



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104353066 B

(45)授权公告日 2017.05.10

(21)申请号 201410479685.2

(22)申请日 2009.08.28

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 104353066 A

(43)申请公布日 2015.02.18

(30)优先权数据
61/092,708 2008.08.28 US

(62)分案原申请数据
200980127166.7 2009.08.28

(73)专利权人 泰加生物工艺学公司
地址 美国科罗拉多州

(72)发明人 优素福·里菲利
布赖恩·柯蒂斯·特纳

(74)专利代理机构 北京律盟知识产权代理有限
责任公司 11287

代理人 章蕾

(51)Int.Cl.
A61K 39/00(2006.01)
A61P 37/02(2006.01)
A61K 38/16(2006.01)

(56)对比文件
US 2001049393A1 ,2001.12.06,参见全文.
WO 2007047583A2 ,2007.04.26,参见全文.
Refaeli et al.The protooncogene MYC
can break B cell tolerance.《PNAS》.2005,第
102卷(第11期),第4097-4102页.

审查员 程婷

权利要求书3页 说明书42页
序列表6页

(54)发明名称

MYC的调节剂、其使用方法和鉴别调节MYC的
试剂的方法

(57)摘要

本文揭示调节细胞活力的方法。本文进一步
揭示调节免疫应答的方法。本文进一步揭示鉴别
能够调节细胞活力或免疫应答的试剂的方法。本
文进一步揭示能够调节细胞活力或免疫应答的
试剂和组合物。

1. 一种用于增加免疫应答的医药组合物,其包含:

(a) 抗原部分;

(b) 具有MYC活性的融合肽,其中所述融合肽由如下序列(SEQ ID NO.2)组成:

MRKKRRQRRRMDFFRVVENQQPPATMPLNVSFTNRNYDLDYDSVQPYFYCDEEENFYQQQQQSELQPPAPSED
IWKKFELLPTPPLSPSRRSGLCSPSYVAVTPFSLRGDNDGGGGSFSTADQLEMVTELLGGDMVNQSFICDPDDETFI
KNIIIQDCMWSGFSAAAKLVSEKLSYQAARKDSGSPNPARGHSVCSTSSLYLQDLSAAASECIDPSVVFYPLNDS
SSPKSCASQDSSAFSPSSDLSLSTESSPQGSPEPLVLHEETPPTSSDSEEEQEDEEEDVVSVEKRQAPGKRSES
GSPSAGGHSKPPHSPLVLKRCHVSTHQHNYAAPPSTRKDYPAAKRVKLDsvrvlrqISNNRKCTSPRSSDTEENVKR
RTHNVLERQRRNELKRSFFALRDQIPELENNEKAPKVVILKKATAYILSVQAEQKLISEEDLLRKRREQLKHKLEQ
LRKGELNSKLEGKPIPNPLLGLDSTRTGHHHHHH;和

(c) 医药学上可接受的赋形剂。

2. 根据权利要求1所述的医药组合物,其中所述抗原部分是肽、核酸序列、多糖或其组合。

3. 根据权利要求1所述的医药组合物,其中所述抗原部分是癌细胞或来源于癌细胞。

4. 根据权利要求1-3中任一项所述的医药组合物,其经调配用于皮下投药或局部投药。

5. 根据权利要求1-3中任一项所述的医药组合物,其中所述融合肽是在授予疫苗之前、期间或之后授予。

6. 根据权利要求1所述的医药组合物,其中所述抗原部分是病原体或来源于病原体,且其中所述组合物经调配用于皮下投药。

7. 根据权利要求6所述的医药组合物,其中所述抗原部分是类毒素、肽、核酸序列、多糖或其组合。

8. 根据权利要求6所述的医药组合物,其中所述抗原部分选自由以下组成的群组:甲型肝炎;乙型肝炎;脊髓灰质炎;麻疹;腮腺炎;风疹;白喉;百日咳;破伤风;流感;水痘带状疱疹病毒;轮状病毒;脑膜炎球菌;肺炎;天花;霍乱;黑死病;黄热病;结核病;人乳头瘤病毒;或其组合。

9. 一种具有MYC活性的融合肽的用途,其用于制造供增加个体的免疫应答的药物,其中所述融合肽由如下序列(SEQ ID NO.2)组成:

MRKKRRQRRRMDFFRVVENQQPPATMPLNVSFTNRNYDLDYDSVQPYFYCDEEENFYQQQQQSELQPPAPSED
IWKKFELLPTPPLSPSRRSGLCSPSYVAVTPFSLRGDNDGGGGSFSTADQLEMVTELLGGDMVNQSFICDPDDETFI
KNIIIQDCMWSGFSAAAKLVSEKLSYQAARKDSGSPNPARGHSVCSTSSLYLQDLSAAASECIDPSVVFYPLNDS
SSPKSCASQDSSAFSPSSDLSLSTESSPQGSPEPLVLHEETPPTSSDSEEEQEDEEEDVVSVEKRQAPGKRSES
GSPSAGGHSKPPHSPLVLKRCHVSTHQHNYAAPPSTRKDYPAAKRVKLDsvrvlrqISNNRKCTSPRSSDTEENVKR
RTHNVLERQRRNELKRSFFALRDQIPELENNEKAPKVVILKKATAYILSVQAEQKLISEEDLLRKRREQLKHKLEQ
LRKGELNSKLEGKPIPNPLLGLDSTRTGHHHHHH;以及

其中所述药物是在所述个体暴露于抗原部分之前、之后或期间授予。

10. 根据权利要求9所述的用途,其中所述抗原部分是选自由以下组成的群组的病原体或来源于选自由以下组成的群组的病原体:甲型肝炎;乙型肝炎;脊髓灰质炎;麻疹;腮腺炎;风疹;白喉细菌;百日咳;破伤风;流感;水痘带状疱疹病毒;轮状病毒;脑膜炎球菌;肺炎;天花;霍乱;黑死病;黄热病;结核病;人乳头瘤病毒;或其组合。

11. 根据权利要求9所述的用途,其中所述抗原部分来源于赘生性细胞。

12. 一种方法,包括:

(a) 将具有MYC活性的融合肽于体外提供给一个或多个免疫细胞,

其中所述融合肽由如下序列(SEQ ID NO.2)组成:

MRKKRRQRRRMDFFRVVENQQPPATMPLNVSFTNRNYDLDYDSVQPYFYCDEEENFYQQQQQSELQPPAPSED
IWKKFELLPTPPLSPSRRSGLCSPSYVAVTPFSLRGDNDGGGGSFSTADQLEMVTELLGGDMVNQSFICDPDDETFI
KNI I IQDCMWSGFSAAAKLVSEKLASYQAARKDSGSPNPARGHSVCSTSSLYLQDLSAAASECIDPSVVFPPYPLNDS
SSPKSCASQDSSAFSPSSDSSLSTESSPQGSPEPLVLHEETPPTTSSDSEEEQEDEEEDVVSVEKRQAPGKRSES
GSPSAGGHSKPPHSPLVLKRCHVSTHQHNYAAPPSTRKDYPAAKRVKLDSSVRVLRQISNNRKCTSPRSSDTEENVKR
RTHNVLERQRRNELKRSFFALRDQIPELENNEKAPKVVILKKATAYILSVQAEQKLI SEEDLLRKRREQLKHKLEQ
LRKGELNSKLEGKPIPNPLLGLDSTRTGHHHHHH;以及

(b) 在条件下培养所述一个或多个免疫细胞,与没有暴露于所述融合肽的相应免疫细胞相比,该条件足以使得所述融合肽增加所述一个或多个免疫细胞的活化、存活或增殖的至少一者。

13. 一种方法,包括:

(a) 将组合物于体外提供给一个或多个免疫细胞,其中所述组合物包含:

(i) 抗原部分;

(ii) 由如下序列(SEQ ID NO.2)组成的融合肽:

MRKKRRQRRRMDFFRVVENQQPPATMPLNVSFTNRNYDLDYDSVQPYFYCDEEENFYQQQQQSELQPPAPSED
IWKKFELLPTPPLSPSRRSGLCSPSYVAVTPFSLRGDNDGGGGSFSTADQLEMVTELLGGDMVNQSFICDPDDETFI
KNI I IQDCMWSGFSAAAKLVSEKLASYQAARKDSGSPNPARGHSVCSTSSLYLQDLSAAASECIDPSVVFPPYPLNDS
SSPKSCASQDSSAFSPSSDSSLSTESSPQGSPEPLVLHEETPPTTSSDSEEEQEDEEEDVVSVEKRQAPGKRSES
GSPSAGGHSKPPHSPLVLKRCHVSTHQHNYAAPPSTRKDYPAAKRVKLDSSVRVLRQISNNRKCTSPRSSDTEENVKR
RTHNVLERQRRNELKRSFFALRDQIPELENNEKAPKVVILKKATAYILSVQAEQKLI SEEDLLRKRREQLKHKLEQ
LRKGELNSKLEGKPIPNPLLGLDSTRTGHHHHHH;以及

(b) 在条件下培养所述一个或多个免疫细胞,与没有暴露于所述融合肽的相应的免疫细胞相比,该条件足以使得所述融合肽增加所述一个或多个免疫细胞的活化、存活或增殖中的至少一者。

14. 根据权利要求12或13任一项所述的方法,其中所述一个或多个免疫细胞是一个或多个因子相关性、抗原激活的免疫细胞,以及其中所述融合肽或所述组合物在无生长因子存在下提供。

15. 根据权利要求12或13任一项所述的方法,其中所述一个或多个免疫细胞包括T细胞。

16. 根据权利要求12或13任一项所述的方法,其中所述一个或多个免疫细胞包括B细胞。

17. 一种用于增加免疫应答的医药组合物,其包含:

(a) 来源于病原体的抗原部分;

(b) 融合肽,其中所述融合肽由如下序列(SEQ ID NO.2)组成:

MRKKRRQRRRMDFFRVVENQQPPATMPLNVSFTNRNYDLDYDSVQPYFYCDEEENFYQQQQQSELQPPAPSED

IWKKFELLPTPPLSPSRRSGLCSPSYVAVTPFSLRGDNDGGGGSFSTADQLEMVTELLGGDMVNQSFICDPDDETFI
KNIIIQDCMWSGFSAAAKLVSEKCLASYQAARKDSGSPNPARGHSVCSTSSLYLQDLAAAASECIDPSVVFPPYPLNDS
SSPKSCASQDSSAFSPSSDSSLSTESSPQGSPEPLVLHEETPPTTSSDSEEEQEDEEEDVVSVEKRQAPGKRSES
GSPSAGGHSKPPHSPLVLKRCHVSTHQHNYAAPPSTRKDYPAAKRVKLDsvrvlrqISNNRKCTSPRSSDTEENVKR
RTHNVLERQRRNELKRSFFALRDQIPELENNEKAPKVVILKKATAYILSVQAEEQKLISEEDLLRKRREQLKHKLEQ
LRKGELNSKLEGKPIPPLLGLDSTRTGHHHHHH;和

(c) 医药学上可接受的赋形剂。

18. 根据权利要求17所述的医药组合物,其中所述抗原部分是病原体、类毒素、肽、核酸序列、多糖或其组合。

19. 根据权利要求17所述的医药组合物,其中所述抗原部分来源于病原体,所述病原体选自:甲型肝炎;乙型肝炎;脊髓灰质炎;麻疹;腮腺炎;风疹;白喉;百日咳;破伤风;流感;水痘带状疱疹病毒;轮状病毒;脑膜炎球菌;肺炎;天花;霍乱;黑死病;黄热病;结核病;人乳头瘤病毒;或其组合。

20. 根据权利要求17所述的医药组合物,其经调配用于局部投药。

MYC的调节剂、其使用方法和鉴别调节MYC的试剂的方法

[0001] 本申请涉及申请日为2009年8月28日、申请号为200980127166.7、发明名称为“MYC的调节剂、其使用方法和鉴别调节MYC的试剂的方法”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 交叉参考

[0003] 本申请案主张2008年8月28日申请的美国临时申请案第61/092,708号的权益,该申请案按全文引用并入本文中。

技术领域

[0004] 本申请涉及MYC的调节剂、其使用方法和鉴别调节MYC的试剂的方法。

背景技术

[0005] 疫苗存在多种类型:含有死亡微生物的疫苗(例如流感和霍乱疫苗);含有减毒微生物的疫苗(例如MMR疫苗);含有类毒素的疫苗(例如DPT疫苗);含有病原体亚单位的疫苗(例如HPV疫苗);和核酸(例如RNA和DNA)疫苗(例如禽流感疫苗、西尼罗河病毒(West Nile Virus)疫苗和多种癌症疫苗)。疫苗佐剂是刺激免疫系统并增加免疫系统对疫苗的应答的试剂。

发明内容

[0006] 需要能增强对抗原的免疫应答的疫苗佐剂。本发明者发现,增加MYC的表达或MYC肽的活性将增强对抗原的免疫应答。为了增加细胞核中MYC的浓度而具有最小副作用,本发明者已经设计出一种能穿透细胞核的融合肽。这种肽可局部投予以便降低全身作用。这种肽还增加白细胞(包括T细胞和B细胞)的活力。另外,本发明者还设计出了数种鉴别其它试剂的分析法,这些试剂可满足所述未获满足的需求。

[0007] 还需要治疗自体免疫性病症的方法。本发明者发现,降低MYC的表达或MYC肽的活性可治疗自体免疫性病症。为了实现这一未获满足的需求,本发明者设计出了数种用于鉴别可抑制(部分或完全)免疫系统活性的试剂的分析法。在某些情况下,这些抑制免疫系统的试剂会降低白细胞活力或增加无能B细胞的比例。

[0008] 在某些实施例中,本文揭示一种上调MYC基因的表达、Myc多肽的活性或其组合的肽,其包含:(a)转运肽序列;(b)MYC序列;和任选存在的(c)一个或一个以上将转运肽序列与MYC序列相连接的分子。在一些实施例中,所述肽具有式(I):

[0009] 转运肽序列-MYC序列。

[0010] 在一些实施例中,所述肽具有式(II):

[0011] 转运肽序列-X-MYC序列,

[0012] 其中-X-是将转运肽序列与MYC序列相连接的分子。在一些实施例中,所述肽具有式(II):

[0013] 转运肽序列-X-MYC序列,

[0014] 其中X是至少一个氨基酸。在一些实施例中,所述肽具有以下氨基酸序列(SEQ ID

NO:2):

[0015]

MRKKRRQRRRMDFFRVVENQQPPATMPLNVSFTNRNYDLDYDSVQPYFYCDEEENFYQQQQQSELQPPAPSEDIWKK
FELLPTPPLSPSRRSGLCSPSYVAVTPFSLRGDNDGGGGSFSTADQLEMVTELLGGDMVNQSFICDPDDETFIKNII
IQDCMWSGFSAAAKLVSEKLASYQAARKDSGSPNPARGHVCSTSSLYLQDLSAAASECIDPSVVFYPYPLNDS SSPK
SCASQDSSAFSPSSD SLLSSTESSPQGSPEPLVLHEETPPTTSSDSEEEQEDEEEDVVSVEKRQAPGKRSESGSPS
AGGHSKPPHSPLVLKRCHVSTHQHNYAAPPSTRKDYPAAKRVKLDSVRVLRQISNNRKCTSPRSSDTEENVKRRTHN
VLERQRRNELKRSFFALRDQIPELENNEKAPKVVILKKATAYILSVQAEQKLI SEEDLLRKRREQLKHKLEQLRKG
ELNSKLEGKPIPNPLLGLDSTRTGHHHHHHH。

[0016] 在某些实施例中,本文揭示一种诱导免疫应答的组合物,其包含融合肽,所述融合肽包含:(a)转运肽序列;(b)MYC序列;和任选存在的(c)一个或一个以上将所述转运肽序列与所述MYC序列相连接的分子。在一些实施例中,所述肽具有式(I):

[0017] 转运肽序列-MYC序列。

[0018] 在一些实施例中,所述肽具有式(II):

[0019] 转运肽序列-X-MYC序列,

[0020] 其中-X-是将转运肽序列与MYC序列相连接的分子。在一些实施例中,所述肽具有式(II):

[0021] 转运肽序列-X-MYC序列,

[0022] 其中X是至少一个氨基酸。在一些实施例中,所述肽具有以下氨基酸序列(SEQ ID NO:2):

[0023]

MRKKRRQRRRMDFFRVVENQQPPATMPLNVSFTNRNYDLDYDSVQPYFYCDEEENFYQQQQQSELQPPAPSEDIWKK
FELLPTPPLSPSRRSGLCSPSYVAVTPFSLRGDNDGGGGSFSTADQLEMVTELLGGDMVNQSFICDPDDETFIKNII
IQDCMWSGFSAAAKLVSEKLASYQAARKDSGSPNPARGHVCSTSSLYLQDLSAAASECIDPSVVFYPYPLNDS SSPK
SCASQDSSAFSPSSD SLLSSTESSPQGSPEPLVLHEETPPTTSSDSEEEQEDEEEDVVSVEKRQAPGKRSESGSPS
AGGHSKPPHSPLVLKRCHVSTHQHNYAAPPSTRKDYPAAKRVKLDSVRVLRQISNNRKCTSPRSSDTEENVKRRTHN
VLERQRRNELKRSFFALRDQIPELENNEKAPKVVILKKATAYILSVQAEQKLI SEEDLLRKRREQLKHKLEQLRKG
ELNSKLEGKPIPNPLLGLDSTRTGHHHHHHH。在一些实施例中,所述组合物进一步包含抗原、抗原部分或其组合。在一些实施例中,所述抗原是死亡微生物、减毒微生物、类毒素、病原体亚单位、核酸、核酸聚合物或其组合。在一些实施例中,抗原来源于:甲型肝炎;乙型肝炎;脊髓灰质炎;麻疹;腮腺炎;风疹;白喉;百日咳;破伤风;流感;水痘带状疱疹病毒;轮状病毒;脑膜炎球菌;肺炎;天花;霍乱;黑死病;黄热病;结核病;人乳头瘤病毒;或其组合。在一些实施例中,所述组合物进一步包含来源于病原体的抗原部分,所述病原体选自:甲型肝炎;乙型肝炎;脊髓灰质炎;麻疹;腮腺炎;风疹;白喉;百日咳;破伤风;流感;水痘带状疱疹病毒;轮状病毒;脑膜炎球菌;肺炎;天花;霍乱;黑死病;黄热病;结核病;人乳头瘤病毒;或其组合。在一些实施例中,所述组合物进一步包含来源于赘生性细胞的抗原部分。在一些实施例中,所述组合物经调配用于局部投药。

[0024] 在某些实施例中,本文揭示一种诱导免疫应答的方法,其包含对有需要的个体授予:(a)针对至少一种抗原的疫苗,和(b)融合肽,其包含:(a)转运肽序列;(b)MYC序列;和任

选存在的 (c) 一个或一个以上将所述转运肽序列与所述MYC序列相连接的分子。在一些实施例中,所述肽具有式 (I) :

[0025] 转运肽序列-MYC序列。

[0026] 在一些实施例中,所述肽具有式 (II) :

[0027] 转运肽序列-X-MYC序列,

[0028] 其中-X-是将转运肽序列与MYC序列相连接的分子。在一些实施例中,所述肽具有式 (II) :

[0029] 转运肽序列-X-MYC序列,

[0030] 其中X是至少一个氨基酸。在一些实施例中,所述肽具有以下氨基酸序列 (SEQ ID NO: 2) :

[0031]

MRKKRRQRRRMDFFRVVENQQPPATMPLNVSFTNRNYDLDYDSVQPYFYCDEEENFYQQQQQSELQPPAPSEDIWKK
FELLPTPPLSPSRRSGLCSPSYVAVTPFSLRGDNDGGGGSFSTADQLEMVTELLGGDMVNQSFICDPDDETFIKNII
IQDCMWSGFSAAKLVSEKLSYQAARKDSGSPNPARGHSVCSTSSLYLQDLSAAASECIDPSVVFYPYPLNDS SSPK
SCASQDSSAFSPSSDLSLSTESSPQGSPEPLVLHEETPPTTSSDSEEEQEDEEEDVVSVEKRQAPGKRSESGSPS
AGGHSKPPHSPLVLKRCHVSTHQHNYAAPPSTRKDYPAKRVKLDSVRVLRQISNNRKCTSPRSSDTEENVKRRTHN
VLERQRRNELKRSFFALRDQIPELENNEKAPKVVILKKATAYILSVQAEEQKLI SEEDLLRKRREQLKHKLEQLRKG
ELNSKLEGKPIPNPLGLDSTRTGHHHHHH。在一些实施例中,疫苗选自由以下组成的群组:甲型肝炎
疫苗;乙型肝炎疫苗;脊髓灰质炎疫苗;麻疹疫苗;腮腺炎疫苗;风疹疫苗;白喉疫苗;百日
咳疫苗;破伤风疫苗;流感疫苗;水痘带状疱疹病毒疫苗;轮状病毒疫苗;脑膜炎球菌疫苗;
肺炎疫苗;天花疫苗;霍乱疫苗;黑死病疫苗;黄热病疫苗;结核病疫苗;人乳头瘤病毒疫苗;
癌症疫苗;或其组合。在一些实施例中,疫苗是在投予增加Myc多肽的细胞核浓度的试剂之
前、之后或同时投予。

[0032] 在某些实施例中,本文揭示一种增加细胞活力的方法,其包含对有需要的个体投予上调MYC的表达、增加Myc肽的活性或其组合的试剂。在一些实施例中,所述试剂是融合肽,其包含:(a) 转运肽序列;(b) MYC序列;和任选存在的 (c) 一个或一个以上将所述转运肽序列与所述MYC序列相连接的分子。在一些实施例中,所述肽具有式 (I) :

[0033] 转运肽序列-MYC序列。

[0034] 在一些实施例中,所述肽具有式 (II) :

[0035] 转运肽序列-X-MYC序列,

[0036] 其中-X-是将转运肽序列与MYC序列相连接的分子。在一些实施例中,所述肽具有式 (II) :

[0037] 转运肽序列-X-MYC序列,

[0038] 其中X是至少一个氨基酸。在一些实施例中,所述肽具有以下氨基酸序列 (SEQ ID NO: 2) :

[0039]

MRKKRRQRRRMDFFRVVENQQPPATMPLNVSFTNRNYDLDYDSVQPYFYCDEEENFYQQQQQSELQPPAPSEDIWKK
FELLPTPPLSPSRRSGLCSPSYVAVTPFSLRGDNDGGGGSFSTADQLEMVTELLGGDMVNQSFICDPDDETFIKNII
IQDCMWSGFSAAKLVSEKLSYQAARKDSGSPNPARGHSVCSTSSLYLQDLSAAASECIDPSVVFYPYPLNDS SSPK

