



(10) 申请公布号 CN 117460741 A

(43) 申请公布日 2024.01.26

(21) 申请号 202280040964.1

(22) 申请日 2022.06.29

(66) 本国优先权数据

202110730083.X 2021.06.29 CN

202111056553.5 2021.09.09 CN

202210111505.X 2022.01.29 CN

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.12.07

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/CN2022/102395 2022.06.29

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/274303 ZH 2023.01.05

(71) 申请人 科济生物医药(上海)有限公司

地址 200231 上海市徐汇区银都路388号12
幢

(72) 发明人 王益 李宗海

(74) 专利代理机构 北京彩和律师事务所 11688
专利代理师 闫桑田

(51) Int.Cl.

C07K 14/705 (2006.01)

A61K 35/00 (2006.01)

A61K 38/17 (2006.01)

C12N 15/00 (2006.01)

C12N 15/12 (2006.01)

(54) 发明名称

调控细胞生理活动的嵌合多肽

(57) 摘要

一种嵌合多肽,包含能够特异性结合目标分子的结合肽段、包含一个或多个裂解位点的受体调控结构域以及胞内域,所述受体调控结构域包括胞外区和跨膜区,其中,胞外区和跨膜区不同时来源于Notch蛋白,所述结合肽段与所述目标分子的结合可以诱导所述受体调控结构域的裂解,从而释放所述胞内域。

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2023年1月5日 (05.01.2023)



(10) 国际公布号
WO 2023/274303 A1

(51) 国际专利分类号:

C07K 14/705 (2006.01) *A61K 38/17* (2006.01)
C12N 15/12 (2006.01) *A61K 35/00* (2006.01)
C12N 15/00 (2006.01)

SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ,
UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(21) 国际申请号: PCT/CN2022/102395

(22) 国际申请日: 2022年6月29日 (29.06.2022)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

202110730083.X 2021年6月29日 (29.06.2021) CN
202111056553.5 2021年9月9日 (09.09.2021) CN
202210111505.X 2022年1月29日 (29.01.2022) CN

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区
保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ,
NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM,
AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG,
CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU,
IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT,
RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,
CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。
- 包括说明书序列表部分(细则5.2(a))。

(71) 申请人: 科济生物医药(上海)有限公司
(CARSGEN THERAPEUTICS CO., LTD.) [CN/CN];
中国上海市徐汇区银都路388号12幢,
Shanghai 200231 (CN)。

(72) 发明人: 王益(WANG, Yi); 中国上海市徐汇区
银都路388号12幢, Shanghai 200231 (CN)。 李
宗海(LI, Zonghai); 中国上海市徐汇区银都路
388号12幢, Shanghai 200231 (CN)。

(74) 代理人: 北京彩和律师事务所(BEIJING CAI HE
LAW FIRM); 中国北京市海淀区大柳树路17号
富海国际港1602室, Beijing 100081 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家
保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG,
BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU,
CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB,
GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS,
IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA,
LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN,
MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE,
PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE,

(54) Title: CHIMERIC POLYPEPTIDE FOR REGULATING CELL PHYSIOLOGICAL ACTIVITY

(54) 发明名称: 调控细胞生理活动的嵌合多肽

(57) Abstract: A chimeric polypeptide, containing a binding peptide that can specifically bind to a target molecule, a receptor regulatory domain containing one or more cleavage sites, and an intracellular domain. The receptor regulatory domain comprises an extracellular region and a transmembrane region, wherein the extracellular region and the transmembrane region are not both derived from a Notch protein. The binding of the binding peptide to the target molecule can induce the cleavage of the receptor regulatory domain, thereby releasing the intracellular domain.

(57) 摘要: 一种嵌合多肽, 包含能够特异性结合目标分子的结合肽段、包含一个或多个裂解位点的受体调控结构域以及胞内域, 所述受体调控结构域包括胞外区和跨膜区, 其中, 胞外区和跨膜区不同时来源于Notch蛋白, 所述结合肽段与所述目标分子的结合可以诱导所述受体调控结构域的裂解, 从而释放所述胞内域。



WO 2023/274303 A1

调控细胞生理活动的嵌合多肽

优先权信息

本申请要求：于 2021 年 6 月 29 日提交的中国专利申请 CN202110730083.X、于 2021
5 年 9 月 9 日提交的中国专利申请 CN202111056553.5，于 2022 年 1 月 29 日提交的中国专
利申请 CN202210111505.X，它们的全部内容通过整体引用并入本文。

同时提交的序列表文件

下列 ASCII 码文本文件的全部内容通过整体引用并入本文：计算机可读格式(CRF)的
10 序列表(名称：FF00617PCT-sequence listing-20220629-yszg.txt，日期：20220629，大小：232
KB)。

技术领域

本申请涉及能够调控细胞生理活动的嵌合多肽，以及表达嵌合多肽的细胞。
15

背景技术

对细胞在体外进行基因表达、细胞分化等生理活动的调控已经有了多种手段，但
如何实现细胞在体内的空间特异性调控，仍是一个技术难点。例如一些免疫细胞在外
源表达抗肿瘤分子(如CAR、细胞因子等)后，可以激活细胞，产生强烈的抗肿瘤效应，
20 但同时也带来了潜在的脱靶毒性风险和长时间激活细胞造成的功能失调。

现已有Notch受体第一代合成衍生物synNotch，包括配体结合结构域，Notch核心
调控区和胞内信号区构成。其原理是利用天然Notch分子结合目标分子(配体)后，先后
在胞外和胞内发生剪切的特点，将天然Notch的胞内区替换为人工信号分子(如特异的
转录因子等)，基本实现了配体依赖的基因表达调控。

但是，这一技术仍存在许多问题：synNotch存在本底泄漏，即在没有配体激活状态
仍有微弱的基因表达；synNotch诱导基因表达的水平较低；synNotch序列长，分子大，
细胞工程改造难度大。

发明内容

30 本申请涉及如下内容：

一种嵌合多肽，包括：

- a) 能够特异性结合目标分子的结合肽段；
- b) 包含一个或多个裂解位点的受体调控结构域

所述受体调控结构域包括胞外区和跨膜区，其中，胞外区和跨膜区不同时来源于Notch
35 蛋白；以及

c) 胞内结构域,

其中, 所述结合肽段与所述目标分子的结合可以诱导所述受体调控结构域的裂解, 从而释放所述胞内结构域。

在一实例中, 所述的嵌合多肽, 其特征在于, 所述裂解位点为酶解位点, 优选的, 为蛋白酶水解位点。

在一实例中, 所述的嵌合多肽, 其特征在于, 所述受体调控结构域的跨膜区含有裂解位点, 当所述结合肽段与所述目标分子结合, 引发胞内结构域的裂解和释放。

在一实例中, 嵌合多肽, 其特征在于, 所述跨膜区包含 I-CLiPs (intramembranously cleaving proteases) 酶裂解位点; 优选地, 所述 I-CLiPs 包含 γ -分泌酶裂解位点, 更优选地, 所述的 γ -分泌酶裂解位点包含 Gly-Val 二肽序列的 γ -分泌酶裂解位点。

在一实例中, 嵌合多肽的受体调控结构域的胞外区含有裂解位点, 当所述特异性结合目标分子的肽段与所述目标分子结合, 引发所述胞外区的裂解, 进而引发胞内结构域的裂解和释放。

在一实例中, 嵌合多肽的胞外区的裂解位点为 sheddase 蛋白酶裂解位点; 优选的, 所述 sheddase 蛋白酶选自: BACE1、ADAM8、ADAM9、ADAM10、ADAM12、ADAM17、MT1-MMP。

在一实例中, 嵌合多肽的胞外区来源于 Jagged2、EphrinB2、APLP1、APLP2、APP、CD44、CSF1R、CXCL16、CX3CL1、Delta1、E-cadherin、EphB2、EphrinB1、Growth hormone receptor、HLA-A2、IFNaR2、IL1R2、L1、LRP、LRP2、LRP6、N-cadherin、Nectin1 α 、NRADD、p75-NTR、Pcdh α 4、Pcdh γ -C3、PTP κ 、PTP-LAR、SorCS1b、SorLA、Sortilin、ApoER2、PKHD1、ErbB4、IFNaR2、VEGF-R1、或 VLDLR 的胞外域, 或上述任一蛋白的胞外区的片段, 或上述任一蛋白的胞外区的变体。

在一实例中, 嵌合多肽的胞外区含有 Jagged2 的胞外区或 EphrinB2 的胞外区, 或含有 Jagged2 的胞外区的片段或 EphrinB2 的胞外区的片段。

在一实例中, 嵌合多肽的胞外区包含与 SEQ ID NO: 1、3、5、7、9、11 中任何一个具有至少 80% 序列同源性的氨基酸序列。

在一实例中, 嵌合多肽的胞内结构域包含选自下述任一蛋白的蛋白片段:

转录激活蛋白; 转录阻遏蛋白; 转录辅助激活蛋白; 转录辅助阻遏蛋白; DNA 结合多肽; RNA 结合多肽; 翻译调控多肽; 激素; 细胞因子; 毒素; 抗体; 染色质调节剂; 自杀蛋白 (suicide protein); 细胞器特异性多肽 (例如, 核孔调控子、线粒体调控子、内质网调控子等); 促细胞凋亡多肽; 抗细胞凋亡多肽; 通过其他机制促进细胞死亡的其他多肽; 促增殖多肽; 抗增殖多肽; 免疫共刺激多肽; 位点特异性核酸酶; 重组酶; 抑制性免疫受体; 活化性免疫受体; Cas9 和 RNA 靶向核酸酶的变体; 以及 DNA 识别多肽; 信号传导多

肽；受体酪氨酸激酶；非受体酪氨酸激酶；促进分化的多肽；

优选的，所述胞内结构域包含选自下述任一蛋白的蛋白片段：转录激活蛋白、转录阻遏蛋白、位点特异性核酸酶、重组酶、抑制性免疫受体、活化性免疫受体。

5 在一实例中，转录激活蛋白为GLA4-VP64或其片段；优选的，所述转录激活蛋白含有SEQ ID NO:27所示的序列。

在一实例中，所述嵌合多肽的胞内结构域为位点特异性核酸酶，优选的，所述位点特异性核酸酶为Cas9多肽。

10 在一实例中，所述嵌合蛋白的受体调控结构域包含与SEQ ID NO: 28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41或85中任何一个具有至少80%序列同源性的氨基酸序。

在一实例中，所述结合肽段为抗体、抗原、配体、受体、细胞黏附分子、或非抗体分子支架。

在一实例中，所述结合肽段为抗体，所述抗体为单域抗体、单链抗体、双链抗体、三链抗体、微型抗体。

15 在一实例中，所述非抗体分子支架为avimer、DARPin、adnectin、avimer、亲和体、anticalin或affilin。

在一实例中，所述目标分子存在于人的病理性组织和/或人的正常组织中的配体。

在一实例中，所述病理性组织为肿瘤组织、感染性病变的组织、或基因突变的组织。

在一实例中，所述肿瘤组织包括肿瘤细胞、包含肿瘤细胞的器官、肿瘤微环境。

20 在一实例中，所述目标分子在特定的人的病理性组织和/或人的正常组织中特异性表达或高表达。

25 在一实例中，所述跨膜区是来自notch的跨膜区；优选的，所述跨膜区如序列13、14、15、16、17、18、19、20、21、102、103、104所示，或与SEQ ID NO: 13、14、15、16、17、18、19、20、21、102、103、104中任何一个具有至少80%序列同源性的氨基酸序列。

在一实例中，所述受体调控结构域具有50-300个氨基酸。

在一实例中，所述受体调控结构域和所述识别结构域之间含有连接肽。

在一实例中，所述嵌合多肽从N端到C端，包含结合肽段、受体调控结构域和胞内结构域。

30 本申请还涉及表达上述嵌合多肽的细胞。

在一实例中，所述细胞是免疫效应细胞。

在一实例中，所述细胞是T细胞、NK细胞、NKT细胞、巨噬细胞、CIK细胞、以及干细胞衍生的免疫效应细胞。

在一实例中，所述细胞上还含有表达另一嵌合多肽或T细胞受体的核酸。

35 在一实例中，所述另一嵌合多肽是嵌合抗原受体（CAR）、嵌合T细胞受体或T细胞

抗原耦合器 (TAC)。

在一实例中, 所述嵌合多肽的胞内结构域释放后, 能够激活另一嵌合多肽或T细胞受体的表达。

本申请涉及于制备本申请的细胞所用的核酸、表达载体、病毒。

5 在一实例中, 所述核酸构建在一个表达载体中。

本申请涉及一种激活细胞的方法, 所述方法包括:

使上述本申请的细胞与固定抗原接触, 其中包含所述嵌合多肽的所述结合肽段包括对第一抗原具有特异性的抗体, 并且其中所述接触导致所述嵌合多肽包含的所述转录激活蛋白的释放, 来调控所述细胞中所述CAR和/TCR的表达, 其中所述CAR和/或TCR在与第二
10 抗原的结合之后提供所述细胞的激活。

在一实例中, 所述第一抗原和/或第二抗原存在抗原表达异质性。

在一实例中, 所述第一抗原和/或第二抗原为肿瘤抗原。

在一实例中, 所述方法用于治疗第一抗原表达异质性的肿瘤。

本申请涉及一种激活细胞的方法, 所述方法包括:

15 使上述本申请的细胞与所述目标分子接触, 其中包含所述嵌合多肽的所述结合肽段包括对第一目标分子具有特异性的抗体, 并且其中所述接触导致所述嵌合多肽包含的所述转录激活蛋白的释放, 来调控所述细胞中所述CAR和/或TCR的表达, 其中所述CAR和/或TCR在与第二目标分子的结合之后提供所述细胞的激活。

在一实例中, 所述第一目标分子和/或所述第二目标分子存在表达异质性。

20 在一实例中, 所述第一目标分子和/或第二目标分子为肿瘤抗原。

在一实例中, 所述方法用于治疗所述第一目标分子表达异质性的肿瘤。

在一实例中, 所述目标分子为非溶解型分子。

在一实例中, 所述第一目标分子包括细胞膜表面抗原。

25 在一实例中, 所述细胞包括T细胞、NK细胞、NKT细胞、巨噬细胞、CIK细胞、干细胞衍生的免疫效应细胞或其组合。

本申请涉及一种调控细胞因子IL-12分泌的方法, 所述方法包括:

在一实例中, 使本申请的细胞与固定抗原接触, 其中包含所述嵌合多肽的所述结合肽段包括对抗原具有特异性的抗体, 并且其中所述接触导致所述嵌合多肽包含的所述转录激活蛋白的释放, 来调控所述细胞中所述IL-12的表达。

30 在一实例中, 所述细胞是T细胞。

在一实例中, 所述抗原包括肿瘤抗原。

本申请涉及一种调控细胞因子IL-12、IL-7、CCL21或其组合分泌的方法, 所述方法包括:

35 使本申请的细胞与所述目标分子接触, 其中包含所述嵌合多肽的所述结合肽段包括对所述目标分子具有特异性的抗体, 并且其中所述接触导致所述嵌合多肽包含的所述转录激

活蛋白的释放，来调控所述细胞中所述IL-12、IL-7、CCL21或其组合的表达。

在一实例中，所述细胞包括T细胞、NK细胞、NKT细胞、巨噬细胞、CIK细胞、干细胞衍生的免疫效应细胞或其组合。

在一实例中，所述目标分子包括肿瘤抗原。

5 在一实例中，所述目标分子为非溶解型分子。

在一实例中，所述目标分子包括细胞膜表面抗原。

应理解，在本申请范围内中，本申请的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合，从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅，在此不再一一累述。

10

附图说明

图1A和1B显示了分别与表达GPC3的肝癌细胞共孵育后，靶向GPC3的synJagged2EC、synEphrinB2EC、synEphrinB2EC-APLP2(TM)诱导BFP表达水平相当或显著高于synNotch。

15 图2.显示了表达synNotch、synEphrinB2EC嵌合多肽与包被型抗原共孵后能触发转录活性。

图3.显示了靶向GPC3、包括全长EphrinB2胞外区或其截短体的嵌合多肽均调控基因表达。

20 图4.显示了在抗原浓度较低时(小于等于0.78125 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，包含嵌合多肽的细胞保持静息，在高浓度抗原刺激下(大于等于0.3125 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，包含嵌合多肽的细胞的被激活。

图5.显示了与表达GPC3的肝癌细胞共孵育后，相比于synNotch，synJagged2EC、synEphrinB2EC诱导IL12表达相当或提高。

图6.显示了不同肝癌细胞的GPC3表达水平。

25 图7显示，单载体系统表达synEphrinB2EC、synEphrinB2EC-APLP2(TM)水平高于synNotch。

图8显示，与GPC3低表达细胞孵育后，synEphrinB2EC或synEphrinB2EC-APLP2(TM)诱导转录高于synNotch。

30 图9显示，与GPC3低表达细胞孵育后，synEphrinB2EC-del3诱导表达水平较低，而与GPC3高表达细胞孵育后，其诱导表达水平与synNotch相当。

图10显示，调控IL12表达的synEphrinB2EC发挥协同GPC3-CAR-T细胞抗肿瘤作用。

35 图11.显示了分别与表达EGFRvIII的胶质瘤细胞U87MG-EGFRvIII和U251-EGFRvIII共孵育后，表达靶向肿瘤抗原EGFRvIII的synEphrinB2EC的细胞诱导BFP表达的水平与表达synNotch嵌合多肽的细胞接近，但表达synNotch嵌合多肽的细

胞发生抗原非依赖激活。

图 12. 显示了人原代 T 细胞制备成表达靶向肿瘤抗原 EGFRvIII 的 synEphrinB2EC-CAR 和 synNotch-CAR T 细胞后, synEphrinB2EC 的阳性率及表达水平高于 synNotch。

5 图 13. 显示了在没有抗原刺激时, synEphrinB2EC-CAR-T 细胞不表达 CAR, 亦没有自发的 CAR 信号。

图 14. 显示了在没有抗原刺激时, synEphrinB2EC-CAR-T 细胞处于低激活、低分化状态。

图 15. 显示了在没有抗原刺激时, synEphrinB2EC-CAR-T 细胞处于低耗竭状态。

10 图 16. 显示了表达靶向肿瘤抗原 EGFRvIII 的 synEphrinB2EC-CAR-T 细胞可被 EGFRvIII 激活并杀伤 IL13Ra2 阳性的胶质瘤细胞, 相比 synNotch-CAR T 细胞, synEphrinB2EC-CAR-T 细胞在杀伤抗原表达异质性较强的肿瘤时更为有效。

图 17 显示了, 表达 EGFRvIII-synEphrinB2EC 的 IL13Ra2-CAR-T 体内抗肿瘤作用。

15 图 18 显示, 仅识别人 B7H3 的 376.96-28Z-T 细胞抗肿瘤显著, 而识别人和鼠 B7H3 的 B7H3-28Z-T、B7H3-BBZ-T 疗效差。将特异性不高的 B7H3-28Z 置于 EGFRvIII-synEphrinB2EC 调控下, 能提高其特异性杀伤作用。

图 19、20 显示, 表达 Mesothelin-synEphrinB2EC 的第二代和第四代 Claudin18.2-CAR-T 细胞均可被抗原特异性激活、杀伤肿瘤细胞。

20 图 21 显示, 表达 FAP-synEphrinB2EC 的 Claudin18.2-CAR-T 细胞抗肿瘤, 且小鼠体重无显著下降。

图 22A、图 22B 显示, 包含 Claudin18.2-synEphrinB2EC 的 Mesothelin-CAR-T 细胞可被抗原特异性激活、杀伤肿瘤细胞。

图 23A 显示了 AML 细胞 CLL1、NKG2D 表达水平; 23B 显示了靶向 CLL1 的嵌合多肽结合触发的转录活性。

25 图 24 显示了, NKG2D-CAR-T 细胞杀伤表达 NKG2D 配体的 THP1、HL-60 细胞, 在 CLL1-synEphrinB2EC 诱导下的 CD3Z-NKG2D-CAR-T 细胞对 CLL1 低表达的 THP-1 细胞的杀伤弱, 只能杀伤 CLL1 和 NKG2D 配体都高表达的 HL-60 细胞。

图 25 显示, 包含 CLL1-synEphrinB2EC 调控 NKG2D-CAR 的 T 细胞扩增良好。

30 图 26 显示, 包含 CLL1-synEphrinB2EC 调控 NKG2D-CAR 的 T 细胞死亡比例与 UTD 基本相同, 而 NKG2D-CAR-T 细胞的死亡比例明显升高; 包含 CLL1-synEphrinB2EC 调控 NKG2A-CAR 的 T 细胞可以有效保证培养体系中 T 细胞的扩增和活性。

具体实施方式

35 本申请发现用一类新嵌合多肽, 具有能够特异性结合目标分子(配体, 或称为靶抗原)触发的转录调节活性。所述嵌合多肽的受体调控结构域的胞外区和跨膜区不同

时来源于Notch，跨膜区包括一个或多个裂解位点。本申请嵌合多肽具有的特异性结合目标分子(配体，或称为靶抗原)触发的转录调节活性与synNotch具有的特异性结合目标分子(配体，或称为靶抗原)触发的转录调节活性相当、或高于synNotch活性。本申请提供了具有结合触发的转录开关的嵌合多肽、包括编码嵌合多肽的核酸，以及用核酸遗传修饰的宿主细胞。本申请提供了包括编码具有结合触发的转录调节活性的嵌合多肽的核酸的转基因生物体。还提供了使用一种或多种具有结合触发的转录调节活性的嵌合多肽局部调节细胞的活性的方法和使用一种或多种具有结合触发的转录调节活性的嵌合多肽的定位性细胞激活系统。

本申请提供的嵌合多肽，从N端到C端包括：(a)能够特异性结合目标分子的结合域，(b)包含一个或多个裂解位点的受体调控结构域，所述受体调控结构域的胞外区和跨膜区不同于Notch受体多肽，以及c)胞内域；其中，所述结合域与所述目标分子的结合可以诱导所述受体调控结构域的裂解，从而释放所述胞内域。

示例性，本申请提供了嵌合多肽 synJagged2EC、synEphrinB2EC、synEphrinB2EC-APLP2(TM)、及编码本申请的嵌合多肽的核酸、以及用核酸遗传修饰的宿主细胞。本申请提供了包含编码嵌合多肽 synJagged2EC、synEphrinB2EC、synEphrinB2EC-APLP2(TM)的核酸的转基因生物体。

表达本申请设计的嵌合多肽(如 synJagged2EC、synEphrinB2EC、synEphrinB2EC-APLP2(TM))的工程细胞在结合表达肿瘤抗原(例如GPC3、EGFRvIII、Mesothelin、FAP、Claudin18.2、CLL1、CD123)的肿瘤细胞后可触发转录调节活性。在一实例中，转录调节BFP表达、细胞因子IL12或CAR的表达。在一实例中，表达synEphrinB2EC、synJagged2EC或synEphrinB2EC-APLP2(TM)的细胞诱导BFP、IL12、CAR表达的水平与表达synNotch嵌合多肽的细胞接近或显著提高。

促炎性细胞因子如IL12等已被证明具有很强的促进T细胞肿瘤免疫的功能，但由于其潜在的毒副作用，临床应用的风险较高。利用本申请提供的嵌合多肽调控表达促炎性细胞因子在肿瘤部位特异性表达可有效解决其副作用的问题。在具体实施例中，表达synEphrinB2EC、synJagged2EC或synEphrinB2EC-APLP2(TM)的细胞诱导IL12表达的水平与表达synNotch嵌合多肽的细胞接近或显著提高。在具体实施例中，synEphrinB2EC对低水平表达的目标分子(配体，或称为靶抗原)更为敏感，诱导基因表达的能力更强。示例性的，与表达低水平肿瘤抗原特异结合后，synEphrinB2EC诱导IL12表达的能力显著高于synNotch，高达约4-6倍。示例性的，在肿瘤抗原EGFRvIII激活的synEphrinB2EC诱导的BFP水平与synNotch相当，但synNotch与不存在肿瘤抗原EGFRvIII的U87或U251细胞共孵育后也发生非特异性激活，提示嵌合多肽synEphrinB2EC在具有较强的基因诱导能力的同时，兼有较好的抗原特异性，安全性更高。

本申请提供的嵌合多肽不被溶解性抗原激活。示例性的，溶解型抗原不能激活

表达synEphrinB2EC、synJagged2EC或synEphrinB2EC-APLP2(TM)嵌合多肽的细胞。在具体实施例中，溶解型抗原，指溶解并游离于胞外环境中的抗原。

本申请提供的嵌合多肽(如synEphrinB2EC、synJagged2EC、synEphrinB2EC-APLP2(TM))的受体调控结构域短于synNotch对应的结构域。当与被调控表达的基因整合入同一个慢病毒载体时，synEphrinB2EC所调控的基因在序列长度上可有更大的容量。在具体实施例中，嵌合多肽synEphrinB2EC最终制备得到的包括特异性结合目标分子(配体，或称为靶抗原)的结合域和胞内域的T细胞的感染阳性率高于synNotch，约1.5倍，降低了工业化生产制备的难度。

本申请提供的嵌合多肽(如synEphrinB2EC、synJagged2EC、synEphrinB2EC-APLP2(TM))通过结合触发调控CAR表达提高CAR-T细胞对抗原表达异质性或抗原异质性较强的肿瘤的抗癌作用。示例性，表达本申请的嵌合多肽(如synEphrinB2EC、synJagged2EC、synEphrinB2EC-APLP2(TM))的细胞在接触表达第一目标分子(示例性的，肿瘤抗原EGFRvIII)的靶细胞后可触发靶向第二目标分子(示例性的，IL13Ra2)的嵌合抗原受体(CAR)的转录调节，实现当且仅当肿瘤微环境中存在第一目标分子时，靶向杀伤表达第二目标分子的肿瘤细胞，提高CAR-T细胞的肿瘤特异性，不仅如此，由于单个靶细胞同时表达第一目标分子和第二目标分子不是启动靶向杀伤的必要条件，本申请可减少表达第二目标分子的靶细胞通过丢失或降低第一目标分子表达而发生的靶细胞逃逸效应细胞杀伤现象。在具体实施例中，在第一目标分子阳性率较低的情况下，靶向第一目标分子的synNotch无法激活CAR-T细胞有效杀伤肿瘤细胞，而本申请提供的靶向第一目标分子的synEphrinB2EC、synJagged2EC、synEphrinB2EC-APLP2(TM)仍可激活CAR-T细胞杀伤肿瘤细胞。

本申请提供的结合触发调控CAR表达的嵌合多肽(如synEphrinB2EC、synJagged2EC、synEphrinB2EC-APLP2(TM))在没有目标分子刺激的情况下：不表达CAR，亦无CAR磷酸化产生；处于未被激活的状态，维持低水平CD25和CD69表达；处于低耗竭的状态，PD1、LAG3、TIM3和CD39维持低水平表达；处于低分化的状态，多数细胞为Tscm细胞。

本申请提供的结合触发调控CAR表达的嵌合多肽能够实现CAR-T细胞杀伤靶细胞的空间特异性调控、降低脱靶毒性、降低长时间激活细胞造成的功能失调现象、降低非特异性目标分子激活以及高效率病毒包装降低工业制备难度。

本申请还提供用于产生此类受体、编码它们的核酸、用这些核酸遗传修饰的宿主细胞的组合物和方法，以及用于调节细胞活性和/或用于治疗各种健康状况(例如疾病(例如肿瘤))的方法。

除非专门定义，否则本文所用的所有技术和科学术语具有在细胞生物学、细胞培养、基因治疗、生物化学、微生物学、重组DNA、免疫学、遗传学和分子生物学领域内的技术人员通常理解的含义。这些技术充分解释于文献中。参见，例如，Current Protocols

in Molecular Biology (Frederick M. AUSUBEL, 2000, Wiley and son Inc, Library of Congress, USA); Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Third Edition, (Sambrook et al, 2001, Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press); Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gaited., 1984); Mullis et al. U.S. Pat. No. 4,683,195; Nucleic Acid Hybridization (B. D. Harries & S. J. Higgins eds. 1984); Transcription And Translation (B. D. Hames & S. J. Higgins eds. 1984); Culture Of Animal Cells (R. I. Freshney, Alan R. Liss, Inc., 1987); Immobilized Cells And Enzymes (IRL Press, 1986); B. Perbal, A Practical Guide To Molecular Cloning (1984); the series, Methods In ENZYMOLOGY (J. Abelson and M. Simon, eds.-in-chief, Academic Press, Inc., New York), 尤其是 Vols.154 和 155 (Wu et al. eds.) 和 Vol.185, "Gene Expression Technology" (D. Goeddel, ed.); Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells (J. H. Miller and M. P. Calos eds., 1987, Cold Spring Harbor Laboratory); Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology (Mayer and Walker, eds., Academic Press, London, 1987); Hand book Of Experimental Immunology, 卷 I-IV (D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds., 1986) 和 Manipulating the Mouse Embryo (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1986)。类似或等效于本文中描述的那些所有方法和材料都可以在本申请的实践或测试中使用, 其中, 本文描述的是合适的方法和材料。本文提及的所有出版物、专利申请、专利和其他参考文献都以其全部内容通过引用并入本文。在冲突的情况下, 以本说明书, 包括定义为准。此外, 除非另有规定, 否则本申请的材料、方法和实施例仅是说明性的, 而并非旨在进行限制。根据本申请内容, 本领域技术人员应了解在所公开的具体实施方案中可以作出许多变化或改变, 并且仍获得相同或相似结果, 而不背离本申请的精神和范围。本申请在范围上并不受限于本文描述的具体实施方案(其仅预期作为本申请的各方面的举例说明), 并且功能等价的方法和组分在本申请的范围内。本申请包括对本申请的主题进行变型和修改来用于各种用途和条件。

25 1. 定义:

如本文所用, "约"可表示取决于具体情况并且由本领域技术人员已知或可知的, 或表示在给定值的至多约 $\pm 1\%$ 、 $\pm 2\%$ 、 $\pm 3\%$ 、 $\pm 4\%$ 、 $\pm 5\%$ 、 $\pm 6\%$ 、 $\pm 7\%$ 、 $\pm 8\%$ 、 $\pm 9\%$ 、 $\pm 10\%$ 、 $\pm 11\%$ 、 $\pm 12\%$ 、 $\pm 13\%$ 、 $\pm 14\%$ 、 $\pm 15\%$ 、 $\pm 16\%$ 、 $\pm 17\%$ 、 $\pm 18\%$ 、 $\pm 19\%$ 、 $\pm 20\%$ 、 $\pm 25\%$ 、 $\pm 30\%$ 范围内变化。即"约"表示的范围涵盖给定值 $\pm 1\%$ 、给定值 $\pm 2\%$ 、给定值 $\pm 3\%$ 、给定值 $\pm 4\%$ 、给定值 $\pm 5\%$ 、给定值 $\pm 6\%$ 、给定值 $\pm 7\%$ 、给定值 $\pm 8\%$ 、给定值 $\pm 9\%$ 、给定值 $\pm 10\%$ 、给定值 $\pm 11\%$ 、给定值 $\pm 12\%$ 、给定值 $\pm 13\%$ 、给定值 $\pm 14\%$ 、给定值 $\pm 15\%$ 、给定值 $\pm 16\%$ 、给定值 $\pm 17\%$ 、给定值 $\pm 18\%$ 、给定值 $\pm 19\%$ 、给定值 $\pm 20\%$ 、给定值 $\pm 25\%$ 、给定值 $\pm 30\%$ 。可替代的, 特别是关于生物系统或方法, 该术语可指在数值的一个数量级内, 例如在一个值的约5倍之内或在约2倍之内。

35 范围: 范围形式的描述仅仅为方便和简洁起见, 而不应当被看作是对本申请的范围

不可改变的限制。因此，范围的描述应当被认为特别地公开了所有可能的子范围以及该范围内的单独数值。例如，从1至6的范围的描述应当被认为具体公开了从1至3、1至4、1至5、2至4、2至6、3至6等的子范围，以及在上述范围内的具体的数值点，例如1、2、3、4、5、6。不论所述数值的宽窄，上述原则均同等适用。当采用范围描述时，该范围包括范围的端点。

术语“受体”是一类存在于胞膜或胞内的，能与目标分子结合进而激活细胞内一系列生物化学反应，使细胞对外界刺激产生相应的效应的特殊蛋白质或多肽。与受体结合的目标分子(也称为生物活性物质)统称为配体(ligand)，或称为靶抗原。

术语“嵌合抗原受体”或“CAR”是指可以由包括但不限于T细胞的免疫细胞表达的工程化分子。CAR在T细胞中表达并且可以重定向T细胞以诱导以由嵌合受体决定的特异性杀死靶细胞。CAR包括抗原结合域、跨膜结构域和胞内信号结构域。胞内信号结构域包括一级信号结构域和/或共刺激信号结构域。CAR的细胞外结合结构域可以衍生自鼠、人源化或完全人单克隆抗体。术语CAR不具体地限于CAR分子，而且还包括CAR变体。CAR变体包括拆分CAR，其中CRA的细胞外部分(例如，配体结合部分)和细胞内部分(例如，细胞内信号传导部分)存在于两个独立的分子上。CAR变体还包括启动开关CAR(ON-switch CAR)，其为可条件性激活的CAR，例如，包括拆分CAR，其中通过药物控制拆分CAR的两个部分的条件性异源二聚化。CAR变体还包括双特异性CAR，其包括可放大或抑制主要CAR的活性的次要CAR结合结构域。CAR变体还包括抑制性嵌合抗原受体(iCAR)，其可以例如用作双特异性CAR系统的组分，其中次要CAR结合结构域的结合导致主要CAR激活的抑制。

术语“工程化”是指应用细胞生物学和分子生物学的原理和方法，通过某种工程学手段，在细胞整体水平或细胞器水平上，改变细胞内的遗传物质或获得细胞产品。工程细胞还可以指含有加入、缺失和/或改变的基因的细胞。

术语“细胞”或“工程细胞”可以指人或非人动物来源的细胞。

术语“个体”和“受试者”可互换，包括人或来自其他种属的动物，其包括但不限于人、小鼠、大鼠、仓鼠和豚鼠、兔子、狗、猫、绵羊、猪、山羊、牛、马、猿、猴子。

术语“转染”是指将外源核酸引入真核细胞。转染可以通过本领域已知的各种手段来实现，包括磷酸钙-DNA共沉淀、DEAE-葡聚糖介导的转染、聚凝胺介导的转染、电穿孔、显微注射、脂质体融合、脂质转染、原生质体融合、逆转录病毒感染和生物弹道技术(biolistics)。

术语“核酸”或“多核苷酸”或“核酸分子”是指单链或双链形式的脱氧核糖核酸(DNA)或核糖核酸(RNA)及其聚合物，包括编码目的多肽或其片段的任何核酸分子。所述核酸分子只需要与内源性核酸序列保持基本同一性即可，不需要与内源性核酸序列100%同源性或同一性。与内源性序列具有“基本同一性”的多核苷酸通常能与双链核酸分子的至少一条链杂交。“杂交”是指在各种严格条件下在互补多核苷酸序列或其部分之间形成双链分子的

配对。术语“同源性”或“同一性”是指两个聚合物分子之间，例如，两个核酸分子如两个DNA分子或两个RNA分子之间，或两个多肽分子之间的亚单位序列同一性。术语“基本同一性”或“基本同源性”，是指与参考氨基酸序列或核酸序列表现出至少约50%同源性或同一性的多肽或核酸分子。在一实例中，这样的序列与用于比较的氨基酸或核酸序列为至少约60
5 %、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%或100%同源性或同一性。序列同一性可以通过使用序列分析软件(例如, BLAST、BESTFIT、GAP或PILEUP/PRETTYBOX程序)进行测量。这样的软件通过将同源性程度分配给各种取代、缺失和/或其它修饰来匹配相同或相似的序列。保守取代通常包括以下组内的取代：甘氨酸、丙氨酸；缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸；天冬氨酸、谷氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺；丝氨酸、苏氨酸赖氨酸、精氨酸；和苯丙氨酸、酪氨酸。在确定同一性程度的示例性方法中，可以使用BLAST程序，其中e-3和e-100之间的概率得分指示密切相关的序列。

