



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119053337 A

(43) 申请公布日 2024. 11. 29

(21) 申请号 202380034852.X

马库斯·丹尼尔·拉彻

(22) 申请日 2023.03.02

(74) 专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理有限公司 11204

(30) 优先权数据

63/316,251 2022.03.03 US

63/415,475 2022.10.12 US

专利代理师 洪欣 伊硕

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2024.10.18

(51) Int.Cl.

A61K 39/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2023/014337 2023.03.02

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/167973 EN 2023.09.07

(71) 申请人 布里卡尔治疗公司

地址 美国宾夕法尼亚州

(72) 发明人 威廉·V·威廉姆斯

米格尔·洛佩兹-拉戈

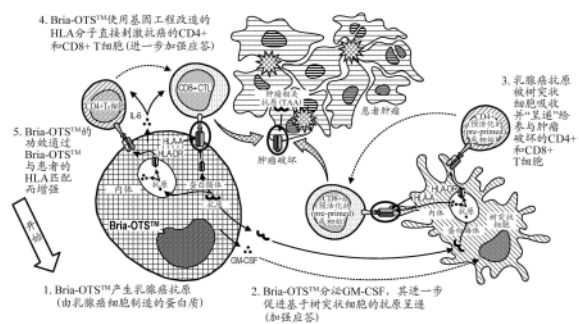
权利要求书9页 说明书132页 附图16页

(54) 发明名称

癌症疫苗及其使用方法

(57) 摘要

本公开内容提供了表达外源人类白细胞抗原 (HLA) 等位基因的修饰的人类癌细胞。本公开内容还提供了用于一种或多种HLA等位基因的同时表达的表达载体。提供了使用本公开内容的修饰的人类癌细胞作为用于治疗对象中癌症的全细胞癌症疫苗的方法。



1. 修饰的人类癌细胞,其包含:(a)一种或多种重组多核苷酸,其各自编码人类白细胞抗原(HLA) I类基因的等位基因;和(b)一种或多种重组多核苷酸,其各自编码HLA II类基因的等位基因,其中所述细胞内源的一种或多种HLA等位基因已被失活。

2. 根据权利要求1所述的修饰的人类癌细胞,其中(a)包括编码HLA I类基因的第一等位基因的第一重组多核苷酸和编码所述HLA I类基因的第二等位基因的第二重组多核苷酸。

3. 根据权利要求1或2所述的修饰的人类癌细胞,其中(b)包括编码第一HLA II类基因的等位基因的第一重组多核苷酸和编码第二HLA II类基因的等位基因的第二重组多核苷酸。

4. 根据权利要求1或2所述的修饰的人类癌细胞,其中(b)包括编码HLA II类基因的第一等位基因的第一重组多核苷酸和编码所述HLA II类基因的第二等位基因的第二重组多核苷酸。

5. 根据权利要求1至4中任一项所述的修饰的人类癌细胞,其中所述HLA I类基因包括HLA-A基因、HLA-B基因、HLA-C基因、HLA-E基因、HLA-F基因、HLA-G基因、 β -2-微球蛋白(B2M)基因或以上的组合。

6. 根据权利要求5所述的修饰的人类癌细胞,其中所述HLA-A基因的等位基因包括HLA-A*01:01等位基因、HLA-A*02:01等位基因、HLA-A*02:06等位基因、HLA-A*03:01等位基因、HLA-A*11:01等位基因、HLA-A*23:01等位基因、HLA-A*24:02等位基因、HLA-A*26:01等位基因、HLA-A*29:02等位基因、HLA-A*31:01等位基因、HLA-A*32:01等位基因、HLA-A*33:03等位基因、HLA-A*68:01等位基因或以上的组合。

7. 根据权利要求5或6所述的修饰的人类癌细胞,其中所述HLA-A基因的等位基因包括:

- (i) HLA-A*01:01等位基因和HLA-A*68:01等位基因;
- (ii) HLA-A*02:01等位基因和HLA-A*11:01等位基因;
- (iii) HLA-A*03:01等位基因和HLA-A*23:01等位基因;或
- (iv) HLA-A*33:03等位基因。

8. 根据权利要求7所述的修饰的人类癌细胞,其中(iv)还包括HLA-A*24:02等位基因。

9. 根据权利要求1至8中任一项所述的修饰的人类癌细胞,其中所述HLA II类基因包括HLA II类 α 亚基基因、HLA II类 β 亚基基因或以上的组合。

10. 根据权利要求1至8中任一项所述的修饰的人类癌细胞,其中所述HLA II类基因包括HLA-DP基因、HLA-DM基因、HLA-DO基因、HLA-DQ基因、HLA-DR基因或以上的组合。

11. 根据权利要求10所述的修饰的人类癌细胞,其中所述HLA-DM基因包括HLA-DMA基因、HLA-DMB基因或以上的组合。

12. 根据权利要求10所述的修饰的人类癌细胞,其中所述HLA-DR基因包括HLA-DRA基因、HLA-DRB1基因、HLA-DRB3基因、HLA-DRB4基因、HLA-DRB5基因或以上的组合。

13. 根据权利要求11或12所述的修饰的人类癌细胞,其中所述HLA-DRB3基因的等位基因包括HLA-DRB3*01:01等位基因、HLA-DRB3*02:02等位基因、HLA-DRB3*03:01等位基因或以上的组合。

14. 根据权利要求11至13中任一项所述的修饰的人类癌细胞,其中所述HLA-DRB4基因的等位基因包括HLA-DRB4*01:01等位基因、HLA-DRB4*01:03等位基因或以上的组合。

15. 根据权利要求11至14中任一项所述的修饰的人类癌细胞,其中所述HLA-DRB5基因的等位基因包括HLA-DRB5*01:01等位基因、HLA-DRB5*01:02等位基因、HLA-DRB5*02:02等位基因或以上的组合。

16. 根据权利要求10至15中任一项所述的修饰的人类癌细胞,其中所述HLA-DR基因的等位基因包括:

- (i) HLA-DRB3*02:02等位基因和HLA-DRB5*01:01等位基因;
- (ii) HLA-DRB4*01:01等位基因和HLA-DRB3*01:01等位基因;
- (iii) HLA-DRB3*03:01等位基因和HLA-DRB5*01:02等位基因;或
- (iv) HLA-DRB5*02:02等位基因和HLA-DRB3*01:01等位基因。

17. 根据权利要求10至15中任一项所述的修饰的人类癌细胞,其中所述HLA-DR基因的等位基因包括:

- (i) HLA-DRB3*02:02等位基因和HLA-DRB4*01:01等位基因;
- (ii) HLA-DRB4*01:01等位基因和HLA-DRB3*03:01等位基因;
- (iii) HLA-DRB3*01:01等位基因和HLA-DRB5*01:02等位基因;或
- (iv) HLA-DRB5*01:01等位基因和HLA-DRB5*02:02等位基因。

18. 修饰的人类癌细胞,其包含:

(a) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*01:01等位基因、HLA-A*68:01等位基因、HLA-DRB3*02:02等位基因和HLA-DRB5*01:01等位基因中的至少一种;

(b) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*02:01等位基因、HLA-A*11:01等位基因、HLA-DRB4*01:01等位基因和HLA-DRB3*01:01等位基因中的至少一种;

(c) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*03:01等位基因、HLA-A*23:01等位基因、HLA-DRB3*03:01等位基因和HLA-DRB5*01:02等位基因中的至少一种;或

(d) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*24:02等位基因、HLA-A*33:03等位基因、HLA-DRB5*02:02等位基因和HLA-DRB3*01:01等位基因中的至少一种,

其中所述细胞内源的一种或多种HLA等位基因已被失活。

19. 根据权利要求18所述的修饰的人类癌细胞,其包含:

(a) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*01:01等位基因、HLA-A*68:01等位基因、HLA-DRB3*02:02等位基因和HLA-DRB5*01:01等位基因;

(b) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*02:01等位基因、HLA-A*11:01等位基因、HLA-DRB4*01:01等位基因和HLA-DRB3*01:01等位基因;

(c) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*03:01等位基因、HLA-A*23:01等位基因、HLA-DRB3*03:01等位基因和HLA-DRB5*01:02等位基因;或

(d) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*24:02等位基因、HLA-A*33:03等位基因、HLA-DRB5*02:02等位基因和HLA-DRB3*01:01等位基因,

其中所述细胞内源的一种或多种HLA等位基因已被失活。

20. 修饰的人类癌细胞,其包含:

(a) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*01:01等位基因、HLA-A*68:01等位基因、HLA-DRB3*02:02等位基因和HLA-DRB4*01:01等位基因中的至少一种;

(b) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*02:01等位基因、HLA-A*11:01等位基因、HLA-DRB4*

01:01等位基因和HLA-DRB3*03:01等位基因中的至少一种;

(c) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*03:01等位基因、HLA-A*23:01等位基因、HLA-DRB3*01:01等位基因和HLA-DRB5*01:02等位基因中的至少一种;或

(d) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*33:03等位基因、HLA-DRB5*01:01等位基因和HLA-DRB5*02:02等位基因中的至少一种,

其中所述细胞内源的一种或多种HLA等位基因已被失活。

21. 根据权利要求20所述的修饰的人类癌细胞,其包含:

(a) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*01:01等位基因、HLA-A*68:01等位基因、HLA-DRB3*02:02等位基因和HLA-DRB4*01:01等位基因;

(b) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*02:01等位基因、HLA-A*11:01等位基因、HLA-DRB4*01:01等位基因和HLA-DRB3*03:01等位基因;

(c) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*03:01等位基因、HLA-A*23:01等位基因、HLA-DRB3*01:01等位基因和HLA-DRB5*01:02等位基因;或

(d) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*33:03等位基因、HLA-DRB5*01:01等位基因和HLA-DRB5*02:02等位基因,

其中所述细胞内源的一种或多种HLA等位基因已被失活。

22. 根据权利要求20或21所述的修饰的人类癌细胞,其中(d)还包括HLA-A*24:02等位基因。

23. 根据权利要求18至22中任一项所述的修饰的人类癌细胞,其还包含编码细胞因子的重组多核苷酸。

24. 根据权利要求23所述的修饰的人类癌细胞,其中所述细胞因子包括趋化因子、干扰素、白细胞介素或肿瘤坏死因子。

25. 根据权利要求24所述的修饰的人类癌细胞,其中编码所述细胞因子的重组多核苷酸包括编码以下的重组多核苷酸:早期T细胞激活抗原-1(ETA-1)、淋巴细胞激活因子(LAF)、白细胞介素-1家族成员(IL-1 α 、IL-1 β 、IL-1Ra、IL-18、IL-33、IL-36Ra、IL-36 α 、IL-36 β 、IL-36 γ 、IL-37、IL-38)、白细胞介素-2(IL-2)、白细胞介素-3(IL-3)、白细胞介素-4(IL-4)、白细胞介素-5(IL-5)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-7(IL-7)、白细胞介素-8(IL-8)、白细胞介素-9(IL-9)、白细胞介素-10(IL-10)、白细胞介素-12(IL-12)、白细胞介素-13(IL-13)、白细胞介素-15(IL-15)、白细胞介素-17(IL-17)、白细胞介素-18(IL-18)、白细胞介素-21(IL-21)、白细胞介素-23(IL-23)、白细胞介素-25(IL-25)、白细胞介素-33(IL-33)、干扰素 α (IFN- α)、干扰素 λ 1(IFN λ 1(IL-29))、干扰素 λ 2(IFN λ 2(IL-28A))、干扰素 λ 3(IFN λ 1(IL-28B))、干扰素 λ 4(IFN λ 4)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、巨噬细胞CSF(CSF-1)、巨噬细胞迁移抑制因子(MIF)、CD40L分子(CD40L)、RANTES分子(RANTES)、单核细胞趋化蛋白(MCP-1)、单核细胞炎性蛋白(MIP-1 α 、MIP-1 β)、淋巴细胞趋化因子或分形趋化因子。

26. 根据权利要求23至25中任一项所述的修饰的人类癌细胞,其中所述细胞因子包括粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)。

27. 根据权利要求23至26中任一项所述的修饰的人类癌细胞,其中所述细胞因子包括编码以下的重组多核苷酸:干扰素 α (IFN- α)、干扰素 λ 1(IFN λ 1(IL-29))、干扰素 λ 2(IFN λ 2

(IL-28A))、干扰素 λ 3 (IFN λ 1 (IL-28B))或干扰素 λ 4 (IFN λ 4)。

28. 根据权利要求1至27中任一项所述的修饰的人类癌细胞, 其还包含编码共刺激分子的重组多核苷酸。

29. 根据权利要求28所述的修饰的人类癌细胞, 其中所述编码共刺激分子的重组多核苷酸包括编码以下的重组多核苷酸: CD86分子 (CD86)、CD80分子 (CD80)、4-1BB配体分子 (4-1BBL, 又名CD137L)、ICOS配体分子 (ICOS-L)、CD70分子 (CD70, 又名CD27L)、CD40分子 (CD40)、OX40配体分子 (OX40L)、GITR配体分子 (GITRL)、TIM-4分子 (TIM-4)、LIGHT分子 (LIGHT)、ICAM1分子 (ICAM1)、LFA3分子 (LFA3)、CD30分子 (CD30) 或以上的组合。

30. 根据权利要求1至29中任一项所述的修饰的人类癌细胞, 其还包含编码病原体抗原、肿瘤相关抗原、新抗原、变应原、作为自身免疫应答的靶标的抗原或以上的片段的重组多核苷酸。

31. 根据权利要求1至30中任一项所述的修饰的人类癌细胞, 其中所述细胞内源的一种或多种HLA-A和/或HLA-DR等位基因已被失活。

32. 根据权利要求31所述的修饰的人类癌细胞, 其中所述一种或多种HLA-A等位基因包括HLA-A*24:02等位基因和/或HLA-A*11:01等位基因。

33. 根据权利要求31或32所述的修饰的人类癌细胞, 其中所述一种或多种HLA-DR等位基因包括一种或多种HLA-DRB3等位基因。

34. 根据权利要求33所述的修饰的人类癌细胞, 其中所述一种或多种HLA-DRB3等位基因包括HLA-DRB3*01:01等位基因和/或HLA-DRB3*02:02等位基因。

35. 根据权利要求1至34中任一项所述的修饰的人类癌细胞, 其中一种或多种所述重组多核苷酸存在于所述细胞中的载体上。

36. 根据权利要求35所述的修饰的人类癌细胞, 其中所述载体包含各自编码HLA I类基因的等位基因的两种重组多核苷酸。

37. 根据权利要求35所述的修饰的人类癌细胞, 其中所述载体包含各自编码HLA II类基因的等位基因的两种重组多核苷酸。

38. 根据权利要求35所述的修饰的人类癌细胞, 其中所述载体包含各自编码HLA I类基因的等位基因的两种重组多核苷酸和各自编码HLA II类基因的等位基因的两种重组多核苷酸。

39. 根据权利要求1至35中任一项所述的修饰的人类癌细胞, 其中各自编码HLA I类基因的等位基因的所述一种或多种重组多核苷酸和各自编码HLA II类基因的等位基因的所述一种或多种重组多核苷酸存在于所述细胞中的相同载体上。

40. 根据权利要求1至35中任一项所述的修饰的人类癌细胞, 其中各自编码HLA I类基因的等位基因的所述一种或多种重组多核苷酸和各自编码HLA II类基因的等位基因的所述一种或多种重组多核苷酸存在于所述细胞中的单独载体上。

41. 根据权利要求1至35中任一项所述的修饰的人类癌细胞, 其中各自编码HLA I类基因的两种等位基因的所述一种或多种重组多核苷酸和各自编码HLA II类基因的两种等位基因的所述一种或多种重组多核苷酸存在于所述细胞中的单独载体上。

42. 根据权利要求1至41中任一项所述的修饰的人类癌细胞, 其中所述重组多核苷酸中的一种或多种包含与SEQ ID NO:22-35中的任一个具有至少85%同一性的序列。

43. 根据权利要求1至42中任一项所述的修饰的人类癌细胞,其中所述重组多核苷酸中的一种或多种包含SEQ ID NO:22-35中任一个的序列。

44. 根据权利要求1至43中任一项所述的修饰的人类癌细胞,其中所述人类癌细胞是人类癌细胞系。

45. 根据权利要求44所述的修饰的人类癌细胞,其中所述人类癌细胞系是乳腺癌细胞系、前列腺癌细胞系、黑色素瘤细胞系或肺癌细胞系。

46. 根据权利要求1至45中任一项所述的修饰的人类癌细胞,其还包含失活的CD47分子。

47. 根据权利要求1至46中任一项所述的修饰的人类癌细胞,其还包含失活的Ii (CD74)分子。

48. 根据权利要求1至47中任一项所述的修饰的人类癌细胞,其中所述一种或多种重组多核苷酸各自包含在编码第一HLA等位基因和第二HLA等位基因的多核苷酸序列之间的异源多核苷酸序列,其中所述异源多核苷酸序列编码一种或多种自切割肽。

49. 根据权利要求48所述的修饰的人类癌细胞,其中所述自切割肽位于所述第一HLA等位基因的3'末端和所述第二HLA等位基因的5'末端。

50. 根据权利要求1至49中任一项所述的修饰的人类癌细胞,其中所述自切割肽包括T2A、P2A、E2A或以上的组合。

51. 修饰的人类癌细胞,其包含:

(a) 一种或多种载体,其各自包含编码选自以下的至少一种基因的重组多核苷酸:GM-CSF、IFN- α 、CD86、IL-12、CD80、HLA-DRA、IL-7和4-1BBL;

(b) 一种或多种载体,其各自包含编码选自以下的至少一种HLA-A等位基因的重组多核苷酸:HLA-A*01:01等位基因、HLA-A*68:01等位基因、HLA-A*02:01等位基因、HLA-A*11:01等位基因、HLA-A*03:01等位基因、HLA-A*23:01等位基因、HLA-A*24:02和HLA-A*33:03等位基因;以及

(c) 一种或多种载体,其各自包含编码选自以下的至少一种HLA-DR等位基因的重组多核苷酸:HLA-DRB3*02:02、HLA-DRB5*01:01、HLA-DRB4*01:01、HLA-DRB3*01:01、HLA-DRB3*03:01、HLA-DRB5*01:02和/或HLA-DRB5*02:02,

其中所述细胞内源的一种或多种HLA等位基因已被失活。

52. 根据权利要求51所述的修饰的人类癌细胞,其中所述修饰的人类癌细胞:

(b) 包含一种载体,所述载体包含编码HLA-A*01:01等位基因和HLA-A*68:01等位基因、或HLA-A*02:01等位基因和HLA-A*11:01等位基因、或HLA-A*03:01等位基因和HLA-A*23:01等位基因、或HLA-A*24:02等位基因和HLA-A*33:03等位基因的重组多核苷酸;以及

(c) 包含一种载体,所述载体包含编码HLA-DRB3*02:02等位基因和HLA-DRB5*01:01等位基因、或HLA-DRB4*01:01等位基因和HLA-DRB3*01:01等位基因、或HLA-DRB3*03:01等位基因和HLA-DRB5*01:02等位基因、或HLA-DRB5*02:02等位基因和HLA-DRB3*01:01等位基因的重组多核苷酸。

53. 根据权利要求51或52所述的修饰的人类癌细胞,其中所述修饰的人类癌细胞:

(a) 包含四种载体,其各自包含编码选自以下的两种不同基因的重组多核苷酸:GM-CSF、IFN- α 、CD86、IL-12、CD80、HLA-DRA、IL-7和4-1BBL。

54. 根据权利要求51至53中任一项所述的修饰的人类癌细胞,其中所述细胞内源的一种或多种HLA-A和/或HLA-DR等位基因已被失活。

55. 根据权利要求54所述的修饰的人类癌细胞,其中所述一种或多种失活的内源HLA-A等位基因包括HLA-A*24:02等位基因和/或HLA-A*11:01等位基因。

56. 根据权利要求54或55所述的修饰的人类癌细胞,其中所述一种或多种失活的内源HLA-DR等位基因包括一种或多种HLA-DRB3等位基因。

57. 根据权利要求56所述的修饰的人类癌细胞,其中所述一种或多种失活的内源HLA-DRB3等位基因包括HLA-DRB3*01:01等位基因和/或HLA-DRB3*02:02等位基因。

58. 根据权利要求51至57中任一项所述的修饰的人类癌细胞,其中所述重组多核苷酸中的一种或多种包含与SEQ ID NO:22-44中的任一个具有至少85%同一性的序列。

59. 根据权利要求51至58中任一项所述的修饰的人类癌细胞,其中所述重组多核苷酸中的一种或多种包含SEQ ID NO:22-44中任一个的序列。

60. 根据权利要求51至59中任一项所述的修饰的人类癌细胞,其中所述人类癌细胞是人类癌细胞系。

61. 根据权利要求60所述的修饰的人类癌细胞,其中所述人类癌细胞系是乳腺癌细胞系、前列腺癌细胞系、黑色素瘤细胞系或肺癌细胞系。

62. 无复制能力的根据权利要求1至61中任一项所述的修饰的人类癌细胞。

63. 根据权利要求62所述的无复制能力的修饰的人类癌细胞,其中通过辐照、冻融或丝裂霉素C处理使所述修饰的人类癌细胞成为无复制能力的。

64. 组合物,其包含权利要求1至63中任一项所述的修饰的人类癌细胞。

65. 根据权利要求64所述的组合物,其中所述组合物包含至少1,000,000个细胞。

66. 药物组合物,其包含权利要求64或65所述的组合物和药学上可接受的载体。

67. 根据权利要求66所述的药物组合物,其还包含冷冻保护剂。

68. 用于治疗对象中的癌症的方法,所述方法包括向所述对象施用治疗有效量的权利要求66或67所述的药物组合物。

69. 根据权利要求68所述的方法,其中每周施用所述药物组合物。

70. 根据权利要求68至69中任一项所述的方法,其中所述药物组合物以至少1,000,000个细胞的剂量施用。

71. 根据权利要求68至70中任一项所述的方法,其中在所述对象的上背部或大腿中皮内施用所述药物组合物。

72. 根据权利要求68至71中任一项所述的方法,其还包括在施用所述药物组合物之前至少2天,向所述对象施用治疗有效量的环磷酰胺。

73. 根据权利要求68至72中任一项所述的方法,其还包括在施用所述药物组合物之后至少1小时和至少1天,向所述对象施用治疗有效量的IFN- α 2b。

74. 用于治疗患有癌症的对象的套装产品,其包含权利要求66或67所述的药物组合物。

75. 根据权利要求74所述的套装产品,其还包含治疗有效量的IFN- α 2b。

76. 载体,其包含:

(a) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*02:01等位基因、HLA-A*11:01等位基因、HLA-DRB4*01:01等位基因和HLA-DRB3*03:01等位基因;

(b) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*01:01等位基因、HLA-A*68:01等位基因、HLA-DRB3*02:02等位基因和HLA-DRB4*01:01等位基因;

(c) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*03:01等位基因、HLA-A*23:01等位基因、HLA-DRB3*01:01等位基因和HLA-DRB5*01:02等位基因;或

(d) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*33:03等位基因、HLA-DRB5*01:01等位基因和HLA-DRB5*02:02等位基因,

其中(a) - (d)中的每种重组多核苷酸还包含编码两种HLA等位基因之间的自切割肽的多核苷酸。

77. 根据权利要求76所述的载体,其中(d)还包含HLA-A*24:02等位基因。

78. 根据权利要求76或77所述的载体,其中编码所述自切割肽的多核苷酸位于第一HLA等位基因的3'末端和第二HLA等位基因的5'末端。

79. 根据权利要求76至78中任一项所述的载体,其中所述自切割肽包括T2A、P2A、E2A或以上的组合。

80. 根据权利要求76至79中任一项所述的载体,其中所述重组多核苷酸包含与SEQ ID NO:22-35中的任一个具有至少85%同一性的序列中的至少一个。

81. 根据权利要求76至80中任一项所述的载体,其中所述重组多核苷酸包含SEQ ID NO:22-35中的任一个的至少一个。

82. 根据权利要求76至81中任一项所述的载体,其中所述重组多核苷酸包含MNDU3启动子。

83. 根据权利要求76至82中任一项所述的载体,其还包含编码细胞因子的重组多核苷酸。

84. 根据权利要求83所述的载体,其中所述细胞因子包括趋化因子、干扰素、白细胞介素或肿瘤坏死因子。

85. 根据权利要求84所述的载体,其中编码所述细胞因子的重组多核苷酸包含编码以下的重组多核苷酸:早期T细胞激活抗原-1(ETA-1)、淋巴细胞激活因子(LAF)、白细胞介素-1家族成员(IL-1 α 、IL-1 β 、IL-1Ra、IL-18、IL-33、IL-36Ra、IL-36 α 、IL-36 β 、IL-36 γ 、IL-37、IL-38)、白细胞介素-2(IL-2)、白细胞介素-3(IL-3)、白细胞介素-4(IL-4)、白细胞介素-5(IL-5)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-7(IL-7)、白细胞介素-8(IL-8)、白细胞介素-9(IL-9)、白细胞介素-10(IL-10)、白细胞介素-12(IL-12)、白细胞介素-13(IL-13)、白细胞介素-15(IL-15)、白细胞介素-17(IL-17)、白细胞介素-18(IL-18)、白细胞介素-23(IL-21)、白细胞介素-23(IL-23)、白细胞介素-25(IL-25)、白细胞介素-33(IL-33)、干扰素 α (IFN- α)、干扰素 λ 1(IFN λ 1(IL-29))、干扰素 λ 2(IFN λ 2(IL-28A))、干扰素 λ 3(IFN λ 1(IL-28B))、干扰素 λ 4(IFN λ 4)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、巨噬细胞CSF(CSF-1)、巨噬细胞迁移抑制因子(MIF)、CD40L分子(CD40L)、RANTES分子(RANTES)、单核细胞趋化蛋白(MCP-1)、单核细胞炎性蛋白(MIP-1 α 、MIP-1 β)、淋巴细胞趋化因子或分形趋化因子。

86. 根据权利要求76至85中任一项所述的载体,其中所述细胞因子包括粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)。

87. 根据权利要求76至86中任一项所述的载体,其中所述细胞因子包括干扰素 α (IFN- α)、干扰素 λ 1(IFN λ 1(IL-29))、干扰素 λ 2(IFN λ 2(IL-28A))、干扰素 λ 3(IFN λ 1(IL-28B))或干

扰素 λ 4 (IFN λ 4)。

88. 根据权利要求87所述的载体, 其还包含编码共刺激分子的重组多核苷酸。

89. 根据权利要求88所述的载体, 其中所述共刺激分子包括CD86分子 (CD86)、CD80分子 (CD80)、4-1BB配体分子 (4-1BBL, 又名CD137L)、ICOS配体分子 (ICOS-L)、CD70分子 (CD70, 又名CD27L)、CD40分子 (CD40)、OX40配体分子 (OX40L)、GITR配体分子 (GITRL)、TIM-4分子 (TIM-4)、LIGHT分子 (LIGHT)、ICAM1分子 (ICAM1)、LFA3分子 (LFA3)、CD30分子 (CD30) 或以上的组合。

90. 根据权利要求76至89中任一项所述的载体, 其还包含编码病原体抗原、肿瘤相关抗原、新抗原、变应原、作为自身免疫应答的靶标的抗原或以上的片段的重组多核苷酸。

91. 重组多核苷酸, 其包含编码与SEQ ID NO: 22-29中的任一个具有至少85%同一性的HLA I类基因的等位基因的序列和任选的至少一个异源多核苷酸序列。

92. 根据权利要求91所述的重组多核苷酸, 其中所述重组多核苷酸包含SEQ ID NO: 22-29中任一个的序列。

93. 根据权利要求91或92所述的重组多核苷酸, 其还包含编码所述HLA I类基因的第二等位基因或第二HLA I类基因的等位基因的重组多核苷酸。

94. 根据权利要求91至93中任一项所述的重组多核苷酸, 其还包含编码HLA II类基因的等位基因的重组多核苷酸。

95. 根据权利要求94所述的重组多核苷酸, 其中编码所述HLA II类基因的等位基因的重组多核苷酸与SEQ ID NO: 30-35中的任一个具有至少85%的同一性。

96. 根据权利要求95所述的重组多核苷酸, 其中编码所述HLA II类基因的等位基因的重组多核苷酸包含SEQ ID NO: 30-35中任一个的序列。

97. 根据权利要求91至96中任一项所述的重组多核苷酸, 其中所述异源多核苷酸序列编码细胞因子的氨基酸序列。

98. 根据权利要求97所述的重组多核苷酸, 其中所述细胞因子包括趋化因子、干扰素、白细胞介素或肿瘤坏死因子。

99. 根据权利要求98所述的重组多核苷酸, 其中编码所述细胞因子的异源多核苷酸序列包括编码以下的异源多核苷酸序列: 早期T细胞激活抗原-1 (ETA-1)、淋巴细胞激活因子 (LAF)、白细胞介素-1家族成员 (IL-1 α 、IL- β 、IL-1Ra、IL-18、IL-33、IL-36Ra、IL-36 α 、IL-36 β 、IL-36 γ 、IL-37、IL-38)、白细胞介素-2 (IL-2)、白细胞介素-3 (IL-3)、白细胞介素-4 (IL-4)、白细胞介素-5 (IL-5)、白细胞介素-6 (IL-6)、白细胞介素-7 (IL-7)、白细胞介素-8 (IL-8)、白细胞介素-9 (IL-9)、白细胞介素-10 (IL-10)、白细胞介素-12 (IL-12)、白细胞介素-13 (IL-13)、白细胞介素-15 (IL-15)、白细胞介素-17 (IL-17)、白细胞介素-18 (IL-18)、白细胞介素-21 (IL-21)、白细胞介素-23 (IL-23)、白细胞介素-25 (IL-25)、白细胞介素-33 (IL-33)、干扰素 α (IFN- α)、干扰素 λ 1 (IFN λ 1 (IL-29))、干扰素 λ 2 (IFN λ 2 (IL-28A))、干扰素 λ 3 (IFN λ 3 (IL-28B))、干扰素 λ 4 (IFN λ 4)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)、巨噬细胞CSF (CSF-1)、巨噬细胞迁移抑制因子 (MIF)、CD40L分子 (CD40L)、RANTES分子 (RANTES)、单核细胞趋化蛋白 (MCP-1)、单核细胞炎性蛋白 (MIP-1 α 、MIP-1 β)、淋巴细胞趋化因子或分形趋化因子。

100. 根据权利要求97至99中任一项所述的重组多核苷酸, 其中所述细胞因子包括粒细

胞-巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)。

101. 根据权利要求97至100中任一项所述的重组多核苷酸, 其中所述细胞因子包括干扰素 α (IFN- α)、干扰素 λ 1 (IFN λ 1 (IL-29))、干扰素 λ 2 (IFN λ 2 (IL-28A))、干扰素 λ 3 (IFN λ 1 (IL-28B))、干扰素 λ 4 (IFN λ 4)。

102. 根据权利要求91至101中任一项所述的重组多核苷酸, 其中所述异源多核苷酸序列编码两种HLA等位基因之间的一种或多种自切割肽。

103. 根据权利要求102所述的重组多核苷酸, 其中所述自切割肽位于第一HLA等位基因的3'末端和第二HLA等位基因的5'末端。

104. 根据权利要求102或103所述的重组多核苷酸, 其中所述自切割肽包括T2A、P2A、E2A或以上的组合。

105. 根据权利要求91至104中任一项所述的重组多核苷酸, 其中所述异源多核苷酸序列包含启动子。

106. 根据权利要求105所述的重组多核苷酸, 其中所述启动子包括MNDU3启动子或EF1 α 启动子。

107. 根据权利要求91至106中任一项所述的重组多核苷酸, 其中所述异源多核苷酸序列编码共刺激分子的氨基酸序列。

108. 根据权利要求107所述的重组多核苷酸, 其中所述共刺激分子包括CD86分子 (CD86)、CD80分子 (CD80)、4-1BB配体分子 (4-1BBL, 又名CD137L)、ICOS配体分子 (ICOS-L)、CD70分子 (CD70, 又名CD27L)、CD40分子 (CD40)、OX40配体分子 (OX40L)、GITR配体分子 (GITRL)、TIM-4分子 (TIM-4)、LIGHT分子 (LIGHT)、ICAM1分子 (ICAM1)、LFA3分子 (LFA3)、CD30分子 (CD30) 或以上的组合。

109. 根据权利要求91至108中任一项所述的重组多核苷酸, 其中所述异源多核苷酸序列包含与SEQ ID NO:36-44中的任一个具有至少85%同一性的序列。

110. 根据权利要求109所述的重组多核苷酸, 其中所述异源多核苷酸序列包含SEQ ID NO:36-44中任一个的序列。

111. 根据权利要求91至110中任一项所述的重组多核苷酸, 其中所述异源多核苷酸序列编码病原体抗原、肿瘤相关抗原、新抗原、变应原、作为自身免疫应答的靶标的抗原或以上的片段的氨基酸序列。

癌症疫苗及其使用方法

相关申请的交叉引用

[0001] 本申请要求2022年3月3日提交的美国临时申请第63/316,251号和2022年10月12日提交的美国临时申请第63/415,475号的优先权,所述美国临时申请的公开内容出于所有目的通过引用以其整体并入本文。

背景

[0002] 开发有效的免疫应答在开发疫苗以及癌症免疫治疗中是必不可少的。适应性免疫应答从专业抗原呈递细胞(APC)的抗原呈递开始。这些细胞通常表达II类主要组织相容性复合体(MHC)蛋白以及共刺激分子,例如CD80和CD86。通常认为,为了有效,全细胞免疫治疗需要表达作为免疫应答的靶标的免疫原性抗原,在摄取免疫原性蛋白后,APC例如树突状细胞(DC)需要将这样的抗原呈递给T细胞。因此,还需要用于癌症和相关疾病的改进的主动免疫治疗。本公开内容满足了这些需要并且还提供了相关的优势。

概述

[0003] 在一方面,本公开内容提供了修饰的人类癌细胞,其包含:(a)一种或多种重组多核苷酸,其各自编码人类白细胞抗原(HLA)I类基因的等位基因;和(b)一种或多种重组多核苷酸,其各自编码HLA II类基因的等位基因,其中细胞内源的一种或多种HLA等位基因已被失活。

[0004] 在相关方面,本公开内容提供了表达I类和II类MHC蛋白的修饰的人类癌细胞,其中修饰的人类癌细胞包含:(a)一种或多种重组多核苷酸,其各自编码HLA I类基因的等位基因(例如,用于在细胞中表达重组I类MHC蛋白);和(b)一种或多种重组多核苷酸,其各自编码HLA II类基因的等位基因(例如,用于在细胞中表达重组II类MHC蛋白),其中细胞内源的一种或多种HLA等位基因已被失活。

[0005] 在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞包含(a)编码HLA I类基因的第一等位基因的第一重组多核苷酸和编码HLA I类基因的第二等位基因的第二重组多核苷酸,或(a)编码HLA I类基因的第一等位基因的第一重组多核苷酸和编码第二HLA I类基因的等位基因的第二重组多核苷酸。在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞还包含(b)编码第一HLA II类基因的等位基因的第一重组多核苷酸和编码第二HLA II类基因的等位基因的第二重组多核苷酸,或(b)编码HLA II类基因的第一等位基因的第一重组多核苷酸和编码HLA II类基因的第二等位基因的第二重组多核苷酸。

[0006] 在一些实施方案中,HLA I类基因包括HLA-A基因、HLA-B基因、HLA-C基因、HLA-E基因、HLA-F基因、HLA-G基因、 β -2-微球蛋白(B2M)基因或以上的组合。在一些实施方案中,HLA-A基因的等位基因包括HLA-A*01:01等位基因、HLA-A*02:01等位基因、HLA-A*02:06等位基因、HLA-A*03:01等位基因、HLA-A*11:01等位基因、HLA-A*23:01等位基因、HLA-A*24:02等位基因、HLA-A*26:01等位基因、HLA-A*29:02等位基因、HLA-A*31:01等位基因、HLA-A*32:01等位基因、HLA-A*33:03等位基因、HLA-A*68:01等位基因或以上的组合。

[0007] 在一些实施方案中,HLA-A基因的等位基因包括:(i)HLA-A*01:01等位基因和HLA-A*68:01等位基因;(ii)HLA-A*02:01等位基因和HLA-A*11:01等位基因;(iii)HLA-A*03:01

等位基因和HLA-A*23:01等位基因;或(iv)HLA-A*33:03等位基因和任选的HLA-A*24:02等位基因。

[0008] 在各种实施方案中,HLA II类基因包括HLA II类 α 亚基基因、HLA II类 β 亚基基因或以上的组合。在一些实施方案中,HLA II类基因包括HLA-DP基因、HLA-DM基因、HLA-DO基因、HLA-DQ基因、HLA-DR基因或以上的组合。在一些实施方案中,HLA-DM基因包括HLA-DMA基因、HLA-DMB基因或以上的组合。在一些实施方案中,HLA-DR基因包括HLA-DRA基因、HLA-DRB1基因、HLA-DRB3基因、HLA-DRB4基因、HLA-DRB5基因或以上的组合。

[0009] 在一些实施方案中,HLA-DR基因是包括HLA-DRB3*01:01等位基因、HLA-DRB3*02:02等位基因、HLA-DRB3*03:01等位基因或以上的组合的HLA-DRB3基因。在一些实施方案中,HLA-DR基因是包括HLA-DRB4*01:01等位基因、HLA-DRB4*01:03等位基因或以上的组合的HLA-DRB4基因。在一些实施方案中,HLA-DR基因是包括HLA-DRB5*01:01等位基因、HLA-DRB5*01:02等位基因、HLA-DRB5*02:02等位基因或以上的组合的HLA-DRB5基因。

[0010] 在某些实施方案中,HLA-DR基因的等位基因包括:(i)HLA-DRB3*02:02等位基因和HLA-DRB5*01:01等位基因;(ii)HLA-DRB4*01:01等位基因和HLA-DRB3*01:01等位基因;(iii)HLA-DRB3*03:01等位基因和HLA-DRB5*01:02等位基因;或(iv)HLA-DRB5*02:02等位基因和HLA-DRB3*01:01等位基因。

[0011] 在某些其它实施方案中,HLA-DR基因的等位基因包括:(i)HLA-DRB3*02:02等位基因和HLA-DRB4*01:01等位基因;(ii)HLA-DRB4*01:01等位基因和HLA-DRB3*03:01等位基因;(iii)HLA-DRB3*01:01等位基因和HLA-DRB5*01:02等位基因;或(iv)HLA-DRB5*01:01等位基因和HLA-DRB5*02:02等位基因。

[0012] 在特定实施方案中,修饰的人类癌细胞包含一种或多种重组多核苷酸,所述重组多核苷酸各自编码与SEQ ID NO:22-29中任一个的多核苷酸序列具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的人类白细胞抗原(HLA) I类基因的等位基因。在特定实施方案中,修饰的人类癌细胞包含一种或多种重组多核苷酸,所述重组多核苷酸各自编码与SEQ ID NO:30-35中任一个的多核苷酸序列具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的人类白细胞抗原(HLA) II类基因的等位基因。在特定实施方案中,修饰的人类癌细胞包含(a)一种或多种重组多核苷酸,其各自编码与SEQ ID NO:22-29中任一个的多核苷酸序列具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的人类白细胞抗原(HLA) I类基因的等位基因,和(b)一种或多种重组多核苷酸,其各自编码与SEQ ID NO:30-35中任一个的多核苷酸序列具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的人类白细胞抗原(HLA) II类基因的等位基因。

[0013] 在特定实施方案中,修饰的人类癌细胞包含一种或多种重组多核苷酸,所述重组多核苷酸各自编码具有SEQ ID NO:22-29中任一个的多核苷酸序列的人类白细胞抗原(HLA) I类基因的等位基因。在特定实施方案中,修饰的人类癌细胞包含一种或多种重组多核苷酸,所述重组多核苷酸各自编码具有SEQ ID NO:30-35中任一个的多核苷酸序列的人类白细胞抗原(HLA) II类基因的等位基因。在特定实施方案中,修饰的人类癌细胞包含(a)一种或多种重组多核苷酸,其各自编码具有SEQ ID NO:22-29中任一个的多核苷酸序列的人类白细胞抗原(HLA) I类基因的等位基因,和(b)一种或多种重组多核苷酸,其各自编码具

有SEQ ID NO:30-35中任一个的多核苷酸序列的人类白细胞抗原 (HLA) II类基因的等位基因。

[0014] 在另一方面,本公开内容提供了修饰的人类癌细胞,其包含:(a) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*01:01等位基因、HLA-A*68:01等位基因、HLA-DRB3*02:02等位基因和HLA-DRB5*01:01等位基因中的至少一种;(b) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*02:01等位基因、HLA-A*11:01等位基因、HLA-DRB4*01:01等位基因和HLA-DRB3*01:01等位基因中的至少一种;(c) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*03:01等位基因、HLA-A*23:01等位基因、HLA-DRB3*03:01等位基因和HLA-DRB5*01:02等位基因中的至少一种;和/或(d) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*24:02等位基因、HLA-A*33:03等位基因、HLA-DRB5*02:02等位基因和HLA-DRB3*01:01等位基因中至少一种,其中细胞内源的一种或多种HLA等位基因已被失活。在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞包含:(a) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*01:01等位基因、HLA-A*68:01等位基因、HLA-DRB3*02:02等位基因和HLA-DRB5*01:01等位基因;(b) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*02:01等位基因、HLA-A*11:01等位基因、HLA-DRB4*01:01等位基因和HLA-DRB3*01:01等位基因;(c) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*03:01等位基因、HLA-A*23:01等位基因、HLA-DRB3*03:01等位基因和HLA-DRB5*01:02等位基因;和/或(d) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*24:02等位基因、HLA-A*33:03等位基因、HLA-DRB5*02:02等位基因和HLA-DRB3*01:01等位基因,其中细胞内源的一种或多种HLA等位基因已被失活。在特定实施方案中,重组多核苷酸包含编码本文所述的等位基因的一个或多个密码子优化的序列(例如,SEQ ID NO:22-35)。

[0015] 在又一方面,本公开内容提供了修饰的人类癌细胞,其包含:(a) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*01:01等位基因、HLA-A*68:01等位基因、HLA-DRB3*02:02等位基因和HLA-DRB4*01:01等位基因中的至少一种;(b) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*02:01等位基因、HLA-A*11:01等位基因、HLA-DRB4*01:01等位基因和HLA-DRB3*03:01等位基因中的至少一种;(c) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*03:01等位基因、HLA-A*23:01等位基因、HLA-DRB3*01:01等位基因和HLA-DRB5*01:02等位基因中的至少一种;和/或(d) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*33:03等位基因、HLA-DRB5*01:01等位基因和HLA-DRB5*02:02等位基因中至少一种,其中细胞内源的一种或多种HLA等位基因已被失活。在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞包含:(a) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*01:01等位基因、HLA-A*68:01等位基因、HLA-DRB3*02:02等位基因和HLA-DRB4*01:01等位基因;(b) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*02:01等位基因、HLA-A*11:01等位基因、HLA-DRB4*01:01等位基因和HLA-DRB3*03:01等位基因;(c) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*03:01等位基因、HLA-A*23:01等位基因、HLA-DRB3*01:01等位基因和HLA-DRB5*01:02等位基因;和/或(d) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*33:03等位基因、HLA-DRB5*01:01等位基因和HLA-DRB5*02:02等位基因,其中细胞内源的一种或多种HLA等位基因已被失活。(d) 的修饰的人类癌细胞还可以包含HLA-A*24:02等位基因。在特定实施方案中,重组多核苷酸包含编码本文所述的等位基因的一个或多个密码子优化的序列(例如,SEQ ID NO:22-35)。

[0016] 在各种实施方案中,修饰的人类癌细胞还包含编码细胞因子的重组多核苷酸。在一些实施方案中,细胞因子包括趋化因子、干扰素、白细胞介素、肿瘤坏死因子或以上的组合。在一些实施方案中,编码细胞因子的重组多核苷酸包括编码以下的重组多核苷酸:早期T细胞激活抗原-1(ETA-1)、淋巴细胞激活因子(LAF)、白细胞介素-1家族成员(IL-1 α 、IL-1 β 、

IL-1Ra、IL-18、IL-33、IL-36Ra、IL-36 α 、IL-36 β 、IL-36 γ 、IL-37、IL-38)、白细胞介素-2(IL-2)、白细胞介素-3(IL-3)、白细胞介素-4(IL-4)、白细胞介素-5(IL-5)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-7(IL-7)、白细胞介素-8(IL-8)、白细胞介素-9(IL-9)、白细胞介素-10(IL-10)、白细胞介素-12(IL-12)、白细胞介素-13(IL-13)、白细胞介素-15(IL-15)、白细胞介素-17(IL-17)、白细胞介素-18(IL-18)、白细胞介素-21(IL-21)、白细胞介素-23(IL-23)、白细胞介素-25(IL-25)、白细胞介素-33(IL-33)、干扰素 α (IFN- α)、干扰素 λ 1(IFN λ 1(IL-29))、干扰素 λ 2(IFN λ 2(IL-28A))、干扰素 λ 3(IFN λ 3(IL-28B))、干扰素 λ 4(IFN λ 4)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、巨噬细胞CSF(CSF-1)、巨噬细胞迁移抑制因子(MIF)、CD40L分子(CD40L)、RANTES分子(RANTES)、单核细胞趋化蛋白(MCP-1)、单核细胞炎性蛋白(MIP-1 α 、MIP-1 β)、淋巴细胞趋化因子、分形趋化因子或以上的组合。在一些实施方案中,细胞因子包括粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)。在一些实施方案中,细胞因子包括干扰素 α (IFN- α),诸如例如IFN- α 2a或IFN- α 2b。在一些实施方案中,细胞因子包括GM-CSF和(IFN- α),优选IFN- α 2a或IFN- α 2b。在一些实施方案中,IFN- α 是包括聚乙二醇化(pegylated)的IFN- α 2a的外源蛋白。

[0017] 在一些实施方案中,细胞因子包括由与SEQ ID NO:39具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的多核苷酸编码的粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)。在一些实施方案中,细胞因子包括由与SEQ ID NO:40具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的多核苷酸编码的干扰素 α (IFN- α)。在一些实施方案中,细胞因子包括GM-CSF和IFN- α ,诸如例如IFN- α 2a或IFN- α 2b。在一些实施方案中,编码GM-CSF的重组多核苷酸包含SEQ ID NO:39。在一些实施方案中,编码IFN- α 的重组多核苷酸包含SEQ ID NO:40。在一些实施方案中,细胞因子包括白细胞介素-7(IL-7)。在一些实施方案中,细胞因子包括由与SEQ ID NO:41具有至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少90%、至少95%或至少99%同一性的多核苷酸编码的IL-7。在一些实施方案中,编码IL-7的重组多核苷酸包含SEQ ID NO:41。在一些实施方案中,细胞因子包括由与SEQ ID NO:42具有至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少90%、至少95%或至少99%同一性的多核苷酸编码的IL-7。在一些实施方案中,编码IL-7的重组多核苷酸包含SEQ ID NO:42。在一些实施方案中,细胞因子包括白细胞介素-12(IL-12)。在一些实施方案中,细胞因子包括含有亚基p40和p35的IL-12的生物活性形式。在一些实施方案中,细胞因子包括由与SEQ ID NO:44具有至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少90%、至少95%或至少99%同一性的多核苷酸编码的IL-12。在一些实施方案中,编码IL-12的重组多核苷酸包含SEQ ID NO:44。

[0018] 在各种实施方案中,修饰的人类癌细胞还包含编码共刺激分子的重组多核苷酸。在一些实施方案中,编码共刺激分子的重组多核苷酸包括编码以下的重组多核苷酸:CD86分子(CD86)、CD80分子(CD80)、4-1BBL配体分子(4-1BBL,也称为TNFSF9或CD137L)、ICOS配体分子(ICOS-L)、CD70分子(CD70,又名CD27L)、CD40分子(CD40)、OX40配体分子(OX40L)、GITR配体分子(GITRL)、TIM-4分子(TIM-4)、LIGHT分子(LIGHT)、ICAM1分子(ICAM1)、LFA3分子(LFA3)、CD30分子(CD30)或以上的组合。

[0019] 在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞还包含编码病原体抗原、肿瘤相关抗原、新抗原、变应原、作为自身免疫应答的靶标的抗原、以上的片段或以上的组合的重组多核苷

酸。

[0020] 在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞内源的一种或多种HLA-A和/或HLA-DR等位基因已被失活。在一些实施方案中,一种或多种HLA-A等位基因包括HLA-A*24:02等位基因和/或HLA-A*11:01等位基因。在一些实施方案中,一种或多种HLA-DR等位基因包括一种或多种HLA-DRB3等位基因。在一些实施方案中,一种或多种HLA-DRB3等位基因包括HLA-DRB3*01:01等位基因和/或HLA-DRB3*02:02等位基因。

[0021] 在上文实施方案的任一个中,修饰的人类癌细胞中存在的一种或多种重组多核苷酸存在于细胞中的载体上。在一些实施方案中,各自编码HLA I类基因的等位基因的一种或多种重组多核苷酸和各自编码HLA II类基因的等位基因的一种或多种重组多核苷酸存在于细胞中的相同载体上。在一些实施方案中,载体包含各自编码HLA I类基因的等位基因的两种重组多核苷酸。在其它实施方案中,载体包含各自编码HLA II类基因的等位基因的两种重组多核苷酸。在其它实施方案中,载体包含各自编码HLA I类基因的等位基因的两种重组多核苷酸和各自编码HLA II类基因的等位基因的两种重组多核苷酸。在其它实施方案中,各自编码HLA I类基因的等位基因的一种或多种重组多核苷酸和各自编码HLA II类基因的等位基因的一种或多种重组多核苷酸存在于细胞中的单独载体上。在其它实施方案中,各自编码HLA I类基因的两种等位基因的一种或多种重组多核苷酸和各自编码HLA II类基因的两种等位基因的一种或多种重组多核苷酸存在于细胞中的单独载体上。

[0022] 在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞中存在的重组多核苷酸中的一种或多种包含与SEQ ID NO:22-35中的任一个具有至少85%同一性的序列。在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞中存在的重组多核苷酸中的一种或多种包含编码与SEQ ID NO:22-35中的任一个编码的多肽具有至少85%同一性的多肽的序列。在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞中存在的重组多核苷酸中的一种或多种包含SEQ ID NO:22-35中任一个的序列。

[0023] 在一些实施方案中,人类癌细胞是人类癌细胞系。在某些实施方案中,人类癌细胞系是乳腺癌细胞系(例如,SV-BR-1)、前列腺癌细胞系(例如,PC-3、LNCaP)、黑色素瘤细胞系(例如,SK-MEL-24)或肺癌细胞系(例如,NCI-H2228)。

[0024] 在各种实施方案中,修饰的人类癌细胞中存在的一种或多种重组多核苷酸各自包含在编码第一HLA等位基因和第二HLA等位基因的多核苷酸序列之间的异源多核苷酸序列。在一些实施方案中,异源多核苷酸序列编码一种或多种自切割肽。在一些实施方案中,自切割肽位于第一HLA等位基因的3'末端和第二HLA等位基因的5'末端。在一些实施方案中,自切割肽包括T2A、P2A、E2A和/或以上的组合。在一些实施方案中,异源多核苷酸序列是非编码序列。

[0025] 在另一方面,本公开内容提供了修饰的人类癌细胞,其包含:(a)一种或多种载体,其各自包含编码选自以下的至少一种基因的重组多核苷酸:GM-CSF、IFN- α 、CD86、IL-12、CD80、HLA-DRA、IL-7和4-1BBL;(b)一种或多种载体,其各自包含编码选自以下的至少一种HLA-A等位基因的重组多核苷酸:HLA-A*01:01等位基因、HLA-A*68:01等位基因、HLA-A*02:01等位基因、HLA-A*11:01等位基因、HLA-A*03:01等位基因、HLA-A*23:01等位基因,HLA-A*24:02和HLA-A*33:03等位基因;和/或(c)一种或多种载体,其各自包含编码选自以下的至少一种HLA-DR等位基因的重组多核苷酸:HLA-DRB3*02:02、HLA-DRB5*01:01、HLA-DRB4*01:01、HLA-DRB3*01:01、HLA-DRB3*03:01、HLA-DRB5*01:02和/或HLA-DRB5*02:02,其中细胞内

源的一种或多种HLA等位基因已被失活。

[0026] 在某些实施方案中,修饰的人类癌细胞包含:(a)四种载体,其各自包含编码选自以下的两种不同基因的重组多核苷酸:GM-CSF、IFN- α 、CD86、IL-12、CD80、HLA-DRA、IL-7和4-1BBL。在某些其它实施方案中,修饰的人类癌细胞包含:(b)一种载体,其包含编码以下的重组多核苷酸:HLA-A*01:01等位基因和HLA-A*68:01等位基因、或HLA-A*02:01等位基因和HLA-A*11:01等位基因、或HLA-A*03:01等位基因和HLA-A*23:01等位基因、或HLA-A*24:02等位基因和HLA-A*33:03等位基因;和/或(c)一种载体,其包含编码以下的重组多核苷酸:HLA-DRB3*02:02等位基因和HLA-DRB5*01:01等位基因、或HLA-DRB4*01:01等位基因和HLA-DRB3*01:01等位基因、或HLA-DRB3*03:01等位基因和HLA-DRB5*01:02等位基因、或HLA-DRB5*02:02等位基因和HLA-DRB3*01:01等位基因。

[0027] 在特定实施方案中,修饰的人类癌细胞包含:(a)四种载体,其各自包含编码选自以下的两个不同基因的重组多核苷酸:GM-CSF、IFN- α 、CD86、IL-12、CD80、HLA-DRA、IL-7和4-1BBL;(b)一种载体,其包含编码HLA-A*01:01等位基因和HLA-A*68:01等位基因的重组多核苷酸;和(c)一种载体,其包含编码HLA-DRB3*02:02等位基因和HLA-DRB5*01:01等位基因的重组多核苷酸。

[0028] 在特定实施方案中,修饰的人类癌细胞包含:(a)四种载体,其各自包含编码选自以下的两种不同基因的重组多核苷酸:GM-CSF、IFN- α 、CD86、IL-12、CD80、HLA-DRA、IL-7和4-1BBL;(b)一种载体,其包含编码HLA-A*02:01等位基因和HLA-A*11:01等位基因的重组多核苷酸;和(c)一种载体,其包含编码HLA-DRB4*01:01等位基因和HLA-DRB3*01:01等位基因的重组多核苷酸。

[0029] 在特定实施方案中,修饰的人类癌细胞包含:(a)四种载体,其各自包含编码选自以下的两种不同基因的重组多核苷酸:GM-CSF、IFN- α 、CD86、IL-12、CD80、HLA-DRA、IL-7和4-1BBL;(b)一种载体,其包含编码HLA-A*03:01等位基因和HLA-A*23:01等位基因的重组多核苷酸;和(c)一种载体,其包含编码HLA-DRB3*03:01等位基因和HLA-DRB5*01:02等位基因的重组多核苷酸。

[0030] 在特定实施方案中,修饰的人类癌细胞包含:(a)四种载体,其各自包含编码选自以下的两种不同基因的重组多核苷酸:GM-CSF、IFN- α 、CD86、IL-12、CD80、HLA-DRA、IL-7和4-1BBL;(b)一种载体,其包含编码HLA-A*24:02等位基因和HLA-A*33:03等位基因的重组多核苷酸;和(c)一种载体,其包含编码HLA-DRB5*02:02等位基因和HLA-DRB3*01:01等位基因的重组多核苷酸。

[0031] 在各种实施方案中,细胞内源的一种或多种HLA-A和/或HLA-DR等位基因已被失活。在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞中的一种或多种失活的内源HLA-A等位基因包括HLA-A*24:02等位基因和/或HLA-A*11:01等位基因。在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞中的一种或多种失活的内源HLA-DR等位基因包括一种或多种HLA-DRB3等位基因。在一些实施方案中,一种或多种失活的内源HLA-DRB3等位基因包括HLA-DRB3*01:01等位基因和/或HLA-DRB3*02:02等位基因。

[0032] 在一些实施方案中,重组多核苷酸中的一种或多种包含与SEQ ID NO:22-44中的任一个具有至少85%同一性的序列。在一些实施方案中,重组多核苷酸中的一种或多种包含SEQ ID NO:22-44中任一个的序列。

[0033] 在一些实施方案中,人类癌细胞是人类癌细胞系。在某些实施方案中,人类癌细胞系是乳腺癌细胞系(例如,SV-BR-1)、前列腺癌细胞系(例如,PC-3、LNCaP)、黑色素瘤细胞系(例如,SK-MEL-24)或肺癌细胞系(例如,NCI-H2228)。

[0034] 在一些实施方案中,本文所述的修饰的人类癌细胞是无复制能力的修饰的人类癌细胞。在一些实施方案中,通过辐照、冻融和/或丝裂霉素C处理使修饰的人类癌细胞成为无复制能力的。在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞是人类癌细胞系。在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞还包含失活的CD47分子。在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞还包含失活的Ii (CD74) 分子。

[0035] 在另一方面,本公开内容提供了包含本文所述的修饰的人类癌细胞的组合物。在一些实施方案中,组合物包含至少1,000,000个细胞。在一些实施方案中,包含本文所述的修饰的人类癌细胞的组合物被配制为药物组合物并且还包含药学上可接受的载体。在一些实施方案中,药物组合物还包含冷冻保护剂。

[0036] 在另一方面,本公开内容提供了用于治疗对象中的癌症的方法,方法包括向对象施用治疗有效量的本文所述的药物组合物。在一些实施方案中,每周施用药物组合物。在一些实施方案中,药物组合物以至少1,000,000个细胞的剂量施用。在一些实施方案中,在对象的上背部或大腿中皮内施用药物组合物。在一些实施方案中,方法还包括在施用药物组合物之前至少2天,向对象施用治疗有效量的环磷酰胺。在一些实施方案中,方法还包括在施用药物组合物的之后至少1小时和至少1天,向对象施用治疗有效量的IFN- α 2a、聚乙二醇化的IFN- α 2a或IFN- α 2b。

[0037] 在另一方面,本公开内容提供了用于治疗患有癌症的有需要的对象的套装产品,所述套装产品包含本文所述的药物组合物。在一些实施方案中,套装产品还包含治疗有效量的IFN- α 2b。套装产品可以包含使用本文所述的任何方法治疗对象的说明书。

[0038] 在另一方面,本公开内容提供了载体,其包含:(a) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*02:01等位基因、HLA-A*11:01等位基因、HLA-DRB4*01:01等位基因和HLA-DRB3*03:01等位基因;(b) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*01:01等位基因、HLA-A*68:01等位基因、HLA-DRB3*02:02等位基因和HLA-DRB4*01:01等位基因;(c) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*03:01等位基因、HLA-A*23:01等位基因、HLA-DRB3*01:01等位基因和HLA-DRB5*01:02等位基因;和/或(d) 重组多核苷酸,其编码HLA-A*33:03等位基因、HLA-DRB5*01:01等位基因和HLA-DRB5*02:02等位基因,其中(a)-(d)中的每种重组多核苷酸还包含编码两种HLA等位基因之间的自切割肽的多核苷酸。在一些实施方案中,(d)中的载体还包含编码HLA-A*24:02等位基因的重组多核苷酸。在一些实施方案中,编码自切割肽的多核苷酸位于第一HLA等位基因的3'末端和第二HLA等位基因的5'末端。在一些实施方案中,自切割肽包括T2A、P2A、E2A和/或以上的组合。

[0039] 在各种实施方案中,存在于本文所述的载体中的(a)-(d)中的任一个中的重组多核苷酸包含与SEQ ID NO:22-35中的任一个具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的序列中的至少一个。在一些实施方案中,存在于载体中的(a)-(d)中的任一个的重组多核苷酸包含编码与SEQ ID NO:22-35中的任一个编码的多肽具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的多肽的序列。在一些实施方案中,重组多核苷酸包含SEQ ID NO:22-35中的任一个的至

少一个。在一些实施方案中,重组多核苷酸包含MNDU3启动子。

[0040] 在一些实施方案中,存在于本文所述的载体中的(a)-(d)中的任一个中的重组多核苷酸包含与SEQ ID NO:22-29中的任一个具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的HLA I类基因。在一些实施方案中,存在于本文所述的载体中的(a)-(d)中的任一个中的重组多核苷酸包含与SEQ ID NO:30-35中的任一个具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的HLA II类基因。在一些实施方案中,存在于本文所述的载体中的(a)-(d)中的任一个中的重组多核苷酸包含与SEQ ID NO:22-29中的任一个具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的HLA I类基因和与SEQ ID NO:30-35中的任一个具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的HLA II类基因。

[0041] 在一些实施方案中,存在于本文所述的载体中的(a)-(d)中的任一个中的重组多核苷酸包含具有SEQ ID NO:22-29中任一个的多核苷酸序列的HLA I类基因。在一些实施方案中,存在于本文所述的载体中的(a)-(d)中的任一个中的重组多核苷酸包含具有SEQ ID NO:30-35中任一个的多核苷酸序列的HLA II类基因。在一些实施方案中,存在于本文所述的载体中的(a)-(d)中任一个中的重组多核苷酸包含具有SEQ ID NO:22-29中任一个的多核苷酸序列的HLA I类基因和具有SEQ ID NO:30-35中任一个的多核苷酸序列的HLA II类基因。

[0042] 在各种实施方案中,载体还包含编码细胞因子的重组多核苷酸。在一些实施方案中,细胞因子包括趋化因子、干扰素、白细胞介素、肿瘤坏死因子或以上的组合。在一些实施方案中,编码细胞因子的重组多核苷酸包括编码以下的重组多核苷酸:早期T细胞激活抗原-1(ETA-1)、淋巴细胞激活因子(LAF)、白细胞介素-1家族成员(IL-1 α 、IL-1 β 、IL-1Ra、IL-18、IL-33、IL-36Ra、IL-36 α 、IL-36 β 、IL-36 γ 、IL-37、IL-38)、白细胞介素-2(IL-2)、白细胞介素-3(IL-3)、白细胞介素-4(IL-4)、白细胞介素-5(IL-5)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-7(IL-7)、白细胞介素-8(IL-8)、白细胞介素-9(IL-9)、白细胞介素-10(IL-10)、白细胞介素-12(IL-12)、白细胞介素-13(IL-13)、白细胞介素-15(IL-15)、白细胞介素-17(IL-17)、白细胞介素-18(IL-18)、白细胞介素-21(IL-21)、白细胞介素-23(IL-23)、白细胞介素-25(IL-25)、白细胞介素-33(IL-33)、干扰素 α (IFN- α)、干扰素 λ 1(IFN λ 1(IL-29))、干扰素 λ 2(IFN λ 2(IL-28A))、干扰素 λ 3(IFN λ 3(IL-28B))、干扰素 λ 4(IFN λ 4)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、巨噬细胞CSF(CSF-1)、巨噬细胞迁移抑制因子(MIF)、CD40L分子(CD40L)、RANTES分子(RANTES)、单核细胞趋化蛋白(MCP-1)、单核细胞炎性蛋白(MIP-1 α 、MIP-1 β)、淋巴细胞趋化因子、分形趋化因子或以上的组合。在一些实施方案中,细胞因子包括粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)。在一些实施方案中,细胞因子包括干扰素 α (IFN- α),例如IFN- α 2a或IFN- α 2b。在一些实施方案中,细胞因子包括GM-CSF和IFN- α ,优选IFN- α 2a或IFN- α 2b。

[0043] 在一些实施方案中,载体还包含编码共刺激分子的重组多核苷酸。在一些实施方案中,编码共刺激分子的重组多核苷酸包括编码以下的重组多核苷酸:CD86分子(CD86)、CD80分子(CD80)、4-1BB配体分子(4-1BBL,又名CD137L)、ICOS配体分子(ICOS-L)、CD70分子(CD70,又名CD27L)、CD40分子(CD40)、OX40配体分子(OX40L)、GITR配体分子(GITRL)、TIM-4

分子(TIM-4)、LIGHT分子(LIGHT)、ICAM1分子(ICAM1)、LFA3分子(LFA3)、CD30分子(CD30)或以上的组合。

[0044] 在一些实施方案中,载体还包含编码病原体抗原、肿瘤相关抗原、新抗原、变应原、作为自身免疫应答的靶标的抗原、以上的片段或以上的组合的重组多核苷酸。

[0045] 在另一方面,本公开内容提供了重组多核苷酸,其包含编码与SEQ ID NO:22-29中的任一个具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的HLA I类基因的等位基因的序列和任选的至少一个异源多核苷酸序列。在一些实施方案中,重组多核苷酸包含SEQ ID NO:22-29中任一个的序列。在一些实施方案中,重组多核苷酸包含编码与SEQ ID NO:22-29中的任一个编码的多肽具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的多肽的序列。在一些实施方案中,编码HLA I类基因的等位基因的重组多核苷酸包含SEQ ID NO:22-29中任一个的序列。在一些实施方案中,重组多核苷酸还包含编码HLA I类基因的第二等位基因或第二HLA I类基因的等位基因的重组多核苷酸。

[0046] 在一些实施方案中,重组多核苷酸还包含编码HLA II类基因的等位基因的重组多核苷酸。在一些实施方案中,编码HLA II类基因的等位基因的重组多核苷酸与SEQ ID NO:30-35中的任一个具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的同一性。在一些实施方案中,重组多核苷酸包含SEQ ID NO:30-35中任一个的序列。在一些实施方案中,重组多核苷酸包含编码与SEQ ID NO:30-35中任一个编码的多肽具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的多肽的序列。在一些实施方案中,编码HLA II类基因的等位基因的重组多核苷酸包含SEQ ID NO:30-35中任一个的序列。

[0047] 在各种实施方案中,重组多核苷酸包含编码细胞因子的氨基酸序列的异源多核苷酸序列。在一些实施方案中,细胞因子包括趋化因子、干扰素、白细胞介素、肿瘤坏死因子或以上的组合。在一些实施方案中,编码细胞因子的异源多核苷酸序列包括编码以下的异源多核苷酸序列:早期T细胞激活抗原-1(ETA-1)、淋巴细胞激活因子(LAF)、白细胞介素-1家族成员(IL-1 α 、IL-1 β 、IL-1Ra、IL-18、IL-33、IL-36Ra、IL-36 α 、IL-36 β 、IL-36 γ 、IL-37、IL-38)、白细胞介素-2(IL-2)、白细胞介素-3(IL-3)、白细胞介素-4(IL-4)、白细胞介素-5(IL-5)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-7(IL-7)、白细胞介素-8(IL-8)、白细胞介素-9(IL-9)、白细胞介素-10(IL-10)、白细胞介素-12(IL-12)、白细胞介素-13(IL-13)、白细胞介素-15(IL-15)、白细胞介素-17(IL-17)、白细胞介素-18(IL-18)、白细胞介素-21(IL-21)、白细胞介素-23(IL-23)、白细胞介素-25(IL-25)、白细胞介素-33(IL-33)、干扰素 α (IFN- α)、干扰素 λ 1(IFN λ 1(IL-29))、干扰素 λ 2(IFN λ 2(IL-28A))、干扰素 λ 3(IFN λ 3(IL-28B))、干扰素 λ 4(IFN λ 4)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、巨噬细胞CSF(CSF-1)、巨噬细胞迁移抑制因子(MIF)、CD40L分子(CD40L)、RANTES分子(RANTES)、单核细胞趋化蛋白(MCP-1)、单核细胞炎性蛋白(MIP-1 α 、MIP-1 β)、淋巴细胞趋化因子、分形趋化因子或以上的组合。在一些实施方案中,细胞因子包括粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)。在一些实施方案中,细胞因子包括干扰素 α (IFN- α),例如IFN- α 2a或IFN- α 2b。在一些实施方案中,细胞因子包括GM-CSF和IFN- α ,优选IFN- α 2a或IFN- α 2b。在一些实施方案中,IFN- α 是包括聚乙二醇化的IFN- α 2a的外源蛋白。

[0048] 在各种实施方案中,重组多核苷酸包含编码两种HLA等位基因之间的一种或多种自切割肽的异源多核苷酸序列。在一些实施方案中,重组多核苷酸包含编码HLA等位基因和另一HLA等位基因、细胞因子、共刺激分子或以上的组合之间的一种或多种自切割肽的异源多核苷酸序列。在一些实施方案中,自切割肽位于第一HLA等位基因的3'末端和第二HLA等位基因的5'末端。在一些实施方案中,自切割肽包括T2A、P2A、E2A或以上的组合。

[0049] 在一些实施方案中,重组多核苷酸包含含有启动子的异源多核苷酸序列。在一些实施方案中,启动子包括MNDU3启动子或EF1 α 启动子。

[0050] 在各种实施方案中,重组多核苷酸包含编码共刺激分子的氨基酸序列的异源多核苷酸序列。在一些实施方案中,共刺激分子包括CD86分子(CD86)、CD80分子(CD80)、4-1BB配体分子(4-1BBL,又名CD137L)、ICOS配体分子(ICOS-L)、CD70分子(CD70,又名CD27L)、CD40分子(CD40)、OX40配体分子(OX40L)、GITR配体分子(GITRL)、TIM-4分子(TIM-4)、LIGHT分子(LIGHT)、ICAM1分子(ICAM1)、LFA3分子(LFA3)、CD30分子(CD30)或以上的组合。

[0051] 在一些实施方案中,重组多核苷酸包含异源多核苷酸序列,所述异源多核苷酸序列包含与SEQ ID NO:36-44中的任一个具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的序列。在一些实施方案中,异源多核苷酸包含编码与SEQ ID NO:36-44中的任一个编码的多肽具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的多肽的序列。在一些实施方案中,异源多核苷酸序列包含SEQ ID NO:36-44中任一个的序列。

[0052] 在一些实施方案中,异源多核苷酸序列编码病原体抗原、肿瘤相关抗原、新抗原、变应原、作为自身免疫应答的靶标的抗原、以上的片段或以上的组合的氨基酸序列。

附图简述

[0053] 图1描绘了BC1.68.3.4(BC1)的示意图。显示了具有四种HLA等位基因的插入物的质粒骨架PCC1-c,所述HLA等位基因包括HLA-A*01:01、HLA-A*68:01、HLA-DRB3*02:02和HLA-DRB4*01:01。质粒在5'末端含有巨细胞病毒(CMV)增强的启动子(CMV增强的5'LTR)。AMP:氨苄青霉素抗性基因。PSI:包装信号。RRE:Rev应答元件。cPPT:中央多聚嘌呤区。EF1a:EF1 α 启动子。MNDU3:MNDU3启动子。T2A、P2A和E2A:2A自剪接肽。

[0054] 图2描绘了BC2.11.4.3(BC2)的示意图。显示了具有四种HLA等位基因的插入物的质粒骨架PCC1-c,所述HLA等位基因包括HLA-A*02:01、HLA-A*11:01、HLA-DRB4*01:01和HLA-DRB3*03:01。质粒在5'末端含有巨细胞病毒(CMV)增强的启动子(CMV增强的5'LTR)。AMP:氨苄青霉素抗性基因。PSI:包装信号。RRE:Rev应答元件。cPPT:中央多聚嘌呤区。EF1a:EF1 α 启动子。MNDU3:MNDU3启动子。T2A、P2A和E2A:2A自剪接肽。

[0055] 图3描绘了BC3.23.3.5(BC3)的示意图。显示了具有四种HLA等位基因的插入物的质粒骨架PCC1-c,所述HLA等位基因包括HLA-A*03:01、HLA-A*23:01、HLA-DRB3*01:01和HLA-DRB5*01:02。质粒在5'末端含有巨细胞病毒(CMV)增强的启动子(CMV增强的5'LTR)。AMP:氨苄青霉素抗性基因。PSI:包装信号。RRE:Rev应答元件。cPPT:中央多聚嘌呤区。EF1a:EF1 α 启动子。MNDU3:MNDU3启动子。T2A、P2A和E2A:2A自剪接肽。

[0056] 图4描绘了BC24.33.5.5(BC4)的示意图。显示了具有四种HLA等位基因的插入物的质粒骨架PCC1-c,所述HLA等位基因包括HLA-A*24:02、HLA-A*33:03、HLA-DRB5*01:01和HLA-DRB5*02:02。质粒在5'末端含有巨细胞病毒(CMV)增强的启动子(CMV增强的5'LTR)。

AMP:氨苄青霉素抗性基因。PSI:包装信号。RRE:Rev应答元件。cPPT:中央多聚嘌呤区。EF1 α :EF1 α 启动子。MNDU3:MNDU3启动子。T2A、P2A和E2A:2A自剪接肽。

[0057] 图5描绘了分别呈现在T细胞和树突状细胞(DC)上的常见共刺激分子及其配体。

[0058] 图6描绘了Bria-IMT和Bria-OTS治疗的双重作用机制。SV-BR-1-GM细胞分泌支持DC呈递抗原的GM-CSF。细胞降解后,癌细胞抗原被DC摄取并呈递给CD4⁺和CD8⁺T细胞,所述T细胞诱导肿瘤定向的免疫应答。SV-BR-1-GM细胞还可以直接激活T细胞以刺激抗癌,作为对免疫应答的额外加强。

[0059] 图7描绘了开发Bria-OTS细胞系的实验策略。(A)首先通过CRISPR/Cas9 KO内源HLA-A/DRB基因,以产生Bria-KO细胞。GM-CSF和其它细胞因子和共刺激分子然后通过4种独特构建体的连续慢病毒转导而过表达,以产生Bria-APTC。最后,通过慢病毒转导过表达两种HLA-A和两种HLA-DRB等位基因,从而为每个亲本肿瘤细胞产生4个细胞系(Bria-OTS-1/2/3/4)的集合。(B)用以表达来自独立启动子的两种不同基因的慢病毒载体。用以产生Bria-APTC的细胞因子和共刺激分子(左表)。用以产生最终的Bria-OTS产物的HLA-A和HLA-DRB等位基因(右表)。

[0060] 图8描绘了在SV-BR-1-APTC中GM-CSF和细胞因子/共刺激分子的表达。SV-BR-1-KO克隆17依次用表达8种不同细胞因子和共刺激分子的慢病毒转导并克隆。(A)通过ELISA测量分泌的GM-CSF、IFN- α 、IL-12和IL-7的水平。(B)通过流式细胞术测量的SV-BR-1-APTC中表面受体CD86和CD80的表达。

[0061] 图9描绘了使用改良的MLR测定验证SV-BR-1-APTC。(A)将Bria-APTC或SV-BR-1-KO细胞与PBMC以不同比例孵育。在第1天、第2天、第3天和第7天,测量T细胞增殖和IFN γ 、IL-2和IL-4的分泌以评估T细胞激活。(B)将每孔10,000个SV-BR-1-KO或APTC在96孔板中与来自健康供体的PBMC以指定比例共培养。孵育24小时后,通过ELISA测量分泌的IFN γ 。N=3。

[0062] 图10描绘了前列腺来源的Bria-APTC的功能表征。将PC3-APTC或PC3KO细胞(在96孔板中10,000个/孔)单独或与PBMC以指定比例孵育24小时。通过ELISA测量上清液中的IFN γ 水平。

[0063] 图11描绘了在PC3-APTC中GM-CSF和细胞因子/共刺激分子的表达以及在PC3-Bria-OTS中HLA-A等位基因的表达。PC3-KO克隆A4依次用表达8种不同细胞因子和共刺激分子的慢病毒转导并克隆。(A)通过流式细胞术测量的PC3-APTC中表面受体CD86和CD80的表达。(B)通过流式细胞术测量的PC3-Bria-OTS细胞系中HLA-A等位基因的表达。(C)通过ELISA测量PC3-APTC中分泌的IL-7、GM-CSF和IL-12的水平。

[0064] 图12描绘了H2228和SK-MEL-24细胞中HLA等位基因的KO。通过流式细胞术在H2228-KO和SK-MEL-24-KO细胞的单克隆中测量与野生型(WT)细胞相比的HLA-DR的表达。

[0065] 图13描绘了使用TCR转基因Jurkat细胞验证HLA功能。

[0066] 图14描绘了使用T细胞激活生物测定(T Cell Activation Bioassay,NFAT)在PC3-Bria-OTS中验证HLA功能。测定由基因工程改造的Jurkat T细胞系组成,所述细胞系具有使用成簇规律间隔短回文重复(CRISPR)-Cas9敲除的内源TCR α 和 β 链。这些细胞还表达由TCR途径依赖性启动子驱动的荧光素酶报告基因。(A)用对WT1肽特异的TCR(HLA-A*24限制性)转导Jurkat细胞,并将其与指定的细胞系和适当的WT1肽孵育。6小时后,使用Bio-Glo-NLTM荧光素酶测定系统和标准发光计例如GloMax[®]Discover系统定量生物发光信号。转

基因HLA以与内源HLA相当的速率诱导T细胞激活。(B) 流式细胞术分析显示HLA-A*24在指定的细胞系中的表达。(C) 用对MAGE-A3肽特异的TCR (HLA-A*01限制性) 转导Jurkat细胞,并将其与指定的细胞系和适当的WT1肽孵育。6小时后,使用Bio-Glo-NLTM荧光素酶测定系统和标准发光计例如GloMax[®] Discover系统定量生物发光信号。转基因HLA以比内源HLA更高的速率诱导细胞激活。(D) 流式细胞术分析显示HLA-A*01在指定的细胞系中的表达。

[0067] 图15描绘了使用T细胞激活生物测定 (NFAT) 在SV-BR-1-Bria-OTS中验证HLA功能。测定由基因工程改造的Jurkat T细胞系组成,所述细胞系具有使用CRISPR-Cas9敲除的内源TCR α 和 β 链。这些细胞还表达由TCR途径依赖性启动子驱动的荧光素酶报告基因。用WT1肽特异的TCR (HLA-A*24限制性) 转导Jurkat细胞,并将其与指定的细胞系和适当的WT1肽孵育。6小时后,使用Bio-Glo-NLTM荧光素酶测定系统和标准发光计例如GloMax[®] Discover系统定量生物发光信号。

详述

I. 引言

[0068] 利用全细胞免疫治疗诱导有效的免疫应答是治疗和预防疾病例如癌症的有效方法。通常认为,为了有效,癌症疫苗需要表达在患者肿瘤细胞中共表达的免疫原性抗原,并且抗原呈递细胞 (APC) 例如树突状细胞 (DC) 需要在摄取疫苗细胞碎片后交叉呈递这些抗原。

[0069] 本公开内容至关重要的转型技术是治疗策略的开发,所述治疗策略解决了患有癌症的患者的安全和可靠治疗中的当前差距。本文所述的全细胞免疫治疗显著改进了先前开发全细胞治疗性疫苗的尝试,因为所公开的方法通过两种离散但互补的机制起作用,以刺激患者的免疫系统。特别地,本文所述的修饰的人类癌细胞具有癌细胞 (其表达肿瘤相关抗原) 和树突状细胞 (其将肿瘤相关抗原呈递给T细胞) 的特征。在某些方面,本文所述的修饰的人类癌细胞 (例如,Bria-OTS细胞系) 表达一种或多种免疫调节细胞因子、一种或多种共刺激分子、一种或多种人类主要组织相容性复合体-I (MHC-I) (例如,HLA-A、HLA-B、HLA-C) 分子和一种或多种MHC-II (例如,HLA-DRB3、HLA-DRB4、HLA-DRB5、HLA-DRA) 分子。本文所述的修饰的人类癌细胞可以以抗原特异性HLA限制性方式直接激活CD4⁺T细胞,并作为APC发挥功能。在某些方面,本文所述的修饰的人类癌细胞有利地提供以下特征:(a) 通过产生和呈递肿瘤相关抗原以在对象中引发免疫应答来实现强临床活性的双重作用机制;(b) 通过将治疗与基于HLA抗原的患者匹配来精确治疗;和(c) 通过减少或消除与可能威胁生命的严重不良事件相关的当前化学治疗和基于激素的治疗的使用来改进安全性。因此,本文所述的修饰的人类癌细胞可以提供癌症的快速且有成本效益的治疗。在一些情况下,修饰的人类癌细胞可以用作“现成的 (off-the-shelf)”细胞系,其不需要个性化制造,并且可以在患者HLA基因分型之后立即施用,或者作为细胞的混合物施用,以覆盖约70%至超过99%的癌症患者群体。

[0070] 在某些方面,本文所述的修饰的人类癌细胞是HER-2/neu阳性、同种异体、全细胞乳腺癌 (BC) 细胞系,其原位分泌粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF) 并增强用于乳腺癌免疫治疗的树突状细胞活性。此外,本文所述的修饰的人类癌细胞可以工程改造以表达多种HLA等位基因以匹配 (例如) 至少90%或超过99%的乳腺癌患者群体。例如,HLA-A和HLA-DRB3/4/5等位基因是多态性最少的HLA基因座,并且可以用最少数量的等位基因匹配

最大数量的患者。

[0071] 本文描述了用于癌症的靶向免疫治疗的修饰的人类癌细胞或细胞系的组合物。此外,提供了含有“现成的”细胞系的套装产品和用于在有需要的对象中预防或治疗癌症的方法。

定义

[0072] 除非另有具体说明,否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本公开内容所属领域的普通技术人员通常理解的相同的含义。此外,在本公开内容的实践中可以使用与本文所述的方法或材料类似或等同的任何方法或材料。为了本公开内容的目的,定义了以下术语。

[0073] 本文所用的术语“一个/一种(a)”、“一个/一种(an)”或“该(the)”不仅包括具有一个成员的方面,而是还包括具有一个以上成员的方面。例如,单数形式“一个/一种(a)”、“一个/一种(an)”和“该(the)”包括复数指示物,除非上下文另有明确规定。因此,例如,提及“一个细胞”包括多个这样的细胞,并且提及“该试剂”包括提及本领域技术人员已知的一种或多种试剂等等。

[0074] 术语“约”和“大致”通常意指给定测量的性质或精度测量的量的可接受的误差程度。典型的示例性的误差程度在给定值或值的范围的百分之20(%)内,优选在10%内,并且更优选在5%内。可选地,特别是在生物系统中,术语“约”和“大致”可以意指在给定值的一个数量级内的值,优选在给定值的5倍内,并且更优选在给定值的2倍内。除非另有说明,否则本文给出的数字量是近似的,这意味着术语“约”或“大致”可以在没有明确说明时推断出来。

[0075] 术语“对象”、“个体”和“患者”在本文中可互换使用,是指脊椎动物,优选哺乳动物,更优选人类。哺乳动物包括但不限于鼠科动物、大鼠、猿、人类、农场动物、运动动物和宠物。体内获得的或体外培养的生物实体的组织、细胞及其后代也包括在内。

[0076] 如本文所用,术语“施用”包括口服施用、局部接触、作为栓剂施用、静脉内、腹膜内、肌内、病灶内、瘤内、真皮内、淋巴内、鞘内、鼻内或皮下施用至对象。施用是通过任何途径,包括肠胃外和经黏膜(例如,口腔、舌下、腭、牙龈、鼻、阴道、直肠或经皮)。肠胃外施用包括例如静脉内、肌内、微动脉内、皮内、皮下、腹膜内、心室内和颅内。其它递送模式包括但不限于使用脂质体制剂、静脉内输注、透皮贴片等。

[0077] 术语“治疗”是指获得有益或期望结果的方法,所述结果包括但不限于治疗益处和/或预防益处。治疗益处意指在治疗中对一种或多种疾病、病况或症状的任何治疗上相关的改进或效果。治疗益处还可以意指实现治疗中的一种或多种疾病、病况或症状的治愈。

[0078] 术语“有效量”或“足够量”是指足以实现有益或期望结果的修饰的癌细胞或其它组合物的量。治疗有效量可以根据以下中的一种或多种而变化:正在治疗的对象和疾病状况、对象的体重和年龄、疾病状况的严重程度、施用的方式等,这可以由本领域普通技术人员容易地确定。具体的量可以根据以下的一种或多种而变化:所选择的特定药剂、靶细胞类型、对象中靶细胞的位置、所遵循的给药方案、其是否与其他化合物组合施用、施用的时间和携带其的物理递送系统。

[0079] 为了本文目的,有效量由本领域已知的这样的考虑因素来确定。该量必须在患有癌症的对象中有效地实现期望的治疗效果。期望的治疗效果可以包括例如与癌症相关的不

期望症状的改善、在这样的症状出现前预防它们的显现、减缓与癌症相关的症状的进展、减缓或限制由癌症引起的任何不可逆的损伤、减轻癌症的严重程度或治愈癌症,或提高存活率或提供从癌症的更快速的恢复。

[0080] 有效量尤其取决于待治疗疾病的类型和严重程度以及治疗方案。有效量通常在适当设计的临床试验(剂量范围研究)中确定,并且本领域技术人员将知道如何适当地进行这样的试验以确定有效量。如通常已知的,有效量取决于多种因素,包括治疗剂(例如,全细胞癌症疫苗)或组合物在体内的分布概况、多种药理学参数(例如,体内半衰期)与不期望的副作用之间的关系以及其他因素,例如年龄和性别等。

[0081] 术语“药学上可接受的载体”是指有助于将活性剂施用至细胞、有机体或对象的物质。“药学上可接受的载体”是指可以包含在本公开内容的组合物中并且不会对对象造成显著的不良毒理学作用的载体或赋形剂。药学上可接受的载体的非限制性实例包括水、氯化钠、生理盐水溶液、乳酸盐林格液、标准蔗糖、标准葡萄糖、粘合剂、填充剂、崩解剂、润滑剂、包衣剂、甜味剂、调味剂和着色剂、脂质体、分散介质、微胶囊、阳离子脂质载体、等渗剂和吸收延迟剂等。载体还可以是用于为制剂提供稳定性、无菌性和等渗性的物质(例如抗微生物防腐剂、抗氧化剂、螯合剂和缓冲液)、用于防止微生物作用的物质(例如抗微生物剂和抗真菌剂,例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、山梨酸等),或用于为制剂提供可食用的调味剂的物质等。在一些情况下,载体是促进修饰的癌细胞递送至靶细胞或组织的药剂。本领域技术人员将认识到其它药物载体可用于本公开内容中。

[0082] 本文所用的术语“核酸”或“核苷酸”是指含有单链或双链形式的至少两个脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸的聚合物,并且包括DNA、RNA及其杂交物。DNA可以是例如反义分子、质粒DNA、DNA-DNA双链体、预浓缩的DNA、PCR产物、载体(P1、PAC、BAC、YAC、人工染色体)、表达盒、嵌合序列、染色体DNA或这些组的衍生物和组合的形式。RNA可以是小干扰RNA(siRNA)、Dicer底物dsRNA、小发夹RNA(shRNA)、不对称干扰RNA(aiRNA)、微RNA(miRNA)、mRNA、tRNA、rRNA、病毒RNA(vRNA)及以上的组合的形式。核酸包括含有已知的核苷酸类似物或修饰的主链残基或连键的核酸,其是合成的、天然存在的和非天然存在的,并且具有与参考核酸相似的结合特性。这样的类似物的实例包括但不限于硫代磷酸酯、氨基磷酸酯、甲基磷酸酯、手性甲基磷酸酯、2'-O-甲基核糖核苷酸和肽核酸(PNA)。除非特别限定,否则术语包括含有天然核苷酸的已知类似物的核酸,其具有与参考核酸相似的结合特性。除非另有说明,否则特定的核酸序列也隐含地包括其保守修饰的变体(例如,简并密码子取代)、等位基因、直系同源物、SNP和互补序列以及明确指出的序列。具体而言,简并密码子取代可以通过产生其中一个或多个选择的(或所有的)密码子的第三位被混合碱基和/或脱氧肌苷残基取代的序列来实现(Batzer et al., Nucleic Acid Res., 19:5081 (1991); Ohtsuka et al., J. Biol. Chem., 260:2605-2608 (1985); Rossolini et al., Mol. Cell. Probes, 8:91-98 (1994))。“核苷酸”含有糖脱氧核糖(DNA)或核糖(RNA)、碱基和磷酸基团。核苷酸通过磷酸基团连接在一起。“碱基”包括嘌呤和嘧啶,所述嘌呤和嘧啶还包括天然化合物腺嘌呤、胸腺嘧啶、鸟嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶、肌苷和天然类似物,以及嘌呤和嘧啶的合成衍生物,所述合成衍生物包括但不限于放置新的反应性基团的修饰,所述基团例如但不限于胺、醇、硫醇、羧酸盐和烷基卤化物。