SCASQDSSAFSPSSDSSLSTESSPQGSPEPLVLHEETPPTTSSDSEEEQEDEEEIDVVSVEKRQAPGKRSESGSPS
AGGHSKPPHSPLVLKRCHVSTHQHNYAAPPSTRKDYPAAKRVKLDsvrvlrqISNNRKCTSPRSSDTEENVKRRTHN
VLERQRRNELKRSFFALRDQIPELENNEKAPKVVILKKATAYILSVQAEQKLISEEDLLKRREQLKHKLEQLRKG
ELNSKLEGKPIPNPLLGLDSTRTGHHHHHHH。在一些实施例中,细胞为白细胞。在一些实施例中,细
胞为T细胞。在一些实施例中,细胞为B细胞。在一些实施例中,细胞为记忆性T细胞。

[0040] 在某些实施例中,本文揭示一种降低细胞活力的方法,其包含对有需要的个体投
予下调MYC的表达、降低Myc肽的活性或其组合的试剂。

[0041] 在某些实施例中,本文揭示一种治疗以MYC基因表达不足或Myc多肽活性缺乏为特
征的病症的方法,其包含对有需要的个体投予上调MYC表达、增加Myc肽的活性或其组合的
试剂。在一些实施例中,所述试剂是融合肽,其包含:(a)转运肽序列;(b)MYC序列;和任选存
在的(c)一个或一个以上将所述转运肽序列与所述MYC序列相连接的分子。在一些实施
例中,所述肽具有式(I):

[0042] 转运肽序列-MYC序列。

[0043] 在一些实施例中,所述肽具有式(II):

[0044] 转运肽序列-X-MYC序列,

[0045] 其中-X-是将转运肽序列与MYC序列相连接的分子。在一些实施例中,所述肽具有
式(II):

[0046] 转运肽序列-X-MYC序列,

[0047] 其中X是至少一个氨基酸。在一些实施例中,所述肽具有以下氨基酸序列(SEQ ID
NO:2):

[0048]

MRKKRRQRRRMDFFRVVENQQPPATMPLNVSFTNRNYDLDYDSVQPYFYCDEEENFYQQQQQSELQPPAPSEDIWKK
FELLPTPPLSPSRRSGLCSPSYVAVTPFSLRGDNDGGGGSFSTADQLEMVTELLGGDMVNQSFICDPDDETFIKNII
IQDCMWSGFSAAAKLVSEKLSYQAARKDSGSPNPARGHSVCSTSSLYLQDLSAAASECIDPSVVFPPYPLNDSSSPK
SCASQDSSAFSPSSDSSLSTESSPQGSPEPLVLHEETPPTTSSDSEEEQEDEEEIDVVSVEKRQAPGKRSESGSPS
AGGHSKPPHSPLVLKRCHVSTHQHNYAAPPSTRKDYPAAKRVKLDsvrvlrqISNNRKCTSPRSSDTEENVKRRTHN
VLERQRRNELKRSFFALRDQIPELENNEKAPKVVILKKATAYILSVQAEQKLISEEDLLKRREQLKHKLEQLRKG
ELNSKLEGKPIPNPLLGLDSTRTGHHHHHHH。

[0049] 在某些实施例中,本文揭示一种治疗以MYC基因过度表达或Myc多肽活性过高为特
征的病症的方法,其包含对有需要的个体投予下调MYC表达、降低Myc肽的活性或其组合的
试剂。

[0050] 在某些实施例中,本文揭示一种鉴别上调MYC基因表达和/或Myc多肽活性的试剂
的方法,所述方法包含:(a)使多个无能B细胞与一种试剂接触;和(b)在与所述试剂接触后,
检测和/或测量细胞培养物中一个或一个以上细胞表面标记的表达量,其中所述细胞表面
标记的存在是非无能B细胞的指示。在一些实施例中,所述无能B细胞是从具有表型BCR^{HEL}/
sHEL的小鼠获得。在一些实施例中,细胞表面标记为:IgM、IgMa、IgMb、B220、CD21/35、CD23、
CD24(HSA)、CD40、CD69、CD80和/或CD86(B7-2)。在一些实施例中,通过使所述多个细胞与结
合于某一细胞表面标记的可检测抗体或可检测抗原接触,来测量所述细胞表面标记的表
达量。

[0051] 在某些实施例中,本文揭示一种鉴别上调MYC基因表达和/或Myc多肽活性的试剂的方法,所述方法包含:(a)使多个因子相关性细胞与一种试剂接触;(b)在与所述试剂接触后,检测和测量所述多个细胞的扩增量。在一些实施例中,所述因子相关性细胞是淋巴样细胞。在一些实施例中,所述因子相关性细胞为:IL-2^{-/-}、IL-3^{-/-}、IL-4^{-/-}、IL-5^{-/-}、IL-6^{-/-}、IL-7^{-/-}、IL-8^{-/-}、IL-9^{-/-}、IL-10^{-/-}、IL-11^{-/-}、IL-12^{-/-},或其任何组合。在一些实施例中,所述因子相关性细胞来源于:CTLL-2细胞或BAF/3细胞。

[0052] 在某些实施例中,本文揭示一种鉴别上调MYC基因表达和/或Myc多肽活性的试剂的方法,其包含:(a)用报告基因构建体转化多个细胞,所述报告基因构建体包含:报告基因,可操作地连接到以myc反应性启动子编码的E盒序列;(b)使所述多个细胞与一种试剂接触;和(c)在与所述试剂接触后,检测和测量所述报告基因的表达量。在一些实施例中,所述细胞是淋巴样细胞。在一些实施例中,所述myc反应性启动子是鸟氨酸脱羧酶启动子。在一些实施例中,报告基因是β-半乳糖苷酶基因、β-内酰胺酶基因、辣根过氧化酶基因、碱性磷酸酶基因、胸苷激酶基因、黄嘌呤磷酸核糖转移酶基因、酪氨酸酶基因、胞嘧啶脱氨酶基因、抗生素抗性基因或具有荧光表达产物的基因。

具体实施方式

[0053] 在某些实施例中,本文揭示鉴别能够调节(例如活化、增加、诱导、补充、降低或抑制)免疫系统的试剂的方法。在一些实施例中,利用这些试剂来增加免疫应答。在一些实施例中,使用这些试剂来减少免疫应答。此外,本文还揭示使用借助任一种本文所揭示的方式所鉴别的试剂来调节免疫系统的方法。

[0054] 某些定义

[0055] 除非另作指示,否则以下术语在用于本文中和所附权利要求书中时具有以下含义。

[0056] 术语“疫苗”是指投予哺乳动物以引发免疫应答的包含抗原和/或抗原部分的组合物。所述抗原或抗原部分是活微生物或减毒微生物;从微生物纯化得到的天然产物(例如蛋白质亚基、肽、多糖和核酸);设计成模拟微生物的某一组分的合成产物;遗传工程化蛋白质、肽或多糖;患者自身的肿瘤细胞;从肿瘤细胞纯化得到的天然产物(例如前列腺特异性抗原、gp96、GM2、GD2、GD3、癌胚抗原、MART-1和酪氨酸酶);设计成模拟肿瘤细胞的某一组分的合成分子(例如唾液酸化Tn),或其组合。此外,术语疫苗还包括当前的疫苗,和所开发的任何新颖和/或经过改造的疫苗。

[0057] 术语“淋巴样组织”是指与淋巴系统相关联的组织。淋巴样组织的非限制性实例包括从淋巴结、扁桃腺、脾、骨髓和胸腺获得的组织。

[0058] 术语“淋巴细胞”是指所有未成熟、成熟、未分化和分化的白色淋巴细胞群,包括组织特异性和专化变种。其非限制性实例涵盖B细胞、T细胞、NKT细胞和NK细胞。在一些实施例中,淋巴细胞包括所有B细胞谱系,包括前B细胞、祖代B细胞、早期原B细胞、晚期原B细胞、大前B细胞、小前B细胞、未成熟B细胞、成熟B细胞、血浆B细胞、记忆性B细胞、B-1细胞、B-2细胞和无能AN1/T3细胞群。

[0059] 作为非限制性实例,术语B细胞是指前B细胞、祖代B细胞、早期原B细胞、晚期原B细胞、大前B细胞、小前B细胞、未成熟B细胞、成熟B细胞、血浆B细胞、记忆性B细胞、B-1细胞、B-

2细胞和无能AN1/T3细胞群。在一些实施例中,术语B细胞包括在细胞表面上表达免疫球蛋白重链和/或轻链的B细胞。在一些实施例中,术语B细胞包括表达和分泌免疫球蛋白重链和/或轻链的B细胞。在一些实施例中,术语B细胞包括在细胞表面上结合抗原的细胞。在本文揭示的一些实施例中,将B细胞或AN1/T3细胞用于所描述的方法中。在某些实施例中,这些细胞任选地经适于表达抗体、能够表达(例如诱导性表达)抗体或能够分化成适于表达抗体的细胞的任何动物细胞取代,所述动物细胞例如包括造血干细胞、B细胞、前B细胞、祖代B细胞、早期原B细胞、晚期原B细胞、大前B细胞、小前B细胞、未成熟B细胞、成熟B细胞、血浆B细胞、记忆性B细胞、B-1细胞、B-2细胞、无能B细胞或无能AN1/T3细胞。

[0060] 术语“免疫应答”包括病原体和/或肿瘤细胞的鉴别和抵消。在一些实施例中,免疫应答是适应性免疫应答。适应性免疫应答的非限制性实例包括产生免疫记忆。

[0061] 术语“抗体”是指天然存在(但经过分离和/或纯化)、工程化或合成抗体中的任何一种形式,包括单克隆抗体、多克隆抗体、双特异性抗体、多特异性抗体、移植抗体、人抗体、人源化抗体、合成抗体、嵌合抗体、骆驼化抗体(camelized antibody)、单链Fv(scFv)、单链抗体、Fab片段、F(ab')片段、二硫键连接的Fv(sdFv)、内抗体(intrabody)和抗独特型(抗Id)抗体,以及上述任一抗体的抗原结合片段。具体点说,抗体包括免疫球蛋白分子,以及免疫球蛋白分子的免疫活性片段,即含有抗原结合位点的分子。免疫球蛋白分子属于任何类型(例如IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY)、种类(例如IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁和IgA₂)或亚类。术语“抗体”与免疫球蛋白在广义上可互换使用。在一些实施例中,抗体是抗体与一种或一种以上其它蛋白质或肽共价或非共价缔合所形成的较大分子的一部分。

[0062] 本文中的抗体包括单克隆抗体、多克隆抗体、重组抗体、嵌合抗体、人源化抗体、双特异性抗体、移植抗体、人抗体和其片段,包括借助于任何方式改变以致在人体中具有较低免疫原性的抗体。因此,例如,本文中的单克隆抗体和片段等包括“嵌合”抗体和“人源化”抗体。一般说来,嵌合抗体包括的一部分重链和/或轻链与来源于特定物种或属于特定抗体种类或亚类的抗体中的相应序列一致或同源,而剩余链与来源于另一物种或属于另一抗体种类或亚类的抗体中的相应序列一致或同源,只要其展现出所需的生物活性即可(美国专利第4,816,567号);莫里森(Morrison)等人,美国国家科学院院刊(Proc.Natl Acad.Sci.), 81:6851-6855(1984)。例如,在一些实施例中,嵌合抗体含有来源于小鼠的可变区和来源于人的恒定区,其中所述恒定区含有与人IgG₂和人IgG₄同源的序列。非人(例如鼠类)抗体或片段的“人源化形式”是含有来源于非人免疫球蛋白的最小序列的嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白链或其片段(例如Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂或抗体的其它抗原结合子序列)。人源化抗体包括移植抗体或CDR移植抗体,其中来源于非人动物抗体的一个或一个以上互补决定区(CDR)中的部分或全部氨基酸序列被移植到人抗体的适宜位置,同时仍保持原始非人抗体的所需结合特异性和/或亲和力。在一些实施例中,相应的非人残基置换人免疫球蛋白的Fv框架残基。在一些实施例中,人源化抗体包含在接受者抗体和输入的CDR或框架序列中都没有发现的残基。这些修饰将进一步改进和优化抗体性能。在一些实施例中,人源化抗体包含至少一个且通常两个可变结构域的实质上全部序列,其中所有或实质上所有CDR区都对应于非人免疫球蛋白的CDR区,而且所有或实质上所有FR区是人免疫球蛋白共同序列的FR区。更多细节,参见例如:琼斯(Jones)等人,自然(Nature) 321:522-525(1986);瑞奇曼(Riechmann)等人,自然,332:323-329(1988);和普雷斯塔(Presta),结构生物学新观点

(Curr.Op.Struct.Biol.) 2:593-596 (1992)。

[0063] 术语“抗原”是指引起抗体的产生的物质。

[0064] 术语“抗原部分”是指分子、生物体(例如细菌、病毒)或细胞中结合于抗体的部分(或补体)。

[0065] 术语“自身抗原(self antigen)”是指源自于动物、组织或细胞内的抗原。在一些实施例中,自身抗原包含内源性抗原。在一些实施例中,自身抗原包含由内源性逆转录病毒产生的内源性抗原。在一些实施例中,自身抗原包含新自身抗原(neo-self antigen)、微生物或寄生物编码的新自身抗原,或在全身照射和HSC移植(此举将重新启动免疫系统并使新抗原被认为是“自身的”)后因动物或细胞的遗传改变而表达的其它新自身抗原。在一些实施例中,嵌合体小鼠将表达新自身抗原。

[0066] 术语“自体抗原(auto-antigen)”是指包含自身抗原的表位或者包含可模拟自身抗原的表位的免疫反应性表位的抗原。在一些实施例中,术语自体抗原包含针对其产生自体抗体的抗原。在一些实施例中,自体抗原包含内源性抗原,其中产生所述内源性抗原的动物对所述抗原具有免疫耐受性或曾有免疫耐受性。

[0067] 术语“无能”是指淋巴细胞无活性(例如,这些细胞对抗原的结合无应答)的状态。在一些实施例中,淋巴细胞为B细胞。在一些实施例中,B细胞在暴露于可溶性循环自身抗原后变得无能。在一些实施例中,B细胞在暴露于可溶性循环抗原后变得无能。在一些实施例中,所述抗原为可溶性鸡卵溶菌酶(soluble hen egg lysozyme, sHEL)。

[0068] 术语“氨基酸”是指天然存在和非天然存在的氨基酸,以及以与天然存在的氨基酸类似的方式起作用的氨基酸类似物和氨基酸模拟物。天然编码的氨基酸为20种常见氨基酸(丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸)和吡咯赖氨酸和硒代半胱氨酸。氨基酸类似物是指与天然存在的氨基酸具有相同的基础化学结构的试剂,即, α 碳与氢、羧基、氨基和R基团结合,例如高丝氨酸、正亮氨酸、甲硫氨酸亚砷、甲硫氨酸甲基硫酸盐。所述类似物具有经修饰的R基团(例如,正亮氨酸)或经修饰的肽主链,但仍保留与天然存在的氨基酸相同的基础化学结构。

[0069] 氨基酸在本文中是以其通常已知的三字母符号或IUPAC-IUB生物化学命名委员会(Biochemical Nomenclature Commission)所推荐的单字母符号提到。同样,可以通常所接受的单字母代码提到核苷酸。

[0070] 术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”在本文中可互换使用,用于指氨基酸残基的聚合物。所述术语适用于天然存在的氨基酸聚合物,以及一个或一个以上氨基酸残基为非天然存在的氨基酸(例如氨基酸类似物)的氨基酸聚合物。所述术语涵盖任何长度的氨基酸链,包括全长蛋白质,其中氨基酸残基通过共价肽键相连接。

[0071] 术语“Myc蛋白质”和“Myc多肽”是作为同义词使用,意思指NCBI入藏登记号NP002458.2中所揭示的氨基酸残基的聚合物,以及其功能性同系物、类似物或片段。在一些实施例中,Myc多肽包含与NCBI入藏登记号NP002458.2的序列至少40%到100%一致,例如至少40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、86%、87%、88%、90%、91%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或者约40%到约100%中任一其它百分比一致的氨基酸序列。在一些实施例中,Myc多肽包含40个氨基酸或更长的多肽序列,这一多肽序列与

NCBI入藏登记号NP002458.2的序列至少50%到100%一致,例如至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、86%、87%、88%、90%、91%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或者约50%到约100%中任一其它百分比一致。在一些实施例中,Myc多肽包含40个氨基酸或更长的多肽序列,这一多肽序列与NCBI入藏登记号NP002458.2的序列至少50%到100%一致,例如至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、86%、87%、88%、90%、91%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或者约50%到约100%中任一其它百分比一致。在一些实施例中,Myc多肽是指439个氨基酸的聚合物、未经历任何翻译后修饰的Myc多肽,和/或已经历翻译后修饰的Myc多肽。在某些情况下,Myc多肽为48,804 kDa。在某些情况下,Myc多肽含有碱性螺旋-环-螺旋亮氨酸拉链(basic Helix-Loop-Helix Leucine Zipper, bHLH/LZ)结构域。在某些情况下,Myc多肽是转录因子(例如转录因子64)。在某些情况下,Myc多肽结合于包含CACGTG的序列(即,E盒序列)。

[0072] 术语“核酸”是指单链或双链形式的脱氧核糖核苷酸、脱氧核糖核苷、核糖核苷或核糖核苷酸,以及其聚合物。除非明确限制,否则所述术语涵盖含有天然核苷酸的已知类似物的核酸,其具有与参考核酸类似的结合特性,而且以与天然存在的核苷酸类似的方式代谢。除非另作明确限制,否则所述术语还指寡聚核苷酸类似物,包括PNA(肽核酸(peptidonucleic acid))、反义技术中使用的DNA类似物(硫代磷酸酯、氨基磷酸酯等)。除非另作说明,否则特定核酸序列还隐含地涵盖其保守修饰变体(包括(但不限于)简并密码子取代)和互补序列,以及明确指出的序列。具体来说,可通过产生一个或一个以上所选(或所有)密码子的第三位经混合碱基和/或脱氧肌苷残基取代的序列来实现简并密码子取代(贝泽尔(Batzer)等人,核酸研究(Nucleic Acid Res.) 19:5081(1991);大冢(Ohtsuka)等人,生物化学杂志(J. Biol. Chem.) 260:2605-2608(1985);和卡索尔(Cassol)等人(1992);罗斯里尼(Rossolini)等人,分子和细胞探针(Mol. Cell. Probes) 8:91-98(1994))。

[0073] 术语“MYC”与“MYC基因”同义。二者是指编码Myc多肽的核酸序列。MYC基因包含具有至少120个核苷酸的核苷酸序列,这一核苷酸序列与NCBI入藏登记号NM_002467的序列至少60%到100%一致或同源,例如至少60%、65%、70%、75%、80%、85%、86%、87%、88%、90%、91%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或者约70%到约100%中任一其它百分比一致。在一些实施例中,MYC基因为原癌基因。在某些情况下,在8号染色体上8q24.21处发现MYC基因。在某些情况下,MYC基因在距pter 128,816,862 bp处开始,并且在距pter 128,822,856 bp处结束。在某些情况下,MYC基因为约6kb。在某些情况下,MYC基因编码至少8个独立的mRNA序列,即,5个选择性剪接的变体和3个未剪接的变体。

[0074] 为了测定两个氨基酸序列或两个核酸的同源性百分比,可出于最佳比较的目的来比对这些序列(例如,在第一个氨基酸或核酸序列中引入空位,以便与第二个氨基酸或核酸序列达到最佳比对)。随后可比较相应氨基酸位置或核苷酸位置的氨基酸残基或核苷酸。当占据第一个序列中某一位置的氨基酸残基或核苷酸与第二个序列中的相应位置相同时,则所述分子在该位置一致。两个序列之间的同源性百分比随这两个序列所共有的一致位置的数量而变化(即,一致性% = 一致位置的数量/位置的总数(例如重叠位置) × 100)。在一些实施例中,两个序列的长度相同。

[0075] 为了测定两个序列之间的同源性百分比,使用卡琳(Karlin)和奥切尔(Altschu)(1993)在美国国家科学院院刊(Proc. Natl. Acad. Sci. USA) 90:5873-5877中修改过的卡琳

和奥切尔(1990)美国国家科学院院刊,87:2264-2268中的算法。所述算法已被并入奥切尔等人(1990)分子生物学杂志(J.Mol.Biol.)215:403-410中的NBLAST和XBLAST程序中。NBLAST程序搜索BLAST核苷酸(得分=100,字长=12),获得与本文描述或揭示的核酸序列同源的核苷酸序列。XBLAST程序搜索BLAST蛋白质(得分=50,字长=3)。为获得带空位的比对以供比较,利用奥切尔等人(1997),核酸研究(Nucleic Acids Res.)25:3389-3402中所述的Gapped BLAST。当利用BLAST和Gapped BLAST程序时,使用相应程序(例如XBLAST和NBLAST)的默认参数。更多细节,参看美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information)网站(www.ncbi.nlm.nih.gov)。适合用于本文所述方法中的蛋白质还包括与本文所述的任一蛋白质的氨基酸序列相比较,具有1到15个氨基酸变化,例如具有1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15个氨基酸取代、缺失或添加的蛋白质。在其它实施例中,变化的氨基酸序列与本文所述的任一蛋白质抑制剂的氨基酸序列至少75%一致,例如77%、80%、82%、85%、88%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或100%一致。只要改变的氨基酸序列保留足够的生物活性,以便在本文所述的组合物和方法中起作用,那么这些序列变体蛋白质就适用于本文所述的方法。在进行氨基酸取代时,这些取代应为保守氨基酸取代。例如,在常用氨基酸中,“保守氨基酸取代”是在以下各组内的氨基酸间的取代:(1)甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸;(2)苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸;(3)丝氨酸和苏氨酸;(4)天冬氨酸和谷氨酸;(5)谷氨酰胺和天冬酰胺;和(6)赖氨酸、精氨酸和组氨酸。BLOSUM62表是由约2,000个蛋白质序列区段的局部多重比对得到的氨基酸取代矩阵,提供了超过500组相关蛋白质的高度保守区域(赫尼科夫(Henikoff)等人(1992),美国国家科学院院刊,89:10915-10919)。因此,使用BLOSUM62取代频率来定义在一些实施例中引入本文描述或揭示的氨基酸序列中的保守氨基酸取代。尽管有可能只根据化学特性(如上文所论述)来设计氨基酸取代,但“保守氨基酸取代”的表述优选是指以大于-1的BLOSUM62值表示的取代。例如,如果某一氨基酸取代的特征在于BLOSUM62值为0、1、2或3,那么此取代为保守取代。根据此系统,优选的保守氨基酸取代的特征在于BLOSUM62值至少为1(例如1、2或3),而更优选的保守氨基酸取代的特征在于BLOSUM62值至少为2(例如2或3)。

[0076] 术语“Myc活性”是指Myc多肽与核酸序列的结合。在一些实施例中,MYC活性进一步包括Myc反应性基因的转录活性的MYC调控。在一些实施例中,Myc活性诱导细胞增殖和/或抗体产生。

