

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C12Q 1/68

[12] 发明专利申请公开说明书

C07H 21/02 C07H 21/04

A01N 37/18 A61K 38/00

[21] 申请号 00806558.6

[43] 公开日 2002 年 6 月 26 日

[11] 公开号 CN 1355852A

[22] 申请日 2000.2.22 [21] 申请号 00806558.6

[30] 优先权

[32] 1999.2.23 [33] US [31] 60/121311

[86] 国际申请 PCT/US00/40006 2000.2.22

[87] 国际公布 WO00/50641 英 2000.8.31

[85] 进入国家阶段日期 2001.10.22

[71] 申请人 贝勒医学院

地址 美国德克萨斯州

[72] 发明人 J·Z·张

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 姜建成

权利要求书 4 页 说明书 47 页 附图页数 5 页

[54] 发明名称 T 细胞受体的 V β - D β - J β 序列及其检测方法

[57] 摘要

在一个实施方案中,本发明涉及第一寡核苷酸,所述第一寡核苷酸包括序列 5' - CTAGGGCGGGCGGGACT-CACCTAC - 3' 或衍生自它的序列或与其互补的核酸序列。可以将所述第一寡核苷酸与长度在 15 至 30 个核苷酸之间、不包含该第一寡核苷酸序列、且在 V β 13.1T 细胞的 V β 13.1 基因的 V β 至 J β 区域中发现的核酸一起使用,来扩增该 V β 13.1 基因的一部分,其中,该寡核苷酸序列和所述核酸序列不存在于 V β 13.1 基因对的同一条链上。用另一种方法,可以将所述第一寡核苷酸与一种标记部分一起用于检测发现于 V β 13.1T 细胞的 T 细胞受体中的 LGRAGLTY 基序的方法中。这种基序与自身免疫病有关,所述自身免疫病例如多发性硬化(MS)。一旦检测出该基序,就可以治疗该自身免疫病或监测其发展。通过给予包含 LGRAGLTY 基序的肽,可以治疗所述的自身免疫病。

知识产权出版社出版

ISSN 1008-4274

权 利 要 求 书

1. 一种长度约为 15 至 30 个核苷酸的寡核苷酸, 所述寡核苷酸包括 SEQ ID NO: 1 的至少 10 个邻接核苷酸或与其互补的核酸。

5 2. 权利要求 1 的寡核苷酸, 所述寡核苷酸包括 SEQ ID NO: 1 的至少 15 个邻接核苷酸或与其互补的核酸。

3. 权利要求 1 的寡核苷酸, 所述寡核苷酸包括 SEQ ID NO: 1 的序列或与其互补的核酸。

4. 一种引物对, 所述引物对包括:

10 (a) 长度约 15 至 30 个核苷酸的第一引物, 所述第一引物包括 SEQ ID NO: 1 的至少 10 个邻接核苷酸或与其互补的核酸; 以及

(b) 第二引物, 所述第二引物包含一种长度约 15 至 30 个核苷酸的核酸, 不包括该序列(a), 且发现于 T 细胞受体 T 细胞中 V β 13.1 基因的 V β 至 J β 的区域中,

15 其中, 所述第一引物和第二引物的序列不存在于所述 T 细胞受体基因的同一条链上。

5. 权利要求 4 的引物对, 其中, 所述 V β 13.1 基因序列是 SEQ ID NO: 2.

6. 一种寡核苷酸探针, 所述寡核苷酸探针包括:

20 (a) 一种长度约 10 至 30 个核苷酸的寡核苷酸, 所述寡核苷酸包括 SEQ ID NO: 1 的至少 10 个邻接核苷酸或与其互补的核酸; 以及

(b) 一个标记部分。

7. 权利要求 6 的寡核苷酸探针, 其中, 所述标记部分选自 ³²P 或地高辛配基。

25 8. 一种检测表达 T 细胞受体 LGRAGLTY 基序的 MBP83-99 V β 13.1 T 细胞的方法, 所述方法包括:

(a) 从 MBP83-99 V β 13.1 T 细胞中获得核酸样品;

(b) 使所述核酸样品与一种引物对接触, 所述引物对选自或衍生自:

(i) 长度约 15 至 30 个核苷酸的第一寡核苷酸, 所述第一寡核苷酸包括 SEQ ID NO: 1 的至少 10 个邻接核苷酸或与其互补的核酸, 以及

(ii) 长度约 15 至 30 个核苷酸的第二寡核苷酸, 所述第二寡核苷酸不包含所述第一寡核苷酸的序列, 且发现于 T 细胞受体 T 细胞中 V β 13.1 基因的 V β 至 J β 的区域中,

其中, 所述第一寡核苷酸和第二寡核苷酸的序列不存在于所述 T 细胞受体基因的同一条链上; 以及

(c) 检测编码 LGRAGLTY 基序的核酸的存在。

9. 权利要求 8 的方法, 其中, 所述 V β 13.1 基因序列是 SEQ ID NO: 2.

10. 根据权利要求 8 的方法, 其中, 通过聚合酶链式反应(PCR)扩增所述核酸样品的片段。

11. 根据权利要求 10 的方法, 其中, 所述检测步骤包括用一种寡核苷酸探针探查, 该寡核苷酸探针包括:

(a) 一种寡核苷酸, 所述寡核苷酸包括 SEQ ID NO: 1 的序列或与其互补的核酸; 以及

(b) 一个标记部分。

12. 根据权利要求 10 的方法, 其中, 所述检测步骤包括放射自显影。

13. 包括长度约 15 至 30 个核苷酸的第一寡核苷酸的一种测试试剂盒, 所述第一寡核苷酸包括 SEQ ID NO: 1 的至少 10 个邻接核苷酸或与其互补的核酸。

14. 权利要求 13 的测试试剂盒, 所述试剂盒还包括长度约 15 至 30 个核苷酸的第二寡核苷酸; 所述第二寡核苷酸不包含所述第一寡核苷酸的序列, 且发现于 T 细胞受体 T 细胞中 V β 13.1 基因的 V β 至 J β 的区域中; 其中所述第一寡核苷酸和第二寡核苷酸的序列不存在于所述 T 细胞受体基因的同一条链上。

15. 权利要求 14 的测试试剂盒, 其中, 所述 V β 13.1 基因序列是 SEQ ID NO: 2.

16. 权利要求 13 的测试试剂盒, 所述试剂盒还包括一种标记部分, 其中, 所述标记部分选自 ^{32}P 或地高辛配基。

17. 一种治疗人类自身免疫病的方法, 所述方法包括:

(a) 从一个人获得 MBP83-99 V β 13.1 T 细胞;

5 (b) 从 MBP83-99 V β 13.1 T 细胞中获得核酸样品;

(c) 使所述核酸样品与一种引物对接触, 所述引物对选自或衍生自:

(i) 长度约 15 至 30 个核苷酸的第一寡核苷酸, 所述第一寡核苷酸包括 SEQ ID NO: 1 的至少 10 个邻接核苷酸或与其互补的核酸, 以及

10 (iii) 长度约 15 至 30 个核苷酸的第二寡核苷酸, 所述第二寡核苷酸不包含所述第一寡核苷酸的序列, 且发现于 T 细胞受体 T 细胞中 V β 13.1 基因的 V β 至 J β 的区域中,

其中, 所述第一寡核苷酸和第二寡核苷酸的序列不存在于所述 T 细胞受体基因的同一条链上; 以及

15 (d) 检测编码 LGRAGLTY 基序的核酸的存在; 且如果检测到该核酸, 则

(e) 将一种 Leu Gly Arg Ala Gly Leu Thr Tyr (SEQ ID NO: 3) 肽给予所述的人。

18. 权利要求 17 的方法, 其中, 所述 V β 13.1 基因序列是 SEQ ID NO: 2。

20 19. 权利要求 17 的方法, 其中, 所述的给予步骤还包括给予一种 T 细胞活化标记肽。

20. 一种监测自身免疫病的方法, 所述方法包括:

(A) 从一个人获得 MBP83-99 V β 13.1 T 细胞;

(B) 通过下面的步骤, 检测编码 LGRAGLTY 基序的核酸的存在:

25 (i) 从 MBP83-99 V β 13.1 T 细胞中获得核酸样品;

(ii) 使所述核酸样品与一种引物对接触, 所述引物对选自或衍生自:

(a) 长度约 15 至 30 个核苷酸的第一寡核苷酸, 所述第一寡核苷酸包括 SEQ ID NO: 1 的至少 10 个邻接核苷酸或与其互补的核酸, 以及

(b) 长度约 15 至 30 个核苷酸的第二寡核苷酸, 所述第二寡核苷酸不包含所述第一寡核苷酸的序列, 且发现于 T 细胞受体 T 细胞中 V β 13.1 基因的 V β 至 J β 的区域中,

5 其中, 所述第一寡核苷酸和第二寡核苷酸的序列不存在于所述 T 细胞受体基因的同一条链上; 以及

(iii) 检测编码 LGRAGLTY 基序的核酸的存在; 且如果检测到该核酸, 则

(C) 测定该核酸的量。

21. 权利要求 20 的方法, 其中, 所述 V β 13.1 基因序列是 SEQ ID NO:

10 2。

说明书

T 细胞受体的 V β -D β -J β 序列及其检测方法

5 发明背景

按照来自国立卫生研究院的拨款号 NS36140, 美国政府可以拥有本发明中的权利。

1. 发明领域

10 本发明总的来讲涉及治疗自身免疫病的领域, 所述自身免疫病例如多发性硬化(MS)。更详细地讲, 本发明涉及一种在某些 MS 患者中发现的 T 细胞受体序列以及检测它的方法。

2. 相关技术的描述

15 在人和其它哺乳动物中, 在 T 细胞上发现了 T 细胞受体。T 细胞受体包括 α 链和 β 链; β 链从 N-末端至 C-末端包含下面区域: V β -D β -J β -C β 。在 V β -D β -J β 区域中, T 细胞受体由天然的变化。

当由呈递抗原细胞(APC)呈递一抗原给 T 细胞时, 具有偶然发生的、识别该抗原的可变区域(包括 V β -D β -J β)的 T 细胞受体结合所述 APC 上的该抗原。然后, 具有该 T 细胞受体的 T 细胞受到活化(克隆扩充)。

20 人们认为许多自身免疫病的发病机理在于自身免疫 T 细胞对由所述有机体正常呈递的抗原的反应。这样的疾病的一个实例是多发性硬化(MS); 认为 MS 是由于 T 细胞对髓磷脂抗原且尤其是对髓磷脂碱性蛋白(MBP)的反应而引起的。人们发现 MBP 反应性 T 细胞在体内受到活化, 且与对照个体不同, MBP 反应性 T 细胞在 MS 病人血液和脑脊髓液中以较高的前体频率出现。这些 MBP 反应性 T 细胞产生 Th1 细胞因子, 例如 IL-2、TNF、以及 γ -干扰素。这些 Th1 细胞因子促进炎性细胞移动到中枢神经系统中去, 并使 MS 中的髓磷脂破坏性的炎性反应加剧。

在 MS 的治疗方面，可以利用许多调节机制。一种这样的机制是用数目有限的具有胞外域的 T 细胞膜结合肽中一种或更多种接种。Vandenbark 的美国专利 5,614,192 公开了利用至少包含 T 细胞受体第二互补性决定区(CDR2)的一部分的 15 至 30 个氨基酸的免疫源性 T 细胞受体肽来治疗自身免疫病。Zhang 的同时待审的美国专利申请(60/099,102)公开了利用免疫源性 T 细胞受体肽和免疫源性 T 细胞活化标记肽来联合治疗自身免疫病。

可以改适用 T 细胞受体肽接种的一个领域是靠确定哪一些共同基序(如果有的话)存在于例如 MS 的自身免疫病患者的 T 细胞受体中。如果发现这样的基序，那么，为了便于治疗，可以用和所述基序等同的肽接种该患者。

因此，最好是有在自身免疫病患者的 T 细胞受体中发现的共同基序的氨基酸序列。同样，最好是能够用一种方便的方法例如 PCR 在患者的样品中很快检测出这样的基序。另外，最理想的是用与所检测出的基序等同的肽来治疗患有该自身免疫病的患者。

