



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公開本

(11) 公開編號：TW 202241471 A

(43) 公開日：中華民國 111 (2022) 年 11 月 01 日

(21) 申請案號：111100816

(22) 申請日：中華民國 111 (2022) 年 01 月 07 日

(51) Int. Cl. :

*A61K35/18 (2015.01)**A61K38/17 (2006.01)**A61K38/20 (2006.01)**A61K45/06 (2006.01)**A61P35/00 (2006.01)**A61P35/02 (2006.01)**C07K16/28 (2006.01)*

(30) 優先權：2021/01/08

美國

63/135,559

(71) 申請人：美商盧比亞斯治療公司 (美國) RUBIUS THERAPEUTICS, INC. (US)

美國

(72) 發明人：寇索林 克莉絲緹娜 COUGHLIN, CHRISTINA MARIE (US)；特卡 勞倫斯

TURKA, LAURENCE ALLAN (US)；薩爾柏格瓦德納 安娜 SALZBERG

WALDNER, ANNA CAROL (US)

(74) 代理人：何愛文；王仁君

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：96 項 圖式數：4 共 203 頁

(54) 名稱

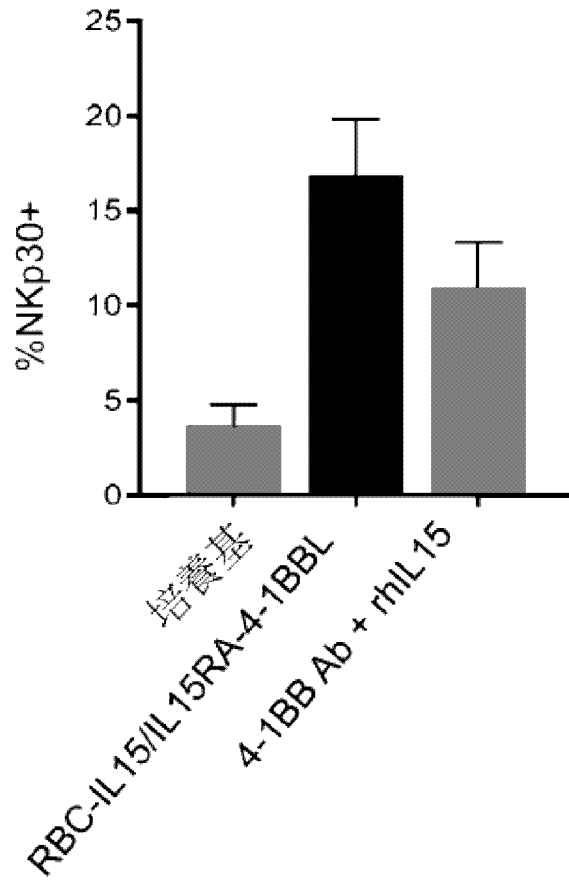
提高個體中 NKp30 陽性淋巴球的方法及其用途

(57) 摘要

本發明提供提高有需要的個體中 NKp30 陽性淋巴球數量的方法及其用途。

Provided herein are methods of increasing the number of NKp30-positive lymphocytes in a subject in need thereof, and uses of the same.

指定代表圖：



【圖1】

## 【發明摘要】

【中文發明名稱】提高個體中NKp30陽性淋巴球的方法及其用途

【英文發明名稱】METHODS OF INCREASING NKp30-POSITIVE  
LYMPHOCYTES IN A SUBJECT AND USES THEREOF

【中文】

本發明提供提高有需要的個體中NKp30陽性淋巴球數量的方法及其用途。

【英文】

Provided herein are methods of increasing the number of NKp30-positive lymphocytes in a subject in need thereof, and uses of the same.

【指定代表圖】圖1

【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】無

## 【發明說明書】

【中文發明名稱】提高個體中NKp30陽性淋巴球的方法及其用途

【英文發明名稱】METHODS OF INCREASING NKp30-POSITIVE LYMPHOCYTES IN A SUBJECT AND USES THEREOF

### 【技術領域】

相關申請案的交叉引用

【0001】本申請案請求2021年1月8日提申的美國臨時專利申請案第63/135,559號的優先權。這件先前申請案的揭示內容被視為本申請案揭示內容的一部分，且其全部內容被併入本申請案。

【0002】本發明大體上是有關向個體投予去核類紅血球的方法、提高個體中NKp30陽性淋巴球的方法，以及治療個體中B7-H6陽性癌症的方法。

序列表

【0003】本申請案含有一份序列表，該份序列表已按電子方式提交，以一份名為47472.0079WO1\_ST25.txt的ASCII文本檔案。ASCII文本檔案創建於2022年1月6日，大小為87位元組。ASCII文本檔案中的材料以全文引用的方式併入本文。

### 【先前技術】

【0004】正在開發經工程改造的去核類紅血球作為治療劑，其為有需要的患者攜帶或呈遞外源性蛋白。

### 【發明內容】

【0005】本發明是有關使用B7同源物6(B7-H6)作為生物標記以供鑑定用去核類紅血球治療的個體，該等去核類紅血球包含有外源性融合蛋白，該外源

性融合蛋白包含(i) IL-15或其功能片段，及(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段。本發明至少部分基於發現到：向個體投予去核類紅血球會導致個體中NKp30陽性淋巴球的數量提高，該等去核類紅血球在其細胞外表面上包含第一外源性多肽及在其細胞外表面上的第二外源性多肽，該第一外源性多肽包含(i) IL-15或其功能片段，及(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段，該二外源性多肽包含4-1BBL或其功能片段。因此，測定個體中癌症的B7-H6陽性對於鑑別出可能對使用這些細胞治療有反應的患者特別有用。本文提供了提高先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體中NKp30陽性淋巴球數量的方法、治療先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體的方法、減少先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體中B7-H6陽性癌細胞的數量及/或增生的方法、殺死先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體中B7-H6陽性癌細胞的方法，以及減少先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體中實體腫瘤體積的方法。

**【0006】** 本文提供了在有需要之先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體中提高NKp30陽性淋巴球數量的方法，包括向個體投予治療有效量的醫藥組成物，該醫藥組成物包含去核類紅血球之群組，該去核類紅血球之群組包含在其細胞外表面上的第一外源性融合多肽，該第一外源性融合多肽包含(i) IL-15或其功能片段，及(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段。

**【0007】** 在本文所述任何方法的一些具體例中，與投予前個體中NKp30陽性淋巴球的數量相比，投予導致個體中NKp30陽性淋巴球的數量提高至少5%。在本文所述任何方法的一些具體例中，與投予前個體中NKp30陽性淋巴球的數量相比，投予導致個體中NKp30陽性淋巴球的數量提高至少10%。在本文所述任何方法的一些具體例中，NKp30陽性淋巴球是NKp30陽性NK細胞。

**【0008】** 在本文所述任何方法的一些具體例中，該方法進一步導致個體中NKp30陽性/NKG2A陰性淋巴球的數量提高。在本文所述任何方法的一些具體例中，投予步驟導致個體中NKp30陽性/NKG2A陰性淋巴球的數量提高至少5%。

在本文所述任何方法的一些具體例中，投予步驟導致個體中NKp30陽性/NKG2A陰性淋巴球的數量提高至少10%。在本文所述任何方法的一些具體例中，NKp30陽性/NKG2A陰性淋巴球是NKp30陽性/NKG2A陰性NK細胞。

**【0009】** 在本文所述任何方法的一些具體例中，投予步驟導致個體中NKp30陽性、CD45陽性、CD56陽性淋巴球的數量提高。在本文所述任何方法的一些具體例中，投予步驟導致個體中NKp30陽性的CD45陽性、CD56陽性淋巴球的百分率提高至少1.2倍。在本文所述任何方法的一些具體例中，投予步驟導致個體中NKp30陽性的CD45陽性、CD56陽性淋巴球的百分率提高至少1.5倍。在本文所述任何方法的一些具體例中，投予步驟導致個體中NKp30陽性的CD45陽性、CD56陽性淋巴球的百分率提高至少2.0倍。在本文所述任何方法的一些具體例中，NKp30陽性、CD45陽性、CD56陽性淋巴球是NKp30陽性、CD45陽性、CD56陽性NK細胞。

**【0010】** 在本文所述任何方法的一些具體例中，投予步驟導致個體中NKp30陽性、CD45陽性、CD16陽性、CD56-dim淋巴球的數量提高。在本文所述任何方法的一些具體例中，投予步驟導致個體中NKp30陽性的CD56-dim、CD16陽性、CD45陽性淋巴球的百分率提高至少1.2倍。在本文描述任何方法的一些具體例中，投予步驟導致個體中NKp30陽性的CD56-dim、CD16陽性、CD45陽性淋巴球的百分率提高至少1.5倍。在本文所述任何方法的一些具體例中，投予步驟導致個體中NKp30陽性的CD56-dim、CD16陽性、CD45陽性淋巴球的百分率提高至少1.7倍。在本文所述任何方法的一些具體例中，NKp30陽性、CD45陽性、CD16陽性、CD56-dim淋巴球是NKp30陽性、CD45陽性、CD16陽性、CD56-dim NK細胞。

**【0011】** 在本文所述任何方法的一些具體例中，投予步驟導致個體中NKp30陽性、CD45陽性、CD16陽性和CD56陽性淋巴球的數量提高。在本文所述任何方法的一些具體例中，投予步驟導致個體中NKp30陽性的CD56陽性、

CD16陽性、CD45陽性淋巴球的百分率提高至少1.5倍。在本文所述任何方法的一些具體例中，投予步驟導致個體中NKp30陽性的CD56陽性、CD16陽性、CD45陽性淋巴球的百分率提高至少2.0倍。在本文所述任何方法的一些具體例中，投予步驟導致個體中NKp30陽性的CD56陽性、CD16陽性、CD45陽性淋巴球的百分率提高至少2.5倍。在本文所述任何方法的一些具體例中，投予步驟導致個體中NKp30陽性的CD56陽性、CD16陽性、CD45陽性淋巴球的百分率提高至少3.0倍。在本文所述任何方法的一些具體例中，投予步驟導致個體中NKp30陽性的CD56陽性、CD16陽性、CD45陽性淋巴球的百分率提高至少3.5倍。在本文所述任何方法的一些具體例中，NKp30陽性、CD56陽性、CD16陽性、CD45陽性淋巴球是NKp30陽性、CD56陽性、CD16陽性、CD45陽性NK細胞。

**【0012】** 在本文所述任何方法的一些具體例中，投予步驟不會在個體中導致顯著程度的骨髓細胞毒性。在本文所述任何方法的一些具體例中，該方法進一步包含將個體鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症。在本文所述任何方法的一些具體例中，B7-H6陽性癌症選自由以下組成之群：腎上腺皮質癌、膽管癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、結腸直腸癌、食道癌、眼癌、頭頸癌、急性骨髓性白血病、淋巴腫瘤、瀰漫性大b細胞淋巴瘤、腎癌、腎臟腎透明細胞癌、腎臟腎乳頭狀細胞癌、腎臟嫌色細胞、肝癌、肺癌、肺腺癌、肺鱗狀細胞癌、間皮瘤、卵巢癌、胰臟癌、直腸癌、皮膚癌、胃癌、睪丸癌、胸腺瘤、甲狀腺癌、子宮癌、子宮體子宮內膜癌、子宮癌肉瘤，和葡萄膜黑色素瘤。在本文所述任何方法的一些具體例中，B7-H6陽性癌症是B7-H6陽性/HLA-E陰性癌症。

**【0013】** 在本文所述任何方法的一些具體例中，該方法進一步包含向個體投予NKG2A抑制劑。在本文所述任何方法的一些具體例中，NKG2A抑制劑是特異地結合至NKG2A的拮抗性抗體。

**【0014】** 本文還提供了治療先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體的方法，其包括向先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體投予治療有



效量的醫藥組成物，該醫藥組成物包含去核類紅血球之群組，該去核類紅血球之群組在其細胞外表面上包含第一外源性多肽，該第一外源性多肽包含(i) IL-15或其功能片段，及(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段。在本文所述任何方法的一些具體例中，B7-H6陽性癌症選自由以下組成之群：腎上腺皮質癌、膽管癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、結腸直腸癌、食道癌、眼癌、頭頸癌、急性骨髓性白血病、淋巴腫瘤、瀰漫性大b細胞淋巴瘤、腎癌、腎臟腎透明細胞癌、腎臟腎乳頭狀細胞癌、腎臟嫌色細胞、肝癌、肺癌、肺腺癌、肺臟鱗狀細胞癌、間皮瘤、卵巢癌、胰臟癌、直腸癌、皮膚癌、胃癌、睪丸癌、胸腺瘤、甲狀腺癌、子宮癌、子宮體子宮內膜癌、子宮癌肉瘤，和葡萄膜黑色素瘤。在本文所述任何方法的一些具體例中，B7-H6陽性癌症是B7-H6陽性/HLA-E陰性癌症。

**【0015】** 在本文所述任何方法的一些具體例中，投予步驟不會在個體中導致顯著程度的骨髓細胞毒性。在本文所述任何方法的一些具體例中，該方法進一步包含將個體診斷或鑑定為患有B7-H6陽性癌症。在本文所述任何方法的一些具體例中，該方法進一步包含向個體投予NKG2A抑制劑。在本文所述任何方法的一些具體例中，NKG2A抑制劑是特異地結合至NKG2A的拮抗性抗體。

**【0016】** 在本文所述任何方法的一些具體例中，本發明的特徵在於減少先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體中B7-H6陽性癌細胞的數量及/或增生的方法，該方法包含投予治療有效量的醫藥組成物，該醫藥組成物包含去核類紅血球之群組，該去核類紅血球之群組在其細胞外表面上包含第一外源性多肽，該第一外源性多肽包含(i) IL-15或其功能片段，及(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段。

**【0017】** 在本文所述任何方法的一些具體例中，投予導致個體中B7-H6陽性癌細胞的數量減少。在本文所述任何方法的一些具體例中，與投予前個體中B7-H6陽性癌細胞的數量相比，投予導致該名個體中B7-H6陽性癌細胞的數量減

少至少5%。在本文所述任何方法的一些具體例中，與投予前個體中B7-H6陽性癌細胞的數量相比，投予導致個體中B7-H6陽性癌細胞的數量減少至少10%。

【0018】 在本文所述任何方法的一些具體例中，投予導致個體中B7-H6陽性/HLA-E陰性癌細胞的數量減少。在本文所述任何方法的一些具體例中，與投予前個體中B7-H6陽性/HLA-E陰性癌細胞的數量相比，投予導致個體中B7-H6陽性/HLA-E陰性癌細胞的數量減少至少5%。在本文所述任何方法的一些具體例中，與投予前個體中B7-H6陽性/HLA-E陰性癌細胞的數量相比，投予導致個體中B7-H6陽性/HLA-E陰性癌細胞的數量減少至少10%。

【0019】 在本文所述任何方法的一些具體例中，投予導致個體中B7-H6陽性癌細胞的增生減少。在本文所述任何方法的一些具體例中，與投予前個體中B7-H6陽性癌細胞的增生相比，投予導致個體中B7-H6陽性癌細胞的增生減少至少5%。在本文所述任何方法的一些具體例中，與投予前個體中B7-H6陽性癌細胞的增生相比，投予導致個體中B7-H6陽性癌細胞的增生減少至少10%。

【0020】 在本文所述任何方法的一些具體例中，投予導致個體中B7-H6陽性/HLA-E陰性癌細胞的增生減少。在本文所述任何方法的一些具體例中，與投予前個體中B7-H6陽性/HLA-E陰性癌細胞的增生相比，投予導致個體中B7-H6陽性/HLA-E陰性癌細胞的增生減少至少5%。在本文所述任何方法的一些具體例中，與投予前個體中B7-H6陽性/HLA-E陰性癌細胞的增生相比，投予導致個體中B7-H6陽性/HLA-E陰性癌細胞的增生減少至少10%。

【0021】 在本文所述任何方法的一些具體例中，投予步驟不會在個體中導致顯著程度的骨髓細胞毒性。

【0022】 在本文所述任何方法的一些具體例中，該方法進一步包含將個體鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症。在本文所述任何方法的一些具體例中，B7-H6陽性癌症選自由以下組成之群：腎上腺皮質癌、膽管癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、結腸直腸癌、食道癌、眼癌、頭頸癌、急性骨髓性白血病、

淋巴腫瘤、瀰漫性大b細胞淋巴瘤、腎癌、腎臟腎透明細胞癌、腎臟腎乳頭狀細胞癌、腎臟嫌色細胞、肝癌、肺癌、肺腺癌、肺鱗狀細胞癌、間皮瘤、卵巢癌、胰臟癌、直腸癌、皮膚癌、胃癌、睪丸癌、胸腺瘤、甲狀腺癌、子宮癌、子宮體子宮內膜癌、子宮癌肉瘤，和葡萄膜黑色素瘤。在本文所述任何方法的一些具體例中，B7-H6陽性癌症是B7-H6陽性/HLA-E陰性癌症。

【0023】 在本文所述任何方法的一些具體例中，該方法進一步包含向個體投予NKG2A抑制劑。在本文所述任何方法的一些具體例中，NKG2A抑制劑是特異地結合至NKG2A的拮抗性抗體。

【0024】 本文還提供了在先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體中誘導殺死B7-H6陽性癌細胞的方法，包括投予治療有效量的醫藥組成物，該醫藥組成物包含去核類紅血球之群組，該去核類紅血球之群組在其細胞外表面上包含外源性融合多肽，該外源性融合多肽包含(i) IL-15或其功能片段，及(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段。

【0025】 在本文所述任何方法的一些具體例中，殺死包含壞死。在一些具體例中，殺死包含細胞凋亡。在本文所述任何方法的一些具體例中，殺死是經由NK細胞媒介的細胞溶解所媒介的。

【0026】 在本文所述任何方法的一些具體例中，B7-H6陽性癌細胞是選自由以下組成之群的癌細胞：腎上腺皮質癌、膽管癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、結腸直腸癌、食道癌、眼癌、頭頸癌、急性骨髓性白血病、淋巴腫瘤、瀰漫性大b細胞淋巴瘤、腎癌、腎臟腎透明細胞癌、腎臟腎乳頭狀細胞癌、腎臟嫌色細胞、肝癌、肺癌、肺腺癌、肺鱗狀細胞癌、間皮瘤、卵巢癌、胰臟癌、直腸癌、皮膚癌、胃癌、睪丸癌、胸腺瘤、甲狀腺癌、子宮癌、子宮體子宮內膜癌、子宮癌肉瘤，和葡萄膜黑色素瘤。在本文所述任何方法的一些具體例中，B7-H6陽性癌細胞是B7-H6陽性和HLA-E陰性癌細胞。

【0027】 在本文所述任何方法的一些具體例中，投予步驟不會在個體中導致顯著程度的骨髓細胞毒性。

【0028】 在本文所述任何方法的一些具體例中，個體先前已被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症。在本文所述任何方法的一些具體例中，B7-H6陽性癌症選自由以下組成之群：腎上腺皮質癌、膽管癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、結腸直腸癌、食道癌、眼癌、頭頸癌、急性骨髓性白血病、淋巴腫瘤、瀰漫性大b細胞淋巴瘤、腎癌、腎臟腎透明細胞癌、腎臟腎乳頭狀細胞癌、腎臟嫌色細胞、肝癌、肺癌、肺腺癌、肺鱗狀細胞癌、間皮瘤、卵巢癌、胰臟癌、直腸癌、皮膚癌、胃癌、睪丸癌、胸腺瘤、甲狀腺癌、子宮癌、子宮體子宮內膜癌、子宮癌肉瘤，和葡萄膜黑色素瘤。在本文所述任何方法的一些具體例中，B7-H6陽性癌症是B7-H6陽性/HLA-E陰性癌症。

【0029】 在本文所述任何方法的一些具體例中，該方法進一步包含向個體投予NKG2A抑制劑。在本文所述任何方法的一些具體例中，NKG2A抑制劑是特異地結合至NKG2A的拮抗性抗體。

【0030】 本文還提供了減少先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體中實體腫瘤體積的方法，其包括投予治療有效量的去核類紅血球之群組，該去核類紅血球之群組在其細胞外表面上包含第一外源性融合多肽，該第一外源性融合多肽包含(i) IL-15或其功能片段，及(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段。

【0031】 在本文所述任何方法的一些具體例中，與投予前的實體腫瘤體積相比，投予導致個體中實體腫瘤體積減少至少5%。在本文所述任何方法的一些具體例中，與投予前的實體腫瘤體積相比，投予導致個體中實體腫瘤體積減少至少10%。在本文所述任何方法的一些具體例中，投予步驟不會在個體中導致顯著程度的骨髓細胞毒性。

【0032】 在本文所述任何方法的一些具體例中，B7-H6陽性癌症選自由以下組成之群：腎上腺皮質癌、膽管癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、結

腸直腸癌、食道癌、眼癌、頭頸癌、急性骨髓性白血病、淋巴腫瘤、瀰漫性大b細胞淋巴瘤、腎癌、腎臟腎透明細胞癌、腎臟腎乳頭狀細胞癌、腎臟嫌色細胞、肝癌、肺癌、肺腺癌、肺鱗狀細胞癌、間皮瘤、卵巢癌、胰臟癌、直腸癌、皮膚癌、胃癌、睪丸癌、胸腺瘤、甲狀腺癌、子宮癌、子宮體子宮內膜癌、子宮癌肉瘤，和葡萄膜黑色素瘤。在本文所述任何方法的一些具體例中，B7-H6陽性癌症是B7-H6陽性/HLA-E陰性癌症。

【0033】 在本文所述任何方法的一些具體例中，投予步驟不會在個體中導致顯著程度的骨髓細胞毒性。

【0034】 在本文所述任何方法的一些具體例中，該方法進一步包含將個體診斷或鑑定為患有B7-H6陽性癌症。

【0035】 在本文所述任何方法的一些具體例中，該方法進一步包含向個體投予NKG2A抑制劑。在本文所述任何方法的一些具體例中，NKG2A抑制劑是特異地結合至NKG2A的拮抗性抗體。

【0036】 在本文所述任何方法的一些具體例中，去核類紅血球包含至少1,000個複本的外源性融合多肽。在本文所述任何方法的一些具體例中，去核類紅血球是藉由包含以下的方法製造：將編碼第一外源性多肽的核酸引入有核類紅血球細胞前驅物中；以及在足以表現外源性多肽並使有核類紅血球細胞前驅物去核的條件下培養有核類紅血球細胞前驅物。

【0037】 在本文所述任何方法的一些具體例中，去核類紅血球進一步包含有包含4-1BBL或其功能片段的第二外源性多肽，其中該第二外源性多肽存在於去核類紅血球的細胞外表面上。在本文所述任何方法的一些具體例中，去核類紅血球包含至少1,000個複本的第二外源性多肽。

【0038】 在本文所述任何方法的一些具體例中，去核類紅血球是藉由包含以下的方法製造：將編碼包含4-1BBL或其功能片段的第二外源性多肽的核酸和編碼第一外源性多肽的核酸引入有核類紅血球細胞前驅物中；以及在足以表現

第一外源性多肽和第二外源性多肽並使有核類紅血球細胞前驅物去核的條件下培養有核類紅血球細胞前驅物。

**【0039】** 在本文所述任何方法的一些具體例中，去核類紅血球不是低滲透析細胞。在本文所述任何方法的一些具體例中，去核類紅血球不包含經分選酶轉移的特徵。在本文所述任何方法的一些具體例中，個體是人類且去核類紅血球是人類細胞。

**【0040】** 本文還提供了套組，其包含：醫藥組成物以及用於實施本文所述任何方法的說明書，該醫藥組物包含去核類紅血球，該去核類紅血球在其細胞外表面上包含第一外源性多肽，該第一外源性多肽包含(i) IL-15或其功能片段，及(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段。

**【0041】** 在本文所述任何套組的一些具體例中，去核類紅血球包含至少1,000個複本的第一外源性多肽。

**【0042】** 在本文所述任何套組的一些具體例中，去核類紅血球是藉由包含以下的方法製造：將編碼第一外源性多肽的核酸引入有核類紅血球細胞前驅物中；以及在足以表現第一外源性多肽並使有核類紅血球細胞前驅物去核的條件下培養有核類紅血球細胞前驅物。

**【0043】** 在本文所述任何套組的一些具體例中，去核類紅血球進一步包含有包含4-1BBL或其功能片段的第二外源性多肽，其中第二外源性多肽存在於去核類紅血球的細胞外表面上。在本文所述任何套組的一些具體例中，去核類紅血球包含至少1,000個複本的第二外源性多肽。

**【0044】** 在本文所述任何套組的一些具體例中，去核類紅血球是藉由包含以下的方法製造：將編碼第一外源性多肽的核酸和編碼第二外源性多肽的核酸引入有核類紅血球細胞前驅物中；以及在足以表現第一外源性多肽和第二外源性多肽以及使有核類紅血球細胞前驅物去核的條件下培養有核類紅血球細胞前驅物。

【0045】 在本文所述任何套組的一些具體例中，去核類紅血球不是低滲透析細胞。在本文所述任何套組的一些具體例中，去核類紅血球不包含經分選酶轉移的特徵。在本文所述任何套組的一些具體例中，去核類紅血球是人類細胞。

【0046】 術語「經工程改造的去核類紅血球 (enucleated erythroid cell)」表示去核類紅血球(例如，人類去核類紅血球)，其包含一或多個(例如，兩個、三個、四個，五個或六個)外源性蛋白(例如，本文所述或本技藝中已知的例示性外源性蛋白的任何組合)。例如，經工程改造的去核類紅血球可具有一或多個外源性蛋白存在於其細胞質中。在一些實例中，經工程改造的去核類紅血球可具有一或多個外源性蛋白存在於其細胞外表面上。在一些實例中，經工程改造的去核類紅血球可具有(i)存在於其細胞質中的一或多個外源性蛋白，以及(ii)存在於其細胞外表面上的一或多個外源性蛋白。經工程改造去核類紅血球的非限制性實例包括點擊接合的去核類紅血球、已被低滲加載的去核類紅血球，以及已藉由物理操作(例如，本文所述或本技藝中已知的任何例示性類型的物理操作)被加載的去核類紅血球。本文描述經工程改造的去核類紅血球的其他非限制性態樣。

【0047】 術語「接合的去核類紅血球」表示一種經工程改造的去核類紅血球，其具有至少一個外源性蛋白透過酶及/或肽序列的催化活性，及/或化學反應而接合至另一個存在於經工程改造去核類紅血球的細胞外表面上的蛋白(例如，去核紅血球的內源性蛋白或不同的外源性蛋白)。

【0048】 「經低滲加載 (hypotonically-loaded) 的去核類紅血球」表示一種經工程改造的去核類紅血球，其至少一部分是透過將包含一或多個外源性蛋白的去核類紅血球或類紅血球細胞前驅物暴露於低離子強度緩衝劑(例如，本文所述的任何例示性低離子強度緩衝劑)而生成。本文描述了可用於生成經低滲加載的去核類紅血球的方法的非限制性實例。生成經低滲加載去核類紅血球的其他方法是本技藝中已知的。

【0049】術語「藉由物理操作而被加載的去核類紅血球」表示一種去核類紅血球，其至少一部分是透過將編碼一或多個外源性蛋白(例如本文所述或本技藝中已知的任何例示性外源性蛋白)及/或外源性多肽之核酸引入類紅血球細胞前驅物的方式來物理操作類紅血球細胞前驅物而生成。可以用於將編碼一或多個外源性蛋白的核酸引入類紅血球細胞前驅物中的物理操作的非限制性實例包括電穿孔和顆粒媒介的轉染。可用於將編碼一或多個外源性蛋白的核酸引入類紅血球細胞前驅物中的物理操作的其他實例是本技藝中已知的。

【0050】術語「外源性蛋白」是指一種蛋白，其被引入細胞之內或之上，或藉由將編碼該蛋白的外源性核酸引入細胞或引入細胞之細胞前驅物而被細胞表現。在一些具體例中，外源性蛋白是由被引入細胞或細胞之細胞前驅物中的外源性核酸所編碼的蛋白，該核酸視情況不被細胞所保留。在一些具體例中，外源性蛋白是藉由化學或酶促方式結合至細胞表面的蛋白質。外源性蛋白的非限制性類別包括酶、介白素、細胞因子受體、Fc結合分子、T細胞活化配體、T細胞受體、免疫抑制性分子、MHC分子、APC結合分子、自體抗原、過敏原、毒素、靶向劑、受體配體(例如受體促效劑或受體拮抗劑)，以及抗體或抗體片段。

【0051】術語「細胞外表面」使用於外源性多肽的上下文時表示：(1)以物理方式接附至或至少部分地嵌入去核類紅血球的膜的外源性多肽(例如，跨膜蛋白、周邊膜蛋白、脂質錨接蛋白(例如GPI錨接、N-肉豆蔻醯化蛋白或S-棕櫚醯化蛋白))，或(2)穩定結合至其同源受體的蛋白質，其中同源受體以物理方式附接至去核類紅血球的膜(例如，結合至其同源受體的配體，其中同源受體以物理方式附接至去核類紅血球的膜)。用於確定外源性蛋白存在於去核類紅血球細胞外表面上的非限制性方法包括螢光活化細胞分選(FACS)、免疫組織化學，細胞分級分析，和西方墨點法。

【0052】術語「類紅血球細胞前驅物」表示一種能夠最終分化/發育成去核類紅血球的哺乳動物細胞。在一些具體例中，類紅血球細胞前驅物是臍帶血幹



細胞、CD34<sup>+</sup>細胞、造血幹/細胞前驅物(HSC、HSPC)、脾臟群落形成(CFU-S)細胞、共同骨髓細胞前驅物(CMP)細胞、胚細胞群落形成細胞、爆發性形成單位類紅血球/紅血球(BFU-E)、巨核細胞-類紅血球細胞前驅物(MEP)細胞、類紅血球群落形成單位或群落形成單位紅血球(CFU-E)、誘導型多能幹細胞(iPSC)，間質幹細胞(MSC)或其組合。

**【0053】** 術語「個體」是指任何哺乳動物。在一些具體例中，個體或「需要治療的個體」可以是靈長類動物(例如，人類、猿猴(例如，猴子(例如，絨猴或狒狒)，或猿類(例如，大猩猩、黑猩猩、類紅毛猩猩，或長臂猿))、嚙齒動物(例如，小鼠、天竺鼠、倉鼠或大鼠)、兔、狗、貓、馬、綿羊、牛，豬或山羊。在一些具體例中，個體或「適於治療的個體」可以是非人類哺乳動物，尤其可採用哺乳動物，其通常用作模型供證明在人類體內的治療功效(例如，小鼠、豬，大鼠或者非人類靈長類動物)。在一些實例中，個體可以經醫療專業人員(例如臨床醫師、實驗室技術人員、臨床醫師助理、護士，或臨床實驗室技術人員)事先診斷或鑑定為需要治療(例如先前被診斷或鑑定為患有B7-H6陽性癌症或先前被診斷或鑑定患有B7-H6陽性與HLA-E陰性癌症)。

**【0054】** 術語「成年人類個體」是指18歲或以上的人類(例如，20歲或以上、25歲或以上、30歲或以上、35歲或以上、40歲或以上、45歲或以上、50歲或以上、55歲或以上、60歲或以上、65歲或以上、70歲或以上、75歲或以上、80歲或以上、85歲或以上、90歲或以上、95歲或以上，或100歲或以上)。

**【0055】** 術語「兒科人類個體」是指年齡在18歲以下的人類(例如，17歲及以下、16歲及以下、15歲及以下、14歲及以下、13歲及以下、12歲及以下、11歲及以下、10歲及以下、9歲及以下、8歲及以下、7歲及以下、6歲及以下、5歲及以下、4歲及以下、3歲及以下、2歲及以下，或1歲及以下)。

**【0056】** 如本文所用，「治療」表示個體的醫學疾病或病況的一或多種症狀的數量、嚴重程度，頻率及/或持續時間減少。

【0057】如本文所用，術語「B7-H6」表示B7-H6多肽或B7-H6 mRNA，包括野生型人類B7-H6多肽和野生型人類B7-H6 mRNA，及其變體(例如，截短或突變形式)。本文描述了偵測B7-H6含量的方法的非限制性實例。

【0058】如本文所用，術語「B7-H6陽性癌症」表示包含B7-H6陽性癌細胞的癌症。本文描述了B7-H6陽性癌症的非限制性實例。

【0059】如本文所用，術語「B7-H6陽性癌細胞」表示B7-H6含量(B7-H6蛋白或B7-H6 mRNA轉錄本)高於B7-H6參考含量的癌細胞。本文描述了B7-H6參考含量的非限制性實例。本文也描述了B7-H6陽性癌細胞的非限制性實例。

【0060】如本文所用，術語「HLA-E」是指人類白血球抗原-E(HLA-E)多肽或HLA-E mRNA，包括野生型人類HLA-E多肽和野生型人類HLA-E mRNA及其變體(例如，截斷或突變形式)。本文描述了偵測HLA-E水平的方法的非限制性實例。

【0061】如本文所用，術語「HLA-E陰性癌症」表示HLA-E含量(HLA-E蛋白或HLA-E mRNA轉錄本)低於HLA-E表現參考含量的癌症。本文描述了HLA-E參考含量的非限制性實例。本文也描述了HLA-E陰性癌症的非限制性實例。

【0062】如本文所用，術語「HLA-E-陰性癌細胞」表示包含HLA-E-陰性癌細胞的癌症。本文還描述了可能是HLA-E陰性癌症的癌症的非限制性實例。

【0063】如本文所用，術語「NKp30」表示NKp30多肽或NKp30 mRNA，包括野生型人類NKp30多肽和野生型人類NKp30 mRNA，及其變體(例如，截短或突變形式)。術語「NKp30」還包括所有已知的NKp30蛋白和NKp30 mRNA同型。本文描述了偵測NKp30含量的方法的非限制性實例。

【0064】如本文所用，術語「NKp30陽性淋巴球」表示NKp30含量(NKp30蛋白或NKp30 mRNA轉錄本)高於NKp30參考含量的淋巴球。本文描述了NKp30參考含量的非限制性實例。

【0065】如本文所用，術語「NKG2A」表示NK第2群成員A(NKG2A)多肽或NKG2A mRNA，包括野生型人類NKG2A多肽和野生型人類NKG2A mRNA，及其變體(例如，截短或突變形式)。本文還描述了偵測NKG2A含量的方法的非限制性實例。

【0066】*nkg2a*基因編碼兩種同型，NKG2A和NKG2B，後者缺少莖區。如本文所用，術語「NKG2A」不包括NKG2B蛋白或mRNA轉錄本。

【0067】如本文所用，術語「NKG2A陰性淋巴球」表示NKG2A含量(NKG2A蛋白或NKG2A mRNA)低於NKG2A參考含量的淋巴球。本文描述了NKG2A參考含量的非限制性實例。

【0068】如本文所用，術語「NK細胞媒介的細胞毒性」表示NK細胞誘導殺死其他細胞。在一些具體例中，「NK細胞媒介的細胞毒性」是NK細胞用來誘導殺死癌細胞的一種機制。

【0069】如本文所用，術語「NK細胞媒介的細胞溶解」表示能夠釋放溶解顆粒的NK細胞，其中溶解顆粒用於誘導殺死其他細胞。在一些具體例中，溶解顆粒至少包括穿孔素和顆粒酶。

【0070】如本文所用，術語「分選酶轉移特徵 (sortase transfer signature)」表示包括可透過分選酶反應產生的序列的外源性蛋白或多肽。缺少分選酶轉移特徵的蛋白質和多肽的非限制性實例如WO 2017/123646中所述，其以全文引用的方式併入。

【0071】除非另有定義，否則本文使用的所有技術和科學術語具有與本發明所屬技藝中習於技藝者通常所理解的相同含義。本文描述了用於本發明的方法和材料；也可以使用本技藝中已知的其他合宜方法和材料。材料，方法和實例僅是說明性的，而不希望具有限制性。本文提及的所有公開案、專利申請案、專利案、序列，數據庫條目和其他參考文獻以全文引用的方式併入本文。在相衝突的情況下，以本說明書(包括定義)為準。

【0072】 根據以下詳細說明和附圖以及申請專利範圍，本發明的其他特徵和優點將顯而易見。

#### 【圖式簡單說明】

【0073】 圖1是顯示用去核類紅血球活體外處理PBMC的圖，該等去核類紅血球包含在其細胞外表面上的第一外源性多肽和包含4-1BBL的第二外源性多肽(「RBC-IL15/IL15RA-4-1BBL」)，該第一外源性多肽包含(i) IL-15或其功能片段和(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段，與培養基對照和用rhIL-15與抗4-1BB刺激性抗體處理相比，導致NKp30陽性淋巴球比例提高。

【0074】 圖2A-2C是顯示在給予大體上如實例3中所述製備的 $\geq 1 \times 10^{10}$ 個類紅血球(包含IL-15/IL-15RA和4-1BBL)的患者中就以下各者相對於基線最大倍數變化的圖：呈NKp30陽性的CD56<sup>+</sup>淋巴球百分率(圖2A)、呈NKp30陽性的CD56<sup>dim</sup>CD16<sup>+</sup>淋巴球百分率(圖2B)，和呈NKp30陽性的CD56<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>淋巴球百分率(圖2C)。在基線(治療前)和治療後的多個時間點，藉由流動式細胞測量術評估新鮮全血中活淋巴球(CD45<sup>+</sup>)中的細胞表面標記。在多個給藥週期內進行治療後測量。

【0075】 圖3A-3B是顯示在給予大體上如實例3中所述製備的 $\geq 1 \times 10^{10}$ 個類紅血球(包含IL-15/IL-15RA和4-1BBL)的患者中就以下各者相對於基線最大倍數變化的圖：CD3<sup>-</sup>CD16/56<sup>+</sup>NK細胞的絕對數量/微升(圖3A)和表現顆粒酶B的CD8<sup>+</sup>記憶T細胞百分率(CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup>的%GrB<sup>+</sup>)(圖3B)。在基線(治療前)和治療後的多個時間點，藉由流動式細胞測量術評估新鮮全血中活淋巴球(CD45<sup>+</sup>)中的細胞表面標記。在多個給藥週期內進行治療後測量。

【0076】 圖4A-4B是顯示在給予大體上如實例3中所述製備的 $\geq 1 \times 10^{10}$ 個類紅血球(包含IL-15/IL-15RA和4-1BBL)的患者中就以下各者相對於基線最大倍數變化的圖：CD4陽性的CD3<sup>+</sup>淋巴球百分率(圖4A)和CD8陽性的CD3<sup>+</sup>淋巴球百分

率(圖4B)。在基線(治療前)和治療後的多個時間點，藉由流動式細胞測量術評估新鮮全血中活淋巴球(CD45<sup>+</sup>)中的細胞表面標記。在多個給藥週期內進行治療後測量。

### 【實施方式】

【0077】 本文提供提高有需要的個體中NKp30陽性淋巴球(例如，NKp30陽性NK細胞)的數量的方法，其包含向先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體投予治療有效量之包含去核類紅血球之群組的醫藥組成物，該去核類紅血球之群組在其細胞外表面上包括第一外源性多肽，該第一外源性多肽包括(i) IL-15或其功能片段，及(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段。本文還提供提高有需要的個體中NKp30陽性淋巴球(例如NKp30陽性NK細胞)的數量的方法，其包含向個體投予治療有效量之包含去核類紅血球之群組的醫藥組成物，該去核類紅血球之群組在其細胞外表面上包括第一外源性融合多肽，該第一外源性融合多肽包括(i) IL-15或其功能片段，及(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段；以及在其細胞外表面上的第二外源性多肽，該第二外源性多肽包括4-1BBL或其功能片段。這些方法的一些具體例導致個體中NKp30陽性淋巴球(例如，NKp30陽性NK細胞)的數量提高至少1%、提高至少2%、提高至少3%、提高至少4%、提高至少5%、提高至少6%、提高至少7%、提高至少8%、提高至少9%、提高至少10%、提高至少15%、提高至少20%、提高至少25%、提高至少30%、提高至少35%、提高至少40%、提高至少45%、提高至少50%、提高至少55%、提高至少60%、提高至少65%、提高至少70%、提高至少75%、提高至少80%、提高至少85%、提高至少90%、提高至少95%，或提高至少100%(例如，與投予前個體中NKp30陽性淋巴球(例如，NKp30陽性NK細胞)的數量相比))。這些方法的一些具體例導致個體中NKp30陽性淋巴球(例如，NKp30陽性NK細胞)的數量提高約1%至提高約50%、提高約1%至提高約45%、提高約1%至提高約40%、提高約1%至提高約35%、提高約1%

至提高約30%、提高約1%至提高約25%、提高約1%至提高約20%、提高約1%至提高約15%、提高約1%至提高約10%、提高約1%至提高約5%、提高約5%至提高約50%、提高約5%至提高約45%、提高約5%至提高約40%、提高約5%至提高約35%、提高約5%至提高約30%、提高約5%至提高約25%、提高約5%至提高約20%、提高約5%至提高約15%、提高約5%至提高約10%、提高約10%至提高約50%、提高約10%至提高約45%、提高約10%至提高約40%、提高約10%至提高約35%、提高約10%至提高約30%、提高約10%至提高約25%、提高約10%至提高約20%、提高約10%至提高約15%、提高約15%至提高約50%、提高約15%至提高約45%、提高約15%至提高約40%、提高約15%至提高約35%、提高約15%至提高約30%、提高約15%至提高約25%、提高約15%至提高約20%、提高約20%至提高約50%、提高約20%至提高約45%、提高約20%至提高約40%、提高約20%至提高約35%、提高約20%至提高約30%、提高約20%至提高約25%、提高約25%至提高約50%、提高約25%至提高約45%、提高約25%至提高約40%、提高約25%至提高約35%、提高約25%至提高約30%、提高約30%至提高約50%、提高約30%至提高約45%、提高約30%至提高約40%、提高約30%至提高約35%、提高約35%至提高約50%、提高約35%至提高約45%、提高約35%至提高約40%、提高約40%至提高約50%、提高約40%至提高約45%，或提高約45%至提高約50%(例如，與投予前個體中NKp30陽性淋巴球(例如，NKp30陽性NK細胞)的數量相比)。在本文所述任何方法的一些具體例中，NKp30陽性淋巴球是NKp30陽性NK細胞。

**【0078】** 這些方法的一些具體例導致個體中NKp30陽性/NKG2A陰性淋巴球(例如，NKp30陽性/NKG2A陰性NK細胞)的數量提高至少1%、提高至少2%、提高至少3%、提高至少4%、提高至少5%、提高至少6%、提高至少7%、提高至少8%、提高至少9%、提高至少10%、提高至少15%、提高至少20%、提高至少25%、提高至少30%、提高至少35%、提高至少40%、提高至少45%、提高至少50%、提高至少55%、提高至少60%、提高至少65%、提高至少70%、提高至少

75%、提高至少80%、提高至少85%、提高至少90%、提高至少95%，或提高至少100%(例如，與投予前個體中NKp30陽性/NKG2A陰性淋巴球(例如，NKp30陽性/NKG2A陰性NK細胞)的數量相比)。這些方法的一些具體例導致個體中NKp30陽性/NKG2A陰性淋巴球(例如，NKp30陽性/NKG2A陰性NK細胞)的數量提高約1%至提高約50%、提高約1%至提高約45%、提高約1%至提高約40%、提高約1%至提高約35%、提高約1%至提高約30%、提高約1%至提高約25%、提高約1%至提高約20%、提高約1%至提高約15%、提高約1%至提高約10%、提高約1%至提高約5%、提高約5%至提高約50%、提高約5%至提高約45%、提高約5%至提高約40%、提高約5%至提高約35%、提高約5%至提高約30%、提高約5%至提高約25%、提高約5%至提高約20%、提高約5%至提高約15%、提高約5%至提高約10%、提高約10%至提高約50%、提高約10%至提高約45%、提高約10%至提高約40%、提高約10%至提高約35%、提高約10%至提高約30%、提高約10%至提高約25%、提高約10%至提高約20%、提高約10%至提高約15%、提高約15%至提高約50%、提高約15%至提高約45%、提高約15%至提高約40%、提高約15%至提高約35%、提高約15%至提高約30%、提高約15%至提高約25%、提高約15%至提高約20%、提高約20%至提高約50%、提高約20%至提高約45%、提高約20%至提高約40%、提高約20%至提高約35%、提高約20%至提高約30%、提高約20%至提高約25%、提高約25%至提高約50%、提高約25%至提高約45%、提高約25%至提高約40%、提高約25%至提高約35%、提高約25%至提高約30%、提高約30%至提高約50%、提高約30%至提高約45%、提高約30%至提高約40%、提高約30%至提高約35%、提高約35%至提高約50%、提高約35%至提高約45%、提高約35%至提高約40%、提高約40%至提高約50%、提高約40%至提高約45%，或提高約45%至提高約50%(例如，與投予前個體中NKp30陽性/NKG2A陰性淋巴球(例如，NKp30-陽性/NKG2A陰性NK細胞)的數量相比)。在一些具體例中，NKp30陽性/NKG2A陰性淋巴球是NKp30陽性/NKG2A陰性NK細胞。

【0079】 本文所述方法的一些具體例導致個體中NKp30陽性淋巴球(例如，NKp30陽性NK細胞)的運輸提高至少1%、提高至少2%、提高至少3%、提高至少4%、提高至少5%、提高至少6%、提高至少7%、提高至少8%、提高至少9%、提高至少10%、提高至少15%、提高至少20%、提高至少25%、提高至少30%、提高至少35%、提高至少40%、提高至少45%、提高至少50%、提高至少55%、提高至少60%、提高至少65%、提高至少70%、提高至少75%、提高至少80%、提高至少85%、提高至少90%、提高至少95%，或提高至少100%(例如，與投予前個體中NKp30陽性淋巴球(例如，NKp30陽性NK細胞)的運輸相比))。本文所述任何方法的一些具體例導致個體中NKp30陽性淋巴球(例如，NKp30陽性NK細胞)的運輸提高約1%至提高約50%、提高約1%至提高約45%、提高約1%至提高約40%、提高約1%至提高約35%、提高約1%至提高約30%、提高約1%至提高約25%、提高約1%至提高約20%、提高約1%至提高約15%、提高約1%至提高約10%、提高約1%至提高約5%、提高約5%至提高約50%、提高約5%至提高約45%、提高約5%至提高約40%、提高約5%至提高約35%、提高約5%至提高約30%、提高約5%至提高約25%、提高約5%至提高約20%、提高約5%至提高約15%、提高約5%至提高約10%、提高約10%至提高約50%、提高約10%至提高約45%、提高約10%至提高約40%、提高約10%至提高約35%、提高約10%至提高約30%、提高約10%至提高約25%、提高約10%至提高約20%、提高約10%至提高約15%、提高約15%至提高約50%、提高約15%至提高約45%、提高約15%至提高約40%、提高約15%至提高約35%、提高約15%至提高約30%、提高約15%至提高約25%、提高約15%至提高約20%、提高約20%至提高約50%、提高約20%至提高約45%、提高約20%至提高約40%、提高約20%至提高約35%、提高約20%至提高約30%、提高約20%至提高約25%、提高約25%至提高約50%、提高約25%至提高約45%、提高約25%至提高約40%、提高約25%至提高約35%、提高約25%至提高約30%、提高約30%至提高約50%、提高約30%至提高約45%、提高約30%至提高約40%、



提高約30%至提高約35%、提高約35%至提高約50%、提高約35%至提高約45%、提高約35%至提高約40%、提高約40%至提高約50%、提高約40%至提高約45%，或提高約45%至提高約50%(例如，與投予前個體中NKp30陽性淋巴球(例如，NKp30陽性NK細胞)的運輸相比))。

【0080】 本文所述方法的一些具體例導致個體中NKp30陽性/NKG2A陰性淋巴球(例如，NKp30陽性/NKG2A陰性NK細胞)的運輸提高至少1%、提高至少2%、提高至少3%、提高至少4%、提高至少5%、提高至少6%、提高至少7%、提高至少8%、提高至少9%、提高至少10%、提高至少15%、提高至少20%、提高至少25%、提高至少30%、提高至少35%、提高至少40%、提高至少45%、提高至少50%、提高至少55%、提高至少60%、提高至少65%、提高至少70%、提高至少75%、提高至少80%、提高至少85%、提高至少90%、提高至少95%，或提高至少100%(例如，與投予前個體中NKp30陽性/NKG2A陰性淋巴球(例如，NKp30陽性/NKG2A陰性NK細胞)的運輸相比))。本文所述任何方法的一些具體例導致個體中NKp30陽性/NKG2A陰性淋巴球(例如，NKp30陽性/NKG2A陰性NK細胞)的運輸提高約1%至提高約50%、提高約1%至提高約45%、提高約1%至提高約40%、提高約1%至提高約35%、提高約1%至提高約30%、提高約1%至提高約25%、提高約1%至提高約20%、提高約1%至提高約15%、提高約1%至提高約10%、提高約1%至提高約5%、提高約5%至提高約50%、提高約5%至提高約45%、提高約5%至提高約40%、提高約5%至提高約35%、提高約5%至提高約30%、提高約5%至提高約25%、提高約5%至提高約20%、提高約5%至提高約15%、提高約5%至提高約10%、提高約10%至提高約50%、提高約10%至提高約45%、提高約10%至提高約40%、提高約10%至提高約35%、提高約10%至提高約30%、提高約10%至提高約25%、提高約10%至提高約20%、提高約10%至提高約15%、提高約15%至提高約50%、提高約15%至提高約45%、提高約15%至提高約40%、提高約15%至提高約35%、提高約15%至提高約30%、提高約15%

至提高約25%、提高約15%至提高約20%、提高約20%至提高約50%、提高約20%至提高約45%、提高約20%至提高約40%、提高約20%至提高約35%、提高約20%至提高約30%、提高約20%至提高約25%、提高約25%至提高約50%、提高約25%至提高約45%、提高約25%至提高約40%、提高約25%至提高約35%、提高約25%至提高約30%、提高約30%至提高約50%、提高約30%至提高約45%、提高約30%至提高約40%、提高約30%至提高約35%、提高約35%至提高約50%、提高約35%至提高約45%、提高約35%至提高約40%、提高約40%至提高約50%、提高約40%至提高約45%，或提高約45%至提高約50%(例如，與投予前個體中NKp30陽性/NKG2A陰性淋巴球(例如，NKp30陽性/NKG2A陰性NK細胞)的運輸相比))。

【0081】 本文所述方法的一些具體例導致個體中NKp30陽性、CD45陽性、CD56陽性淋巴球(例如，NKp30陽性、CD45陽性和CD56陽性NK細胞)的數量提高。這些方法的一些具體例導致個體中NKp30陽性的CD45陽性、CD56陽性淋巴球(例如，NKp30陽性的CD45陽性和CD56陽性NK細胞)的百分率提高至少1.1倍、提高至少1.2倍、提高至少1.3倍、提高至少1.4倍、提高至少1.5倍、提高至少1.6倍、提高至少1.7倍、提高至少1.8倍、提高至少1.9倍、提高至少2.0倍、提高至少2.2倍、提高至少2.4倍、提高至少2.6倍、提高至少2.8倍、提高至少3.0倍、提高至少3.2倍、提高至少3.4倍、提高至少3.6倍、提高至少3.8倍、提高至少4.0倍、提高至少4.2倍、提高至少4.4倍、提高至少4.6倍、提高至少4.8倍，或提高至少5.0倍(例如，與投予前個體中NKp30陽性的CD45陽性、CD56陽性淋巴球(例如，NKp30陽性的CD45陽性、CD56陽性NK細胞)的百分率相比)。本文所述任何方法的一些具體例導致個體中NKp30陽性的CD45陽性、CD56陽性淋巴球(例如，NKp30陽性的CD45陽性和CD56陽性NK細胞)的百分率提高約1.1倍至約5倍(例如，提高約1.1倍至約4.5倍、提高約1.1倍至約4.0倍、提高約1.1倍至約3.5倍、提高約1.1倍至約3.0倍、提高約1.1倍至約2.5倍、提高約1.1倍至約2.4倍、提高約1.1倍至約2.2倍、提高約1.1倍至約2.0倍、提高約1.1倍至約1.8倍、提高約1.1倍至

約1.6倍、提高約1.1倍至約1.4倍、提高約1.1倍至約1.2倍、提高約1.2倍至約5倍、提高約1.2倍至約4.5倍、提高約1.2倍至約4.0倍、提高約1.2倍至約3.5倍、提高約1.2倍至約3.0倍、提高約1.2倍至約2.5倍、提高約1.2倍至約2.4倍、提高約1.2倍至約2.2倍、提高約1.2倍至約2.0倍、提高約1.2倍至約1.8倍、提高約1.2倍至約1.6倍、提高約1.2倍至約1.4倍、提高約1.4倍至約5倍、提高約1.4倍至約4.5倍、提高約1.4倍至約4.0倍、提高約1.4倍至約3.5倍、提高約1.4倍至約3.0倍、提高約1.4倍至約2.5倍、提高約1.4倍至約2.4倍、提高約1.4倍至約2.2倍、提高約1.4倍至約2.0倍、提高約1.4倍至約1.8倍、提高約1.4倍至約1.6倍、提高約1.6倍至約5倍、提高約1.6倍至約4.5倍、提高約1.6倍至約4.0倍、提高約1.6倍至約3.5倍、提高約1.6倍至約3.0倍、提高約1.6倍至約2.5倍、提高約1.6倍至約2.4倍、提高約1.6倍至約2.2倍、提高約1.6倍至約2.0倍、提高約1.6倍至約1.8倍、提高約1.8倍至約5倍、提高約1.8倍至約4.5倍、提高約1.8倍至約4.0倍、提高1.8倍至約3.5倍、提高約1.8倍至約3.0倍、提高約1.8倍至約2.5倍、提高約1.8倍至約2.4倍、提高約1.8倍至約2.2倍、提高約1.8倍至約2.0倍、提高約2.0倍至約5倍、提高約2.0倍至約4.5倍、提高約2.0倍至約4.0倍、提高約2.0倍至約3.5倍、提高約2.0倍至約3.0倍、提高約2.0倍至約2.5倍、提高約2.0倍至約2.4倍、提高約2.0倍至約2.2倍、提高約2.2倍至約5倍、提高約2.2倍至約4.5倍、提高約2.2倍至約4.0倍、提高約2.2倍至約3.5倍、提高約2.2倍至約3.0倍、提高約2.2倍至約2.5倍、提高約2.2倍至約2.4倍、提高約2.4倍至約5倍、提高約2.4倍至約4.5倍、提高約2.4倍至約4.0倍、提高約2.4倍至約3.5倍、提高約2.4倍至約3.0倍、提高約2.4倍至約2.5倍、提高約2.5倍至約5倍、提高約2.5倍至約4.5倍、提高約2.5倍至約4.0倍、提高約2.5倍至約3.5倍、提高約2.5倍至約3.0倍、提高約3.0倍至約5倍、提高約3.0倍至約4.5倍、提高約3.0倍至約4.0倍、提高約3.0倍至約3.5倍、提高約3.5倍至約5倍、提高約3.5倍至約4.5倍、提高約3.5倍至約4.0倍、提高約4.0倍至約5倍、提高約4.0倍至約4.5倍，或提高約4.5倍至約5倍) (例如，與投予前個體中NKp30陽性的CD45陽性、CD56陽性淋巴

球(例如，NKp30陽性的CD45陽性、CD56陽性NK細胞)的百分率相比)。在一些具體例中，NKp30陽性、CD45陽性、CD56陽性淋巴球是NKp30陽性、CD45陽性、CD56陽性NK細胞。