[0083] 术语“基因”意指涉及产生多肽链的DNA区段。DNA区段可以包含在基因产物的转

录/翻译和转录/翻译的调控中涉及的编码区(前导序列和尾随序列)之前和之后的区域,以及各个编码区段(外显子)之间的插入序列(内含子)。

[0084] 术语“载体”和“表达载体”是指重组或合成产生的核酸构建体,其具有允许特定多核苷酸序列在宿主细胞中转录的一系列特定的核酸元件。表达载体可以是质粒、病毒基因组或核酸片段的一部分。通常,表达载体包含与启动子可操作地连接的待转录的多核苷酸。术语“启动子”在本文中用于指指导核酸转录的核酸控制序列的阵列。如本文所用,启动子包含转录起始位点附近的必需核酸序列,例如,在聚合酶II型启动子的情况下,包含TATA元件。启动子还任选地包含远端增强子或抑制子元件,所述增强子或抑制子元件可以位于距转录起始位点多达几千个碱基对的位置。可以存在于表达载体中的其它元件包括增强转录(例如,增强子)和终止转录(例如,终止子)的元件。在本公开内容的上下文中,通过两种或更多种载体的共转染、多个或双向启动子的使用或者双顺反子或多顺反子载体的创建,可以实现多种基因(例如,终止HLA I类等位基因和/或HLA II类等位基因的多核苷酸)的共表达。基因共表达可以通过使用具有多个单独表达盒的质粒来驱动。通常,每种启动子为所表达的每种基因产生独特的mRNA转录本。双顺反子或多顺反子载体同时表达来自相同mRNA的两种或更多种单独的蛋白质。双顺反子载体可以含有内部核糖体进入位点(IRES)以允许从mRNA的内部区域开始翻译。含有一种或多种自切割2A肽的多顺反子载体是有利的,因为它们允许基因从同一表达盒共表达。在一些情况下,当仅包装质粒的一部分用于病毒递送时,或两种或更多种基因之间的相对表达水平是重要的时,多顺反子载体是优选的。

[0085] 术语“自切割肽”和“自切割2A肽”是指可以从相同mRNA产生等摩尔水平的多种基因的短肽。这些肽首次在小核糖核酸病毒中发现。自切割肽被认为通过使核糖体跳过在2A元件的C末端的肽键的合成,导致2A序列的末端和下游的下一个肽之间的分离而发挥功能。“切割”发生在C末端发现的甘氨酸和脯氨酸残基之间,这意味着上游顺反子通常在末端添加了几个额外的残基,而下游顺反子通常以脯氨酸开始。自切割肽的非限制性实例包括T2A、P2A、E2A和F2A。

[0086] “重组体”是指基因修饰的多核苷酸、多肽、细胞、组织或有机体。例如,重组多核苷酸(或重组多核苷酸的拷贝或互补物)是已经使用公知方法操作的多核苷酸。包含与第二多核苷酸(例如,编码序列)可操作地连接的启动子的重组表达盒可以包含由于人类操作(例如,通过描述于Sambrook et al., *Molecular Cloning-A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, (1989) 或 *Current Protocols in Molecular Biology Volumes 1-3*, John Wiley&Sons, Inc. (1994-1998) 的方法)而与第二多核苷酸异源的启动子。重组表达盒(或表达载体)通常包含自然界中未发现的多核苷酸组合。例如,人类操纵的限制性位点或质粒载体序列可以侧接或分离启动子与其它序列。重组蛋白是从重组多核苷酸表达的蛋白,并且重组细胞、组织和有机体是包含重组序列(多核苷酸和/或多肽)的那些细胞、组织和有机体。重组细胞是已经用重组核苷酸、表达载体或表达盒等修饰(例如,转染或转化)的细胞。

[0087] 术语“氨基酸”是指可以掺入到肽、多肽或蛋白质中的任何单体单位。氨基酸包括天然存在的 α -氨基酸及其立体异构体,以及非天然(非天然存在的)氨基酸及其立体异构体。给定氨基酸的“立体异构体”是指具有相同分子式和分子内键但键和原子的三维排列不同的异构体(例如,L-氨基酸和相应的D-氨基酸)。

[0088] 天然存在的氨基酸是由遗传密码编码的那些,以及后来被修饰的那些氨基酸,例如,羟脯氨酸、 γ -羧基谷氨酸和O-磷酸丝氨酸。天然存在的 α -氨基酸包括但不限于丙氨酸(Ala)、半胱氨酸(Cys)、天冬氨酸(Asp)、谷氨酸(Glu)、苯丙氨酸(Phe)、甘氨酸(Gly)、组氨酸(His)、异亮氨酸(Ile)、精氨酸(Arg)、赖氨酸(Lys)、亮氨酸(Leu)、甲硫氨酸(Met)、天冬酰胺(Asn)、脯氨酸(Pro)、谷氨酰胺(Gln)、丝氨酸(Ser)、苏氨酸(Thr)、缬氨酸(Val)、色氨酸(Trp)、酪氨酸(Tyr)及以上的组合。天然存在的 α -氨基酸的立体异构体包括但不限于D-丙氨酸(D-Ala)、D-半胱氨酸(D-Cys)、D-天冬氨酸(D-Asp)、D-谷氨酸(D-Glu)、D-苯丙氨酸(D-Phe)、D-组氨酸(D-His)、D-异亮氨酸(D-Ile)、D-精氨酸(D-Arg)、D-赖氨酸(D-Lys)、D-亮氨酸(D-Leu)、D-甲硫氨酸(D-Met)、D-天冬酰胺(D-Asn)、D-脯氨酸(D-Pro)、D-谷氨酰胺(D-Gln)、D-丝氨酸(D-Ser)、D-苏氨酸(D-Thr)、D-缬氨酸(D-Val)、D-色氨酸(D-Trp)、D-酪氨酸(D-Tyr)及以上的组合。

[0089] 非天然(非天然存在的)氨基酸包括但不限于氨基酸类似物、氨基酸模拟物、合成氨基酸、N-取代甘氨酸和L-或D-构型的N-甲基氨基酸,它们以类似于天然存在的氨基酸的方式发挥功能。例如,“氨基酸类似物”可以是非天然氨基酸,其具有与天然存在的氨基酸相同的基本化学结构(即,与氢、羧基基团、氨基基团键合的碳),但具有修饰的侧链基团或修饰的肽主链,例如,高丝氨酸、正亮氨酸、甲硫氨酸亚砷、甲硫氨酸甲基硫。“氨基酸模拟物”是指具有不同于氨基酸的一般化学结构的结构,但以类似于天然存在的氨基酸的方式发挥功能的化合物。氨基酸可以通过通常已知的三字母符号或通过IUPAC-IUB生化命名委员会推荐的单字母符号来提及。

[0090] 在描述氨基酸序列的上下文中使用的术语“同一性”、“基本同一性”、“相似性”、“基本相似性”、“同源性”以及相关术语和表达是指与参考序列具有至少60%序列同一性的序列。实例包括与使用用于比较氨基酸序列的程序(例如使用标准参数的BLAST)的参考序列相比至少60%、65%、70%、75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性。对于序列比较,通常一个序列用作与测试序列进行比较的参考序列。当使用序列比较算法时,将测试和参考序列输入到计算机中,如果需要,指定子序列坐标,并且指定序列算法程序参数。可以使用默认(标准)程序参数,或者可以指定可选的参数。然后,序列比较算法基于程序参数计算测试序列相对于参考序列的序列同一性百分比。“比较窗口”包括提及连续位置的任意一个数量的区段(20至600,通常约50至约200,更通常约100至约150),其中在两个序列最佳比对之后,序列可以与连续位置的相同数量的参考序列进行比较。用于比较的序列的比对方法是众所周知的。用于比较的序列的最佳比对可以例如通过Smith and Waterman,1981的局部同源性算法,通过Needleman and Wunsch,1970的同源性比对算法、通过Pearson and Lipman,1988的相似性搜索方法,通过这些算法的计算机化实施方式(例如,BLAST)或通过手动比对和目视检查进行。

[0091] 适用于确定序列同一性和序列相似性百分比的算法包括BLAST和BLAST 2.0算法,其分别描述于Altschul et al.,1990和Altschul et al.,1977。用于进行BLAST分析的软件可通过国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)网站公开获得。该算法包括首先通过鉴定查询序列中长度为W的短字串(short word)来鉴定高评分序列对(high scoring sequence pair,HSP),当与数据库序列中相同长度的

字串比对时,所述短字串匹配或满足一些正值阈值得分 T 。 T 被称为邻近字串得分阈值。这些初始邻近字串命中作为种子用于启动搜索,以找到含有它们的更长的HSP。然后字串命中沿每个序列在两个方向上延伸,直到累积比对得分可以增加。对于核苷酸序列,使用参数 M (匹配残基对的奖励得分;始终 >0)和 N (不匹配残基的惩罚得分;始终 <0)计算累计得分。对于氨基酸序列,使用评分矩阵计算累积得分。当以下情况发生时,停止字串命中在每个方向的延伸:累积比对得分从其达到的最大值下降了数量 X ;由于一个或多个负得分残基比对的积累,累积得分变为零或更低;或到达任一序列的末端。BLAST算法参数 W 、 T 和 X 决定比对的灵敏度和速度。BLASTN程序(对于核苷酸序列)使用28的字串大小(W)、10的期望值(E)、 $M=1$ 、 $N=-2$,以及两条链的比较作为默认。对于氨基酸序列,BLASTP程序使用3的字串大小(W)、10的期望值(E)和BLOSUM62评分矩阵(Henikoff and Henikoff,1989)作为默认。BLAST算法还对两个序列之间的相似性进行统计分析(Karlin and Altschul,1993)。

[0092] 术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”在本文中可互换使用,是指氨基酸残基的聚合物。该术语适用于其中一个或多个氨基酸残基是相应天然存在的氨基酸的人工化学模拟物的氨基酸聚合物,以及天然存在的氨基酸聚合物和非天然存在的氨基酸聚合物。如本文所用,该术语包括任何长度的氨基酸链,所述氨基酸链包括全长蛋白质(即,等位基因),其中氨基酸残基通过共价肽键连接。如本文所用,多肽的氨基酸序列从N末端到C末端呈现。换句话说,当描述多肽的氨基酸序列时,N末端的第一个氨基酸被称为“第一个氨基酸”。

[0093] 当在描述重组多肽的配偶体的上下文中使用时,术语“异源”是指一个多核苷酸融合配偶体与另一多核苷酸融合配偶体的关系:融合配偶体存在于重组多核苷酸中的方式不是可以在天然存在的多核苷酸或编码天然存在的蛋白质中发现的方式。例如,与HLA I类等位基因和/或HLA II类等位基因融合以形成融合多核苷酸的“异源多核苷酸”可以是源自除HLA I类蛋白或HLA II类蛋白以外的蛋白质的多核苷酸,例如粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、共刺激分子(例如,CD80),或2A自切割肽(例如,T2A、P2A、E2A)。另一方面,“异源多核苷酸”可以是来源于HLA I类或HLA II类蛋白质的另一部分的多核苷酸,所述部分不与HLA I类或HLA II类等位基因直接地邻接。“异源多核苷酸”可以编码含有天然存在的蛋白质序列或其部分的修饰的肽,例如一个或多个氨基酸残基的缺失、添加或取代。

[0094] 术语“基因编辑”、“基因组编辑”、“基因组工程改造”和“基因组操作”可互换使用。这些术语是指基因工程改造的类型,其中DNA被插入、缺失、修饰或替换到活有机体的基因组中。基因组编辑可以是位点特异性的。基因组编辑技术的非限制性实例包括使用核酸酶,例如成簇规律间隔短回文重复/Cas9(CRISPR/Cas9)核酸酶、巨核酸酶、转录激活因子样效应物核酸酶(TALEN)和锌指核酸酶(ZFN)。病毒载体例如整合酶缺陷型慢病毒载体(IDLV)、腺病毒和腺相关病毒(AAV)通常用于递送DNA以进行基因组编辑。用于基因组编辑的递送技术是本领域已知的,并且可以使用任何方法来失活本文所述的修饰的人类癌细胞中的特定HLA等位基因。(参见例如,Yin et al.,2017.“Delivery technologies for genome editing.”Nature Review Drug Discovery.16,387-399的综述)。

[0095] 术语“癌症”旨在包括以异常细胞的不受控制的生长为特性的一类疾病的任何成员。该术语包括所有已知的癌症和肿瘤病况,无论是表征为恶性的、良性的、复发的、软组织的还是实体的,以及所有阶段和等级的癌症,包括晚期的、转移前的和转移后的癌症。不同类型的癌症的实例包括但不限于妇科癌症(例如,卵巢癌、宫颈癌、子宫癌、阴道癌和外阴

癌) ;肺癌(例如,非小细胞肺癌、小细胞肺癌、间皮瘤、类癌瘤、肺腺癌) ;乳腺癌(例如,三阴性乳腺癌、导管原位癌、浸润性导管癌、小管癌、髓样癌、黏液癌、乳头状癌、筛状癌、浸润性小叶癌、炎性乳腺癌、小叶原位癌、佩吉特病、叶状肿瘤) ;消化和胃肠癌,例如胃癌(gastric cancer)(例如,胃癌(stomach cancer))、结直肠癌、胃肠间质瘤(GIST)、胃肠类癌瘤、结肠癌、直肠癌、肛门癌、胆管癌、小肠癌和食道癌;甲状腺癌;胆囊癌;肝癌;胰腺癌;阑尾癌;前列腺癌(例如,前列腺腺癌) ;肾癌(例如,肾细胞癌) ;中枢神经系统的癌症(例如,胶质母细胞瘤、神经母细胞瘤、髓母细胞瘤) ;皮肤癌(例如,黑色素瘤) ;骨和软组织肉瘤(例如,尤文氏肉瘤) ;淋巴瘤;绒毛膜癌;泌尿系统癌症(例如,尿路上皮膀胱癌) ;头颈癌;以及骨髓和血癌(例如,急性白血病、慢性白血病(例如,慢性淋巴细胞白血病)、淋巴瘤、多发性骨髓瘤)。如本文所用,“肿瘤”包含一种或多种癌细胞。

[0096] 术语“等位基因”是指基因的特定形式或变体。等位基因可以由例如核苷酸取代、添加或缺失产生,或者可以代表可变数量的短核苷酸重复。在人类白细胞抗原(HLA)基因的上下文中,HLA等位基因由世界卫生组织HLA系统因子命名委员会(World Health Organization Naming Committee for Factors of the HLA System)命名。在这个系统下,HLA基因名称之后是一系列数字字段。至少包括两个数字字段。作为非限制性实例,HLA-A*02:101表示HLA-A基因的特定等位基因。第一字段由星号与基因名称分开,表示等位基因组。第二字段由冒号与第一字段分开,表示产生的特定HLA蛋白。在一些情况下,使用更长的名称(例如,HLA-A*02:101:01:02N)。在该实例中,第三数字字段表示编码区内是否存在同义DNA取代,第四数字字段表示存在于非编码区中的等位基因之间的差异。在一些其它情况下,HLA等位基因名称在末端含有字母。在HLA等位基因命名系统下,“N”表示等位基因是无效等位基因(即,该等位基因产生非功能性蛋白)、“L”表示等位基因导致特定HLA蛋白的低于正常细胞表面的表达、“S”表示等位基因产生细胞表面上未发现的可溶性蛋白、“Q”表示可疑等位基因(即,可能不影响正常表达的等位基因)、“C”表示等位基因产生存在于细胞质中但不存在于细胞表面的蛋白、“A”表示导致异常表达的等位基因(即,不确定特定HLA蛋白是否表达)。本领域技术人员将熟悉各种基因等位基因及其命名惯例。

[0097] 术语“等位基因谱”是指特定样品中一种或多种基因的等位基因的集合。样品可以获得自对象、特定细胞或细胞类型(例如,乳腺细胞或乳腺癌细胞),或获自工程改造的细胞(例如,已经工程改造以表达一种或多种蛋白质的癌细胞)。在一些情况下,等位基因谱描述存在于样品中(例如,在获自对象或癌症疫苗细胞的细胞中)的单个基因的等位基因,或可以描述样品中的两种或更多种基因存在的等位基因。作为非限制性实例,等位基因谱可以列出特定样品中存在的HLA-A基因的等位基因。对于二倍体细胞,可能仅存在一种等位基因(例如,如果两个染色体含有相同的等位基因,如HLA-A*02:01)。可选地,可以存在两种不同的等位基因(例如,等位基因谱包含HLA-A*02:01和HLA-A*24:02,或HLA-A*02:01和HLA-A*03:01)。在其它情况下,等位基因谱列举了两种或更多种基因存在的等位基因。作为非限制性实例,等位基因谱可以描述患者样品中存在的HLA-A和HLA-DRB3基因的等位基因。

[0098] 仅为了说明的目的,对象的等位基因谱可以表明存在HLA-A基因的HLA-A*02:01和HLA-A*24:02等位基因,并且存在HLA-DRB3基因的HLA-DRB3*03:01等位基因。此外,可以比较等位基因谱。作为非限制性实例,对象可以具有包含HLA-A*02:01和HLA-A*24:02等位基因的等位基因谱,而癌症疫苗细胞可以具有包含HLA-A*02:01和HLA-A*03:01等位基因的

谱。在该实例中,如果比较两个等位基因谱,则在谱之间存在部分匹配(即,HLA-A*02:01等位基因存在于两个谱中)。作为另一非限制性实例,如果疫苗细胞具有包含HLA-A*02:01和HLA-A*24:02的等位基因谱,则对象和疫苗细胞谱关于该特定基因完全匹配。

[0099] 术语“人类白细胞抗原(HLA)”是指编码人类主要组织相容性复合体(MHC)蛋白的基因复合体,所述人类主要组织相容性复合体蛋白是一组细胞表面蛋白,其对于适应性免疫系统识别外来分子是必需的。HLA复合体存在于染色体6p21的3Mbp区段内。从细胞内呈递肽的I类MHC蛋白由HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-E、HLA-F和HLA-G基因编码。HLA-A、HLA-B和HLA-C基因多态性较多,而HLA-E、HLA-F和HLA-G基因多态性较少。也已知HLA-K和HLA-L作为假基因存在。此外, β -2-微球蛋白是MHC I类蛋白,由(B2M)基因编码。HLA-A核苷酸序列的非限制性实例在GenBank参考号NM_001242758和NM_002116下示出。HLA-B核苷酸序列的非限制性实例在GenBank参考号NM_005514下示出。HLA-C核苷酸序列的非限制性实例在GenBank参考号NM_001243042和NM_002117下示出。HLA-E核苷酸序列的非限制性实例在GenBank参考号NM_005516下示出。HLA-F核苷酸序列的非限制性实例在GenBank参考号NM_018950下示出。HLA-G核苷酸序列的非限制性实例在GenBank参考号NM_002127下示出。B2M核苷酸序列的非限制性实例在GenBank参考号NM_004048下示出。

[0100] 将抗原从细胞外部呈递给T淋巴细胞的II类MHC蛋白由HLA-DP、HLA-DM、HLA-DO、HLA-DQ和HLA-DR基因编码。HLA-DM基因包括HLA-DMA和HLA-DMB。HLA-DO基因包括HLA-DOA和HLA-DOB。HLA-DP基因包括HLA-DPA1和HLA-DPB1。HLA-DQ基因包括HLA-DQA1、HLA-DQA2、HLA-DQB1和HLA-DQB2。HLA-DR基因包括HLA-DRA、HLA-DRB1、HLA-DRB3、HLA-DRB4和HLA-DRB5。HLA-DMA和HLA-DMB核苷酸序列的非限制性实例分别在GenBank参考号NM_006120和NM_002118下示出。HLA-DRA、HLA-DRB1、HLA-DRB3、HLA-DRB4和HLA-DRB5核苷酸序列的非限制性实例分别在GenBank参考号NM_01911、NM_002124、NM_022555、NM_021983、NM_002125中示出。

[0101] 术语“疫苗”是指生物组合物,当向对象施用,所述生物组合物具有产生对对象中特定病原体或疾病的获得性免疫的能力。通常,向对象施用与目的病原体或疾病相关的一种或多种抗原或抗原的片段。疫苗可以包括,例如,失活或减毒的有机体(例如,细菌或病毒)、细胞、从细胞表达或在细胞上表达的蛋白质(例如,细胞表面蛋白)、由有机体产生的蛋白质(例如,毒素)或有机体的一部分(例如,病毒包膜蛋白)。在一些情况下,细胞被工程改造以表达蛋白质,使得当作为疫苗施用,它们增强对象获得对特定细胞类型的免疫的能力(例如,增强对象获得对癌细胞的免疫的能力)。如本文所用,术语“疫苗”或“全细胞癌症疫苗”包括但不限于本公开内容的修饰的癌细胞。

[0102] 术语“细胞因子”是指由细胞释放的小蛋白,其对细胞之间的相互作用和通讯具有特定影响。细胞因子通常被称为淋巴因子(例如,由淋巴细胞产生的细胞因子)、单核因子(例如,由单核细胞产生的细胞因子)或趋化因子(例如,由一种白细胞产生并且作用于其它白细胞的细胞因子)。细胞因子可以作用于分泌它们的细胞(例如,自分泌作用)、作用于附近的细胞(例如,旁分泌作用)或作用于远处的细胞(例如,内分泌作用)。在本公开内容的上下文中,细胞因子可以包括趋化因子、干扰素、白细胞介素和/或肿瘤坏死因子(TNF)。作为实例,细胞因子可以包括早期T细胞激活抗原-1(ETA-1)、淋巴细胞激活因子(LAF)、白细胞介素-1家族成员(IL-1 α 、IL-1 β 、IL-1Ra、IL-18、IL-33、IL-36Ra、IL-36 α 、IL-36 β 、IL-36 γ 、IL-

37, IL-38)、白细胞介素-2 (IL-2)、白细胞介素-3 (IL-3)、白细胞介素-4 (IL-4)、白细胞介素-5 (IL-5)、白细胞介素-6 (IL-6)、白细胞介素-7 (IL-7)、白细胞介素-8 (IL-8)、白细胞介素-9 (IL-9)、白细胞介素-10 (IL-10)、白细胞介素-12 (IL-12)、白细胞介素-13 (IL-13)、白细胞介素-15 (IL-15)、白细胞介素-17 (IL-17)、白细胞介素-18 (IL-18)、白细胞介素-23 (IL-23)、白细胞介素-25 (IL-25)、白细胞介素-33 (IL-33)、I型干扰素家族成员 (IFN- α 、IFN β 、IFN ϵ 、IFN κ 、IFN ω)、II型干扰素家族成员 (IFN γ)、III型干扰素家族成员 (IFN λ 1 (IL-29)、IFN λ 2 (IL-28A)、IFN λ 3 (IL-28B)、IFN λ 4)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)、巨噬细胞CSF (CSF-1)、巨噬细胞迁移抑制因子 (MIF)、CD40L分子 (CD40L)、RANTES分子 (RANTES)、单核细胞趋化蛋白 (MCP-1)、单核细胞炎性蛋白 (MIP-1 α 、MIP-1 β)、淋巴细胞趋化因子和/或分形趋化因子。

[0103] 术语“粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)”是指由细胞例如巨噬细胞、T细胞、肥大细胞、自然杀伤 (NK) 细胞、内皮细胞和成纤维细胞分泌的也称为“集落刺激因子 (CSF2)”的单体糖蛋白。GM-CSF作为影响多种细胞类型,特别是巨噬细胞和嗜酸性粒细胞的细胞因子发挥功能。作为免疫/炎性级联的一部分,GM-CSF刺激干细胞产生粒细胞(即,嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞)和单核细胞。单核细胞随后在组织浸润后成熟为巨噬细胞和树突状细胞。在人类中CSF2核苷酸序列(编码GM-CSF的基因)的非限制性实例在GenBank参考号NM_000758下示出。

[0104] 术语“干扰素”是指响应于感染或其它炎症刺激而产生的细胞因子。干扰素是由宿主细胞响应于病原体(例如,病毒、细菌、寄生虫、肿瘤细胞)而合成和释放的信号蛋白。干扰素分为三个亚组:I型干扰素、II型干扰素 (IFN γ) 和III型干扰素。功能上,这些细胞因子调节免疫细胞功能。尽管III型干扰素在结构上与I型干扰素不同,但是它们具有重叠功能,并且都通过Janus激酶 (JAK) - 信号转导子和转录激活因子 (signal transducer and activator of transcription, STAT) 途径发出信号以诱导干扰素刺激基因 (ISG) 的转录并促进免疫应答。(参见例如,Goel et al. (2021). Interferon lambda in inflammation and autoimmune rheumatic diseases. Nat Rev Rheumatol 17,349-362)。I型干扰素蛋白包括IFN- α 、IFN- β 、IFN- ϵ 、IFN- κ 、IFN- τ 、IFN- δ 、IFN- ζ 、IFN- ω 和IFN- ν 。干扰素 α 蛋白由白细胞产生并且主要参与先天免疫应答。编码IFN- α 蛋白的基因包括IFNA1、IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA7、IFNA8、IFNA10、IFNA13、IFNA14、IFNA16、IFNA17和IFNA21。IFNA1、IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA7、IFNA8、IFNA10、IFNA13、IFNA14、IFNA16、IFNA17和IFNA21人类核苷酸序列的非限制性实例分别在GeneBank参考号NM_024013、NM_000605、NM_021068、NM_002169、NM_021002、NM_021057、NM_002170、NM_002171、NM_006900、NM_002172、NM_002173、NM_021268和NM_002175中示出。例如,基因IFNA2编码IFN- α 2a、IFN- α 2b和IFN- α 2c变体。如本文所用,术语“IFN- α ”和“IFN- α 2”可互换使用,并且它们是指干扰素蛋白IFN- α 2a或IFN- α 2b。III型干扰素蛋白包括干扰素 λ 1 (IFN λ 1 (IL-29)、干扰素 λ 2 (IFN λ 2 (IL-28A))、干扰素 λ 1 (IFN λ 3 (IL-28B)) 和干扰素 λ 4 (IFN λ 4)。干扰素 λ 家族成员通过共同的IL-10受体亚基2 (IL-10R2) 发出信号。人类干扰素 λ 蛋白由四种IFNL基因 (IFNL1 (IL29)、IFNL2 (IL28A)、IFNL3 (IL28B) 和IFNL4) 编码。

[0105] 术语“共刺激分子”是指在与抗原/主要组织相容性复合体 (MHC) 相互作用后放大或抵消从T细胞受体 (TCR) 提供给T细胞的初始激活信号的细胞表面分子。共刺激分子通常

可以影响T细胞分化和命运。共刺激分子属于三个主要家族,即免疫球蛋白(Ig)超家族、肿瘤坏死因子(TNF)-TNF受体(TNFR)超家族和T细胞Ig和黏蛋白(TIM)结构域家族(参见例如,Rodriguez-Manzanet,Roselynn et al.“The costimulatory role of TIM molecules.” Immunological reviews vol.229,1(2009):259-70.)。示例性的共刺激分子和配体包括但不限于CD28和配体B7-1(CD80)、CTLA-4、PDL-1或B7-2(CD86),CTLA-4和配体B7-1(CD80)或B7-2(CD86),ICOS和配体ICOS-L,CD27和配体CD70,CD30和配体CD30L,CD40和配体CD40L(又名CD154),OX40和配体OX40L,GITR和配体GITRL,TIM-1和配体TIM-1、TIM-4、IgA或磷脂酰丝氨酸(PtdSer),TIM-2和配体H-铁蛋白或脑信号蛋白4A(semaphorin 4A,Sem4A),以及TIM-4和配体磷脂酰丝氨酸(PtdSer)。在本公开内容的上下文中,共刺激分子可以包括CD86分子(CD86)、CD80分子(CD80)、4-1BB配体分子(4-1BBL,又名CD137L)、ICOS配体分子(ICOS-L)、CD70分子(CD70,又名CD27L)、CD40分子(CD40)、OX40配体分子(OX40L)、GITR配体分子(GITRL)、TIM-4分子(TIM-4)、LIGHT分子(LIGHT)、ICAM1分子(ICAM1)、LFA3分子(LFA3)、CD30分子(CD30)及以上的组合(例如参见,图5)。

[0106] 术语“肿瘤抗原”是指在肿瘤细胞中产生的可以在宿主中触发免疫应答的抗原性物质。肿瘤抗原通常是指肿瘤相关抗原(TAA)或肿瘤特异性抗原(TSA)。通常,TSA仅在癌细胞中发现,并且不在健康(例如,非癌性)细胞中。TSA可以由产生新型肽序列(例如,新抗原)的致癌驱动突变引起。TSA的非限制性实例是在生殖细胞肿瘤和肝细胞癌中表达的甲胎蛋白(AFP)。TAA在肿瘤细胞中具有升高的水平并且可以在健康细胞中以较低水平表达。TAA的非限制性实例是在睾丸以及恶性黑色素瘤中表达的黑色素瘤相关抗原(MAGE)。

[0107] 术语“CD47分子”、“整合素相关蛋白(IAP)”、“MER6”和“OA3”在本文中可互换使用。CD47通常是指免疫球蛋白超家族(IgSF)的可变糖基化跨膜蛋白。它包含具有单个Ig样结构域的细胞外结构域(ECD)、五个具有短插入环(intervening loop)的跨膜结构域和在C末端的34个氨基酸的细胞质尾区。CD47在许多类型的癌细胞的表面上过表达。CD47与巨噬细胞、嗜中性粒细胞和T淋巴细胞上的信号调节蛋白 α (SIRP α)形成信号传导复合体,使得这些癌细胞能够逃避巨噬细胞介导的吞噬作用。SIRP α 在包括巨噬细胞和树突状细胞(DC)的髓样细胞上表达。不受任何特定理论的束缚,CD47通常通过结合SIRP α 以防止吞噬作用而向巨噬细胞提供“不要吃我”信号。(参见例如,Li et al.,“Vaccination with CD47deficient tumor cells elicits an antitumor immune response in mice.” Nat Commun 11,581 (2020))。缺乏CD47的细胞由脾红髓巨噬细胞从血流中快速清除。(参见例如,Oldenborg et al.,“Role of CD47 as a marker of self on red blood cells.” Science 288,2051 (2000))。作为癌症预防或治疗背景中的实例,用CD47缺陷型肿瘤细胞接种疫苗可以诱导抗肿瘤免疫(参见Li et al.,同上)。

[0108] 术语“ I_i (CD74)分子”、“CD74分子”、“分化簇74”、“主要组织相容性复合体(MHC) II类相关的不变链(I_i)”、“HLA II类组织相容性抗原 γ 链”和“HLA-DR抗原相关的不变链(I_i)”是指由人类CD74基因编码的蛋白质。不变链(I_i)是存在于专业抗原呈递细胞中的多肽,在那,它调节装载到MHC II类分子上的肽和呈递给CD4⁺T淋巴细胞的多肽组。通常,CD4⁺T细胞的激活需要共刺激信号加上由肽结合MHC II分子组成的抗原特异性信号的递送。CD4⁺T细胞通常由专业抗原呈递细胞(APC)激活,所述专业抗原呈递细胞内吞外源合成的抗原并在其自身的MHC II分子的背景下加工并呈递抗原。这种加工和呈递过程需要不变链(I_i),所

述不变链是与MHC II分子协同合成的并防止APC编码的内源肽结合和呈递的分子。肿瘤反应性CD4⁺T细胞通常被激活为由专业APC的抗原加工机制产生的肿瘤肽,而不是由肿瘤细胞产生的肽。不受任何特定理论的束缚,缺乏Ii (CD74) 的肿瘤细胞可以提供不是由专业APC呈递的MHC II限制性肿瘤肽的新型库(repertoire),并且因此可以是高度免疫原性的。当激活后,CD4⁺T细胞产生IFN γ 并为CD8⁺T细胞提供帮助,并且不需要与初始肿瘤细胞反应。因此,MHC II疫苗具有激活促进抗肿瘤免疫的CD4⁺Th1细胞的潜力。例如,Ii (CD74) 阴性的乳腺癌细胞能够提供激活来自乳腺癌患者的肿瘤特异性T细胞的独特肽。(参见例如,Chornoguz et al.,2012.“Major histocompatibility complex class II+invariant chain negative breast cancer cells present unique peptides that activate tumor-specific T cells from breast cancer patients.”Molecular&Cellular Proteomics (11)11:1457-67(2012))。作为癌症预防或治疗背景中的实例,用Ii (CD74) 缺陷型肿瘤细胞接种疫苗可以诱导抗肿瘤免疫(参见Chornoguz et al.,同上)。

[0109] 术语“生存期”是指在疾病的诊断和/或开始或完成疾病(例如癌症)的特定疗程后的时间长度。术语“总生存期”包括描述在诊断有疾病(例如癌症)或治疗疾病(例如癌症)后存活限定时间段的患者的临床终点。术语“无病生存期”包括治疗特定疾病(例如,癌症)后的时间长度,在此期间患者生存而没有疾病迹象(例如,没有已知的复发)。在某些实施方案中,无病生存期是用于评价特定治疗的功效的临床参数,其通常以1年或5年的单位测量。术语“无进展生存期”包括在治疗特定疾病(例如,癌症)期间和之后的时间长度,其中患者与疾病共存而没有该疾病的额外症状。在一些实施方案中,生存期表示为中值或平均值。

III.实施方案的详述

[0110] 本公开内容部分地基于本申请的发明人的以下发现:含有选定的HLA等位基因的修饰的人类癌细胞(例如,修饰的人类癌细胞系)可以在对象中引发强健的免疫应答。在此,本申请的发明人工程改造了含有选定的HLA-A和HLA-DRB3/4/5等位基因的靶向构建体。为了消除在修饰的癌细胞中作为递送构建体的一部分引入的内源HLA等位基因和外源HLA等位基因之间竞争的可能性,本申请的发明人通过基因组编辑失活内源HLA I类和/或HLA II类等位基因(例如,HLA-A和/或HLA-DRB3等位基因)。含有选定的HLA等位基因的工程改造的递送构建体用HLA敲入构建体转染/电穿孔或转导到人类癌细胞中以产生克隆细胞系。

[0111] 在一方面,本公开内容提供了修饰的人类癌细胞,其包含:(a)一种或多种重组多核苷酸,其各自编码人类白细胞抗原(HLA) I类基因的等位基因;和(b)一种或多种重组多核苷酸,其各自编码HLA II类基因的等位基因,其中细胞内源的一种或多种HLA等位基因已被失活。在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞表达至少一种HLA I类等位基因和至少一种HLA II类等位基因。不受任何理论的束缚,HLA I类等位基因和HLA II类等位基因的存在有利地允许CD4⁺T细胞被II类分子激活,以提供帮助和加强被I类HLA分子激活的CD8⁺T细胞的活性。还已经注意到,CD8⁺T细胞可以产生可以为CD4⁺T细胞提供帮助的细胞因子,并且CD4⁺T细胞可以是细胞毒性的。I类和II类分子在相同的修饰的癌细胞上的表达提供了在接受修饰的癌细胞的对象中引发免疫应答的自我维持反馈环路。

[0112] 在一些实施方案中,重组多核苷酸被整合到细胞的基因组中。在其它实施方案中,重组多核苷酸存在于细胞中的一种或多种载体上。在一些情况下,所有重组多核苷酸可以存在于同一载体上。在其它情况下,每种重组多核苷酸可以存在于单独的载体上。在其它情

况下,两种、三种、四种、五种、六种或更多种重组多核苷酸可以存在于同一载体上。允许在细胞中单一载体和任何数量的载体上的重组多核苷酸的任意数量的组合。在某些情况下,编码HLA I类等位基因的所有重组多核苷酸可以存在于一种载体上,并且编码HLA II类等位基因的所有重组多核苷酸可以存在于另一载体上。在特定实施方案中,细胞中的每种载体包含两种重组多核苷酸。作为非限制性实例,编码两种独特的HLA I类等位基因(例如HLA-A等位基因)的重组多核苷酸可存在于同一载体上。作为另一非限制性实例,编码两种独特的HLA II类等位基因(例如,HLA-DRB3、HLA-DRB4和/或HLA-DRB5等位基因)的重组多核苷酸可以存在于同一载体上。作为另一非限制性实例,编码两种独特的细胞因子和共刺激分子(例如,GM-CSF、IFN- α 、CD80、CD86、IL-12、IL-7、HLA-DRA和4-1BBL的成对组合)的重组多核苷酸可以存在于同一载体上。在特定实施方案中,细胞包含:(a)载体,其包含编码两种独特的HLA I类等位基因(例如,HLA-A等位基因)的重组多核苷酸;(b)载体,其包含编码两种独特的HLA II类等位基因(例如,HLA-DRB3、HLA-DRB4和/或HLA-DRB5等位基因)的重组多核苷酸;和(c)一种或多种载体(例如一种、两种、三种、四种或更多种载体),其各自包含编码两种独特的细胞因子和共刺激分子(例如,GM-CSF、IFN- α 、CD80、CD86、IL-12、IL-7、HLA-DRA和4-1BBL的成对组合)的重组多核苷酸。

[0113] 在本公开内容的上下文中的重组多核苷酸可以包含编码至少一种HLA-A I类等位基因和至少一种HLA-A II类等位基因的多核苷酸。通常,HLA等位基因是基于它们的谱选择的。不受任何特定理论的束缚,HLA等位基因是高度多态性的。较少多态性的HLA等位基因可能存在于较大比例的群体中。在一些实施方案中,为本文所述的修饰的人类癌细胞选择的HLA(例如,HLA-A和/或HLA-DRB)等位基因具有低多态性并且在至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%的群体中具有至少单一匹配。作为非限制性实例,为本文所述的修饰的人类癌细胞选择的HLA-A等位基因与约92%的群体中的HLA-A等位基因匹配。作为另一非限制性实例,为本文所述的修饰的人类癌细胞选择的HLA-DRB(例如HLA-DRB3、HLA-DRB4和/或HLA-DRB5)等位基因与约98%的群体中的HLA-DRB等位基因匹配。在一些实施方案中,所述群体是癌症患者群体。

[0114] 在一些实施方案中,HLA I类基因是HLA-A基因、HLA-B基因、HLA-C基因、HLA-E基因、HLA-F基因、HLA-G基因或B2M基因。在其它实施方案中,HLA I类基因是HLA-A基因、HLA-B基因、HLA-C基因、HLA-E基因、HLA-F基因、HLA-G基因和/或B2M基因的组合。在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞包含编码一种或多种(例如,1种、2种、3种、4种、5种、6种、7种、8种、9种、10种或更多种)HLA I类基因的等位基因的重组多核苷酸。

[0115] 合适的HLA-A等位基因的实例包括但不限于HLA-A*11:01、HLA-A*01:01、HLA-A*02:01、HLA-A*03:01、HLA-A*26:01、HLA-A*29:02、HLA-A*32:01、HLA-A*24:02、HLA-A*33:03、HLA-A*68:01、HLA-A*31:01和HLA-A*02:06。本申请的修饰的人类癌细胞可以包含编码HLA-A等位基因的一种或多种(例如,1种、2种、3种、4种、5种、6种、7种、8种、9种、10种、11种、12种或更多种)重组多核苷酸。在一些实施方案中,一种或多种HLA-A等位基因各自以至少约2%的中值频率存在于群体中。在其它实施方案中,一种或多种HLA-A等位基因各自以至少约5%的最大频率存在于群体中。在其它实施方案中,一种或多种HLA-A等位基因各自以至少约2%的中值频率和至少约5%的最大频率存在于群体中。

[0116] 合适的HLA-B等位基因的实例包括但不限于HLA-B*13:02、HLA-B*41:01、HLA-B*18:03、HLA-B*44:02、HLA-B*07:02、HLA-B*35:01、HLA-B*40:01、HLA-B*35:08、HLA-B*55:01、HLA-B*51:01、HLA-B*44:03、HLA-B*58:01、HLA-B*08:01、HLA-B*18:01、HLA-B*15:01和HLA-B*52:01。本公开内容的修饰的人类癌细胞可以包含编码HLA-B等位基因的一种或多种(例如,1种、2种、3种、4种、5种、6种、7种、8种、9种、10种、11种、12种、13种、14种、15种、16种或更多种)重组多核苷酸。在一些实施方案中,一种或多种HLA-B等位基因各自以至少约2%的中值频率存在于群体中。在其它实施方案中,一种或多种HLA-B等位基因各自以至少约5%的最大频率存在于群体中。在其它实施方案中,一种或多种HLA-B等位基因各自以至少约2%的中值频率和至少约5%的最大频率存在于群体中。

[0117] 合适的HLA-C等位基因的实例包括但不限于HLA-C*04:01、HLA-C*07:02、HLA-C*07:01、HLA-C*06:02、HLA-C*03:04、HLA-C*01:02、HLA-C*02:02、HLA-C*08:02、HLA-C*15:02、HLA-C*03:03、HLA-C*05:01、HLA-C*08:01、HLA-C*16:01、HLA-C*12:03和HLA-C*14:02。本公开内容的修饰的人类癌细胞可以包含编码HLA-C等位基因的一种或多种(例如,1种、2种、3种、4种、5种、6种、7种、8种、9种、10种、11种、12种、13种、14种、15种或更多种)重组多核苷酸。在一些实施方案中,一种或多种HLA-C等位基因各自以至少约2%的中值频率存在于群体中。在其它实施方案中,一种或多种HLA-C等位基因各自以至少约5%的最大频率存在于群体中。在其它实施方案中,一种或多种HLA-C等位基因各自以至少约2%的中值频率和至少约5%的最大频率存在于群体中。

[0118] 在一些实施方案中,HLA II类基因是HLA II类 α 亚基基因。在其它实施方案中,HLA II类基因是HLA II类 β 亚基基因。在特定实施方案中,HLA II类基因是HLA II类 α 亚基基因和HLA II类 β 亚基基因的组合。

[0119] 在其它实施方案中,HLA II类基因是HLA-DP基因、HLA-DM基因、HLA-DO基因、HLA-DQ基因和/或HLA-DR基因。在一些情况下,HLA-DO基因是HLA-DOA基因。在其它情况下,HLA-DO基因是HLA-DOB基因。在特定情况下,修饰的人类癌细胞包含编码HLA-DOA和HLA-DOB基因等位基因的重组核苷酸。在一些情况下,HLA-DM基因是HLA-DMA基因。在其它情况下,HLA-DM基因是HLA-DMB基因。在特定情况下,修饰的人类癌细胞包含编码HLA-DMA和HLA-DMB基因等位基因的重组核苷酸。

[0120] 在一些实施方案中,HLA-DR基因是HLA-DRA基因、HLA-DRB1基因、HLA-DRB3基因、HLA-DRB4基因和/或HLA-DRB5基因。在特定实施方案中,修饰的人类癌细胞包含编码一种或多种(例如,1种、2种、3种、4种、5种或更多种)HLA-DR基因的等位基因的重组多核苷酸。

[0121] 合适的HLA-DRB3等位基因的实例包括但不限于HLA-DRB3*02:02、HLA-DRB3*01:01和HLA-DRB3*03:01。合适的HLA-DRB4等位基因的实例包括但不限于HLA-DRB4*01:01和HLA-DRB4*01:03。合适的HLA-DRB5等位基因的实例包括但不限于HLA-DRB5*01:02、HLA-DRB5*01:01和HLA-DRB5*02:02。本公开内容的修饰的人类癌细胞可以包含编码HLA-DRB3/4/5等位基因的一种或多种(例如1种、2种、3种、4种、5种或更多种)重组多核苷酸。在一些实施方案中,一种或多种HLA-DRB3/4/5等位基因各自以至少约2%的中值频率存在于群体中。在其它实施方案中,一种或多种HLA-DRB3/4/5等位基因各自以至少约5%的最大频率存在于群体中。在其它实施方案中,一种或多种HLA-DRB3/4/5等位基因各自以至少约2%的中值频率和至少约5%的最大频率存在于群体中。

[0122] 在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞包含编码一种或多种HLA I类基因的至少一种重组多核苷酸,所述HLA I类基因选自表1 (SEQ ID NO:1-13、22-29)中所列的任一种I类基因、密码子优化形式、其变体或其片段。例如,修饰的人类癌细胞可以包含编码由一种或多种启动子驱动的1种、2种、3种、4种或更多种HLA I类基因的重组多核苷酸。在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞还包含编码一种或多种HLA II类基因的至少一种重组多核苷酸,所述HLA II类基因选自表1 (SEQ ID NO:14-21、30-35)中所列的任一种II类基因、密码子优化形式、变体或其片段。例如,修饰的人类癌细胞可以包含编码由一种或多种启动子驱动的1种、2种、3种、4种或更多种HLA II类基因的重组多核苷酸。

[0123] 在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞包含至少两种重组多核苷酸,所述重组多核苷酸各自编码选自表1 (SEQ ID NO:1-13、22-29)中所列的任一种I类基因、密码子优化形式、变体或其片段的HLA I类基因。例如,修饰的人类癌细胞可以包含编码第一HLA I类基因的第一重组多核苷酸和编码第二HLA I类基因的第二重组多核苷酸。在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞包含至少两种重组多核苷酸,所述重组多核苷酸各自编码选自表1 (SEQ ID NO:14-21、30-35)中所列的任何II类基因、密码子优化形式、其变体或其片段的HLA II类基因。例如,修饰的人类癌细胞可以包含编码第一HLA II类基因的重组多核苷酸和编码第二HLA II类基因的第二重组多核苷酸。

表1. SEQ ID NO的列表

多核苷酸	SEQ ID NO
HLA-A*01:01	SEQ ID NO:1
HLA-A*68:01	SEQ ID NO:2
HLA-A*02:01	SEQ ID NO:3
HLA-A*11:01	SEQ ID NO:4
HLA-A*03:01	SEQ ID NO:5
HLA-A*23:01	SEQ ID NO:6
HLA-A*33:03	SEQ ID NO:7
HLA-A*24:02	SEQ ID NO:8
HLA-A*02:06	SEQ ID NO:9

多核苷酸	SEQ ID NO
HLA-A*26:01	SEQ ID NO:10
HLA-A*29:02	SEQ ID NO:11
HLA-A*31:01	SEQ ID NO:12
HLA-A*32:01	SEQ ID NO:13
HLA-DRB3*02:02	SEQ ID NO:14
HLA-DRB4*01:01	SEQ ID NO:15
HLA-DRB3*03:01	SEQ ID NO:16
HLA-DRB3*01:01	SEQ ID NO:17
HLA-DRB5*01:02	SEQ ID NO:18
HLA-DRB5*01:01	SEQ ID NO:19
HLA-DRB5*02:02	SEQ ID NO:20
HLA-DRB4*01:03	SEQ ID NO:21
HLA-A*01:01 (密码子优化的)	SEQ ID NO:22
HLA-A*68:01 (密码子优化的)	SEQ ID NO:23
HLA-A*02:01 (密码子优化的)	SEQ ID NO:24
HLA-A*11:01 (密码子优化的)	SEQ ID NO:25
HLA-A*03:01 (密码子优化的)	SEQ ID NO:26
HLA-A*23:01-79.6% (密码子优化的)	SEQ ID NO:27
HLA-A*23:01-80.05% (密码子优化的)	SEQ ID NO:28
HLA-A*33:03 (密码子优化的)	SEQ ID NO:29
HLA-DRB3*02:01 (密码子优化的)	SEQ ID NO:30
HLA-DRB5*01:01 (密码子优化的)	SEQ ID NO:31
HLA-DRB3*03:01 (密码子优化的)	SEQ ID NO:32
HLA-DRB5*01:02 (密码子优化的)	SEQ ID NO:33
HLA-DRB4*01:01-79.78% (密码子优化的)	SEQ ID NO:34
HLA-DRB4*01:01-80.27% (密码子优化的)	SEQ ID NO:35
HLA-DRA (密码子优化的)	SEQ ID NO:36
4-1BBL -77.85% (密码子优化的)	SEQ ID NO:37
4-1BBL -75.91% (密码子优化的)	SEQ ID NO:38
CSF2 (密码子优化的)	SEQ ID NO:39
IFNA2 (密码子优化的)	SEQ ID NO:40
IL7-72.64% (密码子优化的)	SEQ ID NO:41
IL7-77.32% (密码子优化的)	SEQ ID NO:42
CD80 (密码子优化的)	SEQ ID NO:43
IL-12 (生物活性形式)	SEQ ID NO:44

[0124] 在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞包含编码至少细胞因子、共刺激分子、异源抗原(例如,病原体抗原、肿瘤相关抗原、新抗原、变应原、作为免疫应答的靶标的抗原)、其变体或其片段的组合的一种或多种重组多核苷酸。细胞因子可以是趋化因子、干扰素、白细胞介素或肿瘤坏死因子。细胞因子可以选自早期T细胞激活抗原-1(ETA-1)、淋巴细胞激活因子(LAF)、白细胞介素-1家族成员(IL-1 α 、IL-1 β 、IL-1Ra、IL-18、IL-33、IL-36Ra、IL-36 α 、IL-36 β 、IL-36 γ 、IL-37、IL-38)、白细胞介素-2(IL-2)、白细胞介素-3(IL-3)、白细胞介素-4

(IL-4)、白细胞介素-5(IL-5)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-7(IL-7)、白细胞介素-8(IL-8)、白细胞介素-9(IL-9)、白细胞介素-10(IL-10)、白细胞介素-12(IL-12)、白细胞介素-13(IL-13)、白细胞介素-15(IL-15)、白细胞介素-17(IL-17)、白细胞介素-18(IL-18)、白细胞介素-21(IL-21)、白细胞介素-23(IL-23)、白细胞介素-25(IL-25)、白细胞介素-33(IL-33)、干扰素 α (IFN- α)、干扰素 λ 1(IFN λ 1(IL-29))、干扰素 λ 2(IFN λ 2(IL-28A))、干扰素 λ 3(IFN λ 3(IL-28B))、干扰素 λ 4(IFN λ 4)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、巨噬细胞CSF(CSF-1)、巨噬细胞迁移抑制因子(MIF)、CD40L分子(CD40L)、RANTES分子(RANTES)、单核细胞趋化蛋白(MCP-1)、单核细胞炎性蛋白(MIP-1 α 、MIP-1 β)、淋巴细胞趋化因子或分形趋化因子。共刺激分子可以选自CD86分子(CD86)、CD80分子(CD80)、4-1BBL配体分子(4-1BBL,也称为TNFSF9或CD137L)、ICOS配体分子(ICOS-L)、CD70分子(CD70,又名CD27L)、CD40分子(CD40)、OX40配体分子(OX40L)、GITR配体分子(GITRL)、TIM-4分子(TIM-4)、LIGHT分子(LIGHT)、ICAM1分子(ICAM1)、LFA3分子(LFA3)、CD30分子(CD30)及以上的组合中的至少一种。

[0125] 在一些实施方案中,HLA等位基因、异源抗原、细胞因子(例如,GM-CSF和/或IFN- α 2)和共刺激分子的表达在两种或更多种不同启动子的控制下。在一些情况下,每种HLA等位基因、异源抗原、细胞因子(例如,GM-CSF和/或IFN- α 2)和共刺激分子的表达在单独的启动子的控制下。在一些实施方案中,HLA等位基因、异源抗原、细胞因子(例如,GM-CSF和/或IFN- α 2)和共刺激分子的表达在单一启动子的控制下。在一些情况下,HLA等位基因、异源抗原、细胞因子(例如,GM-CSF和/或IFN- α 2)和共刺激分子在多顺反子载体中表达为多顺反子mRNA。在特定情况下,一个或多个顺反子被内部核糖体进入位点分开。在其它情况下,一个或多个顺反子被自切割肽(例如,T2A、P2A、E2A、F2A)分开。可以将一种或多种重组多核苷酸引入表达载体中以合成相应的HLA等位基因。在B部分、实施例1和实施例5中详细论述了示例性载体构建。

[0126] 在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞包含(a)一种或多种载体,其各自包含编码选自以下的至少一种基因的重组多核苷酸(例如,四种载体,其各自包含编码两种不同基因的重组多核苷酸):CSF2、IFN- α 2、CD86、IL-12、CD80、HLA-DRA、IL-7和/或4-1BBL;(b)一种或多种载体,其各自包含编码选自以下的至少一种基因的重组多核苷酸:HLA-A*01:01、HLA-A*68:01、HLA-A*02:01、HLA-A*11:01、HLA-A*03:01、HLA-A*23:01、HLA-A*24:02和/或HLA-A*33:03;和(c)一种或多种载体,其包含编码选自以下的至少一种基因的重组多核苷酸:HLA-DRB3*02:02、HLA-DRB5*01:01、HLA-DRB4*01:01、HLA-DRB3*01:01、HLA-DRB3*03:01、HLA-DRB5*01:02和/或HLA-DRB5*02:02。

[0127] 在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞包含(a)一种或多种载体,其各自包含编码选自以下的至少一种基因的重组多核苷酸(例如,四种载体,其各自包含编码两种不同基因的重组多核苷酸):CSF2、IFN- α 2、CD86、IL-12、CD80、HLA-DRA、IL-7和/或4-1BBL;(b)载体,其包含编码以下的重组多核苷酸:HLA-A*01:01等位基因和HLA-A*68:01等位基因,或HLA-A*02:01等位基因和HLA-A*11:01等位基因,或HLA-A*03:01等位基因和HLA-A*23:01等位基因,或HLA-A*24:02等位基因和HLA-A*33:03等位基因;和(c)载体,其包含编码以下的重组多核苷酸:HLA-DRB3*02:02等位基因和HLA-DRB5*01:01等位基因,或HLA-DRB4*01:01等位基因和HLA-DRB3*01:01等位基因,或HLA-DRB3*03:01等位基因和HLA-DRB5*01:02等位基

因,或HLA-DRB5*02:02等位基因和HLA-DRB3*01:01等位基因。

[0128] 在各种实施方案中,每种载体包含编码位于编码两种基因、两种HLA等位基因和/或基因和HLA等位基因的多核苷酸之间的选自T2A、P2A或E2A的一种或多种2A剪接肽的重组多核苷酸。

[0129] 在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞包含一种或多种已失活的细胞内源HLA-A和/或HLA-DR等位基因。在一些实施方案中,人类癌细胞还包含失活的HLA-DRB3等位基因、HLA-DRB4等位基因和/或HLA-DRB5等位基因。在一些实施方案中,已被失活的一种或多种HLA等位基因具有与SEQ ID NO:1-36(表1)中的任一个、其变体或其片段至少85%相同的序列。在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞包含失活的HLA-A*24:02等位基因和/或HLA-A*11:01等位基因、其变体或其片段。在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞还包含失活的HLA-DRB3*01:01等位基因和/或HLA-DRB3*02:02等位基因、其变体或其片段。作为非限制性实例,修饰的人类癌细胞可以包含至少一种失活的HLA-A等位基因和至少一种失活的HLA-DRB3/3/5等位基因。在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞包含失活的HLA-A*24:02等位基因、HLA-A*11:01等位基因、DRB3*01:01等位基因、HLA-DRB3*02:02等位基因或以上的组合。在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞还包含失活的CD47分子、其变体或其片段,使得CD47的细胞表面表达减少或消除。在某些情况下,本文描述的缺乏CD47表达的修饰的癌细胞具有增加的免疫原性。在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞还包含失活的Ii (CD74) 分子、其变体或其片段。在一些实施方案中,本文所述的修饰的癌细胞(例如,Bria-OTS细胞系)包含失活的Ii (CD74)、其变体或片段,使得Ii (CD74)的细胞表面表达减少或消除。在某些情况下,本文所述的缺乏Ii (CD74)表达的修饰的癌细胞(例如,Bria-OTS细胞系)具有增加的免疫原性。在一些实施方案中,本文所述的过表达HLA-DRA的修饰的癌细胞(例如,Bria-OTS细胞系)克服了Ii对肿瘤细胞的抑制作用。在一些实施方案中,本文所述的修饰的癌细胞(例如,Bria-OTS细胞系)中HLA-DRA的过表达和Ii (CD74)表达的缺乏对诱导抗肿瘤免疫具有协同作用。作为非限制性实例,修饰的人类癌细胞可以包含失活的HLA-A*24:02等位基因、HLA-A*11:01等位基因、DRB3*01:01等位基因、HLA-DRB3*02:02等位基因或以上的组合,以及失活的CD47分子、其变体或其片段。作为另一非限制性实例,修饰的人类癌细胞可以包含失活的HLA-A*24:02等位基因、HLA-A*11:01等位基因、DRB3*01:01等位基因、HLA-DRB3*02:02等位基因或以上的组合,以及失活的Ii (CD74)分子、其变体或其片段。作为另一非限制性实例,修饰的人类癌细胞可以包含失活的HLA-A*24:02等位基因、HLA-A*11:01等位基因、DRB3*01:01等位基因、HLA-DRB3*02:02等位基因或以上的组合,失活的CD47分子、其变体或其片段,以及失活的Ii (CD74)分子、其变体或其片段。

[0130] 在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞来源于人类癌细胞系。任何数量的人类癌细胞或癌细胞系都适用于本文所述的组合物和方法,包括例如克隆或非克隆人类癌细胞或癌细胞系。人类癌细胞系的非限制性实例包括以下细胞系及其亚克隆:SV-BR-1、SVCT、MDA-MB-231、MDA-MB-157、ZR-75-30、ZR-75-1、Hs 578T、MCF7、T47D、MTSV1-7CE1、1-7HB2、VP303、VP267和VP229乳腺癌细胞系;PC-3、LNCaP(例如,克隆FGC)、Shmac 5、P4E6和VCaP前列腺癌细胞系;NCI-H2228、SHP-77、COR-L23/R、COR-L23/5010、MOR/0.2R、NCI-H69/LX20、ChaGo-K-1和Meta 7肺癌细胞系;SK-MEL-24黑色素瘤细胞系;UM-UC-3、T24/83、ECV304、RT4和HT 1197膀胱癌细胞系;MDST8、C170、GP5d、GP2d和LS123结肠癌细胞系;MFE-280和MFE-296子宫

内膜癌细胞系;CAKI 2、A.704、G-402、ACHN、G-401、UM-RC-7和RCC4plusVHL肾癌细胞系;SK-HEP-1、Hep 3B、PLC/PRF/5、Hep G2和Huh-7D12肝癌细胞系;HL60、Eos-HL-60、JVM-13、Sci-1和Ri-1白血病细胞系;BHL-89、COR-L24、U937 (CD59+)、My-La CD8+和HGC-27淋巴瘤细胞系;A375-C6、GR-M、VA-ES-BJ、MEW0和COLO 818皮肤癌细胞系;AsPC-1、HuP-T4、HuP-T3、BxPC-3和CFPAC-1胰腺癌细胞系;8505C、8305C、FTC-238、TT、R082-W-1和K1甲状腺癌细胞系;HeLa DH、HR5-CL11、HtTA-1、HR5、X1/5、HeLa、C-4I、C-4II、HeLa S3、Ca Ski、HeLa229、Hep2 (HeLa衍生物)、HeLa B、Bu25 TK-HeLa Ohio和HeLa (无AC) 宫颈癌细胞系;NB69、BE (2) -C、BE (2) -M17、SK-N-BE (2) 和SK-N-DZ脑癌细胞系;OV7、OV17R、OV58、OV56、A2780ADR、A2780、COLO 720E、SW 626、SK-OV-3、PA-1、59M、OAW28、T014、PE023和COV362卵巢癌细胞系;IMR 32腹部癌症细胞系;SW 13肾上腺皮质癌细胞系;TR146颊黏膜癌细胞系;SK-GT-4食道癌细胞系;TE 671胚胎癌细胞系;FLYRD18纤维肉瘤细胞系;1411H生殖细胞肿瘤细胞系;MFM-223乳腺癌细胞系;H-EMC-SS肌肉癌症细胞系;Detroit562咽癌细胞系;BeWo胎盘癌细胞系;Mero-95胸腔癌细胞系;SW 837、SW 1463、CMT 93、HRT-18和HRA-19直肠癌细胞系;Y79、WERI和RB247C视网膜癌细胞系;CHP-100脊髓癌细胞系;KARPAS1718脾脏淋巴瘤细胞系;AGS和KATO-III胃癌细胞系;NTERA-2克隆D1睾丸癌细胞系;SCC-9、H357、H103、BICR 56和PE/CA-PJ49舌癌细胞系;MES-SA/Dx-5、MES-SA、COLO 685和COLO 684子宫癌细胞系;以及HMVII阴道癌细胞系。在特定实施方案中,人类癌细胞系是乳腺癌细胞系 (例如,SV-BR-1)、前列腺癌细胞系 (例如,PC-3、LNCaP)、黑色素瘤细胞系 (例如,SK-MEL-24) 或肺癌细胞系 (例如,NCI-H2228)。本文所述的细胞系和其它细胞系可得自例如Sigma-Aldrich (www.sigmaaldrich.com)。在其它实施方案中,修饰的人类癌细胞来源于从肿瘤活组织检查获得的癌细胞,例如,来自在修饰癌细胞之前要治疗癌症的对象。

A. 选定的HLA等位基因

[0131] 在一方面,本文所述的修饰的人类癌细胞 (例如,Bria-OTS细胞系) 可以表达具有SEQ ID NO:1-35 (表1) 中任一个的序列、其变体或其片段的HLA基因的组合。作为示例,本文所述的修饰的人类癌细胞 (例如,Bria-OTS细胞系) 可以包含:HLA-A*01:01、HLA-A*68:01、HLA-DRB3*02:02和/或HLA-DRB4*01:01等位基因的组合;HLA-A*02:01、HLA-A*11:01、HLA-DRB4*01:01和/或HLA-DRB3*03:01等位基因的组合;HLA-A*03:01、HLA-A*23:01、HLA-DRB3*01:01和/或HLA-DRB5*01:02等位基因的组合;或HLA-A*33:03、HLA-DRB5*01:01和/或HLA-DRB5*02:02等位基因和任选地HLA-A*24:02等位基因的组合。作为另一说明,本文所述的修饰的人类癌细胞 (例如,Bria-OTS细胞系) 可以包含:HLA-A*01:01、HLA-A*68:01、HLA-DRB3*02:02和/或HLA-DRB5*01:01等位基因的组合;HLA-A*02:01、HLA-A*11:01、HLA-DRB4*01:01和/或HLA-DRB3*01:01等位基因的组合;HLA-A*03:01、HLA-A*23:01、HLA-DRB3*03:01和/或HLA-DRB5*01:02等位基因的组合;或HLA-A*24:02、HLA-A*33:03、HLA-DRB5*02:02和/或HLA-DRB3*01:01等位基因的组合。

[0132] 在另一方面,本文所述的修饰的人类癌细胞 (例如,Bria-OTS细胞系) 可以表达:
(a) 至少一种HLA基因,其具有SEQ ID NO:1-21 (表1) 中任一个的序列、其变体或其片段;
(b) 至少一种密码子优化的HLA基因 (例如,以HLA I类等位基因和/或HLA II类等位基因为末端的多核苷酸),其具有SEQ ID NO:22-35 (表1) 中任一个的序列、其变体或其片段;和/或
(c) 至少一种密码子优化的共刺激分子,其具有SEQ ID NO:36-44 (表1) 中任一个的序列、其变

体或其片段。例如,本文所述的修饰的人类癌细胞(例如,Bria-OTS细胞系)可以包含HLA-A*68:01等位基因、其变体或其片段;密码子优化的HLA-A*01:01等位基因、其变体或其片段;和共刺激分子、其变体或其片段。

[0133] 在一些方面,HLA基因、其变体或其片段中的任一个可以具有与其对应的野生型序列具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%或更高同一性或相似性的多核苷酸序列。在一些实施方案中,HLA基因、其变体或其片段中的任一个可以具有与其对应的野生型序列具有至多70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%同一性或相似性的多核苷酸序列。在一些实施方案中,编码修饰的HLA等位基因或密码子优化的HLA等位基因、其变体或其片段的多核苷酸与其对应的野生型序列具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%或更高的同一性或相似性。在一些实施方案中,编码修饰的HLA等位基因或密码子优化的HLA等位基因、其变体或其片段的多核苷酸与其对应的野生型序列具有至多70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%的同一性或相似性。在一些实施方案中,编码修饰的HLA等位基因或密码子优化的HLA等位基因、其变体或其片段的多核苷酸与其对应的野生型序列具有约10%至99%、约30%至80%、约40%至95%、约60%至85%的同一性或相似性。

B. 用于选定的HLA等位基因的表达载体

[0134] 在一些实施方案中,本文所述的修饰的人类癌细胞含有一种或多种用于表达重组HLA等位基因的表达载体。可以使用多种表达载体,例如逆转录病毒载体、慢病毒载体、腺病毒载体、腺相关病毒载体、质粒或转座子。可以使用的病毒载体例如包括基于HIV、SV40、EBV、HSV或BPV的载体。通过设计表达载体可以是复制缺陷型的,使得病毒载体对于病毒基因组复制或合成和组装病毒颗粒所必需的一种或多种功能是有缺陷的。许多目前存在的复制缺陷型病毒可以携带大的治疗基因,有效地转导各种类型的细胞,并提供目的基因的长期和稳定的表达。

[0135] 慢病毒是研究中常用的逆转录病毒的子集。慢病毒可以转导分裂和非分裂细胞而没有显著的免疫应答。这些病毒也稳定地整合到宿主基因组中,使得转基因能够长期表达。常见的慢病毒是人类免疫缺陷病毒(HIV),所述人免疫缺陷病毒使用其它病毒的包膜糖蛋白靶向广泛的细胞类型。

[0136] 慢病毒的一个安全特征是产生感染性病毒颗粒(病毒体)所必需的组分通常被分开在多种质粒中。例如,感染性病毒颗粒可以包含病毒衣壳和包膜组分的质粒(通常称为包装和包膜质粒)以及编码病毒基因组的质粒(通常称为转移质粒)。可以用于本文的常见慢病毒包装和包膜质粒包括但不限于pRSV-Rev、pMDLg/pRRE、psPAX2、pCMV Δ R8.2、pMD2.G、pCMV-VSV-G、pCMV-dR8.2 dvpr、pCI-VSVG、pCPRDenv、pLTR-RD114A、pLTR-G、pCD/NL-BH*DDD、psPAX2-D64V、pCEP4-tat、pHEF-VSVG、pNHP、pCAG-Eco和pCAG-VSVG。可以用于本文的常见慢病毒转移质粒包括但不限于pLK0.1puro、pLK0.1-TRC克隆质粒、pLK0.3G、Tet-pLK0-puro、pSico、pLJM1-EGFP、FUGW、pLVTHM、pLVUT-tTR-KRAB、pLL3.7、pLB、pWPXL、pWPI、EF.CMV.RFP、pLenti CMV Puro DEST、pLenti-puro、pLOVE、pULTRA、pLX301、pInducer20、pHIV-EGFP、Tet-pLK0-neo、pLV-mCherry、pCW57.1、pLionII、pSLIK-Hygro和pInducer10-mir-RUP-PheS。

[0137] 有多种方法来产生慢病毒载体。(参见Logan et al. "Factors influencing the titer and infectivity of lentiviral vectors." Hum Gene Ther. 2004 Oct; 15(10) :

976-88.doi:10.1089/hum.2004.15.976.PMID:15585113;Dull,T et al.“A third-generation lentivirus vector with a conditional packaging system.”*Journal of virology* vol.72,11(1998):8463-71.doi:10.1128/JVI.72.11.8463-8471.1998)。可选地,慢病毒载体可以从商业供应商购买。通常,慢病毒载体的产生包括多个步骤,包括质粒开发和生产、细胞扩增、质粒转染、病毒载体产生、纯化、填充和完成。(参见例如, www.addgene.org/viral-vectors/lentivirus/; www.thermofisher.com/us/en/home/clinical/cell-gene-therapy/gene-therapy/lv-production-workflow.html)。

[0138] 慢病毒载体可以被设计成同时表达一种或多种目的基因。各种分子策略是可用的,包括使用多种启动子、剪接信号、基因融合、切割因子和多顺反子载体。(参见,例如, Shaimardanova et al.,“Production and application of multicistronic constructs for various human disease therapies.”*Pharmaceutics* 2019,11,580的综述。)

[0139] 多顺反子载体通常含有编码内部核糖体进入位点(IRES)和自切割2A肽的核苷酸序列的序列。使用IRES和自切割2A肽允许从同一mRNA同时表达两种或更多种分离的蛋白质。

[0140] 自切割2A肽由于其小尺寸和自切割能力而用于产生多顺反子载体。2A肽由16-20个氨基酸组成并且源自病毒RNA。用于产生多顺反子载体的常见2A肽是F2A(来源于口蹄疫病毒的2A肽)、E2A(来源于马鼻炎病毒的2A肽)、P2A(来源于猪捷申病毒-1的2A肽)和T2A(来源于明脉扁刺蛾病毒(*Thosea asigna virus*)的2A肽)。

[0141] 在具有2A肽序列的构建体中,翻译开始一次,并沿着mRNA的合成持续发生。在翻译期间,第一肽在2A区与第二肽断裂。2A肽切割位点位于甘氨酸和脯氨酸之间。在蛋白质合成过程中,切割过程发生在核糖体内部。氨基酸之间正常肽键的形成仅在切割位点被抑制,因此切割不影响随后的蛋白质的翻译,并且合成在没有核糖体解离的情况下继续。因此,多个基因的翻译是相互依赖的。使用不同的2A肽可能影响下游蛋白的表达水平。2A肽序列顺序的组合可以防止多顺反子构建体中从第一个到最后一个的基因表达的逐渐降低。例如,当产生含有四个基因的多顺反子载体时,按照以下顺序的2A肽序列,即T2A、P2A和E2A的组合是最佳的。

[0142] 在一些实施方案中,使用非病毒方法表达本文所述的修饰的人类癌细胞。示例性方法包括但不限于阳离子脂质(例如脂质体和脂质复合体(lipoplexes))、聚合物或多聚复合体(polyplexes)和树枝状聚合物、用于直接递送的裸质粒、电穿孔、超声和微泡、磁转染(magnetofections)、无机分子。

[0143] 在一方面,本公开内容提供了用于本文所述的修饰的人类癌细胞的表达载体。载体可以包含编码至少一种HLA-A I类等位基因和至少一种HLA-A II类等位基因(例如,至少一种HLA-DRB3等位基因、至少一种HLA-DRB4等位基因和/或至少一种HLA-DRB5等位基因)的一种或多种重组多核苷酸,所述至少一种HLA-A I类等位基因和至少一种HLA-A II类等位基因选自SEQ ID NO:1-35(表1)中的任一个、其变体或其片段。重组多核苷酸可以另外包含至少一种共刺激分子和/或选自SEQ ID NO:36-44(表1)中的任一个的至少一种HLA等位基因。在一些实施方案中,HLA等位基因是密码子优化的HLA等位基因(例如,HLA-DRA)。在一些实施方案中,重组多核苷酸还包含编码一种或多种细胞因子(例如,GM-CSF、IFN- α 2(包括IFN- α 2a和IFN- α 2b))的序列。在一些实施方案中,编码HLA-A I类等位基因和HLA-A II类等

位基因(例如,HLA-DRB3等位基因、HLA-DRB4等位基因和/或HLA-DRB5等位基因)、共刺激分子、异源抗原和/或细胞因子的重组多核苷酸,各自具有与其对应的野生型序列具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%或更高的同一性或相似性的序列;各自具有与其对应的野生型序列具有至多70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%的同一性或相似性的序列;或各自具有与其对应的野生型序列具有约10%至99%、约30%至80%、约40%至95%、约60%至85%的同一性或相似性的序列。在各种实施方案中,表达载体包含编码一种或多种启动子的一种或多种重组多核苷酸,所述启动子用于驱动选定的HLA等位基因、密码子优化的HLA等位基因、共刺激分子或佐剂的表达。表达载体可以含有编码MNDU3启动子、EF1 α 启动子或两者的重组多核苷酸。例如,表达载体可以含有编码MNDU3启动子的第一重组多核苷酸和编码EF1 α 启动子的第二重组多核苷酸。在特定实施方案中,表达载体含有编码MNDU3启动子和EF1 α 启动子的重组多核苷酸。

[0144] 表2示出了使用多顺反子慢病毒载体的示例性表达载体的构建。每种慢病毒载体携带两种细胞因子基因和四种HLA等位基因。GM-CSF由CSF2基因编码,而IFN- α 2a和IFN- α 2b是由IFNA2编码的变体。

表2:用于产生示例性修饰的人类癌细胞系的构建体

细胞系 ID	EF1 α 启动子		MNDU3 启动子			
	细胞因子 1	2A#细胞因子 2	HLA-A等位基因 1	2A#HLA-A等位基因 2	2A#HLA-DRB3/4/5等位基因 1	2A#HLA-DRB3/4/5等位基因 2
Bria-OTS01/Lenti-1 (BC1.68.3.4 (BC1))	CSF2	T2A# IFNA2	A*01:01	T2A# A*68:01	P2A# DRB3*02:02	E2A# DRB4*01:01
Bria-OTS02/Lenti-2 (BC2.11.4.3 (BC2))	CSF2	T2A# IFNA2	A*02:01	T2A# A*11:01	P2A# DRB4*01:01	E2A# DRB3*03:01
Bria-OTS03/Lenti-3 (BC3.23.3.5 (BC3))	CSF2	T2A# IFNA2	A*03:01	T2A# A*23:01	P2A# DRB3*01:01	E2A# DRB5*01:02
Bria-OTS04/Lenti-4 (BC24.33.5.5 (BC4))	CSF2	T2A# IFNA2	A*24:02	T2A# A*33:03	P2A# DRB5*01:01	E2A# DRB5*02:02

#自剪切2A肽

[0145] 在一些示例中,图1-4描绘了用于在人类修饰癌细胞中表达选定的HLA等位基因的多顺反子慢病毒载体的组成部分。实施例1中描述了表达载体的构建。

[0146] 参考图1,将从5'到3'编码EF1 α 启动子、GM-CSF(由CSF2基因编码)、T2A剪接肽、IFN- α 2b(由IFNA2基因编码)、MNDU3启动子、HLA-A*01:01等位基因、T2A剪接肽、HLA-A*68:01等位基因、P2A剪接肽、HLA-DRB3*02:02、E2A剪接肽和HLA-DRB4*01:01等位基因的重组多核苷酸插入到pCCLc骨架中。如图1所示,EF1 α 启动子位于编码GM-CSF和IFN- α (例如,IFN- α 2a或IFN- α 2b)的序列的5'末端。因此,GM-CSF和IFN- α 的合成都由EF1 α 启动子驱动。MNDU3启动子位于编码GM-CSF和IFN- α 的序列的3'末端和编码四种HLA等位基因和三种2A剪接肽的序列的5'末端。三种2A剪接肽中的每一种位于编码两种HLA等位基因的多核苷酸序列之间。特别地,三种2A剪接肽以T2A、P2A和E2A的顺序存在,用于所有四种HLA基因的最大化表达。

[0147] 参考图2,将从5'到3'编码EF1 α 启动子、GM-CSF(由CSF2基因编码)、T2A剪接肽、IFN- α (例如由IFNA2基因编码的IFN- α 2a或IFN- α 2b)、MNDU3启动子、HLA-A*02:01等位基因、T2A剪接肽、HLA-A*11:01等位基因、P2A剪接肽、HLA-DRB4*01:01等位基因、E2A肽和HLA-

DRB3*03:01等位基因的重组多核苷酸插入到pCCLc骨架中。如图2所示,EF1 α 启动子位于编码GM-CSF、T2A剪接肽和IFN- α 的序列的5'末端。因此,GM-CSF和IFN- α 的合成都由EF1 α 启动子驱动。MNDU3启动子位于编码GM-CSF和IFN- α 的序列的3'末端以及编码四种HLA等位基因和三种2A剪接肽的序列的5'末端。三种2A剪接肽中的每一种位于编码两种HLA等位基因的多核苷酸序列之间。特别地,三种2A剪接肽以T2A、P2A和E2A的顺序存在,用于所有四种HLA基因的最大化表达。

[0148] 图3和图4显示了图2中表达载体的类似构建。特别地,图3中的表达载体被设计成表达HLA等位基因(从5'到3'):HLA-A*03:01、HLA-A*23:01、HLA-DRB3*01:01和HLA-DRB5*01:02。图4中的表达载体被设计成表达HLA等位基因(从5'到3'):HLA-A*24:02、HLA-A*33:03、HLA-DRB5*01:01和HLA-DRB5*02:02。如图3和图4所示,2A剪接肽(按T2A、P2A和E2A的顺序)位于编码每两种HLA等位基因、两种启动子或HLA等位基因和启动子的多核苷酸序列之间。

[0149] 在另一实施方案中,表达载体是设计以在EF1 α 启动子和/或MNDU3启动子控制下表达任何一种细胞因子或HLA基因的组的多顺反子慢病毒载体。表3示出了多顺反子慢病毒载体的示例性构建。作为示例,表达载体包含:(a)一种或多种重组多核苷酸,其各自编码选自CSF2、IFNA2、CD86、IL-12、CD80、HLA-DRA、IL-7和/或4-1BBL(也称为TNFSF9或CD137L)的至少一种基因;(b)一种或多种重组多核苷酸,其各自编码选自HLA-A*01:01、HLA-A*68:01、HLA-A*02:01、HLA-A*11:01、HLA-A*03:01、HLA-A*23:01、HLA-A*24:02和/或HLA-A*33:03的至少一种基因;或(c)一种或多种重组多核苷酸,其各自编码选自HLA-DRB3*02:02等位基因、HLA-DRB5*01:01等位基因、HLA-DRB3*03:01等位基因、HLA-DRB4*01:01等位基因、HLA-DRB3*01:01等位基因、HLA-DRB5*01:02等位基因和/或HLA-DRB5*02:02等位基因的至少一种基因。作为实例,表达载体可以包含编码在EF1 α 启动子控制下驱动的CD86基因和在MNDU3启动子控制下驱动的IL-12基因的重组多肽。作为另一实例,表达载体可以包含编码在MNDU3启动子控制下驱动的CD86基因和在EF1 α 启动子控制下驱动的IL-12基因的重组多肽。

表3.用于产生包含共刺激分子和HLA等位基因的示例性修饰的人类细胞系的慢病毒构建体

慢病毒ID编号	EF1 α 启动子	MNDU3启动子
GM-IFN	CSF2	IFNA2
GM	CSF2	-
CD86-IL-12	CD86	IL-12
CD80-HLA-DRA	CD80	HLA-DRA
IL-7-4-1BBL	IL-7	4-1BBL (TNFSF9;CD137L)
A2-A11	HLA-A*02:01	HLA-A*11:01
A1-A68	HLA-A*01:01	HLA-A*68:01
A3-A23	HLA-A*03:01	HLA-A*23:01
A24-A33	HLA-A*24:02	HLA-A*33:03
DR401-301	HLA-DRB4*01:01	HLA-DRB3*01:01
DR302-501	HLA-DRB3*02:02	HLA-DRB5*01:01
DR303-502	HLA-DRB3*03:01	HLA-DRB5*01:02

DR301-522	HLA-DRB5*02:02	HLA-DRB3*01:01
-----------	----------------	----------------

[0150] 在一些实施方案中,表达载体包含一种或多种重组多核苷酸,所述重组多核苷酸各自编码至少一种免疫调节分子、共刺激分子或细胞因子(例如,两种或更多种免疫调节分子、共刺激分子或细胞因子),所述免疫调节分子、共刺激分子或细胞因子包括但不限于CSF2、IFNA2、CD86、IL-12、CD80、HLA-DRA、IL-7和/或4-1BBL(也称为TNFSF9或CD137L)。在一些实施方案中,表达载体包含一种或多种重组多核苷酸,所述重组多核苷酸各自编码至少一种免疫调节分子、共刺激分子或细胞因子(例如,两种或更多种免疫调节分子、共刺激分子或细胞因子),所述免疫调节分子、共刺激分子或细胞因子选自CSF2和IFNA2;CD86和IL-12;CD80和HLA-DRA等位基因;或IL-7和4-1BBL。

[0151] 在一些实施方案中,表达载体包含各自编码至少一种HLA I类等位基因(例如,两种或更多种HLA I类等位基因)的一种或多种重组多核苷酸,所述HLA I类等位基因包括但不限于HLA-A*01:01等位基因、HLA-A*68:01等位基因、HLA-A*02:01等位基因、HLA-A*11:01等位基因、HLA-A*03:01等位基因、HLA-A*23:01等位基因、HLA-A*24:02等位基因和/或HLA-A*33:03等位基因。在一些实施方案中,表达载体包含各自编码至少一种HLA I类等位基因(例如,两种或更多种HLA-A等位基因)的一种或多种重组多核苷酸,所述HLA I类等位基因选自HLA-A*01:01等位基因和HLA-A*68:01等位基因、HLA-A*02:01等位基因和HLA-A*11:01等位基因、HLA-A*03:01等位基因和HLA-A*23:01等位基因和/或HLA-A*24:02等位基因和HLA-A*33:03等位基因。

[0152] 在一些实施方案中,表达载体包含各自编码至少一种HLA II类等位基因(例如两种或更多种HLA II类等位基因)的一种或多种重组多核苷酸,所述HLA II类等位基因包括但不限于HLA-DRB3*02:02等位基因、HLA-DRB5*01:01等位基因、HLA-DRB4*01:01等位基因、HLA-DRB3*01:01等位基因、HLA-DRB3*03:01等位基因、HLA-DRB5*01:02等位基因和/或HLA-DRB5*02:02等位基因。在一些实施方案中,表达载体包含各自编码至少一种HLA II类等位基因(例如,两种或更多种HLA-DRB等位基因)的一种或多种重组多核苷酸,所述HLA II类等位基因选自HLA-DRB3*02:02等位基因和HLA-DRB5*01:01等位基因、HLA-DRB4*01:01等位基因和HLA-DRB3*01:01等位基因、HLA-DRB3*03:01等位基因和HLA-DRB5*01:02等位基因和/或HLA-DRB5*02:02等位基因和HLA-DRB3*01:01等位基因。

[0153] 在一些实施方案中,表达载体能够在癌细胞系(例如,修饰的人类癌细胞系)中表达至少一种免疫调节分子、共刺激分子或细胞因子、至少一种HLA I类等位基因(例如,HLA-A等位基因)和/或至少一种HLA II类等位基因(例如,HLA-DRB等位基因)。在一些实施方案中,表达载体能够在癌细胞系(例如,修饰的人类癌细胞系)中表达一种或多种(例如,至少两种)免疫调节分子、共刺激分子或细胞因子;或者表达载体能够在癌细胞系(例如修饰的人类癌细胞系)中表达一种或多种(例如,至少两种)HLA I类等位基因;或者表达载体能够在癌细胞系(例如,修饰的人类癌细胞系)中表达一种或多种(例如,至少两种)HLA II类等位基因。在各种实施方案中,癌细胞系中的一种或多种内源HLA-A和/或HLA-DR3等位基因已被失活。在一些实施方案中,癌细胞系中的内源HLA-A*24:02等位基因、HLA-A*11:01等位基因、HLA-DRB3*01:01等位基因和/或HLA-DRB3*02:02等位基因中的至少一种已被失活。

[0154] 在各种实施方案中,包含编码选自CSF2、IFNA2、CD86、IL-12、CD80、HLA-DRA、IL-7和/或4-1BBL的免疫调节分子、共刺激分子或细胞因子的基因,或HLA-A等位基因中的任一

种,或HLA-DRB等位基因中的任一种(例如,HLA-DRB3等位基因、HLA-DRB4等位基因和HLA-DRB5等位基因)的一种或多种重组多核苷酸中的每一种还包含位于任意两种基因、任意两种HLA等位基因或基因和HLA等位基因之间的2A剪接肽。

[0155] 在一些实施方案中,表达载体包含编码细胞因子、趋化因子、干扰素、白细胞介素和/或肿瘤坏死因子的重组多核苷酸。在一些实施方案中,重组多核苷酸编码选自以下的至少一种的细胞因子中的一种:早期T细胞激活抗原-1(ETA-1)、淋巴细胞激活因子(LAF)、白细胞介素-1家族成员(IL-1 α 、IL-1 β 、IL-1Ra、IL-18、IL-33、IL-36Ra、IL-36 α 、IL-36 β 、IL-36 γ 、IL-37、IL-38)、白细胞介素-2(IL-2)、白细胞介素-3(IL-3)、白细胞介素-4(IL-4)、白细胞介素-5(IL-5)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-7(IL-7)、白细胞介素-8(IL-8)、白细胞介素-9(IL-9)、白细胞介素-10(IL-10)、白细胞介素-12(IL-12)、白细胞介素-13(IL-13)、白细胞介素-15(IL-15)、白细胞介素-17(IL-17)、白细胞介素-18(IL-18)、白细胞介素-21(IL-21)、白细胞介素-23(IL-23)、白细胞介素-25(IL-25)、白细胞介素-33(IL-33)、干扰素 α (IFN- α)、干扰素 λ 1(IFN λ 1(IL-29))、干扰素 λ 2(IFN λ 2(IL-28A))、干扰素 λ 3(IFN λ 3(IL-28B))、干扰素 λ 4(IFN λ 4)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、巨噬细胞CSF(CSF-1)、巨噬细胞迁移抑制因子(MIF)、CD40L分子(CD40L)、RANTES分子(RANTES)、单核细胞趋化蛋白(MCP-1)、单核细胞炎性蛋白(MIP-1 α 、MIP-1 β)、淋巴细胞趋化因子和/或分形趋化因子。在一些实施方案中,细胞因子包括GM-CSF。在一些实施方案中,细胞因子包括IFN- α ,例如IFN- α 2a或IFN- α 2b。

[0156] 在一些实施方案中,表达载体还包含编码共刺激分子的重组多核苷酸,所述共刺激分子选自以下的至少一种:CD86分子(CD86)、CD80分子(CD80)、4-1BBL配体分子(4-1BBL,又名CD137L)、ICOS配体分子(ICOS-L)、CD70分子(CD70,又名CD27L)、CD40分子(CD40)、OX40配体分子(OX40L)、GITR配体分子(GITRL)、TIM-4分子(TIM-4)、LIGHT分子(LIGHT)、ICAM1分子(ICAM1)、LFA3分子(LFA3)、CD30分子(CD30)和/或以上的组合。

[0157] 在一些实施方案中,表达载体还包含编码异源抗原(例如,病原体抗原、肿瘤相关抗原、新抗原、变应原、作为自身免疫应答的靶标的抗原或其片段)的重组多核苷酸。

[0158] 在一方面,本公开内容提供了包含重组多核苷酸的表达载体,所述重组多核苷酸包含编码与SEQ ID NO:22-29(表1)中的任一个具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的HLA I类基因的至少一种等位基因的序列,和任选地至少一个异源多核苷酸序列。在一些实施方案中,本公开内容提供了包含重组多核苷酸的表达载体,所述重组多核苷酸包含编码具有SEQ ID NO:22-29(表1)中任一个的多核苷酸的HLA I类基因的至少一种等位基因的序列和任选地至少一个异源多核苷酸序列。在一些实施方案中,重组多核苷酸还包含编码HLA I类基因的第二等位基因或第二HLA I类基因的等位基因的序列。在一些实施方案中,重组多核苷酸还包含编码HLA II类基因的等位基因的序列。HLA II类基因的等位基因与SEQ ID NO:30-35(表1)中的任一个具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的同一性。在一些实施方案中,HLA II类基因的等位基因具有SEQ ID NO:30-35(表1)中任一个的多核苷酸。

[0159] 在各种实施方案中,异源多核苷酸序列编码细胞因子、趋化因子、干扰素、白细胞介素或肿瘤坏死因子的氨基酸序列。在一些实施方案中,异源多核苷酸序列编码选自以下的至少一种的细胞因子中的一种:早期T细胞激活抗原-1(ETA-1)、淋巴细胞激活因子