本发明公开了在 V β 13.1 T 细胞亚群的 T 细胞受体中发现的这样的共同基序以及一种用 PCR 快速检测它的方法；所述共同基序即“LGRAGLTY”基序，该基序具有 Leu Gly Arg Ala Gly Leu Thr Tyr (SEQ ID NO: 3)的氨基酸序列。在识别 MBP 的 83-99 号氨基酸(在下文为“MBP83-99”)的某些 T 细胞的一些 T 细胞受体中发现了这种基序。在下文中，可将在这种 V β 13.1 T 细胞亚群环境(context)中的所述基序称为“V β 13.1-LGRAGLTY”。为了治疗或预防与 V β 13.1-LGRAGLTY 有关的自身免疫病，可以用和该基序等同的肽来给患者接种。一种这样的自身免疫病是多发性硬化(MS)。

发明概述

在一个实施方案中，本发明涉及一种长度约 15 至 30 个核苷酸的寡核苷酸，所述寡核苷酸包括 SEQ ID NO: 1 的至少 10 个邻接核苷酸或与

其互补的序列或由其衍生的序列。更优选的是一种长度约 15 至 30 个核苷酸的寡核苷酸, 该种寡核苷酸包括 SEQ ID NO: 的 11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22 或 23 个邻接核苷酸, 或者包括与其互补的序列。最优选的是一种长度约 15 至 30 个核苷酸的寡核苷酸, 该种寡核苷酸包括 SEQ ID NO: 1 的核苷酸序列或与其互补的序列。

在一系列另外的实施方案中, 可以将该寡核苷酸用于扩增或检测在 V β 13.1-LGRAGLTY T 细胞中发现的核酸序列。在这样的实施方案的一个亚系列中, 将所述寡核苷酸用于一种引物对中, 该引物对包括或衍生自:

(a) 第一引物, 它是长度约 15 至 30 个核苷酸的寡核苷酸, 且包括 SEQ ID NO: 1 的至少 10 个邻接核苷酸或与其互补的一种序列, 以及

(b) 第二引物, 它为长度约 15 至 30 个核苷酸且不包括序列(a)的寡核苷酸, 并且所述第二引物序列可以发现于 T 细胞受体 T 细胞中 V β 13.1 基因的 V β 至 J β 的区域(SEQ ID NO:2)中,

其中, 序列(a)和序列(b)不存在于所述 T 细胞受体基因的同一条链上。

所述第一引物优选为一种长度约 15 至 30 个核苷酸的寡核苷酸, 该种寡核苷酸包括 SEQ ID NO: 1 的 11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22 或 23 个邻接核苷酸、或者与其互补的序列。最优选一种长度约 15 至 30 个核苷酸的寡核苷酸, 该种寡核苷酸包括 SEQ ID NO: 1 的核苷酸序列或与其互补的序列。

在这样的实施方案的另一个亚系列中, 将所述寡核苷酸用作寡核苷酸探针, 该寡核苷酸探针包括:

(a) 长度约为 15 至 30 个核苷酸的寡核苷酸, 且该寡核苷酸包括 SEQ ID NO: 1 的至少 10 个邻接核苷酸或与其互补的一种序列, 以及

(b) 一个标记部分。

所述寡核苷酸最好是长度约 15 至 30 个核苷酸的寡核苷酸, 且该种寡核苷酸包括 SEQ ID NO: 1 的 11、12、13、14、15、16、17、

18、19、20、21、22或23个邻接核苷酸、或者与其互补的一种序列。最优选的是一种长度约15至30个核苷酸的寡核苷酸，该种寡核苷酸包括SEQ ID NO: 1的核苷酸序列或与其互补的序列。最好所述标记部分选自³²P或地高辛配基。

5 在另一个实施方案中，本发明涉及检测表达LGRAGLTY基序的MBP83-99 Vβ13.1 T细胞的方法，所述方法包括：

(i) 从MBP83-99 Vβ13.1 T细胞中获得核酸样品；

(ii) 使所述核酸样品与一种引物对接触，所述引物对选自或衍生自：

10 (a) 包含长度约15至30个核苷酸的寡核苷酸的第一引物，且所述第一引物包括SEQ ID NO: 1的至少10个邻接核苷酸或与其互补的一种序列或由其衍生的一种序列，以及

(b) 包含长度约15至30个核苷酸的寡核苷酸的第二引物，所述寡核苷酸不包含序列(a)，且发现于Vβ13.1 T细胞的Vβ13.1基因的Vβ至Jβ的区域(SEQ ID NO:2)中，

15 其中，序列(a)和序列(b)不存在于Vβ13.1基因的同一条链上；以及，

(iii) 检测编码LGRAGLTY基序的核酸的存在。

20 所述第一引物最好是长度约15至30个核苷酸的寡核苷酸，该种寡核苷酸包括SEQ ID NO: 的11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22或23个邻接核苷酸、或者与其互补的一种序列。最优选的是一种长度约15至30个核苷酸的寡核苷酸，该种寡核苷酸包括SEQ ID NO: 1的核苷酸序列或与其互补的序列。

而在另一个实施方案中，本发明涉及治疗自身免疫病的一种方法，所述方法包括：

25 (a) 从一个人获得MBP83-99 Vβ13.1 T细胞；

(b) 用上述方法检测编码LGRAGLTY基序的核酸的存在；且如果检测出该核酸，则

(c) 将一种Leu Gly Arg Ala Gly Leu Thr Tyr (SEQ ID NO: 3)肽给予所

述的人。

在再一个实施方案中，本发明涉及监测自身免疫病的一种方法，所述方法包括：

(a) 从一个人获得 MBP83-99 V β 13.1 T 细胞；

5 (b) 用上述方法检测编码 LGRAGLTY 基序的核酸的存在；且如果检测出该核酸，则

(c) 定量测定该核酸。

附图简述

10 下面的附图构成了本说明书的一部分，并且，本说明书包括下列附图，从而进一步证明本发明的某些方面。参照这些附图中的一幅或更多幅且结合本文提供的具体实施方案的详细描述，可更好地理解本发明。

图 1 显示了用于 PBMC 衍生出的 PCR 产物的克隆及测序的实验步骤。用 5'V β 13.1 引物和 3'J β 引物从表达 LGRAGLTY 基序的四个阳性
15 PBMC 样品扩增衍生自 PBMC 样品的 cDNA，并将其连接到 TA 克隆载体 pCR2.1 中，且将其转化到大肠杆菌中。运用一种 M13 引物及 LGRAGLTY 特异性引物，通过 PCR，筛选质粒 DNA。测定通过 PCR 显示出明显扩增的阳性质粒的序列，以证实存在带有一个 V β 13.1 引物的 V β -D β -J β 序列。

20 图 2 表明了两种 MBP83-99 T 细胞克隆对具有单个丙氨酸取代的类似肽的反应方式。在 [³H]-胸苷掺入分析中，检查了显示出完全相同的 V β 13.1 重排(对于 MS7-E2.6 和 MS27-C3.1)和一种类似的 V α -J α 连接序列(对于 MS7-E2.6 和 MS7-E3.1)的两对 MBP83-99 T 细胞克隆对于对一组丙氨酸取代的肽的反应性。将表达 DRB1*1501 的一种小鼠成纤维细胞细
25 胞系用作呈递抗原细胞之源。在 72 小时后，测定所述克隆对每种类似肽的增殖反应，并以掺入的 CPM 的形式描述结果。影线框意味着由于对类似肽的反应而 T 细胞克隆的增殖减少 > 50%。

图 3 显示了 CDR3 寡核苷酸对原始 T 细胞克隆和不相关的 T 细胞克

5 隆的特异性的交叉检查。检查了对 TCR VDJ 区域特异性的一组寡核苷酸在检测在原始 MBP83-99 T 细胞克隆中以及在得自同一个体和不同个体的不相关 MBP83-99 T 细胞克隆中存在的已知靶 DNA 序列方面的特异性。用 CDR3-特异性寡核苷酸作为正向引物且用 3'-C β 引物作为反向引物，进行 PCR 反应。实心框表示存在于原始 T 细胞克隆中或者存在于分
10 享相同 CDR3 序列之 T 细胞克隆中的 DNA 序列的阳性检测。也检查了所有引物与具有不相关 CDR3 序列的、随机选择的 T 细胞克隆之 DNA 产物的结合(影线框)。

10 图 4 显示了在随机选择的得自 MS 患者的 PBMC 样品中、互补于基序 V β 13.1-LGRAGLTY 的靶 DNA 序列的检测。首先在 RT-PCR 中用一种 5'-V β 13.1 特异性引物及一种 3'-C β 引物来扩增由 PBMC 样品制备的 cDNA，所述 PBMC 样品来自随机挑选的 MS 患者(n = 48)，而且随后，使所述扩增的 PCR 产物与一种地高辛配基标记的、LGRAGLTY 基序特异性寡核苷酸探针杂交。将原始 MBP83-99 克隆(MS7-E2.6)和一种不相关的 T 细胞克隆(MS32-B9.8)相应地分别用作阳性对照与阴性对照。
15 MS-7 和 MS-27 是从中得到克隆 MS7-E2.6 (表 1 中的 MS-7)和克隆 MS27-C3.1 (表 1 中的 MS-27)的原始 PBMC 样品。星号表示 DRB1*1501 的阳性表达。

20 图 5 显示了得自正常受实验者的、随机选择的 PBMC 样品中 V β 13.1-LGRAGLTY 基序的检测。在与图 4 的说明中描述的条件相同的条件下，分析了得自 20 个正常受实验者(NS)的 PBMC 样品。将原始克隆(MS7-E2.6)和一种不相关的 T 细胞克隆(MS32-B9.8)相应地分别用作阳性对照和阴性对照。星号表示 DRB1*1501 的阳性表达。

25 图 6 显示了得自 MS 患者与正常受实验者的 PBMC 样品中 LGRAGLTY 基序表达的半定量比较。通过半定量 PCR，分析在得自 MS 个体和正常个体的 PBMC 的每种 cDNA 中相对于所述 C β 表达的基序 V β 13.1-LGRAGLTY 的表达。以(LGRAGLTY 基序的表达/ C β 的表达) x 100% 的形式来计算相对表达水平。

图7显示了在得自MS患者的短时(short-term) MBP83-99 T细胞系中检测到 V β 13.1-LGRAGLTY 基序。使用一种 MBP 的合成 83-99 肽, 从 5 位 MS 患者产生一组独立的短时 MBP83-99 T 细胞系。进一步证实所有这些 T 细胞系对 MBP83-99 肽的特异性反应(对 MBP83-99 应答的 CPM / 对照的 CPM > 5)。在 PCR 中, 用一种 5'-V β 13.1 特异性引物和一种 3'-C β 引物来扩增 cDNA 产物。随后在 DNA 印迹分析中, 将所述扩增的 PCR 产物与地高辛配基标记的、对应于 V β 13.1-LGRAGLTY 基序的寡核苷酸探针杂交。将得自所述原始 MBP83-99 克隆(MS7-E2.6)的 cDNA 产物以及得自一种不相的 T 细胞克隆(MS32-B9.8)的 cDNA 产物分别用作阳性对照和阴性对照。

优选实施方案的描述

为了帮助理解本发明, 在下面定义了几个术语。

“PCR”意指聚合酶链式反应。例如, 如在美国专利第 4,683,202 号(1987 年 7 月 28 日授予 Mullins)中一般地描述的, 该专利通过引用结合到本文中。PCR 是一种扩增技术, 其中, 在存在一种聚合剂(例如聚合酶)和四种核苷三磷酸的情况下, 使选定寡核苷酸或引物杂交到核酸模板上, 并从所述引物形成延伸的产物。然后, 将这些产物变性, 并在一个扩增所存在的核酸数目和数量的循环反应中(将变性产物)用作模板, 从而便于这些产物的随后的检测。各种各样的 PCR 技术都是可用的, 并且可将其与按照本发明的方法一起使用。

“引物”意指能够用作 DNA 合成起始点的、在互补于模板分子上一段特定 DNA 序列的寡核苷酸; 所述寡核苷酸或者是天然的, 或者是合成的。

在术语“衍生自...的引物或探针”的范围里, “衍生自”意指该引物或探针不限于所列举的核苷酸序列, 而是也包括所列举的核苷酸序列的变异, 所述变异包括核苷酸的添加、缺失、或取代, 所述变异达到这样的程度, 以至对所列举序列的变异保留在编码该 V β 13.1-LGRAGLTY

