(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 114341196 B
(45)授权公告日 2025.05.13

(21)申请号 202080062014.X
(22)申请日 2020.09.03
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 114341196 A
(43)申请公布日 2022.04.12
(30)优先权数据
19195122.7 2019.09.03 EP
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.03.03
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2020/074531 2020.09.03
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/043863 EN 2021.03.11
(73)专利权人 辛克利诺公司
地址 丹麦夏洛特敦
(72)发明人 M·M·罗斯维尔 M·G·杰普森
T·N·克莱达尔
(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
专利代理师 封新琴
(51)Int.Cl.
C07K 19/00(2006.01)
C12N 15/62(2006.01)
C12N 15/85(2006.01)
C12N 5/10(2006.01)
A61K 38/16(2006.01)
A61K 47/64(2017.01)
A61K 45/06(2006.01)
A61P 31/22(2006.01)
A61P 31/14(2006.01)
(56)对比文件
CN 102154355 A,2011.08.17
US 2010048470 A1,2010.02.25
审查员 杨啸天

权利要求书2页 说明书23页
序列表21页 附图6页

(54)发明名称

融合蛋白及其用途

(57)摘要

提供了一种包含第一肽和第二肽的融合蛋白。所述第一肽使所述融合蛋白能够与在细胞上表达的受体结合,并且具有切割位点的所述第二肽使所述融合蛋白能够杀伤所述细胞。因此,所述融合蛋白可用于预防或治疗由病原体引起的感染。还提供了编码所述融合蛋白的核酸以及制备和使用所述融合蛋白的方法。

CN 114341196 B

1.一种融合蛋白,其由SEQ ID NO: 6的氨基酸序列组成。

2.一种分离的核酸,其编码根据权利要求1所述的融合蛋白。

3.一种载体,其包含根据权利要求2所述的核酸。

4.根据权利要求3所述的载体,其中所述载体是表达载体。

5.一种重组宿主细胞,其包含根据权利要求2所述的核酸分子或根据权利要求3-4中任一项所述的载体。

6.根据权利要求5所述的重组宿主细胞,其中所述宿主细胞是细菌细胞、酵母细胞、哺乳动物细胞或昆虫细胞。

7.根据权利要求5所述的重组宿主细胞,其中所述宿主细胞是人细胞。

8.一种药物组合物,其包含根据权利要求1所述的融合蛋白、根据权利要求2所述的核酸、根据权利要求3-4中任一项所述的载体或根据权利要求5-7中任一项所述的重组宿主细胞以及药学上可接受的载体和/或赋形剂。

9.一种药物组合物,其包含根据权利要求1所述的融合蛋白、根据权利要求2所述的核酸、根据权利要求3-4中任一项所述的载体或根据权利要求5-7中任一项所述的重组宿主细胞以及药学上可接受的稀释剂。

10.根据权利要求8或9所述的药物组合物,其还包含一种或多种另外的药剂。

11.根据权利要求10所述的药物组合物,其中所述药剂选自免疫抑制剂和抗病毒剂。

12.根据权利要求11所述的药物组合物,其中所述抗病毒剂选自缬更昔洛韦、更昔洛韦、西多福韦(cidofovir)、来氟米特、莱特莫韦、马立巴韦和布林西多福韦(brincidofovir)。

13.根据权利要求1所述的融合蛋白、根据权利要求2所述的核酸、根据权利要求3所述的载体、根据权利要求5所述的重组宿主细胞或根据权利要求8或9所述的药物组合物在制备用于治疗个体的CMV感染的药物中的用途。

14.根据权利要求13所述的用途,其中所述CMV感染是潜伏性和/或裂解性CMV感染。

15.根据权利要求13所述的用途,其中能够在以下项中检测到CMV感染:

i) 选自视网膜、角膜、心脏、肝、肾、肺、胃肠组织、胸腺、脾、皮肤和肌肉中的一种或多种的组织,和/或

ii) 选自唾液、血液、尿液、精液和母乳中的一种或多种的体液。

16.根据权利要求13所述的用途,其中所述CMV感染是免疫受损患者中的感染,所述免疫受损患者选自HIV患者、新生儿和免疫抑制患者、骨髓移植患者、实体器官移植患者、免疫疗法患者、癌症患者、重症监护患者、创伤患者、干细胞患者、基因疗法患者、细胞疗法患者、老年患者和多种疾病患者。

17.根据权利要求13所述的用途,其中所述融合蛋白、所述核酸、所述载体、所述宿主细胞或所述组合物静脉内、肿瘤内、腹膜内、鞘内和/或淋巴内施用。

18.根据权利要求13所述的用途,其中所述个体是人。

19.根据权利要求18所述的用途,其中所述人是免疫受损患者。

20.根据权利要求18所述的用途,其中所述人是儿童。

21.根据权利要求18所述的用途,其中所述人是成年人。

22.根据权利要求18所述的用途,其中所述人需要实体器官移植和/或造血干细胞移

植。

23.一种用于产生根据权利要求1所述的融合蛋白的方法,所述方法包括在允许表达所述编码的融合蛋白的条件下培养根据权利要求5所述的宿主细胞。

融合蛋白及其用途

技术领域

[0001] 融合蛋白质涉及一种包含第一肽和第二肽的融合蛋白。所述第一肽使融合蛋白能够与在细胞上表达的受体结合,然后可以使之内化,并且所述第二肽含有具有优化选择特性的切割位点,所述切割位点因此可以称为优化的或选择性切割位点,其使所述融合蛋白能够杀伤所述细胞。因此,所述融合蛋白可用于预防或治疗由病原体(如病毒)引起的感染,其中CMV是这种病毒的例子。还提供了编码所述融合蛋白的核酸以及制备和使用所述融合蛋白的方法。

背景技术

[0002] 免疫毒素是具有与毒素连接的靶向部分的蛋白质。免疫毒素是融合蛋白的例子。免疫毒素可以用于治疗由一系列病原体引起的感染。例如,与抗体连接的毒素先前已被用于靶向CMV感染的细胞,但收效甚微。

[0003] 人巨细胞病毒(HCMV)是物种特异性疱疹病毒以及特别是在免疫受损的个体、新生儿和接受移植的患者中显著的病原体。

[0004] 目前,用于临床治疗HCMV感染的所有药物与相当大的不良副作用有关。此外,耐药性的出现通常导致疗法失败。

[0005] 除了现有免疫毒素的药理学挑战和较差的细胞靶向选择性之外,治疗失败的另一种原因通常是内化不充分,导致对感染细胞的杀伤不充分。

[0006] 这些限制支持开发用于病原体诱导的感染如HCMV的新型药物治疗的重要性。

[0007] WO 08/003327公开了可用于治疗与CMV感染有关的疾病的免疫毒素。其中公开的免疫毒素包含人CX3CL1的趋化因子结构域的变体和毒素。

发明内容

[0008] 本发明如权利要求中所限定。

[0009] 本文提供了一种融合蛋白,其包含提供靶标选择性的第一肽以及提供毒素并且还提供由于切割位点导致的所述毒素的内部切割以及在靶向细胞中产生的效应子毒性的第二肽。本文提供的融合蛋白可用于治疗病原体诱导的感染,包括治疗潜伏性感染。

[0010] 本发明人已经产生了有效靶向并杀伤感染细胞(如CMV感染细胞,包括潜伏性感染细胞)的融合蛋白。该融合蛋白包含能够与至少一种受体(其可以是病毒编码的受体如US28)结合的第一肽和含有优化的切割位点和毒素(如外毒素A的选定结构域(例如结构域II和III))的第二肽。在靶标结合时,所述受体优选地被内化,并且所述第二肽在所述切割位点处至少部分地切割,从而释放毒素部分,然后其转而杀伤感染细胞。令人惊讶地,本发明人发现对应于外毒素A的天然弗林蛋白酶切割位点中的突变的特定切割位点基序(ArgX1X2Arg,其中X2是碱性的如Arg)增加了对表达病原体编码的受体(例如US28)的细胞的选择性。该发现允许改善对感染细胞例如CMV感染细胞的靶向和杀伤。因此,本文所述的优化切割位点可以用于融合蛋白,并且特别是免疫毒素,以增加毒性/细胞杀伤效力以及特

别是增加选择性。

[0011] 在一个方面,本发明提供了一种融合蛋白,其包含

[0012] a)结合在细胞上表达的至少一种受体的第一肽;和

[0013] b)含有具有氨基酸序列ArgX1X2Arg的切割位点的第二肽,

[0014] 其中X2是Arg或Lys,并且其中所述第二肽包含毒素。

[0015] 在另一方面,本发明提供了一种编码根据上述方面的融合蛋白的分离的核酸分子。

[0016] 在一个方面,本发明提供了一种包含根据上述方面的核酸分子的载体。

[0017] 在另一方面,本发明提供了一种包含根据上述方面的核酸分子或载体的重组宿主细胞。

[0018] 在一个方面,本发明提供了一种包含根据上述方面的融合蛋白、核酸、载体或重组宿主细胞以及药学上可接受的载体、稀释剂和/或赋形剂的药物组合物。

[0019] 在另一方面,本发明提供了一种根据上述方面的融合蛋白、核酸、载体、重组宿主细胞或药物组合物,其用作药物。

[0020] 在一个方面,本发明提供了一种根据上述方面的融合蛋白、核酸、载体、重组宿主细胞或药物组合物,其用于预防或治疗由病原体引起的感染和/或病原体相关障碍。

[0021] 在另一方面,本发明提供了一种根据上述方面的融合蛋白、核酸、载体、重组宿主细胞或药物组合物,其用于预防或治疗CMV感染和/或CMV相关障碍。

[0022] 在一个方面,本发明提供了一种治疗或预防有需要的个体中的病原体引起的感染如CMV感染的方法,所述方法包括向所述个体施用治疗有效量的根据上述方面中任一方面的融合蛋白、核酸、载体、重组宿主细胞或药物组合物。

[0023] 在另一方面,本发明提供了根据上述方面中任一方面的融合蛋白或药物组合物用于治疗供移植的实体器官和/或供移植的造血干细胞的离体用途。

[0024] 在一个方面,本发明提供了根据上述方面的融合蛋白、核酸、载体、宿主细胞或药物组合物,其用于制造用于预防或治疗病原体引起的感染和/或病原体相关障碍如用于预防或治疗CMV感染和/或CMV相关障碍的药物的用途。

[0025] 在另一方面,本发明提供了一种用于产生提供根据上述方面中任一方面的融合蛋白的方法,所述方法包括在允许表达编码的融合蛋白的条件下培养如上述任何方面中任一方面所定义的宿主细胞。

附图说明

[0026] 图1:作为人CX3CL1的示例性第一肽、假单胞菌属(Pseudomonas)外毒素A和融合蛋白SYN002的结构域结构。

[0027] A.以下结构域结构的示意图:人CX_3CL1(S=信号序列,CX_3CL1=趋化因子结构域,柄=黏蛋白样柄,M=跨膜部分以及C=胞质结构域)、铜绿假单胞菌(Pseudomonas aeruginosa)外毒素A(S=信号序列,结构域I=受体结合结构域,结构域II=易位结构域,Ib=具有未知功能的结构域Ib以及结构域III=ADP-核糖基化结构域),在每种蛋白质上方给出了前体蛋白质的氨基酸编号。二硫桥在每种蛋白质下方用方括号以及所涉及的氨基酸的编号示出。B.SYN002的示意图。给定结构域中的突变以所涉及的氨基酸的单字母代码及

其编号进行书写。例如,P303R意味着位置编号303处的脯氨酸已被精氨酸取代。单字母代码也用在构建体的N和C末端处以及结构域之间。两个结构域之间的虚线表明氨基酸是连接的。弗林蛋白酶在外毒素A的结构域II的氨基酸304与305之间切割。

[0028] 图2:由于F49A突变导致的选择性。

[0029] 取代SYNx的趋化因子部分中的单个氨基酸导致对US28受体(A)相比于CXCR1受体(B)的选择性。SYN000是野生型人趋化因子(C-X3-C基序)配体1(CX3CL1)(天然趋化因子序列),而SYN001在所述蛋白质的受体结合部分中具有单个突变(F49A)。

[0030] 图3:引入弗林蛋白酶切割位点(在这种情况下,外毒素A的全长易位结构域)增加了效力。

[0031] 将包含弗林蛋白酶切割位点的外毒素A的全长易位结构域添加至SYN001构建体产生了SYN016,这增加了对内源CX3CR1受体表达细胞和病毒编码的US28受体表达细胞的效力。

[0032] 图4:弗林蛋白酶的体外切割。

[0033] 与具有天然弗林蛋白酶切割位点序列(RQPR)的融合蛋白构建体SYN016相比,弗林蛋白酶对具有优化的切割位点(RQRR)的SYN002构建体的体外切割不产生改善。SYNx的体外弗林蛋白酶消化。泳道1:Mark 12蛋白质标准品,泳道2:SYN000,泳道3:SYN017,泳道4:SYN014,泳道5:SYN001,泳道6:SYN016以及泳道7:SYN002。SYN000、SYN017和SYN014具有天然CX3CL1趋化因子序列,而SYN001、SYN016和SYN002在趋化因子部分中具有F49A突变。SYN000、SYN017、SYN001和SYN016具有天然弗林蛋白酶切割位点(RQPR),而SYN014和SYN002具有优化的切割位点(RQRR)。

[0034] 图5:SYN002在宽的pH范围内被弗林蛋白酶切割。

[0035] SYN002在宽的pH范围内被体外切割。泳道1:Mark 12蛋白质标准品,泳道2:未添加弗林蛋白酶,泳道3:+8mm HCl(约pH 5.2),泳道4:+6mm HCl(约pH 6.3),泳道5:+4mm HCl(约pH 6.6),泳道6:+2mm HCl(约pH 7.0),泳道7:未添加滴定剂(约pH 7.4),泳道8:2mm NaOH(约pH 7.7)以及泳道9:+4mm NaOH(约pH 9.0)。

[0036] 图6:优化的切割位点增加了选择性

[0037] 当将优化的切割位点ArgX1X2Arg引入第二肽中时,在这种特定情况下,将优化的切割位点ArgGlnArgArg引入SYN016中以得到SYN002,从而获得了对病毒编码的受体的选择性的增加。与具有切割位点ArgGlnProArg(因此,X2=Pro)的SYN016相比,SYN002对表达病毒编码的受体如US28的细胞的细胞杀伤效力近似维持不变,然而对表达内源/人受体如CX3CR1的细胞的效力相比于SYN016降低。当与不包含弗林蛋白酶切割位点的第二肽(例如SYN000(图中未示出))相比时,选择性和效力二者均增加。

具体实施方式

[0038] 本公开文本涉及一种融合蛋白,其包含提供靶标识别和靶标选择性的第一肽以及提供毒素并且还提供所述毒素的细胞内切割和释放以及在靶向细胞中产生的效应子毒性的第二肽。本文提供的融合蛋白可用于治疗病原体诱导的感染,包括治疗潜伏性感染。

[0039] 本发明人已经产生了有效靶向并杀伤感染细胞(如CMV感染细胞,包括潜伏性感染细胞)的融合蛋白,在与受体例如病毒编码的受体如US28结合后,其可以有利地组成性地内

化。

[0040] US28是由人巨细胞病毒开放读框US28编码的G蛋白偶联受体。US28是组成性内化受体。因此,趋化因子或结合US28的其他化合物被内化至表达所述受体的细胞中。US28在CMV感染细胞(包括被CMV潜伏性感染的细胞)上表达。

[0041] 所述融合蛋白包含能够与受体、尤其是病原体编码的受体如US28结合的第一肽以及含有优化的切割位点和毒素(如外毒素A的选定结构域)的第二肽。在所述切割位点中突变之后,所述融合蛋白对病原体编码的受体(如US28)的选择性令人惊讶地增强。

[0042] 本文所述的优化的切割位点可以用于各种融合蛋白,并且特别是免疫毒素,以通过以靶标受体选择性方式改变细胞杀伤效力来增加细胞杀伤选择性。

[0043] 在另一方面,本发明提供了一种融合蛋白,其包含

[0044] a)结合在细胞上表达的至少一种受体的第一肽;和

[0045] b)含有具有氨基酸序列ArgX1X2Arg的切割位点的第二肽,

[0046] 其中X2是Arg或Lys,并且其中所述第二肽包含毒素。

[0047] 如本文所用的术语“氨基酸”包括标准的二十种遗传编码的氨基酸及其呈“D”形式(与天然的“L”形式相比)的相应立体异构体、ω-氨基酸和其他天然存在的氨基酸、非常规氨基酸(例如α,α-二取代的氨基酸、N-烷基氨基酸等)以及化学衍生化氨基酸。除非另有明确说明,否则当具体地枚举氨基酸如“丙氨酸”或“Ala”或“A”时,所述术语是指l-丙氨酸和d-丙氨酸二者。

[0048] 在本发明的一个实施方案中,所述融合蛋白仅由天然存在的氨基酸组成。

[0049] 切割位点

[0050] 本公开文本的第二肽包含具有如下氨基酸序列的切割位点

[0051] ArgX1X2Arg

[0052] X1可以是任何氨基酸。在一个实施方案中,X1选自Gln、Ser、Thr和Asn。在一个实施方案中,X1是Gln。

[0053] X2选自Arg和Lys。在有利的实施方案中,X2是Arg。在一个实施方案中,X2是Lys。通过在氨基酸位置X2处引入碱性氨基酸如Arg,细胞杀伤选择性增强。因此,与例如表达也能够结合所述第一肽的内源受体的细胞相比,例如表达病毒编码的且结合所述第一肽的受体的病毒感染的细胞被更有效地杀伤。

[0054] 在优选的实施方案中,所述切割位点包含氨基酸序列ArgGlnArgArg(RQRR)或由其组成。在一个实施方案中,所述切割位点包含氨基酸序列ArgGlnLysArg或由其组成。在一个实施方案中,所述切割位点包含氨基酸序列ArgSerLysArg或由其组成。在一个实施方案中,所述切割位点包含氨基酸序列ArgSerArgArg或由其组成。在一个实施方案中,所述切割位点包含氨基酸序列ArgThrLysArg或由其组成。在一个实施方案中,所述切割位点包含氨基酸序列ArgThrArgArg或由其组成。在一个实施方案中,所述切割位点包含氨基酸序列ArgAsnLysArg或由其组成。在一个实施方案中,所述切割位点包含氨基酸序列ArgAsnArgArg或由其组成。

