(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110199015 A
(43)申请公布日 2019.09.03

(21)申请号 201780073874.1

(22)申请日 2017.10.02

(30)优先权数据
62/402707 2016.09.30 US
62/502508 2017.05.05 US
62/553058 2017.08.31 US
62/556309 2017.09.08 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2019.05.29

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2017/054799 2017.10.02

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2018/064681 EN 2018.04.05

(71)申请人 波赛达治疗公司
地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 E.奥斯特塔 D.舍德洛克

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
代理人 周蓉 黄登高

(51)Int.Cl.
*C12N 5/0783*(2006.01)
*A61K 35/17*(2006.01)

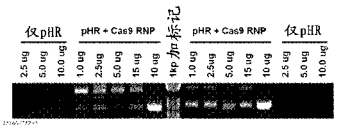
权利要求书16页 说明书192页
序列表63页 附图30页

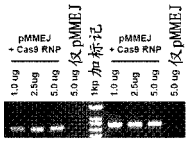
(54)发明名称

修饰干细胞记忆T细胞、其制造方法与使用方法

(57)摘要

本公开提供了一种生产修饰的干细胞样记忆T细胞(例如CAR-T细胞)的方法,用于施用于受试者作为例如过继细胞疗法。




CN 110199015 A

1.生产修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的方法,包括:

向原代人T细胞中引入(a)包含含有抗原受体、治疗蛋白或编码它们的序列的转座子的转座子组合物,和(b)包含转座酶或编码该转座酶的序列的转座酶组合物以生产修饰T细胞,

其中该修饰T细胞表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,

由此生产修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。

2.生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的方法,包括:

向多个原代人T细胞中引入(a)包含含有抗原受体、治疗蛋白或编码它们的序列的转座子的转座子组合物,和(b)包含转座酶或编码该转座酶的序列的转座酶组合物以生产多个修饰T细胞,

其中所述多个修饰T细胞的至少25%、50%、60%、75%、80%、85%、90%、95%或99%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,

由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。

3.权利要求2的方法,其中所述多个修饰T细胞的至少60%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记。

4.生产修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的方法,包括:

向原代人T细胞中引入(a)包含含有抗原受体、治疗蛋白或编码它们的序列的转座子的转座子组合物,和(b)包含转座酶或编码该转座酶的序列的转座酶组合物以生产修饰T细胞,

其中所述修饰T细胞表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记,

由此生产修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)。

5.生产多个修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的方法,包括:

向多个原代人T细胞中引入(a)包含含有抗原受体、治疗蛋白或编码它们的序列的转座子的转座子组合物,和(b)包含转座酶或编码该转座酶的序列的转座酶组合物以生产多个修饰T细胞,

其中所述多个修饰T细胞的至少25%、50%、60%、75%、80%、85%、90%、95%或99%表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记,

由此生产多个修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)。

6.权利要求5的方法,其中所述多个修饰T细胞的至少60%表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记。

7.权利要求1-6任一项的方法,其中所述转座子是具有编码所述抗原受体或所述治疗蛋白的序列的质粒DNA转座子,所述序列侧翼是两个顺式调控隔离子元件。

8.权利要求1-7任一项的方法,其中所述转座子是piggyBac转座子。

9.权利要求1-8任一项的方法,其中所述转座酶是piggyBac转座酶。

10.权利要求9的方法,其中所述piggyBac转座酶包含含有SEQ ID NO:4的氨基酸序列。

11.权利要求9或10的方法,其中所述piggyBac转座酶是极度活跃的变体,并且其中所述极度活跃的变体包含在SEQ ID NO:4的位置30、165、282和538的一个或多个处的氨基酸置换。

12.权利要求11的方法,其中在SEQ ID NO:4的位置30处的氨基酸置换是缬氨酸(V)置

换异亮氨酸(I)(I30V)。

13.权利要求11的方法,其中在SEQ ID NO:4的位置165处的氨基酸置换是丝氨酸(S)置换甘氨酸(G)(G165S)。

14.权利要求11的方法,其中在SEQ ID NO:4的位置282处的氨基酸置换是缬氨酸(V)置换蛋氨酸(M)(M282V)。

15.权利要求11的方法,其中在SEQ ID NO:4的位置538处的氨基酸置换是赖氨酸(K)置换天冬酰胺(N)(N538K)。

16.权利要求1-15任一项的方法,其中所述转座酶是Super piggyBac(SPB)转座酶。

17.权利要求16的方法,其中所述Super piggyBac(SPB)转座酶包含含有SEQ ID NO:5的氨基酸序列。

18.权利要求1-17任一项的方法,其中编码所述转座酶的序列是mRNA序列。

19.权利要求1-6任一项的方法,其中所述转座子是睡美人转座子。

20.权利要求1-6或19任一项的方法,其中所述转座酶是睡美人转座酶或极度活跃的睡美人转座酶(SB100X)。

21.权利要求1-6任一项的方法,其中所述转座子是Helraiser转座子。

22.权利要求1-6或21任一项的方法,其中所述转座酶是Helitron转座酶。

23.权利要求1-6任一项的方法,其中所述转座子是Tol2转座子。

24.权利要求1-6或23任一项的方法,其中所述转座酶是Tol2转座酶。

25.权利要求1-6任一项的方法,其中所述转座子由任何物种衍生或重组。

26.权利要求1-6或25任一项的方法,其中所述转座子是合成的。

27.权利要求1-26任一项的方法,其中所述抗原受体是T细胞受体。

28.权利要求27的方法,其中所述T细胞受体是天然存在的。

29.权利要求27的方法,其中所述T细胞受体不是天然存在的。

30.权利要求29的方法,其中所述T细胞受体与野生型T细胞受体相比包含一个或更多个突变。

31.权利要求29或30的方法,其中所述T细胞受体是重组T细胞受体。

32.权利要求1-31任一项的方法,其中所述抗原受体是嵌合抗原受体(CAR)。

33.权利要求32的方法,其中所述CAR是CARTyrin。

34.权利要求32的方法,其中所述CAR包含一个或更多个VHH序列。

35.权利要求34的方法,其中所述CAR是VCAR。

33.权利要求1-32任一项的方法,进一步包括向所述原代人T细胞中引入(c)包含含有编码治疗蛋白的序列的第二转座子的组合物,以生产能够表达所述治疗蛋白的修饰T细胞。

34.权利要求33的方法,其中所述治疗蛋白是已分泌的或可分泌的蛋白。

35.权利要求33或34的方法,其中所述编码所述治疗蛋白的序列是核酸序列。

36.权利要求35的方法,其中所述编码所述治疗蛋白的序列是DNA序列。

37.权利要求33-36任一项的方法,其中(b)的转座酶组合物动员(a)的转座子和(c)的第二转座子。

38.权利要求1-37任一项的方法,进一步包括向所述原代人T细胞中引入(d)包含转座酶或编码所述转座酶的序列的第二转座酶组合物,

其中(d)的第二转座酶能够转座(c)的转座子,且

其中(d)的第二转座酶组合物和(b)的转座酶组合物不相同。

39.权利要求38的方法,其中(b)的转座酶组合物动员(a)的转座子且(d)的转座酶组合物动员(c)的转座子。

40.生产修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的方法,包括:

(a)向原代人T细胞中引入包含抗原受体、治疗蛋白或编码它们的序列的组合物以生产修饰T细胞,其中所述抗原受体或所述治疗蛋白不包含在转座子中,并且

(b)使所述修饰T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触以生产激活的修饰T细胞,

其中所述激活的修饰T细胞表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,

由此生产修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。

41.生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的方法,包括:

(a)向多个原代人T细胞中引入包含抗原受体、治疗蛋白或编码它们的序列的组合物以生产多个修饰的T细胞,其中所述抗原受体或所述治疗蛋白不包含在转座子中,并且

(b)使多个修饰T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触以生产多个激活的修饰T细胞,

其中所述多个激活的修饰T细胞的至少25%、50%、60%、75%、80%、85%、90%、95%或99%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,

由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。

42.权利要求41的方法,其中所述多个激活的修饰T细胞的至少60%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记。

43.生产修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的方法,包括:

(a)向原代人T细胞中引入包含抗原受体、治疗蛋白或编码它们的序列的组合物以生产修饰T细胞,其中所述抗原受体或所述治疗蛋白不包含在转座子中,并且

(b)使所述修饰T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触以生产激活的修饰T细胞,

其中所述激活的修饰T细胞表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记,

由此生产修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)。

44.生产多个修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的方法,包括:

(a)向多个原代人T细胞中引入包含抗原受体、治疗蛋白或编码它们的序列的组合物以生产多个修饰的T细胞,其中所述抗原受体或所述治疗蛋白不包含在转座子中,并且

(b)使多个修饰T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触以生产多个激活的修饰T细胞,

其中所述多个激活的修饰T细胞的至少25%、50%、60%、75%、80%、85%、90%、95%

或99％表达中枢记忆T细胞(TCM)的一种或更多种细胞表面标记，

由此生产多个修饰的中枢记忆T细胞(TCM)。

45.权利要求44的方法，其中所述多个激活的修饰T细胞的至少60％表达中枢记忆T细胞(TCM)的一种或更多种细胞表面标记。

46.权利要求40-45任一项的方法，其中病毒载体包含所述抗原受体或所述治疗蛋白。

47.权利要求46的方法，其中所述病毒载体包含从慢病毒中分离或衍生的序列。

48.权利要求46的方法，其中所述病毒载体包含从逆转录病毒中分离或衍生的序列。

49.权利要求48的方法，其中所述逆转录病毒是γ逆转录病毒。

50.权利要求40-46任一项的方法，其中所述病毒载体包含从腺相关病毒(AAV)中分离或衍生的序列。

51.权利要求40-45任一项的方法，其中核酸载体包含所述抗原受体或所述治疗蛋白。

52.权利要求51的方法，其中mRNA载体包含所述抗原受体或所述治疗蛋白。

53.权利要求40-45任一项的方法，其中纳米粒子载体包含所述抗原受体或所述治疗蛋白。

54.权利要求40-45任一项的方法，其中所述引入步骤包括同源重组。

55.权利要求54的方法，其中所述同源重组包括使包含所述抗原受体或所述治疗蛋白的组合物、基因组编辑构建体与所述多个原代人T细胞的至少一个原代人T细胞的基因组序列接触。

56.权利要求55的方法，其中载体包含所述抗原受体或所述治疗蛋白。

57.权利要求56的方法，其中所述载体是腺相关载体(AAV)。

58.权利要求54-57任一项的方法，其中所述基因组编辑构建体包含指导RNA和成簇的规律间隔的短回文重复序列(CRISPR)相关蛋白9(Cas9)DNA核酸内切酶。

59.权利要求58的方法，其中所述基因组编辑构建体包含DNA结合域和IIS型核酸内切酶。

60.权利要求59的方法，其中所述基因组编辑构建体编码融合蛋白。

61.权利要求59的方法，其中所述基因组编辑构建体编码所述DNA结合域和所述IIS型核酸内切酶，并且其中表达的DNA结合域和表达的IIS型核酸内切酶是非共价连接的。

62.权利要求58-62任一项的方法，其中所述基因组编辑构建体包含衍生自Cas9核酸内切酶的序列。

63.权利要求62的方法，其中所述衍生自Cas9核酸内切酶的序列是所述DNA结合域。

64.权利要求62或63的方法，其中所述衍生自Cas9核酸内切酶的序列编码无活性的Cas9。

65.权利要求64的方法，其中所述衍生自Cas9核酸内切酶的序列包含在位置840处的丙氨酸(A)对组氨酸(H)的氨基酸置换(H840A)。

66.权利要求62-65任一项的方法，其中所述衍生自Cas9核酸内切酶的序列编码截短的Cas9。

67.权利要求66的方法，其中所述衍生自Cas9核酸内切酶的序列包含在位置580处的丙氨酸(A)对天冬酰胺(N)的氨基酸置换(N580A)。

68.权利要求62-67任一项的方法，其中所述衍生自Cas9核酸内切酶的序列包含在位置

10处的丙氨酸(A)对天冬氨酸(D)的氨基酸置换(D10A)。

69.权利要求58-61任一项的方法,其中所述基因组编辑构建体包含衍生自转录激活因子样效应物核酸酶(TALEN)的序列。

70.权利要求69的方法,其中所述衍生自TALEN的序列是所述DNA结合域。

71.权利要求58的方法,其中所述基因组编辑构建体包含TALEN。

72.权利要求58-61任一项的方法,其中所述基因组编辑构建体包含衍生自锌指核酸酶(ZFN)的序列。

73.权利要求72的方法,其中衍生自ZFN的序列是所述DNA结合域。

74.权利要求58的方法,其中所述基因组编辑构建体包含锌指核酸酶(ZFN)。

75.权利要求58-74任一项的方法,其中基因组编辑构建体靶向哺乳动物染色体上的安全港位点。

76.权利要求58-74任一项的方法,其中基因组编辑构建体靶向人染色体上的安全港位点。

77.权利要求75或76的方法,其中所述染色体为体内、原位、离体或体外。

78.权利要求58-77任一项的方法,其中基因组编辑构建体靶向哺乳动物染色体上的编码内源性T细胞受体的组件的序列或编码内源性主要组织相容性复合体(MHC)的组件的序列。

79.权利要求58-77任一项的方法,其中基因组编辑构建体靶向人染色体上的编码内源性T细胞受体的组件的序列或编码内源性主要组织相容性复合体(MHC)的组件的序列。

80.权利要求40-79任一项的方法,其中所述抗原受体是T细胞受体。

81.权利要求80的方法,其中所述T细胞受体是天然存在的。

82.权利要求80的方法,其中所述T细胞受体不是天然存在的。

83.权利要求82的方法,其中所述T细胞受体与野生型T细胞受体相比包含一个或多个突变。

84.权利要求82或83的方法,其中所述T细胞受体是重组T细胞受体。

85.权利要求40-79任一项的方法,其中所述抗原受体是嵌合抗原受体(CAR)。

86.权利要求85的方法,其中所述CAR包含一个或多个Centyrin序列。

87.权利要求86的方法,其中所述CAR是CARTyrin。

88.权利要求85的方法,其中所述CAR包含一个或多个VHH序列。

89.权利要求88的方法,其中所述CAR是VCAR。

90.权利要求40-89任一项的方法,进一步包括向所述原代人T细胞中引入包含编码治疗蛋白的序列的组合物,以生产能够表达所述治疗蛋白的修饰T细胞。

91.权利要求40-90任一项的方法,其中所述治疗蛋白是已分泌的或可分泌的蛋白。

92.权利要求90或91的方法,其中所述编码所述治疗蛋白的序列是核酸序列。

93.权利要求92的方法,其中所述编码所述治疗蛋白的序列是DNA序列。

94.权利要求90-93任一项的方法,其中所述引入包括同源重组。

95.权利要求40-94任一项的方法,其中(b)的T细胞激活剂组合物进一步包含抗人CD2单特异性四聚体抗体复合物。

96.权利要求40-42或46-95任一项的方法,进一步包括以下步骤:

(c)使所述激活的修饰T细胞与包含人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、Iscove's MDM和扩增补充剂中的一种或多种的T细胞扩增组合物接触以生产多个扩增的修饰T细胞，

其中所述多个扩增的修饰T细胞的至少2％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记。

97.权利要求96的方法，其中所述多个扩增的修饰T细胞的至少2％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或其间的任意百分比表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的细胞表面标记。

98.权利要求97的方法，其中所述多个扩增的修饰T细胞的至少60％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的细胞表面标记。

99.权利要求43-95任一项的方法，进一步包括以下步骤：

(c)使所述激活的修饰T细胞与包含人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、Iscove's MDM和扩增补充剂中的一种或多种的T细胞扩增组合物接触以生产多个扩增的修饰T细胞，

其中所述多个扩增的修饰T细胞的至少2％表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记。

100.权利要求99的方法，其中所述多个扩增的修饰T细胞的至少2％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或其间的任意百分比表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的细胞表面标记。

101.权利要求99的方法，其中所述多个扩增的修饰T细胞的至少60％表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的细胞表面标记。

102.权利要求40-42或46-101任一项的方法，其中所述方法进一步包括以下步骤：

(d)富集所述多个扩增的修饰T细胞以生产包含至少2％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或其间的任意百分比的表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的细胞表面标记的修饰T细胞的组合物。

103.权利要求40-42或46-101任一项的方法，其中所述方法进一步包括以下步骤：

(d)富集所述多个扩增的修饰T细胞以生产包含至少60％的表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的细胞表面标记的修饰T细胞的组合物。

104.权利要求43-101任一项的方法，其中所述方法进一步包括以下步骤：

(d)富集所述多个扩增的修饰T细胞以生产包含至少2％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或其间的任意百分比的表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的细胞表面标记的修饰T细胞的组合物。

105.权利要求43-101任一项的方法，其中所述方法进一步包括以下步骤：

(d)富集所述多个扩增的修饰T细胞以生产包含至少60％的表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的细胞表面标记的修饰T细胞的组合物。

106.权利要求102或103的方法，其中所述富集步骤包括从多个富集的修饰T细胞中分离表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记的修饰T细胞。

107.权利要求106的方法，其中所述富集步骤进一步包括使分离的修饰$T_{SCM}$与包含人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、Iscove's MDM和扩增补充剂中的一种

或多种的T细胞扩增组合物接触以生产多个扩增的富集的修饰$T_{SCM}$。

108.权利要求104或105的方法，其中所述富集步骤包括从多个富集的修饰T细胞中分离表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记的修饰T细胞。

109.权利要求108的方法，其中所述富集步骤进一步包括使分离的修饰$T_{CM}$与包含人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、Iscove's MDM和扩增补充剂中的一种或多种的T细胞扩增组合物接触以生产多个扩增的富集的修饰$T_{CM}$。

110.权利要求40-109任一项的方法，其中所述T细胞扩增组合物进一步包含辛酸、烟酰胺、2,4,7,9-四甲基-5-癸炔-4,7-二醇(TMDD)、己二酸二异丙酯(DIPA)、正丁基-苯磺酰胺、1,2-苯二甲酸、双(2-甲基丙基)酯、棕榈酸、亚油酸、油酸、硬脂酸酰肼、油酰胺、甾醇和烷烃中的一种或多种。

111.权利要求40-109任一项的方法，其中所述T细胞扩增组合物进一步包含辛酸、棕榈酸、亚油酸、油酸和甾醇中的一种或多种。

112.权利要求111的方法，其中所述T细胞扩增组合物进一步包含以下的一种或多种：浓度为0.9mg/kg至90mg/kg的辛酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的棕榈酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的亚油酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的油酸，包括端点；和浓度为大约0.1mg/kg至10mg/kg的甾醇，包括端点。

113.权利要求111的方法，其中所述T细胞扩增组合物进一步包含以下的一种或多种：浓度为大约9mg/kg的辛酸，浓度为大约2mg/kg的棕榈酸，浓度为大约2mg/kg的亚油酸，浓度为大约2mg/kg的油酸和浓度为大约1mg/kg的甾醇。

114.权利要求111的方法，其中所述T细胞扩增组合物进一步包含以下的一种或多种：浓度为6.4μmol/kg至640μmol/kg的辛酸，包括端点；浓度为0.7μmol/kg至70μmol/kg的棕榈酸，包括端点；浓度为0.75μmol/kg至75μmol/kg的亚油酸，包括端点；浓度为0.75μmol/kg至75μmol/kg的油酸，包括端点；和浓度为0.25μmol/kg至25μmol/kg的甾醇，包括端点。

115.权利要求111的方法，其中所述T细胞扩增组合物进一步包含以下的一种或多种：浓度为大约64μmol/kg的辛酸，浓度为大约7μmol/kg的棕榈酸，浓度为大约7.5μmol/kg的亚油酸，浓度为大约7.5μmol/kg的油酸和浓度为大约2.5μmol/kg的甾醇。

116.生产修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的方法，包括：

(a)向原代人T细胞中引入包含抗原受体或治疗蛋白的组合物以生产修饰T细胞，其中转座子包含所述抗原受体，和

(b)使所述修饰T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触以生产激活的修饰T细胞，

其中所述激活的修饰T细胞表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，

由此生产修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。

117.生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的方法，包括：

(a)向多个原代人T细胞中引入包含抗原受体或治疗蛋白的组合物以生产多个修饰T细胞，其中转座子包含所述抗原受体，和

(b)使所述多个修饰T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特

异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触以生产多个激活的修饰T细胞，

其中所述多个激活的修饰T细胞的至少25％、50％、60％、75％、80％、85％、90％、95％或99％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，

由此生产修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。

118.权利要求117的方法，其中所述多个激活的修饰T细胞的至少60％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记。

119.生产修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的方法，包括：

(a)向原代人T细胞中引入包含抗原受体或治疗蛋白的组合物以生产修饰T细胞，其中转座子包含所述抗原受体，和

(b)使所述修饰T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触以生产激活的修饰T细胞，

其中所述激活的修饰T细胞表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记，

由此生产修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)。

120.生产多个修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的方法，包括：

(a)向多个原代人T细胞中引入包含抗原受体或治疗蛋白的组合物以生产多个修饰T细胞，其中转座子包含所述抗原受体，和

(b)使所述多个修饰T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触以生产多个激活的修饰T细胞，

其中所述多个激活的修饰T细胞的至少25％、50％、60％、75％、80％、85％、90％、95％或99％表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记，

由此生产修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)。

121.权利要求120的方法，其中所述多个激活的修饰T细胞的至少60％表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记。

122.权利要求116-121任一项的方法，其中(b)的T细胞激活剂组合物进一步包含抗人CD2单特异性四聚体抗体复合物。

123.权利要求116-118或122任一项的方法，进一步包括以下步骤：

(c)使所述激活的修饰T细胞与包含人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、Iscove's MDM和扩增补充剂中的一种或多种的T细胞扩增组合物接触以生产多个扩增的修饰T细胞，

其中所述多个扩增的修饰T细胞的至少2％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记。

124.权利要求123的方法，其中所述多个扩增的修饰T细胞的至少2％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或其间的任意百分比表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的细胞表面标记。

125.权利要求123的方法，其中所述多个扩增的修饰T细胞的至少60％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的细胞表面标记。

126.权利要求119-122任一项的方法，进一步包括以下步骤：

(c)使所述激活的修饰T细胞与包含人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、Iscove's MDM和扩增补充剂中的一种或多种的T细胞扩增组合物接触以生产多个扩增的修饰T细胞，

其中所述多个扩增的修饰T细胞的至少2％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记。

127.权利要求126的方法，其中所述多个扩增的修饰T细胞的至少2％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或其间的任意百分比表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的细胞表面标记。

128.权利要求126的方法，其中所述多个扩增的修饰T细胞的至少60％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的细胞表面标记。

129.权利要求116-118或122-128任一项的方法，其中所述方法进一步包括以下步骤：

(d)：富集所述多个扩增的修饰T细胞以生产包含至少2％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或其间的任意百分比的表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的细胞表面标记的修饰T细胞的组合物。

130.权利要求116-118或122-128任一项的方法，其中所述方法进一步包括以下步骤：

(d)富集所述多个扩增的修饰T细胞以生产包含至少60％的表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的细胞表面标记的修饰T细胞的组合物。

131.权利要求119-128任一项的方法，其中所述方法进一步包括以下步骤：

(d)：富集所述多个扩增的修饰T细胞以生产包含至少2％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或其间的任意百分比的表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的细胞表面标记的修饰T细胞的组合物。

132.权利要求119-128任一项的方法，其中所述方法进一步包括以下步骤：

(d)富集所述多个扩增的修饰T细胞以生产包含至少60％的表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的细胞表面标记的修饰T细胞的组合物。

133.权利要求129或130的方法，其中所述富集步骤包括从多个富集的修饰T细胞中分离表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记的修饰T细胞。

134.权利要求133的方法，其中所述富集步骤进一步包括使分离的修饰$T_{SCM}$与包含人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、Iscove's MDM和扩增补充剂中的一种或多种的T细胞扩增组合物接触以生产多个扩增的富集的修饰$T_{SCM}$。

135.权利要求131或132的方法，其中所述富集步骤包括从多个富集的修饰T细胞中分离表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记的修饰T细胞。

136.权利要求135的方法，其中所述富集步骤进一步包括使分离的修饰$T_{SCM}$与包含人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、Iscove's MDM和扩增补充剂中的一种或多种的T细胞扩增组合物接触以生产多个扩增的富集的修饰$T_{SCM}$。

137.权利要求116-136任一项的方法，其中所述T细胞扩增组合物进一步包含辛酸、烟酰胺、2,4,7,9-四甲基-5-癸炔-4,7-二醇(TMDD)、己二酸二异丙酯(DIPA)、正丁基-苯磺酰胺、1,2-苯二甲酸、双(2-甲基丙基)酯、棕榈酸、亚油酸、油酸、硬脂酸酰肼、油酰胺、甾醇和烷烃中的一种或多种。

138.权利要求116-137任一项的方法，其中所述T细胞扩增组合物进一步包含辛酸、棕榈酸、亚油酸、油酸和甾醇中的一种或多种。

139.权利要求138的方法，其中所述T细胞扩增组合物进一步包含以下的一种或多种：浓度为0.9mg/kg至90mg/kg的辛酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的棕榈酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的亚油酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的油酸，包括端点；和浓度为大约0.1mg/kg至10mg/kg的甾醇，包括端点。

140.权利要求138的方法，其中所述T细胞扩增组合物进一步包含以下的一种或多种：浓度为大约9mg/kg的辛酸，浓度为大约2mg/kg的棕榈酸，浓度为大约2mg/kg的亚油酸，浓度为大约2mg/kg的油酸和浓度为大约1mg/kg的甾醇。

141.权利要求138的方法，其中所述T细胞扩增组合物进一步包含以下的一种或多种：浓度为6.4μmol/kg至640μmol/kg的辛酸，包括端点；浓度为0.7μmol/kg至70μmol/kg的棕榈酸，包括端点；浓度为0.75μmol/kg至75μmol/kg的亚油酸，包括端点；浓度为0.75μmol/kg至75μmol/kg的油酸，包括端点；和浓度为0.25μmol/kg至25μmol/kg的甾醇，包括端点。

142.权利要求138的方法，其中所述T细胞扩增组合物进一步包含以下的一种或多种：浓度为大约64μmol/kg的辛酸，浓度为大约7μmol/kg的棕榈酸，浓度为大约7.5μmol/kg的亚油酸，浓度为大约7.5μmol/kg的油酸和浓度为大约2.5μmol/kg的甾醇。

143.权利要求116-142任一项的方法，进一步包括向原代人T细胞中引入(c)包含含有编码治疗蛋白的序列的第二转座子的组合物，以生产能够表达所述治疗蛋白的修饰T细胞。

144.权利要求143的方法，其中所述治疗蛋白是已分泌的或可分泌的蛋白。

145.权利要求143或144的方法，其中所述编码所述治疗蛋白的序列是核酸序列。

146.权利要求143或144的方法，其中所述编码所述治疗蛋白的序列是DNA序列。

147.权利要求143-146任一项的方法，其中(b)的转座酶组合物动员(a)的转座子和(c)的第二转座子。

148.权利要求143-147任一项的方法，进一步包括向原代人T细胞中引入(d)包含转座酶或编码所述转座酶的序列的第二转座酶组合物，并且

其中(d)的第二转座酶能够转座(c)的转座子，且

其中d)的第二转座酶和(b)的转座酶组合物不相同。

149.权利要求1-148任一项的方法，其中所述引入步骤进一步包含含有基因组编辑构建体的组合物。

150.权利要求149的方法，其中所述基因组编辑构建体包含指导RNA和成簇的规律间隔的短回文重复序列(CRISPR)相关蛋白9(Cas9)DNA核酸内切酶。

151.权利要求150的方法，其中所述基因组编辑构建体包含DNA结合域和IIS型核酸内切酶。

152.权利要求151的方法，其中所述基因组编辑构建体编码融合蛋白。

153.权利要求151的方法，其中所述基因组编辑构建体编码所述DNA结合域与所述IIS型核酸内切酶，并且其中表达的DNA结合域与表达的IIS型核酸内切酶是非共价连接的。

154.权利要求149-153任一项的方法，其中所述基因组编辑构建体包含衍生自Cas9核酸内切酶的序列。

155.权利要求154的方法，其中所述衍生自Cas9核酸内切酶的序列是所述DNA结合域。

156.权利要求154或155的方法，其中所述衍生自Cas9核酸内切酶的序列编码无活性的Cas9。

157.权利要求156的方法，其中所述衍生自Cas9核酸内切酶的序列包含在位置840处的丙氨酸(A)对组氨酸(H)的氨基酸置换(H840A)。

158.权利要求154-157任一项的方法，其中所述衍生自Cas9核酸内切酶的序列编码截短的Cas9。

159.权利要求158的方法，其中所述衍生自Cas9核酸内切酶的序列包含在位置580处的丙氨酸(A)对天冬酰胺(N)的氨基酸置换(N580A)。

160.权利要求154-159任一项的方法，其中衍生自Cas9核酸内切酶的序列包含在位置10处的丙氨酸(A)对天冬氨酸(D)的氨基酸置换(D10A)。

161.权利要求149-153任一项的方法，其中所述基因组编辑构建体包含衍生自转录激活因子样效应物核酸酶(TALEN)的序列。

162.权利要求161的方法，其中衍生自TALEN的序列是所述DNA结合域。

163.权利要求149的方法，其中所述基因组编辑构建体包含TALEN。

164.权利要求149-153任一项的方法，其中所述基因组编辑构建体包含衍生自锌指核酸酶(ZFN)的序列。

165.权利要求164的方法，其中所述衍生自ZFN的序列是所述DNA结合域。

166.权利要求149的方法，其中所述基因组编辑构建体包含锌指核酸酶(ZFN)。

167.权利要求149-153任一项的方法，进一步包括向原代人T细胞中引入包含编码治疗蛋白的序列的组合物。

168.权利要求167的方法，其中所述治疗蛋白是已分泌的或可分泌的蛋白。

169.权利要求168的方法，其中所述治疗蛋白是细胞内蛋白。

170.权利要求168的方法，其中所述治疗蛋白是胞质蛋白。

171.权利要求168的方法，其中所述治疗蛋白是膜结合蛋白。

172.权利要求168的方法，其中所述治疗蛋白是跨膜蛋白。

173.权利要求1-172任一项的方法，其中所述修饰$T_{SCM}$的细胞表面标记包含CD62L和CD45RA。

174.权利要求1-172任一项的方法，其中所述修饰$T_{SCM}$的细胞表面标记包含CD62L、CD45RA、CD28、CCR7、CD127、CD45RO、CD95、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种。

175.权利要求1-172任一项的方法，其中所述修饰$T_{SCM}$的细胞表面标记包含CD45RA、CD95、IL-2Rβ、CR7和CD62L中的一种或多种。

176.权利要求1-172任一项的方法，其中所述修饰$T_{CM}$的细胞表面标记包含CD45RO、CD95、IL-2Rβ、CCR7和CD62L中的一种或多种。

177.权利要求96-176任一项的方法，其中所述多个扩增的修饰T细胞包含幼稚T细胞(修饰TN)，并且所述CAR-TN的细胞表面标记包含CD45RA、CCR7和CD62L中的一种或多种。

178.权利要求96-176任一项的方法，其中所述多个扩增的修饰T细胞包含中枢记忆T细胞(修饰$T_{CM}$)，并且所述CAR-$T_{CM}$的细胞表面标记包含CD45RO、CD95、IL-2Rβ、CCR7和CD62L中的一种或多种。

179.权利要求96-176任一项的方法，其中所述多个扩增的修饰T细胞包含效应物记忆T

细胞(修饰$T_{EM}$),并且所述CAR-$T_{EM}$的细胞表面标记包含CD45RO、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种。

180.权利要求96-176任一项的方法,其中所述多个扩增的修饰T细胞包含效应物T细胞(修饰$T_{EFF}$),并且所述CAR-$T_{EFF}$的细胞表面标记包含CD45RA、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种。

181.权利要求1-39或116-180任一项的方法,其中所述转座子是具有编码所述抗原受体或所述治疗蛋白的序列的质粒DNA转座子,所述序列侧翼是两个顺式调控隔离子元件。

182.权利要求181的方法,其中所述引入进一步包含含有编码转座酶的mRNA序列的组合物。

183.权利要求181或182的方法,其中所述转座子是piggyBac转座子。

184.权利要求181-183任一项的方法,其中所述转座酶是piggyBac转座酶。

185.权利要求184的方法,其中所述piggyBac转座酶包含含有SEQ ID NO:4的氨基酸序列。

186.权利要求184或185的方法,其中所述piggyBac转座酶是极度活跃的变体,并且其中所述极度活跃的变体包含在SEQ ID NO:4的位置30、165、282和538的一个或多个处的氨基酸置换。

187.权利要求186的方法,其中所述在SEQ ID NO:4的位置30处的氨基酸置换是缬氨酸(V)置换异亮氨酸(I)(I30V)。

188.权利要求186的方法,其中在SEQ ID NO:4的位置165处的氨基酸置换是丝氨酸(S)置换甘氨酸(G)(G165S)。

189.权利要求186的方法,其中在SEQ ID NO:4的位置282处的氨基酸置换是缬氨酸(V)置换蛋氨酸(M)(M282V)。

190.权利要求186的方法,其中在SEQ ID NO:4的位置538处的氨基酸置换是赖氨酸(K)置换天冬酰胺(N)(N538K)。

191.权利要求183-190任一项的方法,其中所述转座酶是Super piggyBac(SPB)转座酶。

192.权利要求191的方法,其中所述Super piggyBac(SPB)转座酶包含含有SEQ ID NO:5的氨基酸序列。

193.权利要求1-39或116-180任一项的方法,其中所述转座子是睡美人转座子。

194.权利要求193的方法,其中所述转座酶是睡美人转座酶或极度活跃的睡美人转座酶(SB100X)。

195.权利要求1-39或116-180任一项的方法,其中所述转座子是Helraiser转座子。

196.权利要求195的方法,其中所述转座酶是Helitron转座酶。

197.权利要求1-39或116-180任一项的方法,其中所述转座子是Tol2转座子。

198.权利要求197的方法,其中所述转座酶是Tol2转座酶。

199.权利要求1-39或116-198任一项的方法,其中编码所述转座酶的序列是mRNA序列。

200.权利要求1-39或116-180任一项的方法,其中所述转座子由任何物种衍生或重组。

201.权利要求1-39或116-180任一项的方法,其中所述转座子是合成的。

202.权利要求1-39或116-180任一项的方法,其中所述转座子进一步包含选择基因。

203.权利要求202的方法,其中所述T细胞扩增组合物进一步包含选择剂。

204.权利要求1-203任一项的方法,其中所述抗原受体是T细胞受体。

205.权利要求204的方法,其中所述T细胞受体是天然存在的。

206.权利要求204的方法,其中所述T细胞受体不是天然存在的。

207.权利要求206的方法,其中所述T细胞受体与野生型T细胞受体相比包含一个或多个突变。

208.权利要求206或207的方法,其中所述T细胞受体是重组T细胞受体。

209.权利要求1-203任一项的方法,其中所述抗原受体是嵌合抗原受体(CAR)。

210.权利要求209的方法,其中所述CAR包含一个或多个Centyrin序列。

211.权利要求210的方法,其中所述CAR是CARTyrin。

212.权利要求209的方法,其中所述CAR包含一个或多个VHH序列。

213.权利要求212的方法,其中所述CAR是VCAR。

214.权利要求1-39和116-213任一项的方法,其中所述引入步骤包含电穿孔或核转染。

215.权利要求1-39和116-213任一项的方法,其中所述引入步骤包括核转染,并且其中所述核转染包括以下步骤:

(a)在小玻璃管中使转座子组合物、转座酶组合物和包含多个原代人T细胞的组合物接触;

(b)向所述小玻璃管施加一个或多个电脉冲;和

(c)在37℃下在包含含有人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、Iscove's MDM和扩增补充剂中的一种或多种的T细胞扩增组合物的组合物中温育所述包含多个原代人T细胞的组合物。

216.权利要求215的方法,其中所述转座子是第一转座子或第二转座子。

217.权利要求215或216的方法,其中所述转座酶组合物是第一转座酶组合物或第二转座酶组合物。

218.权利要求214-217任一项的方法,其中所述转座子组合物是包含无核酸酶的水的0.5μg/μl溶液,并且其中所述小玻璃管包含2μl所述转座子组合物以提供1μg的转座子。

219.权利要求218的方法,其中所述转座子组合物包含piggyBac转座子。

220.权利要求219的方法,其中所述转座子组合物包含睡美人转座子。

221.权利要求219或220的方法,其中所述转座酶组合物包含5μg的转座酶。

222.权利要求221的方法,其中所述转座酶组合物包含Super piggyBac(SPB)转座酶。

223.权利要求221的方法,其中所述转座酶组合物包含极度活跃的睡美人(SB100X)转座酶。

224.权利要求219的方法,其中所述转座子包含Helraiser转座子。

225.权利要求224的方法,其中所述转座酶组合物包含Helitron转座酶。

226.权利要求219的方法,其中所述转座子包含Tol2转座子。

227.权利要求226的方法,其中所述转座酶组合物包含Tol2转座酶。

228.权利要求215-227任一项的方法,其中包含原代人T细胞的组合物包含维持或提高细胞活力水平和/或所述原代人T细胞的干细胞样表型的缓冲剂。

229.权利要求228的方法,其中所述缓冲剂在核转染之前维持或提高细胞活力水平和/或原代人T细胞的干细胞样表型。

230.权利要求228的方法，其中所述缓冲剂在核转染过程中维持或提高细胞活力水平和/或原代人T细胞的干细胞样表型。

231.权利要求228的方法，其中所述缓冲剂在核转染之后维持或提高细胞活力水平和/或原代人T细胞的干细胞样表型。

232.权利要求228-231任一项的方法，其中所述缓冲剂包含P3原代细胞溶液。

233.权利要求228-231任一项的方法，其中所述缓冲剂以任何绝对或相对丰度或浓度包含KCl、$MgCl_2$、ClNa、葡萄糖和$Ca(NO_3)_2$中的一种或多种。

234.权利要求228的方法，其中所述缓冲剂进一步包含选自HEPES、Tris/HCl和磷酸盐缓冲剂的补充剂。

235.权利要求228或229的方法，其中所述缓冲剂包含5mM KCl、15mM $MgCl_2$、90mM ClNa、10mM葡萄糖和0.4mM $Ca(NO_3)_2$。

236.权利要求235的方法，其中所述缓冲剂进一步包含含有20mM HEPES与75mM Tris/HCl的补充剂。

237.权利要求236的方法，其中所述缓冲剂进一步包含含有40mM在pH7.2下的$Na_2HPO_4$/$NaH_2PO_4$的补充剂。

238.权利要求215或228-237的方法，其中包含原代人T细胞的组合物缺失表达CD14、CD56和/或CD19的细胞。

239.权利要求215-238任一项的方法，其中包含原代人T细胞的组合物包含100μl的所述缓冲剂和$5\times10^6$至$25\times10^6$个细胞。

240.权利要求215-239任一项的方法，其中所述方法同时在一个或多个小玻璃管中进行。

241.权利要求215-240任一项的方法，其中所述温育步骤包括在预热的T细胞扩增组合物中温育所述包含多个原代人T细胞的组合物。

242.权利要求215-241任一项的方法，其中所述温育步骤具有两天的时段。

243.权利要求40-242任一项的方法，其中所述激活补充剂包含一种或多种细胞因子。

244.权利要求243的方法，其中所述一种或多种细胞因子包含IL-2。

245.权利要求96-244任一项的方法，其中所述扩增补充剂包含一种或多种细胞因子。

246.权利要求245的方法，其中所述一种或多种细胞因子包含IL-2。

247.权利要求1-246任一项的方法，其中所述方法进一步包括向修饰$T_{SCM}$细胞或修饰$T_{CM}$细胞中引入包含基因组编辑构建体的组合物。

248.权利要求247的方法，其中所述基因组编辑构建体包含指导RNA和成簇的规律间隔的短回文重复序列(CRISPR)相关蛋白9(Cas9)DNA核酸内切酶。

249.权利要求248的方法，其中所述基因组编辑构建体包含DNA结合域和IIS型核酸内切酶。

250.权利要求249的方法，其中所述基因组编辑构建体编码融合蛋白。

251.权利要求249的方法，其中所述基因组编辑构建体编码所述DNA结合域与所述IIS型核酸内切酶，并且其中表达的DNA结合域与表达的IIS型核酸内切酶是非共价连接的。

252.权利要求247-251任一项的方法，其中所述基因组编辑构建体包含衍生自Cas9核酸内切酶的序列。

253.权利要求252的方法，其中所述衍生自Cas9核酸内切酶的序列是所述DNA结合域。

254.权利要求253的方法，其中所述衍生自Cas9核酸内切酶的序列包含在位置840处的丙氨酸(A)对组氨酸(H)的氨基酸置换(H840A)。

255.权利要求252-254任一项的方法，其中所述衍生自Cas9核酸内切酶的序列编码截短的Cas9。

256.权利要求255的方法，其中所述衍生自Cas9核酸内切酶的序列包含在位置580处的丙氨酸(A)对天冬酰胺(N)的氨基酸置换(N580A)。

257.权利要求252-256任一项的方法，其中所述衍生自Cas9核酸内切酶的序列包含在位置10处的丙氨酸(A)对天冬氨酸(D)的氨基酸置换(D10A)。

258.权利要求247-251任一项的方法，其中所述基因组编辑构建体包含衍生自转录激活因子样效应物核酸酶(TALEN)的序列。

259.权利要求258的方法，其中所述衍生自TALEN的序列是所述DNA结合域。

260.权利要求247的方法，其中所述基因组编辑构建体包含TALEN。

261.权利要求247-251任一项的方法，其中所述基因组编辑构建体包含衍生自锌指核酸酶(ZFN)的序列。

262.权利要求261的方法，其中所述衍生自ZFN的序列是所述DNA结合域。

263.权利要求247的方法，其中所述基因组编辑构建体包含锌指核酸酶(ZFN)。

264.权利要求1-263任一项的方法，其中所述原代人T细胞表达CD62L、CD45RA、CD28、CCR7、CD127、CD45RO、CD95、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种。

265.权利要求1-263任一项的方法，其中所述原代人T细胞是幼稚T细胞($T_N$)，并且其中所述$T_N$表达CD45RA、CCR7和CD62L中的一种或多种。

266.权利要求1-263任一项的方法，其中所述原代人T细胞是T记忆干细胞($T_{SCM}$)，并且其中所述$T_{SCM}$表达CD45RA、CD95、IL-2Rβ、CR7和CD62L中的一种或多种。

267.权利要求1-263任一项的方法，其中所述原代人T细胞是中枢记忆T细胞($T_{CM}$)，并且其中所述$T_{CM}$表达CD45RO、CD95、IL-2Rβ、CCR7和CD62L中的一种或多种。

268.权利要求1-263任一项的方法，其中所述原代人T细胞是效应物记忆T细胞($T_{EM}$)，并且其中所述$T_{EM}$表达CD45RO、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种。

269.权利要求1-263任一项的方法，其中所述原代人T细胞是效应物T细胞($T_{EFF}$)，并且其中所述$T_{EFF}$表达CD45RA、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种。

270.权利要求1-269任一项的方法，其中所述原代人T细胞表达CD4和/或CD8。

271.包含通过权利要求1-270任一项的方法生产的修饰$T_{SCM}$的组合物。

272.包含通过权利要求1-270任一项的方法生产的修饰$T_{CM}$的组合物。

273.权利要求271或272的组合物用于生产治疗需要其的受试者的药物的用途。

274.权利要求273的用途，其中所述修饰$T_{SCM}$或修饰$T_{CM}$是自体的。

275.权利要求274的用途，其中所述修饰$T_{SCM}$或修饰$T_{CM}$是同种异体的。

276.权利要求273-275任一项的用途，其中所述抗原受体是T细胞受体。

277.权利要求276的用途，其中所述T细胞受体是天然存在的。

278.权利要求276的用途，其中所述T细胞受体不是天然存在的。

279.权利要求278的用途，其中所述T细胞受体与野生型T细胞受体相比包含一个或多

个突变。

280.权利要求278或279的用途,其中所述T细胞受体是重组T细胞受体。

281.权利要求273-275任一项的用途,其中所述抗原受体是嵌合抗原受体(CAR)。

282.权利要求281的用途,其中所述CAR包含一个或多个Centyrin序列。

283.权利要求282的用途,其中所述CAR是CARTyrin。

284.权利要求283的方法,其中所述CAR包含一个或多个VHH序列。

285.权利要求284的方法,其中所述CAR是VCAR。

286.治疗有此需要的受试者的疾病或病症的方法,包括向所述受试者施用治疗有效量的权利要求271或272的组合物。

287.权利要求286的方法,其中所述修饰$T_{SCM}$或修饰$T_{CM}$是自体的。

288.权利要求286的方法,其中所述修饰$T_{SCM}$或修饰$T_{CM}$是同种异体的。

289.权利要求286-288任一项的方法,其中所述抗原受体是T细胞受体。

290.权利要求289的方法,其中所述T细胞受体是天然存在的。

291.权利要求289的方法,其中所述T细胞受体不是天然存在的。

292.权利要求291的方法,其中所述T细胞受体与野生型T细胞受体相比包含一个或多个突变。

293.权利要求291或292的方法,其中所述T细胞受体是重组T细胞受体。

294.权利要求286-288任一项的方法,其中所述抗原受体是嵌合抗原受体(CAR)。

295.权利要求294的方法,其中所述CAR包含一个或多个Centyrin序列。

296.权利要求295的方法,其中所述CAR是CARTyrin。

297.权利要求294的方法,其中所述CAR包含一个或多个VHH序列。

298.权利要求297的方法,其中所述CAR是VCAR。

299.权利要求286-298任一项的方法,其中所述疾病或病症是癌症,并且所述抗原受体特异性靶向癌症抗原。

300.权利要求286-298任一项的方法,其中所述疾病或病症是传染性疾病或病症,并且所述抗原受体特异性靶向病毒、细菌、酵母菌或微生物抗原。

301.权利要求286-298任一项的方法,其中所述疾病或病症是以分泌性蛋白活性缺乏或低丰度为特征的疾病或病症,或其中所述疾病或病症是通过提高分泌性蛋白的活性或丰度来治疗的疾病或病症。

302.权利要求301的方法,其中所述分泌性蛋白包含凝血因子VIII或凝血因子IX蛋白。

303.权利要求301或302的方法,其中所述分泌性蛋白的丰度是在局部位置决定的。

304.权利要求303的方法,其中修饰$T_{SCM}$细胞或修饰$T_{CM}$细胞可以接近所述局部位置。

# 修饰干细胞记忆T细胞、其制造方法与使用方法

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求以下临时申请的权益，2016年9月30日提交的USSN 62/402,707、2017年5月5日提交的USSN 62/502,508、2017年8月31日提交的USSN 62/553,058和2017年9月8日提交的USSN 62/556,309，其各自的内容经此引用全文并入本文。

[0003] 序列表的引入

[0004] 2017年10月2日创建且大小为110KB的提交名为“POTH-012_001WO_SeqList.txt”的文本的内容经此引用全文并入本文。

[0005] 公开的领域

[0006] 本公开涉及分子生物学，更具体而言涉及制造和使用修饰干细胞记忆T细胞的方法。

[0007] 背景

[0008] 本领域长期以来一直需要一种生产修饰干细胞记忆T细胞以便施用于受试者的方法，例如过继细胞治疗，但未得满足。本公开提供了对这一长期存在但未得满足的需要的解决方案。

[0009] 概述

[0010] 与传统的生物制剂和化疗药物不同，本公开的修饰T细胞具有在抗原识别时快速繁殖的能力，由此可能避免对重复治疗的需要。为了实现这一点，本公开的修饰T细胞不仅必须初始驱动肿瘤破坏，而且还必须作为活体记忆T细胞的稳定群落在患者体内持续存在以预防潜在的癌症复发。因此，已经集中精力开发不会通过抗原非依赖性(固有的(tonic))信号传导导致T细胞衰竭的抗原受体分子，以及含有早期记忆细胞，尤其是记忆干细胞的修饰T细胞产品($T_{SCM}$)。本公开的干细胞样修饰T细胞表现出最大的自我更新能力以及衍生出中枢记忆细胞($T_{CM}$)、效应物记忆细胞($T_{EM}$)和效应物T细胞($T_E$)的多效潜能，由此产生更好的肿瘤根除和长期修饰T细胞植入。本公开的修饰T细胞包括但不限于表达包含本公开的蛋白质支架的抗原受体的那些细胞。本公开的修饰T细胞包括但不限于表达嵌合抗原受体(CAR)的那些细胞(即本公开的CAR-T细胞)。本公开的嵌合抗原受体(CAR)可以包含一个或更多个各自特异性结合抗原的序列，其包括但不限于单链抗体(例如scFv)、包含抗体的一个或更多个片段的序列(例如VHH，在CAR的背景下称为VCAR)、抗体模拟物和Centyrin(在CAR的背景下称为CARTyrin)。

[0011] 本公开的修饰细胞可以进一步经受基因组编辑。例如，基因组编辑构建体可以在转座子中或经由电穿孔或核转染的其它递送手段引入到本公开的修饰细胞中，并允许在随后的温育阶段整合到细胞的基因组中。所得细胞是具有编辑的基因组的修饰T细胞，其保留了干细胞样表型。这种保留了干细胞样表型的具有编辑的基因组的修饰T细胞可以用作细胞疗法。或者或此外，本公开的修饰细胞可以经受首次电穿孔或核转染以及后续的电穿孔或核转染以引入基因组编辑构建体。

[0012] 具体而言，本公开提供了生产修饰干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的方法，包括向原代人T细胞中引入(a)包含含有抗原受体或治疗蛋白的转座子的转座子组合物和(b)包含转座

酶或编码该转座酶的序列的转座酶组合物;以产生修饰T细胞,其中该修饰T细胞表达干细胞样记忆T细胞(stem memory T cell)($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。本公开提供了生产多个修饰干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的方法,包括向多个原代人T细胞中引入(a)包含含有抗原受体或治疗蛋白的转座子的转座子组合物和(b)包含转座酶或编码该转座酶的序列的转座酶组合物;以产生多个修饰T细胞,其中多个修饰T细胞的至少2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%或其间的任意百分比表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少25%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少50%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少60%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少75%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少80%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少85%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少90%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少95%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,所述细胞表面标记包含CD62L和CD45RA。在某些实施方案中,该CAR-$T_{SCM}$的细胞表面标记包含CD62L、CD45RA、CD28、CCR7、CD127、CD45RO、CD95、CD95和IL-2Rβ中的一种或更多种。在某些实施方案中,该CAR-$T_{SCM}$的细胞表面标记包含CD45RA、CD95、IL-2Rβ、CR7和CD62L中的一种或更多种。在该方法的某些实施方案中,该转座子是具有编码该抗原受体或该治疗蛋白的序列的质粒DNA转座子,该序列侧翼是两个顺式调控隔离子元件。在某些实施方案中,该转座子是piggyBac转座子。在某些实施方案中,特别是在其中转座子为piggyBac转座子的那些实施方案中,该转座酶是piggyBac™或SuperpiggyBac™(SPB)转座酶。

[0013] 在本公开的方法的某些实施方案中,该转座子是具有编码该抗原受体或该治疗蛋白的序列的质粒DNA转座子,该序列侧翼是两个顺式调控隔离子元件。在某些实施方案中,该转座子是piggyBac转座子。在某些实施方案中,特别是在其中转座子为piggyBac转座子的那些实施方案中,该转座酶是piggyBac™或Super piggyBac™(SPB)转座酶。在某些实施方案中,特别是在其中转座酶为Super piggyBac™(SPB)转座酶的那些实施方案中,编码该转座酶的序列是mRNA序列。

[0014] 在本公开的方法的某些实施方案中，该转座酶是piggyBac™(PB)转座酶。该piggyBac(PB)转座酶可以包含或由氨基酸序列组成，所述氨基酸序列的至少75％、80％、85％、90％、95％、99％或其间的任意百分比与以下相同：

1 MGSSLDDEHI LSALLQSDDE LVGEDSDSEI SDHVSEDDVQ SDTEEAFIDE VHEVQPTSSG

[0015] 61 SEILDEQNVI EQPGSSLASN RILTLPQRTI RGKNKHCWST SKSTRRSRVS ALNIVRSQRG

121 PTRMCRNIYD PLLCFKLFFT DEIISEIVKW TNAEISLKRR ESMTGATFRD TNEDEIYAFF

181 GILVMTAVRK DNHMSTDDLF DRSLSMVYVS VMSRDRFDFL IRCLRMDDKS IRPTLRENDV

241 FTPVRKIWDL FIHQCIQNYT PGAHLTIDEQ LLGFRGRCPF RMYIPNKPSK YGIKILMMCD

301 SGYKYMINGM PYLGRGTQTN GVPLGEYYVK ELSKPVHGSC RNITCDNWFT SIPLAKNLLQ

[0016] 361 EPYKLTIVGT VRSNKREIPE VLKNSRSRPV GTSMFCFDGP LTLVSYKPKP AKMVYLLSSC

421 DEDASINEST GKPQMVMYYN QTKGGVDTLD QMCSVMTCSR KTNRWPMALL YGMINIACIN

481 SFIIYSHNVS SKGEKVQSRK KFMRNLYMSL TSSFMRKRLE APTLKRYLRD NISNILPNEV

541 PGTSDDSTEE PVMKKRTYCT YCPSKIRRKA NASCKKCKKV ICREHNIDMC QSCF (SEQ ID NO: 4)。

[0017] 在本公开的方法的某些实施方案中，该转座酶是piggyBac™(PB)转座酶，其包含在以下序列的位置30、165、282或538中的一个或多个处具有氨基酸置换的氨基酸序列或由所述氨基酸序列组成：

1 MGSSLDDEHI LSALLQSDDE LVGEDSDSEI SDHVSEDDVQ SDTEEAFIDE VHEVQPTSSG

61 SEILDEQNVI EQPGSSLASN RILTLPQRTI RGKNKHCWST SKSTRRSRVS ALNIVRSQRG

121 PTRMCRNIYD PLLCFKLFFT DEIISEIVKW TNAEISLKRR ESMTGATFRD TNEDEIYAFF

181 GILVMTAVRK DNHMSTDDLF DRSLSMVYVS VMSRDRFDFL IRCLRMDDKS IRPTLRENDV

[0018] 241 FTPVRKIWDL FIHQCIQNYT PGAHLTIDEQ LLGFRGRCPF RMYIPNKPSK YGIKILMMCD

301 SGYKYMINGM PYLGRGTQTN GVPLGEYYVK ELSKPVHGSC RNITCDNWFT SIPLAKNLLQ

361 EPYKLTIVGT VRSNKREIPE VLKNSRSRPV GTSMFCFDGP LTLVSYKPKP AKMVYLLSSC

421 DEDASINEST GKPQMVMYYN QTKGGVDTLD QMCSVMTCSR KTNRWPMALL YGMINIACIN

481 SFIIYSHNVS SKGEKVQSRK KFMRNLYMSL TSSFMRKRLE APTLKRYLRD NISNILPNEV

541 PGTSDDSTEE PVMKKRTYCT YCPSKIRRKA NASCKKCKKV ICREHNIDMC QSCF (SEQ ID NO: 4)。

[0019] 在某些实施方案中，该转座酶是piggyBac™(PB)转座酶，其包含在SEQ ID NO:4的序列的位置30、165、282或538中的两个或更多处具有氨基酸置换的氨基酸序列或由所述氨基酸序列组成。在某些实施方案中，该转座酶是piggyBac™(PB)转座酶，其包含在SEQ ID NO:4的序列的位置30、165、282或538中的三个或更多处具有氨基酸置换的氨基酸序列或由所述氨基酸序列组成。在某些实施方案中，该转座酶是piggyBac™(PB)转座酶，其包含在SEQ ID NO:4的序列的以下位置30、165、282或538中的每一个处具有氨基酸置换的氨基酸序列或由所述氨基酸序列组成。在某些实施方案中，在SEQ ID NO:4的序列的位置30处的氨基酸置换是缬氨酸(V)置换异亮氨酸(I)。在某些实施方案中，在SEQ ID NO:4的序列的位置165处的氨基酸置换是丝氨酸(S)置换甘氨酸(G)。在某些实施方案中，在SEQ ID NO:4的序列的位置282处的氨基酸置换是缬氨酸(V)置换蛋氨酸(M)。在某些实施方案中，在SEQ ID NO:4的序列的位置538处的氨基酸置换是赖氨酸(K)置换天冬酰胺(N)。

[0020] 在本公开的方法的某些实施方案中，该转座酶是Super piggyBac™(SPB)转座酶。在某些实施方案中，本公开的Super piggyBac™(SPB)转座酶可以包含其中在位置30处的氨

基酸置换是缬氨酸(V)置换异亮氨酸(I)、在位置165处的氨基酸置换是丝氨酸(S)置换甘氨酸(G)、在位置282处的氨基酸置换是缬氨酸(V)置换蛋氨酸(M)和在位置538处的氨基酸置换是赖氨酸(K)置换天冬酰胺(N)的SEQ ID NO:4的序列的氨基酸序列或由所述氨基酸序列组成。在某些实施方案中,该Super piggyBac™(SPB)转座酶可以包含或由氨基酸序列组成,所述氨基酸序列的至少75%、80%、85%、90%、95%、99%或其间的任意百分比与以下相同:

[0021]

1 MGSSLDDEHI LSALLQSDDE LVGEDSDSEV SDHVSEDDVQ SDTEEAFIDE VHEVQPTSSG
61 SEILDEQNVI EQPGSSLASN RILTLPQRTI RGKNKHCWST SKSTRRSRVS ALNIVRSQRG
121 PTRMCRNIYD PLLCFKLFFT DEIISEIVKW TNAEISLKRR ESMTSATFRD TNEDEIYAFF
181 GILVMTAVRK DNHMSTDDLF DRSLSMVYVS VMSRDRFDFL IRCLRMDDKS IRPTLRENDV
241 FTPVRKIWDL FIHQCIQNYT PGAHLTIDEQ LLGFRGRCPF RVYIPNKPSK YGIKILMMCD
301 SGTKYMINGM PYLGRGTQTN GVPLGEYYVK ELSKPVHGSC RNITCDNWFT SIPLAKNLLQ
361 EPYKLTIVGT VRSNKREIPE VLKNSRSRPV GTSMFCFDGP LTLVSYKPKP AKMVYLLSSC
421 DEDASINEST GKPQMVMYYN QTKGGVDTLD QMCSVMTCSR KTNRWPMALL YGMINIACIN
481 SFIIYSHNVS SKGEKVQSRK KFMRNLYMSL TSSFMRKRLE APTLKRYLRD NISNILPKEV
541 PGTSDDSTEE PVMKKRTYCT YCPSKIRRKA NASCKKCKKV ICREHNIDMC QSCF (SEQ ID NO: 5)。

[0022] 在本公开的方法的某些实施方案中,包括其中该转座酶在位置30、165、282和/或538处包含上述突变的那些实施方案,该piggyBac™或Super piggyBac™转座酶可以在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的序列的位置3、46、82、103、119、125、177、180、185、187、200、207、209、226、235、240、241、243、258、296、298、311、315、319、327、328、340、421、436、456、470、486、503、552、570和591中的一个或更多个处进一步包含氨基酸置换。在某些实施方案中,包括其中该转座酶在位置30、165、282和/或538处包含上述突变的那些实施方案,该piggyBac™或Super piggyBac™转座酶可以在位置46、119、125、177、180、185、187、200、207、209、226、235、240、241、243、296、298、311、315、319、327、328、340、421、436、456、470、485、503、552和570中的一个或更多个处进一步包含氨基酸置换。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置3处的氨基酸置换是天冬酰胺(N)置换丝氨酸(S)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置46处的氨基酸置换是丝氨酸(S)置换丙氨酸(A)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置46处的氨基酸置换是苏氨酸(T)置换丙氨酸(A)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置82处的氨基酸置换是色氨酸(W)置换异亮氨酸(I)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置103处的氨基酸置换是脯氨酸(P)置换丝氨酸(S)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置119处的氨基酸置换是脯氨酸(P)置换精氨酸(R)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置125处的氨基酸置换是丙氨酸(A)置换半胱氨酸(C)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置125处的氨基酸置换是亮氨酸(L)置换半胱氨酸(C)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置177处的氨基酸置换是赖氨酸(K)置换酪氨酸(Y)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置177处的氨基酸置换是组氨酸(H)置换酪氨酸(Y)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置180处的氨基酸置换是亮氨酸(L)置换苯丙氨酸(F)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置180处的氨基酸置换是异亮氨酸(I)置换苯丙

氨酸(F)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置180处的氨基酸置换是缬氨酸(V)置换苯丙氨酸(F)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置185处的氨基酸置换是亮氨酸(L)置换蛋氨酸(M)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置187处的氨基酸置换是甘氨酸(G)置换丙氨酸(A)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置200处的氨基酸置换是色氨酸(W)置换苯丙氨酸(F)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置207处的氨基酸置换是脯氨酸(P)置换缬氨酸(V)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置209处的氨基酸置换是苯丙氨酸(F)置换缬氨酸(V)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置226处的氨基酸置换是苯丙氨酸(F)置换蛋氨酸(M)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置235处的氨基酸置换是精氨酸(R)置换亮氨酸(L)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置240处的氨基酸置换是赖氨酸(K)置换缬氨酸(V)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置241处的氨基酸置换是亮氨酸(L)置换苯丙氨酸(F)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置243处的氨基酸置换是赖氨酸(K)置换脯氨酸(P)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置258处的氨基酸置换是丝氨酸(S)置换天冬酰胺(N)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置296处的氨基酸置换是色氨酸(W)置换亮氨酸(L)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置296处的氨基酸置换是酪氨酸(Y)置换亮氨酸(L)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置296处的氨基酸置换是苯丙氨酸(F)置换亮氨酸(L)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置298处的氨基酸置换是亮氨酸(L)置换蛋氨酸(M)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置298处的氨基酸置换是丙氨酸(A)置换蛋氨酸(M)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置298处的氨基酸置换是缬氨酸(V)置换蛋氨酸(M)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置311处的氨基酸置换是异亮氨酸(I)置换脯氨酸(P)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置311处的氨基酸置换是缬氨酸置换脯氨酸(P)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置315处的氨基酸置换是赖氨酸(K)置换精氨酸(R)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置319处的氨基酸置换是甘氨酸(G)置换苏氨酸(T)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置327处的氨基酸置换是精氨酸(R)置换酪氨酸(Y)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置328处的氨基酸置换是缬氨酸(V)置换酪氨酸(Y)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置340处的氨基酸置换是甘氨酸(G)置换半胱氨酸(C)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置340处的氨基酸置换是亮氨酸(L)置换半胱氨酸(C)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置421处的氨基酸置换是组氨酸(H)置换天冬氨酸(D)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置436处的氨基酸置换是异亮氨酸(I)置换缬氨酸(V)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置456处的氨基酸置换是酪氨酸(Y)置换蛋氨酸(M)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置470处的氨基酸置换是苯丙氨酸(F)置换亮氨酸(L)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置485处的氨基酸置换是赖氨酸(K)置换丝氨酸(S)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置503处的氨基酸置换是亮氨酸(L)置换蛋氨酸(M)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5

的位置503处的氨基酸置换是异亮氨酸(I)置换蛋氨酸(M)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置552处的氨基酸置换是赖氨酸(K)置换缬氨酸(V)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置570处的氨基酸置换是苏氨酸(T)置换丙氨酸(A)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置591处的氨基酸置换是脯氨酸(P)置换谷氨酰胺(Q)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置591处的氨基酸置换是精氨酸(R)置换谷氨酰胺(Q)。

[0023] 在本公开的方法的某些实施方案中,包括其中该转座酶在位置30、165、282和/或538处包含上述突变的那些实施方案,该piggyBac™转座酶可以包含或该Super piggyBac™转座酶可以进一步包含在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的序列的位置103、194、372、375、450、509和570的一处或更多处的氨基酸置换。在本公开的方法的某些实施方案中,包括其中该转座酶在位置30、165、282和/或538处包含上述突变的那些实施方案,该piggyBac™转座酶可以包含或该Super piggyBac™转座酶可以进一步包含在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的序列的位置103、194、372、375、450、509和570的两个、三个、四个、五个、六个或更多处的氨基酸置换。在某些实施方案中,包括其中该转座酶在位置30、165、282和/或538处包含上述突变的那些实施方案,该piggyBac™转座酶可以包含或该Super piggyBac™转座酶可以进一步包含在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的序列的位置103、194、372、375、450、509和570处的氨基酸置换。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置103处的氨基酸置换是脯氨酸(P)置换丝氨酸(S)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置194处的氨基酸置换是缬氨酸(V)置换蛋氨酸(M)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置372处的氨基酸置换是丙氨酸(A)置换精氨酸(R)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置375处的氨基酸置换是丙氨酸(A)置换赖氨酸(K)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置450处的氨基酸置换是天冬酰胺(N)置换天冬氨酸(D)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置509处的氨基酸置换是甘氨酸(G)置换丝氨酸(S)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置570处的氨基酸置换是丝氨酸(S)置换天冬酰胺(N)。在某些实施方案中,该piggyBac™转座酶可以包含在SEQ ID NO:4的位置194处的缬氨酸(V)置换蛋氨酸(M)。在某些实施方案中,包括其中该piggyBac™转座酶可以包含在SEQ ID NO:4的位置194处的缬氨酸(V)置换蛋氨酸(M)的那些实施方案,该piggyBac™转座酶可以进一步包含在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的序列的位置372、375和450处的氨基酸置换。在某些实施方案中,该piggyBac™转座酶可以包含在SEQ ID NO:4的位置194处的缬氨酸(V)置换蛋氨酸(M)、在SEQ ID NO:4的位置372处的丙氨酸(A)置换精氨酸(R)、和在SEQ ID NO:4的位置375处的丙氨酸(A)置换赖氨酸(K)。在某些实施方案中,该piggyBac™转座酶可以包含在SEQ ID NO:4的位置194处的缬氨酸(V)置换蛋氨酸(M)、在SEQ ID NO:4的位置372处的丙氨酸(A)置换精氨酸(R)、在SEQ ID NO:4的位置375处的丙氨酸(A)置换赖氨酸(K)和在SEQ ID NO:4的位置450处的天冬酰胺(N)置换天冬氨酸(D)。

[0024] 本公开提供了生产修饰干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的方法,包括向原代人T细胞中引入(a)包含含有抗原受体或治疗蛋白的转座子的转座子组合物和(b)包含转座酶或编码该转座酶的序列的转座酶组合物;以生产修饰T细胞,其中该修饰T细胞表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。本公

开提供了生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的方法,包括向多个原代人T细胞中引入(a)包含含有抗原受体或治疗蛋白的转座子的转座子组合物和(b)包含转座酶或编码该转座酶的序列的转座酶组合物;以生产多个修饰T细胞,其中多个修饰T细胞的至少2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%或其间的任意百分比表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少25%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少50%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少60%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少75%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少80%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少85%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少90%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少95%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该细胞表面标记包含CD62L和CD45RA。在某些实施方案中,该CAR-$T_{SCM}$的细胞表面标记包含CD62L、CD45RA、CD28、CCR7、CD127、CD45RO、CD95、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种。在某些实施方案中,该CAR-$T_{SCM}$的细胞表面标记包含CD45RA、CD95、IL-2Rβ、CR7和CD62L中的一种或多种。在该方法的某些实施方案中,该转座子是睡美人转座子。在某些实施方案中,特别是在其中转座子为睡美人转座子的那些实施方案中,该转座酶是睡美人转座酶或极度活跃的睡美人转座酶(SB100X)。

[0025] 在本公开的方法的某些实施方案中,该睡美人转座酶包含氨基酸序列,所述氨基酸序列的至少75%、80%、85%、90%、95%、99%或其间的任意百分比与以下相同:

[0026]
1 MGKSKEISQD LRKKIVDLHK SGSSLGAISK RLKVPRSSVQ TIVRKYKHHG TTQPSYRSGR
61 RRYLSPRDER TLVRKVQINP RTTAKDLVKM LEETGTKVSI STVKRVLYRH NLKGRSARKK
121 PLLQNRHKKA RLRFATAHGD KDRTFWRNVL WSDETKIELF GHNDHRYVWR KKGEACKPKN
181 TIPTVKHGGG SIMLWGCFAA GGTGALHKID GIMRKENYVD ILKQHLKTSV RKLKLGRKWV
241 FQMDNDPKHT SKVVAKWLKD NKVKVLEWPS QSPDLNPIEN LWAELKKRVR ARRPTNLTQL
301 HQLCQEEWAK IHPTYCGKLV EGYPKRLTQV KQFKGNATKY (SEQ ID NO: 6)。

[0027] 在本公开的方法的某些实施方案中,该极度活跃的睡美人(SB100X)转座酶包含氨基酸序列,所述氨基酸序列的至少75%、80%、85%、90%、95%、99%或其间的任意百分比

与以下相同：

[0028]

1 MGKSKEISQD LRKRIVDLHK SGSSLGAISK RLAVPRSSVQ TIVRKYKHHG TTQPSYRSGR

61 RRYLSPRDER TLVRKVQINP RTTAKDLVKM LEETGTKVSI STVKRVLYRH NLKGHSARKK

121 PLLQNRHKKA RLRFATAHGD KDRTFWRNVL WSDETKIELF GHNDHRYVWR KKGEACKPKN

181 TIPTVKHGGG SIMLWGCFAA GGTGALHKID GIMDAVQYVD ILKQHLKTSV RKLKLGRKWV

241 FQHDNDPKHT SKVVAKWLKD NKVKVLEWPS QSPDLNPIEN LWAELKKRVR ARRPTNLTQL

301 HQLCQEEWAK IHPNYCGKLV EGYPKRLTQV KQFKGNATKY (SEQ ID NO: 7)。

[0029] 本公开提供了生产修饰干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的方法，包括向原代人T细胞中引入(a)包含含有抗原受体或治疗蛋白的转座子的转座子组合物和(b)包含转座酶或编码该转座酶的序列的转座酶组合物；以生产修饰T细胞，其中该修饰T细胞表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。本公开提供了生产多个修饰干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的方法，包括向多个原代人T细胞中引入(a)包含含有抗原受体的转座子的转座子组合物和(b)包含转座酶或编码该转座酶的序列的转座酶组合物；以生产多个修饰T细胞，其中多个修饰T细胞的至少2％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或其间的任意百分比表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个修饰T细胞，其中所述多个修饰T细胞的至少25％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个修饰T细胞，其中所述多个修饰T细胞的至少50％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个修饰T细胞，其中所述多个修饰T细胞的至少60％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个修饰T细胞，其中所述多个修饰T细胞的至少75％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个修饰T细胞，其中所述多个修饰T细胞的至少80％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个修饰T细胞，其中所述多个修饰T细胞的至少85％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个修饰T细胞，其中所述多个修饰T细胞的至少90％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个修饰T细胞，其中所述多个修饰T细胞的至少95％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或多种细胞表面标记，由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该细胞表面标记包含CD62L和CD45RA。在某些实施方案中，该CAR-$T_{SCM}$的细胞表面标记包含CD62L、CD45RA、CD28、CCR7、CD127、CD45RO、CD95、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种。在某些实施方案中，该CAR-$T_{SCM}$的细胞表面标记包含CD45RA、CD95、IL-2Rβ、CR7和CD62L中的一种或多种。在该方法的某些实施方案中，该转座子是Helraiser转座子。在某些实施方案中，特别是在其中转座子为Helraiser转座子的那些实施方案中，该转座酶是Helitron转座酶。

[0030] 在本公开的方法的某些实施方案中，该转座酶是Helitron转座酶。Helitron转座酶动员Helraiser转座子——来自蝙蝠基因组的古老元件，活跃于大约3000至3600万年前。本公开的示例性的Helraiser转座子包括Helibat1，其包含含有以下的核酸序列：

[0031]

1 TCCTATATAA TAAAAGAGAA ACATGCAAAT TGACCATCCC TCCGCTACGC TCAAGCCACG
61 CCCACCAGCC AATCAGAAGT GACTATGCAA ATTAACCCAA CAAAGATGGC AGTTAAATTT
121 GCATACGCAG GTGTCAAGCG CCCCAGGAGG CAACGGCGGC CGCGGGCTCC CAGGACCTTC
181 GCTGGCCCCG GGAGGCGAGG CCGGCCGCGC CTAGCCACAC CCGCGGGCTC CCGGGACCTT
241 CGCCAGCAGA GAGCAGAGCG GGAGAGCGGG CGGAGAGCGG GAGGTTTGGA GGACTTGGCA
301 GAGCAGGAGG CCGCTGGACA TAGAGCAGAG CGAGAGAGAG GGTGGCTTGG AGGGCGTGGC
361 TCCCTCTGTC ACCCCAGCTT CCTCATCACA GCTGTGGAAA CTGACAGCAG GGAGGAGGAA
421 GTCCCACCCC CACAGAATCA GCCAGAATCA GCCGTTGGTC AGACAGCTCT CAGCGGCCTG
481 ACAGCCAGGA CTCTCATTCA CCTGCATCTC AGACCGTGAC AGTAGAGAGG TGGGACTATG
541 TCTAAAGAAC AACTGTTGAT ACAACGTAGC TCTGCAGCCG AAAGATGCCG GCGTTATCGA
601 CAGAAAATGT CTGCAGAGCA ACGTGCGTCT GATCTTGAAA GAAGGCGGCG CCTGCAACAG
661 AATGTATCTG AAGAGCAGCT ACTGGAAAAA CGTCGCTCTG AAGCCGAAAA ACAGCGGCGT
721 CATCGACAGA AAATGTCTAA AGACCAACGT GCCTTTGAAG TTGAAAGAAG GCGGTGGCGA
781 CGACAGAATA TGTCTAGAGA ACAGTCATCA ACAAGTACTA CCAATACCGG TAGGAACTGC
841 CTTCTCAGCA AAAATGGAGT ACATGAGGAT GCAATTCTCG AACATAGTTG TGGTGGAATG
901 ACTGTTCGAT GTGAATTTTG CCTATCACTA AATTTCTCTG ATGAAAAACC ATCCGATGGG
961 AAATTTACTC GATGTTGTAG CAAAGGGAAA GTCTGTCCAA ATGATATACA TTTTCCAGAT
1021 TACCCGGCAT ATTTAAAAAG ATTAATGACA AACGAAGATT CTGACAGTAA AAATTTCATG
1081 GAAAATATTC GTTCCATAAA TAGTTCTTTT GCTTTTGCTT CCATGGGTGC AAATATTGCA
1141 TCGCCATCAG GATATGGGCC ATACTGTTTT AGAATACACG GACAAGTTTA TCACCGTACT

1201 GGAACTTTAC ATCCTTCGGA TGGTGTTTCT CGGAAGTTTG CTCAACTCTA TATTTTGGAT

1261 ACAGCCGAAG CTACAAGTAA AAGATTAGCA ATGCCAGAAA ACCAGGGCTG CTCAGAAAGA

1321 CTCATGATCA ACATCAACAA CCTCATGCAT GAAATAAATG AATTAACAAA ATCGTACAAG

1381 ATGCTACATG AGGTAGAAAA GGAAGCCCAA TCTGAAGCAG CAGCAAAAGG TATTGCTCCC

1441 ACAGAAGTAA CAATGGCGAT TAAATACGAT CGTAACAGTG ACCCAGGTAG ATATAATTCT

1501 CCCCGTGTAA CCGAGGTTGC TGTCATATTC AGAAACGAAG ATGGAGAACC TCCTTTTGAA

1561 AGGGACTTGC TCATTCATTG TAAACCAGAT CCCAATAATC CAAATGCCAC TAAAATGAAA

1621 CAAATCAGTA TCCTGTTTCC TACATTAGAT GCAATGACAT ATCCTATTCT TTTTCCACAT

1681 GGTGAAAAAG GCTGGGGAAC AGATATTGCA TTAAGACTCA GAGACAACAG TGTAATCGAC

1741 AATAATACTA GACAAAATGT AAGGACACGA GTCACACAAA TGCAGTATTA TGGATTTCAT

1801 CTCTCTGTGC GGGACACGTT CAATCCTATT TTAAATGCAG GAAAATTAAC TCAACAGTTT

1861 ATTGTGGATT CATATTCAAA AATGGAGGCC AATCGGATAA ATTTCATCAA AGCAAACCAA

1921 TCTAAGTTGA GAGTTGAAAA ATATAGTGGT TTGATGGATT ATCTCAAATC TAGATCTGAA

1981 AATGACAATG TGCCGATTGG TAAAATGATA ATACTTCCAT CATCTTTTGA GGGTAGTCCC

2041 AGAAATATGC AGCAGCGATA TCAGGATGCT ATGGCAATTG TAACGAAGTA TGGCAAGCCC

2101 GATTTATTCA TAACCATGAC ATGCAACCCC AAATGGGCAG ATATTACAAA CAATTTACAA

2161 CGCTGGCAAA AAGTTGAAAA CAGACCTGAC TTGGTAGCCA GAGTTTTTAA TATTAAGCTG

2221 AATGCTCTTT TAAATGATAT ATGTAAATTC CATTTATTTG GCAAAGTAAT AGCTAAAATT

[0032] 2281 CATGTCATTG AATTTCAGAA ACGCGGACTG CCTCACGCTC ACATATTATT GATATTAGAT

2341 AGTGAGTCCA AATTACGTTC AGAAGATGAC ATTGACCGTA TAGTTAAGGC AGAAATTCCA

2401 GATGAAGACC AGTGTCCTCG ACTTTTTCAA ATTGTAAAAT CAAATATGGT ACATGGACCA

2461 TGTGGAATAC AAAATCCAAA TAGTCCATGT ATGGAAAATG GAAAATGTTC AAAGGGATAT

2521 CCAAAAGAAT TTCAAAATGC GACCATTGGA AATATTGATG GATATCCCAA ATACAAACGA

2581 AGATCTGGTA GCACCATGTC TATTGGAAAT AAAGTTGTCG ATAACACTTG GATTGTCCCT

2641 TATAACCCGT ATTTGTGCCT TAAATATAAC TGTCATATAA ATGTTGAAGT CTGTGCATCA

2701 ATTAAAAGTG TCAAATATTT ATTTAAATAC ATCTATAAAG GGCACGATTG TGCAAATATT

2761 CAAATTTCTG AAAAAAATAT TATCAATCAT GACGAAGTAC AGGACTTCAT TGACTCCAGG

2821 TATGTGAGCG CTCCTGAGGC TGTTTGGAGA CTTTTTGCAA TGCGAATGCA TGACCAATCT

2881 CATGCAATCA CAAGATTAGC TATTCATTTG CCAAATGATC AGAATTTGTA TTTTCATACC

2941 GATGATTTTG CTGAAGTTTT AGATAGGGCT AAAAGGCATA ACTCGACTTT GATGGCTTGG

3001 TTCTTATTGA ATAGAGAAGA TTCTGATGCA CGTAATTATT ATTATTGGGA GATTCCACAG

3061 CATTATGTGT TTAATAATTC TTTGTGGACA AAACGCCGAA AGGGTGGGAA TAAAGTATTA

3121 GGTAGACTGT TCACTGTGAG CTTTAGAGAA CCAGAACGAT ATTACCTTAG ACTTTTGCTT

3181 CTGCATGTAA AAGGTGCGAT AAGTTTTGAG GATCTGCGAA CTGTAGGAGG TGTAACTTAT

3241 GATACATTTC ATGAAGCTGC TAAACACCGA GGATTATTAC TTGATGACAC TATCTGGAAA

3301 GATACGATTG ACGATGCAAT CATCCTTAAT ATGCCCAAAC AACTACGGCA ACTTTTTGCA

3361 TATATATGTG TGTTTGGATG TCCTTCTGCT GCAGACAAAT TATGGGATGA GAATAAATCT

[0033]

3421 CATTTTATTG AAGATTTCTG TTGGAAATTA CACCGAAGAG AAGGTGCCTG TGTGAACTGT
3481 GAAATGCATG CCCTTAACGA AATTCAGGAG GTATTCACAT TGCATGGAAT GAAATGTTCA
3541 CATTTCAAAC TTCCGGACTA TCCTTTATTA ATGAATGCAA ATACATGTGA TCAATTGTAC
3601 GAGCAACAAC AGGCAGAGGT TTTGATAAAT TCTCTGAATG ATGAACAGTT GGCAGCCTTT
3661 CAGACTATAA CTTCAGCCAT CGAAGATCAA ACTGTACACC CCAAATGCTT TTTCTTGGAT
3721 GGTCCAGGTG GTAGTGGAAA AACATATCTG TATAAAGTTT TAACACATTA TATTAGAGGT
3781 CGTGGTGGTA CTGTTTTACC CACAGCATCT ACAGGAATTG CTGCAAATTT ACTTCTTGGT
3841 GGAAGAACCT TTCATTCCCA ATATAAATTA CCAATTCCAT TAAATGAAAC TTCAATTTCT
3901 AGACTCGATA TAAAGAGTGA AGTTGCTAAA ACCATTAAAA AGGCCCAACT TCTCATTATT
3961 GATGAATGCA CCATGGCATC CAGTCATGCT ATAAACGCCA TAGATAGATT ACTAAGAGAA
4021 ATTATGAATT TGAATGTTGC ATTTGGTGGG AAAGTTCTCC TTCTCGGAGG GGATTTTCGA
4081 CAATGTCTCA GTATTGTACC ACATGCTATG CGATCGGCCA TAGTACAAAC GAGTTTAAAG
4141 TACTGTAATG TTTGGGGATG TTTCAGAAAG TTGTCTCTTA AAACAAATAT GAGATCAGAG
4201 GATTCTGCTT ATAGTGAATG GTTAGTAAAA CTTGGAGATG GCAAACTTGA TAGCAGTTTT
4261 CATTTAGGAA TGGATATTAT TGAAATCCCC CATGAAATGA TTTGTAACGG ATCTATTATT
4321 GAAGCTACCT TTGGAAATAG TATATCTATA GATAATATTA AAAATATATC TAAACGTGCA
4381 ATTCTTTGTC CAAAAAATGA GCATGTTCAA AAATTAAATG AAGAAATTTT GGATATACTT
4441 GATGGAGATT TTCACACATA TTTGAGTGAT GATTCCATTG ATTCAACAGA TGATGCTGAA
4501 AAGGAAAATT TTCCCATCGA ATTTCTTAAT AGTATTACTC CTTCGGGAAT GCCGTGTCAT
4561 AAATTAAAAT TGAAAGTGGG TGCAATCATC ATGCTATTGA GAAATCTTAA TAGTAAATGG
4621 GGTCTTTGTA ATGGTACTAG ATTTATTATC AAAAGATTAC GACCTAACAT TATCGAAGCT
4681 GAAGTATTAA CAGGATCTGC AGAGGGAGAG GTTGTTCTGA TTCCAAGAAT TGATTTGTCC
4741 CCATCTGACA CTGGCCTCCC ATTTAAATTA ATTCGAAGAC AGTTTCCCGT GATGCCAGCA
4801 TTTGCGATGA CTATTAATAA ATCACAAGGA CAAACTCTAG ACAGAGTAGG AATATTCCTA
4861 CCTGAACCCG TTTTCGCACA TGGTCAGTTA TATGTTGCTT TCTCTCGAGT TCGAAGAGCA
4921 TGTGACGTTA AAGTTAAAGT TGTAAATACT TCATCACAAG GGAAATTAGT CAAGCACTCT
4981 GAAAGTGTTT TTACTCTTAA TGTGGTATAC AGGGAGATAT TAGAATAAGT TTAATCACTT
5041 TATCAGTCAT TGTTTGCATC AATGTTGTTT TTATATCATG TTTTTGTTGT TTTTATATCA
5101 TGTCTTTGTT GTTGTTATAT CATGTTGTTA TTGTTTATTT ATTAATAAAT TTATGTATTA
5161 TTTTCATATA CATTTTACTC ATTTCCTTTC ATCTCTCACA CTTCTATTAT AGAGAAAGGG
5221 CAAATAGCAA TATTAAAATA TTTCCTCTAA TTAATTCCCT TTCAATGTGC ACGAATTTCG
5281 TGCACCGGGC CACTAG (SEQ ID NO: 27)。

[0034] 与其它转座酶不同,Helitron转座酶不含有RNase-H样催化结构域,而是包含由复制起始子结构域(Rep)和DNA解旋酶结构域构成的RepHel基序。该Rep结构域是核酸酶的HUH超家族的核酸酶结构域。

[0035] 本公开的示例性的Helitron转座酶包含含有以下的氨基酸序列:

[0036]

1 MSKEQLLIQR SSAAERCRRY RQKMSAEQRA SDLERRRRLQ QNVSEEQLLE KRRSEAEKQR

61 RHRQKMSKDQ RAFEVERRRW RRQNMSREQS STSTTNTGRN CLLSKNGVHE DAILEHSCGG

121 MTVRCEFCLS LNFSDEKPSD GKFTRCCSKG KVCPNDIHFP DYPAYLKRLM TNEDSDSKNF

181 MENIRSINSS FAFASMGANI ASPSGYGPYC FRIHGQVYHR TGTLHPSDGV SRKFAQLYIL

241 DTAEATSKRL AMPENQGCSE RLMININNLM HEINELTKSY KMLHEVEKEA QSEAAAKGIA

301 PTEVTMAIKY DRNSDPGRYN SPRVTEVAVI FRNEDGEPPF ERDLLIHCKP DPNNPNATKM

361 KQISILFPTL DAMTYPILFP HGEKGWGTDI ALRLRDNSVI DNNTRQNVRT RVTQMQYYGF

421 HLSVRDTFNP ILNAGKLTQQ FIVDSYSKME ANRINFIKAN QSKLRVEKYS GLMDYLKSRS

481 ENDNVPIGKM IILPSSFEGS PRNMQQRYQD AMAIVTKYGK PDLFITMTCN PKWADITNNL

541 QRWQKVENRP DLVARVFNIK LNALLNDICK FHLFGKVIAK IHVIEFQKRG LPHAHILLIL

601 DSESKLRSED DIDRIVKAEI PDEDQCPRLF QIVKSNMVHG PCGIQNPNSP CMENGKCSKG

661 YPKEFQNATI GNIDGYPKYK RRSGSTMSIG NKVVDNTWIV PYNPYLCLKY NCHINVEVCA

721 SIKSVKYLFK YIYKGHDCAN IQISEKNIIN HDEVQDFIDS RYVSAPEAVW RLFAMRMHDQ

781 SHAITRLAIH LPNDQNLYFH TDDFAEVLDR AKRHNSTLMA WFLLNREDSD ARNYYYWEIP

841 QHYVFNNSLW TKRRKGGNKV LGRLFTVSFR EPERYYLRLL LLHVKGAISF EDLRTVGGVT

901 YDTFHEAAKH RGLLLDDTIW KDTIDDAIIL NMPKQLRQLF AYICVFGCPS AADKLWDENK

961 SHFIEDFCWK LHRREGACVN CEMHALNEIQ EVFTLHGMKC SHFKLPDYPL LMNANTCDQL

1021 YEQQQAEVLI NSLNDEQLAA FQTITSAIED QTVHPKCFFL DGPGGSGKTY LYKVLTHYIR

1081 GRGGTVLPTA STGIAANLLL GGRTFHSQYK LPIPLNETSI SRLDIKSEVA KTIKKAQLLI

1141 IDECTMASSH AINAIDRLLR EIMNLNVAFG GKVLLLGGDF RQCLSIVPHA MRSAIVQTSL

1201 KYCNVWGCFR KLSLKTNMRS EDSAYSEWLV KLGDGKLDSS FHLGMDIIEI PHEMICNGSI

1261 IEATFGNSIS IDNIKNISKR AILCPKNEHV QKLNEEILDI LDGDFHTYLS DDSIDSTDDA

1321 EKENFPIEFL NSITPSGMPC HKLKLKVGAI IMLLRNLNSK WGLCNGTRFI IKRLRPNIIE

1381 AEVLTGSAEG EVVLIPRIDL SPSDTGLPFK LIRRQFPVMP AFAMTINKSQ GQTLDRVGIF

1441 LPEPVFAHGQ LYVAFSRVRR ACDVKVKVVN TSSQGKLVKH SESVFTLNVV YREILE (SEQ ID NO: 28)。

[0037] 在Helitron转座中,靠近转座子的3'末端的发夹充当终止子。但是,该发夹可以被转座酶绕过,导致侧翼序列的转导。此外,Helraiser转座产生共价闭合的环状中间体。而且,Helitron转座可能缺乏靶位点重复。在该Helraiser序列中,转座酶的侧翼是称为LTS和RTS的左端和右端序列。这些序列以保守的5'-TC/CTAG-3'基序终止。具有形成发夹终止结构的潜力的19bp回文序列位于RTS上游的11个核苷酸处,并由序列GTGCACGAATTTCGTGCACCGGGCCACTAG(SEQ ID NO:29)组成。

[0038] 本公开提供了生产修饰干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的方法,包括向原代人T细胞中引入(a)包含含有抗原受体或治疗蛋白的转座子的转座子组合物和(b)包含转座酶或编码该转座酶的序列的转座酶组合物;以生产修饰T细胞,其中该修饰T细胞表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。本公开提供了生产多个修饰干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的方法,包括向多个原代人T细胞中引入(a)包含含有抗原受体的转座子的转座子组合物和(b)包含转座酶或编码该转座酶的序列

的转座酶组合物;以生产多个修饰T细胞,其中多个修饰T细胞的至少2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%或其间的任意百分比表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少25%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少50%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少60%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少75%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少80%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少85%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少90%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少95%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该细胞表面标记包含CD62L和CD45RA。在某些实施方案中,该CAR-$T_{SCM}$的细胞表面标记包含CD62L、CD45RA、CD28、CCR7、CD127、CD45RO、CD95、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种。在某些实施方案中,该CAR-$T_{SCM}$的细胞表面标记包含CD45RA、CD95、IL-2Rβ、CR7和CD62L中的一种或多种。在该方法的某些实施方案中,该转座子是Tol2转座子。在某些实施方案中,包括其中该转座子是Tol2转座子的那些实施方案,该转座酶是Tol2转座酶。

[0039] 在本公开的方法的某些实施方案中,该转座酶是Tol2转座酶。Tol2转座子可以分离或衍生自青鳉鱼的基因组,并可能类似于hAT家族的转座子。本公开的示例性的Tol2转座子由包含大约4700个碱基的序列编码并含有编码Tol2转座酶的基因,其含有四个外显子。本公开的示例性的Tol2转座酶包含含有以下的氨基酸序列:

1 MEEVCDSSAA ASSTVQNQPQ DQEHPWPYLR EFFSLSGVNK DSFKMKCVLC LPLNKEISAF

61 KSSPSNLRKH IERMHPNYLK NYSKLTAQKR KIGTSTHASS SKQLKVDSVF PVKHVSPVTV

121 NKAILRYIIQ GLHPFSTVDL PSFKELISTL QPGISVITRP TLRSKIAEAA LIMKQKVTAA

[0040] 181 MSEVEWIATT TDCWTARRKS FIGVTAHWIN PGSLERHSAA LACKRLMGSH TFEVLASAMN

241 DIHSEYEIRD KVVCTTTDSG SNFMKAFRVF GVENNDIETE ARRCESDDTD SEGCGEGSDG

301 VEFQDASRVL DQDDGFEFQL PKHQKCACHL LNLVSSVDAQ KALSNEHYKK LYRSVFGKCQ

361 ALWNKSSRSA LAAEAVESES RLQLLRPNQT RWNSTFMAVD RILQICKEAG EGALRNICTS

[0041]

421 LEVPMFNPAE MLFLTEWANT MRPVAKVLDI LQAETNTQLG WLLPSVHQLS LKLQRLHHSL

481 RYCDPLVDAL QQGIQTRFKH MFEDPEIIAA AILLPKFRTS WTNDETIIKR GMDYIRVHLE

541 PLDHKKELAN SSSDDEDFFA SLKPTTHEAS KELDGYLACV SDTRESLLTF PAICSLSIKT

601 NTPLPASAAC ERLFSTAGLL FSPKRARLDT NNFENQLLLK LNLRFYNFE (SEQ ID NO: 30)。

[0042] 本公开的示例性的Tol2转座子,包括反向重复序列、亚末端序列和Tol2转座酶,由包含以下的核酸序列编码:

[0043]

1 CAGAGGTGTA AAGTACTTGA GTAATTTTAC TTGATTACTG TACTTAAGTA TTATTTTTGG

61 GGATTTTTAC TTTACTTGAG TACAATTAAA AATCAATACT TTTACTTTTA CTTAATTACA

121 TTTTTTTAGA AAAAAAAGTA CTTTTTACTC CTTACAATTT TATTTACAGT CAAAAAGTAC

181 TTATTTTTTG GAGATCACTT CATTCTATTT TCCCTTGCTA TTACCAAACC AATTGAATTG

241 CGCTGATGCC CAGTTTAATT TAAATGTTAT TTATTCTGCC TATGAAAATC GTTTTCACAT

301 TATATGAAAT TGGTCAGACA TGTTCATTGG TCCTTTGGAA GTGACGTCAT GTCACATCTA

361 TTACCACAAT GCACAGCACC TTGACCTGGA AATTAGGGAA ATTATAACAG TCAATCAGTG

421 GAAGAAAATG GAGGAAGTAT GTGATTCATC AGCAGCTGCG AGCAGCACAG TCCAAAATCA

481 GCCACAGGAT CAAGAGCACC CGTGGCCGTA TCTTCGCGAA TTCTTTTCTT TAAGTGGTGT

541 AAATAAAGAT TCATTCAAGA TGAAATGTGT CCTCTGTCTC CCGCTTAATA AAGAAATATC

601 GGCCTTCAAA AGTTCGCCAT CAAACCTAAG GAAGCATATT GAGGTAAGTA CATTAAGTAT

661 TTTGTTTTAC TGATAGTTTT TTTTTTTTTT TTTTTTTTTT TTTTTGGGTG TGCATGTTTT

721 GACGTTGATG GCGCGCCTTT TATATGTGTA GTAGGCCTAT TTTCACTAAT GCATGCGATT

781 GACAATATAA GGCTCACGTA ATAAAATGCT AAAATGCATT TGTAATTGGT AACGTTAGGT

841 CCACGGGAAA TTTGGCGCCT ATTGCAGCTT TGAATAATCA TTATCATTCC GTGCTCTCAT

901 TGTGTTTGAA TTCATGCAAA ACACAAGAAA ACCAAGCGAG AAATTTTTTT CCAAACATGT

961 TGTATTGTCA AAACGGTAAC ACTTTACAAT GAGGTTGATT AGTTCATGTA TTAACTAACA

1021 TTAAATAACC ATGAGCAATA CATTTGTTAC TGTATCTGTT AATCTTTGTT AACGTTAGTT

1081 AATAGAAATA CAGATGTTCA TTGTTTGTTC ATGTTAGTTC ACAGTGCATT AACTAATGTT

1141 AACAAGATAT AAAGTATTAG TAAATGTTGA AATTAACATG TATACGTGCA GTTCATTATT

1201 AGTTCATGTT AACTAATGTA GTTAACTAAC GAACCTTATT GTAAAAGTGT TACCATCAAA

1261 ACTAATGTAA TGAAATCAAT TCACCCTGTC ATGTCAGCCT TACAGTCCTG TGTTTTTGTC

1321 AATATAATCA GAAATAAAAT TAATGTTTGA TTGTCACTAA ATGCTACTGT ATTTCTAAAA

1381 TCAACAAGTA TTTAACATTA TAAAGTGTGC AATTGGCTGC AAATGTCAGT TTTATTAAAG

1441 GGTTAGTTCA CCCAAAAATG AAAATAATGT CATTAATGAC TCGCCCTCAT GTCGTTCCAA

1501 GCCCGTAAGA CCTCCGTTCA TCTTCAGAAC ACAGTTTAAG ATATTTTAGA TTTAGTCCGA

1561 GAGCTTTCTG TGCCTCCATT GAGAATGTAT GTACGGTATA CTGTCCATGT CCAGAAAGGT

1621 AATAAAAACA TCAAAGTAGT CCATGTGACA TCAGTGGGTT AGTTAGAATT TTTTGAAGCA

1681 TCGAATACAT TTTGGTCCAA AAATAACAAA ACCTACGACT TTATTCGGCA TTGTATTCTC

1741 TTCCGGGTCT GTTGTCAATC CGCGTTCACG ACTTCGCAGT GACGCTACAA TGCTGAATAA

1801 AGTCGTAGGT TTTGTTATTT TTGGACCAAA ATGTATTTTC GATGCTTCAA ATAATTCTAC

1861 CTAACCCACT GATGTCACAT GGACTACTTT GATGTTTTTA TTACCTTTCT GGACATGGAC

1921 AGTATACCGT ACATACATTT TCAGTGGAGG GACAGAAAGC TCTCGGACTA AATCTAAAAT

1981 ATCTTAAACT GTGTTCCGAA GATGAACGGA GGTGTTACGG GCTTGGAACG ACATGAGGGT

2041 GAGTCATTAA TGACATCTTT TCATTTTTGG GTGAACTAAC CCTTTAATGC TGTAATCAGA

2101 GAGTGTATGT GTAATTGTTA CATTTATTGC ATACAATATA AATATTTATT TGTTGTTTTT

2161 ACAGAGAATG CACCCAAATT ACCTCAAAAA CTACTCTAAA TTGACAGCAC AGAAGAGAAA

2221 GATCGGGACC TCCACCCATG CTTCCAGCAG TAAGCAACTG AAAGTTGACT CAGTTTTCCC

2281 AGTCAAACAT GTGTCTCCAG TCACTGTGAA CAAAGCTATA TTAAGGTACA TCATTCAAGG

2341 ACTTCATCCT TTCAGCACTG TTGATCTGCC ATCATTTAAA GAGCTGATTA GTACACTGCA

2401 GCCTGGCATT TCTGTCATTA CAAGGCCTAC TTTACGCTCC AAGATAGCTG AAGCTGCTCT

2461 GATCATGAAA CAGAAAGTGA CTGCTGCCAT GAGTGAAGTT GAATGGATTG CAACCACAAC

2521 GGATTGTTGG ACTGCACGTA GAAAGTCATT CATTGGTGTA ACTGCTCACT GGATCAACCC

2581 TGGAAGTCTT GAAAGACATT CCGCTGCACT TGCCTGCAAA AGATTAATGG GCTCTCATAC

2641 TTTTGAGGTA CTGGCCAGTG CCATGAATGA TATCCACTCA GAGTATGAAA TACGTGACAA

2701 GGTTGTTTGC ACAACCACAG ACAGTGGTTC CAACTTTATG AAGGCTTTCA GAGTTTTTGG

2761 TGTGGAAAAC AATGATATCG AGACTGAGGC AAGAAGGTGT GAAAGTGATG ACACTGATTC

2821 TGAAGGCTGT GGTGAGGGAA GTGATGGTGT GGAATTCCAA GATGCCTCAC GAGTCCTGGA

[0044] 2881 CCAAGACGAT GGCTTCGAAT TCCAGCTACC AAAACATCAA AAGTGTGCCT GTCACTTACT

2941 TAACCTAGTC TCAAGCGTTG ATGCCCAAAA AGCTCTCTCA AATGAACACT ACAAGAAACT

3001 CTACAGATCT GTCTTTGGCA AATGCCAAGC TTTATGGAAT AAAAGCAGCC GATCGGCTCT

3061 AGCAGCTGAA GCTGTTGAAT CAGAAAGCCG GCTTCAGCTT TTAAGGCCAA ACCAAACGCG

3121 GTGGAATTCA ACTTTTATGG CTGTTGACAG AATTCTTCAA ATTTGCAAAG AAGCAGGAGA

3181 AGGCGCACTT CGGAATATAT GCACCTCTCT TGAGGTTCCA ATGTAAGTGT TTTTCCCCTC

3241 TATCGATGTA AACAAATGTG GGTTGTTTTT GTTTAATACT CTTTGATTAT GCTGATTTCT

3301 CCTGTAGGTT TAATCCAGCA GAAATGCTGT TCTTGACAGA GTGGGCCAAC ACAATGCGTC

3361 CAGTTGCAAA AGTACTCGAC ATCTTGCAAG CGGAAACGAA TACACAGCTG GGGTGGCTGC

3421 TGCCTAGTGT CCATCAGTTA AGCTTGAAAC TTCAGCGACT CCACCATTCT CTCAGGTACT

3481 GTGACCCACT TGTGGATGCC CTACAACAAG GAATCCAAAC ACGATTCAAG CATATGTTTG

3541 AAGATCCTGA GATCATAGCA GCTGCCATCC TTCTCCCTAA ATTTCGGACC TCTTGGACAA

3601 ATGATGAAAC CATCATAAAA CGAGGTAAAT GAATGCAAGC AACATACACT TGACGAATTC

3661 TAATCTGGGC AACCTTTGAG CCATACCAAA ATTATTCTTT TATTTATTTA TTTTTGCACT

3721 TTTTAGGAAT GTTATATCCC ATCTTTGGCT GTGATCTCAA TATGAATATT GATGTAAAGT

3781 ATTCTTGCAG CAGGTTGTAG TTATCCCTCA GTGTTTCTTG AAACCAAACT CATATGTATC

3841 ATATGTGGTT TGGAAATGCA GTTAGATTTT ATGCTAAAAT AAGGGATTTG CATGATTTTA

3901 GATGTAGATG ACTGCACGTA AATGTAGTTA ATGACAAAAT CCATAAAATT TGTTCCCAGT

3961 CAGAAGCCCC TCAACCAAAC TTTTCTTTGT GTCTGCTCAC TGTGCTTGTA GGCATGGACT

[0045]

4021 ACATCAGAGT GCATCTGGAG CCTTTGGACC ACAAGAAGGA ATTGGCCAAC AGTTCATCTG

4081 ATGATGAAGA TTTTTTCGCT TCTTTGAAAC CGACAACACA TGAAGCCAGC AAAGAGTTGG

4141 ATGGATATCT GGCCTGTGTT TCAGACACCA GGGAGTCTCT GCTCACGTTT CCTGCTATTT

4201 GCAGCCTCTC TATCAAGACT AATACACCTC TTCCCGCATC GGCTGCCTGT GAGAGGCTTT

4261 TCAGCACTGC AGGATTGCTT TTCAGCCCCA AAAGAGCTAG GCTTGACACT AACAATTTTG

4321 AGAATCAGCT TCTACTGAAG TTAAATCTGA GGTTTTACAA CTTTGAGTAG CGTGTACTGG

4381 CATTAGATTG TCTGTCTTAT AGTTTGATAA TTAAATACAA ACAGTTCTAA AGCAGGATAA

4441 AACCTTGTAT GCATTTCATT TAATGTTTTT TGAGATTAAA AGCTTAAACA AGAATCTCTA

4501 GTTTTCTTTC TTGCTTTTAC TTTTACTTCC TTAATACTCA AGTACAATTT TAATGGAGTA

4561 CTTTTTTACT TTTACTCAAG TAAGATTCTA GCCAGATACT TTTACTTTTA ATTGAGTAAA

4621 ATTTTCCCTA AGTACTTGTA CTTTCACTTG AGTAAAATTT TTGAGTACTT TTTACACCTC

4681 TG (SEQ ID NO: 31)。

[0046] 本公开提供了一种生产修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的方法,包括向原代人T细胞中引入(a)包含含有抗原受体或治疗蛋白的转座子的转座子组合物和(b)包含转座酶或编码该转座酶的序列的转座酶组合物;以生产修饰T细胞,其中该修饰T细胞表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)。本公开提供了一种生产多个修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的方法,包括向多个原代人T细胞中引入(a)包含含有抗原受体的转座子的转座子组合物和(b)包含转座酶或编码该转座酶的序列的转座酶组合物;以生产多个修饰T细胞,其中多个修饰T细胞的至少2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%或其间的任意百分比表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少25%表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少50%表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少60%表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少75%表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少80%表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少85%表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少90%表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个修饰T细胞,其中所述多个修饰T细胞的至少95%表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)。在某些实施方案中,该细胞表面标记包含CD45RO、CD95、IL-2Rβ、CCR7和CD62L中的一种或多种。在该方法的某些实施方案中,该转座

子是具有编码该抗原受体或该治疗蛋白的序列的质粒DNA转座子，该序列侧翼是两个顺式调控隔离子元件。在某些实施方案中，该转座子是piggyBac转座子。在某些实施方案中，特别是在其中转座子为piggyBac转座子的那些实施方案中，该转座酶是piggyBac™或SuperpiggyBac™(SPB)转座酶。在该方法的某些实施方案中，该转座子是睡美人转座子。在某些实施方案中，特别是在其中转座子为睡美人转座子的那些实施方案中，该转座酶是睡美人转座酶或极度活跃睡美人转座酶(SB100X)。在该方法的某些实施方案中，该转座子是Helraiser转座子。在某些实施方案中，特别是在其中转座子为Helraiser转座子的那些实施方案中，该转座酶是Helitron转座酶。在该方法的某些实施方案中，该转座子是Tol2转座子。在某些实施方案中，包括其中该转座子是Tol2转座子的那些实施方案，该转座酶是Tol2转座酶。

[0047] 本公开提供了生产包含多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)和多个修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的组合物的方法，包括向多个原代人T细胞中引入(a)包含含有抗原受体或治疗蛋白的转座子的转座子组合物和(b)包含转座酶或编码该转座酶的序列的转座酶组合物；以生产包含多个修饰的$T_{SCM}$和多个修饰的$T_{CM}$的组合物，其中所述多个修饰的$T_{SCM}$表达CD62L、CD45RA、CD28、CCR7、CD127、CD45RO、CD95、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种，并且所述多个修饰的$T_{CM}$表达CD45RO、CD95、IL-2Rβ、CCR7和CD62L中的一种或多种，由此生产包含多个修饰的$T_{SCM}$和多个修饰的$T_{CM}$的组合物。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少1%、2%、5%、7%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或其间的任意百分比的细胞。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少1%、2%、5%、7%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或其间的任意百分比的细胞。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少10%，并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少90%。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少90%，并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少10%。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少20%，并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少80%。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少80%，并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少20%。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少30%，并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少70%。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少70%，并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少30%。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少40%，并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少60%。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少60%，并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少40%。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的干细胞样记忆T细胞

($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少50％，并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少50％。在该方法的某些实施方案中，该转座子是具有编码该抗原受体或该治疗蛋白的序列的质粒DNA转座子，该序列侧翼是两个顺式调控隔离子元件。在某些实施方案中，该转座子是piggyBac转座子。在某些实施方案中，特别是在其中转座子为piggyBac转座子的那些实施方案中，该转座酶是piggyBac™or a SuperpiggyBac™(SPB)转座酶。在该方法的某些实施方案中，该转座子是睡美人转座子。在某些实施方案中，特别是在其中转座子为睡美人转座子的那些实施方案中，该转座酶是睡美人转座酶或极度活跃的睡美人转座酶(SB100X)。在该方法的某些实施方案中，该转座子是Helraiser转座子。在某些实施方案中，特别是在其中转座子为Helraiser转座子的那些实施方案中，该转座酶是Helitron转座酶。在该方法的某些实施方案中，该转座子是Tol2转座子。在某些实施方案中，包括其中该转座子是Tol2转座子的那些实施方案，该转座酶是Tol2转座酶。

[0048] 在本公开的方法的某些实施方案中，该转座子可以由任何物种衍生或重组。或者或此外，该转座子可以是合成的。

[0049] 在本公开的方法的某些实施方案中，该抗原受体是T细胞受体。在某些实施方案中，该T细胞受体是天然存在的。在某些实施方案中，该T细胞受体不是天然存在的。在某些实施方案中，特别是在其中T细胞受体不是天然存在的那些实施方案中，与野生型T细胞受体相比，该T细胞受体包含一个或多个突变。在某些实施方案中，特别是在其中T细胞受体不是天然存在的那些实施方案中，该T细胞受体是重组T细胞受体。在该方法的某些实施方案中，该抗原受体是嵌合抗原受体(CAR)。在某些实施方案中，该CAR是CARTyrin。在某些实施方案中，该CAR包含一个或多个VHH序列。在某些实施方案中，该CAR是VCAR。

[0050] 在本公开的方法的某些实施方案中，包括其中该方法包括向原代人T细胞中引入(a)包含含有抗原受体的转座子的转座子组合物和(b)包含转座酶或编码该转座酶的序列的转座酶组合物的那些，该方法进一步包括向原代人T细胞中引入(c)包含含有治疗蛋白的转座子的第二转座子组合物，以生产修饰T细胞，其中修饰T细胞能够表达该治疗蛋白。在某些实施方案中，该治疗蛋白是可分泌蛋白，并且该方法生产能够分泌该治疗蛋白的修饰T细胞。在某些实施方案中，(b)的转座酶组合物转座(a)的转座子和(c)的转座子。在某些实施方案中，该方法进一步包括向原代人T细胞中引入(d)包含转座酶或编码该转座酶的序列的第二转座酶组合物。在某些实施方案中，该第二转座酶组合物转座(c)的转座子。在某些实施方案中，(b)的转座酶组合物转座(a)的转座子，且(d)的转座酶组合物转座(c)的转座子。在该方法的某些实施方案中，该转座子是具有编码该抗原受体或该治疗蛋白的序列的质粒DNA转座子，该序列侧翼是两个顺式调控隔离子元件。在某些实施方案中，该转座子是piggyBac转座子。在某些实施方案中，特别是在其中转座子为piggyBac转座子的那些实施方案中，该转座酶是piggyBac™或Super piggyBac™(SPB)转座酶。在该方法的某些实施方案中，该转座子是睡美人转座子。在某些实施方案中，特别是在其中转座子为睡美人转座子的那些实施方案中，该转座酶是睡美人转座酶或极度活跃的睡美人转座酶(SB100X)。在该方法的某些实施方案中，该转座子是Helraiser转座子。在某些实施方案中，特别是在其中转座子为Helraiser转座子的那些实施方案中，该转座酶是Helitron转座酶。在该方法的某些实施方案中，该转座子是Tol2转座子。在某些实施方案中，包括其中该转座子是Tol2转座子的那些实施方案，该转座酶是Tol2转座酶。

[0051] 本公开提供了一种生产修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的方法,包括:(a)向原代人T细胞中引入包含抗原受体的组合物以生产修饰T细胞,其中该抗原受体或该治疗蛋白不包含在转座子中,和(b)使该修饰T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触以生产激活的修饰T细胞,其中所述激活的修饰T细胞表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。本公开提供了一种生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的方法,包括:(a)向多个原代人T细胞中引入包含抗原受体的组合物以生产多个修饰T细胞,其中该抗原受体或该治疗蛋白不包含在转座子中,和(b)使所述多个修饰T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触以生产多个激活的修饰T细胞,其中所述多个激活的修饰T细胞的至少2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%或其间的任意百分比表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个激活的修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个激活的修饰T细胞,其中所述多个激活的修饰T细胞的至少25%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个激活的修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个激活的修饰T细胞,其中所述多个激活的修饰T细胞的至少50%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个激活的修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个激活的修饰T细胞,其中所述多个激活的修饰T细胞的至少60%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个激活的修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个激活的修饰T细胞,其中所述多个激活的修饰T细胞的至少75%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个激活的修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个激活的修饰T细胞,其中所述多个激活的修饰T细胞的至少80%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个激活的修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个激活的修饰T细胞,其中所述多个激活的修饰T细胞的至少85%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个激活的修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个激活的修饰T细胞,其中所述多个激活的修饰T细胞的至少90%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个激活的修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该方法生产多个激活的修饰T细胞,其中所述多个激活的修饰T细胞的至少95%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个激活的修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该细胞表面标记包含CD62L和CD45RA。在某些实施方案中,所述激活的修饰$T_{SCM}$的细胞表面标记包括CD62L、CD45RA、CD28、CCR7、CD127、CD45RO、CD95、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种。在某些实施方案中,所述激活的修饰$T_{SCM}$的细胞表面标记包括CD45RA、CD95、IL-2Rβ、CR7和CD62L中的一种或多种。

[0052] 在生产修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的本公开的方法的某些实施方案中,包括:(a)向原代人T细胞中引入包含抗原受体的组合物以生产修饰T细胞,其中该抗原受体或

该治疗蛋白不包含在转座子中，和(b)使该修饰T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触以生产激活的修饰T细胞，(b)的T细胞激活剂组合物进一步包含抗人CD2单特异性四聚体抗体复合物。在某些实施方案中，该方法进一步包含步骤(c)：使激活的修饰T细胞与包含人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、Iscove's MDM和扩增补充剂中的一种或多种的T细胞扩增组合物接触以生产多个扩增的修饰T细胞，其中所述多个扩增的修饰T细胞的至少2％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记。在该方法的某些实施方案中，所述多个扩增的修饰T细胞的至少2％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或其间的任意百分比表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的细胞表面标记。在该方法的某些实施方案中，所述多个扩增的修饰T细胞的至少60％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的细胞表面标记。在某些实施方案中，该方法进一步包含步骤(d)：富集所述多个扩增的修饰T细胞以生产包含至少2％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或其间的任意百分比的表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的细胞表面标记的修饰T细胞的组合物。在某些实施方案中，该方法进一步包含步骤(d)：富集所述多个扩增的修饰T细胞以生产包含至少60％的表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的细胞表面标记的修饰T细胞的组合物。在该方法的某些实施方案中，该富集步骤包括从多个富集的修饰T细胞中分离表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记的修饰T细胞。在该方法的某些实施方案中，该富集步骤进一步包含使分离的修饰$T_{SCM}$与包含人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、Iscove's MDM和扩增补充剂中的一种或多种的T细胞扩增组合物接触以生产多个扩增的富集的修饰$T_{SCM}$。在该方法的某些实施方案中，该T细胞扩增组合物进一步包含辛酸、烟酰胺、2,4,7,9-四甲基-5-癸炔-4,7-二醇(TMDD)、己二酸二异丙酯(DIPA)、正丁基-苯磺酰胺、1,2-苯二甲酸、双(2-甲基丙基)酯、棕榈酸、亚油酸、油酸、硬脂酸酰肼、油酰胺、甾醇和烷烃中的一种或多种。在该方法的某些实施方案中，该T细胞扩增组合物进一步包含辛酸、棕榈酸、亚油酸、油酸和甾醇中的一种或多种。在该方法的某些实施方案中，该T细胞扩增组合物进一步包含以下的一种或多种：浓度为0.9mg/kg至90mg/kg的辛酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的棕榈酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的亚油酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的油酸，包括端点；和浓度为大约0.1mg/kg至10mg/kg的甾醇，包括端点。在该方法的某些实施方案中，该T细胞扩增组合物进一步包含以下的一种或多种：浓度为大约9mg/kg的辛酸，浓度为大约2mg/kg的棕榈酸，浓度为大约2mg/kg的亚油酸，浓度为大约2mg/kg的油酸和浓度为大约1mg/kg的甾醇。在该方法的某些实施方案中，该T细胞扩增组合物进一步包含以下的一种或多种：浓度为6.4μmol/kg至640μmol/kg的辛酸，包括端点；浓度为0.7μmol/kg至70μmol/kg的棕榈酸，包括端点；浓度为0.75μmol/kg至75μmol/kg的亚油酸，包括端点；浓度为0.75μmol/kg至75μmol/kg的油酸，包括端点；和浓度为0.25μmol/kg至25μmol/kg的甾醇，包括端点。在该方法的某些实施方案中，该T细胞扩增组合物进一步包含以下的一种或多种：浓度为大约64μmol/kg的辛酸，浓度为大约7μmol/kg的棕榈酸，浓度为大约7.5μmol/kg的亚油酸，浓度为大约7.5μmol/kg的油酸和浓度为大约2.5μmol/kg的甾醇。

[0053] 本公开提供了一种生产修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的方法，包括：(a)向原代人T细