序列即 Leu Gly Arg Ala Gly Leu Thr Tyr (SEQ ID NO: 3)的 T 细胞受体 DNA 的检测中作为引物的能力。

5 当将“免疫原性的”用来描述一种肽时，“免疫原性的”意指该肽能够诱发一种免疫应答；该免疫应答或者是 T 细胞介导的，或是抗体的，或者是上述两者介导的。“抗原性的”意指该肽能以游离形式被抗体识别；且在抗原特异性 T 细胞的情况下，则意指在 MHC 分子的环境中。

10 “免疫相关疾病”意指在该病的发病机理方面与免疫系统有关的疾病。免疫相关疾病的一个亚类是自身免疫病。本发明考虑的自身免疫病包括但不限于：类风湿性关节炎、重症肌无力、多发性硬化、系统性红斑狼疮、自身免疫性甲状腺炎(Hashimoto's 甲状腺炎)、格雷夫斯氏(Graves')病、炎性肠病、自身免疫性眼色素层视网膜炎、多肌炎、以及某些类型的糖尿病。根据本说明书，本领域技术熟练人员可很快地察觉能用本发明组合物和方法治疗的其它自身免疫病。“T 细胞介导的疾病”意指在有机体中由于 T 细胞识别在该有机体中正常存在的肽而导致的疾病。

15 当涉及保护动物免受一种疾病时，“治疗”或“医治”意指预防、压制、或抑制该疾病。预防该疾病涉及在该疾病诱发之前将本发明的一种组合物给予动物。压制该疾病涉及在该疾病诱发之后但在其临床显露之前将本发明的一种组合物给予动物。抑制该疾病涉及在该疾病临床显露之后将本发明的一种组合物给予动物。人们将意识到：在人类医学方面，人们不能总是知道将在疾病诱导过程中的什么时候给予本发明的一种组合物。

20 在一个方面，本发明涉及包括下述引物的序列或衍生自下述引物的引物对：

25 (a) 第一引物，它是长度约为 15 至 30 个核苷酸的寡核苷酸，且包括 SEQ ID NO: 1 的至少 10 个邻接核苷酸或与其互补的核酸序列；以及

(b) 第二引物，它是长度约 15 至 30 个核苷酸且不包括序列(a)的寡核苷酸，并且发现于 V β 13.1 T 细胞 T 细胞受体基因的 V β 至 J β 的区域

中,

其中, 序列(a)和序列(b)不存在于 T 细胞受体基因的同一条链上。

所述第一引物优选为一种长度约 15 至 30 个核苷酸的寡核苷酸, 该种寡核苷酸包括 SEQ ID NO: 1 的 11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22 或 23 个邻接核苷酸、或者与其互补的一种序列。最优选的是一种长度约 15 至 30 个核苷酸的寡核苷酸, 该种寡核苷酸包括 SEQ ID NO: 1 的核苷酸序列或与其互补的序列。

设计根据本发明的引物, 来扩增编码人 V β 13.1 T 细胞的 T 细胞受体的基因片段; 该片段包含一种氨基酸基序: Leu Gly Arg Ala Gly Leu Thr Tyr (SEQ ID NO: 3)。已将来自 V β 13.1 T 细胞、编码所述包含 LGRAGLTY 基序的 T 细胞受体的基因提交给 GenBank, 登记号为 AF117132。在本文中, 将来自 V β 13.1 T 细胞、编码所述包含 LGRAGLTY 基序的 T 细胞受体的基因序列作为 SEQ ID NO: 2 而提出。在按照本发明的方法中, 用两种引物扩增来自 V β 13.1 T 细胞的、大约 400 bp 的 T 细胞受基因的片段; 其中, 所述第一引物在 CDR3 区中, 而所述第二引物在 C β 区中。所述 T 细胞受体基因的 V β -D β -J β 区域将在该 CDR3 区和 C β 区之间, 并且包括 CDR3 区和 C β 区。在一个优选的实施方案中, 所述引物为上面描述的引物对。

按照本发明的引物也包括衍生自引物(a)-(b)的寡核苷酸。如果一种序列具有或包含与所述引物的一种序列基本上相同的序列、且保留了选择性地退火到与上述大致相同的来自 V β 13.1 T 细胞的 T 细胞受体基因之 V β -D β -J β 区域的 CDR3 区或 C β 区的能力, 则这一种序列衍生自引物(a)或(b)。更详细地讲, 只要该引物保留对来自 V β 13.1 T 细胞的 T 细胞受体基因之 V β -D β -J β 区域的识别区域的选择性, 则在长度上该引物可以不同于引物(a)或(b), 或者在沿着该序列的一个或更多的位置上, 由于核酸的种类而不同于引物(a)或(b)。例如, 该引物可以是一种至少具有 15 个核苷酸的寡核苷酸, 其中, 所述 15 个核苷酸与选自或衍生自引物(a)-(b)的一种序列的一系列 15 个邻接的核酸等同。所述引物也可以是约 30 个

核苷酸或更少核苷酸的、包含一个具有选自或衍生自引物(a)-(b)的任一种序列之区段的任一寡核苷酸。该引物的核苷酸数应该大到足以保持选择性，而又要小到足以保留在引物合成和该 PCR 步骤中的功效和可操作性。所述引物可以具有各种变异，所述变异包括核苷酸的缺失、添加或取代，所述变异达到这样程度，以至这些相对于引物(a)-(b)之序列的变异保留在 Vβ13.1-LGRAGLTY 检测中作为引物的能力。

在检测样品中任何 Vβ13.1-LGRAGLTY 存在的一个步骤中，按照本发明的 Vβ13.1-LGRAGLTY 检测方法使用一对上述的引物。待测定 Vβ13.1-LGRAGLTY 存在的样品是一种核酸，最好是 DNA。该 DNA 可以是基因组 DNA、cDNA、预先通过 PCR 扩增的 DNA、或任何其它形式的 DNA。可以直接或间接地从表达 T 细胞受体β 链基因的任何动物或人机体组织中分离该样品。一种优选的机体组织为外周血单核细胞 (PBMC)。如果该样品为基因组 DNA，则可以直接从机体组织中分离它。如果该样品是 cDNA，则可以通过直接从该机体组织中分离的 mRNA 的逆转录，来间接地分离它。如果该样品是预先通过 PCR 扩增的 DNA，则通过基因组 DNA、cDNA、或任何其它形式 DNA 的扩增，来间接地分离它。

在一个优选的实施方案中，将来自 Vβ13.1 T 细胞的 T 细胞受体基因的一部分即包括编码 LGRAGLTY 基序的一段序列的部分扩增，从而增强检测 Vβ13.1-LGRAGLTY (5'-CTAGGGCGGGCGGGACTCACCTAC-3' (SEQ ID NO: 1))存在的能力。运用提供样品中所述部分的灵敏、选择性及快速扩增的任一特定的 PCR 技术或设备，可以通过一个聚合酶链式反应而进行所述的扩增。

例如，所述 PCR 扩增可以采用一种方法，其中，制备一种包括下面成分的反应混合物： 5 μl 10 x PCR 缓冲液 II (100 mM Tris-HCl, pH 8.3, 500 mM KCl)、 3 μl 25 mM MgCl₂、 1 μl 10 mM dNTP 混合物、 0.3 μl *Taq* 聚合酶(5 U/μl) (AmpliTaq Gold, Perkin Elmer, Norwalk, CT)、 30 pmol 的引物 A、以及 30 pmol 的引物 B。根据本说明书，为了用 PCR 来扩增

来自 Vβ13.1 T 细胞的 T 细胞受体基因的所述部分, 技术人员将能够选择合适的引物 A 和引物 B. 上述混合物对于扩增 1 μl 的 DNA 样品是合适的. 在下文中, 可以把待扩增的 DNA 称为“模板”。

5 一旦将样品 DNA 加入到上述反应混合物中, 就可以以一种扩增分布型(profile)来进行所述 PCR 反应, 所述扩增分布型即: 每个循环为在 95 °C 1 分钟(变性)、在 56 °C 20 秒(退火)、以及在 72 °C 40 秒(延伸), 循环的总数为 35 次。

10 在所述 PCR 反应中, 可加热变性该模板, 并退火到两种寡核苷酸引物上. 所述寡核苷酸给打算扩增的核酸序列区域装上“托架”。在该反应混合物中, 包括一种热稳定性 DNA 聚合酶. 通过加入合适的互补核苷酸, 该聚合酶使退火到互补 DNA 的所述引物延长. 优选的聚合酶具有在至少 95 °C 的温度下稳定的特性、具有 50-60 的持续合成能力以及具有大于每分钟 50 个核苷酸的延伸速率。

15 在一个典型的 PCR 扩增反应中, 大约运用 40 次 PCR 循环. 然而, 某些 PCR 反应可以同少以 15 到 20 次的循环或多达 50 次的循环运行. 每个循环包括一个解链步骤, 在该步骤中将所述模板加热到超过大约 95 °C 的温度。

20 然后, 使该 PCR 反应的温度降低, 以让所述引物退火至该模板. 在这个退火步骤中, 将该反应的温度调节到大约 55 °C 至 72 °C 之间达大约 20 秒; 可以根据具体的反应而进行较长的时间或较短的时间。

然后, 使该 PCR 反应的温度升高, 以允许由该聚合酶引起的所述引物的最大延伸. 在这个延伸步骤中, 将该反应的温度调节到大约 70 °C 至 75 °C 之间达大约 40 秒. 可以根据具体的反应而使用较高或较低的温度和/或较长或较短的时间。

25 另外, 在开始第一次循环之前, 可以使该反应混合物在大约 5 分钟至 15 分钟的期间里经受初次变性. 类似地, 在完成最后的循环之后, 可以使该反应混合物在大约 5 分钟至 10 分钟的期间里经受最后的延伸。

可以用两步 PCR 来完成扩增。在这种技术方面，为了扩增比一个目的区域大的、且包括目的区域的第一区域，进行第一个 PCR 扩增反应。然后，用该第一区域作为模板，进行第二个 PCR 扩增反应，以扩增目的区域。如果来自所述第一个 PCR 扩增反应的任一引物可被用于第二个 PCR 反应，则所述第二个 PCR 反应是“半嵌套式的”。如果来自所述第一个 PCR 扩增反应的引物没有一个可被用于第二个 PCR 反应，则所述第二个 PCR 反应是“嵌套式的”。

在使用本发明方法的一种优选方式中，通过两步 PCR 来扩增 V β 13.1-LGRAGLTY 基序。在第一个 PCR 反应中，使用该反应混合物和上面公开的分布型，用退火到所述 T 细胞受体基因的 V β 区的第一引物和退火到所述 T 细胞受体基因的 C β 区的第二引物扩增该样品。所述第一个 PCR 反应扩增大约为 600 bp 的第一区域，且从 V β 经过 V β -DB-J β 连接，延伸至 C β 。所述第二个 PCR 反应是嵌套式的或半嵌套式的；用引物对(a) - (b)部分地扩增该第一区域的一部分。所述第二个 PCR 反应扩增目的区域。

在扩增了所述样品中任何编码 V β 13.1-LGRAGLTY 的 DNA 之后，检测这种扩增的产物。可以用许多方法完成这种检测。例如，可以将扩增产物的一份等分试样加样到电泳凝胶上，对该凝胶施加一个电场，从而按大小分离 DNA 分子。在另一个方法中，把扩增产物的一份等分试样加样到用 SYBR 绿、溴化乙锭、或将结合到 DNA 上并发出一种可检测信号之另一种分子染色的电泳凝胶上。例如，溴化乙锭结合到 DNA 上，且当用紫外光照射时，发出可见光。一块干的凝胶可两者择一地包含互补于所扩增的模板序列一部分的放射性标记或化学标记的寡核苷酸(在下文可将其称为“寡核苷酸探针”)；通过把所述凝胶对胶片曝光，由该凝胶记录下放射自显影。