术语“分离的”意指从天然状态改变或移出的。例如，天然存在于活动物中的核酸或肽不是“分离的”，但与其天然状态下共同存在的物质部分或完全分离的相同核酸或肽则是“分离的”。分离的核酸或蛋白质可以以基本上纯化的形式存在，或者可存在于非天然环境
15 如宿主细胞中。

术语“可操作地连接”是指两个或多个序列(例如多肽序列或多核苷酸序列)之间的物理或功能性连接，其允许它们以预期方式操作。例如，如果启动子影响编码序列的转录或表达，则启动子可操作地连接到编码序列。通常，可操作地连接的DNA序列是连续的，并且在必要时在相同的阅读框中连接两个蛋白质编码区。

术语“肽”、“多肽”和“蛋白质”可互换使用，是指由通过肽键共价连接的氨基酸残基组成的化合物。

术语“激活免疫细胞”，是指信号转导通路引起的细胞内蛋白质表达的变化，导致免疫应答的启动。在一实例中，CAR与抗原结合后形成的免疫突触，包括在结合受体(例如，CD4或CD8，CD3 γ /CD δ /CD ϵ /CD ζ 等)附近的许多分子的聚集。膜结合信号分子的这种聚集
25 使CD3分子中包括的ITAM基序磷酸化。该磷酸化进而启动T细胞激活通路，最终激活转录因子，例如NF- κ B和AP-1。这些转录因子诱导T细胞的整体基因表达，包括上调IL-2生成，促进T细胞增殖，进而启动T细胞介导的免疫应答。“T细胞活化”或“T细胞激活”指被刺激后诱导可检测的细胞增殖、细胞因子产生和/或可检测的效应物功能的T细胞的状态。在一个实例中，所述免疫细胞与含特定抗原细胞共孵育后活化、或所述免疫细胞被病毒感染后活化。
30

术语“抗原”是指引起免疫反应的分子，包括但不限于，肿瘤抗原和病原体抗原。任何肿瘤抗原均可用于本申请所述的肿瘤相关的实施例(本文中“实例”与“实施例”可互换使用)中。本申请的肿瘤抗原包括但不限于：促甲状腺激素受体 (TSHR)；CD171；CS-1；C型凝集素样分子-1；神经节苷脂GD3；Tn抗原；CD19；CD20；CD 22；CD 30；CD 70；
35 CD 123；CD 138；CD33；CD44；CD44v7/8；CD38；CD44v6；B7H3 (CD276)，B7H6；

KIT (CD117); 白介素13受体亚单位 α (IL-13R α); 白介素11受体 α (IL-11R α); 前列腺干细
 胞抗原 (PSCA); 前列腺特异性膜抗原(PSMA); 癌胚抗原 (CEA); NY-ESO-1; HIV-1 Gag;
 MART-1; gp100; 酪氨酸酶; 间皮素; EpCAM; 蛋白酶丝氨酸21 (PRSS21); 血管内皮生
 长因子受体, 血管内皮生长因子受体2 (VEGFR2); 路易斯(Y)抗原; CD24; 血小板衍生生
 5 长因子受体 β (PDGFR- β); 阶段特异性胚胎抗原-4 (SSEA-4); 细胞表面相关的粘蛋白1
 (MUC1), MUC6; 表皮生长因子受体家族及其突变体 (EGFR, EGFR2, ERBB3, ERBB4,
 EGFRvIII); 神经细胞粘附分子(NCAM); 碳酸酐酶IX (CAIX); LMP2; 肝配蛋白A型受体
 2 (EphA2); 岩藻糖基 GM1; 唾液酸基路易斯粘附分子 (sLe); 神经节苷脂
 GM3(aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer; TGS5; 高分子量黑素瘤相关抗原
 10 (HMWMAA); 邻乙酰基GD2神经节苷脂(OAcGD2); 叶酸受体; 肿瘤血管内皮标记1
 (TEM1/CD248); 肿瘤血管内皮标记7相关的 (TEM7R); Claudin 6, Claudin18.2、
 Claudin18.1; ASGPR1; CDH16; 5T4; 8H9; α v β 6整合素; B细胞成熟抗原(BCMA); CA9;
 κ 轻链(kappa light chain); CSPG4; EGP2, EGP40; FAP; FAR; FBP; 胚胎型AchR; HLA-A1,
 HLA-A2; MAGEA1, MAGE3; KDR; MCSP; NKG2D配体; PSC1; ROR1; Sp17; SURVIVIN;
 15 TAG72; TEM1; 纤连蛋白; 腱生蛋白; 肿瘤坏死区的癌胚变体; G蛋白偶联受体C类5组
 -成员D (GPC5D); X染色体开放阅读框61 (CXORF61); CD97; CD179a; 间变性淋巴瘤
 激酶(ALK); 聚唾液酸; 胎盘特异性1 (PLAC1); globoH glycosphingolipid的己糖部分(GloboH);
 乳腺分化抗原 (NY-BR-1); uroplakin 2 (UPK2); 甲型肝炎病毒细胞受体1 (HAVCR1); 肾
 上腺素受体 β 3 (ADRB3); pannexin 3 (PANX3); G蛋白偶联受体20 (GPR20); 淋巴细胞抗
 20 原6复合物基因座K9 (LY6K); 嗅觉受体51E2 (OR51E2); TCR γ 交替阅读框蛋白 (TARP);
 肾母细胞瘤蛋白 (WT1); ETS 易位变异基因6 (ETV6-AML); 精子蛋白17 (SPA17); X抗
 原家族成员1A (XAGE1); 血管生成素结合细胞表面受体2 (Tie2); 黑素瘤癌睾丸抗原-1
 (MAD-CT-1); 黑素瘤癌睾丸抗原-2(MAD-CT-2); Fos相关抗原1; p53突变体; 人端粒酶
 逆转录酶 (hTERT); 肉瘤易位断点; 细胞凋亡的黑素瘤抑制剂 (ML-IAP); ERG(跨膜蛋
 25 白酶丝氨酸2 (TMPRSS2)ETS融合基因); N-乙酰葡萄糖胺基转移酶V (NA17); 配对盒蛋白
 Pax-3 (PAX3); 雄激素受体; 细胞周期蛋白B1; V-myc鸟髓细胞瘤病毒癌基因神经母细
 胞瘤衍生的同源物 (MYCN); Ras同源物家族成员C (RhoC); 细胞色素P450 1B1
 (CYP1B1); CCCTC结合因子(锌指蛋白)样 (BORIS); 由T细胞识别的鳞状细胞癌抗原3
 (SART3); 配对盒蛋白Pax-5 (PAX5); proacrosin结合蛋白sp32 (OYTES1); 淋巴细胞特异
 30 性蛋白酪氨酸激酶 (LCK); A激酶锚定蛋白4 (AKAP-4); 滑膜肉瘤X断点2 (SSX2); CD79a;
 CD79b; CD72; 白细胞相关免疫球蛋白样受体1 (LAIR1); IgA受体的Fc片段 (FCAR); 白
 细胞免疫球蛋白样受体亚家族成员2 (LILRA2); CD300分子样家族成员f (CD300LF); C型
 凝集素结构域家族12成员A (CLEC12A); 骨髓基质细胞抗原2 (BST2); 含有EGF样模块粘
 蛋白样激素受体样2 (EMR2); 淋巴细胞抗原75 (LY75); 磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3 (GPC3);
 35 Fc受体样5 (FCRL5); 免疫球蛋白 λ 样多肽1 (IGLL1)。病原体抗原包括但不限于: 病毒、

细菌、真菌、原生动物，或寄生虫的抗原；病毒抗原包括但不限于：巨细胞病毒(CMV)抗原、爱泼斯坦-巴尔病毒(EBV)抗原、人类免疫缺陷病毒(HIV)抗原或流感病毒抗原。

术语“抗原结合域”是指特异性结合抗原决定簇的分子，包括免疫球蛋白分子和免疫分子的免疫活性部分，即含有与抗原特异性结合(“免疫反应”)的抗原结合位点的分子。术语“抗体”不仅包括完整的抗体分子，也包括保留抗原结合能力的抗体分子的片段。本申请中术语“抗体”与术语“免疫球蛋白”“抗原结构域”可互换使用。抗体，包括但不限于单克隆抗体、多克隆抗体、天然抗体、双特异性抗体、嵌合抗体、Fv、Fab、Fab’、Fab’-SH、F(ab’)2、线性抗体、单链抗体(例如scFv)、单域抗体。在一实例中，抗体包括通过二硫键连接的至少两个重(H)链和两个轻(L)链。每条重链由重链可变区(VH)和重链恒定区(CH)组成。CH有三个结构域CH1、CH2、CH3组成。每条轻链由轻链可变区(VL)和轻链恒定区(CL)。CL由一个结构域组成。VH和VL可进一步细分为高变区，称为互补决定区(CDR)，其间散布有更保守的区域，称为框架区(FR)。每个VH和VL均由三个CDR和四个FR组成，从氨基端到羧基端按以下顺序排列：FR1，CDR1，FR2，CDR2，FR3，CDR3，FR4。重链和轻链的可变区包括与抗原相互作用的结合结构域。抗体的恒定区介导免疫球蛋白与宿主组织或因子的结合，所述宿主组织或因子包括免疫系统的各种细胞(例如，免疫细胞)与经典补体系统的第一组分(C1q)。如果抗原结构域以与其它参考抗原(包括多肽或其他物质)结合相比更大亲和力(或称亲合力)结合抗原，则所述抗原结构域与抗原“特异性结合”或与抗原是“免疫反应性的”。

术语“治疗有效量”、“治疗有效的”、“有效量”或“以有效的量”在本文中可互换地使用，是指如本文中所述有效地实现特定生物学结果的化合物、制剂、物质或组合物、药物组合物的量，例如但不限于足以促进T细胞应答的量或剂量。有效量的免疫细胞，是指但不限于：能使抗肿瘤活性增加、增强或延长的免疫细胞的数量；抗肿瘤免疫细胞数目或活化免疫细胞数目的增加；促进IFN- γ 分泌、肿瘤消退、肿瘤缩小、肿瘤坏死的免疫细胞的数量。

本文使用的术语“启动子”定义为由启动多核苷酸序列的特异性转录所需的细胞的合成机制或引入的合成机制识别的DNA序列。

术语“内源”，是指核酸分子或多肽等来自生物体自身。

术语“外源”，是指核酸分子或多肽不是内源性存在细胞中的，或表达水平不足以实现过表达时具有的功能；涵盖在细胞中表达的任何重组核酸分子或多肽，例如外源、异源和过表达的核酸分子和多肽。

术语“识别”，是指选择性结合靶抗原。本申请中表达外源受体的免疫细胞能识别表达所述外源受体特异性结合的抗原的细胞。

术语“特异性结合”是指识别并且结合存在于样品中的结合配偶体(例如肿瘤抗原)蛋白质的抗体或配体，但是该抗体或配体基本上不会识别或结合样品中的其它分子。

本文使用的术语“载体”是包含分离的核酸并可用于将分离的核酸递送至细胞内部的组合物。在本领域中已知许多载体，包括但不限于线性多核苷酸、与离子或两亲

化合物相关的多核苷酸、质粒和病毒。因此，术语“载体”包括自主复制的质粒或病毒。还包括促进核酸转移到细胞中的非质粒和非病毒化合物，例如转座子载体、聚赖氨酸化合物、脂质体等。病毒载体包括但不限于腺病毒载体、腺相关病毒载体、逆转录病毒载体等。

5 术语“疾病”是指损害或干扰细胞、组织或器官的正常功能的任何病症，例如肿瘤(癌症)或病原体感染。难治性癌症包括但不限于放疗不敏感、放疗后复发、化疗不敏感、化疗后复发、对CAR-T治疗不敏感或治疗后复发的癌症。

10 术语“肿瘤”指的是一种以细胞或组织的病理性增生为特征的疾病，及其随后的迁移或侵袭其他组织或器官。肿瘤细胞生长通常是不受控制的和进行性的、具有迁移性和失去接触抑制等特点。肿瘤包括癌症及其癌前病变。肿瘤包括血液肿瘤、实体瘤或其转移性病变。

术语“抗原表达异质性或抗原异质性”，指在一个细胞群中的细胞表达不同的抗原，或者相同抗原仅在细胞群的部分细胞中表达。

2. 嵌合多肽

15 本申请的嵌合多肽是一种受体，其以目标分子(配体，或称为靶抗原)依赖的方式调节转录活性。本申请的嵌合多肽是一种重组的、非天然存在的受体，包括结合域、受体调控结构域和胞内域。

20 在一实例中，嵌合多肽结合目标分子后，触发所述嵌合多肽发生水解，释放出胞内域。在一实例中，嵌合多肽结合靶细胞表面展示的目标分子(例如肿瘤抗原)后，触发所述嵌合多肽水解，释放胞内域。示例性的，嵌合多肽结合肿瘤细胞表面的肿瘤抗原后，调节细胞中定制转录程序的转录因子。

25 本申请的嵌合多肽，从N端到C端包括：(a)能够特异性结合目标分子的结合域，(b)包含一个或多个裂解位点的受体调控结构域，所述受体调控结构域的胞外区和跨膜区不同时来源于Notch，以及c)胞内域；其中，所述结合域与所述目标分子的结合可以诱导所述受体调控结构域的裂解，释放出所述胞内域。能够特异性结合目标分子的结合域和胞内域对于Notch受体多肽来说是同源性的。

30 本申请的嵌合多肽比现有的SynNotch受体具有更好的调节转录活性，并为工程化提供了更模块化的平台。现有的SynNotch受体可以通过配体结合结构域(如单链抗体和纳米体)进行工程化，但很难使用SynNotch受体上受体/配体的天然细胞外结构域。本申请的嵌合多肽适于与其他类型的配体结合域一起使用，从而扩展了可靶向疾病和组织的前景。

2.1 受体调控结构域

35 嵌合多肽的受体调控结构域包括胞外区和跨膜区(又称跨膜域)。受体调控结构域包含一个或多个配体诱导型蛋白水解裂解位点，所述裂解位点选自I-CLiPs(intramembranously cleaving proteases)酶裂解位点或sheddase蛋白酶裂解位点。

I-CLiPs, 是跨膜剪切蛋白酶, 可催化跨膜蛋白的跨膜区上特定位点发生水解的蛋白酶。在一实例中, 所述 I-CLiPs 包含 γ -分泌酶裂解位点。在一实例中, 所述的 γ -分泌酶裂解位点包含 Gly-Val 二肽序列的 γ -分泌酶裂解位点。在一实例中, 所述 sheddase 蛋白酶选自: BACE1、ADAM8、ADAM9、ADAM10、ADAM12、ADAM17、MT1-MMP 或其组合。

5 在一实例中, 受体调控结构域包含的一个或多个配体诱导型蛋白水解裂解位点位于跨膜区, 所述裂解位点选自 I-CLiPs 酶裂解位点。在一实例中, 胞外区包含一个或多个配体诱导型 sheddase 蛋白水解裂解位点, 跨膜区包含 I-CLiPs 酶裂解位点。在一实例中, 胞外区的裂解位点为 sheddase 蛋白酶裂解位点。在一实例中, 跨膜区包含 I-CLiPs 酶裂解位点。

在一实例中, 胞外区包括一个或多个裂解位点。在一实例中, 跨膜区包括一个或多个裂解位点。在一实例中, 胞外区包括一个或多个裂解位点, 跨膜区包括一个或多个裂解位点。在一实例中, 胞外区不包括裂解位点。在一实例中, 跨膜区包括一个或多个裂解位点。在一实例中, 胞外区不包括裂解位点, 跨膜区包括一个或多个裂解位点。

2.1.1 跨膜区

在一实例中, 跨膜区为单次跨膜受体跨膜区, 包括至少一个 γ -分泌酶裂解位点。在一实例中, 跨膜区包括但不限于 CLSTN1、CLSTN2、APLP1、APLP2、LRP8、APP、BTC、TGBR3、SPN、CD44、CSF1R、CXCL16、CX3CL1、DCC、DLL1、DSG2、DAG1、CDH1、EPCAM、EPHA4、EPHB2、EFNB1、EFNB2、ErbB4、GHR、HLA-A 和 IFNAR2 的跨膜区, 其中跨膜区包括至少一个 γ -分泌酶裂解位点。在一实例中, 跨膜区包括但不限于 IL1R1、IL1R2、IL6R、INSR、ERN1、ERN2、JAG2、KCNE1、KCNE2、KCNE3、KCNE4、KL、CHL1、PTPRF、SCN1B、SCN3B、NPR3、NGFR、PLXDC2、PAM、AGR、ROBO1、SORCS3、SORCS1、SORL1、SDC1、SDC2、SPN、TYR、TYRP1、DCT、VASN、FLT1、CDH5、PKHD1、NECTIN1、PCDHGC3、NRG1、LRP1B、CDH2、NRG2、PTPRK、SCN2B、Nradd 和 PTPRM 跨膜区。

在一实例中, 跨膜区包括来自人或非人的动物(例如鼠、斑马鱼、果蝇、非洲爪蟾或 Gallus)的 Notch1 跨膜区、Notch2 跨膜区、Notch3 跨膜区或 Notch4 跨膜区。在一实例中, 跨膜区包括如 SEQ ID No:13、14、15、16、17、18、19、20、102、103 或 104 所示的氨基酸序列至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 同源性或同一性的片段, 和/或可任选地包括至多 1、2、3、4、5 或更多个氨基酸残基被不同的氨基酸残基取代。在一实例中, SEQ ID No: 13、14、15、17、18、19、102、103 或 104 中除了“GV”以外的其他氨基酸残基被不同的氨基酸残基取代。

在一实例中, 跨膜区包括来自人或非人的动物的 APLP1 跨膜区或 APLP2 跨膜区。在一实例中, 跨膜区包括如 SEQ ID No:21 所示的氨基酸序列至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 同源性或同一性的片段, 和/或可任选地包括至多 1、2、3、4、5 或更多个氨基酸残基被不同的氨基酸残基取代。

35 在一实例中, 跨膜区的羧基端包括停止转移序列(stop transfer sequence, STS)。STS

连接嵌合多肽的胞内域并阻止其进入内质网腔。在一实例中，STS包括约4至10个残基，例如4、5、6、7、8、9或10个氨基酸残基。在一实例中，STS包括与Notch1、Notch2、Notch3、Notch4、CLSTN1、CLSTN2、CSF1R、CXCL16、DAG1、GHR、PTPRF、AGR、KL、NRG1、LRP1B、Jag2、EPCAM、KCNE3、CDH2、NRG2、PTPRK、BTC、EPHA3、IL1R2或PTPRM的STS序列的至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的序列。在一实例中，STS包括仅包含前4个残基中的Lys(K)或Arg(R)的序列。在一实例中，STS包括如SEQ ID No:22、23、24、25或26所示的氨基酸序列至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同源性或同一性的片段，和/或可任选地包括至多1、2、3、4、5或更多个氨基酸残基被不同的氨基酸残基取代。

2.1.2 胞外区

在一实例中，胞外区包括 Jagged2、EphrinB2、APLP1、APLP2、APP、CD44、CSF1R、CXCL16、CX3CL1、Delta1、E-cadherin、EphB2、EphrinB1、Growth hormone receptor、HLA-A2、IFNaR2、IL1R2、L1、LRP、LRP2、LRP6、N-cadherin、Nectin1 α 、NRADD、p75-NTR、Pcdh α 4、Pcdh γ -C3、PTP κ 、PTP-LAR、SorCS1b、SorLA、Sortilin、ApoER2、PKHD1、ErbB4、IFNaR2、VEGF-R1、或 VLDLR 的胞外全长，或上述任一蛋白的胞外区的片段或其截短体或截短结构，或上述任一蛋白的胞外区的变体。在一实例中，上述蛋白的胞外区为全长。在一实例中，嵌合多肽的受体调控结构域的胞外区分别包含上述 EphrinB2EC 或 Jagged2 胞外区全长，所述嵌合多肽均能在特异性结合目标分子后引发所述嵌合多肽的裂解并释放出胞内域。

本申请中涉及的蛋白胞外区的片段是指不包括完整的胞外区，而仅包括部分蛋白胞外区。在一实例中，包含 EphrinB2 胞外区片段的嵌合多肽，特异性结合目标分子后，引发所述嵌合多肽裂解并释放出所述嵌合多肽的胞内域。在一实例中，EphrinB2 胞外区片段包括去除 EphrinB2 胞外区中潜在的 ADAM10 裂解位点后的片段，如 EphrinB2EC-del23 和 EphrinB2EC-del3。在一实例中，EphrinB2 胞外区片段包括去除 EphrinB2 胞外区中近 N 端的片段，如 EphrinB2EC-del1。在一实例中，EphrinB2 胞外区片段包括去除 EphrinB2 胞外区中近 C 端的片段，如 EphrinB2EC-del3。在一实例中，EphrinB2 胞外区片段包括去除 EphrinB2 胞外区中间序列的片段，如 EphrinB2EC-del2。在一实例中，分别包含上述 EphrinB2EC-del1、EphrinB2EC-del2、EphrinB2EC-del3 或 EphrinB2EC-del23 构成的受体调控结构域的胞外区的嵌合多肽，均能在特异性结合目标分子后引发所述嵌合多肽的裂解并释放出胞内域。

本申请中涉及的蛋白胞外区的变体是指其包括蛋白胞外区的全部氨基酸中的部分氨基酸序列发生了突变或缺失或增加。在一实例中，包含 EphrinB2 胞外区的变体构成的受体调控结构域的胞外区的嵌合多肽，在特异性结合目标分子后引发所述嵌合多肽的裂解并

释放出胞内域。在一实例中，包含 Jagged2 胞外区的变体构成的受体调控结构域的胞外区的嵌合多肽，在特异性结合目标分子后引发所述嵌合多肽的裂解并释放出胞内域。

本申请中涉及的蛋白胞外区的截短结构或截短形式是指从蛋白胞外区的全部氨基酸片段中截去除部分氨基酸片段。在一实例中，分别包含截短体 EphrinB2EC-del1、
5 EphrinB2EC-del2、EphrinB2EC-del3 或 EphrinB2EC-del23 构成的受体调控结构域的胞外区的嵌合多肽，均能在特异性结合目标分子后引发所述嵌合多肽的裂解并释放出胞内域。

在本申请中，蛋白胞外区的片段、变体或截短结构(也可以称为截短形式或截短体)有时也可以混用，蛋白胞外区的片段、变体或截短结构(也可以称为截短形式或截短体)与蛋白胞外区序列相比序列同一性为至少约 60%、70%、80%、85%、90%、95%、96%、97
10 %、98%、99%。在一实例中，所述截短结构的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 5、7、9、11 所示。

在本申请的一个具体实施方式中，蛋白胞外区的片段、变体或截短结构(也可以成为截短形式)是去除或突变了 EphrinB2 的胞外区的被 ADAM10 剪切的潜在位点。

在一实例中，胞外区包括人或非人的动物(例如白颊长臂猿、倭黑猩猩、苏门达
15 腊猩猩、黑猩猩、大猩猩、家兔、秘鲁夜猴、狨猴、克氏冕狐猴、小耳大婴猴、小鼠、大鼠、牛、非洲爪蟾)的EphrinB2胞外区全长或其截短体。在一实例中，胞外区包括 Jagged2胞外区全长或其截短体。在一实例中，胞外区包括包含裂解位点的EphrinB2胞外区。在一实例中，胞外区包括不包含裂解位点的EphrinB2胞外区。在一实例中，胞外区包括如SEQ ID NO: 1、3、5、7、9或11所示的氨基酸序列至少60%、65%、70%、
20 75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同源性或同一性的片段，和/或可任选地包括至多1、2、3、4、5或更多个氨基酸残基被不同的氨基酸残基取代。

在一实例中，受体调控结构域包括EphrinB2胞外区/Notch1跨膜区(Notch1STS)、
EphrinB2胞外区/Notch1跨膜区(Notch2STS)、EphrinB2胞外区/Notch1跨膜区
25 (Notch3STS)、EphrinB2胞外区/Notch1跨膜区(Notch4STS)、EphrinB2胞外区/Notch2跨膜区(Notch1STS)、EphrinB2胞外区/Notch2跨膜区(Notch2STS)、EphrinB2胞外区/Notch2跨膜区(Notch3STS)、EphrinB2胞外区/Notch2跨膜区(Notch4STS)、
EphrinB2胞外区/Notch3跨膜区(Notch1STS)、EphrinB2胞外区/Notch3跨膜区
(Notch2STS)、EphrinB2胞外区/Notch3跨膜区(Notch3STS)、EphrinB2胞外区/Notch3
30 跨膜区(Notch4STS)、EphrinB2胞外区/Notch4跨膜区(Notch1STS)、EphrinB2胞外区/Notch4跨膜区(Notch2STS)、EphrinB2胞外区/Notch4跨膜区(Notch3STS)、
EphrinB2胞外区/Notch4跨膜区(Notch4STS)、EphrinB2胞外区/APLP2跨膜区
(APLP2STS)、EphrinB2胞外区/APLP2跨膜区(Notch1STS)、EphrinB2胞外区/APLP2
跨膜区(Notch2STS)、Jagged2胞外区/Notch1跨膜区(Notch1STS)、Jagged2胞外区
35 /Notch1跨膜区(Notch2STS)、Jagged2胞外区/APLP2跨膜区(APLP2STS)、Jagged2

胞外区/APLP2跨膜区 (Notch1STS) 、Jagged2胞外区/APLP2跨膜区 (Notch2STS) 。
在本文中, 跨膜区为Notch1跨膜区 (Notch1STS) 表示该跨膜区包括Notch1跨膜区和
Notch1的STS部分, 跨膜区为Notch1跨膜区 (Notch2STS) 表示该跨膜区包括Notch1
跨膜区但STS部分使用的是Notch2STS, 跨膜区为Notch4跨膜区 (Notch1STS) 表示该
5 跨膜区包括Notch4跨膜区和Notch1STS, 其余描述依次类推。

示例性的, 嵌合多肽 synJagged2EC 包括 Jagged2 胞外区片段(SEQ ID No:1)和 Notch1
跨膜区(SEQ ID No:13)构成的受体调控结构域。在一实例中, 嵌合多肽 synJagged2EC 的
受体调控结构域包括如 SEQ ID No:28 所示序列。

示例性, 嵌合多肽 synEphrinB2EC 包括 EphrinB2 胞外区(SEQ ID No: 1、3、5、7、9
10 或 11)和 Notch1 跨膜区(SEQ ID No:13)构成的受体调控结构域、或 EphrinB2 胞外区(SEQ ID
No:3、4)和 Notch1 跨膜域 (Notch2STS) (SEQ ID No:102)、或 EphrinB2 胞外区(SEQ ID No:
1、3、5、7、9 或 11)和 Notch1 跨膜域 (Notch3STS) (SEQ ID No:103)、或 EphrinB2 胞外
区(SEQ ID No: 1、3、5、7、9 或 11)和 Notch1 跨膜域 (Notch4STS) (SEQ ID No:104)、
或 EphrinB2 胞外区(SEQ ID No:1、3、5、7、9 或 11)和 Notch2 跨膜域(SEQ ID No:14)、
15 或 EphrinB2 胞外区(SEQ ID No: 1、3、5、7、9 或 11)和 Notch3 跨膜域 (SEQ ID No:15)、
或 EphrinB2 胞外区(SEQ ID No: 1、3、5、7、9 或 11)和 Notch4 跨膜域 (SEQ ID No:16)、
或 EphrinB2 胞外区(SEQ ID No: 1、3、5、7、9 或 11)和人 Notch1 跨膜域 (SEQ ID No:17)、
或 EphrinB2 胞外区(SEQ ID No: 1、3、5、7、9 或 11)和人 Notch2 跨膜域 (SEQ ID No:18)、
或 EphrinB2 胞外区(SEQ ID No: 1、3、5、7、9 或 11)和人 Notch3 跨膜域 (SEQ ID No:19)、
20 或 EphrinB2 胞外区(SEQ ID No: 1、3、5、7、9 或 11)和人 Notch4 跨膜域 (SEQ ID No:20)、
或 EphrinB2 胞外区(SEQ ID No: 1、3、5、7、9 或 11)和人 APLP2 跨膜域 (SEQ ID No:21)
构成的受体调控结构域。在一实例中, 嵌合多肽 synEphrinB2EC 的受体调控结构域包括
如 SEQ ID No:29、30、31、32、33、34、35、37、38、39、40、41 或 85 所示序列。

嵌合多肽 synEphrinB2EC-APLP2(TM)包括 EphrinB2 胞外区片段(SEQ ID No:3)和
25 APLP2 跨膜区(SEQ ID No:21)构成的受体调控结构域。在一实例中, 嵌合多肽
synEphrinB2EC-APLP2(TM)的受体调控结构域包括如 SEQ ID No:36 所示序列。

在一实例中, 嵌合多肽包含的受体调控结构域具有如SEQ ID No: 28、29、30、
31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41或85所示序列中的任一个至少75%、
76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88
30 %、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100
%同一性或同源性的氨基酸序列。

嵌合多肽的受体调控结构域短, 有利于病毒包装和表达, 降低了工业化生产制备
的难度。嵌合多肽 synEphrinB2EC 、 synEphrinB2EC-del 、 synJagged2EC 、 或
synEphrinB2EC-APLP2(TM) 编码序列全长均短于synNotch编码序列全长, 最终制备
35 得到的包括完整的嵌合多肽的载体转导细胞效率高、降低工业化生产制备的难度。

在一实例中，嵌合多肽synEphrinB2EC、synEphrinB2EC-del、synJagged2EC或synEphrinB2EC-APLP2(TM)与其结合触发调控的基因不置于同一载体中，即双载体系统。在一实例中，嵌合多肽synEphrinB2EC、synEphrinB2EC-del、synJagged2EC、synEphrinB2EC-APLP2(TM)与其结合触发调控的基因置于同一载体中，即单载体系统。在一实例中，synEphrinB2EC、synEphrinB2EC-del、synJagged2EC、synEphrinB2EC-APLP2(TM)单载体系统感染效率高于synNotch，降低了工业化生产制备难度。在一实例中，synEphrinB2EC单载体系统感染效率高于synNotch约1.5倍，降低了工业化生产制备难度。

与synNotch相比，嵌合多肽synEphrinB2EC-del诱导转录调控的泄漏表达水平明显降低。相比synNotch，嵌合多肽synEphrinB2EC-Del3兼具诱导表达的严谨性和较强的诱导能力。嵌合多肽synEphrinB2EC-Del3可以更好的区分同一目标分子的不同表达水平，适用于识别一些在正常组织中低表达的，而在肿瘤组织中高表达的目标分子，不易引起在正常组织中的脱靶效应。相比synNotch，嵌合多肽synEphrinB2EC-Del3调控基因表达更严谨，对低表达目标分子的敏感性较弱，当靶向一些肿瘤高表达而正常组织低表达的目标分子时，synEphrinB2EC-Del3对肿瘤组织的选择性将更强，安全性更高。

2.2 胞内域

本申请的嵌合多肽包括在嵌合多肽与目标分子结合后被水解释放的胞内域。

本申请的嵌合多肽的胞内域包含选自下述任一蛋白的蛋白片段或其组合：转录因子（包括转录激活蛋白、转录阻遏蛋白）、转录辅助激活蛋白、转录辅助阻遏蛋白、DNA结合多肽、RNA结合多肽、翻译调控多肽、激素、细胞因子、毒素、抗体、染色质调节剂、自杀蛋白(suicide protein)、细胞器特异性多肽(例如核孔调控子、线粒体调控子、内质网调控子等)、促细胞凋亡多肽、抗细胞凋亡多肽、通过其他机制促进细胞死亡的其他多肽、促增殖多肽、抗增殖多肽、免疫共刺激多肽、位点特异性核酸酶、重组酶、抑制性免疫受体、活化性免疫受体、Cas9和RNA靶向核酸酶的变体、DNA识别多肽、信号传导多肽、受体酪氨酸激酶、非受体酪氨酸激酶、促进分化的多肽。

本申请的嵌合多肽胞内域包括转录激活蛋白，促进或抑制启动子驱动DNA序列的转录。在一实例中，转录因子直接调节细胞的分化。在一实例中，转录因子通过调节第二转录因子的表达间接调节细胞的分化。转录因子是转录激活蛋白或转录阻遏蛋白。在一实例中，转录因子是转录阻遏蛋白。在一实例中，转录因子是转录激活蛋白。在一实例中，转录因子还包括核定位信号。在一实例中，转录因子选自Gal4-VP16、Gal4-VP64、tetR-VP64、ZFHD1-VP64、Gal4-KRAB和HAP 1-VP16。在一实例中，转录因子为Gal4。在一实例中，转录因子为Gal4-VP64。

在一些情况下，本申请的嵌合多肽的胞内域诱导的抗体是用于治疗疾病(包括免疫性

疾病、肿瘤)的治疗性抗体。

在一实例中，所述胞内域包含选自下述任一蛋白的蛋白片段或其组合：转录激活蛋白、转录阻遏蛋白、位点特异性核酸酶、重组酶、抑制性免疫受体、活化性免疫受体。在一实例中，所述转录激活蛋白包括GLA4、GLA4-VP64或其片段。在一实例中，所述转录激活蛋白含有SEQ ID NO:27所示的至少75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%同一性或同源性的氨基酸序列。

在一实例中，位点特异性核酸酶是Cas9多肽。在一实例中，胞内域是重组酶。在一实例中，胞内域是抑制性免疫受体。在一实例中，胞内域是活化性免疫受体。

在一实例中，嵌合多肽包含SEQ ID No: 28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41或85分别与SEQ ID No: 27顺序连接后所示的氨基酸序列中的一个具有至少75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%同一性或同源性的氨基酸序列。

2.3 结合域(又称结合肽段)

嵌合多肽包括特异性结合目标分子的结合域。在一实例中，本文公开的嵌合受体的结合域特异性结合一个或多个目标分子。在一实例中，嵌合多肽包括插置在结合域与受体结构调控域之间的接头。所述结合域包括抗体、抗原、配体、受体、靶标(例如标签FLAG)、Fc受体、细胞外基质组分、细胞黏附分子、非抗体分子支架或其组合。

在一实例中，嵌合多肽的结合域包括抗原结合域。在一实例中，抗原结合域选自：抗体、受体、细胞黏附分子、非抗体分子支架或其组合。在一实例中，抗原结合域包括基于抗体的识别支架。在一实例中，抗原结合域包括抗体。在一实例中，抗原结合域包括的抗体，特异性地结合肿瘤抗原、疾病相关抗原或细胞外基质组分。在一实例中，抗原结合域包括的抗体，特异性地结合细胞表面抗原、可溶性抗原、或固定在不溶性基材上的抗原。在一实例中，抗原结合域包括单链抗体Fv(scFv)。在一实例中，抗原结合域包括的抗体，能特异性结合多种抗原。在一实例中，抗原结合域包括纳米抗体、单域抗体、双链抗体、三链抗体或微型抗体(minibody)或其组合。在一实例中，抗原结合域是基于非抗体的识别支架，例如 avimer、DARPin、adnectin、avimer、亲和体、anticalin 或 affilin。在一实例中，抗体为单域抗体、单链抗体、双链抗体、三链抗体、微型抗体、F(ab')₂ 片段、F(ab)_v 片段、scFv、单域抗体(sdAb)及其功能片段或其组合。

在一实例中，结合域包括抗原，例如内源性抗原、外源性抗原。在一实例中，结合域包括受体的配体。在一实例中，结合域包括受体。在一实例中，结合域包括细胞黏附分子(例如，细胞黏附分子的细胞外区域的全部或一部分)。在一实例中，结合域包括聚化结构域的部分结构域。

在一实例中，结合域特异性结合1.定义中术语“抗原”中所述肿瘤抗原和/或病原体抗原。在一实例中，结合域包含抗体，特异性结合1.定义中术语“抗原”中所述肿瘤抗原和/或病原体抗原。在一实例中，结合域包含的抗体，特异性结合Mesothelin、FAP、Claudin18.2、CLL1、CD19、GPC3、WT1、HER2、EGFR、EGFRvIII、BCMA、CD123或其组合。在一实例中，结合域包含抗体VH或VL或scFV，特异性结合Mesothelin、FAP、Claudin18.2、CLL1、CD19、GPC3、WT1、HER2、EGFR、EGFRvIII、BCMA、CD123或其组合。在一实例中，所述结合域包含SEQ ID NO:42、43、44、45、46、47、86、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100或101所示的至少75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%同一性或同源性的氨基酸序列。