胞中引入包含抗原受体的组合物以生产修饰T细胞，其中该抗原受体或该治疗蛋白不包含在转座子中，和(b)使修饰T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触以生产激活的修饰T细胞，其中所述激活的修饰T细胞表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产中枢记忆T细胞($T_{CM}$)。本公开提供了一种生产多个修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的方法，包括：(a)向多个原代人T细胞中引入包含抗原受体的组合物以生产多个修饰T细胞，其中该抗原受体或该治疗蛋白不包含在转座子中，和(b)使多个修饰T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触以生产多个激活的修饰T细胞，其中所述多个激活的修饰T细胞的至少2％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或其间的任意百分比表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的修饰T细胞，其中所述多个激活的修饰T细胞的至少25％表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的修饰T细胞，其中所述多个激活的修饰T细胞的至少50％表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的修饰T细胞，其中所述多个激活的修饰T细胞的至少60％表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的修饰T细胞，其中所述多个激活的修饰T细胞的至少75％表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的修饰T细胞，其中所述多个激活的修饰T细胞的至少80％表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的修饰T细胞，其中所述多个激活的修饰T细胞的至少85％表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的修饰T细胞，其中所述多个激活的修饰T细胞的至少90％表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的修饰T细胞，其中所述多个激活的修饰T细胞的至少95％表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)。在某些实施方案中，所述激活的修饰$T_{CM}$的细胞表面标记包含CD45RO、CD95、IL-2Rβ、CCR7和CD62L中的一种或多种。

[0054] 在生产修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的本公开的方法的某些实施方案中，包括：(a)向原代人T细胞中引入包含抗原受体的组合物以生产修饰T细胞，其中该抗原受体或该治疗蛋白不包含在转座子中，和(b)使修饰T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触以生产激活的修饰T细胞，(b)的T细胞激活剂组合物进一步包含抗人CD2单特异性四聚体抗体复合物。在某些实施方案中，该方法进一步包含步骤(c)：使激活的修饰T细胞与包含人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、Iscove's MDM和扩增补充剂中的一

种或多种的T细胞扩增组合物接触以生产多个扩增的修饰T细胞，其中所述多个扩增的修饰T细胞的至少2％表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记。在该方法的某些实施方案中，所述多个扩增的修饰T细胞的至少2％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或其间的任意百分比表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的细胞表面标记。在该方法的某些实施方案中，所述多个扩增的修饰T细胞的至少60％表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的细胞表面标记。在某些实施方案中，该方法进一步包含步骤(d)：富集所述多个扩增的修饰T细胞以生产包含至少2％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或其间的任意百分比的表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的细胞表面标记的修饰T细胞的组合物。在某些实施方案中，该方法进一步包含步骤(d)：富集所述多个扩增的修饰T细胞以生产包含至少60％的表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的细胞表面标记的修饰T细胞的组合物。在该方法的某些实施方案中，该富集步骤包括从多个富集的修饰T细胞中分离表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或多种细胞表面标记的修饰T细胞。在该方法的某些实施方案中，该富集步骤进一步包含使分离的修饰$T_{CM}$与包含人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、Iscove's MDM和扩增补充剂中的一种或多种的T细胞扩增组合物接触以生产多个扩增的富集的修饰$T_{CM}$。在该方法的某些实施方案中，该T细胞扩增组合物进一步包含以下的一种或多种：辛酸、烟酰胺、2,4,7,9-四甲基-5-癸炔-4,7-二醇(TMDD)、己二酸二异丙酯(DIPA)、正丁基-苯磺酰胺、1,2-苯二甲酸、双(2-甲基丙基)酯、棕榈酸、亚油酸、油酸、硬脂酸酰肼、油酰胺、甾醇和烷烃。在该方法的某些实施方案中，该T细胞扩增组合物进一步包含以下的一种或多种：辛酸、棕榈酸、亚油酸、油酸和甾醇。在该方法的某些实施方案中，该T细胞扩增组合物进一步包含以下的一种或多种：浓度为0.9mg/kg至90mg/kg的辛酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的棕榈酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的亚油酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的油酸，包括端点；和浓度为大约0.1mg/kg至10mg/kg的甾醇，包括端点。在该方法的某些实施方案中，该T细胞扩增组合物进一步包含以下的一种或多种：浓度为大约9mg/kg的辛酸，浓度为大约2mg/kg的棕榈酸，浓度为大约2mg/kg的亚油酸，浓度为大约2mg/kg的油酸和浓度为大约1mg/kg的甾醇。在该方法的某些实施方案中，该T细胞扩增组合物进一步包含以下的一种或多种：浓度为6.4μmol/kg至640μmol/kg的辛酸，包括端点；浓度为0.7μmol/kg至70μmol/kg的棕榈酸，包括端点；浓度为0.75μmol/kg至75μmol/kg的亚油酸，包括端点；浓度为0.75μmol/kg至75μmol/kg的油酸，包括端点；和浓度为0.25μmol/kg至25μmol/kg的甾醇，包括端点。在该方法的某些实施方案中，该T细胞扩增组合物进一步包含以下的一种或多种：浓度为大约64μmol/kg的辛酸，浓度为大约7μmol/kg的棕榈酸，浓度为大约7.5μmol/kg的亚油酸，浓度为大约7.5μmol/kg的油酸和浓度为大约2.5μmol/kg的甾醇。

[0055] 本公开提供了生产包含多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)和多个修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的组合物的方法，包括：(a)向多个原代人T细胞中引入包含抗原受体的组合物以生产多个修饰T细胞，其中该抗原受体或该治疗蛋白不包含在转座子中，和(b)使多个修饰T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触以生产包含多个激活的修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)和多个激活的修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的组合物，其中所述多

个激活的修饰$T_{SCM}$表达CD62L、CD45RA、CD28、CCR7、CD127、CD45RO、CD95、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种，并且所述多个激活的修饰$T_{CM}$表达CD45RO、CD95、IL-2Rβ、CCR7和CD62L中的一种或多种，由此生产包含多个修饰的$T_{SCM}$和多个修饰的$T_{CM}$的组合物。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少1％、2％、5％、7％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、97％、99％或其间的任意百分比的细胞。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少1％、2％、5％、7％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、97％、99％或其间的任意百分比的细胞。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少10％，并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少90％。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少90％，并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少10％。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少20％，并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少80％。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少80％，并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少20％。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少30％，并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少70％。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少70％，并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少30％。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少40％，并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少60％。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少60％，并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少40％。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少50％，并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少50％。

[0056] 在生产包含多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)和多个修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的组合物的本公开的方法的某些实施方案中，包括：(a)向多个原代人T细胞中引入包含抗原受体的组合物以生产多个修饰T细胞，其中该抗原受体或该治疗蛋白不包含在转座子中，和(b)使多个修饰T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触以生产包含多个激活的修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)和多个激活的修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的组合物，(b)的T细胞激活剂组合物进一步包含抗人CD2单特异性四聚体抗体复合物。在某些实施方案中，该方法进一步包含步骤(c)：使包含多个激活的修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)和多个激活的修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的组合物与包含人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、Iscove's MDM和扩增补充剂中的一种或多种的T细胞扩增组合物接触以生产多个扩增的修饰T细胞，其中所述多个扩增的修饰$T_{SCM}$表达CD62L、CD45RA、CD28、CCR7、CD127、CD45RO、CD95、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种，并且所述多个扩增的修饰$T_{CM}$表

达CD45RO、CD95、IL-2Rβ、CCR7和CD62L中的一种或多种，由此生产包含多个扩增的修饰$T_{SCM}$和多个扩增的修饰$T_{CM}$的组合物。在该方法的某些实施方案中，该富集步骤包括从所述多个富集的修饰T细胞中分离表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记的修饰T细胞或从所述多个富集的修饰T细胞中分离表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记的修饰T细胞。在该方法的某些实施方案中，该富集步骤包括从所述多个富集的修饰T细胞中分离表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记的修饰T细胞和从所述多个富集的修饰T细胞中分离表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记的修饰T细胞。在该方法的某些实施方案中，该富集步骤进一步包括使包含分离的修饰TSCM与分离的修饰$T_{CM}$的组合物与包含人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、Iscove's MDM和扩增补充剂中的一种或多种的T细胞扩增组合物接触以生产包含多个扩增的富集的修饰$T_{SCM}$和多个扩增的富集的修饰$T_{CM}$的组合物。在该方法的某些实施方案中，该T细胞扩增组合物进一步包含以下的一种或多种：辛酸、烟酰胺、2,4,7,9-四甲基-5-癸炔-4,7-二醇(TMDD)、己二酸二异丙酯(DIPA)、正丁基-苯磺酰胺、1,2-苯二甲酸、双(2-甲基丙基)酯、棕榈酸、亚油酸、油酸、硬脂酸酰肼、油酰胺、甾醇和烷烃。在该方法的某些实施方案中，该T细胞扩增组合物进一步包含以下的一种或多种：辛酸、棕榈酸、亚油酸、油酸和甾醇。在该方法的某些实施方案中，该T细胞扩增组合物进一步包含以下的一种或多种：浓度为0.9mg/kg至90mg/kg的辛酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的棕榈酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的亚油酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的油酸，包括端点；和浓度为大约0.1mg/kg至10mg/kg的甾醇，包括端点。在该方法的某些实施方案中，该T细胞扩增组合物进一步包含以下的一种或多种：浓度为大约9mg/kg的辛酸，浓度为大约2mg/kg的棕榈酸，浓度为大约2mg/kg的亚油酸，浓度为大约2mg/kg的油酸和浓度为大约1mg/kg的甾醇。在该方法的某些实施方案中，该T细胞扩增组合物进一步包含以下的一种或多种：浓度为6.4μmol/kg至640μmol/kg的辛酸，包括端点；浓度为0.7μmol/kg至70μmol/kg的棕榈酸，包括端点；浓度为0.75μmol/kg至75μmol/kg的亚油酸，包括端点；浓度为0.75μmol/kg至75μmol/kg的油酸，包括端点；和浓度为0.25μmol/kg至25μmol/kg的甾醇，包括端点。在该方法的某些实施方案中，该T细胞扩增组合物进一步包含以下的一种或多种：浓度为大约64μmol/kg的辛酸，浓度为大约7μmol/kg的棕榈酸，浓度为大约7.5μmol/kg的亚油酸，浓度为大约7.5μmol/kg的油酸和浓度为大约2.5μmol/kg的甾醇。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少1%、2%、5%、7%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或其间的任意百分比的细胞。在该方法的某些实施方案中，该修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少1%、2%、5%、7%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或其间的任意百分比的细胞。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少10%，并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少90%。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少90%，并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少10%。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少20%，并且所述修饰的

中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少80％。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少80％，并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少20％。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少30％，并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少70％。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少70％，并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少30％。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少40％，并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少60％。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少60％，并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少40％。在该方法的某些实施方案中，所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少50％，并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少50％。

[0057] 在本公开的生产激活的修饰$T_{SCM}$或$T_{CM}$的方法的某些实施方案中，包括包含以下步骤的那些方法：(a)向多个原代人T细胞中引入包含抗原受体的组合物以生产多个修饰T细胞，其中该抗原受体或该治疗蛋白不包含在转座子中，和(b)使所述多个修饰T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触，所述引入步骤包括同源重组。在包含同源重组的引入步骤的某些实施方案中，基因组编辑组合物接触所述多个T细胞的至少一个原代T细胞的基因组序列。在包含同源重组的引入步骤的某些实施方案中，基因组编辑组合物接触所述多个T细胞的一部分原代T细胞的基因组序列。在某些实施方案中，所述原代T细胞一部分是所述多个T细胞中原代T细胞的总数的至少1％、2％、5％、7％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、97％、99％或其间的任意百分比。在包含同源重组的引入步骤的某些实施方案中，基因组编辑组合物接触所述多个T细胞的每个原代T细胞的基因组序列。在包含同源重组的引入步骤的某些实施方案中，基因组编辑组合物诱发单链断裂。在包含同源重组的引入步骤的某些实施方案中，基因组编辑组合物诱发双链断裂。在包含同源重组的引入步骤的某些实施方案中，该引入步骤进一步包含供体序列组合物。在某些实施方案中，该供体序列组合物包含编码该抗原受体的序列。在某些实施方案中，该供体序列组合物包含编码该抗原受体的序列、5’基因组序列和3’基因组序列，其中该5’基因组序列与对于通过基因组编辑组合物诱导的断裂点为5’的原代T细胞的基因组序列同源或相同，并且该3’基因组序列与对于通过基因组编辑组合物诱导的断裂点为3’的原代T细胞的基因组序列同源或相同。在包含同源重组的引入步骤的某些实施方案中，该基因组编辑组合物和供体序列组合物同时或依次与基因组序列接触。在包含同源重组的引入步骤的某些实施方案中，该基因组编辑组合物和供体序列组合物依次与基因组序列接触，并首先提供该基因组编辑组合物。在包含同源重组的引入步骤的某些实施方案中，该基因组编辑组合物包含编码DNA结合域的序列和编码核酸酶结构域的序列。在包含同源重组的引入步骤的某些实施方案中，该基因组编辑组合物包含DNA结合域和核酸酶结构域。在该基因组编辑组合物的某些实施方案中，该DNA结合域包含指导RNA(gRNA)。在该基因组编辑组合物的某些实施方案中，该DNA结合域包含TALEN的DNA结合域。在该基因组编辑组合物的某些实施方案中，该

DNA结合域包含ZFN的DNA结合域。在该基因组编辑组合物的某些实施方案中，该核酸酶结构域包含Cas9核酸酶或其序列。在该基因组编辑组合物的某些实施方案中，该核酸酶结构域包含无活性的Cas9(SEQ ID NO:33，包含在位置10处的丙氨酸(A)置换天冬氨酸(D)(D10A)和在位置840处的丙氨酸(A)置换组氨酸(H)(H840A))。在该基因组编辑组合物的某些实施方案中，该核酸酶结构域包含短且无活性的Cas9(SEQ ID NO:32，包含在位置10处的丙氨酸(A)置换天冬氨酸(D)(D10A)和在位置540处的丙氨酸(A)置换天冬酰胺(N)(N540A))。在该基因组编辑组合物的某些实施方案中，该核酸酶结构域包含或进一步包含IIS型核酸内切酶。在该基因组编辑组合物的某些实施方案中，该IIS型核酸内切酶包含AciI、Mn1I、AlwI、BbvI、BccI、BceAI、BsmAI、BsmFI、BspCNI、BsrI、BtsCI、HgaI、HphI、HpyAV、Mbo1I、My1I、PleI、SfaNI、AcuI、BciVI、BfuAI、BmgBI、BmrI、BpmI、BpuEI、BsaI、BseRI、BsgI、BsmI、BspMI、BsrBI、BsrBI、BsrDI、BtgZI、BtsI、EarI、EciI、MmeI、NmeAIII、BbvCI、Bpu10I、BspQI、SapI、BaeI、BsaXI、CspCI、BfiI、MboII、Acc36I、FokI或Clo051。在某些实施方案中，该IIS型核酸内切酶包含Clo051。在该基因组编辑组合物的某些实施方案中，该核酸酶结构域包含或进一步包含TALEN或其核酸酶结构域。在该基因组编辑组合物的某些实施方案中，该核酸酶结构域包含或进一步包含ZFN或其核酸酶结构域。在包含同源重组的引入步骤的某些实施方案中，该基因组编辑组合物诱导基因组序列断裂，并利用原代T细胞的内源性DNA修复机制插入供体序列组合物。在包含同源重组的引入步骤的某些实施方案中，插入供体序列组合物消除了该基因组编辑组合物的DNA结合位点，由此阻止了该基因组编辑组合物的进一步活动。

[0058] 在本公开的生产激活的修饰$T_{SCM}$或$T_{CM}$的方法的某些实施方案中，包括包含(a)向多个原代人T细胞中引入包含抗原受体的组合物以生产多个修饰T细胞，其中该抗原受体或该治疗蛋白不包含在转座子中，和(b)使多个修饰T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触的那些方法，病毒载体包含该抗原受体。在某些实施方案中，该病毒载体包含从RNA病毒中分离、衍生或重组的一个或多个序列。在某些实施方案中，该RNA病毒是单链或双链病毒。在某些实施方案中，该病毒载体包含从DNA病毒中分离、衍生或重组的一个或多个序列。在某些实施方案中，该DNA病毒是单链或双链病毒。在某些实施方案中，该病毒是复制缺陷的。

[0059] 在本公开的生产激活的修饰$T_{SCM}$或$T_{CM}$的方法的某些实施方案中，包括包含(a)向多个原代人T细胞中引入包含抗原受体的组合物以生产多个修饰T细胞，其中该抗原受体或该治疗蛋白不包含在转座子中，和(b)使多个修饰T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触的那些方法，病毒载体包含该抗原受体。在某些实施方案中，该病毒载体包含从逆转录病毒中分离或衍生的序列。在某些实施方案中，该病毒载体包含从慢病毒中分离或衍生的序列。

[0060] 在本公开的生产激活的修饰$T_{SCM}$或$T_{CM}$的方法的某些实施方案中，包括包含(a)向多个原代人T细胞中引入包含抗原受体的组合物以生产多个修饰T细胞，其中该抗原受体或该治疗蛋白不包含在转座子中，和(b)使多个修饰T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活

剂组合物接触的那些方法，病毒载体包含该抗原受体。在某些实施方案中，该病毒载体包含从逆转录病毒中分离或衍生的序列。在某些实施方案中，该病毒载体包含从γ逆转录病毒中分离或衍生的序列。

[0061] 在本公开的生产激活的修饰$T_{SCM}$或$T_{CM}$的方法的某些实施方案中，包括包含(a)向多个原代人T细胞中引入包含抗原受体的组合物以生产多个修饰T细胞，其中该抗原受体或该治疗蛋白不包含在转座子中，和(b)使多个修饰T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触的那些方法，病毒载体包含该抗原受体。在某些实施方案中，该病毒载体包含从腺相关的病毒(AAV)中分离或衍生的序列。在某些实施方案中，该AAV是血清型AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10或AAV11。在某些实施方案中，该AAV包含来自AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10或AAV11中的一种或多种的序列。在某些实施方案中，该AAV包含从AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10或AAV11中的一种或多种中分离、衍生或重组的序列。在某些实施方案中，该AAV包含从AAV2中分离、衍生或重组的序列。在某些实施方案中，包括其中该载体穿过血脑屏障(BBB)的那些，该AAV包含从AAV9中分离、衍生或重组的序列。本公开的示例性的腺相关的病毒和重组腺相关的病毒包括但不限于自身互补型AAV(scAAV)和含有一种血清型的基因组与另一血清型的衣壳的AAV杂合体(例如AAV2/5、AAV-DJ和AAV-DJ8)。本公开的示例性的腺相关的病毒与重组腺相关的病毒包括但不限于rAAV-LK03、rAAV-NP59和rAAV-NP84。

[0062] 在本公开的生产激活的修饰$T_{SCM}$或$T_{CM}$的方法的某些实施方案中，核酸载体包含该抗原受体。在某些实施方案中，DNA载体包含该抗原受体。在某些实施方案中，mRNA载体包含该抗原受体。在某些实施方案中，该核酸载体是质粒或微环载体。

[0063] 在本公开的生产激活的修饰$T_{SCM}$或$T_{CM}$的方法的某些实施方案中，纳米粒子载体包含该抗原受体。纳米粒子可以由例如在国际专利公开号WO 2012/094679、国际专利公开号WO 2016/022805、国际专利公开号WO/2011/133635、国际专利公开号WO/2016/090111、国际专利公开号WO/2017/004498、WO/2017/004509、国际专利申请号PCT/US2017/030271、美国专利号6,835,394、美国专利号7,217,427和美国专利号7,867,512中公开的聚合物组成。

[0064] 在本公开的生产激活的修饰$T_{SCM}$或$T_{CM}$的方法的某些实施方案中，该抗原受体是T细胞受体。在某些实施方案中，该T细胞受体是天然存在的。在某些实施方案中，该T细胞受体不是天然存在的。在某些实施方案中，特别是在其中T细胞受体不是天然存在的那些实施方案中，与野生型T细胞受体相比，该T细胞受体包含一个或多个突变。在某些实施方案中，特别是在其中T细胞受体不是天然存在的那些实施方案中，该T细胞受体是重组T细胞受体。在该方法的某些实施方案中，该抗原受体是嵌合抗原受体(CAR)。在某些实施方案中，该CAR是CARTyrin。在某些实施方案中，该CAR包含一个或多个VHH序列。在某些实施方案中，该CAR是VCAR。

[0065] 在本公开的生产激活的修饰$T_{SCM}$或$T_{CM}$的方法的某些实施方案中，包括包含(a)向多个原代人T细胞中引入包含抗原受体的组合物以生产多个修饰T细胞，其中该抗原受体或该治疗蛋白不包含在转座子中，和(b)使多个修饰T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触的那些方法，该方法进一步包含向该原代人T细胞中引入包含治疗蛋白的组

合物以生产能够表达该治疗蛋白的修饰T细胞。在某些实施方案中，该治疗蛋白是可分泌蛋白，并且该方法生产能够分泌该治疗蛋白的修饰T细胞。在某些实施方案中，该引入步骤包含同源重组，并且供体序列包含编码该治疗蛋白的序列。在某些实施方案中，包含该抗原受体的供体序列进一步包含该治疗蛋白。在某些实施方案中，第一供体序列包含该抗原受体，并且第二供体序列包含该治疗蛋白。在某些实施方案中，载体包含编码该治疗蛋白的序列。在某些实施方案中，该载体是病毒载体。在某些实施方案中，该载体是纳米粒子。在某些实施方案中，包含该抗原受体的载体进一步包含该治疗蛋白。在某些实施方案中，第一载体包含该抗原受体，并且第二载体模板包含该治疗蛋白。

[0066] 本公开提供了一种生产修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的方法，包括：(a)向原代人T细胞中引入包含抗原受体的组合物以生产修饰T细胞，其中转座子包含该抗原受体，和(b)使所述修饰T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触以生产激活的修饰T细胞，其中所述激活的修饰T细胞表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。本公开提供了一种生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的方法，包括：(a)向多个原代人T细胞中引入包含抗原受体的组合物以生产多个修饰T细胞，其中转座子包含该抗原受体，和(b)使所述多个修饰T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物以生产多个激活的修饰T细胞接触，其中所述多个激活的修饰T细胞的至少25％、50％、60％、75％、80％、85％、90％、95％或99％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在该方法的某些实施方案中，所述多个激活的修饰T细胞的至少60％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记。在该方法的某些实施方案中，(b)的T细胞激活剂组合物进一步包含抗人CD2单特异性四聚体抗体复合物。本公开提供了生产修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的方法，包括：(a)向原代人T细胞中引入包含嵌合抗原受体(CAR)的组合物以生产CAR-T细胞，和(b)使所述CAR-T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD2单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触以生产激活的CAR-T细胞，其中所述激活的CAR-T细胞表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产表达CAR的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)(CAR-$T_{SCM}$)。本公开提供了生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的方法，包括：(a)向多个原代人T细胞中引入包含嵌合抗原受体(CAR)的组合物以生产多个CAR-T细胞，和(b)使所述多个CAR-T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD2单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触以生产多个激活的CAR-T细胞，其中所述多个激活的CAR-T细胞的至少2％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或其间的任意百分比表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的CAR干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法进一步包含以下步骤：(c)使所述激活的修饰T细胞与包含人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、Iscove's MDM和扩增补充剂中的一种或多种的T细胞扩增组合物接触以生产多个扩增的修饰T细胞，其中所述多个扩增的

修饰T细胞的至少2％表达干细胞样记忆T细胞(TSCM)的一种或更多种细胞表面标记。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含或进一步包含辛酸、烟酰胺、2,4,7,9-四甲基-5-癸炔-4,7-二醇(TMDD)、己二酸二异丙酯(DIPA)、正丁基-苯磺酰胺、1,2-苯二甲酸、双(2-甲基丙基)酯、棕榈酸、亚油酸、油酸、硬脂酸酰肼、油酰胺、甾醇和烷烃中的一种或多种。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含辛酸、棕榈酸、亚油酸、油酸和甾醇(例如胆固醇)中的一种或多种。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为0.9mg/kg至90mg/kg的辛酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的棕榈酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的亚油酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的油酸，包括端点；和浓度为大约0.1mg/kg至10mg/kg的甾醇，包括端点(其中mg/kg＝百万分率)。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为大约9mg/kg的辛酸，浓度为大约2mg/kg的棕榈酸，浓度为大约2mg/kg的亚油酸，浓度为大约2mg/kg的油酸，和浓度为大约1mg/kg的甾醇(其中mg/kg＝百万分率)。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为9.19mg/kg的辛酸，浓度为1.86mg/kg的棕榈酸，浓度为大约2.12mg/kg的亚油酸，浓度为大约2.13mg/kg的油酸和浓度为大约1.01mg/kg的甾醇(其中mg/kg＝百万分率)。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含浓度为9.19mg/kg的辛酸，浓度为1.86mg/kg的棕榈酸，浓度为2.12mg/kg的亚油酸，浓度为大约2.13mg/kg的油酸，和浓度为1.01mg/kg的甾醇(其中mg/kg＝百万分率)。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为6.4μmol/kg至640μmol/kg的辛酸，包括端点；浓度为0.7μmol/kg至70μmol/kg的棕榈酸，包括端点；浓度为0.75μmol/kg至75μmol/kg的亚油酸，包括端点；浓度为0.75μmol/kg至75μmol/kg的油酸，包括端点；和浓度为0.25μmol/kg至25μmol/kg的甾醇，包括端点。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为大约64μmol/kg的辛酸，浓度为大约7μmol/kg的棕榈酸，浓度为大约7.5μmol/kg的亚油酸，浓度为大约7.5μmol/kg的油酸和浓度为大约2.5μmol/kg的甾醇。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为大约63.75μmol/kg的辛酸，浓度为大约7.27μmol/kg的棕榈酸，浓度为大约7.57μmol/kg的亚油酸，浓度为大约7.56μmol/kg的油酸和浓度为大约2.61μmol/kg的甾醇。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含浓度为大约63.75μmol/kg的辛酸，浓度为大约7.27μmol/kg的棕榈酸，浓度为大约7.57μmol/kg的亚油酸，浓度为7.56μmol/kg的油酸和浓度为2.61μmol/kg的甾醇。在某些实施方案中，所述多个扩增的修饰T细胞的至少2％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或其间的任意百分比表达干细胞样记忆T细胞(TSCM)的细胞表面标记。在某些实施方案中，所述多个扩增的修饰T细胞的至少60％表达干细胞样记忆T细胞(TSCM)的细胞表面标记。在某些实施方案中，该方法进一步包含以下步骤：(d)富集所述多个扩增的修饰T细胞以生产包含表达干细胞样记忆T细胞(TSCM)的细胞表面标记的修饰T细胞的至少2％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或其间的任意百分比的组合物。在某些实施方案中，该方法进一步包含以下步骤：(d)富集所述多个扩增的修饰T细胞以生产包含表达干细胞样记忆T细胞(TSCM)的细胞表面标记的修饰T细胞的至少60％的组合物。在某些实施方案中，该富集步骤进一步包含从所述多个富集的修饰T细胞中分离表达干细胞样记忆T细胞(TSCM)的一种或更多种细胞表面标记修饰T细胞。在某些实施方案中，该富集

步骤进一步包含使所述分离的修饰$T_{SCM}$与包含人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、Iscove's MDM和扩增补充剂中的一种或多种的T细胞扩增组合物接触以生产多个扩增的富集的修饰$T_{SCM}$。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物进一步包含以下的一种或多种：辛酸、烟酰胺、2,4,7,9-四甲基-5-癸炔-4,7-二醇(TMDD)、己二酸二异丙酯(DIPA)、正丁基-苯磺酰胺、1,2-苯二甲酸、双(2-甲基丙基)酯、棕榈酸、亚油酸、油酸、硬脂酸酰肼、油酰胺、甾醇和烷烃。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含辛酸、棕榈酸、亚油酸、油酸和甾醇(例如胆固醇)中的一种或多种。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为0.9mg/kg至90mg/kg的辛酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的棕榈酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的亚油酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的油酸，包括端点；和浓度为大约0.1mg/kg至10mg/kg的甾醇，包括端点(其中mg/kg＝百万分率)。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为大约9mg/kg的辛酸，浓度为大约2mg/kg的棕榈酸，浓度为大约2mg/kg的亚油酸，浓度为大约2mg/kg的油酸，和浓度为大约1mg/kg的甾醇(其中mg/kg＝百万分率)。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为9.19mg/kg的辛酸，浓度为1.86mg/kg的棕榈酸，浓度为大约2.12mg/kg的亚油酸，浓度为大约2.13mg/kg的油酸和浓度为大约1.01mg/kg的甾醇(其中mg/kg＝百万分率)。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含浓度为9.19mg/kg的辛酸、浓度为1.86mg/kg的棕榈酸、浓度为2.12mg/kg的亚油酸、浓度为大约2.13mg/kg的油酸和浓度为1.01mg/kg的甾醇(其中mg/kg＝百万分率)。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为6.4μmol/kg至640μmol/kg的辛酸，包括端点；浓度为0.7μmol/kg至70μmol/kg的棕榈酸，包括端点；浓度为0.75μmol/kg至75μmol/kg的亚油酸，包括端点；浓度为0.75μmol/kg至75μmol/kg的油酸，包括端点；和浓度为0.25μmol/kg至25μmol/kg的甾醇，包括端点。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为大约64μmol/kg的辛酸，浓度为大约7μmol/kg的棕榈酸，浓度为大约7.5μmol/kg的亚油酸，浓度为大约7.5μmol/kg的油酸和浓度为大约2.5μmol/kg的甾醇。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为大约63.75μmol/kg的辛酸，浓度为大约7.27μmol/kg的棕榈酸，浓度为大约7.57μmol/kg的亚油酸，浓度为大约7.56μmol/kg的油酸和浓度为大约2.61μmol/kg的甾醇。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含浓度为大约63.75μmol/kg的辛酸，浓度为大约7.27μmol/kg的棕榈酸，浓度为大约7.57μmol/kg的亚油酸，浓度为7.56μmol/kg的油酸和浓度为2.61μmol/kg的甾醇。

[0067] 本公开提供了一种生产修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的方法，包括：(a)向原代人T细胞中引入包含抗原受体的组合物以生产修饰T细胞，其中转座子包含该抗原受体，和(b)使所述修饰T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触以生产激活的修饰T细胞，其中所述激活的修饰T细胞表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)。本公开提供了一种生产多个修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的方法，包括：(a)向多个原代人T细胞中引入包含抗原受体的组合物以生产多个修饰T细胞，其中转座子包含该抗原受体，和(b)使所述多个修饰T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触以生产多个激活的修饰T细胞，其中所述多个激活的修饰T细胞的至少

25％、50％、60％、75％、80％、85％、90％、95％或99％表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)。在该方法的某些实施方案中，所述多个激活的修饰T细胞的至少60％表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记。在该方法的某些实施方案中，(b)的T细胞激活剂组合物进一步包含抗人CD2单特异性四聚体抗体复合物。在某些实施方案中，该方法进一步包含以下步骤：(c)使所述激活的修饰T细胞与包含人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、Iscove's MDM和扩增补充剂中的一种或多种的T细胞扩增组合物接触以生产多个扩增的修饰T细胞，其中所述多个扩增的修饰T细胞的至少2％表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记。在某些实施方案中，所述T细胞扩增组合物包含或进一步包含辛酸、烟酰胺、2,4,7,9-四甲基-5-癸炔-4,7-二醇(TMDD)、己二酸二异丙酯(DIPA)、正丁基-苯磺酰胺、1,2-苯二甲酸、双(2-甲基丙基)酯、棕榈酸、亚油酸、油酸、硬脂酸酰肼、油酰胺、甾醇和烷烃中的一种或多种。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含辛酸、棕榈酸、亚油酸、油酸和甾醇(例如胆固醇)中的一种或多种。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为0.9mg/kg至90mg/kg的辛酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的棕榈酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的亚油酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的油酸，包括端点；和浓度为大约0.1mg/kg至10mg/kg的甾醇，包括端点(其中mg/kg＝百万分率)。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为大约9mg/kg的辛酸，浓度为大约2mg/kg的棕榈酸，浓度为大约2mg/kg的亚油酸，浓度为大约2mg/kg的油酸和浓度为大约1mg/kg的甾醇(其中mg/kg＝百万分率)。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为9.19mg/kg的辛酸，浓度为1.86mg/kg的棕榈酸，浓度为大约2.12mg/kg的亚油酸，浓度为大约2.13mg/kg的油酸，和浓度为大约1.01mg/kg的甾醇(其中mg/kg＝百万分率)。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含浓度为9.19mg/kg的辛酸，浓度为1.86mg/kg的棕榈酸，浓度为2.12mg/kg的亚油酸，浓度为大约2.13mg/kg的油酸和浓度为1.01mg/kg的甾醇(其中mg/kg＝百万分率)。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为6.4μmol/kg至640μmol/kg的辛酸，包括端点；浓度为0.7μmol/kg至70μmol/kg的棕榈酸，包括端点；浓度为0.75μmol/kg至75μmol/kg的亚油酸，包括端点；浓度为0.75μmol/kg至75μmol/kg的油酸，包括端点；和浓度为0.25μmol/kg至25μmol/kg的甾醇，包括端点。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为大约64μmol/kg的辛酸，浓度为大约7μmol/kg的棕榈酸，浓度为大约7.5μmol/kg的亚油酸，浓度为大约7.5μmol/kg的油酸和浓度为大约2.5μmol/kg的甾醇。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为大约63.75μmol/kg的辛酸，浓度为大约7.27μmol/kg的棕榈酸，浓度为大约7.57μmol/kg的亚油酸，浓度为大约7.56μmol/kg的油酸和浓度为大约2.61μmol/kg的甾醇。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含浓度为大约63.75μmol/kg的辛酸，浓度为大约7.27μmol/kg的棕榈酸，浓度为大约7.57μmol/kg的亚油酸，浓度为7.56μmol/kg的油酸和浓度为2.61μmol/kg的甾醇。在某些实施方案中，所述多个扩增的修饰T细胞的至少2％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或其间的任意百分比表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的细胞表面标记。在某些实施方案中，所述多个扩增的修饰T细胞的至少60％表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的细胞表面标记。在某些实施方案中，该方法进一步包含以下步骤：(d)富

集所述多个扩增的修饰T细胞以生产包含至少2％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或其间的任意百分比的表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的细胞表面标记的修饰T细胞的组合物。在某些实施方案中，该方法进一步包含以下步骤：(d)富集所述多个扩增的修饰T细胞以生产包含至少60％的表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的细胞表面标记的修饰T细胞的组合物。在某些实施方案中，该富集步骤进一步包含从所述多个富集的修饰T细胞中分离表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记的修饰T细胞。在某些实施方案中，该富集步骤进一步包含使分离的修饰$T_{CM}$与包含人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、Iscove's MDM和扩增补充剂中的一种或多种的T细胞扩增组合物接触以制造多个扩增的富集的修饰$T_{CM}$。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物进一步包含以下的一种或多种：辛酸、烟酰胺、2,4,7,9-四甲基-5-癸炔-4,7-二醇(TMDD)、己二酸二异丙酯(DIPA)、正丁基-苯磺酰胺、1,2-苯二甲酸、双(2-甲基丙基)酯、棕榈酸、亚油酸、油酸、硬脂酸酰肼、油酰胺、甾醇和烷烃。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含辛酸、棕榈酸、亚油酸、油酸和甾醇(例如胆固醇)中的一种或多种。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为0.9mg/kg至90mg/kg的辛酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的棕榈酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的亚油酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的油酸，包括端点；和浓度为大约0.1mg/kg至10mg/kg的甾醇，包括端点(其中mg/kg＝百万分率)。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为大约9mg/kg的辛酸，浓度为大约2mg/kg的棕榈酸，浓度为大约2mg/kg的亚油酸，浓度为大约2mg/kg的油酸和浓度为大约1mg/kg的甾醇(其中mg/kg＝百万分率)。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为9.19mg/kg的辛酸，浓度为1.86mg/kg的棕榈酸，浓度为大约2.12mg/kg的亚油酸，浓度为大约2.13mg/kg的油酸和浓度为大约1.01mg/kg的甾醇(其中mg/kg＝百万分率)。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含浓度为9.19mg/kg的辛酸，浓度为1.86mg/kg的棕榈酸，浓度为2.12mg/kg的亚油酸，浓度为大约2.13mg/kg的油酸和浓度为1.01mg/kg的甾醇(其中mg/kg＝百万分率)。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为6.4μmol/kg至640μmol/kg的辛酸，包括端点；浓度为0.7μmol/kg至70μmol/kg的棕榈酸，包括端点；浓度为0.75μmol/kg至75μmol/kg的亚油酸，包括端点；浓度为0.75μmol/kg至75μmol/kg的油酸，包括端点；和浓度为0.25μmol/kg至25μmol/kg的甾醇，包括端点。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为大约64μmol/kg的辛酸，浓度为大约7μmol/kg的棕榈酸，浓度为大约7.5μmol/kg的亚油酸，浓度为大约7.5μmol/kg的油酸和浓度为大约2.5μmol/kg的甾醇。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为大约63.75μmol/kg的辛酸，浓度为大约7.27μmol/kg的棕榈酸，浓度为大约7.57μmol/kg的亚油酸，浓度为大约7.56μmol/kg的油酸和浓度为大约2.61μmol/kg的甾醇。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含浓度为大约63.75μmol/kg的辛酸，浓度为大约7.27μmol/kg的棕榈酸，浓度为大约7.57μmol/kg的亚油酸，浓度为7.56μmol/kg的油酸和浓度为2.61μmol/kg的甾醇。

[0068] 本公开提供了生产包含多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)和多个修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的组合物的方法，包括：(a)向多个原代人T细胞中引入包含抗原受体的组合物以生产包含多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)和多个修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的组

合物,其中转座子包含该抗原受体,和(b)使所述组合物与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触以生产包含多个激活的修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)和多个激活的修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的组合物,其中所述多个激活的修饰$T_{SCM}$表达CD62L、CD45RA、CD28、CCR7、CD127、CD45RO、CD95、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种,并且所述多个激活的修饰$T_{CM}$表达CD45RO、CD95、IL-2Rβ、CCR7和CD62L中的一种或多种,由此生产包含多个修饰的$T_{SCM}$和多个修饰的$T_{CM}$的组合物。在该方法的某些实施方案中,(b)的T细胞激活剂组合物进一步包含抗人CD2单特异性四聚体抗体复合物。在某些实施方案中,该方法进一步包含以下步骤:(c)使所述组合物与包含人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、Iscove's MDM和扩增补充剂中的一种或多种的T细胞扩增组合物接触以生产多个扩增的修饰T细胞,其中包含多个扩增的修饰T细胞的组合物的至少2%表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记。在某些实施方案中,该方法进一步包含以下步骤:(c)使所述组合物与包含人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、Iscove's MDM和扩增补充剂中的一种或多种的T细胞扩增组合物接触以生产多个扩增的修饰T细胞,其中包含多个扩增的修饰T细胞的组合物的至少2%表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记。在某些实施方案中,该T细胞扩增组合物包含或进一步包含辛酸、烟酰胺、2,4,7,9-四甲基-5-癸炔-4,7-二醇(TMDD)、己二酸二异丙酯(DIPA)、正丁基-苯磺酰胺、1,2-苯二甲酸、双(2-甲基丙基)酯、棕榈酸、亚油酸、油酸、硬脂酸酰肼、油酰胺、甾醇和烷烃中的一种或多种。在某些实施方案中,该T细胞扩增组合物包含辛酸、棕榈酸、亚油酸、油酸和甾醇(例如胆固醇)中的一种或多种。在某些实施方案中,该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种:浓度为0.9mg/kg至90mg/kg的辛酸,包括端点;浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的棕榈酸,包括端点;浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的亚油酸,包括端点;浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的油酸,包括端点;和浓度为大约0.1mg/kg至10mg/kg的甾醇,包括端点(其中mg/kg=百万分率)。在某些实施方案中,该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种:浓度为大约9mg/kg的辛酸,浓度为大约2mg/kg的棕榈酸,浓度为大约2mg/kg的亚油酸,浓度为大约2mg/kg的油酸和浓度为大约1mg/kg的甾醇(其中mg/kg=百万分率)。在某些实施方案中,该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种:浓度为9.19mg/kg的辛酸,浓度为1.86mg/kg的棕榈酸,浓度为大约2.12mg/kg的亚油酸,浓度为大约2.13mg/kg的油酸和浓度为大约1.01mg/kg的甾醇(其中mg/kg=百万分率)。在某些实施方案中,该T细胞扩增组合物包含浓度为9.19mg/kg的辛酸,浓度为1.86mg/kg的棕榈酸,浓度为2.12mg/kg的亚油酸,浓度为大约2.13mg/kg的油酸和浓度为1.01mg/kg的甾醇(其中mg/kg=百万分率)。在某些实施方案中,该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种:浓度为6.4μmol/kg至640μmol/kg的辛酸,包括端点;浓度为0.7μmol/kg至70μmol/kg的棕榈酸,包括端点;浓度为0.75μmol/kg至75μmol/kg的亚油酸,包括端点;浓度为0.75μmol/kg至75μmol/kg的油酸,包括端点;和浓度为0.25μmol/kg至25μmol/kg的甾醇,包括端点。在某些实施方案中,该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种:浓度为大约64μmol/kg的辛酸,浓度为大约7μmol/kg的棕榈酸,浓度为大约7.5μmol/kg的亚油酸,浓度为大约7.5μmol/kg的油酸和浓度为大约2.5μmol/kg的甾醇。在某些实施方案中,该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种:浓度为大约63.75μmol/kg的辛酸,浓度为大约7.27μmol/kg的棕榈酸,浓度为大约7.57μmol/kg的亚油酸,浓度为大约7.56μmol/kg的油酸和浓

度为大约2.61μmol/kg的甾醇。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含浓度为大约63.75μmol/kg的辛酸，浓度为大约7.27μmol/kg的棕榈酸，浓度为大约7.57μmol/kg的亚油酸，浓度为7.56μmol/kg的油酸和浓度为2.61μmol/kg的甾醇。在某些实施方案中，包含多个扩增的修饰$T_{SCM}$和多个扩增的修饰$T_{CM}$的组合物的至少2％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或其间的任意百分比的细胞表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的细胞表面标记。在某些实施方案中，包含多个扩增的修饰$T_{SCM}$和多个扩增的修饰$T_{CM}$的组合物的至少2％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或其间的任意百分比的细胞表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的细胞表面标记。在某些实施方案中，该方法进一步包含以下步骤：(d)富集该组合物以生产包含表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的细胞表面标记的修饰T细胞的至少2％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或其间的任意百分比的组合物。在某些实施方案中，该方法进一步包含以下步骤：(d)富集该组合物以生产包含表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的细胞表面标记的修饰T细胞的至少2％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或其间的任意百分比的组合物。在某些实施方案中，该富集步骤进一步包含从该组合物中分离表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记的修饰T细胞，或从该组合物中分离表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记的修饰T细胞。在某些实施方案中，该富集步骤进一步包含从该组合物中分离表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记的修饰T细胞，和从该组合物中分离表达中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记的修饰T细胞。在某些实施方案中，该富集步骤进一步包含使分离的修饰$T_{SCM}$和/或$T_{CM}$与包含人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、Iscove's MDM和扩增补充剂中的一种或多种的T细胞扩增组合物接触以生产包含多个扩增的富集的修饰$T_{SCM}$和/或$T_{CM}$的组合物。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物进一步包含以下的一种或多种：辛酸、烟酰胺、2,4,7,9-四甲基-5-癸炔-4,7-二醇(TMDD)、己二酸二异丙酯(DIPA)、正丁基-苯磺酰胺、1,2-苯二甲酸、双(2-甲基丙基)酯、棕榈酸、亚油酸、油酸、硬脂酸酰肼、油酰胺、甾醇和烷烃。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含辛酸、棕榈酸、亚油酸、油酸和甾醇(例如胆固醇)中的一种或多种。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为0.9mg/kg至90mg/kg的辛酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的棕榈酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的亚油酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的油酸，包括端点；和浓度为大约0.1mg/kg至10mg/kg的甾醇，包括端点(其中mg/kg＝百万分率)。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为大约9mg/kg的辛酸，浓度为大约2mg/kg的棕榈酸，浓度为大约2mg/kg的亚油酸，浓度为大约2mg/kg的油酸和浓度为大约1mg/kg的甾醇(其中mg/kg＝百万分率)。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为9.19mg/kg的辛酸，浓度为1.86mg/kg的棕榈酸，浓度为大约2.12mg/kg的亚油酸，浓度为大约2.13mg/kg的油酸和浓度为大约1.01mg/kg的甾醇(其中mg/kg＝百万分率)。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含浓度为9.19mg/kg的辛酸，浓度为1.86mg/kg的棕榈酸，浓度为2.12mg/kg的亚油酸，浓度为大约2.13mg/kg的油酸和浓度为1.01mg/kg的甾醇(其中mg/kg＝百万分率)。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合

物包含以下的一种或多种:浓度为6.4μmol/kg至640μmol/kg的辛酸,包括端点;浓度为0.7μmol/kg至70μmol/kg的棕榈酸,包括端点;浓度为0.75μmol/kg至75μmol/kg的亚油酸,包括端点;浓度为0.75μmol/kg至75μmol/kg的油酸,包括端点;和浓度为0.25μmol/kg至25μmol/kg的甾醇,包括端点。在某些实施方案中,该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种:浓度为大约64μmol/kg的辛酸,浓度为大约7μmol/kg的棕榈酸,浓度为大约7.5μmol/kg的亚油酸,浓度为大约7.5μmol/kg的油酸和浓度为大约2.5μmol/kg的甾醇。在某些实施方案中,该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种:浓度为大约63.75μmol/kg的辛酸,浓度为大约7.27μmol/kg的棕榈酸,浓度为大约7.57μmol/kg的亚油酸,浓度为大约7.56μmol/kg的油酸和浓度为大约2.61μmol/kg的甾醇。在某些实施方案中,该T细胞扩增组合物包含浓度为大约63.75μmol/kg的辛酸,浓度为大约7.27μmol/kg的棕榈酸,浓度为大约7.57μmol/kg的亚油酸,浓度为7.56μmol/kg的油酸和浓度为2.61μmol/kg的甾醇。在该方法的某些实施方案中,所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少1%、2%、5%、7%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或其间的任意百分比的细胞。在该方法的某些实施方案中,所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少1%、2%、5%、7%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或其间的任意百分比的细胞。在该方法的某些实施方案中,所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少10%,并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少90%。在该方法的某些实施方案中,所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少90%,并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少10%。在该方法的某些实施方案中,所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少20%,并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少80%。在该方法的某些实施方案中,所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少80%,并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少20%。在该方法的某些实施方案中,所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少30%,并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少70%。在该方法的某些实施方案中,所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少70%,并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少30%。在该方法的某些实施方案中,所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少40%,并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少60%。在该方法的某些实施方案中,所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少60%,并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少40%。在该方法的某些实施方案中,所述修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)包含该组合物的细胞总数的至少50%,并且所述修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)包含该组合物的细胞总数的至少50%。

[0069] 在本公开的方法的某些实施方案中,包括其中该方法包括(a)向原代人T细胞中引入包含抗原受体的组合物以生产修饰T细胞,其中转座子包含该抗原受体,和(b)使所述修饰T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触以生产激活的修饰T细胞的那些,

该方法进一步包含向原代人T细胞中引入(c)包含含有治疗蛋白的转座子的第二转座子组合物以生产修饰T细胞，其中该修饰T细胞能够表达该治疗蛋白。在某些实施方案中，该治疗蛋白是可分泌蛋白并且该方法生产能够分泌该治疗蛋白的修饰T细胞。在某些实施方案中，该方法进一步包括引入转座酶组合物。在某些实施方案中，该转座酶组合物转座(a)的转座子和第二转座子。在某些实施方案中，该方法包括引入第一转座酶组合物和第二转座酶组合物。在某些实施方案中，包括其中该方法包括引入第一转座酶组合物和第二转座酶组合物的那些，该第一转座酶组合物转座(a)的转座子，并且该第二转座酶组合物转座第二转座子。在该方法的某些实施方案中，该转座子是具有编码该抗原受体或该治疗蛋白的序列的质粒DNA转座子，该序列侧翼是两个顺式调控隔离子元件。在某些实施方案中，该转座子是piggyBac转座子。在某些实施方案中，特别是在其中转座子为piggyBac转座子的那些实施方案中，该转座酶是piggyBac™或SuperpiggyBac™(SPB)转座酶。在该方法的某些实施方案中，该转座子是睡美人转座子。在某些实施方案中，特别是在其中转座子为睡美人转座子的那些实施方案中，该转座酶是睡美人转座酶或极度活跃的睡美人转座酶(SB100X)。在该方法的某些实施方案中，该转座子是Helraiser转座子。在某些实施方案中，特别是在其中转座子为Helraiser转座子的那些实施方案中，该转座酶是Helitron转座酶。在该方法的某些实施方案中，该转座子是Tol2转座子。在某些实施方案中，包括其中该转座子是Tol2转座子的那些实施方案，该转座酶是Tol2转座酶。

[0070] 在本公开的方法的某些实施方案中，包括其中该方法包括(a)向原代人T细胞中引入包含抗原受体的组合物以生产修饰T细胞，其中转座子包含该抗原受体，和(b)使所述修饰T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触以生产激活的修饰T细胞的那些，该方法进一步包括向原代人T细胞中引入编码治疗蛋白的序列以生产修饰T细胞，其中该修饰T细胞能够表达该治疗蛋白。在引入编码治疗蛋白的序列的某些实施方案中，该引入步骤包含同源重组。在引入编码治疗蛋白的序列的某些实施方案中，载体包含编码该治疗蛋白的序列。在某些实施方案中，该载体是病毒载体。在某些实施方案中，该载体是纳米粒子。

[0071] 在本公开的方法的某些实施方案中，该引入步骤进一步包含含有基因组编辑构建体的组合物。在某些实施方案中，该基因组编辑构建体包含指导RNA和成簇的规律间隔的短回文重复序列(CRISPR)相关蛋白9(Cas9)DNA核酸内切酶。在某些实施方案中，该基因组编辑构建体包含DNA结合域和IIS型核酸内切酶。在某些实施方案中，该基因组编辑构建体编码融合蛋白。在某些实施方案中，该基因组编辑构建体编码该DNA结合域与该IIS型核酸内切酶，并且其中表达的DNA结合域与表达的IIS型核酸内切酶是非共价连接的。在某些实施方案中，包括其中该基因组编辑构建体包含DNA结合域和IIS型核酸内切酶的那些实施方案，该基因组编辑构建体包含衍生自Cas9核酸内切酶的序列。在某些实施方案中，包括其中该基因组编辑构建体包含DNA结合域和IIS型核酸内切酶的那些实施方案，衍生自Cas9核酸内切酶的序列是DNA结合域。在某些实施方案中，包括其中衍生自Cas9核酸内切酶的序列是DNA结合域的那些实施方案，衍生自Cas9核酸内切酶的序列编码无活性的Cas9。在某些实施方案中，包括其中衍生自Cas9核酸内切酶的序列是DNA结合域的那些实施方案，衍生自Cas9核酸内切酶的序列编码截短的Cas9。在某些实施方案中，衍生自Cas9核酸内切酶的序列包含在位置10处的丙氨酸(A)对天冬氨酸(D)的氨基酸置换(D10A)。在某些实施方案中，衍生

自Cas9核酸内切酶的序列包含在位置840处的丙氨酸(A)对组氨酸(H)的氨基酸置换(H840A)。在某些实施方案中,衍生自Cas9核酸内切酶的序列包含dCas9(SEQ ID NO:33)。在某些实施方案中,衍生自Cas9核酸内切酶的序列包含在位置580处的丙氨酸(A)对天冬酰胺(N)的氨基酸置换(N580A)。在某些实施方案中,衍生自Cas9核酸内切酶的序列包含dSaCas9(SEQ ID NO:32)。在某些实施方案中,包括其中该基因组编辑构建体包含DNA结合域和IIS型核酸内切酶的那些实施方案,该基因组编辑构建体包含衍生自转录激活因子样效应物核酸酶(TALEN)的序列。在某些实施方案中,包括其中该基因组编辑构建体包含DNA结合域和IIS型核酸内切酶的那些实施方案,衍生自TALEN的序列是DNA结合域。在某些实施方案中,该基因组编辑构建体包含TALEN。在某些实施方案中,包括其中该基因组编辑构建体包含DNA结合域和IIS型核酸内切酶的那些实施方案,该基因组编辑构建体包含衍生自锌指核酸酶(ZFN)的序列。在某些实施方案中,包括其中该基因组编辑构建体包含DNA结合域和IIS型核酸内切酶的那些实施方案,衍生自ZFN的序列是DNA结合域。在某些实施方案中,该基因组编辑构建体包含锌指核酸酶(ZFN)。

[0072] 在本公开的方法的某些实施方案中,该转座子是具有编码该抗原受体或该治疗蛋白的序列的质粒DNA转座子,该序列侧翼是两个顺式调控隔离子元件。在该方法的某些实施方案中,该引入步骤进一步包含含有编码转座酶的mRNA序列的组合物。在某些实施方案中,该转座子是piggyBac转座子。在某些实施方案中,特别是在其中转座子为piggyBac转座子的那些实施方案中,该转座酶是SuperpiggyBac™(SPB)转座酶。在某些实施方案中,特别是在其中转座酶为Super piggyBac™(SPB)转座酶的那些实施方案中,编码该转座酶的序列是mRNA序列。在某些实施方案中,该piggyBac转座酶包含含有SEQ ID NO:4的氨基酸序列。在某些实施方案中,该piggyBac转座酶是极度活跃的变体,并且该极度活跃的变体包含在SEQ ID NO:4的位置30、165、282和538的一个或多个处的氨基酸置换。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4的位置30处的氨基酸置换是缬氨酸(V)置换异亮氨酸(I)(I30V)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4的位置165处的氨基酸置换是丝氨酸(S)置换甘氨酸(G)(G165S)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4的位置282处的氨基酸置换是缬氨酸(V)置换蛋氨酸(M)(M282V)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4的位置538处的氨基酸置换是赖氨酸(K)置换天冬酰胺(N)(N538K)。在某些实施方案中,该SuperpiggyBac(SPB)转座酶包含含有SEQ ID NO:5的氨基酸序列。在某些实施方案中,该转座子是睡美人转座子。在某些实施方案中,特别是在其中转座子为睡美人转座子的那些实施方案中,该转座酶是睡美人转座酶或极度活跃的睡美人转座酶(SB100X)。在某些实施方案中,该转座子是Helraiser转座子。在某些实施方案中,特别是其中该转座子是Helraiser转座子的那些实施方案,该转座酶是Helitron转座酶。在某些实施方案中,该转座子是Tol2转座子。在某些实施方案中,特别是其中该转座子是Tol2转座子的那些实施方案,该转座酶是Tol2转座酶。在某些实施方案中,编码该转座酶的序列是mRNA序列。在某些实施方案中,该转座子可以由任何物种衍生或重组。或者或此外,该转座子可以是合成的。

[0073] 在本公开的方法的某些实施方案中,该转座子进一步包含选择基因。在某些实施方案中,该T细胞扩增组合物进一步包含选择剂。

[0074] 在本公开的方法的某些实施方案中,该抗原受体是T细胞受体。在某些实施方案中,该T细胞受体是天然存在的。在某些实施方案中,该T细胞受体不是天然存在的。在某些

实施方案中，特别是在其中T细胞受体不是天然存在的那些实施方案中，与野生型T细胞受体相比，该T细胞受体包含一个或多个突变。在某些实施方案中，特别是在其中T细胞受体不是天然存在的那些实施方案中，该T细胞受体是重组T细胞受体。在该方法的某些实施方案中，该抗原受体是嵌合抗原受体(CAR)。在某些实施方案中，该CAR是CARTyrin。在某些实施方案中，该CAR包含一个或多个VHH序列。在某些实施方案中，该CAR是VCAR。

[0075] 在本公开的方法的某些实施方案中，该修饰$T_{SCM}$的细胞表面标记包含CD62L和CD45RA。在某些实施方案中，该修饰$T_{SCM}$的细胞表面标记包含CD62L、CD45RA、CD28、CCR7、CD127、CD45RO、CD95、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种。在某些实施方案中，该修饰$T_{SCM}$的细胞表面标记包含CD45RA、CD95、IL-2Rβ、CR7和CD62L中的一种或多种。

[0076] 在本公开的方法的某些实施方案中，所述多个扩增的修饰T细胞包含幼稚T细胞(修饰$T_N$)，并且该CAR-$T_N$的细胞表面标记包含CD45RA、CCR7和CD62L中的一种或多种。在某些实施方案中，所述多个扩增的修饰T细胞包含中枢记忆T细胞(修饰$T_{CM}$)，并且该CAR-$T_{CM}$的细胞表面标记包含CD45RO、CD95、IL-2Rβ、CCR7和CD62L中的一种或多种。在某些实施方案中，所述多个扩增的修饰T细胞包含效应物记忆T细胞(修饰$T_{EM}$)，并且该CAR-$T_{EM}$的细胞表面标记包含CD45RO、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种。在某些实施方案中，多个扩增的修饰T细胞包含效应物T细胞(修饰$T_{EFF}$)，并且该CAR-$T_{EFF}$的细胞表面标记包含CD45RA、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种。

[0077] 在本公开的方法的某些实施方案中，所述多个扩增的修饰T细胞包含中枢记忆T细胞(修饰$T_{CM}$)，并且该CAR-$T_{CM}$的细胞表面标记包含CD45RO、CD95、IL-2Rβ、CCR7和CD62L中的一种或多种。在某些实施方案中，所述多个扩增的修饰T细胞中最丰富的细胞是中枢记忆T细胞(修饰$T_{CM}$)，并且该CAR-$T_{CM}$的细胞表面标记包含CD45RO、CD95、IL-2Rβ、CCR7和CD62L中的一种或多种。在某些实施方案中，其中在所述多个扩增的修饰T细胞中最丰富的细胞是中枢记忆T细胞(修饰$T_{CM}$)，所述多个扩增的修饰T细胞包含$T_{SCM}$细胞，并且该$T_{SCM}$细胞的细胞表面标记包含CD62L、CD45RA、CD28、CCR7、CD127、CD45RO、CD95、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种。

[0078] 本公开提供了生产修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的方法，包括：(a)向原代人T细胞中引入包含嵌合抗原受体(CAR)的组合物以生产CAR-T细胞，和(b)使所述CAR-T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD2单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触以生产激活的CAR-T细胞，其中所述激活的CAR-T细胞表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产表达CAR的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)(CAR-$T_{SCM}$)。本公开提供了生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的方法，包括：(a)向多个原代人T细胞中引入包含嵌合抗原受体(CAR)的组合物以生产多个CAR-T细胞，和(b)使所述多个CAR-T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD2单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触以生产多个激活的CAR-T细胞，其中所述多个激活的CAR-T细胞的至少2％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或其间的任意百分比表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的CAR干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的CAR-

T细胞，其中所述多个激活的CAR-T细胞的至少25％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的CAR干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的CAR-T细胞，其中所述多个激活的CAR-T细胞的至少50％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的CAR干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的CAR-T细胞，其中所述多个激活的CAR-T细胞的至少60％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的CAR干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的CAR-T细胞，其中所述多个激活的CAR-T细胞的至少75％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的CAR干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的CAR-T细胞，其中所述多个激活的CAR-T细胞的至少80％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的CAR干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的CAR-T细胞，其中所述多个激活的CAR-T细胞的至少85％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的CAR干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的CAR-T细胞，其中所述多个激活的CAR-T细胞的至少90％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的CAR干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的CAR-T细胞，其中所述多个激活的CAR-T细胞的至少95％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的CAR干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该细胞表面标记包含CD62L和CD45RA。在某些实施方案中，该激活的CAR $T_{SCM}$的细胞表面标记包含CD62L、CD45RA、CD28、CCR7、CD127、CD45RO、CD95、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种。在某些实施方案中，该激活的CAR $T_{SCM}$的细胞表面标记包含CD45RA、CD95、IL-2Rβ、CR7和CD62L中的一种或多种。本公开提供了生产修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的方法，包括：(a)向原代人T细胞中引入包含嵌合抗原受体(CAR)的组合物以生产CAR-T细胞，和(b)使该CAR-T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触以生产激活的CAR-T细胞，其中所述激活的CAR-T细胞表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产表达CAR的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)(CAR-$T_{SCM}$)。

[0079] 本公开提供了生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的方法，包括：(a)向多个原代人T细胞中引入包含嵌合抗原受体(CAR)的组合物以生产多个CAR-T细胞，和(b)使所述多个CAR-T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触以生产多个激活的CAR-T细胞，其中所述多个激活的CAR-T细胞的至少2％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或其间的任意百分比表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的CAR干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的CAR-T细胞，其中所述多个激活的CAR-T细胞的至少25％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的CAR干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的CAR-T细胞，其中所述多个激活的CAR-T细胞的至少50％表达干细胞样记忆T细

胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的CAR干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的CAR-T细胞，其中所述多个激活的CAR-T细胞的至少60％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的CAR干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的CAR-T细胞，其中所述多个激活的CAR-T细胞的至少75％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的CAR干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的CAR-T细胞，其中所述多个激活的CAR-T细胞的至少80％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的CAR干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的CAR-T细胞，其中所述多个激活的CAR-T细胞的至少85％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的CAR干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的CAR-T细胞，其中所述多个激活的CAR-T细胞的至少90％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的CAR干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的CAR-T细胞，其中所述多个激活的CAR-T细胞的至少95％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的CAR干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该细胞表面标记包含CD62L和CD45RA。在某些实施方案中，该激活的CAR $T_{SCM}$的细胞表面标记包含CD62L、CD45RA、CD28、CCR7、CD127、CD45RO、CD95、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种。在某些实施方案中，该激活的CAR $T_{SCM}$的细胞表面标记包含CD45RA、CD95、IL-2Rβ、CR7和CD62L中的一种或多种。

[0080] 在某些实施方案中，该方法可以进一步包括以下步骤：(c)使所述激活的CAR-T细胞与包含人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、Iscove's MDM和扩增补充剂中的一种或多种的T细胞扩增组合物接触以生产多个扩增的CAR-T细胞，其中所述多个扩增的CAR-T细胞的至少2％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)(CAR-$T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物进一步包含以下的一种或多种：辛酸、烟酰胺、2,4,7,9-四甲基-5-癸炔-4,7-二醇(TMDD)、己二酸二异丙酯(DIPA)、正丁基-苯磺酰胺、1,2-苯二甲酸、双(2-甲基丙基)酯、棕榈酸、亚油酸、油酸、硬脂酸酰肼、油酰胺、甾醇和烷烃。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含辛酸、棕榈酸、亚油酸、油酸和甾醇(例如胆固醇)中的一种或多种。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为0.9mg/kg至90mg/kg的辛酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的棕榈酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的亚油酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的油酸，包括端点；和浓度为大约0.1mg/kg至10mg/kg的甾醇，包括端点(其中mg/kg＝百万分率)。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为大约9mg/kg的辛酸，浓度为大约2mg/kg的棕榈酸，浓度为大约2mg/kg的亚油酸，浓度为大约2mg/kg的油酸，和浓度为大约1mg/kg的甾醇(其中mg/kg＝百万分率)。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为9.19mg/kg的辛酸，浓度为1.86mg/kg的棕榈酸，浓度为大约2.12mg/kg的亚油酸，浓度为大约2.13mg/kg的油酸，和浓度为大约1.01mg/kg的甾醇(其中mg/kg＝百万分率)。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含浓度为9.19mg/kg的辛酸，浓度为1.86mg/kg的棕榈酸，浓度为2.12mg/kg的亚油酸，浓度为大约2.13mg/kg的油酸和浓度为1.01mg/kg的甾醇(其中mg/kg＝百万分率)。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包

含以下的一种或多种:浓度为6.4μmol/kg至640μmol/kg的辛酸,包括端点;浓度为0.7μmol/kg至70μmol/kg的棕榈酸,包括端点;浓度为0.75μmol/kg至75μmol/kg的亚油酸,包括端点;浓度为0.75μmol/kg至75μmol/kg的油酸,包括端点;和浓度为0.25μmol/kg至25μmol/kg的甾醇,包括端点。在某些实施方案中,该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种:浓度为大约64μmol/kg的辛酸,浓度为大约7μmol/kg的棕榈酸,浓度为大约7.5μmol/kg的亚油酸,浓度为大约7.5μmol/kg的油酸和浓度为大约2.5μmol/kg的甾醇。在某些实施方案中,该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种:浓度为大约63.75μmol/kg的辛酸,浓度为大约7.27μmol/kg的棕榈酸,浓度为大约7.57μmol/kg的亚油酸,浓度为大约7.56μmol/kg的油酸和浓度为大约2.61μmol/kg的甾醇。在某些实施方案中,该T细胞扩增组合物包含浓度为大约63.75μmol/kg的辛酸,浓度为大约7.27μmol/kg的棕榈酸,浓度为大约7.57μmol/kg的亚油酸,浓度为7.56μmol/kg的油酸和浓度为2.61μmol/kg的甾醇。在某些实施方案中,所述多个扩增的CAR-T细胞的至少2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%或其间的任意百分比表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)(CAR-$T_{SCM}$)的细胞表面标记。在某些实施方案中,所述多个扩增的CAR-T细胞可以对表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的细胞表面标记的CAR-T细胞(CAR-$T_{SCM}$)富集,并因此在富集步骤后,该方法可以生产富集的组合物,其包含至少2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%或其间的任意百分比的表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的细胞表面标记的CAR-T细胞(CAR-$T_{SCM}$)。在某些实施方案中,该细胞表面标记包含CD62L和CD45RA。在某些实施方案中,该CAR-$T_{SCM}$的细胞表面标记包含CD62L、CD45RA、CD28、CCR7、CD127、CD45RO、CD95、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种。在某些实施方案中,该CAR-$T_{SCM}$的细胞表面标记包含CD45RA、CD95、IL-2Rβ、CR7和CD62L中的一种或多种。在某些实施方案中,所述多个扩增的CAR-T细胞包含幼稚T细胞(CAR-$T_N$),并且该CAR-$T_N$的细胞表面标记包含CD45RA、CCR7和CD62L中的一种或多种。在某些实施方案中,所述多个扩增的CAR-T细胞包含中枢记忆T细胞(CAR-$T_{CM}$),并且该CAR-$T_{CM}$的细胞表面标记包含CD45RO、CD95、IL-2Rβ、CCR7和CD62L中的一种或多种。在某些实施方案中,所述多个扩增的CAR-T细胞包含效应物记忆T细胞(CAR-$T_{EM}$),并且该CAR-$T_{EM}$的细胞表面标记包含CD45RO、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种。在某些实施方案中,所述多个扩增的CAR-T细胞包含效应物T细胞(CAR-$T_{EFF}$),并且该CAR-$T_{EFF}$的细胞表面标记包含CD45RA、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种。附加的细胞表面标记描述在Gattinoni等人(Nat Med.2011年9月18日;17(10):1290-7;其内容经此引用全文并入本文)中。

[0081] 本公开提供了一种生产修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的方法,包括:(a)向原代人T细胞中引入包含嵌合抗原受体(CAR)的组合物以生产CAR-T细胞,和(b)使所述CAR-T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活剂组合物接触以生产激活的CAR-T细胞,其中该激活的CAR-T细胞表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产表达CAR的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)(CAR-$T_{SCM}$)。本公开提供了一种生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的方法,包括:(a)向多个原代人T细胞中引入包含嵌合抗原受体(CAR)的组合物以生产多个CAR-T细胞,和(b)使所述多个CAR-T细胞与包含抗人CD3单特异性四聚体抗体复合物、抗人CD28单特异性四聚体抗体复合物和激活补充剂中的一种或多种的T细胞激活

剂组合物接触以生产多个激活的CAR-T细胞，其中所述多个激活的CAR-T细胞的至少2％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或其间的任意百分比表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的CAR干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的CAR-T细胞，其中所述多个激活的CAR-T细胞的至少25％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的CAR干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的CAR-T细胞，其中所述多个激活的CAR-T细胞的至少50％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的CAR干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的CAR-T细胞，其中所述多个激活的CAR-T细胞的至少60％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的CAR干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的CAR-T细胞，其中所述多个激活的CAR-T细胞的至少75％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的CAR干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的CAR-T细胞，其中所述多个激活的CAR-T细胞的至少80％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的CAR干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的CAR-T细胞，其中所述多个激活的CAR-T细胞的至少85％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的CAR干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的CAR-T细胞，其中所述多个激活的CAR-T细胞的至少90％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的CAR干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该方法生产多个激活的CAR-T细胞，其中所述多个激活的CAR-T细胞的至少95％表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)的一种或更多种细胞表面标记，由此生产多个激活的CAR干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)。在某些实施方案中，该细胞表面标记包含CD62L和CD45RA。在某些实施方案中，所述激活的CAR $T_{SCM}$的细胞表面标记包含CD62L、CD45RA、CD28、CCR7、CD127、CD45RO、CD95、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种。在某些实施方案中，所述激活的CAR $T_{SCM}$的细胞表面标记包含CD45RA、CD95、IL-2Rβ、CR7和CD62L中的一种或多种。

[0082] 在本公开的方法的某些实施方案中，所述多个扩增的CAR-T细胞包含幼稚T细胞(CAR-$T_N$)，并且该CAR-$T_N$的细胞表面标记包含CD45RA、CCR7和CD62L中的一种或多种。在某些实施方案中，所述多个扩增的CAR-T细胞包含中枢记忆T细胞(CAR-$T_{CM}$)，并且该CAR-$T_{CM}$的细胞表面标记包含CD45RO、CD95、IL-2Rβ、CCR7和CD62L中的一种或多种。在某些实施方案中，所述多个扩增的CAR-T细胞包含效应物记忆T细胞(CAR-$T_{EM}$)，并且该CAR-$T_{EM}$的细胞表面标记包含CD45RO、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种。在某些实施方案中，所述多个扩增的CAR-T细胞包含效应物T细胞(CAR-$T_{EFF}$)，并且该CAR-$T_{EFF}$的细胞表面标记包含CD45RA、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种。

[0083] 在本公开的方法的某些实施方案中，转座子包含本公开的嵌合抗原受体(CAR)。该转座子可以是具有编码该CAR的序列的质粒DNA转座子，该序列侧翼是两个顺式调控隔离子元件。在某些优选实施方案中，该转座子是piggyBac转座子。在某些实施方案中，引入本公开的包含嵌合抗原受体(CAR)的组合物的步骤可以进一步包含含有编码转座酶的mRNA序列

的组合物。在某些优选实施方案中，该转座酶是SuperpiggyBac™(SPB)转座酶。

[0084] 在某些实施方案中，本公开的转座子可以进一步包含选择基因。当本公开的转座子包含选择基因时，本公开的方法的T细胞扩增组合物可以进一步包含选择剂以同时选择和扩增本公开的激活的或修饰的T细胞。

[0085] 在某些实施方案中，本公开的CAR可以是CARTyrin。在某些实施方案中，该CAR包含一个或多个VHH序列。在某些实施方案中，该CAR是VCAR。

[0086] 在本公开的生产修饰$T_{SCM}$的方法的某些实施方案中，该引入步骤可以包含电穿孔或核转染。当该引入步骤包含核转染时，该核转染可以包含以下步骤：(a)在小玻璃管中使转座子组合物、转座酶组合物和包含多个原代人T细胞的组合物接触；(b)向该小玻璃管施加一个或多个电脉冲；和(c)在37℃下在包含含有人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、Iscove's MDM和扩增补充剂中的一种或多种的T细胞扩增组合物的组合物中温育所述包含多个原代人T细胞的组合物。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物进一步包含以下的一种或多种：辛酸、烟酰胺、2,4,7,9-四甲基-5-癸炔-4,7-二醇(TMDD)、己二酸二异丙酯(DIPA)、正丁基-苯磺酰胺、1,2-苯二甲酸、双(2-甲基丙基)酯、棕榈酸、亚油酸、油酸、硬脂酸酰肼、油酰胺、甾醇和烷烃。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含辛酸、棕榈酸、亚油酸、油酸和甾醇(例如胆固醇)中的一种或多种。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为0.9mg/kg至90mg/kg的辛酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的棕榈酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的亚油酸，包括端点；浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的油酸，包括端点；和浓度为大约0.1mg/kg至10mg/kg的甾醇，包括端点(其中mg/kg＝百万分率)。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为大约9mg/kg的辛酸，浓度为大约2mg/kg的棕榈酸，浓度为大约2mg/kg的亚油酸，浓度为大约2mg/kg的油酸和浓度为大约1mg/kg的甾醇(其中mg/kg＝百万分率)。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为9.19mg/kg的辛酸，浓度为1.86mg/kg的棕榈酸，浓度为大约2.12mg/kg的亚油酸，浓度为大约2.13mg/kg的油酸和浓度为大约1.01mg/kg的甾醇(其中mg/kg＝百万分率)。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含浓度为9.19mg/kg的辛酸，浓度为1.86mg/kg的棕榈酸，浓度为2.12mg/kg的亚油酸，浓度为大约2.13mg/kg的油酸和浓度为1.01mg/kg的甾醇(其中mg/kg＝百万分率)。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为6.4μmol/kg至640μmol/kg的辛酸，包括端点；浓度为0.7μmol/kg至70μmol/kg的棕榈酸，包括端点；浓度为0.75μmol/kg至75μmol/kg的亚油酸，包括端点；浓度为0.75μmol/kg至75μmol/kg的油酸，包括端点；和浓度为0.25μmol/kg至25μmol/kg的甾醇，包括端点。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为大约64μmol/kg的辛酸，浓度为大约7μmol/kg的棕榈酸，浓度为大约7.5μmol/kg的亚油酸，浓度为大约7.5μmol/kg的油酸和浓度为大约2.5μmol/kg的甾醇。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含以下的一种或多种：浓度为大约63.75μmol/kg的辛酸，浓度为大约7.27μmol/kg的棕榈酸，浓度为大约7.57μmol/kg的亚油酸，浓度为大约7.56μmol/kg的油酸和浓度为大约2.61μmol/kg的甾醇。在某些实施方案中，该T细胞扩增组合物包含浓度为大约63.75μmol/kg的辛酸，浓度为大约7.27μmol/kg的棕榈酸，浓度为大约7.57μmol/kg的亚油酸，浓度为7.56μmol/kg的油酸和浓度为2.61μmol/kg的甾醇。在核转染的某些实施方案中，该转座子组合物是包含无核酸酶水的0.5μg/μl溶液，并且该小

玻璃管包含2μl该转座子组合物以提供1μg的转座子。该转座子组合物可以包含piggyBac转座子。该转座子组合物可以包含睡美人转座子。在核转染的某些实施方案中，该转座酶组合物包含5μg的转座酶。该转座酶组合物可以包含极度活跃的piggyBac™或Super piggyBac™(SPB)转座酶。该转座酶组合物可以包含极度活跃的睡美人(SB100X)转座酶。在某些实施方案中，该转座子可以包含Helraiser转座子，并且该转座酶组合物可以包含Helitron转座酶。在某些实施方案中，该转座子可以包含Tol2转座子，并且该转座酶组合物包含Tol2转座酶。

[0087] 在本公开的方法的某些实施方案中，包括其中该引入步骤包含核转染或电穿孔的那些实施方案，该核转染包括在小玻璃管中使第一转座子组合物和第一转座酶组合物与包含多个原代人T细胞的组合物接触。在本公开的方法的某些实施方案中，包括其中该引入步骤包含核转染或电穿孔的那些实施方案，该核转染包括在小玻璃管中使第一转座子组合物、第二转座子组合物、第一转座酶组合物与包含多个原代人T细胞的组合物接触。在本公开的方法的某些实施方案中，包括其中该引入步骤包含核转染或电穿孔的那些实施方案，该核转染包括在小玻璃管中使第一转座子组合物、第二转座子组合物、第一转座酶组合物、第二转座酶组合物与包含多个原代人T细胞的组合物接触。在某些实施方案中，该第一转座子包含编码抗原受体的序列。在某些实施方案中，该第二转座子包含编码治疗蛋白的序列。在某些实施方案中，该第一转座子组合物与该第二转座子组合物是相同的。在某些实施方案中，该第一转座子组合物与该第二转座子组合物是不同的。在某些实施方案中，该第一转座酶动员该第一转座子组合物与该第二转座子组合物。在某些实施方案中，该第一转座酶动员该第一转座子组合物但不动员该第二转座子组合物。在某些实施方案中，该第二转座酶动员该第二转座子组合物但不动员第一转座子组合物。在某些实施方案中，该第一转座酶动员该第一转座子组合物，并且该第二转座酶动员该第二转座子组合物。在某些实施方案中，该第一转座子组合物或该第二转座子组合物包含编码抗原受体的序列。在某些实施方案中，该第一转座子组合物或该第二转座子组合物包含编码治疗蛋白的序列。在某些实施方案中，该第一转座子组合物包含编码抗原受体的序列，并且该第二转座子组合物包含编码治疗蛋白的序列。在某些实施方案中，该治疗蛋白是已分泌的或可分泌的蛋白。在本公开的方法的某些实施方案中，包括其中该引入步骤包含核转染或电穿孔的那些实施方案，该核转染包括在小玻璃管中使转座子组合物、第一转座酶组合物、第二转座酶组合物与包含多个原代人T细胞的组合物接触。在某些实施方案中，该转座子组合物包含编码该抗原受体的序列。在某些实施方案中，该转座子组合物包含编码该治疗蛋白的序列。在本公开的方法的某些实施方案中，包括其中该引入步骤包含核转染或电穿孔的那些实施方案，该核转染进一步包括在小玻璃管中使能够在基因组中的特定位点处诱导同源重组的组合物与包含多个原代人T细胞的组合物接触。在某些实施方案中，能够诱导同源重组的组合物包含外源供体分子。在某些实施方案中，该外源供体分子包含编码该抗原受体的序列，并且该转座子包含编码该治疗蛋白的序列。在某些实施方案中，该外源供体分子包含编码该治疗蛋白的序列，并且该转座子包含编码该抗原受体的序列。在某些实施方案中，包含该转座子的组合物、包含该转座酶的组合物和能够在基因组中的特定位点处诱导同源重组的组合物同时与包含多个原代人T细胞的组合物接触。在某些实施方案中，包含该转座子的组合物和包含该转座酶的组合物首先与包含多个原代人T细胞的组合物接触，能够在基因组中的特定位

点处诱导同源重组的组合物随后与包含多个原代人T细胞的组合物接触。在某些实施方案中，能够在基因组中的特定位点处诱导同源重组的组合物首先与包含多个原代人T细胞的组合物接触，包含该转座子的组合物和包含该转座酶的组合物随后与包含多个原代人T细胞的组合物接触。在本公开的生产修饰$T_{SCM}$的方法的某些实施方案中，包含原代人T细胞的组合物包含维持或提高细胞活力水平的缓冲剂和/或该原代人T细胞的干细胞样表型。在某些实施方案中，该缓冲剂在核转染之前维持或提高细胞活力水平和/或原代人T细胞的干细胞样表型。在某些实施方案中，该缓冲剂在核转染过程中维持或提高细胞活力水平和/或原代人T细胞的干细胞样表型。在某些实施方案中，该缓冲剂在核转染之后维持或提高细胞活力水平和/或原代人T细胞的干细胞样表型。在某些实施方案中，该缓冲剂包含P3原代细胞溶液(Lonza)。在某些实施方案中，该缓冲剂以任何绝对或相对丰度或浓度包含KCl、$MgCl_2$、ClNa、葡萄糖和$Ca(NO_3)_2$中的一种或多种，并且任选地，该缓冲剂进一步包含选自HEPES、Tris/HCl和磷酸盐缓冲剂的补充剂。在某些实施方案中，该缓冲剂包含5mM KCl、15mM $MgCl_2$、90mM ClNa、10mM葡萄糖和0.4mM $Ca(NO_3)_2$。在某些实施方案中，该缓冲剂包含5mM KCl、15mM $MgCl_2$、90mM ClNa、10mM葡萄糖和0.4mM $Ca(NO_3)_2$，以及包含20mM HEPES与75mM Tris/HCl的补充剂。在某些实施方案中，该缓冲剂包含5mM KCl、15mM $MgCl_2$、90mM ClNa、10mM葡萄糖和0.4mM $Ca(NO_3)_2$以及在pH 7.2下的含有40mM$Na_2HPO_4$/$NaH_2PO_4$的补充剂。在某些实施方案中，包含原代人T细胞的组合物包含100μl的缓冲剂和$5\times10^6$至$25\times10^6$个细胞。

[0088] 在本公开的生产修饰$T_{SCM}$的方法的某些实施方案中，包含原代人T细胞的组合物缺失表达CD14、CD56和/或CD19的细胞。在某些实施方案中，包含原代人T细胞的组合物包含100μl的缓冲剂和$5\times10^6$至$25\times10^6$个细胞。

[0089] 本文中所用的术语“补充的T细胞扩增组合物”或“T细胞扩增组合物”可以与在37℃下的包含人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、Iscove's MDM和扩增补充剂中的一种或多种的培养基互换使用。或者或此外，术语“补充的T细胞扩增组合物”或“T细胞扩增组合物”可以与包含磷、辛酸脂肪酸、棕榈酸脂肪酸、亚油酸脂肪酸和油酸中的一种或多种的培养基互换使用。在某些实施方案中，该培养基包含一定量的磷，其量比在例如Iscove's Modified Dulbecco's Medium((IMDM)；可作为目录编号12440053获自ThermoFisher Scientific中发现的高10倍。

[0090] 本文中所用的术语“补充的T细胞扩增组合物”或“T细胞扩增组合物”可以与在37℃下的包含人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、Iscove's MDM和扩增补充剂中的一种或多种的培养基互换使用。或者或此外，术语“补充的T细胞扩增组合物”或“T细胞扩增组合物”可以与包含下列元素中的一种或多种的培养基互换使用：硼、钠、镁、磷、钾和钙。在某些实施方案中，术语“补充的T细胞扩增组合物”或“T细胞扩增组合物”可以与包含以相应平均浓度存在的下列元素中的一种或多种的培养基互换使用：3.7mg/L的硼、3000mg/L的钠、18mg/L的镁、29mg/L的磷、15mg/L的钾和4mg/L的钙。

[0091] 本文中所用的术语”补充的T细胞扩增组合物”或“T细胞扩增组合物”可以与在37℃下的包含人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、Iscove's MDM和扩增补充剂中的一种或多种的培养基互换使用。或者或此外，术语“补充的T细胞扩增组合物”或“T细胞扩增组合物”可以与包含下列组分中的一种或多种的培养基互换使用：辛酸(CAS No.124-07-2)、烟酰胺(CAS No.98-92-0)、2,4,7,9-四甲基-5-癸炔-4,7-二醇(TMDD)(CAS

No.126-86-3)、己二酸二异丙酯(DIPA)(CAS No.6938-94-9)、正丁基-苯磺酰胺(CAS No.3622-84-2)、1,2-苯二甲酸,双(2-甲基丙基)酯(CAS No.84-69-5)、棕榈酸(CAS No.57-10-3)、亚油酸(CAS No.60-33-3)、油酸(CAS No.112-80-1)、硬脂酸酰肼(CAS No.4130-54-5)、油酰胺(CAS No.3322-62-1)、甾醇(例如胆固醇)(CAS No.57-88-5)和烷烃(例如十九烷)(CAS No.629-92-5)。在某些实施方案中,术语"补充的T细胞扩增组合物"或"T细胞扩增组合物"可以与包含下列组分中的一种或多种的培养基互换使用:辛酸(CAS No.124-07-2)、烟酰胺(CAS No.98-92-0)、2,4,7,9-四甲基-5-癸炔-4,7-二醇(TMDD)(CAS No.126-86-3)、己二酸二异丙酯(DIPA)(CAS No.6938-94-9)、正丁基-苯磺酰胺(CAS No.3622-84-2)、1,2-苯二甲酸,双(2-甲基丙基)酯(CAS No.84-69-5)、棕榈酸(CAS No.57-10-3)、亚油酸(CAS No.60-33-3)、油酸(CAS No.112-80-1)、硬脂酸酰肼(CAS No.4130-54-5)、油酰胺(CAS No.3322-62-1)、甾醇(例如胆固醇)(CAS No.57-88-5)、烷烃(例如十九烷)(CAS No.629-92-5)和酚红(CAS No.143-74-8)。在某些实施方案中,术语"补充的T细胞扩增组合物"或"T细胞扩增组合物"可以与包含下列组分中的一种或多种的培养基互换使用:辛酸(CAS No.124-07-2)、烟酰胺(CAS No.98-92-0)、2,4,7,9-四甲基-5-癸炔-4,7-二醇(TMDD)(CAS No.126-86-3)、己二酸二异丙酯(DIPA)(CAS No.6938-94-9)、正丁基-苯磺酰胺(CAS No.3622-84-2)、1,2-苯二甲酸,双(2-甲基丙基)酯(CAS No.84-69-5)、棕榈酸(CAS No.57-10-3)、亚油酸(CAS No.60-33-3)、油酸(CAS No.112-80-1)、硬脂酸酰肼(CAS No.4130-54-5)、油酰胺(CAS No.3322-62-1)、酚红(CAS No.143-74-8)和羊毛脂醇。

[0092] 本文中所用的术语"补充的T细胞扩增组合物"或"T细胞扩增组合物"可以与在37℃下的包含人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、Iscove's MDM和扩增补充剂中的一种或多种的培养基互换使用。或者或此外,术语"补充的T细胞扩增组合物"或"T细胞扩增组合物"可以与包含下列离子中的一种或多种的培养基互换使用:钠、铵、钾、镁、钙、氯根、硫酸根和磷酸根。

[0093] 本文中所用的术语"补充的T细胞扩增组合物"或"T细胞扩增组合物"可以与在37℃下的包含人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、Iscove's MDM和扩增补充剂中的一种或多种的培养基互换使用。或者或此外,术语"补充的T细胞扩增组合物"或"T细胞扩增组合物"可以与包含下列游离氨基酸中的一种或多种的培养基互换使用:组氨酸、天冬酰胺、丝氨酸、谷氨酸盐、精氨酸、甘氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、苏氨酸、丙氨酸、脯氨酸、半胱氨酸、赖氨酸、酪氨酸、蛋氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸和色氨酸。在某些实施方案中,术语"补充的T细胞扩增组合物"或"T细胞扩增组合物"可以与以相应平均摩尔百分比包含下列游离氨基酸中的一种或多种的培养基互换使用:组氨酸(大约1%)、天冬酰胺(大约0.5%)、丝氨酸(大约1.5%)、谷氨酰胺(大约67%)、精氨酸(大约1.5%)、甘氨酸(大约1.5%)、天冬氨酸(大约1%)、谷氨酸(大约2%)、苏氨酸(大约2%)、丙氨酸(大约1%)、脯氨酸(大约1.5%)、半胱氨酸(大约1.5%)、赖氨酸(大约3%)、酪氨酸(大约1.5%)、蛋氨酸(大约1%)、缬氨酸(大约3.5%)、异亮氨酸(大约3%)、亮氨酸(大约3.5%)、苯丙氨酸(大约1.5%)和色氨酸(大约0.5%)。在某些实施方案中,术语"补充的T细胞扩增组合物"或"T细胞扩增组合物"可以与以相应平均摩尔百分比包含下列游离氨基酸中的一种或多种的培养基互换使用:组氨酸(大约0.78%)、天冬酰胺(大约0.4%)、丝氨酸(大约1.6%)、谷氨酰胺(大约67.01%)、精氨酸(大约1.67%)、甘氨酸(大约1.72%)、天冬氨酸(大约

1.00%)、谷氨酸(大约1.93%)、苏氨酸(大约2.38%)、丙氨酸(大约1.11%)、脯氨酸(大约1.49%)、半胱氨酸(大约1.65%)、赖氨酸(大约2.84%)、酪氨酸(大约1.62%)、蛋氨酸(大约0.85%)、缬氨酸(大约3.45%)、异亮氨酸(大约3.14%)、亮氨酸(大约3.3%)、苯丙氨酸(大约1.64%)和色氨酸(大约0.37%)。

[0094] 本文中所用的术语“补充的T细胞扩增组合物”或“T细胞扩增组合物”可以与包含辛酸、棕榈酸、亚油酸、油酸和甾醇(例如胆固醇)中的一种或多种的培养基互换使用。在某些实施方案中,术语“补充的T细胞扩增组合物”或“T细胞扩增组合物”可以与包含以下的一种或多种的培养基互换使用:浓度为0.9mg/kg至90mg/kg的辛酸,包括端点;浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的棕榈酸,包括端点;浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的亚油酸,包括端点;浓度为0.2mg/kg至20mg/kg的油酸,包括端点;和浓度为大约0.1mg/kg至10mg/kg的甾醇,包括端点(其中mg/kg=百万分率)。在某些实施方案中,术语“补充的T细胞扩增组合物”或“T细胞扩增组合物”可以与包含以下的一种或多种的培养基互换使用:浓度为大约9mg/kg的辛酸,浓度为大约2mg/kg的棕榈酸,浓度为大约2mg/kg的亚油酸,浓度为大约2mg/kg的油酸和浓度为大约1mg/kg的甾醇(其中mg/kg=百万分率)。在某些实施方案中,术语“补充的T细胞扩增组合物”或“T细胞扩增组合物”可以与包含以下的一种或多种的培养基互换使用:浓度为9.19mg/kg的辛酸,浓度为1.86mg/kg的棕榈酸,浓度为大约2.12mg/kg的亚油酸,浓度为大约2.13mg/kg的油酸和浓度为大约1.01mg/kg的甾醇(其中mg/kg=每百万分率)。在某些实施方案中,术语“补充的T细胞扩增组合物”或“T细胞扩增组合物”可以与包含以下的一种或多种的培养基互换使用:浓度为9.19mg/kg的辛酸,浓度为1.86mg/kg的棕榈酸,浓度为2.12mg/kg的亚油酸,浓度为大约2.13mg/kg的油酸和浓度为1.01mg/kg的甾醇(其中mg/kg=百万分率)。在某些实施方案中,术语“补充的T细胞扩增组合物”或“T细胞扩增组合物”可以与包含以下的一种或多种的培养基互换使用:浓度为6.4μmol/kg至640μmol/kg的辛酸,包括端点;浓度为0.7μmol/kg至70μmol/kg的棕榈酸,包括端点;浓度为0.75μmol/kg至75μmol/kg的亚油酸,包括端点;浓度为0.75μmol/kg至75μmol/kg的油酸,包括端点;和浓度为0.25μmol/kg至25μmol/kg的甾醇,包括端点。在某些实施方案中,术语“补充的T细胞扩增组合物”或“T细胞扩增组合物”可以与包含以下的一种或多种的培养基互换使用:浓度为大约64μmol/kg的辛酸,浓度为大约7μmol/kg的棕榈酸,浓度为大约7.5μmol/kg的亚油酸,浓度为大约7.5μmol/kg的油酸和浓度为大约2.5μmol/kg的甾醇。在某些实施方案中,术语“补充的T细胞扩增组合物”或“T细胞扩增组合物”可以与包含以下的一种或多种的培养基互换使用:浓度为大约63.75μmol/kg的辛酸,浓度为大约7.27μmol/kg的棕榈酸,浓度为大约7.57μmol/kg的亚油酸,浓度为大约7.56μmol/kg的油酸和浓度为大约2.61μmol/kg的甾醇。在某些实施方案中,术语“补充的T细胞扩增组合物”或“T细胞扩增组合物”可以与包含以下的一种或多种的培养基互换使用:浓度为大约63.75μmol/kg的辛酸,浓度为大约7.27μmol/kg的棕榈酸,浓度为大约7.57μmol/kg的亚油酸,浓度为7.56μmol/kg的油酸和浓度为2.61μmol/kg的甾醇。

[0095] 本文中所用的术语“P3缓冲剂”可以与以任何绝对或相对丰度或浓度包含KCl、$MgCl_2$、ClNa、葡萄糖和$Ca(NO_3)_2$中的一种或多种并任选进一步包含选自HEPES、Tris/HCl和磷酸盐缓冲剂的补充剂的缓冲剂互换使用。术语“P3缓冲剂”可以与包含5mM KCl、15mM $MgCl_2$、90mM ClNa、10mM葡萄糖和0.4mM $Ca(NO_3)_2$以及任选进一步包含选自HEPES、Tris/HCl

和磷酸盐缓冲剂的补充剂的缓冲剂互换使用。术语“P3缓冲剂”可以与包含5mM KCl、15mM $MgCl_2$、90mM ClNa、10mM葡萄糖和0.4mM $Ca(NO_3)_2$以及包含20mM HEPES和75mM Tris/HCl的补充剂的缓冲剂互换使用。术语“P3缓冲剂”可以与包含5mM KCl、15mM $MgCl_2$、90mM ClNa、10mM葡萄糖和0.4mM $Ca(NO_3)_2$的缓冲剂以及在pH 7.2下的包含40mM $Na_2HPO_4/NaH_2PO_4$的补充剂互换使用。

[0096] 本文中所用的术语”补充的RPMI-1640培养基”或“T细胞条件培养基(TCCM)”可以与以任何绝对或相对丰度或浓度包含水、胎牛血清、HEPES、丙酮酸钠、一种或多种非必需氨基酸、酚红指示剂、硝酸钙、硫酸镁、氯化钾、碳酸氢钠、氯化钠、磷酸二氢钠(无水)、L-丙氨酰-L-谷氨酰胺、L-精氨酸、L-天冬酰胺(无水)、L-天冬氨酸、L-半胱氨酸2HCl、L-谷氨酸、甘氨酸、L-组氨酸、羟基-L-脯氨酸、L-异亮氨酸、L-亮氨酸、L-赖氨酸HCl、L-蛋氨酸、L-苯丙氨酸、L-脯氨酸、L-丝氨酸、L-苏氨酸、L-色氨酸、L-酪氨酸2Na $2H_2O$、L-缬氨酸、D-生物素、氯化胆碱、叶酸、肌醇、烟酰胺、对氨基苯甲酸、D-泛酸(半钙)、吡哆醇HCl、核黄素、硫胺素HCl、维生素B12、D-葡萄糖、谷胱甘肽(还原型)、L-谷氨酰胺和2-巯基乙醇中的一种或多种的培养基互换使用。术语“补充的RPMI-1640培养基”或“T细胞条件培养基(TCCM)”可以与以任何绝对或相对丰度或浓度包含水、胎牛血清、HEPES、丙酮酸钠、一种或多种非必需氨基酸、酚红指示剂、硝酸钙、硫酸镁、氯化钾、碳酸氢钠、氯化钠、磷酸二氢钠(无水)、L-丙氨酰-L-谷氨酰胺、L-精氨酸、L-天冬酰胺(无水)、L-天冬氨酸、L-半胱氨酸2HCl、L-谷氨酸、甘氨酸、L-组氨酸、羟基-L-脯氨酸、L-异亮氨酸、L-亮氨酸、L-赖氨酸HCl、L-蛋氨酸、L-苯丙氨酸、L-脯氨酸、L-丝氨酸、L-苏氨酸、L-色氨酸、L-酪氨酸2Na $2H_2O$、L-缬氨酸、D-生物素、氯化胆碱、叶酸、肌醇、烟酰胺、对氨基苯甲酸、D-泛酸(半钙)、吡哆醇HCl、核黄素、硫胺素HCl、维生素B12、D-葡萄糖、谷胱甘肽(还原型)、L-谷氨酰胺和2-巯基乙醇的培养基互换使用。

[0097] 本文中所用的术语“补充的AIM-V”或“补充的AIMV”培养基可以与以任何绝对或相对丰度或浓度包含水、人血清白蛋白、硫酸链霉素、庆大霉素、胎牛血清、HEPES、丙酮酸钠、一种或多种非必需氨基酸、酚红指示剂、硝酸钙、硫酸镁、氯化钾、碳酸氢钠、氯化钠、磷酸二氢钠(无水)、L-丙氨酰-L-谷氨酰胺、L-精氨酸、L-天冬酰胺(无水)、L-天冬氨酸、L-半胱氨酸2HCl、L-谷氨酸、甘氨酸、L-组氨酸、羟基-L-脯氨酸、L-异亮氨酸、L-亮氨酸、L-赖氨酸HCl、L-蛋氨酸、L-苯丙氨酸、L-脯氨酸、L-丝氨酸、L-苏氨酸、L-色氨酸、L-酪氨酸2Na$2H_2O$、L-缬氨酸、D-生物素、氯化胆碱、叶酸、肌醇、烟酰胺、对氨基苯甲酸、D-泛酸(半钙)、吡哆醇HCl、核黄素、硫胺素HCl、维生素B12、D-葡萄糖、谷胱甘肽(还原型)、L-谷氨酰胺和2-巯基乙醇中的一种或多种的培养基互换使用。术语“补充的AIM-V”或“补充的AIMV”培养基可以与以任何绝对或相对丰度或浓度包含水、人血清白蛋白、硫酸链霉素、庆大霉素、胎牛血清、HEPES、丙酮酸钠、一种或多种非必需氨基酸、酚红指示剂、硝酸钙、硫酸镁、氯化钾、碳酸氢钠、氯化钠、磷酸二氢钠(无水)、L-丙氨酰-L-谷氨酰胺、L-精氨酸、L-天冬酰胺(无水)、L-天冬氨酸、L-半胱氨酸2HCl、L-谷氨酸、甘氨酸、L-组氨酸、羟基-L-脯氨酸、L-异亮氨酸、L-亮氨酸、L-赖氨酸HCl、L-蛋氨酸、L-苯丙氨酸、L-脯氨酸、L-丝氨酸、L-苏氨酸、L-色氨酸、L-酪氨酸2Na $2H_2O$、L-缬氨酸、D-生物素、氯化胆碱、叶酸、肌醇、烟酰胺、对氨基苯甲酸、D-泛酸(半钙盐)、吡哆醇HCl、核黄素、硫胺素HCl、维生素B12、D-葡萄糖、谷胱甘肽(还原型)、L-谷氨酰胺和2-巯基乙醇的培养基互换使用。

[0098] 本文中所用的术语“ImmunoCult™培养基”可以与以任何绝对或相对丰度或浓度包

含水、人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、L-谷氨酰胺、酚红、甘氨酸、L-丙氨酸、L-精氨酸盐酸盐、L-天冬酰胺、L-天冬氨酸、L-半胱氨酸2HCl、L-谷氨酸、L-谷氨酰胺、L-组氨酸盐酸盐H20、L-异亮氨酸、L-亮氨酸、L-赖氨酸盐酸盐、L-蛋氨酸、L-苯丙氨酸、L-脯氨酸、L-丝氨酸、L-苏氨酸、L-色氨酸、L-酪氨酸二钠盐、L-缬氨酸、生物素、氯化胆碱、D-泛酸钙、叶酸、烟酰胺、吡哆醛盐酸盐、核黄素、盐酸硫胺、维生素B12、肌醇、氯化钙(无水)、硫酸镁(无水)、氯化钾、硝酸钾、碳酸氢钠、氯化钠、磷酸二氢钠、亚硒酸钠、D-葡萄糖、HEPES和丙酮酸钠中的一种或多种的培养基互换使用。术语“ImmunoCult™培养基”可以与以任何绝对或相对丰度或浓度包含水、人血清白蛋白、重组人胰岛素、人转铁蛋白、2-巯基乙醇、L-谷氨酰胺、酚红、甘氨酸、L-丙氨酸、L-精氨酸盐酸盐、L-天冬酰胺、L-天冬氨酸、L-半胱氨酸2HCl、L-谷氨酸、L-谷氨酰胺、L-组氨酸盐酸盐H20、L-异亮氨酸、L-亮氨酸、L-赖氨酸盐酸盐、L-蛋氨酸、L-苯丙氨酸、L-脯氨酸、L-丝氨酸、L-苏氨酸、L-色氨酸、L-酪氨酸二钠盐、L-缬氨酸、生物素、氯化胆碱、D-泛酸钙、叶酸、烟酰胺、吡哆醛盐酸盐、核黄素、盐酸硫胺、维生素B12、肌醇、氯化钙(无水)、硫酸镁(无水)、氯化钾、硝酸钾、碳酸氢钠、氯化钠、磷酸二氢钠、亚硒酸钠、D-葡萄糖、HEPES和丙酮酸钠的培养基互换使用。

[0099] 本公开的修饰T细胞，包括本公开的修饰$T_{SCM}$和/或$T_{CM}$，可以在该程序的方法的任何步骤中与包含一种或多种PI3K途径的组分的抑制剂一起温育、培养、生长、储存或以其它方式组合。示例性的PI3K途径组分的抑制剂包括但不限于GSK3β的抑制剂，如TWS119(也称为GSK 3B抑制剂XII;CAS编号601514-19-6，化学式为$C_{18}H_{14}N_4O_2$)。示例性的PI3K途径组分的抑制剂包括但不限于bb007(BLUEBIRDBIO™)。

[0100] 本文中所用的术语“电穿孔”和“核转染”意在描述通过提供诱导细胞膜(细胞膜和/或核膜)对本公开的核酸、转座子、载体或组合物变得可渗透或变得更可渗透的电脉冲将本公开的核酸、转座子、载体或组合物递送至细胞的替代手段。

[0101] 在核转染的某些实施方案中，该方法同时在一个或多个吸收池中进行。在核转染的某些实施方案中，该方法同时在两个吸收池中进行。对于在临床或商业应用中更大规模进行的方法，例如，该核转染可以在大体积盒中进行，其中许多程序同时进行。在核转染的某些实施方案中，该温育步骤包括在预热的T细胞扩增组合物中温育包含多个原代人T细胞的组合物。该温育步骤可以具有至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24小时或其间任意数量/部分的小时数的时段。该温育步骤可以具有至少1、2、3、4、5、6或7天或其间任意数量/部分的天数的时段。该温育步骤可以具有至少1周的时段。在核转染的某些实施方案中，该温育步骤具有两天的时段。在核转染的某些实施方案中，该施加步骤可以包含施加下列程序中的一个或多个:EI-115、EI-151、EI-156、EI-158、EG-115、EG-142、EG-151、ES-115、ES-151、EO-151、EO-148、EO-156、EO-210、EO-213和FI-156。在某些实施方案中，该施加步骤可以包含施加下列程序中的一个或多个:EI-115、EI-151、EI-156、EI-158、EG-115、EG-142、EG-151、ES-115、ES-151、EO-151、EO-148、EO-156、EO-210、EO-213和FI-156，或提供相同数量的电脉冲的程序，各脉冲具有相同的持续时间和强度，以及基本相同的脉冲间持续时间。在某些实施方案中，该施加步骤可以使用已知的电穿孔/核转染装置进行，所述装置包括但不限于Lonza Amaxa、MaxCyte technology、BTX PulseAgile和BioRad GenePulser。在核转染的某些实施方案中，该施加步骤可以包括施加至少一次电脉冲。在核转染的某些实施方案中，该施加步骤可以包括施加至少一次足以诱

导细胞的细胞膜和/或核膜变得对本公开的组合物可渗透的电脉冲。

[0102] 虽然本文中提供的量是示例性和非限制性的，这些量之间的关系(例如比率或相对丰度)可用于修改本文中例示的方法以用于更大规模的工艺和生产

[0103] 在本公开的生产修饰T细胞(例如$T_{SCM}$和/或$T_{CM}$)的方法的某些实施方案中，该激活补充剂包含一种或多种细胞因子。所述一种或多种细胞因子可以包含任何细胞因子，包括但不限于淋巴因子。示例性的淋巴因子包括但不限于白介素-2(IL-2)、白介素-3(IL-3)、白介素-4(IL-4)、白介素-5(IL-5)、白介素-6(IL-6)、白介素-7(IL-7)、白介素-15(IL-15)、白介素-21(IL-21)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)和干扰素γ(INFγ)。所述一种或多种细胞因子可以包含IL-2。

[0104] 在本公开的生产修饰T细胞(例如$T_{SCM}$和/或$T_{CM}$)的方法的某些实施方案中，该扩增补充剂包含一种或多种细胞因子。所述一种或多种细胞因子可以包括任何细胞因子，包括但不限于淋巴因子。示例性的淋巴因子包括但不限于白介素-2(IL-2)、白介素-3(IL-3)、白介素-4(IL-4)、白介素-5(IL-5)、白介素-6(IL-6)、白介素-7(IL-7)、白介素-15(IL-15)、白介素-21(IL-21)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)和干扰素γ(INFγ)。所述一种或多种细胞因子可以包含IL-2。

[0105] 在本公开的生产修饰T细胞(例如$T_{SCM}$和/或$T_{CM}$)的方法的某些实施方案中，该原代人T细胞是幼稚T细胞。该幼稚T细胞可以表达CD45RA、CCR7和CD62L。在某些实施方案中，该方法应用于包含至少5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或其间的任意百分比的幼稚T细胞的细胞群。在某些实施方案中，可以通过提高对其应用本公开的方法的细胞群中幼稚T细胞的比例或百分比来提高本公开的修饰$T_{SCM}$和/或$T_{CM}$的生产效率。

[0106] 在本公开的生产修饰$T_{SCM}$和/或$T_{CM}$的方法的某些实施方案中，该原代人T细胞是记忆T细胞。

[0107] 在本公开的生产修饰$T_{SCM}$和/或$T_{CM}$的方法的某些实施方案中，该原代人T细胞表达CD62L、CD45RA、CD28、CCR7、CD127、CD45RO、CD95、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种。

[0108] 在本公开的生产修饰$T_{SCM}$和/或$T_{CM}$的方法的某些实施方案中，该原代人T细胞是幼稚T细胞(修饰$T_N$)，并且该修饰$T_N$表达CD45RA、CCR7和CD62L中的一种或多种。在本公开的生产修饰$T_{SCM}$和/或$T_{CM}$的方法的某些实施方案中，该原代人T细胞是修饰$T_{SCM}$--干细胞样记忆T细胞(修饰$T_{SCM}$)，并且该修饰$T_{SCM}$表达CD45RA、CD95、IL-2Rβ、CR7和CD62L中的一种或多种。在本公开的生产修饰$T_{SCM}$和/或$T_{CM}$的方法的某些实施方案中，该原代人T细胞是中枢记忆T细胞(修饰$T_{CM}$)，并且该修饰$T_{CM}$表达CD45RO、CD95、IL-2Rβ、CCR7和CD62L中的一种或多种。在本公开的生产修饰$T_{SCM}$和/或$T_{CM}$的方法的某些实施方案中，该原代人T细胞是效应物记忆T细胞(修饰$T_{EM}$)，并且该修饰$T_{EM}$表达CD45RO、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种。在本公开的生产修饰$T_{SCM}$和/或$T_{CM}$的方法的某些实施方案中，该原代人T细胞是效应物T细胞(修饰$T_{EFF}$)，并且该修饰$T_{EFF}$表达CD45RA、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种。

[0109] 在本公开的生产修饰$T_{SCM}$和/或$T_{CM}$的方法的某些实施方案中，该原代人T细胞可以表达CD4和/或CD8。在某些实施方案中，该原代人T细胞可以表达各种比率的CD4和/或CD8。在某些实施方案中，该原代人T细胞可以表达并非天然存在的各种比率的CD4和/或CD8。在某些实施方案中，表达各种比率的CD4和/或CD8(其可以并非天然存在的)的原代人T细胞是

异源细胞群。

[0110] 在本公开的生产修饰$T_{SCM}$和/或$T_{CM}$的方法的某些实施方案中，该原代人T细胞可以分离、制备或衍生自例如全血、外周血、脐带血、淋巴液、淋巴结组织、骨髓和脑脊髓液(CSF)。本文中所用的术语“外周血”是指血液的细胞成分(例如红血球、白血球和血小板)，其由血液循环池获取或制备，而不是隔离在淋巴系统、脾脏、肝脏或骨髓中。脐带血不同于外周血和隔离在淋巴系统、脾脏、肝脏或骨髓中的血液。术语“脐带血”，“脐血”或“脐带血(cord blood)”(其可以互换使用)是指在分娩后留存在胎盘和附着的脐带中的血液。脐带血常常含有包括造血细胞的干细胞。

[0111] 本公开的原代人T细胞可以包含全T细胞。本文中所用的全T细胞包括从生物样品中分离的所有T淋巴细胞，无需通过亚型、激活状态、成熟状态或细胞表面标记表达进行分选。

[0112] 在本公开的方法的某些实施方案中，该方法进一步包括向修饰$T_{SCM}$或$T_{CM}$细胞中引入包含基因组编辑构建体或组合物的组合物。在某些实施方案中，该基因组编辑构建体包含指导RNA和成簇的规律间隔的短回文重复序列(CRISPR)相关蛋白9(Cas9)DNA核酸内切酶。在某些实施方案中，该基因组编辑构建体包含DNA结合域和IIS型核酸内切酶。在某些实施方案中，该基因组编辑构建体编码融合蛋白。在某些实施方案中，该基因组编辑构建体编码该DNA结合域和IIS型核酸内切酶，并且其中表达的DNA结合域和表达的IIS型核酸内切酶是非共价连接的。在某些实施方案中，包括其中该基因组编辑构建体包含DNA结合域和IIS型核酸内切酶的那些实施方案，该基因组编辑构建体包含衍生自Cas9核酸内切酶的序列。在某些实施方案中，包括其中该基因组编辑构建体包含DNA结合域和IIS型核酸内切酶的那些实施方案，衍生自Cas9核酸内切酶的序列是该DNA结合域。在某些实施方案中，包括其中衍生自Cas9核酸内切酶的序列是DNA结合域的那些实施方案，衍生自Cas9核酸内切酶的序列编码是无活性的Cas9。在某些实施方案中，包括其中衍生自Cas9核酸内切酶的序列是DNA结合域的那些实施方案，衍生自Cas9核酸内切酶的序列编码截短的Cas9。在某些实施方案中，衍生自Cas9核酸内切酶的序列包含在位置10处的丙氨酸(A)对天冬氨酸(D)的氨基酸置换(D10A)。在某些实施方案中，衍生自Cas9核酸内切酶的序列包含或进一步包含在位置840处的丙氨酸(A)对组氨酸(H)的氨基酸置换(H840A)。在某些实施方案中，衍生自Cas9核酸内切酶的序列包含灭活的Cas9(dCas9)(SEQ ID NO:33)。在某些实施方案中，衍生自Cas9核酸内切酶的序列包含在位置580处的丙氨酸(A)对天冬酰胺(N)的氨基酸置换(N580A)。在某些实施方案中，衍生自Cas9核酸内切酶的序列包含截短并灭活的Cas9(dSaCas9)(SEQ ID NO:32)。在某些实施方案中，包括其中该基因组编辑构建体包含DNA结合域和IIS型核酸内切酶的那些实施方案，该基因组编辑构建体包含衍生自转录激活因子样效应物核酸酶(TALEN)的序列。在某些实施方案中，包括其中该基因组编辑构建体包含DNA结合域和IIS型核酸内切酶的那些实施方案，衍生自TALEN的序列是该DNA结合域。在某些实施方案中，该基因组编辑构建体包含TALEN。在某些实施方案中，包括其中该基因组编辑构建体包含DNA结合域和IIS型核酸内切酶的那些实施方案，该基因组编辑构建体包含衍生自锌指核酸酶(ZFN)的序列。在某些实施方案中，包括其中该基因组编辑构建体包含DNA结合域和IIS型核酸内切酶的那些实施方案，衍生自ZFN的序列是该DNA结合域。在某些实施方案中，该基因组编辑构建体包含锌指核酸酶(ZFN)。

[0113] 本公开的生产修饰$T_{SCM}$和/或$T_{CM}$细胞的方法可以加以优化以生产更大数量或更大比例的修饰$T_{SCM}$和/或$T_{CM}$细胞。例如，施以本公开的方法的细胞群可以被富集以含有提高数量或更大比例的幼稚T细胞。当施以本公开的方法的T细胞群中幼稚T细胞的数量和/或比例提高时，本公开制得的修饰$T_{SCM}$和/或$T_{CM}$细胞的数量和/或比例也提高。或者或此外，当前述本公开的方法所需时间长度或持续时间减少时，通过该方法制得的本公开的修饰$T_{SCM}$和/或$T_{CM}$细胞的数量和/或比例提高。前述本公开的方法所需时间长度或持续时间或“生产期”也被称为施以本公开的方法的T细胞的“非生命(out-of-life)期”。

[0114] 在本公开的生产修饰T细胞的方法的某些实施方案中，该原代人T细胞表达CD62L、CD45RA、CD28、CCR7、CD127、CD45RO、CD95、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种。在某些实施方案中，该原代人T细胞是幼稚T细胞($T_N$)，并且该$T_N$表达CD45RA、CCR7和CD62L中的一种或多种。在某些实施方案中，该原代人T细胞是T记忆干细胞($T_{SCM}$)，并且该$T_{SCM}$表达CD45RA、CD95、IL-2Rβ、CR7和CD62L中的一种或多种。在某些实施方案中，该原代人T细胞是中枢记忆T细胞($T_{CM}$)，并且其中该$T_{CM}$表达CD45RO、CD95、IL-2Rβ、CCR7和CD62L中的一种或多种。在某些实施方案中，该原代人T细胞是效应记忆T细胞($T_{EM}$)，并且该$T_{EM}$表达CD45RO、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种。在某些实施方案中，该原代人T细胞是效应物T细胞($T_{EFF}$)，并且该$T_{EFF}$表达CD45RA、CD95和IL-2Rβ中的一种或多种。在某些实施方案中，该原代人T细胞表达CD4和/或CD8。

[0115] 本公开提供了包含通过本公开的方法制得的修饰$T_{SCM}$的组合物。本公开提供了包含通过本公开的方法制得的修饰$T_{CM}$的组合物。本公开提供了包含通过本公开的方法制得的修饰$T_{SCM}$和修饰$T_{CM}$的组合物。在包含通过本公开的方法制得的修饰$T_{SCM}$和修饰$T_{CM}$的组合物的某些实施方案中，多个$T_{SCM}$可以包含该组合物的至少1％、2％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、97％、98％或99％。在包含通过本公开的方法制得的修饰$T_{SCM}$和修饰$T_{CM}$的组合物的某些实施方案中，多个$T_{CM}$可以包含该组合物的至少1％、2％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、97％、98％或99％。

[0116] 本公开提供了包含通过本公开的方法制得的修饰$T_{SCM}$和/或$T_{CM}$的组合物用于生产治疗需要其的受试者的药物的用途。在该用途的某些实施方案中，该修饰$T_{SCM}$和/或$T_{CM}$是自体的。在该用途的某些实施方案中，该修饰$T_{SCM}$和/或$T_{CM}$是同种异体的。在某些实施方案中，该抗原受体是T细胞受体。在某些实施方案中，该T细胞受体是天然存在的。在某些实施方案中，该T细胞受体不是天然存在的。在某些实施方案中，并且特别是在其中该T细胞受体不是天然存在的那些实施方案中，与野生型T细胞受体相比，该T细胞受体包含一个或多个突变。在某些实施方案中，并且特别是在其中该T细胞受体不是天然存在的的那些实施方案中，该T细胞受体是重组T细胞受体。在某些实施方案中，该抗原受体是嵌合抗原受体(CAR)。在某些实施方案中，该CAR是CARTyrin。在某些实施方案中，该CAR包含一个或多个VHH序列。在某些实施方案中，该CAR是VCAR。

[0117] 本公开提供了在需要其的受试者中治疗疾病或病症的方法，包括向该受试者施用治疗有效量的包含本公开的方法制得的修饰$T_{SCM}$和/或$T_{CM}$的组合物。在该方法的某些实施方案中，该修饰$T_{SCM}$和/或$T_{CM}$是自体的。在该方法的某些实施方案中，该修饰$T_{SCM}$和/或$T_{CM}$是同种异体的。在某些实施方案中，该抗原受体是T细胞受体。在某些实施方案中，该T细胞受体

是天然存在的。在某些实施方案中，该T细胞受体不是天然存在的。在某些实施方案中，特别是在其中该T细胞受体并非天然存在的那些实施方案中，与野生型T细胞受体相比，该T细胞受体包含一个或多个突变。在某些实施方案中，特别是在其中该T细胞受体并非天然存在的那些实施方案中，该T细胞受体是重组T细胞受体。在某些实施方案中，该抗原受体是嵌合抗原受体(CAR)。在某些实施方案中，该CAR是CARTyrin。在某些实施方案中，该CAR包含一个或多个VHH序列。在某些实施方案中，该CAR是VCAR。在该方法的某些实施方案中，该疾病或病症是癌症，并且该抗原受体特异性靶向癌抗原。在该方法的某些实施方案中，该疾病或病症是传染性疾病或病症，并且该抗原受体特异性靶向病毒、细菌、酵母或微生物抗原。在某些实施方案中，该疾病或病症是分泌性蛋白缺乏活性或数量不足所导致的疾病或病症。在某些实施方案中，该疾病或病症是通过替换治疗蛋白的活性或通过提高治疗蛋白的量来治疗的疾病或病症。在某些实施方案中，该治疗蛋白是分泌蛋白。在某些实施方案中，该分泌性蛋白在身体局部区域中缺乏活性或足够的数量。在某些实施方案中，身体的局部区域可以被天然T细胞或修饰T细胞进入。在某些实施方案中，在体内、离体、体外或原位产生该修饰T细胞。