(LAF)、白细胞介素-1家族成员(IL-1 α 、IL-1 β 、IL-1Ra、IL-18、IL-33、IL-36Ra、IL-36 α 、IL-36 β 、IL-36 γ 、IL-37、IL-38)、白细胞介素-2(IL-2)、白细胞介素-3(IL-3)、白细胞介素-4(IL-4)、白细胞介素-5(IL-5)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-7(IL-7)、白细胞介素-8(IL-8)、白细胞介素-9(IL-9)、白细胞介素-10(IL-10)、白细胞介素-12(IL-12)、白细胞介素-13(IL-13)、白细胞介素-15(IL-15)、白细胞介素-17(IL-17)、白细胞介素-18(IL-18)、白细胞介素-21(IL-21)、白细胞介素-23(IL-23)、白细胞介素-25(IL-25)、白细胞介素-33(IL-33)、干扰素 α (IFN- α)、干扰素 λ 1(IFN λ 1(IL-29))、干扰素 λ 2(IFN λ 2(IL-28A))、干扰素 λ 3(IFN λ 3(IL-28B))、干扰素 λ 4(IFN λ 4)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、巨噬细胞CSF(CSF-1)、巨噬细胞迁移抑制因子(MIF)、CD40L分子(CD40L)、RANTES分子(RANTES)、单核细胞趋化蛋白(MCP-1)、单核细胞炎性蛋白(MIP-1 α 、MIP-1 β)、淋巴细胞趋化因子和/或分形趋化因子。在一些实施方案中,细胞因子包括GM-CSF。在一些实施方案中,细胞因子包括IFN- α ,优选IFN- α 2a或IFN- α 2b。

[0160] 在一些实施方案中,异源多核苷酸序列编码选自以下的至少一种的共刺激分子中的一种:CD86分子(CD86)、CD80分子(CD80)、4-1BB配体分子(4-1BBL,又名CD137L)、ICOS配体分子(ICOS-L)、CD70分子(CD70,又名CD27L)、CD40分子(CD40)、OX40配体分子(OX40L)、GITR配体分子(GITRL)、TIM-4分子(TIM-4)、LIGHT分子(LIGHT)、ICAM1分子(ICAM1)、LFA3分子(LFA3)、CD30分子(CD30)和/或以上的组合。

[0161] 在各种实施方案中,异源多核苷酸序列位于编码两种HLA I类基因的序列之间,例如,异源多核苷酸序列位于编码第一HLA I类基因的序列的3'末端和编码第二HLA I类基因的序列的5'末端。类似地,异源多核苷酸序列可以位于编码两种细胞因子、两种共刺激分子或两种异源抗原的序列之间。在一些实施方案中,异源多核苷酸序列可以位于编码HLA等位基因、细胞因子、共刺激分子和/或异源抗原的序列之间。在各种实施方案中,异源多核苷酸序列编码选自T2A、P2A或E2A的2A剪接肽之一。

C. 组合物

[0162] 在一方面,本公开内容提供了包含如本文所述的修饰的人类癌细胞的组合物,修饰的人类癌症包含(a)一种或多种重组多核苷酸,其各自编码人类白细胞抗原(HLA) I类基因的等位基因;和/或(b)一种或多种重组多核苷酸,其各自编码HLA II类基因的等位基因,其中细胞内源的一种或多种HLA等位基因已被失活。在一些实施方案中,HLA I类基因和HLA II类基因选自表1中所列的SEQ ID NO:1-35中的任一个。

[0163] 在一方面,本公开内容提供了包含如本文所述的修饰的人类癌细胞的组合物,修饰的人类癌细胞包含(A)一种或多种载体,其各自包含编码选自以下的至少一种基因的重组多核苷酸:CSF2、IFN- α 2、CD86、IL-12、CD80、HLA-DRA、IL-7和/或4-1BBL(也称为TNFSF9或CD137L);(B)(a)一种或多种载体,其各自包含编码选自以下的至少一种基因的重组多核苷酸:HLA-A*01:01、HLA-A*68:01、HLA-A*02:01、HLA-A*11:01、HLA-A*03:01、HLA-A*23:01、HLA-A*24:02和/或HLA-A*33:03,或(b)载体,其包含编码以下的重组多核苷酸:HLA-A*01:01等位基因和HLA-A*68:01等位基因,或HLA-A*02:01等位基因和HLA-A*11:01等位基因,或HLA-A*03:01等位基因和HLA-A*23:01等位基因,或HLA-A*24:02等位基因和HLA-A*33:03等位基因;和(C)(a)一种或多种载体,其包含编码选自以下的至少一种基因的重组多核苷酸:HLA-DRB3*02:02、HLA-DRB5*01:01、HLA-DRB4*01:01、HLA-DRB3*01:01、HLA-DRB3*03:01、

HLA-DRB5*01:02和/或HLA-DRB5*02:02,或(b)载体,其包含编码以下的重组多核苷酸:HLA-DRB3*02:02等位基因和HLA-DRB5*01:01等位基因,或HLA-DRB4*01:01等位基因和HLA-DRB3*01:01等位基因,或HLA-DRB3*03:01等位基因和HLA-DRB5*01:02等位基因,或HLA-DRB5*02:02等位基因和HLA-DRB3*01:01等位基因。在一些实施方案中,人类癌细胞内源的一种或多种HLA-A和/或HLA-DR3(例如,HLA-DRB3)等位基因已被失活。在一些实施方案中,人类癌细胞内源的内源HLA-A*24:02等位基因、HLA-A*11:01等位基因、HLA-DRB3*01:01等位基因和/或HLA-DRB3*02:02等位基因中的至少一种已被失活。

[0164] 在一些实施方案中,组合物包含至少10,000个细胞、至少100,000个细胞、至少1,000,000个细胞、至少1,250,000个细胞、至少1,500,000个细胞、至少2,000,000个细胞、至少2,500,000个细胞、至少3,000,000个细胞、至少3,500,000个细胞、至少4,000,000个细胞、至少4,500,000个细胞、至少5,000,000个细胞、至少10,000,000个细胞、至少12,500,000个细胞、至少15,000,000个细胞、至少20,000,000个细胞、至少25,000,000个细胞、至少30,000,000个细胞、至少35,000,000个细胞、至少40,000,000个细胞、至少45,000,000个细胞或至少50,000,000个细胞。在一些实施方案中,组合物包含至少1,000,000个细胞。在一些实施方案中,组合物包含至少20,000,000个细胞。

[0165] 在一些实施方案中,组合物包含至多10,000个细胞、至多100,000个细胞、至多1,000,000个细胞、至多1,250,000个细胞、至多1,500,000个细胞、至多2,000,000个细胞、至多2,500,000个细胞、至多3,000,000个细胞、至多3,500,000个细胞、至多4,000,000个细胞、至多4,500,000个细胞、至多5,000,000个细胞、至多10,000,000个细胞、至多12,500,000个细胞、至多15,000,000个细胞、至多20,000,000个细胞、至多25,000,000个细胞、至多30,000,000个细胞、至多35,000,000个细胞、至多40,000,000个细胞、至多45,000,000个细胞或至多50,000,000个细胞。在一些实施方案中,组合物包含至多20,000,000个细胞。在一些实施方案中,组合物包含至多40,000,000个细胞。

[0166] 在一些实施方案中,组合物包含约1,000,000个至约50,000,000个细胞、约5,000,000个至约35,000,000个细胞、约10,000,000个至约25,000,000个细胞、约15,000,000个至约20,000,000个细胞或约35,000,000个至约40,000,000个细胞。在一些实施方案中,组合物包含约1,000,000个细胞。在一些实施方案中,组合物包含约20,000,000个细胞。在一些实施方案中,组合物包含约40,000,000个细胞。

[0167] 在另一方面,本公开内容提供了药物组合物。在一些实施方案中,药物组合物包含本文所述的任何组合物和药学上可接受的载体。例如,药物组合物可以包含修饰的人类癌细胞或细胞系,其包含编码具有表1中SEQ ID NO:1-13、22-29的至少一种HLA I类等位基因和具有表1中SEQ ID NO:14-21、30-35的至少一种HLA II类等位基因的至少1种、2种、3种、4种、5种或更多种重组多核苷酸,并且一种或多种内源的HLA等位基因已被失活。此外,修饰的人类癌细胞或细胞系内源的CD47分子和/或Ii (CD74) 分子可以被失活。另外,修饰的人类癌细胞或细胞系可以包含一种或多种本文所述的共刺激分子、异源抗原和/或细胞因子(例如表3、图5)。至少1种、2种、3种、4种、5种或更多种重组多核苷酸可以包含编码例如共刺激分子、异源抗原、细胞因子或2A剪接肽的异源序列。因此,编码一种或多种HLA等位基因、共刺激分子、异源抗原和/或细胞因子的重组多核苷酸可以被编码2A剪接肽(例如,T2A、P2A、E2A)的序列分开。通常,将至少1种、2种、3种、4种、5种或更多种重组多核苷酸克隆到表达载

体(例如,复制缺陷型慢病毒载体)中以合成HLA等位基因、共刺激分子、异源抗原和/或细胞因子,并将其引入到修饰的人类癌细胞或细胞系中。因此,在药物组合物中提供的修饰的人类癌细胞或细胞系可以具有至少1种、2种、3种、4种、5种或更多种表达载体,所述载体各自包含编码HLA等位基因、共刺激分子、异源抗原和/或细胞因子的至少1种、2种、3种、4种、5种或更多种重组多核苷酸。

[0168] 在一些实施方案中,药物组合物还包含冷冻保护剂、干扰素 α (例如,IFN- α 2a或IFN- α 2b)和/或干扰素 λ 家族成员(例如,干扰素 λ 1(IFN λ 1(IL-29))、干扰素 λ 2(IFN λ 2(IL-28A))、干扰素 λ 3(IFN λ 3(IL-28B))、干扰素 λ 4(IFN λ 4))。在一些实施方案中,干扰素 α (例如,IFN- α 2a或IFN- α 2b)由包含IFNA2基因的多核苷酸序列的载体在如本文所述的修饰的癌细胞中表达。在一些实施方案中,干扰素 α 是外源提供的聚乙二醇化的IFN- α 2a。在一些实施方案中,药物组合物还包含一种或多种赋形剂。在一些实施方案中,药物组合物还包含CryoStor CS10、CryoStor CS2或CryoStor CS5冷冻保存介质。在特定实施方案中,药物组合物包含冷冻保存在CryoStor CS10、CryoStor CS2或CryoStor CS5冷冻保存介质中的细胞。

[0169] 在一些实施方案中,将药物组合物配制成每剂量包含修饰的癌细胞的总数量的剂型,用于向有此需要的对象施用。在一些实施方案中,将药物组合物配制成“现成的”产品,用于向有此需要的对象自我施用。在一些实施方案中,药物组合物可以具有至少10,000个细胞、至少100,000个细胞、至少1,000,000个细胞、至少1,250,000个细胞、至少1,500,000个细胞、至少2,000,000个细胞、至少2,500,000个细胞、至少3,000,000个细胞、至少3,500,000个细胞、至少4,000,000个细胞、至少4,500,000个细胞、至少5,000,000个细胞、至少10,000,000个细胞、至少12,500,000个细胞、至少15,000,000个细胞、至少20,000,000个细胞、至少25,000,000个细胞、至少30,000,000个细胞、至少35,000,000个细胞、至少40,000,000个细胞、至少45,000,000个细胞或至少50,000,000个细胞。在一些实施方案中,药物组合物包含至少1,000,000个细胞。在一些实施方案中,药物组合物包含至少20,000,000个细胞。

[0170] 在一些实施方案中,药物组合物包含至多10,000个细胞、至多100,000个细胞、至多1,000,000个细胞、至多1,250,000个细胞、至多1,500,000个细胞、至多2,000,000个细胞、至多2,500,000个细胞、至多3,000,000个细胞、至多3,500,000个细胞、至多4,000,000个细胞、至多4,500,000个细胞、至多5,000,000个细胞、至多10,000,000个细胞、至多12,500,000个细胞、至多15,000,000个细胞、至多20,000,000个细胞、至多25,000,000个细胞、至多30,000,000个细胞、至多35,000,000个细胞、至多40,000,000个细胞、至多45,000,000个细胞或至多50,000,000个细胞。在一些实施方案中,药物组合物包含至多20,000,000个细胞。在一些实施方案中,药物组合物包含至多40,000,000个细胞。

[0171] 在一些实施方案中,药物组合物包含约1,000,000个至约50,000,000个细胞、约5,000,000个至约35,000,000个细胞、约10,000,000个至约25,000,000个细胞、约15,000,000个至约20,000,000个细胞或约35,000,000个至约40,000,000个细胞。在一些实施方案中,药物组合物包含约1,000,000个细胞。在一些实施方案中,药物组合物包含约20,000,000个细胞。在一些实施方案中,药物组合物包含约40,000,000个细胞。

[0172] 在一些实施方案中,药物组合物被配制成悬浮液的形式。药物组合物的配制通常是本领域已知的(参见,例如,REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 18TH ED., Mack

Publishing Co., Easton, PA (1990))。通过添加一种或多种不同的抗细菌剂和抗真菌剂可以实现防止微生物污染。在特定实施方案中,药物组合物是包含重悬于乳酸化林格氏溶液中的细胞的液体制剂。

[0173] 适于施用的药物形式包括无菌水溶液或分散体和用于临时制备无菌可注射溶液或分散体的无菌粉末。典型的载体包括溶剂或分散介质,所述溶剂或分散介质含有例如水缓冲的水溶液(即,生物相容性缓冲液,其非限制性实例包括乳酸化林格氏溶液和CryoStor冷冻保存介质(例如,CS2、CS5和CS10,分别含有2%、5%和10%的DMSO;可得自BioLife Solutions, Bothell, WA))、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇、聚乙二醇、其合适的混合物)、表面活性剂或植物油。

[0174] 灭菌可以通过本领域公认的技术完成,包括但不限于添加抗细菌剂或抗真菌剂,例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、山梨酸或硫柳汞。此外,可以将等渗剂例如糖或氯化钠掺入到主题组合物中。

[0175] 含有本公开内容的修饰的癌细胞和/或其它组合物的无菌可注射溶液的产生可以通过将所需量的化合物与以上列举的各种成分(根据需要)掺入到适当的溶剂中,随后灭菌来完成。为了获得无菌粉末,上述无菌溶液可以根据需要进行真空干燥或冷冻干燥。

[0176] 在一些实施方案中,本文提供的修饰的癌细胞和/或其它组合物经配制用于施用,例如,以单位剂型的皮内注射、淋巴内注射、口服施用、鼻施用、局部施用或肠胃外施用,以易于施用且剂量均匀。如本文所用,“单位剂型”是指适合作为用于待治疗的对象(例如,人类或其它哺乳动物)的单位剂量的物理上离散的单位,每个单位含有经计算产生所需治疗效果的预定量的活性物质以及所需的药物载体。在一些情况下,可以制备更浓的剂型,然后可以由此制备更稀的单位剂型。因此,更浓的剂型将基本上含有多于例如至少1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍或更多倍量的修饰的癌细胞和/或其它组合物。

[0177] 在一些实施方案中,本文提供的修饰的癌细胞和/或其它组合物经配制以用于例如在一段时间内施用一个或多个剂量。在一些实施方案中,修饰的癌细胞和/或其它组合物经配制以用于每周、每2周、每3周、每4周、每5周或每6周施用。在一些实施方案中,修饰的癌细胞和/或其它组合物经配制以用于每月、每2个月、每3个月、每4个月、每5个月、每6个月、每12个月、每18个月或每24个月施用。

[0178] 剂量可包括例如约50,000个至50,000,000个(例如,约50,000个、60,000个、70,000个、80,000个、90,000个、100,000个、110,000个、120,000个、130,000个、140,000个、150,000个、160,000个、170,000个、180,000个、190,000个、200,000个、250,000个、300,000个、350,000个、400,000个、450,000个、500,000个、550,000个、600,000个、650,000个、700,000个、750,000个、800,000个、850,000个、900,000个、950,000个、1,000,000个、1,500,000个、2,000,000个、2,500,000个、3,000,000个、3,500,000个、4,000,000个、4,500,000个、5,000,000个、5,500,000个、6,000,000个、6,500,000个、7,000,000个、7,500,000个、8,000,000个、8,500,000个、9,000,000个、9,500,000个、10,000,000个、11,000,000个、12,000,000个、13,000,000个、14,000,000个、15,000,000个、16,000,000个、17,000,000个、18,000,000个、19,000,000个、20,000,000个、25,000,000个、30,000,000个、35,000,000个、40,000,000个、45,000,000个、50,000,000个或更多个)修饰的人类癌细胞。在一些实施方案中,剂量可以含有约1,000,000个修饰的人类癌细胞。在一些实施方案中,剂量可以含有

约5,000,000个修饰的人类癌细胞。在一些实施方案中,剂量可以含有约10,000,000个修饰的人类癌细胞。在一些实施方案中,剂量可以含有约20,000,000个修饰的人类癌细胞。

[0179] 剂量还可以包括,例如,至少约5,000,000个至100,000,000个(例如,约5,000,000个、6,000,000个、7,000,000个、8,000,000个、9,000,000个、10,000,000个、15,000,000个、20,000,000个、25,000,000个、30,000,000个、35,000,000个、40,000,000个、45,000,000个、50,000,000个、55,000,000个、60,000,000个、65,000,000个、70,000,000个、75,000,000个、80,000,000个、85,000,000个、90,000,000个、95,000,000个、100,000,000个或更多个)修饰的人类癌细胞。在一些实施方案中,剂量可以包含至少约1,000,000个修饰的人类癌细胞。在一些实施方案中,剂量可以包含至少约5,000,000个修饰的人类癌细胞。在一些实施方案中,剂量可以包含至少约10,000,000个修饰的人类癌细胞。在一些实施方案中,剂量可以包含至少约20,000,000个修饰的人类癌细胞。

[0180] 剂量可以可选地包含,例如,至少约100,000,000个至1,000,000,000个(例如约100,000,000个、150,000,000个、200,000,000个、250,000,000个、300,000,000个、350,000,000个、400,000,000个、450,000,000个、500,000,000个、550,000,000个、600,000,000个、650,000,000个、700,000,000个、750,000,000个、800,000,000个、850,000,000个、900,000,000个、950,000,000个、1,000,000,000个或更多个)修饰的人类癌细胞。

[0181] 在一些实施方案中,修饰的人类癌细胞是经辐照的。辐照剂量可以是,例如,约2Gy至2,000Gy(例如,约2Gy、3Gy、4Gy、5Gy、6Gy、7Gy、8Gy、9Gy、10Gy、11Gy、12Gy、13Gy、14Gy、15Gy、16Gy、17Gy、18Gy、19Gy、20Gy、30Gy、40Gy、50Gy、60Gy、70Gy、80Gy、90Gy、100Gy、110Gy、120Gy、130Gy、140Gy、150Gy、160Gy、170Gy、180Gy、190Gy、200Gy、210Gy、220Gy、230Gy、240Gy、250Gy、260Gy、270Gy、280Gy、290Gy、300Gy、350Gy、400Gy、450Gy、500Gy、550Gy、600Gy、650Gy、700Gy、750Gy、800Gy、850Gy、900Gy、950Gy、1,000Gy、1,100Gy、1,200Gy、1,300Gy、1,400Gy、1,500Gy、1,600Gy、1,700Gy、1,800Gy、1,900或2,000Gy)。在一些实施方案中,用约200Gy的剂量辐照修饰的人类癌细胞。在一些实施方案中,用约100Gy的剂量辐照修饰的人类癌细胞。

[0182] 制备这种剂型的方法是本领域技术人员已知的(参见,例如,REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES,同上)。剂型通常包含常规的药物载体或赋形剂,并且可以额外包含其它药剂、载体、佐剂、稀释剂、组织渗透增强剂、增溶剂等。适当的赋形剂可以通过本领域众所周知的方法(参见,例如,REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES,同上)调整为特定剂型和施用途径。

[0183] 合适的赋形剂的实例包括但不限于乳糖、右旋糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露糖醇、淀粉、阿拉伯胶、磷酸钙、藻酸盐、黄芪胶、明胶、硅酸钙、微晶纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素、水、盐水、糖浆、甲基纤维素、乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素和聚丙烯酸,例如Carbopol,例如Carbopol 941、Carbopol 980、Carbopol 981等。剂型可以额外包含润滑剂,例如滑石、硬脂酸镁和矿物油;润湿剂;乳化剂;悬浮剂;防腐剂,例如羟基苯甲酸甲酯、羟基苯甲酸乙酯和羟基苯甲酸丙酯(即,对羟基苯甲酸酯);pH调节剂,例如无机酸和有机酸以及碱;甜味剂;和调味剂。剂型还可以包含可生物降解的聚合物珠粒、葡聚糖和环糊精包合复合体。

[0184] 在一些实施方案中,用于施用的药物组合物可以是口服递送媒介物,例如胶囊、扁

囊剂或片剂,所述口服递送媒介物各自含有预定量的组合物以向患者提供正确的增量剂量。口服递送媒介可以用于例如避免组合物与口腔和上胃肠道之间的接触。对于口服施用,治疗有效剂量可以是片剂、胶囊、乳剂、悬浮液、溶液、糖浆、喷雾剂、锭剂、散剂和缓释制剂的形式。用于口服施用的合适赋形剂包括药物级甘露糖醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、滑石、纤维素、葡萄糖、明胶、蔗糖、碳酸镁等。

[0185] 在一些实施方案中,治疗有效剂量采取丸剂、片剂或胶囊的形式,并且因此,剂型可以含有与本文所述的修饰的癌细胞和/或其它组合物一起的以下中的任一种:稀释剂,例如乳糖、蔗糖、磷酸二钙等;崩解剂,例如淀粉或其衍生物;润滑剂,例如硬脂酸镁等;以及粘合剂,例如淀粉、阿拉伯胶、聚乙烯吡咯烷酮、明胶、纤维素及其衍生物。

[0186] 在一些实施方案中,合适的载体将组合物(例如,修饰的癌细胞和/或其它组合物)从口腔和上胃肠道(GI)道掩盖,并且在施用期间减少或防止这些区域中的局部瘙痒/肿胀反应。例如,载体可以含有一种或多种脂质、多糖或蛋白质成分。在一些情况下,载体是食品产品。

[0187] 对于局部施用,治疗有效剂量可以是乳剂、洗剂、凝胶剂、泡沫、霜剂、胶状物、溶液、悬浮液、软膏剂和透皮贴片的形式。对于吸入施用,本文所述的修饰的癌细胞和/或其它组合物可以以干粉或液体形式通过喷雾器递送。可以将气溶胶制剂置于加压的可接受的推进剂例如二氯二氟甲烷中。对于肠胃外施用,治疗有效剂量可以是无菌可注射溶液和无菌包装粉末的形式。优选地,可注射溶液在约4.5至约7.5的pH下配制。

[0188] 治疗有效剂量也可以以冻干形式提供。这样的剂型可以包含用于在施用之前重构的缓冲液(例如碳酸氢盐),或者缓冲液可以包含在用于用例如水重构的冻干剂型中。冻干剂型还可以包含合适的血管收缩剂,例如肾上腺素。冻干剂型可以在注射器中提供,任选地与用于重构的缓冲液组合包装,使得重构剂型可以立即施用于个体。

[0189] 在一些实施方案中,治疗有效剂量还可以包含其它组分,例如抗过敏药物,例如抗组胺剂、类固醇、支气管扩张剂、白三烯稳定剂和肥大细胞稳定剂。合适的抗过敏药物是本领域众所周知的。

D. 用于治疗癌症的方法

[0190] 在另一方面,本公开内容提供了用于治疗对象中的癌症的方法。在一些实施方案中,方法包括向对象施用治疗有效量的本文所述的本公开内容的药物组合物(例如,包含本公开内容的修饰的癌细胞的药物组合物)。

[0191] 在一些实施方案中,方法包括在上背部或大腿向对象皮内施用有效量的药物组合物。不受任何理论的束缚,选择上背部和大腿是为了患者的可接受性,因为这些区域在皮肤中具有较少的神经,因此不太敏感。此外,接近的引流淋巴结可以从上躯干和下躯干的乳腺肿瘤中传递抗原,所述上躯干和下躯干是乳腺癌转移的常见部位。方法还可以包括以每周、每2周、每3周、每4周、每5周或每6周的间隔向对象施用药物组合物。在一些实施方案中,方法包括以每月、每2个月、每3个月、每4个月、每5个月、每6个月、每12个月、每18个月或每24个月的间隔向对象施用药物组合物。在一些实施方案中,方法包括向对象施用药物组合物至少6周、12周、24周、36周、48周、52周或更长。在一些实施方案中,方法包括向对象施用药物组合物至少1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、8个月、10个月、12个月或更长。在一些实施方案中,方法包括向对象施用药物组合物不超过6周、12周、24周、36周、48周或52

周。在一些实施方案中,方法包括向对象施用药物组合物不超过1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、8个月、10个月或12个月。

[0192] 在一些实施方案中,方法包括通过口服施用、局部接触、作为栓剂施用、静脉内、腹膜内、肌内、病灶内、瘤内、皮内、淋巴内、鞘内、鼻内或皮下施用向对象施用有效量的药物组合物。在一些实施方案中,有效量的药物组合物的施用通过肠胃外施用(例如,静脉内、肌内、小动脉内、皮内、皮下、腹膜内、心室内和颅内)或经粘膜施用(例如,口腔、舌下、腭、牙龈、鼻、阴道、直肠或经皮)来进行。在一些实施方案中,方法包括使用脂质体制剂、静脉内输注或透皮贴片。

[0193] 在一些实施方案中,方法还包括在向对象施用本文所述的药物组合物之前,向对象静脉内施用一个或多个剂量的环磷酰胺至少1天、至少2天、至少3天、至少4天、至少5天或更长。在一些实施方案中,在向对象施用本文所述的药物组合物之前至少约2天至3天施用环磷酰胺。在一些实施方案中,向对象施用约100mg/m²、150mg/m²、200mg/m²、250mg/m²、300mg/m²或450mg/m²的低剂量的环磷酰胺。

[0194] 在一些实施方案中,方法还包括在本文所述的药物组合物的接种部位处向对象皮内施用一个或多个剂量的干扰素- α -2b (IFN- α 2b)、IFN- α 2a或聚乙二醇化的IFN- α 2a。在一些实施方案中,方法还包括在向对象施用本文所述的药物组合物之后,向对象皮内施用一个或多个剂量的IFN- α 2b、IFN- α 2a或聚乙二醇化的IFN- α 2a不超过1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、7小时、8小时、9小时、10小时、12小时、24小时、48小时、60小时、72小时或84小时。在一些实施方案中,方法还包括在向对象施用本文所述的药物组合物之后约1-4小时、约2-6小时、约8-12小时、约10-24小时、约20-48小时或约60-72小时向对象皮内施用一个或多个剂量的IFN- α 2b、IFN- α 2a或聚乙二醇化的IFN- α 2a。在一些实施方案中,方法还包括在向对象施用药物组合物后不迟于5小时、10小时、15小时、20小时、25小时、30小时、45小时、50小时、60小时、72小时或84小时向对象皮内施用一个或多个剂量的IFN- α 2b、IFN- α 2a或聚乙二醇化的IFN- α 2a。在一些实施方案中,方法还包括在向对象施用药物组合物之后不迟于1天、2天、3天、4天、5天或6天向对象皮内施用一个或多个剂量的IFN- α 2b、IFN- α 2a或聚乙二醇化的IFN- α 2a。在一些实施方案中,方法还包括在向对象施用药物组合物之后不迟于约1-6天、2-3天或3-5天向对象皮内施用一个或多个剂量的IFN- α 2b、IFN- α 2a或聚乙二醇化的IFN- α 2a。在一些实施方案中,方法还包括在向对象施用药物组合物之后1小时至4小时向对象施用第一剂量的IFN- α 2b、IFN- α 2b、IFN- α 2a或聚乙二醇化的IFN- α 2a,并在1-3天向对象施用第二剂量的IFN- α 2b、IFN- α 2a或聚乙二醇化的IFN- α 2a。在一些实施方案中,施用的IFN- α 2b为约1-20,000IU、100-15,000IU、5000-12,000IU或9,000-11,000IU的低剂量。在一些实施方案中,施用的IFN- α 2b为约10,000IU的剂量。在一些实施方案中,施用的IFN- α 2a或聚乙二醇化的IFN- α 2a为约0.01-0.1微克(mcg)、0.05-0.15mcg、0.06-0.12mcg或0.09-0.11mcg的低剂量。在一些实施方案中,施用的IFN- α 2b为约0.1mcg的剂量。

[0195] 在一些实施方案中,方法还包括向对象施用一种或多种额外的治疗。合适的额外类型的实例包括但不限于化学治疗、免疫治疗、放射治疗、激素治疗、分化剂和小分子药物。本领域技术人员将能够容易地选择适当的额外治疗。

[0196] 可用于本公开内容的化学治疗剂包括但不限于烷化剂(例如,氮芥(例如,二氯甲基二乙胺、苯丁酸氮芥、环磷酰胺、异环磷酰胺、美法仑)、亚硝基脲(例如,链脲佐菌素、卡莫

司汀 (BCNU)、洛莫司汀)、烷基磺酸盐 (例如,白消安)、三嗪 (例如,达卡巴嗪 (DTIC)、替莫唑胺)、亚乙基亚胺 (ethylenimines) (例如,噻替派、六甲蜜胺 (altretamine/hexamethylmelamine) ())、铂类药物 (例如,顺铂、卡铂、奥沙利铂)、抗代谢物 (例如,5-氟尿嘧啶 (5-FU)、6-巯基嘌呤 (6-MP)、卡培他滨、阿糖胞苷、氟尿苷、氟达拉滨、吉西他滨、羟基脲、甲氨蝶呤、培美曲塞)、蒽环类抗肿瘤抗生素 (例如,柔红霉素、阿霉素、表柔比星、伊达比星)、非蒽环类抗肿瘤抗生素 (例如,放线菌素-D、博来霉素、丝裂霉素-C、米托蒽醌)、有丝分裂抑制剂 (例如,紫杉烷 (例如,紫杉醇、多西他赛)、埃博霉素 (例如,伊沙匹隆)、长春花生物碱 (例如,长春花碱、长春新碱、长春瑞滨)、雌莫司汀、皮质类固醇 (例如,泼尼松、甲基泼尼松龙、地塞米松)、L-天冬酰胺酶、硼替佐米和拓扑异构酶抑制剂。可以使用化学治疗剂的组合。

[0197] 拓扑异构酶抑制剂是抑制拓扑异构酶活性的化合物,拓扑异构酶是通过催化DNA链的骨架中磷酸二酯键的断裂和重新连接而促进DNA结构改变的酶。DNA结构的这样的改变对于正常细胞周期中的DNA复制是必需的。拓扑异构酶抑制剂抑制细胞周期中的DNA连接,导致增加的单链和双链断裂的数目并因此降低基因组稳定性。基因组稳定性的这样的降低导致细胞凋亡和细胞死亡。

[0198] 拓扑异构酶通常分为I型和II型拓扑异构酶。I型拓扑异构酶对于DNA复制和转录过程中DNA超螺旋的松弛是必需的。I型拓扑异构酶产生DNA单链断裂并且还将所述断裂重新连接以重建完整的双螺旋DNA分子。I型拓扑异构酶抑制剂的实例包括伊立替康、拓扑替康、喜树碱和片螺素D,其全部靶向IB型拓扑异构酶。

[0199] II型拓扑异构酶抑制剂广泛地分类为拓扑异构酶毒物和拓扑异构酶抑制剂。拓扑异构酶毒物靶向拓扑异构酶-DNA复合物,而拓扑异构酶抑制剂破坏酶催化转化。II型拓扑异构酶抑制剂的实例包括安吡啶、依托泊苷、磷酸依托泊苷、替尼泊苷、多柔比星和氟喹诺酮。

[0200] 在一些实施方案中,化学治疗剂是拓扑异构酶抑制剂。在一些情况下,拓扑异构酶抑制剂是拓扑异构酶I抑制剂、拓扑异构酶II抑制剂或以上的组合。在特定实施方案中,拓扑异构酶抑制剂选自多柔比星、依托泊苷、替尼泊苷、柔红霉素、米托蒽醌、安吡啶、椭圆玫瑰树碱、金精三羧酸、HU-331、伊立替康、拓扑替康、喜树碱、片螺素D、白藜芦醇、染料木黄酮、槲皮素、表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG) 及以上的组合。EGCG是作为合适的拓扑异构酶抑制剂的植物来源的天然苯酚的一个实例。在一些情况下,拓扑异构酶抑制剂是多柔比星。

[0201] 免疫治疗是指使用对象的免疫系统对抗疾病 (例如,癌症) 的任何治疗。免疫治疗方法可以涉及增强或抑制免疫功能。在癌症治疗的背景下,免疫治疗方法通常涉及增强或激活免疫功能。在一些情况下,免疫治疗剂包含靶向癌细胞的特定类型或部分的单克隆抗体。在一些情况下,抗体与例如药物分子或放射性物质的部分结合。作为非限制性实例,抗体可以来源于小鼠、是嵌合的或人源化的。治疗性单克隆抗体的非限制性实例包括阿仑单抗、贝伐珠单抗、西妥昔单抗、达雷妥尤单抗、伊匹单抗 (MDX-101)、纳武单抗、奥法妥单抗、帕尼单抗、派姆单抗、瑞弗利单抗、利妥昔单抗、托西莫单抗和曲妥珠单抗。

[0202] 免疫治疗剂还可以包含免疫检查点抑制剂,所述免疫检查点抑制剂调节免疫系统区分正常细胞和“外来”细胞的能力。程序性细胞死亡蛋白1 (PD-1) 和蛋白死亡配体1 (PD-

L1) 是免疫检查点抑制剂的常见靶标,因为PD1和PD-L1之间相互作用的破坏增强免疫细胞对抗外来细胞例如癌细胞的活性。PD-1抑制剂的实例包括派姆单抗、瑞弗利单抗和纳武单抗。PD-L1抑制剂的实例是阿特珠单抗。

[0203] 用于治疗癌症的另一免疫检查点靶标是细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4 (CTLA-4), 其是下调免疫细胞应答的受体。因此,抑制CTLA-4的药物可以增加免疫功能。这样的药物的实例是伊匹单抗,所述伊匹单抗是与CTLA-4结合并抑制CTLA-4的单克隆抗体。

[0204] 术语“放射治疗”是指向对象递送高能辐射以治疗疾病(例如,癌症)。放射治疗可包括X射线、 γ 射线和/或带电粒子的递送。可以局部地(例如,至肿瘤的部位或区域)或全身地(例如,全身地施用放射性物质,例如放射性碘并移动到肿瘤部位)递送放射治疗。

[0205] 术语“激素治疗”可以指激素合成的抑制剂、激素受体拮抗剂或激素补充剂。激素合成的抑制剂包括但不限于芳香化酶抑制剂和促性腺激素释放激素 (GnRH) 类似物。激素受体拮抗剂包括但不限于选择性受体拮抗剂和抗雄激素药物。激素补充剂包括但不限于孕激素、雄激素、雌激素和生长抑素类似物。芳香化酶抑制剂用于例如治疗乳腺癌。非限制性实例包括来曲唑、阿那曲唑和氨鲁米特。GnRH类似物可以用于例如诱导化学去势。通常用于治疗乳腺癌的选择性雌激素受体拮抗剂包括他莫昔芬、雷洛昔芬、托瑞米芬和氟维司群。与雄激素受体结合并抑制雄激素受体的抗雄激素药物通常用于抑制睾酮对前列腺癌的生长和存活作用。非限制性实例包括氟他胺、阿帕鲁胺和比卡鲁胺。

[0206] 术语“分化剂”是指促进细胞分化的任何物质,所述促进细胞分化的任何物质在癌症的背景下可以促进恶性细胞呈现较少的干细胞样状态。抗癌分化剂的非限制性实例是视黄酸。

[0207] 小分子药物通常是具有低分子量(即,小于约900道尔顿)的药剂。用于治疗癌症的小分子药物的非限制性实例包括硼替佐米(蛋白酶体抑制剂)、伊马替尼(酪氨酸激酶抑制剂)和seliciclib(细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂)以及艾卡唑司他(吡啶胺2,3-双加氧酶(IDO1)抑制剂)。

[0208] 在一些实施方案中,本公开内容的治疗癌症的方法还包括根据本文所述的本公开内容的方法为对象选择全细胞癌症疫苗。在特定实施方案中,对象患有I期、II期、III期和/或IV期癌症。在其它实施方案中,癌症在阶段之间转变。在一些实施方案中,对象具有癌前病变。在一些实施方案中,对象并未患有癌症。

[0209] 在一些实施方案中,治疗对象包括抑制癌细胞生长、抑制癌细胞增殖、抑制癌细胞迁移、抑制癌细胞侵袭、改善或消除癌症的症状、减小癌症肿瘤的尺寸(例如,体积)、减少癌症肿瘤的数目、减少癌细胞的数目、诱导癌细胞坏死、细胞焦亡、细胞胀亡、细胞凋亡、自噬或其它细胞死亡或者增强组合物或药物组合物的治疗效果。在一些实施方案中,治疗对象导致增加的生存时间。在一些情况下,总生存期增加。在其它情况下,无病生存期增加。在一些情况下,无进展生存期增加。在特定实施方案中,治疗对象导致肿瘤体积的减小和/或生存时间的增加。

[0210] 在特定实施方案中,治疗对象增强抗癌治疗例如化学治疗剂、免疫治疗剂、放射治疗、激素治疗、分化剂和/或小分子药物的治疗效果。

[0211] 可以使用本领域技术人员容易知道的途径、剂量和方案来施用本公开内容的治疗,例如修饰的癌细胞、组合物和药物组合物。施用可以每天进行一次、每两天进行一次、每

三天进行一次、每四天进行一次、每五天进行一次、每六天进行一次或每周进行一次。治疗可以每周施用1次、2次、3次、4次、5次、6次、7次、8次、9次、10次、11次、12次、13次、14次或更多次。在一些情况下,本公开内容的修饰的癌细胞、组合物和/或药物组合物作为单剂量施用、共施用(例如,以分开的剂量或通过不同的途径施用,但在时间上紧挨在一起)或分开施用(例如,以不同的剂量施用,包括相同或不同的途径,但分开约1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、7小时、8小时、9小时、10小时、11小时、12小时或更多小时)。在多剂量将在同一天施用的情况下,或者在单剂量包含一种或多种组分(例如,修饰的癌细胞和IFN α 分开施用)的情况下,可以例如在一天内发生1次、2次、3次、4次、5次、6次、7次、8次、9次、10次、11次、12次或更多次施用。

[0212] 在一些情况下,治疗性施用可以以约每周一次、约每两周一次、约每三周一次或约每月一次发生。在其它情况下,治疗性施用可以每月发生约1次、2次、3次、4次、5次、6次、7次、8次、9次、10次、11次、12次、13次、14次、15次、16次、17次、18次、19次、20次、21次、22次、23次、24次、25次、26次、27次、28次、29次、30次或更多次。治疗可以持续约1周、2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周或更多周;约1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、12个月或更多个月;或更长时间。在治疗期间的任何时间,可以根据需要调整治疗计划。例如,根据对本公开内容的修饰的癌细胞、组合物或药物组合物的反应,可以选择不同的疫苗,可以选择一种或多种额外的治疗剂或药物,或者可以停止治疗计划的任何方面。本领域技术人员将能够容易地做出这样的决定,所述决定可以以例如等位基因谱比较的结果、免疫细胞的活性和/或数目的变化和/或一种或多种生物标志物的存在或水平的变化为基础。

[0213] 本公开内容的修饰的癌细胞、组合物和药物组合物可以通过任何合适的途径施用,包括本文所述的那些。在一些实施方案中,施用是通过皮内或淋巴内注射。在一些实施方案中,全细胞癌症疫苗(例如,包含本公开内容的修饰的癌细胞)与干扰素 α (IFN α) 分开给予。在一些情况下,局部地注射IFN α 。可以在施用疫苗之前和/或之后给予IFN α 。分开注射的时间可以是任何合适的间隔,包括本文所述的那些。

[0214] 本领域技术人员将能够容易地施用包括在特定剂量中的适当修饰的癌细胞的数目。剂量可以包含例如约50,000个至50,000,000个(例如,约50,000个、60,000个、70,000个、80,000个、90,000个、100,000个、110,000个、120,000个、130,000个、140,000个、150,000个、160,000个、170,000个、180,000个、190,000个、200,000个、250,000个、300,000个、350,000个、400,000个、450,000个、500,000个、550,000个、600,000个、650,000个、700,000个、750,000个、800,000个、850,000个、900,000个、950,000个、1,000,000个、1,500,000个、2,000,000个、2,500,000个、3,000,000个、3,500,000个、4,000,000个、4,500,000个、5,000,000个、5,500,000个、6,000,000个、6,500,000个、7,000,000个、7,500,000个、8,000,000个、8,500,000个、9,000,000个、9,500,000个、10,000,000个、11,000,000个、12,000,000个、13,000,000个、14,000,000个、15,000,000个、16,000,000个、17,000,000个、18,000,000个、19,000,000个、20,000,000个、25,000,000个、30,000,000个、35,000,000个、40,000,000个、45,000,000个、50,000,000个或更多个)修饰的癌细胞。在一些实施方案中,剂量可以含有约1,000,000个修饰的癌细胞。在一些实施方案中,剂量可以含有约5,000,000个修饰的癌细胞。在一些实施方案中,剂量可以含有约10,000,000个修饰的癌细胞。在

一些实施方案中,剂量可以含有约20,000,000个修饰的癌细胞。

[0215] 剂量还可以包含,例如,至少约5,000,000个至100,000,000个(例如,约5,000,000个、6,000,000个、7,000,000个、8,000,000个、9,000,000个、10,000,000个、15,000,000个、20,000,000个、25,000,000个、30,000,000个、35,000,000个、40,000,000个、45,000,000个、50,000,000个、55,000,000个、60,000,000个、65,000,000个、70,000,000个、75,000,000个、80,000,000个、85,000,000个、90,000,000个、95,000,000个、100,000,000个或更多个)修饰的癌细胞。

[0216] 剂量可选地包含,例如,至少约100,000,000个至1,000,000,000个(例如,约100,000,000个、150,000,000个、200,000,000个、250,000,000个、300,000,000个、350,000,000个、400,000,000个、450,000,000个、500,000,000个、550,000,000个、600,000,000个、650,000,000个、700,000,000个、750,000,000个、800,000,000个、850,000,000个、900,000,000个、950,000,000个、1,000,000,000个或更多个)修饰的癌细胞。

[0217] 在一些实施方案中,修饰的癌细胞被辐照。辐照剂量可以是,例如,约2Gy至2,000Gy(例如,约2Gy、3Gy、4Gy、5Gy、6Gy、7Gy、8Gy、9Gy、10Gy、11Gy、12Gy、13Gy、14Gy、15Gy、16Gy、17Gy、18Gy、19Gy、20Gy、30Gy、40Gy、50Gy、60Gy、70Gy、80Gy、90Gy、100Gy、110Gy、120Gy、130Gy、140Gy、150Gy、160Gy、170Gy、180Gy、190Gy、200Gy、210Gy、220Gy、230Gy、240Gy、250Gy、260Gy、270Gy、280Gy、290Gy、300Gy、350Gy、400Gy、450Gy、500Gy、550Gy、600Gy、650Gy、700Gy、750Gy、800Gy、850Gy、900Gy、950Gy、1,000Gy、1,100Gy、1,200Gy、1,300Gy、1,400Gy、1,500Gy、1,600Gy、1,700Gy、1,800Gy、1,900Gy或2,000Gy)。在特定实施方案中,用约100Gy的剂量辐照修饰的癌细胞。

[0218] 在一些实施方案中,治疗对象导致在获自对象的样品中测量或检测的一种或多种异源抗原的存在或水平降低。在一些实施方案中,治疗对象导致在获自对象的样品中测量或检测的一种或多种生物标志物的存在或水平增加。在特定实施方案中,治疗对象导致一种或多种生物标志物的存在或水平没有改变。

[0219] 在一些实施方案中,治疗对象导致一种或多种免疫细胞的活性和/或数目增加。在一些情况下,在一种细胞类型中产生增加。在其它情况下,在多种细胞类型中产生增加。在一些实施方案中,其中活性水平和/或数目增加的细胞选自:外周血单核细胞(PBMC)、淋巴细胞(例如T淋巴细胞、B淋巴细胞、NK细胞)、单核细胞、树突状细胞、巨噬细胞、髓源性抑制细胞(MDSC)及以上的组合。在特定实施方案中,使用本文所述的本公开内容的方法测量免疫细胞的活性水平和/或数目。

[0220] 在一些实施方案中,免疫细胞活性和/或数目的增加指示应向对象施用一个或多个额外剂量的药物组合物(例如,包含本公开内容的修饰的癌细胞)。在一些情况下,施用不同的疫苗。本领域技术人员将认识到,在一些情况下,在已经施用了1个剂量、2个剂量、3个剂量、4个剂量、5个剂量、6个剂量、7个剂量、8个剂量、9个剂量、10个剂量、11个剂量、12个剂量、13个剂量、14个剂量或更多个剂量的疫苗之后,将发生免疫细胞活性和/或数目的增加。

[0221] 在一些实施方案中,从对象获得样品。在其它实施方案中,从不同对象或对象的群体获得样品。样品可以用于选择本公开内容的适当的癌症疫苗、监测对疫苗治疗的反应和/或预测对象将如何反应于疫苗治疗的目的。从不同对象和/或对象的群体获得的样品可以用于,例如,建立参考范围以促进作为本公开内容的方法的一部分的比较。可以在任何时间

获得样品,包括在施用本公开内容的修饰的癌细胞、药物组合物和/或其它组合之前和/或之后。在一些实施方案中,样品包括全血、血浆、血清、脑脊液、组织、唾液、颊细胞、肿瘤组织、尿液、从胸腔积液获得的液体、毛发、皮肤或以上的组合。通常,样品可以包括任何生物流体。对于HLA分型,任何细胞、组织或生物流体类型都是合适的,只要它含有足够量的DNA或RNA以允许分型。在一些情况下,样品包括循环肿瘤细胞(CTC)。样品也可以由正常细胞和癌细胞的组合组成。在特定实施方案中,样品包括循环肿瘤细胞(CTC)。样品可以,例如,从活组织检查、从手术切除和/或作为细针抽吸(FNA)获得。如本文所述,样品可以用于测定、测量或检测HLA等位基因、免疫细胞活性和/或数目和/或生物标志物。

[0222] 在一些实施方案中,HLA分型的结果(例如,等位基因谱中存在的等位基因、等位基因谱的比较结果)、免疫细胞活性和/或数目测量和/或生物标志物存在或水平测定记录在有形介质中。例如,测定的结果(例如,等位基因谱中存在的等位基因、比较等位基因谱的结果、免疫细胞的活性水平和/或数目、一种或多种生物标志物的存在或水平(例如,表达)和/或预后或诊断(例如,是否存在癌症、对象是否将对疫苗作出反应的预测或对象是否对疫苗作出反应)可以记录在例如纸上或电子介质(例如,录音带、计算机磁盘、CD、闪存驱动器等)上。

[0223] 在其它实施方案中,方法还包括向患者(即,对象)提供测定、预后和/或诊断结果和/或治疗结果的步骤。

E. 套装产品

[0224] 在另一方面,本公开内容提供了用于治疗患有癌症的对象的套装产品。在一些实施方案中,套装产品包含本文所述的本公开内容的修饰的癌细胞系、组合物和/或药物组合物。套装产品可用于治疗任何癌症,所述癌症的一些非限制性实例包括乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、前列腺癌、胰腺癌、结直肠癌、胃癌、肺癌、皮肤癌、肝癌、脑癌、眼癌、软组织癌、肾癌、膀胱癌、头颈癌、间皮瘤、急性白血病、慢性白血病、髓母细胞瘤、多发性骨髓瘤、肉瘤和本文所述的任何其它癌症,包括它们的组合。

[0225] 用于实施本公开内容的各种方法的材料和试剂可以在套装产品中提供以促进所述方法的执行。如本文所用,术语“套装产品”包括促进过程、测定、分析或操作的物品的组合。特别地,发现本公开内容的套装产品用于广泛的应用中,所述应用包括例如诊断、预后、治疗等。

[0226] 套装产品可以包含化学试剂以及其它组成部分。此外,本公开内容的套装产品可以包含但不限于套装产品使用者的说明书,用于样品收集和/或纯化的设备和试剂,用于产物收集和/或纯化的设备和试剂,用于施用本公开内容的修饰的癌细胞或其它组合物的设备和试剂,用于测定生物标志物的水平和/或免疫细胞的活性和/或数目的设备和试剂,用于检测HLA等位基因的设备试剂,样品管,支托,托盘,支架,皿,板,溶液,缓冲液或其它化学试剂,用于标准化、归一化和/或对照样品的合适样品。本公开内容的套装产品还可以包装以方便储存和安全运输,例如,包装在具有盖的盒子中。例如,套装产品可以在室温下、在湿冰上或用冷敷包储存和运输,或在液氮的气相中或在干冰中冷冻。

[0227] 在一些实施方案中,套装产品还含有阴性和阳性对照样品,用于检测HLA等位基因、免疫细胞活性和/或数目和/或生物标志物的存在或水平。在一些实施方案中,阴性对照样品是非癌细胞、组织或获自待治疗或已经进行治疗的对象的生物流体。在其它实施方案

中,阴性对照样品获自没有癌症的个体或个体的组。在其它实施方案中,阳性对照样品获自患有癌症的对象或其它个体或个体的组。在一些实施方案中,套装产品含有用于制备样品中一种或多种生物标志物的滴定曲线的样品,以帮助评价生物样品中一种或多种免疫细胞和/或生物标志物的活性和/或数目的定量水平。

IV. 实施例

[0228] 将通过具体实施例的方式更详细地描述本公开内容。提供以下实施例仅用于说明目的,并且不旨在以任何方式限制本发明。本领域技术人员将容易地认识到可以改变或修改以产生基本上相同的结果的各种非关键参数。

实施例1:Bria-OTS乳腺癌免疫治疗细胞系的产生

[0229] 本实施例示出了产生本文所述的细胞系的一个实施方案。

[0230] Bria-OTS是设计以原位分泌粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)并增强树突状细胞活性的实验性HER-2/neu阳性的同种异体的全细胞乳腺癌(BC)细胞系。此外,Bria-OTS细胞系经工程改造以表达多种人类白细胞抗原(HLA)等位基因以匹配>99%的乳腺癌患者群体。Bria-OTS由4种独立的BC细胞系组成:BC1、BC2、BC3和BC4,如下详述。四种Bria-OTS细胞系中的每一种表达编码GM-CSF的CSF2基因。

[0231] 亲本细胞系。Bria-OTS细胞系来源于乳腺癌亲本细胞系SV-BR-1,所述SV-BR-1表达多种癌症相关抗原和免疫刺激因子,包括直接激活CD4+T细胞以增强免疫应答的II类HLA分子。初始SV-BR-1细胞系的产生描述于WO 2017/147600中,将其以其整体并入本文中。

[0232] 亲本细胞系SV-BR-1含有表达的内源HLA等位基因HLA-A*24:02、HLA-B*35:08、HLA-B*55:01、HLA-C*01:02、HLA-C*04:01和HLA-DRB3*01:01;此外,HLA-DRB3*02:02、HLA-DRB1*11:04、HLA-DRB1*13:03以较低水平表达,但通过暴露于干扰素- γ (IFN γ)而增强;以及未检测到HLA-A*11:01。在Bria-OTS细胞系中,HLA-A*24:02和DRB3*01:01的表达已经使用如下所述的CRISPR技术功能性敲除。Bria-OTS细胞系反而表达HLA基因的以下组合:BC1.68.3.4(BC1):HLA-A*01:01、HLA-A*68:01、HLA-DRB3*02:02、HLA-DRB4*01:01;BC2.11.4.3(BC2):HLA-A*02:01、HLA-A*11:01、HLA-DRB4*01:01、HLA-DRB3*03:01;BC3.23.3.5(BC3):HLA-A*03:01、HLA-A*23:01、HLA-DRB3*01:01、HLA-DRB5*01:02;和BC33.5.5(BC4):HLA-A*33:03、HLA-DRB5*01:01、HLA-DRB5*02:02。

[0233] 为了制备本文所述的治疗组合物,可以将来自细胞库(MCB)的小瓶解冻,在培养物中生长,收获并冷冻保存。

[0234] 内源HLA抗原在细胞系中表达的失活。SV-BR-1内源HLA等位基因包括:HLA-A*24:02、HLA-A*11:01、HLA-B*35:08、HLA-B*55:01、HLA-DRB3*01:01和HLA-DRB3*02:02,其中除HLA-A*11:01外的所有等位基因均在标准培养条件下表达。为了消除内源SV-BR-1HLA等位基因与作为Bria-OTS-1构建的一部分引入的外源HLA等位基因之间竞争的可能性,通过失活内源HLA-A和HLA-DRB3等位基因而工程改造Bria-KO(SV-BR-1-KO)。使用成簇规律间隔短回文重复/CRISPR-相关蛋白-9(CRISPR/Cas9)技术,设计合成的向导RNA(sgRNA)以将移码突变引入到内源HLA等位基因中,使得HLA蛋白无功能,如下所述。使用Lipofectamine CRISPRMAX Cas9转染试剂将sgRNA向导RNA转染到Bria-SV-BR-1细胞中。使用抗HLA-A或抗HLA-DR抗体通过流式细胞术评价敲除(KO)细胞。例如,通过用Dynabeads(Invitrogen)和HLA-A24抗体进行阴性分离来分选HLA-A无效细胞。进行两轮阴性选择以富集HLA-A*24:02

阴性细胞。使用与抗HLA-DR (识别HLA-DR β 3,由HLA-DRB3基因编码,与HLA-DR α 复合) 抗体偶联的Dynabeads类似地进行额外轮的阴性选择,获得克隆衍生物。随后,通过转染或转导引入用于免疫刺激剂(例如,GM-CSF) 和其它外源HLA等位基因的基因。确认了克隆17含有HLA-A*24:02和HLA-DRB3*01:01移码突变,产生流式细胞术测定中抗体不能识别的突变的HLA抗原。因此,亲本细胞系Bria-SV-BR-1中的四种靶HLA等位基因中的两种被成功失活,导致克隆17的产生。

[0235] 随后分别用4种慢病毒载体(分别为V1、V2、V3和V4) 转导克隆17以诱导GM-CSF、干扰素- α (IFN- α) 和4种外源HLA基因(2种HLA-A基因和2种HLA-DRB3或HLA-DRB4或HLA-DRB5基因) 的表达。用于开发相应的Bria-OTS细胞系的慢病毒构建体示于表2中。

[0236] 结果是4种细胞系均表达GM-CSF和IFN- α ,并且BC1、BC2和BC3各自表达4种独特的HLA基因(2种I类HLA基因和2种II类HLA基因),并且BC4表达3种独特的HLA基因(2种I类HLA基因和1种II类HLA基因),如表2和图1-4所示。使用流式细胞术在慢病毒转导后开发的细胞系上通过测量培养物上清液中的GM-CSF来检查细胞系。

[0237] 内源HLA-A和HLA-DRB3表达的CRISPR失活。使用CRISPR/Cas9技术进行HLA-A(*11:01和*24:02) 和HLA-DRB3(*01:01和*02:02) 的去除。具有化学修饰的合成sgRNA购自Synthego (HLA-A:A*C*A*GCGACGCCGCGAGCCAG-Synthego修饰的EZ支架(SEQ ID NO:45) 和HLA-DRB3:U*G*C*AGACACAACUACGGGGU-Synthego修饰的EZ支架(SEQ ID NO:46))。将SV-BR-1细胞储存在LN2中并在补充的RPMI培养基中于37℃、5% CO2和95%湿度下培养。将细胞冷冻保存。将SV-BR-1细胞转移回培养物中并在接种前保持在培养物中。将细胞以每孔 0.5×10^6 个细胞的浓度接种在6孔板中。第二天,使用Lipofectamine CRISPRMAX试剂转染细胞。根据制造的建议重构sgRNA (HLA-A) 并将其稀释至30 μ M。接着,通过混合21 μ l sgRNA 30 μ M+3.5 μ l synthego提供的20 μ M Cas9核酸酶+5 μ l lipofectamine Cas9 plus试剂+95.5 μ l Optimem,并于室温下孵育10分钟来制备RNP复合体。RNP复合体形成后,将其与预孵育的lipofectamine CRISPRMAX(5 μ l Lipofectamine+120 μ l optimen) 混合并孵育5分钟。最后,将350 μ l混合物加入到含有细胞的孔中并孵育2-3天。将细胞扩增10天,并在2018年3月1日使用抗HLA-A24抗体通过流式细胞术验证KO (20% HLA-A24阴性细胞)。通过用Dynabeads (Invitrogen) 和HLA-A24抗体进行阴性分离来分选HLA-A无效细胞。珠粒分选后,40%的细胞是HLA-A24阴性的。扩增细胞并使用HLA-A24抗体和Dynabeads对所述细胞进行第二轮阴性分离。珠粒分选后,100%的SV-BR-1细胞是HLA-A24阴性的,如通过流式细胞术所示。将细胞扩增并冷冻保存。

[0238] 将SV-BR-1HLA-A敲除细胞(KO) 转移回培养物中,然后以 0.15×10^6 个细胞/孔接种在24孔板中。第二天,使用Lipofectamine CRISPRMAX试剂转染细胞。按照制造的建议重构sgRNA (HLA-DRB3) 并将其稀释至30 μ M。接着,通过混合21 μ l sgRNA 30 μ M+3.5 μ l synthego提供的20 μ M Cas9核酸酶+5 μ l lipofectamine Cas9 plus试剂+95.5 μ l Optimem,并于室温下孵育10分钟来制备RNP复合体。RNP复合体形成后,将其与预孵育的lipofectamine CRISPRMAX(5 μ l Lipofectamine+120 μ l optimen) 混合并孵育5分钟。最后,将350 μ l混合物加入到含有细胞的孔中并孵育2-3天。

[0239] 然后开始SV-BR-1KO的单细胞克隆。将细胞以1个细胞/孔接种在30%完全培养基+70%条件培养基(20% FBS) 的96孔板中。随后进行单细胞克隆的筛选和冷冻,并通过使用

Guide-IT Genotyping 套装产品 (Takara) 鉴定 HLA-A/DRB3 K0 克隆。选择克隆 17 并用于进一步开发。使用 Topo 克隆和测序进一步验证克隆 17。从克隆 17 细胞系中分离基因组 DNA, 并使用特异性引物扩增 HLA-A (*11:01 和 *24:02) 和 HLA-DRB3 (*01:01 和 *02:02)。PCR 后, 根据制造商的建议克隆产物。挑选细菌菌落, 并在 Sanger 测序之前使用滚环扩增 (RCA) 进行测序。

[0240] 用于慢病毒产生的质粒的制备。用于构建该质粒的质粒骨架 pCC1-c (SEQ ID NO: 47) 最初在 Naldini 实验室中构建 (Dull et al., 1998) 并在 Donald B Kohn 实验室中进一步改良 (UCLA 微生物与免疫学系, Department of Microbiology and Immunology UCLA)。例如, BC4 的最终质粒含有如图 4 所示的以下元件。具体地, 氨苄青霉素抗性基因 (AMP) 位于碱基 132-992 处; CMV 增强的 5' LTR 位于碱基 2358-3070 处; 包装信号 (PSI) 位于碱基 3120-3258 处; Rev 应答元件 (RRE) 位于碱基 3745-3948 处; 中央多聚嘌呤区 (cPPT) 位于碱基 4461-4648 处; hEF1a 启动子位于碱基 4653-5842 处; CSF2-T2A-IFN- α 位于碱基 5843-6916 处; MNDU3 启动子位于碱基 6917-7453 处; 包括 HLA-A*24:02-T2A-HLA-A*33:03-P2A-HLA-DRB5*01:01-E2A-HLA-DRB5*01:02 的 HLA 等位基因位于碱基 7454-11452 处; U3 Sin 区 3' LTR 位于碱基 11609-11664 处; R 区 3' LTR 位于碱基 11665-11761 处; U5 区 3' LTR 位于碱基 11763-11845 处。

[0241] 克隆策略。pCCLc-Ef1a-X-WPRE (SEQ ID NO: 47) 是通过用 BAMH1 和 SAL1 去除专有基因并克隆进了 MCS 而产生的。利用 Sac2 通过 351bp、1111bp、6380bp 的条带大小确认最终载体。此外, 通过测序确认载体。

[0242] 通过 Genscript 合成 CSF2-T2A-IFN- α , 以在 5'、3' 末端具有 BamH1 位点, 并将编码序列进行密码子优化。通过 T2A 自切割肽的序列将 CSF2 和 IFN- α 分开。

[0243] 通过 Genscript 合成 HLA-A*24:02-T2A-HLA-A*33:03-P2A-HLA-DRB5*01:01-E2A-HLA-DRB5*02:02, 以在 5'、3' 末端具有 EcoR1 位点, 并将编码序列进行密码子优化。通过 T2A 自切割肽的序列将 HLA-A*24:02 和 HLA-A*33:03 分开。通过 P2A 自切割肽的序列将 HLA-A*33:03 和 HLA-DRB5*01:01 分开。通过 E2A 自切割肽的序列将 HLA-DRB5*01:01 和 HLA-DRB5*02:02 分开。将该片段克隆到 pCCLc-Ef1a-X-WPRE 的 EcoR1 位点中。用 NC01 确认最终质粒, 以得到 221bp、1519bp、3271bp、3441bp、4439bp 的条带大小, 并且也通过测序确认。

[0244] 慢病毒的产生。为了产生慢病毒载体, 将 HEK 293T 细胞 (Clontech Lenti-X 293 细胞) 在 D10HG 培养基中培养, 使用 Mirus TRANS-IT 293 转染试剂在 DMEM 培养基中, 使用 VSV-G 包膜质粒、包装质粒和载体 (图 1-4) 转染。第五天, 收获条件培养基, 离心, 并且使用 Millipore Centricon Plus 70PL-100 浓缩上清液, 然后使用 Costar 0.45Spinx 离心过滤管过滤。使用具有 Mastermix R 的 ABM LV900 慢病毒滴度套装产品测定病毒滴度。慢病毒载体的测试例如通过测定滴度、序列、RCL、生物负荷和/或内毒素进行。

[0245] 慢病毒转导。将细胞以 0.29×10^6 个细胞/孔的密度接种在 12 孔板中并在第二天以 150MOI 转导。对于转导, 培养基是 1ml RPMI 1640+10% FBS+L-谷氨酰胺+20mg/mL 硫酸鱼精蛋白。一旦细胞恢复并重新附着后, 使用 4mL TrypLE Express 将细胞解离 5 分钟。用 8mL 培养基终止反应。将细胞计数并使用 CS10 以大致 8×10^5 个细胞/小瓶冷冻保存。

[0246] 将慢病毒转导的细胞 (例如, 克隆 17 细胞) 转移到培养物中并扩增。根据制造商的建议, 使用 Dynabeads (Invitrogen) 和 HLA-DR 抗体-L243 (Biolegend) 分离 HLA-DR+ 细胞。进一步扩增细胞并使用 Dynabeads 对克隆 17 细胞进行第二轮 HLA-DR+ 分离。进一步扩增细胞, 然后通过 96 孔板中以 2 个细胞/孔接种开始单细胞克隆。将单细胞克隆转移到 48 孔板中。

完成GM-CSF ELISA (Biolegend) 以鉴定阳性克隆。将GM-CSF阳性克隆转移到12孔板中。例如,将V4-2克隆 (BC4细胞系) 扩增,然后使用CS10冷冻培养基将其冷冻保存。

[0247] 使用GM-CSF和IFN- α ELISA表征细胞系。解冻BC4细胞系和克隆17细胞,并且使用GM-CSF ELISA套装产品 (R&D Systems目录号DGM00),根据制造商的建议测量GM-CSF的产生。在BC4中检测到GM-CSF的浓度为36.9ng/mL/24h,但在克隆17中没有检测到GM-CSF。使用IFN- α ELISA套装产品 (Invitrogen) 测量BC4 IFN- α 产生,并且IFN- α 浓度低于两种细胞的检测分析极限。

[0248] HLA SYBR green定量RT-PCR。解冻BC4、SV-BR-1和克隆17细胞并培养7天直至细胞达到80%汇合。使用accutase解离试剂解离细胞,然后计数,并且将 5×10^6 个细胞储存在-80℃用于随后的分析。

[0249] 根据制造商的建议,使用PureLink RNA Mini套装产品 (ThermoFisher) 提取RNA。将500ng RNA用于第一链cDNA合成。随后,使用针对HLA-A*24:02、HLA-A*33:03、HLA-DRB5*01:01和HLA-DRB5*02:02定制设计的引物 (Genescript) 对该cDNA (2 μ L) 进行SYBR Green定量RT-PCR (Applied Biosystems)。在BC4中,但没在SV-BR-1和克隆17中,确认了高水平的HLA-DRB5*02:02和HLA-A*33:03以及低水平的HLA-DRB5*01:01。未观察到HLA-A*24:02的cDNA检测。因此,假定HLA-A*24:02不表达,并且将细胞系命名为BC33.5.5 (BC4)。

[0250] HLA-DR流式细胞术:将BC4、SV-BR-1和克隆17细胞接种在6孔板中。在第二天,用IFN γ 处理细胞48小时。使用抗HLA-DR抗体 (克隆L243, Biolegend) 对处理的细胞进行流式细胞术。HLA-DR在BC4和SV-BR-1中的表达水平相当并且高于克隆17。

实施例2:每种细胞系的MCB的制备

[0251] 可以为每种细胞系创建主细胞库 (MCB) 并对其进行测试。作为示例,BC1、BC2、BC3和BC4细胞系将在T-25、T-75和T-150烧瓶中使用含10% FBS培养基的RPMI增殖。为了确认GM-CSF的产生,将随机选择的烧瓶在无抗生素的RPMI+10% FBS中孵育72小时。收集上清液,并通过ELISA测定GM-CSF的浓度。为了确认特定HLA等位基因的表达,将使用HLA特异性抗体对细胞进行流式细胞术并使用HLA特异性引物进行RT-PCR。

[0252] 增殖的细胞将在第8代时使用0.25%猪胰蛋白酶+1mM EDTA (Gibco) 收获。将细胞重悬在冷冻培养基 (CS10) 中,并以 1.5×10^6 个活细胞/小瓶的浓度等分到冷冻小瓶中。细胞将如下所述进行测试。

[0253] 每种细胞系的MCB的测试。可以为每种细胞系创建主细胞库 (MCB) 并对其进行测试。简言之,可以测试细胞的总细胞回收率、活力、同一性、纯度、效力、支原体、支原体直接和间接检测、支原体培养 (支原体抑制 (mycoplasma stasis))、内毒素、14天无菌培养、特异性病毒 (例如AAV2、EBV、HAV、HBV、HCMV、HCV、疱疹病毒 (广谱)、HHV-6、HHV-7、HHV-8、HIV (HIV-1、HIV-2)、HTLV-1、HTLV-2、人类细小病毒、多瘤病毒 (广谱)、WNV)、逆转录病毒污染物、牛病毒或猪病毒的9CFR检测、复制型慢病毒 (RCL) 和/或非内源/外来病毒。测试方法和标准的细节列于下表4中。

表4. 用于BC1至BC4细胞系的MCB的发行测试

测试	方法	验收标准
总细胞回收率	血细胞计数器 (相对于每小瓶冷冻保存细胞的总数目每小瓶回收的细胞的百分比)	75% - 120%
活力	台盼蓝	≥ 70%
同一性	HER2/neu IHC	阳性 (ASCO/cap 评分 3 +)
纯度	ERPGR IHC	阴性 (ASCO/cap 指南)
效力	GM-CSF ELISA	≥ 5ng/10 ⁶ 个细胞/24 小时
支原体	验证的 RT-PCR 方法*	每测定限定的 Ct 值为阴性
支原体-直接和间接(检测)	USP <63>	未检测到
支原体-培养(支原体抑制)	USP <63>	非抑制(通过)
内毒素, USP <85>	动力学显色 LAL	< 5EU/mL
14 天无菌培养	USP <71>	无生长
特异性病毒: AAV2、EBV、HAV、HBV、 HCMV、HCV、疱疹病毒(广谱)、 HHV-6、HHV-7、HHV-8、 HIV (HIV-1、HIV-2)、HTLV-1、 HTLV-2、人类细小病毒、多瘤 病毒(广谱)、WNV	RT-PCR、PCR	未检测到
逆转录病毒污染物(逆转录酶)	使用荧光探针技术的基于 PCR 的逆转录酶测定(PBRT)	未检测到
9 CFR-牛病毒	牛血清或其它产品中牛病毒 的 9 CFR 检测-21 天	未检测到

测试	方法	验收标准
9 CFR-猪病毒	猪病毒的 9 CFR 检测-21 天	未检测到
复制型慢病毒(RCL)	使用 ELISA 和 PBRT 终点在 易感的人类 T 细胞系中潜在 RCL 的扩增	未检测到
非内源/外来病毒	体外(MRC-5、VERO、HeLa)	阴性(细胞病变效应、血凝、血细胞吸附)
	体内(鸡卵)	阴性
	体内(小鼠)	阴性

*对于支原体检测,将使用验证的PCR方法或USP<63>方法。

实施例3: 药物产品的组成

[0254] 本实施例描述了如本文所述的药物产品的组成的一个实施方案。药物产品由从 MCB 的单个小瓶生长并辐照的细胞悬液组成。

[0255] BC1至BC4药物产品(DP)各自以大致2千万个总BC细胞/mL(目标为1,250万个活的单细胞/mL)在CryoStor CS10中的冷冻悬液提供,2mL冷冻小瓶中填充1.25mL。将DP储存在

2mL外螺纹独立式的CryoElite Natural Cap小瓶中。小瓶由低粘合的、冷冻级原生聚丙烯制成。

[0256] 作为示例,BC33.5.5 (BC4) 细胞系是HER-2/neu阳性的、同种异体的全细胞乳腺癌 (BC) 细胞系,其被工程改造以表达GM-CSF和以下的HLA基因:HLA-A*33:03、HLA-DRB5*01:01、HLA-DRB5*02:02。使用CRISPR技术功能性敲除初始的HLA基因。药物物质 (DS) 由从MCB的单个小瓶生长并辐照的细胞悬液组成。DS将立即重悬在冷冻保存溶液中并冷冻以产生最终的药物产品。

[0257] 表5中提供了BC4 DP疫苗的组成。该组成对于BC1至BC4DP中的每一种是相同的。该组成含有包含大致2千万个总的BC1细胞/mL的活性成分和作为缓冲液和冷冻保护剂的适量 (Qs) 至1mL的CryoStor CS10。CryoStor CS10是不含动物组分的限定的冷冻保存培养基 (含有10% DMSO)。它是在cGMP下使用USP级试剂制备的。

表5. BC4药物产品 (BC DP) 的组成

组分	每毫升的量	功能
BC4细胞	大致2千万个总细胞	活性成份
CryoStor CS10	适量至1mL	缓冲液和冷冻保护剂

实施例4:修饰的人类癌细胞系在癌症患者中的安全性和功效

[0258] 本实施例示出了在临床试验中测试修饰的人类癌细胞系 (例如, Bria-OTS细胞系) 在患有晚期转移或局部复发性乳腺癌的患者中的安全性和功效的一个实施方案。本研究将提供关于晚期 (例如, 转移或局部复发) 乳腺癌患者的安全性、耐受性、肿瘤反应的初步数据。下文提供了临床研究设计的简要概述。

[0259] 这是一项1/2a期开放标签临床研究, 其中患者基于他们的HLA类型被指定为用乳腺癌免疫治疗细胞系治疗。本研究的主要目的是评价HLA匹配的细胞免疫治疗在晚期乳腺癌患者中的安全性。本研究的第二个目的是评价晚期乳腺癌患者对HLA匹配的细胞免疫治疗的肿瘤反应。此外, 本研究可以包括评价用HLA匹配的细胞免疫治疗治疗的晚期乳腺癌患者的无进展生存期 (PFS) 和总生存期 (OS)、评价由HLA匹配的细胞免疫治疗在晚期乳腺癌患者中引发的免疫应答、评价可以预测在晚期乳腺癌患者中对HLA匹配的细胞免疫治疗的应答的患者和肿瘤特征和/或评价用HLA匹配的细胞免疫治疗治疗的晚期乳腺癌患者的生活质量 (QOL)。所研究的细胞系是Bria-OTS细胞系 (例如, BC1、BC2、BC3或BC4)。将与患者的HLA类型最接近匹配的细胞系治疗患者, 其中至少一种匹配对于待治疗的患者是必需的。

[0260] 此外, 为了加强免疫应答, 在每次疫苗接种前48-72小时 (2-3天) 用下调T调节细胞机制的低剂量环磷酰胺预处理患者。低剂量聚乙二醇化的干扰素- α -2a (IFN- α 2a) 作为佐剂, 并且在疫苗接种后约1-4小时和约24-72小时 (1-3天) 通过皮内注射以0.1mcg给予接种部位。每个方案以规律的间隔收集生物样品, 并将其储存在储存库 (repository) 中。

[0261] 作为示例, 在研究的第1部分 (1期) 中, 将进行患者内剂量递增, 并且每个患者使用单一细胞系治疗。一旦在第1部分中确定了细胞剂量, 在第2部分 (2a期) 中, 就可以用1种或2种细胞系治疗患者, 目的是使患者与至少在2种HLA类型, 优选一种II类 (HLA-DR) 类型和一种I类 (HLA-A、B或C) 类型上使用的细胞系匹配。

[0262] 患者群体。将对患者进行筛选以确保她们满足登记标准。筛选必须在开始治疗的30天内进行, 并且成像研究必须在开始治疗的2周内进行。所有的患者将是患有经过组织学

确认的乳腺癌的女性,通过调查部位具有复发和/或转移病变,并且在先前的治疗中已经失败。具有4种乳腺癌亚型,即,luminal A (HR+/HER2-)、三阴性 (HR-/HER2-)、luminal B (HR+/HER2+) 和HER2富集的 (HR-/HER2+) 中任一种的患者将是合格的,条件是她们满足先前治疗失败的所需规范。如果患有转移到脑的新的或进行性乳腺癌的患者的颅内疾病是稳定的并且不威胁生命,则她们也将是合格的,如方案概述中所指出的。

[0263] 本研究的两个部分的计划登记高达48个患者,其中最初评价12-24个患者(每种细胞系至少3个患者)。如果在第1部分中发现细胞系是安全的,则24个患者(每种细胞系至少4个患者)的扩展队列将登记到第2部分。

[0264] 研究治疗与剂量递增。Bria-0TS细胞系将被辐照以使它们在能存活的冷冻培养基中冷冻之前不能复制。它们将被冷冻运输到临床现场,并在现场解冻用于接种。在剂量递增阶段期间,将开始每周评价患者,包括所有的安全性评估。

[0265] 在辐照细胞的悬液中配制剂型。在一段时间内,通过在上背部或大腿内皮内注射向患者施用治疗有效量的组合物。表6示出了1期单一治疗阶段的给药方案。

表6. 用于单一治疗阶段的给药方案

时间	细胞计数	注射次数
第1周	20,000,000个细胞	多达4次皮内注射
第3周	20,000,000个细胞	多达4次皮内注射
第5周	20,000,000个细胞	多达4次皮内注射
第7周	20,000,000个细胞	多达4次皮内注射

[0266] 在单一治疗阶段期间,在每次接种后 2 ± 1 天,患者将返回以进行安全性评估,并测量迟发型超敏反应(DTH)。在单一治疗阶段之后,将用最高剂量(即,最大耐受剂量[MTD]或药理学活性剂量)治疗患者,所述最高剂量是每3周安全耐受的细胞剂量。在该阶段期间,患者还将在每种细胞系接种之前2-3天接受 $300\text{mg}/\text{m}^2$ 环磷酰胺,并且在每种细胞系接种之后1-4小时和1-3天将 0.1mcg 聚乙二醇化的IFN- $\alpha 2\text{a}$ 加入到每个接种部位。整个周期将每3周重复一次。

[0267] 一旦至少3个患者已经用每种细胞系作为单一细胞系安全地治疗,研究的第2部分(2a期)就将开始。在第2部分期间,所有患者将用1种或2种细胞系治疗,目的是使患者与至少两种HLA类型,优选一种II类(HLA-DR)类型和一种I类(HLA-A、B或C)类型所用的细胞系匹配。治疗将在BC细胞系接种前2-3天,先用 $300\text{mg}/\text{m}^2$ 环磷酰胺进行。治疗将使用20,000,000个细胞进行(在上背部和大腿中进行多达4次皮内注射)。在每种细胞系接种后1-4小时和1-3天,患者将在每个接种部位中接受 0.1mcg 聚乙二醇化的IFN- $\alpha 2\text{a}$ 。在每次接种后 2 ± 1 天,患者将返回以进行安全性评估并测量DTH反应。治疗周期将每3周重复一次。

[0268] 评估。使用不良事件常见术语标准(即,CTCAE v4.03)量表密切监测研究参与者的不良事件(例如,毒性)。新的或进行性肿瘤、或治疗相关的III级过敏反应/超敏反应的发展截断了对任何特定对象的进一步接种。

[0269] 尽管核心成功衡量标准是安全性和无毒性,但以下中的任一项可以作为成功衡量标准应用:1)如通过在25%的患者中的irRC RECIST 1.1标准所定义的客观临床反应,2)如通过SF-36问卷(生活质量)中的一个或多个量表的显著变化所证明的50%或更多的患者中生活质量的改善,3)与来自已发表文献中其他补救疗法的报告的历史对照相比,无疾病生

存期和总生存期延长,4)免疫应答的发展或增强的证据,特别是如果与生存期的延长相关。其它成功衡量标准可以包括肿瘤消退的诱导。

[0270] 客观临床反应主要通过肿瘤负荷的放射照相评估来评估。作为非限制性实例,这可以通过计算机断层摄影(CT)、磁共振成像(MRI)和/或正电子发射断层摄影(PET)来进行。为了评估在具有也在SV-BR-1-GM细胞中发现的HLA等位基因的患者中客观肿瘤消退是否特别显著,作为非限制性实例,测定来自临床试验对象的颊细胞或血细胞的HLA类型。本领域技术人员已知的几种方法适于确定HLA等位基因。

实施例5:将肿瘤细胞转化成用于癌症免疫治疗的抗原呈递细胞

[0271] 本实施例示出了将肿瘤细胞转化成用于癌症免疫治疗的抗原呈递细胞的一个实施方案。肿瘤细胞可以包括工程改造的人类癌细胞系(例如,Bria-OTS细胞系),并且可以制备用于向患有晚期转移或局部复发性乳腺癌的患者施用。

[0272] 背景:治疗性癌症疫苗基于使用肿瘤抗原引发抗肿瘤应答的免疫系统的特异性刺激。正在进行使用乳腺癌细胞系SV-BR-1-GM作为治疗性疫苗的临床试验。SV-BR-1-GM是由于若干免疫调节分子的表达而具有抗原呈递细胞(APC)的特征的表达GM-CSF的乳腺癌细胞系,所述免疫调节分子包括MHC-I(HLA-A、B和C)和MHC-II(HLA-DRB3和-DRA)。在用辐照的SV-BR-1-GM细胞、低剂量环磷酰胺和局部IFN- α 治疗的患者中的初始结果表明,至少在1个HLA等位基因处匹配SV-BR-1-GM的患者更可能获得临床益处。这种临床观察结果以及如体外抗原呈递测定所证明的SV-BR-1-GM细胞可以以抗原特异性HLA限制性方式直接激活CD4⁺T细胞的事实指引我们推测SV-BR-1(亲本细胞系)可以作为APC发挥功能。为了进一步增强向T细胞的直接抗原呈递,已经将SV-BR-1细胞进行基因修饰以表达共刺激分子、免疫调节细胞因子和HLA等位基因的扩展库。

[0273] 方法:为了产生覆盖大多数群体的现成的半同种异体的细胞治疗,将SV-BR-1进行基因修饰以表达HLA等位基因的扩展库。基于群体分析,四种细胞系,每种携带两(2)种HLA-A和两(2)种HLA-DRB3/4/5等位基因,可以在99%的群体中产生至少一个单一的匹配,其中在I类HLA-A等位基因上具有92%的匹配,并且在II类HLA-DRB3/4/5等位基因上具有98%的匹配。使用内源HLA-A和HLA-DRB3等位基因的CRISPR/cas9缺失和随后慢病毒介导的可选HLA-A和DRB3等位基因的表达对SV-BR-1进行基因修饰。为了产生向T细胞具有增强的直接抗原呈递的肿瘤细胞系,通过使用慢病毒介导的表达系统对SV-BR-1细胞进行基因修饰以表达共刺激分子和免疫调节细胞因子。

[0274] 结果:在连续的CRISPR/Cas9编辑后,克隆SV-BR-1细胞,并选择一个克隆(克隆17)用于进一步工程改造。用流式细胞术和DNA测序确认HLA-A和HLA-DRB3的表达的缺乏。随后用6种慢病毒载体转导克隆17,每种慢病毒载体在单独启动子的控制下表达2种基因:CD86-IL12、CD80-HLA-DRA、4-1BBL-IL7、GM-CSF-IFNA2、HLA-等位基因-1-HLA-等位基因-2和HLA-DR-等位基因-1-HLA-DR-等位基因-2。用HLA等位基因的不同组合产生四种细胞系。选择后,通过ELISA、流式细胞术和RT-PCR评价细胞以确认基因表达。然后将分泌GM-CSF、IFN- α 2(例如,IFN- α 2a、IFN- α 2b)、IL-12、IL-7并表达CD80、CD86、4-1BBL以及I类和II类HLA等位基因的细胞系转移到GMP产生中。在一些情况下,将IFN- α 例如聚乙二醇化的IFN- α 2a外源地提供给修饰的癌细胞系。

[0275] 临床试验:这些修饰的乳腺癌细胞系用于临床研究中,所述临床研究被设计成首

先评价用辐照的细胞皮内接种的安全性,然后与其它药剂组合以增强免疫应答。每个患者用至少在一种HLA等位基因处与其匹配的细胞系治疗。

实施例6:用于治疗晚期实体瘤的免疫治疗的现成的个性化细胞方法

[0276] 背景:我们正在开发基于SV-BR-1-GM的现成的个性化细胞免疫治疗,所述免疫治疗在患有转移或局部复发的乳腺癌患者的I/IIa期临床试验中。SV-BR-1-GM是具有抗原呈递细胞(APC)特征的乳腺癌细胞系,其已经用编码GM-CSF的CSF2基因稳定转染(SV-BR-1-GM)。在一种或多种HLA等位基因与SV-BR-1-GM匹配的患者群体中已经报告了有利的临床结果。这种临床观察结果以及如体外抗原呈递测定证明的SV-BR-1-GM细胞能够以抗原特异性HLA限制性方式直接激活CD4+T细胞的事实(Lacher MD et al, Front Immunol. 2018 May 15; 9:776)指引我们假设SV-BR-1-GM能够作为APC发挥功能。本实施例描述了治疗方法,其中患者将用表达与其基因型匹配的HLA I类和II类分子的细胞系的治疗。此外,为了进一步增强向T细胞的直接抗原呈递,将亲本SV-BR-1细胞进行基因修饰以表达共刺激分子和额外的免疫调节细胞因子。

[0277] 方法:使用CRISPR/Cas9技术,我们已经失活了五种癌细胞系(SV-BR-1、PC-3、LNCaP、SK-MEL-24和NCI-H2228)中存在的几种内源HLA-A和HLA-DRB等位基因。用表达选定的细胞因子和共刺激分子(GM-CSF、IFN- α 、CD80、CD86、IL-12、IL-7、HLA-DRA和4-1BBL)的基于慢病毒的载体转导具有失活的HLA-A/DRB基因的细胞。接下来,使用基于慢病毒的载体将HLA-A和HLA-DRB3/4/5等位基因的独特组合转导到细胞中,以产生细胞系(例如,Bria-OTS细胞系)的集合,其将与超过99%的患者群体的至少一种HLA等位基因匹配。使用流式细胞术和基于细胞的测定确定刺激分子和转基因HLA等位基因的表达和功能性。

[0278] 结果:选择四种细胞系(针对每种肿瘤类型),所述细胞系分泌GM-CSF、IFN- α 、IL-12、IL-7并表达CD80、CD86、4-1BBL以及I类和II类HLA等位基因的不同组合。使用基于细胞的测定(包括混合淋巴细胞反应测定),我们证明了产生的细胞刺激初始T细胞。

[0279] 结论:我们已经成功地产生了诱导有效的T细胞应答的“现成的”个性化的基于细胞的治疗癌症疫苗。这些修饰的癌细胞系用于临床研究中,所述临床研究被设计成首先评价用辐照的细胞皮内接种的安全性,然后与其它药剂组合以增强免疫应答。

实施例7:用于个性化治疗晚期实体瘤的具有HLA匹配等位基因的Bria-OTS细胞

[0280] 本实施例描述了用于治疗晚期实体瘤的新型的、基于精确的免疫治疗细胞系的开发,所述细胞系可以与美国中超过99%的癌症患者群体的HLA匹配。这种免疫治疗平台具有作为实体瘤的安全、有力和有效治疗的前景,并且将是不需要个性化制造的第一种快速现成的治疗。

概述

[0281] 由于强的和持久的癌症特异性免疫应答,癌症疫苗具有作为免疫治疗的前景。已经开发了不同类型的癌症疫苗,包括基于DNA/RNA的、基于蛋白质/肽的、基于树突状细胞的和基于全细胞的疫苗。肿瘤细胞疫苗表达肿瘤特异性抗原和肿瘤相关抗原,但它们在临床上没有引发强烈的应答,并且在限制疫苗效力的患者中,人类白细胞抗原(HLA)限制的细胞应答存在很大的可变性。因此,对于对长期生存具有更大影响的新的治疗方案仍然存在迫切和未满足的需要。

[0282] 为了解决对治疗晚期实体瘤的新的免疫治疗方法的需要,我们正在开发新型的全

细胞免疫治疗方法,所述方法通过以下两个互补的作用机制起作用:1) 癌细胞抗原的交叉呈递和2) 直接T细胞激活。这种双重作用机制被认为是独特的,并且代表了比先前开发全细胞癌症疫苗的尝试显著的进步。当患者的HLA分子与治疗细胞系中的HLA分子匹配时,通过直接T细胞激活实现了增强的临床反应。我们的第一代Bria-IMT产品已经在患有转移乳腺癌的患者中证明了显著的肿瘤消退,所述患者与Bria-IMT中的至少一种等位基因匹配。Bria-IMT是乳腺癌细胞系(SV-BR-1-GM),其分泌粒细胞巨噬细胞集落刺激因子,作为抗原呈递细胞(APC) 发挥功能,并且能够直接激活CD4⁺T细胞。我们通过微阵列基因表达谱完成了SV-BR-1-GM细胞的分子分析,并鉴定了赋予APC样活性的独特的22-基因免疫特征。基于这种独特的免疫特征,除了乳腺癌之外,我们还选择了具有不同起源的另外的细胞系(例如,黑色素瘤、前列腺癌和肺癌),并且是表达一组限定的细胞因子和共刺激分子以及HLA等位基因的离散集合的工程改造细胞系,其将共同具有在一种HLA I类或II类等位基因水平上治疗几乎100%的美国群体的潜力,所述HLA I类或II类等位基因在2种HLA等位基因处具有90%匹配。这些细胞(针对“现成的”称为Bria-OTS) 将被用作预制造的和可直接使用的个性化免疫治疗,用于治疗晚期实体瘤。

具体目标

[0283] 细胞癌症免疫治疗必须针对个体患者量身定制以诱导有效的免疫应答,这增加了制造的复杂性并提高了相关的成本。为了规避这种限制,我们正在开发Bria-OTSTM作为现成的、预制造的和可直接使用的个性化免疫治疗,用于治疗晚期实体瘤。