在另一个实施方案中，本发明涉及寡核苷酸探针，其包括：

(a) 一种长度约 15 至 30 个核苷酸的寡核苷酸，所述寡核苷酸包含 SEQ ID NO:1 的至少 10 个邻接核苷酸或与其互补的核酸序列；以及

(b) 一个标记的部分。

“ (a) ”最好是一种长度约 15 至 30 个核苷酸的寡核苷酸，该寡核苷酸包括 SEQ ID NO:1 的 11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22 或 23 个邻接核苷酸、或与其互补的序列。最优选的是一种长度约 15 至 30 个核苷酸的寡核苷酸，该寡核苷酸包括 SEQ ID NO:1 的核苷酸序列或与其互补的序列。最好所述标记部分选自 ³²P 或地高辛配基。

可用于检测用本发明引物产生的扩增产物的典型的放射性标记的寡核苷酸取自所述 V β -D β -J β 区域。如果用上面公开的、其中运用一种对应于编码 LGRAGLTY 基序的序列的引物的、半嵌套两步 PCR 来扩增 V β 13.1-LGRAGLTY 区域，则可以使用互补于扩增的 V β 13.1-LGRAGLTY 区域之任一条链的一部分的大约 10 个或更多个核苷酸、优选约 18 个或更多个核苷酸的任何寡核苷酸。更优选地是，把寡核苷酸 5'-CTAGGGCGGGCGGGACTCACCTAC-3'(SEQ ID NO:1) 或与其互补的核酸序列用作探针。

本发明也包括一种测试试剂盒，所述试剂盒包括长度约 15 至 30 个核苷酸的、包含 SEQ ID NO:1 的至少 10 个邻接核苷酸的第一引物 (a)、或与其互补的核酸序列。

在一个优选的实施方案中，所述测试试剂盒还包括第二引物 (b)，其中，所述第二引物是一种长度约 15 至 30 个核苷酸、不包含 (a) 的序列且发现于 T 细胞中的 V β 13.1 T 细胞受体基因之 V β 至 J β 区域的核酸序列；

其中，(a) 的序列和 (b) 的序列不存在于所述 T 细胞受体基因的同一条链上。

更优选所述的第一引物为一种长度约 15 至 30 个核苷酸的寡核苷酸，该寡核苷酸包括 SEQ ID NO:1 的 11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、或 23 个邻接核苷酸、或与其互补的序列。最优选的是一种长度约 15 至 30 个核苷酸的寡核苷酸，该寡核

昔酸包括 SEQ ID NO:1 的核苷酸序列或与其互补的序列。

在这个实施方案中，所述测试试剂盒还包括至少一种可用于如上描述的用 PCR 技术扩增 V β 13.1-LGRAGLTY DNA 的试剂。该试剂盒中可包括的示范性试剂包括但不限于：缓冲液、脱氧核苷三磷酸、例如 *Taq* 聚合酶的热稳定性 DNA 聚合酶、作为阳性对照的 V β 13.1-LGRAGLTY DNA、以及作为阴性对照的非 V β 13.1-LGRAGLTY DNA。对于本领域技术熟练人员而言，该测试试剂盒中可包括的其它试剂是已知的。

在另一个优选的实施方案中，所述测试试剂盒还包括一种标记部分。该标记部分最好是 ³²P 或地高辛配基。

本发明也包括一种治疗自身免疫疾病的方法。所述自身免疫疾病是在至少某些患者的 V β 13.1 T 细胞上发现包含 LGRAGLTY 的 T 细胞受体的疾病。该患者可以存在其它类型的 T 细胞、和/或没有包含所述 LGRAGLTY 基序的 T 细胞受体之 V β 13.1 T 细胞。

治疗所述自身免疫疾病的该方法包括：

(a) 从一个人获得 MBP83-99 V β 13.1 T 细胞；

(b) 用上面公开的方法，检测所述 T 细胞中编码 LGRAGLTY 基序的核酸的存在；且如果检测出该核酸，则

(c) 给予该人一种 Leu Gly Arg Ala Gly Leu Thr Tyr (SEQ ID NO:3) 肽。

所述自身免疫疾病可以是任一种在 V β 13.1 T 细胞上发现包含 LGRAGLTY 基序的 T 细胞受体的自身免疫疾病。本发明考虑的自身免疫疾病包括但不限于：类风湿性关节炎、重症肌无力、多发性硬化、系统性红斑狼疮、自身免疫性甲状腺炎(Hashimoto's 甲状腺炎)、格雷夫斯氏(Graves')病、炎性肠病、自身免疫性眼色素层视网膜炎、多肌炎、以及某些类型的糖尿病。一种优选的自身免疫疾病是多发性硬化(MS)。

如果用上面公开的方法检测出编码 LGRAGLTY 基序的核酸，则

可以通过给予一种包含 Leu Gly Arg Ala Gly Leu Thr Tyr (SEQ ID NO:3) 的肽来治疗该自身免疫疾病。可单独地给予该肽，或者可将该肽与一种 T 细胞活化标记联合给予。最好是按照 Zhang 的美国专利申请 60/099,102 的说明书，将该肽与一种 T 细胞活化标记肽联合给予；该
5 专利申请通过引用结合到本文中。给予该肽可导致一种免疫应答，其中，该患者将产生识别并结合在 Vβ13.1 T 细胞上发现的 T 细胞受体之 LGRAGLTY 基序的抗体和 T 细胞受体。

因为 Vβ13.1-LGRAGLTY 既可以存在于 MS 患者体中，又可以存在于没有患这种疾病的正常个体中，所以预计既可以将 Leu Gly Arg
10 Ala Gly Leu Thr Tyr (SEQ ID NO:3) 肽给予 MS 患者，又可以将其给予正常的个体。

在一个可供选择的实施方案中，如果用上面公开的方法检测到编码一种 LGRAGLTY 基序的核酸，则通过定量测定该核酸，可监测该
15 自身免疫疾病。存在于一个样品(例如 PBMC)中的所述核酸量越大，则 Vβ13.1 T 细胞数越大，且该自身免疫疾病症状的严重性可能越大。而且，根据呈现升高的 Vβ13.1 T 细胞水平与出现症状之间的时间，临床医师可得到一个机会，以应用所计划的治疗，而将该症状的严重性减小到最低和/或在该症状出现之前治疗该病。

为了证实本发明优选的实施方案，包括了下面的实施例。本领域
20 技术熟练人员应该意识到在接下来的实施例中公开的技术代表由本发明人发现的、在实施本发明方面十分有效的技术；且因此可认为这些技术构成了用于本发明实施的优选模式。然而，根据本说明书，本领域技术熟练人员应该意识到：在公开的具体实施方案中，可以在不偏离本发明的精神和范围的情况下进行许多变化而仍然获得同样的或类似
25 的结果。

实施例

实施例 1

T 细胞受体 V β -D β -J β DNA 序列以及由来源于不同 MS 患者的 MBP83-99 特异性 T 细胞克隆分享的序列基序

5 由七个 MS 患者产生出 20 个一组的独立 CD4+ T 细胞克隆。通过把用 DRB1*1501 转染的鼠成纤维细胞(L 细胞)用作呈递抗原细胞测定, 所有的 T 细胞克隆均识别在 HLA-DR2 环境中的髓磷脂碱性蛋白的 83-99 肽(MBP83-99)。用 V α -特异性寡核苷酸引物和 V β -特异性寡核苷酸引物, 在反转录 PCR (RT-PCR)中特定鉴定所述 T 细胞克隆的 TCR V
10 基因重排, 并且随后对 V α -J α 和 V β -D β -J β 连接区测序。在表 1 和表 2 中显示了该连接区的序列。

表 1 概括了用一组共 20 个独立 MBP83-99 特异性 T 细胞克隆的分析结果, 所述 T 细胞克隆已运用一组对 V α 基因家族特异性的寡核苷酸引物(所用独特引物的序列通过在对应于每个克隆的所述 DNA 序列下划
15 线来表明)通过反转录 PCR、按照 T 细胞克隆的 V α 基因用法进行了表征。在表 1 中如下表明 每个克隆的“V α ”、“n”、“J α ”、及“C α ”部分的氨基酸序列: 在所述“n”部分下划线; 所述“V α ”序列和“J α ”序列在所述“n”序列的相应一侧用粗体表示所述“V α ”序列和“J α ”序列; 以及用正常无下划线的字体表示所述“C α ”序列。使扩增的 PCR
20 产物与地高辛配基标记的 C α cDNA 探针杂交, 且随后对扩增的 PCR 产物的 DNA 序列进行序列分析。

表 2 概括了一组共 20 个独立的 MBP83-99 特异性 T 细胞克隆的分析结果。用一组对 26 个 V β 基因家族特异性的寡核苷酸引物(每个克隆的特定引物的序列通过在相应的所述 DNA 序列下划线来表明), 通过反
25 转录 PCR, 对所述克隆作 V β 基因用法的分析。在表 2 中如下表明每个克隆的“V β ”、“D”、“J β ”、以及“C β ”部分: 在所述“D”部分下划线; 所述“V β ”序列和“J β ”序列在所述“D”序列的相应一侧用粗体表示; 且用正常字体显示剩下的序列“C β ”(无下划线或粗体

标记)。使所扩增的 PCR 产物与地高辛配基标记的 C β cDNA 探针杂交, 且随后对扩增的 PCR 产物的 DNA 序列进行序列分析。

表 1: 对 MBP83-99 肽特异性的 TCR V α 基因序列

T 细胞克隆 (Gen Bank 登记号)	V 基因	DNA 序列 或氨基酸 序列	V α - η -J α -C α
MS7-E3.1 (AF117142)	V α 22	氨基酸	YFCALSRGGSNYKLTFGKGTLLTVNPNIQN (SEQ ID NO: 4)
		DNA	TACTTCTGTGCTCTGAGTAGGGGAGGTAGCAACTATA AACTGACATTTGGAAAAGGAAGTCTCTTAACCGTGAA TCCAAATATCCAGAAC (SEQ ID NO: 5)
MS7-D2.2 (AF117143)	V α 9	氨基酸	YYCALKRNFNEKLTFGTGTRLTIIPNIQN (SEQ ID NO: 6)

5

T 细胞克隆 (Gen Bank 登记号)	V 基因	DNA 序列 或氨基酸 序列	V α - η -Ja-C α
		DNA	TATTACTGTGCTCTAAAAAGAACTTTGGAAATGAGAAAT TAACCTTTGGGACTGGAACAAGACTCACCATCATACCCAA TATCCAGAAC (SEQ ID NO: 7)
MS7-E2.6 (AF117144)	V α 17	氨基酸	YFCAAS <u>PGGS</u> NYKLTFGKGTLLTVNPNIQN (SEQ ID NO: 8)
		DNA	TACTTCTGTGCAGCAAGCCCCGGAGGTAGCAACTATAAAC TGACATTTGGAAAAGGAAGCTCTCTTAACCGTGAATCCAAA TATCCAGAAC (SEQ ID NO: 9)
MS7-C3.1 (AF117145)	V α 17	氨基酸	YFCAAM <u>GDFG</u> NEKLTFGTGTRLTIIPNIQN (SEQ ID NO: 10)
		DNA	TACTTCTGTGCAGCAATGGGGGACTTTGGAAATGAGAAAT TAACCTTTGGGACTGGAACAAGACTCACCATCATACCCAA TATCCAGAAC (SEQ ID NO: 11)
MS27- D7.16 (AF117145)	V α 17	氨基酸	YFCAAM <u>GDFG</u> NEKLTFGTGTRLTIIPNIQN (SEQ ID NO: 12)
		DNA	TACTTCTGTGCAGCAATGGGGGACTTTGGAAATGAGAAAT TAACCTTTGGGACTGGAACAAGACTCACCATCATACCCAA TATCCAGAAC (SEQ ID NO: 13)
MS27-F3.4 (AF117145)	V α 17	氨基酸	YFCAAM <u>GDFG</u> NEKLTFGTGTRLTIIPNIQN (SEQ ID NO: 14)
		DNA	TACTTCTGTGCAGCAATGGGGGACTTTGGAAATGAGAAAT TAACCTTTGGGACTGGAACAAGACTCACCATCATACCCAA TATCCAGAAC (SEQ ID NO: 15)
MS27- D4.4 (AF117146)	V α 22	氨基酸	YFCALSVAGGTSYGKLTFGQGTLTVHPNIQN (SEQ ID NO: 16)
		DNA	TACTTCTGTGCTCTGAGCGTTGCTGGTGGTACTAGCTATGG AAAGCTGACATTTGGACAAGGGACCATCTTGACTGTCCAT CCAAATATCCAGAAC (SEQ ID NO: 17)
MS32- F5.12 (AF117147)	V α 16	氨基酸	YYCLVGD <u>AVRPGGG</u> NKLTFGTGTQLKVELNIQN (SEQ ID NO: 18)
		DNA	TACTACTOCCTCGTGGGTGACGCCGTGAGGCCGGGAGGA GGAAACAAACTCACCTTTGGGACAGGCACTCAGCTAAAA GTGGAACCTCAATATCCAGAAC (SEQ ID NO: 19)
MS32-B9.8 (AF117147)	V α 16	氨基酸	YYCLVGD <u>AVRPGGG</u> NKLTFGTGTQLKVELNIQN (SEQ ID NO: 20)
		DNA	TACTACTGCCTCGTGGGTGACGCCGTGAGGCCGGGAGGA GGAAACAAACTCACCTTTGGGACAGGCACTCAGCTAAAA GTGGAACCTCAATATCCAGAAC (SEQ ID NO: 21)