[0077] 术语“Myc的活化”和“Myc活化”是指Myc活性的诱导。在一些实施例中,Myc的活化是由Myc多肽的过度表达所诱导。在一些实施例中,通过将Myc多肽转运到细胞核中来诱导Myc的活化。在一些实施例中,通过将Myc多肽转运到细胞中来诱导Myc的活化。

[0078] 术语“表达”是指以下的一个或一个以上事件:(1)由细胞内的DNA序列产生RNA模板(例如通过转录);(2)细胞内RNA转录物的加工(例如通过剪接、编辑、5'帽形成和/或3'端形成);(3)RNA序列在细胞内翻译成多肽或蛋白质;(4)细胞内多肽或蛋白质的翻译后修饰;(5)细胞表面上多肽或蛋白质的呈递;(6)多肽或蛋白质从细胞中的分泌或释放。

[0079] 当提到细胞蛋白质时的术语“内源性”是指在无重组操作情况下细胞中天然存在和/或表达的蛋白质;相应地,术语“内源性表达的蛋白质”或“内源性蛋白质”不包括借助重组技术表达的细胞蛋白质。

[0080] 术语“因子相关性细胞”是指如果不与外源性生长因子(例如细胞因子)接触就不

能存活和/或增殖的细胞。当与所需的生长因子接触时,因子相关性细胞就能存活和/或增殖。在不存在所需生长因子时,因子相关性细胞就不能存活(例如会经历细胞凋亡)和/或增殖。

[0081] 本文使用的术语“扩增”是指在细胞培养中因细胞增殖(即分裂)而引起的培养物规模扩大。在一些实施例中,细胞培养物呈现扩增状态(即,细胞培养物达到较大的规模和/或培养物中细胞的浓度增加)。在一些实施例中,细胞培养物呈现负扩增状态(即,细胞培养物达到较小的规模和/或培养物中细胞的浓度降低)。在某些情况下,细胞培养物的扩增可用任何适合的方式(例如染色法、流式细胞术、荧光显微镜技术、HPLC、共聚焦显微镜技术、红外光谱法、放射自显影技术)检测和测量。

[0082] 短语“E盒序列”和“增强子盒序列”在本文中可互换使用,意思指核苷酸序列CANNTG,其中N为任意核苷酸。在某些情况下,E盒序列包含CACGTG。在某些情况下,MYC所编码的转录因子的碱性螺旋-环-螺旋结构域结合于E盒序列。在某些情况下,E盒序列位于基因(例如p21、Bcl-2或鸟氨酸脱羧酶)的上游。在某些情况下,MYC所编码的转录因子与E盒序列的结合允许RNA聚合酶转录位于E盒序列下游的基因。

[0083] 调节细胞活力的方法

[0084] 在一些实施例中,本文揭示调节细胞活力的方法。本文使用的“活力”是指细胞存活的时间长度、细胞增殖速率(或量)或其组合。在一些实施例中,细胞活力有所增加。在一些实施例中,细胞活力有所降低。

[0085] 在一些实施例中,调节是在体内发生。在一些实施例中,调节是在体外发生。在一些实施例中,调节细胞活力的方法包含调节白细胞的活力。在一些实施例中,白细胞为T细胞。在一些实施例中,白细胞为CD4+T细胞。在一些实施例中,白细胞为记忆性T细胞。

[0086] 在一些实施例中,调节细胞活力包含调节MYC基因的表达,和/或Myc多肽的活性。在一些实施例中,调节MYC基因的表达和/或Myc多肽的活性将直接或间接调节受MYC调控的基因或多肽。在一些实施例中,直接或间接受MYC转录因子调控的基因或多肽为:神经颗粒素(neurogranin)、MEF-2c、gfi-1、细胞周期素D2、CDK4、Egr-2、Nab-2、TGIF、NF-kB p105、Carma-1、A1或Bcl-2。

[0087] 增加细胞活力

[0088] 在一些实施例中,调节细胞活力意思是增加细胞活力。在一些实施例中,增加细胞活力意思是:增加细胞存活的时间长度(例如与同一类型的相同或类似的未调节细胞相比较)、增加细胞增殖速率或量(例如与同一类型的相同或类似的未调节细胞相比较),或其组合。

[0089] 在一些实施例中,增加细胞活力包含使细胞与增加Myc多肽的细胞核浓度的试剂接触。在一些实施例中,增加细胞活力包含使细胞与以下各物接触:外源性Myc多肽、增加MYC基因表达的试剂和增加Myc多肽活性的试剂,或其组合(“MYC增加剂(MYC Increasing Agent)”)。在一些实施例中,MYC增加剂是小分子、肽、抗体或其组合。

[0090] 在一些实施例中,增加细胞活力的方法包含使细胞与MYC增加剂接触。在一些实施例中,MYC增加剂是外源性Myc多肽。在一些实施例中,MYC增加剂是一种融合肽,其包含(a)转运肽序列;(b)MYC序列;和任选存在的(c)一个或一个以上将所述转运肽序列与所述MYC序列相连接的分子。在一些实施例中,MYC增加剂是一种融合肽,其包含(a)TAT序列和(b)

MYC序列。

[0091] 在一些实施例中,增加细胞活力的方法包含使细胞与MYC增加剂接触。在一些实施例中,MYC增加剂是MAD-1基因的拮抗剂。在某些情况下,下调MAD-1基因和/或多肽将上调MYC基因和/或由MYC基因编码的多肽的表达。

[0092] 在一些实施例中,增加细胞活力的方法包含使细胞与MYC增加剂接触。在一些实施例中,MYC增加剂是Mxi-1基因的拮抗剂。在某些情况下,下调Mxi-1基因和/或多肽将上调MYC基因和/或由MYC基因编码的多肽的表达。

[0093] 在一些实施例中,增加细胞活力的方法进一步包含鉴别MYC增加剂。在一些实施例中,鉴别MYC增加剂的方法包含鉴别可逆转B细胞的无能的试剂。在一些实施例中,鉴别MYC调节剂的方法包含鉴别可增加因子相关性细胞在无所需生长因子存在下的活力的试剂。在一些实施例中,鉴别MYC增加剂的方法包含鉴别可诱导受MYC反应性启动子(例如E盒序列)控制的报告基因的表达的试剂。

[0094] 在一些实施例中,在与MYC增加剂接触后,细胞活力增加约1倍到约20倍(例如,与同一类型的相同或类似的未调节细胞相比较)。在一些实施例中,在与MYC增加剂接触后,细胞活力增加约1倍到约15倍(例如,与同一类型的相同或类似的未调节细胞相比较)。在一些实施例中,在与MYC增加剂接触后,细胞活力增加约1倍到约10倍(例如,与同一类型的相同或类似的未调节细胞相比较)。在一些实施例中,在与MYC增加剂接触后,细胞活力增加约1倍到约5倍(例如,与同一类型的相同或类似的未调节细胞相比较)。在一些实施例中,在与MYC增加剂接触后,细胞活力增加约1倍到约4倍(例如,与同一类型的相同或类似的未调节细胞相比较)。在一些实施例中,在与MYC增加剂接触后,细胞活力增加1倍到约2倍(例如,与同一类型的相同或类似的未调节细胞相比较)。

[0095] 在一些实施例中,细胞为T细胞。在一些实施例中,所述T细胞为记忆性T细胞。在一些实施例中,调节T细胞活力是指延长T细胞的寿命。在一些实施例中,延长记忆性T细胞的寿命将使体内记忆性T细胞的浓度变高。在某些情况下,较高的记忆性T细胞浓度将使针对抗原的初次免疫应答加速。在某些情况下,上调MYC基因将使无能T细胞减少。在某些情况下,无能T细胞减少将使针对抗原的初次免疫应答加速。在某些情况下,MYC基因上调将使T细胞应答抗原而活化所耗费的时间缩短。在某些情况下,T细胞应答抗原而活化所耗费的时间缩短将使针对抗原的初次免疫应答加速。

[0096] 降低细胞活力

[0097] 在一些实施例中,调节细胞活力意思是降低细胞活力。在一些实施例中,降低细胞活力意思是:缩短细胞存活的时间长度和减少细胞增殖速率或量(例如,与同一类型的相同或类似的未调节细胞相比较)。在一些实施例中,降低细胞活力是指缩短细胞存活的时间长度和减少细胞增殖速率或量(例如,与同一类型的相同或类似的未调节细胞相比较)。

[0098] 在一些实施例中,降低细胞活力包含使细胞与降低MYC的细胞核浓度的试剂接触。在一些实施例中,降低细胞活力包含使细胞与以下各物接触:降低MYC基因表达的试剂和降低Myc多肽的活性的试剂,或其组合(“MYC降低剂(MYC Decreasing Agent)”)。在一些实施例中,MYC降低剂是小分子、生物试剂(biologic)、肽、抗体或其组合。

[0099] 在一些实施例中,降低细胞活力的方法包含使细胞与MYC降低剂接触。在一些实施例中,MYC降低剂是MAD-1基因和MAD-1多肽的激动剂或其组合。在某些情况下,上调MAD-1基

因和/或多肽将下调MYC基因和/或由MYC基因编码的多肽的表达。在一些实施例中,调节细胞活力的方法包含使细胞与MYC降低剂接触。

[0100] 在一些实施例中,降低细胞活力的方法包含使细胞与MYC降低剂接触。在一些实施例中,MYC降低剂为:Mxi-1基因和Mxi-1多肽的激动剂,或其组合。在某些情况下,上调Mxi-1基因和/或多肽将下调MYC基因和/或由MYC基因编码的多肽的表达。

[0101] 在一些实施例中,鉴别MYC降低剂的方法包含鉴别当因子相关性细胞与必要的生长因子接触时会降低所述因子相关性细胞的活力的试剂。在一些实施例中,鉴别MYC降低剂的方法包含鉴别可抑制受MYC反应性启动子(例如E盒序列)控制的报告基因的表达的试剂。

[0102] 在一些实施例中,细胞活力降低至约1/2到约1/26(例如,与同一类型的相同或类似的未调节细胞相比较)。在一些实施例中,细胞活力降低至约1/2到约1/21(例如,与同一类型的相同或类似的未调节细胞相比较)。在一些实施例中,细胞活力降低至约1/2到约1/16(例如,与同一类型的相同或类似的未调节细胞相比较)。在一些实施例中,细胞活力降低至约1/2到约1/11(例如,与同一类型的相同或类似的未调节细胞相比较)。在一些实施例中,细胞活力降低至约1/2到约1/6(例如,与同一类型的相同或类似的未调节细胞相比较)。在一些实施例中,细胞活力降低至约1/2到约1/5(例如,与同一类型的相同或类似的未调节细胞相比较)。在一些实施例中,细胞活力降低至约1/2到约1/3(例如,与同一类型的相同或类似的未调节细胞相比较)。

[0103] 在一些实施例中,细胞为T细胞。在一些实施例中,所述T细胞为记忆性T细胞。在某些情况下,下调MYC基因将缩短T细胞的寿命。在某些情况下,记忆性T细胞的寿命缩短将使体内记忆性T细胞的浓度降低。在某些情况下,记忆性T细胞的浓度降低将使针对抗原的初次免疫应答减速、导致治疗自体免疫性病症和/或引起免疫抑制。在某些情况下,下调MYC基因将使无能T细胞增加。在某些情况下,无能T细胞增加将使针对抗原的初次免疫应答减速、导致治疗自体免疫性病症和/或引起免疫抑制。在某些情况下,下调MYC基因将使T细胞应答抗原而活化所耗费的时间增加。在某些情况下,T细胞应答抗原而活化所耗费的时间增加将使针对抗原的初次免疫应答减速、导致治疗自体免疫性病症和/或引起免疫抑制。

[0104] 调节免疫应答的方法

[0105] 在某些实施例中,本文揭示一种调节免疫应答的方法。在一些实施例中,免疫应答是适应性免疫应答(例如记忆性B细胞和记忆性T细胞)。在一些实施例中,调节免疫应答是指增加(例如诱导、补充、扩大)免疫应答。在一些实施例中,调节免疫应答是指减少(例如抑制或压制)免疫应答。在一些实施例中,调节是在体外发生。在一些实施例中,调节是在体内发生。

[0106] 在一些实施例中,调节免疫应答的方法包含调节淋巴细胞的活力。在一些实施例中,淋巴细胞为T细胞。在一些实施例中,所述T细胞为CD4⁺T细胞。在一些实施例中,所述T细胞为记忆性T细胞。

[0107] 在一些实施例中,调节免疫应答包含调节MYC基因的表达和/或Myc多肽的活性。在一些实施例中,调节MYC基因的表达和/或Myc多肽的活性将直接或间接调节受MYC调控的基因或多肽。在一些实施例中,直接或间接受MYC转录因子调控的基因或多肽是神经颗粒素、MEF-2c、gfi-1、细胞周期素D2、CDK4、Egr-2、Nab-2、TGIF、NF- κ B p105、Carma-1、A1或Bcl-2。

[0108] 在一些实施例中,所述个体为人。

[0109] 诱导免疫应答

[0110] 在一些实施例中,调节免疫应答是指增加(例如诱导、补充、扩大)免疫应答。在一些实施例中,增加免疫应答包括增加T细胞寿命、增加T细胞增殖速率、增加记忆性T细胞应答抗原的速率、降低无能细胞的数量,和/或增加细胞结束无能的速率(例如,与同一类型的相同或类似的未调节细胞相比较)。

[0111] 在一些实施例中,增加免疫应答包含对有需要的个体授予增加MYC的细胞核浓度的试剂。在一些实施例中,增加免疫应答包含对有需要的个体授予:外源性MYC、增加MYC基因表达的试剂和增加MYC活性的试剂(“MYC增加剂”)。在一些实施例中,MYC增加剂是小分子、生物试剂、肽、抗体或其组合。

[0112] 在一些实施例中,增加免疫应答的方法包含使细胞与MYC增加剂接触。在一些实施例中,MYC增加剂是外源性Myc多肽。在一些实施例中,MYC增加剂是一种融合肽,其包含(a)转运肽序列;(b)MYC序列;和任选存在的(c)一个或一个以上将所述转运肽序列与所述MYC序列相连接的分子。在一些实施例中,MYC增加剂是一种融合肽,其包含(a)TAT序列和(b)MYC序列。

[0113] 在一些实施例中,增加免疫应答的方法包含使细胞与MYC增加剂接触。在一些实施例中,MYC增加剂是MAD-1基因的拮抗剂。在某些情况下,下调MAD-1基因和/或多肽将上调MYC基因和/或由MYC基因编码的多肽的表达。

[0114] 在一些实施例中,增加免疫应答的方法包含使细胞与MYC增加剂接触。在一些实施例中,MYC增加剂是Mxi-1基因的拮抗剂。在某些情况下,下调Mxi-1基因和/或多肽将上调MYC基因和/或由MYC基因编码的多肽的表达。

[0115] 在一些实施例中,在与MYC增加剂接触后,免疫应答增加超过1倍到约20倍(例如,与同一类型的相同或类似的未调节免疫应答相比较)。在一些实施例中,在与MYC增加剂接触后,免疫应答增加超过1倍到约15倍(例如,与同一类型的相同或类似的未调节免疫应答相比较)。在一些实施例中,在与MYC增加剂接触后,免疫应答增加超过1倍到约10倍(例如,与同一类型的相同或类似的未调节免疫应答相比较)。在一些实施例中,在与MYC增加剂接触后,免疫应答增加超过1倍到约5倍(例如,与同一类型的相同或类似的未调节免疫应答相比较)。在一些实施例中,在与MYC增加剂接触后,免疫应答增加超过1倍到约4倍(例如,与同一类型的相同或类似的未调节免疫应答相比较)。在一些实施例中,在与MYC增加剂接触后,免疫应答增加超过1倍到约2倍(例如,与同一类型的相同或类似的未调节免疫应答相比较)。

[0116] 在一些实施例中,增加免疫应答的方法包含对有需要的个体授予MYC增加剂。在一些实施例中,在对有需要的个体授予MYC增加剂后,免疫应答增加超过1倍到约10倍(例如,与同一类型的相同或类似的未调节免疫应答相比较)。在一些实施例中,在对有需要的个体授予MYC增加剂后,免疫应答增加超过1倍到约20倍(例如,与同一类型的相同或类似的未调节免疫应答相比较)。在一些实施例中,在对有需要的个体授予MYC增加剂后,免疫应答增加超过1倍到约15倍(例如,与同一类型的相同或类似的未调节免疫应答相比较)。在一些实施例中,在对有需要的个体授予MYC增加剂后,免疫应答增加超过1倍到约10倍(例如,与同一类型的相同或类似的未调节免疫应答相比较)。在一些实施例中,在对有需要的个体授予MYC增加剂后,免疫应答增加超过1倍到约5倍(例如,与同一类型的相同或类似的未调节免

疫应答相比较)。在一些实施例中,在对有需要的个体授予MYC增加剂后,免疫应答增加超过1倍到约4倍(例如,与同一类型的相同或类似的未调节免疫应答相比较)。在一些实施例中,在对有需要的个体授予MYC增加剂后,免疫应答增加超过1倍到约2倍(例如,与同一类型的相同或类似的未调节免疫应答相比较)。

[0117] 在一些实施例中,增加免疫应答的方法进一步包含共授予疫苗。在一些实施例中,疫苗是在MYC增加剂之前、之后或与MYC增加剂同时授予。在一些实施例中,MYC增加剂刺激免疫系统,并增加免疫系统对疫苗的应答。在一些实施例中,MYC增加剂增强免疫应答。在一些实施例中,MYC增加剂与疫苗协同作用。在一些实施例中,所述试剂为疫苗佐剂。

[0118] 在一些实施例中,疫苗包含死亡微生物、减毒微生物、类毒素、病原体亚单位、核酸或其组合。在一些实施例中,疫苗是针对以下的疫苗:甲型肝炎;乙型肝炎;脊髓灰质炎;麻疹;腮腺炎;风疹;白喉;百日咳;破伤风;流感;水痘带状疱疹病毒;轮状病毒;流感;脑膜炎球菌病症;肺炎;天花;霍乱;黑死病;黄热病;结核病;人乳头瘤病毒(HPV);疟疾;利什曼原虫(*leishmania*);白色念珠菌(*Candida albican*);过敏原;或其组合。在一些实施例中,疫苗是针对癌症(例如滤泡性B细胞性非霍奇金氏淋巴瘤(Follicular B-cell Non-Hodgkin's Lymphoma)、前列腺癌、多发性骨髓瘤、肾癌、皮肤黑色素瘤和眼黑色素瘤)的疫苗。在一些实施例中,癌症疫苗是患者特异性疫苗(例如,此疫苗包含患者自身的肿瘤细胞)。在一些实施例中,癌症疫苗包含前列腺特异性抗原(Prostate Specific Antigen,PSA)。在一些实施例中,癌症疫苗包含唾液酸化Tn(STn)。在一些实施例中,癌症疫苗包含热激蛋白(Heat Shock Protein,HSP)(例如gp96)。在一些实施例中,癌症疫苗包含神经节苷脂分子(例如GM2、GD2和GD3)。在一些实施例中,癌症疫苗包含癌胚抗原(carcinoembryonic antigen,CEA)。在一些实施例中,癌症疫苗包含MART-1(也称为Melan-A)。在一些实施例中,癌症抗原包含酪氨酸酶。在一些实施例中,疫苗为DNA疫苗。

[0119] 在一些实施例中,疫苗包含抗原部分。在一些实施例中,抗原部分为类毒素、肽、核酸序列、多糖或其组合。在一些实施例中,抗原部分来源于病原体,所述病原体选自:甲型肝炎;乙型肝炎;脊髓灰质炎;麻疹;腮腺炎;风疹;白喉;百日咳;破伤风;流感;水痘带状疱疹病毒;轮状病毒;脑膜炎球菌;肺炎;天花;霍乱;黑死病;黄热病;结核病;人乳头瘤病毒;或其组合。在一些实施例中,抗原部分来源于赘生性细胞。在一些实施例中,抗原部分是核酸或核酸的聚合物。

[0120] 在一些实施例中,使接收针对某一抗原的疫苗接种的个体的免疫应答增加将增加针对所述抗原的记忆性T细胞、B细胞或其组合的活力(并由此增加其浓度)。在某些情况下,使接收针对某一抗原的疫苗接种的个体的免疫应答增加将加速所述抗原对T细胞的活化。在某些情况下,使接收针对某一抗原的疫苗接种的个体的免疫应答增加将减少无能T细胞。

[0121] 在一些实施例中,增加免疫应答的方法进一步包含鉴别MYC增加剂。在一些实施例中,鉴别MYC增加剂的方法包含鉴别可逆转B细胞的无能的试剂。在一些实施例中,鉴别MYC增加剂的方法包含鉴别可增加因子相关性细胞在无所需生长因子存在下的活力的试剂。在一些实施例中,鉴别MYC增加剂的方法包含鉴别可诱导受MYC反应性启动子(例如E盒序列)控制的报告基因的表达的试剂。

[0122] 减少免疫应答

[0123] 在一些实施例中,调节免疫应答是指减少(例如抑制或压制)免疫应答。在一些实

施例中,减少免疫应答包括缩短T细胞寿命、减少T细胞的增殖、降低记忆性T细胞应答抗原的速率、增加无能细胞的数量,和/或降低细胞结束无能的速率(例如,与同一类型的相同或类似的未调节细胞相比较)。

[0124] 在一些实施例中,减少免疫应答包含对有需要的个体投予降低MYC的细胞核浓度的试剂。在一些实施例中,减少免疫应答包含对有需要的个体投予:降低MYC基因表达的试剂和降低Myc多肽活性的试剂(“MYC降低剂”)。在一些实施例中,MYC降低剂是小分子、生物试剂、肽、抗体或其组合。

[0125] 在一些实施例中,减少免疫应答的方法包含使细胞与MYC降低剂接触。在一些实施例中,MYC降低剂为:MAD-1基因和MAD-1多肽的激动剂或其组合。在某些情况下,上调MAD-1基因和/或多肽将下调MYC基因和/或由MYC基因编码的多肽的表达。

[0126] 在一些实施例中,减少免疫应答的方法包含使细胞与MYC降低剂接触。在一些实施例中,MYC降低剂为:Mxi-1基因和Mxi-1多肽的激动剂,或其组合。在某些情况下,上调Mxi-1基因和/或多肽将下调MYC基因和/或由MYC基因编码的多肽的表达。

[0127] 在一些实施例中,在与MYC降低剂接触后,免疫应答降低至小于1/2到约1/26(例如,与同一类型的相同或类似的未调节免疫应答相比较)。在一些实施例中,在与MYC降低剂接触后,免疫应答降低至小于1/2到约1/21(例如,与同一类型的相同或类似的未调节免疫应答相比较)。在一些实施例中,在与MYC降低剂接触后,免疫应答降低至小于1/2到约1/16(例如,与同一类型的相同或类似的未调节免疫应答相比较)。在一些实施例中,在与MYC降低剂接触后,免疫应答降低至小于1/2到约1/11(例如,与同一类型的相同或类似的未调节免疫应答相比较)。在一些实施例中,在与MYC降低剂接触后,免疫应答降低至小于1/2到约1/6(例如,与同一类型的相同或类似的未调节免疫应答相比较)。在一些实施例中,在与MYC降低剂接触后,免疫应答降低至小于1/2到约1/5(例如,与同一类型的相同或类似的未调节免疫应答相比较)。在一些实施例中,在与MYC降低剂接触后,免疫应答降低至小于1/2到约1/3(例如,与同一类型的相同或类似的未调节免疫应答相比较)。