【0082】 本文所述方法的一些具體例導致個體中NKp30陽性、CD45陽性、CD16陽性、CD56-dim淋巴球(例如，NKp30陽性、CD45陽性、CD16陽性、CD56-dim NK細胞)的數量提高。這些方法的一些具體例導致個體中NKp30陽性的CD45陽性、CD16陽性、CD56-dim淋巴球(例如，NKp30陽性的CD45陽性、CD16陽性、CD56-dim NK細胞)的百分率提高至少1.1倍、提高至少1.2倍、提高至少1.4倍、提高至少1.6倍、提高至少1.8倍、提高至少2.0倍、提高至少2.2倍、提高至少2.4倍、提高至少2.6倍、提高至少2.8倍、提高至少3.0倍、提高至少3.2倍、提高至少3.4倍、提高至少3.6倍、提高至少3.8倍、提高至少4.0倍、提高至少4.2倍、提高至少4.4倍、提高至少4.6倍、提高至少4.8倍，或提高至少5.0倍(例如，與投予前個體中NKp30陽性的CD45陽性、CD16陽性、CD56-dim淋巴球(例如，NKp30陽性的CD45陽性、CD16陽性、CD56-dim NK細胞)的百分率相比)。本文所述任何方法的一些具體例導致個體中NKp30陽性的CD45陽性、CD16陽性、CD56-dim淋巴球(例如，NKp30陽性的CD45陽性、CD16陽性、CD56-dim NK細胞)的百分率提高約1.1倍至約5倍(例如，提高約1.1倍至約4.5倍、提高約1.1倍至約4.0倍、提高約1.1倍至約3.5倍、提高約1.1倍至約3.0倍、提高約1.1倍至約2.5倍、提高約1.1倍至約2.4倍、提高約1.1倍至約2.2倍、提高約1.1倍至約2.0倍、提高約1.1倍至約1.8倍、提高約1.1倍至約1.6倍、提高約1.1倍至約1.4倍、提高約1.1倍至約1.2倍、提高約1.2倍至約5倍、提高約1.2倍至約4.5倍、提高約1.2倍至約4.0倍、提高約1.2倍至約3.5倍、提高約1.2倍至約3.0倍、提高約1.2倍至約2.5倍、提高約1.2倍至約2.4倍、提高約1.2倍至約2.2倍、提高約1.2倍至約2.0倍、提高約1.2倍至約1.8倍、提高約1.2倍至約1.6倍、提高約1.2倍至約1.4倍、提高約1.4倍至約5倍、提高約1.4倍至約4.5倍、提高約1.4倍至約4.0倍、提高約1.4倍至約3.5倍、提高約

1.4倍至約3.0倍、提高約1.4倍至約2.5倍、提高約1.4倍至約2.4倍、提高約1.4倍至約2.2倍、提高約1.4倍至約2.0倍、提高約1.4倍至約1.8倍、提高約1.4倍至約1.6倍、提高約1.6倍至約5倍、提高約1.6倍至約4.5倍、提高約1.6倍至約4.0倍、提高約1.6倍至約3.5倍、提高約1.6倍至約3.0倍、提高約1.6倍至約2.5倍、提高約1.6倍至約2.4倍、提高約1.6倍至約2.2倍、提高約1.6倍至約2.0倍、提高約1.6倍至約1.8倍、提高約1.8倍至約5倍、提高約1.8倍至約4.5倍、提高約1.8倍至約4.0倍、提高約1.8倍至約3.5倍、提高約1.8倍至約3.0倍、提高約1.8倍至約2.5倍、提高約1.8倍至約2.4倍、提高約1.8倍至約2.2倍、提高約1.8倍至約2.0倍、提高約2.0倍至約5倍、提高約2.0倍至約4.5倍、提高約2.0倍至約4.0倍、提高約2.0倍至約3.5倍、提高約2.0倍至約3.0倍、提高約2.0倍至約2.5倍、提高約2.0倍至約2.4倍、提高約2.0倍至約2.2倍、提高約2.2倍至約5倍、提高約2.2倍至約4.5倍、提高約2.2倍至約4.0倍、提高約2.2倍至約3.5倍、提高約2.2倍至約3.0倍、提高約2.2倍至約2.5倍、提高約2.2倍至約2.4倍、提高約2.4倍至約5倍、提高約2.4倍至約4.5倍、提高約2.4倍至約4.0倍、提高約2.4倍至約3.5倍、提高約2.4倍至約3.0倍、提高約2.4倍至約2.5倍、提高約2.5倍至約5倍、提高約2.5倍至約4.5倍、提高約2.5倍至約4.0倍、提高約2.5倍至約3.5倍、提高約2.5倍至約3.0倍、提高約3.0倍至約5倍、提高約3.0倍至約4.5倍、提高約3.0倍至約4.0倍、提高約3.0倍至約3.5倍、提高約3.5倍至約5倍、提高約3.5倍至約4.5倍、提高約3.5倍至約4.0倍、提高約4.0倍至約5倍、提高約4.0倍至約4.5倍，或提高約4.5倍至約5倍) (例如，與投予前個體中NKp30陽性的CD45陽性、CD16陽性、CD16-dim淋巴球(例如，NKp30陽性的CD45陽性、CD16陽性、CD16-dim NK細胞)的百分率相比)。在一些具體例中，NKp30陽性、CD45陽性、CD16陽性、CD56-dim淋巴球是NKp30陽性、CD45陽性、CD16陽性、CD56-dim NK細胞。

**【0083】** 本文所述方法的一些具體例導致個體中NKp30陽性、CD45陽性、CD16陽性、CD56陽性淋巴球(例如，NKp30陽性、CD45陽性、CD16陽性、CD56

陽性NK細胞)的數量提高。這些方法的一些具體例導致個體中NKp30陽性的CD45陽性、CD16陽性、CD56陽性淋巴球的百分率提高至少1.1倍、提高至少1.2倍、提高至少1.4倍、提高至少1.6倍、提高至少1.8倍、提高至少2.0倍、提高至少2.2倍、提高至少2.4倍、提高至少2.6倍、提高至少2.8倍、提高至少3.0倍、提高至少3.2倍、提高至少3.4倍、提高至少3.6倍、提高至少3.8倍、提高至少4.0倍、提高至少4.2倍、提高至少4.4倍、提高至少4.6倍、提高至少4.8倍，或提高至少5.0倍(例如，與投予前個體中NKp30陽性的CD45陽性、CD16陽性、CD56陽性淋巴球(例如，NKp30陽性的CD45陽性、CD16陽性、CD56陽性NK細胞)的百分率相比)。本文所述任何方法的一些具體例導致個體中NKp30陽性的CD45陽性、CD16陽性、CD56陽性淋巴球(例如，NKp30陽性的CD45陽性、CD16陽性、CD56陽性NK細胞)的百分率提高約1.1倍至約5倍(例如，提高約1.1倍至約4.5倍、提高約1.1倍至約4.0倍、提高約1.1倍至約3.5倍、提高約1.1倍至約3.0倍、提高約1.1倍至約2.5倍、提高約1.1倍至約2.4倍、提高約1.1倍至約2.2倍、提高約1.1倍至約2.0倍、提高約1.1倍至約1.8倍、提高約1.1倍至約1.6倍、提高約1.1倍至約1.4倍、提高約1.1倍至約1.2倍、提高約1.2倍至約5倍、提高約1.2倍至約4.5倍、提高約1.2倍至約4.0倍、提高約1.2倍至約3.5倍、提高約1.2倍至約3.0倍、提高約1.2倍至約2.5倍、提高約1.2倍至約2.4倍、提高約1.2倍至約2.2倍、提高約1.2倍至約2.0倍、提高約1.2倍至約1.8倍、提高約1.2倍至約1.6倍、提高約1.2倍至約1.4倍、提高約1.4倍至約5倍、提高約1.4倍至約4.5倍、提高約1.4倍至約4.0倍、提高約1.4倍至約3.5倍、提高約1.4倍至約3.0倍、提高約1.4倍至約2.5倍、提高約1.4倍至約2.4倍、提高約1.4倍至約2.2倍、提高約1.4倍至約2.0倍、提高約1.4倍至約1.8倍、提高約1.4倍至約1.6倍、提高約1.6倍至約5倍、提高約1.6倍至約4.5倍、提高約1.6倍至約4.0倍、提高約1.6倍至約3.5倍、提高約1.6倍至約3.0倍、提高約1.6倍至約2.5倍、提高約1.6倍至約2.4倍、提高約1.6倍至約2.2倍、提高約1.6倍至約2.0倍、提高約1.6倍至約1.8倍、提高約1.8倍至約5倍、提高約1.8倍至約4.5倍、提高約1.8

倍至約4.0倍、提高1.8倍至約3.5倍、提高約1.8倍至約3.0倍、提高約1.8倍至約2.5倍、提高約1.8倍至約2.4倍、提高約1.8倍至約2.2倍、提高約1.8倍至約2.0倍、提高約2.0倍至約5倍、提高約2.0倍至約4.5倍、提高約2.0倍至約4.0倍、提高約2.0倍至約3.5倍、提高約2.0倍至約3.0倍、提高約2.0倍至約2.5倍、提高約2.0倍至約2.4倍、提高約2.0倍至約2.2倍、提高約2.2倍至約5倍、提高約2.2倍至約4.5倍、提高約2.2倍至約4.0倍、提高約2.2倍至約3.5倍、提高約2.2倍至約3.0倍、提高約2.2倍至約2.5倍、提高約2.2倍至約2.4倍、提高約2.4倍至約5倍、提高約2.4倍至約4.5倍、提高約2.4倍至約4.0倍、提高約2.4倍至約3.5倍、提高約2.4倍至約3.0倍、提高約2.4倍至約2.5倍、提高約2.5倍至約5倍、提高約2.5倍至約4.5倍、提高約2.5倍至約4.0倍、提高約2.5倍至約3.5倍、提高約2.5倍至約3.0倍、提高約3.0倍至約5倍、提高約3.0倍至約4.5倍、提高約3.0倍至約4.0倍、提高約3.0倍至約3.5倍、提高約3.5倍至約5倍、提高約3.5倍至約4.5倍、提高約3.5倍至約4.0倍、提高約4.0倍至約5倍、提高約4.0倍至約4.5倍，或提高約4.5倍至約5倍)(例如，與投予前個體中NKp30陽性的CD45陽性、CD16陽性、CD56陽性淋巴球(例如，NKp30陽性的CD45陽性、CD16陽性、CD56陽性NK細胞)的百分率相比)。在一些具體例中，NKp30陽性、CD56陽性、CD16陽性、CD45陽性淋巴球是NKp30陽性、CD56陽性、CD16陽性、CD45陽性NK細胞。

**【0084】** 該方法的一些具體例導致循環NK細胞(CD3<sup>-</sup>CD16<sup>-</sup>/CD56<sup>+</sup>細胞)的數量或濃度提高。在一些具體例中，該等方法導致循環NK細胞(CD3<sup>-</sup>CD16<sup>-</sup>/CD56<sup>+</sup>細胞)的數量或濃度提高至少1.1倍、提高至少1.2倍、提高至少1.4倍、提高至少1.6倍、提高至少1.8倍、提高至少2.0倍、提高至少2.2倍、提高至少2.4倍、提高至少2.6倍、提高至少2.8倍、提高至少3.0倍、提高至少3.2倍、提高至少3.4倍、提高至少3.6倍、提高至少3.8倍、提高至少4.0倍、提高至少4.2倍、提高至少4.4倍、提高至少4.6倍、提高至少4.8倍，或提高至少5.0倍(例如，與投予前個體中循環NK細胞(CD3<sup>-</sup>CD16<sup>-</sup>/CD56<sup>+</sup>細胞)的數量或濃度相比)。在一些具體例中，該

等方法導致循環NK細胞(CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>/CD56<sup>+</sup>細胞)的數量或濃度提高約1.1倍至約5倍(例如,提高約1.1倍至約4.5倍、提高約1.1倍至約4.0倍、提高約1.1倍至約3.5倍、提高約1.1倍至約3.0倍、提高約1.1倍至約2.5倍、提高約1.1倍至約2.4倍、提高約1.1倍至約2.2倍、提高約1.1倍至約2.0倍、提高約1.1倍至約1.8倍、提高約1.1倍至約1.6倍、提高約1.1倍至約1.4倍、提高約1.1倍至約1.2倍、提高約1.2倍至約5倍、提高約1.2倍至約4.5倍、提高約1.2倍至約4.0倍、提高約1.2倍至約3.5倍、提高約1.2倍至約3.0倍、提高約1.2倍至約2.5倍、提高約1.2倍至約2.4倍、提高約1.2倍至約2.2倍、提高約1.2倍至約2.0倍、提高約1.2倍至約1.8倍、提高約1.2倍至約1.6倍、提高約1.2倍至約1.4倍、提高約1.4倍至約5倍、提高約1.4倍至約4.5倍、提高約1.4倍至約4.0倍、提高約1.4倍至約3.5倍、提高約1.4倍至約3.0倍、提高約1.4倍至約2.5倍、提高約1.4倍至約2.4倍、提高約1.4倍至約2.2倍、提高約1.4倍至約2.0倍、提高約1.4倍至約1.8倍、提高約1.4倍至約1.6倍、提高約1.6倍至約5倍、提高約1.6倍至約4.5倍、提高約1.6倍至約4.0倍、提高約1.6倍至約3.5倍、提高約1.6倍至約3.0倍、提高約1.6倍至約2.5倍、提高約1.6倍至約2.4倍、提高約1.6倍至約2.2倍、提高約1.6倍至約2.0倍、提高約1.6倍至約1.8倍、提高約1.8倍至約5倍、提高約1.8倍至約4.5倍、提高約1.8倍至約4.0倍、提高1.8倍至約3.5倍、提高約1.8倍至約3.0倍、提高約1.8倍至約2.5倍、提高約1.8倍至約2.4倍、提高約1.8倍至約2.2倍、提高約1.8倍至約2.0倍、提高約2.0倍至約5倍、提高約2.0倍至約4.5倍、提高約2.0倍至約4.0倍、提高約2.0倍至約3.5倍、提高約2.0倍至約3.0倍、提高約2.0倍至約2.5倍、提高約2.0倍至約2.4倍、提高約2.0倍至約2.2倍、提高約2.2倍至約5倍、提高約2.2倍至約4.5倍、提高約2.2倍至約4.0倍、提高約2.2倍至約3.5倍、提高約2.2倍至約3.0倍、提高約2.2倍至約2.5倍、提高約2.2倍至約2.4倍、提高約2.4倍至約5倍、提高約2.4倍至約4.5倍、提高約2.4倍至約4.0倍、提高約2.4倍至約3.5倍、提高約2.4倍至約3.0倍、提高約2.4倍至約2.5倍、提高約2.5倍至約5倍、提高約2.5倍至約4.5倍、提高約2.5倍至約4.0倍、提高約2.5倍至約3.5倍、提高約



2.5倍至約3.0倍、提高約3.0倍至約5倍、提高約3.0倍至約4.5倍、提高約3.0倍至約4.0倍、提高約3.0倍至約3.5倍、提高約3.5倍至約5倍、提高約3.5倍至約4.5倍、提高約3.5倍至約4.0倍、提高約4.0倍至約5倍、提高約4.0倍至約4.5倍，或提高約4.5倍至約5倍) (例如，與投予前個體中循環NK細胞(CD3<sup>+</sup>CD16/CD56<sup>+</sup>細胞)的數量或濃度相比)。

【0085】 該方法的一些具體例導致表現顆粒酶B的CD8陽性記憶T細胞(顆粒酶B陽性、CD8陽性、CD45RA陰性細胞)的數量或濃度提高。在一些具體例中，該等方法導致表現顆粒酶B的CD8陽性記憶T細胞(CD8陽性、CD45RA陰性細胞)的百分率提高至少1.1倍、提高至少1.2倍、提高至少1.4倍、提高至少1.6倍、提高至少1.8倍、提高至少2.0倍、提高至少2.2倍、提高至少2.4倍、提高至少2.6倍、提高至少2.8倍、提高至少3.0倍、提高至少3.2倍、提高至少3.4倍、提高至少3.6倍、提高至少3.8倍、提高至少4.0倍、提高至少4.2倍、提高至少4.4倍、提高至少4.6倍、提高至少4.8倍，或提高至少5.0倍(例如與投予前個體中表現顆粒酶B的CD8陽性記憶T細胞(CD8陽性、CD45RA陰性細胞)的百分率相比)。在一些具體例中，該等方法導致表現顆粒酶B的CD8陽性記憶T細胞(CD8陽性、CD45RA陰性細胞)的百分率提高約1.1倍至約5倍(例如，提高約1.1倍至約4.5倍、提高約1.1倍至約4.0倍、提高約1.1倍至約3.5倍、提高約1.1倍至約3.0倍、提高約1.1倍至約2.5倍、提高約1.1倍至約2.4倍、提高約1.1倍至約2.2倍、提高約1.1倍至約2.0倍、提高約1.1倍至約1.8倍、提高約1.1倍至約1.6倍、提高約1.1倍至約1.4倍、提高約1.1倍至約1.2倍、提高約1.2倍至約5倍、提高約1.2倍至約4.5倍、提高約1.2倍至約4.0倍、提高約1.2倍至約3.5倍、提高約1.2倍至約3.0倍、提高約1.2倍至約2.5倍、提高約1.2倍至約2.4倍、提高約1.2倍至約2.2倍、提高約1.2倍至約2.0倍、提高約1.2倍至約1.8倍、提高約1.2倍至約1.6倍、提高約1.2倍至約1.4倍、提高約1.4倍至約5倍、提高約1.4倍至約4.5倍、提高約1.4倍至約4.0倍、提高約1.4倍至約3.5倍、提高約1.4倍至約3.0倍、提高約1.4倍至約2.5倍、提高約1.4倍至約2.4倍、提

高約1.4倍至約2.2倍、提高約1.4倍至約2.0倍、提高約1.4倍至約1.8倍、提高約1.4倍至約1.6倍、提高約1.6倍至約5倍、提高約1.6倍至約4.5倍、提高約1.6倍至約4.0倍、提高約1.6倍至約3.5倍、提高約1.6倍至約3.0倍、提高約1.6倍至約2.5倍、提高約1.6倍至約2.4倍、提高約1.6倍至約2.2倍、提高約1.6倍至約2.0倍、提高約1.6倍至約1.8倍、提高約1.8倍至約5倍、提高約1.8倍至約4.5倍、提高約1.8倍至約4.0倍、提高約1.8倍至約3.5倍、提高約1.8倍至約3.0倍、提高約1.8倍至約2.5倍、提高約1.8倍至約2.4倍、提高約1.8倍至約2.2倍、提高約1.8倍至約2.0倍、提高約2.0倍至約5倍、提高約2.0倍至約4.5倍、提高約2.0倍至約4.0倍、提高約2.0倍至約3.5倍、提高約2.0倍至約3.0倍、提高約2.0倍至約2.5倍、提高約2.0倍至約2.4倍、提高約2.0倍至約2.2倍、提高約2.2倍至約5倍、提高約2.2倍至約4.5倍、提高約2.2倍至約4.0倍、提高約2.2倍至約3.5倍、提高約2.2倍至約3.0倍、提高約2.2倍至約2.5倍、提高約2.2倍至約2.4倍、提高約2.4倍至約5倍、提高約2.4倍至約4.5倍、提高約2.4倍至約4.0倍、提高約2.4倍至約3.5倍、提高約2.4倍至約3.0倍、提高約2.4倍至約2.5倍、提高約2.5倍至約5倍、提高約2.5倍至約4.5倍、提高約2.5倍至約4.0倍、提高約2.5倍至約3.5倍、提高約2.5倍至約3.0倍、提高約3.0倍至約5倍、提高約3.0倍至約4.5倍、提高約3.0倍至約4.0倍、提高約3.0倍至約3.5倍、提高約3.5倍至約5倍、提高約3.5倍至約4.5倍、提高約3.5倍至約4.0倍、提高約4.0倍至約5倍、提高約4.0倍至約4.5倍，或提高約4.5倍至約5倍)(例如與投予前個體中表現顆粒酶B的CD8陽性記憶T細胞(CD8陽性、CD45RA陰性細胞)的百分率相比)。

**【0086】** 本文提供了治療先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體的方法，該方法包含向先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體投予治療有效量的醫藥組成物，該醫藥組成物包含去核類紅血球之群組，該去核類紅血球之群組在其細胞外表面上包括第一外源性多肽，該第一外源性多肽包括(i) IL-15或其功能片段，及(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段。本文還提供了治療患有B7-H6陽性癌症的個體的方法，該方法包含向個體投予治療有效量的醫藥組成

物，該醫藥組成物包含去核類紅血球之群組，該去核類紅血球之群組在其細胞外表面上包括第一外源性融合多肽，該第一外源性融合多肽包括(i) IL-15或其功能片段，及(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段；以及在其細胞外表面上的第二外源性多肽，該第二外源性多肽包括4-1BBL或其功能片段。

**【0087】** 本文提供了減少先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體中B7-H6陽性癌細胞的數量及/或增生的方法，該方法包含向個體投予治療有效量的醫藥組成物，該醫藥組成物包含去核類紅血球之群組，該等去核類紅血球在其細胞外表面上包括第一外源性多肽，該第一外源性多肽包括(i) IL-15或其功能片段，及(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段。本文還提供了減少先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體中B7-H6陽性癌細胞的數量及/或增生的方法，該方法包含向個體投予治療有效量的醫藥組成物，該醫藥組成物包含去核類紅血球之群組，該去核類紅血球之群組其在其細胞外表面上包括第一外源性融合多肽，該第一外源性融合多肽包括(i) IL-15或其功能片段，及(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段；以及包括4-1BBL或其功能片段的第二外源性多肽，其中該外源性多肽位於其細胞外表面。

**【0088】** 這些方法的一些具體例導致個體中B7-H6陽性癌細胞的數量減少至少1%、減少至少2%、減少至少3%、減少至少4%、減少至少5%、減少至少6%、減少至少7%、減少至少8%、減少至少9%、減少至少10%、減少至少15%、減少至少20%、減少至少25%、減少至少30%、減少至少35%、減少至少40%、減少至少45%、減少至少50%、減少至少55%、減少至少60%、減少至少65%、減少至少70%、減少至少75%、減少至少80%、減少至少85%、減少至少90%、減少至少95%，或減少至少99% (例如，與投予前個體中B7-H6陽性癌細胞的數量相比)。這些方法的一些具體例導致個體中B7-H6陽性癌細胞的數量減少約1%至減少約99%、減少約1%至減少約90%、減少約1%至減少約80%、減少約1%至減少約70%、減少約1%至減少約60%、減少約1%至減少約50%、減少約1%至減少約

40%、減少約1%至減少約30%、減少約1%至減少約20%、減少約1%至減少約10%、減少約5%至減少約99%、減少約5%至減少約90%、減少約5%至減少約80%、減少約5%至減少約70%、減少約5%至減少約60%、減少約5%至減少約50%、減少約5%至減少約40%、減少約5%至減少約30%、減少約5%至減少約20%、減少約5%至減少約10%、減少約10%至減少約99%、減少約10%至減少約90%、減少約10%至減少約80%、減少約10%至減少約70%、減少約10%至減少約60%、減少約10%至減少約50%、減少約10%至減少約40%、減少約10%至減少約30%、減少約10%至減少約20%、減少約20%至減少約99%、減少約20%至減少約90%、減少約20%至減少約80%、減少約20%至減少約70%、減少約20%至減少約60%、減少約20%至減少約50%、減少約20%至減少約40%、減少約20%至減少約30%、減少約30%至減少約99%、減少約30%至減少約90%、減少約30%至減少約80%、減少約30%至減少約70%、減少約30%至減少約60%、減少約30%至減少約50%、減少約30%至減少約40%、減少約40%至減少約99%、減少約40%至減少約90%、減少約40%至減少約80%、減少約40%至減少約70%、減少約40%至減少約60%、減少約40%至減少約50%、減少約50%至減少約99%、減少約50%至減少約90%、減少約50%至減少約80%、減少約50%至減少約70%、減少約50%至減少約60%、減少約60%至減少約99%、減少約60%至減少約90%、減少約60%至減少約80%、減少約60%至減少約70%、減少約70%至減少約99%、減少約70%至減少約90%、減少約70%至減少約80%、減少約80%至減少約99%、減少約80%至減少約90%，或減少約90%至減少約99% (例如，與投予前個體中B7-H6陽性癌細胞的數量相比)。

**【0089】** 這些方法的一些具體例導致個體中B7-H6陽性/HLA-E陰性癌細胞的數量減少至少1%、減少至少2%、減少至少3%、減少至少4%、減少至少5%、減少至少6%、減少至少7%、減少至少8%、減少至少9%、減少至少10%、減少至少15%、減少至少20%、減少至少25%、減少至少30%、減少至少35%、減少

至少40%、減少至少45%、減少至少50%、減少至少55%、減少至少60%、減少至少65%、減少至少70%、減少至少75%、減少至少80%、減少至少85%、減少至少90%、減少至少95%，或減少至少99%（例如與投予前個體中B7-H6陽性/HLA-E陰性癌細胞的數量相比）。這些方法的一些具體例導致個體中B7-H6陽性/HLA-E陰性癌細胞的數量減少約1%至減少約99%、減少約1%至減少約90%、減少約1%至減少約80%、減少約1%至減少約70%、減少約1%至減少約60%、減少約1%至減少約50%、減少約1%至減少約40%、減少約1%至減少約30%、減少約1%至減少約20%、減少約1%至減少約10%、減少約5%至減少約99%、減少約5%至減少約90%、減少約5%至減少約80%、減少約5%至減少約70%、減少約5%至減少約60%、減少約5%至減少約50%、減少約5%至減少約40%、減少約5%至減少約30%、減少約5%至減少約20%、減少約5%至減少約10%、減少約10%至減少約99%、減少約10%至減少約90%、減少約10%至減少約80%、減少約10%至減少約70%、減少約10%至減少約60%、減少約10%至減少約50%、減少約10%至減少約40%、減少約10%至減少約30%、減少約10%至減少約20%、減少約20%至減少約99%、減少約20%至減少約90%、減少約20%至減少約80%、減少約20%至減少約70%、減少約20%至減少約60%、減少約20%至減少約50%、減少約20%至減少約40%、減少約20%至減少約30%、減少約30%至減少約99%、減少約30%至減少約90%、減少約30%至減少約80%、減少約30%至減少約70%、減少約30%至減少約60%、減少約30%至減少約50%、減少約30%至減少約40%、減少約40%至減少約99%、減少約40%至減少約90%、減少約40%至減少約80%、減少約40%至減少約70%、減少約40%至減少約60%、減少約40%至減少約50%、減少約50%至減少約99%、減少約50%至減少約90%、減少約50%至減少約80%、減少約50%至減少約70%、減少約50%至減少約60%、減少約60%至減少約99%、減少約60%至減少約90%、減少約60%至減少約80%、減少約60%至減少約70%、減少約70%至減少約99%、減少約70%至減少約90%、減少約70%至減少約80%、減少約80%

至減少約99%、減少約80%至減少約90%，或減少約90%至減少約99% (例如，與投予前個體中B7-H6陽性/HLA-陰性癌細胞的數量相比)。

【0090】 這些方法的一些具體例導致個體中B7-H6陽性癌細胞的增生減少至少1%、減少至少2%、減少至少3%、減少至少4%、減少至少5%、減少至少6%、減少至少7%、減少至少8%、減少至少9%、減少至少10%、減少至少15%、減少至少20%、減少至少25%、減少至少30%、減少至少35%、減少至少40%、減少至少45%、減少至少50%、減少至少55%、減少至少60%、減少至少65%、減少至少70%、減少至少75%、減少至少80%、減少至少85%、減少至少90%、減少至少95%，或減少至少99% (例如與投予前個體中B7-H6陽性癌細胞的增生相比)。這些方法的一些具體例導致個體中B7-H6陽性癌細胞的增生減少約1%至減少約99%、減少約1%至減少約90%、減少約1%至減少約80%、減少約1%至減少約70%、減少約1%至減少約60%、減少約1%至減少約50%、減少約1%至減少約40%、減少約1%至減少約30%、減少約1%至減少約20%、減少約1%至減少約10%、減少約5%至減少約99%、減少約5%至減少約90%、減少約5%至減少約80%、減少約5%至減少約70%、減少約5%至減少約60%、減少約5%至減少約50%、減少約5%至減少約40%、減少約5%至減少約30%、減少約5%至減少約20%、減少約5%至減少約10%、減少約10%至減少約99%、減少約10%至減少約90%、減少約10%至減少約80%、減少約10%至減少約70%、減少約10%至減少約60%、減少約10%至減少約50%、減少約10%至減少約40%、減少約10%至減少約30%、減少約10%至減少約20%、減少約20%至減少約99%、減少約20%至減少約90%、減少約20%至減少約80%、減少約20%至減少約70%、減少約20%至減少約60%、減少約20%至減少約50%、減少約20%至減少約40%、減少約20%至減少約30%、減少約30%至減少約99%、減少約30%至減少約90%、減少約30%至減少約80%、減少約30%至減少約70%、減少約30%至減少約60%、減少約30%至減少約50%、減少約30%至減少約40%、減少約40%至減少約99%、減少約40%

至減少約90%、減少約40%至減少約80%、減少約40%至減少約70%、減少約40%至減少約60%、減少約40%至減少約50%、減少約50%至減少約99%、減少約50%至減少約90%、減少約50%至減少約80%、減少約50%至減少約70%、減少約50%至減少約60%、減少約60%至減少約99%、減少約60%至減少約90%、減少約60%至減少約80%、減少約60%至減少約70%、減少約70%至減少約99%、減少約70%至減少約90%、減少約70%至減少約80%、減少約80%至減少約99%、減少約80%至減少約90%，或減少約90%至減少約99% (例如，與投予前個體中B7-H6陽性癌細胞的增生相比)。

【0091】 這些方法的一些具體例導致個體中B7-H6陽性/HLA-E陰性癌細胞的增生減少至少1%、減少至少2%、減少至少3%、減少至少4%、減少至少5%、減少至少6%、減少至少7%、減少至少8%、減少至少9%、減少至少10%、減少至少15%、減少至少20%、減少至少25%、減少至少30%、減少至少35%、減少至少40%、減少至少45%、減少至少50%、減少至少55%、減少至少60%、減少至少65%、減少至少70%、減少至少75%、減少至少80%、減少至少85%、減少至少90%、減少至少95%，或減少至少99% (例如與投予前個體中B7-H6陽性/HLA-E陰性癌細胞的增生相比)。這些方法的一些具體例導致個體中B7-H6陽性與HLA-E陰性癌細胞的增生減少約1%至減少約99%、減少約1%至減少約90%、減少約1%至減少約80%、減少約1%至減少約70%、減少約1%至減少約60%、減少約1%至減少約50%、減少約1%至減少約40%、減少約1%至減少約30%、減少約1%至減少約20%、減少約1%至減少約10%、減少約5%至減少約99%、減少約5%至減少約90%、減少約5%至減少約80%、減少約5%至減少約70%、減少約5%至減少約60%、減少約5%至減少約50%、減少約5%至減少約40%、減少約5%至減少約30%、減少約5%至減少約20%、減少約5%至減少約10%、減少約10%至減少約99%、減少約10%至減少約90%、減少約10%至減少約80%、減少約10%至減少約70%、減少約10%至減少約60%、減少約10%至減少約50%、減少約10%

至減少約40%、減少約10%至減少約30%、減少約10%至減少約20%、減少約20%至減少約99%、減少約20%至減少約90%、減少約20%至減少約80%、減少約20%至減少約70%、減少約20%至減少約60%、減少約20%至減少約50%、減少約20%至減少約40%、減少約20%至減少約30%、減少約30%至減少約99%、減少約30%至減少約90%、減少約30%至減少約80%、減少約30%至減少約70%、減少約30%至減少約60%、減少約30%至減少約50%、減少約30%至減少約40%、減少約40%至減少約99%、減少約40%至減少約90%、減少約40%至減少約80%、減少約40%至減少約70%、減少約40%至減少約60%、減少約40%至減少約50%、減少約50%至減少約99%、減少約50%至減少約90%、減少約50%至減少約80%、減少約50%至減少約70%、減少約50%至減少約60%、減少約60%至減少約99%、減少約60%至減少約90%、減少約60%至減少約80%、減少約70%至減少約99%、減少約70%至減少約90%、減少約70%至減少約80%、減少約80%至減少約99%、減少約80%至減少約90%，或減少約90%至減少約99% (例如，與投予前個體中B7-H6陽性與HLA-E陰性癌細胞的增生相比)。

【0092】 本文提供了誘導殺死先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體中B7-H6陽性癌細胞的方法，該方法包含投予治療有效量的醫藥組成物，該醫藥組成物包含去核類紅血球之群組，該去核類紅血球之群組在其細胞外表面上包括第一外源性多肽，該第一外源性多肽包括(i) IL-15或其功能片段，及(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段。本文還提供了殺死先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體中B7-H6陽性癌細胞的方法，該方法包括向個體投予治療有效量的醫藥組成物，該醫藥組成物包含去核類紅血球之群組，該去核類紅血球之群組在其細胞外表面上包括第一外源性融合多肽，該第一外源性融合多肽包括(i) IL-15或其功能片段，及(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段；以及包括4-1BBL或其功能片段的第二外源性多肽，其中該外源性多肽在於其細胞外表面上。



**【0093】** 本文提供了減少先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體中實體腫瘤體積的方法，該方法包含投予治療有效量的醫藥組成物，該醫藥組成物包含去核類紅血球之群組，該去核類紅血球之群組在其細胞外表面上包括第一外源性多肽，該第一外源性多肽包括(i) IL-15或其功能片段，及(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段。本文還提供了減少先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體中實體腫瘤體積的方法，該方法包括向個體投予治療有效量的醫藥組成物，該醫藥組成物包含去核類紅血球之群組，該去核類紅血球之群組在其細胞外表面上包括第一外源性融合多肽，該第一外源性融合多肽包括(i) IL-15或其功能片段，及(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段；以及包括4-1BBL或其功能片段的第二外源性多肽，其中該外源性多肽在其細胞外表面上。

**【0094】** 這些方法的一些具體例導致個體中實體腫瘤體積減少至少1%、減少至少2%、減少至少3%、減少至少4%、減少至少5%、減少至少6%、減少至少7%、減少至少8%、減少至少9%、減少至少10%、減少至少15%、減少至少20%、減少至少25%、減少至少30%、減少至少35%、減少至少40%、減少至少45%、減少至少50%、減少至少55%、減少至少60%、減少至少65%、減少至少70%、減少至少75%、減少至少80%、減少至少85%、減少至少90%、減少至少95%，或減少至少99% (例如與投予前個體中實體腫瘤體積相比)。

**【0095】** 這些方法的一些具體例導致個體中實體腫瘤體積減少約1%至減少約99%、減少約1%至減少約90%、減少約1%至減少約80%、減少約1%至減少約70%、減少約1%至減少約60%、減少約1%至減少約50%、減少約1%至減少約40%、減少約1%至減少約30%、減少約1%至減少約20%、減少約1%至減少約10%、減少約5%至減少約99%、減少約5%至減少約90%、減少約5%至減少約80%、減少約5%至減少約70%、減少約5%至減少約60%、減少約5%至減少約50%、減少約5%至減少約40%、減少約5%至減少約30%、減少約5%至減少約20%、減少約5%至減少約10%、減少約10%至減少約99%、減少約10%至減少約

90%、減少約10%至減少約80%、減少約10%至減少約70%、減少約10%至減少約60%、減少約10%至減少約50%、減少約10%至減少約40%、減少約10%至減少約30%、減少約10%至減少約20%、減少約20%至減少約99%、減少約20%至減少約90%、減少約20%至減少約80%、減少約20%至減少約70%、減少約20%至減少約60%、減少約20%至減少約50%、減少約20%至減少約40%、減少約20%至減少約30%、減少約30%至減少約99%、減少約30%至減少約90%、減少約30%至減少約80%、減少約30%至減少約70%、減少約30%至減少約60%、減少約30%至減少約50%、減少約30%至減少約40%、減少約40%至減少約99%、減少約40%至減少約90%、減少約40%至減少約80%、減少約40%至減少約70%、減少約40%至減少約60%、減少約40%至減少約50%、減少約50%至減少約99%、減少約50%至減少約90%、減少約50%至減少約80%、減少約50%至減少約70%、減少約50%至減少約60%、減少約60%至減少約99%、減少約60%至減少約90%、減少約60%至減少約80%、減少約60%至減少約70%、減少約70%至減少約99%、減少約70%至減少約90%、減少約70%至減少約80%、減少約80%至減少約99%、減少約80%至減少約90%，或減少約90%至減少約99% (例如，與投予前實體腫瘤體積相比)。

**【0096】** 在本文所述任何方法的一些具體例中，個體是成人個體。在本文所述任何方法的一些具體例中，個體是兒科人類個體。

**【0097】** 下面描述這些組成物和方法的非限制性態樣。如那些領域中者所理解的，下面列出的例示性態樣可以呈任一種組合來使用，並且可以與本領域中已知的其他態樣組合。

### NKp30

**【0098】** 如本文所用，NKp30多肽是指由天然細胞毒性觸發受體3(NCR3)基因所編碼的胺基酸序列。例示性NKp30多肽包括但不限於對應於NCBI參考序列：NP\_001138938.1、NP\_001138939.1，與NP\_667341.1的胺基酸序列。

【0099】 在一些具體例中，NKp30多肽包括與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的胺基酸序列：

MAWMLLLILIMVHPGSCALWVSQPPEIRTLEGSSAFLPCSFNASQGRLAIGSV  
 TWFRDEVVPGKEVRNGTPEFRGRLAPLASSRFLHDHQAELHIRDVRGHDASI  
 YVCRVEVLGLGVGTGNGTRLVVEKEHPQLGAGTVLLLRAGFYAVSFLSVAV  
 GSTVYYQGKYAKSTLSGFPQL (SEQ ID NO: 1) (具有或不具有訊號序列)。上面  
 SEQ ID NO：1畫底線的部分表示訊息胜肽。

【0100】 在一些具體例中，NKp30多肽由與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的核酸序列所編碼：

ATGGCCTGGATGCTGTTGCTCATCTTGATCATGGTCCATCCAGGATCCTGT  
 GCTCTCTGGGTGTCCCAGCCCCCTGAGATTCGTACCCTGGAAGGATCCTCT  
 GCCTTCCTGCCCTGCTCCTTCAATGCCAGCCAAGGGAGACTGGCCATTGG  
 CTCCGTCACGTGGTTCGAGATGAGGTGGTTCAGGGAAGGAGGTGAGG  
 AATGGAACCCAGAGTTCAGGGGCGCCTGGCCCCACTTGCTTCTTCCCG  
 TTTCCTCCATGACCACCAGGCTGAGCTGCACATCCGGGACGTGCGAGGCC  
 ATGACGCCAGCATCTACGTGTGCAGAGTGGAGGTGCTGGGCCTTGGTGTC  
 GGGACAGGGAATGGGACTCGGCTGGTGGTGGAGAAAGAACATCCTCAGC  
 TAGGGGCTGGTACAGTCCTCCTCCTTCGGGCTGGATTCTATGCTGTCAGCT  
 TTCTCTCTGTGGCCGTGGGCAGCACCGTCTATTACCAGGGCAAATATGCC  
 AAATCTACTCTCTCCGGATTCCCCCAACTCTGA (SEQ ID NO: 2)。

【0101】 在一些具體例中，NKp30多肽包括與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的胺基酸序列：

MAWMLLLILIMVHPGSCALWVSQPPEIRTLEGSSAFLPCSFNASQGRLAIGSV  
 TWFRDEVVPGKEVRNGTPEFRGRLAPLASSRFLHDHQAEHLIRDVRGHDASI  
 YVCRVEVLGLGVGTGNGTRLVVEKEHPQLGAGTVLLL RAGFYAVSFLSVAV  
 GSTVYYQ GKCHCHMGTHCHSSDGPRGVIPEPRCP (SEQ ID NO: 3) (具有或不  
 具有訊號序列)。上面SEQ ID NO：3畫底線的部分表示訊息胜肽。

【0102】 在一些具體例中，NKp30多肽由與以下序列至少70%一致(例如至  
 少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至  
 少99%一致，或100%一致)的核酸序列所編碼：

ATGGCCTGGATGCTGTTGCTCATCTTGATCATGGTCCATCCAGGATCCTGT  
 GCTCTCTGGGTGTCCCAGCCCCCTGAGATTCGTACCCTGGAAGGATCCTCT  
 GCCTTCCTGCCCTGCTCCTTCAATGCCAGCCAAGGGAGACTGGCCATTGG  
 CTCCGTCACGTGGTTCGAGATGAGGTGGTTCAGGGAAGGAGGTGAGG  
 AATGGAACCCAGAGTTCAGGGGCCGCTGGCCCCACTTGCTTCTTCCCG  
 TTTCCTCCATGACCACCAGGCTGAGCTGCACATCCGGGACGTGCGAGGCC  
 ATGACGCCAGCATCTACGTGTGCAGAGTGGAGGTGCTGGGCCTTGGTGTC  
 GGGACAGGGAATGGGACTCGGCTGGTGGTGGAGAAAGAACATCCTCAGC  
 TAGGGGCTGGTACAGTCCTCCTCCTTCGGGCTGGATTCTATGCTGTCAGCT  
 TTCTCTCTGTGGCCGTGGGCAGCACCGTCTATTACCAGGGCAAATGCCAC  
 TGTCACATGGGAACACACTGCCACTCCTCAGATGGGCCCCGAGGAGTGAT  
 TCCAGAGCCCAGATGTCCCTAG (SEQ ID NO: 4)。

【0103】 在一些具體例中，NKp30多肽包括與以下序列至少70%一致(例如  
 至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、  
 至少99%一致，或100%一致)的胺基酸序列：

MAWMLLLILIMVHPGSCALWVSQPPEIRTLEGSSAFLPCSFNASQGRLAIGSV  
 TWFRDEVVPGKEVRNGTPEFRGRLAPLASSRFLHDHQAEHLIRDVRGHDASI

YVCRVEVLGLGVGTGNGTRLVVEKEHPQLGAGTVLLL RAGFYAVSFLSVAV  
 GSTVYYQ GKCLTWKGP RRQLPAVVPAPLPPPCGSSA HLLPPVPGG (SEQ ID  
 NO: 5) (具有或不具有訊號序列)。上面SEQ ID NO: 5畫底線的部分表示訊息胜  
 肽。

**【0104】** 在一些具體例中，NKp30多肽由與以下序列至少70%一致(例如至  
 少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至  
 少99%一致，或100%一致)的核酸序列所編碼：

ATGGCCTGGATGCTGTTGCTCATCTTGATCATGGTCCATCCAGGATCCTGT  
 GCTCTCTGGGTGTCCCAGCCCCCTGAGATTCGTACCCTGGAAGGATCCTCT  
 GCCTTCCTGCCCTGCTCCTTCAATGCCAGCCAAGGGAGACTGGCCATTGG  
 CTCCGTCACGTGGTTCCGAGATGAGGTGGTTCCAGGGAAGGAGGTGAGG  
 AATGGAACCCAGAGTTCAGGGGCCGCCTGGCCCCACTTGCTTCTTCCCG  
 TTTCTCCATGACCACCAGGCTGAGCTGCACATCCGGGACGTGCGAGGCC  
 ATGACGCCAGCATCTACGTGTGCAGAGTGGAGGTGCTGGGCCTTGGTGTC  
 GGGACAGGGAATGGGACTCGGCTGGTGGTGGAGAAAGAACATCCTCAGC  
 TAGGGGCTGGTACAGTCCTCCTCCTTCGGGCTGGATTCTATGCTGTCAGCT  
 TTCTCTCTGTGGCCGTGGGCAGCACCGTCTATTACCAGGGCAAATGTCTG  
 ACCTGGAAAGGTCCAAGAAGGCAGCTGCCGGCTGTGGTCCCAGCGCCCCT  
 CCCACCACCATGTGGGAGCTCAGCACATCTGCTTCCCCCAGTCCCAGGAG  
 GCTGA (SEQ ID NO: 6)。

**【0105】** 在一些具體例中，該等方法包括偵測個體中NKp30陽性淋巴球的  
 數量。可以從個體獲得任何含有NKp30陽性淋巴球的適當樣品。在一些具體例  
 中，可以獲取並評估全血樣品、血漿樣品、血清樣品、含有全血樣品的細胞級  
 分(PBMC)的樣品、組織樣品、生檢樣品，和雷射捕獲切割的生物樣品(例如，腫  
 瘤或組織樣品)，以確定NKp30陽性淋巴球的數量。在一些具體例中，在投予治

療有效量的醫藥組成物之前、同時或之後偵測NKp30陽性淋巴球的數量，該醫藥組成物包含去核類紅血球之群組(例如，本文所述任何例示性去核類紅血球)。在一些具體例中，可以使用特異地結合至NKp30的任何抗體或其抗原結合片段(例如，Beckman Coulter，純系Z25)來測定NKp30陽性細胞。在一些具體例中，NKp30蛋白表現可以使用螢光輔助細胞分選(FACS) (例如使用補償珠(例如Bangs珠))來評估或透過其他基於免疫學的方法來評估，基於免疫學的方法包括但不限於西方墨點分析、ELISA、組織陣列分析、原位雜交，和免疫螢光，使用例如特異地結合至NKp30的抗體或其抗原結合片段。在一些具體例中，NKp30陽性細胞可以透過測量NKp30 mRNA來測定。定量RNA的非限制性方法包括：qRT-PCR、RNA定序、螢光原位雜交結合流動式細胞測量術、微流體毛細管電泳和原位雜交。

【0106】如本文所述，藉由比較淋巴球中的NKp30含量與參考含量(例如，對照非活化或靜息淋巴球中的NKp30含量，或不是淋巴球的細胞中的NKp30含量)來確定NKp30陽性淋巴球。在一些具體例中，NKp30的參考含量可以是每百萬個轉錄本中的一個轉錄本。

## B7-H6

【0107】如本文所用，B7-H6多肽是指由自然殺手細胞細胞毒性受體3配體1(NCR3LG1)基因所編碼的胺基酸序列。例示性B7-H6多肽包括但不限於對應於NCBI參考序列：NP\_001189368.1的胺基酸序列。B7-H6是B7免疫受體家族的成員，是NKp30的細胞表面配體。

【0108】在一些具體例中，B7-H6多肽可包括與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的序列：

MTWRAAASTCAALLILLWALTTEGDLKVEMMAGGTQITPLNDNVTIFCNIFY  
 SQPLNITSMGITWFWKSLTFDKEVKVFEFFGDHQEAFRPGAIVSPWRLKSGD  
 ASLRLPGIQLEEAGEYRCEVVVTPLKAQGTVQLEVVASPASRLLLDQVGMKE  
 NEDKYMCESSGFYPEAINITWEKQTQKFPHPHIEISEDVITGPTIKNMDGTFNVT  
 SCLKLNSSQEDPGTVYQCVRHASLHTPLRSNFTLTAARHSLSETEKTDNFSI  
 HWWPISFIGVGLVLLIVLIPWKKICKSSSAYTPLKCILKHWSFDTQTLKKE  
 HLIFFCTRAWPSYQLQDGEAWPPEGSVNINTIQQLDVFCRQEGKWSEVPYVQ  
 AFFALRDNPDLCQCCRIDPALLTVTSGKSIDDNSTKSEKQTPREHSDAVPDAPI  
 LPVSPIWEPPTATTSTTPVLSSQPPTLLLPLQ (SEQ ID NO: 7) (具有或不具有訊  
 號序列)。上面SEQ ID NO：7畫底線的部分表示訊息胜肽。

**【0109】** 在一些具體例中，B7-H6多肽由與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的核酸序列所編碼：

ATGACGTGGAGGGCTGCCGCCTCCACGTGCGCGGCGCTCCTGATTCTGCT  
 GTGGGCGCTGACGACCGAAGGTGATCTGAAAGTAGAGATGATGGCAGGG  
 GGGACTCAGATCACACCCCTGAATGACAATGTCACCATATTCTGCAATAT  
 CTTTTATTCCCAACCCCTCAACATCACGTCTATGGGTATCACCTGGTTTTG  
 GAAGAGTCTGACGTTTGACAAAGAAGTCAAAGTCTTTGAATTTTTTGGAG  
 ATCACCAAGAGGCATTCCGACCTGGAGCCATTGTGTCTCCATGGAGGCTG  
 AAGAGTGGGGACGCCTCACTGCGGCTGCCTGGAATCCAGCTGGAGGAAG  
 CAGGAGAGTACCGATGTGAGGTGGTGGTCACCCCTCTGAAGGCACAGGG  
 AACAGTCCAGCTTGAAGTTGTGGCTTCCCCAGCCAGCAGATTGTTGCTGG  
 ATCAAGTGGGCATGAAAGAGAATGAAGACAAATATATGTGTGAGTCAAG  
 TGGGTTCTACCCAGAGGCTATTAATATAACATGGGAGAAGCAGACCCAG  
 AAGTTTCCCACATCCCATAGAGATTTCTGAGGATGTCATCACTGGTCCCACC

ATCAAGAATATGGATGGCACATTTAATGTCAGCTAGCTGCTTGAAGCTGAA  
CTCCTCTCAGGAAGACCCTGGGACTGTCTACCAGTGTGTGGTACGGCATG  
CGTCCTTGCATACCCCCTTGAGGAGCAACTTTACCCTGACTGCTGCTCGGC  
ACAGTCTTTCTGAAACTGAGAAGACAGATAATTTTTCCATTCATTGGTGG  
CCTATTTTCATTCATTGGTGTGGACTGGTTTTTATTAATTGTTTTGATTCCTT  
GGAAAAGATATGTAACAAATCATCTTCAGCCTATACTCCTCTCAAGTGC  
ATTCTGAAACACTGGAACCTTTGACACTCAGACTCTGAAGAAAGAGCA  
CCTCATATTCTTTTGCAGCTCGGGCATGGCCGTCTTACCAGCTGCAGGATGG  
GGAGGCTTGGCCTCCTGAGGGAAGTGTTAATATTAATACTATTCAACAAC  
TAGATGTTTTCTGCAGACAGGAGGGCAAATGGTCCGAGGTTCCCTTATGTG  
CAAGCCTTCTTTGCCTTGCAGAGACAACCCAGATCTTTGTCAGTGTTGTAGA  
ATTGACCCTGCTCTCCTAACAGTTACATCAGGCAAGTCCATAGATGATAA  
TTCCACAAAGTCTGAGAAACAAACCCCTAGGGAACACTCGGATGCAGTTC  
CGGATGCCCAATCCTTCCTGTCTCCCCTATCTGGGAACCTCCTCCAGCCA  
CAACATCAACAACCTCCAGTTCTATCCTCCCAACCCCAACTTTACTGTTAC  
CCCTACAGTAA (SEQ ID NO: 8)。

【0110】 在一些具體例中，該等方法包括偵測個體中B7-H6陽性癌細胞的存在。可以從個體獲得任何含有B7-H6陽性癌細胞的適當樣品。在一些具體例中，可以獲取並評估全血樣品、血漿樣品、血清樣品、含有全血樣品的細胞級分(PBMC)的樣品、組織樣品、生檢樣品，和雷射捕獲切割的生物樣品(例如，腫瘤或組織樣品)以確定B7-H6陽性癌細胞的數量。在一些具體例中，在投予去核類紅血球之前、同時或之後偵測B7-H6陽性癌細胞。在一些具體例中，可以使用特異地結合至B7-H6的任何抗體或其抗原結合片段(例如，B7-H6 (Abcam))來測定B7-H6陽性癌細胞。B7-H6蛋白表現可以使用螢光輔助細胞分選(FACS)來評估或透過其他基於免疫學的方法來評估，基於免疫學的方法包括但不限於西方墨點



法、ELISA，和免疫螢光。在一些具體例中，B7-H6陽性細胞可以透過測量B7-H6 mRNA來測定。定量RNA的非限制性方法包括：qRT-PCR、RNA定序、螢光原位雜交結合流動式細胞測量術、微流體毛細管電泳和原位雜交。

**【0111】** 可用於鑑定B7-H6陽性癌細胞或B7-H6陽性癌症的例示性B7-H6參考含量可以是非癌細胞中的B7-H6含量、多個腫瘤生檢樣品中B7-H6中值含量、高出同類型癌症或多個不同癌症的多個腫瘤生檢樣品中B7-H6中值含量的一個標準偏差、高出同類型癌症或多個不同癌症的多個腫瘤生檢樣品中B7-H6中值含量的四分之一個標準偏差、高出同類型癌症或多個不同癌症的多個腫瘤生檢樣品中B7-H6中值含量的二分之一個標準偏差、高出同類型癌症或多個不同癌症的多個腫瘤生檢樣品中B7-H6中值含量的四分之三個標準偏差、高出同類型癌症或多個不同癌症的多個腫瘤生檢樣品中B7-H6中值含量的一又二分之一個標準偏差，或高出同類型癌症或多個不同癌症的多個腫瘤生檢樣品中B7-H6中值含量的兩個標準偏差。

**【0112】** 在一些具體例中，B7-H6的參考含量是相同類型的正常(非癌)組織中的B7-H6含量。在一些具體例中，B7-H6的參考含量是靠近實體腫瘤的健康組織中的B7-H6含量。在一些具體例中，參考含量是比鄰近組織或對應健康組織中的B7-H6含量高50%的含量。

## NKG2A

**【0113】** 如本文所用，NKG2A多肽是指由殺手細胞凝集素樣受體C1(KLRC1)基因所編碼的胺基酸序列。NKG2A與KLRD1/CD94形成複合物。例示性KLRC1多肽包括但不限於對應於NCBI參考序列：NP\_001291377.1、NP\_002250.2與NP\_998823.1的胺基酸序列。

【0114】 在一些具體例中，NKG2A多肽包括與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的序列：

MDNQGVIIYSDLNLPPNPKRQQRKPKGNKNSILATEQEITYAELNLQKASQDF  
 QGNDKTYHCKDLPSAPEKLIVGILGIICLILMASVVTIVVIPSTLIQRHNNSSLN  
 TRTQKARHCGHCPEEWITYSNSCYIYIGKERRTWEESLLACTSKNSSLLSIDNE  
 EEMKFLSIISPSSWIGVFRNSSHHPWVTMNGLAFKHEIKSDNAELNCAVLQV  
 NRLKSAQCGSSIIYHCKHKL (SEQ ID NO: 9)。

【0115】 在一些具體例中，NKG2A多肽由與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的核酸序列所編碼：

ATGGATAACCAAGGAGTAATCTACTCAGACCTGAATCTGCCCCCAAACCC  
 AAAGAGGCAGCAACGAAAACCTAAAGGCAATAAAAACCTCCATTTTAGCA  
 ACTGAACAGGAAATAACCTATGCGGAATTAACCTTCAAAAAGCTTCTCA  
 GGATTTTCAAGGGAATGACAAAACCTATCACTGCAAAGATTTACCATCAG  
 CTCCAGAGAAGCTCATTGTTGGGATCCTGGGAATTATCTGTCTTATCTTAA  
 TGGCCTCTGTGGTAACGATAGTTGTTATTCCCTCTACATTAATACAGAGGC  
 ACAACAATTCTTCCCTGAATACAAGA ACTCAGAAAGCACGTCATTGTGGC  
 CATTGTCCTGAGGAGTGGATTACATATTCCAACAGTTGTTACTACATTGGT  
 AAGGAAAGAAGA ACTTGGGAAGAGAGTTTGCTGGCCTGTACTTCGAAGA  
 ACTCCAGTCTGCTTTCTATAGATAATGAAGAAGAAATGAAATTTCTGTCC  
 ATCATTTACCATCCTCATGGATTGGTGTGTTTCGTAACAGCAGTCATCAT  
 CCATGGGTGACAATGAATGGTTTGGCTTTCAAACATGAGATAAAAGACTC  
 AGATAATGCTGAACTTAACTGTGCAGTGCTACAAGTAAATCGACTTAAAT

CAGCCCAGTGTGGATCTTCAATAATATATCATTGTAAGCATAAGCTTTAG  
(SEQ ID NO: 10)。

【0116】 在一些具體例中，NKG2A多肽可包括與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的序列：