[0055] 在一个实施方案中,在所述切割位点的C末端发生切割。

[0056] 可以将所述融合蛋白用弗林蛋白酶切割,但其他酶或蛋白酶也可以参与所述切割位点的切割。

[0057] 因此,在一个实施方案中,所述切割位点是酶促切割位点。

[0058] 在一个实施方案中,所述酶促切割位点是弗林蛋白酶切割位点。

[0059] 受体

[0060] 在一个实施方案中,所述第一肽与在细胞上表达的至少一种受体结合。在一个实施方案中,所述第一肽与在细胞上表达的至少两种受体结合。

[0061] 在一个实施方案中,结合所述第一肽的一种受体是病原体编码的受体,并且结合所述第一肽的另一种受体是所述第一肽或其变体的人编码受体和/或内源受体。

[0062] 在一个实施方案中,所述受体是G蛋白偶联受体(GPCR),如SEQ ID NO:10的US28。

[0063] 在一个实施方案中,所述受体是趋化因子受体。在一个实施方案中,所述趋化因子受体是CC趋化因子受体和/或CX3C趋化因子受体。

[0064] 在一个实施方案中,所述CC趋化因子受体是US28。在一个实施方案中,所述CX3C趋化因子受体是CX3CR1。

[0065] 在一个实施方案中,所述受体由病原体编码。在一个实施方案中,所述病原体是细菌。在一些实施方案中,所述病原体是病毒。在一些实施方案中,所述病毒是DNA病毒。在一些实施方案中,所述病毒是RNA病毒。在一个实施方案中,所述病毒是疱疹病毒。在一个实施方案中,所述病毒是巨细胞病毒。

[0066] 在一个实施方案中,所述受体能够内化。在一个实施方案中,所述受体在与所述第一肽结合后内化。在一个实施方案中,所述受体组成性地内化。由病原体编码的受体有利地组成性地内化,因为这将确保所述融合蛋白被病原体感染的细胞高效吸收,从而导致感染细胞的死亡且具有最小的不希望的毒性和副作用。“内化”是指受体被移动至表达其的细胞中的过程。例如,所述受体可以通过胞吞作用或吞噬作用进入细胞。

[0067] 在一些实施方案中,本发明提供了一种融合蛋白,其通过以选择性方式与受体结合来靶向特定细胞,从而导致所述受体的内化。然后切割所述融合蛋白的毒素部分,并杀伤所述细胞。

[0068] 毒素

[0069] 在一个实施方案中,所述融合蛋白是免疫毒素。“免疫毒素”是指由与毒素连接的靶向部分组成的蛋白质。所述靶向部分也可以称为配体。

[0070] 所述毒素可以是不同种类的毒素。在一个实施方案中,所述第二肽包含选自假单胞菌属外毒素A、白树毒素、bouganin、皂草素、蓖麻毒素、蓖麻毒素A链、泻根素、局限曲菌素、白喉毒素、白喉毒素A链及其变体和片段的毒素。所述融合蛋白的毒素部分使得能够杀伤细胞。所述毒素是细胞毒性的。

[0071] 在一个实施方案中,所述第二肽包含假单胞菌属外毒素A的一个或多个结构域。在一个实施方案中,所述第二肽包含SEQ ID NO:9的外毒素A的至少一部分。

[0072] 融合蛋白

[0073] 所述第一肽是靶向部分,其允许与在细胞上表达的受体结合。

[0074] 在一个实施方案中,所述第一肽和所述第二肽可操作地连接。通常,“可操作地连接”意味着连接的序列是连续的和/或彼此处于功能关系,如共价连接。

[0075] 在一个实施方案中,所述第一肽包含以下项或由以下项组成

[0076] a.SEQ ID NO:1的氨基酸序列;

[0077] b.SEQ ID NO:1的变体,其包含如下氨基酸序列或由如下氨基酸序列组成:具有与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少80%序列同一性、更优选与SEQ ID NO:1至少85%或90%序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:1至少95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列;

[0078] c.长度多于50个氨基酸如长度多于60、70或75个氨基酸的SEQ ID NO:1的片段或者具有与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少80%序列同一性、更优选与SEQ ID NO:1至少85%或90%序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:1至少95%、96%、97%、98%或99%同一性的其变体。

[0079] 在一个实施方案中,所述第一肽包含SEQ ID NO:1的变体或由其组成,所述变体包含具有与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少90%序列同一性的氨基酸序列或由其组成。在一个实施方案中,所述第一肽包含SEQ ID NO:1的变体或由其组成,所述变体包含具有与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少95%序列同一性的氨基酸序列或由其组成。在一个实施方案中,所述第一肽包含SEQ ID NO:1的变体或由其组成,所述变体包含具有与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少96%序列同一性的氨基酸序列或由其组成。在一个实施方案中,所述第一肽包含SEQ ID NO:1的变体或由其组成,所述变体包含具有与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少97%序列同一性的氨基酸序列或由其组成。在一个实施方案中,所述第一肽包含SEQ ID NO:1的变体或由其组成,所述变体包含具有与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少98%序列同一性的氨基酸序列或由其组成。在一个实施方案中,所述第一肽包含SEQ ID NO:1的变体或由其组成,所述变体包含具有与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少99%序列同一性的氨基酸序列或由其组成。

[0080] 在一个实施方案中,所述第一肽包含长度多于50个氨基酸的SEQ ID NO:1的片段或由其组成。在一个实施方案中,所述第一肽包含长度多于60个氨基酸的SEQ ID NO:1的片段或由其组成。在一个实施方案中,所述第一肽包含长度多于70个氨基酸的SEQ ID NO:1的片段或由其组成。在一个实施方案中,所述第一肽包含长度多于75个氨基酸的SEQ ID NO:1的片段或由其组成。

[0081] 在一个实施方案中,所述第一肽包含SEQ ID NO:1的片段或具有与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少80%序列同一性的其变体,或者由SEQ ID NO:1的片段或具有与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少80%序列同一性的其变体组成。在一个实施方案中,所述第一肽包含SEQ ID NO:1的片段或具有与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少85%序列同一性的其变体,或者由SEQ ID NO:1的片段或具有与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少85%序列同一性的其变体组成。在一个实施方案中,所述第一肽包含SEQ ID NO:1的片段或具有与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少90%序列同一性的其变体,或者由SEQ ID NO:1的片段或具有与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少90%序列同一性的其变体组成。在一个实施方案中,所述第一肽包含SEQ ID NO:1的片段或具有与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少95%序列同一性的其变体,或者由SEQ ID NO:1的片段或具有与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少95%序列同一性的其变体组成。在一个实施方案中,所述第一肽包含SEQ ID NO:1的片段或具有与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少96%序列同一性的其变体,或者由SEQ ID NO:1的片段或具有与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少96%序列同一性的其变体组成。在一个实施方案中,所述第一肽包含SEQ ID NO:1的片段或具有与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少97%序列同一性的其变体,

或者由SEQ ID NO:1的片段或具有与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少97％序列同一性的其变体组成。在一个实施方案中,所述第一肽包含SEQ ID NO:1的片段或具有与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少98％序列同一性的其变体,或者由SEQ ID NO:1的片段或具有与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少98％序列同一性的其变体组成。在一个实施方案中,所述第一肽包含SEQ ID NO:1的片段或具有与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少99％序列同一性的其变体,或者由SEQ ID NO:1的片段或具有与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少99％序列同一性的其变体组成。

[0082] 在一个实施方案中,SEQ ID NO:1在位置49处的氨基酸残基突变为Ala、Lys或Asp,优选Ala。与也结合所述第一肽的人或内源编码受体相比,这些取代可以导致对表达病原体编码的结合所述第一肽的受体的细胞的细胞杀伤选择性增加。

[0083] 在一个实施方案中,所述第一肽还包含N末端处的甲硫氨酸(M)。

[0084] 在一个实施方案中,所述第一肽包含在SEQ ID NO:1的氨基酸序列的N和/或C末端和/或内部插入的一个或多个另外的氨基酸或由其组成。

[0085] 在一个实施方案中,在SEQ ID NO:1的氨基酸序列的N和/或C末端和/或内部缺失一个或多个氨基酸。

[0086] 在一些实施方案中,所述第一肽的长度少于100个氨基酸。

[0087] 在一些实施方案中,所述第一肽的长度少于90个氨基酸。

[0088] 在一些实施方案中,所述第一肽的长度少于85个氨基酸。

[0089] 在一些实施方案中,所述第一肽的长度少于80个氨基酸。

[0090] 在一个实施方案中,所述第二肽包含结构域A,所述结构域A可以是易位结构域,如具有根据SEQ ID NO:3的氨基酸序列或其片段或变体的结构域A;和/或结构域B,如具有根据SEQ ID NO:4的氨基酸序列或其片段或变体的结构域B;和/或结构域C,所述结构域C可以是细胞毒性结构域,如具有根据SEQ ID NO:5的氨基酸序列或其片段或变体的结构域C。

[0091] 在一个实施方案中,所述第二肽包含结构域A,如具有根据SEQ ID NO:3的氨基酸序列或其片段或变体的结构域A。在一个实施方案中,所述第二肽包含结构域A,如具有根据SEQ ID NO:3的氨基酸序列或其片段或变体的结构域A;和结构域B,如具有根据SEQ ID NO:4的氨基酸序列或其片段或变体的结构域B。在一个实施方案中,所述第二肽包含结构域A,如具有根据SEQ ID NO:3的氨基酸序列或其片段或变体的结构域A;和结构域B,如具有根据SEQ ID NO:4的氨基酸序列或其片段或变体的结构域B;以及结构域C,如具有根据SEQ ID NO:5的氨基酸序列或其片段或变体的结构域C。在一个实施方案中,所述第二肽包含具有根据SEQ ID NO:4的氨基酸序列或其片段或变体的结构域B。在一个实施方案中,所述第二肽包含结构域C,如具有根据SEQ ID NO:5的氨基酸序列或其片段或变体的结构域C。

[0092] 在一个实施方案中,所述第二肽包含

[0093] a.SEQ ID NO:3的氨基酸序列;

[0094] b.SEQ ID NO:3的变体,其包含如下氨基酸序列或由如下氨基酸序列组成:具有与SEQ ID NO:3的氨基酸序列至少80％序列同一性、更优选与SEQ ID NO:3至少85％或90％序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:3至少95％、96％、97％、98％或99％同一性的氨基酸序列;

[0095] c.长度多于80个氨基酸如长度多于90、100或110个氨基酸的SEQ ID NO:3的片段

或者具有与SEQ ID NO:3的氨基酸序列至少80％序列同一性、更优选与SEQ ID NO:3至少85％或90％序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:3至少95％、96％、97％、98％或99％同一性的其变体。

[0096] 在一个实施方案中,所述第二肽包含

[0097] a.SEQ ID NO:4的氨基酸序列;

[0098] b.SEQ ID NO:4的变体,其包含如下氨基酸序列或由如下氨基酸序列组成:具有与SEQ ID NO:4的氨基酸序列至少80％序列同一性、更优选与SEQ ID NO:4至少85％或90％序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:4至少95％、96％、97％、98％或99％同一性的氨基酸序列;

[0099] c.长度多于6个氨基酸如长度多于8、10或12个氨基酸的SEQ ID NO:4的片段或者具有与SEQ ID NO:4的氨基酸序列至少80％序列同一性、更优选与SEQ ID NO:4至少85％或90％序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:4至少95％、96％、97％、98％或99％同一性的其变体。

[0100] 在一个实施方案中,所述第二肽包含

[0101] a.SEQ ID NO:5的氨基酸序列;

[0102] b.SEQ ID NO:5的变体,其包含如下氨基酸序列或由如下氨基酸序列组成:具有与SEQ ID NO:5的氨基酸序列至少80％序列同一性、更优选与SEQ ID NO:5至少85％或90％序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:5至少95％、96％、97％、98％或99％同一性的氨基酸序列;

[0103] c.长度多于180个氨基酸如长度多于190、200或210个氨基酸的SEQ ID NO:5的片段或者具有与SEQ ID NO:5的氨基酸序列至少80％序列同一性、更优选与SEQ ID NO:5至少85％或90％序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:5至少95％、96％、97％、98％或99％同一性的其变体。

[0104] 在一个实施方案中,所述第二肽包含

[0105] a.SEQ ID NO:3的氨基酸序列;

[0106] b.SEQ ID NO:3的变体,其包含如下氨基酸序列或由如下氨基酸序列组成:具有与SEQ ID NO:3的氨基酸序列至少80％序列同一性、更优选与SEQ ID NO:3至少85％或90％序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:3至少95％、96％、97％、98％或99％同一性的氨基酸序列;

[0107] c.长度多于80个氨基酸如长度多于90、100或110个氨基酸的SEQ ID NO:3的片段或者具有与SEQ ID NO:3的氨基酸序列至少80％序列同一性、更优选与SEQ ID NO:3至少85％或90％序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:3至少95％、96％、97％、98％或99％同一性的其变体;以及

[0108] d.SEQ ID NO:4的氨基酸序列;

[0109] e.SEQ ID NO:4的变体,其包含如下氨基酸序列或由如下氨基酸序列组成:具有与SEQ ID NO:4的氨基酸序列至少80％序列同一性、更优选与SEQ ID NO:4至少85％或90％序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:4至少95％、96％、97％、98％或99％同一性的氨基酸序列;

[0110] f.长度多于6个氨基酸如长度多于8、10或12个氨基酸的SEQ ID NO:4的片段或者

具有与SEQ ID NO:4的氨基酸序列至少80％序列同一性、更优选与SEQ ID NO:4至少85％或90％序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:4至少95％、96％、97％、98％或99％同一性的其变体。

[0111] 在一个实施方案中,所述第二肽包含

[0112] a.SEQ ID NO:3的氨基酸序列;

[0113] b.SEQ ID NO:3的变体,其包含如下氨基酸序列或由如下氨基酸序列组成:具有与SEQ ID NO:3的氨基酸序列至少80％序列同一性、更优选与SEQ ID NO:3至少85％或90％序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:3至少95％、96％、97％、98％或99％同一性的氨基酸序列;

[0114] c.长度多于80个氨基酸如长度多于90、100或110个氨基酸的SEQ ID NO:3的片段或者具有与SEQ ID NO:3的氨基酸序列至少80％序列同一性、更优选与SEQ ID NO:3至少85％或90％序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:3至少95％、96％、97％、98％或99％同一性的其变体;以及

[0115] d.SEQ ID NO:4的氨基酸序列;

[0116] e.SEQ ID NO:4的变体,其包含如下氨基酸序列或由如下氨基酸序列组成:具有与SEQ ID NO:4的氨基酸序列至少80％序列同一性、更优选与SEQ ID NO:4至少85％或90％序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:4至少95％、96％、97％、98％或99％同一性的氨基酸序列;

[0117] f.长度多于6个氨基酸如长度多于8、10或12个氨基酸的SEQ ID NO:4的片段或者具有与SEQ ID NO:4的氨基酸序列至少80％序列同一性、更优选与SEQ ID NO:4至少85％或90％序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:4至少95％、96％、97％、98％或99％同一性的其变体;以及

[0118] g.SEQ ID NO:5的氨基酸序列;

[0119] h.SEQ ID NO:5的变体,其包含如下氨基酸序列或由如下氨基酸序列组成:具有与SEQ ID NO:5的氨基酸序列至少80％序列同一性、更优选与SEQ ID NO:5至少85％或90％序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:5至少95％、96％、97％、98％或99％同一性的氨基酸序列;

[0120] i.长度多于180个氨基酸如长度多于190、200或210个氨基酸的SEQ ID NO:5的片段或者具有与SEQ ID NO:5的氨基酸序列至少80％序列同一性、更优选与SEQ ID NO:5至少85％或90％序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:5至少95％、96％、97％、98％或99％同一性的其变体。

[0121] 在一个实施方案中,所述第二肽包含

[0122] a.SEQ ID NO:3的氨基酸序列;

[0123] b.SEQ ID NO:3的变体,其包含如下氨基酸序列或由如下氨基酸序列组成:具有与SEQ ID NO:3的氨基酸序列至少80％序列同一性、更优选与SEQ ID NO:3至少85％或90％序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:3至少95％、96％、97％、98％或99％同一性的氨基酸序列;

[0124] c.长度多于80个氨基酸如长度多于90、100或110个氨基酸的SEQ ID NO:3的片段或者具有与SEQ ID NO:3的氨基酸序列至少80％序列同一性、更优选与SEQ ID NO:3至少

85％或90％序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:3至少95％、96％、97％、98％或99％同一性的其变体;以及

[0125] d.SEQ ID NO:5的氨基酸序列;

[0126] e.SEQ ID NO:5的变体,其包含如下氨基酸序列或由如下氨基酸序列组成:具有与SEQ ID NO:5的氨基酸序列至少80％序列同一性、更优选与SEQ ID NO:5至少85％或90％序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:5至少95％、96％、97％、98％或99％同一性的氨基酸序列;

[0127] f.长度多于180个氨基酸如长度多于190、200或210个氨基酸的SEQ ID NO:5的片段或者具有与SEQ ID NO:5的氨基酸序列至少80％序列同一性、更优选与SEQ ID NO:5至少85％或90％序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:5至少95％、96％、97％、98％或99％同一性的其变体。

[0128] 在一个实施方案中,所述第二肽包含

[0129] a.SEQ ID NO:4的氨基酸序列;

[0130] b.SEQ ID NO:4的变体,其包含如下氨基酸序列或由如下氨基酸序列组成:具有与SEQ ID NO:4的氨基酸序列至少80％序列同一性、更优选与SEQ ID NO:4至少85％或90％序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:4至少95％、96％、97％、98％或99％同一性的氨基酸序列;

[0131] c.长度多于6个氨基酸如长度多于8、10或12个氨基酸的SEQ ID NO:4的片段或者具有与SEQ ID NO:4的氨基酸序列至少80％序列同一性、更优选与SEQ ID NO:4至少85％或90％序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:4至少95％、96％、97％、98％或99％同一性的其变体;以及

[0132] d.SEQ ID NO:5的氨基酸序列;

[0133] e.SEQ ID NO:5的变体,其包含如下氨基酸序列或由如下氨基酸序列组成:具有与SEQ ID NO:5的氨基酸序列至少80％序列同一性、更优选与SEQ ID NO:5至少85％或90％序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:5至少95％、96％、97％、98％或99％同一性的氨基酸序列;

[0134] f.长度多于180个氨基酸如长度多于190、200或210个氨基酸的SEQ ID NO:5的片段或者具有与SEQ ID NO:5的氨基酸序列至少80％序列同一性、更优选与SEQ ID NO:5至少85％或90％序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:5至少95％、96％、97％、98％或99％同一性的其变体。

[0135] 在一个实施方案中,所述结构域A是易位结构域,并且所述结构域C是细胞毒性结构域,如ADP-核糖基化结构域。

[0136] 在一个实施方案中,所述第二肽包含SEQ ID NO:8在C末端中的氨基酸序列KDEL。在一个实施方案中,用SEQ ID NO:8的氨基酸序列替代所述第二肽的最后5个氨基酸。

[0137] 在一个实施方案中,所述第二肽包含以下项或由以下项组成

[0138] a.SEQ ID NO:2的氨基酸序列;

[0139] b.SEQ ID NO:2的变体,其包含如下氨基酸序列或由如下氨基酸序列组成:具有与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少80％序列同一性、更优选与SEQ ID NO:2至少85％或90％序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:2至少95％、96％、97％、98％或99％同一性的氨基酸序

列;

[0140] c.长度多于300个氨基酸如长度多于310、330或340个氨基酸的SEQ ID NO:2的片段或者具有与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少80％序列同一性、更优选与SEQ ID NO:2至少85％或90％序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:2至少95％、96％、97％、98％或99％同一性的其变体。