[0128] 在一些实施例中,减少免疫应答的方法包含对有需要的个体投予MYC降低剂。在一些实施例中,在对有需要的个体投予MYC降低剂后,免疫应答降低至小于1/2到约1/26(例如,与同一类型的相同或类似的未调节免疫应答相比较)。在一些实施例中,在对有需要的个体投予MYC降低剂后,免疫应答降低至小于1/2到约1/21(例如,与同一类型的相同或类似的未调节免疫应答相比较)。在一些实施例中,在对有需要的个体投予MYC降低剂后,免疫应答降低至小于1/2到约1/16(例如,与同一类型的相同或类似的未调节免疫应答相比较)。在一些实施例中,在对有需要的个体投予MYC降低剂后,免疫应答降低至小于1/2到约1/11(例如,与同一类型的相同或类似的未调节免疫应答相比较)。在一些实施例中,在对有需要的个体投予MYC降低剂后,免疫应答降低至小于1/2到约1/6(例如,与同一类型的相同或类似的未调节免疫应答相比较)。在一些实施例中,在对有需要的个体投予MYC降低剂后,免疫应答降低至小于1/2到约1/5(例如,与同一类型的相同或类似的未调节免疫应答相比较)。在一些实施例中,在对有需要的个体投予MYC降低剂后,免疫应答降低至小于1/2到约1/3(例如,与同一类型的相同或类似的未调节免疫应答相比较)。

[0129] 在一些实施例中,减少免疫应答的方法包含对患有自体免疫性病症的个体投予MYC降低剂。在一些实施例中,MYC降低剂减少免疫应答。在某些情况下,减少患有自体免疫

性病症的个体的免疫应答将改善和/或防止个体的免疫系统针对自身抗原产生免疫应答。在一些实施例中,自体免疫性病症为卡斯曼氏症(Castleman's Disorder)、狼疮、多发性硬化、硬皮病色素沉着(scleroderma pigmentosa)、自体免疫性淋巴细胞增生综合症(Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome,ALPS)、重症肌无力、糖尿病、哮喘、类风湿性关节炎、白癜风、狄乔治氏综合症(diGeorge's syndrome)、格雷氏症(Grave's disorder)、克隆氏症(Crohn's disorder)、发炎性肠病、结肠炎、睾丸炎、硬皮病色素沉着、葡萄膜炎、移植后淋巴细胞增生性病症(Post-Transplant Lymphoproliferative Disorder,PTLD)或自体免疫性病症相关性淋巴结病变(Autoimmune Disorder-Associated Lymphadenopathy,ADAL)。

[0130] 在一些实施例中,减少免疫应答的方法包含对正接收、将接收或已经接收器官或骨髓移植(“移植”)的个体授予MYC降低剂。在一些实施例中,MYC降低剂减少免疫应答。在某些情况下,减少正接收、将接收或已经接收器官移植或骨髓移植的个体的免疫应答将改善和/或防止针对移植物的免疫应答。

[0131] 在一些实施例中,鉴别MYC降低剂的方法包含鉴别当因子相关性细胞与必要的生长因子接触时会降低所述因子相关性细胞的活力的试剂。在一些实施例中,鉴别MYC降低剂的方法包含鉴别可抑制受MYC反应性启动子(例如E盒序列)控制的报告基因的表达的试剂。

[0132] 调节以异常MYC基因表达或异常MYC多肽活性为特征的病症的方法

[0133] 在某些实施例中,本文揭示治疗以MYC过度表达或Myc多肽活性过高为特征的病症的方法。在某些实施例中,本文还揭示治疗以MYC表达不足或Myc多肽活性缺乏为特征的病症的方法。在一些实施例中,所述方法包含对有需要的个体授予有效量的调节MYC基因表达和/或Myc多肽活性的试剂。

[0134] 在某些实施例中,本文揭示治疗以MYC表达不足或Myc多肽活性缺乏为特征的病症的方法。在一些实施例中,所述方法包含对有需要的个体授予有效量的MYC增加剂。在一些实施例中,MYC增加剂是小分子、生物试剂、肽、抗体或其组合。

[0135] 在一些实施例中,所述方法包含对有需要的个体授予有效量的MYC增加剂。在一些实施例中,MYC增加剂是外源性Myc多肽。在一些实施例中,MYC增加剂是一种融合肽,其包含(a)转运肽序列;(b)MYC序列;和任选存在的(c)一个或一个以上将所述转运肽序列与所述MYC序列相连接的分子。在一些实施例中,MYC增加剂是一种融合肽,其包含(a)TAT序列和(b)MYC序列。

[0136] 在一些实施例中,所述方法包含对有需要的个体授予有效量的MYC增加剂。在一些实施例中,MYC增加剂是MAD-1基因的拮抗剂。在某些情况下,下调MAD-1基因和/或多肽将上调MYC基因和/或由MYC基因编码的多肽的表达。

[0137] 在一些实施例中,所述方法包含对有需要的个体授予有效量的MYC增加剂。在一些实施例中,MYC增加剂是Mxi-1基因的拮抗剂。在某些情况下,下调Mxi-1基因和/或多肽将上调MYC基因和/或由MYC基因编码的多肽的表达。

[0138] 在某些实施例中,本文揭示治疗以MYC过度表达或Myc多肽活性过高为特征的病症的方法。在一些实施例中,所述方法包含对有需要的个体授予有效量的MYC降低剂。在一些实施例中,MYC降低剂是小分子、生物试剂、肽、抗体或其组合。

[0139] 在一些实施例中,所述方法包含对有需要的个体授予有效量的MYC降低剂。在一些

实施例中,MYC降低剂为:MAD-1基因和MAD-1多肽的激动剂或其组合。在某些情况下,上调MAD-1基因和/或多肽将下调MYC基因和/或由MYC基因编码的多肽的表达。

[0140] 在一些实施例中,所述方法包含对有需要的个体投予有效量的MYC降低剂。在一些实施例中,调节细胞活力的方法包含使细胞与MYC降低剂接触。在一些实施例中,MYC降低剂为:Mxi-1基因和Mxi-1多肽的激动剂,或其组合。在某些情况下,上调Mxi-1基因和/或多肽将下调MYC基因和/或由MYC基因编码的多肽的表达。

[0141] 在一些实施例中,个体过度表达MYC或Myc多肽活性过高的指征是发展自体免疫性疾病。在一些实施例中,自体免疫性疾病为卡斯曼氏症、狼疮、多发性硬化、硬皮病色素沉着、自体免疫性淋巴细胞增生综合症(ALPS)、重症肌无力、糖尿病、哮喘、类风湿性关节炎、白癜风、狄乔治氏综合症、格雷氏病、克隆氏病、发炎性肠病、结肠炎、睾丸炎、硬皮病色素沉着、葡萄膜炎、移植后淋巴细胞增生性疾病(PTLD)或自体免疫性疾病相关性淋巴结病变(ADAL)、器官移植物排斥、组织移植物排斥或其组合。

[0142] 在一些实施例中,个体表达MYC不足或Myc多肽活性极低或无活性的指征是无能B细胞和/或T细胞数量增加。在某些情况下,无能B细胞中IgM、IgMa、IgMb、B220、CD21/35、CD23、CD24(HSA)、CD40、CD69、CD80和/或CD86(B7-2)的表达相比非无能B细胞有所下调。在某些情况下,逆转(例如部分或完全)无能将使IgM、IgMa、IgMb、B220、CD21/35、CD23、CD24(HSA)、CD40、CD69、CD80和/或CD86(B7-2)的表达增加。

[0143] 在一些实施例中,治疗以MYC基因表达异常或Myc多肽活性异常为特征的病症的方法包含鉴别可逆转B细胞的无能的试剂。在一些实施例中,治疗以MYC基因表达异常或Myc多肽活性异常为特征的病症的方法包含鉴别可增加因子相关性细胞在无所需生长因子存在下的活力的试剂。在一些实施例中,治疗以MYC基因表达异常或Myc多肽活性异常为特征的病症的方法包含鉴别当因子相关性细胞与必要的生长因子接触时会降低所述因子相关性细胞的活力的试剂。在一些实施例中,治疗以MYC基因表达异常或Myc多肽活性异常为特征的病症的方法包含鉴别可诱导受MYC反应性启动子(例如E盒序列)控制的报告基因的表达的试剂。在一些实施例中,治疗以MYC基因表达异常或Myc多肽活性异常为特征的病症的方法包含鉴别可抑制受MYC反应性启动子(例如E盒序列)控制的报告基因的表达的试剂。

[0144] 外源性MYC

[0145] 在一些实施例中,本文揭示一种融合肽,其包含(a)转运肽序列和(b)MYC序列。在一些实施例中,所述融合肽是式(I)的肽:

[0146] 转运肽序列-MYC序列。

[0147] 在一些实施例中,本文揭示的融合肽包含(a)转运肽序列;(b)MYC序列;和(c)一个或一个以上将所述转运肽序列与所述MYC序列相连接的分子。在一些实施例中,所述融合肽是式(II)的肽:

[0148] 转运肽序列-X-MYC序列,

[0149] 其中-X-是将转运肽序列与MYC序列相连接的分子。在一些实施例中,-X-为氨基酸。在一些实施例中,-X-为至少一个氨基酸。

[0150] 本文使用的“转运肽”是指促进肽透入细胞和组织中的肽序列。在一些实施例中,转运肽是TAT。在一些实施例中,转运肽是TAT_[48-57]。在一些实施例中,转运肽是TAT_[57-48]。]

[0151] 本文使用的“MYC序列”是MYC氨基酸肽序列。在一些实施例中,Myc多肽是完整的

Myc多肽序列。在一些实施例中，Myc多肽是部分的Myc多肽序列。在一些实施例中，MYC为c-MYC。在一些实施例中，Myc多肽序列包含SEQ ID NO.1:

[0152] MDFFRVVENQQPPATMPLNVSFTNRNYDLDYDSVQPYFYCDEEENF

[0153] YQQQQQSELQPPASEDIWKKFELLPTPPLSPRRSGLCSPSYVAVTP

[0154] FSLRGDNDGGGGSFSTADQLEMVTELLGGDMVNQSFICDPDDETFIK

[0155] NIIIQDCMWSGFSAAAKLVSEKLASYQAARKDSGSPNPARGHSVCST

[0156] SSSLYLQDLSAAASECIDPSVVFYPLNDSSSPKSCASQDSSAFSPSSDS

[0157] LLSSTESSPQGSPEPLVLHEETPPTTSSDSEEEQEDEEEDVVSVEKRQ

[0158] APGKRSESGSPSAGGHKPPHSPLVLRCHVSTHQHNYAAPPSTRKD

[0159] YPAAKRVKLDSSRVLRQISNNRKCTSPRSSDTEENVKRRTHNVLERQ

[0160] RRNELKRSFFALRDQIPELENNEKAPKVVILKKATAYILSVQAEQKL

[0161] ISEEDLLRKRREQLKHKLEQLRKGELNSKLE。

[0162] 在一些实施例中，本文揭示的融合肽包含 (a) TAT和 (b) c-MYC。在一些实施例中，本文揭示的融合肽包含 (a) TAT_[48-57]和 (b) c-MYC。在一些实施例中，本文揭示的融合肽包含 (a) TAT_[57-48]和 (b) c-MYC。

[0163] 在一些实施例中，本文揭示的融合肽包含 (a) TAT、(b) 连接子氨基酸和 (c) c-MYC。在一些实施例中，本文揭示的融合肽包含 (a) TAT_[48-57]、(b) 连接子氨基酸和 (c) c-MYC。在一些实施例中，本文揭示的融合肽包含 (a) TAT_[57-48]、(b) 连接子氨基酸和 (c) c-MYC。

[0164] 在一些实施例中，本文揭示的融合肽进一步包含至少一个便于融合蛋白的纯化的氨基酸序列。在一些实施例中，本文揭示的融合肽包含蛋白质标签。在一些实施例中，本文揭示的融合肽包含多聚组氨酸标签。在一些实施例中，本文揭示的融合肽包含表位标签。在一些实施例中，本文揭示的融合肽包含多聚组氨酸标签和表位标签。在一些实施例中，本文揭示的融合肽包含6个组氨酸的标签 (SEQ ID NO:3) 和V5表位标签。

[0165] 在一些实施例中，组氨酸标签是6个组氨酸的标签 (SEQ ID NO:3)。在一些实施例中，组氨酸标签包含序列HHHHHH (SEQ ID NO:3)。在一些实施例中，组氨酸标签是借助任何适合的方法添加到本文揭示的融合蛋白中。在一些实施例中，将TAT-Myc多肽序列克隆到编码多聚组氨酸标签的表达载体中。在一些实施例中，借助PCR添加多聚组氨酸标签 (即，PCR引物包含多聚组氨酸序列)。

[0166] 在一些实施例中，本文揭示的融合肽进一步包含至少一个蛋白质标签。在一些实施例中，本文揭示的融合肽包含表位标签。在一些实施例中，本文揭示的融合肽进一步包含V5表位标签。在一些实施例中，V5标签包含氨基酸：GKPIPPLLGLDST (SEQ ID NO:4)。在一些实施例中，V5标签包含氨基酸：IPNPLLGLD (SEQ ID NO:5)。在一些实施例中，V5标签是借助任何适合的方法添加到本文揭示的融合蛋白中。在一些实施例中，将TAT-Myc多肽序列克隆到编码V5标签的表达载体中。在一些实施例中，借助PCR添加V5标签 (即，PCR引物包含V5序列)。

[0167] 在一些实施例中，氨基酸为D型。在一些实施例中，氨基酸为L型。在一些实施例中，第一组多个氨基酸为D型，而第二组多个为L型。

[0168] 在一些实施例中，MYC增加剂包含SEQ ID NO.2:

[0169] MRKRRRQRRRMDFFRVVENQQPPATMPLNVSFTNRNYDLDYDSVQ

[0170] PYFYCDEEENFYQQQQQSELPAPPSEDIWKKFELLPTPPLSPSRRSG
 [0171] LCSPSYVAVTPFSLRGDNDGGGGSFSTADQLEMVTELLGGDMVNS
 [0172] FICDPDETFIKNIIIQDCMWSGFSAAAKLVSEKLASYQAARKDSGSP
 [0173] NPARGHSVCSTSSLYLQDL SAAASECIDPSVVPYPLNDSSSPKSCAS
 [0174] QDSSAFSPSSDLSLSTESSPQGSPEPLVLHEETPPTTSSDSEEEQEDEE
 [0175] EIDVVSVEKRQAPGKRSESGSPSAGGHSKPPHSPLVLKRCHVSTHQH
 [0176] NYAAPPSTRKDYPAAKRVKLD SVRVLRQISNNRKCTSPRSSDTEENV
 [0177] KRRTHNVLERQRRNELKRSFFALRDQIPELENNEKAPKVVILKKATA
 [0178] YILSVQAEEQKLI SEEDLLRKRREQLKHKLEQLRKGELNSKLEGKPIP
 [0179] NPLLGLDSTRTGHHHHHHH。

[0180] 构建MYC-TAT肽

[0181] 在一些实施例中,本文揭示的MYC-TAT融合肽是借助任何适合的方法构建。在一些实施例中,编码MYC-TAT融合肽的核苷酸序列是借助PCR产生。在一些实施例中,人MYC序列的正向引物包含TAT蛋白质转导结构域的同框N末端9个氨基酸的序列(即,RKKRRQRRR (SEQ ID NO:6))。在一些实施例中,设计的人MYC序列的反向引物去除了终止密码子。在一些实施例中,将PCR产物克隆到任何适合的表达载体(下文中p-TAT-MYC)中。在一些实施例中,表达载体包含多聚组氨酸标签和V5标签。

[0182] 鉴别试剂的分析法

[0183] 无能的逆转

[0184] 在某些实施例中,本文揭示一种鉴别可逆转B细胞的无能的试剂的方法。在某些情况下,逆转B细胞的无能的试剂可增加免疫应答和/或增加细胞活力。在某些情况下,逆转B细胞的无能的试剂可上调MYC(例如MYC基因和/或Myc多肽)。

[0185] 在一些实施例中,鉴别可逆转B细胞的无能的试剂的方法包含(a)使多个无能B细胞与一种试剂接触;(b)在使所述多个细胞与所述试剂接触后,检测和/或测量细胞培养物中一个或一个以上细胞表面标记(例如指示非无能细胞的存在细胞表面标记)的表达量。在一些实施例中,细胞表面标记为IgM、IgMa、IgMb、B220、CD21/35、CD23、CD24 (HSA)、CD40、CD69、CD80和/或CD86 (B7-2)。

[0186] 在某些情况下,无能B细胞中IgM、IgMa、IgMb、B220、CD21/35、CD23、CD24 (HSA)、CD40、CD69、CD80和/或CD86 (B7-2)的表达相比非无能B细胞有所下调。在某些情况下,逆转(例如部分或完全)无能将使IgM、IgMa、IgMb、B220、CD21/35、CD23、CD24 (HSA)、CD40、CD69、CD80和/或CD86 (B7-2)的表达增加。

[0187] 在一些实施例中,鉴别可逆转B细胞的无能的试剂的方法包含在细胞表面标记的表达上调(例如与未接触试剂的无能B细胞相比较)时将试剂鉴别为免疫应答激动剂。在一些实施例中,在活化的B细胞上,细胞表面标记的表达上调(当与无能B细胞上的表达模式相比较时)约10%到约100%(例如至少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、86%、87%、88%、90%、91%、92%、94%、95%、96%、97%、98%,或者约10%到约100%内的任何其它百分比)。在一些实施例中,在活化的B细胞上,细胞表面标记的表达上调(当与无能B细胞上的表达模式相比较时)约30%到约100%(例如至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、

86%、87%、88%、90%、91%、92%、94%、95%、96%、97%、98%，或者约30%到约100%内的任何其它百分比)。在一些实施例中，在活化的B细胞上，细胞表面标记的表达上调(当与无能B细胞上的表达模式相比较时)约50%到约100%(例如至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、86%、87%、88%、90%、91%、92%、94%、95%、96%、97%、98%，或者约50%到约100%内的任何其它百分比)。在一些实施例中，在活化的B细胞上，细胞表面标记的表达上调(当与无能B细胞上的表达模式相比较时)约70%到约100%(例如至少70%、75%、80%、85%、86%、87%、88%、90%、91%、92%、94%、95%、96%、97%、98%，或者约70%到约100%内的任何其它百分比)。在一些实施例中，在活化的B细胞上，细胞表面标记的表达上调(当与无能B细胞上的表达模式相比较时)约80%到约100%(例如至少80%、85%、86%、87%、88%、90%、91%、92%、94%、95%、96%、97%、98%，或者约80%到约100%内的任何其它百分比)。

[0188] 在一些实施例中，鉴别可逆转B细胞的无能的试剂的方法包含在细胞表面标记的表达下调(例如与未接触试剂的非无能B细胞相比较)时将试剂鉴别为免疫应答拮抗剂。在一些实施例中，细胞表面标记的表达下调(例如，如与未接触试剂的非无能B细胞相比较)约10%到约100%(例如至少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、86%、87%、88%、90%、91%、92%、94%、95%、96%、97%、98%，或者约10%到约100%内的任何其它百分比)。在一些实施例中，细胞表面标记的表达下调(例如，如与未接触试剂的非无能B细胞相比较)约30%到约100%(例如至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、86%、87%、88%、90%、91%、92%、94%、95%、96%、97%、98%，或者约30%到约100%内的任何其它百分比)。在一些实施例中，细胞表面标记的表达下调(例如，如与未接触试剂的非无能B细胞相比较)约50%到约100%(例如至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、86%、87%、88%、90%、91%、92%、94%、95%、96%、97%、98%，或者约50%到约100%内的任何其它百分比)。在一些实施例中，细胞表面标记的表达下调(例如，如与未接触试剂的非无能B细胞相比较)约70%到约100%(例如至少70%、75%、80%、85%、86%、87%、88%、90%、91%、92%、94%、95%、96%、97%、98%，或者约70%到约100%内的任何其它百分比)。在一些实施例中，细胞表面标记的表达下调(例如，如与未接触试剂的非无能B细胞相比较)约80%到约100%(例如至少80%、85%、86%、87%、88%、90%、91%、92%、94%、95%、96%、97%、98%，或者约80%到约100%内的任何其它百分比)。

[0189] 在一些实施例中，鉴别可逆转B细胞的无能的试剂的方法进一步包含比较以下两者：(1)在多个无能B细胞与试剂接触后于所述多个细胞中观察到的细胞表面标记的表达量；与(2)在对照组中观察到的细胞表面标记的表达量。在一些实施例中，所述对照组是多个未与试剂接触的无能B细胞。

[0190] 在一些实施例中，鉴别可逆转B细胞的无能的试剂的方法包含从任何适合的来源(例如人、小鼠、大鼠或任何哺乳动物)获得无能B细胞。在一些实施例中，鉴别可逆转B细胞的无能的试剂的方法包含从具有表型BCR^{HEL}/sHEL的转基因小鼠获得无能B细胞。在某些情况下，BCR^{HEL}小鼠表达抗原鸡卵溶菌酶(HEL)的成熟B细胞受体(BCR)。在某些情况下，HEL BCR是转基因小鼠的B细胞上的显性BCR。在某些情况下，sHEL小鼠普遍表达关于可溶形式的HEL的转基因。在某些情况下，HEL转基因的表达与金属硫蛋白启动子可操作地相关。在某些

情况下,暴露于可溶性HEL将诱导B细胞的无能。美国专利申请公开案第2008/0070256号中有关构建上文所论述的鼠类模型的方法按引用并入本文中。在一些实施例中,无能B细胞是从转基因小鼠的脾、胸腺、骨髓、淋巴结或其组合得到。