MDNQGVIIYSDLNLPPNPKRQQRKPKGNKSSILATEQEITYAELNLQKASQDF  
QGNDKTYHCKDLPSAPEKLIVGILGIICLILMASVVTVVIPSTLIQRHNNSSLN  
TRTQKARHCGHCPEEWITYSNSCYIYGKERRTWEESLLACTSKNSSLLSIDNE  
EEMKFLSIISPSSWIGVFRNSSHHPWVTMNGLAFKHEIKDSDNAELNCAVLQV  
NRLKSAQCGSSIIYHCKHKL (SEQ ID NO: 11)。

【0117】 在一些具體例中，NKG2A多肽由與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的核酸序列所編碼：

ATGGATAACCAAGGAGTAATCTACTCAGACCTGAATCTGCCCCCAAACCC  
AAAGAGGCAGCAACGAAAACCTAAAGGCAATAAAAACCTCCATTTTAGCA  
ACTGAACAGGAAATAACCTATGCGGAATTAAACCTTCAAAAAGCTTCTCA  
GGATTTTCAAGGGAATGACAAAACCTATCACTGCAAAGATTTACCATCAG  
CTCCAGAGAAGCTCATTGTTGGGATCCTGGGAATTATCTGTCTTATCTTAA  
TGGCCTCTGTGGTAACGATAGTTGTTATTCCCTCTACATTAATACAGAGGC  
ACAACAATTCTTCCCTGAATACAAGAACTCAGAAAGCACGTCATTGTGGC  
CATTGTCCTGAGGAGTGGATTACATATTCCAACAGTTGTTACTACATTGGT  
AAGGAAAGAAGAACTTGGGAAGAGAGTTTGCTGGCCTGTACTTCGAAGA  
ACTCCAGTCTGCTTTCTATAGATAATGAAGAAGAAATGAAATTTCTGTCC  
ATCATTTACCATCCTCATGGATTGGTGTGTTTCGTAACAGCAGTCATCAT  
CCATGGGTGACAATGAATGGTTTGGCTTTCAAACATGAGATAAAAGACTC

AGATAATGCTGAACTTAACTGTGCAGTGCTACAAGTAAATCGACTTAAAT  
CAGCCCAGTGTGGATCTTCAATAATATATCATTGTAAGCATAAGCTTTAG(  
SEQ ID NO: 12)。

**【0118】** 在一些具體例中，該等方法包括偵測個體中淋巴球的NKG2A含量。可以從個體獲得任何含有NKp30陽性/NKG2A陰性淋巴球的適當樣品。在一些具體例中，可以獲取並評估全血樣品、血漿樣品、血清樣品、含有全血樣品的細胞級分(PBMC)的樣品、組織樣品、生檢樣品，和雷射捕獲切割的生物樣品(例如，腫瘤或組織樣品)，以確定NKp30陽性/NKG2A陰性淋巴球的數量。在一些具體例中，在投予治療去核類紅血球之前、同時或之後偵測淋巴球中的NKG2A含量。在一些具體例中，可以使用特異地結合至NKG2A的抗體或其抗原結合片段(例如，Beckman Coulter，純系Z199.1)來測定NKG2A陰性淋巴球。在一些具體例中，淋巴球中的NKG2A含量可以使用螢光輔助細胞分選來評估。淋巴球中的NKG2A含量也可以藉由其他基於免疫學的方法來評估，包括但不限於西方墨點法、ELISA，和免疫螢光。在一些具體例中，NKG2A陽性細胞可以透過測量NKG2A mRNA來測定。定量RNA的非限制性方法包括：qRT-PCR、RNA定序、螢光原位雜交結合流動式細胞測量術、微流體毛細管電泳和原位雜交。

**【0119】** 可用於鑑定NKG2A陰性淋巴球的例示性NKG2A參考含量是本技藝中已知的。例如，參考含量可以是經活化或增生淋巴球中的NKG2A含量。

**【0120】** 在一些具體例中，該等方法包括調節NKG2A多肽的活性。在一些具體例中，該方法還包括向個體投予NKG2A抑制劑(例如拮抗性抗體)。例如，該方法可包括在投予本文所述任何去核類紅血球之前、同時或之後向個體投予莫那珠單抗(monalizumab) (參見Andre et al., *Cell* 175(7):1731-1743; 2018)或達沙替尼(dasatinib) (Chang et al., *Front. Immunol.* 9:31521; 2019)。在一些具體例中，該方法進一步包括在投予本文所述任何去核類紅血球之前、同時或之後向個體投予S095029。

## HLA-E

【0121】如本文所用，HLA-E多肽是指由主要組織相容性複合物第I類E(HLA-E)基因所編碼的胺基酸序列。例示性HLA-E多肽包括但不限於對應於NCBI參考序列：NP\_005507.3的胺基酸序列。

【0122】在一些具體例中，HLA-E多肽包括與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的胺基酸序列：

MVDGTLLELLSEALALTQTWAGSHSLKYFHTSVSRPGRGEPFISVGYVDDT  
 QFVRFDNDAASPRMVPRAPWMEQEGSEYWDRETRSARDTAQIFRVNLRTLRL  
 GYYNQSEAGSHTLQWMHGCCELGPDGRFLRGYEQFAYDGKDYLTNEDLRS  
 WTAVDATAAQISEQKSNDAEAEHQRAYLEDTCVEWLHKYLEKGGKETLLHLE  
 PPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQQDGEGETQDTELVETRP  
 AGDGTFQKWAAVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPEPVTLRWKPASQPTIPIVGII  
 AGLVLLGSVVSAGAVVAAVIWRKKSSGGKGGSSYSKAEWSDSAQGSSEHSL  
 (SEQ ID NO: 13)。

【0123】在一些具體例中，HLA-E多肽由與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的核酸序列所編碼：

ATGGTAGATGGAACCCTCCTTTTACTCCTCTCGGAGGCCCTGGCCCTTACC  
 CAGACCTGGGCGGGCTCCCACTCCTTGAAGTATTTCCACACTTCCGTGTCC  
 CGGCCCCGGCCGCGGGGAGCCCCGCTTCATCTCTGTGGGCTACGTGGACGA  
 CACCCAGTTCGTGCGCTTCGACAACGACGCCGCGAGTCCGAGGATGGTGC  
 CGCGGGCGCCGTGGATGGAGCAGGAGGGGTCAGAGTATTGGGACCGGGA  
 GACACGGAGCGCCAGGGACACCGCACAGATTTTCCGAGTGAATCTGCGG

ACGCTGCGCGGCTACTACAATCAGAGCGAGGCCGGGTCTCACACCCTGCA  
GTGGATGCATGGCTGCGAGCTGGGGCCCGACGGGCGCTTCCTCCGCGGGT  
ATGAACAGTTCGCCTACGACGGCAAGGATTATCTCACCCCTGAATGAGGAC  
CTGCGCTCCTGGACCGCGGTGGACACGGCGGCTCAGATCTCCGAGCAAAA  
GTCAAATGATGCCTCTGAGGCGGAGCACCAGAGAGCCTACCTGGAAGAC  
ACATGCGTGGAGTGGCTCCACAAATACCTGGAGAAGGGGAAGGAGACGC  
TGCTTCACCTGGAGCCCCCAAAGACACACGTGACTCACCACCCCATCTCT  
GACCATGAGGCCACCCTGAGGTGCTGGGCCCTGGGCTTCTACCCTGCGGA  
GATCACACTGACCTGGCAGCAGGATGGGGAGGGCCATACCCAGGACACG  
GAGCTCGTGGAGACCAGGCCTGCAGGGGATGGAACCTTCCAGAAGTGGG  
CAGCTGTGGTGGTGCCTTCTGGAGAGGAGCAGAGATACACGTGCCATGTG  
CAGCATGAGGGGCTACCCGAGCCCGTCACCCTGAGATGGAAGCCGGCTTC  
CCAGCCCACCATCCCCATCGTGGGCATCATTGCTGGCCTGGTTCTCCTTGG  
ATCTGTGGTCTCTGGAGCTGTGGTTGCTGCTGTGATATGGAGGAAGAAGA  
GCTCAGGTGGAAAAGGAGGGAGCTACTCTAAGGCTGAGTGGAGCGACAG  
TGCCCAGGGGTCTGAGTCTCACAGCTTGTA (SEQ ID NO: 14)。

【0124】 在一些具體例中，該等方法包括偵測癌細胞中或個體癌細胞中的HLA-E含量。可以從個體獲得任何含有HLA-E癌細胞的適當樣品。在一些具體例中，可以獲取並評估全血、血漿、全血的細胞級分(PBMC)、組織樣品、生檢樣品，和雷射捕獲顯微切割腫瘤樣品或生檢樣品，以鑑定HLA-E在個體癌細胞中的含量。在一些具體例中，在投予去核類紅血球之前、同時或之後偵測癌細胞中的HLA-E含量。在一些具體例中，可以使用特異地結合至HLA-E的抗體或其抗原結合片段(例如，Beckman Coulter，純系Z199.1)來測定HLA-E陰性癌細胞。在一些具體例中，癌細胞中的HLA-E含量可以使用螢光輔助細胞分選來測定。癌細胞中的HLA-E含量也可以藉由其他基於免疫學的方法來評估，包括但

不限於西方墨點法、ELISA，和免疫螢光。在一些具體例中，HLA-E陰性癌細胞可以透過測量HLA-E mRNA來測定。定量RNA的非限制性方法包括：qRT-PCR、RNA定序、螢光原位雜交結合流動式細胞測量術、微流體毛細管電泳和原位雜交。在一些具體例中，HLA-E陰性癌細胞是在HLA-E基因座處喪失異合性的癌細胞。

**【0125】** 可用於鑑定HLA-E陰性癌細胞的例示性HLA-E參考含量可以是存在於非癌細胞或在HLA-E基因座處沒有喪失異合性的癌細胞中的HLA-E含量。HLA-E的例示性含量可以使用Seliger et al., *Oncotarget* 7(41):67360-67372, 2016中所述的方法來測定。在一些具體例中，B7-H6的參考含量是靠近實體腫瘤的健康組織中的B7-H6含量。在一些具體例中，參考含量是比鄰近組織或對應健康組織中的HLA-E含量少50%的含量。

#### 第一外源性多肽

**【0126】** 在一些具體例中，本發明特徵在於包括在其細胞外表面上之第一外源性多肽的去核類紅血球，該第一外源性多肽包含(i)介白素15(IL-15)或其功能片段，及(ii)介白素15受體 $\alpha$ (IL-15RA)或其功能片段。

**【0127】** 在一些具體例中，IL-15包括未成熟形式的野生型人類IL-15。在一些具體例中，IL-15包括與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的胺基酸序列：

MRISKPHLRISISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVFI LGCF SAGLPKTEANWVNVIS  
DLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCF LLELQVISLES GDASIHD  
TVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS  
(SEQ ID NO: 15)，或其功能片段。在一些具體例中，IL-15包括SEQ ID NO：15的序列。

【0128】 在一些具體例中，IL-15包括成熟形式的野生型人類IL-15或其功能片段。在一些具體例中，IL-15包括與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的胺基酸序列：

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLLELQVISLE  
SGDASIHDVTENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIV  
QMFINTS (SEQ ID NO: 16)，或其功能片段。在一些具體例中，IL-15包括SEQ ID  
NO：16的序列。

【0129】 在一些具體例中，IL-15由與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的核酸序列所編碼：

AACTGGGTGAACGTTATTAGTGACCTTAAAAAGATCGAAGATTTGATACA  
GTCAATGCACATAGACGCGACGCTTTATACAGAATCTGATGTACATCCTT  
CATGCAAGGTTACTGCTATGAAGTGTTTTCTTCTCGAACTCCAAGTAATAA  
GTCTTGAGAGCGGAGATGCGAGCATTTCATGACACCGTTGAGAATCTTATT  
ATATTGGCTAACAACTCTCTGTCCAGCAATGGTAATGTGACAGAAAGCGG  
GTGTAAGGAGTGCGAGGAACTCGAGGAGAAGAACATCAAAGAGTTCTTG  
CAGTCTTTCGTCCATATTGTCCAGATGTTTCATAAATACTAGC (SEQ ID NO:  
17)。

【0130】 在一些具體例中，IL-15多肽由與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的核酸序列所編碼：

AACTGGGTAAACGTCATAAGCGACCTCAAAAAGATCGAGGACCTTATAC  
AGTCTATGCACATAGATGCGACACTTTACACGGAATCAGACGTGCACCCG  
TCCTGCAAAGTCACAGCCATGAAGTGCTTTCTTCTCGAACTGCAGGTAAT



TTCTCTCGAATCAGGTGACGCATCTATCCACGACACAGTTGAAAATCTTA  
 TTATCCTGGCTAATAACTCCCTTAGCTCAAACGGCAATGTCACCGAGAGT  
 GGATGTAAAGAATGTGAGGAACTTGAAGAGAAAAACATAAAGGAATTCT  
 TGCAGAGTTTCGTTTCATATTGTGCAAATGTTTCATCAATACTAGT (SEQ ID  
 NO: 18)。

【0131】 在一些具體例中，IL-15的功能片段包含至少10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150或160個胺基酸。在一些具體例中，IL-15的功能片段包含少於20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150或160個胺基酸。在一些具體例中，IL-15的功能片段保有野生型人類IL-15多肽結合IL-15RA多肽的能力至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%，如藉由本技藝熟知的分析測量的，例如ELISA和表面電漿共振(SPR)結合分析，或共免疫沉澱。在一些具體例中，IL-15多肽的功能片段保有野生型人類IL-15多肽誘導IL-15媒介之信號傳導的能力至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%，如藉由本技藝熟知的分析測量的，例如電遷移分析、ELISA，和其他免疫分析。在一些具體例中，IL-15多肽的功能片段可以是IL-15多肽的IL-15受體結合片段。

【0132】 在一些具體例中，介白素-15受體 $\alpha$ (IL-15RA)或其功能片段可包括未成熟形式的野生型人類IL-15RA。在一些具體例中，IL-15RA可包括與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的序列：

MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRGITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYS  
 RERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPA  
 PPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTA AIVPGSQLMPSKSPS  
 TGTTEISSHESSHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTTVAISTST

VLLCGLSAVSLACYLKSRQTPPLASVEMEAMEALPVTWGTSSRDEDLENCSSHHL (SEQ ID NO: 19)或其功能片段。在一些具體例中，IL-15RA多肽包括SEQ ID NO: 19的序列。

**【0133】** 在一些具體例中，IL-15RA包括成熟形式的野生型人類IL-15RA。在一些具體例中，IL-15RA包括與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的胺基酸序列：

ITCPPMMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNV  
 AHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSN  
 NTAATTAIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESSHGTPSQTTAKNWELTASAS  
 HQPPGVYPQGHSDTTVAISTSTVLLCGLSAVSLACYLKSRQTPPLASVEME  
 MEALPVTWGTSSRDEDLENCSSHHL (SEQ ID NO: 20)或其功能片段。在一些具體例中，IL-15RA包括SEQ ID NO: 20的序列。

**【0134】** 在一些具體例中，IL-15RA包括IL-15RA多肽的細胞外部分。例如，IL-15RA多肽可能缺少野生型IL-15RA的跨膜結構域，並視情況缺少野生型IL-15RA的細胞內結構域。在一些具體例中，IL-15RA包括未成熟形式的細胞外野生型人類IL-15RA。在一些具體例中，IL-15RA多肽可包括與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的序列：

MAPRRARGCTRLGLPALLLLLLLRPPATRIGITCPPMMSVEHADIWVKSYSLYS  
 RERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNV AHWTTPSLKCIRDPALVHQRPA  
 PPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAIVPGSQLMPSKSPS  
 TGTTEISSHESSHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTT (SEQ ID  
 NO: 21)，或其功能片段。在一些具體例中，IL-15RA多肽包括SEQ ID NO: 21的序列。

【0135】 在一些具體例中，IL-15RA包括成熟形式的細胞外野生型人類IL-15RA。在一些具體例中，IL-15RA可包括與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的序列：

ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNV  
 AHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSN  
 NTAATTAIIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESSHGTPSQTTAKNWELTASAS  
 HQPPGVYPQGHSDTT (SEQ ID NO: 22)或其功能片段。在一些具體例中，IL-15RA多肽包括SEQ ID NO：22的序列。

【0136】 在一些具體例中，IL-15RA由與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的核酸序列所編碼：

ATCACATGCCACCGCCCATGTCTGTTGAACACGCAGACATTTGGGTAA  
 AAGTTACTCACTTTACTCACGCGAGAGATATATATGCAACAGCGGCTTCA  
 AGCGCAAAGCAGGCACTAGTAGTCTTACAGAGTGCGTGCTCAATAAAGCT  
 ACAAATGTAGCTCATTGGACTACTCCTAGTCTCAAATGCATTCGGGACCC  
 CGCGCTTGTGCACCAGAGACCTGCGCCGCGTCCACAGTGACGACAGCTG  
 GTGTAACCCCCAACCTGAATCCCTTAGTCCGTCTGGTAAAGAACCGGCG  
 GCGTCTTCACCTTCCAGCAATAATACTGCGGCGACAACAGCCGCGATAGT  
 TCCTGGATCCCAACTCATGCCGTCAAAGTCTCCTTCAACGGGAACGACAG  
 AGATCTCTTCACATGAAAGTTCTCATGGAACACCGAGCCAACTACGGCA  
 AAGA ACTGGGA ACTGACTGCCTCAGCAAGCCACCAGCCGCCAGGGGTGT  
 ACCCGCAAGGGCACTCAGATACTACT (SEQ ID NO: 23)。

【0137】 在一些具體例中，IL-15RA或其功能片段包括受體細胞外結構域的外顯子2中的「sushi結構域」(Wei et al., *J Immunol.* 2001; 167:277-282)。在一些

具體例中，包括野生型人類IL-15RA的sushi結構域的IL-15RA或其功能片段包括與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的胺基酸序列：

ITCPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNV  
AHTTTPSLKCIIR (SEQ ID NO: 24)或其功能片段。在一些具體例中，IL-15RA或其功能片段包括野生型人類IL-15RA的sushi結構域，其包括SEQ ID NO: 24的序列。

**【0138】** 在一些具體例中，IL-15RA包括野生型人類IL15RA或其功能片段的sushi結構域和野生型人類IL-15RA的額外至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90或100個胺基酸。在一些具體例中，IL-15RA或其功能片段包括野生型人類IL15RA的sushi結構域和野生型人類IL-15RA的額外13個胺基酸。在一些具體例中，IL-15RA包括與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的胺基酸序列：

ITCPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNV  
AHTTTPSLKCIIRDPALVHQRPPPS (SEQ ID NO: 25)或其功能片段。在一些具體例中，IL-15RA多肽包括SEQ ID NO：25的序列。

**【0139】** 在一些具體例中，IL-15RA由與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的核酸序列所編碼：

ATCACCTGCCCCGCCTCCCATGAGCGTGGAACACGCGGACATTTGGGTAA  
GAGCTACAGTCTTTACAGCCGGGAGCGCTATATCTGCAACTCAGGGTTTA  
AGCGGAAAGCAGGGACATCAAGTTTGACAGAATGTGTGTTGAACAAGGC

TACAAATGTTGCTCACTGGACCACGCCATCTTTGAAGTGTATCCGAGATC  
CCGCGCTTGTCCATCAGCGCCCAGCGCCTCCCTCC (SEQ ID NO: 26)。

【0140】 在一些具體例中，IL-15RA的功能片段包含至少10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190，或200個胺基酸。在一些具體例中，IL-15RA的功能片段包含至少10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190，或200個胺基酸，並包含IL-15RA sushi結構域。在一些具體例中，IL-15RA片段或變體保有野生型人類IL-15RA結合IL-15的能力至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%，如藉由本技藝熟知的分析測量的，例如ELISA、表面電漿共振(SPR)結合分析，或共免疫沉澱。在一些具體例中，IL-15RA變體或片段保有野生型人類IL-15RA多肽誘導IL-15媒介的信號傳導的能力至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%，如藉由本技藝熟知的分析測量的，例如電遷移分析、ELISA，和其他免疫分析。在一些具體例中，IL-15RA多肽的功能片段包括IL-15RA多肽sushi結構域與跨膜結構域中的一或兩者。在一些具體例中，IL-15RA多肽的功能片段包括sushi結構域。在一些具體例中，IL-15RA多肽的功能片段包跨膜結構域。

【0141】 在一些具體例中，第一外源性多肽進一步包括信號肽。在一些具體例中，第一外源性多肽包括信號肽，該信號肽包括表3中列出的胺基酸序列。在一些具體例中，第一外源性多肽包括信號肽，該信號肽包括GPA信號肽。在一些具體例中，第一外源性多肽包含具有胺基酸序列SEQ ID NO：27的信號肽。在一些具體例中，第一外源性多肽包括前導(信號)序列，其包括胺基酸序列SEQ ID NO：27、IL-15多肽和IL-15RA多肽。在一些具體例中，第一外源性多肽包括有包括胺基酸序列SEQ ID NO：27的前導(信號)序列、包括胺基酸序列SEQ ID NO：16的成熟人類IL-15多肽，和包括胺基酸序列SEQ ID NO：22的IL-15RA多

肽。在一些具體例中，成熟人類IL-15多肽和IL-15RA多肽是藉由具有胺基酸序列SEQ ID NO：29的撓性連接子連接。

**【0142】** 在一些具體例中，一或多個連接子設置在IL-15或其功能片段與IL-15RA或其功能片段之間。可以使用本文提供的任何連接子。在一些具體例中，連接子是長度為1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20個或更多個胺基酸的肽。在一些具體例中，連接子的長度足以保有IL-15結合至IL-15RA的能力。在其他具體例中，連接子的長度足以保有IL-15/IL-15RA複合物結合至 $\beta\gamma$  IL-15受體複合物並充當媒介IL-15信號轉導的促效劑的能力。在一些具體例中，連接子包括表2中列出的胺基酸序列。在一些具體例中，連接子包含胺基酸序列(GGGGS)<sub>n</sub> (SEQ ID NO：30)，其中n是1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。在一些具體例中，連接子由(GGGGS)<sub>n</sub>連接子(SEQ ID NO：30)組成，其中n是1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。在一些具體例中，連接子包括胺基酸序列GGGGSGGGSGGGGS(SEQ ID NO：29)。

**【0143】** 習於技藝者熟知的其他合適連接子可用於連接IL-15和IL-15RA多肽。在一些具體例中，連接子的長度可為5至25個胺基酸、5至20個胺基酸、10至25個胺基酸或10至20個胺基酸。在一些具體例中，連接子的長度可以是10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20個胺基酸。在一些具體例中，連接子是非免疫原性的。

**【0144】** 在一些具體例中，第一外源性多肽包括IL-15多肽或其功能片段，和IL-15Ra多肽的細胞外區。在一些具體例中，第一外源性多肽包括胺基酸序列SEQ ID NO：1。在一些具體例中，第一外源性多肽包括與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的序列：

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLE  
SGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIV

QMFINTSGGGGSGGGGSGGGGSITCPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNS  
 GFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAAPPSTVTTA  
 GVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTA AIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSH  
 ESSHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTT (SEQ ID NO: 31)。

【0145】 在一些具體例中，第一外源性多肽由與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的核酸序列所編碼：

AACTGGGTGAACGTTATTAGTGACCTTAAAAAGATCGAAGATTTGATACA  
 GTCAATGCACATAGACGCGACGCTTTATACAGAATCTGATGTACATCCTT  
 CATGCAAGGTTACTGCTATGAAGTGTTTTCTTCTCGAACTCCAAGTAATAA  
 GTCTTGAGAGCGGAGATGCGAGCATTGACACCGTTGAGAATCTTATT  
 ATATTGGCTAACAACTCTGTCCAGCAATGGTAATGTGACAGAAAGCGG  
 GTGTAAGGAGTGCGAGGAACTCGAGGAGAAGAACATCAAAGAGTTCTTG  
 CAGTCTTTCGTCCATATTGTCCAGATGTTTATAAATACTAGCGGGGGAGG  
 TGGCTCTGGTGGAGGCGGGAGTGGCGGGGGCGGCTCAATCACATGCCCA  
 CCGCCCATGTCTGTTGAACACGCAGACATTTGGGTAAAAGTTACTCACT  
 TTACTIONCACGCGAGAGATATATATGCAACAGCGGCTTCAAGCGCAAAGCA  
 GGCCTAGTAGTCTTACAGAGTGCGTGCTCAATAAAGCTACAAATGTAGC  
 TCATTGGACTACTCCTAGTCTCAAATGCATTCGGGACCCCGCGCTTGTGCA  
 CCAGAGACCTGCGCCGCGTCCACAGTGACGACAGCTGGTGTAAACCCCC  
 AACCTGAATCCCTTAGTCCGTCTGGTAAAGAACC GGCGGCGTCTTCACCT  
 TCCAGCAATAATACTGCGGCGACAACAGCCGCGATAGTTCCTGGATCCCA  
 ACTCATGCCGTCAAAGTCTCCTTCAACGGGAACGACAGAGATCTCTTCAC  
 ATGAAAGTTCTCATGGAACACCGAGCCAACTACGGCAAAGA AACTGGGA

ACTGACTGCCTCAGCAAGCCACCAGCCGCCAGGGGTGTACCCGCAAGGG  
CACTCAGATACTACT (SEQ ID NO: 32)。

【0146】 在一些具體例中，第一外源性多肽包括IL-15多肽和IL-15RA多肽的sushi結構域。在一些具體例中，第一外源性多肽包括胺基酸序列SEQ ID NO：2。在一些具體例中，該外源性多肽包括與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的序列：

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLE  
SGDASIHTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIV  
QMFINTSGGGGSGGGGSGGGGSITCPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNS  
GFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAAPS (SEQ ID  
NO: 33)。

【0147】 在一些具體例中，第一外源性多肽是由與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的核酸序列所編碼：

AACTGGGTAAACGTCATAAGCGACCTCAAAAAGATCGAGGACCTTATAC  
AGTCTATGCACATAGATGCGACACTTTACACGGAATCAGACGTGCACCCG  
TCCTGCAAAGTCACAGCCATGAAGTGCTTTCTTCTCGAACTGCAGGTAAT  
TTCTCTCGAATCAGGTGACGCATCTATCCACGACACAGTTGAAAATCTTA  
TTATCCTGGCTAATAACTCCCTTAGCTCAAACGGCAATGTCACCGAGAGT  
GGATGTAAAGAATGTGAGGAACTTGAAGAGAAAAACATAAAGGAATTCT  
TGCAGAGTTTCGTTTCATATTGTGCAAATGTTTCATCAATACTAGTGGCGGG  
GGGGGAAGCGGTGGTGGAGGGAGCGGGGGTGGTGGATCCATCACCTGCC  
CGCCTCCCATGAGCGTGGAACACGCGGACATTTGGGTAAAGAGCTACAGT  
CTTTACAGCCGGGAGCGCTATATCTGCAACTCAGGGTTAAAGCGGAAAGC



AGGGACATCAAGTTTGACAGAATGTGTGTTGAACAAGGCTACAAATGTTG  
CTCACTGGACCACGCCATCTTTGAAGTGTATCCGAGATCCCGCGCTTGTCC  
ATCAGCGCCCAGCGCCTCCCTCC (SEQ ID NO: 34)。

【0148】 在一些具體例中，第一外源性多肽包括IL-15多肽或其功能片段，和IL-15RA多肽或其功能片段(例如，IL-15結合片段)。本文所述任何IL-15多肽可以與本文所述任何IL-15RA多肽組合以形成第一外源性多肽。在一些具體例中，IL-15多肽或其功能片段與IL-15RA多肽或其功能片段的細胞外部分以複合物存在。在一些具體例中，IL-15多肽與IL-15RA多肽的細胞外部分以融合多肽(例如，第一外源性融合多肽)存在。在一些具體例中，IL-15多肽藉由連接子連接至IL-15RA多肽的細胞外部分。在一些具體例中，IL-15多肽和IL-15RA多肽以複合物存在。IL-15/IL-15RA複合物的組分可以直接融合，使用非共價鍵或共價鍵(例如，經由肽鍵組合胺基酸序列)。

【0149】 在一些具體例中，第一外源性多肽、IL-15多肽、IL-15RA多肽或IL-15/IL-15RA複合物不是從類紅血球(例如，去核類紅血球)釋放。在一些具體例中，IL-15多肽、IL-15RA多肽或IL-15/IL-15RA複合物或融合多肽附接於類紅血球膜(例如，去核類紅血球的膜)。在一些具體例中，第一外源性多肽進一步包括將多肽錨接至類紅血球膜(本文稱為錨接或跨膜結構域)的多肽序列(例如跨膜區)。在一些具體例中，將第一外源性多肽錨接至類紅血球膜的多肽序列與第一外源性多肽中的另一多肽是異源的。在一些具體例中，將多肽錨接至類紅血球膜的多肽序列與IL-15多肽及/或IL-15RA多肽是異源的。在一些具體例中，將多肽錨接至類紅血球膜的多肽序列是GPA序列。

【0150】 在一些具體例中，用於將第一外源性多肽錨接至類紅血球膜(例如，去核類紅血球的膜)的其他多肽是習於技藝者熟知的並且預期包括在包含IL-15、IL-15RA，或IL-15/IL-15RA融合體的外源性多肽中。非限制性實例包括

小型整合膜蛋白1(SMIM1)、轉鐵蛋白受體、Fas配體(FasL)、凱爾(Kell)和帶3(Band 3)。

**【0151】** 在一些具體例中，錨接或跨膜結構域可包括第1型膜蛋白或其跨膜部分。例如，在第一外源性多肽的一些具體例中，錨接或跨膜結構域包含選自由以下組成之群的第I型膜蛋白或其跨膜部分：血型糖蛋白A(GPA)；血型糖蛋白B(GPB)；basigin(也稱為CD147)；CD44；CD58(也稱為LFA3)；細胞間黏附分子4(ICAM4)；基底細胞黏附分子(BCAM)；CR1；CD99；紅血球母細胞膜相關蛋白(ERMAP)；連接黏附分子A(JAM-A)；神經澱粉蛋白(neuroplastin, NPTN)；AMIGO2；和DS細胞黏附分子樣1(DSCAML1)。在一些具體例中，錨接或跨膜結構域包含第2型膜蛋白或其跨膜部分或由其組成。例如，在第一外源性多肽的一些具體例中，錨接或跨膜結構域包含選自由以下組成之群的第2型膜蛋白或其跨膜部分：小型整合膜蛋白1(SMIM1)、轉鐵蛋白受體(CD71)；Fas配體(FasL)跨膜；和凱爾。在第一外源性多肽的一些具體例中，錨接是GPI連接的膜蛋白。在第一外源性多肽的一些具體例中，GPI連接的膜蛋白錨接是選自由以下組成之群：CD59；CD55；和臂板蛋白(Semaphorin) 7A(SEMA7A)。

**【0152】** 在一些具體例中，錨接或跨膜結構域可包括小型整合膜蛋白1(SMIM1)或其跨膜部分。在一些具體例中，錨接或跨膜結構域包括血型糖蛋白A(GPA)，或其片段(例如，其跨膜部分)。在一些具體例中，錨接或跨膜結構域包括表1中提供的胺基酸序列。

**【0153】** 在一些具體例中，第一外源性多肽包括IL-15多肽或其功能片段和野生型人類IL-15RA的跨膜區。在一些具體例中，第一外源性多肽包括IL-15多肽或其功能片段和跨膜區(例如，本文所述任何例示性跨膜區或跨膜結構域)。

**【0154】** 在一些具體例中，連接子設置在錨接或跨膜結構域與IL-15多肽、IL-15RA多肽或IL-15/IL-15RA多肽之間。合適的連接子包括但不限於表2中提供的任何連接子胺基酸序列。在一些具體例中，錨接或跨膜結構域(例如GPA)與

IL-15多肽、IL-15RA多肽或IL-15/IL-15RA融合多肽之間的連接子包含HA連接子或由其組成。在一些具體例中，連接子包含胺基酸序列SEQ ID NO：33或由其組成。

**【0155】** 在一些具體例中，第一外源性多肽可以進一步包括錨接。在一些具體例中，第一外源性多肽可包含胺基酸序列SEQ ID NO：36 (其由核酸序列SEQ ID NO：37所編碼)、介白素-15(IL-15)多肽和介白素15受體 $\alpha$  (IL-15RA)多肽的細胞外部分。在一些具體例中，第一外源性多肽可包含包括胺基酸序列SEQ ID NO：36的錨接、包括胺基酸序列SEQ ID NO：16的成熟人類IL-15，和成熟人類細胞外IL-15RA(其包括胺基酸序列SEQ ID NO：22)，由此成熟人類IL-15胺基酸序列和成熟人類細胞外IL-15 RA胺基酸序列藉由包括胺基酸序列SEQ ID NO：29的撓性連接子連接。

**【0156】** 在一些具體例中，外源性融合多肽包含：包括胺基酸序列SEQ ID NO：27的信號肽(例如，GPA信號肽)、包括胺基酸序列SEQ ID NO：16的成熟人類IL-15、包括胺基酸序列SEQ ID NO：29的撓性連接子(例如，連接成熟人類IL-15和成熟人類細胞外IL-15RA)、包括胺基酸SEQ ID NO：22的成熟人類細胞外IL-15RA、包括胺基酸序列SEQ ID NO：35的連接子，及包括胺基酸序列SEQ ID NO：36的錨接。在一些具體例中，外源性融合多肽包含(例如，從N端到C端)：包括胺基酸序列SEQ ID NO：16的成熟人類IL-15、包括胺基酸序列SEQ ID NO：29的撓性連接子(例如，連接成熟人類IL-15和成熟人類細胞外IL-15RA)、包括胺基酸序列SEQ ID NO：22的成熟人類細胞外IL-15RA、包括胺基酸序列SEQ ID NO：35的連接子，及包括胺基酸序列SEQ ID NO：36的錨接。在一些具體例中，外源性融合多肽包括SEQ ID NO：46的序列。

**【0157】** 在一些具體例中，第一外源性多肽包括與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的胺基酸序列：

MYGKIIFVLLLSEIVSISANWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCK  
 VTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEE  
 LEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSGGSGGSGGYDPDYAGGGSGGGSLSST  
 EVAMHTSTSSSVTKSYISSQTNDTHKRDTYAATPRAHEVSEISVRTVYPPEEE  
 TGERVQLAHHFSEPEITLIIFGVMAGVIGTILLISYGIRRLIKKSPSDVKPLPSD  
 TDVPLSSVEIENPETSQ (SEQ ID NO: 38)或其功能片段。

【0158】 在一些具體例中，第一外源性多肽由與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的核酸序列所編碼：

ATGTATGGAAAATAATCTTTGTATTACTATTGTCAGAAATTGTGAGCAT  
 ATCAGCAAACCTGGGTAAATGTGATTCAGACCTGAAAAAATCGAAGAC  
 CTTATTCAATCCATGCACATCGACGCGACACTTTATACTGAATCAGACGT  
 ACACCCGTCCTGTAAGGTTACTGCGATGAAGTGCTTTCTGTTGGAATTGC  
 AAGTGATCTCCCTCGAATCAGGGGATGCATCCATTCATGATACCGTCGAG  
 AATTTGATCATTCTGGCAAATAACTCCCTCAGTAGTAACGGGAATGTGAC  
 CGAGTCTGGGTGTAAGGAGTGCGAAGAGTTGGAGGAAAAGAATATCAAA  
 GAATTCCTTCAGTCCTTTGTTACATCGTGCAAATGTTTATTAATACATCT  
 GGAGGATCTGGCGGGTCTGGAGGCTACCCCTATGACGTGCCCCGACTATGC  
 CGGCGGAGGGTCTGGAGGCGGTTCCCTTAAGTACCACTGAGGTGGCAATGC  
 ACACTTCAACCTCTTCTTCAGTCACAAAGAGTTACATCTCATCACAGACA  
 AATGATACGCACAAACGGGACACATATGCAGCCACTCCTAGAGCTCATG  
 AAGTTTCAGAAATTTCTGTTAGAACTGTTTACCCTCCAGAAGAGGAAACC  
 GGAGAAAGGGTACAACCTGCCATCATTCTCTGAACCAGAGATAACACT  
 CATTATTTTGGGGTGATGGCTGGTGTATTGGAACGATCCTCTTAATTC  
 TTACGGTATTCGCCGACTGATAAAGAAAAGCCCATCTGATGTAAAACCTC

TCCCCTCACCTGACACAGACGTGCCTTTAAGTTCTGTTGAAATAGAAAAT  
CCAGAGACAAGTGATCAA (SEQ ID NO: 39)。

【0159】 在一些具體例中，第一外源性多肽包括與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的胺基酸序列：

MYGKIIFVLLLSEIVSISANWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCK  
VTAMKCFLELQVISLES GDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEE  
LEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSGGGGSGGGGSGGGGSITCPPPMSVEHADI  
WVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRD  
PALVHQRPAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTA AIVPGS  
QLMPSKSPSTGTTEISSHESSHGTPSQTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSD  
TTGGSGGSGGYPDYAGGGSGGGSLSTTEVAMHTSTSSSVTKSYISSQT  
NDTHKRDTYAATPRAHEVSEISVRTVYPPEEETGERVQLAHHFSEPEITLIIFG  
VMAGVIGTILLISYGIRRLIKKSPSDVKPLPSPD TDVPLSSVEIENPETS DQ (SEQ  
ID NO: 40)或其功能片段。

【0160】 在一些具體例中，第一外源性多肽由與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的核酸序列所編碼：

ATGTATGGAAAAATAATCTTTGTATTACTATTGTCAGAAATTGTGAGCAT  
ATCAGCAA ACTGGGTGAACGTTATTAGTGACCTTAAAAAGATCGAAGATT  
TGATACAGTCAATGCACATAGACGCGACGCTTTATACAGAATCTGATGTA  
CATCCTTCATGCAAGGTTACTGCTATGAAGTGTTTTCTTCTCGAACTCCAA  
GTAATAAGTCTTGAGAGCGGAGATGCGAGCATT CATGACACCGTTGAGA  
ATCTTATTATATTGGCTAACAACTCTCTGTCCAGCAATGGTAATGTGACAG  
AAAGCGGGTGTAAGGAGTGCGAGGAACTCGAGGAGAAGA ACATCAAAG

AGTTCTTGCAGTCTTTCGTCCATATTGTCCAGATGTTTCATAAATACTAGCG  
GGGGAGGTGGCTCTGGTGGAGGCGGGAGTGGCGGGGGCGGCTCAATCAC  
ATGCCACCGCCCATGTCTGTTGAACACGCAGACATTTGGGTAAAAGTT  
ACTCACTTTACTCACGCGAGAGATATATATGCAACAGCGGCTTCAAGCGC  
AAAGCAGGCACTAGTAGTCTTACAGAGTGCGTGCTCAATAAAGCTACAA  
ATGTAGCTCATTGGACTACTCCTAGTCTCAAATGCATTCGGGACCCCGCG  
CTTGTGCACCAGAGACCTGCGCCGCGTCCACAGTGACGACAGCTGGTGT  
AACCCCCAACCTGAATCCCTTAGTCCGTCTGGTAAAGAACCGGCGGCGT  
CTTCACCTTCCAGCAATAATACTGCGGCGACAACAGCCGCGATAGTTCCT  
GGATCCCAACTCATGCCGTCAAAGTCTCCTTCAACGGGAACGACAGAGAT  
CTCTTACATGAAAGTTCTCATGGAACACCGAGCCAAACTACGGCAAAGA  
ACTGGGAACTGACTGCCTCAGCAAGCCACCAGCCGCCAGGGGTGTACCC  
GCAAGGGCACTCAGATACTACTGGAGGATCTGGCGGGTCTGGAGGCTAC  
CCCTATGACGTGCCCGACTATGCCGGCGGAGGGTCTGGAGGCGGTTCCTT  
AAGTACCACTGAGGTGGCAATGCACACTTCAACCTCTTCTTCAGTCACAA  
AGAGTTACATCTCATCACAGACAAATGATACGCACAAACGGGACACATA  
TGCAGCCACTCCTAGAGCTCATGAAGTTTCAGAAATTTCTGTTAGAACTG  
TTTACCCTCCAGAAGAGGAAACCGGAGAAAGGGTACAACCTTGCCCATCAT  
TTCTCTGAACCAGAGATAAACACTCATTATTTTTGGGGTGATGGCTGGTGT  
ATTGGAACGATCCTCTTAATTTCTTACGGTATTCGCCGACTGATAAAGAA  
AAGCCCATCTGATGTAAAACCTCTCCCCTCACCTGACACAGACGTGCCTT  
TAAGTTCTGTTGAAATAGAAAATCCAGAGACAAGTGATCAA (SEQ ID NO:  
41)。

【0161】 在一些具體例中，第一外源性多肽包括與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的胺基酸序列：

MYGKIIFVLLLSEIVSISANWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCK  
 VTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEE  
 LEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSGGGGSGGGGSGGGGSITCPPMSVEHADI  
 WVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRD  
 PALVHQRPAAPSGGSGGSGGYPYDVPDYAGGGSGGGSLSTTEVAMHTSTSSS  
 VTKSYISSQTNDTHKRDTYAATPRAHEVSEISVRTVYPPEEETGERVQLAHHF  
 SEPEITLIIFGVMAGVIGTILLISYGIRRLIKKSPSDVKPLPSPD TDVPLSSVEIEN  
 PETS DQ (SEQ ID NO: 42)或其功能片段。

【0162】 在一些具體例中，第一外源性多肽由與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的核酸序列所編碼：

ATGTATGGAAAATAATCTTTGTATTACTATTGTCAGAAATTGTGAGCAT  
 ATCAGCAAAC TGGGTAAACGTCATAAGCGACCTCAAAAAGATCGAGGAC  
 CTTATACAGTCTATGCACATAGATGCGACACTTTACACGGAATCAGACGT  
 GCACCCGTCCTGCAAAGTCACAGCCATGAAGTGCTTTCTTCTCGAACTGC  
 AGGTAATTTCTCTCGAATCAGGTGACGCATCTATCCACGACACAGTTGAA  
 AATCTTATTATCCTGGCTAATAACTCCCTTAGCTCAAACGGCAATGTCACC  
 GAGAGTGGATGTAAAGAATGTGAGGAACTTGAAGAGAAAACATAAAGG  
 AATTCTTGCAGAGTTTCGTTTCATATTGTGCAAATGTTTCATCAATACTAGTG  
 GCGGGGGGGGAAGCGGTGGTGGAGGGAGCGGGGGTGGTGGATCCATCAC  
 CTGCCCGCCTCCCATGAGCGTGGAACACGCGGACATTTGGGTTAAGAGCT  
 ACAGTCTTTACAGCCGGGAGCGCTATATCTGCAACTCAGGGTTTAAGCGG

AAAGCAGGGACATCAAGTTTGACAGAATGTGTGTTGAACAAGGCTACAA  
 ATGTTGCTCACTGGACCACGCCATCTTTGAAGTGTATCCGAGATCCCGCG  
 CTTGTCCATCAGCGCCCAGCGCCTCCCTCCGGAGGATCTGGCGGGTCTGG  
 AGGCTACCCCTATGACGTGCCCGACTATGCCGGCGGAGGGTCTGGAGGCG  
 GTTCCTTAAGTACCACTGAGGTGGCAATGCACACTTCAACCTCTTCTTCAG  
 TCACAAAGAGTTACATCTCATCACAGACAAATGATACGCACAAACGGGA  
 CACATATGCAGCCACTCCTAGAGCTCATGAAGTTTCAGAAATTTCTGTTA  
 GAACTGTTTACCCTCCAGAAGAGGAAACCGGAGAAAGGGTACAACCTTGC  
 CCATCATTCTCTGAACCAGAGATAACACTCATTATTTTTGGGGTGATGGC  
 TGGTGTTATTGGAACGATCCTCTTAATTTCTTACGGTATTCGCCGACTGAT  
 AAAGAAAAGCCCATCTGATGTAAAACCTCTCCCCTCACCTGACACAGACG  
 TGCCTTTAAGTTCTGTTGAAATAGAAAATCCAGAGACAAGTGATCAA  
 (SEQ ID NO: 43)。

【0163】 在一些具體例中，第一外源性多肽包括與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的胺基酸序列：

MYGKIIFVLLLSEIVSISANWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPCK  
 VTAMKCFLELQVISLESGDASIHD TVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEE  
 LEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSGGSGGSGGGGGSGGGSGGGSGGGSLSTTE  
 VAMHTSTSSSVTKSYISSQTNDTHKRDTYAATPRAHEVSEISVRTVYPPEEET  
 GERVQLAHHFSEPEITLIIFGVMAGVIGTILLISYGIRRLIKKSPSDVKPLPSPDT  
 DVPLSSVEIENPETSQ (SEQ ID NO: 44)或其功能片段。

【0164】 在一些具體例中，第一外源性多肽由與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的核酸序列所編碼：



ATGTATGGAAAAATAATCTTTGTATTACTATTGTCAGAAATTGTGAGCAT  
 ATCAGCAAACCTGGGTAAATGTGATTTTCAGACCTGAAAAAATCGAAGAC  
 CTTATTCAATCCATGCACATCGACGCGACACTTTATACTGAATCAGACGT  
 ACACCCGTCCTGTAAGGTTACTGCGATGAAGTGCTTTCTGTTGGAATTGC  
 AAGTGATCTCCCTCGAATCAGGGGATGCATCCATTCATGATACCGTCGAG  
 AATTTGATCATTCTGGCAAATAACTCCCTCAGTAGTAACGGGAATGTGAC  
 CGAGTCTGGGTGTAAGGAGTGCGAAGAGTTGGAGGAAAAGAATATCAAA  
 GAATTCCTTCAGTCCTTTGTTTCACATCGTGCAAATGTTTATTAATACATCT  
 GGAGGATCTGGCGGGTCTGGAGGCGGCGGCGGCAGCGGCGGCGGCAGCG  
 GCGGAGGGTCTGGAGGCGGTTCTTAAGTACCACTGAGGTGGCAATGCAC  
 ACTTCAACCTCTTCTTCAGTCACAAAGAGTTACATCTCATCACAGACAAA  
 TGATACGCACAAACGGGACACATATGCAGCCACTCCTAGAGCTCATGAA  
 GTTTCAGAAATTTCTGTTAGAACTGTTTACCCTCCAGAAGAGGAAACCGG  
 AGAAAGGGTACAACCTTGCCCATCATTTCTCTGAACCAGAGATAACACTCA  
 TTATTTTTGGGGTGATGGCTGGTGTATTGGAACGATCCTCTTAATTTCTT  
 ACGGTATTCGCCGACTGATAAAGAAAAGCCCATCTGATGTAAAACCTCTC  
 CCCTCACCTGACACAGACGTGCCTTTAAGTTCTGTTGAAATAGAAAATCC  
 AGAGACAAGTGATCAA (SEQ ID NO: 45) 。

**【0165】** 在一些具體例中，第一外源性多肽包括與以下序列至少70%一致  
 (例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一  
 致、至少99%一致，或100%一致)的胺基酸序列：

MYGKIIFVLLLSEIVSISANWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCK  
 VTAMKCFLELQVISLESGDASIHDVTENLILANNLSLSSNGNVTESGCKECE  
 LEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSGGGGSGGGGSGGGGSITCPPPMSVEHADI  
 WVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRD

PALVHQRPAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAIVPGS  
 QLMPSKSPSTGTTEISSHESSHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSD  
 TTGGSGGSGGGGGSGGGSGGGSGGGSLSTTEVAMHTSTSSSVTKSYISSQTN  
 DTHKRDTYAATPRAHEVSEISVRTVYPPEEETGERVQLAHHFSEPEITLIIFGV  
 MAGVIGTILLISYGIRRLIKKSPSDVKPLPSPD TDVPLSSVEIENPETS DQ (SEQ  
 ID NO: 46)或其功能片段。

【0166】 在一些具體例中，第一外源性多肽由與以下序列至少70%一致(例  
 如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、  
 至少99%一致，或100%一致)的核酸序列所編碼：

ATGTATGGAAAATAATCTTTGTATTACTATTGTCAGAAATTGTGAGCAT  
 ATCAGCAA ACTGGGTGAACGTTATTAGTGACCTTAAAAAGATCGAAGATT  
 TGATACAGTCAATGCACATAGACGCGACGCTTTATACAGAATCTGATGTA  
 CATCCTTCATGCAAGGTTACTGCTATGAAGTGTTTTCTTCTCGAACTCCAA  
 GTAATAAGTCTTGAGAGCGGAGATGCGAGCATT CATGACACCGTTGAGA  
 ATCTTATTATATTGGCTAACAACTCTCTGTCCAGCAATGGTAATGTGACAG  
 AAAGCGGGTGTAAGGAGTGCGAGGAACTCGAGGAGAAGAACATCAAAG  
 AGTTCTTGCAGTCTTTCGTCCATATTGTCCAGATGTT CATAAATACTAGCG  
 GGGGAGGTGGCTCTGGTGGAGGCGGGAGTGGCGGGGGCGGCTCAATCAC  
 ATGCCACCGCCCATGTCTGTTGAACACGCAGACATTTGGGT TAAAAGTT  
 ACTCACTTTACTCACGCGAGAGATATATATGCAACAGCGGCTTCAAGCGC  
 AAAGCAGGCACTAGTAGTCTTACAGAGTGCGTGCTCAATAAAGCTACAA  
 ATGTAGCTCATTGGACTACTCCTAGTCTCAAATGCATTCGGGACCCCGCG  
 CTTGTGCACCAGAGACCTGCGCCGCGTCCACAGTGACGACAGCTGGTGT  
 AACCCCCCAACCTGAATCCCTTAGTCCGTCTGGTAAAGAACCGGCGGCGT  
 CTTACCTTCCAGCAATAATACTGCGGCGACAACAGCCGCGATAGTTCCT

GGATCCCAACTCATGCCGTCAAAGTCTCCTTCAACGGGAACGACAGAGAT  
CTCTTCACATGAAAGTTCTCATGGAACACCGAGCCAAACTACGGCAAAGA  
ACTGGGAACTGACTGCCTCAGCAAGCCACCAGCCGCCAGGGGTGTACCC  
GCAAGGGCACTCAGATACTACTGGAGGATCTGGCGGGTCTGGAGGCGGC  
GGCGGCAGCGGCGGCGGCAGCGGCGGAGGGTCTGGAGGCGGTTTCCTTAA  
GTACCACTGAGGTGGCAATGCACACTTCAACCTCTTCTTCAGTCACAAAG  
AGTTACATCTCATCACAGACAAATGATACGCACAAACGGGACACATATGC  
AGCCACTCCTAGAGCTCATGAAGTTTCAGAAATTTCTGTTAGAACTGTTTA  
CCCTCCAGAAGAGGAAACCGGAGAAAGGGTACAACCTTGCCCATCATTCT  
CTGAACCAGAGATAACACTCATTATTTTTGGGGTGATGGCTGGTGTATT  
GGAACGATCCTCTTAATTTCTTACGGTATTCGCCGACTGATAAAGAAAAG  
CCCATCTGATGTAAAACCTCTCCCCTCACCTGACACAGACGTGCCTTTAA  
GTTCTGTTGAAATAGAAAATCCAGAGACAAGTGATCAA (SEQ ID NO: 47)。

【0167】 在一些具體例中，外源性融合多肽包括胺基酸序列SEQ ID NO：38。在一些具體例中，外源性融合多肽包括胺基酸序列SEQ ID NO：40。在一些具體例中，外源性融合多肽包括胺基酸序列SEQ ID NO：42。在一些具體例中，外源性融合多肽包括胺基酸序列SEQ ID NO：44。在一些具體例中，外源性融合多肽包括胺基酸序列SEQ ID NO：46。

【0168】 在一些具體例中，第一外源性多肽如美國專利申請公開案第2019/0298769號中所述，其以全文引用的方式併入本文。

## 第二外源性多肽

【0169】 在一些具體例中，去核類紅血球可進一步在其細胞外表面上包括外源性多肽。在一些具體例中，去核類紅血球在其細胞外表面上包括第一外源性多肽及在其細胞外表面上包括第二外源性多肽，第一外源性多肽包括(i)介白

素15(IL-15)或其功能片段，及(ii)介白素15受體 $\alpha$ (IL-15RA)或其功能片段，而第二外源性多肽包括4-1BBL多肽或其功能片段。

**【0170】** 如本文所用，4-1BBL多肽是指由腫瘤壞死因子超家族成員9(TNFSF9或CD137L)基因所編碼的胺基酸序列。4-1BBL是4-1BB(也稱為腫瘤壞死因子受體超家族，成員9(TNFRSF9)或CD137)的配體，它是一個在免疫系統細胞表面發現的受體家族成員。參見Alderson et al., 1994, *Eur. J. Immunol.* 24:2219-2227。

**【0171】** 在一些具體例中，4-1BBL呈其天然三聚體形式。

**【0172】** 在一些具體例中，4-1BBL包括與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的胺基酸序列：

ACPWAVSGARASPGSAASPRLREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNV  
LLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRV  
VAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLL  
HLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSRSE

(SEQ ID NO: 48)或其功能片段。在一些具體例中，4-1BBL包括SEQ ID NO: 48的序列。

**【0173】** 在一些具體例中，4-1BBL由與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的核酸序列所編碼：

GCCTGCCCTGGGCCGTGTCCGGGGCTCGCGCCTCGCCCGGCTCCGCGGC  
CAGCCCGAGACTCCGCGAGGGTCCCGAGCTTTCGCCCGACGATCCCGCCG  
GCCTCTTGGACCTGCGGCAGGGCATGTTTGC GCAGCTGGTGGCCCAAAT  
GTTCTGCTGATCGATGGGCCCCTGAGCTGGTACAGTGACCCAGGCCTGGC  
AGGCGTGTCCCTGACGGGGGGCCTGAGCTACAAAGAGGACACGAAGGAG

CTGGTGGTGGCCAAGGCTGGAGTCTACTATGTCTTCTTTCAACTAGAGCT  
 GCGGCGCGTGGTGGCCGGCGAGGGCTCAGGCTCCGTTTCACTTGCGCTGC  
 ACCTGCAGCCACTGCGCTCTGCTGCTGGGGCCGCCGCCCTGGCTTTGACC  
 GTGGACCTGCCACCCGCCTCCTCCGAGGCTCGGAACTCGGCCTTCGGTTT  
 CCAGGGCCGCTTGCTGCACCTGAGTGCCGGCCAGCGCCTGGGCGTCCATC  
 TTCACACTGAGGCCAGGGCACGCCATGCCTGGCAGCTTACCCAGGGCGCC  
 ACAGTCTTGGGACTCTTCCGGGTGACCCCCGAAATCCCAGCCGGACTCCC  
 TTCACCGAGGTCGGAA (SEQ ID NO: 49)。

【0174】 在一些具體例中，第二外源性多肽包括與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的胺基酸序列：

MYGKIIFVLLLSEIVSISAACPWAVSGARASPGSAASPRLREGPELSPDDPAGL  
 LDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVV  
 AKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLP  
 PASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGL  
 FRVTPEIPAGLPSRSEGGSGGSGGGPEDEPGSGSGGGSGGGSLSTTEVAMHT  
 STSSSVTKSYISSQTNDTHKRDTYAATPRAHEVSEISVRTVYPPEEETGERVQL  
 AHHFSEPEITLIIFGVMAGVIGTILLISYGIRRLIKKSPSDVKPLPSPD TDVPLSSV  
 EIENPETS DQ (SEQ ID NO: 50)。在一些具體例中，4-1BBL多肽包括SEQ ID NO：  
 50的序列。

【0175】 在一些具體例中，第二外源性多肽由與以下序列至少70%一致(例如至少75%一致、至少80%一致、至少85%一致、至少90%一致、至少95%一致、至少99%一致，或100%一致)的核酸序列所編碼：