在一实例中，嵌合多肽包含SEQ ID NO:50、51、52、53、54、55、56、57、61、73、87、105、106、108或110所示的氨基酸序列中的任一个具有至少75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%同一性或同源性的氨基酸序列。

2.4目标分子

与本申请的嵌合多肽结合的目标分子，也称为配体，或靶抗原。

目标分子可以是膜结合的。目标分子可以存在于细胞表面上。目标分子可以固定于不溶性基材(例如，聚乙烯、聚苯乙烯、聚乙烯吡咯烷酮、聚碳酸酯、硝基纤维素等)上。目标分子可以是可溶的。目标分子可以存在于细胞外环境(例如细胞外基质)中。目标分子可以存在于人工基质中。目标分子可以存在于非细胞性环境中。目标分子存在于不溶性支持体可采取多种形式，例如平板、组织培养皿、柱等。目标分子可存在于细胞外基质(ECM)中(例如，抗原为ECM组分)。目标分子可存在于人工基质中。目标分子可存在于非细胞性环境中。目标分子包括多肽、核酸、糖蛋白、小分子、碳水化合物、脂质、糖脂、脂蛋白、脂多糖。在一实例中，目标分子选自：分化标记簇、细胞表面受体、粘附蛋白、整合素、粘蛋白、凝集素、肿瘤抗原。

在一实例中，目标分子是分化(CD)标记簇。在一些实施例中，CD标记物从以下组中选择：CD1、CD1a、CD1b、CD1c、CD1d、CD1e、CD2、CD3d、CD3e、CD3g、CD4、CD5、CD7、CD8a、CD8b、CD19、CD20、CD21、CD22、CD23、CD25、CD27、CD28、CD33、CD34、CD40、CD45、CD48、CD52、CD59、CD66、CD70、CD71、CD72、CD73、CD79A、CD79B、CD80(B7.1)、CD86(B7.2)、CD94、CD95、CD134、CD140(PDGFR4)、CD152、CD154、CD158、CD178、CD181(CXCR1)、CD182(CXCR2)、CD183(CXCR3)、CD210、CD246、CD252、CD253、CD261、CD262、CD273(PD-L2)、CD274(PD-L1)、CD276(B7H3)、CD279、CD295、CD339(JAG1)、CD340(HER2)、EGFR、FGFR2、

CEA、AFP、CA125、MUC-1、MAGE、碱性磷酸酶、类胎盘2 (ALPPL2)、B细胞成熟抗原 (BCMA)、蓝色荧光蛋白 (BFP)、绿色荧光蛋白 (GFP)、增强型绿色荧光蛋白 (EGFP), 信号调节蛋白 α (SIRP α)。

在一实例中, 目标分子是抗原。在一实例中, 目标分子包括肿瘤抗原和/或病原体抗原。在一实例中, 肿瘤抗原选自: Mesothelin、FAP、Claudin18.2、CLL1、CD19、GPC3、WT1、EGFR、BCMA、CD7、NKG2D-Ligand、CD19、B7H3、ALPPL2、CD123、CD171、CD179a、CD20、CD213A2、CD22、CD24、CD246、CD272、CD30、CD33、CD38、CD44v6、CD46、CD71、CD97、CEA、CLDN6、CLECL1、CS-1、EGFR、EGFRvIII、ELF2M、EpCAM、EphA2、FLT3、GD2、GD3、GM3、GPC5D、HER2 (ERBB2)、IGLL1、IL11Ra、IL13Ra2、CD117、MUC1、NCAM、PAP、PDGFR-b、PRSS21、PSCA、PSMA、ROR1、SIRP α 、SSEA-4、TAG72、TEM1/CD248、TEM7R、TSHR、VEGFR2、ALPI、cMet和Axl。

在一实例中, 嵌合多肽及其转录调控表达的CAR分别识别不同的肿瘤抗原。

在针对存在抗原异质性的肿瘤治疗中, 其中第一目标分子(示例性的, EGFRvIII)阳性细胞比例(即阳性率)较低、第二目标分子(示例性的, IL13Ra2)阳性率较高; 这类肿瘤细胞会逃逸靶向第一目标分子治疗从而降低疗效; 由于第二目标分子表达普遍, 导致靶向第二目标分子治疗可能产生脱靶毒性。在一实例中, 本申请构建了通过结合第一目标分子的嵌合多肽触发转录调控识别第二目标分子的外源受体表达, 实现特异而广泛的杀伤表达第二目标分子且部分表达第一目标分子的肿瘤细胞。在一实例中, 靶向第二目标分子的CAR的杀伤作用依赖于结合第一目标分子的嵌合多肽的触发转录调控活性, 即杀伤作用需要环境中存在第一目标分子和第二目标分子。用结合第一目标分子的嵌合多肽synEphrinB2EC、synJagged2EC、synEphrinB2EC-APLP2(TM)触发调控靶向第二目标分子的外源受体(例如CAR)表达, 相比于synNotch, 能显著提高所述嵌合多肽转录调控的CAR-T细胞对存在第一目标分子表达异质性的肿瘤的抗肿瘤效果。

在针对存在目标分子异质性的肿瘤治疗中, 其中第一目标分子(示例性的, Mesothelin)高表达, 但正常组织也表达、第二目标分子(示例性的, Claudin18.2)高表达, 在其他正常组织也表达; 单独用靶向第一目标分子或第二目标分子都会导致脱靶毒性。在一实例中, 用特异性结合第一目标分子的嵌合多肽synEphrinB2EC、synJagged2EC、synEphrinB2EC-APLP2(TM)触发转录调控靶向第二目标分子的外源受体表达, 相比于synNotch, 能显著提高所述嵌合多肽结合触发转录调控的CAR-T细胞对存在第一、二目标分子表达异质性的肿瘤的抗肿瘤效果。在一实例中, 用特异性结合第二目标分子的嵌合多肽synEphrinB2EC、synJagged2EC、synEphrinB2EC-APLP2(TM)触发调控靶向第一目标分子的外源受体表达, 相比于synNotch, 能显著提高所述嵌合多肽结合触发调控的CAR-T细胞对存在第一、二目标

分子表达异质性的肿瘤的抗肿瘤效果。

在一实例中，用于治疗的患者表达CAR靶向的第二目标分子，那么靶向第二目标分子治疗会导致细胞在培养过程中发生互杀，影响所述细胞活性和产量。在一实例中，利用特异性结合第一目标分子的嵌合多肽触发转录调控靶向第二目标分子的CAR的表达，所述细胞特异性结合肿瘤细胞上的第一目标分子后触发转录调控所述细胞中靶向第二目标分子的外源受体表达，进而杀伤表达第二目标分子的肿瘤细胞，和/或攻击表达第二目标分子的宿主免疫细胞以增加所述细胞存活和扩增，进一步提高抗肿瘤活性。在一实例中，所述第二目标分子包括NK细胞标志物，选自：NKG2 受体家族，如 NKG2A、NKG2D、NKG2C 等；杀伤免疫球蛋白样受体(KIR)家族，如 KIR2DL1、KIR2DL2/3、KIR2DL4、KIR2DL5、KIR3DL1、KIR3DL2、KIR2DS1、KIR2DS2/S3、KIR2DS4、KIR2DS5、KIR3DS1 等；自然细胞毒性受体(NCR)，如 NKP30、NKP44、NKP46、NKp80 等；以及其他 NK 细胞特异性表达的抗原，如 CD159a、CD159c、CD94、CD158、CD56、LIR/ILT2、CD244、CD226、CD2、CD16、CD161、TIGIT、CS1。在一实例中，利用特异性结合白血病细胞(例如CLL1、CD123)的第一目标分子的嵌合多肽触发转录调控靶向NKG2D的外源受体表达，进而杀伤肿瘤细胞。

在一实例中，目标分子是炎性疾病相关联分子，包括但不限于：AOC3(VAP-1)、CAM-3001、CCL11(嗜酸细胞活化趋化因子-1)、CD125、CD147(basigin)、CD154(CD40L)、CD2、CD20、CD23(IgE受体)、CD25(IL-2受体的 α 链)、CD3、CD4、CD5、IFN- α 、IFN- γ 、IgE、IgE Fc区、IL-1、IL-12、IL-23、IL-13、IL-17、IL-17A、IL-22、IL-4、IL-5、IL-6、IL-6受体、整联蛋白 α 4、整联蛋白 α 4 β 7、LFA-1(CD11a)、肌生长抑制素、OX-40、硬化蛋白(scleroscin)、SOST、TGF β 1、TNF- α 以及VEGF-A。

2.5. 嵌合多肽结合触发调控基因

嵌合多肽结合触发调控基因可操作地连接转录控制元件，所述转录控制元件受所述嵌合多肽的胞内域激活或抑制。在一实例中，受调控的基因受GAL-4、tetR、ZFHD1、HNF1A或HAP1调节的启动子调控表达。在一实例中，受调控的基因表达产物选自：非编码RNA、细胞因子、细胞毒素、趋化因子、免疫调节剂、促凋亡因子、抗凋亡因子、激素、分化因子、去分化因子、修饰TCR、CAR、报告基因或其组合。

在一实例中，嵌合多肽结合触发调控基因包括但不限于：趋化因子、趋化因子受体、细胞因子、细胞因子受体、分化因子、生长因子、生长因子受体、激素、代谢酶、增殖诱导剂、受体、小分子第二信使合成酶、T细胞受体、转录激活蛋白、转录阻遏蛋白、转录激活蛋白、转录阻遏蛋白、翻译调控子、翻译激活蛋白、翻译阻遏蛋白、活化性免疫受体、细胞凋亡抑制剂、细胞凋亡诱导剂、免疫激活剂、免疫抑制剂以及抑制性免疫受体。

在一实例中，嵌合多肽结合触发调控基因包括但不限于：转录激活蛋白、转录阻遏蛋白、CAR、第二嵌合多肽、翻译调控子、细胞因子、激素、趋化因子、或抗体分子。在一实例中，编码所述转录激活蛋白、转录阻遏蛋白、外源受体、第二嵌合多肽、翻译

调控子、细胞因子、激素、趋化因子、抗体分子的核酸序列或其组合，可操作地连接转录控制元件，所述转录控制元件受所述嵌合多肽的胞内域激活或抑制。在一实例中，所述转录控制元件包括UAS(upstream activating sequence)，序列如SEQ ID NO:48所示。在一实例中，嵌合多肽的胞内域包括GAL4-VP64，序列如SEQ ID NO:27所示；

5 嵌合多肽结合触发调控基因核酸序列可操作的连接UAS，序列如SEQ ID NO:48所示。在一实例中，嵌合多肽的胞内域包括GAL4-VP64，序列如SEQ ID NO:27所示；嵌合多肽结合触发调控基因核酸序列可操作的连接UAS-CMV启动子，序列如SEQ ID NO:49所示。

在一实例中，嵌合多肽结合触发调控基因包括：外源性细胞因子或CAR。在一实例中，所述外源性细胞因子核酸序列可操作地连接转录控制元件，所述转录控制元件受所述嵌合多肽的胞内域激活或抑制。在一实例中，细胞中所述嵌合多肽在结合目标分子后，触发受体发生水解使得受体裂解，并释放胞内域，诱导细胞表达细胞因子或趋化因子包括：干扰素(α -干扰素、 β -干扰素、 γ -干扰素)、白介素(IL-1、IL-1 α 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12；IL-13、IL-14、IL-15、IL-16、IL-17、IL-17A、IL-18、IL-19、IL-20、IL-24)、肿瘤坏死因子(TNF- α)、转化生长因子- β 、TRAIL、MIP-1、MIP-1 β 、MCP-1、RANTES、IP10、CCL2、CCL3、CCL5、CCL17、CCL19、CCL21、CCR7、CXCL9、CXCL10、CXCL11、CXCL16、MCSF。在一实例中，所述细胞因子包括IL-2、IL-7、IL-9、IL-12、IL-15、IL-18、CCL21或其组合。

10
15

在一实例中，细胞因子IL12核酸序列可操作地连接转录控制元件，所述转录控制元件受所述嵌合多肽的胞内域激活。IL12亚基P35的GENE ID: 3592，亚基P40的GENE ID: 3593。在一实例中，IL12包含如SEQ ID NO:58所示序列。

20

在一实例中，细胞中所述嵌合多肽在结合目标分子后，触发受体发生水解使得受体裂解，释放胞内域，诱导细胞表达CAR或修饰TCR。所述CAR或修饰TCR的核酸序列可操作地连接转录控制元件，所述转录控制元件受所述嵌合多肽的胞内域激活或抑制。在一实例中，CAR或修饰TCR特异性识别：肿瘤抗原、癌细胞相关抗原、血液学恶性肿瘤抗原、实体肿瘤抗原、细胞表面抗原、细胞内抗原等。

25

在一实例中，第一目标分子与第二目标分子不同，且分别选自：1) 血液肿瘤抗原：CD19(表达于B细胞)、CD20(表达于B细胞)、CD22(表达于B细胞)、CD30(表达于B细胞)、CD33(表达于骨髓细胞)、CD70(表达于B细胞/T细胞)、CD123(表达于骨髓细胞)、 κ (表达于B细胞)、Lewis Y(表达于骨髓细胞)、NKG2D配体(表达于骨髓细胞)、ROR1(表达于B细胞)、SLAMF7/CS1(表达于骨髓瘤细胞、自然杀伤细胞、T细胞以及大多数B细胞)、CD138(表达于多发性骨髓瘤中的恶性浆细胞)、CD56(表达于骨髓瘤细胞、神经细胞、自然杀伤细胞、T细胞和小梁成骨细胞)、CD38(表达于B细胞/T细胞)以及CD160(表达于NK细胞/T细胞)等；2) 实体肿瘤抗原：B7H3(表达于恶性毒瘤、神经胶质瘤)、CAIX(表达于肾)、CD44v6/v7(表达于子宫颈)、CD171(表达于成神经细胞瘤)、CEA(表达于结肠)、EGFRvIII(表

30
35

达于神经胶质瘤)、EGP2(表达于癌)、EGP40(表达于结肠)、EphA2(表达于神经胶质瘤、肺)、ErbB2(HER2)(表达于乳房、肺、前列腺、神经胶质瘤)、ErbB受体家族(表达于乳房、肺、前列腺、神经胶质瘤)、ErbB3/4(表达于乳房、卵巢)、HLA-A1/MAGE1(表达于黑素瘤)、HLA-A2/NY-ESO-1(表达于恶性毒瘤、黑素瘤)、FR-a(表达于卵巢)、FAR(表达于横纹肌肉瘤)、GD2(表达于成神经细胞瘤、恶性毒瘤、黑素瘤)、GD3(表达于黑素瘤、肺癌)、HMW-MAA(表达于黑素瘤)、IL11Ra(表达于骨肉瘤)、IL13Ra2(表达于神经胶质瘤)、Lewis Y(表达于乳房/卵巢/胰腺)、间皮素(表达于间皮瘤、乳房、胰腺)、Muc1(表达于卵巢、乳房、前列腺)、NCAM(表达于成神经细胞瘤、结肠直肠)、NKG2D配体(表达于卵巢、恶性毒瘤)、PSCA(表达于前列腺、胰腺)、PSMA(表达于前列腺)、TAG72(表达于结肠)、VEGFR-2(表达于肿瘤脉管系统)、Axl(表达于肺癌)、Met(表达于肺癌)、 $\alpha 5\beta 3$ (表达于肿瘤脉管系统)、 $\alpha 5\beta 1$ (表达于肿瘤脉管系统)、TRAIL-R1/TRAIL-R2(表达于实体肿瘤(结肠、肺、胰腺)和血液学恶性肿瘤)、RANKL(表达于前列腺癌和骨转移)、腱生蛋白(表达于神经胶质瘤、上皮性肿瘤(乳房、前列腺))、EpCAM(表达于上皮性肿瘤(乳房、结肠、肺))、CEA(表达于上皮性肿瘤(乳房、结肠、肺))、gpA33(表达于结肠直肠癌)、粘蛋白(表达于上皮性肿瘤(乳房、结肠、肺、卵巢))、TAG-72(表达于上皮性肿瘤(乳房、结肠、肺))、EphA3(表达于肺、肾、黑素瘤、神经胶质瘤、血液学恶性肿瘤)以及IGF1R(表达于肺、乳房、头颈部、前列腺、甲状腺、神经胶质瘤)。表面和细胞内抗原的实例包括,例如,Her2(ERBB2)、MAGE-A1(MAGEA1)、MART-1(MLANA)、NY-ESO(CTAG1)、WT1、MUC17和MUC13。在一实例中,第一、第二目标分子分别选自:BCMA、B7H6、CAIX、CD123、CD138、CD171、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD38、CD44、CEA、CS1、EGFRvIII、EGP2、EGP40、Erb家族成员(ERBB1、ERBB2、ERBB3、ERBB4)、FAP、胎儿乙酰胆碱受体(AChR)、叶酸受体 α (FOLR1)、叶酸受体 β (FOLR2)、GD2、GD3、GPC3、IL-13Ra2(IL13RA2)、 κ 轻链(IGK)、Lewis-Y、间皮素(MSLN)、粘蛋白-1(MUC1)、粘蛋白-16(MUC16)、NKG2D配体、前列腺特异性膜抗原(PSMA)、前列腺干细胞抗原(PSCA)、受体酪氨酸激酶样孤儿受体1(ROR1)以及间变性淋巴瘤受体酪氨酸激酶(ALK)。

在一实例中,嵌合多肽的结合域特异性结合第一目标分子,所述CAR特异性结合不同于第一目标分子的第二目标分子,分别选自:Mesothelin、FAP、Claudin18.2、CLL1、CD19、GPC3、WT1、EGFR、EGFRvIII、BCMA、CD7、NKG2D-Ligand、MOG、CD19、B7H3(CD276)、BCMA(CD269)、ALPPL2、CD123、CD171、CD179a、CD20、CD213A2、CD22、CD24、CD246、CD272、CD30、CD33、CD38、CD44v6、CD46、CD71、CD97、CEA、CLDN6、CLECL1、CS-1、EGFR、EGFRvIII、ELF2M、EpCAM、EphA2、Ephrin B2、FAP、FLT3、GD2、GD3、GM3、GPC5D、HER2(ERBB2/neu)、IGLL1、IL11Ra、IL13Ra2、CD117、MUC1、NCAM、PAP、PDGFR-b、PRSS21、PSCA、PSMA、ROR1、SIRPa、SSEA-4、TAG72、TEM1/CD248、TEM7R、TSHR、VEGFR2、ALPI、瓜氨酸波形蛋白、cMet和Axl。

在一实施中,响应于第一目标分子的嵌合多肽触发的转录因子驱动响应于第二目标分子的 CAR 的表达,所以只有在第一和第二目标分子存在下, CAR 才具有活性,激活 T 细胞。在一实例中,第一目标分子与第二目标分子分别是 ASGR1 和 GPC3、EGFRvIII 和 IL13Ra2、EGFRvIII 和 B7H3、Mesothelin 和 Claudin18.2、Claudin18.2 和 Mesothelin、FAP 和 Claudin18.2、CLL1 和 NKG2D、CD123 和 NKG2D。在一实例中,所述嵌合多肽与 CAR 分别包括 SEQ ID NO: 61、62 所示序列;或 SEQ ID NO: 61、64 所示序列;或 SEQ ID NO: 61、65 所示序列;或 SEQ ID NO: 61、66 所示序列;或 SEQ ID NO: 105、67 所示序列;或 SEQ ID NO: 106、67 所示序列;或 SEQ ID NO: 108、107 所示序列;或 SEQ ID NO: 73、109 所示序列;或 SEQ ID NO: 50、109 所示序列。

U87和U251细胞表达内源性IL13Ra2,但不表达EGFRvIII。检测包含调节CAR表达的嵌合多肽的T细胞对表达至少2种或2种以上不同阳性率目标分子的细胞的杀伤。在一实例中,EGFRvIII阳性与EGFRvIII阴性细胞按不同比例混合,模拟自然条件下IL13Ra2阳性且仅部分EGFRvIII阳性的胶质瘤。胃癌细胞HGC-27表达内源性Mesothelin,但不表达Claudin18.2。HGC-27-A2是HGC-27细胞过表达人Claudin18.2。

在一实例中,编码CAR的核酸序列可操作地连接转录控制元件,所述转录控制元件受所述嵌合多肽的胞内域调控。在一实例中,编码CAR的核酸序列可操作地连接UAS-CMV启动子,所述嵌合多肽的胞内域包括GLA4-VP64。在一实例中,CAR的胞外抗原结合区包含识别Mesothelin、FAP、Claudin18.2、CLL1、CD19、GPC3、WT1、HER2、EGFR、EGFRvIII、BCMA、CD7、CD123、NKG2D-Ligand或其组合的抗体。在一实例中,CAR的胞外抗原结合区包含识别Mesothelin、FAP、Claudin18.2、CLL1、CD19、GPC3、WT1、HER2、EGFR、EGFRvIII、BCMA、CD7、CD123、NKG2D-Ligand或其组合的抗体scFV。在一实例中,CAR的胞外抗原结合区包含SEQ ID NO: 42、43、44、45、46、47、86、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100或101所示的至少75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%同一性或同源性的氨基酸序列。在一实例中,受嵌合多肽调控表达的IL13Ra2-CAR、B7H3-CAR、Claudin18.2-CAR、Mesothelin-CAR或NKG2D-CAR可操作地连接转录控制元件,所述转录控制元件受所述嵌合多肽的胞内域调控。在一实例中,受嵌合多肽调控表达的IL13Ra2-CAR、B7H3-CAR、Claudin18.2-CAR、Mesothelin-CAR或NKG2D-CAR插入UAS-CMV启动子下游,所述嵌合多肽的胞内域包括Gal4-VP64。本申请实施例中所述“表达X-嵌合多肽Y的Z-CAR-T”或“X-嵌合多肽Y-Z-CAR-T”用于描述包含调节识别抗原Z的CAR表达的靶向抗原X的嵌合多肽Y的T细胞,所述Z-CAR插入UAS-CMV启动子下游,所述嵌合多肽Y的胞内域包括Gal4-VP64,在上文中,所述符号X和Z为不同的肿瘤抗原,即嵌合多肽Y能够靶向抗原X,所示CAR能够识别抗原Z,将嵌合多肽Y和CAR联和使用于T

细胞时，所述CAR的表达受所述嵌合多肽Y的胞内域调控。

胃癌同时高表达Mesothelin和Claudin18.2，为了防止Claudin18.2-CAR-T细胞对表达Claudin18.2的正常组织的杀伤，把Claudin18.2-CAR-T细胞的杀伤作用限定在肿瘤区域。在一实例中，表达Mesothelin-synEphrinB2EC的Claudin18.2-CAR-T细胞。

5 在一个实例中，CAR胞外抗原结合区与跨膜区直接连接或通过铰链连接。在一实例中，所述铰链包括CD8铰链，例如，与SEQ ID NO:75具有95-100%同一性的的序列。在一实例中，编码CAR的核酸分子上游包括编码信号肽的多核苷酸。在一个实施方案中，信号肽包括CD8信号肽，例如，与SEQ ID NO:81具有95-100%同一性的的序列。

10 本申请CAR分子的跨膜结构域包括CD28或CD8跨膜结构域。在一实例中，CAR包括CD8跨膜结构域，例如，与SEQ ID NO:76具有95-100%同一性的的序列。在一实例中，CAR包括CD28跨膜结构域，例如，与SEQ ID NO:77具有95-100%同一性的的序列。

在一实例中，CAR包括胞内信号结构域:一级信号结构域和/或共刺激信号结构域。在一实例中，一级信号结构域包括CD3 ζ 胞内域，例如，与SEQ ID NO:80具有95-100%同一性的的序列。在一实例中，共刺激信号结构域包括CD28或4-1BB胞内域

15 在一实例中，CAR包括4-1BB胞内域，例如，与SEQ ID NO:79具有95-100%同一性的的序列。在一实例中，CAR包括CD28胞内域，例如，与SEQ ID NO:78具有95-100%同一性的的序列。

20 在一实例中，CAR的胞内信号结构域包括人CD3 ζ 胞内域。在一实例中，CAR的胞内信号结构域包括人CD3 ζ 胞内域和CD28胞内域。在一实例中，CAR的胞内信号结构域包括人CD3 ζ 胞内域和4-1BB胞内域。在一实例中，CAR的胞内信号结构域包括CD3 ζ 胞内域、CD28胞内域和4-1BB胞内域。在一实例中，所述细胞表达CAR和细胞因子。

25 示例性，本申请嵌合多肽转录调控表达的CAR包括SEQ ID NO: 42、43、44、45、46、47、86、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100或101所示的序列分别与SEQ ID NO: 82、83或84顺序连接的序列。

30 在一实例中，嵌合多肽结合触发调控基因包括但不限于：曲妥珠单抗(Trastuzumab，赫塞汀(Herceptin)，Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.有售)；贝伐单抗(bevacizumab，安维汀(Avastin)，Genentech, Inc.有售)；英利昔单抗(infliximab，类克(Remicade))；利妥昔单抗(rituximab，美罗华(Rituxan)，Biogen Idec Inc.有售)；阿达木单抗(adalimumab，修美乐(Humira))。在一实例中，上述治疗性抗体插入Gal4-VP64调控的UAS-CMV启动子后。

2.6 其他序列

在一实例中，本申请的嵌合多肽还包括一个或多个其他结构域，包括：信号肽、表位标记、亲和结构域、核定位信号(NLS)、产生可检测信号的多肽。

35 3.核酸和载体

本申请提供了一种包含编码本申请的嵌合多肽和/或嵌合多肽结合触发转录调控基因的核酸及表达载体。

在一实例中，编码本申请的嵌合多肽的核苷酸序列可操作地连接至转录控制元件(例如，启动子、增强子等)。在一实例中，转录控制元件为诱导型。在一实例中，转录控制元件为组成型。在一实例中，启动子在真核细胞中具有功能。在一实例中，启动子为细胞类型特异性启动子。在一实例中，启动子为组织特异性启动子。

在一实例中，表达载体为病毒载体，例如，腺相关病毒(AAV)载体、腺病毒载体、慢病毒载体、逆转录病毒载体等。在一实例中，逆转录病毒载体(γ -逆转录病毒或慢病毒)用于将核酸分子引入细胞。也可以使用非病毒载体。转导可以使用任何合适的病毒载体或非病毒递送系统。在本申请具体实施例中构建pRRLSIN载体表达嵌合多肽。可以在单个多顺反子表达盒、单个载体的多个表达盒或多个载体中用辅助分子(例如细胞因子)构建嵌合多肽或CAR。产生多顺反子表达盒的元件的实例包括但不限于各种病毒和非病毒内部核糖体进入位点(IRES，例如，FGF-1IRES、FGF-2IRES、VEGF IRES、IGF-II IRES、NF- κ B IRES、RUNX1 IRES、p53IRES、甲型肝炎IRES、丙型肝炎IRES、痘病毒IRES、无杆状病毒IRES、小核糖核酸病毒IRES、脊髓灰质炎病毒IRES和脑心肌炎病毒IRES)和可切割的接头(例如2A肽，例如P2A、T2A、E2A和F2A肽)。

可以使用的其它病毒载体包括，例如，腺病毒、慢病毒和与腺相关的病毒载体、牛痘病毒、牛乳头瘤病毒或疱疹病毒，例如爱泼斯坦-巴尔病毒。

非病毒方法也可以用于免疫细胞的遗传修饰。例如，可以通过在脂质转染，脱唾液酸血清类粘蛋白-聚赖氨酸偶联，或手术条件下的微注射将核酸分子引入免疫细胞中。其它非病毒的基因转移方法包括使用转座子、脂质体、磷酸钙、DEAE葡聚糖、电穿孔和原生质体融合的体外转染。也可以先将核酸分子转移到可离体培养的细胞类型(例如，自体或同种异体原代细胞或其后代)中，再将经所述核酸分子修饰后的细胞(或其后代)注射到受试者目标组织中或全身注射。

4. 工程细胞

本申请提供了用本申请的核酸遗传修饰的工程细胞：用包含编码本申请的嵌合多肽的核酸遗传修饰的工程细胞；或用包含本申请嵌合多肽和嵌合多肽结合触发转录调控基因和核酸遗传修饰的工程细胞。本申请提供了一种调节表达本申请的嵌合多肽的细胞的活性的方法。所述方法通常包括使工程细胞与目的分子接触，诱导嵌合多肽裂解，从而释放胞内域，胞内域的释放调节细胞的活性。

在一实例中，工程细胞经遗传修饰表达本申请的嵌合多肽，并且经进一步遗传修饰以表达CAR。例如，工程细胞用包含编码CAR的核苷酸序列的核酸进行遗传修饰，并且嵌合多肽的胞内域为转录激活蛋白，编码CAR的核苷酸序列可操作地连接至通过嵌合多肽的胞内域激活的转录控制元件。许多CAR多肽已经在本领域中有所描述，并且其中的任何一个都适用于本申请。

在一实例中给，工程细胞是免疫细胞、神经元、上皮细胞、内皮细胞或干细胞。干细胞包括人多能干细胞(包括人诱导多能干细胞(iPSC)和人胚胎干细胞)。在一实例中，所述细胞包括免疫细胞。在一实例中，所述细胞为原代细胞。在一实例中，免疫细胞是 B 细胞、单核细胞、自然杀伤细胞、嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、树突状细胞、巨噬细胞、调节性 T 细胞、辅助性 T 细胞、细胞毒性 T 细胞、其他 T 细胞或其组合。在一实例中，工程细胞包括与 SEQ ID NO: 59、63、68、69、70、71、72、74、88 中任何一个具有至少 80% 序列同源性的核酸序列或其翻译成的氨基酸序列。

本申请的免疫细胞可以是淋巴谱系的细胞。包括 B、T 和自然杀伤(NK)细胞的淋巴谱系提供抗体的产生、细胞免疫系统的调节、血液中外源试剂的检测、宿主外源细胞的检测等。淋巴谱系的免疫细胞的非限制性实例包括 T 细胞、自然杀伤 T(NKT) 细胞及其前体，包括胚胎干细胞和多能干细胞(例如，分化成淋巴样细胞的干细胞或多能干细胞)。T 细胞可以是在胸腺中成熟的淋巴细胞，主要负责细胞介导的免疫。T 细胞参与适应性免疫系统。T 细胞可以是任何类型的 T 细胞，包括但不限于辅助 T 细胞、细胞毒性 T 细胞、记忆 T 细胞(包括中央记忆 T 细胞、干细胞样记忆 T 细胞(或干样记忆 T 细胞)和两种效应记忆 T 细胞：例如 TEM 细胞和 TEMRA 细胞)、调节性 T 细胞(也称为抑制性 T 细胞)、自然杀伤 T 细胞、粘膜相关性不变 T 细胞、 $\gamma\delta$ T 细胞或 $\alpha\beta$ T 细胞。细胞毒性 T 细胞(CTL 或杀伤性 T 细胞)是能够诱导被感染的体细胞或肿瘤细胞死亡的 T 淋巴细胞。受试者自身的 T 细胞可以被工程化改造以表达本申请嵌合多肽及其结合触发转录活性的 CAR。在一实例中，本申请的细胞选自：T 细胞、NK 细胞、细胞毒性 T 细胞、NKT 细胞、巨噬细胞、CIK 细胞、以及干细胞衍生的免疫细胞或其组合。在一实例中，免疫细胞是 T 细胞。在一实例中，T 细胞可以是 CD4+T 细胞和/或 CD8+T 细胞。在一实例中，免疫细胞是 CD3+T 细胞。在一实例中，本申请组合物中的细胞包括由 PBMC 细胞经 CD3 磁珠刺激后收集的细胞群。

本申请的细胞(例如，T 细胞)可以是自体的、非自体的(例如，同种异体的)、或者是体外从工程化的祖细胞或干细胞衍生而来。可从许多来源获得，包括外周血单个核细胞(PBMC)、骨髓、淋巴结组织、脐带血、胸腺组织、来自感染部位的组织、腹水、胸腔积液、脾组织和肿瘤。

在本申请的某些方面，可使用本领域技术人员已知的任意数量的技术如 Ficoll™ 分离技术从收集自受试者的血液样品中获得 T 细胞。在一个优选的方面，通过单采血液成分术获得来自个体的循环血液的细胞。单采血液成分术产物通常含有淋巴细胞，包括 T 细胞、单核细胞、粒细胞、B 细胞、其他有核白细胞、红细胞和血小板。在一个方面，可洗涤通过单采血液成分术收集的细胞以去除血浆部分并将细胞置于适当的缓冲液或培养基中以供后续处理步骤。在本申请的背景下还可使用多轮选择。在某些方面，可能需要进行选择程序并在激活和扩充过程中使用“未选择的”细胞。“未选择的”细胞也可以经受其他轮选择。

本申请的细胞能够调节肿瘤微环境。

未纯化的CTL来源可以是本领域已知的任何来源,例如骨髓、胎儿、新生儿或成年或其它造血细胞来源,例如胎儿肝、外周血或脐带血。可以采用各种技术来分离细胞。例如,阴性选择法可以最初去除非CTL。mAb对于鉴定与特定细胞谱系和/或阳性和阴性选择的分化阶段相关的标志物特别有用。

5 最初可以通过相对粗略的分离除去大部分末端分化的细胞。例如,最初可以使用磁珠分离来去除大量不相关的细胞。在某些实施方式中,在分离细胞之前将去除总造血细胞的至少约80%,通常至少约70%。

10 分离的程序包括但不限于密度梯度离心;重沉(resetting);偶联至改变细胞密度的颗粒;用抗体包被的磁珠进行磁分离;亲和色谱;与mAb结合或结合使用的细胞毒性剂,包括但不限于补体和细胞毒素;并用附着在固体基质(例如板、芯片、淘析)上的抗体淘选或任何其它方便的技术。

分离和分析的技术包括但不限于流式细胞术,其可以具有不同的复杂程度,例如多个颜色通道、低角度和钝角光散射检测通道、阻抗通道。

15 通过使用与死细胞相关的染料,例如碘化丙啶(PI),可以针对死细胞选择细胞。在某些实施方式中,将细胞收集在包括2%胎牛血清(FCS)或0.2%牛血清白蛋白(BSA)的培养基或任何其它合适的例如无菌等渗培养基中。

5.转基因生物体

本申请提供了包含编码本申请的嵌合多肽的核酸的非人转基因生物体。本申请的转基因非人生物体包括已经经过遗传修饰以包括包含编码本申请的嵌合多肽的核酸的基因组。

20 6.方法

本申请提供了一种调节表达本申请的嵌合多肽的工程细胞的活性的方法,包括:使包含本申请的嵌合多肽的工程细胞与目标分子接触,所述目标分子与嵌合多肽的结合域结合后诱导所述嵌合多肽的受体调控结构域的蛋白酶裂解位点裂解,释放细胞内域,其中细胞内域的释放调节工程细胞的活性。在一实例中,所述接触在体内、离体或在体外进行。在一实例中,目标分子在靶细胞的表面上、固定在不溶性基材上、存在于细胞外基质中、存在于人工基质中,或是可溶性的。在一实例中,细胞内域的释放调节工程细胞的增殖。在一实例中,细胞内域的释放调节工程细胞的细胞凋亡。在一实例中,细胞内域的释放通过除了细胞凋亡之外的机制诱导细胞死亡。在一实例中,细胞内域的释放通过转录调控、染色质调控、翻译、运输或翻译后加工来调节工程细胞中的基因表达。在一实例中,细胞内域的释放调节工程细胞的分化。在一实例中,细胞内域的释放调节工程细胞的迁移。在一实例中,细胞内域的释放调节分子从工程细胞中的表达和分泌。在一实例中,细胞内域的释放调节工程细胞对靶细胞或对细胞外基质的粘附。在一实例中,细胞内域的释放诱导工程细胞中基因产物的重新表达。在细胞内域的释放诱导工程细胞中基因产物的重新表达。在一实例中,基因产物为转录
35 激活蛋白、转录阻遏蛋白、嵌合抗原受体、翻译调控子、细胞因子、激素、趋化因子