[0118] 附图概述

[0119] 图1是描绘在实施例1的方法的第11天出现CAR-$T_{SCM}$表型的一系列图。用替代CARTyrin质粒对细胞进行核转染。如底部两个图所示，CAR-$T_{SCM}$细胞表达CD62L和CD45RA。

[0120] 图2是描绘通过实施例1的方法生产的CAR-$T_{SCM}$在第19天的纯度的一系列图。在第19天，通过实施例1中所述方法生产的CAR-$T_{SCM}$细胞群不含B细胞或淋巴细胞。大多数细胞是CD3+T细胞。仅有1.1％是自然杀伤细胞，且1.7％是自然杀伤T细胞。

[0121] 图3是显示实施例1中所述方法的第11天的图，生产的大部分T细胞表达CARTyrin。

[0122] 图4是描绘在实施例1中描述的方法的第19天CAR-$T_{SCM}$表型的富集的一系列图。用替代CARTyrin质粒对细胞进行核转染。如底部两个图所示，CAR-$T_{SCM}$细胞表达CD62L和CD45RA。

[0123] 图5是描绘在实施例1中描述的方法的第19天不存在T细胞耗竭的一系列图。在第19天，通过该方法生产的细胞群不表达PD1(其为T细胞激活和耗竭的标记)。表达CARTyrin的这些细胞在生产后几乎成功地达到了静止状态。它们没有表现出抗原非依赖性(固有的)信号传导的迹象，所述抗原非依赖性信号传导将以其它方式驱动更高水平的PD1表达。假设持续性信号传导是由一些CAR分子引起的，这些分子导致了早期耗竭和CAR T细胞疗法的功效降低。

[0124] 图6A是描绘用含有编码转座子的序列的质粒转座的T细胞的一系列图，所述转座子包含编码可诱导的胱天蛋白酶多肽(一种安全开关，“iC9”)、CARTyrin(抗BCMA)和可选标记的序列。左侧图描述了在不存在该质粒的情况下暴露于转座酶的活T细胞。右侧图描述了在存在该质粒的情况下暴露于转座酶的活T细胞。细胞暴露于极度活跃的转座酶(“SuperpiggyBac”)或野生型piggyBac转座酶。

[0125] 图6B是描绘用含有编码绿色荧光蛋白(GFP)的序列的质粒转座的T细胞的一系列图。左侧图描述了在不存在该质粒的情况下暴露于转座酶的活T细胞。右侧图描述了在存在该质粒的情况下暴露于转座酶的活T细胞。细胞暴露于极度活跃的转座酶(“SuperpiggyBac”)或野生型piggyBac转座酶。

[0126] 图6C是描绘用WT对极度活跃的piggyBac转座酶转座产生的转化T细胞的百分比的表格。与极度活跃的piggyBac转座酶(Super piggyBac转座酶)接触的T细胞以WT转座酶四倍的速率转化。

[0127] 图6D是描绘在核转染后第5天用WT对极度活跃的piggyBac转座酶转座产生的转化T细胞的百分比的表格。与极度活跃的piggyBac转座酶(Super piggyBac转座酶)接触的T细胞以远高于WT转座酶的速率转化。

[0128] 图7是显示piggyBac™产生的和慢病毒产生的CAR+T细胞之间的表型差异的图。使用piggyBac转座或慢病毒转导生产CAR+T细胞。用编码CAR的piggyBac转座人全T细胞，在转座后第2天用抗CD3/CD28珠刺激、扩增、并在转座后第19天进行检查。对于使用慢病毒的生产，用aCD3/CD28珠刺激全T细胞，用编码CAR的慢病毒转导(MOI 5)、扩增、并在刺激后第18天进行检查。随后，根据它们对标准记忆标记CD62L、CD45RA和CD95的表达来表征各CAR+T细胞群。各CAR+T细胞亚群的百分比定义为幼稚(CD62L+CD45RA+)、Tcm(CD62L+CD45RA-)、Tem(CD62L-CD45RA-)和Teff(CD62L-CD45RA+)。所有CAR+T细胞是CD95+。

[0129] 图8A-B是显示piggyBac™优先转座幼稚T细胞的一对图。人全T细胞分选(使用BD FACSAria II流式细胞仪)为幼稚(CD62L+CD45RA+)、Tcm(CD62L+CD45RA-)、Tem(CD62L-CD45RA-)和Teff(CD62L-CD45RA+)亚群。分选的亚群各自用piggyBac-GFP转座或用慢病毒-GFP转导。对于前者，各分选的亚群用PiggyBac-GFP转座，在转座后第2天用抗CD3/CD28珠刺激、扩增、并在转座后第19天进行检查。对于后者，分选的亚群用aCD3/CD28珠刺激，用编码GFP的慢病毒转导(MOI 5)、扩增、并在刺激后第19天进行检查。n＝3个供体。

[0130] 图9是显示piggyBac™生产方法在来自多发性骨髓瘤(MM)患者的样品中产生高水平的$T_{SCM}$的一对图，即使当幼稚T细胞稀少时也如此。在Poseida生产方法之前(左)和之后(右)通过流式细胞术表征来自MM患者(三角形)和健康供体(圆形)的T细胞的记忆标记表达。通过FACS评估了CD45RA和CD62L的表达，并显示了MM患者和健康供体的图。已知来自MM患者的T细胞通常具有较低频率的幼稚和$T_{SCM}$细胞，但是具有较高频率的Teff，这与来自健康正常供体的那些不同，来自健康正常供体的正相反。无论来自不同MM患者的幼稚和Tscm的输入频率如何，使用Poseida生产方法生产P-BCMA-101获得了表现出高水平的CD8+Tscm(E)的产物。对于积极接受治疗的MM患者(红色三角)也是如此。

[0131] 图10是一系列荧光激活细胞分选(FAC)图，其表征用睡美人(SB100x)转座系统和本公开的方法转化的人全T细胞中T和$T_{SCM}$细胞标记。睡美人(SB100x)转座使用Poseida生产方法主要产生Tscm表型。分别如所示那样，使用1μg的睡美人或piggyBac转座子质粒和SB100x或SPB mRNA转座人全T细胞。在转座后，细胞离体扩增，并用Poseida制药选择系统耗尽所有非转座的细胞。在培养18天后，细胞用表型标记CD4、CD8、CD45RA和CD62L染色。干细胞记忆表型(Tscm)由CD45RA和CD62L双阳性细胞限定并构成所有样品中细胞的>65％。一列中所有小图共享共同的x轴和y轴参数。在每一行中，由顶至底，显示了来自用(顶部)2.5微克(μg)的睡美人转座子SB100x、(由顶部起第二个)5μg的SB100x、(由顶部起第三个)10μg的SB100x、(由底部起第二个)5μg的piggyBac转座子P-BCMA-101和在底部的未染色对照转座的T细胞的数据。该x轴，以由左至右的次序，在第一和第二列中显示正向散射(FSC)，单位为0至250千(缩写为“k”)，增量为50k。由左侧起第三列的x轴显示了CD8表达，标记读数由0至$10^5$以10的幂递增。最右侧的列显示了CD62L表达，标记读数由0至$10^5$以10的幂递增。在第一

列中，y轴显示了侧向散射(SSC)，单位由0至250k，增量为50k。由左侧起第二列中的y轴显示了细胞活力标记7氨基放线菌素D(7AAD)的表达，由0至$10^5$以10的幂递增。由左侧起第三列中的y轴显示了标记CD4的表达，由0至$10^5$以10的幂递增。右侧列中的y轴显示了标记CD45RA的表达，由0至$10^5$以10的幂递增。

[0132] 图11是显示导致血液凝固的人凝血途径的示意图。接触激活，例如通过损伤内皮，激活了内在的凝血途径。组织因子激活外在的凝血途径，例如在创伤后。两种途径均会聚于将凝血酶原转化为凝血酶，其催化血纤蛋白原转化为血纤蛋白。聚合的血纤蛋白与血小板一起形成凝块。在不存在因子IX(被圈起来)的情况下，凝血是有缺陷的。因子VIII(FVIII)缺乏导致血友病A的发展。因子IX(FIX)缺乏导致血友病B的发展。血友病B是一种罕见疾病，发生频率为25,000至30,000人中大约一人。百分之六十的血友病B病例是严重的。不到百分之一的患有血友病B的个体具有正常FIX水平。在本公开的组合物和方法之前，血友病B的标准治疗包括每2至3天输注重组FIX，每年花费大约250,000美元。与这种标准治疗选项形成鲜明对比的是，本公开的$T_{SCM}$细胞在人体内维持数十年。

[0133] 图12是描绘了分泌FIX的T细胞的一系列荧光激活细胞分选(FACS)图。编码人因子IX转基因的T细胞在大约80％的细胞中显示$T_{SCM}$表型。以由左向右的顺序描述了6个小图。(1)x轴上的正向散射(FSC)对y轴上的侧向散射(SSC)。x轴为0至250千(缩写k)，增量为50k，y轴为0至250k，增量为50k。(2)x轴上的FSC对细胞活力标记7氨基放线菌素D(7AAD)。x轴标记为0至250k，增量为50k。y轴从上到下读取-$10^3$、0、$10^3$、$10^4$、$10^5$。(3)在x轴上显示缀合到Cy7染料上的抗CD56-APC(CDC56-APC-Cy7)，单位由0至$10^5$，以10的幂递增。在y轴上显示缀合到藻红蛋白(PE)上的抗CD3，单位由0至$10^5$，以10的幂递增。(4)在x轴上显示缀合到异硫氰酸荧光素(FITC)上的抗CD8，单位由0至$10^5$，以10的幂递增。在y轴上显示缀合到亮紫650染料(BV650)上的抗CD4，单位由0至$10^5$，以10的幂递增。(5)在x轴上显示缀合到亮紫421染料(BV421)上的抗CD62L抗体，单位由0至$10^5$，以10的幂递增。在y轴上显示缀合到PE和Cy7上的抗CD45RA抗体，单位由0至$10^5$，以10的幂递增。该小图被框起来。(6)在x轴上显示缀合到亮紫786(BV786)上的抗CCR7抗体，单位由0至$10^5$，以10的幂递增。在y轴上显示缀合到PE和Cy7上的抗CD45RA，单位由0至$10^5$，以10的幂递增。

[0134] 图13A是显示在生产本公开的修饰T细胞的过程中人因子IX分泌的图。在y轴上，以纳克(ng)/毫升(mL)为单位的因子IX浓度由0至80，增量为20。在x轴上显示了第9天和第12天的T细胞。

[0135] 图13B是显示由T细胞产生的分泌的因子IX的凝血活性的图。在y轴上显示了相对于人血浆的百分比因子IX活性，由0至8，增量为2。在x轴上是第9天和第12天的T细胞。

[0136] 图14A-E是使用HR或MMEJ位点特异性整合到AAVS1位点中的一系列质粒图和相应序列。用于测试经由A)位点特异性(AAVS1)同源重组(HR)、B)位点特异性(AAVS1)微同源介导的末端连接(MMEJ)重组和C)TTAA-特异性piggyBac™转座来稳定整合到人全T细胞基因组中的供体质粒。对于HR和MMEJ供体质粒，GFP-2A-DHFR基因表达盒的侧翼为CRISPR/Cas9靶向位点和用于AAVS1位点整合的同源臂；对于piggyBac™供体质粒，GFP-2A-DHFR基因表达盒的侧翼为piggyBac™转座子元件。该HR和MMEJ质粒的同源臂分别是500bp和25bp。小图D、E和F分别描绘了SEQ ID NO41和42。

[0137] 图15是显示核转染后第3天在原代人全T细胞中的转基因(GFP)表达的图。HR或

MMEJ供体质粒经由核转染与或不与CRISPR核糖核蛋白(RNP)靶向试剂共同递送到全T细胞中。包含仅接受供体质粒的T细胞作为对照。还使用piggyBac™转座子递送系统修饰了全T细胞。经由TCR刺激在第0天激活T细胞,通过流式细胞术在核转染后第3天评估GFP+T细胞百分比,并且数据概括在柱形图中。

[0138] 图16是显示核转染和选择后第11天在原代人全T细胞中的转基因(GFP)表达的图。使用在双顺反子GFP-2A-DHFR整合盒中编码的DHFR选择基因通过氨甲蝶呤添加选择具有稳定整合的转基因的激活的T细胞。通过流式细胞术在核转染后第11天评估GFP+细胞百分比,并且数据概括在柱形图中。经由选择在接受转座试剂、RNP+HR或MMEJ供体质粒的全T细胞中高度富集GFP+细胞,但在只接受供体质粒的T细胞中不富集。

[0139] 图17A-C是显示在AAVS1位点处通过HR和MMEJ修饰的原代人全T细胞的表型的一系列图。通过流式细胞术在核转染后第11天分析GFP+CD8+全T细胞的表型。A)细胞用7AAD(细胞活力)、CD4、CD8、CD45RA和CD62L染色,并且FACS图显示门控策略。CD8+T细胞亚群通过表达CD45RA+CD62L+(干细胞记忆T细胞(Tscm))、CD45RA-CD62L+(中枢记忆T细胞(Tcm))、CD45RA-CD62L-(效应物记忆T细胞(Tem))和CD45RA+CD62L-(T效应物(Teff))来限定。B)在柱形图中总结了各T细胞亚群中总GFP+CD8+T细胞的百分比。使用piggyBac™转座子系统、或与Cas9RNP结合的HR和MMEJ在所有情况下均获得了GFP+Tscm的富集群体。C)在核转染后第13天分析了全T细胞总数,并且数据概括在柱形图中。

[0140] 图18A-B是显示了位点特异性整合到AAVS1位点中的凝胶电泳结果的一对照片。收获选自各个组的细胞并提取基因组DNA并用作PCR模板以便对A)HR和B)MMEJ确认位点特异性整合到AAVS1位点中。两对引物分别扩增AAVS1靶位点的5'-末端连接(一个引物引发插入EF1a-2r CACCGGAGCCAATTCCCACT(SEQ ID NO:36)的启动子区域,并且另一引物引发5'-末端处的500bp同源臂AAVS-3r CTGCACCACGTGATGTCCTC(SEQ ID NO:37)以外的AAVS1区域,对HR或MMEJ都产生0.73kb DNA片段)和3'-末端连接(一个引物引发聚A信号传导区域SV40pA-1r GTAACCATTATAAGCTGCAATAAACAAG(SEQ ID NO:38),并且另一个引发500bp 5'同源臂AAVS-2f CTGGGGACTCTTTAAGGAAAGAAG(SEQ ID NO:39)以外的AAVS1区域,对HR或MMEJ都产生0.76kb DNA片段)。在琼脂糖凝胶上展示了PCR产物。在HR样品中的非特异性带仅仅是单轮PCR的结果,并且考虑附加轮,可能已经被分解。

[0141] 发明详述

[0142] 本公开提供了使用piggyBac™转座子系统在保留或诱导具有有效的CAR活性的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)(在本文中称为CAR-$T_{SCM}$)的条件下生产表达人嵌合抗原受体(CAR)的T细胞的方法。包含使用本公开的方法生产的CAR-$T_{SCM}$的组合物包含≥60%的CAR-$T_{SCM}$并显示出与该T细胞亚群一致的独特的功能特征。在本公开的组合物中发现的其它T细胞亚群包括但不限于中枢记忆CAR-T细胞(CAR-$T_{CM}$)、效应物记忆CAR-T细胞(CAR-$T_{EM}$)、效应物CAR-T细胞(CAR-$T_E$)和末端分化的效应物CAR-T细胞(CAR-$T_{TE}$)。分化的线性途径可能担负生成这些细胞:幼稚T细胞($T_N$)>$T_{SCM}$>$T_{CM}$>$T_{EM}$>$T_E$>$T_{TE}$,由此$T_N$是直接产生$T_{SCM}$的亲本前体细胞,该$T_{SCM}$随后又直接产生$T_{CM}$等等。本公开的包含CAR-$T_{SCM}$、CARTyrin-$T_{SCM}$和/或VCAR-$T_{SCM}$的组合物可以包含CAR-$T_{SCM}$最丰富的各亲本CAR-T细胞亚群中的一种或多种(例如$T_{SCM}$>$T_{CM}$>$T_{EM}$>$T_E$>$T_{TE}$)。然而,每个亲本T细胞亚群的绝对量/丰度和相对比例在患者血液和天然存在的细胞群的样品中可能不同,天然存在的细胞群可能具有高丰度和/或比例的$T_{SCM}$,,包含非天然存在的

CAR-$T_{SCM}$的本公开的组合物在治疗患者对抗疾病和癌症方面更为有力和有效。

[0143] 使用嵌合抗原受体(CAR)-T细胞的免疫疗法正在成为癌症治疗的令人兴奋的治疗方法。靶向肿瘤相关抗原(Ag)的自体的CAR-修饰T细胞可以导致强有力的肿瘤杀死,在一些情况下导致$CD19^+$血液恶性肿瘤的完全缓解。与传统的生物制剂和化疗药物不同,CAR-T细胞具有在Ag识别时快速繁殖的能力,由此可能避免对重复治疗的需要。为了实现这一点,CAR-T细胞必须不仅初始驱动肿瘤破坏,而且还必须作为活体记忆T细胞的稳定群落留存在患者体内以预防潜在的癌症复发。由此,已经集中精力开发不会通过Ag-非依赖性(固有的)信号传导导致T细胞衰竭的CAR分子,以及含有早期记忆细胞、尤其是记忆干细胞($T_{SCM}$)的CAR-T产品。干细胞样CAR-T将表现出最大的自我更新的能力以及衍生出中枢记忆细胞($T_{CM}$)、效应物记忆细胞($T_{EM}$)和效应物T细胞($T_E$)的多向潜能,由此产生更好的肿瘤根除和长期CAR-T植入。

[0144] 本公开的CAR-$T_{SCM}$可以包含基于Centyrin的CAR,称为CARTyrin(并且因此,该细胞可以被称为CARTyrin-$T_{SCM}$)。Centyrin是基于人共有序列腱生蛋白FN3结构域的替代支架分子,小于scFv分子,并可以因有利于稳定性和降低CAR分子中固有的信号转导的可能性的单体性质而被选择。本公开的CARTyrin可以使用编码该CARTyrin的质粒DNA转座子引入T细胞,所述质粒DNA转座子的侧翼是两个顺式调控隔离子元件以便通过阻断不适当的基因激活或沉默来帮助稳定CARTyrin表达。

[0145] 本公开的CAR-$T_{SCM}$可以包含基于VHH的CAR,称为VCAR(并且因此,该细胞可以被称为VCAR-$T_{SCM}$)。本公开的VCAR可以使用编码该VHH的质粒DNA转座子引入T细胞,所述质粒DNA转座子的侧翼是两个顺式调控隔离子元件以便通过阻断不适当的基因激活或沉默来帮助稳定VHH表达。

[0146] 在本公开的方法的某些实施方案中,该piggyBac™(PB)转座子系统可用于将抗原特异性(包括癌症抗原特异性)CARTyrin或VCAR稳定整合到静息的全T细胞中,由此该转座子与mRNA转座酶一起在单次电穿孔反应中被共同递送(尽管转座子和转座酶将包含在单独的组合物中,直到它们被引入细胞),称为SuperpiggyBac™(SPB)。将piggyBac™转座子递送到未触及的静息原代人全T细胞中导致20-30%的细胞具有PB递送基因的稳定整合和表达。预料不到的是,大部分这些修饰的表达CARTyrin的T细胞对CD62L和CD45RA——通常与干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$细胞)相关的标记——的表达呈阳性。为了证实该表型在CAR-T细胞刺激和扩增时得以保留,经由CD3和CD28的刺激来激活对CD62L和CD45RA的表达呈阳性的修饰的表达CARTyrin的T细胞。作为CD3和CD28的刺激的结果,>60%的CARTyrin+T细胞表现出干细胞记忆表型。此外,表达对癌症抗原呈特异性的CARTyrin的这些细胞完全能够表达有效的抗肿瘤效应子功能。

[0147] 为了确定该PB系统是否直接有助于增强干细胞样标记的表达,比较了通过PB转座或慢病毒(LV)转导生成的CAR-T细胞的表型。为此,通过将CARTyrin转基因亚克隆到用于产生病毒的常见的LV构建体中来构建新的载体。在通过PB转座或LV转导将CARTyrin引入未触及的静息T细胞中之后,将该$CARTyrin^+$细胞扩增并随后令其回复到静息状态。测量多种表型和功能特征,包括记忆和耗竭相关标记的动力学分析、响应稳态细胞因子或肿瘤相关Ag的二次增殖、细胞因子产生以及响应靶标肿瘤细胞的溶胞能力。不同于PB转座的$CARTyrin^+$ T细胞,LV转导的$CARTyrin^+$T细胞没有表现出增强的记忆表型。此外,PB转座的细胞表现出

可比或更大的二次增殖和杀灭靶标肿瘤细胞的能力。合起来，这些数据表明，通过PB转座产生的CAR-T细胞主要是$T_{SCM}$细胞——在CAR-T领域中非常理想的产品表型。此外，这些CARTyrin$^{+}$T细胞表现出强抗肿瘤活性，并由于使用基于Centyrin的CAR产生了在体内持续更长时间的细胞，其不太可能发生固有的信号转导和功能耗竭。

[0148] 嵌合抗原受体

[0149] 本公开提供了嵌合抗原受体(CAR)，其包含：(a)包含抗原识别区的胞外结构域，其中该抗原识别区包含各自特异性结合抗原的一个或多个序列；(b)跨膜结构域，和(c)包含至少一个共刺激结构域的胞内结构域。在某些实施方案中，该抗原识别区可以包含各自特异性结合抗原的两个序列以产生双特异性或串联CAR。在某些实施方案中，该抗原识别区可以包含各自特异性结合抗原的三个序列以产生三特异性CAR。在某些实施方案中，该胞外结构域可以进一步包含信号肽。或者或此外，在某些实施方案中，该胞外结构域可以进一步包含在抗原识别区与跨膜结构域之间的铰链。各自特异性结合抗原的序列可以包括但不限于单链抗体(例如scFv)、包含抗体的一个或多个片段的序列(例如VHH，在CAR的背景下称为VCAR)、抗体模拟物和Centyrin(在CAR的背景下称为CARTyrin)。

[0150] 在本公开的CAR的某些实施方案中，该信号肽可以包含编码人CD2、CD3δ、CD3ε、CD3γ、CD3ζ、CD4、CD8α、CD19、CD28、4-1BB或GM-CSFR信号肽的序列。在本公开的CAR的某些实施方案中，该信号肽可以包含编码人CD8α信号肽的序列。该人CD8α信号肽可以包含含有MALPVTALLLPLALLLHAARP(SEQ ID NO:8)的氨基酸序列。该人CD8α信号肽可以包含含有MALPVTALLLPLALLLHAARP(SEQ ID NO:8)的氨基酸序列或与含有MALPVTALLLPLALLLHAARP(SEQ ID NO:8)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。可以通过包含atggcactgccagtcaccgccctgctgctgcctctggctctgctgctgcacgcagctagacca(SEQ ID NO:9)的核酸序列编码所述人CD8α信号肽。

[0151] 在本公开的CAR的某些实施方案中，该跨膜结构域可以包含编码人CD2、CD3δ、CD3ε、CD3γ、CD3ζ、CD4、CD8α、CD19、CD28、4-1BB或GM-CSFR跨膜结构域的序列。在本公开的CAR的某些实施方案中，该跨膜结构域可以包含编码人CD8α跨膜结构域的序列。该CD8α跨膜结构域可以包含含有IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC(SEQ ID NO:10)的氨基酸序列或与含有IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC(SEQ ID NO:10)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。可以通过包含atctacatttgggcaccactggccgggacctgtggagtgctgctgctgagcctggtcatcacactgtactgc(SEQ ID NO:11)的核酸序列编码所述CD8α跨膜结构域。

[0152] 在本公开的CAR的某些实施方案中，该胞内结构域可以包含人CD3ζ胞内结构域。

[0153] 在本公开的CAR的某些实施方案中，所述至少一个共刺激结构域可以包含人4-1BB、CD28、CD40、ICOS、MyD88、OX-40细胞内区段，或其任意组合。在本公开的CAR的某些实施方案中，所述至少一个共刺激结构域可以包含CD28和/或4-1BB共刺激结构域。该CD28共刺激结构域可以包含含有RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR(SEQ ID NO:12)的氨基酸序列或与含有RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR(SEQ ID NO:12)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。可以通过包含cgcgtgaagtttagtcgatcagcagatgccccagcttacaaacagggacagaaccagctgtataacgagctgaatctgggccgccgagaggaat

atgacgtgctggataagcggagaggacgcgaccccgaaatgggaggcaagcccaggcgcaaaaaccctcaggaaggcctgtataacgagctgcagaaggacaaaatggcagaagcctattctgagatcggcatgaaggggagcgacggagaggcaaagggcacgatgggctgtaccagggactgagcaccgccacaaaggacacctatgatgctctgcatatgcaggcactgcctccaagg(SEQ ID NO:13)的核酸序列编码所述CD28共刺激结构域。该4-1BB共刺激结构域可以包含含有KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL(SEQID NO:14)的氨基酸序列或与含有KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL(SEQID NO:14)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。可以通过包含aagagaggcaggaagaaactgctgtatattttcaaacagcccttcatgcgccccgtgcagactacccaggaggaagacgggtgctcctgtcgattccctgaggaagaggaaggcgggtgtgagctg(SEQ ID NO:15)的核酸序列编码所述4-1BB共刺激结构域。该4-1BB共刺激结构域可以位于该跨膜结构域与该CD28共刺激结构域之间。

[0154] 在本公开的CAR的某些实施方案中，该铰链可以包含衍生自人CD8α、IgG4和/或CD4序列的序列。在本公开的CAR的某些实施方案中，该铰链可以包含衍生自人CD8α序列的序列。该铰链可以包含含有TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD(SEQ ID NO:16)的人CD8氨基酸序列或与含有TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD(SEQ ID NO:16)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。可以通过包含actaccacaccagcacctagaccaccaactccagctccaaccatcgcgagtcagcccctgagtctgagacctgaggcctgcaggccagctgcaggaggagctgtgcacaccaggggcctggacttcgcctgcgac(SEQ ID NO:17)的核酸序列编码所述人CD8α铰链氨基酸序列。

[0155] 本公开提供包含本公开的CAR和至少一种可药用载剂的组合物。

[0156] 本公开提供包含本公开的CAR的转座子。本公开的转座子以附加体形式维持或整合到该重组/修饰细胞的基因组中。该转座子可以是利用转座子和转座酶来增强非病毒基因转移的双组分piggyBac系统的一部分。

[0157] 本公开的转座子可以包含用于鉴别、富集和/或分离表达该转座子的细胞的选择基因。示例性的选择基因编码对细胞活力和存活必不可少的任何基因产物(例如转录物、蛋白、酶)。示例性的选择基因编码对赋予在不存在该选择基因编码的基因产物的情况下细胞对其敏感(或者其对该细胞可能致死)的药物挑战抗性必不可少的任何基因产物(例如转录物、蛋白、酶)。示例性的选择基因编码在不存在该选择基因的情况下在缺乏一种或多种对细胞活力和/或存活必不可少的营养素的细胞培养基中对活力和/或存活必不可少的任何基因产物(例如转录物、蛋白、酶)。示例性的选择基因包括但不限于neo(赋予对新霉素的抗性)、DHFR(编码二氢叶酸还原酶并赋予对氨甲蝶呤的抗性)、TYMS(编码胸苷酸合成酶)、MGMT(编码O(6)-甲基鸟嘌呤-DNA甲基转移酶)、多药耐药基因(MDR1)、ALDH1(编码醛脱氢酶1家族，成员A1)、FRANCF、RAD51C(编码RAD51 Paralog C)、GCS(编码葡糖神经酰胺合成酶)和NKX2.2(编码NK2同源框2)。

[0158] 本公开的转座子可以包含至少一个自剪切肽，其位于例如一个或多个特异性结合抗原的序列和本公开的选择基因之间。所述至少一个自剪切肽可以包含例如T2A肽、GSG-T2A肽、E2A肽、GSG-E2A肽、F2A肽、GSG-F2A肽、P2A肽或GSG-P2A肽。T2A肽可以包含含有EGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:18)的氨基酸序列或与含有EGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:18)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。GSG-T2A肽可以包含含有GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:19)的氨基酸序列或与含有

GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:19)的氨基酸序列具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。GSG-T2A肽可以包含含有ggatctggagagggaaggggaagcctgctgacctgtggagacgtggaggaaaacccaggacca(SEQ ID NO:20)的核酸序列。E2A肽可以包含含有QCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:21)的氨基酸序列或与含有QCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:21)的氨基酸序列具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。GSG-E2A肽可以包含含有GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:22)的氨基酸序列或与含有GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:22)的氨基酸序列具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。F2A肽可以包含含有VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:23)的氨基酸序列或与含有VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:23)的氨基酸序列具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。GSG-F2A肽可以包含含有GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:24)的氨基酸序列或与含有GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:24)的氨基酸序列具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。P2A肽可以包含含有ATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:25)的氨基酸序列或与含有ATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:25)的氨基酸序列具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。GSG-P2A肽可以包含含有GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:26)的氨基酸序列或与含有GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:26)的氨基酸序列具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。

[0159] 本公开的转座子可以包含第一和第二自剪切肽，第一自剪切肽位于例如一个或多个本公开的特异性结合抗原的序列的上游，第二自剪切肽位于例如一个或多个本公开的特异性结合抗原的序列的下游。第一和/或第二自剪切肽可以包含例如T2A肽、GSG-T2A肽、E2A肽、GSG-E2A肽、F2A肽、GSG-F2A肽、P2A肽或GSG-P2A肽。T2A肽可以包含含有EGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:18)的氨基酸序列或与含有EGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:18)的氨基酸序列具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。GSG-T2A肽可以包含含有GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:19)的氨基酸序列或与含有GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:19)的氨基酸序列具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。GSG-T2A肽可以包含含有ggatctggagagggaaggggaagcctgctgacctgtggagacgtggaggaaaacccaggacca(SEQ ID NO:20)的核酸序列。E2A肽可以包含含有QCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:21)的氨基酸序列或与含有QCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:21)的氨基酸序列具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。GSG-E2A肽可以包含含有GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:22)的氨基酸序列或与含有GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:22)的氨基酸序列具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。F2A肽可以包含含有VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:23)的氨基酸序列或与含有VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:23)的氨基酸序列具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。GSG-F2A肽可以包含含有GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:24)的氨基酸序列或与含有GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:24)的氨基酸序列具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。P2A肽可以包含含有ATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:25)的氨基酸序列或与含有ATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:25)的氨基酸序列具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。GSG-P2A肽可以包含含有GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP

(SEQ ID NO:26)的氨基酸序列或与含有GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:26)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。

[0160] 本公开提供了包含本公开的转座子的组合物。在某些实施方案中，引入该组合物的方法可以进一步包括包含质粒的组合物，所述质粒包含编码转座酶的序列。编码转座酶的序列可以是mRNA序列。

[0161] 本公开的转座子可以包含piggyBac转座子。本公开的转座酶可以包括piggyBac转座酶或相容酶。

[0162] 本公开提供了包含本公开的CAR的载体。在某些实施方案中，该载体是病毒载体。该载体可以是重组载体。

[0163] 本公开的病毒载体可以包含从逆转录病毒、慢病毒、腺病毒、腺相关病毒或其任意组合中分离或衍生的序列。该病毒载体可以包含从腺相关病毒(AAV)中分离或衍生的序列。该病毒载体可以包含重组AAV(rAAV)。本公开的示例性的腺相关病毒和重组腺相关病毒包含以顺式紧邻一个或多个特异性结合抗原的序列定位的两个或多个反向末端重复(ITR)序列。本公开的示例性的腺相关病毒和重组腺相关病毒包括但不限于所有血清型(例如AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8和AAV9)。本公开的示例性的腺相关病毒和重组腺相关病毒包括但不限于自身互补型AAV(scAAV)和含有一种血清型的基因组与另一血清型的衣壳的AAV杂合体(例如AAV2/5、AAV-DJ和AAV-DJ8)。本公开的示例性的腺相关病毒和重组腺相关病毒包括但不限于rAAV-LK03。

[0164] 本公开的病毒载体可以包含选择基因。该选择基因可以编码对细胞活力和存活必不可少的基因产物。该选择基因可以编码被选择性细胞培养条件进行挑战时对细胞活力和存活必不可少的基因产物。选择性细胞培养条件可以包含对细胞活力或存活有害的化合物，并且其中该基因产物赋予对该化合物的抗性。本公开的示例性的选择基因可以包括但不限于neo(赋予对新霉素的抗性)、DHFR(编码二氢叶酸还原酶并赋予对氨甲蝶呤的抗性)、TYMS(编码胸苷酸合成酶)、MGMT(编码O(6)-甲基鸟嘌呤-DNA甲基转移酶)、多药耐药基因(MDR1)、ALDH1(编码醛脱氢酶1家族，成员A1)、FRANCF、RAD51C(编码RAD51Paralog C)、GCS(编码葡糖神经酰胺合成酶)、NKX2.2(编码NK2同源框2)或其任意组合。

[0165] 本公开的病毒载体可以包含至少一个自剪切肽。在一些实施方案中，该载体可以包含至少一个自剪切肽，并且其中自剪切肽位于CAR与选择基因之间。在一些实施方案中，该载体可以包含至少一个自剪切肽，并且其中第一自剪切肽位于CAR的上游，且第二自剪切肽位于CAR的下游。该自剪切肽可以包含例如T2A肽、GSG-T2A肽、E2A肽、GSG-E2A肽、F2A肽、GSG-F2A肽、P2A肽或GSG-P2A肽。T2A肽可以包含含有EGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:18)的氨基酸序列或与含有EGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:18)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。GSG-T2A肽可以包含含有GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:19)的氨基酸序列或与含有GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:19)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。GSG-T2A肽可以包含含有ggatctggagagggaaggggaagcctgctgacctgtggagacgtggaggaaaacccaggacca(SEQ ID NO:20)的核酸序列。E2A肽可以包含含有QCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:21)的氨基酸序列或与含有QCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:21)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。GSG-E2A肽可以包含含有GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:22)的

氨基酸序列或与含有GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:22)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。F2A肽可以包含含有VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:23)的氨基酸序列或与含有VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:23)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。GSG-F2A肽可以包含含有GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:24)的氨基酸序列或与含有GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:24)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。P2A肽可以包含含有ATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:25)的氨基酸序列或与含有ATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:25)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。GSG-P2A肽可以包含含有GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:26)的氨基酸序列或与含有GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:26)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。

[0166] 本公开提供包含本公开的CAR的载体。在某些实施方案中，该载体是mRNA载体。该载体可以是重组mRNA载体。可以在使本公开的T细胞与包含本公开的CAR的mRNA载体接触之前扩增该T细胞。包含该mRNA载体的T细胞、该修饰T细胞可以随后施用于受试者。

[0167] 本公开提供包含本公开的CAR的载体。在某些实施方案中，该载体是纳米粒子。本公开的示例性的纳米粒子载体包括但不限于核酸(例如RNA、DNA、合成核苷酸、修饰的核苷酸或其任意组合)、氨基酸(L-氨基酸、D-氨基酸、合成氨基酸、修饰的氨基酸或其任意组合)、聚合物(例如聚合物囊泡(polymersome))、胶束、脂质(例如脂质体)、有机分子(例如碳原子、片材、纤维、管)、无机分子(例如磷酸钙或金)或其任意组合。纳米粒子载体可以被动或主动地穿过细胞膜运输。

[0168] 本公开的纳米粒子载体可以包含选择基因。该选择基因可以编码对细胞活力和存活必不可少的基因产物。该选择基因可以编码被选择性细胞培养条件进行挑战时对细胞活力和存活必不可少的基因产物。选择性细胞培养条件可以包含对细胞活力或存活有害的化合物，并且其中该基因产物赋予对该化合物的抗性。本公开的示例性的选择基因可以包括但不限于neo(赋予对新霉素的抗性)、DHFR(编码二氢叶酸还原酶并赋予对氨甲蝶呤的抗性)、TYMS(编码胸苷酸合成酶)、MGMT(编码O(6)-甲基鸟嘌呤-DNA甲基转移酶)、多药耐药基因(MDR1)、ALDH1(编码醛脱氢酶1家族，成员A1)、FRANCF、RAD51C(编码RAD51Paralog C)、GCS(编码葡糖神经酰胺合成酶)、NKX2.2(编码NK2同源框2)或其任意组合。

[0169] 本公开的纳米粒子载体可以包含至少一个自剪切肽。在一些实施方案中，该纳米粒子载体可以包含至少一个自剪切肽，并且其中自剪切肽位于CAR与该纳米粒子之间。在一些实施方案中，该纳米粒子载体可以包含至少一个自剪切肽，并且其中第一自剪切肽位于CAR的上游，且第二自剪切肽位于CAR的下游。在一些实施方案中，该纳米粒子载体可以包含至少一个自剪切肽，且其中第一自剪切肽位于CAR与该纳米粒子之间，且第二自剪切肽位于CAR的下游，例如在CAR与选择基因之间。该自剪切肽可以包含例如T2A肽、GSG-T2A肽、E2A肽、GSG-E2A肽、F2A肽、GSG-F2A肽、P2A肽或GSG-P2A肽。T2A肽可以包含含有EGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:18)的氨基酸序列或与含有EGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:18)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。GSG-T2A肽可以包含含有GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:19)的氨基酸序列或与含有GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:19)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或

99％同一性的序列。GSG-T2A肽可以包含含有ggatctggagagggaaggggaagcctgctgacctgtggagacgtggaggaaaacccaggacca(SEQ ID NO:20)的核酸序列。E2A肽可以包含含有QCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:21)的氨基酸序列或与含有QCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:21)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。GSG-E2A肽可以包含含有GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:22)的氨基酸序列或与含有GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:22)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。F2A肽可以包含含有VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:23)的氨基酸序列或与含有VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:23)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。GSG-F2A肽可以包含含有GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:24)的氨基酸序列或与含有GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:24)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。P2A肽可以包含含有ATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:25)的氨基酸序列或与含有ATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:25)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。GSG-P2A肽可以包含含有GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:26)的氨基酸序列或与含有GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:26)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。

[0170] 本公开提供了包含本公开的载体的组合物。

[0171] CARTyrin

[0172] 本公开提供了嵌合抗原受体(CAR)，其包含：(a)包含抗原识别区的胞外结构域，其中该抗原识别区包含至少一个Centyrin；(b)跨膜结构域，和(c)包含至少一个共刺激结构域的胞内结构域。如本公开通篇中所用，包含Centyrin的CAR被称为CARTyrin。在某些实施方案中，该抗原识别区可以包含两个Centyrin以产生双特异性或串联CAR。在某些实施方案中，该抗原识别区可以包含三个Centyrin以产生三特异性CAR。在某些实施方案中，该胞外结构域可以进一步包含信号肽。或者或此外，在某些实施方案中，该胞外结构域可以进一步包含在抗原识别区与跨膜结构域之间的铰链。

[0173] 本公开提供了嵌合抗原受体(CAR)，其包含：(a)包含抗原识别区的胞外结构域，其中该抗原识别区包含至少一个蛋白质支架或抗体模拟物；(b)跨膜结构域，和(c)包含至少一个共刺激结构域的胞内结构域。在某些实施方案中，该抗原识别区可以包含两个支架蛋白或抗体模拟物以产生双特异性或串联CAR。在某些实施方案中，该抗原识别区可以包含三个蛋白质支架或抗体模拟物以产生三特异性CAR。在某些实施方案中，该胞外结构域可以进一步包含信号肽。或者或此外，在某些实施方案中，该胞外结构域可以进一步包含在抗原识别区与跨膜结构域之间的铰链。

[0174] 在本公开的CAR的某些实施方案中，该信号肽可以包含编码人CD2、CD3δ、CD3ε、CD3γ、CD3ζ、CD4、CD8α、CD19、CD28、4-1BB或GM-CSFR信号肽的序列。在本公开的CAR的某些实施方案中，该信号肽可以包含编码人CD8α信号肽的序列。该人CD8α信号肽可以包含含有MALPVTALLLPLALLLHAARP(SEQ ID NO:8)的氨基酸序列。该人CD8α信号肽可以包含含有MALPVTALLLPLALLLHAARP(SEQ ID NO:8)的氨基酸序列或与含有MALPVTALLLPLALLLHAARP(SEQ ID NO:8)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。可以通过包含atggcactgccagtcaccgccctgctgctgcctctggctctgctgctgcacgcagctagacca(SEQ ID

NO:9)的核酸序列编码所述人CD8α信号肽。

[0175] 在本公开的CAR的某些实施方案中，该跨膜结构域可以包含编码人CD2、CD3δ、CD3ε、CD3γ、CD3ζ、CD4、CD8α、CD19、CD28、4-1BB或GM-CSFR跨膜结构域的序列。在本公开的CAR的某些实施方案中，该跨膜结构域可以包含编码人CD8α跨膜结构域的序列。该CD8α跨膜结构域可以包含含有IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC(SEQ ID NO:10)的氨基酸序列或与含有IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC(SEQ ID NO:10)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。可以通过包含atctacatttgggcaccactggccgggacctgtggagtgctgctgctgagcctggtcatcacactgtactgc(SEQ ID NO:11)的核酸序列编码所述CD8α跨膜结构域。

[0176] 在本公开的CAR的某些实施方案中，该胞内结构域可以包含人CD3ζ胞内结构域。

[0177] 在本公开的CAR的某些实施方案中，所述至少一个共刺激结构域可以包含人4-1BB、CD28、CD40、ICOS、MyD88、OX-40细胞内区段，或其任意组合。在本公开的CAR的某些实施方案中，所述至少一个共刺激结构域可以包含CD28和/或4-1BB共刺激结构域。该CD28共刺激结构域可以包含含有RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR(SEQ ID NO:12)的氨基酸序列或与含有RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR(SEQ ID NO:12)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。可以通过包含cgcgtgaagtttagtcgatcagcagatgccccagcttacaaacagggacagaaccagctgtataacgagctgaatctgggccgccgagaggaatatgacgtgctggataagcggagaggacgcgaccccgaaatgggaggcaagcccaggcgcaaaaaccctcaggaaggcctgtataacgagctgcagaaggacaaaatggcagaagcctattctgagatcggcatgaaggggagcgacggagaggcaaagggcacgatgggctgtaccagggactgagcaccgccacaaaggacacctatgatgctctgcatatgcaggcactgcctccaagg(SEQ ID NO:13)的核酸序列编码所述CD28共刺激结构域。该4-1BB共刺激结构域可以包含含有KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL(SEQ ID NO:14)的氨基酸序列或与含有KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL(SEQ ID NO:14)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。可以通过包含aagagaggcaggaagaaactgctgtatattttcaaacagcccttcatgcgccccgtgcagactacccaggaggaagacgggtgctcctgtcgattccctgaggaagaggaaggcgggtgtgagctg(SEQ ID NO:15)的核酸序列编码所述4-1BB共刺激结构域。该4-1BB共刺激结构域可以位于该跨膜结构域与该CD28共刺激结构域之间。

[0178] 在本公开的CAR的某些实施方案中，该铰链可以包含衍生自人CD8α、IgG4和/或CD4序列的序列。在本公开的CAR的某些实施方案中，该铰链可以包含衍生自人CD8α序列的序列。该铰链可以包含含有TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD(SEQ ID NO:16)的人CD8α氨基酸序列或与含有TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD(SEQ ID NO:16)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。可以通过包含actaccacaccagcacctagaccaccaactccagctccaaccatcgcgagtcagcccctgagtctgagacctgaggcctgcaggccagctgcaggaggagctgtgcacaccaggggcctggacttcgcctgcgac(SEQ ID NO:17)的核酸序列编码所述人CD8α铰链氨基酸序列。

[0179] 本公开的Centyrin可以包含蛋白质支架，其中该支架能够特异性结合抗原。本公开的Centyrin可以包含含有至少一种III型纤连蛋白(FN3)结构域的共有序列的蛋白质支

架,其中该支架能够特异性结合抗原。所述至少一种III型纤连蛋白(FN3)结构域可以衍生自人类蛋白。所述人类蛋白可以是腱生蛋白-C。该共有序列可以包含LPAPKNLVVSEVTEDSLRLSWTAPDAAFDSFLIQYQESEKVGEAINLTVPGSERSYDLTGLKPGTEYTVSIYGVKGGHRSNPLSAEFTT(SEQ ID NO:1)或MLPAPKNLVVSEVTEDSLRLSWTAPDAAFDSFLIQYQESEKVGEAINLTVPGSERSYDLTGLKPGTEYTVSIYGVKGGHRSNPLSAEFTT(SEQ ID NO:2)。可以通过包含atgctgcctgcaccaaagaacctggtggtgtctcatgtgacagaggatagtgccagactgtcatggactgctcccgacgcagccttcgatagttttatcatcgtgtaccgggagaacatcgaaaccggcgaggccattgtcctgacagtgccagggtccgaacgctcttatgacctgacagatctgaagcccggaactgagtactatgtgcagatcgccggcgtcaaaggaggcaatatcagcttccctctgtccgcaatcttcaccaca(SEQ ID NO:3)的核酸序列编码该共有序列。该共有序列可以在以下部分中的一个或多个位置处被修饰:(a)在该共有序列的位置13-16处的包含或由氨基酸残基TEDS组成的A-B环;(b)在该共有序列的位置22-28处的包含或由氨基酸残基TAPDAAF组成的B-C环;(c)在该共有序列的位置38-43处的包含或由氨基酸残基SEKVGE组成的C-D环;(d)在该共有序列的位置51-54处的包含或由氨基酸残基GSER组成的D-E环;(e)在该共有序列的位置60-64处的包含或由氨基酸残基GLKPG组成的E-F环;(f)在该共有序列的位置75-81处的包含或由氨基酸残基KGGHRSN组成的F-G环;或(g)(a)-(f)的任意组合。本公开的Centyrin可以包含至少5个III型纤连蛋白(FN3)结构域、至少10个III型纤连蛋白(FN3)结构域或至少15个III型纤连蛋白(FN3)结构域的共有序列。该支架可以以至少选自小于或等于$10^{-9}$M、小于或等于$10^{-10}$M、小于或等于$10^{-11}$M、小于或等于$10^{-12}$M、小于或等于$10^{-13}$M、小于或等于$10^{-14}$M和小于或等于$10^{-15}$M的$K_D$的亲和力结合抗原。该$K_D$可通过表面等离子体共振来测定。

[0180] 本公开提供了包含本公开的CAR和至少一种可药用载剂的组合物。

[0181] 本公开提供了包含本公开的CAR的转座子。本公开的转座子以附加体形式维持或整合到该重组/修饰细胞的基因组中。该转座子可以是利用转座子和转座酶来增强非病毒基因转移的双组分piggyBac系统的一部分。

[0182] 本公开的转座子可以包含用于鉴别、富集和/或分离表达该转座子的细胞的选择基因。示例性的选择基因编码对细胞活力和存活必不可少的任何基因产物(例如转录物、蛋白、酶)。示例性的选择基因编码对赋予在不存在该选择基因编码的基因产物的情况下细胞对其敏感(或者其对该细胞可能致死)的药物挑战抗性必不可少的任何基因产物(例如转录物、蛋白、酶)。示例性的选择基因编码在不存在该选择基因的情况下在缺乏一种或多种对细胞活力和/或存活必不可少的营养素的细胞培养基中对活力和/或存活必不可少的任何基因产物(例如转录物、蛋白、酶)。示例性的选择基因包括但不限于neo(赋予对新霉素的抗性)、DHFR(编码二氢叶酸还原酶并赋予对氨甲蝶呤的抗性)、TYMS(编码胸苷酸合成酶)、MGMT(编码O(6)-甲基鸟嘌呤-DNA甲基转移酶)、多药耐药基因(MDR1)、ALDH1(编码醛脱氢酶1家族,成员A1)、FRANCF、RAD51C(编码RAD51 Paralog C)、GCS(编码葡糖神经酰胺合成酶)和NKX2.2(编码NK2同源框2)。

[0183] 本公开的转座子可以包含至少一个位于例如本公开的蛋白质支架、Centyrin或CARTyrin中的一种或多种与本公开的选择基因之间的自剪切肽。所述至少一个自剪切肽可以包含例如T2A肽、GSG-T2A肽、E2A肽、GSG-E2A肽、F2A肽、GSG-F2A肽、P2A肽或GSG-P2A肽。T2A肽可以包含含有EGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:18)的氨基酸序列或与含有

EGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:18)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。GSG-T2A肽可以包含含有GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:19)的氨基酸序列或与含有GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:19)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。GSG-T2A肽可以包含含有ggatctggagagggaaggggaagcctgctgacctgtggagacgtggaggaaaacccaggacca(SEQ ID NO:20)的核酸序列。E2A肽可以包含含有QCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:21)的氨基酸序列或与含有QCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:21)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。GSG-E2A肽可以包含含有GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:22)的氨基酸序列或与含有GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:22)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。F2A肽可以包含含有VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ NO:23)的氨基酸序列或与含有VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ NO:23)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。GSG-F2A肽可以包含含有GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:24)的氨基酸序列或与含有GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:24)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。P2A肽可以包含含有ATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:25)的氨基酸序列或与含有ATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:25)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。GSG-P2A肽可以包含含有GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:26)的氨基酸序列或与含有GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:26)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。

[0184] 本公开的转座子可以包含第一和第二自剪切肽，第一自剪切肽位于例如一个或多个本公开的蛋白质支架、Centyrin或CARTyrin的上游，第二自剪切肽位于例如一个或多个本公开的蛋白质支架、Centyrin或CARTyrin的下游。第一和/或第二自剪切肽可以包含例如T2A肽、GSG-T2A肽、E2A肽、GSG-E2A肽、F2A肽、GSG-F2A肽、P2A肽或GSG-P2A肽。T2A肽可以包含含有EGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:18)的氨基酸序列或与含有EGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:18)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。GSG-T2A肽可以包含含有GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:19)的氨基酸序列或与含有GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:19)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。GSG-T2A肽可以包含含有ggatctggagagggaaggggaagcctgctgacctgtggagacgtggaggaaaacccaggacca(SEQ ID NO:20)的核酸序列。E2A肽可以包含含有QCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:21)的氨基酸序列或与含有QCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:21)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。GSG-E2A肽可以包含含有GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:22)的氨基酸序列或与含有GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:22)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。F2A肽可以包含含有VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:23)的氨基酸序列或与含有VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:23)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。GSG-F2A肽可以包含含有GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:24)的氨基酸序列或与含有GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:24)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。P2A肽可以包含含有ATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:25)的氨

基酸序列或与含有ATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:25)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。GSG-P2A肽可以包含含有GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:26)的氨基酸序列或与含有GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:26)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。

[0185] 本公开提供了包含本公开的转座子的组合物。在某些实施方案中，引入该组合物的方法可以进一步包括包含质粒的组合物，所述质粒包含编码转座酶的序列。编码转座酶的序列可以是mRNA序列。

[0186] 本公开的转座子可以包含piggyBac转座子。本公开的转座酶可以包括piggyBac转座酶或相容酶。

[0187] 本公开提供了包含本公开的CAR的载体。在某些实施方案中，该载体是病毒载体。该载体可以是重组载体。

[0188] 本公开的病毒载体可以包含从逆转录病毒、慢病毒、腺病毒、腺相关病毒或其任意组合中分离或衍生的序列。该病毒载体可以包含从腺相关病毒(AAV)中分离或衍生的序列。该病毒载体可以包含重组AAV(rAAV)。本公开的示例性的腺相关病毒和重组腺相关病毒包含以顺式紧邻编码本公开的蛋白质支架、Centyrin或CARTyrin的序列定位的两个或多个反向末端重复(ITR)序列。本公开的示例性的腺相关病毒和重组腺相关病毒包括但不限于所有血清型(例如AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8和AAV9)。本公开的示例性的腺相关病毒和重组腺相关病毒包括但不限于自身互补型AAV(scAAV)和含有一种血清型的基因组与另一血清型的衣壳的AAV杂合体(例如AAV2/5、AAV-DJ和AAV-DJ8)。本公开的示例性的腺相关病毒和重组腺相关病毒包括但不限于rAAV-LK03。

[0189] 本公开的病毒载体可以包含选择基因。该选择基因可以编码对细胞活力和存活必不可少的基因产物。该选择基因可以编码通过选择性细胞培养条件进行挑战时对细胞活力和存活必不可少的基因产物。选择性细胞培养条件可以包含对细胞活力或存活有害的化合物，并且其中该基因产物赋予对该化合物的抗性。本公开的示例性的选择基因可以包括但不限于neo(赋予对新霉素的抗性)、DHFR(编码二氢叶酸还原酶并赋予对氨甲蝶呤的抗性)、TYMS(编码胸苷酸合成酶)、MGMT(编码O(6)-甲基鸟嘌呤-DNA甲基转移酶)、多药耐药基因(MDR1)、ALDH1(编码醛脱氢酶1家族，成员A1)、FRANCF、RAD51C(编码RAD51Paralog C)、GCS(编码葡糖神经酰胺合成酶)、NKX2.2(编码NK2同源框2)或其任意组合。

[0190] 本公开的病毒载体可以包含至少一个自剪切肽。在一些实施方案中，该载体可以包含至少一个自剪切肽，并且其中自剪切肽位于CAR与选择基因之间。在一些实施方案中，该载体可以包含至少一个自剪切肽，并且其中第一自剪切肽位于CAR的上游，并且第二自剪切肽位于CAR的下游。该自剪切肽可以包含例如T2A肽、GSG-T2A肽、E2A肽、GSG-E2A肽、F2A肽、GSG-F2A肽、P2A肽或GSG-P2A肽。T2A肽可以包含含有EGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:18)的氨基酸序列或与含有EGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:18)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。GSG-T2A肽可以包含含有GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:19)的氨基酸序列或与含有GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:19)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。GSG-T2A肽可以包含含有ggatctggagagggaaggggaagcctgctgacctgtggagacgtggaggaaaacccaggaccaSEQ ID NO:20)的核酸序列(。E2A肽可以包含含有QCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:

21)的氨基酸序列或与含有QCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:21)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。GSG-E2A肽可以包含含有GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:22)的氨基酸序列或与含有GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:22)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。F2A肽可以包含含有VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:23)的氨基酸序列或与含有VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:23)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。GSG-F2A肽可以包含含有GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:24)的氨基酸序列或与含有GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:24)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。P2A肽可以包含含有ATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:25)的氨基酸序列或与含有ATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:25)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。GSG-P2A肽可以包含含有GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:26)的氨基酸序列或与含有GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:26)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。

[0191] 本公开提供包含本公开的CAR的载体。在某些实施方案中，该载体是mRNA载体。该载体可以是重组mRNA载体。可以在使本公开的T细胞与包含本公开的CAR的mRNA载体接触之前扩增该T细胞。包含该mRNA载体的T细胞、该修饰T细胞可以随后施用于受试者。

[0192] 本公开提供了包含本公开的CAR的载体。在某些实施方案中，该载体是纳米粒子。本公开的示例性的纳米粒子载体包括但不限于核酸(例如RNA、DNA、合成核苷酸、修饰的核苷酸或其任意组合)、氨基酸(L-氨基酸、D-氨基酸、合成氨基酸、修饰的氨基酸或其任意组合)、聚合物(例如聚合物囊泡)、胶束、脂质(例如脂质体)、有机分子(例如碳原子、片材、纤维、管)、无机分子(例如磷酸钙或金)或其任意组合。纳米粒子载体可以被动或主动地穿过细胞膜运输。

[0193] 本公开的纳米粒子载体可以包含选择基因。该选择基因可以编码对细胞活力和存活必不可少的基因产物。该选择基因可以编码通过选择性细胞培养条件进行挑战时对细胞活力和存活必不可少的基因产物。选择性细胞培养条件可以包含对细胞活力或存活有害的化合物，并且其中该基因产物赋予对该化合物的抗性。本公开的示例性的选择基因可以包括但不限于neo(赋予对新霉素的抗性)、DHFR(编码二氢叶酸还原酶并赋予对氨甲蝶呤的抗性)、TYMS(编码胸苷酸合成酶)、MGMT(编码O(6)-甲基鸟嘌呤-DNA甲基转移酶)、多药耐药基因(MDR1)、ALDH1(编码醛脱氢酶1家族，成员A1)、FRANCF、RAD51C(编码RAD51Paralog C)、GCS(编码葡糖神经酰胺合成酶)、NKX2.2(编码NK2同源框2)或其任意组合。

[0194] 本公开的纳米粒子载体可以包含至少一个自剪切肽。在一些实施方案中，该纳米粒子载体可以包含至少一个自剪切肽，并且其中自剪切肽位于CAR与纳米粒子之间。在一些实施方案中，该纳米粒子载体可以包含至少一个自剪切肽，并且其中第一自剪切肽位于CAR的上游，并且第二自剪切肽位于CAR的下游。在一些实施方案中，该纳米粒子载体可以包含至少一个自剪切肽，并且其中第一自剪切肽位于CAR与纳米粒子之间，并且第二自剪切肽位于CAR的下游。在一些实施方案中，该纳米粒子载体可以包含至少一个自剪切肽，并且其中第一自剪切肽位于CAR与纳米粒子之间，并且第二自剪切肽位于CAR的下游，例如在CAR于选择基因之间。该自剪切肽可以包含例如T2A肽、GSG-T2A肽、E2A肽、GSG-E2A肽、F2A肽、GSG-

F2A肽、P2A肽或GSG-P2A肽。T2A肽可以包含含有EGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:18)的氨基酸序列或与含有EGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:18)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。GSG-T2A肽可以包含含有GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:19)的氨基酸序列或与含有GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:19)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。GSG-T2A肽可以包含含有ggatctggagagggaaggggaagcctgctgacctgtggagacgtggaggaaaacccaggacca

[0195] (SEQ ID NO:20)的核酸序列。E2A肽可以包含含有QCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:21)的氨基酸序列或与含有QCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:21)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。GSG-E2A肽可以包含含有GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:22)的氨基酸序列或与含有GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:22)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。F2A肽可以包含含有VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:23)的氨基酸序列或与含有VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:23)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。GSG-F2A肽可以包含含有GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:24)的氨基酸序列或与含有GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:24)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。P2A肽可以包含含有ATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:25)的氨基酸序列或与含有ATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:25)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。GSG-P2A肽可以包含含有GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:26)的氨基酸序列或与含有GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:26)的氨基酸序列具有至少70％、80％、90％、95％或99％同一性的序列。

[0196] 本公开提供了包含本公开的载体的组合物。

[0197] 支架蛋白

[0198] Centyrin是本公开的蛋白质支架的一个实例。本公开的CAR的抗原识别区可以包含至少一个蛋白质支架。

[0199] 本公开的蛋白质支架可以衍生自III型纤连蛋白(FN3)重复蛋白，编码或互补核酸、载体、宿主细胞、组合物、组合、制剂、装置以及制造和使用其的方法。在一个优选实施方案中，该蛋白质支架由来自人腱生蛋白-C(下文称为“腱生蛋白”)的多个FN3结构域的共有序列组成。在另一优选实施方案中，本发明的蛋白质支架是15个FN3结构域的共有序列。本公开的蛋白质支架可以设计为结合各种分子，例如，细胞靶蛋白。在一个优选实施方案中，本公开的蛋白质支架可以设计为结合抗原的野生型和/或变体形式的表位。

[0200] 本公开的蛋白质支架可以包括附加的分子或部分，例如，抗体的Fc区、白蛋白结合结构域或影响半衰期的其它部分。在进一步的实施方案中，本公开的蛋白质支架可以结合到可编码该蛋白质支架的核酸分子上。

[0201] 本公开提供了至少一种在宿主细胞中表达至少一种基于多个FN3结构域的共有序列的蛋白质支架的方法，包括在其中以可检测和/或可回收的量表达至少一种蛋白质支架的条件下培养本文中所述的宿主细胞。

[0202] 本公开提供了至少一种组合物，其包含(a)基于多个FN3结构域的共有序列和/或本文中所述的编码核酸的蛋白质支架；和(b)合适的和/或可药用的载剂或稀释剂。

[0203] 本公开提供了生成基于III型纤连蛋白(FN3)重复蛋白,优选多个FN3结构域的共有序列和更优选来自人腱生蛋白的多个FN3结构域的共有序列的蛋白质支架的文库的方法。通过在支架的部分中在特定位置处(例如环区)改变(通过突变)分子中的氨基酸或氨基酸数目来制造连续世代的支架,由此形成该文库。可以通过改变支架分子的单环的氨基酸组成或同时改变多个环或附加的位置来产生文库。被改变的环可以相应地延长或缩短。可以产生此类文库以包括在各位置处所有可能的氨基酸,或设计的氨基酸子集。文库成员可用于通过展示,如体外或CIS展示(DNA、RNA、核糖体展示等)、酵母、细菌和噬菌体展示来进行筛选。

[0204] 本公开的蛋白质支架提供了增强的生物物理特性,如在还原条件下的稳定性和在高浓度下的溶解度;它们可以在原核系统(如E.coli)中、在真核系统(如酵母)中和在体外转录/翻译系统(如兔网织红细胞裂解物系统)中表达和折叠。

[0205] 本公开提供了基于III型纤连蛋白(FN3)重复蛋白的共有序列的分离、重组和/或合成的蛋白质支架,包括但不限于来源于哺乳动物的支架,以及包含至少一个编码基于共有FN3序列的蛋白质支架的多核苷酸的组合物和编码核酸分子。本公开进一步包括但不限于制造和使用此类核酸和蛋白质支架的方法,包括诊断和治疗组合物、方法与装置。

[0206] 本公开的蛋白质支架提供优于传统疗法的优点,如局部、经口或穿过血脑屏障施用的能力、允许随来源而变的比较哺乳动物细胞表达能力提高蛋白表达的在大肠杆菌中表达的能力以便被改造成结合多个靶或同一靶的多个表位的双特异性或串联分子、与药物、聚合物和探针轭合的能力、配制成高浓度的能力、以及此类分子有效穿透患病组织和肿瘤的能力。

[0207] 此外,该蛋白质支架具有许多与其折叠相关的抗体性质,所述折叠模拟抗体的可变区。这种取向使FN3环能够类似于抗体互补决定区(CDR)那样暴露。它们应当能够结合细胞靶标,并且该环可以被改变,例如成熟的亲和力,以改善某些结合或相关特性。

[0208] 本公开的蛋白质支架的六个环中的三个在拓扑学上对应于抗体的互补决定区(CDR 1-3),即抗原结合区,而其余三个环以类似于抗体CDR的方式表面暴露。这些环横跨在SEQ ID NO:1的残基13-16、22-28、38-43、51-54、60-64和75-81上或其附近。优选地,为了结合特异性和亲和力,改变在残基22-28、51-54和75-81处或附近的环区。这些环区中的一个或多个与其它环区和/或其它链一起随机化,保持它们的序列作为主链部分以丰富文库,并且有效的结合物可以选自对特定蛋白质靶具有高亲和力的文库。该环区的一个或多个可以与靶蛋白相互作用,类似于抗体CDR与该蛋白的相互作用。

[0209] 本公开的支架可以包含单链抗体(例如scFv)。本公开的单链抗体可以包含抗体的三个轻链和三个重链CDR。在某些实施方案中,本公开的单链抗体包含抗体的三个轻链和三个重链CDR,其中该单链抗体的互补性决定区(CDR)是人序列。本公开提供了嵌合抗原受体(CAR),其包含:(a)含有抗原识别区的胞外结构域,其中该抗原识别区包含至少一个单链抗体(例如scFv);(b)跨膜结构域,和(c)包含至少一个共刺激结构域的胞内结构域。在某些实施方案中,该抗原识别区可以包含两个单链抗体(例如两个scFvs以产生双特异性或串联CAR。在某些实施方案中,该抗原识别区可以包含三个单链抗体(例如三个scFv)以产生三特异性CAR。在某些实施方案中,该胞外结构域可以进一步包含信号肽。或者或此外,在某些实施方案中,该胞外结构域可以进一步包含在抗原识别区与跨膜结构域之间的铰链。

[0210] 本公开的支架可以包含含有抗体的一个或多个片段的序列(例如VHH)。本公开的含有抗体的一个或多个片段的序列可以包含抗体的两个重链可变区。在某些实施方案中，该序列包含抗体的两个重链可变区，其中该VHH的互补决定区(CDR)是人序列。本公开的支架可以包含含有抗体的一个或多个片段的序列(例如VHH)。本公开提供了嵌合抗原受体(CAR)，其包含：(a)含有抗原识别区的胞外结构域，其中该抗原识别区包含至少一个含有抗体的一个或多个片段的序列(例如VHH)；(b)跨膜结构域，和(c)包含至少一个共刺激结构域的胞内结构域。在某些实施方案中，该抗原识别区可以包含两个含有抗体的一个或多个片段的序列(例如两个VHHs)以产生双特异性或串联CAR。在某些实施方案中，该抗原识别区可以包含三个含有抗体的一个或多个片段的序列(例如三个VHH)以产生三特异性CAR。在某些实施方案中，该胞外结构域可以进一步包含信号肽。或者或此外，在某些实施方案中，该胞外结构域可以进一步包含在抗原识别区与跨膜结构域之间的铰链。

[0211] 本公开的支架可以包含抗体模拟物。

[0212] 术语“抗体模拟物”意在描述特异性结合靶序列并具有不同于天然存在的抗体的结构的有机化合物。抗体模拟物可以包含蛋白质、核酸或小分子。本公开的抗体模拟物特异性结合的靶序列可以是抗原。抗体模拟物可以提供优于抗体的优异特性，包括但不限于优异的溶解性、组织穿透性、对热和酶的稳定性(例如对酶促降解的抗性)以及更低的生产成本。示例性的抗体模拟物包括但不限于亲和体(affibody)、afflilin、affimer、affitin、α体、anticalin和avimer(也称为avidity多聚体)、DARPin(设计的Ankyrin重复蛋白)、Fynomer、Kunitz结构域肽和单体(monobody)。

[0213] 本公开的亲和体分子包含含有一个或多个α螺旋或由一个或多个α螺旋组成的蛋白质支架，不含任何二硫键。优选地，本公开的亲和体分子包含三个α螺旋或由三个α螺旋组成。例如，本公开的亲和体分子可以包含免疫球蛋白结合结构域。本公开的亲和体分子可以包含蛋白质A的Z结构域。

[0214] 本公开的Affilin分子包含通过修饰例如γ-B晶体蛋白或遍在蛋白的暴露的氨基酸产生的蛋白质支架。Affilin分子在功能上模拟抗体对抗原的亲和力，但是结构上不模仿抗体。在用于制造affilin的任何蛋白质支架中，可以接近溶剂或在正确折叠的蛋白分子中可能的结合配偶体的那些氨基酸被认为是暴露的氨基酸。这些暴露的氨基酸的任意一种或多种可以被修饰以特异性结合靶序列或抗原。

[0215] 本公开的Affimer分子包含含有被改造以显示肽环的高度稳定蛋白的蛋白质支架，所述肽环为特异性靶序列提供高亲和力结合位点。本公开的示例性的affimer分子包含基于半胱氨酸蛋白酶抑制剂蛋白或其三级结构的蛋白质支架。本公开的示例性的affimer分子可以共享包含位于反平行β片层顶部的α螺旋的共同三级结构。

[0216] 本公开的Affitin分子包含人造蛋白质支架，其结构可以例如衍生自DNA结合蛋白(例如DNA结合蛋白Sac7d)。本公开的Affitin选择性结合靶序列，其可以是整个抗原或抗原的一部分。本公开的示例性affitin通过在DNA结合蛋白的结合表面上随机化一个或多个氨基酸序列并对所得蛋白质施以核糖体展示和选择来制造。本公开的affitin的靶序列例如可以在肽、蛋白、病毒或细菌的基因组中或其表面上找到。在本公开的某些实施方案中，affitin分子可以用作酶的特异性抑制剂。本公开的Affitin分子可以包括耐热蛋白质或其衍生物。

[0217] 本公开的α体分子也可以被称为细胞穿透α体(CPAB)。本公开的α体分子包含结合多种靶序列(包括抗原)的小蛋白质(通常小于10kDa)。α体分子能够到达并结合细胞内靶序列。在结构上,本公开的α体分子包含形成单链α螺旋(类似于天然存在的卷曲螺旋结构)的人工序列。本公开的α体分子可以包含含有一个或多个被修饰以特异性结合靶蛋白的氨基酸的蛋白质支架。无论该分子的结合特异性如何,本公开的α体分子都能保持正确的折叠和热稳定性。

[0218] 本公开的Anticalin分子包含结合蛋白或小分子中的靶序列或位点的人工蛋白。本公开的Anticalin分子可以包含衍生自人脂质运载蛋白的人工蛋白。本公开的Anticalin分子可用于替代例如单克隆抗体或其片段。与单克隆抗体或其片段相比,Anticalin分子可以表现出优异的组织穿透性和热稳定性。本公开的示例性的anticalin分子可以包含大约180个氨基酸,具有大约20kDa的质量。在结构上,本公开的anticalin分子包含含有通过环成对连接的反平行β链的桶结构和附接的α螺旋。在优选的实施方案中,本公开的anticalin分子包含含有通过环成对连接的八个反平行β链的桶结构和附接的α螺旋。

[0219] 本公开的Avimer分子包含特异性结合靶序列(其也可以是抗原)的人工蛋白。本公开的Avimer可以识别同一靶中或不同靶中的多个结合位点。当本公开的avimer识别超过一个靶时,该avimer模拟双特异性抗体的功能。该人工蛋白avimer可以包含两个或多个各自具有大约30-35个氨基酸的肽序列。这些肽可以经由一个或多个接头肽来连接。该avimer的一个或多个肽的氨基酸序列可以衍生自膜受体的A结构域。Avimer具有刚性结构,其可以任选包含二硫键和/或钙。与抗体相比,本公开的Avimer可以表现出更大的热稳定性。

[0220] 本公开的DARPin(设计的锚蛋白重复序列蛋白)包含对靶序列具有高特异性和高亲和力的基因改造的、重组的或嵌合的蛋白。在某些实施方案中,本公开的DARPin衍生自锚蛋白,并任选包含该锚蛋白的至少三个重复基序(也称为重复结构单元)。锚蛋白介导高亲和力蛋白-蛋白相互作用。本公开的DARPin包含大的靶标相互作用表面。

[0221] 本公开的Fynomer包含衍生自人Fyn SH3结构域并改造成以与抗体相同的亲和力和相同的特异性结合靶序列和分子的小结合蛋白(大约7kDa)。

[0222] 本公开的Kunitz结构域肽包含含有Kunitz结构域的蛋白质支架。Kunitz结构域包含用于抑制蛋白酶活性的活性位点。在结构上,本公开的Kunitz结构域包含富含二硫键的α+β折叠。这种结构的例子是牛胰蛋白酶抑制剂。Kunitz结构域肽识别特定的蛋白结构,并充当竞争性蛋白酶抑制剂。本公开的Kunitz结构域可以包含Ecallantide(衍生自人脂蛋白相关的凝集抑制物(LACI))。

[0223] 本公开的单体是大小与单链抗体相当的小蛋白质(包含大约94个氨基酸并具有大约10kDa的质量)。这些基因改造的蛋白特异性结合靶序列包括抗原。本公开的单体可以特异性靶向一个或多个不同的蛋白或靶序列。在优选的实施方案中,本公开的单体包含模拟人纤连蛋白的结构,更优选模拟纤连蛋白的第十胞外III型结构域的结构的蛋白质支架。纤连蛋白的第十胞外III型结构域以及其单体模拟物含有七个形成桶的β片层和在每一侧上对应于抗体的三个互补决定区(CDR)的三个暴露的环。与抗体的可变结构域的结构相反,单体缺少对金属离子的任何结合位点以及中心二硫键。可以通过修饰环BC和FG来优化多特异性单体。本公开的单体可以包含adnectin。

[0224] 支架蛋白的生产和生成

[0225] 本公开的至少一种支架蛋白可以如本领域中公知的那样任选通过细胞系、混合细胞系、无限增殖化细胞或无限增殖化细胞的克隆种群生产。参见例如Ausubel等人,编者,Current Protocols in Molecular Biology,John Wiley&Sons,Inc.,NY,N.Y.(1987-2001);Sambrook等人,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,第2版,Cold Spring Harbor,N.Y.(1989);Harlow和Lane,Antibodies,a Laboratory Manual,Cold Spring Harbor,N.Y.(1989);Colligan等人,编者,Current Protocols in Immunology,John Wiley&Sons,Inc.,NY(1994-2001);Colligan等人,Current Protocols in Protein Science,John Wiley&Sons,NY,N.Y.,(1997-2001)。

[0226] 如本领域中已知的那样,可以改变、添加和/或删除来自支架蛋白的氨基酸以降低免疫原性或降低、增强或修改结合、亲和力、结合速率(on-rate)、解离速率(off-rate)、抗体亲抗原性、特异性、半衰期、稳定性、溶解性或任何其它合适的特性。

[0227] 任选地,支架蛋白可以被改造,同时保留对抗原的高亲和力和其它有利的生物学特性。为了实现这一目的,可以任选通过利用亲本和改造的序列的三维模型来分析亲本序列和各种概念改造的产物的方法制备该支架蛋白。三维模型是普遍存在的并且是本领域技术人员熟悉的。可得的计算机程序描述和显示所选候选序列的可能的三维构象结构,并可以测量可能的免疫原性(例如Monrovia,Calif.的Xencor,Inc.的Immunofilter程序)。检查这些展示能够分析残基在候选序列功能中的可能的作用,即分析影响候选支架蛋白结合其抗原的能力的残基。以这种方式,可以从亲本和参考序列中选择和组合残基,以便实现所需的特性,如对靶抗原的亲和力。作为上述过程的替代或补充,可以使用其它合适的改造方法。

[0228] piggyBac转座子系统

[0229] 无论本公开的用于将抗原受体引入原代人T细胞的方法如何,本公开的方法均生产本公开的修饰$T_{SCM}$。当使用piggyBac转座子系统将本公开的抗原受体或治疗蛋白引入原代人T细胞时,本公开的方法以更大的功效和/或更大的本公开的修饰$T_{SCM}$的丰度、比例、产率生产本公开的修饰$T_{SCM}$。本公开的piggyBac转座子系统可以包含含有本公开的抗原受体的piggyBac转座子。优选地,该原代人T细胞同时接触含有本公开的抗原受体的piggyBac转座子和本公开的转座酶(或时间非常接近),例如在将转座子与转座酶引入细胞之前,原代人T细胞、转座子和转座酶包含在同一容器(如小玻璃管)中——但是不允许它们在不存在细胞的情况下相互作用。优选地,在将转座子与转座酶引入细胞之前,该原代人T细胞同时接触包含本公开的抗原受体的piggyBac转座子和本公开的Super piggyBac™(SPB)转座酶。在某些优选实施方案中,该Super piggyBac™(SPB)转座酶是编码该SuperpiggyBac™(SPB)转座酶的mRNA序列。

[0230] 关于piggyBac转座子和Super piggyBac™(SPB)转座酶的其它公开内容可以在国际专利公开WO 2010/099296、美国专利号8,399,643、美国专利号9,546,382、美国专利号6,218,185、美国专利号6,551,825、美国专利号6,962,810和美国专利号7,105,343中找到,其内容均经此引用全文并入本文。

[0231] 本公开提供了将包含DNA序列的多核苷酸构建体引入宿主细胞的方法。优选地,该引入步骤由该piggyBac转座子系统介导。

[0232] 在本公开的方法的某些实施方案中,该转座子是具有编码该抗原受体或该治疗蛋

白的序列的质粒DNA转座子，该序列侧翼是两个顺式调控隔离子元件。在某些实施方案中，该转座子是piggyBac转座子。在某些实施方案中，特别是在其中转座子为piggyBac转座子的那些实施方案中，该转座酶是piggyBac™或Super piggyBac™(SPB)转座酶。在某些实施方案中，特别是在其中转座酶为Super piggyBac™(SPB)转座酶的那些实施方案中，编码该转座酶的序列是mRNA序列。

[0233] 在本公开的方法的某些实施方案中，该转座酶是piggyBac™(PB)转座酶。该piggyBac(PB)转座酶可以包含或由其至少75％、80％、85％、90％、95％、99％或其间的任意百分比与以下相同的氨基酸序列组成：

[0234]

1 MGSSLDDEHI LSALLQSDDE LVGEDSDSEI SDHVSEDDVQ SDTEEAFIDE VHEVQPTSSG

61 SEILDEQNVI EQPGSSLASN RILTLPQRTI RGKNKHCWST SKSTRRSRVS ALNIVRSQRG

121 PTRMCRNIYD PLLCFKLFFT DEIISEIVKW TNAEISLKRR ESMTGATFRD TNEDEIYAFF

181 GILVMTAVRK DNHMSTDDLF DRSLSMVYVS VMSRDRFDFL IRCLRMDDKS IRPTLRENDV

241 FTPVRKIWDL FIHQCIQNYT PGAHLTIDEQ LLGFRGRCPF RMYIPNKPSK YGIKILMMCD

301 SGYKYMINGM PYLGRGTQTN GVPLGEYYVK ELSKPVHGSC RNITCDNWFT SIPLAKNLLQ

361 EPYKLTIVGT VRSNKREIPE VLKNSRSRPV GTSMFCFDGP LTLVSYKPKP AKMVYLLSSC

421 DEDASINEST GKPQMVMYYN QTKGGVDTLD QMCSVMTCSR KTNRWPMALL YGMINIACIN

481 SFIIYSHNVS SKGEKVQSRK KFMRNLYMSL TSSFMRKRLE APTLKRYLRD NISNILPNEV

541 PGTSDDSTEE PVMKKRTYCT YCPSKIRRKA NASCKKCKKV ICREHNIDMC QSCF（SEQ ID NO:4）。

[0235] 在本公开的方法的某些实施方案中，该转座酶是piggyBac™(PB)转座酶，其包含在以下序列的位置30、165、282或538中的一个或多个处具有氨基酸置换的氨基酸序列或由所述氨基酸序列组成：

[0236]

1 MGSSLDDEHI LSALLQSDDE LVGEDSDSEI SDHVSEDDVQ SDTEEAFIDE VHEVQPTSSG

61 SEILDEQNVI EQPGSSLASN RILTLPQRTI RGKNKHCWST SKSTRRSRVS ALNIVRSQRG

121 PTRMCRNIYD PLLCFKLFFT DEIISEIVKW TNAEISLKRR ESMTGATFRD TNEDEIYAFF

181 GILVMTAVRK DNHMSTDDLF DRSLSMVYVS VMSRDRFDFL IRCLRMDDKS IRPTLRENDV

241 FTPVRKIWDL FIHQCIQNYT PGAHLTIDEQ LLGFRGRCPF RMYIPNKPSK YGIKILMMCD

301 SGYKYMINGM PYLGRGTQTN GVPLGEYYVK ELSKPVHGSC RNITCDNWFT SIPLAKNLLQ

361 EPYKLTIVGT VRSNKREIPE VLKNSRSRPV GTSMFCFDGP LTLVSYKPKP AKMVYLLSSC

421 DEDASINEST GKPQMVMYYN QTKGGVDTLD QMCSVMTCSR KTNRWPMALL YGMINIACIN

481 SFIIYSHNVS SKGEKVQSRK KFMRNLYMSL TSSFMRKRLE APTLKRYLRD NISNILPNEV

541 PGTSDDSTEE PVMKKRTYCT YCPSKIRRKA NASCKKCKKV ICREHNIDMC QSCF（SEQ ID NO:4）。

[0237] 在某些实施方案中，该转座酶是piggyBac™(PB)转座酶，其包含在SEQ ID NO:4的序列的位置30、165、282或538中的两个或更多处具有氨基酸置换的氨基酸序列或由所述氨基酸序列组成。在某些实施方案中，该转座酶是piggyBac™(PB)转座酶，其包含在SEQ ID NO:4的序列的位置30、165、282或538中的三个或更多处具有氨基酸置换的氨基酸序列或由所述氨基酸序列组成。在某些实施方案中，该转座酶是piggyBac™(PB)转座酶，其包含在SEQ ID NO:4的序列的以下位置30、165、282或538中的每一个处具有氨基酸置换的氨基酸序列

或由所述氨基酸序列组成。在某些实施方案中，在SEQ ID NO:4的序列的位置30处的氨基酸置换是缬氨酸(V)置换异亮氨酸(I)。在某些实施方案中，在SEQ ID NO:4的序列的位置165处的氨基酸置换是丝氨酸(S)置换甘氨酸(G)。在某些实施方案中，在SEQ ID NO:4的序列的位置282处的氨基酸置换是缬氨酸(V)置换蛋氨酸(M)。在某些实施方案中，在SEQ ID NO:4的序列的位置538处的氨基酸置换是赖氨酸(K)置换天冬酰胺(N)。

[0238] 在本公开的方法的某些实施方案中，该转座酶是Super piggyBac™(SPB)转座酶。在某些实施方案中，本公开的Super piggyBac™(SPB)转座酶可以包含其中在位置30处的氨基酸置换是缬氨酸(V)置换异亮氨酸(I)、在位置165处的氨基酸置换是丝氨酸(S)置换甘氨酸(G)、在位置282处的氨基酸置换是缬氨酸(V)置换蛋氨酸(M)和在位置538处的氨基酸置换是赖氨酸(K)置换天冬酰胺(N)的SEQ ID NO:4的序列的氨基酸序列或由所述氨基酸序列组成。在某些实施方案中，该Super piggyBac(SPB)转座酶可以包含或由其至少75%、80%、85%、90%、95%、99%或其间的任意百分比与以下相同的氨基酸序列组成：

[0239]

1 MGSSLDDEHI LSALLQSDDE LVGEDSDSEV SDHVSEDDVQ SDTEEAFIDE VHEVQPTSSG

61 SEILDEQNVI EQPGSSLASN RILTLPQRTI RGKNKHCWST SKSTRRSRVS ALNIVRSQRG

121 PTRMCRNIYD PLLCFKLFFT DEIISEIVKW TNAEISLKRR ESMTSATFRD TNEDEIYAFF

181 GILVMTAVRK DNHMSTDDLF DRSLSMVYVS VMSRDRFDFL IRCLRMDDKS IRPTLRENDV

241 FTPVRKIWDL FIHQCIQNYT PGAHLTIDEQ LLGFRGRCPF RVYIPNKPSK YGIKILMMCD

301 SGTKYMINGM PYLGRGTQTN GVPLGEYYVK ELSKPVHGSC RNITCDNWFT SIPLAKNLLQ

361 EPYKLTIVGT VRSNKREIPE VLKNSRSRPV GTSMFCFDGP LTLVSYKPKP AKMVYLLSSC

421 DEDASINEST GKPQMVMYYN QTKGGVDTLD QMCSVMTCSR KTNRWPMALL YGMINIACIN

481 SFIIYSHNVS SKGEKVQSRK KFMRNLYMSL TSSFMRKRLE APTLKRYLRD NISNILPKEV

541 PGTSDDSTEE PVMKKRTYCT YCPSKIRRKA NASCKKCKKV ICREHNIDMC QSCF（SEQ ID NO:5）。

[0240] 在本公开的方法的某些实施方案中，包括其中该转座酶在位置30、165、282和/或538处包含上述突变的那些实施方案，该piggyBac™或Super piggyBac™转座酶可以进一步包含在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的序列的位置3、46、82、103、119、125、177、180、185、187、200、207、209、226、235、240、241、243、258、296、298、311、315、319、327、328、340、421、436、456、470、486、503、552、570和591中的一个或多个处的氨基酸置换。在某些实施方案中，包括其中该转座酶在位置30、165、282和/或538处包含上述突变的那些实施方案，该piggyBac™或Super piggyBac™转座酶可以进一步包含在位置46、119、125、177、180、185、187、200、207、209、226、235、240、241、243、296、298、311、315、319、327、328、340、421、436、456、470、485、503、552和570中的一个或多个处的氨基酸置换。在某些实施方案中，在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置3处的氨基酸置换是天冬酰胺(N)置换丝氨酸(S)。在某些实施方案中，在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置46处的氨基酸置换是丝氨酸(S)置换丙氨酸(A)。在某些实施方案中，在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置46处的氨基酸置换是苏氨酸(T)置换丙氨酸(A)。在某些实施方案中，在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置82处的氨基酸置换是色氨酸(W)置换异亮氨酸(I)。在某些实施方案中，在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置103处的氨基酸置换是脯氨酸(P)置换丝氨酸(S)。在某些实施方案中，在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置119处的氨基酸置换是脯氨酸(P)置换精氨酸(R)。在某些实施方

案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置125处的氨基酸置换是丙氨酸(A)置换半胱氨酸(C)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置125处的氨基酸置换是亮氨酸(L)置换半胱氨酸(C)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置177处的氨基酸置换是赖氨酸(K)置换酪氨酸(Y)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置177处的氨基酸置换是组氨酸(H)置换酪氨酸(Y)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置180处的氨基酸置换是亮氨酸(L)置换苯丙氨酸(F)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置180处的氨基酸置换是异亮氨酸(I)置换苯丙氨酸(F)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置180处的氨基酸置换是缬氨酸(V)置换苯丙氨酸(F)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置185处的氨基酸置换是亮氨酸(L)置换蛋氨酸(M)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置187处的氨基酸置换是甘氨酸(G)置换丙氨酸(A)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置200处的氨基酸置换是色氨酸(W)置换苯丙氨酸(F)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置207处的氨基酸置换是脯氨酸(P)置换缬氨酸(V)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置209处的氨基酸置换是苯丙氨酸(F)置换缬氨酸(V)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置226处的氨基酸置换是苯丙氨酸(F)置换蛋氨酸(M)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置235处的氨基酸置换是精氨酸(R)置换亮氨酸(L)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置240处的氨基酸置换是赖氨酸(K)置换缬氨酸(V)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置241处的氨基酸置换是亮氨酸(L)置换苯丙氨酸(F)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置243处的氨基酸置换是赖氨酸(K)置换脯氨酸(P)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置258处的氨基酸置换是丝氨酸(S)置换天冬酰胺(N)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置296处的氨基酸置换是色氨酸(W)置换亮氨酸(L)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置296处的氨基酸置换是酪氨酸(Y)置换亮氨酸(L)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置296处的氨基酸置换是苯丙氨酸(F)置换亮氨酸(L)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置298处的氨基酸置换是亮氨酸(L)置换蛋氨酸(M)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置298处的氨基酸置换是丙氨酸(A)置换蛋氨酸(M)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置298处的氨基酸置换是缬氨酸(V)置换蛋氨酸(M)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置311处的氨基酸置换是异亮氨酸(I)置换脯氨酸(P)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置311处的氨基酸置换是缬氨酸置换脯氨酸(P)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置315处的氨基酸置换是赖氨酸(K)置换精氨酸(R)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置319处的氨基酸置换是甘氨酸(G)置换苏氨酸(T)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置327处的氨基酸置换是精氨酸(R)置换酪氨酸(Y)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置328处的氨基酸置换是缬氨酸(V)置换酪氨酸(Y)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置340处的氨基酸置换是甘氨酸(G)置换半胱氨酸(C)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置340处的氨基酸置换是亮氨酸(L)置换半胱氨酸(C)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置421处的氨基

酸置换是组氨酸(H)置换天冬氨酸(D)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置436处的氨基酸置换是异亮氨酸(I)置换缬氨酸(V)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置456处的氨基酸置换是酪氨酸(Y)置换蛋氨酸(M)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置470处的氨基酸置换是苯丙氨酸(F)置换亮氨酸(L)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置485处的氨基酸置换是赖氨酸(K)置换丝氨酸(S)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置503处的氨基酸置换是亮氨酸(L)置换蛋氨酸(M)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置503处的氨基酸置换是异亮氨酸(I)置换蛋氨酸(M)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置552处的氨基酸置换是赖氨酸(K)置换缬氨酸(V)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置570处的氨基酸置换是苏氨酸(T)置换丙氨酸(A)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置591处的氨基酸置换是脯氨酸(P)置换谷氨酰胺(Q)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置591处的氨基酸置换是精氨酸(R)置换谷氨酰胺(Q)。

[0241] 在本公开的方法的某些实施方案中,包括其中该转座酶在位置30、165、282和/或538处包含上述突变的那些实施方案,该piggyBac™转座酶可以包含或该Super piggyBac™转座酶可以进一步包含在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的序列的位置103、194、372、375、450、509和570的一个或多个处的氨基酸置换。在本公开的方法的某些实施方案中,包括其中该转座酶在位置30、165、282和/或538处包含上述突变的那些实施方案,该piggyBac™转座酶可以包含或该Super piggyBac™转座酶可以进一步包含在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的序列的位置103、194、372、375、450、509和570的两个、三个、四个、五个、六个或更多处的氨基酸置换。在某些实施方案中,包括其中该转座酶在位置30、165、282和/或538处包含上述突变的那些实施方案,该piggyBac™转座酶可以包含或该Super piggyBac™转座酶可以进一步包含在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的序列的位置103、194、372、375、450、509和570处的氨基酸置换。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置103处的氨基酸置换是脯氨酸(P)置换丝氨酸(S)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置194处的氨基酸置换是缬氨酸(V)置换蛋氨酸(M)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置372处的氨基酸置换是丙氨酸(A)置换精氨酸(R)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置375处的氨基酸置换是丙氨酸(A)置换赖氨酸(K)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置450处的氨基酸置换是天冬酰胺(N)置换天冬氨酸(D)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置509处的氨基酸置换是甘氨酸(G)置换丝氨酸(S)。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的位置570处的氨基酸置换是丝氨酸(S)置换天冬酰胺(N)。在某些实施方案中,该piggyBac™转座酶可以包含在SEQ ID NO:4的位置194处的缬氨酸(V)置换蛋氨酸(M)。在某些实施方案中,包括其中该piggyBac™转座酶可以包含在SEQ ID NO:4的位置194处的缬氨酸(V)置换蛋氨酸(M)的那些实施方案,该piggyBac™转座酶可以进一步包含在SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的序列的位置372、375和450处的氨基酸置换。在某些实施方案中,该piggyBac™转座酶可以包含在SEQ ID NO:4的位置194处的缬氨酸(V)置换蛋氨酸(M)、在SEQ ID NO:4的位置372处的丙氨酸(A)置换精氨酸(R)、和在SEQ ID NO:4的位置375处的丙氨酸(A)置换赖氨酸(K)。在某些实施方案中,该piggyBac™转座酶可以包含在SEQ ID NO:4的位置194处的缬氨

酸(V)置换蛋氨酸(M)、在SEQ ID NO:4的位置372处的丙氨酸(A)置换精氨酸(R)、在SEQ ID NO:4的位置375处的丙氨酸(A)置换赖氨酸(K)和在SEQ ID NO:4的位置450处的天冬酰胺(N)置换天冬氨酸(D)。

[0242] “引入”意在以使得构建体能够进入宿主细胞内部的方式向植物呈递多核苷酸构建体。本发明的方法不依赖于用于向宿主细胞中引入多核苷酸构建体的具体方法,只是该多核苷酸构建体能够进入宿主的一个细胞内部。向细菌、植物、真菌和动物引入多核苷酸构建体的方法是本领域中已知的,包括但不限于稳定转化方法、瞬时转化方法和病毒介导的方法。

[0243] 如本公开通篇中所用,术语“内源的”是指与靶基因或其中被引入核酸或蛋白质序列的宿主细胞天然相关的核酸或蛋白质序列。

[0244] “稳定转化”意在指引入植物的多核苷酸构建体整合到宿主的基因组中并能够被其后代遗传。

[0245] “瞬时转化”意在指引入宿主的多核苷酸构建体不能整合到宿主的基因组中。

[0246] 在优选的实施方案中,该piggyBac转座子系统用于通过稳定转化将外源序列引入原代人T细胞中以生成修饰的$T_{SCM}$或$T_{CM}$。

[0247] 附加的转座子系统

[0248] 在本公开的方法的某些实施方案中,该转座子是睡美人转座子。在某些实施方案中,特别是在其中转座子为睡美人转座子的那些实施方案中,该转座酶是睡美人转座酶或极度活跃的睡美人转座酶(SB100X)。

[0249] 本公开提供了生产修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)或修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的方法,包括向原代人T细胞中引入(a)包含含有抗原受体或治疗蛋白的转座子的转座子组合物和(b)包含转座酶或编码该转座酶的序列的转座酶组合物;以生产修饰T细胞,其中该修饰T细胞表达修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)或修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)或修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)。本公开提供了生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)或多个修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的方法,包括向多个原代人T细胞中引入(a)包含含有抗原受体的转座子的转座子组合物和(b)包含转座酶或编码该转座酶的序列的转座酶组合物;以生产多个修饰T细胞,其中多个修饰T细胞的至少2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%或其间的任意百分比表达干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)或中枢记忆T细胞($T_{CM}$)的一种或更多种细胞表面标记,由此生产多个修饰的干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$)或多个修饰的中枢记忆T细胞($T_{CM}$)。

[0250] 在本公开的方法的某些实施方案中,该转座子是睡美人转座子。在某些实施方案中,特别是在其中转座子为睡美人转座子的那些实施方案中,该转座酶是睡美人转座酶或过度活跃的睡美人转座酶(SB100X)。

[0251] 在本公开的方法的某些实施方案中,该睡美人转座酶包含氨基酸序列,所述氨基酸序列的至少75%、80%、85%、90%、95%、99%或其间的任意百分比与以下相同:

[0252]

1 MGKSKEISQD LRKKIVDLHK SGSSLGAISK RLKVPRSSVQ TIVRKYKHHG TTQPSYRSGR

61 RRYLSPRDER TLVRKVQINP RTTAKDLVKM LEETGTKVSI STVKRVLYRH NLKGRSARKK

121 PLLQNRHKKA RLRFATAHGD KDRTFWRNVL WSDETKIELF GHNDHRYVWR KKGEACKPKN

181 TIPTVKHGGG SIMLWGCFAA GGTGALHKID GIMRKENYVD ILKQHLKTSV RKLKLGRKWV

241 FQMDNDPKHT SKVVAKWLKD NKVKVLEWPS QSPDLNPIEN LWAELKKRVR ARRPTNLTQL

301 HQLCQEEWAK IHPTYCGKLV EGYPKRLTQV KQFKGNATKY（SEQ ID NO: 6）。

[0253] 在本公开的方法的某些实施方案中，该过度活跃的睡美人(SB100X)转座酶包含氨基酸序列，所述氨基酸序列的至少75％、80％、85％、90％、95％、99％或其间的任意百分比与以下相同：

[0254]

1 MGKSKEISQD LRKRIVDLHK SGSSLGAISK RLAVPRSSVQ TIVRKYKHHG TTQPSYRSGR

61 RRYLSPRDER TLVRKVQINP RTTAKDLVKM LEETGTKVSI STVKRVLYRH NLKGHSARKK

121 PLLQNRHKKA RLRFATAHGD KDRTFWRNVL WSDETKIELF GHNDHRYVWR KKGEACKPKN

181 TIPTVKHGGG SIMLWGCFAA GGTGALHKID GIMDAVQYVD ILKQHLKTSV RKLKLGRKWV

241 FQHDNDPKHT SKVVAKWLKD NKVKVLEWPS QSPDLNPIEN LWAELKKRVR ARRPTNLTQL

301 HQLCQEEWAK IHPNYCGKLV EGYPKRLTQV KQFKGNATKY（SEQ ID NO: 7）。

[0255] 在本公开的方法的某些实施方案中，该转座酶是Helitron转座酶。Helitron转座酶动员Helraiser转座子——来自蝙蝠基因组的古老元件，活跃于大约3000至3600万年前。本公开的示例性的Helraiser转座子包括Helibat1，其包含含有以下的核酸序列：

[0256]

1 TCCTATATAA TAAAAGAGAA ACATGCAAAT TGACCATCCC TCCGCTACGC TCAAGCCACG

61 CCCACCAGCC AATCAGAAGT GACTATGCAA ATTAACCCAA CAAAGATGGC AGTTAAATTT

121 GCATACGCAG GTGTCAAGCG CCCCAGGAGG CAACGGCGGC CGCGGGCTCC CAGGACCTTC

181 GCTGGCCCCG GGAGGCGAGG CCGGCCGCGC CTAGCCACAC CCGCGGGCTC CCGGGACCTT

241 CGCCAGCAGA GAGCAGAGCG GGAGAGCGGG CGGAGAGCGG GAGGTTTGGA GGACTTGGCA

301 GAGCAGGAGG CCGCTGGACA TAGAGCAGAG CGAGAGAGAG GGTGGCTTGG AGGGCGTGGC

361 TCCCTCTGTC ACCCCAGCTT CCTCATCACA GCTGTGGAAA CTGACAGCAG GGAGGAGGAA

421 GTCCCACCCC CACAGAATCA GCCAGAATCA GCCGTTGGTC AGACAGCTCT CAGCGGCCTG

481 ACAGCCAGGA CTCTCATTCA CCTGCATCTC AGACCGTGAC AGTAGAGAGG TGGGACTATG

541 TCTAAAGAAC AACTGTTGAT ACAACGTAGC TCTGCAGCCG AAAGATGCCG GCGTTATCGA

601 CAGAAAATGT CTGCAGAGCA ACGTGCGTCT GATCTTGAAA GAAGGCGGCG CCTGCAACAG

661 AATGTATCTG AAGAGCAGCT ACTGGAAAAA CGTCGCTCTG AAGCCGAAAA ACAGCGGCGT

721 CATCGACAGA AAATGTCTAA AGACCAACGT GCCTTTGAAG TTGAAAGAAG GCGGTGGCGA

781 CGACAGAATA TGTCTAGAGA ACAGTCATCA ACAAGTACTA CCAATACCGG TAGGAACTGC

841 CTTCTCAGCA AAAATGGAGT ACATGAGGAT GCAATTCTCG AACATAGTTG TGGTGGAATG

901 ACTGTTCGAT GTGAATTTTG CCTATCACTA AATTTCTCTG ATGAAAAACC ATCCGATGGG

961 AAATTTACTC GATGTTGTAG CAAAGGGAAA GTCTGTCCAA ATGATATACA TTTTCCAGAT

1021 TACCCGGCAT ATTTAAAAAG ATTAATGACA AACGAAGATT CTGACAGTAA AAATTTCATG

1081 GAAAATATTC GTTCCATAAA TAGTTCTTTT GCTTTTGCTT CCATGGGTGC AAATATTGCA

1141 TCGCCATCAG GATATGGGCC ATACTGTTTT AGAATACACG GACAAGTTTA TCACCGTACT

1201 GGAACTTTAC ATCCTTCGGA TGGTGTTTCT CGGAAGTTTG CTCAACTCTA TATTTTGGAT

1261 ACAGCCGAAG CTACAAGTAA AAGATTAGCA ATGCCAGAAA ACCAGGGCTG CTCAGAAAGA

1321 CTCATGATCA ACATCAACAA CCTCATGCAT GAAATAAATG AATTAACAAA ATCGTACAAG

[0257] 1381 ATGCTACATG AGGTAGAAAA GGAAGCCCAA TCTGAAGCAG CAGCAAAAGG TATTGCTCCC

1441 ACAGAAGTAA CAATGGCGAT TAAATACGAT CGTAACAGTG ACCCAGGTAG ATATAATTCT

1501 CCCCGTGTAA CCGAGGTTGC TGTCATATTC AGAAACGAAG ATGGAGAACC TCCTTTTGAA

1561 AGGGACTTGC TCATTCATTG TAAACCAGAT CCCAATAATC CAAATGCCAC TAAAATGAAA

1621 CAAATCAGTA TCCTGTTTCC TACATTAGAT GCAATGACAT ATCCTATTCT TTTTCCACAT

1681 GGTGAAAAAG GCTGGGGAAC AGATATTGCA TTAAGACTCA GAGACAACAG TGTAATCGAC

1741 AATAATACTA GACAAAATGT AAGGACACGA GTCACACAAA TGCAGTATTA TGGATTTCAT

1801 CTCTCTGTGC GGGACACGTT CAATCCTATT TTAAATGCAG GAAAATTAAC TCAACAGTTT

1861 ATTGTGGATT CATATTCAAA AATGGAGGCC AATCGGATAA ATTTCATCAA AGCAAACCAA

1921 TCTAAGTTGA GAGTTGAAAA ATATAGTGGT TTGATGGATT ATCTCAAATC TAGATCTGAA

1981 AATGACAATG TGCCGATTGG TAAAATGATA ATACTTCCAT CATCTTTTGA GGGTAGTCCC

2041 AGAAATATGC AGCAGCGATA TCAGGATGCT ATGGCAATTG TAACGAAGTA TGGCAAGCCC

2101 GATTTATTCA TAACCATGAC ATGCAACCCC AAATGGGCAG ATATTACAAA CAATTTACAA

2161 CGCTGGCAAA AAGTTGAAAA CAGACCTGAC TTGGTAGCCA GAGTTTTTAA TATTAAGCTG

2221 AATGCTCTTT TAAATGATAT ATGTAAATTC CATTTATTTG GCAAAGTAAT AGCTAAAATT

2281 CATGTCATTG AATTTCAGAA ACGCGGACTG CCTCACGCTC ACATATTATT GATATTAGAT

2341 AGTGAGTCCA AATTACGTTC AGAAGATGAC ATTGACCGTA TAGTTAAGGC AGAAATTCCA

2401 GATGAAGACC AGTGTCCTCG ACTTTTTCAA ATTGTAAAAT CAAATATGGT ACATGGACCA

2461 TGTGGAATAC AAAATCCAAA TAGTCCATGT ATGGAAAATG GAAAATGTTC AAAGGGATAT

2521 CCAAAAGAAT TTCAAAATGC GACCATTGGA AATATTGATG GATATCCCAA ATACAAACGA

2581 AGATCTGGTA GCACCATGTC TATTGGAAAT AAAGTTGTCG ATAACACTTG GATTGTCCCT

2641 TATAACCCGT ATTTGTGCCT TAAATATAAC TGTCATATAA ATGTTGAAGT CTGTGCATCA

2701 ATTAAAAGTG TCAAATATTT ATTTAAATAC ATCTATAAAG GGCACGATTG TGCAAATATT

2761 CAAATTTCTG AAAAAAATAT TATCAATCAT GACGAAGTAC AGGACTTCAT TGACTCCAGG

2821 TATGTGAGCG CTCCTGAGGC TGTTTGGAGA CTTTTTGCAA TGCGAATGCA TGACCAATCT

2881 CATGCAATCA CAAGATTAGC TATTCATTTG CCAAATGATC AGAATTTGTA TTTTCATACC

2941 GATGATTTTG CTGAAGTTTT AGATAGGGCT AAAAGGCATA ACTCGACTTT GATGGCTTGG

3001 TTCTTATTGA ATAGAGAAGA TTCTGATGCA CGTAATTATT ATTATTGGGA GATTCCACAG

3061 CATTATGTGT TTAATAATTC TTTGTGGACA AAACGCCGAA AGGGTGGGAA TAAAGTATTA

3121 GGTAGACTGT TCACTGTGAG CTTTAGAGAA CCAGAACGAT ATTACCTTAG ACTTTTGCTT

3181 CTGCATGTAA AAGGTGCGAT AAGTTTTGAG GATCTGCGAA CTGTAGGAGG TGTAACTTAT

3241 GATACATTTC ATGAAGCTGC TAAACACCGA GGATTATTAC TTGATGACAC TATCTGGAAA

3301 GATACGATTG ACGATGCAAT CATCCTTAAT ATGCCCAAAC AACTACGGCA ACTTTTTGCA

3361 TATATATGTG TGTTTGGATG TCCTTCTGCT GCAGACAAAT TATGGGATGA GAATAAATCT

3421 CATTTTATTG AAGATTTCTG TTGGAAATTA CACCGAAGAG AAGGTGCCTG TGTGAACTGT

3481 GAAATGCATG CCCTTAACGA AATTCAGGAG GTATTCACAT TGCATGGAAT GAAATGTTCA

3541 CATTTCAAAC TTCCGGACTA TCCTTTATTA ATGAATGCAA ATACATGTGA TCAATTGTAC

[0258] 3601 GAGCAACAAC AGGCAGAGGT TTTGATAAAT TCTCTGAATG ATGAACAGTT GGCAGCCTTT

3661 CAGACTATAA CTTCAGCCAT CGAAGATCAA ACTGTACACC CCAAATGCTT TTTCTTGGAT

3721 GGTCCAGGTG GTAGTGGAAA AACATATCTG TATAAAGTTT TAACACATTA TATTAGAGGT

3781 CGTGGTGGTA CTGTTTTACC CACAGCATCT ACAGGAATTG CTGCAAATTT ACTTCTTGGT

3841 GGAAGAACCT TTCATTCCCA ATATAAATTA CCAATTCCAT TAAATGAAAC TTCAATTTCT

3901 AGACTCGATA TAAAGAGTGA AGTTGCTAAA ACCATTAAAA AGGCCCAACT TCTCATTATT

3961 GATGAATGCA CCATGGCATC CAGTCATGCT ATAAACGCCA TAGATAGATT ACTAAGAGAA

4021 ATTATGAATT TGAATGTTGC ATTTGGTGGG AAAGTTCTCC TTCTCGGAGG GGATTTTCGA

4081 CAATGTCTCA GTATTGTACC ACATGCTATG CGATCGGCCA TAGTACAAAC GAGTTTAAAG

4141 TACTGTAATG TTTGGGGATG TTTCAGAAAG TTGTCTCTTA AAACAAATAT GAGATCAGAG

4201 GATTCTGCTT ATAGTGAATG GTTAGTAAAA CTTGGAGATG GCAAACTTGA TAGCAGTTTT

4261 CATTTAGGAA TGGATATTAT TGAAATCCCC CATGAAATGA TTTGTAACGG ATCTATTATT

4321 GAAGCTACCT TTGGAAATAG TATATCTATA GATAATATTA AAAATATATC TAAACGTGCA

4381 ATTCTTTGTC CAAAAAATGA GCATGTTCAA AAATTAAATG AAGAAATTTT GGATATACTT

4441 GATGGAGATT TTCACACATA TTTGAGTGAT GATTCCATTG ATTCAACAGA TGATGCTGAA

4501 AAGGAAAATT TTCCCATCGA ATTTCTTAAT AGTATTACTC CTTCGGGAAT GCCGTGTCAT

4561 AAATTAAAAT TGAAAGTGGG TGCAATCATC ATGCTATTGA GAAATCTTAA TAGTAAATGG

4621 GGTCTTTGTA ATGGTACTAG ATTTATTATC AAAAGATTAC GACCTAACAT TATCGAAGCT

4681 GAAGTATTAA CAGGATCTGC AGAGGGAGAG GTTGTTCTGA TTCCAAGAAT TGATTTGTCC

[0259]

4741 CCATCTGACA CTGGCCTCCC ATTTAAATTA ATTCGAAGAC AGTTTCCCGT GATGCCAGCA
4801 TTTGCGATGA CTATTAATAA ATCACAAGGA CAAACTCTAG ACAGAGTAGG AATATTCCTA
4861 CCTGAACCCG TTTTCGCACA TGGTCAGTTA TATGTTGCTT TCTCTCGAGT TCGAAGAGCA
4921 TGTGACGTTA AAGTTAAAGT TGTAAATACT TCATCACAAG GGAAATTAGT CAAGCACTCT
4981 GAAAGTGTTT TTACTCTTAA TGTGGTATAC AGGGAGATAT TAGAATAAGT TTAATCACTT
5041 TATCAGTCAT TGTTTGCATC AATGTTGTTT TTATATCATG TTTTTGTTGT TTTTATATCA
5101 TGTCTTTGTT GTTGTTATAT CATGTTGTTA TTGTTTATTT ATTAATAAAT TTATGTATTA
5161 TTTTCATATA CATTTTACTC ATTTCCTTTC ATCTCTCACA CTTCTATTAT AGAGAAAGGG
5221 CAAATAGCAA TATTAAAATA TTTCCTCTAA TTAATTCCCT TTCAATGTGC ACGAATTTCG
5281 TGCACCGGGC CACTAG（SEQ ID NO: 27）。

[0260] 与其它转座酶不同,Helitron转座酶不含有RNase-H样催化结构域,而是包含由复制起始子结构域(Rep)和DNA解旋酶结构域构成的RepHel基序。该Rep结构域是核酸酶的HUH超家族的核酸酶结构域。

[0261] 本公开的示例性的Helitron转座酶包含含有以下的氨基酸序列：

[0262]

1 MSKEQLLIQR SSAAERCRRY RQKMSAEQRA SDLERRRRLQ QNVSEEQLLE KRRSEAEKQR
61 RHRQKMSKDQ RAFEVERRRW RRQNMSREQS STSTTNTGRN CLLSKNGVHE DAILEHSCGG
121 MTVRCEFCLS LNFSDEKPSD GKFTRCCSKG KVCPNDIHFP DYPAYLKRLM TNEDSDSKNF
181 MENIRSINSS FAFASMGANI ASPSGYGPYC FRIHGQVYHR TGTLHPSDGV SRKFAQLYIL
241 DTAEATSKRL AMPENQGCSE RLMININNLM HEINELTKSY KMLHEVEKEA QSEAAAKGIA
301 PTEVTMAIKY DRNSDPGRYN SPRVTEVAVI FRNEDGEPPF ERDLLIHCKP DPNNPNATKM
361 KQISILFPTL DAMTYPILFP HGEKGWGTDI ALRLRDNSVI DNNTRQNVRT RVTQMQYYGF
421 HLSVRDTFNP ILNAGKLTQQ FIVDSYSKME ANRINFIKAN QSKLRVEKYS GLMDYLKSRS
481 ENDNVPIGKM IILPSSFEGS PRNMQQRYQD AMAIVTKYGK PDLFITMTCN PKWADITNNL
541 QRWQKVENRP DLVARVFNIK LNALLNDICK FHLFGKVIAK IHVIEFQKRG LPHAHILLIL
601 DSESKLRSED DIDRIVKAEI PDEDQCPRLF QIVKSNMVHG PCGIQNPNSP CMENGKCSKG
661 YPKEFQNATI GNIDGYPKYK RRSGSTMSIG NKVVDNTWIV PYNPYLCLKY NCHINVEVCA
721 SIKSVKYLFK YIYKGHDCAN IQISEKNIIN HDEVQDFIDS RYVSAPEAVW RLFAMRMHDQ
781 SHAITRLAIH LPNDQNLYFH TDDFAEVLDR AKRHNSTLMA WFLLNREDSD ARNYYYWEIP
841 QHYVFNNSLW TKRRKGGNKV LGRLFTVSFR EPERYYLRLL LLHVKGAISF EDLRTVGGVT
901 YDTFHEAAKH RGLLLDDTIW KDTIDDAIIL NMPKQLRQLF AYICVFGCPS AADKLWDENK
961 SHFIEDFCWK LHRREGACVN CEMHALNEIQ EVFTLHGMKC SHFKLPDYPL LMNANTCDQL
1021 YEQQQAEVLI NSLNDEQLAA FQTITSAIED QTVHPKCFFL DGPGGSGKTY LYKVLTHYIR
1081 GRGGTVLPTA STGIAANLLL GGRTFHSQYK LPIPLNETSI SRLDIKSEVA KTIKKAQLLI
1141 IDECTMASSH AINAIDRLLR EIMNLNVAFG GKVLLLGGDF RQCLSIVPHA MRSAIVQTSL

[0263] 1201 KYCNVWGCFR KLSLKTNMRS EDSAYSEWLV KLGDGKLDSS FHLGMDIIEI PHEMICNGSI
1261 IEATFGNSIS IDNIKNISKR AILCPKNEHV QKLNEEILDI LDGDFHTYLS DDSIDSTDDA
1321 EKENFPIEFL NSITPSGMPC HKLKLKVGAI IMLLRNLNSK WGLCNGTRFI IKRLRPNIIE
1381 AEVLTGSAEG EVVLIPRIDL SPSDTGLPFK LIRRQFPVMP AFAMTINKSQ GQTLDRVGIF
1441 LPEPVFAHGQ LYVAFSRVRR ACDVKVKVVN TSSQGKLVKH SESVFTLNVV YREILE（SEQ ID NO: 28）。

[0264] 在Helitron转座中，靠近转座子的3’末端的发夹充当终止子。但是，该发夹可以被转座酶绕过，导致侧翼序列的转导。此外，Helraiser转座产生共价闭合的环状中间体。此外，Helitron转座可能缺乏靶位点复制。在该Helraiser序列中，转座酶的侧翼是称为LTS和RTS的左端和右端序列。这些序列以保守的5’-TC/CTAG-3’基序终止。具有形成发夹终止结构的潜力的19bp回文序列位于RTS上游的11个核苷酸处，并由序列GTGCACGAATTTCGTGCACCGGGCCACTAG(SEQ ID NO:29)组成。

[0265] 在本公开的方法的某些实施方案中，该转座酶是Tol2转座酶。Tol2转座子可以分离或衍生自青鳉鱼的基因组，并可能类似于hAT家族的转座子。本公开的示例性的Tol2转座子由包含大约4700个碱基的序列编码并含有编码Tol2转座酶的基因，其含有四个外显子。本公开的示例性的Tol2转座酶包含含有以下的氨基酸序列：

[0266] 1 MEEVCDSSAA ASSTVQNQPQ DQEHPWPYLR EFFSLSGVNK DSFKMKCVLC LPLNKEISAF
61 KSSPSNLRKH IERMHPNYLK NYSKLTAQKR KIGTSTHASS SKQLKVDSVF PVKHVSPVTV
121 NKAILRYIIQ GLHPFSTVDL PSFKELISTL QPGISVITRP TLRSKIAEAA LIMKQKVTAA
181 MSEVEWIATT TDCWTARRKS FIGVTAHWIN PGSLERHSAA LACKRLMGSH TFEVLASAMN
241 DIHSEYEIRD KVVCTTTDSG SNFMKAFRVF GVENNDIETE ARRCESDDTD SEGCGEGSDG
301 VEFQDASRVL DQDDGFEFQL PKHQKCACHL LNLVSSVDAQ KALSNEHYKK LYRSVFGKCQ
361 ALWNKSSRSA LAAEAVESES RLQLLRPNQT RWNSTFMAVD RILQICKEAG EGALRNICTS
421 LEVPMFNPAE MLFLTEWANT MRPVAKVLDI LQAETNTQLG WLLPSVHQLS LKLQRLHHSL
481 RYCDPLVDAL QQGIQTRFKH MFEDPEIIAA AILLPKFRTS WTNDETIIKR GMDYIRVHLE
541 PLDHKKELAN SSSDDEDFFA SLKPTTHEAS KELDGYLACV SDTRESLLTF PAICSLSIKT
601 NTPLPASAAC ERLFSTAGLL FSPKRARLDT NNFENQLLLK LNLRFYNFE（SEQ ID NO: 30）。