ATGTATGGAAAATAATCTTTGTATTACTATTGTCAGAAATTGTGAGCAT  
 ATCAGCAGCCTGCCCCTGGGCCGTGTCCGGGGCTCGCGCCTCGCCCCGGCT

CCGCGGCCAGCCCGAGACTCCGCGAGGGTCCCGAGCTTTCGCCCCGACGAT  
CCCGCCGGCCTCTTGGACCTGCGGCAGGGCATGTTTGCAGCTGGTGGC  
CCAAAATGTTCTGCTGATCGATGGGCCCCTGAGCTGGTACAGTGACCCAG  
GCCTGGCAGGCGTGTCCCTGACGGGGGGCCTGAGCTACAAAGAGGACAC  
GAAGGAGCTGGTGGTGGCCAAGGCTGGAGTCTACTATGTCTTCTTTCAAC  
TAGAGCTGCGGCGCGTGGTGGCCGGCGAGGGCTCAGGCTCCGTTTCACTT  
GCGCTGCACCTGCAGCCACTGCGCTCTGCTGCTGGGGCCGCCGCCCTGGC  
TTTGACCGTGGACCTGCCACCCGCCTCCTCCGAGGCTCGGAACTCGGCCT  
TCGGTTTCCAGGGCCGCTTGCTGCACCTGAGTGCCGGCCAGCGCCTGGGC  
GTCCATCTTCACACTGAGGCCAGGGCACGCCATGCCTGGCAGCTTACCCA  
GGGCGCCACAGTCTTGGGACTCTTCCGGGTGACCCCCGAAATCCCAGCCG  
GACTCCCTTCACCGAGGTCGGAAGGAGGATCTGGCGGGTCTGGAGGCGG  
CCCCGAGGACGAGCCCGGCAGCGGCAGCGGCGGAGGGTCTGGAGGCGGT  
TCCTTAAGTACCACTGAGGTGGCAATGCACACTTCAACCTCTTCTTCAGTC  
ACAAAGAGTTACATCTCATCACAGACAAATGATACGCACAAACGGGACA  
CATATGCAGCCACTCCTAGAGCTCATGAAGTTTCAGAAATTTCTGTTAGA  
ACTGTTTACCCTCCAGAAGAGGAAACCGGAGAAAGGGTACA ACTTGCCC  
ATCATTCTCTGAACCAGAGATAA CACTCATTATTTTTGGGGTGATGGCTG  
GTGTTATTGGAACGATCCTCTTAATTTCTTACGGTATTCGCCGACTGATAA  
AGAAAAGCCCATCTGATGTAAAACCTCTCCCCTCACCTGACACAGACGTG  
CCTTTAAGTTCTGTTGAAATAGAAAATCCAGAGACAAGTGATCAA (SEQ  
ID NO: 51)。

【0176】 在一些具體例中，外源性多肽進一步包括前導(信號)序列。在一些具體例中，4-1BBL或其功能片段融合至前導(信號)序列。前導(信號)序列的非限制性實例包括表3中列出的胺基酸序列。在一些具體例中，前導(信號)序列包

括GPA信號肽。在一些具體例中，前導(信號)序列包括胺基酸序列SEQ ID NO：27。在一些具體例中，外源性多肽包括4-1BBL或其功能片段，及胺基酸序列SEQ ID NO：27的前導(信號)序列。在一些具體例中，外源性多肽包含包括胺基酸序列SEQ ID NO：27的前導(信號)序列，和具有胺基酸序列SEQ ID NO：48的4-1BBL。

**【0177】** 在一些具體例中，第二外源性多肽附接至類紅血球膜(例如，去核類紅血球的膜)。在一些具體例中，第二外源性多肽附接至去核類紅血球的細胞外表面。在一些具體例中，第二外源性多肽進一步包含將第二外源性多肽錨接至類紅血球膜(例如，去核類紅血球的膜)的錨接或跨膜結構域。在一些具體例中，錨接或跨膜結構域與第二外源性多肽(例如，4-1BBL)是異源的。在一些具體例中，錨接或跨膜結構域包括內源性紅血球跨膜蛋白或其片段或跨膜部分。在某些具體例中，錨接或跨膜結構域包括GPA或其跨膜部分。在一些具體例中，錨接或跨膜結構域包括小型整合膜蛋白1(SMIM1)、轉鐵蛋白受體、Fas配體(FasL)、凱爾帶3或其跨膜部分(例如，跨膜結構域)。在一些具體例中，第二外源性多肽可包含本文所述任何錨接或跨膜結構域。在一些具體例中，第二外源性多肽包含表1中列出的錨接或跨膜結構域。

**【0178】** 在一些具體例中，第二外源性多肽包括一或多個連接子(例如，本文所述任何例示性連接子)。例如，第二外源性多肽可以包括表2中提供的一或多個連接子。在一些具體例中，連接子設置在4-1BBL或其功能片段與第二外源性多肽中的錨接結構域或跨膜結構域之間。

**【0179】** 在一些具體例中，第二外源性多肽可進一步包括信號肽(例如，本文所述任何例示性信號肽)。例如，第二外源性多肽可以包括表3中提供的信號肽。

**【0180】** 在一些具體例中，外源性多肽包括信號肽、4-1BBL或其功能片段，和錨接。在一些具體例中，外源性多肽包括信號肽、4-1BBL或其功能片段、連接子，和錨接。在一些具體例中，外源性多肽包含(例如，從N端到C端)包括

胺基酸序列SEQ ID NO：27的信號肽、包括胺基酸序列SEQ ID NO：48的4-1BBL或其功能片段、包括胺基酸序列SEQ ID NO：52的連接子(例如，安置於4-1BBL或其功能片段和錨接之間)，及包括胺基酸序列SEQ ID NO：36的錨接。在一些具體例中，外源性多肽包含4-1BBL或其功能片段、連接子和錨接。在一些具體例中，外源性多肽包含(例如，從N端到C端)包括胺基酸序列SEQ ID NO：48的4-1BBL或其功能片段、包括胺基酸序列SEQ ID NO：52的連接子(例如，安置於4-1BBL或其功能片段和錨接之間)，以及包括胺基酸序列SEQ ID NO：36的錨接。在一些具體例中，外源性多肽包含胺基酸序列SEQ ID NO：50或由其組成。

**【0181】** 在一些具體例中，第一及/或第二外源性多肽可具有真核細胞(例如哺乳動物細胞，例如人類細胞)的轉譯後修飾特徵。在一些具體例中，一或多個(例如，2、3、4、5個或更多個)外源性蛋白被糖基化、磷酸化或兩者兼有。糖蛋白的活體外偵測通常在SDS-PAGE凝膠和西方墨點法上使用經修改的高碘酸席夫(Periodic acid-Schiff, PAS)方法完成。糖蛋白的細胞定位可以利用本技藝已知的凝集素螢光接合物來完成。磷酸化可以藉由西方墨點法使用磷酸特異性抗體進行評估。

**【0182】** 轉譯後修飾還包括接合至疏水性基團(例如，肉豆蔻醯化、棕櫚醯化、異戊二烯化、聚異戊二烯化或糖基磷脂醯肌醇化)、接合至輔因子(例如，脂醯化、黃素部分(例如，FMN或FAD)、血紅素C附接、磷酸泛硫醇化或視黃亞基席夫鹼形成)、二苯甲醯胺形成、乙醇胺磷酸甘油附接、腐胺離胺酸(hypusine)形成、醯化(例如O-醯化、N-醯化或S-醯化)、甲醯化、乙醯化、烷基化(例如甲基化或乙基化)、醯胺化、丁醯化、 $\gamma$ -羧化、丙二醯化、羥基化、碘化、核苷酸加成(諸如ADP-核糖基化)、氧化、磷酸酯(O-連接)或胺基磷酸酯(N-連接)形成、(例如，磷酸化或腺苷酸化)、丙醯化、焦麩胺酸形成、S-麩胱甘肽化、S-亞硝基化、琥珀醯化、硫酸化、ISG化、SUMO化、泛素化、類泛素化(Neddylaton)、或胺基酸的化學修飾(例如瓜胺酸化、去醯胺化、消除化或胺甲醯化)、二硫鍵形



成、(例如脯胺酸、絲胺酸、丙胺酸或甲硫胺酸的)外消旋化。在具體例中，糖基化包括向精胺酸、天冬醯胺酸、半胱胺酸、羥基離胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、酪胺酸或色胺酸添加糖基，產生糖蛋白。在具體例中，糖基化包含例如O-連接糖基化或N-連接糖基化。

**【0183】** 在一些具體例中，第一和第二外源性多肽是融合蛋白，例如，是具有內源性紅血球蛋白或其片段(例如跨膜蛋白，例如GPA或其跨膜片段)的融合體。在一些具體例中，一或多個外源性多肽與促進二聚化或多聚化的結構域融合，例如與視情況包含二聚化結構域的第二融合外源性多肽融合。在一些具體例中，二聚化結構域包含抗體分子的一部分，例如，Fc結構域或CH3結構域。在一些具體例中，第一和第二二聚化結構域包含孔內旋鈕突變(例如，T366Y旋鈕和Y407T孔)以促進異二聚化。

#### 錨接/跨膜結構域

**【0184】** 在一些具體例中，跨膜結構域包含第1型膜蛋白的跨膜結構域或由其組成。在一些具體例中，第1型膜蛋白選自由以下組成之群：血型糖蛋白A(GPA)；血型糖蛋白B(GPB)；basigin(也稱為CD147)；CD44；CD58(也稱為LFA3)；細胞間黏附分子4(ICAM4)；基底細胞黏附分子(BCAM)；CR1；CD99；紅血球母細胞膜相關蛋白(ERMAP)；連接黏附分子A(JAM-A)；神經澱粉蛋白(NPTN)；AMIGO2；和DS細胞黏附分子樣1(DSCAML1)。在一些具體例中，跨膜結構域包含第2型膜蛋白的跨膜結構域或由其組成。在一些具體例中，第2型膜蛋白選自由以下組成之群：小型整合膜蛋白1(SMIM1)、轉鐵蛋白受體(CD71)；Fas配體(FasL)跨膜；和凱爾。在一些具體例中，將外源性多肽錨接至去核類紅血球膜的多肽序列包含GPI連接的膜蛋白、由其組成或衍生自GPI連接的膜蛋白(例如其片段)。在一些具體例中，GPI連接的膜蛋白選自CD59；CD55；和臂板蛋7A(SEMA7A)。

【0185】在特定具體例中，跨膜結構域包含GPA或其跨膜部分。在不受到理論圍限的情況下，在某些具體例中，GPA是較佳的，因為它具有與網狀細胞細胞骨架交互作用的細胞質結構域，其在細胞分化和成熟時具有保留GPA的作用。在一些具體例中，跨膜結構域包含小型整合膜蛋白1(SMIM1)或其跨膜部分。在一些具體例中，錨接選自表1中列出的胺基酸序列。

表1. 錨接序列

SEQ ID NO:	序列名稱	序列說明	胺基酸序列
54	GPA	全長 GPA	MYGKIIFVLLLSAIVSISALSTTEVAMH TSTSSSVTKSYISSQTNDTHKRDTYAA TPRAHEVSEISVRTVYPPEEETGERVQ LAHHFSEPEITLIIFGVMAGVIGTILLIS YGIRRLIKKSPSDVKPLPSPD TDVPLSS VEIENPETS DQ
36	GPA	包含跨膜結構域之 GPA 的片段	LSTTEVAMHTSTSSSVTKSYISSQTND THKRDTYAA TPRAHEVSEISVRTVYPP EEETGE RVQLAHHFSEPEITLIIFGVMAG VIGTILLISYGIRRLIKKSPSDVKP LPSPD TDVPLSS VEIENPETS DQ
55	SMIM1	SMIM1	MQPQESHVHYSRWEDGSRDGVSLGA VSSTEEASRCRRISQRLCTGKLG IAMK VLGGVALFWIIFILGYLTGYVHKCK

【0186】在去核類紅血球包括第一和第二外源性多肽的一些具體例中，第一外源性多肽(例如本文所述任何外源性融合多肽)或第二外源性多肽(例如本文所述任何外源性多肽)包含內源性紅血球蛋白或其片段(例如跨膜蛋白，例如GPA或其跨膜片段)。在一些具體例中，外源性融合多肽或一或多個外源性多肽(例如，本文所述任何外源性多肽)與促進二聚化或多聚化的結構域融合，例如與視情況包含二聚化結構域的第二融合外源性多肽融合。在一些具體例中，二聚化結構域包含抗體分子的一部分，例如，Fc結構域或CH3結構域。在一些具體例中，

第一和第二二聚化結構域包含孔內旋鈕突變(例如，T366Y旋鈕和Y407T孔)以促進異二聚化。

## 連接子

**【0187】** 在去核類紅血球包括第一和第二外源性多肽的一些具體例中，第一外源性融合多肽(例如本文所述任何融合多肽)及/或第二外源性多肽(例如本文所述任何例示性多肽)可包括一或多個連接子。例如，連接子可設置在細胞因子多肽序列(例如，IL-15或其功能片段)與跨膜結構域序列之間，或IL-15或其功能片段與IL-15RA或其功能片段之間。在另一個實例中，連接子可設置在4-1BBL多肽、其功能片段與跨膜結構域序列之間。

**【0188】** 在一些具體例中，連接子包含以下或由以下組成：長度為1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20個或更多個胺基酸。在一些具體例中，連接子包含長度為約5至約25個胺基酸、長度為約5至約20個胺基酸、長度為約10至約25個胺基酸，或約10至約20個胺基酸或其組成。在一些具體例中，可用於本發明的連接子包含長度為10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20個胺基酸或其組成。在一個較佳具體例中，連接子是非免疫原性的。

**【0189】** 在一些具體例中，連接子選自表2中所示的胺基酸序列。

表2. 連接子序列

SEQ ID NO.	序列說明	胺基酸序列
56	G4S 連接子	GGGGS
29	(G4S) <sub>3</sub> 連接子	GGGGS GGGGS GGGGS
57	連接子-HA-連接子	GGSGSGGGYPYDVPDYAGGGSGGGGS
35	連接子	GGSGSGGGGGSGGGSGGGSGGGGS
52	連接子	GGSGSGGGPEDEPGSGSGGGSGGGGS
58	連接子	GSGSGSGSGSEDEDEDEDGSGSGSGSGGS
59	連接子	GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS
60	連接子	GSGSGSGSEDGSGSGSGGS
61	連接子	GSGSGSGSGSGSGSGSGGS
62	連接子	GCGSGGGGGSGGGGS

63	連接子	SGRGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSPA
64	連接子	GGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG
65	Snorkel 連接子	SGRGASSGSSGSGSQKKPRYEIRWKVV VISAILALVVLTVISLILIMLWGSQM SPA

【0190】 在一些具體例中，連接子包含胺基酸序列(GGGGS)<sub>n</sub> (SEQ ID NO：30)，其中n是1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。在一些具體例中，連接子由(GGGGS)<sub>n</sub>連接子(SEQ ID NO：30)組成，其中n為1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。在一些具體例中，連接子包含胺基酸序列GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO：29)。在一些具體例中，連接子由胺基酸序列SEQ ID NO：29組成。在一些具體例中，連接子包含胺基酸序列SEQ ID NO：57。在一些具體例中，連接子由胺基酸序列SEQ ID NO：57組成。在一些具體例中，連接子包含胺基酸序列SEQ ID NO：35。在一些具體例中，連接子由胺基酸序列SEQ ID NO：35組成。在一些具體例中，連接子包含胺基酸序列SEQ ID NO：52。在一些具體例中，連接子由胺基酸序列SEQ ID NO：52組成。可用於外源性融合多肽或外源性多肽(例如本文所述任何外源性多肽)的其他合適連接子是本技藝中已知的。

### 前導(信號)序列

【0191】 在去核類紅血球包括第一和第二外源性多肽的一些具體例中，第一外源性融合多肽或外源性多肽(例如本文所述任何例示性外源性多肽)包含前導(信號)序列。在一些具體例中，前導序列選自表3中列出的序列。

表3. 前導(信號)序列

SEQ ID NO.	序列說明	胺基酸序列
27	GPA 信號肽	MYGKIIFVLLLSEIVSISA
66	Ig 重鏈 V 區 3 訊息勝肽	MGWSCIIFLVATATGVHS
67	輕鏈前導	MRVPAQLLGLLLLWLPGARC

### 例示性去核類紅血球

【0192】 在一些具體例中，去核類紅血球包含以下組合：包含IL-15或其片段的第一外源性融合多肽，該IL-15或其片段連接至IL-15受體 $\alpha$ (IL-15R $\alpha$ )的細胞外部分或其片段(例如IL-15R $\alpha$  sushi結合結構域)，該IL-15受體 $\alpha$ (IL-15R $\alpha$ )的細胞外部分或其片段連接至跨膜蛋白(例如，GPA或其跨膜片段)；以及包含4-1BBL或其片段的第二外源性多肽，4-1BBL或其片段連接至跨膜蛋白(例如，GPA或其跨膜片段)；例如，如美國專利申請公開案第2019/0298769號中所述，以引用的方式併入本文)。

【0193】 在一些具體例中，本文所述的去核類紅血球(例如人類去核類紅血球)對一或多種次要血型抗原為陰性(即不包括)，例如Le(a $\cdot$ b $\cdot$ )(路易斯抗原系統(Lewis antigen system))、Fy(a $\cdot$ b $\cdot$ )(達菲系統(Duffy system))、JK(a $\cdot$ b $\cdot$ )(基德系統(Kidd system))、M $\cdot$ N $\cdot$  (MNS系統)、K $\cdot$ k $\cdot$  (凱爾系統(Kell system))，Lu(a $\cdot$ b $\cdot$ )(路德系統(Lutheran system))和H抗原陰性(孟買表型(Bombay phenotype))或其任何組合。在一些具體例中，該等去核類紅血球也是O型及/或Rh $\cdot$ 。次要血型描述於，例如Agarwal et al., “Blood group phenotype frequencies in blood donors from a tertiary care hospital in north India,” *Blood Res.* 48(1):51-54, 2013，以及Mitra et al., “Blood groups systems,” *Indian J. Anaesth.* 58(5):524-528, 2014中，其說明以引用的方式併入本文。

【0194】 在一些具體例中，本文所述的去核類紅血球(例如，人類去核類紅血球)展現出與不包含外源性蛋白(例如本文所述或技藝中已知的任何外源性蛋白)之經分離、未經培養的去核類紅血球基本上相同的滲透膜脆性(osmotic membrane fragility)。在一些具體例中，去核類紅血球之群組在0.3%、0.35%、0.4%、0.45%或0.5% NaCl下具有少於50%細胞溶解的滲透脆性。在一些具體例中，使用WO 2015/073587的實例59 (其說明以引用的方式併入本文)中所述方法來測定滲透脆性。

【0195】 在一些具體例中，去核類紅血球(例如人類去核類紅血球)具有與野生型、未經處理的去核類紅血球大致相同的直徑或體積。在一些具體例中，去核類紅血球(例如人類去核類紅血球)群的平均直徑為約4、5、6、7、8、9、10、11或12微米，或約4.0至約12.0微米、約4.0至約11.5微米、約4.0至約11.0微米、約4.0至約10.5微米、約4.0至約10微米、約4.0至約9.5微米、約4.0至約9.0微米、約4.0至約8.5微米、約4.0至約8.0微米、約4.0至約7.5微米、約4.0至約7.0微米、約4.0至約6.5微米、約4.0至約6.0微米、約4.0至約5.5微米、約4.0至約5.0微米、約4.0至約4.5微米、約5.0至約12.0微米、約5.0至約11.5微米、約5.0至約11.0微米、約5.0至約10.5微米、約5.0至約10.0微米、約5.0至約9.5微米、約5.0至約9.0微米、約5.0至約8.5微米、約5.0至約8.0微米、約5.0至約7.5微米、約5.0至約7.0微米、約5.0至約6.5微米、約5.0至約6.0微米、約5.0至約5.5微米、約6.0至約12.0微米、約6.0至約11.5微米、約6.0至約11.0微米、約6.0至約10.5微米、約6.0至約10.0微米、約6.0至約9.5微米、約6.0至約9.0微米、約6.0至約8.5微米、約6.0至約8.0微米、約6.0至約7.5微米、約6.0至約7.0微米、約6.0至約6.5微米、約7.0至約12.0微米、約7.0至約11.5微米、約7.0至約11.0微米、約7.0至約10.5微米、約7.0至約10.0微米、約7.0至約9.5微米、約7.0至約9.0微米、約7.0至約8.5微米、約7.0至約8.0微米、約7.0至約7.5微米、約8.0至約12.0微米、約8.0至約11.5微米、約8.0至約11.0微米、約8.0至約10.5微米、約8.0至約10.0微米、約8.0至約9.5微米、約8.0至約9.0微米、約8.0至約8.5微米、約9.0至約12.0微米、約9.0至約11.5微米、約9.0至約11.0微米、約9.0至約10.5微米、約9.0至約10.0微米、約9.0至約9.5微米、約10.0至約12.0微米、約10.0至約11.5微米、約10.0至約11.0微米、約10.0至約10.5微米、約11.0至約12.0微米、約11.0至約11.5微米，或約11.5至約12.0微米，並且細胞群的標準偏差視情況少於1、2或3微米。可以例如使用Advia 120血液學系統或Moxi Z細胞計數器(Orflo)測量去核類紅血球直徑。

【0196】 在一些具體例中，去核類紅血球的平均紅血球容積的容積為約10 fL至約175 fL、約10 fL至約160 fL、約10 fL至約140 fL、約10 fL至約120 fL、約10 fL至約100 fL、約10 fL至約90 fL、約10 fL至約80 fL、約10 fL至約70 fL、約10 fL至約60 fL、約10 fL至約50 fL、約10 fL至約40 fL、約10 fL至約30 fL、約10 fL至約20 fL、約20 fL至約175 fL、約20 fL至約160 fL、約20 fL至約140 fL、約20 fL至約120 fL、約20 fL至約100 fL、約20 fL至約90 fL、約20 fL至約80 fL、約20 fL至約70 fL、約20 fL至約60 fL、約20 fL至約50 fL、約20 fL至約40 fL、約20 fL至約30 fL、約30 fL至約175 fL、約30 fL至約160 fL、約30 fL至約140 fL、約30 fL至約120 fL、約30 fL至約100 fL、約30 fL至約90 fL、約30 fL至約80 fL、約30 fL至約70 fL、約30 fL至約60 fL、約30 fL至約50 fL、約30 fL至約40 fL、約40 fL至約175 fL、約40 fL至約160 fL、約40 fL至約140 fL、約40 fL至約120 fL、約40 fL至約100 fL、約40 fL至約90 fL、約40 fL至約80 fL、約40 fL至約70 fL、約40 fL至約60 fL、約40 fL至約50 fL、約50 fL至約175 fL、約50 fL至約160 fL、約50 fL至約140 fL、約50 fL至約120 fL、約50 fL至約100 fL、約50 fL至約90 fL、約50 fL至約80 fL、約50 fL至約70 fL、約50 fL至約60 fL、約60 fL至約175 fL、約60 fL至約160 fL、約60 fL至約140 fL、約60 fL至約120 fL、約60 fL至約100 fL、約60 fL至約90 fL、約60 fL至約80 fL、約60 fL至約70 fL、約70 fL至約175 fL、約70 fL至約160 fL、約70 fL至約140 fL、約70 fL至約120 fL、約70 fL至約100 fL、約70 fL至約90 fL、約70 fL至約80 fL、約80 fL至約175 fL、約80 fL至約160 fL、約80 fL至約140 fL、約80 fL至約120 fL、約80 fL至約100 fL、約80 fL至約90 fL、約100 fL至約175 fL、約100 fL至約160 fL、約100 fL至約140 fL、約100 fL至約120 fL、約120 fL至約175 fL、約120 fL至約160 fL、約120 fL至約140 fL、約140 fL至約175 fL，約140 fL至約160 fL或約160 fL至約175 fL，且視情況群的標準偏差少於50、40、30、20、10、5或2 fL。可以例如使用血液分析儀(例如，Coulter計數器，Moxi Z細胞計數器(Orflo)或Sysmex血液分析儀)來測定平均紅血球容積。

【0197】 在一些具體例中，本文所述的去核類紅血球具有本文所述的一或多種(例如，2、3、4種或更多種)物理特性，例如，滲透脆性、細胞大小、血紅素濃度或磷脂醯絲胺酸含量。儘管不希望受到理論所囿限，但在一些具體例中，表現外源性蛋白的去核類紅血球具有類似於野生型、未經處理的去核類紅血球的物理特徵。相反地，低滲負荷的去核類紅血球有時會表現出異常的物理特徵，諸如滲透脆性增加、細胞大小改變、血紅素濃度降低或細胞膜外葉上的磷脂醯絲胺酸含量提高。

【0198】 在一些具體例中，去核類紅血球包含由未被細胞保留、未被純化或未完全存在於去核類紅血球外的外源性核酸所編碼的外源性蛋白。在一些具體例中，去核類紅血球在缺乏穩定劑的組成物中。

【0199】 在一些具體例中，去核類紅血球具有與野生型、未經處理的去核類紅血球相似的血紅素含量。在一些具體例中，去核類紅血球包含大於1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%或大於10%的胎兒血紅素。在一些具體例中，去核類紅血球包含至少約20、22、24、26、28或30 pg，並且視情況至多約30 pg的總血紅素。在一些具體例中，使用WO2015/073587的實例33的Drabkin氏試劑方法來測定血紅素含量。

【0200】 在一些具體例中，去核類紅血球在其細胞膜的外葉上具有與野生型、未經處理的去核類紅血球大致相同的磷脂醯絲胺酸含量。磷脂醯絲胺酸主要存在於野生型、未經處理的去核類紅血球的細胞膜內葉上，而低滲負荷會導致磷脂醯絲胺酸分佈到外葉上，從而引發免疫反應。在一些具體例中，去核類紅血球之群組包含小於約30、25、20、15、10、9、8、6、5、4、3、2或1%的對膜聯蛋白V染色呈陽性的細胞。在一些具體例中，藉由對偏好結合PS的膜聯蛋白-V-FITC染色並藉由流動式細胞術測量FITC螢光來評估磷脂醯絲胺酸暴露，例如，使用WO2015/073587的實例54的方法。



【0201】 在一些具體例中，去核類紅血球之群組包含至少約50%、60%、70%、80%、90%或95%(和視情況至多90%或100%)的GPA陽性細胞。在一些具體例中，使用FACS偵測GPA的存在。

【0202】 在一些具體例中，去核類紅血球在個體中具有至少30、45或90天的半衰期。

【0203】 在一些具體例中，包含去核類紅血球的細胞群包含少於約10、5、4、3、2或1%的鋸齒狀紅血球(echinocyte)。

【0204】 在一些具體例中，可以將包括複數個去核類紅血球的組成物投予給個體(例如本文所述任何個體)。在這樣的具體例中，組成物中大於50%、大於60%、大於70%、大於80%或大於90%的細胞可能是去核的。在一些具體例中，細胞(例如去核類紅血球)含有無功能的細胞核，例如已被不活化的。

【0205】 在本文所述任何組成物的一些具體例中，去核類紅血球是人類(例如衍生自人類供體類紅血球細胞前驅物)去核類紅血球。

【0206】 在本文所述任何組成物的一些具體例中，去核類紅血球是經工程改造的人類去核類紅血球。在一些實例中，經工程改造的去核類紅血球包含單一外源性蛋白。在其他實例中，經工程改造的去核類紅血球包含兩種或更多種外源性蛋白(例如本文所述任何例示性外源性蛋白)。

【0207】 在一些具體例中，存在於該經工程改造去核類紅血球膜上的外源性蛋白可以是點擊化學反應的產物(例如，外源性蛋白可以使用本文所述任何方法接合至存在於細胞膜上的蛋白(例如，第二外源性蛋白或內源性蛋白))。在一些具體例中，存在於經工程改造去核類紅血球的膜上的外源性蛋白可以是使用分選酶之接合反應的產物(例如，外源性蛋白可以使用本文所述任何方法接合至存在於細胞膜上的蛋白(例如，第二外源性蛋白或內源性蛋白))。使用分選酶之接合反應的非限制性實例可以在美國專利第10,260,038號和美國專利公開案第2016/0082046 A1中找到。在一些具體例中，存在於工程改造去核類紅血球的膜

上的外源性蛋白可以是脂質錨接的蛋白，例如GPI錨接蛋白、N-肉豆蔻醯化蛋白或S-棕櫚醯化蛋白。在一些具體例中，存在於經工程改造去核類紅血球的膜上的外源性蛋白可以是跨膜蛋白(例如，單程或多程跨膜蛋白)或周邊膜蛋白。在一些具體例中，存在於經工程改造去核類紅血球的膜上的外源性蛋白可以是包含跨膜結構域的融合蛋白(例如，包含小型整合膜蛋白1(SMIM1)或血型糖蛋白A(GPA)之跨膜結構域的融合蛋白)。在一些具體例中，存在於經工程改造去核類紅血球的膜上的外源性蛋白不具有伸入細胞外空間的任何胺基酸。在一些具體例中，存在於經工程改造去核類紅血球的膜上的外源性蛋白不具有伸入經工程改造去核類紅血球之細胞質中的任何胺基酸。在一些具體例中，存在於經工程改造去核類紅血球的膜上的外源性蛋白具有伸入細胞外空間的胺基酸以及伸入經工程改造去核類紅血球的細胞質中的胺基酸。在WO2014/183071或WO2014/183066中說明了使用分選(sortagging)產生去核類紅血球的例示性方法，其各自以全文引用的方式併入。

【0208】該等經工程改造去核類紅血球可以藉由將編碼一或多個外源性蛋白(例如，本文所述或技藝中已知任何外源性蛋白)之一或多個核酸(例如，DNA表現載體或mRNA)引入類紅血球細胞前驅物(例如，本文所述或技藝中已知的任何類紅血球細胞前驅物)而產生。用於將DNA表現載體引入類紅血球細胞前驅物中的例示性方法包括，但不限於脂質體媒介的轉移、轉形、基因槍，轉染和轉導，例如病毒媒介的基因轉移(例如，使用包括腺病毒載體、腺相關病毒載體、慢病毒載體、疱疹病毒載體，以及逆轉錄病毒為基礎的載體來進行)。用於將DNA表現載體引入類紅血球細胞前驅物中的其他例示性方法包括使用，例如裸DNA、CaPO<sub>4</sub>沉澱、DEAE聚葡糖、電穿孔、原生質體融合，脂質轉染和細胞顯微注射。

【0209】可視情況例如在引入編碼一或多個外源性蛋白的一或多個核酸之前及/或之後，於適當條件下培養類紅血球細胞前驅物，從而允許分化成經工程改造去核類紅血球。在一些具體例中，所得的經工程改造去核類紅血球包含

與成熟紅血球有關的蛋白質，例如血紅素(例如，成人血紅素及/或胎兒血紅素)，血型糖蛋白A以及外源性蛋白，且可藉由標準方法予以驗證和定量(例如西方墨點法或FACS分析)。

**【0210】** 在一些具體例中，兩種或更多種外源性多肽在單一核酸(例如單一載體)中編碼。在具體例中，單一載體對每個基因有不同的啟動子，具有最初被轉錄成在中間具有蛋白酶切割位點的單一多肽的兩種蛋白質，以便隨後的蛋白水解加工產生兩個外源性蛋白，或任何其他合適的構型。在一些具體例中，兩條或更多條多肽在兩個或更多個核酸中編碼，例如，每個載體編碼一條外源性多肽。

**【0211】** 核酸可能是例如DNA或RNA。許多病毒可用作基因轉移載體，包括逆轉錄病毒、莫洛尼氏鼠類白血病毒(Moloney murine leukemia virus, MMLV)、腺病毒、腺相關病毒(AAV)、單純疱疹病毒(HSV)、慢病毒(諸如人類免疫缺陷病毒1(HIV1))，和泡沫反轉錄病毒(spumavirus)(諸如泡沫病毒(foamy virus))。

**【0212】** 在一些具體例中，去核類紅血球擴增至至少1000、2000、5000、10,000、20,000、50,000或100,000倍(並且視情況至多200,000或500,000倍)。在一些具體例中，使用自動細胞計數器測量細胞數量。

**【0213】** 在一些實例中，可以用編碼外源性蛋白之mRNA轉染去核類紅血球或類紅血球細胞前驅物，以生成經工程改造的去核類紅血球。信使RNA可衍生自活體外轉錄含有編碼外源性蛋白之序列的cDNA質體構建體。例如，可以將編碼外源性蛋白之cDNA序列插入含有與特定RNA聚合酶相容的啟動子序列的選殖載體中。例如，選殖載體ZAP Express® pBK-CMV (Stratagene, La Jolla, Calif., USA)含有分別與T3和T7 RNA聚合酶相容的T3和T7啟動子序列。就活體外轉錄有義mRNA來說，質體在對應於編碼外源性蛋白之序列結束的終止密碼子下游的限制位點處被線性化。mRNA從線性DNA模板使用商用套組被轉錄，商用套組

為諸如例如RNAMaxx® High Yield Transcription Kit (來自Stratagene, La Jolla, Calif., USA)。在一些情況下，可能需要產生5'-m7GpppG-加帽的mRNA。這樣，可以使用例如來自Ambion (Austin, Tex., USA)的mMESSAGE mMACHINE High Yield Capped RNA Transcription Kit進行線性化cDNA模板的轉錄。可以在20-100  $\mu$ l的反應體積中於37°C下進行轉錄歷時30分鐘至4 h。所轉錄的mRNA藉由用DNaseI的簡短處理而從反應混合物被純化，以消除線性化DNA模板，然後在氯化鋰，乙酸鈉或乙酸銨存在下，沉澱於70%乙醇中。可以使用瓊脂糖甲醛凝膠或市售可用的Novex預鑄TBE凝膠(Novex, Invitrogen, Carlsbad, Calif., USA)進行電泳，評估所轉錄的mRNA完整性。

【0214】編碼外源性蛋白的信使RNA可以使用不同方法被引入去核類紅血球或類紅血球細胞前驅物，不同方法包括，例如脂質轉染和電穿孔(van Tandeloo et al., *Blood* 98:49-56, 2001)。關於脂質轉染，例如5  $\mu$ g活體外經轉錄mRNA於Opti-MEM (Invitrogen, Carlsbad, Calif., USA)中以1:4的比例與陽離子脂質DMRIE-C (Invitrogen)培育5-15分鐘。

【0215】或者，可以使用各種其他陽離子脂質或陽離子聚合物，以用mRNA轉染類紅血球細胞前驅物，包括例如DOTAP、各種形式的聚乙烯亞胺和聚L-離胺酸(Sigma-Aldrich, Saint Louis, Mo., USA)與Superfect (Qiagen, Inc., Valencia, Calif., USA；參見，例如Bettinger et al., *Nucleic Acids Res.* 29:3882-3891, 2001)。所得到的mRNA/脂質複合物與細胞(1 -  $2 \times 10^6$ 個細胞/mL)在37°C下培育歷時2小時、洗滌，並回到培養。關於電穿孔，例如將500  $\mu$ L Opti-MEM (Invitrogen, Carlsbad, Calif., USA)中約5至 $20 \times 10^6$ 個細胞與約20  $\mu$ g活體外經轉錄mRNA混合，並在0.4-cm比色管中進行電穿孔，例如使用Easyject Plus裝置(EquiBio, Kent, United Kingdom)。在一些情況下，可能需要測試各種電壓，電容和電穿孔體積，以確定用於將特定mRNA轉染至類紅血球細胞前驅物中的條件。一般來說，用

mRNA有效轉染細胞所需的電穿孔參數比起那些用於DNA電穿孔所需者(van Tandeloo et al., *Blood* 98:49-56, 2001)較為無害。

【0216】 或者，mRNA可以使用肽媒介的RNA遞送策略被轉染至去核類紅血球或類紅血球細胞前驅物(參見，例如Bettinger et al., *Nucleic Acids Res.* 29:3882-3891, 2001)。例如，可以將陽離子脂質聚乙烯亞胺2 kDA (Sigma-Aldrich, Saint Louis, Mo., USA)與蜂毒肽(Alta Biosciences, Birmingham, UK)組合以提高mRNA轉染的效率，特別是在有絲分裂後的原代細胞中。可以使用二硫化物交聯劑(諸如，例如雜雙功能交聯劑3-(2-吡啶基二硫)丙酸琥珀醯亞胺酯)將蜂毒肽接合至PEI。經活體外轉錄的mRNA與蜂毒肽-PEI預培育歷時5至15分鐘，以形成RNA/肽/脂質複合物。然後將這個複合物於37°C下、5% CO<sub>2</sub>濕潤環境的無血清培養基中添加至細胞歷時2至4小時，之後移除，並進一步培養經轉染的細胞。

【0217】 在一些具體例中，藉由將編碼一或多個外源性蛋白(例如，本文所述任何外源性蛋白或外源性蛋白的任何組合)的核酸(例如，本文所述任何例示性核酸)引入類紅血球細胞前驅物來生成經工程改造的去核類紅血球。在一些具體例中，外源性蛋白是由被引入類紅血球細胞前驅物中的DNA所編碼。在一些具體例中，外源性蛋白是由被引入類紅血球細胞前驅物的RNA所編碼。

【0218】 編碼一或多個外源性蛋白的核酸可以在末端分化成去核類紅血球之前，使用各種DNA技術而被引入類紅血球細胞前驅物，DNA技術包括，例如瞬時或穩定轉染和基因療法方法。

【0219】 病毒基因轉移可用於以編碼一或多個外源性蛋白的核酸來轉染細胞。許多病毒可用作基因轉移載體，包括莫洛尼氏鼠類白血病病毒(MMLV)、腺病毒、腺相關病毒(AAV)、單純皰疹病毒(HSV)、慢病毒(諸如人類免疫缺陷病毒1 (HIV1))，和泡沫反轉錄病毒(諸如泡沫病毒)(參見，例如Osten et al., *HEP* 178:177-202, 2007)。舉例來說，逆轉錄病毒有效地轉導包括人類細胞在內的哺乳動物細胞且併入染色體中，從而提供穩定的基因轉移。

【0220】 編碼一或多個外源性蛋白的核酸可被轉染至類紅血球細胞前驅物中。合適的載體是莫洛尼氏鼠類白血病病毒(MMLV)載體(Malik et al., *Blood* 91:2664-2671, 1998)。基於MMLV的載體(一種致癌逆轉錄病毒)目前用於基因療法臨床試驗中(Hassle et al., *News Physiol. Sci.* 17:87-92, 2002)。例如，含有編碼外源性蛋白之cDNA的DNA構建體可以使用標準分子生物學技術在MMLV載體骨架中生成。將構建體轉染到包裝細胞株(諸如例如PA317細胞)中，且病毒上清液用於轉染生產細胞(諸如例如PG13細胞)。PG13病毒上清液與類紅血球細胞前驅物一起培育。外源性蛋白的表現可以使用FACS分析(螢光-活化細胞分選)來監控，例如，使用針對外源性蛋白之螢光標記抗體(如果它是存在於經工程改造人類去核類紅血球的膜上)。類似方法可用於存在於經工程改造人類去核類紅血球之細胞質中的外源性蛋白。

【0221】 視情況，可以使用基於病毒的方法將編碼螢光追蹤分子(諸如，例如綠色螢光蛋白(GFP))的核酸轉染到類紅血球細胞前驅物中(Tao et al., *Stem Cells* 25:670-678, 2007)。使用包裝細胞(諸如，例如Phoenix-Eco細胞株(由Orbigen, San Diego, Calif.經銷)來包裝含有編碼增強綠色螢光蛋白(EGFP)或紅色螢光蛋白(例如，DsRed-Express)之DNA的異位逆轉錄病毒載體。包裝細胞株穩定地表現適當病毒包裝所需的病毒蛋白，包括例如gag，pol和env。來自已脫落病毒顆粒的Phoenix-Eco細胞上清液可用於轉導類紅血球細胞前驅物。在一些情況下，轉導可以在特殊塗覆的表面(諸如例如重組織網蛋白的片段)上進行，以增進逆轉錄病毒媒介的基因轉移效率(例如，RetroNectin, Takara Bio USA, Madison, Wis.)。將細胞培育在具有逆轉錄病毒Phoenix-Eco上清液與合適輔因子的經RetroNectin塗覆盤中。次日可重複進行轉導。在這種情況下，可以藉由FACS評估表現EGFP或DsRed-Express的類紅血球細胞前驅物百分率。其它可用於評估轉導效率的報導基因包括，例如 $\beta$ -半乳糖苷酶、氯黴素乙醯轉移酶和螢光素酶，以及低親和力

神經生長因子受體(LNGFR)，還有人類細胞表面CD24抗原(Bierhuizen et al., *Leukemia* 13:605-613, 1999)。

【0222】非病毒載體可被用於將編碼一或多個外源性蛋白的核酸引入類紅血球細胞前驅物，以生成經工程改造的去核類紅血球。多種遞送方法可用於將非病毒載體引入類紅血球細胞前驅物中，包括化學和物理方法。

【0223】可以使用合成大分子(諸如陽離子脂質和聚合物)，將編碼外源性蛋白的非病毒載體引入類紅血球細胞前驅物(Papapetrou et al., *Gene Therapy* 12:S118-S130, 2005)。陽離子脂質體例如透過電荷交互作用與DNA形成複合物。帶正電荷的DNA/脂質複合物結合至負電荷細胞表面，並藉由內吞作用被細胞攝入。這個方法可以用於例如轉染造血細胞(參見，例如Keller et al., *Gene Therapy* 6:931-938, 1999)。關於類紅血球細胞前驅物，將質體DNA (在無血清培養基中，諸如例如OptiMEM (Invitrogen, Carlsbad, CA)中)與陽離子脂質體(在無血清培養基中)(諸如商用轉染試劑Lipofectamine™(Invitrogen, Carlsbad, Calif.))混合，並培育至少20分鐘以形成複合物。DNA/脂質體複合物被加入類紅血球細胞前驅物，並使其培育5-24小時，之後分析外源性蛋白的轉基因表現。或者，可以使用其他商用脂質體轉染試劑(例如，In vivo GeneSHUTTLE™, Qbiogene, Carlsbad, Calif.)。

【0224】視情況，陽離子聚合物(諸如，例如聚乙烯亞胺(PEI))可用於有效轉染類紅血球細胞前驅物，例如造血和臍帶血衍生的CD34<sup>+</sup>細胞(參見，例如Shin et al., *Biochim. Biophys. Acta* 1725:377-384, 2005)。從人類臍帶血中分離出人類CD34<sup>+</sup>細胞，並培養在經Iscove氏改良的Dulbecco氏培養基中，該培養基中補充有200 ng/ml幹細胞因子和20%熱不活化血清。編碼外源性蛋白的質體DNA與尺寸不同(從0.8 K至750 K)(Sigma Aldrich, Saint Louis, Mo., USA ; Fermetas, Hanover, Md., USA)的分支或線性PEI一起培育。以4.2 mg/mL蒸餾水製備PEI原液，並使用HCl將其略微酸化至pH 5.0。基於1 μg DNA含有3 nmol磷酸根而1 μL PEI原液含有10 nmol胺氮的算式，可以在室溫下以各種氮/磷酸根比率將DNA與PEI混合30

分鐘。經分離的CD34<sup>+</sup>細胞與DNA/陽離子複合物一起接種，在280 xg下離心5分鐘並在培養基中培育4小時或更多個小時，直至評估到外源性蛋白表現。

**【0225】** 質體載體可以使用物理方法被引入到合適的類紅血球細胞前驅物，物理方法為諸如顆粒媒介的轉染、「基因槍」、生物槍(biolistics)或顆粒轟擊技術(Papapetrou, et al., *Gene Therapy* 12:S118-S130, 2005)。在這種情況下，編碼外源性蛋白的DNA被吸附到金顆粒上，並藉由顆粒槍被投予至細胞。例如，這個方法可用於轉染類紅血球細胞前驅物，例如衍生自臍帶血的造血幹細胞(參見，例如Verma et al., *Gene Therapy* 5:692-699, 1998)。這樣一來，分離出臍帶血並將在磷酸鹽緩衝鹽水中稀釋三倍。使用抗CD34單株抗體結合塗有二級抗體的磁性微珠和磁性分離系統(例如，Miltenyi MiniMac System, Auburn, Calif., USA)來純化CD34<sup>+</sup>細胞。可如本文所述培養富含CD34<sup>+</sup>細胞。關於轉染，藉由用氯化鈣和精三胺處理，使編碼外源性蛋白的質體DNA沉澱到顆粒(例如，金珠粒)上。用乙醇洗滌塗覆有DNA的珠粒之後，可以使用例如Biolistic PDS-1000/He系統(Bio-Rad, Hercules, Calif., USA)將珠粒遞送到培養的細胞中。報導基因(諸如，例如β-半乳糖苷酶、氯黴素乙醯轉移酶，螢光素酶或綠色螢光蛋白)可用於評估轉染效率。

**【0226】** 視情況，可以使用電穿孔方法將質體載體引入類紅血球細胞前驅物中。電穿孔在細胞膜中產生瞬時孔，從而允許將各種分子(包括例如DNA和RNA)引入細胞中。這樣一來，如本文所述分離並培養CD34<sup>+</sup>細胞。就在電穿孔前，藉由以250xg於室溫下離心10分鐘將細胞分離，並以0.2-10×10<sup>6</sup>個活細胞/ml再懸浮在電穿孔緩衝液中，電穿孔緩衝液為諸如，例如X-VIVO 10，補充有1.0%人類血清白蛋白(HSA)。將質體DNA (1-50 μg)與500 μL細胞懸浮液一起添加到適當的電穿孔比色管中。

**【0227】** 可以使用例如ECM 600電穿孔儀(Genetronics, San Diego, Calif., USA)以範圍200 V至280 V的電壓和範圍25至70毫秒的脈衝長度來進行電穿孔。



許多的替代電穿孔儀器是可商購的並且可以用於此目的(例如，Gene Pulser Xcell™, BioRad, Hercules, Calif.；Cellject Duo, Thermo Science, Milford, Mass.)。或者，可以使用以下參數對經分離的CD34<sup>+</sup>細胞進行有效電穿孔：4 mm比色管，1600  $\mu$ E，550 V/cm和每500  $\mu$ L的 $1 \times 10^5$ 個細胞/mL有10  $\mu$ g DNA (Oldak et al., *Acta Biochim.Polonica* 49：625-632，2002)。

【0228】核轉染(一種電穿孔的形式)也可用於轉染類紅血球細胞前驅物。在這種情況下，轉染是在細胞類型特異性溶液中使用電參數進行，其使得DNA(或其他試劑)直接轉運至細胞核，從而降低了可能在細胞質中降解的風險。例如，Human CD34 Cell Nucleofector™ Kit (來自Amaza Inc.)可用於轉染類紅血球細胞前驅物。在這種情況下，將Human CD34 Cell Nucleofector™ Solution中的 $1-5 \times 10^6$ 個細胞與1-5  $\mu$ g DNA混合，並使用經製造商決定的預程式化設定在Nucleofector™儀器中進行轉染。

【0229】可用習知表現載體對類紅血球細胞前驅物進行非病毒轉染，除非將其併入基因體中，否則習知表現載體將無法在哺乳動物細胞中自我複製。或者，類紅血球細胞前驅物可以用游離基因體載體轉染，其在宿主細胞核中作為自體複製遺傳單元而不會併入染色體中(Papapetrou et al., *Gene Therapy* 12:S118-S130, 2005)。這些載體利用了潛伏感染後通常會在染色體外複製的病毒所衍生的遺傳要素，這些病毒為諸如例如EBV、人類多瘤病毒BK、牛乳頭瘤病毒-1(BPV-1)、單純胞疹病毒-1(HSV)，和猿猴病毒40(SV40)。哺乳動物人工染色體也可用於非病毒基因轉移(Vanderbyl et al., *Exp. Hematol.* 33:1470-1476, 2005)。

【0230】編碼一或多個外源性蛋白的外源性核酸可以藉由本技藝中已知的標準分子生物學方法(例如限制消化、重疊延伸PCR和吉布森裝配)而被組裝成表現載體。

【0231】 外源性核酸可包含編碼通常不存在於細胞表面(例如去核類紅血球的細胞表面)上的外源性蛋白的基因，該基因融合至編碼內源性或天然膜蛋白的基因，從而在細胞表面上表現外源性蛋白。例如，可將編碼外源性蛋白的外源性基因選殖在N端處(在第1型膜蛋白前導序列之後)、第2型膜蛋白的C端處，或GPI連接膜蛋白之GPI附接位點的上游。

【0232】 可以使用標準選殖方法在兩個融合基因之間引入撓性胺基酸連接子。舉例來說，撓性連接子是聚甘胺酸聚絲胺酸連接子，諸如[Gly<sub>4</sub>Ser]<sub>3</sub>(SEQ ID NO：29)，通常用於從全長抗體生成單鏈抗體片段(*Antibody Engineering: Methods & Protocols*, B. Lo, ed., Humana Press, 2004, 576 pp.)，或Ala-Gly-Ser-Thr (SEQ ID NO：68)多肽，諸如那些用於生成單鏈Arc抑制子者(Robinson & Sauer, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. U.S.A.* 95: 5929-34, 1998)。在一些具體例中，撓性連接子為外源性蛋白提供了比沒有撓性連接子的等效構建體更大彈性和空間自由度。這增加了靈活性，可用於要求結合至目標(例如，抗體或蛋白質，或蛋白質的酶促反應)的應用中，其中活性位點必須是受質(例如目標)可接近的。

【0233】 在一些具體例中，所提供的方法包括藉由使類紅血球細胞前驅物與核酸接觸，並在有效向細胞遞送核酸(諸如彼等本文所述者)的條件下藉由電穿孔將核酸引入細胞，而將大型核酸分子(特別是RNA，諸如mRNA)遞送到類紅血球細胞前驅物。合適的電穿孔儀包括，但不限於Bio-Rad GENE PULSER與GENE PULSER II；Life Technologies NEON；BTX GEMINI系統；和MAXCYTE電穿孔儀。這些方法不需要病毒遞送或使用病毒載體。合適的核酸包括RNA，諸如mRNA。合適的核酸還包括DNA(包括可轉位元件、穩定的游離基因體，質體DNA或線性DNA)。

【0234】 關於細胞株電穿孔的條件已由例如Van Tendeloo et al., *Blood* 98(1):49-56, 200的文獻描述過。針對Life Technologies Neon Transfection System，本文所述方法的合適電穿孔條件包括：脈衝電壓範圍約500至約2000 V、約800

至約1800 V或約850至約1700 V；脈衝寬度範圍約5至約50 msec，或約10至約40 msec；而脈衝數範圍1至2個脈衝、1至3個脈衝，1至4個脈衝或1至5個脈衝。

【0235】關於類紅血球細胞前驅物電穿孔，尤其合適的條件包括，例如持續4天：a)脈衝電壓1300-1400，脈衝寬度：10-20 msec，脈衝數：1-3；b)脈衝電壓1400，脈衝寬度：10 msec，脈衝數：3；c)脈衝電壓1400，脈衝寬度：20 msec，脈衝數：1；以及d)脈衝電壓1300，脈衝寬度：10 msec，脈衝數：3。

【0236】關於類紅血球細胞前驅物電穿孔，尤其合適的條件包括，例如持續8-9天：a)脈衝電壓：1400-1600，脈衝寬度：20，脈衝數：1；b)脈衝電壓：1100-1300，脈衝寬度：30，脈衝數：1；c)脈衝電壓：1000-1200，脈衝寬度：40，脈衝數：1；d)脈衝電壓：1100-1400，脈衝寬度：20，脈衝數：2；e)脈衝電壓：950-1150，脈衝寬度：30，脈衝數：2；f)脈衝電壓：1300-1600，脈衝寬度：10，脈衝數：3。這些條件通常使得轉染效率為至少約60%或更多(例如，至少約為65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或至少約97%，或更多)，且細胞生存力為至少約70%或更多(例如，至少約75%、80%、85%、90%、95%或至少約97%，或更多)。

【0237】在分化條件下，關於培養中的類紅血球細胞前驅物電穿孔，尤其合適的條件包括，例如持續12-13天：a)脈衝電壓：1500-1700，脈衝寬度：20，脈衝數：1；以及b)脈衝電壓：1500-1600，脈衝寬度：10，脈衝數：3。這些條件通常使得轉染效率為至少約50%或更多(例如，至少約55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或至少約97%，或更多)，且細胞生存力為至少約70%或更多(例如，至少約75%、80%、85%、90%、95%或至少約97%，或更多)。

【0238】本文揭示的條件可由習於技藝者參考Life Technologies Neon系統來簡單調整，以便僅僅利用常規實驗就可以配合不同的電穿孔儀及/或不同的電穿孔裝置，且就所揭示的方法來說，本文所述的具體電穿孔儀並沒有限制。

【0239】 在一些具體例中，使用本文所述的電穿孔條件，將培養的類紅血球細胞前驅物進行第一次電穿孔，然後培養一段預期時間(視情況在分化條件下)，並接著進行第二次再電穿孔。在一些具體例中，將培養的類紅血球細胞前驅物進行第一次電穿孔，然後培養一段預期時間(視情況在分化條件下)，並接著進行第二、第三、第四，第五或第六次再電穿孔。視情況，可以變更第一次和第二次，第二次和第三次電穿孔等之間的培養期間。例如，電穿孔之間的期間可以根據需要進行調整，例如該期間可以是30分鐘、1小時、6小時、12小時、18小時、24小時、30小時、36小時、48小時、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天，14天或21天。例如，可在第1和2、1和3、1和4、1和5、1和6、1和7、1和8、1和9、1和10，1和11、1和12、1和13、1和14、1和15或1和16天對類紅血球細胞前驅物進行電穿孔。在另一個實例中，可以在第2和3、2和4、2和5、2和6、2和7、2和8、2和9、2和10、2和11、2和12、2和13、2和14，2和15或2和16天對細胞進行電穿孔。在又另一個實例中，可以在第3和4、3和5、3和6、3和7、3和8、3和9、3和10、3和11、3和12、3和13、3和14，3和15或3和16天對類紅血球細胞前驅物進行電穿孔。在又另一個實例中，可以在第4和5、4和6、4和7、4和8、4和9、4和10、4和11、4和12、4和13、4和14，4和15或4和16天對細胞進行電穿孔。在又另一個實例中，可以在第5和6、5和7、5和8、5和9、5和10、5和11、5和12、5和13、5和14，5和15或5和16天對細胞進行電穿孔。在又另一個實例中，可以在第6和7、6和8、6和9、6和10、6和11、6和12、6和13、6和14，6和15或6和16天對類紅血球細胞前驅物進行電穿孔。在又另一個實例中，可以在第7和8、7和9、7和10、7和11、7和12、7和13、7和14，7和15或7和16天對類紅血球細胞前驅物進行電穿孔。在又另一個實例中，可以在第8和9、8和10、8和11、8和12、8和13、8和14，8和15或8和16天對類紅血球細胞前驅物進行電穿孔。在又另一實例中，可以在第9、10、9和11、9和12、9和13、9和14，9和15或9和16天對類紅血球細胞前驅物進行電穿孔。在又另一個

實例中，可以在第10和11、10和12、10和13、10和14，10和15或10和16天對類紅血球細胞前驅物進行電穿孔。在又另一個實例中，可以在第11和12、11和13、11和14，11和15或11和16天對類紅血球細胞前驅物進行電穿孔。在又另一個實例中，可以在第12和13、12和14，12和15或12和16天對類紅血球細胞前驅物進行電穿孔。在又另一個實例中，可以在第13和14，13和15或13和16天對類紅血球細胞前驅物進行電穿孔。在又另一個實例中，可以在第14和15或第14和16天對類紅血球細胞前驅物進行電穿孔。視情況，可以將類紅血球細胞前驅物電穿孔超過兩次，例如三次、四次，五次或六次，並且可以根據需要在細胞分化過程的任一點選定間隔時間。