[0141] 在一个实施方案中,所述第二肽包含SEQ ID NO:2的变体或由其组成,所述变体包含具有与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少90％序列同一性的氨基酸序列或由其组成。在一个实施方案中,所述第二肽包含SEQ ID NO:2的变体或由其组成,所述变体包含具有与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少95％序列同一性的氨基酸序列或由其组成。在一个实施方案中,所述第二肽包含SEQ ID NO:2的变体或由其组成,所述变体包含具有与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少96％序列同一性的氨基酸序列或由其组成。在一个实施方案中,所述第二肽包含SEQ ID NO:2的变体或由其组成,所述变体包含具有与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少97％序列同一性的氨基酸序列或由其组成。在一个实施方案中,所述第二肽包含SEQ ID NO:2的变体或由其组成,所述变体包含具有与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少98％序列同一性的氨基酸序列或由其组成。在一个实施方案中,所述第二肽包含SEQ ID NO:2的变体或由其组成,所述变体包含具有与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少99％序列同一性的氨基酸序列或由其组成。

[0142] 在一个实施方案中,所述第二肽包含长度多于300个氨基酸的SEQ ID NO:2的片段或由其组成。在一个实施方案中,所述第二肽包含长度多于310个氨基酸的SEQ ID NO:2的片段或由其组成。在一个实施方案中,所述第二肽包含长度多于330个氨基酸的SEQ ID NO:2的片段或由其组成。在一个实施方案中,所述第二肽包含长度多于340个氨基酸的SEQ ID NO:2的片段或由其组成。

[0143] 在一个实施方案中,所述第二肽包含SEQ ID NO:2的片段或具有与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少80％序列同一性的其变体,或者由SEQ ID NO:2的片段或具有与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少80％序列同一性的其变体组成。在一个实施方案中,所述第二肽包含SEQ ID NO:2的片段或具有与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少85％序列同一性的其变体,或者由SEQ ID NO:2的片段或具有与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少85％序列同一性的其变体组成。在一个实施方案中,所述第二肽包含SEQ ID NO:2的片段或具有与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少90％序列同一性的其变体,或者由SEQ ID NO:2的片段或具有与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少90％序列同一性的其变体组成。在一个实施方案中,所述第二肽包含SEQ ID NO:2的片段或具有与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少95％序列同一性的其变体,或者由SEQ ID NO:2的片段或具有与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少95％序列同一性的其变体组成。在一个实施方案中,所述第二肽包含SEQ ID NO:2的片段或具有与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少96％序列同一性的其变体,或者由SEQ ID NO:2的片段或具有与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少96％序列同一性的其变体组成。在一个实施方案中,所述第二肽包含SEQ ID NO:2的片段或具有与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少97％序列同一性的其变体,或者由SEQ ID NO:2的片段或具有与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少97％序列同一性的其变体组成。在一个实施方案中,所述第二肽包含SEQ ID NO:2的片段或具有与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少98％序列同一性的其变体,或者由SEQ ID NO:2的片段或具有与SEQ ID

NO:2的氨基酸序列至少98％序列同一性的其变体组成。在一个实施方案中,所述第二肽包含SEQ ID NO:2的片段或具有与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少99％序列同一性的其变体,或者由SEQ ID NO:2的片段或具有与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少99％序列同一性的其变体组成。

[0144] 在一个实施方案中,所述第二肽的长度少于400个氨基酸,例如长度少于380、370、360、350或345个氨基酸。

[0145] 在一些实施方案中,所述第二肽的长度少于400个氨基酸。

[0146] 在一些实施方案中,所述第二肽的长度少于380个氨基酸。

[0147] 在一些实施方案中,所述第二肽的长度少于370个氨基酸。

[0148] 在一些实施方案中,所述第二肽的长度少于360个氨基酸。

[0149] 在一些实施方案中,所述第二肽的长度少于350个氨基酸。

[0150] 在一些实施方案中,所述第二肽的长度少于345个氨基酸。

[0151] 在一个实施方案中,所述融合蛋白包含以下项或由以下项组成

[0152] a.SEQ ID NO:6的氨基酸序列;

[0153] b.SEQ ID NO:6的变体,其包含如下氨基酸序列或由如下氨基酸序列组成:具有与SEQ ID NO:6的氨基酸序列至少80％序列同一性、更优选与SEQ ID NO:6至少85％或90％序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:6至少95％、96％、97％、98％或99％同一性的氨基酸序列;

[0154] c.长度多于360个氨基酸如长度多于380、400或420个氨基酸的SEQ ID NO:6的片段或者具有与SEQ ID NO:6的氨基酸序列至少80％序列同一性、更优选与SEQ ID NO:6至少85％或90％序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:6至少95％、96％、97％、98％或99％同一性的其变体。

[0155] 在一个实施方案中,所述融合蛋白包含SEQ ID NO:6的变体或由其组成,所述变体包含具有与SEQ ID NO:6的氨基酸序列至少90％序列同一性的氨基酸序列或由其组成。在一个实施方案中,所述融合蛋白包含SEQ ID NO:6的变体或由其组成,所述变体包含具有与SEQ ID NO:6的氨基酸序列至少95％序列同一性的氨基酸序列或由其组成。在一个实施方案中,所述融合蛋白包含SEQ ID NO:6的变体或由其组成,所述变体包含具有与SEQ ID NO:6的氨基酸序列至少96％序列同一性的氨基酸序列或由其组成。在一个实施方案中,所述融合蛋白包含SEQ ID NO:6的变体或由其组成,所述变体包含具有与SEQ ID NO:6的氨基酸序列至少97％序列同一性的氨基酸序列或由其组成。在一个实施方案中,所述融合蛋白包含SEQ ID NO:6的变体或由其组成,所述变体包含具有与SEQ ID NO:6的氨基酸序列至少98％序列同一性的氨基酸序列或由其组成。在一个实施方案中,所述融合蛋白包含SEQ ID NO:6的变体或由其组成,所述变体包含具有与SEQ ID NO:6的氨基酸序列至少99％序列同一性的氨基酸序列或由其组成。

[0156] 在一个实施方案中,所述融合蛋白包含长度多于360个氨基酸的SEQ ID NO:6的片段或由其组成。在一个实施方案中,所述融合蛋白包含长度多于380个氨基酸的SEQ ID NO:6的片段或由其组成。在一个实施方案中,所述融合蛋白包含长度多于400个氨基酸的SEQ ID NO:6的片段或由其组成。在一个实施方案中,所述融合蛋白包含长度多于420个氨基酸的SEQ ID NO:6的片段或由其组成。

[0157] 在一个实施方案中,所述融合蛋白包含SEQ ID NO:6的片段或具有与SEQ ID NO:6的氨基酸序列至少80%序列同一性的其变体,或者由SEQ ID NO:6的片段或具有与SEQ ID NO:6的氨基酸序列至少80%序列同一性的其变体组成。在一个实施方案中,所述融合蛋白包含SEQ ID NO:6的片段或具有与SEQ ID NO:6的氨基酸序列至少85%序列同一性的其变体,或者由SEQ ID NO:6的片段或具有与SEQ ID NO:6的氨基酸序列至少85%序列同一性的其变体组成。在一个实施方案中,所述融合蛋白包含SEQ ID NO:6的片段或具有与SEQ ID NO:6的氨基酸序列至少90%序列同一性的其变体,或者由SEQ ID NO:6的片段或具有与SEQ ID NO:6的氨基酸序列至少90%序列同一性的其变体组成。在一个实施方案中,所述融合蛋白包含SEQ ID NO:6的片段或具有与SEQ ID NO:6的氨基酸序列至少95%序列同一性的其变体,或者由SEQ ID NO:6的片段或具有与SEQ ID NO:6的氨基酸序列至少95%序列同一性的其变体组成。在一个实施方案中,所述融合蛋白包含SEQ ID NO:6的片段或具有与SEQ ID NO:6的氨基酸序列至少96%序列同一性的其变体,或者由SEQ ID NO:6的片段或具有与SEQ ID NO:6的氨基酸序列至少96%序列同一性的其变体组成。在一个实施方案中,所述融合蛋白包含SEQ ID NO:6的片段或具有与SEQ ID NO:6的氨基酸序列至少97%序列同一性的其变体,或者由SEQ ID NO:6的片段或具有与SEQ ID NO:6的氨基酸序列至少97%序列同一性的其变体组成。在一个实施方案中,所述融合蛋白包含SEQ ID NO:6的片段或具有与SEQ ID NO:6的氨基酸序列至少98%序列同一性的其变体,或者由SEQ ID NO:6的片段或具有与SEQ ID NO:6的氨基酸序列至少98%序列同一性的其变体组成。在一个实施方案中,所述融合蛋白包含SEQ ID NO:6的片段或具有与SEQ ID NO:6的氨基酸序列至少99%序列同一性的其变体,或者由SEQ ID NO:6的片段或具有与SEQ ID NO:6的氨基酸序列至少99%序列同一性的其变体组成。

[0158] 在一个实施方案中,所述融合蛋白的长度少于500个氨基酸,例如长度少于490、480、470、460、450、440、430、425个或更少的氨基酸。

[0159] 在一些实施方案中,所述融合蛋白的长度少于500个氨基酸。在一些实施方案中,所述融合蛋白的长度少于490个氨基酸。在一些实施方案中,所述融合蛋白的长度少于480个氨基酸。在一些实施方案中,所述融合蛋白的长度少于470个氨基酸。在一些实施方案中,所述融合蛋白的长度少于460个氨基酸。在一些实施方案中,所述融合蛋白的长度少于450个氨基酸。在一个实施方案中,所述融合蛋白的长度少于440个氨基酸。在一些实施方案中,所述融合蛋白的长度少于430个氨基酸。在一些实施方案中,所述融合蛋白的长度少于420个氨基酸。

[0160] 在一个实施方案中,所述融合蛋白杀伤被病原体感染的细胞,如被病原体潜伏性感染的细胞。

[0161] 在一个实施方案中,所述病原体是病毒如DNA病毒,如疱疹病毒,如巨细胞病毒;或RNA病毒。

[0162] 在一个实施方案中,所述融合蛋白诱导表达所述受体的细胞的细胞死亡。

[0163] 在一个实施方案中,所述细胞死亡选自细胞凋亡、坏死、自体吞噬细胞死亡和有丝分裂相关的细胞死亡。术语“细胞凋亡”和“细胞凋亡活性”在广义上使用,并且是指通常伴有一个或多个特征性细胞变化的在哺乳动物中的有序或受控制的细胞死亡形式,所述一个或多个特征性细胞变化包括细胞质的凝聚、质膜微绒毛的损失、细胞核分段、染色体DNA的

降解或线粒体功能的丧失。

[0164] 在一个实施方案中,所述融合蛋白诱导对病原体的直接或间接影响,导致抑制病原体生长、复制、基因组稳定性、成熟、包装、潜伏期、再激活、传播和/或免疫抑制。

[0165] 在一个实施方案中,所述融合蛋白选择性地杀伤表达病原体编码的受体的细胞。

[0166] 在一个实施方案中,所述融合蛋白杀伤表达US28的细胞。

[0167] 在一个实施方案中,所述融合蛋白对于病毒编码的受体如US28具有如下IC50值:少于10nM,如少于5nM,例如少于1nM,如少于0,5nM,例如少于0,1nM或少于0,001nM。

[0168] 在一个实施方案中,与对表达内源受体或人编码受体如CX3CR1的细胞的效力相比,所述融合蛋白对表达病毒编码的受体如US28的细胞具有增加的效力,如至少100倍增加的效力,如至少300倍增加的效力,如至少400倍增加的效力,如至少500倍增加的效力。在一个实施方案中,与对表达CX3CR1的细胞的效力相比,所述融合蛋白对表达US28的细胞具有增加的效力,如至少100倍增加的效力。在一个实施方案中,与对表达CX3CR1的细胞的效力相比,所述融合蛋白对表达US28的细胞具有增加的效力,如至少300倍增加的效力。在一个实施方案中,与对表达CX3CR1的细胞的效力相比,所述融合蛋白对表达US28的细胞具有增加的效力,如至少400倍增加的效力。在一个实施方案中,与对表达CX3CR1的细胞的效力相比,所述融合蛋白对表达US28的细胞具有增加的效力,如至少500倍增加的效力。

[0169] 在一个实施方案中,与对内源受体或人编码受体如CX3CR1的亲和力相比,所述融合蛋白对病毒编码的受体如US28具有增加的亲和力,如至少50倍增加的亲和力,如至少100倍增加的亲和力。在一个实施方案中,与对CX3CR1的亲和力相比,所述融合蛋白对US28具有增加的亲和力,如至少100倍增加的亲和力。

[0170] 在一个实施方案中,本发明的融合蛋白的选择性比率US28/CX3CR1是至少750,如至少800,如至少850,如至少900。在一个实施方案中,本发明的融合蛋白的选择性比率US28/CX3CR1是至少880。在一个实施方案中,本发明的融合蛋白的选择性比率US28/CX3CR1是至少750。在一个实施方案中,本发明的融合蛋白的选择性比率US28/CX3CR1是至少800。在一个实施方案中,本发明的融合蛋白的选择性比率US28/CX3CR1是至少850。在一个实施方案中,本发明的融合蛋白的选择性比率US28/CX3CR1是至少900。

[0171] 核酸

[0172] 在一个方面,本发明提供了一种编码如本文所述的融合蛋白的分离的核酸分子。

[0173] “核酸分子”包括DNA(例如基因组DNA或互补DNA)和mRNA分子,其可以单链或双链。“分离的”意指所述核酸分子不位于或以其他方式不提供于细胞内。

[0174] 载体

[0175] 在一个方面,本发明提供了一种包含如本文所述的核酸分子的载体。

[0176] 在一个实施方案中,所述载体是表达载体。

[0177] 宿主细胞

[0178] 在一个方面,本发明提供了一种包含如本文所述的核酸分子或载体的重组宿主细胞。

[0179] 在一个实施方案中,所述宿主细胞是细菌细胞、酵母细胞、哺乳动物细胞如人细胞或昆虫细胞。

[0180] 药物组合物

[0181] 在一个方面,本发明提供了一种包含如本文所述的融合蛋白、核酸、载体或重组宿主细胞以及药学上可接受的载体、稀释剂和/或赋形剂的药物组合物。

[0182] 在一个实施方案中,所述药物组合物还包含一种或多种药剂。在一个实施方案中,所述药剂选自免疫抑制剂、抗病毒剂和免疫疗法。

[0183] 在一个实施方案中,所述抗病毒剂选自缬更昔洛韦、更昔洛韦、西多福韦、来氟米特、莱特莫韦、马立巴韦和西多福韦。

[0184] 在一个实施方案中,所述免疫疗法是基于细胞的疗法。在一个实施方案中,所述免疫疗法是T细胞疗法。

[0185] 疾病

[0186] 在一个方面,本发明提供了一种如本文所述的融合蛋白、核酸、载体、重组宿主细胞或药物组合物,其用作药物。

[0187] 在另一方面,本发明提供了一种如本文所述的融合蛋白、核酸、载体、重组宿主细胞或药物组合物,其用于预防或治疗由病原体引起的感染和/或病原体相关障碍。

[0188] 在一个实施方案中,所述病原体是细菌或病毒。在一个实施方案中,所述病毒是DNA病毒,如疱疹病毒,如巨细胞病毒;或RNA病毒。

[0189] 在一个方面,本发明提供了一种如本文所述的融合蛋白、核酸、载体、重组宿主细胞或药物组合物,其用于预防或治疗CMV感染和/或CMV相关障碍。

[0190] 在一个实施方案中,所述CMV感染是潜伏性和/或裂解性CMV感染。

[0191] 在一个实施方案中,能够在以下项中检测到CMV感染:

[0192] i)选自视网膜、角膜、心脏、肝、肾、肺、胃肠组织、胸腺、脾、皮肤和肌肉中的一种或多种的组织,和/或

[0193] ii)选自唾液、血液、尿液、精液和母乳中的一种或多种的体液。

[0194] 在一个实施方案中,所述CMV感染是免疫受损患者中的感染,所述免疫受损患者选自HIV患者、新生儿和免疫抑制患者、骨髓移植患者、实体器官移植患者、免疫疗法患者、癌症患者、重症监护患者、创伤患者、干细胞患者、基因疗法患者、细胞疗法患者、老年患者和多种疾病患者。

[0195] 在一个实施方案中,所述CMV感染是患有冠状动脉疾病和/或血管疾病的患者中的感染。

[0196] 在一个实施方案中,将所述融合蛋白、所述核酸、所述载体、所述宿主细胞或所述组合物静脉内、肿瘤内、腹膜内、鞘内和/或淋巴内施用。

[0197] 在一个实施方案中,将所述融合蛋白、所述核酸、所述载体、所述宿主细胞或所述组合物施用至所述个体一次或多次。

[0198] 在一个实施方案中,所述个体是人。

[0199] 在一个实施方案中,所述人是免疫受损患者。免疫受损患者是指由于免疫系统受损或削弱而导致患者没有能力对感染做出反应。例如,免疫受损的患者可以被诊断出患有影响免疫系统的疾病,如糖尿病和HIV。免疫受损患者可能在治疗如化疗后具有抑制的免疫应答。

[0200] 在一个实施方案中,所述人是儿童。在一个实施方案中,所述人是成年人。

[0201] 在一个实施方案中,所述人需要实体器官移植和/或造血干细胞移植。造血干细胞

移植是通常源自一种骨髓、外周血或脐带血的多能造血干细胞的移植。所述移植可以是自体的(干细胞从同一患者分离)或同种异体(干细胞从不同的患者分离)。

[0202] 在一个实施方案中,所述CMV相关障碍选自巨细胞病毒肺炎、巨细胞病毒肝炎、巨细胞病毒胰腺炎、巨细胞病毒单核细胞增多症、CMV多发性神经根脊髓病、巨细胞包涵体疾病、巨细胞病毒结肠炎、巨细胞病毒食管炎、细胞核病毒性视网膜炎、格林-巴利综合征、黏液表皮样癌和溃疡性结肠炎、移植物抗宿主病(GVHD)、实体器官移植物抗宿主病(SOT-GVHD)。

[0203] 在一个方面,本发明提供了如本文所述的融合蛋白、核酸、载体、宿主细胞或药物组合物,其用于制造用于预防或治疗病原体引起的感染和/或病原体相关障碍如用于预防或治疗CMV感染和/或CMV相关障碍的药物的用途。

[0204] 在另一方面,本发明提供了如本文所述的融合蛋白或药物组合物用于治疗供移植的实体器官和/或供移植的造血干细胞的离体用途。

[0205] 如本文所用的术语“治疗(treating)”、“治疗(treatment)”和“疗法”是指治愈性疗法、预防性疗法、改善性和姑息性疗法。优选地,所述治疗是治愈性的。

[0206] 治疗方法在一个方面,本发明提供了一种治疗或预防有需要的个体中的病原体引起的感染如CMV感染的方法,所述方法包括向所述个体施用治疗有效量的如本文所述的融合蛋白、核酸、载体、重组宿主细胞或药物组合物。