或抗体。在一实例中，释放的转录因子调节所述工程细胞的分化，所述工程细胞是免疫细胞、干细胞、祖细胞或前体细胞。在一实例中，所述方法用于治疗肿瘤。

本申请提供了一种激活T细胞的方法，所述方法包括：使如本文所述的T细胞(其中T细胞用包含编码以下各项的核苷酸序列的一种或多种核酸遗传修饰：i)本申请涉
5 及的嵌合多肽；以及ii)CAR)与固定抗原接触，其中嵌合多肽的结构域包括对第一目标分子具有特异性的抗体，并且其中所述接触导致嵌合多肽的胞内域(例如转录激活蛋白)的释放、T细胞中CAR多肽的表达，其中CAR多肽在第二目标分子的结合之后提供T细胞的激活。在一实例中，所述第一目标分子和第二目标分子为不同的肿瘤抗原；或第一目标分子是具有组织特异性的分子且第二目标分子是肿瘤抗原。

10 本公开提供了一种调节工程细胞的活性的方法，所述方法包括：使工程细胞与固定在表面上的抗原接触，其中工程细胞表达本公开的嵌合多肽能够导致细胞内域的释放和工程细胞活性。在一些情况下，细胞内域为调节细胞分化的转录因子。

本公开提供了局部调节工程细胞的活性的方法，所述方法包括：在细胞中表达包
15 括包含本申请的嵌合多肽；工程细胞与目标分子接触后，释放胞内域调节工程细胞活性：细胞的基因产物的表达、细胞的增殖、细胞的细胞凋亡、细胞的非细胞凋亡性死亡、细胞的分化、细胞的去分化、细胞的迁移、分子从细胞中的分泌以及细胞的细胞粘附。

在一实例中，本申请提供了一种在患有肿瘤的受试者中治疗肿瘤的方法，所述方法包
20 括：i)用包含编码本申请的嵌合多肽、或嵌合多肽及其结合触发转录活性CAR的载体，对获自个体的T淋巴细胞或NKT细胞进行遗传修饰，其中嵌合多肽对受试者中的肿瘤细胞上的抗原具有特异性；ii)将经遗传修饰的T淋巴细胞或NKT细胞引入受试者中，其中经遗传修饰的T淋巴细胞或NKT识别并杀死肿瘤细胞，从而治疗肿瘤。

在一实例中，本申请提供了一种抑制受试者中靶细胞活性的方法，所述方法包
25 括：给予受试者治疗有效量的表达本申请的嵌合多肽的工程细胞，所述工程细胞抑制受试者中靶细胞的活性。在一实例中，所述靶细胞是肿瘤细胞。在一实例中，所述靶细胞是急性骨髓瘤白血病细胞、间变性淋巴瘤细胞、星形细胞瘤细胞、B细胞癌细胞、乳腺癌细胞、结肠癌细胞、室管膜瘤细胞、食管癌细胞、胶质母细胞瘤细胞、胶质瘤细胞、平滑肌肉瘤细胞、脂肪肉瘤细胞、肝癌细胞、肺癌细胞、套细胞淋巴瘤细胞、黑色素瘤细胞，神经母细胞瘤细胞、非小细胞肺癌细胞、少突胶质瘤细胞、卵巢癌细
30 胞、胰腺癌细胞、外周T细胞淋巴瘤细胞、肾癌细胞、肉瘤细胞、胃癌细胞、肝癌细胞、间皮瘤细胞或肉瘤细胞。在一实例中，所述靶细胞表达低水平的目标分子。在一实例中，所述工程细胞还包含受所述嵌合多肽结合目标分子触发转录激活的CAR、修饰TCR、外源性细胞因子和/或治疗性单抗。在一实例中，所述嵌合多肽特异性结合第一目标分子，所述CAR和/或修饰TCR特异性结合第二目标分子；所述靶细胞中第
35 一目标分子与第二目标分子表达异质性、或第一目标分子是具有组织特异性的分子且

第二目标分子是肿瘤抗原。在一实例中，第一目标分子不是肿瘤抗原，但具有组织特异性表达，第二目标分子是肿瘤抗原。在一实例中，第一目标分子阳性率低于第二目标分子。在一实例中，所述方法能提高所述工程细胞抗肿瘤特异性。

7. 给药

5 可以将包括本申请的嵌合多肽的组合物系统地或直接提供给受试者，以诱导和/或增强对抗原的免疫应答和/或治疗和/或预防肿瘤、病原体感染或感染性疾病。在一实例中，将本申请的组合物直接注射到目的器官(例如，受肿瘤影响的器官)中。或者，例如通过向循环系统(例如，静脉、肿瘤脉管系统)给药，将本申请的组合物间接地提供给目的器官。
10 可以在施用组合物之前、同时或之后提供扩增和分化剂，以增加体外或体内T细胞、NKT细胞或CTL细胞的产生。

本申请的组合物中的免疫细胞可以包括纯化的细胞群。本领域技术人员可以使用各种众所周知的方法，例如荧光激活细胞分选(FACS)，容易地确定群体中本申请的免疫细胞的百分比。在包括本申请的免疫细胞的群体中，纯度的合适范围是约50%至约55%、约5%
15 %至约60%、以及约65%至约70%。在某些实施方式中，纯度为约70%至约75%、约75%至约80%或约80%至约85%。在某些实施方式中，纯度为约85%至约90%，约90%至约95%以及约95%至约100%。剂量可以由本领域技术人员容易地调节(例如，纯度降低可能需要增加剂量)。可以通过注射、导管等引入细胞。

本申请的组合物可以是包括本申请的免疫细胞或其祖细胞和药学上可接受的载体的药物组合物。给药可以是自体的或异体的。例如，可以从一个受试者获得免疫细胞或祖细
20 胞，并将其施用于相同受试者或不同的相容受试者。外周血来源的免疫细胞或其后代(例如，体内、离体或体外来源)可通过局部注射施用，包括导管给药、全身注射、局部注射、静脉内注射或肠胃外给药。当施用本申请的组合物时，可以将其配制成单位剂量可注射形式(溶液剂、悬浮剂、乳剂等)。

8. 剂型

25 包括本申请的嵌合多肽的组合物可以方便地以无菌液体制剂的形式提供，例如等渗水溶液剂、悬浮液、乳剂、分散剂或粘性组合物，其可以缓冲至选定的pH。液体制剂通常比凝胶、其它粘性组合物和固体组合物更容易制备。另外，液体组合物在某种程度上更方便施用，尤其是通过注射。另一方面，可以在适当的粘度范围内配制粘性组合物以提供与特定组织的更长的接触时间。液体或粘性组合物可以包括载体，所述载体可以是溶剂或分
30 散介质，其包括例如水、盐水、磷酸盐缓冲盐水、多元醇(例如甘油、丙二醇、液体聚乙二醇等)及其合适的混合物。

可以通过将本申请组合物中的免疫细胞掺入所需量的适当溶剂中，并根据需要掺入不同量的其它成分来制备无菌注射溶液。这样的组合物可以与合适的载体、稀释剂或赋形剂例如无菌水、生理盐水、葡萄糖、右旋糖等混合。组合物也可以冻干。所述组合物可包括
35 辅助物质，例如润湿剂、分散剂或乳化剂(例如，甲基纤维素)、pH缓冲剂、胶凝剂或增粘

剂、防腐剂、矫味剂、颜料等，这取决于给药途径和所需制剂。

可以添加增强组合物的稳定性和无菌性的各种添加剂，包括抗微生物防腐剂、抗氧化剂、螯合剂和缓冲剂。可以通过各种抗细菌和抗真菌剂，例如对羟基苯甲酸酯、三氯叔丁醇、苯酚、山梨酸等来确保防止微生物的作用。可通过使用延迟吸收的试剂例如单硬脂酸铝和明胶来延长可注射药物形式的吸收。然而，所使用的任何媒介物、稀释剂或添加剂将必须与遗传修饰的免疫细胞或其祖细胞相容。

该组合物可以是等渗的，即它们可以具有与血液和/或泪液相同的渗透压。组合物的所需等渗性可以使用氯化钠或其它药学上可接受的试剂例如葡萄糖、硼酸、酒石酸钠、丙二醇或其它无机或有机溶质来实现。氯化钠可以特别适用于含有钠离子的缓冲剂。

如果需要，可使用药学上可接受的增稠剂将组合物的粘度保持在选定水平。例如，甲基纤维素容易且经济地获得并且易于使用。其它合适的增稠剂包括，例如，黄原胶、羧甲基纤维素、羟丙基纤维素、卡波姆等。增稠剂的浓度可以取决于选择的试剂。重要的是要使用能够达到所选粘度的用量。显然，合适载体和其它添加剂的选择将取决于确切的给药途径和特定剂型的性质，例如液体剂型(例如，是否将组合物配制成溶液剂、悬浮液、凝胶剂或其它液体形式，例如定时释放形式或液体填充形式)。

对于所治疗的受试者，要施用的组合物中的细胞数量将有所不同。可以更少的数量施用更有效的细胞。可以根据每个受试者的个体因素，包括其大小、年龄、性别、体重和受试者的状况，来确定有效剂量的精确确定。本领域技术人员从本申请和本领域知识中可以容易地确定剂量。

本领域技术人员可以容易地确定组合物中和在方法中施用的细胞和任选的添加剂、媒介物和/或载体的量。通常，任何添加剂(除一种或多种活性细胞和/或一种或多种试剂外)在磷酸盐缓冲盐水中的存在量为0.001%至50%(重量)溶液，并且活性成分按微克至毫克的顺序存在，例如约0.0001wt%至约5wt%、约0.0001wt%至约1wt%、约0.0001wt%至约0.05wt%或约0.001wt%至约20wt%、约0.01wt%至约10wt%或约0.05wt%至约5wt%。对于要施用于动物或人的任何组合物，可以确定以下结果：毒性，例如通过在合适的动物模型例如啮齿类动物如小鼠中确定致死剂量(LD)和LD50；组合物的剂量，其中的组分浓度和施用组合物的时间，引起合适的反应。

9. 治疗方法

本申请提供用于在需要本申请的组合物的受试者中诱导和/或增加免疫应答的方法。包括本申请的嵌合多肽的组合物可以用于治疗和/或预防受试者的肿瘤。本申请组合物可以用于延长患有肿瘤的受试者的存活。本申请的组合物也可以用于治疗 and/或预防诸如免疫功能低下的人受试者的病原体感染或其它感染性疾病。这种方法包括施用有效量的本申请的组合物以达到期望的效果，无论是减轻现有病症还是预防复发。为了治疗，施用的量是有效产生所需效果的量。可以一次或多次给药来提供有效量。可以大剂量或通过连续灌注来提供有效量。

在一实例中,包括本申请的组合物可以用于治疗具有表面抗原表达水平低的肿瘤细胞的受试者,例如由于疾病的复发,其中受试者接受过导致残留肿瘤细胞的治疗。在某些实施方式中,肿瘤细胞在肿瘤细胞表面上具有低密度的靶分子。

5 在一实例中,包括本申请的组合物可用于治疗患有疾病复发的受试者,其中该受试者接受过包括单独施用CAR的免疫细胞(例如, T细胞)。在一实例中,肿瘤细胞在肿瘤细胞表面上具有低密度的肿瘤特异性抗原。这种方法包括施用有效量的本申请的组合物以达到期望的效果,缓解现有病症或预防复发。

10 “有效量”(或“治疗有效量”)是足以在治疗后产生有益或期望的临床结果的量。可以以一剂或多剂剂量将有效量施用于受试者。就治疗而言,有效量是足以缓解、改善、稳定、逆转或减慢疾病进展或以其它方式减少疾病病理后果的量。有效量通常由医师根据具体情况确定,并且在本领域技术人员的能力范围内。当确定合适的剂量以达到有效量时,通常要考虑几个因素。这些因素包括受试者的年龄、性别和体重、所治疗的疾病、疾病的严重程度以及所施用的本申请的组合物的形式和有效浓度。

15 对于使用抗原特异性T细胞的过继免疫疗法,通常输注约 10^6 - 10^{10} 范围内的细胞剂量。在将本申请的免疫细胞施用于宿主并随后分化后,诱导特异性针对特定抗原的T细胞。本申请的组合物可以通过本领域已知的任何方法施用,包括但不限于静脉内、皮下、结内、肿瘤内、鞘内、胸膜内、腹膜内和直接向胸腺施用。

本申请提供用于治疗 and/或预防受试者中的肿瘤的方法。该方法可以包括向患有肿瘤的受试者施用有效量的本申请的组合物。

20 肿瘤的非限制性实例包括血液癌症(例如白血病、淋巴瘤和骨髓瘤)、卵巢癌、乳腺癌、膀胱癌、脑癌、结肠癌、肠癌、肝癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、皮肤癌、胃癌、胶质母细胞瘤、喉癌、黑素瘤、神经母细胞瘤、腺癌、神经胶质瘤、软组织肉瘤和各种癌(包括前列腺癌和小细胞肺癌)。肿瘤的非限制性实例包括但不限于星形细胞瘤、纤维肉瘤、粘液肉瘤、脂肪肉瘤、少突胶质细胞瘤、室管膜瘤、髓母细胞瘤、原始神经外胚层肿瘤(PNET)、
25 软骨肉瘤、成骨肉瘤、胰腺导管腺癌、小细胞和大细胞肺腺癌、脊索瘤、血管肉瘤、内皮肉瘤、鳞状细胞癌、支气管肺泡癌、上皮腺癌及其肝转移灶、淋巴管肉瘤、淋巴管内皮肉瘤、肝癌、胆管癌、滑膜瘤、间皮瘤、尤文氏瘤、横纹肌肉瘤、结肠癌、基底细胞癌、汗腺癌、乳头状癌、皮脂腺癌、状腺癌、囊腺癌、髓样癌、支气管癌、肾细胞癌、胆小管癌、绒毛膜癌、精原细胞瘤、胚胎癌、Wilms'肿瘤、睾丸肿瘤、髓母细胞瘤、颅咽管瘤、室管
30 膜瘤、松果体瘤、血管母细胞瘤、听神经瘤、少突胶质细胞瘤、脑膜瘤、神经母细胞瘤、视网膜母细胞瘤、白血病、多发性骨髓瘤、Waldenstrom's巨球蛋白血症和重链疾病、诸如导管和小叶腺癌的乳腺肿瘤、子宫颈的鳞状和腺癌、子宫和卵巢上皮癌、前列腺腺癌、膀胱移行鳞状细胞癌、B和T细胞淋巴瘤(结节性和弥漫性)浆细胞瘤、急性慢性白血病、恶性黑色素瘤、软组织肉瘤和平滑肌肉瘤。在某些实施方式中,肿瘤选自血液癌症(例如白血
35 病、淋巴瘤和骨髓瘤)、卵巢癌、前列腺癌、乳腺癌、膀胱癌、脑癌、结肠癌、肠癌、肝

癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、皮肤癌、胃癌、胶质母细胞瘤和喉癌。在一实例中，本申请的组合物可以用于治疗和/或预防常规治疗措施不适合或复发难治性实体瘤，例如肝癌、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、肾癌、甲状腺癌、胃癌、结直肠癌。在一实例中，肿瘤是血液肿瘤。

5 本申请的组合物治疗目标可以包括缓解或逆转疾病进展和/或减轻副作用、或治疗目标包括降低或延迟复发风险。

本申请提供用于在例如免疫受损的受试者中治疗和/或预防病原体感染(例如病毒感染、细菌感染、真菌感染、寄生虫感染或原生动感染)的方法。该方法可以包括向患有病原体感染的受试者施用有效量的本申请的组合物。易于治疗的示例性病毒感染包括但不限于巨细胞病毒、爱泼斯坦-巴尔病毒、人免疫缺陷病毒和流感病毒感染。

术语“增强”指允许受试者或肿瘤细胞改善其响应本文公开的治疗的能力。例如，增强的应答可以包括应答性中5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或98%或更多的增加。如本文使用的，“增强”还可以指增加响应治疗例如免疫细胞疗法的受试者数目。例如，增强的应答可以指响应治疗的受试者总百分比，其中百分比是5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或98%更多。

10. 试剂盒

本申请提供用于在受试者中诱导和/或增强免疫应答和/或治疗和/或预防肿瘤或病原体感染的试剂盒。在一实例中，试剂盒包括有效量的本申请的嵌合多肽的组合物和药物组合物。在一实例中，试剂盒包括无菌容器；这样的容器可以是盒子、安瓿、瓶、小瓶、管、袋、小袋、泡罩包装或本领域已知的其它合适的容器形式。这样的容器可以由塑料、玻璃、层压纸、金属箔或其它适合于容纳药物的材料制成。在一实例中，试剂盒包括编码本申请的CAR的核酸分子，其以可表达的形式识别目的抗原，可以任选地包括在一种或多种载体中。

在一实例中，将本申请的组合物和/或核酸分子，与将所述组合物或核酸分子施用于患有肿瘤或病原体或免疫疾病或有发展成肿瘤或病原体或免疫疾病的受试者的说明书一起提供。说明书通常包括有关组合物用于治疗或预防肿瘤或病原体感染的信息。在一实例中，说明书包括以下至少一项：治疗剂的描述；用于治疗或预防肿瘤、病原体感染或免疫疾病或其症状的剂量表和给药；注意事项；警告；适应症；不适应症；用药信息；不良反应；动物药理学；临床研究；和/或参考。这些说明书可以直接打印在容器上，或者作为粘贴在容器上的标签，或者作为单独的纸页、小册子、卡片或文件夹提供在容器内或与容器一起。

11. 治疗用途或制药用途

35 在本申请中，本申请描述的方法也可以被解释为治疗用途，即在本申请中描述的

方法均可以认为是本申请的组合物、核酸分子或工程细胞用于治疗用途或用于制备相应治疗用途的制药用途。在一实例中，本申请涉及上述工程细胞或核酸分子用于调节工程细胞活性的用途或上述工程细胞用于制备用于调节工程细胞的活性的药物的用途；本申请涉及上述工程细胞或核酸分子用于激活工程细胞的用途或上述工程细胞用于制备激活工程细胞的药物的用途；本申请涉及上述工程细胞或核酸分子用于抑制受试者中靶细胞活性的用途或用于制备抑制受试者中靶细胞活性的药物的用途；本申请涉及上述工程细胞或核酸分子用于改善或治疗有需要的受试者健康状况的用途或用于制备改善或治疗有需要的受试者健康状况的药物的用途。上述本申请中描述的全部内容也同样可以适用于治疗用途或制药用途。

10

本申请包括，例如中国专利申请公开号CN107058354A、CN107460201A、CN105194661A、CN105315375A、CN105713881A、CN106146666A、CN106519037A、CN106554414A、CN105331585A、CN106397593A、CN106467573A、CN104140974A、CN108884459A、CN107893052A、CN108866003A、CN108853144A、CN109385403A、CN109385400A、CN109468279A、CN109503715A、CN109908176A、CN109880803A、CN110055275A、CN110123837A、CN110438082A、CN110468105A以及例如国际专利申请公开号WO2017186121A1、WO2018006882A1、WO2015172339A8、WO2018/018958A1、WO2014180306A1、WO2015197016A1、WO2016008405A1、WO2016086813A1、WO2016150400A1、WO2017032293A1、WO2017080377A1、WO2017186121A1、WO2018045811A1、WO2018108106A1、WO 2018/219299、WO2018/210279、WO2019/024933、WO2019/114751、WO2019/114762、WO2019/141270、WO2019/149279、WO2019/170147A1、WO 2019/210863、WO2019/219029中公开的那些CAR-T细胞及其制备方法、抗体。

15

20

25

实施例 1：嵌合多肽 synJagged2EC、synEphrinB2EC、synEphrinB2EC-APLP2(TM)的构建

本实施例构建了本申请所用嵌合多肽的各种示例性嵌合多肽的组成(表1)。

表 1

载体/嵌合多肽名称	结合域	受体调控结构域		胞内域
		胞外区	跨膜区 (STS)	
GPC3-synJagged2EC	antiGPC3-scFv	Jagged2	Notch1 (Notch1)	GAL4-VP64
GPC3-synEphrinB2EC	antiGPC3-scFv	EphrinB2	Notch1 (Notch1)	GAL4-VP64
GPC3-synEphrinB2EC-2	antiGPC3-scFv	EphrinB2	Notch1 (Notch2)	GAL4-VP64
GPC3-synEphrinB2EC-3	antiGPC3-scFv	EphrinB2	Notch1 (Notch3)	GAL4-VP64
GPC3-synEphrinB2EC-4	antiGPC3-scFv	EphrinB2	Notch1 (Notch4)	GAL4-VP64

GPC3-synEphrinB2EC-5	antiGPC3-scFv	EphrinB2	Notch2 (Notch2)	GAL4-VP64
GPC3-synEphrinB2EC-6	antiGPC3-scFv	EphrinB2	Notch3 (Notch3)	GAL4-VP64
GPC3-synEphrinB2EC-7	antiGPC3-scFv	EphrinB2	Notch4 (Notch4)	GAL4-VP64
GPC3-synEphrinB2EC-8	antiGPC3-scFv	EphrinB2	huNotch1 (huNotch1)	GAL4-VP64
GPC3-synEphrinB2EC-APLP2 TM	antiGPC3-scFv	EphrinB2	APLP2 (APLP2)	GAL4-VP64
GPC3-synEphrinB2EC-del1	antiGPC3-scFv	EphrinB2-del1	Notch1 (Notch1)	GAL4-VP64
GPC3-synEphrinB2EC-del2	antiGPC3-scFv	EphrinB2-del2	Notch1 (Notch1)	GAL4-VP64
GPC3-synEphrinB2EC-del3	antiGPC3-scFv	EphrinB2-del3	Notch1 (Notch1)	GAL4-VP64
GPC3-synEphrinB2EC-del3-2	antiGPC3-scFv	EphrinB2-del3	Notch1 (Notch2)	GAL4-VP64
GPC3-synEphrinB2EC-del23	antiGPC3-scFv	EphrinB2-del23	Notch1 (Notch1)	GAL4-VP64
EGFRvIII-synEphrinB2EC	antiEGFRvIII-scFv	EphrinB2	Notch1 (Notch1)	GAL4-VP64
Mesothelin-synEphrinB2EC	antiMesothelin-scFv	EphrinB2	Notch1 (Notch1)	GAL4-VP64
FAP-synEphrinB2EC	antiFAP-scFv	EphrinB2	Notch1 (Notch1)	GAL4-VP64
Claudin18.2-synEphrinB2EC	antiClaudin18.2-scFv	EphrinB2	Notch1 (Notch1)	GAL4-VP64
CLL1-synEphrinB2EC	antiCLL1-scFv	EphrinB2	Notch1 (Notch1)	GAL4-VP64
CLL1-synEphrinB2EC-APLP2 TM	antiCLL1-scFv	EphrinB2	APLP2 (APLP2)	GAL4-VP64
CD123-synEphrinB2EC	AntiCD123-scFv	EphrinB2	Notch1 (Notch1)	GAL4-VP64

示例性，上表1中片段序列如下：antiGPC3-scFv(SEQ ID No:42)、antiEGFRvIII-scFv (SEQ ID No:43)、antiMesothelin-scFv(SEQ ID No:44)、antiFAP-scFv(SEQ ID No: 45)、antiClaudin18.2-scFv (SEQ ID NO:46)、antiCLL1-scFv (SEQ ID No:47)、Jagged2胞外区(SEQ ID No: 1、2)、EphrinB2胞外区(SEQ ID No: 3、4)、EphrinB2-del1胞外区(SEQ ID No: 5、6)、EphrinB2-del2胞外区(SEQ ID No: 7、8)、EphrinB2-del3胞外区(SEQ ID No: 9、10)、EphrinB2-del23胞外区(SEQ ID No: 11、12)、鼠Notch1 (Notch1STS)跨膜区(SEQ ID No: 13)、鼠Notch2跨膜区 (Notch2STS) (SEQ ID No: 14)、鼠Notch3跨膜区 (Notch3STS) (SEQ ID No: 15)、鼠Notch4跨膜区 (Notch4STS) (SEQ ID No: 16)、人Notch1跨膜区 (Notch1STS) (SEQ ID No: 17)、人Notch2跨膜区 (Notch2STS) (SEQ ID No: 18)、人Notch3跨膜区 (Notch3STS) (SEQ ID No: 19)、人Notch4跨膜区 (Notch4STS) (SEQ ID No: 20)、APLP2跨膜区 (APLP2STS) (SEQ ID No: 21)、Notch1STS(SEQ ID No: 22)、Notch2STS(SEQ ID No:23)、Notch3STS(SEQ ID No: 24)、Notch4STS(SEQ ID No: 25)、APLP2的STS(SEQ ID No: 26)、GAL4-VP64(SEQ ID No: 27)，其中鼠的Notch用英文标识Notch表示，人的Notch用英文标识huNotch表示。

15 Jurkat细胞(购自中科院细胞库)分别导入上述嵌合多肽后，使用生物素标记的抗

原多肽+PE标记的链霉亲和素，流式检测表达，结果显示上述嵌合多肽均稳定表达细胞膜上。

在本实施例中，将BFP(genebank ID: QJR97815.1)插到表1的Gal4-VP64调控的UAS-CMV启动子(SEQ ID NO:49)后，作为嵌合多肽激活的报告基因。在本实施例中，
5 在BFP下游插入pGK启动子(Addgene #79120, 7721-8220 bp)调控的绿色荧光蛋白(GFP)，作为转导阳性标记，GFP蛋白序列如genebank ID: UDY80669.1所示。在本实施例中，将包含UAS-CMV、BFP、pGK、GFP核酸序列按顺序连接构成的UAS-BFP-PGK-GFP片段，转导入Jurkat细胞，建立Jurkat应答细胞。

10 实施例2: synJagged2EC、synEphrinB2EC、synEphrinB2EC-APLP2(TM)调控基因表达

分别导入靶向GPC3的嵌合多肽的Jurkat应答细胞与肝癌细胞1:1混合(其中SK-Hep1为GPC3阴性，SK-Hep1-GPC3为外源性过表达GPC3蛋白，HuH7和PLC/PRF/5为GPC3阳性)共孵24h，流式检测BFP。图1A、1B(数值表示BFP阳性细胞百分比)显示，在与靶细胞共孵后，相比于synNotch(改造自质粒Addgene #79125，将antiCD19 scFv
15 序列替换为antiGPC3-scFv序列)，synJagged2EC(SEQ ID No: 51)、synEphrinB2EC(SEQ ID No: 52)、synEphrinB2EC-APLP2(TM) (SEQ ID No: 53)诱导BFP表达水平相当或显著提高。

实施例3: 抗原共孵育实验

20 包被组: 在96孔板中预包被GPC3抗原(5 μ g/mL 4 $^{\circ}$ C过夜)，每孔铺50000个表达靶向GPC3的嵌合多肽的Jurkat应答细胞。溶解组: 每孔铺50000个表达靶向GPC3的嵌合多肽的Jurkat应答细胞，培养液中直接加入GPC3抗原(5 μ g/mL)。在抗原与细胞共孵的0、4、8、24、32小时流式检测BFP。图2显示，与包被型抗原共孵后，各组细胞中BFP表达相当。与溶解型抗原共孵的细胞几乎检测不到BFP。

25 实施例4. 包含EphrinB2胞外区截短体的synEphrinB2EC-del调控基因表达

参考实施例1和2，构建表达GPC3-synEphrinB2EC-del1(SEQ ID No:54)，GPC3-synEphrinB2EC-del2(SEQ ID No:55)，GPC3-synEphrinB2EC-del3(SEQ ID No:56)，GPC3-synEphrinB2EC-del23(SEQ ID No:57)的Jurkat应答细胞并检测在GPC3刺激后BFP表达。图3显示，靶向GPC3、包括全长EphrinB2胞外区或其截短体的嵌合多肽均调控基因表达。synEphrinB2EC-del3或synEphrinB2EC-del23诱导表达的泄漏明显降低。
30

实施例5. synEphrinB2EC、synEphrinB2EC-APLP2(TM)对不同浓度抗原刺激的应答

35 Biotin标记的GPC3抗原多肽溶解于PBS缓冲液(10 μ g/mL)，并以PBS二倍稀释至浓度0.019531 μ g/mL，各浓度取50 μ L分别加入包被有链霉亲和素的96孔板中(Thermo 15500)，室温孵育2 h进行GPC3抗原包被。

向包被不同浓度GPC3抗原的孔内分别加入40000个表达靶向GPC3的嵌合多肽的Jurkat应答细胞，37℃培养24h，流式检测BFP(图4)。

实施例6: synJagged2EC、synEphrinB2EC调控IL12表达

5 将IL12插入UAS-CMV启动子下游，IL12下游连接pGK启动子调控的GFP，得到的片段UAS-IL12-PGK-GFP，分别与靶向GPC3的嵌合多肽同时或先后导入T细胞后，再分别与肝癌细胞1:1混合共孵24h，ELISA检测培养上清中IL12。图5显示，在与靶细胞共孵后，相比于synNotch，synJagged2EC、synEphrinB2EC诱导IL12表达相当或提高。结合图6可见，与GPC3低表达细胞孵育后，synEphrinB2EC诱导转录提高。

10 实施例7. 调节IL12表达的synEphrinB2EC、synEphrinB2EC-APLP2(TM)的单载体系统

实施例6中嵌合多肽与被调控表达基因置于两个不同的载体中，需要进行双重病毒感染实现嵌合多肽对靶基因的调节。为简化操作且提高转导效率，将IL12插入UAS-CMV启动子下游，再整合到嵌合多肽的表达载体中，转导T细胞。图7显示，单载体系统表达synEphrinB2EC、synEphrinB2EC-APLP2(TM)水平高于synNotch。图8结合图6可见，与GPC3低表达细胞孵育后，synEphrinB2EC或synEphrinB2EC-APLP2(TM)诱导转录高于synNotch。图9显示，与GPC3低表达细胞孵育后，synEphrinB2EC-del3诱导表达水平较低，而与GPC3高表达细胞孵育后，其诱导表达水平与synNotch相当，说明synEphrinB2EC-del3可更有效区分抗原低表达和高表达。

20 实施例8. 调控IL12表达的GPC3-synEphrinB2EC协同CAR-T细胞联合治疗肿瘤

利用实施例7制备的调控IL12表达的GPC3-synEphrinB2EC的T细胞，和表达GPC3-CAR(SEQ ID NO: 60)的T细胞的体内抗肿瘤实验。

NPG小鼠皮下接种PLC/PRF/5肝癌细胞，成瘤后按照图示分组并给予相应数量的细胞，测量瘤体积和体重。图10显示，调控IL12表达的synEphrinB2EC发挥协同GPC3-CAR-T细胞抗肿瘤作用。

25 实施例9: EGFRvIII-synEphrinB2EC调控基因表达

包含靶向EGFRvIII的嵌合多肽(SEQ ID NO: 61)的Jurkat应答细胞，分别按1:1与胶质瘤细胞共孵24h，流式检测BFP(图11)。

实施例10.包括调节CAR表达的synEphrinB2EC的CAR-T细胞

30 将IL13Ra2-CAR(SEQ ID NO: 62)插入UAS-CMV启动子下游，再分别整合到嵌合多肽表达载体中，转导T细胞，制备靶向EGFRvIII的嵌合多肽调控IL13Ra2-CAR表达的T细胞(图12)，体外培养14天：Western blot检测CAR表达和磷酸化水平(图13)；分别用CD25、CD69、PD1、LAG3、TIM3和CD39、CD45RA、CD62L抗体标记细胞，流式检测(图14、15)。

35 实施例11.包括调节IL13Ra2-CAR表达的EGFRvIII-synEphrinB2EC的T细胞的体内外杀伤

靶细胞：U87、U87-10%EGFRvIII(90%U87+10%U87-EGFRvIII)、U87-50%EGFRvIII(50%U87+50%U87-EGFRvIII)、U251、U251-10%EGFRvIII(90%U251+10%U251-EGFRvIII)、U251-50%EGFRvIII(50%U251+50%U251-EGFRvIII)。

5 分别以效靶比3:1、1:1、1:3共培养，检测上清LDH或xCELLigence RTCA实时监测靶细胞杀伤。图16显示，表达EGFRvIII-synEphrinB2EC的IL13Ra2-CAR-T细胞能杀伤EGFRvIII抗原异质性肿瘤，对EGFRvIII低阳性率的肿瘤细胞群也有杀伤作用。

NPG小鼠皮下接种U251-EGFRvIII细胞，成瘤后按照图示分组并给予相应数量的CAR-T细胞，测量瘤体积和体重。图17显示，表达EGFRvIII-synEphrinB2EC的IL13Ra2-CAR-T体内抗肿瘤作用。

10 **实施例12.表达EGFRvIII-synEphrinB2EC嵌合多肽的B7H3-CAR-T细胞的体内杀伤**

分别构建表达B7H3-28Z(SEQ NO:64)、B7H3-BBZ(SEQ NO:65)、376.96-28Z(SEQ NO:66)的T细胞。参照实施例10构建包含调控B7H3-28Z的EGFRvIII-synEphrinB2EC的T细胞。

15 NPG小鼠皮下接种U251-EGFRvIII细胞，成瘤后按照图示分组并给予相应数量的细胞，测量瘤体积和体重。图18显示，仅识别人B7H3的376.96-28Z-T细胞抗肿瘤显著，而识别人和鼠B7H3的B7H3-28Z CAR-T、B7H3-BBZ CAR-T疗效差。将特异性不高的B7H3-28Z置于EGFRvIII-synEphrinB2EC调控下，能提高其特异性杀伤作用。

20 **实施例13.表达Mesothelin-synEphrinB2EC的Claudin18.2-CAR-T细胞的体外杀伤**

参照实施例1和10制备表达靶向Mesothelin的嵌合多肽(SEQ NO:105)调控Claudin18.2-CAR(SEQ NO:67)表达的T细胞，或调控Claudin18.2-CAR与IL7、CCL21共表达的T细胞；其中，分别调控Claudin18.2-CAR(SEQ NO:68)、Claudin18.2-CAR与IL7(SEQ NO:69)、Claudin18.2-CAR与IL7与CCL21(SEQ NO:70)表达的Mesothelin-synEphrinB2EC阳性率为40.1%、31.1%、33.8%。分别按不同效靶比共培养，检测上清LDH。图19、20显示，表达Mesothelin-synEphrinB2EC的第二代和第四代Claudin18.2-CAR-T细胞均可被抗原特异性激活、杀伤肿瘤细胞。

实施例14.表达FAP-synEphrinB2EC的Claudin18.2-CAR-T细胞的体内杀伤

30 参照实施例1和10构建包含FAP-synEphrinB2EC(SEQ NO:106)调控Claudin18.2-CAR(SEQ NO:67)的T细胞。胰腺癌PDX模型，成瘤后按照图示分组并给予相应数量的CAR-T细胞，测量瘤体积和体重。图21显示，表达FAP-synEphrinB2EC的Claudin18.2-CAR-T细胞抗肿瘤，且小鼠体重无显著下降。

实施例15.表达Claudin18.2-synEphrinB2EC的Mesothelin-CAR-T细胞的体外杀伤

35 参照实施例1和10构建包含Claudin18.2-synEphrinB2EC(SEQ NO:108)调控

Mesothelin-CAR(SEQ NO: 107)的T细胞。分别以效靶比3: 1, 1: 1, 1: 3的比例共培养, 检测上清LDH。图22A、图22B显示, 包含Claudin18.2-synEphrinB2EC的Mesothelin-CAR-T细胞可被抗原特异性激活、杀伤肿瘤细胞。

实施例16. CLL1-synEphrinB2EC调控基因表达

5 参照实施例1和2构建包含靶向CLL1的嵌合多肽(SEQ NO: 73、110)的Jurkat应答细胞, 分别按1: 1与AML细胞系(图23A)共孵24 h, 流式检测BFP(图23B)。

实施例17. 表达CLL1-synEphrinB2EC的NKG2D-CAR-T细胞的体外杀伤

10 参照实施例10构建包含CLL1-synEphrinB2EC(SEQ NO: 73)调控NKG2D-CAR(SEQ NO: 109)的T细胞。分别按不同效靶比共培养, 检测上清LDH。结果显示, NKG2D-CAR-T细胞杀伤表达NKG2D配体的THP1、HL-60细胞, 在CLL1-synEphrinB2EC诱导下的CD3Z-NKG2D-CAR-T细胞对CLL1低表达的THP-1细胞的杀伤弱, 只能杀伤CLL1和NKG2D配体都高表达的HL-60细胞(图23A、24)。这一结果与BFP诱导表达的实验一致, 说明CLL1-synEphrinB2EC进一步增强了NKG2D-CAR-T细胞靶向AML细胞的特异性。