【0240】 在一些具體例中，使用本文所述的電穿孔條件，在分化第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16天對培養的類紅血球細胞前驅物進行電穿孔。

【0241】 在一些具體例中，經工程改造去核類紅血球可以是點擊接合的經工程改造去核類紅血球。可以在例如類紅血球細胞前驅物之上或之內表現一種存在於細胞質中或存在於膜上之形成催化鍵的多肽結構域。有許多形成催化鍵的多肽，包括轉肽酶、分選酶和異肽酶，包括那些衍生自Spy0128者，Spy0128是一種分離自釀膿鏈球菌(*Streptococcus pyogenes*)的蛋白。已經證明，切開Spy0128的自催化異肽鍵形成次單位(CnaB2結構域)會導致兩個截然不同的多肽，其彼此保有特異性的催化活性。這個系統中的多肽稱為SpyTag和SpyCatcher。在混合後，SpyTag和SpyCatcher於SpyTag上的Asp1 17和SpyCatcher上的Lys31之間歷經異肽鍵形成(Zakeri and Howarth, *JACS* 132:4526, 2010)。該反應與細胞環境相容且對於蛋白質/肽接合來說有高度特異性(Zakeri et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 109:E690-E697, 2012)。SpyTag和SpyCatcher已顯示會指導彈性蛋白樣蛋白的轉譯後拓樸修飾。例如，SpyTag在N端處和SpyCatcher在C端

處的鍵接(placement)引導形成環狀彈性蛋白樣蛋白(Zhang et al, *J. Am. Chem. Soc.* 2013)。

【0242】 組分SpyTag和SpyCatcher可以互換，以使得分子A融合至SpyTag而分子B融合至SpyCatcher的系統與分子A融合至SpyCatcher而分子B融合至SpyTag的系統在功能上相等。出於本發明之目的，當使用SpyTag和SpyCatcher時，應當理解，互補分子可以在其位置被取代。

【0243】 形成催化鍵的多肽(諸如SpyTag/SpyCatcher系統)可以用於將外源性蛋白附接至(例如類紅血球細胞前驅物或去核類紅血球)表面。SpyTag多肽序列可以在類紅血球細胞前驅物或去核類紅血球的細胞外表面表現。舉例來說，SpyTag多肽可以被融合至第1型或第3型跨膜蛋白(例如血型糖蛋白A)的N端、融合至第2型跨膜蛋白(例如凱爾)的C端、以框內的方式插入在跨膜蛋白(例如帶3)的細胞外末端或細胞外環中、融合至GPI-受體多肽(例如CD55或CD59)、融合至脂質鍵錨接的多肽，或融合至周邊膜蛋白。可以將外源性蛋白融合至SpyCatcher。編碼SpyCatcher融合體的核酸可以由表現SpyTag融合體的同一類紅血球細胞前驅物或去核類紅血球表現並分泌。或者，可以在例如細菌、真菌、昆蟲，哺乳動物或無細胞生產系統中外源地產生編碼SpyCatcher融合體的核酸序列。在SpyTag和SpyCatcher多肽反應後，將形成共價鍵，該鍵將外源性蛋白附接至類紅血球細胞前驅物或去核類紅血球的表面。

【0244】 在一個具體例中，於類紅血球內，受到Gatal啟動子控制，SpyTag多肽可以表現為融合至血型糖蛋白A的N端。融合至SpyCatcher多肽序列的外源性蛋白可受到Gatal啟動子控制而在同一個類紅血球中表現。在兩個融合多肽均表現後，在SpyTag和SpyCatcher多肽之間將形成異肽鍵，從而在類紅血球表面與外源性蛋白之間形成共價鍵。

【0245】 在另一個具體例中，於類紅血球細胞前驅物或去核類紅血球內，受到Gata1啟動子控制，SpyTag多肽可以表現為融合至血型糖蛋白A的N端。融

合至SpyCatcher多肽序列的外源性蛋白可以在合適的哺乳動物細胞表現系統(例如HEK293細胞)中表現。在SpyTag融合多肽於類紅血球細胞前驅物或去核類紅血球上表現後，可以使SpyCatcher融合多肽與細胞接觸。在合適的反應條件下，在SpyTag和SpyCatcher多肽之間將形成異肽鍵，從而在類紅血球細胞前驅物表面或去核類紅血球表面與外源性蛋白之間形成共價鍵。

【0246】 形成催化鍵的多肽(諸如SpyTag/SpyCatcher系統)可用於將外源性蛋白錨接在類紅血球細胞前驅物或去核類紅血球的細胞內空間。SpyTag多肽序列可以藉由多種方法在類紅血球細胞前驅物或去核類紅血球的細胞內空間中表現，包括直接表現轉基因、融合至內源性細胞內蛋白(諸如例如血紅素)、融合至內源性細胞表面蛋白(諸如，例如帶3、血型糖蛋白A、凱爾)的細胞內結構域，或融合至細胞骨架的結構組分。SpyTag序列不限於多肽末端，並且可以併入內源性多肽的內部序列中，使得多肽轉譯和定位不受干擾。可以將外源性蛋白融合至SpyCatcher。編碼SpyCatcher融合體的核酸序列可以在表現SpyTag融合體的同類紅血球細胞前驅物或去核類紅血球中表現。在SpyTag和SpyCatcher多肽反應後，將形成共價鍵，其作用是將外源性蛋白錨接在類紅血球細胞前驅物或去核類紅血球的細胞內空間中。

【0247】 在一個具體例中，類紅血球細胞前驅物或去核類紅血球可以在細胞內表現融合至血紅素 $\beta$ 的SpyTag。類紅血球細胞前驅物或去核類紅血球可以用包括血紅素啟動子、 $\beta$ 球蛋白基因和SpyTag序列的基因序列進行遺傳修飾，使得在轉譯後，細胞內 $\beta$ 球蛋白在其C端處融合至SpyTag。另外，類紅血球細胞前驅物或去核類紅血球表現一個受Gatal啟動子所引導的基因，該基因編碼SpyCatcher驅動蛋白表現(例如，苯丙胺酸羥化酶(PAH)表現)，從而在轉譯時使細胞內蛋白(例如，PAH)在其N端處融合至SpyCatcher。在兩個融合蛋白均表現後，結合SpyTag的 $\beta$ 球蛋白藉由異肽鍵與細胞內空間中的SpyCatcher結合蛋白(例如PAH)連接，從而使該蛋白(例如PAH)錨接在 $\beta$ 球蛋白並在成熟期間得以保留下來。

【0248】 在另一個具體例中，SpyTag多肽可以表現為融合至類紅血球細胞前驅物或去核類紅血球內的外源性蛋白。SpyCatcher多肽可以表現為在同一類紅血球細胞前驅物或去核類紅血球內融合至血型糖蛋白A的C端(細胞內)。在兩個融合多肽均表現後，SpyTag和SpyCatcher多肽之間將會形成異肽鍵，從而在膜錨接的內源性類紅血球多肽和外源性蛋白之間形成共價鍵。

【0249】 可以在多肽之間形成其他分子融合體，並且包括直接或間接接合。多肽可以彼此直接接合或經由連接子間接接合。連接子可以是肽、聚合物，適體或核酸。聚合物可以是例如天然的、合成的，直鏈的或分支的。外源性蛋白可包含異源性融合蛋白，其包含第一多肽和第二多肽，且該融合蛋白包含彼此直接連接或在一端或兩端處具有插入連接子序列及/或其他序列的多肽。可以透過共價鍵或離子鍵接合至連接子。

【0250】 在一些具體例中，經工程改造去核類紅血球是經低滲加載的人類去核類紅血球。關於低滲加載/溶解，將類紅血球細胞前驅物或去核類紅血球暴露於低離子強度緩衝液中，使其破裂。外源性蛋白分佈在細胞內。可藉由向經分離的去核類紅血球丸粒加入體積過量30-50倍的5 mM磷酸鹽緩衝液(pH 8)以低滲的方式溶解去核類紅血球或類紅血球細胞前驅物。藉由離心分離得到被溶解的細胞膜。將溶解的細胞膜丸粒重新懸浮，並在低離子強度緩衝液中於外源性蛋白存在下培育例如30分鐘。或者，可將被溶解的細胞膜與外源性蛋白一起培育少則一分鐘，或多至數天，這取決於為有效加載去核類紅血球或類紅細胞前驅物所確定的最佳條件。關於低滲加載編碼一或多個外源性蛋白(例如，本文所述或技藝中已知的任何外源性蛋白)的核酸，核酸可以被懸浮在低滲Tris-HCl溶液(pH 7.0)並注射到類紅血球細胞前驅物中。Tris-HCl濃度可為約20 mmol/l至約150 mmol/l，這取決於為有效加載去核類紅血球所決定的最佳條件。

【0251】 或者，可以使用針對低滲溶液的控制透析對類紅血球細胞前驅物或去核類紅血球加載外源性蛋白，以使細胞溶脹並在細胞膜上形成孔(參見，例



如，美國專利第4,327,710號；第5,753,221號；第6,495,351號和第10,046,009號)。例如，細胞丸粒再懸浮在10 mM HEPES、140 mM NaCl、5 mM葡萄糖，pH 7.4中，並對含有10 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 、10 mM  $\text{NaHCO}_3$ 、20 mM葡萄糖，和4 mM  $\text{MgCl}_2$ ，pH 7.4的低離子強度緩衝液進行透析。30-60分鐘後，將細胞再用含有外源性蛋白的16 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ，pH 7.4溶液透析又再30-60分鐘。所有這些程序都可以有利地在4°C的溫度下執行。在一些情況下，藉由透析方法加載大量類紅血球細胞前驅物或去核類紅血球可能是有益的，並且可以使用為此目的所設計的特定設備(參見，例如美國專利第4,327,710號，第6,139,836號和第6,495,351號)。

**【0252】** 製造包含外源性多肽的去核類紅血球(例如，網狀細胞或紅血球)的例示性方法說明於例如WO2015/073587、WO2015/153102、WO2020/243006和WO2020/219909中，它們各自以全文引用的方式併入。

**【0253】** 在一些具體例中，去核類紅血球之群組包含少於1%的活去核細胞，例如，包含不可偵測到的活去核細胞。在一些具體例中，藉由FACS使用核染色來測量去核。在一些具體例中，去核類紅血球該群中至少30、35、40、45、50、55、60、65、70、75或80%(和視情況至多約70、80、90或100%)的去核類紅血球包含一或多個(例如，2、3、4個或更多個)外源性多肽。在一些具體例中，可以藉由FACS使用針對多肽的經標記抗體來測量外源性多肽的表現。在一些具體例中，細胞群中至少30、35、40、45、50、55、60、65、70、75或80%(和視情況至多約70、80、90或100%)被去核，並且包含一或多個(例如，2、3、4個或更多個)外源性多肽。在一些具體例中，去核類紅血球之群組包含約 $1 \times 10^9$  -  $2 \times 10^9$ 、 $2 \times 10^9$  -  $5 \times 10^9$ 、 $5 \times 10^9$  -  $1 \times 10^{10}$ 、 $1 \times 10^{10}$  -  $2 \times 10^{10}$ 、 $2 \times 10^{10}$  -  $5 \times 10^{10}$ 、 $5 \times 10^{10}$  -  $1 \times 10^{11}$ 、 $1 \times 10^{11}$  -  $2 \times 10^{11}$ 、 $2 \times 10^{11}$  -  $5 \times 10^{11}$ 、 $5 \times 10^{11}$  -  $1 \times 10^{12}$ 、 $1 \times 10^{12}$  -  $2 \times 10^{12}$ 、 $2 \times 10^{12}$  -  $5 \times 10^{12}$ 或 $5 \times 10^{12}$  -  $1 \times 10^{13}$ 個細胞。

**【0254】** 本文所述任何去核類紅血球可以如例如WO 2020/219909(以引用的方式併入本文)中所述進行配製。

藉由增加NKp30陽性淋巴球的數量治療個體的方法

**【0255】** 本文還提供了提高先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體中NKp30陽性淋巴球(例如NKp30陽性NK細胞)的數量的方法，包括向個體投予治療有效數量之去核類紅血球(例如本文所述任何例示性去核類紅血球)，該等去核類紅血球在其細胞外表面上包含外源性融合多肽，該外源性融合多肽包含(i) IL-15或其功能片段，及(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段。

**【0256】** 本文還提供了在有需要的個體中提高NKp30陽性淋巴球(例如，NKp30陽性NK細胞)數量的方法，包含向個體投予治療有效數量之去核類紅血球(例如本文所述任何例示性去核類紅血球)，該等去核類紅血球在其細胞外表面上包含外源性融合多肽，該外源性融合多肽包含(i) IL-15或其功能片段，及(ii)IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段；和包含4-1BBL多肽或其功能片段的外源性多肽。

**【0257】** 這些方法的一些具體例還包括向個體投予NKG2A抑制劑(例如，本文所述任何例示性NKG2A抑制劑)。

**【0258】** 在這些方法的一些具體例中，投藥包括向個體靜脈內投藥。

**【0259】** 本文所述任何方法的一些具體例還包括向個體投予一或多種額外治療劑。在一些具體例中，一或多種額外治療劑是癌症治療劑。在一些具體例中，癌症治療劑選自由以下組成之群：免疫檢查點分子的抑制劑(例如，本文所述的免疫檢查點分子的任何例示性抑制劑)、化療劑、治療性抗體、嵌合抗原受體T細胞、激酶抑制劑或可溶性細胞因子。在一些具體例中，一或多種額外治療劑可以與本文提供的任何組成物基本上同時投予給個體。

**【0260】** 在一些具體例中，一或多種額外治療劑可以在將本文所述任何組成物投予給個體之前或之後被投予給個體。

【0261】 這些方法的一些具體例可以進一步包括將個體鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症。這些方法的一些具體例可以進一步包括將個體鑑定或診斷為患有B7-H6陽性和HLA-E陰性癌症。

【0262】 例如，在一些具體例中，一或多種額外治療劑包括阻斷、減少及/或抑制PD-1和PD-L1或PD-L2，及/或阻斷、減少及/或抑制PD-1與PD-L1或PD-L2結合的藥劑(作為非限制性實例，一或多種納武單抗(nivolumab)(ONO-4538/BMS-936558、MDX1106、OPDIVO、BRISTOL MYERS SQUIBB)、派姆單抗(pembrolizumab)(KEYTRUDA、MERCK)、匹地珠單抗(pidilizumab)(CT-011、CURE TECH)、MK-3475(MERCK)、BMS 936559(BRISTOL MYERS SQUIBB)，和MPDL3280A(ROCHE))。在一些具體例中，一或多種額外治療劑包括阻斷、減少及/或抑制CTLA-4的活性及/或CTLA-4與一或多個其受體(例如CD80、CD86、AP2M1、SHP-2和PPP2R5A)結合的藥劑。例如，在一些具體例中，抑制CTLA-4活性的藥劑是抗體，諸如伊匹單抗(ipilimumab)(MDX-010、MDX-101、Yervoy、BRISTOL MYERS SQUIBB)及/或曲美木單抗(tremelimumab)(PFIZER)。此外，在一些具體例中，一或多種額外治療劑包括靶向免疫檢查點分子的阻斷抗體，諸如例如BTLA、HVEM、TIM3、GALS、LAG3、VISTA、KIR、2B4、CD160(也稱為BY55)、CGEN-15049、CHK 1和CHK2激酶、A2aR、CEACAM(例如，CEACAM-1、CEACAM-3及/或CEACAM-5)、GITR、GITRL、半乳糖凝集素-9、CD244、CD160、TIGIT、SIRP $\alpha$ 、ICOS、CD172a、TMIGD2和各種B-7家族配體(包括但不限於B7-1、B7-2、B7-DC、B7-H1、B7-H2、B7-H3、B7-H4、B7-H5、B7-H6和B7-H7)。

【0263】 在這些方法的一些具體例中，該等方法導致個體中NKp30陽性淋巴球(例如，NKp30陽性NK細胞)的數量提高(例如，提高至少5%、提高至少10%、提高至少15%、提高至少20%、提高至少25%、提高至少30%、提高至少35%、提高至少40%、提高至少45%、提高至少50%、提高至少55%、提高至少60%、

提高至少65%、提高至少70%、提高至少75%、提高至少80%、提高至少85%、提高至少90%、提高至少95%、提高至少100%、提高至少120%、提高至少140%、提高至少160%、提高至少180%、提高至少200%、提高至少220%、提高至少240%、提高至少260%、提高至少280%，或提高至少300%(例如，與投予前個體中NKp30陽性細胞(例如，NKp30陽性NK細胞)的數量相比)。

【0264】 在這些方法的一些具體例中，該等方法導致個體中NKp30陽性/NKG2A陰性淋巴球(例如，NKp30陽性/NKG2A陰性NK細胞)的數量提高(例如，提高至少5%、提高至少10%、提高至少15%、提高至少20%、提高至少25%、提高至少30%、提高至少35%、提高至少40%、提高至少45%、提高至少50%、提高至少55%、提高至少60%、提高至少65%、提高至少70%、提高至少75%、提高至少80%、提高至少85%、提高至少90%、提高至少95%、提高至少100%、提高至少120%、提高至少140%、提高至少160%、提高至少180%、提高至少200%、提高至少220%、提高至少240%、提高至少260%、提高至少280%，或提高至少300%(例如，與投予前個體中NKp30陽性/NKG2A陰性細胞(例如，NKp30陽性/NKG2A陰性NK細胞)的數量相比)。

【0265】 在這些方法的一些具體例中，該等方法導致個體中NKp30陽性淋巴球(例如，NKp30陽性NK細胞)的運輸數量提高(例如，提高至少5%、提高至少10%、提高至少15%、提高至少20%、提高至少25%、提高至少30%、提高至少35%、提高至少40%、提高至少45%、提高至少50%、提高至少55%、提高至少60%、提高至少65%、提高至少70%、提高至少75%、提高至少80%、提高至少85%、提高至少90%、提高至少95%、提高至少100%、提高至少120%、提高至少140%、提高至少160%、提高至少180%、提高至少200%、提高至少220%、提高至少240%、提高至少260%、提高至少280%，或提高至少300%(例如，與投予前個體中NKp30陽性細胞(例如，NKp30陽性NK細胞)的運輸數量相比)。

【0266】 在這些方法的一些具體例中，該等方法導致個體中NKp30陽性/NKG2A陰性淋巴球(例如，NKp30陽性/NKG2A陰性NK細胞)的運輸數量提高(例如，提高至少5%、提高至少10%、提高至少15%、提高至少20%、提高至少25%、提高至少30%、提高至少35%、提高至少40%、提高至少45%、提高至少50%、提高至少55%、提高至少60%、提高至少65%、提高至少70%、提高至少75%、提高至少80%、提高至少85%、提高至少90%、提高至少95%、提高至少100%、提高至少120%、提高至少140%、提高至少160%、提高至少180%、提高至少200%、提高至少220%、提高至少240%、提高至少260%、提高至少280%，或提高至少300%(例如，與投予前個體中NKp30陽性/NKG2A陰性細胞(例如，NKp30陽性/NKG2A陰性NK細胞)的運輸數量相比)。

【0267】 在一些具體例中，個體先前已被診斷或鑑定為患有B7-H6陽性癌症(例如，本文所述任何例示性B7-H6陽性癌症)。在一些具體例中，個體先前已被診斷或鑑定為患有B7-H6陽性和HLA-E陰性癌症。這些方法的一些具體例可以進一步包括將個體鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症。這些方法的一些具體例可以進一步包括將個體鑑定或診斷為患有B7-H6陽性和HLA-E-陰性癌症。

【0268】 B7-H6陽性癌症的非限制性實例包括：腎上腺皮質癌、膽管癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、結腸直腸癌、食道癌、眼癌、頭頸癌、急性骨髓性白血病、淋巴腫瘤、瀰漫性大b細胞淋巴瘤、腎癌、腎臟腎透明細胞癌、腎臟腎乳頭狀細胞癌、腎臟嫌色細胞、肝癌、肺癌、肺腺癌、肺鱗狀細胞癌、間皮瘤、卵巢癌、胰臟癌、直腸癌、皮膚癌、胃癌、睪丸癌、胸腺瘤、甲狀腺癌、子宮癌、子宮體子宮內膜癌、子宮癌肉瘤，和葡萄膜黑色素瘤。

【0269】 在一些具體例中，個體是成年人類個體。在一些具體例中，個體是兒科人類個體。

【0270】 可以如本文所述使用任何劑量並按任何頻率將去核類紅血球投予給個體。

## 治療具有B7-H6陽性癌症之個體的方法

【0271】 本文還提供了治療個體中先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症(例如本文所述任何例示性B7-H6陽性癌症)的個體的方法，包括向先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體投予治療有效數量之去核類紅血球(例如本文所述任何例示性去核類紅血球)，該等去核類紅血球在其細胞外表面上包含外源性融合多肽的，該外源性融合多肽包含(i) IL-15或其功能片段，及(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段。

【0272】 本文還提供了治療個體中患有B7-H6陽性癌症(例如本文所述任何例示性B7-H6陽性癌症)的個體的方法，包括向先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體投予治療有效數量之去核類紅血球(例如本文所述任何例示性去核類紅血球)，該等去核類紅血球在其細胞外表面上包含外源性融合多肽，該外源性融合多肽包含(i) IL-15或其功能片段，及(ii)IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段；和包含4-1BBL多肽或其功能片段的外源性多肽。

【0273】 在這些方法的一些具體例中，投藥包括向個體靜脈內投藥。

【0274】 這些方法的一些具體例還包括向個體投予NKG2A抑制劑(例如，本文所述任何例示性NKG2A抑制劑)。

【0275】 本文所述任何方法的一些具體例還包括向個體投予一或多種額外治療劑。在一些具體例中，一或多種額外治療劑是癌症治療劑。在一些具體例中，癌症治療劑選自由以下組成之群：免疫檢查點分子的抑制劑(例如，本文所述的免疫檢查點分子的任何例示性抑制劑)、化療劑、治療性抗體、嵌合抗原受體T細胞、激酶抑制劑或可溶性細胞因子。在一些具體例中，一或多種額外治療劑可以與本文提供的任何組成物基本上同時投予給個體。在一些具體例中，一或多種額外治療劑可以在將本文所述任何組成物投予給個體之前或之後被投予給個體。

【0276】 例如，在一些具體例中，一或多種額外治療劑包括阻斷、減少及/或抑制PD-1和PD-L1或PD-L2，及/或阻斷、減少及/或抑制PD-1與PD-L1或PD-L2結合的藥劑(作為非限制性實例，一或多種納武單抗(ONO-4538/BMS-936558、MDX1106、OPDIVO、BRISTOL MYERS SQUIBB)、派姆單抗(KEYTRUDA、MERCK)、匹地珠單抗(CT-011，CURE TECH)、MK-3475 (MERCK)、BMS 936559 (BRISTOL MYERS SQUIBB)，和MPDL3280A (ROCHE))。在一些具體例中，一或多種額外治療劑包括阻斷、減少及/或抑制CTLA-4的活性及/或CTLA-4與一個或多個其受體(例如CD80、CD86、AP2M1、SHP-2和PPP2R5A)結合的藥劑。例如，在一些具體例中，抑制CTLA-4活性的藥劑是抗體，諸如伊匹單抗(MDX-010、MDX-101、Yervoy、BRISTOL MYERS SQUIBB)及/或曲美木單抗(PFIZER)。此外，在一些具體例中，一或多種額外治療劑包括靶向免疫檢查點分子的阻斷抗體，諸如例如BTLA、HVEM、TIM3、GALS、LAG3、VISTA、KIR、2B4、CD160(也稱為BY55)、CGEN-15049、CHK 1和CHK2激酶、A2aR、CEACAM(例如，CEACAM-1、CEACAM-3及/或CEACAM-5)、GITR、GITRL、半乳糖凝集素-9、CD244、CD160、TIGIT、SIRP $\alpha$ 、ICOS、CD172a、TMIGD2和各種B-7家族配體(包括但不限於B7-1、B7-2、B7-DC、B7-H1、B7-H2、B7-H3、B7-H4、B7-H5、B7-H6和B7-H7)。

【0277】 這些方法的一些具體例可進一步包括將個體鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症。這些方法的一些具體例可進一步包括將個體鑑定或診斷為患有B7-H6陽性與HLA-E陰性癌症。

【0278】 B7-H6陽性癌症的非限制性實例包括：腎上腺皮質癌、膽管癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、結腸直腸癌、食道癌、眼癌、頭頸癌、急性骨髓性白血病、淋巴腫瘤、瀰漫性大b細胞淋巴瘤、腎癌、腎臟腎透明細胞癌、腎臟腎乳頭狀細胞癌、腎臟嫌色細胞、肝癌、肺癌、肺腺癌、肺鱗狀細胞癌、

間皮瘤、卵巢癌、胰臟癌、直腸癌、皮膚癌、胃癌、睪丸癌、胸腺瘤、甲狀腺癌、子宮癌、子宮體子宮內膜癌、子宮癌肉瘤，和葡萄膜黑色素瘤。

【0279】 在一些具體例中，個體是成年人類個體。在一些具體例中，個體是兒科人類個體。

【0280】 可以如本文所述使用任何劑量並按任何頻率將去核類紅血球投予給個體。

藉由減少B7-H6陽性癌細胞的數量及/或增生治療個體的方法

【0281】 本文還提供了在先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症(例如本文所述或技藝中已知的任何B7-H6陽性癌症)的個體中減少B7-H6陽性癌細胞(例如本文所述或技藝中已知的任何B7-H6陽性癌細胞)的數量及/或增生的方法，該方法包含投予治療有效數量之外源性融合多肽的去核類紅血球(例如，本文所述任何例示性去核類紅血球)，該外源性融合多肽在其細胞外表面上包含(i) IL-15或其功能片段，及(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段。

【0282】 本文還提供了在先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體中減少B7-H6陽性癌細胞(例如本文所述或技藝中已知的任何B7-H6陽性癌細胞)的數量及/或增生的方法，該方法包含投予治療有效數量之去核類紅血球(例如，本文所述任何例示性去核類紅血球)，該等去核類紅血球在其細胞外表面上包含外源性融合多肽，該外源性融合多肽包含(i) IL-15或其功能片段，及(ii)IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段；和包含4-1BBL多肽或其功能片段的外源性多肽。

【0283】 在這些方法的一些具體例中，投藥包括向個體靜脈內投藥。

【0284】 這些方法的一些具體例還包括向個體投予NKG2A抑制劑(例如，本文所述任何例示性NKG2A抑制劑)。

【0285】 在一些具體例中，B7-H6陽性癌細胞是B7-H6陽性和HLA-E陰性癌細胞。



【0286】 本文所述任何方法的一些具體例還包括向個體投予一或多種額外治療劑。在一些具體例中，一或多種額外治療劑是癌症治療劑。在一些具體例中，癌症治療劑選自由以下組成之群：免疫檢查點分子的抑制劑(例如，本文所述的免疫檢查點分子的任何例示性抑制劑)、化療劑、治療性抗體、嵌合抗原受體T細胞、激酶抑制劑或可溶性細胞因子。在一些具體例中，一或多種額外治療劑可以與本文提供的任何組成物基本上同時投予給個體。在一些具體例中，一或多種額外治療劑可以在向個體投予本文所述任何組成物之前或之後投予給個體。

【0287】 例如，在一些具體例中，一或多種額外治療劑包括阻斷、減少及/或抑制PD-1和PD-L1或PD-L2，及/或阻斷、減少及/或抑制PD-1與PD-L1或PD-L2結合的藥劑(作為非限制性實例，一或多種納武單抗(ONO-4538/BMS-936558、MDX1106、OPDIVO、BRISTOL MYERS SQUIBB)、派姆單抗(KEYTRUDA、MERCK)、匹地珠單抗(CT-011，CURE TECH)、MK-3475 (MERCK)、BMS 936559 (BRISTOL MYERS SQUIBB)，和MPDL3280A (ROCHE))。在一些具體例中，一或多種額外治療劑包括阻斷、減少及/或抑制CTLA-4的活性及/或CTLA-4與一個或多個其受體(例如CD80、CD86、AP2M1、SHP-2和PPP2R5A)結合的藥劑。例如，在一些具體例中，抑制CTLA-4活性的藥劑是抗體，諸如伊匹單抗(MDX-010、MDX-101、Yervoy、BRISTOL MYERS SQUIBB)及/或曲美木單抗(PFIZER)。此外，在一些具體例中，一或多種額外治療劑包括靶向免疫檢查點分子的阻斷抗體，諸如例如BTLA、HVEM、TIM3、GALS、LAG3、VISTA、KIR、2B4、CD160(也稱為BY55)、CGEN-15049、CHK 1和CHK2激酶、A2aR、CEACAM(例如，CEACAM-1、CEACAM-3及/或CEACAM-5)、GITR、GITRL、半乳糖凝集素-9、CD244、CD160、TIGIT、SIRP $\alpha$ 、ICOS、CD172a、TMIGD2和各種B-7家族配體(包括但不限於B7-1、B7-2、B7-DC、B7-H1、B7-H2、B7-H3、B7-H4、B7-H5、B7-H6和B7-H7)。

【0288】 這些方法的一些具體例可以進一步包括將個體鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症。這些方法的一些具體例可以進一步包括將個體鑑定或診斷為患有B7-H6陽性和HLA-E陰性癌症。

【0289】 在這些方法的一些具體例中，該方法導致個體中B7-H6陽性癌細胞的數量減少(例如，減少至少5%、減少至少10%、減少至少15%、減少至少20%、減少至少25%、減少至少30%、減少至少35%、減少至少40%、減少至少45%、減少至少50%、減少至少55%、減少至少60%、減少至少65%、減少至少70%、減少至少75%、減少至少80%、減少至少85%、減少至少90%，或減少至少95%，或減少約5%至減少約99%(或本文所述此範圍的任何子範圍)(例如，與投予前個體中B7-H6陽性癌細胞的數量相比)。

【0290】 在這些方法的一些具體例中，該方法導致個體中B7-H6陽性與HLA-E陰性癌細胞的數量減少(例如，減少至少5%、減少至少10%、減少至少15%、減少至少20%、減少至少25%、減少至少30%、減少至少35%、減少至少40%、減少至少45%、減少至少50%、減少至少55%、減少至少60%、減少至少65%、減少至少70%、減少至少75%、減少至少80%、減少至少85%、減少至少90%，或減少至少95%，或減少約5%至減少約99%(或本文所述此範圍的任何子範圍)(例如，與投予前個體中B7-H6陽性與HLA-E陰性癌細胞的數量相比)。

【0291】 在這些方法的一些具體例中，該方法導致個體中B7-H6陽性癌細胞的增生減少(例如，減少至少5%、減少至少10%、減少至少15%、減少至少20%、減少至少25%、減少至少30%、減少至少35%、減少至少40%、減少至少45%、減少至少50%、減少至少55%、減少至少60%、減少至少65%、減少至少70%、減少至少75%、減少至少80%、減少至少85%、減少至少90%，或減少至少95%，或減少約5%至減少約99%(或本文所述此範圍的任何子範圍)(例如，與投予前個體中B7-H6陽性癌細胞的增生相比)。

【0292】 在這些方法的一些具體例中，該方法導致個體中B7-H6陽性與HLA-E陰性癌細胞的增生減少(例如，減少至少5%、減少至少10%、減少至少15%、減少至少20%、減少至少25%、減少至少30%、減少至少35%、減少至少40%、減少至少45%、減少至少50%、減少至少55%、減少至少60%、減少至少65%、減少至少70%、減少至少75%、減少至少80%、減少至少85%、減少至少90%，或減少至少95%，或減少約5%至減少約99%(或本文所述此範圍的任何子範圍)(例如，與投予前個體中B7-H6陽性與HLA-E陰性癌細胞的增生相比)。

【0293】 這些方法的一些具體例可以進一步包括將個體鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症。這些方法的一些具體例可以進一步包括將個體鑑定或診斷為患有B7-H6陽性和HLA-E-陰性癌症。

【0294】 B7-H6陽性癌症的非限制性實例包括：腎上腺皮質癌、膽管癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、結腸直腸癌、食道癌、眼癌、頭頸癌、急性骨髓性白血病、淋巴腫瘤、瀰漫性大b細胞淋巴瘤、腎癌、腎臟腎透明細胞癌、腎臟腎乳頭狀細胞癌、腎臟嫌色細胞、肝癌、肺癌、肺腺癌、肺鱗狀細胞癌、間皮瘤、卵巢癌、胰臟癌、直腸癌、皮膚癌、胃癌、睪丸癌、胸腺瘤、甲狀腺癌、子宮癌、子宮體子宮內膜癌、子宮癌肉瘤，和葡萄膜黑色素瘤。

【0295】 在一些具體例中，個體是成年人類個體。在一些具體例中，個體是兒科人類個體。

【0296】 可以如本文所述使用任何劑量並按任何頻率將去核類紅血球投予給個體。

藉由誘導殺死B7-H6陽性癌細胞來治療個體的方法

【0297】 本文還提供了誘導殺死先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體中B7-H6陽性癌細胞(例如本文所述任何例示性B7-H6陽性癌細胞)的方法，包括投予治療有效數量之去核類紅血球(例如，本文所述任何例示性去核類

紅血球)，該等去核類紅血球在其細胞外表面上包含外源性融合多肽，該外源性融合多肽包含(i) IL-15或其功能片段，及(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段。

【0298】 本文還提供了殺死先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體中B7-H6陽性癌細胞(例如本文所述任何例示性B7-H6陽性癌細胞)的方法，包括投予治療有效數量之去核類紅血球(例如本文所述任何例示性去核類紅血球)，該等去核類紅血球在其細胞外表面上包含外源性融合多肽，該外源性融合多肽包含(i) IL-15或其功能片段，及(ii)IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段；和包含4-1BBL多肽或其功能片段的外源性多肽。

【0299】 在一些具體例中，B7-H6陽性癌細胞的殺死是壞死。在一些具體例中，B7-H6陽性癌細胞的殺死是細胞凋亡。在一些具體例中，殺死是NK細胞媒介的細胞溶解或NK細胞媒介的細胞毒性。

【0300】 這些方法的一些具體例還包括向個體投予NKG2A抑制劑(例如，本文所述任何例示性NKG2A抑制劑)。

【0301】 在這些方法的一些具體例中，投藥包括向個體靜脈內投藥。

【0302】 本文所述任何方法的一些具體例還包括向個體投予一或多種額外治療劑。在一些具體例中，一或多種額外治療劑是癌症治療劑。在一些具體例中，癌症治療劑選自由以下組成之群：免疫檢查點分子的抑制劑(例如，本文所述的免疫檢查點分子的任何例示性抑制劑)、化療劑、治療性抗體、嵌合抗原受體T細胞、激酶抑制劑或可溶性細胞因子。在一些具體例中，一或多種額外治療劑可以與本文提供的任何組成物基本上同時投予給個體。在一些具體例中，一或多種額外治療劑可以在將本文所述任何組成物投予給個體之前或之後被投予給個體。

【0303】 例如，在一些具體例中，一或多種額外治療劑包括阻斷、減少及/或抑制PD-1和PD-L1或PD-L2，及/或阻斷、減少及/或抑制PD-1與PD-L1或PD-L2結合的藥劑(作為非限制性實例，一或多種納武單抗(ONO-4538/BMS-936558、

MDX1106、OPDIVO、BRISTOL MYERS SQUIBB)、派姆單抗(KEYTRUDA、MERCK)、匹地珠單抗(CT-011, CURE TECH)、MK-3475 (MERCK)、BMS 936559 (BRISTOL MYERS SQUIBB), 和MPDL3280A (ROCHE))。在一些具體例中, 一或多種額外治療劑包括阻斷、減少及/或抑制CTLA-4的活性及/或CTLA-4與一或多個其受體(例如CD80、CD86、AP2M1、SHP-2和PPP2R5A)結合的藥劑。例如, 在一些具體例中, 抑制CTLA-4活性的藥劑是抗體, 諸如伊匹單抗(MDX-010、MDX-101、Yervoy、BRISTOL MYERS SQUIBB)及/或曲美木單抗(PFIZER)。此外, 在一些具體例中, 一或多種額外治療劑包括靶向免疫檢查點分子的阻斷抗體, 諸如例如BTLA、HVEM、TIM3、GALS、LAG3、VISTA、KIR、2B4、CD160(也稱為BY55)、CGEN-15049、CHK 1和CHK2激酶、A2aR、CEACAM(例如, CEACAM-1、CEACAM-3及/或CEACAM-5)、GITR、GITRL、半乳糖凝集素-9、CD244、CD160、TIGIT、SIRP $\alpha$ 、ICOS、CD172a、TMIGD2和各種B-7家族配體(包括但不限於B7-1、B7-2、B7-DC、B7-H1、B7-H2、B7-H3、B7-H4、B7-H5、B7-H6和B7-H7)。

**【0304】** 這些方法的一些具體例可以進一步包括將個體鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症。這些方法的一些具體例可以進一步包括將個體鑑定或診斷為患有B7-H6陽性和HLA-E陰性癌症。

**【0305】** B7-H6陽性癌症的非限制性實例包括：腎上腺皮質癌、膽管癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、結腸直腸癌、食道癌、眼癌、頭頸癌、急性骨髓性白血病、淋巴腫瘤、瀰漫性大b細胞淋巴瘤、腎癌、腎臟腎透明細胞癌、腎臟腎乳頭狀細胞癌、腎臟嫌色細胞、肝癌、肺癌、肺腺癌、肺鱗狀細胞癌、間皮瘤、卵巢癌、胰臟癌、直腸癌、皮膚癌、胃癌、睪丸癌、胸腺瘤、甲狀腺癌、子宮癌、子宮體子宮內膜癌、子宮癌肉瘤, 和葡萄膜黑色素瘤。

**【0306】** 在一些具體例中, 個體是成年人類個體。在一些具體例中, 個體是兒科人類個體。

【0307】 可以如本文所述使用任何劑量並按任何頻率將去核類紅血球投予給個體。

藉由減少個體中實體腫瘤的體積來治療個體的方法

【0308】 本文還提供了在先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症(例如本文所述或技藝中已知的任何例示性B7-H6癌症)的個體中減少實體腫瘤體積的方法，包括投予治療有效數量之去核類紅血球(例如，本文所述任何例示性去核類紅血球)，該等去核類紅血球在其細胞外表面上包含外源性融合多肽，該外源性融合多肽包含(i) IL-15或其功能片段，及(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段。

【0309】 本文還提供了在先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症(例如本文所述或技藝中已知的任何例示性B7-H6陽性癌症)的個體中減少實體腫瘤體積的方法，包括投予治療有效數量之去核類紅血球(例如本文所述任何例示性去核類紅血球)，該等去核類紅血球在其細胞外表面上包含外源性融合多肽，該外源性融合多肽包含(i) IL-15或其功能片段，及(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段；和包含4-1BBL多肽或其功能片段的外源性多肽。

【0310】 這些方法的一些具體例還包括向個體投予NKG2A抑制劑(例如，本文所述任何例示性NKG2A抑制劑)。

【0311】 在這些方法的一些具體例中，投藥包括向個體靜脈內投藥。

【0312】 本文所述任何方法的一些具體例還包括向個體投予一或多種額外治療劑。在一些具體例中，一或多種額外治療劑是癌症治療劑。在一些具體例中，癌症治療劑選自由以下組成之群：免疫檢查點分子的抑制劑(例如，本文所述的免疫檢查點分子的任何例示性抑制劑)、化療劑、治療性抗體、嵌合抗原受體T細胞、激酶抑制劑或可溶性細胞因子。在一些具體例中，一或多種額外治療劑可以與本文提供的任何組成物基本上同時投予給個體。在一些具體例中，

一或多種額外治療劑可以在向個體投予本文所述任何組成物之前或之後投予給個體。

【0313】 例如，在一些具體例中，一或多種額外治療劑包括阻斷、減少及/或抑制PD-1和PD-L1或PD-L2，及/或阻斷、減少及/或抑制PD-1與PD-L1或PD-L2結合的藥劑(作為非限制性實例，一或多種納武單抗(ONO-4538/BMS-936558、MDX1106、OPDIVO、BRISTOL MYERS SQUIBB)、派姆單抗(KEYTRUDA、MERCK)、匹地珠單抗(CT-011，CURE TECH)、MK-3475 (MERCK)、BMS 936559 (BRISTOL MYERS SQUIBB)，和MPDL3280A (ROCHE))。在一些具體例中，一或多種額外治療劑包括阻斷、減少及/或抑制CTLA-4的活性及/或CTLA-4與一個或多個其受體(例如CD80、CD86、AP2M1、SHP-2和PPP2R5A)結合的藥劑。例如，在一些具體例中，抑制CTLA-4活性的藥劑是抗體，諸如伊匹單抗(MDX-010、MDX-101、Yervoy、BRISTOL MYERS SQUIBB)及/或曲美木單抗(PFIZER)。此外，在一些具體例中，一或多種額外治療劑包括靶向免疫檢查點分子的阻斷抗體，諸如例如BTLA、HVEM、TIM3、GALS、LAG3、VISTA、KIR、2B4、CD160(也稱為BY55)、CGEN-15049、CHK 1和CHK2激酶、A2aR、CEACAM(例如，CEACAM-1、CEACAM-3及/或CEACAM-5)、GITR、GITRL、半乳糖凝集素-9、CD244、CD160、TIGIT、SIRP $\alpha$ 、ICOS、CD172a、TMIGD2和各種B-7家族配體(包括但不限於B7-1、B7-2、B7-DC、B7-H1、B7-H2、B7-H3、B7-H4、B7-H5、B7-H6和B7-H7)。

【0314】 這些方法的一些具體例可以進一步包括將個體鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症。這些方法的一些具體例可以進一步包括將個體鑑定或診斷為患有B7-H6陽性和HLA-E陰性癌症。

【0315】 B7-H6陽性癌症的非限制性實例包括：腎上腺皮質癌、膽管癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、結腸直腸癌、食道癌、眼癌、頭頸癌、急性骨髓性白血病、淋巴腫瘤、瀰漫性大b細胞淋巴瘤、腎癌、腎臟腎透明細胞癌、

腎臟腎乳頭狀細胞癌、腎臟嫌色細胞、肝癌、肺癌、肺腺癌、肺鱗狀細胞癌、間皮瘤、卵巢癌、胰臟癌、直腸癌、皮膚癌、胃癌、睪丸癌、胸腺瘤、甲狀腺癌、子宮癌、子宮體子宮內膜癌、子宮癌肉瘤，和葡萄膜黑色素瘤。

【0316】 在這些方法的一些具體例中，該方法導致個體中實體腫瘤的體積減少(例如，減少至少5%、減少至少10%、減少至少15%、減少至少20%、減少至少25%、減少至少30%、減少至少35%、減少至少40%、減少至少45%、減少至少50%、減少至少55%、減少至少60%、減少至少65%、減少至少70%、減少至少75%、減少至少80%、減少至少85%、減少至少90%，或減少至少95%，或減少約5%至減少約99%(或本文所述此範圍的任何子範圍)(例如，與投予前實體腫瘤的體積相比)。

【0317】 在一些具體例中，個體是成年人類個體。在一些具體例中，個體是兒科人類個體。

【0318】 可以如本文所述使用任何劑量並按任何頻率將去核類紅血球投予給個體。

## 劑量和投藥

【0319】 投藥包含(例如，表現)外源性藥劑(例如，多肽)的去核類紅血球(例如，網狀細胞)的方法說明於例如WO2015/073587、WO2015/153102和WO2019/173798中，它們各自以全文引用的方式併入。

【0320】 在具體例中，本文所述去核類紅血球可以被投予給個體，例如哺乳動物(例如人類)。可受到治療的例示性哺乳動物包括，但不限於人類、豕養動物(例如狗、貓與類似者)、農場動物(例如牛、綿羊、豬、馬與類似者)，以及實驗室動物(例如猴、大鼠、小鼠、兔、馬與類似者)。本文所述方法可適用於人類療法以及獸醫應用。



【0321】 在一些具體例中，每1、2、3、4、5或6個月向患者投予去核類紅血球。

【0322】 在一些具體例中，一劑去核類紅血球包括約 $1 \times 10^8 - 1 \times 10^{13}$ 、約 $1 \times 10^8 - 1 \times 10^9$ 、約 $1 \times 10^9 - 2 \times 10^9$ 、 $2 \times 10^9 - 5 \times 10^9$ 、 $5 \times 10^9 - 1 \times 10^{10}$ 、 $1 \times 10^{10} - 2 \times 10^{10}$ 、 $2 \times 10^{10} - 5 \times 10^{10}$ 、 $5 \times 10^{10} - 1 \times 10^{11}$ 、 $1 \times 10^{11} - 2 \times 10^{11}$ 、 $2 \times 10^{11} - 5 \times 10^{11}$ 、 $5 \times 10^{11} - 1 \times 10^{12}$ 、 $1 \times 10^{12} - 2 \times 10^{12}$ 、 $2 \times 10^{12} - 5 \times 10^{12}$ ，或 $5 \times 10^{12} - 1 \times 10^{13}$ 個細胞。

【0323】 經工程改造類紅血球可呈適於非經腸、病灶內、頰內、眼科、靜脈內、器官內或其他投藥途徑的調配物投予給個體。

【0324】 經工程改造類紅血球可以按每天數次的頻率被投予給個體，或者可以不那麼頻繁地投予，諸如一天一次、一週一次、每兩週一次、一個月一次或甚至更不頻繁地投予，諸如每幾個月甚至一年或更少一次。劑量的頻率對於技術人類員來說將是顯而易見的並且將取決於許多因素，諸如但不限於所治療疾病的類型和嚴重程度、個體的類型和年齡等。

【0325】 在一些具體例中，B7-H6陽性癌症選自由以下組成之群：腎上腺皮質癌、膽管癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、結腸直腸癌、食道癌、眼癌、頭頸癌、急性骨髓性白血病、淋巴腫瘤、瀰漫性大b細胞淋巴瘤、腎癌、腎臟腎透明細胞癌、腎臟腎乳頭狀細胞癌、腎臟嫌色細胞、肝癌、肺癌、肺腺癌、肺鱗狀細胞癌、間皮瘤、卵巢癌、胰臟癌、直腸癌、皮膚癌、胃癌、睪丸癌、胸腺瘤、甲狀腺癌、子宮癌、子宮體子宮內膜癌、子宮癌肉瘤，和葡萄膜黑色素瘤。

套組

【0326】 本文還提供了包括本文提供的任何組成物的套組。例如，本文提供一種套組，其包括包含去核類紅血球(例如，本文所述任何例示性去核類紅血球)的醫藥組成物，該等去核類紅血球在其細胞外表面上包含外源性融合多肽，

該外源性融合多肽包含(i) IL-15或其功能片段，和(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段；以及用於執行本文所述任何方法的說明書。在一些具體例中，去核類紅血球包含至少1,000個複本、至少10,000個複本或至少15,000個複本的外源性融合多肽。在一些具體例中，去核類紅血球包含至少1,000個複本、至少10,000個複本、至少15,000個複本、至少20,000個複本、至少25,000個複本、至少30,000個複本、至少40,000個複本、至少50,000個複本，至少60,000個複本、至少80,000個複本、至少100,000個複本、至少200,000個複本、至少300,000個複本、至少400,000個複本、至少500,000個複本，或至少600,000個複本的外源性多肽。

**【0327】** 在另一個實例中，本文提供了一種套組，其包括包含去核類紅血球(例如，本文所述任何例示性去核類紅血球)的醫藥組成物，該去核類紅血球在其細胞外表面上包含外源性融合多肽，該外源性融合多肽包含(i) IL-15或其功能片段，和(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或功能片段；及包含4-1BBL多肽或其功能片段的外源性多肽，其中外源性多肽存在於去核類紅血球的表面上；以及用於執行本文所述任何方法的說明書。

**【0328】** 在一些具體例中，組成物如在例如WO 2020/219909(以引用的方式併入本文)中所述那樣配製本文所述任何去核類紅血球可配製用於投予給個體。

**【0329】** 本文進一步提供套組，其包括一或多個含有本文所述任何組成物的無菌容器(例如無菌錐形管、無菌培養皿、無菌小瓶(例如，硼矽玻璃小瓶)，以及無菌塑膠袋(二-2-乙基己基鄰苯二甲酸酯(DEHP)-塑化聚氯乙烯(PVC)袋，或正丁醯基三(正-己基)檸檬酸酯(BTHC)-塑化PVC袋)。在一些具體例中，本文所提供之任何套組可進一步包括用以將任一種組成物投予有需要之個體的說明書。

**【0330】** 本文所述套組的一些具體例包括本文所述任何組成物的合適單一劑型。例如，本文所述任何組成物的單一劑型可具有例如以下體積：約0.5 mL

至約2 L、約0.5 mL至約1800 mL、約0.5 mL至約1500 mL、約0.5 mL至約1200 mL、  
約0.5 mL至約1000 mL、約0.5 mL至約800 mL、約0.5 mL至約600 mL、約0.5 mL  
至約400 mL、約0.5 mL至約200 mL、約0.5 mL至約180 mL、約0.5 mL至約160 mL、  
約0.5 mL至約140 mL、約0.5 mL至約120 mL、約0.5 mL至約100 mL、約0.5 mL  
至約80 mL、約0.5 mL至約60 mL、約0.5 mL至約40 mL、約0.5 mL至約20 mL、  
約0.5 mL至約10 mL、約0.5 mL至約5 mL、約1.0 mL至約2 L、約1.0 mL至約1800  
mL、約1.0 mL至約1500 mL、約1.0 mL至約1200 mL、約1.0 mL至約1000 mL、  
約1.0 mL至約800 mL、約1.0 mL至約600 mL、約1.0 mL至約400 mL、約1.0 mL  
至約200 mL、約1.0 mL至約180 mL、約1.0 mL至約160 mL、約1.0 mL至約140 mL、  
約1.0 mL至約120 mL、約1.0 mL至約100 mL、約1.0 mL至約80 mL、約1.0 mL至  
約60 mL、約1.0 mL至約40 mL、約1.0 mL至約20 mL、約1.0 mL至約10 mL、約  
1.0 mL至約5 mL、約5 mL至約2 L、約5 mL至約1800 mL、約5 mL至約1500 mL、  
約5 mL至約1200 mL、約5 mL至約1000 mL、約5 mL至約800 mL、約5 mL至約  
600 mL、約5 mL至約400 mL、約5 mL至約200 mL、約5 mL至約180 mL、約5 mL  
至約160 mL、約5 mL至約140 mL、約5 mL至約120 mL、約5 mL至約100 mL、  
約5 mL至約80 mL、約5 mL至約60 mL、約5 mL至約40 mL、約5 mL至約20 mL、  
約5 mL至約10 mL、約10 mL至約2 L、約10 mL至約1800 mL、約10 mL至約1500  
mL、約10 mL至約1200 mL、約10 mL至約1000 mL、約10 mL至約800 mL、約10  
mL至約600 mL、約10 mL至約400 mL、約10 mL至約200 mL、約10 mL至約180  
mL、約10 mL至約160 mL、約10 mL至約140 mL、約10 mL至約120 mL、約10 mL  
至約100 mL、約10 mL至約80 mL、約10 mL至約60 mL、約10 mL至約40 mL、  
約10 mL至約20 mL、約20 mL至約2 L、約20 mL至約1800 mL、約20 mL至約1500  
mL、約20 mL至約1200 mL、約20 mL至約1000 mL、約20 mL至約800 mL、約20  
mL至約600 mL、約20 mL至約400 mL、約20 mL至約200 mL、約20 mL至約180  
mL、約20 mL至約160 mL、約20 mL至約140 mL、約20 mL至約120 mL、約20 mL

至約100 mL、約20 mL至約80 mL、約20 mL至約60 mL、約20 mL至約40 mL、約40 mL至約2 L、約40 mL至約1800 mL、約40 mL至約1500 mL、約40 mL至約1200 mL、約40 mL至約1000 mL、約40 mL至約800 mL、約40 mL至約600 mL、約40 mL至約400 mL、約40 mL至約200 mL、約40 mL至約180 mL、約40 mL至約160 mL、約40 mL至約140 mL、約40 mL至約120 mL、約40 mL至約100 mL、約40 mL至約80 mL、約40 mL至約60 mL、約60 mL至約2 L、約60 mL至約1800 mL、約60 mL至約1500 mL、約60 mL至約1200 mL、約60 mL至約1000 mL、約60 mL至約800 mL、約60 mL至約600 mL、約60 mL至約400 mL、約60 mL至約200 mL、約60 mL至約180 mL、約60 mL至約160 mL、約60 mL至約140 mL、約60 mL至約120 mL、約60 mL至約100 mL、約60 mL至約80 mL、約80 mL至約2 L、約80 mL至約1800 mL、約80 mL至約1500 mL、約80 mL至約1200 mL、約80 mL至約1000 mL、約80 mL至約800 mL、約80 mL至約600 mL、約80 mL至約400 mL、約80 mL至約200 mL、約80 mL至約180 mL、約80 mL至約160 mL、約80 mL至約140 mL、約80 mL至約120 mL、約80 mL至約100 mL、約100 mL至約2 L、約100 mL至約1800 mL、約100 mL至約1500 mL、約100 mL至約1200 mL、約100 mL至約1000 mL、約100 mL至約800 mL、約100 mL至約600 mL、約100 mL至約400 mL、約100 mL至約200 mL、約100 mL至約180 mL、約100 mL至約160 mL、約100 mL至約140 mL、約100 mL至約120 mL、約200 mL至約2 L、約200 mL至約1800 mL、約200 mL至約1500 mL、約200 mL至約1200 mL、約200 mL至約1000 mL、約200 mL至約800 mL、約200 mL至約600 mL、約200 mL至約500 mL、約200 mL至約450 mL、約200 mL至約400 mL、約200 mL至約350 mL、約200 mL至約300 mL、約200 mL至約250 mL、約300 mL至約2 L、約300 mL至約1800 mL、約300 mL至約1500 mL、約300 mL至約1200 mL、約300 mL至約1000 mL、約300 mL至約800 mL、約300 mL至約600 mL、約300 mL至約500 mL、約300 mL至約450 mL、約300 mL至約400 mL、約300 mL至約350 mL、約400 mL至約2 L、約

400 mL至約1800 mL、約400 mL至約1500 mL、約400 mL至約1200 mL、約400 mL至約1000 mL、約400 mL至約800 mL、約400 mL至約600 mL、約400 mL至約500 mL、約400 mL至約450 mL、約500 mL至約2 L、約500 mL至約1800 mL、約500 mL至約1500 mL、約500 mL至約1200 mL、約500 mL至約1000 mL、約500 mL至約800 mL、約500 mL至約600 mL、約600 mL至約2 L、約600 mL至約1800 mL、約600 mL至約1500 mL、約600 mL至約1200 mL、約600 mL至約1000 mL、約600 mL至約800 mL、約800 mL至約2 L、約800 mL至約1800 mL、約800 mL至約1500 mL、約800 mL至約1200 mL、約800 mL至約1000 mL、約1000 mL至約2 L、約1000 mL至約1800 mL、約1000 mL至約1500 mL、約1000 mL至約1200 mL、約1200 mL至約2 L、約1200 mL至約1800 mL、約1200 mL至約1500 mL、約1500 mL至約2 L、約1500 mL至約1800 mL，或約1800 mL至約2 L。