T 细胞克隆 (Gen Bank 登记号)	V 基因	DNA 序列 或氨基酸序 列	V α - η -J α -C α
MS37- D9.3 (AF117148)	V α 3	氨基酸	YFCATDAGGTYKYIFGTGTRLKVLANIQN (SEQ ID NO: 22)
		DNA	TACTTCTGTGCTACGGACGCAGGAGGAACCTACAAATACA TCTTTGGAACAGGCACCAGGCTGAAGGTTTTAGCAAATAT CCAGAAC (SEQ ID NO: 23)
MS37-B9.1 (AF117149)	V α 16	氨基酸	YYCLVGDJDDMRFGAGTRLTVKPNIQN (SEQ ID NO: 24)
		DNA	TACTACTGCCTCGTGGGTGACATCGATGACATGCGCTTTG GAGCAGGGACCAGACTGACAGTAAAACCAAATATCCAGA AC (SEQ ID NO: 25)
MS9-C.26 (AF117150)	V α 3	氨基酸	YFCATSVNTDKLIFGTGTRLQVFPNIQN (SEQ ID NO: 26)
		DNA	TACTTCTGTGCTACATCGGTTAACACCGACAAGCTCATCTT TGGGACTGGGACCAGATTACAAGTCTTCCAATATCCAG AAC (SEQ ID NO: 27)

表 2: 对 MBP83-99 肽特异性的 TCR V β 基因序列

T 细胞克隆 (Gen Bank 登记号)	V 基因	DNA 序列 或氨基酸序 列	V β -D-J β -C β
MS7-E3.1 (AF117130)	V β 9	氨基酸	YFCASSQDRFWGGTVNTEAFFGQGTRLTVVEDLNK (SEQ ID NO: 28)
		DNA	TATTTCTGTGCCAGCAGCCAAGATCGTTTTTGGGGGGG GACGGTGAACACTGAAGCTTTCTTTGGACAAGGCACC AGACTCACAGTTGTAGAGGACCTGAACAAG (SEQ ID NO: 29)
MS7-D2.2 (AF117131)	V β 1	氨基酸	YFCASSAMGETQYFGPGTRLLVLEDLKN (SEQ ID NO: 30)
		DNA	TATTTCTGTGCCAGCAGCGCTATGGGAGAGACCCAGT ACTTCGGGCCAGGCACGCGGCTCCTGGTGCTCGAGGA CCTGAAAAAC (SEQ ID NO: 31)
MS7-E2.6 (AF117132)	V β 13. 1	氨基酸	YFCASSLGRAGLTYEQYFGPGTRLTVTEDLKN (SEQ ID NO: 32)
		DNA	TACTTCTGTGCCAGCAGCCTAGGGCGGGCGGGACTCA CCTACGAGCAGTACTTCGGGCCGGGCACCAGGCTCAC GGTCACAGAGGACCTGAAAAAC (SEQ ID NO: 33)
MS27-C3.1 (AF117132)	V β 13. 1	氨基酸	YFCASSLGRAGLTYEQYFGPGTRLTVTEDLKN (SEQ ID NO: 34)
		DNA	TACTTCTGTGCCAGCAGCCTAGGGCGGGCGGGACTCA CCTACGAGCAGTACTTCGGGCCGGGCACCAGGCTCAC GGTCACAGAGGACCTGAAAAAC (SEQ ID NO: 35)
MS27- D7.16 (AF117132)	V β 13. 1Y	氨基酸	YCASSLGRAGLTYEQYFGPGTRLTVTEDLKN (SEQ ID NO: 36)
		DNA	TACTTCTGTGCCAGCAGCCTAGGGCGGGCGGGACTCA CCTACGAGCAGTACTTCGGGCCGGGCACCAGGCTCAC GGTCACAGAGGACCTGAAAAAC (SEQ ID NO: 37)
MS27-F3.4 (AF117132)	V β 13. 1	氨基酸	YFCASSLGRAGLTYEQYFGPGTRLTVTEDLKN (SEQ ID NO: 38)
		DNA	TACTTCTGTGCCAGCAGCCTAGGGCGGGCGGGACTCA CCTACGAGCAGTACTTCGGGCCGGGCACCAGGCTCAC GGTCACAGAGGACCTGAAAAAC (SEQ ID NO: 39)
MS27- D4.4 (AF117133)	V β 9	氨基酸	YFCASSPTVNYGYTFGSGTRLTVVEDLNK (SEQ ID NO: 40)

T 细胞克隆 (Gen Bank 登记号)	V 基因	DNA 序列 或氨基酸序 列	Vβ-D-Jβ-Cβ
		DNA	TATTTCTGTGCCAGCAGCCCGACAGTTAACTATGGCTA CACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACCGTTGTAGAG GACCTGAACAAG (SEQ ID NO: 41)
MS32- F5.12 (AF117134)	Vβ13. 1	氨基酸	YFCASSYSIRGOGNEQYFGPGTRRLTVTEDLKN (SEQ ID NO: 42)
		DNA	TACTTCTGTGCCAGCAGTTACTCGATTAGGGGACAGG GTAACGAGCAGTACTTCGGGCCGGGCACCAGGCTCAC GGTCACAGAGGACCTGAAAAAC (SEQ ID NO: 43)
MS32-B9.8 (AF117134)	Vβ13. 1	氨基酸	YFCASSYSIRGOGNEQYFRPGTRRLTVTEDLKN (SEQ ID NO: 44)
		DNA	TACTTCTGTGCCAGCAGTTACTCGATTAGGGGACAGG GTAACGAGCAGTACTTCGGGCCGGGCACCAGGCTCAC GGTCACAGAGGACCTGAAAAAC (SEQ ID NO: 45)
MS37- D9.3 (AF119246)	Vβ7	氨基酸	YLCASSQDRVAPQYFGPGTRLLVLEDLKN (SEQ ID NO: 46)
		DNA	TATCTCTGTGCCAGCAGCCAAGATCGGGTTGCGCCAC AGTACTTCGGGCCAGGCACGCGGCTCCTGGTGCTCGA GGACCTGAAAAAC (SEQ ID NO: 47)
MS37-B9.1 (AF117135)	Vβ17	氨基酸	YLCASSTROGPOETQYFGPGTRLLVLEDLKN (SEQ ID NO: 48)
		DNA	TATCTCTGTGCCAGTAGTACCCGGCAAGGACCTCAAG AGACCCAGTACTTCGGGCCAGGCACGCGGCTCCTGGT GCTCGAGGACCTGAAAAAC (SEQ ID NO: 49)
MS8-D2.7 (AF117136)	Vβ8	氨基酸	YLCASSLGOGAYEQYFGPGTRRLTVTEDLKN (SEQ ID NO: 50)
		DNA	TATCTCTGTGCCAGCAGCTTAGGACAGGGGGCTTACG AGCAGTACTTCGGGCCGGGCACCAGGCTCACGGTCAC AGAGGACCTGAAAAAC (SEQ ID NO: 51)
MS8-A2.7 (AF117136)	Vβ8	氨基酸	YLCASSLGOGAYEQYFGPGTRRLTVTEDLKN (SEQ ID NO: 52)
		DNA	TATCTCTGTGCCAGCAGCTTAGGACAGGGGGCTTACG AGCAGTACTTCGGGCCGGGCACCAGGCTCACGGTCAC AGAGGACCTGAAAAAC (SEQ ID NO: 53)
MS8- A1.15 (AF117136)	Vβ8	氨基酸	YLCASSLGOGAYEQYFGPGTRRLTVTEDLKN (SEQ ID NO: 54)

T 细胞克隆 (Gen Bank 登记号)	V 基因	DNA 序列 或氨基酸 序列	Vβ-D-Jβ-Cβ
		DNA	TATCTCTGTGCCAGCAGCTTAGGACAGGGGGCTTACG AGCAGTACTTCGGGCCGGGCACCAGGCTCACGGTCAC AGAGGACCTGAAAAAC (SEQ ID NO: 55)
MS8-D1.3 (AF117137)	Vβ8	氨基酸	YFCASSLOVYSPLHFGNGTRLTVTEDLNK (SEQ ID NO: 56)
		DNA	TACTTCTGTGCCAGCAGTTTACAAGTGTATTCACCCCT CCACTTTGGGAACGGGACCAGGCTCACTGTGACAGAG GACCTGAACAAG (SEQ ID NO: 57)
MS33-D1.2 (AF117138)	Vβ12	氨基酸	YFCAISESIGTGTEAFFGQGTRLTVVEDLNK (SEQ ID NO: 58)
		DNA	TACTTCTGTGCCATCAGTGAGTCGATTGGTACGGGAA CTGAAGCTTTCTTTGGACAAGGCACCAGACTCACAGT TGTAGAGGACCTGAACAAG (SEQ ID NO: 59)
MS33-D3.3 (AF117138)	Vβ12	氨基酸	YFCAISESIGTGTEAFFGQGTRLTVVEDLNK (SEQ ID NO: 60)
		DNA	TACTTCTGTGCCATCAGTGAGTCGATTGGTACGGGAA CTGAAGCTTTCTTTGGACAAGGCACCAGACTCACAGT TGTAGAGGACCTGAACAAG (SEQ ID NO: 61)
MS33-D8.1 (AF117139)	Vβ3	氨基酸	YLCASRDRSYEQYFGPGTRLTVTEDLKN (SEQ ID NO: 62)
		DNA	TACCTCTGTGCCAGCCGGGACAGGTCCTACGAGCAGT ACTTCGGGCCGGGCACCAGGCTCACGGTCACAGAGGA CCTGAAAAAC (SEQ ID NO: 63)
MS9-C.26 (AF117140)	Vβ12	氨基酸	YFCAISEGSSSGNTIYFGECSWLTVVEDLNK (SEQ ID NO: 64)
		DNA	TACTTCTGTGCCATCAGTGAGGGGTCCAGCTCTGGAA ACACCATATATTTTGGAGAGGGAAGTTGGCTCACTGT TGTAGAGGACCTGAACAAG (SEQ ID NO: 65)
MS35-C7.2 (AF117141)	Vβ2	氨基酸	FYICSAIDGYTFGSGTRLTVVEDLNK (SEQ ID NO: 66)
		DNA	TTCTACATCTGCAGTGCTATAGACGGCTACACCTTCGG TTCGGGGACCAGGTTAACCGTTGTAGAGGACCTGAAC AAG (SEQ ID NO: 67)

虽然所述的 Vα 和 Vβ 重排在各个 MBP83-99 T 细胞克隆之间不同, 但起源于一种特定个体的许多这些独立的 T 细胞克隆分享相同的、具有相同 Vα-Jα 和 Vβ-Dβ-Jβ 连接区序列的 Vα 链和 Vβ 链. 这个发现和先前

5

报道的在特定 MS 患者体内的 MBP83-99 特异性 T 细胞之克隆扩充 (Vandevyver 1995, Wucherpfenning 1994)是一致的。