15 实施例18. NKG2D-CAR-T细胞体外培养的扩增和活性

收集体外培养的CAR-T细胞进行细胞计数和活率测定。图25显示, 包含CLL1-synEphrinB2EC调控NKG2D-CAR的T细胞扩增良好。

20 收集体外培养的CAR-T细胞, 抗体标记并进行7-AAD染色, 流式检测。图26显示, 包含CLL1-synEphrinB2EC调控NKG2D-CAR的T细胞死亡比例与UTD基本相同, 而NKG2D-CAR-T细胞的死亡比例明显升高; 包含CLL1-synEphrinB2EC调控NKG2A-CAR的T细胞可以有效保证培养体系中T细胞的扩增和活性。

实施例19. 靶向其他AML治疗靶点的嵌合多肽诱导NKG2D-CAR表达

25 参照实施例16-18, 以CD123为例, 构建CD123-synEphrinB2EC嵌合多肽(SEQ NO: 50)调控NKG2D-CAR(SEQ NO: 109)的T细胞: 能增强NKG2D-CAR-T细胞靶向AML细胞的特异性; 有效保证培养体系中T细胞的扩增和活性。

实施例20. 嵌合多肽诱导治疗性单抗表达

30 本申请的嵌合多肽GPC3-synJagged2EC、GPC3-synEphrinB2EC、GPC3-synEphrinB2EC-APLP2(TM)所调控表达的基因替换成曲妥珠单抗、贝伐单抗、英利昔单抗、利妥昔单抗、阿达木单抗的编码序列, 当与GPC3阳性肿瘤细胞共孵育后, 相比于synNotch, synJagged2EC、synEphrinB2EC、synEphrinB2EC-APLP2(TM)诱导曲妥珠单抗、贝伐单抗、英利昔单抗、利妥昔单抗、阿达木单抗表达水平相当或显著提高。

35 本申请所述实施例包括将该实施例作为任何单一实施例或与任何其他实施例或其部分相结合。此外应理解, 在阅读了本申请的上述讲授内容之后, 本领域技术人员可以对本申请作各种改动或修改, 这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

序列信息

编号	名称	序列
1	Jagged2胞外区氨基酸	evigfgrscwsrgtppfhgsswvedcnsrcldrddcskvwgcwkpcllagqpealsaqcplgqrclekapgqcl rppceawgecgaeppstpcprsrghldmncarlthfnrdhvpqgtvgaicsgirslpatravardrllvllcdrassg asavevavsfspardlpdssliqgaahaivaaitqrgnsslavtevkvetvvtggsstg
2	Jagged2胞外区核苷酸	gaagtgatcgggtcgggagatcctgctggccccggggcactccgtcccacacggaagctcctgggtggaagactgc aacagctgccgctgcctggatggccgccgtgactgcagcaagggtggtgctggatggaagccttctgctgctggccggc cagcccagggcctgagcggccagtggccactggggcaagggtgctggagaaggccagccagctgtctgcgac cacctgtgagcctggggggagtgccgagcagaagagaccaggagcaccctgctgccacgctccggccact ggacaataactgtcccgcctcaccttgattcaaccgtgaccactgccccaggcaccacgggtggcgccatttgc tccgggatccgctcctgccagccacaagggtgctggcacgggaccgctgctggtgttcttgcgaccggcgctct cggggggcagtgctgtgaggtggcctgtctcagccctgccagggactgctgacagcagctgatcaggggc gcggccacgccatcgtggcccatcaccagcgggggaacagctcactgctcctggctgtcaccgaggtcaaggt ggagacggtgttaccggcgctctccacaggt
3	EphrinB2胞外区(全长)氨基酸	gqdassagstrnkdprrpeleagngsrsttspfvkpnpgsstgnsaghsngnilgsevalfa
4	EphrinB2胞外区(全长)核苷酸	ggacaagatgcaagtctgctggatcaaccaggaataaagatccaacaagacgtccagaactagaagctgttacaat ggaagaagttcgacaacaagtccttgtaaaaccaaatccaggttctagcacagacggcaacagcggcggacattcg ggacaacacatcctcgggtccgaagtggcctatttgcga
5	EphrinB2-del1胞外区氨基酸	gqdatrpeleagngsrsttspfvkpnpgsstgnsaghsngnilgsevalfa
6	EphrinB2-del1胞外区核苷酸	ggacaagatgcaacaagacgtccagaactagaagctgttacaatggaagaagttcgacaacaagtccttgtaaaac caatccaggttctagcacagacggcaacagcggcggacattcggggaacaacatcctcgggtccgaagtggcctatt tgcga
7	EphrinB2-del2胞外区氨基酸	gqdassagstrnkdprrpsfvkpnpgsstgnsaghsngnilgsevalfa
8	EphrinB2-del2胞外区核苷酸	ggacaagatgcaagtctgctggatcaaccaggaataaagatccaacaagacgtccaagtccttgtaaaaccaaatcc aggttctagcacagacggcaacagcggcggacattcggggaacaacatcctcgggtccgaagtggcctatttgcga
9	EphrinB2-del3胞外区氨基酸	gqdassagstrnkdprrpeleagngsrsttspsevalfa
10	EphrinB2-del3胞外区核苷酸	ggacaagatgcaagtctgctggatcaaccaggaataaagatccaacaagacgtccagaactagaagctgttacaat ggaagaagttcgacaacaagtcctcgggaagtggcctatttgcga
11	EphrinB2-del23胞外区氨基酸	gqdassagstrnkdprrpsevalfa
12	EphrinB2-del23胞外区核苷酸	ggacaagatgcaagtctgctggatcaaccaggaataaagatccaacaagacgtccatccgaagtggcctatttgcga
13	鼠Notch1跨膜区	lmyvaaaafvllffvgcgvllsrkr
14	鼠Notch2跨膜区	llyllavavviiifllgvmakrkrkh
15	鼠Notch3跨膜区	llpllavagvlliiifilgvmvarkreh
16	鼠Notch4跨膜区	pilcspvvgvllalgalvllqirrrreh
17	人Notch1跨膜区	fmyvaaaafvllffvgcgvllsrkr
18	人Notch2跨膜区	llyllavavviiifllgvmakrkrkh
19	人Notch3跨膜区	lpllavagvllvllvlgvmvarkreh
20	人Notch4跨膜区	pvlcspvagvllalgalvllqirrrreh
21	APLP2跨膜区	Saligllviavaiatvivislmlrkrq
22	Notch1STS	rkrr
23	Notch2STS	krkrkh
24	Notch3STS	rrkrh
25	Notch4STS	rrrrreh
26	APLP2的STS	rkrq
27	GAL4-VP64	mklssieqacdicrlkkksckepkcklknwecryspktrsptrahltevesrlerleqllifpredldmil kmdslqdikalltglfvqdnvkdavtdrlasvetdmpltrqhrisatssseessnkqqrqtvaaaagsgsggsd alddfdldmlgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgs
28	synJagged2EC受体调控结构域	evigfgrscwsrgtppfhgsswvedcnsrcldrddcskvwgcwkpcllagqpealsaqcplgqrclekapgqcl rppceawgecgaeppstpcprsrghldmncarlthfnrdhvpqgtvgaicsgirslpatravardrllvllcdrassg asavevavsfspardlpdssliqgaahaivaaitqrgnsslavtevkvetvvtggsstgmyvaaaafvllffvgcgv llsrkr
29	synEphrinB2EC受体调控结构域	gqdassagstrnkdprrpeleagngsrsttspfvkpnpgsstgnsaghsngnilgsevalfalmlyvaaaafvllffv gcgvllsrkr
30	synEphrinB2EC-2受体调控结构域	gqdassagstrnkdprrpeleagngsrsttspfvkpnpgsstgnsaghsngnilgsevalfalmlyvaaaafvllffv gcgvllskrkrkh

31	synEphrinB2EC-3 受体调控结构域	gqdassagstrnkdprrpeagngsrsttspfvkpnpgsstgnsaghsghnmlgsevalfalmyvaaafvllffv gcgvllsrkrreh
32	synEphrinB2EC-4 受体调控结构域	gqdassagstrnkdprrpeagngsrsttspfvkpnpgsstgnsaghsghnmlgsevalfalmyvaaafvllffv gcgvllsrkrreh
33	synEphrinB2EC-5 受体调控结构域	gqdassagstrnkdprrpeagngsrsttspfvkpnpgsstgnsaghsghnmlgsevalfallyllavavviiilfiill gvimakrkrkh
34	synEphrinB2EC-6 受体调控结构域	gqdassagstrnkdprrpeagngsrsttspfvkpnpgsstgnsaghsghnmlgsevalfalpllvagavlllvilv lgvmvarrkrreh
35	synEphrinB2EC-7 受体调控结构域	gqdassagstrnkdprrpeagngsrsttspfvkpnpgsstgnsaghsghnmlgsevalfapvlcspvagvillal gallvqlirrrreh
36	synEphrinB2EC-APL P2TM受体调控结构域	gqdassagstrnkdprrpeagngsrsttspfvkpnpgsstgnsaghsghnmlgsevalfasaligllviavaivatv ivislvmllrkrq
37	synEphrinB2EC-del1 受体调控结构域	gqdatrrpeagngsrsttspfvkpnpgsstgnsaghsghnmlgsevalfalmyvaaafvllffvgcgvllsrkr r
38	synEphrinB2EC-del2 受体调控结构域	gqdassagstrnkdprrpsfvkpnpgsstgnsaghsghnmlgsevalfalmyvaaafvllffvgcgvllsrkr rr
39	synEphrinB2EC-del3 受体调控结构域	gqdassagstrnkdprrpeagngsrsttspsevalfalmyvaaafvllffvgcgvllsrkr rr
40	synEphrinB2EC-del3-2受体调控结构域	gqdassagstrnkdprrpeagngsrsttspsevalfalmyvaaafvllffvgcgvllsrkr rkh
41	synEphrinB2EC-del2 3受体调控结构域	gqdassagstrnkdprrpsevalfalmyvaaafvllffvgcgvllsrkr rr
42	antiGPC3-scFv	evqlvqsgaevkkpgasvkvscasgytfsdyemhwvrqapggglewmgaihpgsgdtaynqrfkgrvtitadk ststaymelsslrsedtavyycarfysyaywgqgtlvtsagggsgggsgggsgsdvmtqtplslpvtpepasis crssqslvhsngntylqwy lqkpgqspqlliykvsnrfs gvpdrfsgsgsgtdftlkisrveaedvgyvy csqsiyvp ytfgggkveikr
43	antiEGFRvIII-scFv	diqmtqspsslsasv gdrvtitachasqdinvgwllqkpgkafkglyihgknledgvsprfsgsgsgtdftltisslq pedfatyycnqy enipltfggqtkveikrgggsgggsgggsgsdvqlvesggglvppggsrlrscavsgysitsdy awnwirqapggglewlgysyrgrtqynpslksrisitrdnsknftflqlnslraedatavyycarmgknwdywgqgt lvtvss
44	antiMesothelin-scFv	qmqlvqsgaevkkpgasvkvscasgytfsyymhwvrqapggglewmgiiipfgtanyaqkfgrvtitadk tststvy melsslrsedtavyycassrgttvnhdafdiwgqgtvtvssggsgggsgggsgsdiltqspsslsa svgdrvtitcrasqviralawyqqtpgkppklliydasnlqsgvpsrfs gsgsgtdftltisrlqpedfatyycqfnsy pltfgggkveikr
45	antiFAP-scFv	qvqlvqsgaevkkpgssvkvscasggtfssyaiswvrqapggglewmggiipifgtanyaqkfgrvtitadk staymelsslrsedtavyycardaardrywgqgtvtvssggsgggsgggsgsdvmtqspplslpvtpepasis crssqslhpnghlywy lqkpgqspqlliyvggnrasgvpdrfsgsgsgtdftlkisrveaedvgyvy cqqrnk nrtfgggkveikr
46	anti Claudin18.2 scFv	qvqlqesgpglikpsqtlstctvsggsissynwhwvrqppgkglewigyihytgtnynpalrsrvtisvdtknqf slklssvtaadtaiyycariyngnsfpywgqgtvtvssggsgggsgggsgsdvmtqspds lavslgeratinc ssqslfnsngnknyltwyqqkpgppklliywastresgvpdrfsgsgsgtdftltisslqaedvavyycqnay sfp ytfgggkveikr
47	antiCLL1-scFv	evqlvqsgaevkkpgasvkvscasgytfnssymlhwvrqapggglewmgifnpgggssty aqkfgrvtitadk tststvy melsslrsedtavyycargttsdafdiwgqgtmvtvssggsgggsgggsgsdvmtqspsslsasv gd rvtitcrasqsisylwyyqqkpgkpkllidvasslqsgvpsrfs gsgsgtdftltisslqpedfatyycqsy stpltf gggkveikr
48	UAS	aagcttgatcgaattcggagcactgtcctccgaacgtcggagcactgtcctccgaacgtcggagcactgtcctccgaa cgtcggagcactgtcctccgaacggagcactgtcctccgaacgtcggagcactgtcctccgaacg
49	UAS-CMV启动子	aagcttgatcgaattcggagcactgtcctccgaacgtcggagcactgtcctccgaacgtcggagcactgtcctccgaa cgtcggagcactgtcctccgaacggagcactgtcctccgaacgtcggagcactgtcctccgaacgactagtaggcgtg acgggtggagccatataagcagagctcgttagtgtaaccgtcagatgcctggagaccatccacgtgtttgacc tccatagaagacaccggaccgactccagcctctcgacattcgttgatc
50	CD123-synEphrinB2 EC氨基酸序列	evqllesggglvppggsrlrscasgftfssyamswvrqapggglewmsaisggsggsty adsvkgrftitrdnskn tlylqmnsraedatavyycakddsfggfdywgqgtlvtsagggsgggsgggsgsdvmtqspstlsasv gdrvt itcrasqsiswlawyqqkpgkpklliydasslesgvpsrfs gsgsgtdftltisslqpedfatyycqy ssky ytfgg gkveikrgqdassagstrnkdprrpeagngsrsttspfvkpnpgsstgnsaghsghnmlgsevalfalmy vaaafvllffvgcgvllsrkrmmkllssieqacdicrkkkkskpkcakclknwecrysptkrspltrahtve srlerleqlflifpredlmdlmsldikalltglvqdnvkdavtdrlasvetdmphtlrqhrisatssseessnk gqrqltvsaaagsgggsgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgs
51	GPC3-synJagged2EC氨基酸序列	eqkliseedlevqlvqsgaevkkpgasvkvscasgytfsdyemhwvrqapggglewmgaihpgsgdtaynqrf kgrvtitadkstaymelsslrsedtavyycarfysyaywgqgtlvtsagggsgggsgggsgsdvmtqtplsl pvtpepasiscrssqslvhsngntylqwy lqkpgqspqlliykvsnrfs gvpdrfsgsgsgtdftlkisrve aedvgyvy csqsiyvp ytfgggkveikrevigfgrscwsrgtpfhgsswvedcnsrclldgrdcskv wcgwkpcllagqpe alsaqcplgqrcklekapgqclrrpceawgecgaeppstpcprsgldnncarlthfnrdh vpqgttvaicsgirs

		lpatravardrllvllcdrrassgasavevavsfspardlpdssliqgaahaivaaitqrgnsslavtevkvetvvtggss tglmlyvaaaafvllffvgcgvllsrkrmmkllssieqacdicrkkkksckekpkcakclknwecryspktrspplr ahltevesrlerleqlflifpredlmlkmdslqdikalltglfvqdnvkdavtdrlasvetdmpplrqrhisatsesse essnkqqrqltvsaagsgsgsgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlg s
52	GPC3-EphrinB2EC 氨基酸序列	eqkliseedlevqlvqsgaevkpgasvkvscasgytfsdyemhwvraqpqqglewmgaihpqsgdtaynqrf kgrvtitadkststaymelsslrsestavyyrcarfysyaywgqgtlvtsagggsgggsgggsgsdvmtqtplslp vtpgepasiscrssqslvhsngntylqwy lqkpgqspqlliykvsnrfsgvprdfsgsgsgtdfllkisirveadvgy ycsqsiyvpypfqqgkgleikrgqdassagstrnkdprrpeleagtngrsstspfvkpnpgsstgdnsaghsngnilg sevalfalmyvaaaafvllffvgcgvllsrkrmmkllssieqacdicrkkkksckekpkcakclknwecryspktr rspltrahltevesrlerleqlflifpredlmlkmdslqdikalltglfvqdnvkdavtdrlasvetdmpplrqrhis atsseessnkqqrqltvsaagsgsgsgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgsdalddfdl dmlgs
53	GPC3-synEphrinB2EC-APL P2 (TM) 氨基酸序列	eqkliseedlevqlvqsgaevkpgasvkvscasgytfsdyemhwvraqpqqglewmgaihpqsgdtaynqrf kgrvtitadkststaymelsslrsestavyyrcarfysyaywgqgtlvtsagggsgggsgggsgsdvmtqtplslp vtpgepasiscrssqslvhsngntylqwy lqkpgqspqlliykvsnrfsgvprdfsgsgsgtdfllkisirveadvgy ycsqsiyvpypfqqgkgleikrgqdassagstrnkdprrpeleagtngrsstspfvkpnpgsstgdnsaghsngnilg sevalfasaligllviavaiatvivilmrlkrqmllssieqacdicrkkkksckekpkcakclknwecryspktr rspltrahltevesrlerleqlflifpredlmlkmdslqdikalltglfvqdnvkdavtdrlasvetdmpplrqrhis atsseessnkqqrqltvsaagsgsgsgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgsdalddfdl dmlgs
54	GPC3-synEphrinB2E C-del1 氨基酸序列	eqkliseedlevqlvqsgaevkpgasvkvscasgytfsdyemhwvraqpqqglewmgaihpqsgdtaynqrf kgrvtitadkststaymelsslrsestavyyrcarfysyaywgqgtlvtsagggsgggsgggsgsdvmtqtplslp vtpgepasiscrssqslvhsngntylqwy lqkpgqspqlliykvsnrfsgvprdfsgsgsgtdfllkisirveadvgy ycsqsiyvpypfqqgkgleikrgqdassagstrnkdprrpeleagtngrsstspfvkpnpgsstgdnsaghsngnilg sevalfalmyvaaaafvllffvgcgvllsrkrmmkllssieqacdicrkkkksckekpkcakclknwecryspktrsp lrahltevesrlerleqlflifpredlmlkmdslqdikalltglfvqdnvkdavtdrlasvetdmpplrqrhisatsesse essnkqqrqltvsaagsgsgsgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgs s
55	GPC3-synEphrinB2E C-del2 氨基酸序列	eqkliseedlevqlvqsgaevkpgasvkvscasgytfsdyemhwvraqpqqglewmgaihpqsgdtaynqrf kgrvtitadkststaymelsslrsestavyyrcarfysyaywgqgtlvtsagggsgggsgggsgsdvmtqtplslp vtpgepasiscrssqslvhsngntylqwy lqkpgqspqlliykvsnrfsgvprdfsgsgsgtdfllkisirveadvgy ycsqsiyvpypfqqgkgleikrgqdassagstrnkdprrpspfvknpgsstgdnsaghsngnilgsevalfalmyv aaaafvllffvgcgvllsrkrmmkllssieqacdicrkkkksckekpkcakclknwecryspktrspplrahlteve srlerleqlflifpredlmlkmdslqdikalltglfvqdnvkdavtdrlasvetdmpplrqrhisatsesseessnkq qrqltvsaagsgsgsgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgs
56	GPC3-synEphrinB2E C-del3 氨基酸序列	eqkliseedlevqlvqsgaevkpgasvkvscasgytfsdyemhwvraqpqqglewmgaihpqsgdtaynqrf kgrvtitadkststaymelsslrsestavyyrcarfysyaywgqgtlvtsagggsgggsgggsgsdvmtqtplslp vtpgepasiscrssqslvhsngntylqwy lqkpgqspqlliykvsnrfsgvprdfsgsgsgtdfllkisirveadvgy ycsqsiyvpypfqqgkgleikrgqdassagstrnkdprrpeleagtngrsstspsevalfalmyvaaaafvllffvgc gvllsrkrmmkllssieqacdicrkkkksckekpkcakclknwecryspktrspplrahltevesrlerleqlflif predlmlkmdslqdikalltglfvqdnvkdavtdrlasvetdmpplrqrhisatsesseessnkqqrqltvsaag sgsgsgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgs
57	GPC3-synEphrinB2E C-del23 氨基酸序列	eqkliseedlevqlvqsgaevkpgasvkvscasgytfsdyemhwvraqpqqglewmgaihpqsgdtaynqrf kgrvtitadkststaymelsslrsestavyyrcarfysyaywgqgtlvtsagggsgggsgggsgsdvmtqtplslp vtpgepasiscrssqslvhsngntylqwy lqkpgqspqlliykvsnrfsgvprdfsgsgsgtdfllkisirveadvgy ycsqsiyvpypfqqgkgleikrgqdassagstrnkdprrpsevalfalmyvaaaafvllffvgcgvllsrkrmmkllss ieqacdicrkkkksckekpkcakclknwecryspktrspplrahltevesrlerleqlflifpredlmlkmdslq dikalltglfvqdnvkdavtdrlasvetdmpplrqrhisatsesseessnkqqrqltvsaagsgsgsgsdalddfdl dmlgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgs
58	IL12 (包括两个亚基 P35和P40)	mchqqlviswfsvlflasp1vaicwllkdvvvelldwypdapgemvvlctdpedgitwldqssevlgsqklti qvkefdagqytechkgevlshsl1llhkgedgiwstdilkdqkpkntflrceaknysgrftcwwlttistdlfsv kssrgssdpqgvctgaatlsaervrgdnkeyeysvceqedsacpaaeeslpievmdavhklkyenytsffirdiik pdppknlqkplknsrqvevswyepdtwstphsyfsltfvqvqgkskrekkdrvftdktstvicrknasisvraqd ryyssswwsewsvpcsgggsgggsgggsggnlvpvatpdpmpclhhsqnlrlavsnmlqkarqtlefypct eediheditkdktstveaclpleltnesclnsretsfitngsclsrktsfmmlalcssiyedlkmyqvfeftmnakll mdpkrqifldqnm1avidelmqalnfnsctvpqkssleppdfytkiklcllhafriravtidrvmsylnas
59	IL12-GPC3-synEphri nB2EC-del3 核酸	aagcttgatcgaattcggagcactgctcctcgaacgctggagcactgctcctcgaactcggagcactgctcctcga cgtcggagcactgctcctcgaacgagcactgctcctcgaacgctggagcactgctcctcgaacgactgtagcctgt acgtgggagcctatataagcagcactgcttagtgaaccgctcagatcgcctggagacgcatccacgctgtttgacc tccatagaagacaccggaccgatccagcctctcgcacattcgttgatcagatgaccagcagtggtcctctgttt tccctgtttttctggcatcctcctcgtggccatagggaaactgaagaagatgattatgctgtagaattggattgatacc ggatgccccctggagaatggtgctcctcactgtgacacctgaagaagatggtatcacctggacctggaccagagc agtgaggtcttagctctggcaaacctgaccatcaagtaagaagattggagatgctggccagtacacctgcacaa aggagcggaggttctaagcattcctcctcctcctcctcacaagaaagagatggaattggtcactgatatttaagga cagaagaacccaataagaccttctaagatgcgagcgaagaattatctgacgttccagctgttgctgactgagc cgacaatcagctactgattgacattcagtgcaaaagcagcagagcctctctgacccccagggtgacgtgaggagct gctacactctgcagagagatcagaggggacaacaaggagatagtagtactcagtgagtgccaggaggacagctgc ctgccagctgctgaggagctgcccattgaggtcagtggtgagcggcttcacaagctcaagatgaaactacacca

		<p>gcagcttctcatcaggacatcatcaaacctgaccaccaccaagaacttgcagctgaagccattaagaattctcggcag gtggaggtcagctgggagtagctgacacctggagtagtccacattctctctccctgacattctgctgaggtccag ggcaagagcaagagagaaaagaagatagatcttcacggacaagacctgaccacggctatctccgcaaaaatgc cagcattagcgtgcgggccaggaccgctactatagctcatcttggagcgaatgggcatctgtccctgacgtggtggc ggtggctcggcgggtgggtgggtggcggcggatctagaacctccccgtggccactccagacacccaggaatgtt cccatgcttcaccaccctcccaaacctgctgaggccgtcagcaacatgctcccaagaaggccagacaacctgagaatftt accctgacacttctgaagagattgatcatgaagatacacaaaagataaaaccagcacagtggaggcctgtttaccattgg aattaaccaagaatgagagtgcttaattccagagagaccttctcataactaatgggagtgctggcctccagaaaaga cctctttatgatggcctgtgctttagtagtattatgaagacttgaagatgaccaggtggagttcaagaccatgaatgca aagcttctgatggatcctaagaggcagatcttctagatcaaaacatgctggcagttatgatgagctgatgagccctg aattcaacagtgagactgtgccaaaaatctcccttgaagaaccggattttataaaactaaaatcaagctctgcatact tctcatgctttcagaattcggcagtgactattgatagatgatgagctatctgaatgcttcaaacgctggctccgggtg cccgtcagtgggcagagcgcacatcggccagcagccccgagaagttgggggaggggcaati gaaccgttgc ctagagaagggtggcgcggggtfaaacgggaaagtgatgctgtactgctccgcttttcccgagggtgggggaga accgtatataagtgagtagtgcctggaacgttcttttgcacgggttggccagaacacaggtgctgtagcgcg gatccaggcctaagcttacgctgcccaccatggcgtccctgtcaccgactgcttctccgctggcactgctgctgac gctgacggcctgagcaaaaacttattctctgaagaggacctcgaaggtgacgtgctgagagcggcggcggagtgaa gaagcccggcggcagctgaaggtgagctgcaagggcagcggctacacctcagcagactacgagatgactgggtg cggcagggccccggcaggccctggagtgatgggcgcatcccccggcagcggcagaccgctacacaccag cgggtcaaggccgggtgaccatcaccgccaagagcaccagcaccgctacatggagctgagcagctgagcagctgga gcgaggacaccgctgtactactgcccgggttctacagctacgctactggggccaggggcaccctggtgacctga gcggcgggtgagcgggtcaggcggaggtggttctggcgggtggcggatggacatgctgatgaccagacccccctg agcctgcccgtgacccccggcagcccgccagcatcagctgcccggagcagccagacctggtgacagcaacggc aacacctacctgagtggtacctgcagaagcccggcagacccccagctgctgatctacaaggtgagcaaccgggtc agcggcgtgcccgaccggttcagcggcagcggcagcggcaccgactcaccctgaagatcagccgggtggaggccg aggactgggcgtgtactactgcagccagagcatctacgtccctacacctcggccagggcaccagctggagatca aacgtggacaagatgcaagttctgctggatcaaccaggaaataaagatccaacaagctccagacagctgaagctgga caaatggaagaagttcgacaacaagtcctttgtaaaaccaaaccaggttctagcacagagggcaacagcggcggac attcggggaacaacatcctcggttccgaagtggccttattgactcatgtacgtggcagcggccgcttctgctcctgtt ctttgtggctgtgggtgctgctgtcccgaagcggcggcggatgaagctgctgagcagcatcagcagggcctgtga catctgcccgtgaaagaaactgaagtgcagaagaaaagccccagtgcccaagtgctgaagaaactgggaggt gcccgtacagccccagacaagagaagccccctgaccagagcccacctgaccgaggtggaagccggctggaaa gactggaacagctgttctgctgatctcccacgcgaggacctggacatgatctgaagatggacagcctgcaggacatc aagccctgctgaccggcctgtctgctgagacaacgtgaacaaggacgctdfllkisirveadvgvvy csqsiy vp aaccgacatgccccgacctcggcagcagacaatcagcggcaccagcagcagcaggaagcaacaaggg ccagcggcagctgacagtgtctgctgctgagcgggaagcggaggctctggcggatctgatccctggacgactcga cctggatatgctgggcagcggcctggatgatttggatctggacatgctggatctgacgctcggacgatttcgatct cgacatgtgggatcagatgactggatgacttggactggacatgctcggatca</p>
60	GPC3-CAR	<p>evqlvqsgaevkkgpavsvkscasgytfsdymhvwvraqpqqglewmgaihpgsgdtaynqrfkgrvtitadk ststay melsslrsedtavyycarfysyaywgqgtlvtsagggsgggsgggsgsdvmtqplslvptgpepasis crssqslvhsngnty lqwylqkpgqspqlliykvsnrfsgvpdrfsgsgsdftllkisirveadvgvvy csqsiy vp ytfggqtkleikrttpprptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwapladvgtvllsvitlyck rgrkklllyifkqpfmrpvqtteedgcsrfpeeeeggcelrvkfsrsadapayqqgnqlynelnlgrreeydvldk rgrdpemggkpprrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalp pr</p>
61	EGFRvIII-EphrinB2E C 氨基酸序列	<p>diqmtqspsslsasvdrv titchasqdivnigwlqkpgkafkgllyhgknledgvsprfsgsgsdftl tssllq pedfatyy cnqyenipltfqqgtkveikrgggsgggsgggsgsdvqlvesggglvqpqgsrlscavsgysitsdy awnwirqapgkglewly isyrgrtqynpslksrisitrdnsknthflqlnslraedtavyycarmknwdywgqgt lvtsvsgqdassagstrnkdprrleagtngrsstspfvkpnpgsstdgnsaghsnnilgsevalfalmvaaaa fvllffvgcgvllsrkrrmklssieaqdcierlklkcskepkcakclknwecry spktrsprlrahltevesrler leqflifpredlmdlkmldslqdkalltglfvqdnvndavtdrlasvetdmpplrhrhisatssseessnkqqrqt vsaaaggsgsgsdaldldfdldmlgsdaldldfdldmlgsdaldldfdldmlgsdaldldfdldmlgs</p>
62	IL13Ra2-CAR 氨基酸	<p>evqllesggglvqpqgsrlscaasgftfrkyamgwvraqpkkglewvsgisgsvgstyadsvkgfrtisrdnskn lylqmnsraedtavyycakvrygwagafdywgqgtlvtsvsgggsgggsgggsgsdvmtqplslvptgpepasis rvtitcrasqsiswlawyqqkpgkapklliydasslesgvpsrfsrgsgsdftl tssllqpdffatyycqydyppit fgqgtkveikrttpprptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwapladvgtvllsvitlyck wvrskrslrllhsdy mnmtprrpgprkhyqpyapprdfaayrsrvkfsrsadapayqqgnqlynelnlgrreey vldkrrdpemggkpprrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdydalhm qalppr</p>
63	EGFRvIII-EphrinB2E C-IL13Ra2-CAR 核酸	<p>aagcttgatcgaattcggagcactgtctccgaacgtcggagcactgtctccgaacgtcggagcactgtcctccgaa cgtcggagcactgtcctccgaacggagcactgtcctccgaacgtcggagcactgtcctccgaacgactagttagcgtgt acgggtggagggcctatataagcagagctcgtttagtaaccgtcagatcgcctggagacgccatccacgctgtttgacc tccatagaagacaccgggaccgctcagcctctcgaactcgttgatcatgcttaccagctgaccgctgtcctcgc cgtcggcctctgctcctccacggcggcggaggtgcaattctggagctggggagggctgtgtacagcctgggg ggtcctcagactctcctgtgcagcctccgattcacttccgaagtatgcatgggctgggtccgccagcctccaggg aaggggctggagtggtctcaggtattagtgtagtggtgtagcactactcgcagactcctgaagggccgggtca ccatctcagagacaattccaagaacacgctgatctgcagatgaacagcctgagagccgagggacagccgctatata ctgtcgaaagtctgtacgggtgggtgctcaggtgctcactcactggccaaggaacctggtcaccgctcagtg ggtggagggcgttcaggcggaggtggttctggcgggtggcggatcggacatccagatgaccagctcctccaccctgt</p>

		<p>tccatagaagacaccggaccgatccagcctctcgacattcgttgatcatggccttaccagtaccgccttgctcctgc cgctggccttgcctccacgccgccagcccgaggtgcagctgcaggagagcggccccggcctgatcaagcccag ccagaccctgagcctgacctgcaccgtgagcggcggcagcatcagcagcggctacaactggcactggatccggcag ccccggcaaggcctggagtgatcggctacatccactacaccggcagcacaactacaaccccgcctgcggag ccgggtgaccatcagcgtggacaccagcaagaaccagttcagcctgaagctgagcagcgtgaccgccggcacc gccatctactactgcgccggatctacaacggcaacagcttcccctactggggccaccaccctgactgactgagc agcgggtggaggcgggtcagcggaggtggttctggcgggtggcggatcggacatcgtgatgaccagagccccgaca gcctggcctgagcctggcggagcggccaccatcaactgcaagagcagccagagcctgttcaacagcggcaacca gaagaactacctgacctgtaccagcagaagcccggccagcccccaagctgctgatctactggccagcaccggg agagcggcgtgcccgaccggtcagcggcagcggcagcggcaccgacttaccctgaccatcagcagcctgcaggc cgaggacgtggcctgtactactgccagaacgcctacagcttcccctacaccttggcggcggcaccagctggagat caagcggaccagcagccagcggcggcaccaccaacaccggcggccaccatcgcgtcgcagcccctgtccctgcgc ccagagcgtgacctggccagcggcggggggcgcagtgacacagagggggcctgacttgcctgtgatactacatctg ggcggccttggccgggactgtgggtcttctctctgactggtatcacccttactgcaaacgggagcaaaagaac tctgtatataatcaacaaccattatgagaccagtacaactactcaagaggaagatggctgtgactgcccattccaga agaagaagaaggaggtgtaactgagagtgaagttcagcaggagcgcagacccccgcgtaccagcagggccca gaaccagcttataacagctcaatctagagcgaagagaggagtagatgtttggacaagagacgtggccgggacc tgagatgggggaaagccgagagaaagaaaccctcaggaagcctgtacaatgaactgcagaaaataagatg gcggagcctacagtgagattgggatgaaaggcagcggcggaggggcaaggggcagcagatggcctttaccagggtc tcagtacagcccacaaggacacctacgaccccttccatcagcagccctggccccctgcttaagctgaccggtgct ccggtgcccgtcagtgggcagagcgcacatcggccacagctcccagagaagttggggggaggggtcggcaattgaa cgggtgcctagagaaggtggcgggtaaacgggaaagtgtgtgtactggctccgccitttccggagggtggg ggagaaccgtatataagtgcagtagtcgctggaacttcttttcccaacgggttggccgacagacaggtgtctg acgggatccaggcctaagcttacgctgccaccatggcgtccctgtcaccgactgcttctccgctgaccgctgct tgacgctgcacggcctcagatgcagctagtcagcttgggctgaggtgaaagaagcctgggctcagtgaaagtt cctgcaagcacttgatatacacttaccagctactatagcactgggtgcgacagggccctggacaaggcttgagtg gatgggaataatcaaccctagtggtgtagcacaagctacgcacagaagtccagggcagcaccatgaccagggga cacgtccagcagcagctacatggagctgagcagcctgagatctgagacacggcgtgtattactgtcggagtagt cggagtgggactacggtgtaaatcatgatgtttgatactgggggaaaggaccaggtcaccgtctcagtggtg gaggcgggtcagcggaggtggttctggcgggtggcggatcggacatcagttgaccagctccatcctccctgtctg gtctgtaggagacagagtcaccatcacttccgggcaagccaggtcattagccgtgtttagcctggtatcaacaacac cagggaacacctcaaacctgtatgatgctccaattgacagagtggggtcccatcaaggttcagcggcagtgga tctgggacagattcacttaccatcagccgctgcagcctgaagatttgaactttactgtcaacagtttaatagttac ccttcaacttccggcggaggaacaagctggagcaaacgtggacaagatgcaagttctgtggtgactcaaccaggaa aagatccaacaagacgtccagaactagaagctggtacaatggaagaagttcacaacaagctcccttgaaaacaaa tccaggtctagcagacagcggcaacagcggcggacattcgggaaacaacatcctcgttccgaagtgccttattgca ctcatgtacgtggcagcggccgcttctgtctcctgttctttgggctgtggggtgctgctgtcccgcaagcggcggc gatgaagctgctgagcagcagcagcagcctgtgacatctggcgtgaaagaactgaagtgagcaaaagaaagc ccaagtgcgcaagtgccggaagaacactgggagtgccggtacagcccccaagaccaagagaagccccctgaccag agcccacctgaccgagtggaagccggctggaagactggaacagctgttctgctgatctcccagcggagacct ggacatgatcctgaaagatggacagcctgcagacatcaagccctgctgacagcctgtctgagcagcaagctgaa caaggacggcgtgaccgacagactggcagcgtggaaccgacatgccccgacccctgcccagcagcaagatcagc ggcaccagcagcagcaggaagcagcaacaaggccagcggcagctgacagtgctgctgctgagcgggaaagc ggaggctctggcggatctgatccctggacgacttcgacctggatgctgggagcagcggcctggatgatttgatct ggacatgctgggatctgacgctcggacgatttcgatctcgcacatggtgggatcagatgactggatgactttgactgga catgctcggatca</p>
69	Mesothelin-synEphrin B2EC- Claudin18.2-CAR-IL 7	<p>aagcttgatcgaattcggagcactgtctccgaacgtcggagcactgtcctccgaacgtcggagcactgtcctccgaa cgtcggagcactgtcctccgaacggagcactgtcctccgaacgtcggagcactgtcctccgaacgactagttaggcgtg acggtgggagggcctatataagcagagctcgtttagtgaaaccgtcagatcggcctggagagccatccacgctgtttgacc tccatagaagacaccggaccgatccagcctctcgacattcgttgatcatggccttaccagtaccgccttgctcctgc cgctggccttgcctccacgccgccagcccgaggtgcagctgcaggagagcggccccggcctgatcaagcccag ccagaccctgagcctgacctgcaccgtgagcggcggcagcatcagcagcggctacaactggcactggatccggcag ccccggcaaggcctggagtgatcggctacatccactacaccggcagcacaactacaaccccgcctgcggag ccgggtgaccatcagcgtggacaccagcaagaaccagttcagcctgaagctgagcagcgtgaccgccggcacc gccatctactactgcgccggatctacaacggcaacagcttcccctactggggccaccaccctgaccctgagc agcgggtggagcgggtcagcggaggtggttctggcgggtggcggatcggacatcgtgatgaccagagccccgaca gcctggcctgagcctggcggagcggccaccatcaactgcaagagcagccagagcctgttcaacagcggcaacca gaagaactacctgacctggtaccagcagaagcccggccagcccccaagctgctgatctactggccagcaccggg agagcggcgtgcccgaccggtcagcggcagcggcagcggcaccgacttaccctgaccatcagcagcctgcaggc cgaggacgtggcctgtactactgccagaacgcctacagcttcccctacaccttggcggcggcaccagctggagat caagcggaccagcagccagcggcggcaccaccaacaccggcggccaccatcgcgtcgcagcccctgtccctgcgc ccagagcgtgcccggcagcggcggggggcgcagtgacacagaggggctggacttccctgtgatactacatctg ggcggccttggccgggactgtgggtcttctctctgactggtatcacccttactgcaaacgggcaaaagaac tctgtatataatcaacaaccattatgagaccagtacaactactcaagaggaagatggctgtgactgcccattccaga agaagaagaaggaggtgtaactgagagtgaagttcagcaggagcgcagacccccgcgtaccagcagggccca gaaccagcttataacagctcaatctaggacgaagagaggagtagatgtttggacaagagacgtggccgggacc tgagatgggggaaagccgagagaaagaaaccctcaggaagcctgtacaatgaactgcagaaaataagatg gcggagcctacagtgagattgggatgaaaggcagcggcggaggggcaaggggcagcagatggcctttaccagggtc tcagtacagcccacaaggacacctacgaccccttccatcagcagccctggccccctgcgctactaactcagcctgct</p>