## 實例

實例1. 生成經基因工程改造以表現第一個融合多肽的類紅血球

### IL-15及IL-15/IL-15RA融合構建體

【0331】製備編碼融合多肽的各種DNA構建體以供在類紅血球中表現，如下表5所示。

表5. IL-15及IL-15/IL-15RA融合構建體及多肽。SEQ ID NO是指胺基酸序列。

構建體/多肽	說明	SEQ ID NO :
V3 IL-15	GPA 信號肽(SEQ ID NO : 27) -成熟人類 IL-15 (SEQ ID NO : 16) - 連接子-HA-連接子(SEQ ID NO : 57) - GPA (SEQ ID NO : 36)	38
V4 IL-15 + IL-15RA (細胞 外)	GPA 信號肽(SEQ ID NO : 27) - 成熟人類 IL-15 (SEQ ID NO : 16) - 撓性連接子(SEQ ID NO : 29) - 成熟人類細胞外 IL-15RA (SEQ ID NO : 22) - 連接子-HA- 連接子 (SEQ ID NO : 57) - GPA (SEQ ID NO : 36)	40
V5 IL-15 +	GPA 信號肽 (SEQ ID NO : 27) - 成熟人類 IL-15 (SEQ ID NO : 16) - 撓性連接子(SEQ ID NO : 29) - 成熟人類	42

IL-15RA (sushi 結構域 + 13 個 aa)	IL-15RA (sushi 結構域+13 個 aa) (SEQ ID NO : 25) - 連接子-HA-連接子 (SEQ ID NO : 57) - GPA (SEQ ID NO : 36)	
<b>V3.1</b>	GPA 信號肽 (SEQ ID NO : 27) - 成熟人類 IL-15 (SEQ ID NO : 16) - 連接子 (SEQ ID NO : 35) - GPA (SEQ ID NO : 36)	44
<b>V4.1</b>	GPA 信號肽(SEQ ID NO : 27) - 成熟人類 IL-15 (SEQ ID NO : 16) - 撓性連接子(SEQ ID NO : 29) - 成熟人類細胞外 IL-15RA (SEQ ID NO : 22) - 連接子 (SEQ ID NO : 35) - GPA (SEQ ID NO : 36)	46
IL-15/IL-15RA 融合多肽	成熟人類 IL-15 (SEQ ID NO : 16) - 撓性連接子(SEQ ID NO : 29) - 成熟人類細胞外 IL-15RA (SEQ ID NO : 22)	31
IL-15/IL-15RA (sushi 結構域 + 13 個 aa)融合 多肽	成熟人類 IL-15 (SEQ ID NO : 16) - 撓性連接子(SEQ ID NO : 29) - 成熟人類 IL-15RA (sushi 結構域+13 個 aa) (SEQ ID NO : 25)	33

**【0332】** 如下所述，將DNA構建體選殖到受MSCV啟動子序列控制的慢病毒載體的多選殖位點中以供在類紅血球中表現。

#### 產生慢病毒載體

**【0333】** 將構建體選殖到受MSCV啟動子序列(System Biosciences)控制之慢病毒載體pCDH的多選殖位點中。藉由用pPACKH1 (System Biosciences)和含有構建體的pCDH慢病毒載體轉染細胞，在293T細胞中產生慢病毒。將細胞置於新鮮培養基中。在培養基更換後48小時藉由在1,500 rpm下離心5分鐘收集病毒上清液。收集上清液，過濾，並以等分試樣冷凍在-80°C下。

#### 類紅血球的擴增和分化

**【0334】** 使用衍生自正常人類供體的經動員周邊血球的人類CD34<sup>+</sup>細胞。擴展/分化程序包括3個階段。在第一階段中，解凍的CD34<sup>+</sup>類紅血球細胞前驅物培養於包含重組人類胰島素、人類轉鐵蛋白、重組人類幹細胞因子和重組人類白介素3的Iscove氏MDM (IMDM)培養基中。在第二階段中，類紅血球培養於補

充有重組人類胰島素、人類轉鐵蛋白、人類重組幹細胞因子、人類重組紅血球生成素和L-麩醯胺酸的IMDM培養基。在第三階段中，類紅血球培養於補充有人類轉鐵蛋白、重組人類胰島素、人類重組紅血球生成素和肝素的IMDM培養基中。將培養物在5% CO<sub>2</sub>培養箱中保持在37°C。

#### 類紅血球細胞前驅物的轉導

**【0335】** 在上述培養過程的第1階段期間轉導類紅血球細胞前驅物。將培養基中的類紅血球細胞前驅物與慢病毒上清液和聚凝胺結合。藉由旋轉接種實現感染，將盤在室溫下以2,000 rpm旋轉90分鐘。旋轉接種後，在37°C下培育細胞過夜。

#### 抗體結合

**【0336】** 經PE標記的抗IL-15-RA抗體(例如抗IL-15RA抗體(JM7A4)(ab91270), AbCam)的結合用於驗證第一外源性多肽在經工程改造類紅血球中的表現。抗體的結合是藉由流動式細胞術來測量APC螢光或PE螢光。基於經染色的未轉導細胞設置圈選。

#### 實例2. 生成經基因工程改造以表現4-1BBL的類紅血球

##### 4-1BBL構建體

**【0337】** 製備DNA構建體以供在類紅血球中表現，如下表6所示：

表6. 4-1BBL構建體。SEQ ID NO是指胺基酸序列

構建體	說明	SEQ ID NO:
4-1BBL	GPA 信號肽(SEQ ID NO : 21) - 人類細胞外 4-1BBL (SEQ ID NO : 41) - 4-1BBL 連接子(SEQ ID NO : 39) - GPA (SEQ ID NO : 25)	43

## 產生慢病毒載體

【0338】如表6中所示構建4-1BBL基因構建體。將基因選殖到具有MSCV啟動子序列之慢病毒載體pCDH(來自System Biosciences)的多選殖位點中。藉由用pPACKH1(System Biosciences)和含有4-1BBL基因的pCDH慢病毒載體轉染細胞，在293T細胞中產生慢病毒。將細胞置於新鮮培養基中。在培養基更換後48小時藉由在1,500 rpm下離心5分鐘收集病毒上清液。收集上清液，過濾，並以等分試樣冷凍在-80°C下。

## 類紅血球的擴增和分化

【0339】衍生自正常人類供體的經動員周邊血球的人類CD34<sup>+</sup>細胞是以冷凍方式購自AllCells Inc.。擴展/分化程序包括3個階段。在第一階段中，解凍的CD34<sup>+</sup>類紅血球細胞前驅物培養於包含重組人類胰島素、人類轉鐵蛋白、重組人類重組幹細胞因子和重組人類白介素3的Iscove氏MDM(IMDM)培養基。在第二階段中，類紅血球培養於補充有重組人類胰島素、人類轉鐵蛋白、人類重組幹細胞因子、人類重組紅血球生成素和L-麩醯胺酸的Iscove氏MDM培養基。在第三階段中，類紅血球培養於補充有人類轉鐵蛋白、重組人類胰島素、人類重組紅血球生成素和肝素的Iscove氏MDM培養基。將培養物在5% CO<sub>2</sub>培養箱中保持在37°C。

## 類紅血球細胞前驅物的轉導

【0340】在上述培養過程的第1步期間轉導類紅血球細胞前驅物。將培養基中的類紅血球與慢病毒上清液和聚凝胺結合。藉由旋轉接種實現感染，將盤在室溫下以2,000 rpm旋轉90分鐘。旋轉接種後，在37°C下培育細胞過夜。

## 抗體結合



**【0341】** 經PE標記的抗4-1BBL抗體(例如經純化抗人類4-1BB配體(CD137L)抗體, BioLegend)的結合用於驗證4-1BBL在經工程改造類紅血球中的表現。抗體的結合是藉由流動式細胞術來測量PE螢光。基於經染色的未轉導細胞設置圈選。

### 實例3. 生成經基因工程改造以表現第一和第二外源性多肽的類紅血球

#### 產生慢病毒載體

**【0342】** 構建編碼IL-15/IL-15-RA融合蛋白和4-1BBL的基因。將每個基因選殖到受MSCV啟動子序列控制之慢病毒載體pCDH(System Biosciences)的多選殖位點, 使得一個載體包含IL-15/IL-15RA基因, 而另一個載體包含4-1BBL基因。藉由用pPACKH1 (System Biosciences)和含有IL-15/IL-15-RA基因的pCDH慢病毒載體與含有4-1BBL基因的pCDH慢病毒載體共轉染細胞, 在293T細胞中產生慢病毒。將細胞置於新鮮培養基中。在培養基更換後48小時藉由在1,500 rpm下離心5分鐘收集病毒上清液。收集上清液, 過濾, 並以等分試樣冷凍在-80°C下。

**【0343】** 或者, 構建IL-15/IL-15-RA融合蛋白和4-1BBL基因, 並選殖到受MSCV啟動子序列控制之慢病毒載體pCDH(System Biosciences)的多選殖位點, 使得單個載體包括IL-15/IL-15RA基因和4-1BBL基因。藉由用pPACKH1 (System Biosciences)和含有IL-15/IL-15-RA基因與4-1BBL基因的pCDH慢病毒載體共轉染細胞, 在293T細胞中產生慢病毒。將細胞置於新鮮培養基中。在培養基更換後48小時藉由在1,500 rpm下離心5分鐘收集病毒上清液。收集上清液, 過濾, 並以等分試樣冷凍在-80°C下。

#### 類紅血球的擴增和分化

【0344】 衍生自正常人類供體的經動員周邊血球的人類CD34<sup>+</sup>細胞是以冷凍方式購自AllCells Inc.。擴展/分化程序包括3個階段。在第一階段中，解凍的CD34<sup>+</sup>類紅血球細胞前驅物培養於包含重組人類胰島素、人類轉鐵蛋白、重組人類幹細胞因子和重組人類白介素3的Iscove氏MDM (IMDM)培養基。在第二階段中，類紅血球培養於補充有重組人類胰島素、人類轉鐵蛋白、人類重組幹細胞因子、人類重組紅血球生成素和L-麩醯胺酸的Iscove氏MDM (IMDM)培養基。在第三階段中，類紅血球培養於補充有人類轉鐵蛋白、重組人類胰島素、人類重組紅血球生成素和肝素的Iscove氏MDM (IMDM)培養基。將培養物在5% CO<sub>2</sub>培養箱中保持在37°C。

#### 類紅血球細胞前驅物的轉導

【0345】 在上述培養過程的第1步驟期間轉導類紅血球細胞前驅物。將培養基中的類紅血球與慢病毒上清液和聚凝胺結合。藉由旋轉接種實現感染，將盤在室溫下以2,000 rpm旋轉90分鐘。旋轉接種後，在37°C下培育細胞過夜。

#### 抗體結合

【0346】 經PE標記的抗IL-15-RA抗體(例如抗IL-15RA抗體(JM7A4)(ab91270)，AbCam)的結合用於驗證IL-15/IL-15-RA在經工程改造類紅血球中的表現。經PE標記的抗4-1BBL抗體(例如經純化抗人類4-1BB配體(CD137L)抗體，BioLegend)的結合用於驗證4-1BBL在經工程改造類紅血球中的表現。抗體的結合是藉由流動式細胞術來測量PE螢光。基於經染色的未轉導細胞設置圈選。

實例4. 去核類紅血球經基因工程改造成表現IL-15/IL-15RA與4-1BBL，使得在活體外淋巴球、NKp30陽性淋巴球和CD8<sup>+</sup>T細胞增加

【0347】大體上如實例3中所述製備包含IL-15/IL-15RA和4-1BBL的類紅血球。

【0348】將冷凍的周邊血液單核細胞(PBMC)解凍，重新懸浮於含有10%胎牛血清的RPMI培養基中，並以每孔100,000個細胞鋪在96孔圓底盤中。PBMC與以下任一者共培養：(a)去核類紅血球，包含在其細胞外表面上的該第一外源性蛋白，該第一外源性蛋白包含(i) IL-15或其功能片段，和(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段；以及包含4-1BBL的第二外源性多肽(每孔200,000個細胞)；(b)重組人類IL-15 (「rhIL15」；0.1 ng/mL)和抗4-1BB刺激性抗體(1 nM)，其與二級抗體(2.5 nM)交聯，或(c)僅培養基(對照)。將培養物培育8天，然後使用以下抗體染色藉由流動式細胞測量術進行分析：抗CD56抗體(純系5.1H11，Biolegend)、抗NKp30(純系p30-15，Biolegend)和LIVE/DEAD™ Fixable Aqua Dead Cell Stain (Invitrogen)標記死細胞(以允許對活細胞進行圈選)，隨後藉由流動式細胞測量術(Novocyte)進行分析。

【0349】8天後，與單獨的培養基對照和用rhIL-15與抗4-1BB刺激性抗體進行處理相比(圖1)，PBMC與去核類紅血球共培養使得NK細胞的總數量增加(未顯示)，且NKp30陽性淋巴球比例增加，該去核類紅血球在其細胞外表面上包含外源性融合蛋白以及包含4-1BBL的外源性融合多肽，該外源性融合蛋白包含(i) IL-15或其功能片段，和(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段。

實例5.在用經基因工程改造以表現IL-15/IL-15RA和4-1BBL的去核類紅血球治療前和治療期間的多個時間點，患者體內新鮮全血中的細胞表面標記

【0350】新鮮全血中的細胞表面標記是藉由流動式細胞測量術，在用包含IL-15/IL-15RA和4-1BBL的類紅血球(大體上如實例3中所述製備)治療之前和治療期間的多個時間點，在患者體內進行評估。在治療前基線和第一個投藥週期治療後的4小時、1天、2天、7天和14天以及隨後投藥週期後的治療後2天、7天

和14天從患者收集全血。藉由流動式細胞測量術分析使用標準技術用接合螢光團的抗體對全血進行染色。使用了多個抗體組，每組和流式細胞儀分析都有單獨的試管。所有組包括用於識別淋巴球、NK細胞和T細胞群的標記以及活化狀態的標記。所述數據是利用下組獲得：組1-CD3、CD8、CD16/CD56、CD45、CD45RA、CCR7、HLA-DR和活/死染色；組2-CD3、CD4、Foxp3、CD25、CD127、Ki67、活/死染色；組3-CD45、CD16、CD56、NKG2D、NKp30、活/死染色)。然後分析數據作為已建立母體圈選的百分率的群體頻率(例如，CD45+CD56+活淋巴球的%NKp30+)。在組1的情況下，還根據包含的定量計數對照分析了每個體積血液的定量細胞群數量數據。數據記述為每個感興趣的參數(每 $\mu\text{L}$ 全血的細胞數或母群體%)相對於基線觀察到的最大倍數變化。

【0351】 例如，在基線(治療前)和治療後的多個時間點，藉由流動式細胞測量術評估新鮮全血中活淋巴球(CD45+)中的細胞表面標記。給予大體上如實例3中所述製備的 $\geq 1 \times 10^{10}$ 個類紅血球(包含IL-15/IL-15RA和4-1BBL)的患者具有對NKp30呈陽性的CD45+CD56+淋巴球的百分率增加(圖2A)，NKp30陽性的CD45+CD56dimCD16+淋巴球的百分率增加(圖2B)，以及NKp30陽性的CD45+CD56+CD16+淋巴球的百分率增加(圖2C)。給予大體上如實例3中所述製備的 $\geq 1 \times 10^{10}$ 個類紅血球(包含IL-15/IL-15RA和4-1BBL)的患者的循環CD3<sup>+</sup>CD16/56<sup>+</sup>細胞的數量增加(圖3A)和表現顆粒酶B的CD8<sup>+</sup>記憶T細胞(GrB<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup>)增加(圖3B)。給予大體上如實例3中所述製備的 $\geq 1 \times 10^{10}$ 個類紅血球(包含IL-15/IL-15RA和4-1BBL)的患者顯示CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>淋巴球(CD4<sup>+</sup>T細胞)(圖4A)或CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>淋巴球(CD8<sup>+</sup>T細胞)(圖4B)的數量變化很小。

## 序列附錄

SEQ ID NO:	識別符	序列
1	NKp30 (NP 001138938.1) 多肽	MAWMLLLILIMVHPGSCALWVSPPEIRTLEGSSAFLPCSFNASQGRLAIGSVTWFR DEVVPGKEVRNGTPEFRGRLAPLASSRFLHDHQAELHIRDVRGHDASIYVCRVEVL GLGVGTGNGTRLVVEKEHPQLGAGTVLLLLRAGFYAVSFLSVAVGSTVYYQGYAK

		STLSGFPQL
2	編碼 SEQ ID NO: 1 的核酸 序列	ATGGCCTGGATGCTGTTGCTCATCTTGATCATGGTCCATCCAGGATCCTGTGCTC TCTGGGTGTCCCAGCCCCCTGAGATTCGTACCCTGGAAGGATCCTCTGCCTTCT GCCCTGCTCCTTCAATGCCAGCCAAGGGAGACTGGCCATTGGCTCCGTACAGTG GTTCCGAGATGAGGTGGTTCCAGGGAAGGAGGTGAGGAATGGAACCCAGAGT TCAGGGGCCGCCTGGCCCCACTTGCTTCTTCCCCTTCCATGACCACCAGGC TGAGCTGCACATCCGGGACGTGCGAGGCCATGACGCCAGCATCTACGTGTGCAG AGTGGAGGTGCTGGGCCTTGGTGTCTGGGACAGGGAATGGGACTCGGCTGGTGG TGGAGAAAGAACATCCTCAGCTAGGGGCTGGTACAGTCTCCTCCTTCCGGCTG GATTCTATGCTGTCAGCTTCTCTCTGTGGCCGTGGGCAGCACCGTCTATTACCA GGCAAATATGCCAAATCTACTCTCTCCGGATTCCCCCAACTCTGA
3	NKp30 (NP 001138939.1) 多肽	MAWMLLLILIMVHPGSCALWVSQPPEIRTLGSSAFLPCSFNASQGRLAIGSVTWFR DEVVPGKEVRNGTPEFRGRLAPLASSRFLHDHQELHIRDVRGHDASIYVCRVEVL GLGVGTGNTRLVVEKEHPQLGAGTVLLL RAGFYAVSFLSVA VGSTVYYQKCHC HMGTHCHSSDGPRGVIPEPRCP
4	編碼 SEQ ID NO: 3 的核酸 序列	ATGGCCTGGATGCTGTTGCTCATCTTGATCATGGTCCATCCAGGATCCTGTGCTC TCTGGGTGTCCCAGCCCCCTGAGATTCGTACCCTGGAAGGATCCTCTGCCTTCT GCCCTGCTCCTTCAATGCCAGCCAAGGGAGACTGGCCATTGGCTCCGTACAGTG GTTCCGAGATGAGGTGGTTCCAGGGAAGGAGGTGAGGAATGGAACCCAGAGT TCAGGGGCCGCCTGGCCCCACTTGCTTCTTCCCCTTCCATGACCACCAGGC TGAGCTGCACATCCGGGACGTGCGAGGCCATGACGCCAGCATCTACGTGTGCAG AGTGGAGGTGCTGGGCCTTGGTGTCTGGGACAGGGAATGGGACTCGGCTGGTGG TGGAGAAAGAACATCCTCAGCTAGGGGCTGGTACAGTCTCCTCCTTCCGGCTG GATTCTATGCTGTCAGCTTCTCTCTGTGGCCGTGGGCAGCACCGTCTATTACCA GGCAAATGCCACTGTACATGGGAACACACTGCCACTCCTCAGATGGGCCCCG AGGAGTGATTCCAGAGCCAGATGTCCCTAG
5	NKp30 (NP 667341.1)多 肽	MAWMLLLILIMVHPGSCALWVSQPPEIRTLGSSAFLPCSFNASQGRLAIGSVTWFR DEVVPGKEVRNGTPEFRGRLAPLASSRFLHDHQELHIRDVRGHDASIYVCRVEVL GLGVGTGNTRLVVEKEHPQLGAGTVLLL RAGFYAVSFLSVA VGSTVYYQKCLT WKGPRRQLPAVVPAPLPPPCGSSAHLPPVPGG
6	編碼 SEQ ID NO: 5 的核酸 序列	CATGGCCTGGATGCTGTTGCTCATCTTGATCATGGTCCATCCAGGATCCTGTGCT CTCTGGGTGTCCCAGCCCCCTGAGATTCGTACCCTGGAAGGATCCTCTGCCTTCC TGCCCTGCTCCTTCAATGCCAGCCAAGGGAGACTGGCCATTGGCTCCGTACAGT GGTCCGAGATGAGGTGGTTCCAGGGAAGGAGGTGAGGAATGGAACCCAGAG TTCAGGGGCCGCCTGGCCCCACTTGCTTCTTCCCCTTCCATGACCACCAGG CTGAGCTGCACATCCGGGACGTGCGAGGCCATGACGCCAGCATCTACGTGTGCA GAGTGGAGGTGCTGGGCCTTGGTGTCTGGGACAGGGAATGGGACTCGGCTGGTG GTGGAGAAAGAACATCCTCAGCTAGGGGCTGGTACAGTCTCCTCCTTCCGGCT GGATTCTATGCTGTCAGCTTCTCTCTGTGGCCGTGGGCAGCACCGTCTATTACC AGGGCAAATGTCTGACCTGGAAAGGTCCAAGAAGGCAGCTGCCGGCTGTGGTC CCAGCGCCCCCTCCACCACCATGTGGGAGCTCAGCACATCTGCTTCCCCCAGTC CCAGGAGGCTGA
7	B7-H6 (NP 001189368.1) 多肽	MTWRAAASTCAALLILLWALTTEGDLKVEMMAGGTQITPLNDNVITFCNIFYSQPL NITSMGITWFWKSLTFDKEVKVFEFFGDHQEAFRPGAIVSPWRLKSGDASLRLPGIQ LEEAGEYRCEVVVTPPKAQGTQVQLEVVASPARLLLDQVGMKENEDKYMCESSGF YPEAINITWEKQTKFPHPIEISEDVITGPTIKNMDGTFNVTSLKLNSSQEDPGTVY QCVVRHASLHTPLRSNFTLTAARHLSLETEKTDNFSIHWWPISFIGVGLVLLIVLIPW KKICNKSSAYTPLKILKHWNSFDTQTLKKEHLIFFCTRAWPSYQLQDGEAWPPEG SVNINTIQQLDVFCRQEGKWSEVPYVQAFFALRDNPDLCQCCRIDPALLTVTSGKSI DDNSTKSEKQTPREHSDAVPDAPILPVSPIEWEPPATTSTTPVLSSQPPTLLPLQ
8	編碼 SEQ ID NO: 7 的核酸 序列	ATGACGTGGAGGGCTGCCGCTCCACGTGCGCGGGCCTCCTGATTCTGCTGTGG GCGCTGACGACCGAAGGTGATCTGAAAGTAGAGATGATGGCAGGGGGGACTCA GATCACACCCCTGAATGACAATGTCACCATATTCTGCAATATCTTTTATCCCAA CCCCTCAACATCACGTCTATGGGTATCACCTGGTTTTGGAAGAGTCTGACGTTTG ACAAAGAAGTCAAAGTCTTTGAATTTTTGGAGATACCAAGAGGCATTCCGAC CTGGAGCCATTGTGTCTCCATGGAGGCTGAAGAGTGGGGACGCCTCACTGCGGC TGCTTGAATCCAGCTGGAGGAAGCAGGAGAGTACCGATGTGAGGTGGTGGTC ACCCCTCTGAAGGCACAGGGAACAGTCCAGCTTGAAGTTGTGGCTTCCCCAGCC AGCAGATTGTTGCTGGATCAAGTGGGCATGAAAGAGAATGAAGACAAATATAT GTGTGAGTCAAGTGGTTCTACCCAGAGGCTATTAATATAACATGGGAGAAGCA GACCCAGAAGTTTCCCCATCCCATAGAGATTCTGAGGATGTCATCACTGGTCC CACCATCAAGAATATGGATGGCACATTTAATGTCACTAGCTGCTTGAAGCTGAA

		CTCCTCTCAGGAAGACCCTGGGACTGTCTACCAGTGTGTGGTACGGCATGCGTC CTTGCATACCCCCTTGAGGAGCAACTTTACCCTGACTGCTGCTCGGCACAGTCTT TCTGAAACTGAGAAGACAGATAATTTTTCCATTTCATTGGTGGCCTATTTTCATTCA TTGGTGTGGACTGGTTTTATTAATTGTTTTGATTCCCTTGGAAAAAGATATGTAA CAAATCATCTTCAGCCTATACTCCTCTCAAGTGCATTCTGAAACACTGGAACCTCC TTTGACACTCAGACTCTGAAGAAAGAGCACCTCATATTCTTTTGCCTCGGGCAT GGCCGTCTTACCAGCTGCAGGATGGGGAGGCTTGGCCTCCTGAGGGAAGTGTTA ATATTAATACTATTCAACAACCTAGATGTTTTCTGCAGACAGGAGGGCAAATGGT CCGAGGTTCTTATGTGCAAGCCTTCTTTGCCTTGCAGAGACAACCCAGATCTTTG TCAGTGTTGTAGAATTGACCCTGCTCCTAACAGTTACATCAGGCAAGTCCATA GATGATAATTCCACAAAGTCTGAGAAACAAACCCCTAGGGAACACTCGGATGC AGTCCGGATGCCCAATCCTTCTGTCTCCCCTATCTGGGAACCTCCTCCAGCC ACAACATCAACAACCTCCAGTTCTATCCTCCCAACCCCAACTTTACTGTTACCC TACAGTAA
9	NKG2A (NP 002250.2)多 肽	MDNQGVYISDLNLPNPKRQQRKPKGNKNSILATEQEITYAELNLQKASQDFQGN KTYHCKDLPSAPEKLIVGILGIIICLILMASVVTIVVIPSTLIQRHNSSLNTRTQKARH CGHCPEEWITYSNSCYIYGKERRTWEESLLACTSKNSSLLSIDNEEEMKFLSIIPSSW IGVFRNSSHPWVTMNGLAFKHEIKSDNAELNCAVLQVNRLKSAQCGSSIIYHCK HKL
10	編碼 SEQ ID NO : 9 的核 酸序 列	ATGGATAACCAAGGAGTAATCTACTCAGACCTGAATCTGCCCCAAACCCAAAG AGGCAGCAACGAAAACCTAAAGGCAATAAAAACCTCCATTTTAGCAACTGAACA GGAAATAACCTATGCGGAATTAACCTTCAAAAAGCTTCTCAGGATTTTCAAGG GAATGACAAAACCTATCACTGCAAAGATTTACCATCAGCTCCAGAGAAGCTCAT TGTGGGATCCTGGGAATTATCTGTCTTATCTTAATGGCCTCTGTGGTAACGATA GTTGTTATCCCTCTACATTAATACAGAGGCACAACAATTCTTCCCTGAATACAA GAACTCAGAAAGCACGTCATTGTGGCCATTGTCCTGAGGAGTGGATTACATATT CCAACAGTTGTTACTACATTGGTAAGGAAAGAAGAACTTGGGAAGAGAGTTTGC TGGCCTGTACTTCGAAGAACTCCAGTCTGCTTTCTATAGATAATGAAGAAGAAA TGAAATTTCTGTCCATCATTTACCATCCTCATGGATTGGTGTGTTTCGTAACAG CAGTCATCATCCATGGGTGACAATGAATGGTTTGGCTTTCAAACATGAGATAAA AGACTCAGATAATGCTGAACTTAACTGTGCAGTGCTACAAGTAAATCGACTTAA ATCAGCCCAGTGTGGATCTTCAATAATATATCATTGTAAGCATAAGCTTTAG
11	NKG2A (NP_998823.1 )多肽	MDNQGVYISDLNLPNPKRQQRKPKGNKSSILATEQEITYAELNLQKASQDFQGN KTYHCKDLPSAPEKLIVGILGIIICLILMASVVTIVVIPSTLIQRHNSSLNTRTQKARH CGHCPEEWITYSNSCYIYGKERRTWEESLLACTSKNSSLLSIDNEEEMKFLSIIPSSW IGVFRNSSHPWVTMNGLAFKHEIKSDNAELNCAVLQVNRLKSAQCGSSIIYHCK HKL
12	編碼 SEQ ID NO : 11 的核 酸序 列	ATGGATAACCAAGGAGTAATCTACTCAGACCTGAATCTGCCCCAAACCCAAAG AGGCAGCAACGAAAACCTAAAGGCAATAAAAACCTCCATTTTAGCAACTGAACA GGAAATAACCTATGCGGAATTAACCTTCAAAAAGCTTCTCAGGATTTTCAAGG GAATGACAAAACCTATCACTGCAAAGATTTACCATCAGCTCCAGAGAAGCTCAT TGTGGGATCCTGGGAATTATCTGTCTTATCTTAATGGCCTCTGTGGTAACGATA GTTGTTATCCCTCTACATTAATACAGAGGCACAACAATTCTTCCCTGAATACAA GAACTCAGAAAGCACGTCATTGTGGCCATTGTCCTGAGGAGTGGATTACATATT CCAACAGTTGTTACTACATTGGTAAGGAAAGAAGAACTTGGGAAGAGAGTTTGC TGGCCTGTACTTCGAAGAACTCCAGTCTGCTTTCTATAGATAATGAAGAAGAAA TGAAATTTCTGTCCATCATTTACCATCCTCATGGATTGGTGTGTTTCGTAACAG CAGTCATCATCCATGGGTGACAATGAATGGTTTGGCTTTCAAACATGAGATAAA AGACTCAGATAATGCTGAACTTAACTGTGCAGTGCTACAAGTAAATCGACTTAA ATCAGCCCAGTGTGGATCTTCAATAATATATCATTGTAAGCATAAGCTTTAG
13	HLA-E (NP 005507.3)多 肽	MVDGTLNLLLSEALALTQTWAGSHSLKYFHTSVSRPGRGEPFISVGYVDDTQFVR FDNDAA SPRMVPRAPWMEQEGSEYWDRETRSARDTAQIFRVNLRTRLRGYYNQSEA GSHTLQWMHGCELGPDGRFLRGYEQFAYDGKDYLTNEDLRSWTAVDTAAQISEQ KSNDAEAEHQRAYLEDTCVEWLHKYLEKGGKETLLHLEPPKTHVTHHPISDHEATL RCWALGFYPAEITLTWQQDGEGHTQDTEL VETRPAGDGTFOKWA AVVPSGEEQR YTCHVQHEGLPEPVTLRWKPASQPTIPIVGIAGLVLLGSVVS GAVVA AVIWRKSS GKGGYSKAEWSDSAQGSSEHSL
14	編碼 SEQ ID NO : 12 的核 酸序 列	ATGGTAGATGGAACCCTCCTTTTACTCCTCTCGGAGGCCCTGGCCCTTACCCAGA CCTGGGCGGGCTCCCCTTGAAGTATTTCCACACTCCGTGTCCCGGCCCGG CCGCGGGGAGCCCCGCTTCACTCTGTGGGCTACGTGGACGACACCCAGTTCGT GCGCTTCGACAACGACGCCGCGAGTCCGAGGATGGTGGCCGGGCGCCGTGGA TGGAGCAGGAGGGGTACAGATTGGGACCGGGAGACACGGAGCGCCAGGGAC

		ACCGCACAGATTTTCCGAGTGAATCTGCGGACGCTGCGCGGCTACTACAATCAG AGCGAGGCCGGGTCTCACACCTGCAGTGGATGCATGGCTGCGAGCTGGGGCCC GACGGGCGCTTCTCCGCGGGTATGAACAGTTTCGCCTACGACGGCAAGGATTAT CTCACCTGAATGAGGACCTGCGCTCCTGGACCGCGGTGGACACGGCGGCTCAG ATCTCCGAGCAAAAGTCAAATGATGCCTCTGAGGCGGAGCACCAGAGAGCCTA CCTGGAAGACACATGCGTGGAGTGGCTCCACAAATACCTGGAGAAGGGGAAGG AGACGCTGCTTACCTGGAGCCCCAAAGACACACGTGACTCACCACCCCATCT CTGACCATGAGGCCACCCTGAGGTGCTGGGCCCTGGGCTTCTACCTGCGGAGA TCACACTGACCTGGCAGCAGGATGGGGAGGGCCATACCCAGGACACGGAGCTC GTGGAGACCAGCCTGCAGGGATGGAACCTTCCAGAAGTGGGCAGCTGTGGT GGTGCTTCTGGAGAGGAGCAGAGATACACGTGCCATGTGCAGCATGAGGGC TACCCGAGCCCGTACCCTGAGATGGAAGCCGGCTTCCCAGCCACCATCCCCA TCGTGGGCATCATTGCTGGCCTGGTTCTCCTTGGATCTGTGGTCTCTGGAGCTGT GGTTGCTGCTGTGATATGGAGGAAGAAGAGCTCAGGTGGAAAAGGAGGGAGCT ACTCTAAGGCTGAGTGGAGCGACAGTGCCAGGGGTCTGAGTCTCACAGCTTGT AA
15	未成熟人類 IL-15	MRISKPHLRSISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVFILGCF SAGLPKTEANWVNVISDLKK IEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHTVENLILA NNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS
16	成熟人類 IL-15	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDA SIHTVENLILANNLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS
17	編碼成熟人類 IL-15 (SEQ ID NO: 16)的核 酸	AACTGGGTGAACGTTATTAGTGACCTTAAAAAGATCGAAGATTTGATACAGTCA ATGCACATAGACGCGACGCTTTATACAGAATCTGATGTACATCCTTCATGCAAG GTTACTGCTATGAAGTGTCTTCTCGAACTCCAAGTAATAAGTCTTGAGAGCG GAGATGCGAGCATTTCATGACACCGTTGAGAATCTTATTATATTGGCTAACAACT CTCTGTCCAGCAATGGTAATGTGACAGAAAGCGGGTGTAAAGGAGTGCAGGAA CTCGAGGAGAAGAACATCAAAGAGTTCTTGCAGTCTTTCGTCCATATTGTCCAG ATGTTCATAAATACTAGC
18	編碼成熟人類 IL-15 (SEQ ID NO: 16)的核 酸	AACTGGGTAAACGTCATAAGCGACCTCAAAAAGATCGAGGACCTTATACAGTCT ATGCACATAGATGCGACACTTTACACGGAATCAGACGTGCACCCGTCCTGCAAA GTCACAGCCATGAAGTGCTTTCTTCTCGAACTGCAGGTAATTTCTCTCGAATCAG GTGACGCATCTATCCACGACACAGTTGAAAATCTTATTATCCTGGCTAATAACTC CCTTAGCTCAAACGGCAATGTACCGAGAGTGGATGTAAAGAATGTGAGGAAC TTGAAGAGAAAAACATAAAGGAATCTTGCAGAGTTTCGTTTCATATTGTGCAAA TGTTTCATAAATACTAGT
19	未成熟全長人 類 IL-15 受體 $\alpha$	MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRGITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSYRERY ICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNV AHWTTPLSKCIRD PALVHQR PAPPSTVTTAG VTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTA AIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESHG TPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTTVAISTSTVLLCGLSAV SLLACYLKS RQTPPLASVE MEAMEALPVTWGTSSRDEDLENC SHHL
20	成熟全長人 類 IL-15 受體 $\alpha$	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSYRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNV AHW TTPSLKCIRD PALVHQR PAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTA AIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGH SDTTVAISTSTVLLCGLSAV SLLACYLKS RQTPPLASVEMEAMEALPVTWGTSSRDED LENC SHHL
21	未成熟細胞外 人類 IL-15 受 體 $\alpha$	MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRGITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSYRERY ICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNV AHWTTPLSKCIRD PALVHQR PAPPSTVTTAG VTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTA AIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESHG TPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTT
22	成熟細胞外人 類 IL-15 受體 $\alpha$	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSYRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNV AHW TTPSLKCIRD PALVHQR PAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTA AIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGH SDTT
23	編碼 SEQ ID NO: 22 (成熟 細胞外人類 IL-15 受體 $\alpha$ ) 的核酸序列	ATCACATGCCACCGCCATGTCTGTTGAACACGCAGACATTTGGGTAAAAGT TACTACTTTACTCACGCGAGAGATATATATGCAACAGCGGCTTCAAGCGCAAA GCAGGCACTAGTAGTCTTACAGAGTGCCTGCTCAATAAAGCTACAAATGTAGCT CATTGGACTACTCCTAGTCTCAAATGCATTCCGGACCCCGCGCTTGTGCACCAG AGACCTGCGCCCGTCCACAGTGACGACAGCTGGTGTAAACCCCCAACCTGAA TCCCTTAGTCCGTCTGGTAAAGAACCGGCGGCGTCTTACCTTCCAGCAATAAT ACTGCGGCGACAACAGCCGCGATAGTTCTGGATCCCAACTCATGCCGTCAAAG TCTCCTTCAACGGGAACGACAGAGATCTCTTACATGAAAGTTCTCATGGAACA CCGAGCCAAACTACGGCAAAGAACTGGGAACTGACTGCCTCAGCAAGCCACCA

		GCCGCCAGGGGTGTACCCGCAAGGGCACTCAGATACTACT
24	人類 IL-15 受體 sushi 結構域	ITCPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHW TTPSLKCIR
25	人類 IL-15 受體 sushi 結構域 + IL-15 受體 $\alpha$ 的 13 個 aa	ITCPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHW TTPSLKCIRD PALVHQR PAPP S
26	編碼 SEQ ID NO: 25 的核酸序列	ATCACCTGCCCGCCTCCCATGAGCGTGGAACACGCGGACATTTGGGTTAAGAGC TACAGTCTTTACAGCCGGGAGCGCTATATCTGCAACTCAGGGTTTAAGCGGAAA GCAGGGACATCAAGTTTGACAGAATGTGTGTTGAACAAGGCTACAAATGTTGCT CACTGGACCACGCCATCTTTGAAGTGTATCCGAGATCCCGCGCTTGTCCATCAG CGCCAGCGCCTCCCTCC
27	GPA 信號肽	MYGKIIFVLLLSEIVSISA
28	編碼 SEQ ID NO: 33 的核酸	ATGTATGGAAAATAATCTTTGTATTACTATTGTCAGAAATTGTGAGCATATCA GCA
29	連接子	GGGSGGGSGGGGS
30	(GGGS) <sub>n</sub>	(GGGS) <sub>n</sub> , wherein n is 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 or 10
31	成熟人類 IL-15 + (G4S) <sub>3</sub> 連接子 + 成熟細胞外可溶性人類 IL-15 受體 $\alpha$	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLES GDA SIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFIN TSGG GGSGGGSGGGGSITCPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTE CVLNKATNVAHWTTTPSLKCIRD PALVHQR PAPP STVTTAGVTPQPELSPSGKEPAA SSPSSNNTAATTA AIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESHGTPSQTTAKNWELTASA SHQPPGVYPQGHSDTT
32	編碼 SEQ ID NO: 31 的核酸序列	AACTGGGTGAACGTTATTAGTGACCTTAAAAAGATCGAAGATTTGATACAGTCA ATGCACATAGACGCGACGCTTTATACAGAATCTGATGTACATCCTTCATGCAAG GTTACTGCTATGAAGTGTCTTCTCGAACTCCAAGTAATAAGTCTTGAGAGCG GAGATGCGAGCATTTCATGACACCGTTGAGAATCTTATTATATTGGCTAACAACT CTCTGTCCAGCAATGGTAATGTGACAGAAAGCGGGTGTAAAGGAGTGCAGGAA CTCGAGGAGAAGAACATCAAAGAGTTCTTGCAGTCTTTCGTCCATATTGTCCAG ATGTTCATAAATACTAGCGGGGGAGGTGGCTCTGGTGGAGGCGGGAGTGGCGG GGCGGCTCAATCACATGCCACCGCCATGTCTGTTGAACACGCAGACATTTG GGTAAAAGTTACTCACTTTACTCACGCGAGAGATATATATGCAACAGCGGCTT CAAGCGCAAAGCAGGCACTAGTAGTCTTACAGAGTGCGTGCTCAATAAAGCTAC AAATGTAGCTCATTGGACTACTCCTAGTCTCAAATGCATTCGGGACCCCGCGCTT GTGCACCAGAGACCTGCGCCCGTCCACAGTGACGACAGCTGGTGTAAACCCCC CAACCTGAATCCCTTAGTCCGTCTGGTAAAGAACCGGCGGCGTCTTCACCTTCC AGCAATAAATACTGCGGCGACAACAGCCGCGATAGTTCCTGGATCCCAACTCATG CCGTCAAAGTCTCCTTCAACGGGAACGACAGAGATCTTTCACATGAAAGTTCT CATGGAACACCGAGCCAAAGTACGGCAAAGAAGTGGAACTGACTGCCTCAGC AAGCCACCGCCGAGGGTGTACCCGCAAGGGCACTCAGATACTACT
33	成熟人類 IL-15 + (G4S) <sub>3</sub> 連接子 + IL-15 受體 $\alpha$ sushi 結構域 + IL-15 受體 $\alpha$ 的 13 個 aa	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLES GDA SIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFIN TSGG GGSGGGSGGGGSITCPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTE CVLNKATNVAHWTTTPSLKCIRD PALVHQR PAPP S
34	編碼 SEQ ID NO: 33 的核酸序列	AACTGGGTAAACGTCATAAGCGACCTCAAAAAGATCGAGGACCTTATACAGTCT ATGCACATAGATGCGACACTTTACACGGAATCAGACGTGCACCCGTCTGCAAA GTCACAGCCATGAAGTGCTTTCTTCTCGAACTGCAGGTAATTTCTCTCGAATCAG GTGACGCATCTATCCACGACACAGTTGAAAATCTTATTATCCTGGCTAATAACTC CCTTAGCTCAAACGGCAATGTACCCGAGAGTGGATGTAAAGAATGTGAGGAAC TTGAAGAGAAAAACATAAAGGAATTTCTTGCAGAGTTTCGTTTCAATTGTGCAAA TGTTTCATCAATACTAGTGGCGGGGGGGGAAGCGGTGGTGGAGGGAGCGGGGGT GGTGGATCCATCACTGCCCCTCCATGAGCGTGGAACACGCGGACATTTGG GTTAAGAGCTACAGTCTTTACAGCCGGGAGCGCTATATCTGCAACTCAGGGTTT



		AAGCGGAAAGCAGGGACATCAAGTTTGACAGAATGTGTGTTGAACAAGGCTAC AAATGTTGCTCACTGGACCACGCCATCTTTGAAGTGTATCCGAGATCCCGCGCTT GTCCATCAGCGCCCAGCGCCTCCCTCC
35	連接子	GGSGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG
36	GPA 多肽	LSTTEVAMHTSTSSSVTKSYISSQTNDTHKRDTYAATPRAHEVSEISVRTVYPPEET GERVQLAHHFSEPEITLIIFGVMAGVIGTILLISYGIRRLIKKSPSDVKPLPSPDTPD SVEIENPETSQ
37	編碼 SEQ ID NO : 36 的核 酸序列	TTAAGTACCACTGAGGTGGCAATGCACACTTCAACCTCTTCTTCAGTCACAAAG AGTTACATCTCATCACAGACAAATGATACGCACAAACGGGACACATATGCAGCC ACTCCTAGAGCTCATGAAGTTTCAGAAATTTCTGTTAGAACTGTTTACCCTCCAG AAGAGGAAACCGGAGAAAGGGTACAACCTGCCCATCATTCTCTGAACCAGAG ATAACACTCATTATTTTTGGGGTGATGGCTGGTGTATTGGAACGATCCTCTTAA TTTCTTACGGTATTCGCCGACTGATAAAGAAAAGCCCATCTGATGTAAAACCTC TCCCCTCACCTGACACAGACGTGCCTTTAAGTTCTGTTGAAATAGAAAATCCAG AGACAAGTGATCAA
38	IL-15 V3 構建 體	MYGKIIFVLLLSEIVSISANWVNVISDLKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPS CKVTAMKCFLELQVISLES GDASIHDTVENLIILANNLSNNGNVTESGCKE CEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSGGSGGSGGYPYDVPDYAGGGSGGGG LSTTEVAMHTSTSSSVTKSYISSQTNDTHKRDTYAATPRAHEVSEISVRTVY PPEETGERVQLAHHFSEPEITLIIFGVMAGVIGTILLISYGIRRLIKKSPSDVK PLPSPDTPDPLSSVEIENPETSQ
39	編碼 SEQ ID NO : 38 (IL-15 V3)的核酸序 列	ATGTATGGAAAAATAATCTTTGTATTACTATTGTCAGAAATTGTGAGCATATCA GCAAACCTGGGTAAATGTGATTTTCAGACCTGAAAAAATCGAAGACCTTATTCAA TCCATGCACATCGACGCGACACTTTATACTGAATCAGACGTACACCCGTCCTGT AAGGTTACTGCGATGAAGTGCTTTCTGTTGGAATTGCAAGTGATCTCCCTCGAAT CAGGGGATGCATCCATTCATGATACCGTCGAGAATTTGATCATTCTGGCAAATA ACTCCCTCAGTAGTAACGGGAATGTGACCGAGTCTGGGTGTAAGGAGTGCGAA GAGTTGGAGGAAAAGAATATCAAAGAATTCCTTCAGTCTTTGTTACATCGTG CAAATGTTTATTAATACATCTGGAGGATCTGGCGGGTCTGGAGGCTACCCCTAT GACGTGCCGACTATGCCGCGGAGGGTCTGGAGGCGGTTCTTAAAGTACCACT GAGGTGGCAATGCACACTTCAACCTCTTCTTCAGTCACAAAGAGTTACATCTCA TCACAGACAAATGATACGCACAAACGGGACACATATGCAGCCACTCCTAGAGC TCATGAAGTTTCAGAAATTTCTGTTAGAACTGTTTACCCTCCAGAAGAGGAAAC CGGAGAAAGGGTACAACCTGCCCATCATTCTCTGAACCAGAGATAACACTCAT TATTTTTGGGGTGATGGCTGGTGTATTGGAACGATCCTCTTAAATTTCTTACGGT ATTCGCCGACTGATAAAGAAAAGCCCATCTGATGTAAAACCTCTCCCCTCACCT GACACAGACGTGCCTTTAAGTTCTGTTGAAATAGAAAATCCAGAGACAAGTGAT CAA
40	IL-15/IL-15Ra V4 構建體	MYGKIIFVLLLSEIVSISANWVNVISDLKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTA MKCFLELQVISLES GDASIHDTVENLIILANNLSNNGNVTESGCKECEELEEKNIKE FLQSFVHIVQMFINTSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSYRER YICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNV AHWTPSLKICIRDPALVHQRPPSTVTTA GVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAIVPGSQLMPKSPSTGTTEISSHESH GTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTTGGSGGSGGYPYDVPDYAGGGSG GSLSTTEVAMHTSTSSSVTKSYISSQTNDTHKRDTYAATPRAHEVSEISVRTVYPPE EETGERVQLAHHFSEPEITLIIFGVMAGVIGTILLISYGIRRLIKKSPSDVKPLPSPD TDPVPLSSVEIENPETSQ
41	編碼 SEQ ID NO : 40 (IL-15-V4)的 核酸序列	ATGTATGGAAAAATAATCTTTGTATTACTATTGTCAGAAATTGTGAGCATATCA GCAAACCTGGGTGAACGTTATTAGTGACCTTAAAAAGATCGAAGATTTGATACAG TCAATGCACATAGACGCGACGCTTTATACAGAACTCTGATGTACATCCTTCATGC AAGGTTACTGCTATGAAGTGTCTTCTTCTCGAACTCCAAGTAATAAGTCTTGAGA GCGGAGATGCGAGCATTATGACACCGTTGAGAATCTTATTATATTGGCTAACA ACTCTCTGTCCAGCAATGGTAATGTGACAGAAAGCGGGTGAAGGAGTGCGAG GAACCTCGAGGAGAAGAACAATCAAGAGATTCTTGCAGTCTTTCGTTCCATATTGTC CAGATGTTTATAAATACTAGCGGGGAGGGTGGCTCTGGTGGAGGCGGAGTGCG CGGGGGCGGCTCAATCACATGCCACCGCCCATGTCTGTTGAACACGCAGACAT TTGGGTTAAAAGTTACTCACTTTACTCACGCGAGAGATATATATGCAACAGCGG CTTCAAGCGCAAAGCAGGCACTAGTAGTCTTACAGAGTGCGTGCTCAATAAAGC TACAAATGTAGCTCATTGGACTACTCCTAGTCTCAAATGCATTCGGGACCCCGC GCTTGTGCACCAGAGACCTGCGCCCGCTCCACAGTGACGACAGCTGGTGTAAC CCCCAACCTGAATCCCTTAGTCCGTCTGGTAAAGAACCGGCGGCGTCTTACC

		TTCCAGCAATAATACTGCGGGGACAACAGCCGCGATAGTTCCTGGATCCCAACT CATGCCGTCAAAGTCTCCTTCAACGGGAACGACAGAGATCTCTTACATGAAAG TTCTCATGGAACACCGAGCCAACTACGGCAAAGAACTGGGAACTGACTGCCTC AGCAAGCCACCGAGCCAGGGGTGTACCCGCAAGGGCACTCAGATACTACTG GAGGATCTGGCGGGTCTGGAGGCTACCCCTATGACGTGCCCGACTATGCCGGCG GAGGGTCTGGAGGCGGTTCTTAAGTACCACTGAGGTGGCAATGCACACTTCAA CCTCTTCTCAGTCACAAAGAGTTACATCTCATCACAGACAAATGATACGCACA AACGGGACACATATGCAGCCACTCCTAGAGCTCATGAAGTTTCAGAAATTTCTG TTAGAAGTGTTCACCTCCAGAAGAGGAAACCCGGAGAAAGGGTACAACCTTGCCC ATCATTCTCTGAACCAGAGATAAACTCATTATTTTTGGGGTATGGCTGGTGT TATTGGAACGATCCTCTTAATTTCTTACGGTATTCCGCGACTGATAAAGAAAAG CCCATCTGATGTAAAACCTCTCCCCTCACCTGACACAGACGTGCCTTTAAGTTCT GTTGAAATAGAAAATCCAGAGACAAGTGATCAA
42	IL-15/IL-15Ra V5	MYGKIIFVLLLSEIVSISANWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTA MKCFLELQVISLESGLASIHDTVENLIILANNLSNNGVNTESGCKECELEEKNIKE FLQSFVHIVQMFINTSGGGGSGGGGSGGGGSITCPPMSVEHADIWVKSYSLSYRER YICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNV AHWTPSLKCIRD PALVHQR PAPPSSGGSGG SGGYPDVDPDYAGGGSGGSLSTTEVAMHTSTSSSVTKSYISSQTNDTHKRDTYAA TPRAHEVSEISVRTVYPPEEETGERVQLAHHFSEPEITLIIFGVMAGVIGTILLISYGIR RLIKKSPSDVKPLPSPD TDVPLSSVEIENPETS DQ
43	編碼 SEQ ID NO : 42 (IL-15 V5)的核酸序 列	ATGTATGGAAAAATAATCTTTGTATTACTATTGTCAGAAATTGTGAGCATATCA GCAAACCTGGGTAACCGTCATAAGCGACCTCAAAAAGATCGAGGACCTTATACA GTCTATGCACATAGATGCGACACTTTACACGGAATCAGACGTGCACCCGTCCTG CAAAGTCACAGCCATGAAGTGCTTCTTCTCGAACTGCAGGTAATTTCTCTCGAA TCAGGTGACGCATCTATCCACGACACAGTTGAAAATCTTATTATCCTGGCTAAT AACTCCCTTAGCTCAAACGGCAATGTCACCGAGAGTGGATGTAAAGAATGTGAG GAACTTGAAGAGAAAAACATAAAGGAATTCTTGCAGAGTTTCGTTTCATATTGTG CAAATGTTTCATCAATACTAGTGGCGGGGGGGGAAGCGGTGGTGGAGGGAGCGG GGTGGTGGATCCATCACCTGCCCCCTCCCATGAGCGTGGAACACGCGGACAT TTGGGTTAAGAGCTACAGTCTTTACAGCCGGGAGCGCTATATCTGCAACTCAGG GTTTAAGCGGAAAGCAGGGACATCAAGTTTGACAGAATGTGTGTTGAACAAGG CTACAAATGTTGCTCACTGGACCACGCCATCTTTGAAGTGATCCGAGATCCCG CGCTTGCCATCAGCGCCCAGCGCCTCCCTCCGGAGGACTGCGGGGCTGGAG GCTACCCCTATGACGTGCCCGACTATGCCGGGAGGGTCTGGAGGCGGTTCTCT TAAGTACCACTGAGGTGGCAATGCACACTTCAACCTCTTCTCAGTCACAAAGA GTTACATCTCATCACAGACAAATGATACGCACAAACGGGACACATATGCAGCCA CTCCTAGAGCTCATGAAGTTTCAGAAATTTCTGTTAGAACTGTTTACCCTCCAGA AGAGGAAACCGGAGAAAGGGTACAACCTGCCCATCATTCTCTGAACCAGAGA TAACTCATTATTTTTGGGGTATGGCTGGTGTATTGGAACGATCCTCTTAAT TTCTTACGGTATTCCGCGACTGATAAAGAAAAGCCCATCTGATGTAAAACCTCT CCCCTCACCTGACACAGACGTGCCTTTAAGTTCTGTTGAAATAGAAAATCCAGA GACAAGTGATCAA
44	IL-15 V3.1 構 建體	MYGKIIFVLLLSEIVSISANWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTA MKCFLELQVISLESGLASIHDTVENLIILANNLSNNGVNTESGCKECELEEKNIKE FLQSFVHIVQMFINTSGGSGGSGGGGSGGGGSGGGGSLSTTEVAMHTSTSSSVT KSYISSQTNDTHKRDTYAA TPRAHEVSEISVRTVYPPEEETGERVQLAHHFSEPEITLI IFGVMAGVIGTILLISYGIRRLIKKSPSDVKPLPSPD TDVPLSSVEIENPETS DQ
45	編碼 SEQ ID NO : 44 (IL-15 V3.1)的核酸 序列	ATGTATGGAAAAATAATCTTTGTATTACTATTGTCAGAAATTGTGAGCATATCA GCAAACCTGGGTAATGTGATTCAGACCTGAAAAAATCGAAGACCTTATTCAA TCCATGCACATCGACGCGACACTTTATACTGAATCAGACGTACACCCGTCCTGT AAGGTTACTGCGATGAAGTGCTTCTGTTGGAATTGCAAGTGATCTCCCTCGAAT CAGGGGATGCATCCATTGATACCGTTCGAGAATTTGATCATTCTGGCAAATA ACTCCCTCAGTAGTAACGGGAATGTGACCGAGTCTGGGTGTAAGGAGTGCGAA GAGTTGGAGGAAAAGAATATCAAAGAATTCCTCAGTCCTTTGTTACATCGTG CAAATGTTTATTAATACATCTGGAGGATCTGGCGGGTCTGGAGGCGGCGGCGGC AGCGGCGGCGGACGCGGCGGAGGGTCTGGAGGCGGTTCTTAAAGTACCACTGA GGTGGCAATGCACACTTCAACCTCTTTCAGTCACAAAGAGTTACATCTCATCA CAGACAAATGATACGCACAAACGGGACACATATGCAGCCACTCCTAGAGACTCA TGAAGTTTCAGAAATTTCTGTTAGAACTGTTTACCCTCCAGAAGAGAAACCGG AGAAAGGGTACAACCTGCCCATCATTCTCTGTAACCAGAGATAAACTCATTAT TTTTGGGGTATGGCTGGTGTATTGGAACGATCCTCTTAATTTCTTACGGTATT CGCCGACTGATAAAGAAAAGCCCATCTGATGTAAAACCTCTCCCCTCACCTGAC