5 有趣地是, 正如在表 1 和表 2 中表明的, 起源于一个患者(MS-1)的一个独立的 T 细胞克隆(克隆 E2.6)与得自另一个患者(MS-2)的 4 个 T 细胞克隆中的 3 个(克隆 C3.1、 D7.16 和 F3.4)分享相同的 V β 13.1 和 V α 17。这些 T 细胞克隆的 V β 13.1 分享一种在 V β -D β -J β 连接区内的完全相同的 DNA 序列。

实施例 2

10 V β -D β -J β -特异性寡核苷酸引物在检测存在于原始 MBP83-99 T 细胞克隆中以及存在于包含原始 MBP83-99 T 细胞的 PBMC 中的、相应的 DNA 序列方面是高度特异性的和高度灵敏的

15 根据在独立的 MBP83-99 T 细胞克隆的 V β -D β -J β 连接区内的 DNA 序列, 合成了一组共 14 种寡核苷酸引物; 且随后在 RT-PCR 中, 检查其特异性。在表 3 中显示了这些寡核苷酸引物的 DNA 序列。

表 3 V β -D β -J β -特异性寡核苷酸引物的 DNA 序列

T 细胞克隆	DNA 序列	SEQ ID NO
MS1-E3.1	AGCAGCCAAGATCGTTTTTGG	SEQ ID NO: 68
MS1-E2.6	CTAGGGCGGGCGGGACTCACCTAC	SEQ ID NO: 69
MS2-C3.1	CTAGGGCGGGCGGGACTCACCTAC	SEQ ID NO: 70
MS2-D4.4		
MS3-F5.12	TACTCGATTAGGGGACAGGGTAAC	SEQ ID NO: 71
MS3-B9.8		
MS4-D9.3	CAAGATCGGGTTGCGCCA	SEQ ID NO: 72
MS4-B9.1	ACCCGGCAAGGACCTCAAGAGACC	SEQ ID NO: 73
MS5-D2.7	AGCTTAGGACAGGGGGCT	SEQ ID NO: 74
MS5-D1.3		
MS6-D8.1	GCCAGCCGGGACAGGTCC	SEQ ID NO: 75
MS6-D1.2	GAGTAGATTGGTACGGGA	SEQ ID NO: 76
MS7-C.26		
MS8-C7.2	TACATCTGAAGTGCTATAGAC	SEQ ID NO: 77

5 这些 V β -D β -J β -特异性引物仅结合到存在于原始 MBP83-99 T 细胞克隆中的 DNA 序列上, 而不结合到得自不相关 MBP83-99 T 细胞克隆的所述序列上(图 2); 这暗示了它们对于原始 V β -D β -J β 序列的高度特异性。注意到有关克隆 MS1-E2.6 和克隆 MS2-C3.1 的唯一例外, 其中, 结合到一种 V β -D β -J β 连接 DNA 序列上的同样引物由两种 T 细胞克隆分享。

10 已知所述 V β -D β -J β 寡核苷酸引物的特异性及 PCR 检测系统的高度灵敏性, 则我们问这种运用 5' V β 引物和 V β -D β -J β -特异性的寡核苷酸引物的两步 PCR 检测系统是否可被用来检测存在于所述 MBP83-99 T 细胞克隆所起源的外周血单核细胞(PBMC)样品中的相应 DNA 序列。两个独立实验的结果显示在原始 PBMC 样品中的 V β -D β -J β 序列的阳性检测。因此, 所述研究的结果证明: 其中 V β -D β -J β 序列用作指纹的该 PCR 检测系统在通过探查完全相同的 DNA 序列而追踪存在于外周血单核细胞中的 MBP83-99 T 细胞方面是特异性的和灵敏的。

15 实施例 3

在得自不同 MS 患者和健康个体的 PBMC 样品中检测一种共同 V β -D β -J β DNA 序列

20 接着, 我们检查在随机选自一组 MS 患者和健康个体的 PBMC 样品中是否可以检测到对应于所述 MBP83-99 T 细胞克隆的 V β -D β -J β 连接区的 DNA 序列。使用采用对相应 V β 家族之特异性引物(在所述第一个 PCR 中)和 V β -D β -J β 序列之特异性引物(在所述第二个半嵌套式 PCR 中)的相同 PCR 扩增系统。使所述的 PCR 扩增系统与用相应的 V β -D β -J β 探针进行杂交的 DNA 印迹分析相结合。已知所述两步 PCR 检测系统的具体需
25 要和 V β -D β -J β 引物及探针的特异性, 因此所鉴定的 DNA 序列将起源于特定的 TCR V β 链, 且代表与目的 V β -D β -J β 序列或者等同或者相似。

结果表明: 只有一种 V β -D β -J β 寡核苷酸引物(MS1-E2.6, V β 13.1-LGRAGLTY)在得自不同 MS 患者的 48 个 PBMC 样品里的 15 个样品(31%)

中检测出互补的 TCR V β 13.1 DNA 序列。因此, 这个研究结果表明在这些 MS 患者体内存在表达 V β 13.1-LGRAGLTY 的 MBP83-99 T 细胞。在类似的实验条件下, 所述的同一引物在得自健康个体的 20 个 PBMC 样品里的 5 个样品(25%)中也检测出相应的 DNA 序列。剩下的 13 种 V β -D β -J β 引物在同一组 PBMC 样品中没能鉴定出任何序列信号。这些结果在三个独立的实验中是可以再现的。E2.6 引物扩增的所鉴定的 DNA 产物起源于表达 V β 13.1 的 T 细胞, 因为为了扩增而在第一个 PCR 中使用了一种 V β 13.1 特异性引物。

此外, 也在产生自 5 个其 PBMC 样品被证明包含所鉴定的 V β 13.1-LGRAGLTY 序列的 MS (MS-35、MS36 和 MS39) 患者的 24 个短时 MBP83-99 T 细胞系里的 13 个细胞系中, 扩增了所述 V β 13.1-LGRAGLTY 序列。因此, 这些结果证实了在所述 PBMC 样品中检测出的该 V β 13.1-LGRAGLTY DNA 序列起源于识别 MBP83-99 的 T 细胞。这个发现也暗示: 表达该 V β 13.1-LGRAGLTY 序列的 MBP83-99 T 细胞代表了在某些 MS 患者中发现的全部或大多数的 MBP83-99 T 细胞系。

一种将 V β -D β -J β 序列用作指纹的联合 PCR-DNA 杂交检测系统, 在通过检测等同的 V β -D β -J β 连接序列而追踪抗原特异性 T 细胞方面提供了一种强有力的手段。所述检测系统的高特异性和高灵敏性允许在外周血 T 细胞中鉴定特异性的 V β -D β -J β 序列。本研究首次证明: 在大约 30% MS 患者中, 存在一个识别 MBP 的免疫显性 83-99 肽且一致表达一种相同 V β -D β -J β 序列的 V β 13.1 T 细胞的共同亚群。基于在本文中描述的分段实验获得了所述的结论。第一, 在得自不同患者的、独立的 MBP83-99 T 细胞克隆之中, 找到所述相同的 DNA 序列(V β 13.1-LGRAGLTY)。第二, 在由得自不同 MS 患者的 PBMC 样品的 TCR V β 13.1 所扩增的 cDNA 产物中, 鉴别出该序列。第三, 在产生自被证明包含该 V β 13.1-LGRAGLTY 序列的 PBMC 样品的独立的短时 MBP83-99 T 细胞系中, 检测到该 DNA 序列。表达该 V β 13.1-LGRAGLTY 序列的 MBP83-99 T 细胞似乎代表了全部或大多数的产生自某些 MS 患者的 MBP83-99 T 细

胞系。最后，通过重组 DNA 克隆和直接的 DNA 序列分析，证实 PBMC 样品中 V β 13.1-LGRAGLTY 序列的存在。

而且，表达所述共同 V β 13.1-LGRAGLTY 序列的 MBP83-99 T 细胞也存在于某些健康的个体中不是意想不到的。迄今所报道的研究表明：
5 MBP 反应性 T 细胞，包括识别所述免疫显性 83-99 肽的 T 细胞，也存在于某些健康的个体中(Zhang 1994, Ota 1990)。然而，与健康个体不同的是：在 MS 患者中有一种功能上差异，即这些 T 细胞经历体内的活化和克隆扩充(Zhang 1994)。

分享所述共同的 V β -D β -J β 序列的这些 V β 13.1 MBP83-99 T 细胞可能代表在某些 MS 患者中所发现的 MBP83-99 T 细胞的相当大的一部分。
10 这种可能性得到以下观察的支持：该 V β 13.1-LGRAGLTY 序列存在于 40%的、在两次刺激循环后产生自 MS 患者的短时 MBP83-99 T 细胞系中性。

在一个定量 PCR 检测系统中，为了监测体内的克隆扩充和与该疾病潜在相关的体内活性，可以将所鉴定的共同 V β -D β -J β 序列用作一种特异性标记，以检测在一大组 MS 患者的血液及脑脊髓液中的 MBP83-99 T 细胞的共同亚群。这种方法将优于基于细胞培养物的常规分析，因为 MBP 反应性 T 细胞的体外选择和扩展常常被细胞培养物中固有的各种各样的抑制因子所阻碍。这与最近的研究是一致的，在所述的研究中，
15 当用直接的离体分析来测定 MBP 反应性 T 细胞的数量时，发现 MBP 反应性 T 细胞的频率在 MS 患者中是惊人地高的(Hafler 为最后的作者 JEM 1997)。

此外，已表明对应于所述 T 细胞受体的合成肽在 MS 患者体内诱导对 MBP 反应性 T 细胞的抗独特型 T 细胞应答(Chou 等, J. I.)。因此，
25 在一组其 MBP83-99 T 细胞具有共同的 CDR3 序列基序的患者体内激发抗独特型 T 细胞以抑制 MBP 反应性 T 细胞特定亚群方面，包含一种共同 CDR3 序列的 T 细胞受体肽可具有巨大的潜力。在 MS 患者方面，作为一种潜在的治疗方法，用这样的共同 CDR3 肽的免疫法会优于用 CDR2

肽或个体相关 CDR3 肽的免疫法(Vandenbark 1996).

5 根据本说明书, 可以获得及实施在本文中公开且要求保护的所有组合物和/或方法, 而不需过分地试验。虽然已借助优选的实施方案描述了本发明的组合物及方法, 但对于本领域技术熟练人员, 显而易见的将是: 在本文描述方法的步骤中、或步骤顺序方面, 可以在不偏离本发明的概念、精神和范围的情况下对所述组合物和/或方法进行多种改变。更具体地讲, 显而易见的将是: 可以用某些不但在化学上、而且在生理学上相关的试剂代替本文描述的试剂, 能够得到同样结果或相似结果。认为对本领域技术熟练人员显而易见的所有这样的取代以及修改在由所附的权
10 利要求所限定的本发明的精神、范围和概念内。

序 列 表

	<110> Jingwu, Zhang Z.	
5	<120> T 细胞受体 VB-DB-JB 序列及其检测方法	
	<130> BCOL003	
	<140>	
10	<141>	
	<160> 77	
	<170> PatentIn Ver. 2.1	
15	<210> 1	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> 合成的	
20	<400> 1	
	ctagggcggg cgggactcac ctac	24
	<210> 2	
25	<211> 400	
	<212> DNA	
	<213> 人类(Homo sapiens)	
	<400> 2	
30	catgtctccg ataaccaga ggatttcccg ctcaggctgc tgcggctgc tcctcccag 60	
	acatctgtgt acttctgtgc cagcagccta gggcgggagg gactcaccta cgagcagtac 120	
	ttcgggccgg gcaccagget cacggtcaca gaggacctga aaaacgtgtt cccaccggag 180	
	gtcgtctgtt ttgagccatc agaagcagag atctcccaca cccaaaaggc cacactggta 240	
	tgcttgcca caggcttcta ccccgaccac gtggagctga gctggtgggt gaatgggaag 300	
35	gaggtgcaca gtggggctcag cacagaccgg cagcccctca aggagcagcc cgccctcaat 360	
	gactccagat actgcctgag cagccgctg agggctctcgg 400	
	<210> 3	
	<211> 8	
40	<212> PRT	
	<213> 人类	

