAR4e)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、CD8a铰链、CD3 α 跨膜域、CD28域和CD3 ζ 域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组合获得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组合获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本

文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组的一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0240] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/CD8铰链-CD3 α TM/CD28/CD3 ζ /2A/mIL-15嵌合抗原受体复合物(参见图4,CAR4f)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、CD8a铰链、CD3 α 跨膜域、CD28域、CD3 ζ 域、2A切割位点和mIL-15域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组获得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组的一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0241] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/CD8铰链-CD28TM/CD28/4-1BB/CD3 ζ 嵌合抗原受体复合物(参见图4,CAR 4g)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、CD8a铰链、CD28跨膜域、CD28域、4-1BB域和CD3 ζ 域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组获得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组的一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0242] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/CD8铰链-CD28TM/CD28/4-1BB/CD3 ζ /2A/mIL-15嵌合抗原受体复合物(参见图4,CAR 4h)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、CD8a铰链、CD28跨膜域、CD28域、4-1BB域、CD3 ζ 域、2A切割位点和mIL-15域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组获得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组的一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变

性、延伸和/或截短。

[0243] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/CD8 α 铰链/CD8 α TM/4-1BB/CD3 ζ 嵌合抗原受体复合物(参见图5,CAR5a)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:抗CD19部分、CD8 α 铰链、CD8 α 跨膜域、4-1BB域和CD3 ζ 域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组合获得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组合获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0244] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/CD8 α 铰链/CD8 α TM/4-1BB/CD3 ζ /2A/mIL-15嵌合抗原受体复合物(参见图5,CAR 5b)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、CD8 α 铰链、CD8 α 跨膜域、4-1BB域、CD3 ζ 域、2A切割位点和mIL-15域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组合获得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组合获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0245] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/CD8 α 铰链/CD3TM/4-1BB/CD3 ζ 嵌合抗原受体复合物(参见图5,CAR5c)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、CD8 α 铰链、CD3跨膜域、4-1BB域和CD3 ζ 域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组合获得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组合获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0246] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/CD8 α 铰链/CD3TM/4-1BB/CD3 ζ /2A/mIL-15嵌合抗原受体复合物(参见图5,CAR CAR5d)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、CD8 α 铰链、CD8 α 跨膜域、4-1BB域、CD3 ζ 域、2A切割位点和mIL-15域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组合获

得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组合获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0247] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/CD8 α 铰链/CD3TM/4-1BB/NKp80嵌合抗原受体复合物(参见图5,CAR5e)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、CD8 α 铰链、CD3跨膜域、4-1BB域和NKp80域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组合获得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组合获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0248] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/CD8 α 铰链/CD3TM/4-1BB/NKp80/2A/mIL-15嵌合抗原受体复合物(参见图5,CAR5f)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、CD8 α 铰链、CD8 α 跨膜域、4-1BB域、NKp80域、2A切割位点和mIL-15域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组合获得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组合获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0249] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/CD8 α 铰链/CD3 TM/CD16细胞内域/4-1BB嵌合抗原受体复合物(参见图5,CAR5g)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、CD8 α 铰链、CD3跨膜域、CD16细胞内域和4-1BB域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组合获得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组合获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至

少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0250] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/CD8 α 铰链/CD3TM/CD16/4-1BB/2A/mIL-15嵌合抗原受体复合物(参见图5,CAR5h)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、CD8 α 铰链、CD8 α 跨膜域、CD16细胞内域、4-1BB域、2A切割位点和mIL-15域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组合获得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组合获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0251] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/NKG2D细胞外域/CD8铰链-CD8TM/OX40/CD3 ζ 嵌合抗原受体复合物(参见图5,双特异性CAR/ACRa)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、NKG2D细胞外域(全长或片段)、CD8 α 铰链、CD8 α 跨膜域、OX40域和CD3 ζ 域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组合获得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组合获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0252] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/NKG2D EC域/CD8铰链-CD8TM/OX40/CD3 ζ /2A/mIL-15嵌合抗原受体复合物(参见图5,双特异性CAR/ACRb)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、NKG2D细胞外域(全长或片段)、CD8 α 铰链、CD8 α 跨膜域、OX40域、CD3 ζ 域、2A切割位点和mIL-15域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组合获得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组合获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0253] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/CD8铰链/CD8TM/4-1BB/CD3 ζ 嵌合抗原受体复合物(参见图1,CAR1a)的多核苷酸。该多核苷酸包含以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、CD8a铰链、CD8a跨膜域、4-1BB域和CD3 ζ 域。作为非限制性实施方案,本文提供了抗CD19/CD8铰链/CD8TM/4-1BB/CD3 ζ 嵌合抗原受体复合物。在若干实施方案中,这种受体复合物由具有SEQ ID NO:85的序列的核酸分子编码。在若干实施方案中,编码CAR1a嵌合抗原受体的核酸序列包含与SEQ ID NO:85共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。在若干实施方案中,嵌合受体包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列。在若干实施方案中,CAR1a嵌合抗原受体包含与SEQ ID NO:86共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的氨基酸序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。在若干实施方案中,提供了进一步包含如本文所公开的mbIL15的CAR1a构建体(参见例如,图1CAR1b)。

[0254] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/CD8铰链/CD8TM/OX40/CD3 ζ 嵌合抗原受体复合物(参见图1,CAR1c)的多核苷酸。该多核苷酸包含以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、CD8a铰链、CD8a跨膜域、OX40域和CD3 ζ 域。在若干实施方案中,嵌合抗原受体进一步包含mbIL15(参见图1,CAR1d)。作为非限制性实施方案,本文提供了抗CD19/CD8铰链/CD8TM/OX40/CD3 ζ /2A/mIL-15嵌合抗原受体。在此类实施方案中,该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:抗CD19 scFv、CD8a铰链、CD8a跨膜域、OX40域、CD3 ζ 域、2A切割位点和mbIL-15域。在若干实施方案中,这种受体复合物由具有SEQ ID NO:59的序列的核酸分子编码。在若干实施方案中,编码CAR1d嵌合抗原受体的核酸序列包含与SEQ ID NO:59共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。在若干实施方案中,嵌合受体包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列。在若干实施方案中,NK19嵌合抗原受体包含与SEQ ID NO:60共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的氨基酸序列。在若干实施方案中,CD19 scFv不包含Flag标签。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0255] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/CD8铰链/CD28TM/CD28/CD3 ζ 嵌合抗原受体复合物(参见图1,CAR1e)的多核苷酸。该多核苷酸包含以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、CD8a铰链、CD28跨膜域、CD28信号传导域和CD3 ζ 域。在若干实施方案中,嵌合抗原受体进一步包含mbIL15(参见图1,CAR1d)。作为非限制性实施方案,本文提供了抗CD19部分/CD8铰链/CD28TM/CD28/CD3 ζ /2A/mIL15嵌合抗原受体复合物。在此类实施方案中,该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:抗CD19 scFv、CD8a铰链、CD28跨膜域、CD28信号传导域、CD3 ζ 域、2A切割位点和mbIL-15域。在若干实施方案中,这种受体复合物由具有SEQ ID NO:61的序列的核酸分子编码。在若干实施方案中,编码CAR1d嵌合抗原受体的核酸序列包含与SEQ ID NO:61共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。在若干实施方案中,嵌合受体包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列。在若干实施方案中,CAR1d嵌合抗原受体包

含与SEQ ID NO:62共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的氨基酸序列。在若干实施方案中,CD19 scFv不包含Flag标签。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0256] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/CD8铰链/CD8aTM/ICOS/CD3ζ嵌合抗原受体复合物(参见图1,CAR1g)的多核苷酸。该多核苷酸包含以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、CD8a铰链、CD8a跨膜域、可诱导共刺激分子(ICOS)信号传导域和CD3ζ域。在若干实施方案中,嵌合抗原受体进一步包含mbIL15(参见1,CAR1h)。作为非限制性实施方案,本文提供了抗CD19部分/CD8铰链/CD8aTM/ICOS/CD3ζ/2A/mIL15嵌合抗原受体复合物。在此类实施方案中,该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:抗CD19 scFv、CD8a铰链、CD8a跨膜域、可诱导共刺激分子(ICOS)信号传导域、CD3ζ域、2A切割位点和mbIL-15域。在若干实施方案中,这种受体复合物由具有SEQ ID NO:63的序列的核酸分子编码。在若干实施方案中,编码CAR1h嵌合抗原受体的核酸序列包含与SEQ ID NO:63共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。在若干实施方案中,嵌合受体包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列。在若干实施方案中,CAR1h嵌合抗原受体包含与SEQ ID NO:64共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的氨基酸序列。在若干实施方案中,CAR1h scFv不包含Flag标签。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0257] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/CD8铰链/CD8aTM/CD28/4-1BB/CD3ζ嵌合抗原受体复合物(参见图1,CAR1i)的多核苷酸。该多核苷酸包含以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、CD8a铰链、CD8a跨膜域、CD28信号传导域、4-1BB信号传导域和CD3ζ域。在若干实施方案中,嵌合抗原受体进一步包含mbIL15(参见图3A,NK19-4b)。作为非限制性实施方案,本文提供了抗CD19部分/CD8铰链/CD8aTM/CD28/4-1BB/CD3ζ/2A/mIL-15。在此类实施方案中,该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:抗CD19 scFv、CD8a铰链、CD8a跨膜域、CD28信号传导域、4-1BB信号传导域、CD3ζ域、2A切割位点和mbIL-15域。在若干实施方案中,这种受体复合物由具有SEQ ID NO:65的序列的核酸分子编码。在若干实施方案中,编码CAR1h嵌合抗原受体的核酸序列包含与SEQ ID NO:65共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。在若干实施方案中,嵌合受体包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列。在若干实施方案中,CAR1h嵌合抗原受体包含与SEQ ID NO:66共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的氨基酸序列。在若干实施方案中,CAR1h scFv不包含Flag标签。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0258] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/CD8铰链/NKG2DTM/OX40/CD3ζ嵌合抗原受体复合物(参见图2,CAR2a)的多核苷酸。该多核苷酸包含以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、CD8a铰链、NKG2D跨膜域、OX40信号传导域和CD3ζ域。在若干实施方案中,嵌合抗原受

体进一步包含mbIL15(参见图2,CAR2b)。作为非限制性实施方案,本文提供了抗CD19部分/CD8铰链/NKG2DTM/OX40/CD3 ζ /2A/mIL-15嵌合抗原受体复合物。在此类实施方案中,该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:抗CD19 scFv、CD8a铰链、NKG2D跨膜域、OX40信号传导域、CD3 ζ 域、2A切割位点和mbIL-15域。在若干实施方案中,这种受体复合物由具有SEQ ID NO:67的序列的核酸分子编码。在若干实施方案中,编码CAR2b嵌合抗原受体的核酸序列包含与SEQ ID NO:67共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。在若干实施方案中,嵌合受体包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列。在若干实施方案中,CAR2b嵌合抗原受体包含与SEQ ID NO:68共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的氨基酸序列。在若干实施方案中,CD19 scFv不包含Flag标签。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0259] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/CD8铰链/CD8aTM/CD40/CD3 ζ 嵌合抗原受体复合物(参见图CAR2c)的多核苷酸。该多核苷酸包含以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、CD8a铰链、CD8a跨膜域、CD40信号传导域和CD3 ζ 域。在若干实施方案中,嵌合抗原受体进一步包含mbIL15(参见图1,CAR2d)。作为非限制性实施方案,本文提供了抗CD19部分/CD8铰链/CD8aTM/CD40/CD3 ζ /2A/mIL-15嵌合抗原受体复合物。在此类实施方案中,该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:抗CD19 scFv可变重链、CD8a铰链、CD8a跨膜域、CD40信号传导域、CD3 ζ 域、2A切割位点和mbIL-15域。在若干实施方案中,这种受体复合物由具有SEQ ID NO:69的序列的核酸分子编码。在若干实施方案中,编码CAR2d嵌合抗原受体的核酸序列包含与SEQ ID NO:69共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。在若干实施方案中,嵌合受体包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列。在若干实施方案中,CAR2d嵌合抗原受体包含与SEQ ID NO:70共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的氨基酸序列。在若干实施方案中,CD19 scFv不包含Flag标签。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0260] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/CD8铰链/CD8aTM/OX40/CD3 ζ /2A/EGFRt嵌合抗原受体复合物(参见图2,CAR2e)的多核苷酸。该多核苷酸包含以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、CD8a铰链、CD8a跨膜域、OX40信号传导域、CD3 ζ 域、2A切割位点和表皮生长因子受体(EGFRt)的截短版本。在若干实施方案中,嵌合抗原受体进一步包含mbIL15(参见图2,CAR2f)。作为非限制性实施方案,本文提供了抗CD19部分/CD8铰链/CD8aTM/OX40/CD3 ζ /2A/mIL-15/2A/EGFRt嵌合抗原受体复合物。在此类实施方案中,该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:抗CD19 scFv、CD8a铰链、CD8a跨膜域、OX40信号传导域、CD3 ζ 域、2A切割位点、表皮生长因子受体(EGFRt)的截短版本、额外的2A切割位点以及mbIL-15域。在若干实施方案中,这种受体复合物由具有SEQ ID NO:71的序列的核酸分子编码。在若干实施方案中,编码CAR2f嵌合抗原受体的核酸序列包含与SEQ ID NO:71共享至少约

90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。在若干实施方案中,嵌合受体包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列。在若干实施方案中,CAR2f嵌合抗原受体包含与SEQ ID NO:72共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的氨基酸序列。在若干实施方案中,CD19 scFv不包含Flag标签。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0261] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/CD8铰链/CD8aTM/CD40/CD3ζ嵌合抗原受体复合物(参见图2,CAR2g)的多核苷酸。该多核苷酸包含以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、CD8a铰链、CD8a跨膜域、CD40信号传导域和CD3ζ域。在若干实施方案中,嵌合抗原受体进一步包含mbIL15(参见图2,CAR2h)。作为非限制性实施方案,本文提供了抗CD19部分/CD8铰链/CD8aTM/CD40/CD3ζ/2A/mIL-15嵌合抗原受体复合物。在此类实施方案中,该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:抗CD19 scFv可变轻链、CD8a铰链、CD8a跨膜域、CD40信号传导域、CD3ζ域、2A切割位点和mbIL-15域。在若干实施方案中,这种受体复合物由具有SEQ ID NO:73的序列的核酸分子编码。在若干实施方案中,编码CAR2h嵌合抗原受体的核酸序列包含与SEQ ID NO:73共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。在若干实施方案中,嵌合受体包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列。在若干实施方案中,CAR2h嵌合抗原受体包含与SEQ ID NO:74共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的氨基酸序列。在若干实施方案中,CD19 scFv不包含Flag标签。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0262] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/CD8铰链/CD8aTM/CD27/CD3ζ嵌合抗原受体复合物(参见图3,CAR3a)的多核苷酸。该多核苷酸包含以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、CD8a铰链、CD8a跨膜域、CD27信号传导域和CD3ζ域。在若干实施方案中,嵌合抗原受体进一步包含mbIL15(参见图3,CAR3b)。作为非限制性实施方案,本文提供了抗CD19部分/CD8铰链/CD8aTM/CD27/CD3ζ/2A/mIL-15嵌合抗原受体复合物。在此类实施方案中,该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:抗CD19 scFv、CD8a铰链、CD8a跨膜域、CD27信号传导域、CD3ζ域、2A切割位点和mbIL-15域。在若干实施方案中,这种受体复合物由具有SEQ ID NO:75的序列的核酸分子编码。在若干实施方案中,编码CAR3b嵌合抗原受体的核酸序列包含与SEQ ID NO:75共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。在若干实施方案中,嵌合受体包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列。在若干实施方案中,CAR3b嵌合抗原受体包含与SEQ ID NO:76共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的氨基酸序列。在若干实施方案中,CD19 scFv不包含Flag标签。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0263] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/CD8铰链/CD8aTM/CD70/CD3ζ嵌合抗

原受体复合物(参见图3,CAR3c)的多核苷酸。该多核苷酸包含以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、CD8a铰链、CD8a跨膜域、CD70信号传导域和CD3 ζ 域。在若干实施方案中,嵌合抗原受体进一步包含mbIL15(参见图3,CAR3d)。作为非限制性实施方案,本文提供了抗CD19部分/CD8铰链/CD8aTM/CD70/CD3 ζ /2A/mIL-15嵌合抗原受体复合物。在此类实施方案中,该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:抗CD19 scFv、CD8a铰链、CD8a跨膜域、CD70信号传导域、CD3 ζ 域、2A切割位点和mbIL-15域。在若干实施方案中,这种受体复合物由具有SEQ ID NO:77的序列的核酸分子编码。在若干实施方案中,编码CAR3d嵌合抗原受体的核酸序列包含与SEQ ID NO:77共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。在若干实施方案中,嵌合受体包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列。在若干实施方案中,CAR3d嵌合抗原受体包含与SEQ ID NO:78共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的氨基酸序列。在若干实施方案中,CD19 scFv不包含Flag标签。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0264] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/CD8铰链/CD8aTM/CD161/CD3 ζ 嵌合抗原受体复合物(参见图3,CAR3e)的多核苷酸。该多核苷酸包含以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、CD8a铰链、CD8a跨膜域、CD161信号传导域和CD3 ζ 域。在若干实施方案中,嵌合抗原受体进一步包含mbIL15(参见图3,CAR3f)。作为非限制性实施方案,本文提供了抗CD19部分/CD8铰链/CD8aTM/CD161/CD3 ζ /2A/mIL-15嵌合抗原受体复合物。在此类实施方案中,该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:抗CD19 scFv、CD8a铰链、CD8a跨膜域、CD161信号传导域、CD3 ζ 域、2A切割位点和mbIL-15域。在若干实施方案中,这种受体复合物由具有SEQ ID NO:79的序列的核酸分子编码。在若干实施方案中,编码CAR3f嵌合抗原受体的核酸序列包含与SEQ ID NO:79共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。在若干实施方案中,嵌合受体包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列。在若干实施方案中,CAR3f嵌合抗原受体包含与SEQ ID NO:80共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的氨基酸序列。在若干实施方案中,CD19 scFv不包含Flag标签。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0265] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/CD8铰链/CD8aTM/CD40L/CD3 ζ 嵌合抗原受体复合物(参见图3,CAR3g)的多核苷酸。该多核苷酸包含以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、CD8a铰链、CD8a跨膜域、CD40L信号传导域和CD3 ζ 域。在若干实施方案中,嵌合抗原受体进一步包含mbIL15(参见图3,CAR3h)。作为非限制性实施方案,本文提供了抗CD19部分/CD8铰链/CD8aTM/CD40L/CD3 ζ /2A/mIL-15嵌合抗原受体复合物。在此类实施方案中,该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:抗CD19 scFv、CD8a铰链、CD8a跨膜域、CD40L信号传导域、CD3 ζ 域、2A切割位点和mbIL-15域。在若干实施方案中,这种受体复合物由具有SEQ ID NO:81的序列的核酸分子编码。在若干实施方案中,编码CAR3h嵌合抗原受体的核酸序列包含与SEQ ID NO:81共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、

至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。在若干实施方案中,嵌合受体包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列。在若干实施方案中,CAR3h嵌合抗原受体包含与SEQ ID NO:82共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的氨基酸序列。在若干实施方案中,CD19 scFv不包含Flag标签。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0266] 在若干实施方案中,提供了编码肿瘤结合剂/CD8铰链/CD8aTM/CD44/CD3 ζ 嵌合抗原受体复合物(参见图3,CAR3i)的多核苷酸。该多核苷酸包含以下各项或由其构成:肿瘤结合剂、CD8a铰链、CD8a跨膜域、CD44信号传导域和CD3 ζ 域。在若干实施方案中,嵌合抗原受体进一步包含mbIL15(参见图3,CAR3j)。作为非限制性实施方案,本文提供了抗CD19部分/CD8铰链/CD8aTM/CD44/CD3 ζ /2A/mIL-15嵌合抗原受体复合物。在此类实施方案中,该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:抗CD19 scFv、CD8a铰链、CD8a跨膜域、CD44信号传导域、CD3 ζ 域、2A切割位点和mbIL-15域。在若干实施方案中,这种受体复合物由具有SEQ ID NO:83的序列的核酸分子编码。在若干实施方案中,编码CAR3j嵌合抗原受体的核酸序列包含与SEQ ID NO:83共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。在若干实施方案中,嵌合受体包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列。在若干实施方案中,CAR3j嵌合抗原受体包含与SEQ ID NO:84共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的氨基酸序列。在若干实施方案中,CD19 scFv不包含Flag标签。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。

[0267] 在若干实施方案中,提供了编码抗CD123/CD8a铰链/CD8a跨膜域/OX40/CD3 ζ 嵌合抗原受体复合物(参见图6,CD123 CARa)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:抗CD123部分、CD8a铰链、CD8a跨膜域、OX40域和CD3 ζ 域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组合获得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组合获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。在若干实施方案中,提供了进一步包含如本文所公开的mbIL15的CD123 CAR构建体(参见例如,图6,CD123 CARb)。

[0268] 在若干实施方案中,提供了编码抗CLDN6/CD8a铰链/CD8a跨膜域/OX40/CD3 ζ 嵌合抗原受体复合物(参见图6,CLDN6 CARa)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:抗CLDN6结合部分、CD8a铰链、CD8a跨膜域、OX40域和CD3 ζ 域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组合获得的序列的核酸分子编码,或

包含从本文公开的序列的组合获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。在若干实施方案中,提供了进一步包含如本文所公开的mbIL15的CLDN6 CAR构建体(参见例如,图6,CLDN6 CARb)。

[0269] 取决于实施方案,可以使用各种结合剂来靶向CLDN6。在若干实施方案中,使用肽结合剂,而在一些实施方案中,使用抗体或其片段。在使用抗体的若干实施方案中,抗体序列被优化、人源化或者以其他方式从其天然形式进行操作或突变,以便增加抗体或片段的稳定性、亲和力、亲合力或其他特征中的一种或多种。在若干实施方案中,提供了对CLDN6具有特异性的抗体。在若干实施方案中,提供了对CLDN6具有特异性的scFv。在若干实施方案中,对CLDN6具有特异性的抗体或scFv包含重链可变域,其包含SEQ ID NO.88的氨基酸序列。在一些实施方案中,该重链可变域包含与SEQ ID NO.88的序列至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,该重链可变域包含由多核苷酸编码的氨基酸序列,该多核苷酸在中等严格条件下与编码SEQ ID NO.88的重链可变域的多核苷酸的互补物杂交。在一些实施方案中,该重链可变域包含由多核苷酸编码的氨基酸序列,该多核苷酸在严格条件下与编码SEQ ID NO.88的重链可变域的多核苷酸的互补物杂交。

[0270] 在若干实施方案中,对CLDN6具有特异性的抗体或scFv包含轻链可变域,其包含SEQ ID NO.89、90或91中的任何一个的氨基酸序列。在若干实施方案中,该轻链可变域包含由核苷酸序列编码的氨基酸序列,该核苷酸序列与SEQ ID NO.89、90或91的序列至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多相同。在一些实施方案中,该轻链可变域包含由多核苷酸编码的氨基酸序列,该多核苷酸在中等严格条件下与编码SEQ ID NO.89、90或91的轻链可变域的多核苷酸的互补物杂交。在一些实施方案中,该轻链可变域包含由多核苷酸编码的氨基酸序列,该多核苷酸在严格条件下与编码SEQ ID NO.89、90或91的轻链可变域的多核苷酸的互补物杂交。

[0271] 在若干实施方案中,抗CLDN6抗体或scFv包含一个、两个或三个重链互补决定区(CDR)和一个、两个或三个轻链CDR。在若干实施方案中,第一重链CDR具有SEQ ID NO:92的氨基酸序列。在一些实施方案中,第一重链CDR包含与SEQ ID NO.92的序列至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多相同的氨基酸序列。在若干实施方案中,第二重链CDR具有SEQ ID NO:93的氨基酸序列。在一些实施方案中,第二重链CDR包含与SEQ ID NO.93的序列至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多相同的氨基酸序列。在若干实施方案中,第三重链CDR具有SEQ ID NO:94的氨基酸序列。在一些实施方案中,第三重链CDR包含与SEQ ID NO.94的序列至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多相同的氨基酸序列。

[0272] 在若干实施方案中,第一轻链CDR具有SEQ ID NO:95、98或101的氨基酸序列。在一些实施方案中,第一轻链CDR包含与SEQ ID NO:95、98或101的序列至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多相同的氨基酸序列。在若干实施方案中,第二轻链CDR具有SEQ ID NO:96、99或102的氨基酸序列。在一些实施方案中,第二轻链CDR包含与SEQ ID NO:96、99或102的序列至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多相同的氨基酸序列。在若干实施方案中,第三轻链CDR具有SEQ ID NO:97、100或103的氨基酸序列。在一些实施方案中,第三轻链CDR包含与SEQ ID NO:97、100或103的序列至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多相同的氨基酸序列。

[0273] 有利地,在若干实施方案中,CLDN6 CAR对CLDN6具有高度特异性,并且基本上不与CLDN3、4或9中的任何一种结合。

[0274] 在若干实施方案中,提供了编码抗BCMA/CD8a铰链/CD8a跨膜域/OX40/CD3 ζ 嵌合抗原受体复合物(参见图6,BCMA CARa)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:抗BCMA结合部分、CD8 α 铰链、CD8a跨膜域、OX40域和CD3 ζ 域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组合获得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组合获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组合一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。在若干实施方案中,提供了进一步包含如本文所公开的mbIL15的BCMA CAR构建体(参见例如,图6,BCMA CARb)。

[0275] 在若干实施方案中,提供了编码抗HER2/CD8a铰链/CD8a跨膜域/OX40/CD3 ζ 嵌合抗原受体复合物(参见图6,HER2 CARa)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:抗HER2结合部分、CD8 α 铰链、CD8a跨膜域、OX40域和CD3 ζ 域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组合获得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组合获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组合一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。在若干实施方案中,提供了进一步包含如本文所公开的mbIL15的HER2 CAR构建体(参见例如,图6,HER2 CARb)。

[0276] 在若干实施方案中,提供了编码NKG2D/CD8a铰链/CD8a跨膜域/OX40/CD3 ζ 活化性嵌合受体复合物(参见图6,NKG2D CARa)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:能够结合NKG2D受体配体的NKG2D受体片段、CD8 α 铰链、CD8a跨膜域、OX40域和CD3 ζ 域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含SEQ ID NO:145的核酸序列的核酸

分子编码。在又另一实施方案中,这种嵌合受体由SEQ ID NO:174的氨基酸序列编码。在一些实施方案中,嵌合受体的序列可以不同于SEQ ID NO.145,但取决于实施方案,与SEQ ID NO.145保持至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%同源。在若干实施方案中,虽然嵌合受体可以不同于SEQ ID NO.145,但嵌合受体保留或在一些实施方案中增强了NK细胞活化性和/或细胞毒性功能。另外,在若干实施方案中,构建体可以任选地与mbIL15共表达(图7,NKG2D ACRb)。关于用于当前公开的方法和组合物的嵌合受体的额外信息可以见于PCT专利公布号W0/2018/183385,其通过引用以其整体并入本文。

[0277] 在若干实施方案中,提供了编码抗CD70/CD8a铰链/CD8a跨膜域/OX40/CD3 ζ 嵌合抗原受体复合物(参见图7,CD70 CARa)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:抗CD70结合部分、CD8 α 铰链、CD8a跨膜域、OX40域和CD3 ζ 域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组合获得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组合获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组合一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。在若干实施方案中,提供了进一步包含如本文所公开的mbIL15的CD70 CAR构建体(参见例如,图7,CD70 CARb)。

[0278] 在若干实施方案中,提供了编码抗间皮素/CD8a铰链/CD8a跨膜域/OX40/CD3 ζ 嵌合抗原受体复合物(参见图7,间皮素CARa)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:抗间皮素结合部分、CD8 α 铰链、CD8a跨膜域、OX40域和CD3 ζ 域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组合获得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组合获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组合一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。在若干实施方案中,提供了进一步包含如本文所公开的mbIL15的间皮素CAR构建体(参见例如,图7,间皮素CARb)。

[0279] 在若干实施方案中,提供了编码抗PD-L1/CD8a铰链/CD8a跨膜域/OX40/CD3 ζ 嵌合抗原受体复合物(参见图7,PD-L1 CARa)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:抗PD-L1结合部分、CD8 α 铰链、CD8a跨膜域、OX40域和CD3 ζ 域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组合获得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组合获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从

如本文所描述的组一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。在若干实施方案中,提供了进一步包含如本文所公开的mbIL15的PD-L1 CAR构建体(参见例如,图7,PD-L1 CARb)。

[0280] 在若干实施方案中,提供了编码抗EGFR/CD8a铰链/CD8a跨膜域/OX40/CD3 ζ 嵌合抗原受体复合物(参见图7,EGFR CARa)的多核苷酸。该多核苷酸包含如本文所描述的以下各项或由其构成:抗EGFR结合部分、CD8a铰链、CD8a跨膜域、OX40域和CD3 ζ 域。在若干实施方案中,这种受体复合物由包含从本文公开的序列的组合获得的序列的核酸分子编码,或包含从本文公开的序列的组合获得的氨基酸序列。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含根据如本文所描述的一个或多个SEQ ID NO的序列,如作为成分部分的实例包括在本文中的那些。在若干实施方案中,该编码核酸序列或该氨基酸序列包含与从如本文所描述的组一个或多个SEQ ID NO产生的序列共享至少约90%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性、同源性和/或功能等效性的序列。应当理解,由于例如克隆(例如,用于创建限制位点)的容易性或效率,因此当组合序列时,可以导致所公开序列的某些序列可变性、延伸和/或截短。在若干实施方案中,提供了进一步包含如本文所公开的mbIL15的EGFR CAR构建体(参见例如,图7,EGFR CARb)。

[0281] 在若干实施方案中,表达载体(如MSCV-IRES-GFP质粒,其非限制性实例提供在SEQ ID NO:87中)用于表达本文提供的任何嵌合抗原受体。

[0282] 治疗方法

[0283] 一些实施方案涉及用包含如本文所公开的嵌合抗原受体和/或活化性嵌合受体的细胞或免疫细胞来治疗、改善、抑制或预防癌症的方法。在一些实施方案中,该方法包括治疗或预防癌症。在一些实施方案中,该方法包括施用治疗有效量的表达如本文所描述的肿瘤导向的嵌合抗原受体和/或肿瘤导向的嵌合受体的免疫细胞。本文描述了可以如此治疗的癌症类型的实例。

[0284] 在某些实施方案中,用本文描述的遗传工程化细胞治疗受试者实现了以下效果中的一种、两种、三种、四种或更多种,这些效果包括例如:(i)减少或改善疾病或与其相关联的症状的严重程度;(ii)减少与疾病相关联的症状的持续时间;(iii)防止疾病或与其相关联的症状的进展;(iv)疾病或与其相关联的症状的消退;(v)防止与疾病相关联的症状的发展或发作;(vi)防止与疾病相关联的症状的复发;(vii)减少受试者的住院治疗;(viii)减少住院治疗时长;(ix)增加患有疾病的受试者的存活率;(x)减少与疾病相关联的症状的数目;(xi)增强、改善、补充、互补或增大另一疗法的预防性或治疗性效果。有利地,本文公开的非同种异体反应性工程化T细胞进一步增强了上述中的一种或多种。可以通过多种途径施用,包括但不限于静脉内、动脉内、皮下、肌内、肝内、腹膜内和/或局部递送至受影响组织。

[0285] 施用和给药

[0286] 本文进一步提供了治疗患有癌症的受试者的方法,该方法包含将包含经工程化改造以表达如本文所公开的细胞毒性受体复合物的免疫细胞(例如NK和/或T细胞)的组合物

施用于受试者。例如,本文描述的组合物和方法的一些实施方案涉及肿瘤导向的嵌合抗原受体和/或肿瘤导向的嵌合受体用于治疗癌症患者的用途,或表达肿瘤导向的嵌合抗原受体和/或肿瘤导向的嵌合受体的细胞用于治疗癌症患者的用途。还提供了此类工程化免疫细胞用于治疗癌症的用途。

[0287] 在某些实施方案中,用本文描述的遗传工程化细胞治疗受试者实现了以下效果中的一种、两种、三种、四种或更多种,这些效果包括例如:(i)减少或改善疾病或与其相关联的症状的严重程度;(ii)减少与疾病相关联的症状的持续时间;(iii)防止疾病或与其相关联的症状的进展;(iv)疾病或与其相关联的症状的消退;(v)防止与疾病相关联的症状的发展或发作;(vi)防止与疾病相关联的症状的复发;(vii)减少受试者的住院治疗;(viii)减少住院治疗时长;(ix)增加患有疾病的受试者的存活率;(x)减少与疾病相关联的症状的数目;(xi)增强、改善、补充、互补或增大另一疗法的预防性或治疗性效果。这些比较中的每一个都相对于例如针对疾病的不同疗法,其包括针对疾病的基于细胞的免疫疗法,该免疫疗法使用不表达本文公开的构建体的细胞。有利地,本文公开的非同种异体反应性工程化T细胞进一步增强了上述中的一种或多种。

[0288] 可以通过多种途径施用,包括但不限于静脉内、动脉内、皮下、肌内、肝内、腹膜内和/或局部递送至受影响组织。对于给定的受试者,基于其体重、疾病类型和状态以及期望的治疗攻击性,可以容易地确定免疫细胞(如NK和/或T细胞)的剂量,但范围取决于实施方案,从每kg约 10^5 个细胞至每kg约 10^{12} 个细胞(例如, 10^5 - 10^7 、 10^7 - 10^{10} 、 10^{10} - 10^{12} 和其中的重叠范围)。在一个实施方案中,使用剂量递增方案。在若干实施方案中,施用一定范围的免疫细胞(如NK和/或T细胞),例如在约 1×10^6 个细胞/kg至约 1×10^8 个细胞/kg之间。取决于实施方案,可以治疗各种类型的癌症。在若干实施方案中,治疗肝细胞性肝癌。本文提供的额外实施方案包括治疗或预防癌症的以下非限制性实例,其包括但不限于急性成淋巴细胞白血病(ALL)、急性髓系白血病(AML)、肾上腺皮质癌、卡波西(Kaposi)肉瘤、淋巴瘤、胃肠癌、阑尾癌、中枢神经系统癌、基底细胞癌、胆管癌、膀胱癌、骨癌、脑肿瘤(包括但不限于星形细胞瘤、脊髓肿瘤、脑干胶质细胞瘤、胶质母细胞瘤、颅咽管瘤、成室管膜细胞瘤、室管膜瘤、髓母细胞瘤、髓质上皮瘤)、乳腺癌、支气管肿瘤、伯基特(Burkitt)淋巴瘤、宫颈癌、结肠癌、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、慢性髓性白血病(CML)、慢性骨髓增殖性病症、导管癌、子宫内膜癌、食管癌、胃癌、何杰金(Hodgkin)淋巴瘤、非何杰金淋巴瘤、毛细胞白血病、肾细胞癌、白血病、口腔癌、鼻咽癌、肝癌、肺癌(包括但不限于非小细胞肺癌、(NSCLC)和小细胞肺癌)、胰腺癌、肠癌、淋巴瘤、黑色素瘤、眼癌、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、垂体癌、子宫癌和阴道癌。

[0289] 在一些实施方案中,本文还提供了核酸和氨基酸序列,该核酸和氨基酸序列与SEQ ID NO.1-174(或SEQ ID NO:1-174中的两个或更多个的组合)的相应核酸或氨基酸序列相比,具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%(以及其中的范围)的序列同一性和/或同源性,并且与相应的SEQ ID NO.1-174(或SEQ ID NO:1-174中的两个或更多个的组合)相比,还表现出以下功能中的一个或多个,这些功能包括但不限于:(i)增强增殖;(ii)增强活化;(iii)增强对抗提供配体的细胞的细胞毒活性,该配体与含有由核酸和氨基酸序列编码的受体的NK细胞结合;(iv)增强对肿瘤或感染位点的归巢;(v)减少偏离靶标的细胞毒性效应;(vi)增强免疫刺激性细胞因子和趋化因子(包括但不限于IFN γ 、TNF α 、IL-22、CCL3、CCL4和CCL5)的分泌;(vii)增强进一步刺激先天性和适应性免疫应答的能力;以

及(viii)其组合。

[0290] 另外,在若干实施方案中,提供了在考虑了核酸密码的简并性的情况下对应于本文公开的任何核酸的氨基酸序列。此外,与本文明确公开的序列不同但具有功能类似性或等效性的那些序列(无论是核酸还是氨基酸)也考虑在本公开的范围内。前述包括突变体、截短、替换或其他类型的修饰。

[0291] 在若干实施方案中,编码所公开的细胞毒性受体复合物的多核苷酸是mRNA。在一些实施方案中,多核苷酸是DNA。在一些实施方案中,多核苷酸可操作地连接至用于表达细胞毒性受体复合物的至少一个调控元件。

[0292] 根据若干实施方案,另外提供了包含编码本文提供的任何多核苷酸的多核苷酸的载体,其中该多核苷酸任选地可操作地连接至用于表达细胞毒性受体复合物的至少一个调控元件。在若干实施方案中,载体是逆转录病毒。

[0293] 本文进一步提供了包含如本文所公开的多核苷酸、载体或细胞毒性受体复合物的工程化免疫细胞(如NK和/或T细胞)。本文进一步提供了包含工程化免疫细胞(如NK细胞和/或工程化T细胞)的混合物的组合物,每个群体包含如本文所公开的多核苷酸、载体或细胞毒性受体复合物。另外,本文提供了包含工程化免疫细胞(如NK细胞和/或工程化T细胞)的混合物的组合物,每个群体包含如本文所公开的多核苷酸、载体或细胞毒性受体复合物,并且T细胞群体已经遗传修饰以减少/消除gVHD和/或HvD。在一些实施方案中,NK细胞和T细胞来自同一供体。在一些实施方案中,NK细胞和T细胞来自不同供体。

[0294] 对于给定的受试者,基于其体重、疾病类型和状态以及期望的治疗攻击性,可以容易地确定免疫细胞(如NK细胞或T细胞)的剂量,但范围取决于实施方案,从每kg约 10^5 个细胞至每kg约 10^{12} 个细胞(例如, 10^5 - 10^7 、 10^7 - 10^{10} 、 10^{10} - 10^{12} 和其中的重叠范围)。在一个实施方案中,使用剂量递增方案。在若干实施方案中,施用一定范围的NK细胞,例如在约 1×10^6 个细胞/kg至约 1×10^8 个细胞/kg之间。取决于实施方案,可以治疗各种类型的癌症或感染性疾病。

[0295] 癌症类型

[0296] 本文描述的组合物和方法的一些实施方案涉及将包含肿瘤导向的嵌合抗原受体和/或肿瘤导向的嵌合受体的免疫细胞施用于患有癌症的受试者。本文提供的各种实施方案包括治疗或预防癌症的以下非限制性实例。癌症的实例包括但不限于急性成淋巴细胞白血病(ALL)、急性髓系白血病(AML)、肾上腺皮质癌、卡波西肉瘤、淋巴瘤、胃肠癌、阑尾癌、中枢神经系统癌、基底细胞癌、胆管癌、膀胱癌、骨癌、脑肿瘤(包括但不限于星形细胞瘤、脊髓肿瘤、脑干胶质细胞瘤、颅咽管瘤、成室管膜细胞瘤、室管膜瘤、髓母细胞瘤、髓质上皮瘤)、乳腺癌、支气管肿瘤、Burkitt淋巴瘤、宫颈癌、结肠癌、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、慢性髓性白血病(CML)、慢性骨髓增殖性病症、导管癌、子宫内膜癌、食管癌、胃癌、何杰金淋巴瘤、非何杰金淋巴瘤、毛细胞白血病、肾细胞癌、白血病、口腔癌、鼻咽癌、肝癌、肺癌(包括但不限于非小细胞肺癌、(NSCLC)和小细胞肺癌)、胰腺癌、肠癌、淋巴瘤、黑色素瘤、眼癌、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、垂体癌、子宫癌和阴道癌。

[0297] 癌症靶标

[0298] 本文描述的组合物和方法的一些实施方案涉及包含靶向癌抗原的嵌合受体的免疫细胞。靶抗原的非限制性实例包括:CD5、CD19;CD123;CD22;CD30;CD171;CS1(也被称为

CD2子集1、CRAC、SLAMF7、CD319和19A24);C型凝集素样分子-1 (CLL-1或CLECL1);CD33;表皮生长因子受体变体III (EGFRviii);神经节苷脂G2 (GD2);神经节苷脂GD3 (aNeu5Ac (2-8) aNeu5Ac (2-3) bDGalp (1-4) bDGlc (1-1) Cer);TNF受体家族成员B细胞成熟 (BCMA);Tn抗原 ((Tn Ag) 或 (GalNac-Ser/Thr));前列腺特异性膜抗原 (PSMA);受体酪氨酸激酶样孤儿受体1 (ROR1);Fms样酪氨酸激酶3 (FLT3);肿瘤相关糖蛋白72 (TAG72);CD38;CD44v6;在急性白血病或淋巴瘤上表达但在造血祖细胞上不表达的糖基化CD43表位、在非造血系统癌症上表达的糖基化CD43表位、癌胚抗原 (CEA);上皮细胞粘附分子 (EPCAM);B7H3 (CD276);KIT (CD117);白介素-13受体亚单位 α -2 (IL-13Ra2或CD213A2);间皮素;白介素11受体 α (IL-11Ra);前列腺干细胞抗原 (PSCA);蛋白酶丝氨酸21 (Testisin或PRSS21);血管内皮生长因子受体2 (VEGFR2);Lewis (Y) 抗原;CD24;血小板源性生长因子受体 β (PDGFR- β);阶段特异性胚胎抗原-4 (SSEA-4);CD20;叶酸受体 α (FRA或FR1);叶酸受体 β (FRb);受体酪氨酸蛋白激酶 ERBB2 (Her2/neu);粘蛋白1,细胞表面相关联 (MUC1);表皮生长因子受体 (EGFR);神经细胞粘附分子 (NCAM);前列腺酶 (Prostate);前列腺酸性磷酸酶 (PAP);延长因子2突变 (ELF2M);Ephrin B2;成纤维细胞活化蛋白 α (FAP);胰岛素样生长因子1受体 (IGF-I受体)、碳酸酐酶 IX (CAIX);蛋白酶体 (前体、巨蛋白因子) 亚单位, Beta型, 9 (LMP2);糖蛋白100 (gp100);由断裂点簇集区 (BCR) 和Abelson鼠白血病病毒致癌基因同源物1 (Abl) (bcr-abl) 组成的致癌基因融合蛋白;酪氨酸酶;肝配蛋白A型受体2 (EphA2);唾液酸化Lewis粘附分子 (sLe);神经节苷脂GM3 (aNeu5Ac (2-3) bDC1alp (1-4) bDGlc (1-1) Cer);转谷氨酰胺酶5 (TGS5);高分子量黑色素瘤相关抗原 (HMWMAA);o-乙酰基-GD2神经节苷脂 (OAcGD2);肿瘤内皮标志物1 (TEM1/CD248);肿瘤内皮标志物7相关 (TEM7R);密蛋白6 (CLDN6);甲状腺刺激激素受体 (thyroid stimulating hormone receptor, TSHR);G蛋白偶联受体C类5组成员D (GPCR5D);X染色体开放读码框架61 (CXORF61);CD97;CD179a;间变性淋巴瘤激酶 (ALK);聚唾液酸;胎盘特异性1 (PLAC1);globoH糖神经酰胺 (globoH glycosphingolipid, GloboH) 的多聚己糖部分;乳腺分化抗原 (NY-BR-1);尿溶蛋白 (uropod) 2 (UPK2);甲型肝炎病毒细胞受体1 (HAVCR1);肾上腺素受体 β 3 (ADRB3);泛连接蛋白3 (PANX3);G蛋白偶联受体20 (GPR20);淋巴细胞抗原6复合物, 基因座K 9 (LY6K);嗅觉受体51E2 (OR51E2);TCR γ 替代阅读框蛋白 (TARP);Wilms肿瘤蛋白 (WT1);癌症/睾丸抗原1 (NY-ESO-1);癌症/睾丸抗原2 (LAGE-1a);黑色素瘤相关抗原1 (MAGE-A1);位于染色体12p上的ETS易位同种异体6 (ETV6-AML);精子蛋白17 (SPA17);X抗原家族成员1A (XAGE1);血管生成素结合细胞表面受体2 (Tie 2);黑色素瘤癌症睾丸抗原-1 (MAD-CT-1);黑色素瘤癌症睾丸抗原2 (MAD-CT-2);Fos相关抗原1;肿瘤蛋白p53 (p53);p53突变体;前列腺素 (prostaglandin);存活素;端粒酶;前列腺癌肿瘤抗原-1 (PCT A-1或半乳糖凝集素8)、由T细胞识别的黑色素瘤抗原1 (MelanA或MART1);大鼠肉瘤 (Ras) 突变体;人端粒酶;逆转录酶 (hTERT);肉瘤易位断裂点;黑色素瘤凋亡抑制剂 (ML-IAP);ERG (跨膜蛋白酶, 丝氨酸2 (TMPRSS2) ETS融合基因);N-乙酰基葡萄糖氨基转移酶V (NA17);配对盒蛋白Pax-3 (PAX3);雄激素受体;细胞周期蛋白B1;v-myc禽骨髓细胞瘤病毒致癌基因成神经细胞瘤源性同源物 (MYCN);Ras同源物家族成员C (RhoC);酪氨酸酶相关蛋白2 (TRP-2);细胞色素P450 1B 1 (CYP1B1);CCCTC-结合因子 (锌指蛋白) 样 (BORIS或印迹位点调节物兄弟)、由T细胞识别的鳞状细胞癌抗原3 (SART3);配对盒蛋白Pax-5 (PAX5);前体素结合蛋白sp32 (OY-TES1);淋巴细胞特异性蛋白酪氨酸激酶 (LCK);激酶锚定蛋白4

(AKAP-4);滑膜肉瘤,X断裂点2(SSX2);高级糖基化终产物受体(RAGE-1);肾普遍存在物(ubiquitous)1(RU1);肾普遍存在物2(RU2);豆荚蛋白(legumain);人乳头瘤病毒E6(HPV E6);人乳头瘤病毒E7(HPV E7);肠道羧基酯酶;热休克蛋白70-2突变(mut hsp70-2);CD79a;CD79b;CD72;白细胞相关联免疫球蛋白样受体1(LAIR1);IgA受体的Fc片段(FCAR或CD89);白细胞免疫球蛋白样受体亚家族A成员2(LILRA2);CD300分子样家族成员f(CD300LF);C型凝集素域家族12成员A(CLEC12A);骨髓基质细胞抗原2(BST2);含有EGF样模块的粘蛋白样激素受体样2(EMR2);淋巴细胞抗原75(LY75);磷脂酰肌醇聚糖-3(GPC3);Fc受体样5(FCRL5);以及免疫球蛋白λ样多肽1(IGLL1)、MPL、生物素、c-MYC表位标签、CD34、LAMP1、TROP2、GFRα4、CDH17、CDH6、NYBR1、CDH19、CD200R、SleA(CA19.9;唾液酸化Lewis抗原);岩藻糖基-GM1、PTK7、gpNMB、CDH1-CD324、DLL3、CD276/B7H3、IL11Ra、IL13Ra2、CD179b-IGL11、TCRγ-Δ、NKG2D、CD32(FCGR2A)、Tnag、Tim1-/HVCR1、CSF2RA(GM-CSFR-α)、TGFβR2、Lews Ag、TCR-β1链、TCR-β2链、TCR-γ链、TCR-Δ链、FITC、促黄体激素受体(LHR)、卵泡刺激素受体(FSHR)、促性腺激素受体(CGHR或GR)、CCR4、GD3、SLAMF6、SLAMF4、HIV1包膜糖蛋白、HTLV1-Tax、CMV pp65、EBV-EBNA3c、KSHV K8.1、KSHV-gH、甲型流感血凝素(HA)、GAD、PDL1、鸟苷酸环化酶C(GCC)、针对桥粒芯蛋白3(Dsg3)的自身抗体、针对桥粒芯蛋白1(Dsg1)的自身抗体、HLA、HLA-A、HLA-A2、HLA-B、HLA-C、HLA-DP、HLA-DM、HLA-DOA、HLA-DOB、HLA-DQ、HLA-DR、HLA-G、IgE、CD99、Ras G12V、组织因子1(TF1)、AFP、GPCR5D、密蛋白18.2(CLD18A2或CLDN18A.2)、P-糖蛋白、STEAP1、Liv1、粘连蛋白-4、Cripto、gpA33、BST1/CD157、低电导率氯离子通道以及由TNT抗体识别的抗原。

[0299] 实施例

[0300] 以下是对用于下文公开的实例的实验方法和材料的非限制性描述。

[0301] 为了进一步构建本文公开的各种实施方案,选择通过不同通路介导NK功能的若干基因,以便评价通过基因编辑技术减少/消除其表达的影响。这些初始靶标表示可以根据本文公开的实施方案经编辑以增强免疫细胞介导的免疫疗法中的一个或多个方面的基因类型的非限制性实例,无论是利用工程化NK细胞、工程化T细胞还是其组合。如命名法所暗示的一样,肿瘤微环境(TME)是肿瘤周围的环境,其包括周围的血管和毛细血管、循环通过该区域或保留在该区域中的免疫细胞、成纤维细胞、与肿瘤细胞相关的各种信号传导分子、该区域中的免疫细胞或其他细胞,以及周围的细胞外基质。肿瘤采用各种机制来逃避宿主免疫细胞的检测和/或破坏,包括对TME的修饰。肿瘤可以通过释放细胞外信号、促进肿瘤血管生成甚至诱导免疫耐受来改变TME,部分地是通过限制TME中免疫细胞的进入和/或限制TME中免疫细胞的繁殖/扩增来进行的。肿瘤还可以修饰ECM,这可以允许形成肿瘤向新位点外渗的通路。转化生长因子β(TGFβ)在减少炎症和预防自身免疫方面具有有益效果。然而,其还可以起到抑制抗肿瘤免疫应答的作用,并且因此,TGFβ的上调表达与肿瘤进展和转移有关。TGFβ信号转导可以通过与由NK细胞表达的TGFβ受体(例如TGFβ受体同种型II(TGFBR2))相互作用来抑制NK细胞的细胞毒性功能。根据本文公开的若干实施方案,通过基因编辑(例如,通过由TGFBR2引导RNA引导的CRISPR/Cas9)减少或消除TGFBR2的表达中断TGFβ对NK细胞的抑制效应。

[0302] 如上文所讨论的,CRISPR/Cas9系统用于特异性靶向和减少NK细胞的TGFBR2表达。对引导RNA的各种非限制性实例进行了测试,总结如下。

[0303] 表1:TGFb受体2型同种型引导RNA

[0304]	SEQ ID NO:	名称	序列	靶标
[0305]	147	TGFBR2-1	CCCCTACCATGACTTTATTC	外显子 4
	148	TGFBR2-2	ATTGCACTCATCAGAGCTAC	外显子 4
	149	TGFBR2-3	AGTCATGGTAGGGGAGCTTG	外显子 4
	150	TGFBR2-4	TGCTGGCGATACGCGTCCAC	外显子 1
	151	TGFBR2-5	GTGAGCAATCCCCCGGGCGA	外显子 4
	152	TGFBR2-6	AACGTGCGGTGGGATCGTGC	外显子 1

[0306] 简而言之,冷冻保存的纯化NK细胞在第0天解冻,并且经受用CRISPr/Cas9和单(或双)引导RNA进行的电穿孔(使用既定的市售转染指南),并且然后随后在400IU/ml IL-2培养基中培养1天,随后与饲养细胞(例如,表达例如4-1BBL和/或mbIL15的经修饰的K562细胞)一起进行40IU/ml IL-2培养。在第7天,确定敲除效率,并且用编码NK19-1 CAR构建体(作为CAR的非限制性实例)的病毒转导NK细胞。在第14天,通过流式细胞术或其他手段确定敲除效率,并且评价所得NK细胞的细胞毒性。

[0307] TGFBR2表达的流式细胞术分析示出在图9A至9G中。图9A示出了对照数据,其中NK细胞暴露于模拟CRISPr/Cas9基因编辑条件(无义或缺少引导RNA)。如所示,约21%的NK细胞对TGFBR2表达呈阳性。当使用引导RNA 1(SEQ ID NO.147)引导CRISPr/Cas9机器(machinery)时,TGFBR2表达没有减少(参见图9B)。类似的结果示出在图9C和9D中,其中单独使用的引导RNA 2(SEQ ID NO.148)和引导RNA 3(SEQ ID NO.149)对TGFBR2表达的影响有限。相比之下,引导RNA的组合导致TGFBR2表达减少。图9E示出了来自引导RNA 1(SEQ ID NO.147)和引导RNA 2(SEQ ID NO.148)的组合的结果,并且图9F示出了使用引导RNA 1(SEQ ID NO.147)和引导RNA3(SEQ ID NO.149)的组合之后TGFBR2的表达。在每种情况下,与单独使用引导RNA(表达减少约11-12%)相比,TGFBR2表达减少约50%。图9G示出了当使用引导RNA 2(SEQ ID NO.148)和引导RNA 3(SEQ ID NO.149)二者时TGFBR2表达显著减少,其中仅约1%的NK细胞表达TGFBR2。下一代测序用于证实流式细胞术表达分析。这些数据示出在图10A至10G中,各图对应于图9A至9G中的相应引导RNA。这些数据证实,与CRISPr/Cas系统一起使用的引导RNA可以减少特定靶标分子(如TGFBR2)在NK细胞上的表达。根据若干实施方案,引导RNA(如TGFBR引导RNA 2和引导RNA3)的组合一起协同工作以基本上消除NK细胞的TGFBR2表达。

[0308] 在这些表达敲除实验的基础上,对TGFb抑制TGFBR2敲除的NK细胞的细胞毒性的能力进行评价。为此,NK细胞经受如上文所讨论的TGFBR2基因编辑,并且在使用基因编辑机器进行电穿孔后21天,在1:1和1:2效应子:靶标比率下并在不存在(实心圆圈)或存在TGFb(20ng/mL;空心方块)的情况下评价所得细胞对REH肿瘤细胞的细胞毒性。数据总结在图11A至11D中。图11A示出了与引导RNA 1和2的组合相关的数据。在添加TGFb的情况下,在1:1和1:2比率下检测到的百分比细胞毒性都有所降低,这证明了这些数据与上文讨论的表达数

据一致,因为TGFB2的存在(由于受体表达的减少有限)允许TGFb抑制NK细胞的细胞毒性活性。图11D示出了模拟物结果,其中细胞毒性模式与图11A中所示的细胞毒性模式类似。图11B示出了类似的数据,因为当使用引导RNA 1和3来敲低TGFB2表达时,在1:1靶标比率下,TGFb的存在减少了NK细胞的细胞毒性。在1:2靶标比率下,无论是否存在TGFb,NK细胞都表现出相同程度的细胞毒性(与单独的TGFB2敲低NK细胞相比有所减少)。与其他实验条件形成对照,并且与表达数据一致,图11C示出了使用引导RNA 2和3二者并用CRISPr编辑的NK细胞的细胞毒性。尽管TGFb以减少其他所测试NK细胞的细胞毒性的浓度存在,但这些由于基因编辑而基本上缺乏TGFB2表达的NK细胞示出了可忽略不计的细胞毒性下降。这些数据示出,根据本文公开的若干实施方案,使用基因编辑技术破坏例如免疫细胞活性的负调控因子的表达会导致如本文所公开的免疫细胞的细胞毒性和/或持久性增强。

[0309] 图12A至12F呈现了与针对TGFB2的额外引导RNA相关的流式细胞术数据(参见表1)。图12A示出了NK细胞(例如,不表达TGFB2的NK细胞)对TGFB2的表达的阴性对照评价。图12B示出了NK细胞的阳性对照数据,该NK细胞未用CRISPr/Cas9基因编辑机器进行电穿孔,从而导致该NK细胞对TGFB2表达约37%。图12C、12D和12E分别示出了经受CRISPr/Cas9编辑并由引导RNA 4(SEQ ID NO.150)、引导RNA 5(SEQ ID NO.151)或引导RNA 6(SEQ ID NO.152)引导的NK细胞的TGFB2表达。引导RNA 4导致TGFB2表达的适度敲低(与阳性对照相比减少约10%)。相比之下,引导RNA 5和引导RNA 6各自使TGFB2表达分别显著减少约33%和28%。这两种单引导RNA与引导RNA 2和引导RNA 3的组合所看到的减少(上文讨论的)相当(额外的数据示出在图12F中)。根据本文讨论的若干实施方案,工程化免疫细胞经受基因编辑,使得所得免疫细胞经工程化改造以表达对工程化细胞赋予增强的细胞毒性的嵌合构建体。另外,此类细胞经遗传修饰,例如以通过破坏发挥降低免疫细胞的活性或持久性的功能的抑制性通路的至少一部分来对免疫细胞脱抑制。为了证实细胞毒性构建体的基因编辑和表达是相容的,如本文所公开的,在进行基因编辑以敲低TGFB2之后对靶向CD19的嵌合抗原受体构建体的非限制性实例(此次标识为NK19-1)的表达进行评价。这些数据示出在图13A至13F中。

[0310] 图13A示出了抗CD19导向的CAR的非限制性实例(NK19-1)的表达的阴性对照评估。此处,NK细胞未用NK19-1构建体转导。相比之下,图13B示出了未经电穿孔的NK细胞对NK19-1的阳性对照表达(作为对照以解释通过CRISPr基因编辑方案处理的缺乏)。图13C示出了通过使用CRISPr/Cas9和引导RNA 4而经受TGFB2敲低的NK细胞对NK19-1的表达。如所示,在使用CRISPr进行基因编辑之后,仅存在名义上的NK19-1表达减少。根据一些实施方案,取决于引导RNA和/或基因编辑机制(例如,CRISPr相对于TALEN),减少和/或消除了CAR表达中的轻微变化。这可以例如在图13D中看到,其中使用引导RNA 5导致NK细胞的NK19-1表达发生甚至更小的变化。图13E和13F(分别)示出了单独的引导RNA 6以及引导RNA 2+3的数据。综合而言,这些数据指示,根据本文公开的若干实施方案使用的两种方案(即,诱导嵌合受体表达的基因编辑和遗传修饰)彼此相容,因为编辑免疫细胞以减少/去除免疫细胞功能负调控因子的表达的过程不会阻止嵌合受体构建体的强健表达。事实上,在若干实施方案中,免疫细胞的基因编辑和工程化改造导致更有效、强效和/或更持久的细胞毒性免疫细胞。

[0311] 图14A至14D示出了对经受基因编辑(例如,基因敲除)和/或遗传工程化改造(例如,CAR表达)的NK细胞及其各自对照的细胞毒性进行评估的方法和结果。首先从图14D开

始,在第0天,NK细胞经受使用用于基因编辑的CRISPr/Cas9组分以及所指示引导RNA之一(或组合)进行的电穿孔。NK细胞在高IL2培养基中培养一天,随后在具有低IL2和饲养细胞(如上文所讨论的)的培养物中再培养6天。在第7天,用所指示的抗CD19 CAR病毒转导NK细胞。七天后,在存在20ng/mL TGF- β 的情况下进行Incucyte细胞毒性测定。如上文所讨论的,TGF- β 是一种强效免疫抑制因子,其从肿瘤细胞中释放出来并渗透体内肿瘤微环境,以降低免疫细胞消除肿瘤的有效性。结果示出在图14A中。如所示,在顶部迹线中,单独生长的NaIm6细胞在整个实验过程中强健地扩增。未经电穿孔的NK细胞(未进行基因编辑或CAR表达;UN-EP NK)导致NaIm6扩增减少。经受基因编辑和工程化CAR表达(TGFBR-4CAR19和TGFBR-6CAR19)二者的NK细胞甚至进一步减少NaIm6增殖。这些结果首先表明了这两种技术(例如,编辑和工程化改造)彼此相容,并且示出了尤其是通过在细胞中产生对肿瘤微环境中免疫抑制因子(如TGF- β)的抗性,可以增强所得免疫细胞的细胞毒性。经受电穿孔但未经工程化改造以表达CAR(EP NK)的NK细胞减少NaIm6生长。然而,最值得注意的是源自使用NK细胞的NaIm6扩增的急剧抑制,该NK细胞经工程化改造以表达CAR19-1(作为CAR的非限制性实例),并且还经受了通过引导RNA 2和引导RNA 3(TGFBR-2+3CAR19)的组合或通过使用单引导RNA(引导RNA 5(TGFBR-5CAR19))对TGFBR2表达进行的敲除。这些数据进一步证明,根据本文公开的若干实施方案,通过减少抑制性通路(例如,通过基因编辑敲除免疫细胞上的TGFBR2来减少TGF β 的抑制效应)和引入细胞毒性信号传导复合物(例如,通过对细胞进行工程化改造以表达CAR)的协同组合,可以实现免疫细胞的细胞毒性的强健增强。图14B和14C分别示出了对照数据和来自图14A的所选数据。图14B示出了单独针对NaIm6细胞测试的所有构建体的显著细胞毒性作用(例如,不会重现肿瘤微环境的免疫抑制作用)。所测试的每种构建体都有效地消除了肿瘤细胞生长。在图14C中,在存在20ng/mL的TGF- β 的情况下进行肿瘤攻击实验以重现肿瘤微环境。图14C是来自14A的所选数据,以更清楚地示出基因编辑敲除TGFBR2受体的作用。与对照相比,经工程化改造以表达NK19-1(作为CAR的非限制性实例)的细胞示出了减少肿瘤生长的能力。然而,表达NK19-1且经工程化改造(通过CRISPR/Cas9基因编辑和通过使用引导RNA的非限制性实例)的NK细胞示出了甚至更显著的肿瘤细胞生长减少。因此,根据若干实施方案,导致结果,如图14A(和14C)中所示结果,这些基因编辑技术可以用于增强NK细胞的细胞毒性,甚至在免疫抑制性肿瘤微环境中也是如此。在若干实施方案中,类似的技术可以用于T细胞。另外,在若干实施方案中,类似的方案用于NK细胞和T细胞二者。进一步地,在额外的实施方案中,基因编辑用于对经编辑的细胞,无论是NK细胞、T细胞还是其他情况产生对存在于肿瘤微环境中的一种或多种免疫抑制因子的抗性。

[0312] 为了评价经修饰的免疫细胞发挥其增加的细胞毒活性的潜在机制,对每种所测试的细胞类型的细胞因子释放概况进行评价,数据示出在图15A至15D中。简而言之,在开始细胞毒性测定之前,每个NK细胞组都用浓度为20ng/mL的TGF β 1处理过夜。在将NK细胞与NaIm6肿瘤细胞共培养之前,洗涤NK细胞以去除TGF β 。将NK细胞与表达核红色荧光蛋白(NaIm6-NR)的NaIm6肿瘤细胞以1:1的E:T比率(2×10^4 效应子: 2×10^4 靶细胞)共培养。通过Luminex测定来测量细胞因子。如图15A所示,当通过基因编辑来减少TGFBR2表达时,IFN γ 的释放适度增加(参见例如“TGFBR2+3NaIm6 NR”的直方图条)。抗CD19 CAR的引入诱导IFN γ 产生的实质性增加(EP+NK19-1NaIm6-NR)。然而,最值得注意的是图15A中示出的最后四组(参见虚线框),它们表示使用单引导RNA或引导RNA的组合以指导CRISPr/Cas9介导的对与抗

CD19 CAR表达组合的TGFB2表达的敲低。使用这些经双重修饰的免疫细胞可见细胞毒性增强,这至少部分地是由于这些增加量的IFNg的释放所致。与IFNg类似,这些组中的GM-CSF释放显著增强。GM-CSF可以促进髓系细胞的分化,也可以作为免疫刺激佐剂,因此它的释放增加可能在使用这些细胞所见到的细胞毒性增加中起作用。当评估粒酶B(一种由NK细胞释放的强效细胞毒性蛋白)和TNF α (另一强效细胞因子)的释放时,可以看到类似的模式。这些数据进一步证明,如根据本文公开的若干实施方案,各种细胞因子的释放增加在导致使用经基因编辑和遗传修饰的免疫细胞所见到的细胞毒性实质性增加中起作用,因为基因编辑有助于抵抗将在肿瘤微环境中所见到的免疫抑制作用。

[0313] 根据额外的实施方案,对免疫细胞上受体、通路或蛋白质的表达的破坏或消除可以导致免疫细胞针对靶癌细胞的活性(例如,细胞毒性、持久性等)增强。在若干实施方案中,这源自免疫细胞的脱抑制。自然杀伤细胞表达多种受体,如尤其是自然杀伤组2受体家族内的那些受体。根据本文公开的若干实施方案,一种此种受体,NKG2D受体,用于生成由NK细胞表达的细胞毒性信号传导构建体,并且导致此类NK细胞的抗癌活性增强。另外,NK细胞表达NKG2A受体,其是一种抑制性受体。肿瘤对免疫细胞产生抗性的一种机制是通过载有肽的HLA I类分子(HLA-E)的表达,其通过HLA-E与NKG2A受体的连接来抑制NK细胞的活性。因此,虽然一种方案可以是阻断HLA-E与NK细胞上所表达的NKG2A受体的相互作用,但根据本文公开的若干实施方案,将NKG2A的表达破坏,这使抑制性通路短路并允许NK细胞细胞毒性增强。

[0314] 图16A至16D示出了与破坏NK细胞对NKG2A表达的表达式相关的数据。如上文关于TGFB2所讨论的,CRISPr/Cas9用于使用下表2中示出的引导RNA的非限制性实例来破坏NKG2A表达。

[0315] 表2:NKG2A引导RNA

[0316]

SEQ ID NO:	名称	序列	靶标
158	NKG2A-1	GGAGCTGATGGTAAATCTGC	外显子4
159	NKG2A-2	TTGAAGGTTTAATTCCGCAT	外显子3
160	NKG2A-3	AACAACATATCGTTACCACAG	外显子4

[0317] 图16A示出了NK细胞的对照NKG2A表达,其中大约70%的NK细胞表达NKG2A。图16B表明了可以实现NKG2A表达的显著减少,其中使用引导RNA 1使NKG2A表达减少50%以上。图16C示出了使用引导RNA 2导致NKG2A表达更适度的减少,其中略少于30%的NK细胞现在表达NKG2A。图16D示出,使用引导RNA 3提供了对NK细胞的NKG2A表达的最强健破坏,其中仅约12%的NK细胞表达NKG2A。

[0318] 图17A示出了与在用基因编辑机器进行电穿孔后7天时的NKG2A表达减少的NK细胞针对Reh肿瘤细胞相关的汇总细胞毒性数据。在2:1E:T和1:1E:T比率二者下对NK细胞进行测试。在1:1E:T下,经基因编辑的NK细胞类型中的每一种都比模拟NK细胞诱导了更大程度的细胞毒性。用引导RNA 1和引导RNA 2处理的NK细胞检测到的改善的细胞毒性比模拟略微增强。与模拟物相比,诱导NK细胞上NKG2A表达的最大破坏的引导RNA还导致细胞毒性的最大增加(参见1:1NKG2A-gRNA3)。在2:1比率下,经修饰的NK细胞类型中的每一种都显著优于模拟NK细胞。与较低的比率一样,使用引导RNA3编辑以靶向CRISPr/Cas9的NK细胞示出了最强健的细胞毒性增加,与NKG2A表达破坏的程度成反比。如上文所讨论的,在不存在干预的

情况下,肿瘤细胞上的HLA-E与NK细胞上的NKG2A的相互作用可以抑制NK细胞活性。图17B证实,Reh肿瘤细胞确实实际上表达HLA-E分子,并且因此,在不存在进行基因编辑以破坏NK细胞上的NKG2A表达的情况下,已预期会抑制NK细胞信号传导(如使用图17A中的模拟NK细胞组所见到的)。

[0319] 虽然HLA-E/NKG2A相互作用的破坏对NK细胞的细胞毒性具有明显的积极影响,但研究了其他可能影响免疫细胞信号传导的通路。一个此种实例是CIS/CISH通路。细胞因子诱导型含SH2蛋白(CIS)是NK细胞中IL-15信号传导的负调控因子,并且由人的CISH基因编码。IL-15信号传导可以对NK细胞扩增、存活、细胞毒性和细胞因子产生具有积极影响。因此,CISH的破坏可以使NK细胞对IL-15更敏感,从而增加它们的抗肿瘤作用。