46	IL-15/IL-15Ra V4.1 構建體	ACAGACGTGCCTTTAAGTTCTGTTGAAATAGAAAATCCAGAGACAAGTGATCAA MYGKIIFVLLLSEIVSISANWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTA MKCFLELQVISLESGLASIHDTVENLIILANNLSNGNVTESGCKECELEEKNIKE FLQSFVHIVQMFINTSGGGGSGGGGSGGGGSITCPPMSVEHADIWVKSYSLSYRER YICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNV AHWTPSLKCIRD PALVHQR PAPPSTVTTA GVTPQPELSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAIVPGSQLMPSPKSPSTGTTEISSHESH GTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTTGGSGGSGGGGSGGGGSGGGSGG GSLSTTEVAMHTSTSSSVTKSYISSQTNDTHKRDTYAATPRAHEVSEISVRTVYPPEE ETGERVQLAHHFSEPEITLIIFGVMAGVIGTILLISYGIRRLIKKSPSDVKPLPSPD TDV PLSSVEIENPETS DQ
47	編碼 SEQ ID NO : 46 (IL-15-V4.1) 的核酸序列	ATGTATGGAAAAATAATCTTTGTATTACTATTGTCAGAAAATTGTGAGCATATCA GCAAACCTGGGTGAACGTTATTAGTGACCTTAAAAAGATCGAAGATTTGATACAG TCAATGCACATAGACGCGACGCTTTATACAGAATCTGATGTACATCCTTCATGC AAGGTTACTGCTATGAAGTGTCTTCTCTCGAACTCCAAGTAATAAGTCTTGAGA GCGGAGATGCGAGCATTATGACACCGTTGAGAATCTTATTATATTGGCTAACAA ACTCTCTGTCCAGCAATGGTAATGTGACAGAAAGCGGGTGTAAAGGAGTGCAG GAACTCGAGGAGAAGAACATCAAAGAGTTCTTGCAGTCTTTCGTCCATATTGTC CAGATGTTTATAAATACTAGCGGGGAGGTGGCTCTGGTGGAGGCGGGAGTGG CGGGGCGGCTCAATCACATGCCACCGCCCATGTCTGTTGAACACGCAGACAT TTGGGTTAAAAGTTACTACTTTACTCACGCGAGAGATATATATGCAACAGCGG CTTCAAGCGCAAAGCAGGCACTAGTAGTCTTACAGAGTGCCTGCTCAATAAAGC TACAAATGTAGCTCATTGGACTACTCCTAGTCTCAAATGCATTCGGGACCCCGC GCTTGTGCACCAGAGACCTGCGCCCGCTCCACAGTGACGACAGCTGGTGTAAC CCCCAACCTGAATCCCTTAGTCCGTCTGGTAAAGAACCGGCGGGCTTTCACC TTCCAGCAATAATACTGCGGCGACAACAGCCGCGATAGTTCTTGATCCCAACT CATGCCGTCAAAGTCTCCTTCAACGGGAACGACAGAGATCTCTTACATGAAAG TTCTCATGGAAACACCGAGCCAAACTACGGCAAAGAAGTGGGAACTGACTGCCTC AGCAAGCCACCAGCCGCGAGGGGTGTACCCGCAAGGGCACTCAGATACTACTG GAGGATCTGGCGGGTCTGGAGGCGGCGGCGGCAGCGGCGGCGGCAGCGGCGGA GGTCTGGAGGCGGTTCTTAAAGTACCCTGAGGTGGCAATGCACACTTCAACC TCTTCTCAGTCACAAAGAGTTACATCTCATCACAGACAAATGATACGCACAAA CGGGACACATATGCAGCCACTCCTAGAGCTCATGAAGTTTTCAGAAATTTCTGTT AGAAGTGTACCCTCCAGAAGAGGAAACCGGAGAAAGGGTACAACCTGCCCCA TCATTTCTGAACACAGAGATAACACTATTATTTTGGGGTATGGCTGGTGTGTT ATTGGAACGATCCTCTTAATTTCTTACGGTATTGCGGACTGATAAAGAAAAGC CCATCTGATGTAACCTCTCCCTCACCTGACACAGAGCTGCCTTTAAGTTCTG TTGAAATAGAAAATCCAGAGACAAGTGATCAA
48	細胞外 4-1BBL 多肽	ACPWAVSGARASPGSAASPRREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDG PLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRV VAGEGSGS VSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHL HTEARARHAWQLTQGATVGLFRVTPEIPAGLPSRSE
49	編碼 SEQ ID NO : 48 (細胞 外 4-1BBL) 的 核酸序列	GCCTGCCCTGGGCCGTGTCCGGGGCTCGCGCCTCGCCGGCTCCGCGGCCAGC CCGAGACTCCGCGAGGGTCCCGAGCTTTCGCCCCGACGATCCCGCCGGCCTCTTG GACCTGCGGCAGGGCATGTTTGCAGCTGGTGGCCAAAATGTTCTGCTGATC GATGGGCCCTGAGCTGAGTACAGTGACCCAGGCCTGGCAGGCGTGTCCCTGACG GGGGCCTGAGCTACAAAGAGGACACGAAGGAGCTGGTGGTGGCCAAGGCTGG AGTCTACTATGTCTTCTTCAACTAGAGCTGCGGCGCTGGTGGCCGGCGAGGG CTCAGGCTCCGTTTCACTTGCCTGCACCTGCAGCCACTGCGCTCTGCTGCTGGG GCCGCCCGCTGGCTTTGACCGTGGACCTGCCACCCGCTCCTCCGAGGCTCGG AACTCGGCCTTCGGTTTCCAGGGCCGCTTGTGCACCTGAGTGCCGGCCAGCGC CTGGGCGTCCATCTTCACTGAGGCCAGGGCACGCCATGCCTGGCAGCTTACC CAGGGCGCCACAGTCTTGGGACTCTTCCGGGTGACCCCCGAAATCCAGCCGGA CTCCCTTACCGAGGTTCGGAA
50	4-1BBL 構建 體	MYGKIIFVLLLSEIVSISAAACPWAVSGARASPGSAASPRREGPELSPDDPAGLLDLR QGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYY VFFQLELRRV VAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGF QGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVGLFRVTPEIPAGLPSRSEG GSGGSGGPEDEPGSGSGGGGSLSTTEVAMHTSTSSSVTKSYISSQTNDTHKR DTYAATPRAHEVSEISVRTVYPPEEETGERVQLAHHFSEPEITLIIFGVMAGVIGTILLIS YGIRRLIKKSPSDVKPLPSPD TDVPLSSVEIENPETS DQ
51	編碼 SEQ ID NO : 50	ATGTATGGAAAAATAATCTTTGTATTACTATTGTCAGAAAATTGTGAGCATATCA GCAGCCTGCCCTGGGCCGTGTCCGGGGCTCGCGCCTCGCCGGCTCCGCGGCC

	(4-1BBL 構建體)的核酸序列	AGCCCGAGACTCCGCGAGGGTCCCGAGCTTTCGCCCCGACGATCCCGCCGGCCTC TTGGACCTGCGGCAGGGCATGTTTGCAGCTGGTGGCCAAAATGTTCTGCTG ATCGATGGGCCCCTGAGCTGGTACAGTGACCCAGGCCTGGCAGGCGTGTCCCTG ACGGGGGGCCTGAGCTACAAAGAGGACACGAAGGAGCTGGTGGTGGCCAAGGC TGGAGTCTACTATGTCTTCTTTCAACTAGAGCTGCGGCGCGTGGTGGCCGGCGA GGGCTCAGGCTCCGTTTCACTTGCGCTGCACCTGCAGCCACTGCGCTCTGCTGCT GGGGCCCGCCCTGGCTTTGACCGTGGACCTGCCACCCGCCTCCTCCGAGGCT CGAACTCGGCCTTCGGTTTCCAGGGCCGCTTGCTGCACCTGAGTGCCGGCCAG CGCTGGGCGTCCATCTTACACTGAGGCCAGGGCACGCCATGCCTGGCAGCTT ACCCAGGGCGCCACAGTCTTGGGACTCTTCCGGGTGACCCCGAAATCCCAGCC GACTCCCTTACCGAGGTTCGGAAGGAGGATCTGGCGGGTCTGGAGGCGGCC CGAGGACGAGCCCGGCAGCGGCAGCGGCGGAGGGTCTGGAGGCGGTTCTTAA GTACCACTGAGGTGGCAATGCACACTTCAACCTCTTCTTTCAGTCACAAAGAGTT ACATCTCATCACAGACAAATGATACGCACAAACGGGACACATATGCAGCCACTC CTAGAGCTCATGAAGTTTCAGAAATTTCTGTTAGAACTGTTTACCCTCCAGAAG AGGAAACCGGAGAAAGGGTACAACCTTGCCCATCATTTCTCTGAACCAGAGATA ACACTCATTATTTTTGGGGTGATGGCTGGTGTATTGGAACGATCCTCTTAATTT CTTACGGTATTCGCCGACTGATAAAGAAAAGCCCATCTGATGTAAAACCTCTCC CCTCACCTGACACAGACGTGCCTTTAAGTTCTGTTGAAATAGAAAATCCAGAGA CAAGTGATCAA
52	4-1BBL 連接子	GGSGSGGGPEDEPGSGSGGGSGGGS
53	編碼 SEQ ID NO : 52 的核酸序列	GGAGGATCTGGCGGGTCTGGAGGCGGCCCGAGGACGAGCCCGGCAGCGGCAG CGGCGGAGGGTCTGGAGGCGGTTCC
54	全長 GPA 胺基酸	MYGKIIFVLLLSAIVSISALSTTEVAMHTSTSSSVTKSYISSQTNDTHKRDTYAATPRA HEVSEISVRTVYPPEEETGERVQLAHHFSEPEITLIIFGVMAGVIGTILLISYGIRRLIKK SPSDVKPLSPDPTDVLSSVEIENPETSQ
55	SMIM1 多肽	MQPQESHVHYSRWEDGSRDGVSLGAVSSTEEASRCRRISQRLCTGKLGIAMKVLGG VALFWIIFILGYLTGYVHKCK
56	G4S 連接子	GGGGS
57	連接子-HA- 連接子	GGSGSGGYPYDVPDYAGGGSGGGS
58	連接子	GSGSGSGSSEDEDEDEDGSGSGSGSGS
59	連接子	GGGSGGGGSGGGGSGGGGS
60	連接子	GSGSGSGSEDGSGSGSGS
61	連接子	GSGSGSGSGSGSGSGSGS
62	連接子	GCGSGGGGSGGGGS
63	連接子	SGRGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSPA
64	連接子	GGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG
65	Snorkel 連接子	SGRGASSGSSGSGSQKKPRYEIRWKVVVISAILALVVLTVISLILIMLWGSQMSPA
66	Ig 重鏈 V 區 3 訊息胜肽	MGWSCILFLVATATGVHS
67	輕鏈前導	MRVPAQLLGLLLLWLPARC
68	胺基酸連接子	AGST

【符號說明】無

【生物材料寄存】無

## 序列表

&lt;110&gt; RUBIUS THERAPEUTICS, INC.

&lt;120&gt; 提高個體中NKp30 陽性淋巴球的方法及其用途

&lt;130&gt; 47472-0079TW1

&lt;150&gt; US 63/135,559

&lt;151&gt; 2021-01-08

&lt;160&gt; 68

&lt;170&gt; PatentIn version 3.5

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 177

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人類

&lt;400&gt; 1

Met Ala Trp Met Leu Leu Leu Ile Leu Ile Met Val His Pro Gly Ser  
1 5 10 15

Cys Ala Leu Trp Val Ser Gln Pro Pro Glu Ile Arg Thr Leu Glu Gly  
20 25 30

Ser Ser Ala Phe Leu Pro Cys Ser Phe Asn Ala Ser Gln Gly Arg Leu  
35 40 45

Ala Ile Gly Ser Val Thr Trp Phe Arg Asp Glu Val Val Pro Gly Lys  
50 55 60

Glu Val Arg Asn Gly Thr Pro Glu Phe Arg Gly Arg Leu Ala Pro Leu  
65 70 75 80

Ala Ser Ser Arg Phe Leu His Asp His Gln Ala Glu Leu His Ile Arg  
85 90 95

Asp Val Arg Gly His Asp Ala Ser Ile Tyr Val Cys Arg Val Glu Val  
100 105 110

Leu Gly Leu Gly Val Gly Thr Gly Asn Gly Thr Arg Leu Val Val Glu  
115 120 125

Lys Glu His Pro Gln Leu Gly Ala Gly Thr Val Leu Leu Arg Ala  
130 135 140

Gly Phe Tyr Ala Val Ser Phe Leu Ser Val Ala Val Gly Ser Thr Val  
145 150 155 160

第 1 頁，共 50 頁(序列表)

Tyr Tyr Gln Gly Lys Tyr Ala Lys Ser Thr Leu Ser Gly Phe Pro Gln  
 165 170 175

Leu

<210> 2

<211> 534

<212> DNA

<213> 人類

<400> 2

atggcctgga tgcctgttgc catcttgatc atggccatc caggatcctg tgcctctctgg 60  
 gtgtcccagc ccctgagat tegtaccctg gaaggatcct ctgcccttct gccttgcctc 120  
 ttcaatgcca gccaaaggag actggccatt ggctccgtca cgtgggtccg agatgaggtg 180  
 gttccaggga aggaggtgag gaatggaacc ccagagtcca ggggccgcct ggccccactt 240  
 gctttctccc gtttctcca tgaccaccag gctgagctgc acatccggga cgtgcgaggc 300  
 catgaccca gcatctacgt gtgcagagtg gagggtgctgg gccttgggtg cgggacaggg 360  
 aatgggactc ggctgggtgg ggagaaagaa catcctcagc taggggctgg tacagtctc 420  
 ctcttcggg ctggatteta tgcgtcagc tttctctctg tggccgtggg cagcacctc 480  
 tattaccagg gcaaataigc caaatctact ctctccgat tcccctaact ctga 534

<210> 3

<211> 190

<212> PRT

<213> 人類

<400> 3

Met Ala Trp Met Leu Leu Ile Leu Ile Met Val His Pro Gly Ser  
 1 5 10 15

Cys Ala Leu Trp Val Ser Gln Pro Pro Glu Ile Arg Thr Leu Glu Gly  
 20 25 30

Ser Ser Ala Phe Leu Pro Cys Ser Phe Asn Ala Ser Gln Gly Arg Leu  
 35 40 45

Ala Ile Gly Ser Val Thr Trp Phe Arg Asp Glu Val Val Pro Gly Lys  
 50 55 60

Glu Val Arg Asn Gly Thr Pro Glu Phe Arg Gly Arg Leu Ala Pro Leu  
 65 70 75 80

第 2 頁，共 50 頁(序列表)

Ala Ser Ser Arg Phe Leu His Asp His Gln Ala Glu Leu His Ile Arg  
85 90 95

Asp Val Arg Gly His Asp Ala Ser Ile Tyr Val Cys Arg Val Glu Val  
100 105 110

Leu Gly Leu Gly Val Gly Thr Gly Asn Gly Thr Arg Leu Val Val Glu  
115 120 125

Lys Glu His Pro Gln Leu Gly Ala Gly Thr Val Leu Leu Leu Arg Ala  
130 135 140

Gly Phe Tyr Ala Val Ser Phe Leu Ser Val Ala Val Gly Ser Thr Val  
145 150 155 160

Tyr Tyr Gln Gly Lys Cys His Cys His Met Gly Thr His Cys His Ser  
165 170 175

Ser Asp Gly Pro Arg Gly Val Ile Pro Glu Pro Arg Cys Pro  
180 185 190

<210> 4

<211> 573

<212> DNA

<213> 人類

<400> 4

atggcctgga tgctgttgc tctcttgatc atggccatc caggatcctg tgctctctgg 60  
gtgtcccagc ccctgagat tegtaccctg gaaggatcct ctgccttctt gccctgctcc 120  
ttcaatgcca gccaaaggag actggccatt ggctccgtca cgtgggtccg agatgaggtg 180  
gttccaggga aggaggtgag gaatggaacc ccagagtcca ggggccgcct ggccccactt 240  
gctttctccc gtttcttcca tgaccaccag gctgagctgc acatccggga cgtgcgaggc 300  
catgaccca gcatctact gtgcagagtg gaggtgctgg gccttgggtg cgggacaggg 360  
aatgggactc ggctgggtgt ggagaaagaa catcctcagc taggggctgg tacagtctc 420  
ctccttcggg ctggatteta tgctgtcage tttctctctg tggccgtggg cagcaccgtc 480  
tattaccagg gcaaatgcca ctgtcacatg ggaacacact gccactctc agatgggccc 540  
cgaggagtga ttccagagcc cagatgtccc tag 573

<210> 5

<211> 201

<212> PRT

&lt;213&gt; 人類

&lt;400&gt; 5

Met Ala Trp Met Leu Leu Leu Ile Leu Ile Met Val His Pro Gly Ser  
1 5 10 15

Cys Ala Leu Trp Val Ser Gln Pro Pro Glu Ile Arg Thr Leu Glu Gly  
20 25 30

Ser Ser Ala Phe Leu Pro Cys Ser Phe Asn Ala Ser Gln Gly Arg Leu  
35 40 45

Ala Ile Gly Ser Val Thr Trp Phe Arg Asp Glu Val Val Pro Gly Lys  
50 55 60

Glu Val Arg Asn Gly Thr Pro Glu Phe Arg Gly Arg Leu Ala Pro Leu  
65 70 75 80

Ala Ser Ser Arg Phe Leu His Asp His Gln Ala Glu Leu His Ile Arg  
85 90 95

Asp Val Arg Gly His Asp Ala Ser Ile Tyr Val Cys Arg Val Glu Val  
100 105 110

Leu Gly Leu Gly Val Gly Thr Gly Asn Gly Thr Arg Leu Val Val Glu  
115 120 125

Lys Glu His Pro Gln Leu Gly Ala Gly Thr Val Leu Leu Arg Ala  
130 135 140

Gly Phe Tyr Ala Val Ser Phe Leu Ser Val Ala Val Gly Ser Thr Val  
145 150 155 160

Tyr Tyr Gln Gly Lys Cys Leu Thr Trp Lys Gly Pro Arg Arg Gln Leu  
165 170 175

Pro Ala Val Val Pro Ala Pro Leu Pro Pro Pro Cys Gly Ser Ser Ala  
180 185 190

His Leu Leu Pro Pro Val Pro Gly Gly  
195 200

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 607

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人類



<400> 6  
 catggcctgg atgctgttgc tcattttgat catggtecat ccaggatcct gtgctctctg 60  
 ggtgtcccag cccctgaga ttctaccct ggaaggatcc tctgccttcc tgcctgctc 120  
 cttcaatgcc agccaaggga gactggccat tggctccgtc acgtggttcc gagatgaggt 180  
 ggttccaggg aaggaggiga ggaatggaac cccagagtcc aggggcccgc tggccccact 240  
 tgettcttcc cgtttcttcc atgaccacca ggctgagctg cacatccggg acgtgcgagg 300  
 ccatgacgcc agcatctacg tgtgcagagt ggaggtgctg ggccttgggt tggggacagg 360  
 gaatgggact cggctgggtg tggagaaaga acatcctcag ctaggggctg gtacagtctt 420  
 cctccttcgg gctggattct atgctgtcag ctttctctct gtggccgtgg gcagcacct 480  
 ctattaccag ggcaaatgtc tgacctgga aggtccaaga aggcagctgc cggctgtggt 540  
 cccagcgecc ctcccaccac catgtgggag ctcagcaca ctgcttcccc cagtcccagg 600  
 aggctga 607

<210> 7  
 <211> 454  
 <212> PRT  
 <213> 人類

<400> 7

Met Thr Trp Arg Ala Ala Ala Ser Thr Cys Ala Ala Leu Leu Ile Leu  
1 5 10 15

Leu Trp Ala Leu Thr Thr Glu Gly Asp Leu Lys Val Glu Met Met Ala  
20 25 30

Gly Gly Thr Gln Ile Thr Pro Leu Asn Asp Asn Val Thr Ile Phe Cys  
35 40 45

Asn Ile Phe Tyr Ser Gln Pro Leu Asn Ile Thr Ser Met Gly Ile Thr  
50 55 60

Trp Phe Trp Lys Ser Leu Thr Phe Asp Lys Glu Val Lys Val Phe Glu  
65 70 75 80

Phe Phe Gly Asp His Gln Glu Ala Phe Arg Pro Gly Ala Ile Val Ser  
85 90 95

Pro Trp Arg Leu Lys Ser Gly Asp Ala Ser Leu Arg Leu Pro Gly Ile  
100 105 110

Gln Leu Glu Glu Ala Gly Glu Tyr Arg Cys Glu Val Val Val Thr Pro  
 115 120 125

Leu Lys Ala Gln Gly Thr Val Gln Leu Glu Val Val Ala Ser Pro Ala  
 130 135 140

Ser Arg Leu Leu Leu Asp Gln Val Gly Met Lys Glu Asn Glu Asp Lys  
 145 150 155 160

Tyr Met Cys Glu Ser Ser Gly Phe Tyr Pro Glu Ala Ile Asn Ile Thr  
 165 170 175

Trp Glu Lys Gln Thr Gln Lys Phe Pro His Pro Ile Glu Ile Ser Glu  
 180 185 190

Asp Val Ile Thr Gly Pro Thr Ile Lys Asn Met Asp Gly Thr Phe Asn  
 195 200 205

Val Thr Ser Cys Leu Lys Leu Asn Ser Ser Gln Glu Asp Pro Gly Thr  
 210 215 220

Val Tyr Gln Cys Val Val Arg His Ala Ser Leu His Thr Pro Leu Arg  
 225 230 235 240

Ser Asn Phe Thr Leu Thr Ala Ala Arg His Ser Leu Ser Glu Thr Glu  
 245 250 255

Lys Thr Asp Asn Phe Ser Ile His Trp Trp Pro Ile Ser Phe Ile Gly  
 260 265 270

Val Gly Leu Val Leu Leu Ile Val Leu Ile Pro Trp Lys Lys Ile Cys  
 275 280 285

Asn Lys Ser Ser Ser Ala Tyr Thr Pro Leu Lys Cys Ile Leu Lys His  
 290 295 300

Trp Asn Ser Phe Asp Thr Gln Thr Leu Lys Lys Glu His Leu Ile Phe  
 305 310 315 320

Phe Cys Thr Arg Ala Trp Pro Ser Tyr Gln Leu Gln Asp Gly Glu Ala  
 325 330 335

Trp Pro Pro Glu Gly Ser Val Asn Ile Asn Thr Ile Gln Gln Leu Asp  
 340 345 350

Val Phe Cys Arg Gln Glu Gly Lys Trp Ser Glu Val Pro Tyr Val Gln  
 355 360 365

Ala Phe Phe Ala Leu Arg Asp Asn Pro Asp Leu Cys Gln Cys Cys Arg  
 370 375 380

Ile Asp Pro Ala Leu Leu Thr Val Thr Ser Gly Lys Ser Ile Asp Asp  
 385 390 395 400

Asn Ser Thr Lys Ser Glu Lys Gln Thr Pro Arg Glu His Ser Asp Ala  
 405 410 415

Val Pro Asp Ala Pro Ile Leu Pro Val Ser Pro Ile Trp Glu Pro Pro  
 420 425 430

Pro Ala Thr Thr Ser Thr Thr Pro Val Leu Ser Ser Gln Pro Pro Thr  
 435 440 445

Leu Leu Leu Pro Leu Gln  
 450

<210> 8

<211> 1365

<212> DNA

<213> 人類

<400> 8

atgacgtgga gggctgccgc ctccacgtgc gggcgctcc tgattctgct gtgggcgctg 60  
 acgaccgaag gtagatctgaa agtagagatg atggcagggg ggactcagat cacaccctg 120  
 aatgacaatg tcacatatt ctcaatata ttttattccc aaccctcaa catcacgtct 180  
 atgggtatca cctggttttg gaagagtctg acgtttgaca aagaagcaa agtctttgaa 240  
 ttttttggag atcaccaaga ggcattccga cctggagcca ttgtgtctcc atggaggctg 300  
 aagagtgggg acgcctcact gggctgcct ggaatccagc tggaggaagc aggagagtac 360  
 cgatgtgagg tgggtgtcac ccctctgaag gcacagggaa cagtccagct tgaagttgtg 420  
 gcttccccag ccagcagatt gttgctggat caagtgggca tgaaagagaa tgaagacaaa 480  
 tatatgtgtg agtcaagtgg gttctacca gagctatta atataacatg ggagaagcag 540  
 acccagaagt tccccatcc catagagatt tctgaggatg tcateactgg tcccaccatc 600  
 aagaatatgg atggcacatt taatgtcact agctgcttga agctgaactc ctctcaggaa 660  
 gaccctggga ctgtctacca gtgtgtggta cggcatgcgt ccttgcatac ccccttgagg 720  
 agcaacttta ccctgactgc tgcctggcac agtctttctg aaactgagaa gacagataat 780

ttttcattc attggtggcc tatttcattc attggtgttg gactggtttt attaattgtt 840  
 ttgattcctt ggaaaaagat atgtaacaaa tcattctcag cctatactcc tctcaagtgc 900  
 attctgaaac actggaacte ctttgacact cagactctga agaaagagca cctcatatc 960  
 ttttgcactc gggcatggcc gtcttaccag ctgcaggatg gggaggcttg gcctcctgag 1020  
 ggaagtgtta atattaatac tattaacaaa ctgatggttt tctgcagaca ggagggcaaa 1080  
 tggtcgagg ttccttatgt gcaagccttc tttgccttgc gagacaacc agatctttgt 1140  
 cagtgttcta gaattgacce tgctctccta acagttacat caggcaagtc catagatgat 1200  
 aattccaaa agtctgagaa acaaaccct agggaaact cggatgcagt tccggatgcc 1260  
 ccaatccttc ctgtctcccc tatctgggaa cctctctcag ccacaacatc aacaactcca 1320  
 gttctatcct cccaaccccc aactttactg ttaccctac agtaa 1365

<210> 9  
 <211> 233  
 <212> PRT  
 <213> 人類

<400> 9

Met Asp Asn Gln Gly Val Ile Tyr Ser Asp Leu Asn Leu Pro Pro Asn  
1 5 10 15

Pro Lys Arg Gln Gln Arg Lys Pro Lys Gly Asn Lys Asn Ser Ile Leu  
20 25 30

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

Ser Gln Asp Phe Gln Gly Asn Asp Lys Thr Tyr His Cys Lys Asp Leu  
50 55 60

Pro Ser Ala Pro Glu Lys Leu Ile Val Gly Ile Leu Gly Ile Ile Cys  
65 70 75 80

Leu Ile Leu Met Ala Ser Val Val Thr Ile Val Val Ile Pro Ser Thr  
85 90 95

Leu Ile Gln Arg His Asn Asn Ser Ser Leu Asn Thr Arg Thr Gln Lys  
100 105 110

Ala Arg His Cys Gly His Cys Pro Glu Glu Trp Ile Thr Tyr Ser Asn  
115 120 125

Ser Cys Tyr Tyr Ile Gly Lys Glu Arg Arg Thr Trp Glu Glu Ser Leu  
130 135 140

Leu Ala Cys Thr Ser Lys Asn Ser Ser Leu Leu Ser Ile Asp Asn Glu  
145 150 155 160

Glu Glu Met Lys Phe Leu Ser Ile Ile Ser Pro Ser Ser Trp Ile Gly  
165 170 175

Val Phe Arg Asn Ser Ser His His Pro Trp Val Thr Met Asn Gly Leu  
180 185 190

Ala Phe Lys His Glu Ile Lys Asp Ser Asp Asn Ala Glu Leu Asn Cys  
195 200 205

Ala Val Leu Gln Val Asn Arg Leu Lys Ser Ala Gln Cys Gly Ser Ser  
210 215 220

Ile Ile Tyr His Cys Lys His Lys Leu  
225 230

<210> 10  
<211> 702  
<212> DNA  
<213> 人類

<400> 10  
atggataacc aaggagtaat ctactcagac ctgaatctgc ccccaaacc aaagaggcag 60  
caacgaaaac ctaaaggcaa taaaaactcc attttagcaa ctgaacagga aataacctat 120  
gcggaattaa accttcaaaa agcttctcag gattttcaag ggaatgacaa aacctatcac 180  
tgcaaagatt taccatcagc tccagagaag ctattgttg ggatcctggg aattatctgt 240  
cttatcttaa tggcctctgt ggtaacgata gttgttattc cctctacatt aatacagagg 300  
cacaacaatt ctccctgaa tacaagaact cagaaagcac gtcattgtgg ccattgtcct 360  
gaggagtgga ttacatattc caacagttgt tactacattg gtaaggaaag aagaacttgg 420  
gaagagagtt tgctggcctg tacttcgaag aactccagtc tgctttctat agataatgaa 480  
gaagaaatga aatttctgic catcatttca ccatcctcat ggattggtgt gtttcgtaac 540  
agcagtcate atccatgggt gacaatgaat ggtttggcct tcaaacaatga gataaaagac 600  
tcagataatg ctgaacttaa ctgtgcagt ctacaagtaa atcgacttaa atcagcccag 660  
tgtggatctt caataatata tcattgtaag cataagcttt ag 702

<210> 11

<211> 233  
 <212> PRT  
 <213> 人類

<400> 11

Met Asp Asn Gln Gly Val Ile Tyr Ser Asp Leu Asn Leu Pro Pro Asn  
 1 5 10 15

Pro Lys Arg Gln Gln Arg Lys Pro Lys Gly Asn Lys Ser Ser Ile Leu  
 20 25 30

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

Ser Gln Asp Phe Gln Gly Asn Asp Lys Thr Tyr His Cys Lys Asp Leu  
 50 55 60

Pro Ser Ala Pro Glu Lys Leu Ile Val Gly Ile Leu Gly Ile Ile Cys  
 65 70 75 80

Leu Ile Leu Met Ala Ser Val Val Thr Ile Val Val Ile Pro Ser Thr  
 85 90 95

Leu Ile Gln Arg His Asn Asn Ser Ser Leu Asn Thr Arg Thr Gln Lys  
 100 105 110

Ala Arg His Cys Gly His Cys Pro Glu Glu Trp Ile Thr Tyr Ser Asn  
 115 120 125

Ser Cys Tyr Tyr Ile Gly Lys Glu Arg Arg Thr Trp Glu Glu Ser Leu  
 130 135 140

Leu Ala Cys Thr Ser Lys Asn Ser Ser Leu Leu Ser Ile Asp Asn Glu  
 145 150 155 160

Glu Glu Met Lys Phe Leu Ser Ile Ile Ser Pro Ser Ser Trp Ile Gly  
 165 170 175

Val Phe Arg Asn Ser Ser His His Pro Trp Val Thr Met Asn Gly Leu  
 180 185 190

Ala Phe Lys His Glu Ile Lys Asp Ser Asp Asn Ala Glu Leu Asn Cys  
 195 200 205

Ala Val Leu Gln Val Asn Arg Leu Lys Ser Ala Gln Cys Gly Ser Ser  
 210 215 220

第 10 頁，共 50 頁(序列表)

Ile Ile Tyr His Cys Lys His Lys Leu  
225 230

<210> 12  
<211> 702  
<212> DNA  
<213> 人類

<400> 12  
atggataacc aaggagtaat ctactcagac ctgaatctgc ccccaaacc aaagaggcag 60  
caacgaaaac ctaaaggcaa taaaactcc attttagcaa ctgaacagga aataacctat 120  
gcggaattaa accttcaaaa agcttctcag gattttcaag ggaatgacaa aacctatcac 180  
tgcaaagatt taccatcagc tcagagaag ctattgttg ggatcctggg aattatctgt 240  
cttatcttaa tggectctgt ggtaacgata gttgttatte cctctacatt aatacagagg 300  
cacaacaatt ctteccctgaa tacaagaact cagaaagcac gtcattgtgg ccattgtcct 360  
gaggagtgga ttacatatte caacagttgt tactacattg gtaaggaaag aagaactgg 420  
gaagagagtt tgctggcctg tacttcaag aactccagtc tgctttctat agataatgaa 480  
gaagaaatga aatttctgtc catcatttca ccacctcat ggattggtgt gtttcgtaac 540  
agcagtcate atccatgggt gacaatgaat ggtttggctt tcaaactga gataaaagac 600  
tcagataatg ctgaacttaa ctgtgcagtg ctacaagtaa atcgacttaa atcagcccag 660  
tgtggatctt caataatata tcattgtaag cataagcttt ag 702

<210> 13  
<211> 358  
<212> PRT  
<213> 人類

<400> 13

Met Val Asp Gly Thr Leu Leu Leu Leu Ser Glu Ala Leu Ala Leu  
1 5 10 15

Thr Gln Thr Trp Ala Gly Ser His Ser Leu Lys Tyr Phe His Thr Ser  
20 25 30

Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ser Val Gly Tyr  
35 40 45

Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Asn Asp Ala Ala Ser Pro  
50 55 60

Arg Met Val Pro Arg Ala Pro Trp Met Glu Gln Glu Gly Ser Glu Tyr  
65 70 75 80

Trp Asp Arg Glu Thr Arg Ser Ala Arg Asp Thr Ala Gln Ile Phe Arg  
85 90 95

Val Asn Leu Arg Thr Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser Glu Ala Gly  
100 105 110

Ser His Thr Leu Gln Trp Met His Gly Cys Glu Leu Gly Pro Asp Gly  
115 120 125

Arg Phe Leu Arg Gly Tyr Glu Gln Phe Ala Tyr Asp Gly Lys Asp Tyr  
130 135 140

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

Ala Gln Ile Ser Glu Gln Lys Ser Asn Asp Ala Ser Glu Ala Glu His  
165 170 175

Gln Arg Ala Tyr Leu Glu Asp Thr Cys Val Glu Trp Leu His Lys Tyr  
180 185 190

Leu Glu Lys Gly Lys Glu Thr Leu Leu His Leu Glu Pro Pro Lys Thr  
195 200 205

His Val Thr His His Pro Ile Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys  
210 215 220

Trp Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln Gln  
225 230 235 240

Asp Gly Glu Gly His Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro  
245 250 255

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Ser  
260 265 270

Gly Glu Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu Pro  
275 280 285

Glu Pro Val Thr Leu Arg Trp Lys Pro Ala Ser Gln Pro Thr Ile Pro  
290 295 300



Ile Val Gly Ile Ile Ala Gly Leu Val Leu Leu Gly Ser Val Val Ser  
305 310 315 320

Gly Ala Val Val Ala Ala Val Ile Trp Arg Lys Lys Ser Ser Gly Gly  
325 330 335

Lys Gly Gly Ser Tyr Ser Lys Ala Glu Trp Ser Asp Ser Ala Gln Gly  
340 345 350

Ser Glu Ser His Ser Leu  
355

<210> 14

<211> 1077

<212> DNA

<213> 人類

<400> 14

atggtatagatg gaacctctct tttactcctc tcggaggccc tggcccttac ccagacctgg 60  
gcgggctccc actccttgaa gtatttccac acttccgtgt cccggcccgg ccgcggggag 120  
ccccgttca tctctgtggg ctacgtggac gacaccagt tcgtgcgctt cgacaacgac 180  
gccgcgagtc cgaggatggt gccgcgggcg ccgtggatgg agcaggaggg gtcagagtat 240  
tgggaccggg agacacggag cgccagggac accgcacaga ttttccgagt gaatctgcgg 300  
acgctgcgcg gctactacaa tcagagcgag gccgggtctc acacctgca gtggatgcat 360  
ggctgcgagc tggggcccga cgggcgcttc ctcccggggt atgaacagtt cgcctacgac 420  
ggcaaggatt atctcacct gaatgaggac ctgcctcct ggaccgcggt ggacacggcg 480  
gctcagatct ccgagcaaaa gtcaaatgat gcctctgagg cggagcacca gagagcctac 540  
ctggaagaca catgcgtgga gtggctccac aaatacctgg agaaggggaa ggagacgctg 600  
cttcacctgg agccccaaa gacacacgtg actcaccacc ccatctctga ccatgaggcc 660  
acctgaggt gctgggcctt gggctttctac cctgcggaga tcacactgac ctggcagcag 720  
gatggggagg gccatacca ggacacggag ctctgtggaga ccaggcctgc aggggatgga 780  
accttccaga agtgggcagc tgtggtggtg ctttctggag aggagcagag atacacgtgc 840  
catgtgcagc atgaggggct acccgagccc gtcacctga gatggaagcc ggcttcccag 900  
cccaccatcc ccatcgtggg catcattgct ggccctggctc tecttggatc tgtggtctct 960  
ggagctgtgg ttgctgctgt gatatggagg aagaagagct caggtggaaa aggagggagc 1020  
tactctaagg ctgagtggag cgacagtgcc caggggtctg agtctcacag cttgtaa 1077

<210> 15

<211> 162  
 <212> PRT  
 <213> 人類

<400> 15

Met Arg Ile Ser Lys Pro His Leu Arg Ser Ile Ser Ile Gln Cys Tyr  
 1 5 10 15

Leu Cys Leu Leu Leu Asn Ser His Phe Leu Thr Glu Ala Gly Ile His  
 20 25 30

Val Phe Ile Leu Gly Cys Phe Ser Ala Gly Leu Pro Lys Thr Glu Ala  
 35 40 45

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile  
 50 55 60

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His  
 65 70 75 80

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln  
 85 90 95

Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu  
 100 105 110

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val  
 115 120 125

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile  
 130 135 140

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn  
 145 150 155 160

Thr Ser

<210> 16  
 <211> 114  
 <212> PRT  
 <213> 人類

<400> 16

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile  
 1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His  
 20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln  
 35 40 45

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

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val  
 65 70 75 80

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile  
 85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn  
 100 105 110

Thr Ser

<210> 17  
 <211> 342  
 <212> DNA  
 <213> 人類

<400> 17  
 aactgggtga acgttattag tgaccttaaa aagatcgaag atttgataca gtcaatgcac 60  
 atagacgcga cgctttatac agaatctgat gtacatcctt catgcaagg t tactgctatg 120  
 aagtgttttc ttctcgaact ccaagtaata agtcttgaga gcggagatgc gagcattcat 180  
 gacaccgttg agaatcttat tatattggct aacaactctc tgtccagcaa tggtaatgtg 240  
 acagaaagcg ggtgtaagga gtgcgaggaa ctcgaggaga agaacatcaa agagttcttg 300  
 cagtctttcg tccatattgt ccagatgttc ataaatacta gc 342

<210> 18  
 <211> 342  
 <212> DNA  
 <213> 人類

<400> 18  
 aactgggtaa acgtcataag cgacctcaaa aagatcgagg accttataca gtctatgcac 60  
 atagatgcga cactttacac ggaatcagac gtgcaccctg cctgcaaagt cacagccatg 120  
 aagtgccttc ttctcgaact gcaggtaatt tctctcgaat caggtgacgc atctatccac 180

gacacagttg aaaatcttat tatectggct aataactccc ttagctcaaa cggcaatgct 240  
 accgagagtg gatgtaaaga atgtgaggaa cttgaagaga aaaacataaa ggaattcttg 300  
 cagagtttcg ttcataattgt gcaaatgttc atcaatacta gt 342

<210> 19  
 <211> 267  
 <212> PRT  
 <213> 人類

<400> 19

Met Ala Pro Arg Arg Ala Arg Gly Cys Arg Thr Leu Gly Leu Pro Ala  
 1 5 10 15

Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Arg Pro Pro Ala Thr Arg Gly Ile Thr  
 20 25 30

Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val Lys Ser  
 35 40 45

Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly Phe Lys  
 50 55 60

Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn Lys Ala  
 65 70 75 80

Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile Arg Asp  
 85 90 95

Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Ser Thr Val Thr Thr  
 100 105 110

Ala Gly Val Thr Pro Gln Pro Glu Ser Leu Ser Pro Ser Gly Lys Glu  
 115 120 125

Pro Ala Ala Ser Ser Pro Ser Ser Asn Asn Thr Ala Ala Thr Thr Ala  
 130 135 140

Ala Ile Val Pro Gly Ser Gln Leu Met Pro Ser Lys Ser Pro Ser Thr  
 145 150 155 160

Gly Thr Thr Glu Ile Ser Ser His Glu Ser Ser His Gly Thr Pro Ser  
 165 170 175

Gln Thr Thr Ala Lys Asn Trp Glu Leu Thr Ala Ser Ala Ser His Gln  
 180 185 190

Pro Pro Gly Val Tyr Pro Gln Gly His Ser Asp Thr Thr Val Ala Ile  
195 200 205

Ser Thr Ser Thr Val Leu Leu Cys Gly Leu Ser Ala Val Ser Leu Leu  
210 215 220

Ala Cys Tyr Leu Lys Ser Arg Gln Thr Pro Pro Leu Ala Ser Val Glu  
225 230 235 240

Met Glu Ala Met Glu Ala Leu Pro Val Thr Trp Gly Thr Ser Ser Arg  
245 250 255

Asp Glu Asp Leu Glu Asn Cys Ser His His Leu  
260 265

<210> 20  
<211> 237  
<212> PRT  
<213> 人類

<400> 20

Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val  
1 5 10 15

Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly  
20 25 30

Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn  
35 40 45

Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile  
50 55 60

Arg Asp Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Ser Thr Val  
65 70 75 80

Thr Thr Ala Gly Val Thr Pro Gln Pro Glu Ser Leu Ser Pro Ser Gly  
85 90 95

Lys Glu Pro Ala Ala Ser Ser Pro Ser Ser Asn Asn Thr Ala Ala Thr  
100 105 110

Thr Ala Ala Ile Val Pro Gly Ser Gln Leu Met Pro Ser Lys Ser Pro  
115 120 125

Ser Thr Gly Thr Thr Glu Ile Ser Ser His Glu Ser Ser His Gly Thr  
130 135 140

Pro Ser Gln Thr Thr Ala Lys Asn Trp Glu Leu Thr Ala Ser Ala Ser  
145 150 155 160

His Gln Pro Pro Gly Val Tyr Pro Gln Gly His Ser Asp Thr Thr Val  
165 170 175

Ala Ile Ser Thr Ser Thr Val Leu Leu Cys Gly Leu Ser Ala Val Ser  
180 185 190

Leu Leu Ala Cys Tyr Leu Lys Ser Arg Gln Thr Pro Pro Leu Ala Ser  
195 200 205

Val Glu Met Glu Ala Met Glu Ala Leu Pro Val Thr Trp Gly Thr Ser  
210 215 220

Ser Arg Asp Glu Asp Leu Glu Asn Cys Ser His His Leu  
225 230 235

<210> 21  
<211> 205  
<212> PRT  
<213> 人類

<400> 21

Met Ala Pro Arg Arg Ala Arg Gly Cys Arg Thr Leu Gly Leu Pro Ala  
1 5 10 15

Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Arg Pro Pro Ala Thr Arg Gly Ile Thr  
20 25 30

Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val Lys Ser  
35 40 45

Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly Phe Lys  
50 55 60

Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn Lys Ala  
65 70 75 80

Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile Arg Asp  
85 90 95

Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Ser Thr Val Thr Thr  
100 105 110

Ala Gly Val Thr Pro Gln Pro Glu Ser Leu Ser Pro Ser Gly Lys Glu  
115 120 125

Pro Ala Ala Ser Ser Pro Ser Ser Asn Asn Thr Ala Ala Thr Thr Ala  
130 135 140

Ala Ile Val Pro Gly Ser Gln Leu Met Pro Ser Lys Ser Pro Ser Thr  
145 150 155 160

Gly Thr Thr Glu Ile Ser Ser His Glu Ser Ser His Gly Thr Pro Ser  
165 170 175

Gln Thr Thr Ala Lys Asn Trp Glu Leu Thr Ala Ser Ala Ser His Gln  
180 185 190

Pro Pro Gly Val Tyr Pro Gln Gly His Ser Asp Thr Thr  
195 200 205

<210> 22  
<211> 175  
<212> PRT  
<213> 人類

<400> 22

Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val  
1 5 10 15

Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly  
20 25 30

Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn  
35 40 45

Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile  
50 55 60

Arg Asp Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Ser Thr Val  
65 70 75 80

Thr Thr Ala Gly Val Thr Pro Gln Pro Glu Ser Leu Ser Pro Ser Gly  
85 90 95

Lys Glu Pro Ala Ala Ser Ser Pro Ser Ser Asn Asn Thr Ala Ala Thr  
第 19 頁，共 50 頁(序列表)

100

105

110

Thr Ala Ala Ile Val Pro Gly Ser Gln Leu Met Pro Ser Lys Ser Pro  
 115 120 125

Ser Thr Gly Thr Thr Glu Ile Ser Ser His Glu Ser Ser His Gly Thr  
 130 135 140

Pro Ser Gln Thr Thr Ala Lys Asn Trp Glu Leu Thr Ala Ser Ala Ser  
 145 150 155 160

His Gln Pro Pro Gly Val Tyr Pro Gln Gly His Ser Asp Thr Thr  
 165 170 175

<210> 23

<211> 525

<212> DNA

<213> 人類

<400> 23

atcacatgcc caccgccc at gctctgttgaa caccgagaca tttgggttaa aagttactca 60  
 ctttactcac gcgagagata tatatgcaac agcggcttca agcgcgaaagc aggcactagt 120  
 agtcttacag agtgcgtgct caataaagct acaaatgtag ctcatiggac tactcctagt 180  
 ctcaaatgea ttccgggaccc cgcgcttgtg caccagagac ctgcgcccgc gccacagtg 240  
 acgacagctg gigtAACCC ccaacctgaa tccttagtc cgtctggtaa agaaccggcg 300  
 gcgtcttcac ctccagcaa taatactgcg gcgacaacag ccgcgatagt tcttgatcc 360  
 caactcatgc cgtcaaagtc tccttcaacg ggaacgacag agatctcttc acatgaaagt 420  
 tctcatggaa caccgagcca aactacggca aagaactggg aactgactgc ctgagcaagc 480  
 caccagccgc caggggtgta cccgaaggg cactcagata ctact 525

<210> 24

<211> 65

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 人類 IL-15 受體 sushi 結構域

<400> 24

Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val  
 1 5 10 15

Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly  
 20 25 30



Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn  
35 40 45

Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile  
50 55 60

Arg  
65

<210> 25  
<211> 78  
<212> PRT  
<213> 人工

<220>  
<223> 人類 IL-15 受體 sushi 結構域 + IL-15 受體  $\alpha$  的 13 個 aa

<400> 25

Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val  
1 5 10 15

Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly  
20 25 30

Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn  
35 40 45

Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile  
50 55 60

Arg Asp Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Ser  
65 70 75

<210> 26  
<211> 234  
<212> DNA  
<213> 人工

<220>  
<223> 編碼 SEQ ID NO: 25 的核酸序列

<400> 26

atcacctgcc cgcctccat gacgctggaa cacgcggaca tttgggttaa gagctacagt 60

ctttacagcc gggagcgeta tatctgcaac tcagggttta agcggaaagc agggacatca 120

agtttgacag aatgtgtgtt gaacaaggct acaaatgttg ctcaactggac cacgceatct 180

ttgaagtgta tccgagatcc cgcgcttgtc catcagegcc cagcgcctcc ctcc 234

第 21 頁，共 50 頁(序列表)

<210> 27  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> GPA 信號肽

<400> 27

Met Tyr Gly Lys Ile Ile Phe Val Leu Leu Leu Ser Glu Ile Val Ser  
 1 5 10 15

Ile Ser Ala

<210> 28  
 <211> 57  
 <212> DNA  
 <213> 人工

<220>  
 <223> 編碼 SEQ ID NO: 27 的核酸

<400> 28  
 atgtatggaa aaataatctt tgtattacta ttgtcagaaa ttgtgagcat atcagca 57

<210> 29  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> 連接子

<400> 29

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
 1 5 10 15

<210> 30  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> n = 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10

<400> 30

Gly Gly Gly Gly Ser Asn  
 1 5

<210> 31  
 <211> 304  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>

<223> 成熟人類 IL-15 + (G4S)<sub>3</sub> 連接子 + 成熟細胞外可溶性人類 IL-15 受體  $\alpha$

<400> 31

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile  
 1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His  
 20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln  
 35 40 45

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

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val  
 65 70 75 80

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile  
 85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn  
 100 105 110

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
 115 120 125

Ser Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp  
 130 135 140

Val Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser  
 145 150 155 160

Gly Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu  
 165 170 175

Asn Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys  
 180 185 190

Ile Arg Asp Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Ser Thr  
 195 200 205

第 23 頁，共 50 頁(序列表)

Val Thr Thr Ala Gly Val Thr Pro Gln Pro Glu Ser Leu Ser Pro Ser  
210 215 220

Gly Lys Glu Pro Ala Ala Ser Ser Pro Ser Ser Asn Asn Thr Ala Ala  
225 230 235 240

Thr Thr Ala Ala Ile Val Pro Gly Ser Gln Leu Met Pro Ser Lys Ser  
245 250 255

Pro Ser Thr Gly Thr Thr Glu Ile Ser Ser His Glu Ser Ser His Gly  
260 265 270

Thr Pro Ser Gln Thr Thr Ala Lys Asn Trp Glu Leu Thr Ala Ser Ala  
275 280 285

Ser His Gln Pro Pro Gly Val Tyr Pro Gln Gly His Ser Asp Thr Thr  
290 295 300

<210> 32  
<211> 912  
<212> DNA  
<213> 人工

<220>  
<223> 編碼 SEQ ID NO: 31 的核酸序列

<400> 32  
aactgggtga acgttattag tgaccttaa aagatcgaag atttgataga gtcaatgcac 60  
atagacgcga cgctttatac agaatctgat gtacatcctt catgcaagggt tactgctatg 120  
aagtgttttc ttctcgaact ccaagtaata agtcttgaga gcggagatgc gagcattcat 180  
gacaccgttg agaatcttat tatattggct aacaactctc tgtccagcaa tggtaatgtg 240  
acagaaagcg ggtgtaagga gtgcgaggaa ctcgaggaga agaacatcaa agagttcttg 300  
cagtctttcg tccatattgt ccagatgttc ataaatacta gcgggggagg tggctctggt 360  
ggaggcggga gtggcggggg cggtcaate acatgccac cgcccatgtc tgttgaacac 420  
gcagacattt gggttaaaag ttactcactt tactcaccgc agagatatat atgcaacagc 480  
ggcttcaagc gcaaagcagg cactagtagt cttacagagt gcgtgctcaa taaagctaca 540  
aatgtagctc attggaactac tctagctc aaatgcattc gggacccgc gcttgtgcac 600  
cagagacctg cgccgcgctc cacagtgacg acagctgggt taacccccca acctgaatcc 660  
cttagtccgt ctggtaaaga accggcgcg tcttaccctt ccageaataa tactgcggcg 720  
acaacagccg cgatagttcc tggateccaa ctcatgccgt caaagtctcc tcaacggga 780

第 24 頁，共 50 頁(序列表)

acgacagaga tctcttcaca tgaagttct catggaacac cgagccaaac tacggcaaag 840  
 aactgggaac tgactgcctc agcaagccac cagccgccag ggggtgtacc gcaagggcac 900  
 tcagatacta ct 912

<210> 33  
 <211> 207  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> 成熟人類 IL-15 + (G4S)3 連接子 + IL-15 受體  $\alpha$  sushi 結構域 + IL-15 受體  $\alpha$  的 13 個 aa

<400> 33

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile  
 1 5 10 15

Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His  
 20 25 30

Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln  
 35 40 45

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

Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val  
 65 70 75 80

Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile  
 85 90 95

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn  
 100 105 110

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
 115 120 125

Ser Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp  
 130 135 140

Val Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser  
 145 150 155 160

Gly Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu  
 165 170 175

第 25 頁，共 50 頁(序列表)

Asn Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys  
 180 185 190

Ile Arg Asp Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Ser  
 195 200 205

<210> 34  
 <211> 621  
 <212> DNA  
 <213> 人工

<220>  
 <223> 編碼 SEQ ID NO: 33 的核酸序列

<400> 34  
 aactgggtaa acgtcataag cgacctcaaa aagatcgagg accttataca gtctatgcac 60  
 atagatgcga cactttacac ggaatcagac gtgcaccctg cctgcaaagt cacagccatg 120  
 aagtgccttc ttctcgaact gcaggtaatt tctctcgaat caggtgacgc atctatccac 180  
 gacacagttg aaaatcttat tctcctggct aataactccc ttagctcaaa cggcaatgtc 240  
 accgagagtg gatgtaaaga atgtgaggaa cttgaagaga aaaacataaa ggaattcttg 300  
 cagagtttcg ttcatatigt gcaaatgttc atcaatacta gtggcggggg gggaagcggg 360  
 ggtggaggga gcgggggtgg tggatccatc acctgcccgc ctcccatgag cgtggaacac 420  
 gcggacattt gggttaagag ctacagtctt tacagccggg agcgcctatat ctgcaactca 480  
 gggtttaagc ggaagcagg gacatcaagt ttgacagaat gtgtgttgaa caaggctaca 540  
 aatgttgctc actggaccac gccatctttg aagtgtatcc gagatcccgc gcttgtccat 600  
 cagcggccag cgctccctc c 621

<210> 35  
 <211> 24  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> 連接子

<400> 35

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser  
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser  
 20

<210> 36  
 <211> 131  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> GPA 多肽

<400> 36

Leu Ser Thr Thr Glu Val Ala Met His Thr Ser Thr Ser Ser Ser Val  
 1 5 10 15

Thr Lys Ser Tyr Ile Ser Ser Gln Thr Asn Asp Thr His Lys Arg Asp  
 20 25 30

Thr Tyr Ala Ala Thr Pro Arg Ala His Glu Val Ser Glu Ile Ser Val  
 35 40 45

Arg Thr Val Tyr Pro Pro Glu Glu Thr Gly Glu Arg Val Gln Leu  
 50 55 60

Ala His His Phe Ser Glu Pro Glu Ile Thr Leu Ile Ile Phe Gly Val  
 65 70 75 80

Met Ala Gly Val Ile Gly Thr Ile Leu Leu Ile Ser Tyr Gly Ile Arg  
 85 90 95

Arg Leu Ile Lys Lys Ser Pro Ser Asp Val Lys Pro Leu Pro Ser Pro  
 100 105 110

Asp Thr Asp Val Pro Leu Ser Ser Val Glu Ile Glu Asn Pro Glu Thr  
 115 120 125

Ser Asp Gln  
 130

<210> 37  
 <211> 393  
 <212> DNA  
 <213> 人工

<220>  
 <223> 編碼 SEQ ID NO: 36 的核酸序列

<400> 37  
 ttaagtacca ctgaggtggc aatgcacact tcaacctctt ctteagtcac aaagagttac 60  
 atctcatcac agacaaatga tacgcacaaa cgggacacat atgcagccac tcttagagct 120  
 catgaagttt cagaaatttc tgttagaact gtttaccctc cagaagagga aaccggagaa 180

第 27 頁，共 50 頁(序列表)

agggtacaac ttgccatca tttctctgaa ccagagataa cactcattat ttttgggggtg 240  
atggctggtg ttattggaac gatcctctta atttcttacg gtattcgccg actgataaag 300  
aaaagcccat ctgatgtaaa acctctcccc tcacctgaca cagacgtgcc ttttaagttct 360  
gttgaaatag aaaatccaga gacaagtgat caa 393

<210> 38  
<211> 289  
<212> PRT  
<213> 人工

<220>  
<223> IL-15 V3 構建體

<400> 38

Met Tyr Gly Lys Ile Ile Phe Val Leu Leu Leu Ser Glu Ile Val Ser  
1 5 10 15

Ile Ser Ala Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu  
20 25 30

Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser  
35 40 45

Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu  
50 55 60

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

Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn  
85 90 95

Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu  
100 105 110

Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met  
115 120 125

Phe Ile Asn Thr Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Tyr Pro Tyr  
130 135 140

Asp Val Pro Asp Tyr Ala Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Leu Ser  
145 150 155 160



Thr Thr Glu Val Ala Met His Thr Ser Thr Ser Ser Ser Val Thr Lys  
165 170 175

Ser Tyr Ile Ser Ser Gln Thr Asn Asp Thr His Lys Arg Asp Thr Tyr  
180 185 190

Ala Ala Thr Pro Arg Ala His Glu Val Ser Glu Ile Ser Val Arg Thr  
195 200 205

Val Tyr Pro Pro Glu Glu Glu Thr Gly Glu Arg Val Gln Leu Ala His  
210 215 220

His Phe Ser Glu Pro Glu Ile Thr Leu Ile Ile Phe Gly Val Met Ala  
225 230 235 240