<400> 3
 Leu Gly Arg Ala Gly Leu Thr Tyr
 1 5
 5

<210> 4
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 人类
 10

<400> 4
 Tyr Phe Cys Ala Leu Ser Arg Gly Gly Ser Asn Tyr Lys Leu Thr Phe
 1 5 10 15
 15
 Gly Lys Gly Thr Leu Leu Thr Val Asn Pro Asn Ile Gln Asn
 20 25 30

<210> 5
 <211> 90
 <212> DNA
 <213> 人类
 20

<400> 5
 25 tacttctgtg ctctgagtag gggaggtagc aactataaac tgacatttgg aaaaggaact 60
 ctettaaccg tgaatccaaa tatccagaac 90

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

<400> 6
 35 Tyr Tyr Cys Ala Leu Lys Arg Asn Phe Gly Asn Glu Lys Leu Thr Phe
 1 5 10 15

Gly Thr Gly Thr Arg Leu Thr Ile Ile Pro Asn Ile Gln Asn
 20 25 30
 40

<210> 7

<211> 90
<212> DNA
<213> 人类

5 <400> 7
tattactgtg ctctaaaaag aaactttgga aatgagaaat taacctttgg gactggaaca 60
agactcacca tcatacccaa tatccagaac 90

10 <210> 8
<211> 30
<212> PRT
<213> 人类

15 <400> 8
Tyr Phe Cys Ala Ala Ser Pro Gly Gly Ser Asn Tyr Lys Leu Thr Phe
1 5 10 15

Gly Lys Gly Thr Leu Leu Thr Val Asn Pro Asn Ile Gln Asn
20 25 30

20 <210> 9
<211> 90
<212> DNA
<213> 人类

25 <400> 9
tacttctgtg cagcaagccc cggaggtagc aactataaac tgacatttgg aaaaggaact 60
ctcttaaccg tgaatccaaa tatccagaac 90

30 <210> 10
<211> 30
<212> PRT
<213> 人类

35 <400> 10
Tyr Phe Cys Ala Ala Met Gly Asp Phe Gly Asn Glu Lys Leu Thr Phe
1 5 10 15

40 Gly Thr Gly Thr Arg Leu Thr Ile Ile Pro Asn Ile Gln Asn
20 25 30

<210> 11

<211> 90
<212> DNA
<213> 人类

5 <400> 11
tacttctgtg cagcaatggg ggactttgga aatgagaaat taacctttgg gactggaaca 60
agactcacca tcatacccaa tatccagaac 90

10 <210> 12
<211> 30
<212> PRT
<213> 人类

15 <400> 12
Tyr Phe Cys Ala Ala Met Gly Asp Phe Gly Asn Glu Lys Leu Thr Phe
1 5 10 15

20 Gly Thr Gly Thr Arg Leu Thr Ile Ile Pro Asn Ile Gln Asn
20 25 30

<210> 13
<211> 90
<212> DNA
25 <213> 人类

<400> 13
tacttctgtg cagcaatggg ggactttgga aatgagaaat taacctttgg gactggaaca 60
agactcacca tcatacccaa tatccagaac 90
30

<210> 14
<211> 30
<212> PRT
35 <213> 人类

<400> 14
Tyr Phe Cys Ala Ala Met Gly Asp Phe Gly Asn Glu Lys Leu Thr Phe
1 5 10 15

40 Gly Thr Gly Thr Arg Leu Thr Ile Ile Pro Asn Ile Gln Asn
20 25 30

<210> 15
 <211> 90
 <212> DNA
 5 <213> 人类

 <400> 15
 tacttctgtg cagcaatggg ggactttgga aatgagaaat taacctttgg gactggaaca 60
 agactcacca tcatacccaa tatccagaac 90
 10

 <210> 16
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> 人类
 15

 <400> 16
 Tyr Phe Cys Ala Leu Ser Val Ala Gly Gly Thr Ser Tyr Gly Lys Leu
 1 5 10 15
 20
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Ile Leu Thr Val His Pro Asn Ile Gln Asn
 20 25 30

 <210> 17
 25 <211> 96
 <212> DNA
 <213> 人类

 <400> 17
 30 tacttctgtg ctctgagcgt tgctgggtgt actagctatg gaaagctgac atttgacaa 60
 gggaccatct tgactgtcca tccaaatc cagaac 96

 <210> 18
 <211> 33
 35 <212> PRT
 <213> 人类

 <400> 18
 Tyr Tyr Cys Leu Val Gly Asp Ala Val Arg Pro Gly Gly Gly Asn Lys
 40 1 5 10 15

 Leu Thr Phe Gly Thr Gly Thr Gln Leu Lys Val Glu Leu Asn Ile Gln

20

25

30

Asn

5 <210> 19
 <211> 99
 <212> DNA
 <213> 人类

10 <400> 19
 tactactgcc tcgtgggtga cgccgtgagg ccgggaggag gaaacaaact cacctttggg 60
 acaggcactc agctaaaagt ggaactcaat atccagaac 99

15 <210> 20
 <211> 33
 <212> PRT
 <213> 人类

20 <400> 20
 Tyr Tyr Cys Leu Val Gly Asp Ala Val Arg Pro Gly Gly Gly Asn Lys
 1 5 10 15

25 Leu Thr Phe Gly Thr Gly Thr Gln Leu Lys Val Glu Leu Asn Ile Gln
 20 25 30

Asn

30 <210> 21
 <211> 99
 <212> DNA
 <213> 人类

35 <400> 21
 tactactgcc tcgtgggtga cgccgtgagg ccgggaggag gaaacaaact cacctttggg 60
 acaggcactc agctaaaagt ggaactcaat atccagaac 99

40 <210> 22
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> 人类

<400> 22

Tyr Phe Cys Ala Thr Asp Ala Gly Gly Thr Tyr Lys Tyr Ile Phe Gly
1 5 10 15

5 Thr Gly Thr Arg Leu Lys Val Leu Ala Asn Ile Gln Asn
20 25

<210> 23

<211> 87

10 <212> DNA

<213> 人类

<400> 23

tacttctgtg ctacggacgc aggaggaacc tacaaatata tctttggaac aggcaccagg 60
15 ctgaaggttt tagcaaatat ccagaac 87

<210> 24

<211> 27

<212> PRT

20 <213> 人类

<400> 24

Tyr Tyr Cys Leu Val Gly Asp Ile Asp Asp Met Arg Phe Gly Ala Gly
25 1 5 10 15

Thr Arg Leu Thr Val Lys Pro Asn Ile Gln Asn
20 25

30 <210> 25

<211> 81

<212> DNA

<213> 人类

35 <400> 25

tactactgcc tcgtgggtga catcgatgac atgcgctttg gagcagggac cagactgaca 60
gtaaaaccaa atatccagaa c 81

<210> 26

40 <211> 28

<212> PRT

<213> 人类

<400> 26

Tyr Phe Cys Ala Thr Ser Val Asn Thr Asp Lys Leu Ile Phe Gly Thr

1 5 10 15

5

Gly Thr Arg Leu Gln Val Phe Pro Asn Ile Gln Asn

20 25

<210> 27

10

<211> 84

<212> DNA

<213> 人类

<400> 27

15

tacttctgtg ctacatcggg taacaccgac aagctcatct ttgggactgg gaccagatta 60
caagctcttc caaatatcca gaac 84

<210> 28

20

<211> 35

<212> PRT

<213> 人类

<400> 28

25

Tyr Phe Cys Ala Ser Ser Gln Asp Arg Phe Trp Gly Gly Thr Val Asn

1 5 10 15

Thr Glu Ala Phe Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Thr Val Val Glu Asp

20 25 30

30

Leu Asn Lys

35

<210> 29

35

<211> 105

<212> DNA

<213> 人类

<400> 29

40

tatttctgtg ccagcagcca agatcgtttt tgggggggga cgggtaaacac tgaagctttc 60
tttgacaag gcaccagact cacagttgta gaggacctga acaag 105

ggcaccaggc tcacggtcac agaggacctg aaaaac

96

<210> 34

<211> 32

5 <212> PRT

<213> 人类

<400> 34

Tyr Phe Cys Ala Ser Ser Leu Gly Arg Ala Gly Leu Thr Tyr Glu Gln

10 1 5 10 15

Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr Glu Asp Leu Lys Asn

20 25 30

15 <210> 35

<211> 96

<212> DNA

<213> 人类

20 <400> 35

tacttctgtg ccagcagcct agggcgggcg ggactcacct acgagcagta cttcgggccg 60
ggcaccaggc tcacggtcac agaggacctg aaaaac 96

<210> 36

25 <211> 31

<212> PRT

<213> 人类

30 <400> 36

Phe Cys Ala Ser Ser Leu Gly Arg Ala Gly Leu Thr Tyr Glu Gln Tyr

1 5 10 15

Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr Glu Asp Leu Lys Asn

35 20 25 30

<210> 37

<211> 96

<212> DNA

40 <213> 人类

<400> 37

tacttctgtg ccagcagcct agggcgggcg ggactcacct acgagcagta cttcgggccc 60
ggcaccaggc tcacggtcac agaggacctg aaaaac 96

<210> 38
<211> 32
<212> PRT
<213> 人类

5

<400> 38
Tyr Phe Cys Ala Ser Ser Leu Gly Arg Ala Gly Leu Thr Tyr Glu Gln
1 5 10 15

10

Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr Glu Asp Leu Lys Asn
20 25 30

15

<210> 39
<211> 96
<212> DNA
<213> 人类

20

<400> 39
tacttctgtg ccagcagcct agggcgggcg ggactcacct acgagcagta cttcgggccc 60
ggcaccaggc tcacggtcac agaggacctg aaaaac 96

25

<210> 40
<211> 29
<212> PRT
<213> 人类

30

<400> 40
Tyr Phe Cys Ala Ser Ser Pro Thr Val Asn Tyr Gly Tyr Thr Phe Gly
1 5 10 15

35

Ser Gly Thr Arg Leu Thr Val Val Glu Asp Leu Asn Lys
20 25

<210> 41
<211> 87
<212> DNA
<213> 人类

40

<400> 41
 tatttctgtg ccagcagccc gacagttaac tatggctaca ccttcggttc ggggaccagg 60
 ttaaccgttg tagaggacct gaacaag 87
 5
 <210> 42
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> 人类
 10
 <400> 42
 Tyr Phe Cys Ala Ser Ser Tyr Ser Ile Arg Gly Gln Gly Asn Glu Gln
 1 5 10 15
 15 Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr Glu Asp Leu Lys Asn
 20 25 30
 <210> 43
 <211> 96
 20 <212> DNA
 <213> 人类
 <400> 43
 tacttctgtg ccagcagtta ctcgattagg ggacagggta acgagcagta cttcgggccg 60
 25 ggcaccaggc tcacggtcac agaggacctg aaaaac 96
 <210> 44
 <211> 32
 <212> PRT
 30 <213> 人类
 <400> 44
 Tyr Phe Cys Ala Ser Ser Tyr Ser Ile Arg Gly Gln Gly Asn Glu Gln
 1 5 10 15
 35 Tyr Phe Arg Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr Glu Asp Leu Lys Asn
 20 25 30
 <210> 45
 <211> 96
 40 <212> DNA
 <213> 人类

<400> 45
tacttctgtg ccagcagtta ctcgattagg ggacaggta acgagcagta cttccggccg 60
ggcaccaggc tcacggtcac agaggacctg aaaaac 96

5 <210> 46
<211> 29
<212> PRT
<213> 人类

10 <400> 46
Tyr Leu Cys Ala Ser Ser Gln Asp Arg Val Ala Pro Gln Tyr Phe Gly
1 5 10 15
Pro Gly Thr Arg Leu Leu Val Leu Glu Asp Leu Lys Asn
15 20 25

<210> 47
<211> 87
<212> DNA
20 <213> 人类

<400> 47
tatctctgtg ccagcagcca agatcgggtt gcgccacagt acttcgggcc aggcacgcg 60
ctcctggtgc tcgaggacct gaaaaac 87

25 <210> 48
<211> 31
<212> PRT
<213> 人类

30 <400> 48
Tyr Leu Cys Ala Ser Ser Thr Arg Gln Gly Pro Gln Glu Thr Gln Tyr
1 5 10 15
Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Leu Val Leu Glu Asp Leu Lys Asn
35 20 25 30