[0320] 如上文所讨论的,CRISPr/Cas9用于破坏CISH的表达,然而在额外的实施方案中,可以使用其他基因编辑方案。CISH靶向引导RNA的非限制性实例示出在下表3中。

[0321] 表3:CISH引导RNA

[0322]

SEQ ID NO:	名称	序列	靶标
153	CISH-1	CTCACCAGATTCCCGAAGGT	外显子 2
154	CISH-2	CCGCCTTGTCATCAACCGTC	外显子 3
155	CISH-3	TCTGCGTTCAGGGGTAAGCG	外显子 1
156	CISH-4	GCGCTTACCCCTGAACGCAG	外显子 1
157	CISH-5	CGCAGAGGACCATGTCCCCG	外显子 1

[0323] 与NKG2A敲除NK细胞一样,在用基因编辑机器对CISH敲除的(使用引导RNA 1或引导RNA 2(CISH-3-5的数据未示出))经基因编辑的NK细胞进行电穿孔之后7天,用Reh肿瘤细胞以1:1和2:1E:T比率对其进行攻击。图18示出,虽然在1:1下,模拟NK细胞对Reh细胞表现出50%以上细胞毒性,但经基因编辑的NK细胞组中的每一组都示出了近20%提高的细胞毒性,其中对Reh细胞的细胞毒性平均为约70%。在2:1比率下,增强的细胞毒性甚至更加明显。虽然模拟NK细胞杀死约65%的Reh细胞,但用CISH引导RNA 2编辑的NK细胞杀死大约85%的Reh细胞,并且用CISH引导RNA 1编辑的NK细胞杀死90%以上的Reh细胞。这些数据清楚地示出,除如上文所讨论的积极影响之外,CISH敲除还对NK细胞的细胞毒性具有积极影响。

[0324] 与上述实验一样,接下来例如通过用CAR的非限制性实例(此处为抗CD19 CAR, CAR19-1)进行转导来评价CISH表达的敲低是否对进一步修饰NK细胞的能力产生不利影响。这些数据示出在图19A至19D中。图19A示出了CD19-CAR表达(缺少)的阴性对照数据(基于对所使用的CAR19-1构建体中所包括的Flag标签的检测,尽管一些实施方案不使用Flag或其他标签)。图19B示出了先前经受过被CISH引导1RNA靶向的基因编辑的NK细胞对CD19-1 CAR的强健表达。图19C示出了先前经受过被CISH引导2RNA靶向的基因编辑的NK细胞的类似数据。图19D示出了额外的对照数据,其中NK细胞暴露于基因编辑电穿孔方案,但实际上没有进行基因编辑,因此表明了基因编辑方案本身不会对随后用编码CAR的病毒构建体转导NK细胞产生不利影响。图20C示出了证实在进行CISH基因编辑之后不存在CIS蛋白(由CISH编

码)的表达的蛋白质印迹。因此,根据一些实施方案,NK细胞(或T细胞)都经编辑例如以敲除CISH表达以便通过IL15介导的信号传导来增强一种或多种NK细胞(T细胞)特征,并且还经工程化改造以表达抗肿瘤CAR。在若干实施方案中,工程化改造和编辑导致NK细胞功能(例如,扩增、细胞毒性和/或持久性)的协同增强。

[0325] 已经确认NK细胞可以经基因编辑以减少CISH表达,并且此后还可以经工程化改造以表达CAR,对此类经双重修饰的NK细胞的细胞毒性进行了测试。图20A示出了Incucyte细胞毒性测定的结果,其中用Na1m6细胞以1:2比率对所指示的NK细胞类型进行攻击。关于实验时间线,在第0天,NK细胞经受用CRISPr/Cas9和各种CISH引导RNA进行的电穿孔,如上文所讨论的。将NK细胞在高IL-2培养基中培养1天,然后移至高IL-2培养基,在此处将它们与经修饰以表达4-1BB和膜结合型IL15的K562细胞共培养以进行扩增。在第7天,用CAR19-1病毒构建体转导NK细胞并且再培养7天,在第14天进行Incucyte细胞毒性测定。

[0326] 如图20A中所见的,经电穿孔和未经电穿孔的NK细胞(分别为EP NK、UEP NK)都示出了名义上的Na1m6生长减少。当评估经基因编辑的NK细胞时,CISH-1和CISH-2NK细胞二者都表现出对Na1m6生长的显著阻止。同样地,经电穿孔和未经电穿孔的NK细胞表达CAR19-1二者都进一步减少Na1m6增殖。最值得注意的是,表达CAR19-1的经双重修饰的CISH敲除表现出对Na1m6细胞生长的完全控制/阻止。这些结果表示所进行的两种修饰方案之间的协同活性,其中表达CAR19-1的经基因编辑的CISH敲除NK细胞示出了强健的抗肿瘤活性,这与本文公开的实施方案一致。

[0327] 这些肿瘤控制效果在双重攻击模型中也得到了重现。在这种情况下,实验时间线如上文图20A所描述,然而,在开始Incucyte测定(此处以1:1E:T进行)之后7天,洗涤孔并用额外剂量的Na1m6肿瘤细胞重新攻击(每孔20K个细胞)。数据示出在图20B中。与单次肿瘤细胞攻击一样,Na1m6细胞在整个实验过程中都表现出扩增,其中EP和UEP NK细胞在第二次攻击后允许类似的总体Na1m6生长。即使面对Na1m6肿瘤细胞的第二次挑战,NK细胞表达CAR19-1构建体(EPCAR19和UEPCAR19)比单独的NK细胞更能限制Na1m6生长。有趣地,面对第二次攻击,与表达CAR19-1的那些NK细胞相比,经基因编辑以敲除CISH表达的NK细胞表现出最小增强的阻止Na1m6生长的能力。如上文所讨论的,这可能是由于增强的信号传导所致,该增强的信号传导是通过由于CISH敲除而上调的各种代谢通路来进行的。值得注意的是,与单次攻击一样,经基因编辑以敲除CISH表达且经工程化改造以表达CAR19-1的经双重修饰的NK细胞示出了阻止Na1m6细胞生长的强大能力。CISH引导RNA 1和CISH引导RNA 2处理的NK细胞不相上下,直到实验的最后阶段,其中CISH引导RNA 2处理的NK细胞允许Na1m6细胞数目略微增加。无论如何,这些数据示出,经双重修饰的NK细胞对肿瘤细胞具有增强的细胞毒性能力。如上文所提及的,在若干实施方案中,编辑与工程化方案相结合有利地导致NK细胞功能的非重复增强,这可以协同地增强NK细胞的一个或多个方面(例如活化、细胞毒性、持久性等)。

[0328] 从机制上来看,不受理论的束缚,CISH敲低和CAR19-1表达的双重修饰似乎允许NK细胞存活更长的时间段,从而赋予它们增强的针对肿瘤细胞的持久性。在若干实施方案中,这至少部分地是由于增强的信号传导所致,该增强的信号传导是通过基于CISH敲除的经编辑的细胞中的各种代谢通路来进行的。这种分析的数据示出在图21A中,其中获得了所指示组在培养物中74天内的细胞计数。所测试的八组中的六组示出,从在培养物中约2-3周直至

第74天时间点,NK细胞计数稳定下降。然而,经处理以敲低CISH表达和以表达CAR19-1的两组NK细胞都表现出相对稳定的群体大小(但在第24天出现短暂增加)。这些数据表明,经双重修饰的NK细胞比仅以一种方式修饰(或未经修饰)的NK细胞更能存活,这可以部分地导致它们在长期实验(如图20B中示出的继发性肿瘤细胞攻击)中的功效增强。另外,图21B示出了对照Na1m6细胞、未经修饰的NK细胞、CISH敲除NK细胞和表达CD19 CAR的CISH敲除NK细胞的细胞毒性数据。在已将每个细胞组在培养物中培养100天之后进行该实验。单独的Na1m6细胞表现出如所预期的扩增。对照敲除NK细胞(仅经受电穿孔)在初始阶段延迟了Na1m6扩增,但最终,Na1m6细胞扩增。CISH敲除NK细胞示出了良好的抗肿瘤作用,其中在实验后期阶段,Na1m6数目仅较小增加。鉴于对照NK细胞允许的生长,NK细胞在该培养后期阶段处的细胞毒性是出乎意料的。如上文所讨论的,在若干实施方案中,CISH表达的敲除允许更大的信号传导,该更大的信号传导是通过导致增强的NK(或T)细胞增殖、细胞毒性和/或持久性中的一种或多种的各种IL15应答通路来进行的。

[0329] 进一步研究这些经双重修饰的细胞能够生成显著和持久的细胞毒性的机制,评估了每组的细胞因子释放概况。这些数据示出在图22A至22E中,其中经工程化改造以表达CAR19-1的那些NK细胞组通过放置在每个直方图右侧部分的“CAR19”线上方来指示。

[0330] 图22A示出了与IFN γ 产生相关的数据,当通过使用CRISPR/Cas9和引导RNA 1或2(作为引导RNA的非限制性实施方案)来敲除CISH时,该数据显著增加。更有趣地,CISH敲除和CAR19-1表达的组合导致IFN γ 产生是CISH敲除的近2.5倍,并且是任何其他组的4-5倍。关于TNF α 产生的类似数据示出在图22B中。同样地,虽然单独的CISH敲除和表达CAR19-1的CISH正常NK释放略多的GM-CSF,但经双重修饰的CISH敲除和表达CAR19-1的NK细胞示出了显著增加的GM-CSF释放。图22D中示出的粒酶B释放概况再次表明,经双重修饰的细胞释放最多的细胞因子。有趣地,粒酶B表达的水平与CISH 1和CISH 2NK细胞组的细胞毒性性能有关。CISH 2NK和CISH 2/CAR19组二者都比它们的CISH 1对应物释放更少的粒酶B,这体现在图20B的长期细胞毒性数据中,表明减少的CISH表达可能与粒酶B释放负相关。最后,图22E示出了穿孔素的释放,对于所有NK细胞组而言,穿孔素的释放显著更高,并且不体现图22A至22D中所见到的相同模式,表明在这些实施方案中穿孔素不是细胞毒性限制性细胞因子。然而,这些数据确实证实了经受基因编辑(例如,以减少由免疫细胞表达的抑制因子的表达或以减少免疫细胞对抑制因子应答的能力)和对细胞进行工程化改造以表达嵌合细胞毒性信号传导复合物(如,例如,细胞毒性诱导CAR)的组别的免疫细胞。在若干实施方案中,经双重修饰的细胞表现出更强健的(例如,诱导细胞毒性的)细胞因子谱和/或示出了增加的生存力/持久性,这允许更大的如根据本文公开的若干实施方案的整体抗肿瘤作用。在若干实施方案中,对免疫细胞的双重修饰因此导致总体上更有效的癌症免疫疗法方案,无论是使用NK细胞、T细胞或其组合。另外,如上文所讨论的,在若干实施方案中,经双重修饰的细胞还经修饰以便减少它们的同种异体反应性,从而允许更有效的同种异体细胞疗法方案。

[0331] CBLB是一种E3泛素连接酶,已知其限制T细胞活化。为了确定破坏NK细胞对CBLB的表达是否可以从工程化NK细胞中引发更强健的抗肿瘤应答,如上文所讨论的,使用CRISPR/Cas9来破坏CBLB的表达,然而在额外的实施方案中,可以使用其他基因编辑方案。

[0332] CBLB靶向引导RNA的非限制性实例示出在下表4中。

[0333] 表4:CBLB引导RNA

[0334]

SEQ ID NO:	名称	序列	靶标
164	CBLB-1	TAATCTGGTGGACCTCATGAAGG	外显子 5
165	CBLB-2	TCGGTTGGCAAACGTCCGAAAGG	外显子 10
166	CBLB-3	AGCAAGCTGCCGCAGATCGCAGG	外显子 2

[0335] 与NKG2A和CISH敲除NK细胞一样,在用基因编辑机器对经Cb1原致癌基因B(CBLB)敲除(使用表4中示出的引导RNA[SEQ ID NO:164、165、166])和CISH敲除(使用CISH引导RNA 5[SEQ ID NO:157])基因编辑的NK细胞进行电穿孔之后5天,用Reh肿瘤细胞以1:1和2:1E:T比率对其进行攻击。简而言之,将亲本NK细胞保持在具有饲养细胞的低IL-2培养基中达7天,在第7天进行电穿孔,在第7-10天在高IL-2培养基中进行孵育,在第10-12天在低IL-2培养基中进行孵育,然后在第12天经受Reh肿瘤攻击测定(图23C)。图23A示出,虽然在1:1比率下,模拟NK细胞对Reh细胞表现出约45%细胞毒性,但CBLB gRNA敲除NK细胞组中的每一组都示出了约20%更大的细胞毒性,其中对Reh细胞的细胞毒性平均为约70%。对于2:1比率,相应增强的细胞毒性与1:1比率组类似,其中模拟NK细胞表现出约60%细胞毒性,并且CBLB敲除NK细胞组中的每一组都示出了约20%更大的细胞毒性,其中对Reh细胞的细胞毒性平均为80%。CISH gRNA 5敲除NK细胞组也表现出类似的结果,其中在1:1比率下为大约65%,并且在2:1比率为大约80%,这与先前使用上文讨论的gRNA 1和2进行的CISH敲除实验一致。总体而言,CBLB敲除NK细胞的细胞毒性增加与CISH敲除NK细胞成比例。这些数据示出,根据本文公开的若干实施方案,CBLB敲除对NK细胞细胞毒性具有积极影响。在若干实施方案中,使用CISH敲除和CBLB敲除的组合来进一步增强工程化NK细胞的细胞毒性。在若干实施方案中,CBLB敲除NK细胞对细胞因子刺激表现出更大的应答性,从而部分地导致其增强的细胞毒性。在若干实施方案中,CBLB敲除导致效应子细胞因子(如IFN- γ 和TNF- α)的分泌增加以及活化标志物CD69的上调。在若干实施方案中,与对NK细胞进行工程化改造以表达CAR结合采用CBLB的敲除,从而导致NK细胞细胞毒性和/或持久性的进一步增强。

[0336] 另一E3泛素连接酶(含三联基序蛋白29(TRIM29))是NK细胞功能的负调控因子。TRIM29通常不由静息NK细胞表达,但在活化后容易上调(尤其是通过IL-12/IL-18刺激)。如上文所讨论的,CRISPr/Cas9也用于破坏TRIM29的表达,然而在额外的实施方案中,可以使用其他基因编辑方案。TRIM29靶向引导RNA的非限制性实例示出在下表5中。

[0337] 表5:TRIM29引导RNA

[0338]

SEQ ID NO:	名称	序列	靶标
167	TRIM29-1	GAACGGTAGGTCCCCTCTCGTGG	外显子 4
168	TRIM29-2	AGCTGCCTTGGACGACGGGCAGG	外显子 7
169	TRIM29-3	TGAGCCGTAACCTTCATTGAGAGG	外显子 4

[0339] 在用基因编辑机器对TRIM29敲除的(使用表5中示出的gRNA[SEQ ID NO:167、167、169])经基因编辑的NK细胞进行电穿孔之后5天,用Reh肿瘤细胞以1:1和2:1E:T比率对其进行攻击。时间线和培养参数与CBLB敲除实例相同(图23C)。图23B示出,与CISH或CBLB敲除相比,TRIM29敲除对增强细胞毒性的影响不太强健。TRIM29 gRNA NK细胞组中的每一组对Reh细胞的细胞毒性略微好于模拟细胞(在1:1比率下约50%对约45%细胞毒性以及在2:1比率下约70%对约60%细胞毒性)。比较地,在1:1和2:1比率二者下,相对于模拟和TRIM29敲除NK细胞二者,用CISH gRNA 5转染的NK细胞具有提高的细胞毒性。然而,这些结果指示,TRIM29在这些条件下对NK细胞细胞毒性仅有轻微的影响或没有影响,这可能至少部分地是由于靶细胞类型(例如,响应于TRIM29表达的变化而改变的通路不如例如那些因CBLB表达的变化而改变的通路有活性)所致。另外,在若干实施方案中,用CAR构建体(例如靶向CD19的CAR)工程化改造NK细胞与敲除TRIM29表达的组合会导致NK细胞细胞毒性和/或持久性显著增强。在若干实施方案中,TRIM29表达的敲除上调NK细胞的干扰素释放。

[0340] 白介素(尤其是白介素-15)在NK细胞功能和存活方面很重要。细胞因子信号传导抑制因子(SOCS)蛋白是NK细胞的细胞因子释放的负调控因子。蛋白酪氨酸磷酸酶CD45是通过Src家族激酶活性调控NK细胞活性的重要调控因子。CD45表达参与ITAM特异性NK细胞功能和过程,如脱粒、细胞因子产生和扩增。因此,CD45表达的敲除应该会导致不太有效的NK细胞。如上文所讨论的,CRISPR/Cas9用于破坏CD45和SOCS2的表达,然而在额外的实施方案中,可以使用其他基因编辑方案。CD45和SOCS2靶向引导RNA的非限制性实例示出在下表6中。

[0341] 表6:CD45和SOCS2引导RNA

[0342]	SEQ ID NO:	名称	序列	靶标
	170	CD45-1	AGTGCTGGTGTGGGCGCAC	外显子 25
	171	SOCS2-1	GTGAACAGTGCCGTTCCGGGGGG	外显子 3
	172	SOCS2-2	GGCACCAGGTACATTTGTTAATGG	外显子 3
	173	SOCS2-3	TTCGCCAGACGCGCCGCCTGCGG	外显子 2

[0343] 在用基因编辑机器对经细胞因子信号传导抑制因子2(SOCS2)敲除(使用表6中示出的gRNA[SEQ ID NO:171、172、173])基因编辑的NK细胞进行电穿孔之后7天,用时间进程细胞毒性测定对其进行评估。简而言之,将亲本NK细胞保持在具有饲养细胞的低IL-2培养基中达7天,在第7天进行电穿孔,在第7-11天在高IL-2培养基中进行孵育,在第11-14天在低IL-2培养基中进行孵育,然后在第14天以1:1E:T比率经受针对Reh细胞的Incucyte细胞毒性测定(图24C)。图23A示出了用第一电穿孔系统进行电穿孔的NK细胞的细胞毒性测定的结果。使用这种系统,用每种SOCS2 gRNA转染的NK细胞都表现出与(上文描述的)CISH gRNA 2NK细胞组类似的细胞毒活性。SOCS2的三种gRNA曲线叠加在图24A中。CD45敲除NK细胞用作阴性对照(如上文所讨论的,CD45是NK细胞活性的正调控因子,因此CD45敲除应该示出减少的细胞毒性)。图23B示出了按照相同的时间表但用第二电穿孔机器进行电穿孔的NK细胞的细胞毒性测定的结果。在这种情况下,不同于所检查的SOCS2 gRNA,SOCS2 gRNA 1导致提高

的对Reh细胞的细胞毒性。SOCS2 gRNA 2和3导致的NK细胞不如用第一电穿孔系统有效。与CISH gRNA 2敲除NK细胞相比,SOCS2 gRNA 1敲除NK细胞示出了略微增强的细胞毒性。这些结果指示,根据若干实施方案,SOCS2的敲除减少了NK细胞的负调控并导致具有增强的细胞毒性的NK细胞。在若干实施方案中,使用特定的gRNA来增强细胞毒性NK细胞,例如SOCS2 gRNA 1。在若干实施方案中,与对NK细胞进行工程化改造以表达CAR结合采用SOCS2的敲除,从而导致NK细胞细胞毒性和/或持久性的进一步增强。

[0344] 考虑到了可以对上文公开实施方案的特定特征和方面进行各种组合或子组合,并且这些组合或子组合仍然落在本发明的一个或多个内。进一步地,本文中与实施方案有关的任何特定特性、方面、方法、性质、特征、质量、属性、原理等的公开内容可以用于本文中所阐述的所有其他实施方案。因此,应当理解,所公开的实施方案的各种特征和方面可以彼此组合或替代,以便形成所公开的发明的不同模式。因此,意图是本文中公开的本发明范围不应被上述具体公开的实施方案限制。此外,尽管本发明易受各种修改和替代形式的影响,但其具体实例已在附图中示出并在本文中详细描述。然而,应当理解,本发明不限于所公开的具体形式或方法,相反,本发明将覆盖落在所描述的各种实施方案和所附权利要求的精神和范围内的所有修改、等效物和替代物。本文公开的任何方法不需要按所叙述的顺序进行。本文公开的方法包括从业人员所采取的某些行动;但是,它们也可以包括任何第三方对这些行动的指导,无论是明示的还是暗示的。另外,当按照马库什(Markush)组来描述本公开的特性或方面时,本领域技术人员将认识到,还由此按照马库什组成员的任何个体成员或亚组来描述本公开。

[0345] 本文公开的范围还涵盖任何和所有重叠、子范围及其组合。如“至多”、“至少”、“大于”、“小于”、“之间”等语言包括所叙述的数字。前面带有“约”或“大约”等术语的数字包括所叙述的数字。例如,“约90%”包括“90%”。在一些实施方案中,至少95%序列同一性或同源性包括相对于参考序列的96%、97%、98%、99%和100%序列同一性或同源性。另外,当序列被公开为“包含”核苷酸或氨基酸序列时,除非另有指示,否则此种引用还应包括:该序列“包含”所叙述的序列、“由”其“组成”或“基本上由”其“组成”。本文使用的任何标题或副标题用于组织目的,并且不应用于限制本文公开的实施方案的范围。

[0346] 序列

[0347] 在若干实施方案中,提供了对应于本文公开的(和/或包括在所附序列列表中的)任何核酸的氨基酸序列,同时考虑了核酸密码的简并性。此外,与本文明确公开的(和/或包括在所附序列列表中的)序列不同但具有功能类似性或等效性的那些序列(无论是核酸还是氨基酸)也被考虑在本公开的范围。前述包括突变体、截短、替换或其他类型的修饰。

[0348] 根据本文描述的一些实施方案,可以使用任何序列,或可以使用本文公开的(和/或包括在所附序列列表中的)任何序列的截短或突变形式并以任何组合使用。

序列表

<110> 恩卡尔塔公司

<120> 用于免疫疗法的工程化自然杀伤细胞和工程化T细胞的组合

<130> NKT.043W0

<150> US 62/857,167

<151> 2019-06-04

<150> US 62/943,697

<151> 2019-12-04

<160> 198

<170> PatentIn版本3.5

<210> 1

<211> 135

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> CD8 α 铰链-DNA

<400> 1

accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca ccggcgccca ccatcgcgtc gcagcccctg 60
tccttgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg gcggggggcg cagtgcacac gagggggctg 120
gacttcgcct gtgat 135

<210> 2

<211> 45

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Cd8a铰链-蛋白质

<400> 2

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

<210> 3

<211> 63

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> CD8 TM - DNA

<400> 3

atctacatct gggcgccctt ggccgggact tgtgggggtcc ttctcctgtc actggttatc 60
acc 63

<210> 4

<211> 21

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> CD8 TM-蛋白质

<400> 4

Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu
1 5 10 15
Ser Leu Val Ile Thr
20

<210> 5

<211> 111

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> OX40 - DNA

<400> 5

cggagggacc agaggctgcc ccccgatgcc cacaagcccc ctggggggagg cagtttccgg 60
acccccatcc aagaggagca ggccgacgcc cactccaccc tggccaagat c 111

<210> 6

<211> 37

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> OX40-蛋白质

<400> 6

Arg Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys Pro Pro Gly Gly
1 5 10 15

Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His Ser
 20 25 30

Thr Leu Ala Lys Ile
 35

<210> 7

<211> 336

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> CD3ζ-DNA

<400> 7

agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc 60
 tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gactacgatg ttttggacaa gagacgtggc 120
 cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180
 gaactgcaga aagataagat ggcgagggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240
 cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300
 tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc 336

<210> 8

<211> 112

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> CD3ζ-蛋白质

<400> 8

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

100	105	110
<210> 9		
<211> 63		
<212> DNA		
<213> 智人		
<220>		
<221> MISC_FEATURE		
<223> T2A - DNA		
<400> 9		
ggctctggcg aggggaagggg ttccctgctt acttgcggcg acgtcgaaga gaatcccggg 60		
ccg 63		
<210> 10		
<211> 21		
<212> PRT		
<213> 智人		
<220>		
<221> MISC_FEATURE		
<223> T2A-蛋白质		
<400> 10		
Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu		
1 5 10 15		
Glu Asn Pro Gly Pro		
20		
<210> 11		
<211> 342		
<212> DNA		
<213> 智人		
<220>		
<221> MISC_FEATURE		
<223> IL15 - DNA		
<400> 11		
aactgggtca acgtgattag cgatttgaag aaaatcgagg accttataca gtctatgcat 60		
attgacgcta cactgtatac tgagagtgat gtacaccgt cctgtaaggt aacggccatg 120		
aaatgctttc ttctggagct ccaggtcatc agcttggagt ctggggacgc aagcatccac 180		
gatacggttg aaaacctcat catcettgcg aacaactctc tctcatctaa tggaaacgtt 240		
acagagagtg ggtgtaagga gtgcgaagag ttggaagaaa aaaacatcaa agaatttctt 300		
caatccttcg ttcacatagt gcaaatgttc attaacacgt cc 342		
<210> 12		
<211> 114		

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> IL15-蛋白质

<400> 12

```

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

```

Thr Ser

<210> 13

<211> 207

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> CD8铰链/TM-DNA

<400> 13

```

actaccacac ccgccccgag gccacctacg ccggcaccga ctatcgccag tcaaccctc 60
tctctgcgcc ccgaggcttg ccggcctgcg gctggtgggg cgggccacac ccggggcctg 120
gattttgcgt gcgatatata catctgggca cctcttgccg gcacctgcgg agtgctgctt 180
ctctcactcg ttattacgct gtactgc 207

```

<210> 14

<211> 66

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> CD8铰链/TM-蛋白质

<400> 14

Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala

1 5 10 15

Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly

20 25 30

Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile

35 40 45

Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val

50 55 60

Ile Thr

65

<210> 15

<211> 30

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> 接头1 (在FLAG标签之后使用) -DNA

<400> 15

ggcggtggtg gctctggtgg tggcggcagc 30

<210> 16

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> 接头1 (在FLAG标签之后使用) -蛋白质

<400> 16

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10

<210> 17

<211> 30

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> 接头2-在阴性对照结合域之后-DNA

<400> 17

ggccaggccg gctccggagg aggaggatcc 30
 <210> 18
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> 接头2-在阴性对照结合域之后-蛋白质
 <400> 18
 Gly Gln Ala Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10
 <210> 19
 <211> 12
 <212> DNA
 <213> 智人
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> scFv后的接头-DNA
 <400> 19
 ggccaggccg gc 12
 <210> 20
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> scFv后的接头-蛋白质
 <400> 20
 Gly Gln Ala Gly
 1
 <210> 21
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> 智人
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> 接头-DNA
 <220>
 <221> MISC_FEATURE

<223> Misc接头-DNA
<400> 21
ggcggcggcg gtagcggtgg tggcggctcc gga 33
<210> 22
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Misc接头-蛋白质
<400> 22
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10
<210> 23
<211> 18
<212> DNA
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 接头-DNA
<400> 23
ggccaggccg gctccgga 18
<210> 24
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 接头-蛋白质
<400> 24
Gly Gln Ala Gly Ser Gly
1 5
<210> 25
<211> 405
<212> DNA
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> NKG2D细胞外片段-DNA

<400> 25

ttattcaacc aagaagttca aattcccttg accgaaagtt actgtggccc atgtcctaaa 60
 aactggatat gttacaaaaa taactgctac caattttttg atgagagtaa aaactggtat 120
 gagagccagg cttcttgtat gtctcaaaat gccagccttc tgaaagtata cagcaaagag 180
 gaccaggatt tacttaaaact ggtgaagtca tatcattgga tgggactagt acacattcca 240
 acaaatggat cttggcagtg ggaagatggc tccattctct cacccaacct actaacaata 300
 attgaaatgc agaagggaga ctgtgcactc tatgcctcga gctttaaagg ctatatagaa 360
 aactgttcaa ctccaaatac gtacatctgc atgcaaagga ctgtg 405

<210> 26

<211> 135

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> NKG2D细胞外片段-蛋白质

<400> 26

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

<210> 27

<211> 645

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> 全人NKG2D-DNA

<400> 27

```
gggtggattc gtggtcggag gtctcgacac agctgggaga tgagtgaatt tcataattat 60
aacttggatc tgaagaagag tgatttttca acacgatggc aaaagcaaag atgtccagta 120
gtcaaaaagca aatgtagaga aaatgcatct ccattttttt tctgctgctt catcgctgta 180
gccatgggaa tccgtttcat tattatggta acaatatgga gtgctgtatt cctaaactca 240
ttattcaacc aagaagttca aattcccttg accgaaagtt actgtggccc atgtcctaaa 300
aactggatat gttacaaaaa taactgctac caattttttg atgagagtaa aaactggtat 360
gagagccagg cttcttgtat gtctcaaaat gccagccttc tgaaagtata cagcaaagag 420
gaccaggatt tacttaaaact ggtgaagtca tatcattgga tgggactagt acacattcca 480
acaaatggat cttggcagtg ggaagatggc tccattctct cacccaacct actaacaata 540
attgaaatgc agaagggaga ctgtgcactc tatgcctcga gctttaaagg ctatatagaa 600
aactgttcaa ctccaaatac gtacatctgc atgcaaagga ctgtg 645
```

<210> 28

<211> 405

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> 密码子优化的人NKG2D片段-DNA

<400> 28

```
ctgttcaatc aggaagtcca gatccccctg acagagtctt actgcggccc atgtcccaag 60
aactggatct gctacaagaa caattgttat cagttctttg acgagagcaa gaactggtat 120
gagtcccagg cctcttgcac gagccagaat gcctctctgc tgaagtgta cagcaaggag 180
gaccaggatc tgctgaagct ggtgaagtcc tatcactgga tgggcctggt gcacatccct 240
acaaacggct cttggcagtg ggaggacggc tccatcctgt ctccaaatct gctgaccatc 300
atcgagatgc agaagggcga ttgcgccttg tacgccagct ccttcaaggg ctatatcgag 360
aactgctcca cacccaatac ctacatctgt atgcagagga ccgtg 405
```

<210> 29

<211> 126

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> 4-1BB

<400> 29

```
aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacaac catttatgag accagtacaa 60
actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt 120
```

gaactg 126

<210> 30

<211> 29

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> 氨基酸序列CD28跨膜域

<400> 30

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

1 5 10 15

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

20 25

<210> 31

<211> 39

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> 氨基酸序列CD28 IC域

<400> 31

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

35

<210> 32

<211> 123

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> VL Nicholson等人

<400> 32

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 Arg Ala Asp Ala Ala
 100 105 110
 Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Asn
 115 120

<210> 33

<211> 120

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> VH Nicholson等人

<400> 33

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
 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> 34

<211> 634

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> PRT人工序列CD19R ζ 嵌合受体

<400> 34

```

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

```


Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu		
275	280	285
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu		
290	295	300
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser		
305	310	315
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu		
	325	330
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr		
	340	345
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn		
	355	360
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro		
	370	375
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln		
385	390	395
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val		
	405	410
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val		
	420	425
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro		
	435	440
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr		
	450	455
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val		
465	470	475
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu		
	485	490
Ser Pro Gly Lys Met Ala Leu Ile Val Leu Gly Gly Val Ala Gly Leu		
	500	505
Leu Leu Phe Ile Gly Leu Gly Ile Phe Phe Arg Val Lys Phe Ser Arg		
	515	520
Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn		
	530	535
Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg		
545	550	555
Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro		
	565	570
Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala		

580	585	590
Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His		
595	600	605
Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp		
610	615	620
Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg		
625	630	
<210> 35		
<211> 120		
<212> PRT		
<213> 智人		
<220>		
<221> MISC_FEATURE		
<223> 抗CD19 scFv HCV		
<400> 35		
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
1 5 10 15		
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr		
20 25 30		
Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
35 40 45		
Ser Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys		
50 55 60		
Ser Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu		
65 70 75 80		
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val 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 Leu Val Thr Val Ser Ser		
115 120		
<210> 36		
<211> 107		
<212> PRT		
<213> 智人		
<220>		
<221> MISC_FEATURE		
<223> 抗CD19 scFv HCV		
<400> 36		

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

<210> 37

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> LC CDR1

<400> 37

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 38

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> LC CDR2

<400> 38

His Thr Ser Arg Leu His Ser
1 5

<210> 39

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> LC CDR3

<400> 39

Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr

1 5

<210> 40

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> HC CDR1

<400> 40

Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser

1 5 10

<210> 41

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> HC CDR2

<400> 41

Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Ser Ser Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 42

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> HC CDR2-替代物

<400> 42

Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Gln Ser Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 43

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> HC CDR2-替代物2

<400> 43

Val	Ile	Trp	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Tyr	Tyr	Asn	Ser	Ser	Leu	Lys	Ser
1				5					10				15		

<210> 44

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> HC CDR3

<400> 44

His	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Gly	Ser	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr
1				5				10			

<210> 45

<211> 107

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> 轻链可变区1

<400> 45

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5				10						15	

Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Asp	Ile	Ser	Lys	Tyr
			20					25					30		

Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Asp	Gln	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
			35				40					45			

Lys	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	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
65				70				75					80		

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

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

<210> 46

<211> 107

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> 轻链可变区2

<400> 46

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5					10					15	
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Asp	Ile	Ser	Lys	Tyr
			20					25						30	
Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	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	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
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	Lys					
			100						105						

<210> 47

<211> 107

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> 轻链可变区3

<400> 47

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 48

<211> 107

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> 轻链可变区4

<400> 48

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

<210> 49

<211> 120

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> 重链可变区1

<400> 49

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

35	40	45
Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys		
50	55	60
Ser Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu		
65	70	75
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val 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 Leu Val Thr Val Ser Ser		
115	120	

<210> 50
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> 重链可变区2
 <400> 50

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr 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 Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45
Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys
50 55 60
Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Phe Leu
65 70 75 80
Lys Met Ser Ser Leu Thr Ala Ala 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 Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 51
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> 重链可变区3

<400> 51

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

<210> 52

<211> 120

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> 重链可变区4

<400> 52

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

<210> 53

<211> 8

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> LC CDR1

<400> 53

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys

1 5

<210> 54

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> LC CDR2

<400> 54

Ile Tyr His Thr Ser Arg Leu

1 5

<210> 55

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> LC CDR3

<400> 55

Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr

1 5

<210> 56

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> HC CDR1

<400> 56

Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser

1 5 10

<210> 57

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> HC CDR2

<400> 57

Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu

1 5 10

<210> 58

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> HC CDR3

<400> 58

His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 59

<211> 2210

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> NK19-1b DNA

<400> 59

ggatccgaat tcgccgccac catggcetta ccagtaccg ccttgctcct gccgctggcc 60
 ttgctgctcc acgccgccag gccggactac aaagacgatg acgataaagg cgggtggtggc 120
 tctggtggtg gcggcagcga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct 180
 ctgggagaca gagtcacat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaa 240
 tggatatcagc agaaaccaga tggaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta 300

cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc 360
 attagcaacc tggagcaaga agatatggc acttactttt gccaacaggg taatacgctt 420
 ccgtacacgt tcggaggggg gaccaagctg gagatcacag gtggcgggtg ctcgggcggt 480
 ggtgggtcgg gtggcggcgg atctgaggtg aaactgcagg agtcaggacc tggcctggtg 540
 gcgcccctcac agagcctgtc cgtcacatgc actgtctcag ggggtctcatt acccgactat 600
 ggtgtaagct ggattcgcca gcctccacga aagggtctgg agtggctggg agtaatatgg 660
 ggtagtgaaa ccacatacta taattcagct ctcaaatcca gactgacat catcaaggac 720
 aactccaaga gccaaagtttt cttaaaaatg aacagtctgc aaactgatga cacagccatt 780
 tactactgtg ccaaacatta ttactacggg gtagctatg ctatggacta ctggggccaa 840
 ggaacctcag tcaccgtctc ctcaaccacg acgccagcgc cgcgaccacc aacaccggcg 900
 cccaccatcg cgtcgcagcc cctgtccctg cgcccagagg cgtgccggcc agcggcgggg 960
 ggcgagctgc acacgagggg gctggacttc gcctgtgata tctacatctg ggcgcccttg 1020
 gccgggactt gtgggggtcct tctcctgtca ctggttatca ccttttactg ccggaggagc 1080
 cagaggctgc ccccgatgc ccacaagccc cctgggggag gcagtttccg gacccccatc 1140
 caagaggagc aggccgacgc ccactccacc ctggccaaga tcagagtga gttcagcagg 1200
 agcgcagacg ccccgcgta ccagcagggc cagaaccagc tctataacga gctcaatcta 1260
 ggacgaagag aggagtacga tgttttggac aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg 1320
 ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa ggctgtaca atgaactgca gaaagataag 1380
 atggcggagg cctacagtga gattgggatg aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac 1440
 gatggccttt accagggtct cagtacagcc accaaggaca cctacgacgc cttcacatg 1500
 caggccctgc cccctcgcgg ctctggcgag ggaagggtt ccttgccttac ttgcggcgac 1560
 gtcgaagaga atcccggtcc gatggcctc ccagtaactg cctcctttt gccctcgcga 1620
 ctcttcttct atgccgctcg cccaactgg gtcaacgtga ttagcgattt gaagaaaatc 1680
 gaggacctta tacagtctat gcatattgac gctacactgt atactgagag tgatgtacac 1740
 ccgtcctgta aggtaacggc catgaaatgc tttcttctgg agtccaggt catcagcttg 1800
 gagtctgggg acgcaagcat ccacgatacg gttgaaaacc tcatcatcct tgcaacaac 1860
 tctctctcat ctaatggaaa cgttacagag agtgggtgta aggagtgcga agagttggaa 1920
 gaaaaaaaca tcaaagaatt tcttcaatcc ttcgttcaca tagtgcaa atgttcattaac 1980
 acgtccacta ccacacccgc cccgaggcca cctacgccg caccgactat cgccagtcaa 2040
 cccctctctc tgcgccccga ggcttgccg cctgcggctg gtggggcggt ccacacccgg 2100
 ggcttgatt ttgcgtgcga tatatacatc tgggcacctc ttgccggcac ctgcggagtg 2160
 ctgcttctct cactcggtat tacgtgttac tgctaagcgg ccgctcgac 2210

<210> 60

<211> 724

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> NK19-1b蛋白质

<400> 60

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

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

610	615	620
Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe		
625	630	635
Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser Thr		
645	650	655
Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser		
660	665	670
Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly		
675	680	685
Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp		
690	695	700
Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile		
705	710	715
Thr Leu Tyr Cys		

<210> 61

<211> 2231

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> NK19-2b DNA

<400> 61

```

ggatccgaat tcgccgccac catggcctta ccagtaccg ccttgctcct gccgctggcc 60
ttgctgctcc acgccgccag gccggactac aaagacgatg acgataaagg cgggtggtggc 120
tctggtggtg gcggcagcga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct 180
ctgggagaca gagtcaccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaa 240
tggtatcagc agaaaccaga tggaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta 300
cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc 360
attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt 420
ccgtacacgt tcggaggggg gaccaagctg gagatcacag gtggcggtgg ctcgggcggt 480
ggtgggtcgg gtggcgggcg atctgaggtg aaactgcagg agtcaggacc tggcctggtg 540
gcgccctcac agagcctgtc cgtcacatgc actgtctcag ggggtctcatt acccgactat 600
ggtgtaagct ggattcgcca gcctccacga aagggtctgg agtggctggg agtaatatgg 660
ggtagtgaaa ccacatacta taattcagct ctcaaatcca gactgacat catcaaggac 720
aactccaaga gccaaagttt cttaaaaatg aacagtctgc aaactgatga cacagccatt 780
tactactgtg ccaaacatta ttactacggt ggtagctatg ctatggacta ctggggccaa 840
ggaacctcag tcaccgtctc ctcaaccacg acgccagcgc cgcgaccacc aacaccggcg 900
cccaccatcg cgtcgcagcc cctgtccctg cgcccagagg cgtgccggcc agcggcgggg 960
ggcgcagtgc acacgagggg gctggacttc gcctgtgatt tttgggtgct ggtggtggtt 1020

```

ggtggagtcc tggcttgcta tagcttgcta gtaacagtgg cctttattat tttctgggtg 1080
 aggagtaaga ggagcaggct cctgcacagt gactacatga acatgactcc ccgccgcccc 1140
 gggcccccac gcaagcatta ccagccctat gccccaccac gcgacttcgc agcctatcgc 1200
 tccagagtga agttcagcag gagcgcagac gccccgcgt accagcaggg ccagaaccag 1260
 ctctataacg agctcaatct aggacgaaga gaggagtacg atgttttgga caagagacgt 1320
 ggccgggacc ctgagatggg gggaaagccg agaaggaaga accctcagga aggcctgtac 1380
 aatgaactgc agaaagataa gatggcggag gcctacagtg agattgggat gaaaggcgag 1440
 cgccggaggg gcaaggggca cgatggcctt taccagggtc tcagtacagc caccaaggac 1500
 acctacgacg cccttcacat gcaggccctg cccctcgcg gctctggcga gggaaggggt 1560
 tccctgctta cttgcggcga cgtcgaagag aatcccggtc cgatggcctt cccagtaact 1620
 gccctccttt tgccctcgc actccttctt catgccgtc gcccactg ggtcaacgtg 1680
 attagcgatt tgaagaaaat cgaggacctt atacagtcta tgcatattga cgctacactg 1740
 tatactgaga gtgatgtaca cccgtcctgt aaggtaacgg ccatgaaatg ctttcttctg 1800
 gagctccagg tcatcagctt ggagtctggg gacgcaagca tccacgatac ggttgaaaac 1860
 ctcatcatcc ttgcgaacaa ctctctctca tctaattgaa acgttacaga gagggtgtgt 1920
 aaggagtgcg aagagttgga agaaaaaac atcaaagaat ttcttcaatc cttcgttcac 1980
 atagtcaaaa tgttcattaa cacgtccact accacaccg ccccgaggcc acctacgccg 2040
 gcaccgacta tcgccagtca acccctctct ctgcgccccg aggcttgccg gcctgcggct 2100
 ggtggggcgg tccacaccg gggcctggat tttgcgtgcg atatatacat ctgggcacct 2160
 cttgccggca cctgcggagt gctgcttctc tctactgtta ttacgtgta ctgctaagcg 2220
 gccgcgtcga c 2231

<210> 62

<211> 731

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> NK19-2b蛋白质

<400> 62

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

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

385	390	395	400
Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn			
	405	410	415
Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg			
	420	425	430
Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro			
	435	440	445
Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala			
	450	455	460
Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His			
465	470	475	480
Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp			
	485	490	495
Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg Gly Ser Gly Glu Gly Arg			
	500	505	510
Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met			
	515	520	525
Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu His			
	530	535	540
Ala Ala Arg Pro Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile			
545	550	555	560
Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu			
	565	570	575
Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu			
	580	585	590
Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His			
	595	600	605
Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser			
	610	615	620
Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu			
625	630	635	640
Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln			
	645	650	655
Met Phe Ile Asn Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr			
	660	665	670
Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala			
	675	680	685
Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe			
690	695	700	

gcactccttc ttcatgccgc tcgccccaac tgggtcaacg tgattagcga tttgaagaaa 1680
 atcgaggacc ttatacagtc tatgcatatt gacgctacac tgtatactga gagtgatgta 1740
 caccgcgtcct gtaaggtaac ggccatgaaa tgctttcttc tggagctcca ggtcatcagc 1800
 ttggagctctg gggacgcaag catccacgat acggttgaaa acctcatcat ccttgccaac 1860
 aactctctct catctaattg aaacgttaca gagagtgggt gtaaggagtg cgaagagttg 1920
 gaagaaaaaa acatcaaaga atttcttcaa tccttcgttc acatagtgc aatgttcatt 1980
 aacacgtcca ctaccacacc cgccccgagg ccacctacgc cggcaccgac tatcgccagt 2040
 caaccctct ctctgcgccc cgaggcttgc cggcctgcgg ctggtggggc ggtccacacc 2100
 cggggcctgg attttgcgtg cgatatatac atctgggcac ctcttgccgg cacctgcgga 2160
 gtgctgcttc tctcactcgt tattacgtg tactgctaag cggccgcgtc gac 2213

<210> 64

<211> 725

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> NK19-3b蛋白质

<400> 64

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

				165					170					175			
Gln	Ser	Leu	Ser	Val	Thr	Cys	Thr	Val	Ser	Gly	Val	Ser	Leu	Pro	Asp		
				180					185					190			
Tyr	Gly	Val	Ser	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Arg	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp		
				195				200						205			
Leu	Gly	Val	Ile	Trp	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Tyr	Tyr	Asn	Ser	Ala	Leu		
				210				215						220			
Lys	Ser	Arg	Leu	Thr	Ile	Ile	Lys	Asp	Asn	Ser	Lys	Ser	Gln	Val	Phe		
225					230					235				240			
Leu	Lys	Met	Asn	Ser	Leu	Gln	Thr	Asp	Asp	Thr	Ala	Ile	Tyr	Tyr	Cys		
				245				250						255			
Ala	Lys	His	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Gly	Ser	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly		
				260				265						270			
Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Thr	Thr	Thr	Pro	Ala	Pro	Arg		
				275				280						285			
Pro	Pro	Thr	Pro	Ala	Pro	Thr	Ile	Ala	Ser	Gln	Pro	Leu	Ser	Leu	Arg		
				290				295						300			
Pro	Glu	Ala	Cys	Arg	Pro	Ala	Ala	Gly	Gly	Ala	Val	His	Thr	Arg	Gly		
305					310				315					320			
Leu	Asp	Phe	Ala	Cys	Asp	Ile	Tyr	Ile	Trp	Ala	Pro	Leu	Ala	Gly	Thr		
				325				330						335			
Cys	Gly	Val	Leu	Leu	Ser	Leu	Val	Ile	Thr	Leu	Tyr	Cys	Cys	Trp			
				340				345						350			
Leu	Thr	Lys	Lys	Lys	Tyr	Ser	Ser	Ser	Val	His	Asp	Pro	Asn	Gly	Glu		
				355				360						365			
Tyr	Met	Phe	Met	Arg	Ala	Val	Asn	Thr	Ala	Lys	Lys	Ser	Arg	Leu	Thr		
				370				375						380			
Asp	Val	Thr	Leu	Arg	Val	Lys	Phe	Ser	Arg	Ser	Ala	Asp	Ala	Pro	Ala		
385					390				395					400			
Tyr	Gln	Gln	Gly	Gln	Asn	Gln	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Asn	Leu	Gly	Arg		
				405				410						415			
Arg	Glu	Glu	Tyr	Asp	Val	Leu	Asp	Lys	Arg	Arg	Gly	Arg	Asp	Pro	Glu		
				420				425						430			
Met	Gly	Gly	Lys	Pro	Arg	Arg	Lys	Asn	Pro	Gln	Glu	Gly	Leu	Tyr	Asn		
				435				440						445			
Glu	Leu	Gln	Lys	Asp	Lys	Met	Ala	Glu	Ala	Tyr	Ser	Glu	Ile	Gly	Met		
				450				455						460			
Lys	Gly	Glu	Arg	Arg	Arg	Gly	Lys	Gly	His	Asp	Gly	Leu	Tyr	Gln	Gly		
465					470				475					480			

Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala		
485	490	495
Leu Pro Pro Arg Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys		
500	505	510
Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ala Leu Pro Val Thr Ala		
515	520	525
Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu His Ala Ala Arg Pro Asn Trp		
530	535	540
Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser		
545	550	555
Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser		
565	570	575
Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile		
580	585	590
Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu		
595	600	605
Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu		
610	615	620
Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu		
625	630	635
Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser		
645	650	655
Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala		
660	665	670
Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly		
675	680	685
Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile		
690	695	700
Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val		
705	710	715
Ile Thr Leu Tyr Cys		
725		

<210> 65

<211> 2357

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> NK19-4b DNA

<400> 65

```

ggatccgaat tcgccgccac catggcctta ccagtgaccg ccttgctcct gccgctggcc 60
ttgctgctcc acgccgccag gccggactac aaagacgatg acgataaagg cggtggtggc 120
tctggtggtg gcggcagcga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct 180
ctgggagaca gagtcaccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atattttaat 240
tggtatcagc agaaaccaga tggaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta 300
cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc 360
attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt 420
ccgtacacgt tcggaggggg gaccaagctg gagatcacag gtggcgggtg ctggggcggt 480
ggtgggtcgg gtggcggcgg atctgaggtg aaactgcagg agtcaggacc tggcctggtg 540
gcgccctcac agagcctgtc cgtcacatgc actgtctcag gggctctcatt acccgactat 600
ggtgtaagct ggattcgcca gcctccacga aagggtctgg agtggctggg agtaatatgg 660
ggtagtgaaa ccacatacta taattcagct ctcaaateca gactgacct catcaaggac 720
aactccaaga gccaaagttt cttaaaaatg aacagtctgc aaactgatga cacagccatt 780
tactactgtg ccaaacatta ttactacggt ggtagctatg ctatggacta ctggggccaa 840
ggaacctcag tcaccgtctc ctcaaccacg acgccagcgc cgcgaccacc aacaccggcg 900
cccaccatcg cgtcgcagcc cctgtccctg cgcccagagg cgtgccggcc agcggcgggg 960
ggcgcagtgc acacgagggg gctggacttc gcctgtgatt tttgggtgct ggtggtggtt 1020
ggtggagtcc tggcttgcta tagcttgcta gtaacagtgg cctttattat tttctgggtg 1080
aggagtaaga ggagcaggct cctgcacagt gactacatga acatgactcc ccgcccccc 1140
gggcccacc gcaagcatta ccagccctat gcccaccac gcgacttcgc agcctatcgc 1200
tccaaacggg gcagaaagaa actcctgtat atattcaaac aaccatttat gagaccagta 1260
caaactactc aagaggaaga tggctgtagc tgccgatttc cagaagaaga agaaggagga 1320
tgtgaactga gagtgaagtt cagcaggagc gcagacgccc ccgcgtacca gcagggccag 1380
aaccagctct ataacgagct caatctagga cgaagagagg agtacgatgt tttggacaag 1440
agacgtggcc gggaccctga gatgggggga aagccgagaa ggaagaacc tcaggaaggc 1500
ctgtacaatg aactgcagaa agataagatg gcggaggcct acagtgagat tgggatgaaa 1560
ggcagcgcgc ggaggggcaa ggggcacgat ggcttttacc aggtctcag tacagccacc 1620
aaggacacct acgacgccct tcacatgcag gccctgcccc ctgcggctc tggcgaggga 1680
aggggttccc tgcttacttg cggcgacgtc gaagagaatc ccggtccgat ggccctccca 1740
gtaactgccc tccttttgcc cctcgcactc cttcttcatg ccgctcgccc caactgggtc 1800
aacgtgatta gcgatttgaa gaaaatcgag gaccttatac agtctatgca tattgacgct 1860
acactgtata ctgagagtga tgtacacccg tctgtgaagg taacggccat gaaatgcttt 1920
cttctggagc tccaggtcat cagcttgag tctggggacg caagcatcca cgatacggtt 1980
gaaaacctca tcatccttgc gaacaactct ctctcatcta atggaaacgt tacagagagt 2040
gggtgtaagg agtgcaaga gttggaagaa aaaaacatca aagaatttct tcaatccttc 2100
gttcacatag tgcaaatgtt cattaacacg tccactacca caccgcccc gaggccacct 2160
acgccggcac cgactatcgc cagtcaacct ctctctctgc gcccagagc ttgccgcct 2220
gcggctggtg gggcgggtcca caccggggc ctggattttg cgtgcgatat atacatctgg 2280

```

gcacctcttg ccggcacctg cggagtgtg cttctctcac tcgttattac gctgtactgc 2340
taagcggccg cgtcgac 2357

<210> 66

<211> 773

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> NK19-4b蛋白质

<400> 66

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

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

```

Leu Pro Pro Arg Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys
545                      550                      555                      560
Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ala Leu Pro Val Thr Ala
                      565                      570                      575
Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu His Ala Ala Arg Pro Asn Trp
                      580                      585                      590
Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser
                      595                      600                      605
Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser
                      610                      615                      620
Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile
625                      630                      635                      640
Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu
                      645                      650                      655
Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu
                      660                      665                      670
Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu
                      675                      680                      685
Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser
                      690                      695                      700
Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala
705                      710                      715                      720
Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
                      725                      730                      735
Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile
                      740                      745                      750
Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val
                      755                      760                      765
Ile Thr Leu Tyr Cys
770

```

<210> 67

<211> 2201

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> NK19-5b DNA

<400> 67

```

ggatccgaat tcgccgccac catggcctta ccagtgaccg ccttgctcct gccgctggcc 60

```

```

ttgctgctcc acgccgccag gccggactac aaagacgatg acgataaagg cggtggtggc 120
tctggtggtg gcggcagcga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct 180
ctgggagaca gagtcaccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atattttaa 240
tggtatcagc agaaaccaga tggaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta 300
cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc 360
attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt 420
ccgtacacgt tcggaggggg gaccaagctg gagatcacag gtggcgggtg ctggggcggt 480
ggtgggtcgg gtggcggcgg atctgaggtg aaactgcagg agtcaggacc tggcctggtg 540
gcgccctcac agagcctgtc cgtcacatgc actgtctcag gggtctcatt acccgactat 600
ggtgtaagct ggattcgcca gcctccacga aagggtctgg agtggctggg agtaatatgg 660
ggtagtgaaa ccacatacta taattcagct ctcaaatcca gactgacat catcaaggac 720
aactccaaga gccaaagttt cttaaaaatg aacagtctgc aaactgatga cacagccatt 780
tactactgtg ccaaacatta ttactacggt gtagctatg ctatggacta ctggggccaa 840
ggaacctcag tcaccgtctc ctcaaccacg acgccagcgc cgcgaccacc aacaccggcg 900
cccaccatcg cgtcgcagcc cctgtccctg cgcccagagg cgtgccggcc agcggcgggg 960
ggcgcagtgc acacgagggg gctggacttc gcctgtgatc ctttttttt ctgctgcttc 1020
atcgtgttag ccatgggaat ccgtttcatt attatggtaa cacggaggga ccagaggctg 1080
ccccccgatg cccacaagcc ccctggggga ggcagtttcc ggacccccat ccaagaggag 1140
caggccgacg cccactccac cctggccaag atcagagtga agttcagcag gagcgcagac 1200
gccccgcgt accagcaggg ccagaaccag ctctataacg agtcaatct aggacgaaga 1260
gaggagtacg atgttttga caagagacgt ggccgggacc ctgagatggg gggaaagccg 1320
agaaggaaga accctcagga aggcctgtac aatgaactgc agaaagataa gatggcggag 1380
gcctacagtg agattgggat gaaaggcgag cgccggaggg gcaaggggca cgatggcctt 1440
taccagggtc tcagtacagc caccaaggac acctacgacg cccttcacat gcaggccctg 1500
ccccctcgcg gctctggcga gggaaggggt tccctgctta cttgcggcga cgtcgaagag 1560
aatccccgtc cgatggccct cccagtaact gccctccttt tgccccctgc actccttctt 1620
catgccgctc gcccgaactg ggtcaactg attagcgatt tgaagaaaat cgaggacctt 1680
atacagtcta tgcatattga cgctacactg tatactgaga gtgatgtaca cccgtcctgt 1740
aaggtaacgg ccatgaaatg ctttcttctg gagctccagg tcatcagctt ggagtctggg 1800
gacgcaagca tccacgatac ggttgaaaac ctcatcatcc ttgcgaacaa ctctctctca 1860
tctaattgaa acgttacaga gagtgggtgt aaggagtgcg aagagttgga agaaaaaac 1920
atcaaagaat ttcttcaatc cttcgttcac atagtcaaa tgttcattaa cacgtccact 1980
accacacccg ccccgaggcc acctacgccg gcaccgacta tcgccagtca acccctctct 2040
ctgcgccccg aggcttgccg gcctgcgget ggtggggcgg tccacacccg gggcctggat 2100
tttgcgtgcg atatatacat ctgggcacct cttgccggca cctgcggagt gctgcttctc 2160
tcaactgtta ttacgtgta ctgctaagcg gccgcgtcga c 2201

```

<210> 68

<211> 721

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> NK19-5b蛋白质

<400> 68

```

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

```

Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg		
275	280	285
Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg		
290	295	300
Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly		
305	310	315
320		
Leu Asp Phe Ala Cys Asp Pro Phe Phe Phe Cys Cys Phe Ile Ala Val		
325	330	335
Ala Met Gly Ile Arg Phe Ile Ile Met Val Thr Arg Arg Asp Gln Arg		
340	345	350
Leu Pro Pro Asp Ala His Lys Pro Pro Gly Gly Gly Ser Phe Arg Thr		
355	360	365
Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His Ser Thr Leu Ala Lys Ile		
370	375	380
Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly		
385	390	395
400		
Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr		
405	410	415
Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys		
420	425	430
Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys		
435	440	445
Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg		
450	455	460
Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala		
465	470	475
480		
Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg		
485	490	495
Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu		
500	505	510
Glu Asn Pro Gly Pro Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro		
515	520	525
Leu Ala Leu Leu Leu His Ala Ala Arg Pro Asn Trp Val Asn Val Ile		
530	535	540
Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp		
545	550	555
560		
Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr		
565	570	575
Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser		

580	585	590
Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala		
595	600	605
Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys		
610	615	620
Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser		
625	630	635
Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser Thr Thr Thr Pro		
645	650	655
Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu		
660	665	670
Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His		
675	680	685
Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu		
690	695	700
Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr		
705	710	715
		720

Cys

<210> 69

<211> 1805

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> NK19-6b DNA

<400> 69

```

ggatccgaat tcgccgccac catggcetta ccagtgaccg ccttgctcct gccgctggcc 60
ttgctgctcc acgccgccag gccggactac aaagacgatg acgataaagg cggtggtggc 120
tctggtggtg gcggcagcga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct 180
ctgggagaca gagtcacat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atattttaat 240
tggtatcagc agaaaccaga tggaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta 300
cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc 360
attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt 420
ccgtacacgt tcggaggggg gaccaagctg gagatcaca ccacgacgc agcgccgcga 480
ccaccaacac cggcgccccc catcgctcg cagccctgt ccttgcgcc agaggcgtgc 540
cggccagcgg cggggggcgc agtgacacg agggggctgg acttcgcctg tgatatctac 600
atctgggcgc ccttggccgg gacttgtggg gtccttctcc tgtcactggt tatcaccctt 660
tactgccgga gggaccagag gctgcccccc gatgccaca agccccctgg gggaggcagt 720
ttccggaccc ccatccaaga ggagcaggcc gacgccact ccaccctggc caagatcaga 780

```

gtgaagttca gcaggagcgc agacgcccc gcgtaccagc agggccagaa ccagctctat 840
aacgagctca atctaggacg aagagaggag tacgatgttt tggacaagag acgtggccgg 900
gaccttgaga tggggggaaa gccgagaagg aagaaccctc aggaaggcct gtacaatgaa 960
ctgcagaaag ataagatggc ggaggcctac agtgagattg ggatgaaagg cgagcgccgg 1020
aggggcaagg ggcacgatgg cttttaccag ggtctcagta cagccaccaa ggacacctac 1080
gacgcccttc acatgcaggc cctgccccct cgcggctctg gcgagggaag gggttccctg 1140
cttacttgcg gcgacgtcga agagaatccc ggtccgatgg ccctcccagt aactgccctc 1200
cttttgcccc tcgcactcct tcttcatgcc gctcgcccca actgggtcaa cgtgattagc 1260
gatttgaaaga aaatcgagga cttatacag tctatgcata ttgacgtac actgtatact 1320
gagagtgatg tacacccgtc ctgtaaggta acggccatga aatgctttct tctggagctc 1380
caggtcatca gcttggagtc tggggacgca agcatccacg atacggttga aaacctcatc 1440
atccttgcca acaactctct ctcatctaat ggaaacgtta cagagagtgg gtgtaaggag 1500
tgcgaagagt tggaagaaaa aaacatcaaa gaatttcttc aatccttcgt tcacatagtg 1560
caaatgttca ttaacacgtc cactaccaca cccgccccga ggccacctac gccggcaccg 1620
actatcgcca gtcaaccctt ctctctgcgc cccgaggctt gccggcctgc ggctgggtggg 1680
gcggtccaca cccggggcct ggattttgcg tgcgatatat acatctgggc acctcttgcc 1740
ggcacctgcg gagtgtctgt tctctcactc gttattacgc tgtactgcta agcggccgcg 1800
tcgac 1805

<210> 70

<211> 589

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> NK19-6b蛋白质

<400> 70

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

100	105	110
Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln		
115	120	125
Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu		
130	135	140
Ile Thr Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr		
145	150	155
Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala		
165	170	175
Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile		
180	185	190
Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser		
195	200	205
Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Arg Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp		
210	215	220
Ala His Lys Pro Pro Gly Gly Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu		
225	230	235
Glu Gln Ala Asp Ala His Ser Thr Leu Ala Lys Ile Arg Val Lys Phe		
245	250	255
Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu		
260	265	270
Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp		
275	280	285
Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys		
290	295	300
Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala		
305	310	315
Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys		
325	330	335
Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr		
340	345	350
Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg Gly Ser Gly Glu		
355	360	365
Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly		
370	375	380
Pro Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu		
385	390	395
Leu His Ala Ala Arg Pro Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys		
405	410	415

Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr
 420 425 430
 Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys
 435 440 445
 Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser
 450 455 460
 Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu
 465 470 475 480
 Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu
 485 490 495
 Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile
 500 505 510
 Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro
 515 520 525
 Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro
 530 535 540
 Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu
 545 550 555 560
 Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys
 565 570 575
 Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys
 580 585

<210> 71

<211> 3347

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> NK19-7b DNA

<400> 71

ggatccgaat tcgccgccac catggcetta ccagtaccg ccttgctcct gccgctggcc 60
 ttgctgctcc acgccgccag gccggactac aaagacgatg acgataaagg cggtggtggc 120
 tctggtggtg gcggcagcga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct 180
 ctgggagaca gagtccaccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atattttaat 240
 tggatatcagc agaaaccaga tggaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta 300
 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc 360
 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt 420
 ccgtacacgt tcggaggggg gaccaagctg gagatcacag gtggcggttg ctcgggcggt 480
 ggtgggtcgg gtggcggcgg atctgaggtg aaactgcagg agtcaggacc tggcctggtg 540

gcgcccctcac agagcctgtc cgtcacatgc actgtctcag gggctctcatt acccgactat 600
 ggtgtaagct ggattcgcca gcctccacga aagggtctgg agtggctggg agtaatatgg 660
 ggtagtgaaa ccacatacta taattcagct ctcaaatacca gactgaccat catcaaggac 720
 aactccaaga gccaagtttt cttaaaaatg aacagtctgc aaactgatga cacagccatt 780
 tactactgtg ccaaacatta ttactacggg ggtagctatg ctatggacta ctggggccaa 840
 ggaacctcag tcaccgtctc ctcaaccacg acgccagcgc cgcgaccacc aacaccggcg 900
 cccaccatcg cgtcgcagcc cctgtccctg cgcccagagg cgtgccggcc agcggcgggg 960
 ggcgcagtg acacgagggg gctggacttc gcctgtgata tctacatctg ggcgcccttg 1020
 gccgggactt gtggggtcct tctcctgtca ctggttatca ccctttactg ccggagggac 1080
 cagaggctgc ccccgatgc ccacaagccc cctggggggag gcagtttccg gacccccatc 1140
 caagaggagc aggccgacgc ccaactccacc ctggccaaga tcagagtga gttcagcagg 1200
 agcgcagacg ccccgcgta ccagcagggc cagaaccagc tctataacga gctcaatcta 1260
 ggacgaagag aggagtacga tgttttggac aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg 1320
 ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa ggcctgtaca atgaactgca gaaagataag 1380
 atggcggagg cctacagtga gattgggatg aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac 1440
 gatggccttt accagggtct cagtacagcc accaaggaca cctacgacgc ctttcacatg 1500
 caggccctgc cccctcgcgg ctctggcgag ggaaggggtt ccctgcttac ttgcggcgac 1560
 gtcgaagaga atcccgggcc gatggccctc ccagtaactg ccctcctttt gccctcgca 1620
 ctcttctctc atgccgctcg ccccaactgg gtcaacgtga ttagcgattt gaagaaaatc 1680
 gaggacctta tacagtctat gcatattgac gctacactgt atactgagag tgatgtacac 1740
 ccgtcctgta aggtaacggc catgaaatgc tttcttctgg agctccaggt catcagcttg 1800
 gagtctgggg acgcaagcat ccacgatacg gttgaaaacc tcatcatcct tgcgaacaac 1860
 tctctctcat ctaatggaaa cgttacagag agtgggtgta aggagtgcga agagttggaa 1920
 gaaaaaaaca tcaaagaatt tcttcaatcc ttcgttcaca tagtgcaaat gttcattaac 1980
 acgtccacta ccacacccgc cccgaggcca cctacgccgg caccgactat cgccagtcaa 2040
 cccctctctc tgcgccccga ggcttgccgg cctgcggctg gtggggcggt ccacacccgg 2100
 ggcttgatt ttgcgtgcga tatatacatc tgggcacctc ttgccggcac ctgcggagtg 2160
 ctgcttctct cactcgttat tacgtgttac tgcggcagcg gcgccacaaa cttctctctg 2220
 ctaaagcaag caggatgtg tgaagaaaac cccgggccta tgcttctcct ggtgacaagc 2280
 cttctgctct gtgagttacc acaccagca ttctctctga tcccacgaa agtgtgtaac 2340
 ggaataggta ttggtgaatt taaagactca ctctccataa atgctacgaa tattaaacac 2400
 ttcaaaaact gcacctccat cagtggcgat ctccacatcc tgccggtggc atttaggggt 2460
 gactccttca cacatactcc tcctctggat ccacaggaac tggatattct gaaaaccgta 2520
 aaggaaatca cagggttttt gctgattcag gcttgacctg aaaacaggac ggacctccat 2580
 gcctttgaga acctagaaat catacgcggc aggaccaagc aacatggtca gttttctctt 2640
 gcagtcgtca gcctgaacat aacatccttg ggattacgt cctcaagga gataagtgat 2700
 ggagatgtga taatttcagg aaacaaaaat ttgtgctatg caaatacaat aaactggaaa 2760
 aaactgtttg ggacctccgg tcagaaaacc aaaattataa gcaacagagg tgaacacagc 2820
 tgcaaggcca caggccaggt ctgcatgcc ttgtgctccc ccgagggtg ctggggcccc 2880

gagcccaggg actgcgtctc ttgccggaat gtcagccgag gcagggaatg cgtggacaag 2940
 tgcaaccttc tggagggtga gccaagggag tttgtggaga actctgagtg catacagtgc 3000
 caccagaggt gcctgcctca ggccatgaac atcacctgca caggacgggg accagacaac 3060
 tgtatccagt gtgccacta cattgacggc cccactgcg tcaagacctg cccggcagga 3120
 gtcattgggag aaaacaacac cctggtctgg aagtacgcag acgccggcca tgtgtgccac 3180
 ctgtgccatc caaactgcac ctacggatgc actgggccag gtcttgaagg ctgtccaacg 3240
 aatgggccta agatcccgct catcgccact gggatgggtg gggccctcct cttgctgctg 3300
 gtgggtggccc tggggatcgg cctcttcatg tgagcggccg cgtcgac 3347