[0267] 本公开的示例性的Tol2转座子，包括反向重复序列、亚末端序列和Tol2转座酶，通过包含以下的核酸序列来编码：

1 CAGAGGTGTA AAGTACTTGA GTAATTTTAC TTGATTACTG TACTTAAGTA TTATTTTTGG

61 GGATTTTTAC TTTACTTGAG TACAATTAAA AATCAATACT TTTACTTTTA CTTAATTACA

121 TTTTTTTAGA AAAAAAAGTA CTTTTTACTC CTTACAATTT TATTTACAGT CAAAAAGTAC

181 TTATTTTTTG GAGATCACTT CATTCTATTT TCCCTTGCTA TTACCAAACC AATTGAATTG

241 CGCTGATGCC CAGTTTAATT TAAATGTTAT TTATTCTGCC TATGAAAATC GTTTTCACAT

301 TATATGAAAT TGGTCAGACA TGTTCATTGG TCCTTTGGAA GTGACGTCAT GTCACATCTA

361 TTACCACAAT GCACAGCACC TTGACCTGGA AATTAGGGAA ATTATAACAG TCAATCAGTG

421 GAAGAAAATG GAGGAAGTAT GTGATTCATC AGCAGCTGCG AGCAGCACAG TCCAAAATCA

481 GCCACAGGAT CAAGAGCACC CGTGGCCGTA TCTTCGCGAA TTCTTTTCTT TAAGTGGTGT

541 AAATAAAGAT TCATTCAAGA TGAAATGTGT CCTCTGTCTC CCGCTTAATA AAGAAATATC

601 GGCCTTCAAA AGTTCGCCAT CAAACCTAAG GAAGCATATT GAGGTAAGTA CATTAAGTAT

661 TTTGTTTTAC TGATAGTTTT TTTTTTTTTT TTTTTTTTTT TTTTTGGGTG TGCATGTTTT

721 GACGTTGATG GCGCGCCTTT TATATGTGTA GTAGGCCTAT TTTCACTAAT GCATGCGATT

781 GACAATATAA GGCTCACGTA ATAAAATGCT AAAATGCATT TGTAATTGGT AACGTTAGGT

841 CCACGGGAAA TTTGGCGCCT ATTGCAGCTT TGAATAATCA TTATCATTCC GTGCTCTCAT

901 TGTGTTTGAA TTCATGCAAA ACACAAGAAA ACCAAGCGAG AAATTTTTTT CCAAACATGT

961 TGTATTGTCA AAACGGTAAC ACTTTACAAT GAGGTTGATT AGTTCATGTA TTAACTAACA

1021 TTAAATAACC ATGAGCAATA CATTTGTTAC TGTATCTGTT AATCTTTGTT AACGTTAGTT

[0268] 1081 AATAGAAATA CAGATGTTCA TTGTTTGTTC ATGTTAGTTC ACAGTGCATT AACTAATGTT

1141 AACAAGATAT AAAGTATTAG TAAATGTTGA AATTAACATG TATACGTGCA GTTCATTATT

1201 AGTTCATGTT AACTAATGTA GTTAACTAAC GAACCTTATT GTAAAAGTGT TACCATCAAA

1261 ACTAATGTAA TGAAATCAAT TCACCCTGTC ATGTCAGCCT TACAGTCCTG TGTTTTTGTC

1321 AATATAATCA GAAATAAAAT TAATGTTTGA TTGTCACTAA ATGCTACTGT ATTTCTAAAA

1381 TCAACAAGTA TTTAACATTA TAAAGTGTGC AATTGGCTGC AAATGTCAGT TTTATTAAAG

1441 GGTTAGTTCA CCCAAAAATG AAAATAATGT CATTAATGAC TCGCCCTCAT GTCGTTCCAA

1501 GCCCGTAAGA CCTCCGTTCA TCTTCAGAAC ACAGTTTAAG ATATTTTAGA TTTAGTCCGA

1561 GAGCTTTCTG TGCCTCCATT GAGAATGTAT GTACGGTATA CTGTCCATGT CCAGAAAGGT

1621 AATAAAAACA TCAAAGTAGT CCATGTGACA TCAGTGGGTT AGTTAGAATT TTTTGAAGCA

1681 TCGAATACAT TTTGGTCCAA AAATAACAAA ACCTACGACT TTATTCGGCA TTGTATTCTC

1741 TTCCGGGTCT GTTGTCAATC CGCGTTCACG ACTTCGCAGT GACGCTACAA TGCTGAATAA

1801 AGTCGTAGGT TTTGTTATTT TTGGACCAAA ATGTATTTTC GATGCTTCAA ATAATTCTAC

1861 CTAACCCACT GATGTCACAT GGACTACTTT GATGTTTTTA TTACCTTTCT GGACATGGAC

1921 AGTATACCGT ACATACATTT TCAGTGGAGG GACAGAAAGC TCTCGGACTA AATCTAAAAT

1981 ATCTTAAACT GTGTTCCGAA GATGAACGGA GGTGTTACGG GCTTGGAACG ACATGAGGGT

2041 GAGTCATTAA TGACATCTTT TCATTTTTGG GTGAACTAAC CCTTTAATGC TGTAATCAGA

2101 GAGTGTATGT GTAATTGTTA CATTTATTGC ATACAATATA AATATTTATT TGTTGTTTTT

2161 ACAGAGAATG CACCCAAATT ACCTCAAAAA CTACTCTAAA TTGACAGCAC AGAAGAGAAA

2221 GATCGGGACC TCCACCCATG CTTCCAGCAG TAAGCAACTG AAAGTTGACT CAGTTTTCCC

2281 AGTCAAACAT GTGTCTCCAG TCACTGTGAA CAAAGCTATA TTAAGGTACA TCATTCAAGG

2341 ACTTCATCCT TTCAGCACTG TTGATCTGCC ATCATTTAAA GAGCTGATTA GTACACTGCA

2401 GCCTGGCATT TCTGTCATTA CAAGGCCTAC TTTACGCTCC AAGATAGCTG AAGCTGCTCT

2461 GATCATGAAA CAGAAAGTGA CTGCTGCCAT GAGTGAAGTT GAATGGATTG CAACCACAAC

2521 GGATTGTTGG ACTGCACGTA GAAAGTCATT CATTGGTGTA ACTGCTCACT GGATCAACCC

2581 TGGAAGTCTT GAAAGACATT CCGCTGCACT TGCCTGCAAA AGATTAATGG GCTCTCATAC

2641 TTTTGAGGTA CTGGCCAGTG CCATGAATGA TATCCACTCA GAGTATGAAA TACGTGACAA

2701 GGTTGTTTGC ACAACCACAG ACAGTGGTTC CAACTTTATG AAGGCTTTCA GAGTTTTTGG

2761 TGTGGAAAAC AATGATATCG AGACTGAGGC AAGAAGGTGT GAAAGTGATG ACACTGATTC

2821 TGAAGGCTGT GGTGAGGGAA GTGATGGTGT GGAATTCCAA GATGCCTCAC GAGTCCTGGA

2881 CCAAGACGAT GGCTTCGAAT TCCAGCTACC AAAACATCAA AAGTGTGCCT GTCACTTACT

2941 TAACCTAGTC TCAAGCGTTG ATGCCCAAAA AGCTCTCTCA AATGAACACT ACAAGAAACT

3001 CTACAGATCT GTCTTTGGCA AATGCCAAGC TTTATGGAAT AAAAGCAGCC GATCGGCTCT

3061 AGCAGCTGAA GCTGTTGAAT CAGAAAGCCG GCTTCAGCTT TTAAGGCCAA ACCAAACGCG

3121 GTGGAATTCA ACTTTTATGG CTGTTGACAG AATTCTTCAA ATTTGCAAAG AAGCAGGAGA

3181 AGGCGCACTT CGGAATATAT GCACCTCTCT TGAGGTTCCA ATGTAAGTGT TTTTCCCCTC

3241 TATCGATGTA AACAAATGTG GGTTGTTTTT GTTTAATACT CTTTGATTAT GCTGATTTCT

[0269] 3301 CCTGTAGGTT TAATCCAGCA GAAATGCTGT TCTTGACAGA GTGGGCCAAC ACAATGCGTC

3361 CAGTTGCAAA AGTACTCGAC ATCTTGCAAG CGGAAACGAA TACACAGCTG GGGTGGCTGC

3421 TGCCTAGTGT CCATCAGTTA AGCTTGAAAC TTCAGCGACT CCACCATTCT CTCAGGTACT

3481 GTGACCCACT TGTGGATGCC CTACAACAAG GAATCCAAAC ACGATTCAAG CATATGTTTG

3541 AAGATCCTGA GATCATAGCA GCTGCCATCC TTCTCCCTAA ATTTCGGACC TCTTGGACAA

3601 ATGATGAAAC CATCATAAAA CGAGGTAAAT GAATGCAAGC AACATACACT TGACGAATTC

3661 TAATCTGGGC AACCTTTGAG CCATACCAAA ATTATTCTTT TATTTATTTA TTTTTGCACT

3721 TTTTAGGAAT GTTATATCCC ATCTTTGGCT GTGATCTCAA TATGAATATT GATGTAAAGT

3781 ATTCTTGCAG CAGGTTGTAG TTATCCCTCA GTGTTTCTTG AAACCAAACT CATATGTATC

3841 ATATGTGGTT TGGAAATGCA GTTAGATTTT ATGCTAAAAT AAGGGATTTG CATGATTTTA

3901 GATGTAGATG ACTGCACGTA AATGTAGTTA ATGACAAAAT CCATAAAATT TGTTCCCAGT

3961 CAGAAGCCCC TCAACCAAAC TTTTCTTTGT GTCTGCTCAC TGTGCTTGTA GGCATGGACT

4021 ACATCAGAGT GCATCTGGAG CCTTTGGACC ACAAGAAGGA ATTGGCCAAC AGTTCATCTG

4081 ATGATGAAGA TTTTTTCGCT TCTTTGAAAC CGACAACACA TGAAGCCAGC AAAGAGTTGG

4141 ATGGATATCT GGCCTGTGTT TCAGACACCA GGGAGTCTCT GCTCACGTTT CCTGCTATTT

4201 GCAGCCTCTC TATCAAGACT AATACACCTC TTCCCGCATC GGCTGCCTGT GAGAGGCTTT

4261 TCAGCACTGC AGGATTGCTT TTCAGCCCCA AAAGAGCTAG GCTTGACACT AACAATTTTG

4321 AGAATCAGCT TCTACTGAAG TTAAATCTGA GGTTTTACAA CTTTGAGTAG CGTGTACTGG

4381 CATTAGATTG TCTGTCTTAT AGTTTGATAA TTAAATACAA ACAGTTCTAA AGCAGGATAA

4441 AACCTTGTAT GCATTTCATT TAATGTTTTT TGAGATTAAA AGCTTAAACA AGAATCTCTA

4501 GTTTTCTTTC TTGCTTTTAC TTTTACTTCC TTAATACTCA AGTACAATTT TAATGGAGTA

[0270] 4561 CTTTTTTACT TTTACTCAAG TAAGATTCTA GCCAGATACT TTTACTTTTA ATTGAGTAAA

4621 ATTTTCCCTA AGTACTTGTA CTTTCACTTG AGTAAAATTT TTGAGTACTT TTTACACCTC

4681 TG (SEQ ID NO: 31)。

[0271] 同源重组

[0272] 在本公开的方法的某些实施方案中,通过同源重组将抗原受体引入本公开的原代人T细胞来生产本公开的修饰的CAR-$T_{SCM}$或CAR-$T_{CM}$。在本公开的某些实施方案中,通过本公开的基因组编辑组合物或构建体诱导的单链或双链断裂来诱导该同源重组。本公开的同源重组方法包括使本公开的基因组编辑组合物或构建体接触基因组序列以诱导该序列中的至少一个断裂并在基因组序列中为外源供体序列组合物提供入口点。本公开的供体序列组合物通过细胞的天然DNA修复机制在诱导的入口点处整合到该基因组序列中。

[0273] 在本公开的方法的某些实施方案中,同源重组将本公开的编码抗原受体的序列和/或供体序列组合物引入“基因组安全港”位点。在某些实施方案中,哺乳动物基因组序列包含该基因组安全港位点。在某些实施方案中,灵长类动物基因组序列包含该基因组安全港位点。在某些实施方案中,人基因组序列包含该基因组安全港位点。

[0274] 基因组安全港位点能够以确保新插入的遗传成分可靠地发挥作用(例如以治疗有效的表达水平表达)且不会对宿主基因组造成有害改变(这会导致对宿主生物体的风险)的方式调节新遗传物质的整合。潜在的基因组安全港包括但不限于人白蛋白基因的内含子序列、腺相关病毒位点1(AAVS1)、在染色体19上整合AAV病毒的天然存在的位点、趋化因子(C-C基序)受体5(CCR5)基因的位点和小鼠Rosa26基因座的人直向同源物的位点。

[0275] 在本公开的方法的某些实施方案中,同源重组将本公开的编码抗原受体的序列和/或供体序列组合物引入到编码内源性T细胞受体的一个或多个组分或主要组织相容性复合体(MHC)的序列中。在某些实施方案中,在编码内源性T细胞受体或MHC的基因组序列中诱导同源重组破坏了该内源基因,并任选用本公开的供体序列组合物替代该内源基因的编码序列的一部分。在某些实施方案中,在编码内源性T细胞受体或MHC的基因组序列中诱导同源重组破坏了该内源基因,并任选用本公开的供体序列组合物替代该内源基因的整个编码序列。在本公开的方法的某些实施方案中,通过同源重组引入本公开的编码抗原受体的序列或供体序列组合物可操作地将抗原受体连接到内源性T细胞启动子上。在本公开的方法的某些实施方案中,通过同源重组引入本公开的编码抗原受体的序列或供体序列组合物可操作地将该抗原受体或该治疗蛋白连接到转录或翻译调控元件上。在本公开的方法的某些实施方案中,通过同源重组引入本公开的编码抗原受体的序列或供体序列组合物可操作地将该抗原受体或该治疗蛋白连接到转录调控元件上。在某些实施方案中,该转录调控元件包含内源性T细胞5’UTR。

[0276] 在包含同源重组的引入步骤的某些实施方案中,基因组编辑组合物接触所述多个T细胞的至少一个原代T细胞的基因组序列。在包含同源重组的引入步骤的某些实施方案中,基因组编辑组合物接触所述多个T细胞的一部分原代T细胞的基因组序列。在某些实施方案中,所述原代T细胞的一部分是所述多个T细胞中原代T细胞总数的至少1%、2%、5%、7%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、

80％、85％、90％、95％、97％、99％或其间的任意百分比。在包含同源重组的引入步骤的某些实施方案中，基因组编辑组合物接触所述多个T细胞的每个原代T细胞的基因组序列。在包含同源重组的引入步骤的某些实施方案中，基因组编辑组合物诱发单链断裂。在包含同源重组的引入步骤的某些实施方案中，基因组编辑组合物诱发双链断裂。在包含同源重组的引入步骤的某些实施方案中，该引入步骤进一步包含供体序列组合物。在某些实施方案中，该供体序列组合物包含编码该抗原受体的序列。在某些实施方案中，该供体序列组合物包含编码该抗原受体的序列、5’基因组序列和3’基因组序列，其中该5’基因组序列与对于通过基因组编辑组合物诱导的断裂点为5’的原代T细胞的基因组序列同源或相同，并且该3’基因组序列与对于通过基因组编辑组合物诱导的断裂点为3’的原代T细胞的基因组序列同源或相同。在某些实施方案中，该5’基因组序列和/或该3’基因组序列包含至少50bp、100bp、至少200bp、至少300bp、至少400bp、至少500bp、至少600bp、至少700bp、至少800bp、至少900bp、至少1000bp、至少1100bp、至少1200bp、至少1300bp、至少1400、或至少1500bp、至少1600bp、至少1700bp、至少1800bp、至少1900bp、至少2000bp长度或其间任意长度(包含端点)的碱基对。在包含同源重组的引入步骤的某些实施方案中，该基因组编辑组合物和供体序列组合物同时或依次与基因组序列接触。在包含同源重组的引入步骤的某些实施方案中，该基因组编辑组合物和供体序列组合物依次与基因组序列接触，并首先提供该基因组编辑组合物。在包含同源重组的引入步骤的某些实施方案中，该基因组编辑组合物包含编码DNA结合域的序列和编码核酸酶结构域的序列。在包含同源重组的引入步骤的某些实施方案中，该基因组编辑组合物包含DNA结合域和核酸酶结构域。在该基因组编辑组合物的某些实施方案中，该DNA结合域包含指导RNA(gRNA)。在该基因组编辑组合物的某些实施方案中，该DNA结合域包含TALEN的DNA结合域。在该基因组编辑组合物的某些实施方案中，该DNA结合域包含ZFN的DNA结合域。在该基因组编辑组合物的某些实施方案中，该核酸酶结构域包含Cas9核酸酶或其序列。在该基因组编辑组合物的某些实施方案中，该核酸酶结构域包含无活性的Cas9(SEQ ID NO:33，包含在位置10处的丙氨酸(A)置换天冬氨酸(D)(D10A)和在位置840处的丙氨酸(A)置换组氨酸(H)(H840A))。在该基因组编辑组合物的某些实施方案中，该核酸酶结构域包含短且无活性的Cas9(SEQ ID NO:32，包含在位置10处的丙氨酸(A)置换天冬氨酸(D)(D10A)和在位置540处的丙氨酸(A)置换天冬酰胺(N)(N540A))。在该基因组编辑组合物的某些实施方案中，该核酸酶结构域包含或进一步包含IIS型核酸内切酶。在该基因组编辑组合物的某些实施方案中，该IIS型核酸内切酶包含AciI、Mn1I、AlwI、BbvI、BccI、BceAI、BsmAI、BsmFI、BspCNI、BsrI、BtsCI、HgaI、HphI、HpyAV、Mbo1I、My1I、PleI、SfaNI、AcuI、BciVI、BfuAI、BmgBI、BmrI、BpmI、BpuEI、BsaI、BseRI、BsgI、BsmI、BspMI、BsrBI、BsrBI、BsrDI、BtgZI、BtsI、EarI、EciI、MmeI、NmeAIII、BbvCI、Bpu10I、BspQI、SapI、BaeI、BsaXI、CspCI、BfiI、MboII、Acc36I、FokI或Clo051。在某些实施方案中，该IIS型核酸内切酶包含Clo051。在该基因组编辑组合物的某些实施方案中，该核酸酶结构域包含或进一步包含TALEN或其核酸酶结构域。在该基因组编辑组合物的某些实施方案中，该核酸酶结构域包含或进一步包含ZFN或其核酸酶结构域。在包含同源重组的引入步骤的某些实施方案中，该基因组编辑组合物诱导基因组序列中的断裂，并利用原代T细胞的内源性DNA修复机制插入供体序列组合物。在包含同源重组的引入步骤的某些实施方案中，插入供体序列组合物消除了该基因组编辑组合物的DNA结合位点，由此阻止了该基因组编辑组合物的进

一步活动。

[0277] 在本公开的同源重组方法的某些实施方案中,该基因组编辑组合物或构建体的核酸酶结构域能够在原代人T细胞的基因组序列中的限定位置处引入断裂,且此外可以包含、基本由或由同二聚体或异二聚体组成。在某些实施方案中,该核酸酶是核酸内切酶。效应物分子,包括包含同二聚体或异二聚体的那些效应物分子,可以包含、基本由或由Cas9、Cas9核酸酶结构域或其片段组成。在某些实施方案中,该Cas9是无催化活性的或"失活的"Cas9(dCas9)。在某些实施方案中,该Cas9是Cas9的无催化活性的或"失活的"核酸酶结构域。在某些实施方案中,通过衍生自全长的、催化失活的Cas9的较短序列(本文中称为"小"dCas9或dSaCas9)编码该dCas9。

[0278] 在某些实施方案中,该失活的小Cas9(dSaCas9)可操作地连接到活性核酸酶上。在某些实施方案中,本公开提供了融合蛋白,其包含、基本由或由DNA结合域和分子核酸酶组成,其中该核酸酶包含小的失活的Cas9(dSaCas9)。在某些实施方案中,本公开的dSaCas9包含使催化位点失活的突变D10A和N580A(下面划线的和加粗的)。在某些实施方案中,本公开的dSaCas9包含以下氨基酸序列:

[0279]

1 MKRNYILGLA IGITSVGYGI IDYETRDVID AGVRLFKEAN VENNEGRRSK RGARRLKRRR

61 RHRIQRVKKL LFDYNLLTDH SELSGINPYE ARVKGLSQKL SEEEFSAALL HLAKRRGVHN

121 VNEVEEDTGN ELSTKEQISR NSKALEEKYV AELQLERLKK DGEVRGSINR FKTSDYVKEA

181 KQLLKVQKAY HQLDQSFIDT YIDLLETRRT YYEGPGEGSP FGWKDIKEWY EMLMGHCTYF

241 PEELRSVKYA YNADLYNALN DLNNLVITRD ENEKLEYYEK FQIIENVFKQ KKKPTLKQIA

301 KEILVNEEDI KGYRVTSTGK PEFTNLKVYH DIKDITARKE IIENAELLDQ IAKILTIYQS

361 SEDIQEELTN LNSELTQEEI EQISNLKGYT GTHNLSLKAI NLILDELWHT NDNQIAIFNR

421 LKLVPKKVDL SQQKEIPTTL VDDFILSPVV KRSFIQSIKV INAIIKKYGL PNDIIIELAR

481 EKNSKDAQKM INEMQKRNRQ TNERIEEIIR TTGKENAKYL IEKIKLHDMQ EGKCLYSLEA

541 IPLEDLLNNP FNYEVDHIIP RSVSFDNSFN NKVLVKQEEA SKKGNRTPFQ YLSSSDSKIS

601 YETFKKHILN LAKGKGRISK TKKEYLLEER DINRFSVQKD FINRNLVDTR YATRGLMNLL

661 RSYFRVNNLD VKVKSINGGF TSFLRRKWKF KKERNKGYKH HAEDALIIAN ADFIFKEWKK

721 LDKAKKVMEN QMFEEKQAES MPEIETEQEY KEIFITPHQI KHIKDFKDYK YSHRVDKKPN

781 RELINDTLYS TRKDDKGNTL IVNNLNGLYD KDNDKLKKLI NKSPEKLLMY HHDPQTYQKL

841 KLIMEQYGDE KNPLYKYYEE TGNYLTKYSK KDNGPVIKKI KYYGNKLNAH LDITDDYPNS

901 RNKVVKLSLK PYRFDVYLDN GVYKFVTVKN LDVIKKENYY EVNSKCYEEA KKLKKISNQA

961 EFIASFYNND LIKINGELYR VIGVNNDLLN RIEVNMIDIT YREYLENMND KRPPRIIKTI

1021 ASKTQSIKKY STDILGNLYE VKSKKHPQII KKG (SEQ ID NO: 32)。

[0280] 在某些实施方案中,本公开的dCas9包含分离或衍生自金黄色酿脓葡萄球菌(Staphyloccocus pyogenes)的dCas9。在某些实施方案中,该dCas9包含具有使催化位点失活的在该dCas9的氨基酸序列的位置10和840处的置换的dCas9。在某些实施方案中,这些置换是D10A和H840A。在某些实施方案中,该dCas9的氨基酸序列包含以下序列:

[0281]

1 XDKKYSIGLA IGTNSVGWAV ITDEYKVPSK KFKVLGNTDR HSIKKNLIGA LLFDSGETAE
61 ATRLKRTARR RYTRRKNRIC YLQEIFSNEM AKVDDSFFHR LEESFLVEED KKHERHPIFG
121 NIVDEVAYHE KYPTIYHLRK KLVDSTDKAD LRLIYLALAH MIKFRGHFLI EGDLNPDNSD
181 VDKLFIQLVQ TYNQLFEENP INASGVDAKA ILSARLSKSR RLENLIAQLP GEKKNGLFGN
241 LIALSLGLTP NFKSNFDLAE DAKLQLSKDT YDDDLDNLLA QIGDQYADLF LAAKNLSDAI
301 LLSDILRVNT EITKAPLSAS MIKRYDEHHQ DLTLLKALVR QQLPEKYKEI FFDQSKNGYA
361 GYIDGGASQE EFYKFIKPIL EKMDGTEELL VKLNREDLLR KQRTFDNGSI PHQIHLGELH
421 AILRRQEDFY PFLKDNREKI EKILTFRIPY YVGPLARGNS RFAWMTRKSE ETITPWNFEE
481 VVDKGASAQS FIERMTNFDK NLPNEKVLPK HSLLYEYFTV YNELTKVKYV TEGMRKPAFL
541 SGEQKKAIVD LLFKTNRKVT VKQLKEDYFK KIECFDSVEI SGVEDRFNAS LGTYHDLLKI
601 IKDKDFLDNE ENEDILEDIV LTLTLFEDRE MIEERLKTYA HLFDDKVMKQ LKRRRYTGWG
661 RLSRKLINGI RDKQSGKTIL DFLKSDGFAN RNFMQLIHDD SLTFKEDIQK AQVSGQGDSL
721 HEHIANLAGS PAIKKGILQT VKVVDELVKV MGRHKPENIV IEMARENQTT QKGQKNSRER

[0282]

781 MKRIEEGIKE LGSQILKEHP VENTQLQNEK LYLYYLQNGR DMYVDQELDI NRLSDYDVDA
841 IVPQSFLKDD SIDNKVLTRS DKNRGKSDNV PSEEVVKKMK NYWRQLLNAK LITQRKFDNL
901 TKAERGGLSE LDKAGFIKRQ LVETRQITKH VAQILDSRMN TKYDENDKLI REVKVITLKS
961 KLVSDFRKDF QFYKVREINN YHHAHDAYLN AVVGTALIKK YPKLESEFVY GDYKVYDVRK
1021 MIAKSEQEIG KATAKYFFYS NIMNFFKTEI TLANGEIRKR PLIETNGETG EIVWDKGRDF
1081 ATVRKVLSMP QVNIVKKTEV QTGGFSKESI LPKRNSDKLI ARKKDWDPKK YGGFDSPTVA
1141 YSVLVVAKVE KGKSKKLKSV KELLGITIME RSSFEKNPID FLEAKGYKEV KKDLIIKLPK
1201 YSLFELENGR KRMLASAGEL QKGNELALPS KYVNFLYLAS HYEKLKGSPE DNEQKQLFVE
1261 QHKHYLDEII EQISEFSKRV ILADANLDKV LSAYNKHRDK PIREQAENII HLFTLTNLGA
1321 PAAFKYFDTT IDRKRYTSTK EVLDATLIHQ SITGLYETRI DLSQLGGD (SEQ ID NO: 33)。

[0283] 在本公开的某些实施方案中，该核酸酶结构域可以包含、基本由或由dCas9或dSaCas9以及IIS型核酸内切酶组成。在本公开的某些实施方案中，该核酸酶结构域可以包含、基本由或由dSaCas9和IIS型核酸内切酶组成，所述IIS型核酸内切酶包括但不限于AciI、Mn1I、AlwI、BbvI、BccI、BceAI、BsmAI、BsmFI、BspCNI、BsrI、BtsCI、HgaI、HphI、HpyAV、Mbo1I、My1I、PleI、SfaNI、AcuI、BciVI、BfuAI、BmgBI、BmrI、BpmI、BpuEI、BsaI、BseRI、BsgI、BsmI、BspMI、BsrBI、BsrBI、BsrDI、BtgZI、BtsI、EarI、EciI、MmeI、NmeAIII、BbvCI、Bpu10I、BspQI、SapI、BaeI、BsaXI、CspCI、BfiI、MboII、Acc36I、FokI或Clo051。在本公开的某些实施方案中，该核酸酶结构域可以包含、基本由或由dSaCas9和Clo051组成。示例性的Clo051核酸酶结构域可以包含、基本由或由以下氨基酸序列组成：EGIKSNISLLKDELRGQISHISHEYLSLIDLAFDSKQNRLFEMKVLELLVNEYGFKGRHLGGSRKPDGIVYSTTLEDNFGIIVDTKAYSEGYSLPISQADEMERYVRENSNRDEEVNPNKWWENFSEEVKKYYFVFISGSFKGKFEEQLRRLSMTTGVNGSAVNVVNLLLGAEKIRSGEMTIEELERAMFNNSEFILKY(SEQ ID NO:34)。

[0284] 示例性的dCas9-Clo051核酸酶结构域可以包含、基本由或由以下氨基酸序列组成(Clo051序列用下划线表示，接头用粗斜体表示，dCas9序列用斜体表示)：

[0285]

MAPKKKRKVEGIKSNISLLKDELRGQISHISHEYLSLIDLAFDSKQN
RLFEMKVLELLVNEYGFKGRHLGGSRKPDGIVYSTTLEDNFGIIVD
TKAYSEGYSLPISQADEMERYVRENSNRDEEVNPNKWWENFSEE
VKKYYFVFISGSFKGKFEEQLRRLSMTTGVNGSAVNVVNLLLGAE
KIRSGEMTIEELERAMFNNSEFILKY*GGGGSDKKYSIGLAIGTNSVGW*
*AVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRT*
*ARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSFFHRLEESFLVEEDKKHER*
*HPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKFR*
*GHFLIEGDLNPDNSDVDKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSA*
*RLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAK*
*LQLSKDTYDDDLDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEIT*
*KAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAG*
*YIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSI*
*PHQIHLGELHAILRRQEDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPYYVGPLARGNS*
*RFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVL*
*PKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLSGEQKKAIVDLLFKTNR*
*KVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDF*
*LDNEENEDILEDIVLTLTLFEDREMIEERLKTYAHLFDDKVMKQLKRR*
*RYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSL*
*TFKEDIQKAQVSGQGDSLHEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKV*
*MGRHKPENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILKE*
*HPVENTQLQNEKLYLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDAIVPQSF*
*LKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLITQ*
*RKFDNLTKAERGGLSELDKAGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTK*
*YDENDKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLNA*
*VVGTALIKKYPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYS*
*NIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSM*
*PQVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSP*
*TVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSFEKNPIDFLEAKGY*

[0286]

*KEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFL*
*YLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQISEFSKRVILADA*
*NLDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRK*
*RYTSTKEVLDATLIHQSITGLYETRIDLSQLGGD*GSPKKKRKVSS（SEQ ID NO: 40）。

[0287] 在某些实施方案中，能够在原代人T细胞的基因组DNA中的限定位置处引入断裂的核酸酶可以包含、基本由或由同二聚体或异二聚体组成。本公开的基因组编辑组合物或构建体的核酸酶结构域可以包含、基本由或由从转录激活因子样效应物核酸酶(TALEN)中分

离、衍生或重组的核酸酶结构域组成。TALEN是具有可编程DNA结合域的转录因子，其提供了创建与预先确定的DNA序列或个别核酸结合的设计蛋白(designerproteins)的手段。已经在转录激活因子样(TAL)蛋白，或更具体为转录激活因子样效应物核酸酶(TALEN)中识别出模块DNA结合域，由此允许从头创建结合相关DNA序列的合成的转录因子，如果需要的话还允许存在于蛋白或多肽上的第二结构域表现与DNA相关的活性。TAL蛋白已经衍生自生物体黄单胞菌属(Xanthomonas)和雷尔氏菌属(Ralstonia)。

[0288] 在本公开的某些实施方案中，该基因组编辑组合物或构建体的核酸酶结构域可以包含、基本由或由从TALEN和IIS型核酸内切酶中分离、衍生或重组的核酸酶结构域组成。在本公开的某些实施方案中，该IIS型核酸内切酶可以包含、基本由或由以下组成：AciI、Mn1I、AlwI、BbvI、BccI、BceAI、BsmAI、BsmFI、BspCNI、BsrI、BtsCI、HgaI、HphI、HpyAV、Mbo1I、My1I、PleI、SfaNI、AcuI、BciVI、BfuAI、BmgBI、BmrI、BpmI、BpuEI、BsaI、BseRI、BsgI、BsmI、BspMI、BsrBI、BsrBI、BsrDI、BtgZI、BtsI、EarI、EciI、MmeI、NmeAIII、BbvCI、Bpu10I、BspQI、SapI、BaeI、BsaXI、CspCI、BfiI、MboII、Acc36I、FokI或Clo051。在本公开的某些实施方案中，该IIS型核酸内切酶可以包含、基本由或由Clo051(SEQ ID NO:34)组成。

[0289] 在本公开的某些实施方案中，该基因组编辑组合物或构建体的核酸酶结构域可以包含、基本由或由从锌指核酸酶(ZFN)和IIS型核酸内切酶中分离、衍生或重组的核酸酶结构域组成。在本公开的某些实施方案中，该IIS型核酸内切酶可以包含、基本由或由以下组成：AciI、Mn1I、AlwI、BbvI、BccI、BceAI、BsmAI、BsmFI、BspCNI、BsrI、BtsCI、HgaI、HphI、HpyAV、Mbo1I、My1I、PleI、SfaNI、AcuI、BciVI、BfuAI、BmgBI、BmrI、BpmI、BpuEI、BsaI、BseRI、BsgI、BsmI、BspMI、BsrBI、BsrBI、BsrDI、BtgZI、BtsI、EarI、EciI、MmeI、NmeAIII、BbvCI、Bpu10I、BspQI、SapI、BaeI、BsaXI、CspCI、BfiI、MboII、Acc36I、FokI或Clo051。在本公开的某些实施方案中，该IIS型核酸内切酶可以包含、基本由或由Clo051(SEQ ID NO:34)组成。

[0290] 在本公开的基因组编辑组合物或构建体的某些实施方案中，该DNA结合域与该核酸酶结构域可以是共价连接的。例如，融合蛋白可以包含该DNA结合域与该核酸酶结构域。在本公开的基因组编辑组合物或构建体的某些实施方案中，该DNA结合域与该核酸酶结构域可以通过非共价键可操作地连接。

[0291] 来自修饰T细胞的分泌的蛋白

[0292] 在本公开的组合物和方法的某些实施方案中，修饰T细胞表达治疗蛋白。本公开的治疗蛋白包括分泌蛋白。优选地，在治疗背景下，该治疗蛋白是人蛋白质，包括分泌的人蛋白质。当通过本公开的CAR-T细胞表达或分泌时，包含该CAR-T细胞和由其分泌的治疗蛋白的组合可以被视为单一疗法。但是，本公开的CAR-T细胞可以作为与第二药剂的组合疗法施用。可以通过本公开的修饰T细胞表达或分泌的人分泌蛋白的数据库可以在proteinatlas.org/search/protein_class:Predicted%20secreted%20proteins处找到，其内容经此引用并入本文。在表1中提供了示例性的人分泌蛋白，但是不限于该人分泌蛋白。

[0293] 表1.示例性的人分泌蛋白

[0294]

| 基因 | Ensembl ID | 基因描述 |
|---|---|---|
| A1BG | ENSG00000121410 | α-1-B 糖蛋白 |
| A2M | ENSG00000175899 | α-2-巨球蛋白 |
| A2ML1 | ENSG00000166535 | α-2-巨球蛋白样蛋白 1 |
| A4GNT | ENSG00000118017 | α-1,4-N-乙酰氨基葡萄糖转移酶 |
| AADACL2 | ENSG00000197953 | 芳基乙酰胺脱乙酰基酶样蛋白 2 |
| AANAT | ENSG00000129673 | 芳烷基胺 N-乙酰基转移酶 |
| ABCG1 | ENSG00000160179 | ATP-结合盒，亚族 G (WHITE)，成员 1 |
| ABHD1 | ENSG00000143994 | 自水解酶结构域 1 |
| ABHD10 | ENSG00000144827 | 自水解酶结构域 10 |
| ABHD14A | ENSG00000248487 | 自水解酶结构域 14A |
| ABHD15 | ENSG00000168792 | 自水解酶结构域 15 |
| ABI3BP | ENSG00000154175 | ABI 家族，成员 3(NESH)结合蛋白 |
| AC008641.1 | ENSG00000279109 | |
| AC009133.22 | ENSG00000277669 | |
| AC009491.2 | ENSG00000279664 | |
| AC011513.3 | ENSG00000267881 | |
| AC136352.5 | ENSG00000277666 | |
| AC145212.4 | ENSG00000277400 | MaFF-相互作用蛋白 |
| AC233755.1 | ENSG00000275063 | |
| ACACB | ENSG00000076555 | 乙酰辅酶 A 羧化酶 β |
| ACAN | ENSG00000157766 | 聚集蛋白聚糖 |
| ACE | ENSG00000159640 | 血管紧张素 I 转换酶 |
| ACHE | ENSG00000087085 | 乙酰胆碱酯酶 (Yt 血型) |
| ACP2 | ENSG00000134575 | 酸性磷酸酶 2，溶酶体的 |
| ACP5 | ENSG00000102575 | 酸性磷酸酶 5，抗酒石酸 |
| ACP6 | ENSG00000162836 | 酸性磷酸酶 6，溶血磷脂 |
| ACPP | ENSG00000014257 | 酸性磷酸酶，前列腺 |
| ACR | ENSG00000100312 | 顶体蛋白 |
| ACRBP | ENSG00000111644 | 顶体蛋白结合蛋白 |
| ACRV1 | ENSG00000134940 | 顶体囊泡蛋白 1 |
| ACSF2 | ENSG00000167107 | 酰基辅酶 A 合成酶家族成员 2 |
| ACTL10 | ENSG00000182584 | 肌动蛋白样 10 |
| ACVR1 | ENSG00000115170 | 活化素 A 受体，I 型 |
| ACVR1C | ENSG00000123612 | 活化素 A 受体，IC 型 |

[0295]

| | | |
|---|---|---|
| ACVRL1 | ENSG00000139567 | 活化素 A 受体 II 型样 1 |
| ACYP1 | ENSG00000119640 | 酰基磷酸酶 1, 红细胞(常见)类型 |
| ACYP2 | ENSG00000170634 | 酰基磷酸酶 2, 肌肉型 |
| ADAM10 | ENSG00000137845 | ADAM 金属肽酶结构域 10 |
| ADAM12 | ENSG00000148848 | ADAM 金属肽酶结构域 12 |
| ADAM15 | ENSG00000143537 | ADAM 金属肽酶结构域 15 |
| ADAM17 | ENSG00000151694 | ADAM 金属肽酶结构域 17 |
| ADAM18 | ENSG00000168619 | ADAM 金属肽酶结构域 18 |
| ADAM22 | ENSG00000008277 | ADAM 金属肽酶结构域 22 |
| ADAM28 | ENSG00000042980 | ADAM 金属肽酶结构域 28 |
| ADAM29 | ENSG00000168594 | ADAM 金属肽酶结构域 29 |
| ADAM32 | ENSG00000197140 | ADAM 金属肽酶结构域 32 |
| ADAM33 | ENSG00000149451 | ADAM 金属肽酶结构域 33 |
| ADAM7 | ENSG00000069206 | ADAM 金属肽酶结构域 7 |
| ADAM8 | ENSG00000151651 | ADAM 金属肽酶结构域 8 |
| ADAM9 | ENSG00000168615 | ADAM 金属肽酶结构域 9 |
| ADAMDEC1 | ENSG00000134028 | ADAM-样, decysin 1 |
| ADAMTS1 | ENSG00000154734 | 含有血小板反应蛋白 1 型基序的 ADAM 金属肽酶 1 |
| ADAMTS10 | ENSG00000142303 | 含有血小板反应蛋白 1 型基序的 ADAM 金属肽酶 10 |
| ADAMTS12 | ENSG00000151388 | 含有血小板反应蛋白 1 型基序的 ADAM 金属肽酶 12 |
| ADAMTS13 | ENSG00000160323 | 含有血小板反应蛋白 1 型基序的 ADAM 金属肽酶 13 |
| ADAMTS14 | ENSG00000138316 | 含有血小板反应蛋白 1 型基序的 ADAM 金属肽酶 14 |
| ADAMTS15 | ENSG00000166106 | 含有血小板反应蛋白 1 型基序的 ADAM 金属肽酶 15 |
| ADAMTS16 | ENSG00000145536 | 含有血小板反应蛋白 1 型基序的 ADAM 金属肽酶 16 |
| ADAMTS17 | ENSG00000140470 | 含有血小板反应蛋白 1 型基序的 ADAM 金属肽酶 17 |
| ADAMTS18 | ENSG00000140873 | 含有血小板反应蛋白 1 型基序的 ADAM 金属肽酶 18 |
| ADAMTS19 | ENSG00000145808 | 含有血小板反应蛋白 1 型基序的 ADAM 金属肽酶 19 |
| ADAMTS2 | ENSG00000087116 | 含有血小板反应蛋白 1 型基序的 ADAM 金属肽酶 2 |
| ADAMTS20 | ENSG00000173157 | 含有血小板反应蛋白 1 型基序的 ADAM 金属肽酶 20 |
| ADAMTS3 | ENSG00000156140 | 含有血小板反应蛋白 1 型基序的 ADAM 金属肽酶 3 |
| ADAMTS5 | ENSG00000154736 | 含有血小板反应蛋白 1 型基序的 ADAM 金属肽酶 5 |
| ADAMTS6 | ENSG00000049192 | 含有血小板反应蛋白 1 型基序的 ADAM 金属肽酶 6 |
| ADAMTS7 | ENSG00000136378 | 含有血小板反应蛋白 1 型基序的 ADAM 金属肽酶 7 |
| ADAMTS8 | ENSG00000134917 | 含有血小板反应蛋白 1 型基序的 ADAM 金属肽酶 8 |
| ADAMTS9 | ENSG00000163638 | 含有血小板反应蛋白 1 型基序的 ADAM 金属肽酶 9 |

[0296]

| | | |
|---|---|---|
| ADAMTSL1 | ENSG00000178031 | ADAMTS 样 1 |
| ADAMTSL2 | ENSG00000197859 | ADAMTS 样 2 |
| ADAMTSL3 | ENSG00000156218 | ADAMTS 样 3 |
| ADAMTSL4 | ENSG00000143382 | ADAMTS 样 4 |
| ADAMTSL5 | ENSG00000185761 | ADAMTS 样 5 |
| ADCK1 | ENSG00000063761 | 含有 AarF 域的激酶 1 |
| ADCYAP1 | ENSG00000141433 | 腺苷酸环化酶激活多肽 1 (脑垂体) |
| ADCYAP1R1 | ENSG00000078549 | 腺苷酸环化酶激活多肽 1 (脑垂体)受体 I 型 |
| ADGRA3 | ENSG00000152990 | 粘附 G 蛋白偶联受体 A3 |
| ADGRB2 | ENSG00000121753 | 粘附 G 蛋白偶联受体 B2 |
| ADGRD1 | ENSG00000111452 | 粘附 G 蛋白偶联受体 D1 |
| ADGRE3 | ENSG00000131355 | 粘附 G 蛋白偶联受体 E3 |
| ADGRE5 | ENSG00000123146 | 粘附 G 蛋白偶联受体 E5 |
| ADGRF1 | ENSG00000153292 | 粘附 G 蛋白偶联受体 F1 |
| ADGRG1 | ENSG00000205336 | 粘附 G 蛋白偶联受体 G1 |
| ADGRG5 | ENSG00000159618 | 粘附 G 蛋白偶联受体 G5 |
| ADGRG6 | ENSG00000112414 | 粘附 G 蛋白偶联受体 G6 |
| ADGRV1 | ENSG00000164199 | 粘附 G 蛋白偶联受体 V1 |
| ADI1 | ENSG00000182551 | 酸式还原酮双加氧酶 1 |
| ADIG | ENSG00000182035 | 脂生蛋白(Adipogenin) |
| ADIPOQ | ENSG00000181092 | 脂连蛋白, 含有 C1Q 和胶原结构域 |
| ADM | ENSG00000148926 | 肾上腺髓质素 |
| ADM2 | ENSG00000128165 | 肾上腺髓质素 2 |
| ADM5 | ENSG00000224420 | 肾上腺髓质素 5 (推定) |
| ADPGK | ENSG00000159322 | ADP-依赖性葡萄糖激酶 |
| ADPRHL2 | ENSG00000116863 | 类 ADP-核糖基水解酶 2 |
| AEBP1 | ENSG00000106624 | AE 结合蛋白 1 |
| AFM | ENSG00000079557 | α-白蛋白(Afamin) |
| AFP | ENSG00000081051 | α-胎儿球蛋白 |
| AGA | ENSG00000038002 | 天冬氨酰氨基葡糖苷酶 |
| AGER | ENSG00000204305 | 高级糖基化终产物特异性受体 |
| AGK | ENSG00000006530 | 酰基甘油激酶 |
| AGPS | ENSG00000018510 | 烷基甘油酮磷酸合酶 |
| AGR2 | ENSG00000106541 | 前梯度蛋白 2, 蛋白质二硫化物异构酶家族成员 |
| AGR3 | ENSG00000173467 | 前梯度蛋白 3, 蛋白质二硫化物异构酶家族成员 |

[0297]

| | | |
|---|---|---|
| AGRN | ENSG00000188157 | 集聚蛋白 |
| AGRP | ENSG00000159723 | 刺鼠相关神经肽 |
| AGT | ENSG00000135744 | 血管紧张肽原 (丝氨酸蛋白酶抑制剂, 分支 A, 成员 8) |
| AGTPBP1 | ENSG00000135049 | ATP/GTP 结合蛋白 1 |
| AGTRAP | ENSG00000177674 | 血管紧张肽 II 受体相关蛋白 |
| AHCYL2 | ENSG00000158467 | 类腺苷高半胱氨酸酶 2 |
| AHSG | ENSG00000145192 | α-2-HS-糖蛋白 |
| AIG1 | ENSG00000146416 | 雄激素诱导蛋白 1 |
| AK4 | ENSG00000162433 | 腺苷酸激酶 4 |
| AKAP10 | ENSG00000108599 | 激酶（PRKA）锚蛋白 10 |
| AKR1C1 | ENSG00000187134 | 醛酮还原酶家族 1, 成员 C1 |
| AL356289.1 | ENSG00000279096 | |
| AL589743.1 | ENSG00000279508 | |
| ALAS2 | ENSG00000158578 | 5'-氨基乙酰丙酸合成酶 2 |
| ALB | ENSG00000163631 | 白蛋白 |
| ALDH9A1 | ENSG00000143149 | 醛脱氢酶 9 家族, 成员 A1 |
| ALDOA | ENSG00000149925 | 醛缩酶 A, 果糖-二磷酸 |
| ALG1 | ENSG00000033011 | ALG1, 壳二糖基二磷酸多萜醇 β-甘露糖基转移酶 |
| ALG5 | ENSG00000120697 | ALG5, 多萜醇磷酸 β-葡糖基转移酶 |
| ALG9 | ENSG00000086848 | ALG9, α-1,2-甘露糖基转移酶 |
| ALKBH1 | ENSG00000100601 | AlkB 同系物 1, 组蛋白 H2A 双加氧酶 |
| ALKBH5 | ENSG00000091542 | AlkB 同系物 5, RNA 脱甲基酶 |
| ALPI | ENSG00000163295 | 碱性磷酸酶, 肠 |
| ALPL | ENSG00000162551 | 碱性磷酸酶, 肝/骨/肾 |
| ALPP | ENSG00000163283 | 碱性磷酸酶, 胎盘 |
| ALPPL2 | ENSG00000163286 | 碱性磷酸酶, 胎盘样 2 |
| AMBN | ENSG00000178522 | 成釉蛋白 (釉质基质蛋白) |
| AMBP | ENSG00000106927 | α-1-微球蛋白/尿抑胰酶素前体 |
| AMELX | ENSG00000125363 | 牙釉蛋白, X-连接 |
| AMELY | ENSG00000099721 | 牙釉蛋白, Y-连接 |
| AMH | ENSG00000104899 | 抗穆氏管荷尔蒙 |
| AMICA1 | ENSG00000160593 | 粘着分子, 与 CXADR 抗原 1 相互作用 |
| AMPD1 | ENSG00000116748 | 腺苷单磷酸脱氨酶 1 |
| AMTN | ENSG00000187689 | 釉成熟蛋白 |
| AMY1A | ENSG00000237763 | 淀粉酶, α1A (唾液) |

[0298]

| | | |
|---|---|---|
| AMY1B | ENSG00000174876 | 淀粉酶, α1B (唾液) |
| AMY1C | ENSG00000187733 | 淀粉酶, α1C (唾液) |
| AMY2A | ENSG00000243480 | 淀粉酶, α2A (胰) |
| AMY2B | ENSG00000240038 | 淀粉酶, α2B (胰) |
| ANG | ENSG00000214274 | 血管生成素, 核糖核酸酶, RNase A 家族, 5 |
| ANGEL1 | ENSG00000013523 | 天使同系物 1 (果蝇属) |
| ANGPT1 | ENSG00000154188 | 血管生成素 1 |
| ANGPT2 | ENSG00000091879 | 血管生成素 2 |
| ANGPT4 | ENSG00000101280 | 血管生成素 4 |
| ANGPTL1 | ENSG00000116194 | 类血管生成素 1 |
| ANGPTL2 | ENSG00000136859 | 类血管生成素 2 |
| ANGPTL3 | ENSG00000132855 | 类血管生成素 3 |
| ANGPTL4 | ENSG00000167772 | 类血管生成素 4 |
| ANGPTL5 | ENSG00000187151 | 类血管生成素 5 |
| ANGPTL6 | ENSG00000130812 | 类血管生成素 6 |
| ANGPTL7 | ENSG00000171819 | 类血管生成素 7 |
| ANK1 | ENSG00000029534 | 锚蛋白 1, 红细胞的 |
| ANKDD1A | ENSG00000166839 | 含有锚蛋白重复和死亡结构域含蛋白 1A |
| ANKRD54 | ENSG00000100124 | 锚蛋白重复结构域 54 |
| ANKRD60 | ENSG00000124227 | 锚蛋白重复结构域 60 |
| ANO7 | ENSG00000146205 | Anoctamin 7 |
| ANOS1 | ENSG00000011201 | Anosmin 1 |
| ANTXR1 | ENSG00000169604 | 炭疽毒素受体 1 |
| AOAH | ENSG00000136250 | 酰氧基酰基水解酶 (嗜中性白细胞) |
| AOC1 | ENSG00000002726 | 胺氧化酶, 含铜 1 |
| AOC2 | ENSG00000131480 | 胺氧化酶, 含铜 2 (视网膜特异性) |
| AOC3 | ENSG00000131471 | 胺氧化酶, 含铜 3 |
| AP000721.4 | ENSG00000256100 | |
| AP000866.1 | ENSG00000279342 | |
| APBB1 | ENSG00000166313 | β 淀粉样蛋白(A4)前体蛋白结合家族 B, 成员 1 (Fe65) |
| APCDD1 | ENSG00000154856 | 腺瘤性结肠息肉病下调 1 |
| APCS | ENSG00000132703 | 淀粉样蛋白 P 组分, 血清 |
| APELA | ENSG00000248329 | 爱帕林肽(Apelin)受体早期内源性配体 |
| APLN | ENSG00000171388 | 爱帕林肽 |
| APLP2 | ENSG00000084234 | β 淀粉样蛋白(A4)前体样蛋白 2 |

[0299]

| | | |
|---|---|---|
| APOA1 | ENSG00000118137 | 载脂蛋白 A-I |
| APOA1BP | ENSG00000163382 | 载脂蛋白 A-I 结合蛋白 |
| APOA2 | ENSG00000158874 | 载脂蛋白 A-II |
| APOA4 | ENSG00000110244 | 载脂蛋白 A-IV |
| APOA5 | ENSG00000110243 | 载脂蛋白 A-V |
| APOB | ENSG00000084674 | 载脂蛋白 B |
| APOC1 | ENSG00000130208 | 载脂蛋白 C-I |
| APOC2 | ENSG00000234906 | 载脂蛋白 C-II |
| APOC3 | ENSG00000110245 | 载脂蛋白 C-III |
| APOC4 | ENSG00000267467 | 载脂蛋白 C-IV |
| APOC4-APOC2 | ENSG00000224916 | APOC4-APOC2 通读 (NMD 候选) |
| APOD | ENSG00000189058 | 载脂蛋白 D |
| APOE | ENSG00000130203 | 载脂蛋白 E |
| APOF | ENSG00000175336 | 载脂蛋白 F |
| APOH | ENSG00000091583 | 载脂蛋白 H (β-2-糖蛋白 I) |
| APOL1 | ENSG00000100342 | 载脂蛋白 L, 1 |
| APOL3 | ENSG00000128284 | 载脂蛋白 L, 3 |
| APOM | ENSG00000204444 | 载脂蛋白 M |
| APOOL | ENSG00000155008 | 载脂蛋白 O 样 |
| ARCN1 | ENSG00000095139 | Archain 1 |
| ARFIP2 | ENSG00000132254 | ADP-核糖基化因子相互作用蛋白 2 |
| ARHGAP36 | ENSG00000147256 | Rho GTPase 激活蛋白 36 |
| ARHGAP6 | ENSG00000047648 | Rho GTPase 激活蛋白 6 |
| ARHGEF4 | ENSG00000136002 | Rho 鸟苷酸交换因子(GEF) 4 |
| ARL16 | ENSG00000214087 | ADP-核糖基化因子样 16 |
| ARMC5 | ENSG00000140691 | 含犰狳重复基因 5 |
| ARNTL | ENSG00000133794 | 芳烃受体核转位蛋白样 |
| ARSA | ENSG00000100299 | 芳香基硫酸酯酶 A |
| ARSB | ENSG00000113273 | 芳香基硫酸酯酶 B |
| ARSE | ENSG00000157399 | 芳香基硫酸酯酶 E (斑点状软骨发育异常 1) |
| ARSG | ENSG00000141337 | 芳香基硫酸酯酶 G |
| ARSI | ENSG00000183876 | 芳香基硫酸酯酶家族, 成员 I |
| ARSK | ENSG00000164291 | 芳香基硫酸酯酶家族, 成员 K |
| ART3 | ENSG00000156219 | ADP-核糖基转移酶 3 |
| ART4 | ENSG00000111339 | ADP-核糖基转移 4 (Dombrock 血型) |

[0300]

| | | |
|---|---|---|
| ART5 | ENSG00000167311 | ADP-核糖基转移酶 5 |
| ARTN | ENSG00000117407 | Artemin |
| ASAH1 | ENSG00000104763 | N-酰基鞘氨醇酰胺水解酶 (酸性神经酰胺酶) 1 |
| ASAH2 | ENSG00000188611 | N-酰基鞘氨醇酰胺水解酶(非溶酶体神经酰胺酶) 2 |
| ASCL1 | ENSG00000139352 | Achaete-scute 家族 bHLH 转录因子 1 |
| ASIP | ENSG00000101440 | 刺豚鼠信号蛋白 |
| ASPN | ENSG00000106819 | 无孢蛋白 |
| ASTL | ENSG00000188886 | 龙虾肽酶样金属内肽酶(M12 家族) |
| ATAD5 | ENSG00000176208 | ATPase 家族, 含 AAA 结构域的 5 |
| ATAT1 | ENSG00000137343 | α 微管蛋白乙酰转移酶 1 |
| ATG2A | ENSG00000110046 | 自噬相关基因 2A |
| ATG5 | ENSG00000057663 | 自噬相关基因 5 |
| ATMIN | ENSG00000166454 | ATM 相互作用分子（interactor） |
| ATP13A1 | ENSG00000105726 | 13A1 型 ATP 酶 |
| ATP5F1 | ENSG00000116459 | ATP 合成酶, H+转运, 线粒体 1Fo 复合物, 亚基 B1 |
| ATP6AP1 | ENSG00000071553 | ATP 酶, H+转运, 溶酶体辅助蛋白 1 |
| ATP6AP2 | ENSG00000182220 | ATP 酶, H+转运, 溶酶体辅助蛋白 2 |
| ATPAF1 | ENSG00000123472 | ATP 合成酶线粒体 1F1 复合物组装因子 1 |
| AUH | ENSG00000148090 | AU RNA 结合蛋白/烯酰辅酶 A 水合酶 |
| AVP | ENSG00000101200 | 精氨酸加压素 |
| AXIN2 | ENSG00000168646 | Axin 2 |
| AZGP1 | ENSG00000160862 | α-2-糖蛋白 1, 锌结合 |
| AZU1 | ENSG00000172232 | 天青杀素 1 |
| B2M | ENSG00000166710 | β-2-微球蛋白 |
| B3GALNT1 | ENSG00000169255 | β-1,3-N-乙酰半乳糖胺基转移酶 1 (红细胞糖苷血型) |
| B3GALNT2 | ENSG00000162885 | β-1,3-N-乙酰半乳糖胺基转移酶 2 |
| B3GALT1 | ENSG00000172318 | UDP-Gal:βGlcNAc β-1,3-半乳糖基转移酶, 多肽 1 |
| B3GALT4 | ENSG00000235863 | UDP-Gal: βGlcNAc β-1,3-半乳糖基转移酶, 多肽 4 |
| B3GALT5 | ENSG00000183778 | UDP-Gal: βGlcNAc β-1,3-半乳糖基转移酶, 多肽 5 |
| B3GALT6 | ENSG00000176022 | UDP-Gal:βGal β-1,3-半乳糖基转移酶, 多肽 6 |
| B3GAT3 | ENSG00000149541 | β-1,3-葡萄糖醛酸转移酶 3 |
| B3GLCT | ENSG00000187676 | β 3-葡萄糖基转移酶 |
| B3GNT3 | ENSG00000179913 | UDP-GlcNAc:βGal β-1,3-N-乙酰氨基葡萄糖转移酶 3 |
| B3GNT4 | ENSG00000176383 | UDP-GlcNAc:βGal β-1,3-N-乙酰氨基葡萄糖转移酶 4 |

[0301]

| | | |
|---|---|---|
| B3GNT6 | ENSG00000198488 | UDP-GlcNAc:βGal β-1,3-N-乙酰氨基葡萄糖转移酶 6 |
| B3GNT7 | ENSG00000156966 | UDP-GlcNAc:βGal β-1,3-N-乙酰氨基葡萄糖转移酶 7 |
| B3GNT8 | ENSG00000177191 | UDP-GlcNAc:βGal β-1,3-N-乙酰氨基葡萄糖转移酶 8 |
| B3GNT9 | ENSG00000237172 | UDP-GlcNAc:βGal β-1,3-N-乙酰氨基葡萄糖转移酶 9 |
| B4GALNT1 | ENSG00000135454 | β-1,4-N-乙酰半乳糖胺基转移酶 1 |
| B4GALNT3 | ENSG00000139044 | β-1,4-N-乙酰半乳糖胺基转移酶 3 |
| B4GALNT4 | ENSG00000182272 | β-1,4-N-乙酰半乳糖胺基转移酶 4 |
| B4GALT4 | ENSG00000121578 | UDP-Gal:βGlcNAc β-1,4-半乳糖基转移酶, 多肽 4 |
| B4GALT5 | ENSG00000158470 | UDP-Gal:βGlcNAc β-1,4-半乳糖基转移酶, 多肽 5 |
| B4GALT6 | ENSG00000118276 | UDP-Gal:βGlcNAc β-1,4-半乳糖基转移酶, 多肽 6 |
| B4GAT1 | ENSG00000174684 | β-1,4-葡萄糖醛酸转移酶 1 |
| B9D1 | ENSG00000108641 | B9 蛋白质结构域 1 |
| BACE2 | ENSG00000182240 | β-位点 APP-裂解酶 2 |
| BAGE5 | ENSG00000279973 | B 黑色素瘤抗原家族, 成员 5 |
| BCAM | ENSG00000187244 | 基底细胞粘着分子 (Lutheran 血型) |
| BCAN | ENSG00000132692 | 短缩素 |
| BCAP29 | ENSG00000075790 | B 细胞受体相关蛋白 29 |
| BCAR1 | ENSG00000050820 | 乳腺癌抗雌激素抗性蛋白 1 |
| BCHE | ENSG00000114200 | 丁酰胆碱酯酶 |
| BCKDHB | ENSG00000083123 | 支链酮酸脱氢酶 E1, β 多肽 |
| BDNF | ENSG00000176697 | 脑源性神经营养因子 |
| BGLAP | ENSG00000242252 | 骨 γ-羧基谷氨酸盐(gla)蛋白 |
| BGN | ENSG00000182492 | 二聚糖 |
| BLVRB | ENSG00000090013 | 胆绿素还原酶 B |
| BMP1 | ENSG00000168487 | 骨形态发生蛋白 1 |
| BMP10 | ENSG00000163217 | 骨形态发生蛋白 10 |
| BMP15 | ENSG00000130385 | 骨形态发生蛋白 15 |
| BMP2 | ENSG00000125845 | 骨形态发生蛋白 2 |
| BMP3 | ENSG00000152785 | 骨形态发生蛋白 3 |
| BMP4 | ENSG00000125378 | 骨形态发生蛋白 4 |
| BMP6 | ENSG00000153162 | 骨形态发生蛋白 6 |
| BMP7 | ENSG00000101144 | 骨形态发生蛋白 7 |
| BMP8A | ENSG00000183682 | 骨形态发生蛋白 8a |
| BMP8B | ENSG00000116985 | 骨形态发生蛋白 8b |
| BMPER | ENSG00000164619 | BMP 结合内皮调节剂 |

[0302]

| | | |
|---|---|---|
| BNC1 | ENSG00000169594 | 碱性核蛋白 1 |
| BOC | ENSG00000144857 | BOC 细胞粘附相关，癌基因调控 |
| BOD1 | ENSG00000145919 | 染色体在细胞分裂中的双向性 1 |
| BOLA1 | ENSG00000178096 | BolA 家族成员 1 |
| BPI | ENSG00000101425 | 杀菌/渗透性增加蛋白 |
| BPIFA1 | ENSG00000198183 | 含 BPI 折叠家族 A，成员 1 |
| BPIFA2 | ENSG00000131050 | 含 BPI 折叠家族 A，成员 2 |
| BPIFA3 | ENSG00000131059 | 含 BPI 折叠家族 A，成员 3 |
| BPIFB1 | ENSG00000125999 | 含 BPI 折叠家族 B，成员 1 |
| BPIFB2 | ENSG00000078898 | 含 BPI 折叠家族 B，成员 2 |
| BPIFB3 | ENSG00000186190 | 含 BPI 折叠家族 B，成员 3 |
| BPIFB4 | ENSG00000186191 | 含 BPI 折叠家族 B，成员 4 |
| BPIFB6 | ENSG00000167104 | 含 BPI 折叠家族 B，成员 6 |
| BPIFC | ENSG00000184459 | 含 BPI 折叠家族 C |
| BRF1 | ENSG00000185024 | BRF1，RNA 聚合酶 III 转录起始因子 90 kDa 亚基 |
| BRINP1 | ENSG00000078725 | 骨形态发生蛋白/维甲酸可诱导神经特异性 1 |
| BRINP2 | ENSG00000198797 | 骨形态发生蛋白/维甲酸可诱导神经特异性 2 |
| BRINP3 | ENSG00000162670 | 骨形态发生蛋白/维甲酸可诱导神经特异性 3 |
| BSG | ENSG00000172270 | Basigin (Ok 血型) |
| BSPH1 | ENSG00000188334 | 精子蛋白同系物黏合剂 1 |
| BST1 | ENSG00000109743 | 骨髓基质细胞抗原 1 |
| BTBD17 | ENSG00000204347 | 含 BTB (POZ)结构域 17 |
| BTD | ENSG00000169814 | 生物素酶 |
| BTN2A2 | ENSG00000124508 | 嗜乳脂蛋白，亚家族 2，成员 A2 |
| BTN3A1 | ENSG00000026950 | 嗜乳脂蛋白，亚家族 3，成员 A1 |
| BTN3A2 | ENSG00000186470 | 嗜乳脂蛋白，亚家族 3，成员 A2 |
| BTN3A3 | ENSG00000111801 | 嗜乳脂蛋白，亚家族 3，成员 A3 |
| C10orf10 | ENSG00000165507 | 染色体 10 开放阅读框 10 |
| C10orf99 | ENSG00000188373 | 染色体 10 开放阅读框 99 |
| C11orf1 | ENSG00000137720 | 染色体 11 开放阅读框 1 |
| C11orf24 | ENSG00000171067 | 染色体 11 开放阅读框 24 |
| C11orf45 | ENSG00000174370 | 染色体 11 开放阅读框 45 |
| C11orf94 | ENSG00000234776 | 染色体 11 开放阅读框 94 |
| C12orf10 | ENSG00000139637 | 染色体 12 开放阅读框 10 |
| C12orf49 | ENSG00000111412 | 染色体 12 开放阅读框 49 |

[0303]

| | | |
|---|---|---|
| C12orf73 | ENSG00000204954 | 染色体 12 开放阅读框 73 |
| C12orf76 | ENSG00000174456 | 染色体 12 开放阅读框 76 |
| C14orf80 | ENSG00000185347 | 染色体 14 开放阅读框 80 |
| C14orf93 | ENSG00000100802 | 染色体 14 开放阅读框 93 |
| C16orf89 | ENSG00000153446 | 染色体 16 开放阅读框 89 |
| C16orf90 | ENSG00000215131 | 染色体 16 开放阅读框 90 |
| C17orf67 | ENSG00000214226 | 染色体 17 开放阅读框 67 |
| C17orf75 | ENSG00000108666 | 染色体 17 开放阅读框 75 |
| C17orf99 | ENSG00000187997 | 染色体 17 开放阅读框 99 |
| C18orf54 | ENSG00000166845 | 染色体 18 开放阅读框 54 |
| C19orf47 | ENSG00000160392 | 染色体 19 开放阅读框 47 |
| C19orf70 | ENSG00000174917 | 染色体 19 开放阅读框 70 |
| C19orf80 | ENSG00000130173 | 染色体 19 开放阅读框 80 |
| C1GALT1 | ENSG00000106392 | 核心 1 合成酶，糖蛋白-N-乙酰半乳糖胺 3-β-半乳糖基转移酶 1 |
| C1orf127 | ENSG00000175262 | 染色体 1 开放阅读框 127 |
| C1orf159 | ENSG00000131591 | 染色体 1 开放阅读框 159 |
| C1orf198 | ENSG00000119280 | 染色体 1 开放阅读框 198 |
| C1orf234 | ENSG00000227868 | 染色体 1 开放阅读框 234 |
| C1orf54 | ENSG00000118292 | 染色体 1 开放阅读框 54 |
| C1orf56 | ENSG00000143443 | 染色体 1 开放阅读框 56 |
| C1QA | ENSG00000173372 | 补体成分 1, q 亚成分, A 链 |
| C1QB | ENSG00000173369 | 补体成分 1, q 亚成分, B 链 |
| C1QC | ENSG00000159189 | 补体成分 1, q 亚成分, C 链 |
| C1QL1 | ENSG00000131094 | 补体成分 1, q 亚成分样 1 |
| C1QL2 | ENSG00000144119 | 补体成分 1, q 亚成分样 2 |
| C1QL3 | ENSG00000165985 | 补体成分 1, q 亚成分样 3 |
| C1QL4 | ENSG00000186897 | 补体成分 1, q 亚成分样 4 |
| C1QTNF1 | ENSG00000173918 | C1q 和肿瘤坏死因子相关蛋白 1 |
| C1QTNF2 | ENSG00000145861 | C1q 和肿瘤坏死因子相关蛋白 2 |
| C1QTNF3 | ENSG00000082196 | C1q 和肿瘤坏死因子相关蛋白 3 |
| C1QTNF4 | ENSG00000172247 | C1q 和肿瘤坏死因子相关蛋白 4 |
| C1QTNF5 | ENSG00000223953 | C1q 和肿瘤坏死因子相关蛋白 5 |
| C1QTNF7 | ENSG00000163145 | C1q 和肿瘤坏死因子相关蛋白 7 |
| C1QTNF8 | ENSG00000184471 | C1q 和肿瘤坏死因子相关蛋白 8 |

[0304]

| | | |
|---|---|---|
| C1QTNF9 | ENSG00000240654 | C1q 和肿瘤坏死因子相关蛋白 9 |
| C1QTNF9B | ENSG00000205863 | C1q 和肿瘤坏死因子相关蛋白 9B |
| C1R | ENSG00000159403 | 补体成分 1, r 亚成分 |
| C1RL | ENSG00000139178 | 补体成分 1, 类 r 亚成分 |
| C1S | ENSG00000182326 | 补体成分 1, s 亚成分 |
| C2 | ENSG00000166278 | 补体成分 2 |
| C21orf33 | ENSG00000160221 | 染色体 21 开放阅读框 33 |
| C21orf62 | ENSG00000205929 | 染色体 21 开放阅读框 62 |
| C22orf15 | ENSG00000169314 | 染色体 22 开放阅读框 15 |
| C22orf46 | ENSG00000184208 | 染色体 22 开放阅读框 46 |
| C2CD2 | ENSG00000157617 | 含 C2 钙依赖性结构域 2 |
| C2orf40 | ENSG00000119147 | 染色体 2 开放阅读框 40 |
| C2orf66 | ENSG00000187944 | 染色体 2 开放阅读框 66 |
| C2orf69 | ENSG00000178074 | 染色体 2 开放阅读框 69 |
| C2orf78 | ENSG00000187833 | 染色体 2 开放阅读框 78 |
| C3 | ENSG00000125730 | 补体成分 3 |
| C3orf33 | ENSG00000174928 | 染色体 3 开放阅读框 33 |
| C3orf58 | ENSG00000181744 | 染色体 3 开放阅读框 58 |
| C4A | ENSG00000244731 | 补体成分 4A (Rodgers 血型) |
| C4B | ENSG00000224389 | 补体成分 4B (Chido 血型) |
| C4BPA | ENSG00000123838 | 补体成分 4 结合蛋白, α |
| C4BPB | ENSG00000123843 | 补体成分 4 结合蛋白, β |
| C4orf26 | ENSG00000174792 | 染色体 4 开放阅读框 26 |
| C4orf48 | ENSG00000243449 | 染色体 4 开放阅读框 48 |
| C5 | ENSG00000106804 | 补体成分 5 |
| C5orf46 | ENSG00000178776 | 染色体 5 开放阅读框 46 |
| C6 | ENSG00000039537 | 补体成分 6 |
| C6orf120 | ENSG00000185127 | 染色体 6 开放阅读框 120 |
| C6orf15 | ENSG00000204542 | 染色体 6 开放阅读框 15 |
| C6orf25 | ENSG00000204420 | 染色体 6 开放阅读框 25 |
| C6orf58 | ENSG00000184530 | 染色体 6 开放阅读框 58 |
| C7 | ENSG00000112936 | 补体成分 7 |
| C7orf57 | ENSG00000164746 | 染色体 7 开放阅读框 57 |
| C7orf73 | ENSG00000243317 | 染色体 7 开放阅读框 73 |
| C8A | ENSG00000157131 | 补体成分 8, α 多肽 |

[0305]

| | | |
|---|---|---|
| C8B | ENSG00000021852 | 补体成分 8, β 多肽 |
| C8G | ENSG00000176919 | 补体成分 8, γ 多肽 |
| C9 | ENSG00000113600 | 补体成分 9 |
| C9orf47 | ENSG00000186354 | 染色体 9 开放阅读框 47 |
| CA10 | ENSG00000154975 | 碳酸酐酶 X |
| CA11 | ENSG00000063180 | 碳酸酐酶 XI |
| CA6 | ENSG00000131686 | 碳酸酐酶 VI |
| CA9 | ENSG00000107159 | 碳酸酐酶 IX |
| CABLES1 | ENSG00000134508 | Cdk5 和 Abl 酶底物 1 |
| CABP1 | ENSG00000157782 | 钙结合蛋白 1 |
| CACNA2D1 | ENSG00000153956 | 钙通道, 电压依赖性, α2/δ 亚基 1 |
| CACNA2D4 | ENSG00000151062 | 钙通道, 电压依赖性, α2/δ 亚基 4 |
| CADM3 | ENSG00000162706 | 细胞粘着分子 3 |
| CALCA | ENSG00000110680 | 降钙素相关多肽 α |
| CALCB | ENSG00000175868 | 降钙素相关多肽 β |
| CALCR | ENSG00000004948 | 降钙素受体 |
| CALCRL | ENSG00000064989 | 类降钙素受体 |
| CALR | ENSG00000179218 | 钙网蛋白 |
| CALR3 | ENSG00000269058 | 钙网蛋白 3 |
| CALU | ENSG00000128595 | 钙腔蛋白 |
| CAMK2D | ENSG00000145349 | 钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II δ |
| CAMP | ENSG00000164047 | Cathelicidin 抗菌肽 |
| CANX | ENSG00000127022 | 钙联接蛋白 |
| CARKD | ENSG00000213995 | 含碳水化合物激酶结构域 |
| CARM1 | ENSG00000142453 | 共激活因子相关的精氨酸甲基转移酶 1 |
| CARNS1 | ENSG00000172508 | 肌肽合成酶 1 |
| CARTPT | ENSG00000164326 | CART 前肽原 |
| CASQ1 | ENSG00000143318 | 肌集钙蛋白 1 (快速抽搐, 骨骼肌) |
| CASQ2 | ENSG00000118729 | 肌集钙蛋白 2 (心肌) |
| CATSPERG | ENSG00000099338 | Catsper 通道辅助亚基 γ |
| CBLN1 | ENSG00000102924 | 小脑肽 1 前体 |
| CBLN2 | ENSG00000141668 | 小脑肽 2 前体 |
| CBLN3 | ENSG00000139899 | 小脑肽 3 前体 |
| CBLN4 | ENSG00000054803 | 小脑肽 4 前体 |
| CCBE1 | ENSG00000183287 | 胶原蛋白和钙结合 EGF 结构域 1 |

[0306]

| | | |
|---|---|---|
| CCDC108 | ENSG00000181378 | 含卷曲螺旋结构域 108 |
| CCDC112 | ENSG00000164221 | 含卷曲螺旋结构域 112 |
| CCDC129 | ENSG00000180347 | 含卷曲螺旋结构域 129 |
| CCDC134 | ENSG00000100147 | 含卷曲螺旋结构域 134 |
| CCDC149 | ENSG00000181982 | 含卷曲螺旋结构域 149 |
| CCDC3 | ENSG00000151468 | 含卷曲螺旋结构域 3 |
| CCDC80 | ENSG00000091986 | 含卷曲螺旋结构域 80 |
| CCDC85A | ENSG00000055813 | 含卷曲螺旋结构域 85A |
| CCDC88B | ENSG00000168071 | 含卷曲螺旋结构域 88B |
| CCER2 | ENSG00000262484 | 卷曲螺旋富谷氨酸蛋白质 2 |
| CCK | ENSG00000187094 | 胆囊收缩素 |
| CCL1 | ENSG00000108702 | 趋化因子(C-C 基序)配体 1 |
| CCL11 | ENSG00000172156 | 趋化因子(C-C 基序)配体 11 |
| CCL13 | ENSG00000181374 | 趋化因子(C-C 基序)配体 13 |
| CCL14 | ENSG00000276409 | 趋化因子(C-C 基序)配体 14 |
| CCL15 | ENSG00000275718 | 趋化因子(C-C 基序)配体 15 |
| CCL16 | ENSG00000275152 | 趋化因子(C-C 基序)配体 16 |
| CCL17 | ENSG00000102970 | 趋化因子(C-C 基序)配体 17 |
| CCL18 | ENSG00000275385 | 趋化因子(C-C 基序)配体 18 (肺和激活调节) |
| CCL19 | ENSG00000172724 | 趋化因子(C-C 基序)配体 19 |
| CCL2 | ENSG00000108691 | 趋化因子(C-C 基序)配体 2 |
| CCL20 | ENSG00000115009 | 趋化因子(C-C 基序)配体 20 |
| CCL21 | ENSG00000137077 | 趋化因子(C-C 基序)配体 21 |
| CCL22 | ENSG00000102962 | 趋化因子(C-C 基序)配体 22 |
| CCL23 | ENSG00000274736 | 趋化因子(C-C 基序)配体 23 |
| CCL24 | ENSG00000106178 | 趋化因子(C-C 基序)配体 24 |
| CCL25 | ENSG00000131142 | 趋化因子(C-C 基序)配体 25 |
| CCL26 | ENSG00000006606 | 趋化因子(C-C 基序)配体 26 |
| CCL27 | ENSG00000213927 | 趋化因子(C-C 基序)配体 27 |
| CCL28 | ENSG00000151882 | 趋化因子(C-C 基序)配体 28 |
| CCL3 | ENSG00000277632 | 趋化因子(C-C 基序)配体 3 |
| CCL3L3 | ENSG00000276085 | 类趋化因子(C-C 基序)配体 3，3 |
| CCL4 | ENSG00000275302 | 趋化因子(C-C 基序)配体 4 |
| CCL4L2 | ENSG00000276070 | 类趋化因子(C-C 基序)配体 4，2 |
| CCL5 | ENSG00000271503 | 趋化因子(C-C 基序)配体 5 |

[0307]

| | | |
|---|---|---|
| CCL7 | ENSG00000108688 | 趋化因子(C-C 基序)配体 7 |
| CCL8 | ENSG00000108700 | 趋化因子(C-C 基序)配体 8 |
| CCNB1IP1 | ENSG00000100814 | 细胞周期蛋白 B1 相互作用蛋白 1, E3 泛素蛋白连接酶 |
| CCNL1 | ENSG00000163660 | 细胞周期蛋白 L1 |
| CCNL2 | ENSG00000221978 | 细胞周期蛋白 L2 |
| CD14 | ENSG00000170458 | CD14 分子 |
| CD160 | ENSG00000117281 | CD160 分子 |
| CD164 | ENSG00000135535 | CD164 分子, 唾液黏蛋白 |
| CD177 | ENSG00000204936 | CD177 分子 |
| CD1E | ENSG00000158488 | CD1e 分子 |
| CD2 | ENSG00000116824 | CD2 分子 |
| CD200 | ENSG00000091972 | CD200 分子 |
| CD200R1 | ENSG00000163606 | CD200 受体 1 |
| CD22 | ENSG00000012124 | CD22 分子 |
| CD226 | ENSG00000150637 | CD226 分子 |
| CD24 | ENSG00000272398 | CD24 分子 |
| CD276 | ENSG00000103855 | CD276 分子 |
| CD300A | ENSG00000167851 | CD300a 分子 |
| CD300LB | ENSG00000178789 | CD300 分子样家族成员 b |
| CD300LF | ENSG00000186074 | CD300 分子样家族成员 f |
| CD300LG | ENSG00000161649 | CD300 分子样家族成员 g |
| CD3D | ENSG00000167286 | CD3d 分子, δ(CD3-TCR 复合物) |
| CD4 | ENSG00000010610 | CD4 分子 |
| CD40 | ENSG00000101017 | CD40 分子, TNF 受体超家族成员 5 |
| CD44 | ENSG00000026508 | CD44 分子 (Indian 血型) |
| CD48 | ENSG00000117091 | CD48 分子 |
| CD5 | ENSG00000110448 | CD5 分子 |
| CD55 | ENSG00000196352 | CD55 分子, 用于补偿的衰变加速因子(Cromer 血型) |
| CD59 | ENSG00000085063 | CD59 分子, 补体调节蛋白 |
| CD5L | ENSG00000073754 | CD5 分子样 |
| CD6 | ENSG00000013725 | CD6 分子 |
| CD68 | ENSG00000129226 | CD68 分子 |
| CD7 | ENSG00000173762 | CD7 分子 |
| CD79A | ENSG00000105369 | CD79a 分子, 免疫球蛋白相关 α |
| CD80 | ENSG00000121594 | CD80 分子 |

[0308]

| | | |
|---|---|---|
| CD86 | ENSG00000114013 | CD86 分子 |
| CD8A | ENSG00000153563 | CD8a 分子 |
| CD8B | ENSG00000172116 | CD8b 分子 |
| CD99 | ENSG00000002586 | CD99 分子 |
| CDC23 | ENSG00000094880 | 细胞分裂周期素 23 |
| CDC40 | ENSG00000168438 | 细胞分裂周期素 40 |
| CDC45 | ENSG00000093009 | 细胞分裂周期素 45 |
| CDCP1 | ENSG00000163814 | 含 CUB 结构域蛋白 1 |
| CDCP2 | ENSG00000157211 | 含 CUB 结构域蛋白 2 |
| CDH1 | ENSG00000039068 | 钙粘蛋白 1, 1 型 |
| CDH11 | ENSG00000140937 | 钙粘蛋白 11, 2 型, OB-钙粘蛋白(成骨细胞) |
| CDH13 | ENSG00000140945 | 钙粘蛋白 13 |
| CDH17 | ENSG00000079112 | 钙粘蛋白 17, LI 钙粘蛋白(肝-肠) |
| CDH18 | ENSG00000145526 | 钙粘蛋白 18, 2 型 |
| CDH19 | ENSG00000071991 | 钙粘蛋白 19, 2 型 |
| CDH23 | ENSG00000107736 | 钙粘蛋白相关 23 |
| CDH5 | ENSG00000179776 | 钙粘蛋白 5, 2 型 (血管内皮) |
| CDHR1 | ENSG00000148600 | 钙粘蛋白相关家族成员 1 |
| CDHR4 | ENSG00000187492 | 钙粘蛋白相关家族成员 4 |
| CDHR5 | ENSG00000099834 | 钙粘蛋白相关家族成员 5 |
| CDKN2A | ENSG00000147889 | 细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 2A |
| CDNF | ENSG00000185267 | 脑多巴胺神经营养因子 |
| CDON | ENSG00000064309 | 细胞粘附相关, 癌基因调节 |
| CDSN | ENSG00000204539 | 角化粒素(Corneodesmosin) |
| CEACAM16 | ENSG00000213892 | 癌胚抗原相关细胞粘着分子 16 |
| CEACAM18 | ENSG00000213822 | 癌胚抗原相关细胞粘着分子 18 |
| CEACAM19 | ENSG00000186567 | 癌胚抗原相关细胞粘着分子 19 |
| CEACAM5 | ENSG00000105388 | 癌胚抗原相关细胞粘着分子 5 |
| CEACAM7 | ENSG00000007306 | 癌胚抗原相关细胞粘着分子 7 |
| CEACAM8 | ENSG00000124469 | 癌胚抗原相关细胞粘着分子 8 |
| CECR1 | ENSG00000093072 | 猫眼综合征染色体区域, 候选基因 1 |
| CECR5 | ENSG00000069998 | 猫眼综合征染色体区域, 候选基因 5 |
| CEL | ENSG00000170835 | 羧基酯脂肪酶 |
| CELA2A | ENSG00000142615 | 胰凝乳蛋白酶样弹性蛋白酶家族, 成员 2A |
| CELA2B | ENSG00000215704 | 胰凝乳蛋白酶样弹性蛋白酶家族, 成员 2B |

[0309]

| | | |
|---|---|---|
| CELA3A | ENSG00000142789 | 胰凝乳蛋白酶样弹性蛋白酶家族，成员 3A |
| CELA3B | ENSG00000219073 | 胰凝乳蛋白酶样弹性蛋白酶家族，成员 3B |
| CEMIP | ENSG00000103888 | 细胞迁移诱导蛋白，透明质酸结合蛋白 |
| CEP89 | ENSG00000121289 | 中心体蛋白 89kDa |
| CER1 | ENSG00000147869 | Cerberus 1, DAN 家族 BMP 拮抗剂 |
| CERCAM | ENSG00000167123 | 脑内皮细胞粘着分子 |
| CERS1 | ENSG00000223802 | 神经酰胺合成酶 1 |
| CES1 | ENSG00000198848 | 羧酸酯酶 1 |
| CES3 | ENSG00000172828 | 羧酸酯酶 3 |
| CES4A | ENSG00000172824 | 羧酸酯酶 4A |
| CES5A | ENSG00000159398 | 羧酸酯酶 5A |
| CETP | ENSG00000087237 | 胆固醇酯转移蛋白，血浆 |
| CFB | ENSG00000243649 | 补体因子 B |
| CFC1 | ENSG00000136698 | Cripto, FRL-1，隐藏家族 1 |
| CFC1B | ENSG00000152093 | Cripto, FRL-1，隐藏家族 1B |
| CFD | ENSG00000197766 | 补体因子 D (降脂蛋白) |
| CFDP1 | ENSG00000153774 | 颅面发育蛋白 1 |
| CFH | ENSG00000000971 | 补体因子 H |
| CFHR1 | ENSG00000244414 | 补体因子 H 相关 1 |
| CFHR2 | ENSG00000080910 | 补体因子 H 相关 2 |
| CFHR3 | ENSG00000116785 | 补体因子 H 相关 3 |
| CFHR4 | ENSG00000134365 | 补体因子 H 相关 4 |
| CFHR5 | ENSG00000134389 | 补体因子 H 相关 5 |
| CFI | ENSG00000205403 | 补体因子 I |
| CFP | ENSG00000126759 | 补体因子备解素 |
| CGA | ENSG00000135346 | 糖蛋白激素，α 多肽 |
| CGB | ENSG00000104827 | 绒毛膜促性腺素，β 多肽 |
| CGB1 | ENSG00000267631 | 绒毛膜促性腺素，β 多肽 1 |
| CGB2 | ENSG00000104818 | 绒毛膜促性腺素，β 多肽 2 |
| CGB5 | ENSG00000189052 | 绒毛膜促性腺素，β 多肽 5 |
| CGB7 | ENSG00000196337 | 绒毛膜促性腺素，β 多肽 7 |
| CGB8 | ENSG00000213030 | 绒毛膜促性腺素，β 多肽 8 |
| CGREF1 | ENSG00000138028 | 具有 EF 手域的细胞生长调节剂 1 |
| CH507-9B2.3 | ENSG00000280071 | |
| CHAD | ENSG00000136457 | 软骨粘附素 |

[0310]

| | | |
|---|---|---|
| CHADL | ENSG00000100399 | 软骨粘附素样 |
| CHEK2 | ENSG00000183765 | 检测点激酶 2 |
| CHGA | ENSG00000100604 | 嗜铬粒蛋白 A |
| CHGB | ENSG00000089199 | 嗜铬粒蛋白 B |
| CHI3L1 | ENSG00000133048 | 几丁质酶 3 样 1 (软骨糖蛋白-39) |
| CHI3L2 | ENSG00000064886 | 几丁质酶 3 样 2 |
| CHIA | ENSG00000134216 | 几丁质酶, 酸性 |
| CHID1 | ENSG00000177830 | 含几丁质酶结构域 1 |
| CHIT1 | ENSG00000133063 | 几丁质酶 1 (壳三糖酶) |
| CHL1 | ENSG00000134121 | 细胞粘着分子 L1 样 |
| CHN1 | ENSG00000128656 | 嵌合素 1 |
| CHPF | ENSG00000123989 | 软骨素聚合因子 |
| CHPF2 | ENSG00000033100 | 软骨素聚合因子 2 |
| CHRD | ENSG00000090539 | 脊索发生素 |
| CHRDL1 | ENSG00000101938 | 脊索发生素样 1 |
| CHRDL2 | ENSG00000054938 | 脊索发生素样 2 |
| CHRNA2 | ENSG00000120903 | 胆碱能受体, 烟碱, α2 (神经元) |
| CHRNA5 | ENSG00000169684 | 胆碱能受体, 烟碱, α5 (神经元) |
| CHRNB1 | ENSG00000170175 | 胆碱能受体, 烟碱, β1 (肌肉) |
| CHRND | ENSG00000135902 | 胆碱能受体, 烟碱, δ (肌肉) |
| CHST1 | ENSG00000175264 | 碳水化合物(硫酸角质素 Gal-6)磺基转移酶 1 |
| CHST10 | ENSG00000115526 | 碳水化合物磺基转移酶 10 |
| CHST11 | ENSG00000171310 | 碳水化合物(软骨素 4)磺基转移酶 11 |
| CHST13 | ENSG00000180767 | 碳水化合物(软骨素 4)磺基转移酶 13 |
| CHST4 | ENSG00000140835 | 碳水化合物(N-乙酰葡糖胺 6-O)磺基转移酶 4 |
| CHST5 | ENSG00000135702 | 碳水化合物(N-乙酰葡糖胺 6-O)磺基转移酶 5 |
| CHST6 | ENSG00000183196 | 碳水化合物(N-乙酰葡糖胺 6-O)磺基转移酶 6 |
| CHST7 | ENSG00000147119 | 碳水化合物(N-乙酰葡糖胺 6-O)磺基转移酶 7 |
| CHST8 | ENSG00000124302 | 碳水化合物(N-乙酰半乳糖胺 4-0)磺基转移酶 8 |
| CHSY1 | ENSG00000131873 | 硫酸软骨素合成酶 1 |
| CHSY3 | ENSG00000198108 | 硫酸软骨素合成酶 3 |
| CHTF8 | ENSG00000168802 | 染色体传递保真因子 8 |
| CILP | ENSG00000138615 | 软骨中间层蛋白质, 核苷酸焦磷酸水解酶 |
| CILP2 | ENSG00000160161 | 软骨中间层蛋白质 2 |
| CIRH1A | ENSG00000141076 | 肝硬化, 常染色体隐性遗传 1A (cirhin) |

[0311]

| | | |
|---|---|---|
| CKLF | ENSG00000217555 | 趋化因子样因子 |
| CKMT1A | ENSG00000223572 | 肌酸激酶，线粒体 1A |
| CKMT1B | ENSG00000237289 | 肌酸激酶，线粒体 1B |
| CLCA1 | ENSG00000016490 | 氯化物通道附件 1 |
| CLCF1 | ENSG00000175505 | 心肌营养素样细胞因子 1 |
| CLDN15 | ENSG00000106404 | 紧密连接蛋白 15 |
| CLDN7 | ENSG00000181885 | 紧密连接蛋白 7 |
| CLDND1 | ENSG00000080822 | 含紧密连接蛋白结构域 1 |
| CLEC11A | ENSG00000105472 | C 型凝集素结构域家族 11，成员 A |
| CLEC16A | ENSG00000038532 | C 型凝集素结构域家族 16，成员 A |
| CLEC18A | ENSG00000157322 | C 型凝集素结构域家族 18，成员 A |
| CLEC18B | ENSG00000140839 | C 型凝集素结构域家族 18，成员 B |
| CLEC18C | ENSG00000157335 | C 型凝集素结构域家族 18，成员 C |
| CLEC19A | ENSG00000261210 | C 型凝集素结构域家族 19，成员 A |
| CLEC2B | ENSG00000110852 | C 型凝集素结构域家族 2，成员 B |
| CLEC3A | ENSG00000166509 | C 型凝集素结构域家族 3，成员 A |
| CLEC3B | ENSG00000163815 | C 型凝集素结构域家族 3，成员 B |
| CLGN | ENSG00000153132 | 钙镁蛋白 |
| CLN5 | ENSG00000102805 | 蜡样脂褐质沉积症，神经元 5 |
| CLPS | ENSG00000137392 | 辅脂肪酶，胰腺 |
| CLPSL1 | ENSG00000204140 | 辅脂肪酶样 1 |
| CLPSL2 | ENSG00000196748 | 辅脂肪酶样 2 |
| CLPX | ENSG00000166855 | 酪蛋白线粒体基质肽酶伴侣分子亚基 |
| CLSTN3 | ENSG00000139182 | 钙同线蛋白 3 |
| CLU | ENSG00000120885 | 丛生蛋白 |
| CLUL1 | ENSG00000079101 | 丛生蛋白样 1(视网膜) |
| CMA1 | ENSG00000092009 | 糜酶 1，肥大细胞 |
| CMPK1 | ENSG00000162368 | 胞苷一磷酸(UMP-CMP)激酶 1，细胞溶质 |
| CNBD1 | ENSG00000176571 | 含环核苷酸结合域 1 |
| CNDP1 | ENSG00000150656 | 肌肽二肽酶 1(金属肽酶 M20 家族) |
| CNPY2 | ENSG00000257727 | 冠层 FGF 信号调节因子 2 |
| CNPY3 | ENSG00000137161 | 冠层 FGF 信号调节因子 3 |
| CNPY4 | ENSG00000166997 | 冠层 FGF 信号调节因子 4 |
| CNTFR | ENSG00000122756 | 睫状神经营养因子受体 |
| CNTN1 | ENSG00000018236 | 接触蛋白 1 |

[0312]

| | | |
|---|---|---|
| CNTN2 | ENSG00000184144 | 接触蛋白 2 (轴突) |
| CNTN3 | ENSG00000113805 | 接触蛋白 3 (浆细胞瘤相关) |
| CNTN4 | ENSG00000144619 | 接触蛋白 4 |
| CNTN5 | ENSG00000149972 | 接触蛋白 5 |
| CNTNAP2 | ENSG00000174469 | 接触蛋白相关蛋白样 2 |
| CNTNAP3 | ENSG00000106714 | 接触蛋白相关蛋白样 3 |
| CNTNAP3B | ENSG00000154529 | 接触蛋白相关蛋白样 3B |
| COASY | ENSG00000068120 | CoA 合成酶 |
| COCH | ENSG00000100473 | Cochlin |
| COG3 | ENSG00000136152 | 寡聚高尔基复合体的成分 3 |
| COL10A1 | ENSG00000123500 | 胶原蛋白, X 型, α1 |
| COL11A1 | ENSG00000060718 | 胶原蛋白, XI 型, α1 |
| COL11A2 | ENSG00000204248 | 胶原蛋白, type XI, α2 |
| COL12A1 | ENSG00000111799 | 胶原蛋白, XII 型, α1 |
| COL14A1 | ENSG00000187955 | 胶原蛋白, XIV 型, α1 |
| COL15A1 | ENSG00000204291 | 胶原蛋白, XV 型, α1 |
| COL16A1 | ENSG00000084636 | 胶原蛋白, XVI 型, α1 |
| COL18A1 | ENSG00000182871 | 胶原蛋白, XVIII 型, α1 |
| COL19A1 | ENSG00000082293 | 胶原蛋白, XIX 型, α1 |
| COL1A1 | ENSG00000108821 | 胶原蛋白, I 型, α1 |
| COL1A2 | ENSG00000164692 | 胶原蛋白, I 型, α2 |
| COL20A1 | ENSG00000101203 | 胶原蛋白, XX 型, α1 |
| COL21A1 | ENSG00000124749 | 胶原蛋白, XXI 型, α1 |
| COL22A1 | ENSG00000169436 | 胶原蛋白, XXII 型, α1 |
| COL24A1 | ENSG00000171502 | 胶原蛋白, XXIV 型, α1 |
| COL26A1 | ENSG00000160963 | 胶原蛋白, XXVI 型, α1 |
| COL27A1 | ENSG00000196739 | 胶原蛋白, XXVII 型, α1 |
| COL28A1 | ENSG00000215018 | 胶原蛋白, XXVIII 型, α1 |
| COL2A1 | ENSG00000139219 | 胶原蛋白, II 型, α1 |
| COL3A1 | ENSG00000168542 | 胶原蛋白, III 型, α1 |
| COL4A1 | ENSG00000187498 | 胶原蛋白, IV 型, α1 |
| COL4A2 | ENSG00000134871 | 胶原蛋白, IV 型, α2 |
| COL4A3 | ENSG00000169031 | 胶原蛋白, IV 型, α3 (Goodpasture 抗原) |
| COL4A4 | ENSG00000081052 | 胶原蛋白, IV 型, α4 |
| COL4A5 | ENSG00000188153 | 胶原蛋白, IV 型, α5 |

[0313]

| | | |
|---|---|---|
| COL4A6 | ENSG00000197565 | 胶原蛋白, IV 型, α6 |
| COL5A1 | ENSG00000130635 | 胶原蛋白, V 型, α1 |
| COL5A2 | ENSG00000204262 | 胶原蛋白, V 型, α2 |
| COL5A3 | ENSG00000080573 | 胶原蛋白, V 型, α3 |
| COL6A1 | ENSG00000142156 | 胶原蛋白, VI 型, α1 |
| COL6A2 | ENSG00000142173 | 胶原蛋白, VI 型, α2 |
| COL6A3 | ENSG00000163359 | 胶原蛋白, VI 型, α3 |
| COL6A5 | ENSG00000172752 | 胶原蛋白, VI 型, α5 |
| COL6A6 | ENSG00000206384 | 胶原蛋白, VI 型, α6 |
| COL7A1 | ENSG00000114270 | 胶原蛋白, VII 型, α1 |
| COL8A1 | ENSG00000144810 | 胶原蛋白, VIII 型, α1 |
| COL8A2 | ENSG00000171812 | 胶原蛋白, VIII 型, α2 |
| COL9A1 | ENSG00000112280 | 胶原蛋白, IX 型, α1 |
| COL9A2 | ENSG00000049089 | 胶原蛋白, IX 型, α2 |
| COL9A3 | ENSG00000092758 | 胶原蛋白, IX 型, α3 |
| COLEC10 | ENSG00000184374 | 胶原凝集素亚族成员 10 (C 型凝集素) |
| COLEC11 | ENSG00000118004 | 胶原凝集素亚族成员 11 |
| COLGALT1 | ENSG00000130309 | 胶原蛋白 β(1-O)半乳糖基转移酶 1 |
| COLGALT2 | ENSG00000198756 | 胶原蛋白 β(1-O)半乳糖基转移酶 2 |
| COLQ | ENSG00000206561 | 不对称乙酰胆碱酯酶的胶原蛋白样尾亚基(同源三聚体的单链) |
| COMP | ENSG00000105664 | 软骨寡聚基质蛋白 |
| COPS6 | ENSG00000168090 | COP9 信号转导体亚基 6 |
| COQ6 | ENSG00000119723 | 辅酶 Q6 单加氧酶 |
| CORT | ENSG00000241563 | 皮质抑素 |
| CP | ENSG00000047457 | 血浆铜蓝蛋白(亚铁氧化酶) |
| CPA1 | ENSG00000091704 | 羧肽酶 A1 (胰腺) |
| CPA2 | ENSG00000158516 | 羧肽酶 A2 (胰腺) |
| CPA3 | ENSG00000163751 | 羧肽酶 A3 (肥大细胞) |
| CPA4 | ENSG00000128510 | 羧肽酶 A4 |
| CPA6 | ENSG00000165078 | 羧肽酶 A6 |
| CPAMD8 | ENSG00000160111 | 含 C3 和 PZP 样, α-2-巨球蛋白结构域 8 |
| CPB1 | ENSG00000153002 | 羧肽酶 B1 (组织) |
| CPB2 | ENSG00000080618 | 羧肽酶 B2 (血浆) |
| CPE | ENSG00000109472 | 羧肽酶 E |

[0314]

| | | |
|---|---|---|
| CPM | ENSG00000135678 | 羧肽酶 M |
| CPN1 | ENSG00000120054 | 羧肽酶 N, 多肽 1 |
| CPN2 | ENSG00000178772 | 羧肽酶 N, 多肽 2 |
| CPO | ENSG00000144410 | 羧肽酶 O |
| CPQ | ENSG00000104324 | 羧肽酶 Q |
| CPVL | ENSG00000106066 | 羧肽酶, 卵黄原样 |
| CPXM1 | ENSG00000088882 | 羧肽酶 X (M14 家族), 成员 1 |
| CPXM2 | ENSG00000121898 | 羧肽酶 X (M14 家族), 成员 2 |
| CPZ | ENSG00000109625 | 羧肽酶 Z |
| CR1L | ENSG00000197721 | 补体成分(3b/4b)受体 1 样 |
| CRB2 | ENSG00000148204 | Crumbs 家族成员 2 |
| CREG1 | ENSG00000143162 | E1A 激活基因细胞阻遏子 1 |
| CREG2 | ENSG00000175874 | E1A 激活基因细胞阻遏子 2 |
| CRELD1 | ENSG00000163703 | 富含半胱氨酸的 EGF 样结构域 1 |
| CRELD2 | ENSG00000184164 | 富含半胱氨酸的 EGF 样结构域 2 |
| CRH | ENSG00000147571 | 促肾上腺皮质素释放激素 |
| CRHBP | ENSG00000145708 | 促肾上腺皮质素释放激素结合蛋白 |
| CRHR1 | ENSG00000120088 | 促肾上腺皮质素释放激素受体 1 |
| CRHR2 | ENSG00000106113 | 促肾上腺皮质素释放激素受体 2 |
| CRISP1 | ENSG00000124812 | 富半胱氨酸分泌性蛋白 1 |
| CRISP2 | ENSG00000124490 | 富半胱氨酸分泌性蛋白 2 |
| CRISP3 | ENSG00000096006 | 富半胱氨酸分泌性蛋白 3 |
| CRISPLD2 | ENSG00000103196 | 含富半胱氨酸分泌性蛋白 LCCL 结构域 2 |
| CRLF1 | ENSG00000006016 | 细胞因子受体样因子 1 |
| CRP | ENSG00000132693 | C 反应蛋白, 五聚蛋白相关 |
| CRTAC1 | ENSG00000095713 | 软骨酸性蛋白质 1 |
| CRTAP | ENSG00000170275 | 软骨相关蛋白 |
| CRY2 | ENSG00000121671 | 隐花色素生物钟 2 |
| CSAD | ENSG00000139631 | 半胱氨酸亚磺酸脱羧酶 |
| CSF1 | ENSG00000184371 | 集落刺激因子 1 (巨噬细胞) |
| CSF1R | ENSG00000182578 | 集落刺激因子 1 受体 |
| CSF2 | ENSG00000164400 | 集落刺激因子 2 (粒细胞-巨噬细胞) |
| CSF2RA | ENSG00000198223 | 集落刺激因子 2 受体, α, 低亲和力 (粒细胞-巨噬细胞) |
| CSF3 | ENSG00000108342 | 集落刺激因子 3 (粒细胞) |
| CSGALNACT1 | ENSG00000147408 | 硫酸软骨素 N-乙酰半乳糖胺基转移酶 1 |

[0315]

| | | |
|---|---|---|
| CSH1 | ENSG00000136488 | 绒毛膜生长激素 1 (placental lactogen) |
| CSH2 | ENSG00000213218 | 绒毛膜生长激素 2 |
| CSHL1 | ENSG00000204414 | 绒毛膜生长激素样 1 |
| CSN1S1 | ENSG00000126545 | 酪蛋白 αs1 |
| CSN2 | ENSG00000135222 | 酪蛋白 β |
| CSN3 | ENSG00000171209 | 酪蛋白 κ |
| CST1 | ENSG00000170373 | 胱抑素 SN |
| CST11 | ENSG00000125831 | 胱抑素 11 |
| CST2 | ENSG00000170369 | 胱抑素 SA |
| CST3 | ENSG00000101439 | 胱抑素 C |
| CST4 | ENSG00000101441 | 胱抑素 S |
| CST5 | ENSG00000170367 | 胱抑素 D |
| CST6 | ENSG00000175315 | 胱抑素 E/M |
| CST7 | ENSG00000077984 | 胱抑素 F (白细胞生成素) |
| CST8 | ENSG00000125815 | 胱抑素 8 (胱抑素相关附睾特异性) |
| CST9 | ENSG00000173335 | 胱抑素 9 (睾蛋白) |
| CST9L | ENSG00000101435 | 胱抑素 9 样 |
| CSTL1 | ENSG00000125823 | 胱抑素样 1 |
| CT55 | ENSG00000169551 | 癌/睾丸抗原 55 |
| CTB-60B18.6 | ENSG00000267335 | |
| CTBS | ENSG00000117151 | 壳二糖酶, 二-N-乙酰基- |
| CTD-2313N18.7 | ENSG00000225805 | |
| CTD-2370N5.3 | ENSG00000265118 | |
| CTGF | ENSG00000118523 | 结缔组织生长因子 |
| CTHRC1 | ENSG00000164932 | 含胶原蛋白三螺旋重复序列 1 |
| CTLA4 | ENSG00000163599 | 细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4 |
| CTNS | ENSG00000040531 | Cystinosin, 溶酶体胱氨酸转运蛋白 |
| CTRB1 | ENSG00000168925 | 胰凝乳蛋白酶原 B1 |
| CTRB2 | ENSG00000168928 | 胰凝乳蛋白酶原 B2 |
| CTRC | ENSG00000162438 | 胰凝乳蛋白酶 C (caldecrin) |
| CTRL | ENSG00000141086 | 胰凝乳蛋白酶样 |
| CTSA | ENSG00000064601 | 组织蛋白酶 A |
| CTSB | ENSG00000164733 | 组织蛋白酶 B |
| CTSC | ENSG00000109861 | 组织蛋白酶 C |
| CTSD | ENSG00000117984 | 组织蛋白酶 D |

[0316]

| | | |
|---|---|---|
| CTSE | ENSG00000196188 | 组织蛋白酶 E |
| CTSF | ENSG00000174080 | 组织蛋白酶 F |
| CTSG | ENSG00000100448 | 组织蛋白酶 G |
| CTSH | ENSG00000103811 | 组织蛋白酶 H |
| CTSK | ENSG00000143387 | 组织蛋白酶 K |
| CTSL | ENSG00000135047 | 组织蛋白酶 L |
| CTSO | ENSG00000256043 | 组织蛋白酶 O |
| CTSS | ENSG00000163131 | 组织蛋白酶 S |
| CTSV | ENSG00000136943 | 组织蛋白酶 V |
| CTSW | ENSG00000172543 | 组织蛋白酶 W |
| CTSZ | ENSG00000101160 | 组织蛋白酶 Z |
| CUBN | ENSG00000107611 | Cubilin (内因子-钴胺素受体) |
| CUTA | ENSG00000112514 | CutA 二价阳离子耐受同系物(大肠杆菌) |
| CX3CL1 | ENSG00000006210 | 趋化因子(C-X3-C 基序)配体 1 |
| CXADR | ENSG00000154639 | 柯萨奇病毒与腺病毒受体 |
| CXCL1 | ENSG00000163739 | 趋化因子(C-X-C 基序)配体 1(黑素瘤生长刺激活性, α) |
| CXCL10 | ENSG00000169245 | 趋化因子(C-X-C 基序)配体 10 |
| CXCL11 | ENSG00000169248 | 趋化因子(C-X-C 基序)配体 11 |
| CXCL12 | ENSG00000107562 | 趋化因子(C-X-C 基序)配体 12 |
| CXCL13 | ENSG00000156234 | 趋化因子(C-X-C 基序)配体 13 |
| CXCL14 | ENSG00000145824 | 趋化因子(C-X-C 基序)配体 14 |
| CXCL17 | ENSG00000189377 | 趋化因子(C-X-C 基序)配体 17 |
| CXCL2 | ENSG00000081041 | 趋化因子(C-X-C 基序)配体 2 |
| CXCL3 | ENSG00000163734 | 趋化因子(C-X-C 基序)配体 3 |
| CXCL5 | ENSG00000163735 | 趋化因子(C-X-C 基序)配体 5 |
| CXCL6 | ENSG00000124875 | 趋化因子(C-X-C 基序)配体 6 |
| CXCL8 | ENSG00000169429 | 趋化因子(C-X-C 基序)配体 8 |
| CXCL9 | ENSG00000138755 | 趋化因子(C-X-C 基序)配体 9 |
| CXorf36 | ENSG00000147113 | 染色体 X 开放阅读框 36 |
| CYB5D2 | ENSG00000167740 | 含细胞色素 b5 结构域 2 |
| CYHR1 | ENSG00000187954 | 富半胱氨酸/组氨酸 1 |
| CYP17A1 | ENSG00000148795 | 细胞色素 P450,家族 17, 亚家族 A, 多肽 1 |
| CYP20A1 | ENSG00000119004 | 细胞色素 P450,家族 20, 亚家族 A, 多肽 1 |
| CYP21A2 | ENSG00000231852 | 细胞色素 P450,家族 21, 亚家族 A, 多肽 2 |
| CYP26B1 | ENSG00000003137 | 细胞色素 P450,家族 26, 亚家族 B, 多肽 1 |

[0317]

| | | |
|---|---|---|
| CYP2A6 | ENSG00000255974 | 细胞色素 P450,家族 2, 亚家族 A, 多肽 6 |
| CYP2A7 | ENSG00000198077 | 细胞色素 P450,家族 2, 亚家族 A, 多肽 7 |
| CYP2B6 | ENSG00000197408 | 细胞色素 P450,家族 2, 亚家族 B, 多肽 6 |
| CYP2C18 | ENSG00000108242 | 细胞色素 P450,家族 2, 亚家族 C, 多肽 18 |
| CYP2C19 | ENSG00000165841 | 细胞色素 P450,家族 2, 亚家族 C, 多肽 19 |
| CYP2C8 | ENSG00000138115 | 细胞色素 P450,家族 2, 亚家族 C, 多肽 8 |
| CYP2C9 | ENSG00000138109 | 细胞色素 P450,家族 2, 亚家族 C, 多肽 9 |
| CYP2E1 | ENSG00000130649 | 细胞色素 P450,家族 2, 亚家族 E, 多肽 1 |
| CYP2F1 | ENSG00000197446 | 细胞色素 P450,家族 2, 亚家族 F, 多肽 1 |
| CYP2J2 | ENSG00000134716 | 细胞色素 P450,家族 2, 亚家族 J, 多肽 2 |
| CYP2R1 | ENSG00000186104 | 细胞色素 P450,家族 2, 亚家族 R, 多肽 1 |
| CYP2S1 | ENSG00000167600 | 细胞色素 P450,家族 2, 亚家族 S, 多肽 1 |
| CYP2W1 | ENSG00000073067 | 细胞色素 P450,家族 2, 亚家族 W, 多肽 1 |
| CYP46A1 | ENSG00000036530 | 细胞色素 P450,家族 46, 亚家族 A, 多肽 1 |
| CYP4F11 | ENSG00000171903 | 细胞色素 P450,家族 4, 亚家族 F, 多肽 11 |
| CYP4F2 | ENSG00000186115 | 细胞色素 P450,家族 4, 亚家族 F, 多肽 2 |
| CYR61 | ENSG00000142871 | 富半胱氨酸, 血管生成诱导物, 61 |
| CYTL1 | ENSG00000170891 | 细胞因子样 1 |
| D2HGDH | ENSG00000180902 | D-2-羟基戊二酸脱氢酶 |
| DAG1 | ENSG00000173402 | 营养不良聚糖 1 (肌营养不良蛋白相关糖蛋白 1) |
| DAND5 | ENSG00000179284 | DAN 结构域家族成员 5, BMP 拮抗物 |
| DAO | ENSG00000110887 | D-氨基酸氧化酶 |
| DAZAP2 | ENSG00000183283 | DAZ 相关蛋白 2 |
| DBH | ENSG00000123454 | 多巴胺 β-羟化酶(多巴胺 β-单加氧酶) |
| DBNL | ENSG00000136279 | Drebrin 样 |
| DCD | ENSG00000161634 | 皮离蛋白 |
| DCN | ENSG00000011465 | 核心蛋白聚糖 |
| DDIAS | ENSG00000165490 | DNA 损伤诱导的细胞凋亡抑制因子 |
| DDOST | ENSG00000244038 | 多萜基-二磷酸寡聚糖蛋白葡糖基转移酶亚基 (非催化性) |
| DDR1 | ENSG00000204580 | 网柄菌凝素结构域受体酪氨酸激酶 1 |
| DDR2 | ENSG00000162733 | 网柄菌凝素结构域受体酪氨酸激酶 2 |
| DDT | ENSG00000099977 | D-多巴色素互变异构酶 |
| DDX17 | ENSG00000100201 | DEAD(Asp-Glu-Ala-Asp)盒解旋酶 17 |
| DDX20 | ENSG00000064703 | DEAD(Asp-Glu-Ala-Asp)盒多肽 20 |

[0318]

| | | |
|---|---|---|
| DDX25 | ENSG00000109832 | DEAD(Asp-Glu-Ala-Asp)盒解旋酶 25 |
| DDX28 | ENSG00000182810 | DEAD(Asp-Glu-Ala-Asp)盒多肽 28 |
| DEAF1 | ENSG00000177030 | DEAF1 转录因子 |
| DEF8 | ENSG00000140995 | 在 FDCP 8 同系物中的差异表达(小鼠) |
| DEFA1 | ENSG00000206047 | 防卫素, α1 |
| DEFA1B | ENSG00000240247 | 防卫素, α1B |
| DEFA3 | ENSG00000239839 | 防卫素, α3, 中性粒细胞特异性 |
| DEFA4 | ENSG00000164821 | 防卫素, α4, 皮质稳定素 |
| DEFA5 | ENSG00000164816 | 防卫素, α5, 潘氏细胞特异性 |
| DEFA6 | ENSG00000164822 | 防卫素, α6, 潘氏细胞特异性 |
| DEFB1 | ENSG00000164825 | 防卫素, β1 |
| DEFB103A | ENSG00000176797 | 防卫素, β103A |
| DEFB103B | ENSG00000177243 | 防卫素, β103B |
| DEFB104A | ENSG00000176782 | 防卫素, β104A |
| DEFB104B | ENSG00000177023 | 防卫素, β104B |
| DEFB105A | ENSG00000186562 | 防卫素, β105A |
| DEFB105B | ENSG00000186599 | 防卫素, β105B |
| DEFB106A | ENSG00000186579 | 防卫素, β106A |
| DEFB106B | ENSG00000187082 | 防卫素, β106B |
| DEFB107A | ENSG00000186572 | 防卫素, β107A |
| DEFB107B | ENSG00000198129 | 防卫素, β107B |
| DEFB108B | ENSG00000184276 | 防卫素, β108B |
| DEFB110 | ENSG00000203970 | 防卫素, β110 |
| DEFB113 | ENSG00000214642 | 防卫素, β113 |
| DEFB114 | ENSG00000177684 | 防卫素, β114 |
| DEFB115 | ENSG00000215547 | 防卫素, β115 |
| DEFB116 | ENSG00000215545 | 防卫素, β116 |
| DEFB118 | ENSG00000131068 | 防卫素, β118 |
| DEFB119 | ENSG00000180483 | 防卫素, β119 |
| DEFB121 | ENSG00000204548 | 防卫素, β121 |
| DEFB123 | ENSG00000180424 | 防卫素, β123 |
| DEFB124 | ENSG00000180383 | 防卫素, β124 |
| DEFB125 | ENSG00000178591 | 防卫素, β125 |
| DEFB126 | ENSG00000125788 | 防卫素, β126 |
| DEFB127 | ENSG00000088782 | 防卫素, β127 |

[0319]

| | | |
|---|---|---|
| DEFB128 | ENSG00000185982 | 防卫素, β128 |
| DEFB129 | ENSG00000125903 | 防卫素, β129 |
| DEFB130 | ENSG00000232948 | 防卫素, β130 |
| DEFB131 | ENSG00000186146 | 防卫素, β131 |
| DEFB132 | ENSG00000186458 | 防卫素, β132 |
| DEFB133 | ENSG00000214643 | 防卫素, β133 |
| DEFB134 | ENSG00000205882 | 防卫素, β134 |
| DEFB135 | ENSG00000205883 | 防卫素, β135 |
| DEFB136 | ENSG00000205884 | 防卫素, β136 |
| DEFB4A | ENSG00000171711 | 防卫素, β4A |
| DEFB4B | ENSG00000177257 | 防卫素, β4B |
| DFNA5 | ENSG00000105928 | 耳聋, 常染色体显性 5 |
| DFNB31 | ENSG00000095397 | 耳聋, 常染色体隐性 31 |
| DGCR2 | ENSG00000070413 | DiGeorge 综合征临界区基因 2 |
| DHH | ENSG00000139549 | 沙漠刺猬 |
| DHRS4 | ENSG00000157326 | 脱氢酶/还原酶 (SDR 家族) 成员 4 |
| DHRS4L2 | ENSG00000187630 | 脱氢酶/还原酶 (SDR 家族) 成员 4 like 2 |
| DHRS7 | ENSG00000100612 | 脱氢酶/还原酶 (SDR 家族) 成员 7 |
| DHRS7C | ENSG00000184544 | 脱氢酶/还原酶 (SDR 家族) 成员 7C |
| DHRS9 | ENSG00000073737 | 脱氢酶/还原酶 (SDR 家族) 成员 9 |
| DHRSX | ENSG00000169084 | 脱氢酶/还原酶 (SDR 家族) X 连锁 |
| DHX29 | ENSG00000067248 | DEAH(Asp-Glu-Ala-His)盒多肽 29 |
| DHX30 | ENSG00000132153 | DEAH(Asp-Glu-Ala-His)盒解旋酶 30 |
| DHX8 | ENSG00000067596 | DEAH(Asp-Glu-Ala-His)盒多肽 8 |
| DIO2 | ENSG00000211448 | 脱碘酶, 碘化甲状腺氨酸, II 型 |
| DIXDC1 | ENSG00000150764 | 含 DIX 结构域 1 |
| DKK1 | ENSG00000107984 | Dickkopf WNT 信号通路抑制剂 1 |
| DKK2 | ENSG00000155011 | Dickkopf WNT 信号通路抑制剂 2 |
| DKK3 | ENSG00000050165 | Dickkopf WNT 信号通路抑制剂 3 |
| DKK4 | ENSG00000104371 | Dickkopf WNT 信号通路抑制剂 4 |
| DKKL1 | ENSG00000104901 | Dickkopf 样 1 |
| DLG4 | ENSG00000132535 | Discs, 大型同系物 4 (果蝇) |
| DLK1 | ENSG00000185559 | Delta 样 1 同系物(果蝇) |
| DLL1 | ENSG00000198719 | Delta 样 1 (果蝇) |
| DLL3 | ENSG00000090932 | Delta 样 3 (果蝇) |