		<p>gaagcaggctggagacgtggaggagaaccctggacatgttccatgttcttttaggtatctttggacttctcccctg atcctgttctgttccagtagcatcatctgattgtgatattgaaggtaaatggcaacaatatgagagtgttctaatggc agcatcgtatcaattattggacagcatgaaagaaattgtagcaattgctgaataatgaatttaacttttttaaaagacatct tgtgatgctaataaggaaggtatgttttattccgtgctgctcgaagttgaggcaatttcttaaatgaatagcactgggtgat ttgatctccacttataaaagttcagaaggcacaacaatactgttgaactgcaactggccaggttaaagggaagaaaacca gctgccctgggtgaaagcccaaccaaaagagtttgaagaaaataaactttaaaggaaacagcaaaaaactgaatgact tgttttctaaagagactattacaagagataaaaaactgttgaataaaattttgatgggactaaagaacactagtaagct agccgatggctccgggtcccgtcagtgggcagagcgcacatgccacagtcgccgagaagtggggggagggggtc ggcaattgaaccgggtgcttagagaaggtggcgcgggtaaaactgggaaagtgatgctgtgactggctccgcttttcc ccgagggtgggggagaaccgtatataagtgacagtagtcgctggaactgttcttttgcacgggttggccccaagc acaggtgctgtagcgcggatccagcctaagcttacgctgcccaccatggcgtccctgtcaccgactgcttcttccgc tggcactgctgctgcacgctgcacggcctcagatgcagctagtcagcttggggctgaggtgaagaagcctggggcct cagtgaaagtttctgcaaggcatctggatcaccttaccagctaciatatgactgggtgcaagccttggcctgcaaa gggcttgatggatgggaataatcaaccctagtgggtgtagcacaagctacgcacagaagtccagggcagagtcacc atgaccaggacacgtccacgagcacagctacatggagctgagcagcctgagatctgaggacacggcctgtattac tgtcagtagtggagtgggactacgggtgtaaatcatgatgcttttgatactgggggaaagggaccacggcaccgt ctcagtggtggaggcggttcaggcggaggtggttctgcccgggtggcggatccagatccaggtgaccagcttccatc ctcctgtctgctgttaggagacagagtcaccatcacttgcgggcaagccaggtcattagccgtgcttttagcctgta tcaacaaaccagggaaccctctaaactcctgatctatgatgctcctaatttgcagagtgggtcccatcaaggtttag cggcagtggaatgggacagatttctacatccacagccgctgagcctggaagctgacttctgacttctgacttccac gtttaaagtaccctctcacttctggcggaggaccagctggagatcaaacgtggacaagatgcaagtctgctggatc aaccaggaataaagatccaacaagacgtccagaactagaagctggtaacaatggaagaagctgacaacaagtccttt gtaaaaccaaatccaggttctagcacagacggcaacagcggcggacattcggggaacaacatcctcggttccgaagt gcttatttgcactcatgtacgtggcagcggccgcttctgctcctgttcttttgggctgtgggggtgctgtctccgca agcggcggcggatgaagctgctgagcagcatcagcagggcctgtgacatctgcccggctgaagaaactgaagtgcagc aaagaaaagcccaagtgcgccaagtgcctgaagaacaactgggagtgccggtacagcccaagcaagaagacc cctgaccagaccaccctgaccgaggtggaagccggctggaagagactggaacagctgttctgctgacttctccac gcgaggacctggacatgacctgaagatggacagcctgcaggacatcaagccctgctgaccggcctgttcgtgagg acaacgtgaacaagacgccgtgaccgacagactggcagcgtggaaccgacatgcccctgacctgcccagca cagaatcagcggcaccagcagcagcgggaaagcagcaacaaggccagcggcagctgacagtgtctgtctgca ggcggaaagcggaggtctgcccggatctgatcccctggacgacttccagctggatgctggcagcagcggcctggat gattttagctggacatgctgggactgacgctcggacgatttcgatcgcacatgttgggacagatgacactggatgact ttgacctggacatgctcggatca</p>
70	Mesothelin-synEphrin B2EC- Claudin18.2-CAR-IL 7-CCL21	<p>aagcttgatcgaattcggagcactgtctccgaacgtcggagcactgtcctccgaacgtcggagcactgtcctccgaa cgtcggagcactgtcctccgaacggagcactgtcctccgaacgtcggagcactgtcctccgaacgactagttaggcgtgt acggtgggagggcctatataagcagagctcgttttagtaaccgtcagatcgcctggagacgccatccacgtgtttgacc tccatagaagacaccgggaccatccagcctctcgcacatcgttggatcatggccttaccagtgaccgcttctcctg cgtggccttctgctccacgccgccagggcaggtgacgtgacagcagcagggagcggccccggcctgatcaagccag ccagacctgagcctgacctgaccgtgagcggcggcagcagcagcagcggctacaactggcactggatccggcag ccccggcaaggcctggagtgatggctacatccactacaccggcagcacaactacaaccccgccctgaggag ccgggtgaccatcagcgtggacaccagcaagaaccagttcagcctgaagctgagcagcgtgaccggccggcagacc gcaatctactgcccggatctacaacggcaacagcttcccctactggggccagggcaccctgacctgacctgtagc agcgggtggaggcggctcagcggaggtggttctggcgggtggcggatcggacatcgtgatgaccagagccccgaca gcctggcctgagcctgggcgagcggccaccatcaactgcaagagcagcagcagcagcctgttcaacagcggcaacca gaagaactacctgacctgtaccagcagaagcccggcagcccccaagctgctgatctactggccagcaccggg agagcggcgtgcccgaccggtcagcggcagcggcagcggcagcggcagcggcagcggcagcggcagcggcagc cgaggacgtggcctgtactactgcccagaacgctacagcttcccctacaccttggcggcggcacaagctggagat caagcggaccagcagcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggc ccagagcgtgcccggcagcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggc ggc tctgtatataaacaaccattatgagaccagtacaactactcaaggaagatgctgtgactgcccatttccaga agaagaagaagagatgtgaactgagagtgaagttagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagc gaaccagcttataacagctcaatctaggacgaagagaggatgattttggacaagagacgtggccgggacc tgagatgggggaaagccgagagaaggaaccctcaggaagcctgtacaatgaactgcaaaaagataagatg cgggagcctlacagtgagattgggatgaaagcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggc tcagtacagcccaaggacacctacgacgcccctcacatgcaggccctgccccctgcgctactaactcagcctgct gaagcaggctggagacgtggaggagaaccctggacatgttccatgttcttttaggtatctttggacttctcccctg atccttgttctgttccagtagcatcatctgattgtgatattgaaggtaaatggcaacaatatgagagtgttctaatggc agcatcgtatcaattattggacagcatgaaagaaattgtagcaattgctgaataatgaatttaacttttttaaaagacatct tgtgatgctaataaggaaggtatgttttattccgtgctgctcgaagttgaggcaatttcttaaatgaatagcactgggtgat ttgatctccacttataaaagttcagaaggcacaacaatactgttgaactgcaactggccaggttaaagggaagaaaacca gctgccctgggtgaaagcccaaccaaaaagagtttgaagaaaataaactttaaaggaaacagaaaaaactgaatgact tgttttctaaagagactattacaagagataaaaaactgttgaataaaattttgatggcactaaagaaacagaggca gaggaaagtctgtaacatcggtgacgtcggagagaatcctggacatgtgctcagctcactggctctgagcctcttct ctggttctggcctttggcatccccagaccgaagcagtgatggaggggctcaggactgttgcctcaagtacagccaaa ggagattcccgaaggttccgagctaccggaagcaggaaccaagcttaggctgctccatcccagctatcctgtt cttccccgcaagcgtctcaggcagagctatgtcagaccaaaaggagctctgggtgcaagcagctgatgacagatct ggacaagacaccatccccacagaaccagccagggctcaggaagggacaggggggcccctcaagactggcaagaa aggaaaggcctcaaaaggctgcaagaggactgagcggcagacacccctaaaggccatagtaagctagccgatgg</p>

		<p>ctccgggtcccgtcagtgaggcagagcgcacatcgcacacagtcctccgagaagtggggggagggggtcggcaattgaa ccggtgcctagagaaggtggcgcgggtaaaactgggaaagtgatgctgtgactggctccgccttttccagggggtgg gggagaaccgtatataagtgtagtgccgtgaacgttcttttcccaaccgggttggccccaagaacacaggtgctgt gacgcggatccaggccaaagcttacgctgccaccatggcgtccctgtcaccgcaactgcttctccgctggcactgctg ctgcacgctgcacggcctcagatgcagctagtgacgtctggggctgaggtgaagaagcctggggcctcagtgaaaggt tcctgcaaggcatctggatacaccttcaccagctactatagcactgggtgacacggccctggcaacagggttgagtg gatgggaataatcaaccctagtgggtgtagcacaagctacgcacagaagttccaggcagagtcaccatgaccaggga cacgtccacgagcacagctacatggagctgagcagcctgagatctgagacacggcctgtattactgtgcgagtagt cggagtgggactacgggtgtaaatcatgatgcttttgatactggggaaaggaccacggctaccgtctgagtggtg gaggcgggttcaggcggagggtggttctggcgggtggcggatcggacatccagttgaccacgtccatcctccctgtctg gtctgtaggagacagagtcaccatcactgcccggcaagccaggtcattagccgtgctttagcctggatcaaaaacac cagggaacctcctaactcctgatctatgatgctcccaattgacagagtggggtccatcaaggttcagcggcagtgga tctggacagatttcaactcaccatcagccctgcagcctgaagatttgcacactgtctgctgctgacacaggttcaatg cctctcactttcggcggaggaccagctggagatcaaacgtggacaagatgcaagttctgctggatcaaccaggaaata aagatcaacaagacgtccagaactagaagctggtacaaatggaagaagttcgacaacaagtcctttgtaaaacaaa tccaggttctagcacagacggcaacagcggcggacatcggggaacaacatcctcggttccgaagtggcctatttgc ctatgtactgtggcagcggccctctgctcctgttctttggggctgtgggggtgctgctgcccgaagcggcggcg gatgaagctgctgagcagcagcagcagcctgtgacatctggcggctgaagaaactgaagtgcagcaaaagaaagc ccaagtgcgcaagtccctgaagaacaactgggagtgccggtacagcccaagcaagagaagagcccccctgaccag agcccactgaccgaggtggaagcggcctggaaagactggaaacagctgttctgctgctgacacagcggagcact ggacatgacctgaagatggacagcctgacggacatcaaggcctgctgaccggcctgtctgctgagcagaacgtgaa caaggacggcgtgaccgacagactggcagcgtggaaccgacatgcccctgaccctgaggcagcacagaatcagc gcccaccagcagcagcaggaagcagcaacaaggccagcggcagctgacagtgctgctgctgagcggcgaagc ggaggtctgaggatctgatccctggacgacttcgacctggatgctgggacagcagcggcctggatgatttggatct ggacatgctgggatctgacgctgacgatttcgacatgctgacatgtgggatcagatgactggatgacttggactgga catgctcggatca</p>
71	FAP-synEphrinB2EC-Claudin18.2-CAR	<p>aagcttgatcgaattcggagcactgtctccgaacgtcggagcactgtcctccgaacgtcggagcactgtcctccgaa cgtcggagcactgtcctccgaacggagatgtcctccgaacgtcggagcactgtcctccgaacgactagttaggcgtgt acggtgggaggcctatataagcagagctgttttagtaaccgtcagatcgcctggagacgccatccacgtgttttgacc tccatagaagacaccgggaccatccagcctctcgaactcgttgatcatggcctaccagtgaccgcctgctcctg cgtggccttctgctccaccccagggcaggtgacgctgacggagagcggccccggcctgatcaagcccag ccagacctgagcctgacctgacgtgagcggcggcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagc ccccggcaagggcctggagtgatcggctacatccactacaccggcagcacaactacaaccccgcctgaggag ccgggtgacctacgctggacaccagcaagaaccagttcagcctgaagctgagcagcgtgaccgccggcagcacc gcaatctactactgcccggatctacaacggcaacagcttcccactggggcagggcaccaccgtgaccgtgagc agcgggtggaggcgggtcagcggaggtggttctggcgggtggcggatcggacatctgatgaccagagccccgaca gcctggcctgagcctggcggcggcggccaccatcaactgcaagagcagccagagcctgttcaacagcggcaacca gaagaactacctgacctgtaccagcagaagcccggcagcccccaagctgctgatctactggccagcaccggg agagcggcgtgcccgaccggtcagcggcagcggcagcggcagcggcagcggcagcggcagcggcagcggcagc cgaggacgtggcctgtactactgcccagaacgctacagcttcccctacacctcggcggcggcaccagctggagat caagcggaccacgacggcagcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggc ccagagcgtgcccggcagcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggc ggcggccttggcgggactgtggggtccttctctgctactggtatcacccttactgcaaacggggcagaagaac tctgtatataatcaacaaccattatgagaccagtacaactactcaaggaagatgctgtgactgcccatttccaga agaagaagaaggagatgtgaactgagagtgaagtgcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagc gaaccagctctataacagctcaatctaggacgaagagaggatgactggtttggacaagagacgtggccgggacc tgagatgggggaaagccgagagaaggaaccctcaggaagcctgtacaatgaactgcagaaaagataagatg cgggagcctacagtgagattgggatgaaagcggcggcgggagggggcagggcagcagcttaccagggtc tcagtacagcccacaaggacacctacgaccccttcacatgacagcggccttggccctgctagtaagctagccgtg ccgggtcccgtcagtgggcagagcgcacatcggccacagtcctccgagaagtggggggagggggtcggcaattgaa cgggtgcctagagaaggtggcgggtaaacgggaaagtgatgctgtgactggctccgccttttccagggggtgg ggagaaccgtatataagtgtagtgcgggtgaacgttcttttcccaaccgggttggcggcagaacacaggtgctg acgggatccaggcctaagcttacgctgccaccatggcgtcctctgaccgcaactgcttctccgctggcactgctg tgacgtgacggcctcaggtgcaattgggtcagctctggggtgaggtgaagaagcctgggtcctcgtgaaaggtc ctgcaagcctccggagggcacatcagcagctacgctataagctgggtgcgacagggcccctggacaaggcctcag ggatgggagggatcctccatcttggtagcacaactacgcacagaagttccaggcaggggtcaccattactgcaga caaatccacgagcacagcctacatgagctgagcagcctgagatctgaggacaccggcgtattactgtgcgagaga tgctgctgataggactactggggccaaggaccaccgtgaccgtctctcaggtggaggcgggtcagcggagggtg gttctggcgggtggcggatcggatattttatgactcaatctccactgtctctgcccgtgactccagggcaaccggc atcttctgcccgttccagccagctctgcttaccaccaacggcttcaaccatctatttggctacctgcaaaaaccgg gctcagctgctgatctagtgggggtaaccgcgttccgggtgaccggaccgttccagggcctggatccggcag cgttttggctcaaggcacaaggtcgaattaaacgtggacaagatgcaagttctgctgctgacacacaggaataaac caacaagacgtccagaactagaagctgtgacaatggaagaagttcgacaacaagtcctttgtaaaacaaatccagg ttctagcacagcggcaacagcggcggacatcggggaacaacatcctcggttccgaagtggcctatttgcactcat acgtggcagcggcggcctctgctcctgttcttgggctgtggggtgctgctgctcccgaagcggcggcggatgaa gctgctgagc gcgcaagtgctgaaagaacactgggagtgccggtacagcccccaagcaagagaagccccctgaccagagccca cctgaccgaggtggaagccggctggaagactggaacagctgttctgctgacttcccacgcgaggacctggacat</p>

		gatcctgaagatggacagcctgcaggacatcaaggccctgctgaccggcctgtctgtgcaggacaactgaacaagga cggcctgaccgacagactggccagcgtggaaccgacatgccctgaccctgaggcagcagcaatcagcggcacc agcagcagcgaggaaagcagcaacaaggccagcggcagctgacagtgtctgtctgcaggcggaaagcggaggc tctggcgatctgatgccctggacgacttcgacctggatgctggcgagcagccctggatgatttgcctggacat gctgggatctgacgctctggacgatttcgatctcgcacatggtgggatcagatgcactggatgactttgacctggacatgct cggatca
72	Claudin 18.2-synEphri nB2EC-Mesothelin-C AR	aagcttgatcgaattcggagcactgtctccgaacgtcggagcactgtctccgaacgtcggagcactgtctccgaa cgtcggagcactgtctccgaacggagcactgtctccgaacgtcggagcactgtctccgaacactagttaggcgtgt acggtgggagcctatataagcagagctcgttttagtaaccgtcagatcgctggagacgccatccacgctgtttgacc tccatagaagacaccgggaccgatccagcctctcgcacattcgttgatcatggccttaccagtgaccgacctgtctctgc cgtggccttgcctccacgccggcggcggcagatgcagctagtgcagcttggggctgaggtgaagaagcctggg gcctcagtgaaggcttctgcaaggcacttgatacacctcaccagctactatagcactgggtgcgacagggccctgg acaaggcttgatggatgggaataatcaaccctagtggtgtagcacaagctacgacagaagttccagggcagagt caccatgaccagggacacgtccacgagcacagctacatggagctgagcagcctlgagatctgaggacagggcgtgt attactgtcgagtagtgaggaggactacgggtgtaaatcatgatgctttgatctggggaaagggaccacggctc accgtctcagtggtggaggggttcaggcggaggtggtctggcgggtggcggatggacatccagttgaccagctc ccatctccctgctcgtctgtaggagacagatcaccatcactgcccggcgaagccaggtcattagccgtgctttagc ctggtatcaacaacaccaggaaacctcctaactcctgatctatgatgctccaalltgcagagtggggteccatcaag gttcagcggcagtgatgggacagattcactctcaccatcagccgctgcagcctgaagtttgcacttattactgt caacagtttaatagttaccctctcacttccggcggagggaccaagctggagatcaaacgtaccacgacggcagcggcgc gaccaccaacaccggcggccaccatcgcgtcgcagccctgtccctgcccagagcgtgcccggcggcggcgg ggggcgcagtgacacagggggctggactcgcctgtgatctacatctggcgcccttggccgggacttggggg tccctctctgactggttatcacccttactgcaaacggggcagaagaactcctgtatataatcaacaacaccattatg agaccagtacaactactcaagaggagatggctgtagctgcccatttccagaagaagaagaaggagatgtaactg agagtgaattcagcaggagcgcagacgccccgcgtaccagcagggccagaaccagctctataacgagctcaatc aggacgaagagaggagtacgatgtttggacaagagacgtggccgggaccctgagatgggggaaagccgcagaga aggaagaacctcaggaaggcctgtacaatgaactgcagaagaataagatggcgaggcctacagtgaagtggat gaaagcgcagcggcggaggggcaaggggcacgatggcctttaccagggctcagctacagccaccaagcaccctac gacggcctcactcagggcctgccccctcgtagtaagctagccgatggctccgggtgccgtcagtgggcagagcg cacatcggccacagctcccgagaagtggggggaggggtcggcaattgaaccggctgcttagaagaagtgccgccc gtaaacgggaaagtgatgctgttactggcctccgcttttcccagggtgggggagaaccgtatataagtgcaagtagt cgccgtgaacgttcttttgcacgggttggccgcaaacacaggtgctgacgcggatccaggccctaagcttacgc gtcttagcgtaccggcggccaccatggccttaccagtaccgcttgcctctgcccgtggccttgcctccacggcgc caggccgcaggtgcaagctcagggagcggccccggcctgatcaagcccagccagcactgagcctgaccctgacc gtgagcggcgcagcagcagcagcggctacaaactggcactggatccggcagccccccggcaaggcctggagtgg tcggctacatccactacaccggcagcaccatacaccggcctgcccggagccgggtgaccatcagcgtggacacc agcaagaccagttcagcctgaagctgagcagcgtgaccgcccggcagaccgcatctactactgcccggatctac aacggcaacagttccctactggggcagggcaccaccgtgaccgtgagcagcgggtggagcgggttcagcgggag gtggttctggcgggtggcggatcggacatcgtgatgaccagagccccgacagcctggccgtgagcctggggcagcgg ggcaccatcaactgcaagagcagcagagcctgtcaacagcggcaaccagaagaactacctgacctggtaccagca gaagcccggcagcccccaagctgctgatctactggccagcaccgggagagcggcgtcccggaccgcttcagc ggcagcggcagcggcaccgactcaccctgaccatcagcagcctgcagcccagagcagctggccgtgtactactgcca gaagcctacagcttccctacaccttggcggcggcaccagctggagatcaagcgggacaagatgcaagtctgc tggatcaaccaggaataaagatcaacaagacgtccagaactagaagctggtacaatggaagaagttcgacaacaag tcccttgtaaaaccaatccagttctagcacagcggcaacagcggcgacattcggggaacaacatcctcggtcc gaagtggccttattgactcatgtacgtggcagcggccgcttctgctcctgtcttctgttgggtgtggggtgctgt cccgcaagcggcgggatgaagctgctgagcagcagcagcagcctgtgacatctggcgctgaagaactgaag tgcagcaaaagaaagcccaagctgcgcaagctgcaagaactgggagctggcgtgacagcccaagcacaaga gaagccccctgaccagagccaccctgaccgaggtggaagccggctggaagactggaacagctgttctctgatct tcccacgcgaggacctggacatgatctgaagatggacagcctgcaggacatcaaggcctgctgaccggcctgttcg tgcaggacaactgaaacaaggacggcgtgaccgacagactggcagcgtgaaaccgacatggcctgacctgccc gcagcagaaatcagcggcaccagcagcagcaggaaagcagcaacaaggccagcggcagctgacagtgtctgc tgcagcagcgggaagcggagcctgctgcccgtgatgcccctggacgacttcacctggatgctggcgagcagcgc cctggatgatttgcctggacatgctgggatgacgctctggacgatttcgatctcgcacatggtgggatcagatgcactg gatgactttgacctggacatgctcggatca
73	CLL1-synEphrinB2E C氨基酸序列	evqlvqsgaevkpkpvasvkvscasgytfnsyymhwrqapqqlwmgifnpgggstsy aqkfqgrv tmdtrd tststvy melsslrsedtavyycargtsdafdiwqgqtmv tvssgggsgggsgggsggsdiqm qspsslsasv gd rvtitcrasqissy lnwyyqqkpkapklidvasslqsvpsrfsqsgsgtdf lltisslqpedfatyycqqsy stplf g gkveikrgqdassagstrnkdprrpeleagtngrsstspfv kpnpgsstd gnsahsgnmlgsevalfalmy va aaafvllffv gcvllsrkrmmkl lssieqacdiclklkkskepkcakclknwecry spktrsp ltrahlteves rlerleqflifpredldmilk mdsldqikal lgtlfdv nkdavtdrlasvetdmp ltrhrisatssseessnk gq rqltv saaagsgsgsdal ddfldmlgsdal ddfldmlgsdal ddfldmlgsdal ddfldmlgs
74	CLL1-synEphrinB2E C-NG2D-CAR	aagcttgatcgaattcggagcactgtctccgaacgtcggagcactgtctccgaacgtcggagcactgtctccgaa cgtcggagcactgtctccgaacggagcactgtctccgaacgtcggagcactgtctccgaacactagttaggcgtgt acggtgggagcctatataagcagagctcgttttagtaaccgtcagatcgctggagacgccatccacgctgtttgacc tccatagaagacaccgggaccgatccagcctctcgcacattcgttgatcatgagagtgaagticagcaggagcgcaga cggccccgctaccagcagggccagaaccagctctataacgagctcaatcagacgaaagagaggatgactgtttt ggacaagagacgtggcgggaccctgagatgggggaaagccgagagaaagaaaccctcaggaaggcctgta caatgaactgcagaagataagatggcgggaccctacagtgagattgggatgaaggcagcggcggaggggcgaag

		gggcacgatggcctttaccagggtctcagtagccaccaaggacacctacgacgcccttcacatgcaggccctgccc cctcgccgggtggattcgtggcggaggtctc gacacagctgggagatgagtgaaattcataaatttaacttgatctgaa aagagtgtattttcaacacgatggcaaaagcaaatgtccagtagtcaaaagcaaatgtagagaaaatgcattccatt ttttctgctgctcctcgtgtgacctgggaatccgtttcattatggtagctatagagagtgctgtattcctaaactcatt attcaaccaagaagtcaaatcccttgaccgaaagtactgtggccatgtcctaaaaagtggaatgttacaataaac tgctaccaattttgatgagagtaaaaactggtatgagagccaggctctgtatgtctcaaaatgccagcctctgaaagt atacagcaaaaggaccaggatttactaaactggtgaagtcataatcattggatgggactagcacattcaacaatgg atcttggcagtgggaagatggctccattctcaccacaactactaacaataatgaaatgcagaaggagactgtgcact ctatgcctcgagctttaaaggctatagaaaactgttcaactcacaatctacatctgcacgcaaaaggactgtgtaagct agcatcgatggctccgggtgcccgtcagtgggcagagcgcatcgcacacagctcccagaaagttggggggagggg tcggcaattgaaccgggtgcttagagaagtgccgaggggtaaaactgggaaagtgtgctgtgactggctccgcctttt ccgaggggtgggggagaaccgtatataagtgcagtagtcgccgtaacgttcttttgcacaggggttggccgcaaa cacaggtgtgtagcggagaccggcttaagcttacgcgtcctagcgtcctacagcattgacacacatggcctcaagtga ccgactgctcttccgctggcactgctgctgcacgctgcacggcctgaggtgcagctggtgcagctggggctgaggt gaagaagcctggggcctcagtgaaagttcctgcaaggcatctggatacactcaacagctactatagcactgggtgc gacaggccccggacaaggccttgatggatgggaatattcaaccctgggtggtagcacaagctacgcacagaagt tccagggcagagtcaccatgaccagggacacgtccacgagcacagctctacatggagctgagcagcctgagactgag gacacggcctgtatctgtgcagaggaactacatccgactgtttgatctggggcaaggacaatggtcaccgt ctcaggtggtggagcgggtcaggcggaggtggttctggcgggtggcggatcggacatccagatgaccagctccatc ctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttggcggcaagtccagcattgacacacatgaaatggtat cagcagaaccaggaaaagcccctaagctcctgatcgtcgcacatcatttcaaaagtggggtccatcaaggttca gtggcagtggactgggacagattcactctaccatcagcagctgcaacctgaagatttgaacttactactgtcaaca gagttacagtaccctctcacttccggcggagggaccaaggtggagatcaaacgtggacaagatgcaagttctgctgga tcaaccaggaataaagatccaacaagacgtccagaactagaagctggtacaaatggaagaagttcacaacaagttcc tttgaatacaaatccaggttctagcacagacggcaacagcggcggacatcggggaacaacatcctcggttccgaag tgcccttattgcactcatgtacgtgcagcggccctcgtgctcctgttcttgggctgtgggtgctgctgtccc caagcggcgatgaagctgctgagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagc gcaaaagaaagcccaagtgcgcaagtgcctgaagaacaactggagtgccggtacagcccaagaccaagaagaag ccccctgaccagagccacctgaccgaggtgaaagccggctgaaagactggaacagctgttctgctgacttcca cgcgaggacctggacatgacctgaagatggacagcctgcaggacatcaaggccctgctgaccgacctgtcgtgcag gacaactgaaacaaggacgctgaccgacagactggcagcgtgaaaccgacatgccccgacctgcccggcagc acagaatcagcggccaccagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagc aggcggaaagcggagcctctggcggatctgatccctggagacttcgacctggatgctgggcagcagcagcctgg atgatttgcactgacatgctgggactgacgctctggacgatttcgatctgcacatgttgggatcagatgcactggatga ctttgacctggacatgctcggatca
75	CD8铰链区	tttprprrptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacd
76	CD8跨膜区	iyiwaplagtcgvllslvitlyc
77	CD28跨膜区	fwvllvvvgvlacyslvtvafiiwv
78	CD28胞内区	rskrsrllhsdy mnmtprrpgptrkhy qpy apprdfaayrs
79	4-1BB	krgrklllyifkqpfmrvpqtteedgcsrfpeeeeggcel
80	CD3ζ	rvkfsrsadapayqqgnqlynelnlgrreeydvldkrrrdpemggkpprrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkge rrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalppr
81	CD8α信号肽	malpvtallplallhaarp
82	2BZ	tttprprrptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdfwvllvvvgvlacyslvtvafiiwvrskrsrllh sdy mnmtprrpgptrkhy qpy apprdfaay rsvkfsrsadapayqqgnqlynelnlgrreeydvldkrrrdpe mggkpprrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalppr
83	BBZ	tttprprrptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvllslvitlyckrgrklllyifkq pfmrvpqtteedgcsrfpeeeeggcelrvkfsrsadapayqqgnqlynelnlgrreeydvldkrrrdpemgg kpprrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalppr
84	28BBZ	tttprprrptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdfwvllvvvgvlacyslvtvafiiwvrskrsrllh sdy mnmtprrpgptrkhy qpy apprdfaay rskrgrklllyifkqpfmrvpqtteedgcsrfpeeeeggcelrv kfsrsadapayqqgnqlynelnlgrreeydvldkrrrdpemggkpprrknpqeglynelqkdkmaeayseig mkgerrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalppr
85	synEphrinB2EC-8 受体调控结构域	gqdasagstrnkdprrpeleagtnrsstspfvkpnpgsstgnsaghsnnglgevalfafmyvaaaafvlff vgcgvllsrkrrr
86	anti CD123-scFv	evqllesggglvppgslrlscaasgftfssyamswvrqapqglewvsaissggststyadsvkgrftisrdnsknt lylqmnsraedavyycakddsfyggfdywgqgtlvtsagggsgggsgggsgggsdiqmtqspstlsasvdrvt itcrasqsiswlawyqqkpgkapklliydasslesgvpsrfsrgsgstefltilsslpddfatyycqqyssykytfgq gtkveikr
87	GPC3-EphrinB2EC 氨基酸序列 (包括人 synotch跨膜)	eqkliseedlevqlvqsgeavkkpgasvkscasgytfsdyemhwvrqapqglewmgaihpgsgdtaynqrf kgrvttitadkststaymelsslrseadvyycafyisyaywgqgtlvtsagggsgggsgggsgggsdivmtqtplslp vtpgepasiscrssqslvhsngntylwyllqkpgqspqlliykvsnrfsyvpdrfsgsgstgdfilksrveaedvyy ycsqsiyvpytfgqgtkleikrgqdasagstrnkdprrpeleagtnrsstspfvkpnpgsstgnsaghsnngl sevalfafmyvaaaafvlffvcgvllsrkrrmkllssieqacdicrllkksckekpkcakclknmwecryspk rspltrahltevesrlerleqllifpredldmilkmdslqdikalltglfvqdmvndavtrlasvetdmppltrqhris atssseessnkqqrqlvsaaggsgsggsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgsdalddfdl dmlgs