<210> 72

<211> 1103

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> NK19-7b蛋白质

<400> 72

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

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

Pro	Pro	Arg	Gly	Ser	Gly	Glu	Gly	Arg	Gly	Ser	Leu	Leu	Thr	Cys	Gly			
			500					505					510					
Asp	Val	Glu	Glu	Asn	Pro	Gly	Pro	Met	Ala	Leu	Pro	Val	Thr	Ala	Leu			
		515				520					525							
Leu	Leu	Pro	Leu	Ala	Leu	Leu	Leu	His	Ala	Ala	Arg	Pro	Asn	Trp	Val			
		530				535					540							
Asn	Val	Ile	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	Ile	Glu	Asp	Leu	Ile	Gln	Ser	Met			
545					550					555					560			
His	Ile	Asp	Ala	Thr	Leu	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asp	Val	His	Pro	Ser	Cys			
				565					570					575				
Lys	Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Glu	Leu	Gln	Val	Ile	Ser			
			580					585					590					
Leu	Glu	Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp	Thr	Val	Glu	Asn	Leu	Ile			
		595					600					605						
Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Gly	Asn	Val	Thr	Glu	Ser			
		610				615						620						
Gly	Cys	Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn	Ile	Lys	Glu	Phe			
625					630					635					640			
Leu	Gln	Ser	Phe	Val	His	Ile	Val	Gln	Met	Phe	Ile	Asn	Thr	Ser	Thr			
				645					650					655				
Thr	Thr	Pro	Ala	Pro	Arg	Pro	Pro	Thr	Pro	Ala	Pro	Thr	Ile	Ala	Ser			
			660					665					670					
Gln	Pro	Leu	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Ala	Cys	Arg	Pro	Ala	Ala	Gly	Gly			
		675				680							685					
Ala	Val	His	Thr	Arg	Gly	Leu	Asp	Phe	Ala	Cys	Asp	Ile	Tyr	Ile	Trp			
		690				695					700							
Ala	Pro	Leu	Ala	Gly	Thr	Cys	Gly	Val	Leu	Leu	Leu	Ser	Leu	Val	Ile			
705					710					715					720			
Thr	Leu	Tyr	Cys	Gly	Ser	Gly	Ala	Thr	Asn	Phe	Ser	Leu	Leu	Lys	Gln			
				725				730						735				
Ala	Gly	Asp	Val	Glu	Glu	Asn	Pro	Gly	Pro	Met	Leu	Leu	Leu	Val	Thr			
			740					745					750					
Ser	Leu	Leu	Leu	Cys	Glu	Leu	Pro	His	Pro	Ala	Phe	Leu	Leu	Ile	Pro			
		755				760							765					
Arg	Lys	Val	Cys	Asn	Gly	Ile	Gly	Ile	Gly	Glu	Phe	Lys	Asp	Ser	Leu			
		770				775							780					
Ser	Ile	Asn	Ala	Thr	Asn	Ile	Lys	His	Phe	Lys	Asn	Cys	Thr	Ser	Ile			
785					790					795					800			
Ser	Gly	Asp	Leu	His	Ile	Leu	Pro	Val	Ala	Phe	Arg	Gly	Asp	Ser	Phe			

				805					810					815			
Thr	His	Thr	Pro	Pro	Leu	Asp	Pro	Gln	Glu	Leu	Asp	Ile	Leu	Lys	Thr		
				820					825					830			
Val	Lys	Glu	Ile	Thr	Gly	Phe	Leu	Leu	Ile	Gln	Ala	Trp	Pro	Glu	Asn		
				835					840					845			
Arg	Thr	Asp	Leu	His	Ala	Phe	Glu	Asn	Leu	Glu	Ile	Ile	Arg	Gly	Arg		
				850					855					860			
Thr	Lys	Gln	His	Gly	Gln	Phe	Ser	Leu	Ala	Val	Val	Ser	Leu	Asn	Ile		
865									870					875			880
Thr	Ser	Leu	Gly	Leu	Arg	Ser	Leu	Lys	Glu	Ile	Ser	Asp	Gly	Asp	Val		
				885					890					895			
Ile	Ile	Ser	Gly	Asn	Lys	Asn	Leu	Cys	Tyr	Ala	Asn	Thr	Ile	Asn	Trp		
				900					905					910			
Lys	Lys	Leu	Phe	Gly	Thr	Ser	Gly	Gln	Lys	Thr	Lys	Ile	Ile	Ser	Asn		
				915					920					925			
Arg	Gly	Glu	Asn	Ser	Cys	Lys	Ala	Thr	Gly	Gln	Val	Cys	His	Ala	Leu		
				930					935					940			
Cys	Ser	Pro	Glu	Gly	Cys	Trp	Gly	Pro	Glu	Pro	Arg	Asp	Cys	Val	Ser		
945														950			960
Cys	Arg	Asn	Val	Ser	Arg	Gly	Arg	Glu	Cys	Val	Asp	Lys	Cys	Asn	Leu		
				965					970					975			
Leu	Glu	Gly	Glu	Pro	Arg	Glu	Phe	Val	Glu	Asn	Ser	Glu	Cys	Ile	Gln		
				980					985					990			
Cys	His	Pro	Glu	Cys	Leu	Pro	Gln	Ala	Met	Asn	Ile	Thr	Cys	Thr	Gly		
				995					1000					1005			
Arg	Gly	Pro	Asp	Asn	Cys	Ile	Gln	Cys	Ala	His	Tyr	Ile	Asp	Gly			
				1010					1015					1020			
Pro	His	Cys	Val	Lys	Thr	Cys	Pro	Ala	Gly	Val	Met	Gly	Glu	Asn			
				1025					1030					1035			
Asn	Thr	Leu	Val	Trp	Lys	Tyr	Ala	Asp	Ala	Gly	His	Val	Cys	His			
				1040					1045					1050			
Leu	Cys	His	Pro	Asn	Cys	Thr	Tyr	Gly	Cys	Thr	Gly	Pro	Gly	Leu			
				1055					1060					1065			
Glu	Gly	Cys	Pro	Thr	Asn	Gly	Pro	Lys	Ile	Pro	Ser	Ile	Ala	Thr			
				1070					1075					1080			
Gly	Met	Val	Gly	Ala	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Val	Val	Ala	Leu	Gly			
				1085					1090					1095			
Ile	Gly	Leu	Phe	Met													
				1100													

<210> 73

<211> 1844

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> NK19-8b DNA

<400> 73

```

ggatccgaat tcgccgccac catggcetta ccagtgaccg ccttgctcct gccgctggcc 60
ttgctgctcc acgccgccag gccggactac aaagacgatg acgataaagg cgggtggtggc 120
tctggtggtg gcggcagcga ggtgaaactg caggagtcat gacctggcct ggtggcgccc 180
tcacagagcc tgtccgtcac atgcactgtc tcaggggtct cattaccga ctatggtgta 240
agctggattc gccagcctcc acgaaagggt ctggagtggc tgggagtaat atggggtagt 300
gaaaccacat actataattc agctctcaaa tccagactga ccatcatcaa ggacaactcc 360
aagagccaag ttttcttaaa aatgaacagt ctgcaactg atgacacagc catttactac 420
tgtgccaac attattacta cgggtgtagc tatgctatgg actactgggg ccaaggaacc 480
tcagtcaccg tctcctcaac cacgacgcca gcgccgcgac caccaacacc ggcgcccacc 540
atcgcgctgc agccccctgc cctgcgcca gaggcgtgcc ggccagcggc ggggggcgca 600
gtgcacacga gggggctgga cttcgctgt gatatctaca tctgggcgcc cttggccggg 660
acttgtgggg tccttctcct gtcactggtt atcacccttt actgccggag ggaccagagg 720
ctgccccccg atgcccacaa gccccctggg ggaggcagtt tccggacccc catccaagag 780
gagcaggccg acgcccactc caccctggcc aagatcagag tgaagttcag caggagcgca 840
gacgcccccg cgtaccagca gggccagaac cagctctata acgagctcaa tctaggacga 900
agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga cgtggccggg accctgagat ggggggaaag 960
ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg 1020
gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc 1080
ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag gacacctac acgcccttca catgcaggcc 1140
ctgccccctc gcggctctgg cgagggaagg ggttcctgc ttacttgcg cgacgtcgaa 1200
gagaatcccc gtccgatggc cctcccagta actgccctcc ttttgcccct cgcactcctt 1260
cttcatgccg ctgccccaa ctgggtcaac gtgattagcg atttgaagaa aatcgaggac 1320
cttatacagt ctatgcata tgacgtaca ctgtatactg agagtgatgt acaccgctcc 1380
tgtaaggtaa cggccatgaa atgctttctt ctggagctcc aggtcatcag cttggagtct 1440
ggggacgcaa gcatccacga tacggttgaa aacctcatca tccttgcgaa caactctctc 1500
tcattctaag gaaacgttac agagagtggg tgtaaggagt gcgaagagtt ggaagaaaaa 1560
aacatcaaag aatttcttca atccttcgtt cacatagtgc aatgttcat taacacgtcc 1620
actaccacac ccgccccgag gccacctacg ccggcaccga ctatcgccag tcaaccctc 1680
tctctgcgcc ccgagcctg ccggcctgcg gctggtgggg cgggtccacac ccggggcctg 1740
gattttgcgt gcgatatata catctgggca cctcttgccg gcacctgcgg agtctgtctt 1800
ctctcactcg ttattacgct gtactgctaa gcggccgcgt cgac 1844

```

<210> 74

<211> 602

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> NK19-8b蛋白质

<400> 74

```

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

```


					245					250					255				
Asp	Ala	His	Ser	Thr	Leu	Ala	Lys	Ile	Arg	Val	Lys	Phe	Ser	Arg	Ser				
					260					265					270				
Ala	Asp	Ala	Pro	Ala	Tyr	Gln	Gln	Gly	Gln	Asn	Gln	Leu	Tyr	Asn	Glu				
					275					280					285				
Leu	Asn	Leu	Gly	Arg	Arg	Glu	Glu	Tyr	Asp	Val	Leu	Asp	Lys	Arg	Arg				
					290					295					300				
Gly	Arg	Asp	Pro	Glu	Met	Gly	Gly	Lys	Pro	Arg	Arg	Lys	Asn	Pro	Gln				
305					310					315					320				
Glu	Gly	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Gln	Lys	Asp	Lys	Met	Ala	Glu	Ala	Tyr				
					325					330					335				
Ser	Glu	Ile	Gly	Met	Lys	Gly	Glu	Arg	Arg	Arg	Gly	Lys	Gly	His	Asp				
					340					345					350				
Gly	Leu	Tyr	Gln	Gly	Leu	Ser	Thr	Ala	Thr	Lys	Asp	Thr	Tyr	Asp	Ala				
					355					360					365				
Leu	His	Met	Gln	Ala	Leu	Pro	Pro	Arg	Gly	Ser	Gly	Glu	Gly	Arg	Gly				
370					375					380									
Ser	Leu	Leu	Thr	Cys	Gly	Asp	Val	Glu	Glu	Asn	Pro	Gly	Pro	Met	Ala				
385					390					395					400				
Leu	Pro	Val	Thr	Ala	Leu	Leu	Leu	Pro	Leu	Ala	Leu	Leu	Leu	His	Ala				
					405					410					415				
Ala	Arg	Pro	Asn	Trp	Val	Asn	Val	Ile	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	Ile	Glu				
					420					425					430				
Asp	Leu	Ile	Gln	Ser	Met	His	Ile	Asp	Ala	Thr	Leu	Tyr	Thr	Glu	Ser				
					435					440					445				
Asp	Val	His	Pro	Ser	Cys	Lys	Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu				
450					455					460									
Glu	Leu	Gln	Val	Ile	Ser	Leu	Glu	Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp				
465					470					475					480				
Thr	Val	Glu	Asn	Leu	Ile	Ile	Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn				
					485					490					495				
Gly	Asn	Val	Thr	Glu	Ser	Gly	Cys	Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu				
					500					505					510				
Lys	Asn	Ile	Lys	Glu	Phe	Leu	Gln	Ser	Phe	Val	His	Ile	Val	Gln	Met				
					515					520					525				
Phe	Ile	Asn	Thr	Ser	Thr	Thr	Thr	Pro	Ala	Pro	Arg	Pro	Pro	Thr	Pro				
530					535					540									
Ala	Pro	Thr	Ile	Ala	Ser	Gln	Pro	Leu	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Ala	Cys				
545					550					555					560				

Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
 565 570 575
 Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu
 580 585 590
 Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys
 595 600

<210> 75

<211> 2243

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> NK19-9b DNA

<400> 75

```

ggatccgaat tcgccgccac catggcctta ccagtgaccg ccttgctcct gccgctggcc 60
ttgctgctcc acgccgccag gccggactac aaagacgatg acgataaagg cggtggtggc 120
tctggtggtg gcggcagcga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct 180
ctgggagaca gagtcaccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atattttaa 240
tggtatcagc agaaaccaga tggaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta 300
cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc 360
attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt 420
ccgtacacgt tcggaggggg gaccaagctg gagatcacag gtggcggtgg ctcgggcggt 480
ggtgggtcgg gtggcggcgg atctgaggtg aaactgcagg agtcaggacc tggcctggtg 540
gcgccctcac agagcctgtc cgtcacatgc actgtctcag gggctctcatt acccgactat 600
ggtgtaagct ggattcgcca gcctccacga aagggtctgg agtggctggg agtaatatgg 660
ggtagtgaaa ccacatacta taattcagct ctcaaatacca gactgaccat catcaaggac 720
aactccaaga gccaagtttt cttaaaaatg aacagtctgc aaactgatga cacagccatt 780
tactactgtg ccaaacatta ttactacggt ggtagctatg ctatggacta ctggggccaa 840
ggaacctcag tcaccgtctc ctcaaccacg acgccagcgc cgcgaccacc aacaccggcg 900
cccaccatcg cgtcgcagcc cctgtccctg cgcccagagg cgtgccggcc agcggcgggg 960
ggcgcagtgc acacgagggg gctggacttc gcctgtgata tctacatctg ggcgcccttg 1020
gccgggactt gtgggggtcct tctcctgtca ctggttatca ccctttactg ccaacgaagg 1080
aaatatagat caaacaagg agaaagtccct gtggagcctg cagagccttg tcgttacagc 1140
tgccccaggg aggaggaggg cagcaccatc cccatccagg aggattaccg aaaaccggag 1200
cctgcctgct cccccagagt gaagttcagc aggagcgcag acgccccgcg gtaccagcag 1260
ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1320
gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag 1380
gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1440
atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1500

```

gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg cggctctggc 1560
 gaggggaaggg gttccctgct tacttgcggc gacgtcgaag agaatcccgg tccgatggcc 1620
 ctcccagtaa ctgccctcct tttgcccctc gcactccttc ttcatgccgc tcgccccaac 1680
 tgggtcaacg tgattagcga tttgaagaaa atcgaggacc ttatacagtc tatgcatatt 1740
 gacgctacac tgtatactga gagtgatgta caccgcctct gtaaggtaac ggccatgaaa 1800
 tgctttcttc tggagctcca ggtcatcagc ttggagtctg gggacgcaag catccacgat 1860
 acggttgaaa acctcatcat ccttgcgaa aactctctct catctaattg aaacgttaca 1920
 gagagtgggt gtaaggagtg cgaagagttg gaagaaaaaa acatcaaaga atttcttcaa 1980
 tccttcgttc acatagtgc aatgttcatt aacacgtcca ctaccacacc cgccccgagg 2040
 ccacctacgc cggcaccgac tatcgccagt caaccctct ctctgcgccc cgaggcttgc 2100
 cggcctgcgg ctggtggggc ggtccacacc cggggcctgg attttgctg cgatatatac 2160
 atctgggcac ctcttgccgg cactgcgga gtgctgctt tctcactcgt tattacgctg 2220
 tactgctaag cggccgcgtc gac 2243

<210> 76

<211> 735

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> NK19-9b蛋白质

<400> 76

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

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

450	455	460
Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg		
465	470	475
Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys		480
	485	490
Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg Gly Ser		495
	500	505
Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn		510
	515	520
Pro Gly Pro Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala		525
	530	535
Leu Leu Leu His Ala Ala Arg Pro Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp		540
545	550	555
Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr		560
	565	570
Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met		575
	580	585
Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp		590
	595	600
Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn		605
	610	615
Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys		620
625	630	635
Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val		640
	645	650
His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro		655
	660	665
Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu		670
	675	680
Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg		685
	690	695
Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly		700
705	710	715
Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys		720
	725	730
		735

<210> 77

<211> 2150

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> NK19-10b DNA

<400> 77

ggatccgaat tcgccgccac catggcctta ccagtgaccg ccttgctcct gccgctggcc 60
ttgctgctcc acgccgccag gccggactac aaagacgatg acgataaagg cggtggtggc 120
tctggtggtg gcggcagcga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct 180
ctgggagaca gaggcaccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaata 240
tggtatcagc agaaaccaga tggaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta 300
cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc 360
attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt 420
ccgtacacgt tcggaggggg gaccaagctg gagatcacag gtggcgggtg ctggggcggt 480
ggtgggtcgg gtggcgggcg atctgaggtg aaactgcagg agtcaggacc tggcctggtg 540
gcgccctcac agagcctgtc cgtcacatgc actgtctcag gggctctcatt acccgactat 600
ggtgtaagct ggattcgcca gcctccacga aagggtctgg agtggctggg agtaatatgg 660
ggtagtgaaa ccacatacta taattcagct ctcaaatac gactgaccat catcaaggac 720
aactccaaga gccaaagttt cttaaaaatg aacagtctgc aaactgatga cacagccatt 780
tactactgtg ccaaacatta ttactacggt gtagctatg ctatggacta ctggggccaa 840
ggaacctcag tcacctctc ctcaaccacg acgccagcgc cgcgaccacc aacaccggcg 900
cccaccatcg cgtcgcagcc cctgtccctg cgcccagagg cgtgccggcc agcggcgggg 960
ggcgcagtcg acacgagggg gctggacttc gcctgtgata tctacatctg ggccgacctg 1020
gccgggactt gtggggctct tctcctgtca ctggttatca ccctttactg catgccggag 1080
gaggggtcgg gctgctcggg gcggcgaggg ccctatgggt gcagagtga gttcagcagg 1140
agcgcagacg ccccgcgta ccagcagggc cagaaccagc tctataacga gctcaatcta 1200
ggacgaagag aggagtacga tgttttgac aagagacgtg gccgggacct tgagatgggg 1260
ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa ggctgtaca atgaactgca gaaagataag 1320
atggcggagg cctacagtga gattgggatg aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac 1380
gatggccttt accagggtct cagtacagcc accaaggaca cctacgagc cttcacatg 1440
caggccctgc cccctcgcgg ctctggcgag ggaaggggtt ccctgcttac ttgcggcgac 1500
gtcgaagaga atccccgtcc gatggcctc ccagtaactg ccctcctttt gccctcgcga 1560
ctccttcttc atgccgctcg cccaactgg gtcaactgta ttagcgattt gaagaaaatc 1620
gaggacctta tacagtctat gcataattgac gctacactgt atactgagag tgatgtacac 1680
ccgtcctgta aggtaacggc catgaaatgc tttcttctgg agctccaggc catcagcttg 1740
gagtctgggg acgcaagcat ccacgatac gttgaaaacc tcatcatcct tgcgaacaac 1800
tctctctcat ctaatggaaa cgttacagag agtgggtgta aggagtgcga agagttggaa 1860
gaaaaaaaca tcaaagaatt tcttcaatcc ttcgttcaca tagtgcaaat gttcattaac 1920
acgtccacta ccacacccgc cccgaggcca cctacgccg caccgactat cgccagtcaa 1980
cccctctctc tgcgccccga ggcttgccgg cctgcggctg gtggggcggt ccacacccgg 2040
ggcctggatt ttgcgtgcga tatatacatc tgggcacctc ttgccggcac ctgcggagtg 2100

ctgcttctct cactcggttat tacgctgtac tgctaagcgg ccgcgtcgac 2150

<210> 78

<211> 704

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> NK19-10b蛋白质

<400> 78

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

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

545	550	555	560
Met Lys Cys Phe Leu	Leu Glu Leu Gln Val	Ile Ser Leu Glu Ser	Gly
	565	570	575
Asp Ala Ser Ile His	Asp Thr Val Glu Asn	Leu Ile Ile Leu Ala	Asn
	580	585	590
Asn Ser Leu Ser Ser	Asn Gly Asn Val Thr	Glu Ser Gly Cys Lys	Glu
	595	600	605
Cys Glu Glu Leu Glu	Glu Lys Asn Ile Lys	Glu Phe Leu Gln Ser	Phe
	610	615	620
Val His Ile Val Gln	Met Phe Ile Asn Thr	Ser Thr Thr Thr Pro	Ala
625	630	635	640
Pro Arg Pro Pro Thr	Pro Ala Pro Thr Ile	Ala Ser Gln Pro Leu	Ser
	645	650	655
Leu Arg Pro Glu Ala	Cys Arg Pro Ala Ala	Gly Gly Ala Val His	Thr
	660	665	670
Arg Gly Leu Asp Phe	Ala Cys Asp Ile Tyr	Ile Trp Ala Pro Leu	Ala
	675	680	685
Gly Thr Cys Gly Val	Leu Leu Leu Ser Leu	Val Ile Thr Leu Tyr	Cys
	690	695	700

<210> 79

<211> 2234

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> NK19-11b DNA

<400> 79

```

ggatccgaat tcgccgccac catggcctta ccagtaccg ccttgctcct gccgctggcc 60
ttgctgctcc acgccgccag gccggactac aaagacgatg acgataaagg cgggtggtggc 120
tctggtggtg gcggcagcga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct 180
ctgggagaca ggtcaccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaa 240
tggtatcagc agaaaccaga tggaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta 300
cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc 360
attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt 420
ccgtacacgt tcggaggggg gaccaagctg gagatcacag gtggcggtgg ctcgggcggt 480
gggtgggtcgg gtggcggcgg atctgaggtg aaactgcagg agtcaggacc tggcctggtg 540
gcgccctcac agagcctgtc cgtcacatgc actgtctcag gggctctcatt acccgactat 600
gggtgaagct ggattcgcca gcctccacga aagggtctgg agtggctggg agtaatatgg 660
ggtagtgaaa ccacatacta taattcagct ctcaaatcca gactgaccat catcaaggac 720

```

aactccaaga gccaaagtttt cttaaaaatg aacagtctgc aaactgatga cacagccatt 780
tactactgtg ccaaacatta ttactacggt ggtagctatg ctatggacta ctggggccaa 840
ggaacctcag tcaccgtctc ctcaaccacg acgccagcgc cgcgaccacc aacaccggcg 900
cccaccatcg cgtcgcagcc cctgtccctg cgcccagagg cgtgccggcc agcggcgggg 960
ggcgcagtg acacgagggg gctggacttc gcctgtgata tctacatctg ggcgcccttg 1020
gccgggactt gtggggtcct tctcctgtca ctggttatca ccctttactg catggaccaa 1080
caagcaatat atgctgagtt aaacttaccc acagactcag gccagaaaag ttcttcacct 1140
tcatctcttc ctcgggatgt ctgtcagggt tcaccttggc atcaatttgc cctgaaactt 1200
agctgtagag tgaagttcag caggagcgcga gacgccccg cgtaccagca gggccagaac 1260
cagctctata acgagctcaa tctaggacga agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga 1320
cgtggccggg accctgagat ggggggaaag ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg 1380
tacaatgaac tgcagaaaaga taagatggcg gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc 1440
gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag 1500
gacacctacg acgcccttca catgcaggcc ctgccccctc gcggctcttg cgagggaagg 1560
ggttccctgc ttacttgcg cgacgtcgaa gagaatcccg gtccgatggc cctcccagta 1620
actgccctcc ttttgcccct cgcactcctt cttcatgccg ctgccccaa ctgggtcaac 1680
gtgattagcg atttgaagaa aatcgaggac cttatacagt ctatgcatat tgacgctaca 1740
ctgtatactg agagtgatgt acacccgtcc tgtaaggtaa cggccatgaa atgctttctt 1800
ctggagctcc aggtcatcag cttggagtct ggggacgcaa gcatccacga tacggttgaa 1860
aacctcatca tccttgcgaa caactctctc tcatctaag gaaacgttac agagagtggg 1920
tgtaaggagt gcgaagagtt ggaagaaaaa aacatcaaag aatttcttca atccttcgtt 1980
cacatagtgc aaatgttcat taacacgtcc actaccacac ccgccccgag gccacctacg 2040
ccggcaccga ctatcgccag tcaaccctc tctctgcgcc ccgaggcttg ccggcctgcg 2100
gctggtgggg cggtccacac ccggggcctg gattttgcgt gcgatata catctgggca 2160
cctcttgccg gcacctgcgg agtgctgctt ctctactcgt ttattacgct gtactgctaa 2220
gcggccgcgt cgac 2234

<210> 80

<211> 732

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> NK19-11b蛋白质

<400> 80

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Gly Gly

20 25 30

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser

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

Gln Gln Ala Ile Tyr Ala Glu Leu Asn Leu Pro Thr Asp Ser Gly Pro		
355	360	365
Glu Ser Ser Ser Pro Ser Ser Leu Pro Arg Asp Val Cys Gln Gly Ser		
370	375	380
Pro Trp His Gln Phe Ala Leu Lys Leu Ser Cys Arg Val Lys Phe Ser		
385	390	395
Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr		
	405	410
		415
Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys		
	420	425
		430
Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn		
	435	440
		445
Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu		
450	455	460
Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly		
465	470	475
		480
His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr		
	485	490
		495
Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg Gly Ser Gly Glu Gly		
	500	505
		510
Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro		
	515	520
		525
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu		
530	535	540
His Ala Ala Arg Pro Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys		
545	550	555
		560
Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr		
	565	570
		575
Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe		
	580	585
		590
Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile		
	595	600
		605
His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser		
610	615	620
Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu		
625	630	635
		640
Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val		
	645	650
		655
Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro		

660	665	670
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu		
675	680	685
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp		
690	695	700
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly		
705	710	715
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys		
725	730	

<210> 81

<211> 2165

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> NK19-12b DNA

<400> 81

```

ggatccgaat tcgccgccac catggcctta ccagtgaccg ccttgctcct gccgctggcc 60
ttgctgctcc acgccgccag gccggactac aaagacgatg acgataaagg cgggtggtggc 120
tctggtggtg gcggcagcga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct 180
ctgggagaca gagtcacat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaa 240
tggtatcagc agaaaccaga tggaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta 300
cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc 360
attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt 420
ccgtacacgt tcggaggggg gaccaagctg gagatcacag gtggcggtgg ctcgggcggt 480
ggtgggtcgg gtggcgcggt atctgaggtg aaactgcagg agtcaggacc tggcctggtg 540
gcgccctcac agagcctgtc cgtcacatgc actgtctcag ggggtctcatt acccgactat 600
ggtgtaagct ggattcgcca gcctccacga aagggtctgg agtggctggg agtaatatgg 660
ggtagtga aaacatacta taattcagct ctcaaata gactgacat catcaaggac 720
aactccaaga gccaagtttt cttaaaaatg aacagtctgc aaactgatga cacagccatt 780
tactactgtg ccaaacatta ttactacggt ggtagctatg ctatggacta ctggggccaa 840
ggaacctcag tcaccgtctc ctcaaccacg acgccagcgc cgcgaccacc aacaccggcg 900
cccaccatcg cgtcgcagcc cctgtccctg cgcccagagg cgtgccggcc agcggcgggg 960
ggcgcagtgc acacgagggg gctggacttc gcctgtgata tctacatctg ggcgccttg 1020
gccgggactt gtgggtcctt tctcctgtca ctggttatca ccctttactg catgatcgaa 1080
acatacaacc aaacttctcc ccgatctgcg gccactggac tgcccatcag catgaaaaga 1140
gtgaagttca gcaggagcgc agacgcccc gcgtaccagc agggccagaa ccagctctat 1200
aacgagctca atctaggacg aagagaggag tacgatgttt tggacaagag acgtggccgg 1260
gaccctgaga tggggggaaa gccgagaagg aagaaccctc aggaaggcct gtacaatgaa 1320

```

ctgcagaaag ataagatggc ggaggcctac agtgagattg ggatgaaagg cgagcgccgg 1380
 aggggcaagg ggcacgatgg cctttaccag ggtctcagta cagccaccaa ggacacctac 1440
 gacgccccttc acatgcaggc cctgccccct cgcggctctg gcgagggaag gggttccctg 1500
 cttacttgcg gcgacgtcga agagaatccc ggtccgatgg ccctcccagt aactgccctc 1560
 cttttgcccc tcgcactcct tcttcatgcc gctcgcccca actgggtcaa cgtgattagc 1620
 gatttgaaga aaatcgagga cttatacag tctatgcata ttgacgctac actgtatact 1680
 gagagtgatg tacacccgctc ctgtaaggta acggccatga aatgctttct tctggagctc 1740
 caggtcatca gcttggagtc tggggacgca agcatccacg atacggttga aaacctcatc 1800
 atccttgcca acaactctct ctcacttaat ggaaacgtta cagagagtgg gtgtaaggag 1860
 tgcgaagagt tggaagaaaa aaacatcaaa gaatttcttc aatccttcgt tcacatagtg 1920
 caaatgttca ttaacacgct cactaccaca cccgccccga ggccacctac gccggcaccg 1980
 actatcgcca gtcaaccctt ctctctgcgc cccgaggett gccggcctgc ggctgggtggg 2040
 gcggtccaca cccggggcct ggattttgcg tgcgatatat acatctgggc acctcttgcc 2100
 ggcacctgcg gagtgtgct tctctcactc gttattacgc tgtactgcta agcggccgcg 2160
 tcgac 2165

<210> 82

<211> 709

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> NK19-12b蛋白质

<400> 82

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

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

435	440	445
Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly	Lys Gly His Asp Gly	Leu Tyr Gln Gly
450	455	460
Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala	Leu His Met Gln Ala	
465	470	475
Leu Pro Pro Arg Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser	Leu Leu Thr Cys	
485	490	495
Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ala	Leu Pro Val Thr Ala	
500	505	510
Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu His Ala Ala	Arg Pro Asn Trp	
515	520	525
Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp	Leu Ile Gln Ser	
530	535	540
Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp	Val His Pro Ser	
545	550	555
Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu	Leu Gln Val Ile	
565	570	575
Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr	Val Glu Asn Leu	
580	585	590
Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly	Asn Val Thr Glu	
595	600	605
Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys	Asn Ile Lys Glu	
610	615	620
Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe	Ile Asn Thr Ser	
625	630	635
Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro	Ala Pro Thr Ile Ala	
645	650	655
Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg	Pro Ala Ala Gly	
660	665	670
Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys	Asp Ile Tyr Ile	
675	680	685
Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu	Leu Ser Leu Val	
690	695	700
Ile Thr Leu Tyr Cys		
705		
<210> 83		
<211> 2315		
<212> DNA		
<213> 智人		

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> NK19-13b DNA

<400> 83

ggatccgaat tcgccgccac catggcctta ccagtgaccg ccttgctcct gccgctggcc 60
ttgctgctcc acgccgccag gccggactac aaagacgatg acgataaagg cgggtggtggc 120
tctggtggtg gcggcagcga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct 180
ctgggagaca gagtcaccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaata 240
tggtatcagc agaaaccaga tggaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta 300
cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc 360
attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt 420
ccgtacacgt tcggaggggg gaccaagctg gagatcacag gtggcgggtg ctcgggcggg 480
ggtgggtcgg gtggcggcgg atctgaggtg aaactgcagg agtcaggacc tggcctggtg 540
gcgccctcac agagcctgtc cgtcacatgc actgtctcag gggctctcatt acccgactat 600
ggtgtaagct ggattcgcca gcctccacga aagggtctgg agtggctggg agtaatatgg 660
ggtagtgaaa ccacatacta taattcagct ctcaaatac gactgacct catcaaggac 720
aactccaaga gccaagtttt cttaaaaatg aacagtctgc aaactgatga cacagccatt 780
tactactgtg ccaaacatta ttactacggg gtagctatg ctatggacta ctggggccaa 840
ggaacctcag tcacctctc ctcaaccacg acgccagcgc cgcgaccacc aacaccggcg 900
cccaccatcg cgtcgcagcc cctgtccctg cgcccagagg cgtgccggcc agcggcgggg 960
ggcgcagtg acacgagggg gctggacttc gcctgtgata tctacatctg ggccgcttg 1020
gccgggactt gtggggctct tctcctgtca ctggttatca ccctttactg caacagtcga 1080
agaagggtgtg ggcagaagaa aaagctagt atcaacagt gcaatggagc tgtggaggac 1140
agaaagccaa gtggactcaa cggagaggcc agcaagtctc aggaaatggg gcatttggtg 1200
aacaaggagt cgtcagaaac tccagaccag tttatgacag ctgatgagac aaggaacctg 1260
cagaatgtgg acatgaagat tgggggtgaga gtgaagttca gcaggagcgc agacgcccc 1320
gcgtaccagc agggccagaa ccagctctat aacgagctca atctaggacg aagagaggag 1380
tacgatgttt tggacaagag acgtggccgg gacctgaga tggggggaaa gccgagaagg 1440
aagaaccctc aggaaggcct gtacaatgaa ctgcagaaag ataagatggc ggaggcctac 1500
agtgagattg ggatgaaagg cgagcgccgg aggggcaagg ggcacgatgg cttttaccag 1560
ggtctcagta cagccacca ggaacacctac gacgccttc acatgcaggc cctgccccct 1620
cgcggctctg gcgagggaag gggttccctg cttacttgcg gcgacgtcga agagaatccc 1680
ggtccgatgg ccctcccagt aactgcctc cttttgccc tcgcactcct tcttcatgcc 1740
gctcgcccca actgggtcaa cgtgattagc gatttgaa gaatacgagga cttatacag 1800
tctatgcata ttgacgtac actgtatact gagagtgatg tacaccgctc ctgtaaggta 1860
acggccatga aatgctttct tctggagctc caggtcatca gcttgagtc tggggacgca 1920
agcatccacg atacggttga aaacctcatc atccttgca acaactctct ctcatctaat 1980
ggaaacgtta cagagagtgg gtgtaaggag tgcgaagagt tggaagaaaa aaacatcaaa 2040
gaatttcttc aatccttcgt tcacatagtg caaatgttca ttaacacgtc cactaccaca 2100

ccccccccga ggccacctac gccggcaccg actatcgcca gtcaaccctt ctctctgcgc 2160
cccagggttt gccggcctgc ggctgggtggg gcggtccaca cccggggcct ggattttgcg 2220
tgcgatatat acatctgggc acctcttgcc ggcacctgcg gagtgtgtgt tctctcactc 2280
gttattacgc tgtactgcta agcggccgcg tcgac 2315

<210> 84

<211> 759

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> NK19-13b蛋白质

<400> 84

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

210	215	220
Lys Ser Arg Leu Thr Ile	Ile Lys Asp Asn Ser	Lys Ser Gln Val Phe
225	230	235
Leu Lys Met Asn Ser Leu	Gln Thr Asp Asp Thr	Ala Ile Tyr Tyr Cys
245	250	255
Ala Lys His Tyr Tyr Tyr	Gly Gly Ser Tyr Ala	Met Asp Tyr Trp Gly
260	265	270
Gln Gly Thr Ser Val Thr	Val Ser Ser Thr Thr	Thr Pro Ala Pro Arg
275	280	285
Pro Pro Thr Pro Ala Pro	Thr Ile Ala Ser Gln	Pro Leu Ser Leu Arg
290	295	300
Pro Glu Ala Cys Arg Pro	Ala Ala Gly Gly Ala	Val His Thr Arg Gly
305	310	315
Leu Asp Phe Ala Cys Asp	Ile Tyr Ile Trp Ala	Pro Leu Ala Gly Thr
325	330	335
Cys Gly Val Leu Leu Leu	Ser Leu Val Ile Thr	Leu Tyr Cys Asn Ser
340	345	350
Arg Arg Arg Cys Gly Gln	Lys Lys Lys Leu Val	Ile Asn Ser Gly Asn
355	360	365
Gly Ala Val Glu Asp Arg	Lys Pro Ser Gly Leu	Asn Gly Glu Ala Ser
370	375	380
Lys Ser Gln Glu Met Val	His Leu Val Asn Lys	Glu Ser Ser Glu Thr
385	390	395
Pro Asp Gln Phe Met Thr	Ala Asp Glu Thr Arg	Asn Leu Gln Asn Val
405	410	415
Asp Met Lys Ile Gly Val	Arg Val Lys Phe Ser	Arg Ser Ala Asp Ala
420	425	430
Pro Ala Tyr Gln Gln Gly	Gln Asn Gln Leu Tyr	Asn Glu Leu Asn Leu
435	440	445
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr	Asp Val Leu Asp Lys	Arg Arg Gly Arg Asp
450	455	460
Pro Glu Met Gly Gly Lys	Pro Arg Arg Lys Asn	Pro Gln Glu Gly Leu
465	470	475
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys	Asp Lys Met Ala Glu	Ala Tyr Ser Glu Ile
485	490	495
Gly Met Lys Gly Glu Arg	Arg Arg Gly Lys Gly	His Asp Gly Leu Tyr
500	505	510
Gln Gly Leu Ser Thr Ala	Thr Lys Asp Thr Tyr	Asp Ala Leu His Met
515	520	525

Gln Ala Leu Pro Pro Arg Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu
 530 535 540
 Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ala Leu Pro Val
 545 550 555 560
 Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu His Ala Ala Arg Pro
 565 570 575
 Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile
 580 585 590
 Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
 595 600 605
 Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
 610 615 620
 Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
 625 630 635 640
 Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
 645 650 655
 Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 660 665 670
 Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
 675 680 685
 Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr
 690 695 700
 Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala
 705 710 715 720
 Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile
 725 730 735
 Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser
 740 745 750
 Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys
 755

<210> 85

<211> 6488

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> NK19 DNA

<400> 85

atgaaagacc ccacctgtag gtttggaag ctagcttaag taacgccatt ttgcaaggca 60

```

tggaataac ataactgaga atagagaagt tcagatcaag gtttaggaaca gagagacagc 120
agaatatggg ccaaacagga tatctgtggt aagcagttcc tgccccggct cagggccaag 180
aacagatggg ccccagatgc ggtccccgcc tcagcagttt ctagagaacc atcagatggt 240
tccaggggtgc cccaaggacc tgaaatgacc ctgtgcctta tttgaactaa ccaatcagtt 300
cgcttctcgc ttctgttcgc gcgcttctgc tccccgagct caataaaaga gccacacacc 360
cctcactcgg cgcgccagtc ctccgataga ctgcgtcgcc cgggtacccg tattcccaat 420
aaagcctctt gctgtttgca tccgaatcgt ggactcgctg atccttgga gggctctctc 480
agattgattg actgccacc tcgggggtct ttcatttga ggttccaccg agatttggag 540
acccctgccc agggaccacc gacccccccg ccgggaggtg agctggccag cggctgtttc 600
gtgtctgtct ctgtctttgt gcgtgtttgt gccggcatct aatgtttgcg cctgcgtctg 660
tactagttag ctaactagct ctgtatctgg cggaccctg gtggaactga cgagtcttga 720
acaccggcc gcaaccctgg gagacgtccc agggactttg ggggccgttt ttgtggcccc 780
acctgaggaa gggagtcgat gtggaatccg acccgtcag gatagtgggt tctggttaga 840
gacgagaacc taaaacagtt cccgcctccg tctgaatttt tgctttcggg ttggaaccga 900
agccgcgct cttgtctgct gcagcgtgc agcatcgctc tgtgttgtct ctgtctgact 960
gtgtttctgt atttgtctga aaattagggc cagactgtta ccactccctt aagtttgacc 1020
ttaggtcact ggaaagatgt cgagcggatc gtcacaacc agtcggtaga tgtcaagaag 1080
agacgttggg ttaccttctg ctctgcagaa tggccaacct ttaacgtcgg atggccgcga 1140
gacggcacct ttaaccgaga cctcatcacc caggttaaga tcaaggtctt ttcacctggc 1200
ccgcatggac acccagacca ggtcccctac atcgtgacct gggaagcctt ggcttttgac 1260
ccccctccct ggggtcaagcc ctttgtacac cctaagcctc cgcctcctct tctccatcc 1320
gccccgtctc tcccccttga acctcctcgt tcgacccgc ctcgatcctc cttttatcca 1380
gccctcactc cttctctagg cgccggaatt cgtaaactc gagcgggatc aattccgccc 1440
ccccccctaac gttactggcc gaagccgctt ggaataaggc cgggtgtgct ttgtctatat 1500
gttattttcc accatattgc cgtcttttgg caatgtgagg gcccggaac ctggccctgt 1560
cttcttgacg agcatccta ggggtctttc ccctctcgcc aaaggaatgc aaggtctgtt 1620
gaatgtcgtg aaggaagcag ttcctctgga agcttcttga agacaaaca cgtctgtagc 1680
gaccttttgc aggcagcggg accccccacc tggcgacagg tgccctctgc gccaaaagcc 1740
acgtgtataa gatacacctg caaaggcggc acaacccag tgccacgttg tgagttggat 1800
agttgtggaa agagtcaaat ggctctctc aagcgtatc aacaagggg tgaaggatgc 1860
ccagaaggta cccatttga tgggatctga tctggggcct cgggtgcacat gctttacatg 1920
tgttttagtc aggttaaaaa aacgtctagg cccccgaac cacggggacg tggttttcct 1980
ttgaaaaaca cgataatacc atggtgagca agggcgagga gctgttcacc ggggtggtgc 2040
ccatcctggg cgagctggac ggcgacgtaa acggccaca gttcagcgtg tccggcgagg 2100
gcgagggcga tgccacctac ggcaagctga ccctgaagtt catctgcacc accggcaagc 2160
tgcccgctgc ctggccacc ctctgacca ccctgacct cggcgtgcag tgcttcagcc 2220
gctaccccca ccacatgaag cagcagact tcttcaagtc cgccatgcc gaaggctacg 2280
tccaggagcg caccatcttc ttcaaggac acggcaacta caagaccgc gccgaggtga 2340
agttcgaggg cgacaccctg gtgaaccgca tcgagctgaa gggcatcgac ttcaaggagg 2400

```

acggcaacat cctggggcac aagctggagt acaactacaa cagccacaac gtctatatca 2460
 tggccgacaa gcagaagaac ggcatacagg tgaacttcaa gatccgccac aacatcgagg 2520
 acggcagcgt gcagctcgcc gaccactacc agcagaacac ccccatcggc gacggccccg 2580
 tgctgctgcc cgacaaccac tacctgagca cccagtccgc cctgagcaaa gaccccaacg 2640
 agaagcgcga tcacatgggtc ctgctggagt tcgtgaccgc cgccgggatc actctcggca 2700
 tggacgagct gtacaagtaa agcggccgcg actctagagt cgacctgcag gcatgcaagc 2760
 ttcaggtagc cggctaacgt taacaaccgg tacctctaga actatagcta gcatgcgcaa 2820
 attttaaagcg ctgatatcga taaaataaaa gattttattht agtctccaga aaaagggggg 2880
 aatgaaaagac cccacctgta ggtttggcaa gctagcttaa gtaacgccat tttgcaaggc 2940
 atggaaaata cataactgag aatagagaag ttcagatcaa ggtaggaac agagagacag 3000
 cagaatatgg gccaaacagg atatctgttg taagcagttc ctgccccggc tcagggccaa 3060
 gaacagatgg tccccagatg cgggtccgcg ctcagcagtt tctagagaac catcagatgt 3120
 ttccagggtg ccccaaggac ctgaaatgac cctgtgcctt atttgaacta accaatcagt 3180
 tcgcttctcg cttctgttcg cgcgtttctg ctccccgagc tcaataaaaag agcccacaac 3240
 cctcactcg gcgcgccagt cctccgatag actgcgtcgc ccgggtaccc gtgtatccaa 3300
 taaaccctct tgcagttgca tccgacttgt ggtctcgtg ttccttgga ggtctctctc 3360
 tgagtgattg actaccgctc agcgggggtc tttcatgggt aacagtttct tgaagttgga 3420
 gaacaacatt ctgagggtag gagtcaata ttaagtaatc ctgactcaat tagccactgt 3480
 tttgaatcca catactccaa tactcctgaa atagttcatt atggacagcg cagaaagagc 3540
 tggggagaat tgtgaaattg ttatccgctc acaattccac acaacatacg agccggaagc 3600
 ataaagtgtg aagcctgggg tgcctaata gtagagtaac tcacattaat tgcgttgccg 3660
 tcaactgccc ctttccagtc gggaaacctg tcgtgccagc tgcattaatg aatcggccaa 3720
 cgcgcgggga gaggcgggtt gcgtattggg cgctcttccg cttcctcgct cactgactcg 3780
 ctgcgctcgg tcgttcggct gcggcgagcg gtatcagctc actcaaaggc ggtaatacgg 3840
 ttatccacag aatcagggga taacgcagga aagaacatgt gagcaaaagg ccagcaaaag 3900
 gccaggaacc gtaaaaaggc cgcgttgctg gcgtttttcc ataggctccg cccccctgac 3960
 gagcatcaca aaaatcgacg ctcaagtcag aggtggcgaa acccgacagg actataaaga 4020
 taccaggcgt ttccccctgg aagctccctc gtgcgctctc ctgttccgac cctgccgctt 4080
 accggatacc tgtccgcctt tctcccttcg ggaagcgtgg cgctttctca tagctcacgc 4140
 tgtaggtatc tcagttcggt gtaggtcggt cgctccaagc tgggctgtgt gcacgaacc 4200
 cccgttcagc ccgaccgctg cgcttatec ggtaactatc gtcttgagtc caaccggta 4260
 agacacgact tatcgccact ggcagcagcc actggtaaca ggattagcag agcgaggtat 4320
 gtaggcggtg ctacagagtt cttgaagtgg tggcctaact acggctacac tagaagaaca 4380
 gtattttgta tctgcgctct gctgaagcca gttaccttcg gaaaaagagt tggtagctct 4440
 tgatccggca aacaaaccac cgctggtagc ggtgggtttt ttgtttgcaa gcagcagatt 4500
 acgcgcagaa aaaaaggatc tcaagaagat cttttgatct tttctacggg gtctgacgct 4560
 cagtggaacg aaaactcacg ttaagggtt ttggtcatga gattatcaaa aaggatcttc 4620
 acctagatcc ttttaaatga aaaatgaagt ttttaaatca tctaaagtat atatgagtaa 4680
 acttgggtctg acagttacca atgcttaatc agtgaggcac ctatctcagc gatctgtcta 4740

tttcgttcat ccatagtgtc ctgactcccc gtcgtgtaga taactacgat acgggagggc 4800
ttaccatctg gccccagtgc tgcaatgata ccgcgagacc cacgctcacc ggctccagat 4860
ttatcagcaa taaaccagcc agccggaagg gccgagcgca gaagtgggtcc tgcaacttta 4920
tccgcctcca tccagtctat taattgttgc cgggaagcta gagtaagtag ttcgccagtt 4980
aatagtttgc gcaacgttgt tgccattgct acaggcatcg tgggtgtcacg ctcgtcgttt 5040
ggtatggctt cattcagctc cggttcccaa cgatcaaggc gagttacatg atcccccatg 5100
ttgtgcaaaa aagcgggttag ctcttcgggt cctccgatcg ttgtcagaag taagttggcc 5160
gcagtgttat cactcatggt tatggcagca ctgcataatt ctcttactgt catgccatcc 5220
gtaagatgct tttctgtgac tgggtgagta tcaaccaagt cattctgaga atagtgtatg 5280
cggcgaccga gttgctcttg cccggcgta atacgggata ataccgcgcc acatagcaga 5340
actttaaaag tgctcatcat tggaaaacgt tcttcggggc gaaaactctc aaggatctta 5400
ccgctgttga gatccagttc gatgtaacct actcgtgcac ccaactgac ttcagcatct 5460
tttactttca ccagcgtttc tgggtgagca aaaacaggaa ggcaaaatgc cgcaaaaaag 5520
ggaataaggg cgacacggaa atgttgaata ctcatactct tcctttttca atattattga 5580
agcatttatc agggttattg tctcatgagc ggatacatat ttgaatgtat ttagaaaaat 5640
aaacaaatag gggttccgcg cacatttccc cgaaaagtgc cacctgacgt ctaagaaacc 5700
attattatca tgacattaac ctataaaaaat aggcgtatca cgaggccctt tcgtctcgcg 5760
cgtttcgggtg atgacggtga aaacctctga cacatgcagc tcccggagac ggtcacagct 5820
tgtctgtaag cggatgccgg gagcagacaa gcccgtcagg gcgcgtcagc ggggtgttggc 5880
gggtgtcggg gctggcttaa ctatgcggca tcagagcaga ttgtactgag agtgcacat 5940
atgcggtgtg aaataccgca cagatgcgta aggagaaaat accgcatcag gcgccattcg 6000
ccattcaggc tgcgcaactg ttgggaaggc cgatcgggtgc gggcctcttc gctattacgc 6060
cagctggcga aaggggggatg tgctgcaagg cgattaagtt gggtaacgcc agggttttcc 6120
cagtcacgac gttgtaaaac gacggcgcaa ggaatggtgc atgcaaggag atggcgccca 6180
acagtcccc ggccacgggg cctgccacca taccacgcc gaaacaagcg ctcatgagcc 6240
cgaagtggcg agcccgatct tccccatcgg tgatgtcggc gatataggcg ccagcaaccg 6300
cacctgtggc gccggtgatg ccggccacga tgcgtccggc gtagaggcga ttagtccaat 6360
ttgttaaaga caggatatca gtggtccagg ctctagtttt gactcaacaa tatcaccagc 6420
tgaagcctat agagtacgag ccatagataa aataaaagat tttatttagt ctccagaaaa 6480

agggggga 6488

<210> 86

<211> 486

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> NK19蛋白质

<400> 86

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

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

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

<210> 87

<211> 6488

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> MSCV-IRES-GFP表达质粒

<400> 87

atgaaagacc ccacctgtag gtttggcaag ctagcttaag taacgccatt ttgcaaggca 60
 tggaaaatac ataactgaga atagagaagt tcagatcaag gtttaggaaca gagagacagc 120
 agaatatggg ccaaacagga tatctgtggt aagcagttcc tgccccggct cagggccaag 180
 aacagatggc ccccagatgc ggtccccccc tcagcagttt ctagagaacc atcagatgtt 240
 tccaggggtgc cccaaggacc tgaaatgacc ctgtgcctta tttgaactaa ccaatcagtt 300
 cgctttctgc ttctgttcgc gcgtttctgc tccccgagct caataaaaga gccacaacc 360
 cctcactcgg cgcgccagtc ctccgataga ctgcgtcgcc cgggtaccgc tattcccaat 420
 aaagcctctt gctgtttgca tccgaatcgt ggactcgctg atccttggga gggctctctc 480
 agattgattg actgcccacc tcgggggtct ttcatttggg ggttccaccg agatttggag 540

```

acccctgccc agggaccacc gacccccccg ccgggaggta agctggccag cggtcgtttc 600
gtgtctgtct ctgtctttgt gcgtgtttgt gccggcatct aatgtttgcg cctgcgtctg 660
tactagttag ctaactagct ctgtatctgg cggaccctgt gtggaactga cgagttctga 720
acacccggcc gcaaccctgg gagacgtccc agggactttg ggggccgttt ttgtggcccc 780
acctgaggaa gggagtcgat gtggaatccg acccgtcag gatatgtggt tctggtagga 840
gacgagaacc taaaacagtt ccgcctccg tctgaatfff tgctttcggg ttggaaccga 900
agccgcgcgt cttgtctgct gcagcgtgc agcatcgttc tgtgttgtct ctgtctgact 960
gtgtttctgt atttgtctga aaattagggc cagactgtta ccactccctt aagtttgacc 1020
ttaggtcact ggaaagatgt cgagcggatc gtcacaacc agtcggtaga tgtcaagaag 1080
agacgttggg ttaccttctg ctctgcagaa tggccaacct ttaacgtcgg atggccgcga 1140
gacggcacct ttaaccgaga cctcatcacc caggttaaga tcaaggtctt ttcacctggc 1200
ccgcatggac acccagacca ggtcccctac atcgtgacct gggaagcctt ggcttttgac 1260
ccccctccct gggtaagcc ctttgtacac cctaagcctc cgcctcctct tctccatcc 1320
gccccgtctc tcccccttga acctcctcgt tcgacccgc ctcgacctc cttttatcca 1380
gccctcactc cttctctagg cgccggaatt cgttaacctc gagcgggatc aattccgccc 1440
ccccctaacc gttactggcc gaagccgctt ggaataaggc cgggtgtcgt ttgtctatat 1500
gttattttcc accatatgtc cgtcttttgg caatgtgagg gcccgaaac ctggccctgt 1560
cttcttgacg agcatccta ggggtctttc ccctctcgcc aaaggaatgc aaggtctgtt 1620
gaatgtcgtg aaggaagcag ttctctgga agcttcttga agacaaaca cgtctgtagc 1680
gaccctttgc aggcagcgga accccccacc tggcgacagg tgcctctgcg gccaaaagcc 1740
acgtgtataa gatacacctg caaaggcggc acaaccacag tgccacgttg tgagttggat 1800
agttgtggaa agagtcaa at ggctctcctc aagcgtattc aacaaggggc tgaaggatgc 1860
ccagaaggta cccattgta tgggatctga tctggggcct cgggtgcacat gctttacatg 1920
tgttttagtcg aggttaaaaa aacgtctagg cccccgaac cacggggacg tggttttcct 1980
ttgaaaaaca cgataatacc atggtgagca agggcgagga gctgttcacc ggggtggtgc 2040
ccatcctggt cgagctggac ggcgacgtaa acggccacaa gttcagcgtg tccggcgagg 2100
gcgagggcga tgccacctac ggcaagctga ccctgaagtt catctgcacc accggcaagc 2160
tgcccgtgcc ctggcccacc ctcgtgacca ccctgaccta cggcgtgcag tgcttcagcc 2220
gctaccccga ccacatgaag cagcacgact tcttcaagtc cgccatgccc gaaggctacg 2280
tccaggagcg caccatcttc ttcaaggacg acggcaacta caagaccgc gccaggtga 2340
agttcgaggg cgacaccctg gtgaaccgca tcgagctgaa gggcatcgac ttcaaggagg 2400
acggcaacat cctggggcac aagctggagt acaactacaa cagccacaac gtctatatca 2460
tgcccgacaa gcagaagaac ggcatcaagg tgaacttcaa gatccgccac aacatcgagg 2520
acggcagcgt gcagctcgcc gaccactacc agcagaacac ccccatcggc gacggccccg 2580
tgctgctgcc cgacaaccac tacctgagca ccagtcgcg cctgagcaaa gaccccaacg 2640
agaagcgcga tcacatggct ctgctggagt tcgtgaccgc cgccgggatc actctcgga 2700
tggaagagct gtacaagtaa agcggccgcg actctagagt cgacctgcag gcatgcaagc 2760
ttcaggtagc cggctaacgt taacaaccgg tacctctaga actatagcta gcatgcgcaa 2820
atttaaagcg ctgatatcga taaaataaaa gattttatft agtctccaga aaaagggggg 2880

```

aatgaaagac cccacctgta ggtttggcaa gctagcttaa gtaacgccat tttgcaaggc 2940
atggaata ctaactgag aatagagaag ttcagatcaa ggtaggaac agagagacag 3000
cagaatatgg gccaaacagg atatctgtgg taagcagttc ctgccccggc tcagggccaa 3060
gaacagatgg tccccagatg cggccccgcc ctacagcagtt tctagagaac catcagatgt 3120
ttccagggtg ccccaaggac ctgaaatgac cctgtgcctt atttgaacta accaatcagt 3180
tcgcttctcg cttctgttcg cgcgcttctg ctccccgagc tcaataaaag agcccacaac 3240
ccctcactcg gcgcgccagt cctccgatag actgcgtcgc ccgggtaccc gtgtatccaa 3300
taaaccctct tgcagttgca tccgacttgt ggtctcgtg ttccttggga gggctctctc 3360
tgagtgattg actacccgct agcgggggtc tttcatgggt aacagtttct tgaagtggga 3420
gaacaacatt ctgagggtag gagtgcgaata ttaagtaatc ctgactcaat tagccactgt 3480
tttgaatcca catactccaa tactcctgaa atagttcatt atggacagcg cagaaagagc 3540
tggggagaat tgtgaaattg ttatccgctc acaattccac acaacatacg agccggaagc 3600
ataaagtgtg aagcctgggg tgcctaata gtagactaac tcacattaat tgcgttgccg 3660
tactgccccg ctttccagtc gggaaacctg tcgtgccagc tgcattaatg aatcgccaa 3720
cgcgcgggga gaggcggttt gcgtattggg cgctcttccg cttctctcgt cactgactcg 3780
ctgcgctcgg tcgttcggct gcggcgagcg gtatcagctc actcaaaggc ggtaatacgg 3840
ttatccacag aatcagggga taacgcagga aagaacatgt gagcaaaagg ccagcaaaag 3900
gccaggaacc gtaaaaaggc cgcgttgctg gcgtttttcc ataggctccg cccccctgac 3960
gagcatcaca aaaatcgacg ctcaagtcag aggtggcgaa acccgacagg actataaaga 4020
taccaggcgt tttcccctgg aagctccctc gtgcgctctc ctgttccgac cctgccgctt 4080
accggatacc tgtccgcctt tctcccttcg ggaagcgtgg cgctttctca tagctcacgc 4140
tgtaggtatc tcagttcggg gtaggtcggt cgctccaagc tgggctgtgt gcacgaacct 4200
cccgttcagc ccgaccgctg cgccttatcc ggtaactatc gtcttgagtc caaccggta 4260
agacacgact tatcgccact ggcagcagcc actggtaaca ggattagcag agcgaggtat 4320
gtaggcgggtg ctacagagtt cttgaagtgg tggcctaact acggctacac tagaagaaca 4380
gtatttggta tctgcgctct gctgaagcca gttaccttcg gaaaaagagt tggtagctct 4440
tgatccggca aacaaaccac cgctggtagc ggtgggtttt ttgtttgcaa gcagcagatt 4500
acgcgcagaa aaaaaggatc tcaagaagat cttttgatct tttctacggg gtctgacgct 4560
cagtggaaacg aaaactcacg ttaagggtatt ttggtcatga gattatcaaa aaggatcttc 4620
acctagatcc ttttaaatta aaaatgaagt tttaaatcaa tctaaagtat atatgagtaa 4680
acttgggtctg acagttacca atgcttaatc agtgaggcac ctatctcagc gatctgtcta 4740
tttcgttcat ccatagttgc ctgactcccc gtcgtgtaga taactacgat acgggagggc 4800
ttaccatctg gccccagtgc tgcaatgata ccgcgagacc cacgctcacc ggctccagat 4860
ttatcagcaa taaaccagcc agccggaagg gccgagcgca gaagtgggtc tgcaacttta 4920
tccgcctcca tccagtctat taattgttgc cgggaagcta gagtaagtag ttcgccagtt 4980
aatagtttgc gcaacgttgt tgccattgct acaggcatcg tgggtgtcacg ctctctgttt 5040
ggatatggctt cattcagctc cggttcccaa cgatcaaggc gagttacatg atccccatg 5100
ttgtgcaaaa aagcggtttag ctcttcgggt cctccgatcg ttgtcagaag taagttggcc 5160
gcagtgttat cactcatggt tatggcagca ctgcataatt ctcttactgt catgccatcc 5220

gtaagatgct tttctgtgac tggtagtac tcaaccaagt cattctgaga atagtgtatg 5280
 cggcgaccga gttgctcttg cccggcgta atacgggata ataccgcgcc acatagcaga 5340
 actttaaaag tgctcatcat tggaaaacgt tcttcggggc gaaaactctc aaggatctta 5400
 ccgctgttga gatccagttc gatgtaaccc actcgtgcac ccaactgatc ttcagcatct 5460
 tttactttca ccagcgtttc tgggtgagca aaaacaggaa ggcaaaatgc cgcaaaaaag 5520
 ggaataaggg cgacacggaa atgttgaata ctactactct tcctttttca atattattga 5580
 agcatttatc agggttattg tctcatgagc ggatacatat ttgaatgtat ttagaaaaat 5640
 aaacaaatag gggttccgcg cacatttccc cgaaaagtgc cacctgacgt ctaagaaacc 5700
 attattatca tgacattaac ctataaaaat aggcgtatca cgaggccctt tcgtctcgcg 5760
 cgtttcgggtg atgacgggtga aaacctctga cacatgcagc tcccggagac ggtcacagct 5820
 tgtctgtaag cggatgccgg gagcagacaa gcccgtcagg gcgcgtcagc ggggtgttggc 5880
 ggggtgtcggg gctggttaa ctatgcggca tcagagcaga ttgtactgag agtgcaccat 5940
 atgcgggtgtg aaataccgca cagatgcgta aggagaaaat accgcatcag gcgccattcg 6000
 ccattcaggc tgcgcaactg ttgggaaggc cgatcgggtgc gggcctcttc gctattacgc 6060
 cagctggcga aaggggggatg tgctgcaagg cgattaagtt gggtaacgcc agggttttcc 6120
 cagtcacgac gttgtaaaac gacggcgcaa ggaatggtgc atgcaaggag atggcgccca 6180
 acagtcccc ggccacgggg cctgccacca taccacgcc gaaacaagcg ctcatgagcc 6240
 cgaagtggcg agcccgatct tccccatcgg tgatgtcggc gatataggcg ccagcaaccg 6300
 cacctgtggc gccggtgatg ccggccacga tgcgtccggc gtagaggcga ttagtccaat 6360
 ttgttaaaga caggatatca gtggtccagg ctctagtttt gactcaacaa taccaccagc 6420
 tgaagcctat agagtacgag ccatagataa aataaaagat tttatttagt ctccagaaaa 6480
 agggggga 6488

<210> 88

<211> 117

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> 抗CLDN6重链

<400> 88

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

1 5 10 15

Ser Met Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr

20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Asn Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Leu Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Ile Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

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

65	70	75	80
Met Glu Leu Leu Ser	Leu Thr Ser Glu Asp Ser	Ala Val Tyr Tyr Cys	
	85	90	95
Ala Arg Asp Tyr Gly Phe Val Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr			
	100	105	110
Leu Thr Val Ser Ser			
115			
<210> 89			
<211> 107			
<212> PRT			
<213> 智人			
<220>			
<221> MISC_FEATURE			
<223> 抗CLDN6轻链1			
<400> 89			
Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly			
1	5	10	15
Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Leu			
	20	25	30
His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser Pro Lys Leu Trp Val Tyr			
	35	40	45
Ser Thr Ser Asn Leu Pro Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Gly Gly Ser			
	50	55	60
Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Met Glu Ala Glu			
65	70	75	80
Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ile Tyr Pro Pro Trp			
	85	90	95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys			
	100	105	
<210> 90			
<211> 107			
<212> PRT			
<213> 智人			
<220>			
<221> MISC_FEATURE			
<223> 抗CLDN6轻链2			
<400> 90			
Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ile Met Ser Val Ser Pro Gly			
1	5	10	15

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

<210> 91

<211> 107

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> 抗CLDN6轻链3

<400> 91

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

<210> 92

<211> 8

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE
<223> 抗CLDN6重链CDR1
<400> 92
Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr
1 5
<210> 93
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 抗CLDN6重链CDR2
<400> 93
Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr
1 5
<210> 94
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 抗CLDN6重链CDR3
<400> 94
Ala Arg Asp Tyr Gly Phe Val Leu Asp Tyr
1 5 10
<210> 95
<211> 5
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 抗CLDN6轻链1 CDR1
<400> 95
Ser Ser Val Ser Tyr
1 5
<210> 96
<211> 3
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 抗CLDN6轻链1 CDR2
<400> 96
Ser Thr Ser
1
<210> 97
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 抗CLDN6轻链1 CDR3
<400> 97
Gln Gln Arg Ser Ile Tyr Pro Pro
1 5
<210> 98
<211> 5
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 抗CLDN6轻链2 CDR1
<400> 98
Ser Ser Val Ser Tyr
1 5
<210> 99
<211> 3
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 抗CLDN6轻链2 CDR2
<400> 99
Ser Thr Ser
1
<210> 100
<211> 8
<212> PRT

<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 抗CLDN6轻链2 CDR3
<400> 100
Gln Gln Arg Ser Asn Tyr Pro Pro
1 5
<210> 101
<211> 5
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 抗CLDN6轻链3 CDR1
<400> 101
Ser Ser Val Ser Tyr
1 5
<210> 102
<211> 3
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 抗CLDN6轻链3 CDR2
<400> 102
Ser Thr Ser
1
<210> 103
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 抗CLDN6轻链3 CDR3
<400> 103
Gln Gln Arg Ser Asn Tyr Pro Pro
1 5
<210> 104
<211> 120

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> 抗CD19重链可变区

<400> 104

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

<210> 105

<211> 107

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> 抗CD19轻链可变区

<400> 105

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

65	70	75	80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ala Thr Leu Pro Tyr			
	85	90	95
Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys			
100	105		
<210> 106			
<211> 450			
<212> PRT			
<213> 智人			
<220>			
<221> MISC_FEATURE			
<223> 抗CD19可变重链			
<400> 106			
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg			
1	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr			
	20	25	30
Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
	35	40	45
Ala Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys			
	50	55	60
Ser Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu			
65	70	75	80
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val 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 Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val			
	115	120	125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala			
	130	135	140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser			
145	150	155	160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val			
	165	170	175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro			
	180	185	190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys			
	195	200	205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp		
210	215	220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly		
225	230	235 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile		
245	250	255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu		
260	265	270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His		
275	280	285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg		
290	295	300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys		
305	310	315 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu		
325	330	335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr		
340	345	350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu		
355	360	365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp		
370	375	380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val		
385	390	395 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp		
405	410	415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His		
420	425	430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro		
435	440	445
Gly Lys		
450		
<210> 107		
<211> 214		
<212> PRT		
<213> 智人		
<220>		
<221> MISC_FEATURE		
<223> 抗CD19可变轻链		

<400> 107

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

<210> 108

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> 抗CD19 LCCDR1

<400> 108

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn
 1 5 10

<210> 109

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> 抗CD19 LCCDR2

<400> 109

His Thr Ser Arg Leu His Ser

1 5

<210> 110

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> 抗CD19 LCCDR3

<400> 110

Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr

1 5

<210> 111

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> 抗CD19 HCCDR1

<400> 111

Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser

1 5 10

<210> 112

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> 抗CD19 HCCDR2

<400> 112

Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Ser Ser Ser Leu Lys Ser

1	5	10	15
<210> 113			
<211> 16			
<212> PRT			
<213> 智人			
<220>			
<221> MISC_FEATURE			
<223> 抗CD19 HCCDR2			
<400> 113			
Val	Ile	Trp	Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Gln Ser Ser Leu Lys Ser
1	5	10	15
<210> 114			
<211> 16			
<212> PRT			
<213> 智人			
<220>			
<221> MISC_FEATURE			
<223> 抗CD19 HCCDR2			
<400> 114			
Val	Ile	Trp	Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ser Leu Lys Ser
1	5	10	15
<210> 115			
<211> 12			
<212> PRT			
<213> 智人			
<220>			
<221> MISC_FEATURE			
<223> 抗CD19 HCCDR3			
<400> 115			
His	Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr		
1	5	10	
<210> 116			
<211> 242			
<212> PRT			
<213> 智人			
<220>			
<221> MISC_FEATURE			
<223> 抗CD19 CAR			
<400> 116			

Glu	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly
1			5					10					15		
Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Asp	Ile	Ser	Lys	Tyr
		20						25					30		
Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile
		35					40					45			
Tyr	His	Thr	Ser	Arg	Leu	His	Ser	Gly	Ile	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly
	50					55					60				
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Tyr	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
65					70					75				80	
Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys	Gln	Gln	Gly	Asn	Thr	Leu	Pro	Tyr
				85					90					95	
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
			100					105					110		
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu
		115						120					125		
Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Glu	Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys
	130					135					140				
Thr	Val	Ser	Gly	Val	Ser	Leu	Pro	Asp	Tyr	Gly	Val	Ser	Trp	Ile	Arg
145					150					155				160	
Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Val	Ile	Trp	Gly	Ser
				165					170					175	
Glu	Thr	Thr	Tyr	Tyr	Gln	Ser	Ser	Leu	Lys	Ser	Arg	Val	Thr	Ile	Ser
			180					185					190		
Lys	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr
		195				200						205			
Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Lys	His	Tyr	Tyr	Tyr	Gly
	210					215					220				
Gly	Ser	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val
225					230					235				240	
Ser	Ser														
<210>	117														
<211>	107														
<212>	PRT														
<213>	智人														
<220>															
<221>	MISC_FEATURE														
<223>	huFMC63VLv1														
<400>	117														