[0207] 化合物的“有效量”或“治疗有效量”是足以向所述化合物所施用的受试者提供有益作用的化合物的量。如本文所用的短语“治疗有效量”可以指足以或有效治疗感染(延迟或预防感染的发作,预防感染进展,抑制、减少或逆转感染)的融合蛋白的量。

[0208] 产生方法在一个方面,本发明提供了一种用于产生提供如本文所述的融合蛋白的方法,所述方法包括在允许表达编码的融合蛋白的条件下培养如本文所定义的宿主细胞。

[0209] 序列

[0210] SEQ ID NO:1(示例性第一肽)

[0211] QHHGVTKCNITCSKMTSKIPVALLIHYQQNQASCGKRAIILETRQHRLFCADPKEQWVKDAMQHLDRQAAALTRNG

[0212] SEQ ID NO:2(示例性第二肽)

[0213] GGSLAALTAHQACHLPLETFTRHRQRRGWEQLEQCGYPVQRLVALYLAARLSWNQVDQVIRNALASPGSGGDLGEAIREQPEQARLALTLAAAESERFVRQGTGNDEAGAASGPADSGDALLERNYPTGAEFLGDGGDISFSTRGTQNWTVERLLQAHRQLEERGYVFVGYHGTFLEAAQSIVFGGVRARSQDLDAIWRGFYIAGDPALAYGYAQDQEPDARGRIRNGALLRVYVPRSSLPGFYRTGLTLAAPEAAGEVERLIGHPLPLRLDAITGPEEEGGRLETILGWPLAERTVVIPSAIPTDPRNVGGDLDPSSIPDKEQAISALPDYASQPGKPP

[0214] SEQ ID NO:3(外毒素A的结构域A)

[0215] GGSLAALTAHQACHLPLETFTRHRQRRGWEQLEQCGYPVQRLVALYLAARLSWNQVDQVIRNALASPGSGGDLGEAIREQPEQARLALTLAAAESERFVRQGTGNDEAGAAS

[0216] SEQ ID NO:4(外毒素A的结构域B)

[0217] GPADSGDALLERNYP

[0218] SEQ ID NO:5(外毒素A的结构域C)

[0219] TGAEFLGDGGDISFSTRGTQNWTVERLLQAHRQLEERGYVFVGYHGTFLEAAQSIVFGGVRARSQDLDA

IWRGFYIAGDPALAYGYAQDQEPDARGRIRNGALLRVYVPRSSLPGFYRTGLTLAAPEAAGEVERLIGHPLPLRLDA
ITGPEEEGGRLETILGWPLAERTVVIPSAIPTDPRNVGGDLDPSSIPDKEQAISALPDYASQPGKPP

[0220] SEQ ID NO:6(SYN002)

[0221] MQHHGVTKCNITCSKMTSKIPVALLIHYQQNQASCGKRAIILETRQHRLACADPKEQWVKDAMQHLDRQ
AAALTRNGGGSLAALTAHQACHLPLETFTRHRQRRGWEQLEQCGYPVQRLVALYLAARLSWNQVDQVIRNALASPGS
GGDLGEAIREQPEQARLALTLAAAESERFVRQGTGNDEAGAASGPADSGDALLERNYPTGAEFLGDGGDISFSTRGT
QNWTVERLLQAHRQLEERGYVFVGYHGTFLEAAQSIVFGGVRARSQDLDAIWRGFYIAGDPALAYGYAQDQEPDARG
RIRNGALLRVYVPRSSLPGFYRTGLTLAAPEAAGEVERLIGHPLPLRLDAITGPEEEGGRLETILGWPLAERTVVIP
SAIPTDPRNVGGDLDPSSIPDKEQAISALPDYASQPGKPPKDEL

[0222] SEQ ID NO:7(人CX3CL1)MAPISLSWLLRLATFCHLTVLLAGQHHGVTKCNITCSKMTSKIPVAL
LIHYQQNQASCGKRAIILETRQHRLFCADPKEQWVKDAMQHLDRQAAALTRNGGTFEKQIGEVKPRTTPAAGGMDES
VVLEPEATGESSSLEPTPSSQEAQRALGTSPELPTGVTGSSGTRLPPTPKAQDGGPVGTELFRVPPVSTAATWQSSA
PHQPGPSLWAEAKTSEAPSTQDPSTQASTASSPAPEENAPSEGQRVWGQGQSPRPENSLEREEMGPVPAHTDAFQDW
GPGSMAHVSVVPVSSEGTPSREPVASGSWTPKAEEPIHATMDPQRLGVLITPVPDAQAATRRQAVGLLAFLGLLFCL
GVAMFTYQSLQGCPRKMAGEMAEGLRYIPRSCGSNSYVLVPV

[0223] SEQ ID NO:8(确保与KDEL-受体结合以用于在细胞内部逆向转运的序列)KDEL

[0224] SEQ ID NO:9(全长外毒素A)

[0225] MHLTPHWIPLVASLGLLAGGSFASAAEEAFDLWNECAKACVLDLKDGVRSSRMSVDPAIADTNGQGVLH
YSMVLEGGNDALKLAIDNALSITSDGLTIRLEGGVEPNKPVRYSYTRQARGSWSLNWLVPIGHEKPSNIKVFIHELN
AGNQLSHMSPIYTIEMGDELLAKLARDATFFVRAHESNEMQPTLAISHAGVSVVMAQAQPRREKRWSEWASGKVLCL
LDPLDGVYNYLAQQRCNLDDTWEGKIYRVLAGNPAKHDLDIKPTVISHRLHFPEGGSLAALTAHQACHLPLETFTRH
RQPRGWEQLEQCGYPVQRLVALYLAARLSWNQVDQVIRNALASPGSGGDLGEAIREQPEQARLALTLAAAESERFVR
QGTGNDEAGAASADVVSLTCPVAAGECAGPADSGDALLERNYPTGAEFLGDGGDISFSTRGTQNWTVERLLQAHRQL
EERGYVFVGYHGTFLEAAQSIVFGGVRARSQDLDAIWRGFYIAGDPALAYGYAQDQEPDARGRIRNGALLRVYVPRS
SLPGFYRTGLTLAAPEAAGEVERLIGHPLPLRLDAITGPEEEGGRLETILGWPLAERTVVIPSAIPTDPRNVGGDLD
PSSIPDKEQAISALPDYASQPGKPPREDLK

[0226] SEQ ID NO:10(US28)

[0227] MTPTTTTAELTTEFDYDEAATPCVFTDVLNQSKPVTLFLYGVVFLFGSIGNFLVIFTITWRRRIQCSGD
VYFINLAAADLLFVCTLPLWMQYLLDHNSLASVPCTLLTACFYVAMFASLCFITEIALDRYYAIVYMRYRPVKQACL
FSIFWWIFAVIIAIPHFMVVTKKDNQCMTDYDYLEVSYPIILNVELMLGAFVIPLSVISYCYYRISRIVAVSQSRHK
GRIVRVLIAVVLVFIIFWLPYHLTLFVDTLKLLKWISSSCEFERSLKRALILTESLAFCHCCLNPLLYVFVGTKFRQ
ELHCLLAEFRQRLFSRDVSWYHSMSFSRRSSPSRRETSSDTLSDEVCRVSQIIP

[0228] SEQ ID NO:11(SYN000)

[0229] MQHHGVTKCNITCSKMTSKIPVALLIHYQQNQASCGKRAIILETRQHRLFCADPKEQWVKDAMQHLDRQ
AAALTRNRQPRGWEQLEQSGYPVQRLVALYLAARLSWNQVDQVIRNALASPGSGGDLGEAIREQPEQARLALTLAAA
ESERFVRQGTGNDEAGAASGPADSGDALLERNYPTGAEFLGDGGDISFSTRGTQNWTVERLLQAHRQLEERGYVFVG
YHGTFLEAAQSIVFGGVRARSQDLDAIWRGFYIAGDPALAYGYAQDQEPDARGRIRNGALLRVYVPRSSLPGFYRTG
LTLAAPEAAGEVERLIGHPLPLRLDAITGPEEEGGRLETILGWPLAERTVVIPSAIPTDPRNVGGDLDPSSIPDKEQ
AISALPDYASQPGKPPKDEL

[0230] SEQ ID NO:12(SYN001)

[0231] MQHHGVTKCNITCSKMTSKIPVALLIHYQQNQASCGKRAIILETRQHRLACADPKEQWVKDAMQHLDRQAAALTRNRQPRGWEQLEQSGYPVQRLVALYLAARLSWNQVDQVIRNALASPGSGGDLGEAIREQPEQARLALTLAAAESERFVRQGTGNDEAGAASGPADSGDALLERNYPTGAEFLGDGGDISFSTRGTQNWTVERLLQAHRQLEERGYVFVGYHGTFLEAAQSIVFGGVRARSQDLDAIWRGFYIAGDPALAYGYAQDQEPDARGRIRNGALLRVYVPRSSLPGFYRTGLTLAAPEAAGEVERLIGHPLPLRLDAITGPEEEGGRLETILGWPLAERTVVIPSAIPTDPRNVGGDLDPSSIPDKEQAISALPDYASQPGKPPKDE

[0232] SEQ ID NO:13(SYN014)

[0233] MQHHGVTKCNITCSKMTSKIPVALLIHYQQNQASCGKRAIILETRQHRLFCADPKEQWVKDAMQHLDRQAAALTRNGGGSLAALTAHQACHLPLETFTRHRQRRGWEQLEQCGYPVQRLVALYLAARLSWNQVDQVIRNALASPGSGGDLGEAIREQPEQARLALTLAAAESERFVRQGTGNDEAGAASGPADSGDALLERNYPTGAEFLGDGGDISFSTRGTQNWTVERLLQAHRQLEERGYVFVGYHGTFLEAAQSIVFGGVRARSQDLDAIWRGFYIAGDPALAYGYAQDQEPDARGRIRNGALLRVYVPRSSLPGFYRTGLTLAAPEAAGEVERLIGHPLPLRLDAITGPEEEGGRLETILGWPLAERTVVIPSAIPTDPRNVGGDLDPSSIPDKEQAISALPDYASQPGKPPKDEL

[0234] SEQ ID NO:14(SYN016)

[0235] MQHHGVTKCNITCSKMTSKIPVALLIHYQQNQASCGKRAIILETRQHRLACADPKEQWVKDAMQHLDRQAAALTRNGGGSLAALTAHQACHLPLETFTRHRQPRGWEQLEQCGYPVQRLVALYLAARLSWNQVDQVIRNALASPGSGGDLGEAIREQPEQARLALTLAAAESERFVRQGTGNDEAGAASGPADSGDALLERNYPTGAEFLGDGGDISFSTRGTQNWTVERLLQAHRQLEERGYVFVGYHGTFLEAAQSIVFGGVRARSQDLDAIWRGFYIAGDPALAYGYAQDQEPDARGRIRNGALLRVYVPRSSLPGFYRTGLTLAAPEAAGEVERLIGHPLPLRLDAITGPEEEGGRLETILGWPLAERTVVIPSAIPTDPRNVGGDLDPSSIPDKEQAISALPDYASQPGKPPKDEL

[0236] SEQ ID NO:15(SYN017)

[0237] MQHHGVTKCNITCSKMTSKIPVALLIHYQQNQASCGKRAIILETRQHRLFCADPKEQWVKDAMQHLDRQAAALTRNGGGSLAALTAHQACHLPLETFTRHRQPRGWEQLEQCGYPVQRLVALYLAARLSWNQVDQVIRNALASPGSGGDLGEAIREQPEQARLALTLAAAESERFVRQGTGNDEAGAASGPADSGDALLERNYPTGAEFLGDGGDISFSTRGTQNWTVERLLQAHRQLEERGYVFVGYHGTFLEAAQSIVFGGVRARSQDLDAIWRGFYIAGDPALAYGYAQDQEPDARGRIRNGALLRVYVPRSSLPGFYRTGLTLAAPEAAGEVERLIGHPLPLRLDAITGPEEEGGRLETILGWPLAERTVVIPSAIPTDPRNVGGDLDPSSIPDKEQAISALPDYASQPGKPPKDEL

[0238] 项目

[0239] 1.一种融合蛋白,其包含:

[0240] a)与在细胞上表达的至少一种受体结合的第一肽;和

[0241] b)含有具有氨基酸序列ArgX1X2Arg的切割位点的第二肽,

[0242] 其中X2是Arg或Lys,并且其中所述第二肽包含毒素。

[0243] 2.根据项目1所述的融合蛋白,其中所述融合蛋白是免疫毒素。

[0244] 3.根据前述项目中任一项所述的融合蛋白,其中所述切割位点包含氨基酸序列ArgGlnArgArg或由其组成。

[0245] 4.根据前述项目中任一项所述的融合蛋白,其中所述第一肽与在细胞上表达的至少两种不同的受体结合。

[0246] 5.根据前述项目中任一项所述的融合蛋白,其中结合所述第一肽的一种受体是病

原体编码的受体,并且结合所述第一肽的另一种受体是所述第一肽或其变体的人编码受体和/或内源受体。

[0247] 6.根据前述项目中任一项所述的融合蛋白,其中所述受体是G蛋白偶联受体(GPCR),如SEQ ID NO:10的US28。

[0248] 7.根据前述项目中任一项所述的融合蛋白,其中所述第二肽包含选自假单胞菌属外毒素A、白树毒素、bouganin、皂草素、蓖麻毒素、蓖麻毒素A链、泻根素、局限曲菌素、白喉毒素、白喉毒素A链及其变体和片段的毒素。

[0249] 8.根据前述项目中任一项所述的融合蛋白,其中所述受体在与所述第一肽结合时内化。

[0250] 9.根据前述项目中任一项所述的融合蛋白,其中所述受体组成性地内化。

[0251] 10.根据前述项目中任一项所述的融合蛋白,其中所述第一肽包含以下项或由以下项组成

[0252] a.SEQ ID NO:1的氨基酸序列;

[0253] b.SEQ ID NO:1的变体,其包含如下氨基酸序列或由如下氨基酸序列组成:具有与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少80%序列同一性、更优选与SEQ ID NO:1至少85%或90%序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:1至少95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列;

[0254] c.长度多于50个氨基酸如长度多于60、70或75个氨基酸的SEQ ID NO:1的片段或者具有与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少80%序列同一性、更优选与SEQ ID NO:1至少85%或90%序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:1至少95%、96%、97%、98%或99%同一性的其变体。

[0255] 11.根据前述项目中任一项所述的融合蛋白,其中所述第二肽包含以下项或由以下项组成

[0256] a.SEQ ID NO:2的氨基酸序列;

[0257] b.SEQ ID NO:2的变体,其包含如下氨基酸序列或由如下氨基酸序列组成:具有与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少80%序列同一性、更优选与SEQ ID NO:2至少85%或90%序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:2至少95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列;

[0258] c.长度多于300个氨基酸如长度多于310、330或340个氨基酸的SEQ ID NO:2的片段或者具有与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少80%序列同一性、更优选与SEQ ID NO:2至少85%或90%序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:2至少95%、96%、97%、98%或99%同一性的其变体。

[0259] 12.根据前述项目中任一项所述的融合蛋白,其中所述融合蛋白包含以下项或由以下项组成

[0260] a.SEQ ID NO:6的氨基酸序列;

[0261] b.SEQ ID NO:6的变体,其包含如下氨基酸序列或由如下氨基酸序列组成:具有与SEQ ID NO:6的氨基酸序列至少80%序列同一性、更优选与SEQ ID NO:6至少85%或90%序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:6至少95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列;

[0262] c.长度多于360个氨基酸如长度多于380、400或420个氨基酸的SEQ ID NO:6的片段或者具有与SEQ ID NO:6的氨基酸序列至少80％序列同一性、更优选与SEQ ID NO:6至少85％或90％序列同一性、以及最优选与SEQ ID NO:6至少95％、96％、97％、98％或99％同一性的其变体。

[0263] 13.根据前述项目中任一项所述的融合蛋白,其中所述融合蛋白杀伤被病原体感染的细胞,如被病原体潜伏性感染的细胞。

[0264] 14.根据前述项目中任一项所述的融合蛋白,其中与对表达内源受体或人编码受体如CX3CR1的细胞的效力相比,所述融合蛋白对表达病毒编码的受体如US28的细胞具有增加的效力,如至少300倍增加的效力,如至少400倍增加的效力,如至少500倍增加的效力,如至少700倍增加的效力。

[0265] 15.根据项目1至14中任一项所述的融合蛋白,其用于预防或治疗由病原体引起的感染和/或病原体相关障碍。

[0266] 16.根据项目1至14中任一项所述的融合蛋白,其用于预防或治疗CMV感染和/或CMV相关障碍。

[0267] 实施例

[0268] 实施例1:融合蛋白SYNx的第一肽中的突变导致细胞杀伤的选择性。

[0269] 材料与方法

[0270] 诱导型US28或CX3CR1表达HEK293细胞

[0271] 对于结合和细胞杀伤测定,如HjortøGM等人,2013中所述来构建细胞。简言之,HA-CX3CR1表达细胞和HA-US28表达细胞的稳定和诱导型克隆是通过将Flp-In T-Rex-293细胞与Flp重组酶表达载体pOG44以及pcDNA5/FRT/TO受体构建体任一者共转染来产生的。在FRT位点处的这种靶向克隆使受体基因处于四环素阻遏物/操纵基因系统的控制下。通过蛋白质印迹确认受体的表达。对于培养细胞,使一个或多个细胞在加湿的培养箱(37℃,5％CO2)中在1x DMEM(具有9％(v/v)FBS、180U/mL青霉素和45μg/mL链霉素、13.5μg/mL杀稻瘟素和1.32mg/mL潮霉素B)中生长。

[0272] 细胞杀伤测定

[0273] 将80μL在1x PBS中的20μg/mL聚-D-赖氨酸(PDL)添加至白色96孔板的每个孔中,并在室温下孵育30min。将诱导型US28或CX3CR1表达HEK293细胞在10mL 1x PBS中洗涤,并用2mL 0.05％(w/v)胰蛋白酶-EDTA释放2min。将细胞重悬于10mL生长培养基(1xDMEM、9％(v/v)FBS、180U/mL青霉素和45μg/mL链霉素)中,然后测定细胞密度。将PDL溶液从板中吸出,并且将每个孔用100μL 1x PBS洗涤。在吸出洗涤缓冲液后,将96孔板以100μL中2,000至10,000个细胞/孔接种,并置于CO2培养箱(37℃,10％CO2)中过夜。

[0274] 对于受体表达,将在不进行选择的生长培养基中的10μL四环素、1.375μg/mL US28和5.5μg/mL CX3CR1添加至板的每个孔中,将其放回至CO2培养箱(37℃,10％CO2)中过夜。