[0191] 在一些实施例中,鉴别可逆转B细胞的无能的方法包含检测和/或测量一个或一个以上细胞表面标记(例如CD86)的表达量。在一些实施例中,检测和/或测量一个或一个以上细胞表面标记的表达量包含(a)使多个无能B细胞(例如对照组,或与试剂接触后的多个无能B细胞)与针对细胞表面标记的抗体(例如针对CD86的抗体)接触;(b)在细胞培养物与抗体接触后,用缓冲液(例如FACS缓冲液)洗涤细胞培养物(例如冲洗);和(c)检测和/或测量抗体/细胞表面标记复合物的量。在一些实施例中,抗体购自商业供应商。在一些实施例中,抗体是在实验室内部产生的。有关产生抗体的方法,参看科勒(Kohler)等人,自然(Nature),256:495(1975);美国专利第4,816,567号;或古德林(Goding),单克隆抗体:原理和实践(Monoclonal Antibodies:Principles and Practice)(学术出版社(Academic Press),1986);伍德(Ward)等人,自然,341:544-546(1989);胡斯(Huse)等人,科学(Science)246:1275-1281(1989);迈克卡夫提(McCafferty)等人,自然,348:552-554(1990);卡拉克森(Clackson)等人,自然,352:624-628(1991);马克斯(Marks)等人,分子生物学杂志(J.Mol.Biol.),222:581-597(1991),所有这些文献都按引用并入本文中。在一些实施例中,在细胞培养物与抗体接触期间,在冰上培育细胞培养物。在一些实施例中,抗体经同位素标记、放射性标记、荧光团标记或生物素化。在一些实施例中,荧光团为荧光素(fluorescein)。在某些情况下,可用任何适合的方式(例如HPLC、荧光显微镜技术、共聚焦显微镜技术、微阵列扫描仪、表面等离子体共振、红外光谱法或放射自显影技术)检测和/或测量细胞表面标记/抗体复合物。

[0192] 在一些实施例中,鉴别可逆转B细胞的无能的方法包含检测和/或测量IgM的表达量。在一些实施例中,检测和/或测量IgM的表达量包含(a)使细胞培养物(例如对照组,或与试剂接触后的多个无能B细胞)与抗原(例如HEL)接触一段足以使抗原结合于IgM的时间;(b)在培养物与抗原接触后,用缓冲液(例如FACS缓冲液)洗涤细胞培养物(例如冲洗);和(c)检测和/或测量抗原和/或抗原/IgM复合物的量。在一些实施例中,抗原经生物素化。在一些实施例中,将细胞培养物进一步与对生物素具有亲和力的标记(“生物素标记”)一起培育。在一些实施例中,生物素标记是抗生物素蛋白或抗生物素蛋白链菌素。在一些实施例中,生物素标记经同位素标记、放射性标记、荧光团标记。在一些实施例中,荧光团为藻红蛋白。在某些情况下,可用任何适合的方式(例如HPLC、荧光显微镜技术、共聚焦显微镜技术、微阵列扫描仪、表面等离子体共振、红外光谱法或放射自显影技术)检测和/或测量IgM/抗原/生物素标记复合物。

[0193] 在一些实施例中,鉴别可逆转B细胞的无能的方法包含检测和/或测量IgM的表达量。在一些实施例中,检测和/或测量IgM的表达量包含(a)使细胞培养物(例如对照组,或与试剂接触后的多个无能B细胞)与抗原(例如HEL)接触一段足以使抗原结合于IgM的时间;(b)在培养物与抗原接触后,用缓冲液(例如FACS缓冲液)洗涤细胞培养物(例如冲洗);和(c)检测和/或测量抗原和/或抗原/IgM复合物的量。在一些实施例中,使培养物与针对所述抗原的抗体的稀释液接触(例如,持续一段足以使抗体结合于所述抗原的时间)。在一些实施例中,在细胞培养物与抗体接触期间,在冰上培育细胞培养物。在一些实施例中,

在细胞培养物与抗体接触后,用缓冲液(例如FACS缓冲液)洗涤(例如冲洗)细胞培养物。在一些实施例中,抗体经同位素标记、放射性标记、荧光团标记或生物素化。在一些实施例中,荧光团为荧光素。在某些情况下,可用任何适合的方式(例如HPLC、荧光显微镜技术、共聚焦显微镜技术、微阵列扫描仪、表面等离子体共振、红外光谱法或放射自显影技术)检测和/或测量抗原/抗体和/或IgM/抗原/抗体复合物。

[0194] 在一些实施例中,所述方法进一步包含检测经标记抗体或抗体与HEL抗原之间所形成的复合物的存在,和/或测量其量。在某些情况下,可用任何适合的方式(例如HPLC、荧光显微镜技术、共聚焦显微镜技术、微阵列扫描仪、表面等离子体共振、红外光谱法或放射自显影技术)检测和/或测量HEL抗原/抗体复合物。

[0195] 调节细胞因子功能

[0196] 在某些实施例中,本文揭示一种鉴别可诱导(例如活化、增加或补充)免疫应答的试剂的方法。在一些实施例中,所述方法包含鉴别可代替和/或增强细胞因子功能的试剂(“细胞因子补充剂(Cytokine Supplementing Agent)”)。在某些情况下,在因子相关性细胞中代替和/或增强细胞因子功能的试剂可增加免疫应答和/或增加细胞活力。在某些情况下,在因子相关性细胞中代替和/或增强细胞因子功能的试剂可上调MYC(例如MYC基因和/或Myc多肽)。

[0197] 在一些实施例中,所述方法包含(a)使多个因子相关性细胞与一种试剂接触;和(b)在细胞与试剂接触后,检测和/或测量细胞培养物的扩增量。

[0198] 在一些实施例中,所述方法进一步包含在与试剂接触后细胞培养物扩增(例如,如与未接触试剂的细胞培养物相比较)时,将试剂鉴别为细胞因子补充剂。在一些实施例中,在与试剂接触后,细胞培养物扩增(当与未接触试剂的细胞培养物相比较时)约10%到约100%(例如至少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、86%、87%、88%、90%、91%、92%、94%、95%、96%、97%、98%,或者约10%到约100%内的任何其它百分比)。在一些实施例中,在与试剂接触后,细胞培养物扩增(当与未接触试剂的细胞培养物相比较时)约30%到约100%(例如至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、86%、87%、88%、90%、91%、92%、94%、95%、96%、97%、98%,或者约30%到约100%内的任何其它百分比)。在一些实施例中,在与试剂接触后,细胞培养物扩增(当与未接触试剂的细胞培养物相比较时)约50%到约100%(例如至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、86%、87%、88%、90%、91%、92%、94%、95%、96%、97%、98%,或者约50%到约100%内的任何其它百分比)。在一些实施例中,在与试剂接触后,细胞培养物扩增(当与未接触试剂的细胞培养物相比较时)约70%到约100%(例如至少70%、75%、80%、85%、86%、87%、88%、90%、91%、92%、94%、95%、96%、97%、98%,或者约70%到约100%内的任何其它百分比)。在一些实施例中,在与试剂接触后,细胞培养物扩增(当与未接触试剂的细胞培养物相比较时)约80%到约100%(例如至少80%、85%、86%、87%、88%、90%、91%、92%、94%、95%、96%、97%、98%,或者约80%到约100%内的任何其它百分比)。

[0199] 在一些实施例中,鉴别可代替和/或增强细胞因子功能的试剂的方法进一步包含比较以下两者:(1)在多个因子相关性细胞与一种试剂接触后于所述多个细胞中观察到的扩增量;与(2)对照组的扩增量。在一些实施例中,所述对照组是多个未与试剂接触的因子

相关性细胞。

[0200] 在一些实施例中,使因子相关性细胞与可代替和/或增强细胞因子功能的试剂接触将使MYC的表达上调。在某些情况下,上调MYC将产生不需要细胞因子而成活的因子相关性细胞。在某些情况下,上调MYC将产生在无细胞因子存在下增殖的因子相关性细胞。在某些情况下,上调MYC将产生在无细胞因子存在下不经历细胞凋亡的因子相关性细胞。

[0201] 在一些实施例中,因子相关性细胞为淋巴样细胞(即,来源于淋巴系统的细胞)。在一些实施例中,因子相关性细胞的非限制性实例为IL-2^{-/-}、IL-3^{-/-}、IL-4^{-/-}、IL-5^{-/-}、IL-6^{-/-}、IL-7^{-/-}、IL-8^{-/-}、IL-9^{-/-}、IL-10^{-/-}、IL-11^{-/-}、IL-12^{-/-},或其任何组合。在一些实施例中,因子相关性细胞来源于选自以下非限制性实例的细胞系:2D6;2E8;10B10;ATH8;B13;BAF/3;BALM-4;BCL1;CT.4S;CT6;CTL44;CTLL-2;D1;D10;D36;Da;DS-1;Ea3.17;EL4;FL5.12;HT-2;IC-2;Kitt225;KT-3;L4;L138.8A;LBRM-33;LyD9;MC/9;MLA-144;Mono Mac 6;Nb2;NKC3;PB-1;Pno;PT-18;Ramos;Sez627;T10;T88;T1165;TALL-103;TF-1;TMD2;TS1;UT-7;XG-1;Y16;或其组合。在一些实施例中,所述细胞来源于CTLL-2,或BAF/3细胞系。

[0202] 在某些实施例中,本文揭示鉴别可抑制和/或干扰细胞因子功能的试剂(“细胞因子干扰剂(Cytokine Interfering Agent)”)的方法。在某些情况下,细胞因子干扰剂减少免疫应答和/或降低细胞活力。在一些实施例中,所述方法包含(a)使多个因子相关性细胞与所需的生长因子接触,以致细胞培养物扩增;(b)使所述多个因子相关性细胞与一种试剂接触;和(c)在所述多个因子相关性细胞与所述试剂接触后,检测和/或测量细胞培养物的扩增量。

[0203] 在一些实施例中,所述方法进一步包含在与试剂接触后细胞培养物缩减(例如,如与未接触试剂的细胞培养物相比较)时,将试剂鉴别为细胞因子干扰剂。在一些实施例中,在与试剂接触后,细胞培养物缩减(当与未接触试剂的细胞培养物相比较时)约10%到约100%(例如至少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、86%、87%、88%、90%、91%、92%、94%、95%、96%、97%、98%,或者约10%到约100%内的任何其它百分比)。在一些实施例中,在与试剂接触后,细胞培养物缩减(当与未接触试剂的细胞培养物相比较时)约30%到约100%(例如至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、86%、87%、88%、90%、91%、92%、94%、95%、96%、97%、98%,或者约30%到约100%内的任何其它百分比)。在一些实施例中,在与试剂接触后,细胞培养物缩减(当与未接触试剂的细胞培养物相比较时)约50%到约100%(例如至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、86%、87%、88%、90%、91%、92%、94%、95%、96%、97%、98%,或者约50%到约100%内的任何其它百分比)。在一些实施例中,在与试剂接触后,细胞培养物缩减(当与未接触试剂的细胞培养物相比较时)约70%到约100%(例如至少70%、75%、80%、85%、86%、87%、88%、90%、91%、92%、94%、95%、96%、97%、98%,或者约70%到约100%内的任何其它百分比)。在一些实施例中,在与试剂接触后,细胞培养物缩减(当与未接触试剂的细胞培养物相比较时)约80%到约100%(例如至少80%、85%、86%、87%、88%、90%、91%、92%、94%、95%、96%、97%、98%,或者约80%到约100%内的任何其它百分比)。

[0204] 在一些实施例中,鉴别可代替和/或增强细胞因子功能的试剂的方法进一步包含比较以下两者:(1)在多个因子相关性细胞与一种试剂接触后于所述多个细胞中观察到的

扩增量;与(2)对照组的扩增量。在一些实施例中,所述对照组是多个未与试剂接触的因子相关性细胞。

[0205] 在一些实施例中,使因子相关性细胞与可抑制和/或干扰细胞因子功能的试剂接触将使MYC的表达下调。在某些情况下,下调MYC将产生需要细胞因子而成活的因子相关性细胞。在某些情况下,下调MYC将产生在无细胞因子存在下不会增殖的因子相关性细胞。在某些情况下,下调MYC将产生在无细胞因子存在下会经历细胞凋亡的因子相关性细胞。

[0206] 在一些实施例中,因子相关性细胞为淋巴样细胞(即,来源于淋巴系统的细胞)。在一些实施例中,因子相关性细胞的非限制性实例为IL-2-/-、IL-3-/-、IL-4-/-、IL-5-/-、IL-6-/-、IL-7-/-、IL-8-/-、IL-9-/-、IL-10-/-、IL-11-/-、IL-12-/-,或其任何组合。在一些实施例中,因子相关性细胞来源于选自以下非限制性实例的细胞系:2D6;2E8;10B10;ATH8;B13;BAF/3;BALM-4;BCL1;CT.4S;CT6;CTL44;CTLL-2;D1;D10;D36;Da;DS-1;Ea3.17;EL4;FL5.12;HT-2;IC-2;Kitt225;KT-3;L4;L138.8A;LBRM-33;LyD9;MC/9;MLA-144;Mono Mac 6;Nb2;NKC3;PB-1;Pno;PT-18;Ramos;Sez627;T10;T88;T1165;TALL-103;TF-1;TMD2;TS1;UT-7;XG-1;Y16;或其组合。在一些实施例中,所述细胞来源于CTLL-2,或BAF/3细胞系。

[0207] 报告基因分析法

[0208] 在某些实施例中,本文揭示一种鉴别可诱导(例如活化、增加或补充)免疫应答的试剂的方法。在一些实施例中,所述方法包含鉴别可调节MYC编码的转录因子的功能的试剂。在一些实施例中,所述方法包含(a)用报告基因构建体转化细胞培养物中的多个细胞,其中所述报告基因构建体为包含报告基因的质粒,并且其中所述报告基因的表达与一个或一个以上E盒序列可操作地相关;(b)使所述多个经报告基因构建体转化的细胞与一种试剂接触;和(c)在培养物与试剂接触后,检测和/或测量报告基因的表达量。在一些实施例中,报告基因构建体是以任何适合的方式获得(例如购自供应商,或实验室内部制造而成)。有关适合于制造报告基因构建体和用报告基因构建体转化细胞的方法,参看分子克隆:实验室指南(Molecular Cloning:A Laboratory Manual),第二版(萨布鲁克(Sambrook)等人,1989)和分子克隆:实验室指南,第三版(萨布鲁克和鲁塞尔(Russel),2001),在本文中统称为“萨布鲁克”;现代分子生物学实验技术(Current Protocols in Molecular Biology)(F.M.奥索贝尔(F.M.Ausubel)等人编,1987,包括到2001年间的增刊);现代核酸化学实验技术(Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry),约翰威立父子出版公司(John Wiley&Sons,Inc.),纽约(New York),2000),这些文献的相关揭示内容都按引用并入本文中。

[0209] 在一些实施例中,鉴别可调节MYC编码的转录因子的功能的试剂的方法进一步包含比较以下两者:(1)在多个经报告基因构建体转化的细胞与一种试剂接触后所述多个细胞中报告基因的表达量;与(2)对照组中报告基因的表达量。

[0210] 在一些实施例中,所述细胞是真核细胞。在一些实施例中,所述真核细胞是人细胞。在一些实施例中,所述细胞是人淋巴样细胞。在一些实施例中,所述淋巴样细胞是B细胞。

[0211] 在一些实施例中,报告基因构建体在报告基因的上游包含一个或一个以上E盒序列。在一些实施例中,所述一个或一个以上E盒序列是编码于myc反应性启动子序列中和/或在myc反应性启动子的上游。本文使用的“启动子序列”是指在基因上游允许RNA聚合酶转录

所述基因的核苷酸序列。本文使用的“myc反应性启动子”是指MYC编码的转录因子可结合的启动子序列。在一些实施例中,所述myc反应性启动子是鸟氨酸脱羧酶启动子。

[0212] 在一些实施例中,报告基因是 β -半乳糖苷酶基因、 β -内酰胺酶基因、辣根过氧化酶基因、碱性磷酸酶基因、胸苷激酶基因、黄嘌呤磷酸核糖转移酶基因、酪氨酸酶基因、胞嘧啶脱氨酶基因、抗生素抗性基因或具有荧光表达产物的基因。在一些实施例中,具有荧光表达产物的基因是荧光素酶基因或绿色荧光多肽(GFP)基因。

[0213] 在一些实施例中,鉴别可调节MYC编码的转录因子的功能的方法进一步包含检测报告基因的表达和/或测量报告基因的表达量。在某些情况下,可用任何适合的方式(例如荧光显微镜技术)检测和测量报告基因的表达。

[0214] 在一些实施例中,细胞培养物进一步包含血清。在一些实施例中,血清是胎牛血清(FBS);牛血清;马血清;人血清;鸡血清;山羊血清;猪血清;兔血清;绵羊血清;血清代用品(例如血清代用品1(Serum Replacement 1);西格玛-阿尔德里奇公司(Sigma-Aldrich));或其组合。在一些实施例中,细胞培养物进一步包含培养基。在一些实施例中,培养基的非限制性实例为磷酸盐缓冲生理盐水;厄尔氏平衡盐(Earle's Balanced Salts);汉克斯氏平衡盐(Hanks' Balanced Salts);台氏盐(Tyrode's Salts);其衍生物;或其组合。在一些实施例中,生长因子的非限制性实例为细胞因子、表皮生长因子或血小板源性生长因子。在一些实施例中,细胞因子的非限制性实例为IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12或IL-13。在某些情况下,生长因子的选择根据所述方法中使用的细胞类型来确定。

[0215] 在一些实施例中,所述方法进一步包含使所述多个细胞与促有丝分裂刺激物接触。在一些实施例中,促有丝分裂刺激物的非限制性实例为抗原或促有丝分裂抗体。在一些实施例中,所述抗原的非限制性实例为植物血凝素(phytohaemagglutinin,PHA)、刀豆凝集素A(concanavalin A,conA)、脂多糖(lipopolysaccharide,LPS)、美洲商陆有丝分裂原(pokeweed mitogen,PWM),或其组合。在一些实施例中,促有丝分裂抗体的非限制性实例为抗IgM、抗CD40或其组合。在一些实施例中,抗IgM为抗IgM-F(ab')₂。在一些实施例中,抗CD40为抗CD40 IgM。

[0216] 试剂的体外验证

[0217] 在一些实施例中,本文所述的任何方法都进一步包含在体外验证作为免疫应答调控剂的试剂(例如,根据本文所述的任何方法鉴别的试剂)。在一些实施例中,在体外验证作为免疫应答调控剂的试剂的方法包含(a)使所述试剂与原代T细胞活化培养物接触;(b)针对活化标记对培养物染色;和(c)在与试剂接触后24小时,对培养物染色。在某些情况下,可用任何适合的方式(例如荧光显微镜技术、流式细胞术、FACS)检测和测量细胞活力。在某些情况下,上调免疫应答的试剂将使活化标记相比对照组(或接触试剂之前的培养物)有所增加。在某些情况下,下调免疫应答的试剂将使活化标记相比对照组(或接触试剂之前的培养物)有所减少。

[0218] 在一些实施例中,本文所述的任何方法进一步包含在体外验证作为免疫应答调控剂的试剂。在一些实施例中,在体外验证作为免疫应答调控剂的试剂的方法包含(a)使所述试剂与原代T细胞活化培养物接触;(b)用CFSE(羧基荧光素琥珀酰亚胺酯)对培养物染色;和(c)在与试剂接触后72小时,对培养物染色。在某些情况下,CFSE指示细胞增殖。在某些情

况下,细胞中并入CFSE。在某些情况下,细胞中的一部分(即,一半)CFSE在分裂后转移到子代细胞。在某些情况下,细胞中CFSE的量随每次分裂而降低。在某些情况下,可用任何适合的方式(例如荧光显微镜技术、流式细胞术、FACS)检测和测量细胞活力。在某些情况下,上调免疫应答的试剂将使细胞增殖相比对照组(或接触试剂之前的培养物)有所增加。在某些情况下,下调免疫应答的试剂将使细胞增殖相比对照组(或接触试剂之前的培养物)有所减少。

[0219] 在一些实施例中,本文所述的任何方法进一步包含在体外验证作为免疫应答调控剂的试剂。在一些实施例中,在体外验证作为免疫应答调控剂的试剂的方法包含(a)使所述试剂与原代T细胞活化培养物接触;(b)用7AAD(7-氨基-放线菌素D(7-amino-actinomycin D))对培养物染色;和(c)在与试剂接触后72小时,对培养物染色。在某些情况下,7-AAD指示细胞活力。在某些情况下,7-AAD将对膜受损的细胞(即,无活力细胞)染色。在某些情况下,7-AAD将对膜未受损的细胞(即,有活力的细胞)染色。在某些情况下,可用任何适合的方式(例如荧光显微镜技术、流式细胞术、FACS)检测和测量细胞活力。在某些情况下,上调免疫应答的试剂将使细胞活力相比对照组(或接触试剂之前的培养物)有所增加。在某些情况下,下调免疫应答的试剂将使细胞活力相比对照组(或接触试剂之前的培养物)有所降低。

[0220] 试剂的体内验证

[0221] 在一些实施例中,本文所述的任何方法都进一步包含在体内验证作为免疫应答调控剂的试剂(例如,根据本文所述的任何方法鉴别的试剂)。在一些实施例中,在体内验证作为免疫应答调控剂的试剂的方法包含(a)通过授予小鼠抗原(例如OVA肽、NP-KHL),针对所述抗原对哺乳动物(例如小鼠、大鼠、兔)进行免疫;(b)在授予抗原之前、期间或之后,对小鼠授予所述试剂;(c)在授予抗原和试剂后,从小鼠获得生物样品(例如血液、淋巴或血清);和(d)检测或测量免疫应答(例如记忆性B细胞和/或T细胞的增殖速率)。在一些实施例中,在免疫后,通过检测和测量抗体的产生来检测或测量免疫应答。在一些实施例中,在免疫后,每天1次分析抗体的产生,持续一周,随后每周1次进行分析。在一些实施例中,在用抗原再刺激后,通过检测和测量T细胞增殖,来检测或测量免疫应答。在一些实施例中,免疫后一周,分析T细胞增殖。在某些情况下,上调初次免疫应答的试剂将使抗体的产生和T细胞增殖相比对照组(即,未授予试剂的小鼠)有所增加。在某些情况下,下调初次免疫应答的试剂将使抗体的产生和T细胞增殖相比对照组(即,未授予试剂的小鼠)有所降低。

[0222] 在一些实施例中,本文所述的任何方法都进一步包含在体内验证作为免疫应答调控剂的试剂(例如,根据本文所述的任何方法鉴别的试剂)。在一些实施例中,在体内验证作为免疫应答调控剂的试剂的方法包含(a)通过授予小鼠抗原(例如OVA肽、NP-KHL),来针对所述抗原对小鼠进行免疫;(b)在授予抗原之前、期间或之后对小鼠授予所述试剂;(c)接种后3到6个月,用抗原激发小鼠;(d)激发后,从小鼠获得生物样品(例如血液、淋巴或血清);和(d)检测或测量免疫应答。在一些实施例中,在免疫后,通过检测和测量抗体的产生来检测或测量免疫应答。在一些实施例中,在激发后,每天1次分析抗体的产生,持续一周,随后每周1次进行分析。在一些实施例中,在用抗原再刺激后,通过检测和测量T细胞增殖,来检测或测量免疫应答。在一些实施例中,激发后一周,分析T细胞增殖。在某些情况下,上调二次免疫应答的试剂将使抗原激发后的免疫应答相比对照组(即,未授予试剂的小鼠)加速(即,抗体产生和T细胞增殖的速率增加)。在某些情况下,下调二次免疫应答的试剂将使抗