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

<210> 118

<211> 107

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> HUFMC63VLV2

<400> 118

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

<210> 119

<211> 107

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> HUFGC63VLV3

<400> 119

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Thr 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 Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
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

```

<210> 120

<211> 120

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> HUFGC63VHV1

<400> 120

```

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1           5           10           15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr
          20           25           30
Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
          35           40           45
Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys
          50           55           60
Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65           70           75           80
Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val 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> 121

<211> 120

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> HUFCMC63VHV2

<400> 121

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

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

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

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

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val 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> 122

<211> 120

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> HUFCMC63VHV3

<400> 122

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr

181

<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> huFMC63VLv1 CDR1
<400> 124
Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn
1 5 10
<210> 125
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> huFMC63VLv1 CDR2
<400> 125
His Thr Ser Arg Leu His Ser
1 5
<210> 126
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> huFMC63VLv1 CDR3
<400> 126
Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
1 5
<210> 127
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> HUFC63VLV2 CDR1
<400> 127
Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn
1 5 10
<210> 128

<211> 7
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> HUFC63VLV2 CDR2
<400> 128
His Thr Ser Arg Leu His Ser
1 5
<210> 129
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> HUFC63VLV2 CDR3
<400> 129
Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
1 5
<210> 130
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> HUFC63VLV3 CDR1
<400> 130
Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn
1 5 10
<210> 131
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> HUFC63VLV3 CDR2
<400> 131
His Thr Ser Arg Leu His Ser
1 5

<210> 132

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> HUFCM63VLV3 CDR3

<400> 132

Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr

1 5

<210> 133

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> HUFCM63VHV1 CDR1

<400> 133

Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser

1 5 10

<210> 134

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> HUFCM63VHV1 CDR2

<400> 134

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

1 5 10 15

<210> 135

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> HUFCM63VHV1 CDR3

<400> 135

His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr

1	5	10

<210> 136
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> HUFCM63VHV2 CDR1
<400> 136
Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser

1	5	10

<210> 137
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> HUFCM63VHV2 CDR2
<400> 137
Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser

1	5	10	15

<210> 138
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> HUFCM63VHV2 CDR3
<400> 138
His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr

1	5	10

<210> 139
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> HUFCM63VHV3 CDR1
<400> 139

Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser

1 5 10

<210> 140

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> HUFCMC63VHV3 CDR2

<400> 140

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

1 5 10 15

<210> 141

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> HUFCMC63VHV3 CDR3

<400> 141

His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 142

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> HUFCMC63VHV4 CDR1

<400> 142

Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser

1 5 10

<210> 143

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> HUFCMC63VHV4 CDR2

<400> 143

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

1

5

10

15

<210> 144

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> HUFMC63VHV4 CDR3

<400> 144

His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr

1

5

10

<210> 145

<211> 1122

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> DNA Sequence NKG2D-CD8a hinge-0x40-CD3z

<400> 145

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
 ccgttattca accaagaagt tcaaattccc ttgaccgaaa gttactgtgg cccatgtcct 120
 aaaaactgga tatgttacia aaataactgc taccaatttt ttgatgagag taaaaactgg 180
 tatgagagcc aggcttcttg tatgtctcaa aatgccagcc ttctgaaagt atacagcaaa 240
 gaggaccagg atttacttaa actggtgaag tcatatcatt ggatgggact agtacacatt 300
 ccaacaaatg gatcttgcca gtgggaagat ggctccattc tctacccaa cctactaaca 360
 ataattgaaa tgcagaaggg agactgtgca ctctatgcct cgagctttaa aggctatata 420
 gaaaactgtt caactccaaa tacgtacatc tgcattgcaa ggactgtgac cagcagccca 480
 gcgcccgcac caccaacacc ggcgcccacc atcgcgctgc agcccctgtc cctgcgcccc 540
 gaggcgtgcc ggccagcggc ggggggcgca gtgcacacga gggggctgga cttcgccctgt 600
 gatattctaca tctgggcgcc cttggccggg acttggtggg tctttctcct gtcactggtt 660
 atcacccttt actgccggag ggaccagagg ctgcccccg atgcccacaa gcccctggg 720
 ggaggcagtt tccggacccc catccaagag gagcaggccg acgcccactc caccctggcc 780
 aagatcagag tgaagttcag caggagcgca gacgccccg cgtaccagca gggccagaac 840
 cagctctata acgagctcaa tctaggacga agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga 900
 cgtggccggg accctgagat ggggggaaag ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg 960
 tacaatgaac tgcagaaaaga taagatggcg gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc 1020
 gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc ctttaccagg gtctcagtag agccaccaag 1080

gacacctacg acgccccttca catgcaggcc ctgccccctc gc 1122

<210> 146

<211> 341

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> 氨基酸序列NKG2D-IgG4铰链-OX40-CD3z

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> 氨基酸序列NKG2D-***IgG4铰链***-OX40-CD3z

<400> 146

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

210	215	220
Thr Leu Ala Lys Ile Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro		
225	230	235
Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly		240
	245	250
Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro		255
260	265	270
Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr		
275	280	285
Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly		
290	295	300
Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln		
305	310	315
Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln		320
	325	330
Ala Leu Pro Pro Arg		335
340		

<210> 147

<211> 20

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> TGFBR2引导RNA 1

<400> 147

cccctaccat gactttattc 20

<210> 148

<211> 20

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> TGFBR2引导RNA 2

<400> 148

attgcactca tcagagctac 20

<210> 149

<211> 20

<212> DNA

<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> TGFBR2引导RNA 3
<400> 149
agtcattgga ggggagcttg 20
<210> 150
<211> 20
<212> DNA
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> TGFBR2引导RNA 4
<400> 150
tgctggcgat acgcgtccac 20
<210> 151
<211> 20
<212> DNA
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> TGFBR2引导RNA 5
<400> 151
gtgagcaatc ccccgggcga 20
<210> 152
<211> 20
<212> DNA
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> TGFBR2引导RNA 6
<400> 152
aacgtgcggt gggatcgtgc 20
<210> 153
<211> 20
<212> DNA
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> CISH引导RNA 1

<400> 153
ctcaccagat tcccgaaggt 20
<210> 154
<211> 20
<212> DNA
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> CISH引导RNA 2
<400> 154
ccgccttgct atcaaccgtc 20
<210> 155
<211> 20
<212> DNA
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> CISH引导RNA 3
<400> 155
tctgcgttca ggggtaagcg 20
<210> 156
<211> 20
<212> DNA
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> CISH引导RNA 4
<400> 156
gcgcttaccc ctgaacgcag 20
<210> 157
<211> 20
<212> DNA
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> CISH引导RNA 5
<400> 157
cgcagaggac catgtccccg 20
<210> 158

<211> 20
<212> DNA
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> NKG2A引导RNA 1
<400> 158
ggagctgatg gtaaattctgc 20
<210> 159
<211> 20
<212> DNA
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> NKG2A引导RNA 2
<400> 159
ttgaaggttt aattccgcat 20
<210> 160
<211> 20
<212> DNA
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> NKG2A引导RNA 3
<400> 160
aacaactatc gttaccacag 20
<210> 161
<211> 20
<212> DNA
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> CD70引导RNA 1
<400> 161
tcaccaagcc cgcgaccaat 20
<210> 162
<211> 20
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> CD70引导RNA 2
<400> 162
gcttttgggtcc cattgggtcgc 20
<210> 163
<211> 20
<212> DNA
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> CD70引导RNA 3
<400> 163
accctcctcc ggcatcgccg 20
<210> 164
<211> 23
<212> DNA
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> CBLB引导RNA 1
<400> 164
taatctggtg gacctcatga agg 23
<210> 165
<211> 23
<212> DNA
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> CBLB引导RNA 2
<400> 165
tcggttggca aacgtccgaa agg 23
<210> 166
<211> 23
<212> DNA
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> CBLB引导RNA 3

<400> 166
agcaagctgc cgcagatcgc agg 23
<210> 167
<211> 23
<212> DNA
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> TRIM29引导RNA 1
<400> 167
gaacggtagg tccccctctcg tgg 23
<210> 168
<211> 23
<212> DNA
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> TRIM29引导RNA 2
<400> 168
agctgccttg gacgacgggc agg 23
<210> 169
<211> 23
<212> DNA
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> TRIM29引导RNA 3
<400> 169
tgagccgtaa cttcattgag agg 23
<210> 170
<211> 20
<212> DNA
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> CD45引导RNA 1
<400> 170
agtgctggtg ttgggcgcac 20
<210> 171

<211> 23
<212> DNA
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> SOCS2引导RNA 1
<400> 171
gtgaacagtg ccgttccggg ggg 23
<210> 172
<211> 23
<212> DNA
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> SOCS2-2 gRNA
<400> 172
ggcaccggta catttgtaa tgg 23
<210> 173
<211> 23
<212> DNA
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> SOCS2-3 gRNA
<400> 173
ttcgccagac gcgccgcctg cgg 23
<210> 174
<211> 374
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> NKG2D-CD8铰链/tm-0X40-CD3z
<400> 174
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr
20 25 30
Glu Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn

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

Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
 355 360 365

Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 370

<210> 175

<211> 2150

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> DNA NK19H-NF-1

<400> 175

```

gaattcgccg ccaccatggc cttaccagt accgccttgc tcctgccgct ggccttgctg 60
ctccacgccg ccaggccgga tattcagatg acccagagcc cgagcagcct gagecgcgagc 120
gtgggcgatc gcgtgaccat tacctgccgc gcgagccagg atattagcaa atatctgaac 180
tggtatcagc agaaaccggg cggcaccgtg aaactgctga tttatcatac cagccgcctg 240
catagcgggc tgccgagccg ctttagcggc agcggcagcg gcaccgattt taccctgacc 300
attagcagcc tgcagccgga agatattgcg acctattatt gccagcaggg caacaccctg 360
ccgtatacct ttggcgggcg caccaaactg gaaattaccg gtggcggttg ctcgggcggt 420
ggtgggtcgg gtggcgggcg atctcaggtg cagctgcagg aaagcggccc gggcctggtg 480
aaaccgagcc agaccctgag cctgacctgc accgtgagcg gcgtgagcct gccggattat 540
ggcgtgagct ggattcgcca gccgccgggc aaaggcctgg aatggattgg cgtgatttgg 600
ggcagcgaaa ccacctatta taacagcgcg ctgaaaagcc gcctgaccat tagcaaagat 660
aacagcaaaa accaggtgag cctgaaactg agcagcgtga ccgcggcgga taccgcggtg 720
tattattgcg cgaaacatta ttattatggc ggcagctatg cgatggatta ttggggccag 780
ggcaccagcg tgaccgtgag cagcaccacg acgccagcgc cgcgaccacc aacaccggcg 840
cccaccatcg cgtcgcagcc cctgtccctg cgcccagagg cgtgccggcc agcggcgggg 900
ggcgcagtg acacgagggg gctggacttc gcctgtgata tctacatctg ggcgcccttg 960
gccgggactt gtggggtcct tctcctgtca ctggttatca ccctttactg ccggagggac 1020
cagaggctgc ccccgatgc ccacaagccc cctgggggag gcagtttccg gacccccatc 1080
caagaggagc aggccgacgc ccaactccacc ctggccaaga tcagagtga gttcagcagg 1140
agcgcagacg ccccgcgta ccagcagggc cagaaccage tctataacga gctcaatcta 1200
ggacgaagag aggagtacga tgttttggac aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg 1260
ggaaaagccg gaaggaagaa ccctcaggaa ggcctgtaca atgaactgca gaaagataag 1320
atggcgagg cctacagtga gattgggatg aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac 1380
gatggccttt accagggtct cagtacagcc accaaggaca cctacgacgc ctttcacatg 1440
caggccctgc cccctcgcgg ctctggcgag ggaaggggtt ccctgcttac ttgcggcgac 1500
gtcgaagaga atcccggtcc gatggcctc ccagtaactg ccctcctttt gccctcgcga 1560
ctccttcttc atgccgctcg ccccaactgg gtcaacgtga ttagcgattt gaagaaaatc 1620

```

gaggacctta tacagtctat gcatattgac gctacactgt atactgagag tgatgtacac 1680
 ccgtcctgta aggtaacggc catgaaatgc tttcttctgg agctccaggt catcagcttg 1740
 gagtctgggg acgcaagcat ccacgatacg gttgaaaacc tcatcatcct tgcaacaac 1800
 tctctctcat ctaatggaaa cgttacagag agtgggtgta aggagtgcga agagttggaa 1860
 gaaaaaaaca tcaaagaatt tcttcaatcc ttcgttcaca tagtgcaa atgttcattaac 1920
 acgtccacta ccacacccgc cccgaggcca cctacgccgg caccgactat cgccagtcaa 1980
 cccctctctc tgcgccccga ggcttgccgg cctgcggctg gtggggcggt ccacacccgg 2040
 ggccctggatt ttgcgtgcga tatatacatc tgggcacctc ttgccggcac ctgcggagtg 2100
 ctgcttctct cactcgttat tacgctgtac tgctaagcgg ccgcgtcgac 2150

<210> 176

<211> 706

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> AA NK19H-NF-1

<400> 176

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

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

	485		490		495
Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu					
	500		505		510
Pro Leu Ala Leu Leu Leu His Ala Ala Arg Pro Asn Trp Val Asn Val					
	515		520		525
Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile					
	530		535		540
Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val					
545		550		555	560
Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu					
	565		570		575
Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu					
	580		585		590
Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys					
	595		600		605
Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln					
	610		615		620
Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser Thr Thr Thr					
625		630		635	640
Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro					
	645		650		655
Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val					
	660		665		670
His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro					
	675		680		685
Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu					
	690		695		700

Tyr Cys

705

<210> 177

<211> 2150

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> DNA NK19H-NF-2

<400> 177

gaattcgccg ccaccatggc cttaccagt accgccttgc tcctgccgct ggccttgctg 60
 ctccacgccg ccaggccgga tattcagatg acccagagcc cgagcagcct gagcgcgagc 120

```

gtgggcgatc gcgtgaccat tacctgccgc gcgagccagg atattagcaa atatctgaac 180
tggtatcagc agaaaccggg cggcacctg aaactgctga tttatcatac cagccgcctg 240
catagcggcg tgccgagccg ctttagcggc agcggcagcg gcaccgattt taccctgacc 300
attagcagcc tgcagccgga agatattgcg acctatTTTT gccagcaggg caacaccctg 360
ccgtatacct ttggcggcgg caccaaactg gaaattaccg gtggcgggtg ctcgggcggt 420
ggtgggtcgg gtggcggcgg atctcaggtg cagctgcagg aaagcggccc gggcctggtg 480
aaaccgagcc agacctgag cctgacctgc accgtgagcg gcgtgagcct gccggattat 540
ggcgtgagct ggattcgcca gccgccgggc aaaggcctgg aatggattgg cgtgatttgg 600
ggcagcgaaa ccacctatta taacagcgcg ctgaaaagcc gcctgacat tagcaaagat 660
aacagcaaaa accaggtgag cctgaaactg agcagcgtga ccgcggcgga taccgcggtg 720
tattattgcg cgaaacatta ttattatggc ggcagctatg cgatggatta ttggggccag 780
ggcaccagcg tgacctgag cagcaccacg acgccagcgc cgcgaccacc aacaccggcg 840
cccaccatcg cgtcgcagcc cctgtccctg cgcccagagg cgtgccggcc agcggcgggg 900
ggcgcagtgc acacgagggg gctggacttc gcctgtgata tctacatctg ggcgcccttg 960
gccgggactt gtggggtcct tctcctgtca ctggttatca ccctttactg ccggagggac 1020
cagaggctgc ccccgatgc ccacaagccc cctgggggag gcagtttccg gacccccatc 1080
caagaggagc aggccgacgc ccactccacc ctggccaaga tcagagtga gttcagcagg 1140
agcgcagacg ccccgcgta ccagcagggc cagaaccagc tctataacga gctcaatcta 1200
ggacgaagag aggagtacga tgttttgac aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg 1260
ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa ggcctgtaca atgaactgca gaaagataag 1320
atggcggagg cctacagtga gattgggatg aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac 1380
gatggccttt accaggtctt cagtacagcc accaaggaca cctacgacgc cttcacatg 1440
caggccctgc cccctcgcgg ctctggcgag ggaaggggtt ccctgcttac ttgcggcgac 1500
gtcgaagaga atcccggtcc gatggccctc ccagtaactg ccctcctttt gccctcgcga 1560
ctccttcttc atgccgctcg cccaactgg gtcaactgta ttagcgattt gaagaaaatc 1620
gaggacctta tacagtctat gcatattgac gctacactgt atactgagag tgatgtacac 1680
ccgtcctgta aggtaacggc catgaaatgc tttcttctgg agctccaggt catcagcttg 1740
gagtctgggg acgcaagcat ccacgatacg gttgaaaacc tcatcatcct tgcgaacaac 1800
tctctctcat ctaatggaaa cgttacagag agtgggtgta aggagtgcga agagttggaa 1860
gaaaaaaaca tcaaagaatt tcttcaatcc ttcgttcaca tagtgcaaat gttcattaac 1920
acgtccacta ccacaccgcg cccgaggcca cctacgccgg caccgactat cgccagtcaa 1980
cccctctctc tgcgccccga ggcttgccgg cctgcggctg gtggggcggt ccacaccggg 2040
ggcctggatt ttgcgtgcga tatatacatc tgggcacctc ttgccggcac ctgcggagtg 2100
ctgcttctct cactcgttat tacgtgttac tgctaagcgg ccgcgtcgac 2150
<210> 178
<211> 706
<212> PRT
<213> 智人
<220>

```


<221> MISC_FEATURE

<223> AA NK19H-NF-2

<400> 178

```

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

```

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

595	600	605
Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile	Lys Glu Phe Leu Gln	
610	615	620
Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr	Ser Thr Thr Thr	
625	630	635
Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr	Ile Ala Ser Gln Pro	
645	650	655
Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala	Ala Gly Gly Ala Val	
660	665	670
His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile	Tyr Ile Trp Ala Pro	
675	680	685
Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser	Leu Val Ile Thr Leu	
690	695	700
Tyr Cys		

705

<210> 179

<211> 2150

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> DNA NK19H-NF-3

<400> 179

```

gaattcgccg ccacatggc cttaccagt accgccttgc tcctgccgct ggccttgctg 60
ctccacgccg ccaggccgga tattcagatg acccagagcc cgagcagcct gagcgcgagc 120
gtgggcgatc gcgtgaccat tacctgccgc gcgagccagg atattagcaa atatctgaac 180
tggtatcagc agaaaccgga tggcaccgtg aaactgctga tttatcatac cagccgcctg 240
catagcggcg tgccgagccg ctttagcggc agcggcagcg gcaccgatta taccctgacc 300
attagcagcc tgcagccgga agatattgcg acctatTTTT gccagcaggg caacaccctg 360
ccgtatacct ttggcggcgg caccaaaactg gaaattaccg gtggcggttg ctcgggcggt 420
gggtgggtcgg gtggcggcgg atctcaggtg cagctgcagg aaagcggccc gggcctggtg 480
aaaccgagcc agaccctgag cctgacctgc accgtgagcg gcgtgagcct gccggattat 540
ggcgtgagct ggattcgcca gccgccgggc aaaggcctgg aatggattgg cgtgatttgg 600
ggcagcga aa ccacctatta taacagcgcg ctgaaaagcc gcctgacct tagcaaagat 660
aacagcaaaa accaggtgag cctgaaactg agcagcgtga ccgcggcgga taccgcggtg 720
tattattgcg cgaaacatta ttattatggc ggcagctatg cgatggatta ttggggccag 780
ggcaccagcg tgaccgtgag cagcaccacg acgccagcgc cgcgaccacc aacaccggcg 840
cccaccatcg cgtcgcagcc cctgtccctg cgcccagagg cgtgccggcc agcggcgggg 900
ggcgcagtgc acacgagggg gctggacttc gcctgtgata tctacatctg ggcgccttg 960

```

```

gccgggactt gtggggtcct tctcctgtca ctggttatca ccctttactg ccggaggggac 1020
cagaggctgc ccccgatgc ccacaagccc cctggggggag gcagtttccg gacccccatc 1080
caagaggagc aggccgacgc ccactccacc ctggccaaga tcagagtga gttcagcagg 1140
agcgcagacg ccccgcgta ccagcagggc cagaaccagc tctataacga gctcaatcta 1200
ggacgaagag aggagtacga tgttttggac aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg 1260
ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa ggctgtaca atgaactgca gaaagataag 1320
atggcggagg cctacagtga gattgggatg aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac 1380
gatggccttt accagggtct cagtacagcc accaaggaca cctacgacgc cttcacatg 1440
caggccctgc cccctcgcgg ctctggcgag ggaagggggtt ccctgcttac ttgcggcgac 1500
gtcgaagaga atcccggtcc gatggcctc ccagtaactg cctcctttt gccctcgca 1560
ctccttcttc atgccgctcg ccccaactgg gtcaacgtga ttagcgattt gaagaaaatc 1620
gaggacctta tacagtctat gcatattgac gctacactgt atactgagag tgatgtacac 1680
ccgtcctgta aggtaacggc catgaaatgc tttcttctgg agctccaggt catcagcttg 1740
gagtctgggg acgcaagcat ccacgatacg gttgaaaacc tcatcatcct tgcgaacaac 1800
tctctctcat ctaatggaaa cgttacagag agtgggtgta aggagtgcga agagttggaa 1860
gaaaaaaaca tcaaagaatt tcttcaatcc ttcgttcaca tagtgcaa atgttcattaac 1920
acgtccacta ccacacccgc cccgaggcca cctacgccg caccgactat cgccagtcaa 1980
cccctctctc tgcgccccga ggcttgccgg cctgcggctg gtggggcggt ccacacccgg 2040
ggcctggatt ttgcgtgcga tatatacatc tgggcacctc ttgccggcac ctgcggagtg 2100
ctgcttctct cactcgttat tacgctgtac tgctaagcgg ccgcgtcgac 2150

```

<210> 180

<211> 706

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> AA NK19H-NF-3

<400> 180

```

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

```

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

Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly		
405	410	415
Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln		
420	425	430
Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu		
435	440	445
Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr		
450	455	460
Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro		
465	470	475
Arg Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val		
485	490	495
Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu		
500	505	510
Pro Leu Ala Leu Leu Leu His Ala Ala Arg Pro Asn Trp Val Asn Val		
515	520	525
Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile		
530	535	540
Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val		
545	550	555
Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu		
565	570	575
Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu		
580	585	590
Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys		
595	600	605
Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln		
610	615	620
Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser Thr Thr Thr		
625	630	635
Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro		
645	650	655
Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val		
660	665	670
His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro		
675	680	685
Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu		
690	695	700
Tyr Cys		

705

<210> 181

<211> 2059

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> DNA NK19H-NF-4

<400> 181

gaattcgccg ccaccatggc cttaccagt accgccttgc tcctgccgct ggccttgctg 60
ctccacgccg ccaggccgga tattcagatg acccagagcc cgagcagcct gagcgcgagc 120
gtgggcgatc gcgtgaccat tacctgccgc gcgagccagg atattagcaa atatctgaac 180
tggtatcagc agaaaccggg cggcaccgtg aaactgctga tttatcatac cagccgcctg 240
catagcggcg tgccgagccg ctttagcggc agcggcagcg gcaccgattt taccctgacc 300
attagcagcc tgcagccgga agatatttgc acctattatt gccagcaggg caacaccctg 360
ccgtatacct ttggcggcgg caccaaactg gaaattaccg gtggcgggtg ctcgggcggt 420
gggtgggtcgg gtggcggcgg atctcaggtg cagctgcagg aaagcggccc gggccttggtg 480
aaaccgagcc agaccctgag cctgacctgc accgtgagcg gcgtgagcct gccggattat 540
ggcgtgagct ggattcgcca gccgccgggc aaaggcctgg aatggctggg cgtgattttg 600
ggcagcgaaa ccacctatta taacagcgcg ctgaaaagcc gcctgaccat tagcaaagat 660
aacagcaaaa gccaggtag cctgaaactg agcagcgtga ccgcggcgga taccgcggtg 720
tattatttgcg cgaaacatta ttattatggc ggcagctatg cgatggatta ttggggccag 780
ggcaccagcg tgaccgtgag cagcaccacg acgccagcgc cgcgaccacc aacaccggcg 840
cccaccatcg cgtcgcagcc cctgtccctg cgcccagagg cgtgccggcc agcggcgggg 900
ggcgcagtg acacgagggg gctggacttc gcctgtgata tctacatctg ggcgcccttg 960
gccgggactt gtggggtcct tctcctgtca ctggttatca ccctttactg ccggaggggac 1020
cagaggctgc ccccgatgc ccacaagccc cctggggggag gcagtttccg gacccccatc 1080
caagaggagc aggccgacgc ccaactccacc ctggccaaga tcagagtga gttcagcagg 1140
agcgcagacg ccccgcgta ccagcagggc cagaaccagc tctataacga gctcaatcta 1200
ggacgaagag aggagtacga tgttttggac aagagacgtg gccgggacct tgagatgggg 1260
ggaaaaccga gaaggaagaa ccctcaggaa ggctgtaca atgaactgca gaaagataag 1320
atggcggagg cctacagtga gattgggatg aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac 1380
gatggccttt accagggtct cagtacagcc accaaggaca cctacgacgc cttcacatg 1440
caggccctgc cccctcgcgg ctctggcgag ggaaggggtt ccctgcttac ttgcggcgac 1500
gtcgaagaga atcccgttcc gatggccctc ccagtaactg ccctcctttt gcccctcgca 1560
ctccttcttc atgccgtcgc ccccaactgg gtcaacgtga ttagcgattt gaagaaaatc 1620
gaggacctta tacagtctat gcatattgac gctacactgt atactgagag tgatgtacac 1680
ccgtcctgta aggtaacggc catgaaatgc tttcttcttg agctccaggt catcagcttg 1740
gagtctgggg acgcaagcat ccacgatacg gttgaaaacc tcatcatcct tgcgaacaac 1800

tctctctcat ctaatggaaa cgttacagag agtgggtgta aggagtgcga agagttggaa 1860
gaaaaaaaca tcaaagaatt tcttcaatcc ttcgttcaca tagtgcaaat gttcattaac 1920
acgtccacta ccacacccgc cccgaggcca cctacgccgg caccgactat cgccagtcaa 1980
ccccctctctc tgcgccccga ggcttgccgg cctgcggctg gtggggcggt ccacacccgg 2040
ggcctggatt ttgcgtgcg 2059

<210> 182

<211> 706

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> AA NK19H-NF-4

<400> 182

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

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

515	520	525
Ile Ser Asp Leu Lys Lys	Ile Glu Asp Leu Ile	Gln Ser Met His Ile
530	535	540
Asp Ala Thr Leu Tyr Thr	Glu Ser Asp Val His	Pro Ser Cys Lys Val
545	550	555
Thr Ala Met Lys Cys Phe	Leu Leu Glu Leu	Gln Val Ile Ser Leu Glu
565	570	575
Ser Gly Asp Ala Ser Ile	His Asp Thr Val	Glu Asn Leu Ile Ile Leu
580	585	590
Ala Asn Asn Ser Leu Ser	Ser Asn Gly Asn	Val Thr Glu Ser Gly Cys
595	600	605
Lys Glu Cys Glu Glu Leu	Glu Glu Lys Asn	Ile Lys Glu Phe Leu Gln
610	615	620
Ser Phe Val His Ile Val	Gln Met Phe Ile	Asn Thr Ser Thr Thr Thr
625	630	635
Pro Ala Pro Arg Pro Pro	Thr Pro Ala Pro	Thr Ile Ala Ser Gln Pro
645	650	655
Leu Ser Leu Arg Pro Glu	Ala Cys Arg Pro	Ala Ala Gly Gly Ala Val
660	665	670
His Thr Arg Gly Leu Asp	Phe Ala Cys Asp	Ile Tyr Ile Trp Ala Pro
675	680	685
Leu Ala Gly Thr Cys Gly	Val Leu Leu Leu	Ser Leu Val Ile Thr Leu
690	695	700

Tyr Cys

705

<210> 183

<211> 2153

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> DNA NK19H-NF-5

<400> 183

```

gaattcgccg ccaccatggc cttaccagtg accgccttgc tcttgccgct ggccttgctg 60
ctccacgccg ccaggccgga tattcagatg acccagagcc cgagcagcct gagegcgagc 120
gtggggcgatc gcgtgaccat tacctgccgc gcgagccagg atattagcaa atatctgaac 180
tggtatcagc agaaaccggg cggcaccgtg aaactgctga tttatcatac cagccgcctg 240
catagcggcg tgccgagccg ctttagcggc agcggcagcg gcaccgattt taccctgacc 300
attagcagcc tgcagccgga agatattgcg acctatTTTTT gccagcaggg caacaccctg 360

```

ccgtatacct ttggcggcgg caccaaactg gaaattaccg gtggcgggtg ctcgggcggt 420
ggtgggtcgg gtggcggcgg atctcaggtg cagctgcagg agtcaggacc tggcctggtg 480
aaaccctcac agactctgtc cctgacatgc actgtctcag gggctctcatt acccgactat 540
ggtgtaagct ggattcgcca gcctccaggt aagggtctgg agtggctggg agtaatatgg 600
ggtagtgaaa ccacatacta taattcagct ctcaaatacca gactgaccat ctccaaggac 660
aactccaaga gccaagtttc cttaaaaatta agtagtgta ctgctgctga cacagccgtc 720
tactactgtg ccaaacatta ttactacggg gtagctatg ctatggacta ctggggccaa 780
ggaacctcag tcaccgtctc ctcaaccacg acgccagcgc cgcgaccacc aacaccggcg 840
cccaccatcg cgtcgcagcc cctgtccctg cgcccagagg cgtgccggcc agcggcgggg 900
ggcgcagtg acacgagggg gctggacttc gcctgtgata tctacatctg ggcgcccttg 960
gccgggactt gtggggtcct tctcctgtca ctggttatca ccttttactg ccggaggggac 1020
cagaggctgc ccccgatgc ccacaagccc cctgggggag gcagtttccg gacccccatc 1080
caagaggagc aggccgacgc ccaactccacc ctggccaaga tcagagtga gttcagcaga 1140
tctagcgcag acgccccgc gtaccagcag ggccagaacc agctctataa cgagctcaat 1200
ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg gacaagagac gtggccggga ccctgagatg 1260
gggggaaagc cgagaaggaa gaacctcag gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat 1320
aagatggcgg aggcctacag tgagattggg atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg 1380
cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca gccaccaagg acacctacga cgcccttcac 1440
atcgaggccc tgccccctcg cggctctggc gaggaaggg gttccctgct tacttgcggc 1500
gacgtcgaag agaatcccgg tccgatggcc ctcccagtaa ctgccctcct tttgccccctc 1560
gcactccttc ttcatgccgc tcgccccaac tgggtcaacg tgattagcga tttgaagaaa 1620
atcgaggacc ttatacagtc tatgcatatt gacgtacac tgtatactga gagtgatgta 1680
cacccgtcct gtaaggtaac ggcatgaaa tgctttcttc tggagctcca ggtcatcagc 1740
ttggagtctg gggacgcaag catccacgat acggttgaaa acctcatcat cttgccaac 1800
aactctctct catctaattg aaacgttaca gagagtgggt gtaaggagtg cgaagagttg 1860
gaagaaaaaa acatcaaaga atttcttcaa tccttcgttc acatagtga aatgttcatt 1920
aacacgtcca ctaccacacc cgccccgagg ccacctacgc cggcaccgac tatcgccagt 1980
caacccctct ctctgcgccc cgaggttgc cggcctgcgg ctggtggggc ggtccacacc 2040
cggggcctgg attttgcgtg cgatatatac atctgggcac ctcttgccgg cacctgcgga 2100
gtgctgcttc tctcactcgt tattacgtg tactgctaag cggccgcgtc gac 2153

<210> 184

<211> 707

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> AA NK19H-NF-5

<400> 184

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1													5													10													15																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																					
His	Ala	Ala	Arg	Pro	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																													

Val	Leu	Leu	Leu	Ser	Leu	Val	Ile	Thr	Leu	Tyr	Cys	Arg	Arg	Asp	Gln
Arg	Leu	Pro	Pro	Asp	Ala	His	Lys	Pro	Pro	Gly	Gly	Gly	Ser	Phe	Arg
Thr	Pro	Ile	Gln	Glu	Glu	Gln	Ala	Asp	Ala	His	Ser	Thr	Leu	Ala	Lys
Ile	Arg	Val	Lys	Phe	Ser	Arg	Ser	Ser	Ala	Asp	Ala	Pro	Ala	Tyr	Gln
Gln	Gly	Gln	Asn	Gln	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Asn	Leu	Gly	Arg	Arg	Glu
Glu	Tyr	Asp	Val	Leu	Asp	Lys	Arg	Arg	Gly	Arg	Asp	Pro	Glu	Met	Gly
Gly	Lys	Pro	Arg	Arg	Lys	Asn	Pro	Gln	Glu	Gly	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu
Gln	Lys	Asp	Lys	Met	Ala	Glu	Ala	Tyr	Ser	Glu	Ile	Gly	Met	Lys	Gly
Glu	Arg	Arg	Arg	Gly	Lys	Gly	His	Asp	Gly	Leu	Tyr	Gln	Gly	Leu	Ser
Thr	Ala	Thr	Lys	Asp	Thr	Tyr	Asp	Ala	Leu	His	Met	Gln	Ala	Leu	Pro
Pro	Arg	Gly	Ser	Gly	Glu	Gly	Arg	Gly	Ser	Leu	Leu	Thr	Cys	Gly	Asp
Val	Glu	Glu	Asn	Pro	Gly	Pro	Met	Ala	Leu	Pro	Val	Thr	Ala	Leu	Leu
Leu	Pro	Leu	Ala	Leu	Leu	Leu	His	Ala	Ala	Arg	Pro	Asn	Trp	Val	Asn
Val	Ile	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	Ile	Glu	Asp	Leu	Ile	Gln	Ser	Met	His
Ile	Asp	Ala	Thr	Leu	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asp	Val	His	Pro	Ser	Cys	Lys
Val	Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Glu	Leu	Gln	Val	Ile	Ser	Leu
Glu	Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp	Thr	Val	Glu	Asn	Leu	Ile	Ile
Leu	Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Gly	Asn	Val	Thr	Glu	Ser	Gly
Cys	Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn	Ile	Lys	Glu	Phe	Leu
Gln	Ser	Phe	Val	His	Ile	Val	Gln	Met	Phe	Ile	Asn	Thr	Ser	Thr	Thr

625	630	635	640
Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln			
	645	650	655
Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala			
	660	665	670
Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala			
	675	680	685
Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr			
	690	695	700
Leu Tyr Cys			

705

<210> 185

<211> 2150

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> DNA NK19H-NF-6

<400> 185

```

gaattcgccg ccaccatggc cttaccagt accgccttg tctgcccgt ggccttgctg 60
ctccacgccg ccaggccgga catccagat acacagagcc cgtcctccct gtctgcctct 120
gtgggagaca gagtcacat cacctgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaa 180
tggtatcagc agaaaccaga cggaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta 240
cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta caccctcacc 300
attagcagcc tgcaaccgga agatattgcc attacttct gccaacaggg taatacgctt 360
ccgtacacgt tcggaggggg gaccaagctg gagatcacag gtggcggtgg ctcgggcggt 420
ggtgggtcgg gtggcgcggt atctcaggt cagctgcagg agtcaggacc tggcctggtg 480
aaaccctcac agactctgtc cctgacatgc actgtctcag ggtgtctatt acccgactat 540
ggtgtaagct ggattcgcca gcctccaggt aagggtctgg agtggctggg agtaatatgg 600
ggtagtgaaa ccacatacta taattcagct ctcaaatcca gactgacct ctccaaggac 660
aactccaaga gccaagt ttc cttaaaatta agtagtgta ctgctgctga cacagccgtc 720
tactactgtg ccaaacatta ttactacggt gtagctatg ctatggacta ctggggccaa 780
ggaacctcag tcaccgtctc ctcaaccacg acgccagcgc cgcgaccacc aacaccggcg 840
cccaccatcg cgtcgcagcc cctgtccctg cgcccagagg cgtgccggcc agcggcgggg 900
ggcgcagtgc acacgagggg gctggacttc gcctgtgata tctacatctg ggcgcccttg 960
gccgggactt gtggggctct tctcctgtca ctggttatca ccctttactg ccggaggggac 1020
cagaggctgc ccccgatgc ccacaagccc cctgggggag gcagtttccg gacccccatc 1080
caagaggagc aggccgacgc ccactccacc ctggccaaga tcagagtga gttcagcagg 1140
agcgcagacg ccccgcgta ccagcagggc cagaaccagc tctataacga gctcaatcta 1200

```

ggacgaagag aggagtacga tgttttggac aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg 1260
 ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa ggcctgtaca atgaactgca gaaagataag 1320
 atggcggagg cctacagtga gattgggatg aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac 1380
 gatggccttt accagggtct cagtacagcc accaaggaca cctacgacgc cttcacatg 1440
 caggccctgc cccctcgcgg ctctggcgag ggaaggggtt ccctgcttac ttgcggcgac 1500
 gtcgaagaga atcccgggtcc gatggccctc ccagtaactg ccctcctttt gcccctcgca 1560
 ctcttctctt atgccgctcg ccccaactgg gtcaacgtga ttagcgattt gaagaaaatc 1620
 gaggacctta tacagtctat gcatattgac gctacactgt atactgagag tgatgtacac 1680
 ccgtcctgta aggtaacggc catgaaatgc tttcttctgg agctccaggt catcagcttg 1740
 gagtctgggg acgcaagcat ccacgatacg gttgaaaacc tcatcatcct tgcaacaac 1800
 tctctctcat ctaatggaaa cgttacagag agtgggtgta aggagtgcga agagttggaa 1860
 gaaaaaaaca tcaaagaatt tcttcaatcc ttcgttcaca tagtgcaaat gttcattaac 1920
 acgtccacta ccacacccgc cccgaggcca cctacgccgg caccgactat cgccagtcaa 1980
 cccctctctc tgcgccccga ggcttgccgg cctgcggctg gtggggcggt ccacacccgg 2040
 ggcttgatt ttgcgtgcga tatatacatc tgggcacctc ttgccggcac ctgcggagtg 2100
 ctgcttctct cactcgttat tacgtgtac tgctaagcgg ccgcgtcgac 2150

<210> 186

<211> 706

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> AA NK19H-NF-6

<400> 186

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

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

Lys	Asp	Lys	Met	Ala	Glu	Ala	Tyr	Ser	Glu	Ile	Gly	Met	Lys	Gly	Glu			
																435	440	445
Arg	Arg	Arg	Gly	Lys	Gly	His	Asp	Gly	Leu	Tyr	Gln	Gly	Leu	Ser	Thr			
																450	455	460
Ala	Thr	Lys	Asp	Thr	Tyr	Asp	Ala	Leu	His	Met	Gln	Ala	Leu	Pro	Pro			
																465	470	475
Arg	Gly	Ser	Gly	Glu	Gly	Arg	Gly	Ser	Leu	Leu	Thr	Cys	Gly	Asp	Val			
																485	490	495
Glu	Glu	Asn	Pro	Gly	Pro	Met	Ala	Leu	Pro	Val	Thr	Ala	Leu	Leu	Leu			
																500	505	510
Pro	Leu	Ala	Leu	Leu	Leu	His	Ala	Ala	Arg	Pro	Asn	Trp	Val	Asn	Val			
																515	520	525
Ile	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	Ile	Glu	Asp	Leu	Ile	Gln	Ser	Met	His	Ile			
																530	535	540
Asp	Ala	Thr	Leu	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asp	Val	His	Pro	Ser	Cys	Lys	Val			
																545	550	555
Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Glu	Leu	Gln	Val	Ile	Ser	Leu	Glu			
																565	570	575
Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp	Thr	Val	Glu	Asn	Leu	Ile	Ile	Leu			
																580	585	590
Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Gly	Asn	Val	Thr	Glu	Ser	Gly	Cys			
																595	600	605
Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn	Ile	Lys	Glu	Phe	Leu	Gln			
																610	615	620
Ser	Phe	Val	His	Ile	Val	Gln	Met	Phe	Ile	Asn	Thr	Ser	Thr	Thr	Thr			
																625	630	635
Pro	Ala	Pro	Arg	Pro	Pro	Thr	Pro	Ala	Pro	Thr	Ile	Ala	Ser	Gln	Pro			
																645	650	655
Leu	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Ala	Cys	Arg	Pro	Ala	Ala	Gly	Gly	Ala	Val			
																660	665	670
His	Thr	Arg	Gly	Leu	Asp	Phe	Ala	Cys	Asp	Ile	Tyr	Ile	Trp	Ala	Pro			
																675	680	685
Leu	Ala	Gly	Thr	Cys	Gly	Val	Leu	Leu	Leu	Ser	Leu	Val	Ile	Thr	Leu			
																690	695	700
Tyr	Cys																	
																705		
<210>	187																	
<211>	2150																	
<212>	DNA																	

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> DNA NK19H-NF-7

<400> 187

```

gaattcgccg ccaccatggc cttaccagt accgccttgc tcctgccgct ggccttgctg 60
ctccacgccg ccaggccgga catccagatg acacagagcc cgtcctccct gtctgcctct 120
gtgggagaca gagtcacat cacctgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaa 180
tggtatcagc agaaaccagg tggaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta 240
cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagattt caccctcacc 300
attagcagcc tgcaaccgga agatattgcc acttactact gccaacaggg taatacgctt 360
ccgtacacgt tcggaggggg gaccaagctg gagatcacag gtggcggttg ctggggcggt 420
ggtaggtcgg gtggcgcggt atctcaggtg cagctgcagg agtcaggacc tggcctggtg 480
aaaccctcac agactctgtc cgtgacatgc actgtctcag gggctctcatt acccgactat 540
ggtagtaagc ggattcgcca gcctccaggt aagggtctgg agtggctggg agtaatatgg 600
ggtagtgaaa ccacatacta taattcagct ctcaaatcca gactgaccat ctccaaggac 660
aactccaaga gccaagtctt cttaaaatta agtagtggtt ctgctgctga cacagccgtc 720
tactactgtg ccaaacatta ttactacggt gtagctatg ctatggacta ctggggccaa 780
ggaacctcag tcaccgtctc ctcaaccacg acgccagcgc cgcgaccacc aacaccggcg 840
cccaccatcg cgtcgcagcc cctgtccctg cgcccagagg cgtgccggcc agcggcgggg 900
ggcgcagtcg acacgagggg gctggacttc gcctgtgata tctacatctg ggcgcccttg 960
gccgggactt gtgggggtcct tctcctgtca ctggttatca ccctttactg ccggagggac 1020
cagaggctgc ccccgatgc ccacaagccc cctgggggag gcagtttccg gacccccatc 1080
caagaggagc aggccgacgc ccactccacc ctggccaaga tcagagtga gttcagcagg 1140
agcgcagacg ccccgcgta ccagcagggc cagaaccagc tctataacga gctcaatcta 1200
ggacgaagag aggagtacga tgttttggac aagagacgtg gccgggacct tgagatgggg 1260
ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa ggctgtaca atgaactgca gaaagataag 1320
atggcggagg cctacagtga gattgggatg aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac 1380
gatggccttt accagggtct cagtacagcc accaaggaca cctacgacgc cttcacatg 1440
caggccctgc cccctcgcggt ctctggcgag ggaaggggtt ccctgcttac ttgcggcgac 1500
gtcgaagaga atcccggtcc gatggcctc ccagtaactg ccctcctttt gccctcgcga 1560
ctccttcttc atgccgctcg cccaactgg gtcaacgtga ttagcgattt gaagaaaatc 1620
gaggacctta tacagtctat gcatattgac gctacactgt atactgagag tgatgtacac 1680
ccgtcctgta aggtaacggc catgaaatgc tttcttcttg agctccaggt catcagcttg 1740
gagtctgggg acgcaagcat ccacgatacg gttgaaaacc tcatcatcct tgcgaacaac 1800
tctctctcat ctaatggaaa cgttacagag agtgggtgta aggagtgcga agagttggaa 1860
gaaaaaaaca tcaaagaatt tcttcaatcc ttcgttcaca tagtgcaaat gttcattaac 1920
acgtccacta ccacacccgc cccgaggcca cctacgccgg caccgactat cgccagtcaa 1980
cccctctctc tgcgccccga ggcttgccgg cctgcggctg gtggggcggt ccacacccgg 2040

```

ggcctggatt ttgcgtgcga tatatacatc tgggcacctc ttgccggcac ctgcggagtg 2100
ctgcttctct cactcggtat tacgctgtac tgctaagcgg ccgcgtcgac 2150

<210> 188

<211> 706

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> AA NK19H-NF-7

<400> 188

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

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

Asp	Ala	Thr	Leu	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asp	Val	His	Pro	Ser	Cys	Lys	Val
545										550					560
Thr	Ala	Met	Lys	Cys	Phe	Leu	Leu	Glu	Leu	Gln	Val	Ile	Ser	Leu	Glu
Ser	Gly	Asp	Ala	Ser	Ile	His	Asp	Thr	Val	Glu	Asn	Leu	Ile	Ile	Leu
Ala	Asn	Asn	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Gly	Asn	Val	Thr	Glu	Ser	Gly	Cys
Lys	Glu	Cys	Glu	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Asn	Ile	Lys	Glu	Phe	Leu	Gln
Ser	Phe	Val	His	Ile	Val	Gln	Met	Phe	Ile	Asn	Thr	Ser	Thr	Thr	Thr
Pro	Ala	Pro	Arg	Pro	Pro	Thr	Pro	Ala	Pro	Thr	Ile	Ala	Ser	Gln	Pro
Leu	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Ala	Cys	Arg	Pro	Ala	Ala	Gly	Gly	Ala	Val
His	Thr	Arg	Gly	Leu	Asp	Phe	Ala	Cys	Asp	Ile	Tyr	Ile	Trp	Ala	Pro
Leu	Ala	Gly	Thr	Cys	Gly	Val	Leu	Leu	Leu	Ser	Leu	Val	Ile	Thr	Leu

Tyr Cys

705

<210> 189

<211> 2150

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> DNA NK19H-NF-8

<400> 189

```

gaattcgccg ccaccatggc cttaccagt accgccttgc tctgcccgt ggccttgctg 60
ctccacgccg ccaggccgga catccagatg acacagagcc cgctctccct gtctgcctct 120
gtgggagaca gagtcacat cacctgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaa 180
tggtatcagc agaaaccagg tggaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta 240
cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagattt caccctcacc 300
attagcagcc tgcaaccgga agatattgcc acttacttct gccaacaggg taatacgctt 360
ccgtacacgt tcggaggggg gaccaagctg gagatcacag gtggcggttg ctcgggcggt 420
gggtgggtcg gtggcggcgg atctcaggtg cagctgcagg agtcaggacc tggcctggtg 480
aaaccctcac agactctgtc cgtgacatgc actgtctcag gggtctcatt acccgactat 540

```

ggtgtaagct ggattcgcca gcctccaggt aagggtcttg agtggctggg agtaatatgg 600
 ggtagtgaaa ccacatacta taattcagct ctcaaatcca gactgaccat ctccaaggac 660
 aactccaaga gccaagtttc cttaaaatta agtagtgta ctgctgctga cacagccgtc 720
 tactactgtg ccaaacatta ttactacggt ggtagctatg ctatggacta ctggggccaa 780
 ggaacctcag tcaccgtctc ctcaaccacg acgccagcgc cgcgaccacc aacaccggcg 840
 cccaccatcg cgtcgcagcc cctgtccctg cgcccagagg cgtgccggcc agcggcgggg 900
 ggcgagctgc acacgagggg gctggacttc gcctgtgata tctacatctg ggcgcccttg 960
 gccgggactt gtggggtcct tctcctgtca ctggttatca ccctttactg ccggaggggac 1020
 cagaggctgc ccccgatgc ccacaagccc cctggggggag gcagtttccg gacccccatc 1080
 caagaggagc aggccgacgc ccaactccacc ctggccaaga tcagagtga gttcagcagg 1140
 agcgagacg ccccgcgta ccagcagggc cagaaccage tctataacga gctcaatcta 1200
 ggacgaagag aggagtacga tgttttggac aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg 1260
 ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa ggctgtaca atgaactgca gaaagataag 1320
 atggcgaggc cctacagtga gattgggatg aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac 1380
 gatggccttt accagggtct cagtacagcc accaaggaca cctacgacgc cttcacatg 1440
 caggccctgc cccctcgcgg ctctggcgag ggaaggggtt ccctgcttac ttgcggcgac 1500
 gtcgaagaga atcccgtcc gatggcctc ccagtaactg ccctcctttt gccctcgcga 1560
 ctcttcttc atgccgctc ccccaactgg gtcaacgtga ttagcgattt gaagaaaatc 1620
 gaggacctta tacagtctat gcatattgac gctacactgt atactgagag tgatgtacac 1680
 ccgtcctgta aggtaacggc catgaaatgc tttcttctgg agtccaggt catcagcttg 1740
 gagtctgggg acgcaagcat ccacgatac gttgaaaacc tcatcatcct tgccaacaac 1800
 tctctctcat ctaatggaaa cgttacagag agtgggtgta aggagtgcga agagttggaa 1860
 gaaaaaaaca tcaaagaatt tcttcaatcc ttcgttcaca tagtgcaaat gttcattaac 1920
 acgtccacta ccacacccgc cccgaggcca cctacgccgg caccgactat cgccagtcaa 1980
 cccctctctc tgcgccccga ggcttgccgg cctgcggctg gtggggcggt ccacacccgg 2040
 ggcttgatt ttgcgtgcga tatatacatc tgggcacctc ttgccggcac ctgcggagt 2100
 ctgcttctct cactcggtat tacgtgtac tgctaagcgg ccgcgtcgac 2150

<210> 190

<211> 706

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> AA NK19H-NF-8

<400> 190

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu

20 25 30

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

340	345	350
Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His Ser Thr Leu Ala Lys		
355	360	365
Ile Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln		
370	375	380
Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu		
385	390	395
Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly		
405	410	415
Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln		
420	425	430
Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu		
435	440	445
Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr		
450	455	460
Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro		
465	470	475
Arg Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val		
485	490	495
Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu		
500	505	510
Pro Leu Ala Leu Leu Leu His Ala Ala Arg Pro Asn Trp Val Asn Val		
515	520	525
Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile		
530	535	540
Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val		
545	550	555
Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu		
565	570	575
Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu		
580	585	590
Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys		
595	600	605
Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln		
610	615	620
Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser Thr Thr Thr		
625	630	635
Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro		
645	650	655

Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val
 660 665 670
 His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro
 675 680 685
 Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu
 690 695 700

Tyr Cys

705

<210> 191

<211> 2150

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> DNA NK19H-NF-9

<400> 191

```

gaattcgccg ccaccatggc cttaccagt accgccttgc tctgccgct ggccttgctg 60
ctccacgccg ccaggccgga catccagatg acacagagcc cgtcctccct gtctgcctct 120
gtgggagaca gagtcacat cacctgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaa 180
tggtatcagc agaaaccaga cggaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta 240
cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta caccctcacc 300
attagcagcc tgcaaccgga agatattgcc acttacttct gccaacaggg taatacgctt 360
ccgtacacgt tcggaggggg gaccaagctg gagatcacag gtggcggttg ctcgggcggt 420
ggtgggtcgg gtggcggcgg atctcaggtg cagctgcagg agtcaggacc tggcctggtg 480
aaaccctcac agactctgtc cgtgacatgc actgtctcag gggctctcatt acccgactat 540
ggtgtaagct ggattcgcca gcctccaggt aagggtctgg agtggctggg agtaatatgg 600
ggtagtga aa ccacatacta taattcagct ctcaaatacca gactgacctat ctccaaggac 660
aactccaaga gccaagt ttc cttaaaatta agtagtg tta ctgctgctga cacagccgtc 720
tactactgtg ccaaacatta ttactacggg gtagctatg ctatggacta ctggggccaa 780
ggaacctcag tcaccgtctc ctcaaccacg acgccagcgc cgcgaccacc aacaccggcg 840
cccaccatcg cgtcgcagcc cctgtccctg cgcccagagg cgtgccggcc agcggcgggg 900
ggcgagctgc acacgagggg gctggacttc gcctgtgata tctacatctg ggcgcccttg 960
gccgggactt gtgggtcctt tctcctgtca ctggttatca ccctttactg ccggaggggac 1020
cagaggctgc ccccgatgc ccacaagccc cctgggggag gcagtttccg gacccccatc 1080
caagaggagc aggccgacgc ccaactccacc ctggccaaga tcagagtga gttcagcagg 1140
agcgagagc ccccgcgta ccagcagggc cagaaccagc tctataacga gctcaatcta 1200
ggacgaagag aggagtacga tgttttgac aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg 1260
ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa ggcctgtaca atgaactgca gaaagataag 1320
atggcgagg cctacagtga gattgggatg aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac 1380

```

gatggccttt accagggctct cagtacagcc accaaggaca cctacgacgc ccttcacatg 1440
 caggccctgc cccctcgcgg ctctggcgag ggaaggggtt ccctgcttac ttgcggcgac 1500
 gtcgaagaga atccccggtcc gatggccctc ccagtaactg ccctcctttt gcccctcgca 1560
 ctccttcttc atgccgctcg ccccaactgg gtcaacgtga ttagcgattt gaagaaaatc 1620
 gaggacctta tacagtctat gcatattgac gctacactgt atactgagag tgatgtacac 1680
 ccgctcctgta aggtaacggc catgaaatgc tttcttctgg agctccaggt catcagcttg 1740
 gagtctgggg acgcaagcat ccacgatacg gttgaaaacc tcatcatcct tgcgaacaac 1800
 tctctctcat ctaatggaaa cgttacagag agtgggtgta aggagtgcga agagttggaa 1860
 gaaaaaaaaa tcaaagaatt tcttcaatcc ttcgttcaca tagtgcaa atgttcattaac 1920
 acgtccacta ccacacccgc cccgaggcca cctacgccgg caccgactat cgccagtcaa 1980
 cccctctctc tgcgccccga ggcttgccgg cctgcggctg gtggggcggt ccacacccgg 2040
 ggcttgatt ttgcgtgcga tatatacatc tgggcacctc ttgccggcac ctgcggagtg 2100
 ctgcttctct cactcggtat tacgtgttac tgctaagcgg ccgcgtcgac 2150

<210> 192

<211> 706

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> AA NK19H-NF-9

<400> 192

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

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

450	455	460
Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro		
465	470	475
Arg Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val		
485	490	495
Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu		
500	505	510
Pro Leu Ala Leu Leu Leu His Ala Ala Arg Pro Asn Trp Val Asn Val		
515	520	525
Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile		
530	535	540
Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val		
545	550	555
Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu		
565	570	575
Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu		
580	585	590
Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys		
595	600	605
Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln		
610	615	620
Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser Thr Thr Thr		
625	630	635
Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro		
645	650	655
Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val		
660	665	670
His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro		
675	680	685
Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu		
690	695	700
Tyr Cys		
705		
<210> 193		
<211> 2150		
<212> DNA		
<213> 智人		
<220>		
<221> MISC_FEATURE		

<223> DNA NK19H-NF-10

<400> 193

```
gaattcgccg ccaccatggc cttaccagt accgccttgc tcctgccgct ggccttgctg 60
ctccacgccg ccaggccgga tattcagatg acccagagcc cgagcagcct gagcgcgagc 120
gtgggcgatc gcgtgaccat tacctgccgc gcgagccagg atattagcaa atatctgaac 180
tggtatcagc agaaaccggg cggcaccgtg aaactgctga tttatcatac cagccgcctg 240
catagcggcg tgccgagccg ctttagcggc agcggcagcg gcaccgattt taccctgacc 300
attagcagcc tgcagccgga agatattgcg acctattatt gccagcaggg caacaccctg 360
ccgtatacct ttggcggcgg caccaaaactg gaaattaccg gtggcgggtg ctcgggcggt 420
ggtgggtcgg gtggcggcgg atctcaggtg cagctgcagg aaagcggccc gggcctggtg 480
aaaccgagcc agaccctgag cgtgacctgc accgtgagcg gcgtgagcct gccggattat 540
ggcgtgagct ggattcgcca gccgccgcgc aaaggcctgg aatggctggg cgtgatttgg 600
ggcagcgaaa ccacctatta taacagcgcg ctgaaaagcc gcctgacct tagcaaagat 660
aacagcaaaa gccaggtgag cctgaaaatg agcagcgtga ccgcggcgga taccgcgatt 720
tattattgcg cgaaacatta ttattatggc ggcagctatg cgatggatta ttggggccag 780
ggcaccagcg tgaccgtgag cagcaccacg acgccagcgc cgcgaccacc aacaccggcg 840
cccaccatcg cgtcgcagcc cctgtccctg cgcccagagg cgtgccggcc agcggcgggg 900
ggcgcagtgc acacgagggg gctggacttc gcctgtgata tctacatctg ggcgcccttg 960
gccgggactt gtggggtcct tctcctgtca ctggttatca ccctttactg ccggaggggac 1020
cagaggctgc ccccgatgc ccacaagccc cctgggggag gcagtttccg gacccccatc 1080
caagaggagc aggccgacgc ccactccacc ctggccaaga tcagagtga gttcagcagg 1140
agcgcagacg ccccgcgta ccagcagggc cagaaccagc tctataacga gctcaatcta 1200
ggacgaagag aggagtacga tgttttgac aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg 1260
ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa ggcctgtaca atgaactgca gaaagataag 1320
atggcggagg cctacagtga gattgggatg aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac 1380
gatggccttt accagggtct cagtacagcc accaaggaca cctacgacgc cttcacatg 1440
caggccctgc cccctcgcgg ctctggcgag ggaaggggtt ccctgcttac ttgcggcgac 1500
gtcgaagaga atcccggtcc gatggcctc ccagtaactg ccctcctttt gccctcgcga 1560
ctccttcttc atgccgctcg ccccaactgg gtcaactgta ttagcgattt gaagaaaatc 1620
gaggacctta tacagtctat gcatattgac gctacactgt atactgagag tgatgtacac 1680
ccgtcctgta aggtaacggc catgaaatgc tttcttctgg agctccaggt catcagcttg 1740
gagtctgggg acgcaagcat ccacgatacg gttgaaaacc tcatcatcct tgcgaacaac 1800
tctctctcat ctaatggaaa cgttacagag agtgggtgta aggagtgcga agagttggaa 1860
gaaaaaaaca tcaaagaatt tcttcaatcc ttcgttcaca tagtgcaaat gttcattaac 1920
acgtccaacta ccacacccgc cccgaggcca cctacgccgg caccgactat cgccagtcaa 1980
cccctctctc tgcgccccga ggcttgccgg cctgcggctg gtggggcggt ccacacccgg 2040
ggcctggatt ttgcgtgcga tatatacatc tgggcacctc ttgccggcac ctgcggagtg 2100
ctgcttctct cactcgttat tacgtgttac tgctaagcgg ccgcgtcgac 2150
```

<210> 194

<211> 706

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> AA NK19H-NF-10

<400> 194

```

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

```

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro			
260	265	270	
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu			
275	280	285	
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp			
290	295	300	
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly			
305	310	315	320
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Arg Arg Asp Gln			
325	330	335	
Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys Pro Pro Gly Gly Gly Ser Phe Arg			
340	345	350	
Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His Ser Thr Leu Ala Lys			
355	360	365	
Ile Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln			
370	375	380	
Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu			
385	390	395	400
Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly			
405	410	415	
Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln			
420	425	430	
Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu			
435	440	445	
Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr			
450	455	460	
Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro			
465	470	475	480
Arg Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val			
485	490	495	
Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu			
500	505	510	
Pro Leu Ala Leu Leu Leu His Ala Ala Arg Pro Asn Trp Val Asn Val			
515	520	525	
Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile			
530	535	540	
Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val			
545	550	555	560
Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu			

565	570	575
Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu		
580	585	590
Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys		
595	600	605
Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln		
610	615	620
Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser Thr Thr Thr		
625	630	635
Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro		
645	650	655
Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val		
660	665	670
His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro		
675	680	685
Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu		
690	695	700

Tyr Cys

705

<210> 195

<211> 2150

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> DNA NK19H-NF-11

<400> 195

```

gaattcgccg ccaccatggc cttaccagt accgccttgc tcctgccgct ggccttgctg 60
ctccacgccg ccaggccgga tattcagatg acccagagcc cgagcagcct gagcgcgagc 120
gtgggcgatc gcgtgacct tacctgccgc gcgagccagg atattagcaa atatctgaac 180
tggtatcagc agaaaccggg cggcaccgtg aaactgctga tttatcatac cagccgcctg 240
catagcggcg tgccgagccg ctttagcggc agcggcagcg gcaccgattt taccctgacc 300
attagcagcc tgcagccgga agatattgcg acctatTTTT gccagcaggg caacaccctg 360
ccgtatacct ttggcggcgg caccaaaactg gaaattaccg gtggcggttg ctcgggcggt 420
gggtgggtcgg gtggcgggcg atctcaggtg cagctgcagg aaagcggccc gggcctggtg 480
aaaccgagcc agaccctgag cgtgacctgc accgtgagcg gcgtgagcct gccggattat 540
ggcgtgagct ggattcgcca gccgccgcgc aaaggcctgg aatggctggg cgtgatttgg 600
ggcagcgaaa ccacctatta taacagcgcg ctgaaaagcc gcctgacct tagcaaagat 660
aacagcaaaa gccaggtgag cctgaaaatg agcagcgtga ccgcggcgga taccgcgatt 720

```


tattattgcg cgaaacatta ttattatggc ggcagctatg cgatggatta ttggggccag 780
 ggcaccagcg tgaccgtgag cagcaccacg acgccagcgc cgcgaccacc aacaccggcg 840
 cccaccatcg cgtcgcagcc cctgtccctg cgcccagagg cgtgccggcc agcggcgggg 900
 ggcgcagtgc acacgagggg gctggacttc gcctgtgata tctacatctg ggcgcccttg 960
 gccgggactt gtggggtcct tctcctgtca ctggttatca ccctttactg ccggaggggac 1020
 cagaggctgc ccccgatgc ccacaagccc cctggggggag gcagtttccg gacccccatc 1080
 caagaggagc aggccgacgc ccactccacc ctggccaaga tcagagtga gttcagcagg 1140
 agcgcagacg ccccgcgta ccagcagggc cagaaccagc tctataacga gctcaatcta 1200
 ggacgaagag aggagtacga tgttttggac aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg 1260
 ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa ggctgtaca atgaactgca gaaagataag 1320
 atggcgagg cctacagtga gattgggatg aaaggcgagc gccggagggg caagggggcac 1380
 gatggccttt accagggtct cagtacagcc accaaggaca cctacgacgc ctttcacatg 1440
 caggccctgc cccctcgcgg ctctggcgag ggaaggggtt ccctgcttac ttgcggcgac 1500
 gtcgaagaga atcccggtcc gatggccctc ccagtaactg cctcctttt gccctcgcga 1560
 ctcttcttct atgccgctcg ccccaactgg gtcaacgtga ttagcgattt gaagaaaatc 1620
 gaggacctta tacagtctat gcatattgac gctacactgt atactgagag tgatgtacac 1680
 ccgtcctgta aggtaacggc catgaaatgc tttcttctgg agctccaggt catcagcttg 1740
 gagtctgggg acgcaagcat ccacgatacg gttgaaaacc tcatcatcct tgcgaacaac 1800
 tctctctcat ctaatggaaa cgttacagag agtgggtgta aggagtgcga agagttggaa 1860
 gaaaaaaaca tcaaagaatt tcttcaatcc ttcgttcaca tagtgcaa atgttcattaac 1920
 acgtccacta ccacacccgc cccgaggcca cctacgccgg caccgactat cgccagtcaa 1980
 cccctctctc tgcgccccga ggcttgccgg cctgcggctg gtggggcggt ccacacccgg 2040
 ggcttgatt ttgcgtgcga tatatacatc tgggcacctc ttgccggcac ctgcggagtg 2100
 ctgcttctct cactcgttat tacgctgtac tgctaagcgg ccgcgtcgac 2150

<210> 196

<211> 706

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> AA NK19H-NF-11

<400> 196

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu

20 25 30

Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln

35 40 45

Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gly Thr

50	55	60
Val Lys Leu Leu Ile Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro		
65	70	75
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile		80
	85	90
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly		95
	100	105
Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr		110
	115	120
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln		125
	130	135
Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln Thr		140
145	150	155
Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly		160
	165	170
Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly		175
	180	185
Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser		190
	195	200
Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Ser Leu Lys		205
	210	215
Met Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys		220
225	230	235
His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly		240
	245	250
Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro		255
	260	265
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu		270
	275	280
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp		285
	290	295
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly		300
305	310	315
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Arg Arg Asp Gln		320
	325	330
Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys Pro Pro Gly Gly Gly Ser Phe Arg		335
	340	345
Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His Ser Thr Leu Ala Lys		350
	355	360
		365

Ile Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln		
370	375	380
Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu		
385	390	395 400
Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly		
405	410	415
Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln		
420	425	430
Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu		
435	440	445
Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr		
450	455	460
Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro		
465	470	475 480
Arg Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val		
485	490	495
Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu		
500	505	510
Pro Leu Ala Leu Leu Leu His Ala Ala Arg Pro Asn Trp Val Asn Val		
515	520	525
Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile		
530	535	540
Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val		
545	550	555 560
Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu		
565	570	575
Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu		
580	585	590
Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys		
595	600	605
Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln		
610	615	620
Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser Thr Thr Thr		
625	630	635 640
Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro		
645	650	655
Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val		
660	665	670
His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro		

675	680	685
Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val	Leu Leu Leu Ser	Leu Val Ile Thr Leu
690	695	700
Tyr Cys		
705		
<210> 197		
<211> 2150		
<212> DNA		
<213> 智人		
<220>		
<221> MISC_FEATURE		
<223> DNA NK19H-NF-12		
<400> 197		
gaattcgccg ccaccatggc cttaccagt accgccttgc tcctgccgct ggccttgctg	60	
ctccacgccg ccaggccgga tattcagatg acccagagcc cgagcagcct gagcgcgagc	120	
gtgggcgatc gcgtgaccat tacctgccgc gcgagccagg atattagcaa atatctgaac	180	
tggtatcagc agaaaccgga tggcaccgtg aaactgctga tttatcatac cagccgcctg	240	
catagcggcg tgccgagccg ctttagcggc agcggcagcg gcaccgatta taccctgacc	300	
attagcagcc tgcagccgga agatattgcg acctatTTTT gccagcaggg caacaccctg	360	
ccgtatacct ttggcggcgg caccaaactg gaaattaccg gtggcggttg ctcgggcggt	420	
ggtgggtcgg gtggcggcgg atctcaggtg cagctgcagg aaagcggccc gggcctggtg	480	
aaaccgagcc agaccctgag cgtgacctgc accgtgagcg gcgtgagcct gccgattat	540	
ggcgtgagct ggattcgcca gccgccgcgc aaaggcctgg aatggctggg cgtgatttgg	600	
ggcagcga aa ccacctatta taacagcgcg ctgaaaagcc gcctgaccat tagcaaagat	660	
aacagcaaaa gccaggtgag cctgaaaatg agcagcgtga ccgcggcgga taccgcgatt	720	
tattattgcg cgaaacatta ttattatggc ggcagctatg cgatggatta ttggggccag	780	
ggcaccagcg tgaccgtgag cagcaccacg acgccagcgc cgcgaccacc aacaccggcg	840	
cccaccatcg cgtcgcagcc cctgtccctg cgcccagagg cgtgccggcc agcggcgggg	900	
ggcgcagtc acacgagggg gctggacttc gcctgtgata tctacatctg ggcgcccttg	960	
gccgggactt gtggggtcct tctcctgtca ctggttatca ccctttactg ccggagggac	1020	
cagaggctgc ccccgatgc ccacaagccc cctggggggag gcagtttccg gacccccatc	1080	
caagaggagc aggccgacgc ccaactccacc ctggccaaga tcagagtga gttcagcagg	1140	
agcgcagacg ccccgcgta ccagcagggc cagaaccagc tctataacga gctcaatcta	1200	
ggacgaagag aggagtacga tgTTTTTggac aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg	1260	
ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa ggcctgtaca atgaactgca gaaagataag	1320	
atggcggagg cctacagtga gattgggatg aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac	1380	
gatggccttt accagggtct cagtacagcc accaaggaca cctacgacgc cttcacatg	1440	
caggccctgc cccctcgcgg ctctggcgag ggaaggggtt ccctgcttac ttgcggcgac	1500	
gtcgaagaga atcccgtcc gatggccctc ccagtaactg ccctcctttt gccctcgcga	1560	

```

ctccttcttc atgccgctcg ccccaactgg gtcaacgtga ttagcgattt gaagaaaatc 1620
gaggacctta tacagtctat gcatattgac gctacactgt atactgagag tgatgtacac 1680
ccgtcctgta aggtaacggc catgaaatgc tttcttctgg agctccaggt catcagcttg 1740
gagtctgggg acgcaagcat ccacgatacg gttgaaaacc tcatcatcct tgcaacaac 1800
tctctctcat ctaatggaaa cgttacagag agtgggtgta aggagtgcga agagttggaa 1860
gaaaaaaaaca tcaaagaatt tcttcaatcc ttcgttcaca tagtgcaa atgttcattaac 1920
acgtccacta ccacacccgc cccgaggcca cctacgccgg caccgactat cgccagtcaa 1980
ccccctctctc tgcgccccga ggcttgccgg cctgcggctg gtggggcggt ccacacccgg 2040
ggcctggatt ttgcgtgcga tatatacatc tgggcacctc ttgccggcac ctgcggagtg 2100
ctgcttctct cactcgttat tacgtgtac tgctaagcgg ccgcgtcgac 2150