[0320]

| | | |
|---|---|---|
| DMBT1 | ENSG00000187908 | 在恶性脑肿瘤中删除 1 |
| DMKN | ENSG00000161249 | Dermokine |
| DMP1 | ENSG00000152592 | 牙本质基质酸性磷蛋白 1 |
| DMRTA2 | ENSG00000142700 | DMRT 样家族 A2 |
| DNAAF5 | ENSG00000164818 | 动力蛋白，纤毛轴，组装因子 5 |
| DNAH14 | ENSG00000185842 | 动力蛋白，纤毛轴，重链 14 |
| DNAJB11 | ENSG00000090520 | DnaJ (Hsp40)同系物，亚家族 B，成员 11 |
| DNAJB9 | ENSG00000128590 | DnaJ (Hsp40)同系物，亚家族 B，成员 9 |
| DNAJC25-GNG10 | ENSG00000244115 | DNAJC25-GNG10 通读蛋白 |
| DNAJC3 | ENSG00000102580 | DnaJ (Hsp40)同系物，亚家族 C，成员 3 |
| DNASE1 | ENSG00000213918 | 脱氧核糖核酸酶 I |
| DNASE1L1 | ENSG00000013563 | 脱氧核糖核酸酶 I 样 1 |
| DNASE1L2 | ENSG00000167968 | 脱氧核糖核酸酶 I 样 2 |
| DNASE1L3 | ENSG00000163687 | 脱氧核糖核酸酶 I 样 3 |
| DNASE2 | ENSG00000105612 | 脱氧核糖核酸酶 II，溶酶体 |
| DNASE2B | ENSG00000137976 | 脱氧核糖核酸酶 IIβ |
| DPEP1 | ENSG00000015413 | 二肽酶 1 (肾脏) |
| DPEP2 | ENSG00000167261 | 二肽酶 2 |
| DPEP3 | ENSG00000141096 | 二肽酶 3 |
| DPF3 | ENSG00000205683 | D4，锌与双 PHD 指,家族 3 |
| DPP4 | ENSG00000197635 | 二肽基肽酶 4 |
| DPP7 | ENSG00000176978 | 二肽基肽酶 7 |
| DPT | ENSG00000143196 | 皮连蛋白 |
| DRAXIN | ENSG00000162490 | 背侧抑制轴突导向蛋白 |
| DSE | ENSG00000111817 | 硫酸皮肤素差向异构酶 |
| DSG2 | ENSG00000046604 | 桥粒芯糖蛋白 2 |
| DSPP | ENSG00000152591 | 牙本质涎磷蛋白 |
| DST | ENSG00000151914 | 肌张力异常蛋白 |
| DUOX1 | ENSG00000137857 | 双氧化酶 1 |
| DYNLT3 | ENSG00000165169 | 动力蛋白，轻链，Tctex-3 型 |
| E2F5 | ENSG00000133740 | E2F 转录因子 5，p130-结合 |
| EBAG9 | ENSG00000147654 | 雌性激素受体结合位点相关，抗原，9 |
| EBI3 | ENSG00000105246 | Epstein-Barr 病毒诱导 3 |
| ECHDC1 | ENSG00000093144 | 乙基丙二酰基-CoA 脱羧酶 1 |
| ECM1 | ENSG00000143369 | 细胞外基质蛋白 1 |

[0321]

| | | |
|---|---|---|
| ECM2 | ENSG00000106823 | 细胞外基质蛋白 2, 女性器官和脂肪细胞特异性 |
| ECSIT | ENSG00000130159 | ECSIT 信号整合因子 |
| EDDM3A | ENSG00000181562 | 附睾蛋白 3A |
| EDDM3B | ENSG00000181552 | 附睾蛋白 3B |
| EDEM2 | ENSG00000088298 | ER 降解增强子, 甘露糖苷酶 α 样 2 |
| EDEM3 | ENSG00000116406 | ER 降解增强子, 甘露糖苷酶 α 样 3 |
| EDIL3 | ENSG00000164176 | EGF 样重复序列和网柄菌凝素 I-样结构域 3 |
| EDN1 | ENSG00000078401 | 内皮素 1 |
| EDN2 | ENSG00000127129 | 内皮素 2 |
| EDN3 | ENSG00000124205 | 内皮素 3 |
| EDNRB | ENSG00000136160 | 内皮素受体 B 型 |
| EFEMP1 | ENSG00000115380 | 含 EGF 纤蛋白样胞外基质蛋白 1 |
| EFEMP2 | ENSG00000172638 | 含 EGF 纤蛋白样胞外基质蛋白 2 |
| EFNA1 | ENSG00000169242 | 肝配蛋白-A1 |
| EFNA2 | ENSG00000099617 | 肝配蛋白-A2 |
| EFNA4 | ENSG00000243364 | 肝配蛋白-A4 |
| EGFL6 | ENSG00000198759 | 复合型 EGF 样结构域 6 |
| EGFL7 | ENSG00000172889 | 复合型 EGF 样结构域 7 |
| EGFL8 | ENSG00000241404 | 复合型 EGF 样结构域 8 |
| EGFLAM | ENSG00000164318 | EGF 样, 纤连蛋白 III 型与层粘连蛋白 G 结构域 |
| EGFR | ENSG00000146648 | 表皮生长因子受体 |
| EHBP1 | ENSG00000115504 | EH 结构域结合蛋白 1 |
| EHF | ENSG00000135373 | Ets 同源因子 |
| EHMT1 | ENSG00000181090 | 常染色质组蛋白-赖氨酸 N-甲基转移酶 1 |
| EHMT2 | ENSG00000204371 | 常染色质组蛋白-赖氨酸 N-甲基转移酶 2 |
| EIF2AK1 | ENSG00000086232 | 真核翻译起始因子 2-α 激酶 1 |
| ELANE | ENSG00000197561 | 中性粒细胞表达的弹性蛋白酶 |
| ELN | ENSG00000049540 | 弹性蛋白 |
| ELP2 | ENSG00000134759 | Elongator 乙酰转移酶复合物亚基 2 |
| ELSPBP1 | ENSG00000169393 | 附睾精子结合蛋白 1 |
| EMC1 | ENSG00000127463 | ER 膜蛋白复合物亚基 1 |
| EMC10 | ENSG00000161671 | ER 膜蛋白复合物亚基 10 |
| EMC9 | ENSG00000100908 | ER 膜蛋白复合物亚基 9 |
| EMCN | ENSG00000164035 | 假粘蛋白 |
| EMID1 | ENSG00000186998 | 含 EMI 结构域 1 |

[0322]

| | | |
|---|---|---|
| EMILIN1 | ENSG00000138080 | 弹性蛋白微原纤维界面因子 1 |
| EMILIN2 | ENSG00000132205 | 弹性蛋白微原纤维界面因子 2 |
| EMILIN3 | ENSG00000183798 | 弹性蛋白微原纤维界面因子 3 |
| ENAM | ENSG00000132464 | 釉质素 |
| ENDOG | ENSG00000167136 | 核酸内切酶 G |
| ENDOU | ENSG00000111405 | 核酸内切酶, polyU-特异性 |
| ENHO | ENSG00000168913 | 能量稳态相关 |
| ENO4 | ENSG00000188316 | 烯醇酶家族成员 4 |
| ENPP6 | ENSG00000164303 | 外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶 6 |
| ENPP7 | ENSG00000182156 | 外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶 7 |
| ENTPD5 | ENSG00000187097 | 外核苷酸三磷酸二磷酸水解酶 5 |
| ENTPD8 | ENSG00000188833 | 外核苷酸三磷酸二磷酸水解酶 8 |
| EOGT | ENSG00000163378 | EGF 结构域特异性 O-连接 N-乙酰葡糖胺(GlcNAc)转移酶 |
| EPCAM | ENSG00000119888 | 上皮细胞粘着分子 |
| EPDR1 | ENSG00000086289 | 室管膜素相关 1 |
| EPGN | ENSG00000182585 | 上皮细胞有丝分裂原 |
| EPHA10 | ENSG00000183317 | EPH 受体 A10 |
| EPHA3 | ENSG00000044524 | EPH 受体 A3 |
| EPHA4 | ENSG00000116106 | EPH 受体 A4 |
| EPHA7 | ENSG00000135333 | EPH 受体 A7 |
| EPHA8 | ENSG00000070886 | EPH 受体 A8 |
| EPHB2 | ENSG00000133216 | EPH 受体 B2 |
| EPHB4 | ENSG00000196411 | EPH 受体 B4 |
| EPHX3 | ENSG00000105131 | 环氧化物水解酶 3 |
| EPO | ENSG00000130427 | 红细胞生成素 |
| EPPIN | ENSG00000101448 | 附睾肽酶抑制剂 |
| EPPIN-WFDC6 | ENSG00000249139 | EPPIN-WFDC6 通读蛋白 |
| EPS15 | ENSG00000085832 | 表皮细胞生长因子受体通路底物 15 |
| EPS8L1 | ENSG00000131037 | EPS8 样 1 |
| EPX | ENSG00000121053 | 嗜酸性粒细胞过氧化物酶 |
| EPYC | ENSG00000083782 | 骸蛋白聚糖 |
| EQTN | ENSG00000120160 | Equatorin, 精子顶体相关 |
| ERAP1 | ENSG00000164307 | 内质网氨基肽酶 1 |
| ERAP2 | ENSG00000164308 | 内质网氨基肽酶 2 |

[0323]

| | | |
|---|---|---|
| ERBB3 | ENSG00000065361 | Erb-b2 受体酪氨酸激酶 3 |
| ERLIN1 | ENSG00000107566 | ER-脂质筏相关 1 |
| ERLIN2 | ENSG00000147475 | ER-脂质筏相关 2 |
| ERN1 | ENSG00000178607 | 内质网至核信号转导 1 |
| ERN2 | ENSG00000134398 | 内质网至核信号转导 2 |
| ERO1A | ENSG00000197930 | 内质网氧化还原酶 α |
| ERO1B | ENSG00000086619 | 内质网氧化还原酶 β |
| ERP27 | ENSG00000139055 | 内质网蛋白 27 |
| ERP29 | ENSG00000089248 | 内质网蛋白 29 |
| ERP44 | ENSG00000023318 | 内质网蛋白 44 |
| ERV3-1 | ENSG00000213462 | 内源性逆转录病毒组 3, 成员 1 |
| ESM1 | ENSG00000164283 | 内皮细胞特异性分子 1 |
| ESRP1 | ENSG00000104413 | 上皮剪接调节蛋白 1 |
| EXOG | ENSG00000157036 | 核酸内/外切酶(5'-3'),核酸内切酶 G 样 |
| EXTL1 | ENSG00000158008 | Exostosin 样糖基转移酶 1 |
| EXTL2 | ENSG00000162694 | Exostosin 样糖基转移酶 2 |
| F10 | ENSG00000126218 | 凝血因子 X |
| F11 | ENSG00000088926 | 凝血因子 XI |
| F12 | ENSG00000131187 | 凝血因子 XII (哈格曼因子) |
| F13B | ENSG00000143278 | 凝血因子 XIII, B 多肽 |
| F2 | ENSG00000180210 | 凝血因子 II (凝血酶) |
| F2R | ENSG00000181104 | 凝血因子 II (凝血酶)受体 |
| F2RL3 | ENSG00000127533 | 凝血因子 II (凝血酶)受体样 3 |
| F5 | ENSG00000198734 | 凝血因子 V (前加速素, 易变因子) |
| F7 | ENSG00000057593 | 凝血因子 VII (血清凝血酶原转变加速因子) |
| F8 | ENSG00000185010 | 凝血因子 VIII, 促凝血成分 |
| F9 | ENSG00000101981 | 凝血因子 IX |
| FABP6 | ENSG00000170231 | 脂肪酸结合蛋白 6, 回肠 |
| FAM107B | ENSG00000065809 | 序列相似性家族 107, 成员 B |
| FAM131A | ENSG00000175182 | 序列相似性家族 131, 成员 A |
| FAM132A | ENSG00000184163 | 序列相似性家族 132, 成员 A |
| FAM132B | ENSG00000178752 | 序列相似性家族 132, 成员 B |
| FAM150A | ENSG00000196711 | 序列相似性家族 150, 成员 A |
| FAM150B | ENSG00000189292 | 序列相似性家族 150, 成员 B |
| FAM171A1 | ENSG00000148468 | 序列相似性家族 171, 成员 A1 |

[0324]

| | | |
|---|---|---|
| FAM171B | ENSG00000144369 | 序列相似性家族 171, 成员 B |
| FAM172A | ENSG00000113391 | 序列相似性家族 172, 成员 A |
| FAM175A | ENSG00000163322 | 序列相似性家族 175, 成员 A |
| FAM177A1 | ENSG00000151327 | 序列相似性家族 177, 成员 A1 |
| FAM179B | ENSG00000198718 | 序列相似性家族 179, 成员 B |
| FAM180A | ENSG00000189320 | 序列相似性家族 180, 成员 A |
| FAM189A1 | ENSG00000104059 | 序列相似性家族 189, 成员 A1 |
| FAM198A | ENSG00000144649 | 序列相似性家族 198, 成员 A |
| FAM19A1 | ENSG00000183662 | 序列相似性家族 19(趋化因子(C-C 基序)样), 成员 A1 |
| FAM19A2 | ENSG00000198673 | 序列相似性家族 19(趋化因子(C-C 基序)样), 成员 A2 |
| FAM19A3 | ENSG00000184599 | 序列相似性家族 19(趋化因子(C-C 基序)样), 成员 A3 |
| FAM19A4 | ENSG00000163377 | 序列相似性家族 19(趋化因子(C-C 基序)样), 成员 A4 |
| FAM19A5 | ENSG00000219438 | 序列相似性家族 19(趋化因子(C-C 基序)样), 成员 A5 |
| FAM20A | ENSG00000108950 | 序列相似性家族 20, 成员 A |
| FAM20C | ENSG00000177706 | 序列相似性家族 20, 成员 C |
| FAM213A | ENSG00000122378 | 序列相似性家族 213, 成员 A |
| FAM26D | ENSG00000164451 | 序列相似性家族 26, 成员 D |
| FAM46B | ENSG00000158246 | 序列相似性家族 46, 成员 B |
| FAM57A | ENSG00000167695 | 序列相似性家族 57, 成员 A |
| FAM78A | ENSG00000126882 | 序列相似性家族 78, 成员 A |
| FAM96A | ENSG00000166797 | 序列相似性家族 96, 成员 A |
| FAM9B | ENSG00000177138 | 序列相似性家族 9, 成员 B |
| FAP | ENSG00000078098 | 成纤维细胞活化蛋白,α |
| FAS | ENSG00000026103 | Fas 细胞表面死亡受体 |
| FAT1 | ENSG00000083857 | FAT 非典型钙粘蛋白 1 |
| FBLN1 | ENSG00000077942 | 纤蛋白 1 |
| FBLN2 | ENSG00000163520 | 纤蛋白 2 |
| FBLN5 | ENSG00000140092 | 纤蛋白 5 |
| FBLN7 | ENSG00000144152 | 纤蛋白 7 |
| FBN1 | ENSG00000166147 | 原纤蛋白 1 |
| FBN2 | ENSG00000138829 | 原纤蛋白 2 |
| FBN3 | ENSG00000142449 | 原纤蛋白 3 |

[0325]

| | | |
|---|---|---|
| FBXW7 | ENSG00000109670 | 含 F 盒与 WD 重复结构域 7, E3 泛素蛋白连接酶 |
| FCAR | ENSG00000186431 | IgA 受体的 Fc 片段 |
| FCGBP | ENSG00000275395 | IgG 结合蛋白的 Fc 片段 |
| FCGR1B | ENSG00000198019 | IgG 的 Fc 片段, 高亲和力 Ib, 受体(CD64) |
| FCGR3A | ENSG00000203747 | IgG 的 Fc 片段, 低亲和力 IIIa, 受体(CD16a) |
| FCGRT | ENSG00000104870 | IgG 的 Fc 片段,受体, 转运蛋白, α |
| FCMR | ENSG00000162894 | IgM 受体的 Fc 片段 |
| FCN1 | ENSG00000085265 | 纤维胶凝蛋白(含胶原蛋白/纤维蛋白原结构域) 1 |
| FCN2 | ENSG00000160339 | 纤维胶凝蛋白(含胶原蛋白/纤维蛋白原结构域凝集素) 2 |
| FCN3 | ENSG00000142748 | 纤维胶凝蛋白(含胶原蛋白/纤维蛋白原结构域) 3 |
| FCRL1 | ENSG00000163534 | Fc 受体样 1 |
| FCRL3 | ENSG00000160856 | Fc 受体样 3 |
| FCRL5 | ENSG00000143297 | Fc 受体样 5 |
| FCRLA | ENSG00000132185 | Fc 受体样 A |
| FCRLB | ENSG00000162746 | Fc 受体样 B |
| FDCSP | ENSG00000181617 | 滤泡树突细胞分泌蛋白 |
| FETUB | ENSG00000090512 | 胎球蛋白 B |
| FGA | ENSG00000171560 | 纤维蛋白原 α 链 |
| FGB | ENSG00000171564 | 纤维蛋白原 β 链 |
| FGF10 | ENSG00000070193 | 成纤维细胞生长因子 10 |
| FGF17 | ENSG00000158815 | 成纤维细胞生长因子 17 |
| FGF18 | ENSG00000156427 | 成纤维细胞生长因子 18 |
| FGF19 | ENSG00000162344 | 成纤维细胞生长因子 19 |
| FGF21 | ENSG00000105550 | 成纤维细胞生长因子 21 |
| FGF22 | ENSG00000070388 | 成纤维细胞生长因子 22 |
| FGF23 | ENSG00000118972 | 成纤维细胞生长因子 23 |
| FGF3 | ENSG00000186895 | 成纤维细胞生长因子 3 |
| FGF4 | ENSG00000075388 | 成纤维细胞生长因子 4 |
| FGF5 | ENSG00000138675 | 成纤维细胞生长因子 5 |
| FGF7 | ENSG00000140285 | 成纤维细胞生长因子 7 |
| FGF8 | ENSG00000107831 | 成纤维细胞生长因子 8 (雄激素诱导) |
| FGFBP1 | ENSG00000137440 | 成纤维细胞生长因子结合蛋白 1 |
| FGFBP2 | ENSG00000137441 | 成纤维细胞生长因子结合蛋白 2 |
| FGFBP3 | ENSG00000174721 | 成纤维细胞生长因子结合蛋白 3 |
| FGFR1 | ENSG00000077782 | 成纤维细胞生长因子受体 1 |

[0326]

| | | |
|---|---|---|
| FGFR2 | ENSG00000066468 | 成纤维细胞生长因子受体 2 |
| FGFR3 | ENSG00000068078 | 成纤维细胞生长因子受体 3 |
| FGFR4 | ENSG00000160867 | 成纤维细胞生长因子受体 4 |
| FGFRL1 | ENSG00000127418 | 成纤维细胞生长因子受体样 1 |
| FGG | ENSG00000171557 | 纤维蛋白原 γ 链 |
| FGL1 | ENSG00000104760 | 纤维蛋白原样 1 |
| FGL2 | ENSG00000127951 | 纤维蛋白原样 2 |
| FHL1 | ENSG00000022267 | 四个半 LIM 结构域 1 |
| FHOD3 | ENSG00000134775 | 含形成素同系物 2 结构域 3 |
| FIBIN | ENSG00000176971 | Fin bud 起始因子同系物(斑马鱼) |
| FICD | ENSG00000198855 | 含 FIC 结构域 |
| FIGF | ENSG00000165197 | C-fos 诱导生长因子 (血管内皮生长因子 D) |
| FJX1 | ENSG00000179431 | 四连接盒 1 |
| FKBP10 | ENSG00000141756 | FK506 结合蛋白 10, 65 kDa |
| FKBP11 | ENSG00000134285 | FK506 结合蛋白 11, 19 kDa |
| FKBP14 | ENSG00000106080 | FK506 结合蛋白 14, 22 kDa |
| FKBP2 | ENSG00000173486 | FK506 结合蛋白 2, 13kDa |
| FKBP7 | ENSG00000079150 | FK506 结合蛋白 7 |
| FKBP9 | ENSG00000122642 | FK506 结合蛋白 9, 63 kDa |
| FLT1 | ENSG00000102755 | Fms 相关酪氨酸激酶 1 |
| FLT4 | ENSG00000037280 | Fms 相关酪氨酸激酶 4 |
| FMO1 | ENSG00000010932 | 含黄素单加氧酶 1 |
| FMO2 | ENSG00000094963 | 含黄素单加氧酶 2 (非功能性) |
| FMO3 | ENSG00000007933 | 含黄素单加氧酶 3 |
| FMO5 | ENSG00000131781 | 含黄素单加氧酶 5 |
| FMOD | ENSG00000122176 | 纤调蛋白 |
| FN1 | ENSG00000115414 | 纤连蛋白 1 |
| FNDC1 | ENSG00000164694 | 含纤连蛋白 III 型结构域 1 |
| FNDC7 | ENSG00000143107 | 含纤连蛋白 III 型结构域 7 |
| FOCAD | ENSG00000188352 | Focadhesin |
| FOLR2 | ENSG00000165457 | 叶酸受体 2 (胎儿) |
| FOLR3 | ENSG00000110203 | 叶酸受体 3 (γ) |
| FOXRED2 | ENSG00000100350 | 含 FAD 依赖性氧化还原酶结构域 2 |
| FP325331.1 | ENSG00000278881 | 未知功能蛋白 UNQ6126/PRO20091 |
| FPGS | ENSG00000136877 | 叶酰聚谷氨酸合酶 |

[0327]

| | | |
|---|---|---|
| FRAS1 | ENSG00000138759 | Fraser 胞外基质复合物亚基 1 |
| FREM1 | ENSG00000164946 | FRAS1 相关胞外基质 1 |
| FREM3 | ENSG00000183090 | FRAS1 相关胞外基质 3 |
| FRMPD2 | ENSG00000170324 | 含 FERM 和 PDZ 结构域 2 |
| FRZB | ENSG00000162998 | 卷曲相关蛋白 |
| FSHB | ENSG00000131808 | 促卵泡激素, β 多肽 |
| FSHR | ENSG00000170820 | 促卵泡激素受体 |
| FST | ENSG00000134363 | 卵泡抑素 |
| FSTL1 | ENSG00000163430 | 卵泡抑素样 1 |
| FSTL3 | ENSG00000070404 | 卵泡抑素样 3 (分泌糖蛋白) |
| FSTL4 | ENSG00000053108 | 卵泡抑素样 4 |
| FSTL5 | ENSG00000168843 | 卵泡抑素样 5 |
| FTCDNL1 | ENSG00000226124 | 亚胺甲基转移酶环化脱氨酶 N-端样 |
| FUCA1 | ENSG00000179163 | 岩藻糖苷酶, α-L-1, 组织 |
| FUCA2 | ENSG00000001036 | 岩藻糖苷酶, α-L-2, 血浆 |
| FURIN | ENSG00000140564 | 弗林蛋白酶(成对碱性氨基酸切割酶) |
| FUT10 | ENSG00000172728 | 岩藻糖基转移酶 10 (α(1,3)岩藻糖基转移酶) |
| FUT11 | ENSG00000196968 | 岩藻糖基转移酶 11 (α(1,3)岩藻糖基转移酶) |
| FXN | ENSG00000165060 | Frataxin |
| FXR1 | ENSG00000114416 | 脆性 X 智力低下基因, 常染色体同系物 1 |
| FXYD3 | ENSG00000089356 | 含 FXYD 结构域离子转运调节因子 3 |
| GABBR1 | ENSG00000204681 | γ-氨基丁酸 (GABA) B 受体, 1 |
| GABRA1 | ENSG00000022355 | γ-氨基丁酸 (GABA) A 受体, α1 |
| GABRA2 | ENSG00000151834 | γ-氨基丁酸 (GABA) A 受体, α2 |
| GABRA5 | ENSG00000186297 | γ-氨基丁酸 (GABA) A 受体, α5 |
| GABRG3 | ENSG00000182256 | γ-氨基丁酸 (GABA) A 受体, γ3 |
| GABRP | ENSG00000094755 | γ-氨基丁酸 (GABA) A 受体, pi |
| GAL | ENSG00000069482 | 甘丙肽/GMAP 前多肽原 |
| GAL3ST1 | ENSG00000128242 | 半乳糖-3-O-磺基转移酶 1 |
| GAL3ST2 | ENSG00000154252 | 半乳糖-3-O-磺基转移酶 2 |
| GAL3ST3 | ENSG00000175229 | 半乳糖-3-O-磺基转移酶 3 |
| GALC | ENSG00000054983 | 半乳糖基神经酰胺酶 |
| GALNS | ENSG00000141012 | 半乳糖胺(N-乙酰基)-6-硫酸酯酶 |
| GALNT10 | ENSG00000164574 | 多肽 N-乙酰半乳糖胺基转移酶 10 |
| GALNT12 | ENSG00000119514 | 多肽 N-乙酰半乳糖胺基转移酶 12 |

[0328]

| | | |
|---|---|---|
| GALNT15 | ENSG00000131386 | 多肽 N-乙酰半乳糖胺基转移酶 15 |
| GALNT2 | ENSG00000143641 | 多肽 N-乙酰半乳糖胺基转移酶 2 |
| GALNT6 | ENSG00000139629 | 多肽 N-乙酰半乳糖胺基转移酶 6 |
| GALNT8 | ENSG00000130035 | 多肽 N-乙酰半乳糖胺基转移酶 8 |
| GALNTL6 | ENSG00000174473 | 多肽 N-乙酰半乳糖胺基转移酶样 6 |
| GALP | ENSG00000197487 | 甘丙肽样肽 |
| GANAB | ENSG00000089597 | 葡糖苷酶, α; 中性 AB |
| GARS | ENSG00000106105 | 甘氨酰-tRNA 合成酶 |
| GAS1 | ENSG00000180447 | 生长停滞特异性 1 |
| GAS6 | ENSG00000183087 | 生长停滞特异性 6 |
| GAST | ENSG00000184502 | 胃泌素 |
| GBA | ENSG00000177628 | 葡糖苷酶, β, 酸 |
| GBGT1 | ENSG00000148288 | 红细胞糖苷 α-1,3-N-乙酰半乳糖胺基转移酶 1 |
| GC | ENSG00000145321 | 组特异成份(维生素 D 结合蛋白) |
| GCG | ENSG00000115263 | 胰高血糖素 |
| GCGR | ENSG00000215644 | 胰高血糖素受体 |
| GCNT7 | ENSG00000124091 | 葡萄糖胺基(N-乙酰基)转移酶家族成员 7 |
| GCSH | ENSG00000140905 | 甘氨酸裂解系统蛋白 H(氨基甲基载体) |
| GDF1 | ENSG00000130283 | 生长分化因子 1 |
| GDF10 | ENSG00000266524 | 生长分化因子 10 |
| GDF11 | ENSG00000135414 | 生长分化因子 11 |
| GDF15 | ENSG00000130513 | 生长分化因子 15 |
| GDF2 | ENSG00000263761 | 生长分化因子 2 |
| GDF3 | ENSG00000184344 | 生长分化因子 3 |
| GDF5 | ENSG00000125965 | 生长分化因子 5 |
| GDF6 | ENSG00000156466 | 生长分化因子 6 |
| GDF7 | ENSG00000143869 | 生长分化因子 7 |
| GDF9 | ENSG00000164404 | 生长分化因子 9 |
| GDNF | ENSG00000168621 | 胶质细胞源性神经营养因子 |
| GFOD2 | ENSG00000141098 | 含葡萄糖-果糖氧化还原酶结构域 2 |
| GFPT2 | ENSG00000131459 | 谷氨酰胺-果糖-6-磷酸转氨酶 2 |
| GFRA2 | ENSG00000168546 | GDNF 家族受体 α2 |
| GFRA4 | ENSG00000125861 | GDNF 家族受体 α4 |
| GGA2 | ENSG00000103365 | 高尔基体相关, 含 γ 衔接蛋白 ear, ARF 结合蛋白 2 |
| GGH | ENSG00000137563 | γ-谷氨酰水解酶(结合酶, 叶酰聚 γ-谷氨酰水解酶) |

[0329]

| | | |
|---|---|---|
| GGT1 | ENSG00000100031 | γ-谷氨酰转移酶 1 |
| GGT5 | ENSG00000099998 | γ-谷氨酰转移酶 5 |
| GH1 | ENSG00000259384 | 生长激素 1 |
| GH2 | ENSG00000136487 | 生长激素 2 |
| GHDC | ENSG00000167925 | 含 GH3 结构域 |
| GHRH | ENSG00000118702 | 生长激素释放激素 |
| GHRHR | ENSG00000106128 | 生长激素释放激素受体 |
| GHRL | ENSG00000157017 | 胃饥饿素/肥胖抑制素前多肽原 |
| GIF | ENSG00000134812 | 胃内因子 (维生素 B 合成) |
| GIP | ENSG00000159224 | 胃抑制性多肽 |
| GKN1 | ENSG00000169605 | 胃动蛋白 1 |
| GKN2 | ENSG00000183607 | 胃动蛋白 2 |
| GLA | ENSG00000102393 | 半乳糖苷酶, α |
| GLB1 | ENSG00000170266 | 半乳糖苷酶, β1 |
| GLB1L | ENSG00000163521 | 半乳糖苷酶, β1 样 |
| GLB1L2 | ENSG00000149328 | 半乳糖苷酶, β1 样 2 |
| GLCE | ENSG00000138604 | 葡糖醛酸表异构酶 |
| GLG1 | ENSG00000090863 | 高尔基体糖蛋白 1 |
| GLIPR1 | ENSG00000139278 | GLI 发病机理相关 1 |
| GLIPR1L1 | ENSG00000173401 | GLI 发病机理相关 1 样 1 |
| GLIS3 | ENSG00000107249 | GLIS 家族锌指 3 |
| GLMP | ENSG00000198715 | 糖基化溶酶体膜蛋白 |
| GLRB | ENSG00000109738 | 甘氨酸受体, β |
| GLS | ENSG00000115419 | 谷氨酰胺酶 |
| GLT6D1 | ENSG00000204007 | 含糖基转移酶 6 结构域 1 |
| GLTPD2 | ENSG00000182327 | 含糖脂转运蛋白结构域 2 |
| GLUD1 | ENSG00000148672 | 谷氨酸脱氢酶 1 |
| GM2A | ENSG00000196743 | GM2 神经节苷脂激活剂 |
| GML | ENSG00000104499 | 糖基磷脂酰肌醇锚定分子样 |
| GNAS | ENSG00000087460 | GNAS 复杂基因座 |
| GNLY | ENSG00000115523 | 粒溶素 |
| GNPTG | ENSG00000090581 | N-乙酰基葡糖胺-1-磷酸转移酶, γ 亚基 |
| GNRH1 | ENSG00000147437 | 促性腺素-释放激素 1 (黄体化-释放激素) |
| GNRH2 | ENSG00000125787 | 促性腺素-释放激素 2 |
| GNS | ENSG00000135677 | 葡糖胺(N-乙酰基)-6-硫酸酯酶 |

[0330]

| | | |
|---|---|---|
| GOLM1 | ENSG00000135052 | 高尔基体膜蛋白 1 |
| GORAB | ENSG00000120370 | 高尔基体蛋白, RAB6-相互作用性 |
| GOT2 | ENSG00000125166 | 谷草转氨酶 2, 线粒体 l |
| GP2 | ENSG00000169347 | 糖蛋白 2 (酶原颗粒膜) |
| GP6 | ENSG00000088053 | 糖蛋白 VI (血小板) |
| GPC2 | ENSG00000213420 | 磷脂酰肌醇蛋白聚糖 2 |
| GPC5 | ENSG00000179399 | 磷脂酰肌醇蛋白聚糖 5 |
| GPC6 | ENSG00000183098 | 磷脂酰肌醇蛋白聚糖 6 |
| GPD2 | ENSG00000115159 | 甘油-3-磷酸脱氢酶 2 (线粒体 l) |
| GPER1 | ENSG00000164850 | G 蛋白偶联雌激素受体 1 |
| GPHA2 | ENSG00000149735 | 糖蛋白激素 α2 |
| GPHB5 | ENSG00000179600 | 糖蛋白激素 β5 |
| GPIHBP1 | ENSG00000277494 | 糖基磷脂酰肌醇锚定高密度脂蛋白结合蛋白 1 |
| GPLD1 | ENSG00000112293 | 糖基化磷脂酰肌醇特异性磷脂酶 D1 |
| GPNMB | ENSG00000136235 | 糖蛋白(跨膜) nmb |
| GPR162 | ENSG00000250510 | G 蛋白偶联受体 162 |
| GPX3 | ENSG00000211445 | 谷胱甘肽过氧化物酶 3 |
| GPX4 | ENSG00000167468 | 谷胱甘肽过氧化物酶 4 |
| GPX5 | ENSG00000224586 | 谷胱甘肽过氧化物酶 5 |
| GPX6 | ENSG00000198704 | 谷胱甘肽过氧化物酶 6 |
| GPX7 | ENSG00000116157 | 谷胱甘肽过氧化物酶 7 |
| GREM1 | ENSG00000166923 | Gremlin 1, DAN 家族 BMP 拮抗物 |
| GREM2 | ENSG00000180875 | Gremlin 2, DAN 家族 BMP 拮抗物 |
| GRHL3 | ENSG00000158055 | Grainyhead 样转录因子 3 |
| GRIA2 | ENSG00000120251 | 谷氨酸盐受体, 促离子型, AMPA 2 |
| GRIA3 | ENSG00000125675 | 谷氨酸盐受体, ionotropic, AMPA 3 |
| GRIA4 | ENSG00000152578 | 谷氨酸盐受体, 促离子型, AMPA 4 |
| GRIK2 | ENSG00000164418 | 谷氨酸盐受体, 促离子型, 红藻氨酸 2 |
| GRIN2B | ENSG00000273079 | 谷氨酸盐受体, 促离子型, N-甲基 D-天冬氨酸 2B |
| GRM2 | ENSG00000164082 | 谷氨酸盐受体, 代谢型 2 |
| GRM3 | ENSG00000198822 | 谷氨酸盐受体, 代谢型 3 |
| GRM5 | ENSG00000168959 | 谷氨酸盐受体, 代谢型 5 |
| GRN | ENSG00000030582 | 颗粒体蛋白 |
| GRP | ENSG00000134443 | 胃泌素-释放肽 |
| GSG1 | ENSG00000111305 | 生殖细胞相关 1 |

[0331]

| | | |
|---|---|---|
| GSN | ENSG00000148180 | 凝溶胶蛋白 |
| GTDC1 | ENSG00000121964 | 含糖基转移酶样结构域 1 |
| GTPBP10 | ENSG00000105793 | GTP-结合蛋白 10 (推定) |
| GUCA2A | ENSG00000197273 | 鸟苷酸环化酶激活剂 2A (鸟苷蛋白) |
| GUCA2B | ENSG00000044012 | 鸟苷酸环化酶激活剂 2B (尿鸟苷蛋白) |
| GUSB | ENSG00000169919 | 葡萄糖醛酸酶, β |
| GVQW1 | ENSG00000241043 | 含 GVQW 基序 1 |
| GXYLT1 | ENSG00000151233 | 葡糖苷木糖基转移酶 1 |
| GXYLT2 | ENSG00000172986 | 葡糖苷木糖基转移酶 2 |
| GYLTL1B | ENSG00000165905 | 糖基转移酶样 1B |
| GYPB | ENSG00000250361 | 血型糖蛋白 B (MNS 血型) |
| GZMA | ENSG00000145649 | 粒酶 A (粒酶 1, 细胞毒性 T 淋巴细胞相关丝氨酸酯酶 3) |
| GZMB | ENSG00000100453 | 粒酶 B (粒酶 2, 细胞毒性 T 淋巴细胞相关丝氨酸酯酶 1) |
| GZMH | ENSG00000100450 | 粒酶 H (组织蛋白酶 G 样 2, 蛋白 h-CCPX) |
| GZMK | ENSG00000113088 | 粒酶 K (粒酶 3; 类胰蛋白酶 II) |
| GZMM | ENSG00000197540 | 粒酶 M (淋巴细胞蛋氨酸酶 1) |
| H6PD | ENSG00000049239 | 己糖-6-磷酸脱氢酶(葡萄糖 1-脱氢酶) |
| HABP2 | ENSG00000148702 | 透明质酸结合蛋白 2 |
| HADHB | ENSG00000138029 | 羟酰辅酶 A 脱氢酶/3-酮脂酰辅酶 A 硫解酶/烯酰辅酶 A 水合酶 (三功能蛋白), β 亚基 |
| HAMP | ENSG00000105697 | 铁调素抗菌肽 |
| HAPLN1 | ENSG00000145681 | 透明质酸和蛋白多糖连接蛋白质 1 |
| HAPLN2 | ENSG00000132702 | 透明质酸和蛋白多糖连接蛋白质 2 |
| HAPLN3 | ENSG00000140511 | 透明质酸和蛋白多糖连接蛋白质 3 |
| HAPLN4 | ENSG00000187664 | 透明质酸和蛋白多糖连接蛋白质 4 |
| HARS2 | ENSG00000112855 | 组氨酰-tRNA 合成酶 2, 线粒体 1 |
| HAVCR1 | ENSG00000113249 | 甲型肝炎病毒细胞受体 1 |
| HCCS | ENSG00000004961 | 全细胞色素 c 合成酶 |
| HCRT | ENSG00000161610 | 下丘脑分泌素(食欲素) 神经肽前体 |
| HEATR5A | ENSG00000129493 | 含 HEAT 重复序列 5A |
| HEPH | ENSG00000089472 | Hephaestin |
| HEXA | ENSG00000213614 | 己糖胺酶 A (α 多肽) |
| HEXB | ENSG00000049860 | 己糖胺酶 B (β 多肽) |
| HFE2 | ENSG00000168509 | 2 型血色素沉着症 (青少年) |

[0332]

| | | |
|---|---|---|
| HGF | ENSG00000019991 | 肝细胞生长因子 (hepapoietin A; 扩散因子) |
| HGFAC | ENSG00000109758 | HGF 激活物 |
| HHIP | ENSG00000164161 | 刺猬因子相互作用蛋白 |
| HHIPL1 | ENSG00000182218 | HHIP 样 1 |
| HHIPL2 | ENSG00000143512 | HHIP 样 2 |
| HHLA1 | ENSG00000132297 | HERV-H LTR-相关 1 |
| HHLA2 | ENSG00000114455 | HERV-H LTR-相关 2 |
| HIBADH | ENSG00000106049 | 3-羟基异丁酸脱氢酶 |
| HINT2 | ENSG00000137133 | 组氨酸三联体核苷酸结合蛋白 2 |
| HLA-A | ENSG00000206503 | 主要组织相容性复合体, I 类, A |
| HLA-C | ENSG00000204525 | 主要组织相容性复合体, I 类, C |
| HLA-DOA | ENSG00000204252 | 主要组织相容性复合体, II 类, DOα |
| HLA-DPA1 | ENSG00000231389 | 主要组织相容性复合体, II 类, DPα1 |
| HLA-DQA1 | ENSG00000196735 | 主要组织相容性复合体, II 类, DQα1 |
| HLA-DQB1 | ENSG00000179344 | 主要组织相容性复合体, II 类, DQβ1 |
| HLA-DQB2 | ENSG00000232629 | 主要组织相容性复合体, II 类, DQβ2 |
| HMCN1 | ENSG00000143341 | 半椎蛋白 1 |
| HMCN2 | ENSG00000148357 | 半椎蛋白 2 |
| HMGCL | ENSG00000117305 | 3-羟甲基-3-甲基戊二酰辅酶 A 裂解酶 |
| HMHA1 | ENSG00000180448 | 组织相容性(次要)HA-1 |
| HMSD | ENSG00000221887 | 含组织相容性(次要) 丝氨酸蛋白酶抑制剂结构域 |
| HP | ENSG00000257017 | 触珠蛋白 |
| HPR | ENSG00000261701 | 触珠蛋白相关蛋白 |
| HPSE | ENSG00000173083 | 类肝素酶 |
| HPSE2 | ENSG00000172987 | 类肝素酶 2 (无活性) |
| HPX | ENSG00000110169 | 血色素结合蛋白 |
| HRC | ENSG00000130528 | 富含组氨酸钙结合蛋白 |
| HRG | ENSG00000113905 | 富含组氨酸糖蛋白 |
| HRSP12 | ENSG00000132541 | 热反应蛋白 12 |
| HS2ST1 | ENSG00000153936 | 硫酸乙酰肝素 2-O-磺基转移酶 1 |
| HS3ST1 | ENSG00000002587 | 硫酸乙酰肝素(葡糖胺) 3-O-磺基转移酶 1 |
| HS6ST1 | ENSG00000136720 | 硫酸乙酰肝素 6-O-磺基转移酶 1 |
| HS6ST3 | ENSG00000185352 | 硫酸乙酰肝素 6-O-磺基转移酶 3 |
| HSD11B1L | ENSG00000167733 | 羟基类固醇(11-β)脱氢酶 1 样 |
| HSD17B11 | ENSG00000198189 | 羟基类固醇(17-β)脱氢酶 11 |

[0333]

| | | |
|---|---|---|
| HSD17B7 | ENSG00000132196 | 羟基类固醇(17-β)脱氢酶 7 |
| HSP90B1 | ENSG00000166598 | 热休克蛋白 90kDa β (Grp94), 成员 1 |
| HSPA13 | ENSG00000155304 | 热休克蛋白 70kDa 家族, 成员 13 |
| HSPA5 | ENSG00000044574 | 热休克 70kDa 蛋白 5 (葡萄糖调节蛋白, 78kDa) |
| HSPG2 | ENSG00000142798 | 硫酸乙酰肝素蛋白聚糖 2 |
| HTATIP2 | ENSG00000109854 | HIV-1 Tat 互作蛋白 2, 30kDa |
| HTN1 | ENSG00000126550 | 富组蛋白 1 |
| HTN3 | ENSG00000205649 | 富组蛋白 3 |
| HTRA1 | ENSG00000166033 | HtrA 丝氨酸肽酶 1 |
| HTRA3 | ENSG00000170801 | HtrA 丝氨酸肽酶 3 |
| HTRA4 | ENSG00000169495 | HtrA 丝氨酸肽酶 4 |
| HYAL1 | ENSG00000114378 | 透明质酸氨基葡糖苷酶 1 |
| HYAL2 | ENSG00000068001 | 透明质酸氨基葡糖苷酶 2 |
| HYAL3 | ENSG00000186792 | 透明质酸氨基葡糖苷酶 3 |
| HYOU1 | ENSG00000149428 | 缺氧上调 1 |
| IAPP | ENSG00000121351 | Islet 淀粉样蛋白多肽 |
| IBSP | ENSG00000029559 | 整联蛋白结合唾液蛋白 |
| ICAM1 | ENSG00000090339 | 细胞间粘着分子 1 |
| ICAM2 | ENSG00000108622 | 细胞间粘着分子 2 |
| ICAM4 | ENSG00000105371 | 细胞间粘着分子 4 (Landsteiner-Wiener 血型) |
| ID1 | ENSG00000125968 | DNA 结合抑制剂 1, 显性负螺旋-环-螺旋蛋白 |
| IDE | ENSG00000119912 | 胰岛素降解酶 |
| IDNK | ENSG00000148057 | IdnK, 葡萄糖酸激酶同系物(大肠杆菌) |
| IDS | ENSG00000010404 | 艾杜糖醛酸 2-硫酸酯酶 |
| IDUA | ENSG00000127415 | 艾杜糖苷酸酶, α-L- |
| IFI27L2 | ENSG00000119632 | 干扰素, α-诱导蛋白 27 样 2 |
| IFI30 | ENSG00000216490 | 干扰素, γ-诱导蛋白 30 |
| IFNA1 | ENSG00000197919 | 干扰素, α1 |
| IFNA10 | ENSG00000186803 | 干扰素, α10 |
| IFNA13 | ENSG00000233816 | 干扰素, α13 |
| IFNA14 | ENSG00000228083 | 干扰素, α14 |
| IFNA16 | ENSG00000147885 | 干扰素, α16 |
| IFNA17 | ENSG00000234829 | 干扰素, α17 |
| IFNA2 | ENSG00000188379 | 干扰素, α2 |
| IFNA21 | ENSG00000137080 | 干扰素, α21 |

[0334]

| | | |
|---|---|---|
| IFNA4 | ENSG00000236637 | 干扰素, α4 |
| IFNA5 | ENSG00000147873 | 干扰素, α5 |
| IFNA6 | ENSG00000120235 | 干扰素, α6 |
| IFNA7 | ENSG00000214042 | 干扰素, α7 |
| IFNA8 | ENSG00000120242 | 干扰素, α8 |
| IFNAR1 | ENSG00000142166 | 干扰素 (α, γ 和 ω)受体 1 |
| IFNB1 | ENSG00000171855 | 干扰素, β1, 成纤维细胞 |
| IFNE | ENSG00000184995 | 干扰素, ε |
| IFNG | ENSG00000111537 | 干扰素, γ |
| IFNGR1 | ENSG00000027697 | 干扰素 γ 受体 1 |
| IFNL1 | ENSG00000182393 | 干扰素, λ1 |
| IFNL2 | ENSG00000183709 | 干扰素, λ2 |
| IFNL3 | ENSG00000197110 | 干扰素, λ3 |
| IFNLR1 | ENSG00000185436 | 干扰素, λ 受体 1 |
| IFNW1 | ENSG00000177047 | 干扰素, ω1 |
| IGF1 | ENSG00000017427 | 胰岛素样生长因子 1 (生长调节素 C) |
| IGF2 | ENSG00000167244 | 胰岛素样生长因子 2 |
| IGFALS | ENSG00000099769 | 胰岛素样生长因子结合蛋白, 酸敏性亚基 |
| IGFBP1 | ENSG00000146678 | 胰岛素样生长因子结合蛋白 1 |
| IGFBP2 | ENSG00000115457 | 胰岛素样生长因子结合蛋白 2, 36kDa |
| IGFBP3 | ENSG00000146674 | 胰岛素样生长因子结合蛋白 3 |
| IGFBP4 | ENSG00000141753 | 胰岛素样生长因子结合蛋白 4 |
| IGFBP5 | ENSG00000115461 | 胰岛素样生长因子结合蛋白 5 |
| IGFBP6 | ENSG00000167779 | 胰岛素样生长因子结合蛋白 6 |
| IGFBP7 | ENSG00000163453 | 胰岛素样生长因子结合蛋白 7 |
| IGFBPL1 | ENSG00000137142 | 胰岛素样生长因子结合蛋白样 1 |
| IGFL1 | ENSG00000188293 | IGF 样家族成员 1 |
| IGFL2 | ENSG00000204866 | IGF 样家族成员 2 |
| IGFL3 | ENSG00000188624 | IGF 样家族成员 3 |
| IGFLR1 | ENSG00000126246 | IGF 样家族受体 1 |
| IGIP | ENSG00000182700 | IgA-诱导蛋白 |
| IGLON5 | ENSG00000142549 | IgLON 家族成员 5 |
| IGSF1 | ENSG00000147255 | 免疫球蛋白超家族, 成员 1 |
| IGSF10 | ENSG00000152580 | 免疫球蛋白超家族, 成员 10 |
| IGSF11 | ENSG00000144847 | 免疫球蛋白超家族, 成员 11 |

[0335]

| | | |
|---|---|---|
| IGSF21 | ENSG00000117154 | 免疫球蛋白超家族，成员 21 |
| IGSF8 | ENSG00000162729 | 免疫球蛋白超家族，成员 8 |
| IGSF9 | ENSG00000085552 | 免疫球蛋白超家族，成员 9 |
| IHH | ENSG00000163501 | 印度豪猪蛋白 |
| IL10 | ENSG00000136634 | 白介素 10 |
| IL11 | ENSG00000095752 | 白介素 11 |
| IL11RA | ENSG00000137070 | 白介素 11 受体，α |
| IL12B | ENSG00000113302 | 白介素 12B |
| IL12RB1 | ENSG00000096996 | 白介素 12 受体，β1 |
| IL12RB2 | ENSG00000081985 | 白介素 12 受体，β2 |
| IL13 | ENSG00000169194 | 白介素 13 |
| IL13RA1 | ENSG00000131724 | 白介素 13 受体，α1 |
| IL15RA | ENSG00000134470 | 白介素 15 受体，α |
| IL17A | ENSG00000112115 | 白介素 17A |
| IL17B | ENSG00000127743 | 白介素 17B |
| IL17C | ENSG00000124391 | 白介素 17C |
| IL17D | ENSG00000172458 | 白介素 17D |
| IL17F | ENSG00000112116 | 白介素 17F |
| IL17RA | ENSG00000177663 | 白介素 17 受体 A |
| IL17RC | ENSG00000163702 | 白介素 17 受体 C |
| IL17RE | ENSG00000163701 | 白介素 17 受体 E |
| IL18BP | ENSG00000137496 | 白介素 18 结合蛋白 |
| IL18R1 | ENSG00000115604 | 白介素 18 受体 1 |
| IL18RAP | ENSG00000115607 | 白介素 18 受体辅助蛋白 |
| IL19 | ENSG00000142224 | 白介素 19 |
| IL1R1 | ENSG00000115594 | 白介素 1 受体，I 型 |
| IL1R2 | ENSG00000115590 | 白介素 1 受体，II 型 |
| IL1RAP | ENSG00000196083 | 白介素 1 受体辅助蛋白 |
| IL1RL1 | ENSG00000115602 | 白介素 1 受体样 1 |
| IL1RL2 | ENSG00000115598 | 白介素 1 受体样 2 |
| IL1RN | ENSG00000136689 | 白介素 1 受体拮抗物 |
| IL2 | ENSG00000109471 | 白介素 2 |
| IL20 | ENSG00000162891 | 白介素 20 |
| IL20RA | ENSG00000016402 | 白介素 20 受体，α |
| IL21 | ENSG00000138684 | 白介素 21 |

[0336]

| | | |
|---|---|---|
| IL22 | ENSG00000127318 | 白介素 22 |
| IL22RA2 | ENSG00000164485 | 白介素 22 受体, α2 |
| IL23A | ENSG00000110944 | 白介素 23, α 亚基 p19 |
| IL24 | ENSG00000162892 | 白介素 24 |
| IL25 | ENSG00000166090 | 白介素 25 |
| IL26 | ENSG00000111536 | 白介素 26 |
| IL27 | ENSG00000197272 | 白介素 27 |
| IL2RB | ENSG00000100385 | 白介素 2 受体, β |
| IL3 | ENSG00000164399 | 白介素 3 |
| IL31 | ENSG00000204671 | 白介素 31 |
| IL31RA | ENSG00000164509 | 白介素 31 受体 A |
| IL32 | ENSG00000008517 | 白介素 32 |
| IL34 | ENSG00000157368 | 白介素 34 |
| IL3RA | ENSG00000185291 | 白介素 3 受体, α (低亲和力) |
| IL4 | ENSG00000113520 | 白介素 4 |
| IL4I1 | ENSG00000104951 | 白介素 4 诱导 1 |
| IL4R | ENSG00000077238 | 白介素 4 受体 |
| IL5 | ENSG00000113525 | 白介素 5 |
| IL5RA | ENSG00000091181 | 白介素 5 受体, α |
| IL6 | ENSG00000136244 | 白介素 6 |
| IL6R | ENSG00000160712 | 白介素 6 受体 |
| IL6ST | ENSG00000134352 | 白介素 6 信号转导因子 |
| IL7 | ENSG00000104432 | 白介素 7 |
| IL7R | ENSG00000168685 | 白介素 7 受体 |
| IL9 | ENSG00000145839 | 白介素 9 |
| ILDR1 | ENSG00000145103 | 含免疫球蛋白样结构域受体 1 |
| ILDR2 | ENSG00000143195 | 含免疫球蛋白样结构域受体 2 |
| IMP4 | ENSG00000136718 | IMP4, U3 小核仁核糖核蛋白 |
| IMPG1 | ENSG00000112706 | 光感受器间基质蛋白聚糖 1 |
| INHA | ENSG00000123999 | 抑制素, α |
| INHBA | ENSG00000122641 | 抑制素, βA |
| INHBB | ENSG00000163083 | 抑制素, βB |
| INHBC | ENSG00000175189 | 抑制素, βC |
| INHBE | ENSG00000139269 | 抑制素, βE |
| INPP5A | ENSG00000068383 | 肌醇多磷酸-5-磷酸酶 A |

[0337]

| | | |
|---|---|---|
| INS | ENSG00000254647 | 胰岛素 |
| INS-IGF2 | ENSG00000129965 | INS-IGF2 通读蛋白 |
| INSL3 | ENSG00000248099 | 胰岛素样 3 (莱氏细胞) |
| INSL4 | ENSG00000120211 | 胰岛素样 4 (胎盘) |
| INSL5 | ENSG00000172410 | 胰岛素样 5 |
| INSL6 | ENSG00000120210 | 胰岛素样 6 |
| INTS3 | ENSG00000143624 | 整合复合物亚基 3 |
| IPO11 | ENSG00000086200 | 输入蛋白 11 |
| IPO9 | ENSG00000198700 | 输入蛋白 9 |
| IQCF6 | ENSG00000214686 | 含 IQ 基序 F6 |
| IRAK3 | ENSG00000090376 | 白介素-1 受体相关激酶 3 |
| IRS4 | ENSG00000133124 | 胰岛素受体底物 4 |
| ISLR | ENSG00000129009 | 含免疫球蛋白超家族富亮氨酸重复序列 |
| ISLR2 | ENSG00000167178 | 含免疫球蛋白超家族富亮氨酸重复序列 2 |
| ISM1 | ENSG00000101230 | Isthmin 1, 血管生成抑制剂 |
| ISM2 | ENSG00000100593 | Isthmin 2 |
| ITGA4 | ENSG00000115232 | 整联蛋白, α4 (抗原 CD49D, VLA-4 受体的 α4 亚基) |
| ITGA9 | ENSG00000144668 | 整联蛋白, α9 |
| ITGAL | ENSG00000005844 | 整联蛋白, αL (抗原 CD11A(p180), 淋巴细胞功能相关抗原 1; α 多肽) |
| ITGAX | ENSG00000140678 | 整联蛋白, αX (补体成分 3 受体 4 亚基) |
| ITGB1 | ENSG00000150093 | 整联蛋白, β1 (纤连蛋白受体, β 多肽, 抗原 CD29 包括 MDF2, MSK12) |
| ITGB2 | ENSG00000160255 | 整联蛋白, β2 (补体成分 3 受体 3 和 4 亚基) |
| ITGB3 | ENSG00000259207 | 整联蛋白, β3 (血小板糖蛋白 IIIa, 抗原 CD61) |
| ITGB7 | ENSG00000139626 | 整联蛋白, β7 |
| ITGBL1 | ENSG00000198542 | 整联蛋白, β 样 1 (具有 EGF 样重复序列结构域) |
| ITIH1 | ENSG00000055957 | 间 α 胰蛋白酶抑制物重链 1 |
| ITIH2 | ENSG00000151655 | 间 α 胰蛋白酶抑制物重链 2 |
| ITIH3 | ENSG00000162267 | 间 α 胰蛋白酶抑制物重链 3 |
| ITIH4 | ENSG00000055955 | 间 α 胰蛋白酶抑制物重链家族, 成员 4 |
| ITIH5 | ENSG00000123243 | 间 α 胰蛋白酶抑制物重链家族, 成员 5 |
| ITIH6 | ENSG00000102313 | 间 α 胰蛋白酶抑制物重链家族, 成员 6 |
| ITLN1 | ENSG00000179914 | 内凝集素 1 (呋喃半乳糖结合) |
| ITLN2 | ENSG00000158764 | 内凝集素 2 |

[0338]

| | | |
|---|---|---|
| IZUMO1R | ENSG00000183560 | IZUMO1 受体, JUNO |
| IZUMO4 | ENSG00000099840 | IZUMO 家族成员 4 |
| JCHAIN | ENSG00000132465 | 多聚体 IgA 和 IgM 的连接链 |
| JMJD8 | ENSG00000161999 | 含 Jumonji 结构域 8 |
| JSRP1 | ENSG00000167476 | 交界性肌浆网蛋白 1 |
| KANSL2 | ENSG00000139620 | KAT8 调节 NSL 复合亚基 2 |
| KAZALD1 | ENSG00000107821 | Kazal 型丝氨酸肽酶抑制剂结构域 1 |
| KCNIP3 | ENSG00000115041 | Kv 通道相互作用蛋白 3, 钙衰蛋白 |
| KCNK7 | ENSG00000173338 | 钾通道, 双孔结构域亚家族 K, 成员 7 |
| KCNN4 | ENSG00000104783 | 钾通道, 钙激活中间体/小电导亚家族 Nα, 成员 4 |
| KCNU1 | ENSG00000215262 | 钾通道, 亚家族 U, 成员 1 |
| KCP | ENSG00000135253 | Kielin/脊索发生素样蛋白 |
| KDELC1 | ENSG00000134901 | 含 KDEL (Lys-Asp-Glu-Leu) 1 |
| KDELC2 | ENSG00000178202 | 含 KDEL (Lys-Asp-Glu-Leu) 2 |
| KDM1A | ENSG00000004487 | 赖氨酸(K)-特异性脱甲基酶 1A |
| KDM3B | ENSG00000120733 | 赖氨酸(K)-特异性脱甲基酶 3B |
| KDM6A | ENSG00000147050 | 赖氨酸(K)-特异性脱甲基酶 6A |
| KDM7A | ENSG00000006459 | 赖氨酸(K)-特异性脱甲基酶 7A |
| KDSR | ENSG00000119537 | 3-酮二氨鞘氨醇还原酶 |
| KERA | ENSG00000139330 | 角膜蛋白 |
| KIAA0100 | ENSG00000007202 | KIAA0100 |
| KIAA0319 | ENSG00000137261 | KIAA0319 |
| KIAA1324 | ENSG00000116299 | KIAA1324 |
| KIFC2 | ENSG00000167702 | 驱动蛋白家族成员 C2 |
| KIR2DL4 | ENSG00000189013 | 杀伤细胞免疫球蛋白样受体, 两个结构域, 长胞质尾, 4 |
| KIR3DX1 | ENSG00000104970 | 杀伤细胞免疫球蛋白样受体, 三个结构域, X1 |
| KIRREL2 | ENSG00000126259 | IRRE 的 Kin 样 2 (果蝇) |
| KISS1 | ENSG00000170498 | KiSS-1 转移抑制因子 |
| KLHL11 | ENSG00000178502 | Kelch 样家族成员 11 |
| KLHL22 | ENSG00000099910 | Kelch 样家族成员 22 |
| KLK1 | ENSG00000167748 | 激肽释放酶 1 |
| KLK10 | ENSG00000129451 | 激肽释放酶相关肽酶 10 |
| KLK11 | ENSG00000167757 | 激肽释放酶相关肽酶 11 |
| KLK12 | ENSG00000186474 | 激肽释放酶相关肽酶 12 |

[0339]

| | | |
|---|---|---|
| KLK13 | ENSG00000167759 | 激肽释放酶相关肽酶 13 |
| KLK14 | ENSG00000129437 | 激肽释放酶相关肽酶 14 |
| KLK15 | ENSG00000174562 | 激肽释放酶相关肽酶 15 |
| KLK2 | ENSG00000167751 | 激肽释放酶相关肽酶 2 |
| KLK3 | ENSG00000142515 | 激肽释放酶相关肽酶 3 |
| KLK4 | ENSG00000167749 | 激肽释放酶相关肽酶 4 |
| KLK5 | ENSG00000167754 | 激肽释放酶相关肽酶 5 |
| KLK6 | ENSG00000167755 | 激肽释放酶相关肽酶 6 |
| KLK7 | ENSG00000169035 | 激肽释放酶相关肽酶 7 |
| KLK8 | ENSG00000129455 | 激肽释放酶相关肽酶 8 |
| KLK9 | ENSG00000213022 | 激肽释放酶相关肽酶 9 |
| KLKB1 | ENSG00000164344 | 激肽释放酶 B, 血浆 (Fletcher 因子) 1 |
| KNDC1 | ENSG00000171798 | 含激酶非催化 C-叶结构域(KIND) 1 |
| KNG1 | ENSG00000113889 | 激肽原 1 |
| KRBA2 | ENSG00000184619 | 含 KRAB-A 结构域 2 |
| KREMEN2 | ENSG00000131650 | 含 Kringle 的跨膜蛋白 2 |
| KRTDAP | ENSG00000188508 | 角质形成细胞分化相关蛋白 |
| L1CAM | ENSG00000198910 | L1 细胞粘着分子 |
| L3MBTL2 | ENSG00000100395 | L(3)mbt 样 2 (果蝇) |
| LA16c-380H5.3 | ENSG00000270168 | |
| LACE1 | ENSG00000135537 | 泌乳升高蛋白 1 |
| LACRT | ENSG00000135413 | 催泪蛋白 |
| LACTB | ENSG00000103642 | 内酰胺酶, β |
| LAG3 | ENSG00000089692 | 淋巴细胞激活基因 3 |
| LAIR2 | ENSG00000167618 | 白细胞相关免疫球蛋白样受体 2 |
| LALBA | ENSG00000167531 | 乳白蛋白, α- |
| LAMA1 | ENSG00000101680 | 层粘连蛋白, α1 |
| LAMA2 | ENSG00000196569 | 层粘连蛋白, α2 |
| LAMA3 | ENSG00000053747 | 层粘连蛋白, α3 |
| LAMA4 | ENSG00000112769 | 层粘连蛋白, α4 |
| LAMA5 | ENSG00000130702 | 层粘连蛋白, α5 |
| LAMB1 | ENSG00000091136 | 层粘连蛋白, β1 |
| LAMB2 | ENSG00000172037 | 层粘连蛋白, β2 (层粘连蛋白 S) |
| LAMB3 | ENSG00000196878 | 层粘连蛋白, β3 |
| LAMB4 | ENSG00000091128 | 层粘连蛋白, β4 |

[0340]

| | | |
|---|---|---|
| LAMC1 | ENSG00000135862 | 层粘连蛋白,γ1 (以前称为 LAMB2) |
| LAMC2 | ENSG00000058085 | 层粘连蛋白,γ2 |
| LAMC3 | ENSG00000050555 | 层粘连蛋白,γ3 |
| LAMP3 | ENSG00000078081 | 溶酶体相关膜蛋白 3 |
| LAT | ENSG00000213658 | 用于激活 T 细胞的接头 |
| LAT2 | ENSG00000086730 | 用于激活 T 细胞家族的接头, 成员 2 |
| LBP | ENSG00000129988 | 脂多糖结合蛋白 |
| LCAT | ENSG00000213398 | 卵磷脂胆固醇酰基转移酶 |
| LCN1 | ENSG00000160349 | 脂质运载蛋白 1 |
| LCN10 | ENSG00000187922 | 脂质运载蛋白 10 |
| LCN12 | ENSG00000184925 | 脂质运载蛋白 12 |
| LCN15 | ENSG00000177984 | 脂质运载蛋白 15 |
| LCN2 | ENSG00000148346 | 脂质运载蛋白 2 |
| LCN6 | ENSG00000267206 | 脂质运载蛋白 6 |
| LCN8 | ENSG00000204001 | 脂质运载蛋白 8 |
| LCN9 | ENSG00000148386 | 脂质运载蛋白 9 |
| LCORL | ENSG00000178177 | 配体依赖性核受体辅阻遏物样 |
| LDLR | ENSG00000130164 | 低密度脂蛋白受体 |
| LDLRAD2 | ENSG00000187942 | 含低密度脂蛋白受体 A 类结构域 2 |
| LEAP2 | ENSG00000164406 | 肝脏表达抗抗菌肽 2 |
| LECT2 | ENSG00000145826 | 白细胞衍生趋化因子 2 |
| LEFTY1 | ENSG00000243709 | 左右决定因子 1 |
| LEFTY2 | ENSG00000143768 | 左右决定因子 2 |
| LEP | ENSG00000174697 | 瘦素 |
| LFNG | ENSG00000106003 | LFNG O-岩藻糖基肽 3-β-N-乙酰氨基葡萄糖转移酶 |
| LGALS3BP | ENSG00000108679 | 凝集素, 半乳糖苷结合, 可溶,3 结合蛋白 |
| LGI1 | ENSG00000108231 | 富亮氨酸, 胶质瘤失活 1 |
| LGI2 | ENSG00000153012 | 富亮氨酸重复序列 LGI 家族, 成员 2 |
| LGI3 | ENSG00000168481 | 富亮氨酸重复序列 LGI 家族, 成员 3 |
| LGI4 | ENSG00000153902 | 富亮氨酸重复序列 LGI 家族, 成员 4 |
| LGMN | ENSG00000100600 | 豆荚蛋白 |
| LGR4 | ENSG00000205213 | 含富亮氨酸重复序列 G 蛋白偶联受体 4 |
| LHB | ENSG00000104826 | 促黄体激素 β 多肽 |
| LHCGR | ENSG00000138039 | 促黄体激素/绒毛膜促性腺激素受体 |
| LIF | ENSG00000128342 | 白血病抑制因子 |

[0341]

| | | |
|---|---|---|
| LIFR | ENSG00000113594 | 白血病抑制因子受体 α |
| LILRA1 | ENSG00000104974 | 白细胞免疫球蛋白样受体，亚家族 A (具有 TM 结构域)，成员 1 |
| LILRA2 | ENSG00000239998 | 白细胞免疫球蛋白样受体，亚家族 A (具有 TM 结构域)，成员 2 |
| LILRB3 | ENSG00000204577 | 白细胞免疫球蛋白样受体，亚家族 B (具有 TM 和 ITIM 结构域)，成员 3 |
| LIME1 | ENSG00000203896 | Lck 相互作用跨膜衔接蛋白 1 |
| LINGO1 | ENSG00000169783 | 含富亮氨酸重复序列和 Ig 结构域 1 |
| LIPA | ENSG00000107798 | 脂肪酶 A，溶酶体酸，胆固醇酯酶 |
| LIPC | ENSG00000166035 | 脂肪酶，肝脏 |
| LIPF | ENSG00000182333 | 脂肪酶，胃 |
| LIPG | ENSG00000101670 | 脂肪酶，内皮细胞 |
| LIPH | ENSG00000163898 | 脂肪酶，成员 H |
| LIPK | ENSG00000204021 | 脂肪酶，家族成员 K |
| LIPM | ENSG00000173239 | 脂肪酶，家族成员 M |
| LIPN | ENSG00000204020 | 脂肪酶，家族成员 N |
| LMAN2 | ENSG00000169223 | 凝集素，甘露糖结合 2 |
| LMNTD1 | ENSG00000152936 | 含 Lamin 尾部结构域 1 |
| LNX1 | ENSG00000072201 | 麻木蛋白 X 1 的配体，E3 泛素蛋白连接酶 |
| LOX | ENSG00000113083 | 赖氨酸氧化酶 |
| LOXL1 | ENSG00000129038 | 赖氨酸氧化酶样 1 |
| LOXL2 | ENSG00000134013 | 赖氨酸氧化酶样 2 |
| LOXL3 | ENSG00000115318 | 赖氨酸氧化酶样 3 |
| LOXL4 | ENSG00000138131 | 赖氨酸氧化酶样 4 |
| LPA | ENSG00000198670 | 脂蛋白，Lp(a) |
| LPL | ENSG00000175445 | 脂蛋白脂肪酶 |
| LPO | ENSG00000167419 | 乳过氧化物酶 |
| LRAT | ENSG00000121207 | 卵磷脂视黄醇酰基转移酶(磷脂酰胆碱--视黄醇 O-酰基转移酶) |
| LRCH3 | ENSG00000186001 | 含富亮氨酸重复序列和钙调节蛋白同系物(CH)结构域 3 |
| LRCOL1 | ENSG00000204583 | 富亮氨酸辅脂肪酶样 1 |
| LRFN4 | ENSG00000173621 | 含富亮氨酸重复序列和纤连蛋白 III 型结构域 4 |
| LRFN5 | ENSG00000165379 | 含富亮氨酸重复序列和纤连蛋白 III 型结构域 5 |
| LRG1 | ENSG00000171236 | 富亮氨酸 α-2-糖蛋白 1 |
| LRP1 | ENSG00000123384 | 低密度脂蛋白受体-相关蛋白 1 |

[0342]

| | | |
|---|---|---|
| LRP11 | ENSG00000120256 | 低密度脂蛋白受体-相关蛋白 11 |
| LRP1B | ENSG00000168702 | 低密度脂蛋白受体-相关蛋白 1B |
| LRP2 | ENSG00000081479 | 低密度脂蛋白受体-相关蛋白 2 |
| LRP4 | ENSG00000134569 | 低密度脂蛋白受体-相关蛋白 4 |
| LRPAP1 | ENSG00000163956 | 低密度脂蛋白受体-相关蛋白相关蛋白 1 |
| LRRC17 | ENSG00000128606 | 含富亮氨酸重复序列 17 |
| LRRC32 | ENSG00000137507 | 含富亮氨酸重复序列 32 |
| LRRC3B | ENSG00000179796 | 含富亮氨酸重复序列 3B |
| LRRC4B | ENSG00000131409 | 含富亮氨酸重复序列 4B |
| LRRC70 | ENSG00000186105 | 含富亮氨酸重复序列 70 |
| LRRN3 | ENSG00000173114 | 富亮氨酸重复序列神经元 3 |
| LRRTM1 | ENSG00000162951 | 富亮氨酸重复序列跨膜神经元 1 |
| LRRTM2 | ENSG00000146006 | 富亮氨酸重复序列跨膜神经元 2 |
| LRRTM4 | ENSG00000176204 | 富亮氨酸重复序列跨膜神经元 4 |
| LRTM2 | ENSG00000166159 | 富亮氨酸重复序列和跨膜结构域 2 |
| LSR | ENSG00000105699 | 脂肪分解刺激脂蛋白受体 |
| LST1 | ENSG00000204482 | 白细胞特异性转录物 1 |
| LTA | ENSG00000226979 | 淋巴毒素 α |
| LTBP1 | ENSG00000049323 | 潜在转化生长因子 β 结合蛋白 1 |
| LTBP2 | ENSG00000119681 | 潜在转化生长因子 β 结合蛋白 2 |
| LTBP3 | ENSG00000168056 | 潜在转化生长因子 β 结合蛋白 3 |
| LTBP4 | ENSG00000090006 | 潜在转化生长因子 β 结合蛋白 4 |
| LTBR | ENSG00000111321 | 淋巴毒素 β 受体(TNFR 超家族，成员 3) |
| LTF | ENSG00000012223 | 乳运铁蛋白 |
| LTK | ENSG00000062524 | 白细胞受体酪氨酸激酶 |
| LUM | ENSG00000139329 | 基膜聚糖 |
| LUZP2 | ENSG00000187398 | 亮氨酸拉链蛋白 2 |
| LVRN | ENSG00000172901 | Laeverin |
| LY6E | ENSG00000160932 | 淋巴细胞抗原 6 复合物，基因座 E |
| LY6G5B | ENSG00000240053 | 淋巴细胞抗原 6 复合物，基因座 G5B |
| LY6G6D | ENSG00000244355 | 淋巴细胞抗原 6 复合物，基因座 G6D |
| LY6G6E | ENSG00000255552 | 淋巴细胞抗原 6 复合物，基因座 G6E (假基因) |
| LY6H | ENSG00000176956 | 淋巴细胞抗原 6 复合物，基因座 H |
| LY6K | ENSG00000160886 | 淋巴细胞抗原 6 复合物，基因座 K |
| LY86 | ENSG00000112799 | 淋巴细胞抗原 86 |

[0343]

| | | |
|---|---|---|
| LY96 | ENSG00000154589 | 淋巴细胞抗原 96 |
| LYG1 | ENSG00000144214 | 溶菌酶 G 样 1 |
| LYG2 | ENSG00000185674 | 溶菌酶 G 样 2 |
| LYNX1 | ENSG00000180155 | Ly6/神经毒素 1 |
| LYPD1 | ENSG00000150551 | 含 LY6/PLAUR 结构域 1 |
| LYPD2 | ENSG00000197353 | 含 LY6/PLAUR 结构域 2 |
| LYPD4 | ENSG00000273111 | 含 LY6/PLAUR 结构域 4 |
| LYPD6 | ENSG00000187123 | 含 LY6/PLAUR 结构域 6 |
| LYPD6B | ENSG00000150556 | 含 LY6/PLAUR 结构域 6B |
| LYPD8 | ENSG00000259823 | 含 LY6/PLAUR 结构域 8 |
| LYZ | ENSG00000090382 | 溶菌酶 |
| LYZL4 | ENSG00000157093 | 溶菌酶样 4 |
| LYZL6 | ENSG00000275722 | 溶菌酶样 6 |
| M6PR | ENSG00000003056 | 甘露糖-6-磷酸受体 (阳离子依赖性) |
| MAD1L1 | ENSG00000002822 | MAD1 有丝分裂阻滞缺陷样 1 (酵母) |
| MAG | ENSG00000105695 | 髓鞘相关糖蛋白 |
| MAGT1 | ENSG00000102158 | 镁转运蛋白 1 |
| MALSU1 | ENSG00000156928 | 核糖体大亚基的线粒体 1 组装 |
| MAMDC2 | ENSG00000165072 | 含 MAM 结构域 2 |
| MAN2B1 | ENSG00000104774 | 甘露糖苷酶, α, 2B 类, 成员 1 |
| MAN2B2 | ENSG00000013288 | 甘露糖苷酶, α, 2B 类, 成员 2 |
| MANBA | ENSG00000109323 | 甘露糖苷酶, βA, 溶酶体 |
| MANEAL | ENSG00000185090 | 甘露糖苷酶, 内源-α 样 |
| MANF | ENSG00000145050 | 中脑星形胶质细胞源性神经营养因子 |
| MANSC1 | ENSG00000111261 | 含 MANSC 结构域 1 |
| MAP3K9 | ENSG00000006432 | 促分裂原活化蛋白激酶 9 |
| MASP1 | ENSG00000127241 | 甘露聚糖结合凝集素丝氨酸肽酶 1 (Ra 反应因子的 C4/C2 激活成分) |
| MASP2 | ENSG00000009724 | 甘露聚糖结合凝集素丝氨酸肽酶 2 |
| MATN1 | ENSG00000162510 | 软骨基质蛋白 1, 软骨基质蛋白质 |
| MATN2 | ENSG00000132561 | 软骨基质蛋白 2 |
| MATN3 | ENSG00000132031 | 软骨基质蛋白 3 |
| MATN4 | ENSG00000124159 | 软骨基质蛋白 4 |
| MATR3 | ENSG00000015479 | 基质蛋白 3 |
| MATR3 | ENSG00000280987 | 基质蛋白 3 |

[0344]

| | | |
|---|---|---|
| MAU2 | ENSG00000129933 | MAU2 姐妹染色单体凝聚因子 |
| MAZ | ENSG00000103495 | MYC 相关锌指蛋白(嘌呤结合转录因子) |
| MBD6 | ENSG00000166987 | 甲基-CpG 结合结构域蛋白 6 |
| MBL2 | ENSG00000165471 | 甘露糖结合凝集素 (蛋白 C) 2, 可溶 |
| MBNL1 | ENSG00000152601 | 肌盲样剪接调控因子 1 |
| MCCC1 | ENSG00000078070 | 甲基巴豆酰辅酶 A 羧化酶 1 (α) |
| MCCD1 | ENSG00000204511 | 线粒体 1 卷曲螺旋结构域 1 |
| MCEE | ENSG00000124370 | 甲基丙二酰基辅酶 A 表异构酶 |
| MCF2L | ENSG00000126217 | MCF.2 细胞系衍生的转化序列样 |
| MCFD2 | ENSG00000180398 | 多种凝血因子缺乏 2 |
| MDFIC | ENSG00000135272 | 含 MyoD 家族抑制剂结构域 |
| MDGA1 | ENSG00000112139 | 含 MAM 结构域的糖基磷脂酰肌醇锚 1 |
| MDK | ENSG00000110492 | 肝素结合细胞因子(神经突生长促进因子 2) |
| MED20 | ENSG00000124641 | 介体复合物亚基 20 |
| MEGF10 | ENSG00000145794 | 多 EGF 样-结构域 10 |
| MEGF6 | ENSG00000162591 | 多 EGF 样-结构域 6 |
| MEI1 | ENSG00000167077 | 减数分裂双链断裂形成蛋白 1 |
| MEI4 | ENSG00000269964 | 减数分裂双链断裂形成蛋白 4 |
| MEIS1 | ENSG00000143995 | Meis 同源盒 1 |
| MEIS3 | ENSG00000105419 | Meis 同源盒 3 |
| MEPE | ENSG00000152595 | 基质细胞外磷酸糖蛋白 |
| MESDC2 | ENSG00000117899 | 中胚层发育候选 2 蛋白 |
| MEST | ENSG00000106484 | 中胚层特异性转录物 |
| MET | ENSG00000105976 | MET 原癌基因, 受体酪氨酸激酶 |
| METRN | ENSG00000103260 | Meteorin, 神经胶质细胞分化调节因子 |
| METRNL | ENSG00000176845 | Meteorin, 神经胶质细胞分化调节因子样 |
| METTL17 | ENSG00000165792 | 甲基转移酶样 17 |
| METTL24 | ENSG00000053328 | 甲基转移酶样 24 |
| METTL7B | ENSG00000170439 | 甲基转移酶样 7B |
| METTL9 | ENSG00000197006 | 甲基转移酶样 9 |
| MEX3C | ENSG00000176624 | Mex-3 RNA 结合家族成员 C |
| MFAP2 | ENSG00000117122 | 微原纤维相关蛋白 2 |
| MFAP3 | ENSG00000037749 | 微原纤维相关蛋白 3 |
| MFAP3L | ENSG00000198948 | 微原纤维相关蛋白 3 样 |
| MFAP4 | ENSG00000166482 | 微原纤维相关蛋白 4 |

[0345]

| | | |
|---|---|---|
| MFAP5 | ENSG00000197614 | 微原纤维相关蛋白 5 |
| MFGE8 | ENSG00000140545 | 乳脂肪球-EGF 因子 8 蛋白 |
| MFI2 | ENSG00000163975 | 通过 133.2 和 96.5 单克隆抗体确定的抗原 p97 (黑素瘤相关) |
| MFNG | ENSG00000100060 | MFNG O-岩藻糖基肽 3-β-N-乙酰氨基葡萄糖转移酶 |
| MGA | ENSG00000174197 | MGA, MAX 二聚化蛋白 |
| MGAT2 | ENSG00000168282 | 甘露糖基(α-1,6-)-糖蛋白 β-1,2-N-乙酰氨基葡萄糖转移酶 |
| MGAT3 | ENSG00000128268 | 甘露糖基(β-1,4-)-糖蛋白 β-1,4-N-乙酰氨基葡萄糖转移酶 |
| MGAT4A | ENSG00000071073 | 甘露糖基(α-1,3-)-糖蛋白 β-1,4-N-乙酰氨基葡萄糖转移酶, 同工酶 A |
| MGAT4B | ENSG00000161013 | 甘露糖基(α-1,3-)-糖蛋白 β-1,4-N-乙酰氨基葡萄糖转移酶, 同工酶 B |
| MGAT4D | ENSG00000205301 | MGAT4 家族, 成员 D |
| MGLL | ENSG00000074416 | 甘油单酯脂肪酶 |
| MGP | ENSG00000111341 | 基质 Gla 蛋白 |
| MGST2 | ENSG00000085871 | 微粒体谷胱甘肽 S-转移酶 2 |
| MIA | ENSG00000261857 | 黑色素瘤活性抑制蛋白 |
| MIA2 | ENSG00000150526 | 黑色素瘤活性抑制蛋白 2 |
| MIA3 | ENSG00000154305 | 黑色素瘤活性抑制蛋白家族, 成员 3 |
| MICU1 | ENSG00000107745 | 线粒体钙摄取 1 |
| MIER1 | ENSG00000198160 | 中胚层诱导早期反应 1, 转录调节因子 |
| MINOS1-NBL1 | ENSG00000270136 | MINOS1-NBL1 通读蛋白 |
| MINPP1 | ENSG00000107789 | 多种肌醇-多磷酸磷酸酶 1 |
| MLEC | ENSG00000110917 | Malectin |
| MLN | ENSG00000096395 | 促胃动素 |
| MLXIP | ENSG00000175727 | MLX 相互作用蛋白 |
| MLXIPL | ENSG00000009950 | MLX 相互作用蛋白样 |
| MMP1 | ENSG00000196611 | 基质金属肽酶 11 |
| MMP10 | ENSG00000166670 | 基质金属肽酶 110 |
| MMP11 | ENSG00000099953 | 基质金属肽酶 111 |
| MMP12 | ENSG00000262406 | 基质金属肽酶 112 |
| MMP13 | ENSG00000137745 | 基质金属肽酶 113 |
| MMP14 | ENSG00000157227 | 基质金属肽酶 114 (膜插入) |
| MMP17 | ENSG00000198598 | 基质金属肽酶 117 (膜插入) |

[0346]

| | | |
|---|---|---|
| MMP19 | ENSG00000123342 | 基质金属肽酶 119 |
| MMP2 | ENSG00000087245 | 基质金属肽酶 12 |
| MMP20 | ENSG00000137674 | 基质金属肽酶 120 |
| MMP21 | ENSG00000154485 | 基质金属肽酶 121 |
| MMP25 | ENSG00000008516 | 基质金属肽酶 125 |
| MMP26 | ENSG00000167346 | 基质金属肽酶 126 |
| MMP27 | ENSG00000137675 | 基质金属肽酶 127 |
| MMP28 | ENSG00000271447 | 基质金属肽酶 128 |
| MMP3 | ENSG00000149968 | 基质金属肽酶 13 |
| MMP7 | ENSG00000137673 | 基质金属肽酶 17 |
| MMP8 | ENSG00000118113 | 基质金属肽酶 18 |
| MMP9 | ENSG00000100985 | 基质金属肽酶 19 |
| MMRN1 | ENSG00000138722 | 多聚蛋白 1 |
| MMRN2 | ENSG00000173269 | 多聚蛋白 2 |
| MOXD1 | ENSG00000079931 | 单加氧酶, DBH 样 1 |
| MPO | ENSG00000005381 | 髓过氧化物酶 |
| MPPED1 | ENSG00000186732 | 含金属磷酸酯酶结构域 1 |
| MPZL1 | ENSG00000197965 | 髓鞘蛋白零基因样 1 |
| MR1 | ENSG00000153029 | 主要组织相容性复合体, I 类相关 |
| MRPL2 | ENSG00000112651 | 线粒体核糖体蛋白 L2 |
| MRPL21 | ENSG00000197345 | 线粒体核糖体蛋白 L21 |
| MRPL22 | ENSG00000082515 | 线粒体核糖体蛋白 L22 |
| MRPL24 | ENSG00000143314 | 线粒体核糖体蛋白 L24 |
| MRPL27 | ENSG00000108826 | 线粒体核糖体蛋白 L27 |
| MRPL32 | ENSG00000106591 | 线粒体核糖体蛋白 L32 |
| MRPL34 | ENSG00000130312 | 线粒体核糖体蛋白 L34 |
| MRPL35 | ENSG00000132313 | 线粒体核糖体蛋白 L35 |
| MRPL52 | ENSG00000172590 | 线粒体核糖体蛋白 L52 |
| MRPL55 | ENSG00000162910 | 线粒体核糖体蛋白 L55 |
| MRPS14 | ENSG00000120333 | 线粒体核糖体蛋白 S14 |
| MRPS22 | ENSG00000175110 | 线粒体核糖体蛋白 S22 |
| MRPS28 | ENSG00000147586 | 线粒体核糖体蛋白 S28 |
| MS4A14 | ENSG00000166928 | 跨膜 4-结构域, 亚家族 A, 成员 14 |
| MS4A3 | ENSG00000149516 | 跨膜 4-结构域, 亚家族 A, 成员 3 (造血细胞特异性) |
| MSH3 | ENSG00000113318 | MutS 同系物 3 |

[0347]

| | | |
|---|---|---|
| MSH5 | ENSG00000204410 | MutS 同系物 5 |
| MSLN | ENSG00000102854 | 间皮素 |
| MSMB | ENSG00000263639 | 微精液蛋白, β- |
| MSRA | ENSG00000175806 | 蛋氨酸亚砜还原酶 A |
| MSRB2 | ENSG00000148450 | 蛋氨酸亚砜还原酶 B2 |
| MSRB3 | ENSG00000174099 | 蛋氨酸亚砜还原酶 B3 |
| MST1 | ENSG00000173531 | 巨噬细胞刺激 1 |
| MSTN | ENSG00000138379 | 肌生成抑制蛋白 |
| MT1G | ENSG00000125144 | 金属硫蛋白 1G |
| MTHFD2 | ENSG00000065911 | 亚甲基四氢叶酸脱氢酶 (NADP+依赖性) 2, 亚甲基四氢叶酸环水解酶 |
| MTMR14 | ENSG00000163719 | 肌微管素相关蛋白 14 |
| MTRNR2L11 | ENSG00000270188 | MT-RNR2 样 11 (假基因) |
| MTRR | ENSG00000124275 | 5-甲基四氢叶酸-高半胱氨酸甲基转移酶还原酶 |
| MTTP | ENSG00000138823 | 微粒体甘油三酯转移蛋白 |
| MTX2 | ENSG00000128654 | Metaxin 2 |
| MUC1 | ENSG00000185499 | 粘蛋白 1, 细胞表面相关 |
| MUC13 | ENSG00000173702 | 粘蛋白 13, 细胞表面相关 |
| MUC20 | ENSG00000176945 | 粘蛋白 20, 细胞表面相关 |
| MUC3A | ENSG00000169894 | 粘蛋白 3A, 细胞表面相关 |
| MUC5AC | ENSG00000215182 | 粘蛋白 5AC, 寡聚粘液/凝胶形成 |
| MUC5B | ENSG00000117983 | 粘蛋白 5B, 寡聚粘液/凝胶形成 |
| MUC6 | ENSG00000184956 | 粘蛋白 6, 寡聚粘液/凝胶形成 |
| MUC7 | ENSG00000171195 | 粘蛋白 7, 分泌 |
| MUCL1 | ENSG00000172551 | 粘蛋白样 1 |
| MXRA5 | ENSG00000101825 | 基质重塑相关 5 |
| MXRA7 | ENSG00000182534 | 基质重塑相关 7 |
| MYDGF | ENSG00000074842 | 骨髓源性生长因子 |
| MYL1 | ENSG00000168530 | 肌球蛋白, 轻链 1, 碱; 骨骼, 快速 |
| MYOC | ENSG00000034971 | 肌纤蛋白, 小梁网诱导糖皮质激素反应 |
| MYRFL | ENSG00000166268 | 髓磷脂调节因子样 |
| MZB1 | ENSG00000170476 | 边缘区 B 和 B1 细胞特异性蛋白 |
| N4BP2L2 | ENSG00000244754 | NEDD4 结合蛋白 2 样 2 |
| NAA38 | ENSG00000183011 | N(α)-乙酰转移酶 38, NatC 辅助亚基 |
| NAAA | ENSG00000138744 | N-酰基乙醇胺酸酰胺酶 |

[0348]

| | | |
|---|---|---|
| NAGA | ENSG00000198951 | N-乙酰基半乳糖苷酶, α- |
| NAGLU | ENSG00000108784 | N-乙酰基氨基葡萄糖苷酶, α |
| NAGS | ENSG00000161653 | N-乙酰基谷氨酸盐合成酶 |
| NAPSA | ENSG00000131400 | Napsin A 天冬氨酸肽 |
| NBL1 | ENSG00000158747 | 成神经细胞瘤 1, DAN 家族 BMP 拮抗物 |
| NCAM1 | ENSG00000149294 | 神经细胞粘着分子 1 |
| NCAN | ENSG00000130287 | 神经聚糖 |
| NCBP2-AS2 | ENSG00000270170 | NCBP2 反义 RNA 2 (头对头) |
| NCSTN | ENSG00000162736 | 呆蛋白 |
| NDNF | ENSG00000173376 | 神经元衍生的神经营养因子 |
| NDP | ENSG00000124479 | 诺里病(假性胶质瘤) |
| NDUFA10 | ENSG00000130414 | NADH 脱氢酶(泛醌)1α 亚复合物, 10, 42kDa |
| NDUFB5 | ENSG00000136521 | NADH 脱氢酶(泛醌)1β 亚复合物, 5, 16kDa |
| NDUFS8 | ENSG00000110717 | NADH 脱氢酶(泛醌)Fe-S 蛋白 8, 23kDa (NADH-辅酶 Q 还原酶) |
| NDUFV1 | ENSG00000167792 | NADH 脱氢酶(泛醌)黄素蛋白 1, 51kDa |
| NECAB3 | ENSG00000125967 | N 端 EF-手钙结合蛋白 3 |
| NELL1 | ENSG00000165973 | 神经 EGFL 样 1 |
| NELL2 | ENSG00000184613 | 神经 EGFL 样 2 |
| NENF | ENSG00000117691 | Neudesin 神经营养因子 |
| NETO1 | ENSG00000166342 | 神经纤毛蛋白(NRP)和 tolloid (TLL)样 1 |
| NFASC | ENSG00000163531 | 神经束蛋白 |
| NFE2L1 | ENSG00000082641 | 核因子, 红细胞 2 样 1 |
| NFE2L3 | ENSG00000050344 | 核因子, 红细胞 2 样 3 |
| NGEF | ENSG00000066248 | 神经元鸟嘌呤核苷酸交换因子 |
| NGF | ENSG00000134259 | 神经生长因子(β 多肽) |
| NGLY1 | ENSG00000151092 | N-聚糖酶 1 |
| NGRN | ENSG00000182768 | Neugrin, 神经突向外生长相关 |
| NHLRC3 | ENSG00000188811 | 含 NHL 重复序列 3 |
| NID1 | ENSG00000116962 | 巢蛋白 1 |
| NID2 | ENSG00000087303 | 巢蛋白 2(骨巢蛋白) |
| NKG7 | ENSG00000105374 | 自然杀伤细胞颗粒蛋白 7 |
| NLGN3 | ENSG00000196338 | 神经连接蛋白 3 |
| NLGN4Y | ENSG00000165246 | 神经连接蛋白 4, Y 连接 |
| NLRP5 | ENSG00000171487 | NLR 家族, 含热蛋白结构域 5 |

[0349]

| | | |
|---|---|---|
| NMB | ENSG00000197696 | 神经调节肽 B |
| NME1 | ENSG00000239672 | NME/NM23 核苷二磷酸激酶 1 |
| NME1-NME2 | ENSG00000011052 | NME1-NME2 通读蛋白 |
| NME3 | ENSG00000103024 | NME/NM23 核苷二磷酸激酶 3 |
| NMS | ENSG00000204640 | 神经调节肽 S |
| NMU | ENSG00000109255 | 神经调节肽 U |
| NOA1 | ENSG00000084092 | 一氧化氮相关 1 |
| NODAL | ENSG00000156574 | 节点生长分化因子 |
| NOG | ENSG00000183691 | Noggin |
| NOMO3 | ENSG00000103226 | NODAL 调整基因 3 |
| NOS1AP | ENSG00000198929 | 一氧化氮合成酶 1 (神经元)衔接蛋白 |
| NOTCH3 | ENSG00000074181 | Notch 3 |
| NOTUM | ENSG00000185269 | Notum 胶质乙酰酯酶同系物 (果蝇) |
| NOV | ENSG00000136999 | 肾母细胞瘤过度表达 |
| NPB | ENSG00000183979 | 神经肽 B |
| NPC2 | ENSG00000119655 | 尼曼-皮克二氏病, C2 型 |
| NPFF | ENSG00000139574 | 神经肽 FF-酰胺肽前体 |
| NPFFR2 | ENSG00000056291 | 神经肽 FF 受体 2 |
| NPHS1 | ENSG00000161270 | 肾病 1, 先天性, 芬兰型 (肾病蛋白) |
| NPNT | ENSG00000168743 | 肾连蛋白 |
| NPPA | ENSG00000175206 | 利钠肽 A |
| NPPB | ENSG00000120937 | 利钠肽 B |
| NPPC | ENSG00000163273 | 利钠肽 C |
| NPS | ENSG00000214285 | 神经肽 S |
| NPTX1 | ENSG00000171246 | 神经元五聚蛋白 I |
| NPTX2 | ENSG00000106236 | 神经元五聚蛋白 II |
| NPTXR | ENSG00000221890 | 神经元五聚蛋白受体 |
| NPVF | ENSG00000105954 | 神经肽 VF 前体 |
| NPW | ENSG00000183971 | 神经肽 W |
| NPY | ENSG00000122585 | 神经肽 Y |
| NQO2 | ENSG00000124588 | NAD(P)H 脱氢酶, 醌 2 |
| NRCAM | ENSG00000091129 | 神经元细胞粘着分子 |
| NRG1 | ENSG00000157168 | 神经调节蛋白 1 |
| NRN1L | ENSG00000188038 | 神经突蛋白 1 样 |
| NRP1 | ENSG00000099250 | 神经毡蛋白 1 |

[0350]

| | | |
|---|---|---|
| NRP2 | ENSG00000118257 | 神经毡蛋白 2 |
| NRTN | ENSG00000171119 | 神经营养因子 |
| NRXN1 | ENSG00000179915 | Neurexin 1 |
| NRXN2 | ENSG00000110076 | Neurexin 2 |
| NT5C3A | ENSG00000122643 | 5'-核苷酸酶, 胞质 IIIA |
| NT5DC3 | ENSG00000111696 | 含 5'-核苷酸酶结构域 3 |
| NT5E | ENSG00000135318 | 5'-核苷酸酶, ecto (CD73) |
| NTF3 | ENSG00000185652 | 神经营养因子 3 |
| NTF4 | ENSG00000225950 | 神经营养因子 4 |
| NTM | ENSG00000182667 | Neurotrimin |
| NTN1 | ENSG00000065320 | 纺锤蛋白 1 |
| NTN3 | ENSG00000162068 | 纺锤蛋白 3 |
| NTN4 | ENSG00000074527 | 纺锤蛋白 4 |
| NTN5 | ENSG00000142233 | 纺锤蛋白 5 |
| NTNG1 | ENSG00000162631 | 纺锤蛋白 G1 |
| NTNG2 | ENSG00000196358 | 纺锤蛋白 G2 |
| NTS | ENSG00000133636 | 神经降压肽 |
| NUBPL | ENSG00000151413 | 核苷酸结合蛋白样 |
| NUCB1 | ENSG00000104805 | 核连蛋白 1 |
| NUCB2 | ENSG00000070081 | 核连蛋白 2 |
| NUDT19 | ENSG00000213965 | Nudix(核苷二磷酸连接部分 X)型基序 19 |
| NUDT9 | ENSG00000170502 | Nudix(核苷二磷酸连接部分 X)型基序 9 |
| NUP155 | ENSG00000113569 | 核孔蛋白 155kDa |
| NUP214 | ENSG00000126883 | 核孔蛋白 214kDa |
| NUP85 | ENSG00000125450 | 核孔蛋白 85kDa |
| NXPE3 | ENSG00000144815 | 神经外营养蛋白和 PC-酯酶结构域家族, 成员 3 |
| NXPE4 | ENSG00000137634 | 神经外营养蛋白和 PC-酯酶结构域家族, 成员 4 |
| NXPH1 | ENSG00000122584 | 神经外营养蛋白 1 |
| NXPH2 | ENSG00000144227 | 神经外营养蛋白 2 |
| NXPH3 | ENSG00000182575 | 神经外营养蛋白 3 |
| NXPH4 | ENSG00000182379 | 神经外营养蛋白 4 |
| NYX | ENSG00000188937 | 夜盲蛋白 |
| OAF | ENSG00000184232 | Out at first 同系物 |
| OBP2A | ENSG00000122136 | 气味结合蛋白 2A |
| OBP2B | ENSG00000171102 | 气味结合蛋白 2B |

[0351]

| | | |
|---|---|---|
| OC90 | ENSG00000253117 | 耳椎蛋白 90 |
| OCLN | ENSG00000197822 | 闭合蛋白 |
| ODAM | ENSG00000109205 | 牙原性，成釉细胞相关 |
| OGG1 | ENSG00000114026 | 8-氧鸟嘌呤 DNA 糖基化酶 |
| OGN | ENSG00000106809 | 骨甘氨酸 |
| OIT3 | ENSG00000138315 | 肿瘤蛋白诱导转录物 3 |
| OLFM1 | ENSG00000130558 | 嗅质蛋白 1 |
| OLFM2 | ENSG00000105088 | 嗅质蛋白 2 |
| OLFM3 | ENSG00000118733 | 嗅质蛋白 3 |
| OLFM4 | ENSG00000102837 | 嗅质蛋白 4 |
| OLFML1 | ENSG00000183801 | 嗅质蛋白样 1 |
| OLFML2A | ENSG00000185585 | 嗅质蛋白样 2A |
| OLFML2B | ENSG00000162745 | 嗅质蛋白样 2B |
| OLFML3 | ENSG00000116774 | 嗅质蛋白样 3 |
| OMD | ENSG00000127083 | 骨调节蛋白 |
| OMG | ENSG00000126861 | 少突胶质细胞髓鞘糖蛋白 |
| OOSP2 | ENSG00000149507 | 卵母细胞分泌蛋白 2 |
| OPCML | ENSG00000183715 | 阿片样物质结合蛋白/细胞粘着分子样 |
| OPTC | ENSG00000188770 | 旋光蛋白 |
| ORAI1 | ENSG00000276045 | ORAI 钙释放激活的钙调节剂 1 |
| ORM1 | ENSG00000229314 | 血清类粘蛋白 1 |
| ORM2 | ENSG00000228278 | 血清类粘蛋白 2 |
| ORMDL2 | ENSG00000123353 | ORMDL 鞘脂生物合成调节因子 2 |
| OS9 | ENSG00000135506 | 骨肉瘤扩增 9，内质网凝集素 |
| OSCAR | ENSG00000170909 | 破骨细胞相关，免疫球蛋白样受体 |
| OSM | ENSG00000099985 | 制瘤素 M |
| OSMR | ENSG00000145623 | 制瘤素 M 受体 |
| OSTN | ENSG00000188729 | 人骨织素 |
| OTOA | ENSG00000155719 | Otoancorin |
| OTOG | ENSG00000188162 | 耳胶蛋白 |
| OTOGL | ENSG00000165899 | 耳胶蛋白样 |
| OTOL1 | ENSG00000182447 | 耳石蛋白 1 |
| OTOR | ENSG00000125879 | Otoraplin |
| OTOS | ENSG00000178602 | 耳蜗蛋白 |
| OVCH1 | ENSG00000187950 | 卵质酶 1 |

[0352]

| | | |
|---|---|---|
| OVCH2 | ENSG00000183378 | 卵质酶 2 (基因/假基因) |
| OVGP1 | ENSG00000085465 | 输卵管糖蛋白 1, 120kDa |
| OXCT1 | ENSG00000083720 | 3-含氧酸辅酶 A 转移酶 1 |
| OXCT2 | ENSG00000198754 | 3-含氧酸辅酶 A 转移酶 2 |
| OXNAD1 | ENSG00000154814 | 含氧化还原酶 NAD-结合结构域 1 |
| OXT | ENSG00000101405 | 催产素/神经垂体素运载蛋白 I 前多肽原 |
| P3H1 | ENSG00000117385 | 脯氨酰 3-羟化酶 1 |
| P3H2 | ENSG00000090530 | 脯氨酰 3-羟化酶 2 |
| P3H3 | ENSG00000110811 | 脯氨酰 3-羟化酶 3 |
| P3H4 | ENSG00000141696 | 脯氨酰 3-羟化酶家族成员 4 (non-enzymatic) |
| P4HA1 | ENSG00000122884 | 脯氨酰 4-羟化酶, α 多肽 I |
| P4HA2 | ENSG00000072682 | 脯氨酰 4-羟化酶, α 多肽 II |
| P4HA3 | ENSG00000149380 | 脯氨酰 4-羟化酶, α 多肽 III |
| P4HB | ENSG00000185624 | 脯氨酰 4-羟化酶, β 多肽 |
| PAEP | ENSG00000122133 | 孕激素相关的子宫内膜蛋白 |
| PAM | ENSG00000145730 | 肽酰甘氨酸 α-酰胺化单加氧酶 |
| PAMR1 | ENSG00000149090 | 含有与肌肉再生相关的肽酶结构域 1 |
| PAPL | ENSG00000183760 | 铁/锌紫色酸性磷酸酶样蛋白 |
| PAPLN | ENSG00000100767 | Papilin, 蛋白聚糖样硫酸化糖蛋白 |
| PAPPA | ENSG00000182752 | 妊娠相关血浆蛋白 A, 冠毛素 1 |
| PAPPA2 | ENSG00000116183 | 冠毛素 2 |
| PARP15 | ENSG00000173200 | 聚(ADP-核糖)聚合酶家族, 成员 15 |
| PARVB | ENSG00000188677 | Parvin, β |
| PATE1 | ENSG00000171053 | 前列腺和睾丸表达 1 |
| PATE2 | ENSG00000196844 | 前列腺和睾丸表达 2 |
| PATE3 | ENSG00000236027 | 前列腺和睾丸表达 3 |
| PATE4 | ENSG00000237353 | 前列腺和睾丸表达 4 |
| PATL2 | ENSG00000229474 | 与拓扑异构酶 II 同源物 2(酵母)相关的蛋白质 |
| PAX2 | ENSG00000075891 | 配对盒 2 |
| PAX4 | ENSG00000106331 | 配对盒 4 |
| PCCB | ENSG00000114054 | 丙酰辅酶 A 羧化酶, β 多肽 |
| PCDH1 | ENSG00000156453 | 原钙粘蛋白 1 |
| PCDH12 | ENSG00000113555 | 原钙粘蛋白 12 |
| PCDH15 | ENSG00000150275 | 原钙粘蛋白相关 15 |
| PCDHA1 | ENSG00000204970 | 原钙粘蛋白 α 1 |

[0353]

| | | |
|---|---|---|
| PCDHA10 | ENSG00000250120 | 原钙粘蛋白 α 10 |
| PCDHA11 | ENSG00000249158 | 原钙粘蛋白 α 11 |
| PCDHA6 | ENSG00000081842 | 原钙粘蛋白 α 6 |
| PCDHB12 | ENSG00000120328 | 原钙粘蛋白 β 12 |
| PCDHGA11 | ENSG00000253873 | 原钙粘蛋白 γ 亚家族 A, 11 |
| PCF11 | ENSG00000165494 | PCF11 裂解和多腺苷酸化因子亚基 |
| PCOLCE | ENSG00000106333 | 前胶原 C-内肽酶增强剂 |
| PCOLCE2 | ENSG00000163710 | 前胶原 C-内肽酶增强剂 2 |
| PCSK1 | ENSG00000175426 | 前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 型 1 |
| PCSK1N | ENSG00000102109 | 前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 型 1 抑制剂 |
| PCSK2 | ENSG00000125851 | 前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 型 2 |
| PCSK4 | ENSG00000115257 | 前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 型 4 |
| PCSK5 | ENSG00000099139 | 前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 型 5 |
| PCSK9 | ENSG00000169174 | 前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 型 9 |
| PCYOX1 | ENSG00000116005 | 异戊二烯半胱氨酸氧化酶 1 |
| PCYOX1L | ENSG00000145882 | 异戊二烯半胱氨酸氧化酶 1 like |
| PDDC1 | ENSG00000177225 | 含帕金森病 7 结构域 1 |
| PDE11A | ENSG00000128655 | 磷酸二酯酶 11A |
| PDE2A | ENSG00000186642 | 磷酸二酯酶 2A, cGMP-刺激 |
| PDE7A | ENSG00000205268 | 磷酸二酯酶 7A |
| PDF | ENSG00000258429 | 肽脱甲酰酶(线粒体) |
| PDGFA | ENSG00000197461 | 血小板衍生生长因子 α 多肽 |
| PDGFB | ENSG00000100311 | 血小板衍生生长因子 β 多肽 |
| PDGFC | ENSG00000145431 | 血小板衍生生长因子 C |
| PDGFD | ENSG00000170962 | 血小板衍生生长因子 D |
| PDGFRA | ENSG00000134853 | 血小板衍生生长因子受体, α 多肽 |
| PDGFRB | ENSG00000113721 | 血小板衍生生长因子受体, β 多肽 |
| PDGFRL | ENSG00000104213 | 血小板衍生生长因子受体样 |
| PDHA1 | ENSG00000131828 | 丙酮酸脱氢酶 (硫辛酰胺) α 1 |
| PDIA2 | ENSG00000185615 | 蛋白质二硫键异构酶家族 A, 成员 2 |
| PDIA3 | ENSG00000167004 | 蛋白质二硫键异构酶家族 A, 成员 3 |
| PDIA4 | ENSG00000155660 | 蛋白质二硫键异构酶家族 A, 成员 4 |
| PDIA5 | ENSG00000065485 | 蛋白质二硫键异构酶家族 A, 成员 5 |
| PDIA6 | ENSG00000143870 | 蛋白质二硫键异构酶家族 A, 成员 6 |
| PDILT | ENSG00000169340 | 蛋白质二硫键异构酶样, 睾丸表达 |

[0354]

| | | |
|---|---|---|
| PDYN | ENSG00000101327 | 强啡肽原 |
| PDZD8 | ENSG00000165650 | 含 PDZ 结构域 8 |
| PDZRN4 | ENSG00000165966 | 含 PDZ 结构域环指 4 |
| PEAR1 | ENSG00000187800 | 血小板内皮细胞聚集受体 1 |
| PEBP4 | ENSG00000134020 | 磷脂酰乙醇胺结合蛋白 4 |
| PECAM1 | ENSG00000261371 | 血小板/内皮细胞粘着分子 1 |
| PENK | ENSG00000181195 | 脑啡肽 |
| PET117 | ENSG00000232838 | PET117 同系物 |
| PF4 | ENSG00000163737 | 血小板因子 4 |
| PF4V1 | ENSG00000109272 | 血小板因子 4 变体 1 |
| PFKP | ENSG00000067057 | 磷酸果糖激酶，血小板 |
| PFN1 | ENSG00000108518 | Profilin 1 |
| PGA3 | ENSG00000229859 | 胃蛋白酶原 3,I 组 (胃蛋白酶原 A) |
| PGA4 | ENSG00000229183 | 胃蛋白酶原 4,I 组 (胃蛋白酶原 A) |
| PGA5 | ENSG00000256713 | 胃蛋白酶原 5,I 组 (胃蛋白酶原 A) |
| PGAM5 | ENSG00000247077 | PGAM 家族成员 5，丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶，线粒体 l |
| PGAP3 | ENSG00000161395 | 附着至蛋白 3 的 Post-GPI |
| PGC | ENSG00000096088 | 前胃液蛋白(胃蛋白酶原 C) |
| PGF | ENSG00000119630 | 胎盘生长因子 |
| PGLYRP1 | ENSG00000008438 | 肽聚糖识别蛋白 1 |
| PGLYRP2 | ENSG00000161031 | 肽聚糖识别蛋白 2 |
| PGLYRP3 | ENSG00000159527 | 肽聚糖识别蛋白 3 |
| PGLYRP4 | ENSG00000163218 | 肽聚糖识别蛋白 4 |
| PHACTR1 | ENSG00000112137 | 磷酸酶和肌动蛋白调节因子 1 |
| PHB | ENSG00000167085 | 抑制素 |
| PI15 | ENSG00000137558 | 肽酶抑制剂 15 |
| PI3 | ENSG00000124102 | 肽酶抑制剂 3，皮肤来源 |
| PIANP | ENSG00000139200 | PILR α 相关神经蛋白 |
| PIGK | ENSG00000142892 | 磷脂酰肌醇聚糖锚定生物合成,K 类 |
| PIGL | ENSG00000108474 | 磷脂酰肌醇聚糖锚定生物合成,L 类 |
| PIGT | ENSG00000124155 | 磷脂酰肌醇聚糖锚定生物合成,T 类 |
| PIGZ | ENSG00000119227 | 磷脂酰肌醇聚糖锚定生物合成,Z 类 |
| PIK3AP1 | ENSG00000155629 | 磷脂酰肌醇-3-激酶衔接蛋白 1 |
| PIK3IP1 | ENSG00000100100 | 磷脂酰肌醇-3-激酶相互作用蛋白 1 |
| PILRA | ENSG00000085514 | 配对的免疫球蛋白样 2 型受体 α |

[0355]

| | | |
|---|---|---|
| PILRB | ENSG00000121716 | 配对的免疫球蛋白样 2 型受体 β |
| PINLYP | ENSG00000234465 | 磷脂酶 A2 抑制剂并含有 LY6/PLAUR 结构域 |
| PIP | ENSG00000159763 | 催乳激素诱导的蛋白 |
| PIWIL4 | ENSG00000134627 | Piwi 样 RNA 介导的基因沉默 4 |
| PKDCC | ENSG00000162878 | 含蛋白激酶结构域，细胞质 |
| PKHD1 | ENSG00000170927 | 多囊肾和肝病 1 (常染色体隐性遗传) |
| PLA1A | ENSG00000144837 | 磷脂酶 A1 成员 A |
| PLA2G10 | ENSG00000069764 | 磷脂酶 A2, X 组 |
| PLA2G12A | ENSG00000123739 | 磷脂酶 A2, XIIA 组 |
| PLA2G12B | ENSG00000138308 | 磷脂酶 A2, XIIB 组 |
| PLA2G15 | ENSG00000103066 | 磷脂酶 A2, XV 组 |
| PLA2G1B | ENSG00000170890 | 磷脂酶 A2, IB 组 (胰腺) |
| PLA2G2A | ENSG00000188257 | 磷脂酶 A2, IIA 组 (血小板，滑液) |
| PLA2G2C | ENSG00000187980 | 磷脂酶 A2, IIC 组 |
| PLA2G2D | ENSG00000117215 | 磷脂酶 A2, IID 组 |
| PLA2G2E | ENSG00000188784 | 磷脂酶 A2, IIE 组 |
| PLA2G3 | ENSG00000100078 | 磷脂酶 A2, III 组 |
| PLA2G5 | ENSG00000127472 | 磷脂酶 A2, V 组 |
| PLA2G7 | ENSG00000146070 | 磷脂酶 A2, VII 组 (血小板活化因子乙酰水解酶，血浆) |
| PLA2R1 | ENSG00000153246 | 磷脂酶 A2 受体 1, 180kDa |
| PLAC1 | ENSG00000170965 | 胎盘特异性 1 |
| PLAC9 | ENSG00000189129 | 胎盘特异性 9 |
| PLAT | ENSG00000104368 | 纤溶酶原激活物，组织 |
| PLAU | ENSG00000122861 | 纤溶酶原激活物，尿激酶 |
| PLAUR | ENSG00000011422 | 纤溶酶原激活物，尿激酶受体 |
| PLBD1 | ENSG00000121316 | 含磷脂酶 B 结构域 1 |
| PLBD2 | ENSG00000151176 | 含磷脂酶 B 结构域 2 |
| PLG | ENSG00000122194 | 纤溶酶原 |
| PLGLB1 | ENSG00000183281 | 纤溶酶原样 B1 |
| PLGLB2 | ENSG00000125551 | 纤溶酶原样 B2 |
| PLOD1 | ENSG00000083444 | 前胶原-赖氨酸, 2-氧化戊二酸 5-双加氧酶 1 |
| PLOD2 | ENSG00000152952 | 前胶原-赖氨酸, 2-氧化戊二酸 5-双加氧酶 2 |
| PLOD3 | ENSG00000106397 | 前胶原-赖氨酸, 2-氧化戊二酸 5-双加氧酶 3 |
| PLTP | ENSG00000100979 | 磷脂转移蛋白 |
| PLXNA4 | ENSG00000221866 | 丛状蛋白 A4 |

[0356]

| | | |
|---|---|---|
| PLXNB2 | ENSG00000196576 | 丛状蛋白 B2 |
| PM20D1 | ENSG00000162877 | 含肽酶 M20 结构域 1 |
| PMCH | ENSG00000183395 | 前黑色素浓缩激素 |
| PMEL | ENSG00000185664 | 前黑素体 |
| PMEPA1 | ENSG00000124225 | 前列腺跨膜蛋白，雄激素诱导 1 |
| PNLIP | ENSG00000175535 | 胰腺脂肪酶 |
| PNLIPRP1 | ENSG00000187021 | 胰腺脂肪酶-相关蛋白 1 |
| PNLIPRP3 | ENSG00000203837 | 胰腺脂肪酶-相关蛋白 3 |
| PNOC | ENSG00000168081 | Prepronociceptin |
| PNP | ENSG00000198805 | 嘌呤核苷磷酸化酶 |
| PNPLA4 | ENSG00000006757 | 含 Patatin 样磷脂酶结构域 4 |
| PODNL1 | ENSG00000132000 | Podocan 样 1 |
| POFUT1 | ENSG00000101346 | 蛋白质 O-岩藻糖基转移酶 1 |
| POFUT2 | ENSG00000186866 | 蛋白质 O-岩藻糖基转移酶 2 |
| POGLUT1 | ENSG00000163389 | 蛋白质 O-葡萄糖基转移酶 1 |
| POLL | ENSG00000166169 | 聚合酶 (DNA 导向), λ |
| POMC | ENSG00000115138 | 阿黑皮素原 |
| POMGNT2 | ENSG00000144647 | 蛋白质 O-连接的甘露糖 N-乙酰葡糖胺基转移酶 2 (β 1,4-) |
| PON1 | ENSG00000005421 | 对氧磷酶 1 |
| PON2 | ENSG00000105854 | 对氧磷酶 2 |
| PON3 | ENSG00000105852 | 对氧磷酶 3 |
| POSTN | ENSG00000133110 | 骨膜素，成骨细胞特异性因子 |
| PPBP | ENSG00000163736 | 血小板前碱性蛋白(趋化因子(C-X-C 基序)配体 7) |
| PPIB | ENSG00000166794 | 肽基脯氨酰异构酶 B (亲环素 B) |
| PPIC | ENSG00000168938 | 肽基脯氨酰异构酶 C (亲环素 C) |
| PPOX | ENSG00000143224 | 原卟啉原氧化酶 |
| PPP1CA | ENSG00000172531 | 蛋白磷酸酶 1，催化亚基，α 同工酶 |
| PPT1 | ENSG00000131238 | 棕榈酰蛋白硫酯酶 1 |
| PPT2 | ENSG00000221988 | 棕榈酰蛋白硫酯酶 2 |
| PPY | ENSG00000108849 | 胰腺多肽 |
| PRAC2 | ENSG00000229637 | 前列腺癌易感候选蛋白 2 |
| PRADC1 | ENSG00000135617 | 含蛋白酶相关结构域 1 |
| PRAP1 | ENSG00000165828 | 富脯氨酸酸性蛋白 1 |
| PRB1 | ENSG00000251655 | 富脯氨酸蛋白 BstNI 亚家族 1 |

[0357]

| | | |
|---|---|---|
| PRB2 | ENSG00000121335 | 富脯氨酸蛋白 BstNI 亚家族 2 |
| PRB3 | ENSG00000197870 | 富脯氨酸蛋白 BstNI 亚家族 3 |
| PRB4 | ENSG00000230657 | 富脯氨酸蛋白 BstNI 亚家族 4 |
| PRCD | ENSG00000214140 | 渐进式杆锥变性 |
| PRCP | ENSG00000137509 | 脯氨酰羧肽酶 (血管紧张素酶 C) |
| PRDM12 | ENSG00000130711 | 含 PR 结构域 12 |
| PRDX4 | ENSG00000123131 | 过氧化酶 4 |
| PRELP | ENSG00000188783 | 富含脯氨酸/精氨酸的末端富含亮氨酸的重复蛋白 |
| PRF1 | ENSG00000180644 | 穿孔素 1 (成孔蛋白) |
| PRG2 | ENSG00000186652 | 蛋白聚糖 2, 骨髓 (自然杀伤细胞激活剂, 嗜酸性粒细胞主要基础蛋白) |
| PRG3 | ENSG00000156575 | 蛋白聚糖 3 |
| PRG4 | ENSG00000116690 | 蛋白聚糖 4 |
| PRH1 | ENSG00000231887 | 富脯氨酸蛋白 HaeIII 亚家族 1 |
| PRH2 | ENSG00000134551 | 富脯氨酸蛋白 HaeIII 亚家族 2 |
| PRKAG1 | ENSG00000181929 | 蛋白激酶, AMP-激活, γ1 非催化亚基 |
| PRKCSH | ENSG00000130175 | 蛋白激酶 C 底物 80K-H |
| PRKD1 | ENSG00000184304 | 蛋白激酶 D1 |
| PRL | ENSG00000172179 | 催乳素 |
| PRLH | ENSG00000071677 | 催乳素释放激素 |
| PRLR | ENSG00000113494 | 催乳素受体 |
| PRNP | ENSG00000171867 | 朊蛋白 |
| PRNT | ENSG00000180259 | 朊蛋白(睾丸特异性) |
| PROC | ENSG00000115718 | 蛋白质 C (凝血因子 Va 和 VIIIa 的灭活剂) |
| PROK1 | ENSG00000143125 | 前动力蛋白 1 |
| PROK2 | ENSG00000163421 | 前动力蛋白 2 |
| PROL1 | ENSG00000171199 | 富脯氨酸, 泪腺 1 |
| PROM1 | ENSG00000007062 | Prominin 1 |
| PROS1 | ENSG00000184500 | 蛋白质 S (α) |
| PROZ | ENSG00000126231 | 蛋白质 Z, 维生素 K 依赖性血浆糖蛋白 |
| PRR27 | ENSG00000187533 | 富脯氨酸 27 |
| PRR4 | ENSG00000111215 | 富脯氨酸 4 (泪腺) |
| PRRG2 | ENSG00000126460 | 富脯氨酸 Gla (G-羧基谷氨酸) 2 |
| PRRT3 | ENSG00000163704 | 富脯氨酸跨膜蛋白 3 |
| PRRT4 | ENSG00000224940 | 富脯氨酸跨膜蛋白 4 |