[0275] 将融合毒素蛋白等分试样在冰上中解冻并用于在1mM乙酸和5g/L BSA中制备稀释系列。吸出受体表达生长培养基并用100μL新鲜生长培养基替代。向每个孔中添加5μL融合毒素蛋白稀释序列,并向一个孔中添加5μL 1g/L放线菌酮作为阳性对照。将板放回至CO2培养箱(37℃,10％CO2)中过夜。

[0276] 制备测定生长培养基中AlamarBlue的1:10稀释液。将溶液用锡纸覆盖并在37℃水

浴中加热10min,然后通过0.2μm过滤器过滤。吸出孔溶液,并向每个孔中添加100μLAlamarBlue溶液,并将板放回至CO2培养箱(37℃,10%CO2)中,持续4小时。使用540nm处激发和585nm处发射在FlexStation 3上收集荧光数据。

[0277] 结果

[0278] 使用表达病毒编码的受体(如US28)或内源受体(如CX3CR1)的四环素诱导型HEK 293细胞以及没有受体表达的非诱导型细胞(阴性对照)来测定SYNx的细胞杀伤效率。数据针对最大的活细胞数进行归一化。取代SYNx的第一肽(此处为趋化因子部分)中单个氨基酸导致对病毒编码的受体US28的选择性,如图2所示。两种构建体均以相似的选择性与US28结合(图2A),而在所述蛋白质的第一肽(受体结合部分)中具有单个突变(F49A,使用前体编号时对应于F73A)的SYN001对内源受体(此处为CXC3R1)具有较小选择性(图2B)。

[0279] 结论

[0280] 融合蛋白构建体的第一肽(例如趋化因子部分)中的单个氨基酸F49A取代诱导融合蛋白(SYNx)对病毒编码的受体US28的选择性。

[0281] 实施例2:通过添加弗林蛋白酶切割位点至外毒素A的全长易位结构域获得增加的效力。

[0282] 材料与方法

[0283] 参见实施例1。

[0284] 结果

[0285] 使用表达病毒编码的受体US28或内源受体CX3CR1的四环素诱导型HEK 293细胞以及没有受体表达的非诱导型细胞(阴性对照)来测定SYNx的细胞杀伤效率。数据针对最大的活细胞数进行归一化。将弗林蛋白酶切割位点(如全长易位结构域)添加至SYN001构建体产生SYN016,其增加了对表达内源/人CX3CR1受体和病原体编码的US28受体的细胞的效力,如图3和表1所示。

[0286] 结论

[0287] 外毒素A的结构域II已被鉴定为负责将催化结构域即结构域III从胞吞囊泡转移至胞质溶胶中的易位结构域(Hwang J等人,1987;Siegall CB等人,1989)。将包含弗林蛋白酶切割位点的易位结构域即外毒素A的结构域II添加至SYN001产生了SYN016,从而产生了对内源受体CX3CR1和病毒编码的受体US28二者均具有增加的效力的融合蛋白。

[0288] 表1.不同融合蛋白构建体的IC50值

[0289]

	SYN001 US28	SYN001 CX3CR1	SYN016 US28	SYN016 CX3CR1	SYN016 US28	SYN016 CX3CR1	SYN002 US28	SYN002 CX3CR1
Log IC50	**-10.68 +/- 0.10**	**-7.82 +/- 0.06**	**-12.27 +/- 0.08**	**-9.66 +/- 0.09**	**-12.27 +/- 0.08**	**-9.66 +/- 0.09**	**-11.90 +/- 0.08**	**-8.95 +/- 0.06**
选择性比率 US28/ CX3CR1	**718**		**406**		**406**		**889**	

[0290] 实施例3:通过人弗林蛋白酶体外切割SYNx。

[0291] 材料与方法

[0292] 通过人弗林蛋白酶体外切割SYNx

[0293] 将纯化的SYNx构建体在实验室工作台上解冻。解冻好时,然后将样品离心沉淀。测量样品的浓度,在新管中含有5mM CaCl2的1x PBS中对50μL 20μM SYNx进行消化。移取5μg

以用于SDS-PAGE分析。将1μL人弗林蛋白酶(NEB,2个单位/μL)添加至混合物中,并置于37℃下的水浴中。1.5小时后,移取5μg SYNx以用于SDS-PAGE分析。在添加SYNx之前用1M HCL或1M NaOH调节反应混合物的pH。

[0294] 还原SDS-PAGE分析

[0295] 准备样品,并根据制造商方案与蛋白质标记物标准品一起用含有2mM DTT的1x MES运行缓冲液在NuPAGE Bis-Tris 4%-12%凝胶上进行分析。凝胶在125V恒定电压下运行75min。根据SimplyBlue™ SafeStain Manual(Novex)对凝胶染色。

[0296] 结果

[0297] 在体外用纯化的人弗林蛋白酶处理纯化的SYNx构建体以测定弗林蛋白酶对不同SYNx构建体的切割效率。可能发生除弗林蛋白酶以外的其他切割机制。通过SDS-PAGE分析结果。将完整的易位结构域(如在这种情况下,完整ExoA易位结构域)添加至SYN000或SYN001分别产生了SYN017和SYN016,这改善了弗林蛋白酶的体外切割。在SYN017和SYN016中弗林蛋白酶切割位点的优化分别产生了SYN014和SYN002,这并没有显现出进一步改善弗林蛋白酶的体外切割,如图4所示。

[0298] 在不同pH值下在体外用纯化的人弗林蛋白酶处理纯化的SYN002以测定切割效率,并通过SDS-PAGE分析结果。SYN002在宽的pH范围内被弗林蛋白酶切割,如图5所示。

[0299] 结论

[0300] 与如在SYN016中具有天然序列(ArgGlnProArg)的构建体相比,将优化的切割位点(在这种情况下,ArgGlnArgArg)添加至SYNx构建体(此处SYN002构建体还包含易位结构域)不产生弗林蛋白酶的体外切割的改善。SYN002可以在宽的pH范围内被体外切割,这表明弗林蛋白酶的切割可以在任何细胞位置发生,而不仅仅是在核内体。

[0301] 实施例4:在内源受体表达细胞与病毒编码的受体表达细胞之间的细胞杀伤选择性也得到加强并且通过优化的切割位点介导。

[0302] 材料与方法

[0303] 参见实施例1。

[0304] 结果

[0305] 使用表达US28或CX3CR1的四环素诱导的HEK 293细胞以及没有受体表达的非诱导型细胞(阴性对照)来测定SYNx的细胞杀伤效率。数据针对最大的活细胞数进行归一化。

[0306] 当将优化的切割位点ArgX1X2Arg引入第二肽中时,在这种特定情况下,将优化的切割位点ArgGlnArgArg引入SYN016中以得到SYN002,从而获得了令人惊讶的选择性的增加。与具有切割位点ArgGlnProArg(因此,X2=Pro)的SYN016相比,SYN002对表达病毒编码的受体如US28的细胞的细胞杀伤效力近似维持不变(图6A,表1)。然而,对表达内源受体如CX3CR1的细胞的效力降低(约0.9log(EC50))(参见图6B),因此产生能够支持具有较小副作用的更有效的药物的效果。当与不包含优化的切割位点的第二肽相比时,选择性和效力二者均增加。

[0307] 结论

[0308] 通过优化切割位点获得了对细胞杀伤选择性的令人惊讶的影响。不受任何理论的束缚,这可以是由于病毒编码的受体(如US28受体)与内源受体(如CX3CR1受体)之间的内化和细胞内运输的差异导致的。

[0309] 参考文献

[0310] Hwang J et al.,Cell.1987Jan 16;48(1):129-36;

[0311] Siegall CB et al.,J Biol Chem.1989Aug 25;264(24):14256-61).

[0001] 序列表

[0002] <110> 辛克利诺公司

[0003] <120> 融合蛋白及其用途

[0004] <130> P5162EP00

[0005] <140> 19195122.7

[0006] <141> 2019-09-03

[0007] <160> 23

[0008] <170> PatentIn 3.5版

[0009] <210> 1

[0010] <211> 76

[0011] <212> PRT

[0012] <213> 智人(Homo sapiens)

[0013] <400> 1

[0014] Gln His His Gly Val Thr Lys Cys Asn Ile Thr Cys Ser Lys Met Thr

[0015] 1 5 10 15

[0016] Ser Lys Ile Pro Val Ala Leu Leu Ile His Tyr Gln Gln Asn Gln Ala

[0017] 20 25 30

[0018] Ser Cys Gly Lys Arg Ala Ile Ile Leu Glu Thr Arg Gln His Arg Leu

[0019] 35 40 45

[0020] Phe Cys Ala Asp Pro Lys Glu Gln Trp Val Lys Asp Ala Met Gln His

[0021] 50 55 60

[0022] Leu Asp Arg Gln Ala Ala Ala Leu Thr Arg Asn Gly

[0023] 65 70 75

[0024] <210> 2

[0025] <211> 340

[0026] <212> PRT

[0027] <213> 铜绿假单胞菌(Pseudomonas aeruginosa)

[0028] <400> 2

[0029] Gly Gly Ser Leu Ala Ala Leu Thr Ala His Gln Ala Cys His Leu Pro

[0030] 1 5 10 15

[0031] Leu Glu Thr Phe Thr Arg His Arg Gln Arg Arg Gly Trp Glu Gln Leu

[0032] 20 25 30

[0033] Glu Gln Cys Gly Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala

[0034] 35 40 45

[0035] Ala Arg Leu Ser Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Arg Asn Ala Leu

[0036] 50 55 60

[0037] Ala Ser Pro Gly Ser Gly Gly Asp Leu Gly Glu Ala Ile Arg Glu Gln

[0038] 65 70 75 80

[0039] Pro Glu Gln Ala Arg Leu Ala Leu Thr Leu Ala Ala Ala Glu Ser Glu
[0040] 85 90 95
[0041] Arg Phe Val Arg Gln Gly Thr Gly Asn Asp Glu Ala Gly Ala Ala Ser
[0042] 100 105 110
[0043] Gly Pro Ala Asp Ser Gly Asp Ala Leu Leu Glu Arg Asn Tyr Pro Thr
[0044] 115 120 125
[0045] Gly Ala Glu Phe Leu Gly Asp Gly Gly Asp Ile Ser Phe Ser Thr Arg
[0046] 130 135 140
[0047] Gly Thr Gln Asn Trp Thr Val Glu Arg Leu Leu Gln Ala His Arg Gln
[0048] 145 150 155 160
[0049] Leu Glu Glu Arg Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Phe Leu
[0050] 165 170 175
[0051] Glu Ala Ala Gln Ser Ile Val Phe Gly Gly Val Arg Ala Arg Ser Gln
[0052] 180 185 190
[0053] Asp Leu Asp Ala Ile Trp Arg Gly Phe Tyr Ile Ala Gly Asp Pro Ala
[0054] 195 200 205
[0055] Leu Ala Tyr Gly Tyr Ala Gln Asp Gln Glu Pro Asp Ala Arg Gly Arg
[0056] 210 215 220
[0057] Ile Arg Asn Gly Ala Leu Leu Arg Val Tyr Val Pro Arg Ser Ser Leu
[0058] 225 230 235 240
[0059] Pro Gly Phe Tyr Arg Thr Gly Leu Thr Leu Ala Ala Pro Glu Ala Ala
[0060] 245 250 255
[0061] Gly Glu Val Glu Arg Leu Ile Gly His Pro Leu Pro Leu Arg Leu Asp
[0062] 260 265 270
[0063] Ala Ile Thr Gly Pro Glu Glu Glu Gly Gly Arg Leu Glu Thr Ile Leu
[0064] 275 280 285
[0065] Gly Trp Pro Leu Ala Glu Arg Thr Val Val Ile Pro Ser Ala Ile Pro
[0066] 290 295 300
[0067] Thr Asp Pro Arg Asn Val Gly Gly Asp Leu Asp Pro Ser Ser Ile Pro
[0068] 305 310 315 320
[0069] Asp Lys Glu Gln Ala Ile Ser Ala Leu Pro Asp Tyr Ala Ser Gln Pro
[0070] 325 330 335
[0071] Gly Lys Pro Pro
[0072] 340
[0073] <210> 3
[0074] <211> 112
[0075] <212> PRT
[0076] <213> 铜绿假单胞菌(Pseudomonas aeruginosa)
[0077] <400> 3

[0078] Gly Gly Ser Leu Ala Ala Leu Thr Ala His Gln Ala Cys His Leu Pro
[0079] 1 5 10 15
[0080] Leu Glu Thr Phe Thr Arg His Arg Gln Arg Arg Gly Trp Glu Gln Leu
[0081] 20 25 30
[0082] Glu Gln Cys Gly Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala
[0083] 35 40 45
[0084] Ala Arg Leu Ser Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Arg Asn Ala Leu
[0085] 50 55 60
[0086] Ala Ser Pro Gly Ser Gly Gly Asp Leu Gly Glu Ala Ile Arg Glu Gln
[0087] 65 70 75 80
[0088] Pro Glu Gln Ala Arg Leu Ala Leu Thr Leu Ala Ala Ala Glu Ser Glu
[0089] 85 90 95
[0090] Arg Phe Val Arg Gln Gly Thr Gly Asn Asp Glu Ala Gly Ala Ala Ser
[0091] 100 105 110
[0092] <210> 4
[0093] <211> 15
[0094] <212> PRT
[0095] <213> 铜绿假单胞菌(Pseudomonas aeruginosa)
[0096] <400> 4
[0097] Gly Pro Ala Asp Ser Gly Asp Ala Leu Leu Glu Arg Asn Tyr Pro
[0098] 1 5 10 15
[0099] <210> 5
[0100] <211> 213
[0101] <212> PRT
[0102] <213> 铜绿假单胞菌(Pseudomonas aeruginosa)
[0103] <400> 5
[0104] Thr Gly Ala Glu Phe Leu Gly Asp Gly Gly Asp Ile Ser Phe Ser Thr
[0105] 1 5 10 15
[0106] Arg Gly Thr Gln Asn Trp Thr Val Glu Arg Leu Leu Gln Ala His Arg
[0107] 20 25 30
[0108] Gln Leu Glu Glu Arg Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Phe
[0109] 35 40 45
[0110] Leu Glu Ala Ala Gln Ser Ile Val Phe Gly Gly Val Arg Ala Arg Ser
[0111] 50 55 60
[0112] Gln Asp Leu Asp Ala Ile Trp Arg Gly Phe Tyr Ile Ala Gly Asp Pro
[0113] 65 70 75 80
[0114] Ala Leu Ala Tyr Gly Tyr Ala Gln Asp Gln Glu Pro Asp Ala Arg Gly
[0115] 85 90 95
[0116] Arg Ile Arg Asn Gly Ala Leu Leu Arg Val Tyr Val Pro Arg Ser Ser

[0117] 100 105 110

[0118] Leu Pro Gly Phe Tyr Arg Thr Gly Leu Thr Leu Ala Ala Pro Glu Ala

[0119] 115 120 125

[0120] Ala Gly Glu Val Glu Arg Leu Ile Gly His Pro Leu Pro Leu Arg Leu

[0121] 130 135 140

[0122] Asp Ala Ile Thr Gly Pro Glu Glu Glu Gly Gly Arg Leu Glu Thr Ile

[0123] 145 150 155 160

[0124] Leu Gly Trp Pro Leu Ala Glu Arg Thr Val Val Ile Pro Ser Ala Ile

[0125] 165 170 175

[0126] Pro Thr Asp Pro Arg Asn Val Gly Gly Asp Leu Asp Pro Ser Ser Ile

[0127] 180 185 190

[0128] Pro Asp Lys Glu Gln Ala Ile Ser Ala Leu Pro Asp Tyr Ala Ser Gln

[0129] 195 200 205

[0130] Pro Gly Lys Pro Pro

[0131] 210

[0132] <210> 6

[0133] <211> 421

[0134] <212> PRT

[0135] <213> 人工序列

[0136] <220>

[0137] <223> 融合蛋白 SYN002

[0138] <400> 6

[0139] Met Gln His His Gly Val Thr Lys Cys Asn Ile Thr Cys Ser Lys Met

[0140] 1 5 10 15

[0141] Thr Ser Lys Ile Pro Val Ala Leu Leu Ile His Tyr Gln Gln Asn Gln

[0142] 20 25 30

[0143] Ala Ser Cys Gly Lys Arg Ala Ile Ile Leu Glu Thr Arg Gln His Arg

[0144] 35 40 45

[0145] Leu Ala Cys Ala Asp Pro Lys Glu Gln Trp Val Lys Asp Ala Met Gln

[0146] 50 55 60

[0147] His Leu Asp Arg Gln Ala Ala Ala Leu Thr Arg Asn Gly Gly Gly Ser

[0148] 65 70 75 80

[0149] Leu Ala Ala Leu Thr Ala His Gln Ala Cys His Leu Pro Leu Glu Thr

[0150] 85 90 95

[0151] Phe Thr Arg His Arg Gln Arg Arg Gly Trp Glu Gln Leu Glu Gln Cys

[0152] 100 105 110

[0153] Gly Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala Ala Arg Leu

[0154] 115 120 125

[0155] Ser Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Arg Asn Ala Leu Ala Ser Pro

[0156] 130 135 140

[0157] Gly Ser Gly Gly Asp Leu Gly Glu Ala Ile Arg Glu Gln Pro Glu Gln

[0158] 145 150 155 160

[0159] Ala Arg Leu Ala Leu Thr Leu Ala Ala Ala Glu Ser Glu Arg Phe Val

[0160] 165 170 175

[0161] Arg Gln Gly Thr Gly Asn Asp Glu Ala Gly Ala Ala Ser Gly Pro Ala

[0162] 180 185 190

[0163] Asp Ser Gly Asp Ala Leu Leu Glu Arg Asn Tyr Pro Thr Gly Ala Glu

[0164] 195 200 205

[0165] Phe Leu Gly Asp Gly Gly Asp Ile Ser Phe Ser Thr Arg Gly Thr Gln

[0166] 210 215 220

[0167] Asn Trp Thr Val Glu Arg Leu Leu Gln Ala His Arg Gln Leu Glu Glu

[0168] 225 230 235 240

[0169] Arg Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Phe Leu Glu Ala Ala

[0170] 245 250 255

[0171] Gln Ser Ile Val Phe Gly Gly Val Arg Ala Arg Ser Gln Asp Leu Asp

[0172] 260 265 270

[0173] Ala Ile Trp Arg Gly Phe Tyr Ile Ala Gly Asp Pro Ala Leu Ala Tyr

[0174] 275 280 285

[0175] Gly Tyr Ala Gln Asp Gln Glu Pro Asp Ala Arg Gly Arg Ile Arg Asn

[0176] 290 295 300

[0177] Gly Ala Leu Leu Arg Val Tyr Val Pro Arg Ser Ser Leu Pro Gly Phe

[0178] 305 310 315 320

[0179] Tyr Arg Thr Gly Leu Thr Leu Ala Ala Pro Glu Ala Ala Gly Glu Val

[0180] 325 330 335

[0181] Glu Arg Leu Ile Gly His Pro Leu Pro Leu Arg Leu Asp Ala Ile Thr

[0182] 340 345 350

[0183] Gly Pro Glu Glu Glu Gly Gly Arg Leu Glu Thr Ile Leu Gly Trp Pro

[0184] 355 360 365

[0185] Leu Ala Glu Arg Thr Val Val Ile Pro Ser Ala Ile Pro Thr Asp Pro

[0186] 370 375 380

[0187] Arg Asn Val Gly Gly Asp Leu Asp Pro Ser Ser Ile Pro Asp Lys Glu

[0188] 385 390 395 400

[0189] Gln Ala Ile Ser Ala Leu Pro Asp Tyr Ala Ser Gln Pro Gly Lys Pro

[0190] 405 410 415

[0191] Pro Lys Asp Glu Leu

[0192] 420

[0193] <210> 7

[0194] <211> 397

[0195] <212> PRT

[0196] <213> 智人(Homo sapiens)