```

<210> 198

<211> 706

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> AA NK19H-NF-12

<400> 198

```

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

```

					165						170						175
Val	Ser	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Arg	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Leu	Gly		
					180						185						190
Val	Ile	Trp	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Tyr	Tyr	Asn	Ser	Ala	Leu	Lys	Ser		
					195						200						205
Arg	Leu	Thr	Ile	Ser	Lys	Asp	Asn	Ser	Lys	Ser	Gln	Val	Ser	Leu	Lys		
					210						215						220
Met	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Ile	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Lys		
225					230						235						240
His	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Gly	Ser	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly		
					245						250						255
Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Thr	Thr	Thr	Pro	Ala	Pro	Arg	Pro	Pro		
					260						265						270
Thr	Pro	Ala	Pro	Thr	Ile	Ala	Ser	Gln	Pro	Leu	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu		
					275						280						285
Ala	Cys	Arg	Pro	Ala	Ala	Gly	Gly	Ala	Val	His	Thr	Arg	Gly	Leu	Asp		
					290						295						300
Phe	Ala	Cys	Asp	Ile	Tyr	Ile	Trp	Ala	Pro	Leu	Ala	Gly	Thr	Cys	Gly		
305					310						315						320
Val	Leu	Leu	Leu	Ser	Leu	Val	Ile	Thr	Leu	Tyr	Cys	Arg	Arg	Asp	Gln		
					325						330						335
Arg	Leu	Pro	Pro	Asp	Ala	His	Lys	Pro	Pro	Gly	Gly	Gly	Ser	Phe	Arg		
					340						345						350
Thr	Pro	Ile	Gln	Glu	Glu	Gln	Ala	Asp	Ala	His	Ser	Thr	Leu	Ala	Lys		
					355						360						365
Ile	Arg	Val	Lys	Phe	Ser	Arg	Ser	Ala	Asp	Ala	Pro	Ala	Tyr	Gln	Gln		
					370						375						380
Gly	Gln	Asn	Gln	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Asn	Leu	Gly	Arg	Arg	Glu	Glu		
385					390						395						400
Tyr	Asp	Val	Leu	Asp	Lys	Arg	Arg	Gly	Arg	Asp	Pro	Glu	Met	Gly	Gly		
					405						410						415
Lys	Pro	Arg	Arg	Lys	Asn	Pro	Gln	Glu	Gly	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Gln		
					420						425						430
Lys	Asp	Lys	Met	Ala	Glu	Ala	Tyr	Ser	Glu	Ile	Gly	Met	Lys	Gly	Glu		
					435						440						445
Arg	Arg	Arg	Gly	Lys	Gly	His	Asp	Gly	Leu	Tyr	Gln	Gly	Leu	Ser	Thr		
					450						455						460
Ala	Thr	Lys	Asp	Thr	Tyr	Asp	Ala	Leu	His	Met	Gln	Ala	Leu	Pro	Pro		
465					470						475						480

Arg Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val		
	485	490 495
Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu		
	500	505 510
Pro Leu Ala Leu Leu Leu His Ala Ala Arg Pro Asn Trp Val Asn Val		
	515	520 525
Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile		
	530	535 540
Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val		
545	550	555 560
Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu		
	565	570 575
Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu		
	580	585 590
Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys		
	595	600 605
Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln		
	610	615 620
Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser Thr Thr Thr		
625	630	635 640
Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro		
	645	650 655
Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val		
	660	665 670
His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro		
	675	680 685
Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu		
	690	695 700
Tyr Cys		
705		

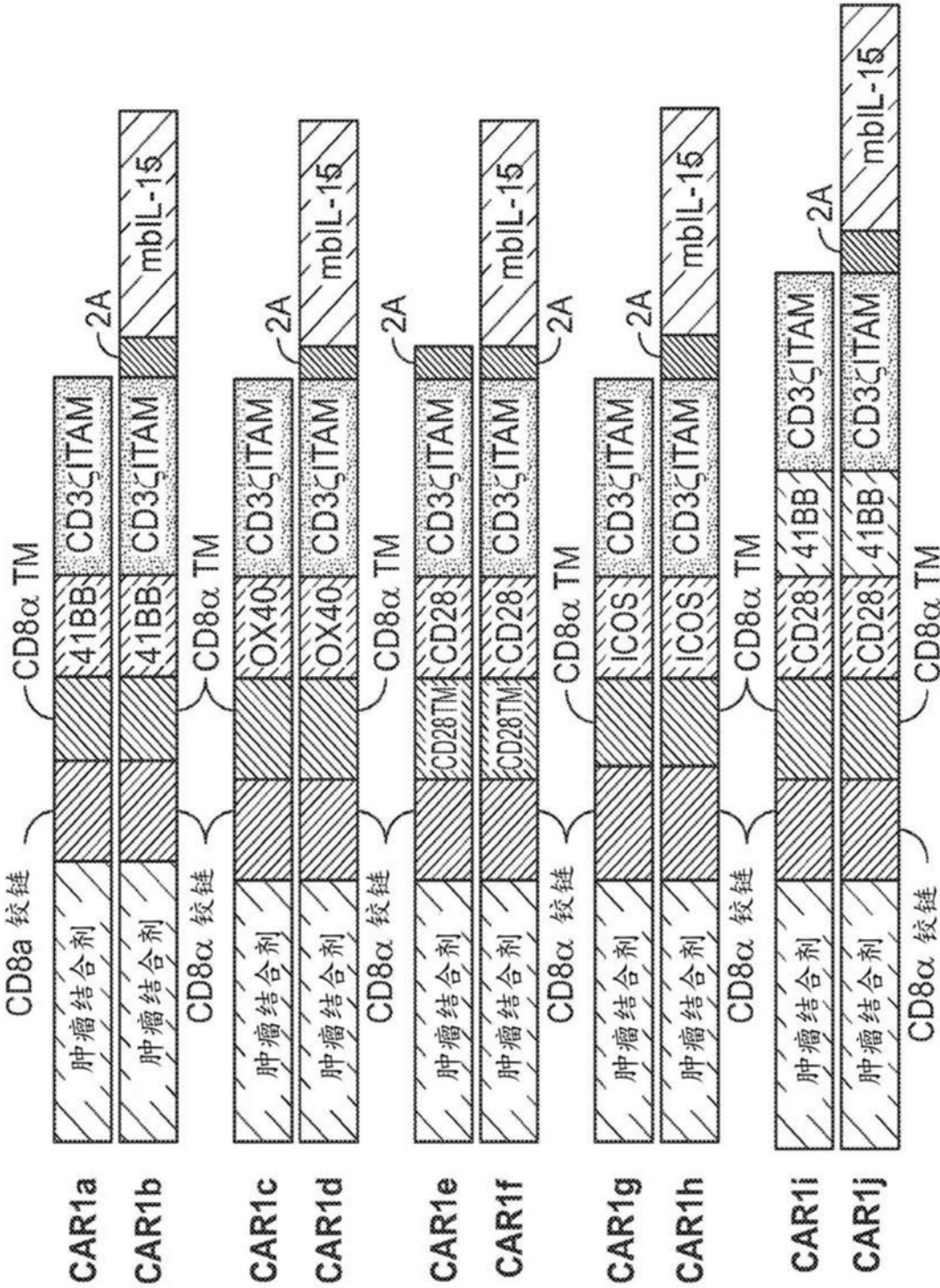


图1

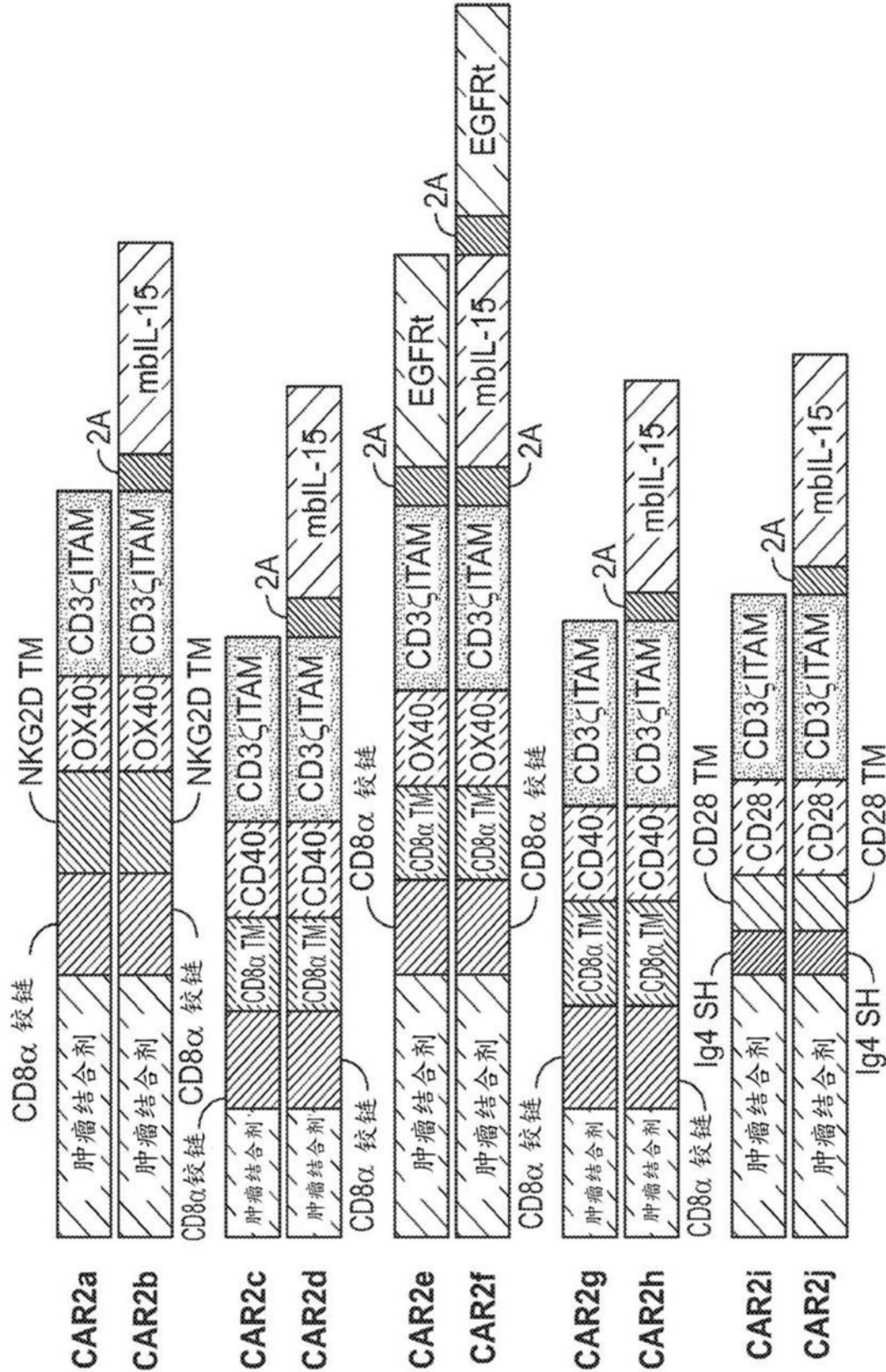


图2

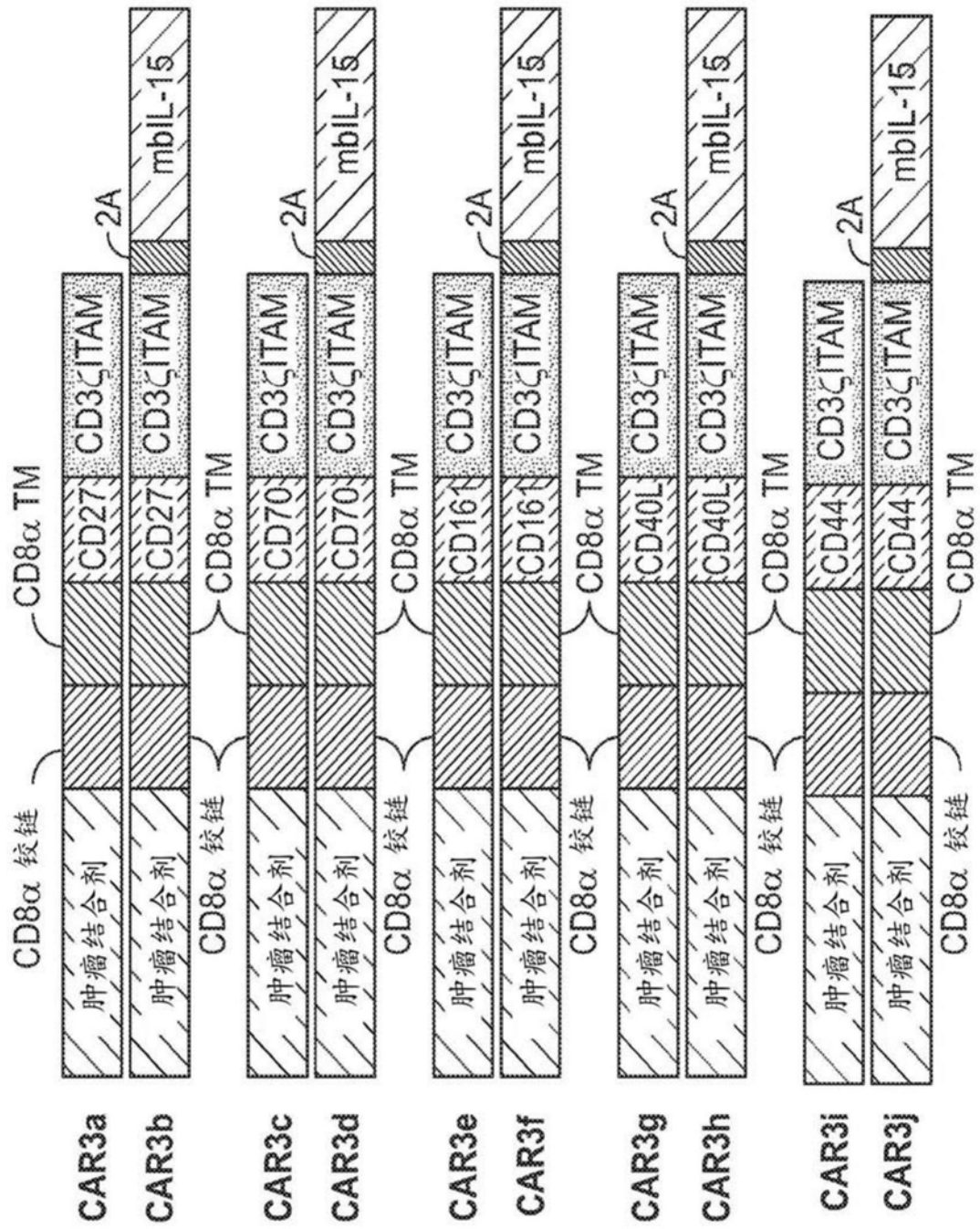


图3

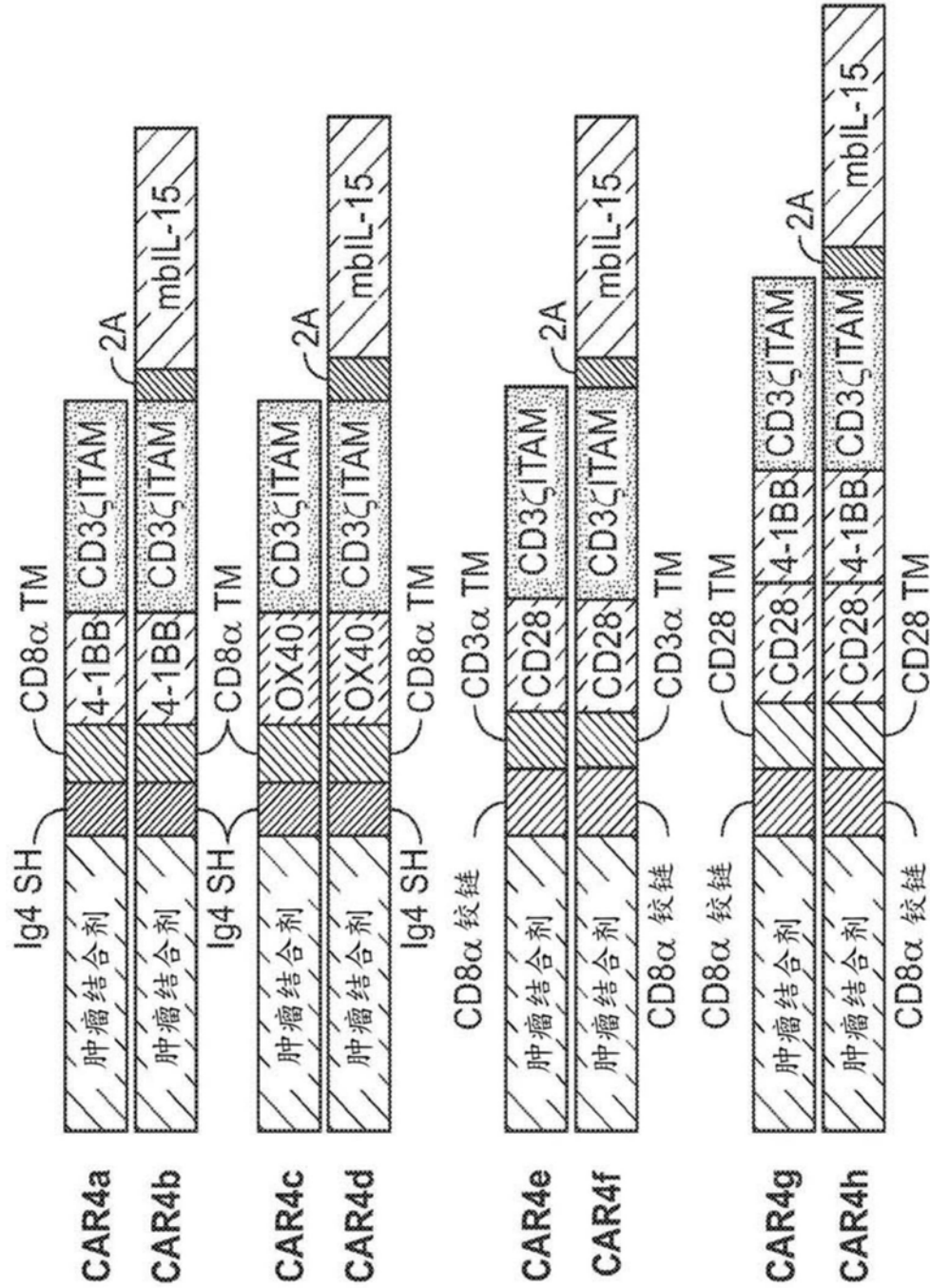


图4

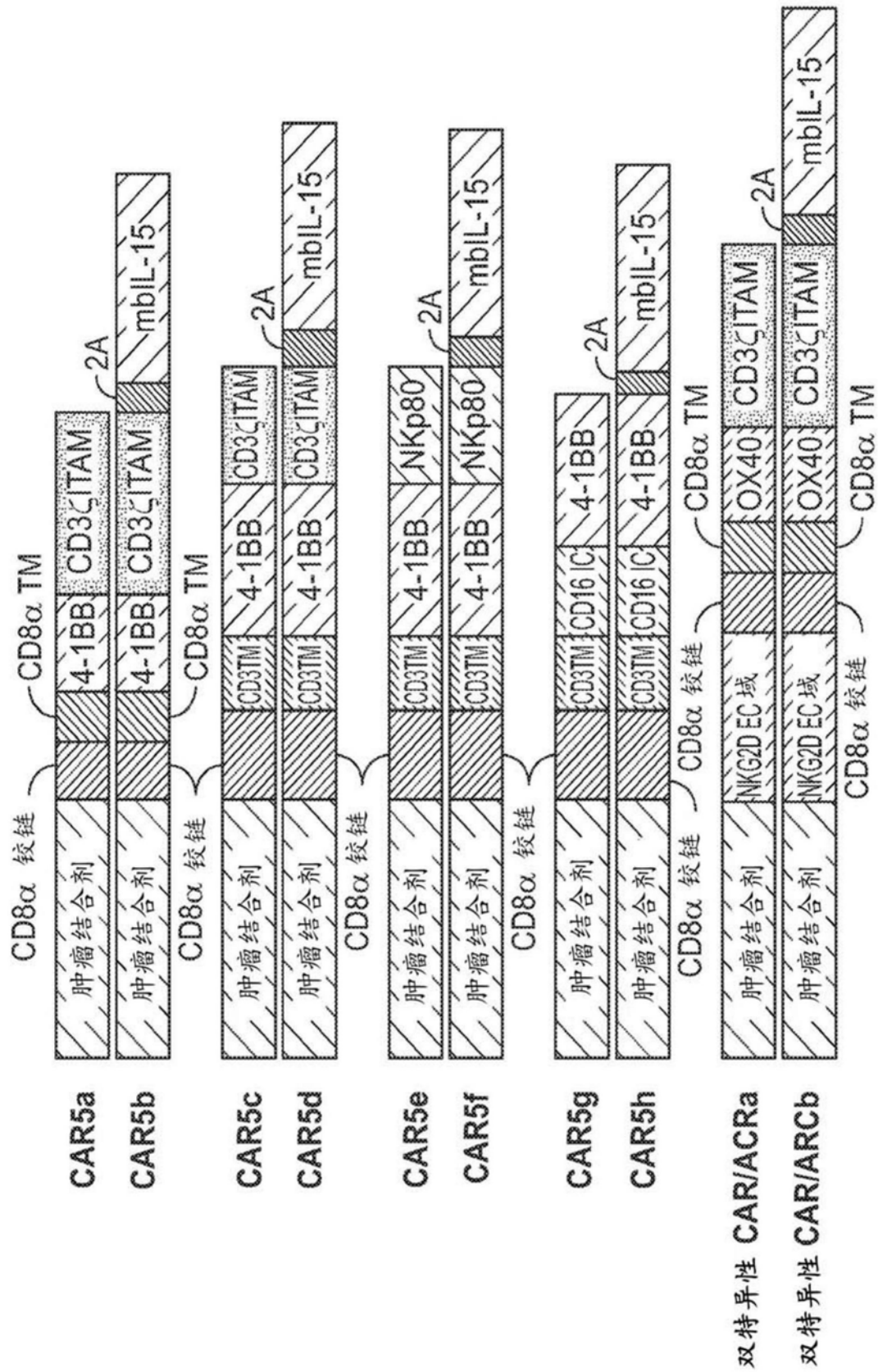


图5

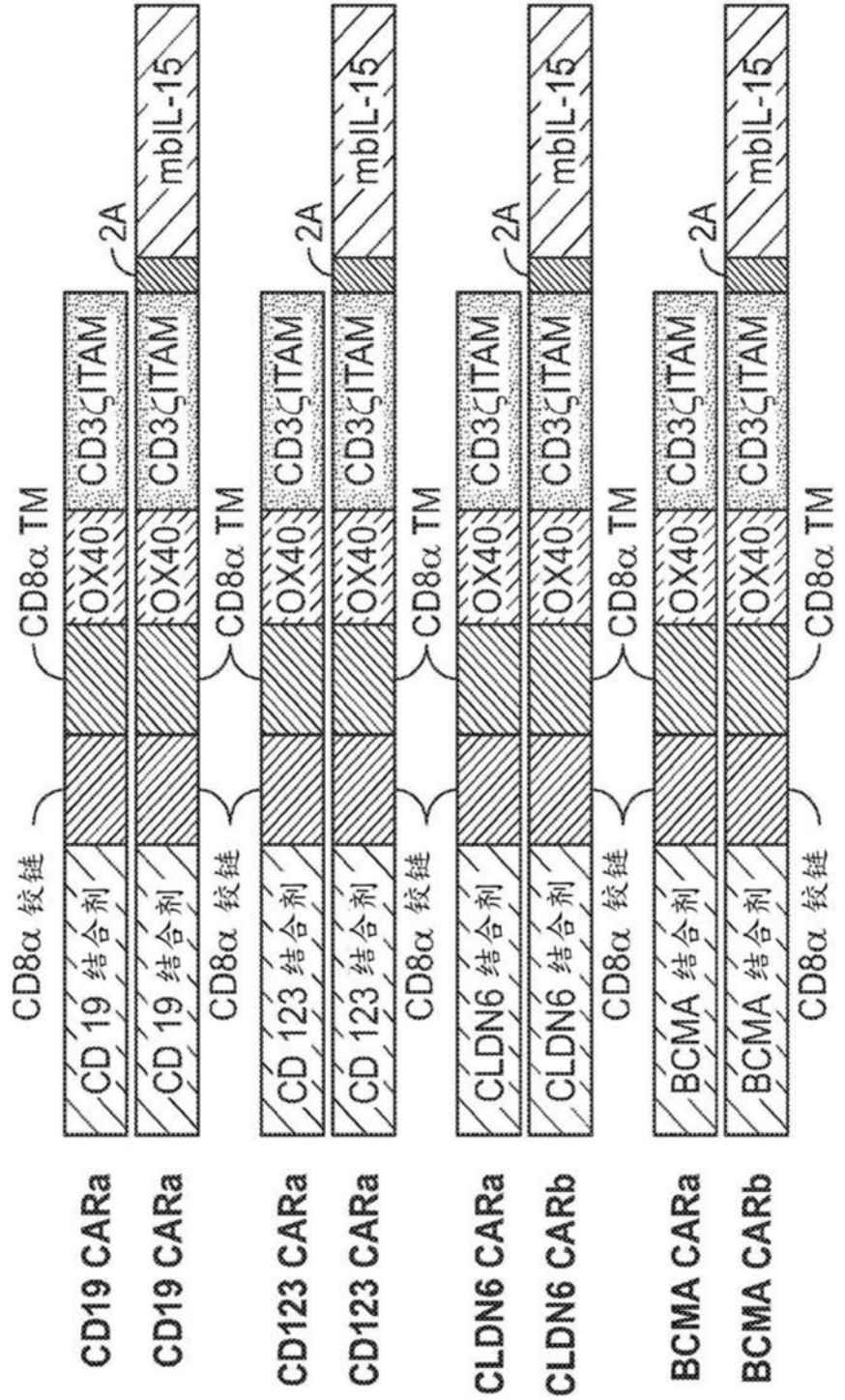


图6

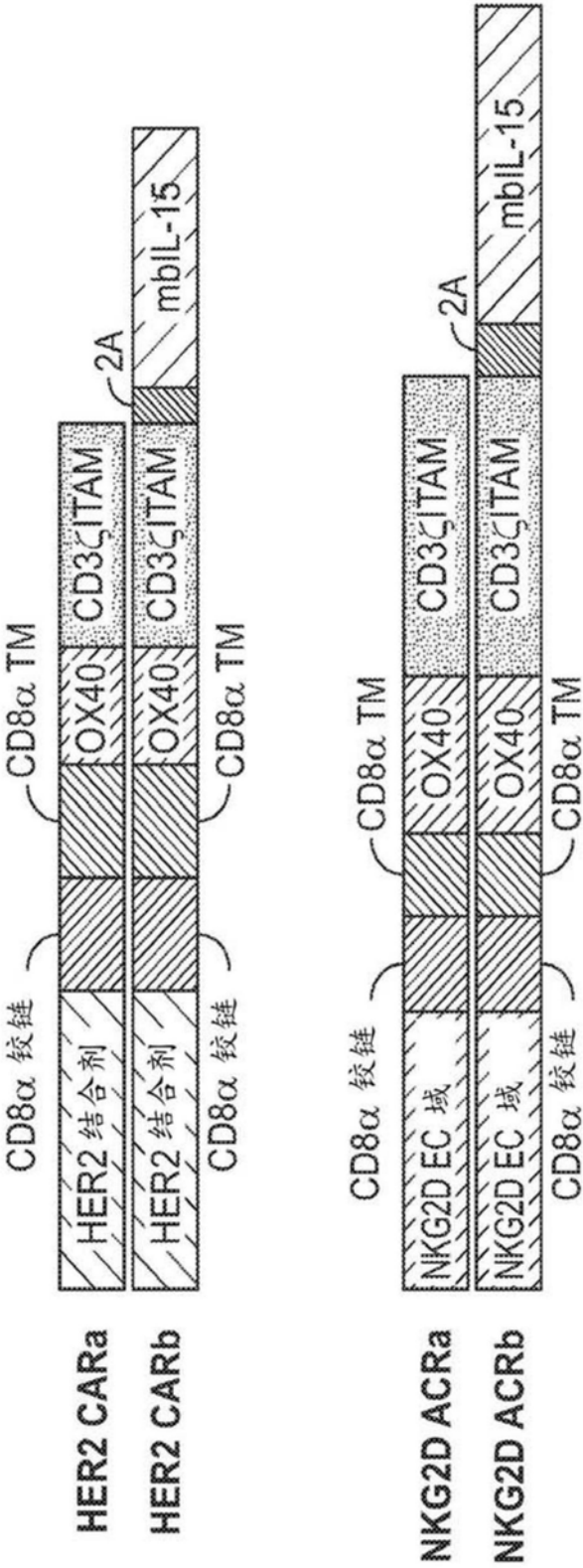


图6 (续)