[0284] 癌症免疫治疗依赖于患者免疫系统的激活以基于肿瘤相关抗原(TAA)的存在来消除癌细胞。尽管有很大的进步,但是目前的免疫治疗仅对非常有限数量的患者有效^{1,2}。癌症疫苗具有前景,因为它们经常导致强烈且持久的癌症特异性免疫应答。已经开发了不同类型的癌症疫苗,包括基于DNA/RNA的、基于蛋白质/肽的、基于树突状细胞(DC)的和基于全细胞的疫苗。虽然自体DC疫苗在临床上已经成功³,但它们的使用受到复杂的制造物流的限制,所述制造物流损害了可行性并提高了成本⁴。基于肿瘤细胞的疫苗表达肿瘤特异性抗原和肿瘤相关抗原,但它们在临床上没有引发强烈的应答,并且在患者之间人类白细胞抗原(HLA)限制的细胞应答存在可变性⁵。因此,对于对长期生存具有更大影响的新的治疗方案仍然存在迫切和未满足的需要。

[0285] 我们正在基于我们最先进的先导候选物Bria-IMTTM开发现成的个性化细胞免疫治疗Bria-OTS,所述Bria-IMTTM处于患有转移或局部复发的乳腺癌的患者的I/IIa期临床试验中(NCT03328026),并且初步数据显示在与具有两种HLA等位基因的Bria-IMT匹配的高度预治疗的患者中的显著肿瘤消退⁶。Bria-IMTM是用CSF2基因稳定转染的乳腺癌细胞系(SV-BR-1-GM),并因此分泌粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)。Bria-IMTTM表达I类和II类人类白细胞抗原(HLA)复合体基因。SV-BR-1-GM作为抗原呈递细胞(APC) 发挥功能以直接激活CD4⁺T细胞⁷。基于Bria-IMT技术,我们正在开发用于治疗实体瘤的工程改造的Bria-OTS细胞系,所述Bria-IMT技术在转移乳腺癌患者的初步临床数据中显示出优异的安全性和肿瘤消退,所述转移乳腺癌患者具有与Bria-IMT细胞系匹配的至少一种HLA等位基因^{6,8}。我们工程改造了来源于乳腺癌细胞(SV-BR-1)、前列腺癌细胞(PC-3)、黑色素瘤细胞(SK-MEL-24)或肺癌细胞(NCI-H2228)的Bria-OTS细胞系。这些细胞系是基于最初在SV-BR-1细胞中表征的特征性22-基因免疫特征的表达来选择的,并且包括MHC I类和II类组分、已知促进免疫细

胞吸引的某些细胞因子和趋化因子⁷。将Bria-OTS细胞工程改造以表达HLA等位基因的离散集合,其将共同具有在一种HLA I类或II类等位基因匹配的水平上治疗几乎100%的美国群体的潜力,以及在 ≥ 1 种HLA I类加上 ≥ 1 种HLA II类(双匹配)的水平上治疗大致90%的美国群体的潜力。一旦患者的独特HLA特征是已知的,他们就会被分配具有至少一种匹配的HLA等位基因的互补Bria-OTS产物。治疗可以立即开始,而不需要患者特定的制造。

[0286] 产生Bria-OTS乳腺癌细胞系、前列腺癌细胞系、黑色素瘤细胞系和肺癌细胞系。使用CRISPR/Cas9技术,我们已经失活了所有四种亲本细胞系(SV-BR-1、PC-3、SK-MEL-24和NCI-H2228)中存在的几种内源HLA-A和HLA-DRB等位基因。我们使用基于pCCLc的慢病毒载体表达HLA-DRA、选定的细胞因子(GM-CSF、IFN α 、IL-12、IL-7)和共刺激分子(CD80、CD86、4-1BBL),随后过表达HLA-A和HLA-DRB3/4/5等位基因的独特组合。作为最终产物,产生4种不同的Bria-OTS克隆细胞系,所述细胞系将匹配特定癌症类型内超过99%的患者群体。严格测试最终的Bria-OTS细胞以确认染色体整合(全基因组测序)和没有与亲本细胞的主要基因表达偏差(RNA-seq)。

[0287] 证明Bria-OTS细胞的体外功能。使用混合的淋巴细胞反应(MLR)测定,测量在基线和第1天、第2天、第5天和第7天后的T细胞增殖、分泌的干扰素 γ (IFN γ)、白细胞介素-2(IL-2)、IL-4和IL-17水平,以评价T细胞激活(以覆盖CD8+细胞毒性T细胞、CD4+Th1、Th2和Th17 T细胞亚群)。产生表达选定的HLA-A-和HLA-DR限制的TCR的八种T细胞受体(TCR)转基因Jurkat细胞系以使用T细胞激活生物测定评价转基因HLA功能。

[0288] Bria-OTS细胞的临床功效可以在晚期实体瘤的异种移植肿瘤小鼠模型中得到验证,并且安全性和临床活性可以在首次人类研究中得到证明。本文所述的细胞免疫治疗策略有望成为需要有效治疗的实体瘤的安全和有效的治疗选择,具有无需复杂制造的个性化治疗的优势。

意义

[0289] 用于晚期实体瘤的癌症免疫治疗。与无区别地杀死所有快速分裂的细胞的传统化学治疗或放射治疗不同,癌症免疫治疗依赖于患者免疫系统的激活以基于肿瘤相关抗原(TAA)的存在来消除癌细胞。尽管有很大的进步,但是目前的免疫治疗仅对非常有限数量的患者有效^{1,2}。癌症疫苗具有前景,因为它们经常导致强烈且持久的免疫应答。开发工作已经集中于肽和蛋白质肿瘤抗原或新抗原⁹⁻¹¹、用癌症抗原脉冲的树突状细胞¹²⁻²²和全肿瘤细胞^{23,24}。全细胞疫苗的优势是它递送一系列TAA²⁵。Sipuleucel-T(**Provenge[®]**)是目前唯一美国FDA批准的用于晚期前列腺癌治疗的全细胞、基于疫苗接种的个性化免疫治疗。然而,它没有提供抗原全细胞疫苗的库,因为它仅通过类似“交叉呈递”的作用机制针对前列腺酸性磷酸酶抗原(PAP)和GM-CSF的融合蛋白。本质上,Sipuleucel-T是一种细胞治疗,其包含“负载有”PAP-GM-CSF的抗原呈递细胞(APC),所述PAP-GM-CSF被患者T细胞的亚群识别。已经证明向全细胞肿瘤疫苗中加入GM-CSF以刺激DC、T细胞和巨噬细胞向接种疫苗部位的迁移²⁶。尽管在早期研究中付出了巨大的并取得了有希望的结果,但全细胞癌症疫苗已经显示出低的临床功效,这可能是由于多种因素,包括但不限于免疫原性差、缺乏共刺激分子、人类白细胞抗原(HLA)表达下调和/或肿瘤微环境(TME)的抑制²⁷。为了解决这样的显著障碍,我们正在开发Bria-OTS细胞系,其表达TAA、共刺激分子和HLA基因,使肿瘤抗原能够直接呈递给T细胞;以及表达免疫刺激细胞因子,导致增强的免疫应答(图6)。

[0290] 科学原理。Bria-IMT (也称为SV-BR-1-GM) 是经基因工程改造以过表达GM-CSF的HER2/neu阳性乳腺癌细胞系。我们通过微阵列基因表达谱、定量逆转录PCR (qRT-PCR)、转录本计数 (nCounter)、ELISA和流式细胞术对SV-BR-1-GM细胞进行了分子指纹分析⁷。我们发现尽管SV-BR-1-GM来源于乳腺上皮,但表达与免疫刺激功能相关的基因特征。除了HLA I类分子之外,Bria-IMT还表达几种HLA II类基因,即,人类白细胞抗原 (HLA) -DMA、-DMB、-DRA和-DRB3⁷。我们鉴定了独特的22-基因免疫特征,所述特征包括T细胞共刺激受体的细胞表面配体,具有阳性T细胞刺激功能的细胞因子及其他可溶性因子,促进DC的成熟、生存、趋化和/或体外产生的因子以及促进抗原呈递的因子⁷。我们还鉴定了在SV-BR-1-GM细胞中表达的作为潜在的TAA候选物的31种基因,包括Her2/neu、MIEN1 (迁移和侵袭增强子1)、PGAP3 (GPI后附着到蛋白磷脂酶3 (post-GPI attachment to proteins phospholipase 3)) 和STARD3 (含Star相关脂质转移结构域3) 以及几种癌症/睾丸抗原 (CTA) 得到了稳健地表达 (PRAME、驱动蛋白样蛋白KIF2C、55kDa的中心体蛋白CEP55和PDZ结合激酶PBK)^{7,28}。体外研究表明,Bria-IMT以抗原特异性HLA限制性方式直接刺激T细胞激活,并且因此具有抗原呈递细胞的特征⁷。重要的是,Bria-IMT的这种特征要求在Bria-IMT细胞系中表达的内源HLA II类基因“匹配”共培养T细胞的那些基因。因此,Bria-IMT细胞系具有乳腺癌细胞和树突状细胞的关键特征。在临床中,携带与Bria-IMT中内源HLA等位基因匹配的HLA II类等位基因的患者显示出显著的肿瘤消退和临床活性的其它迹象^{6,8}。同样,我们的临床数据证明,如果Bria-IMT细胞系固有的内源HLA条形码与患者的HLA条形码匹配,则治疗具有诱导增强的临床反应的潜力。这些临床数据强调了通过II类HLA匹配的直接T细胞刺激作为先前未认识到的对稳健免疫治疗活性的促成因素,其在评价先前的全细胞免疫治疗时不存在或不被考虑。此外,我们的研究共同建立了Bria-IMT的新型“双重机制”,其中通过抗原交叉呈递和直接T细胞刺激来刺激免疫系统 (图6)。然而,尽管证明了Bria-IMT的临床潜力,但仅47%的美国群体携带与Bria-IMT细胞系中的等位基因匹配的一种或多种HLA等位基因,并且大约10%的群体在Bria-IMT细胞系中表达的两种或更多种HLA等位基因处匹配²⁹。

[0291] 为了扩展可受益于我们的免疫治疗的患者群体,我们正在开发“现成的”Bria-OTSTM细胞系的集合,每种亲本肿瘤细胞有四种细胞系。每种细胞系表达四种外源HLA等位基因,即两种HLA-A和两种HLA-DRB3/4/5等位基因,在4种细胞系中总共8种HLA-A和7种HLA-DRB等位基因。总而言之,Bria-OTS细胞系集合具有治疗几乎100%的具有≥1种HLA等位基因匹配的美国群体和约90%的具有HLA I类和II类双匹配的美国群体的潜力。一旦患者的独特HLA特征是已知的,他们就会被分配与他/她的HLA谱充分匹配的一种或两种互补的Bria-OTS产物。

创新性

[0292] 本文所述的转化技术是一种治疗策略的开发,其解决了针对患有晚期实体瘤的患者的安全和可靠治疗中的当前差距。我们的基于肿瘤细胞的免疫治疗显著改进了以前开发全细胞癌症疫苗的尝试,因为我们的平台通过至少两种离散但互补的机制来刺激患者的免疫系统起作用。Bria-OTS细胞系集合提供了以下特征:

- 双重作用机制以实现强免疫应答和临床活性。Bria-OTS细胞系具有癌细胞 (表达大量TAA) 和树突状细胞 (通过将TAA直接呈递给T细胞) 的特征以增强免疫应答。

- 精准治疗。Bria-OTS细胞系将与基于HLA抗原的患者匹配,覆盖超过99%的美国

群体并引发细胞应答,所述细胞应答将识别患者的癌细胞。

-改进的安全性。相对于与严重的可能威胁生命的不良事件相关的目前的化学治疗和基于激素的治疗。

-快速、有成本效益的治疗。我们的“现成的”细胞系将不需要个性化的制造,并且可以在患者HLA基因分型后立即施用。

方法

[0293] 本实施例描述了来源于不同类型的实体瘤(黑色素瘤、乳腺癌、前列腺癌和肺癌)的工程改造的Bria-OTS细胞系,以表达GM-CSF、其它细胞因子和共刺激分子以及在亲本肿瘤细胞系中不存在的HLA等位基因。图7示出了开发Bria-OTS细胞系的一般策略。简言之,基于最初在SV-BR-1乳腺癌细胞中鉴定的22-基因免疫特征,通过基因表达谱选择亲本肿瘤细胞系⁷。内源HLA-A和HLA-DR等位基因通过CRISPR/Cas9策略敲除(KO),随后进行单细胞克隆并验证以产生Bria-KO细胞。然后通过慢病毒转导过表达8种限定的细胞因子和共刺激分子,并通过qRT-PCR、流式细胞术和/或ELISA在单细胞克隆中确认它们的表达,产生具有APC特性的Bria-APTC。最后,过表达8种HLA-A和7种HLA-DRB等位基因(每种细胞系2种HLA-A和2种HLA-DRB等位基因)的独特组合以产生最终的Bria-OTS产物(每种癌细胞系4种不同的细胞系)。这些细胞系为实体瘤患者提供精准治疗,而不需要个性化的制造。

[0294] 产生Bria-OTS乳腺癌细胞系、前列腺癌细胞系、黑色素瘤细胞系和肺癌细胞系。基于在SV-BR-1细胞中表征的22-基因免疫特征的表达,我们已经选择SV-BR-1(Her2阳性乳腺癌细胞系)、PC3(前列腺癌细胞系)、NCI-H2228(肺癌)和SK-MEL-24细胞(黑色素瘤)作为亲本癌细胞系,所述免疫特征由HLA分子、细胞因子和趋化因子组成⁷。按照图7A中描绘的一般方案,可以产生表达HLA-A和HLA-DRB等位基因的四种独特组合的4种Bria-OTS细胞系的集合,其将匹配每种特定亲本癌细胞系的超过99%的患者群体。

[0295] 工程改造SV-BR-1-Bria-OTS细胞。在通过连续CRISPR/Cas9失活存在于亲本SV-BR-1细胞中的内源HLA-A和HLA-DRB3等位基因(如流式细胞术和测序所证明的)后,我们选择克隆17用于进一步工程改造。我们构建了具有pCCLc骨架³⁰的四种慢病毒载体,所述载体编码两种基因,每种基因来自两种独立的启动子(EF1a和MNDU3)以表达HLA-DRA、4种细胞因子(GM-CSF、IFN- α 、IL-7、IL-12)和3种共刺激分子(CD80、CD86和4-1BBL)。GM-CSF刺激DC激活和抗原呈递^{31,32}。IFN- α 诱导I型应答,减少抑制机制的发展^{33,34}。IL-7是T细胞内稳态的关键细胞因子^{35,36}。IL-12通常在DC中表达并在启动过程期间提供信号³⁷⁻³⁹。共刺激分子通常由APC表达并允许初始T细胞激活⁴⁰。SV-BR-1-KO细胞(克隆17)依次用所有四种慢病毒转导以产生SV-BR-1-APTC(APTC,用于抗原呈递肿瘤细胞)。通过ELISA、流式细胞术和定量实时PCR(qRT-PCR)确认所有细胞因子和共刺激分子的表达(图8)。通过ELISA证明了IL-12、IL-7、GM-CSF和IFN- α 的增强的表达(图8A);在用所有4种质粒转导的克隆17中通过流式细胞术检测到细胞表面受体CD80和CD86的升高的表达(图8B),而4-1BBL以较低水平表达。

[0296] 使用合并的SV-BR-1-APTC使用改良的混合淋巴细胞释放(MLR)测定来证明这些共刺激因子的功能。将表达未被CRISPR/Cas9敲除的内源HLA I类和II类的SV-BR-1-APTC(图9A)与从健康供体分离的外周血单核细胞(PBMC)以1:5、1:10和1:20(肿瘤细胞:PBMC)的不同比例共培养。在第1天、第2天、第3天和第7天收集上清液,并通过ELISA测定分泌的IFN γ 水平作为T细胞激活的量度(图9B显示了第1天的数据)。在存在SV-BR-1-OTS-APTC的情况下,

分泌的IFN γ 的水平以PBMC:肿瘤比例依赖的方式显著增加;相反,当PBMC与SV-BR-1-KO细胞孵育时,或当肿瘤细胞单独孵育时,检测到IFN γ 降低。

[0297] 在选择和细胞克隆之后,SV-BR-1-APTC接着用表达两种独特的HLA-A等位基因的慢病毒载体转导。我们首先构建了八种基于pCCLc的慢病毒载体,每种载体含有两种HLA-A或两种HLA-DRB3/4/5等位基因。等位基因选择的基本原理是基于Gragert等人的研究²⁹,其中报告了16个不同美国群体中HLA等位基因频率的流行。考虑到不同的群体大小,我们基于总体流行率对这些频率进行了排名。选定的15种HLA(图7B)应该在99%的美国群体中产生至少单一匹配,在I类HLA-A处具有92%的匹配,在II类HLA-DR3/4/5等位基因处具有98%的匹配。通过限制性消化和Sanger测序确认质粒完整性,并通过qRT-PCR确认HLA-A表达。

[0298] PC3-APTC细胞的产生。在通过连续CRISPR/Cas9失活存在于亲本PC3细胞中的内源HLA-A和HLA-DRB3等位基因(通过流式细胞术和测序所证明的)后,我们选择克隆A4进行进一步工程改造。我们构建了具有pCCLc骨架的四种慢病毒载体,所述载体编码两种基因,每种基因来自两种独立的启动子(EF1a和MNDU3)以表达HLA-DRA、3种细胞因子(GM-CSF、IL-7、IL-12)和3种共刺激分子(CD80、CD86和4-1BBL)。基于这些基因的免疫功能来选择它们。GM-CSF刺激DC激活和抗原呈递。IL-7是T细胞内稳态的关键细胞因子。IL-12通常在DC中表达并在启动过程期间提供信号3。共刺激分子通常由APC表达并允许初始T细胞的激活。用所有四种慢病毒依次转导PC3-KO细胞以产生PC3-APTC(APTC,用于抗原呈递肿瘤细胞)。通过流式细胞术、ELISA和qRT-PCR确认细胞因子和共刺激分子的表达,并且在MLR测定中证明它们的功能。当与PBMC共培养时,PC3-APTC诱导显著的IFN γ 分泌,但PC3-KO对照没有(图10)。

[0299] 工程改造PC3-Bria-OTS细胞。随后用基于pCCLc的慢病毒质粒转导PC3-APTC以产生PC3-Bria-OTS细胞,所述慢病毒质粒编码以下HLA-A等位基因组合之一:A01-A68、A02-A11、A03-A23或A24-A33。通过ELISA和流式细胞术确认细胞因子和共刺激分子以及HLA-A等位基因的表达(图11)。在用所有4种质粒转导的克隆A4中,通过流式细胞术检测到细胞表面受体CD80和CD86以及一些HLA-A等位基因的升高的表达(图11A-B)。通过ELISA证明了IL-7、GM-CSF和IL-12的增强的表达(图11C)。

[0300] 总而言之,我们已经成功地产生了表达细胞因子、共刺激分子和多种HLA的肿瘤细胞系。

[0301] 工程改造H2228-Bria-OTS(肺)和SK-MEL-24-Bria-OTS(黑色素瘤)细胞。按照相同的总体策略,我们已经产生了没有内源HLA-DR等位基因的H2228和SK-MEL-24细胞(图12),并且处于内源HLA-A等位基因的CRISPR/Cas9 KO的过程中。通过GM-CSF、IFN- α 、CD80、CD86、IL-12、IL-7、HLA-DRA和4-1BBL的过表达,依次用所有四种慢病毒质粒转导所得的Bria-KO克隆细胞系以产生Bria-APTC。通过ELISA评价细胞因子分泌,其中GM-CSF的靶标分泌为 $\geq 100\text{ng}/1 \times 10^6$ 个细胞/24小时⁶,所述分泌将足以增强树突状细胞活性^{6,7}。通过流式细胞术确认共刺激分子的细胞表面表达。此外,通过qRT-PCR进一步验证所有异位基因的表达。所有分析可以在每种细胞系上以至少一式三份进行,并且可以报告平均值 $\pm$ SD。作为最终步骤,可以将克隆分离、扩增和冷冻保存。用各自表达2种HLA-A等位基因和2种HLA-DR等位基因的两慢病毒载体依次转导选定的克隆,以获得每种H2228和SK-MEL-24细胞的4种最终克隆细胞。

[0302] 证明Bria-OTS细胞的体外功能。使用MLR测定来测量由Bria-OTS和对照Bria-KO细

胞系诱导的T细胞激活水平。在基线和第1天、第2天、第3天和第7天后测量T细胞增殖以及分泌的IFN γ 、IL-2、IL-4和IL-17的水平作为T细胞激活的指标(proxy)(以覆盖CD8+细胞毒性T细胞、CD4+Th1、Th2和Th17 T细胞亚群)。产生在Bria-OTS细胞中表达的HLA-A/DR等位基因的背景下识别抗原的TCR转基因Jurkat细胞系,以验证最终Bria-OTS产物的HLA功能。

[0303] 改良的MLR测定以证明通过Bria-OTS细胞的T细胞激活。用如上所述的最终细胞系进行MLR测定。使用Bria-KO细胞作为对照。简言之,将Bria-OTS细胞与从至少2个健康供体(一名男性和一名女性)分离的PBMC以不同的肿瘤:PBMC的比例在96孔板中共培养。通过细胞计数和染料稀释每24小时测量一次T细胞增殖。在第0天、第1天、第2天、第3天和第7天收集上清液以通过ELISA测量IFN γ 、IL-2、IL-4和IL-17的水平。

[0304] 利用TCR转基因的Jurkat细胞,使用T细胞激活生物测定验证Bria-OTS细胞的HLA功能。

[0305] T细胞激活生物测定(Promega)由基因工程改造的Jurkat T细胞系组成,所述细胞系没有内源TCR α/β 亚基的表达(通过CRISPR/Cas9介导的TCR α/β 敲除获得),所述细胞系还表达NFAT驱动的荧光素酶报告基因。该细胞系可用于在不依赖于内源TCR表达的情况下测量转基因的TCR构建体激活T细胞的能力。我们已经从Creative Biolabs获得了3种HLA-A限制性的TCR构建体(HLA-A*02:01、HLA-A*01:01、HLA-A*24:02),并且从贝纳罗亚研究所(Benaroya Research Institute)获得了4种HLA-DR限制性的TCR(DRB4*0101、DRB3*0101、DRB3*0202、DRB5*0101)(表7),以产生7种不同的TCR转基因Jurkat细胞系,所述细胞系受到存在于Bria-OTS细胞中的一些HLA-A和HLA-A/DR等位基因的限制。所有转基因的TCR可以使用pCDTCR1载体(HLA-A)或慢病毒基因表达载体pLV(VectorBuilder,HLA-DR)表达。Bria-OTS细胞与TCR转基因的Jurkat细胞的共培养导致荧光素酶活性增加(图13),其中TCR受到HLA-A或DR等位基因表达的限制。阴性对照包括用Bria-KO/APTC孵育的TCR转基因的Jurkat细胞和用不含TCR的Jurkat TCR α/β -KO细胞孵育的Bria-OTS。Bria-OTS细胞系在TCR转基因的Jurkat测定中以抗原特异性HLA限制性方式诱导了MLR中强的IFN γ 应答和NFAT驱动的荧光素酶活性,但Bria-KO/APTC没有。

表7.产生TCR转基因的Jurkat细胞的构建体。

HLA-A 限制性 TCR			
TCR-C133Z	抗 MART1 TCR (AAGIGILTV; SEQ ID NO: 48) (DMF5)		HLA-A*02:01
TCR-C124Z	人类抗 MAGE-A3 TCR (EVDPIGHLY; SEQ ID NO: 49) (13-18)		HLA-A*01:01
TCR-L360	人类抗 WT1 TCR (CMTWNQMNL; SEQ ID NO: 50) (37F8)		HLA-A*24:02
HLA-DR 限制性 TCR			
DRB4*0101	DRB3*0101	DRB3*0202	DRB5*0101
(RSFLVNQMINEAKKQL LEFD; SEQ ID NO: 51)	(ISLETVAIDRPAEV RKV; SEQ ID NO: 52)	(SASHLEQYGTNEYSIIS SMK; SEQ ID NO: 53)	(SSFERFEIFPKESS WPN; SEQ ID NO: 54)

[0306] 使用T细胞激活生物测定(NFAT)验证PC3-Bria-OTS细胞中的HLA功能。PC3-Bria-OTS-4或PC3-Bria-OTS-1细胞与HLA-A*24或HLA-A*01TCR转基因的Jurkat细胞的共培养导致荧光素酶活性增加(图14A和图14C)。每个实验包括适当的阴性对照:与PC3或PC3-KO孵育

的TCR转基因的Jurkat细胞以及与Jurkat TCR α/β -KO细胞(无TCR)孵育的PC3-Bria-OTS细胞。有趣的是,转基因的Jurkat细胞的激活与HLA-A表达水平相关(图14B和图14D)。

[0307] 使用T细胞激活生物测定(NFAT)验证SV-BR-1-Bria-OTS细胞中的HLA功能。类似地,SV-BR-1-OTS-4细胞与HLA-A24 TCR转基因的Jurkat细胞的共培养导致如通过生物发光监测所测量的显著激活,而没有HLA-A24表达的相同细胞(SV-BR-1-APTC和SV-BR-1-KO)未能导致这种效果(图15)。

[0308] 总的来说,上述结果表明表达转基因的HLA-A等位基因的肿瘤细胞能够诱导T细胞激活。

参考文献(仅实施例7)

(1) Waldman, A.D.; Fritz, J.M.; Lenardo, M.J. A Guide to Cancer Immunotherapy: From T Cell Basic Science to Clinical Practice. *Nat. Rev. Immunol.* 2020, 20(11), 651-668.

(2) Hoteit, M.; Oneissi, Z.; Reda, R.; Wakim, F.; Zaidan, A.; Farran, M.; Abi-Khalil, E.; El-Sibai, M. Cancer Immunotherapy: A Comprehensive Appraisal of Its Modes of Application (Review). *Oncol. Lett.* 2021, 22(3), 655.

(3) Anassi, E.; Ndefo, U.A. Sipuleucel-T (Provenge) Injection the First Immunotherapy Agent (Vaccine) for Hormone-Refractory Prostate Cancer. *P T* 2011, 36(4), 197-202.

(4) Fu, C.; Zhou, L.; Mi, Q.-S.; Jiang, A. DC-Based Vaccines for Cancer Immunotherapy. *Vaccines* 2020, 8(4), 706.

(5) Han, Q.; Wang, Y.; Pang, M.; Zhang, J. STAT3-Blocked Whole-Cell Hepatoma Vaccine Induces Cellular and Humoral Immune Response against HCC. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2017, 36(1), 156.

(6) Wiseman, C.L.; Kharazi, A. Objective Clinical Regression of Metastatic Breast Cancer in Disparate Sites after Use of Whole-Cell Vaccine Genetically Modified to Release Sargramostim. *Breast J.* 2006, 12(5), 475-480.

(7) Lacher, M.D.; Bauer, G.; Fury, B.; Graeve, S.; Fledderman, E.L.; Petrie, T.D.; Coleal-Bergum, D.P.; Hackett, T.; Perotti, N.H.; Kong, Y.Y.; Kwok, W.W.; Wagner, J.P.; Wiseman, C.L.; Williams, W.V. SV-BR-1-GM, a Clinically Effective GM-CSF-Secreting Breast Cancer Cell Line, Expresses an Immune Signature and Directly Activates CD4⁺T Lymphocytes. *Front. Immunol.* 2018, 9(MAY), 776.

(8) Wiseman, C.L.; Kharazi, A. Phase I Study with SV-BR-1 Breast Cancer Cell Line Vaccine and GM-CSF: Clinical Experience in 14 Patients. *Open Breast Cancer J.* 2010, 2(1), 4-11.

(9) Wong, K.K.; Li, W.A.; Mooney, D.J.; Dranoff, G. Advances in Therapeutic Cancer Vaccines. In *Advances in Immunology*; 2016; Vol. 130, pp 191-249.

(10) Sheikh, N.; Cham, J.; Zhang, L.; DeVries, T.; Letarte, S.; Pufnock, J.; Hamm, D.; Trager, J.; Fong, L. Clonotypic Diversification of Intratumoral T Cells Following Sipuleucel-T Treatment in Prostate Cancer Subjects. *Cancer Res.* 2016,

76(13), 3711-3718.

(11) Santeogoets, S.J.A.M.; Stam, A.G.M.; Loughheed, S.M.; Gall, H.; Jooss, K.; Sacks, N.; Hege, K.; Lowy, I.; Scheper, R.J.; Gerritsen, W.R.; van den Eertwegh, A.J.M.; de Gruijl, T.D. Myeloid Derived Suppressor and Dendritic Cell Subsets Are Related to Clinical Outcome in Prostate Cancer Patients Treated with Prostate GVAX and Ipilimumab. *J. Immunother. Cancer* 2014, 2(1), 31.

(12) Tsioulis, G.J. Serum TA90 Antigen-Antibody Complex as a Surrogate Marker for the Efficacy of a Polyvalent Allogeneic Whole-Cell Vaccine (CancerVax) in Melanoma. *Ann. Surg. Oncol.* 2001, 8(3), 198-203.

(13) George, D.J.; Nabhan, C.; DeVries, T.; Whitmore, J.B.; Gomella, L.G. Survival Outcomes of Sipuleucel-T Phase III Studies: Impact of Control-Arm Cross-Over to Salvage Immunotherapy. *Cancer Immunol. Res.* 2015, 3(9), 1063-1069.

(14) Higano, C.S.; Schellhammer, P.F.; Small, E.J.; Burch, P.A.; Nemunaitis, J.; Yuh, L.; Provost, N.; Frohlich, M.W. Integrated Data from 2 Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Phase 3 Trials of Active Cellular Immunotherapy with Sipuleucel-T in Advanced Prostate Cancer. *Cancer* 2009, 115(16), 3670-3679.

(15) Small, E.J.; Schellhammer, P.F.; Higano, C.S.; Redfern, C.H.; Nemunaitis, J.J.; Valone, F.H.; Verjee, S.S.; Jones, L.A.; Hershberg, R.M. Placebo-Controlled Phase III Trial of Immunologic Therapy with Sipuleucel-T (APC8015) in Patients with Metastatic, Asymptomatic Hormone Refractory Prostate Cancer. *J. Clin. Oncol.* 2006, 24(19), 3089-3094.

(16) Beinart, G.; Rini, B.I.; Weinberg, V.; Small, E.J. Antigen-Presenting Cells 8015 (**Provenge®**) in Patients with Androgen-Dependent, Biochemically Relapsed Prostate Cancer. *Clin. Prostate Cancer* 2005, 4(1), 55-60.

(17) Burch, P.A.; Croghan, G.A.; Gastineau, D.A.; Jones, L.A.; Kaur, J.S.; Kylstra, J.W.; Richardson, R.L.; Valone, F.H.; **Vuk-Pavlović**, S. Immunotherapy (APC8015, **Provenge®**) Targeting Prostatic Acid Phosphatase Can Induce Durable Remission of Metastatic Androgen-Independent Prostate Cancer: A Phase 2 Trial. *Prostate* 2004, 60(3), 197-204.

(18) Small, E.J.; Fratesi, P.; Reese, D.M.; Strang, G.; Laus, R.; Peshwa, M.V.; Valone, F.H. Immunotherapy of Hormone-Refractory Prostate Cancer With Antigen-Loaded Dendritic Cells. *J. Clin. Oncol.* 2000, 18(23), 3894-3903.

(19) Small, E.J.; Lance, R.S.; Gardner, T.A.; Karsh, L.I.; Fong, L.; McCoy, C.; DeVries, T.; Sheikh, N.A.; GuhaThakurta, D.; Chang, N.; Redfern, C.H.; Shore, N.D. A Randomized Phase II Trial of Sipuleucel-T with Concurrent versus Sequential Abiraterone Acetate plus Prednisone in Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. *Clin. Cancer Res.* 2015, 21(17), 3862-3869.

(20) GuhaThakurta, D.; Sheikh, N.A.; Fan, L.-Q.; Kandadi, H.; Meagher, T.C.;

Hall, S.J.; Kantoff, P.W.; Higano, C.S.; Small, E.J.; Gardner, T.A.; Bailey, K.; Vu, T.; DeVries, T.; Whitmore, J.B.; Frohlich, M.W.; Trager, J.B.; Drake, C.G. Humoral Immune Response against Nontargeted Tumor Antigens after Treatment with Sipuleucel-T and Its Association with Improved Clinical Outcome. *Clin. Cancer Res.* 2015, 21 (16), 3619-3630.

(21) Fong, L.; Carroll, P.; Weinberg, V.; Chan, S.; Lewis, J.; Corman, J.; Amling, C.L.; Stephenson, R.A.; Simko, J.; Sheikh, N.A.; Sims, R.B.; Frohlich, M.W.; Small, E.J. Activated Lymphocyte Recruitment Into the Tumor Microenvironment Following Preoperative Sipuleucel-T for Localized Prostate Cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 2014, 106(11).

(22) Beer, T.M.; Bernstein, G.T.; Corman, J.M.; Glode, L.M.; Hall, S.J.; Poll, W.L.; Schellhammer, P.F.; Jones, L.A.; Xu, Y.; Kylstra, J.W.; Frohlich, M.W. Randomized Trial of Autologous Cellular Immunotherapy with Sipuleucel-T in Androgen-Dependent Prostate Cancer. *Clin. Cancer Res.* 2011, 17(13), 4558-4567.

(23) Dols, A.; Meijer, S.L.; Smith, J.W.; Fox, B.A.; Urban, W.J. Allogeneic Breast Cancer Cell Vaccines. *Clin. Breast Cancer* 2003, 3, S173-S180.

(24) Srivatsan, S.; Patel, J.M.; Bozeman, E.N.; Imasuen, I.E.; He, S.; Daniels, D.; Selvaraj, P. Allogeneic Tumor Cell Vaccines. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2014, 10 (1), 52-63.

(25) Kleponis, J.; Skelton, R.; Zheng, L. Fueling the Engine and Releasing the Break: Combinational Therapy of Cancer Vaccines and Immune Checkpoint Inhibitors. *Cancer Biology and Medicine*. 2015, pp 201-208.

(26) Simons, J.W.; Jaffee, E.M.; Weber, C.E.; Levitsky, H.J.; Nelson, W.G.; Carducci, M.A.; Lazenby, A.J.; Cohen, L.K.; Finn, C.C.; Clift, S.M.; Hauda, K.M.; Beck, L.A.; Leiferman, K.M.; Owens, A.H.; Piantadosi, S.; Dranoff, G.; Mulligan, R.C.; Pardoll, D.M.; Marshall, F.F. Bioactivity of Autologous Irradiated Renal Cell Carcinoma Vaccines Generated by Ex Vivo Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor Gene Transfer. *J. Urol.* 1998, 160(8), 617-618.

(27) Klebanoff, C.A.; Acquavella, N.; Yu, Z.; Restifo, N.P. Therapeutic Cancer Vaccines: Are We There Yet? *Immunol. Rev.* 2011, 239(1), 27-44.

(28) Li, X.F.; Ren, P.; Shen, W.Z.; Jin, X.; Zhang, J. The Expression, Modulation and Use of Cancer-Testis Antigens as Potential Biomarkers for Cancer Immunotherapy. *American Journal of Translational Research*. 2020, pp 7002-7019.

(29) Gragert, L.; Madbouly, A.; Freeman, J.; Maiers, M. Six-Locus High Resolution HLA Haplotype Frequencies Derived from Mixed-Resolution DNA Typing for the Entire US Donor Registry. *Hum. Immunol.* 2013, 74(10), 1313-1320.

(30) Dull, T.; Zufferey, R.; Kelly, M.; Mandel, R.J.; Nguyen, M.; Trono, D.; Naldini, L. A Third-Generation Lentivirus Vector with a Conditional Packaging System. *J. Virol.* 1998, 72(11), 8463-8471.

(31) Gupta, R.; Emens, L.A. GM-CSF-Secreting Vaccines for Solid Tumors: Moving Forward. *Discovery medicine*. 2010, pp 52-60.

(32) Van De Laar, L.; Coffey, P.J.; Woltman, A.M. Regulation of Dendritic Cell Development by GM-CSF: Molecular Control and Implications for Immune Homeostasis and Therapy. *Blood*. 2012, pp 3383-3393.

(33) Budhwani, M.; Mazzei, R.; Dolcetti, R. Plasticity of Type I Interferon-Mediated Responses in Cancer Therapy: From Anti-Tumor Immunity to Resistance. *Frontiers in Oncology*. 2018, p 322.

(34) Yu, R.; Zhu, B.; Chen, D. Type I Interferon-Mediated Tumor Immunity and Its Role in Immunotherapy. *Cell. Mol. Life Sci*. 2022, 79(3), 191.

(35) Schluns, K.S.; Kieper, W.C.; Jameson, S.C.; **Lefrançois, L.** Interleukin-7 Mediates the Homeostasis of **Naïve** and Memory CD8T Cells in Vivo. *Nat. Immunol*. 2000, 1(5), 426-432.

(36) Chen, D.; Tang, T.-X.; Deng, H.; Yang, X.-P.; Tang, Z.-H. Interleukin-7 Biology and Its Effects on Immune Cells: Mediator of Generation, Differentiation, Survival, and Homeostasis. *Front. Immunol*. 2021, 12, 747324.

(37) Colombo, M.P.; Trinchieri, G. Interleukin-12 in Anti-Tumor Immunity and Immunotherapy. *Cytokine and Growth Factor Reviews*. 2002, pp 155-168.

(38) Henry, C.J.; Ornelles, D.A.; Mitchell, L.M.; Brzoza-Lewis, K.L.; Hiltbold, E.M. IL-12 Produced by Dendritic Cells Augments CD8+T Cell Activation through the Production of the Chemokines CCL1 and CCL17. *J. Immunol*. 2008, 181(12), 8576-8584.

(39) Tugues, S.; Burkhard, S.H.; Ohs, I.; Vrohling, M.; Nussbaum, K.; Vom Berg, J.; Kulig, P.; Becher, B. New Insights into IL-12-Mediated Tumor Suppression. *Cell Death and Differentiation*. 2015, pp 237-246.

(40) Jeong, S.; Park, S.-H. Co-Stimulatory Receptors in Cancers and Their Implications for Cancer Immunotherapy. *Immune Netw*. 2020, 20(1).

V. 参考文献

Al-Awadhi A, Lee Murray J, Ibrahim NK. Developing anti-HER2 vaccines: Breast cancer experience. *Int J Cancer*. 2018 Nov 1; 143(9): 2126-2132.

Antonarelli G, Corti C, Tarantino P, Ascione L, Cortes J, Romero P, Mittendorf EA, Disis ML, Curigliano G. Therapeutic cancer vaccines revamping: technology advancements and pitfalls. *Ann Oncol*. 2021 Dec; 32(12): 1537-51.

Arico E, Belardelli F. Interferon-alpha as antiviral and antitumor vaccine adjuvants: mechanisms of action and response signature. *J Interferon Cytokine Res*. 2012; 32(6): 235-47.

Avigan D, Vasir B, Gong J, et al. Fusion cell vaccination of patients with metastatic breast and renal cancer induces immunological and clinical responses. *Clin Cancer Res*. 2004; 10(14): 4699-708.

Berd D, Maguire HC Jr, Mastrangelo MJ. Induction of cell-mediated immunity to autologous melanoma cells and regression of metastases after treatment with a melanoma cell vaccine preceded by cyclophosphamide. *Cancer Res.* 1986;46(5):2572-7.

Boyer CM, Dawson DB, Nea SE, Winchell LF, et al. Differential induction by interferons of major histocompatibility complex-encoded and non-major histocompatibility complex-encoded antigens in human breast and ovarian carcinoma cell lines. *Cancer Research* 1989;49:2928-34.

Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018 Nov;68(6):394-424.

Brinkmann U, Kontermann RE. The making of bispecific antibodies. *MAbs.* 2017 Feb/Mar;9(2):182-212.

Carson WE 3rd, Unger JM, Sosman JA, Flaherty LE, Tuthill RJ, et al. Adjuvant vaccine immunotherapy of resected, clinically node-negative melanoma: long-term outcome and impact of HLA class I antigen expression on overall survival. *Cancer Immunol Res.* 2014 Oct;2(10):981-7.

Chen G, Gupta R, Petrik S, Laiko M, Leatherman JM, Asquith JM, et al. A feasibility study of cyclophosphamide, trastuzumab, and an allogeneic GM-CSF-secreting breast tumor vaccine for HER2+ metastatic breast cancer. *Cancer Immunol Res.* 2014;2(10):949-61.

Chornoguz, Olesya et al. "Major histocompatibility complex class II+ invariant chain negative breast cancer cells present unique peptides that activate tumor-specific T cells from breast cancer patients." *Molecular & cellular proteomics: MCP* vol. 11, 11(2012):1457-67.

Corti C, Giachetti PPMB, Eggermont AMM, Delaloge S, Curigliano G. Therapeutic vaccines for breast cancer: Has the time finally come? *Eur J Cancer.* 2021 Nov 22;S0959-8049(21)01185-0.

Creelan BC, Antonia S, Noyes D, Hunter TB, Simon GR, Bepler G, et al. Phase II trial of a GM-CSF-producing and CD40L-expressing bystander cell line combined with an allogeneic tumor cell-based vaccine for refractory lung adenocarcinoma. *J Immunother.* 2013;36(8):442-50.

Disis ML, Grabstein KH, Sleath PR, Cheever MA. Generation of immunity to the HER-2/neu oncogenic protein in patients with breast and ovarian cancer using a peptide-based vaccine. *Clin Cancer Res.* 1999 Jun;5(6):1289-97.

Dols A, Smith JW 2nd, Meijer SL, et al. Vaccination of women with metastatic breast cancer, using a costimulatory gene (CD80)-modified, HLA-A2-matched, allogeneic, breast cancer cell line: clinical and

immunologicalresults.Hum Gene Ther.2003;14(11):1117-23.

Dranoff G,Jaffee E,Lazenby A,Golumbek P,Levitsky H,et al.Vaccination with irradiated tumor cells engineered to secrete murine granulocyte-macrophage colony-stimulating factor stimulates potent,specific,and long-lasting anti-tumor immunity.Proc Natl Acad Sci U S A.1993 Apr 15;90(8):3539-43.

Dull,T et al.“A third-generation lentivirus vector with a conditional packaging system.”Journal of virology vol.72,11(1998):8463-71.doi:10.1128/JVI.72.11.8463-8471.1998.

Elliott RL,Head JF.Adjuvant breast cancer vaccine improves disease specific survival of breast cancer patients with depressed lymphocyte immunity.Surg Oncol.2013;22(3):172-7.

Emens LA,Armstrong D,Biedrzycki B,Davidson N,Davis-Sproul J,et al.A phase I vaccine safety and chemotherapy dose-finding trial of an allogeneic GM-CSF-secreting breast cancer vaccine given in a specifically timed sequence with immunomodulatory doses of cyclophosphamide and doxorubicin.Hum Gene Ther.2004 Mar;15(3):313-37.

Emens LA,Asquith JM,Leatherman JM,Kobrin BJ,Petrik S,Laiko M,et al.Timed sequential treatment with cyclophosphamide,doxorubicin,and an allogeneic granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-secreting breast tumor vaccine:a chemotherapy dose-ranging factorial study of safety and immune activation.J Clin Oncol.2009;27(35):5911-8.

Ferlay J,Colombet M,Soerjomataram I,Mathers C,Parkin DM,et al.Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018:GLOBOCAN sources and methods.Int J Cancer.2019 Apr 15;144(8):1941-53.

Garg AD,Vara Perez M,Schaaf M,Agostinis P,Zitvogel L,et al.Trial watch:Dendritic cell-based anticancer immunotherapy.Oncoimmunology.2017 May 12;6(7):e1328341.

Gelao L,Criscitiello C,Esposito A,De Laurentiis M,Fumagalli L,et al.Dendritic cell-based vaccines:clinical applications in breast cancer.Immunotherapy.2014;6(3):349-60.

Giaccone G,Bazhenova LA,Nemunaitis J,Tan M,JuhászE,et al.A phase III study of belagenpumatucel-L,an allogeneic tumour cell vaccine,as maintenance therapy for non-small cell lung cancer.Eur J Cancer.2015 Nov;51(16):2321-9.

Groeper C,Gambazzi F,Zajac P,Bubendorf L,Adamina M,et al.Cancer/testis antigen expression and specific cytotoxic T lymphocyte responses in non small cell lung cancer.Int J Cancer.2007;120(2):337-43.

Gupta R,Emens LA.GM-CSF-secreting vaccines for solid tumors:moving forward.Discov Med.2010;10(50):52-60.

Hadden JW.The immunology and immunotherapy of breast cancer:an update.International Journal of Immunopharmacology 1999;21:79-101.

Jacot W,Heudel PE,Fraisse J,Gourgou S,Guiu S,et al.Real-life activity of eribulin mesylate among metastatic breast cancer patients in the multicenter national observational ESME program.Int J Cancer.2019 Dec 15;145(12):3359-69.

Jiang XP,Yang DC,Elliott RL,Head JF.Vaccination with a mixed vaccine of autogenous and allogeneic breast cancer cells and tumor associated antigens CA15-3,CEA and CA125--results in immune and clinical responses in breast cancer patients.Cancer Biother Radiopharm.2000 Oct;15(5):495-505.

Kazmi S,Chatterjee D,Raju D,Hauser R,Kaufman PA.Overall survival analysis in patients with metastatic breast cancer and liver or lung metastases treated with eribulin,gemcitabine,or capecitabine[published correction appears in Breast Cancer Res Treat.2021 Jun;187(2):603].Breast Cancer Res Treat.2020;184(2):559-65.

Keenan BP,Jaffee EM.Whole cell vaccines-past progress and future strategies.Semin Oncol.2012;39(3):276-86.

Khan,S.H. (2019) .Genome-editing technologies:concept,pros,and cons of various genome-editing techniques and bioethical concerns for clinical application.Molecular Therapy-Nucleic Acids,16,326-334.

Kharazi A,Kudinov Y,Cuevas A,Wiseman,CL.Effect of interferon-alpha on the phenotype of human monocyte-derived dendritic cells generated in the presence of GM-CSF in vitro.European Congress of Immunology,Rhodes,Greece; 2003;87:69.

Kuroi K,Sato Y,Yamaguchi Y,Toge T.Modulation of suppressor cell activities by cyclophosphamide in breast cancer patients.Journal of Clinical Laboratory Analysis 1994;8:123-7.

Lacher MD,Bauer G,Fury B,Graeve S,Fledderman EL,Petrie TD,Coleal-Bergum DP,Hackett T,Perotti NH,Kong YY,Kwok WW,Wagner JP,Wiseman CL,Williams WV.SV-BR-1-GM,a Clinically Effective GM-CSF-Secreting Breast Cancer Cell Line,Expresses an Immune Signature and Directly Activates CD4+T Lymphocytes.Front.Immunol.,15 May 2018.

Le DT,Wang-Gillam A,Picozzi V,Greten TF,Crocenzi T,Springett G,et al.Safety and survival with GVAX pancreas prime and Listeria monocytogenes-expressing mesothelin(CRS-207)boost vaccines for metastatic pancreatic cancer.J Clin Oncol.2015;33(12):1325-33.

Leo S,Arnoldi E,Repetto L,et al.Eribulin Mesylate as Third or Subsequent Line Chemotherapy for Elderly Patients with Locally Recurrent or Metastatic Breast Cancer:A Multicentric Observational Study of GIOGer(Italian

Group of Geriatric Oncology)-ERIBE.Oncologist.2019;24(6):e232-e240.

Lipson EJ,Sharfman WH,Chen S,McMiller TL,Pritchard TS,Salas JT,et al.Safety and immunologic correlates of melanoma GVAX,a GM-CSF secreting allogeneic melanoma cell vaccine administered in the adjuvant setting.J Transl Med.2015;13:214.

Logan AC,Nightingale SJ,Haas DL,Cho GJ,Pepper KA,Kohn DB.Factors influencing the titer and infectivity of lentiviral vectors.Hum Gene Ther.2004 Oct;15(10):976-88.doi:10.1089/hum.2004.15.976.PMID:15585113.

Lollini PL,Cavallo F,Nanni P,Quaglino E.The promise of preventive cancer vaccines.Vaccines(Basel).2015;3(2):467-89.

Machiels JP,Reilly RT,Emens LA,Ercolini AM,Lei RY,et al.Cyclophosphamide,doxorubicin,and paclitaxel enhance the antitumor immune response of granulocyte/macrophage-colony stimulating factor-secreting whole-cell vaccines in HER-2/neu tolerized mice.Cancer Res.2001;61(9):3689-97.

Maeda S,Saimura M,Minami S,et al.Efficacy and safety of eribulin as first-to third-line treatment in patients with advanced or metastatic breast cancer previously treated with anthracyclines and taxanes.Breast.2017;32:66-72.

Manso L,Moreno Antón F,Izarzugaza Perón Y,et al.Safety of eribulin as third-line chemotherapy in HER2-negative,advanced breast cancer pre-treated with taxanes and anthracycline:OnSITE study.Breast J.2019;25(2):219-25.

Maude SL,Frey N,Shaw PA,Aplenc R,Barrett DM,et al.Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia.N Engl J Med.2014;371(16):1507-17.

Maus MV,Grupp SA,Porter DL,June CH.Antibody-modified T cells:CARs take the front seat for hematologic malignancies.Blood.2014;123(17):2625-35.

Mittendorf EA,Clifton GT,Holmes JP,Schneble E,van Echo D,et al.Final report of the phase I/II clinical trial of the E75(nelipepimut-S)vaccine with booster inoculations to prevent disease recurrence in highrisk breast cancer patients.Ann Oncol.2014;25(9):1735-42.

NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology:Breast Cancer.NCCN Evidence Blocks.Version 8.2021-Sept 13,2021.NCCN.org.

Pallerla S,Abdul AURM,Comeau J,Jois S.Cancer Vaccines,Treatment of the Future:With Emphasis on HER2-Positive Breast Cancer.Int J Mol Sci.2021 Jan 14;22(2):779.

Paquette R,Hsu N,Kiertscher S,et al.Interferon-alpha and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor differentiate peripheral blood monocytes into potent antigen-presenting cells.J Leukoc Biol.1998;64:358-67.

Prickett TD,Crystal JS,Cohen CJ,Pasetto A,Parkhurst MR,et al.Durable

complete response from metastatic melanoma after transfer of autologous T cells recognizing 10 mutated tumor antigens. *Cancer Immunol Res* 2016;4(8):669-78.

Proietti E, Bracci L, Puzelli S, Di Pucchio T, Sestili P, et al. Type I IFN as a natural adjuvant for a protective immune response: lessons from the influenza vaccine model. *J Immunol*. 2002 Jul 1;169(1):375-83.

Ramamoorthi, Murali, and Aparna Narvekar. "Non viral vectors in gene therapy-an overview." *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR* vol. 9, 1 (2015): GE01-6. doi:10.7860/JCDR/2015/10443.5394.

Renkvist N, Castelli C, Robbins PF, Parmiani G. A listing of human tumor antigens recognized by T cells. *Cancer Immunol Immunother*. 2001;50(1):3-15.

Robbins PF, Kassim SH, Tran TL, Crystal JS, Morgan RA, et al. A pilot trial using lymphocytes genetically engineered with an NY-ESO-1-reactive T-cell receptor: long-term follow-up and correlates with response. *Clin Cancer Res* 2015;21(5):1019-27.

Ross JS, Slodkowska EA, Symmans WF, Pusztai L, Ravdin PM, Hortobagyi GN. The HER-2 receptor and breast cancer: ten years of targeted anti-HER-2 therapy and personalized medicine. *Oncologist*. 2009 Apr;14(4):320-68.

Rugo HS, Im SA, Cardoso F, Cortés J, Curigliano G, et al. and SOPHIA Study Group. Efficacy of Margetuximab vs Trastuzumab in Patients With Pretreated ERBB2-Positive Advanced Breast Cancer: A Phase 3 Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol*. 2021 Apr 1;7(4):573-84.

Sakai Y, Morrison BJ, Burke JD, et al. Vaccination by genetically modified dendritic cells expressing a truncated neu oncogene prevents development of breast cancer in transgenic mice. *Cancer Res*. 2004;64(21):8022-28.

Santegoets SJ, Stam AG, Loughheed SM, Gall H, Jooss K, et al. Myeloid derived suppressor and dendritic cell subsets are related to clinical outcome in prostate cancer patients treated with prostate GVAX and ipilimumab. *J Immunother Cancer*. 2014;2:31.

Santini SM, Lapenta C, Logozzi M, Parlato S, Spada M, et al. Type I interferon as a powerful adjuvant for monocyte-derived dendritic cell development and activity in vitro and in Hu-PBL-SCID mice. *J Exp Med*. 2000 May 15;191(10):1777-88.

SEER Cancer Stat Facts: Female Breast Cancer. National Cancer Institute. Bethesda, MD, seer.cancer.gov/statfacts/html/breast.html. Accessed 20 Oct 2021.

Shaimardanova et al., "Production and application of multicistronic constructs for various human disease therapies." *Pharmaceutics* 2019, 11, 580.

Silvestri I, Cattarino S, Aglianò AM, Collalti G, Sciarra A. Beyond the Immune Suppression: The Immunotherapy in Prostate Cancer. *Biomed Res Int*. 2015; 2015:794968.

Sondak VK, Liu PY, Tuthill RJ, Kempf RA, Unger JM, et al. Adjuvant immunotherapy of resected, intermediate-thickness, node-negative melanoma with an allogeneic tumor vaccine: overall results of a randomized trial of the Southwest Oncology Group. *J Clin Oncol*. 2002 Apr 15; 20(8):2058-66.

Srivatsan S, Patel JM, Bozeman EN, Imasuen IE, He S, et al. Allogeneic tumor cell vaccines: the promise and limitations in clinical trials. *Hum Vaccin Immunother*. 2014; 10(1):52-63.

van der Bruggen Vigneron N, Stroobant V, Van den Eynde BJ, van der Bruggen P. Database of T cell-defined human tumor antigens: the 2013 update. *Cancer Immun*. 2013; 13:15.

Varella L, Eziokwu AS, Jia X, Kruse M, Moore HCF, et al. Real-world clinical outcomes and toxicity in metastatic breast cancer patients treated with palbociclib and endocrine therapy. *Breast Cancer Res Treat*. 2019 Jul; 176(2):429-34.

Wallack MK, Sivanandham M, Balch CM, Urist MM, Bland KI, et al. Surgical adjuvant active specific immunotherapy for patients with stage III melanoma: the final analysis of data from a phase III, randomized, double-blind, multicenter vaccinia melanoma oncolysate trial. *J Am Coll Surg*. 1998 Jul; 187(1):69-77; discussion 77-9.

Wallack MK, Sivanandham M, Balch CM, Urist MM, et al. A phase III randomized, double-blind multiinstitutional trial of vaccinia melanoma oncolysate-active specific immunotherapy for patients with stage II melanoma. *Cancer*. 1995 Jan 1; 75(1):34-42.

Wiseman C, Kharazi A, Cuevas A, Berliner K. Whole-cell based breast cancer vaccine/GM-CSF: Clinical experience in 13 patients with cell line SV-BR-1. *SBT 2004 Annual Meeting*. *J Immunother*. 2004a; 27:S34.

Wiseman C, Kharazi A, Cuevas A, Berliner K. Whole-cell breast cancer vaccine/GM-CSF: Clinical experience in 13 patients with cell line SV-R-1. *Int. Soc. Bio. Ther. Annual Meeting*. 2004b.

Wiseman CL, Kharazi A. "Regression of brain metastases in two breast cancer patients with irradiated allogeneic whole-cell vaccines (V), low-dose cyclophosphamide (CY), and GM-CSF"; presented at the Annual Meeting of International Society of Biological Therapy, 2006a.

Wiseman CL, Kharazi A. Regression of brain metastases in two breast cancer patients with irradiated allogeneic whole-cell vaccines, low dose cyclophosphamide, and GM-CSF. *International Society for Biological Therapy of*

Cancer(iSBT)Annual Meeting.J Immunother.2006b.

Wiseman CL,Kharazi A.Objective clinical regression of metastatic breast cancer in disparate sites after use of whole-cell vaccine genetically modified to release sargramostim.Breast J.2006c Sep-Oct;12(5):475-80.

Wiseman CL,Kharazi A.Phase I Study with SV-BR-1Breast Cancer Cell Line Vaccine and GMCSF:Clinical Experience in 14Patients.The Open Breast Cancer Journal.2010;2:4-11.

Yin,H.,Kauffman,K.&Anderson,D.Delivery technologies for genome editing.Nat Rev Drug Discov 16,387-399(2017).doi.org/10.1038/nrd.2016.280.

Zhang P,Yi S,Li X,et al.Preparation of triple-negative breast cancer vaccine through electrofusion with day-3dendritic cells.PLoS One.2014;9(7):e102197.

[0309] 应当理解,本文描述的实施例和实施方案仅用于说明目的,并且根据它们的各种修改或变化将被建议给本领域技术人员,并且将被包括在本申请的精神和范围以及所附权利要求要求的范围内。本文所引用的所有出版物、专利、专利申请和序列登记号在此出于所有目的通过引用以其整体并入。

非正式序列表

SEQ ID NO:1 HLA-A*01:01

>HG794373.1用于MHC I类抗原的智人HLA-A基因,等位基因HLA-A*01:01:01:01T
GAGACAGAGCGCTTCGCACAGGAGCAGAGGGGTCAGGGCGAAGTCCCAGGGCCCCAGGCGTGGCTCTCAGGGTCTC
AGGCCCCGAAGGCGGTGTATGGATTGGGGAGTCCCAGCCTTGGGGATTCCCCAACTCCGCAGTTTCTTTTCTCCCT
CTCCCAACCTACGTAGGGTCCTTCATCCTGGATACTCACGACGCGGACCCAGTTCTCACTCCCATTGGGTGTCGGG
TTTCCAGAGAAGCCAATCAGTGTGTCGTCGCGTCTGTTCTAAAGTCCGCACGCACCCACCGGGACTCAGATTCTC
CCCAGACGCCGAGGATGGCCGTCATGGCGCCCCGAACCCTCCTCCTGCTACTCTCGGGGGCCCTGGCCCTGACCCA
GACCTGGGCGGGTGAGTGCAGGGTTCGGGAGGGAACCGCCTCTGCGGGGAGAAGCAAG22GGGCCCTCCTGGCGGG
GGCGCAGGACCGGGGAGCCGCGCCGGGAGGAGGGTCGGGCAGGTCTCAGCCACTGCTCGCCCCAGGCTCCCACTC
CATGAGGTATTTCTTACATCCGTGTCCCGGCCCGGCCGCGGGGAGCCCCGCTTCATCGCCGTGGGCTACGTGGACG
ACACGCAGTTCGTGCGGTTTCGACAGCGACGCCGCGAGCCAGAAGATGGAGCCGCGGGCGCCGTGGATAGAGCAGGAG
GGGCCGGAGTATTGGGACCAGGAGACACGGAATATGAAGGCCCACTCACAGACTGACCGAGCGAACCTGGGGACCCT
GCGCGGCTACTACAACCAGAGCGAGGACGGTGAGTGACCCCGGCCCGGGGCGCAGGTCACGACCCCTCATCCCCAC
GGACGGGCCAGGTCGCCCACAGTCTCCGGGTCCGAGATCCACCCCGAAGCCGCGGGACTCCGAGACCCTTGTCCCGG
GAGAGGCCAGGCGCCTTTACCCGGTTTCATTTTCAGTTTAGGCCAAAAATCCCCCGGGTTGGTCGGGGCGGGCG
GGGCTCGGGGGACTGGGCTGACCGCGGGGTTCGGGGCCAGGTTCTCACACCATCCAGATAATGTATGGCTGCGACGTG
GGGCCGGACGGGCGCTTCTCCGCGGGTACCGGCAGGACGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAACGAGGA
CCTGCGCTCTTGACCGCGGCGGACATGGCAGCTCAGATACCAAGCGCAAGTGGGAGGCGGTCCATGCGGCGGAGC
AGCGGAGAGTCTACCTGGAGGGCCGGTGCGTGACGGGCTCCGCAGATACCTGGAGAACGGGAAGGAGACGCTGCAG
CGCACGGGTACCAGGGGCCACGGGGCGCCTCCCTGATCGCCTATAGATCTCCCGGGCTGGCCTCCACAAGGAGGGG
AGACAATTGGGACCAACACTAGAATATCACCTCCCTCTGGTCCTGAGGGAGAGGAATCCTCCTGGGTTTCCAGATC
CTGTACCAGAGAGTGACTCTGAGGTTCCGCCCTGCTCTCTGACACAATTAAGGGATAAAATCTCTGAAGGAGTGACG

GGAAGACGATCCCTCGAATACTGATGAGTGGTTCCCTTTGACACCGGCAGCAGCCTTGGGCCCCGTGACTTTTCCTCT
CAGGCCTTGTCTCTGCTTCACACTCAATGTGTGTGGGGTCTGAGTCCAGCACTTCTGAGTCTCTCAGCCTCCACT
CAGGTCAGGACCAGAAGTCGCTGTTCCCTTCTCAGGGAATAGAAGATTATCCCAGGTGCCTGTGTCCAGGCTGGTGT
CTGGGTTCTGTGCTCTCTTCCCCATCCCGGGTGTCTGTCCATTCTCAAGATGGCCACATGCGTGCTGGTGGAGTGT
CCCATGACAGATGCAAAATGCCTGAATTTTCTGACTCTTCCCGTCAGACCCCCCAAGACACATATGACCCACCACC
CCATCTCTGACCATGAGGCCACCCTGAGGTGCTGGGCCCTGGGCTTCTACCCTGCGGAGATCACACTGACCTGGCAG
CGGGATGGGGAGGACCAGACCCAGGACACGGAGCTCGTGGAGACCAGGCCTGCAGGGGATGGAACCTTCCAGAAGTG
GGCGGCTGTGGTGGTGCCTTCTGGAGAGGAGCAGAGATACACCTGCCATGTGCAGCATGAGGGTCTGCCAAGCCCC
TCACCCTGAGATGGGGTAAGGAGGGAGATGGGGGTGTCATGTCTCTTAGGGAAAGCAGGAGCCTCTCTGGAGACCTT
TAGCAGGGTCAGGGCCCCCTACCTTCCCCCTTTTCCCAGAGCTGTCTTCCCAGCCCACCATCCCCATCGTGGGCAT
CATTGCTGGCCTGGTTCTCCTTGGAGCTGTGATCACTGGAGCTGTGGTCGCTGCCGTGATGTGGAGGAGGAAGAGCT
CAGGTGGAGAAGGGGTGAAGGGTGGGGTCTGAGATTTCTTGTCTCACTGAGGGTTCCAAGCCCCAGCTAGAAATGTG
CCCTGTCTCATTACTGGGAAGCACCTTCCACAATCATGGGCCGACCCAGCCTGGGCCCTGTGTGCCAGCACTTACTC
TTTTGTAAAGCACCTGTTAAAATGAAGGACAGATTTATCACCTTGATTACGGCGGTGATGGGACCTGATCCCAGCAG
TCACAAGTCACAGGGGAAGGTCCCTGAGGACAGACCTCAGGAGGGCTATTGGTCCAGGACCCACACCTGCTTTCTTC
ATGTTTCCTGATCCCGCCCTGGGTCTGCAGTCACACATTTCTGGAACTTCTCTGGGGTCCAAGACTAGGAGGTTCC
TCTAGGACCTTAAGGCCCTGGCTCCTTTCTGGTATCTCACAGGACATTTTCTTCCCACAGATAGAAAAGGAGGGAGT
TACACTCAGGCTGCAAGTAAGTATGAAGGAGGCTGATGCCTGAGGTCCTTGGGATATTGTGTTTGGGAGCCCATGGG
GGAGCTACCCACCCACAATTCCCTCCTCTAGCCACATCTTCTGTGGGATCTGACCAGGTTCTGTTTTTGTCTACC
CCAGGCAGTGACAGTGCCCAGGGCTCTGATGTGTCTCTCACAGCTTGTAAGGTGAGAGCTTGGAGGGCCTGATGTG
TGTTGGGTGTTGGGTGGAACAGTGGACACAGCTGTGCTATGGGGTTTCTTTCGTTGGATGTATTGAGCATGCGATG
GGCTGTTTAAGGTGTGACCCCTCACTGTGATGGATATGAATTTGTTTCATGAATATTTTTTCTATAGTGTGAGACAG
CTGCCTTGTGTGGGACTGAGAGGCAAGAGTTGTTCCCTGCCCTTCCCTTTGTGACTTGAAGAACCCTGACTTTGTTTC
TGCAAAGGCACCTGCATGTGTCTGTGTTTCGTGTAGGCATAATGTGAGGAGGTGGGGAGAGCACCCACCCCATGTC
CACCATGACCCT

SEQ ID NO:2 HLA-A*68:01

>LR899222.1用于MHC I类抗原的智人HLA-A基因,等位基因HLA-A*68:01:01TGAG
ACAGAGCGCTTGGCACAGGAGCAGAGGGGTCAGGGCGAAGTCCCAGGGCCCCAGGCGTGGCTCTCAGGGTCTCAGGC
CCCGAAGGCGGTGTATGGATTGGGGAGTCCCAGCCTTGGGGATTCCCCAACTCCGCAGTTTCTTTTCTCCCTCTCCC
AACCTATGTAGGGTCCTTCTTCTGGATACTCACGACGCGGACCCAGTTCTCACTCCCATTGGGTGTGGGTTTCCA
GAGAAGCCAATCAGTGTGTCGCGGTGCGGGTCTAAAGTCCGCACGCACCCACCGGGACTCAGATTCTCCCCAGAC
GCCGAGGATGGCCGTCATGGCGCCCCGAACCCTCGTCCTGCTACTCTCGGGGGCCCTGGCCCTGACCCAGACCTGGG
CGGGTGAGTGCGGGGTGCGGAGGGAAACGGCCTCTGTGGGGAGAAGCAAGGGGCCCGCCGCGGGGGCGCAGGACC
CGGGAAGCCGCGCCTGGAGGAGGGTGGGCGGGTCTCAGCCACTCCTCGCCCCAGGCTCCCCTCCATGAGGTATT
TCTACACCTCCGTGTCCCGCCCCGCGCGGGAGCCCCGCTTCATCGCCGTGGGCTACGTGGACGACACGCAGTTC
GTGCGGTTTCACAGCGACGCCGCGAGCCAGAGGATGGAGCCGCGGGCGCCGTGGATAGAGCAGGAGGGGCCGGAGTA
TTGGGACCGGAACACACGGAATGTGAAGGCCAGTCACAGACTGACCGAGTGGACCTGGGGACCCTGCGCGGCTACT
ACAACCAGAGCGAGGCCGGTGAGTGACCCCGCCCCGGGGCGCAGGTCACGACCCCTCATCCCCACGGACGGGCCAG
GTCGCCACAGTCTCCGGGTCCGAGATCCGCCCCGAAGCCGCGGGACCCCGAGACCCTTGCCCCGGGAGAGGCCAG

GCGCCTTTACCCGGTTTCATTTTCAGTTTAGGCCAAAAATCCCCCGGGTTGGTCGGGGCGGGGCGGGGCTCGGGGG
ACCGGGCTGACCTCGGGGTCCGGGCCAGGTTCTCACACCATCCAGATGATGTATGGCTGCGACGTGGGGTTCGGACGG
GCGCTTCCTCCGCGGGTACCGGCAGGACGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAAAGAGGACCTGCGCTCTT
GGACCGCGGGCGACATGGCAGCTCAGACCACCAAGCACAAAGTGGGAGGCGGCCATGTGGCGGAGCAGTGAGAGCC
TACCTGGAGGGCACGTGCGTGAGTGCTCCGCAGATACCTGGAGAACGGGAAGGAGACGCTGCAGCGCACGGGTAC
CGGGGGCCACGGGGCGCCTCCCTGATCGCCTGTAGATCTCCCGGGCTGGCCTCCACAAGGAGGGGAGACAATTGGG
ACCAACACTAGAATATCGCCCTCCCTCTGGTCTGAGGGAGAGGAATCCTCCTGGGTTTCCAGATCCTGTACCAGAG
AGTGACTCTGAGGTTCCGCCCTGCTCTCTGACACAATTAAGGGATAAAATCTCTGAAGGAATGACGGGAAGACGATC
CCTCGAATACTGATGAGTGTTCCCTTTGACACACACAGGCAGCAGCCTTGGGCCCCGTGACTTTTCTCTCAGGCCT
TGTTCTCTGCTTCACACTCAATGTGTGTGGGGGTCTGAGTCCAGCACTTCTGAGTCCCTCAGCCTCCACTCAGGTCA
GGACCAGAAGTCGCTGTTCCCTCTTCAGGGACTAGAATTTTCCACGAATAGGAGATTATCCAGGTGCCTGTGTCC
AGGCTGGTGTCTGGGTTCTGTGCTCCCTTCCCCATCCCAGGTGTCCTGTCCATTCTCAAGATAGCCACATGTGTGCT
GGAGGAGTGTCCCATGACAGATGCAAAATGCCTGAATGATCTGACTCTTCCTGACAGACGCCCCCAAACGCATATG
ACTCACCACGCTGTCTCTGACCATGAAGCCACCCTGAGGTGCTGGGCCCTGAGCTTCTACCCTGCGGAGATCACACT
GACCTGGCAGCGGGATGGGGAGGACCAGACCCAGGACACGGAGCTCGTGGAGACCAGGCCTGCAGGGGATGGAACCT
TCCAGAAGTGGGTGGCTGTGGTGGTGCCTTCTGGACAGGAGCAGAGATACACCTGCCATGTGCAGCATGAGGGTTTG
CCCAAGCCCCCTCACCTGAGATGGGGTAAGGAGGGAGACGGGGGTGTCATGTCTTTTAGGGAAAGCAGGAGCCTCTC
TGACCTTTAGCAGGGTCAGGGCCCCCTACCTTCCCCCTCTTTCCAGAGCCGTCTTCCAGCCCACCATCCCCATCG
TGGGCATCATTGCTGGCCTGGTTCTCTTTGGAGCTGTGATCACTGGAGCTGTGGTTCGCTGCTGTGATGTGGAGGAGG
AAGAGCTCAGGTGGGGAAGGGGTGAAGGGTGGGTCTGAGATTCTTGTCTCACTGAGGGTTCCAAGACCCAGGTAGA
AGTGTGCCCTGCCTCGTTACTGGGAAGCACCCACAATTATGGGCCTACCCAGCCTGGGCCCTGTGTGCCAGCAC
T TACTCTTTTGTAAGCACCTGTTAAAATGAAGGACAGATTTATCACCTTGATTACAGCGGTGATGGGACCTGATCC
CAGCAGTCACAAGTCACAGGGGAAGGTCCCTGAGGACCTTCAGGAGGGCGGTTGGTCCAGGACCCACACCTGCTTTC
TTCATGTTTCTGATCCCGCCCTGGGTCTGCAGTCACACATTTCTGGAACTTCTCTGAGGTCCAAGACTTGAGGT
TCCTCTAGGACCTTAAGGCCCTGACTCCTTTCTGGTATCTCACAGGACATTTTCTTCCACAGATAGAAAAGGAGGG
AGCTACTCTCAGGCTGCAAGTAAGTATGAAGGAGGCTGATGCCTGAGGTCCTGGGATATTGTGTTTGGGAGCCAT
GGGGGAGCTCACCCACCCACAATTCTCCTCTAGCCACATCTTCTGTGGGATCTGACCAGGTTCTGTTTTTGTCT
ACCCACAGGAGTGACAGTGCCAGGGCTCTGATGTGTCTCTCACAGCTTGTAAGGTGAGAGCCTGGAGGGCCTGAT
GTGTGTTGGGTGTTGGGCGGAACAGTGGACACAGCTGTGCTATGGGGTTTCTTTCCATTGGATGTATTGAGCATGCG
ATGGGCTGTTTAAAGTGTGACCCCTCACTGTGACAGATACGAATTTGTTTCATGAATATTTTTTCTATAGTGTGAGA
CAGCTGCCTTGTGTGGGACTGAGAGGCAAGAGTTGTTCCCTGCCCTTCCCTTTGTGACTTGAAGAACCCTGACTTTGT
TTCTGCAAAGGCACCTGCATGTGTCTGTGTTCTGTAGGCATAATGTGAGGAGGTGGGGAGACCACCCACCCCAT
GTCCACCATGACCCT

SEQ ID NO:3 HLA-A*02:01

>LT618818.1用于MHC I类抗原的智人HLA-A基因,等位基因HLA-A*02:01:01:01G
GGCCCCAGGCGTGGCTCTCAGGGTCTCAGGCCCGAAGGCGGTGTATGGATTGGGGAGTCCCAGCCTTGGGGATTCC
CCAACTCCGCAGTTTCTTTTCTCCCTCTCCCAACCTATGTAGGGTCCTTCTTCCCTGGATACTCACGACGCGGACCCA
GTTCTCACTCCCATTTGGGTGTCGGGTTTCAGAGAAGCCAATCAGTGTCTGTCGGTTCGCGGTTCTAAAGTCCGCAC
GCACCCACCGGGACTCAGATTCTCCCCAGACGCCGAGGATGGCCGTCATGGCGCCCCGAACCCTCGTCCTGCTACTC

TCGGGGGCTCTGGCCCTGACCCAGACCTGGGCGGGTGAGTGCGGGGTCGGGAGGGAAACGGCCTCTGTGGGGAGAAG
CAACGGGGCCCGCTGGCGGGGGCGCAGGACCCGGGAAGCCGCGCCGGGAGGAGGGTCGGGCGGGTCTCAGCCACTCC
TCGTCCCCAAGCTCTCACTCCATGAGGTATTTCTTCACATCCGTGTCCCGGCCCGGCCGCGGGGAGCCCCGCTTCAT
CGCAGTGGGCTACGTGGACGACACGCAGTTTCGTGCGGTTTCGACAGCGACGCCGCGAGCCAGAGGATGGAGCCGCGGG
CGCCGTGGATAGAGCAGGAGGGTCCGGAGTATTGGGACGGGGAGACACGGAAAGTGAAGGCCCACTCACAGACTCAC
CGAGTGGACCTGGGGACCCTGCGCGGCTACTACAACCAGAGCGAGGCCGGTGAGTGACCCCGGCCCGGGGCGCAGGT
CACGACCTCTCATCCCCACGGACGGGCCAGGTCGCCACAGTCTCCGGGTCCGAGATCCGCCCCGAAGCCGCGGGA
CCCCGAGACCCTTGCCCCGGGAGAGGCCAGGCGCCTTTACCCGGTTTCATTTTCAGTTTAGGCCAAAAATCCCCC
AGGTTGGTCGGGGCGGGGCGGGGCTCGGGGACCGGGCTGACCGCGGGTCCGGGCCAGGTTCTCACACCGTCCAGA
GGATGTATGGCTGCGACGTGGGGTCGGA CTGGCGCTTCCTCCGCGGTACCACCAGTACGCCTACGACGGCAAGGAT
TACATCGCCCTGAAAGAGGACCTGCGCTCTTGACCGCGGCGGACATGGCAGCTCAGACCACCAAGCACAAGTGGGA
GGCGGCCCATGTGGCGGAGCAGTTGAGAGCCTACCTGGAGGGCACGTGCGTGGAGTGGCTCCGCAGATACCTGGAGA
ACGGGAAGGAGACGCTGCAGCGCACGGGTACCAGGGGCCACGGGGCGCCTCCCTGATCGCCTGTAGATCTCCCGGGC
TGGCCTCCCACAAGGAGGGGAGACAATTGGGACCAACACTAGAATATCGCCCTCCCTCTGGTCCTGAGGGAGAGGAA
TCCTCCTGGGTTTCCAGATCCTGTACCAGAGAGTGACTCTGAGGTTCCGCCCTGCTCTCTGACACAATTAAGGGATA
AAATCTCTGAAGGAATGACGGGAAGACGATCCCTCGAATACTGATGAGTGGTTCCCTTTGACACACACAGGCAGCAG
CCTTGGGCCCCGTGACTTTTCTCTCAGGCCTTGTTCTCTGCTTCACACTCAATGTGTGTGGGGGTCTGAGTCCAGCA
CTTCTGAGTCCTTCAGCCTCCACTCAGGTCAGGACCAGAAGTCGCTGTTCCCTCTTCAGGGACTAGAATTTTCCACG
GAATAGGAGATTATCCCAGGTGCCTGTGTCCAGGCTGGTGTCTGGGTTCTGTGCTCCCTTCCCCATCCCAGGTGTCC
TGTCCATTCTCAAGATAGCCACATGTGTGCTGGAGGAGTGTCCCATGACAGATGCAAAATGCCTGAATGATCTGACT
CTTCTGACAGACGCCCCAAAACGCATATGACTCACCACGCTGTCTCTGACCATGAAGCCACCCTGAGGTGCTGGG
CCCTGAGCTTCTACCCTGCGGAGATCACACTGACCTGGCAGCGGGATGGGGAGGACCAGACCCAGGACACGGAGCTC
GTGGAGACCAGGCTGCAGGGGATGGAACCTTCCAGAAGTGGGCGGCTGTGGTGGTGCCTTCTGGACAGGAGCAGAG
ATACACCTGCCATGTGCAGCATGAGGGTTTGCCCAAGCCCCCTACCCCTGAGATGGGGTAAGGAGGGAGACGGGGGTG
TCATGTCTTTTAGGGAAAGCAGGAGCCTCTCTGACCTTTAGCAGGTCAGGGCCCCCTACCTTCCCCTCTTTTCCCA
GAGCCGTCTTCCCAGCCCACCATCCCCATCGTGGGCATCATTGCTGGCCTGGTTCTCTTTGGAGCTGTGATCACTGG
AGCTGTGGTCGCTGCTGTGATGTGGAGGAGGAAGAGCTCAGGTGGGGAAGGGGTGAAGGGTGGGTCTGAGATTTCTT
GTCTCACTGAGGGTTCCAAGACCCAGGTAGAAGTGTGCCCTGCCTCGTTACTGGGAAGCACCACCCACAATTATGGG
CCTACCCAGCCTGGGCCCTGTGTGCCAGCACTTACTCTTTTGTAAAGCACCTGTAAAATGAAGGACAGATTTATCA
CCTTGATTACAGCGGTGATGGGACCTGATCCCAGCAGTCACAAGTCACAGGGGAAGTCCCTGAGGACCTTCAGGAG
GGCGGTTGGTCCAGGACCCACACCTGCTTTCTTCATGTTTCCTGATCCCGCCCTGGGTCTGCAGTCACACATTTCTG
GAAACTTCTCTGAGGTCCAAGACTTGAGGTTTCCTCTAGGACCTTAAGGCCCTGACTCCTTTCTGGTATCTCACAGG
ACATTTTCTTCCCACAGATAGAAAAGGAGGGAGCTACTCTCAGGCTGCAAGTAAGTATGAAGGAGGCTGATGCCTGA
GGTCCTTGGGATATTGTGTTTGGGAGCCCATGGGGGAGCTACCCACCCACAATTCCTCCTCTAGCCACATCTTCT
GTGGGATCTGACCAGGTTCTGTTTTTGTCTACCCAGGCAGTGACAGTGCCAGGGCTCTGATGTGTCTCTCACAG
CTTGTAAGGTGAGAGCCTGGAGGGCCTGATGTGTGTTGGGTGTGGGCGGAACAGTGACACAGCTGTGCTATGGG
GTTTCTTTCCATTGGATGTATTGAGCATGCGATGGGCTGTTAAAGTGTGACCCCTCACTGTGACAGATACGAATTT
GTTTCATGAATATTTTTTTCTATAGTGTGAGACAGCTGCCTGTGTGGGACTGAGAGGCAAGAGTTGTTCTGCCCTT
CC

SEQ ID NO:4 HLA-A*11:01

>LR027008.1用于MHC I类抗原的智人HLA-A基因,等位基因HLA-A*11:01:01:01C

AAGAGCAGAGGGGTCAGGGCGAAGTCCCAGGGCCCCAGGCGTGGCTCTCAGGGTCTCAGGCCCCGAAGGCGGTGTAT
GGATTGGGGAGTCCCAGCCTTGGGGATTCCCCAACTCCGCAGTTTCTTTTCTCCCTCTCCCAACCTACGTAGGGTCC
TTCATCCTGGATACTCACGACGCGGACCCAGTTCTCACTCCCATTGGGTGTGCGGGTTTCCAGAGAAGCCAATCAGTG
TCTTCGCGGTGCTCTTCTAAAGTCCGCACGCACCACCGGGACTCAGATTCTCCCCAGACCCCGAGGATGGCCGTC
ATGGCGCCCCGAACCCTCTCCTGCTACTCTCGGGGGCCCTGGCCCTGACCCAGACCTGGGCGGGTGAGTGCGGGGT
CGGGAGGGAAACCGCCTCTGCGGGGAGAAGCAAGGGGCCCTCCTGGCGGGGGCGCAGGACCGGGGGAGCCGCGCCGG
GAGGAGGGTTCGGGCGAGTCTCAGCCACTGCTCGCCCCAGGCTCCCACTCCGTGAGGTATTTCTACACCTCCGTGTC
CCGGCCCCGGCCGCGGGGAGCCCCGCTTCATCGCCGTGGGCTACGTGGACGACACGCAGTTCGTGCGGTTTCGACAGCG
ACGCCGCGAGCCAGAGGATGGAGCCGCGGGCGCCGTGGATAGAGCAGGAGGGGCCGAGTATTGGGACCAGGAGACA
CGGAATGTGAAGGCCAGTCACAGACTGACCGAGTGGACCTGGGGACCCTGCGCGGCTACTACAACCAGAGCGAGGA
CGGTGAGTGACCCCGCCCCGGGGCGCAGGTACGACCCCTCATCCCCACGGACGGGCCAGGTGGCCACAGTCTCC
GGGTCCGAGATCCACCCGAAGCCGCGGGACCCGAGACCCTTGCCCCGGGAGAGGCCAGGCGCCTTTACCCGGTT
TCATTTTTCAGTTTAGGCCAAAAATCCCCCGGGTTGGTCGGGGCCGGGCAGGGCTTGGGGGACTGGGCTGACCGCGG
GGTCGGGGCCAGGTTCTCACACCATCCAGATAATGTATGGCTGCGACGTGGGGCCGGACGGGCGCTTCCTCCGCGGG
TACCGGCAGGACGCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAACGAGGACCTGCGCTCTTGACCGCGGGCGGACAT
GGCAGCTCAGATCACCAAGCGCAAGTGGGAGGCGGCCCATGCGGCGGAGCAGCAGAGAGCCTACCTGGAGGGCCGGT
GCGTGAGTGGCTCCGCAGATACCTGGAGAACGGGAAGGAGACGCTGCAGCGCACGGGTACCAGGGGCCACGGGGCG
CCTCCCTGATCGCCTATAGATCTCCCGGGCTGGCCTCCCACAAGGAGGGGAGACAATTGGGACCAACACTAGAATAT
CACCTCCCTCTGGTCTGAGGGAGAGGAATCCTCCTGGGTTTCCAGATCCTGTACCAGAGAGTGACTCTGAGGTTC
CGCCCTGCTCTCTGACACAATTAAGGGATAAAATCTCTGAAGGAGTGACGGGAAGACGATCCCTCGAATACTGATGA
GTGGTTCCCTTTGACACCGGCAGCAGCCTTGGGCCCGTGACTTTTCCTCTCAGGCCTTGTTCTCTGCTTCACACTCA
ATGTGTGTGGGGTCTGAGTCCAGCACTTCTGAGTCTCTCAGCCTCCACTCAGGTCAGGACCAGAAGTCGCTGTTCC
CTTCTCAGGGAATAGAAGATTATCCCAGGTGCTGTGTCCAGGCTGGTGTCTGGGTTCTGTGCTCTCTTCCCCATCC
CGGGTGTCTGTCCATTCTCAAGATGGCCACATGCGTGCTGGTGGAGTGTCCCATGACAGATGCAAAATGCCTGAAT
TTTCTGACTCTTCCCGTCAGACCCCCCAAGACACATATGACCCACCACCCCATCTCTGACCATGAGGCCACCCTGA
GGTGTCTGGGCCCTGGGCTTCTACCCTGCGGAGATCACACTGACCTGGCAGCGGGATGGGGAGGACCAGACCCAGGAC
ACGGAGCTCGTGGAGACCAGGCTGCAGGGGATGGAACCTTCCAGAAGTGGGCGGCTGTGGTGGTGCCTTCTGGAGA
GGAGCAGAGATACACCTGCCATGTGCAGCATGAGGGTCTGCCAAGCCCCCTACCCCTGAGATGGGGTAAGGAGGGAG
ATGGGGGTGTCATGTCTCTTAGGGAAAGCAGGAGCCTCTCTGGAGACCTTTAGCAGGGTCAGGGCCCCCTCACCTTCC
CCTCTTTTCCCAGAGCTGTCTTCCCAGCCCACCATCCCCATCGTGGGCATCATTGCTGGCCTGGTTCTCCTTGGAGC
TGTGATCACTGGAGCTGTGGTCGCTGCCGTGATGTGGAGGAGGAAGAGCTCAGGTGGAGAAGGGGTGAAAGGTGGGG
TCTGAGATTTCTTGTCTCACTGAGGGTTCCAAGCCCCAGCTAGAAATGTGCCCTGTCTCATTACTGGGAAGCACCTT
CCACAATCATGGGCCGACCCAGCCTGGGCCCTGTGTGCCAGCACTTACTCTTTTGTAAAGCACCTGTAAAAATGAAG
GACAGATTTATCACCTTGATTACGGCGGTGATGGGACCTGATACCAGCAGTCACAAGTCACAGGGGAAGGTCCCTGA
GGACAGACCTCAGGAGGGCTATTGGTCCAGGACCCACACCTGCTTCTTCATGTTTCCCTGATCCCGCCCTGGGTCTG
CAGTCACACATTTCTGGAACTTCTCTGGGGTCCAAGACTAGGAGGTTCCCTTAGGACCTTAAGGCCCTGGCTCCTT
TCTGGTATCTCACAGGACATTTTCTTCCCACAGATAGAAAAGGAGGGAGTTAACTCAGGCTGCAAGTAAGTATGAA

GGAGGCTGATGCCTGAGGTCCTTGGGATATTGTGTTTGGGAGCCCATGGGGGAGCTCACCCACCCACAATTCTCTCC
TCTAGCCACATCTTCTGTGGGATCTGACCAGGTTCTGTTTTTGTCTACCCAGGCAGTGACAGTGCCAGGGCTCT
GATGTGTCTCTCACAGCTTGTAAGGTGAGAGCTTGGAGGGCCTGATGTGTGTTGGGTGTTGGGCGGAACAGTGGAC
ACAGCTGTGCTATGGGGTTTCTTTGCATTGGATGTATTGAGCATGCGATGGGCTGTTTAAGGTGTGACCCCTCACTG
TGATGGATATGAATTTGTTTCATGAATATTTTTTTCTATAGTGTGAGACAGCTGCCTTGTTGGGACTGAGAGGCAAG
AGTTGTTCTGCCCTTCCCTTTGTGACTTGAAGAACCCTGACTTTGTTTCTGCAAAGGCACCTGC