[0358]

| | | |
|---|---|---|
| PRSS1 | ENSG00000204983 | 蛋白酶，丝氨酸，1 (胰蛋白酶 1) |
| PRSS12 | ENSG00000164099 | 蛋白酶，丝氨酸，12 (神经胰蛋白酶，马达蛋白) |
| PRSS16 | ENSG00000112812 | 蛋白酶，丝氨酸，16 (胸腺) |
| PRSS2 | ENSG00000275896 | 蛋白酶，丝氨酸，2 (胰蛋白酶 2) |
| PRSS21 | ENSG00000007038 | 蛋白酶，丝氨酸，21 (睾蛋白) |
| PRSS22 | ENSG00000005001 | 蛋白酶，丝氨酸，22 |
| PRSS23 | ENSG00000150687 | 蛋白酶，丝氨酸，23 |
| PRSS27 | ENSG00000172382 | 蛋白酶，丝氨酸 27 |
| PRSS3 | ENSG00000010438 | 蛋白酶，丝氨酸，3 |
| PRSS33 | ENSG00000103355 | 蛋白酶，丝氨酸，33 |
| PRSS35 | ENSG00000146250 | 蛋白酶，丝氨酸，35 |
| PRSS36 | ENSG00000178226 | 蛋白酶，丝氨酸，36 |
| PRSS37 | ENSG00000165076 | 蛋白酶，丝氨酸，37 |
| PRSS38 | ENSG00000185888 | 蛋白酶，丝氨酸，38 |
| PRSS42 | ENSG00000178055 | 蛋白酶，丝氨酸，42 |
| PRSS48 | ENSG00000189099 | 蛋白酶，丝氨酸，48 |
| PRSS50 | ENSG00000206549 | 蛋白酶，丝氨酸，50 |
| PRSS53 | ENSG00000151006 | 蛋白酶，丝氨酸，53 |
| PRSS54 | ENSG00000103023 | 蛋白酶，丝氨酸，54 |
| PRSS55 | ENSG00000184647 | 蛋白酶，丝氨酸，55 |
| PRSS56 | ENSG00000237412 | 蛋白酶，丝氨酸，56 |
| PRSS57 | ENSG00000185198 | 蛋白酶，丝氨酸，57 |
| PRSS58 | ENSG00000258223 | 蛋白酶，丝氨酸，58 |
| PRSS8 | ENSG00000052344 | 蛋白酶，丝氨酸，8 |
| PRTG | ENSG00000166450 | 前列腺素 |
| PRTN3 | ENSG00000196415 | 蛋白酶 3 |
| PSAP | ENSG00000197746 | 鞘脂激活蛋白原 |
| PSAPL1 | ENSG00000178597 | 鞘脂激活蛋白原样 1 (基因/假基因) |
| PSG1 | ENSG00000231924 | 妊娠特异性 β-1-糖蛋白 1 |
| PSG11 | ENSG00000243130 | 妊娠特异性 β-1-糖蛋白 11 |
| PSG2 | ENSG00000242221 | 妊娠特异性 β-1-糖蛋白 2 |
| PSG3 | ENSG00000221826 | 妊娠特异性 β-1-糖蛋白 3 |
| PSG4 | ENSG00000243137 | 妊娠特异性 β-1-糖蛋白 4 |
| PSG5 | ENSG00000204941 | 妊娠特异性 β-1-糖蛋白 5 |
| PSG6 | ENSG00000170848 | 妊娠特异性 β-1-糖蛋白 6 |

[0359]

| | | |
|---|---|---|
| PSG7 | ENSG00000221878 | 妊娠特异性 β-1-糖蛋白 7 (基因/假基因) |
| PSG8 | ENSG00000124467 | 妊娠特异性 β-1-糖蛋白 8 |
| PSG9 | ENSG00000183668 | 妊娠特异性 β-1-糖蛋白 9 |
| PSMD1 | ENSG00000173692 | 蛋白酶体 26S 亚基, 非 ATPase 1 |
| PSORS1C2 | ENSG00000204538 | 银屑病易感性 1 候选基因 2 |
| PSPN | ENSG00000125650 | Persephin |
| PTGDS | ENSG00000107317 | 前列腺素 D2 合成酶 21kDa (脑) |
| PTGIR | ENSG00000160013 | 前列腺素 I2 (前列环素)受体(IP) |
| PTGS1 | ENSG00000095303 | 前列腺素-内过氧化物合酶 1 (前列腺素 G/H 合成酶和环加氧酶) |
| PTGS2 | ENSG00000073756 | 前列腺素-内过氧化物合酶 2 (前列腺素 G/H 合成酶和环加氧酶) |
| PTH | ENSG00000152266 | 甲状旁腺激素 |
| PTH2 | ENSG00000142538 | 甲状旁腺激素 2 |
| PTHLH | ENSG00000087494 | 甲状旁腺激素样激素 |
| PTK7 | ENSG00000112655 | 蛋白酪氨酸激酶 7 (无活性) |
| PTN | ENSG00000105894 | 多效生长因子 |
| PTPRA | ENSG00000132670 | 蛋白酪氨酸磷酸酶, 受体类型, A |
| PTPRB | ENSG00000127329 | 蛋白酪氨酸磷酸酶, 受体类型, B |
| PTPRC | ENSG00000081237 | 蛋白酪氨酸磷酸酶, 受体类型, C |
| PTPRCAP | ENSG00000213402 | 蛋白酪氨酸磷酸酶, 受体类型, C-相关蛋白 |
| PTPRD | ENSG00000153707 | 蛋白酪氨酸磷酸酶, 受体类型, D |
| PTPRF | ENSG00000142949 | 蛋白酪氨酸磷酸酶, 受体类型, F |
| PTPRJ | ENSG00000149177 | 蛋白酪氨酸磷酸酶, 受体类型, J |
| PTPRO | ENSG00000151490 | 蛋白酪氨酸磷酸酶, 受体类型, O |
| PTPRS | ENSG00000105426 | 蛋白酪氨酸磷酸酶, 受体类型, S |
| PTTG1IP | ENSG00000183255 | 垂体肿瘤转化 1 相互作用蛋白 |
| PTX3 | ENSG00000163661 | 正五聚蛋白 3, 长 |
| PTX4 | ENSG00000251692 | 正五聚蛋白 4, 长 |
| PVR | ENSG00000073008 | 脊髓灰质炎病毒受体 |
| PVRL1 | ENSG00000110400 | 脊髓灰质炎病毒受体相关 1 (疱疹病毒进入介体 C) |
| PXDN | ENSG00000130508 | 过氧蛋白 |
| PXDNL | ENSG00000147485 | 过氧蛋白样 |
| PXYLP1 | ENSG00000155893 | 2-磷酸木糖磷酸酶 1 |
| PYY | ENSG00000131096 | 肽 YY |

[0360]

| | | |
|---|---|---|
| PZP | ENSG00000126838 | 妊娠区蛋白质 |
| QPCT | ENSG00000115828 | 谷氨酰胺-肽环化转移酶 |
| QPRT | ENSG00000103485 | 喹啉磷酸核糖转移酶 |
| QRFP | ENSG00000188710 | 焦谷氨酰胺化 RFamide 肽 |
| QSOX1 | ENSG00000116260 | Quiescin Q6 巯基氧化酶 1 |
| R3HDML | ENSG00000101074 | 含 R3H 结构域样 |
| RAB26 | ENSG00000167964 | RAB26, 成员 RAS 致癌基因家族 |
| RAB36 | ENSG00000100228 | RAB36, 成员 RAS 致癌基因家族 |
| RAB9B | ENSG00000123570 | RAB9B, 成员 RAS 致癌基因家族 |
| RAET1E | ENSG00000164520 | 维甲酸早期转录物 1E |
| RAET1G | ENSG00000203722 | 维甲酸早期转录物 1G |
| RAMP2 | ENSG00000131477 | 受体(G 蛋白偶联)活性修饰蛋白 2 |
| RAPGEF5 | ENSG00000136237 | Rap 鸟嘌呤核苷酸交换因子(GEF) 5 |
| RARRES1 | ENSG00000118849 | 维甲酸受体反应因子(他扎罗汀诱导)1 |
| RARRES2 | ENSG00000106538 | 维甲酸受体反应因子(他扎罗汀诱导)2 |
| RASA2 | ENSG00000155903 | RAS p21 蛋白激活剂 2 |
| RBM3 | ENSG00000102317 | RNA 结合基序(RNP1, RRM)蛋白 3 |
| RBP3 | ENSG00000265203 | 视黄醇结合蛋白 3, 间质 |
| RBP4 | ENSG00000138207 | 视黄醇结合蛋白 4, 血浆 |
| RCN1 | ENSG00000049449 | 网钙结合蛋白 1, EF-手钙结合结构域 |
| RCN2 | ENSG00000117906 | 网钙结合蛋白 2, EF-手钙结合结构域 |
| RCN3 | ENSG00000142552 | 网钙结合蛋白 3, EF-手钙结合结构域 |
| RCOR1 | ENSG00000089902 | REST 辅阻遏物 1 |
| RDH11 | ENSG00000072042 | 视黄醇脱氢酶 11 (全反式/9-顺式/11-顺式) |
| RDH12 | ENSG00000139988 | 视黄醇脱氢酶 12 (全反式/9-顺式/11-顺式) |
| RDH13 | ENSG00000160439 | 视黄醇脱氢酶 13 (全反式/9-顺式) |
| RDH5 | ENSG00000135437 | 视黄醇脱氢酶 5 (11-顺式/9-顺式) |
| RDH8 | ENSG00000080511 | 视黄醇脱氢酶 8 (全反式) |
| REG1A | ENSG00000115386 | 再生胰岛衍生的 1 α |
| REG1B | ENSG00000172023 | 再生胰岛衍生的 1β |
| REG3A | ENSG00000172016 | 再生胰岛衍生的 3 α |
| REG3G | ENSG00000143954 | 再生胰岛衍生的 3 γ |
| REG4 | ENSG00000134193 | 再生胰岛衍生的家族, 成员 4 |
| RELN | ENSG00000189056 | 络丝蛋白 |
| RELT | ENSG00000054967 | RELT 肿瘤坏死因子受体 |

[0361]

| | | |
|---|---|---|
| REN | ENSG00000143839 | 肾素 |
| REPIN1 | ENSG00000214022 | 复制起始子 1 |
| REPS2 | ENSG00000169891 | 含 RALBP1 相关 Eps 结构域 2 |
| RET | ENSG00000165731 | Ret 原癌基因 |
| RETN | ENSG00000104918 | 抵抗素 |
| RETNLB | ENSG00000163515 | 抵抗素样 β |
| RETSAT | ENSG00000042445 | 视黄醇饱和酶(全反式-视黄醇 13,14-还原酶) |
| RFNG | ENSG00000169733 | RFNG O-岩藻糖基肽 3-β-N-乙酰氨基葡萄糖转移酶 |
| RGCC | ENSG00000102760 | 细胞周期调节因子 |
| RGL4 | ENSG00000159496 | Ral 鸟嘌呤核苷酸解离刺激因子样 4 |
| RGMA | ENSG00000182175 | 排斥性指导分子家族成员 a |
| RGMB | ENSG00000174136 | 排斥性指导分子家族成员 b |
| RHOQ | ENSG00000119729 | Ras 同系物家族成员 Q |
| RIC3 | ENSG00000166405 | RIC3 乙酰胆碱受体伴侣蛋白 |
| RIMS1 | ENSG00000079841 | 调节突触膜胞吐作用 1 |
| RIPPLY1 | ENSG00000147223 | Ripply 转录抑制因子 1 |
| RLN1 | ENSG00000107018 | 松弛素 1 |
| RLN2 | ENSG00000107014 | 松弛素 2 |
| RLN3 | ENSG00000171136 | 松弛素 3 |
| RMDN1 | ENSG00000176623 | 微管动力学调节因子 1 |
| RNASE1 | ENSG00000129538 | 核糖核酸酶, RNase A 家族, 1 (胰腺) |
| RNASE10 | ENSG00000182545 | 核糖核酸酶, RNase A 家族, 10 (无活性) |
| RNASE11 | ENSG00000173464 | 核糖核酸酶, RNase A 家族, 11 (无活性) |
| RNASE12 | ENSG00000258436 | 核糖核酸酶, RNase A 家族, 12 (无活性) |
| RNASE13 | ENSG00000206150 | 核糖核酸酶, RNase A 家族, 13 (无活性) |
| RNASE2 | ENSG00000169385 | 核糖核酸酶, RNase A 家族, 2 (肝脏, 嗜酸性粒细胞衍生的神经毒素) |
| RNASE3 | ENSG00000169397 | 核糖核酸酶, RNase A 家族, 3 |
| RNASE4 | ENSG00000258818 | 核糖核酸酶, RNase A 家族, 4 |
| RNASE6 | ENSG00000169413 | 核糖核酸酶, RNase A 家族, k6 |
| RNASE7 | ENSG00000165799 | 核糖核酸酶, RNase A 家族, 7 |
| RNASE8 | ENSG00000173431 | 核糖核酸酶, RNase A 家族, 8 |
| RNASE9 | ENSG00000188655 | 核糖核酸酶, RNase A 家族, 9 (无活性) |
| RNASEH1 | ENSG00000171865 | 核糖核酸酶 H1 |
| RNASET2 | ENSG00000026297 | 核糖核酸酶 T2 |

[0362]

| | | |
|---|---|---|
| RNF146 | ENSG00000118518 | 环指蛋白 146 |
| RNF148 | ENSG00000235631 | 环指蛋白 148 |
| RNF150 | ENSG00000170153 | 环指蛋白 150 |
| RNF167 | ENSG00000108523 | 环指蛋白 167 |
| RNF220 | ENSG00000187147 | 环指蛋白 220 |
| RNF34 | ENSG00000170633 | 环指蛋白 34, E3 泛素蛋白连接酶 |
| RNLS | ENSG00000184719 | 肾胺酶, FAD-依赖性胺氧化酶 |
| RNPEP | ENSG00000176393 | 精氨酰氨基肽酶 (氨基肽酶 B) |
| ROR1 | ENSG00000185483 | 受体酪氨酸激酶样孤儿受体 1 |
| RP11-1236K1.1 | ENSG00000233050 | |
| RP11-14J7.7 | ENSG00000259060 | |
| RP11-196G11.1 | ENSG00000255439 | |
| RP11-350O14.18 | ENSG00000261793 | |
| RP11-520P18.5 | ENSG00000261667 | |
| RP11-812E19.9 | ENSG00000259680 | |
| RP11-903H12.5 | ENSG00000259171 | |
| RP11-977G19.10 | ENSG00000144785 | |
| RP4-576H24.4 | ENSG00000260861 | |
| RP4-608O15.3 | ENSG00000276911 | 补体因子 H-相关蛋白 2 |
| RPL3 | ENSG00000100316 | 核糖体蛋白 L3 |
| RPLP2 | ENSG00000177600 | 核糖体蛋白, 大, P2 |
| RPN2 | ENSG00000118705 | 核糖体结合糖蛋白 II |
| RPS27L | ENSG00000185088 | 核糖体蛋白 S27 样 |
| RQCD1 | ENSG00000144580 | 细胞分化所需 RCD1 同系物(S. pombe) |
| RS1 | ENSG00000102104 | Retinoschisin 1 |
| RSF1 | ENSG00000048649 | 重塑和间距因子 1 |
| RSPO1 | ENSG00000169218 | R-脊椎蛋白 1 |
| RSPO2 | ENSG00000147655 | R-脊椎蛋白 2 |
| RSPO3 | ENSG00000146374 | R-脊椎蛋白 3 |
| RSPO4 | ENSG00000101282 | R-脊椎蛋白 4 |
| RSPRY1 | ENSG00000159579 | 含环指和 SPRY 结构域 1 |
| RTBDN | ENSG00000132026 | Retbindin |
| RTN4RL1 | ENSG00000185924 | 网状内皮素 4 受体样 1 |
| RTN4RL2 | ENSG00000186907 | 网状内皮素 4 受体样 2 |
| SAA1 | ENSG00000173432 | 血清淀粉样蛋白 A1 |

[0363]

| | | |
|---|---|---|
| SAA2 | ENSG00000134339 | 血清淀粉样蛋白 A2 |
| SAA4 | ENSG00000148965 | 血清淀粉样蛋白 A4, 组成型 |
| SAP30 | ENSG00000164105 | Sin3A-相关蛋白, 30kDa |
| SAR1A | ENSG00000079332 | 分泌相关, Ras 相关 GTPase 1A |
| SARAF | ENSG00000133872 | 存储操作的钙进入相关调节因子 |
| SARM1 | ENSG00000004139 | 含无菌 α 和 TIR 基序 1 |
| SATB1 | ENSG00000182568 | SATB 同源盒 1 |
| SAXO2 | ENSG00000188659 | 轴丝微管的稳定剂 2 |
| SBSN | ENSG00000189001 | Suprabasin |
| SBSPON | ENSG00000164764 | 生长调节素 B 和血小板反应蛋白, 含 1 型结构域 |
| SCARF1 | ENSG00000074660 | 清道夫受体 F 类, 成员 1 |
| SCG2 | ENSG00000171951 | 分泌粒蛋白 II |
| SCG3 | ENSG00000104112 | 分泌粒蛋白 III |
| SCG5 | ENSG00000166922 | 分泌粒蛋白 V |
| SCGB1A1 | ENSG00000149021 | 分泌球蛋白, 家族 1A, 成员 1(子宫珠蛋白) |
| SCGB1C1 | ENSG00000188076 | 分泌球蛋白, 家族 1C, 成员 1 |
| SCGB1C2 | ENSG00000268320 | 分泌球蛋白, 家族 1C, 成员 2 |
| SCGB1D1 | ENSG00000168515 | 分泌球蛋白, 家族 1D, 成员 1 |
| SCGB1D2 | ENSG00000124935 | 分泌球蛋白, 家族 1D, 成员 2 |
| SCGB1D4 | ENSG00000197745 | 分泌球蛋白, 家族 1D, 成员 4 |
| SCGB2A1 | ENSG00000124939 | 分泌球蛋白, 家族 2A, 成员 1 |
| SCGB2A2 | ENSG00000110484 | 分泌球蛋白, 家族 2A, 成员 2 |
| SCGB2B2 | ENSG00000205209 | 分泌球蛋白, 家族 2B, 成员 2 |
| SCGB3A1 | ENSG00000161055 | 分泌球蛋白, 家族 3A, 成员 1 |
| SCGB3A2 | ENSG00000164265 | 分泌球蛋白, 家族 3A, 成员 2 |
| SCN1B | ENSG00000105711 | 钠通道, 电压门控, I 型 β 亚基 |
| SCN3B | ENSG00000166257 | 钠通道, 电压门控, III 型 β 亚基 |
| SCPEP1 | ENSG00000121064 | 丝氨酸羧肽酶 1 |
| SCRG1 | ENSG00000164106 | 软骨生成刺激物 1 |
| SCT | ENSG00000070031 | 促胰液素 |
| SCUBE1 | ENSG00000159307 | 信号肽, CUB 结构域, EGF 样 1 |
| SCUBE2 | ENSG00000175356 | 信号肽, CUB 结构域, EGF 样 2 |
| SCUBE3 | ENSG00000146197 | 信号肽, CUB 结构域, EGF 样 3 |
| SDC1 | ENSG00000115884 | 多配体聚糖 1 |
| SDF2 | ENSG00000132581 | 基质细胞衍生因子 2 |

[0364]

| | | |
|---|---|---|
| SDF2L1 | ENSG00000128228 | 基质细胞衍生因子 2 样 1 |
| SDF4 | ENSG00000078808 | 基质细胞衍生因子 4 |
| SDHAF2 | ENSG00000167985 | 琥珀酸脱氢酶复合物组装因子 2 |
| SDHAF4 | ENSG00000154079 | 琥珀酸脱氢酶复合物组装因子 4 |
| SDHB | ENSG00000117118 | 琥珀酸脱氢酶复合物，亚基 B，铁硫(Ip) |
| SDHD | ENSG00000204370 | 琥珀酸脱氢酶复合物，亚基 D，整合膜蛋白 |
| SEC14L3 | ENSG00000100012 | SEC14 样脂质结合 3 |
| SEC16A | ENSG00000148396 | SEC16 同系物 A，内质网输出因子 |
| SEC16B | ENSG00000120341 | SEC16 同系物 B，内质网输出因子 |
| SEC22C | ENSG00000093183 | SEC22 同系物 C，囊泡运输蛋白 |
| SEC31A | ENSG00000138674 | SEC31 同系物 A, COPII 外壳复合成分 |
| SECISBP2 | ENSG00000187742 | SECIS 结合蛋白 2 |
| SECTM1 | ENSG00000141574 | 分泌和跨膜 1 |
| SEL1L | ENSG00000071537 | lin-12 样的 Sel-1 抑制因子(秀丽隐杆线虫) |
| SELM | ENSG00000198832 | 硒蛋白 M |
| SELO | ENSG00000073169 | 硒蛋白 O |
| SEMA3A | ENSG00000075213 | Sema 结构域，免疫球蛋白结构域(Ig)，短碱性结构域，分泌，(信号素) 3A |
| SEMA3B | ENSG00000012171 | Sema 结构域，免疫球蛋白结构域(Ig)，短碱性结构域，分泌，(信号素) 3B |
| SEMA3C | ENSG00000075223 | Sema 结构域，免疫球蛋白结构域(Ig)，短碱性结构域，分泌，(信号素) 3C |
| SEMA3E | ENSG00000170381 | Sema 结构域，免疫球蛋白结构域(Ig)，短碱性结构域，分泌，(信号素) 3E |
| SEMA3F | ENSG00000001617 | Sema 结构域，免疫球蛋白结构域(Ig)，短碱性结构域，分泌，(信号素) 3F |
| SEMA3G | ENSG00000010319 | Sema 结构域，免疫球蛋白结构域(Ig)，短碱性结构域，分泌，(信号素) 3G |
| SEMA4A | ENSG00000196189 | Sema 结构域，免疫球蛋白结构域(Ig)，跨膜结构域(TM)和短细胞质结构域，(信号素) 4A |
| SEMA4B | ENSG00000185033 | Sema 结构域，免疫球蛋白结构域(Ig)，跨膜结构域(TM)和短细胞质结构域，(信号素) 4B |
| SEMA4C | ENSG00000168758 | Sema 结构域，免疫球蛋白结构域(Ig)，跨膜结构域(TM)和短细胞质结构域，(信号素) 4C |
| SEMA4D | ENSG00000187764 | Sema 结构域，免疫球蛋白结构域(Ig)，跨膜结构域(TM)和短细胞质结构域，(信号素) 4D |

[0365]

| | | |
|---|---|---|
| SEMA4F | ENSG00000135622 | Sema 结构域，免疫球蛋白结构域(Ig)，跨膜结构域(TM)和短细胞质结构域，(信号素) 4F |
| SEMA4G | ENSG00000095539 | Sema 结构域，免疫球蛋白结构域(Ig)，跨膜结构域(TM)和短细胞质结构域，(信号素) 4G |
| SEMA5A | ENSG00000112902 | Sema 结构域，7 个血小板反应蛋白重复序列 (1 型和 1 型样)，跨膜结构域(TM)和短细胞质结构域，(信号素) 5A |
| SEMA6A | ENSG00000092421 | Sema 结构域，跨膜结构域(TM)，和细胞质结构域，(信号素) 6A |
| SEMA6C | ENSG00000143434 | Sema 结构域，跨膜结构域(TM)，和细胞质结构域，(信号素) 6C |
| SEMA6D | ENSG00000137872 | Sema 结构域，跨膜结构域(TM)，和细胞质结构域，(信号素) 6D |
| SEMG1 | ENSG00000124233 | 精囊凝固蛋白 I |
| SEMG2 | ENSG00000124157 | 精囊凝固蛋白 II |
| 15-Sep | ENSG00000183291 | 15 kDa 硒蛋白 |
| SEPN1 | ENSG00000162430 | 硒蛋白 N，1 |
| SEPP1 | ENSG00000250722 | 硒蛋白 P，血浆，1 |
| 9-Sep | ENSG00000184640 | Septin 9 |
| SERPINA1 | ENSG00000197249 | Serpin 肽酶抑制剂，clade A (α-1 抗蛋白酶，抗胰蛋白酶)，成员 1 |
| SERPINA10 | ENSG00000140093 | Serpin 肽酶抑制剂，clade A (α-1 抗蛋白酶，抗胰蛋白酶)，成员 10 |
| SERPINA11 | ENSG00000186910 | Serpin 肽酶抑制剂，clade A (α-1 抗蛋白酶，抗胰蛋白酶)，成员 11 |
| SERPINA12 | ENSG00000165953 | Serpin 肽酶抑制剂，clade A (α-1 抗蛋白酶，抗胰蛋白酶)，成员 12 |
| SERPINA3 | ENSG00000196136 | Serpin 肽酶抑制剂，clade A (α-1 抗蛋白酶，抗胰蛋白酶)，成员 3 |
| SERPINA3 | ENSG00000273259 | Serpin 肽酶抑制剂，clade A (α-1 抗蛋白酶，抗胰蛋白酶)，成员 3 |
| SERPINA4 | ENSG00000100665 | Serpin 肽酶抑制剂，clade A (α-1 抗蛋白酶，抗胰蛋白酶)，成员 4 |
| SERPINA5 | ENSG00000188488 | Serpin 肽酶抑制剂，clade A (α-1 抗蛋白酶，抗胰蛋白酶)，成员 5 |
| SERPINA6 | ENSG00000170099 | Serpin 肽酶抑制剂，clade A (α-1 抗蛋白酶，抗胰蛋白酶)，成员 6 |

[0366]

| | | |
|---|---|---|
| SERPINA7 | ENSG00000123561 | Serpin 肽酶抑制剂, clade A (α-1 抗蛋白酶, 抗胰蛋白酶), 成员 7 |
| SERPINA9 | ENSG00000170054 | Serpin 肽酶抑制剂, clade A (α-1 抗蛋白酶, 抗胰蛋白酶), 成员 9 |
| SERPINB2 | ENSG00000197632 | Serpin 肽酶抑制剂, clade B (卵清蛋白), 成员 2 |
| SERPINC1 | ENSG00000117601 | Serpin 肽酶抑制剂, clade C (抗凝血酶), 成员 1 |
| SERPIND1 | ENSG00000099937 | Serpin 肽酶抑制剂, clade D (肝素辅助因子), 成员 1 |
| SERPINE1 | ENSG00000106366 | Serpin 肽酶抑制剂, clade E (nexin, 纤溶酶原激活物抑制剂 1 型), 成员 1 |
| SERPINE2 | ENSG00000135919 | Serpin 肽酶抑制剂, clade E (nexin, 纤溶酶原激活物抑制剂 1 型), 成员 2 |
| SERPINE3 | ENSG00000253309 | Serpin 肽酶抑制剂, clade E (nexin, 纤溶酶原激活物抑制剂 1 型), 成员 3 |
| SERPINF1 | ENSG00000132386 | Serpin 肽酶抑制剂, clade F (α-2 抗纤溶酶, 色素上皮衍生因子), 成员 1 |
| SERPINF2 | ENSG00000167711 | Serpin 肽酶抑制剂, clade F (α-2 抗纤溶酶, 色素上皮衍生因子), 成员 2 |
| SERPING1 | ENSG00000149131 | Serpin 肽酶抑制剂, clade G (C1 抑制剂), 成员 1 |
| SERPINH1 | ENSG00000149257 | Serpin 肽酶抑制剂, clade H (热休克蛋白 47), 成员 1, (胶原蛋白结合蛋白 1) |
| SERPINI1 | ENSG00000163536 | Serpin 肽酶抑制剂, clade I (neuroserpin), 成员 1 |
| SERPINI2 | ENSG00000114204 | Serpin 肽酶抑制剂, clade I (胰蛋白), 成员 2 |
| SETD8 | ENSG00000183955 | 含 SET 结构域(赖氨酸甲基转移酶) 8 |
| SEZ6L2 | ENSG00000174938 | 癫痫发作相关 6 同系物(小鼠)样 2 |
| SFRP1 | ENSG00000104332 | 分泌的卷曲受体-相关蛋白 1 |
| SFRP2 | ENSG00000145423 | 分泌的卷曲受体-相关蛋白 2 |
| SFRP4 | ENSG00000106483 | 分泌的卷曲受体-相关蛋白 4 |
| SFRP5 | ENSG00000120057 | 分泌的卷曲受体-相关蛋白 5 |
| SFTA2 | ENSG00000196260 | 表面活性物质相关蛋白 2 |
| SFTPA1 | ENSG00000122852 | 表面活性蛋白 A1 |
| SFTPA2 | ENSG00000185303 | 表面活性蛋白 A2 |
| SFTPB | ENSG00000168878 | 表面活性蛋白 B |
| SFTPD | ENSG00000133661 | 表面活性蛋白 D |
| SFXN5 | ENSG00000144040 | Sideroflexin 5 |
| SGCA | ENSG00000108823 | 肌聚糖, α (50kDa 肌营养不良蛋白相关糖蛋白) |
| SGSH | ENSG00000181523 | N-磺基葡糖胺磺基水解酶 |

[0367]

| | | |
|---|---|---|
| SH3RF3 | ENSG00000172985 | 含 SH3 结构域环指 3 |
| SHBG | ENSG00000129214 | 性激素结合球蛋白 |
| SHE | ENSG00000169291 | 含 Src 同源性 2 结构域 E |
| SHH | ENSG00000164690 | 音猬因子 |
| SHKBP1 | ENSG00000160410 | SH3KBP1 结合蛋白 1 |
| SIAE | ENSG00000110013 | 唾液酸乙酰酯酶 |
| SIDT2 | ENSG00000149577 | SID1 跨膜家族，成员 2 |
| SIGLEC10 | ENSG00000142512 | 唾液酸结合 Ig 样凝集素 10 |
| SIGLEC6 | ENSG00000105492 | 唾液酸结合 Ig 样凝集素 6 |
| SIGLEC7 | ENSG00000168995 | 唾液酸结合 Ig 样凝集素 7 |
| SIGLECL1 | ENSG00000179213 | SIGLEC 家族样 1 |
| SIGMAR1 | ENSG00000147955 | 西格玛非阿片类细胞内受体 1 |
| SIL1 | ENSG00000120725 | SIL1 核苷酸交换因子 |
| SIRPB1 | ENSG00000101307 | 信号调节蛋白 β 1 |
| SIRPD | ENSG00000125900 | 信号调节蛋白 δ |
| SLAMF1 | ENSG00000117090 | 信号传导淋巴细胞活化分子家族成员 1 |
| SLAMF7 | ENSG00000026751 | SLAM 家族成员 7 |
| SLC10A3 | ENSG00000126903 | 溶质载体家族 10，成员 3 |
| SLC15A3 | ENSG00000110446 | 溶质载体家族 15 (寡肽转运蛋白)，成员 3 |
| SLC25A14 | ENSG00000102078 | 溶质载体家族 25 (线粒体载体，脑)，成员 14 |
| SLC25A25 | ENSG00000148339 | 溶质载体家族 25 (线粒体载体；磷酸盐载体)，成员 25 |
| SLC2A5 | ENSG00000142583 | 溶质载体家族 2 (促进葡萄糖/果糖转运蛋白)，成员 5 |
| SLC35E3 | ENSG00000175782 | 溶质载体家族 35，成员 E3 |
| SLC39A10 | ENSG00000196950 | 溶质载体家族 39 (锌转运蛋白)，成员 10 |
| SLC39A14 | ENSG00000104635 | 溶质载体家族 39 (锌转运蛋白)，成员 14 |
| SLC39A4 | ENSG00000147804 | 溶质载体家族 39 (锌转运蛋白)，成员 4 |
| SLC39A5 | ENSG00000139540 | 溶质载体家族 39 (锌转运蛋白)，成员 5 |
| SLC3A1 | ENSG00000138079 | 溶质载体家族 3 (氨基酸转运蛋白重链)，成员 1 |
| SLC51A | ENSG00000163959 | 溶质载体家族 51，α 亚基 |
| SLC52A2 | ENSG00000185803 | 溶质载体家族 52 (核黄素转运蛋白)，成员 2 |
| SLC5A6 | ENSG00000138074 | 溶质载体家族 5 (钠/多种维生素和碘化物协同转运蛋白)，成员 6 |
| SLC6A9 | ENSG00000196517 | 溶质载体家族 6 (神经递质转运蛋白，甘氨酸)，成员 9 |
| SLC8A1 | ENSG00000183023 | 溶质载体家族 8 (钠/钙交换剂)，成员 1 |

[0368]

| | | |
|---|---|---|
| SLC8B1 | ENSG00000089060 | 溶质载体家族 8 (钠/锂/钙交换剂), 成员 B1 |
| SLC9A6 | ENSG00000198689 | 溶质载体家族 9, 亚家族 A (NHE6, 阳离子质子反向转运蛋白 6), 成员 6 |
| SLCO1A2 | ENSG00000084453 | 溶质载体有机阴离子转运蛋白家族, 成员 1A2 |
| SLIT1 | ENSG00000187122 | Slit 指导配体 1 |
| SLIT2 | ENSG00000145147 | Slit 指导配体 2 |
| SLIT3 | ENSG00000184347 | Slit 指导配体 3 |
| SLITRK3 | ENSG00000121871 | SLIT 和 NTRK 样家族, 成员 3 |
| SLPI | ENSG00000124107 | 分泌性白细胞肽酶抑制剂 |
| SLTM | ENSG00000137776 | SAFB 样, 转录调节因子 |
| SLURP1 | ENSG00000126233 | 分泌的含 LY6/PLAUR 结构域 1 |
| SMARCA2 | ENSG00000080503 | SWI/SNF 相关, 基质相关, 染色质的肌动蛋白依赖性调节因子, 亚家族 a, 成员 2 |
| SMG6 | ENSG00000070366 | SMG6 无义介导的 mRNA 衰变因子 |
| SMIM7 | ENSG00000214046 | 小积分膜蛋白 7 |
| SMOC1 | ENSG00000198732 | SPARC 相关的模块化钙结合 1 |
| SMOC2 | ENSG00000112562 | SPARC 相关的模块化钙结合 2 |
| SMPDL3A | ENSG00000172594 | 神经鞘磷脂磷酸二酯酶, 酸样 3A |
| SMPDL3B | ENSG00000130768 | 神经鞘磷脂磷酸二酯酶, 酸样 3B |
| SMR3A | ENSG00000109208 | 颌下腺雄激素调节蛋白 3A |
| SMR3B | ENSG00000171201 | 颌下腺雄激素调节蛋白 3B |
| SNED1 | ENSG00000162804 | Sushi, 巢蛋白和 EGF 样结构域 1 |
| SNTB1 | ENSG00000172164 | 互养蛋白, β1 (肌营养不良蛋白-相关蛋白 A1, 59kDa, 基本成分 1) |
| SNTB2 | ENSG00000168807 | 互养蛋白, β2 (肌营养不良蛋白-相关蛋白 A1, 59kDa, 基本成分 2) |
| SNX14 | ENSG00000135317 | Sorting nexin 14 |
| SOD3 | ENSG00000109610 | 超氧化物歧化酶 3,胞外 |
| SOST | ENSG00000167941 | 硬化蛋白 |
| SOSTDC1 | ENSG00000171243 | 含硬化蛋白结构域 1 |
| SOWAHA | ENSG00000198944 | Sosondowah 锚蛋白重复结构域家族成员 A |
| SPACA3 | ENSG00000141316 | 精子顶体相关 3 |
| SPACA4 | ENSG00000177202 | 精子顶体相关 4 |
| SPACA5 | ENSG00000171489 | 精子顶体相关 5 |
| SPACA5B | ENSG00000171478 | 精子顶体相关 5B |
| SPACA7 | ENSG00000153498 | 精子顶体相关 7 |

[0369]

| | | |
|---|---|---|
| SPAG11A | ENSG00000178287 | 精子相关抗原 11A |
| SPAG11B | ENSG00000164871 | 精子相关抗原 11B |
| SPARC | ENSG00000113140 | 分泌蛋白，酸性，富半胱氨酸(骨粘连蛋白) |
| SPARCL1 | ENSG00000152583 | SPARC 样 1 (hevin) |
| SPATA20 | ENSG00000006282 | 精子发生相关 20 |
| SPESP1 | ENSG00000258484 | 精子赤道段蛋白 1 |
| SPINK1 | ENSG00000164266 | 丝氨酸肽酶抑制剂, Kazal 1 型 |
| SPINK13 | ENSG00000214510 | 丝氨酸肽酶抑制剂, Kazal 13 型 (推定) |
| SPINK14 | ENSG00000196800 | 丝氨酸肽酶抑制剂, Kazal 14 型 (推定) |
| SPINK2 | ENSG00000128040 | 丝氨酸肽酶抑制剂, Kazal 2 型 (顶体蛋白-胰蛋白酶抑制剂) |
| SPINK4 | ENSG00000122711 | 丝氨酸肽酶抑制剂, Kazal 4 型 |
| SPINK5 | ENSG00000133710 | 丝氨酸肽酶抑制剂, Kazal 5 型 |
| SPINK6 | ENSG00000178172 | 丝氨酸肽酶抑制剂, Kazal 6 型 |
| SPINK7 | ENSG00000145879 | 丝氨酸肽酶抑制剂, Kazal 7 型(推定) |
| SPINK8 | ENSG00000229453 | 丝氨酸肽酶抑制剂, Kazal 8 型(推定) |
| SPINK9 | ENSG00000204909 | 丝氨酸肽酶抑制剂, Kazal 9 型 |
| SPINT1 | ENSG00000166145 | 丝氨酸肽酶抑制剂, Kunitz 1 型 |
| SPINT2 | ENSG00000167642 | 丝氨酸肽酶抑制剂, Kunitz 2 型 |
| SPINT3 | ENSG00000101446 | 丝氨酸肽酶抑制剂, Kunitz 3 型 |
| SPINT4 | ENSG00000149651 | 丝氨酸肽酶抑制剂, Kunitz 4 型 |
| SPOCK1 | ENSG00000152377 | Sparc/骨粘连蛋白, cwcv 和 kazal 样结构域 s 蛋白聚糖 (testican) 1 |
| SPOCK2 | ENSG00000107742 | Sparc/骨粘连蛋白, cwcv 和 kazal 样结构域 s 蛋白聚糖 (testican) 2 |
| SPOCK3 | ENSG00000196104 | Sparc/骨粘连蛋白, cwcv 和 kazal 样结构域 s 蛋白聚糖 (testican) 3 |
| SPON1 | ENSG00000262655 | 脊椎蛋白 1, 胞外基质蛋白 |
| SPON2 | ENSG00000159674 | 脊椎蛋白 2, 胞外基质蛋白 |
| SPP1 | ENSG00000118785 | 分泌的磷蛋白 1 |
| SPP2 | ENSG00000072080 | 分泌的磷蛋白 2, 24kDa |
| SPRN | ENSG00000203772 | 朊蛋白同系物的阴影(斑马鱼) |
| SPRYD3 | ENSG00000167778 | 含 SPRY 结构域 3 |
| SPRYD4 | ENSG00000176422 | 含 SPRY 结构域 4 |
| SPTY2D1-AS1 | ENSG00000247595 | SPTY2D1 反义 RNA 1 |
| SPX | ENSG00000134548 | Spexin 激素 |

[0370]

| | | |
|---|---|---|
| SRGN | ENSG00000122862 | Serglycin |
| SRL | ENSG00000185739 | 肌钙腔蛋白 |
| SRP14 | ENSG00000140319 | 信号识别粒子 14kDa (同系 Alu RNA 结合蛋白) |
| SRPX | ENSG00000101955 | 含 Sushi 重复序列的蛋白, X-连接 |
| SRPX2 | ENSG00000102359 | 含 Sushi 重复序列的蛋白, X-连接 2 |
| SSC4D | ENSG00000146700 | 清道夫受体富半胱氨酸家族, 4 个结构域 |
| SSC5D | ENSG00000179954 | 清道夫受体富半胱氨酸家族, 5 个结构域 |
| SSPO | ENSG00000197558 | SCO-脊椎蛋白 |
| SSR2 | ENSG00000163479 | 信号序列受体, β(易位蛋白-相关蛋白 β) |
| SST | ENSG00000157005 | 生长抑素 |
| ST3GAL1 | ENSG00000008513 | ST3β-半乳糖苷 α-2,3-唾液酸转移酶 1 |
| ST3GAL4 | ENSG00000110080 | ST3β-半乳糖苷 α-2,3-唾液酸转移酶 4 |
| ST6GAL1 | ENSG00000073849 | ST6β-半乳糖酰胺 α-2,6-唾液酸转移酶 1 |
| ST6GALNAC2 | ENSG00000070731 | ST6 (α-N-乙酰基-神经氨基-2,3-β-半乳糖基-1,3)-N-乙酰基半乳糖胺 α-2,6-唾液酸转移酶 2 |
| ST6GALNAC5 | ENSG00000117069 | ST6 (α-N-乙酰基-神经氨基-2,3-β-半乳糖基-1,3)-N-乙酰基半乳糖胺 α-2,6-唾液酸转移酶 5 |
| ST6GALNAC6 | ENSG00000160408 | ST6 (α-N-乙酰基-神经氨酰基-2,3-β-半乳糖基-1,3)-N-乙酰基半乳糖胺 α-2,6-唾液酸转移酶 6 |
| ST8SIA2 | ENSG00000140557 | ST8 α-N-乙酰基-神经氨酸 α-2,8-唾液酸转移酶 2 |
| ST8SIA4 | ENSG00000113532 | ST8 α-N-乙酰基-神经氨酸 α-2,8-唾液酸转移酶 4 |
| ST8SIA6 | ENSG00000148488 | ST8 α-N-乙酰基-神经氨酸 α-2,8-唾液酸转移酶 6 |
| STARD7 | ENSG00000084090 | 含 StAR 相关脂质转移(START)结构域 7 |
| STATH | ENSG00000126549 | 富酪蛋白 |
| STC1 | ENSG00000159167 | 斯钙素 1 |
| STC2 | ENSG00000113739 | 斯钙素 2 |
| STMND1 | ENSG00000230873 | 含 Stathmin 结构域 1 |
| STOML2 | ENSG00000165283 | 类 Stomatin (EPB72)2 |
| STOX1 | ENSG00000165730 | Storkhead 盒 1 |
| STRC | ENSG00000242866 | 硬纤毛蛋白 |
| SUCLG1 | ENSG00000163541 | 琥珀酸辅酶 A 连接酶, α 亚基 |
| SUDS3 | ENSG00000111707 | SDS3 同系物, SIN3A 辅阻遏物复合物成分 |
| SULF1 | ENSG00000137573 | 硫酸酯酶 1 |
| SULF2 | ENSG00000196562 | 硫酸酯酶 2 |
| SUMF1 | ENSG00000144455 | 硫酸酯酶修饰因子 1 |
| SUMF2 | ENSG00000129103 | 硫酸酯酶修饰因子 2 |

[0371]

| | | |
|---|---|---|
| SUSD1 | ENSG00000106868 | 含 Sushi 结构域 1 |
| SUSD5 | ENSG00000173705 | 含 Sushi 结构域 5 |
| SVEP1 | ENSG00000165124 | Sushi, 血管性血友病因子 A 型, 含 EGF 和正五聚蛋白结构域 1 |
| SWSAP1 | ENSG00000173928 | SWIM 型锌指 7 相关蛋白 1 |
| SYAP1 | ENSG00000169895 | 突触相关蛋白 1 |
| SYCN | ENSG00000179751 | Syncollin |
| TAC1 | ENSG00000006128 | 速激肽, 前体 1 |
| TAC3 | ENSG00000166863 | 速激肽 3 |
| TAC4 | ENSG00000176358 | 速激肽 4 (血红素) |
| TAGLN2 | ENSG00000158710 | 转凝蛋白 2 |
| TAPBP | ENSG00000231925 | TAP 结合蛋白(tapasin) |
| TAPBPL | ENSG00000139192 | 类 TAP 结合蛋白 |
| TBL2 | ENSG00000106638 | 类转导素(β)2 |
| TBX10 | ENSG00000167800 | T-box 10 |
| TCF12 | ENSG00000140262 | 转录因子 12 |
| TCN1 | ENSG00000134827 | 钴胺传递蛋白 I(维生素 B12 结合蛋白, R 结合蛋白家族) |
| TCN2 | ENSG00000185339 | 钴胺传递蛋白 II |
| TCTN1 | ENSG00000204852 | 构造家庭成员 1 |
| TCTN3 | ENSG00000119977 | 构造家庭成员 3 |
| TDP2 | ENSG00000111802 | 酪氨酰-DNA 磷酸二酯酶 2 |
| TEK | ENSG00000120156 | TEK 酪氨酸激酶, 内皮细胞 |
| TEPP | ENSG00000159648 | 睾丸、前列腺和胎盘表达 |
| TEX101 | ENSG00000131126 | 睾丸表达 101 |
| TEX264 | ENSG00000164081 | 睾丸表达 264 |
| TF | ENSG00000091513 | 转铁蛋白 |
| TFAM | ENSG00000108064 | 转录因子 A, 线粒体 l |
| TFF1 | ENSG00000160182 | 三叶因子 1 |
| TFF2 | ENSG00000160181 | 三叶因子 2 |
| TFF3 | ENSG00000160180 | 三叶因子 3 (肠) |
| TFPI | ENSG00000003436 | 组织因子途径抑制剂(脂蛋白相关凝血抑制剂) |
| TFPI2 | ENSG00000105825 | 组织因子途径抑制剂 2 |
| TG | ENSG00000042832 | 甲状腺球蛋白 |
| TGFB1 | ENSG00000105329 | 转化生长因子, β1 |
| TGFB2 | ENSG00000092969 | 转化生长因子, β2 |

[0372]

| | | |
|---|---|---|
| TGFB3 | ENSG00000119699 | 转化生长因子, β3 |
| TGFBI | ENSG00000120708 | 转化生长因子, β-诱导, 68kDa |
| TGFBR1 | ENSG00000106799 | 转化生长因子, β 受体 1 |
| TGFBR3 | ENSG00000069702 | 转化生长因子, β 受体 III |
| THBS1 | ENSG00000137801 | 血小板反应蛋白 1 |
| THBS2 | ENSG00000186340 | 血小板反应蛋白 2 |
| THBS3 | ENSG00000169231 | 血小板反应蛋白 3 |
| THBS4 | ENSG00000113296 | 血小板反应蛋白 4 |
| THOC3 | ENSG00000051596 | THO 复合物 3 |
| THPO | ENSG00000090534 | 血小板生成素 |
| THSD4 | ENSG00000187720 | 血小板反应蛋白, I 型, 含结构域 4 |
| THY1 | ENSG00000154096 | Thy-1 细胞表面抗原 |
| TIE1 | ENSG00000066056 | 具有免疫球蛋白样和 EGF 样结构域的酪氨酸激酶 1 |
| TIMMDC1 | ENSG00000113845 | 含有内部线粒体膜结构域的转位酶 1 |
| TIMP1 | ENSG00000102265 | TIMP 金属肽酶抑制剂 1 |
| TIMP2 | ENSG00000035862 | TIMP 金属肽酶抑制剂 2 |
| TIMP3 | ENSG00000100234 | TIMP 金属肽酶抑制剂 3 |
| TIMP4 | ENSG00000157150 | TIMP 金属肽酶抑制剂 4 |
| TINAGL1 | ENSG00000142910 | 小管间质性肾炎抗原样 1 |
| TINF2 | ENSG00000092330 | TERF1 (TRF1)-相互作用核因子 2 |
| TLL2 | ENSG00000095587 | 类 Tolloid2 |
| TLR1 | ENSG00000174125 | Toll 样受体 1 |
| TLR3 | ENSG00000164342 | Toll 样受体 3 |
| TM2D2 | ENSG00000169490 | 含 TM2 结构域 2 |
| TM2D3 | ENSG00000184277 | 含 TM2 结构域 3 |
| TM7SF3 | ENSG00000064115 | 跨膜 7 超家族成员 3 |
| TM9SF1 | ENSG00000100926 | 跨膜 9 超家族成员 1 |
| TMCO6 | ENSG00000113119 | 跨膜和卷曲螺旋结构域 6 |
| TMED1 | ENSG00000099203 | 跨膜 p24 运输蛋白 1 |
| TMED2 | ENSG00000086598 | 跨膜 p24 运输蛋白 2 |
| TMED3 | ENSG00000166557 | 跨膜 p24 运输蛋白 3 |
| TMED4 | ENSG00000158604 | 跨膜 p24 运输蛋白 4 |
| TMED5 | ENSG00000117500 | 跨膜 p24 运输蛋白 5 |
| TMED7 | ENSG00000134970 | 跨膜 p24 运输蛋白 7 |
| TMED7-TICAM2 | ENSG00000251201 | TMED7-TICAM2 通读蛋白 |

[0373]

| | | |
|---|---|---|
| TMEM108 | ENSG00000144868 | 跨膜蛋白 108 |
| TMEM116 | ENSG00000198270 | 跨膜蛋白 116 |
| TMEM119 | ENSG00000183160 | 跨膜蛋白 119 |
| TMEM155 | ENSG00000164112 | 跨膜蛋白 155 |
| TMEM168 | ENSG00000146802 | 跨膜蛋白 168 |
| TMEM178A | ENSG00000152154 | 跨膜蛋白 178A |
| TMEM179 | ENSG00000258986 | 跨膜蛋白 179 |
| TMEM196 | ENSG00000173452 | 跨膜蛋白 196 |
| TMEM199 | ENSG00000244045 | 跨膜蛋白 199 |
| TMEM205 | ENSG00000105518 | 跨膜蛋白 205 |
| TMEM213 | ENSG00000214128 | 跨膜蛋白 213 |
| TMEM25 | ENSG00000149582 | 跨膜蛋白 25 |
| TMEM30C | ENSG00000235156 | 跨膜蛋白 30C |
| TMEM38B | ENSG00000095209 | 跨膜蛋白 38B |
| TMEM44 | ENSG00000145014 | 跨膜蛋白 44 |
| TMEM52 | ENSG00000178821 | 跨膜蛋白 52 |
| TMEM52B | ENSG00000165685 | 跨膜蛋白 52B |
| TMEM59 | ENSG00000116209 | 跨膜蛋白 59 |
| TMEM67 | ENSG00000164953 | 跨膜蛋白 67 |
| TMEM70 | ENSG00000175606 | 跨膜蛋白 70 |
| TMEM87A | ENSG00000103978 | 跨膜蛋白 87A |
| TMEM94 | ENSG00000177728 | 跨膜蛋白 94 |
| TMEM95 | ENSG00000182896 | 跨膜蛋白 95 |
| TMIGD1 | ENSG00000182271 | 含跨膜和免疫球蛋白结构域 1 |
| TMPRSS12 | ENSG00000186452 | 跨膜(C 端)蛋白酶，丝氨酸 12 |
| TMPRSS5 | ENSG00000166682 | 跨膜蛋白酶，丝氨酸 5 |
| TMUB1 | ENSG00000164897 | 含跨膜和泛素样结构域 1 |
| TMX2 | ENSG00000213593 | 硫氧还蛋白相关跨膜蛋白 2 |
| TMX3 | ENSG00000166479 | 硫氧还蛋白相关跨膜蛋白 3 |
| TNC | ENSG00000041982 | 腱生蛋白 C |
| TNFAIP6 | ENSG00000123610 | 肿瘤坏死因子，α-诱导蛋白 6 |
| TNFRSF11A | ENSG00000141655 | 肿瘤坏死因子受体超家族，成员 11a, NFKB 激活剂 |
| TNFRSF11B | ENSG00000164761 | 肿瘤坏死因子受体超家族，成员 11b |
| TNFRSF12A | ENSG00000006327 | 肿瘤坏死因子受体超家族，成员 12A |
| TNFRSF14 | ENSG00000157873 | 肿瘤坏死因子受体超家族，成员 14 |

[0374]

| | | |
|---|---|---|
| TNFRSF18 | ENSG00000186891 | 肿瘤坏死因子受体超家族，成员 18 |
| TNFRSF1A | ENSG00000067182 | 肿瘤坏死因子受体超家族，成员 1A |
| TNFRSF1B | ENSG00000028137 | 肿瘤坏死因子受体超家族，成员 1B |
| TNFRSF25 | ENSG00000215788 | 肿瘤坏死因子受体超家族，成员 25 |
| TNFRSF6B | ENSG00000243509 | 肿瘤坏死因子受体超家族，成员 6b，诱饵 |
| TNFSF11 | ENSG00000120659 | 肿瘤坏死因子(配体)超家族，成员 11 |
| TNFSF12 | ENSG00000239697 | 肿瘤坏死因子(配体)超家族，成员 12 |
| TNFSF12-TNFSF13 | ENSG00000248871 | TNFSF12-TNFSF13 通读蛋白 |
| TNFSF15 | ENSG00000181634 | 肿瘤坏死因子(配体)超家族，成员 15 |
| TNN | ENSG00000120332 | 腱生蛋白 N |
| TNR | ENSG00000116147 | 腱生蛋白 R |
| TNXB | ENSG00000168477 | 腱生蛋白 XB |
| TOMM7 | ENSG00000196683 | 外线粒体外膜 7 同系物的转位酶(酵母) |
| TOP1MT | ENSG00000184428 | 拓扑异构酶 (DNA) I，线粒体 1 |
| TOR1A | ENSG00000136827 | 扭转蛋白家族 1，成员 A (扭转蛋白 A) |
| TOR1B | ENSG00000136816 | 扭转蛋白家族 1，成员 B (扭转蛋白 B) |
| TOR2A | ENSG00000160404 | 扭转蛋白家族 2，成员 A |
| TOR3A | ENSG00000186283 | 扭转蛋白家族 3，成员 A |
| TPD52 | ENSG00000076554 | 肿瘤蛋白 D52 |
| TPO | ENSG00000115705 | 甲状腺过氧化物酶 |
| TPP1 | ENSG00000166340 | 三肽氨基肽酶 I |
| TPSAB1 | ENSG00000172236 | 类胰蛋白酶 α/β 1 |
| TPSB2 | ENSG00000197253 | 类胰蛋白酶 β 2 (基因/假基因) |
| TPSD1 | ENSG00000095917 | 类胰蛋白酶 δ1 |
| TPST1 | ENSG00000169902 | 酪氨酸蛋白磺基转移酶 1 |
| TPST2 | ENSG00000128294 | 酪氨酸蛋白磺基转移酶 2 |
| TRABD2A | ENSG00000186854 | 含 TraB 结构域 2A |
| TRABD2B | ENSG00000269113 | 含 TraB 结构域 2B |
| TREH | ENSG00000118094 | 海藻糖酶(刷状膜膜糖蛋白糖蛋白) |
| TREM1 | ENSG00000124731 | 在骨髓细胞上表达的触发受体 1 |
| TREM2 | ENSG00000095970 | 在骨髓细胞上表达的触发受体 2 |
| TRH | ENSG00000170893 | 促甲状腺激素释放激素 |
| TRIM24 | ENSG00000122779 | 含三结构域蛋白 24 |
| TRIM28 | ENSG00000130726 | 含三结构域蛋白 28 |
| TRIO | ENSG00000038382 | Trio Rho 鸟嘌呤核苷酸交换因子 |

[0375]

| | | |
|---|---|---|
| TRNP1 | ENSG00000253368 | TMF1-调节的核蛋白 1 |
| TSC22D4 | ENSG00000166925 | TSC22 结构域家族，成员 4 |
| TSHB | ENSG00000134200 | 甲状腺刺激激素，β |
| TSHR | ENSG00000165409 | 甲状腺刺激激素受体 |
| TSKU | ENSG00000182704 | Tsukushi，小富亮氨酸蛋白聚糖 |
| TSLP | ENSG00000145777 | 胸腺基质淋巴细胞生成素 |
| TSPAN3 | ENSG00000140391 | 四跨膜蛋白 3 |
| TSPAN31 | ENSG00000135452 | 四跨膜蛋白 31 |
| TSPEAR | ENSG00000175894 | 血小板反应蛋白型层粘连蛋白 G 结构域和 EAR 重复序列 |
| TTC13 | ENSG00000143643 | 三角形四肽重复结构域 13 |
| TTC19 | ENSG00000011295 | 三角形四肽重复结构域 19 |
| TTC9B | ENSG00000174521 | 三角形四肽重复结构域 9B |
| TTLL11 | ENSG00000175764 | 微管蛋白酪氨酸连接酶样家族成员 11 |
| TTR | ENSG00000118271 | 甲状腺素运载蛋白 |
| TWSG1 | ENSG00000128791 | 扭曲原肠胚 BMP 信号调节剂 1 |
| TXNDC12 | ENSG00000117862 | 含硫氧还蛋白结构域 12(内质网) |
| TXNDC15 | ENSG00000113621 | 含硫氧还蛋白结构域 15 |
| TXNDC5 | ENSG00000239264 | 含硫氧还蛋白结构域 5(内质网) |
| TXNRD2 | ENSG00000184470 | 硫氧还蛋白还原酶 2 |
| TYRP1 | ENSG00000107165 | 酪氨酸酶相关蛋白 1 |
| UBAC2 | ENSG00000134882 | 含 UBA 结构域 2 |
| UBALD1 | ENSG00000153443 | 含 UBA 样结构域 1 |
| UBAP2 | ENSG00000137073 | 泛素相关蛋白 2 |
| UBXN8 | ENSG00000104691 | UBX 结构域蛋白 8 |
| UCMA | ENSG00000165623 | 生长板的上部区域和软骨基质相关 |
| UCN | ENSG00000163794 | 尿皮质素 |
| UCN2 | ENSG00000145040 | 尿皮质素 2 |
| UCN3 | ENSG00000178473 | 尿皮质素 3 |
| UGGT2 | ENSG00000102595 | UDP-葡萄糖糖蛋白葡萄糖基转移酶 2 |
| UGT1A10 | ENSG00000242515 | UDP 葡萄糖醛酸转移酶 1 家族，多肽 A10 |
| UGT2A1 | ENSG00000173610 | UDP 葡萄糖醛酸转移酶 2 家族，多肽 A1，复合基因座 |
| UGT2B11 | ENSG00000213759 | UDP 葡萄糖醛酸转移酶 2 家族，多肽 B11 |
| UGT2B28 | ENSG00000135226 | UDP 葡萄糖醛酸转移酶 2 家族，多肽 B28 |
| UGT2B4 | ENSG00000156096 | UDP 葡萄糖醛酸转移酶 2 家族，多肽 B4 |

[0376]

| | | |
|---|---|---|
| UGT2B7 | ENSG00000171234 | UDP 葡萄糖醛酸转移酶 2 家族，多肽 B7 |
| UGT3A1 | ENSG00000145626 | UDP 糖基转移酶 3 家族，多肽 A1 |
| UGT3A2 | ENSG00000168671 | UDP 糖基转移酶 3 家族，多肽 A2 |
| UGT8 | ENSG00000174607 | UDP 糖基转移酶 8 |
| ULBP3 | ENSG00000131019 | UL16 结合蛋白 3 |
| UMOD | ENSG00000169344 | 尿调节素 |
| UNC5C | ENSG00000182168 | Unc-5 轴突生长诱向因子受体 C |
| UPK3B | ENSG00000243566 | 尿路斑块蛋白 3B |
| USP11 | ENSG00000102226 | 泛素特异性肽酶 11 |
| USP14 | ENSG00000101557 | 泛素特异性肽酶 14 (tRNA-鸟嘌呤转糖基酶) |
| USP3 | ENSG00000140455 | 泛素特异性肽酶 3 |
| UTS2 | ENSG00000049247 | 硬骨鱼紧张肽 2 |
| UTS2B | ENSG00000188958 | 硬骨鱼紧张肽 2B |
| UTY | ENSG00000183878 | 含普遍转录的四肽重复序列, Y 连接 |
| UXS1 | ENSG00000115652 | UDP-葡萄糖醛酸脱羧酶 1 |
| VASH1 | ENSG00000071246 | 血管抑制素 1 |
| VCAN | ENSG00000038427 | 多功能蛋白聚糖 |
| VEGFA | ENSG00000112715 | 血管内皮生长因子 A |
| VEGFB | ENSG00000173511 | 血管内皮生长因子 B |
| VEGFC | ENSG00000150630 | 血管内皮生长因子 C |
| VGF | ENSG00000128564 | VGF 神经生长因子可诱导 |
| VIP | ENSG00000146469 | 血管活性肠肽 |
| VIPR2 | ENSG00000106018 | 血管活性肠肽受体 2 |
| VIT | ENSG00000205221 | Vitrin |
| VKORC1 | ENSG00000167397 | 维生素 K 环氧化物还原酶复合物，亚基 1 |
| VLDLR | ENSG00000147852 | 极低密度脂蛋白受体 |
| VMO1 | ENSG00000182853 | 卵黄膜外层 1 同系物(鸡) |
| VNN1 | ENSG00000112299 | Vanin 1 |
| VNN2 | ENSG00000112303 | Vanin 2 |
| VNN3 | ENSG00000093134 | Vanin 3 |
| VOPP1 | ENSG00000154978 | 囊泡，在癌症中过度表达，促存活蛋白 1 |
| VPREB1 | ENSG00000169575 | 前 B 淋巴细胞 1 |
| VPREB3 | ENSG00000128218 | 前 B 淋巴细胞 3 |
| VPS37B | ENSG00000139722 | 液胞蛋白分选 37 同系物 B (酿酒酵母) |
| VPS51 | ENSG00000149823 | 液胞蛋白分选 51 同系物(酿酒酵母) |

[0377]

| | | |
|---|---|---|
| VSIG1 | ENSG00000101842 | 含 V 组和免疫球蛋白结构域 1 |
| VSIG10 | ENSG00000176834 | 含 V 组和免疫球蛋白结构域 10 |
| VSTM1 | ENSG00000189068 | 含 V 组和跨膜结构域 1 |
| VSTM2A | ENSG00000170419 | 含 V 组和跨膜结构域 2A |
| VSTM2B | ENSG00000187135 | 含 V 组和跨膜结构域 2B |
| VSTM2L | ENSG00000132821 | 含 V 组和跨膜结构域 2 样 |
| VSTM4 | ENSG00000165633 | 含 V 组和跨膜结构域 4 |
| VTN | ENSG00000109072 | 玻连蛋白 |
| VWA1 | ENSG00000179403 | 含血管性血友病因子 A 结构域 1 |
| VWA2 | ENSG00000165816 | 含血管性血友病因子 A 结构域 2 |
| VWA5B2 | ENSG00000145198 | 含血管性血友病因子 A 结构域 5B2 |
| VWA7 | ENSG00000204396 | 含血管性血友病因子 A 结构域 7 |
| VWC2 | ENSG00000188730 | 含血管性血友病因子 C 结构域 2 |
| VWC2L | ENSG00000174453 | 类含血管性血友病因子 C 结构域蛋白 2 |
| VWCE | ENSG00000167992 | 血管性血友病因子 C 和 EGF 结构域 |
| VWDE | ENSG00000146530 | 血管性血友病因子 D 和 EGF 结构域 |
| VWF | ENSG00000110799 | 血管性血友病因子 |
| WDR25 | ENSG00000176473 | WD 重复结构域 25 |
| WDR81 | ENSG00000167716 | WD 重复结构域 81 |
| WDR90 | ENSG00000161996 | WD 重复结构域 90 |
| WFDC1 | ENSG00000103175 | WAP 四-二硫键核心结构域 1 |
| WFDC10A | ENSG00000180305 | WAP 四-二硫键核心结构域 10A |
| WFDC10B | ENSG00000182931 | WAP 四-二硫键核心结构域 10B |
| WFDC11 | ENSG00000180083 | WAP 四-二硫键核心结构域 11 |
| WFDC12 | ENSG00000168703 | WAP 四-二硫键核心结构域 12 |
| WFDC13 | ENSG00000168634 | WAP 四-二硫键核心结构域 13 |
| WFDC2 | ENSG00000101443 | WAP 四-二硫键核心结构域 2 |
| WFDC3 | ENSG00000124116 | WAP 四-二硫键核心结构域 3 |
| WFDC5 | ENSG00000175121 | WAP 四-二硫键核心结构域 5 |
| WFDC6 | ENSG00000243543 | WAP 四-二硫键核心结构域 6 |
| WFDC8 | ENSG00000158901 | WAP 四-二硫键核心结构域 8 |
| WFIKKN1 | ENSG00000127578 | 含 WAP，卵泡抑素/kazal，免疫球蛋白，kunitz 和纺锤蛋白结构域 1 |
| WFIKKN2 | ENSG00000173714 | 含 WAP，卵泡抑素/kazal，免疫球蛋白，kunitz 和纺锤蛋白结构域 2 |

[0378]

| | | |
|---|---|---|
| WIF1 | ENSG00000156076 | WNT 抑制因子 1 |
| WISP1 | ENSG00000104415 | WNT1 诱导型信号通路蛋白 1 |
| WISP2 | ENSG00000064205 | WNT1 诱导型信号通路蛋白 2 |
| WISP3 | ENSG00000112761 | WNT1 诱导型信号通路蛋白 3 |
| WNK1 | ENSG00000060237 | WNK 赖氨酸缺乏蛋白激酶 1 |
| WNT1 | ENSG00000125084 | 无翼型 MMTV 整合位点家族，成员 1 |
| WNT10B | ENSG00000169884 | 无翼型 MMTV 整合位点家族，成员 10B |
| WNT11 | ENSG00000085741 | 无翼型 MMTV 整合位点家族，成员 11 |
| WNT16 | ENSG00000002745 | 无翼型 MMTV 整合位点家族，成员 16 |
| WNT2 | ENSG00000105989 | 无翼型 MMTV 整合位点家族成员 2 |
| WNT3 | ENSG00000108379 | 无翼型 MMTV 整合位点家族，成员 3 |
| WNT3A | ENSG00000154342 | 无翼型 MMTV 整合位点家族，成员 3A |
| WNT5A | ENSG00000114251 | 无翼型 MMTV 整合位点家族，成员 5A |
| WNT5B | ENSG00000111186 | 无翼型 MMTV 整合位点家族，成员 5B |
| WNT6 | ENSG00000115596 | 无翼型 MMTV 整合位点家族，成员 6 |
| WNT7A | ENSG00000154764 | 无翼型 MMTV 整合位点家族，成员 7A |
| WNT7B | ENSG00000188064 | 无翼型 MMTV 整合位点家族，成员 7B |
| WNT8A | ENSG00000061492 | 无翼型 MMTV 整合位点家族，成员 8A |
| WNT8B | ENSG00000075290 | 无翼型 MMTV 整合位点家族，成员 8B |
| WNT9A | ENSG00000143816 | 无翼型 MMTV 整合位点家族，成员 9A |
| WNT9B | ENSG00000158955 | 无翼型 MMTV 整合位点家族，成员 9B |
| WSB1 | ENSG00000109046 | 含 WD 重复序列和 SOCS 盒 1 |
| WSCD1 | ENSG00000179314 | 含 WSC 结构域 1 |
| WSCD2 | ENSG00000075035 | 含 WSC 结构域 2 |
| XCL1 | ENSG00000143184 | 趋化因子(C 基序)配体 1 |
| XCL2 | ENSG00000143185 | 趋化因子(C 基序)配体 2 |
| XPNPEP2 | ENSG00000122121 | X-脯氨酰氨肽酶(氨基肽酶 P)2，膜结合 |
| XXbac-BPG116M5.17 | ENSG00000244255 | |
| XXbac-BPG181M17.5 | ENSG00000248993 | |
| XXbac-BPG32J3.20 | ENSG00000204422 | |
| XXYLT1 | ENSG00000173950 | 木糖苷木糖基转移酶 1 |
| XYLT1 | ENSG00000103489 | 木糖基转移酶 I |
| XYLT2 | ENSG00000015532 | 木糖基转移酶 II |
| ZFYVE21 | ENSG00000100711 | 锌指，含 FYVE 结构域 21 |
| ZG16 | ENSG00000174992 | 酶原颗粒蛋白 16 |

[0379]

| | | |
|---|---|---|
| ZG16B | ENSG00000162078 | 酶原颗粒蛋白 16B |
| ZIC4 | ENSG00000174963 | Zic 家族成员 4 |
| ZNF207 | ENSG00000010244 | 锌指蛋白 207 |
| ZNF26 | ENSG00000198393 | 锌指蛋白 26 |
| ZNF34 | ENSG00000196378 | 锌指蛋白 34 |
| ZNF419 | ENSG00000105136 | 锌指蛋白 419 |
| ZNF433 | ENSG00000197647 | 锌指蛋白 433 |
| ZNF449 | ENSG00000173275 | 锌指蛋白 449 |
| ZNF488 | ENSG00000265763 | 锌指蛋白 488 |
| ZNF511 | ENSG00000198546 | 锌指蛋白 511 |
| ZNF570 | ENSG00000171827 | 锌指蛋白 570 |
| ZNF691 | ENSG00000164011 | 锌指蛋白 691 |
| ZNF98 | ENSG00000197360 | 锌指蛋白 98 |
| ZPBP | ENSG00000042813 | 透明带结合蛋白 |
| ZPBP2 | ENSG00000186075 | 透明带结合蛋白 2 |
| ZSCAN29 | ENSG00000140265 | 锌指和含 SCAN 结构域 29 |
| | | |

[0380] 在本公开的一些实施方案中，修饰T细胞以表达治疗蛋白，包括分泌的蛋白和分泌的人蛋白。在病症的方法的一些实施方案中，包含修饰以表达或分泌人蛋白的CAR-T细胞的组合物用于治疗凝血障碍。血液凝固通过称为凝血级联的多步骤过程发生。在外源性途径中，组织因子(也称为因子III或促凝血酶原激酶)与因子VII接触以形成激活的VIIa复合物。这启动了凝血蛋白酶级联系统，将无活性因子X转化成活性蛋白酶因子Xa，其与激活的因子V一起由凝血酶原(II)产生凝血酶(IIa)。在内源性途径中，胶原与高分子量激肽原、前激肽释放酶和因子XII形成复合物，导致因子XII转化为因子XIIa。因子XIIa将因子XI转化为因子XIa，因子XIa激活因子IX以生产因子IXa，其与FVIIIa一起形成tenase复合物，该tenase复合物激活因子X，其帮助将凝血酶原(II)转化为凝血酶(IIa)。凝血酶又导致血纤蛋白原(I)转化为血纤蛋白，血纤蛋白与因子XIIIa一起形成交联的血纤维蛋白凝块。许多凝血障碍是由于血液中参与凝血级联反应的分泌蛋白水平低下。凝血障碍会急剧增加受伤时离开身体的血液量，或导致在皮肤下或在重要器官中发生出血。这些病症经常是遗传性的。示例性但非限制性的由凝血因子缺乏引起的疾病包括血友病、血管性血友病和抗凝血酶III、蛋白质C或蛋白质S的缺乏。A型和B型血友病是X连锁的，并分别由凝血因子VIII和因子IX(FIX)的水平不足引起。C型血友病由因子XI不足引起。因子II、VII、X或XII缺乏也会导致出血性疾病。血管性血友病是由于血液中血管性血友病凝血因子的水平较低。在一些情况下，调节凝血的血液蛋白的缺乏会导致过度凝血。莱顿第五因子(Factor V Leiden)是一种遗传性疾病，其中因子V Leiden蛋白过度反应，导致血液凝结过于频繁或过多。抗凝血酶III、蛋白质C或蛋白质S(其帮助调节出血)的缺乏还可以导致过度凝血。目前，采用输血或输注缺失的凝血因子(替代疗法)来治疗诸如血友病的凝血障碍。但是，替代疗法的并发症

包括对凝血因子发展抗体、感染来自血液衍生的产品的感染病毒和关节损伤。因此需要附加的疗法。

[0381] 在本公开的一些实施方案中，修饰T细胞以表达治疗蛋白，包括分泌的蛋白和分泌的人蛋白。在病症的方法的一些实施方案中，包含被修饰以表达或分泌人蛋白的CAR-T细胞的组合物用于酶替代疗法。酶替代疗法典型地涉及静脉内输注治疗有效量的包含酶的组合物，该组合物平衡导致疾病症状的潜在的酶缺乏。因此以这种方式外源性提供缺失的酶活性。可以通过本公开的修饰T细胞治疗的示例性疾病包括但不限于溶酶体贮积症高雪病(葡糖脑苷脂酶)、法布里病、粘多糖贮积症I型(MPS I)、粘多糖贮积症II型(MPS II，或亨特综合征，由艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶缺乏引起)、粘多糖贮积症VI型(MPS VI，由芳基硫酸酯酶B缺乏引起)和庞皮病(或糖原贮积症II型，由酸性α-葡萄糖苷酶缺乏引起)。可以用酶替代疗法治疗的其它疾病包括但不限于腺苷脱氨酶(ADA)缺乏症、由于缺乏肝酶N-乙酰谷氨酸合成酶(NAGS)导致的高氨血症、低磷酸酯酶症、溶酶体酸性脂肪酶缺乏症、莫基奥综合征A、沃尔曼LAL溶酶体酸性脂肪酶缺乏症、A1AT(α1-抗胰蛋白酶)缺乏症和尿素循环障碍。在酶替代疗法期间向患者提供的酶包括但不限于α1-抗胰蛋白酶、β-葡糖脑苷脂酶、腺苷脱氨酶、α-半乳糖苷酶A、α-L-艾杜糖苷酸酶、艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶、N-乙酰半乳糖胺-6硫酸酯酶、N-乙酰半乳糖胺-4硫酸酯酶和溶酶体酸性脂肪酶。

[0382] 在本公开的一些实施方案中，修饰T细胞以表达治疗蛋白，包括分泌的蛋白和分泌的人蛋白。在病症的方法的一些实施方案中，包含被修饰以表达或分泌人蛋白的CAR-T细胞的组合物用于生产人抗体。在一些实施方案中，有待通过表达分泌蛋白质的修饰T细胞治疗的疾病是可以通过静脉内输注或注射抗体或抗体片段来治疗的疾病。基于抗体的疗法用于治疗除癌症之外的许多类型的疾病，包括基于免疫疾病如关节炎和哮喘，和感染，以及其它疾病。可以用本公开的修饰T细胞治疗的疾病的示例性但非限制性列表包括血小板凝集、艰难梭菌感染、类风湿性关节炎、克罗恩病、斑块状银屑病、银屑病关节炎、强直性脊柱炎、幼年特发性关节炎、阿尔茨海默病、败血症、多发性硬化、高胆固醇血症、全身性红斑狼疮、器官移植排斥的预防、病毒感染、哮喘、严重过敏性疾病、视网膜病、骨质疏松症、炎性肠病、炎性疾病、流感A、阵发性睡眠性血红蛋白尿、由革兰氏阴性菌引起的败血症、银屑病、侵入性念珠菌感染、溃疡性结肠炎、低胆固醇血、呼吸道合胞体病毒感染、局灶性节段性肾小球硬化、移植物抗宿主病、强直性脊柱炎、HIV感染、溃疡性结肠炎、自身免疫性疾病、慢性哮喘、青光眼手术后瘢痕形成减少、高胆固醇血症、白细胞病、系统性硬皮病、呼吸道合胞体病毒(预防)、红斑狼疮、1型糖尿病、炎症、绿脓杆菌感染、黄斑变性、炭疽、巨细胞病毒感染、呼吸道、皮肤与胃肠道炎症、全身性红斑狼疮、风湿病、葡萄膜炎、巨细胞病毒感染、皮肌炎、多肌炎、纤维变性、脉络膜和视网膜新血管形成、肌肉萎缩、金黄色葡萄球菌感染、狼疮肾炎、滤泡性淋巴瘤、慢性乙型肝炎和溃疡性结肠炎。

[0383] 输注修饰细胞作为过继细胞疗法

[0384] 在本公开的某些实施方案中，本公开的修饰细胞经由注射或静脉内输被注递送至患者。在某些实施方案中，治疗有效剂量的本公开的组合物或包含本公开的修饰细胞的组合物包含每次施用每千克患者体重$2\times10^5$至$5\times10^8$个细胞，或其任意范围、值或部分。

[0385] 在本公开的某些实施方案中，本公开的修饰细胞经由注射或静脉内输注被递送至患者。在某些实施方案中，治疗有效剂量的本公开的组合物或包含本公开的修饰细胞的组

合物包含每次施用每千克患者体重$0.2\times10^6$至$20\times10^6$个细胞。在某些实施方案中，治疗有效剂量的本公开的组合物或包含本公开的修饰细胞的组合物包含每次施用每千克患者体重$0.2\times10^6$个细胞、每次施用每千克患者体重$2\times10^6$个细胞、每次施用每千克患者体重$20\times10^6$个细胞、或其间的每次施用每千克患者体重任意个细胞。

[0386] 在本公开的某些实施方案中，本公开的修饰细胞经由注射或静脉内输注被递送至患者。在某些实施方案中，治疗有效剂量的本公开的组合物或包含本公开的修饰细胞的组合物包含每次施用每千克患者体重$1\times10^6$个细胞或大约$1\times10^6$个细胞。

[0387] 在本公开的某些实施方案中，本公开的修饰细胞经由注射或静脉内输注被递送至患者。在某些实施方案中，治疗有效剂量的本公开的组合物或包含本公开的修饰细胞的组合物包含每次施用每千克患者体重$3\times10^6$个细胞或大约$3\times10^6$个细胞。

[0388] 在本公开的某些实施方案中，本公开的修饰细胞经由注射或静脉内输注被递送至患者。在某些实施方案中，治疗有效剂量的本公开的组合物或包含本公开的修饰细胞的组合物包含每次施用每千克患者体重$0.7\times10^6$至$6.7\times10^6$个细胞。在某些实施方案中，治疗有效剂量的本公开的组合物或包含本公开的修饰细胞的组合物包含每次施用每千克患者体重$0.7\times10^6$个细胞、每次施用每千克患者体重$6.7\times10^6$个细胞或其间的每次施用每千克患者体重任意个细胞。

[0389] 在本公开的某些实施方案中，本公开的修饰细胞经由注射或静脉内输注被递送至患者。在某些实施方案中，治疗有效剂量的本公开的组合物或包含本公开的修饰细胞的组合物包含每次施用每千克患者体重$0.7\times10^6$至$16\times10^6$个细胞。在某些实施方案中，治疗有效剂量的本公开的组合物或包含本公开的修饰细胞的组合物包含每次施用每千克患者体重$0.7\times10^6$个细胞、每次施用每千克患者体重$2\times10^6$个细胞、每次施用每千克患者体重$6\times10^6$个细胞、每次施用每千克患者体重$10.7\times10^6$个细胞、每次施用每千克患者体重$16\times10^6$个细胞、或其间的每次施用每千克患者体重任意个细胞。

[0390] 在本公开的某些实施方案中，本公开的修饰细胞经由注射或静脉内输注被递送至患者。在某些实施方案中，治疗有效剂量的本公开的组合物或包含本公开的修饰细胞的组合物包含每次施用每千克患者体重$1.2\times10^6$至$7.1\times10^6$个细胞。在某些实施方案中，治疗有效剂量的本公开的组合物或包含本公开的修饰细胞的组合物包含每次施用每千克患者体重$1.2\times10^6$个细胞、每次施用每千克患者体重$7.1\times10^6$个细胞、或每次施用每千克患者体重任意数量的细胞。在某些实施方案中，治疗有效剂量的本公开的组合物或包含本公开的修饰细胞的组合物包含每次施用每千克患者体重$2\times10^6$至$3\times10^6$个细胞。

[0391] 在本公开的某些实施方案中，本公开的修饰细胞经由注射或静脉内输注被递送至患者。在某些实施方案中，治疗有效剂量的本公开的组合物或包含本公开的修饰细胞的组合物包含每次施用每千克患者体重$1106\times10^6$至$2106\times10^6$个细胞。在某些实施方案中，治疗有效剂量的本公开的组合物或包含本公开的修饰细胞的组合物包含每次施用每千克患者体重$1106\times10^6$个细胞、每次施用每千克患者体重$2106\times10^6$个细胞、或其间的每次施用每千克患者体重任意数量的细胞。在本公开的某些实施方案中，本公开的修饰细胞经由注射或静脉内输注被递送至患者。在某些实施方案中，治疗有效剂量的本公开的组合物或包含本公开的修饰细胞的组合物包含每次施用每千克患者体重$0.7\times10^6$至$1.3\times10^6$个细胞。在某些实施方案中，治疗有效剂量的本公开的组合物或包含本公开的修饰细胞的组合物包含每

次施用每千克患者体重$0.7\times10^6$个细胞、每次施用每千克患者体重$1.3\times10^6$个细胞、或其间的每次施用每千克患者体重任意数量的细胞。

[0392] 在本公开的某些实施方案中，本公开的修饰细胞经由注射或静脉内输注被递送至患者。在某些实施方案中，治疗有效剂量的本公开的组合物或包含本公开的修饰细胞的组合物包含单剂量或多剂量。在某些实施方案中，治疗有效剂量的本公开的组合物或包含本公开的修饰细胞的组合物包含分剂量。在某些实施方案中，治疗有效剂量的本公开的组合物或包含本公开的修饰细胞的组合物包含起始剂量和维持剂量。

[0393] 在本公开的某些实施方案中，该修饰细胞是T细胞，并且该T细胞可以在体外扩增或用可药用载体配制之前根据T细胞标记来分选。在一些实施方案中，可以使用CD8+和/或CD4+标记对修饰T细胞进行分选。

[0394] 核酸分子

[0395] 编码蛋白质支架的本公开的核酸分子可以为RNA的形式，如mRNA、hnRNA、tRNA或任何其它形式，或为DNA的形式，包括但不限于cDNA和通过克隆获得或合成产生的基因组DNA，或其任意组合。该DNA可以是三链、双链或单链的，或其任意组合。该DNA或RNA的至少一个链的任意部分可以是编码链，也称为有义链，或者其可以是非编码链，也称为反义链。

[0396] 本公开的分离的核酸分子可以包括包含开放阅读框(ORF)的核酸分子，任选具有一个或多个内含子，例如但不限于至少一个蛋白质支架的至少一个特定部分；包含蛋白质支架或结合到靶蛋白的的环区的编码序列的核酸分子；和包含基本不同于上述那些的核苷酸序列，但由于遗传密码的简并性仍编码本文中所述和/或现有技术中已知的蛋白质支架、Centyrin、CAR、CARTyrin、转座子和/或转座酶的核酸分子。当然，遗传密码在本领域中是公知的。因此，生成编码本发明的特定蛋白质支架的此类简并的核酸变体对本领域技术人员而言是常规的。参见例如在前的Ausubel等人，并且此类核酸变体包括在本发明中。

[0397] 如本文中所示，包含编码蛋白质支架、Centyrin、CAR、CARTyrin、转座子和/或转座酶的核酸的本公开的核酸分子可以包括但不限于自身编码蛋白质支架、Centyrin、CAR、CARTyrin、转座子和/或转座酶片段的氨基酸序列的那些；整个蛋白质支架、Centyrin、CAR、CARTyrin、转座子和/或转座酶或其一部分的编码序列；蛋白质支架、Centyrin、CAR、CARTyrin、转座子和/或转座酶、片段或部分的编码序列，以及附加序列，如至少一个信号先导序列或融合肽的编码序列，具有或不具有上述附加编码序列，如至少一个内含子，以及附加的非编码序列，包括但不限于非编码5'和3'序列，如在转录、mRNA加工中起作用的转录的、非翻译的序列，包括剪接和多腺苷酸化信号(例如，mRNA的核糖体结合与稳定性)；编码附加氨基酸(如提供附加功能的那些)的附加编码序列。因此，编码蛋白质支架、Centyrin、CAR、CARTyrin、转座子和/或转座酶的序列可以融合到标记序列上，如编码有助于融合的蛋白质支架、Centyrin、CAR、CARTyrin、转座子和/或包含蛋白质支架片段或部分的转座酶的纯化的肽的序列。

[0398] 核酸的构建

[0399] 如本领域中公知的那样，可以使用(a)重组方法、(b)合成技术、(c)纯化技术和/或(d)其组合制备本公开的分离核酸。

[0400] 除了本发明的多核苷酸之外，核酸可以方便地包含序列。例如，可以将包含一个或多个核酸内切酶限制位点的多克隆位点插入该核酸中以帮助多核苷酸的分离。并且，可以

插入可翻译序列以帮助分离本公开的翻译的多核苷酸。例如，六组氨酸标记序列提供了纯化本公开的蛋白的方便的手段。本公开的核酸(不包括编码序列)任选是用于克隆和/或表达本公开的多核苷酸的载体、衔接子或接头。

[0401] 可以向此类克隆和/或表达序列中加入附加序列以优化它们在克隆和/或表达中的功能、帮助分离多核苷酸、或改善向细胞中引入该多核苷酸。克隆载体、表达载体、衔接子和接头的使用是在本领域中是公知的(参见例如在前的Ausubel；或在前的Sambrook)。

[0402] 用于构建核酸的重组法

[0403] 本公开的分离的核酸组合物，如RNA、cDNA、基因组DNA或其任意组合，可以使用任意数量的本领域技术人员已知的克隆方法由生物来源获得。在一些实施方案中，在严格条件下与本发明的多核苷酸选择性杂交的寡核苷酸探针用于鉴定cDNA或基因组DNA文库中的所需序列。RNA的分离以及cDNA和基因组文库的构建是本领域普通技术人员熟知的(参见例如在前的Ausubel；或在前的Sambrook)。

[0404] 载体和宿主细胞

[0405] 本公开还涉及包括本公开的分离的核酸分子的载体、用重组载体基因改造过的宿主细胞以及通过重组技术(如本领域中公知的那样)生产至少一种蛋白质支架。参见例如在前的Sambrook等人；在前的Ausubel等人，各自经此引用全文并入本文。

[0406] 例如，可以使用PB-EF1a载体。该载体包含下列核苷酸序列：

[0407] tgtacatagattaaccctagaaagataatcatattgtgacgtacgttaaagataatcatgcgtaaaattgacgcatgtgttttatcggtctgtatatcgaggtttatttattaatttgaatagatattaagttttattatatttacacttacatactaataataaattcaacaaacaatttatttatgtttatttatttattaaaaaaaaacaaaaactcaaaatttcttctataaagtaacaaaacttttatcgaatacctgcagcccgggggatgcagagggacagccccccccaaagccccccagggatgtaattacgtccctcccccgctaggggcagcagcgagccgcccggggctccgctccggtccggcgctcccccccgcatccccgagccggcagcgtgcggggacagcccgggcacggggaaggtggcacgggatcgctttcctctgaacgcttctcgctgctctttgagcctgcagacacctgggggggatacggggaaaagttgactgtgccttcgatcgaaccatggacagttagctttgcaaagatggataaagttttaaacagagaggaatctttgcagctaatggaccttctaggtcttgaaaggagtgggaattggctccggtgcccgtcagtgggcagagcgcacatcgcccacagtccccgagaagttgggggggaggggtcggcaattgaaccggtgcctagagaaggtggcgcggggtaaactgggaaagtgatgtcgtgtactggctccgccttttcccgagggtgggggagaaccgtatataagtgcagtagtcgccgtgaacgttctttttcgcaacgggtttgccgccagaacacaggtaagtgccgtgtgtggttcccgcgggcctggcctctttacggttatggcccttgcgtgccttgaattacttccacctggctgcagtacgtgattcttgatcccgagcttcgggttggaagtgggtgggagagttcgaggccttgcgcttaaggagccccttcgcctcgtgcttgagttgaggcctggcctggggcgctggggccgccgcgtgcgaatctggtggcaccttcgcgcctgtctcgctgctttcgataagtctctagccatttaaaatttttgatgacctgctgcgacgcttttttttctggcaagatagtcttgtaaatgcgggccaagatctgcacactggtatttcggttttttgggggccgcgggcggcgacgggggcccgtgcgtcccagcgcacatgttcggcgaggcggggcctgcgagcgcggccaccgagaatcggacgggggtagtctcaagctggccggcctgctctggtgcctggcctcgcgccgccgtgtatcgccccgccctgggcggcaaggctggcccggtcggcaccagttgcgtgagcggaaagatggccgcttcccggccctgctgcagggagctcaaaatggaggacgcggcgctcgggagagcgggcgggtgagtcacccacacaaaggaaaagggcctttccgtcctcagccgtcgcttcatgtgactccacggagtaccgggcgccgtccaggcacctcgattagttctcgagcttttggagtacgtcgtctttaggttgggggggaggggttttatgcgatggagtttccccaca

ctgagtgggtggagactgaagttaggccagcttggcacttgatgtaattctccttggaatttgccctttttgagtt
tggatcttggttcattctcaagcctcagacagtggttcaaagtttttttcttccatttcaggtgtcgtgagaattc
taatacgactcactatagggtgtgctgtctcatcattttggcaaagattggccaccaagcttgtcctgcaggaggg
tcgacgcctctagacgggcggccgctccggatccacgggtaccgatcacatatgcctttaattaaacactagttct
atagtgtcacctaaattccctttagtgagggttaatggccgtaggccgccagaattgggtccagacatgataagat
acattgatgagtttggacaaaccacaactagaatgcagtgaaaaaaatgctttatttgtgaaatttgtgatgctat
tgctttatttgtaaccattataagctgcaataaacaagttaacaacaacaattgcattcattttatgtttcaggtt
cagggggaggtgtgggaggtttttcggactctaggacctgcgcatgcgcttggcgtaatcatggtcatagctgtt
tcctgttttccccgtatccccccaggtgtctgcaggctcaaagagcagcgagaagcgttcagaggaaagcgatccc
gtgccaccttccccgtgcccgggctgtccccgcacgctgccggctcggggatgcgggggggagcgccggaccggagc
ggagccccgggcggctcgctgctgccccctagcgggggagggacgtaattacatccctgggggctttgggggggggg
ctgtccctctcaccgcggtggagctccagcttttgttcgaattggggccccccctcgagggtatcgatgatatcta
taacaagaaaatatatatataataagttatcacgtaagtagaacatgaaataacaatataattatcgtatgagtta
aatcttaaaagtcacgtaaaagataatcatgcgtcattttgactcacgcggtcgttatagttcaaaatcagtgaca
cttaccgcattgacaagcacgcctcacgggagctccaagcggcgactgagatgtcctaaatgcacagcgacggatt
cgcgctatttagaaagagagagcaatatttcaagaatgcatgcgtcaattttacgcagactatctttctagggtta
atctagctagccttaagggcgcctattgcgttgcgctcactgcccgctttccagtcgggaaacctgtcgtgccagc
tgcattaatgaatcggccaacgcgcggggagaggcggtttgcgtattgggcgctcttccgcttcctcgctcactga
ctcgctgcgctcggtcgttcggctgcggcgagcggtatcagctcactcaaaggcggtaatacggttatccacagaa
tcaggggataacgcaggaaagaacatgaccaaaatcccttaacgtgagttttcgttccactgagcgtcagaccccg
tagaaaagatcaaaggatcttcttgagatccttttttctgcgcgtaatctgctgcttgcaaacaaaaaaaccaccc
gctaccagcggtggtttgtttgccggatcaagagctaccaactcttttccgaaggtaactggcttcagcagagcg
cagataccaaatactgttcttctagtgtagccgtagttaggccaccacttcaagaactctgtagcaccgcctacat
acctcgctctgctaatcctgttaccagtggctgctgccagtggcgataagtcgtgtcttaccgggttggactcaag
acgatagttaccggataaggcgcagcggtcgggctgaacgggggttcgtgcacacagcccagcttggagcgaacg
acctacaccgaactgagatacctacagcgtgagctatgagaaagcgccacgcttcccgaagggagaaaggcggaca
ggtatccggtaagcggcagggtcggaacaggagagcgcacgagggagcttccagggggaaacgcctggtatcttta
tagtcctgtcgggtttcgccacctctgacttgagcgtcgatttttgtgatgctcgtcaggggggcggagcctatgg
aaaaacgccagcaacgcggccttttacggttcctggccttttgctggccttttgctcacatgagattatcaaaaa
ggatcttcacctagatccttttaaattaaaaatgaagttttaaatcaatctaaagtatatatgagtaaacttggtc
tgacagtcagaagaactcgtcaagaaggcgatagaaggcgatgcgctgcgaatcgggagcggcgataccgtaaagc
acgaggaagcggtcagcccattcgccgccaagctcttcagcaatatcacgggtagccaacgctatgtcctgatagc
ggtccgccacacccagccggccacagtcgatgaatccagaaaagcggccattttccaccatgatattcggcaagca
ggcatcgccatgggtcacgacgagatcctcgccgtcgggcatgctcgccttgagcctggcgaacagttcggctggc
gcgagcccctgatgctcttcgtccagatcatcctgatcgacaagaccggcttccatccgagtacgtgctcgctcga
tgcgatgtttcgcttggtggtcgaatgggcaggtagccggatcaagcgtatgcagccgccgcattgcatcagccat
gatggatactttctcggcaggagcaaggtgagatgacaggagatcctgccccggcacttcgcccaatagcagccag
tcccttcccgcttcagtgacaacgtcgagcacagctgcgcaaggaacgcccgtcgtggccagccacgatagccgcg
ctgcctcgtcttgcagttcattcagggcaccggacaggtcggtcttgacaaaaagaaccgggcgcccctgcgctga

cagccggaacacggcggcatcagagcagccgattgtctgttgtgcccagtcatagccgaatagcctctccacccaagcggccggagaacctgcgtgcaatccatcttgttcaatcataatattattgaagcatttatcagggttcgtctcgtcccggtctcctcccaatgcatgtcaatattggccattagccatattattcattggttatatagcataaatcaatattggctattggccattgcatacgttgtatctatatcataata(SEQ ID NO:35)。

[0408] 该多核苷酸可以任选连接到含有可选择的标记的载体上以便在宿主中繁殖。通常,将质粒载体引入沉淀物中,如磷酸钙沉淀物,或在与带电荷的脂质的复合物中。如果该载体是病毒,其可以使用合适的包装细胞系在体外包装,并随后转导到宿主细胞中。

[0409] DNA插入物应可操作地与适当的启动子连接。表达构建体将进一步含有用于转录起始、终止的位点,并在转录区中含有用于翻译的核糖体结合位点。通过该构建体表达的成熟转录物的编码部分优选包括在开始时的翻译启动和适当地位于待翻译的mRNA末端的终止密码子(例如UAA、UGA或UAG),UAA和UAG对哺乳动物或真核细胞表达是优选的。

[0410] 表达载体将优选但任选包括至少一种可选择的标记。此类标记包括例如但不限于氨苄青霉素、争光霉素(Sh bla基因)、嘌呤霉素(pac基因)、潮霉素B(hygB基因)、G418/遗传霉素(neo基因)、霉酚酸或谷氨酰胺合成酶(GS,美国专利号5,122,464;5,770,359;5,827,739)、杀稻瘟素(bsd基因)、对真核细胞培养物以及氨苄青霉素、争光霉素(Sh bla基因)、嘌呤霉素(pac基因)、潮霉素B(hygB基因)、G418/遗传霉素(neo基因)、卡那霉素、壮观霉素、链霉素、羧苄青霉素、博莱霉素、红霉素、多粘菌素B的抗性基因,或用于在大肠杆菌和其它细菌或原核生物中培养的四环素抗性基因(上述专利均经此引用全文并入本文)。对上述宿主细胞的适当的培养基和条件在本领域中是已知的。合适的载体对本领域技术人员来说是显而易见。向宿主细胞中引入载体构建体可以通过磷酸钙转染、DEAE-葡聚糖介导的转染、阳离子脂质介导的转染、电穿孔、转导、感染或其它已知方法来实现。此类方法在本领域中有所描述,如在前的Sambrook,第1-4和16-18章;在前的Ausubel,第1、9、13、15、16章。

[0411] 表达载体将优选但任选包括至少一种可选择的细胞表面标记以便分离通过本公开的组合物和方法修饰的细胞。本公开的可选择的细胞表面标记包含表面蛋白、糖蛋白或区分细胞或细胞亚群与另一限定的细胞亚群的蛋白质组。该可选择的细胞表面标记优选区分那些通过本公开的组合物或方法修饰的细胞与那些未通过本公开的组合物或方法修饰的细胞。此类细胞表面标记包括例如但不限于“指定簇”或“分类决定簇”蛋白(通常缩写为“CD”)如截短或全长形式的CD19、CD271、CD34、CD22、CD20、CD33、CD52或其任意组合。细胞表面标记进一步包括自杀基因标记RQR8(Philip B等人Blood.2014年8月21日;124(8):1277-87)。

[0412] 表达载体将优选但任选包括至少一种可选择的抗药性标记以便分离通过本公开的组合物和方法修饰的细胞。本公开的可选择的抗药性标记可以包含野生型或突变体Neo、DHFR、TYMS、FRANCF、RAD51C、GCS、MDR1、ALDH1、NKX2.2或其任意组合。

[0413] 本公开的至少一种蛋白质支架可以以修饰形式表达,如融合蛋白,并且不仅可以包括分泌信号,还可以包括附加的异源功能区。例如,可以向蛋白质支架的N端添加附加氨基酸特别是带电荷的氨基酸的区域以便在纯化过程中或在后续处理和储存过程中改善在宿主细胞中的稳定性和持久性。此外,可以向本公开的蛋白质支架增加肽部分以有助于纯化。此类区域可以在最终制备蛋白质支架或其至少一个片段之前去除。此类方法描述在许多标准实验室手册中,如在前的Sambrook,第17.29-17.42和18.1-18.74章;在前的

Ausubel,第16、17和18章。

[0414] 本领域普通技术人员在可用于表达编码本公开的蛋白质的核酸的多种表达系统方面有着丰富的知识。或者,本公开的核酸可以通过在含有编码本公开的蛋白质支架的内源DNA的宿主细胞中开启(通过操作)以便在宿主细胞中表达。此类方法在本领域中是公知的,例如描述在美国专利号5,580,734、5,641,670、5,733,746和5,733,761中,其经此引用全文并入本文。

[0415] 可用于产生蛋白质支架、其特定部分或变体的细胞培养物的示例是本领域中已知的细菌、酵母和哺乳动物细胞。哺乳动物细胞系统常常为细胞单层形式,尽管也可以使用哺乳动物细胞悬浮液或生物反应器。在本领域中已经开发了大量能够表达完整的糖基化蛋白的合适的宿主细胞系,包括COS-1(例如ATCC CRL 1650)、COS-7(例如ATCC CRL-1651)、HEK293、BHK21(例如ATCC CRL-10)、CHO(例如ATCC CRL 1610)和BSC-1(例如ATCC CRL-26)细胞系、Cos-7细胞、CHO细胞、hep G2细胞、P3X63Ag8.653、SP2/0-Ag14、293细胞、HeLa细胞等等,其可以容易地获自例如American Type Culture Collection,Manassas,Va.(www.atcc.org)。优选的宿主细胞包括淋巴来源的细胞,如骨髓瘤和淋巴瘤细胞。特别优选的宿主细胞是P3X63Ag8.653细胞(ATCC登记号CRL-1580)和SP2/0-Ag14细胞(ATCC登记号CRL-1851)。在一个特别优选的实施方案中,该重组细胞是P3X63Ab8.653或SP2/0-Ag14细胞。

[0416] 这些细胞的表达载体可以包括以下表达控制序列中的一种或多种,例如但不限于复制起点;启动子(例如晚期或早期SV40启动子、CMV启动子(美国专利号5,168,062;5,385,839)、HSV tk启动子、pgk(磷酸甘油酸激酶)启动子)、EF-1α启动子(美国专利号5,266,491)、至少一种人启动子);增强子和/或加工信息位点,如核糖体结合位点、RNA剪接位点、聚腺苷酸化位点(例如SV40大T Ag poly A添加位点)和转录终止子序列。参见例如在前的Ausubel等人;在前的Sambrook,等人。可用于生产本发明的核酸或蛋白质的其它细胞是已知的和/或可获自例如美国典型培养物保藏中心细胞系和杂交瘤目录(American Type Culture Collection Catalogue of Cell Lines and Hybridomas)(www.atcc.org)或其它已知或商业来源。

[0417] 当使用真核宿主细胞时,通常向载体中并入多腺苷酸化或转录终止子序列。终止子序列的一个实例是来自牛生长激素基因的多腺苷酸化序列。还可以包括用于准确剪接转录物的序列。剪接序列的一个实例是来自SV40的VP1内含子(Sprague等人,J.Virol.45:773-781(1983))。此外,如本领域中已知的那样,可以向载体中并入在宿主细胞中控制复制的基因序列。

[0418] 蛋白质支架的纯化

[0419] 可以通过公知的方法从重组细胞培养物中回收和纯化蛋白质支架,所述方法包括但不限于蛋白A纯化、硫酸铵或乙醇沉淀、酸提取、阴离子或阳离子交换层析、磷酸纤维素层析、疏水相互作用层析、亲和层析、羟基磷灰石层析和凝集素层析。高效液相色谱法("HPLC")也可用于纯化。参见例如Colligan,Current Protocols in Immunology,或Current Protocols in Protein Science,John Wiley&Sons,NY,N.Y.,(1997-2001),例如第1、4、6、8、9、10章,各自经此引用全文并入本文。

[0420] 本公开的蛋白质支架包括天然纯化的产物、化学合成程序的产物、以及通过重组

技术由原核或真核宿主产生的产物，所述宿主例如大肠杆菌、酵母、高等植物、昆虫和哺乳动物细胞。取决于在重组生产程序中使用的宿主，本公开的蛋白质支架可以是糖基化的或可以是非糖基化的。此类方法描述在许多标准实验室手册中，如Sambrook,同上,第17.37-17.42节;Ausubel,同上,第10、12、13、16、18和20章,Colligan,Protein Science,同上,第12-14章,全部均经此引用全文并入本文。

[0421] 变体

[0422] 构成本公开的蛋白质支架的氨基酸常常是缩写的。如本领域中熟知的那样，氨基酸命名可以通过由其单字母代码、其三字母代码、名称、或三个核苷酸密码子指定氨基酸来表示(参见Alberts,B.等人,Molecular Biology of The Cell,第三版,Garland Publishing,Inc.,New York,1994)。如本文中规定，本公开的蛋白质支架可以包括一个或多个氨基酸置换、缺失或增加，其来自天然突变或人工操作。可以通过本领域中已知的方法鉴定本公开的蛋白质支架中对功能至关重要的氨基酸，如定点突变或丙氨酸扫描诱变(例如Ausubel,同上,第8、15章;Cunningham and Wells,Science 244:1081-1085(1989))。后一种程序在分子中的每一残基处引入单丙氨酸突变。所得突变分子随后被测试生物活性，例如但不限于至少一种中和活性。对蛋白质支架结合至关重要的位点也可以通过结构分析来鉴定，如结晶、核磁共振或光亲和标记(Smith等人,J.Mol.Biol.224:899-904(1992)和de Vos等人,Science 255:306-312(1992))。

[0423] 本公开通篇中所用的术语“基本互补”是指在8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、180、270、360、450、540或更多核苷酸或氨基酸的区域上与第二序列的补体至少60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、97％、98％或99％相同的第一序列，或两个序列在严格杂交条件下杂交。

[0424] 本公开通篇中所用的术语“基本相同”是指第一和第二序列在8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、180、270、360、450、540或更多核苷酸或氨基酸的区域上至少60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、97％、98％或99％相同，或关于核酸，如果第一序列与第二序列的补体基本互补。

[0425] 本公开通篇中所用的术语“变体”当用于描述核酸时是指(i)参考核苷酸序列的一部分或片段;(ii)参考核苷酸序列或其部分的补体;(iii)与参考核酸或其补体基本相同的核酸;或(iv)在严格条件下与参考核酸、其补体或与其基本相同的序列杂交的核酸。

[0426] 本公开通篇中所用的术语“载体”是指含有复制起点的核酸序列。载体可以是病毒载体、噬菌体、细菌人工染色体或酵母人工染色体。载体可以是DNA或RNA载体。载体可以是自复制的染色体外载体，并优选是DNA质粒。

[0427] 本公开通篇中所用的术语“变体”当用于描述肽或多肽时是指通过氨基酸的插入、缺失或保存性置换而在氨基酸序列上不同、但保留至少一种生物学活性的肽或多肽。变体还可以是指具有与具有保留至少一种生物活性的氨基酸序列的参考蛋白质基本相同的氨基酸序列的蛋白质。

[0428] 氨基酸的保存性置换，即用类似性质(例如亲水性、带电荷区域的程度和分布)的不同氨基酸替换氨基酸在本领域中被认为典型地涉及微小的变化。如本领域中理解的那

样，这些微小的变化可以部分通过考虑氨基酸的亲水指数来鉴定(Kyte等人，J.Mol.Biol.157:105-132(1982))。氨基酸的亲水指数基于其疏水性和电荷的考虑。具有类似亲水指数的氨基酸可以置换并仍保留蛋白质功能。在一方面，具有±2的亲水指数的氨基酸被置换。氨基酸的亲水性还可用于揭示导致保留生物学功能的蛋白质的置换。在肽的背景下考虑氨基酸的亲水性允许计算该肽的最大局部平均亲水性——一个已经被报道与抗原性和免疫原性充分相关的有用量度。美国专利号4,554,101，经此引用全文并入本文。

[0429] 具有类似亲水性值的氨基酸的置换可以导致保留生物学活性(例如免疫原性)的肽。可以用亲水性值在彼此的±2以内的氨基酸进行置换。氨基酸的疏水性指数和亲水性值受该氨基酸的特定侧链影响。与观察结果一致，与生物学功能相容的氨基酸置换被理解为取决于氨基酸的相对相似性，特别是那些氨基酸的侧链，如通过疏水性、亲水性、电荷、尺寸和其它性质所揭示的那样。

[0430] 本文中所用的“保存性”氨基酸置换可以定义为显示在下表A、B或C中。在一些实施方案中，融合多肽和/或编码此类融合多肽的核酸包括已经通过修饰编码本发明的多肽的多核苷酸引入的保存性置换。氨基酸可以根据物理性质和对二级和三级蛋白质结构的贡献进行分类。保存性置换是一种氨基酸对具有类似性质的另一种氨基酸的置换。示例性的保存性置换显示在表A中。

[0431] 表A--保存性置换I

[0432]

| 侧链特性 | | 氨基酸 |
|---|---|---|
| 脂族的 | 非极性的 | GAPILVF |
| | 极性的 – 不带电荷 | CSTMNQ |
| | 极性的 – 带电荷 | DEKR |
| 芳族的 | | HFWY |
| 其它 | | NQDE |

[0433] 或者，保守氨基酸可以如Lehninger(Biochemistry,第二版;Worth Publishers,Inc.NY,N.Y.(1975),第71-77页)所述那样分组，如表B中所示。

[0434] 表B--保存性置换II

[0435]

| 侧链特性 | | 氨基酸 |
|---|---|---|
| 非极性的(疏水的) | 脂族的: | A L I V P |
| | 芳族的: | F W Y |
| | 含硫的: | M |
| | 边界: | G Y |
| 不带电荷的-极性的 | 羟基: | S T Y |
| | 酰胺: | N Q |
| | 巯基: | C |
| | 边界: | G Y |
| 带正电荷的(碱性的): | | K R H |
| 带负电荷的(酸性的): | | D E |

[0436] 或者,示例性的保存性置换显示在表C中。

[0437] 表C--保存性置换III

[0438]

| 原始残基 | 示例性的置换 |
|---|---|
| Ala (A) | Val Leu Ile Met |
| Arg (R) | Lys His |
| Asn (N) | Gln |
| Asp (D) | Glu |
| Cys (C) | Ser Thr |
| Gln (Q) | Asn |
| Glu (E) | Asp |
| Gly (G) | Ala Val Leu Pro |
| His (H) | Lys Arg |
| Ile (I) | Leu Val Met Ala Phe |
| Leu (L) | Ile Val Met Ala Phe |
| Lys (K) | Arg His |
| Met (M) | Leu Ile Val Ala |
| Phe (F) | Trp Tyr Ile |
| Pro (P) | Gly Ala Val Leu Ile |
| Ser (S) | Thr |
| Thr (T) | Ser |
| Trp (W) | Tyr Phe Ile |

[0439]

| | |
|---|---|
| Tyr (Y) | Trp Phe Thr Ser |
| Val (V) | Ile Leu Met Ala |

[0440] 应当理解的是，本公开的多肽意在包括带有氨基酸残基的一个或多个插入、缺失或置换或其任意组合以及氨基酸残基的除插入、缺失或置换之外的修饰的多肽。本公开的多肽或核酸可以含有一个或多个保存性置换。

[0441] 本公开通篇中所用的术语“超过一个”前述氨基酸置换是指2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个或更多所述氨基酸置换。术语“超过一个”可以是指2、3、4或5个所述氨基酸置换。

[0442] 本公开的多肽和蛋白质，无论是它们的整个序列还是其任意部分，可以是非天然存在的。本公开的多肽和蛋白质可以含有一个或多个并非天然存在的突变、置换、缺失或插入，使得整个氨基酸序列非天然存在。本公开的多肽和蛋白质可以含有一个或多个复制的、反向的或重复的序列，其所得序列不是天然存在的，使得整个氨基酸序列非天然存在。本公开的多肽和蛋白质可以含有修饰的、人造的或合成的氨基酸，其并非天然存在，使得整个氨基酸序列非天然存在。

[0443] 如本公开通篇中所用，“序列同一性”可以通过使用对两个序列进行比对(bl2seq)的独立可执行BLAST引擎程序来确定，该程序可以获自国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information)(NCBI)ftp站点，使用默认参数(Tatusova and Madden,FEMS Microbiol Lett.,1999,174,247-250;其经此引用全文并入本文)。术语“相同”或“同一性”当在两种或多种核酸或多肽序列的背景下使用时是指在每个序列的指定区域上相同的残基的规定百分比。该百分比可以通过以下方法来计算：最优对准两个序列，比较特定区域上的两个序列，确定两个序列中存在相同残基的位置的数量以获得匹配位置数，将匹配位置数除以指定区域中的总位置数，并将该结果乘以100以获得序列同一性的百分比。在其中两个序列具有不同长度或对准产生一个或多个错开的末端且指定的比较区域仅包括单个序列的情况下，单个序列的残基包括在分母中，但不包括在计算的分子中。当比较DNA和RNA时，胸腺嘧啶(T)和尿嘧啶(U)可以被认为是等同的。可以手工或通过使用计算机序列算法如BLAST或BLAST 2.0来进行识别。

## 实施例

[0444] 实施例1：干细胞样修饰T细胞的生产

[0445] 下面是用于修饰T细胞以便在诱导或保持希望的该T细胞的干细胞样特性的条件下表达嵌合抗原受体(CAR)的一种方案的说明性但非限制性的实例。

[0446] 第0天：T细胞的核转染

[0447] 在37℃、5％$CO_2$下的高湿度培养器中预热ImmunoCult™-XF T细胞扩增培养基(Stemcell Technologies,Cat#:10981)。对$5\times10^6$个T细胞/反应(小玻璃管大小为100μL)，在6孔板的单孔中加热3毫升培养基/反应。对$25\times10^6$个T细胞/反应(小玻璃管大小为100μL)，在G-Rex10(WilsonWolf,Cat#:80040S)中加热20毫升培养基/反应。

[0448] 将P3原代细胞溶液(Lonza,Cat#:PBP3-02250)加热至室温并在需要时添加补充

剂。

[0449] 打开4D-Nucleofector™System的核心单元(Lonza,Cat#:AAF-1002B),其控制X-单元(Lonza,Cat#:AAF-1002X)。编程使用P3缓冲剂所需的核转染数。Program EO-210。

[0450] 标记小玻璃管,预先打开移液管(随Lonza P3试剂盒提供),在处理细胞前制备适当稀释的核酸。

[0451] 对转座子质粒,制备在无核酸酶的$H_2O$中的0.5μg/μL溶液。

[0452] 计数使用CliniMACs Prodigy收集的CD14、CD56和CD19耗竭的细胞,并计算所需细胞数需要的体积。

[0453] 在Heraeus Multifuge X3R台式离心机(Thermofisher Scientific)上以7的制动在90g下离心T细胞10分钟。如果使用相同数量的细胞/反应进行多个反应,在单个离心管中离心所有所需细胞。根据体积可以使用15毫升(Fisher,Cat#:14-959-49B)或50毫升(Fisher,Cat#:14-959-49A)锥形管。在离心过程中,将核酸直接加入小玻璃管底部,该小玻璃管随P3原代细胞溶液盒(Lonza,Cat#:PBP3-02250)一起提供。向小玻璃管的一个底角中加入2μL步骤4中制备的0.5μg/μL转座子质粒溶液(总数1μg转座子)。向小玻璃管的另一角加入5μg的SuperpiggyBac™(SPB)转座酶mRNA。

[0454] 由于mRNA会快速降解,最好是尽量减少其与其它核酸溶液接触的时间,并由于可能存在核糖核酸酶在电穿孔前尽量减少与细胞接触的时间。这是为什么例如该转座子与转座酶被送至小玻璃管的相对角以防混合的原因。此外,最好保持核酸总体积小于总反应体积的10μL(10%)。

[0455] 无论细胞数/反应如何,转座子(1μg)和转座酶(5μg)的量都保持相同。转座效率在$5\times10^6$个细胞/100μL反应和$25\times10^6$个细胞/100μL反应之间保持不变。

[0456] 在离心后,完全吸出培养基而不搅动细胞沉淀。

[0457] 在含有补充剂/反应的100μL室温P3缓冲液中悬浮该细胞沉淀。

[0458] 将100μL在P3缓冲液中的细胞转移到含有适当核酸的小玻璃管中,最好注意不要向溶液中引入任何空气气泡。建议每次用细胞最多装载2小玻璃管。在向小玻璃管中加入细胞后,最好快速有效地工作以减少核转染之前mRNA与细胞的接触时间。虽然对于在P3缓冲液中静置最多10分钟的细胞没有观察到转座效率降低,建议尽量减少细胞保留在P3中的时间量。

[0459] 通过轻弹几次来混合小玻璃管内容物,并将最多两个小玻璃管装载到4D-Nucleofector™X-单元中。

[0460] 用程序EO-210脉冲处理细胞并确保机器没有错误记录。

[0461] 立即使用与Lonza P3试剂盒一起提供的移液管将核转染的细胞转移到6孔板或G-Rex10中。为了转移细胞,首先从6孔板或G-Rex烧瓶中将少量预热的培养基吸入移液管中。随后将培养基吸移到小玻璃管中,并用移液管将小玻璃管的所有内容物转移到最终的培养皿中。建议在小玻璃管或最终的培养皿中不要上下移取细胞。

[0462] 重复从将P3缓冲液中的细胞转移到含有适当核酸的小玻璃管中至混合、脉冲处理和将核转染细胞转移到6孔板或G-Rex10中的方案,以便进行任何剩余反应。

[0463] 将细胞放置在37℃、5%$CO_2$下的高湿度的培养器中。

[0464] 第2天:T细胞激活

[0465] 向核转染的细胞中加入25μL/mL的ImmunoCult™人CD3/CD28/CD2T细胞激活剂(Stemcell Technologies,Cat#:10970)。

[0466] 通过移液轻柔地混合细胞。

[0467] 将细胞放回37℃、5%$CO_2$下的高湿度的培养器。

[0468] 对于在G-Rex烧瓶中生长的细胞:至关重要的是,直到观察到可见细胞聚集之前不要搅动培养物。因此,建议将培养基添加和改变与细胞的破碎/混合/移液分离。

[0469] 培养基备注:为了在G-Rex烧瓶中生长细胞,应根据葡萄糖和其它代谢物水平进行培养基添加和/或改变。如果葡萄糖水平(或另一指示代谢物)降低至临界水平(例如～100mg/dL葡萄糖),应使用预热的ImmunoCult™-XF T细胞扩增培养基倍增和/或通过更换一半培养基来补充培养基体积。应缓慢进行培养基添加,并小心尽可能少破碎细胞。应当在机械破碎细胞培养物后至少12小时进行一半培养基的更换,以使细胞完全沉降到培养瓶底部。