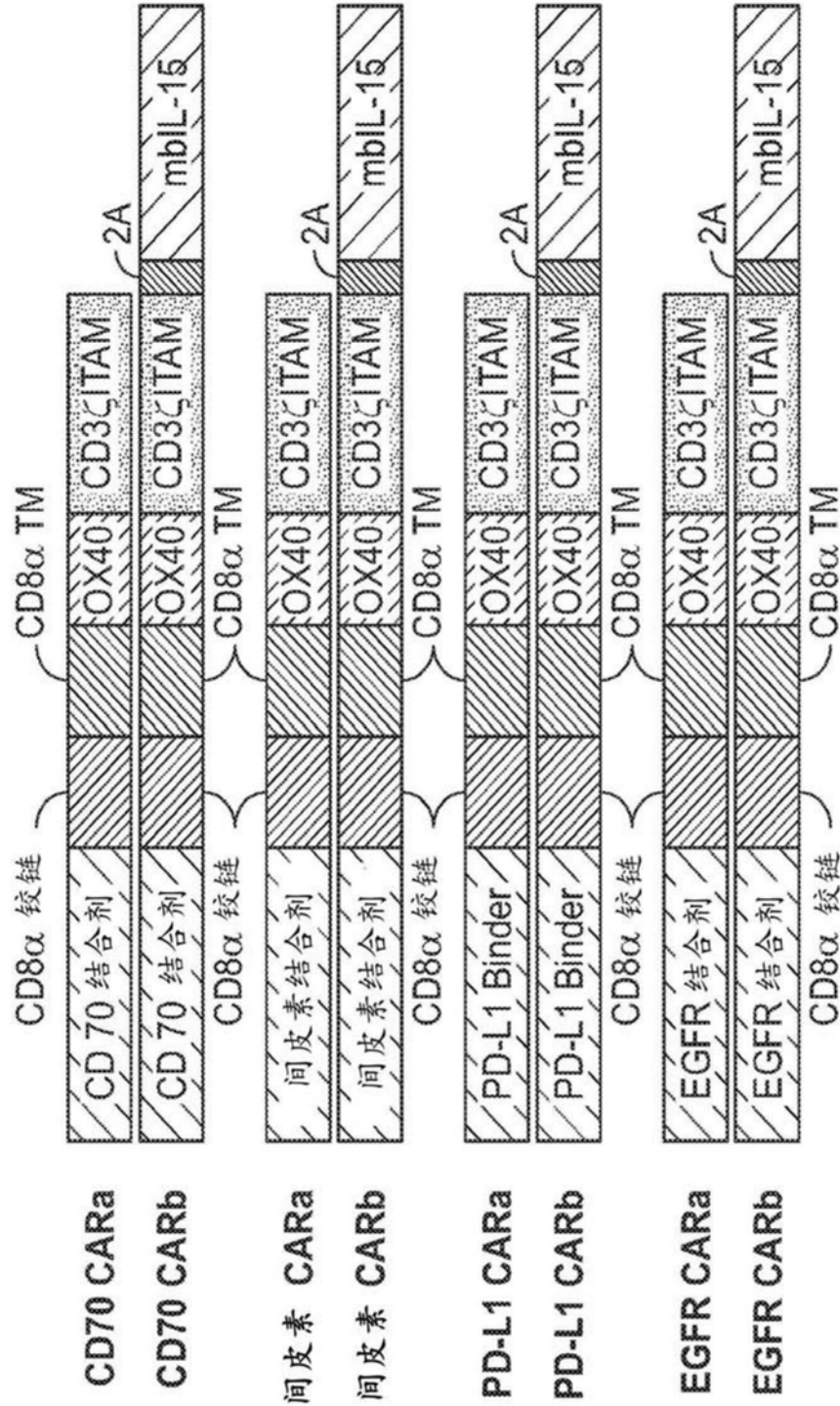


图7

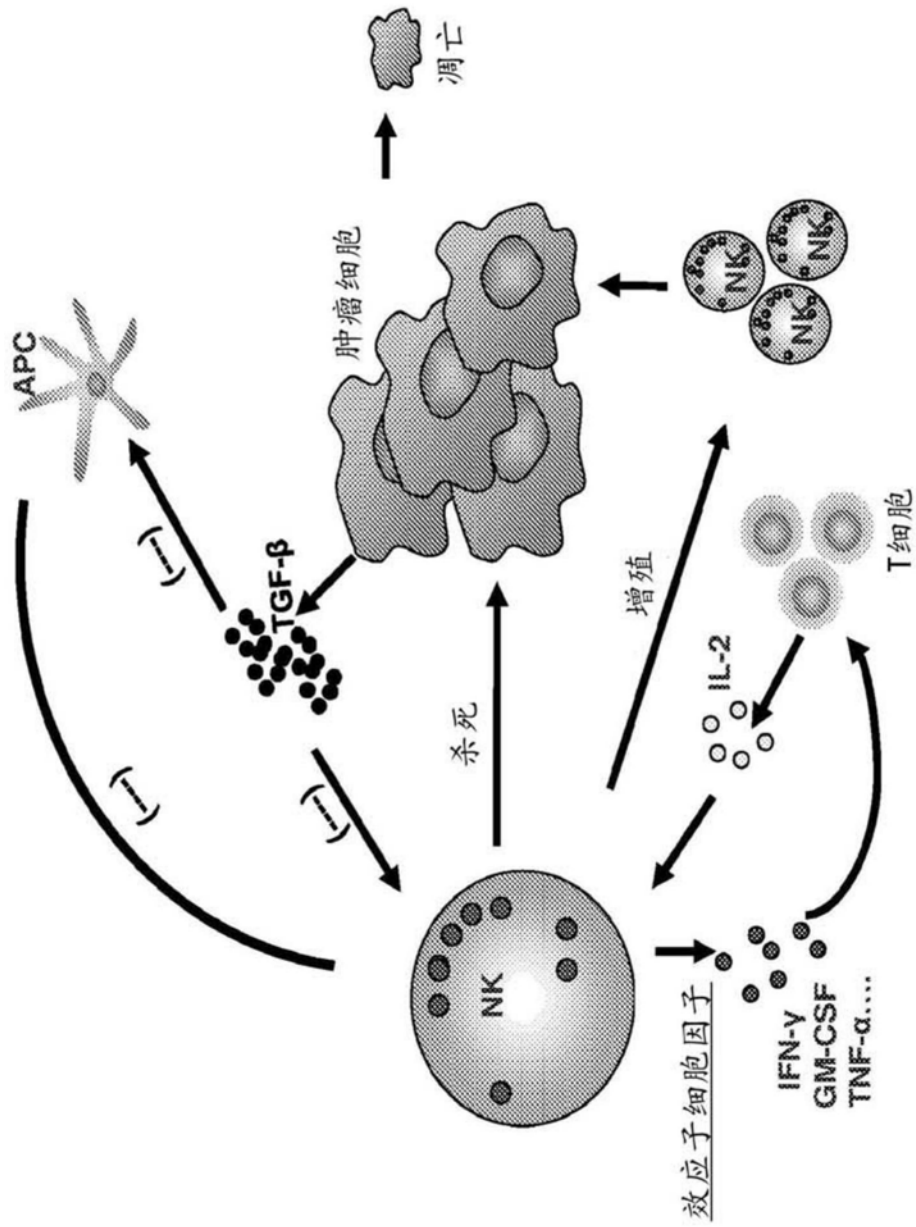


图8A

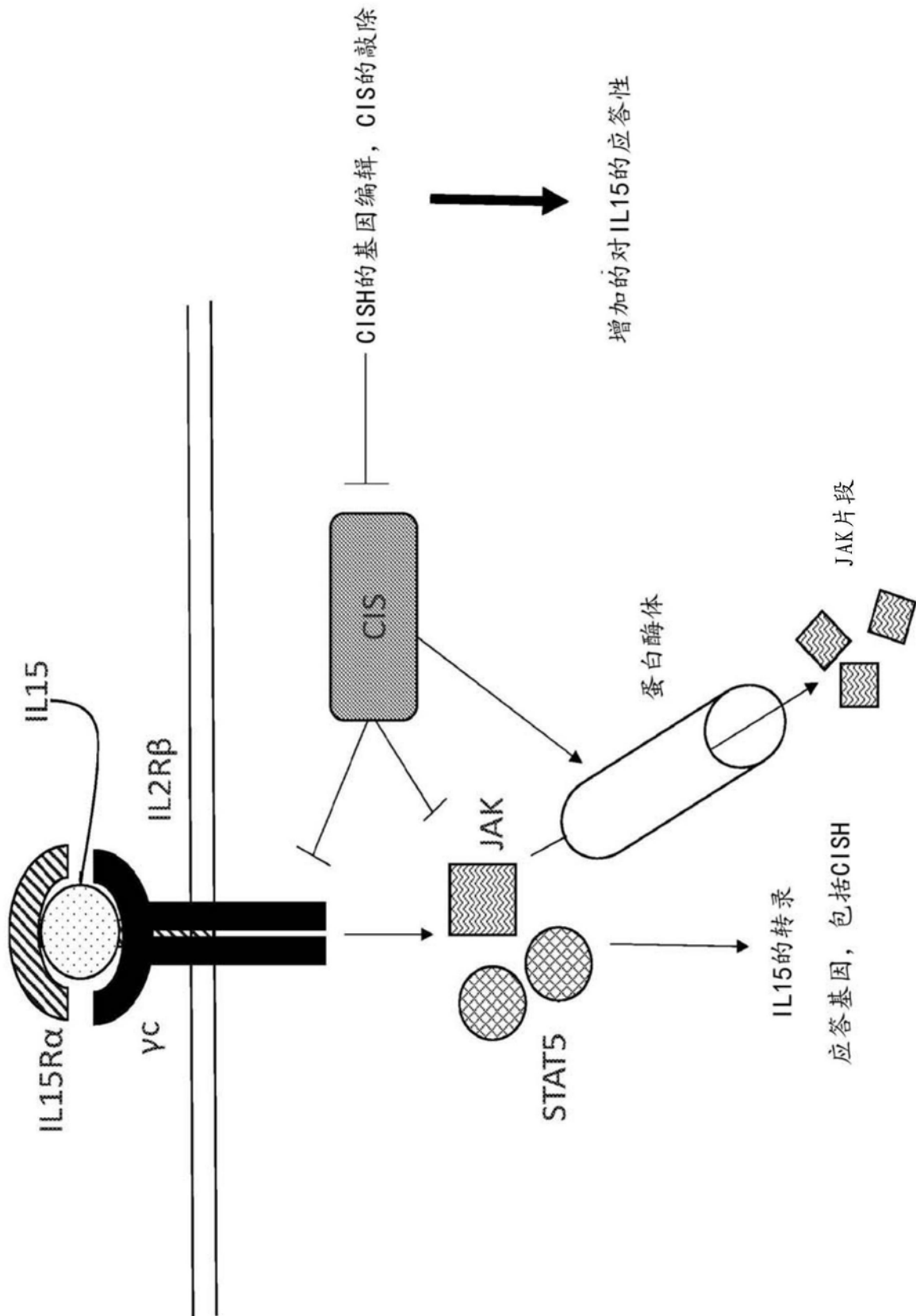


图8B

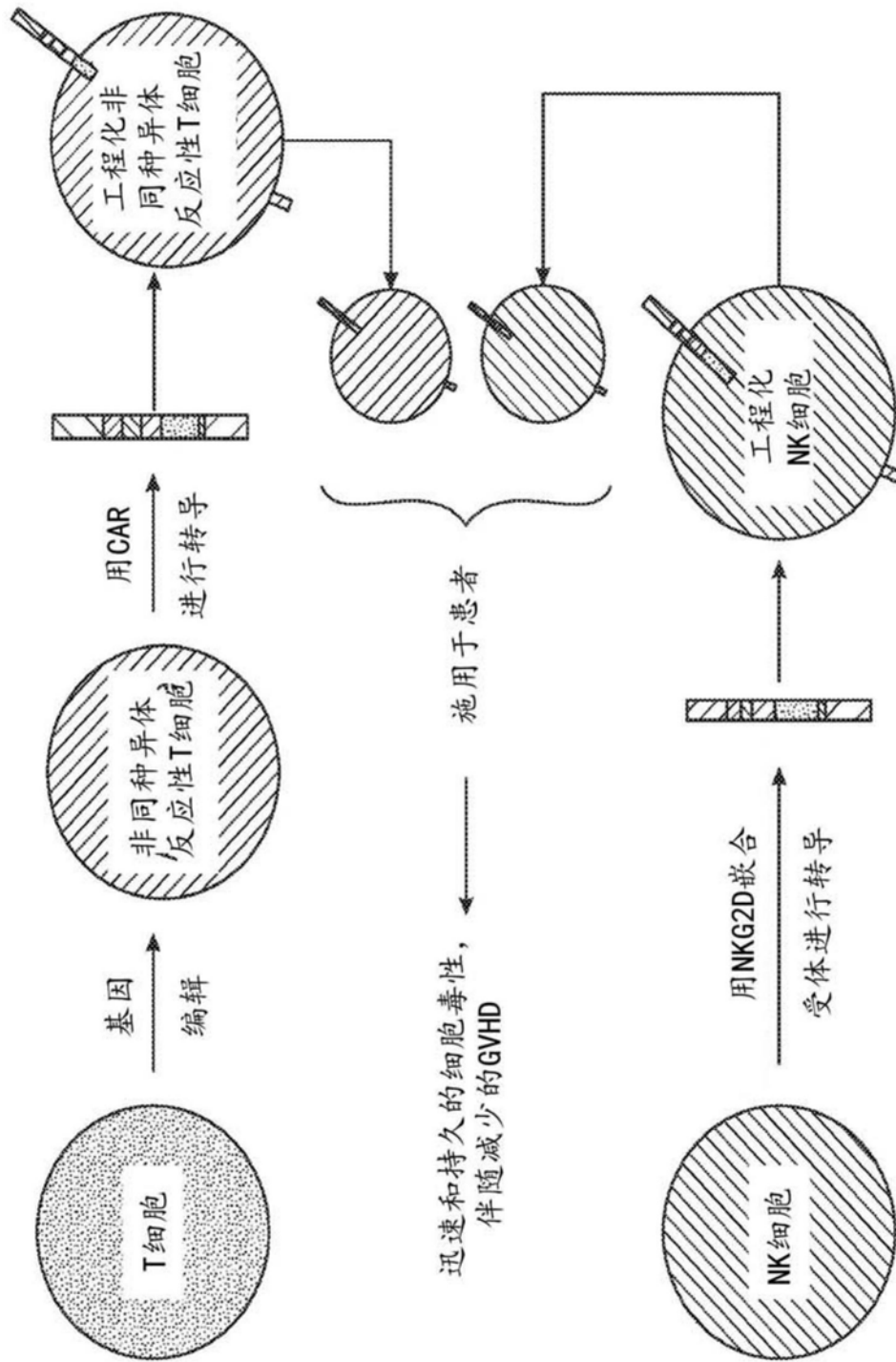


图8C

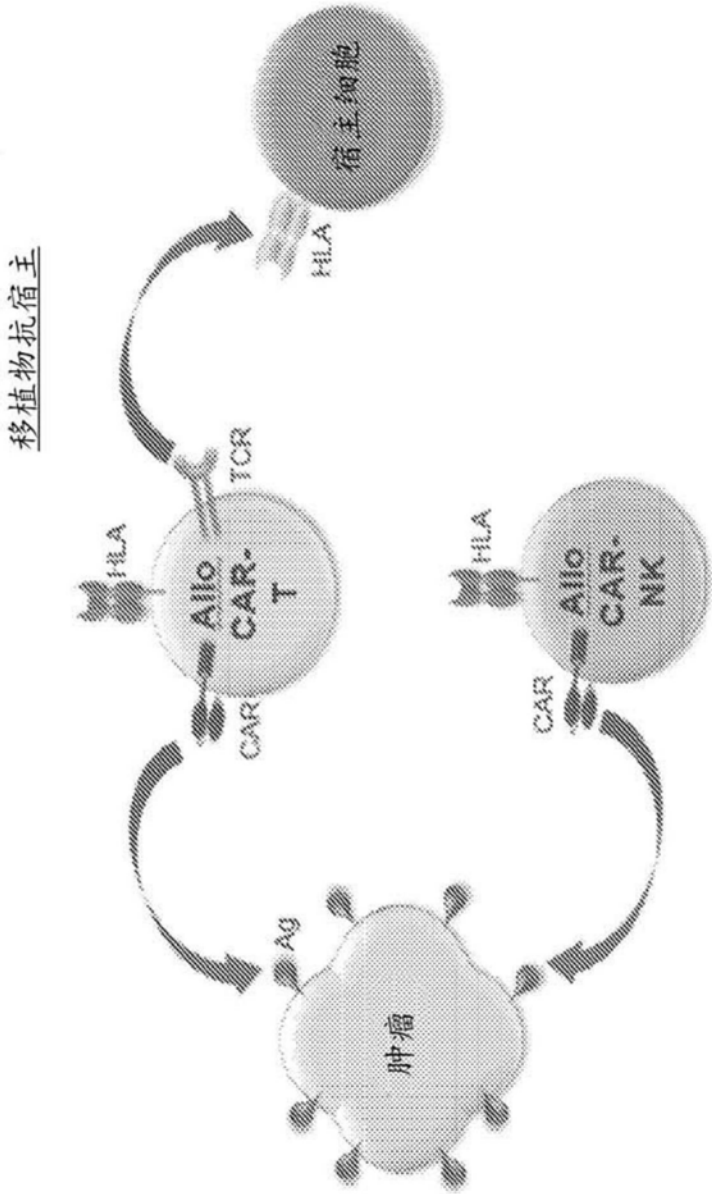


图8D

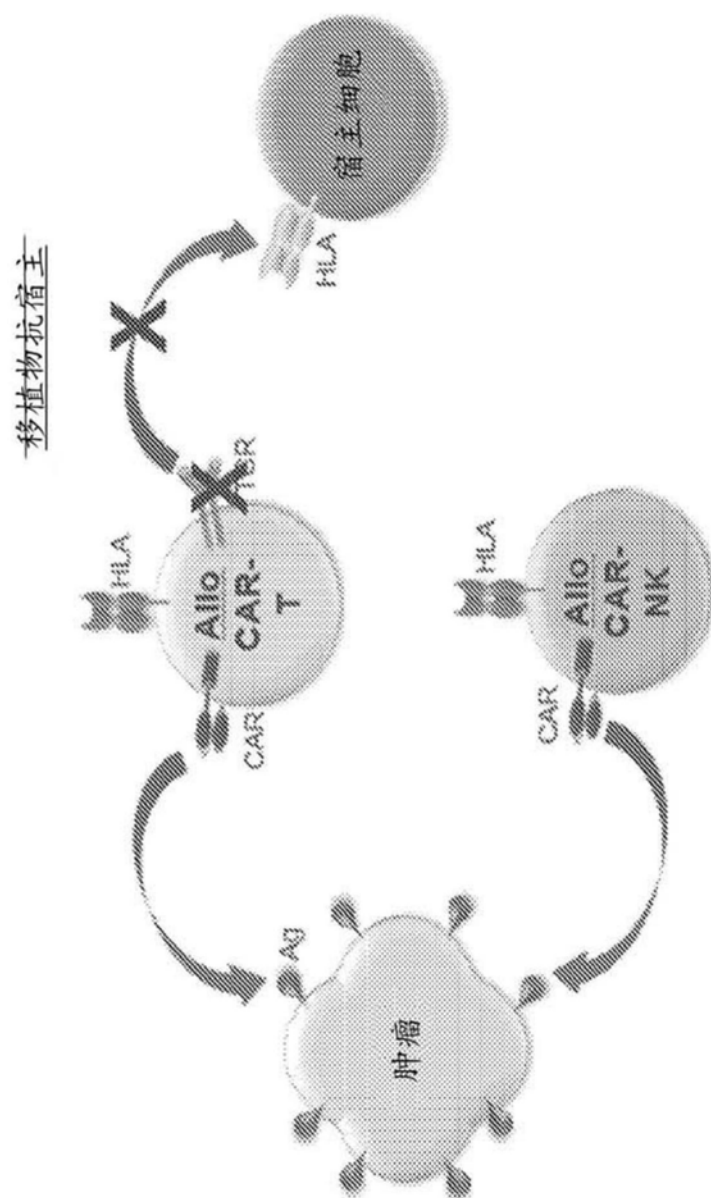


图8E

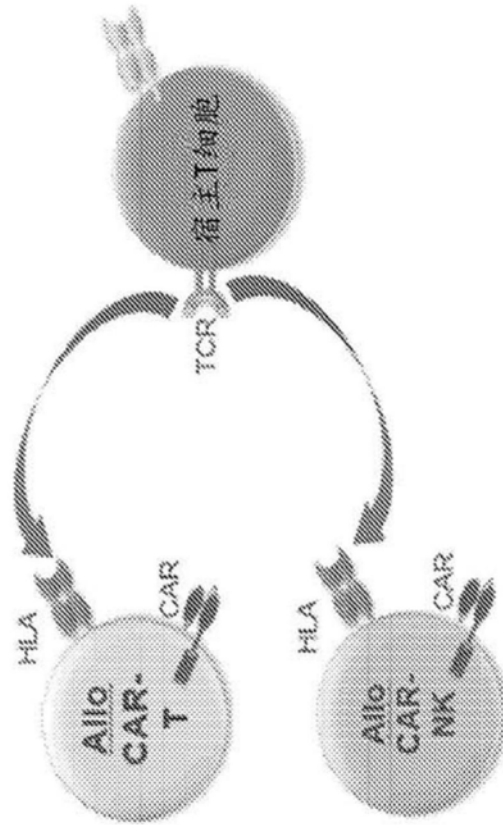


图8F

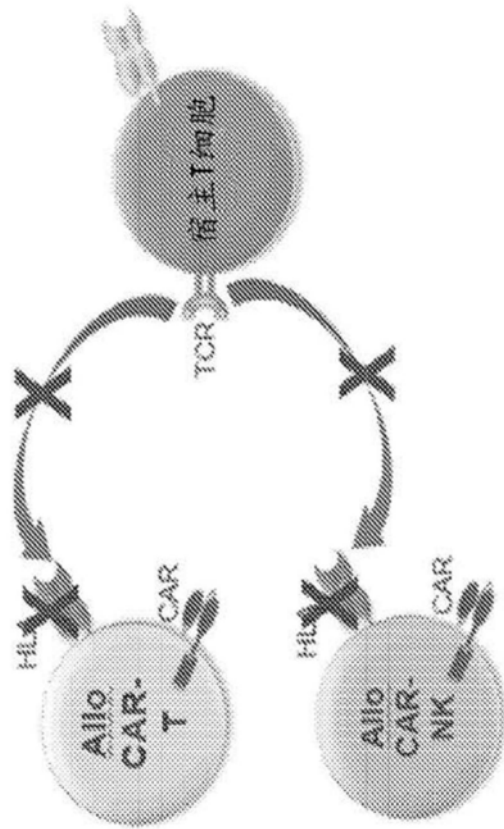


图8G

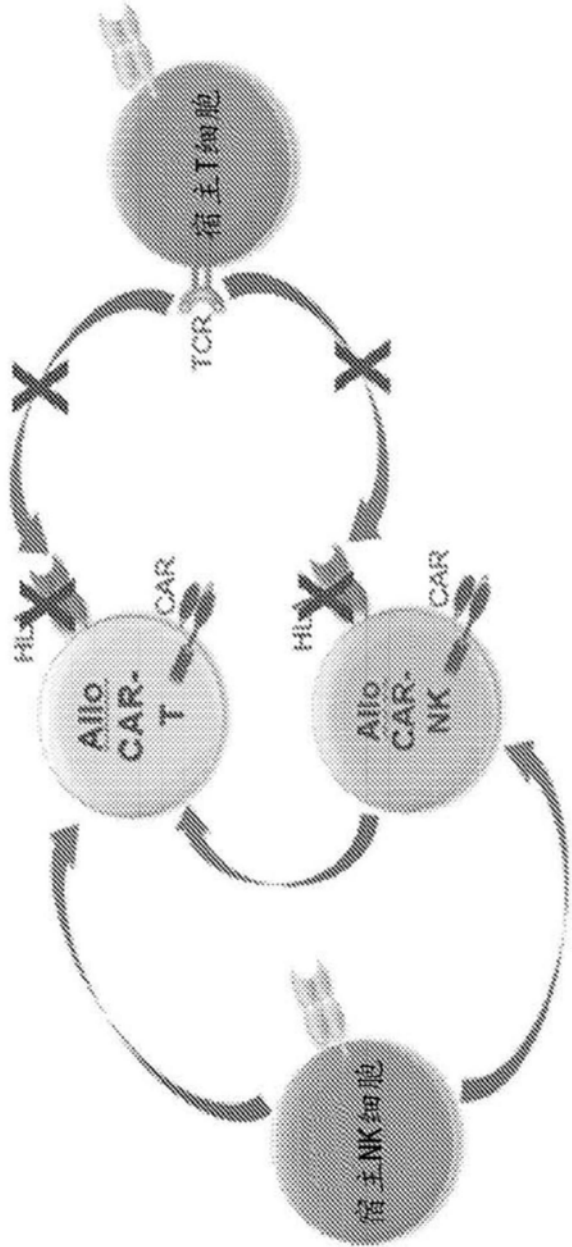


图8H

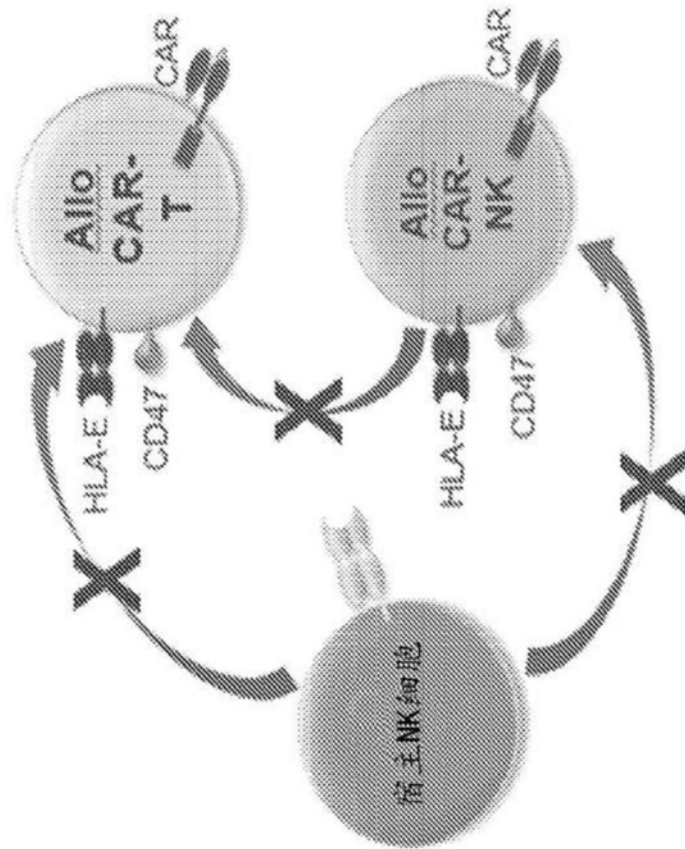


图8I

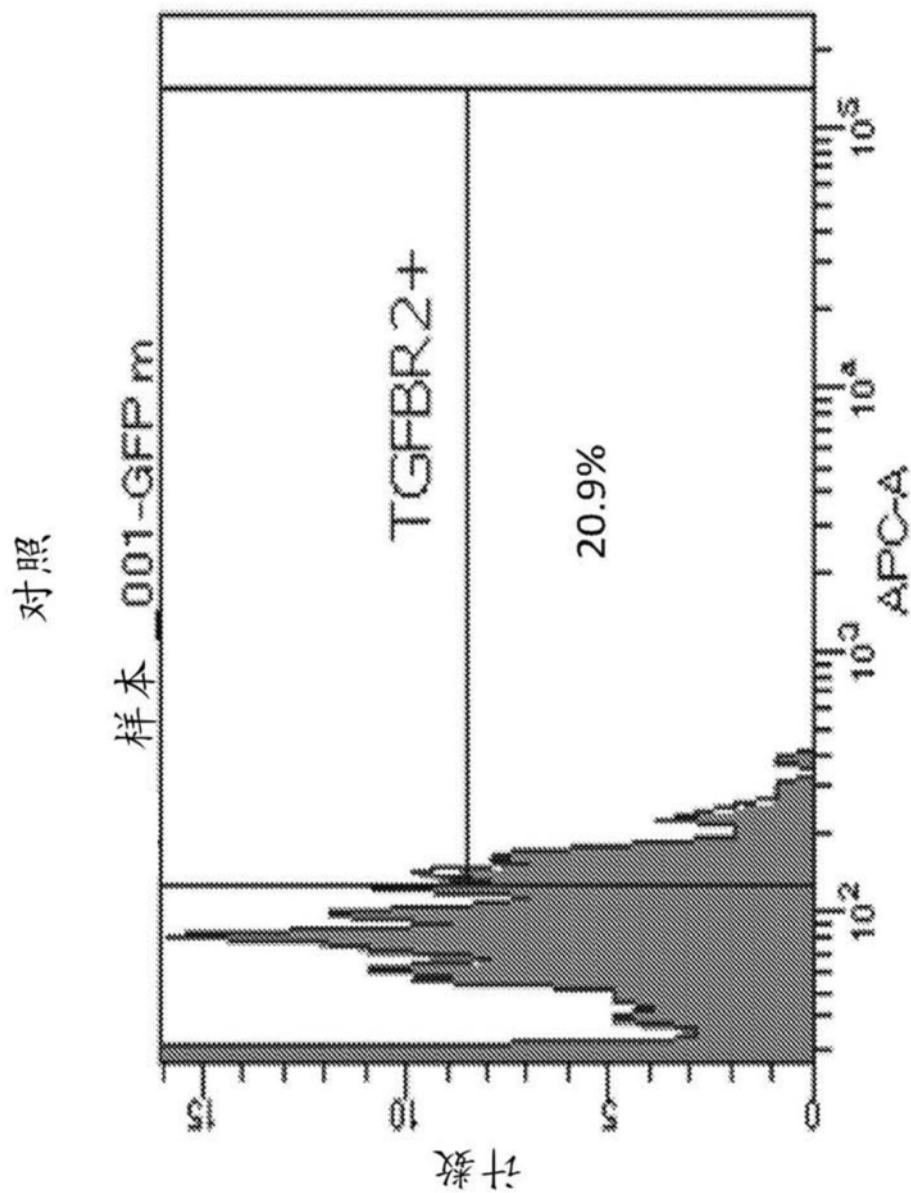


图9A

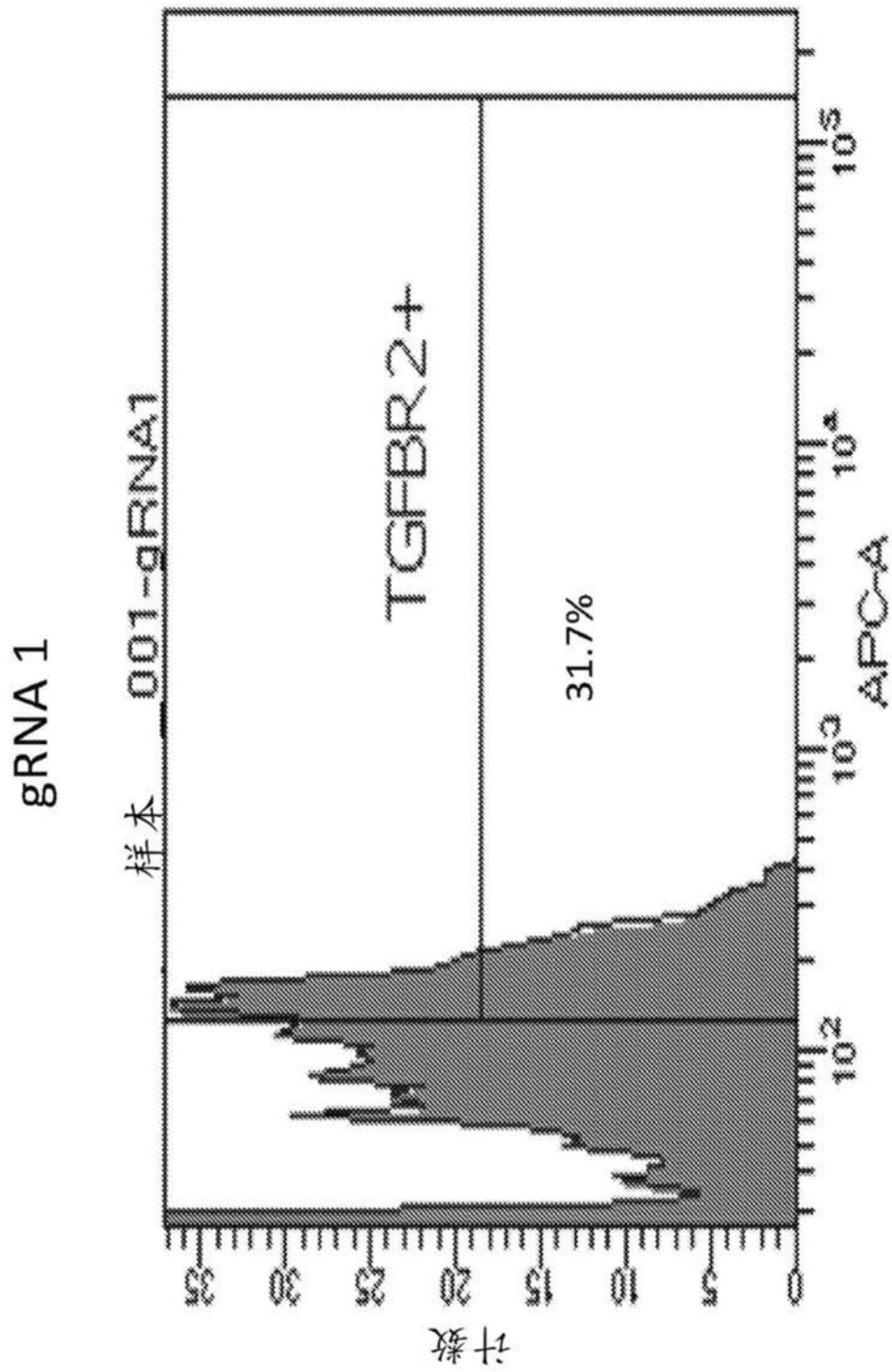


图9B

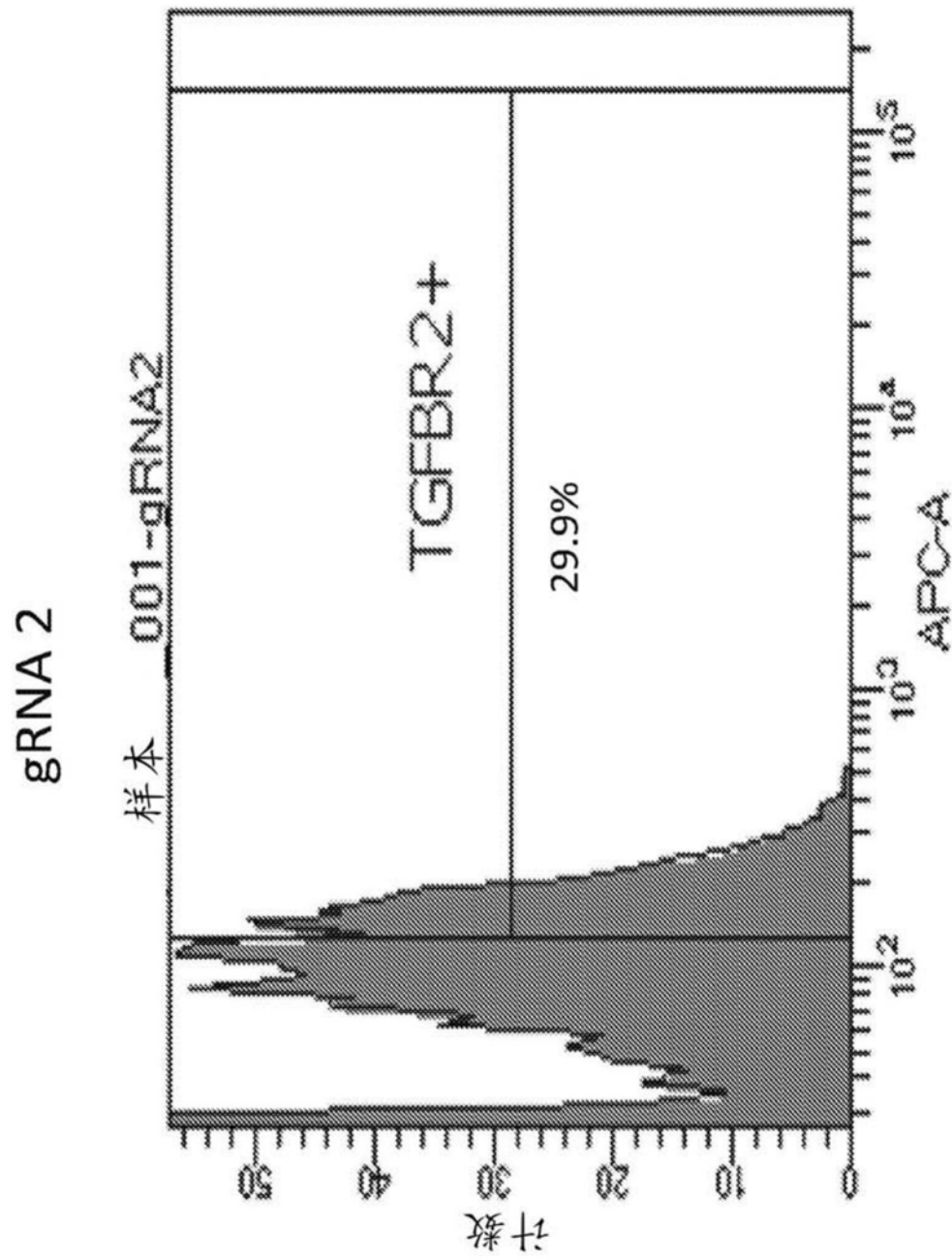


图9C

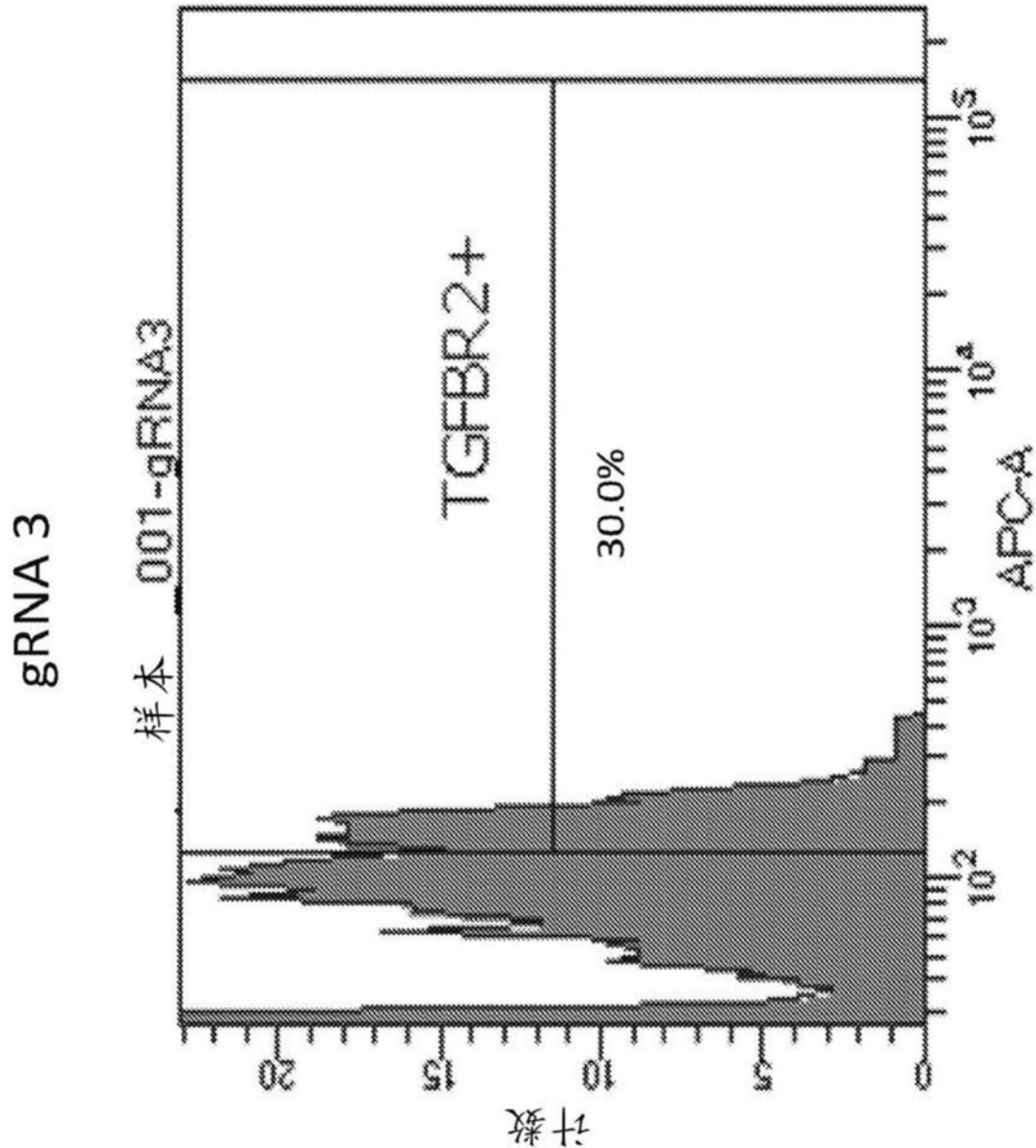


图9D

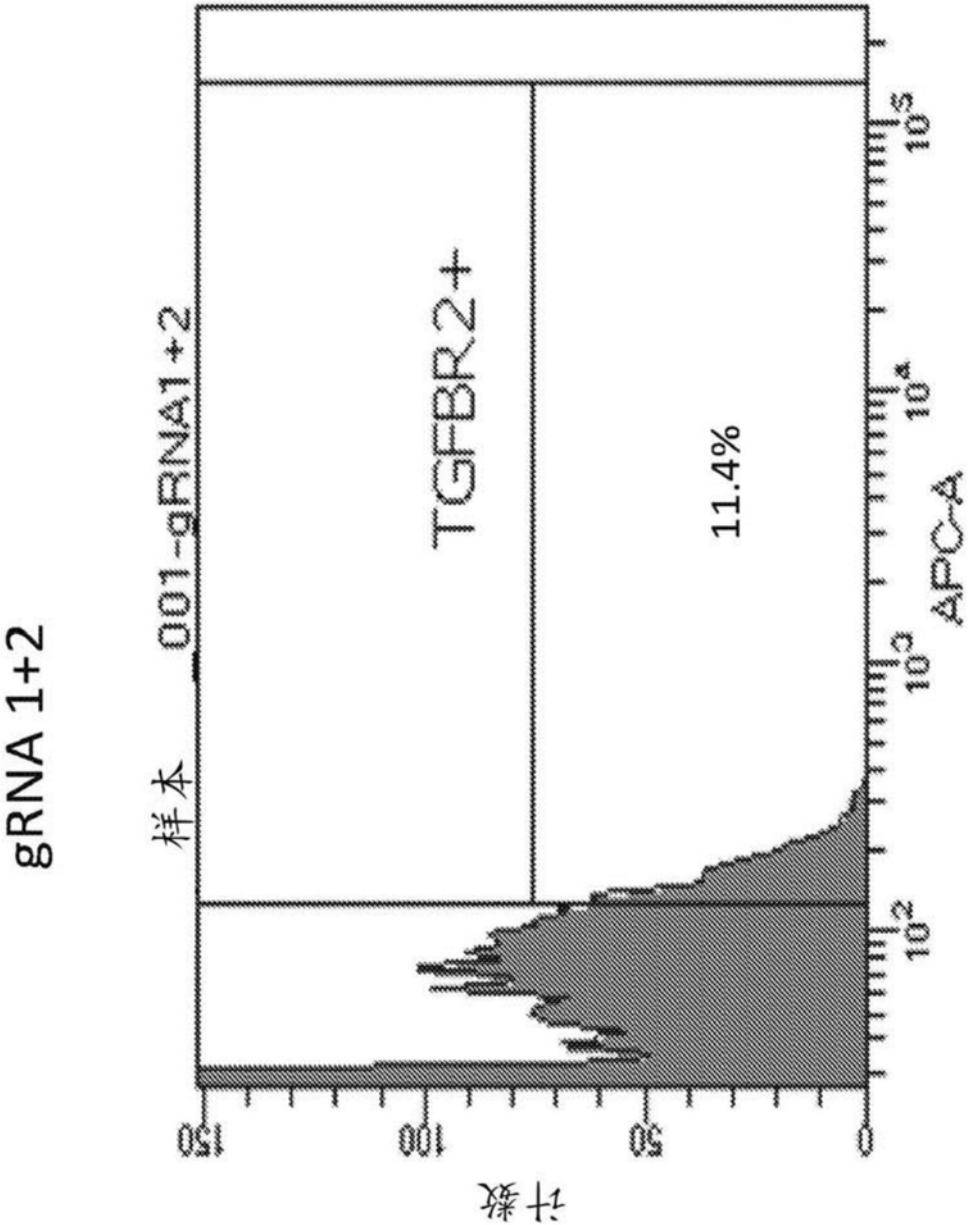


图9E

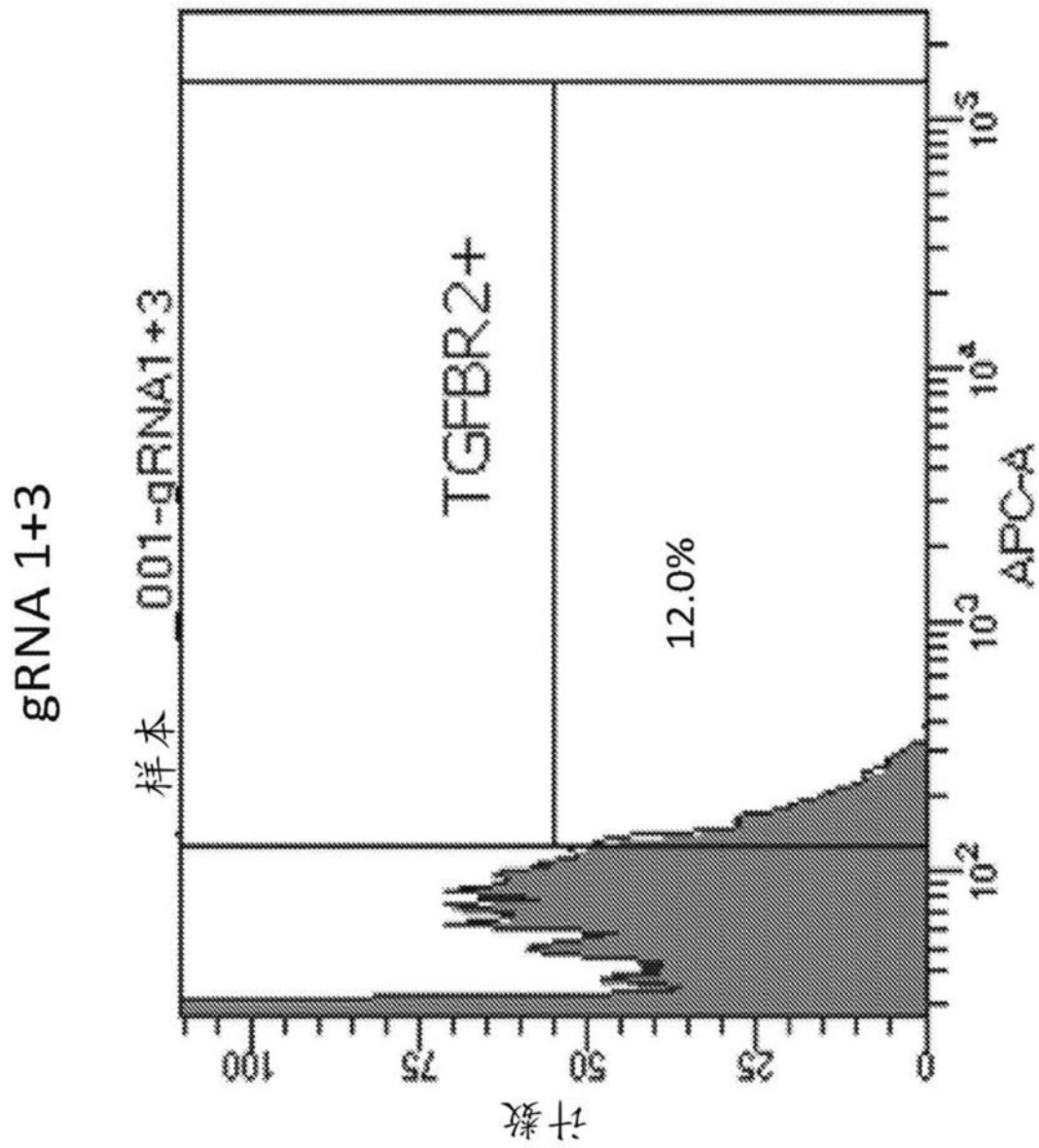


图9F

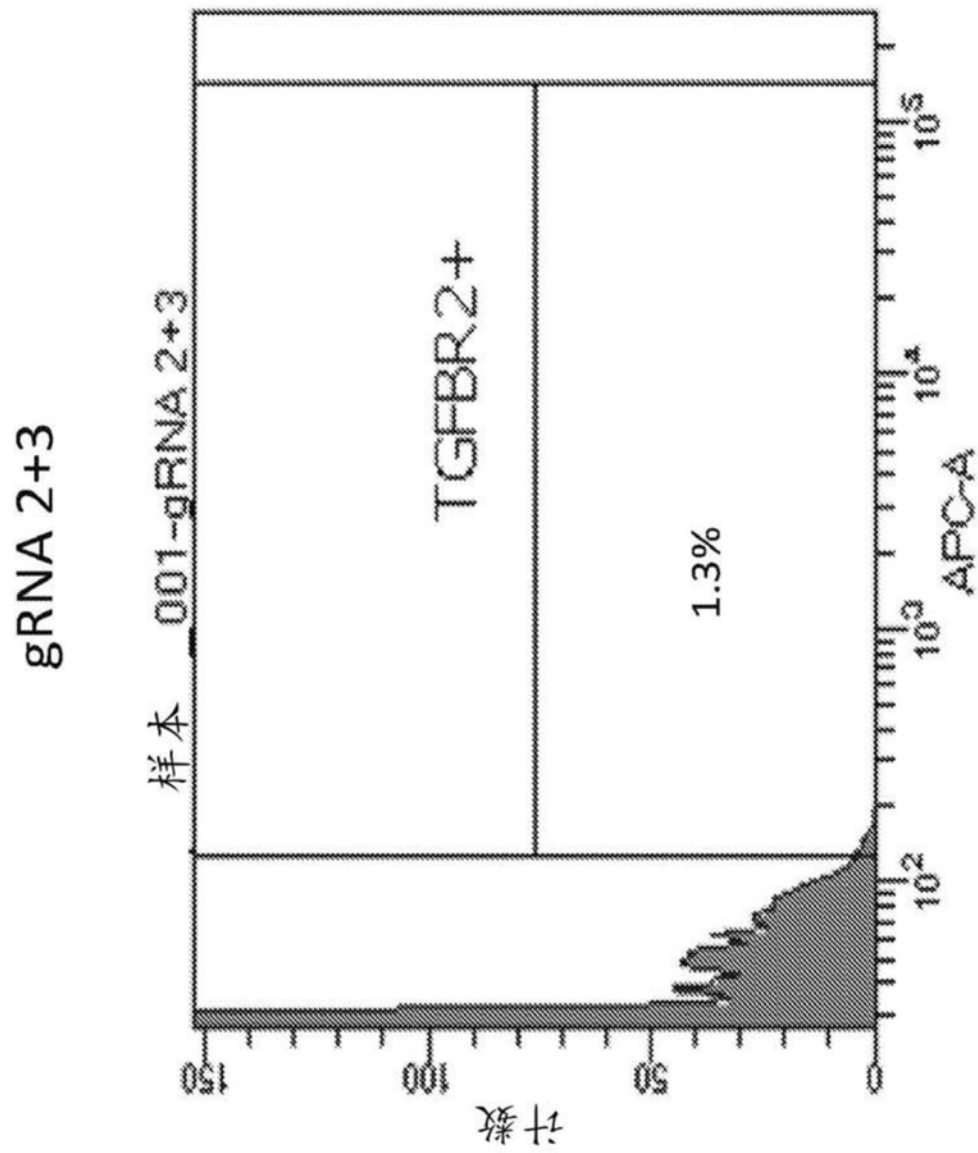


图9G

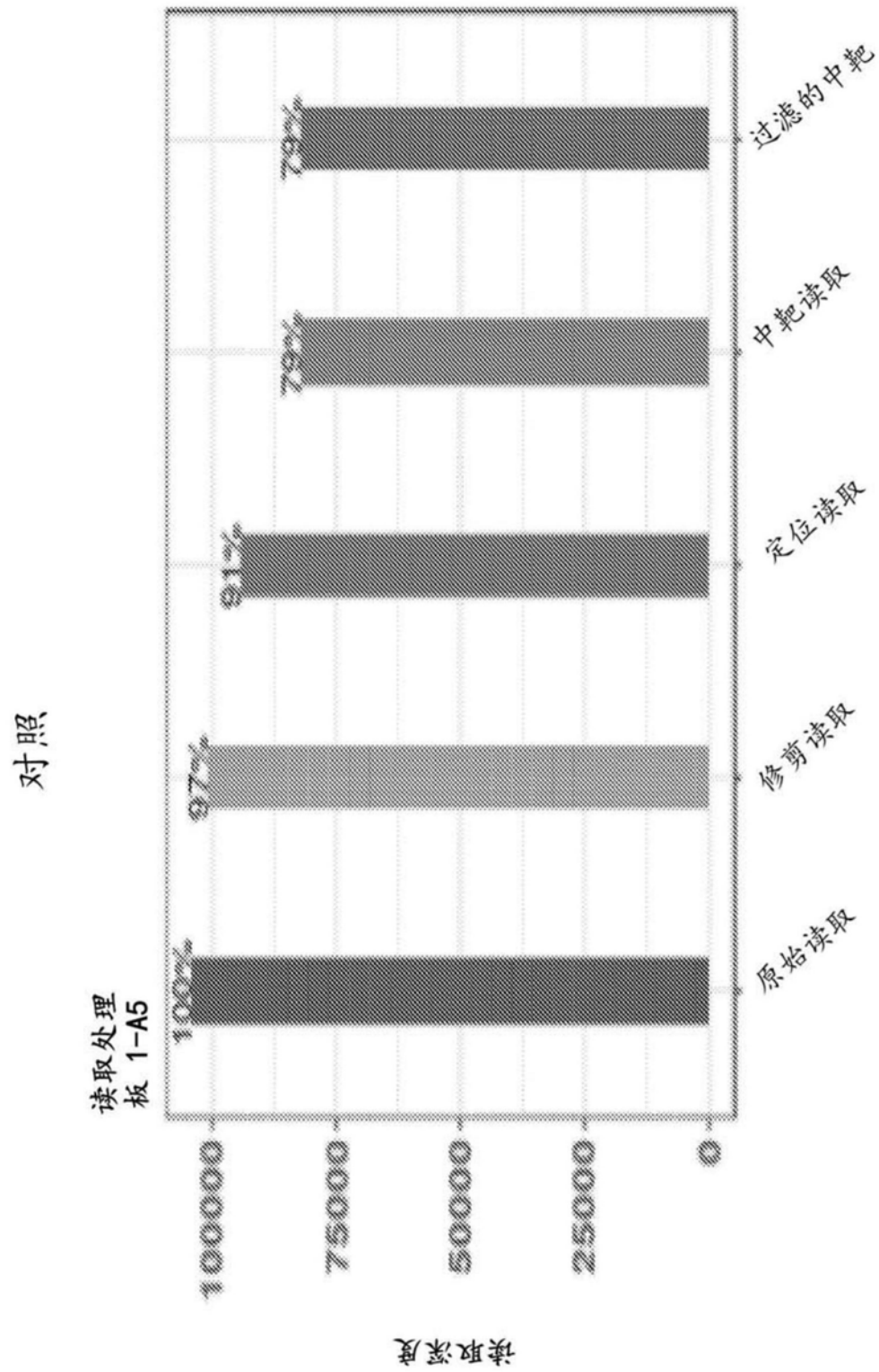


图10A

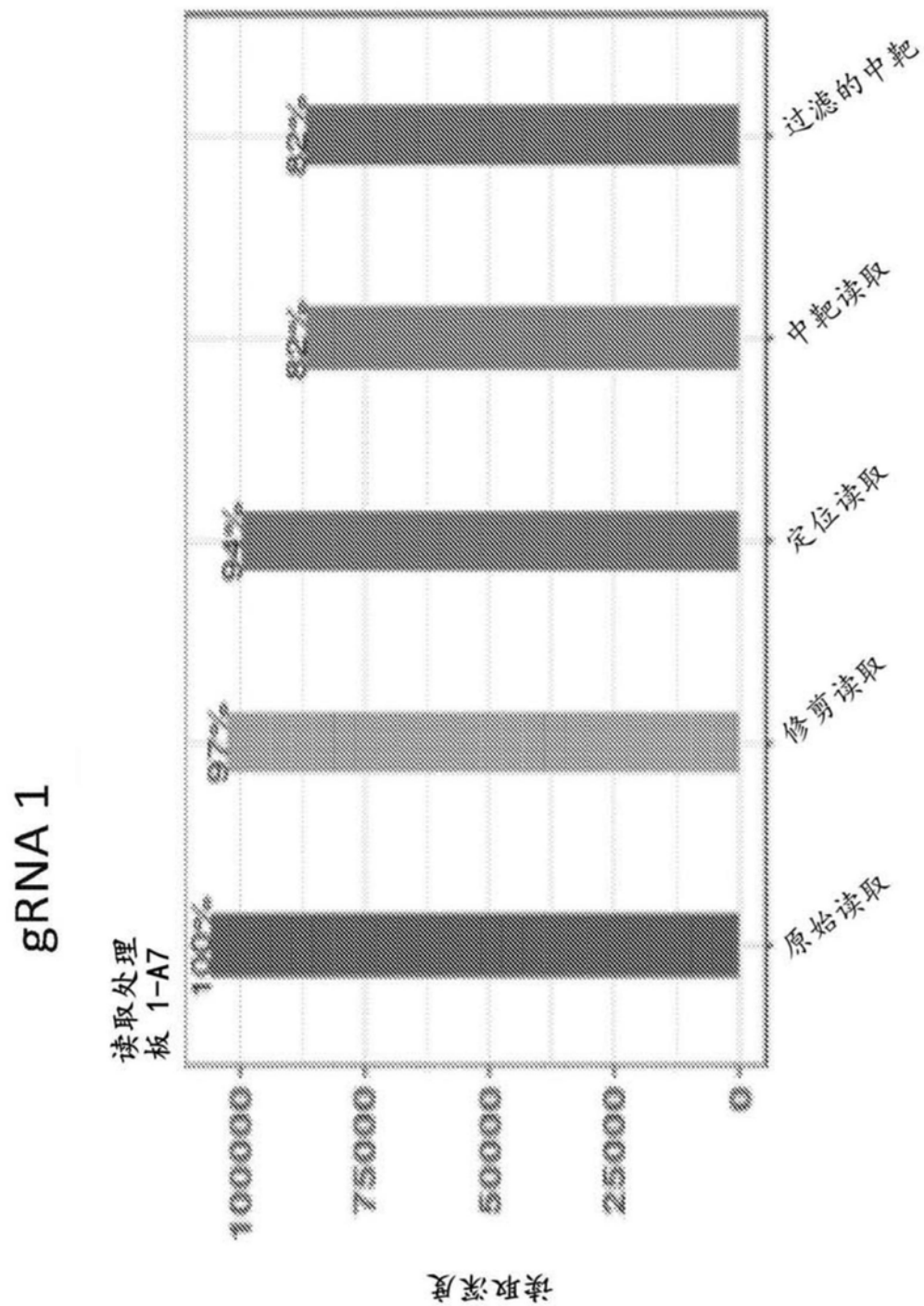


图10B

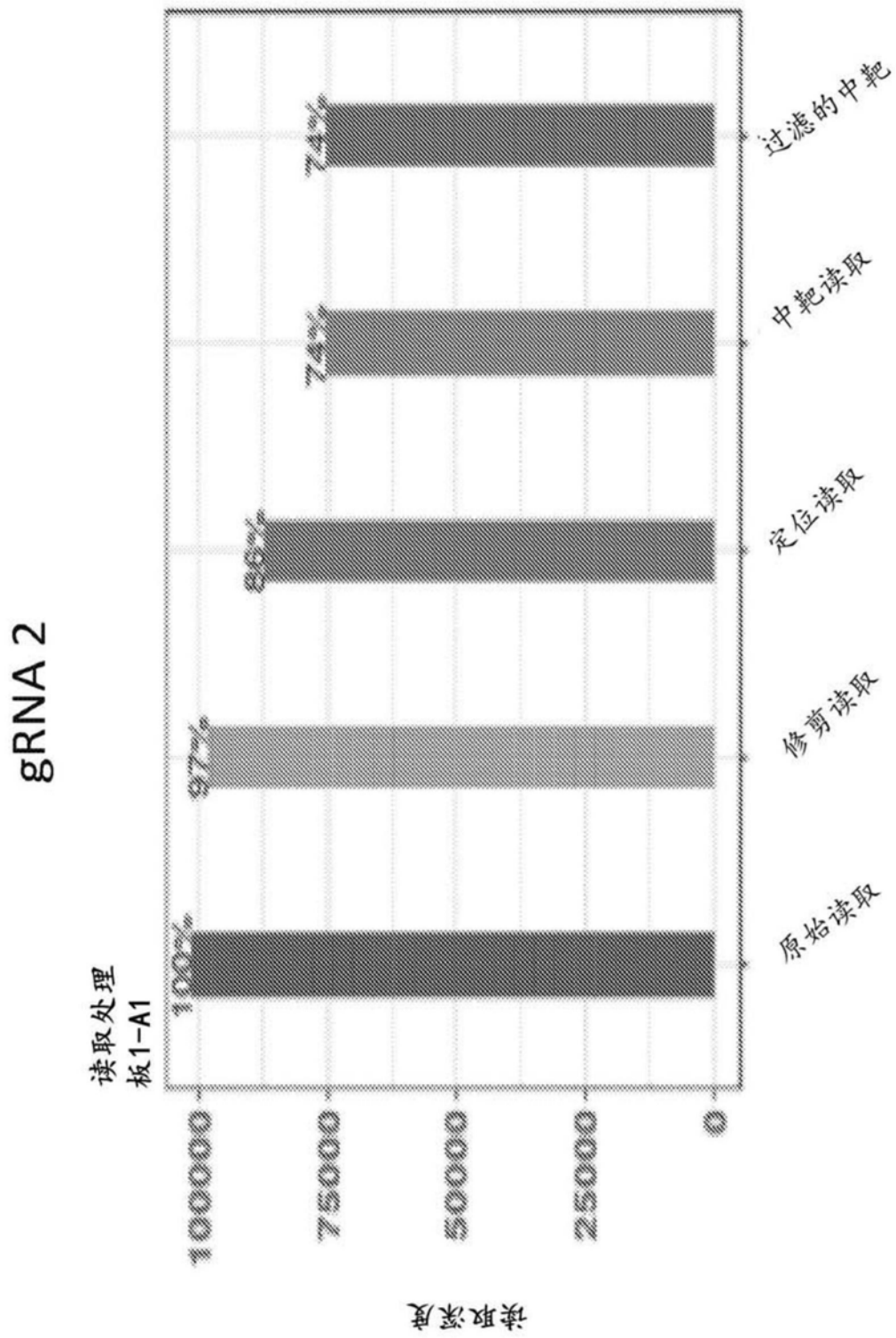


图10C

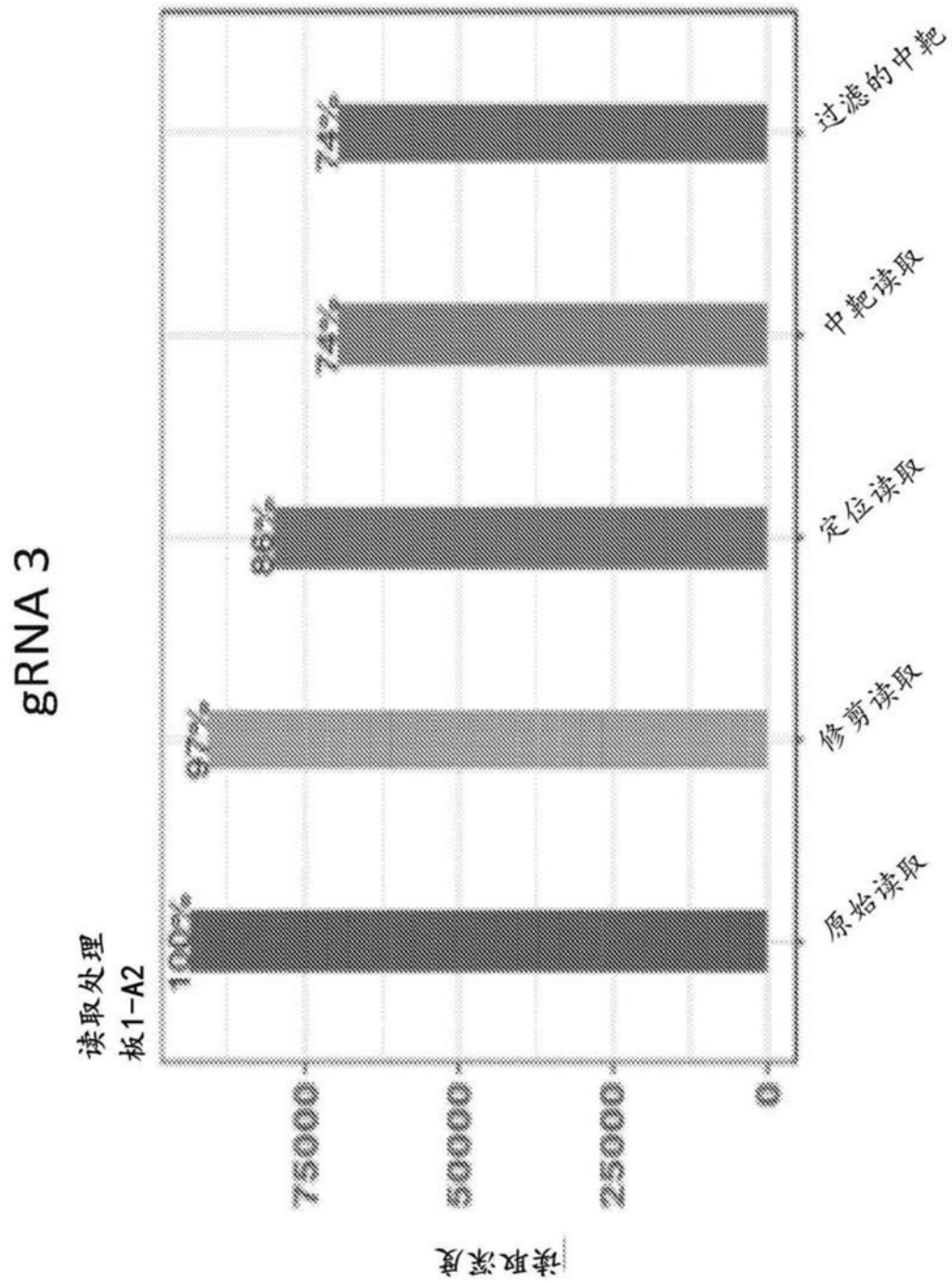


图10D

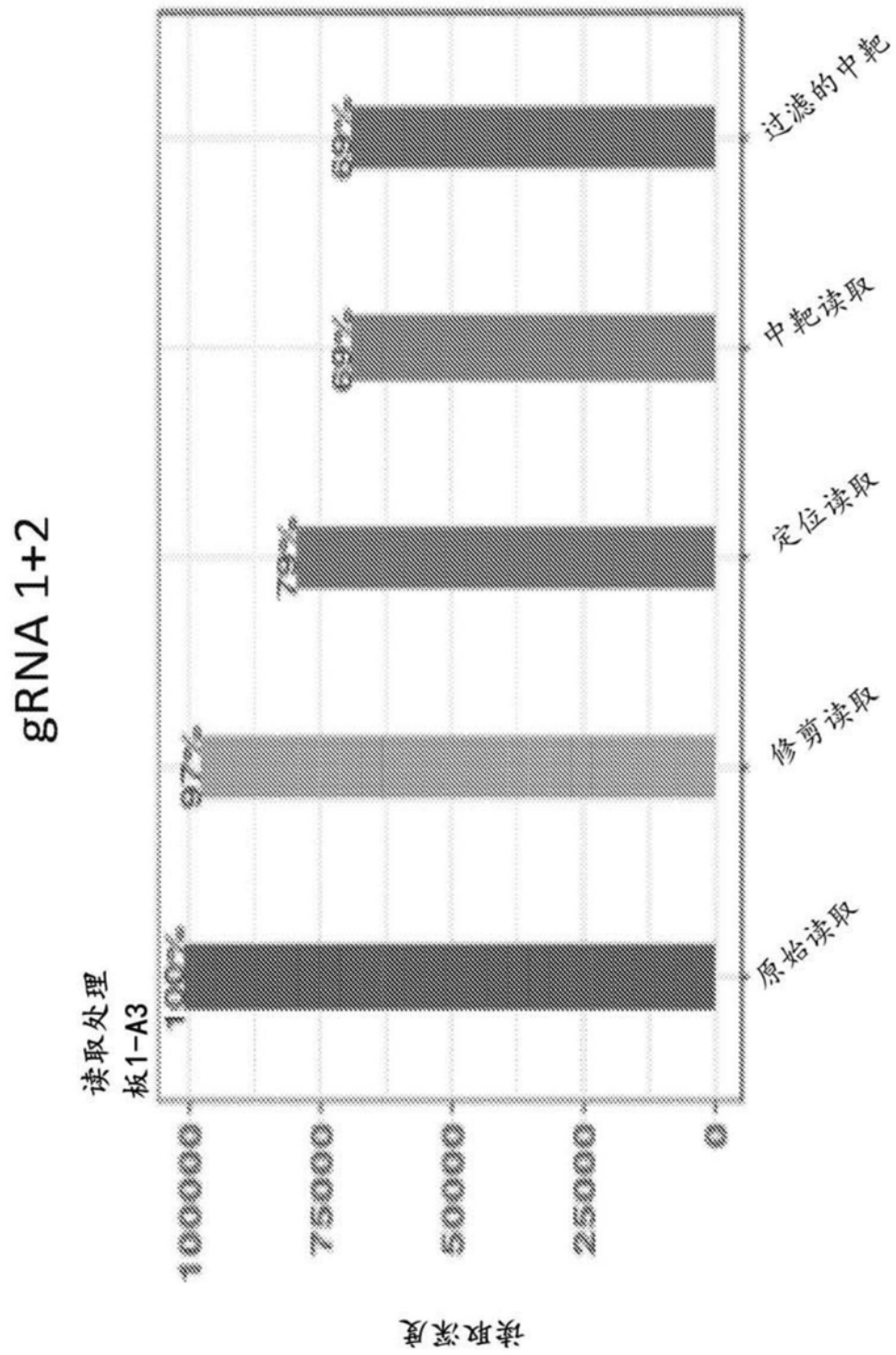


图10E

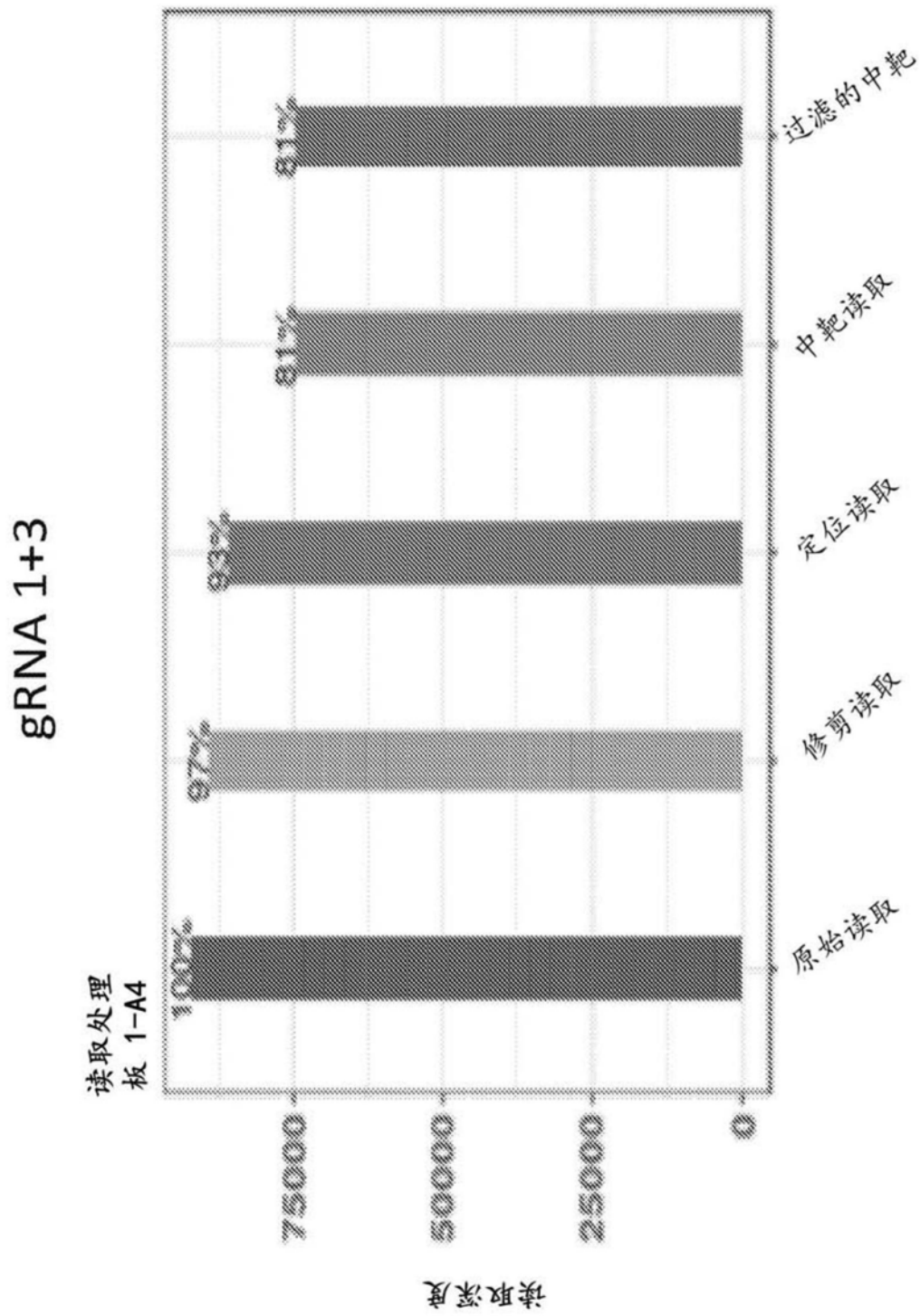


图10F

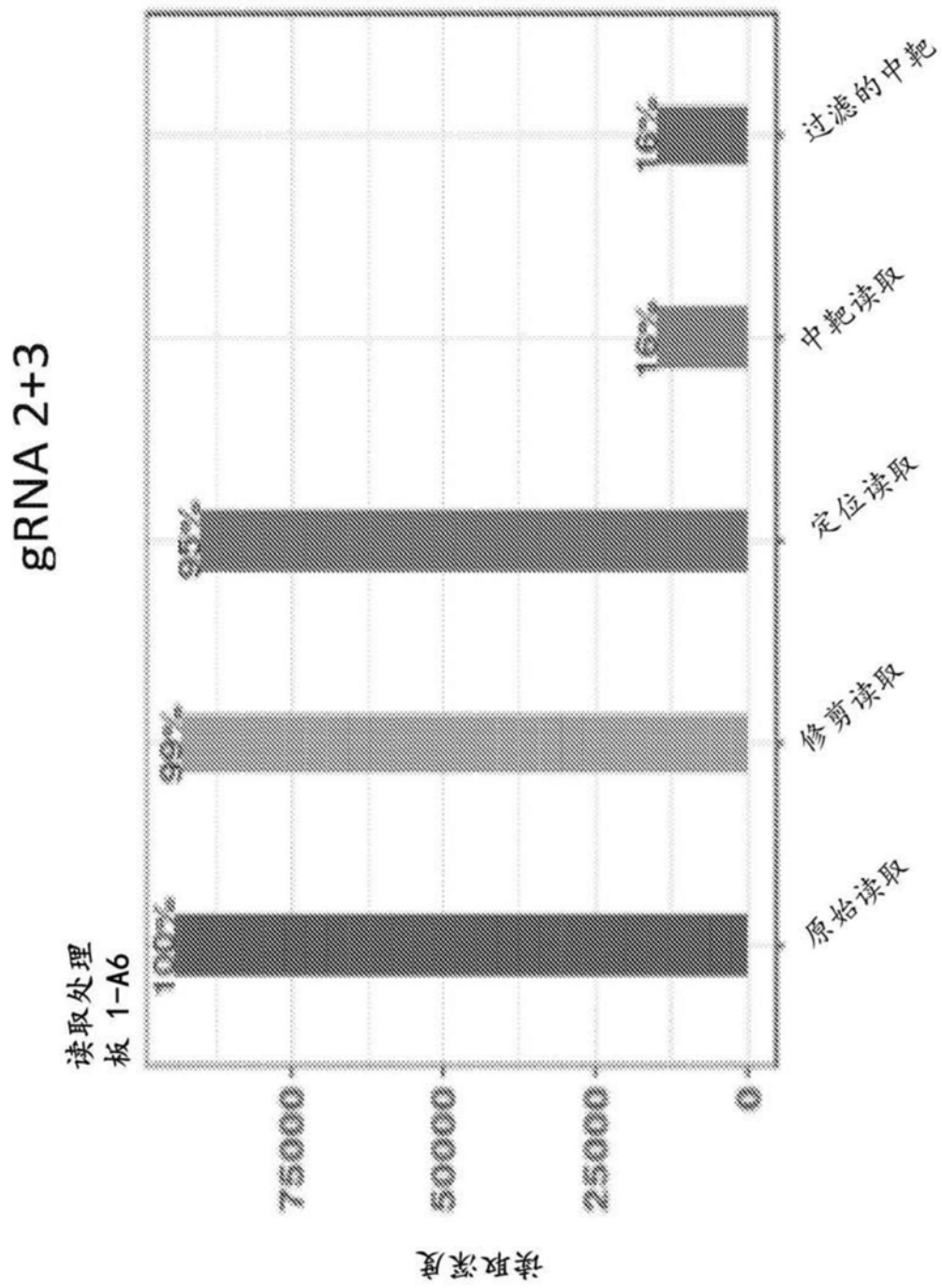


图10G

190516 Dnr877 REH (gRNA1+2) 电穿孔第21天

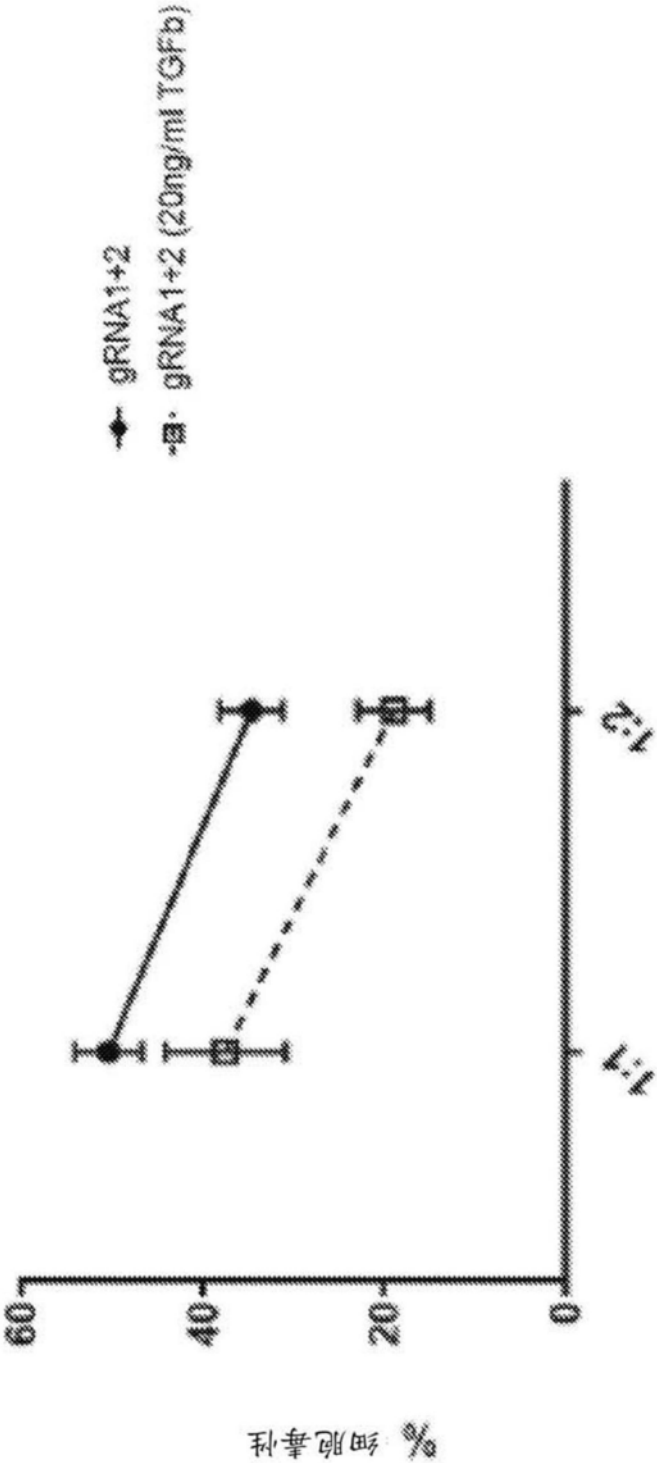


图11A

190516 Dnr877 REH TGFb (gRNA1+3) 电穿孔第21天