SEQ ID NO:5 HLA-A*03:01

>LR027087.1用于MHC I类抗原的智人HLA-A基因,等位基因HLA-A*03:01:01:01

CAGGAGCAGAGGGTCAGGGCGAAGTCCCAGGGCCCCAGGCGTGGCTCTCAGAGTCTCAGGCCCCGAAG
GCGGTGTATGGATTGGGGAGTCCCAGCCTTGGGGATTCCCCAACTCCGCAGTTTCTTTTCTCCCTCTCCCAACCTAC
GTAGGGTCTTTCATCCTGGATACTCACGACGCGGACCCAGTTCTCACTCCCATTTGGGTGTCGGGTTTCCAGAGAAGC
CAATCAGTGTGTCGTCGCGGTGCTGTTCTAAAGCCCCGACGCACCCACCGGGACTCAGATTCTCCCCAGACGCCGAGG
ATGGCCGTCATGGCGCCCCGAACCTCCTCTGCTACTCTCGGGGGCCCTGGCCCTGACCCAGACCTGGGCGGGTGA
GTGCGGGGTGCGGAGGGAAACCGCCTCTGCGGGGAGAAGCAAGGGGCCCTCCTGGCGGGGGCGCAGGACCGGGGGAG
CCGCGAGGGTTCGGGCAGGTCTCAGCCACTGCTCGCCCCAGGCTCCCACTCCATGAGGTATTTCTTTCACATCCGTGT
CCCGGCCCGGCCGCGGGGAGCCCCGCTTCATCGCCGTGGGCTACGTGGACGACACGCAGTTCGTGCGGTTTCGACAGC
GACGCCGCGAGCCAGAGGATGGAGCCGCGGGCGCCGTGGATAGAGCAGGAGGGGGCCGAGTATTGGGACCAGGAGAC
ACGGAATGTGAAGGCCCAGTCACAGACTGACCGAGTGGACCTGGGGACCCTGCGCGGCTACTACAACCAGAGCGAGG
CCGGTGAGTGACCCCGGCCGGGGGCGCAGGTGAGACCCCTCATCCCCACGGACGGGCCAGGTGCGCCACAGTCTC
CGGGTCCGAGATCCACCCGAAGCCGCGGGACCCCGAGACCCTTGCCCCGGGAGAGGCCAGGCGCCTTTACCCGGT
TTCATTTTCAGTTTAGGCCAAAAATCCCCCGGGTGGTTCGGGGCTGGGCGGGGCTCGGGGGACTGGGCTGACCGCG
GGGTGCGGGCCAGGTTCTCACACCATCCAGATAATGTATGGCTGCGACGTGGGTGCGACGGGCGCTTCTCCGCGG
GTACCGGCAGGACGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAACGAGGACCTGCGCTCTTGACCGCGCGGACA
TGCGCGCTCAGATCACCAAGCGCAAGTGGGAGGCGGCCCATGAGGCGGAGCAGTTGAGAGCCTACCTGGATGGCAGC
TGCGTGGAGTGGCTCCGAGATACCTGGAGAACGGGAAGGAGACGCTGCAGCGCACGGGTACCAGGGGCCACGGGGC
GCCTCCCTGATCGCTGTAGATCTCCCGGGCTGGCCTCCCACAAGGAGGGGAGACAATTGGGACCAACACTAGAATA
TCACCCTCCCTCTGGTCCTGAGGGAGAGGAATCCTCCTGGGTTCAGATCCTGTACCAGAGAGTGACTCTGAGGTTC
CGCCCTGCTCTCTGACACAATTAAGGGATAAAATCTCTGAAGGAGTGACGGGAAGACGATCCCTCGAATACTGATGA
GTGGTTCCCTTTGACACCGGCAGCAGCCTTGGGCCCGTGACTTTTCTCTCAGGCCTTGTTCTCTGCTTCACACTCA
ATGTGTGTGGGGTCTGAGTCCAGCACTTCTGAGTCCCTCAGCCTCCACTCAGGTCAGGACCAGAAGTCGCTGTTCC
CTTCTCAGGGAATAGAAGATTATCCAGGTGCCTGTGTCCAGGCTGGTGTCTGGGTTCTGTGCTCTCTTCCCCATCC
CGGGTGTCTGTCCATTCTCAAGATGGCCACATGCGTGCTGGTGGAGTGTCCCATGACAGATGCAAAATGCCTGAAT
TTTCTGACTCTTCCCGTCAGACCCCCCAAGACACATATGACCCACCACCCCATCTCTGACCATGAGGCCACCCTGA
GGTGCTGGGCCCTGGGCTTCTACCCTGCGGAGATCACACTGACCTGGCAGCGGGATGGGGAGGACCAGACCCAGGAC
ACGGAGCTCGTGGAGACCAGGCCTGCAGGGGATGGAACCTTCCAGAAGTGGGCGGCTGTGGTGGTGCCTTCTGGAGA
GGAGCAGAGATACACCTGCCATGTGCAGCATGAGGGTCTGCCAAGCCCTCACCCTGAGATGGGGTAAGGAGGGAG
ATGGGGGTGTCATGTCTCTTAGGGAAAGCAGGAGCCTCTCTGGAGACCTTTAGCAGGGTCAGGGCCCTCACCTTCC
CCTCTTTTCCAGAGCTGTCTTCCAGCCACCATCCCCATCGTGGGCATCATTGCTGGCCTGGTTCTCCTTGGAGC
TGTGATCACTGGAGCTGTGGTCGCTGCCGTGATGTGGAGGAGGAAGAGCTCAGGTGGAGAAGGGGTGAAGGGTGGGG

TCTGAGATTTCTTGTCTCACTGAGGGTTCCAAGCCCCAGCTAGAAATGTGCCCTGTCTCATTACTGGGAAGCACCGT
CCACAATCATGGGCTACCCAGTCTGGGCCCTGTGTGCCAGCACTTACTCTTTTGTAAAGCACCTGTTAAATGAAG
GACAGATTTATCACCTTGATTACGGCGGTGATGGGACCTGATCCCAGCAGTCACAAGTCACAGGGGAAGGTCCCTGA
GGACAGACCTCAGGAGGGCTATTGGTCCAGGACCCACACCTGCTTCTTCATGTTTCCTGATCCCGCCCTGGGTCTG
CAGTCACACATTTCTGGAACTTCTCTGGGGTCCAAGACTAGGAGGTTCCCTCTAGGACCTTAAGGCCCTGGCTCCTT
TCTGGTATCTCACAGGACATTTTCTTCTCACAGATAGAAAAGGAGGGAGTTACACTCAGGCTGCAAGTAAGTATGAA
GGAGGCTGATGCCTGAGGTCCTTGGGATATTGTGTTTGGGAGCCCATGGGGGAGCCACCCACCTCACAATTCCTCC
TCTAGCCACATCTTCTGTGGGATCTGACCAGGTTCTGTTTTTGTCTACCCCAGGCAGTGACAGTGCCCAGGGCTCT
GATGTGTCCCTCACAGCTTGTAAGGTGAGAGCTTGAGGACCTAATGTGTGTTGGGTGTTGGGCGGAACAGTGAGC
ACAGCTGTGCTATGGGGTTTCTTTGCATTGGATGTATTGAGCATGCGATGGGCTGTTTAAGGTGTGACCCCTCACTG
TGATGGATATGAATTTGTTTCATGAATATTTTTTCTATAGTGTGAGACAGCTGCCTGTGTGGGACTGAGAGGCAAG
AGTTGTTCTGCCCTTCCCTTTGTGACTTGAAGAACCCTGACTTTGTTTCTGCAAAGGCACCTGC

SEQ ID NO:6 HLA-A*23:01

>LN624391.2用于MHC I类抗原的智人HLA-A基因,等位基因HLA-A*23:01:01

CAGAAGCAGAGGGGTCAGGGCGAAGTCCCAGGGCCCCAGGCGTGGCTCTCAGGCTCTCAGGCCCCGAAG
GCGGTGTATGGATTGGGGAGTCCCAGCCTTGGGGATTCCCCAACTCCGCAGTTTCTTTTCTCCCTCTCCCAACCTAT
GTAGGGTCCTTCTTCTGGATACTCACGACGCGGACCCAGTTCTCACTCCCATTGGGTGTGCGGTTTCCAGAGAAGC
CAATCAGTGTGTCGTCGCGGTGCTGTTCTAAAGTCCGCACGCACCCACCGGGACTCAGATTCTCCCAGACGCCGAGG
ATGGCCGTCATGGCGCCCCGAACCTCGTCTGCTACTCTCGGGGGCCCTGGCCCTGACCCAGACCTGGGCAGGTGA
GTGCGGGGTGCGGAGGGAAACGGCTCTGCGGGGAGAAGCAAGGGGGCCCGCTGGCGGGGGCGCAAGACCCGGAAG
CCGCGCCGGGAGGAGGGTCGGGCGGGTCTCAGCCACTCCTCGTCCCCAGGCTCCCACTCCATGAGGTATTTCTCCAC
ATCCGTGTCCCGGCCCGGCCGCGGGGAGCCCCGCTTCATCGCCGTGGGCTACGTGGACGACACGCAGTTCGTGCGGT
TCGACAGCGACGCCGCGAGCCAGAGGATGGAGCCGCGGGCGCCGTGGATAGAGCAGGAGGGGCCGAGTATTGGGAC
GAGGAGACAGGGAAAGTGAAGGCCCACTCACAGACTGACCGAGAGAACCTGCGGATCGCGCTCCGCTACTACAACCA
GAGCGAGGCCGGTGAGTGACCCCGGCCCGGGGCGCAGGTCACGACCCCTCATCCCCACGGACGGGCCGGGTGCGCC
ACAGTCTCCGGGTCCGAGATCCACCCGAAGCCGCGGGACCCCGAGACCTTGCCCCGGGAGAGGCCAGGCGCCTT
AACCCGGTTTCATTTTCAGTTTAGGCCAAAAATCCCCCGGGTGGTTCGGGGCCGGGCGGGGCTCGGGGGACTGGGC
TGACCGCGGGGTGCGGGCCAGGTTCTCACACCTCCAGATGATGTTTGGCTGCGACGTGGGGTTCGACGGGCGCTTC
CTCCGCGGGTACCACCAGTACGCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAAAGAGGACCTGCGCTCTTGACCGC
GGCGGACATGGCGGCTCAGATCACCCAGCGCAAGTGGGAGGCGGCCCGTGTGGCGGAGCAGTTGAGAGCCTACCTGG
AGGGCACGTGCGTGGACGGGCTCCGAGATACCTGGAGAACGGGAAGGAGACGCTGCAGCGCACGGGTACCAGGGGC
CACGGGGCGCTACCTGATCGCTGTAGGTCTCCCGGGTGGCTCCACAAAGAGGGGAGACAATTGGGACCAACA
CTAGAATATCGCCCTCCCTCTGGTCCTGAGGGAGAGGAATCCTCCTGGGTTTCCAGATCCTGTACCAGAGAGTGACT
CTGAGGTTCCGCCCTGCTCTCTGACACAATTAAGGGATAAAATCTCTGACGGAATGACGGAAGACGATCCCTCGAA
TACTGATGACTGGTTCCCTTTGACACCGGCAGCAGCCTTGGGACCGTGACTTTTCTCTCAGGCCTTGTCTCTGCT
TCACACTCAATGTGTGTGGGGTCTGAGTCCAGCACTTCTGAGTCCCTCAGCCTCCACTCAGGTCAGGACCAGAAGT
CGCTGTTCCCTCCTCAGGGAATAGAAGATTATCCAGGTGCCTGTGTCCAGGCTGGTGTCTGGGTTCTGTGCTCTCT
TCCCCATCCCGGTGTCTGTCCATTCTCAAGATGGCCACATGCATGCTGGTGGAGTGTCCATGACAGATGCAAAA
TGCCTGAATTTTCTGACTCTTCCCGTCAGACCCCCCAAGACACATATGACCCACCACCCATCTCTGACCATGAGG

CCACTCTGAGATGCTGGGCCCTGGGCTTCTACCCTGCGGAGATCACACTGACCTGGCAGCGGGATGGGGAGGACCAG
ACCCAGGACACGGAGCTTGTGGAGACCAGGCCTGCAGGGGATGGAACCTTCCAGAAGTGGGCAGCTGTGGTGGTACC
TTCTGGAGAGGAGCAGAGATACACCTGCCATGTGCAGCATGAGGGTCTGCCAAGCCCCTCACCTGAGATGGGGTA
AGGAGGGAGATGGGGGTGTCATGTCTCTTAGGGAAAGCAGGAGCCTCTCTGGAGACCTTTAGCAGGGTCAGGGCCCC
TCACCTTCCCCTCTTTTCCAGAGCCATCTTCCCAGCCCACCGTCCACATCGTGGGCATCATTGCTGGCCTGGTTCT
CCTTGGAGCTGTGATCACTGGAGCTGTGGTCGCTGCTGTGATGTGGAGGAGGAACAGCTCAGGTGGAGAAGGGGTGA
AGGGTGGGGTCTGAGATTTCTTGTCTCACTGAGGGTTCCAAGCCCCAGCTAGAAATGTGCCCTGTCTCATTACTGGG
AAGCACCATCCACAATCATGGGCCGACCCAGCCTGGGCCCTGTGTGCCAGCACTTACTCTTTTGTAAGCACCTGTG
ACAATGAAGGACAGATTTATCACCTTGATTATGGCGGTGATGGGACCTGATCCCAGCAGTCACAAGTCACAGGGGAA
GGTCCCTGACGACAGATCTCAGGAGGGCGATTGGTCCAGGGCCCACATCTGCTTTCTTCATGTTTCCTGATCCTGCC
CTGGGTCTGCAGTCACACATTTCTGAAACTTCTCTGGGGTCCAAGACTAGGAGGTTCTCTAGGACCTTAAGGCCC
TGGCTCCTTTCTGGTATCTCACAGGACATTTTCTTCCCACAGATAGAAAAGGAGGGAGCTACTCTCAGGCTGCAAGT
AAGTATGAAGGAGGCTGATGCCTGAGGTCCTTGGGATATTGTGTTTGGGAGCCCATGGGGGAGCTCAACCACCCAC
AATTCTCTCTAGCCACATCTTCTGTGGGATCTGACCAGGTTCTGTTTTTGTTCTACCCAGGCAGTGACAGTGCC
CAGGGCTCTGATGTGTCTCTCACAGCTTGTAAGGTGAGAGCTTGGAGGGCCTGATGTGTGTTGGGTGTTGGGCGGA
ACAGTGGACACAGCTGTGCTATGGGGTTTCTTTGCATTGGATGTATTGAGCATGCGATGGGCTGTTTAAAGTGTGAC
CCCTCACTGTGACAGATATGAAGTTGTTTCATGAATTTTTTTTCTATAGTGTGAGACAGCTGCCTTGTGTGGGACTGA
GAGGCAAGAGTTGTTCTGCCCTTCCCTTTGTGACTTGAAGAACCCTGACTTTGTTTCTGCAAAGGCACCTGCATGT
GTCTGTGTTTCATGTAGGCATAATGTGAGGAGGTGGGGAGACCACCCACCCCATGTCCACCATGACCCCT

SEQ ID NO:7 HLA-A*33:03

>LR777903.1用于MHC类I类抗原的智人HLA-A基因,等位基因HLA-A*33:03:01:01

CAGGAGCAGAGGGTCAGGGCGAAGTACCAGGGCCCCAGGCGTGGCTCTCAGGCTCTCAGGCCCCGAAG
GCGGTGTATGGATTGGGGAGTCCCAGCCTTGGGGATTCCCCAACTCCGCAGTTTCTTTTCTCCCTCTCCCAACCTAT
GTAGGGTCCTTCTTCTGGATACTCACGACGCGGACCCAGTTCTCACTCCCATTTGGGTGTCGGGTTTCCAGAGAAGC
CAATCAGTGTGTCGCGGTCGCGGTTCTAAAGTCCGCACGCACCCACCGGGACTCAGATTCTCCCCAGACGCCGAGG
ATGGCCGTCATGGCGCCCCGAACCTCCTCTGCTACTCTTGGGGGGCCCTGGCCCTGACCCAGACCTGGGCGGGTGA
GTGCGGGGTCGTGGGGAAACCGCCTCTGCGGGGAGAAGCAAGGGGCCCGCCGGCGGGGGCGCAGGACCCGGGTAGC
CGCGCCGGGAGGAGGGTCGGGCGGATCTCAGCCACTCCTCGCCCCAGGCTCCCACTCCATGAGGTATTTACCACA
TCCGTGTCCCGGCCCGGCCGCGGGGAGCCCCGCTTCATCGCCGTGGGCTACGTGGACGACACGCAGTTCGTGCGGTT
CGACAGCGACGCCGCGAGCCAGAGGATGGAGCCGCGGGCGCCGTGGATAGAGCAGGAGGGGCCGAGTATTGGGACC
GGAACACACGGAATGTGAAGGCCCACTCACAGATTGACCGAGTGGACCTGGGGACCCTGCGCGGCTACTACAACCAG
AGCGAGGCCGGTGAGTGACCCAGCCCGGGGCGCAGGTACGACCTCTCATCCCCACGGACGGGCCAGGTACCCCA
CAGTCTCCGGGTCCGAGATCCACCCGAAGCCGCGGGACCCCGAGACCCTTGCCCCGGGAGAGGCCAGGCGCCTTT
ACCCGTTTTTCATTTTTCAGTTTATAGCCAAAAATCCCCCGGGTTGGTCGGGGCCGGACGGGGCTCGGGGGACTGGGCT
GACCGTGGGGTCGGGGCCAGGTTCTCACACCATCCAGATGATGTATGGCTGCGACGTGGGGTCGGACGGGCGCTTCC
TCCGCGGGTACCAGCAGGACGCTACGACGCGCAAGGATTACATCGCCTTGAACGAGGACCTGCGCTCTTGACCGCG
GCGGACATGGCGGCTCAGATCACCCAGCGCAAGTGGGAGGCGGCCCGTGTGGCGGAGCAGTTGAGAGCCTACCTGGA
GGGCACGTGCGTGGAGTGGCTCCGCAGATACCTGGAGAACGGGAAGGAGACGCTGCAGCGCACGGGTACCAGGGGCC
ACGGGGCGCCTCCCTGATCGCCTGTAGATCTCCCGGGCTGGCCTCCACAAGGAGGGGAGACAATTGGGACCAACAC

TAGAATATCACCTCCCTCTGGTCCTGAGGGAGAGGAATCCTCCTGGGTTTCCAGATCCTGTACCAGAGAGTGACTC
TGAGGTTCCGCCCTGCTCTGTGACACAATTAAGGGATAAAATCTCTGAAGGAATGACGGGAAGACGATCCCTCGAAT
ACTGATGAGTGGTTCCCTTTGACACACACCGGCAGCAGCCTTGGGCCCCGTGACTTTTCTCTCAGGCCTTGTTCTCT
GCTTCACACTCAATGTGTGTGGGGTCTGAGTCCAGCACTTCTGAGTCCCTCAGCCTCCACTCAGGTCAGGACCAGA
AGTCGCTGTTCCCTCTTCAGGGACTAGAATTTTCCACGGAATAGGAGATTATCCAGGTGCCTGTGTCCAGGCTGGT
GTCTGGGTTCTGCGCTCCCTTCCCCATCCCAGGTGTCCTGTCCATTCTCAAGATAGCCACATGTGTGCTGGAGGAGT
GTCCCATTACAGATGCAAAATGCCTGAATGTTCTGACTCTTCCTGACAGACCCCCCAAGACGCATATGACTCACCA
CGCTGTCTCTGACCATGAGGCCACCCTGAGGTGCTGGGCCCTGAGCTTCTACCCTGCGGAGATCACACTGACCTGGC
AGCGGGATGGGGAGGACCAGACCCAGGACACGGAGCTCGTGGAGACCAGGCCTGCAGGGGATGGAACCTTCCAGAAG
TGGGCGTCTGTGGTGGTGCCTTCTGGACAGGAGCAGAGATACACCTGCCATGTGCAGCATGAGGGTCTCCCCAAGCC
CCTCACCTGAGATGGGGTAAGGAGGGAGATGGGGGTGTCATGTCTTTTAGGGAAAGCAGGAGCCTCTCTGACCTTT
AGCAGGGTCAGGGCCCCCTACCTTCCCCTCTTTTCCCAGAGCCGTCTTCCCAGCCCACCATCCCCATCGTGGGCATC
ATTGCTGGCCTAGTTCTCTTTGGAGCTGTGTTTCGTGGAGCTGTGGTTCGTGTGAGGTGGAGGAGGAAGAGCTC
AGGTGGGGTGAAGGGGTGAAGGGTGGGTCTGAGATTTCTGTCTCACTGAGGGTTCCAAGACCCAGGTAGAAGTGTG
CCCTGCCTCGTTACTGGGAAGCACCATCCACAATTATGGGCCTACCCAGCCTGGGCCCTGTGTGCCAGCACTTACTC
TTTTGTAAAGCACCTGTTAAAATGAAGGACAGATTTATCACCTTGATTATGGCGGTGATGGGACCTGATCCCAGCAG
TCACAAGTCACAGGGGAAGGTCCCTGAGGACCTTCAGGAGGGCGGTTGGTCCAGGACCCACACCTGCTTTCTTCATG
TTTCTGATCCCGCCCTGGGTCTGCAGTCACACATTTCTGGAACTTCTCTGAGGTCCAAGACTTGGAGGTTCTCT
AGGACCTTAAGGCCCTGGCTCCTTTCTGGTATCTCACAGGACATTTTCTTCCCACAGATAGAAAAGGAGGGAGCTAC
TCTCAGGCTGCAAGTAAGTATGAAGGAGGATGATCCAAGAAATCACTGGGATATTGTGTTTGGGAGCCCGTGGGGGA
GCTCACCCACCCACAATTCCTCCTCTAGCCACATCTTCTGTGGGATCTGACCAGGTTCTGTTTTTGTCTACCCCA
GGCAGTGACAGTGCCAGGGCTCTGATATGTCTCTCACAGCTTGTAAGGTGAGAGCCTGGAGGGCCTGATGTGTGT
TGGGTGTTGGGCGGAACAGTGGACGCAGCTGTGCTATGGGGTTTCTTTGCATTGGATGTATTGAGCATGCGATGGGC
TGTTTAAAGTGTGACTCCTCACTGTGACAGATACGAATTTGTTTCATGAATATTTTTTCTATAGTGTGAGACAGCTG
CCTTGTGTGGGACTGAGAGGCAAGATTTGTTCTGCCCTTCCCTTGTGACTTGAAGTACCCTGACTTTGTTTCTGC
AAAGGCACCTGC

SEQ ID NO:8 HLA-A*24:02

>LR899202.1用于MHC I类抗原的智人HLA-A基因,等位基因HLA-A*24:02:01TGAG
ACAGAGCGCTTGGCACAGAAGCAGAGGGGTACAGGGCGAAGTCCCAGGGCCCCAGGCGTGGCTCTCAGGGTCTCAGGC
CCCGAAGGCGGTGTATGGATTGGGGAGTCCCAGCCTTGGGGATTCCCCAACTCCGCAGTTTCTTTTCTCCCTCTCCC
AACCTATGTAGGGTCCTTCTTCTGGATACTCACGACGCGGACCCAGTTCTCACTCCCATTGGGTGTGGGTTTCCA
GAGAAGCCAATCAGTGTGTCGTCGCGGTGCTGTTCTAAAGTCCGCACGCACCCACCGGGACTCAGATTCTCCCCAGAC
GCCGAGGATGGCCGTCATGGCGCCCCGAACCCTCGTCCTGCTACTCTCGGGGGCCCTGGCCCTGACCCAGACCTGGG
CAGGTGAGTGGGGGTGCGGAGGGAAACGGCCTCTGCGGGGAGAAGCAAGGGGCCCGCCTGGCGGGGGCGCAAGACC
CGGGAAGCCGCGCCGGGAGGAGGGTCTGCGGGGAGTCTCAGCCACTCCTCGTCCCCAGGCTCCCACTCCATGAGGTATT
TCTCCACATCCGTGTCCCGCCCCGCGCGGGGAGCCCCGCTTCATCGCCGTGGGCTACGTGGACGACACGCAGTTC
GTGCGGTTTCGACAGCGACGCCGCGAGCCAGAGGATGGAGCCGCGGGCGCCGTGGATAGAGCAGGAGGGGCGGAGTA
TTGGGACGAGGAGACAGGGAAGTGAAGGCCCACTCACAGACTGACCGAGAGAACCTGCGGATCGCGCTCCGCTACT
ACAACCAGAGCGAGGCCGGTGAGTGACCCCGCCCCGGGGCGCAGGTCACGACCCCTCATCCCCACGGACGGGCCGG

GTCGCCCACAGTCTCCGGGTCCGAGATCCACCCGAAGCCGCGGGACCCCGAGACCCTTGCCCCGGGAGAGGCCAG
GCGCCTTAACCCGTTTTCATTTTCAGTTTAGGCCAAAAATCCCCCGGGTTGGTCGGGGCCGGGCGGGGCTCGGGG
ACTGGGCTGACCGCGGGTTCGGGGCCAGGTTCTCACACCCTCCAGATGATGTTTGGCTGCGACGTGGGGTTCGGACGG
GCGCTTCCTCCGCGGGTACCACCAGTACGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAAAGAGGACCTGCGCTCTT
GGACCGCGGCGGACATGGCGGCTCAGATCACCAAGCGCAAGTGGGAGGCGGCCCATGTGGCGGAGCAGCAGAGAGCC
TACCTGGAGGGCAGTGCGTGACGGGCTCCGCAGATACCTGGAGAACGGGAAGGAGACGCTGCAGCGCACGGGTAC
CAGGGGCCACGGGGCGCCTACCTGATCGCCTGTAGGTCTCCCGGGCTGGCCTCCCACAAGGAGGGGAGACAATTGGG
ACCAACACTAGAATATCGCCCTCCCTCTGGTCTGAGGGAGAGGAATCCTCCTGGGTTTCCAGATCCTGTACCAGAG
AGTGACTCTGAGGTTCCGCCCTGCTCTCTGACACAATTAAGGGATAAAATCTCTGACGGAATGACGGAAGACGATC
CCTCGAATACTGATGACTGGTTCCCTTTGACACCGGCAGCAGCCTTGGGACCGTGACTTTTCTCTCAGGCCTTGTT
CTCTGCTTCACACTCAATGTGTGTGGGGGTCTGAGTCCAGCACTTCTGAGTCCCTCAGCCTCCACTCAGGTCAGGAC
CAGAAGTCGCTGTTCCCTCCTCAGGAATAGAAGATTATCCCAGGTGCCTGTGTCCAGGCTGGTGTCTGGGTTCTGT
GCTCTCTTCCCATCCCGGGTGTCTGTCCATTCTCAAGATGGCCACATGCATGCTGGTGGAGTGTCCATGACAGA
TGCAAAATGCCTGAATTTTCTGACTCTTCCCGTCAGACCCCCCAAGACACATATGACCCACCACCCCATCTCTGAC
CATGAGGCCACTCTGAGATGCTGGGCCCTGGGCTTCTACCCTGCGGAGATCACACTGACCTGGCAGCGGGATGGGGA
GGACCAGACCCAGGACACGGAGCTTGTGGAGACCAGGCCTGCAGGGGATGGAACCTTCCAGAAGTGGGCAGCTGTGG
TGGTACCTTCTGGAGAGGAGCAGAGATACACCTGCCATGTGCAGCATGAGGGTCTGCCCCAAGCCCTCACCCTGAGA
TGGGGTAAGGAGGGAGATGGGGGTGTCATGTCTCTTAGGGAAAGCAGGAGCCTCTCTGGAGACCTTTAGCAGGGTCA
GGGCCCCCTACCTTCCCTCTTTTCCCAGAGCCATCTTCCCAGCCCACCGTCCCCATCGTGGGCATCATTGCTGGCC
TGGTTCTCCTTGGAGCTGTGATCACTGGAGCTGTGGTCGCTGCTGTGATGTGGAGGAGGAACAGCTCAGGTGGAGAA
GGGGTGAAGGTGGGGTCTGAGATTTCTTGTCTCACTGAGGGTTCCAAGCCCCAGCTAGAAATGTGCCCTGTCTCAT
TACTGGGAAGCACCATCCACAATCATGGGCCGACCCAGCCTGGGCCCTGTGTGCCAGCACTTACTCTTTTGTAAGC
ACCTGTGACAATGAAGGACAGATTTATCACCTTGATTATGGGGGTGATGGGACCTGATCCCAGCAGTCACAAGTCAC
AGGGGAAGGTCCCTGACGACAGATCTCAGGAGGGCGATTGGTCCAGGGCCCACATCTGCTTTCTTCATGTTTCTGA
TCCTGCCCTGGGTCTGCAGTCACACATTTCTGGAACCTTCTCTGGGGTCCAAGACTAGGAGGTTCTCTAGGACCTT
AAGGCCCTGGCTCCTTTCTGGTATCTCACAGGACATTTTCTTCCCACAGATAGAAAAGGAGGGAGCTACTCTCAGGC
TGCAAGTAAGTATGAAGGAGGCTGATGCCTGAGGTCCCTGGGATATTGTGTTTGGGAGCCCATGGGGGAGCTCAACC
ACCCACAAATTCCTCCTCTAGCCACATCTTCTGTGGGATCTGACCAGGTTCTGTTTTTGTCTACCCAGGCAGTGA
CAGTGCCAGGGCTCTGATGTGTCTCTCACAGCTTGTAAGGTGAGAGCTTGGAGGGCCTGATGTGTGTTGGGTGTT
GGGCGGAACAGTGGACACAGCTGTGCTATGGGGTTTCTTGCATTGGATGTATTGAGCATGCGATGGGCTGTTTAA
GTGTGACCCCTCACTGTGACAGATATGAAGTTGTTTCATGAATTTTTTTTCTATAGTGTGAGACAGCTGCCTTGTGTG
GGACTGAGAGGCAAGAGTTGTTCTGCCCTTCCCTTTGTGACTTGAAGAACCCTGACTTTGTTTCTGCAAAGGCACC
TGCATGTGTCTGTGTTTCATGTAGGCATAATGTGAGGAGGTGGGGAGACCACCCACCCCATGTCCACCATGACCCT

SEQ ID NO:9 HLA-A*02:06

>LR027057.1用于MHC I类抗原的智人HLA-A基因,等位基因HLA-A*02:06:01

CAGAAGCAGAGGGTCAGGGCGAAGTCCCAGGGCCCCAGGCGTGGCTCTCAGGCTCTCAGGCCCCGAAG
GCGGTGTATGGATTGGGGAGTCCCAGCCTTGGGGATTCCCCAACTCCGCAGTTTCTTTTCTCCCTCTCCCAACCTAT
GTAGGGTCCCTTCTTCTGGATACTCACGACGCGGACCCAGTTCTCACTCCCATTTGGGTGTGCGGTTTCCAGAGAAGC
CAATCAGTGTGTCGCGGTTCGCGTTCTAAAGTCCGCACGCACCCACCGGACTCAGATTCTCCCAGACGCCGAGG

ATGGCTGTCATGGCGCCCCGAACCTCGTCCCTGCTACTCTCGGGGGCTCTGGCCCTGACCCAGACCTGGGCGGGTGA
GTGCGGGGTCTGGGAGGGAACGGCTCTGTGGGGAGAAGCAACGGGGCCGCTGGCGGGGGCGCAGGACCCGGAAG
CCGCGCCGGGAGGAGGGTCGGGCGGGTCTCAGCCACTCCTCGTCCCCAGGCTCTCACTCCATGAGGTATTTCTACAC
CTCCGTGTCCCGGGCCGGCCGCGGGGAGCCCCGCTTCATCGCAGTGGGCTACGTGGACGACACGCAGTTCTGTGCGGT
TCGACAGCGACGCCGCGAGCCAGAGGATGGAGCCGCGGGCGCCGTGGATAGAGCAGGAGGGTCCGGAGTATTGGGAC
GGGGAGACACGGAAGTGAAGGCCCACTCACAGACTCACCGAGTGGACCTGGGGACCCTGCGCGGCTACTACAACCA
GAGCGAGGCCGGTGAAGTACCCCGGGCCGGGGCGCAGGTACGACCTCTCATCCCCACGGACGGGGCCAGGTGCCCC
ACAGTCTCCGGGTCCGAGATCCGCCCCGAAGCCGCGGGACCCCGAGACCCTTGCCCCGGGAGAGGCCAGGCGCCTT
TACCCGGTTTCATTTTCAGTTTAGGCCAAAAATCCCCCAGGTTGGTCGGGGCGGGGCGGGGCTCGGGGGACCGGGC
TGACCGCGGGGTCCGGGCCAGGTTCTCACACCGTCCAGAGGATGTATGGCTGCGACGTGGGGTTCGGACTGGCGCTTC
CTCCGCGGGTACCACCAGTACGCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAAAGAGGACCTGCGCTCTTGAGCCGC
GGCGGACATGGCAGCTCAGACCACCAAGCACAAAGTGGGAGGCGGCCATGTGGCGGAGCAGTTGAGAGCCTACCTGG
AGGGCACGTGCGTGGAGTGGCTCCGAGATACCTGGAGAACGGGAAGGAGACGCTGCAGCGCACGGGTACCAGGGGC
CACGGGGCGCCTCCCTGATCGCTGTAGATCTCCCGGGTGGCCTCCACAAGGAGGGGAGACAATTGGGACCAACA
CTAGAATATCGCCCTCCCTCTGGTCCTGAGGGAGAGGAATCCTCCTGGGTTTCCAGATCCTGTACCAGAGAGTGACT
CTGAGGTTCCGCCCTGCTCTCTGACACAATTAAGGGATAAAATCTCTGAAGGAATGACGGGAAGACGATCCCTCGAA
TACTGATGAGTGGTTCCCTTTGACACACACAGGCAGCAGCCTTGGGCCCCGTGACTTTTCTCTCAGGCCTTGTTCTC
TGCTTCACACTCAATGTGTGTGGGGTCTGAGTCCAGCACTTCTGAGTCCTTCAGCCTCCACTCAGGTCAGGACCAG
AAGTCGTGTTCCCTCTTCAGGGACTAGAATTTTCCACGGAATAGGAGATTATCCCAGGTGCCTGTGTCCAGGCTGG
TGTCTGGGTTCTGTGCTCCCTTCCCCATCCCAGGTGTCTGTCCATTCTCAAGATAGCCACATGTGTGCTGGAGGAG
TGTCCCATGACAGATGCAAAATGCCTGAATGATCTGACTCTTCCTGACAGACGCCCCAAAACGCATATGACTCACC
ACGCTGTCTCTGACCATGAAGCCACCCTGAGGTGCTGGGCCCTGAGCTTCTACCCTGCGGAGATCACACTGACCTGG
CAGCGGGATGGGGAGGACCAGACCCAGGACACGGAGCTCGTGGAGACCAGGCCTGCAGGGGATGGAACCTTCCAGAA
GTGGGCGGCTGTGGTGGTGCTTCTGGACAGGAGCAGAGATACACCTGCCATGTGCAGCATGAGGGTTTGCCCAAGC
CCCTCACCTGAGATGGGGTAAGGAGGGAGACGGGGGTGTCATGTCTTTTAGGGAAGCAGGAGCCTCTCTGACCTT
TAGCAGGGTCAGGGCCCCCTCACCTTCCCCCTCTTTTCCCAGAGCCGTCTTCCCAGCCCACCATCCCCATCGTGGGCAT
CATTGCTGGCCTGGTTCTCTTTGGAGCTGTGATCACTGGAGCTGTGGTCGCTGCTGTGATGTGGAGGAGGAAGAGCT
CAGGTGGGGAAGGGGTGAAGGGTGGGTCTGAGATTTCTTGTCTCACTGAGGGTTCCAAGACCCAGGTAGAAGTGTGC
CCTGCCTCGTTACTGGGAAGCACCACCCACAATTATGGGCCTACCCAGCCTGGGCCCTGTGTGCCAGCACTTACTCT
TTTGTAAGCACCTGTATAAATGAAGGACAGATTTATCACCTTGATTACAGCGGTGATGGGACCTGATCCCAGCAGT
CACAAGTCACAGGGGAAGGTCCCTGAGGACCTTCAGGAGGGCGGTGGTCCAGGACCCACACCTGCTTTCTTCATGT
TTCCTGATCCCGCCCTGGGTCTGCAGTCACACATTTCTGGAACTTCTCTGAGGTCCAAGACTTGAGGTTTCTCTA
GGACCTTAAGGCCCTGACTCCTTTCTGGTATCTCACAGGACATTTTCTTCCCACAGATAGAAAAGGAGGGAGCTACT
CTCAGGCTGCAAGTAAGTATGAAGGAGGCTGATGCCTGAGGTCCTTGGGATATTGTGTTTGGGAGCCCATGGGGGAG
CTACCCACCCACAATTCCTCCTCTAGCCACATCTTCTGTGGGATCTGACCAGGTTCTGTTTTTGTCTACCCAG
GCAGTGACAGTGCCAGGGCTCTGATGTGTCTCTCACAGCTTGTAAGGTGAGAGCCTGGAGGGCCTGATGTGTGTT
GGGTGTTGGGCGGAACAGTGGACACAGCTGTGCTATGGGGTTTCTTCCATTGGATGTATTGAGCATGCGATGGGCT
GTTTAAAGTGTGACCCCTCACTGTGACAGATACGAATTTGTTTCATGAATATTTTTTCTATAGTGTGAGACAGCTGC
CTTGTGTGGGACTGAGAGGCAAGAGTTGTTCCCTGCCCTTCCCTTTGTGACTTGAAGAACCCTGACTTTGTTTCTGCA

AAGGCACCTGC

SEQ ID NO:10 HLA-A*26:01

>LR027040.1用于MHC I类抗原的智人HLA-A基因,等位基因HLA-A*26:01:01:01

CAGGAGCAGAGGGTCAGGGCGAAGTCCCAGGGCCCCAGGCGTGGCTCTCAGGGTCTCAGGCCCCGAAG
GCGGTATATGGATTGGGGAGTCCCAGCCTTGGGGATTCCCCAACTCCGCAGTTTCTTTTCTCCCTCTCCCAACCTAT
GTAGGGTCCTTCTTCTGATACTCACGACGCGGACCCAGTTCTCACTCCCATTGGGTGTGCGGTTTCCAGAGAAGC
CAATCAGTGTGTCGTCGCGGTGCGGTTCTAAAGTCCGCACGCACCCACCGGGACTCAGATTCTCCCCAGACGCCGAGG
ATGGCCGTCATGGCGCCCCGAACCTCGTCCTGCTACTCTCGGGGGCCCTGGCCCTGACCCAGACCTGGGCGGGTGA
GTGCGGGGTGCGGAGGGGAAACGGCCTCTGTGGGGAGAAGCAAGGGGGCCCGCCGGCGGGGGCGCAGGACCCGGAAG
CCGCGCCTGGAGGAGGGTCGGGCGGGTCTCAGCCACTCCTCGCCCCAGGCTCCCACTCCATGAGGTATTTCTACAC
CTCCGTGTCCCGCCCCGGCCGCGGGGAGCCCCGCTTCATCGCCGTGGGCTACGTGGACGACACGCAGTTCTGTGCGGT
TCGACAGCGACGCCGCGAGCCAGAGGATGGAGCCGCGGGCGCCGTGGATAGAGCAGGAGGGGCCGAGTATTGGGAC
CGGAACACACGGAATGTGAAGGCCCACTCACAGACTGACCGAGCGAACCTGGGGACCCTGCGCGGCTACTACAACCA
GAGCGAGGACGGTGAGTGACCCCGGCCCGGGGCGCAGGTCACGACCCCTCATCCCCACGGACGGGCCAGGTCGCCC
ACAGTCTCCGGGTCCGAGATCCGCCCCGAAGCCGCGGGACCCGAGACCCTTGCCCCGGGAGAGGCCAGGCGCCTT
TACCCGGTTTCATTTTCAGTTTAGGCCAAAAATCCCCCGGGTTGGTCGGGGCGGGGCGGGGCTCGGGGGACCGGGC
TGACCTCGGGGTCCGGGCCAGTTTCTCACACCATCCAGAGGATGTATGGCTGCGACGTGGGGCCGGACGGGCGCTTC
CTCCGCGGGTACCAGCAGGACGCTTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAACGAGGACCTGCGCTCTTGACCGC
GGCGGACATGGCGGCTCAGATCACCCAGCGCAAGTGGGAGACGGCCATGAGGCGGAGCAGTGGAGAGCCTACCTGG
AGGGCCGGTGCGTGAGTGCTCCGCAGATACCTGGAGAACGGGAAGGAGACGCTGCAGCGCACGGGTACCAGGGGC
CACGGGGCGCCTCCCTGATCGCTGTAGATCTCCCGGGCTGGCCTCCACAAGGAGGGGAGACAATTGGGACCAACA
CTAGAATATCGCCCTCCCTCTGGTCCTGAGGGAGAGGAATCCTCCTGGGTTTCCAGATCCTGTACCAGAGAGTGACT
CTGAGGTTCCGCCCTGCTCTCTGACACAATTAAGGGATAAAATCTCTGAAGGAATGACGGGAAGACGATCCCTCGAA
TACTGATGAGTGGTTCCCTTTGACACACACCGGCAGCAGCCTTGGGCCCCGTGACTTTTCTCTCAGGCCTTGTTCTC
TGCTTCACACTCAATGTGTGTGGGGTCTGAGTCCAGCACTTCTGAGTCCCTCAGCCTCCACTCAGGTCAGGACCAG
AAGTCGCTGTTCCCTCTTCAGGGACTAGAATTTTCCACGGAATAGGAGATTATCCAGGTGCCTGTGTCCAGGCTGG
TGTCTGGGTTCTGTGCTCCCTTCCCCATCCCAGGTGTCTGTCCATTCTCAAGATAGCCACATGTGTGCTGGAGGAG
TGTCCCATGACAGATGCAAAATGCCTGAATGTTCTGACTCTTCTGACAGACGCCCCAAGACGCATATGACTCACC
ACGCTGTCTCTGACCATGAGGCCACCCTGAGGTGCTGGGCCCTGAGCTTCTACCCTGCGGAGATCACACTGACCTGG
CAGCGGGATGGGGAGGACCAGACCCAGGACACGGAGCTCGTGGAGACCAGGCCTGCAGGGGATGGGACCTTCCAGAA
GTGGGCGTCTGTGGTGGTGCTTCTGGACAGGAGCAGAGATACACCTGCCATGTGCAGCATGAGGGTCTGCCAAGC
CCCTCACCTGAGATGGGGTAAGGAGGGAGACGGGGGTGTCATGTCTTTTAGGGAAAGCAGGAGCCTCTCTGACCTT
TAGCAGGGTCAGGGCCCCCTACCTTCCCCTCTTTTCCCAGAGCCGCTTCCCAGCCCACCATCCCCATCGTGGGCAT
CATTGCTGGCCTGGTTCTCTTTGGAGCTGTGATCGCTGGAGCTGTGGTCGCTGCTGTGATGTGGAGGAGGAAGAGCT
CAGGTGGGGAAGGGATGAAGGGTGGGTCTGAGATTTCTGTCTCACTGAGGGTTCCAAGACCCAGGAAGAAGTGTGC
CCTGCCTCGTTACTGGGAAGCACCATCCACAATTATGAGCCTACCCAGCCTGGGCCCTGTGTGCCAGCACTTACTCT
TTTGTAAGCACCTGTATAAATGAAGGACAGATTTATCACCTTGATTACGGCGGTGATGGGACCTGATCCCAGCAGT
CACAAGTCACAGGGGAAGGTCCCTGAGGACCTTCAGGAGGGCGGTGGTCCAGGACCCACACCTGCTTTCTTCATGT
TTCCTGATCCCGCCCTGGGTCTGCAGTCACACATTTCTGGAACTTCTCTGAGGTCCAAGACTTGGAGGTTCTCTA

GGACCTTAAGGCCCTGGCTCCTTTCTGGTATCTCACAGGACATTTTCTTCCCACAGATAGAAAAGGAGGGAGCTACT
CTCAGGCTGCAAGTAAGTATGAAGGAGGCTGATGCCTGAGGTCCTTGGGATATTGTGTTTGGGAGCCCGTGGGGGAG
CTCACCACCCCAACAATTCTCTCTAGCCACATGTTCTGTGGGATCTGACCAGGTTCTGTTTTTGTCTACCCAG
GCAGTGACAGTGCCCAGGGCTCTGATATGTCTCTCACAGCTTGTAAGGTGAGAGCCTGGAGGGCCTGATGTGTGTT
GGGTGTTGGGCGGAACAGTGGACGCAGCTGTGCTATGGGGTTTCTTTGCATTGGATGTATTGAGCATGCGATGGGCT
GTTTAAAGTGTGACTCCTCACTGTGACAGATACGAATTTGTTTCATGAATATTTTTTTCTATAGTGTGAGACAGCTGC
CTTGTGTGGGACTGAGAGGCAAGATTTGTTCTGCCCTTCCCTTTGTGACTTGAAGAACCCTGACTTTGTTTCTGCA
AAGGCACCTGC

SEQ ID NO:11 HLA-A*29:02

>LT618817.1用于MHC I类抗原的智人HLA-A基因,等位基因HLA-A*29:02:01:01

GGTCCTTCTTCTGGATACTCACGACGCGGACCCAGTTCTCACTCCCATTGGGTGTCGGGTTTCCAGAG
AAGCCAATCAGTGTGTCGCGGTCGCGGTTCTAAAGTCCGCACGCACCCACCGGGACTCAGATTCTCCCAGACGCC
GAGGATGGCCGTCATGGCGCCCCGAACCTCCTCATGCTACTCTTGGGGGCCCTGGCCCTGACCCAGACCTGGGCGG
GTGAGTGCGGGGTCGTGGGGAACCGCCTCTGCGGGGAGAAGCAAGGGGCCCGCCGGCGGGACGCAGGACCCGGG
TAGCCGCGCCGGGAGGAGGGTCGGGTGGGTCTCAGCCACTCCTCGCCCCAGGCTCCCACTCCATGAGGTATTTTAC
CACATCCGTGTCCCGGCCCGCGCGGGGAGCCCCGCTTCATCGCCGTGGGCTACGTGGACGACACGCAGTTCGTGC
GGTTTGACAGCGACGCCGCGAGCCAGAGGATGGAGCCGCGGCACCGTGGATAGAGCAGGAGGGGCCGGAGTATTGG
GACCTGCAGACACGGAATGTGAAGGCCAGTCACAGACTGACCGAGCGAACCTGGGGACCCTGCGCGGCTACTACAA
CCAGAGCGAGGCCGGTGAGTGACCCCGGCCCGGGGCGCAGGTCACGACCTCTCATCCCCACGGACGGGCCGGGTGCG
CCCACAGTCTCCGGGTCCGAGATCCACCCGAAGCCGCGGGACCCCGAGACCCTTGCCCCGGGAGAGGCCAGGCGC
CTTTACCCGGTTTCATTTTCAGTTTAGGCCAAAAATCCCCCGGGTTGGTCGGGGCCGGACGGGGCTCGGGGGACTG
GGCTGACCGTGGGGTCGGGGCCAGGTTCTCACACCATCCAGATGATGTATGGCTGCGACGTGGGGTCGGACGGGCGC
TTCCTCCGCGGGTACCGGCAGGACGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCTTGAACGAGGACCTGCGCTCTTGAC
CGCGGCGGACATGGCGGCTCAGATCACCCAGCGCAAGTGGGAGGCGGCCCGTGTGGCGGAGCAGTTGAGAGCCTACC
TGGAGGGCACGTGCGTGGAGTGGCTCCGCAGATACCTGGAGAACGGGAAGGAGACGCTGCAGCGCACGGGTACCGGG
GGCCACGGGGCGCCTCCCTGATCGCCTGTAGATCTCCCGGGCTGGCCTCCCACAAGGAGGGGAGACAATTGGGACCA
ACACTAGAATATCGCCCTCCCTCTGGTCTGAGGGAGAGGAATCCTCCTGGGTTTCCAGATCCTGTACCAGAGAGTG
ACTCTGAGGTTCCGCCCTGCTCTCTGACACAATTAAGGGATAAAATCTCTGAAGGAATGACGGGAAGACGATCCCTC
GAATACTGATGAGTGGTTCCCTTTGACACACACCGGCAGCAGCCTTGGGCCCCGTGACTTTTCTCTCAGGCCTTGTT
CTCTGCTTCACTCAATGTGTGTGGGGTCTGAGTCCAGCACTTCTGAGTCCCTCAGCCTCCACTCAGGTGAGGAC
CAGAAGTCGCTGTTCCCTCTTCAGGGACTAGAATTTTCCACGGAATAGGAGATTATCCAGGTGCCTGTGTCCAGGC
TGGTGTCTGGGTTCTGTGCTCCCTTCCCCATCCCAGGTGTCCTGTCCATTCTCAAGATAGCCACATGTGTGCTGGAG
GAGTGTCCCATGACAGATGCAAAATGCCTGAATGTTCTGACTCTTCCTGACAGACGCCCCAAGACGCATATGACTC
ACCACGCTGTCTCTGACCATGAGGCCACCCTGAGGTGCTGGGCCCTGAGCTTCTACCCTGCGGAGATCACACTGACC
TGGCAGCGGGATGGGGAGGACCAGACCCAGGACACGGAGCTTGTGGAGACCAGGCCTGCAGGGGATGGAACCTTCCA
GAAGTGGGCGTCTGTGGTGGTGCCTTCTGGACAGGAGCAGAGATACACCTGCCATGTGCAGCATGAGGGTCTGCCCA
AGCCCCTCACCTGAGATGGGGTAAGGAGGGAGATGGGGGTGTCATGTCTTTAGGGAAAGCAGGAGCCTCTCTGAC
CTTTAGCAGGGTCAGGGCCCCCTACCTTCCCCTCTTTCCCAGAGCCGTCTCCCAGCCCACCATCCCCATCGTGGG
CATCATTGCTGGCCTAGTTCTCTTTGGAGCTGTGTTGCTGGAGCTGTGGTTCGCTGCTGTGAGGTGGAGGAGGAAGA

GCTCAGGTGGGGTGAAGGGATGAAGGGTGGGTCTGAGATTTCTTGTCTCACTGAGGGTTCCAAGACCCAGGTAGAAG
TGTGCCCTGCCTCGTTACTGGGAAGCACCATCCACAATTATGGGCCTACCCAGCCTGGGCCCTGTGTGCCAGCACTT
ACTCTTTTGTAAAGCACCTGTAAAAATGAAGGACAGATTTATCACCTTGATTACGGCGGTGATGGGACCTGATCCCA
GCAGTCACAAGTCACAGGGGAAGGTCCCTGAGGACCTTCAGGAGGGCGGTGGTCCAGGACCCACACCTGCTTTCTT
CATGTTTCTGATCCCGCCCTGGGTCTGCAGTCACACATTTCTGGAACTTCTCTGAGGTCCAAGACTTGAGGTTCT
CTCTAGGACCTTAAGGCCCTGGCTCCTTTCTGGTATCTCACAGGACATTTTCTTCCCACAGATAGAAAAGGAGGGAG
CTACTCTCAGGCTGCAAGTAAGTATGAAGGAGGCTGATGCCTGAGGTCCTTGGGATATTGTGTTTGGGAGCCCGTGG
GGGAGCTCACCCACCCCACAATTCCTCCTCTAGCCACATCTTCTGTGGGATCTGACCAGGTTCTGTTTTTGTCTAC
CCCAGGCAGTGACAGTGCCAGGGCTCTGATATGTCTCTCACAGCTTGTAAGGTGAGAGCCTGGAGGGCCTGATGT
GTGTTGGGTGTTGGGCGGAACAGTGACGCAGCTGTGCTATGGGGTTTCTTTGCATTGGATGTATTGAGCATGCGAT
GGGCTGTTTAAAGTGTGACTCCTCACTGTGACAGATACGAATTTGTTTCATGAATATTTTTTTCTATAGTGTGAGACA
GCTGCCTTGT

SEQ ID NO:12 HLA-A*31:01

>LR027053.1用于MHC I类抗原的智人HLA-A基因,等位基因HLA-A*31:01:02:01

CAGGAGCAGAGGGTCAGGGCGAAGTACCAGGGCCCCAGGCGTGGCTCTCAGGTCTCAGGCCCCGAAG
GCGGTGTATGGATTGGGGAGTCCCAGCCTTGGGGATTCCCCAACTCCGCAGTTTCTTTTCTCCCTCTCCCAACCTAT
GTAGGGTCTTCTTCTTGATACTCACGACGCGGACCCAGTTCTCACTCCCATTGGGTGTGCGGTTTCCAGAGAAGC
CAATCAGTGTGTCGTCGCGGTGCGGTTCTAAAGTCCGCACGCACCCACCGGACTCAGATTCTCCCAGACGCCGAGG
ATGGCCGTCATGGCGCCCCGAACCTCCTCCTGCTACTCTTGGGGGCCCTGGCCCTGACCCAGACCTGGGCGGGTGA
GTGCGGGTCTGTTGGGAAACCGCCTCTGCGGGGAGAAAGCAAGGGGCCCGCCGCGGGGCGCAGGACCCGGGTAGC
CGCGCCGGGAGGAGGGTCGGGCGGATCTCAGCCACTCCTCGCCCCAGGCTCCCACTCCATGAGGTATTTACCACA
TCCGTGTCCCGGCCCGCGCGGGAGCCCCGCTTCATCGCCGTGGGCTACGTGGACGACACGCAGTTCGTGCGGTT
CGACAGCGACGCCGCGAGCCAGAGGATGGAGCCGCGGGCGCCGTGGATAGAGCAGGAGAGGCCTGAGTATTGGGACC
AGGAGACACGGAATGTGAAGGCCCACTCACAGATTGACCGAGTGGACCTGGGGACCCTGCGCGGCTACTACAACCAG
AGCGAGGCCGGTGAGTGACCCAGCCCCGGGGCGCAGGTCACGACCTCTCATCCCCACGGACGGGCCAGGTACCCCA
CAGTCTCCGGGTCCGAGATCCACCCGAAGCCGCGGGACCCCGAGACCCTTGCCCCGGGAGAGGCCAGGCGCCTTT
ACCCGTTTTCATTTTCAGTTTAGGCCAAAAATCCCCCGGGTTGGTTCGGGGCCGGACGGGGCTCGGGGGACTGGGCT
GACCGTGGGGTTCGGGGCCAGGTTCTCACACCATCCAGATGATGTATGGCTGCGACGTGGGGTTCGGACGGGCGCTTCC
TCCGCGGGTACCAGCAGGACGCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCTTGAACGAGGACCTGCGCTCTTGGACCGCG
GCGGACATGGCGGCTCAGATCACCCAGCGCAAGTGGGAGGCGGCCCGTGTGGCGGAGCAGTTGAGAGCCTACCTGGA
GGGCACGTGCGTGGAGTGGCTCCGAGATACCTGGAGAACGGGAAGGAGACGCTGCAGCGCACGGGTACCAGGGGCC
ACGGGGCGCCTCCCTGATCGCTGTAGATCTCCCGGGCTGGCCTCCACAAGGAGGGGAGACAATTGGGACCAACAC
TAGAATATCACCTCCCTCTGGTCTGAGGGAGAGGAATCCTCCTGGGTTTCCAGATCCTGTACCAGAGAGTGACTC
TGAGGTTCCGCCCTGCTCTGTGACACAATTAAGGGATAAAATCTCTGAAGGAATGACGGGAAGACGATCCCTCGAAT
ACTGATGAGTGGTTCCCTTTGACACACACCGGCAGCAGCCTTGGGCCCCGTGACTTTTCTCTCAGGCCTTGTTCTCT
GCTTCACACTCAATGTGTGTGGGGTCTGAGTCCAGCACTTCTGAGTCCCTCAGCCTCCACTCAGGTACAGGACCAGA
AGTCGCTGTTCCCTCTTCAGGGACTAGAAATTTCCACGGAATAGGAGATTATCCAGGTGCCTGTGTCCAGGCTGGT
GTCTGGGTTCTGTGCTCCCTTCCCCATCCAGGTGTCTGTCCATTCTCAAGATAGCCACATGTGTGCTGGAGGAGT
GTCCATTACAGATGCAAAATGCCTGAATGTTCTGACTCTCCTGACAGACCCCCCAAGACGCATATGACTCACCA

CGCTGTCTCTGACCATGAGGCCACCCTGAGGTGCTGGGCCCTGAGCTTCTACCCTGCGGAGATCACACTGACCTGGC
AGCGGGATGGGAGGACCAGACCCAGGACACGGAGCTCGTGGAGACCAGGCCTGCAGGGGATGGAACCTTCCAGAAG
TGGGCGTCTGTGGTGGTGCCTTCTGGACAGGAGCAGAGATACACCTGCCATGTGCAGCATGAGGGTCTCCCCAAGCC
CCTCACCCCTGAGATGGGGTAAGGAGGGAGATGGGGGTGTCATGTCTTTTAGGGAAAGCAGGAGCCTCTCTGACCTTT
AGCAGGGTCAGGGCCCCCTACCTTCCCCCTCTTTTCCCAGAGCCGTCTTCCCAGCCCACCATCCCCATCGTGGGCATC
ATTGCTGGCCTAGTTCTCTTTGGAGCTGTGTTTCGCTGGAGCTGTGGTTCGCTGCTGTGAGGTGGAGGAGGAAGAGCTC
AGGTGGGGTGAAGGGTGAAGGGTGGGTCTGAGATTTCTTGTCTCACTGAGGGTTCCAAGACCCAGGTAGAAGTGTG
CCCTGCCTCGTTACTGGGAAGCACCATCCACAATTATGGGCCTACCCAGCCTGGGCCCTGTGTGCCAGCACTTACTC
TTTTGTAAAGCACCTGTTAAAATGAAGGACAGATTTATCACCTTGATTATGGCGGTGATGGGACCTGATCCCAGCAG
TCACAAGTCACAGGGGAAGGTCCCTGAGGACCTTCAGGAGGGCGGTTGGTCCAGGACCCACACCTGCTTTCTTCATG
TTTCTGATCCCGCCCTGGGTCTGCAGTCACACATTTCTGGAACTTCTCTGAGGTCCAAGACTTGAGGTTCTCTCT
AGGACCTTAAGGCCCTGGCTCCTTTCTGGTATCTCACAGGACATTTTCTTCCCACAGATAGAAAAGGAGGGAGCTAC
TCTCAGGCTGCAAGTAAGTATGAAGGAGGATGATCCAAGAAATCACTGGGATATTGTGTTTGGGAGCCCGTGGGGGA
GCTCACCCACCCACAATTCTCCTCTAGCCACATCTTCTGTGGGATCTGACCAGGTTCTGTTTTTGTCTACCCCA
GGCAGTGACAGTGCCAGGGCTCTGATGTGTCTCTCACAGCTTGTAAGGTGAGAGCCTGGAGGGCCTGATGTGTGT
TGGGTGTTGGGCGGAACAGTGGACGCAGCTGTGCTATGGGGTTTCTTTCATTGGATGTATTGAGCATGCGATGGGC
TGTTTTAAAGTGTGACTCCTCACTGTGACAGATACGAATTTGTTTCATGAATATTTTTTTCTATAGTGTGAGACAGCTG
CCTTGTGTGGGACTGAGAGGCAAGATTTGTTCTGCCCTTCCCTTGTGACTTGAAGTACCCTGACTTTGTTTCTGC
AAAGGCACCTGC

SEQ ID NO:13 HLA-A*32:01

>LR027086.1用于MHC I类抗原的智人HLA-A基因,等位基因HLA-A*32:01:01:01

CAGGAGCAGAGGGTCAGGGCGAAGTCCCAGGGCCCCAGGCGTGGCTCTCAGGGTCTCAGGCCCCGAAG
GCGGTGTATGGATTGGGAGTCCCAGCCTTGGGGATTCCCCAACTCCGCAGTTTCTTTTCTCCCTCTGCCAACCTAT
GTAGGGTCCTTCTTCTGATACTCACGACGCGGACCCAGTTCTCACTCCCATTGGGTGTCGGGTTTCCAGAGAAGC
CAATCAGTGTGTCGCGGTCGCGGTTCTAAAGTCCGCACGCACCCACCGGGACTCAGATTCTCCCCAGACGCCGAGG
ATGGCCGTCATGGCGCCCCGAACCTCCTCTGCTACTCTTGGGGGGCCCTGGCCCTGACCCAGACCTGGGCGGGTGA
GTGCGGGGTCGTGGGGAAACCGCCTCTGCGGGGAGAAGCAAGGGGCCCGCCGGCGGGGGCGCAGGACCCGGGTAGC
CGCGCCGGGAGGAGGGTCGGGCGGGTCTCAGCCACTCCTCGCCCCAGGCTCCCACTCCATGAGGTATTTCTTCACA
TCCGTGTCCCGGCCCGGCCGCGGGGAGCCCCGCTTCATCGCCGTGGGCTACGTGGACGACACGCAGTTCGTGCGGTT
TGACAGCGACGCCGCGAGCCAGAGGATGGAGCCGCGGGCGCCGTGGATAGAGCAGGAGGGGCCGAGTATTGGGACC
AGGAGACACGGAATGTGAAGGCCCACTCACAGACTGACCGAGAGAGCCTGCGGATCGCGCTCCGCTACTACAACCAG
AGCGAGGCCGGTGAGTGACCCCGGCCCGGGGCGCAGGTACGACCTCTCATCCCCACGGACGGGCCAGGTGCCCCA
CAGTCTCCGGGTCCGAGATCCACCCGAAGCCGCGGGACCCCGAGACCCTTGCCCCGGGAGAGGCCAGGCGCCTTT
ACCCGTTTTCATTTTTAGTTTAGGCCAAAAATCCCCCGGGTTGGTTCGGGGCCGGACGGGGCTCGGGGGACTGGGCT
GACCGTGGGGTCGGGGCCAGGTTCTCACACCATCCAGATGATGTATGGCTGCGACGTGGGGCCGGACGGGCGCCTCC
TCCGCGGGTACCAGCAGGACGCTACGACGCAAGGATTACATCGCCTTGAACGAGGACCTGCGCTCTTGACCGCG
GCGGACATGGCGGCTCAGATCACCCAGCGCAAGTGGGAGGCGGCCCGTGTGGCGGAGCAGTTGAGAGCCTACCTGGA
GGGCACGTGCGTGGAGTGGCTCCGCAGATACCTGGAGAACGGGAAGGAGACGCTGCAGCGCACGGGTACCAGGGGCC
ACGGGGCGCCTCCCTGATCGCCTGTAGATCTCCCGGGCTGGCCTCCCACAAGGAGGGGAGACAATTGGGACCAACAC

TAGAATATCGCCCTCCCTCTGGTCTGAGGGAGAGGAATCCTCCTGGGTTTCCAGATCCTGTACCAGAGAGTGACTC
TGAGGTTCCGCCCTGCTCTCTGACACAATTAAGGGATAAAATCTCTGAAGGAATGACGGGAAGACGATCCCTCGAAT
ACTGATGAGTGGTTCCCTTTGACACACACCGGCAGCAGCCTTGGGCCCCGTGACTTTTCTCTCAGGCCTTGTTCTCT
GCTTCACACTCAATGTGTGTGGGGTCTGAGTCCAGCACTTCTGAGTCCCTCAGCCTCCACTCAGGTCAGGACCAGA
AGTCGCTGTTCCCTCTTCAGGGACTAGAATTTTCCACGGAATAGGAGATTATCCAGGTGCCTGTGTCCAGGCTGGT
GTCTGGGTTCTGTGCTCCCTTCCCCATCCCAGGTGTCTGTCCATTCTCAAGATAGCCACATGTGTGCTGGAGGAGT
GTCCCATGACAGATGCAAAATGCCTGAATGTTCTGACTCTTCCTGACAGACGCCCCAAGACGCATATGACTCACCA
CGCTGTCTCTGACCATGAGGCCACCCTGAGGTGCTGGGCCCTGAGCTTCTACCCTGCGGAGATCACACTGACCTGGC
AGCGGGATGGGGAGGACCAGACCCAGGACACGGAGCTTGTGGAGACCAGGCCTGCAGGGGATGGAACCTTCCAGAAG
TGGGCGTCTGTGGTGGTGCCTTCTGGACAGGAGCAGAGATACACCTGCCATGTGCAGCATGAGGGTCTGCCCCAGCC
CCTCACCTGAGATGGGGTAAGGAGGGAGATGGGGGTGTCATGTCTTTTACGAAAGCAGGAGCCTCTCTGACCTTT
AGCAGGGTCAGGGCCCCCTACCTTCCCCTCTTTTCCCAGAGCCGTCTTCCCAGCCCACCATCCCCATCGTGGGCATC
ATTGCTGGCCTAGTTCTCTTTGGAGCTATGTTTCGTGGAGCTGTGGTTCGTGTGTGAGGTGGAGGAGGAAGAGCTC
AGGTGGGGTGAAGGGATGAAGGGTGGGTCTGAGATTTCTTGTCTCACTGAGGGTTCCAAGACCCAGGTAGAAGTGTG
CCCTGCCTCGTTACTGGGAAGCACCATCCACAATTATGGGCCTACCCAGCCTGGGCCCTGTGTGCCAGCACTTACTC
TTTTGTAAAGCACCTGTTAAAATGAAGGACAGATTTATCACCTTGATTACGGCGGTGATGGGACCTGATCCCAGCAG
TCACAAGTCACAGGGGAAGGTCCCTGAGGACCTTCAGGAGGGCGGTTGGTCCAGGACCCACACCTGCTTTCTTCATG
TTTCTGATCCCGCCCTGGGTCTGCAGTCACACATTTCTGGAACTTCTCTGAGGTCCAAGACTTGGAGGTTCTCT
AGGACCTTAAGGCCCTGGCTCCTTTCTGGTATCTCACAGGACATTTTCTTCCCACAGATAGAAAAGGAGGGAGCTAC
TCTCAGGCTGCAAGTAAGTATGAAGGAGGCTGATGCCTGAGGTCCCTGGGATATTGTGTTTGGGAGCCCGTGGGGGA
GCTCACCCACCCACAATTCCTCCTCTAGCCACATCTTCTGTGGGATCTGACCAGGTTCTGTTTTTGTCTACCCCA
GGCAGTGACAGTGCCAGGGCTCTGATATGTCTCTCACAGCTTGTAAGGTGAGAGCCTGGAGGGCCTGATGTGTGT
TGGGTGTTGGGCGGAACAGTGGACGCAGCTGTGCTATGGGGTTTCTTTGCATTGGATGTATTGAGCATGCGATGGGC
TGTTTAAAGTGTGACTCCTCACTGTGACAGATACGAATTTGTTTCATGAATATTTTTTCTATAGTGTGAGACAGCTG
CCTTGTGTGGGACTGAGAGGCAAGATTTGTTCCCTGCCCTTCCCTTGTGACTTGAAGAACCCTGACTTTGTTTCTGC
AAAGGCACCTGC

SEQ ID NO:14 HLA-DRB3*02:02

>OU943363.1用于MHC II类抗原的智人HLA-DRB3基因,等位基因HLA-DRB3*02:02:

01

CTCTGGCCCCTGGTCTGTCTCTTCTCCAGCATGGTGTGTCTGAAGCTCCCTGGAGGCTCCAGCTTGG
CAGCGTTGACAGTGACACTGATGGTGTGAGCTCCCGACTGGCTTTCGCTGGGGACACCCGACGTAAGAGCACATTG
TGGGTGCTGAGCTACTATGGGGTGGGGGAATATAGGGAGTTGTGTTAACATTGTGCCAGGCCATGTCCCTTAAGAA
ATTGTGAGGTTTTCTTCAGAGATTGCTCATCTTTATCAAGGGATCGCAAATTATTTCTCCACAAAAGGAACTTGGC
TACTTGCCCTCTCCATGAGACTTGTGTAAGGGGCCCTTGTACAGGCCATTTCTTCTCAAATCTCCACCAATAAAACC
TTTGCATCACATGTCCTCAGGGTCTTTAGAGGATTTGGAAATAAGGATGCTAAAATAAATTCCCCAAACAGCAATTC
CCTTTATTATGTTGACTTATGTCAGACAAAAGGAGGTTTTTACTGAAAATTTTGTGGGAGTCAAGGGAATTCAATGG
GTCTCTCCTAGACGATCCTGGGTTATGTCCTCCACAGGACCTGTGGTGTGGCCCCCTTCTCCTCATATGTGAGGATG
GACCCAGTGGCCTCCCTAGTATCTCCTTTCTTTTCTTCTGAACTCCAATGTTTATAAAGCCTGTATCCCTGTAGTG
TATGTAGGTTGTCTGACAGAAGTTATACTTAGTGCTCTTCTTTCTTATGGGGAAAAATCCCTGGAAGTGAAGCTGA

GATCATTAGTACTTGGAATCACCTTACAGATACAGAGCATTATGAGGTATTCTTTGGTGCCTAAAGAACTTAAGGC
ATCCTCTGAAAACTGGCCAGGTTAGTGTTTATTATGAATCTTTTTAACCTTCTATACTTGTTTCTCCTACATCT
CCTACATGCTCTAACTAGACATGACAGAAGAGATTTAACTAATGTAGTATAAATTATATGAAATTCTATTTTTGTAA
GTCAAAAATAATCAAATATCAGAAATTTAATAATGTTCAAACCTATATACTGTGTGGGGTTACCGAGACAATGTGGAC
ATTGTTACATCTCATAGGGCTGAAAGTCAATGGGCAAGTCCTGGAACTCATTGTCTTACTGCGGTCTTGCTCTCA
GTTTCATAGGTTACCCATCATGCCCTCAGCTTTCCTTAATTAGCCATGTCTGCTTACCTCTTCCTCCCATTTCTCT
CTATTTTTCCCAACTATGTTGTCATCATTTCCAGAAATCTCTAAAGCTTGACAGATCCTTAGCACTATGAGATCC
ATTGAAAGAGATAATATTTTTCTCTTTGAGATAGGGCCTGCCTCTGTCACCCAGGCTGTAGCTCAGTGGTGTGATCG
AGGCTCACTGCAACCTCTGCCTCCCATGCTCAAGCAATCCTCCCTCCTCAGGCTCCAGAGTAGCTGAGAATACAGGC
AGGCAACCACGCCAGCTAATTTTTGCAATTTTGGTAGAGAGGAGATTTTGCCATATTGCCAGGCTGGTCTTAAAC
TGCTGAACTCAAGCAATCCTCCTGCCTTAGCCTCCCAACATGCTAGGATTATAGATGTGAGCCACTGTGCCAGGCA
AAAGAGATGACTCTTAATAAAAAGATTTCTTTTTCTTAAATCACTGTTTCTTTATCCGTGAATTCTTCTTCCAAC
AGAAGGAGGAGAAAGAAGTTTGCCTGTATTTATCACCGGGAGGAGAAGGGTCTAGTGTGACATCAAAATGAAAGAG
TGCTGGAACCTTGAGCCCCTTCTTGCTTTCCAGGATCCCCACAGTGATCAGTTCCTATACCCTGGTTTATTCATGTAA
ACCACACTTATTTTTCTCAGCAGCTACTGTGTAAGTGGGCTCCATTCTAGGTTCAAATCATTCTATTTGATTAAGATA
GAGAGGGTCCCGACTCTCAAGGAAGTTACAAGAGTAGAGGAGACAGACACTAACCAATAAGCATTTAACAAAGAAG
ATAATGTTAGAGAGTCATAGTGCCTGAAGAAAAGACATCAGATGTGTGTTGAAAGAGAGAAATGGATTACCTACT
TTAGTTTGTATGTTTAGGGAGCTCTACCTGAGAAAGTGATATTCAGCTGAGACAACAAAATAAGTAGACAGTCATAA
AGATCTAACGGACGAAAGATTCAGGGAGACCGAATCGAGGGAAAGCACTGGTGTGGGAAATTATGTGGAGGGAGAGA
AAGAAGGCTAGAAGGGCTGAGGTATAGAAAGCAAGGAAATGGAGAGGCAGAAGATGAGGTAGGACAAGGAGAGGAAA
TCAGGAGCCTCATCATTATAGGCTCTGATGTCCACGGTAAAAAATTTGAATTTTATTTTATTTTATTTTAA
ATTTTATTTATTTATTTATTTTATTTGAGATGGAGTTTCATTCTTGTTGCCAGGCTGGCATGCCATGGCGCAATCTCTGC
TCACTGCAACCTCCACCTCCTGGGTTCAAGTGATTCTCCTGCCTCAGCTTCCCAAGTAAGTGGGATTACAGGCACTC
ACCACCATACCTGGCTAATTTTTTTGTATTTTAGTATAGATGGGGTATCACCATGTTGACCAGGTTGATCTTGAAC
TCCTGACCTCAGATAATCTGTCTGCCTTGGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGCGTGAGCCACCACGCCCGGACT
GAATTTTATTTAAATAGATATGAGAAGCTGCTGTATGGTTACAAGGAGAGTCAATTTATATTCAACTTTTGTGTGTG
TGTGTGATGGAGTCTCACTCTGTTGCCAGGCTCGATTGCAGTGGCACAATCTCGGCTCACTGCAACCTCCGCTCC
CGGGTTCAAGAAATTATCCTGCCTCAGCCTCCTGAGTAGCTGGGACCACAGGTGCATGCCACCACAGTCGGCTACTT
TTTGTATTTTAGTAGGGATGGGGTTTACCATGTTAGCCAAGATGGGCTCGATCTCCTGACCTTGTGATCCACCCG
CCTCGGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGCATGAGCCACTGCGCCCAGCTTATATTCAATTATTACAATTAATTC
TAGCTACTTTGTGGGGATTGGATTGTTGGGGTTCACAAGTGGTTAGGAAGACTATTTAGGAGCACAGCAGGGAATTC
TCCAGGGAAAACAGGCTTGTGGCTTCATGGAGTGCATTAGTGATAAAGACGGTGAAAAAGATAAAGTGGACAGACTT
CGCATGTATTTTTGCTTAGCTTGTTAATGAATTACTGTAAAGGGGTGGAACAATCAAGTTTATTCCTGAGGATTTT
GTTTTGACAAATAAGTGGGTGGTAGTTTTGTTTATTGAGATAGGAAAACTATGGGAGGAAATGATTTGAAGTGGGT
GGTTGGAATAAAAGTTTTGTTTAAATTTGAGATGATTTATTGACATTTATGTAGAGCAATCAGAAGGTCAGTGGCA
TTTAAGAGACTCATGGTGAGGCTAGGGCTCAGATATTTATGTTGGCAGCATCAATACGTGTAGTGTGTTAAATTCT
AGGGAGTGGAAGAGGATACATAGGGAGATGGATTGTGTGGAGAAAAAGAAGAGGGCACAGGCCAGCAAAGGCAGCT
GAGACAGAGCCAGGGATGTTGGAGAAAAACCAAGAGAACATAATGAGTGTAAAGTCAAGGAAAATAGATTTTTTTCA
AGGAGAAGGGAGAGGCCAATTGTGGTGAGTACCACTAAGCGGAGGGGGAAGTGAGAACTTGACAGAGAAGCAAGTGC

TGGGTTTGCTGGAGTTGATATTTGCAGTCAATGGAGTATCCAGGGAGGAACTGGATTGGACCATTGAAGAGCGAG
TAGAAGTGAGGACGAGGTTAAGGTTGACTGTTTTGAGTAGAACTCCGGAAGGACTGTGCTCTGGGTTGAGGAAGCC
CGCTGAATCTAAAGGAAAAGGCTAAAGAAGCTAAAGAGACAGAGGAGGACCTGTGAACAAGAGATGCTCAGTCATTA
GCAAGGAAATACTGGAGATCCCCTGTGTGCAGTGGTGACTACTCATGCAAAAGGTCACACAGCCAATATTTATTAGT
GACATAGAATATACCAGTTATTACTCTAGGTCATGAGAATGGTGATAAATAAAATGAATCCGCTCGCCATCAGTATA
TGCCATGTAACAGTTTGAGTGACTGTGTACCAGGCCTGTGAATTTCTGTATGCAATTTCAATAATGATCCTGCTGT
ATCTGTGGTATTTAAAAACATATACATCTCTGGAATCTAAAATTGAGGGATTATAAGTAAACCCAGTATTAGAAAT
TTAGTGCTGGAAATCAGATTGCAGTTTAAATCTGAGCATATAGAAAGTCCCTTTCTTCTATGTCAGCAGATGCCTTT
TATGTGAGGCTTAGGTATACTACATTATTAGACATAAACAGTGTTTTCTGCCCTATGTTTTCAGAATGACAATTCTT
TATGAAACTCATAGAAGAACAGAAGACAATTGCAAAATCATGATGAAGATACTAATTGCTTTAGAAATTAAGGAATAC
AAAAAATAATGTGAGTTACAGTTATAGGGATCATAAAAGTGAAAATGGGAATGTATTTGAGTGTTTTATTATGTGATC
AGTGCTAAGAAGAGTCATCATTTAATTTGACACTTAACAGTAATCCTGTGAGGATTATGCTATTATTAATGCATTT
GATAGATTACAAAAAGGCTTACTGTTGGCAAAAATTGACCCAAGTAGAAGAGGTCACCTTTTTATTAGATTTTCTG
ATTGTAGAGTTTGAGAGTTTTTCCATCATTAGGGAGTAGTGACTATATTGTGTCTGAATTATTGACAGAATTTCTGA
TATTCATATATACCAGGTTGTTTTCTTTGAGTGGGGACAGAGATGCAAGGGCTGCTAGTTCCAATGTACAGGAGAAAC
TTTTAATCATTTTGCATTTATCATTTTAAAAGTTCAGTATGTCTATAATGGTCATGTGTTGACAAACACAAGGAAGT
ATTAATCACTCCTCCTTCTGAGGTTTGACTAGCAAATGGGCAAGAGTTACCAAATAAAATACATGTTTCTAGTTA
AATCTGAATTTAGATACACGACCATAATTTATTGGAAATCCAAATTTAATTGGGCACCCTCTGGTTTTATTTGCCA
AATCTGTCAACTCTAAGTGAGACACATGGACATGGATTACAGTGCTACCCATGCAAGCCACAGTGACAGCAACTTCA
CACATGTTTACATTTTAACTTTCTCTCTGTAAGAAAGTGCTTAGATAATTTGGTGATAAAAAGATAGCCATTGTTTG
ATCCAGGGTGGACACCTCTCTGCCATCGTTTCTAAAGGGCAAACGGAGATTTCTGCAGGTCTTGCTCACAGTCTGGG
GACCTGCTCATGTTTTGAACTGTCTGTATCAGAATGTCATTTTCTGGTTTCTCCCTTTCTGAGGGGACTTGACTA
CAAAACCAAGAGTTCTGCCTCTGGCCAAGGCTGGAATGTGATGCCTGCTAGTATTGTTGGGAGTGGGAGACTGAGA
GAAATGAGTTAGTTGGGGCATTTAACGGGAATAAAATAGCTGTGGTTGTGATTCACTATAGATAATTAGTGGAC
CAGTGCGGAGAAATTAAGAAAAAAGATGATGTGAACGATAAATGATATGATTAGTGACTGCTTGGTAAGGCAAGGA
AATCATTAATCTTGGTTCTCATCAAGTTCATTTTCTGAAAAGATAGCACTGCATTGGGACCAGAATTCTACAAAAC
ATTCTTTTTACATAGGACCAAGATTTTCAAGAAATATTTTCAATACAATTCTCAGCTGCTCCATACTAATAGTAG
CTTGTTCAACACAGATTTTTTTAGATGGTTCACACCTGTGGTTCTTACCCAGGGATAGTTCACCACCCCTCCCTTCC
CTCCCATCATCCTTGGGGAACAGTGACAATGTTTGAAAAATTTTTGGTTGTCACAACAGGGGTTTCTTCTGATATT
TAATGAGTAGAAGCCAGGAACACTGCTAGAGAACCTACAATGTTGAGAAGCCTCCGCCATCAACAAAGAATTATC
TGGTCCAAAATGTCAATAGTGCTGAGGCTGAGAGCACTGCTTCACGCTGTGCTCTTTCTGAAAATTCTACACTCACA
TCTGTTATACACTCACCACACAGTTCAGTTTTTCATAGTTTATTTTTGCTTCTTCCATTATAAAAAATTAGACAGTT
GCATAAATTTAACCCTTTCTTGTGAATCCATTTAGTCAATGCAAGCTCAGTATTTTCATATTTAGTTTTTGCCTT
ATGCAATATTTTTCAACATTTTCATGAGTTGTTGGTCATCACCATCTCTATTAACCTTTCAACAATTGCTCTTGTA
GTCACAAATAGTGATGCTGCTGAAATTATTTCTCACTAACATGCCTCAGATTTCTGTAGTGATTCTACATTTTATAT
TATTCACAATGTAAAATGCTTCTATGTACTATTTCACTTTTACCCAAGGATTATTTTTAAGTTATTTTTGTCAATTT
ACACACTTCAAACATAAAGACAAAAACATCAAAAAATATACTGTGTTTTACATAGGTGTCTATTTTACACATATA
TGTATGTATGTTTATATGTATGGAAGTACAGAAGCACATGTCGCCAATAAGAGCTCTGAGACACCTTTGACCACTT
ACCCTTATCAGATGAGATTTGCCAAATGAGTTGTGGAAACAAGTTTTTTAACTGAATTTCTGAGCTTTGTGAATTT

AGAAATGCAAAGGAAAGTTTGTGGACATTTACAGGGATCATGGTTTTATTGTCCTTTAAACTCTTCGATACTTTACC
ATTGTCTTACTATAAATCCAAAATCCTAACCCACCCACGAGGCTTTAAATACCTGGCTTCTTGTGATTTCTCCAGG
CTAATCTTTTACCCTCCTTCCCCCTCAGCCTCTCTGCTTTAGTGAACTTTCTCCTAGTTTTTTGAAGAAGTTCATCAA
TTCAAGCTTTTGTAGATGGGATTTCTTAAACCTGAAATGTGCCTCCCGTTTTGTCCAAACAGACACGGGCTCCACTC
TGCCCCCTGGCTCACACCTGCTTAACCCGTCAAGTCACATCTGAACTGTCACTCTTTAGAGGGTCTTCTCTGGCAC
CCTAATGTAATTGAGATCATCCTATTATTCTCTGCTCTAGAACTTCCCACTTCCGAGATTTCTCATTCTGTCTAAC
CTCTTGTGTGTTTTGGTGTGGCCATCGCTTTCCTGCTCTTTAAGCTCCCCCAGCGGAGTGGAGAGGTCTGTTTTTC
CCTTGTGGATTCTAGAGGCAGCGCAGGCCAGACACAAGGTCATCACTAAGAAAGTGTTACAGGATGAACGCGG
TGGGTGCTGTTTAAGGAACCGGTAAACATGTGGGATGAGAGAAGGAGCAGAGAGTGTTTTTCGGGTGGAGGCTCCCA
GGAGGAGGAGGGGCGGGCTGCGGTGCTGGGCGGATCCTCCTCCAGCTCCTGCTTGGAGGTCTCCAGAACAAGCTGGA
GGCAGGGATGGGGGTCCCAAAAGCCTGGGGATGAGAAGGGGTTCCCCGCATAGTCCCCCAGGCCCGTTTCGCT
CAGGAAAACGGAGGATGAGCTCCTGGGCTGCTGGTGGTGGGCGTTGCGGGGGGGCCGGTTAAGGTTCCAGTGCCC
GCACCCGGCCAGGGGGCCCCGGATGGCGGCGTCGCTGTCACTGTCTTCTCAGGAGGCCGCTGTGTGACCGGAGCA
TTCGTGTCCCCACAGCACGTTTCTTGGAGCTGCTTAAGTCTGAGTGTCAATTTCTTCAATGGGACGGAGCGGGTGC
TTCCTGGAGAGACACTTCCATAACCAGGAGGAGTACGCGCGCTTCGACAGCGACGTGGGGGAGTACCGGGCGGTGAG
GGAGCTGGGGCGGCCTGATGCCGAGTACTGGAACAGCCAGAAGGACCTCCTGGAGCAGAAGCGGGGCCAGGTGGACA
ATTACTGCAGACACAACCTACGGGGTTGGTGAGAGCTTCACAGTGCAGCGGCGAGGTGAGCATGTGCGGGGGCGGGGC
CTGGGTCCCTGTGAGCTGGAATCTGAGAGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGT
GAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGGAAGAGAGAGACAGAGAGAGGGAGCGGCCATCTGTGAGCATTTAGAATC
CTCTCAATCCCGAGCAAGCAGTTCTGAAGGCACAGGTGTGTGTGTAGAGTGTGGATTTGTCTGTGTCTGTGTGCCTG
TTGTGGGAGGGAAGCAGGAGGGGGCTGCTTCTTATCCTTGGAGACTTCTGTGGAGAGGTGACAAGGGAGGTGCGTG
CGGGCGGCTGGAGAGAGAGGAGACCTTGATTGTCTGGTCCCTAGAGATGCAGGGAAGGAAAGTGTAAGGTGTGTG
TGGGTGGGTGAAGGTTTAGGGGAGGAGAGCTGAGGGTAAGGAAGTTTGGGATAATGTGAGGAGGCCGGTTCCAG
ACTGTCCCTGGCACACACCCTTCATGTAATCTCTGAAATAAAAGTTTGTGCTGTTTGTAAGCATTAGATTAAGTT
CTAGGGGAATTGAGTAGACCTCTAAGGCACCTCTGAAACTTCTTTAGGTATAAATTTCTTGCTAGTTTTTTGTTTTT
CTAGTGTGTATATTTTTACATAGTAGAAATGACAGTGAACTAATTTTGAATTAAAGTTTAAACACAATTACTGTA
TTATTATAATGCTAATAGTTTTCTAGTAGTTACATATTATTCTTTTATATATAATAGTTGTGACACAACCTTAGGGAT
CACTTTCCCCTTTGTTGACCTTTATTATGACATTCACCAAAAGTTGAAAATGTATGTTTCTGGTTAATTTTTAATTT
ATATTTTTTCATTTGAAAAATGTGGAGAGGTCTGTTTTTCATTCAAAAGAGTTCTTTTGAATTATTTTGACCGATT
TATTGGTCAATTTTAATAACTGCTCTAAGAATTCCTATTTTATTTGGTAGGTAATGGACAATGATCTACTGCCTAA
TATCTCTAGGGCTTAGTATTTTTCTCAGTGACTTTGTGGGTCTTTGTACTGTAAGATTATTAACACTTTATTGATA
TTTGATTTCAGCATTTGCTCCAGTTTGTGGTTGTATGTTGATTTTGAAGTTCTTTTCCATGTTAAGAATTTGAACA
TTTTTATTTAATAAAATGTATTGCAAAAATTTTATTAATGATTTACAATCCATCTTAAATCTGCCATTTTGTGGTAT
TTTTGTCTCTAGGTTTCTCCTTACTTCTAAAAACATTGTATTTATTGAGAGTATGCTAATGTGCGGGATTTTCTCGG
GCATAAGCACCACAAGTAATGAGTTCCAGACCCTGCCTTAATCCAAATGTGATTCTGGAAAGAAAAATCATTTTACA
ACTGGCCTGATAATAATTCTGCTTGTGTTGCACGGGGGATACATTGAGCAGCTGAATGAAAATATAAGAACTTTCAA
AACTAAAATGACGCTCCTAAATCCTTCTGTCTGCTTTAGGACTCATGCTTTTCTAGGAACGTAAAAATTTGGAGAAT
CATTTCTGTCTGTCCACCTTCCAGGGGCAGAACCATTCTGTGGTGTCTAAGGTGTGAGTGCATGGCAGTAGTA
TTCCTAAAAATTCATACTCGGTTTTCTCATGTACCCAACTCTGTCCCTTGTCTATGTACATTGCTTTAAATCATAT