原激发后的免疫应答相比对照组(即,未授予试剂的小鼠)减速(即,抗体产生和T细胞增殖的速率降低)。

[0223] 试剂

[0224] 在某些实施例中,本文揭示可调节免疫应答的试剂(例如,逆转无能的试剂、调节细胞因子功能的试剂和/或调节MYC编码的转录因子的功能的试剂)。在某些实施例中,所述试剂适用于授予有需要的个体。在特定实施例中,所述试剂是借助本文揭示的任何方法鉴别的任何试剂。在一些实施例中,所述试剂是可调节免疫应答的任何试剂。在一些实施例中,所述试剂为小分子。在一些实施例中,所述试剂为RNAi。在一些实施例中,所述试剂为MYC(例如MYC基因和/或Myc多肽)的激动剂。在一些实施例中,所述试剂为MYC(例如MYC基因和/或Myc多肽)的拮抗剂。

[0225] 在一些实施例中,根据试剂逆转B细胞的无能的能力,将所述试剂鉴别为可调节细胞活力的试剂。在一些实施例中,根据试剂调节因子相关性细胞的活力的能力,将所述试剂鉴别为可调节细胞活力的试剂。在一些实施例中,根据试剂诱导报告基因表达的能力,将所述试剂鉴别为可调节细胞活力的试剂。

[0226] 在一些实施例中,调节免疫应答包含调节淋巴细胞的活力。在一些实施例中,淋巴细胞为T细胞。在一些实施例中,所述T细胞为CD4⁺T细胞。在一些实施例中,所述T细胞为记忆性T细胞。

[0227] 在一些实施例中,淋巴细胞在与试剂接触后的活力高于未接触所述试剂的淋巴细胞活力1倍以上到约10倍。在一些实施例中,所述试剂使淋巴细胞中的MYC基因上调。在一些实施例中,调节是在体内发生。在一些实施例中,淋巴细胞为T细胞。在一些实施例中,所述T细胞为记忆性T细胞。在某些情况下,上调MYC基因将延长T细胞的寿命。在某些情况下,记忆性T细胞的寿命延长将使体内记忆性T细胞的浓度变高。在某些情况下,较高的记忆性T细胞浓度使针对抗原的初次免疫应答加速。在某些情况下,上调MYC基因将使无能T细胞减少。在某些情况下,无能T细胞减少将使针对抗原的初次免疫应答加速。在某些情况下,上调MYC基因将使T细胞应答抗原而活化所耗费的时间缩短。在某些情况下,T细胞应答抗原而活化所耗费的时间缩短将使针对抗原的初次免疫应答加速。

[0228] 在一些实施例中,所述试剂是在对个体授予疫苗之前、期间或之后授予。在一些实施例中,所述试剂刺激免疫系统,并增加免疫系统对疫苗的应答。在一些实施例中,试剂增强免疫应答。在一些实施例中,所述试剂与疫苗协同作用。在一些实施例中,所述试剂为疫苗佐剂。

[0229] 在一些实施例中,疫苗包含死亡微生物、减毒微生物、类毒素、病原体亚单位、核酸或其组合。在一些实施例中,疫苗是针对以下的疫苗:甲型肝炎;乙型肝炎;脊髓灰质炎;麻疹;腮腺炎;风疹;白喉;百日咳;破伤风;流感;水痘带状疱疹病毒;轮状病毒;流感;脑膜炎球菌病症;肺炎;天花;霍乱;黑死病;黄热病;结核病;人乳头瘤病毒;或其组合。在一些实施例中,疫苗是针对癌症(例如滤泡性B细胞性非霍奇金氏淋巴瘤、前列腺癌、多发性骨髓瘤、肾癌、皮肤黑色素瘤、眼黑色素瘤,和其它实体肿瘤、癌瘤和肉瘤)的疫苗。在一些实施例中,癌症疫苗是患者特异性疫苗(例如,疫苗包含患者自身的肿瘤细胞)。在一些实施例中,癌症疫苗包含前列腺特异性抗原(PSA)。在一些实施例中,癌症疫苗包含唾液酸化Tn(STn)。在一些实施例中,癌症疫苗包含热激蛋白(HSP)(例如gp96)。在一些实施例中,癌症疫苗包含神

经节苷脂分子(例如GM2、GD2和GD3)。在一些实施例中,癌症疫苗包含癌胚抗原(CEA)。在一些实施例中,癌症疫苗包含MART-1(也称为Melan-A)。在一些实施例中,癌症抗原包含酪氨酸酶。在一些实施例中,疫苗为DNA疫苗。

[0230] 在一些实施例中,包含抗原部分。在一些实施例中,抗原部分为类毒素、肽、核酸序列、多糖或其组合。在一些实施例中,抗原部分来源于病原体,所述病原体选自:甲型肝炎;乙型肝炎;脊髓灰质炎;麻疹;腮腺炎;风疹;白喉;百日咳;破伤风;流感;水痘带状疱疹病毒;轮状病毒;脑膜炎球菌;肺炎;天花;霍乱;黑死病;黄热病;结核病;人乳头瘤病毒;或其组合。在一些实施例中,抗原部分来源于赘生性细胞。在一些实施例中,抗原部分是核酸或核酸的聚合物。

[0231] 在某些实施例中,使接收针对某一抗原的疫苗接种的个体的免疫应答上调将增加针对所述抗原的记忆性T细胞的活力,并由此增加其浓度。在某些情况下,使接收针对某一抗原的疫苗接种的个体的免疫应答上调将加速所述抗原对T细胞的活化。在某些情况下,使接收针对某一抗原的疫苗接种的个体的免疫应答上调将降低T细胞对所述抗原的耐受性。

[0232] 在一些实施例中,授予了所述试剂的淋巴细胞的活力是未授予所述试剂的淋巴细胞活力的1/2以下到约1/26。在一些实施例中,所述试剂使淋巴细胞中的MYC基因下调。在一些实施例中,调节是在体内发生。在一些实施例中,淋巴细胞为T细胞。在一些实施例中,所述T细胞为记忆性T细胞。在某些情况下,下调MYC基因将缩短T细胞的寿命。在某些情况下,记忆性T细胞的寿命缩短将使体内记忆性T细胞的浓度变低。在某些情况下,记忆性T细胞的浓度降低将使对抗原的初次免疫应答减速、导致治疗自体免疫性病症和/或引起免疫抑制。在某些情况下,下调MYC基因将使无能T细胞增加。在某些情况下,无能T细胞增加将使对抗原的初次免疫应答减速、导致治疗自体免疫性病症和/或引起免疫抑制。在某些情况下,下调MYC基因将使T细胞应答抗原而活化所耗费的时间增加。在某些情况下,T细胞应答抗原而活化所耗费的时间增加将使对抗原的初次免疫应答减速、导致治疗自体免疫性病症和/或引起免疫抑制。

[0233] 在一些实施例中,对患有自体免疫性病症的个体授予所述试剂。在一些实施例中,自体免疫性病症为卡斯曼氏症、狼疮、多发性硬化、硬皮病色素沉着、自体免疫性淋巴细胞增生综合症(ALPS)、重症肌无力、糖尿病、哮喘、类风湿性关节炎、白癜风、狄乔治氏综合症、格雷氏病、克隆氏病、发炎性肠病、结肠炎、睾丸炎、硬皮病色素沉着、葡萄膜炎、移植后淋巴细胞增生性病症(PTLD)或自体免疫性疾病相关性淋巴结病变(ADAL)。在某些情况下,下调患有自体免疫性病症的个体的免疫应答将改善和/或防止个体的免疫系统对自身抗原产生免疫应答。

[0234] 在一些实施例中,对接收了器官移植或骨髓移植的个体授予所述试剂。在某些情况下,使接收了器官或骨髓移植的个体的免疫应答下调将改善和/或防止个体的免疫系统对所移植的器官或骨髓产生免疫应答。

[0235] 医药组合物

[0236] 在某些实施例中,本文揭示可调节有需要的个体的免疫系统的组合物,其中所述组合物包含治疗有效量的借助本文所揭示的任何方法鉴别的试剂。在一些实施例中,所述试剂为小分子。在一些实施例中,所述试剂为RNAi。在一些实施例中,所述试剂为生物分子(例如肽、融合肽)。在一些实施例中,所述试剂是本文所揭示的融合肽。在一些实施例中,所

述试剂是一种融合肽,其包含(a)转运肽序列和(b)MYC序列。在一些实施例中,所述试剂是式(I)的融合肽:

[0237] 转运肽序列-MYC序列。

[0238] 在一些实施例中,根据试剂逆转B细胞的无能的能力,将所述试剂鉴别为可调节细胞活力的试剂。在一些实施例中,根据试剂调节因子相关性细胞的活力的能力,将所述试剂鉴别为可调节细胞活力的试剂。在一些实施例中,根据试剂诱导报告基因表达的能力,将所述试剂鉴别为可调节细胞活力的试剂。

[0239] 在一些实施例中,调节免疫应答包含调节淋巴细胞的活力。在一些实施例中,淋巴细胞为T细胞。在一些实施例中,所述T细胞为CD4+T细胞。在一些实施例中,所述T细胞为记忆性T细胞。

[0240] 在一些实施例中,淋巴细胞在与试剂接触后的活力高于未接触所述试剂的淋巴细胞活力1倍以上到约10倍。在一些实施例中,所述试剂使淋巴细胞中的MYC基因上调。在一些实施例中,调节是在体内发生。在一些实施例中,淋巴细胞为T细胞。在一些实施例中,所述T细胞为记忆性T细胞。在某些情况下,上调MYC基因将延长T细胞的寿命。在某些情况下,记忆性T细胞的寿命延长将使体内记忆性T细胞的浓度变高。在某些情况下,较高的记忆性T细胞浓度使针对抗原的初次免疫应答加速。在某些情况下,上调MYC基因将使无能T细胞减少。在某些情况下,无能T细胞减少将使针对抗原的初次免疫应答加速。在某些情况下,上调MYC基因将使T细胞应答抗原而活化所耗费的时间缩短。在某些情况下,T细胞应答抗原而活化所耗费的时间缩短将使针对抗原的初次免疫应答加速。

[0241] 在一些实施例中,所述试剂是在对个体授予疫苗之前、期间或之后授予。在一些实施例中,所述试剂刺激免疫系统,并增加免疫系统对疫苗的应答。在一些实施例中,所述试剂增强免疫应答。在一些实施例中,所述试剂与疫苗协同作用。在一些实施例中,所述试剂为疫苗佐剂。

[0242] 在一些实施例中,疫苗包含死亡微生物、减毒微生物、类毒素、病原体亚单位、核酸或其组合。在一些实施例中,疫苗是针对以下的疫苗:甲型肝炎;乙型肝炎;脊髓灰质炎;麻疹;腮腺炎;风疹;白喉;百日咳;破伤风;流感;水痘带状疱疹病毒;轮状病毒;流感;脑膜炎球菌病;肺炎;天花;霍乱;黑死病;黄热病;结核病;人乳头瘤病毒;或其组合。在一些实施例中,疫苗是针对癌症(例如滤泡性B细胞性非霍奇金氏淋巴瘤、前列腺癌、多发性骨髓瘤、肾癌、皮肤黑色素瘤和眼黑色素瘤)的疫苗。在一些实施例中,癌症疫苗是患者特异性疫苗(例如,疫苗包含患者自身的肿瘤细胞)。在一些实施例中,癌症疫苗包含前列腺特异性抗原(PSA)。在一些实施例中,癌症疫苗包含唾液酸化Tn(STn)。在一些实施例中,癌症疫苗包含热激蛋白(HSP)(例如gp96)。在一些实施例中,癌症疫苗包含神经节苷脂分子(例如GM2、GD2和GD3)。在一些实施例中,癌症疫苗包含癌胚抗原(CEA)。在一些实施例中,癌症疫苗包含MART-1(也称为Melan-A)。在一些实施例中,癌症抗原包含酪氨酸酶。在一些实施例中,疫苗为DNA疫苗。

[0243] 在一些实施例中,包含抗原部分。在一些实施例中,抗原部分为类毒素、肽、核酸序列、多糖或其组合。在一些实施例中,抗原部分来源于病原体,所述病原体选自:甲型肝炎;乙型肝炎;脊髓灰质炎;麻疹;腮腺炎;风疹;白喉;百日咳;破伤风;流感;水痘带状疱疹病毒;轮状病毒;脑膜炎球菌;肺炎;天花;霍乱;黑死病;黄热病;结核病;人乳头瘤病毒;或其

组合。在一些实施例中，抗原部分来源于赘生性细胞。在一些实施例中，抗原部分是核酸或核酸的聚合物。

[0244] 在某些情况下，使接收针对某一抗原的疫苗接种的个体的免疫应答上调将增加针对所述抗原的记忆性T细胞的活力，并由此增加其浓度。在某些情况下，使接收针对某一抗原的疫苗接种的个体的免疫应答上调将加速所述抗原对T细胞的活化。在某些情况下，使接收针对某一抗原的疫苗接种的个体的免疫应答上调将降低T细胞对所述抗原的耐受性。

[0245] 在一些实施例中，授予了所述试剂的淋巴细胞的活力是未授予所述试剂的淋巴细胞活力的1/2以下到约1/26。在一些实施例中，所述试剂使淋巴细胞中的MYC基因下调。在一些实施例中，调节是在体内发生。在一些实施例中，淋巴细胞为T细胞。在一些实施例中，所述T细胞为记忆性T细胞。在某些情况下，下调MYC基因将缩短T细胞的寿命。在某些情况下，记忆性T细胞的寿命缩短将使体内记忆性T细胞的浓度变低。在某些情况下，记忆性T细胞的浓度降低将使针对抗原的初次免疫应答减速、导致治疗自体免疫性病症和/或引起免疫抑制。在某些情况下，下调MYC基因将使无能T细胞增加。在某些情况下，无能T细胞增加将使针对抗原的初次免疫应答减速、导致治疗自体免疫性病症和/或引起免疫抑制。在某些情况下，下调MYC基因将使T细胞应答抗原而活化所耗费的时间增加。在某些情况下，T细胞应答抗原而活化所耗费的时间增加将使针对抗原的初次免疫应答减速、导致治疗自体免疫性病症和/或引起免疫抑制。

[0246] 在一些实施例中，对患有自体免疫性病症的个体授予所述试剂。在一些实施例中，自体免疫性病症为卡斯曼氏症、狼疮、多发性硬化、硬皮病色素沉着、自体免疫性淋巴细胞增生综合症(ALPS)、重症肌无力、糖尿病、哮喘、类风湿性关节炎、白癜风、狄乔治氏综合症、格雷氏病、克隆氏病、发炎性肠病、结肠炎、睾丸炎、硬皮病色素沉着、葡萄膜炎、移植后淋巴细胞增生性病症(PTLD)或自体免疫性疾病相关性淋巴结病变(ADAL)。在某些情况下，下调患有自体免疫性病症的个体的免疫应答将改善和/或防止个体的免疫系统对自身抗原产生免疫应答。

[0247] 在一些实施例中，对接收了器官移植或骨髓移植的个体授予所述试剂。在某些情况下，使接收了器官或骨髓移植的个体的免疫应答下调将改善和/或防止个体的免疫系统对所移植的器官或骨髓产生免疫应答。

[0248] 医药组合物的调配物

[0249] 在一些实施例中，使用一种或一种以上生理学上可接受的载剂，以常规方式调配医药组合物，所述生理学上可接受的载剂包括例如便利将活性化合物加工成适于医药使用的制剂的赋形剂和助剂。在某些实施例中，适宜的调配物取决于所选投药途径。本文所述的医药组合物的概述见于例如雷明顿：药学技术与实践(Remington: The Science and Practice of Pharmacy)，第19版(宾夕法尼亚州伊斯顿：默克出版公司(Easton, Pa.: Mack Publishing Company)，1995)；约翰E.霍温(Hoover, John E.)，雷明顿：药学技术与实践，默克出版公司，宾夕法尼亚州伊斯顿，1975；H.A.利伯曼(Lieberman, H.A.)和L.拉奇曼(Lachman, L.)编，药物剂型(Pharmaceutical Dosage Forms)，马塞尔戴克(Marcel Decker)，纽约州纽约(New York, N.Y.)，1980；和药物剂型与药物递送系统(Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems)，第7版(利平科特·威廉姆斯&威尔金斯(Lippincott Williams & Wilkins)，1999)。

[0250] 本文使用的医药组合物是指本文所述的化合物与例如载剂、稳定剂、稀释剂、分散剂、悬浮剂、增稠剂和/或赋形剂等其它化学组分的混合物。在某些情况下,医药组合物便于对个体或细胞投予所述化合物。在实践本文所提供的治疗方法或用途的某些实施例中,以医药组合物形式将治疗有效量的本文所述化合物投予患有待治疗病症、疾病或病状的个体。在特定实施例中,个体为人类。如本文所论述的,本文所述的治疗性化合物是单独利用,或与一种或一种以上其它治疗剂组合利用。

[0251] 在一些实施例中,本文所述的医药调配物以任何方式投予个体,包括多种投药途径中的一种或一种以上途径,例如作为非限制性实例,经口、不经肠(例如静脉内、皮下、肌肉内)、鼻内、颊、局部、直肠或透皮投药途径。本文所述的医药调配物包括(但不限于)水性分散液、半乳化分散液、固溶体、脂质体分散液、气雾剂、固体剂型、散剂、速释调配物、控制释放调配物、快速熔融调配物、片剂、胶囊、丸剂、延迟释放调配物、缓释调配物、脉冲释放调配物、多颗粒调配物以及速释与控制释放混合型调配物。

[0252] 任选以常规方式,例如(仅为举例)借助常规的混合、溶解、制粒、糖衣丸制造、粉碎、乳化、囊封、挤压或压缩方法,制造出包括本文所述化合物的医药组合物。

[0253] 在一些实施例中,本文所述的医药组合物包括一种或一种以上呈游离酸或游离碱形式或呈医药学上可接受的盐形式的本文所述的试剂作为活性成分。在一些实施例中,利用的本文所述的化合物呈N-氧化物或呈结晶或非晶形形式(即,多晶型物)。在某些实施例中,利用本文所述化合物的活性代谢物或前药。在一些情况下,本文所述的化合物以互变异构体形式存在。在本文所提供的化合物的范围内包括所有互变异构体。在某些实施例中,本文所述的化合物以未溶剂化或溶剂化形式存在,其中溶剂化形式包含任何医药学上可接受的溶剂,例如水、乙醇等。本文也揭示本文所提供化合物的溶剂化形式。

[0254] 在一些实施例中,“载剂”包括医药学上可接受的赋形剂,而且是根据与本文所揭示化合物(例如式I-V中任一式的化合物)的相容性和所需剂型的释放概况特性选择。例示性载剂材料包括例如粘合剂、悬浮剂、崩解剂、填充剂、表面活性剂、增溶剂、稳定剂、润滑剂、润湿剂、稀释剂等。参看例如雷明顿:药学技术与实践(Remington: The Science and Practice of Pharmacy),第19版(宾夕法尼亚州伊斯顿:默克出版公司(Easton, Pa.: Mack Publishing Company),1995);约翰E.霍温(Hoover, John E.),雷明顿:药学技术与实践,默克出版公司,宾夕法尼亚州伊斯顿,1975;H.A.利伯曼(Lieberman, H.A.)和L.拉奇曼(Lachman, L.)编,药物剂型(Pharmaceutical Dosage Forms),马塞尔戴克(Marcel Decker),纽约州纽约(New York, N.Y.),1980;和药物剂型与药物递送系统(Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems),第7版(利平科特·威廉姆斯&威尔金斯(Lippincott Williams & Wilkins),1999)。

[0255] 此外,在一些实施例中,本文所述的医药组合物经调配为某种剂型。因此,在一些实施例中,本文提供一种包含本文所述的化合物(例如式I-V中任一式的化合物)的适于投予个体的剂型。在某些实施例中,适合的剂型包括(作为非限制性实例)水性口服分散液、液体、凝胶、糖浆、酏剂、浆液、悬浮液、固体口服剂型、气雾剂、控制释放调配物、快速熔融调配物、泡腾调配物、冻干调配物、片剂、散剂、丸剂、糖衣药丸、胶囊、延迟释放调配物、缓释调配物、脉冲释放调配物、多颗粒调配物以及速释与控制释放混合型调配物。

[0256] 本文所述的医药固体剂型任选包括本文所述的其它治疗性化合物,和一种或一种

以上医药学上可接受的添加剂,例如相容性载剂、粘合剂、填充剂、悬浮剂、调味剂、甜味剂、崩解剂、分散剂、表面活性剂、润滑剂、着色剂、稀释剂、增溶剂、湿润剂、增塑剂、稳定剂、渗透增强剂、润湿剂、消泡剂、抗氧化剂、防腐剂,或其一种或一种以上的组合。在一些方面中,使用标准涂布程序,例如雷明顿氏药学大全 (Remington's Pharmaceutical Science) 第20版(2000)中所述的程序,在式I-V中任一式的化合物的调配物周围提供薄膜涂层。在一个实施例中,本文所述的化合物呈颗粒形式,而且所述化合物颗粒的一部分或全部经涂布。在某些实施例中,所述化合物颗粒的一部分或全部经微囊封。在一些实施例中,本文所述化合物的颗粒未经微囊封,而且未经涂布。

[0257] 在一些实施例中,本文所述的医药组合物是适于单次投予精确剂量的单位剂型。在单位剂型中,调配物被分成含有适量的一种或一种以上化合物的单位剂量。在一些实施例中,单位剂量呈含有不连续量调配物的包装的形式。非限制性实例是包装片剂或胶囊,或装在小瓶或安瓿中的散剂。水性悬浮液组合物任选包装在不可再密封的单剂量容器中。在一些实施例中,使用可再密封的多剂量容器。在某些情况下,多剂量容器在组合物中包含防腐剂。仅举例来说,非经肠注射用调配物是以单位剂型提供,其包括(但不限于)安瓿;或以加有防腐剂的多剂量容器提供。

[0258] 在一些实施例中,本文所述的试剂和组合物在投予疫苗之前、期间或之后投予。在一些实施例中,将本文所述的试剂和组合物并入疫苗中。在一些实施例中,所述试剂和组合物刺激免疫系统,并增加免疫系统对疫苗的应答。在一些实施例中,所述试剂和组合物增强免疫应答。在一些实施例中,所述试剂和组合物与疫苗协同作用。在一些实施例中,所述试剂和组合物是疫苗佐剂。在一些实施例中,疫苗调配物包含抗原或抗原部分(例如来自百日咳博德特氏菌(*B.pertussis*)、破伤风梭菌(*C.tetani*)、大肠杆菌(*E.coli*)、白喉杆菌(*C.diphtheriae*)、铜绿假单胞菌(*P.Aeruginosa*)、霍乱弧菌(*V.cholerae*)、流感嗜血杆菌(*H.influenzae*)、脑膜炎奈瑟菌(*N.meningitidis*)、肺炎链球菌(*S.pneumoniae*)、淋病奈瑟菌(*N.gonorrhoea*)的蛋白质或多糖)和所述试剂。在一些实施例中,疫苗进一步包含载剂(例如水、生理盐水、PBS)、防腐剂(例如硫柳汞(thimerosal)、2-苯氧基乙醇、苯酚、苄索氯铵(benzethonium chloride))、稳定剂(例如乳糖、谷氨酸单钠)、抗生素、抗氧化剂、pH控制剂或其组合。