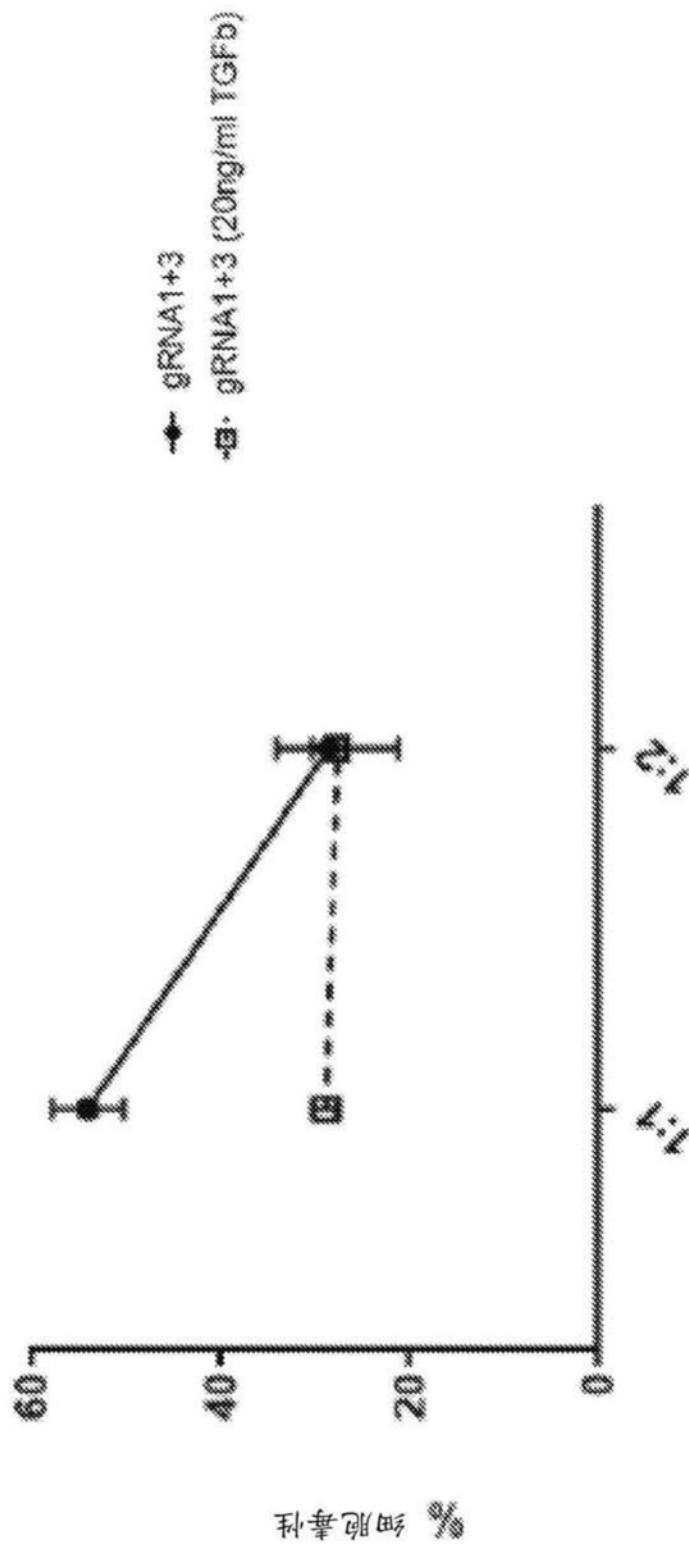


图11B

190516 Dnr877 REH TGFb (gRNA2+3) 电穿孔第21天

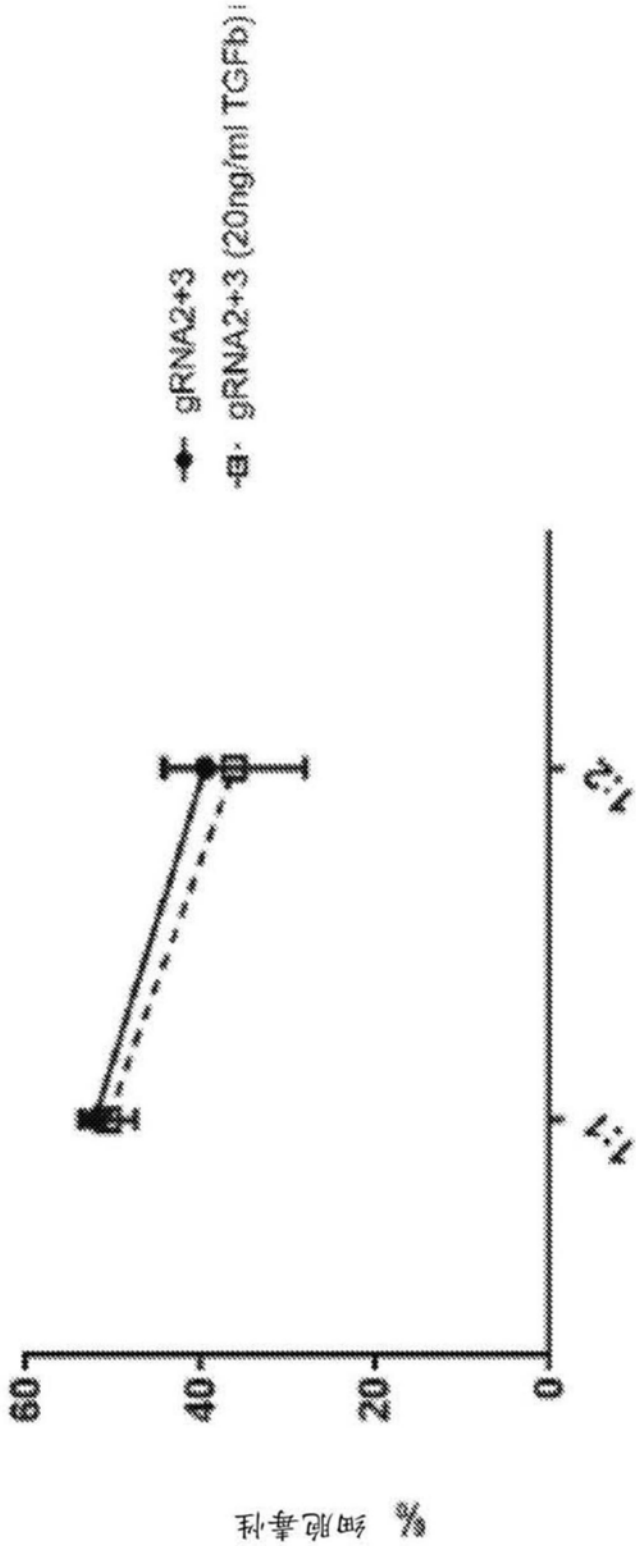


图11C

190516 Dnr877 REH 模拟电穿孔第21天

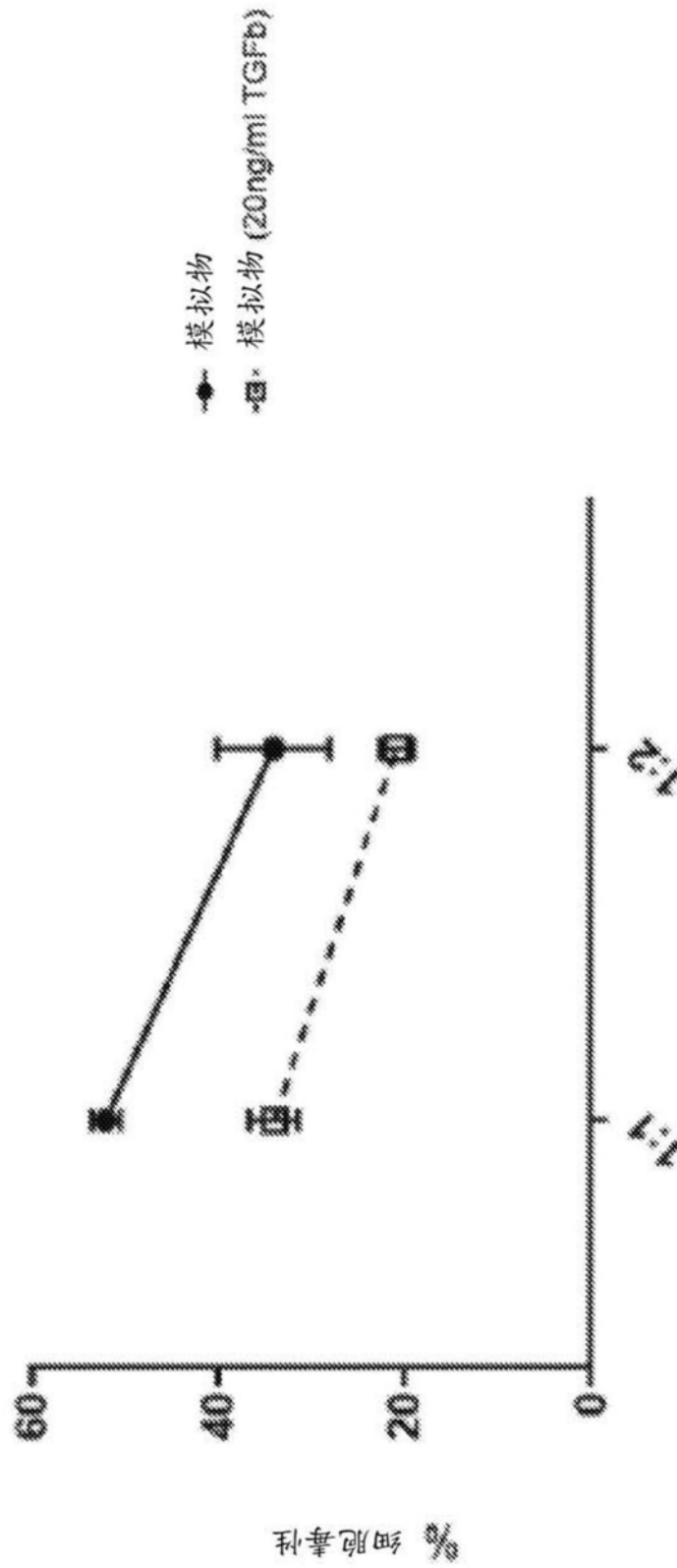


图11D

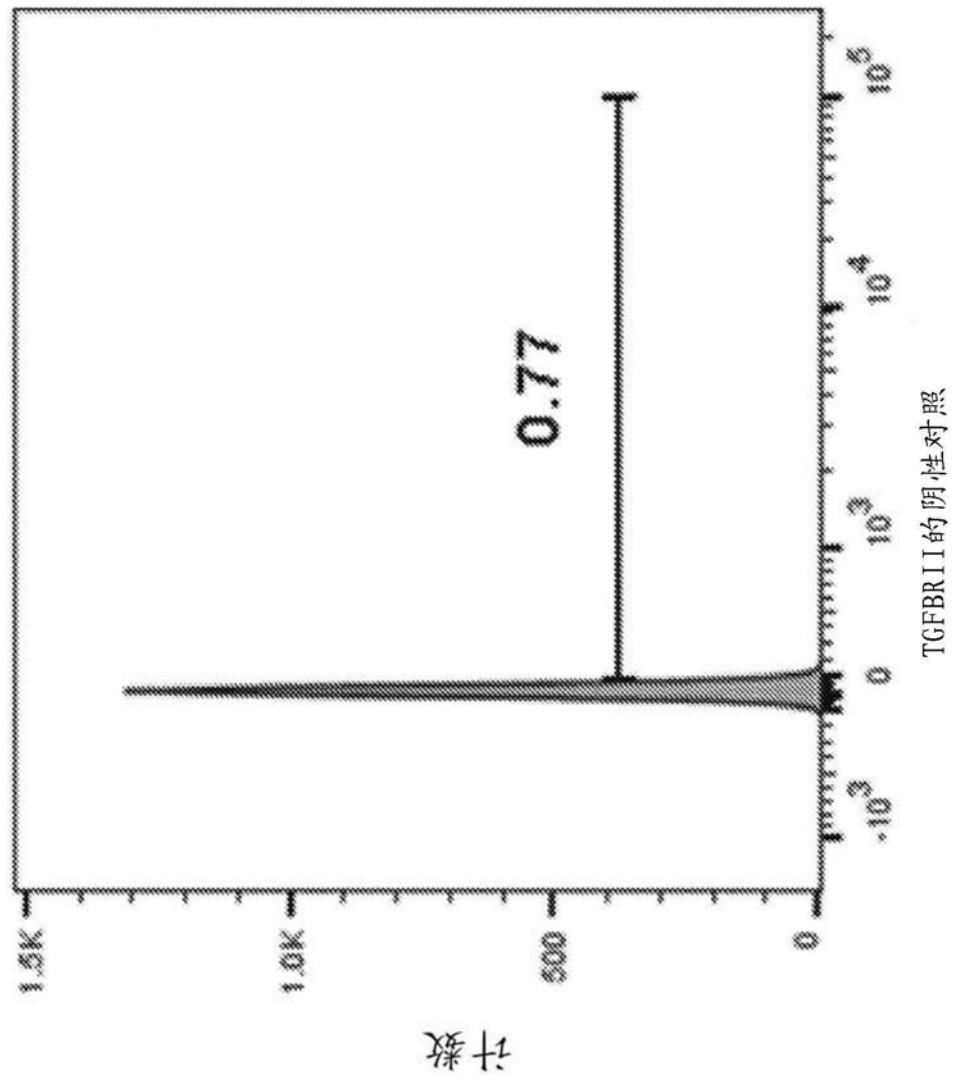


图12A

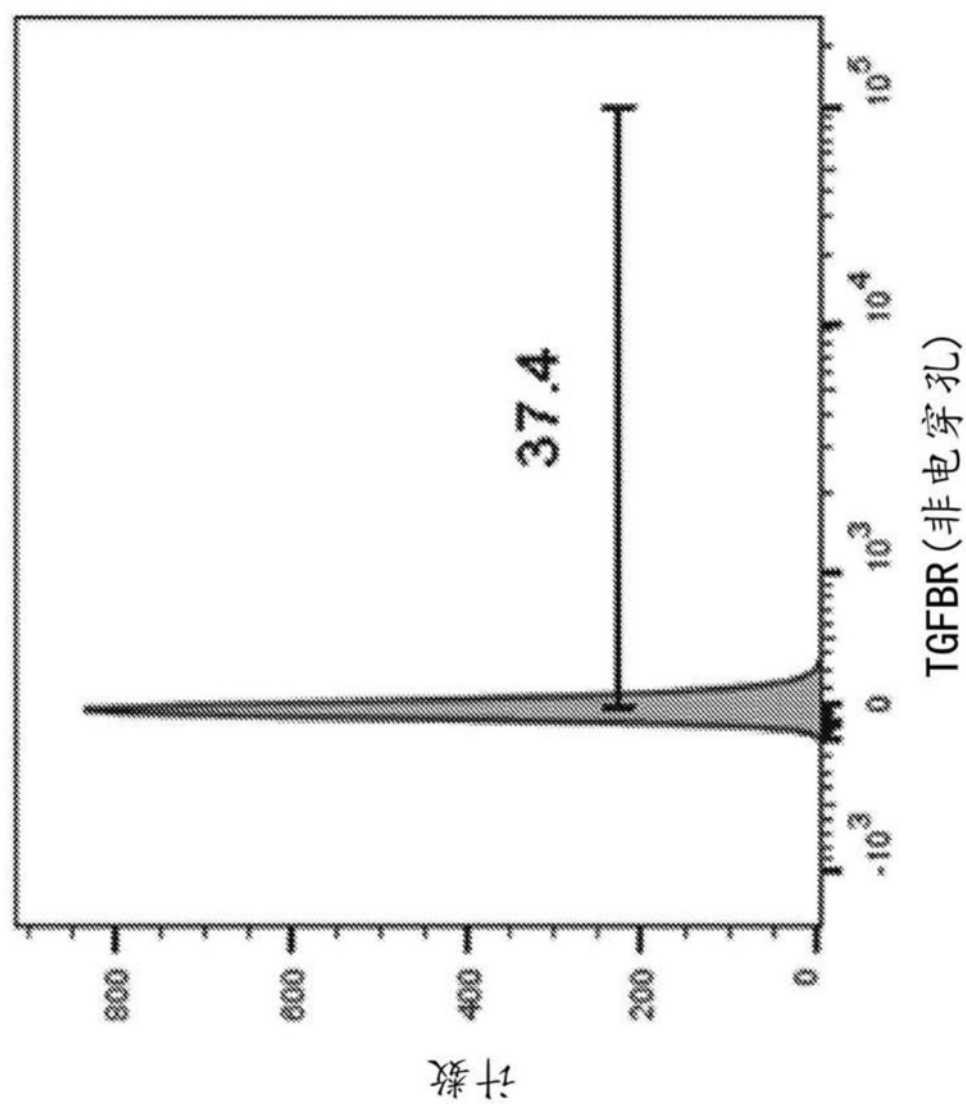


图12B

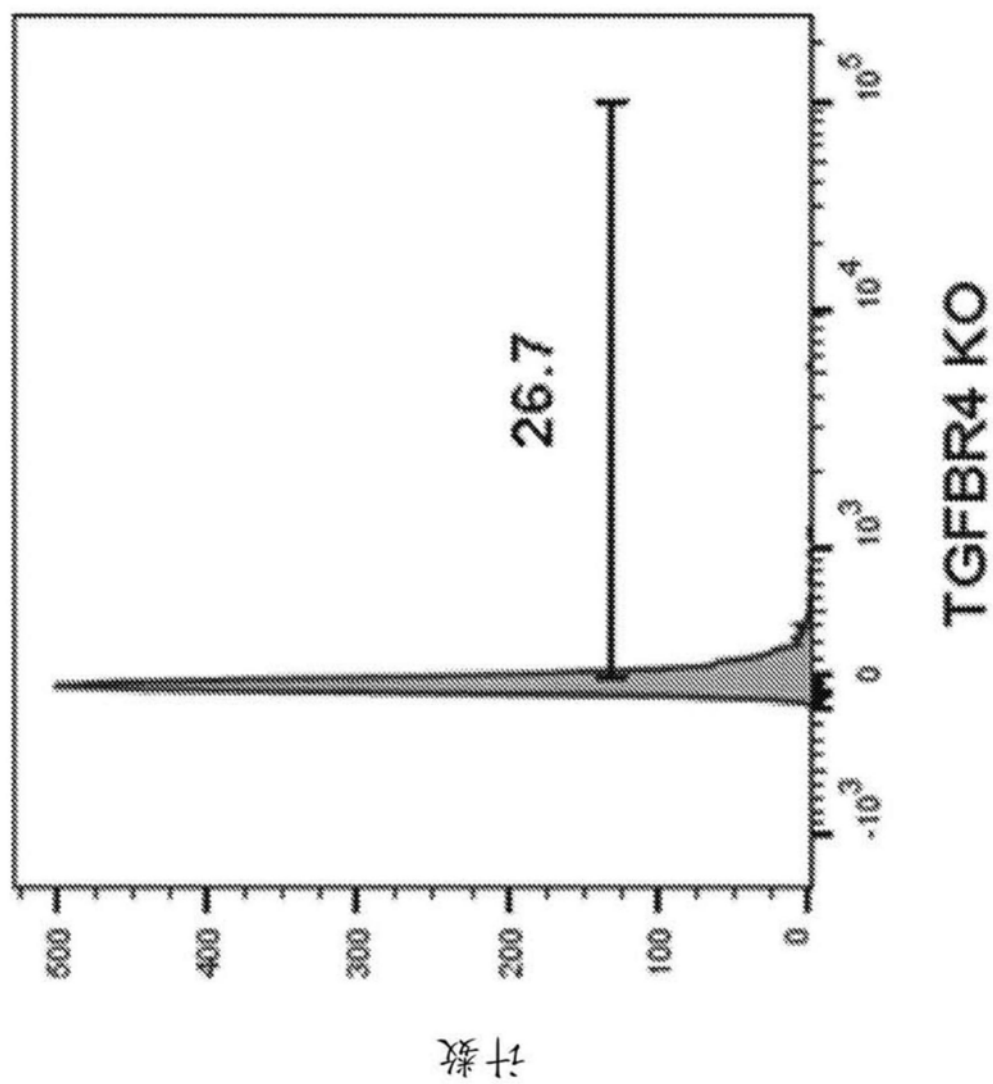


图12C

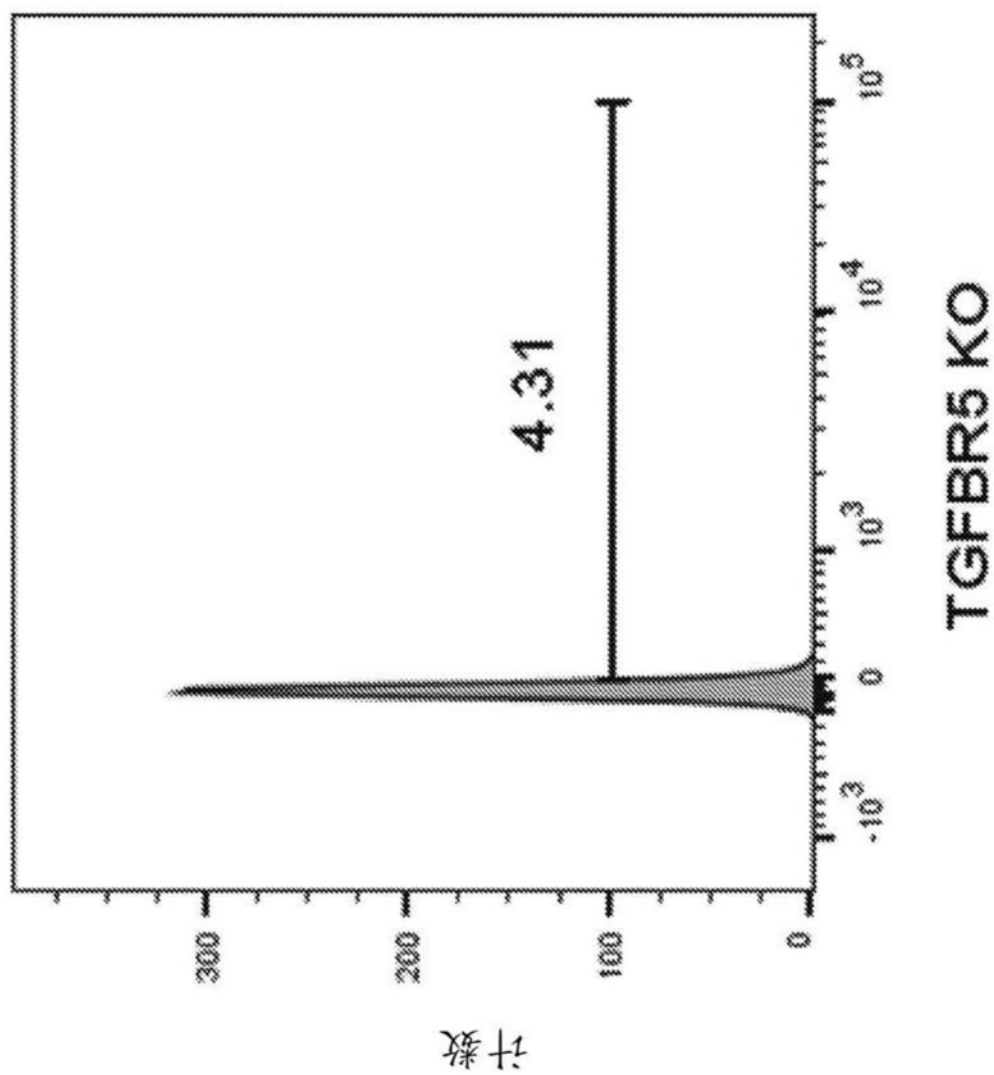


图12D

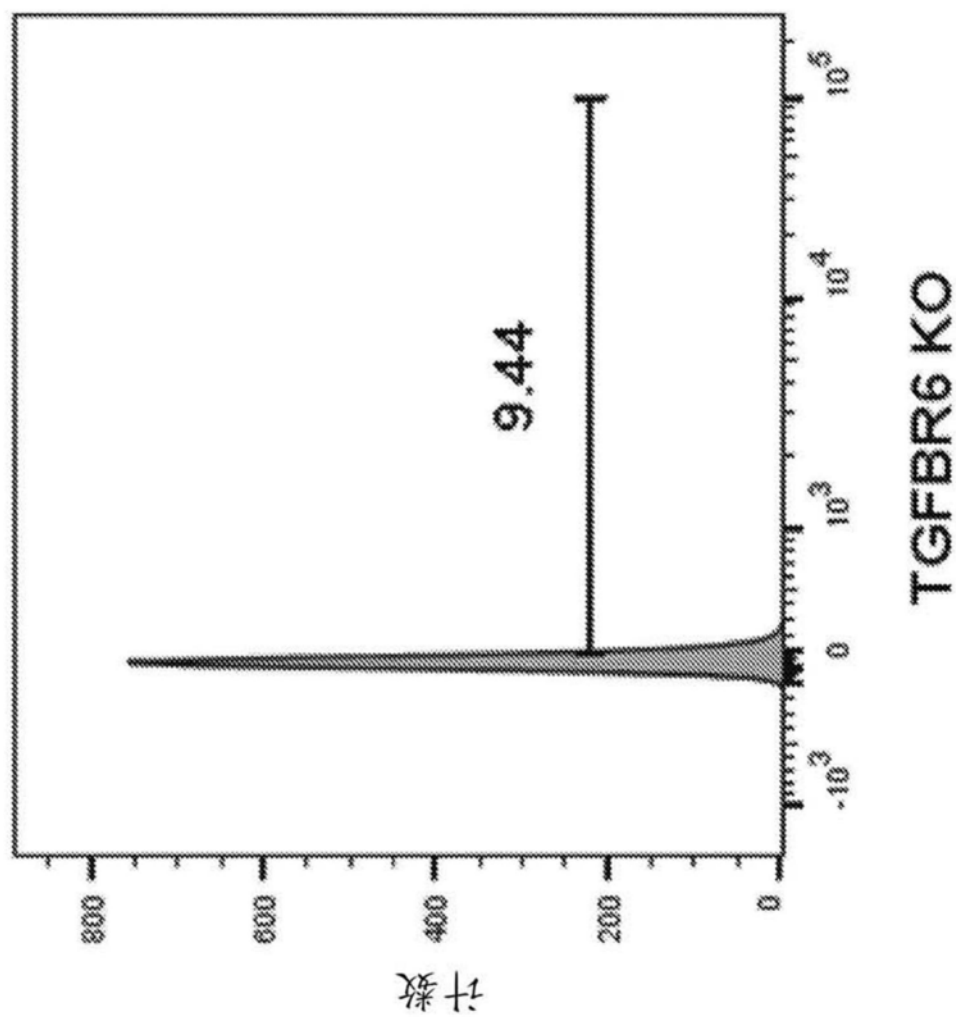


图12E

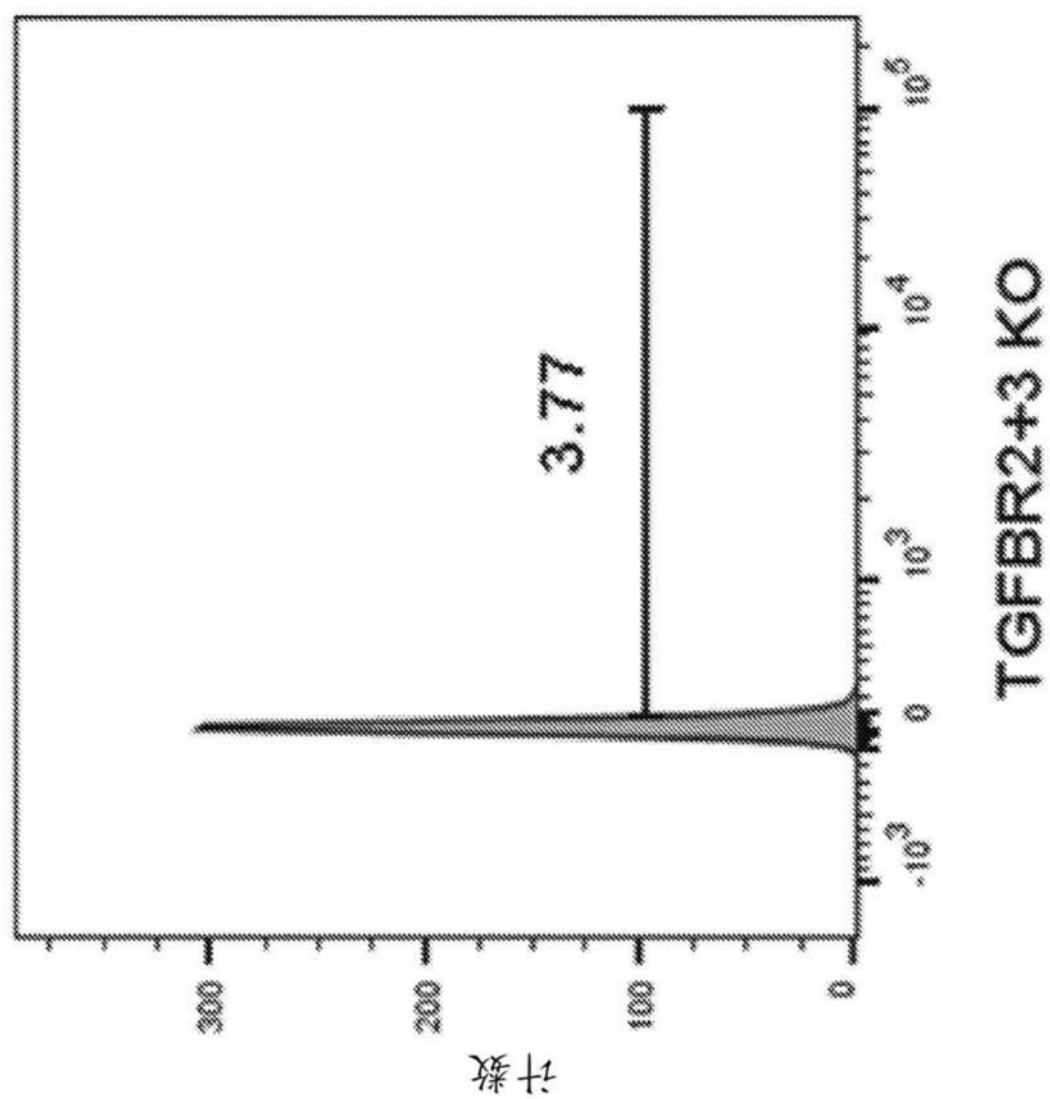


图12F

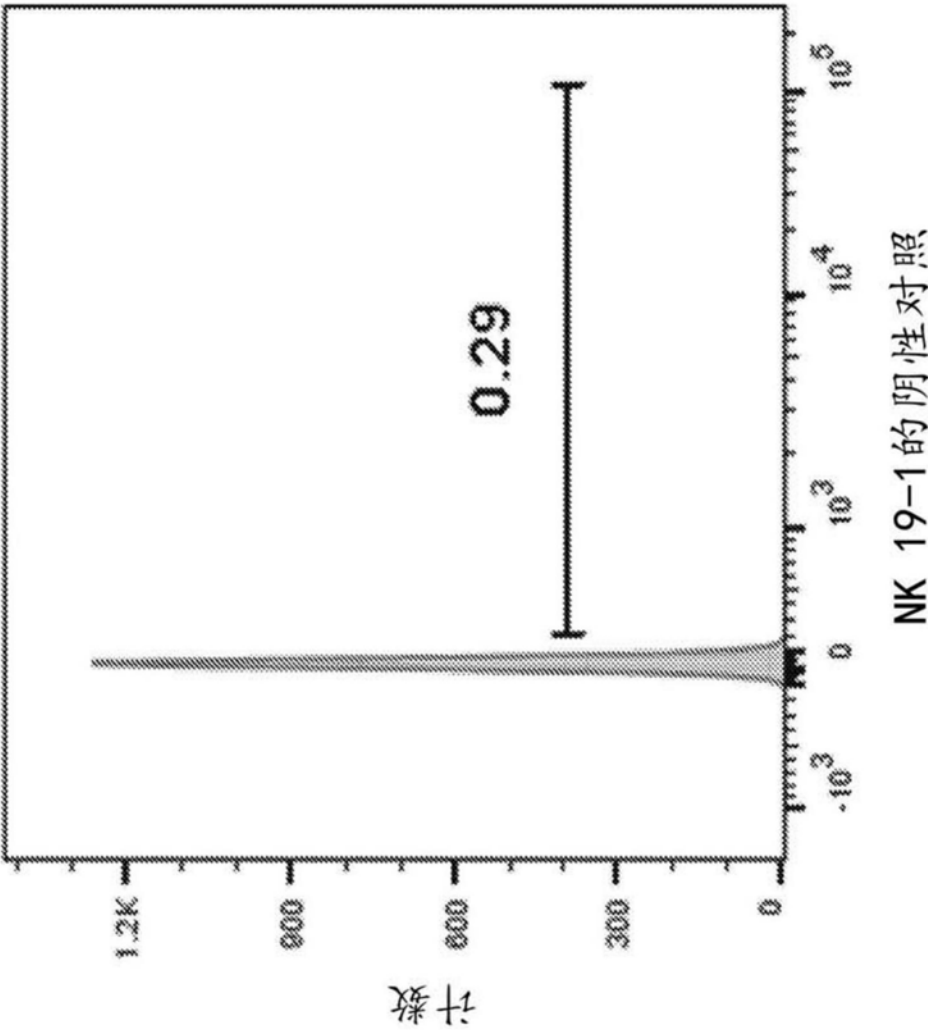


图13A

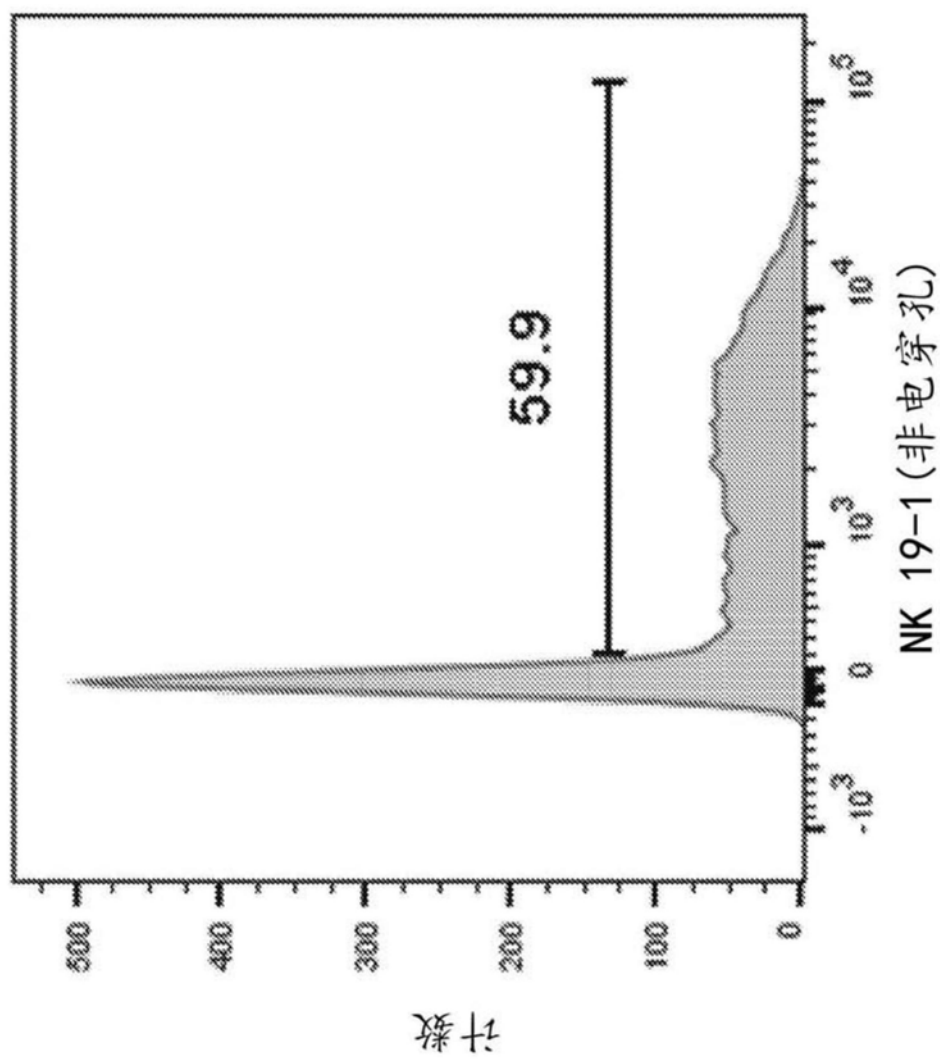


图13B

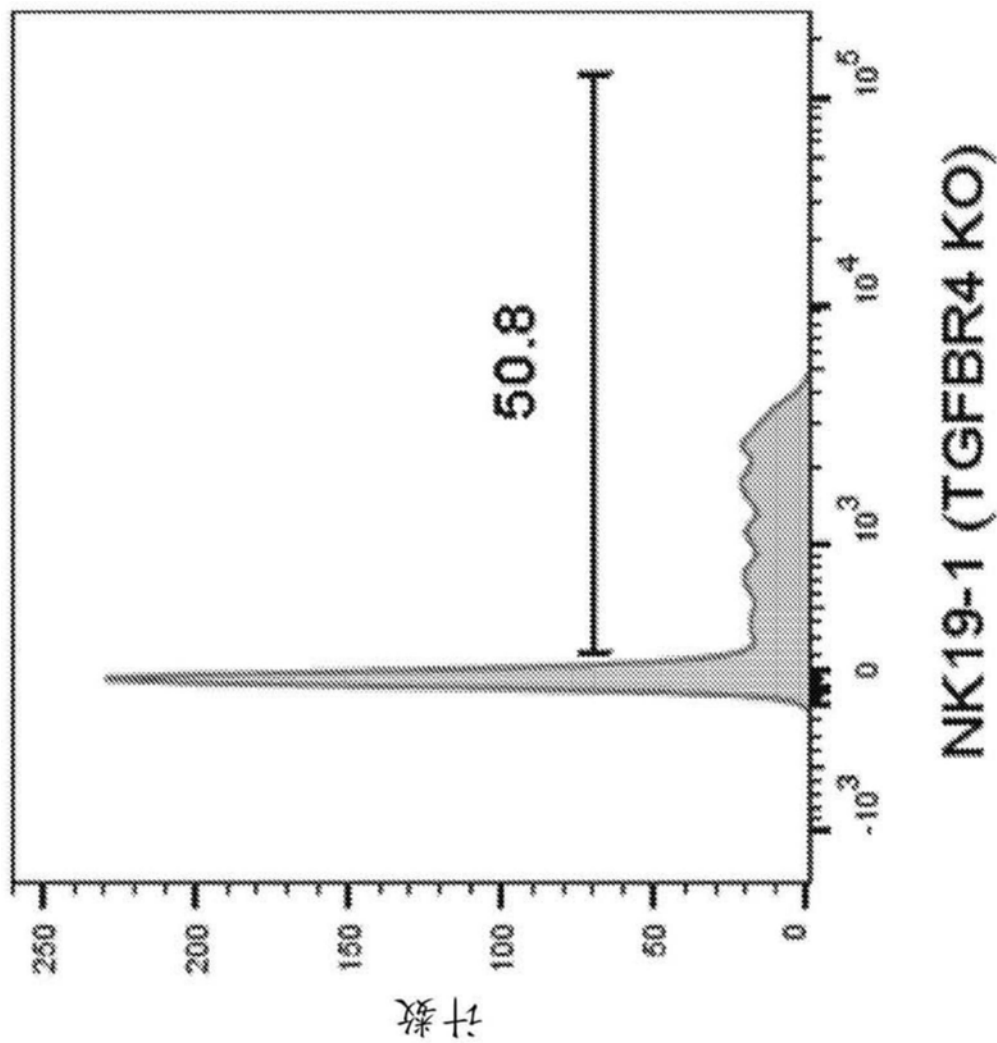


图13C

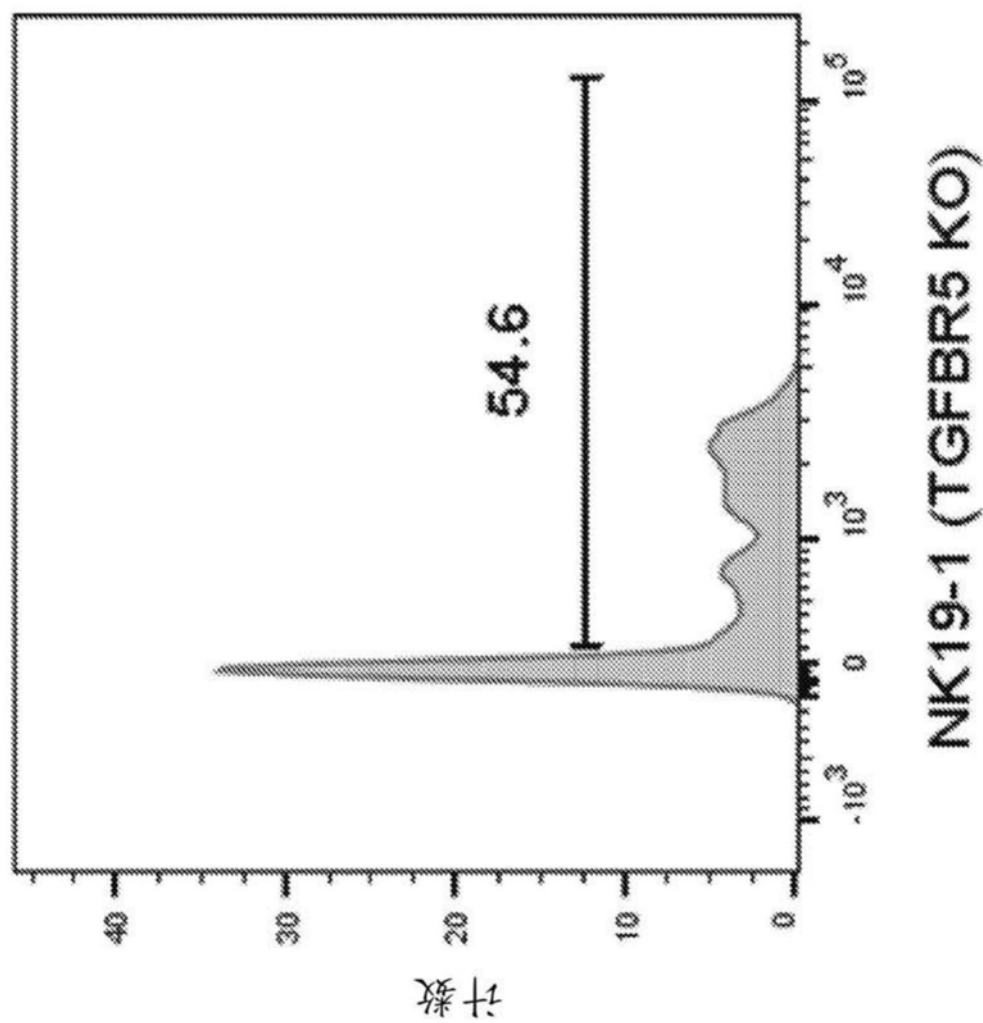


图13D

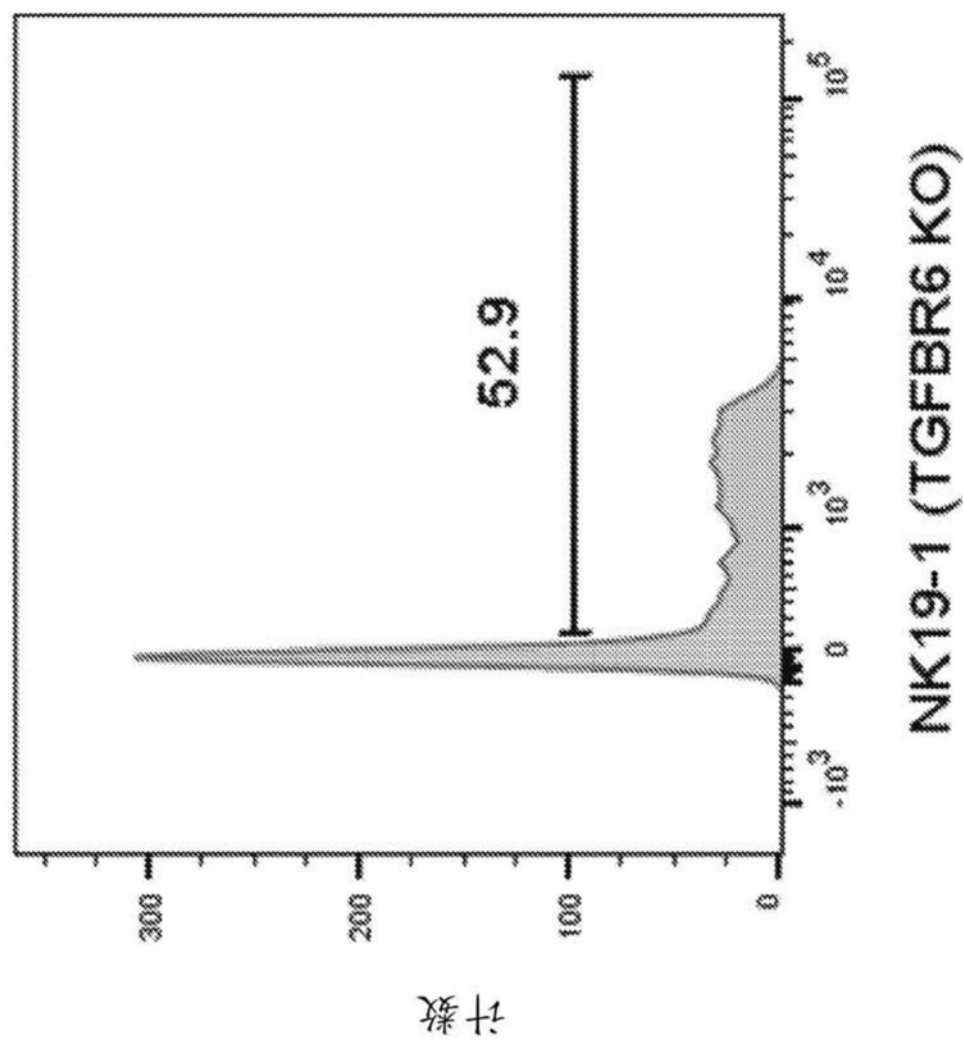


图13E

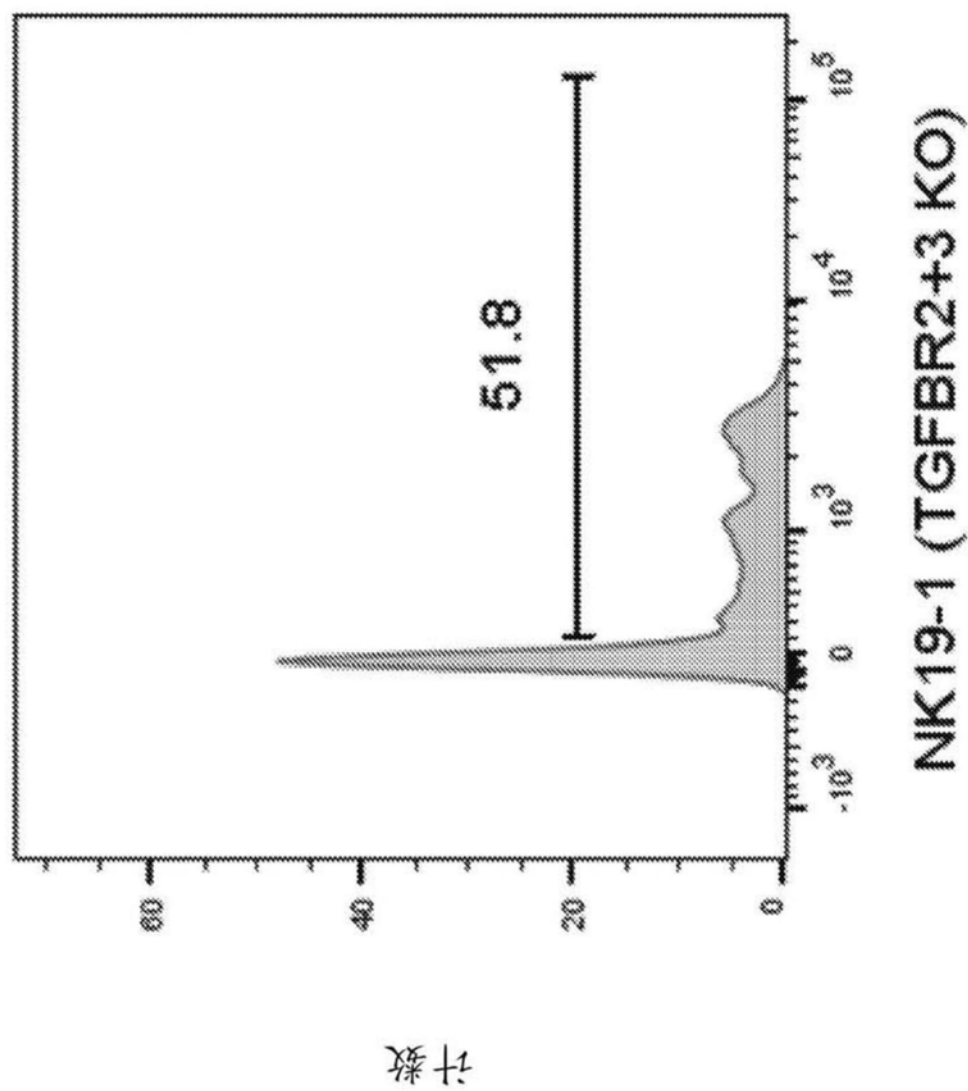


图13F

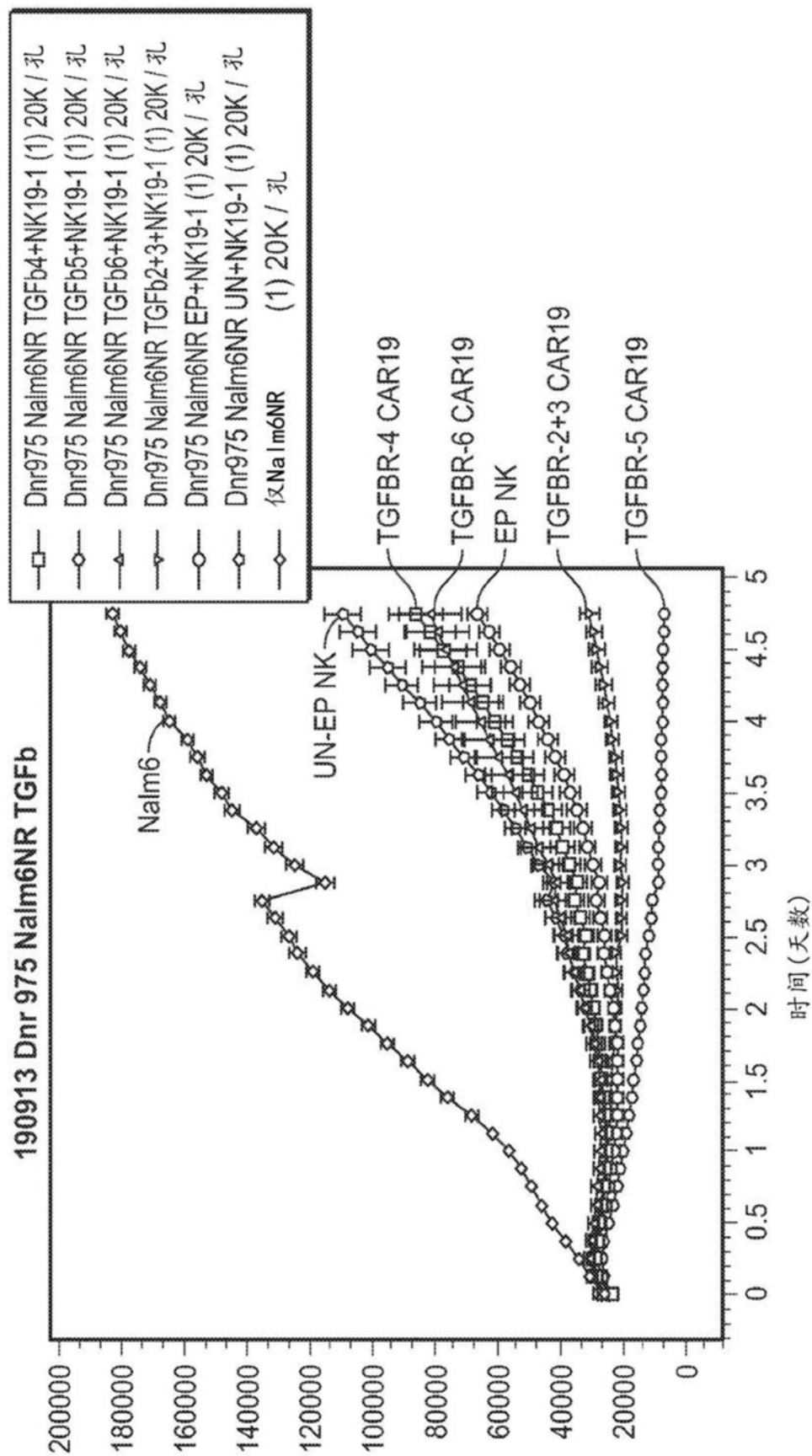


图14A

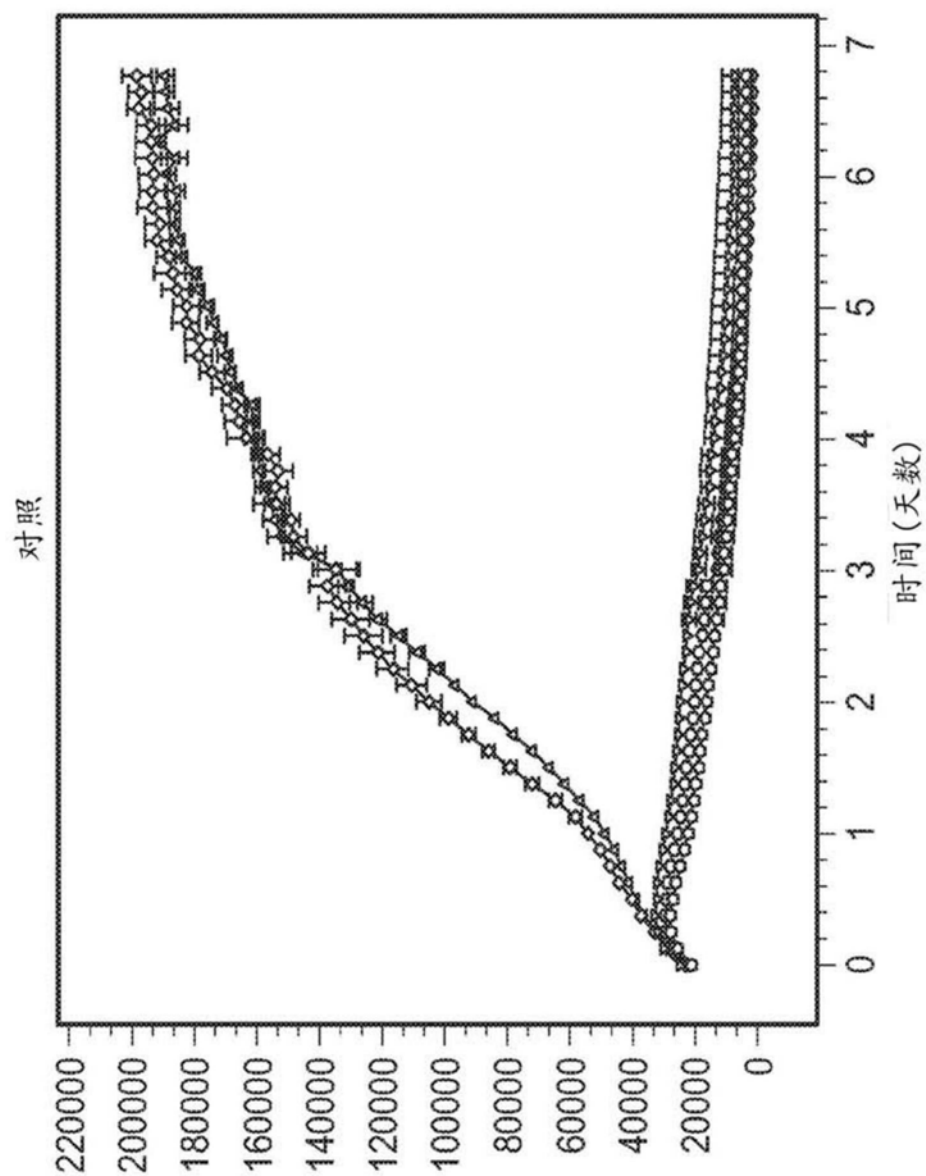


图14B

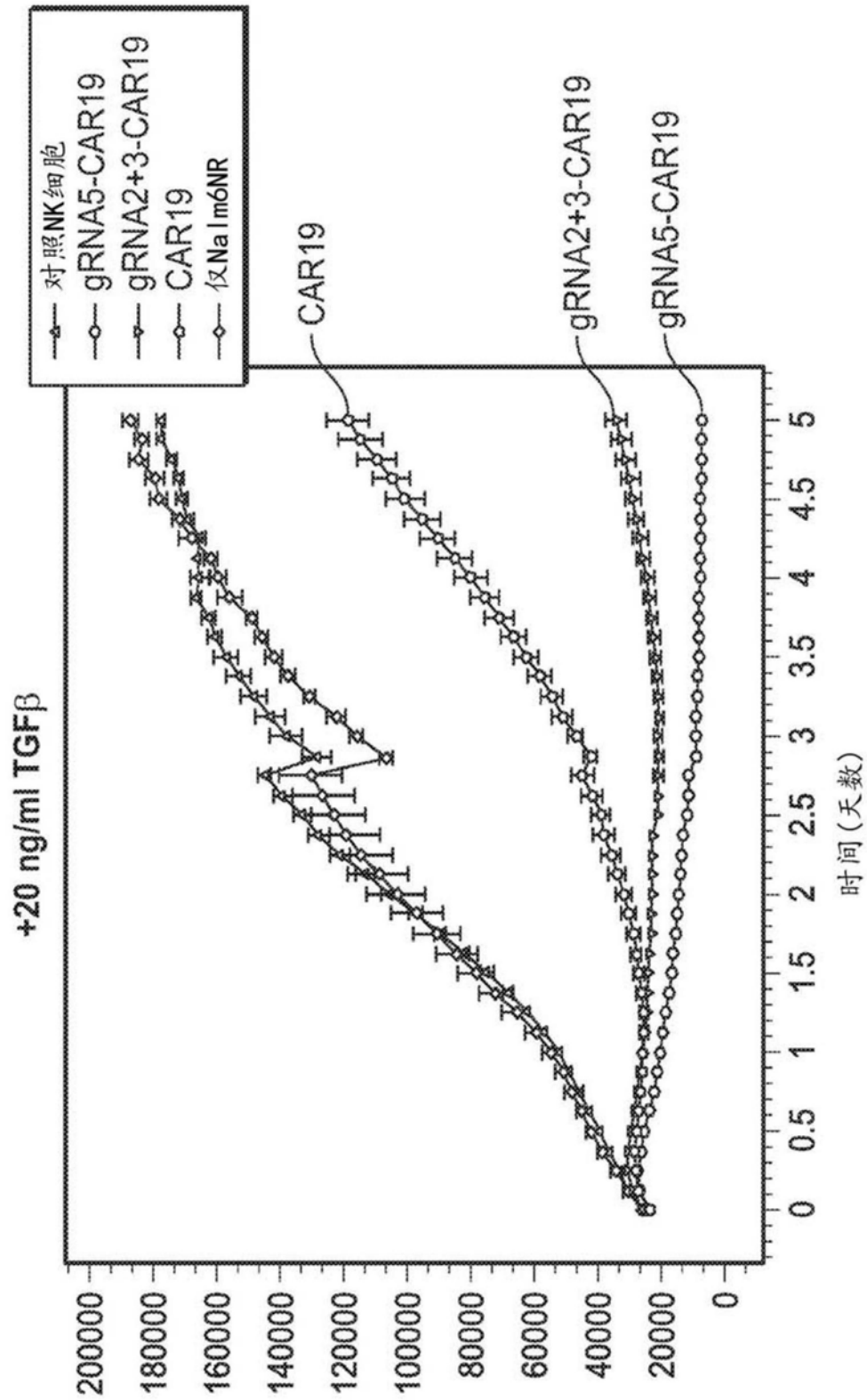


图14C

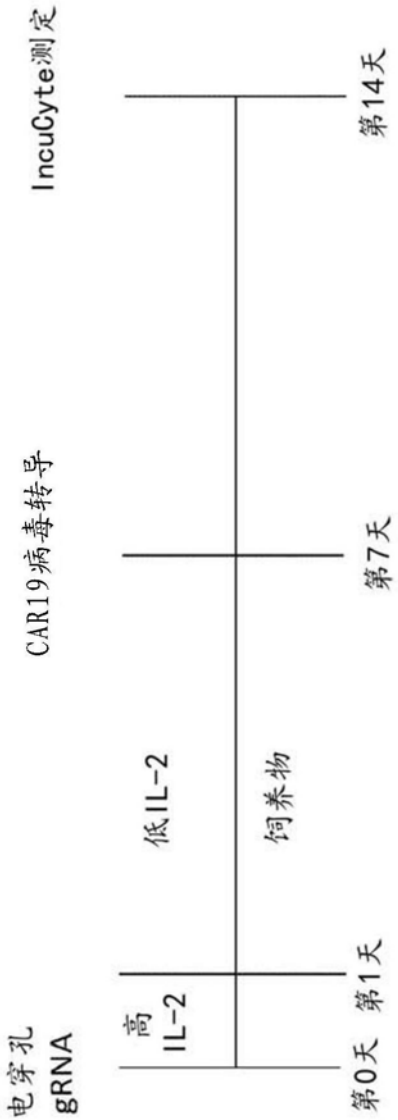


图14D

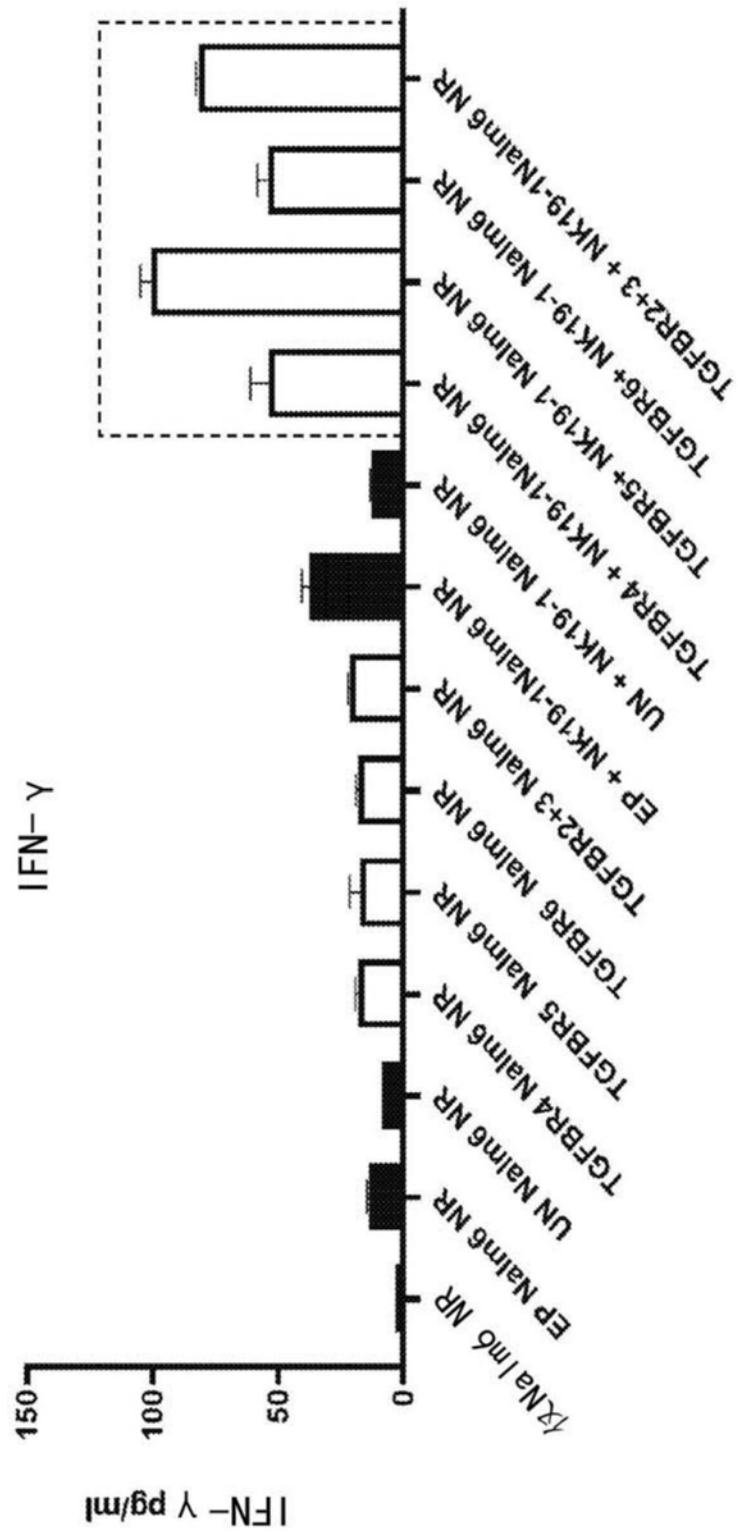


图15A

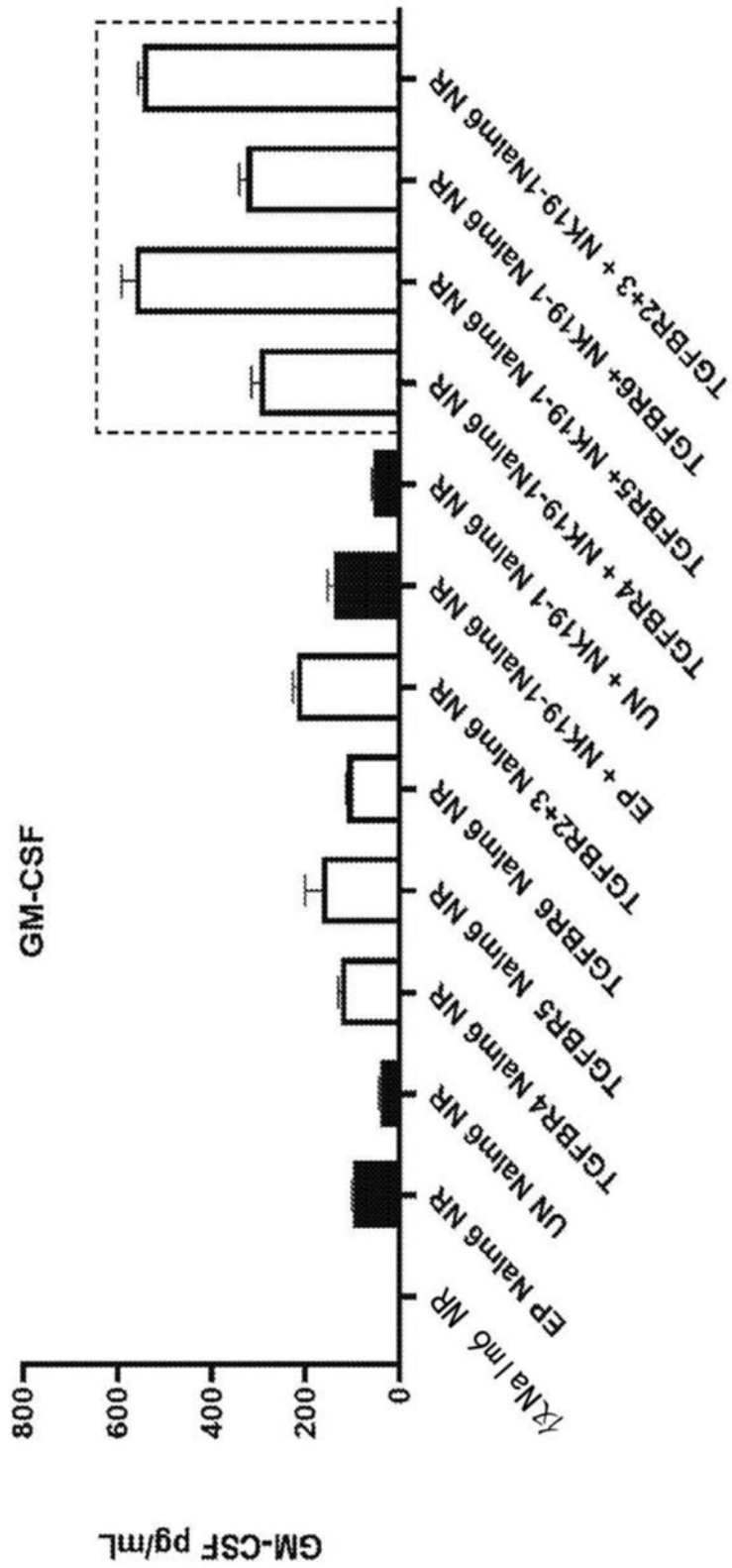


图15B

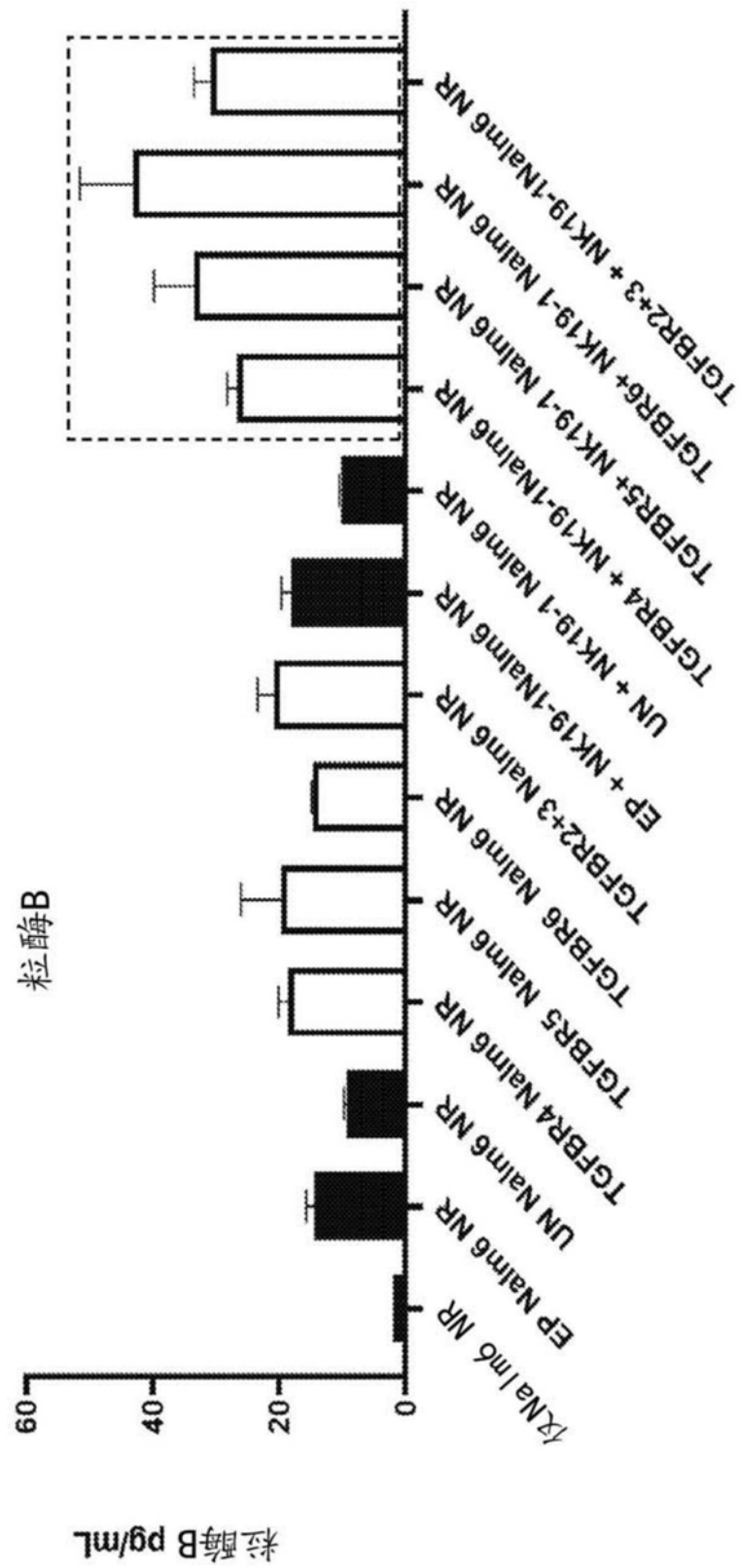


图15C

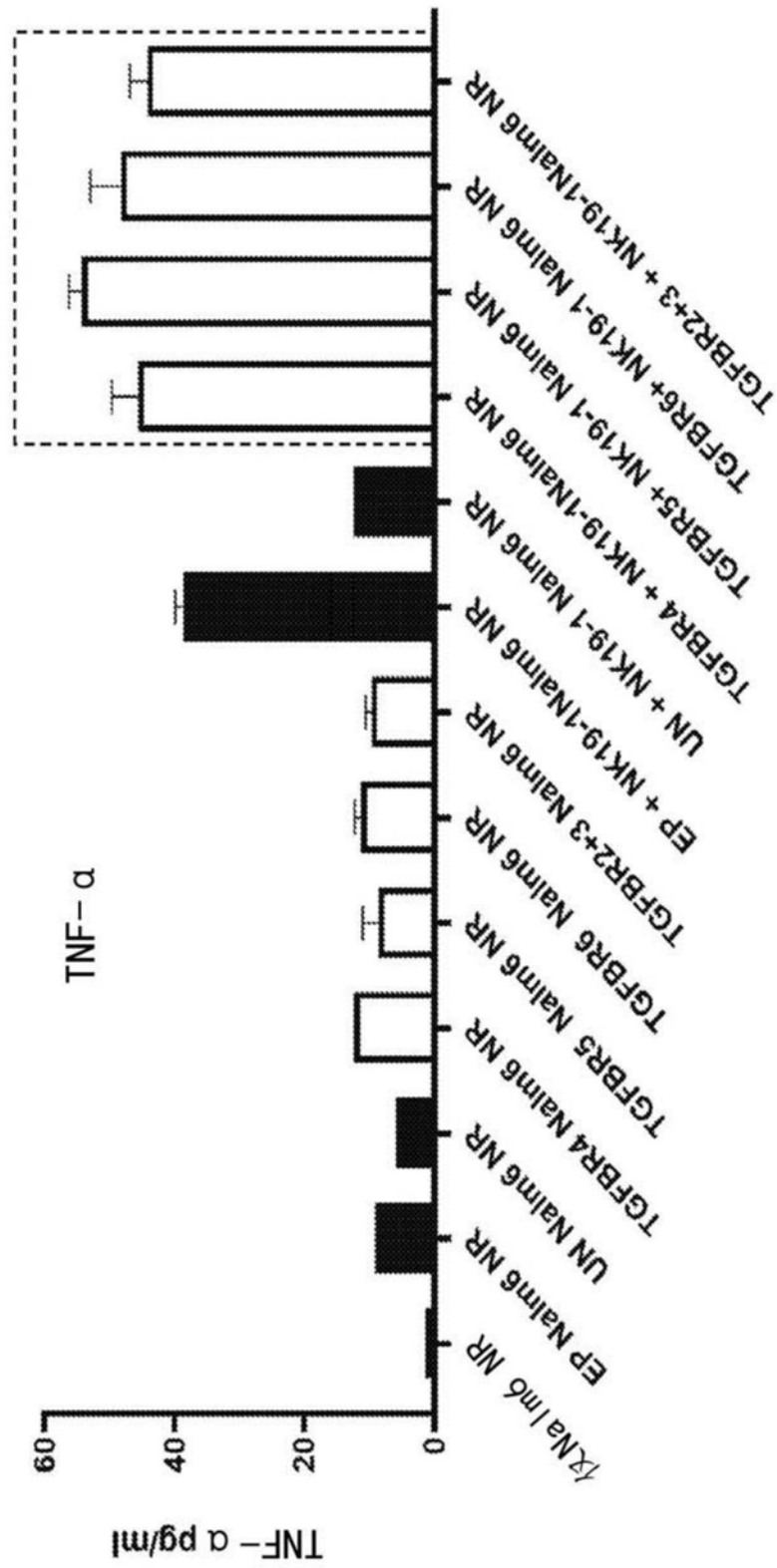


图15D

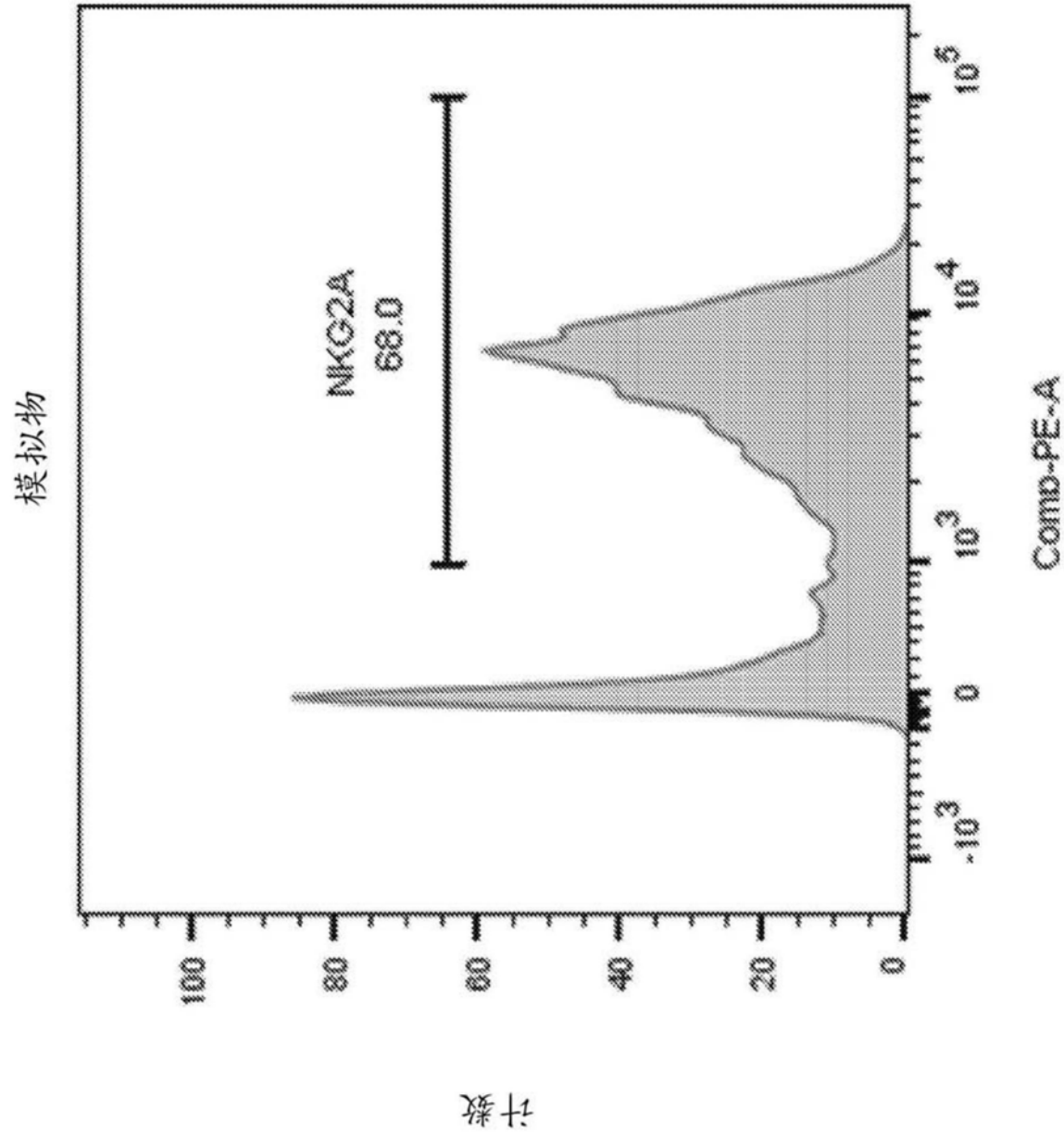


图16A