TTTTCTGTACGGAGTACAAGGATGATAAATAGGTGCCAAATGGAGCACCCAAGTGTGATGAGCCCCCTTACGGTGG
AATGGAGTGAGAAGCTTTCTGATCTCATAAATTGAAGGCTATCTTCAGTCATTATGTATTTTACATAAATTAATCCT
CATGTAACCCCAAGAGGTAAATTAGTATAATTATCCTTCATTGGGGGTGACAAAGTTGAGACACAGAAGAATCAACT
CTTCCAGGATCAACCAGTAAAAGGCAGACCTTGGATTGTAACCAGGCAACCTGGCTCAGATATCAGTTTAAATTACT
ACACTCTGTACTTTCAAAAATTTGTAAACACTTTGACAAATGCATGCCAATTTCAAGTTATGAAGAAGCAAACGCAAT
TTTTACATCTCTCAAATCTAATGGGTCTCACTATCAAGATTAAATTCAGGCTGATGACACTGTAAGGCCACATG
GCCAGCTGTGCTGGAGGCCTGGTCAAGGTCAGAGCCTGGGTTTGACAGAGAAGCAGACAAACAGCCAAACCAGCAGAA
TTACTCTGTCTTCTGACTCATTCCCTCTACCTTTTTTCTCCTAGTCCATCCTCAGGTGACTGTGTATCCTGCAAA
GACCCAGCCCCTGCAGCACCACAACCTCCTGGTCTGCTCTGTGAGTGGTTTCTATCCAGGCAGCATTGAAGTCAGGT
GGTTCCGGAACGGCCAGGAAGAGAAGGCTGGGGTGGTGTCCACGGGCCTGATCCAGAATGGAGACTGGACCTTCCAG
ACCCTGGTGATGCTAGAAACAGTTCCTCGGAGTGAGAGGTTACACCTGCCAAGTGGAGCACCCAAGCGTAACGAG
CCCTCTCACAGTGGAATGGAGTGAGCAGCTTTCTGATTTACATATTTCTCACCCACCAAGAAGGGGACTGTGCTAA
TCCCTGAGTGTGAGGTTTCTCCTCTCCACGTCCTATTTTCATTTGCTCCATGTTCTCATCTCCATCAGCACAGGTC
ACTGGGGATAGCCCTGTAACAGTGTGTAGAAACACCTGTACTCCCTGTGGAATCAGTCATGCTTTTTTTTTTTTGA
CCTCCCCATGATGTACAGGTCAGGGTCACCCGATCTCCCCAAGCTCCAGGCCCTGCTTCTGGGTCTGAGACTGAGT
TTCTGGTGCTGCTGCTCTGAGTTACTTGTTTTGATCTGGGAAGAGGGGAAGCATAGGGGCCTACCTGACATGAGGGG
AGTCCAATCTCAGCTCTACCTTTTATTAGCTCTGTCACTCTAGACAACTACTTAGCTTCATTGAGTCTCAGGCTTT
CTGTGGATCAGATGTTGAACTCTTGCCCTACATCAAGGCTGTAATATTTGAATGAGTTTGATGTCGGAACCTTGTA
CTGTTCAGTGTGATTTGAAATCCTTTTTTCTCCGAAATGGCTAGTTATTTTAGTTCTTGTGGGGCAGCCTTCTTC
CCCATTTTCAAAGCTCTGAATCTTAGAGTCTCAAGTAAAGAGGTTCAATCTGGAATAAGCATCACTAAACCTGGCTT
CCTCTCTCAGGTGCACGGTCTGAATCTGCACAGAGCAAGATGCTGAGTGGAGTCGGGGGCTTTGTGCTGGGCCTGCT
CTTCCTTGGGGCCGGGCTGTTCACTTCACTCAGGAATCAGAAAGGTAAGGAGTCTTTGGTAGCTGGCTCTCTCCATA
GGCTTTTCTGGAGGAGGAACCTATGGCTTTGCTGAGGTTAGTTCTCAGTATATGAGTGGCCCTGAATAAAGCCTTTCT
TTCCCCAACGGCTCTAATGTCTGCTAATCCAGAAATCATCAGTGCATGGTTACTATGTGAAAGCATAATAGCTTG
TGGCCTGCAGAGACAAGAGGAAGGTTAACAAGTAGGGGTCCTTTGGTTTGAGATCTTGAGCAAATTAAGGAAGAGC
CACTAAAGTTAATGGAATTACACTGGATCCTGTGACAGACACTTCATGCTTCATGGGTACATGGTCTGTTTCTGCT
CCTCTCTGCCCTGGTTGGTGTGGGTTTTGGTGTAGAACTCTCCGGTGGGAGATCTGGGACTGGGATATTGTGTTGG
AGGACAGATTTGCTTCAATATCTTTAAGTGTATATCTTTTCTCTTTTTTCCAGGACACTCTGGACTTCAGCCAAC
AGGTAATACCTTTTAATCCTCTTTTAGACACAGATTCAGTTTCTCCAGTGAGAGGTGAAGCCAGCTGGACTTCTGGG
TTGGGTGGGGACTTGAGAACTTTTCTGTCTTACAAGAGGTTTCTAAATGCACCAATGAGTGTCTGTAAAAACACA
CCAATGAGTGTCTGTAAAAATTGACACTCTGTGGCTCGCTAGATGTTTGTAAGATGGACCAATCAGCACTCTGTAA
AATGGACCAATCCACACTCTGTAAAAATGGACCAATCAGCACTCTTTAAATGGACCAATCAGCAGGATACGGGCAGG
GACAAATAAGGGAATAAAAGCTGGTCACCCTAGCCAGCACCGGCAACCTGCTTAGGTCCTTTTCTATGCTGTGGAAG
GTCTGTTCTTTCACTCTTCACAATAAATCTTGTGCTCACTCTTTGGGTCCGTGCCACCTTTAAGAGCTATAACACTC
ACTGCAAGGGTCTGTGGCTTCACTCTTGAAGTCAGCCAGACCCTGAACCTACCGGAAGGAACAACTCAGGACACAC
TAGAATGATGGTAGAGGTGATAAGGCATGAGACAGAAATAATAGGAAAGACTTTGGATCCAAATTTCTGATCAGGCA
ATTTACACCAAACTCCTCCTCTCCACTTAAAAAGGCCTGTGCTCTGCAGGACTATTGGCTCTGGGAGACTCAGGA
ACTTGTTTTTCTTCTTCTCCTGCAGTGTTCTCATCTGAGTCCTTCAAAGAGGGGAAAGAAACGTTAGTAGAGCCAGGT
TGAAAACAACACTCTCCTCTGTCTTTTGCAGGATTCCTGAGCTGAAGTGCAGATGACAATTTAAGGAAGAATCTTCT

TCCCCAGCTTTGCAGGATGAAAAGCTTTCCCGCCTGGCTGTTATTCTTCCACGAGAGAGGG

SEQ ID NO:15 HLA-DRB4*01:01

>OU231294.1用于MHC II类抗原的智人HLA-DRB4基因,等位基因HLA-DRB4*01:01:01:01

AACCTTTTGAGTACTAAATTAACAATCCTTTAAAGAAGACAATTGTTTCAGAGGAGGACCTTCATAC
AGCATCTCTGACCAGCAACTGATGATGCTAGTGAACCTCAGATGCTGACTGGTTCTCCAACACGAGATTACCCAATCA
AGGAGCAAGGAAATCAGTAACTTCCTTCCTATAATTTGAAATGTGGGTGGAGGGGGGTCATAGTTCTCCCTGAGTGA
GACTTGCCTGCTGCTCTGACCACTGGTCTTGTCTCTTCTCCAGCATGGTGTGTCTGAAGCTCCCTGGAGGCTCCTG
TATGGCAGCGCTGACAGTGACATTGACGGTGCTGAGCTCCCCACTGGCTTTGGCTGGGGACACCCAACGTAAGTGCA
CATTGTGACTGCAGAGCTACTATGGGGTGGGGGCAAAAAATAGGAAGTTTTGTTAACATTGTGCCCAGGCCATGTCTC
TTATGAAATTGTGACACTTTCTTCAGAGATTGCCCATCTTTATCAGATGGATCCCAAATTATTTCCACCACAAAAGG
CGCTTGGCTACTTGTCTGTCCATGAGATTTGTGTAAAGGGCCTACACACAGGTCATTTCTTCTCAAATCTCCACCA
ATAAACCTATGCATCACATGTCCTCAGGGTCTTTAGAGGATTTAGAAATAAGTATGCTAAAATAATTTCCCCATAC
AGCACTTCCCTTTATTATGTTGACTTATGTCAGACAAAAGGAGGTTTTTACTGAAAATTTTGTGGGAGTCAAGGGAA
TTCAAAGGGTCTCTCCTAGACGATCCAGTGTTATGTCCTCCACAGGACCTTTGGTGTGGCCCTCTTCTCATATG
TGAGGATGGATCCAGTGGCCTCCCCATTATCTCCTTTCTTTCTTCTGAACTCCAATGTTTATAAAGCCTGTACCC
CTGTTGCTTATGTAGTTCTCTGACAAAAGTTATACTTAGTGCTCTTTCTTTCTTATGGGGAAAAATCCGTGGAAC
GAAGCTGAGATCTTTAGTACGTGGAGTCACCTTACAGATACAGAGCATTATGCGGTATTCATTGGTGCCTAAAGAA
CTTTAGGCATCCTCTGGAACACCGGCCAGGTTAGTGTTTATTATGAATCTTTTTTAACCGTTCTATACTTGTCTCT
CCTACATCTCTTACATGCTCTAACTAGACATGACAGAAGAGATTTAACTAATGTAGTATAAATTGTATGAAATTCTA
TTTTTGTAAGTCAAAAATAATCAAAATATCAGAAATGTAATAATGTTCAAATATATACTCTGTGTGGGGTTTTTGAG
ACAATGTGGACATTGTTTCATGTCTCATAAGGCTGAAAGTCAATGAGCAAGTCCTGGAACTCATTGTCTTACTGGGG
TCTTGTCTTAAATTTTCATAGGTTACCCATCATGCCCTCAGCTTTCCTTAATTAGCCATGTCTGCTTACCTCTTCT
CCACTTTCTCTCTTTTCCCCAGCTATGTTGTCATCATTTCCAAAAATCTCTAAAGCTTGCACAGATCCTTAGCACTA
TGAGATCCATTGAAAGACATAATTTTTTTCTTTTGTAGATAGGGCCTAGCTCTGTCACCCGGGCTGTAGCTCAGTGG
TGTGATCGAGGCTCACTGCAACCACTGCCTCCCATGCTCAAGCGATCTTCCCTCCTCAAGCTCCGGAATAGCTGGGA
ATAGAGGCAGGCAACCACGCCCAGCTAATTTTTTAATTTTGGTAGAGATGAGATTTGCCATGTTGCCAGGCTGGT
CTTAAACTGCTGGACTCAAGCAATCCTCCTGCCTTGGCCTCCCATCGTGCTAGGATTATAGATGTGAGCCACTGTGC
CCAGGCAAAAAGAAATGACTCTTAATAAAAAAAATTTCTTTTCTTAAATCACTGTTTCTTTATCTGTGAATTCTT
CTTCCAAGTAGAAGGAGGAGAAAGAAGAAGTTTGCCTGTATTTCTCACCAGGGGGGAGAAGGGGTCTAGTGTGACATC
AAAATGAAAGGGTGCTGGAGCTTGAGCCCCCTTCTGCTTTCCGGGATCCCCACAGTGATCAGTTCTCATACCCTGGT
TTATTCGTGTAAACCACACTTATTTTTCTCAGCAGCTACTGTGTACTAGGCTCCATTCTAGGTTCAAATCATTCTAT
TTGAGTAAGATAGAGAGGGTCCCGACTCTCAAGGAAGTTACACAACAATAGAGGAGACAGACCTAACCCAATAAGC
ATTTAACAAAAAGAAAATGTTAGAGAGTCATAGTCACTGAAGAAAAGACAACAGGTTTGTGCGAACGATAGAAAT
GGATTCACCTACTTTAGTTCATATGTTTAGGGAGCCCTACCTGAGAAAGTGACATTCAGCTGAGACAACAAAGTAAG
TAGACAGTCGTGAAGATCTAACGGACGAAAGTTCCAGGGAGACTGAATCGAGGGAAAGCCCTGGTGTGGGAAATTAT
GTGGAGGGAGAGAAAGAAGGCTAGAGGGGCTGATGTATAGGAAGCAAGGAAATAGGGGGGCAGAAGATGAGGTAGAA
CACAGAGAGGAAGTCAGGAGCCTCATCATATTAGGCTCTGAAATCCACGGTAAAAAATTTGAATTTCAATTTATTTAT
TTATTTTGAGACGGAGTTTCATTCTTGTGGCCAGACTGGAGTGCAATGGCACAATCTCGGCTCACTGCAACCTCCG

CCTCCTGGGTTCAAGTGATTCTCCTGCCTCAGCTTCCCAAGTAGCTGGGATTACAGGCACCCACCACCATACCTGGC
TATTTTTTTGTATTTTTAGTGAGATGGGGTATCACCATGTTGACCAGGCTGGTCTCGAACTCCTGACCTCAGATAA
TCTGTCTGCCTTGGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAAGAGTGGGCCACTGTGCCCAGACTGAATTTTATTTAAATA
GATATGAGAACTACTGTATGGTTACACGGAGAGTCAATTTATATTTCAATTTTGTGTGTGTGTGTTTGTGAGATCGA
GTCTTGCTCTGTTGCCCAGGCTAGATTGCAGTGGCACAATCTCGGTTTACTGCAACCTCTGCCTCCCAGGTTCAAGC
GATTCTATTGCCTCAGCCTCCCGAGTAACTGGGACCACAGGCGCATGCCACTACACCCGGCTAATTTTTTTGTATTTT
TAATAGGGATGGGGTTTACCGTGTTAGCCAGGTTGGTCTCGATCTCCTGACCTCGTGATCTGCCACCTTGGCCTC
CCAAAGTGCTGGGATTACAGGCGTGAGCCACTGCACCCGGCCTATATTCAATTTTTAAACTAACTCTAGCTACTCT
GTAGGAATTGGATTGTTGGGGTTCAAAAGTGGTCAGGAAGACTATTTAGGAGCACAGCAGGAATTATCCAGGGAAA
ACAGGCTTGTGGCTTCATGGAGTGCATTAGTGATAAAGAGAGTGAAAAAGATAAAGTGGACAGACTTGGCATGTATT
TTTGCTTAGCTTGCTAATGAATTACTGTAAAGGGGTTAGAACAATCAAGCTTATTCCTAAGGATTTTGTGTTTGACAA
ATAAGTGGGTGGTAGTGTTGTTTATTGAGATAGGAAAACTATGGGAGGAAATGATTTGAAGTGGGTGGTTGGAAAT
AAAAGTTTTGTTTAAATTTGAGATGATTTATTGACATTTATGTGGAGCAATCCGAAGGTCAATGGCATTTAAGAGAC
TCATGGTGAGGTGAAGCTAGGGCTTCAGGTATTTATGTTGGCGGCATCAATAAGTGTAGTGTGTTAAATTCCAGGGA
GTGGAAGATGATACATAGGGAGATGGATTGTGTGGAGAAAAAAGAAGAGGGTACAGGCCAGCAAAGGGGGCTGAGAA
AGAGCCCAGGGAGGCTGGAGAAAACCAAGATAACATAATGCGTGTAAGTGAAGAAAAACAGATTATTTTCAAGGAG
AAGGGAGAGGCCAATTGTGGTGAGTACCACTAAGAGGAGAGGGAAGTGAGAACGTGACAGAGAAGCAAGTGTGGGT
TGCTGGTTTGCTGGAGTTGATATTTGCAGTCAATGGAGTATCCAGGGAGGAACTGGATTGGACCATTTGAAGAGCA
AGTAGAAGTGAGGACGAAGTTAAGATTGACTGTTTTGAGTAGAGAGCTTCAGGGAAGGACTGTGCTCTGGGTTTCAGG
GAGCCAGCTGATTCTAAAGGAAAAGGCTAAAGAAGCTGAAGAACCAGCTTCCCAGCACCATTTATTAATAGGGAA
TCCTTTCCCCATTTCTGTTTTTGTGAGATTTATCAAACATCAGATGGTTGTAGATGTGTGGTATTATTTCTGAGGG
CTCTGTTCTGTTCCATTGGTCTATATCTCTGTTTTGGTACCAGTACCATGCTGTTTTGGTTACTGTAGGCTTGTAGT
ACAGTTTGAAGTCAGGCAGCATGATGCCTCCAGCTTTGTTCTTTTGGCTTAGGATTGTCTTGGAATGCGGGCTCTT
TTTTGGTTCCATATGAATTTTAAAGTAGTTTTTTGCAATCTGTGAAGAAAGTCATTGGTAGCTTGATGGGGATGGC
ACTGAATCTATAAATTACCTTGGGCAGTATGGCCATTTTCACGATATTTATTCTTCTTATCCATGAGCATGGAATGT
TCTTCCATTTGTTTGTGTCCTCTTTTATTTAGTTGAGCAGTGGTTTGTAGTTCTCCTTGAAGAGGTCTTCACATGC
CTTGTAAGTTGGATTCCTAGGTATTCTGTTCTCTTTGAAGCAACTGTGAATGGGAGTTCACTCATGATTTGGCTCTC
TGTTTGTCTGTTATTGGTGATAAGAATGCTTGTGATTTTTTGCACATATGTAGAAAGCTAAACTGGATCCTTTCT
TTGCACCTCATACAAAAATTAATTCAAGATGGATTAAAGACTTAAATGTTAGACTTAAACCATAAAAAACCCTAGAA
GAAAACCTAGGCAATACCATTCGGGACATAGGCATGGGCAAGGACTTCATGTCTAAAATACCAAAAGCAATGGCAAC
AAAAGTCAAAATTGACAAATGGGATCTGATTAACTAAAAGAGCTTCTGCACAGCAAAAGAACTACCATCAGAGTCA
ACAGGCAACCTACAGAATGGGAGAAAAATTTTGAATCTACTCATCTGACAAAGGGCTAATATCCAGAATCTACAAA
GAACTCAAACAAATTTACAAGAAAAAACAACAACCCCATCCAAAAGTGGGCAAAGGATATGAACAGACACTTCTC
AAAAGAAGACATTTATGCAGCCAACAGACACATGAAAAATGCTCATCATCACTGGCCATCAGAGAAATGCAATCA
AAACCACAATGAGATACCATCTCACACCAGTTAGAATGGCAATCATTAAGAGTCAGGAAACAACAGGTGCTAGAGA
GGATGTGGAGAAATAGGAACACTTTTACACTGTTGGTGGGACTGTAAACGAGTTCAACCATTGTGGAAGACAGTGTG
GTGATTCCTTAAGGATCTAGAACTAGAAATACTGTTTGACCCAGCCATCCCATTACTGGGTATATACCCAAAGGATT
ATAAATCATGCTGCTATAAAGACACATGCACACGTATGTTTATTGTGGCACTATTCACAATAGCAAAGACTTGGAAC
CAACCCAAATGTCCATCAATGATAGACTGGATGAAGAAAAATGTGGCACATACACACCATGGAATACTATGCAGCCAT

AAAAAAGGATGAGTTCATGTCCTTTGTAGGGACATGGATGAAGCTGGAAACCATAATTCTCAGCAAACATCACAAG
CAGAAAAAAACCAACACCACATGTTCTCACTCATAGGTGGGAATTGAACAATGAGAACACTTGACACAGGAAGAG
GAACATCACACACCGGGGGGAGGGGGGAGGGATAGCATTAGGAGATATGCATAATGTAAATGACGAGTTAATGGGTG
CAGCACACCAACACGGCACATGTATACGTGTGTAACAAACCTGCACATTGTGCACATGTACCCTAGAACTTAAAGTA
TAATAAAAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAAGAGCTGAAGAGAAGGAGGAGGACTTGTGAACCAGAGATGC
TCAGTCATTATTAGCGAGGAAATGCTAGAGAGCCCCCTGTGTGCAGTGCTGACTACTTATGCAAAAGGTCACACAGCC
AATATTTAACACAGCCAGTATTTACACAGCCAATATTTATTAATGACATAGCATACATATACCAGTTATTACTCTA
GGTCATAAGAATGGAGTGATAAATAAATGAATCTGGTCGCCATCAGTATATGCCAGGTAACATTTTGCAGTGACTG
TGTACCAGGCCTATGAATTTTCAGTATGCAATTTCAATAATTATCCTGTTGTATCTGTGGTATTTAAAAACATATAC
ATCTCTGGAATCTAAAATTGAGAGGATATGAGTAAAAACCCAGTGTTACAAATTTAGTGCTGGAAATCAGATTGCAGT
TTAAATCTGAGCATGTAGAAAGTCCCTTTCTTCTATGTGCAGCAGATGCCTTTTGTGTGAGGTTTAGGTATACTGCTT
TATTAGACATAAACAGTGTTTCTGCCCTATGTTTTCAGAATGACAATTCCTTATGAACTAATAGAAGAACAGAAG
ACAATTGCAAAATCATGATGAAGATACTAATTGCTCTAGAATTCAGGAATACATAAAATGATGTGAGCTGCAGTTAT
AGGGATCATAAAAGTTAAAATGGGAATGCATTTGAGTGTTTATTATGTGATCAGTGCTAATAAGAGTCATCATTTAA
TTTTACACTTAACAGTAATCCTGTGAGGATTACGCTATTATTAATGCATTTGATAGATTACAAAAAGGATTATGGT
TGGTAAAAATTGCCCCAAGTAGAAGAGATCATGTTTTTTATTCAGGTTATCTGATTCTAGAGTTTGAGAGTTTGACC
ATCATTAGTGAGTAGTGACTATATTGTGTCTGAATTATTGACAGAATTTCTGATATTCAAATGTACCAGGTTGCTTC
TTAGAGTGCAGACAGAGATGCAAGGGCTGCTAGTTCGGATGTATAGGAGAACTTTCATTCATTTACATTTATCAT
TTTAAAGTTCTGTATGTCTATAATGGTCATGTGTTGAAGAACACAAGGAAGTATTAATCACTCCTTCTTCTGAGG
TTTGACTAGCAAGTTGGGCTAGAGTTACCAAATAAAATACATGTTCCTAGTTAAATCTGAATTTAGATACACAACC
ATGATTTCTTGAAATTCAAATTTACCTGGGCATCCTCTGGTTTTATTTGCCAAATCTGTCAACCCTAAGTGAGACA
CATGGACATGGATTACAGTGCTAGTCATGCAAAACCACAGTGACAGCAACTTCACACATGTTTATTTTTTAACCTTCT
GTCTGTAAAGAAAGTACTTAGATAATTTAGGGATAAAAAAGATAGACATTGTTTGATCCAGGTTGCACACCTCTCTGC
CATCATTTCTAAAGGGCAAAGGGACATTTCTGCAGGTCTTGCTCACAGTCTGGGGACCTGCTCGTTTTTGCAAACCTG
TCTGTATGAGTATGTCATTTTCTTGGTTTTCTCCCTTTCTAAGGGGACTTGACTGCAAAACCAGGAGTTCTGCCTCTG
GCCAAGGCTGGAAATTTGATGCCTGCTGGTATTGTTGGGAGTGGGAGACTGAAAGAAATGAGTTAGTTGGGGCATCA
AATGGGAAATAAAATAGCTGTGGTTGTGATTCATTATTACAGAAAATTAGTGGACCAGTGGCAGAGAAATTAAAAAA
AAAGATGATGTGAACGATAAACGATATGATTAGTGGCTACTTGGTAAGGCAAGGAAATCATTAATCTTGGTTCTCA
TCAAGTTCATTTTCTGAAAAGATAGCACTGTATTGGGACCAGAATTCTACAAAACATTCTTTTTATGTAGGACCAAG
ATTTTCAACAAATATTTTTCAATGCAATTCTCAGCGCTCCATAACTAATAGTAGCTTGTTCAACACAGATTTTTTTCG
GATGGTTACACCTGTAGTTCTTACCCAGGGATAGTTCACCACCCCTCCCTTCCCTCCCATCATCGTTGGTGAACGG
TGGCAATGTTTGAACAATTTTTGGTTGTCACAACAGGGGTTTCTTCTGATATTCAATGAGTAGAAGCCAGGGACAC
TGCTAAAGAACCTACAATATTCAGAACAGCCTCTGCTATCAACAAGGAATTATCTGGTCCAAAATGTCAATAGTGCT
GAGGCTAAGAGCACTGGTTACACTGTGCTCTTTCTGAAAAATTCTAGGCTCACATCTTGTATACACTCACCACACAG
TTCAGTTTTTTATGGTTTATTTTTGGTTGTTTCATTATAAAAAATTAGACAGTTACATAAATTCAACCATTTTCTTG
TTGAATCCATTTAGTCAATGCAAGCTTAATATTTTCATATTTATTTTTTGCTTATGCAATATTTTTCAACATTTTC
ATGAGTTGTTGGTCATCACTATCTCTATTAACCTTCAACAACCTGCTCTTGTAAAGTCACAAATAGTGATGCTGCTGA
AACTGTTTCTCACTAACAGGCTCAGATTTGTGTAGTGATTCTACATTTTATATTATTCATTTGTAATGCTACT
ATTTATTCATTTCACTTTTACCCACAGGATTATTTAAGTTATTTTTTGTCAATTTTCACACTTCAAACATAAAGACA

AAAACATCAAAAATATATACAGTGTTTTACATATGTGTATATTTTCACATATATCTGTATGTATGTTTATATGTATT
GAAACTACAGAAGCACATGTCACCAATAAGAGCTCTGAGACACCTTTGACCACTTACCCTTATCAGATGATATTTGC
CAAATGAGTTGTGGAAACAAGTTTTTTTTTAACTGAATTTTCAGAGCTTTGTGGATTTAGAAATGCAAAGGAAAGTTTG
TGGACATTTACCGGGATCATGGTTTTATTCTCCTTAAAACTCTTCAATACTTTACCATTGTCTTTAGTTAAATCCAA
AATCCTAACACCACCCACGAGGCTTTTCAATACCTGCCTTCTTGTGATTTCTCCAGCCTAATCTTTTACCTTCCTTC
CCCTCAGCCTCTCTGCTTTAGTGAACCTTTGTTCTAGTTTCTTGAAGAAGTTCATCAATTCAACCTTTTGTACATGGG
ATTTCTTAAACCTGAAAATGTGCCTCCCGTTTTGTCCAGACAGACACAGGCTCCATCCACTCTGCCCCCTGGCTC
TCACCTGCTTAACCTGTCAAGTCACATCTGAACTGTCACTCTTCAGAGGGTCCTTCTCTGGCACCTAATGTAATTG
AGATCATCCTTTTTATTCTCTGTTCCAGAACTCCACACTTCTGACGTTTCTCATTCCTGTCTAAGCTCTTGTGTGTTT
GGTTTTTGGCCATCACGTTCACTGCTCTTTAAGCTCCCCCAGCGGAGTGGAGAGGTCTGTTTTCTTTGCTTGGATT
CCTAGAGGCAGCGCAGGGCAGGCACAAGGTCAGCACTAAGGAAGGGTTCACAGGATGAACACGGTGGGTGCTGTTGA
AGGAACCGGTAAAGCGTGTGGGATGAGAGGAGCAGAGAGTGTCTTTCAGGTGAAGACTCCCAGAAGGAGGCCGCGTG
GGCCGCGGTGCTGGGCGGATCCTCCTCCAGCTCCTGCTTGAGTTCTCCAGAACAGGCTGGAGGCAGGGAGGGGGTCTC
CCCCAAAGCCTGAGGATCAGAAGGGGTTTTCCCGCCTGGTCCCCCAGACCCCGGTTTCGCTCAGGAAGACTGAGGAC
GAGCCCCTGGGCTGCTGGTGGTGGGCGTTGCGGGTGGGGCCGGTTAAGGTTCCCAGCGCCCGCACCCCGCCAGGGA
GCCCCGGTGGTGGCGTCGCTGTCAGTGTCTTCTCAGGAGGCCCGCCGTGTGACCGGATCGTTTCGTGTCCCCACAGC
ACGTTTTCTTGGAGCAGGCTAAGTGTGAGTGTCAATTCCTCAATGGGACGGAGCGAGTGTGGAACCTGATCAGATACA
TCTATAACCAAGAGGAGTACGCGCGCTACAACAGTGACCTGGGGGAGTACCAGGCGGTGACGGAGCTGGGGCGGCCT
GACGCTGAGTACTGGAACAGCCAGAAGGACCTCCTGGAGCGGAGGCGGGCCGAGGTGGACACCTACTGCAGATACAA
CTACGGGGTTGTGGAGAGCTTCACAGTGCAGCGCGAGGTGAGCATGGTGGAGGGCGGGGCTGGGTCCCTGTGAGC
GGGGAATCTGTGTATGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGACAGACAGAGGAAGAGAGA
GAGAGCGTGTGCCATCTGTGAGCATTTAGAATCCTCTCTATCCTTTCTTATGGCTGCGTAGTATTCCCTGGTGTATA
GGTGCCACATTGTCTTAATCCAGTCTATCATTGATGGACATTAGGGTTAATTCCAAGTCTTTGCTATTGTGAATAGT
GTCAGTTCATGTCCTTTGTAGGGACATGGATGCAGCTGGAAACCATCATTCTCAGCAAACTATCACAAGGACAGAAA
ACCAAACACCACCTGTTCTCACTCATAGGTGGGAATTGAACAATGAGAACACATGGACACAGGAAGGGGAACATCAC
ACACAGGGGCTGTCGTGGGTGGGGGAGCAGGGAGTGATAGCATTAGGAGATATACCTAATGTAAATGACTAGTT
AATGGGTGCAGCATACCAACATGACACATGTGTACATATGTAACAAACCTGCACGTTGTGCACATGTATCCTAGAAC
TTAAAGTATAATAATAATAATTATATATATATATATATATATATAGAAAAACAAACAAAAAGAATCTTCTGTATCCTG
AGCAAGGAGTTCTGAAGGCACAGGTGTGTGTAGAGTGTGGATTTGTCTGTGTGGCTGTTGTGGGAGGGGAAACAGGA
GGGGGCTGCTTCTTATTCTTGGAGGCCTCTGTGCAGAGGTGACATGGGAGGTGGGTGTAGGGGGCTGGAGAGAGAGG
AGACCTTGATTGTCCTGGGTCCTTAGAGATGCAGGGAAGGGAAGAATAAGGTGTGTGTGGTTGGGGTGAAGGTTTAG
GGGAGGAGAGCTGAGGAGTGTGGAAGGTTTGGGATAATGTGAGGAGGCCAGTTCAGACTGTCCCTGGCACACACCC
TTCATGTAATCTCTGAAATAAAAGTGTGTGCTGTTGTTTGTAAAAGCATTAGATTAATTTCTAGGGGAATTGAGGA
GACCTCTGAGGCACCTCTGAAGCTTCTTTAGGTCTAAATTTCTTGCTAGTTTTTTGTTTTTTTAGGGTGTATATTTTT
ACATAGCAGAAATGACTGTGAAACTAACTTTTTGAATTAAGTTTTAACACAGTTACTATTTTATTATAATGCTAAT
AGTTTTCTAGTAGTTACATCTTATTCTTTGTATATAATAGTTGTGACACAACCTACCTCACTTTCCCCTTTTTGTT
GACCTTTATTATGACTTTCACCAAAAGTTGAAAATGTATGTTTCTGGTTAATTTTTACTTTATATTTTTTCAATTTGTA
ATTCTTTTGAATTATTTTGACCTATTTATTGGCCAATTATAATTACTGCTGTAAGAATCCCTATTTCAATTTGGTAG
GGAATGTACAATGATCTACTGTCTAATATCTTAAGGGCTTAGTATTTTTCTCAGTGACTTTGTGGGTCTTTGTACT

GTAAGATTATTAACACTTTATTGATATTTGATTTCAGCATTTTCTCCAGTTTGTGGTTTGTATGTGGATTTTGAAAAG
TATTTTCCATGTTAAGAATTTGAACATTTTATTTAATAAAATATATTGCGAAATATTAATTAATGATTTACAATCA
TCTTAAATCCACCATTTTGTGGTATTATTGTCTCCAGGTTTCTCCTTACTTCTAAAAAAAACGTATTTATTGAGT
ATGCTAGTGTGAGGATTTTCTGGGCATAAGCACCCCAAGTGACGAGTCCCAGACACTGCCTTAATCCAAATGTCA
TTCTGGAAAGAAAAATCATTTTACAATGATAGGCCAATAATAATTAAGCTTGTGTTGCACAGGAGATACATTGATC
AGCTAAATGTAAACGTAAGAATTTCAAACTAAAAATGACATTCCCTTAATCATTCTCTCTGCGTTAGGACTCATGCT
TTTCTAGGAACGTAAAAATTTGAGAATCATTTCTGTCTGTCCACCTTCCCAGGGGCAGAACCATTTCTGTGGTGTT
CTAAGGTGTGAGTTCATGGTGGTAGTATTCCCCAAAAATTCATACTCGGTTTCTCATGTACCCAACTCTGTCCCTTT
ATCTACCCACATTGCTCTAAGTCATATTTTCTGTACGGTGTACAAGGATGATAAATAGGTGCCAAGTGAGACACC
CAAGTGTGATGAGCCCCCTCACAGTGAATGGAGTGAGAAGCTTTCTAACCTCATAAATTGAAGGCTATCTTCAGTC
ATTGTTTTATATATTTTACGTGCATTAATCCTCATATAACCCCAAGAGGTAAATTAGTATAATTATCCTTCATTGTA
GGTGACAAAGTTGAGACACAGAAGAATCAAAAACTCTTCCAGCATCAACCAGTAAAAGGCAGACCTTGGATTTCAA
CCAGGCAACATGGCTCAGATATCAGTTTAAATTACTACACTCTACTGTCAAAGATTTGTAAACACTTTGACAATGCA
TGCCAATTTCAATCTATGAAGAAACAAACACAATTTTTCACAACATCTCTCAAATCTAATGGGTCTCACTATCAAG
ATTAAATTCCAGGCTGATGACACTGTAAGGCCACATGGCCAGCTGTGCTGGAGGCCTGGTCAAGGTGAGGCCTGGG
TTTGCAGAGAAGCAGACAAACAGCCAAACAAGGAGACTTACTCTGTCTTCATGACTCATTCCCACTACCTTTTTTTT
CTCCTAGTCCAACCTAAGGTGACTGTGTATCCTTCAAAGACCCAGCCCCTGCAGCACCAACCTCCTGGTCTGCTC
TGTGAATGGTTTCTATCCAGGCAGCATTGAAGTCAGGTGGTTCGGAACAGCCAGGAAGAGAAGGCTGGGGTGGTGT
CCACAGGCCTGATCCAGAATGGAGACTGGACCTTCCAGACCCTGGTGTGCTGGAAACAGTTCCTCGGAGTGAGAG
GTTTACACCTGCCAAGTGAGCATCCAAGCATGATGAGCCCTCTCACGGTGCAATGGAGTTAGCAGCTTTCTGACTT
CCTAAATTTCTCACCCACCAAGAAGGGGACTGTGCTAATCCCTGAGTGTGAGTTTCTCCTCTCCCACATCCTATTT
TCATTTGCTCCATGTTCTCATCTCCATCAGCACAGGTCAGTGGGCTACTGGGGTAGCCCTGTAGGTGTTTCTAGAA
ACACCTGTACCCCTGGGGAATCAGTCACGCCTGCCAGGCAGGAGAGGCTGTCCCTCTTTGAACCTCCCCATGATG
TCCCAGTTCAGGGTCACCCACTCTCCCCAGGCTCCAGGCCCTGCCTCTGGGTCTGAGACTGCGTTTCTGGTGCTGTT
GATCTGAGTTGTTTGTGTGAGAAGAGGAGAACTCTAGGGGCCTTCCTGACATGAGGGGAGTCCAATCTCAGCTCTG
CCTTTTATTAGCTCTGTCACTCTAGACAACTACTTAACCTCACTGAGACTCAGGCTTTCTGTTGATCAGATTTTGA
AGTTGCGCCTTACATCAAGGCTGTAATATTTGAAATGAGTTTGATGCCTGGACCTTGTAAGTGTACAGTGTGATTT
GAAAACCGTTTTTTCCCCAGAAATGGCTAGTTATTTAGTTCTTACAGGGCAGCCTTCTTTCCCATTTTGAAAGCT
CTGAATCTTAGGGTCTCAATTACAGAGGTTCAATTTGGAATAAACACTAAACCTGGCTTCCTCTCTCAGGTGCACGG
TCTGAATCTGCACAGAGCAAGATGCTGAGTGGAGTCGGGGGCTTTGTGCTGGGCCTGCTCTTCCTTGGGACAGGGCT
GTTTATCTACTTCAGGAATCAGAAAGGTGAGGAGCTTTTGGGAGCTGAATCTCCATAGGCTTTTCTGGAGGAGGAAC
TATGACTTTTGCTAGGGTTAGTTCTCAGTATATCAGTGGCCCTGGATAAAGCCTTTCTTTCCCCAAATGACCTCCAAT
GTCCTGATAATCCAGAAATCATCAGTGCATGGTTACTATGTCAAAGCATAATAGCTTGTGGCCTGCAGAGATAAGAG
AAAGGTTAACAAGTAGGGATTCTTTGGTTGGAGATCCTGGAGCAAATTAAGGAAGAGCCACTAAGGCTAATGCAATT
ACGCTGGATCCTGTGACAGACACCTCATGCTTCATGGGTACATGGTCTGTTTCTGTTCCCTCTCTGCCCTGGTTGGT
GTGGGTTGTGGTGTTAGAGAAATCTCAGGTGGGAGATCTGGGGCTGGGACATTGTGTTAGAAGACAGATTTGCTTCC
ATATCTTTTAAGTGTATATCTTTTCTCTTTTCCCAGGACACTCTGGACTTCAGCCAACAGGTAATACCTTTTAAT
CCTCTTTTCAGAAAGAGATTTCAGTTTCCCTAGAATGATGGCAGAGGTCATAAGGCATGAGACAGAAATAATAGGAAAG
ACTTTGGATCCAGATTTCTGATCAGGCAATTTACCCCAAGACTCCTCCTCTCCACTTAGAAAAGGCCTGTGCTTTGC

AGGATCATTGGCTCAGGGAGACTTAGGAACTTGTTTTCTTCTCCCTGCAGTGCTCTCATCTGAGTCGTTGAAAGCG
GGGAAAAGAAGTTTTAGTAAAGCCAGGTCTGAAAACAATTCCTCTGTCTCTGCAGGACTCTTGAGCTGAAGTGCAG
ATGACCACATTCAAGGAAGAACCTTCTGCC

SEQ ID NO:16 HLA-DRB3*03:01

>HG993100.1用于MHC II类抗原的智人HLA-DRB3基因,等位基因HLA-DRB3*03:01:

01

CTCTGGCCCCTGGTCCTGTCTCTTCTCCAGCATGGTGTGTCTGAAGCTCCCTGGAGGCTCCAGCTTGG
CAGCGTTGACAGTGACACTGATGGTGCTGAGCTCCCGACTGGCTTTCGCTGGGGACACCCGACGTAAGAGCACATTG
AGGGTGCTGAGCTACTATGGGGTGGGGGAATATAGGGAGTTGTGTTAACATTGTGCCCAGGCCATGTCCCTTAAGAA
ATTGTGAGGTTTTCTTCAGAGATTGCTCATCTTTATCAAGGGATCGCAAATTATTCCTCCACAAAAGGAACTTGGC
TACTTGCCCTCTCCATGAGACTTGTGTAAGGGGCCCTTGTACAGGCCATTTCTTCTCAAATCTCCACCAATAAAACC
TTTGCATCACATGTACTCAGGGTCTTTAGAGGATTTGGAAATAAGGATGCTAAAATAAATTCCCCATACAGCAATTC
CCTTTATTATGTTGACTTATGTCAGACAAAAGGAGGTTTTTACTGAAAATTTTGTGGGAGTCAAGGGAATTCAAAGG
GTCTCTCCTAGACGATCCTGGGTTATGTCCTCCACAGGACCTGTGGTGTGGCCCCCTTCTCCTCATATGTGAGGATG
GACCCAGTGGCCTCCCTAGTATCTCCTTTCTTTTCTTCTGAACTCCAATGTTTATAAAGCCTGTATCCCTGTAGTG
TATGTAGGTTGTCTGACAGAAGTTATACTTAGTGCTCTTCTTTCTTTTGGGGAAAAATCCCTGGAAGTGAAGCTGA
GATCATTAGTACTTGAATCACCTTACAGATACAGAGCACTTATGAGGTATTCTTTGGTGCCTAAAGAAGTAAAGGC
ATCCTCTGAAAACTGGCCCAGGTAGTGTTTATTATGAATCTTTTTAACCTTTCTATACTTGTTTCTCCTACATCT
CCTACATGCTCTAACTAGACATGACAGAAGAGATTTAACTAATGTAGTATAAATTATATGAAATTCTATTTTTGTAA
GTCAAAAATAATCAAATATCAGAAATTTAATAATGTTCAAACATATACTGTGTGGGGTTACCGAGACAATGTGGAC
ATTGTTACATCTCATAGGGCTGAAAGTCAATGGGCAAGTCCTGAAACTCATTGTCTTACTGCGGTCTTGTCTCTCA
GTTTCATAGGTTACCCATCATGCCCTCAGCTTTCCTTAATTAGCCATGTCTGCTTACCTCTTCTCCCATTTCTCT
CTATTTTTCCCAACTATGTTGTCATCATTTCCAGAAATCTCTAAAGCTTGACAGATCCTTAGCACTATGAGATCC
ATTGAAAGAGATAATATTTTTCTCTTTGAGATAGGGCCTGGCTCTGTCACCCAGGCTGTAGCTCAGTGGTGCGATCG
AGGCTCACTGCAACCTCTGCCTCCCACACTCAAGCAATCCTCCCTCCTCAGGCTCCAGAGTAGCTGGGAATACAGGC
AGGCAACCACGCCCAGCTAATTTTTGCAATTTTGGTAGAGAGGAGATTTTGCCATATTGCCCAGGCTGGTCTTAAAC
TGCTGAACTCAAGCAATCCTCCTGCCTTAGCCTCCCAACATGCTAGGATTATAGATGTGAGCCAGTGTGCCCAGGCA
AAAGAGATGACTCTTAATAAAAAAGATTTCTTTTTCTTAAATCACTGTTTCTTTATCCGTGAATTCTTCTTCCAAC
AGAAGAAGGAGAAAGAAGTTTGCCTGTATTTCTCACCAGGAGGAGAAGGGGTCTAGTGTGACATCAAAATGAAAGAG
TGCTGGAAGTTGAGCCCCTTCTTGCTTTCCAGGATCCCCACAGTGATCAGTTCCTCATACCCTGGTTTATTTGTGTAA
ACCACACTTATTTTTCTCAGCAGCTACTGTGTACTGGGTTCATTCTAGGTTCAAATCATTCTATTTGATTAAGATA
GAGAGGGTCCCGACTCTCAAGGAAGTTACAAGAGTGGAGGAGACAGACACTAACCAATAAGCATTTAACAAAGAAG
ATAATGTTAGAGAGTCATAGTCACTGAAGAAAAGACATCAGATGTGTGTTGAAAGAGAGAAATGGATTCATCTACT
TTAGTTTGTATGTTTAGGGAGCTCTACCTGAGAAAAGTGATATTCAGCTGAGACAACAAAATAAGTAGACAGTCATGA
AGATCTAACGGACGAAAGTTTCAGGGAGACCGAATCGAGGGAAAGCACTGGTGTGGGAAATTATGTGGAGGGAGAGA
AAGAAGGCTAGAAAGGCTGACGTATAGAAAGCAAGGAAATGGAGAGGCAGAAGATGAGGTAGGACACAGAGAGGAAG
TCAGGAGCCTCATCATTATAGGCTCTGATGTCCACGGTAAAAAATTTGAATTTTATTTTATTTTATTTTATTTTAA
ATTTTATTTATTTATTTATTTTATTTGAGATGGAGTTTCATTCTTGTGCCCAGGCTGGAGTGCCATGGCGCAATCTCCAC
TCACTGCAACCTCCACCTCCTGGGTTCAAGTGATTTTCTGCCTCAGCTTCCCAAGTAACTGGGATTACAGGCACCC

ACCACCATACCTGGCTAATTTTTTTGTATTTTTTAGTATACATGGGGTATCACCATGTTGACCAGGCTGGTCTTGAAC
TCCTGACCTCAGATAATCTGTCTGCCTTGGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGCGTGAGCCACCACCCCGGACT
GAATTTTATTTAAATAGATATGAGAAGCTGCTGTATGGTTACAAGGAGAGTCAATTTATATTCAACTTTTGTGTGTG
TGTGTGATGGAGTCTCACTCTGTTGCCAGGCTAGATTGCAGTGGCACAATCTCGGCTCACTGCAACCTCCGCTCC
CGGGTTCAAGAAATTATCCTTCCTCAGCCTCCTGAGTAGCTGGGACCACAGGTGCATGCCACCACAGTCGGCTACTT
TTTGTATTTTTTAGTAGGGATGGGGTTTCACCGTGTTAGCCAAGATGGTCTCGATCTCCTGACCTTGTGATCCACCAG
CCTCGGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGCATGAGCCACTGCGCCCAGCTTATATTCAATTATTACAATTAATTC
TAGCTACTTTGTGGGGATTGGATTGTTGGGGTTCACAAGTGGTTAGGAGGACTATTTAGGAGCACAGCAGGGAATTC
TCCAGGGAACAGGCTTGTGGCTTCATGGAGTGCATTAGTGATAAAGACGGTGAAAAAGATAAAGTGGACAGACTT
GGCATGTATTTTTGCTTAGCTTGTAAATGAATTACTGTAAAGGGGTGGAACAATCAAGTTTATTCCTGAGGATTTT
GTTTTGACAAATAAGTGGGTGGTAGTTTTGTTTATTGAGATAGGAAAACTGTGGGAGGAAATGATTTGAAGTGGGT
GGTTGGAATAAAAGTTTTGTTTAAATTAGAGATGATTTATTGACATTTATGTAGAGCAATCAGAAGGTCAGTGGCA
TTTAAGAGACTCATGGTGAGGTGAGGCTAGGGCTTCAGATATTTATGTTGGCGGCATCAATACGTGTAGTGTGTTAA
ATTCTAGGGAGTGGAAGAGGATACATAGGGAGATGGATTGTGTGGAGAAAAAGAACAGGGCACAGGCCAGCAAAGT
GGGCTGAGACAGAGCCCAGGGATGTTGGAGAAAAACCAAGAGAACATAATGCGTGTAAGTCAAGGAAAATATATTTT
TTTCAGGGAGAAGGGAGAGGCCAATTGTGGTGAGTACCACTAAGCAGAGGGGGAAGTGAGAACGTGACAGAGAAGCA
AGTGCTGGGTTTGGTGGAGTTGATATTTGTAGTCAATGGAGTATCCAGGGAGGAACTGGATTGGACTATTTGAAGA
GTGAGTAGAAGTGAGGACGAGGTTAAGGTTGACTGTTTTGAGTAGAACTTCGGGAAGGACTGTGCTCTGGGTTCAGG
GAGCCCGCTGAATCTAAAGGAAAAGGCTAAAGAAGCTAAAGAGACGGAGGAAGACCTGTGAACAAGAGATGCTCAGT
CATTAGCAAGGAAATACTGGAGAGCCCCTGTGTGCAGTGGTGACTACTCATGCAAAAGGTCACACAGCCAATATTTA
ACACAGCCAGTATTTACAGAGCCAATATTTATTAGTGACATAGAATATACCAGTTATTACTCTAGGTCATGAGAGT
GGTGATAAATAAAATGAATCCGCTCGCCATCAGTATATGCCATGTAAAGTTTGCAGTGACTGTGTACCAGGCCTGT
GAATTTCTGTATGCAATTTCAATAATGATCCTGCTGTATCTGTGGTATTTAAAAACATATACATCTCTGGAATCTAA
AATTGAGAGGTTATAAGTAAAACCCAGTATTAGAAATTTAGTGCTGGAAATCAGATTGCAGTTTAAATCTGAGCATA
TAGAAAGTCCCTTTCTTCTATGTCAGCAGATGCCTTTTATGTGAGGTTTAGGTATACTACATTATTAGACATAAACC
AGTGTTTCTGCCCTATGTTTTCAGAATGACAATTCCTTATGAACTCATAGAAGAACAGAAGACAATTGCAAAATCA
TGAAGATACTAATTGCTTTAGAAATTAAGGAATACAAAAAATAATGTGAGCTACAGTTATAGGGATCATAAAAGTTAA
AATGGGAATGTATTTGAGTGTTTATTATGTGATCAGTGCTAAGAAGAGTCATCATTTAATTTTACACTTAACAGTAA
TCCTGTGAGGATTATGCTATTATTAATGCATTTGATATATTACAAAAAGGCTTACGGTTGGTAAAAATTGACCCAA
GTAGAAGAGGTCACCTTTTTTATTAGATTTTCTGATTGTAGGGTTTGAGAGTTTTTCCATCATTAGTGAGTAGTGAC
TATATTGTGTCTGAATTATTGACAGAAATTTCTGATATTCATATATACCAGGTTGTTTCTTTGAGTGGGGACAGAGAT
GCAAGGGCTGCTAATTCCAATGTATAGGAGAACTTTCAATGATTTTGCATTTATCATTTTAAAAGTTTCAGTATGTC
TATAATGGTCATGCGTTGACAAACACAAGGAAGTATTAAATCACTCCTTCTTCTGAGGTTTGAAGTACAAATTGGGC
AAGAGTTACCAAATAAAACACATGTTTCTAGTTAAATCTAAATTTTCAGATACACGACCATAATTTATTGGAAATCCA
AATTTAATTGGGTACCTCTGGTTTTATTGCCAAATCTGTCAACCCTAAGTGGGACACATGGACATGGATTACAGT
GCTACCCATGCAAGCCACAGTGACAGCAACTTTACACATGTTTACATTTTAACTTTCTCTCTGTAAGAAAGTGCTTA
GATAATCTAGGGATAAAAAGATAGACATTGTTTGATCCAGGGTGGACACCTCTCTGCCATCGTTTCTAAAGGGCAAA
GGGAGATTTCTGCAGGTCTTGCTCAGAGTCTGGGACCTGCTCATGTTTTGAACTGTCTGTATCAGAATGTCATTT
TCTTGGTTTTCTCCCTTTCTGAGGGGACTTGACTACAAAACCAAGAGTTCTGCCTCTGGCCAAGGCTGGAAATGTGAT

GCCTGCTAGCATTGTTGGGAGTGGGAGACTGAGAGAAATGAGTTAGTTGGGGCATTTAATGGGAATAAAATAGCTGT
GGTTGTGATTCACTACTATAGATAATTAGTGGACCAGTGGCAGAGAAATTAAGAAAAAAGATGATGTGAATGATAAA
TGATATGATTAGTGAAGTGGTAAGGCAAGTAAATCATTAAATCTTGGTTCTCATCAAGTTCAATTTTCTGAAAAG
ATAGCACTGTATTGGGACCAGAATTCTACAAAACATTCTTTTTACCTAAGACCAAGATTTTCAAGAAATATTTTTCA
ATACAATTCTCAGCTGCTCCATACTAATAGTAGCTTGTTCACACAGATTTTTTCAGATGGTTCACACCTGTAGTT
CTTACCCAGGGATAGTTCAACCCCTCCCTTCCCTCCCATCATCCTTGGGGAACAGTGACAATGTTTGGAAACAATT
TTTGGTTGTCAACAGGGGTTTCTTCTGATATTTAATGAGTAGAAGCCAGGAACACTGCTAGAGAACCTACAATGT
TCAGAACAGCCTCCGCCATCAACAAAGAATTATCTGGTCCAAAATGTCAATAGTGCTGAGGCTGAGAGCACTGGTTC
ACGCTGTGCTCTTTTTGAAAATTCTACACTCACATCTGTTATACACTCACCACACAGTTCAGTTTTTTATAGTTTAT
TTTTGCTTGTTCATTATAAAAAAATTAGACAGTTGCATAAATTCAACCACTTTCTTGTGAATCCACTTAGTCAAT
GCAAGCTTAATATTTTCATATTTAGTTTTTGCCTTATGCAATATTTTCAATATTTTCATGAGTTGTTGGTCATCAC
CATCTCTATTAACCTCCAACAACCTGCTCTTGTAAAGTCACAAATAGTGATGCTGCTGAAATTATTTCTCAGTAACAT
GCCTCAGATTTCTGTAGTGATTCTACATTTTATATTATTCACAATGTAAAATGCTTCTATGTACTCATTTCACTTTT
ACCCAAGGATTATTTTTAAGTTATTTTTGTGCTTTTCACTTCAAACATAAAGACAAAAACATCAAAAATATATAT
TGTGTTTTACATATGTGTCTATTTTACACATATATGTATGTATGTTTATATGTATGGAACTACAGAAGCACATGT
CGCCAATAAGAGCTCTGAGACACCTTTGACCACTTACCTTATCAGATGAGATTTGCCAAATGAGTTGTGGAAACAA
GTTTTTTAACTGAATTTCTGAGCTTTGTGAATTTAGAAATGCAAAGGAAAGTTGTGGACATTTACAGGGATCATG
GTTTTATTGTCTTTAACTCTTCGATACTTTACCATTGTCTTACTATAAATCCAAAATCCTAACGCCACCCACGAG
GCTTTCAATACCTGGCTTCTTGTGATTTCTCCAGGCTAACCTTTACCCTCCTTCCCTCAGCCTCTCTGCTTTAGT
GAACTTTCTCCTAGTTTTTTGAAGAAGTTCATCAATTCAAGCTTTGTACATGGGATTTCTAAACCTGAAATGTGC
CTCCCGTTTTGTCCAAACAGACACAGGCTCCACTCTGCCCCCTGGCTCACACCTGCTTAACCTGTCAAGTCACATCT
GAACTGTCACTCTTCAGAGGGTCTTCTCTGGCACCCTAATGTAATTGAGATCATCCTATTATTCTCTGCTCTAGAA
CTTCCCACTTCCGAGATTTCTCATTCCTGTCTAACCTCTTGTGTGTCTGGTTTTTGGCCATCGCTTTCACTGCTCTT
TAAGCTCCCCCAGCGAGTGAGAGGTCTGTTTTCCCTCGTTTGGATTCTAGAGGCAGCGCAGACCAGGCACAAGG
TCAGCACTAAGGAAGTGTTACAGGATGAACGCGGTGGGTGCTGTTAAGGAACCGGTAAACGTGTGGGATGAGAGA
AGGAGCAGAGAGTGCTTTGGGGTGGAGGCTCCAGGAGGAGCGGGGCGGGCTGCGGTGCTGGGCGGATCCTCCTC
CAGCTCCTGCTTGAGGTCTCCAGAACAAGCTGGAGGCAGGGATGGGGGTCCCAAAAGCCTGGGGATGAGAAGGGG
TTTTCCCGCATAGTCCCCCAGGCCCCCGTTTCGCTCAGGAAAACGGAGGATGAGCTCCTGGGCTGCTGGTGGTGGGC
GTTGCGGGTGGGGCCCGTTAAGGTTCCAGTGCCCGCACCCACCCAGGGAGCCCCGGATGGTGGCGTCACTGTCAG
TGTCTTCTCAGGAGGCCGCTGTGTGACCGGAGCATTCGTGTCCCCACAGCACGTTTCTTGGAGCTGCTTAAGTCTG
AGTGTCAATTTCTTCAATGGGACGGAGCGGGTGCGGTTCTTGGAGAGATACTTCCATAACCAGGAGGAGTTCGTGCGC
TTTGACAGCGACGTGGGGGAGTACCGGGCGGTGACGGAGCTGGGGCGGCCTGTGCGCGAGTCTGGAACAGCCAGAA
GGACCTCCTGGAGCAGAAGCGGGGCCAGGTGGACAATTACTGCAGACACAACCTACGGGGTTGTGGAGAGCTTCACAG
TGCAGCGGCAGGTGAGCATGTGAGGGGCGGGGCTGGGTCCCTGTGAGCTGGAAATCTGAGAGTGTGTGTGTGTG
TATGTGTGTATGTGTGTGTGTGAGAGAGAGAGACAGAGAGGAAGAGAGAGACAGAGAGAGGGAGCGGCCATCTGTG
AGCATTTAGAATCCTCTCAATCCCGAGCAAGCAGTTCTGAAGGCACAGGTGTGTGTGTGTAGAGTGTGGATTTGTCTGT
GTCTGTGTGCTGTTGTGGGAGGGGAAGCAGAAGGGGGCTGCTTCTTATCCTTGGAGACTTCTGTGGAGAGGTGAAA
AGGGAGGTGGGTGCGGGCGGCTGGAGAGAGAGGAGACCTTGATTGTCTGGGTCCCTAGAGATGCAGGGAAGGAAAG
TGTAAGGTGTGTGTGGGTGGGGTGAAGGTTTAGGGGAGGAGAGCTGAGGGGTAAGGAAGGTTTGGGATAATGTGAGG

AGGCCGGTTCAGACTGTCCCTGGCACACACCCCTTCATGTAATCTCTGAAATAAAAGTGCGTGCTGTTTGTAAGC
ATTAGATTAAAGTTCTAGGGGAATTGAGTAGACCTCTAAGGCACCTCTGAACTTCTTTAGGTATAAATTTCTTGCTA
GTTTTTTGTTTTTTTAGTGTGTATATTTTACATAGTAGAAATGACAGTGAACTAACTTTTGAATTAAAGTTTTAA
CACAGTTACTGTATTATTATAATGCTAATAGTTTTCTAGTAGTTACATATTCTTTTATATATAATAGTTGTGAC
ACAACTTAGGGATCACTTTCCCTTTGTTGACCTTTATTATGACATTCACCAAAAGTTGAAAATGTATGTTTCTGGT
TAATTTTTAATTTATATTTTTTCATTTGAAAAAATGTGGAGAGGTCTGTTTTTCATTCAAAGAGTTCTTTTGAATT
ATTTTGACCGATTTATTGGTCAATTTTAATAACTGCTCTAAGAATCCCTATTTTATTTGGTAGGTAATGGACAATG
ATCTACTGCCTAATATCTCTAGGGCTTAGTATTTTTCTCAGTGACTTTGTGGGTCTTTGTACTGTAAGATTATTAA
CACTTTATTGATATTTGATTACAGCATTTGCTCCAGTTTGTGGTTTTTATGTTGATTTTGAAAATCTTTTCCATGTT
AAGAATTTGAACATTTTTATTTAATAAAATGTATTGCAAAAATTTTATTAATGATTTACAATCCATCTTAAATCTGC
CATTTTGTGGTATTTTTGTCTCTAGGTTTCTCCTTACTTCTAAAAACATTGTATTTATTGAGAGTATGCTAATGTGC
GGGATTTTCTGGGCATAAGCATCACAAGTAATGAGTTCCAGACCCTGCCTTAATCCAAATGTGATTCTGGAAAGAA
AAATCATTTTACAATTGGCCTGATAATAATTCTGCTGTGTTGCACGGGGATACATTGAGCAGCTGAATGAAAATA
TAAGAACTTTCAAACTAAAATGACGCTCCTAAATCCTTCTGTCTGCTTTAGGACTCATGCTTTTCTAGGAACGTAA
AAATTTGGAGAATCATTTCTGTCTGTCCCACCTTCCCAGGGGCAGAACCATTTCTGTGGTGTTCTAAGGTGTGAGTG
CATGGCAGCAGTATTCCTAAAAATTCATACTCTGTTTTCTCATGTACCCAACCTCTGTCCCTTTGTCTATGTACATTG
CTTTAAATCATATTTTTCTGTACGGTGTACAAGGATGATAAATAGGTGCCAAGTGGAGCACCAAGTGTGATGAGC
CCCCTTATGGTGAATGGAGCGAGAAGCTTTCTGACCTCATAAATTGAAGGCTATCTTCACTCATTATGTATTTTAC
GTAAATTAATCCTCATATAACCCCAAGAGGTAAATTAGTATAATTATCCTTCATTGGGGGTGACAAAGTTGAGACAC
AGAAGAATCAACTCTTCCAGGATCAACCAGTAAAAGGCAGACCTTGGATTTGAACCATGCAACCTGGCTCAGATATC
AGTTTTAATTACTACACTCTGTACTTTCAAAAATTTGTAACACTTTGACAATGCATGCCAATTTCAAGCTATGAAG
AAGCAAACGCAATTTTTTACATCTCTCAAATCTAGTGGGTCCTCACTATCAAGATTAAATTCCAGGCTGATGACACT
GTAAGGCCACATGGCCAGCTGTGCTGGAGGCCTGTTCAAGGTGAGAGCCTGGGTTTGCAGAGAAGCAGACAAACACC
AAAACCAGGAGAATTACTCTGTCTTCTGACTCATTCCCTCTACCTTTTTTTTCTACTAGTCCATCCTCAGGTGACTG
TGTATCCTGCAAAGACCCAGCCCCCTGCAGCACCACAACCTCCTGGTCTGTTCTGTGAGTGGTTTCTATCCAGGCAGC
ATTGAAGTCAGGTGGTTCCGGAATGGCCAGGAAGAGAAGACTGGGGTGGTGTCCACAGGCCTGATCCATAATGGAGA
CTGGACCTTCCAGACCCTGGTGATGCTAGAAACAGTTCCTCGGAGTGGAGAGGTTTACACTTGCCAAGTGGAGCACC
CAAGCGTAACAAGCCCTCTCACAGTGAATGGAGTGAGCAGCTTTCTGATTTTATACATTTCTCACCCACCAAGAAG
GGGACTGTGCTAATCCCTGAGTGTGAGGTTTCTCCTCTCCACGTCCTATTTTCATTTGTTCCATGTTCTCATCTCC
ATCAGCACAGGTCACTGGGGATAGCCCTGTAACAGTGTGTAGAAACACCTGTACCCCTGTGGAATCAGTCATGCTT
TTTTTTTTTTGAACCTCCCCATGATGTCACAGGTGAGGGTCACCCGCTCTCCCCAAGCTCCAGGCCCTGCTTTTGGG
TCTGAGACTGAGTTTCTGGTGCTGCTGCTGTGAGTTACTTGTTTTGATCCGGGAAGAGGGGAAGCATAGGGGCCTAC
CTGACATGAGGGGAGTCTAATCTCAGCTCTACCTTTTATTAGCTCTGTCACTCTAGACAACTACTTAGCTTCATTG
AGTCTCAGGCTTTCTGTTGATCAGATGTTGAACGCTTGCTTACATCAATGCTGTAATATTTGAATGAGTTTGATGT
CGGAACCTTGTAACCTGTTCAAGTGTGATTTGAAATCCTTTTTTCTCCCGAAATGGCTAGTTATTTTAGTTCTTGTGG
GGCAGCCTTCTTCCCATTTTTCAAAGCTCTGAATCTTAGAGTCTCAATTAAAGAGGTTCAATTTGGAATAAACGTCA
CTAAACCTGGCTTCTCTCTCAGGAGCACGGTCTGAATCTGCACAGAGCAAGATGCTGAGTGGAGTCGGGGGCTTTG
TGCTGGGCCTGCTCTTCCCTTGGGGCCGGGCTGTTTATCTACTTCAGGAATCAGAAAGGTAAGGAGTCTTTGGTAGCT
GGCTCTCTCCGTAGGCTTTTCTGGAGGAGGAACCTATAGCTTTGCTGAGGTTAGTTCTCAGTATATGAGTGGCCCTGA

ATAAAGCCTTTCTTTCCCAAACGGCTCTAATGTCCTGCTAATCCAGAAATCATCAGTGCATGGTTACTATGTGAAA
GCATAATAGCTTGTGGCCTGCAGAGACAAGAGGAAGGTTAACAAGTAGGGGTCCTTTGGTTTGAGATCTTGGAGCAA
ATTAAGGAAGAGCCACTAAAGTTAATGGAATTACACTGGATCCTGTGACAGACACTTCATGCTTCATGGGTCACATG
GTCTGTTTCTGCTCCTCTCTGCCCTGGTTGGTGTGGGTTTTGGTGTAGAGAACTCTCCGGTGGGAGATCTGGGACT
GGGATATTGTGTTGGAGGACAGATTTGCTTCAATATCTTTTAAAGTGATATCTTTTCCCTCTTTTTCCAGGACACTC
TGGACTTCAGCCAACAGGTAATACCTTTTAATCCTCTTTTAGACACAGATTCAGTTTCTCTAGTGAGAGGTGAAGCC
AGCTGGACTTCTGGGTTGGGTGGGACTTGGAGAACTTTTCTGTCTTACAAGAGGTTTCTAAATGCACCAATGAGTG
CTCTGTAAAAACACACCAATGAGTGCTCTGTAAAAATTGACACTCTGTGGCTTGCTAGATGTTTGTAAGATGGACCA
ATCAGCACTCTGTAAATGGACCAATCCACACTCTGTAAATGGACCAATCAGCACTCTTAAATGGACCAATCAG
CAGGATACGGGTGGGGACAAATAAGGGAATAAAAGCTGGTCACCCTAGCCAGCACCGGCAACCTGCTTAGGTCCTTT
TCTATGCTGTGGAAGGTCTGTTCTTTCACTCTTCACAATAAATCTTGTGCTCACTCTTTGGGTCCGTGCCACCTTTA
AGAGCTATAACACTCACTGCAAGGGTCTGTGGCTTCACTCTGAAGTCAGCCAGACCCTGAACCCACCGGAAGGAAC
AAACTCAGGACACACTAGAATGGTGGTAGAGGTGATAAGGCATGAGACAGAAATAATAGGAAAGACTTTGGATCCAA
ATTTCTGATCAGGCAATTTACACCAAACTCCTCCTCTCCACTTAGAAAAGGCCTGTGCTCTGCAGGACTATTGGCT
CTGGGAGACTCAGGAACCTGTTTTTCTTCTCTCCTGCAGTGTCTCATCTGAGTCCTTCAAAGAGGGGGAAAGAAACG
TTAGTAGAGCCAGGTTGAAAACAACACTCTCCTCTGTCTTTTGCAGGATTCCTGAGCTGAAGTGCAGATGACAATTT
AAGGAAGAATCTTCTGCCCCAGCTTTGCAGGATGAAAAGCTTTCCCGCCTGGCTGTTATTCTTCCACGAGAGAGGGC
TTTCTCAGGACCTGG

SEQ ID NO:17 HLA-DRB3*01:01

>MK854711.1智人细胞系OMW MHC II类抗原 (HLA-DRB3) 基因,HLA-DRB3*01:01:02

CTCTGGCCCCCTGGTCCTGTCTCTTCTCCAGCATGGTGTGTCTGAAGCTCCCTGGAGGCTCCAGCTTGG
CAGCGTTGACAGTGACACTGATGGTGCTGAGCTCCCGACTGGCTTTCGCTGGGGACACCCGACGTAAGAGCACATTG
AGGGTGCTGAGCTACTATGGGGTGGGGGAATATAGGGAGTTGTGTTAACATTGTGCCCAGGCCATGTCCCTTAAGAA
ATTGTGAGGTTTTCTTCAGAGATTGCTCATCTTTATCAAGGGATCGCAAATTATTTCTCCACAAAAGGAACTTGGC
TACTTGCCCTCTCCATGAGACTTGTGTAAGGGGCCTTTGTACAGGCCATTTCTTCTCAAATCTCCACCAATAAAACC
TTTGCATCATATGTAAGTCTAGAGGTTTGTGAAATAAGGATGCTAAAATAAATTCCCCATACAGCAATTC
CCTTTATTATGTTGACTTATGTCAGACAAAAGAGGTTTTTACTGAAAATTTTGTGGGAGTCAAGGGAATTCAAAGG
GTCTCTCCTAGACGATCCTGGGTATGTCCTCCACAGGACTTGTGGTGTGGCCCCCTTCTCCTCATATGTGAGGATG
GACCCAGTGGCCTCCCTAGTATCTCCTTTCTTTTCTTCTGAACTCCAATGTTTATAAAGCCTGTATCCCTGTAGTG
TATGTAGGTTGTCTGACAGAAGTTATACTTAGTGCTTTTCTTTCTTTTGGGGAAAAATCCCTGGAAGTGAAGCTGA
GATCATTAGTACTTGAATCACCTTACAGATACAGAGCACTTATGAGGTATTCTTTGGTGCCTAAAGAACTTAAGGC
ATCCTCTGAAAAACTGGCCAGGTTAGTGTTTATTATGAATCTTTTTAACCTTTCTATACTTGTTTCTCCTACATCT
CCTACATGCTCTAACTAGACATGACAGAAGAGATTTAACTAATGTAGTATAAATTATATGAAATTCTATTTTTGTAA
GTCAAAAATAATCAAATATCAGAAATTTAATAATGTTCAAACCTATATACTGTGTGGGGTTACCGAGACAATGTGGAC
ATTGTTACATCTCATAGGGCTGAAAGTCAATGGGCAAGTCCTGGAACTCATTGTCTTACTGCGGTCTTGTCTCA
GTTTCATAGGTTACCCATCATGCCCTCAGCTTTCCTTAATTAGCCATGTCTGCTTACCTCTTCTCCATTTCTCT
CTATTTTTCCCAACTATGTTGTCATCATTTCCAGAAATCTCTAAAGCTTGCACAGATCCTTAGCACTATGAGATCC
ATTGAAAGAGATAATATTTTTCTCTTTGAGATAGGGCCTGGCTCTGTCACCCAGGCTGTAGCTCAGTGGTGCGATCG
AGGCTCACTGCAACCTCTGCCTCCCACACTCAAGCAATCCTCCCTCCTCAGGCTCCAGAGTAGCTGGGAATACAGGC

AGGCAACCACGCCAGCTAATTTTTGCAATTTTGGTAGAGAGGAGATTTTGCCATATTGCCAGGCTGGTCTTAAAC
TGCTGAACTCAAGCAATCCTCCTGCCTTAGCCTCCCAACATGCTAGGATTATAGATGTGAGCCAGTGTGCCAGGCA
AAAGAGATGACTCTTAATAAAAAAGATTTCTTTTTCTTAAATCACTGTTTCCTTTATCCGTGAATTCTTCTTCCAAC
AGAAGAAGGAGAAAGAAGTTTGCCTGTATTTCTCACCAGGAGGAGAAGGGGTCTAGTGTGACATCAAAATGAAAGAG
TGCTGGAACCTTGAGCCCCTTCTTGCTTTCCAGGATCCCCACAGTGATCAGTTCCCATACCCTGGTTTATTTGTGTAA
ACCACACTTATTTTTCTCAGCAGCTACTGTGTACTGGGTTCATTCTAGGTTCAAATCATTCTATTTGATTAAGATA
GAGAGGGTCCGACTCTCAAGGAAGTTACAAGAGTGGAGGAGACAGACACTAACCAATAAGCATTTAACAAAGAAG
ATAATGTTAGAGAGTCATAGTGCCTGAAGAAAAGACATCAGATGTGTGTTGAAAGAGAGAAATGGATTCTACT
TTAGTTTGTATGTTTAGGGAGCTCTACCTGAGAAAAGTGATATTCAGCTGAGACAACAAAATAAGTAGACAGTCATGA
AGATCTAACGGACGAAAGTTTCAGGGAGACCGAATCGAGGGAAAGCACTGGTGTGGGAAATTATGTGGAGGGAGAGA
AAGAAGGCTAGAAAGGCTGACGTATAGAAAGCAAGGAAATGGAGAGGCAGAAGATGAGGTAGGACACAGAGAGGAAG
TCAGGAGCCTCATCATTATAGGCTCTGATGTCCACGGTAAAAAATTTGAATTTTATTTTATTTTATTTTATTTTAA
ATTTTATTTATTTATTTATTTTATTTTATTTTATTTTATTTTATTTTATTTTATTTTATTTTATTTTATTTTAA
TCACTGCAACCTCCACCTCCTGGGTTCAGTGATTTTCTGCCTCAGCTTCCCAAGTAAGTGGGATTACAGGCACCC
ACCACCATACCTGGCTAATTTTTTTTGTATTTTATTTAGTATACATGGGGTATCACCATGTTGACCAGGCTGGTCTTGAAC
TCCTGACCTCAGATAATCTGTCTGCCTTGGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGCGTGAGCCACCACCCCGGACT
GAATTTTATTTAAATAGATATGAGAAGCTGCTGTATGGTTACAAGGAGAGTCAATTTATATTCAACTTTTGTGTGTG
TGTGTGATGGAGTCTCACTCTGTTGCCAGGCTAGATTGCAGTGGCACAATCTCGGCTCACTGCAACCTCCGCCTCC
CGGGTTCAAGAAATTATCCTTCTCAGCCTCCTGAGTAGCTGGGACCACAGGTGCATGCCACCACAGTCGGCTACTT
TTTGTATTTTATGTAGGGATGGGGTTTCACCGTGTTAGCCAAGATGGTCTCGATCTCCTGACCTTGTGATCCACCAG
CCTCGGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGCATGAGCCACTGCGCCCAGCTTATATTCAATTATTACAATTAATTC
TAGCTACTTTGTGGGGATTGGATTGTTGGGGTTCACAAGTGGTTAGGAGGACTATTTAGGAGCACAGCAGGAATTC
TCCAGGGAACAGGCTTGTGGCTTCATGGAGTGCATTAGTGATAAAGACGGTGAAAAAGATAAAGTGGACAGACTT
GGCATGTATTTTGTCTAGCTTGTTAATGAATTACTGTAAAGGGGTGGAACAATCAAGTTTATTCCTGAGGATTTT
GTTTTGACAAATAAGTGGGTGGTAGTTTGTATTGAGATAGGAAAACTGTGGGAGGAAATGATTTGAAGTGGGT
GGTTGGAATAAAAGTTTGTTTAAATTAGAGATGATTTATTGACATTTATGTAGAGCAATCAGAAGGTCAGTGGCA
TTTAAGAGACTCATGGTGAGGTGAGGCTAGGGCTTCAGATATTTATGTTGGCGGCATCAATACGTGTAGTGTGTAA
ATTCTAGGGAGTGGAAGAGGATACATAGGGAGATGGATTGTGTGGAGAAAAAAGAACAGGGCACAGGCCAGCAAAGT
GGGCTGAGACAGAGCCCAGGGATGTTGGAGAAAAACCAAGAGAACATAATGCGTGTAAGTCAAGGAAAATATATTTT
TTTCAGGGAGAAGGGAGAGGCCAATTGTGGTGAGTACCACTAAGCAGAGGGGGAAGTGAGAACGTGACAGAGAAGCA
AGTGCTGGGTTTGGTGGAGTTGATATTTGTAGTCAATGGAGTATCCAGGGAGGAACTGGATTGGACTATTTGAAGA
GTGAGTAGAAGTGAGGACGAGGTTAAGGTTGACTGTTTTGAGTAGAACTTCGGGAAGGACTGTGCTCTGGGTTTCAGG
GAGCCCGCTGAATCTAAAGGAAAAGGCTAAAGAAGCTAAAGAGACGGAGGAAGACCTGTGAACAAGAGATGCTCAGT
CATTAGCAAGGAAATACTGGAGAGCCCCTGTGTGCAGTGGTGAAGTACTCATGAAAAGGTCACACAGCCAATATTTA
ACACAGCCAGTATTTACAGAGCCAATATTTATTAGTGACATAGAATATACCAGTTATTACTCTAGGTCATGAGAGT
GGTGATAAATAAAATGAATCCGCTCGCCATCAGTATATGCCATGTAACAGTTTGCAGTGAAGTGTGTACCAGGCCTGT
GAATTTCTGTATGCAATTTCAATAATGATCCTGCTGTATCTGTGGTATTTAAAAACATATACATCTCTGGAATCTAA
AATTGAGAGGTTATAAGTAAAACCCAGTATTAGAAATTTAGTGCTGGAAATCAGATTGCAGTTTAAATCTGAGCATA
TAGAAAGTCCCTTTCTTCTATGTCAGCAGATGCCTTTTATGTGAGGTTTAGGTATACTACATTATTAGACATAAACC

AGTGTTTCTGCCCTATGTTTTTCAGAATGACAATTCTTTATGAACTCATAGAAGAACAGAAGACAATTGCAAAATCA
TGAAGATACTAATTGCTTTAGAAATTAAGGAATACAAAAAATAATGTGAGCTACAGTTATAGGGATCATAAAAGTTAA
AATGGGAATGTATTTGAGTGTTTATTATGTGATCAGTGCTAAGAAGAGTCATCATTTAATTTTACACTTAACAGTAA
TCCTGTGAGGATTATGCTATTATTAAATGCATTTGATATATTACAAAAAGGCTTACGGTTGGTAAAAATTGACCCAA
GTAGAAGAGGTCACCTTTTTTATTGAGATTTTCTGATTGTAGGGTTTGAGAGTTTTTCCATCATTAGTGAGTAGTGAC
TATATTGTGTCTGAATTATTGACAGAATTTCTGATATTCATATATAACCAGGTTGTTTCTTTGAGTGGGGACAGAGAT
GCAAGGGCTGCTAATTCCAATGTATAGGAGAAACTTTCAATGATTTTGCATTTATCATTTTAAAAGTTCAGTATGTC
TATAATGGTCATGCGTTGACAAACACAAGGAAGTATTAAATCACTCCTTCTTCTGAGGTTTGACTAGCAAATTGGGC
AAGAGTTACCAAATAAAACACATGTTCCTAGTTAAATCTAAATTTAGATACACGACCATAATTTATTGGAAATCCA
AATTTAATTGGGTACCTCTGGTTTTATTTGCCAAATCTGTCAACCCTAAGTGGGACACATGGACATGGATTACAGT
GCTACCCATGCAAGCCACAGTGACAGCAACTTTACACATGTTTACATTTTAACTTTCTCTCTGTAAGAAAGTGCTTA
GATAATCTAGGGATAAAAAGATAGACATTGTTTGATCCAGGGTGGACACCTCTCTGCCATCGTTTCTAAAGGGCAAA
GGGAGATTTCTGCAGGTCTTGCTCAGAGTCTGGGGACCTGCTCATGTTTTGAACTGTCTGTATCAGAATGTCATTT
TCTTGGTTTTCTCCCTTTCTGAGGGGACTTGACTACAAAACCAAGAGTTCTGCCTCTGGCCAAGGCTGGAAATGTGAT
GCCTGCTAGCATTGTTGGGAGTGGGAGACTGAGAGAAATGAGTTAGTTGGGGCATTTAATGGGAATAAAATAGCTGT
GGTTGTGATTCACTACTATAGATAATTAGTGGACCAGTGGCAGAGAAATTAAGAAAAAGATGATGTGAATGATAAA
TGATATGATTAGTGACTGCTTGTAAGGCAAGTAAATCATTAAATCTTGGTTCTCATCAAGTTCATTTTCTGAAAAG
ATAGCACTGTATTGGGACCAGAATTCTACAAAACATTCTTTTTACCTAGGACCAAGATTTTCAAGAAATATTTTTCA
ATACAATTCTCAGCTGCTCCATAACTAATAGTAGCTTGTTCAACACAGATTTTTTTCAGATGGTTCACACCTGTAGTT
CTTACCCAGGGATAGTTACCAACCCCTCCCTTCCCTCCCATCATCCTTGGGGAACAGTGACAATGTTTGGAAACAATT
TTTGGTTGTCAACAGGGGTTTTCTTCTGATATTTAATGAGTAGAAGCCAGGAACACTGCTAGAGAACCTACAATGT
TCAGAACAGCCTCCGCCATCAACAAAGAATTATCTGGTCCAAAATGTCAATAGTGCTGAGGCTGAGAGCACTGGTTC
ACGCTGTGCTCTTTTTGAAAATTCTACACTCACATCTGTTATACACTCACCACACAGTTCAGTTTTTTATAGTTTAT
TTTTGCTTGTTCCATTATAAAAAAATTAGACAGTTGCATAAATTCACCACCTTCTTGTGTAATCCACTTAGTCAAT
GCAAGCTTAATATTTTCATATTTAGTTTTTGCTTATGCAATATTTTCAACATTTTCATGAGTTGTTGGTCATCAC
CATCTCTATTAACCTCCAACAACCTTGCTCTTGTAAGTCACAAATAGTGATGCTGCTGAAATTATTTCTCAGTAACAT
GCCTCAGATTTCTGTAGTGATTCTACATTTTATATTTCACAATGTAAAATGCTTCTATGTACTCATTTCACTTTT
ACCCAAGGATTATTTTAAAGTTATTTTTGTCGTTTTTCACTTCAAACATAAAGACAAAAACATCAAAAATATATAT
TGTGTTTTACATATGTGTCTATTTTACACATATATGTATGTATGTTTATATGTATGGAACTACAGAAGCACATGT
CGCCAATAAGAGCTCTGAGACACCTTTGACCACTTACCTTATCAGATGAGATTTGCCAAATGAGTTGTGGAAACAA
GTTTTTTAACTGAATTTCTGAGCTTTGTGAATTTAGAAATGCAAAGGAAAGTTTGTGGACATTTACAGGGATCATG
GTTTTATTGTCCTTTAACTCTTCGATACTTTACCATTGTCTTACTATAAATCCAAAATCCTAACGCCACCCACGAG
GCTTTCAATACCTGGCTTCTTGTGATTTCTCCAGGCTAACCTTTTACCCTCCTTCCCTCAGCCTCTCTGCTTTAGT
GAACTTTCTCCTAGTTTTTTGAAGAAGTTCATCAATTCAAGCTTTTGTACATGGGATTTCTTAAACCTGAAATGTGC
CTCCCGTTTTGTCCAAACAGACACAGGCTCCACTCTGCCCCCTGGCTCACACCTGCTTAACCTGTCAAGTCACATCT
GAACTGTCACTCTTCAGAGGGTCTTCTCTGGCACCCTAATGTAATTGAGATCATCCTATTATTCTCTGCTCTAGAA
CTTCCCACTTCCGAGATTTCTCATTCCTGTCTAACCTCTTGTGTGTCTGGTTTTTGGCCATCGCTTTCACTGCTCTT
TAAGCTCCCCAGCGGAGTGGAGAGGTCTGTTTTCCCTGTTTGGATTCCCTAGAGGCAGCGCAGGCCTGGCACAAGG
TCATCACTAAGAAAGTGTTACAGGATGAACGCGGTGGGTGCTGTTTAAGGAACCGGTAAACATGTGGGATGAGAGA

AGGAGCAGAGTGTCTTTGGGGTGGAGGCTCCTAGGAGGAGGCGGGGCGGGCTGCGGTGCGGGGCGGATCCTCCTCCA
GCTCCTGCTTGGAGGTCTCCAGAACAGCTGGAGGCAGGGAGGGGTCCCAAAAGCCTGGGGATGAGAAGGGGTTTT
CCCGCATAGTCCCCTAGGCCCCCGTTTCGCTGAGGAAAACGGAGGATGAGCTCCTGGGCTGCAGGTGGTGGGCGTTG
CGGGTGGGGCCGGTTAAGGTTCCAGTGCCCCGACCCACCCAGGGAGCCCCGGATGGCGGCGTCGCTGTCAAGTCTGAGTG
TTCTCAGGAGGCCCGCGTGTGACCGGATCCTTCGTGTACCCGCAGCACGTTTCTTGGAGCTGCGTAAGTCTGAGTG
TCATTTCTTCAATGGGACGGAGCGGGTGCAGTACCTGGACAGATACTTCCATAACCAGGAGGAGTTCCTGCGCTTCG
ACAGCGACGTGGGGGAGTACCGGGCGGTGACGGAGCTGGGGCGGCCTGTCGCCGAGTCCTGGAACAGCCAGAAGGAC
CTCCTGGAGCAGAAGCGGGGCCGGGTGGACAATTACTGCAGACACAACCTACGGGGTTGGTGAGAGCTTCACAGTGCA
GCGGCGAGGTGAGCATGTGCGGGGGCGGGCCTGGGTCCCTGTGAGCTGGAATCTGAGAGAGAGTGTGTGTGTGTG
TGTGTGTGTGTGTGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGGAAGAGACAGAGAGAGGGAGCGGCCATCTGTGAGCATTTAGA
ATCCTCTCAATCCCGAGCAAGCAGTTATGAAGGCACAGGTGTGTGTGTAGAGTGTGGATTGGTCTGTGTCTGTGTGC
CTGTTGTGGGAGGGGAAGCAGGAGGGGGCTGCTTCTTATCCTTGGAGACTTCTGTGGAGAGGTGACAAGGGAGGTGG
GTGCGGGCGGCTGGAGAGAGAGGAGACCTTGATTGTCCTGGGTCCCTAGAGATGCAGGGAAGGAAAGTGTAAGGTGT
GTGTGGGTGGGGTGAAGGTTTAGGGGAGGAGAGCTGAGGGGTAAGGAAGGTTGGGATAATGTGAGGAGGCCGGTTC
CAGACTGTCCCTGGCACACACCCCTTCATGTAATCTCTGAAATAAAAGTGCGTGCTGTTGTAAAAGCATTAGATTAA
GTTCTAGGGGAATTGAGTAGACCTCTAAGGCACCTCTGAACTTCTTTAGGTATAAATTTCTTGCTAGTTTTTTGTT
TTTCTAGTGTGTATATTTTTACATAGTAGAAATGACAGTGAACTAACTTTTGAATTAAAGTTTTAACACAGTTACT
GTATTATTATAATGCTAATAGTTTTCTAGTAGTTACATATTATCTTTTATATATAATAGTTGTGACACAACCTTAGG
GATCACTTTCCCTTTGTTGACCTTTATTATGACATTCACCAAAAGTTGAAAATGTATGTTTCTGGTTAATTTTTAA
TTTATATTTTTTCATTTGAAAAATGTGGAGAGGTCTGTTTTTCATTCAAAGAGTTCTTTTGAATTATTTTGACCG
ATTTATTGGTCAATTTTAATAACTGCTCTAAGAATTCCCTATTTTATTTGGTAGGTAATGGACAATGATCTACTGCC
TAATATCTCTAGGGCTTAGTATTTTTCTCAGTGACTTTGTGGGTCTTTGTACTGTAAGATTATTAACACTTTATTG
ATATTTGATTACAGCATTTGCTCCAGTTTGTGGTTTGTATGTTGATTTTGAAAATCTTTTCCATGTTAAGAATTTGA
ACATTTTTATTTAATAAAATGTATTGCAAAAATTTTATTAATGATTTACAATCCATCTTAAATCTGCCATTTTGTGG
TATTTTTGTCTCTAGGTTTCTCCTTACTTCTAAAAACATTGTATTTATTGAGAGTATGCTAATGTGCGGGGATTTTC
TGGGCATAAGCACCACCAGTAATGAGTTCAGACCCTGCCTTAATCCAAATGTGATTCTGGAAAGAAAAATCATTTT
ACAATTGGCCTGATAATAATTCTGCTTGTGTGACGGGGGATACATTGAGCAGCTGAATGAAAATATAAGAACTTT
CAAACTAAATGACGCTCCTAAATCCTTCTGTCTGCTTTAGGACTCATGCTTTTCTAGGAACGTAAAAATTTGGAG
AATCATTTCTGTCTGTCCACCTTCCAGGGGCAGAACCATTTCTGTGGTGTCTAAGGTGTGAGTGCATGGCAGTA
GTATTCCTAAAAATTCATACTCGGTTTTCTCATGTACCCAACTCTGTCCCTTTGTCTATGTACATTGCTTTAAATCA
TATTTTTCTGTACGGTGTACAAGGATGATAAATAGGTGCCAAGTGGAGCACCCAAGTGTGATGAGCCCCCTTACGG
TGGAATGGAGTGAGAAGCTTTCTGATCTCATAAATGAAGGCTATCTTCAGTCATTATGTATTTTACATAAATTAAT
CCTCATATAACCCCAAGAGGTAAATTAGTATAATTATCCTTCATTGGGGGTGACAAAGTTGAGACACAGAAGAATCA
ACTCTTCCAGGATCAACCAGTAAAGGCAGACCTTGGATTTGAACCATGCAACCTGGCTCAGGTATCAGTTTTAATT
ACTACACTCTGTACTTTCAAAAATTTGTAAACACTTTGACAATGCATGCCAATTTCAAGTTATGAAGAAGCAAACGC
AATTTTTTACATCTCTCAAATCTAATGGGTCCTCACTATCAAGATTAATTTCCAGGCTGATGACACTGTAAGGCCAC
ATGGCCAGCTGTGCTGGAGGCCTGGTCAAGGTCAGAGCCTGGGTTTGCAGAGAAGCAGACAAACAGCCAAACCAGCA
GAATTACTCTGTCTTCTGACTCATTCCCTCTACCTTTTTTCTCCTAGTCCATCCTCAGGTGACTGTGTATCCTGC
AAAGACCCAGCCCCTGCAGCACCAACCTCCTGGTCTGCTCTGTGAGTGGTTTCTATCCAGGCAGCATTGAAGTCA