88	CD123-synEphrinB2 EC-NKG2D-CAR	aagcttgatcgaattcggagcactgtcctccgaacgtcggagcactgtcctccgaacgtcggagcactgtcctccgaa cgtcggagcactgtcctccgaacggagcactgtcctccgaacgtcggagcactgtcctccgaacgactagtaggcgtgt acgggtgggagccatataagcagagctcgttttagtaaccgtcagatcgcctggagacgccatccacgctgttttgacc tccatagaagacaccgggaccgatccagcctctcgaattcgttgatcatgagatgaattcagcaggagcgcaga cgccccgcgtaccagcaggccagaaccagctctataacgagctcaatctaggacgaagagagagtagatgatttt ggacaagagacgtggccgggaccctgagatgggggaaagccgcagagaaggaacccctcaggaaagccctgta caatgaactgcagaaagataagatggcggaggcctacagtgagattgggatgaaagcgcagcggcggaggggcaag ggcacgatggcctttaccagggtctcagtagcagccaccaaggacacctacgacgcccttcacatgcagccctgccc cctcgcgggtggattcgtgctggaggtctcgcacagcgtgggagatgagtgaaattcataaattataacttgatcgaag aagagtgtttttcaacacgatggcaaaagcaaatgtccagtagtcaaaagcaaatgtagagaaaatgcattccattt ttttctgctgctcctcgtgtagccatgggaatccgtttcattattatggtagctataggagtgctgtattcctaaactcatt attcaaccaagaagtcaaatcccttgaccgaaagtactgtggccatgtcctaaaaactggatgtttacaaaaataac tgclaccaattttgatgagagtaaaaactggtatgagagccagccttctgtatgctcaaaatgccagccttcaaatg atacagcaaaaggaccaggatttactaaactggtagatcattcattggatgggactagtagacattcaacaatgg atcttggcagtggaagatggctcattctcaccacactactaacaataatgaaatgcagaaaggagactgtgcact ctatgcctcagctttaaaggctatatagaaaactgtcaactcacaatcgtacatcgcagcaaaaggactgtgtaagct agcatcagtggtccggtgcccgtcagtgggcagagcgcacatcggccacagctcccagaaagttggggggagggg tcggcaattgaaccggtgcttagagaagtgccggggtaaaactgggaaagtgtcgtgtagtgcctccgcttttt ccgaggggtggggagaaccgtatataagtcagtagtcgccgtgaacgttcttttcgcaactgggttggccgcaaga cacaggtgtcgtgacggatccagcctlaagcttacgcgtcctagcctcagcctccacatgctaccagcttaccagtga ccgcttctcctgccctggcctgctgctccacgccgagccggaggtgcaattgctggagctggggggagggct ggtacagcctgggggtcctgagactcctgtgcagcctccgattcaccttagcagttatgcatgagctgggtcc gccagcctccaggaaggggctggagtggtcagctattagtgtagtggtgtagcactactacgcagactccgt gaaggccggttaccatctccagagacaattcaagaacacgctgtatctgcagatgaacagcctgagagccgagga cacggccgtatattctgtcgaagaatgattctttctacgggtggttctgactactgggccaaggaacctggaccct ctcagtggtgagggcgtcagcggaggtggttctgcccgtggcggatcgcacatcagatgaccagctcctctc caccctgctgcatctgtaggagaccgtgacaccatcactgcccgtccagcagagattagtagctggttggctgtag cagcagaaccagggaaagccctaagctcctgatctatgatccctcagttggaaagtgggtcccatcacgtttcag cggcagtgatccggacagaattcactctcaccatcagcagctgcagcctgatattttgcaacttattactgcaaca gtactcttctacaatacacgtttggccagggcaccaaagtcgagatcaagcgtggacaagatgcaagtctgctggat caaccaggaataagatccaacaagacgtccagaactagaagctggtacaatggaagaagttcacaacaagtcct ttgtaaaacaaatccaggttctagcacagacggcaacagcggccgacattcggggaacaacatcctcgggttccgaag ggccttattgcaactatgtacgtggcagcggccgctcgtgctcctgtttttggctgtgggtgctgctgctccc aagcgcggcggatgaagctgctgagcagcagcagcagcctgtgacatcctgcccgtgaaagaaactgaagtgac caaagaaaagcccaagtgcccaagtgcccaagtgcccaagtgcccaagtgcccaagtgcccaagtgcccaagtgcc ccccgaccagaccctgaccgaggtgaaaagccgctggaaagactggaacagctgtttctgctgatcttccac gcgaggacctggacatgatcctgaagatggacagcctgcagacatcaagccctgctgaccggcctgtcgtgagc acaactgaacaagacgccgtgaccgacagactggccagcgtggaaccgacatcccctgaccctgcccagca cagaatcagcggaccagc ggcgaagcggagggctcggcggatctgatccctggagcactcgaactggatagctggcagcagcagcagcagcagc gattttgatctggacatgctgggatcagcctcggacgattcagctcagatggtgggatcagatgcaactggatgact ttgacctggacatgctcggatca
89	antiEGFRvIII-scFv2	dvqlqsgpslvkpsqslstctvtygysitdfawnwirqfpgnklewmgysygntrynpslksrisitrdtsknqffl qlnsvtiedtatyycvtagrffpywgqgtlvtsagggsgggsgggsggsdilmqtqspssmsvslgdtvsitcshsq dinsnigwlqrrpgksfkgllyhgtlnlddevprfsgsgsgady sltisslesedfadyycvqyaqfpwtfgggtklei kr
90	antiMesothelin-scFv2	mqvqlqqsgpelekpasvklscasgy sftgytmnwvkqshgkslewigliptyngassy nqkfrgkatltv dks sstay mdlsltsedsavycarggydrgfdywgqgtlvtsagggsgggsgggsggsdieltqspaimsaspeke vtmtcsasssvymhwyqqksqspkrwiydtsklasgvprfsgsgsgnsy sltissveaeddatyycqwwgsh pltfaggtkleik
91	antiFAP-scFv2	qvqlvqsgaevkppasvkvscstsrtyftfeyti hwwrqapqqrlewigginpnnipny nqkfkgrvtitvdsast ay melsslrsedtavyy carrriaygydeghamdywgqgtlvtsagggsgggsgggsggsdivmtqspdslavs lgeratinckssqsllysrnqnylawyqqkpgqppklifwastresgvprfsgsgsgfgtfdltisslqaedvavyyc qqyfsypltfgggtkveik
92	antiCLL1-scFv2	evqlqqsgpelvkpgasvkmcskasgytftsyfihwvkkpqqglewikgkatltadkssstay melssltsedsa vyyctrdggygyamdywgqgtlvtsagggsgggsgggsggsdiqmtqspsslsaslgervsltcratqelsy1 swlqqkpdgtikrlyaaastldsgvprfsgsgsgsdy sltisslesedfadyyclqy aipytfgggtkleik
93	antiIL13Ra2-scFv1	evqllesggglvqppgsrlscaasgftfrkyamgwvraqpgkglewvsgisgsvgstyyadsvkgrftisrdnskn lylqmnsraedtavyycakvrywgagafdywgqgtlvtsagggsgggsgggsggsdiqmtqspstlsasv rdtitcrasqsisswlawyqqkpgkapklliydasslesgvprfsgsgsgtfdltisslqpddfatyycqydyppit fgggtkveikr
94	antiIL13Ra2-scFv2	gpelkkpgetvkiycasgy sfrdysv hwwkqapggkglkmgwintetgeptyvdefkgraffleasantvy lqi snlknedatycdy rftywgqgtlvtsaakggsgsgggsgggsggseivmtqtplilsvtigqpasisckssqsvly ngktylnwllqrrpgqspkrlylvskldsgvprfsgsgsgtdftlksrveaedlvgyycvqgshfpytfgggtkleik rad
95	antiGPC3-scFv-2	dvvmqtqspslpvtpgepasiscrssqslvhsnanty lhwylqkpgqspqlliykvsnrfsvprfsgsgsgtdftk isrveaedvgyycsqnthypptfgggtkleikrgggsgggsgggsggsvqlvqsgaevkppasvkvscasg yftdyemhwwrqapggglewmgaldpktgdtaisqkfkgrvtltadeststay melsslrsedtavyyctrfysy

		ywgqgtlvvtvss
96	anti Claudin18.2 scFv-2	qvqlqppgaelvrpgasvklscasgyftsy winwvkqrpqglewigniypsdsy tynqkfkdkatltvdkss stay mqlssptsedsavyy ctrswrgnsfdy wggqgtlvvtvssgggsgggsgggsgggsgdivmtqspssltvtagekvt mscckssqslnsgnqknyltwyqqkpgqppklliy wastresgvpdrftgsgsgtdfilitissvqaedlavyy cqnd ysyptffgsgtkleik
97	anti Claudin18.2 scFv-3	qiqlvqsgpelkkpgetvklscasgyftny gmnwvkqapgkglkwmgwintntgeptyaeefkgrfafsletsa stay lqinnlknedtaty fcarlfgnamdy wggqtsvtvssgggsgggsgggsgggsgdivmtqspssltvtagekvt mscckssqslnsgnqknyltwyqqkpgqppklliy wastresgvpdrftgsgsgtdfilitissvqaedlavyy cqnd ysyptffgagtkleikr
98	anti Claudin18.2 scFv-4	qvqlqppgaelvrpgasvklscasgyftsy winwvkqrpqglewigniypsdsy tynqkfkdkatltvdkss stay mqlssptsedsavyy ctrswrgnsfdy wggqgtlvvtvssgggsgggsgggsgggsgdivmtqspssltvtagekvt mscckssqslnsgnqknyltwyqqkpgqppklliy wastresgvpdrftgsgsgtdfilitissvqaedlavyy cqnd ysyptffgsgtkleikr
99	antiB7H3-scFv1	evqllesggglvppggsrlscaasgftfssy amswvrqapqglewv saisggsgsty adsvkgrftisrdnsknt ly lqmnslraedatavyy caky ravtfdy wggqgtlvvtvssgggsgggsgggsgggsgdivmtqspstlsasv gdrvtitc rasqsiswlawyqqkpgkapklliy dasslesgvpsrfs gsgsgtdfilitisslpddfatiy cqqfetqirwtfgggt kveikr
100	376.96-scFv	divmtqshkfmstsigarvsitckasqdvrtavawyqqkpgqspklliy sasyrytgvpdrftgsgsgtdfilitissvqaedlavyy cqqhygtppwtfgggkklkkgggsgggsgggsgggsgvqlvesggglvkpggsklscasrftfssya mswvrqtpckrlewvaaisgggrytyypdmskgrftisrdnaknfly lqmnslrsedtamyycarhydgyldy wggqgtlvvtvss
101	antiB7H3-scFv2	evqlvesggglvppggsrlscaasgftfssfmhwwrqapqglewvay issdssaiyyadvkgrftisrdnakns ly lqmnslrdedatavyy cgrgreniyygrldy wggqgtlvvtvssgggsgggsgggsgggsgdivmtqspstlsasv gdrvtitckasqndtnvawyqqkpgkapklliy sasyrysgvpsrfs gsgsgtdfilitisslpddfatiy cqqy nnyptffgggkklk
102	Notch1 跨膜区 (Notch2STS)	Lmyvaaaafvllffv gcvllskrkrkh
103	Notch1 跨膜区 (Notch3STS)	Lmyvaaaafvllffv gcvllsrkrreh
104	Notch1 跨膜区 (Notch4STS)	Lmyvaaaafvllffv gcvllsrreeh
105	Mesothelin-synEphrin B2EC 氨基酸序列	qmqlvqsgaevkkpgasvkvscasgyftsy ymhwwrqapqglewmgii npsggstsy aqkfqrvtmt rdtststvy melsslr sedatavyy cassrsgttvnhdafdiw gkgtvtvssgggsgggsgggsgggsgdivmtqspsslsasv gdrvtitcrasqv isralawy qqtpgkppklliy dasnlqsgvpsrfs gsgsgtdfilitisrlqpedfatiy cqqfn sy pltfgggkklkkrqgdassagstrnkdprrpeleagtngrsstspfvkpnpgsstdgn saghs gnnilgsevalfal myvaaaafvllffv gcvllsrkrmmkllssieqacdicrkkkcskepkcakclknwecry spktrsp ltrah ltevesrlerleqlflifpredldmilkmdslqdikalltg lfvqdnvkdavtdrlasvetdmp ltrqhrisatsssees snkgqrqltvaaaaggsgsgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgs
106	FAP-synEphrinB2EC 氨基酸序列	qvqlvqsgaevkkpgssvkvscasaggtfssy aiswvrqapqglewmgii pipftany aqkfqrvtitadk ststay melsslr sedatavyy cardaadrdy wggqgtvtvssgggsgggsgggsgggsgdivmtqspsslpvtpgepasis crssqsl lhpngfnhly wy lqkpgqspqlliy vgnrasgvpdrfsgsgtdfilitisrveaedvgyvy cqqrnk nrtfggkklkkrqgdassagstrnkdprrpeleagtngrsstspfvkpnpgsstdgn saghs gnnilgsevalfal myvaaaafvllffv gcvllsrkrmmkllssieqacdicrkkkcskepkcakclknwecry spktrsp ltrah ltevesrlerleqlflifpredldmilkmdslqdikalltg lfvqdnvkdavtdrlasvetdmp ltrqhrisatsssees snkgqrqltvaaaaggsgsgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgs
107	Mesothelin-CAR	qmqlvqsgaevkkpgasvkvscasgyftsy ymhwwrqapqglewmgii npsggstsy aqkfqrvtitadk ststay melsslr sedatavyy cassrsgttvnhdafdiw gkgtvtvssgggsgggsgggsgggsgdivmtqspsslsasv gdrvtitcrasqv isralawy qqtpgkppklliy dasnlqsgvpsrfs gsgsgtdfilitisrlqpedfatiy cqqfn sy pltfgggkklkkrqgdassagstrnkdprrpeleagtngrsstspfvkpnpgsstdgn saghs gnnilgsevalfal myvaaaafvllffv gcvllsrkrmmkllssieqacdicrkkkcskepkcakclknwecry spktrsp ltrah ltevesrlerleqlflifpredldmilkmdslqdikalltg lfvqdnvkdavtdrlasvetdmp ltrqhrisatsssees snkgqrqltvaaaaggsgsgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgs
108	Claudin18.2-synEphri nB2EC	qvqlqesgpglikpsqtlstctvsggsissgy nwhwirppqkglewigy ihytgstny npalrsrvtisv dtsknqf slklssvtaadtaiyy cariyngnsfpy wggqgtvtvssgggsgggsgggsgggsgdivmtqspds lavslgeratinck ssqslfnsgnqknyltwyqqkpgqppklliy wastresgvpdrfsgsgtdfilitisslqaedvavy cqnay sfp ytfgggkklkkrqgdassagstrnkdprrpeleagtngrsstspfvkpnpgsstdgn saghs gnnilgsevalfal myvaaaafvllffv gcvllsrkrmmkllssieqacdicrkkkcskepkcakclknwecry spktrsp ltrahlte vesrlerleqlflifpredldmilkmdslqdikalltg lfvqdnvkdavtdrlasvetdmp ltrqhrisatssseessn kgqrqltvaaaaggsgsgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgs
109	NKG2D-CAR	Mrvkfsrsadapayqqgnqlynelnlgreeydvldkrrrdpemgkpprrknpqeglynelqdkmaeay seigmkgerrrgkghdglyqglstatkdy dalhmqalpprgwirrrsrhswemseflnyldlksdfstrwqkq rcpvkskrenaspffccfiavamgirfiimv aiwsavflnflnqevqipltesy cgpcpknwicyknncyqff desknwyesqascmsqnasllkvy skedqdlk lvksy hwmglvhiptngswqedgsilspnlltiemqkgd calyassfkgyienctpntyicmqrty

110	CLL1-synEphrinB2E C-APLP2 (TM) 氨基酸序列	evqlvqsgaevkkpgasvkvsckasgytfnssymlhwvrqapggglewmgifnpgggstsy aqkfqgrv t m t r d tststvymelsslrsedtavyycargttsdafdiwgqgtmvtvs sggggsgggsgggsgggsgdiqmtqspsslsasv g d rvtitcrasqsissyl nwyqqkpgkapkllidvasslqsgvpsrfs gsgsgtdf l t i s s l q p e d f a t y c q q s y s t p l f g ggtkveikrgqdassagstrnkdprrpeleagtngrs t t s p f v k p n p g s s t d g n s a g h s g m i l g s e v a l f a s a l i g l l viavaiatvivilvmlrkrqmklssieqacdicrlkklkcskepkcakclkmwecryspktrsp l t r a h l t e v e s rlerleqlfllifpredldmilkmdslqdikalltg l f v q d n v n k d a v t d r l a s v e t d m p l t r q h r i s a t s s e s s n k g q rqltvsaaggsgggsgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgsdalddfdldmlgs
-----	---	---

权 利 要 求

1. 一种嵌合多肽，包括：
 - a) 能够特异性结合目标分子的结合域；
 - b) 包含一个或多个裂解位点的受体调控结构域，
所述受体调控结构域包括胞外区和跨膜区，其中，胞外区和跨膜区不同时来源于 Notch 蛋白；以及
 - c) 胞内域，
其中，所述结合域与所述目标分子的结合可以诱导所述受体调控结构域的裂解，从而释放所述胞内域。
2. 如权利要求 1 所述的嵌合多肽，其特征在于，所述胞外区含有来源于 Jagged2、EphrinB2、APLP1、APLP2、APP、CD44、CSF1R、CXCL16、CX3CL1、Delta1、E-cadherin、EphB2、EphrinB1、Growth hormone receptor、HLA-A2、IFNaR2、IL1R2、L1、LRP、LRP2、LRP6、N-cadherin、Nectin1 α 、NRADD、p75-NTR、Pcdh α 4、Pcdh γ -C3、PTP κ 、PTP-LAR、SorCS1b、SorLA、Sortilin、ApoER2、PKHD1、ErbB4、IFNaR2、VEGF-R1、或 VLDLR 的胞外区或其组合，或上述任一蛋白的胞外区的片段或其组合，或上述任一蛋白的胞外区的变体或其组合，或上述任一蛋白的胞外区的截短结构或其组合。
3. 如权利要求 1 或 2 所述的嵌合多肽，其特征在于，所述跨膜区还包括停止转移序列(STS)。
4. 如权利要求 1-3 中任一所述的嵌合多肽，其特征在于，结合域包含能够结合到靶细胞表面上目标分子的抗原结合域、或结合域包含能够与受体结合的配体部分。
5. 如权利要求 4 所述的嵌合多肽，其特征在于，所述靶细胞是一种病原体。
6. 如权利要求 4 所述的嵌合多肽，其特征在于，所述靶细胞是人细胞。
7. 如权利要求 6 所述的嵌合多肽，其特征在于，所述人细胞是肿瘤细胞。
8. 如权利要求 1-7 中任一所述的嵌合多肽，其特征在于，所述目标分子选自：分化标记簇、细胞表面受体、粘附蛋白、整合素、粘蛋白、凝集素、肿瘤抗原。
9. 如权利要求 1-7 中任一所述的嵌合多肽，其特征在于，所述目标分子是肿瘤抗原。
10. 如权利要求 1-9 中任一所述的嵌合多肽，其特征在于，所述抗原结合域选自：抗体、受体、细胞黏附分子、非抗体分子支架或其组合。
11. 如权利要求 10 所述的嵌合多肽，其特征在于，所述抗体为单域抗体、单链抗体、双链抗体、三链抗体、微型抗体、F(ab')₂ 片段、F(ab)_v 片段、scFv、单域抗体(sdAb) 及其功能片段或其组合。
12. 如权利要求 4-11 任一所述的嵌合多肽，其特征在于，抗原结合域特异性结合肿瘤抗原，选自：Mesothelin、FAP、Claudin18.2、CLL1、CD19、GPC3、WT1、EGFR、BCMA、CD7、NKG2D-Ligand、CD19、B7H3、ALPPL2、CD123、CD171、CD179a、CD20、CD213A2、CD22、CD24、CD246、CD272、CD30、CD33、CD38、CD44v6、

CD46、CD71、CD97、CEA、CLDN6、CLECL1、CS-1、EGFR、EGFRvIII、ELF2M、EpCAM、EphA2、FLT3、GD2、GD3、GM3、GPCR5D、HER2 (ERBB2)、IGLL1、IL11Ra、IL13Ra2、CD117、MUC1、NCAM、PAP、PDGFR-b、PRSS21、PSCA、PSMA、ROR1、SIRPa、SSEA-4、TAG72、TEM1/CD248、TEM7R、TSHR、VEGFR2、ALPI、cMet和Axl。

13. 如权利要求 1-12 任一所述的嵌合多肽，其特征在于，所述受体调控结构域的跨膜区包含 γ -分泌酶裂解位点。

14. 如权利要求1所述的嵌合多肽，其特征在于，所述胞内域包括转录因子、位点特异性核酸酶、重组酶、抑制性免疫受体、活化性免疫受体或其组合。

15. 如权利要求14所述的嵌合多肽，其特征在于，所述转录因子选自Gal4-VP16、Gal4-VP64、tetR-VP64、ZFHD1-VP64、Gal4-KRAB、HAP1-VP16或其组合。

16. 如权利要求1-15任一所述的嵌合多肽，其特征在于，还包括附加蛋白水解裂解位点、信号序列、可检测标签、肿瘤特异性裂解位点、疾病特异性裂解位点及其组合。

17. 如权利要求 1-16 任一所述的嵌合多肽，其特征在于，受体调控结构域的胞外区包含与 SEQ ID NO: 1、3、5、7、9、11 中任何一个具有至少 80%序列同源性的氨基酸序列。

18. 如权利要求 1-17 任一所述的嵌合多肽，其特征在于，STS 包括与 SEQ ID NO: 22、23、24、25、26 中任何一个具有至少 80%序列同源性的氨基酸序列。

19. 如权利要求 1-18 任一所述的嵌合多肽，其特征在于，受体调控结构域的跨膜区包含与 SEQ ID NO: 13、14、15、16、17、18、19、20、21、102、103、104 中任何一个具有至少 80%序列同源性的氨基酸序列。

20. 如权利要求 1-19 任一所述的嵌合多肽，其特征在于，受体调控结构域包含与 SEQ ID NO: 28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41 或 85 中任何一个具有至少 80%序列同源性的氨基酸序列。

21. 如权利要求 1-20 任一所述的嵌合多肽，其特征在于，所述嵌合多肽包括与 SEQ ID NO: 50、51、52、53、54、55、56、57、61、73、87、105、106、108 或 110 中任何一个具有至少 80%序列同源性的氨基酸序列。

22. 一种核酸分子，其特征在于，包含编码如权利要求 1-21 任一所述的嵌合多肽的核苷酸序列。

23. 如权利要求 22 所述的核酸分子，其特征在于，所述核酸分子构建在表达盒或表达载体中。

24. 如权利要求 23 所述的核酸分子，其特征在于，表达载体包括病毒载体或转座子载体。

25. 如权利要求 24 所述的核酸分子, 其特征在于, 病毒载体是慢病毒载体、腺病毒载体、腺相关病毒载体或逆转录病毒载体。

26. 包含如权利要求 1-21 任一所述的嵌合多肽、和/或如权利要求 22-25 任一所述的核酸分子的工程细胞。

27. 如权利要求 26 所述的工程细胞, 其特征在于, 所述工程细胞是免疫细胞、神经元、上皮细胞、内皮细胞或干细胞。

28. 如权利要求 27 所述的工程细胞, 其特征在于, 所述免疫细胞是 B 细胞、单核细胞、自然杀伤细胞、嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、树突状细胞、巨噬细胞、调节性 T 细胞、辅助性 T 细胞、细胞毒性 T 细胞、其他 T 细胞或其组合。

29. 如权利要求 26-28 任一所述的工程细胞, 其特征在于, 还包含编码可操作地连接到所述嵌合多肽的胞内域的外源性基因的表达盒, 所述嵌合多肽的胞内域调节所述外源性基因的表达。

30. 如权利要求 29 所述的工程细胞, 其特征在于, 所述外源性基因受 GAL-4、tetR、ZFHD1、HNF1A 或 HAP1 调节的启动子调控表达。

31. 如权利要求 29 或 30 所述的工程细胞, 其特征在于, 所述外源性基因表达产物选自: 非编码 RNA、细胞因子、细胞毒素、趋化因子、免疫调节剂、促凋亡因子、抗凋亡因子、激素、分化因子、去分化因子、修饰 TCR、CAR、报告基因或其组合。

32. 如权利要求 31 所述的工程细胞, 其特征在于, 所述嵌合多肽的结合域特异性结合第一目标分子, 外源性基因表达产物为 CAR, 所述 CAR 特异性结合不同于第一目标分子的第二目标分子, 分别选自: Mesothelin、FAP、Claudin18.2、CLL1、CD19、GPC3、WT1、EGFR、BCMA、CD7、NKG2D-Ligand、MOG、CD19、B7H3、ALPPL2、CD123、CD171、CD179a、CD20、CD213A2、CD22、CD24、CD246、CD272、CD30、CD33、CD38、CD44v6、CD46、CD71、CD97、CEA、CLDN6、CLECL1、CS-1、EGFR、EGFRvIII、ELF2M、EpCAM、EphA2、Ephrin B2、FAP、FLT3、GD2、GD3、GM3、GPC5D、HER2 (ERBB2), IGLL1, IL 11Ra、IL13Ra2、CD 117、MUC1、NCAM、PAP、PDGFR-b、PRSS21、PSCA、PSMA、ROR1、SIRPa、SSEA-4、TAG72、TEM1/CD248、TEM7R、TSHR、VEGFR2、ALPI、cMet和Axl。

33. 如权利要求 32 所述的工程细胞, 其特征在于, 第一目标分子与第二目标分子分别是选自以下组合中的任意: ASGR1 和 GPC3、EGFRvIII和 IL13Ra2、EGFRvIII和 B7H3、Mesothelin 和 Claudin18.2、Claudin18.2 和 Mesothelin、FAP 和 Claudin18.2、CLL1 和 NKG2D、CD123 和 NKG2D。

34. 如权利要求 32 所述的工程细胞, 其特征在于, 所述嵌合多肽与 CAR 分别包括 SEQ ID NO: 61、62 所示序列; 或 SEQ ID NO: 61、64 所示序列; 或 SEQ ID NO: 61、65 所示序列; 或 SEQ ID NO: 61、66 所示序列; 或 SEQ ID NO: 105、67 所示序列; 或

SEQ ID NO: 106、67 所示序列；或 SEQ ID NO: 108、107 所示序列；或 SEQ ID NO: 73、109 所示序列；或 SEQ ID NO: 50、109 所示序列。

35. 如权利要求31所述的工程细胞，其特征在于，所述细胞因子为IL-2、IL-7、IL-9、IL-12、IL-15、IL-18、CCL21或上述细胞因子的组合。

36. 如权利要求31所述的工程细胞，其特征在于，所述工程细胞包括与 SEQ ID NO: 59、63、68、69、70、71、72、74、88 中任何一个具有至少 80%序列同源性的核酸序列或其翻译成的氨基酸序列。

37. 一种药物组合物，包括：一种医药上可接受的载体；还包括权利要求22-25任一权利要求所述的核酸分子和/或权利要求26-36中任一权利要求所述的工程细胞。

38. 一种调节工程细胞活性的方法，其特征在于，包括：

a) 提供权利要求26-36中任一权利要求所述的工程细胞；和

b) 将所述工程细胞与目标分子接触，其中所述目标分子与工程细胞上的嵌合多肽的结合域的结合诱导所述嵌合多肽的蛋白水解裂解位点的裂解并释放所述嵌合多肽的胞内域中的转录因子，调节所述工程细胞的活性。

39. 如权利要求38所述的方法，其特征在于，所述工程细胞活性选自以下中的任意：细胞增殖、细胞凋亡、细胞非凋亡性死亡、细胞分化、细胞去分化、细胞迁移、细胞粘附和/或细胞溶解活性。

40. 如权利要求38所述的方法，其特征在于，所述转录因子调节的外源性基因表达，所述外源性基因选自：趋化因子、趋化因子受体、嵌合抗原受体、细胞因子、细胞因子受体、分化因子、生长因子、生长因子受体、激素、代谢酶、病原体衍生蛋白、增殖诱导剂、受体、RNA引导核酸酶、位点特异性核酸酶、T细胞受体、毒素、毒素衍生蛋白、转录调节器、转录激活剂、转录抑制物、翻译调节器、翻译激活剂、翻译抑制物、激活免疫受体、抗体、凋亡抑制剂、凋亡诱导剂、修饰T细胞受体、免疫激活剂、免疫抑制剂，和抑制性免疫受体。

41. 如权利要求38所述的方法，其特征在于，释放的转录因子调节所述工程细胞的分化，所述工程细胞是免疫细胞、干细胞、祖细胞或前体细胞。

42. 如权利要求38所述的方法，其特征在于，其是治疗肿瘤的方法。

43. 一种激活工程细胞的方法，所述方法包括：

使权利要求26-36任一所述的工程细胞与目标分子接触，其中包含所述嵌合多肽的结合域包括特异性结合第一目标分子的抗体，并且其中所述接触导致所述嵌合多肽释放所述嵌合多肽的胞内域中的转录因子激活蛋白，来调控所述工程细胞中CAR和/或修饰TCR的表达，其中所述CAR和/或修饰TCR特异性结合不同于第一目标分子的第二目标分子后激活所述工程细胞。

44. 如权利要求43所述的方法，其特征在于，所述第一目标分子和第二目标分子为不同的肿瘤抗原；或第一目标分子是具有组织特异性的分子且第二目标分子是肿瘤

抗原。

45. 一种抑制受试者中靶细胞活性的方法，其特征在于，包括：给予受试者治疗有效量的权利要求26-36中任一权利要求所述的工程细胞，所述工程细胞抑制受试者中靶细胞的活性。

46. 如权利要求45所述的方法，其特征在于，所述靶细胞是肿瘤细胞。

47. 如权利要求45所述的方法，其特征在于，所述靶细胞是急性骨髓瘤白血病细胞、间变性淋巴瘤细胞、星形细胞瘤细胞、B细胞癌细胞、乳腺癌细胞、结肠癌细胞、室管膜瘤细胞、食管癌细胞、胶质母细胞瘤细胞、胶质瘤细胞、平滑肌肉瘤细胞、脂肪肉瘤细胞、肝癌细胞、肺癌细胞、套细胞淋巴瘤细胞、黑色素瘤细胞，神经母细胞瘤细胞、非小细胞肺癌细胞、少突胶质瘤细胞、卵巢癌细胞、胰腺癌细胞、外周T细胞淋巴瘤细胞、肾癌细胞、肉瘤细胞、胃癌细胞、肝癌细胞、间皮瘤细胞或肉瘤细胞。

48. 如权利要求45所述的方法，其特征在于，所述靶细胞表达低水平的目标分子，所述嵌合多肽的结合域特异性结合所述目标分子。

49. 如权利要求45所述的方法，其特征在于，所述工程细胞还包含受所述嵌合多肽结合目标分子触发转录激活的CAR、修饰TCR、外源性细胞因子和/或治疗性单抗。

50. 如权利要求49所述的方法，其特征在于，所述目标分子包括第一目标分子和第二目标分子，所述嵌合多肽特异性结合第一目标分子，所述CAR和/或修饰TCR特异性结合第二目标分子；所述靶细胞中第一目标分子与第二目标分子表达异质性的肿瘤抗原、或第一目标分子是具有组织特异性的分子且第二目标分子是肿瘤抗原。

51. 如权利要求50所述的方法，其特征在于，在靶细胞中第一目标分子的阳性率低于在靶细胞中的第二目标分子的阳性率。

52. 如权利要求50所述的方法，其特征在于，其进一步能提高所述工程细胞抗肿瘤特异性。

53. 一种用于调节细胞活性、抑制靶细胞或治疗有需要的受试者健康状况的系统或药盒或试剂盒，其特征在于，包括：以下一种或多种：

- a) 如权利要求1至21中任一权利要求所述的嵌合多肽；
- b) 如权利要求22-25中任一权利要求所述的核酸分子；
- c) 如权利要求26-36中任一权利要求所述的细胞；和
- d) 如权利要求37所述的药物组合物。

54. 以下一种或多种用于治疗肿瘤用途：

- a) 如权利要求1至21中任一权利要求所述的嵌合多肽；
- b) 如权利要求22-25任一权利要求所述的核酸分子；
- c) 如权利要求26-36中任一权利要求所述的细胞；和
- d) 如权利要求37所述的组合物。

55.如权利要求54所述的用途，其特征在于，肿瘤是实体瘤、血液肿瘤、软组织瘤或转移性病变。

56.如权利要求1至21中任一权利要求所述的嵌合多肽；如权利要求22-25中任一权利要求所述的核酸分子；如权利要求26-36中任一权利要求所述的细胞；如权利要求37所述的药物组合物，在制造用于治疗健康状况的药物中的用途。

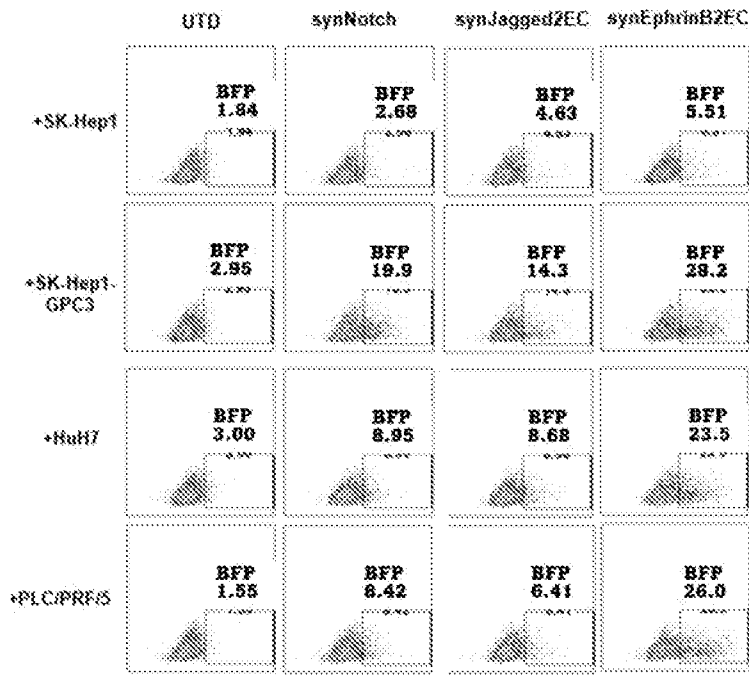


图 1A

肿瘤细胞	SK-Hep1	SK-Hep1-GPC3
UTD	0.3	0.2
synNotch	3.2	17.9
synEphrinB2EC	4.7	44.3
synEphrinB2EC-APLP2(TM)	4.2	24.8

图 1B

		0 h	4 h	8 h
固定型 GPC3	UTD	0	0	0.1
	synNotch	2.7	27.8	54.0
	synEphrinB2EC	1.3	24.9	51.4
游离型 GPC3	UTD	0	0	0.1
	synNotch	2.5	2.2	2.5
	synEphrinB2EC	1.2	1.2	3.5

图 2

肿瘤细胞	ctrl	SK-Hep1	SK-Hep1-GPC3	Huh7	PLC/PRF/5
UTD	0.2	0.2	0.3	0.6	0.3
synNotch	2.2	3.9	14.4	8.5	9.9
synEphrinB2EC	7.2	10.0	51.7	33.9	63.2
synEphrinB2EC-APLP2(TM)	3.9	4.9	29.1	16.0	27.3
synEphrinB2EC-del1	21.5	22.6	75.2	47.3	57.6
synEphrinB2EC-del2	42.4	42.9	67.7	51.7	66.7
synEphrinB2EC-del3	0.7	0.9	44.2	9.8	10.2
synEphrinB2EC-del23	0.9	1.5	23.1	6.4	5.7

图 3

GPC3-EV (ng/ml)	UTD	synEphrinB2EC	SynEphrinB2EC-APLP2(TM)	synEphrinB2EC-dsB
0	0.20	3.83	4.09	0.69
0.019531	0.02	3.06	3.92	0.62
0.039063	0.19	3.37	4.02	0.28
0.078125	0.17	16.11	12.53	0.65
0.15625	0.08	64.09	55.37	42.19
0.3125	0.09	95.99	85.67	83.49
0.625	0.15	99.03	88.18	89.13
1.25	0.08	99.27	90.23	92.06