[0259] 局部调配物

[0260] 在一些实施例中,局部投予本文所述的MYC融合多肽(例如TAT-MYC)(即,将所述多肽投予皮肤表面)。在一些实施例中,将本文所揭示的MYC融合多肽(例如TAT-MYC)局部投予疫苗注射部位。在某些情况下,在利用当前方法进行疫苗接种期间,产生局部化的抗原储集器(即,由疫苗佐剂(例如油包水乳液或铝盐)形成的组织储集器,可缓慢且平稳地释放抗原)。在一些实施例中,邻近抗原储集器部位的皮肤中的驻留淋巴样细胞中的MYC瞬时上调将驱动较为稳固的免疫应答,并在针对自身抗原的耐受性松弛时产生范围较大的应答。

[0261] 可利用任何适合的调配物。在一些实施例中,将MYC融合多肽调配成溶液、乳膏、洗液、凝胶、油膏、泡沫剂、微乳液或其组合。在一些实施例中,MYC融合多肽经调配用于经由透皮贴片递送。

[0262] 可利用任何适合的局部投药方法(例如电穿孔法、超声导入法、化学递送法、皮肤磨擦法(skin abrasion))。在一些实施例中,MYC融合多肽经调配用于化学递送(即,使用化

学物质(例如PEG、乙醇、单月桂酸甘油酯、十二烷基硫酸钠、磷脂酰胆碱或尿素)来促使活性剂透过皮肤)。在一些实施例中,MYC融合多肽经调配用于经由电穿孔法递送(即,经由施加电流来渗透屏障(例如皮肤))。在一些实施例中,MYC融合多肽经调配用于经由超声导入法递送(即,经由施加超声波来渗透屏障(例如皮肤))。

[0263] 乳膏和洗液

[0264] 在一些实施例中,将本文所揭示的MYC融合多肽(例如TAT-MYC)调配为乳膏。在某些情况下,乳膏为半固体(例如软固体或浓稠的液体)调配物,其包括分散于水包油乳液或油包水乳液中的本文所揭示的MYC融合多肽(例如TAT-MYC)。

[0265] 在一些实施例中,将本文所揭示的MYC融合多肽(例如TAT-MYC)调配为洗液。在某些情况下,洗液为流体乳液(例如水包油乳液或油包水乳液)。

[0266] 在一些实施例中,洗液和/或乳膏的疏水性组分来源于动物(例如羊毛脂、鱼肝油和龙涎香)、植物(例如红花油、蓖麻油、椰子油、棉籽油、鲱油、棕榈仁油、棕榈油、花生油、大豆油、菜籽油、亚麻子油、米糠油、松油、芝麻油或葵花籽油)、石油(例如矿物油或矿脂)或其组合。

[0267] 油膏

[0268] 在一些实施例中,将本文所揭示的MYC融合多肽(例如TAT-MYC)调配为油膏。在某些情况下,油膏是在体温下软化或熔融的半固体制剂。

[0269] 糊剂

[0270] 在一些实施例中,将本文所揭示的MYC融合多肽(例如TAT-MYC)调配为糊剂。在某些情况下,糊剂含有至少20%固体。在某些情况下,糊剂为在体温下不能流动的油膏。

[0271] 凝胶

[0272] 在一些实施例中,将本文所揭示的MYC融合多肽(例如TAT-MYC)调配为凝胶。在某些情况下,凝胶为半固体(或半刚性)系统,由大有机分子分散于液体中形成的分散液组成。在某些情况下,凝胶为水溶性的,而且可以使用温水或生理盐水去除。

[0273] 药卷(stick)

[0274] 在一些实施例中,将本文所揭示的MYC融合多肽(例如TAT-MYC)调配为药卷。在某些情况下,药卷是在体温下熔融的固体剂型。在一些实施例中,药卷包含蜡、聚合物、树脂、熔化成硬块的干燥固体和/或熔化的晶体。在一些实施例中,本文揭示的MYC融合多肽(例如TAT-MYC)的局部调配物呈止血笔(styptic pencil)的形式(即,通过(1)加热晶体,直到其失去结晶水,而且变得熔融,且(2)将熔融的晶体倒入模具中并使其硬化,制备而成的药卷)。在一些实施例中,本文揭示的MYC融合多肽(例如TAT-MYC)的局部调配物呈药卷的形式,其中所述药卷包含蜡(例如,将蜡熔融,并倒入适合的模具中,在模具中使其固化成棒状)。

[0275] 在一些实施例中,本文揭示的MYC融合多肽(例如TAT-MYC)的局部调配物呈药卷的形式,其中所述药卷包含熔融基质(例如在体温下软化的基质)。熔融基质的实例包括(但不限于)蜡、油、聚合物和凝胶。在一些实施例中,本文揭示的MYC融合多肽(例如TAT-MYC)的局部调配物呈药卷的形式,其中所述药卷包含湿润基质(例如通过添加水而活化的基质)。

[0276] 贴片

[0277] 在一些实施例中,本文所揭示的MYC融合多肽(例如TAT-MYC)经调配用于经由贴片

授予。在一些实施例中,将本文揭示的局部调配物溶解和/或分散于聚合物或胶粘剂中。在一些实施例中,本文所揭示的贴片经构造用于本文所揭示MYC融合多肽(例如TAT-MYC)的连续、脉冲式或视需要的递送。

[0278] 伤口敷料

[0279] 在一些实施例中,本文所揭示的MYC融合多肽(例如TAT-MYC)经调配用于经由伤口敷料授予。伤口敷料包括(但不限于)纱布、透明薄膜敷料、水凝胶、聚氨酯泡沫敷料、水胶体和褐藻酸盐。

[0280] 皮肤用赋形剂

[0281] 在一些实施例中,将本文所揭示的MYC融合多肽(例如TAT-MYC)与渗透增强剂一起调配。渗透增强剂包括(但不限于)月桂基硫酸钠、月桂酸钠、聚氧乙烯-20-鲸蜡基醚、月桂醇聚醚-9(laureth-9)、十二烷基硫酸钠、丁二酸二辛酯磺酸钠、聚氧乙烯-9-月桂基醚(polyoxyethylene-9-lauryl ether, PLE)、Tween 80、壬基苯氧基聚乙烯(nonylphenoxypolyethylene, NP-POE)、聚山梨醇酯类、甘胆酸钠、脱氧胆酸钠、牛磺胆酸钠、牛磺双氢褐霉素钠(sodium taurodihydrofusidate)、甘油双氢褐霉素钠(sodium glycodihydrofusidate)、油酸、辛酸、单酸甘油酯和二酸甘油酯类、月桂酸类、酰基胆碱类、辛酸类、酰基肉毒碱类、癸酸钠类、EDTA、柠檬酸、水杨酸、DMSO、癸基甲基亚砷、乙醇、异丙醇、丙二醇、聚乙二醇、甘油、丙二醇和二乙二醇单乙醚。

[0282] 在一些实施例中,将本文所揭示的MYC融合多肽(例如TAT-MYC)与胶凝剂(或增稠剂)一起调配。在一些实施例中,本文揭示的局部调配物进一步包含约0.1%到约5%、更优选约0.1%到约3%且最优选约0.25%到约2%胶凝剂。在某些实施例中,本文所揭示的局部调配物的粘度范围为约100到约500,000cP、约100cP到约1,000cP、约500cP到约1500cP、约1000cP到约3000cP、约2000cP到约8,000cP、约4,000cP到约10,000cP、约10,000cP到约50,000cP。

[0283] 适用于制备凝胶局部调配物的胶凝剂包括(但不限于)纤维素类、纤维素衍生物类、纤维素醚类(例如,羧甲基纤维素、乙基纤维素、羟乙基纤维素、羟甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羟丙基纤维素、甲基纤维素)、瓜尔胶(guar gum)、黄原胶、刺槐豆胶、褐藻酸盐类(例如褐藻酸)、硅酸盐类、淀粉、黄芪胶、羧基乙烯基聚合物类、角叉菜胶、石蜡、矿脂、阿拉伯胶(acacia/gum arabic)、琼脂、硅酸镁铝、褐藻酸钠、硬脂酸钠、墨角藻、膨润土、卡波姆(carbomer)、角叉菜胶、卡巴浦尔(carbopol)、黄原胶、纤维素、微晶纤维素(MCC)、角豆胶、角叉菜、右旋糖、红藻胶、明胶、茄替胶(ghartti gum)、瓜尔胶、锂蒙脱石(hectorite)、乳糖、蔗糖、麦芽糊精、甘露糖醇、山梨糖醇、蜂蜜、玉米淀粉、小麦淀粉、米淀粉、马铃薯淀粉、明胶、梧桐胶、聚乙二醇(例如PEG200-4500)、黄芪胶、乙基纤维素、乙基羟乙基纤维素、乙基甲基纤维素、甲基纤维素、羟乙基纤维素、羟乙基甲基纤维素、羟丙基纤维素、聚(甲基丙烯酸羟乙酯)、氧化聚明胶、果胶、聚明胶肽、聚烯吡酮、碳酸亚丙酯、甲基乙烯基醚/马来酸酐共聚物(PVM/MA)、聚(甲基丙烯酸甲氧基乙酯)、聚(甲基丙烯酸甲氧基乙氧基乙酯)、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素(HPMC)、羧甲基纤维素钠(CMC)、二氧化硅、聚乙烯吡咯烷酮(PVP:聚烯吡酮),或其组合。

[0284] 在一些实施例中,将本文所揭示的MYC融合多肽(例如TAT-MYC)与软化剂一起调配。软化剂包括(但不限于)蓖麻油酯类、可可油酯类、红花油酯类、棉籽油酯类、玉米油酯

类、橄榄油酯类、鱼肝油酯类、杏仁油酯类、鳄梨油酯类、棕榈油酯类、芝麻油酯类、角鲨烯酯类、石栗子油酯类、大豆油酯类、乙酰单酸甘油酯类、乙氧基化单硬脂酸甘油酯、月桂酸己酯、月桂酸异己酯、棕榈酸异己酯、棕榈酸异丙酯、棕榈酸甲酯、油酸癸酯、油酸异癸酯、硬脂酸十六烷酯硬脂酸癸酯、异硬脂酸异丙酯、异硬脂酸甲酯、己二酸二异丙酯、己二酸二异己酯、己二酸二-十六烷酯、癸二酸二异丙酯、乳酸月桂基酯、乳酸肉豆蔻酯和乳酸鲸蜡酯、肉豆蔻酸油基酯、硬脂酸油基酯和油酸油基酯、壬酸、月桂酸、肉豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸、异硬脂酸、羟基硬脂酸、油酸、亚油酸、蓖麻油酸、花生酸、山俞酸、芥子酸、月桂醇、肉豆蔻醇、鲸蜡醇、十六醇、硬脂醇、异硬脂醇、羟基硬脂醇、油醇、蓖麻油醇、山俞醇、芥子醇、2-辛基十二烷醇、羊毛脂和羊毛脂衍生物、蜂蜡、鲸蜡、肉豆蔻酸肉豆蔻酯、硬脂酸硬脂基酯、巴西棕榈蜡、小烛树蜡、卵磷脂和胆固醇。

[0285] 组合

[0286] 在一些实施例中，宜将至少一种本文所述的治疗剂与另一治疗剂组合投予。或者，仅举例来说，通过投予一种本文所述的化合物与也具有治疗益处的另一治疗剂（也包括治疗方案），来增加患者所得到的益处。在任何情况下，不管所治疗的病症、疾病或病状如何，在一些实施例中，患者所得到的总体益处都是两种治疗剂的简单加和，或者在其它实施例中，患者将得到协同益处。

[0287] 在一些实施例中，化合物的特定选择取决于主治医师的诊断和其对患者病状的判断以及适宜的治疗方案。视疾病、病症或病状的性质、患者的状况和实际选择使用的化合物而定，任选地将化合物并行（例如同时、基本上同时或在同一治疗方案内）或依次投予。在某些情况下，投药次序以及在治疗方案期间每一治疗剂的重复投予次数的确定是基于对所治疗的病症和患者状况的评价。

[0288] 在一些实施例中，当使用药物的治疗组合时，治疗有效剂量有所变化。文献中描述了凭经验确定组合治疗方案中使用的药物和其它药剂的治疗有效剂量的方法。例如，文献中曾深入描述过使用节拍性给药 (metronomic dosing)，即，较为频繁地给予较低剂量，以使毒副作用减到最小。组合治疗进一步包括定期性治疗，即在各种时间开始和停止，以帮助进行患者的临床管理。

[0289] 在本文所述的组合疗法的一些实施例中，共投予的化合物的剂量取决于使用的共用药物的类型、使用的特定药物、所治疗的病症或病状等而变化。此外，当与一种或一种以上生物试剂共投予时，任选地将本文提供的化合物与这些生物试剂同时或依次投予。在某些情况下，如果是依次投予，那么主治医师将决定本文所述治疗性化合物与所述其它治疗剂组合的适宜次序。

[0290] 任选以任何次序或同时投予所述多种治疗剂（至少一种治疗剂是本文所述的治疗剂）。如果同时投予，那么任选以单一的整体形式或以多种形式（仅举例来说，以单粒药丸或两粒分开的药丸）提供多种治疗剂。在某些情况下，任选给予多剂的某一治疗剂。在其它情况下，任选给予多剂的两种治疗剂。如果不同时投予，那么多次剂量之间的时程为任何适合的时程，例如，大于零到小于4周。在一些实施例中，利用所述其它治疗剂来缓解（部分或完全）癌症，借此随后投予本文所述的治疗剂（例如式I-V中任一式的化合物）。此外，组合方法、组合物和调配物不限于只使用两种试剂；预期也可以使用多重治疗组合（包括两种或两种以上本文所述的治疗性化合物）。

[0291] 在一些实施例中,根据多种因素来改变剂量方案,以治疗、预防或改善欲减轻的病状。这些因素包括个体所患病症,以及个体的年龄、体重、性别、饮食和医疗状况。因此,在各种实施例中,实际使用的剂量方案可变化,并偏离本文所述的剂量方案。

[0292] 在一些实施例中,构成本文所揭示的组合疗法的药剂以组合剂型或以实质上同时投予的单独剂型提供。在某些实施例中,依次投予构成组合疗法的药剂,其中任一治疗性化合物都是通过要求两步式投药的方案投予。在一些实施例中,两步式投药方案要求依次投予各药剂或间隔开来投予个别药剂。在某些实施例中,视各药剂的特性(例如药剂的效力、溶解性、生物利用率、血浆半衰期和动力学曲线)而定,多个给药步骤之间的时间段(借助非限制性实例说明)在数分钟到数小时变化。

[0293] 此外,本文所述的化合物任选与向患者提供额外或协同益处的程序组合使用。仅举例来说,预期患者将发现本文所述方法的治疗和/或预防益处,其中本文所揭示的化合物的医药组合物和/或与其它治疗的组合将与遗传测试结合,以确定个体是否是已知与某些病症或病状相关的基因或基因突变的携带者。在某些实施例中,通过对所患增生性病症(例如癌症)处于缓解(例如部分或完全)中的个体投予本文所述的治疗性化合物来实现预防益处。

[0294] 在一些实施例中,在病症或病状发生之前、期间或之后投予本文所述的化合物以及组合疗法。含有化合物的组合物的投药时程可任选变化,以适应所治疗个体的需求。因此,在某些实施例中,将这些化合物作预防用,并连续投予倾向于发展病状或病症的个体,以便预防所述病症或病状的发生。在一些实施例中,在症状发作期间,或在症状发作之后立即投予个体这些化合物和组合物。这些化合物的投药任选在症状发作的前48小时内、症状发作的前6小时或症状发作的前3小时内起始。初始投药借助任何实用的途径来实现,例如静脉内注射、推注、经5分钟到约5小时输注、药丸、胶囊、透皮贴片、颊递送等,或其组合。在一些实施例中,所述化合物的投药应在检测到或怀疑某一病症或病状发作之后尽可能快地实行,并持续治疗所述病症必需的时间长度,例如超过1个月到约3个月。任选根据已知的标准改变每一个体的治疗时间。在例示性实施例中,投予化合物或含有所述化合物的调配物至少2周、超过1个月到约5年,或超过1个月到约3年。

[0295] 在一些实施例中,以任何组合将治疗剂与以下一种或一种以上治疗剂组合或组合利用: Akt 选择性抑制剂; PI3K 抑制剂; 多肽激酶C (PKC) 抑制剂; 法呢基转移酶 (farnesyltransferase) 抑制剂; 肌浆/内质网Ca²⁺ATP酶抑制剂; Ca⁺⁺/调钙蛋白 (CaM) 相关性多肽激酶抑制剂; 细胞周期素相关性激酶抑制剂; PPD (对苯二胺); D609 (黄原酸三环癸-9-基酯); PP1 (4-氨基-5-(4-甲基苯基)-7-(叔丁基)吡唑并[3,4-d]-嘧啶); AG-879 (α -氰基-(3,5-二叔丁基-4-羟基)硫代肉桂酰胺); BAY 11-7082 ((E)-3-(4-甲基苯基磺酰基)-2-丙烯腈); 毒胡萝卜素 (thapsigargin), 或 RK-682 (3-十六烷酰基-5-羟甲基-季酮酸)。

[0296] 免疫抑制剂的非限制性实例包括西罗莫司 (Sirolimus) (雷帕霉素 (rapamycin))、环孢素 (cyclosporin)、FK506、赛灭宁 (cypermethrin)、第灭宁 (deltamethrin)、芬化利 (fenvalerate)、酪氨酸磷酸化抑制剂8 (tyrphostin 8)、甲氨喋呤 (methotrexate)、白皮杉醇 (piceatannol)、金雀异黄素 (genistein)、他克莫司 (tacrolimus)、雷帕霉素 (rapamycin)、环磷酰胺 (cyclophosphamide)、硫唑嘌呤 (azathioprine)、巯基嘌呤 (mercaptopurine)、霉酚酸酯 (mycophenolate) 和 FTY720。

[0297] Akt选择性抑制剂的非限制性实例包括SH4 (1L-6-羟甲基-手性肌醇2-R-2-O-甲基-3-O-十八烷基碳酸酯);SH-5 (D-3-脱氧-2-O-甲基-肌醇1-(R)-2-甲氧基-3-(十八烷氧基)丙基氢磷酸酯);和SH-6 (D-2,3-双脱氧-肌醇1-(R)-2-甲氧基-3-(十八烷氧基)丙基氢磷酸酯)。

[0298] PI3K抑制剂的非限制性实例包括渥曼青霉素(wortmannin);LY294002 (2-(4-吗啉基)-8-苯基-4H-1-苯并吡喃-4-酮);D000 (奥普斯特公司(Upstate),英国米尔顿凯恩斯(Milton Keynes,United Kingdom));和D121 (3-苯基-2-(9H-嘌呤-6-基硫基甲基)-3H-喹唑啉-4-酮)。

[0299] 蛋白激酶C (PKC) 抑制剂的非限制性实例包括Ro-318220 (3-[1-[3-(脒基硫基)丙基]-1H-吡啶基-3-基]-3-(1-甲基-1H-吡啶基-3-基)马来酰亚胺甲烷磺酸酯);Gö6976 (12-(2-氰基乙基)-6,7,12,13-四氢-13-甲基-5-氧代-5H-吡咯并(2,3-a)吡咯并(3,4-c)-咪唑);星形孢菌素(staurosporin);粗糠柴霉素(rottlerin);钙磷酸蛋白C(calphastin C);GF 109203X (3-[1-(二甲基氨基丙基)吡啶-3-基]-4-(吡啶-3-基)马来酰亚胺盐酸盐);金丝桃素(hypericin);鞘氨醇(sphingosine);米替福新(miltefosine);氯化棕榈酰基-DL-肉毒碱(palmitoyl-DL-carnitine Cl);粗糠柴霉素;和2,2',3,3',4,4'-六羟基-1,1'-联苯-6,6'-二薄荷醇二甲基醚。

[0300] 法呢基转移酶抑制剂的非限制性实例包括L-744,832 (C₂₆H₄₅N₃O₆S₂2HCl);或Sarasar (SCH66336或洛那法尼(lonafarnib))。

[0301] Ca⁺⁺/调钙蛋白(CaM)相关性多肽激酶抑制剂的非限制性实例包括:2-羟基-5-(2,5-二羟基苯甲基氨基)苯甲酸;KN-62 (1-[N,0-双(5-异喹啉磺酰基)-N-甲基-L-酪氨酰基]-4-苯基哌嗪);KN-93 (2-[N-(2-羟乙基)]-N-(4甲氧基苯磺酰基)氨基-N-(4-氯肉桂基)-N-甲基苯甲胺);或星形孢菌素(staurosporine) (AM-2282)。

[0302] 细胞周期素相关性激酶抑制剂的非限制性实例包括:罗斯维汀(roscovitine) (塞莱西布(Seliciclib)或CYC202);普瓦纳醇A(purvalanol A);或靛玉红(indirubin)。

[0303] 给药方法和治疗方案

[0304] 在一些实施例中,使用本文所述的试剂和/或组合物来制备针对病原体(例如,甲型肝炎;乙型肝炎;脊髓灰质炎;麻疹;腮腺炎;风疹;白喉;百日咳;破伤风;流感;水痘带状疱疹病毒;轮状病毒;流感;脑膜炎球菌病;肺炎;天花;霍乱;黑死病;黄热病;结核病;人乳头瘤病毒)免疫的疫苗,其中上调免疫应答将有益于所述治疗。在一些实施例中,将本文所述的试剂并入疫苗的调配物中。在一些实施例中,本文所述的试剂为疫苗佐剂。在一些实施例中,注射用疫苗调配物的体积为约50 μ l到约5ml。在一些实施例中,注射用疫苗调配物的体积为约100 μ l到约3.5ml。在一些实施例中,注射用疫苗调配物的体积为约200 μ l到约2ml。在一些实施例中,注射用疫苗调配物的体积为约350 μ l到约1ml。在一些实施例中,注射用疫苗调配物的体积为约500 μ l。疫苗的体积是由投药方法决定的。在某些情况下,疫苗经皮下或皮内注射授予。在某些情况下,疫苗经肌肉内注射授予。在一些实施例中,授予1剂的疫苗。在一些实施例中,授予多剂的疫苗(例如用于加强接种(booster shot))。

[0305] 在一些实施例中,使用本文所述的试剂和/或组合物制备供预防性和/或治疗性治疗至少部分从下调免疫应答获益的病症(例如自体免疫性病症、移植物排斥)的药物。

[0306] 在一些实施例中,将本文所述的试剂和/或组合物用于治疗病症(例如甲型肝炎;