GGTGGTTCCGGAACGGCCAGGAAGAGAAGGCTGGGGTGGTGTCCACGGGCCTGATCCAGAATGGAGACTGGACCTTC
CAGACCCTGGTGATGCTAGAAACAGTTCCTCGGAGTGGAGAGTTTACACTTGCCAAGTGGAGCACCAAGCGTAAC
GAGCGCTCTCACAGTGAATGGAGTGAGCAGCTTTCTGATTTTCATACATTTCTCACCCACCAAGAAGGGGACTGTGC
TAATCCCTGAGTGTGAGTTTCTCCTCTCCACGTCCTATTTTCATTTGCTCCATGTTCTCATCTCCATCAGCACAG
GTCACTGGGGATAGCCCTGTAAACAGTGTGTAGAAACACCTGTACTCCCTGTGGAATCAGTCATGCTTTTTTTTTTTT
GAACCTCCCCATGATGTACAGGTCAGGGTCACCCGATCTCCCCAAGCTCCAGGCCCTGCTTCTGGGTCTGAGACTG
AGTTTCTGGTGCTGCTGCTCTGAGTTACTTGTTTTGATCTGGGAAGAGGGGAAGCATAGGGGCCTACCTGACATGAG
GGGAGTCCAATCTCAGCTCTGCCTTTTATTAGCTCTGTCACTCTAGACAACTACTTAGCCTCACTGAGTCTCAGGC
TTTCTGTGGATCAGATGTTGAACGCTTGCCTTACATCAAGGCTGTAATATTTGAATGAGTTTGATGTGGAACCTTG
TAACTGTTCAGTGTGATTTGAAATCCTTTTTTCTCCCAAATGGCTAGTTATTTTAGTTCTTGTGGGGCAGCCTTC
TTCCCCATTTTCAAAGCTCTGAATCTTAGAGTCTCAATTAAGAGGTTCAATTTGGAATAAGCATCACTAAACCTGG
CTTCTCTCTCAGGAGCACGGTCTGAATCTGCACAGAGCAAGATGCTGAGTGGAGTCGGGGGCTTTGTGCTGGGCCT
GCTCTTCTTGGGGCCGGGCTGTTTCATCTACTTCAGGAATCAGAAAGGTGAGGAGCCTTTGGTAGCTGGGCCTTTCC
ATAGGCTTTTCTGCAGGAGGAAATAGAGCTTTGCTGAGGTTAGTTCTCAGTATATGAGTGGCTCTGAATAAAGCCTT
TCTTTCCCCAAACGGCTCTAATGTCTGCTAATCCAGAAATCATCAGTGCATGGTTACTATGTGAAAGCATAATAGC
TTGTGGCCTGCAGAGACAAGAGGAAGGTTAACAAGTAGGGGTCCTTTGGTTTGAGATCTTGGAGCAAATTAAGGAAG
AGCCACTAAAGTTAATGGAATTACACTGGATCCTGTGACAGACACTTCATGCTTCATGGGTACATGGTCTGTTTCT
GCTCCTCTCTGCCCTGGTTGGTGTGGGTTTTGGTGTTAGAACTCTCCGGTGGGAGATCTGGGACTGTGATATTGTGT
TGGAGGACAGATTTGCTTCAATATCTTTTAAGTGTATATCTTTTCCCTCTTTTCCCAGGACACTCTGGACTTCAGCC
AACAGGTAATACCTTTTAATCCTCTTTTAGACACAGATTCAGTTTCTCCAGTGAGAGGTGAAGCCAGCTGGACTTCT
GGGTTGGGTGGGACTTGGAGAACTTTTCTGTCTTACAAGAGGTTTCTAAATGCACCAATGAGTGTCTGTAAAAAC
ACACCAATGAGTGTCTGTAAAAATTGACACTCTGTGGCTCGCTAGATGTTTGTAAGATGGACCAATCAGCACTCTG
TAAATGGACCAATCCACACTCTGTAAAAATGGACCAATCAGCACTCTTAAATGGACCAATCAGCAGGATACGGGC
GGGGACAAATAAGGGAATAAAAGCTGGTCACCCTAGCCAGCACCTGCAACCTGCTTAGGTCCTTTTCTATGCTGTGG
AAGTTTGTCTTTTGATCTTCACAATAAATCTTGTGCTCACTCTTTGGGTCCGTGCCACCTTTAAGAGCTATAACA
CTCACTGCAAGGTCTGTGGCTTCACTCTTGAAGTCAGCCAGACCCTGAACCTACCGGAAGGAACAACTCAGGACA
CACTAGAATGATGGTAGAGGTGATAAGGCATGAGACAGAAATAATAGGAAAGACTTTGGATCCAAATTTCTGATCAG
GCAATTTACACCAAACTCCTCCTCTCCACTTAGAAAAAGGCCTGTGCTCTGCAGGACTATTGGCTCTGGGAGACTCA
GGAATTGTTTTTCTTCTCCTGCAGTGTCTCATCTGAGTCCTTCAAAGAGGGGAAAGAAACGTTAGTAGAGCCA
GGTTGAAAACAACACTCTCCTCTGTCTTTTGCAGGATTCCTGAGCTGAAGTGCAGATGACAATTTAAGGAAGAATCT
TCTGCCCCAGCTTTGCAGGATGAAAAGCTTTCCCGCTGGCTGTTATTCTTCCACGAGAGAGGGCTTTCTCAGGACC
TAGTTGCTACTGGTTCAGCAACTGCAGAAAATGTCTCCCTTGTGGCTTCTCAG

SEQ ID NO:18 HLA-DRB5*01:02

>LT55545.1用于MHC II类抗原的智人部分HLA-DRB5基因,等位基因HLA-DRB5*01:02:01G相关2,外显子2

CATGTTTCTTGCAAGGATAAGTATGAGTGTGATTTCTTCAACGGGACGGAGCGGGTGGGTTCTGCTGC
ACAGAGGCATCTATAACCAAGAGGAGAACGTGCGCTTCGACAGCGACGTGGGGGAGTACCGGGCGGTGACGGAGCTG
GGGCGGCCTGACGCTGAGTACTGGAACAGCCAGAAGGACTTCCTGGAAGACAGGCGCGCCGCGGTGGACACCTACTG
CAGACACAACCTACGGGGCTGTGGAGAGCTTCACAGTGCAGCGGCGAG

SEQ ID NO:19 HLA-DRB5*01:01

>MN565784.1智人MHC II类抗原 (HLA-DRB5) 基因,HLA-DRB5*01:01:01

ATGGTGTGTCTGAAGCTCCCTGGAGGTTCTACATGGCAAAGCTGACAGTGACACTGATGGTGCTGAGC
TCCCCACTGGCTTTGGCTGGGGACACCCGACGTAAGTGCACATTGTGGGTGCTGAGCTACTATGGGGTGGGGAAAAT
AGGGAGTTTTGTAAACATTGTGCCAGGCCAGGTGCCTTAAGAAATTGTGACATTTTCTTCAGAGATTGCCATCTT
TATCATGGGATCCCAAATTATTTCTCCACAAAAGGAGCTTGACTACTTGCCCTCTCCATGAGACTGTGTAAGGGGC
CTCCATACAGGTCATTTCTTCTCAAATCTCCACCAATGAAACCTTTTCATCACATGTCCTCAGGGTCTTTAGAGGAT
TTAGAAATAAGGATGCTAAATAAAATCCCCATACAGCACTTCCCTTTATTATGTTGACCTATGTCAGACAAAACGA
GTTTTTTTCTGAAAATTTTGTGGGAGTCAAGGGAATTCAAAGGTCTCTCCTAGACAATCCTGTGTTATGCCCTTGA
CAGAACCTGTGATATTGGCTCCTCTTCTCATATGTGAGAATGGACCCAGTGGCCTCCCCATTACCTCCTTTCTTTT
CTTTCTGAACTCCAATGTTTACCCTGTAATGTATGCAAGGTCTCTGACAGAAGTTATGCTTAGTGCTTTTTCTTATG
GGGAAAAATCCTTGGAGCTGAAGCTGAGATCTTTAGTATGTGGAGTCACCCTACAGTTAAAGGGCATCTATGAGGTA
TTCTTTGGTGCCTAAAGGACTTAAGGCATCCTCTAAAAACCTGGCCCAGGTTAGAGTTTATTACAAATCTTTTTTAA
CCTTTCTATACTATTTGCTCCTATATCTCCTACATGCTCTAACTAGACATGACAGGAAGAGATTCAACTAACATAGG
ACAAATTATATGAAATTCTATTTTTGTAAAGTCAAAAAATAGTCAAATATCAGAAATTTGATAAGGTTAAAACTATATA
CTCTGTGTGGGGTTACAGAGAGAATGTGGACATTGTTACATCTCATAGGGCTGAAAGTTAATGATCAAGTCCTGGG
AACTCATTGTCTTACTGGGGTCTTGTCTAAATTTTCATAGGTTACCCCGTCATGCCCTCAGCTTTCCTTAATTAGCC
ATGTCTGCTTACCTCTTCTCCAGTTTCTCTCTATTTTTCCCCAGCTATGTTGTCATCATATCCAGAAATCCCTAAA
GCTTGACAGATCCTTAGCACTATGAGATCCATTGAAAGAGATAATTTTTTCTTTTGTAGATAGGGCCTGGCTCTG
TCACCCAGGCTGTAATGCAGTGGTCCGATCTAGGCTCACTGCAACCTCTGCCTCCAAGACTCAAGCTATCCTTCCTC
CTCAGCCTCCAGAGCAGCGGAGACTACAAGCCCACTAATTTTGTGGAGATGAGATTTCTGCCATGTTGCCAGGG
TGGTCTTAACTCCTGGACTCAAACAATCCTCCTGCCTTGGCCTCCCAGCATGCTAGGATTGTAGGTGTAAGCCACC
GCACCCAGGCACGGTGAATTCATTGCCAGGCAATGAATCTCAATGAAAAATTTCTTTTTCTTAAATCACTGTTTC
TTTATCTGTGAATTCTTCTTCCAATTAGAAGGAGGAGAAAGAAGAAATTTGCCTGTATTTCTACCGGGAGGAGAAG
GATTCTAGTGTGACATCAAATTGAAAGAGTGCTGGAGCTCGAGCCCCTTCTTGCTTTCAGGATCCTTGCAAGTATC
AGTTCCCAGAACCATGGTTTATTAATATAAACCACAGTTATTTTTATCAGCAGCTACTCTGTACTGGGCTCCCTTCT
AGGTTCAAATCATTCTATTTGAGTAAGATAGAGAGGGTCCCGACTCTCAAGGTTACACAAGAGTGGAGGAGACAGAC
ACTAACCCAATAAGCATTTAAACAAAGAAGAAAATTTTCAGAGAGTCATAGTGCAGTGAAGAAAAGACATCAGGTTTGT
GGAAAAGAGAGAAAATGGATTACCTACTTTAGTTCATATGTCTAGAGAGCCCTACTTGAGAAAAGTGACATCCAGCTG
AGAAAACAAAATAAGTAGACAGTCGTGAAGATCTAAGGGACGAAAGTTCCAGGGAGACCGAATTGGGGGGGAAGCCC
TGGTGTGGGAAATTATGTGCAGGGACAGAAAGAAGGCTAGAGGGACTGAAGTGAGCAAGCAAGGAAATGCAGTGGCA
GAAGATGAGGTAGGATGCAGAGAGGAAGTCGGGAGCCTCATATCAGGCTCTGATGTCCATGGTAAGAACTTGAATT
TTATTTTATTTTATTAATTTATTTATTTATCTTATTTATTTTTGAGAGGGAGTTTCTTCTTGTGCCCAGGCTGGA
GTGCAATGGCATGGTCTCAGCTCACTGCAACCTCTGCCTCCCGGGTTCAAGTGATTCTCTTGCCTCAGTCTCCCAAG
TAGCTGGGATTACAGGTACCTGCCACCATGCTCAGCTATTTTTTCTGTGTTTTTACTAGAGACAGACTTTCACCATG
TTGGCCAGGCTGGTCTTCAACTCCTGACCTCAAGTAATCTGCCCGCCTGAGACTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGC
GTGAGCCACTGCGCATGGCCTGAATTTTATTTAAATAGATATGGGAAGCTACTGGATGGTTACAAGGAAAGTCAATT
TATATTCTTTTTTTTTTAATTTTTTAATTTTTTTTTTTTTTGTAGATATAGTCTTGCTCTGTCCAGGCTGGAGTGCA
GTGGCACTATCTCGGCTCACTGCAGCCTCTGCCTTCTGGGTTCAAGAGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCAAGTAGCT

118

GGTTGTGATTCACTACTACAGATAATTAGTGGACAAGTGGCAGAGAAATTAAGAAAGAAGATGATATGAAAGACAAA
TGATATGATTTGGTGACTGGTTGGAATGCAAGGAAATCAGTAAATCTTAGTTCTCAACAAGTTCATTTTCTGGA
GATAGCACTGTATTGGGACCAGAATTCTATAAAGCATTCGTTTTATGTAGGACCAAGATATTCACAGATATTTTCA
ATACAATTCTCAGCTGCTCCATAACCACTAGTGGCTTGTTC AACACAGGTTTTTTCAGATGGTTCACACCTGTGGTT
CTTACCCAGGGATCGTTCACCACCGCTCCTTTCCCTCCCATCACCTTGGGGAACCTGTGGCAATGTTTGAGCAATT
TTTGGTTGTCACCACAGGGGTTTCTTCTGATATTTAATGAGTAGAAGCCAGGGACACTGCTAGAGAACCTACAATGT
TCAGAACAGCCTCCTTTACCAACAAAGAATTATCTGGACCAAAATGTCAATAGTGCTGAGGCTGAGAGCACTGTTTC
ACACTGTGCTCTTTCTGAAAATTCTAGACTCACATCTTTTATACACTCAGCACCCAATTCAGTTCTTTATGGTTTAT
TTTTGCTTGCTTCATTATGCAAAAGTAGACAGTTGCATAAATCAACCACCTTCTTGTTGAATCCATTTAGTCAATG
CAAGTTTAATAGCTTCATAGTTAGTTTTTGCCTTATGCAATATTTTTCAACATTTTCATGAGTTGTTGGTCAGCACT
ACCTCTATTAACCTTTCAACAACCTTGCCCTTATAAGTCACAAATAGTGATGCTCTGCAATTATTTTCACTAACATGC
CTGAGATTTCTGTAGTGATTCTACATTTGGTATGATTCATAATGTAAAATGCTTTTATTTATTCATTTCACTTTTAA
CCAGAGGATTATTTTTCAGTTATTTTTGTCATTTTTACACTTCAATCAAACATAAAGACAAAAACATCTAAAATATA
TAGTATTTTACATATGTGTATATTTACACACATATATGTATGTATGTTACATGTATTGAAACTACAGAAGCTCATG
TCACCAATAAGAGCTCTGAGACACTTTTGACCCCTTACTCTTATCAGGTGAAATTTGCCAAATAAGTTTTATGAACA
AATTTCTTTTAACTGAATATCTGAGCTTTGTGGATTTAGAAATGCAAAGGAAGGTTTGTGGACATTCATGGGATCAT
GGTTTTATTCTCCTTAAATCTCTTTGATACTTTCCCACTGTCTTTAGCATAAATCTCAGATCCTAACACCACCCACA
ACGCTTTTCAATACCTGGCTTCTTGTGATGTCTCCAGTCTAATCTTTTACCCTCCTTCCCCTCAGCCTCTCTGCTTT
AGTGAACCTTTGTTCTAGTTTCTTGAAGAAGTTCATCAATTCAGCTTTTGTGCATGGTATTTCTAAACCTGAAATG
TGCTTCCCCCGTTTTGCCCAAACAGACACAGAGTCTCCACTCCGCCCCCTGGTTCACACCTGCTTAACCTGCCAAGT
CACATCTGAACGTGCACCTTCAGAAGGTCCCTCTGGCACCCCTAATGTAATTGAGATCATCCTATTACTCTGTGT
TCTGGAACCTCCACACTTCAGACATTTCTCATTCCCTGTCTAAGCTCTTGTGTGTTGGTTTTTGGCCTCACTTTTACT
GCTCTTTAAGCTCCCCAGCGGAGTGAGAGGTCTGTTTTCCCGTGTTGGATTCCCAGAGGCAGTGCAAGCCTGGC
ACAAGGTCATCACTAAAGGAGTGTTACAGGATGAACGCGGTGGGAGTTAGGGAACGGGTAAAGCCTGTGGGATGAG
AGAAGGAGCAGAGATTGTCTTTGGGGTGACGGCTCCCAGGAGGAGGCGGCGGGCTCCGGTGCTGGGCGGATCCTC
CTCCAGCTCCTGCTTGAGGTCTCCAGAATAGGCTGGAGGCGGGGAGGGGTCCCAAAGCCTTGGGATCAGAAGGG
GTTTTCTGCTGGTCCCCAGACACCCCGTTGCCTCAGGAAGACGGAGGATGAGCCTCTGGGCTGCGCGTGGTGC
GGGTTATGGTTGGGATCAGTTAAGGTTCCAGTGCCCGCACCCCGCCAGGGAGCCCCGGATGGCGGCGTCTCTGTCA
GTATCTTCCCCGAGGCGCGCCCTGTGACCGGATCCTTCGTGTCCCCACAGCACGTTTCTTGCAGCAGGATAAGTAT
GAGTGTCAATTTCTTCAACGGGACGGAGCGGGTGCGGTTCTGCACAGAGACATCTATAACCAAGAGGAGGACTTGCG
CTTCGACAGCGACGTGGGGGAGTACCGGGCGGTGACGGAGCTGGGGCGGCCTGACGCTGAGTACTGGAACAGCCAGA
AGGACTTCTGGAAGACAGGCGCGCGCGGTGGACACCTACTGCAGACACAACCTACGGGGTTGGTGAGAGCTTCACA
GTGCAGCGGCGAGGTGAGCATGGTGGGGGGCGGGGCTGGGTCCTTGTGAGCTGGGAATCTGAGTGTGTGTGTGTGT
GTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGT
GTGAGCATTTAGAATCCTCTCAATCTTGAGCAAGGACTTCTGAGGACACAGGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGT
TTTTGTGGCCTTTGTGGGAGGGGAAGCAGGAGGGGGCTTCTTCTTATCCTTGGAGGCCTCTGTGGGAGGTGACATGG
GAGGTGGGTGCAGGGGGCTGGAGAGAGAGGAGACCTTGGTTGTCTCGTGTCTTAGAGATGCAGGGAAGGAAAGTGT
AAGGTGTGTGTGGTTGGGGTGAAGGTTTAGGGGAGGAGAGCTGAGGGGTGTGGAAGATTTGTGATAATATGAGGAGG
CCAGTTCCAGACTGTCCCTGGCACCCACCTTCACGCAGTCTCTGAAATAAAAGTGTGTGGTGTGTGTGTGTGTGTGTGT

CATTAGATTAATTTCTAGGGGAATTGAGGAGACCTCTGAGGCACTTCTGAAGCTTCTTTAGGTCTAAATTTCTTGCT
ATTTTTTCTGTTTGTCTTTCTAGTGTGTATATTTTACATAGTTGAAATGACTGTGAACTAACTTTTTGATTAAAA
TTTAAATACACTGTTACTATTTTATTATAATGCTAATAGTTTTCTACTACTTACCTATTATTCTTTTATATATAATA
GTTGTGACACAACCTATCTCACTTTCCCTTTGTTGACCTTTATTATGACATTACCCAAAAGTTGAAAATATATGTT
TCTGGTTATTATTTAATTTATTTTTTTATTTGGAATTCTTTTGAATTATCTTGACCTATTTATTGCCCAATTATAAT
TACTGCTCTAAGAATTCCTATTGTATTTGGTAGGTAATGGACAATGATCTATTTTCTGTTATCTCCAGGGCTTAGT
ATTTTTCTCAGTGATTTTGTGGGTCTTTGTACTGTAAGATTATTAACACTTTATTGATATTTGATTCCACATTTTC
TCCAGTTTTTGATTTGTATGTTGATTTTGAAAATCTATGTAAAGAATTTGAACATTTCTGTTTAAATAAAATATATT
CCAAAACCTTTTATTAATGGTTTACAAACCATCTTAAATCTATCATTTTGTGGTATTTTTGTCTCCAGGTTTCTCCTT
CCTTCTTAAAAAAATGTATTTATTGAGAGTCTGCTAGTGTAGGGATTTTCCTAGGCATAAGCACCCCAAGTAATG
AGTCCCAGACCCTGCCTGCCTTGATCCAAATGTCATTCTGGAAAGAAAAATTATTTTACAATGATAGTATAATAATA
GTTATGCTTGTTTGCATGGGAGATGCATTGATCAGCTAAATGTAAATGTAAGAATTTTCAAACTAAAATAACTTTC
CTTAATCCTTCTCTGCTTTATGACTCATGCTTTGCTGGAACTTAAAGATTGGAGAACCATTTCTGTCTGTCTTA
CCTTCCCAGGGGCACAACCATTTCTGTGTTGTTCTAAGGTGTGAGTGCATGGCAGTAGTATTCCTAAACATTCATAC
TCAGTCTCCTTTTGTACCCTACTCGGTCCCTTTATCTATCCACATTACTTTAAATCATATTTTTCTCTCAAGCTGTA
CAAGGATGATAAATAGGTGGCAAGTGGAAACACCCAAGTGTGATGAGCCCTCTCACAGTGGAATGGAGTGAGAAGCTT
TATGACCTCATAAATTAAGGCTATCTTCAGTCATTGTTTTATATATTTTATGTGCATTAATCCTCATATAACCCCA
AGAGGTAAATTACTATAATTATCCTCTATTATGGGTGAGAAAGTTGAGACACAGAAGAATCGAAAACTCTTCCAGC
ATCAACCAGTAAAAGGCAGACCTTGGAATTTGAGCCAGGCAACCTGGCTCAGGTATCAGTTTAAATTACTACACTCTG
TACTTTCAAAGACTTGTAACACTTTGACAATGCATCCCAATTTCAAGTGATGAAGAAACAAACACAATTTTTCACA
TCTCTCAAATCTGATGAGCCCCACTATAAAGACTAAATTCAGGCTGATGACACTGTGAGGCCTCATGGCCAGCTG
TGCTGGAGGCCTGGTCAAGGCCAGAGCCTGGGTTTACAGAGAAGCAGACAAACAGCCAAAAAGGGAGATTCACTCTG
TCTTCCTGAGTCATTCCCTCTACATTTCCCTTTCTCCTAGTTGAGCCTAAGGTGACTGTGTATCCTGCAAGGACCCAG
ACCCTGCAGCACCACAACCTCCTGGTCTGCTCTGTGAATGGTTTCTATCCAGGCAGCATTGAAGTCAGGTGGTTCCG
GAACAGCCAGGAAGAGAAGGCTGGGGTGGTGTCCACAGGCCTGATTGAGATGGAGACTGGACCTTCCAGACCCTGG
TGATGCTGGAAACAGTTCCTCGAAGTGAGAGGTTTACACCTGCCAAGTGAGACCCCAAGCGTGACGAGCCCTCTC
ACAGTGGAATGGAGTGAGCAGCTTTCTGACTTCATAAATTTCTCAACCACCAAGAAGCAAACCTTTACTAATCCCTGA
GTGTGAGGTTTCTCATCTCCACATCCTATTTTTCATTTGCTCCATGTTCTCATCTCCATTAGCACAGGTCACTGGGG
GTAGCCCTGTATAGTTTCTAGAAACACCTGTATCCTCTGGGGAAGCAGTCATTCTGGCAGGAAGGAGAGGCTGTCC
CTGTTTTGAACCTCCCCATGATGTACAGGTCAGGTCACCCCTCTCCCAGGGCTCCAGACCCTGCCTCTGGGTCT
GAGACTGTGTTTCTGGTGTGTTGATCTGAGTTATTTGTTGTGATCTGGGAAGAGGAGAAGTGTAGGGGCCTTCCTG
ACATGAGGGGAGTCCAATATCAGCTCTGCCTTTTATTAGCTCTGTCACTCTAGACAACTATTTAACCTCATTGAGT
CTCAGGCTTTCTGTTTATCAGATGTTGAAGCCGTGCCTTACATCAGGGCTGTAATATTAGAATGAATTTGATCCCTG
AAACTTGTAAGTTTCAGTGTGATTTGAAAACCTTTTTTTTCTCCAGAAATGGCTAGTTATTTTAGTTCTTACAGAG
CAGCCTTCTTCCCCATTTTCAAAGCTATGAATATTGCAGGGTCTCAATTAAGGTTCAATTTGGGATAAAATCA
CTAAACCTGGTTTTCTCTCCCAGGAGCACAGTCTGAATCTGCACAGAGCAAGATGCTGAGTGAGTGGGGGCTTTG
TGCTGGGCCTGCTCTTCCTTGGGGCCGGGCTATTATCTACTTCAAGAATCAGAAAGGTGAGGAGCCTTTGGTAGCG
GCTCTCTCCATAGACTTTTCCAGAGGAGGAAATAGGGCTTTGCTGAGGTTAGTTCTCAGTATATGAGTGGCCCTGGA
TAAAGCCTTTCTTTCCACAAATGACCTCCAATGCCCTGCTAATCCAGAAATCATTAATGCATGGTTACTATGTCAA

AGCATAATAGCTTGTGGCCTGCAGAGATAAGAGAAAGGTAACTAGTTAAGGGTCCTTTGGTTTGAAATCCTGGAGC
AAATTAAGGAAGAGCCACTAAGGCTAATGCAATTACACTGGATCCTGTGACAGACATGTCATGCTTCATGGGTCACA
TGGTCTGTTTCTGCTCCTCTCTGCCCTGGTTGGTGTGGGTTGTGGTGTAGAGAAATCTCAGGTGGGAGATCTGGGA
CTAGGACATTGTGTTGGGAGAATAGATTTGCTTCCATACCTTTTAAGTGTATATCTTTTCCTCTTTTCCCAGGGCA
CTCTGGACTTCACCCAACAGGTAATACCTTTTAATCCTCTTTTAGAAACAGATTCAGTTTTCTAGAAATGATGGCAG
AGGTGATAAGGCATGAGACAGAAATAGCAGGAAAGACTTTGGATCCAAATTCCTGATCAGGCAATTTATACAAAAC
TCCTCCTCTCCACTTAGGCCTGTGCTCTGCAGGAGTATTGGTTCAGGGAGACTTAGGAACTTGTTTTTCTTCTTCT
GCAGTGCTCTCATCTGAGTCCTTGAAAAGAGAGGAAAAAGAGCTGTAGTGGAACCAGGTCTGAAAACAACACTTTCC
TCTCTCTCTGCAGGACTCGTGAGCTGAAGTGCAGATGACCACATTCAAGGGGGAACCTTCTGCCCCAGCTTTGCATG
ATGAAAAGCTTTCTGCTTGGCTCTTATTCTTCCACAAGAGAGGACTTTCTCAGGC

SEQ ID NO:20 HLA-DRB5*02:02

>MK040594.1智人MHC II类抗原 (HLA-DRB5) 基因,HLA-DRB5*02:02:01等位基因,
完整cds

CTCTGGCCCCTGGTCCTGTCTGTTCTCCAGCATGGTGTGTCTGAAGCTCCCTGGAGGTTCTACATGG
CAGTGCTGACAGTGACACTGATGGTGTGAGCTCCCCACTGGCTTTGGCTGGGGACACCCGACGTAAGTGCACATTG
TGGGTGTGAGCTACTATGGGGTGGGGAAAAATAGGGAGTTTTGTAAACATTGTGCCCAGGCCAGGTGCCTTAAGAAA
TTGTGACATTTTCTTCAGAGATTGCCCATCTTTATCATGGGATCCCAAATTATTTCCCTCCACAAAAGGAGCTTGACT
ACTTGCCCTCTCCAAGAGACTGTGTAAGGGGCCCTCCATACAGGTCATTTCTTCTCAAATCTCCACCAATGAAACCTT
TTCATCACATGTCTCAGGGTCTTTAGAGGATTTAGAAAATAAGGATGCTAAAATAAATTCCCCATACAGCACTTCCC
TTTATTATGTTGACCTATGTCAGACAAAACGAGTTTTTTTCTGAAAATTTGTGGGAGTCAAGGGAATTCAAAGGT
CTCTCCTAGACAATCCTGTGTTATGCCCTTGACAGAACCTGTGATATTGGCCCCTCTTCCTCATATGTGAGAATGGA
CCCAGTGGCCTCCCCATTACCTCCTTTCTTTTCTTCTGAACTCCAATGTTTACCCTGTAATGTATGCAAGGTCTCT
GACAGAAGTTATGCTTAGTGCTTTTTCTTATGGGGAAAAATCCTTGGAGCTGAAGCTGAGATCTTTAGTATGTGGAG
TCACCCTACAGTTAAAGGGCATCTATGAGGTATTCTTTGGTGCCTAAAGGACTTAAGGCATCCTCTAAAAACCTGGC
CCAGGTTAGAGTTTATTACAAATCTTTTTTAACCTTTCTATACTATTTGCTCCTATATCTCCTACATGCTCTAACTA
GACATGACAGGAAGAGATTCAACTAACATAGGACAAATTATATGAAATTCTATTTTGTAAAGTCAAAAATAGTCAAA
TATCAGAAATTTGATAAGGTTAAACTATATACTCTGTGTGGGGTTACAGAGAGAATGTGGACATTGTTACATCTC
ATAGGGCTGAAAGTTAATGATCAAGTCCTGGGAACTCATTGTCTTACTGGGGTCTTGTCCTAAATTTTCATAGGTTCA
TCCGTCATGCCCTCAGCTTTCCTTAATTAGCCATGTCTGCTTACCTCTTCCTCCAGTTTCTCTCTATTTTTCCCAG
CTATGTTGTCTCATATCCAGAAATCCCTAAAGCTTGACAGATCCTTAGCACTATGAGATCCATTGAAAGAGATAA
TTTTTTTTCTTTTTGAGATAGGGCCTGGCTCTGTCACCCAGGCTGTAATGCAGTGGTCCGATCTAGGCTCACTGCAAC
CTCTGCCTCCAAGACTCAAGCTATCCTTCCTCCTCAGCCTCCAGAGCAGCGGAGACTACAAGCCCACTAATTTTGT
TGGAGATGAGATTTCTGCCATGTTGCCCAGGGTGGTCTTAACTCCTGGACTCAAACAATCCTCCTGCCTTGGCCTC
CCAACATGCTAGGATTGTAGGTGTAAGCCACCACGCCAGGCACGGTGAATTCATTGCCCAGGCAATGAATCTCAAT
GAAAAATTTCTTTTTTCTTAAATCACTGTTTCTTTATCTGTGAATTCTTCTTCCAATTAGAAGGAGGAGAAAGAAGA
AATTTGCCTGTATTTCTCACCGGGAAGAGAAGGAATCTAGTGTGACATCAAATTGAAAGAGTGCTGGAGCTCAAGCC
CCTTCTTGCTTTCCAGGGTCTTGCAGTGATCAGTCCCAGAACCATGGTTTATTAATATAAACCACAGTTATTTTT
ATCAGCAGCTACTCTGTACTGGGCTCCCTTCTAGGTTCAAATCATTCTATTTGAGTAAGATAGAGAGGGTCCCGACT
CTCAAGGAGGTTACACAAGAGTGGAGGAGACAGACACTAACCCAATAAGCATTTAACAAAGAAGAAAATTTTCAGAGA

GTCATAGTGCACCTGAAGAAAAGACATCAGGTTTGTGGAAAAGAGAGAAATGGATTACCTACTTTAGTTTGTATGTC
TAGAGAGCCCTACTTGAGAAAGTGACATCCAGCTGAGAAAACAAAATAAGTAGACAGTCGTGAAGATCTAAGGGACG
AAAGTTCCAGGGAGACCGAATTGGGGGGGAAGCCCTGGTGTGGGAAATTATGTGCAGGGACAGAAAGAAGGCTAGAG
GGACTGAAGTGAGCAAGCAAGGAAATGCAGTGGCAGAAGATGAGGTAGGATGCAGAGAGGAAGTCAGGAGCCTCATA
TCAGGCTCTGATGTCCCTGGTAAGAAATTTGAATTTTATTTTATTTTATTTAATTTATTTATTTATCTTATTTATTTT
TGAGAGGGAGTTTCATTCTTGTGCCCAGGCTGGAGTGCAATGGCATGGTCTCAGCTCACTGCAACCTCTGCCTCCC
GGGTTCAAGTGATTCTCTTGCCCTCAGTCTCCCAAGTAGCTGGGATTACAGGTACCTGCCACCATGCTCAGCTATTTT
TTCTGTGTTTTCACTAGAGACAGACTTTCACCATGTTGGCCAGGCTGGTCTTCAACTCCTGACCTCAAGTAATCTGC
CCGCTGAGACTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGCGTGAGCCACTGCGCATGGCCTGAATTTTATTTAAATAGATAT
GGGAAGCTACTGGATGGTTACAAGGAAAGTCAATTTATATTCTTTTTTTTTTAATTTTTTAATTTTTTTTTTTTGAGA
TATAGTCTTGCTCTGTCAACAGGCTGGAGTGCACTATCTCGGCTCACTGCAACCTCTGCCTTCTGGGTTCA
AGAGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCAAGTAGCTGGGATTACAGGAGTGCAACCCAGCTAATTTTGGTATT
TTTAGTAAAGACAGGGTTTCACCATGTTGGCCAGGATGGTCTTGATCTCTTGACCTCGTGATCCACCTGCCTCAGCC
TCCCAGTGTGCTGGGATTACAGGCGTGAGCCACCGTGCCCGCCTATATTGAATTTTTTAAACTAATTCTAGCTACT
CTGTGGGGATTGGATTGTTGGGGTTGACAAGTGGTTAGGAAGACTATTTAGGAGCACAGCAGGAATCCTCAGGGAA
AACAGGCTTGAGTTCACTAGTGATAAAGACAGTGAAAAAGATAAAGTGGATTTTGCTTACCTTGTTAATGGATTACT
GTAAAGGGGGTAGAAATATCAAGCTTATTCTAAGGATTTTGTTTTGACAAATTAGTGAAAGGTGGTGGTGTATT
GAGATAGGGAAACTGTGGGAGGAAATGATTTGAAGTGGGTGGTTGAAATAAAAGTTTTGTTTAAGTTTGAGATGA
TTTATTGACATTTGTGTGGAGCAATCAGAAGGTCAATGGCATTAAAAAGACTCATGGTGGGCCGGGCGCAGTGACTC
ATGCCTGTAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCTAGACAGGCGGATCACGAGGTCAGGAGATCAAGACCTTCTGGCTAA
CACGGTGAAACCCGCTCTCTACTAAAAATACAAAAAATTAGCTGGGCATGGTGGTGGTGCCTGTAGTCCCAGCTAC
TTGGGAGGCTGAAGCAGGAGAATGGCGTGAACCAGGGAGGTGGAGCTTGCACTGAGCTGAGATCGCACCCTCACT
CCAGGCTGGGTGACAGAGCAAGACTCCGTCTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAGAGACTCATGGTGAGGCCAGGGCTGGAGGT
ATTTATGTTGGTGGCATCAATAGGTGTACTGTGTTAAATTCAGGGAGTGGAAGAGGTTACATAGGGAGATTGTCTG
GAGAAAAAGAAAAGGGCACAGGCCAGCAAGGGGACTAAGAAAGAGCCCAGGGATGTTGGGAAAAACCAAGATTA
CATCATATGTGTAAGTCAAGAAAAATAGATTTTTTTTTTTTCCAAGGAGAAGGGAGAGGCCAATTGTGGTGAGTACCA
CTAAGAGGAGGGTGAAGTGAGAATGTGACAGAGAAGCAACGGCTGGGATTGGTGGAGCTGATATTTGCAGTCAGTAG
AGTATCCAGGGAGGAACTGGATTGGACCATTTGAAGAGCGAGTAGAAGAGAGGACAAGGTTAAGGTTGACTGTTTT
GAGTAGCGAGCTTCAGGGAAGGACTGTGCTCTGGGTTCAAGGAGCCAGCTGGATCAAAGGAAAAGGCTAAAGAGGC
TGAAGAGAAGCAGGAGGACCTGTGAACCAGAGATGCTCGGTCATTATTATCAAGGAAATATTAGAGGGCCCTGTGT
GCAGTGGTGACTGCTCATGAAGAGGTCACACAGCCAATATTTACACAGCCCATATTTATTAGTGACTTAGAATATA
CCAGTTACTACTCTAGGTGATGAGAATGGAGTGATGAATAAAATGAATCTGGTCTCCATCAGTATATGCCATGTAAC
ATTTTGCAGTGACTGTGTACCAGGCCTATGAATTTCACTATGCAATTTCAATAATGATCCTGCTGTATCTGTGGTAT
ATAAAACATGTACATCTCTGGAATCTAAATTTGAAAGGTTATAAGTAAAACCCAGTATCACAAATTTGGTGCTAGA
AATCAGATTGCAGTTTAAATCTGAGCATGTAGAAAAGTCCATTTCTTCTATGTCAGCAGGTGCCTTTTGTGTGAGGTT
TAGGTATACTGCATTATTAGACATAAACCAGTGTTTCTGCCCTCTGTTTTCAGAATGACAATTTTATGAACTAA
TAGAAGAACAGAAGACAATTGCAAAATCATGATGAAGATACTAATTGCTTTAGAATCATGTAATAGAAAAATAATG
TGAGCTCCAGTTATAGGGATCAAAAAATTAATAATGGGAATACATTTGAGTGTTTATTATGTGATCACTGCTAAGAAG
ACTCTTTATTAAATTTACACTTACAAATAATCCTGTGAGGATTATTATAAAATGCATTTGATAGATTACAAATAGG

CTTATGGTTGGCAAAATTGACCCATTTAAAAGAGGTCATATTTCAATTCATATTTTCTGATTCTAGAATATGAGAG
TTTTTCCATCATTAGTGAGTAGTGACTTGATTGTGTCTGAATTATTGACAAAATTTCTAATATTCATATGTACCAGG
TTGTTTCTTAGAGTGGGGGCAGAGATGCAAGGGCTTCTAGTTCCAATGTATAAAAGAACTTTCATTCAATTTTGCAT
TTATCATTTTTAAAAGTTCTATAAGTCTATCATAGGCATGTGTTGAAGAACATAAAGAAGTATTAAATCATTCCTTCT
TCTGAGGTTTGACTAGCAAGTCTGGCTAGGGTTGTCAGATAACAAACAGGTTCCCTAGTTAAATCTGAATTTTCAGACA
CACGACCACAATTTATTGGAAATCCAGATTTACCTGGGCATCCTCTGGTTTTATTTGTCAAATCTGTCAACCCTAAG
TGGGACACATGAGCATGGATTACAGTGCTAGCCATGCAAGCCACAGTGACAGTGACTTTACAAATGTTTATTTTTTA
ACATTCTGTCTGTAAAGAAAGTGCTTACATAATTTAGGAATAGAAAGATAGACATTGTTTGATCCAGGGTGCACACC
TCTCTGCCATCATTTCTAAAGGGCAAACGGAGCTTTGTGAAGGTCTCTACACAAAGTCTGGGGACCTGCTCATGTTT
TGTAAGTGTATGAGAACGTCATTTTCTTGGTTTCTGACTTTCTGAGGGGACTTGACTACAAAACCAAGAGTTTTAT
CTCTGGCCAAGGCTGGTAATTTGATGCCTGCTAGTATTGTTGGGAGTGGGAGACTGAAAGACGTGAGTTAGTTGGGG
CATTAAATGGGAATAAAATAGCTGTGGTTGTGATTCACTACTACAGATAATTAGTGGACAAGTGGCAGAGAAATTAA
GAAAGAAGATGATATGAAAGACAAATGATATGATTTGGTGACTGGTTGGTAATGCAAGGAAATCAGTAAATCTTAGT
TCTCAACAAGTTCATTTTCTGAAAGATAGCACTGTATTGGGGCCAGAATTCTATAAAACATTCGTTTTATGTAGGA
CCAAGATATTCACAGATATTTTTCAATACAATTCTCAGCTGCTCCATAACCACTAGTGGCTTGTTCAACACAGGTTT
TTTCAGATGGTTCACACCTGTGGTTCTTACCCAGGGATCGTTCACCACCGCTCCTTTCCCTCCCATCACCTTGGGG
AACTTGTGGCAATGTTTGAGCAATTTTTGGTTGTCACCACAGGGGTTTCTTCTGATATTTAATGAGTAGAAGCCAGG
GACACTGCTAGAGAACCTACAATATTCAGAACAGCCTCCTTTACCAACAAAGAATTATCTGGACCAAAATGTCAATA
GTGCTGAGGCTGAGAGCACTGCTTCACACTGTGCTCTTTCTGAAAATTCTAGACTCACATCTTTTATACACTCAGCG
CCCAATTCAGTTCCTTTATGGTTTATTTTTGCTTGCTTCATTATGCAAAAGTAGACAGTTGCATAAATTCACCCTT
TCTTGTTGAATCCATTTAGTCAATGCAAGTTAATAGCTTCATAGTTAGTTTTTGCCTTATGCAATATTTTTCAACA
TTTTCATGAGTTGTTGGTCAGCACTACCTCTATTAACTTTCAACAATTGCCCTTATAAGTCACAAATAGTGATGCT
CTGCAATTATTTTTCTACTAACATGCCTGAGATTTCTGTAGTGATTCTACATTTGGTATGATTCATAATGTAAATGC
TTTTATTTATTCATTTCACTTTTAACCAGAGGATTATTTTTCAGTTATTTTTGTCATTTTTTACACTTCAATCAAACA
TAAAGACAAAAACATCTAAATATATAGTATTTTACATATGTGTATATTTACACACATATATGTATGTATGTTTACA
TGTATTGAAACTACAGAAGCTCATGTCACCAATAAGAGCTCTGAGACACTTTTGACCCCTTACTCTTATCAGGTGAA
ATTTGCCAAATAAGTTTTATGAACAAATTTCTTTTAACTGAATATCTGAGCTTTGTGGATTTAGAAATGCAAAGGAA
GGTTTGTGGACATTCATGGGATCATGGTTTTATTCTCCTTAAATCTCTTTGATACTTTCCCACTGTCTTTAGCATAA
ATCTCAGATCCTAACACCACCCACGACGCTTTTCAATACCTGGCTTCTTGTGATGTCTCCAGTCTAATCTTTTACCC
TCCTTCCCCTCAGCCTCTCTGCTTTAGTGAATTTGTTCTAGTTTCTTGAAGAAGTTCATCAATTCAAGCTTTTGTG
CATGGTATTTTCTAAACCTGAAATGTGCTTCCCCGTTTTGCCCAAACAGACACAGTCTCCACTCCGCCCCCTGGTT
CACACCTGCTTAACCTGCCAAGTCACATCTGAACTGTCACCCTTCAGAGGGTCCTTCTCTGGCACCTAATGTAATT
GAGATCATCCTATTACTCTGTGTTCTGGAATCCACACTTCAGACATTTCTCATTTCTGTCTAAGCTCTTGTGTGTT
TGGTTTTTGGCCATCACTTTTACTGCTCTTTAAGTCCCCCAGCGGAGTGGAGAGGTCTGTTTTCCCGTGTGTTGGAT
TCCCAGAGGCAGTGCAAGCCTGGCACAAGGTCATCACTAAGGGAGTGTTACAGGATGAACGCGGTGGGAGTTAGGG
AACGGGTAAAGCCTGTGGGATGAGAGAAGGAGCAGAGATTGTCTTTGGGGTGGAGGCTCCAGGAGGAGGCGGCGCG
GGCTCCGGTGTGGGCGGATCCTCCTCCAGCTCCTGCTTGGAGGTCTCCAGAATAGGCTGGAGGCGGGGAGGGGGTC
CCAAAAGCCTTGGGATCAGAAGGGGTTTTCCCGCTGGTCCCCCAGACAGCCGTTCCGCTCAGGAAGACGGAGGAT
GAGCCTCTGGGCTGCGCGTGGTCGGGGTTATGGTTGGGATCAGTTAAGGTTCCAGTGCCCGCACCCCGCCAGGGAG

124

TAGCACAGGTCAGTGGGGGTAGCCCTGTATAGTTTCTAGAAACACCTGTATCCTCTGGGGAAGCAGTCATTCTGGC
AGGAAGGAGAGGCTGTCCCTGTTTTGAACCTCCCCATGATGTCACAGGTCAGGGTCACCCCTCTCCCAGGGCTCCA
GACCCTGCCTCTGGGTCTGAGACTGTGTTTCTGGTGCTGTTGATCTGAGTTATTTGTTGTGATCTGGGAAGAGGAGA
AGTGTAGGGGCCTTCCTGACATGAGGGGAGTCCAATCTCAGCTCTGCCTTTTATTAGTTCTGTACTCTAGACAAAC
TATTTAACCTCATTGAGTCTCAGGCTTTCTGTTTATCAGATGTTGAAGCCGTGCCTTACATCAGGGCTGTAATATTA
GAATGAATTTGATCCCTGAAACTTGAACTGTTCAAGTGTGATTGAAAACCTTTTTTTTCTCCAGAAATGGCTAGTT
ATTTTAGTTCTTACAGAGCAGCCTTCTTCCCCATTTCAAAGCTATGAATATTGCAGGGTCTCAATTAAGAGGTTT
AATTTGGGATAAAAACTACTAAACCTGGCTTCCTCTCCCAGGAGCACAGTCTGAATCTGCACAGAGCAAGATGCTGA
GTGGAATCGGGGGCTTTGTGCTGGGCCTGCTCTTCCTGGGGCCGGGCTATTCATCTACTTCAAGAATCAGAAAGGT
GAGGAGCCTTTGGTAGCGGCTCTCTCCATAGACTTTTCCAGAGGAGGAAATAGGGCTTTGCTGAGGTTAGTTCTCAG
TATATGAGTGGCCCTGGATAAAGCCTTTCTTTCCACAAATGACCTCCAATGCCCTGCTAATCCAGAAATCATTAATG
CATGGTTACTATGTCAAAAGCATAATAGCTTGTGGCCTGCAGAGATAAGAGAAAGGTTAACTAGTTAAGGGTCCTTT
GGTTTGAAATCCTGGAGCAAATTAAGGAAGAGCCACTAAGGCTAATGCAATTACACTGGATCCTGTGACAGACATGT
CATGCTTCATGGGTACATGGTCTGTTTCTGCTCCTCTCTGCCCTGGTTGGTGTGGGTGTGGTGTAGAGAAATCT
CAGGTGGGAGATCTGGGACTAGGACATTGTGTTGGGAGAATAGATTTGCTTCCATACCTTTTAAGTGTATATCTTTT
CCTCTTTTTTCCCAGGGCACTCTGGACTTCACCCAACAGGTAATACCTTTTAATCCTCTTTTAGAAACAGATTCAGTT
TTCCTAGAATGATGGCAGAGGTGATAAGGCATGAGACAGAAATAGCAGGAAAGACTTTGGATCCAAATTCCTGATCA
GGCAATTTATACCAAACTCCTCCTCTCCACTTAGGCCTGTGCTCTGCAGGAGTATTGGTTCAGGGAGACTTAGGAA
CTTGTTTTTCTTCTTCTGAGTGTCTCATCTGAGTCCCTGAAAGAGAGGAAAAGAAGCTGTTAGTGGAACCAGGT
CTGAAAACAACACTTTCTCTCTCTCTGCAGGACTCGTGAGCTGAAGTGCAGATGACCACATTCAAGGGGGAACCTT
CTGCCCCAGCTTTGCATGATGAAAAGCTTTCTGCTTGGCTCTTATTCTTCCACAAGAGAGGACTTTCTCAGGCCCT
GGTTGCTACCGGTTCAAGCAACTCTGCAGAAAATGTCC

SEQ ID NO:21 HLA-DRB4*01:03

>OU943350.1用于MHC II类抗原的智人HLA-DRB4基因,等位基因HLA-DRB4*01:03:
01:04

AACCTTTTGAGTACTAAATTAACAATCCTTTAAAGAAGACAATTGTTTCAGAGGAGGACCTTCATAC
AGCATCTCTGACCAGCAACTGATGATGCTAGTGAACCTCAGGTGCTGACTGGTTCTCCAACACGAGATTACCCAATCA
AGGAGCAAGGAAATCAGTAACTTCCTTCCTATAATTTGGAATGTGGGTGGAGGGGGGCCATAGTTCTCCCTGATTGA
GACTTGCCTGCTGCTGTGACCACTGGTCTTGTCTCTTCTCCAGCATGGTGTGTCTGAAGCTCCCTGGAGGCTCCTG
TATGGCAGCGCTGACAGTGACATTGACGGTGCTGAGTCCCCACTGGCTTTGGCTGGGGACACCCAACGTAAGTGCA
CATTGTGACTGCAGAGCTACTATGGGGTGGGGGCAAAAAATAGGAAGTTTTGTAAACATTGTGCCCAGGCTATGTCTC
TTATGAAATTGTGACACTTTCTTCAGAGATTGCCATCTTTATCAGATGGATCCCAAATTTTCCACCACAAAAGG
CGCTTGGCTACTTGTCTGTCCATGAGATTTGTGTAAAGGGCCTACACACAGGTCATTTCTTCTCAAATCTCCACCA
ATAAAACCTATGCATCACATGTCCTCAGGGTCTTTAGAGGATTTAGAAATAAGTATGCTAAAATAATTTCCCCATAC
AGCACTTCCCTTTATTATGTTGACTTATGTCAGACAAAAGGAGGTTTTTACTGAAAATTTGTGGGAGTCAAGGGAA
TTCAAAGGGTCTCTCCTAGACGATCCAGTGTTATGTCCTCCACAGGACCTTTGGTGTGGCCCTCTTCTCATATG
TGAGGATGGATCCAGTGGCCTCCCCATTATCTCCTTTCTTTCTTCTGAACTCCAATGTTTATAAAGCCTGTACCC
CTGTTGCCTATGTAGTTCTCTGACAAAAGTTATACTTAGTGCTCTTCTTTCTTATGGGGAAAAATCCGTGGAAC
GAAGCTGAGATCTTTAGTACGTGGAGTCACCTTACAGATATAGAGCATTTATGCGGTATTCATTGGTGCCTAAAGAA

CTTTAGGCATCCTCTGAAAAACGGCCAGGTTAGTGTTTATTATGAATCTTTTTTAACCGTTCTATACTTGTTTCT
CCTACATCTCTTACGTGCTCTAACTAGACATGACAGAAGAGATTTAACTAATGTAGTATAAATTGTATGAAATTCTA
TTTTTGTAAGTCAAAAATAATCAAAATATCAGAAATTTAATAATGTTCAAACCTATATACTCTGTGTGGGGTTTTTGAG
ACAATGTGGACATTGTTTCATGTCTCATAAGGCTGAAAGTCAATGAGCAAGTCCTGGAAACTCATTGTCTTACTGGGG
TCTTGTCCTAAATTTTCATAGGTTACCCATCATGCCCTCAGCTTTCCTTAATTAGCCATGTCTGCTTACCTCTTCCT
CCACTTTCTCTCTTTTCCCCAGCTATGTTGTCATCATTTCCAAAAATCTCTAAAGCTTGCACAGATCCTTAGCACTA
TGAGATCCATTGAAAGACATAATTTTTTTCTTTTTGAGATAGGGCTAGCTCTGTCACCCAGGCTGTAGCTCAGTGG
TGTGATCGAGGCTCACTGCAACCACTGCCTCCCATGCTCAAGCGATCTTCCCTCCTCAAGCTCCGGAATAGCTGGGA
ATAGAGGCAGGCAACCACGCCCAGCTAATTTTTTAATTTTGGTAGAGATGAGATTTTGCCATGTTGCCAGGCTGGT
CTTAAACTGCTGGACTCAAGCAATCCTCCTGCCTTGGCCTCCCATCGTGCTAGGATTATAGATGTGAGCCACTGTGC
CCAGGCAAAAAGAAATGACTCTTAATAAAAAAATTTTCCTTTTTCTTAAATCACTGTTTCTTTATCTGTGAATTCTTC
TTCCAAGTAGAAGGAGGAGAAAGAAGAAGTTTGCTGTATTTCTCACCGGGAGGAGAAGGGGTCTAGTGTGACATCA
AAATGAAAGGGTGCTGGAGCTTGAGCCCTTCTTGCTTCCGGGATCCCCACAGTGATCAGTTCTCATACCCTGGTT
TATTCGTGTAAACCACACTTATTTTTCTCAGCAGCTACTGTGTACTGGGCTCCATTCTAGGTTCAAATCATTCTATT
TGAGTAAGATAGAGAGGGTCCCGACTCTCAAGGAAATTACACAACAATAGAGGAGACAGACACTAACCCAATAAGCA
TTTAACAAAAAAGAAAATGTTAGAGAGTCATAGTGCCTGAAGAAAAGACAACAGGTTTGTGCGAAAGATAGAAATG
GATTCACCTACTTTAGTTTCATATGTTTAGGGAGCCCTACCTGAGAAAGTGACATTCAGCTGAGACAACAAAGTAAGT
AGACAGTTGTGAAGATCTAATGGACAAAAGTTCCAGGGAGACTGAATCGAGGGAAAGCCCTGGTGTGGGAAATTATG
TGGAGGGAGAGAAAGAAGGCTAGAGGGGCTGATGTATAGGAAGCAAGGAAATAGGGGGCAGAAGATGAGGTAGAAC
ACAGAGAGGAAGTCAGGAGCCTCCTCATATTAGGCTCTGAAATCCACGGTAAAAAATTTGAATTTCAATTTATTTATT
TATTTTGAGACAGAGTTTCATTCTTGTTGGCCAGACTGGAGTGCAATGGCACAATCTCGGCTCACTGCAACCTCCGC
CTCCTGGGTTCAAGTGATTCTCCTGCCTCAGCTTCCCAAGTAGCTGGGATTACAGGCACCCACCACCATACCTGGCT
ATTTTTTTGTATTTTTAGTGAGATGGGGTATCACCATGTTGACCAGGCTGGTCTCGAACTCCTGACCTCAGATAAT
CTGTCTGCCTTGGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAAGAGTGGGCCACTGTGCCAGACTGAATTTTATTTAAATAG
ATATGAGAACTACTGTACGGTTACACGGAGAGTCAATTTATATTCAATTTTGTGTGTGTGTGTTTGTGAGATCGAG
TCTTGCTCTGTTGCCAGGCTAGATTGCAGTGGCACAATCTCGGTTTACTGCAACCTCCGCCTCCCGGTTCAAGCG
ATTCTATTGCCTCAGCCTCCCGAGTAACTGGGACCACAGGCGCATGCCACTACACCTGGCTAATTTTTTTGTATTTTT
AATAGGGATGAGGTTTACCGTGTTAGCCAGGTTGGTCTCGATCTCCTGACCTCGTGATCTGCCACCTTGGCCTCC
CAAAGTGCTGGGATTACAGGCGTGAGCCACTGCACCCGGCCTATATTCAATTTTTAAACTAACTCTAGCTACTCTG
TAGGAATTGGATTGTTGGGGTTCAAAAGTGCTCAGGAAGACTATTTAGGAGCACAGCAGAGAATTATCCAGGGAAAA
CAGGCTTGTGGCTTCATGGAGTGCATTAGTGATAAAGAGAGTGAAAAAGATAAAGTGGACAGACTTGGCATGTATTT
TTGCTTAGCTTGCTAATGAATTACTGTAAAGGGTTAGAACAATCAAGCTTATTCCTAAGGATTTTGTGTTTGACAAA
TAAGTGGGTGGTAGTGTTGTTTATTGAGATAGGAAAACTATGGGAGGAAATGATTTGAAGTGGGTGGTTGGAAATA
AAAGTTTTGTTTAAATTTGAGATGATTTATTGACATTTATGTGGAGCAATCAGAAGGTCAATGGCATTTAAGAGACT
CATGGTGAGGTGAAGCTAGGGCTTCAGGTATTTATGTTGGCGGCATCAATAAGTGTAGTGTGTTAAATTCCAGGGAG
TGTAAGATGATACATAGGAGATGGATTGTGTGGAGAAAAAAGAAGAGGTACAGGCCAGCAAAGGGGGCTGAGAAA
GAGCCAGGGAGGCTGGAGAAAACCAAGATAACATAATGCGTGTAAGTGAAGAAAAACAGATTATTTTCAAGGAGA
AGGGAGAGGCCAATTGTGGTGAGTACCACTAAGAGGAGAGGGAAGTGAGAACGTGACAGAGAAGCAAGTGCTGGGTT
GCTGGTTTGCTGGAGTTGATATTTGCAGTCAATGGAGTATCCAGGGAGGAACTGGATTGGACCATTTGAAGAGCAA

GTAGAAGTGAGGACGAAGTTAAGATTGACTGTTTTGAGTAGAGAGCTTCAGGGAAGGACTGTGCTCTGGGTTCAGGG
AGCCAGCTGATTCTAAAGGAAAAAGGCTAAAGAAGCTGAAGAGCCAGCTTTCCCAGCACCATTTATTAAATAGGGAAT
CCTTTCCCCATTTCTGTTTTTTGTCAGATTTATCAAACATCAGATGGTTGTAGATGTGTGGTATTATTTCTGAGGGC
TCTGTTCTGTTCCATTGGTCTATATCTCTGTTTTGGTACCAGTACCATGCTGTTTTGGTACTGTAGGCTTGTAGTA
CAGTTTGAAGTCAGGCAGCATGATGCCTCCAGCTTTGTTCTTTTGGCTTAGGATTGTCTTGGCAATGCGGGCTCTTT
TTTGGTTCCATATGAATTTTAAAGTAGTTTTTGTCAATTCTGTGAAGAAAGTCATTGGTAGCTTGATGTGGATGGCA
CTGAATCTATAAATTACCTTGGGCAGTATGGCCATTTTCACGATATTTATTCTTCTTATCCATGAGCATGGAATGTT
CTTCCATTTGTTTGTGTCTCTTTTATTTAGTTGAGCAGTGGTTTGTAGTTCTCCTTGAAGAGGCCCTTCACGTCCC
TTGTAAGTTGGATTCTAGGTATTCTATACTCTTTGAAGCAACTGTGAATGGGAGTTCCTCATGATTTGGCTCTCT
GTTTGTCTGTTATTGGTGTATAAGAATGCTTGTGATTTTTTGCACATATGTAGAAAGCTAAAACTGGATCCTTTCTT
TACACCTCATACAAAAATTAATTCAAGATGGATTAAAGACTTAAATGTTAGACTTAAAACCATAAAAAACCCTAGAAG
AAAACCTAGGCAATACCATTCCGGACATAGGCATGGGCAAGGACTTCATGTCTAAAACACCAAAAGCAATGGCAACA
AAAGCCAAAATGGACAAATGGGATCTGATTAAACTAAAGAGCTTCTGCACAGCAAAAGAAAATACCATCAGAGTCAA
CAGGCAACCTACAGAATGGGAGAAAATTTTTGCAATCTACTCATCTGACAAAGGGCTAATATCCAGAATCTACAAAG
AACTCAAACAAATTTACAAGAAAAAAACAAACAACCCCATCCAAAAGTGGGCAAAGGATATGAACAGACACTTCTCA
AAAGAAGACATTTATGCAGCCAACAGACACATGAAAAATGCTCATCATCACTGGCCATCAGAGAAATGCAAATCAA
AACCACAATGAGATACCATCTCACACCAGTTAGAATGGCATTCAATAAAAAGTCAGGAAACAACAGGTGCTAGAGAG
GATGTGGAGAAATAGGAACACTTTTACACTGTTGGTGGGACTGTAAACGAGTTCAACCATTGTGGAAGACAGTGTGG
TGATTCTTAAGGATCTAGAACTAGAAATACTGTTTGACCCAGCCATCCCATTACTGGGTATATACCCAAAGGATTA
TAAATCATGCTGCTATAAAGACACATGCACACGTATGTTTATTGTGGCACTATTCACAATAGCAAAGACTTGGAACC
AACCCAAATGTCCATCAATGATAGACTGGATGAAGAAAATGTGGCACATACACACCATGGAATACTATGCAGCCATA
AAAAAGGATGAGTTCATGTCTTTGTAGGGACATGGATGAAGCTGGAAACCATAATTCTCAGCAAACCTATCACAAGC
AGAAAAAAACCAAACACCACATGTTCTCACTCATAGGTGGGAATTGAACAATGAGAACTTGGACACAGGAAGAGG
AACATCACACACCGGGGGGAGGGGGAGGGATAGCATTAGGAGATATGCATAATGTAAATGACGAGTTAATGGGTGC
AGCACACCAACACGGCACATGTATATGTGTGTAACAAACCTGCACATTGTGCACATGTACCCTAGAACTTAAAGTAT
AATAAAAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAAGAGCTGAAGAGAAGGAGGAGGACTTGTGAACCAGAGA
TGCTCAGTCATTATTAGCGAGGAAATGCTAGAGAGCCCCGTGTGTGCAGTGTGACTACTTATGCAAAGGTACACA
GCCAATATTTAACGCAGCCAGTATTTACACAGCCAATATTTATTAATGACATAGCATACATATACCAGTTATTACT
CTAGGTCATGAGAATGGAGTGATAAATAAAATGAATCTGGTCGCCATCAGTATATGCCAGGTAACATTTTGCAGTGA
CTGTGTACCAGGCCTATGATTTTCAGTATGCAATTTCAATAATTATCCTGTTGTATCTGTGGTATTTAAAAAACATA
TACATCTCTGGAATCTAAAATTGAGAGGATATAAGTAAAACCCAGTGTTACAAATTTAGTGCTGGAAATCAGATTGC
AGTTTTAAATCTGAGCATGTAGAAAGTCCCTTTCTTCTATGTCAGCAGATGCCTTTTGTGTGAGGTTTAGGTATACTG
CTTTATTAGACATAAACCCAGTGTCTGCCCCTATGTTTTCAGAATGACAATTCCTTATGAAACTAATAGAAGAACAG
AAGACAATTGCAAAATCATGATGAAGATACTAATTGCTCTAGAATTCAGGAATACATAAAATGATGTGAGCTGCAGT
TATAGGGATCATAAAAGTTAAATGGGAATGCATTTGAGTGTTTATTATGTGATCAGTGCTAATAAGAGTCATCATT
TAATTTTACACTTAACAGTAATCCTGTGAGGATTACGCTATTATTAATGCATTTGATAGATTACAAAAAGGATTAT
GGTTGGTAAAAATTGCCCCAAGTAGAAGAGATCATGTTTTTTATTACAGTTATCTGATTCTAGAGTTTGAGAGTTTG
ACTGACCATCATTAGTGAGTAGTGACTATATTGTGTCTGAATTATTGACAGAATTTCTGATATTCAAATGTACCAGG
TTGCTTCTTAGAGTGCAGACAGAGATGCAAGGGCTGCTAGTTCCGATGTATAGGAGAACTTTCATTCAATTCACAT

TTATCATTTTAAAAGTTCTGTATGTCTATAATGGTCATGTGTTGAAGAACACAAGGAAGTATTAAATCACTCCTTCT
TCTGAGGTTTGACTAGCAAGTTGGGCTAGAGTTACCAAATAAAATACATGTTCCCTAGTTAAATCTGAATTTAGATA
CACACCATGATTTCTTGAAATTCAAATTTACCTGGGCATCCTCTGGTTTTATTGGCAAATCTGTCAACCCTAAG
TGAGACACATGGACATGGATTACAGTGCTAGTCATGCAAACCACAGTGACAGCAACTTCACACATGTTTATTTTTTA
ACTTTCTGTCTGTAAAGAAAGTACTTAGATAATTTAGGGATAAAAAGATAGACATTGTTTTATCCAGGGTGCACACC
TCTCTGCCATCATTTCTAAAGGGCAAAGGGACATTTCTGCAGGTCTTGCTCACAGTCTGGGGACCTGCTCGTTTTTG
CAAACGTCTGTATGAGTATGTCATTTTCTTGTTTTCTCCCTTTCTAAGGGGACTTGACTGCAAACCAGGAGTTCT
GCCTCTGGCCAAGGCTGGAAATTTGATGCCTGCTGGTATTGTTGGGAGTGGGAGACTGAAAGAAATGAGTTAGTTGG
GGCATCAAATGGGAAATAAAATAGCTGTGGTTGTGATTCAATTATTACAGAAAATTAGTGGACCAGTGGCAGAGAAAT
TAAGAAAAAGATGATGTGAATGATAAACGATATGATTAGTGGCTACTTGGTAAGGCAAGGAAATCATTAAATCTTG
GTTCTCATCAAGTTCATTTTCTGAAAAGATAGCACTGTATTGGGACCAGAATTCTACAAAACATTCTTTTTATGTAG
GACCAAGATTTTCAACAAATATTTTTCAATGCAATTCTCAGCGCTCCATAACTAATAGTAGCTTGTTCAACACAGAT
TTTTTCGGATGGTTCACACCTGTAGTTCTTACCCAGGGATAGTTCACCACCCCTCCCTTCCCTCCCATCATCGTTGG
TGAACGGTGGCAATGTTTGAACAATTTTGGTTGTCACAACAGGGGTTTCTTCTGATATTCAATGAGTAGAAGCCA
GGGACACTGCTAAAGAACCTACAATATTCAGAACAGCCTCTGCTATCAACAAGGAATTATCTGGTCCAAAATGTCAA
TAGTGCTGAGGCTAAGAGCACTGGTTCACACTGTGCTCTTCTGAAAATTCTAGGCTCACATCTGGTATACACTCAC
CACACAGTTCAGTTTTTTATGGTTTATTTTTGGTTGTTTCATTATAAAAAATTAGACAGTTACATAAATTCACCAT
TTTCTTGTTGAATCCATTTAGTCAATGCAAGCTTAATATTTTCATATTTATTTTTGCCTTATGCAATATTTTTCAA
CATTTTCATGAGTTGTTGGTCATCACTATCTCTATTAACTTTCAACAACCTGCTCTGTAAAGTCACAAATAGTGATG
CTGCTGAAACTGTTTCTCACTAACAGGCCTCAGATTTGTGTAGTGATTCTACATTTTATATTATTCACAATGTAAAA
TGCTACTATTTATTCATTTCACTTTTACCCACAGGATTATTTAAGTTATTTTTGTCAATTTTCACTTCAAACAT
AAAGACAAAAACATCAAAAATATATACAGTGTTTTACATATGTGTATATTTTACATATATCTGTATGTGTGTTTAT
ATGTATTGAAACTACAGAAGCACATGTCACCAATAAGAGCTCTGAGACACCTTGACCACTTACCCTTATCAGATGA
TATTTGCCAAATGAGTTGTGGAAACAAGTTTTTTTTAACTGAATTCAGAGCTTTGTGGATTTAGAAATTCAAAGGA
AAGTTTGTGGACATTTACCGGGATCATGGTTTTATTCTCCTTAAACTCTTCAATACTTTACCATTGTCTTTAGTTA
AATCCAAATCCTAACACCACCCACGAGGCTTTTCAATACCTGCCTTCTTGTTGATTTCTCCAGCCTAATCTTTTACC
TTCCTTCCCCTCAGCCTCTCTGCTTTAGTGAACTTTGTCTAGTTTTTTGAAGAAGCTCATCAATTCAACCTTTTGT
ACATGGGATTTCTAAACCTGAAAATGTGCCTCCCGTTTTGTCCAGACAGACACAGGCTCCATCCACTCTGCCCC
CTGGCTCTCACCTGCTTAACCTGTCAAGTCACATCTGAACTGTCACTCTTCAGAGGGTCTTCTCTGGCACCCCTAAT
GTAATTGAGATCATCCTTTTATTCTCTGTTCCAGAACTCCACACTTCTGACGTTTCTCATTCTGTCTAAGCTCTTG
TGTGTTTGGTTTTTGGCCATCACGTTCACTGCTCTTAAAGCTCCCCCAGCGGAGTGGAGAGGTCTGTTTTCTTTGT
TTGGATTCTAGAGGCAGCGCAGACCAGGCACAAGGTCAGCACTAAGGAAGGGTTCACGGGATGAACACGGTGGGTG
CTGTTGAAGGAACCGGTAAAGCGTGTGGGATGAGAGGAGCAGAGAGTGTCTTTCAGGTGAAGACTCCCAGAAGGAGG
CCGCGTGGGCCGCGGTGCTGGGCGGATCCTCCTCCAGCTCCTGCTTGGAGTTCTCCAGAACAGGCTGGAGGCAGGGA
GGGGGTCCCCAAAAGCCTGAGGATCAGAAGGGGTTTTCCCGCTGGTCCCCCAGACCCCGTTTCGCTCAGGAAGAC
TGAGGACGAGCCCCTGGGCTGCTGGTGGTGGGCGTTGCGGGTGGGGCCGGTTAAGGTTCCAGCGCCCGCACCCCGC
CCAGGGAGTCCGGGTTGGTGGCGTCGCTGTCAGTGTCTTCTCAGGAGGCCCGCCGTGTGACCGGATCGTTCGTGTCC
CCACAGCACGTTTCTTGAGCAGGCTAAGTGTGAGTGTCAATTCCTCAATGGGACGGAGCGAGTGTGGAACCTGATC
AGATACATCTATAACCAAGAGGAGTACGCGCGCTACAACAGTGACCTGGGGGAGTACCAGGCGGTGACGGAGCTGGG

129

TCCACAGGCCTGATCCAGAATGGAGACTGGACCTTCCAGACCCTGGTGATGCTGGAAACAGTTCCTCGGAGTGGAGA
GGTTTACACCTGCCAAGTGGAGCATCCAAGCATGATGAGCCCTCTACGGTGAATGGAGTTAGCAGCTTTCTGACT
TCCTAAATTTCTCACCCACCAAGAAGGGGACTGTGCTAATCCCTGAGTGTGAGTTTCTCCTCTCCACATCCTATT
TTCATTTGCTCCATGTTCTCATCTCCATCAGCACAGGTCACCTGGGCTACTGGGGGTAGCCCTGTAGGTGTTTCTAGA
AACACCTGTACCCCTGGGGAATCAGTCACGCCTGCCAGGCGGGAGAGGCTGTCCCTCTTTTGAACCTCCCCATGAT
GTCCCAGTTCAGGGTCACCCACTCTCCCCAGGCTCCAGGCCCTGCCTCTGGGTCTGAGACTGCGTTTCTGGTGCTGT
TGATCTGAGTTGTTTGTGTGAGAAGAGGAGAACTCTAGGGGCCCTTCTGACATGAGGGGAGTCCAATCTCAACTCT
GCCTTTTATTAGCTCTGTCACTCTAGACAACTACTTAACCTCACTGAGACTCAGGCTTTCTGTTGATCAGATTTTG
AAGTTGCGCCTTACATCAAGGCTGTAATATTTGAAATGAGTTTGATGCCTGGACCTTGTAAGTGTACAGTGTGATT
TGAAAACCGTTTTTTTCCCCAGAAATGGCTAGTTATTTTAGTTCTTACAGGGCAGCCTTCTTTCCCATTTTGAAAGC
TCTGAATCTTAGGGTCTCAATTACAGAGGTTCAATTTGGAATAAACTAAACCTGGCTTCTCTCTCAGGTGCAGG
GTCTGAATCTGCACAGAGCAAGATGCTGAGTGGAGTCGGGGGCTTTGTGCTGGGCCTGCTCTTCTTGGGACAGGGC
TGTTTCATCTACTTCAGGAATCAGAAAGGTGAGGAGCTTTTGGGAGCTGAATCTCCATAGGCTTTTCTGGAGGAGGAA
CTATGACTTTGCTAGGGTTAGTTCTCAGTATATCAGTGGCCCTGGATAAAGCCTTTCTTTCCCCAAATGACCTCCAA
TGTCCTGATAATCCAGAAATCATCAGTGCATGGTTACTATGTCAAAGCATAATAGCTTGTGGCCTGCAGAGATAAGA
GAAAGGTTAACAAGTAGGGATTCTTTGGTTGGAGATCCTGGAGCAAATTAAGGAAGAGCCACTAAGGCTAATGCAAT
TACGCTGGATCCTGTGACAGACACCTCATGCTTCATGGGTACATGGTCTGTTTCTGTTTCTCTGCCCCTGGTTGG
TGTGGGTTGTGGTGTAGAGAAATCTCAGGTGGGAGATCTGGGGCTGGGACATTGTGTTAGAAGACAGATTTGCTTC
CATATCTTTTAAAGTGATATCTTTTCTCTTTTCCCAGGACACTCTGGACTTCAGCCAACAGGTAATACCTTTTAA
TCCTCTTTTCAAGAGAGATTTCAGTTTCCCTAGAATGATGGCAGAGGTGATAAGGCATGAGACAGAAATAATAGGAAA
GACTTTGGATCCAGATTTCTGATCAGGCAATTTACCCAGAACTCCTCCTCTCCACTTAGAAAAGGCCTGTGCTTTG
CAGGATCATTGGCTCAGGGAGACTTAGGAACTTGTTTTTCTTCTCCCTGCAGTGCTCTCATCTGAGTCGTTGAAAGC
GGGGAAAAGAAGTTTTAGTAAAGCCAGGTCTGAAAACAATTTCTCTGTCTCTGCAGGACTCTTGAGCTGAAGTGCA
GATGACCACATTCAAGGAAGAACCTTCTGCCCCAGCTTTGCAAGATGAAAAGCTTTCCCACTTGGCTCTTATTCTTC
CACAAGAGCTTT

SEQ ID NO:22 HLA-A01,密码子优化的,与WT 80%同源性

ATGGCCGTGATGGCCCCAAGAACTGCTGCTGCTGCTGCTGCCGGCGCACTGGCCCTGACCCAGACCTGG
GCCGGCAGCCACAGCATGCGGTACTTCTTCAACAAGCGTGTCAGACCCGGCAGAGGCGAGCCTAGATTCATCGCGGT
TGGATACGTGGACGACACCCAATTTGTGCGGTTGACTCTGATGCCGCCAGCCAGAAAATGGAACCTAGAGCTCCTT
GGATCGAGCAAGAGGGTCTGAGTACTGGGACCAGGAGACAAGAAACATGAAGGCCATTCTCAAACAGATAGGGCC
AATCTGGGAACCTGCGGGGCTACTACAACCAGAGCGAGGATGGCAGCCACACCATTTCAGATCATGTACGGCTGCGA
CGTGGGCCCCGACGGCAGATTTCTGAGAGGCTATAGACAGGATGCTTACGACGGGAAGGACTACATCGCCCTGAACG
AGGACCTGCGATCTTGACCGCCGCTGATATGGCTGCTCAGATCACCAGCGGAAGTGGGAAGCCGTGCACGCCGCC
GAGCAGCGGAGAGTGTAACCTGGAAGGCAGATGCGTGGACGGACTGAGAAGATATCTGGAACCGGAAGGAAACCT
GCAGCGGACAGATCCTCCAAAGACCCACATGACCCACCACCCCATCAGCGACCACGAGGCCACCCTGCGCTGCTGGG
CTCTGGGCTTCTACCCTGCCGAAATCACCTGACATGGCAGAGAGATGGCGAGGACCAGACACAGGACACCGAGCTG
GTGGAACAGACCTGCCGGCGACGGAACATTCCAGAAGTGGGCCCGCGTGGTGGTCCCCAGCGGCGAGGAACAGAG
ATACACCTGCCACGTGCAACACGAGGGACTGCCTAAGCCCTGACCCTGAGATGGGAGCTGAGCTCTCAGCCTACCA
TCCCTATCGTGGGCATCATCGCCGACTCGTGCTGCTGGGCGCCGTGATCACCGGCGCCGTGCTGGCCGCCGTGATG

TGGCGGCGGAAAAGCAGCGACAGAAAGGGCGGCTCCTACACTCAGGCCGCTTCTAGCGATAGCGCCAGGGCAGCGA
CGTGTCCCTGACAGCCTGTAAAGTGTGA

SEQ ID NO:23 HLA-A68,密码子优化的,与WT 81.69%同源性

ATGGCCGTGATGGCCCCAAGAACACTGGTCTGCTGCTGCTGAGCGGCGCCCTGGCCCTGACACAGACCTGG
GCCGGATCTCACAGCATGCGGTACTTCTACACCAGCGTGTCTAGACCTGGAAGAGGCGAGCCAAGATTCATCGCCGT
GGGCTATGTGGACGACACCCAGTTCGTGCGGTTTCGACAGCGACGCCGCTTCTCAGAGAATGGAACCCAGAGCCCCTT
GGATCGAGCAAGAGGGCCCTGAGTACTGGGACAGAAAATACCAGAAACGTGAAGGCCCAAAGCCAAACAGACAGAGTG
GACCTGGGCACCCTCAGAGGCTACTACAACCAGAGCGAGGCCGGCAGCCACACCATTTCAGATGATGTACGGCTGCGA
CGTGGGCTCCGATGGCAGATTTCTGCGGGGATATAGACAGGATGCCTACGACGGAAAGGACTACATCGCCCTGAAGG
AAGATCTGAGGTCCTGGACCGCCGCTGATATGGCCGCTCAGACGACCAAGCACAAAGTGGGAAGCCGCCCATGTGGCT
GAACAGTGGCGGGCTACCTGGAAGGCACATGCGTGGAATGGCTCCGGCGGTACCTGGAACCGGCAAAGAGACACT
GCAGCGGACAGATGCCCCAAGACCCACATGACCCACCACGCCGTGTCCGACCACGAGGCCACCCTGCGGTGCTGGG
CCCTGTCTTTTTACCCCGCCGAGATCACACTGACCTGGCAGAGGGACGGCGAGGACCAGACCCAGGACACCGAGCTG
GTGGAACACGGCCTGCTGGCGACGGCACCTTCCAGAAAGTGGGTGGCCGTTGTGGTTCCTAGCGGCCAGGAGCAGAG
ATACACCTGCCACGTGCAGCACGAGGGACTGCCTAAGCCTCTGACCCTGAGATGGGAGCCCAGCAGCCAACCTACCA
TCCCCATCGTGGGCATCATCGCCGGCCTGGTGTGTTTCGGGGCTGTCATCACCGGCGCTGTGGTGGCCGCCGTGATG
TGGCGCAGAAAAAGCTCTGATAGAAAGGGCGGAAGCTACAGCCAGGCCGCCAGCAGCGATAGCGCCAGGGCTCTGA
TGTGTCCCTGACAGCTTGTAAGTGTGA

SEQ ID NO:24 HLA-A02,密码子优化的,与WT 81.15%同源性

ATGGCCGTTATGGCCCCAAGAACACTGGTGTGCTGCTGCTGTCAGGCGCTCTGGCCCTGACCCAGACCTGG
GCTGGCAGCCACAGCATGAGATACTTTTTCACCAGCGTGTCTAGACCCGGCAGAGGAGAACCCAGATTCATCGCCGT
CGGATATGTGGACGACACCCAGTTCGTTAGATTCGACAGCGATGCCGCCTCTCAGAGAATGGAACCTAGAGCTCCCT
GGATCGAGCAAGAGGGACCTGAGTACTGGGACGGCGAAAACCAGAAAAGTGAAGGCCCATAGCCAGACTCATCGGGTG
GACCTGGGAACACTGAGAGGCTACTACAACCAGAGCGAGGCCGTTTCTCACACCGTGCAGCGCATGTACGGCTGCGA
CGTGGGCAGCGATTGGCGGTTTCTGCGGGGCTACCACCAGTACGCCTACGACGGCAAAGACTACATCGCCCTGAAGG
AGGACCTGCGATCTTGACCGCTGCAGATATGGCCGCTCAGACCACCAAGCACAAAGTGGGAGGCCGCCACGTGGCC
GAGCAACTGCGGGCTACCTGGAAGGCACCTGTGTGGAATGGCTGAGAAGATACCTGGAACCGGCAAGGAAACACT
GCAGCGGACAGACGCCCTAAGACCCACATGACCCACCACGCCGTGTCCGACCACGAGGCAACCCTCCGGTGCTGGG
CCCTCAGCTTCTACCCCGCTGAGATCACCTGACCTGGCAGAGAGATGGCGAAGATCAGACACAGGACACCGAGCTG
GTCGAGACAAGACCTGCCGGGACGGCACCTTCCAGAAAGTGGGCCGCCGTGGTGGTGCCATCTGGCCAGGAGCAGAG
ATATACATGCCACGTGCAGCACGAGGGCCTGCCTAAGCCTCTGACACTGAGGTGGGAACCTAGCAGCCAGCCTACCA
TCCCCATTGTGGGCATCATCGCCGACTGGTGTGTTTCGGCGCCGTGATCACAGGCGCTGTGGTTCGCCGCTGTGATG
TGGCGGCGGAAAAGCTCCGATAGAAAGGGCGGCAGCTACAGCCAAGCCGCCAGCAGCGACTCCGCCAGGGCAGCGA
TGTGTCCCTGACCGCCTGCAAGGTGTGA

SEQ ID NO:25 HLA-A11,密码子优化的,与WT 81.60%同源性

ATGGCCGTGATGGCCCCTAGAACCTGCTGCTGCTGCTCAGCGGCGCCCTGGCTCTGACCCAAACATGG
GCCGGCAGCCACAGCATGAGATACTTCTACACCTCCGTGTCTAGACCCGGCAGAGGCGAGCCCAGGTTTCATCGCCGT
GGGCTACGTGGACGACACCCAGTTCGTCCGGTTCGACAGCGACGCCGCCAGCCAGAGAATGGAACCTAGAGCCCCTT
GGATCGAGCAGGAGGGCCCTGAGTACTGGGACCAGGAGACAAGAAATGTGAAGGCCCAATCTCAGACCGATAGAGTG

GACCTGGGCACCCTGCGCGCTACTACAACCAGAGCGAGGATGGCTCCCACACAATTCAGATCATGTACGGCTGCGA
CGTGGGACCAGATGGAAGATTTCTGAGAGGCTATAGACAGGATGCCTACGACGAAAGGACTACATCGCCCTGAACG
AGGACCTGCGGAGCTGGACGGCCGAGATATGGCTGCCCAGATCACCAAGCGGAAATGGGAAGCCGCCACGCCGCC
GAGCAGCAGAGAGCTTATCTGGAAGGCAGATGCGTGGAATGGCTGAGGAGATACCTGGAAAACGGCAAGGAAACCCT
GCAGCGGACCGACCCTCCAAAGACCCACATGACCCACCATCCTATCAGCGATCAGGAGCCACACTGCGCTGCTGGG
CTCTGGGCTTCTACCCCGCTGAAATCACACTGACCTGGCAGCGGGACGGGGAGGACCAGACCCAGGACACCGAGCTG
GTGGAACAAGACCTGCTGGCGACGGCACATTTCAGAAGTGGGCCGCTGTTGTGGTCCCCAGCGGCGAGGAACAGCG
GTACACCTGTCACGTGCAGCACGAGGGCCTGCCTAAGCCTCTGACACTCAGATGGGAGCTGAGCAGCCAACCTACCA
TCCCCATCGTGGGCATCATCGCCGCTGCTGCTGGAGCCGTGATCACCGGCGCCGTGGTGGCCGCCGTGATG
TGGCGGAGAAAAAGCAGCGACCGGAAGGGCGGAAGCTACACACAGGCCGCTTCTTCTGATAGCGCCAGGGCTCTGA
TGTGTCCCTGACCGCCTGCAAGGTGTGA

SEQ ID NO:26 HLA-A03,密码子优化的,与WT 81.88%同源性

ATGGCCGTGATGGCCCTAGAACCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGGCGCTCTGGCCCTGACCCAAACCTGG
GCCGGATCTCACAGCATGCGGTATTTCTTACCAGCGTGTCTAGACCCGGCAGAGGCGAGCCCAGGTTTCATCGCCGT
GGGCTACGTGGACGACACCCAGTTTCGTGCGGTTTCGACAGCGACGCCGCTAGCCAGAGAATGGAACCTAGAGCCCCTT
GGATCGAGCAGGAGGGCCCTGAGTACTGGGACCAGGAGACAAGAAACGTGAAGGCCCAAAGCCAGACAGACAGAGTG
GACCTGGGCACCCTGAGAGGCTACTACAACCAGAGCGAGGCCGGCAGCCACACCATCCAGATTATGTACGGCTGCGA
CGTGGGTTCTGATGGCAGATTTCTGCGCGGATATAGACAGGATGCCTACGACGAAAGGACTACATCGCCCTGAATG
AGGATCTGCGGTCTTGACCGCCGAGATATGGCAGCTCAGATCACCAAGCGGAAATGGGAGGCCGCCACGAGGCC
GAACAGCTGCGGGCTACCTGGACGGCACATGCGTGGAATGGCTGAGACGGTACCTGGAAAACGGCAAGGAAACCCT
CCAGAGAACAGATCCTCCAAAGACCCATATGACCCACCACCCCATCAGCGATCAGGAGCTACACTGAGATGCTGGG
CTCTGGGCTTCTACCCCGCCGAGATCACACTCACATGGCAGCGGGACGGAGAGGACCAGACCCAGGACACAGAGCTG
GTGGAACCAGACCTGCCGGCGACGGCACCTTTCAGAAATGGGCCGCCGTGGTGGTGGCCAGCGGCGAGGAACAGAG
ATACACTTGTCACGTGCAGCACGAAGGCCTGCCTAAGCCTCTGACCCTGAGATGGGAACTGAGCAGCCAACCTACAA
TCCCAATCGTGGGCATCATCGCCGGCCTGGTCTGCTGGGAGCCGTTATCACCGGCGCCGTGGTTCGCCGCTGTGATG
TGGCGGCGGAAGAGCTCCGATAGAAAGGGCGGAAGCTACACCCAGGCCGCCAGCAGCGACTCCGCCAGGGCAGCGA
CGTTTCTCTGACAGCCTGCAAGGTGTGA

SEQ ID NO:27 HLA-A23,密码子优化的,与WT 79.60%同源性

ATGGCTGTGATGGCCCTAGAACACTGGTCTGCTGCTGCTGCTCAGGCGCCCTCGCCCTGACCCAGACTTGG
GCTGGCAGCCATAGCATGAGATACTTCAGCACCAGCGTGTCTAGACCAGGAAGAGGCGAGCCCCGGTTTCATCGCCGT
TGGCTACGTGGACGACACACAGTTTCGTGCGGTTTCGACTCCGATGCCGCATCTCAGCGGATGGAACCCAGAGCCCCTT
GGATCGAGCAGGAGGGACCTGAGTACTGGGACGAGGAAACCGGCAAGGTCAAGGCCACAGCCAAACCGACAGAGAG
AACCTGCGGATCGCCCTGAGATACTACAACCAGAGCGAGGCCGGCAGCCACACACTGCAGATGATGTTTCGGCTGCGA
CGTGGGCTCCGATGGCAGATTCTGCGGGGATACCACAGTACGCCTACGACGAAAGGACTACATCGCCCTGAAGG
AAGACCTGCGGTCTTGACCGCCGCCGACATGGCAGCTCAAATCACACAGAGAAAGTGGGAGGCCGCCAGAGTGGCC
GAGCAGCTGAGGGCTTACCTGGAAGGCACCTGCGTGATGGCCTTAGACGCTACCTGGAAAATGGCAAAGAAACCCT
GCAGAGGACCGATCCTCCTAAGACCCACATGACACACCACCCCATCAGCGACCACGAGGCCACCCTGAGATGCTGGG
CCCTGGGTTTTTATCCTGCTGAAATCACCTGACCTGGCAGAGAGATGGCGAGGACCAGACCCAAGACACCGAGCTG
GTGGAACAAGACCTGCCGGAGATGGCACCTTTCAGAAATGGGCCGCTGCTGTTGGTGGCCAGCGGCGAAGAGCAGCG