[0470] 细胞取样和破碎:在大部分培养时间内细胞应保持不受搅动。

[0471] 在激活试剂添加后细胞培养物的首次破碎应当在形成大的可见细胞聚集物时发生(聚集物将量度可以在G-Rex膜上看到的格栅的3-4个正方形×3-4个正方形)。

[0472] 一旦细胞聚集物达到所需尺寸,可以使用10毫升血清移液管对它们进行机械破碎。该时间点可以发生在11-14天,取决于供体和转座效率。在某些情况下,该时间点可以在更接近第14天而不是第11天时发生,例如,当使用人工盒时,用于核转染的大体积和/或大细胞数量。为了进行细胞计数、活力和流动分析,应在该点收集细胞取样。理想地,此时培养基的体积不超过所用初始体积的两倍(对G-Rex100为200毫升)。建议一次性收集所有所需细胞,以便无需再次搅动细胞。

[0473] 一旦细胞被破碎,它们应该在其开始的相同体积的培养基中保持12小时不受搅动。细胞应在此时重新聚集;但是,聚集体将更小,数量更多。这些聚集体应在G-Rex膜格栅上测量1-2个正方形×1-2个正方形。

[0474] 在细胞首次破碎后三天(第14-17天,取决于培养物),可以将它们二次移液。为了进行细胞计数、活力和流式细胞术,应再次取样。再一次,细胞应在取样后至少12小时保持不被搅动。建议一次性收集所有所需细胞,从而无需再次搅动细胞。

[0475] 在该二次破碎后,细胞可能不会形成任何团块,细胞生长速率将显著放慢。

[0476] 应当在培养第17天至20天之间在细胞的二次破碎后3天进行细胞收获。

[0477] 流式细胞术

[0478] 应当在第5天、D日、D日+3和D日+6运行流动。

[0479] 对第5天、D日和D日+3使用CD45、CD4、CD8和CARTyrin流动面板

[0480] 对D日+6,存在3个目标面板:

[0481] a.面板1:CD3、CD8、CD4、CARTyrin、CD45RA、CD45RO、CD62L

[0482] b.面板2:CD3、CD8、CD4、CARTyrin、CD25、CXCR4、PD-1

[0483] c.面板3:CD45、CD14、CD20、CD56、CD8、CD4、CD3

[0484] 实施例2:CARTyrin+干细胞样记忆T细胞的功能表征

[0485] 本公开的CARTyrins可以使用编码该CARTyrin的质粒DNA转座子引入T细胞,所述质粒DNA转座子的侧翼是两个顺式调控隔离子元件以便通过阻断不适当的基因激活或沉默

来帮助稳定CARTyrin表达。

[0486] 在本公开的方法的某些实施方案中，该piggyBac™(PB)转座子系统可用于将抗原特异性(包括癌症抗原特异性)CARTyrin稳定整合到静息型全T细胞中，由此该转座子与mRNA转座酶一起，称为Super piggyBac™(SPB)，在单次电穿孔反应中共同递送。将piggyBac™转座子递送到未触及的静息型原代人全T细胞中导致20-30％的细胞具有PB递送的基因的稳定整合和表达。预料不到的是，大部分这些修饰的表达CARTyrin的T细胞对CD62L和CD45RA——通常与干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$细胞)相关的标记——的表达呈阳性。为了证实该表型在CAR-T细胞刺激和扩增时得以保留，经由刺激CD3和CD28来激活对CD62L和CD45RA的表达呈阳性的修饰的表达CARTyrin的T细胞。作为刺激CD3和CD28的结果，>60％的CARTyrin+T细胞表现出干细胞记忆表型。此外，表达对癌症抗原呈特异性的CARTyrin的这些细胞完全能够表达有效的抗肿瘤效应子功能。

[0487] 为了确定该PB系统是否直接有助于增强干细胞样标记(stem-like marker)的表达，比较了通过PB转座或慢病毒(LV)转导生成的CAR-T细胞的表型。为此，通过将CARTyrin转基因亚克隆到用于产生病毒的普通的LV构建体中来构建新的载体。在通过PB转座或LV转导将CARTyrin引入未触及的静息型T细胞中之后，将该$CARTyrin^+$细胞扩增并随后令其恢复到静息状态。测量了多种表型和功能特征，包括记忆和耗竭相关标记的动力学分析、响应内环境稳定的细胞因子或肿瘤相关Ag的二次增殖、细胞因子产生以及响应靶标肿瘤细胞的溶胞能力。不同于PB转座的$CARTyrin^+$T细胞，LV转导的$CARTyrin^+$T细胞没有表现出增强的记忆表型。此外，PB转座的细胞表现出相当或更大的二次增殖和杀灭靶标肿瘤细胞的能力。总之，这些数据表明，通过PB转座产生的CAR-T细胞主要是$T_{SCM}$细胞——在CAR-T领域中非常理想的产品表型。此外，这些$CARTyrin^+$T细胞表现出强抗肿瘤活性，并由于使用基于Centyrin的CAR产生了在体内持续更长时间的细胞，其不太可能发生固有的信号转导和功能耗竭。

[0488] 实施例3:睡美人转座主要产生$T_{SCM}$表型

[0489] 采用本公开的方法，睡美人(SB100X)转座主要产生$T_{SCM}$表型。分别如图10所示，使用1μg的睡美人或piggyBac转座子质粒和SB100x或SPB mRNA转座人全T细胞。在转座后，离体扩增细胞，使用药物选择系统耗尽所有非转座细胞。在培养18天后，细胞用表型标记CD4、CD8、CD45RA和CD62L染色。干细胞记忆表型($T_{SCM}$)通过CD45RA和CD62L双阳性细胞限定，并构成所有样品中细胞的>65％。

[0490] 实施例4:在修饰T细胞中表达因子IX

[0491] 因子IX的遗传缺陷(图11)导致一种危及生命的疾病，称为血友病B。血友病B是一种罕见疾病，发生频率为25,000至30,000人中大约一人。现有的血友病B治疗包括每2至3天输注重组因子IX蛋白，每年花费大约250,000美元。

[0492] 干细胞样记忆T细胞($T_{SCM}$细胞)在人体内维持数十年，因此是分泌因子IX的理想载体，补充在血友病B患者中缺失的因子IX而无需频繁输注。用PiggyBac转化T细胞以分泌因子IX。当使用FACS检查编码人因子IX转基因的转基因T细胞的T和$T_{SCM}$细胞标记时，所有细胞的大约80％显示$T_{SCM}$表型(图12)。这些修饰T细胞能够分泌人因子IX(图13A)，并且该分泌的因子IX提供凝血活性(图13B)。

[0493] 通过引用并入

[0494] 除非明确排除或以其它方式限制，本文中引用的每篇文献，包括任何交叉引用的

或相关的专利或申请，均经此引用全文并入本文。引用任何文献并非承认其是关于本文中公开或要求保护的任何发明的现有技术，或其单独或与任何其它参考文献组合教导、暗示或公开了任何此类发明。此外，如果本文件中术语的任何含义或定义与通过引用并入的文献中的相同术语的任何含义或定义相冲突，则以本文件中赋予该术语的含义或定义为准。

[0495] 其它实施方案

[0496] 虽然已经说明和描述了本公开的特定实施方案，但是在不脱离本公开的精神和范围的情况下，可以进行各种其它改变和修改。所附权利要求的范围包括在本公开范围内的所有这些改变和修改。

序列表

<110> Poseida 疗法
OSTERTAG, Eric
SHEDLOCK, Devon

<120> 修饰干细胞记忆T细胞、其生产方法与使用方法

<130> POTH-012/01WO

<150> 62/402,707
<151> 2016-09-30

<150> 62/553,058
<151> 2017-08-31

<150> 62/556,309
<151> 2017-09-08

<150> 62/502,508
<151> 2017-05-05

<160> 42

<170> 专利版本3.5

[0001]

<210> 1
<211> 89
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FN3 结构域共有序列

<400> 1

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

Leu Arg Leu Ser Trp Thr Ala Pro Asp Ala Ala Phe Asp Ser Phe Leu
20 25 30

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

Val Pro Gly Ser Glu Arg Ser Tyr Asp Leu Thr Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

Thr Glu Tyr Thr Val Ser Ile Tyr Gly Val Lys Gly Gly His Arg Ser
65 70 75 80

[0002]

Asn Pro Leu Ser Ala Glu Phe Thr Thr
85

<210> 2
<211> 90
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FN3 共有序列

<400> 2

Met Leu Pro Ala Pro Lys Asn Leu Val Val Ser Glu Val Thr Glu Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Trp Thr Ala Pro Asp Ala Ala Phe Asp Ser Phe
20 25 30

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

Thr Val Pro Gly Ser Glu Arg Ser Tyr Asp Leu Thr Gly Leu Lys Pro
50 55 60

Gly Thr Glu Tyr Thr Val Ser Ile Tyr Gly Val Lys Gly Gly His Arg
65 70 75 80

Ser Asn Pro Leu Ser Ala Glu Phe Thr Thr
85 90

<210> 3
<211> 270
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> FN3 共有序列

<400> 3
atgctgcctg caccaaagaa cctggtggtg tctcatgtga cagaggatag tgccagactg 60

tcatggactg ctcccgacgc agccttcgat agttttatca tcgtgtaccg ggagaacatc 120

gaaaccggcg aggccattgt cctgacagtg ccagggtccg aacgctctta tgacctgaca 180

gatctgaagc ccggaactga gtactatgtg cagatcgccg gcgtcaaagg aggcaatatc 240

agcttccctc tgtccgcaat cttcaccaca 270

<210> 4
<211> 594
<212> PRT
<213> 粉纹夜蛾

<400> 4

Met Gly Ser Ser Leu Asp Asp Glu His Ile Leu Ser Ala Leu Leu Gln
1 5 10 15

Ser Asp Asp Glu Leu Val Gly Glu Asp Ser Asp Ser Glu Ile Ser Asp
20 25 30

His Val Ser Glu Asp Asp Val Gln Ser Asp Thr Glu Glu Ala Phe Ile
35 40 45

Asp Glu Val His Glu Val Gln Pro Thr Ser Ser Gly Ser Glu Ile Leu
50 55 60

Asp Glu Gln Asn Val Ile Glu Gln Pro Gly Ser Ser Leu Ala Ser Asn
65 70 75 80

[0003]

Arg Ile Leu Thr Leu Pro Gln Arg Thr Ile Arg Gly Lys Asn Lys His
85 90 95

Cys Trp Ser Thr Ser Lys Ser Thr Arg Arg Ser Arg Val Ser Ala Leu
100 105 110

Asn Ile Val Arg Ser Gln Arg Gly Pro Thr Arg Met Cys Arg Asn Ile
115 120 125

Tyr Asp Pro Leu Leu Cys Phe Lys Leu Phe Phe Thr Asp Glu Ile Ile
130 135 140

Ser Glu Ile Val Lys Trp Thr Asn Ala Glu Ile Ser Leu Lys Arg Arg
145 150 155 160

Glu Ser Met Thr Gly Ala Thr Phe Arg Asp Thr Asn Glu Asp Glu Ile
165 170 175

Tyr Ala Phe Phe Gly Ile Leu Val Met Thr Ala Val Arg Lys Asp Asn
180 185 190

His Met Ser Thr Asp Asp Leu Phe Asp Arg Ser Leu Ser Met Val Tyr
195 200 205

Val Ser Val Met Ser Arg Asp Arg Phe Asp Phe Leu Ile Arg Cys Leu
210 215 220

Arg Met Asp Asp Lys Ser Ile Arg Pro Thr Leu Arg Glu Asn Asp Val
225 230 235 240

Phe Thr Pro Val Arg Lys Ile Trp Asp Leu Phe Ile His Gln Cys Ile
245 250 255

Gln Asn Tyr Thr Pro Gly Ala His Leu Thr Ile Asp Glu Gln Leu Leu
260 265 270

Gly Phe Arg Gly Arg Cys Pro Phe Arg Met Tyr Ile Pro Asn Lys Pro
275 280 285

Ser Lys Tyr Gly Ile Lys Ile Leu Met Met Cys Asp Ser Gly Tyr Lys
290 295 300

[0004]

Tyr Met Ile Asn Gly Met Pro Tyr Leu Gly Arg Gly Thr Gln Thr Asn
305 310 315 320

Gly Val Pro Leu Gly Glu Tyr Tyr Val Lys Glu Leu Ser Lys Pro Val
325 330 335

His Gly Ser Cys Arg Asn Ile Thr Cys Asp Asn Trp Phe Thr Ser Ile
340 345 350

Pro Leu Ala Lys Asn Leu Leu Gln Glu Pro Tyr Lys Leu Thr Ile Val
355 360 365

Gly Thr Val Arg Ser Asn Lys Arg Glu Ile Pro Glu Val Leu Lys Asn
370 375 380

Ser Arg Ser Arg Pro Val Gly Thr Ser Met Phe Cys Phe Asp Gly Pro
385 390 395 400

Leu Thr Leu Val Ser Tyr Lys Pro Lys Pro Ala Lys Met Val Tyr Leu
405 410 415

```
Leu Ser Ser Cys Asp Glu Asp Ala Ser Ile Asn Glu Ser Thr Gly Lys
            420                 425                 430

Pro Gln Met Val Met Tyr Tyr Asn Gln Thr Lys Gly Gly Val Asp Thr
        435                 440                 445

Leu Asp Gln Met Cys Ser Val Met Thr Cys Ser Arg Lys Thr Asn Arg
    450                 455                 460

Trp Pro Met Ala Leu Leu Tyr Gly Met Ile Asn Ile Ala Cys Ile Asn
465                 470                 475                 480

Ser Phe Ile Ile Tyr Ser His Asn Val Ser Ser Lys Gly Glu Lys Val
                485                 490                 495

Gln Ser Arg Lys Lys Phe Met Arg Asn Leu Tyr Met Ser Leu Thr Ser
            500                 505                 510

Ser Phe Met Arg Lys Arg Leu Glu Ala Pro Thr Leu Lys Arg Tyr Leu
        515                 520                 525
```

[0005]

```
Arg Asp Asn Ile Ser Asn Ile Leu Pro Asn Glu Val Pro Gly Thr Ser
    530                 535                 540

Asp Asp Ser Thr Glu Glu Pro Val Met Lys Lys Arg Thr Tyr Cys Thr
545                 550                 555                 560

Tyr Cys Pro Ser Lys Ile Arg Arg Lys Ala Asn Ala Ser Cys Lys Lys
                565                 570                 575

Cys Lys Lys Val Ile Cys Arg Glu His Asn Ile Asp Met Cys Gln Ser
            580                 585                 590

Cys Phe
```

〈210〉 5
〈211〉 594
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 Super Piggybac 转座酶

<400> 5

Met Gly Ser Ser Leu Asp Asp Glu His Ile Leu Ser Ala Leu Leu Gln
1 5 10 15

Ser Asp Asp Glu Leu Val Gly Glu Asp Ser Asp Ser Glu Val Ser Asp
20 25 30

His Val Ser Glu Asp Asp Val Gln Ser Asp Thr Glu Glu Ala Phe Ile
35 40 45

Asp Glu Val His Glu Val Gln Pro Thr Ser Ser Gly Ser Glu Ile Leu
50 55 60

Asp Glu Gln Asn Val Ile Glu Gln Pro Gly Ser Ser Leu Ala Ser Asn
65 70 75 80

Arg Ile Leu Thr Leu Pro Gln Arg Thr Ile Arg Gly Lys Asn Lys His
85 90 95

Cys Trp Ser Thr Ser Lys Ser Thr Arg Arg Ser Arg Val Ser Ala Leu
[0006] 100 105 110

Asn Ile Val Arg Ser Gln Arg Gly Pro Thr Arg Met Cys Arg Asn Ile
115 120 125

Tyr Asp Pro Leu Leu Cys Phe Lys Leu Phe Phe Thr Asp Glu Ile Ile
130 135 140

Ser Glu Ile Val Lys Trp Thr Asn Ala Glu Ile Ser Leu Lys Arg Arg
145 150 155 160

Glu Ser Met Thr Ser Ala Thr Phe Arg Asp Thr Asn Glu Asp Glu Ile
165 170 175

Tyr Ala Phe Phe Gly Ile Leu Val Met Thr Ala Val Arg Lys Asp Asn
180 185 190

His Met Ser Thr Asp Asp Leu Phe Asp Arg Ser Leu Ser Met Val Tyr
195 200 205

Val Ser Val Met Ser Arg Asp Arg Phe Asp Phe Leu Ile Arg Cys Leu

210 215 220

Arg Met Asp Asp Lys Ser Ile Arg Pro Thr Leu Arg Glu Asn Asp Val
225 230 235 240

Phe Thr Pro Val Arg Lys Ile Trp Asp Leu Phe Ile His Gln Cys Ile
245 250 255

Gln Asn Tyr Thr Pro Gly Ala His Leu Thr Ile Asp Glu Gln Leu Leu
260 265 270

Gly Phe Arg Gly Arg Cys Pro Phe Arg Val Tyr Ile Pro Asn Lys Pro
275 280 285

Ser Lys Tyr Gly Ile Lys Ile Leu Met Met Cys Asp Ser Gly Thr Lys
290 295 300

Tyr Met Ile Asn Gly Met Pro Tyr Leu Gly Arg Gly Thr Gln Thr Asn
305 310 315 320

[0007] Gly Val Pro Leu Gly Glu Tyr Tyr Val Lys Glu Leu Ser Lys Pro Val
325 330 335

His Gly Ser Cys Arg Asn Ile Thr Cys Asp Asn Trp Phe Thr Ser Ile
340 345 350

Pro Leu Ala Lys Asn Leu Leu Gln Glu Pro Tyr Lys Leu Thr Ile Val
355 360 365

Gly Thr Val Arg Ser Asn Lys Arg Glu Ile Pro Glu Val Leu Lys Asn
370 375 380

Ser Arg Ser Arg Pro Val Gly Thr Ser Met Phe Cys Phe Asp Gly Pro
385 390 395 400

Leu Thr Leu Val Ser Tyr Lys Pro Lys Pro Ala Lys Met Val Tyr Leu
405 410 415

Leu Ser Ser Cys Asp Glu Asp Ala Ser Ile Asn Glu Ser Thr Gly Lys
420 425 430

Pro Gln Met Val Met Tyr Tyr Asn Gln Thr Lys Gly Gly Val Asp Thr

435 440 445

Leu Asp Gln Met Cys Ser Val Met Thr Cys Ser Arg Lys Thr Asn Arg
450 455 460

Trp Pro Met Ala Leu Leu Tyr Gly Met Ile Asn Ile Ala Cys Ile Asn
465 470 475 480

Ser Phe Ile Ile Tyr Ser His Asn Val Ser Ser Lys Gly Glu Lys Val
485 490 495

Gln Ser Arg Lys Lys Phe Met Arg Asn Leu Tyr Met Ser Leu Thr Ser
500 505 510

Ser Phe Met Arg Lys Arg Leu Glu Ala Pro Thr Leu Lys Arg Tyr Leu
515 520 525

Arg Asp Asn Ile Ser Asn Ile Leu Pro Lys Glu Val Pro Gly Thr Ser
530 535 540

[0008] Asp Asp Ser Thr Glu Glu Pro Val Met Lys Lys Arg Thr Tyr Cys Thr
545 550 555 560

Tyr Cys Pro Ser Lys Ile Arg Arg Lys Ala Asn Ala Ser Cys Lys Lys
565 570 575

Cys Lys Lys Val Ile Cys Arg Glu His Asn Ile Asp Met Cys Gln Ser
580 585 590

Cys Phe

<210> 6
<211> 340
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 睡美人转座酶

<400> 6

Met Gly Lys Ser Lys Glu Ile Ser Gln Asp Leu Arg Lys Lys Ile Val
1 5 10 15

Asp Leu His Lys Ser Gly Ser Ser Leu Gly Ala Ile Ser Lys Arg Leu
20 25 30

Lys Val Pro Arg Ser Ser Val Gln Thr Ile Val Arg Lys Tyr Lys His
35 40 45

His Gly Thr Thr Gln Pro Ser Tyr Arg Ser Gly Arg Arg Arg Tyr Leu
50 55 60

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

Arg Thr Thr Ala Lys Asp Leu Val Lys Met Leu Glu Glu Thr Gly Thr
85 90 95

Lys Val Ser Ile Ser Thr Val Lys Arg Val Leu Tyr Arg His Asn Leu
100 105 110

Lys Gly Arg Ser Ala Arg Lys Lys Pro Leu Leu Gln Asn Arg His Lys
115 120 125

[0009]

Lys Ala Arg Leu Arg Phe Ala Thr Ala His Gly Asp Lys Asp Arg Thr
130 135 140

Phe Trp Arg Asn Val Leu Trp Ser Asp Glu Thr Lys Ile Glu Leu Phe
145 150 155 160

Gly His Asn Asp His Arg Tyr Val Trp Arg Lys Lys Gly Glu Ala Cys
165 170 175

Lys Pro Lys Asn Thr Ile Pro Thr Val Lys His Gly Gly Gly Ser Ile
180 185 190

Met Leu Trp Gly Cys Phe Ala Ala Gly Gly Thr Gly Ala Leu His Lys
195 200 205

Ile Asp Gly Ile Met Arg Lys Glu Asn Tyr Val Asp Ile Leu Lys Gln
210 215 220

His Leu Lys Thr Ser Val Arg Lys Leu Lys Leu Gly Arg Lys Trp Val
225 230 235 240

```
Phe Gln Met Asp Asn Asp Pro Lys His Thr Ser Lys Val Val Ala Lys
                245                 250                 255

Trp Leu Lys Asp Asn Lys Val Lys Val Leu Glu Trp Pro Ser Gln Ser
            260                 265                 270

Pro Asp Leu Asn Pro Ile Glu Asn Leu Trp Ala Glu Leu Lys Lys Arg
        275                 280                 285

Val Arg Ala Arg Arg Pro Thr Asn Leu Thr Gln Leu His Gln Leu Cys
    290                 295                 300

Gln Glu Glu Trp Ala Lys Ile His Pro Thr Tyr Cys Gly Lys Leu Val
305                 310                 315                 320

Glu Gly Tyr Pro Lys Arg Leu Thr Gln Val Lys Gln Phe Lys Gly Asn
                325                 330                 335

Ala Thr Lys Tyr
            340
```

[0010]

<210> 7
<211> 340
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 极度活跃的睡美人转座酶

<400> 7

```
Met Gly Lys Ser Lys Glu Ile Ser Gln Asp Leu Arg Lys Arg Ile Val
1               5                   10                  15

Asp Leu His Lys Ser Gly Ser Ser Leu Gly Ala Ile Ser Lys Arg Leu
            20                  25                  30

Ala Val Pro Arg Ser Ser Val Gln Thr Ile Val Arg Lys Tyr Lys His
        35                  40                  45

His Gly Thr Thr Gln Pro Ser Tyr Arg Ser Gly Arg Arg Arg Tyr Leu
    50                  55                  60

Ser Pro Arg Asp Glu Arg Thr Leu Val Arg Lys Val Gln Ile Asn Pro
```

65 70 75 80

Arg Thr Thr Ala Lys Asp Leu Val Lys Met Leu Glu Glu Thr Gly Thr
85 90 95

Lys Val Ser Ile Ser Thr Val Lys Arg Val Leu Tyr Arg His Asn Leu
100 105 110

Lys Gly His Ser Ala Arg Lys Lys Pro Leu Leu Gln Asn Arg His Lys
115 120 125

Lys Ala Arg Leu Arg Phe Ala Thr Ala His Gly Asp Lys Asp Arg Thr
130 135 140

Phe Trp Arg Asn Val Leu Trp Ser Asp Glu Thr Lys Ile Glu Leu Phe
145 150 155 160

Gly His Asn Asp His Arg Tyr Val Trp Arg Lys Lys Gly Glu Ala Cys
165 170 175

[0011] Lys Pro Lys Asn Thr Ile Pro Thr Val Lys His Gly Gly Gly Ser Ile
180 185 190

Met Leu Trp Gly Cys Phe Ala Ala Gly Gly Thr Gly Ala Leu His Lys
195 200 205

Ile Asp Gly Ile Met Asp Ala Val Gln Tyr Val Asp Ile Leu Lys Gln
210 215 220

His Leu Lys Thr Ser Val Arg Lys Leu Lys Leu Gly Arg Lys Trp Val
225 230 235 240

Phe Gln His Asp Asn Asp Pro Lys His Thr Ser Lys Val Val Ala Lys
245 250 255

Trp Leu Lys Asp Asn Lys Val Lys Val Leu Glu Trp Pro Ser Gln Ser
260 265 270

Pro Asp Leu Asn Pro Ile Glu Asn Leu Trp Ala Glu Leu Lys Lys Arg
275 280 285

Val Arg Ala Arg Arg Pro Thr Asn Leu Thr Gln Leu His Gln Leu Cys

[0012]

290 295 300

Gln Glu Glu Trp Ala Lys Ile His Pro Asn Tyr Cys Gly Lys Leu Val
305 310 315 320

Glu Gly Tyr Pro Lys Arg Leu Thr Gln Val Lys Gln Phe Lys Gly Asn
325 330 335

Ala Thr Lys Tyr
340

<210> 8
<211> 21
<212> PRT
<213> 智人

<400> 8

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
20

<210> 9
<211> 63
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> nucleotide sequence for human CD8alpha signal peptide

<400> 9
人CD8α信号肽的核苷酸序列 60

cca 63

<210> 10
<211> 24
<212> PRT
<213> 智人

<400> 10

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 Leu Tyr Cys

[0013]

20

<210> 11
<211> 72
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 编码人CD8α跨膜结构域的核苷酸序列

<400> 11
atctacattt gggcaccact ggccgggacc tgtggagtgc tgctgctgag cctggtcatc 60

acactgtact gc 72

<210> 12
<211> 112
<212> PRT
<213> 智人
<400> 12

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys 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> 13
<211> 336
<212> DNA
<213> 人工序列

[0014]

<220>
<223> 编码CD28共刺激结构域的核苷酸序列

<400> 13
cgcgtgaagt ttagtcgatc agcagatgcc ccagcttaca aacagggaca gaaccagctg 60

tataacgagc tgaatctggg ccgccgagag gaatatgacg tgctggataa gcggagagga 120

cgcgaccccg aaatgggagg caagcccagg cgcaaaaacc ctcaggaagg cctgtataac 180

gagctgcaga aggacaaaat ggcagaagcc tattctgaga tcggcatgaa gggggagcga 240

cggagaggca aagggcacga tgggctgtac cagggactga gcaccgccac aaaggacacc 300

tatgatgctc tgcatatgca ggcactgcct ccaagg 336

<210> 14
<211> 42
<212> PRT
<213> 智人

<400> 14

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
1 5 10 15

Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
20 25 30

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
35 40

<210> 15
<211> 126
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 编码4-1BB共刺激结构域的核苷酸序列

<400> 15
aagagaggca ggaagaaact gctgtatatt ttcaaacagc ccttcatgcg ccccgtgcag 60

actacccagg aggaagacgg gtgctcctgt cgattccctg aggaagagga aggcgggtgt 120

gagctg 126

<210> 16
<211> 45
<212> PRT
<213> 智人

[0015]

<400> 16

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> 17
<211> 135
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 编码人CD8α铰链的核苷酸序列

<400> 17
actaccacac cagcacctag accaccaact ccagctccaa ccatcgcgag tcagcccctg 60

agtctgagac ctgaggcctg caggccagct gcaggaggag ctgtgcacac caggggcctg 120

gacttcgcct gcgac 135

<210> 18
<211> 18
<212> PRT
<213> 一点褐翅蛾

<400> 18

Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro
1 5 10 15

Gly Pro

<210> 19
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> GSG-T2A

<400> 19

[0016]

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> 20
<211> 63
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> GSG-T2A

<400> 20
ggatctggag agggaagggg aagcctgctg acctgtggag acgtggagga aaacccagga 60

cca 63

<210> 21
<211> 20
<212> PRT
<213> 马鼻炎 A

<400> 21

Gln Cys Thr Asn Tyr Ala Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser
1 5 10 15

Asn Pro Gly Pro
20

<210> 22
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> GSG-E2A肽
<400> 22

Gly Ser Gly Gln Cys Thr Asn Tyr Ala Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp
1 5 10 15

Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro
20

<210> 23
<211> 22

<212> PRT
<213> 口蹄疫病毒O型

<400> 23

Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val
1 5 10 15

Glu Ser Asn Pro Gly Pro
20

<210> 24
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> GSG-F2A肽

<400> 24

Gly Ser Gly Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala
1 5 10 15

[0017] Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro
20 25

<210> 25
<211> 19
<212> PRT
<213> 猪捷申病毒-1

<400> 25

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

Pro Gly Pro

<210> 26
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> GSG-P2A 肽

<400> 26

[0018]

Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val
1 5 10 15

Glu Glu Asn Pro Gly Pro
20

<210> 27
<211> 5296
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> Helraiser转座子

<400> 27
tcctatataa taaaagagaa acatgcaaat tgaccatccc tccgctacgc tcaagccacg 60

cccaccagcc aatcagaagt gactatgcaa attaacccaa caaagatggc agttaaattt 120

gcatacgcag gtgtcaagcg ccccaggagg caacggcggc cgcgggctcc caggaccttc 180

gctggccccg ggaggcgagg ccggccgcgc ctagccacac ccgcgggctc ccgggacctt 240

cgccagcaga gagcagagcg ggagagcggg cggagagcgg gaggtttgga ggacttggca 300

gagcaggagg ccgctggaca tagagcagag cgagagagag ggtggcttgg agggcgtggc 360

tccctctgtc accccagctt cctcatcaca gctgtggaaa ctgacagcag ggaggaggaa 420

gtcccacccc cacagaatca gccagaatca gccgttggtc agacagctct cagcggcctg 480

acagccagga ctctcattca cctgcatctc agaccgtgac agtagagagg tgggactatg 540

tctaaagaac aactgttgat acaacgtagc tctgcagccg aaagatgccg gcgttatcga 600

cagaaaatgt ctgcagagca acgtgcgtct gatcttgaaa gaaggcggcg cctgcaacag 660

aatgtatctg aagagcagct actggaaaaa cgtcgctctg aagccgaaaa acagcggcgt 720

catcgacaga aaatgtctaa agaccaacgt gcctttgaag ttgaaagaag gcggtggcga 780

cgacagaata tgtctagaga acagtcatca acaagtacta ccaataccgg taggaactgc 840

cttctcagca aaaatggagt acatgaggat gcaattctcg aacatagttg tggtggaatg 900

actgttcgat gtgaattttg cctatcacta aatttctctg atgaaaaacc atccgatggg 960

aaatttactc gatgttgtag caaagggaaa gtctgtccaa atgatataca ttttccagat 1020

tacccggcat atttaaaaag attaatgaca aacgaagatt ctgacagtaa aaatttcatg 1080

gaaaatattc gttccataaa tagttctttt gcttttgctt ccatgggtgc aaatattgca 1140

tcgccatcag gatatgggcc atactgtttt agaatacacg gacaagttta tcaccgtact 1200

[0019]

ggaactttac atccttcgga tggtgtttct cggaagtttg ctcaactcta tattttggat 1260

acagccgaag ctacaagtaa aagattagca atgccagaaa accagggctg ctcagaaaga 1320

ctcatgatca acatcaacaa cctcatgcat gaaataaatg aattaacaaa atcgtacaag 1380

atgctacatg aggtagaaaa ggaagcccaa tctgaagcag cagcaaaagg tattgctccc 1440

acagaagtaa caatggcgat taaatacgat cgtaacagtg acccaggtag atataattct 1500

ccccgtgtaa ccgaggttgc tgtcatattc agaaacgaag atggagaacc tccttttgaa 1560

agggacttgc tcattcattg taaaccagat cccaataatc caaatgccac taaaatgaaa 1620

caaatcagta tcctgtttcc tacattagat gcaatgacat atcctattct ttttccacat 1680

ggtgaaaaag gctggggaac agatattgca ttaagactca gagacaacag tgtaatcgac 1740

aataatacta gacaaaatgt aaggacacga gtcacacaaa tgcagtatta tggatttcat 1800

ctctctgtgc gggacacgtt caatcctatt ttaaatgcag gaaaattaac tcaacagttt 1860

attgtggatt catattcaaa aatggaggcc aatcggataa atttcatcaa agcaaaccaa 1920

tctaagttga gagttgaaaa atatagtggt ttgatggatt atctcaaatc tagatctgaa 1980

aatgacaatg tgccgattgg taaaatgata atacttccat catcttttga gggtagtccc 2040

agaaatatgc agcagcgata tcaggatgct atggcaattg taacgaagta tggcaagccc 2100

gatttattca taaccatgac atgcaacccc aaatgggcag atattacaaa caatttacaa 2160

cgctggcaaa aagttgaaaa cagacctgac ttggtagcca gagttttaa tattaagctg 2220

aatgctcttt taaatgatat atgtaaattc catttatttg gcaaagtaat agctaaaatt 2280

catgtcattg aatttcagaa acgcggactg cctcacgctc acatattatt gatattagat 2340

agtgagtcca aattacgttc agaagatgac attgaccgta tagttaaggc agaaattcca 2400

gatgaagacc agtgtcctcg acttttcaa attgtaaaat caaatatggt acatggacca 2460

tgtggaatac aaaatccaaa tagtccatgt atggaaaatg gaaaatgttc aaagggatat 2520

ccaaaagaat ttcaaaatgc gaccattgga aatattgatg gatatcccaa atacaaacga 2580

agatctggta gcaccatgtc tattggaaat aaagttgtcg ataacacttg gattgtccct 2640

tataacccgt atttgtgcct taaatataac tgtcatataa atgttgaagt ctgtgcatca 2700

attaaaagtg tcaaatattt atttaaatac atctataaag ggcacgattg tgcaaatatt 2760

caaatttctg aaaaaaatat tatcaatcat gacgaagtac aggacttcat tgactccagg 2820

tatgtgagcg ctcctgaggc tgtttggaga ctttttgcaa tgcgaatgca tgaccaatct 2880

[0020]

catgcaatca caagattagc tattcatttg ccaaatgatc agaatttgta ttttcatacc 2940

gatgattttg ctgaagtttt agatagggct aaaaggcata actcgacttt gatggcttgg 3000

ttcttattga atagagaaga ttctgatgca cgtaattatt attattggga gattccacag 3060

cattatgtgt ttaataattc tttgtggaca aaacgccgaa agggtgggaa taaagtatta 3120

ggtagactgt tcactgtgag ctttagagaa ccagaacgat attaccttag acttttgctt 3180

ctgcatgtaa aaggtgcgat aagttttgag gatctgcgaa ctgtaggagg tgtaacttat 3240

gatacatttc atgaagctgc taaacaccga ggattattac ttgatgacac tatctggaaa 3300

gatacgattg acgatgcaat catccttaat atgcccaaac aactacggca acttttgca 3360

tatatatgtg tgtttggatg tccttctgct gcagacaaat tatgggatga gaataaatct 3420

cattttattg aagatttctg ttggaaatta caccgaagag aaggtgcctg tgtgaactgt 3480

gaaatgcatg cccttaacga attcaggag gtattcacat tgcatggaat gaaatgttca 3540

catttcaaac ttccggacta tcctttatta atgaatgcaa atacatgtga tcaattgtac 3600

gagcaacaac aggcagaggt tttgataaat tctctgaatg atgaacagtt ggcagccttt 3660

cagactataa cttcagccat cgaagatcaa actgtacacc ccaaatgctt tttcttggat 3720

ggtccaggtg gtagtggaaa aacatatctg tataaagttt taacacatta tattagaggt 3780

cgtggtggta ctgttttacc cacagcatct acaggaattg ctgcaaattt acttcttggt 3840

ggaagaacct ttcattccca atataaatta ccaattccat taaatgaaac ttcaatttct 3900

agactcgata taaagagtga agttgctaaa accattaaaa aggcccaact tctcattatt 3960

gatgaatgca ccatggcatc cagtcatgct ataaacgcca tagatagatt actaagagaa 4020

attatgaatt tgaatgttgc atttggtggg aaagttctcc ttctcggagg ggattttcga 4080

caatgtctca gtattgtacc acatgctatg cgatcggcca tagtacaaac gagtttaaag 4140

tactgtaatg tttggggatg tttcagaaag ttgtctctta aaacaaatat gagatcagag 4200

gattctgctt atagtgaatg gttagtaaaa cttggagatg gcaaacttga tagcagtttt 4260

catttaggaa tggatattat tgaaatcccc catgaaatga tttgtaacgg atctattatt 4320

gaagctacct ttggaaatag tatatctata gataatatta aaaatatatc taaacgtgca 4380

attctttgtc caaaaaatga gcatgttcaa aaattaaatg aagaaatttt ggatatactt 4440

gatggagatt ttcacacata tttgagtgat gattccattg attcaacaga tgatgctgaa 4500

aaggaaaatt ttcccatcga atttcttaat agtattactc cttcgggaat gccgtgtcat 4560

[0021]

aaattaaaat tgaaagtggg tgcaatcatc atgctattga gaaatcttaa tagtaaatgg 4620

ggtctttgta atggtactag atttattatc aaaagattac gacctaacat tatcgaagct 4680

gaagtattaa caggatctgc agagggagag gttgttctga ttccaagaat tgatttgtcc 4740

ccatctgaca ctggcctccc atttaaatta attcgaagac agtttcccgt gatgccagca 4800

tttgcgatga ctattaataa atcacaagga caaactctag acagagtagg aatattccta 4860

cctgaacccg ttttcgcaca tggtcagtta tatgttgctt tctctcgagt tcgaagagca 4920

tgtgacgtta aagttaaagt tgtaaatact tcatcacaag ggaaattagt caagcactct 4980

gaaagtgttt ttactcttaa tgtggtatac agggagatat tagaataagt ttaatcactt 5040

tatcagtcat tgtttgcatc aatgttgttt ttatatcatg tttttgttgt ttttatatca 5100

tgtctttgtt gttgttatat catgttgtta ttgtttattt attaataaat ttatgtatta 5160

ttttcatata cattttactc atttcctttc atctctcaca cttctattat agagaaaggg 5220

caaatagcaa tattaaaata tttcctctaa ttaattccct ttcaatgtgc acgaatttcg 5280

tgcaccgggc cactag 5296

<210> 28
<211> 1496
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Helitron转座酶

<400> 28

Met Ser Lys Glu Gln Leu Leu Ile Gln Arg Ser Ser Ala Ala Glu Arg
1 5 10 15

Cys Arg Arg Tyr Arg Gln Lys Met Ser Ala Glu Gln Arg Ala Ser Asp
20 25 30

Leu Glu Arg Arg Arg Arg Leu Gln Gln Asn Val Ser Glu Glu Gln Leu
35 40 45

Leu Glu Lys Arg Arg Ser Glu Ala Glu Lys Gln Arg Arg His Arg Gln
50 55 60

Lys Met Ser Lys Asp Gln Arg Ala Phe Glu Val Glu Arg Arg Arg Trp
65 70 75 80

Arg Arg Gln Asn Met Ser Arg Glu Gln Ser Ser Thr Ser Thr Thr Asn
85 90 95

Thr Gly Arg Asn Cys Leu Leu Ser Lys Asn Gly Val His Glu Asp Ala
100 105 110

Ile Leu Glu His Ser Cys Gly Gly Met Thr Val Arg Cys Glu Phe Cys
115 120 125

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

Arg Cys Cys Ser Lys Gly Lys Val Cys Pro Asn Asp Ile His Phe Pro
145 150 155 160

Asp Tyr Pro Ala Tyr Leu Lys Arg Leu Met Thr Asn Glu Asp Ser Asp
165 170 175

Ser Lys Asn Phe Met Glu Asn Ile Arg Ser Ile Asn Ser Ser Phe Ala
180 185 190

[0022]

Phe Ala Ser Met Gly Ala Asn Ile Ala Ser Pro Ser Gly Tyr Gly Pro
195 200 205

Tyr Cys Phe Arg Ile His Gly Gln Val Tyr His Arg Thr Gly Thr Leu
210 215 220

His Pro Ser Asp Gly Val Ser Arg Lys Phe Ala Gln Leu Tyr Ile Leu
225 230 235 240

Asp Thr Ala Glu Ala Thr Ser Lys Arg Leu Ala Met Pro Glu Asn Gln
245 250 255

Gly Cys Ser Glu Arg Leu Met Ile Asn Ile Asn Asn Leu Met His Glu
260 265 270

Ile Asn Glu Leu Thr Lys Ser Tyr Lys Met Leu His Glu Val Glu Lys
275 280 285

Glu Ala Gln Ser Glu Ala Ala Ala Lys Gly Ile Ala Pro Thr Glu Val
290 295 300

Thr Met Ala Ile Lys Tyr Asp Arg Asn Ser Asp Pro Gly Arg Tyr Asn
305 310 315 320

Ser Pro Arg Val Thr Glu Val Ala Val Ile Phe Arg Asn Glu Asp Gly
325 330 335

Glu Pro Pro Phe Glu Arg Asp Leu Leu Ile His Cys Lys Pro Asp Pro
340 345 350

Asn Asn Pro Asn Ala Thr Lys Met Lys Gln Ile Ser Ile Leu Phe Pro
355 360 365

Thr Leu Asp Ala Met Thr Tyr Pro Ile Leu Phe Pro His Gly Glu Lys
370 375 380

Gly Trp Gly Thr Asp Ile Ala Leu Arg Leu Arg Asp Asn Ser Val Ile
385 390 395 400

Asp Asn Asn Thr Arg Gln Asn Val Arg Thr Arg Val Thr Gln Met Gln
405 410 415

[0023]

Tyr Tyr Gly Phe His Leu Ser Val Arg Asp Thr Phe Asn Pro Ile Leu
420 425 430

Asn Ala Gly Lys Leu Thr Gln Gln Phe Ile Val Asp Ser Tyr Ser Lys
435 440 445

Met Glu Ala Asn Arg Ile Asn Phe Ile Lys Ala Asn Gln Ser Lys Leu
450 455 460

Arg Val Glu Lys Tyr Ser Gly Leu Met Asp Tyr Leu Lys Ser Arg Ser
465 470 475 480

Glu Asn Asp Asn Val Pro Ile Gly Lys Met Ile Ile Leu Pro Ser Ser
485 490 495

Phe Glu Gly Ser Pro Arg Asn Met Gln Gln Arg Tyr Gln Asp Ala Met
500 505 510

Ala Ile Val Thr Lys Tyr Gly Lys Pro Asp Leu Phe Ile Thr Met Thr
515 520 525

```
Cys Asn Pro Lys Trp Ala Asp Ile Thr Asn Asn Leu Gln Arg Trp Gln
530                 535                 540

Lys Val Glu Asn Arg Pro Asp Leu Val Ala Arg Val Phe Asn Ile Lys
545                 550                 555                 560

Leu Asn Ala Leu Leu Asn Asp Ile Cys Lys Phe His Leu Phe Gly Lys
                565                 570                 575

Val Ile Ala Lys Ile His Val Ile Glu Phe Gln Lys Arg Gly Leu Pro
            580                 585                 590

His Ala His Ile Leu Leu Ile Leu Asp Ser Glu Ser Lys Leu Arg Ser
        595                 600                 605

Glu Asp Asp Ile Asp Arg Ile Val Lys Ala Glu Ile Pro Asp Glu Asp
610                 615                 620

Gln Cys Pro Arg Leu Phe Gln Ile Val Lys Ser Asn Met Val His Gly
625                 630                 635                 640
```

[0024]

```
Pro Cys Gly Ile Gln Asn Pro Asn Ser Pro Cys Met Glu Asn Gly Lys
                645                 650                 655

Cys Ser Lys Gly Tyr Pro Lys Glu Phe Gln Asn Ala Thr Ile Gly Asn
            660                 665                 670

Ile Asp Gly Tyr Pro Lys Tyr Lys Arg Arg Ser Gly Ser Thr Met Ser
        675                 680                 685

Ile Gly Asn Lys Val Val Asp Asn Thr Trp Ile Val Pro Tyr Asn Pro
690                 695                 700

Tyr Leu Cys Leu Lys Tyr Asn Cys His Ile Asn Val Glu Val Cys Ala
705                 710                 715                 720

Ser Ile Lys Ser Val Lys Tyr Leu Phe Lys Tyr Ile Tyr Lys Gly His
                725                 730                 735

Asp Cys Ala Asn Ile Gln Ile Ser Glu Lys Asn Ile Ile Asn His Asp
            740                 745                 750
```

Glu Val Gln Asp Phe Ile Asp Ser Arg Tyr Val Ser Ala Pro Glu Ala
755 760 765

Val Trp Arg Leu Phe Ala Met Arg Met His Asp Gln Ser His Ala Ile
770 775 780

Thr Arg Leu Ala Ile His Leu Pro Asn Asp Gln Asn Leu Tyr Phe His
785 790 795 800

Thr Asp Asp Phe Ala Glu Val Leu Asp Arg Ala Lys Arg His Asn Ser
805 810 815

Thr Leu Met Ala Trp Phe Leu Leu Asn Arg Glu Asp Ser Asp Ala Arg
820 825 830

Asn Tyr Tyr Tyr Trp Glu Ile Pro Gln His Tyr Val Phe Asn Asn Ser
835 840 845

Leu Trp Thr Lys Arg Arg Lys Gly Gly Asn Lys Val Leu Gly Arg Leu
850 855 860

[0025]

Phe Thr Val Ser Phe Arg Glu Pro Glu Arg Tyr Tyr Leu Arg Leu Leu
865 870 875 880

Leu Leu His Val Lys Gly Ala Ile Ser Phe Glu Asp Leu Arg Thr Val
885 890 895

Gly Gly Val Thr Tyr Asp Thr Phe His Glu Ala Ala Lys His Arg Gly
900 905 910

Leu Leu Leu Asp Asp Thr Ile Trp Lys Asp Thr Ile Asp Asp Ala Ile
915 920 925

Ile Leu Asn Met Pro Lys Gln Leu Arg Gln Leu Phe Ala Tyr Ile Cys
930 935 940

Val Phe Gly Cys Pro Ser Ala Ala Asp Lys Leu Trp Asp Glu Asn Lys
945 950 955 960

Ser His Phe Ile Glu Asp Phe Cys Trp Lys Leu His Arg Arg Glu Gly
965 970 975

```
Ala Cys Val Asn Cys Glu Met His Ala Leu Asn Glu Ile Gln Glu Val
            980                 985                 990

Phe Thr Leu His Gly Met Lys Cys  Ser His Phe Lys Leu  Pro Asp Tyr
        995                 1000                1005

Pro Leu  Leu Met Asn Ala Asn  Thr Cys Asp Gln Leu  Tyr Glu Gln
    1010                1015                1020

Gln Gln  Ala Glu Val Leu Ile  Asn Ser Leu Asn Asp  Glu Gln Leu
    1025                1030                1035

Ala Ala  Phe Gln Thr Ile Thr  Ser Ala Ile Glu Asp  Gln Thr Val
    1040                1045                1050

His Pro  Lys Cys Phe Phe Leu  Asp Gly Pro Gly Gly  Ser Gly Lys
    1055                1060                1065

Thr Tyr  Leu Tyr Lys Val Leu  Thr His Tyr Ile Arg  Gly Arg Gly
    1070                1075                1080
```

[0026]

```
Gly Thr  Val Leu Pro Thr Ala  Ser Thr Gly Ile Ala  Ala Asn Leu
    1085                1090                1095

Leu Leu  Gly Gly Arg Thr Phe  His Ser Gln Tyr Lys  Leu Pro Ile
    1100                1105                1110

Pro Leu  Asn Glu Thr Ser Ile  Ser Arg Leu Asp Ile  Lys Ser Glu
    1115                1120                1125

Val Ala  Lys Thr Ile Lys Lys  Ala Gln Leu Leu Ile  Ile Asp Glu
    1130                1135                1140

Cys Thr  Met Ala Ser Ser His  Ala Ile Asn Ala Ile  Asp Arg Leu
    1145                1150                1155

Leu Arg  Glu Ile Met Asn Leu  Asn Val Ala Phe Gly  Gly Lys Val
    1160                1165                1170

Leu Leu  Leu Gly Gly Asp Phe  Arg Gln Cys Leu Ser  Ile Val Pro
    1175                1180                1185
```

His Ala Met Arg Ser Ala Ile Val Gln Thr Ser Leu Lys Tyr Cys
1190 1195 1200

Asn Val Trp Gly Cys Phe Arg Lys Leu Ser Leu Lys Thr Asn Met
1205 1210 1215

Arg Ser Glu Asp Ser Ala Tyr Ser Glu Trp Leu Val Lys Leu Gly
1220 1225 1230

Asp Gly Lys Leu Asp Ser Ser Phe His Leu Gly Met Asp Ile Ile
1235 1240 1245

Glu Ile Pro His Glu Met Ile Cys Asn Gly Ser Ile Ile Glu Ala
1250 1255 1260

Thr Phe Gly Asn Ser Ile Ser Ile Asp Asn Ile Lys Asn Ile Ser
1265 1270 1275

Lys Arg Ala Ile Leu Cys Pro Lys Asn Glu His Val Gln Lys Leu
1280 1285 1290

[0027]

Asn Glu Glu Ile Leu Asp Ile Leu Asp Gly Asp Phe His Thr Tyr
1295 1300 1305

Leu Ser Asp Asp Ser Ile Asp Ser Thr Asp Asp Ala Glu Lys Glu
1310 1315 1320

Asn Phe Pro Ile Glu Phe Leu Asn Ser Ile Thr Pro Ser Gly Met
1325 1330 1335

Pro Cys His Lys Leu Lys Leu Lys Val Gly Ala Ile Ile Met Leu
1340 1345 1350

Leu Arg Asn Leu Asn Ser Lys Trp Gly Leu Cys Asn Gly Thr Arg
1355 1360 1365

Phe Ile Ile Lys Arg Leu Arg Pro Asn Ile Ile Glu Ala Glu Val
1370 1375 1380

Leu Thr Gly Ser Ala Glu Gly Glu Val Val Leu Ile Pro Arg Ile
1385 1390 1395

[0028]

```
Asp Leu  Ser Pro Ser Asp Thr  Gly Leu Pro Phe Lys  Leu Ile Arg
    1400                 1405                 1410

Arg Gln  Phe Pro Val Met Pro  Ala Phe Ala Met Thr  Ile Asn Lys
    1415                 1420                 1425

Ser Gln  Gly Gln Thr Leu Asp  Arg Val Gly Ile Phe  Leu Pro Glu
    1430                 1435                 1440

Pro Val  Phe Ala His Gly Gln  Leu Tyr Val Ala Phe  Ser Arg Val
    1445                 1450                 1455

Arg Arg  Ala Cys Asp Val Lys  Val Lys Val Val Asn  Thr Ser Ser
    1460                 1465                 1470

Gln Gly  Lys Leu Val Lys His  Ser Glu Ser Val Phe  Thr Leu Asn
    1475                 1480                 1485

Val Val  Tyr Arg Glu Ile Leu  Glu
    1490                 1495
```

<210> 29
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> Helraiser回文序列

<400> 29
gtgcacgaat ttcgtgcacc gggccactag 30

<210> 30
<211> 649
<212> PRT
<213> 青鳉

<400> 30

```
Met Glu Glu Val Cys Asp Ser Ser Ala Ala Ala Ser Ser Thr Val Gln
1               5                  10                  15

Asn Gln Pro Gln Asp Gln Glu His Pro Trp Pro Tyr Leu Arg Glu Phe
            20                  25                  30
```

Phe Ser Leu Ser Gly Val Asn Lys Asp Ser Phe Lys Met Lys Cys Val
35 40 45

Leu Cys Leu Pro Leu Asn Lys Glu Ile Ser Ala Phe Lys Ser Ser Pro
50 55 60

Ser Asn Leu Arg Lys His Ile Glu Arg Met His Pro Asn Tyr Leu Lys
65 70 75 80

Asn Tyr Ser Lys Leu Thr Ala Gln Lys Arg Lys Ile Gly Thr Ser Thr
85 90 95

His Ala Ser Ser Ser Lys Gln Leu Lys Val Asp Ser Val Phe Pro Val
100 105 110

Lys His Val Ser Pro Val Thr Val Asn Lys Ala Ile Leu Arg Tyr Ile
115 120 125

Ile Gln Gly Leu His Pro Phe Ser Thr Val Asp Leu Pro Ser Phe Lys
130 135 140

[0029]

Glu Leu Ile Ser Thr Leu Gln Pro Gly Ile Ser Val Ile Thr Arg Pro
145 150 155 160

Thr Leu Arg Ser Lys Ile Ala Glu Ala Ala Leu Ile Met Lys Gln Lys
165 170 175

Val Thr Ala Ala Met Ser Glu Val Glu Trp Ile Ala Thr Thr Thr Asp
180 185 190

Cys Trp Thr Ala Arg Arg Lys Ser Phe Ile Gly Val Thr Ala His Trp
195 200 205

Ile Asn Pro Gly Ser Leu Glu Arg His Ser Ala Ala Leu Ala Cys Lys
210 215 220

Arg Leu Met Gly Ser His Thr Phe Glu Val Leu Ala Ser Ala Met Asn
225 230 235 240

Asp Ile His Ser Glu Tyr Glu Ile Arg Asp Lys Val Val Cys Thr Thr
245 250 255

Thr Asp Ser Gly Ser Asn Phe Met Lys Ala Phe Arg Val Phe Gly Val
260 265 270

Glu Asn Asn Asp Ile Glu Thr Glu Ala Arg Arg Cys Glu Ser Asp Asp
275 280 285

Thr Asp Ser Glu Gly Cys Gly Glu Gly Ser Asp Gly Val Glu Phe Gln
290 295 300

Asp Ala Ser Arg Val Leu Asp Gln Asp Asp Gly Phe Glu Phe Gln Leu
305 310 315 320

Pro Lys His Gln Lys Cys Ala Cys His Leu Leu Asn Leu Val Ser Ser
325 330 335

Val Asp Ala Gln Lys Ala Leu Ser Asn Glu His Tyr Lys Lys Leu Tyr
340 345 350

Arg Ser Val Phe Gly Lys Cys Gln Ala Leu Trp Asn Lys Ser Ser Arg
355 360 365

[0030]

Ser Ala Leu Ala Ala Glu Ala Val Glu Ser Glu Ser Arg Leu Gln Leu
370 375 380

Leu Arg Pro Asn Gln Thr Arg Trp Asn Ser Thr Phe Met Ala Val Asp
385 390 395 400

Arg Ile Leu Gln Ile Cys Lys Glu Ala Gly Glu Gly Ala Leu Arg Asn
405 410 415

Ile Cys Thr Ser Leu Glu Val Pro Met Phe Asn Pro Ala Glu Met Leu
420 425 430

Phe Leu Thr Glu Trp Ala Asn Thr Met Arg Pro Val Ala Lys Val Leu
435 440 445

Asp Ile Leu Gln Ala Glu Thr Asn Thr Gln Leu Gly Trp Leu Leu Pro
450 455 460

Ser Val His Gln Leu Ser Leu Lys Leu Gln Arg Leu His His Ser Leu
465 470 475 480

[0031]

```
Arg Tyr Cys Asp Pro Leu Val Asp Ala Leu Gln Gln Gly Ile Gln Thr
                485                 490                 495

Arg Phe Lys His Met Phe Glu Asp Pro Glu Ile Ile Ala Ala Ala Ile
            500                 505                 510

Leu Leu Pro Lys Phe Arg Thr Ser Trp Thr Asn Asp Glu Thr Ile Ile
        515                 520                 525

Lys Arg Gly Met Asp Tyr Ile Arg Val His Leu Glu Pro Leu Asp His
    530                 535                 540

Lys Lys Glu Leu Ala Asn Ser Ser Ser Asp Asp Glu Asp Phe Phe Ala
545                 550                 555                 560

Ser Leu Lys Pro Thr Thr His Glu Ala Ser Lys Glu Leu Asp Gly Tyr
                565                 570                 575

Leu Ala Cys Val Ser Asp Thr Arg Glu Ser Leu Leu Thr Phe Pro Ala
            580                 585                 590

Ile Cys Ser Leu Ser Ile Lys Thr Asn Thr Pro Leu Pro Ala Ser Ala
        595                 600                 605

Ala Cys Glu Arg Leu Phe Ser Thr Ala Gly Leu Leu Phe Ser Pro Lys
    610                 615                 620

Arg Ala Arg Leu Asp Thr Asn Asn Phe Glu Asn Gln Leu Leu Leu Lys
625                 630                 635                 640

Leu Asn Leu Arg Phe Tyr Asn Phe Glu
                645
```

<210> 31
<211> 4682
<212> DNA
<213> 青鳉

<400> 31

```
cagaggtgta aagtacttga gtaattttac ttgattactg tacttaagta ttatttttgg      60

ggatttttac tttacttgag tacaattaaa aatcaatact tttactttta cttaattaca     120

ttttttttaga aaaaaaagta ctttttactc cttacaattt tatttacagt caaaaagtac     180
```

[0032]

ttatttttg gagatcactt cattctattt tcccttgcta ttaccaaacc aattgaattg 240

cgctgatgcc cagtttaatt taaatgttat ttattctgcc tatgaaaatc gttttcacat 300

tatatgaaat tggtcagaca tgttcattgg tcctttggaa gtgacgtcat gtcacatcta 360

ttaccacaat gcacagcacc ttgacctgga aattagggaa attataacag tcaatcagtg 420

gaagaaaatg gaggaagtat gtgattcatc agcagctgcg agcagcacag tccaaaatca 480

gccacaggat caagagcacc cgtggccgta tcttcgcgaa ttcttttctt taagtggtgt 540

aaataaagat tcattcaaga tgaaatgtgt cctctgtctc ccgcttaata aagaaatatc 600

ggccttcaaa agttcgccat caaacctaag gaagcatatt gaggtaagta cattaagtat 660

tttgttttac tgatagtttt ttttttttt ttttttttt tttttgggtg tgcatgtttt 720

gacgttgatg gcgcgccttt tatatgtgta gtaggcctat tttcactaat gcatgcgatt 780

gacaatataa ggctcacgta ataaaatgct aaaatgcatt tgtaattggt aacgttaggt 840

ccacgggaaa tttggcgcct attgcagctt tgaataatca ttatcattcc gtgctctcat 900

tgtgtttgaa ttcatgcaaa acacaagaaa accaagcgag aaatttttt ccaaacatgt 960

tgtattgtca aaacggtaac actttacaat gaggttgatt agttcatgta ttaactaaca 1020

ttaaataacc atgagcaata catttgttac tgtatctgtt aatctttgtt aacgttagtt 1080

aatagaaata cagatgttca ttgtttgttc atgttagttc acagtgcatt aactaatgtt 1140

aacaagatat aaagtattag taaatgttga aattaacatg tatacgtgca gttcattatt 1200

agttcatgtt aactaatgta gttaactaac gaaccttatt gtaaaagtgt taccatcaaa 1260

actaatgtaa tgaaatcaat tcaccctgtc atgtcagcct tacagtcctg tgtttttgtc 1320

aatataatca gaaataaaat taatgtttga ttgtcactaa atgctactgt atttctaaaa 1380

tcaacaagta tttaacatta taaagtgtgc aattggctgc aaatgtcagt tttattaaag 1440

ggttagttca cccaaaaatg aaaataatgt cattaatgac tcgccctcat gtcgttccaa 1500

gcccgtaaga cctccgttca tcttcagaac acagtttaag atattttaga tttagtccga 1560

gagctttctg tgcctccatt gagaatgtat gtacggtata ctgtccatgt ccagaaaggt 1620

aataaaaaca tcaaagtagt ccatgtgaca tcagtgggtt agttagaatt ttttgaagca 1680

tcgaatacat tttggtccaa aaataacaaa acctacgact ttattcggca ttgtattctc 1740

ttccgggtct gttgtcaatc cgcgttcacg acttcgcagt gacgctacaa tgctgaataa 1800

agtcgtaggt tttgttattt ttggaccaaa atgtattttc gatgcttcaa ataattctac 1860

[0033]

ctaacccact gatgtcacat ggactacttt gatgttttta ttacctttct ggacatggac 1920

agtataccgt acatacattt tcagtggagg gacagaaagc tctcggacta aatctaaaat 1980

atcttaaact gtgttccgaa gatgaacgga ggtgttacgg gcttggaacg acatgagggt 2040

gagtcattaa tgacatcttt tcatttttgg gtgaactaac cctttaatgc tgtaatcaga 2100

gagtgtatgt gtaattgtta catttattgc atacaatata aatatttatt tgttgttttt 2160

acagagaatg cacccaaatt acctcaaaaa ctactctaaa ttgacagcac agaagagaaa 2220

gatcgggacc tccacccatg cttccagcag taagcaactg aaagttgact cagttttccc 2280

agtcaaacat gtgtctccag tcactgtgaa caaagctata ttaaggtaca tcattcaagg 2340

acttcatcct ttcagcactg ttgatctgcc atcatttaaa gagctgatta gtacactgca 2400

gcctggcatt tctgtcatta caaggcctac tttacgctcc aagatagctg aagctgctct 2460

gatcatgaaa cagaaagtga ctgctgccat gagtgaagtt gaatggattg caaccacaac 2520

ggattgttgg actgcacgta gaaagtcatt cattggtgta actgctcact ggatcaaccc 2580

tggaagtctt gaaagacatt ccgctgcact tgcctgcaaa agattaatgg gctctcatac 2640

ttttgaggta ctggccagtg ccatgaatga tatccactca gagtatgaaa tacgtgacaa 2700

ggttgtttgc acaaccacag acagtggttc caactttatg aaggctttca gagtttttgg 2760

tgtggaaaac aatgatatcg agactgaggc aagaaggtgt gaaagtgatg acactgattc 2820

tgaaggctgt ggtgagggaa gtgatggtgt ggaattccaa gatgcctcac gagtcctgga 2880

ccaagacgat ggcttcgaat tccagctacc aaaacatcaa aagtgtgcct gtcacttact 2940

taacctagtc tcaagcgttg atgcccaaaa agctctctca aatgaacact acaagaaact 3000

ctacagatct gtctttggca aatgccaagc tttatggaat aaaagcagcc gatcggctct 3060

agcagctgaa gctgttgaat cagaaagccg gcttcagctt ttaaggccaa accaaacgcg 3120

gtggaattca acttttatgg ctgttgacag aattcttcaa atttgcaaag aagcaggaga 3180

aggcgcactt cggaatatat gcacctctct tgaggttcca atgtaagtgt ttttcccctc 3240

tatcgatgta aacaaatgtg ggttgttttt gtttaatact ctttgattat gctgatttct 3300

cctgtaggtt taatccagca gaaatgctgt tcttgacaga gtgggccaac acaatgcgtc 3360

cagttgcaaa agtactcgac atcttgcaag cggaaacgaa tacacagctg gggtggctgc 3420

tgcctagtgt ccatcagtta agcttgaaac ttcagcgact ccaccattct ctcaggtact 3480

gtgacccact tgtggatgcc ctacaacaag gaatccaaac acgattcaag catatgtttg 3540

[0034]

aagatcctga gatcatagca gctgccatcc ttctccctaa atttcggacc tcttggacaa 3600

atgatgaaac catcataaaa cgaggtaaat gaatgcaagc aacatacact tgacgaattc 3660

taatctgggc aacctttgag ccataccaaa attattcttt tatttattta tttttgcact 3720

ttttaggaat gttatatccc atctttggct gtgatctcaa tatgaatatt gatgtaaagt 3780

attcttgcag caggttgtag ttatccctca gtgtttcttg aaaccaaact catatgtatc 3840

atatgtggtt tggaaatgca gttagatttt atgctaaaat aagggatttg catgatttta 3900

gatgtagatg actgcacgta aatgtagtta atgacaaaat ccataaaatt tgttcccagt 3960

cagaagcccc tcaaccaaac ttttctttgt gtctgctcac tgtgcttgta ggcatggact 4020

acatcagagt gcatctggag cctttggacc acaagaagga attggccaac agttcatctg 4080

atgatgaaga ttttttcgct tctttgaaac cgacaacaca tgaagccagc aaagagttgg 4140

atggatatct ggcctgtgtt tcagacacca gggagtctct gctcacgttt cctgctattt 4200

gcagcctctc tatcaagact aatacacctc ttcccgcatc ggctgcctgt gagaggcttt 4260

tcagcactgc aggattgctt ttcagcccca aaagagctag gcttgacact aacaattttg 4320

agaatcagct tctactgaag ttaaatctga ggttttacaa ctttgagtag cgtgtactgg 4380

cattagattg tctgtcttat agtttgataa ttaaatacaa acagttctaa agcaggataa 4440

aaccttgtat gcatttcatt taatgttttt tgagattaaa agcttaaaca agaatctcta 4500

gttttctttc ttgcttttac ttttacttcc ttaatactca agtacaattt taatggagta 4560

ctttttttact tttactcaag taagattcta gccagatact tttacttta attgagtaaa 4620

attttcccta agtacttgta ctttcacttg agtaaaattt ttgagtactt tttacacctc 4680

tg 4682

<210> 32
<211> 1053
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> dSaCas9

<400> 32

Met Lys Arg Asn Tyr Ile Leu Gly Leu Ala Ile Gly Ile Thr Ser Val
1 5 10 15

Gly Tyr Gly Ile Ile Asp Tyr Glu Thr Arg Asp Val Ile Asp Ala Gly
20 25 30

Val Arg Leu Phe Lys Glu Ala Asn Val Glu Asn Asn Glu Gly Arg Arg
35 40 45

Ser Lys Arg Gly Ala Arg Arg Leu Lys Arg Arg Arg Arg His Arg Ile
50 55 60

Gln Arg Val Lys Lys Leu Leu Phe Asp Tyr Asn Leu Leu Thr Asp His
65 70 75 80

Ser Glu Leu Ser Gly Ile Asn Pro Tyr Glu Ala Arg Val Lys Gly Leu
85 90 95

Ser Gln Lys Leu Ser Glu Glu Glu Phe Ser Ala Ala Leu Leu His Leu
100 105 110

Ala Lys Arg Arg Gly Val His Asn Val Asn Glu Val Glu Glu Asp Thr
115 120 125

[0035]

Gly Asn Glu Leu Ser Thr Lys Glu Gln Ile Ser Arg Asn Ser Lys Ala
130 135 140

Leu Glu Glu Lys Tyr Val Ala Glu Leu Gln Leu Glu Arg Leu Lys Lys
145 150 155 160

Asp Gly Glu Val Arg Gly Ser Ile Asn Arg Phe Lys Thr Ser Asp Tyr
165 170 175

Val Lys Glu Ala Lys Gln Leu Leu Lys Val Gln Lys Ala Tyr His Gln
180 185 190

Leu Asp Gln Ser Phe Ile Asp Thr Tyr Ile Asp Leu Leu Glu Thr Arg
195 200 205

Arg Thr Tyr Tyr Glu Gly Pro Gly Glu Gly Ser Pro Phe Gly Trp Lys
210 215 220

Asp Ile Lys Glu Trp Tyr Glu Met Leu Met Gly His Cys Thr Tyr Phe
225 230 235 240

Pro Glu Glu Leu Arg Ser Val Lys Tyr Ala Tyr Asn Ala Asp Leu Tyr
245 250 255

Asn Ala Leu Asn Asp Leu Asn Asn Leu Val Ile Thr Arg Asp Glu Asn
260 265 270

Glu Lys Leu Glu Tyr Tyr Glu Lys Phe Gln Ile Ile Glu Asn Val Phe
275 280 285

Lys Gln Lys Lys Lys Pro Thr Leu Lys Gln Ile Ala Lys Glu Ile Leu
290 295 300

Val Asn Glu Glu Asp Ile Lys Gly Tyr Arg Val Thr Ser Thr Gly Lys
305 310 315 320

Pro Glu Phe Thr Asn Leu Lys Val Tyr His Asp Ile Lys Asp Ile Thr
325 330 335

Ala Arg Lys Glu Ile Ile Glu Asn Ala Glu Leu Leu Asp Gln Ile Ala
340 345 350

[0036]

Lys Ile Leu Thr Ile Tyr Gln Ser Ser Glu Asp Ile Gln Glu Glu Leu
355 360 365

Thr Asn Leu Asn Ser Glu Leu Thr Gln Glu Glu Ile Glu Gln Ile Ser
370 375 380

Asn Leu Lys Gly Tyr Thr Gly Thr His Asn Leu Ser Leu Lys Ala Ile
385 390 395 400

Asn Leu Ile Leu Asp Glu Leu Trp His Thr Asn Asp Asn Gln Ile Ala
405 410 415

Ile Phe Asn Arg Leu Lys Leu Val Pro Lys Lys Val Asp Leu Ser Gln
420 425 430

Gln Lys Glu Ile Pro Thr Thr Leu Val Asp Asp Phe Ile Leu Ser Pro
435 440 445

Val Val Lys Arg Ser Phe Ile Gln Ser Ile Lys Val Ile Asn Ala Ile
450 455 460

Ile Lys Lys Tyr Gly Leu Pro Asn Asp Ile Ile Ile Glu Leu Ala Arg
465 470 475 480

Glu Lys Asn Ser Lys Asp Ala Gln Lys Met Ile Asn Glu Met Gln Lys
485 490 495

Arg Asn Arg Gln Thr Asn Glu Arg Ile Glu Glu Ile Ile Arg Thr Thr
500 505 510

Gly Lys Glu Asn Ala Lys Tyr Leu Ile Glu Lys Ile Lys Leu His Asp
515 520 525

Met Gln Glu Gly Lys Cys Leu Tyr Ser Leu Glu Ala Ile Pro Leu Glu
530 535 540

Asp Leu Leu Asn Asn Pro Phe Asn Tyr Glu Val Asp His Ile Ile Pro
545 550 555 560

Arg Ser Val Ser Phe Asp Asn Ser Phe Asn Asn Lys Val Leu Val Lys
565 570 575

[0037]

Gln Glu Glu Ala Ser Lys Lys Gly Asn Arg Thr Pro Phe Gln Tyr Leu
580 585 590

Ser Ser Ser Asp Ser Lys Ile Ser Tyr Glu Thr Phe Lys Lys His Ile
595 600 605

Leu Asn Leu Ala Lys Gly Lys Gly Arg Ile Ser Lys Thr Lys Lys Glu
610 615 620

Tyr Leu Leu Glu Glu Arg Asp Ile Asn Arg Phe Ser Val Gln Lys Asp
625 630 635 640

Phe Ile Asn Arg Asn Leu Val Asp Thr Arg Tyr Ala Thr Arg Gly Leu
645 650 655

Met Asn Leu Leu Arg Ser Tyr Phe Arg Val Asn Asn Leu Asp Val Lys
660 665 670

Val Lys Ser Ile Asn Gly Gly Phe Thr Ser Phe Leu Arg Arg Lys Trp
675 680 685

Lys Phe Lys Lys Glu Arg Asn Lys Gly Tyr Lys His His Ala Glu Asp
690 695 700

Ala Leu Ile Ile Ala Asn Ala Asp Phe Ile Phe Lys Glu Trp Lys Lys
705 710 715 720

Leu Asp Lys Ala Lys Lys Val Met Glu Asn Gln Met Phe Glu Glu Lys
725 730 735

Gln Ala Glu Ser Met Pro Glu Ile Glu Thr Glu Gln Glu Tyr Lys Glu
740 745 750

Ile Phe Ile Thr Pro His Gln Ile Lys His Ile Lys Asp Phe Lys Asp
755 760 765

Tyr Lys Tyr Ser His Arg Val Asp Lys Lys Pro Asn Arg Glu Leu Ile
770 775 780

Asn Asp Thr Leu Tyr Ser Thr Arg Lys Asp Asp Lys Gly Asn Thr Leu
785 790 795 800

[0038]

Ile Val Asn Asn Leu Asn Gly Leu Tyr Asp Lys Asp Asn Asp Lys Leu
805 810 815

Lys Lys Leu Ile Asn Lys Ser Pro Glu Lys Leu Leu Met Tyr His His
820 825 830

Asp Pro Gln Thr Tyr Gln Lys Leu Lys Leu Ile Met Glu Gln Tyr Gly
835 840 845

Asp Glu Lys Asn Pro Leu Tyr Lys Tyr Tyr Glu Glu Thr Gly Asn Tyr
850 855 860

Leu Thr Lys Tyr Ser Lys Lys Asp Asn Gly Pro Val Ile Lys Lys Ile
865 870 875 880

Lys Tyr Tyr Gly Asn Lys Leu Asn Ala His Leu Asp Ile Thr Asp Asp
885 890 895

Tyr Pro Asn Ser Arg Asn Lys Val Val Lys Leu Ser Leu Lys Pro Tyr
900 905 910

Arg Phe Asp Val Tyr Leu Asp Asn Gly Val Tyr Lys Phe Val Thr Val
915 920 925

Lys Asn Leu Asp Val Ile Lys Lys Glu Asn Tyr Tyr Glu Val Asn Ser
930 935 940

Lys Cys Tyr Glu Glu Ala Lys Lys Leu Lys Lys Ile Ser Asn Gln Ala
945 950 955 960

Glu Phe Ile Ala Ser Phe Tyr Asn Asn Asp Leu Ile Lys Ile Asn Gly
965 970 975

Glu Leu Tyr Arg Val Ile Gly Val Asn Asn Asp Leu Leu Asn Arg Ile
980 985 990

Glu Val Asn Met Ile Asp Ile Thr Tyr Arg Glu Tyr Leu Glu Asn Met
995 1000 1005

Asn Asp Lys Arg Pro Pro Arg Ile Ile Lys Thr Ile Ala Ser Lys
1010 1015 1020

[0039]

Thr Gln Ser Ile Lys Lys Tyr Ser Thr Asp Ile Leu Gly Asn Leu
1025 1030 1035

Tyr Glu Val Lys Ser Lys Lys His Pro Gln Ile Ile Lys Lys Gly
1040 1045 1050

<210> 33
<211> 1368
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 在位置1处具有X的dCas9，X可以是任何氨基酸

<220>
<221> 混合特征
<222> (1)..(1)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<400> 33

Xaa Asp Lys Lys Tyr Ser Ile Gly Leu Ala Ile Gly Thr Asn Ser Val
1 5 10 15

Gly Trp Ala Val Ile Thr Asp Glu Tyr Lys Val Pro Ser Lys Lys Phe
20 25 30

Lys Val Leu Gly Asn Thr Asp Arg His Ser Ile Lys Lys Asn Leu Ile
35 40 45

Gly Ala Leu Leu Phe Asp Ser Gly Glu Thr Ala Glu Ala Thr Arg Leu
50 55 60

Lys Arg Thr Ala Arg Arg Arg Tyr Thr Arg Arg Lys Asn Arg Ile Cys
65 70 75 80

Tyr Leu Gln Glu Ile Phe Ser Asn Glu Met Ala Lys Val Asp Asp Ser
85 90 95

Phe Phe His Arg Leu Glu Glu Ser Phe Leu Val Glu Glu Asp Lys Lys
100 105 110

His Glu Arg His Pro Ile Phe Gly Asn Ile Val Asp Glu Val Ala Tyr
115 120 125

[0040]

His Glu Lys Tyr Pro Thr Ile Tyr His Leu Arg Lys Lys Leu Val Asp
130 135 140

Ser Thr Asp Lys Ala Asp Leu Arg Leu Ile Tyr Leu Ala Leu Ala His
145 150 155 160

Met Ile Lys Phe Arg Gly His Phe Leu Ile Glu Gly Asp Leu Asn Pro
165 170 175

Asp Asn Ser Asp Val Asp Lys Leu Phe Ile Gln Leu Val Gln Thr Tyr
180 185 190

Asn Gln Leu Phe Glu Glu Asn Pro Ile Asn Ala Ser Gly Val Asp Ala
195 200 205

Lys Ala Ile Leu Ser Ala Arg Leu Ser Lys Ser Arg Arg Leu Glu Asn
210 215 220

Leu Ile Ala Gln Leu Pro Gly Glu Lys Lys Asn Gly Leu Phe Gly Asn
225 230 235 240

Leu Ile Ala Leu Ser Leu Gly Leu Thr Pro Asn Phe Lys Ser Asn Phe
245 250 255

Asp Leu Ala Glu Asp Ala Lys Leu Gln Leu Ser Lys Asp Thr Tyr Asp
260 265 270

Asp Asp Leu Asp Asn Leu Leu Ala Gln Ile Gly Asp Gln Tyr Ala Asp
275 280 285

Leu Phe Leu Ala Ala Lys Asn Leu Ser Asp Ala Ile Leu Leu Ser Asp
290 295 300

Ile Leu Arg Val Asn Thr Glu Ile Thr Lys Ala Pro Leu Ser Ala Ser
305 310 315 320

Met Ile Lys Arg Tyr Asp Glu His His Gln Asp Leu Thr Leu Leu Lys
325 330 335

Ala Leu Val Arg Gln Gln Leu Pro Glu Lys Tyr Lys Glu Ile Phe Phe
340 345 350

[0041]

Asp Gln Ser Lys Asn Gly Tyr Ala Gly Tyr Ile Asp Gly Gly Ala Ser
355 360 365

Gln Glu Glu Phe Tyr Lys Phe Ile Lys Pro Ile Leu Glu Lys Met Asp
370 375 380

Gly Thr Glu Glu Leu Leu Val Lys Leu Asn Arg Glu Asp Leu Leu Arg
385 390 395 400

Lys Gln Arg Thr Phe Asp Asn Gly Ser Ile Pro His Gln Ile His Leu
405 410 415

Gly Glu Leu His Ala Ile Leu Arg Arg Gln Glu Asp Phe Tyr Pro Phe
420 425 430

Leu Lys Asp Asn Arg Glu Lys Ile Glu Lys Ile Leu Thr Phe Arg Ile
435 440 445

Pro Tyr Tyr Val Gly Pro Leu Ala Arg Gly Asn Ser Arg Phe Ala Trp
450 455 460

Met Thr Arg Lys Ser Glu Glu Thr Ile Thr Pro Trp Asn Phe Glu Glu
465 470 475 480

Val Val Asp Lys Gly Ala Ser Ala Gln Ser Phe Ile Glu Arg Met Thr
485 490 495

Asn Phe Asp Lys Asn Leu Pro Asn Glu Lys Val Leu Pro Lys His Ser
500 505 510

Leu Leu Tyr Glu Tyr Phe Thr Val Tyr Asn Glu Leu Thr Lys Val Lys
515 520 525

Tyr Val Thr Glu Gly Met Arg Lys Pro Ala Phe Leu Ser Gly Glu Gln
530 535 540

Lys Lys Ala Ile Val Asp Leu Leu Phe Lys Thr Asn Arg Lys Val Thr
545 550 555 560

Val Lys Gln Leu Lys Glu Asp Tyr Phe Lys Lys Ile Glu Cys Phe Asp
565 570 575

[0042]

Ser Val Glu Ile Ser Gly Val Glu Asp Arg Phe Asn Ala Ser Leu Gly
580 585 590

Thr Tyr His Asp Leu Leu Lys Ile Ile Lys Asp Lys Asp Phe Leu Asp
595 600 605

Asn Glu Glu Asn Glu Asp Ile Leu Glu Asp Ile Val Leu Thr Leu Thr
610 615 620

Leu Phe Glu Asp Arg Glu Met Ile Glu Glu Arg Leu Lys Thr Tyr Ala
625 630 635 640

His Leu Phe Asp Asp Lys Val Met Lys Gln Leu Lys Arg Arg Arg Tyr
645 650 655

Thr Gly Trp Gly Arg Leu Ser Arg Lys Leu Ile Asn Gly Ile Arg Asp
660 665 670

Lys Gln Ser Gly Lys Thr Ile Leu Asp Phe Leu Lys Ser Asp Gly Phe
675 680 685

```
Ala Asn Arg Asn Phe Met Gln Leu Ile His Asp Asp Ser Leu Thr Phe
    690                 695                 700

Lys Glu Asp Ile Gln Lys Ala Gln Val Ser Gly Gln Gly Asp Ser Leu
705                 710                 715                 720

His Glu His Ile Ala Asn Leu Ala Gly Ser Pro Ala Ile Lys Lys Gly
                725                 730                 735

Ile Leu Gln Thr Val Lys Val Val Asp Glu Leu Val Lys Val Met Gly
            740                 745                 750

Arg His Lys Pro Glu Asn Ile Val Ile Glu Met Ala Arg Glu Asn Gln
        755                 760                 765

Thr Thr Gln Lys Gly Gln Lys Asn Ser Arg Glu Arg Met Lys Arg Ile
    770                 775                 780

Glu Glu Gly Ile Lys Glu Leu Gly Ser Gln Ile Leu Lys Glu His Pro
785                 790                 795                 800
```

[0043]

```
Val Glu Asn Thr Gln Leu Gln Asn Glu Lys Leu Tyr Leu Tyr Tyr Leu
                805                 810                 815

Gln Asn Gly Arg Asp Met Tyr Val Asp Gln Glu Leu Asp Ile Asn Arg
            820                 825                 830

Leu Ser Asp Tyr Asp Val Asp Ala Ile Val Pro Gln Ser Phe Leu Lys
        835                 840                 845

Asp Asp Ser Ile Asp Asn Lys Val Leu Thr Arg Ser Asp Lys Asn Arg
    850                 855                 860

Gly Lys Ser Asp Asn Val Pro Ser Glu Glu Val Val Lys Lys Met Lys
865                 870                 875                 880

Asn Tyr Trp Arg Gln Leu Leu Asn Ala Lys Leu Ile Thr Gln Arg Lys
                885                 890                 895

Phe Asp Asn Leu Thr Lys Ala Glu Arg Gly Gly Leu Ser Glu Leu Asp
            900                 905                 910
```

```
Lys Ala Gly Phe Ile Lys Arg Gln Leu Val Glu Thr Arg Gln Ile Thr
        915                 920                 925

Lys His Val Ala Gln Ile Leu Asp Ser Arg Met Asn Thr Lys Tyr Asp
    930                 935                 940

Glu Asn Asp Lys Leu Ile Arg Glu Val Lys Val Ile Thr Leu Lys Ser
945                 950                 955                 960

Lys Leu Val Ser Asp Phe Arg Lys Asp Phe Gln Phe Tyr Lys Val Arg
                965                 970                 975

Glu Ile Asn Asn Tyr His His Ala His Asp Ala Tyr Leu Asn Ala Val
            980                 985                 990

Val Gly Thr Ala Leu Ile Lys Lys  Tyr Pro Lys Leu Glu  Ser Glu Phe
        995                 1000                1005

Val Tyr  Gly Asp Tyr Lys Val  Tyr Asp Val Arg Lys  Met Ile Ala
    1010                1015                1020
```

[0044]

```
Lys Ser  Glu Gln Glu Ile Gly  Lys Ala Thr Ala Lys  Tyr Phe Phe
    1025                1030                1035

Tyr Ser  Asn Ile Met Asn Phe  Phe Lys Thr Glu Ile  Thr Leu Ala
    1040                1045                1050

Asn Gly  Glu Ile Arg Lys Arg  Pro Leu Ile Glu Thr  Asn Gly Glu
    1055                1060                1065

Thr Gly  Glu Ile Val Trp Asp  Lys Gly Arg Asp Phe  Ala Thr Val
    1070                1075                1080

Arg Lys  Val Leu Ser Met Pro  Gln Val Asn Ile Val  Lys Lys Thr
    1085                1090                1095

Glu Val  Gln Thr Gly Gly Phe  Ser Lys Glu Ser Ile  Leu Pro Lys
    1100                1105                1110

Arg Asn  Ser Asp Lys Leu Ile  Ala Arg Lys Lys Asp  Trp Asp Pro
    1115                1120                1125
```

Lys Lys Tyr Gly Gly Phe Asp Ser Pro Thr Val Ala Tyr Ser Val
1130 1135 1140

Leu Val Val Ala Lys Val Glu Lys Gly Lys Ser Lys Lys Leu Lys
1145 1150 1155

Ser Val Lys Glu Leu Leu Gly Ile Thr Ile Met Glu Arg Ser Ser
1160 1165 1170

Phe Glu Lys Asn Pro Ile Asp Phe Leu Glu Ala Lys Gly Tyr Lys
1175 1180 1185

Glu Val Lys Lys Asp Leu Ile Ile Lys Leu Pro Lys Tyr Ser Leu
1190 1195 1200

Phe Glu Leu Glu Asn Gly Arg Lys Arg Met Leu Ala Ser Ala Gly
1205 1210 1215

Glu Leu Gln Lys Gly Asn Glu Leu Ala Leu Pro Ser Lys Tyr Val
1220 1225 1230

[0045]

Asn Phe Leu Tyr Leu Ala Ser His Tyr Glu Lys Leu Lys Gly Ser
1235 1240 1245

Pro Glu Asp Asn Glu Gln Lys Gln Leu Phe Val Glu Gln His Lys
1250 1255 1260

His Tyr Leu Asp Glu Ile Ile Glu Gln Ile Ser Glu Phe Ser Lys
1265 1270 1275

Arg Val Ile Leu Ala Asp Ala Asn Leu Asp Lys Val Leu Ser Ala
1280 1285 1290

Tyr Asn Lys His Arg Asp Lys Pro Ile Arg Glu Gln Ala Glu Asn
1295 1300 1305

Ile Ile His Leu Phe Thr Leu Thr Asn Leu Gly Ala Pro Ala Ala
1310 1315 1320

Phe Lys Tyr Phe Asp Thr Thr Ile Asp Arg Lys Arg Tyr Thr Ser
1325 1330 1335

Thr Lys Glu Val Leu Asp Ala Thr Leu Ile His Gln Ser Ile Thr
1340 1345 1350

Gly Leu Tyr Glu Thr Arg Ile Asp Leu Ser Gln Leu Gly Gly Asp
1355 1360 1365

<210> 34
<211> 199
<212> PRT
<213> 梭菌属 7_2_43FAA

<400> 34

Glu Gly Ile Lys Ser Asn Ile Ser Leu Leu Lys Asp Glu Leu Arg Gly
1 5 10 15

Gln Ile Ser His Ile Ser His Glu Tyr Leu Ser Leu Ile Asp Leu Ala
20 25 30

Phe Asp Ser Lys Gln Asn Arg Leu Phe Glu Met Lys Val Leu Glu Leu
35 40 45

[0046] Leu Val Asn Glu Tyr Gly Phe Lys Gly Arg His Leu Gly Gly Ser Arg
50 55 60

Lys Pro Asp Gly Ile Val Tyr Ser Thr Thr Leu Glu Asp Asn Phe Gly
65 70 75 80

Ile Ile Val Asp Thr Lys Ala Tyr Ser Glu Gly Tyr Ser Leu Pro Ile
85 90 95

Ser Gln Ala Asp Glu Met Glu Arg Tyr Val Arg Glu Asn Ser Asn Arg
100 105 110

Asp Glu Glu Val Asn Pro Asn Lys Trp Trp Glu Asn Phe Ser Glu Glu
115 120 125

Val Lys Lys Tyr Tyr Phe Val Phe Ile Ser Gly Ser Phe Lys Gly Lys
130 135 140

Phe Glu Glu Gln Leu Arg Arg Leu Ser Met Thr Thr Gly Val Asn Gly
145 150 155 160

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

[0047]

165 170 175

Ser Gly Glu Met Thr Ile Glu Glu Leu Glu Arg Ala Met Phe Asn Asn
180 185 190

Ser Glu Phe Ile Leu Lys Tyr
195

<210> 35
<211> 4897
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> PB-EF1a载体

<400> 35
tgtacataga ttaaccctag aaagataatc atattgtgac gtacgttaaa gataatcatg 60

cgtaaaattg acgcatgtgt tttatcggtc tgtatatcga ggtttattta ttaatttgaa 120

tagatattaa gttttattat atttacactt acatactaat aataaattca acaaacaatt 180

tatttatgtt tatttattta ttaaaaaaaa acaaaaactc aaaatttctt ctataaagta 240

acaaaacttt tatcgaatac ctgcagcccg ggggatgcag agggacagcc ccccccccaaa 300

gccccccaggg atgtaattac gtccctcccc cgctaggggg cagcagcgag ccgcccgggg 360

ctccgctccg gtccggcgct cccccccgcat ccccgagccg gcagcgtgcg gggacagccc 420

gggcacgggg aaggtggcac gggatcgctt tcctctgaac gcttctcgct gctctttgag 480

cctgcagaca cctgggggga tacggggaaa agttgactgt gcctttcgat cgaaccatgg 540

acagttagct ttgcaaagat ggataaagtt ttaaacagag aggaatcttt gcagctaatg 600

gaccttctag gtcttgaaag gagtgggaat tggctccggt gcccgtcagt gggcagagcg 660

cacatcgccc acagtccccg agaagttggg gggaggggtc ggcaattgaa ccggtgccta 720

gagaaggtgg cgcggggtaa actgggaaag tgatgtcgtg tactggctcc gccttttttcc 780

cgagggtggg ggagaaccgt atataagtgc agtagtcgcc gtgaacgttc tttttcgcaa 840

cgggtttgcc gccagaacac aggtaagtgc cgtgtgtggt tcccgcgggc ctggcctctt 900

tacgggttat ggcccttgcg tgccttgaat tacttccacc tggctgcagt acgtgattct 960

tgatcccgag cttcgggttg gaagtgggtg ggagagttcg aggccttgcg cttaaggagc 1020

cccttcgcct cgtgcttgag ttgaggcctg gcctgggcgc tggggccgcc gcgtgcgaat 1080

[0048]

ctggtggcac cttcgcgcct gtctcgctgc tttcgataag tctctagcca tttaaaattt 1140

ttgatgacct gctgcgacgc tttttttctg gcaagatagt cttgtaaatg cgggccaaga 1200

tctgcacact ggtatttcgg tttttggggc cgcgggcggc gacggggccc gtgcgtccca 1260

gcgcacatgt tcggcgaggc ggggcctgcg agcgcggcca ccgagaatcg gacgggggta 1320

gtctcaagct ggccggcctg ctctggtgcc tggcctcgcg ccgccgtgta tcgccccgcc 1380

ctgggcggca aggctggccc ggtcggcacc agttgcgtga gcggaaagat ggccgcttcc 1440

cggccctgct gcagggagct caaaatggag gacgcggcgc tcgggagagc gggcgggtga 1500

gtcacccaca caaaggaaaa gggcctttcc gtcctcagcc gtcgcttcat gtgactccac 1560

ggagtaccgg gcgccgtcca ggcacctcga ttagttctcg agcttttgga gtacgtcgtc 1620

tttaggttgg ggggaggggt tttatgcgat ggagtttccc cacactgagt gggtggagac 1680

tgaagttagg ccagcttggc acttgatgta attctccttg gaatttgccc tttttgagtt 1740

tggatcttgg ttcattctca agcctcagac agtggttcaa agtttttttc ttccatttca 1800

ggtgtcgtga gaattctaat acgactcact atagggtgtg ctgtctcatc attttggcaa 1860

agattggcca ccaagcttgt cctgcaggag ggtcgacgcc tctagacggg cggccgctcc 1920

ggatccacgg gtaccgatca catatgcctt taattaaaca ctagttctat agtgtcacct 1980

aaattccctt tagtgagggt taatggccgt aggccgccag aattgggtcc agacatgata 2040

agatacattg atgagtttgg acaaaccaca actagaatgc agtgaaaaaa atgctttatt 2100

tgtgaaattt gtgatgctat tgctttattt gtaaccatta taagctgcaa taaacaagtt 2160

aacaacaaca attgcattca ttttatgttt caggttcagg gggaggtgtg ggaggttttt 2220

tcggactcta ggacctgcgc atgcgcttgg cgtaatcatg gtcatagctg tttcctgttt 2280

tccccgtatc cccccaggtg tctgcaggct caaagagcag cgagaagcgt tcagaggaaa 2340

gcgatcccgt gccaccttcc ccgtgcccgg gctgtccccg cacgctgccg gctcggggat 2400

gcgggggggag cgccggaccg gagcggagcc ccgggcggct cgctgctgcc ccctagcggg 2460

ggagggacgt aattacatcc ctgggggctt tgggggggggg ctgtccctct caccgcggtg 2520

gagctccagc ttttgttcga attggggccc cccctcgagg gtatcgatga tatctataac 2580

aagaaaatat atatataata agttatcacg taagtagaac atgaaataac aatataatta 2640

tcgtatgagt taaatcttaa aagtcacgta aaagataatc atgcgtcatt ttgactcacg 2700

cggtcgttat agttcaaaat cagtgacact taccgcattg acaagcacgc ctcacgggag 2760

[0049]

ctccaagcgg cgactgagat gtcctaaatg cacagcgacg gattcgcgct atttagaaag 2820

agagagcaat atttcaagaa tgcatgcgtc aattttacgc agactatctt tctagggtta 2880

atctagctag ccttaagggc gcctattgcg ttgcgctcac tgcccgcttt ccagtcggga 2940

aacctgtcgt gccagctgca ttaatgaatc ggccaacgcg cggggagagg cggtttgcgt 3000

attgggcgct cttccgcttc ctcgctcact gactcgctgc gctcggtcgt tcggctgcgg 3060

cgagcggtat cagctcactc aaaggcggta atacggttat ccacagaatc aggggataac 3120

gcaggaaaga acatgaccaa aatcccttaa cgtgagtttt cgttccactg agcgtcagac 3180

cccgtagaaa agatcaaagg atcttcttga gatccttttt ttctgcgcgt aatctgctgc 3240

ttgcaaacaa aaaaaccacc gctaccagcg gtggtttgtt tgccggatca agagctacca 3300

actcttttc cgaaggtaac tggcttcagc agagcgcaga taccaaatac tgttcttcta 3360

gtgtagccgt agttaggcca ccacttcaag aactctgtag caccgcctac atacctcgct 3420

ctgctaatcc tgttaccagt ggctgctgcc agtggcgata agtcgtgtct taccgggttg 3480

gactcaagac gatagttacc ggataaggcg cagcggtcgg gctgaacggg gggttcgtgc 3540

acacagccca gcttggagcg aacgacctac accgaactga gatacctaca gcgtgagcta 3600

tgagaaagcg ccacgcttcc cgaagggaga aaggcggaca ggtatccggt aagcggcagg 3660

gtcggaacag gagagcgcac gagggagctt ccagggggaa acgcctggta tctttatagt 3720

cctgtcgggt ttcgccacct ctgacttgag cgtcgatttt tgtgatgctc gtcaggggg 3780

cggagcctat ggaaaaacgc cagcaacgcg gccttttac ggttcctggc cttttgctgg 3840

ccttttgctc acatgagatt atcaaaaagg atcttcacct agatcctttt aaattaaaaa 3900

tgaagtttta aatcaatcta aagtatatat gagtaaactt ggtctgacag tcagaagaac 3960

tcgtcaagaa ggcgatagaa ggcgatgcgc tgcgaatcgg gagcggcgat accgtaaagc 4020

acgaggaagc ggtcagccca ttcgccgcca agctcttcag caatatcacg ggtagccaac 4080

gctatgtcct gatagcggtc cgccacaccc agccggccac agtcgatgaa tccagaaaag 4140

cggccatttt ccaccatgat attcggcaag caggcatcgc catgggtcac gacgagatcc 4200

tcgccgtcgg gcatgctcgc cttgagcctg gcgaacagtt cggctggcgc gagcccctga 4260

tgctcttcgt ccagatcatc ctgatcgaca agaccggctt ccatccgagt acgtgctcgc 4320

tcgatgcgat gtttcgcttg gtggtcgaat gggcaggtag ccggatcaag cgtatgcagc 4380

cgccgcattg catcagccat gatggatact ttctcggcag gagcaaggtg agatgacagg 4440

[0050]

agatcctgcc ccggcacttc gcccaatagc agccagtccc ttcccgcttc agtgacaacg 4500

tcgagcacag ctgcgcaagg aacgcccgtc gtggccagcc acgatagccg cgctgcctcg 4560

tcttgcagtt cattcagggc accggacagg tcggtcttga caaaaagaac cgggcgcccc 4620

tgcgctgaca gccggaacac ggcggcatca gagcagccga ttgtctgttg tgcccagtca 4680

tagccgaata gcctctccac ccaagcggcc ggagaacctg cgtgcaatcc atcttgttca 4740

atcataatat tattgaagca tttatcaggg ttcgtctcgt cccggtctcc tcccaatgca 4800

tgtcaatatt ggccattagc catattattc attggttata tagcataaat caatattggc 4860

tattggccat tgcatacgtt gtatctatat cataata 4897

<210> 36
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> EF1a-2r引物

<400> 36
caccggagcc aattcccact 20

<210> 37
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> AAVS-3r引物

<400> 37
ctgcaccacg tgatgtcctc 20

<210> 38
<211> 28
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> SV40pA-1r 引物

<400> 38
gtaaccatta taagctgcaa taaacaag 28

<210> 39
<211> 24
<212> DNA

[0051]

<213> 人工序列

<220>
<223> AAVS-2f 引物

<400> 39
ctggggactc tttaaggaaa gaag 24

<210> 40
<211> 1591
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> dCas9-Clo051

<400> 40

Met Ala Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Glu Gly Ile Lys Ser Asn Ile
1 5 10 15

Ser Leu Leu Lys Asp Glu Leu Arg Gly Gln Ile Ser His Ile Ser His
20 25 30

Glu Tyr Leu Ser Leu Ile Asp Leu Ala Phe Asp Ser Lys Gln Asn Arg
35 40 45

Leu Phe Glu Met Lys Val Leu Glu Leu Leu Val Asn Glu Tyr Gly Phe
50 55 60

Lys Gly Arg His Leu Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly Ile Val Tyr
65 70 75 80

Ser Thr Thr Leu Glu Asp Asn Phe Gly Ile Ile Val Asp Thr Lys Ala
85 90 95

Tyr Ser Glu Gly Tyr Ser Leu Pro Ile Ser Gln Ala Asp Glu Met Glu
100 105 110

Arg Tyr Val Arg Glu Asn Ser Asn Arg Asp Glu Glu Val Asn Pro Asn
115 120 125

Lys Trp Trp Glu Asn Phe Ser Glu Glu Val Lys Lys Tyr Tyr Phe Val
130 135 140

Phe Ile Ser Gly Ser Phe Lys Gly Lys Phe Glu Glu Gln Leu Arg Arg

145 150 155 160

Leu Ser Met Thr Thr Gly Val Asn Gly Ser Ala Val Asn Val Val Asn
165 170 175

Leu Leu Leu Gly Ala Glu Lys Ile Arg Ser Gly Glu Met Thr Ile Glu
180 185 190

Glu Leu Glu Arg Ala Met Phe Asn Asn Ser Glu Phe Ile Leu Lys Tyr
195 200 205

Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Lys Tyr Ser Ile Gly Leu Ala Ile Gly
210 215 220

Thr Asn Ser Val Gly Trp Ala Val Ile Thr Asp Glu Tyr Lys Val Pro
225 230 235 240

Ser Lys Lys Phe Lys Val Leu Gly Asn Thr Asp Arg His Ser Ile Lys
245 250 255

[0052] Lys Asn Leu Ile Gly Ala Leu Leu Phe Asp Ser Gly Glu Thr Ala Glu
260 265 270

Ala Thr Arg Leu Lys Arg Thr Ala Arg Arg Arg Tyr Thr Arg Arg Lys
275 280 285

Asn Arg Ile Cys Tyr Leu Gln Glu Ile Phe Ser Asn Glu Met Ala Lys
290 295 300

Val Asp Asp Ser Phe Phe His Arg Leu Glu Glu Ser Phe Leu Val Glu
305 310 315 320

Glu Asp Lys Lys His Glu Arg His Pro Ile Phe Gly Asn Ile Val Asp
325 330 335

Glu Val Ala Tyr His Glu Lys Tyr Pro Thr Ile Tyr His Leu Arg Lys
340 345 350

Lys Leu Val Asp Ser Thr Asp Lys Ala Asp Leu Arg Leu Ile Tyr Leu
355 360 365

Ala Leu Ala His Met Ile Lys Phe Arg Gly His Phe Leu Ile Glu Gly

370 375 380

Asp Leu Asn Pro Asp Asn Ser Asp Val Asp Lys Leu Phe Ile Gln Leu
385 390 395 400

Val Gln Thr Tyr Asn Gln Leu Phe Glu Glu Asn Pro Ile Asn Ala Ser
405 410 415

Gly Val Asp Ala Lys Ala Ile Leu Ser Ala Arg Leu Ser Lys Ser Arg
420 425 430

Arg Leu Glu Asn Leu Ile Ala Gln Leu Pro Gly Glu Lys Lys Asn Gly
435 440 445

Leu Phe Gly Asn Leu Ile Ala Leu Ser Leu Gly Leu Thr Pro Asn Phe
450 455 460

Lys Ser Asn Phe Asp Leu Ala Glu Asp Ala Lys Leu Gln Leu Ser Lys
465 470 475 480

[0053] Asp Thr Tyr Asp Asp Asp Leu Asp Asn Leu Leu Ala Gln Ile Gly Asp
485 490 495

Gln Tyr Ala Asp Leu Phe Leu Ala Ala Lys Asn Leu Ser Asp Ala Ile
500 505 510

Leu Leu Ser Asp Ile Leu Arg Val Asn Thr Glu Ile Thr Lys Ala Pro
515 520 525

Leu Ser Ala Ser Met Ile Lys Arg Tyr Asp Glu His His Gln Asp Leu
530 535 540

Thr Leu Leu Lys Ala Leu Val Arg Gln Gln Leu Pro Glu Lys Tyr Lys
545 550 555 560

Glu Ile Phe Phe Asp Gln Ser Lys Asn Gly Tyr Ala Gly Tyr Ile Asp
565 570 575

Gly Gly Ala Ser Gln Glu Glu Phe Tyr Lys Phe Ile Lys Pro Ile Leu
580 585 590

Glu Lys Met Asp Gly Thr Glu Glu Leu Leu Val Lys Leu Asn Arg Glu

595 600 605

Asp Leu Leu Arg Lys Gln Arg Thr Phe Asp Asn Gly Ser Ile Pro His
610 615 620

Gln Ile His Leu Gly Glu Leu His Ala Ile Leu Arg Arg Gln Glu Asp
625 630 635 640

Phe Tyr Pro Phe Leu Lys Asp Asn Arg Glu Lys Ile Glu Lys Ile Leu
645 650 655

Thr Phe Arg Ile Pro Tyr Tyr Val Gly Pro Leu Ala Arg Gly Asn Ser
660 665 670

Arg Phe Ala Trp Met Thr Arg Lys Ser Glu Glu Thr Ile Thr Pro Trp
675 680 685

Asn Phe Glu Glu Val Val Asp Lys Gly Ala Ser Ala Gln Ser Phe Ile
690 695 700

[0054] Glu Arg Met Thr Asn Phe Asp Lys Asn Leu Pro Asn Glu Lys Val Leu
705 710 715 720

Pro Lys His Ser Leu Leu Tyr Glu Tyr Phe Thr Val Tyr Asn Glu Leu
725 730 735

Thr Lys Val Lys Tyr Val Thr Glu Gly Met Arg Lys Pro Ala Phe Leu
740 745 750

Ser Gly Glu Gln Lys Lys Ala Ile Val Asp Leu Leu Phe Lys Thr Asn
755 760 765

Arg Lys Val Thr Val Lys Gln Leu Lys Glu Asp Tyr Phe Lys Lys Ile
770 775 780

Glu Cys Phe Asp Ser Val Glu Ile Ser Gly Val Glu Asp Arg Phe Asn
785 790 795 800

Ala Ser Leu Gly Thr Tyr His Asp Leu Leu Lys Ile Ile Lys Asp Lys
805 810 815

Asp Phe Leu Asp Asn Glu Glu Asn Glu Asp Ile Leu Glu Asp Ile Val

820 825 830

Leu Thr Leu Thr Leu Phe Glu Asp Arg Glu Met Ile Glu Glu Arg Leu
835 840 845

Lys Thr Tyr Ala His Leu Phe Asp Asp Lys Val Met Lys Gln Leu Lys
850 855 860

Arg Arg Arg Tyr Thr Gly Trp Gly Arg Leu Ser Arg Lys Leu Ile Asn
865 870 875 880

Gly Ile Arg Asp Lys Gln Ser Gly Lys Thr Ile Leu Asp Phe Leu Lys
885 890 895

Ser Asp Gly Phe Ala Asn Arg Asn Phe Met Gln Leu Ile His Asp Asp
900 905 910

Ser Leu Thr Phe Lys Glu Asp Ile Gln Lys Ala Gln Val Ser Gly Gln
915 920 925

[0055] Gly Asp Ser Leu His Glu His Ile Ala Asn Leu Ala Gly Ser Pro Ala
930 935 940

Ile Lys Lys Gly Ile Leu Gln Thr Val Lys Val Val Asp Glu Leu Val
945 950 955 960

Lys Val Met Gly Arg His Lys Pro Glu Asn Ile Val Ile Glu Met Ala
965 970 975

Arg Glu Asn Gln Thr Thr Gln Lys Gly Gln Lys Asn Ser Arg Glu Arg
980 985 990

Met Lys Arg Ile Glu Glu Gly Ile Lys Glu Leu Gly Ser Gln Ile Leu
995 1000 1005

Lys Glu His Pro Val Glu Asn Thr Gln Leu Gln Asn Glu Lys Leu
1010 1015 1020

Tyr Leu Tyr Tyr Leu Gln Asn Gly Arg Asp Met Tyr Val Asp Gln
1025 1030 1035

Glu Leu Asp Ile Asn Arg Leu Ser Asp Tyr Asp Val Asp Ala Ile

1040 1045 1050

Val Pro Gln Ser Phe Leu Lys Asp Asp Ser Ile Asp Asn Lys Val
1055 1060 1065

Leu Thr Arg Ser Asp Lys Asn Arg Gly Lys Ser Asp Asn Val Pro
1070 1075 1080

Ser Glu Glu Val Val Lys Lys Met Lys Asn Tyr Trp Arg Gln Leu
1085 1090 1095

Leu Asn Ala Lys Leu Ile Thr Gln Arg Lys Phe Asp Asn Leu Thr
1100 1105 1110

Lys Ala Glu Arg Gly Gly Leu Ser Glu Leu Asp Lys Ala Gly Phe
1115 1120 1125

Ile Lys Arg Gln Leu Val Glu Thr Arg Gln Ile Thr Lys His Val
1130 1135 1140

[0056] Ala Gln Ile Leu Asp Ser Arg Met Asn Thr Lys Tyr Asp Glu Asn
1145 1150 1155

Asp Lys Leu Ile Arg Glu Val Lys Val Ile Thr Leu Lys Ser Lys
1160 1165 1170

Leu Val Ser Asp Phe Arg Lys Asp Phe Gln Phe Tyr Lys Val Arg
1175 1180 1185

Glu Ile Asn Asn Tyr His His Ala His Asp Ala Tyr Leu Asn Ala
1190 1195 1200

Val Val Gly Thr Ala Leu Ile Lys Lys Tyr Pro Lys Leu Glu Ser
1205 1210 1215

Glu Phe Val Tyr Gly Asp Tyr Lys Val Tyr Asp Val Arg Lys Met
1220 1225 1230

Ile Ala Lys Ser Glu Gln Glu Ile Gly Lys Ala Thr Ala Lys Tyr
1235 1240 1245

Phe Phe Tyr Ser Asn Ile Met Asn Phe Phe Lys Thr Glu Ile Thr

1250 1255 1260

Leu Ala Asn Gly Glu Ile Arg Lys Arg Pro Leu Ile Glu Thr Asn
1265 1270 1275

Gly Glu Thr Gly Glu Ile Val Trp Asp Lys Gly Arg Asp Phe Ala
1280 1285 1290

Thr Val Arg Lys Val Leu Ser Met Pro Gln Val Asn Ile Val Lys
1295 1300 1305

Lys Thr Glu Val Gln Thr Gly Gly Phe Ser Lys Glu Ser Ile Leu
1310 1315 1320

Pro Lys Arg Asn Ser Asp Lys Leu Ile Ala Arg Lys Lys Asp Trp
1325 1330 1335

Asp Pro Lys Lys Tyr Gly Gly Phe Asp Ser Pro Thr Val Ala Tyr
1340 1345 1350

[0057] Ser Val Leu Val Val Ala Lys Val Glu Lys Gly Lys Ser Lys Lys
1355 1360 1365

Leu Lys Ser Val Lys Glu Leu Leu Gly Ile Thr Ile Met Glu Arg
1370 1375 1380

Ser Ser Phe Glu Lys Asn Pro Ile Asp Phe Leu Glu Ala Lys Gly
1385 1390 1395

Tyr Lys Glu Val Lys Lys Asp Leu Ile Ile Lys Leu Pro Lys Tyr
1400 1405 1410

Ser Leu Phe Glu Leu Glu Asn Gly Arg Lys Arg Met Leu Ala Ser
1415 1420 1425

Ala Gly Glu Leu Gln Lys Gly Asn Glu Leu Ala Leu Pro Ser Lys
1430 1435 1440

Tyr Val Asn Phe Leu Tyr Leu Ala Ser His Tyr Glu Lys Leu Lys
1445 1450 1455

Gly Ser Pro Glu Asp Asn Glu Gln Lys Gln Leu Phe Val Glu Gln

[0058]

```
    1460                1465                1470

His Lys  His Tyr Leu Asp Glu  Ile Ile Glu Gln Ile  Ser Glu Phe
    1475                1480                1485

Ser Lys  Arg Val Ile Leu Ala  Asp Ala Asn Leu Asp  Lys Val Leu
    1490                1495                1500

Ser Ala  Tyr Asn Lys His Arg  Asp Lys Pro Ile Arg  Glu Gln Ala
    1505                1510                1515

Glu Asn  Ile Ile His Leu Phe  Thr Leu Thr Asn Leu  Gly Ala Pro
    1520                1525                1530

Ala Ala  Phe Lys Tyr Phe Asp  Thr Thr Ile Asp Arg  Lys Arg Tyr
    1535                1540                1545

Thr Ser  Thr Lys Glu Val Leu  Asp Ala Thr Leu Ile  His Gln Ser
    1550                1555                1560

Ile Thr  Gly Leu Tyr Glu Thr  Arg Ile Asp Leu Ser  Gln Leu Gly
    1565                1570                1575

Gly Asp  Gly Ser Pro Lys Lys  Lys Arg Lys Val Ser  Ser
    1580                1585                1590
```

<210> 41
<211> 4073
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> pHR-GFP-选择基因质粒

<400> 41

```
ggggccacta gggacaggat cggcgtcttc actcgctggg ttccctttc cttctccttc      60

tggggcctgt gccatctctc gtttcttagg atggccttct ccgacggatg tctcccttgc     120

gtcccgcctc cccttcttgt aggcctgcat catcaccgtt tttctggaca accccaaagt     180

accccgtctc cctggcttta gccacctctc catcctcttg ctttctttgc ctggacaccc     240

cgttctcctg tggattcggg tcacctctca ctcctttcat ttgggcagct cccctacccc     300

ccttacctct ctagtctgtg ctagctcttc cagccccctg tcatggcatc ttccaggggt     360
```

[0059]

ccgagagctc agctagtctt cttcctccaa cccgggcccc tatgtccact tcaggacagc 420

atgtttgctg cctccaggga tcctgtgtcc ccgagctggg accaccttat attcccaggg 480

ccggttaatg tggctctggt tctgggtact tttatctgtc ccgacgtccg atcgaaccat 540

ggacagttag ctttgcaaag atggataaag ttttaaacag agaggaatct ttgcagctaa 600

tggaccttct aggtcttgaa aggagtggga attggctccg gtgcccgtca gtgggcagag 660

cgcacatcgc ccacagtccc cgagaagttg gggggagggg tcggcaattg aaccggtgcc 720

tagagaaggt ggcgcggggt aaactgggaa agtgatgtcg tgtactggct ccgccttttt 780

cccgagggtg ggggagaacc gtatataagt gcagtagtcg ccgtgaacgt tctttttcgc 840

aacgggtttg ccgccagaac acaggtaagt gccgtgtgtg gttcccgcgg gcctggcctc 900

tttacgggtt atggcccttg cgtgccttga attacttcca cctggctgca gtacgtgatt 960

cttgatcccg agcttcgggt tggaagtggg tgggagagtt cgaggccttg cgcttaagga 1020

gcccccttcgc ctcgtgcttg agttgaggcc tggcctgggc gctggggccg ccgcgtgcga 1080

atctggtggc accttcgcgc ctgtctcgct gctttcgata agtctctagc catttaaaat 1140

ttttgatgac ctgctgcgac gctttttttc tggcaagata gtcttgtaaa tgcgggccaa 1200

gatctgcaca ctggtatttc ggtttttggg gccgcgggcg gcgacggggc ccgtgcgtcc 1260

cagcgcacat gttcggcgag gcggggcctg cgagcgcggc caccgagaat cggacggggg 1320

tagtctcaag ctggccggcc tgctctggtg cctggcctcg cgccgccgtg tatcgccccg 1380

ccctgggcgg caaggctggc ccggtcggca ccagttgcgt gagcggaaag atggccgctt 1440

cccggccctg ctgcagggag ctcaaaatgg aggacgcggc gctcgggaga gcgggcgggt 1500

gagtcaccca cacaaaggaa aagggccttt ccgtcctcag ccgtcgcttc atgtgactcc 1560

acggagtacc gggcgccgtc caggcacctc gattagttct cgagcttttg gagtacgtcg 1620

tctttaggtt gggggggaggg gttttatgcg atggagtttc cccacactga gtgggtggag 1680

actgaagtta ggccagcttg gcacttgatg taattctcct tggaatttgc ccttttgag 1740

tttggatctt ggttcattct caagcctcag acagtggttc aaagtttttt tcttccattt 1800

caggtgtcgt gagaattcta atacgactca ctatagggtg tgctgtctca tcattttggc 1860

aaagattggc caccaagctt accgccatgg tgagcaaggg cgaggagctg ttcaccgggg 1920

tggtgcccat cctggtcgag ctggacggcg acgtaaacgg ccacaagttc agcgtgtccg 1980

gcgagggcga gggcgatgcc acctacggca agctgaccct gaagttcatc tgcaccaccg 2040

[0060]

gcaagctgcc cgtgccctgg cccaccctcg tgaccaccct gacctacggc gtgcagtgct 2100

tcagccgcta ccccgaccac atgaagcagc acgacttctt caagtccgcc atgcccgaag 2160

gctacgtcca ggagcgcacc atcttcttca aggacgacgg caactacaag acccgcgccg 2220

aggtgaagtt cgagggcgac accctggtga accgcatcga gctgaagggc atcgacttca 2280

aggaggacgg caacatcctg gggcacaagc tggagtacaa ctacaacagc cacaacgtct 2340

atatcatggc cgacaagcag aagaacggca tcaaggtgaa cttcaagatc cgccacaaca 2400

tcgaggacgg cagcgtgcag ctcgccgacc actaccagca gaacaccccc atcggcgacg 2460

gccccgtgct gctgcccgac aaccactacc tgagcaccca gtccgccctg agcaaagacc 2520

ccaacgagaa gcgtgatcac atggtcctgc tggagttcgt gaccgccgcc gggatcactc 2580

tcggcatgga cgagctgtac aaggaaggaa gaggcagcct gctgacatgt ggcgacgtgg 2640

aggagaaccc tggcccaatg gtgggcagcc tgaattgtat cgtggccgtg tcccagaaca 2700

tgggcatcgg caagaatggc gattttcctt ggccccctct gagaaatgag tccagatact 2760

ttcagaggat gaccacaacc agctccgtgg agggcaagca gaacctggtc atcatgggca 2820

agaagacatg gttctctatc ccagagaaga accgccccct gaagggccgg atcaatctgg 2880

tgctgagcag ggagctgaag gagccacccc agggagcaca ctttctgtcc aggtctctgg 2940

acgatgccct gaagctgacc gagcagcctg agctggccaa caaggtggac atggtgtgga 3000

tcgtgggcgg ctctagcgtg tataaggagg ccatgaatca ccctggccac ctgaagctgt 3060

tcgtgacacg gatcatgcag gactttgagt ccgatacctt ctttccagag atcgacctgg 3120

agaagtacaa gctgctgccc gagtatcctg gcgtgctgtc tgatgtgcag gaggagaagg 3180

gcatcaagta caagttcgag gtgtatgaga agaacgattg ataacatatg cctttaatta 3240

aacactagtt ctatagtgtc acctaaattc cctttagtga gggttaatgg ccgtaggccg 3300

ccagaattgg gtccagacat gataagatac attgatgagt ttggacaaac cacaactaga 3360

atgcagtgaa aaaaatgctt tatttgtgaa atttgtgatg ctattgcttt atttgtaacc 3420

attataagct gcaataaaca agttaacaac aacaattgca ttcattttat gtttcaggtt 3480

caggggggagg tgtgggaggt tttttcggac tctaggacct gcgcatgcgc ttggggtacc 3540

taggatatcg acagaaaagc cccatcctta ggcctcctcc ttcctagtct cctgatattg 3600

ggtctaaccc ccacctcctg ttaggcagat tccttatctg gtgacacacc cccatttcct 3660

ggagccatct ctctccttgc cagaacctct aaggtttgct tacgatggag ccagagagga 3720

[0061]

tcctgggagg gagagcttgg caggggggtgg gagggaaggg ggggatgcgt gacctgcccg 3780

gttctcagtg gccaccctgc gctaccctct cccagaacct gagctgctct gacgcggccg 3840

tctggtgcgt ttcactgatc ctggtgctgc agcttcctta cacttcccaa gaggagaagc 3900

agtttggaaa aacaaaatca gaataagttg gtcctgagtt ctaactttgg ctcttcacct 3960

ttctagtccc caatttatat tgttcctccg tgcgtcagtt ttacctgtga gataaggcca 4020

gtagccagcc ccgtcctggc agggctgtgc ctctagggac aggattggtg acg 4073

<210> 42
<211> 3089
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> pMMEJ-GFP-选择基因质粒