[0197] <400> 7

[0198] Met Ala Pro Ile Ser Leu Ser Trp Leu Leu Arg Leu Ala Thr Phe Cys

[0199] 1 5 10 15

[0200] His Leu Thr Val Leu Leu Ala Gly Gln His His Gly Val Thr Lys Cys

[0201] 20 25 30

[0202] Asn Ile Thr Cys Ser Lys Met Thr Ser Lys Ile Pro Val Ala Leu Leu

[0203] 35 40 45

[0204] Ile His Tyr Gln Gln Asn Gln Ala Ser Cys Gly Lys Arg Ala Ile Ile

[0205] 50 55 60

[0206] Leu Glu Thr Arg Gln His Arg Leu Phe Cys Ala Asp Pro Lys Glu Gln

[0207] 65 70 75 80

[0208] Trp Val Lys Asp Ala Met Gln His Leu Asp Arg Gln Ala Ala Ala Leu

[0209] 85 90 95

[0210] Thr Arg Asn Gly Gly Thr Phe Glu Lys Gln Ile Gly Glu Val Lys Pro

[0211] 100 105 110

[0212] Arg Thr Thr Pro Ala Ala Gly Gly Met Asp Glu Ser Val Val Leu Glu

[0213] 115 120 125

[0214] Pro Glu Ala Thr Gly Glu Ser Ser Ser Leu Glu Pro Thr Pro Ser Ser

[0215] 130 135 140

[0216] Gln Glu Ala Gln Arg Ala Leu Gly Thr Ser Pro Glu Leu Pro Thr Gly

[0217] 145 150 155 160

[0218] Val Thr Gly Ser Ser Gly Thr Arg Leu Pro Pro Thr Pro Lys Ala Gln

[0219] 165 170 175

[0220] Asp Gly Gly Pro Val Gly Thr Glu Leu Phe Arg Val Pro Pro Val Ser

[0221] 180 185 190

[0222] Thr Ala Ala Thr Trp Gln Ser Ser Ala Pro His Gln Pro Gly Pro Ser

[0223] 195 200 205

[0224] Leu Trp Ala Glu Ala Lys Thr Ser Glu Ala Pro Ser Thr Gln Asp Pro

[0225] 210 215 220

[0226] Ser Thr Gln Ala Ser Thr Ala Ser Ser Pro Ala Pro Glu Glu Asn Ala

[0227] 225 230 235 240

[0228] Pro Ser Glu Gly Gln Arg Val Trp Gly Gln Gly Gln Ser Pro Arg Pro

[0229] 245 250 255

[0230] Glu Asn Ser Leu Glu Arg Glu Glu Met Gly Pro Val Pro Ala His Thr

[0231] 260 265 270

[0232] Asp Ala Phe Gln Asp Trp Gly Pro Gly Ser Met Ala His Val Ser Val

[0233] 275 280 285

[0234] Val Pro Val Ser Ser Glu Gly Thr Pro Ser Arg Glu Pro Val Ala Ser
[0235] 290 295 300
[0236] Gly Ser Trp Thr Pro Lys Ala Glu Glu Pro Ile His Ala Thr Met Asp
[0237] 305 310 315 320
[0238] Pro Gln Arg Leu Gly Val Leu Ile Thr Pro Val Pro Asp Ala Gln Ala
[0239] 325 330 335
[0240] Ala Thr Arg Arg Gln Ala Val Gly Leu Leu Ala Phe Leu Gly Leu Leu
[0241] 340 345 350
[0242] Phe Cys Leu Gly Val Ala Met Phe Thr Tyr Gln Ser Leu Gln Gly Cys
[0243] 355 360 365
[0244] Pro Arg Lys Met Ala Gly Glu Met Ala Glu Gly Leu Arg Tyr Ile Pro
[0245] 370 375 380
[0246] Arg Ser Cys Gly Ser Asn Ser Tyr Val Leu Val Pro Val
[0247] 385 390 395
[0248] <210> 8
[0249] <211> 4
[0250] <212> PRT
[0251] <213> 智人(Homo sapiens)
[0252] <400> 8
[0253] Lys Asp Glu Leu
[0254] 1
[0255] <210> 9
[0256] <211> 638
[0257] <212> PRT
[0258] <213> 铜绿假单胞菌(Pseudomonas aeruginosa)
[0259] <400> 9
[0260] Met His Leu Thr Pro His Trp Ile Pro Leu Val Ala Ser Leu Gly Leu
[0261] 1 5 10 15
[0262] Leu Ala Gly Gly Ser Phe Ala Ser Ala Ala Glu Glu Ala Phe Asp Leu
[0263] 20 25 30
[0264] Trp Asn Glu Cys Ala Lys Ala Cys Val Leu Asp Leu Lys Asp Gly Val
[0265] 35 40 45
[0266] Arg Ser Ser Arg Met Ser Val Asp Pro Ala Ile Ala Asp Thr Asn Gly
[0267] 50 55 60
[0268] Gln Gly Val Leu His Tyr Ser Met Val Leu Glu Gly Gly Asn Asp Ala
[0269] 65 70 75 80
[0270] Leu Lys Leu Ala Ile Asp Asn Ala Leu Ser Ile Thr Ser Asp Gly Leu
[0271] 85 90 95
[0272] Thr Ile Arg Leu Glu Gly Gly Val Glu Pro Asn Lys Pro Val Arg Tyr

[0273] 100 105 110

[0274] Ser Tyr Thr Arg Gln Ala Arg Gly Ser Trp Ser Leu Asn Trp Leu Val

[0275] 115 120 125

[0276] Pro Ile Gly His Glu Lys Pro Ser Asn Ile Lys Val Phe Ile His Glu

[0277] 130 135 140

[0278] Leu Asn Ala Gly Asn Gln Leu Ser His Met Ser Pro Ile Tyr Thr Ile

[0279] 145 150 155 160

[0280] Glu Met Gly Asp Glu Leu Leu Ala Lys Leu Ala Arg Asp Ala Thr Phe

[0281] 165 170 175

[0282] Phe Val Arg Ala His Glu Ser Asn Glu Met Gln Pro Thr Leu Ala Ile

[0283] 180 185 190

[0284] Ser His Ala Gly Val Ser Val Val Met Ala Gln Ala Gln Pro Arg Arg

[0285] 195 200 205

[0286] Glu Lys Arg Trp Ser Glu Trp Ala Ser Gly Lys Val Leu Cys Leu Leu

[0287] 210 215 220

[0288] Asp Pro Leu Asp Gly Val Tyr Asn Tyr Leu Ala Gln Gln Arg Cys Asn

[0289] 225 230 235 240

[0290] Leu Asp Asp Thr Trp Glu Gly Lys Ile Tyr Arg Val Leu Ala Gly Asn

[0291] 245 250 255

[0292] Pro Ala Lys His Asp Leu Asp Ile Lys Pro Thr Val Ile Ser His Arg

[0293] 260 265 270

[0294] Leu His Phe Pro Glu Gly Gly Ser Leu Ala Ala Leu Thr Ala His Gln

[0295] 275 280 285

[0296] Ala Cys His Leu Pro Leu Glu Thr Phe Thr Arg His Arg Gln Pro Arg

[0297] 290 295 300

[0298] Gly Trp Glu Gln Leu Glu Gln Cys Gly Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val

[0299] 305 310 315 320

[0300] Ala Leu Tyr Leu Ala Ala Arg Leu Ser Trp Asn Gln Val Asp Gln Val

[0301] 325 330 335

[0302] Ile Arg Asn Ala Leu Ala Ser Pro Gly Ser Gly Gly Asp Leu Gly Glu

[0303] 340 345 350

[0304] Ala Ile Arg Glu Gln Pro Glu Gln Ala Arg Leu Ala Leu Thr Leu Ala

[0305] 355 360 365

[0306] Ala Ala Glu Ser Glu Arg Phe Val Arg Gln Gly Thr Gly Asn Asp Glu

[0307] 370 375 380

[0308] Ala Gly Ala Ala Ser Ala Asp Val Val Ser Leu Thr Cys Pro Val Ala

[0309] 385 390 395 400

[0310] Ala Gly Glu Cys Ala Gly Pro Ala Asp Ser Gly Asp Ala Leu Leu Glu

[0311] 405 410 415

[0312] Arg Asn Tyr Pro Thr Gly Ala Glu Phe Leu Gly Asp Gly Gly Asp Ile
[0313] 420 425 430
[0314] Ser Phe Ser Thr Arg Gly Thr Gln Asn Trp Thr Val Glu Arg Leu Leu
[0315] 435 440 445
[0316] Gln Ala His Arg Gln Leu Glu Glu Arg Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr
[0317] 450 455 460
[0318] His Gly Thr Phe Leu Glu Ala Ala Gln Ser Ile Val Phe Gly Gly Val
[0319] 465 470 475 480
[0320] Arg Ala Arg Ser Gln Asp Leu Asp Ala Ile Trp Arg Gly Phe Tyr Ile
[0321] 485 490 495
[0322] Ala Gly Asp Pro Ala Leu Ala Tyr Gly Tyr Ala Gln Asp Gln Glu Pro
[0323] 500 505 510
[0324] Asp Ala Arg Gly Arg Ile Arg Asn Gly Ala Leu Leu Arg Val Tyr Val
[0325] 515 520 525
[0326] Pro Arg Ser Ser Leu Pro Gly Phe Tyr Arg Thr Gly Leu Thr Leu Ala
[0327] 530 535 540
[0328] Ala Pro Glu Ala Ala Gly Glu Val Glu Arg Leu Ile Gly His Pro Leu
[0329] 545 550 555 560
[0330] Pro Leu Arg Leu Asp Ala Ile Thr Gly Pro Glu Glu Glu Gly Gly Arg
[0331] 565 570 575
[0332] Leu Glu Thr Ile Leu Gly Trp Pro Leu Ala Glu Arg Thr Val Val Ile
[0333] 580 585 590
[0334] Pro Ser Ala Ile Pro Thr Asp Pro Arg Asn Val Gly Gly Asp Leu Asp
[0335] 595 600 605
[0336] Pro Ser Ser Ile Pro Asp Lys Glu Gln Ala Ile Ser Ala Leu Pro Asp
[0337] 610 615 620
[0338] Tyr Ala Ser Gln Pro Gly Lys Pro Pro Arg Glu Asp Leu Lys
[0339] 625 630 635
[0340] <210> 10
[0341] <211> 354
[0342] <212> PRT
[0343] <213> 巨细胞病毒
[0344] <400> 10
[0345] Met Thr Pro Thr Thr Thr Thr Ala Glu Leu Thr Thr Glu Phe Asp Tyr
[0346] 1 5 10 15
[0347] Asp Glu Ala Ala Thr Pro Cys Val Phe Thr Asp Val Leu Asn Gln Ser
[0348] 20 25 30
[0349] Lys Pro Val Thr Leu Phe Leu Tyr Gly Val Val Phe Leu Phe Gly Ser
[0350] 35 40 45

[0351] Ile Gly Asn Phe Leu Val Ile Phe Thr Ile Thr Trp Arg Arg Arg Ile
[0352] 50 55 60
[0353] Gln Cys Ser Gly Asp Val Tyr Phe Ile Asn Leu Ala Ala Ala Asp Leu
[0354] 65 70 75 80
[0355] Leu Phe Val Cys Thr Leu Pro Leu Trp Met Gln Tyr Leu Leu Asp His
[0356] 85 90 95
[0357] Asn Ser Leu Ala Ser Val Pro Cys Thr Leu Leu Thr Ala Cys Phe Tyr
[0358] 100 105 110
[0359] Val Ala Met Phe Ala Ser Leu Cys Phe Ile Thr Glu Ile Ala Leu Asp
[0360] 115 120 125
[0361] Arg Tyr Tyr Ala Ile Val Tyr Met Arg Tyr Arg Pro Val Lys Gln Ala
[0362] 130 135 140
[0363] Cys Leu Phe Ser Ile Phe Trp Trp Ile Phe Ala Val Ile Ile Ala Ile
[0364] 145 150 155 160
[0365] Pro His Phe Met Val Val Thr Lys Lys Asp Asn Gln Cys Met Thr Asp
[0366] 165 170 175
[0367] Tyr Asp Tyr Leu Glu Val Ser Tyr Pro Ile Ile Leu Asn Val Glu Leu
[0368] 180 185 190
[0369] Met Leu Gly Ala Phe Val Ile Pro Leu Ser Val Ile Ser Tyr Cys Tyr
[0370] 195 200 205
[0371] Tyr Arg Ile Ser Arg Ile Val Ala Val Ser Gln Ser Arg His Lys Gly
[0372] 210 215 220
[0373] Arg Ile Val Arg Val Leu Ile Ala Val Val Leu Val Phe Ile Ile Phe
[0374] 225 230 235 240
[0375] Trp Leu Pro Tyr His Leu Thr Leu Phe Val Asp Thr Leu Lys Leu Leu
[0376] 245 250 255
[0377] Lys Trp Ile Ser Ser Ser Cys Glu Phe Glu Arg Ser Leu Lys Arg Ala
[0378] 260 265 270
[0379] Leu Ile Leu Thr Glu Ser Leu Ala Phe Cys His Cys Cys Leu Asn Pro
[0380] 275 280 285
[0381] Leu Leu Tyr Val Phe Val Gly Thr Lys Phe Arg Gln Glu Leu His Cys
[0382] 290 295 300
[0383] Leu Leu Ala Glu Phe Arg Gln Arg Leu Phe Ser Arg Asp Val Ser Trp
[0384] 305 310 315 320
[0385] Tyr His Ser Met Ser Phe Ser Arg Arg Ser Ser Pro Ser Arg Arg Glu
[0386] 325 330 335
[0387] Thr Ser Ser Asp Thr Leu Ser Asp Glu Val Cys Arg Val Ser Gln Ile
[0388] 340 345 350
[0389] Ile Pro

[0390] <210> 11

[0391] <211> 397

[0392] <212> PRT

[0393] <213> 人工序列

[0394] <220>

[0395] <223> 融合蛋白 SYN000

[0396] <400> 11

[0397] Met Gln His His Gly Val Thr Lys Cys Asn Ile Thr Cys Ser Lys Met

[0398] 1 5 10 15

[0399] Thr Ser Lys Ile Pro Val Ala Leu Leu Ile His Tyr Gln Gln Asn Gln

[0400] 20 25 30

[0401] Ala Ser Cys Gly Lys Arg Ala Ile Ile Leu Glu Thr Arg Gln His Arg

[0402] 35 40 45

[0403] Leu Phe Cys Ala Asp Pro Lys Glu Gln Trp Val Lys Asp Ala Met Gln

[0404] 50 55 60

[0405] His Leu Asp Arg Gln Ala Ala Ala Leu Thr Arg Asn Arg Gln Pro Arg

[0406] 65 70 75 80

[0407] Gly Trp Glu Gln Leu Glu Gln Ser Gly Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val

[0408] 85 90 95

[0409] Ala Leu Tyr Leu Ala Ala Arg Leu Ser Trp Asn Gln Val Asp Gln Val

[0410] 100 105 110

[0411] Ile Arg Asn Ala Leu Ala Ser Pro Gly Ser Gly Gly Asp Leu Gly Glu

[0412] 115 120 125

[0413] Ala Ile Arg Glu Gln Pro Glu Gln Ala Arg Leu Ala Leu Thr Leu Ala

[0414] 130 135 140

[0415] Ala Ala Glu Ser Glu Arg Phe Val Arg Gln Gly Thr Gly Asn Asp Glu

[0416] 145 150 155 160

[0417] Ala Gly Ala Ala Ser Gly Pro Ala Asp Ser Gly Asp Ala Leu Leu Glu

[0418] 165 170 175

[0419] Arg Asn Tyr Pro Thr Gly Ala Glu Phe Leu Gly Asp Gly Gly Asp Ile

[0420] 180 185 190

[0421] Ser Phe Ser Thr Arg Gly Thr Gln Asn Trp Thr Val Glu Arg Leu Leu

[0422] 195 200 205

[0423] Gln Ala His Arg Gln Leu Glu Glu Arg Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr

[0424] 210 215 220

[0425] His Gly Thr Phe Leu Glu Ala Ala Gln Ser Ile Val Phe Gly Gly Val

[0426] 225 230 235 240

[0427] Arg Ala Arg Ser Gln Asp Leu Asp Ala Ile Trp Arg Gly Phe Tyr Ile

[0428] 245 250 255

[0429] Ala Gly Asp Pro Ala Leu Ala Tyr Gly Tyr Ala Gln Asp Gln Glu Pro
[0430] 260 265 270
[0431] Asp Ala Arg Gly Arg Ile Arg Asn Gly Ala Leu Leu Arg Val Tyr Val
[0432] 275 280 285
[0433] Pro Arg Ser Ser Leu Pro Gly Phe Tyr Arg Thr Gly Leu Thr Leu Ala
[0434] 290 295 300
[0435] Ala Pro Glu Ala Ala Gly Glu Val Glu Arg Leu Ile Gly His Pro Leu
[0436] 305 310 315 320
[0437] Pro Leu Arg Leu Asp Ala Ile Thr Gly Pro Glu Glu Glu Gly Gly Arg
[0438] 325 330 335
[0439] Leu Glu Thr Ile Leu Gly Trp Pro Leu Ala Glu Arg Thr Val Val Ile
[0440] 340 345 350
[0441] Pro Ser Ala Ile Pro Thr Asp Pro Arg Asn Val Gly Gly Asp Leu Asp
[0442] 355 360 365
[0443] Pro Ser Ser Ile Pro Asp Lys Glu Gln Ala Ile Ser Ala Leu Pro Asp
[0444] 370 375 380
[0445] Tyr Ala Ser Gln Pro Gly Lys Pro Pro Lys Asp Glu Leu
[0446] 385 390 395
[0447] <210> 12
[0448] <211> 396
[0449] <212> PRT
[0450] <213> 人工序列
[0451] <220>
[0452] <223> 融合蛋白 SYN001
[0453] <400> 12
[0454] Met Gln His His Gly Val Thr Lys Cys Asn Ile Thr Cys Ser Lys Met
[0455] 1 5 10 15
[0456] Thr Ser Lys Ile Pro Val Ala Leu Leu Ile His Tyr Gln Gln Asn Gln
[0457] 20 25 30
[0458] Ala Ser Cys Gly Lys Arg Ala Ile Ile Leu Glu Thr Arg Gln His Arg
[0459] 35 40 45
[0460] Leu Ala Cys Ala Asp Pro Lys Glu Gln Trp Val Lys Asp Ala Met Gln
[0461] 50 55 60
[0462] His Leu Asp Arg Gln Ala Ala Ala Leu Thr Arg Asn Arg Gln Pro Arg
[0463] 65 70 75 80
[0464] Gly Trp Glu Gln Leu Glu Gln Ser Gly Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val
[0465] 85 90 95
[0466] Ala Leu Tyr Leu Ala Ala Arg Leu Ser Trp Asn Gln Val Asp Gln Val
[0467] 100 105 110