乙型肝炎;脊髓灰质炎;麻疹;腮腺炎;风疹;白喉;百日咳;破伤风;流感;水痘带状疱疹病毒;轮状病毒;流感;脑膜炎球菌病;肺炎;天花;霍乱;黑死病;黄热病;结核病;人乳头瘤病毒;和癌症)的方法中,其中上调免疫应答将有益于所述治疗。在一些实施例中,将本文所述的试剂和/或组合物用于预防性和/或治疗性治疗至少部分从下调免疫应答获益的病症(例如自体免疫性病症、移植物排斥)的方法中。

[0307] 在经过医生处置后患者的病状未能改良的某些情况下,任选长期授予本文所述的试剂或组合物,也就是说,持续一段较长时间,包括持续患者终生,以便改善或者另外控制或限制患者病症的症状。

[0308] 在医生处置后患者的状态有所改良的情况下,任选继续授予本文所述的试剂或组合物;或者,暂时减少或暂时中止所授予的药物剂量一段时间(即“休药期(drug holiday)”)。休药期的长度任选在2天与1年之间变化,包括(仅举例来说)2天、3天、4天、5天、6天、7天、10天、12天、15天、20天、28天、35天、50天、70天、100天、120天、150天、180天、200天、250天、280天、300天、320天、350天或365天。休药期期间,剂量减少包括10%到100%,包括(仅举例来说)10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%。

[0309] 在患者的病状出现改良后,必要时,授予维持剂量。随后根据症状,将投药的剂量或频率或二者降低到能够维持得到改良的疾病、病症或病状的水平。在一些实施例中,患者需要针对症状的任何复发进行长期间歇式治疗。

[0310] 在一些实施例中,本文所述的试剂或组合物是适于单次授予精确剂量的单位剂型。在单位剂型中,调配物被分成含有适量的本文所述的试剂或组合物的单位剂量。在一些实施例中,单位剂量呈含有不连续量调配物的包装的形式。非限制性实例是包装片剂或胶囊,或装在小瓶或安瓿中的散剂。在一些实施例中,将水性悬浮液组合物包装于不可再密封的单剂量容器中。或者,使用可再密封的多剂量容器,在此情况下,所述组合物中通常包括防腐剂。仅举例来说,不经肠注射用调配物以单位剂型提供,其包括(但不限于)安瓿;或以加有防腐剂的多剂量容器提供。

[0311] 本文所述的试剂或组合物的适宜每日剂量为每公斤体重约0.01到10.0mg。在一些实施例中,本文所述的试剂或组合物的适宜每日剂量为每公斤体重约0.05到7.5mg。在一些实施例中,本文所述的试剂或组合物的适宜每日剂量为每公斤体重约0.1到5.0mg。在一些实施例中,本文所述的试剂或组合物的适宜每日剂量为每公斤体重约0.25到2.5mg。在一些实施例中,本文所述的试剂或组合物的适宜每日剂量为每公斤体重约0.5到1.0mg。对于较大的哺乳动物,包括(但不限于)人类,指定的每日剂量范围为约0.5mg到约100mg,通常以分剂量授予,包括(但不限于)每日达4次,或以缓释形式授予。适于口服的单位剂型包括1mg以上到50mg活性成分。由于关于个体治疗方案的变量的数目较大,而且与这些推荐值偏差相当大的情形也很常见,故前述范围仅供参考。任选根据许多变量来改变所述剂量,所述变量不限于所用本文所述的试剂或组合物的活性、待治疗的病症或病状、投药模式、个别个体的需求、所治疗的病症或病状的严重程度和从业人员的判断。

[0312] 所述治疗方案的毒性和治疗功效任选在细胞培养物或实验动物中确定,包括(但不限于)测定LD₅₀(50%群体致死的剂量)和ED₅₀(对于50%群体治疗有效的剂量)。毒性与治疗功效之间的剂量比率为治疗指数,其表示为LD₅₀与ED₅₀之间的比率。优选展现高治疗

指数的本文所述的试剂或组合物。任选使用从细胞培养分析和动物研究获得的数据,制订出用于人类的剂量范围。本文所述的试剂或组合物的剂量优选在循环浓度(包括ED50及最低限度毒性)的范围内。任选根据所用剂型和/或所用投药途径,在此范围内改变剂量。

[0313] 实例

[0314] 以下实例只是出于说明的目的,而且作为非限制性实施例。根据上述教导,本发明的许多修改、等效物和变更都是可能的,因此应了解,在所附权利要求书的范围内,可以不同于具体描述的方式实践本发明。

[0315] 实例1-使用报告基因构建体的分析法

[0316] 用报告基因构建体转化多个细胞。所述报告基因构建体具有受ODC启动子控制的FLuc。使用标准96孔板将细胞分成96份等分试样。对每一孔投予不同的小分子。将所述小分子与细胞一起培育6小时。使用荧光显微镜技术测定荧光素酶的表达式。在体外验证诱导荧光素酶基因表达的试剂。

[0317] 实例2-构建TAT-MYC融合肽

[0318] 构建p-TAT-MYC

[0319] 使用含有HIV-1的TAT蛋白质转导结构域的同框N末端9个氨基酸的序列(RKKRRQRRR (SEQ ID NO:6))的正向引物,以及去除了终止密码子的反向引物,借助PCR法扩增人MYC的编码区,来制备质粒pTAT-Myc-V5-6×His(“6×His”如SEQ ID NO:3所揭示)。随后将PCR产物克隆到pET101/D-Topo(英杰公司(Invitrogen))载体中,所述载体包括C末端V5表位和6个组氨酸(SEQ ID NO:3)的纯化标签。

[0320] 用于蛋白质表达的细菌菌株

[0321] 通过用从表达AGG、AGA、AUA、CUA、CCC、GGA密码子的tRNA的BL21罗塞塔细胞(Rosetta cell;诺瓦格公司(Novagen))分离的pRARE(CamR)转化BL-21 StarTM大肠杆菌菌株(英杰公司),产生BL-21 RARE细胞。

[0322] 蛋白质的诱导和纯化

[0323] 将pTAT-Myc-V5-6×His(“6×His”如SEQ ID NO:3所揭示)转化到BL21 RARE细胞中,并在TB/Amp/Cam板上于37℃下生长过夜。使用分离的菌落接种5ml TB/Amp/Cam起子培养物(starter culture),并在37℃下生长过夜。用5ml起子培养物接种1升的TB/Amp/Cam肉汤培养基,并生长到OD600=0.5,且在37℃下用0.5mM IPTG诱导3小时。

[0324] 通过离心使细菌细胞聚结成团,并将细胞小球再悬浮于溶解缓冲液(8M尿素、100mM NaH₂PO₄、10mM Tris,pH值达8.0),且在室温下于振荡器上溶解过夜。以29,000xg离心30分钟使溶解产物变澄清,并使用重力流将上清液施加到次氨基三乙酸镍亲和色谱柱(凯杰公司(Qiagen))上。用25体积含有10mM咪唑的溶解缓冲液洗涤色谱柱,随后用含有100mM咪唑的溶解缓冲液洗脱。

[0325] 使用Amicon Ultra离心超滤装置(10,000MWC0)浓缩蛋白质,并逐步透析到透析缓冲液(50mM NaH₂PO₄、5mM Tris(pH7.0)、450mM NaCl、5%甘油、1mM DTT)中。如下进行透析:在含有4M尿素的透析缓冲液中透析2小时、在具有2M尿素的缓冲液中透析2小时,随后在单独透析缓冲液中透析2小时。使用SDS-PAGE电泳以及考马斯蓝染色(coomassie blue staining)或者用抗V5抗体(1:5000;英杰公司)或抗c-Myc抗体(N-262,1:2000;圣塔克鲁兹生物技术公司(Santa Cruz Biotechnology))的蛋白质免疫印迹法(western blot)来验证

蛋白质的纯度和尺寸。

[0326] 借助布拉德福德蛋白质分析(Bradford protein assay;西格玛公司(Sigma)),并与牛血清白蛋白的标准曲线相比较,来测量蛋白质浓度。

[0327] 实例3-TAT-Myc融合肽对免疫应答的影响

[0328] 在体外评价作为免疫应答调控剂的TAT-MYC融合肽。将原代T细胞活化培养物与TAT-MYC融合肽一起培育72小时。随后用CFSE对培养物染色。用CFSE染色后,借助FACS法分析培养物。

[0329] 实例4-TAT-Myc融合肽对免疫应答的影响

[0330] 在体内评价作为免疫应答调控剂的TAT-MYC融合肽。通过对小鼠投予NP-KHL来针对NP-KHL使小鼠免疫。针对所述抗原免疫后,立即将TAT-MYC融合肽投予小鼠。免疫后24小时,取得小鼠的血清。分析血清中的抗体。或者,将TAT-MYC融合肽与免疫并行投予,或在免疫之前投予。

[0331] 实例5-IM TAT-MYC作为疫苗佐剂的作用

[0332] 本实验是一项双盲、随机化、安慰剂对照的研究。设计它是为了评估在投予流感疫苗和TAT-MYC融合肽后的免疫记忆。

[0333] 将参与者分为两组。第I组将投予流感疫苗和生理盐水。第II组将投予流感疫苗和TAT-MYC融合肽。

[0334] 主要目的

[0335] 评估通过对接收流感疫苗的个体肌肉内(IM)注射而投予的TAT-MYC融合肽的免疫作用。

[0336] 次要目的

[0337] • 评估通过对接收流感疫苗的个体肌肉内注射而投予的TAT-MYC融合肽的安全性和耐受性。

[0338] 方法学

[0339] 第0天,对第I组和第II组均投予单剂同种流感疫苗。监测个体的不良副作用2小时。

[0340] 通过IM注射对第I组中未展现不良副作用的所有个体投予20uL生理盐水。

[0341] 通过IM注射对第II组中未展现不良副作用的所有个体投予20uL TAT-MYC融合肽。

[0342] 第1天,抽取所有个体的血液。测定T细胞计数并记录下来。

[0343] 第20天,用来自相关流感病毒株的抗原激发所有个体。激发后1小时、激发后6小时、激发后12小时和激发后24小时抽取所有个体的血液。测定T细胞含量。

[0344] 实例6-局部TAT-MYC作为疫苗佐剂的作用

[0345] 本实验是一项双盲、随机化、安慰剂对照的研究。设计它是为了评估在投予流感疫苗和TAT-MYC融合肽后的免疫记忆。

[0346] 将参与者分为两组。第I组将投予流感疫苗和生理盐水。第II组将投予流感疫苗和TAT-MYC融合肽。

[0347] 主要目的

[0348] 评估对接收流感疫苗的个体局部投予的TAT-MYC融合肽的免疫作用。

[0349] 次要目的

[0350] • 评估对接收流感疫苗的个体局部投予的TAT-MYC融合肽的安全性和耐受性。

[0351] 方法学

[0352] 第0天,对第I组和第II组均投予单剂同种流感疫苗。监测个体的不良副作用2小时。

[0353] 对第I组未展现不良副作用的所有个体施用一次安慰剂洗液。指导个体将洗液施用到皮肤上疫苗接种的部位。

[0354] 对第II组未展现不良副作用的所有个体施用一次TAT-MYC洗液。指导个体将洗液施用到皮肤上疫苗接种的部位。

[0355] 第1天,抽取所有个体的血液。测定T细胞计数并记录下来。

[0356] 第20天,用来自相关流感病毒株的抗原激发所有个体。激发后1小时、激发后6小时、激发后12小时和激发后24小时抽取所有个体的血液。测定T细胞含量。

[0357] 实例7-下调MYC表达的试剂对RA的影响

[0358] 主要目的

[0359] 评估在对患有活动期类风湿性关节炎(RA)的个体每周皮下给予借助本文揭示的方法所鉴别的可降低MYC表达的试剂(下文中称为“X试剂”)后该试剂的稳态谷血清浓度。

[0360] 次要目的

[0361] • 评估经皮下投予患RA个体的X试剂的安全性和耐受性;评估经皮下投予患RA个体的X试剂的免疫原性;和检测皮下投予X试剂对患RA个体的类风湿因子(rheumatoid factor,RF)血清含量的影响。

[0362] 方法学

[0363] 本实验是一项双盲、随机化、安慰剂对照的平行组多剂量研究。设计它是为了评估在对患RA个体皮下投予X试剂后所述试剂的稳态谷血清浓度。

[0364] 根据计算机生成的随机化方案,对个体随机分组,以3:1比率,基于在筛选访查时获得的体重使5个平行组中的1个接收X试剂或安慰剂。

[0365] 第1天,个体将基于其体重范围接收单次IV输注(负荷剂量)的X试剂或安慰剂。在开始皮下治疗前,使用经过校准的恒定速率输注泵经静脉内投予X试剂或安慰剂,历时约30分钟。IV输注完成后约1小时,个体将接收从小瓶或使用预填充注射器抽取的其指定皮下剂量的X试剂或安慰剂。X试剂或安慰剂将由临床研究的现场工作人员每周经皮下途径投予,剂量与第1天时的皮下剂量相同,总共12次皮下注射。

[0366] 在整个研究期间,监测个体的不良事件(AE)。整个研究期间,将在选定的时间点进行体检、生命征象测量和临床实验评价。在第1天IV注射之前和结束时收集用于PK分析的血样。此外,在第8、15、22、29、36、43、50、57、64、71和78天给予每周SC剂量的X试剂之前收集血样,用于评估稳态C_{min}浓度。也在第72、74、75和76天时收集单个血样,用于评价稳态C_{max}、T_{max}和AUC(TAU)(其中TAU=7天),并在研究撤出时抽取血样(第85天)。在第1、15、29、43、57、71和85天投予X试剂之前获得血样用于评估免疫原性。在第1、8、15、29、57和85天给药之前获得血样用于测定RF。

[0367] 完成12周的X试剂或安慰剂皮下给药的个体符合条件进入长期延续期(long term extension,LTE)。对于进入LTE的个体,第85天时将投予第一剂X试剂。

[0368] 个体的数量

[0369] 介于48与72名之间数量的个体将随机进行研究治疗。

[0370] 诊断和纳入标准

[0371] 超过18岁的患有活动期RA的男性或女性将能够参与本研究。个体必须满足美国风湿病学会(American College of Rheumatology, ACR; 前身为美国风湿病医学会(American Rheumatism Association, ARA))有关RA的分类标准,并患有活动期病症。个体须从初始诊断时起患有RA至少1年。

[0372] 尽管本文中已经显示和描述了本发明的优选实施例,但所属领域技术人员将易于了解,这些实施例只是作为实例提供。在不偏离本发明的情况下,所属领域技术人员现将进行多种变更、改变和取代。应了解,本文所述的本发明各实施例的各种替代方案都可用于实践本发明。以下权利要求书将界定本发明的范围,并且其中将涵盖在这些权利要求和其等效内容范围内的方法和结构。

序列表

<110> 泰加生物工艺学公司

<120> MYC的调节剂、其使用方法和鉴别调节MYC的试剂的方法

<130> 36824-705.201

<140> 12/550,166

<141> 2009-08-28

<150> 61/092,708

<151> 2008-08-28

<160> 6

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 459

<212> PRT

<213> 智人

<400> 1

Met Asp Phe Phe Arg Val Val Glu Asn Gln Gln Pro Pro Ala Thr Met
1 5 10 15

[0001]

Pro Leu Asn Val Ser Phe Thr Asn Arg Asn Tyr Asp Leu Asp Tyr Asp
20 25 30

Ser Val Gln Pro Tyr Phe Tyr Cys Asp Glu Glu Glu Asn Phe Tyr Gln
35 40 45

Gln Gln Gln Gln Ser Glu Leu Gln Pro Pro Ala Pro Ser Glu Asp Ile
50 55 60

Trp Lys Lys Phe Glu Leu Leu Pro Thr Pro Pro Leu Ser Pro Ser Arg
65 70 75 80

Arg Ser Gly Leu Cys Ser Pro Ser Tyr Val Ala Val Thr Pro Phe Ser
85 90 95

Leu Arg Gly Asp Asn Asp Gly Gly Gly Gly Ser Phe Ser Thr Ala Asp
100 105 110

Gln Leu Glu Met Val Thr Glu Leu Leu Gly Gly Asp Met Val Asn Gln
115 120 125

Ser Phe Ile Cys Asp Pro Asp Asp Glu Thr Phe Ile Lys Asn Ile Ile
130 135 140

Ile Gln Asp Cys Met Trp Ser Gly Phe Ser Ala Ala Ala Lys Leu Val
145 150 155 160

Ser Glu Lys Leu Ala Ser Tyr Gln Ala Ala Arg Lys Asp Ser Gly Ser
165 170 175

Pro Asn Pro Ala Arg Gly His Ser Val Cys Ser Thr Ser Ser Leu Tyr
180 185 190

Leu Gln Asp Leu Ser Ala Ala Ala Ser Glu Cys Ile Asp Pro Ser Val
195 200 205

Val Phe Pro Tyr Pro Leu Asn Asp Ser Ser Ser Pro Lys Ser Cys Ala
210 215 220

Ser Gln Asp Ser Ser Ala Phe Ser Pro Ser Ser Asp Ser Leu Leu Ser
225 230 235 240

[0002]

Ser Thr Glu Ser Ser Pro Gln Gly Ser Pro Glu Pro Leu Val Leu His
245 250 255

Glu Glu Thr Pro Pro Thr Thr Ser Ser Asp Ser Glu Glu Glu Gln Glu
260 265 270

Asp Glu Glu Glu Ile Asp Val Val Ser Val Glu Lys Arg Gln Ala Pro
275 280 285

Gly Lys Arg Ser Glu Ser Gly Ser Pro Ser Ala Gly Gly His Ser Lys
290 295 300

Pro Pro His Ser Pro Leu Val Leu Lys Arg Cys His Val Ser Thr His
305 310 315 320

Gln His Asn Tyr Ala Ala Pro Pro Ser Thr Arg Lys Asp Tyr Pro Ala
325 330 335

Ala Lys Arg Val Lys Leu Asp Ser Val Arg Val Leu Arg Gln Ile Ser
340 345 350

Asn Asn Arg Lys Cys Thr Ser Pro Arg Ser Ser Asp Thr Glu Glu Asn
355 360 365

Val Lys Arg Arg Thr His Asn Val Leu Glu Arg Gln Arg Arg Asn Glu
370 375 380

Leu Lys Arg Ser Phe Phe Ala Leu Arg Asp Gln Ile Pro Glu Leu Glu
385 390 395 400

Asn Asn Glu Lys Ala Pro Lys Val Val Ile Leu Lys Lys Ala Thr Ala
405 410 415

Tyr Ile Leu Ser Val Gln Ala Glu Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu
420 425 430

Asp Leu Leu Arg Lys Arg Arg Glu Gln Leu Lys His Lys Leu Glu Gln
435 440 445

Leu Arg Lys Gly Glu Leu Asn Ser Lys Leu Glu
450 455

[0003]

<210> 2

<211> 492

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的说明：合成多肽

<400> 2

Met Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Met Asp Phe Phe Arg Val
1 5 10 15

Val Glu Asn Gln Gln Pro Pro Ala Thr Met Pro Leu Asn Val Ser Phe
20 25 30

Thr Asn Arg Asn Tyr Asp Leu Asp Tyr Asp Ser Val Gln Pro Tyr Phe
35 40 45

Tyr Cys Asp Glu Glu Glu Asn Phe Tyr Gln Gln Gln Gln Gln Ser Glu
50 55 60

Leu Gln Pro Pro Ala Pro Ser Glu Asp Ile Trp Lys Lys Phe Glu Leu
65 70 75 80

Leu Pro Thr Pro Pro Leu Ser Pro Ser Arg Arg Ser Gly Leu Cys Ser
85 90 95

Pro Ser Tyr Val Ala Val Thr Pro Phe Ser Leu Arg Gly Asp Asn Asp
100 105 110

Gly Gly Gly Gly Ser Phe Ser Thr Ala Asp Gln Leu Glu Met Val Thr
115 120 125

Glu Leu Leu Gly Gly Asp Met Val Asn Gln Ser Phe Ile Cys Asp Pro
130 135 140

Asp Asp Glu Thr Phe Ile Lys Asn Ile Ile Ile Gln Asp Cys Met Trp
145 150 155 160

Ser Gly Phe Ser Ala Ala Ala Lys Leu Val Ser Glu Lys Leu Ala Ser
165 170 175

Tyr Gln Ala Ala Arg Lys Asp Ser Gly Ser Pro Asn Pro Ala Arg Gly
180 185 190

[0004]

His Ser Val Cys Ser Thr Ser Ser Leu Tyr Leu Gln Asp Leu Ser Ala
195 200 205

Ala Ala Ser Glu Cys Ile Asp Pro Ser Val Val Phe Pro Tyr Pro Leu
210 215 220

Asn Asp Ser Ser Ser Pro Lys Ser Cys Ala Ser Gln Asp Ser Ser Ala
225 230 235 240

Phe Ser Pro Ser Ser Asp Ser Leu Leu Ser Ser Thr Glu Ser Ser Pro
245 250 255

Gln Gly Ser Pro Glu Pro Leu Val Leu His Glu Glu Thr Pro Pro Thr
260 265 270

Thr Ser Ser Asp Ser Glu Glu Glu Gln Glu Asp Glu Glu Glu Ile Asp
275 280 285

Val Val Ser Val Glu Lys Arg Gln Ala Pro Gly Lys Arg Ser Glu Ser
290 295 300

Gly Ser Pro Ser Ala Gly Gly His Ser Lys Pro Pro His Ser Pro Leu
305 310 315 320

Val Leu Lys Arg Cys His Val Ser Thr His Gln His Asn Tyr Ala Ala
325 330 335

Pro Pro Ser Thr Arg Lys Asp Tyr Pro Ala Ala Lys Arg Val Lys Leu
340 345 350

Asp Ser Val Arg Val Leu Arg Gln Ile Ser Asn Asn Arg Lys Cys Thr
355 360 365

Ser Pro Arg Ser Ser Asp Thr Glu Glu Asn Val Lys Arg Arg Thr His
370 375 380

Asn Val Leu Glu Arg Gln Arg Arg Asn Glu Leu Lys Arg Ser Phe Phe
385 390 395 400

Ala Leu Arg Asp Gln Ile Pro Glu Leu Glu Asn Asn Glu Lys Ala Pro
405 410 415

[0005]

Lys Val Val Ile Leu Lys Lys Ala Thr Ala Tyr Ile Leu Ser Val Gln
420 425 430

Ala Glu Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Leu Arg Lys Arg
435 440 445

Arg Glu Gln Leu Lys His Lys Leu Glu Gln Leu Arg Lys Gly Glu Leu
450 455 460

Asn Ser Lys Leu Glu Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu
465 470 475 480

Asp Ser Thr Arg Thr Gly His His His His His His
485 490

<210> 3

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的说明：合成6组氨酸标签

<400> 3

His His His His His His
1 5

<210> 4

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的说明：合成肽

<400> 4

Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr
1 5 10

[0006]

<210> 5

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的说明：合成肽

<400> 5

Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp
1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> 人免疫缺陷病毒

<400> 6

Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
1 5