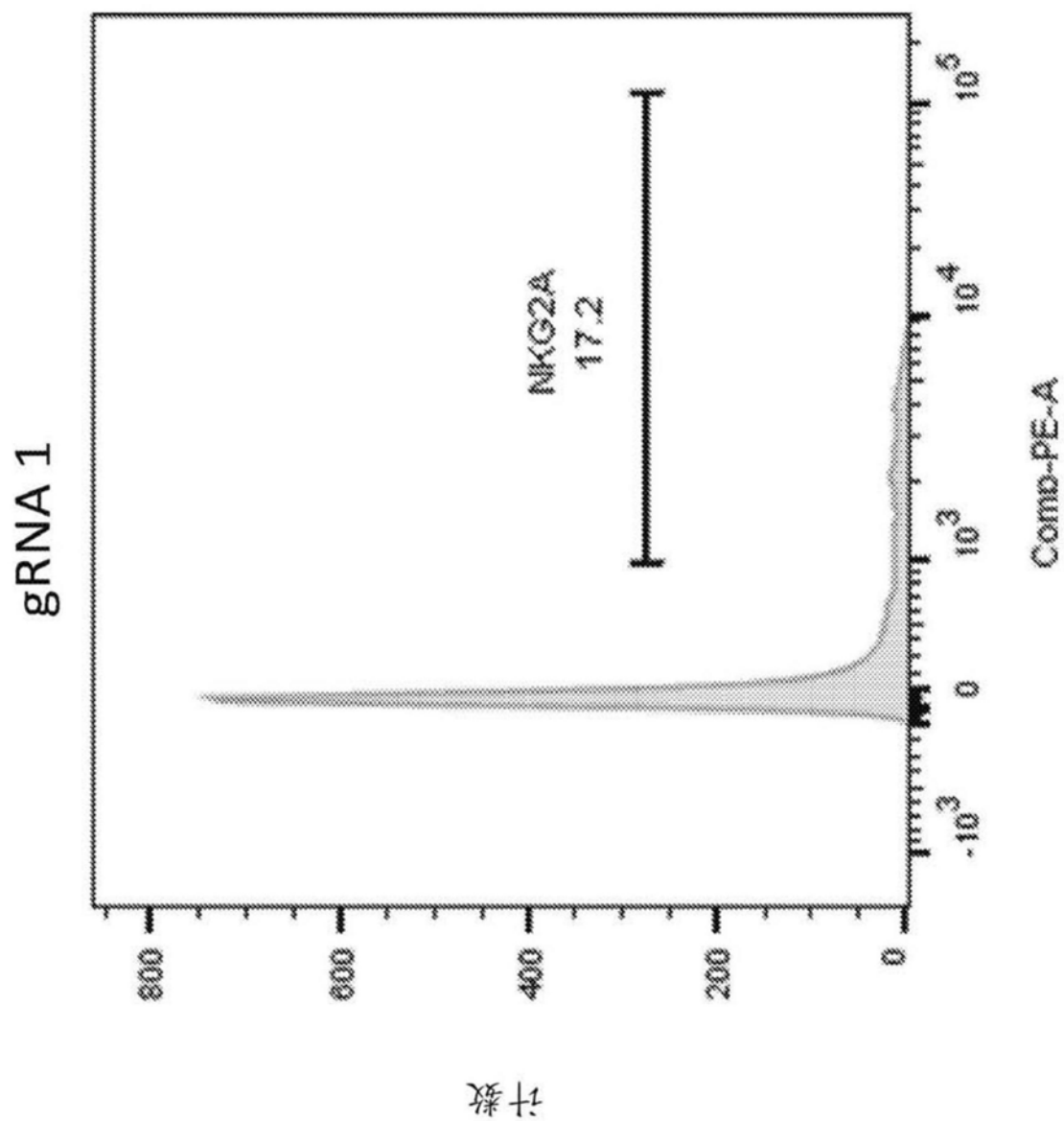


图16B

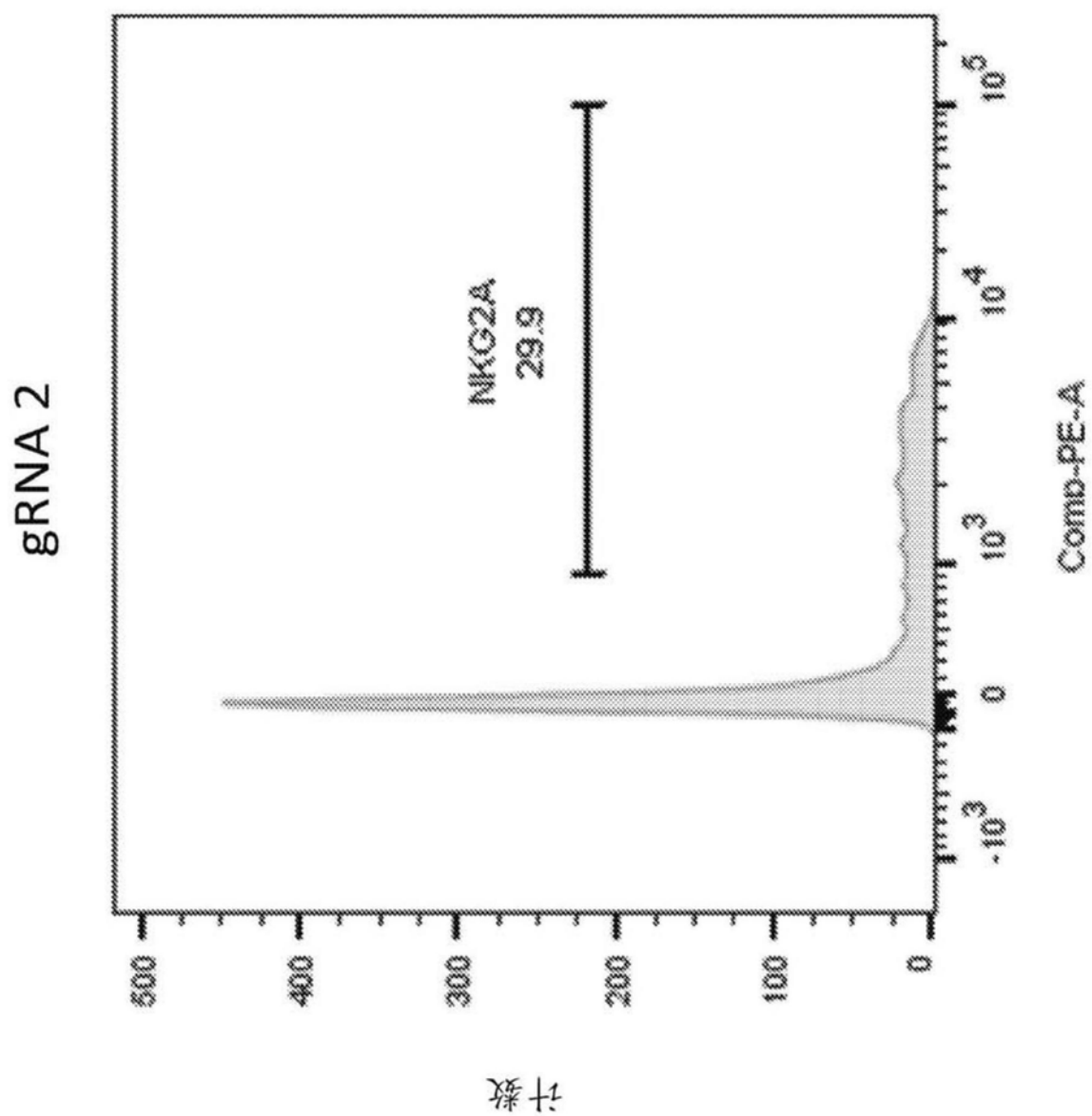


图16C

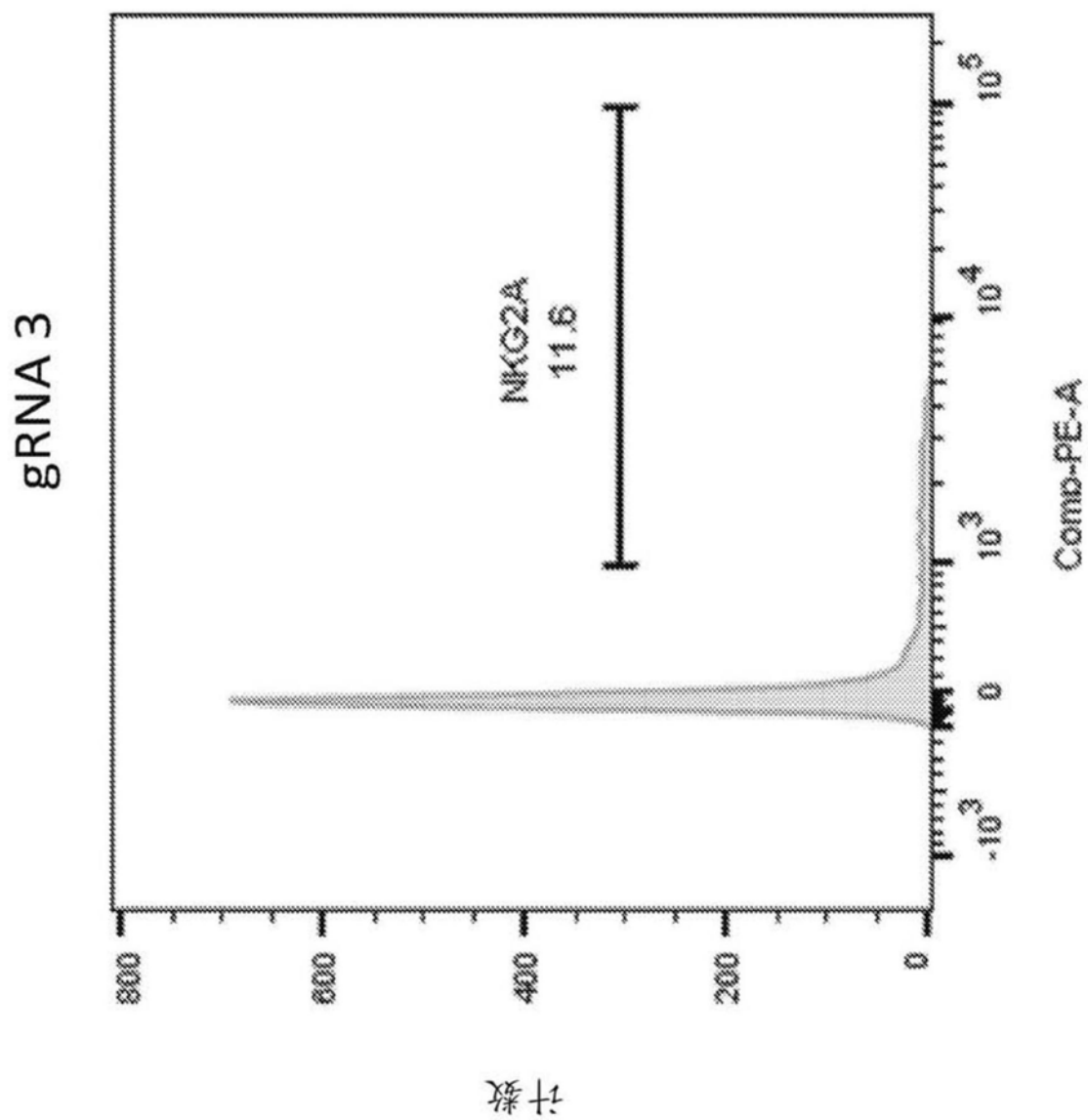


图16D

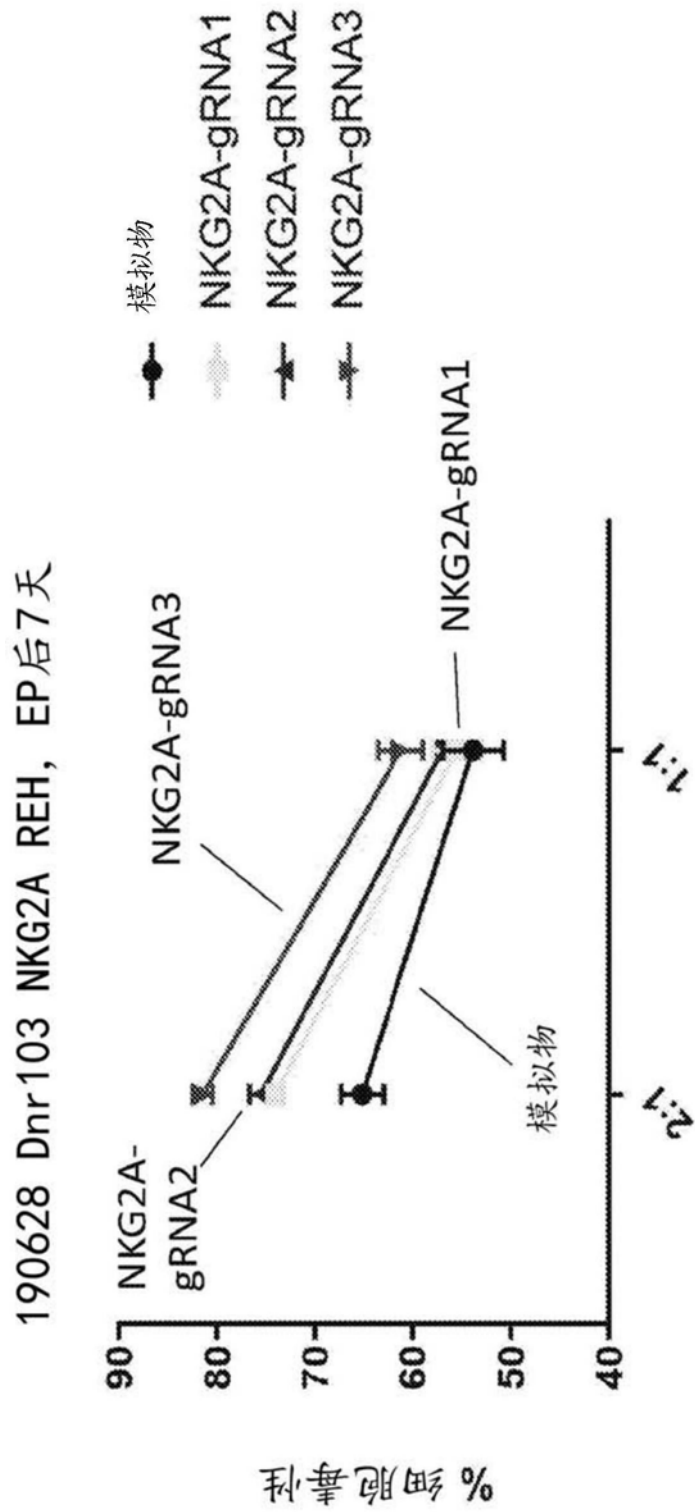


图17A

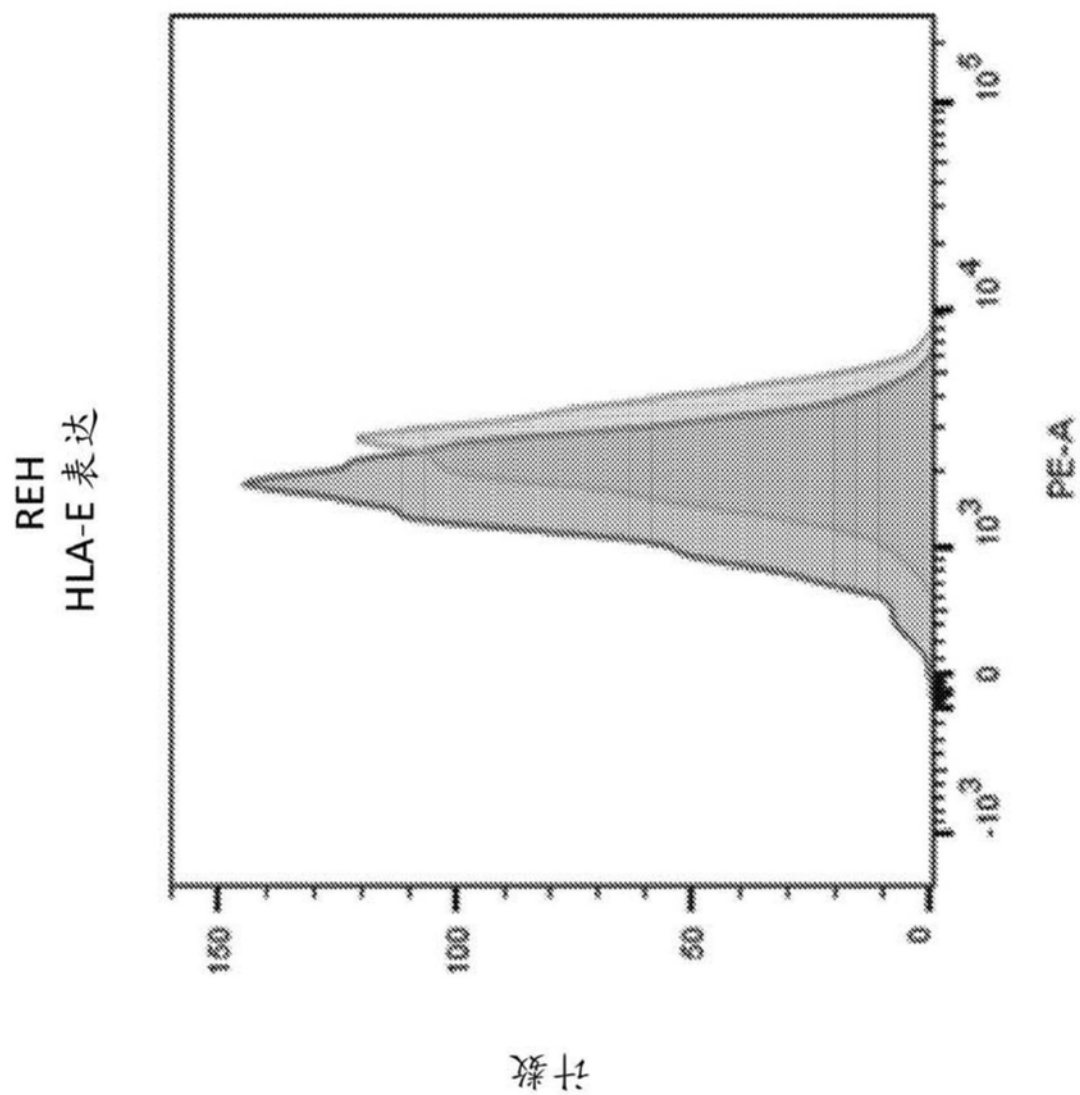


图17B

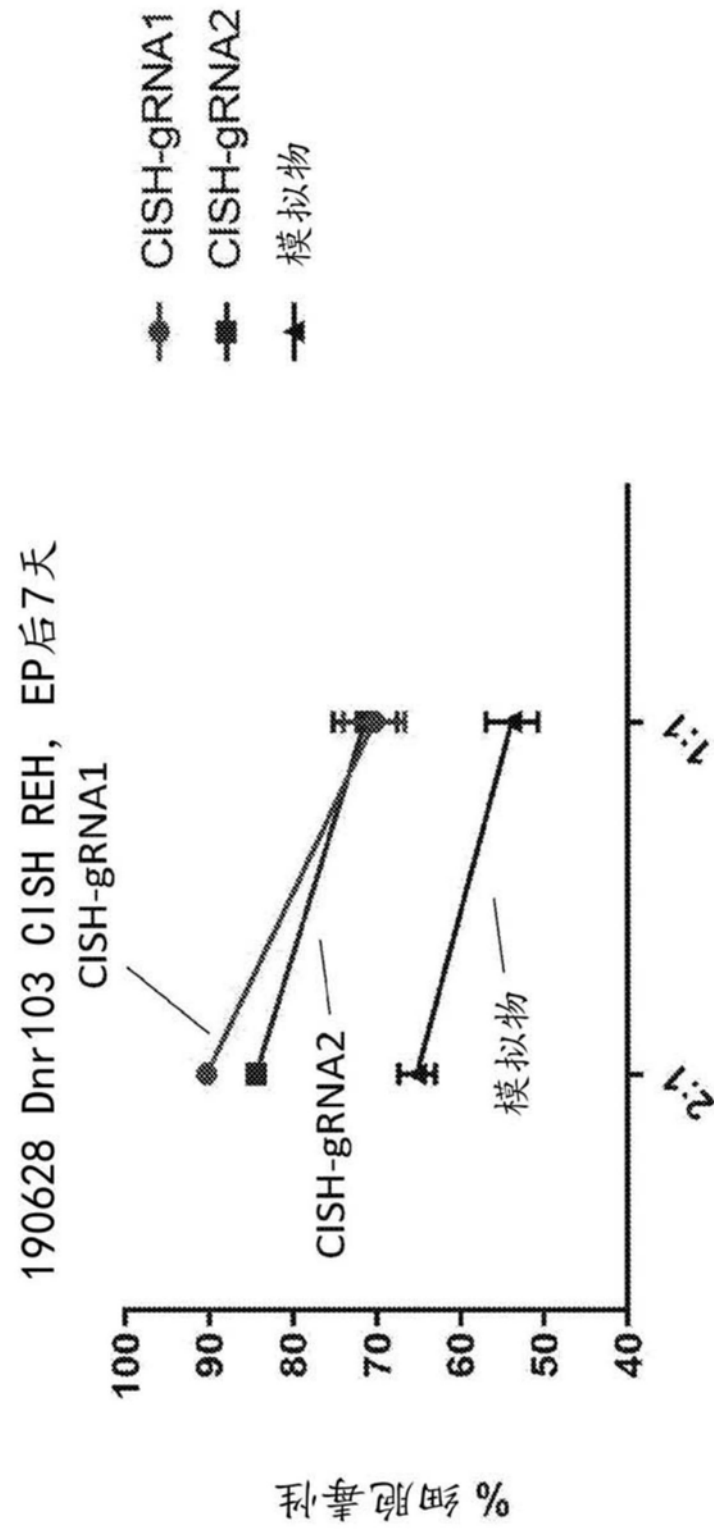


图18

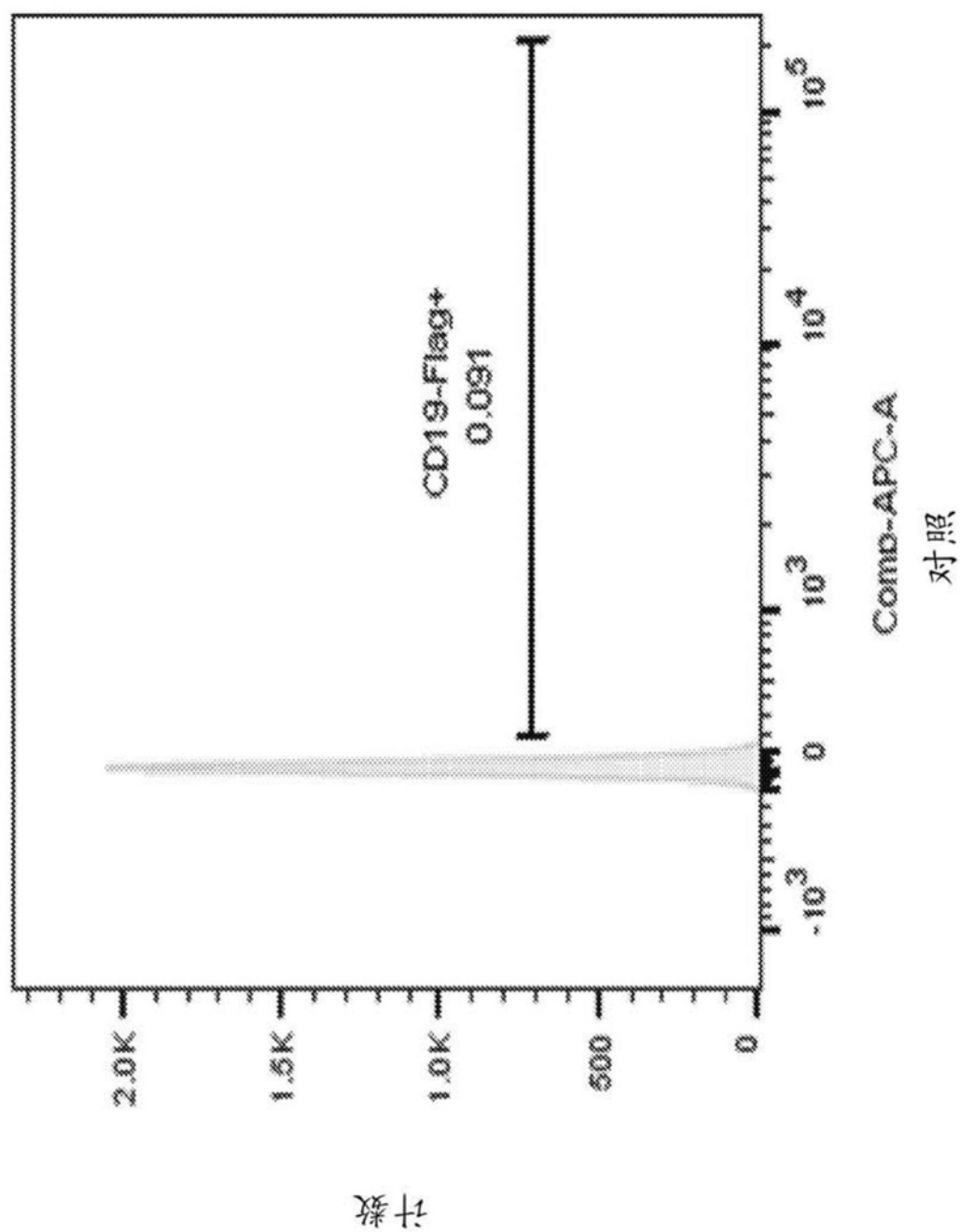


图19A

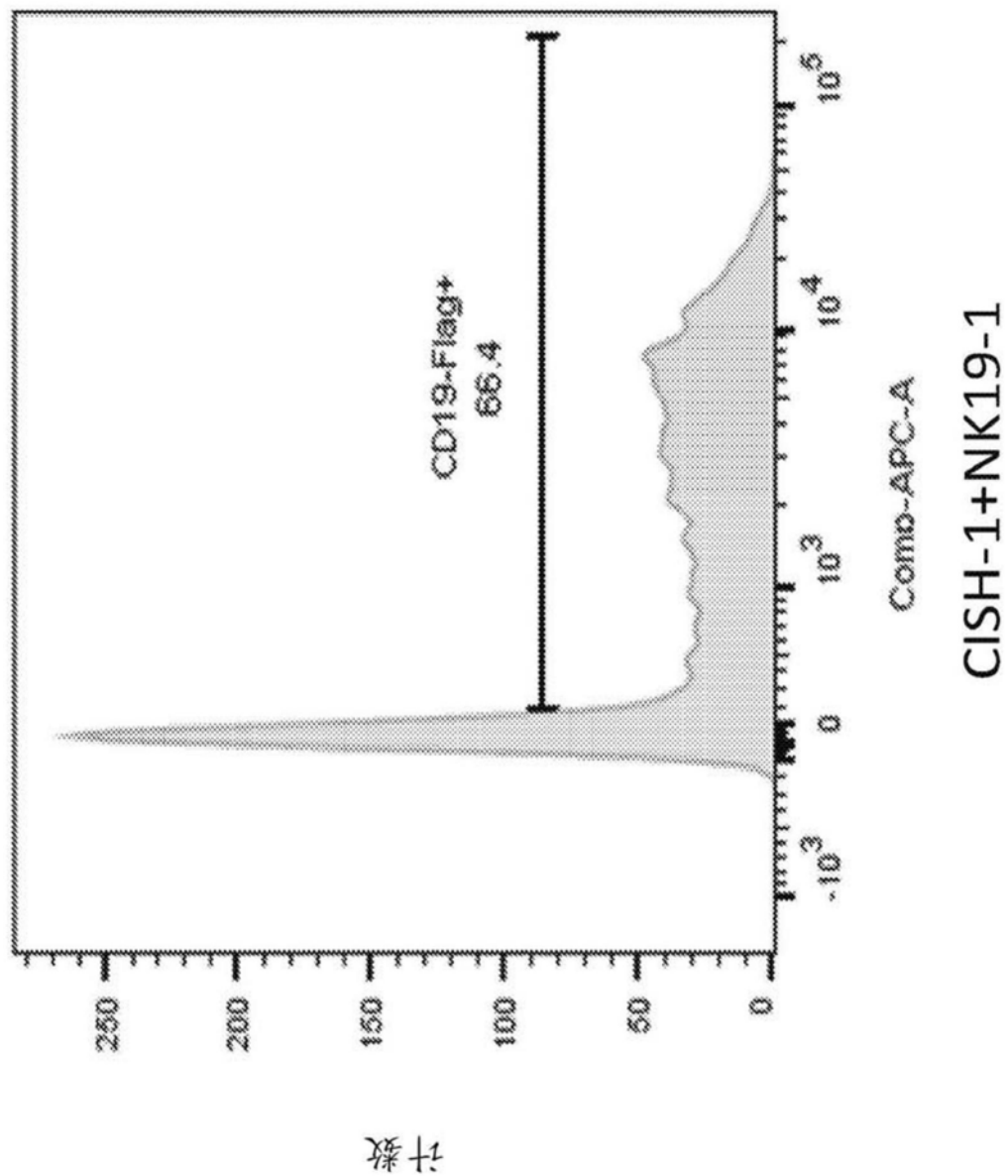


图19B

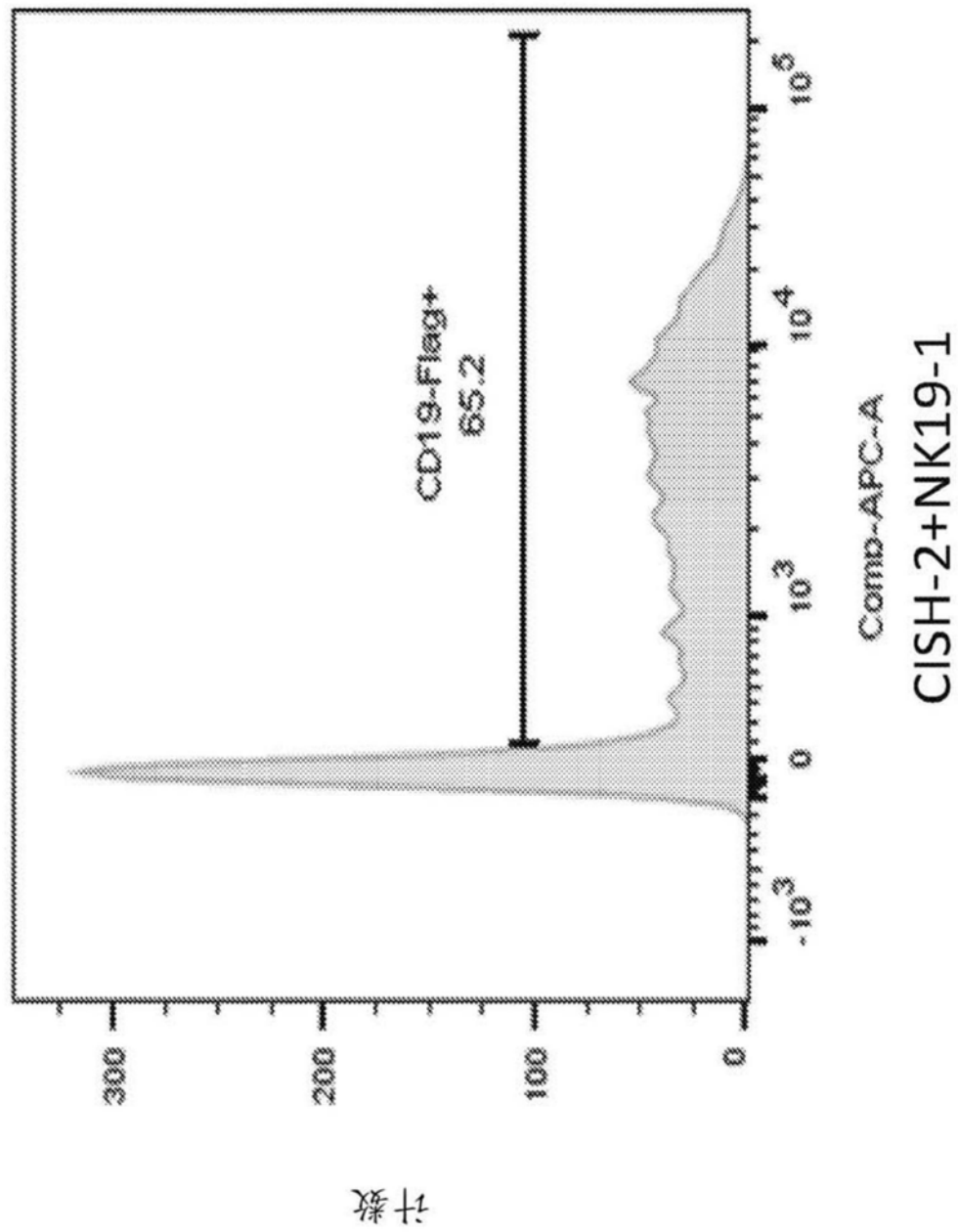


图19C

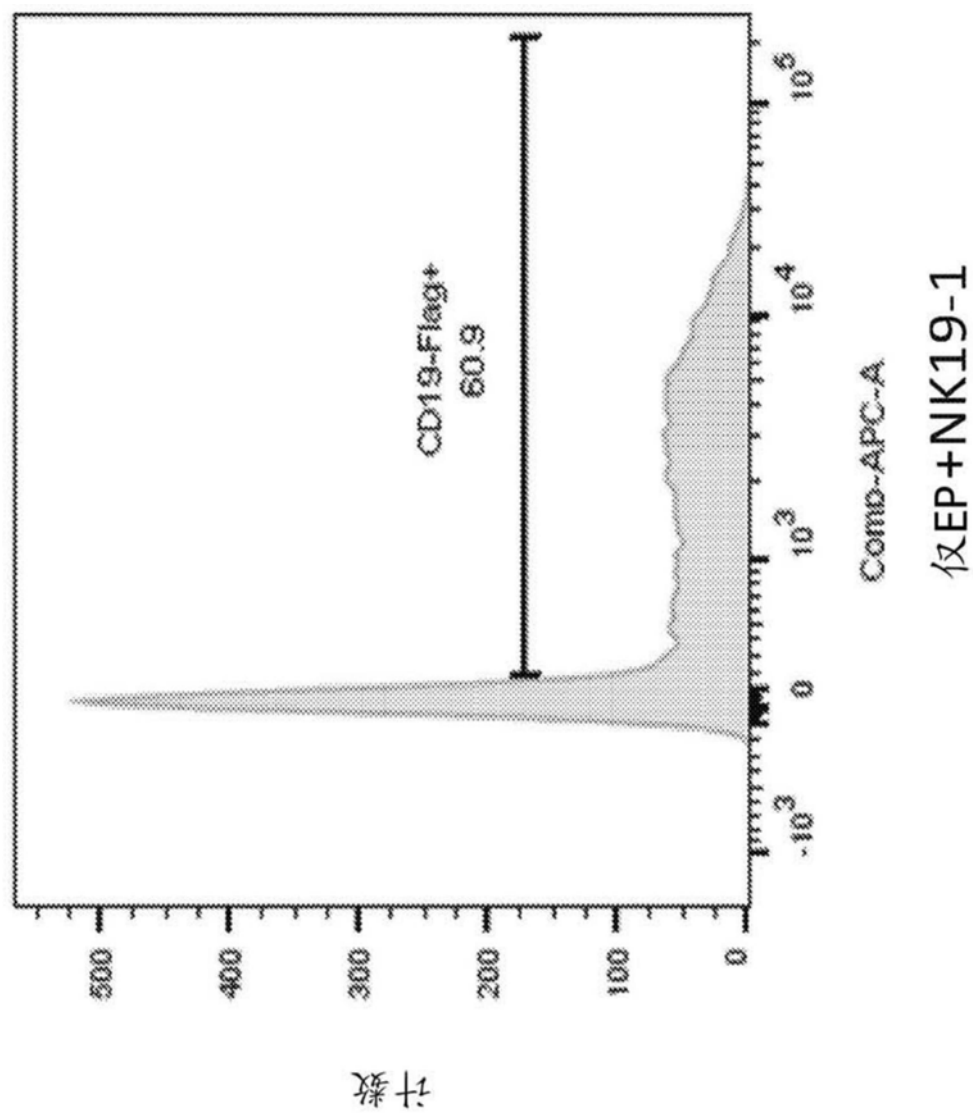


图19D

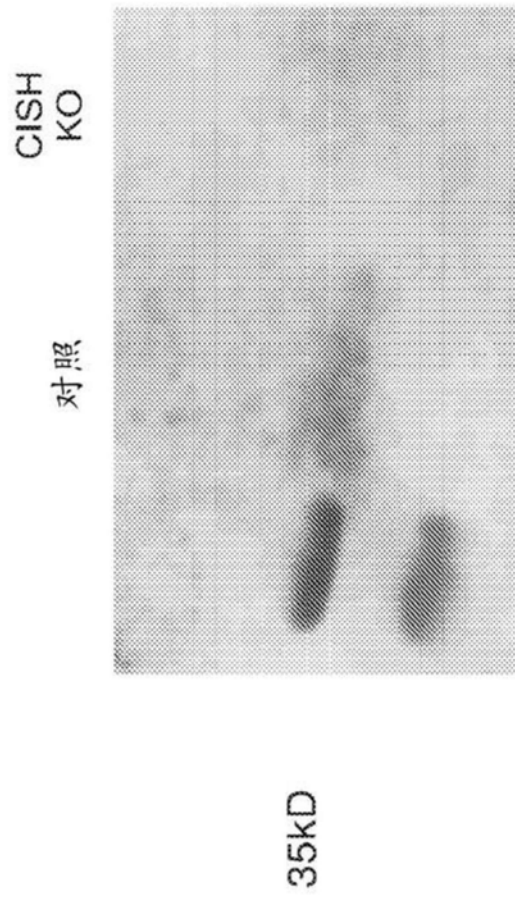


图19E

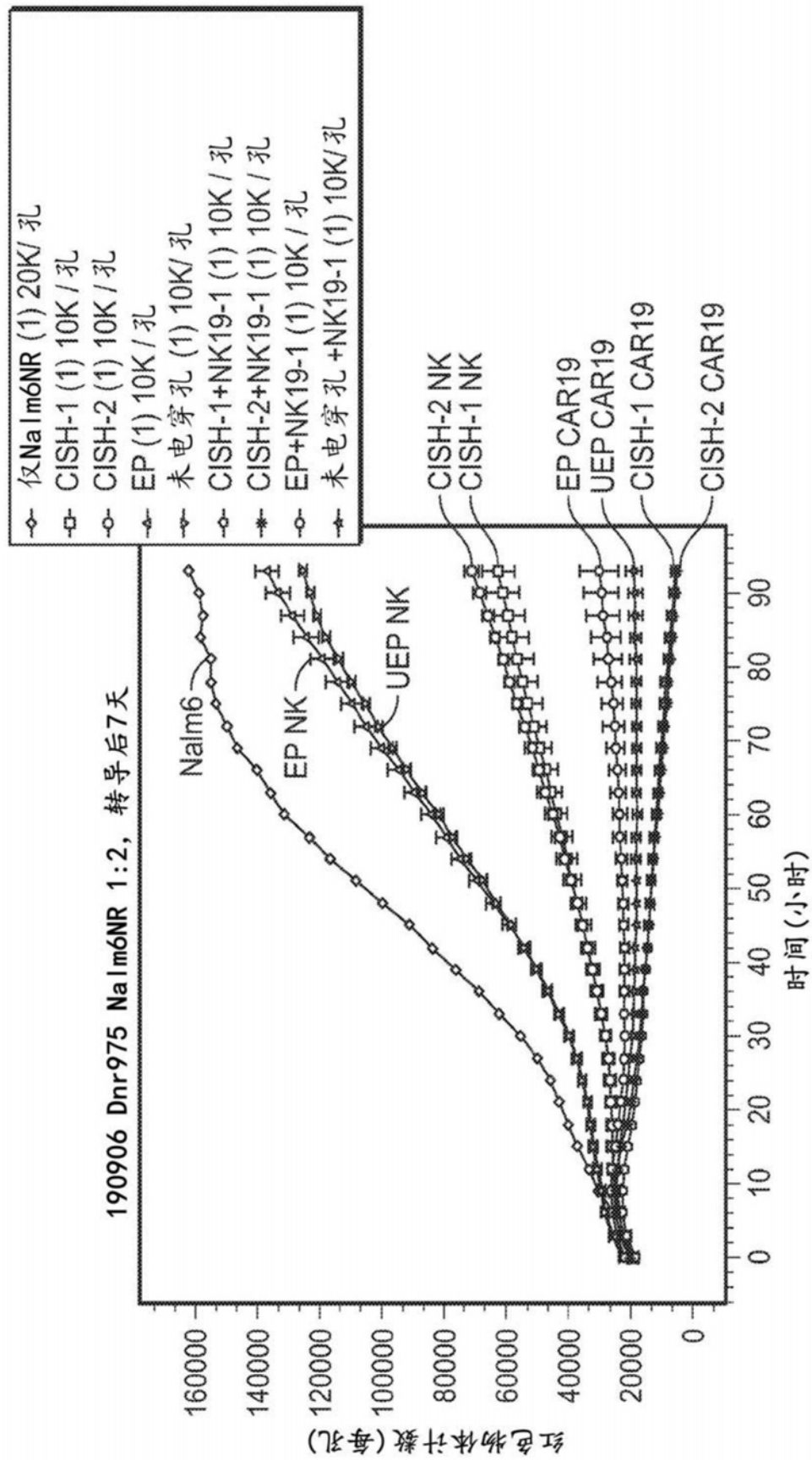


图20A

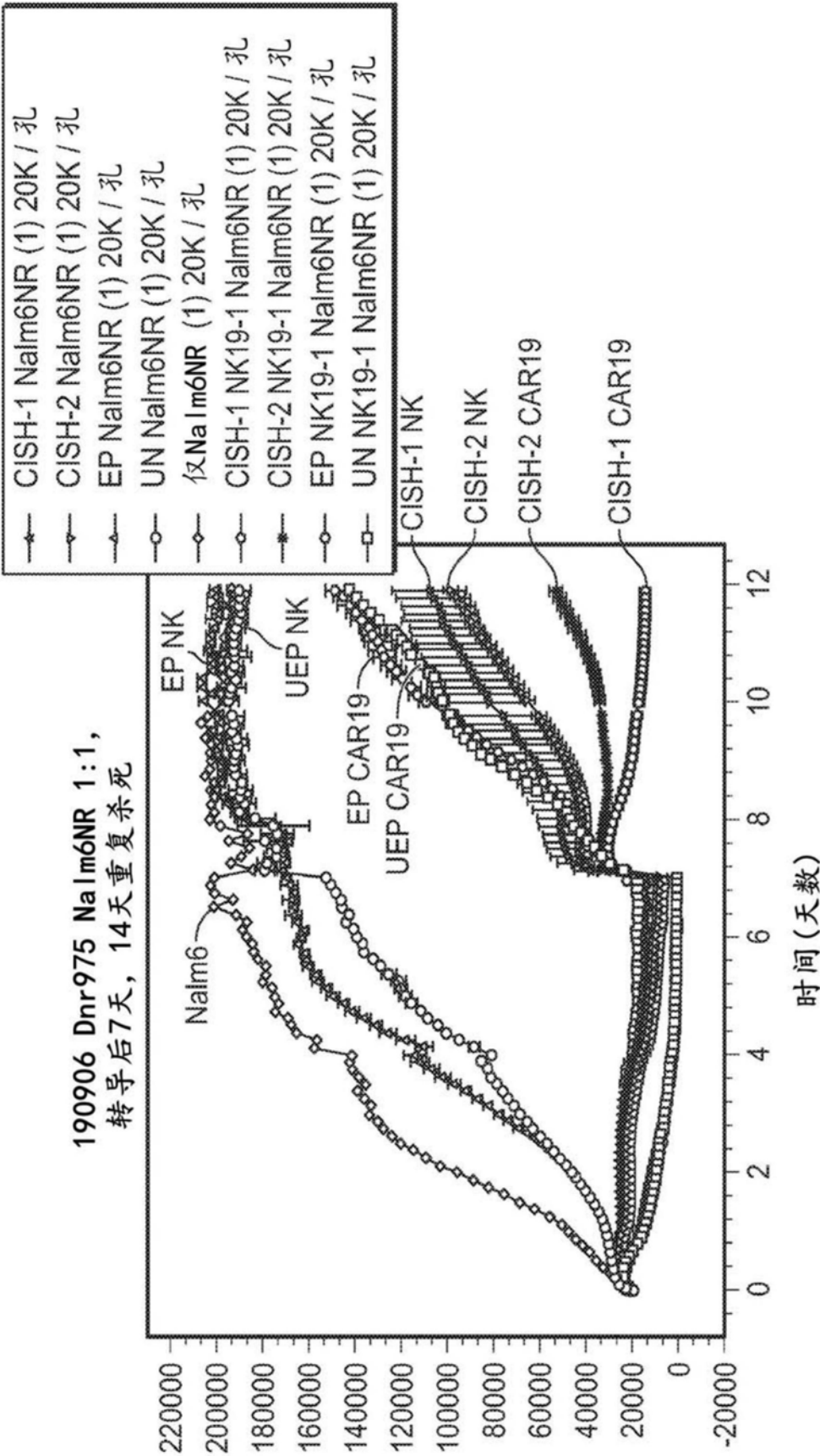


图20B

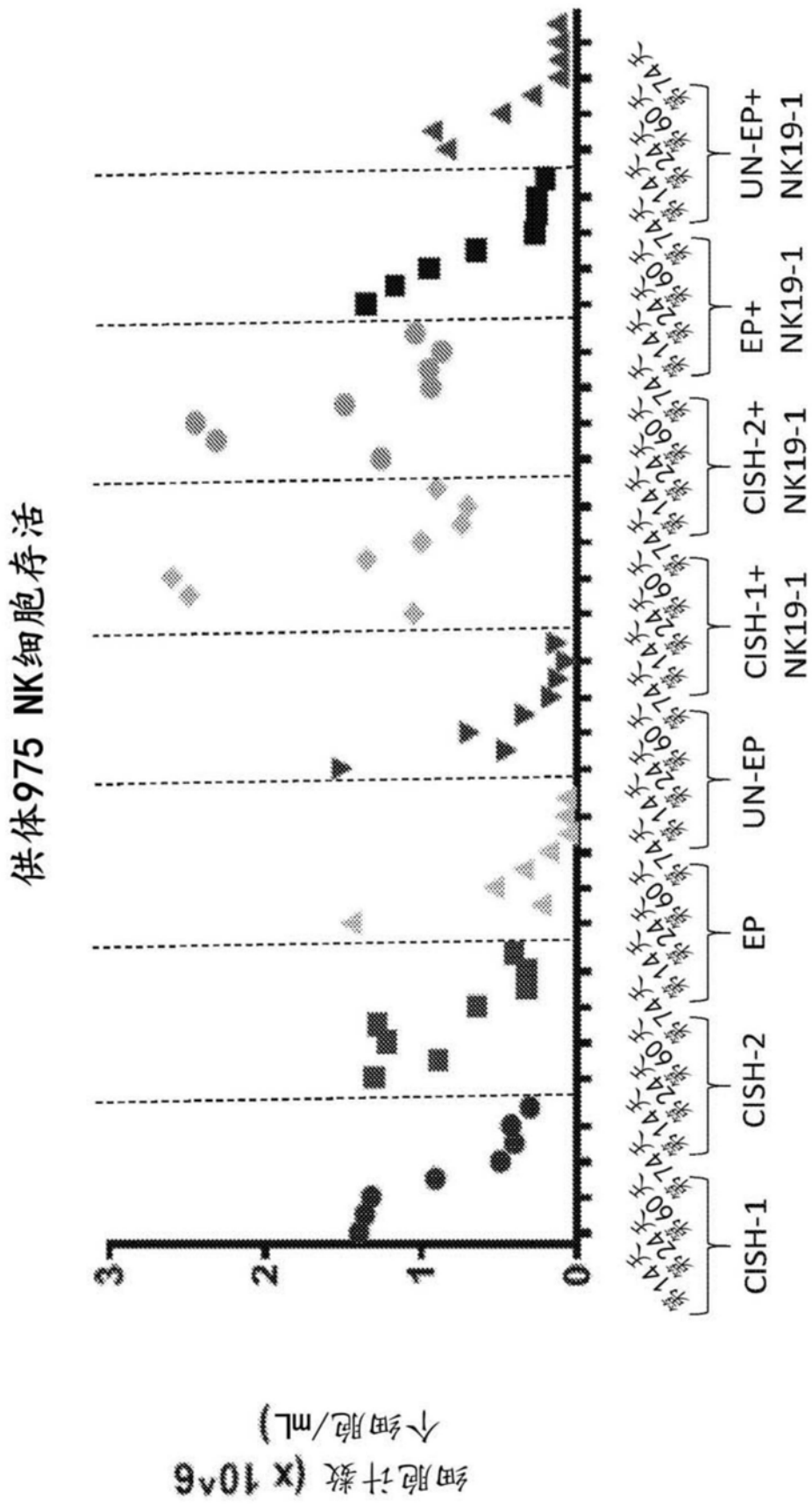


图21A

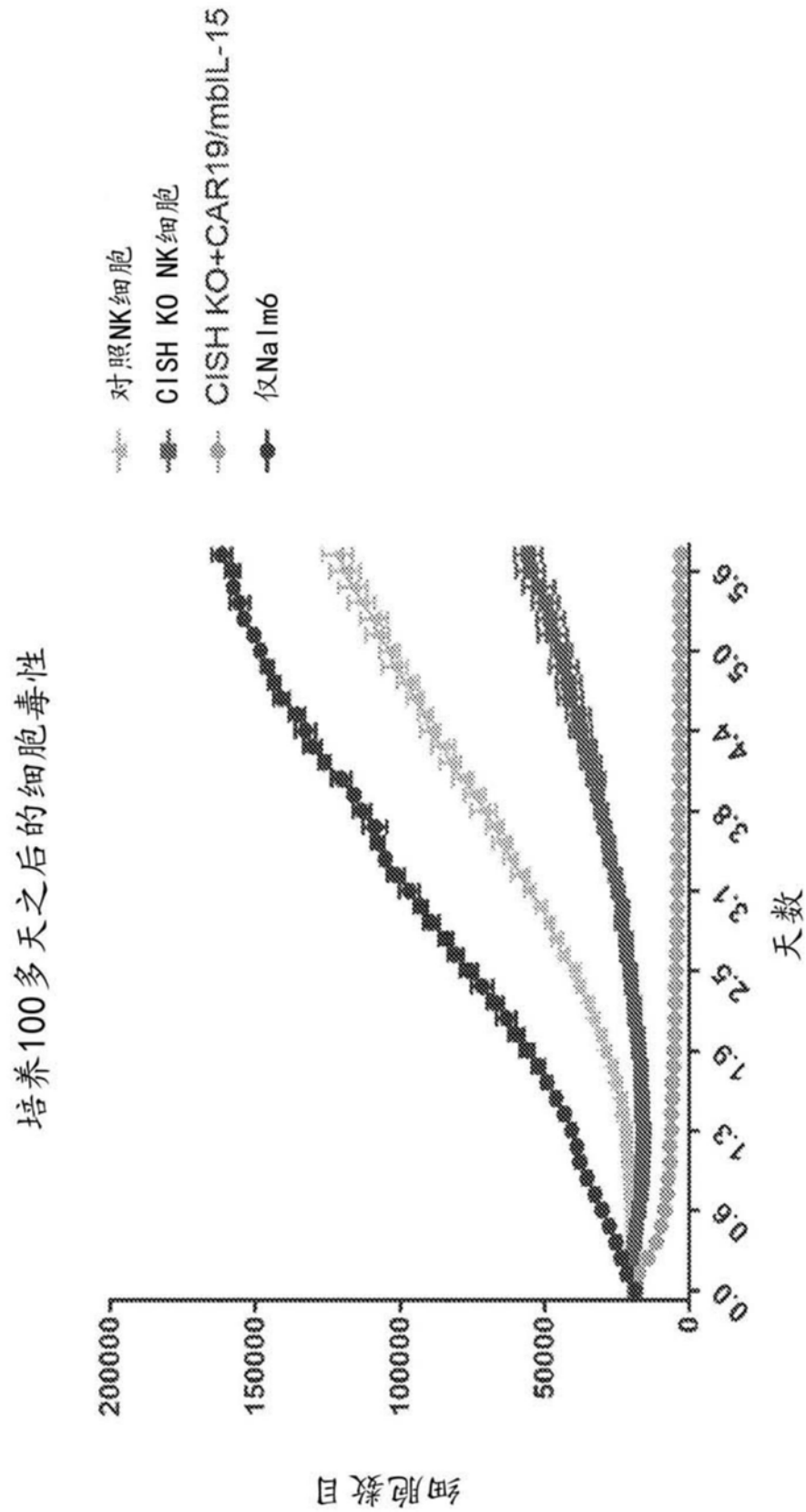


图21B

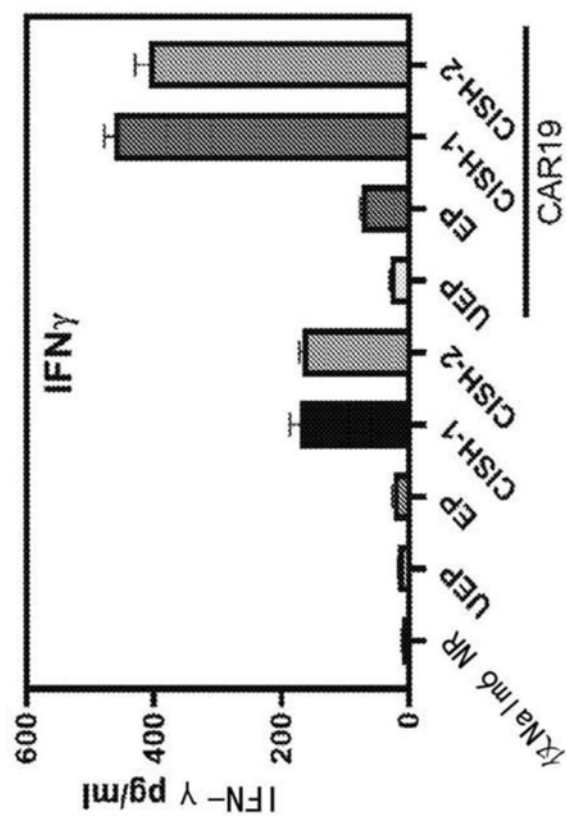


图22A

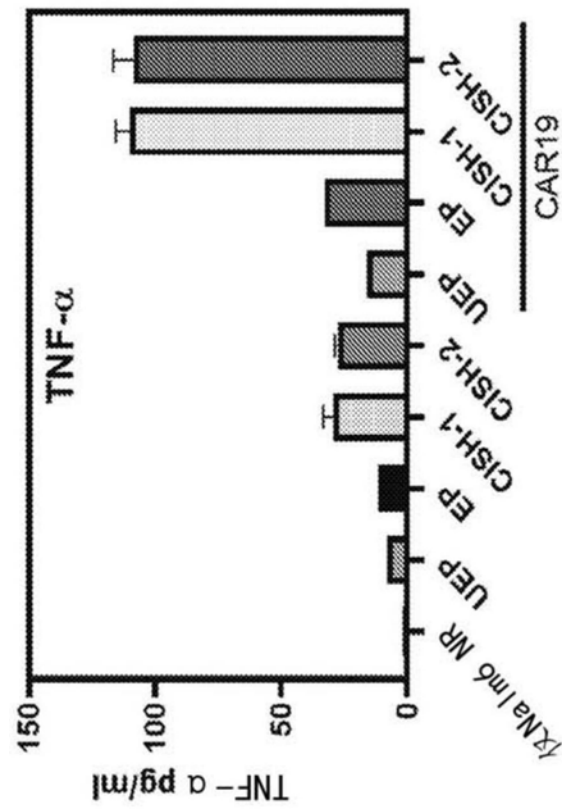


图22B

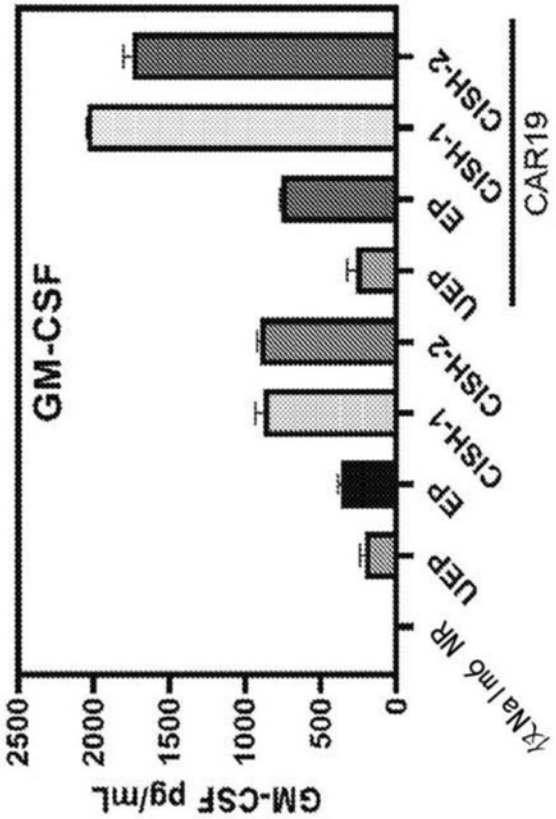


图22C

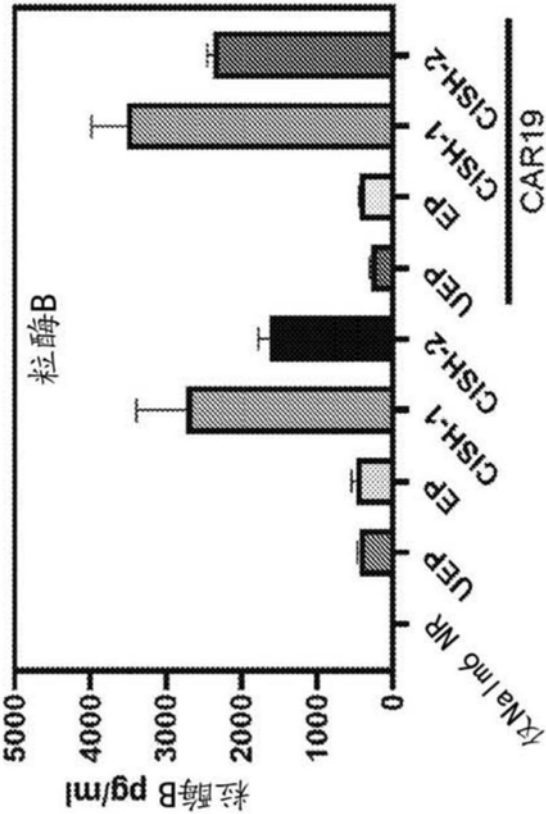


图22D

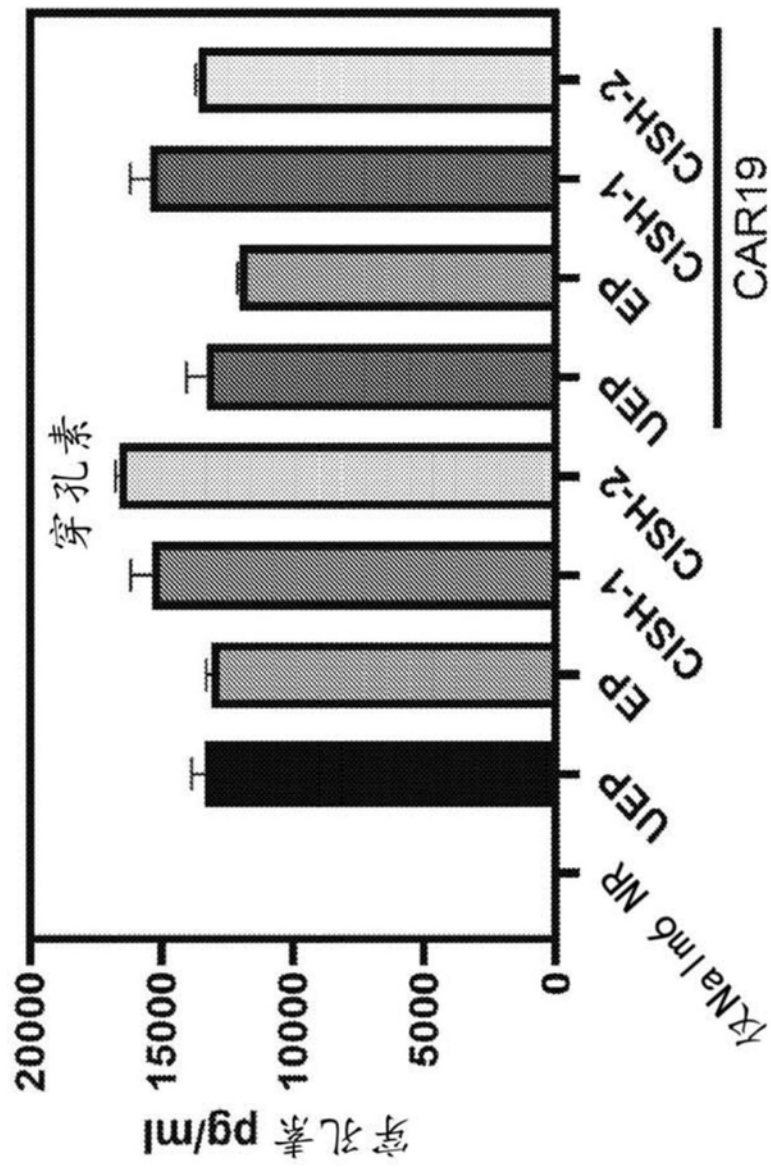


图22E

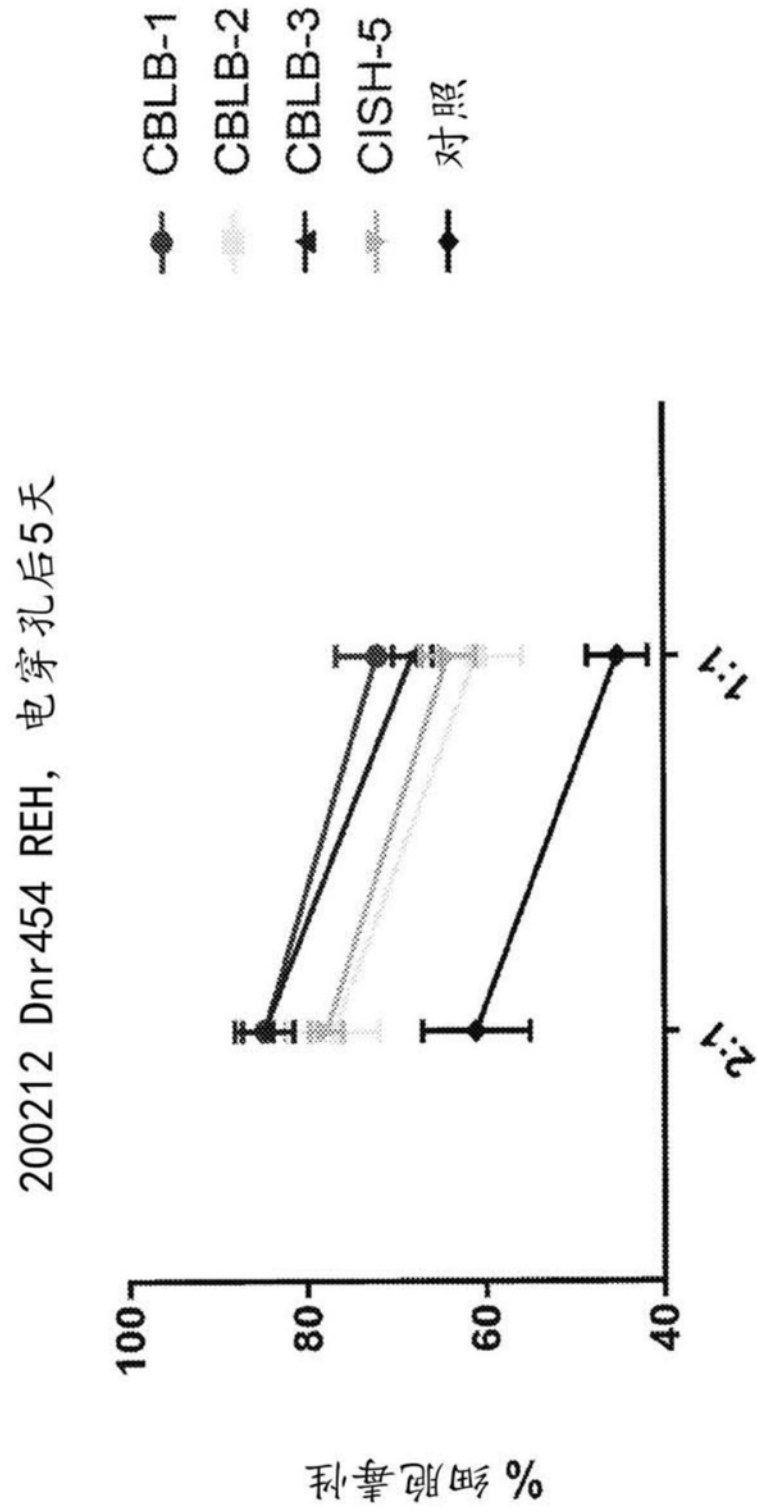


图23A

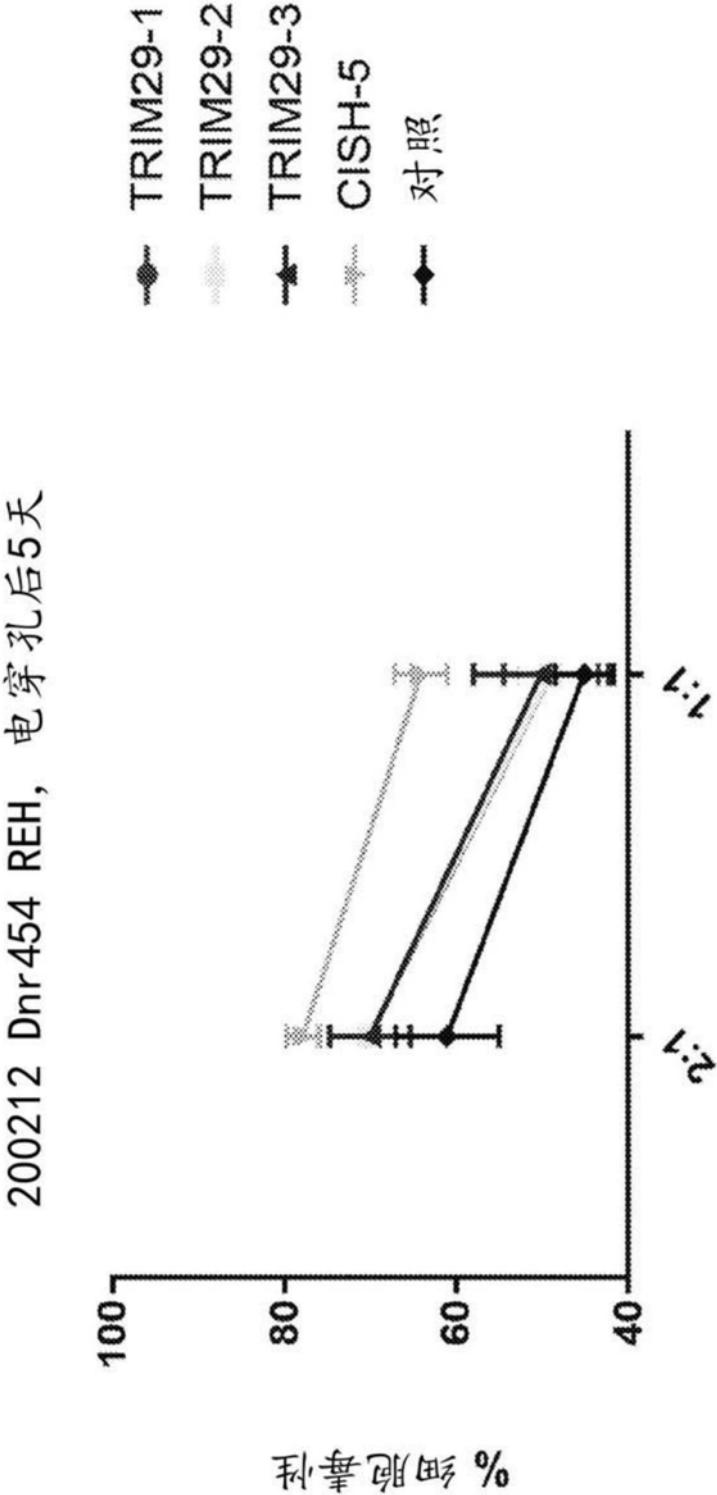


图23B

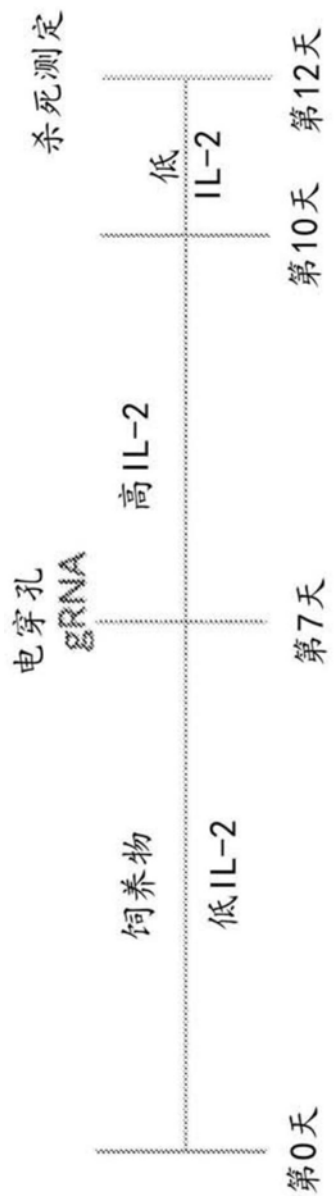


图23C

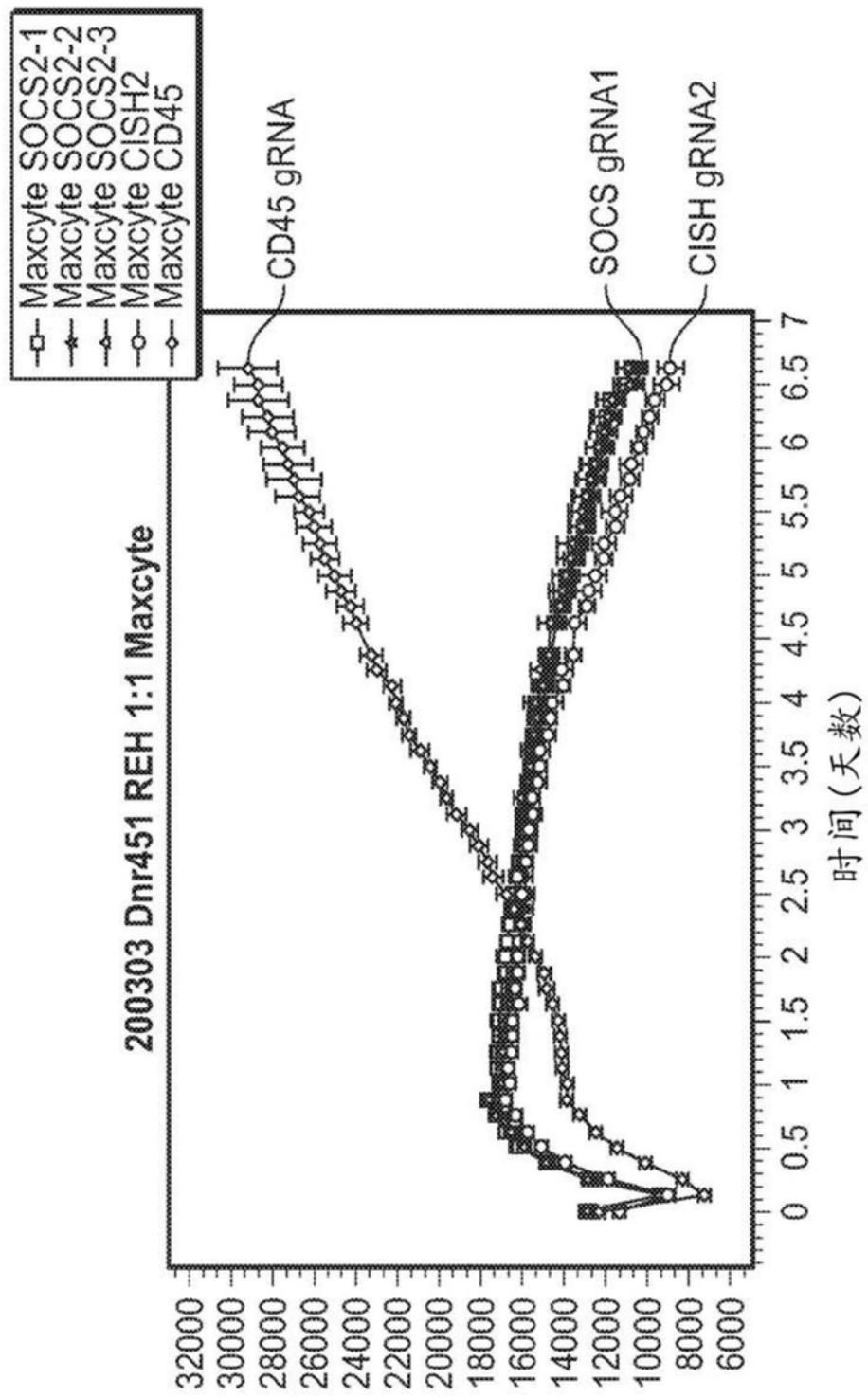


图24A

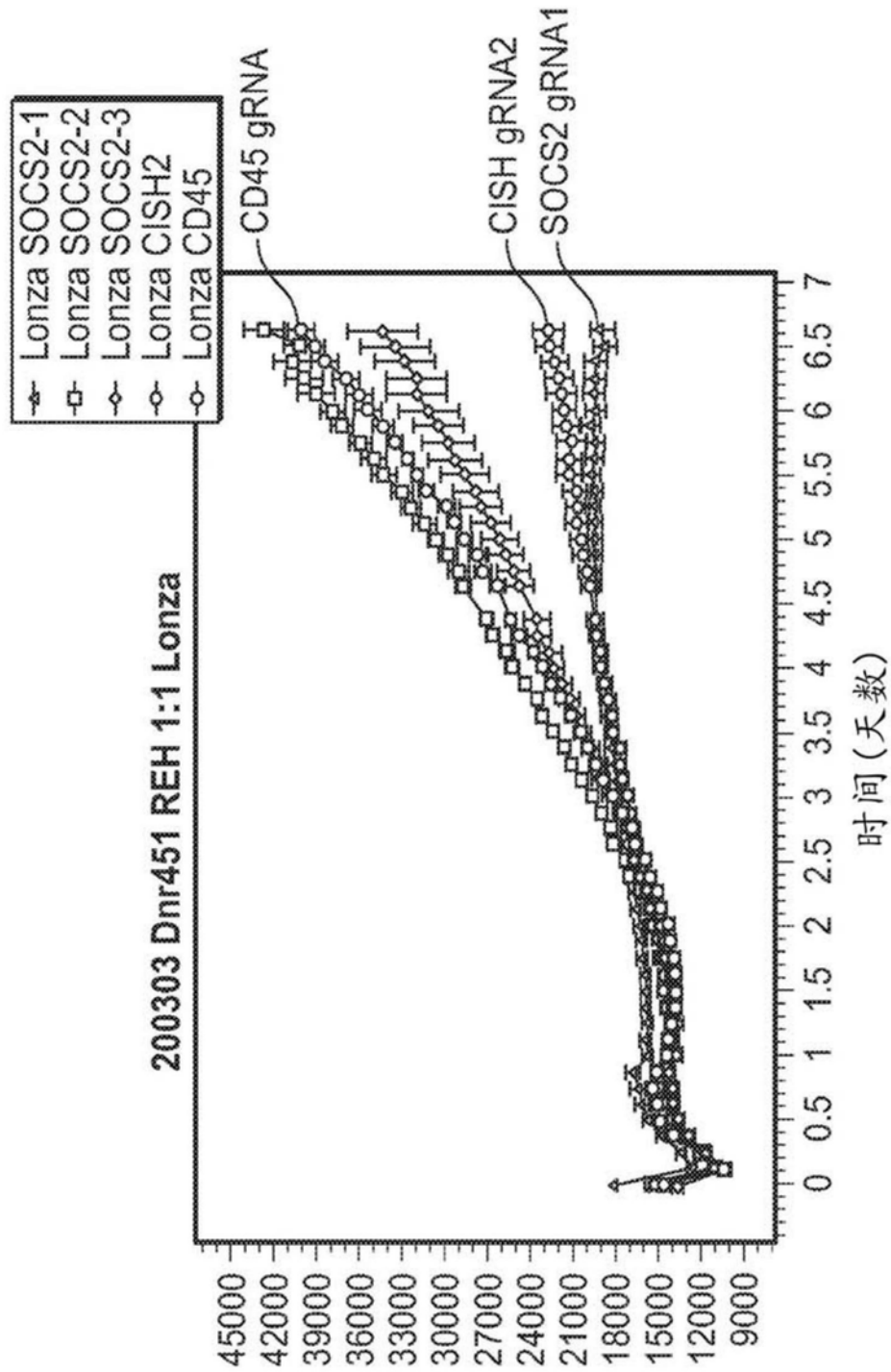


图24B

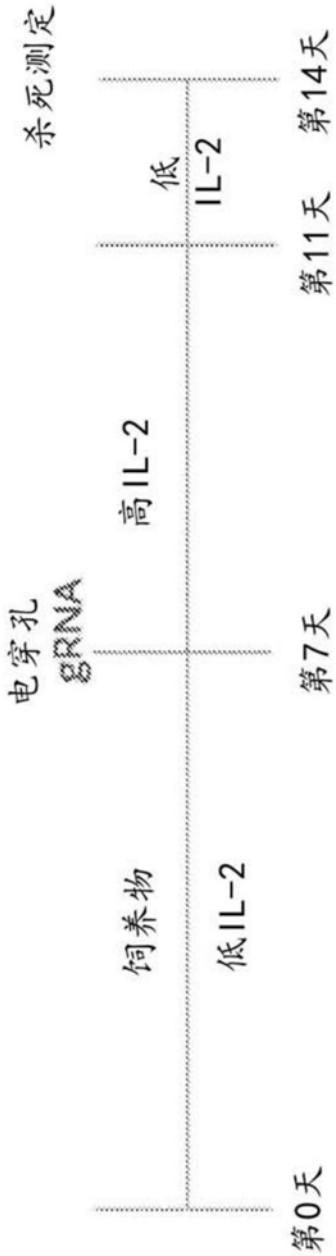


图24C