Gly Val Ile Gly Thr Ile Leu Leu Ile Ser Tyr Gly Ile Arg Arg Leu  
245 250 255

Ile Lys Lys Ser Pro Ser Asp Val Lys Pro Leu Pro Ser Pro Asp Thr  
260 265 270

Asp Val Pro Leu Ser Ser Val Glu Ile Glu Asn Pro Glu Thr Ser Asp  
275 280 285

Gln

<210> 39  
<211> 867  
<212> DNA  
<213> 人工

<220>  
<223> 編碼 SEQ ID NO:38 (IL-15 V3)的核酸序列

<400> 39  
atgtatggaa aaataatctt tgtattacta ttgtcagaaa ttgtgagcat atcagcaaac 60  
tgggtaaatg tgatttcaga cctgaaaaaa atcgaagacc ttattcaate catgcacate 120  
gacgcgacac ttatactga atcagacgta cacccgtcct gtaaggttac tgcgatgaag 180  
tgctttctgt tgggaattgca agtgatctcc ctgcaatcag gggatgcatc cattcatgat 240  
accgtcgaga atttgatcat tctggcaaat aactccctca gtagtaacgg gaatgtgacc 300  
gagtctgggt gtaaggagtg cgaagagttg gaggaagaaga atatcaaaga attccttcag 360  
tcctttgttc acatcgtgca aatgtttatt aatacatctg gaggatctgg cgggtctgga 420  
ggctaccct atgacgtgcc cgactatgcc ggcggagggt ctggaggcgg ttccttaagt 480

第 29 頁，共 50 頁(序列表)

accactgagg tggcaatgca cacttcaacc tcttcttcag tcacaaagag ttacatctca 540  
 tcacagacaa atgatacgca caaacgggac acatatgcag ccactcctag agctcatgaa 600  
 gtttcagaaa tttctgtttag aactgtttac cctccagaag aggaaaccgg agaaagggtta 660  
 caacttgecc atcatttctc tgaaccagag ataactctca ttatttttgg ggtgatggct 720  
 ggtgttattg gaacgatcct ctttaatttct tacggtatte gccgactgat aaagaaaagc 780  
 ccatctgatg taaaacctct ccctcactt gacacagacg tgcctttaag ttctgttgaa 840  
 atagaaaatc cagagacaag tgatcaa 867

<210> 40  
 <211> 479  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> IL-15/IL-15Ra V4 構建體

<400> 40

Met Tyr Gly Lys Ile Ile Phe Val Leu Leu Ser Glu Ile Val Ser  
 1 5 10 15

Ile Ser Ala Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu  
 20 25 30

Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser  
 35 40 45

Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu  
 50 55 60

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

Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn  
 85 90 95

Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu  
 100 105 110

Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met  
 115 120 125

Phe Ile Asn Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly  
 130 135 140

第 30 頁，共 50 頁(序列表)

Gly Gly Gly Ser Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala  
145 150 155 160

Asp Ile Trp Val Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile  
165 170 175

Cys Asn Ser Gly Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu  
180 185 190

Cys Val Leu Asn Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser  
195 200 205

Leu Lys Cys Ile Arg Asp Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro  
210 215 220

Pro Ser Thr Val Thr Thr Ala Gly Val Thr Pro Gln Pro Glu Ser Leu  
225 230 235 240

Ser Pro Ser Gly Lys Glu Pro Ala Ala Ser Ser Pro Ser Ser Asn Asn  
245 250 255

Thr Ala Ala Thr Thr Ala Ala Ile Val Pro Gly Ser Gln Leu Met Pro  
260 265 270

Ser Lys Ser Pro Ser Thr Gly Thr Thr Glu Ile Ser Ser His Glu Ser  
275 280 285

Ser His Gly Thr Pro Ser Gln Thr Thr Ala Lys Asn Trp Glu Leu Thr  
290 295 300

Ala Ser Ala Ser His Gln Pro Pro Gly Val Tyr Pro Gln Gly His Ser  
305 310 315 320

Asp Thr Thr Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Tyr Pro Tyr Asp Val  
325 330 335

Pro Asp Tyr Ala Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Leu Ser Thr Thr  
340 345 350

Glu Val Ala Met His Thr Ser Thr Ser Ser Ser Val Thr Lys Ser Tyr  
355 360 365

Ile Ser Ser Gln Thr Asn Asp Thr His Lys Arg Asp Thr Tyr Ala Ala  
370 375 380

Thr Pro Arg Ala His Glu Val Ser Glu Ile Ser Val Arg Thr Val Tyr  
385 390 395 400

Pro Pro Glu Glu Glu Thr Gly Glu Arg Val Gln Leu Ala His His Phe  
405 410 415

Ser Glu Pro Glu Ile Thr Leu Ile Ile Phe Gly Val Met Ala Gly Val  
420 425 430

Ile Gly Thr Ile Leu Leu Ile Ser Tyr Gly Ile Arg Arg Leu Ile Lys  
435 440 445

Lys Ser Pro Ser Asp Val Lys Pro Leu Pro Ser Pro Asp Thr Asp Val  
450 455 460

Pro Leu Ser Ser Val Glu Ile Glu Asn Pro Glu Thr Ser Asp Gln  
465 470 475

<210> 41  
<211> 1437  
<212> DNA  
<213> 人工

<220>  
<223> 編碼 SEQ ID NO:40 (IL-15-V4)的核酸序列

<400> 41  
atgtatggaa aaataatctt tgtattacta ttgtcagaaa ttgtgagcat atcagcaaac 60  
tgggtgaacg ttattagtga ccttaaaaag atcgaagatt tgatacagtc aatgcacata 120  
gacgcgacgc ttatacaga atctgatgta catccttcat gcaaggttac tgctatgaag 180  
tgttttcttc tcgaactcca agtaataagt cttgagagcg gagatgagag cattcatgac 240  
accgttgaga atcttattat attggcctaac aactctctgt ccagcaatgg taatgtgaca 300  
gaaagcgggt gtaaggagtg cgaggaactc gaggagaaga acatcaaaga gttcttgcag 360  
tctttctgcc atattgtcca gatgttcata aatactagcg ggggaggtgg ctctggtgga 420  
ggcgggagtg gcgggggagg ctcaatcaca tgcccaccgc ccatgtctgt tgaacacgca 480  
gacatttggg ttaaaagtta ctactttac tcacgcgaga gatatatatg caacagcggc 540  
ttcaagcgca aagcaggcac tagtagtctt acagagtgcg tgctcaataa agctacaaat 600  
gtagctcatt ggactactcc tagtctcaaa tgcattcggg accccgcgct tgtgcaccag 660  
agacctgcgc cgccgtccac agtgacgaca gctggtgtaa ccccccaacc tgaatccctt 720  
agtcctgctg gtaaagaacc ggcggcgtct tcaccttcca gcaataatac tgccggcgaca 780

第 32 頁，共 50 頁(序列表)

acagccgcga tagttcctgg atcccaactc atgccgtcaa agtctccttc aacgggaacg 840  
 acagagatct cttcacatga aagttctcat ggaacaccga gccaaactac ggcaaagaac 900  
 tgggaactga ctgcctcagc aagccaccag ccgccagggg tgtaccgcga agggcactca 960  
 gatactactg gaggatctgg cgggtctgga ggctaccct atgacgtgcc cgactatgcc 1020  
 ggcggagggt ctggaggcgg ttccttaagt accactgagg tggcaatgca cacttcaacc 1080  
 tcttcttcag tcacaaagag ttacatctca tcacagacaa atgatacgca caaacgggac 1140  
 acatatgcag ccactcctag agctcatgaa gtttcagaaa tttctgttag aactgtttac 1200  
 cctccagaag aggaaaccgg agaaagggia caacttgccc atcatttctc tgaaccagag 1260  
 ataacactca ttatttttgg ggtgatggct ggtgttattg gaacgatctt ctttaattct 1320  
 tacggtattc gccgactgat aaagaaaagc ccatctgatg taaaacctct ccctcacct 1380  
 gacacagacg tgcctttaag ttctgttgaa atagaaaatc cagagacaag tgatcaa 1437

<210> 42  
 <211> 382  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> IL-15/IL-15Ra V5

<400> 42

Met Tyr Gly Lys Ile Ile Phe Val Leu Leu Leu Ser Glu Ile Val Ser  
1 5 10 15

Ile Ser Ala Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu  
20 25 30

Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser  
35 40 45

Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu  
50 55 60

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

Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn  
85 90 95

Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu  
100 105 110

第 33 頁，共 50 頁(序列表)

Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met  
115 120 125

Phe Ile Asn Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
130 135 140

Gly Gly Gly Ser Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala  
145 150 155 160

Asp Ile Trp Val Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile  
165 170 175

Cys Asn Ser Gly Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu  
180 185 190

Cys Val Leu Asn Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser  
195 200 205

Leu Lys Cys Ile Arg Asp Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro  
210 215 220

Pro Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Tyr Pro Tyr Asp Val Pro  
225 230 235 240

Asp Tyr Ala Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Leu Ser Thr Thr Glu  
245 250 255

Val Ala Met His Thr Ser Thr Ser Ser Ser Val Thr Lys Ser Tyr Ile  
260 265 270

Ser Ser Gln Thr Asn Asp Thr His Lys Arg Asp Thr Tyr Ala Ala Thr  
275 280 285

Pro Arg Ala His Glu Val Ser Glu Ile Ser Val Arg Thr Val Tyr Pro  
290 295 300

Pro Glu Glu Glu Thr Gly Glu Arg Val Gln Leu Ala His His Phe Ser  
305 310 315 320

Glu Pro Glu Ile Thr Leu Ile Ile Phe Gly Val Met Ala Gly Val Ile  
325 330 335

Gly Thr Ile Leu Leu Ile Ser Tyr Gly Ile Arg Arg Leu Ile Lys Lys  
340 345 350

Ser Pro Ser Asp Val Lys Pro Leu Pro Ser Pro Asp Thr Asp Val Pro  
 355 360 365

Leu Ser Ser Val Glu Ile Glu Asn Pro Glu Thr Ser Asp Gln  
 370 375 380

<210> 43  
 <211> 1146  
 <212> DNA  
 <213> 人工

<220>  
 <223> 編碼 SEQ ID NO:42 (IL-15 V5)的核酸序列

<400> 43  
 atgtatggaa aaataatctt tgfattacta ttgtcagaaa ttgtgagcat atcagcaaac 60  
 tgggtaaacg tcataagcga cctcaaaaag atcaggagacc ttatacagtc fatgcacata 120  
 gatgcgacac ttacacgga atcagacgtg cacccgtcct gcaaagtcac agccatgaag 180  
 tgctttcttc tcgaactgca ggtaatttct ctgcaatcag gtgacgcac taccacgac 240  
 acagttgaaa atcttattat cctggcctaat aactccctta gctcaaacgg caatgtcacc 300  
 gagagtggat gtaaagaatg tgaggaactt gaagagaaaa acataaagga attcttgcag 360  
 agtttctgctc atattgtgca aatgttcac aatactagtg gcgggggggg aagcgggtgt 420  
 ggagggagcg ggggtgggtg atccatcacc tgcccgcctc ccatgagcgt ggaacacgcg 480  
 gacatttggg ttaagagcta cagcttttac agccgggagc gctatatctg caactcaggg 540  
 ttaagcggga aagcagggac atcaagtttg acagaatgtg tgttgaaca ggctacaaat 600  
 gttgctcact ggaccacgcc atctttgaag tgtatccgag atcccgcgt tgtccatcag 660  
 cgcccagcgc ctccctccgg aggatctggc gggctctggag gctacccta tgacgtgccc 720  
 gactatgccg gcggagggtc tggaggcggg tccttaagta cactgaggt ggcaatgcac 780  
 acttcaacct ctctctcagt cacaaagagt tacatctcat cacagacaaa tgatacgcac 840  
 aaacgggaca catatgcagc cactcctaga gctcatgaag tttcagaaat ttctgttaga 900  
 actgtttacc ctccagaaga ggaaccgga gaaagggtac aacttgccca tcatttctct 960  
 gaaccagaga taacactcat ttttttggg gtgatggctg gtgttattgg aacgatcctc 1020  
 ttaatttctt acggtattcg ccgactgata aagaaaagcc catctgatgt aaaacctctc 1080  
 ccctcacctg acacagacgt gcctttaagt tctgttgaaa tagaaaatcc agagacaagt 1140  
 gatcaa 1146

<210> 44  
 <211> 288  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> IL-15 V3.1 構建體

<400> 44

Met Tyr Gly Lys Ile Ile Phe Val Leu Leu Leu Ser Glu Ile Val Ser  
 1 5 10 15

Ile Ser Ala Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu  
 20 25 30

Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser  
 35 40 45

Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu  
 50 55 60

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

Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn  
 85 90 95

Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu  
 100 105 110

Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met  
 115 120 125

Phe Ile Asn Thr Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly  
 130 135 140

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Leu Ser Thr  
 145 150 155 160

Thr Glu Val Ala Met His Thr Ser Thr Ser Ser Ser Val Thr Lys Ser  
 165 170 175

Tyr Ile Ser Ser Gln Thr Asn Asp Thr His Lys Arg Asp Thr Tyr Ala  
 180 185 190

Ala Thr Pro Arg Ala His Glu Val Ser Glu Ile Ser Val Arg Thr Val  
 195 200 205

第 36 頁，共 50 頁(序列表)



Tyr Pro Pro Glu Glu Glu Thr Gly Glu Arg Val Gln Leu Ala His His  
 210 215 220

Phe Ser Glu Pro Glu Ile Thr Leu Ile Ile Phe Gly Val Met Ala Gly  
 225 230 235 240

Val Ile Gly Thr Ile Leu Leu Ile Ser Tyr Gly Ile Arg Arg Leu Ile  
 245 250 255

Lys Lys Ser Pro Ser Asp Val Lys Pro Leu Pro Ser Pro Asp Thr Asp  
 260 265 270

Val Pro Leu Ser Ser Val Glu Ile Glu Asn Pro Glu Thr Ser Asp Gln  
 275 280 285

<210> 45  
 <211> 864  
 <212> DNA  
 <213> 人工

<220>  
 <223> 編碼 SEQ ID NO:44 (IL-15 V3.1)的核酸序列

<400> 45  
 atgtatggaa aaataatctt tgiattacta ttgtcagaaa ttgtgagcat atcagcaaac 60  
 tgggtaaatg tgatttcaga cctgaaaaaa atcgaagacc ttattcaatc catgcacatc 120  
 gacgcgacac ttatactga atcagacgta caccctcct gtaaggttac tgcgatgaag 180  
 tgctttctgt tgggaattgca agtgatectc ctgcaatcag gggatgcatc cattcatgat 240  
 accgtcgaga atttgatcat tctggcaaat aactccctca gtagtaacgg gaatgtgacc 300  
 gagtctgggt gtaaggagtg cgaagagttg gaggaaaaga atatcaaaga attccttcag 360  
 tcctttgttc acatcgtgca aatgtttatt aatacatctg gaggatctgg cgggtctgga 420  
 ggcggcggcg gcagcggcgg cggcagcggc ggagggctctg gaggcggttc cttaagtacc 480  
 actgaggtgg caatgcacac tccaacctct tcttcagtca caaagagtta catctcatca 540  
 cagacaaatg atacgcacaa acgggacaca tatgcagcca ctctagagc tcatgaagtt 600  
 tcagaaatct ctgtagaac tgtttacctt ccagaagagg aaaccggaga aagggtacaa 660  
 cttgcccata atttctctga accagagata acactcatta tttttgggt gatggctggt 720  
 gttattggaa cgatcctctt aatttcttac ggtatctgcc gactgataaa gaaaagecca 780  
 tctgatgtaa aacctctccc ctacactgac acagacgtgc ctttaagttc tgttgaata 840  
 gaaaatccag agacaagtga tcaa 864

<210> 46  
 <211> 478  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> IL-15/IL-15Ra V4.1 構建體

<400> 46

Met Tyr Gly Lys Ile Ile Phe Val Leu Leu Leu Ser Glu Ile Val Ser  
 1 5 10 15

Ile Ser Ala Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu  
 20 25 30

Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser  
 35 40 45

Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu  
 50 55 60

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

Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn  
 85 90 95

Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu  
 100 105 110

Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met  
 115 120 125

Phe Ile Asn Thr Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly  
 130 135 140

Gly Gly Gly Ser Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala  
 145 150 155 160

Asp Ile Trp Val Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile  
 165 170 175

Cys Asn Ser Gly Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu  
 180 185 190

Cys Val Leu Asn Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser  
195 200 205

Leu Lys Cys Ile Arg Asp Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro  
210 215 220

Pro Ser Thr Val Thr Thr Ala Gly Val Thr Pro Gln Pro Glu Ser Leu  
225 230 235 240

Ser Pro Ser Gly Lys Glu Pro Ala Ala Ser Ser Pro Ser Ser Asn Asn  
245 250 255

Thr Ala Ala Thr Thr Ala Ala Ile Val Pro Gly Ser Gln Leu Met Pro  
260 265 270

Ser Lys Ser Pro Ser Thr Gly Thr Thr Glu Ile Ser Ser His Glu Ser  
275 280 285

Ser His Gly Thr Pro Ser Gln Thr Thr Ala Lys Asn Trp Glu Leu Thr  
290 295 300

Ala Ser Ala Ser His Gln Pro Pro Gly Val Tyr Pro Gln Gly His Ser  
305 310 315 320

Asp Thr Thr Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
325 330 335

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Leu Ser Thr Thr Glu  
340 345 350

Val Ala Met His Thr Ser Thr Ser Ser Ser Val Thr Lys Ser Tyr Ile  
355 360 365

Ser Ser Gln Thr Asn Asp Thr His Lys Arg Asp Thr Tyr Ala Ala Thr  
370 375 380

Pro Arg Ala His Glu Val Ser Glu Ile Ser Val Arg Thr Val Tyr Pro  
385 390 395 400

Pro Glu Glu Glu Thr Gly Glu Arg Val Gln Leu Ala His His Phe Ser  
405 410 415

Glu Pro Glu Ile Thr Leu Ile Ile Phe Gly Val Met Ala Gly Val Ile  
420 425 430

Gly Thr Ile Leu Leu Ile Ser Tyr Gly Ile Arg Arg Leu Ile Lys Lys  
435 440 445

Ser Pro Ser Asp Val Lys Pro Leu Pro Ser Pro Asp Thr Asp Val Pro  
450 455 460

Leu Ser Ser Val Glu Ile Glu Asn Pro Glu Thr Ser Asp Gln  
465 470 475

<210> 47  
<211> 1434  
<212> DNA  
<213> 人工

<220>  
<223> 編碼 SEQ ID NO:46 (IL-15-V4.1)的核酸序列

<400> 47  
atgtatggaa aaataatctt tgtattacta ttgtcagaaa ttgtgagcat atcagcaaac 60  
tgggtgaacg ttattagtga ccttaaaaag atcgaagatt tgatacagtc aatgcacata 120  
gacgcgacgc ttatacaga atctgatgia catccttcat gcaaggttac tgctatgaag 180  
tgttttcttc tcgaactcca agtaataagt cttgagagcg gagatgagag cattcatgac 240  
accgttgaga atcttattat atiggctaac aactctctgt ccagcaatgg taatgtgaca 300  
gaaagcgggt gtaaggagtg cgaggaactc gaggagaaga acatcaaaga gttcttgcag 360  
tctttctgcc atattgtcca gatgttcata aatactagcg ggggaggtgg ctctgggtgga 420  
ggcgggagtg gcgggggcgg ctcaatcaca tgcccaccgc ccatgtctgt tgaacacgca 480  
gacatttggg taaaagtta ctactttac tcacgcgaga gatatatatg caacagcggc 540  
ttcaagcga aagcaggcac tagtagtctt acagagtgcg tgctcaataa agctacaaat 600  
gtagctcatt ggactactcc tagtctcaaa tgcattcggg accccgcgct tgtgcaccag 660  
agacctgcgc cggcgtccac agtgacgaca gctggtgtaa ccccccaacc tgaatccctt 720  
agtccgtctg gtaaagaacc ggcggcgtct tcacctcca gcaataatac tgcggcgaca 780  
acagcccgga tagttcctgg atcccaactc atgccgtcaa agtctccttc aacgggaaacg 840  
acagagatct ctteacatga aagttctcat ggaacaccga gccaaactac ggcaaagaac 900  
tgggaactga ctgcctcagc aagccaccag ccgccagggg tgtaccgca agggcactca 960  
gatactactg gaggatctgg cgggtctgga ggcggcggcg gcagcggcgg cggcagcggc 1020  
ggagggctctg gaggcgggtc cttaagtacc actgaggtgg caatgcacac tteaacctt 1080  
tcttcagtca caaagagtta catctcatca cagacaaatg atacgcaca acgggacaca 1140  
tatgcagcca ctcttagagc tcatgaagtt tcagaaatct ctgttagaac tgtttaccct 1200

第 40 頁，共 50 頁(序列表)

ccagaagagg aaaccggaga aagggtacaa cttgcccac accagagata 1260  
acactcatta tttttggggt gatggctggt gttattggaa cgatcctett aatttcctac 1320  
ggtattcgcc gactgataaa gaaaagccca tctgatgtaa aacctctccc ctcacctgac 1380  
acagacgtgc cttaagtgc tgttgaaata gaaaatccag agacaagtga tcaa 1434

<210> 48  
<211> 205  
<212> PRT  
<213> 人工

<220>  
<223> 細胞外 4-1BBL 多肽

<400> 48

Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser Pro Gly Ser Ala  
1 5 10 15

Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro  
20 25 30

Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala  
35 40 45

Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro  
50 55 60

Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp  
65 70 75 80

Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe  
85 90 95

Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val  
100 105 110

Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala  
115 120 125

Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg  
130 135 140

Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly  
145 150 155 160

Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala  
165 170 175

Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr  
180 185 190

Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu  
195 200 205

<210> 49  
<211> 615  
<212> DNA  
<213> 人工

<220>  
<223> 編碼 SEQ ID NO: 48 (細胞外 4-1BBL)的核酸序列

<400> 49  
gcctgccctt ggcccgctgc cggggctcgc gcctcgcctg gctccgcggc cagccccgaga 60  
ctccgcgagg gtcccgagct ttcgcccagc gatccccgag gcctcttggc cctgcggcag 120  
ggcatgtttg cgcagctggt ggccccaaat gttctgctga tcatggggcc cctgagctgg 180  
tacagtgacc caggcctggc aggcgtgtcc ctgacggggg gcctgagcta caaagaggac 240  
acgaaggagc tgggtggtggc caaggctgga gtctactatg tcttcttca actagagctg 300  
cggcgcgtgg tggccggcga gggctcaggc tccgtttcac ttgcgctgca cctgcagcca 360  
ctgcgctctg ctgctggggc cgccgcccctg gctttgaccg tggacctgcc acccgcctcc 420  
tccgagctc ggaactcggc cttcggtttc caggggcctg tgctgcacct gaggccggc 480  
cagcgcctgg gcgtccatct tcacactgag gccagggcac gccatgcctg gcagcttacc 540  
cagggcgcca cagtcttggg actcttccgg gtgacccccg aaatcccagc cggactccct 600  
tcaccgaggt cggaa 615

<210> 50  
<211> 381  
<212> PRT  
<213> 人工

<220>  
<223> 4-1BBL 構建體

<400> 50

Met Tyr Gly Lys Ile Ile Phe Val Leu Leu Ser Glu Ile Val Ser  
1 5 10 15

Ile Ser Ala Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser Pro  
20 25 30

Gly Ser Ala Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro  
35 40 45

Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln  
50 55 60

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

Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr  
85 90 95

Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr  
100 105 110

Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser  
115 120 125

Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala  
130 135 140

Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser  
145 150 155 160

Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu  
165 170 175

Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala  
180 185 190

Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe  
195 200 205

Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu  
210 215 220

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Pro Glu Asp Glu Pro Gly Ser  
225 230 235 240

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Leu Ser Thr Thr Glu Val  
245 250 255

Ala Met His Thr Ser Thr Ser Ser Ser Val Thr Lys Ser Tyr Ile Ser  
260 265 270

Ser Gln Thr Asn Asp Thr His Lys Arg Asp Thr Tyr Ala Ala Thr Pro  
275 280 285

Arg Ala His Glu Val Ser Glu Ile Ser Val Arg Thr Val Tyr Pro Pro  
290 295 300

Glu Glu Glu Thr Gly Glu Arg Val Gln Leu Ala His His Phe Ser Glu  
305 310 315 320

Pro Glu Ile Thr Leu Ile Ile Phe Gly Val Met Ala Gly Val Ile Gly  
325 330 335

Thr Ile Leu Leu Ile Ser Tyr Gly Ile Arg Arg Leu Ile Lys Lys Ser  
340 345 350

Pro Ser Asp Val Lys Pro Leu Pro Ser Pro Asp Thr Asp Val Pro Leu  
355 360 365

Ser Ser Val Glu Ile Glu Asn Pro Glu Thr Ser Asp Gln  
370 375 380

<210> 51  
<211> 1143  
<212> DNA  
<213> 人工

<220>  
<223> 編碼 SEQ ID NO: 50 (4-1BBL 構建體)的核酸序列

<400> 51  
atgtatggaa aaataatctt tgtattacta ttgtcagaaa ttgtgagcat atcagcagcc 60  
tgccccctggg ccgtgtccgg ggctcgcgcc tcgccccgct ccgcggccag cccgagactc 120  
cgcgagggtc ccgagcttcc gcccgacgat cccgccggcc tcttgacact gcggcagggc 180  
atgtttgctc agctggtggc ccaaaatggt ctgctgatcg atgggcccct gagctggtac 240  
agtgaccag gcctggcagg cgtgtccctg acggggggcc tgagctacaa agaggacacg 300  
aaggagctgg tgggtggccaa ggctggagtc tactatgtct tctttcaact agagctgcgg 360  
cgcgtggtgg ccggcgaggg ctcaggctcc gtttcaactg cgctgcacct gcagccactg 420  
cgctctgctg ctggggccgc cgccttggct ttgaccgtgg acctgccacc cgcctcctcc 480  
gaggctcgga actcggcctt cggtttccag ggccgcttgc tgcacctgag tgccggccag 540  
cgcctgggcg tccatcttca cactgaggcc agggcacgcc atgcctggca gcttaccag 600  
ggcggccacag tcttgggact ctccgggtg acccccgaaa tcccagccgg actcccttca 660

第 44 頁，共 50 頁(序列表)



ccgaggtcgg aaggaggatc tggcgggtct ggaggcggcc ccgaggacga gcccggcagc 720  
 ggcagcggcg gagggctctgg aggcggttcc ttaagtacca ctgagggtggc aatgcacact 780  
 tcaacctett cttcagtcac aaagagttac atctcatcac agacaaatga tacgcacaaa 840  
 cgggacacat atgcagccac tcctagagct catgaagttt cagaaatttc tgttagaact 900  
 gtttaccctc cagaagagga aaccggagaa agggfacaac ttgcccata tttctctgaa 960  
 ccagagataa cactcattat ttttgggggtg atggctgggtg ttattggaac gatcctctta 1020  
 atttcttacg gtattcgccg actgataaag aaaagcccat ctgatgtaaa acctctcccc 1080  
 tcacctgaca cagacgtgcc tftaagttct gttgaaatag aaaatccaga gacaagtgat 1140  
 caa 1143

<210> 52  
 <211> 26  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> 4-1BBL 連接子

<400> 52

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Pro Glu Asp Glu Pro Gly Ser  
 1 5 10 15

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser  
 20 25

<210> 53  
 <211> 78  
 <212> DNA  
 <213> 人工

<220>  
 <223> 編碼 SEQ ID NO: 52 的核酸序列

<400> 53  
 ggaggatctg gcgggctctgg aggcggcccc gaggacgagc ccggcagcgg cagcggcgga 60  
 gggctctggag gcggttcc 78

<210> 54  
 <211> 150  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> 全長 GPA 胺基酸

&lt;400&gt; 54

Met Tyr Gly Lys Ile Ile Phe Val Leu Leu Leu Ser Ala Ile Val Ser  
1 5 10 15

Ile Ser Ala Leu Ser Thr Thr Glu Val Ala Met His Thr Ser Thr Ser  
20 25 30

Ser Ser Val Thr Lys Ser Tyr Ile Ser Ser Gln Thr Asn Asp Thr His  
35 40 45

Lys Arg Asp Thr Tyr Ala Ala Thr Pro Arg Ala His Glu Val Ser Glu  
50 55 60

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

Val Gln Leu Ala His His Phe Ser Glu Pro Glu Ile Thr Leu Ile Ile  
85 90 95

Phe Gly Val Met Ala Gly Val Ile Gly Thr Ile Leu Leu Ile Ser Tyr  
100 105 110

Gly Ile Arg Arg Leu Ile Lys Lys Ser Pro Ser Asp Val Lys Pro Leu  
115 120 125

Pro Ser Pro Asp Thr Asp Val Pro Leu Ser Ser Val Glu Ile Glu Asn  
130 135 140

Pro Glu Thr Ser Asp Gln  
145 150

&lt;210&gt; 55

&lt;211&gt; 78

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; SMIM1 多肽

&lt;400&gt; 55

Met Gln Pro Gln Glu Ser His Val His Tyr Ser Arg Trp Glu Asp Gly  
1 5 10 15

Ser Arg Asp Gly Val Ser Leu Gly Ala Val Ser Ser Thr Glu Glu Ala  
20 25 30

Ser Arg Cys Arg Arg Ile Ser Gln Arg Leu Cys Thr Gly Lys Leu Gly  
 35 40 45

Ile Ala Met Lys Val Leu Gly Gly Val Ala Leu Phe Trp Ile Ile Phe  
 50 55 60

Ile Leu Gly Tyr Leu Thr Gly Tyr Tyr Val His Lys Cys Lys  
 65 70 75

<210> 56  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> G4S 連接子

<400> 56

Gly Gly Gly Gly Ser  
 1 5

<210> 57  
 <211> 25  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> 連接子-HA-連接子

<400> 57

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr  
 1 5 10 15

Ala Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser  
 20 25

<210> 58  
 <211> 28  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> 連接子

<400> 58

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Glu Asp Glu Asp Glu Asp  
 1 5 10 15

Glu Asp Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser  
 20 25

<210> 59  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> 連接子

<400> 59

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser  
 20

<210> 60  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> 連接子

<400> 60

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Glu Asp Gly Ser Gly Ser Gly Ser  
 1 5 10 15

Gly Ser

<210> 61  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> 連接子

<400> 61

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser  
 1 5 10 15

Gly Ser

<210> 62  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
<223> 連接子

<400> 62

Gly Cys Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
1 5 10 15

<210> 63  
<211> 26  
<212> PRT  
<213> 人工

<220>  
<223> 連接子

<400> 63

Ser Gly Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
1 5 10 15

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Pro Ala  
20 25

<210> 64  
<211> 24  
<212> PRT  
<213> 人工

<220>  
<223> 連接子

<400> 64

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
20

<210> 65  
<211> 58  
<212> PRT  
<213> 人工

<220>  
<223> Snorkel 連接子

<400> 65

Ser Gly Arg Gly Ala Ser Ser Gly Ser Ser Gly Ser Gly Ser Gln Lys  
1 5 10 15

Lys Pro Arg Tyr Glu Ile Arg Trp Lys Val Val Val Ile Ser Ala Ile  
 20 25 30

Leu Ala Leu Val Val Leu Thr Val Ile Ser Leu Ile Ile Leu Ile Met  
 35 40 45

Leu Trp Gly Ser Gly Met Gln Ser Pro Ala  
 50 55

<210> 66  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> Ig 重鏈 V 區 3 信號序列

<400> 66

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly  
 1 5 10 15

Val His Ser

<210> 67  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> 輕鏈前導

<400> 67

Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp Leu Pro  
 1 5 10 15

Gly Ala Arg Cys  
 20

<210> 68  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 <213> 人工

<220>  
 <223> 胺基酸連接子

<400> 68

Ala Gly Ser Thr  
 1

## 【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種在有需要之先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體中提高NKp30陽性淋巴球數量的方法，包含向個體投予治療有效量的醫藥組成物，該醫藥組成物包含去核類紅血球之群組，該去核類紅血球之群組在其細胞外表面上包含第一外源性融合多肽，該第一外源性融合多肽包含(i) IL-15或其功能片段，及(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段。

【請求項2】 如請求項1之方法，其中與該投予前個體中NKp30陽性淋巴球的數量相比，該投予導致個體中NKp30陽性淋巴球的數量提高至少5%。

【請求項3】 如請求項1之方法，其中與該投予前個體中NKp30陽性淋巴球的數量相比，該投予導致個體中NKp30陽性淋巴球的數量提高至少10%。

【請求項4】 如請求項1至3中任一項之方法，其中NKp30陽性淋巴球是NKp30陽性NK細胞。

【請求項5】 如請求項1之方法，其中該方法進一步導致個體中NKp30陽性/NKG2A陰性淋巴球的數量提高。

【請求項6】 如請求項5之方法，其中該投予步驟導致個體中NKp30陽性/NKG2A陰性淋巴球的數量提高至少5%。

【請求項7】 如請求項6之方法，其中該投予步驟導致個體中NKp30陽性/NKG2A陰性淋巴球的數量提高至少10%。

【請求項8】 如請求項5至7中任一項之方法，其中NKp30陽性/NKG2A陰性淋巴球是NKp30陽性/NKG2A陰性NK細胞。

【請求項9】 如請求項1之方法，其中該投予步驟導致個體中NKp30陽性、CD45陽性、CD56陽性淋巴球的數量提高。

【請求項10】 如請求項9之方法，其中該投予步驟導致個體中NKp30陽性的CD45陽性、CD56陽性淋巴球的百分率提高至少1.2倍。

【請求項11】 如請求項10之方法，其中該投予步驟導致個體中NKp30陽性的CD45陽性、CD56陽性淋巴球的百分率提高至少1.5倍。

【請求項12】 如請求項11之方法，其中該投予步驟導致個體中NKp30陽性的CD45陽性、CD56陽性淋巴球的百分率提高至少2.0倍。

【請求項13】 如請求項9至12中任一項之方法，其中NKp30陽性、CD45陽性、CD56陽性淋巴球是NKp30陽性、CD45陽性、CD56陽性NK細胞。

【請求項14】 如請求項1之方法，其中該投予步驟導致個體中NKp30陽性、CD45陽性、CD16陽性、CD56-dim淋巴球的數量提高。

【請求項15】 如請求項14之方法，其中該投予步驟導致個體中NKp30陽性的CD56-dim、CD16陽性、CD45陽性淋巴球的百分率提高至少1.2倍。

【請求項16】 如請求項15之方法，其中該投予步驟導致個體中NKp30陽性的CD56-dim、CD16陽性、CD45陽性淋巴球的百分率提高至少1.5倍。

【請求項17】 如請求項16之方法，其中該投予步驟導致個體中NKp30陽性的CD56-dim、CD16陽性、CD45陽性淋巴球的百分率提高至少1.7倍。

【請求項18】 如請求項14至17中任一項之方法，其中NKp30陽性、CD45陽性、CD16陽性、CD56-dim淋巴球是NKp30陽性、CD45陽性、CD16陽性、CD56-dim NK細胞。

【請求項19】 如請求項1之方法，其中該投予步驟導致個體中NKp30陽性、CD45陽性、CD16陽性和CD56陽性淋巴球的數量提高。

【請求項20】 如請求項19之方法，其中該投予步驟導致個體中NKp30陽性的CD56陽性、CD16陽性、CD45陽性淋巴球的百分率提高至少1.5倍。

【請求項21】 如請求項20之方法，其中該投予步驟導致個體中NKp30陽性的CD56陽性、CD16陽性、CD45陽性淋巴球的百分率提高至少2.0倍。

【請求項22】 如請求項21之方法，其中該投予步驟導致個體中NKp30陽性的CD56陽性、CD16陽性、CD45陽性淋巴球的百分率提高至少2.5倍。



【請求項23】 如請求項22之方法，其中該投予步驟導致個體中NKp30陽性的CD56陽性、CD16陽性、CD45陽性淋巴球的百分率提高至少3.0倍。

【請求項24】 如請求項23之方法，其中該投予步驟導致個體中NKp30陽性的CD56陽性、CD16陽性、CD45陽性淋巴球的百分率提高至少3.5倍。

【請求項25】 如請求項19至24中任一項之方法，其中NKp30陽性、CD56陽性、CD16陽性、CD45陽性淋巴球是NKp30陽性、CD56陽性、CD16陽性、CD45陽性NK細胞。

【請求項26】 如請求項1至25中任一項之方法，其中該投予步驟不會在個體中導致顯著程度的骨髓細胞毒性。

【請求項27】 如請求項1至26中任一項之方法，其中該方法進一步包含將個體鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症。

【請求項28】 如請求項27之方法，其中B7-H6陽性癌症選自由以下組成之群：腎上腺皮質癌、膽管癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、結腸直腸癌、食道癌、眼癌、頭頸癌、急性骨髓性白血病、淋巴腫瘤、瀰漫性大b細胞淋巴瘤、腎癌、腎臟腎透明細胞癌、腎臟腎乳頭狀細胞癌、腎臟嫌色細胞、肝癌、肺癌、肺腺癌、肺鱗狀細胞癌、間皮瘤、卵巢癌、胰臟癌、直腸癌、皮膚癌、胃癌、睪丸癌、胸腺瘤、甲狀腺癌、子宮癌、子宮體子宮內膜癌、子宮癌肉瘤，和葡萄膜黑色素瘤。

【請求項29】 如請求項27或28之方法，其中B7-H6陽性癌症是B7-H6陽性/HLA-E陰性癌症。

【請求項30】 如請求項1至29中任一項之方法，其中該方法進一步包含向個體投予NKG2A抑制劑。

【請求項31】 如請求項30之方法，其中NKG2A抑制劑是特異地結合至NKG2A的拮抗性抗體。

【請求項32】 一種治療先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體的方法，該方法包含向先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體投予治療有效量的醫藥組成物，該醫藥組成物包含去核類紅血球之群組，該去核類紅血球之群組在其細胞外表面上包含第一外源性多肽，該第一外源性多肽包含(i) IL-15或其功能片段，及(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段。

【請求項33】 如請求項32之方法，其中B7-H6陽性癌症選自由以下組成之群：腎上腺皮質癌、膽管癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、結腸直腸癌、食道癌、眼癌、頭頸癌、急性骨髓性白血病、淋巴腫瘤、瀰漫性大b細胞淋巴瘤、腎癌、腎臟腎透明細胞癌、腎臟腎乳頭狀細胞癌、腎臟嫌色細胞、肝癌、肺癌、肺腺癌、肺鱗狀細胞癌、間皮瘤、卵巢癌、胰臟癌、直腸癌、皮膚癌、胃癌、睪丸癌、胸腺瘤、甲狀腺癌、子宮癌、子宮體子宮內膜癌、子宮癌肉瘤，和葡萄膜黑色素瘤。

【請求項34】 如請求項32或33之方法，其中B7-H6陽性癌症是B7-H6陽性/HLA-E陰性癌症。

【請求項35】 如請求項32至34中任一項之方法，其中該投予步驟不會在個體中導致顯著程度的骨髓細胞毒性。

【請求項36】 如請求項32至35中任一項之方法，其中該方法進一步包含將個體診斷或鑑定為患有B7-H6陽性癌症。

【請求項37】 如請求項32至36中任一項之方法，其中該方法進一步包含向個體投予NKG2A抑制劑。

【請求項38】 如請求項37之方法，其中NKG2A抑制劑是特異地結合至NKG2A的拮抗性抗體。

【請求項39】 一種減少先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體中B7-H6陽性癌細胞的數量及/或增生的方法，該方法包含投予治療有效量的醫藥組成物，該醫藥組成物包含去核類紅血球之群組，該去核類紅血球之群組在其

細胞外表面上包含第一外源性多肽的，該第一外源性多肽包含(i) IL-15或其功能片段，及(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段。

【請求項40】 如請求項39之方法，其中該投予導致個體中B7-H6陽性癌細胞的數量減少。

【請求項41】 如請求項40之方法，其中與該投予前個體中B7-H6陽性癌細胞的數量相比，該投予導致該名個體中B7-H6陽性癌細胞的數量減少至少5%。

【請求項42】 如請求項40之方法，其中與該投予前個體中B7-H6陽性癌細胞的數量相比，該投予導致個體中B7-H6陽性癌細胞的數量減少至少10%。

【請求項43】 如請求項39之方法，其中該投予導致個體中B7-H6陽性/HLA-E陰性癌細胞的數量減少。

【請求項44】 如請求項43之方法，其中與該投予前個體中B7-H6陽性/HLA-E陰性癌細胞的數量相比，該投予導致個體中B7-H6陽性/HLA-E陰性癌細胞的數量減少至少5%。

【請求項45】 如請求項43之方法，其中與該投予前個體中B7-H6陽性/HLA-E陰性癌細胞的數量相比，該投予導致個體中B7-H6陽性/HLA-E陰性癌細胞的數量減少至少10%。

【請求項46】 如請求項39之方法，其中該投予導致個體中B7-H6陽性癌細胞的增生減少。

【請求項47】 如請求項46之方法，其中與該投予前個體中B7-H6陽性癌細胞的增生相比，該投予導致個體中B7-H6陽性癌細胞的增生減少至少5%。

【請求項48】 如請求項46之方法，其中與該投予前個體中B7-H6陽性癌細胞的增生相比，該投予導致個體中B7-H6陽性癌細胞的增生減少至少10%。

【請求項49】 如請求項39之方法，其中該投予導致個體中B7-H6陽性/HLA-E陰性癌細胞的增生減少。

【請求項50】如請求項49之方法，其中與該投予前個體中B7-H6陽性/HLA-E陰性癌細胞的增生相比，該投予導致個體中B7-H6陽性/HLA-E陰性癌細胞的增生減少至少5%。

【請求項51】如請求項49之方法，其中與該投予前個體中B7-H6陽性/HLA-E陰性癌細胞的增生相比，該投予導致個體中B7-H6陽性/HLA-E陰性癌細胞的增生減少至少10%。

【請求項52】如請求項39至51中任一項之方法，其中該投予步驟不會在個體中導致顯著程度的骨髓細胞毒性。

【請求項53】如請求項39至52中任一項之方法，其中該方法進一步包含將個體鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症。

【請求項54】如請求項53之方法，其中B7-H6陽性癌症選自由以下組成之群：腎上腺皮質癌、膽管癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、結腸直腸癌、食道癌、眼癌、頭頸癌、急性骨髓性白血病、淋巴腫瘤、瀰漫性大b細胞淋巴瘤、腎癌、腎臟腎透明細胞癌、腎臟腎乳頭狀細胞癌、腎臟嫌色細胞、肝癌、肺癌、肺腺癌、肺臟鱗狀細胞癌、間皮瘤、卵巢癌、胰臟癌、直腸癌、皮膚癌、胃癌、睪丸癌、胸腺瘤、甲狀腺癌、子宮癌、子宮體子宮內膜癌、子宮癌肉瘤，和葡萄膜黑色素瘤。

【請求項55】如請求項53或54之方法，其中B7-H6陽性癌症是B7-H6陽性/HLA-E陰性癌症。

【請求項56】如請求項39至55中任一項之方法，其中該方法進一步包含向個體投予NKG2A抑制劑。

【請求項57】如請求項56之方法，其中NKG2A抑制劑是特異地結合至NKG2A的拮抗性抗體。

【請求項58】一種在先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體中誘導殺死B7-H6陽性癌細胞的方法，該方法包含投予治療有效量的醫藥組成物，該

醫藥組成物包含去核類紅血球之群組，該去核類紅血球之群組在其細胞外表面上包含外源性融合多肽，該外源性融合多肽包含(i) IL-15或其功能片段，及(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段。

【請求項59】 如請求項58之方法，其中殺死包含壞死。

【請求項60】 如請求項58之方法，其中殺死包含細胞凋亡。

【請求項61】 如請求項58之方法，其中殺死是經由NK細胞媒介的細胞溶解所媒介的。

【請求項62】 如請求項58至61中任一項之方法，其中B7-H6陽性癌細胞是選自由以下組成之群的癌細胞：腎上腺皮質癌、膽管癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、結腸直腸癌、食道癌、眼癌、頭頸癌、急性骨髓性白血病、淋巴腫瘤、瀰漫性大b細胞淋巴瘤、腎癌、腎臟腎透明細胞癌、腎臟腎乳頭狀細胞癌、腎臟嫌色細胞、肝癌、肺癌、肺腺癌、肺臟鱗狀細胞癌、間皮瘤、卵巢癌、胰臟癌、直腸癌、皮膚癌、胃癌、睪丸癌、胸腺瘤、甲狀腺癌、子宮癌、子宮體子宮內膜癌、子宮癌肉瘤，和葡萄膜黑色素瘤。

【請求項63】 如請求項58至62中任一項之方法，其中B7-H6陽性癌細胞是B7-H6陽性和HLA-E陰性癌細胞。

【請求項64】 如請求項58至63中任一項之方法，其中該投予步驟不會在個體中導致顯著程度的骨髓細胞毒性。

【請求項65】 如請求項58至64中任一項之方法，其中個體先前已被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症。

【請求項66】 如請求項65之方法，其中B7-H6陽性癌症選自由以下組成之群：腎上腺皮質癌、膽管癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、結腸直腸癌、食道癌、眼癌、頭頸癌、急性骨髓性白血病、淋巴腫瘤、瀰漫性大b細胞淋巴瘤、腎癌、腎臟腎透明細胞癌、腎臟腎乳頭狀細胞癌、腎臟嫌色細胞、肝癌、肺癌、肺腺癌、肺臟鱗狀細胞癌、間皮瘤、卵巢癌、胰臟癌、直腸癌、皮膚癌、胃癌、

睪丸癌、胸腺瘤、甲狀腺癌、子宮癌、子宮體子宮內膜癌、子宮癌肉瘤，和葡萄膜黑色素瘤。

【請求項67】如請求項65或66之方法，其中B7-H6陽性癌症是B7-H6陽性/HLA-E陰性癌症。

【請求項68】如請求項58至67中任一項之方法，其中該方法進一步包含向個體投予NKG2A抑制劑。

【請求項69】如請求項68之方法，其中NKG2A抑制劑是特異地結合至NKG2A的拮抗性抗體。

【請求項70】一種減少先前被鑑定或診斷為患有B7-H6陽性癌症的個體中實體腫瘤體積的方法，該方法包含投予治療有效量的去核類紅血球之群組，該去核類紅血球之群組在其細胞外表面上包含第一外源性融合多肽，該第一外源性融合多肽包含(i) IL-15或其功能片段，及(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段。

【請求項71】如請求項70之方法，其中與該投予前的實體腫瘤體積相比，該投予導致個體中實體腫瘤體積減少至少5%。

【請求項72】如請求項70之方法，其中與該投予前的實體腫瘤體積相比，該投予導致個體中實體腫瘤體積減少至少10%。

【請求項73】如請求項70至72中任一項之方法，其中該投予步驟不會在個體中導致顯著程度的骨髓細胞毒性。

【請求項74】如請求項70至73中任一項之方法，其中B7-H6陽性癌症選自由以下組成之群：腎上腺皮質癌、膽管癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、結腸直腸癌、食道癌、眼癌、頭頸癌、急性骨髓性白血病、淋巴腫瘤、瀰漫性大b細胞淋巴瘤、腎癌、腎臟腎透明細胞癌、腎臟腎乳頭狀細胞癌、腎臟嫌色細胞、肝癌、肺癌、肺腺癌、肺鱗狀細胞癌、間皮瘤、卵巢癌、胰臟癌、直腸癌、皮膚癌、胃癌、睪丸癌、胸腺瘤、甲狀腺癌、子宮癌、子宮體子宮內膜癌、子宮癌肉瘤，和葡萄膜黑色素瘤。

【請求項75】如請求項70至74中任一項之方法，其中B7-H6陽性癌症是B7-H6陽性/HLA-E陰性癌症。

【請求項76】如請求項70至75中任一項之方法，其中該投予步驟不會在個體中導致顯著程度的骨髓細胞毒性。

【請求項77】如請求項70至76中任一項之方法，其中該方法進一步包含將個體診斷或鑑定為患有B7-H6陽性癌症。

【請求項78】如請求項70至77中任一項之方法，其中該方法進一步包含向個體投予NKG2A抑制劑。

【請求項79】如請求項78之方法，其中NKG2A抑制劑是特異地結合至NKG2A的拮抗性抗體。

【請求項80】如請求項1至79中任一項之方法，其中該去核類紅血球包含至少1,000個複本的外源性融合多肽。

【請求項81】如請求項1至80中任一項之方法，其中該去核類紅血球是藉由以下的方法製造，該方法包含：

將編碼第一外源性多肽的核酸引入有核類紅血球細胞前驅物中；以及

在足以表現該外源性多肽並使該有核類紅血球細胞前驅物去核的條件下，培養該有核類紅血球細胞前驅物。

【請求項82】如請求項1至81中任一項之方法，其中去核類紅血球進一步包含第二外源性多肽，該第二外源性多肽包含4-1BBL或其功能片段，其中該第二外源性多肽存在於去核類紅血球的細胞外表面上。

【請求項83】如請求項82之方法，其中去核類紅血球包含至少1,000個複本的第二外源性多肽。

【請求項84】如請求項82或83之方法，其中去核類紅血球是藉由以下的方法製造，該方法包含：

將編碼包含4-1BBL或其功能片段的第一外源性多肽的核酸和編碼第二外源性多肽的核酸引入有核類紅血球細胞前驅物中；以及

在足以表現該第一外源性多肽和該第二外源性多肽並使該有核類紅血球細胞前驅物去核的條件下，培養該有核類紅血球細胞前驅物。

【請求項85】 如請求項1至84中任一項之方法，其中去核類紅血球不是低滲透析細胞。

【請求項86】 如請求項1至85中任一項之方法，其中去核類紅血球不包含經分選酶轉移的特徵。

【請求項87】 如請求項86之方法，其中個體是人類且去核類紅血球是人類細胞。

【請求項88】 一種套組，其包含：

醫藥組成物，該醫藥組物包含去核類紅血球，該去核類紅血球在其細胞外表面上包含第一外源性多肽，該第一外源性多肽包含(i) IL-15或其功能片段，及(ii) IL-15受體 $\alpha$ 或其功能片段；以及

用於實施如請求項1至66中任一項之方法的說明書。

【請求項89】 如請求項88之套組，其中去核類紅血球包含至少1,000個複本的第一外源性多肽。

【請求項90】 如請求項88或89之套組，其中去核類紅血球是藉由以下的方法製造，該方法包含：

將編碼第一外源性多肽的核酸引入有核類紅血球細胞前驅物中；以及

在足以表現該第一外源性多肽並使該有核類紅血球細胞前驅物去核的條件下，培養該有核類紅血球細胞前驅物。

【請求項91】 如請求項88至90中任一項之套組，其中去核類紅血球進一步包含第二外源性多肽，該第二外源性多肽包含4-1BBL或其功能片段，其中第二外源性多肽存在於去核類紅血球的細胞外表面上。



【請求項92】如請求項91之套組，其中去核類紅血球包含至少1,000個複本的第二外源性多肽。

【請求項93】如請求項91或92之套組，其中去核類紅血球是藉由以下的方法製造，該方法包含：

將編碼第一外源性多肽的核酸和編碼第二外源性多肽的核酸引入有核類紅血球細胞前驅物中；以及

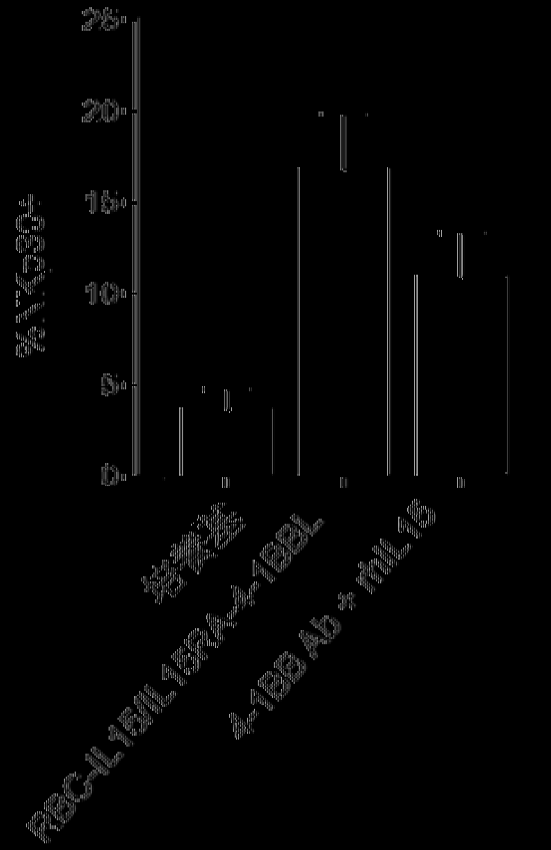
在足以表現該第一外源性多肽和該第二外源性多肽以及使該有核類紅血球細胞前驅物去核的條件下，培養該有核類紅血球細胞前驅物。

【請求項94】如請求項88至93中任一項之套組，其中去核類紅血球不是低滲透析細胞。

【請求項95】如請求項88至94中任一項之套組，其中去核類紅血球不包含經分選酶轉移的特徵。

【請求項96】如請求項88至95中任一項之套組，其中去核類紅血球是人類細胞。

(發明圖式)

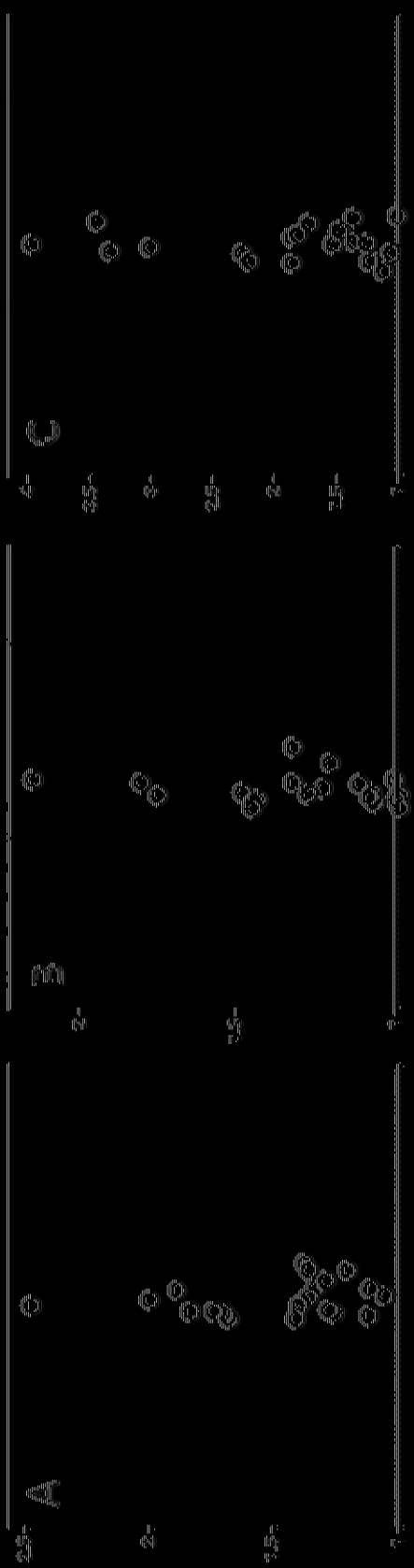


(圖1)

表 2A 示出 30 的 CD56+ 淋三  
22% (CD45+CD56+ 的 13.9%)

表 2B 示出 30 的 CD56dim CD56+ 淋三  
22% (CD45+CD56dim CD56+ 的 13.9%)

表 2C 示出 30 的 CD56+ CD56+ 淋三  
(CD45+CD56+ CD56+ 的 13.9%)



有關於其編碼於人骨質變化:

[(圖) 2]

Y2C

Y2B

Y2A