图 4

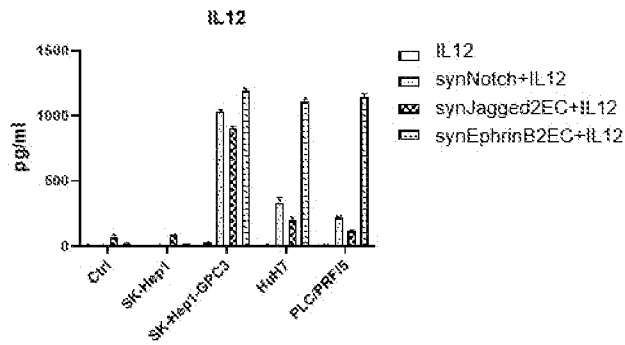


图 5

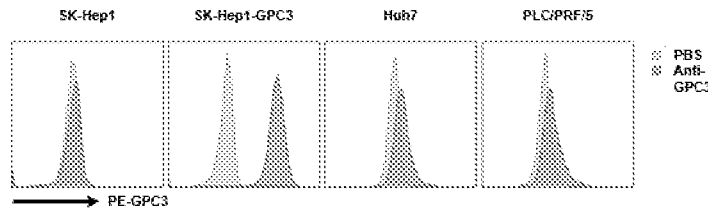


图 6

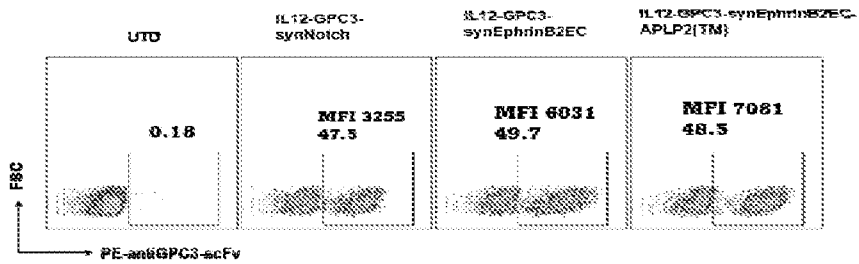


图 7

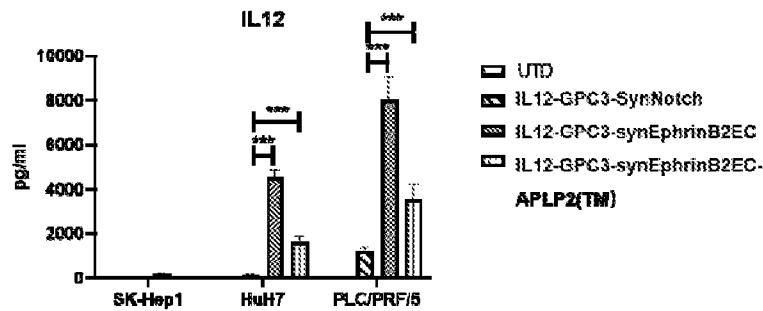


图 8



图9

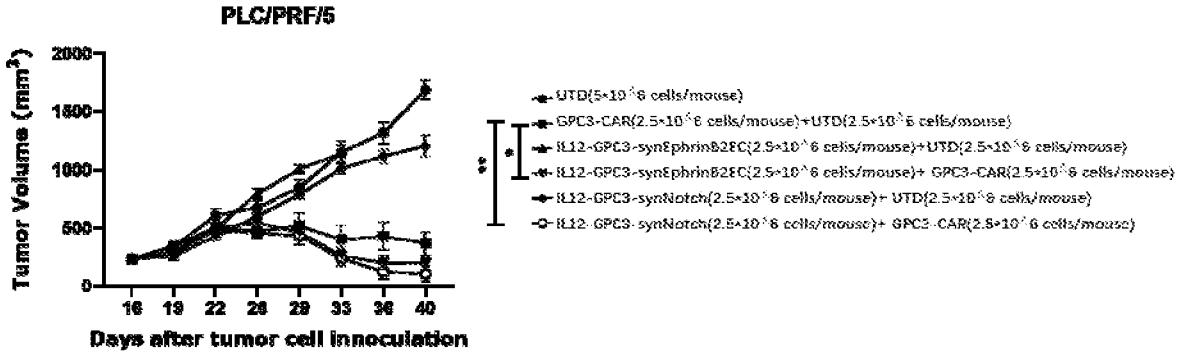


图10

肿瘤细胞	NC	SK-Hep	SK-Hep-GPC3	HuH7	PLC/PRF/5	K562	K562-GPC3	U87	U87-EGFRvIII	U251	U251-EGFRvIII
Jurkat 应答细胞											
GPC3-synEphrinB2EC	3.5	3.4	40.7	17.4	25.8	2.7	68.1	4.3	4.1	3.9	3.6
GPC3-synJagged2EC	4.1	4.4	19.8	12.5	8.0	3.7	55.2	5.7	4.6	3.9	4.1
EGFRvIII-synEphrinB2EC	0.9	1.4	1.7	1.9	5.5	1.4	1.0	2.4	63.1	2.5	77.3
UTD	0	0.4	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1

图11

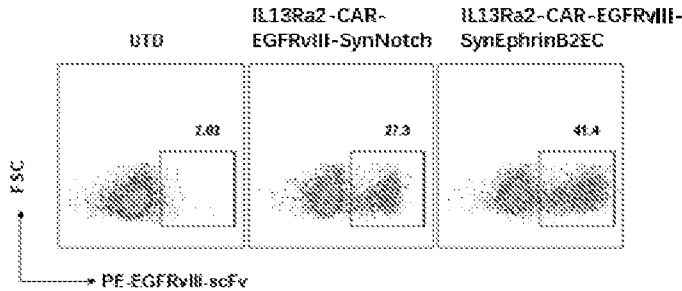


图12

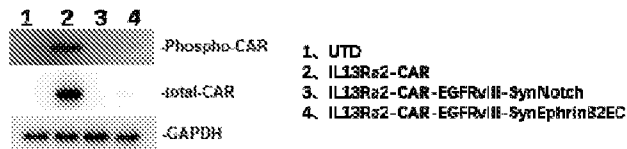


图13

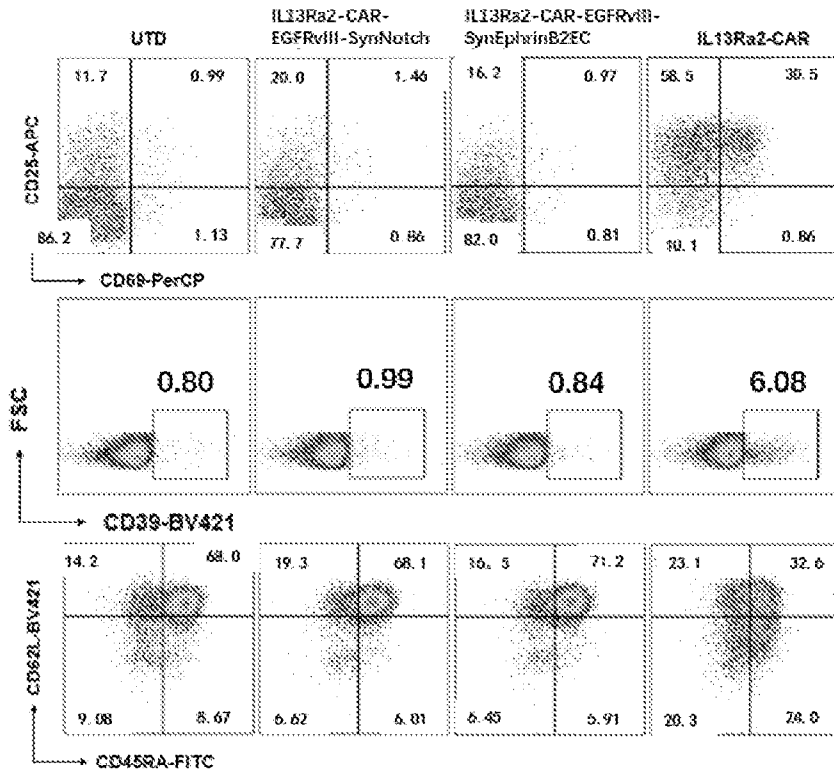


图 14

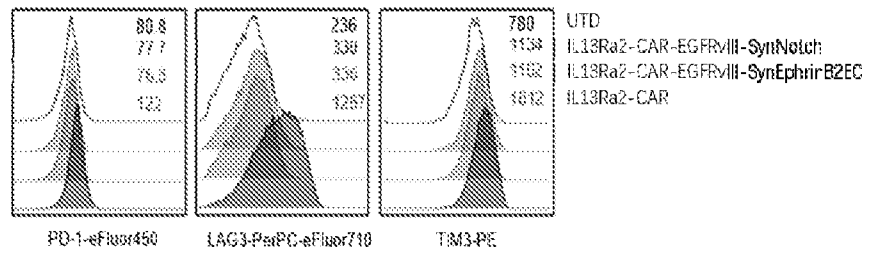


图 15

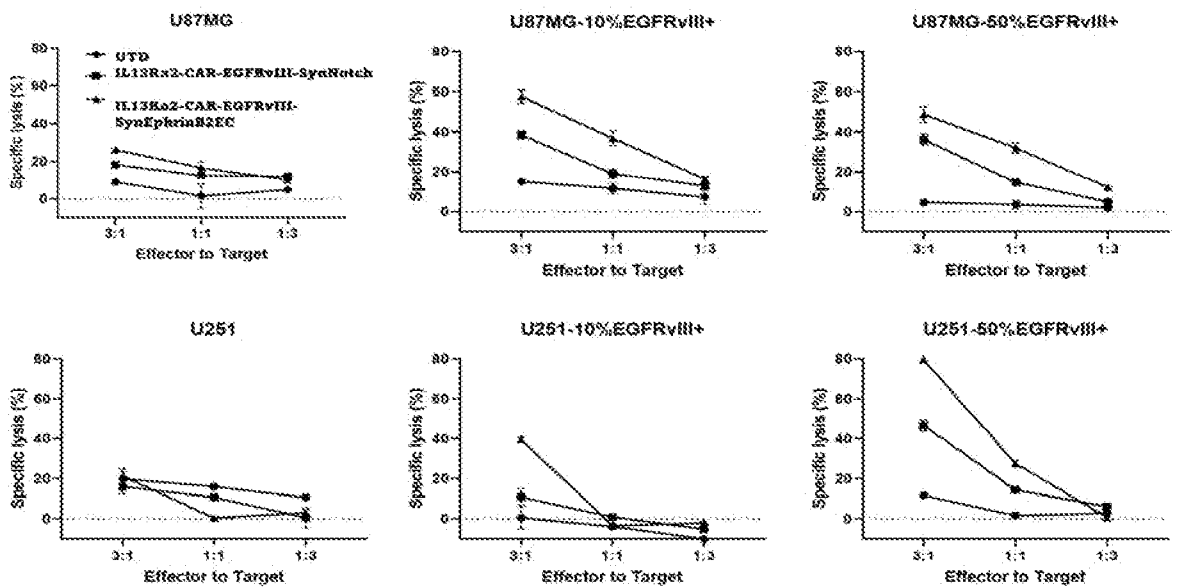


图 16

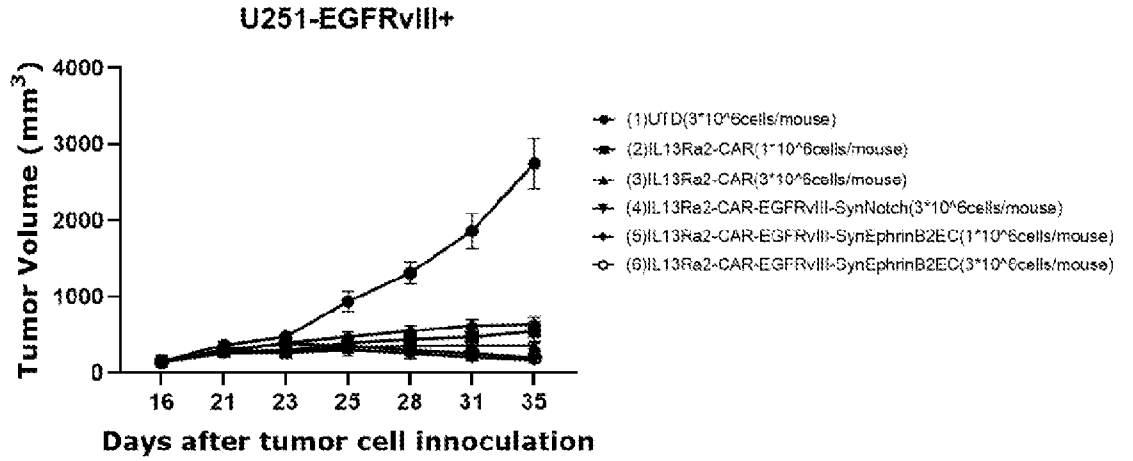


图 17

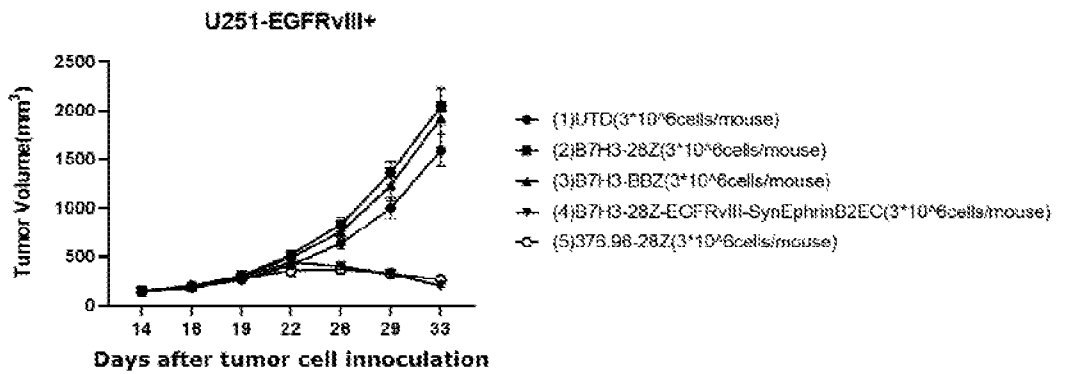


图 18

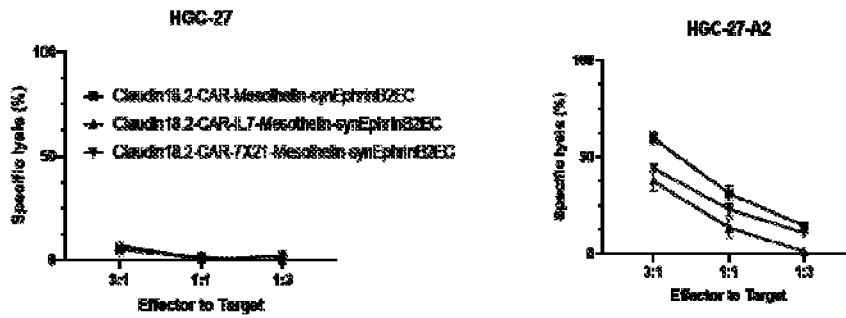


图 19

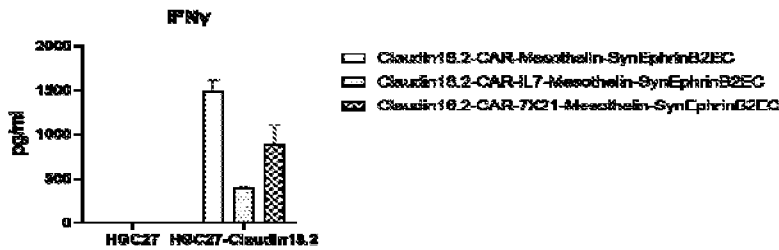


图 20

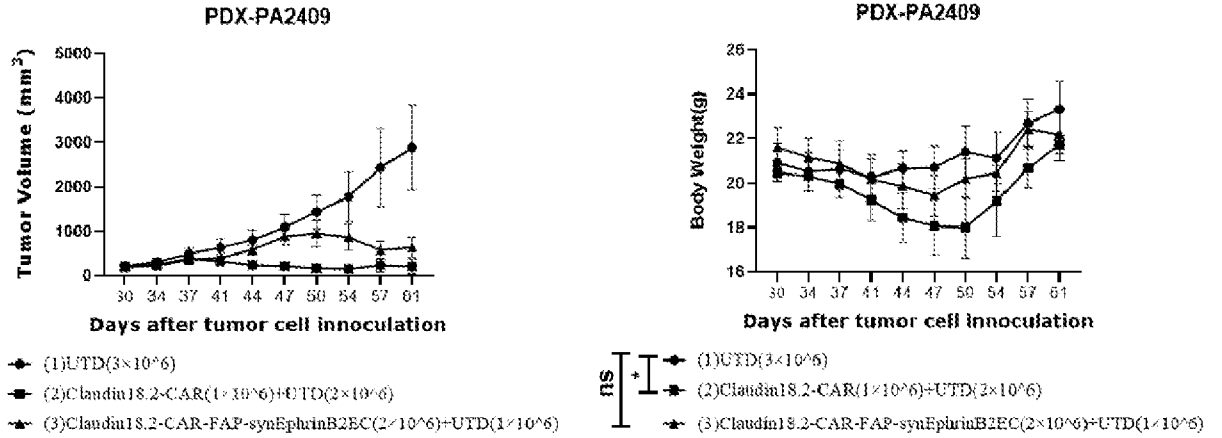


图 21

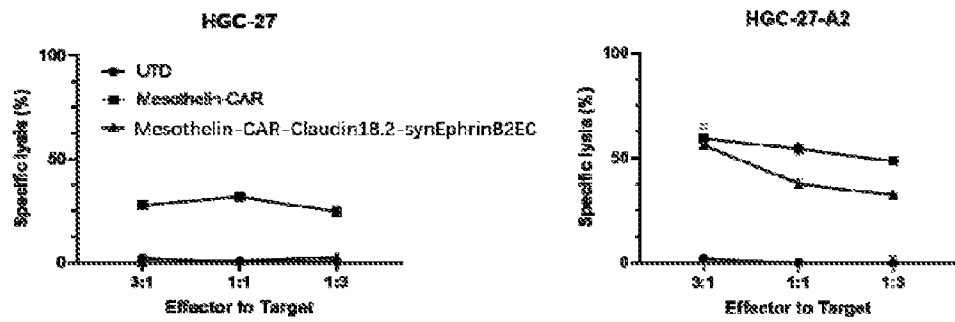


图 22A

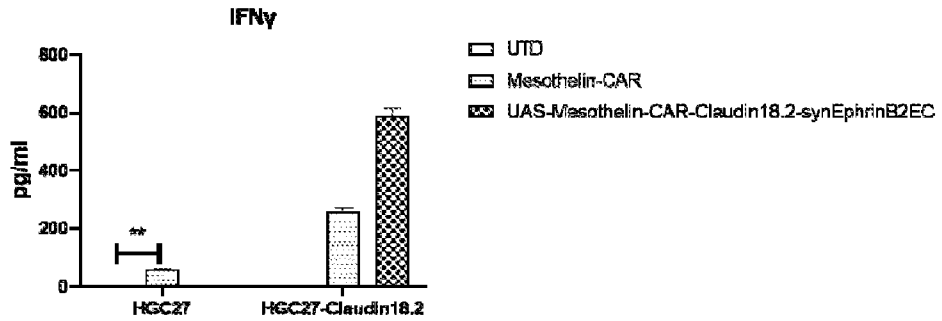


图 22B

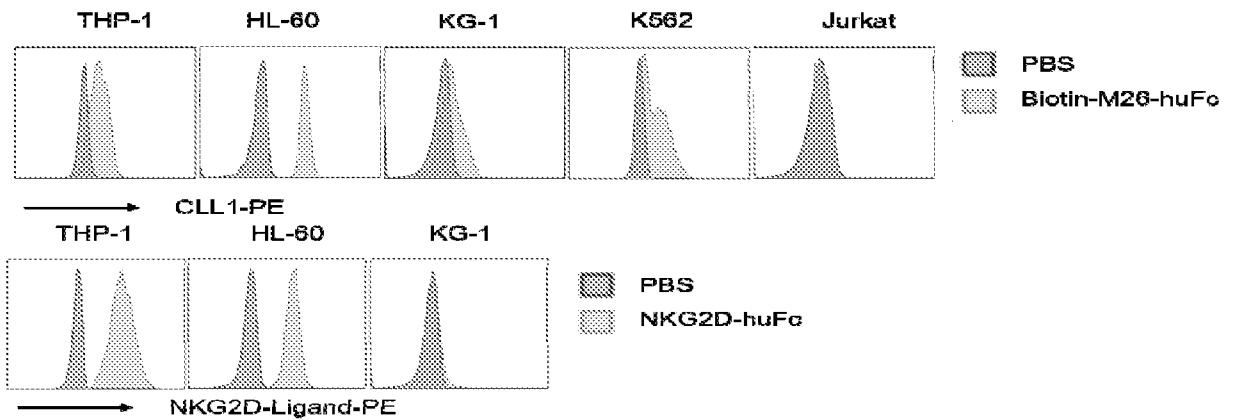


图 23A

Jurkat 应答细胞	肿瘤细胞	Ctrl	THP-1	HL-60	KG-1	K562
UTD		0.3	1.6	0.7	0.3	1.1
synEphrinB2EC		7.1	27.9	80.7	10.5	8.4
SynEphrinB2EC-APLP2(TM)		2.4	7.6	50.9	3.1	3.5

图 23B

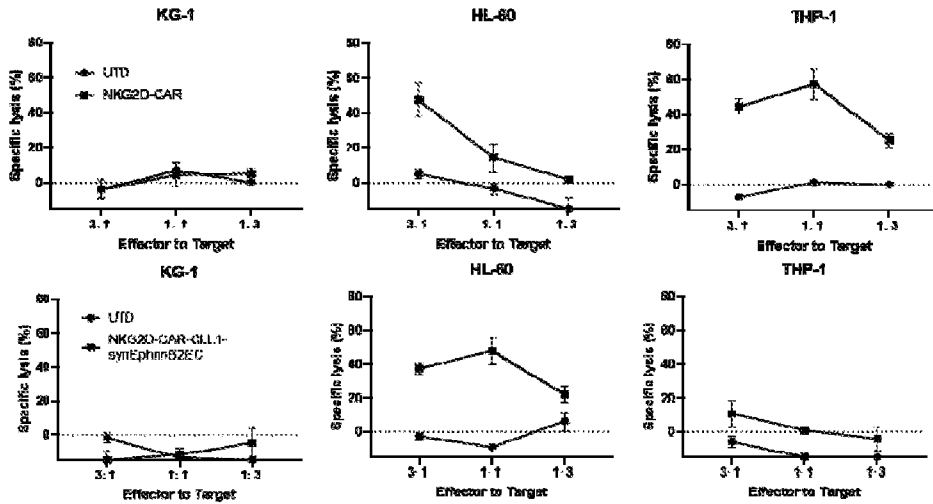


图 24

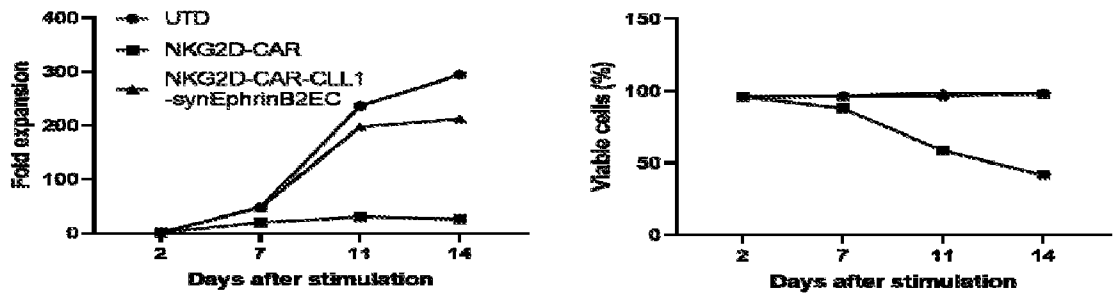


图 25

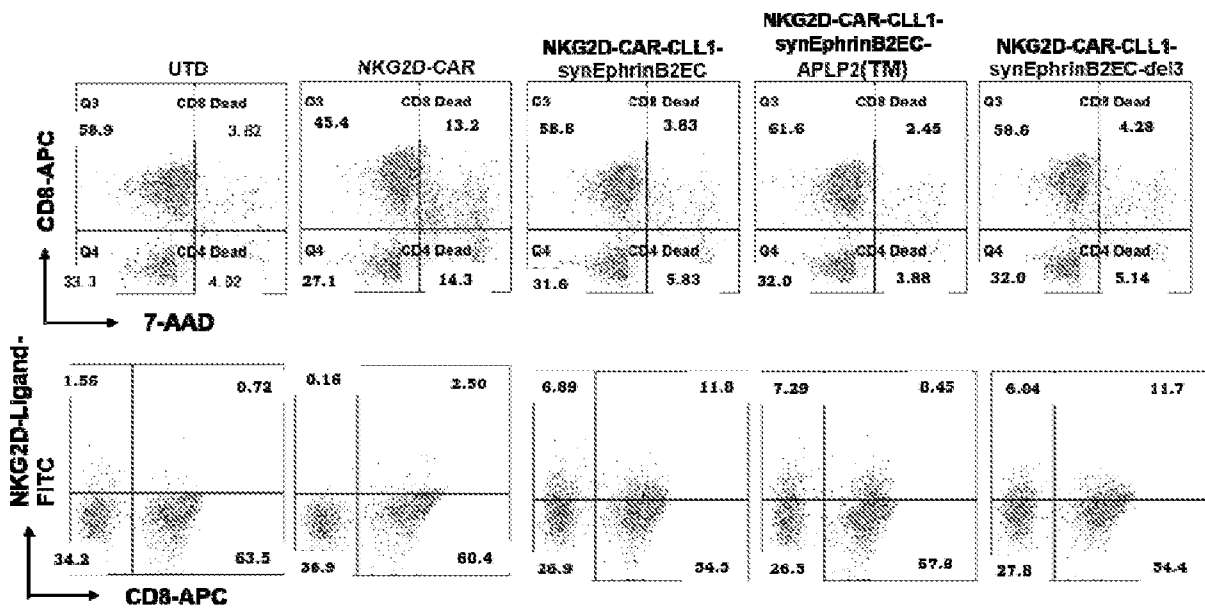


图 26

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/102395

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
C07K 14/705(2006.01)i; C12N 15/12(2006.01)i; C12N 15/00(2006.01)i; A61K 38/17(2006.01)i; A61K 35/00(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K; C12N; A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNKI, CNABS, CNTXT, DWPI, SIPOABS, EPTXT, WOTXT, USTXT, JPTXT, ELSEVIER, ISI Web of Knowledge, PubMed, 中国专利生物序列检索系统, China Patent Biological Sequence Retrieval System, NCBI, STN: 嵌合多肽, chimeric polypeptide, 嵌合蛋白, chimeric protein, 结合触发转录开关, binding-triggered transcriptional switch, synNotch, 裂解位点, cleavage site, 胞外域, extracellular domain, 跨膜域, transmembrane domain, 胞内域, intracellular domain, Jagged, EphrinB2, Notch, SEQ ID NOS: 1-110		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 108064283 A (REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 22 May 2018 (2018-05-22) claims 1-143	1-56
A	CN 111269311 A (FUDAN UNIVERSITY) 12 June 2020 (2020-06-12) entire document	1-56
A	CN 109180805 A (SOUTHERN MEDICAL UNIVERSITY) 11 January 2019 (2019-01-11) entire document	1-56
A	WO 2010021729 A2 (THE TRUSTEES OF COLUMBIA UNIVERSITY IN THE CITY OF NEW YORK) 25 February 2010 (2010-02-25) entire document	1-56
A	WO 2019195576 A1 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 10 October 2019 (2019-10-10) entire document	1-56
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 06 September 2022		Date of mailing of the international search report 23 September 2022
Name and mailing address of the ISA/CN China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10)62019451		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/102395

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2021023136 A1 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 28 January 2021 (2021-01-28) entire document	1-56
.....		

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. forming part of the international application as filed:
 - in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - on paper or in the form of an image file.
 - b. furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - c. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
 - on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: **38-52, 54-55**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
 - [1] Claims 38-42 relate to "a method for regulating the activity of an engineered cell", claims 43-44 relate to "a method for activating an engineered cell", claims 45-52 relate to a method for inhibiting the activity of a target cell in a subject, and claims 54-55 relate to a use of one or more of a chimeric polypeptide, a nucleic acid molecule, a cell, and a composition in the treatment of a tumor, relating to the subject matter as defined in PCT Rule 39(iv). However, the present search report was formed on the basis of a pharmaceutical preparation use of the engineered cell, the chimeric polypeptide, the nucleic acid molecule and/or the composition.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2022/102395

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	108064283	A	22 May 2018	US	2018079812	A1	22 March 2018
				IL	287914	A	01 January 2022
				EP	3262166	A1	03 January 2018
				IL	253463	D0	28 September 2017
				US	2018208636	A1	26 July 2018
				KR	20170126897	A	20 November 2017
				US	2021107965	A1	15 April 2021
				JP	2018506293	A	08 March 2018
				US	2018355011	A1	13 December 2018
				CA	2973890	A1	01 September 2016
				JP	2021019625	A	18 February 2021
				US	2017233474	A1	17 August 2017
				AU	2016222887	A1	03 August 2017
				BR	112017017884	A2	10 April 2018
				WO	2016138034	A1	01 September 2016
				HK	1255666	A1	23 August 2019
				MX	2017010721	A	28 August 2018
US	2016264665	A1	15 September 2016				
CN	111269311	A	12 June 2020	None			
CN	109180805	A	11 January 2019	WO	2020037800	A1	27 February 2020
WO	2010021729	A2	25 February 2010	SG	193873	A1	30 October 2013
				EP	2326345	A2	01 June 2011
				ES	2532405	T3	26 March 2015
				JP	2015178507	A	08 October 2015
				IL	211232	D0	28 April 2011
				RU	2011110741	A	27 September 2012
				MX	2011001805	A	30 September 2011
				NZ	591492	A	26 October 2012
				CA	2733902	A1	25 February 2010
				US	2011223183	A1	15 September 2011
				AU	2009283134	A1	25 February 2010
				CN	102131520	A	20 July 2011
				BR	PI0912912	A2	05 July 2016
ZA	201101620	B	27 June 2012				
KR	20110074846	A	04 July 2011				
JP	2012500791	A	12 January 2012				
WO	2019195576	A1	10 October 2019	EP	3773623	A1	17 February 2021
				CA	3096200	A1	10 October 2019
				US	2021023136	A1	28 January 2021
				AU	2019247830	A1	22 October 2020
US	2021023136	A1	28 January 2021	WO	2019195576	A1	10 October 2019
				EP	3773623	A1	17 February 2021
				CA	3096200	A1	10 October 2019
				AU	2019247830	A1	22 October 2020

<p>A. 主题的分类</p> <p>C07K 14/705(2006.01)i; C12N 15/12(2006.01)i; C12N 15/00(2006.01)i; A61K 38/17(2006.01)i; A61K 35/00(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																				
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>C07K; C12N; A61K</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNKI, CNABS, CNTXT, DWPI, SIPOABS, EPTXT, WOTXT, USTXT, JPTXT, ELSEVIER, ISI Web of Knowledge, PubMed, 中国专利生物序列检索系统, NCBI, STN: 嵌合多肽, chimeric polypeptide, 嵌合蛋白, chimeric protein, 结合触发转录开关, binding-triggered transcriptional switch, synNotch, 裂解位点, cleavage site, 胞外域, extracellular domain, 跨膜域, transmembrane domain, 胞内域, intracellular domain, Jagged, EphrinB2, Notch, SEQ ID N0s:1-110</p>																				
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>CN 108064283 A (加利福尼亚大学董事会) 2018年5月22日 (2018 - 05 - 22) 权利要求1-143</td> <td>1-56</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 111269311 A (复旦大学) 2020年6月12日 (2020 - 06 - 12) 全文</td> <td>1-56</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 109180805 A (南方医科大学) 2019年1月11日 (2019 - 01 - 11) 全文</td> <td>1-56</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2010021729 A2 (THE TRUSTEES OF COLUMBIA UNIVERSITY IN THE CITY OF NEW YORK) 2010年2月25日 (2010 - 02 - 25) 全文</td> <td>1-56</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2019195576 A1 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 2019年10月10日 (2019 - 10 - 10) 全文</td> <td>1-56</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	A	CN 108064283 A (加利福尼亚大学董事会) 2018年5月22日 (2018 - 05 - 22) 权利要求1-143	1-56	A	CN 111269311 A (复旦大学) 2020年6月12日 (2020 - 06 - 12) 全文	1-56	A	CN 109180805 A (南方医科大学) 2019年1月11日 (2019 - 01 - 11) 全文	1-56	A	WO 2010021729 A2 (THE TRUSTEES OF COLUMBIA UNIVERSITY IN THE CITY OF NEW YORK) 2010年2月25日 (2010 - 02 - 25) 全文	1-56	A	WO 2019195576 A1 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 2019年10月10日 (2019 - 10 - 10) 全文	1-56
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																		
A	CN 108064283 A (加利福尼亚大学董事会) 2018年5月22日 (2018 - 05 - 22) 权利要求1-143	1-56																		
A	CN 111269311 A (复旦大学) 2020年6月12日 (2020 - 06 - 12) 全文	1-56																		
A	CN 109180805 A (南方医科大学) 2019年1月11日 (2019 - 01 - 11) 全文	1-56																		
A	WO 2010021729 A2 (THE TRUSTEES OF COLUMBIA UNIVERSITY IN THE CITY OF NEW YORK) 2010年2月25日 (2010 - 02 - 25) 全文	1-56																		
A	WO 2019195576 A1 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 2019年10月10日 (2019 - 10 - 10) 全文	1-56																		
<p><input checked="" type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p> <p>* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件</p>																				
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2022年9月6日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2022年9月23日</p>																		
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p> <p>传真号 (86-10)62019451</p>		<p>授权官员</p> <p>张蕾</p> <p>电话号码 86-(10)-53962037</p>																		

C. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	US 2021023136 A1 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 2021年1月28日 (2021 - 01 - 28) 全文	1-56

第1栏 核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1. c项)

1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列, 国际检索是基于下列序列列表进行的:

a. 作为国际申请的一部分提交的:

附件C/ST. 25文本文件形式

纸件或图形文件形式

b. 根据细则13之三. 1(a) 仅为国际检索目的以附件C/ST. 25文本文件形式与国际申请同时提交的:

c. 仅为国际检索目的在国际申请日之后提交的:

附件C/ST. 25文本文件形式(细则13之三. 1(a))

纸件或图形文件形式(细则13之三. 1(b)和行政规程第713段)

2. 另外, 在提交/提供了多个版本或副本的序列列表的情况下, 提供了关于随后提交的或附加的副本中的信息与申请时提交的作为申请一部分的序列列表的信息相同或未超出申请时提交的申请中的信息范围(如适用)的所需声明。

3. 补充意见:

第II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下：

1. 权利要求： 38-52, 54-55
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：
[1] 权利要求38-42涉及“一种调节工程细胞活性的方法”，权利要求43-44涉及“一种激活工程细胞的方法”，权利要求45-52涉及一种抑制受试者中靶细胞活性的方法，权利要求54-55涉及嵌合多肽、核酸分子、细胞和组合物中的一种或多种用于治疗肿瘤用途，涉及PCT细则第39条(iv)规定的主题，但本检索报告基于所述工程细胞、嵌合多肽、核酸分子和/或组合物的药物制备用途进行检索。
2. 权利要求：
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索，具体地说：
3. 权利要求：
因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2022/102395

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	108064283	A	2018年5月22日	US	2018079812	A1	2018年3月22日
				IL	287914	A	2022年1月1日
				EP	3262166	A1	2018年1月3日
				IL	253463	D0	2017年9月28日
				US	2018208636	A1	2018年7月26日
				KR	20170126897	A	2017年11月20日
				US	2021107965	A1	2021年4月15日
				JP	2018506293	A	2018年3月8日
				US	2018355011	A1	2018年12月13日
				CA	2973890	A1	2016年9月1日
				JP	2021019625	A	2021年2月18日
				US	2017233474	A1	2017年8月17日
				AU	2016222887	A1	2017年8月3日
				BR	112017017884	A2	2018年4月10日
				WO	2016138034	A1	2016年9月1日
				HK	1255666	A1	2019年8月23日
				MX	2017010721	A	2018年8月28日
				US	2016264665	A1	2016年9月15日
CN	111269311	A	2020年6月12日	无			
CN	109180805	A	2019年1月11日	WO	2020037800	A1	2020年2月27日
WO	2010021729	A2	2010年2月25日	SG	193873	A1	2013年10月30日
				EP	2326345	A2	2011年6月1日
				ES	2532405	T3	2015年3月26日
				JP	2015178507	A	2015年10月8日
				IL	211232	D0	2011年4月28日
				RU	2011110741	A	2012年9月27日
				MX	2011001805	A	2011年9月30日
				NZ	591492	A	2012年10月26日
				CA	2733902	A1	2010年2月25日
				US	2011223183	A1	2011年9月15日
				AU	2009283134	A1	2010年2月25日
				CN	102131520	A	2011年7月20日
				BR	PI0912912	A2	2016年7月5日
				ZA	201101620	B	2012年6月27日
				KR	20110074846	A	2011年7月4日
				JP	2012500791	A	2012年1月12日
WO	2019195576	A1	2019年10月10日	EP	3773623	A1	2021年2月17日
				CA	3096200	A1	2019年10月10日
				US	2021023136	A1	2021年1月28日
				AU	2019247830	A1	2020年10月22日
US	2021023136	A1	2021年1月28日	WO	2019195576	A1	2019年10月10日
				EP	3773623	A1	2021年2月17日
				CA	3096200	A1	2019年10月10日
				AU	2019247830	A1	2020年10月22日