[0468] Ile Arg Asn Ala Leu Ala Ser Pro Gly Ser Gly Gly Asp Leu Gly Glu
[0469] 115 120 125
[0470] Ala Ile Arg Glu Gln Pro Glu Gln Ala Arg Leu Ala Leu Thr Leu Ala
[0471] 130 135 140
[0472] Ala Ala Glu Ser Glu Arg Phe Val Arg Gln Gly Thr Gly Asn Asp Glu
[0473] 145 150 155 160
[0474] Ala Gly Ala Ala Ser Gly Pro Ala Asp Ser Gly Asp Ala Leu Leu Glu
[0475] 165 170 175
[0476] Arg Asn Tyr Pro Thr Gly Ala Glu Phe Leu Gly Asp Gly Gly Asp Ile
[0477] 180 185 190
[0478] Ser Phe Ser Thr Arg Gly Thr Gln Asn Trp Thr Val Glu Arg Leu Leu
[0479] 195 200 205
[0480] Gln Ala His Arg Gln Leu Glu Glu Arg Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr
[0481] 210 215 220
[0482] His Gly Thr Phe Leu Glu Ala Ala Gln Ser Ile Val Phe Gly Gly Val
[0483] 225 230 235 240
[0484] Arg Ala Arg Ser Gln Asp Leu Asp Ala Ile Trp Arg Gly Phe Tyr Ile
[0485] 245 250 255
[0486] Ala Gly Asp Pro Ala Leu Ala Tyr Gly Tyr Ala Gln Asp Gln Glu Pro
[0487] 260 265 270
[0488] Asp Ala Arg Gly Arg Ile Arg Asn Gly Ala Leu Leu Arg Val Tyr Val
[0489] 275 280 285
[0490] Pro Arg Ser Ser Leu Pro Gly Phe Tyr Arg Thr Gly Leu Thr Leu Ala
[0491] 290 295 300
[0492] Ala Pro Glu Ala Ala Gly Glu Val Glu Arg Leu Ile Gly His Pro Leu
[0493] 305 310 315 320
[0494] Pro Leu Arg Leu Asp Ala Ile Thr Gly Pro Glu Glu Glu Gly Gly Arg
[0495] 325 330 335
[0496] Leu Glu Thr Ile Leu Gly Trp Pro Leu Ala Glu Arg Thr Val Val Ile
[0497] 340 345 350
[0498] Pro Ser Ala Ile Pro Thr Asp Pro Arg Asn Val Gly Gly Asp Leu Asp
[0499] 355 360 365
[0500] Pro Ser Ser Ile Pro Asp Lys Glu Gln Ala Ile Ser Ala Leu Pro Asp
[0501] 370 375 380
[0502] Tyr Ala Ser Gln Pro Gly Lys Pro Pro Lys Asp Glu
[0503] 385 390 395
[0504] <210> 13
[0505] <211> 421
[0506] <212> PRT

[0507] <213> 人工序列

[0508] <220>

[0509] <223> 融合蛋白 SYN014

[0510] <400> 13

[0511] Met Gln His His Gly Val Thr Lys Cys Asn Ile Thr Cys Ser Lys Met

[0512] 1 5 10 15

[0513] Thr Ser Lys Ile Pro Val Ala Leu Leu Ile His Tyr Gln Gln Asn Gln

[0514] 20 25 30

[0515] Ala Ser Cys Gly Lys Arg Ala Ile Ile Leu Glu Thr Arg Gln His Arg

[0516] 35 40 45

[0517] Leu Phe Cys Ala Asp Pro Lys Glu Gln Trp Val Lys Asp Ala Met Gln

[0518] 50 55 60

[0519] His Leu Asp Arg Gln Ala Ala Ala Leu Thr Arg Asn Gly Gly Gly Ser

[0520] 65 70 75 80

[0521] Leu Ala Ala Leu Thr Ala His Gln Ala Cys His Leu Pro Leu Glu Thr

[0522] 85 90 95

[0523] Phe Thr Arg His Arg Gln Arg Arg Gly Trp Glu Gln Leu Glu Gln Cys

[0524] 100 105 110

[0525] Gly Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala Ala Arg Leu

[0526] 115 120 125

[0527] Ser Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Arg Asn Ala Leu Ala Ser Pro

[0528] 130 135 140

[0529] Gly Ser Gly Gly Asp Leu Gly Glu Ala Ile Arg Glu Gln Pro Glu Gln

[0530] 145 150 155 160

[0531] Ala Arg Leu Ala Leu Thr Leu Ala Ala Ala Glu Ser Glu Arg Phe Val

[0532] 165 170 175

[0533] Arg Gln Gly Thr Gly Asn Asp Glu Ala Gly Ala Ala Ser Gly Pro Ala

[0534] 180 185 190

[0535] Asp Ser Gly Asp Ala Leu Leu Glu Arg Asn Tyr Pro Thr Gly Ala Glu

[0536] 195 200 205

[0537] Phe Leu Gly Asp Gly Gly Asp Ile Ser Phe Ser Thr Arg Gly Thr Gln

[0538] 210 215 220

[0539] Asn Trp Thr Val Glu Arg Leu Leu Gln Ala His Arg Gln Leu Glu Glu

[0540] 225 230 235 240

[0541] Arg Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Phe Leu Glu Ala Ala

[0542] 245 250 255

[0543] Gln Ser Ile Val Phe Gly Gly Val Arg Ala Arg Ser Gln Asp Leu Asp

[0544] 260 265 270

[0545] Ala Ile Trp Arg Gly Phe Tyr Ile Ala Gly Asp Pro Ala Leu Ala Tyr

[0546] 275 280 285

[0547] Gly Tyr Ala Gln Asp Gln Glu Pro Asp Ala Arg Gly Arg Ile Arg Asn

[0548] 290 295 300

[0549] Gly Ala Leu Leu Arg Val Tyr Val Pro Arg Ser Ser Leu Pro Gly Phe

[0550] 305 310 315 320

[0551] Tyr Arg Thr Gly Leu Thr Leu Ala Ala Pro Glu Ala Ala Gly Glu Val

[0552] 325 330 335

[0553] Glu Arg Leu Ile Gly His Pro Leu Pro Leu Arg Leu Asp Ala Ile Thr

[0554] 340 345 350

[0555] Gly Pro Glu Glu Glu Gly Gly Arg Leu Glu Thr Ile Leu Gly Trp Pro

[0556] 355 360 365

[0557] Leu Ala Glu Arg Thr Val Val Ile Pro Ser Ala Ile Pro Thr Asp Pro

[0558] 370 375 380

[0559] Arg Asn Val Gly Gly Asp Leu Asp Pro Ser Ser Ile Pro Asp Lys Glu

[0560] 385 390 395 400

[0561] Gln Ala Ile Ser Ala Leu Pro Asp Tyr Ala Ser Gln Pro Gly Lys Pro

[0562] 405 410 415

[0563] Pro Lys Asp Glu Leu

[0564] 420

[0565] <210> 14

[0566] <211> 421

[0567] <212> PRT

[0568] <213> 人工序列

[0569] <220>

[0570] <223> 融合蛋白 SYN016

[0571] <400> 14

[0572] Met Gln His His Gly Val Thr Lys Cys Asn Ile Thr Cys Ser Lys Met

[0573] 1 5 10 15

[0574] Thr Ser Lys Ile Pro Val Ala Leu Leu Ile His Tyr Gln Gln Asn Gln

[0575] 20 25 30

[0576] Ala Ser Cys Gly Lys Arg Ala Ile Ile Leu Glu Thr Arg Gln His Arg

[0577] 35 40 45

[0578] Leu Ala Cys Ala Asp Pro Lys Glu Gln Trp Val Lys Asp Ala Met Gln

[0579] 50 55 60

[0580] His Leu Asp Arg Gln Ala Ala Ala Leu Thr Arg Asn Gly Gly Gly Ser

[0581] 65 70 75 80

[0582] Leu Ala Ala Leu Thr Ala His Gln Ala Cys His Leu Pro Leu Glu Thr

[0583] 85 90 95

[0584] Phe Thr Arg His Arg Gln Pro Arg Gly Trp Glu Gln Leu Glu Gln Cys

[0585] 100 105 110

[0586] Gly Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala Ala Arg Leu

[0587] 115 120 125

[0588] Ser Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Arg Asn Ala Leu Ala Ser Pro

[0589] 130 135 140

[0590] Gly Ser Gly Gly Asp Leu Gly Glu Ala Ile Arg Glu Gln Pro Glu Gln

[0591] 145 150 155 160

[0592] Ala Arg Leu Ala Leu Thr Leu Ala Ala Ala Glu Ser Glu Arg Phe Val

[0593] 165 170 175

[0594] Arg Gln Gly Thr Gly Asn Asp Glu Ala Gly Ala Ala Ser Gly Pro Ala

[0595] 180 185 190

[0596] Asp Ser Gly Asp Ala Leu Leu Glu Arg Asn Tyr Pro Thr Gly Ala Glu

[0597] 195 200 205

[0598] Phe Leu Gly Asp Gly Gly Asp Ile Ser Phe Ser Thr Arg Gly Thr Gln

[0599] 210 215 220

[0600] Asn Trp Thr Val Glu Arg Leu Leu Gln Ala His Arg Gln Leu Glu Glu

[0601] 225 230 235 240

[0602] Arg Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Phe Leu Glu Ala Ala

[0603] 245 250 255

[0604] Gln Ser Ile Val Phe Gly Gly Val Arg Ala Arg Ser Gln Asp Leu Asp

[0605] 260 265 270

[0606] Ala Ile Trp Arg Gly Phe Tyr Ile Ala Gly Asp Pro Ala Leu Ala Tyr

[0607] 275 280 285

[0608] Gly Tyr Ala Gln Asp Gln Glu Pro Asp Ala Arg Gly Arg Ile Arg Asn

[0609] 290 295 300

[0610] Gly Ala Leu Leu Arg Val Tyr Val Pro Arg Ser Ser Leu Pro Gly Phe

[0611] 305 310 315 320

[0612] Tyr Arg Thr Gly Leu Thr Leu Ala Ala Pro Glu Ala Ala Gly Glu Val

[0613] 325 330 335

[0614] Glu Arg Leu Ile Gly His Pro Leu Pro Leu Arg Leu Asp Ala Ile Thr

[0615] 340 345 350

[0616] Gly Pro Glu Glu Glu Gly Gly Arg Leu Glu Thr Ile Leu Gly Trp Pro

[0617] 355 360 365

[0618] Leu Ala Glu Arg Thr Val Val Ile Pro Ser Ala Ile Pro Thr Asp Pro

[0619] 370 375 380

[0620] Arg Asn Val Gly Gly Asp Leu Asp Pro Ser Ser Ile Pro Asp Lys Glu

[0621] 385 390 395 400

[0622] Gln Ala Ile Ser Ala Leu Pro Asp Tyr Ala Ser Gln Pro Gly Lys Pro

[0623] 405 410 415

[0624] Pro Lys Asp Glu Leu
[0625] 420
[0626] <210> 15
[0627] <211> 421
[0628] <212> PRT
[0629] <213> 人工序列
[0630] <220>
[0631] <223> 融合蛋白 SYN017
[0632] <400> 15
[0633] Met Gln His His Gly Val Thr Lys Cys Asn Ile Thr Cys Ser Lys Met
[0634] 1 5 10 15
[0635] Thr Ser Lys Ile Pro Val Ala Leu Leu Ile His Tyr Gln Gln Asn Gln
[0636] 20 25 30
[0637] Ala Ser Cys Gly Lys Arg Ala Ile Ile Leu Glu Thr Arg Gln His Arg
[0638] 35 40 45
[0639] Leu Phe Cys Ala Asp Pro Lys Glu Gln Trp Val Lys Asp Ala Met Gln
[0640] 50 55 60
[0641] His Leu Asp Arg Gln Ala Ala Ala Leu Thr Arg Asn Gly Gly Gly Ser
[0642] 65 70 75 80
[0643] Leu Ala Ala Leu Thr Ala His Gln Ala Cys His Leu Pro Leu Glu Thr
[0644] 85 90 95
[0645] Phe Thr Arg His Arg Gln Pro Arg Gly Trp Glu Gln Leu Glu Gln Cys
[0646] 100 105 110
[0647] Gly Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala Ala Arg Leu
[0648] 115 120 125
[0649] Ser Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Arg Asn Ala Leu Ala Ser Pro
[0650] 130 135 140
[0651] Gly Ser Gly Gly Asp Leu Gly Glu Ala Ile Arg Glu Gln Pro Glu Gln
[0652] 145 150 155 160
[0653] Ala Arg Leu Ala Leu Thr Leu Ala Ala Ala Glu Ser Glu Arg Phe Val
[0654] 165 170 175
[0655] Arg Gln Gly Thr Gly Asn Asp Glu Ala Gly Ala Ala Ser Gly Pro Ala
[0656] 180 185 190
[0657] Asp Ser Gly Asp Ala Leu Leu Glu Arg Asn Tyr Pro Thr Gly Ala Glu
[0658] 195 200 205
[0659] Phe Leu Gly Asp Gly Gly Asp Ile Ser Phe Ser Thr Arg Gly Thr Gln
[0660] 210 215 220
[0661] Asn Trp Thr Val Glu Arg Leu Leu Gln Ala His Arg Gln Leu Glu Glu
[0662] 225 230 235 240

[0663] Arg Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Phe Leu Glu Ala Ala
[0664] 245 250 255
[0665] Gln Ser Ile Val Phe Gly Gly Val Arg Ala Arg Ser Gln Asp Leu Asp
[0666] 260 265 270
[0667] Ala Ile Trp Arg Gly Phe Tyr Ile Ala Gly Asp Pro Ala Leu Ala Tyr
[0668] 275 280 285
[0669] Gly Tyr Ala Gln Asp Gln Glu Pro Asp Ala Arg Gly Arg Ile Arg Asn
[0670] 290 295 300
[0671] Gly Ala Leu Leu Arg Val Tyr Val Pro Arg Ser Ser Leu Pro Gly Phe
[0672] 305 310 315 320
[0673] Tyr Arg Thr Gly Leu Thr Leu Ala Ala Pro Glu Ala Ala Gly Glu Val
[0674] 325 330 335
[0675] Glu Arg Leu Ile Gly His Pro Leu Pro Leu Arg Leu Asp Ala Ile Thr
[0676] 340 345 350
[0677] Gly Pro Glu Glu Glu Gly Gly Arg Leu Glu Thr Ile Leu Gly Trp Pro
[0678] 355 360 365
[0679] Leu Ala Glu Arg Thr Val Val Ile Pro Ser Ala Ile Pro Thr Asp Pro
[0680] 370 375 380
[0681] Arg Asn Val Gly Gly Asp Leu Asp Pro Ser Ser Ile Pro Asp Lys Glu
[0682] 385 390 395 400
[0683] Gln Ala Ile Ser Ala Leu Pro Asp Tyr Ala Ser Gln Pro Gly Lys Pro
[0684] 405 410 415
[0685] Pro Lys Asp Glu Leu
[0686] 420
[0687] <210> 16
[0688] <211> 4
[0689] <212> PRT
[0690] <213> 人工序列
[0691] <220>
[0692] <223> 切割位点
[0693] <220>
[0694] <221> 肽
[0695] <222> (1)..(4)
[0696] <223> 切割位点
[0697] <400> 16
[0698] Arg Gln Arg Arg
[0699] 1
[0700] <210> 17
[0701] <211> 4

[0702] <212> PRT

[0703] <213> 人工序列

[0704] <220>

[0705] <223> 切割位点

[0706] <220>

[0707] <221> 肽

[0708] <222> (1)..(4)

[0709] <223> 切割位点

[0710] <400> 17

[0711] Arg Gln Lys Arg

[0712] 1

[0713] <210> 18

[0714] <211> 4

[0715] <212> PRT

[0716] <213> 人工序列

[0717] <220>

[0718] <223> 切割位点

[0719] <220>

[0720] <221> 肽

[0721] <222> (1)..(4)

[0722] <223> 切割位点

[0723] <400> 18

[0724] Arg Ser Lys Arg

[0725] 1

[0726] <210> 19

[0727] <211> 4

[0728] <212> PRT

[0729] <213> 人工序列

[0730] <220>

[0731] <223> 切割位点

[0732] <220>

[0733] <221> 肽

[0734] <222> (1)..(4)

[0735] <223> 切割位点

[0736] <400> 19

[0737] Arg Ser Arg Arg

[0738] 1

[0739] <210> 20

[0740] <211> 4

[0741] <212> PRT

[0742] <213> 人工序列

[0743] <220>

[0744] <223> 切割位点

[0745] <220>

[0746] <221> 肽

[0747] <222> (1)..(4)

[0748] <223> 切割位点

[0749] <400> 20

[0750] Arg Thr Lys Arg

[0751] 1

[0752] <210> 21

[0753] <211> 4

[0754] <212> PRT

[0755] <213> 人工序列

[0756] <220>

[0757] <223> 切割位点

[0758] <220>

[0759] <221> 肽

[0760] <222> (1)..(4)

[0761] <223> 切割位点

[0762] <400> 21

[0763] Arg Thr Arg Arg

[0764] 1

[0765] <210> 22

[0766] <211> 4

[0767] <212> PRT

[0768] <213> 人工序列

[0769] <220>

[0770] <223> 切割位点

[0771] <220>

[0772] <221> 肽

[0773] <222> (1)..(4)

[0774] <223> 切割位点

[0775] <400> 22

[0776] Arg Asn Lys Arg

[0777] 1

[0778] <210> 23

[0779] <211> 4

[0780] <212> PRT

[0781] <213> 人工序列

[0782] <220>

[0783] <223> 切割位点

[0784] <220>

[0785] <221> 肽

[0786] <222> (1)..(4)