<400> 42
ccaatcctgt ccctagtggc cccactgtgg ggacgtccga tcgaaccatg gacagttagc 60

tttgcaaaga tggataaagt tttaaacaga gaggaatctt tgcagctaat ggaccttcta 120

ggtcttgaaa ggagtgggaa ttggctccgg tgcccgtcag tgggcagagc gcacatcgcc 180

cacagtcccc gagaagttgg ggggaggggt cggcaattga accggtgcct agagaaggtg 240

gcgcggggta aactgggaaa gtgatgtcgt gtactggctc cgccttttc ccgagggtgg 300

gggagaaccg tatataagtg cagtagtcgc cgtgaacgtt ctttttcgca acgggtttgc 360

cgccagaaca caggtaagtg ccgtgtgtgg ttcccgcggg cctggcctct ttacgggtta 420

tggcccttgc gtgccttgaa ttacttccac ctggctgcag tacgtgattc ttgatcccga 480

gcttcgggtt ggaagtgggt gggagagttc gaggccttgc gcttaaggag ccccttcgcc 540

tcgtgcttga gttgaggcct ggcctgggcg ctggggccgc cgcgtgcgaa tctggtggca 600

ccttcgcgcc tgtctcgctg ctttcgataa gtctctagcc atttaaaatt tttgatgacc 660

tgctgcgacg ctttttttct ggcaagatag tcttgtaaat gcgggccaag atctgcacac 720

tggtatttcg gtttttgggg ccgcgggcgg cgacggggcc cgtgcgtccc agcgcacatg 780

ttcggcgagg cggggcctgc gagcgcggcc accgagaatc ggacgggggt agtctcaagc 840

tggccggcct gctctggtgc ctggcctcgc gccgccgtgt atcgccccgc cctgggcggc 900

aaggctggcc cggtcggcac cagttgcgtg agcggaaaga tggccgcttc ccggccctgc 960

tgcagggagc tcaaaatgga ggacgcggcg ctcgggagag cgggcgggtg agtcacccac 1020

[0062]

acaaaggaaa agggcctttc cgtcctcagc cgtcgcttca tgtgactcca cggagtaccg 1080

ggcgccgtcc aggcacctcg attagttctc gagcttttgg agtacgtcgt ctttaggttg 1140

gggggagggg ttttatgcga tggagtttcc ccacactgag tgggtggaga ctgaagttag 1200

gccagcttgg cacttgatgt aattctcctt ggaatttgcc ctttttgagt ttggatcttg 1260

gttcattctc aagcctcaga cagtggttca aagtttttt cttccatttc aggtgtcgtg 1320

agaattctaa tacgactcac tatagggtgt gctgtctcat cattttggca aagattggcc 1380

accaagctta ccgccatggt gagcaagggc gaggagctgt tcaccggggt ggtgcccatc 1440

ctggtcgagc tggacggcga cgtaaacggc cacaagttca gcgtgtccgg cgagggcgag 1500

ggcgatgcca cctacggcaa gctgaccctg aagttcatct gcaccaccgg caagctgccc 1560

gtgccctggc ccaccctcgt gaccaccctg acctacggcg tgcagtgctt cagccgctac 1620

cccgaccaca tgaagcagca cgacttcttc aagtccgcca tgcccgaagg ctacgtccag 1680

gagcgcacca tcttcttcaa ggacgacggc aactacaaga cccgcgccga ggtgaagttc 1740

gagggcgaca ccctggtgaa ccgcatcgag ctgaagggca tcgacttcaa ggaggacggc 1800

aacatcctgg ggcacaagct ggagtacaac tacaacagcc acaacgtcta tatcatggcc 1860

gacaagcaga agaacggcat caaggtgaac ttcaagatcc gccacaacat cgaggacggc 1920

agcgtgcagc tcgccgacca ctaccagcag aacaccccca tcggcgacgg ccccgtgctg 1980

ctgcccgaca accactacct gagcacccag tccgccctga gcaaagaccc caacgagaag 2040

cgtgatcaca tggtcctgct ggagttcgtg accgccgccg ggatcactct cggcatggac 2100

gagctgtaca aggaaggaag aggcagcctg ctgacatgtg gcgacgtgga ggagaaccct 2160

ggcccaatgg tgggcagcct gaattgtatc gtggccgtgt cccagaacat gggcatcggc 2220

aagaatggcg attttccttg gcccccctctg agaaatgagt ccagatactt tcagaggatg 2280

accacaacca gctccgtgga gggcaagcag aacctggtca tcatgggcaa gaagacatgg 2340

ttctctatcc cagagaagaa ccgccccctg aagggccgga tcaatctggt gctgagcagg 2400

gagctgaagg agccacccca gggagcacac tttctgtcca ggtctctgga cgatgccctg 2460

aagctgaccg agcagcctga gctggccaac aaggtggaca tggtgtggat cgtgggcggc 2520

tctagcgtgt ataaggaggc catgaatcac cctggccacc tgaagctgtt cgtgacacgg 2580

atcatgcagg actttgagtc cgataccttc tttccagaga tcgacctgga gaagtacaag 2640

ctgctgcccg agtatcctgg cgtgctgtct gatgtgcagg aggagaaggg catcaagtac 2700

[0063]

aagttcgagg tgtatgagaa gaacgattga taacatatgc ctttaattaa acactagttc 2760

tatagtgtca cctaaattcc ctttagtgag ggttaatggc cgtaggccgc cagaattggg 2820

tccagacatg ataagataca ttgatgagtt tggacaaacc acaactagaa tgcagtgaaa 2880

aaaatgcttt atttgtgaaa tttgtgatgc tattgcttta tttgtaacca ttataagctg 2940

caataaacaa gttaacaaca acaattgcat tcattttatg tttcaggttc agggggaggt 3000

gtgggaggtt ttttcggact ctaggacctg cgcatgcgct tggggtacct aggatatcgg 3060

atggggcttt tctgtcacca atcctgagg 3089

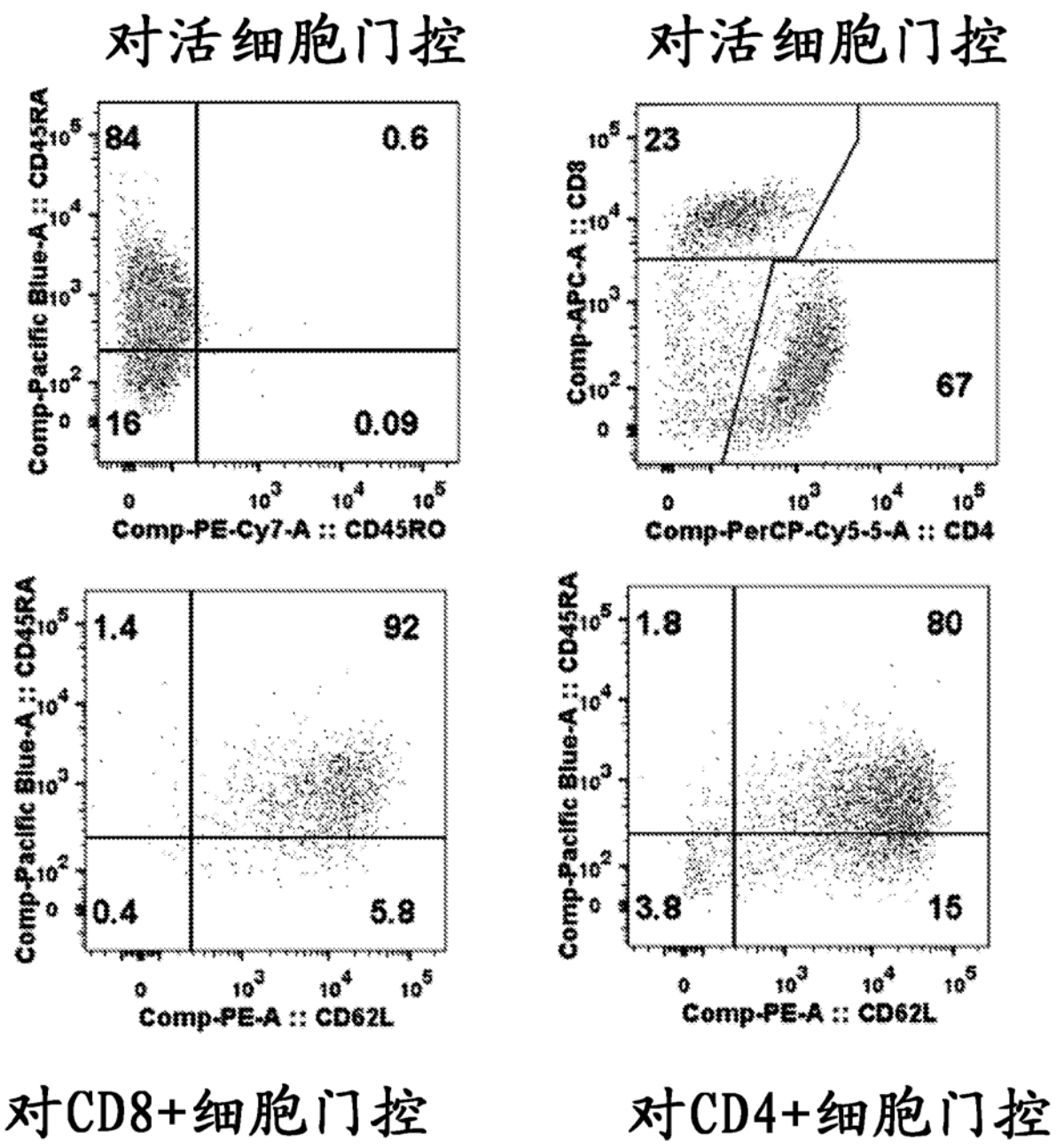

对活细胞门控
对活细胞门控
Comp-Pacific Blue-A :: CD45RA
Comp-PE-Cy7-A :: CD45RO
84
0.6
16
0.09
Comp-APC-A :: CD8
Comp-PerCP-Cy5-5-A :: CD4
23
67
Comp-Pacific Blue-A :: CD45RA
Comp-PE-A :: CD62L
1.4
92
0.4
5.8
Comp-Pacific Blue-A :: CD45RA
Comp-PE-A :: CD62L
1.8
80
3.8
15
对CD8+细胞门控
对CD4+细胞门控

图 1

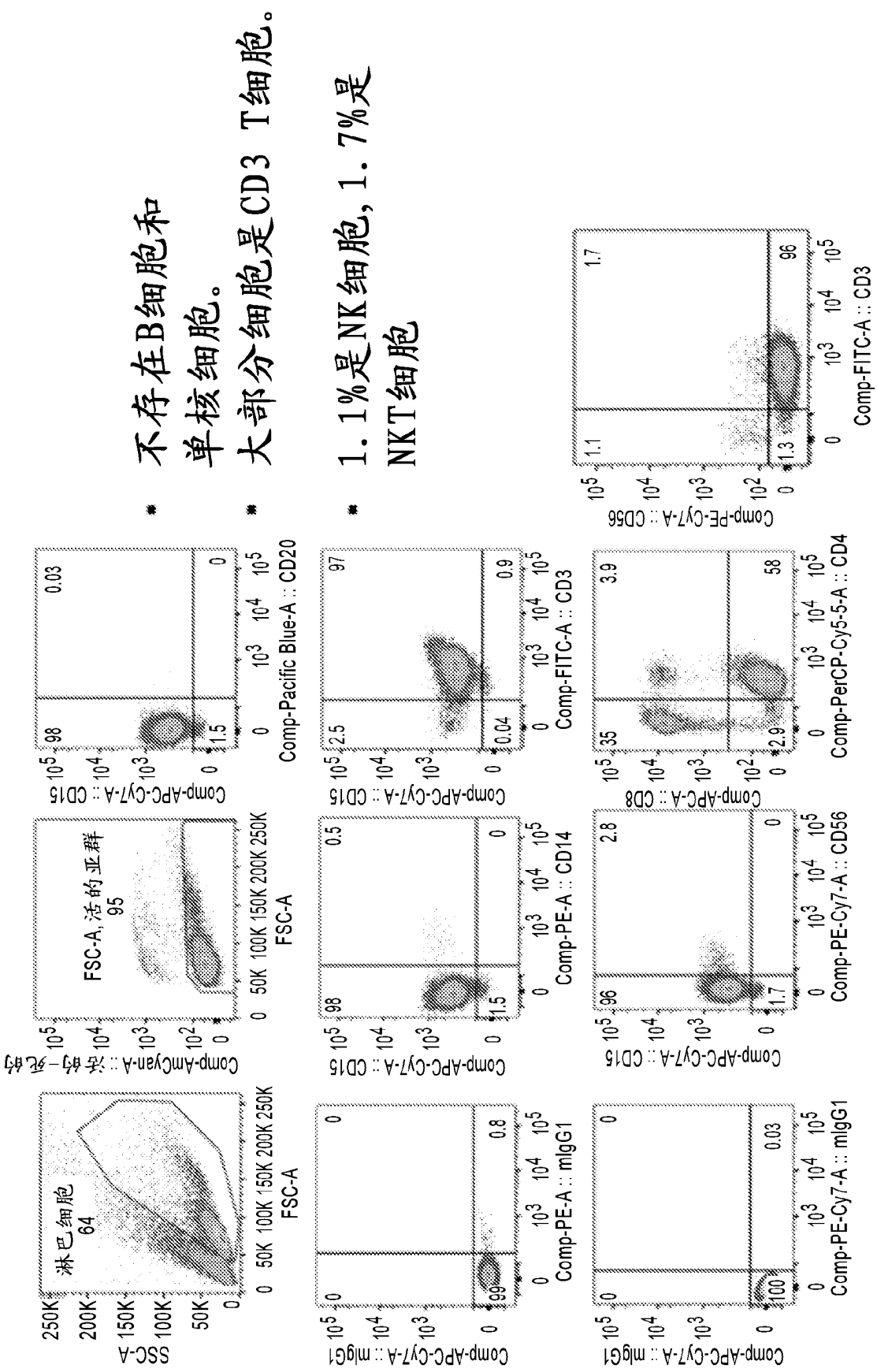

* 不存在B细胞和单核细胞。
* 大部分细胞是CD3 T细胞。
* 1.1%是NK细胞，1.7%是NKT细胞
淋巴细胞
64
FSC-A, 活的亚群
95
活的-死的
SSC-A
FSC-A
CD20
CD15
CD14
CD3
CD8
CD4
CD56
mIgG1

图 2

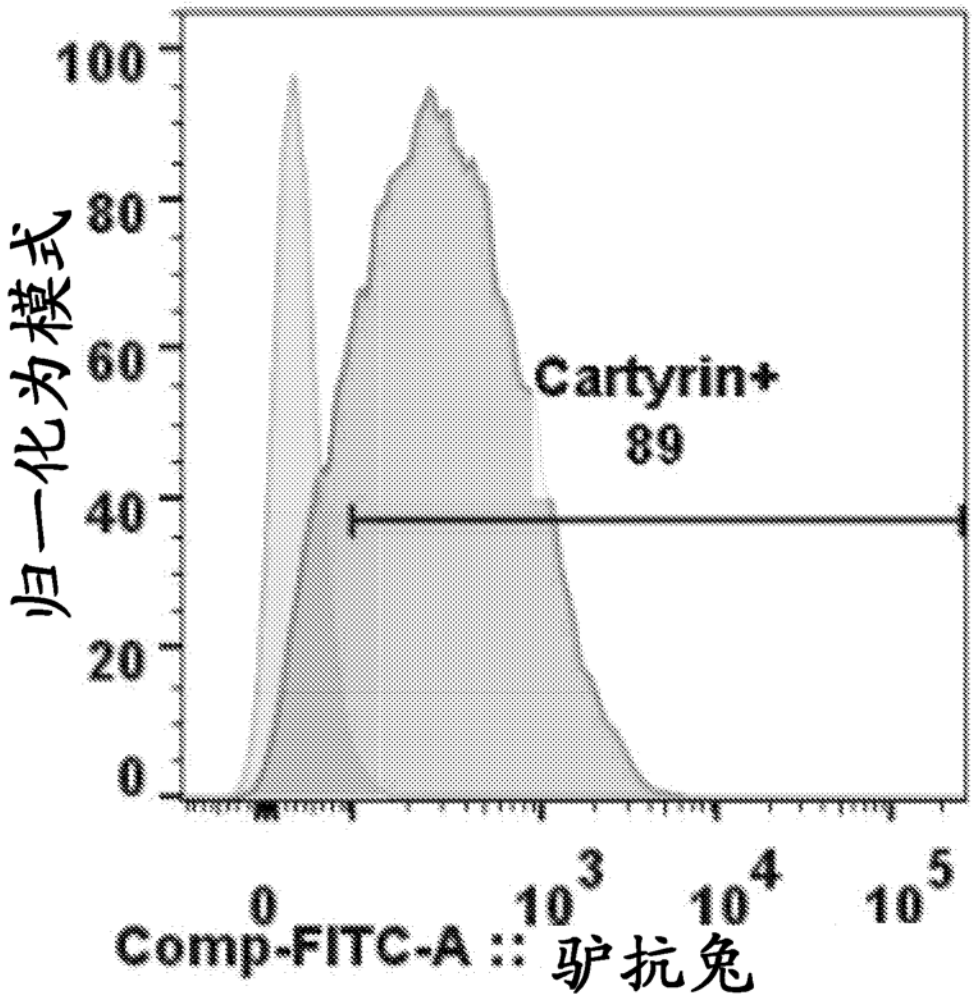

100
80
60
40
20
0
归一化为模式
Cartyrin+
89
0
10^3
10^4
10^5
Comp-FITC-A :: 驴抗兔

图 3

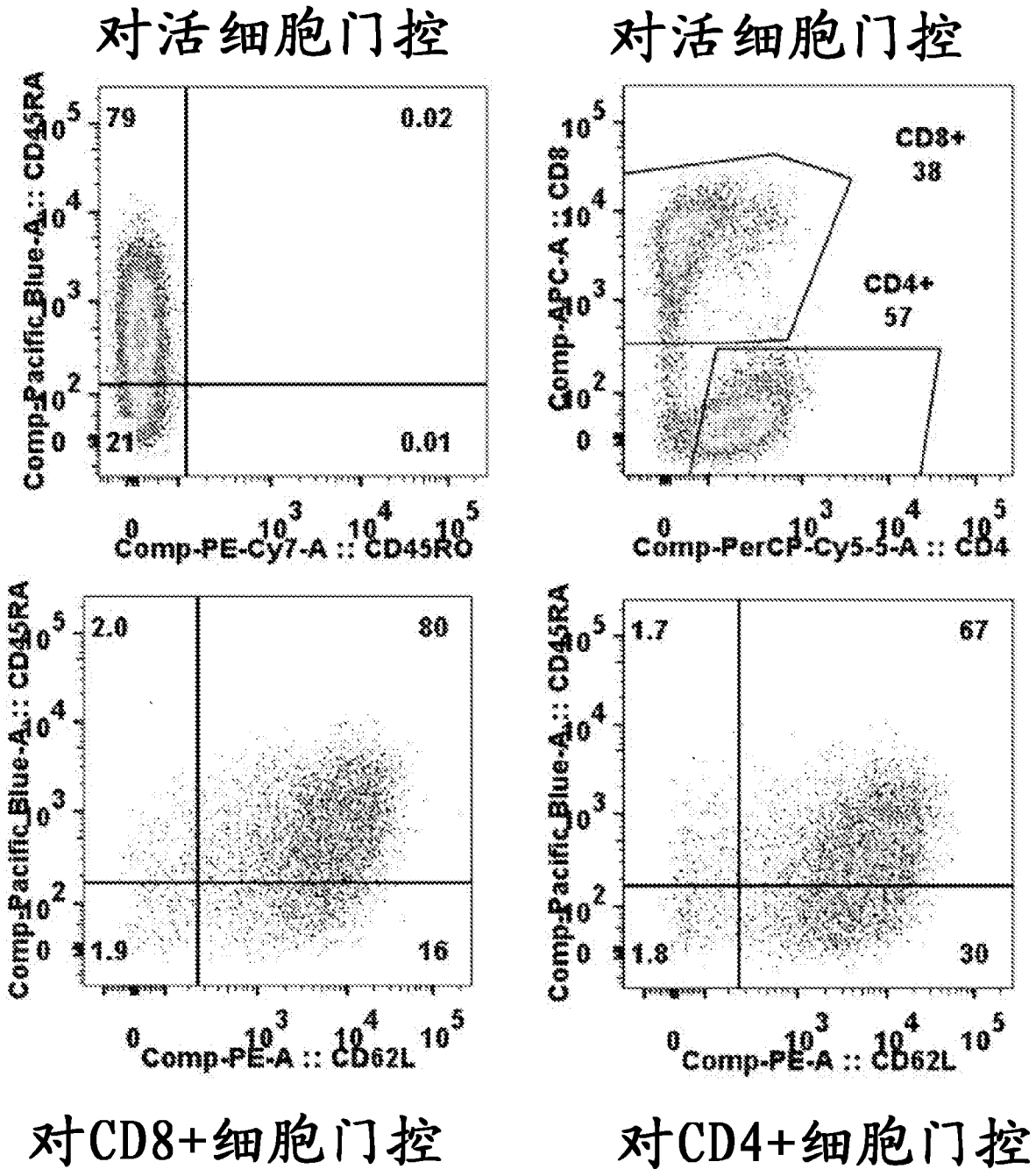

对活细胞门控
对活细胞门控
Comp-Pacific Blue-A :: CD45RA
Comp-PE-Cy7-A :: CD45RO
79
0.02
21
0.01
Comp-APC-A :: CD8
Comp-PerCP-Cy5-5-A :: CD4
CD8+
38
CD4+
57
Comp-Pacific Blue-A :: CD45RA
Comp-PE-A :: CD62L
2.0
80
1.9
16
1.7
67
1.8
30
对CD8+细胞门控
对CD4+细胞门控

图 4

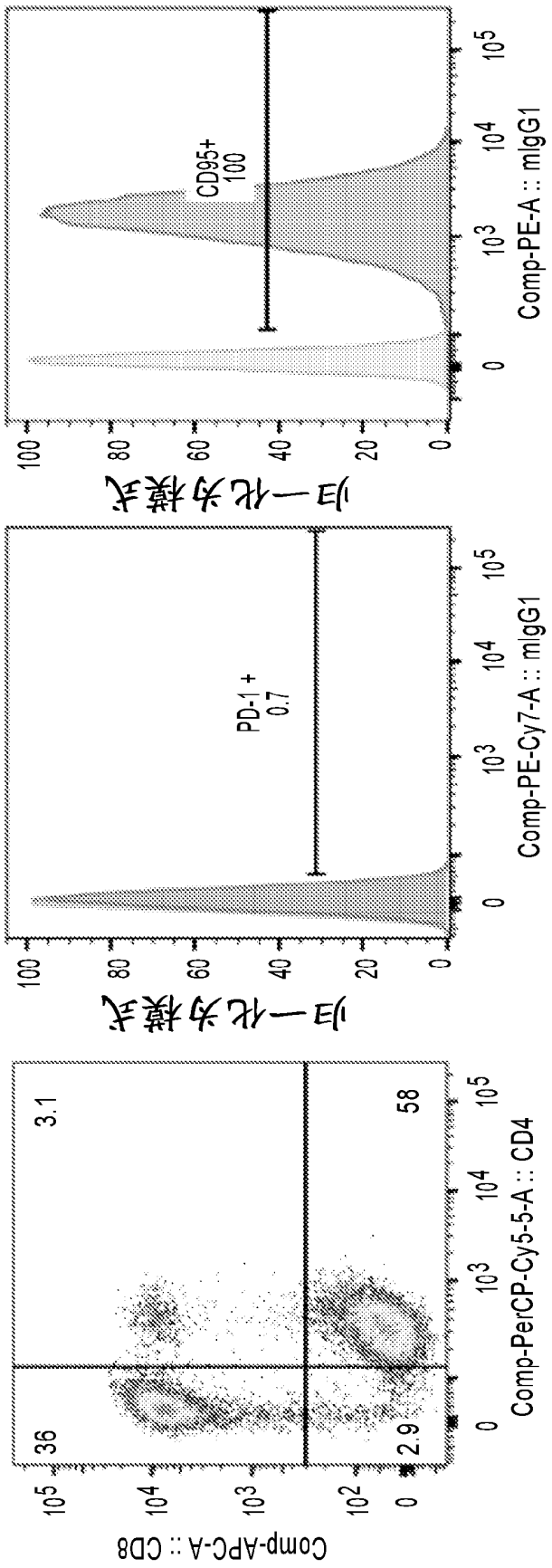

归一化为模式
CD95+
100
Comp-PE-A :: mIgG1
归一化为模式
PD-1 +
0.7
Comp-PE-Cy7-A :: mIgG1
3.1
58
36
2.9
Comp-PerCP-Cy5-5-A :: CD4
Comp-APC-A :: CD8

图 5

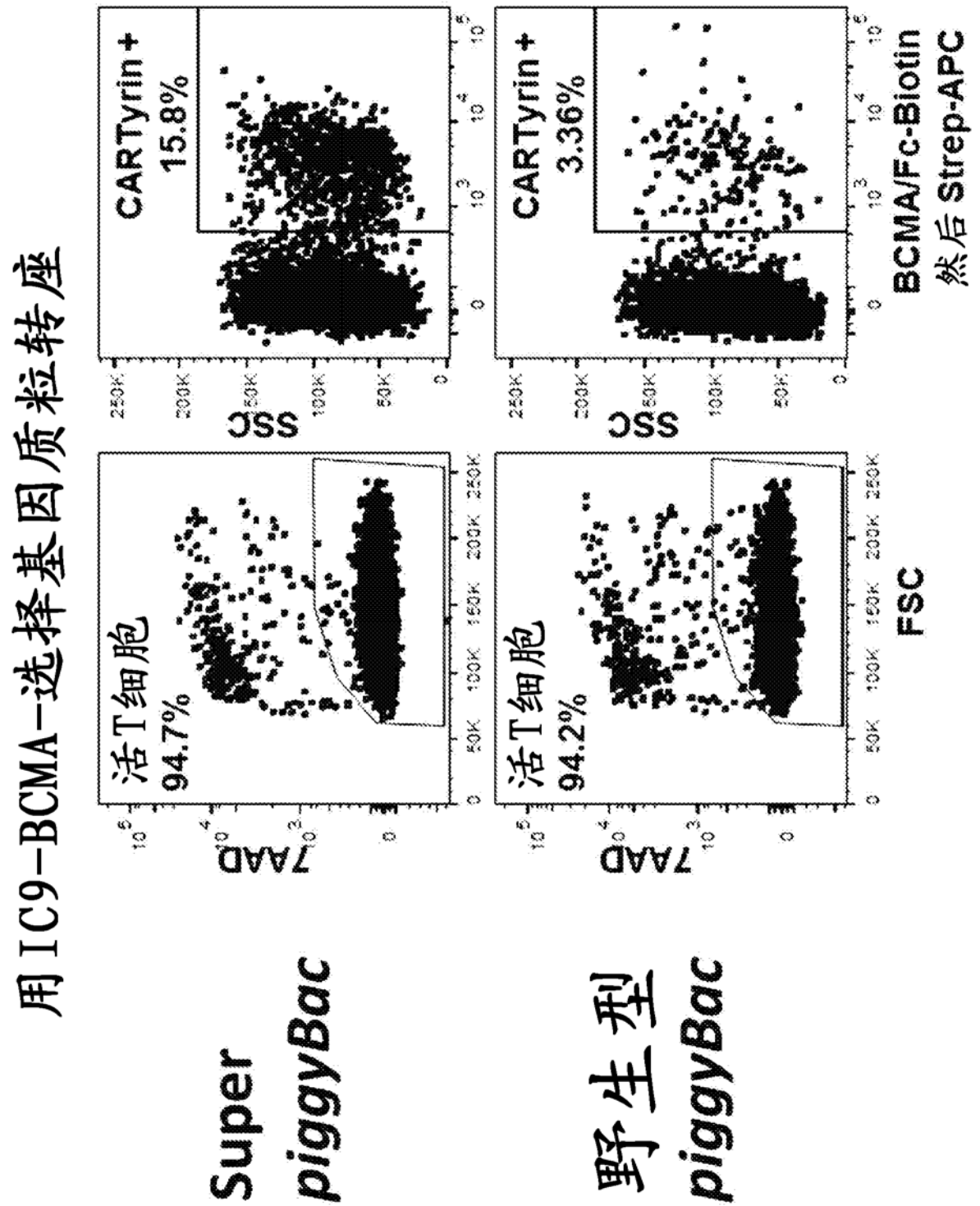

用IC9-BCMA-选择基因质粒转座
Super piggyBac
野生型 piggyBac
活T细胞
94.7%
活T细胞
94.2%
CARTyrin+
15.8%
CARTyrin+
3.36%
7AAD
SSC
FSC
BCMA/Fc-Biotin
然后 Strep-APC

图 6A

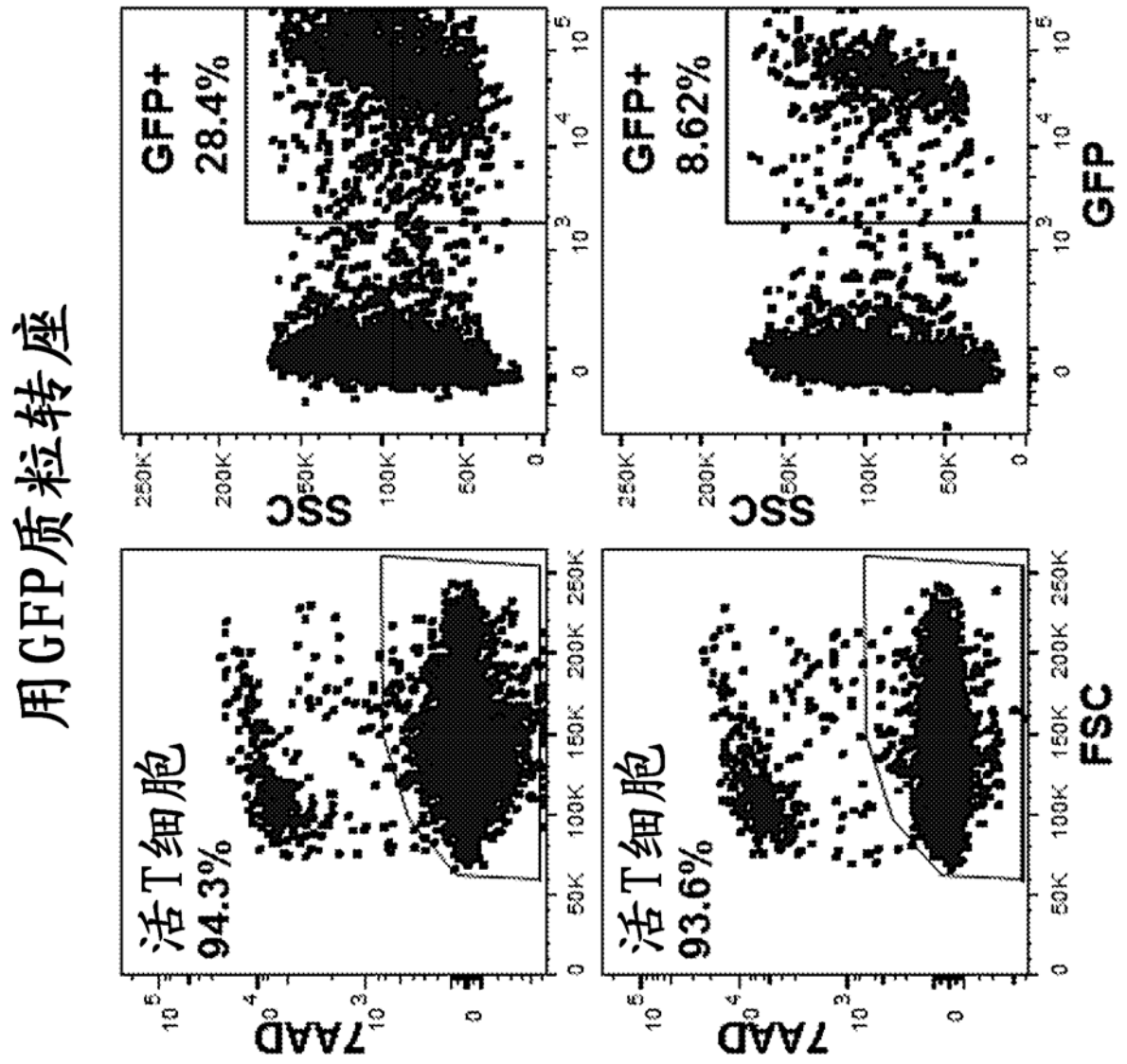



图 6B

| | CARTyrin+ | GFP+ |
|---|---|---|
| WT *piggyBac* | 3.4% | 8.6% |
| Super *piggyBac* | 15.8% | 28.4% |
| 增加倍数 | 4.7 | 3.3 |

图 6C

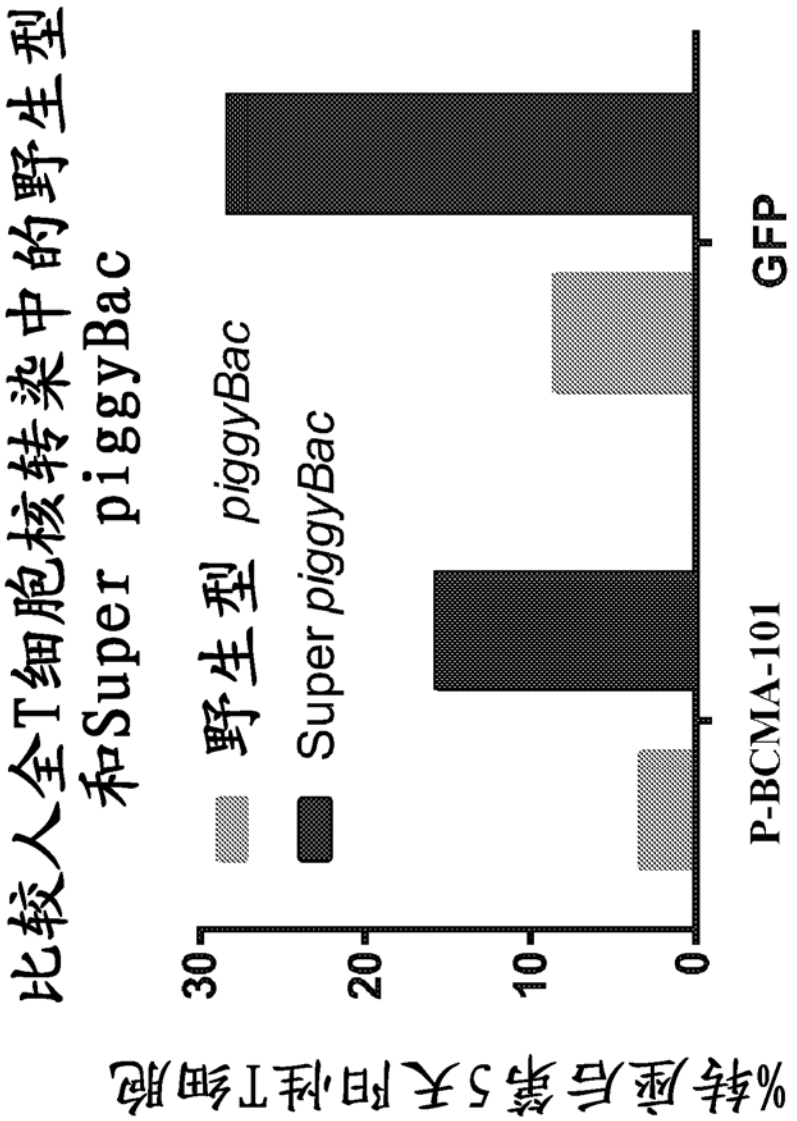

比较人全T细胞核转染中的野生型
和Super piggyBac
野生型 piggyBac
Super piggyBac
%转座后第5天阳性T细胞
30
20
10
0
P-BCMA-101
GFP

图 6D

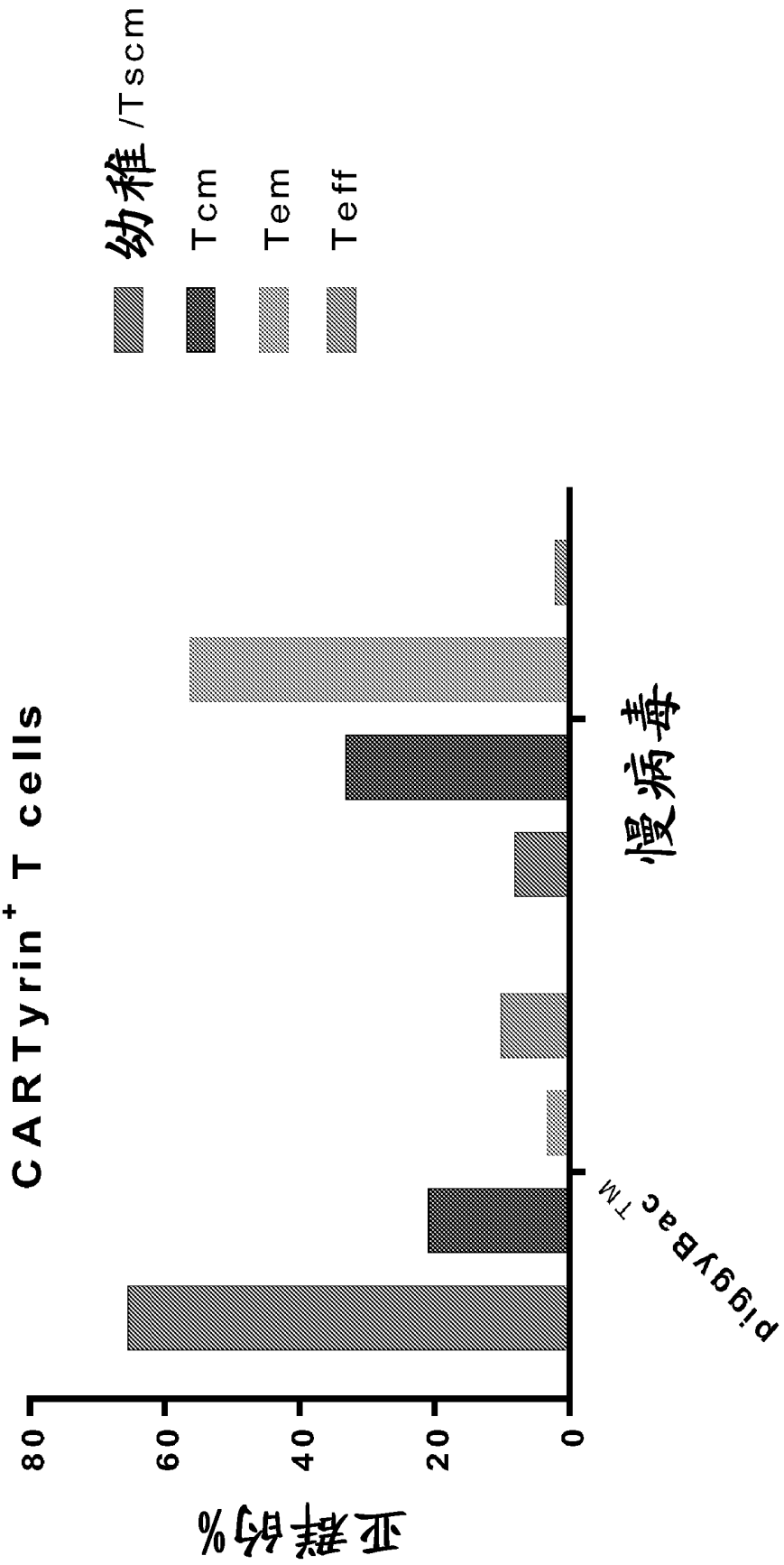

幼稚/Tscm
Tcm
Tem
Teff
CARTyrin+ T cells
亚群的%
80
60
40
20
0
慢病毒
pIgGyBac TM

图 7

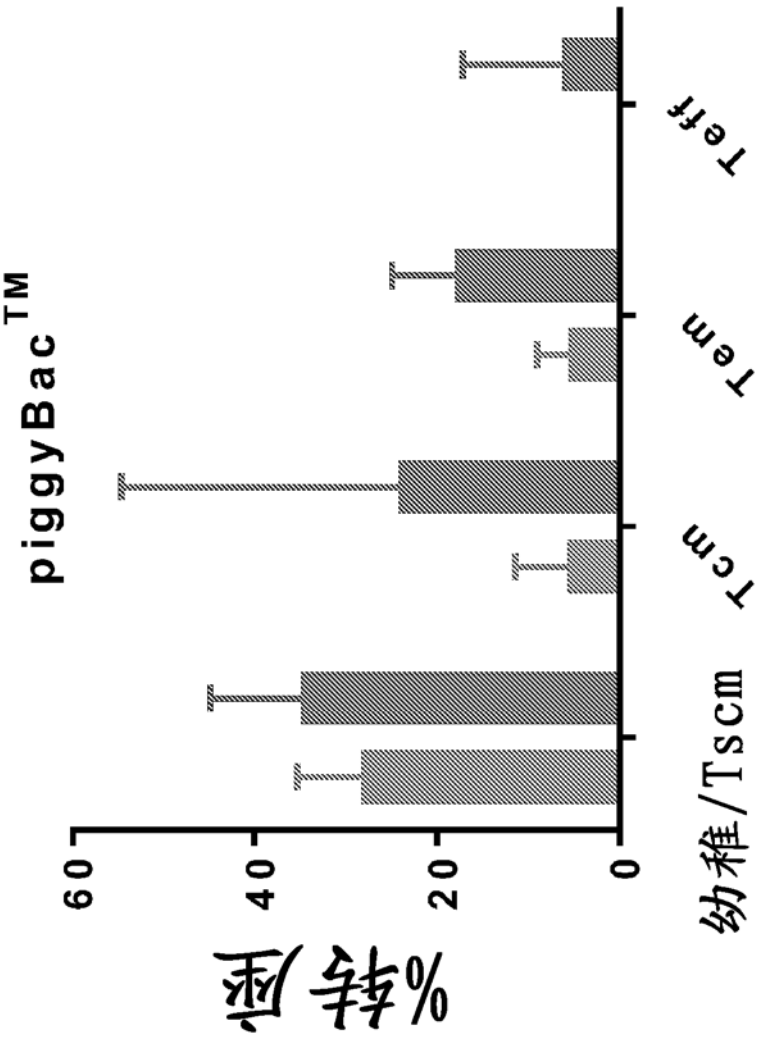



图 8A

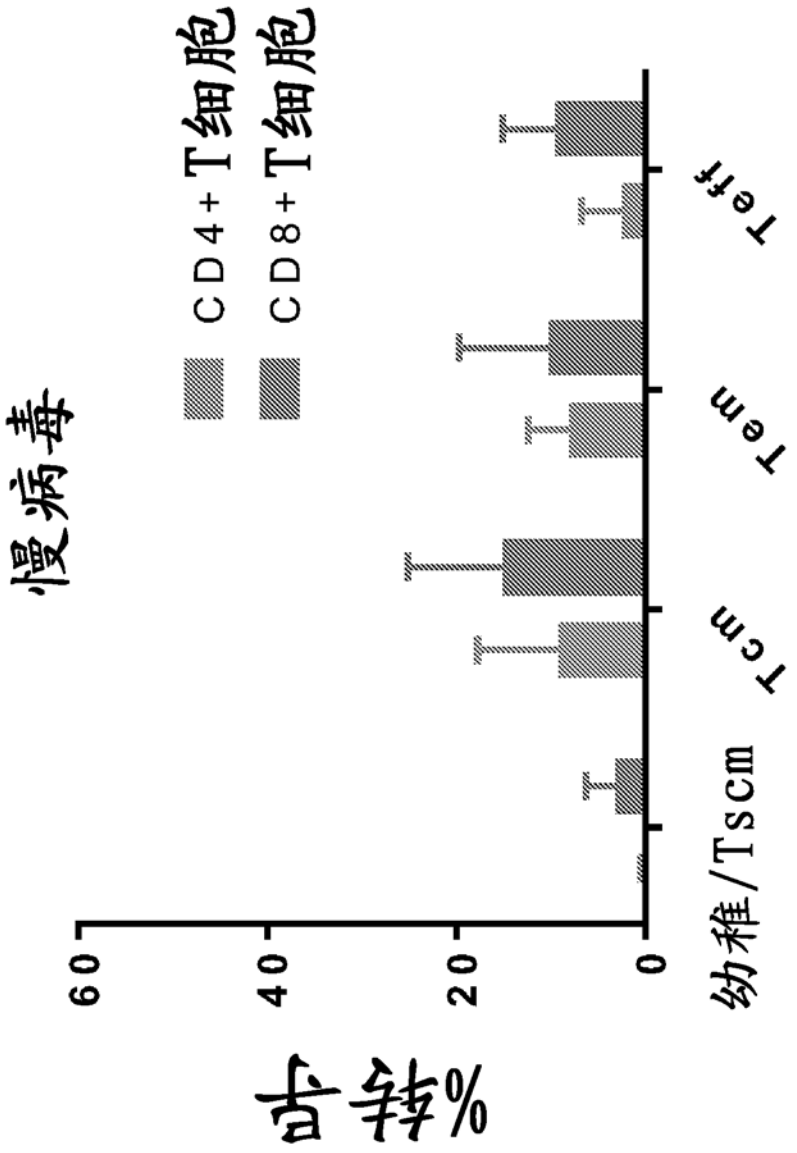



图 8B

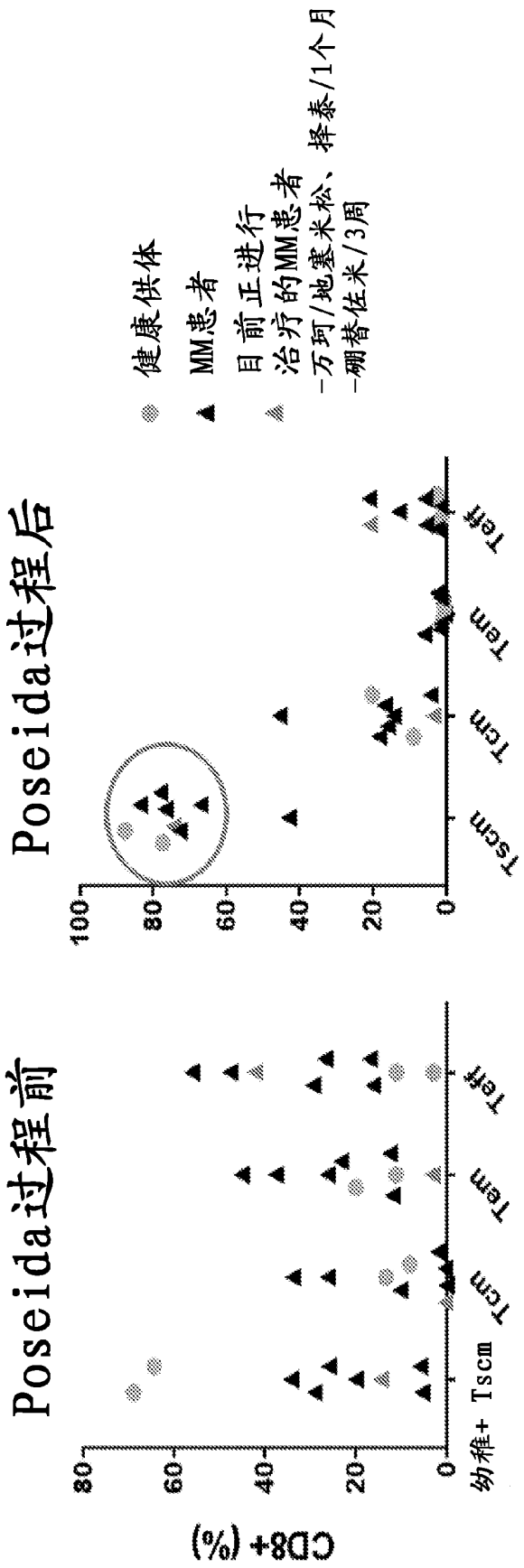

Poseida过程前
Poseida过程后
健康供体
MM患者
目前正进行
治疗的MM患者
-万珂/地塞米松、择泰/1个月
-硼替佐米/3周
CD8+ (%)
0
20
40
60
80
100
幼稚+ Tscm
Tcm
Tem
Teff
Tscm
Tcm
Tem
Teff

图 9

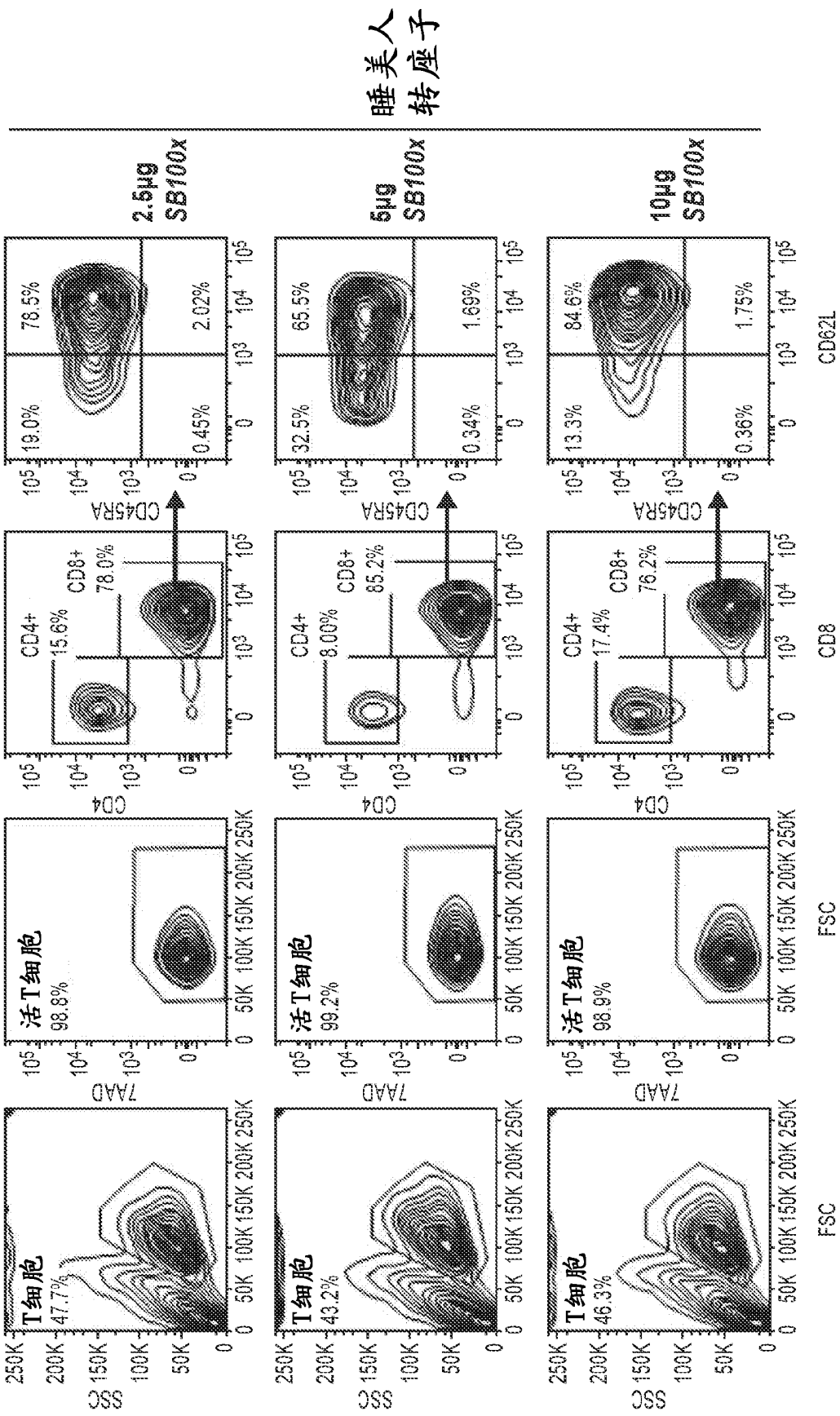

睡美人
转座子
2.5μg
SB100x
5μg
SB100x
10μg
SB100x
T细胞
47.7%
43.2%
46.3%
活T细胞
98.8%
99.2%
98.9%
CD4+
15.6%
8.00%
17.4%
CD8+
78.0%
85.2%
76.2%
19.0%
32.5%
13.3%
78.5%
65.5%
84.6%
0.45%
0.34%
0.36%
2.02%
1.69%
1.75%
SSC
FSC
7AAD
CD4
CD8
CD45RA
CD62L

图 10

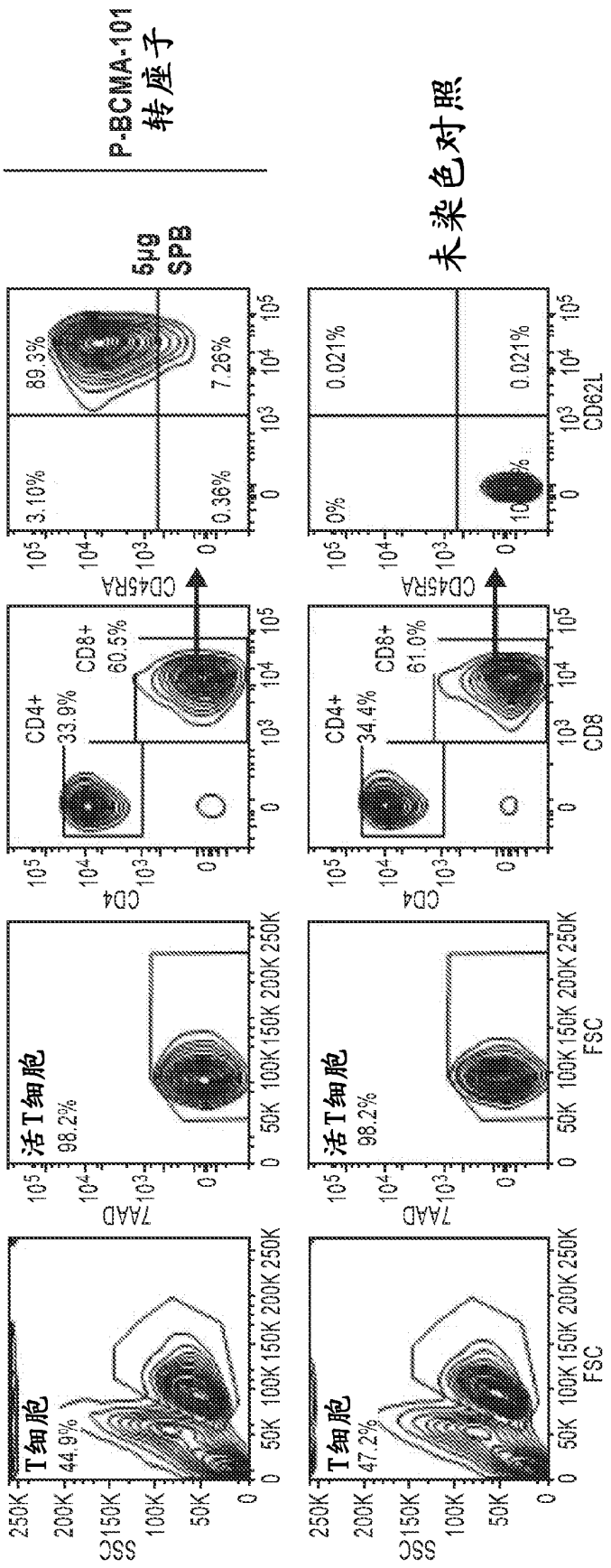

P-BCMA-101
转座子
5μg
SPB
未染色对照
T细胞
44.9%
47.2%
活T细胞
98.2%
98.2%
CD4+
33.9%
34.4%
CD8+
60.5%
61.0%
3.10%
0.36%
89.3%
7.26%
0%
0.021%
0.021%
SSC
FSC
7AAD
CD4
CD8
CD45RA
CD62L

图 10续

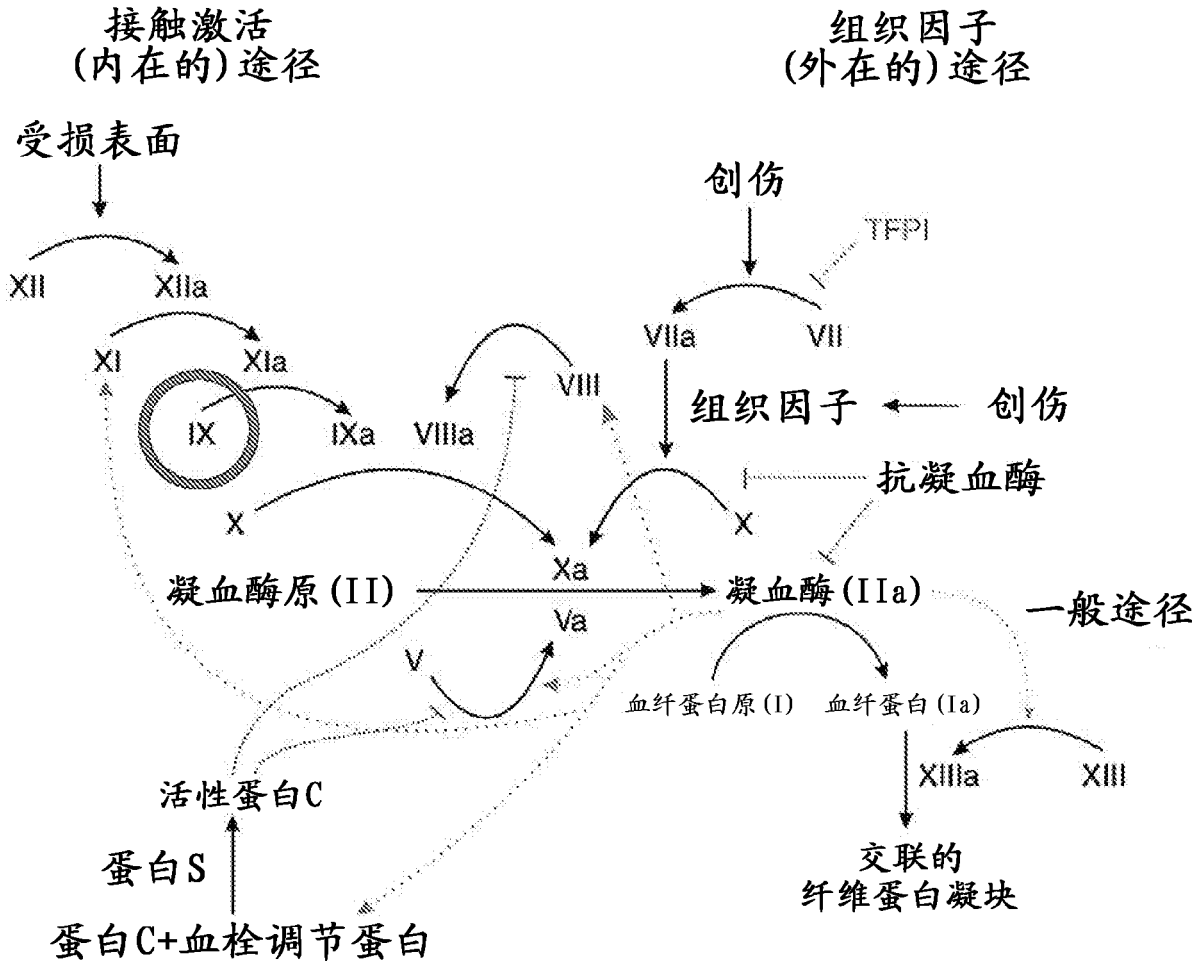

接触激活
(内在的)途径
组织因子
(外在的)途径
受损表面
创伤
TFPI
XII
XIIa
VIIa
VII
XI
XIa
VIII
组织因子
创伤
IX
IXa
VIIIa
抗凝血酶
X
X
凝血酶原(II)
Xa
凝血酶(IIa)
一般途径
Va
V
血纤蛋白原(I)
血纤蛋白(Ia)
XIIIa
XIII
活性蛋白C
交联的
纤维蛋白凝块
蛋白S
蛋白C+血栓调节蛋白

图 11

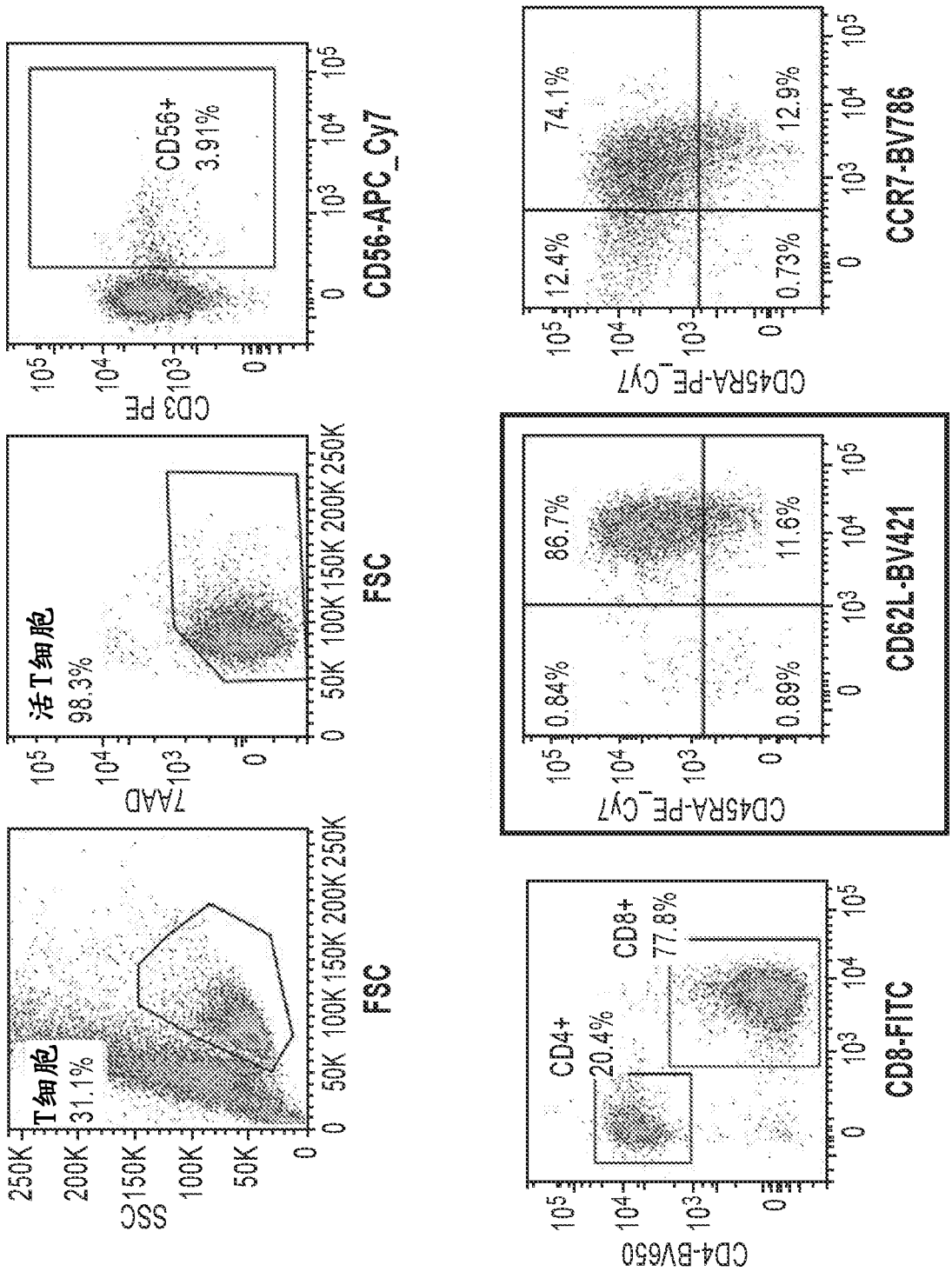

T细胞
31.1%
SSC
FSC
活T细胞
98.3%
7AAD
FSC
CD56+
3.91%
CD3 PE
CD56-APC_Cy7
CD4+
20.4%
CD8+
77.8%
CD4-BV650
CD8-FITC
0.84%
86.7%
0.89%
11.6%
CD45RA-PE_Cy7
CD62L-BV421
12.4%
74.1%
0.73%
12.9%
CD45RA-PE_Cy7
CCR7-BV786

图 12

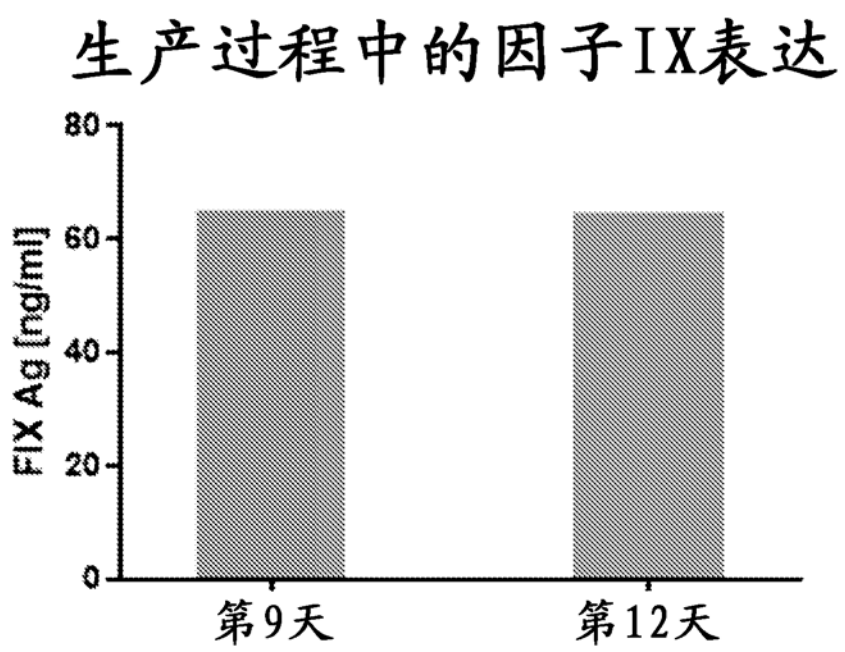

生产过程中的因子IX表达
FIX Ag [ng/ml]
80
60
40
20
0
第9天
第12天

图 13A

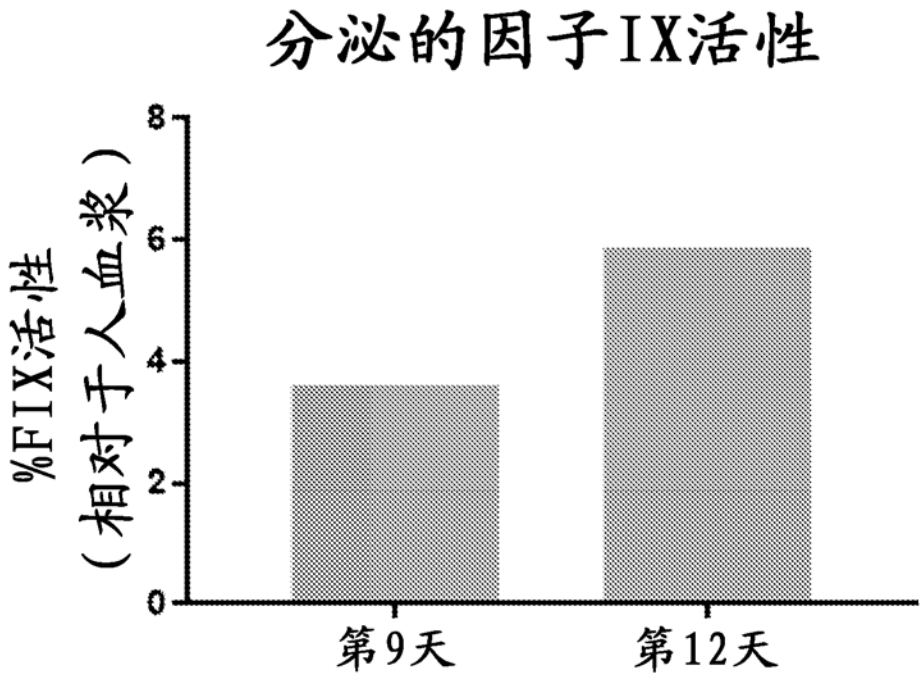

分泌的因子IX活性
%FIX活性
（相对于人血浆）
8
6
4
2
0
第9天
第12天

图 13B

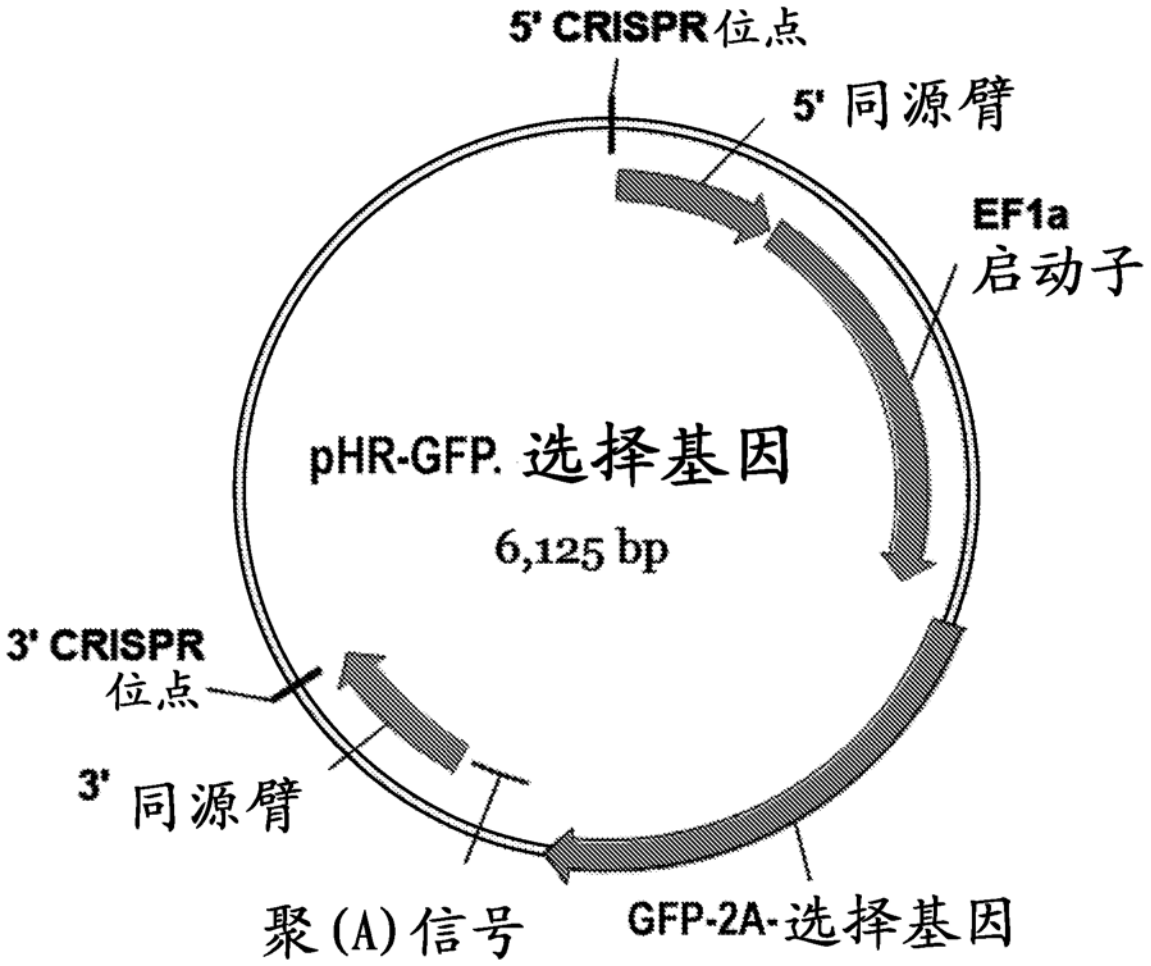

5' CRISPR位点
5' 同源臂
EF1a
启动子
pHR-GFP. 选择基因
6,125 bp
3' CRISPR
位点
3' 同源臂
聚(A)信号
GFP-2A-选择基因

图 14A

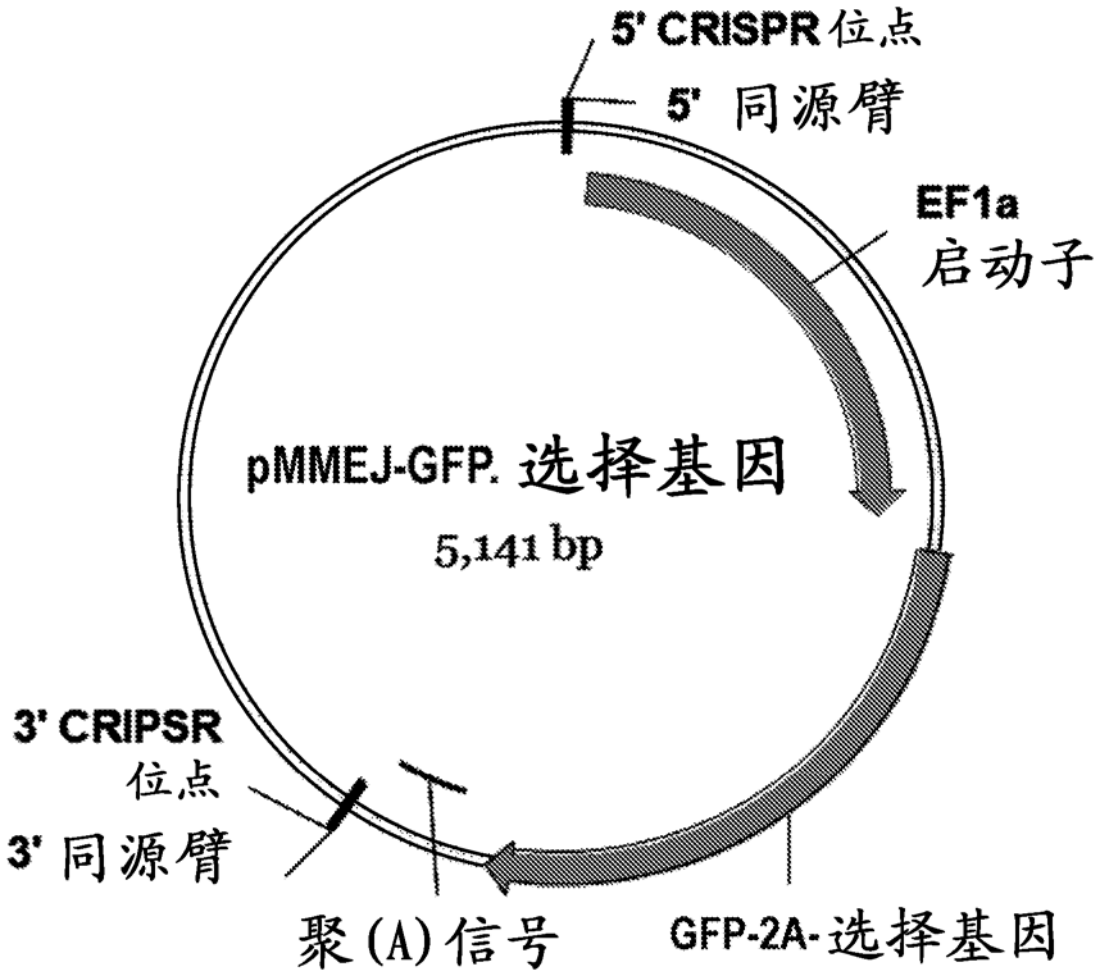

5' CRISPR位点
5' 同源臂
EF1a
启动子
pMMEJ-GFP. 选择基因
5,141 bp
3' CRIPSR
位点
3' 同源臂
聚(A)信号
GFP-2A-选择基因

图 14B

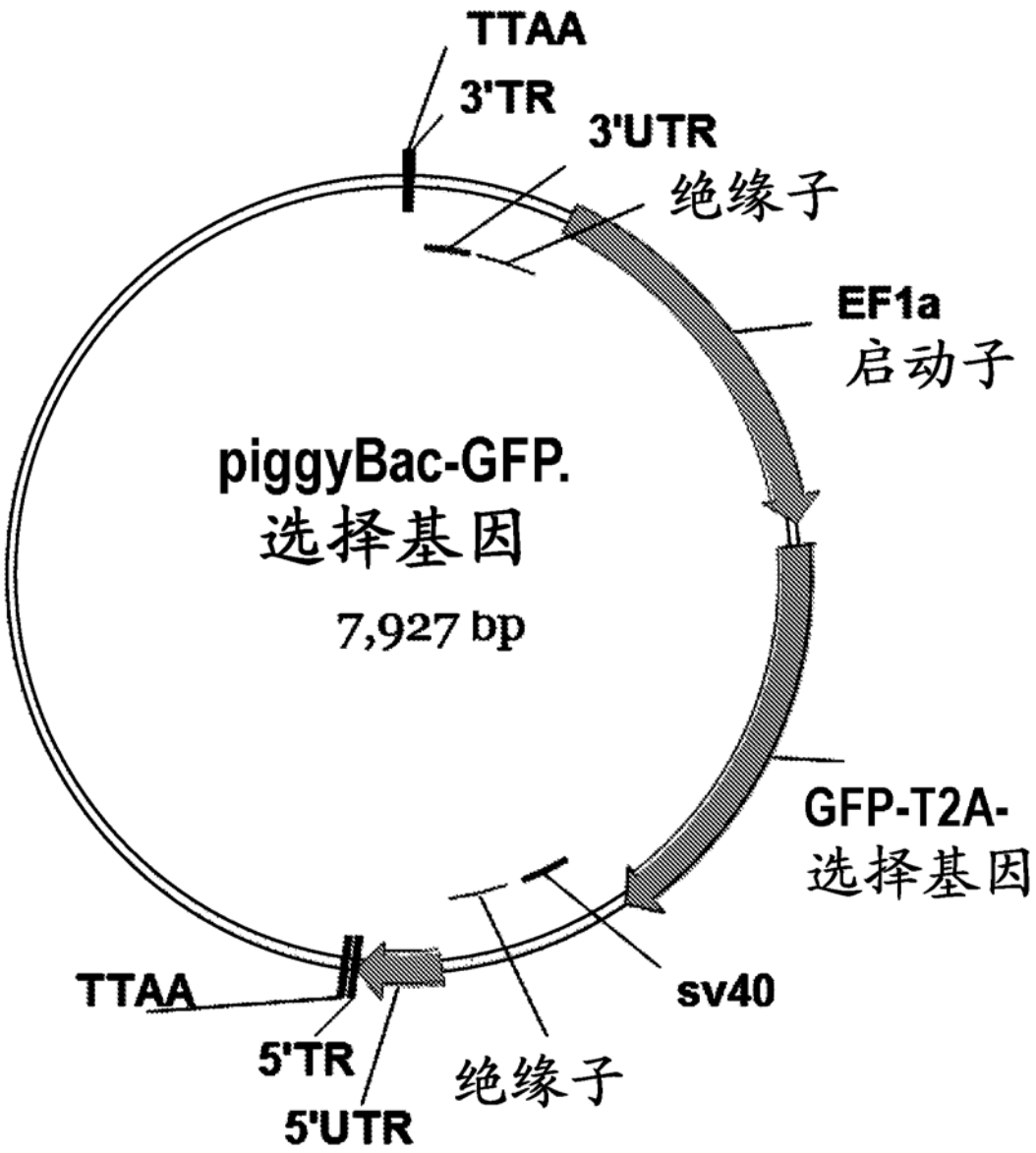

TTAA
3'TR
3'UTR
绝缘子
EF1a
启动子
piggyBac-GFP.
选择基因
7,927 bp
GFP-T2A-
选择基因
sv40
TTAA
5'TR
5'UTR
绝缘子

图 14C

pHR-GFP.选择基因:(在5′和3′CRISPR位点之间)

ggggccactagggacaggatcggcgtcttcactcgctgggttccctttccttctccttctggggcctgtgccat
ctctcgtttcttaggatggccttctccgacggatgtctcccttgcgtcccgcctcccccttcttgtaggcctgcat
catcaccgtttttctggacaaccccaaagtaccccgtctccctggctttagccacctctccatcctcttgctttc
tttgcctggacaccccgttctcctgtggattcgggtcacctctcactcctttcatttgggcagctcccctacccc
ccttacctctctagtctgtgctagctcttccagccccctgtcatggcatcttccaggggtccgagagctcagcta
gtcttcttcctccaacccgggcccctatgtccacttcaggacagcatgtttgctgcctccagggatcctgtgtcc
ccgagctgggaccaccttatattcccagggccggttaatgtggctctggttctgggtacttttatctgtcccgac
gtccgatcgaaccatggacagttagctttgcaaagatggataaagttttaaacagagaggaatctttgcagctaa
tggaccttctaggtcttgaaaggagtgggaattggctccggtgcccgtcagtgggcagagcgcacatcgcccaca
gtccccgagaagttgggggggaggggtcggcaattgaaccggtgcctagagaaggtggcgcggggtaaactgggaa
agtgatgtcgtgtactggctccgccttttcccgagggtgggggagaaccgtatataagtgcagtagtcgccgtg
aacgttcttttcgcaacgggtttgccgccagaacacaggtaagtgccgtgtgtggttcccgcgggcctggcctc
tttacgggttatggcccttgcgtgccttgaattacttccacctggctgcagtacgtgattcttgatcccgagctt
cgggttggaagtgggtgggagagttcgaggccttgcgcttaaggagcccttcgcctcgtgcttgagttgaggcc
tggcctgggcgctggggccgccgcgtgcgaatctggtggcaccttcgcgcctgtctcgctgctttcgataagtct
ctagccatttaaaatttttgatgacctgctgcgacgctttttttctggcaagatagtcttgtaaatgcgggccaa
gatctgcacactggtatttcggttttggggccgcgggcggcgacggggcccgtgcgtcccagcgcacatgttcg
gcgaggcggggcctgcgagcgcggccaccgagaatcggacgggggtagtctcaagctggccggcctgctctggtg
cctggcctcgcgccgccgtgtatcgccccgccctgggcggcaaggctggcccggtcggcaccagttgcgtgagcg
gaaagatggccgcttcccggccctgctgcagggagctcaaaatggaggacgcggcgctcgggagagcgggcgggt
gagtcacccacacaaaggaaaagggcctttccgtcctcagccgtcgcttcatgtgactccacggagtaccgggcg
ccgtccaggcacctcgattagttctcgagcttttggagtacgtcgtctttaggttgggggggagggggttttatgcg
atggagtttccccacactgagtgggtggagactgaagttaggccagcttggcacttgatgtaattctccttggaa
tttgccctttttgagtttggatcttggttcattctcaagcctcagacagtggttcaaagtttttttcttccattt
caggtgtcgtgagaattctaatacgactcactatagggtgtgctgtctcatcattttggcaaagattggccacca
agcttaccgccatggtgagcaagggcgaggagctgttcaccggggtggtgcccatcctggtcgagctggacggcg
acgtaaacggccacaagttcagcgtgtccggcgagggcgagggcgatgccacctacggcaagctgaccctgaagt
tcatctgcaccaccggcaagctgcccgtgccctggcccaccctcgtgaccaccctgacctacggcgtgcagtgct
tcagccgctaccccgaccacatgaagcagcacgacttcttcaagtccgccatgcccgaaggctacgtccaggagc
gcaccatcttcttcaaggacgacggcaactacaagacccgcgccgaggtgaagttcgagggcgacaccctggtga
accgcatcgagctgaagggcatcgacttcaaggaggacggcaacatcctggggcacaagctggagtacaactaca
acagccacaacgtctatatcatggccgacaagcagaagaacggcatcaaggtgaacttcaagatccgccacaaca
tcgaggacggcagcgtgcagctcgccgaccactaccagcagaacaccccatcggcgacggccccgtgctgctgc
ccgacaaccactacctgagcacccagtccgccctgagcaaagaccccaacgagaagcgtgatcacatggtcctgc
tggagttcgtgaccgccgccgggatcactctcggcatggacgagctgtacaaggaaggaagaggcagcctgctga
catgtggcgacgtggaggagaaccctggcccaatggtgggcagcctgaattgtatcgtggccgtgtcccagaaca
tgggcatcggcaagaatggcgattttccttggccccctctgagaaatgagtccagatactttcagaggatgacca
caaccagctccgtggagggcaagcagaacctggtcatcatgggcaagaagacatggttctctatcccagagaaga
accgccccctgaagggccggatcaatctggtgctgagcagggagctgaaggagccaccccagggagcacactttc
tgtccaggtctctggacgatgccctgaagctgaccgagcagcctgagctggccaacaaggtggacatggtgtgga
tcgtgggcggctctagcgtgtataaggaggccatgaatcaccctggccacctgaagctgttcgtgacacggatca
tgcaggactttgagtccgataccttctttccagagatcgacctggagaagtacaagctgctgcccgagtatcctg
gcgtgctgtctgatgtgcaggaggagaagggcatcaagtacaagttcgaggtgtatgagaagaacgattgataac
atatgcctttaattaaacactagttctatagtgtcacctaaattcccttagtgagggttaatggccgtaggccg
ccagaattgggtccagacatgataagatacattgatgagtttggacaaaccacaactagaatgcagtgaaaaaaa
tgctttatttgtgaaatttgtgatgctattgctttatttgtaaccattataagctgcaataaacaagttaacaac
aacaattgcattcattttatgtttcaggttcaggggaggtgtgggaggttttttcggactctaggacctgcgca
tgcgcttggggtacctaggatatcgacagaaaagccccatccttaggcctcctccttcctagtctcctgatattg
ggtctaacccccacctcctgttaggcagattccttatctggtgacacacccccatttcctggagccatctctctc
cttgccagaacctctaaggtttgcttacgatggagccagagaggatcctgggagggagagcttggcaggggggtgg
gagggaaggggggggatgcgtgacctgcccggttctcagtggccaccctgcgctaccctctcccagaacctgagct
gctctgacgcggccgtctggtgcgtttcactgatcctggtgctgcagcttccttacacttcccaagaggagaagc
agtttggaaaaacaaaatcagaataagttggtcctgagttctaactttggctcttcacctttctagtccccaatt
tatattgttcctccgtgcgtcagttttacctgtgagataaggccagtagccagccccgtcctggcagggctgtgc
ctctagggacaggattggtgacg

(SEQ ID NO: 41)

图 14D

pMMEJ-GFP.选择基因:(在5′和3′CRISPR位点之间)

ccaatcctgtccctagtggccccactgtggggacgtccgatcgaaccatggacagttagctttgcaaagatggat
aaagttttaaacagagaggaatctttgcagctaatggaccttctaggtcttgaaaggagtgggaattggctccgg
tgcccgtcagtgggcagagcgcacatcgcccacagtccccgagaagttgggggggagggtcggcaattgaaccgg
tgcctagagaaggtggcgcggggtaaactgggaaagtgatgtcgtgtactggctccgccttttcccgagggtgg
gggagaaccgtatataagtgcagtagtcgccgtgaacgttctttttcgcaacgggtttgccgccagaacacaggt
aagtgccgtgtgtggttcccgcgggcctggcctctttacgggttatggcccttgcgtgccttgaattacttccac
ctggctgcagtacgtgattcttgatcccgagcttcgggttggaagtgggtgggagagttcgaggccttgcgctta
aggagccccttcgcctcgtgcttgagttgaggcctggcctgggcgctggggccgccgcgtgcgaatctggtggca
ccttcgcgcctgtctcgctgctttcgataagtctctagccatttaaaatttttgatgacctgctgcgacgctttt
tttctggcaagatagtcttgtaaatgcgggccaagatctgcacactggtatttcggttttgggggccgcgggcgg
cgacggggcccgtgcgtcccagcgcacatgttcggcgaggcggggcctgcgagcgcggccaccgagaatcggacg
ggggtagtctcaagctggccggcctgctctggtgcctggcctcgcgccgccgtgtatcgccccgccctgggcggc
aaggctggcccggtcggcaccagttgcgtgagcggaaagatggccgcttcccggccctgctgcagggagctcaaa
atggaggacgcggcgctcgggagagcgggcgggtgagtcacccacacaaaggaaaagggcctttccgtcctcagc
cgtcgcttcatgtgactccacggagtaccgggcgccgtccaggcacctcgattagttctcgagcttttggagtac
gtcgtctttaggttgggggggagggttttatgcgatggagtttccccacactgagtgggtggagactgaagttag
gccagcttggcacttgatgtaattctccttggaatttgccctttttgagtttggatcttggttcattctcaagcc
tcagacagtggttcaaagtttttttcttccatttcaggtgtcgtgagaattctaatacgactcactatagggtgt
gctgtctcatcattttggcaaagattggccaccaagcttaccgccatggtgagcaagggcgaggagctgttcacc
ggggtggtgcccatcctggtcgagctggacggcgacgtaaacggccacaagttcagcgtgtccggcgagggcgag
ggcgatgccacctacggcaagctgaccctgaagttcatctgcaccaccggcaagctgcccgtgccctggcccacc
ctcgtgaccaccctgacctacggcgtgcagtgcttcagccgctaccccgaccacatgaagcagcacgacttcttc
aagtccgccatgcccgaaggctacgtccaggagcgcaccatcttcttcaaggacgacggcaactacaagacccgc
gccgaggtgaagttcgagggcgacaccctggtgaaccgcatcgagctgaagggcatcgacttcaaggaggacggc
aacatcctggggcacaagctggagtacaactacaacagccacaacgtctatatcatggccgacaagcagaagaac
ggcatcaaggtgaacttcaagatccgccacaacatcgaggacggcagcgtgcagctcgccgaccactaccagcag
aacaccccatcggcgacggccccgtgctgctgcccgacaaccactacctgagcacccagtccgccctgagcaaa
gaccccaacgagaagcgtgatcacatggtcctgctggagttcgtgaccgccgccgggatcactctcggcatggac
gagctgtacaaggaaggaagaggcagcctgctgacatgtggcgacgtggaggagaaccctggcccaatggtgggc
agcctgaattgtatcgtggccgtgtcccagaacatgggcatcggcaagaatggcgattttccttggccccctctg
agaaatgagtccagatactttcagaggatgaccacaaccagctccgtggagggcaagcagaacctggtcatcatg
ggcaagaagacatggttctctatcccagagaagaaccgccccctgaagggccggatcaatctggtgctgagcagg
gagctgaaggagccaccccagggagcacactttctgtccaggtctctggacgatgccctgaagctgaccgagcag
cctgagctggccaacaaggtggacatggtgtggatcgtgggcggctctagcgtgtataaggaggccatgaatcac
cctggccacctgaagctgttcgtgacacggatcatgcaggactttgagtccgataccttctttccagagatcgac
ctggagaagtacaagctgctgcccgagtatcctggcgtgctgtctgatgtgcaggaggagaagggcatcaagtac
aagttcgaggtgtatgagaagaacgattgataacatatgcctttaattaaacactagttctatagtgtcacctaa
attccctttagtgagggttaatggccgtaggccgccagaattgggtccagacatgataagatacattgatgagtt
tggacaaaccacaactagaatgcagtgaaaaaaatgctttatttgtgaaatttgtgatgctattgctttatttgt
aaccattataagctgcaataaacaagttaacaacaacaattgcattcattttatgtttcaggttcaggggggaggt
gtgggaggttttttcggactctaggacctgcgcatgcgcttggggtacctaggatatcggatggggcttttctgt
caccaatcctgagg

(SEQ ID NO: 42)

图 14E

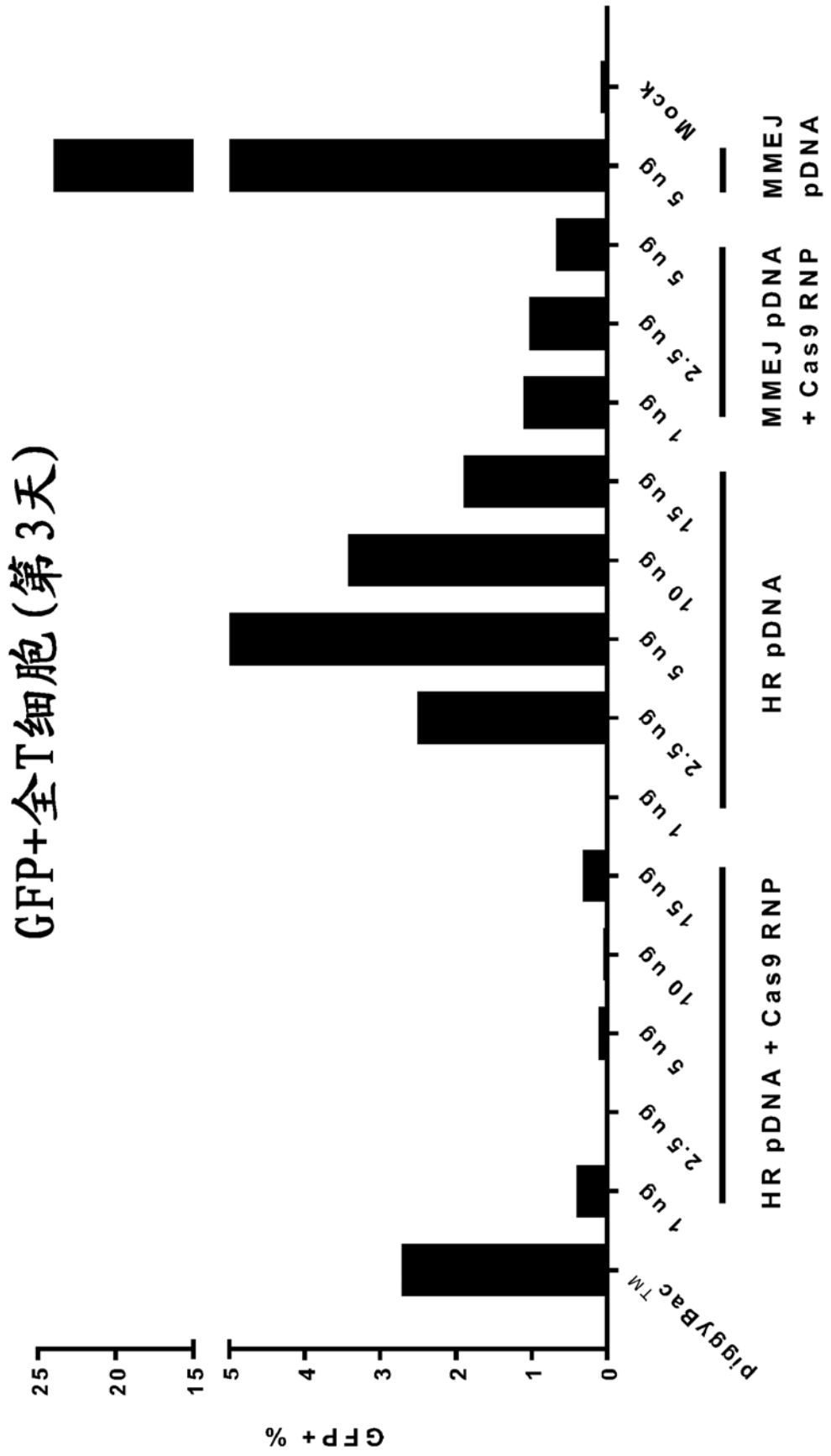

GFP+全T细胞(第3天)
GFP+ %
25
20
15
5
4
3
2
1
0
piggyBac™
1 ug
2.5 ug
5 ug
10 ug
15 ug
1 ug
2.5 ug
5 ug
10 ug
15 ug
1 ug
2.5 ug
5 ug
1 ug
5 ug
Mock
HR pDNA + Cas9 RNP
HR pDNA
MMEJ pDNA + Cas9 RNP
MMEJ pDNA

图 15

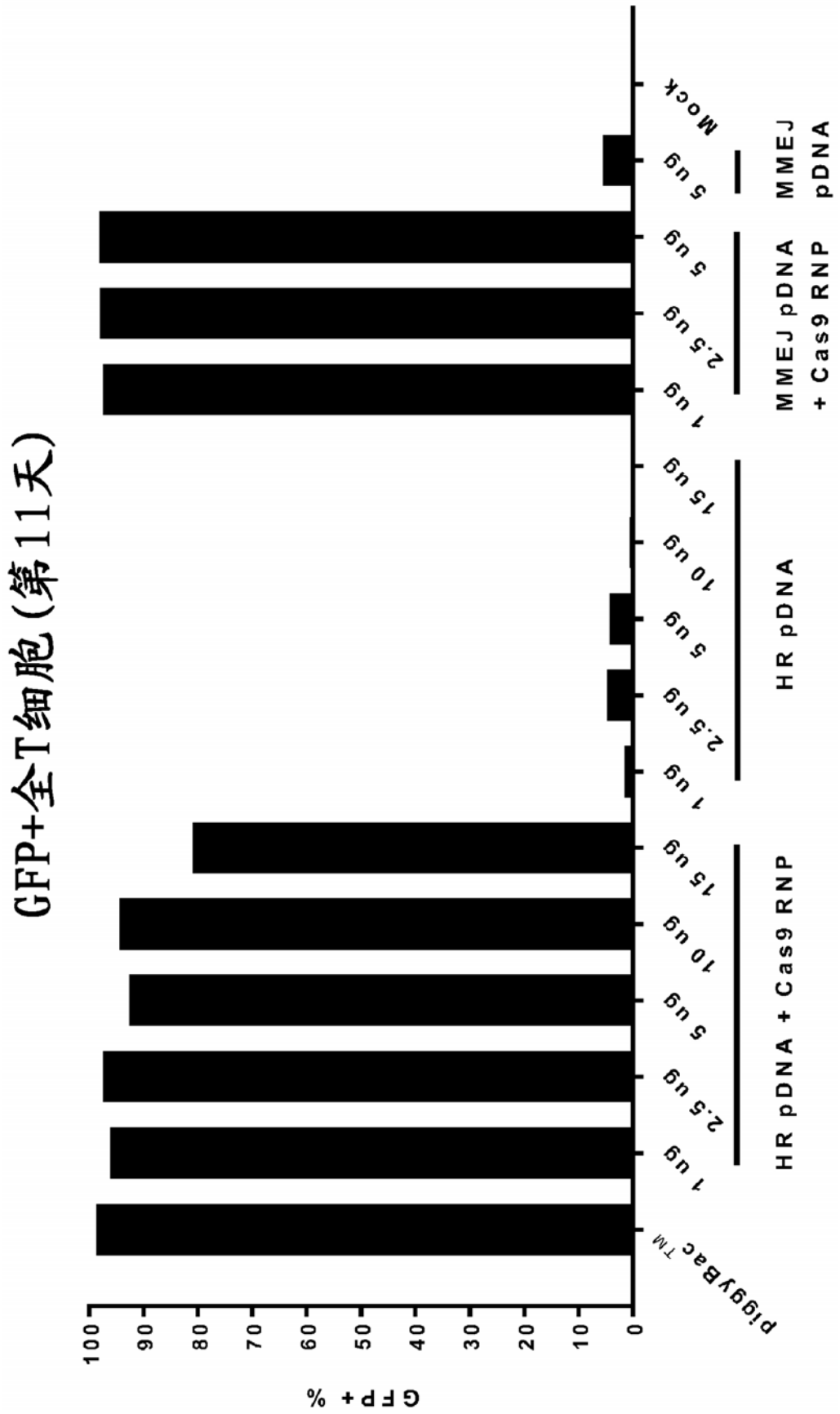

GFP+全T细胞(第11天)
GFP+ %
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
piggyBac™
1 ug
2.5 ug
5 ug
10 ug
15 ug
HR pDNA + Cas9 RNP
1 ug
2.5 ug
5 ug
10 ug
15 ug
HR pDNA
1 ug
2.5 ug
5 ug
MMEJ pDNA + Cas9 RNP
5 ug
Mock
MMEJ pDNA

图 16

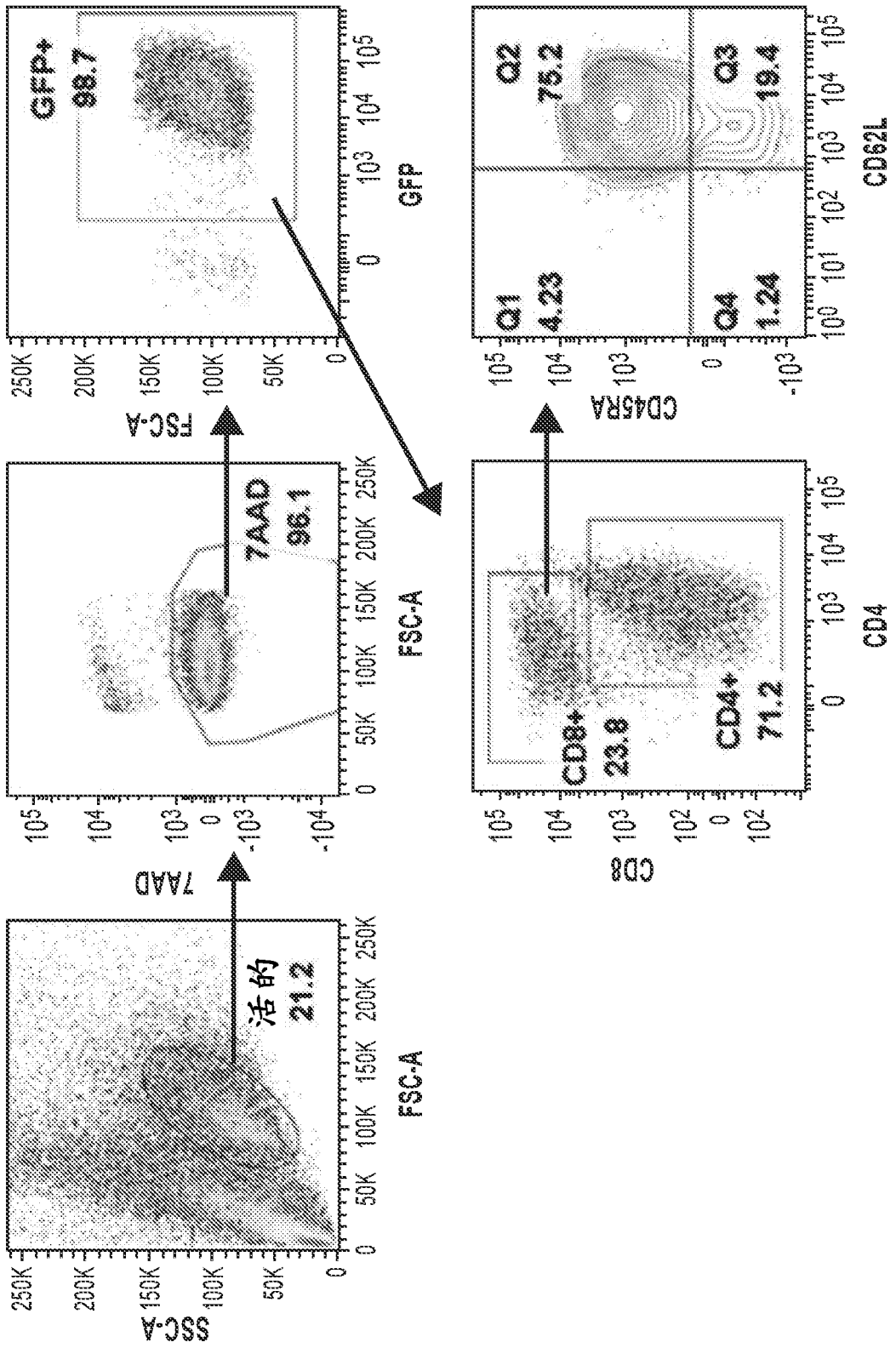

SSC-A
FSC-A
活的
21.2
7AAD
7AAD
96.1
FSC-A
FSC-A
GFP+
98.7
GFP
CD8
CD8+
23.8
CD4+
71.2
CD4
CD45RA
Q1
4.23
Q2
75.2
Q4
1.24
Q3
19.4
CD62L

图 17A

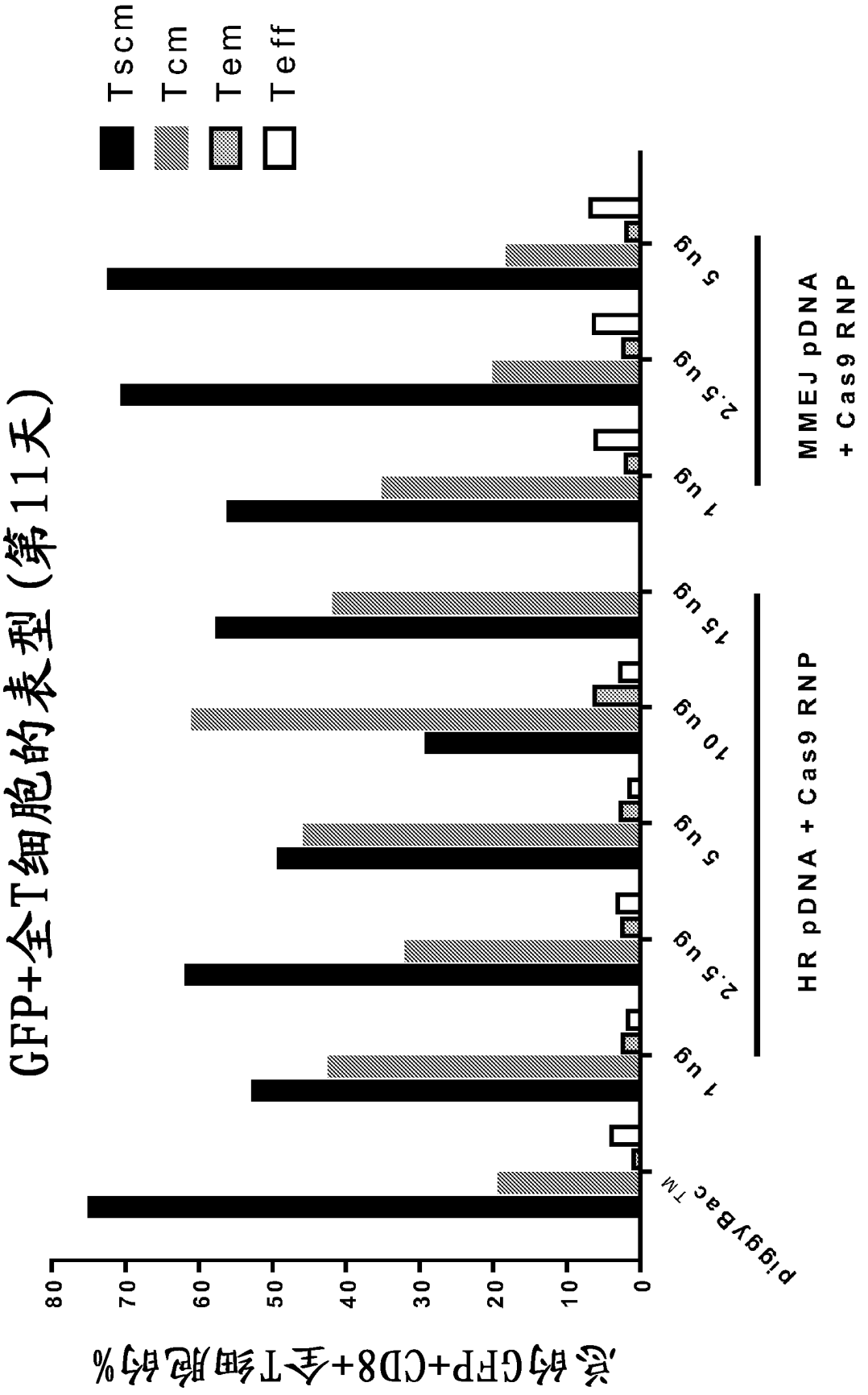

Tscm
Tcm
Tem
Teff
GFP+全T细胞的表型(第11天)
总的GFP+CD8+全T细胞的%
0
10
20
30
40
50
60
70
80
pIggYBac TM
1 ug
2.5 ug
5 ug
10 ug
15 ug
1 ug
2.5 ug
5 ug
HR pDNA + Cas9 RNP
MMEJ pDNA
+ Cas9 RNP

图 17B

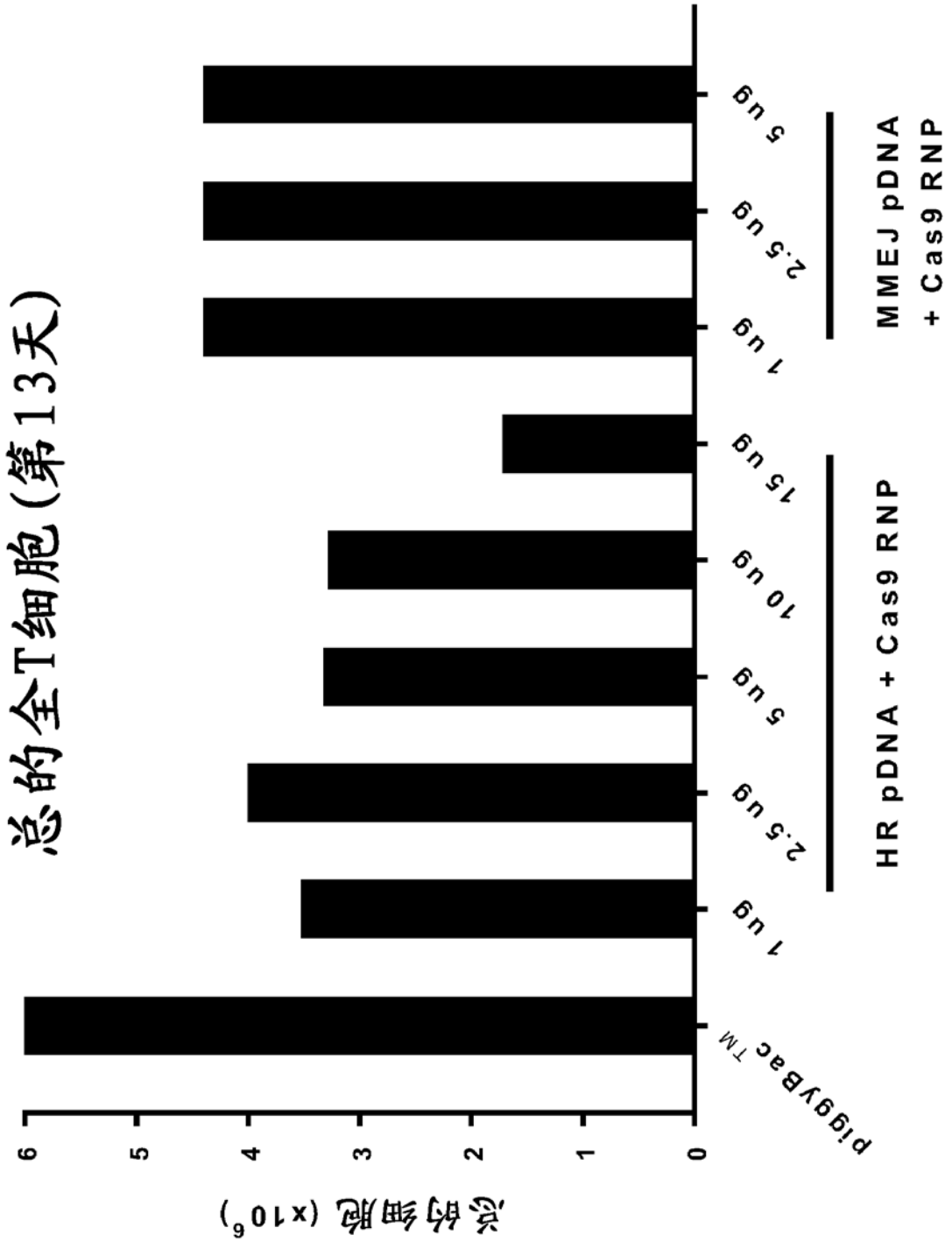

总的全T细胞(第13天)
总的细胞 (x10^6)
0
1
2
3
4
5
6
piggyBac TM
1 ug
2.5 ug
5 ug
10 ug
15 ug
1 ug
2.5 ug
5 ug
HR pDNA + Cas9 RNP
MMEJ pDNA
+ Cas9 RNP

图 17C

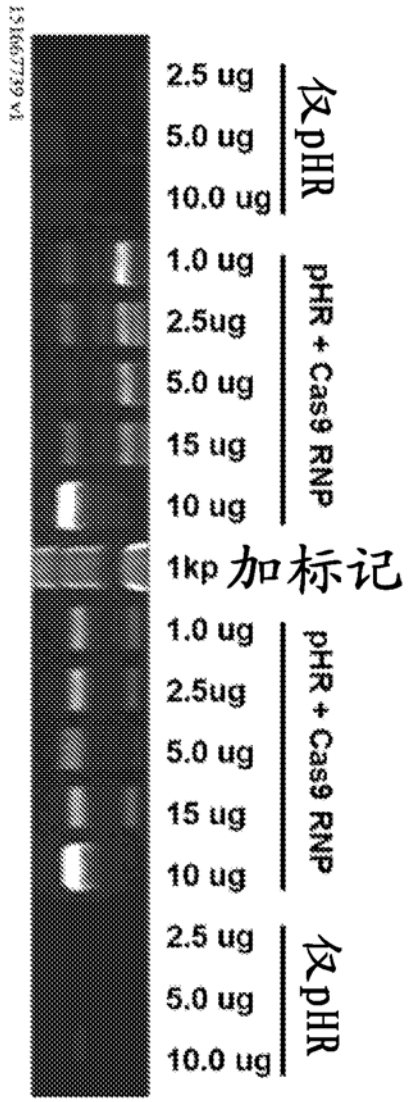

2.5 ug
5.0 ug
10.0 ug
仅pHR
1.0 ug
2.5ug
5.0 ug
15 ug
10 ug
pHR + Cas9 RNP
1kp 加标记
1.0 ug
2.5ug
5.0 ug
15 ug
10 ug
pHR + Cas9 RNP
2.5 ug
5.0 ug
10.0 ug
仅pHR

图 18A

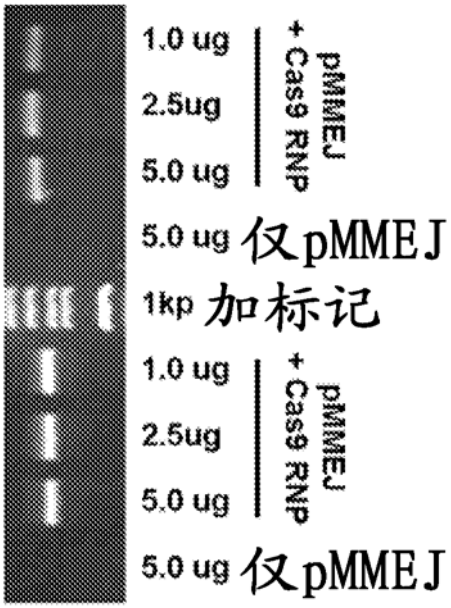

1.0 ug
2.5ug
5.0 ug
pMMEJ + Cas9 RNP
5.0 ug 仅pMMEJ
1kp 加标记
1.0 ug
2.5ug
5.0 ug
pMMEJ + Cas9 RNP
5.0 ug 仅pMMEJ

图 18B