GTATACATGTCACGTGCAGCACGAGGGCCTGCCAAGCCTCTGACACTGCGGTGGGAACCATCTAGCCAGCCTACCG
TGCACATCGTGGGCATCATCGCCGGCCTGGTGCTGCTGGGCGCTGTGATTACCGGCGCCGTGGTGGCCGCCGTGATG
TGGCGGAGAAACAGCAGCGATAGAAAGGGAGGCTCTTACAGCCAGGCCGCTTCTAGCGACAGCGCCAGGGCAGCGA
CGTGTCCTGACAGCCTGCAAGGTGTGA

SEQ ID NO:28 HLA-A23,密码子优化的,与WT 80.05%同源性

ATGGCCGTGATGGCTCCTAGAACCCTGGTGCTGCTGCTGAGCGGCGCCCTGGCCCTGACACAGACCTGG
GCCGGCTCCCACTCCATGAGATACTTCTCAACAAGCGTGTCTAGACCAGGCAGAGGCGAACCTAGATTCATCGCCGT
GGGCTATGTGGACGACACCCAGTTCGTGCGGTTTGATTCTGATGCCGCTTCTCAACGGATGGAACCCCGGGCCCCTT
GGATCGAGCAGGAGGGACCTGAGTACTGGGACGAGGAAACAGGAAAAGTGAAGGCCACAGCCAAACCGATAGGGAG
AACCTGAGAATCGCCCTGAGATACTACAACCAGAGCGAGGCCGGCAGCCACACCCTGCAGATGATGTTGCGCTGCGA
CGTGGGCAGCGACGGAAGATTCTGCGGGGCTACCACCAGTACGCCTACGACGGCAAGGACTACATCGCCCTGAAGG
AAGATCTGAGAAGCTGGACCGCCGCCGACATGGCCGCCCAAATCACAAAGCGGAAGTGGGAAGCTGCACATGTGGCC
GAGCAGCAGAGAGCCTACCTGGAAGGCACCTGCGTGAGCGGCTGAGAAGATATCTGGAATAATGGCAAAGAGACACT
GCAGAGGACCGACCCCCCAAGACCCACATGACCCACCACCCCATCAGCGACCACGAGGCTACCCTGCGGTGCTGGG
CCCTCGGATTTTACCCCGCCGAGATCACCTTGACATGGCAGCGGGACGGCGAGGATCAGACACAGGACACCGAGCTG
GTGGAACACAGACCTGCCGGCGATGGAACATTCCAAAAGTGGGCTGCCGTCGTGGTGCCTTCTGGCGAGGAACAGAG
ATACACCTGTCACGTGCAGCACGAGGGCCTGCCTAAACCTCTGACACTGCGCTGGGAGCCTAGCTCTCAGCCTACCG
TGCCAATTGTGGGAATCATCGCCGACTGGTCTGCTGGGCGCTGTGATCACCAGCGCCGTTGTGGCCGCTGTGATG
TGGCGGAGAAACAGCAGCGACAGAAAGGGCGGCTCCTACAGCCAGGCCGCCAGCAGCGATAGCGCCAGGGCAGCGA
CGTGAGCCTGACTGCCTGCAAGGTGTGA

SEQ ID NO:29 HLA-A33,密码子优化的,与WT 81.06%同源性

ATGGCCGTGATGGCTCCTAGAACACTGCTGCTGCTCCTGCTGGGAGCCCTGGCCCTGACACAGACATGG
GCTGGCTCCACAGCATGCGGTACTTCACCACCAGCGTGTCTAGACCCGGCAGAGGCGAGCCAGATTCATCGCTGT
GGGATACGTGGACGACACCCAATTTGTGCGGTTCTGACTCTGATGCCGCTAGCCAGCGCATGGAACCTAGAGCCCCTT
GGATCGAGCAAGAGGGACCTGAGTACTGGGACCGGAACACCAGAAATGTGAAGGCCACTCTCAAATCGACAGAGTC
GACCTGGGCACCCTGAGAGGATATTACAACCAGAGCGAGGCCGGCAGCCACACCATCCAGATGATGTACGGCTGCGA
CGTGGGCAGCGATGGCAGATTCTGAGGGGCTACCAGCAGGACGCCTACGACGGAAGGACTACATCGCCCTGAACG
AGGATCTGAGAAGCTGGACCGCCGAGATATGGCCGCTCAGATCACACAGCGGAAGTGGGAGGCCGCCAGAGTGGCC
GAACAGCTGAGAGCCTATCTGGAAGGCACATGCGTGGAATGGCTGCGGCGGTACCTGGAATAACGGCAAAGAGACACT
GCAGAGAACCGACCCCCCAAGACCCACATGACACACCACGCGTGTCCGACCACGAGGCCACCCTGCGGTGCTGGG
CCCTTTCTTTCTACCCTGCTGAGATCACCTGACCTGGCAGAGGGACGGCGAGGACCAGACCCAGGATACCGAGCTG
GTGGAACACAGACCAGCCGGCGACGGCACTTTTCAGAAGTGGGCCAGCGTGGTGGTGCCTAGCGGCCAGGAACAGAG
ATACACCTGCCACGTGCAGCATGAGGGCCTGCCTAAGCCACTGACCCTGAGATGGGAACCTTCCAGCCAACCTACAA
TCCCCATCGTGGGCATTATCGCCGACTGGTGCTGTTTCGGCGCTGTTTTCGCCGGCGCCGTCGTGGCCGCCGTGCGG
TGGCGGAGAAAGGGCTCTGATAGAAAGGGCGGCAGCTACAGCCAGGCCGCATCCAGCGACAGCGCCAGGGTTTCA
TATGAGCCTGACAGCCTGTAAAGTGTGA

SEQ ID NO:30 HLA-DRB3*02:01,密码子优化的,与WT 81.15%同源性

ATGGTCTGCCTGAAGCTGCCTGGCGGCAGCAGCCTGGCTGCTCTGACAGTGACCCTGATGGTGCTGAGC
TCTAGACTGGCCTTCGCCGGCGACACCAGACCTAGATTCCTGGAGCTGCTGAAGAGCGAGTGCCACTTCTTCAACGG

CACCGAGAGAGTGCCTTCCTGGAAGACATTTCCACAATCAAGAGGAATACGCCCCGTTTCGACAGCGATGTGGGCG
AGTATAGAGCCGTGAGGGAAGTGGGAGACCCGACGCCGAGTACTGGAACAGCCAGAAAGACCTGCTGGAGCAGAAG
CGGGGCCAGGTGGACAAGTACTGCAGACACAAGTACGGCGTGGGAGAGAGCTTACCGTGCAGCGGAGAGTGCACCC
CCAGGTACCGTTTACCCTGCCAAGACACAGCCTCTGCAACACCACAACCTGCTCGTGTGCAGCGTGTCCGGCTTCT
ACCCCGGCTCTATCGAGGTCCGGTGGTTCCGGAACGGACAGGAGGAAAAGCCGGCGTGGTGTCAACAGGCCTGATC
CAGAATGGCGATTGGACCTTCCAGACCCTGGTGATGCTGGAACCGTGCTCGGAGCGGCGAGGTGTACACCTGTCA
GGTGAACACCCCTTCTGTGACAAGCCCTCTGACCGTGGAATGGTCCGCCAGAAGCGAGTCCGCTCAGAGCAAGATGC
TGTCTGGAGTGGGCGGATTTGTGCTGGGACTGCTGTTTCTGGGCGCCGGTCTTTTTATCTACTTCAGAAACCAGAAA
GGCCACAGCGGCCTCCAGCCAACAGGCTTTCTGAGCTGA

SEQ ID NO:31 HLA-DRB5*01:01,密码子优化的,与WT 80.65%同源性

ATGGTGTGCCTGAAGCTGCCTGGAGGAAGCTACATGGCCAACTGACCGTGACCCTGATGGTCTGTCT
AGCCCACTTGCTCTGGCTGGCGACACCCGGCCTAGATTTCTGCAGCAGGACAAGTACGAGTGCCACTTCTTCAACGG
TACAGAGAGAGTGCAGGTTTCTGCATAGAGATATCTACAACCAGGAGGAAGATCTGAGATTCGACAGCGACGTGGGCG
AGTATAGAGCCGTGACAGAGCTGGGAGACCTGACGCCGAGTACTGGAACAGCCAGAAGGACTTCTGGAAGATAGA
AGGGCCGCTGTGGACACATACTGCAGACACAATTACGGCGTGGGCGAAAGCTTACCGTGCAGCGGAGAGTGGAGCC
TAAGGTGACCGTGTACCCCGCCAGAACACAGACCCTGCAACACCACAATCTGCTGGTCTGCAGCGTGAACGGCTTCT
ACCCTGGCTCTATCGAGGTGCGGTGGTTCCGCAACTCCCAGGAGGAAAAGCCGGCGTGTGTCCACCGGACTGATC
CAGAACGGCGATTGGACCTTCCAGACACTGGTGATGCTGGAACCGTGCCAAGAAGCGGAGAAGTGTACACCTGTCA
GGTGAACACCCAGCGTGACCAGCCCCCTGACCGTCGAGTGGCGGGCCAGAGCGAGAGCGCCAAAGCAAGATGC
TGTCCGGCGTGGGCGGCTTTGTGCTGGGCCTCCTGTTCTGGGCGCCGGACTGTTTATCTACTTCAAGAACCAGAAA
GGCCACTCTGGCCTGCACCCTACAGGCCTGGTGTCTTGA

SEQ ID NO:32 HLA-DRB3*03:01,密码子优化的,与WT 81.65%同源性

ATGGTCTGTCTGAAGCTGCCTGGCGGCTCCAGCCTGGCCGCTCTGACCGTGACACTGATGGTGTCTGAGC
TCTAGACTGGCCTTCGCCGGCGACACCAGACCCAGATTCCTGGAAGTCTGAGTGCCATTTTTTCAACGG
AACAGAGAGAGTGAAGTTTCTGGAAGATACTTCCACAACCAGGAGGAATTCGTGCGGTTTCGACAGCGATGTGGGAG
AGTACAGGGCCGTGACCGAGCTGGGCGGCTGTGGCCGAGAGCTGGAACAGCCAGAAGGACCTGCTGGAGCAGAAA
AGAGGCCAGGTGACAAGTACTGCAGACACAAGTACGGCGTGGTGGAAAGCTTACCGTGCAGCGCCGGGTGCACCC
TCAGGTGACCGTGTACCCAGCCAAGACACAGCCTCTGCAGCACCACAACCTCCTGGTGTGCAGCGTGTCCGGCTTCT
ACCCCGGCAGCATCGAGGTGCGGTGGTTCCGGAACGGCCAGGAGGAAAAGACCGGCGTGGTCTCCACCGGACTGATC
CACAATGGCGATTGGACCTTCCAGACCCTGGTGATGCTGGAACCGTTCCTAGAAGCGGCGAGGTGTATACATGCCA
GGTGGAGCACCCAGCGTGACATCTCCACTGACAGTGGAATGGCGGGCCAGAAGCGAGAGCGCCAGAGCAAGATGC
TGAGCGGCGTGGGCGGCTTTGTGCTGGGACTCCTGTTCTGGGTGCTGGCCTTTTCATCTACTTTAGAAATCAAAAG
GGCCACAGCGGCCTGCAACCTACCGGATTCTGTCTTGA

SEQ ID NO:33 HLA-DRB5*01:02,密码子优化的,与WT 81.65%同源性

ATGGTCTGCCTGAAGCTGCCTGGCGGCAGCTACATGGCCAAGCTGACCGTGACCCTGATGGTGTCTGAGC
AGCCCCCTGGCTCTGGCCGGCGATACCAGACCAAGATTCCTGCAGCAGGACAAGTACGAGTGCCACTTCTTCAACGG
CACCGAGCGGGTGCAGTTTCTGCACAGAGGCATCTACAACCAGGAGGAAAACGTGAGATTCGACTCTGATGTGGGAG
AATATAGAGCCGTGACCGAGCTGGGAGACCTGACGCCGAGTACTGGAATAGCCAGAAGGACTTCTGGAAGATAGA
CGGGCTGCTGTGGACACATACTGCAGACACAAGTACGGCGTCGGCGAATCCTTTACAGTGCAGAGAAGGGTGAAC

TAAAGTGACCGTGTACCCCGCCAGAACCCAGACCCCTGCAACACCACAATCTGCTGGTTTGTCTGTGAACGGCTTTT
ACCCAGGCAGCATCGAGGTGCGGTGGTTCCGCAACTCTCAGGAGGAAAAGGCCGAGTGGTGAGTACAGGTCTGATC
CAGAACGGCGACTGGACCTTCCAGACACTGGTGATGCTCGAGACAGTGGCCAGAAGCGGCGAGGTGTACACATGCCA
GGTGGAGCACCTAGCGTCACCAGCCCTCTGACCGTTGAATGGCGGGGCCAGAGCGAGAGCGCCAAAGCAAGATGC
TGAGCGGAGTGGGAGGCTTCGTGCTTGGACTGCTGTTCTGGGCGCCGGCCTGTTTATCTACTTCAAGAACCAGAAA
GGCCACTCTGGCCTGCATCCTACCGGCCTGGTGTCTGA

SEQ ID NO:34 HLA-DRB4*01:01,密码子优化的,与WT 79.78%同源性

ATGGTGTGCCTGAAGCTGCCTGGAGGCTCTTGATGGCCGCTCTGACCGTGACACTGACCGTTCTGTCT
AGCCCTCTGGCTCTGGCCGGAGATACACAGCCTAGATTCCCTGGAACAGGCCAAGTGCAGTGCCACTTCTGAACGG
CACAGAGAGAGTGTGGAATCTGATCAGATATATCTACAACCAGGAGGAATACGCCAGATACAACAGCGACCTGGGCG
AGTACCAGGCTGTGACCGAGCTGGGACGCCCCGACGCCGAGTACTGGAACAGCCAGAAAGATCTGCTGGAACGGAGA
CGGGCCGAGGTGGACACCTACTGCAGATATAATTACGGCGTGGTGGAAAGCTTACCGTGCAAAGAAGGGTGCAGCC
TAAGGTGACCGTGTACCCAGCAAGACCCAGCCACTGCAACACCACAACCTGCTGGTGTGTAGCGTGAACGGATTTT
ACCCTGGCAGCATCGAGGTGCGGTGGTTCCGGAACCTCTCAGGAGGAAAAGGCCGGCGTCGTGTCCACCGGCCTGATC
CAGAACGGCGACTGGACCTTCCAGACCTGGTGATGCTCGAGACAGTCCCCAGATCCGGCGAAGTGTACACCTGCCA
GGTGAACATCCTAGCATGATGAGCCCCCTGACAGTTCAATGGTCCGCCCGAGCGAGAGCGCCAGTCTAAATGC
TGAGCGGCGTGGGCGGCTTCGTGCTGGGACTGCTCTTCTGGGCACCGGCCTGTTTCATCTACTTCAGAAACCAGAAG
GGCCACAGCGGCCTGCAGCCTACAGGCCTTCTGAGCTGA

SEQ ID NO:35 HLA-DRB4*01:01,密码子优化的,与WT 80.27%同源性

ATGGTGTGTCTGAAGCTGCCTGGCGGAAGCAGCCTGGCTGCTCTGACCGTGACACTGATGGTGTGAGC
TCTAGACTGGCCTTCGCCGGAGATACCAGACCTAGATTCCCTGGAAGTGAAGTCCGAGTGCCATTTCTTCAACGG
CACCGAGCGGGTGCGGTACCTGGATAGATATTTCCACAATCAAGAGGAATTCCCTCAGATTCGACAGCGACGTGGGAG
AGTACCGCGCCGTGACCGAGCTGGGCGAGCAGTGGCCGAGTCTTGAACAGCCAGAAAGACCTGCTGGAACAGAAA
CGTGGAAGAGTGGACAACCTACTGCAGACACAATTACGGCGTGGGCGAGAGCTTACCGTGCGAGAGGCGGGTGCACCC
CCAGGTTACAGTGTACCCTGCCAAGACCCAGCCTCTGCAACACCACAACCTGCTGGTGTGCAGCGTGTCCGGCTTCT
ACCCCGGCAGCATCGAGGTGCGGTGGTTCCGGAACGGCCAGGAGGAAAAGGCCGGCGTGGTGTCAACAGGCCTGATC
CAGAACGGCGACTGGACCTTCCAGACACTGGTCATGCTGGAGACAGTCCCCAGATCCGGCGAAGTGTACACCTGTCA
GGTGAACACCCCTTCTGTGACCAGCGCTCTGACCGTCGAGTGGCGGGCCAGAAGCGAAAGCGCCAGAGCAAGATGC
TGTCTGGCGTTGGAGGCTTTGTGCTGGGCCTGCTGTTCTCGGTGCCGGCTTGTTTATCTACTTTAGAAACCAGAAA
GGCCACAGCGGCCTGCAGCCTACCGGCTTCTGAGCTGA

SEQ ID NO:36 HLA-DRA,密码子优化的,与WT 80.92%同源性

ATGGCTATCTCTGGCGTGCCAGTGCTGGGCTTCTTCATCATCGCCGTGCTGATGAGCGCCAGGAGTCT
TGGGCCATCAAAGAGGAACATGTGATCATTCAGGCCGAATTCTATCTGAACCCCGATCAGAGCGGCGAGTTTATGTT
CGACTTCGATGGCGACGAGATCTTCCACGTGGACATGGCCAAGAAGGAAACCGTGTGGCGGCTGGAAGAGTTTGGCA
GATTGCCAGCTTCGAGGCTCAAGGAGCTCTGGCCAACATCGCCGTGGATAAGGCCAATCTGGAATCATGACCAAG
AGAAGCAACTACACCCCTATCACAACCGTGGCCCCGAGGTGACCGTGCTACCAACAGCCCCGTCGAGCTGCGGGA
ACCTAACGTGCTGATCTGCTTCATCGACAAGTTCACCCCTCCAGTGGTGAACGTGACATGGCTGAGAAACGGCAAGC
CTGTGACCACAGGCGTGTCCGAGACAGTGTTCCTGCCTAGAGAGGACCACCTGTTCCGGAAGTTTACTACCTGCCT
TTCCTGCCTAGCACCGAGGATGTGTACGACTGCAGAGTGGAACTGGGGCCTGGACGAGCCTCTGCTGAAGCACTG

GGAGTTCGACGCCCCCTTCCCCCTCTGCCCCGAAACCACAGAGAACGTGGTTTGTGCCCTGGGACTGACCGTCGGACTGG
TGGGCATTATCATCGGCACTATCTTTATCATCAAGGGCGTTAGAAAAAGCAATGCCGCAGAAAGACGCGGCCCTCTT
TGA

SEQ ID NO:37 4-1BBL,密码子优化的,与WT 77.85%同源性

ATGGAATATGCCAGCGACGCCAGCCTGGACCCCTGAAGCCCCTTGGCCTCCTGCCCTAGAGCCCGGGCC
TGCAGAGTGCTGCCTTGGGCCCTGGTTGCTGGCCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTCGCCGCCGCTTGCGCCGTGTTTCT
GGCTTGTCCTTGGGCTGTGTCCGGCGCCCCGGGCCAGCCCCGGCAGCGCTGCCTCTCCAAGACTGAGGGAAGGCCCTG
AGCTGAGCCCTGATGATCCAGCTGGACTGCTGGACCTGCGCCAGGGCATGTTTCGCCAGCTGGTCGCCCAGAACGTG
CTGCTGATCGACGGCCCCCTGAGCTGGTACAGCGACCCTGGCCTGGCCGGAGTGTCCCTCACCGGCGGCCTGTCTTA
CAAAGAAGACACCAAGAACTGGTGGTGGCAAAGGCCGGCGTGTACTACGTGTTCTTCCAGCTTGAGCTGAGACGGG
TCGTGGCCGGCGAGGGATCTGGCTCTGTGTCTCTGGCCCTGCACCTGCAACCTCTGCGGAGCGCCGCCGGAGCCGCT
GCCCTGGCCCTGACAGTGGACCTGCCCCCGCTTCTAGCGAGGCTAGAAACAGCGCCTTCGGCTTTCAGGGAAGACT
GCTTCATCTGAGCGCCGGCCAGAGACTGGGCGTGCACCTGCACACCGAGGCCAGAGCCAGACACGCCTGGCAGCTGA
CACAGGGCGCCACCGTGCTGGGCCTGTTCCGGGTGACCCCTGAGATCCCCGCCGGCCTGCCAGCCCAAGAAGCGAG
TAAGCTAGC

SEQ ID NO:38 4-1BBL,密码子优化的,与WT 75.91%同源性

ATGGGACTGAGTAACATTCTCTTCGTGATGGCCCTTCCTGCTCTCTGGTGCTGCTCCGCTGAAGATTCAA
GCTTATTTCAATGAGACTGCAGACCTGCCTTGCCAATTTGCAAACCTCTCAGAACCAAAGCCTGAGTGAGCTAGTAGT
ATTTTGGCAGGACCAAGAAAACCTTGGTTCTGAATGAGGTGTACTTAGGCAAAGAGAAAATTTGACAGTGTTCAATCCA
AGTATATGGGACGCACAAGTTTGGATTTCGGACAGTTGGACCCTGAGACTTCATAATCTTCAGATCAAGGACAAGGGC
TTGTATCAGTGTATCATCCATCACAAAAAGCCACAGGAATGATTTCGCATCCACCAGATGAATTCAGAACTGTCAGT
GCTTGCTAATTTTCAGTCAACCTGAAATAGTACCAATCTCTAATATAACAGAAAATGTGTACATAAAATTTGACCTGCT
CATCGATACACGGTTACCCAGAACCTAAGAAGATGAGTGTCTTTGTTAAGAACCAAGAATTCAACTATCGAGTATGAT
GGTATTATGCAGAAGTCTCAAGATAATGTCACAGAACTGTACGACGTTTCCATCAGCTTATCTGTTTCATTCCCTGA
TGTTACGAGCAATATGACCATCTTCTGTATCCTGGAAACTGACAAGACGCGGCTTTTATCTTCACCTTTCTCTATAG
AGCTCGAGGACCCTCAGCCTCCCCCAGACCACATTCCCTTGGATCACAGCTGTACTTCCAACAGTTATTATATGTGTG
ATGGTTTTTCTGTCTAATACTATGGAAATGGAAGAAGAAGAAGCGGCCTCGCAACTCTTATAAATGTGGAACCAATAC
AATGGAGAGGGAAGAGAGTGAACAGACCAAGAAAAGGGAAAAAATCCATATACCTGAAAGATCTGATGAAGCTCAGC
GTGTTTTTTAAAAGTTCGAAGACATCTTCATGTGACAAAAGTGATACATGTTTTTTAAGGATCC

SEQ ID NO:39 CSF2,密码子优化的,与WT 76.60%同源性ATGTGGCTGCAGAGCCTGC
TGCTGCTGGGACACGTCGCCTGCAGCATCTCCGCCCTGCTAGATCCCCATCTCCAAGCACCCAGCCTTGGAACAC
GTGAACGCCATCCAGGAGGCCAGACGGCTGCTGAATCTGAGCCGGGACACCGCCGCTGAAATGAACGAGACAGTGGA
AGTGATTAGCGAGATGTTGATCTGCAGGAGCCTACCTGTCTGAAACAAGACTGGAAGTGTACAAGCAGGGCCTGA
GAGGAAGCCTGACCAAGCTGAAGGGCCCTCTGACCATGATGGCCAGCCACTACAAACAGCACTGCCCCCCCACACCT
GAGACAAGCTGCGCCACCCAGATCATCACCTTCGAGTCTTTAAGGAAAACCTGAAGGACTTCCTGCTCGTGATCCC
CTTCGACTGCTGGGAGCCTGTGCAGGAGTGACTCGAGGAATTCGGATCC

SEQ ID NO:40 IFNA2,密码子优化的,与WT 68.55%同源性

ATGGCCCTCACCTTCGCCCTGCTGGTCGCCCTGCTGGTGCTGTCTTGCAAGTCTAGCTGCAGCGTGGGC
TGTGACCTGCCTCAAACACACTCCCTGGGCTCTAGAAGAACCCTGATGCTGCTGGCCCAGATGCGGAGAATCAGCCT

GTTCAGCTGTCTGAAAGATAGACACGACTTCGGCTTCCCTCAGGAGGAATTTCGGCAACCAGTTTCAGAAGGCCGAAA
CCATCCCTGTGCTGCACGAGATGATTACAGCAGATCTTCAATCTTTTTTCTACAAAGGATAGCAGCGCCGCTTGGGAC
GAGACCCTGCTGGATAAGTTCTACACAGAGCTGTATCAGCAGCTGAACGACCTGGAAGCCTGCGTGATCCAGGGCGT
GGGAGTGACCGAGACCCCACTGATGAAAGAGGACAGCATCCTGGCTGTGCGGAAGTACTTCCAAAGAATCACCTGT
ACCTGAAGGAAAAGAAGTACAGCCCCTGCGCCTGGGAGGTGGTGCGGGCCGAGATCATGAGGTCCTTCTCTCTGAGC
ACAAACCTGCAGGAGAGCCTGAGAAGCAAGGAATGACTCGAGGCTAGC

SEQ ID NO:41 IL-7,密码子优化的,与WT 72.64%同源性ATGTTTCACGTGTCCTTCC
GGTACATCTTCCGGCTGCCTCCACTGATCCTGGTGCTGCTCCCCGTGGCCTCTAGCGACTGCGATATCGAGGGCAAG
GACGGCAAACAGTACGAGAGCGTGCTGATGGTCTCCATCGACCAGCTGCTGGACAGCATGAAGGAAATCGGCAGCAA
CTGCCTGAACAACGAGTTCAACTTCTTCAAGCGGCACATCTGTGATGCCAACAAGGAAGGCATGTTCTTGTTTAGAG
CCGCTAGAAAGCTGAGGCAGTTCCTGAAGATGAACAGCACCGGCGACTTCGACCTGCACCTGCTGAAGGTGTCTGAG
GGAACAACCATCCTGCTTAATTGCACCGGACAAGTGAAGGGCAGAAAGCCTGCTGCCCTGGGCGAGGCCAGCCTAC
AAAGAGCCTGGAAGAGAACAAAAGCCTGAAAGAACAGAAAAAGCTGAATGATCTGTGCTTCTGAAGAGACTGCTGC
AGGAGATTAAGACCTGTTGGAACAAGATCCTGATGGGCACCAAGGAACATTGACTCGAGGGATCC

SEQ ID NO:42IL-7,密码子优化的,与WT 77.32%同源性

ATGTGCCATCAGCAGCTGGTCATTAGCTGGTTCCTCCCTGGTGTTCCCTGGCCAGCCCTCTGGTGGCCATC
TGGAAGTGAAGAAGGACGTGTACGTAGTGGAAGTGGACTGGTACCCTGATGCCCCTGGCGAGATGGTGGTGCTGAC
ATGCGACACCCCTGAGGAAGATGGCATCACATGGACCCTGGATCAGTCTTCTGAGGTGCTGGGATCTGGCAAAACCC
TCACAATTACAGGTGAAGGAATTTGGCGATGCCGGACAGTACACATGCCACAAAGGCGGAGAGGTGCTGAGCCACTCG
CTTCTGCTGCTGCACAAGAAAGAGGACGGCATCTGGTCCACCGACATCCTGAAGGACCAGAAGGAACCCAAGAACAA
AACCTTCTGCGCTGCGAGGCCAAGAACTACAGCGGCAGATTACCTGTTGGTGGCTGACCACCATCAGCACAGATC
TGACCTTTTCTGTGAAGAGCAGCAGAGGCAGCAGCGACCCCCAGGGCGTGACATGCGGCGCCGCCACCCTGTCTGCC
GAGAGAGTGCGGGGCGACAACAAGGAATATGAGTACAGCGTGGAGTGCCAGGAGGACAGCGCCTGTCTGTCTGCTGA
GGAAGCCTGCCTATCGAGGTGATGGTCGACGCTGTGCACAAGCTGAAGTACGAGAACTACACCAGCAGTTTTTTCA
TCCGGGACATCATCAAGCCTGATCCACCTAAGAACCTGCAACTGAAACCTCTGAAAAATAGCAGACAGGTGGAAGTC
AGCTGGGAGTACCCCGATACATGGAGCACCCACACAGCTACTTCAGCCTGACCTTCTGCGTGACAGTTTCAGGGCAA
GTCCAAGCGGGAAGAAAGACCGGGTGTTCACCGATAAGACATCTGCTACAGTGATCTGCAGAAAGAACGCCAGCA
TCTCCGTACAGCCCAGGACAGATACTACAGCTCTAGCTGGTGGAGTGGGCCAGCGTGCCTTGACAGCGTGCCCGGC
GTGGGCGTGCCCGGAGTGGGAGCTAGAAACCTGCCAGTGGCCACCCCTGACCCTGGCATGTTCCCTGTCTGCACCA
CAGCCAGAACCTCCTGCGGGCCGTGTCCAACATGCTGCAGAAAGCCCGGACACCCTGGAATTCTACCCCTGTACCT
CCGAAGAGATCGACCACGAGGATATCACCAAGGACAAGACCTCCACCGTGGAAAGCCTGCCTGCCTCTTGAAGTACC
AAGAATGAGAGCTGTCTGAATAGCAGAGAAACCAGCTTCATCACGAACGGCAGCTGCCTGGCCAGCCGGAAGACATC
TTTTATGATGGCCCTGTGTCTGAGCAGCATCTACGAGGACCTGAAGATGTACCAGGTGGAGTTCAAGACCATGAACG
CTAAGCTGCTGATGGACCCCAAGAGACAAATCTTCTGGACCAAAATATGCTGGCTGTTATCGACGAGCTGATGCAG
GCCCTGAACTTCAACAGCGAGACAGTGCCTCAGAAAAGCAGCCTGGAAGAGCCTGACTTCTATAAGACAAAGATCAA
GCTGTGCATCCTGCTGCACGCCTTCAGAATCAGAGCCGTGACCATCGATAGGGTGATGTCTTACCTGAACGCCTCAT
AAGTTTAAAC

SEQ ID NO:43 CD80,密码子优化的,与WT 77.28%同源性ATGGGCCACACAAGAAGGC
AGGGCACCAGCCCTAGCAAGTGTCTTACCTGAATTTCTTCCAGCTGCTGGTGCTGGCTGGCCTGAGCCACTTCTGC

AGCGGCGTGATCCACGTGACAAAGGAAGTCAAGGAGGTTGCTACCCTGAGCTGCGGCCACAACGTGTCCGTGGAAGA
GCTGGCCCAGACAAGAATCTACTGGCAAAAGGAAAAAGAAATGGTGCTGACAATGATGAGCGGAGATATGAACATCT
GGCCTGAGTACAAGAACCGGACAATCTTCGACATCACCAACAACCTGTCTATCGTGATCCTGGCCCTGAGACCTTCT
GATGAGGGCACCTATGAGTGCGTGCTGAAGTACGAGAAGGACGCCTTCAAGCGGAACATCTCGCCGAGGTGAC
CCTGAGCGTGAAAGGCCGACTTCCCTACCCCTAGCATCAGCGACTTCGAGATCCCCACCTCCAACATCAGAAGAATCA
TCTGTAGCACCAGCGGCGGATTTCCAGAACCCACCTGAGCTGGCTGGAAAATGGCGAGGAACCTGAACGCCATTAAC
ACCACCGTGTCAGGACCCCGAGACAGAGCTGTACGCCGTGTCAAGCAAACCTGGACTTTAATCATGACAACCAATCA
CAGCTTTATGTGCCTGATCAAGTACGGTCACCTCAGAGTGAACCAGACCTTCAACTGGAACACCACAAAACAGGAGC
ACTTCCCCGATAACCTGCTGCCATCTTGGGCCATCACCTGATCAGCGTCAATGGCATCTTCGTGATCTGCTGCCTG
ACCTACTGCTTCGCCCCCTAGATGTAGAGAGAGAAGACGGAACGAGCGGCTGCGGCGGAATCTGTGCGGCCTGTGTG
A

SEQ ID NO:44 IL-12 (包含亚基p40和p35的生物活性形式)

ATGTGTCACCAGCAGTTGGTCATCTCTTGGTTTTCCCTGGTTTTTCTGGCATCTCCCCTCGTGGCCATA
TGGAACCTGAAGAAAGATGTTTATGTCTAGAAATTGGATTGGTATCCGGATGCCCCCTGGAGAAATGGTGGTCCTCAC
CTGTGACACCCCTGAAGAAGATGGTATCACCTGGACCTTGGACCAGAGCAGTGAGGTCTTAGGCTCTGGCAAAACCC
TGACCATCCAAGTCAAAGAGTTTGGAGATGCTGGCCAGTACACCTGTCACAAAGGAGGCGAGGTTCTAAGCCATTCTG
CTCCTGCTGCTTCACAAAAAGGAAGATGGAATTTGGTCCACTGATATTTTAAAGGACCAGAAAGAACCCAAAAATAA
GACCTTTCTAAGATGCGAGGCCAAGAATTATTCTGGACGTTTACCTGCTGGTGGCTGACGACAATCAGTACTGATT
TGACATTCAAGTGTCAAAGCAGCAGAGGCTCTTCTGACCCCCAAGGGGTGACGTGCGGAGCTGCTACACTCTCTGCA
GAGAGAGTCAGAGGGGACAACAAGGAGTATGAGTACTCAGTGGAGTGCCAGGAGGACAGTGCCTGCCAGCTGCTGA
GGAGAGTCTGCCATTGAGGTCATGGTGGATGCCGTTTACAAGCTCAAGTATGAAAACCTACACCAGCAGCTTCTTCA
TCAGGGACATCATCAACCTGACCCACCCAAGAACTTGCAGCTGAAGCCATTAAAGAATTCTCGGCAGGTGGAGGTC
AGCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGTACTCCACATTCCTACTTCTCCCTGACATTCTGCGTTTCAAGTCCAGGGCAA
GAGCAAGAGAGAAAAAGAAAGATAGAGTCTTACGGACAAGACCTCAGCCACGGTCATCTGCCGCAAAAATGCCAGCA
TTAGCGTGCGGGCCCAGGACCGCTACTATAGCTCATCTTGGAGCGAATGGGCATCTGTGCCCTGCAGTGTTTCTGGA
GTAGGGGTACCTGGGGTGGGCGCCAGAAACCTCCCCGTGGCCACTCCAGACCCAGGAATGTTCCCATGCCTTCACCA
CTCCCAAAACCTGCTGAGGGCCGTCAGCAACATGCTCCAGAAGGCCAGACAACTCTAGAATTTTACCCTTGCACTT
CTGAAGAGATTGATCATGAAGATATCAGAAAAGATAAAACCAGCACAGTGGAGGCCTGTTTACCATTGGAATTAACC
AAGAATGAGAGTTGCCTAAATTCCAGAGAGACCTCTTTCATAACTAATGGGAGTTGCCTGGCCTCCAGAAAGACCTC
TTTTATGATGGCCCTGTGCCTTAGTAGTATTTATGAAGACTTGAAGATGTACCAGGTGGAGTTCAAGACCATGAATG
CAAAGCTGCTGATGGATCCTAAGAGGCAGATCTTCTAGATCAAAACATGCTGGCAGTTATTGATGAGCTGATGCAG
GCCCTGAATTTCAACAGTGAGACTGTGCCACAAAAATCCTCCCTGAAGAACCGGATTTTTATAAAACTAAAATCAA
GCTCTGCATACTTCTTCATGCTTTCAGAATTCGGGCAGTGAATTTGATAGAGTGATGAGCTATCTGAATGCTTCCT
AA

SEQ ID NO:45 HLA-A Synthego修饰的EZ骨架

A*C*A*GCGACGCCGCGAGCCAG

SEQ ID NO:46 HLA-DBR3 Synthego修饰的EZ骨架

U*G*C*AGACACAACUACGGGU

SEQ ID NO:47 [pCCLc-EF1a-X-MNDU3-X-WPRE]提取的MacVector文件-[名称]:

pCCLc-EF1a-X-MNDU3-X-WPRE.nuc1-[原始文件日期]:1999-08-22[基因座]:pCCLc-X-WPRE
8410bp DNA线性SYN 1999年8月22日-8410bp

CAGGTGGCACTTTTCGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTCTAAATACATTCAAATA
TGTATCCGCTCATGAGACAATAACCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACAT
TTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTTCGGCATTTTGCCTTCCTGTTTTTGCTCACCAGAAACGCTGGTGAAAGT
AAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGA
GTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATT
GACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCGCCGATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGA
AAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCACTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCA
ACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACCTCGC
CTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGC
AACAACGTTGCGCAAACTATTAAGTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGG
CGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGT
GAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGAC
GGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAAC
TGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAACTTCATTTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAG
ATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAA
GATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAACACCGCTACCAG
CGGTGGTTTGTGTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCA
AATACTGTCCTTCTAGTGAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCAGCTACATACCTCGCTCT
GCTAATCCTGTTACAGTGAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTAC
CGGATAAGGCGCAGCGGTGCGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCAGCTTGAGCGAACGACCTACACCGAA
CTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAG
CGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTGCGGT
TTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGCGGAGCCTATGAAAAACGCCAGCAAC
GCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCCTGCGTTATCCCTGATTCTGT
GGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGACGCCAAGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGA
GCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAAACCGCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTCATTAATGCAGCTGGCAC
GACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCCA
GGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTACACAGGAAACAGCT
ATGACCATGATTACGCCAAGCGCGCAATTAACCTCACTAAAGGGAACAAAAGCTGGAGCTGCAAGCTTGCCATTG
CATACGTTGTATCCATATCATAATATGTACATTTATATTGGCTCATGTCCAACATTACCGCCATGTTGACATTGATT
ATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAAC
TTACGGTAAATGGCCCGCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCAT
GTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCA
AGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCTGGCATTATGCCAGTACA
TGACCTTATGGGACTTTCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGTGATGCGTTTTGG
CAGTACATCAATGGGCGTGATAGCGGTTTACTCACGGGGATTTCCAAGTCTCCACCCCATGACGTCAATGGGAG
TTTGTGTTTGGCACCAAAATCAACGGACTTTCCAAAATGTCGTAACAACTCCGCCCCATTGACGCAATGGGCGGTAG

GCGTGACGGTGGGAGGTCTATATAAGCAGAGCTCGTTTAGTGAACCGGGTCTCTCTGGTTAGACCAGATCTGAGC
CTGGGAGCTCTCTGGCTAACTAGGGAACCCACTGCCTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCTTGAGTGCTTCAAGTAGTGT
GTGCCCCGTCTGTTGTGTGACTCTGGTAACTAGAGATCCCTCAGACCCTTTTAGTCAGTGTGAAAATCTCTAGCAGT
GGCGCCCGAACAGGGACCTGAAAAGCGAAAAGGAAAACCAGAGGAGCTCTCTCGACGCAGGACTCGGCTTGCTGAAGCG
CGCACGGCAAGAGGCGAGGGGCGGCGACTGGTGAGTACGCCAAAAATTTTACTAGCGGAGGCTAGAAGGAGAGAGA
TGGGTGCGAGAGCGTCAGTATTAAGCGGGGAGAATTAATCGCGATGGGAAAAAATTCGGTTAAGGCCAGGGGAAA
GAAAAATATAAATTAACATATAGTATGGGCAAGCAGGGAGCTAGAACGATTCGCAGTTAATCCTGGCCTGTTAG
AAACATCAGAAGGCTGTAGACAAATACTGGGACAGCTACAACCATCCCTTCAGACAGGATCAGAAGAACTTAGATCA
TTATATAATACAGTAGCAACCCTCTATTGTGTGCATCAAAGGATAGAGATAAAAGACACCAAGGAAGCTTTAGACAA
GATAGAGGAAGAGCAAAACAAAAGTAAGACCACCGCACAGCAAGCGCCGCTGATCTTCAGACCTGGAGGAGGAGAT
ATGAGGGACAATTGGAGAAGTGAATTATATAAATATAAAGTAGTAAAAATTGAACCATTAGGAGTAGCACCCACCAA
GGCAAAGAGAAGAGTGGTGACAGAGAGAAAAAGAGCAGTGGGAATAGGAGCTTTGTTCCCTGGGTTCTTGGGAGCAG
CAGGAAGCACTATGGGCGCAGCCTCAATGACGCTGACGGTACAGGCCAGACAATTATTGTCTGGTATAGTGCAGCAG
CAGAACAATTTGCTGAGGGCTATTGAGGCGCAACAGCATCTGTTGCAACTCACAGTCTGGGGCATCAAGCAGCTCCA
GGCAAGAATCCTGGCTGTGGAAAGATACCTAAAGGATCAACAGCTCCTGGGGATTGGGGTTGCTCTGGAAAATCA
TTTGCACCACTGCTGTGCCTTGGAATGCTAGTTGGAGTAATAAATCTCTGGAACAGATTGGAATCACACGACCTGGA
TGGAGTGGGACAGAGAAATTAACAATTACACAAGCTTAATACTCCTTAATTGAAGAATCGAAAACCAGCAAGAA
AAGAATGAACAAGAATTATTGGAATTAGATAAATGGGCAAGTTTGTGGAATTGGTTAACATAACAAATTGGCTGTG
GTATATAAAATTATTATAATGATAGTAGGAGGCTTGGTAGGTTAAGAATAGTTTTTGTGTACTTTCTATAGTGA
ATAGAGTTAGGCAGGGATATTCACCATTCATCGTTTCAGACCCACCTCCCAACCCCGAGGGGACCCGACAGGCCCGAA
GGAATAGAAGAAGAAGGTGGAGAGAGAGACAGAGACAGATCCATTGATTAGTGAACGGATCTCGACGGTATCGATC
TCGACACAAATGGCAGTATTCATCCACAATTTTAAAAGAAAAGGGGGATTGGGGGTACAGTGCAGGGGAAAGAAT
AGTAGACATAATAGCAACAGACATACAACTAAAGAATTACAAAAACAAATTACAAAAATTCAAAATTTTCGGGTTT
ATTACAGGGACAGAGAGATCCAGTTTGGGTCGAGGATCGATCGTGAGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCA
CATCGCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGAGGGTTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTA
AACTGGGAAAGTGATGTCGTGTAAGTGGCTCCGCCTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGT
CGCCGTGAACGTTCTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTG
GCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTTGCGTGCTTGAATTAATTCACGCCCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCC
CGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAGCCTTGCGCTTAAGGAGCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGA
GGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCGCGCTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTTGATAAGT
CTCTAGCCATTTAAAATTTTGTGACCTGCTGCGACGCTTTTTTCTGGCAAGATAGTCTTGTAATGCGGGCCAA
GATCTGCACACTGGTATTTTCGGTTTTTGGGGCCGCGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCGCACATGTTCCGC
GAGGCGGGGCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGTAGTCTCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTG
GCCTCGCGCGCGCGTGATCGCCCCGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTTCGGCACAGTTGCGTGAGCGGAAAGA
TGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAAATGGAGGACGCGCGCCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCC
ACACAAAGGAAAAGGGCCTTTCCGTCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCACGAGTACCGGGCGCGCTCCAGGCA
CCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTGCTCTTAGGTTGGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCC
ACACTGAGTGGGTGGAGACTGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCCTTGAATTTGCCCTTTTTGAG
TTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAGTTTTTTTCTTCCATTCAGGTGTCGTGGATCCC

CGGGTACCGAGCTCGAATTCATCGATCGATTAGTCCAATTTGTTAAAGACAGGATATCAGTGGTCCAGGCTCTAGTT
TTGACTCAACAATATCACCAGCTGAAGCCTATAGAGTACGAGCCATAGATAGAATAAAAGATTTTATTTGTCTCCAG
AAAAAGGGGGGAATGAAAGACCCACCTGTAGGTTTGGCAAGCTAGGATCAAGGTTAGGACAGAGAGACAGCAGAAT
ATGGGCCAAACAGGATATCTGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGTTGGAACAGCAGAATAT
GGGCCAAACAGGATATCTGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGGTCCCCAGATGCGGTC
CCGCCCTCAGCAGTTTCTAGAGAACCATCAGATGTTTCCAGGGTGCCCCAAGGACCTGAAATGACCCTGTGCCTTAT
TTGAACTAACCAATCAGTTCGCTTCTCGCTTCTGTTTCGCGCGCTTCTGCTCCCCGAGCTCAATAAAAGAGCCACAA
CCCCTCACTCGGCGCGATCTAGATCCGCTAGCCACGTGGTTTAAACGTCGACAATCAACCTCTGGATTACAAAATTT
GTGAAGATTGACTGGTATTCTTAACATATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATC
ATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTCATTTTCTCCTCCTTGATAAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTG
TGGCCCGTTGTGAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCAC
CACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTCGCTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAATCATCGCCGCCTGCCTTG
CCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATCCGTGGTGTGTGCGGGGAAGCTGACGTCCTTTCCA
TGGCTGCTCGCCTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGC
GGACCTTCCTTCCCGCGGCCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTTCCCGCTCTTCGCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGA
TCTCCCTTTGGGCGGCCTCCCCGCCTGGAATTCGATATCCCCGGGTGATCAGGTACCTTTAAGACCAATGACTTACA
AGGCAGCTGTAGTCTTAGCCACTTTTTAAAGAAAAGGGGGGACTGGAAGGGCTAATTCACCTCCAACGAAGACAAG
ATCTGCTTTTTGCTTGTACTGGGTCTCTCTGGTTAGACCAGATCTGAGCCTGGGAGCTCTCTGGCTAACTAGGGAAC
CCACTGCTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCTTGAGTGCTCAAGTAGTGTGTGCCCGTCTGTTGTGTGACTCTGGTAA
CTAGAGATCCCTCAGACCTTTTAGTCAGTGTGAAAAATCTCTAGCAGTAGTAGTTCATGTCATCTTATTATTAGT
ATTTATAACTTGCAAAGAAATGAATATCAGAGAGTGAGAGGAACTTGTTTATTGCAGCTTATAATGGTTACAAATAA
AGCAATAGCATCACAATTTACAAAATAAAGCATTTTTTTACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGTCCAAACTCATCAAT
GTATCTTATCATGTCTGGCTCTAGCTATCCCGCCCCCTAACTCCGCCCCTAACTCCGCCCAGTTCCGCC
CATTCTCCGCCCCATGGCTGACTAATTTTTTTTATTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCTCGGCCTCTGAGCTATTCCA
GAAGTAGTGAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCCTAGGCTTTTGCCTCGAGACGTACCCAATTCGCCCTATAGTGAGTCGTA
TTACGCGCGCTCACTGGCCGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCCTGGCGTTACCCACTTAATCGCCTTG
CAGCACATCCCCCTTTGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGC
CTGAATGGCGAATGGCGCGACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGGGTGTGGTGTACGCGCAGCGTGACC
GCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTCGCTTCTTCCCTTCCTTCTCGCCACGTTGCGCGGCTTTCC
CCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTG
ATTAGGGTGATGGTTACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGTTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTT
TTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGTCTATTCTTTTGATTTATAAGGGAT
TTTGCCGATTTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAATATTAA
CGTTTACAATTTCC

SEQ ID NO:48用于HLA-A*02:01限制性TCR的肽抗原

AAGIGILTV

SEQ ID NO:49用于HLA-A*01:01限制性TCR的肽抗原

EVDPIGHLY

SEQ ID NO:50用于HLA-A*24:02限制性TCR的肽抗原

CMTWNQMNL

SEQ ID NO:51用于HLA-DRB4*0101限制性TCR的肽抗原
RSFLVNQMINEAKKQLLEFD

SEQ ID NO:52用于HLA-DRB3*0101限制性TCR的肽抗原
ISLETVAIDRPAEVRKV

SEQ ID NO:53用于HLA-DRB3*0202限制性TCR的肽抗原
SASHLEQYGTNEYSIISSMK

SEQ ID NO:54用于HLA-DRB5*0101限制性TCR的肽抗原
SSFERFEIFPKESSWPN

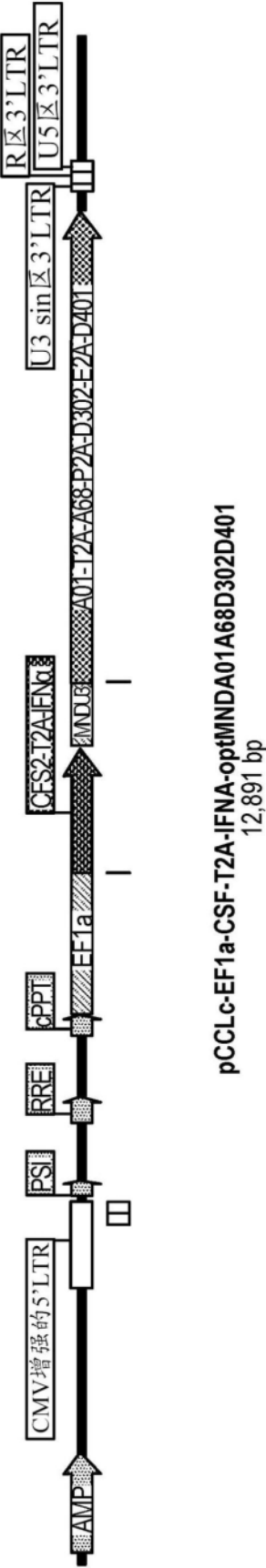


图1

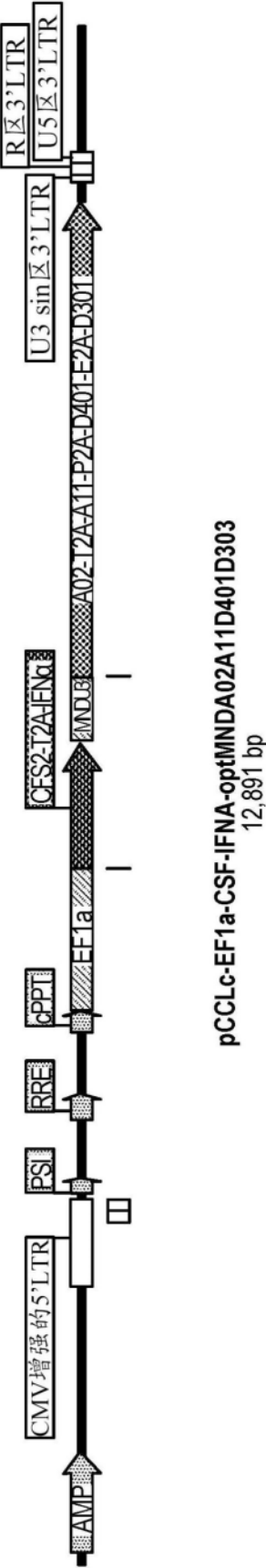


图2

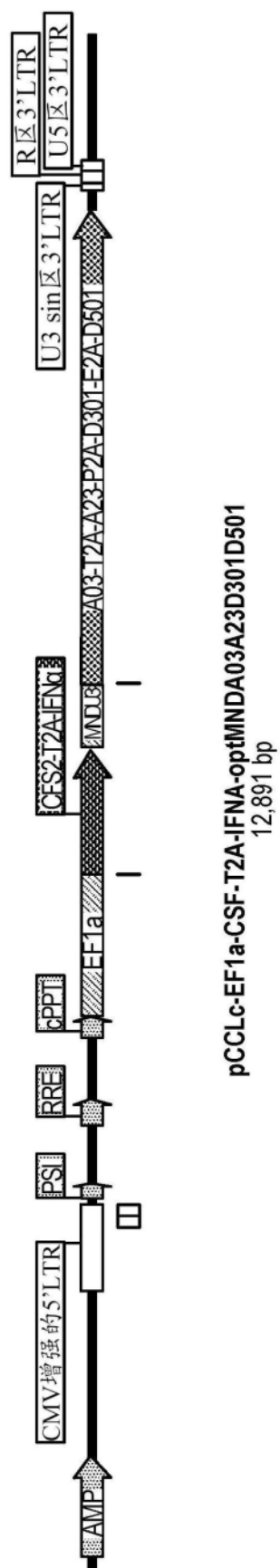


图3

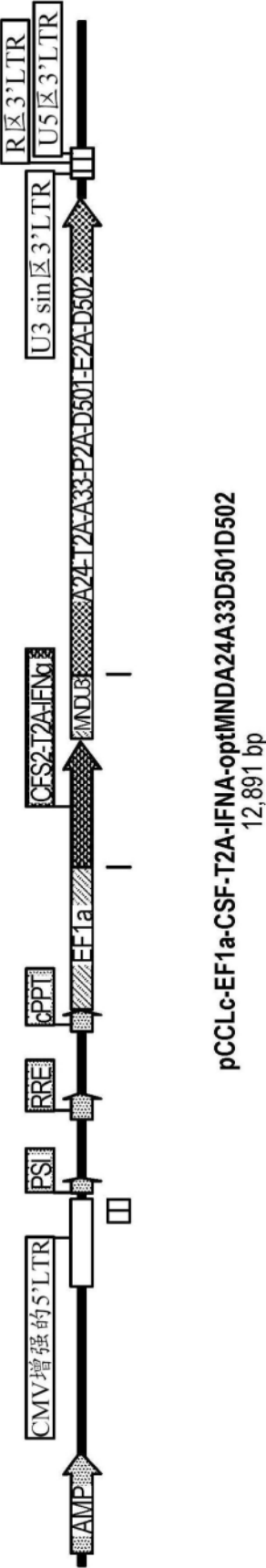


图4

共刺激

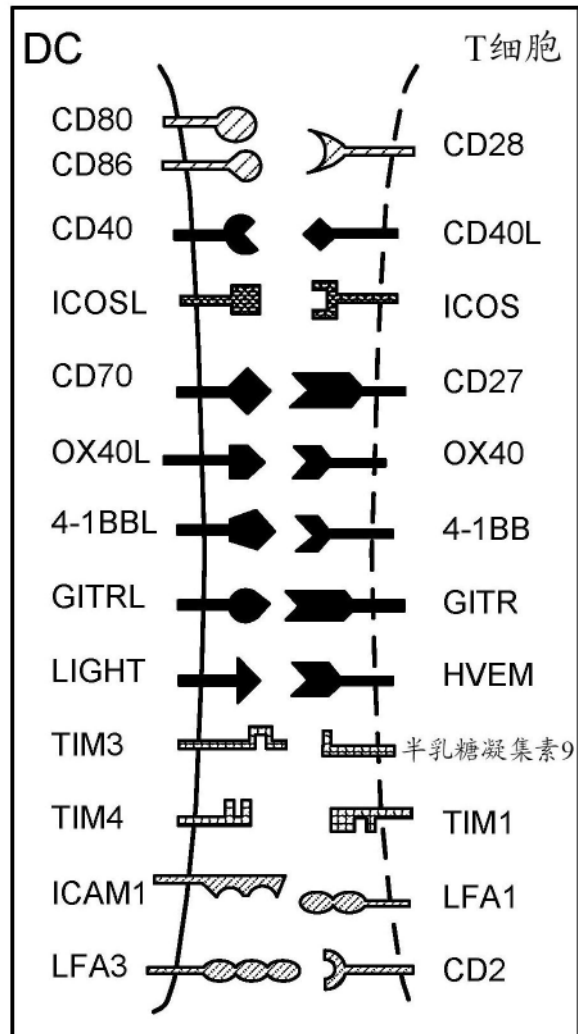


图5

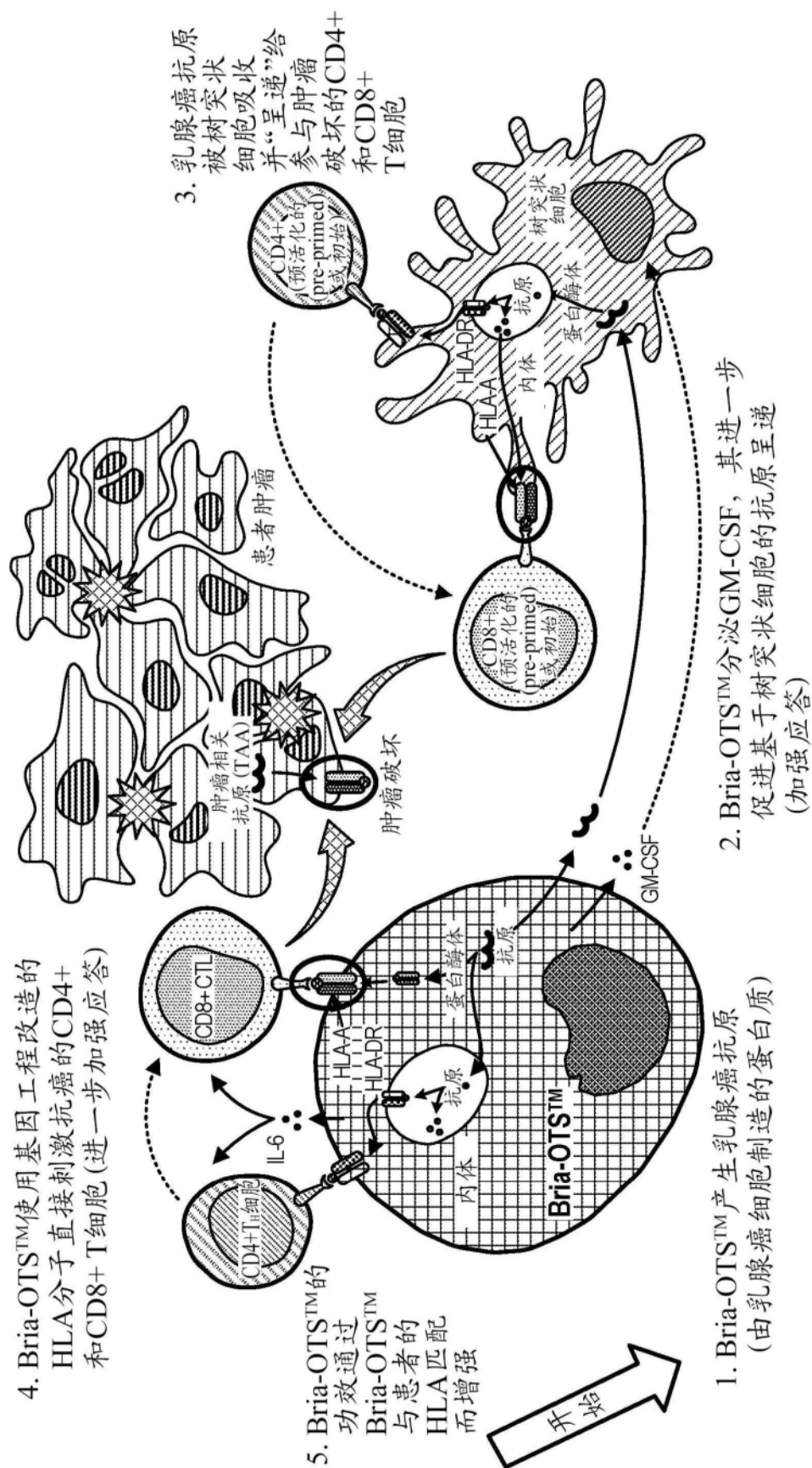


图6

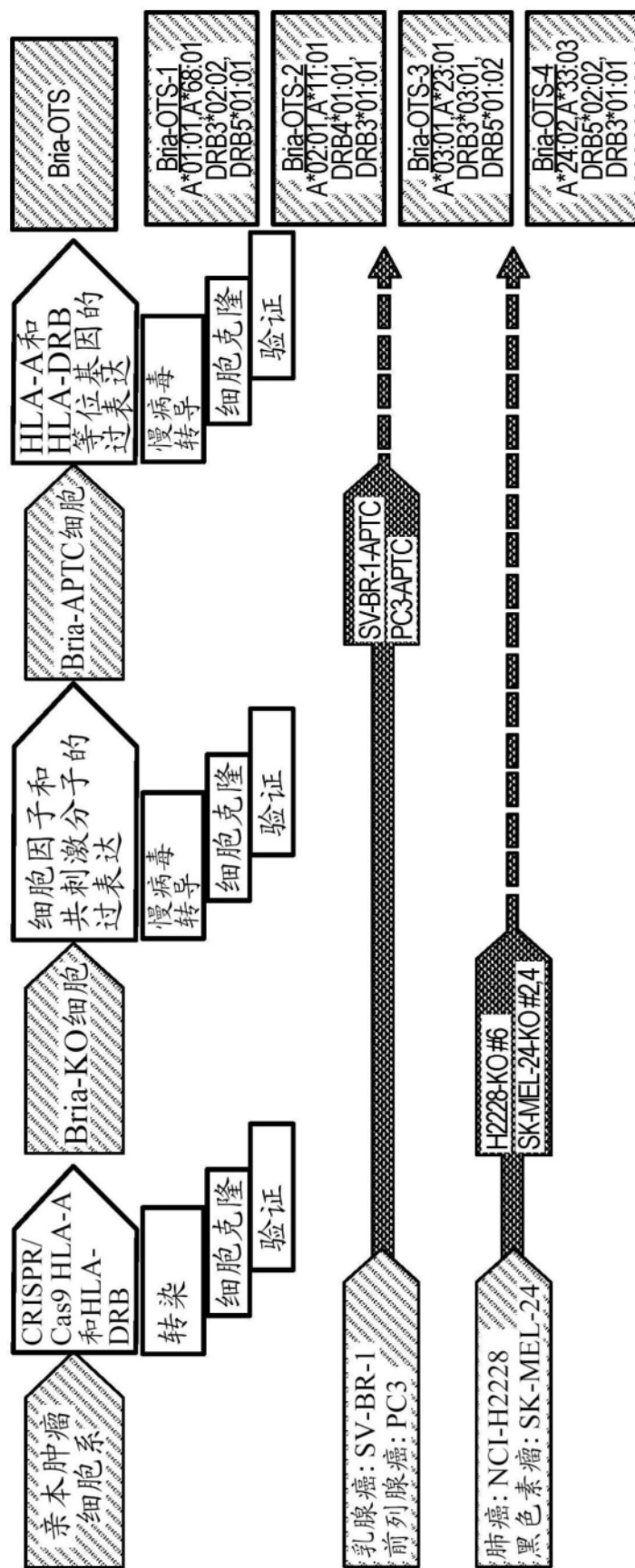
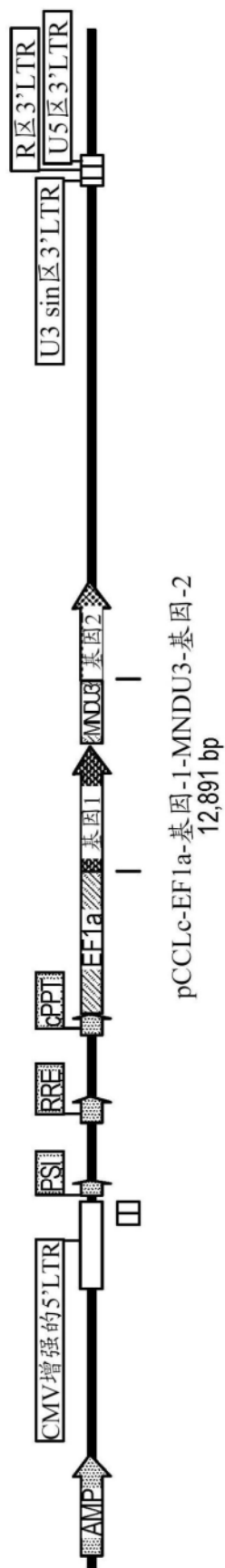


图7A



慢病毒ID	EF1a启动子	MNDU3启动子
GM-IFN	CSF2 (GM-CSF)	IFNA2 (IFN α)
CD86-IL12	CD86	IL12
CD80-HLA-DRA	CD80	HLA-DRA
IL7-4-1BBL	IL7	4-1BBL

HLA	
慢病毒ID	EF1a启动子
A2-A11	HLA-A*02:01
A1-A68	HLA-A*01:01
A3-A23	HLA-A*03:01
A24-A33	HLA-A*24:02
DR401-301	DRB4*01:01
DR302-501	DRB3*02:02
DR303-502	DRB3*03:01
DR301-522	DRB5*02:02
	DRB3*01:01
	MNDU3启动子
	HLA-A*11:01
	HLA-A*68:01
	HLA-A*23:01
	HLA-A*33:03
	DRB3*01:01
	DRB5*01:01
	DRB5*01:02
	DRB3*01:01

图7B

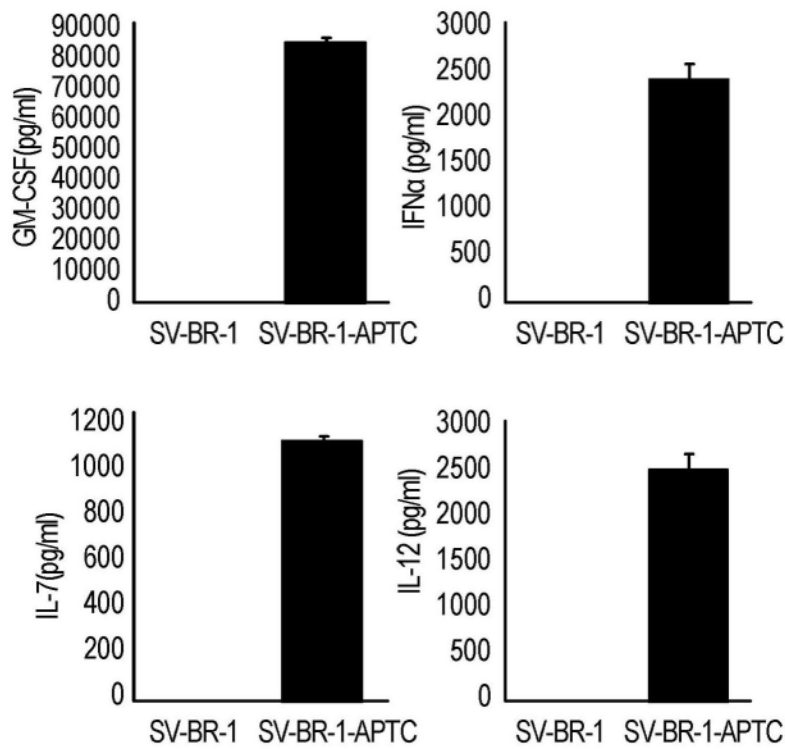


图8A

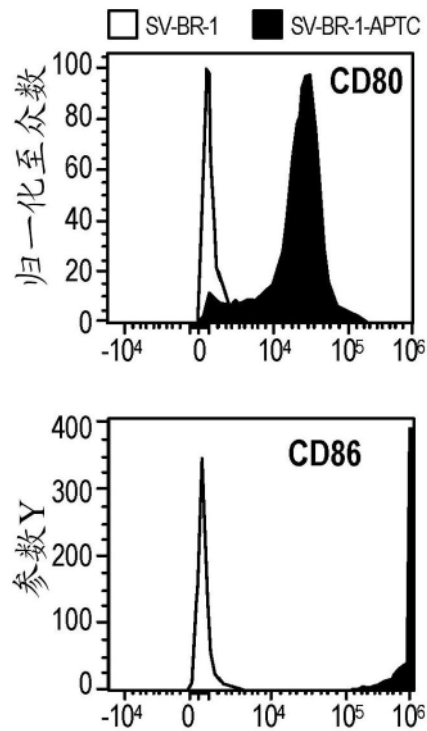


图8B

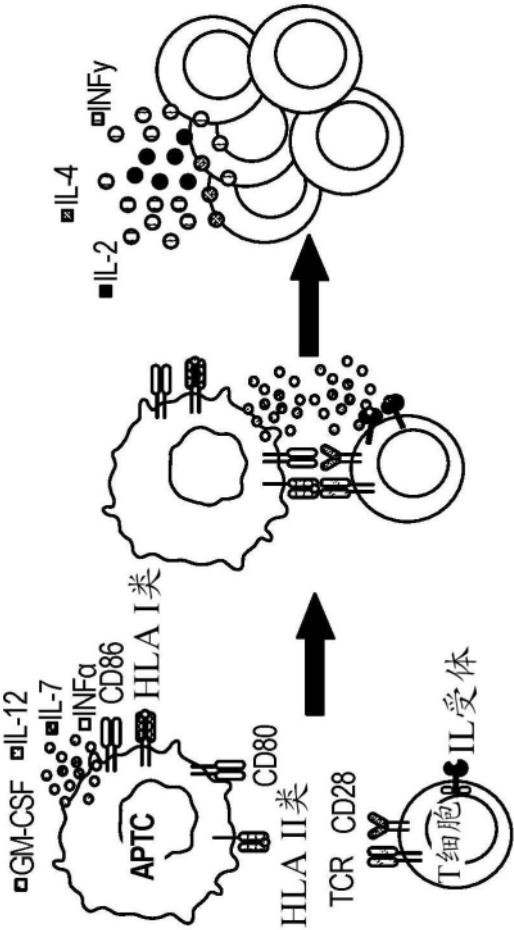


图9A

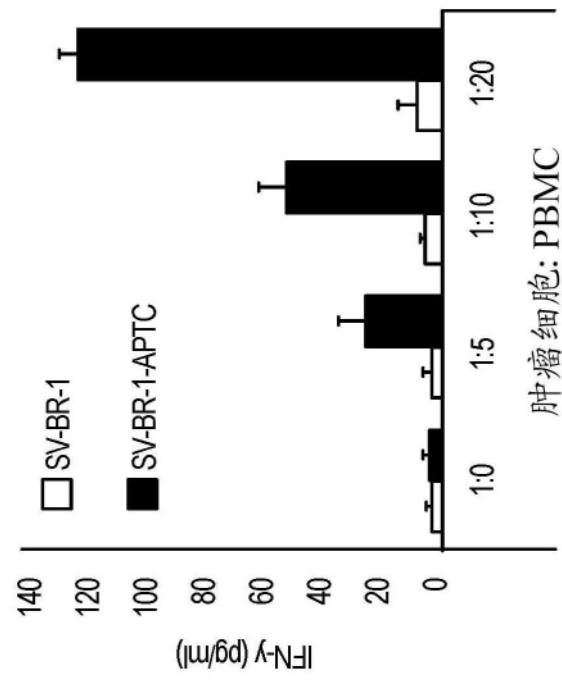


图9B

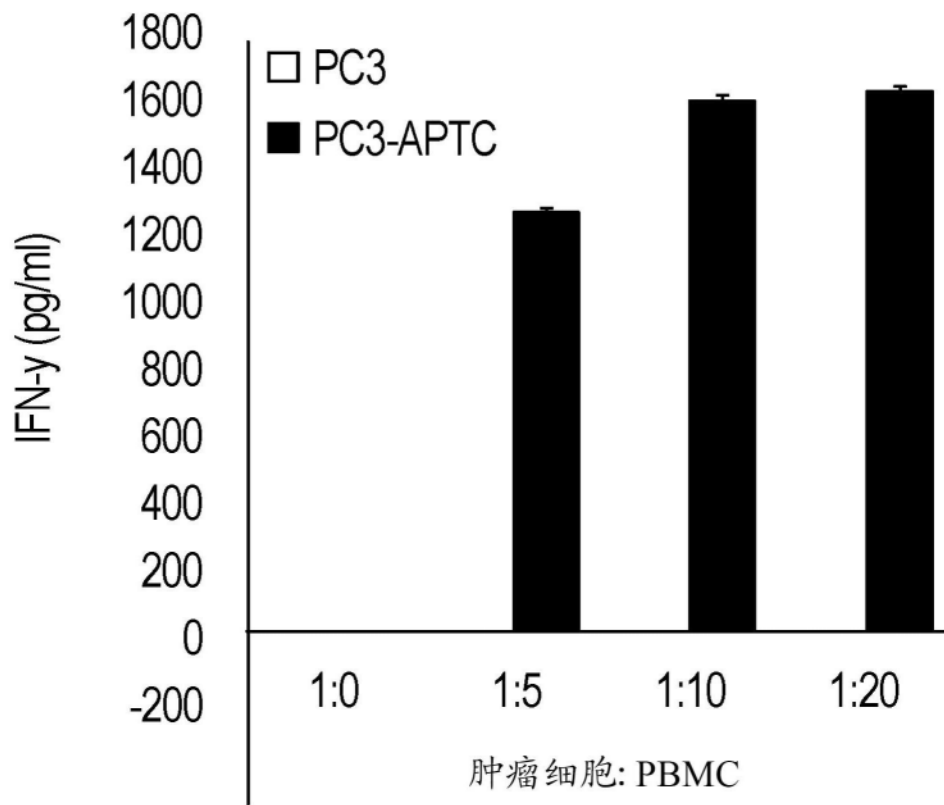


图10

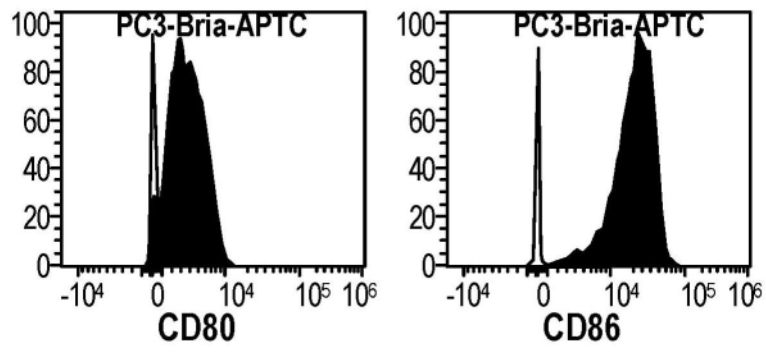


图11A

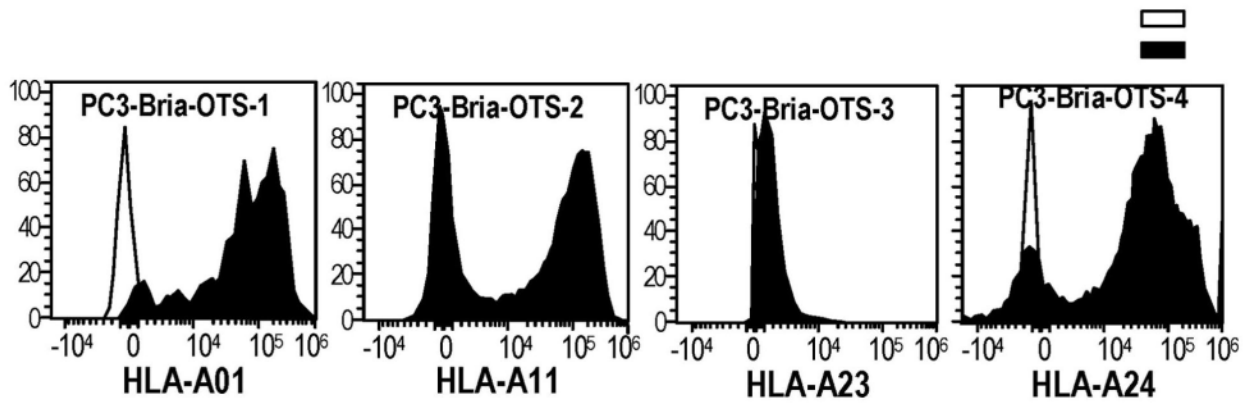


图11B

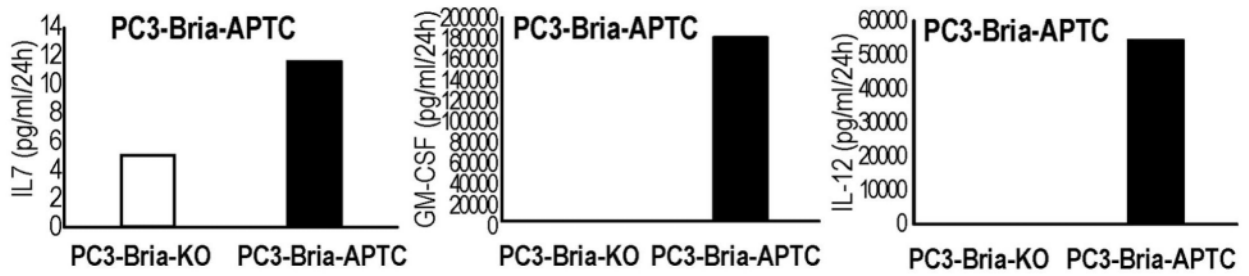


图11C

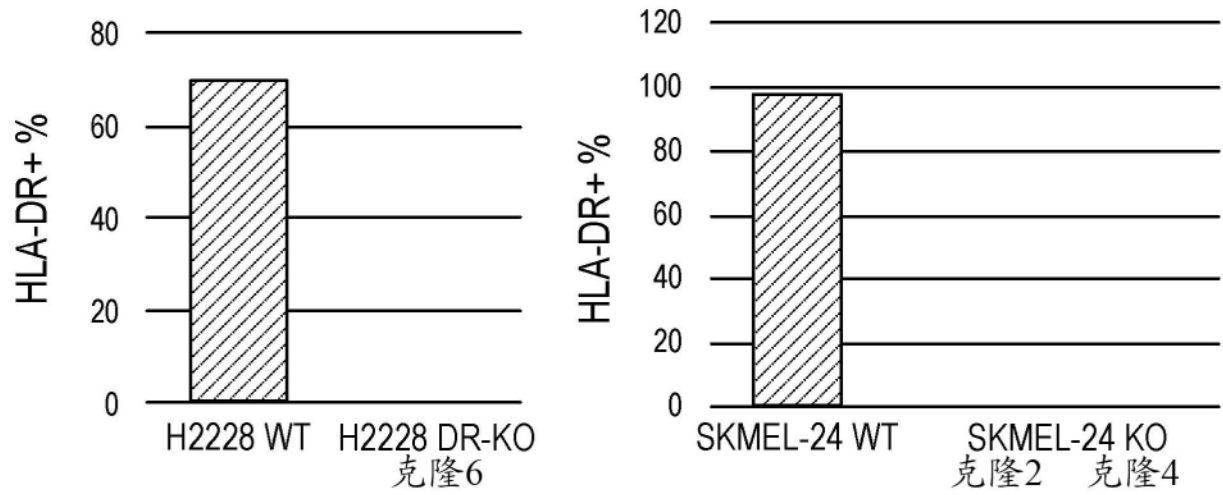


图12

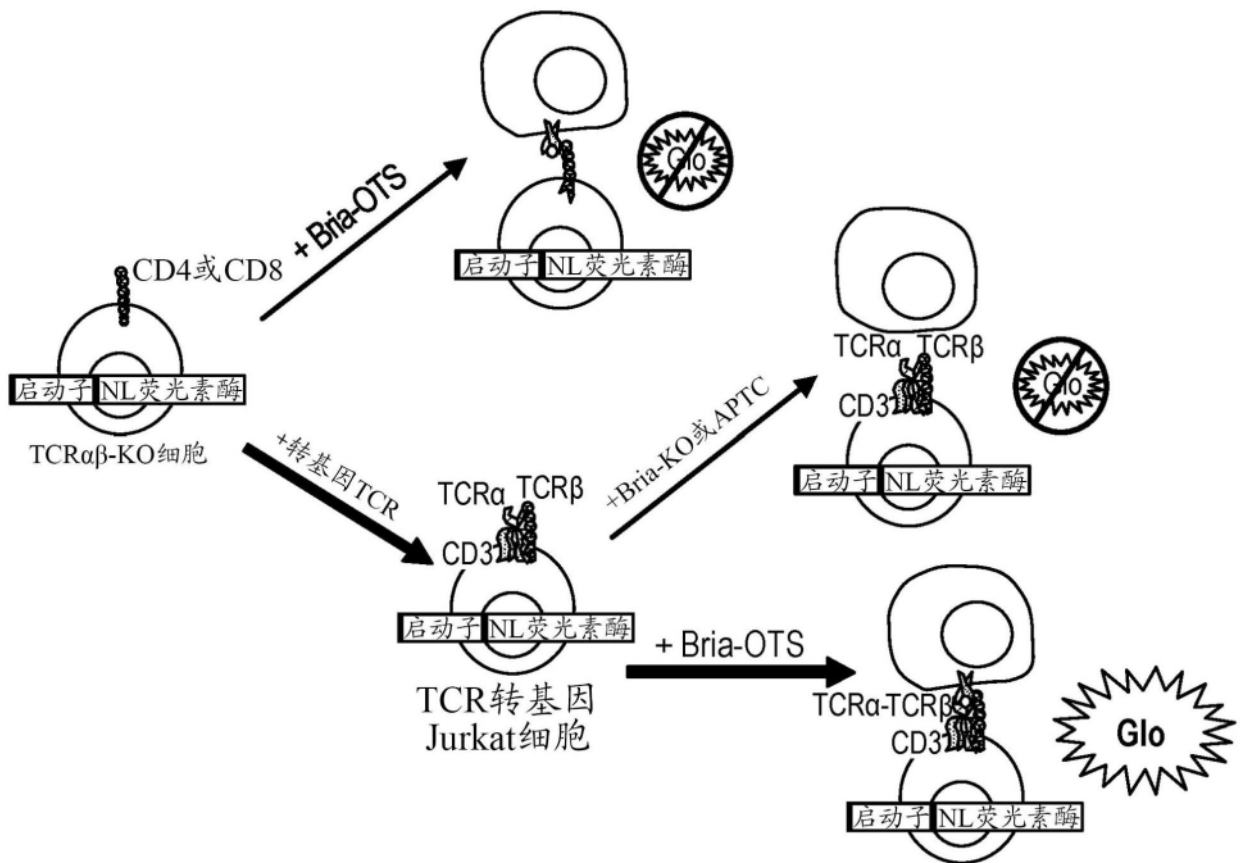


图13

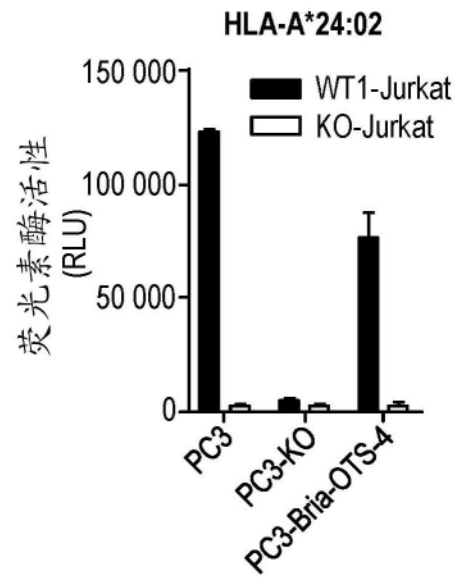


图14A

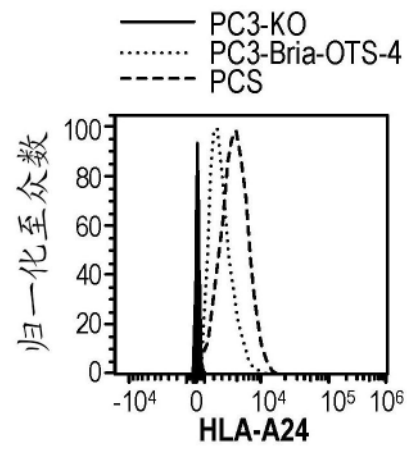


图14B

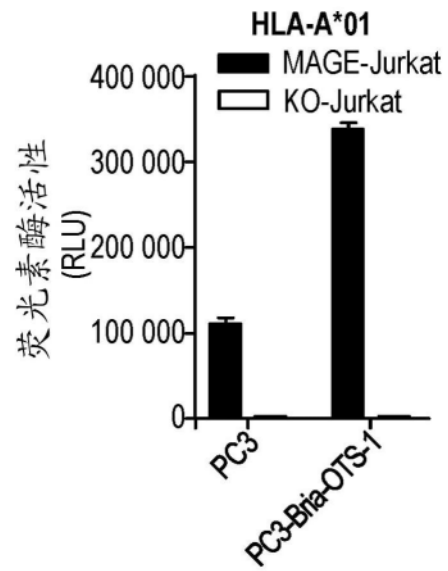


图14C

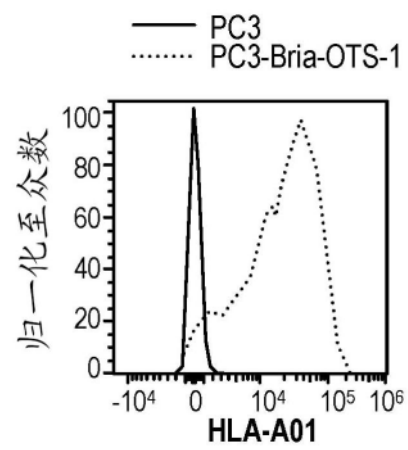


图14D

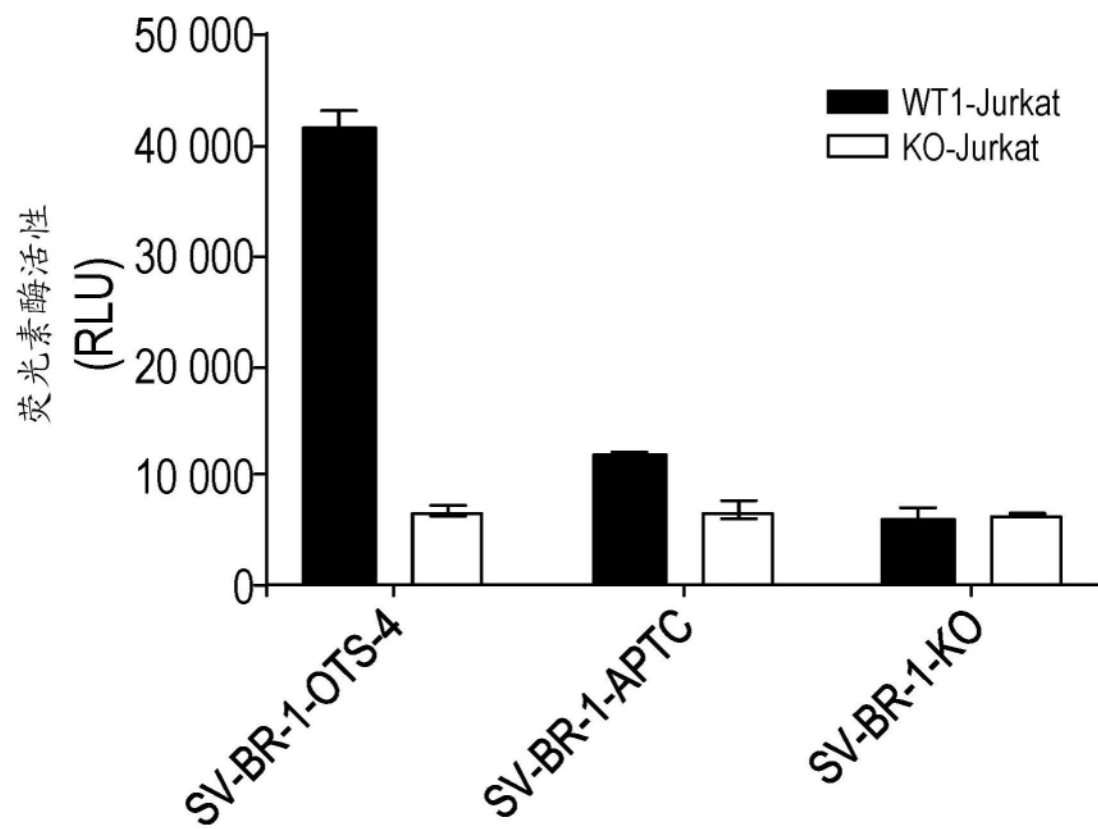


图15