[0787] <223> 切割位点

[0788] <400> 23

[0789] Arg Asn Arg Arg

[0790] 1

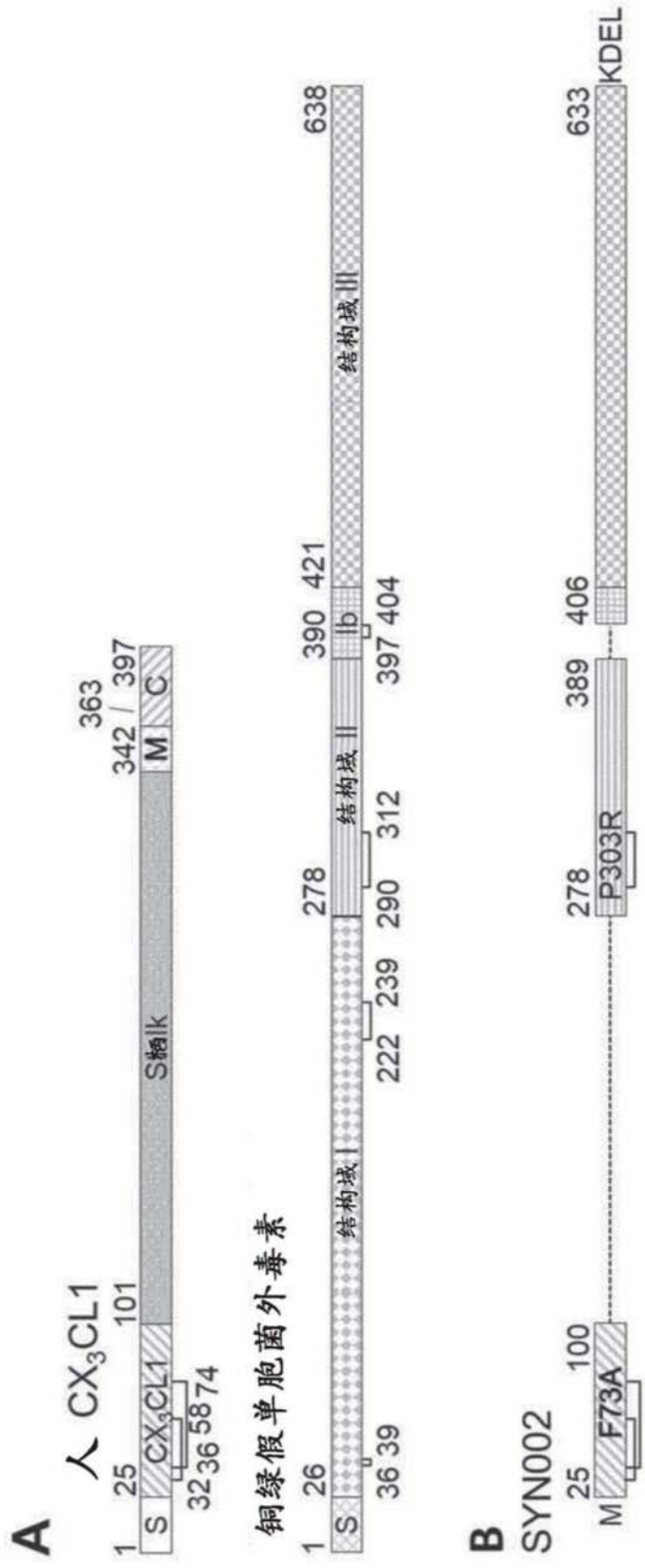
A
人 CX_3CL1
1
25
101
363
342 / 397
S
CX_3CL1
Skinlk
M
C
32 36 58 74
铜绿假单胞菌外毒素
1
26
278
390 421
638
S
结构域 I
结构域 II
Ib
结构域 III
36 39
222 239
290 312
397 404
B
SYN002
25
100
278
389
406
633
KDEL
M
F73A
P303R

图1

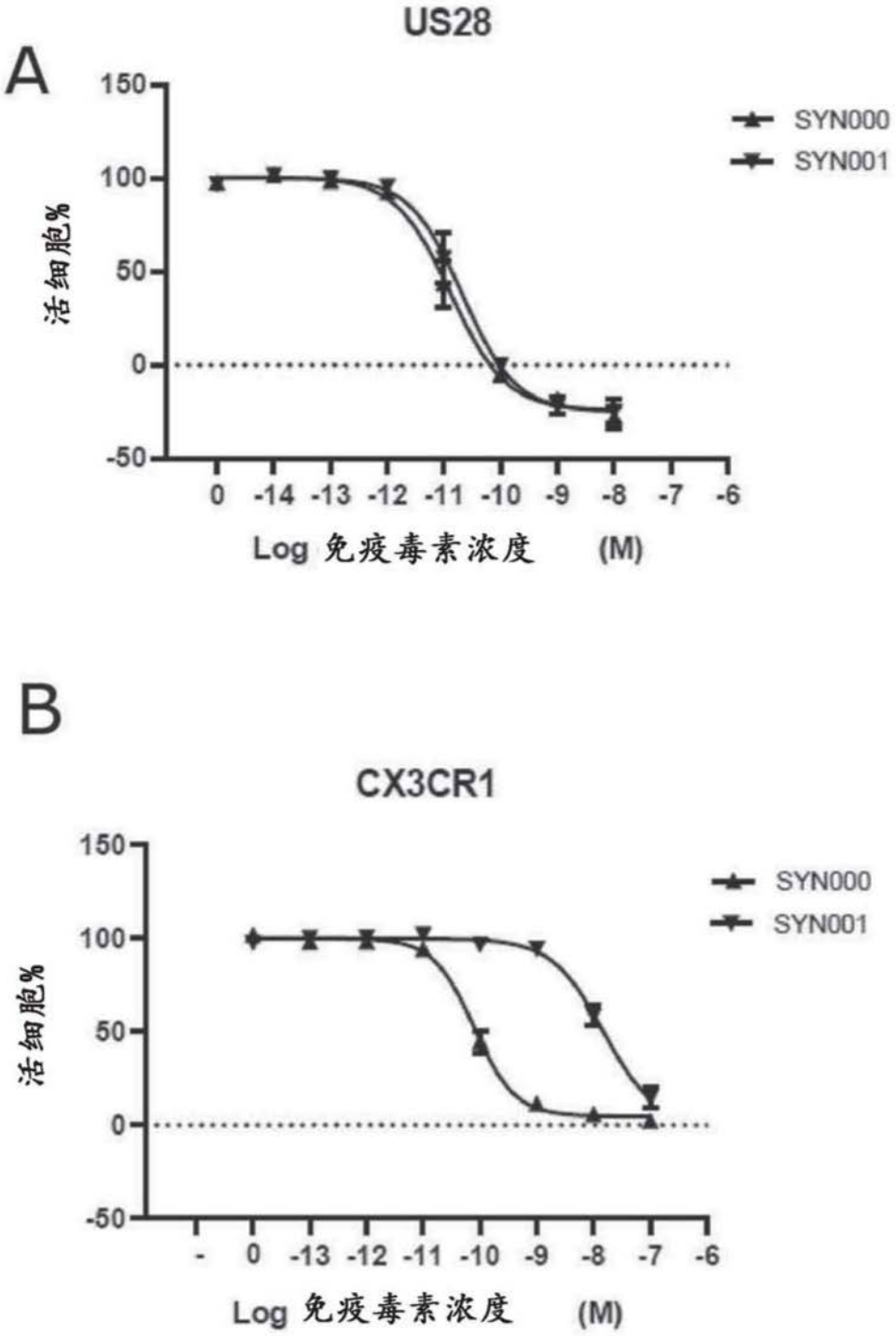
A
US28
150
100
50
0
-50
活细胞%
SYN000
SYN001
0 -14 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
Log 免疫毒素浓度 (M)
B
CX3CR1
150
100
50
0
-50
活细胞%
SYN000
SYN001
- 0 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
Log 免疫毒素浓度 (M)

图2

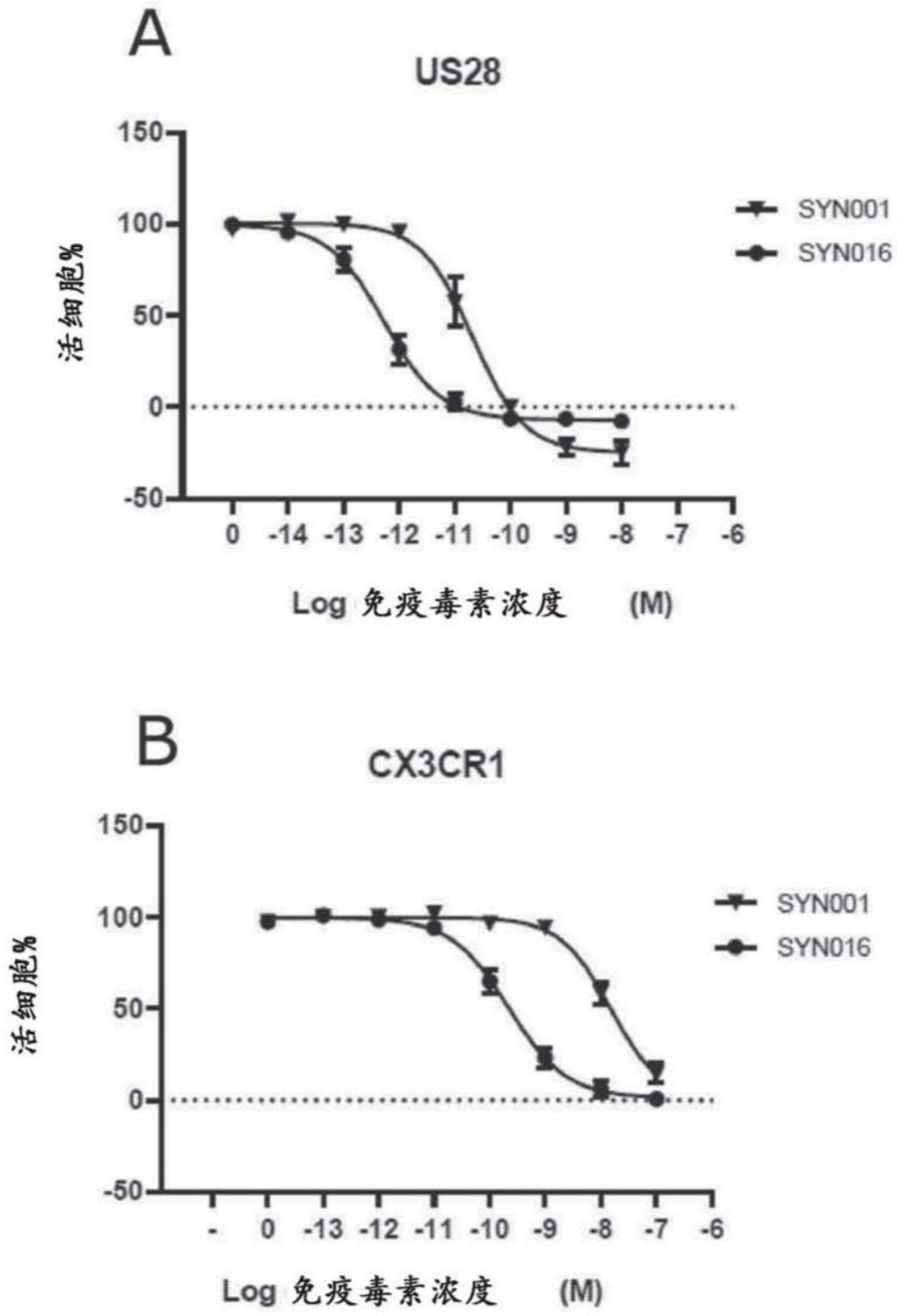
A
US28
150
100
50
0
-50
活细胞%
SYN001
SYN016
0 -14 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
Log 免疫毒素浓度 (M)
B
CX3CR1
150
100
50
0
-50
活细胞%
SYN001
SYN016
- 0 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
Log 免疫毒素浓度 (M)

图3

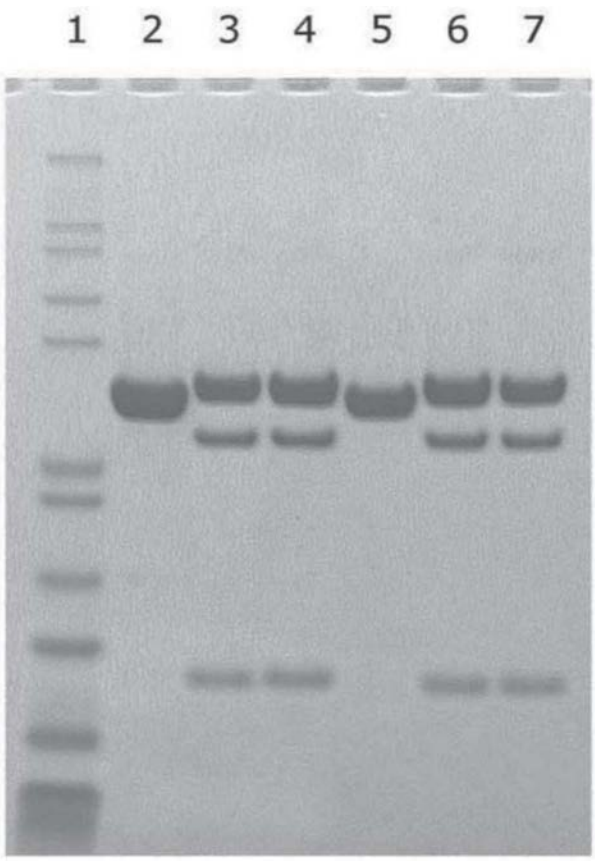

图4

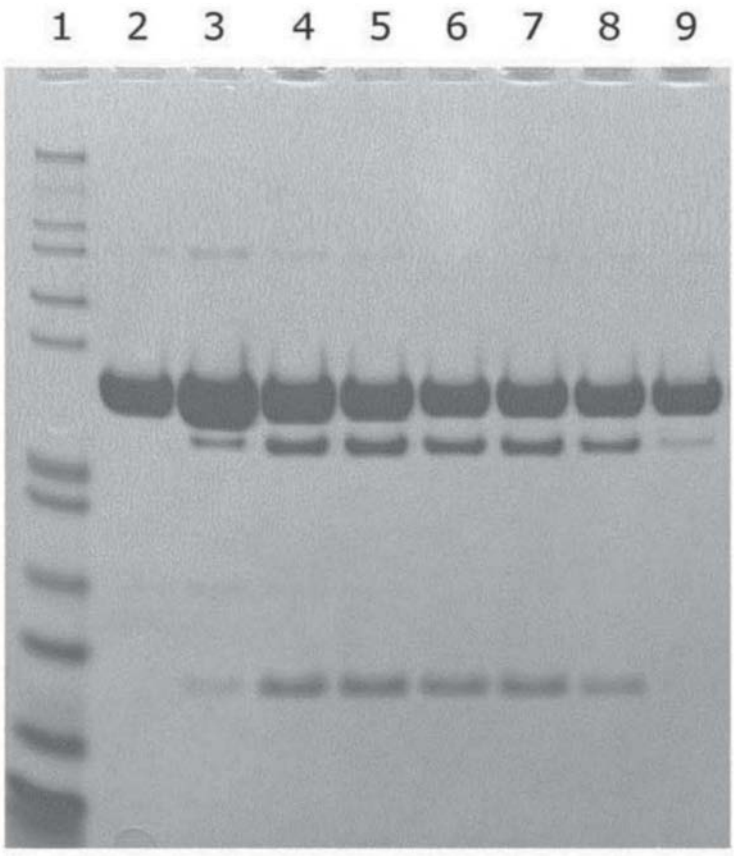

图5

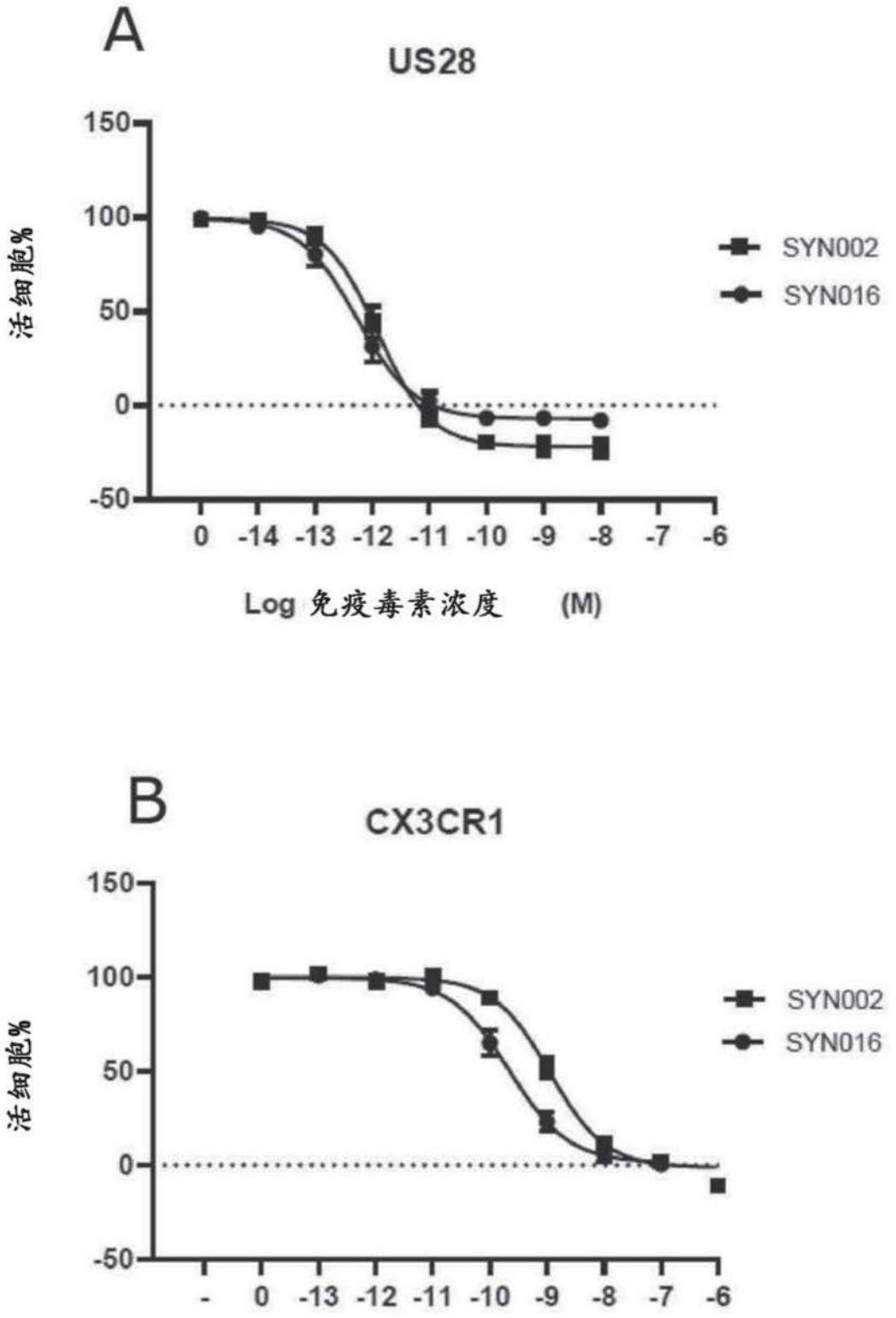
A
US28
150
100
50
0
-50
活细胞%
SYN002
SYN016
0 -14 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
Log 免疫毒素浓度 (M)
B
CX3CR1
150
100
50
0
-50
活细胞%
SYN002
SYN016
- 0 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6

图6