<210> 49
<211> 93
40 <212> DNA
<213> 人类

<400> 49
 tatctctgtg ccagtagtac ccggcaagga cctcaagaga ccagtagtactt cgggccaggc 60
 acgcggctcc tggtgctcga ggacctgaaa aac 93

5

<210> 50
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 人类

10

<400> 50
 Tyr Leu Cys Ala Ser Ser Leu Gly Gln Gly Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe
 1 5 10 15
 Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr Glu Asp Leu Lys Asn
 20 25 30

15

<210> 51
 <211> 90
 <212> DNA
 <213> 人类

20

<400> 51
 tatctctgtg ccagcagctt aggacagggg gcttacgagc agtacttcgg gccgggcacc 60
 25 aggctcacgg tcacagagga cctgaaaaac 90

25

<210> 52
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 人类

30

<400> 52
 Tyr Leu Cys Ala Ser Ser Leu Gly Gln Gly Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe
 1 5 10 15
 Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr Glu Asp Leu Lys Asn
 20 25 30

35

<210> 53
 <211> 90
 <212> DNA
 <213> 人类

40

<400> 53

tatctctgtg ccagcagctt aggacagggg gcttacgagc agtacttcgg gccgggcacc 60
aggctcacgg tcacagagga cctgaaaaac 90

5

<210> 54

<211> 30

10

<212> PRT

<213> 人类

<400> 54

Tyr Leu Cys Ala Ser Ser Leu Gly Gln Gly Ala Tyr Glu Gln Tyr Phe

15

1 5 10 15

Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr Glu Asp Leu Lys Asn

20 25 30

20

<210> 55

<211> 90

<212> DNA

<213> 人类

25

<400> 55

tatctctgtg ccagcagctt aggacagggg gcttacgagc agtacttcgg gccgggcacc 60
aggctcacgg tcacagagga cctgaaaaac 90

30

<210> 56

<211> 29

<212> PRT

<213> 人类

<400> 56

35

Tyr Phe Cys Ala Ser Ser Leu Gln Val Tyr Ser Pro Leu His Phe Gly

1 5 10 15

Asn Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr Glu Asp Leu Asn Lys

20 25

40

<210> 57

<211> 87

<212> DNA
<213> 人类

<400> 57

5 tacttctgtg ccagcagttt acaagtgtat tcaccctcc actttgggaa cgggaccagg 60
ctcactgtga cagaggacct gaacaag 87

<210> 58

<211> 31

10 <212> PRT

<213> 人类

<400> 58

15 Tyr Phe Cys Ala Ile Ser Glu Ser Ile Gly Thr Gly Thr Glu Ala Phe
1 5 10 15

Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Thr Val Val Glu Asp Leu Asn Lys
20 25 30

20

<210> 59

<211> 93

<212> DNA

<213> 人类

25

<400> 59

tacttctgtg ccatcagtga gtcgattggt acgggaactg aagctttctt tggacaaggc 60
accagactca cagttgtaga ggacctgaac aag 93

30

<210> 60

<211> 31

<212> PRT

<213> 人类

35

<400> 60

Tyr Phe Cys Ala Ile Ser Glu Ser Ile Gly Thr Gly Thr Glu Ala Phe
1 5 10 15

40

Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Thr Val Val Glu Asp Leu Asn Lys
20 25 30

<210> 61
<211> 93
<212> DNA
<213> 人类

5

<400> 61
tacttctgtg ccatcagtga gtcgattggt acgggaactg aagctttctt tggacaaggc 60
accagactca cagttgtaga ggacctgaac aag 93

10

<210> 62
<211> 28
<212> PRT
<213> 人类

15

<400> 62
Tyr Leu Cys Ala Ser Arg Asp Arg Ser Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro
1 5 10 15

20

Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr Glu Asp Leu Lys Asn
20 25

25

<210> 63
<211> 84
<212> DNA
<213> 人类

30

<400> 63
tacctctgtg ccagccggga caggtcctac gagcagtact tcgggccggg caccaggctc 60
acggtcacag aggacctgaa aaac 84

35

<210> 64
<211> 31
<212> PRT
<213> 人类

40

<400> 64
Tyr Phe Cys Ala Ile Ser Glu Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ile Tyr
1 5 10 15

Phe Gly Glu Gly Ser Trp Leu Thr Val Val Glu Asp Leu Asn Lys

20

25

30

<210> 65

<211> 93

5 <212> DNA

<213> 人类

<400> 65

10 tacttctgtg ccatcagtga ggggtccagc tctggaaaca ccatatattt tggagaggga 60
agttggctca ctgtttaga ggacctgaac aag 93

<210> 66

<211> 26

15 <212> PRT

<213> 人类

<400> 66

20 Phe Tyr Ile Cys Ser Ala Ile Asp Gly Tyr Thr Phe Gly Ser Gly Thr
1 5 10 15

Arg Leu Thr Val Val Glu Asp Leu Asn Lys

20 25

<210> 67

<211> 78

25 <212> DNA

<213> 人类

<400> 67

30 ttctacatct gcagtgtat agacggctac accttcggtt cggggaccag gttaaccgtt 60
gtagaggacc tgaacaag 78

<210> 68

<211> 21

35 <212> DNA

<213> 人类

<400> 68

agcagccaag atcgtttttg g 21

40 <210> 69

<211> 24

<212> DNA

	<213> 人类	
	<400> 69	
5	ctagggcggg cgggactcac ctac	24
	<210> 70	
	<211> 24	
	<212> DNA	
10	<213> 人类	
	<400> 70	
	ctagggcggg cgggactcac ctac	24
15	<210> 71	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> 人类	
20	<400> 71	
	tactcgatta ggggacaggg taac	24
25	<210> 72	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人类	
30	<400> 72	
	caagatcggg ttgcgcca	18
35	<210> 73	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> 人类	
	<400> 73	
	acccggcaag gacctcaaga gacc	24
40	<210> 74	
	<211> 18	
	<212> DNA	

	<213> 人类	
	<400> 74	
5	agcttaggac agggggct	18
	<210> 75	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人类	
10		
	<400> 75	
	gccagccggg acaggtcc	18
	<210> 76	
15	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 人类	
	<400> 76	
20	gagtagattg gtacggga	18
	<210> 77	
	<211> 21	
	<212> DNA	
25	<213> 人类	
	<400> 77	
	tacatctgaa gtgctataga c	21

说明书附图

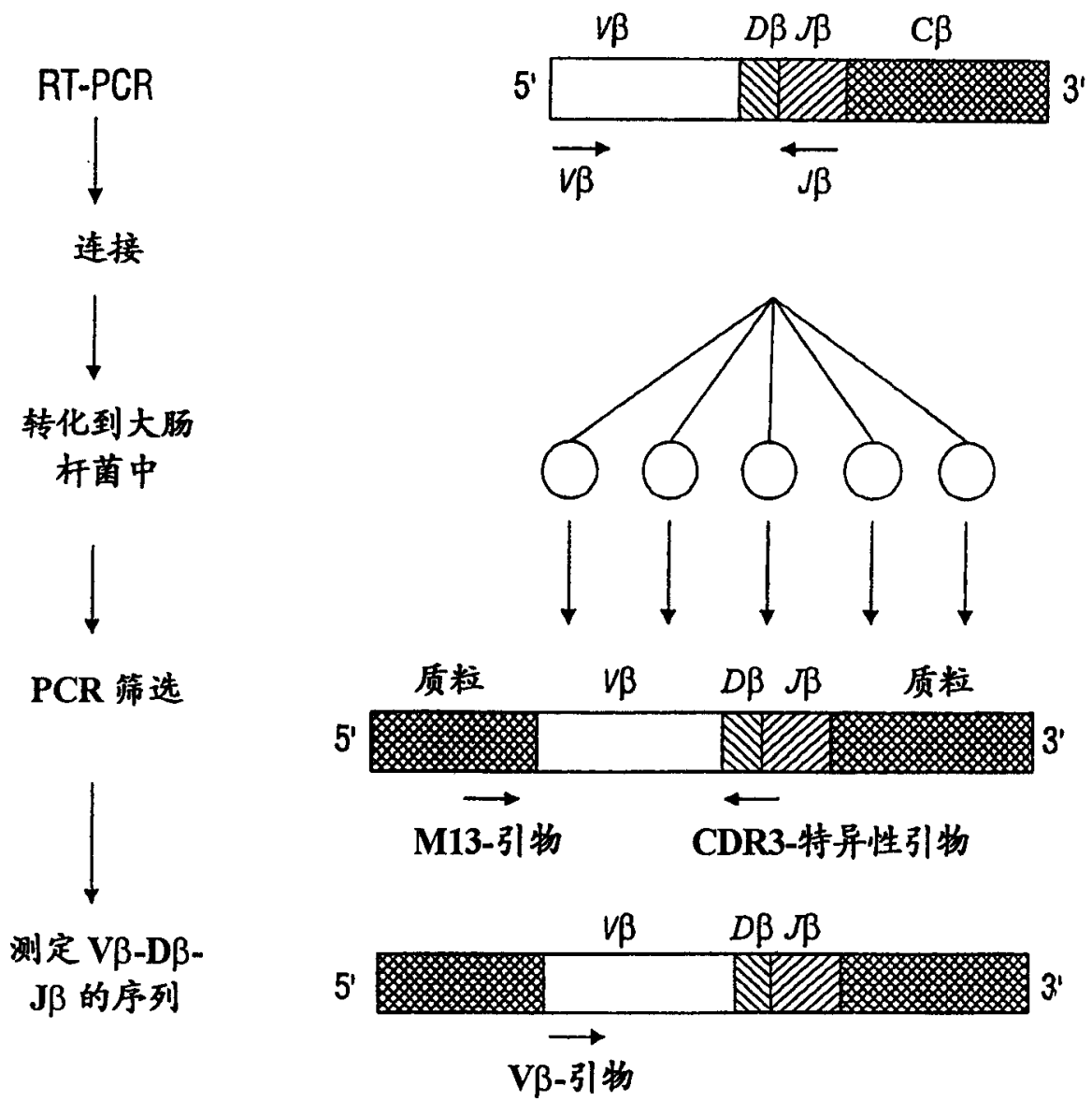


图 1

T 细胞的反应性 (CPM±SD)

丙氨酸取代的肽	MS1-E2.6	MS1-C3.1	MS1-E3.1
83-ENPVVHFFKNIIVTPRTP-99	74,189 ± 6,224	28,966 ± 1,100	31,236 ± 3,099
A-----	59,328 ± 2,583	42,446 ± 676	38,880 ± 1,483
-A-----	68,881 ± 3,155	33,165 ± 1,883	31,243 ± 1,036
--A-----	64,901 ± 377	27,019 ± 3,085	24,487 ± 731
---A-----	65,519 ± 588	21,340 ± 1,288	34,289 ± 357
----A-----	65,205 ± 241	35,032 ± 5,649	34,080 ± 2,274
-----A-----	74,224 ± 526	16,199 ± 412	35,242 ± 300
-----A-----	67,916 ± 1,979	34,437 ± 88	16,853 ± 690
-----A-----	2,504 ± 519	907 ± 10	334 ± 38
-----A-----	51,052 ± 4,329	26,400 ± 3,969	12,577 ± 610
-----A-----	1,787 ± 120	3,364 ± 275	1,658 ± 78
-----A-----	69,699 ± 3,649	7,649 ± 337	16,598 ± 440
-----A-----	1,710 ± 34	35,340 ± 476	42,982 ± 1,605
-----A-----	48,169 ± 1,418	32,109 ± 570	21,977 ± 1,354
-----A-----	70,946 ± 1,326	23,662 ± 529	10,237 ± 22
-----A-----	2,389 ± 473	21,401 ± 432	2,424 ± 126
-----A-----	1,859 ± 110	32,035 ± 257	36,930 ± 623
-----A-----	1,569 ± 32	31,506 ± 351	34,389 ± 457
-----A-----	1,763 ± 132	999 ± 57	715 ± 53
仅培养基			

图 2

对应于以下的 Vβ-Dβ-Jβ-特异性引物

T 细胞克隆	MS1- E3.1	MS1- E2.6	MS2- C3.1	MS3- F5.12	MS4- D9.3	MS4- B9.1	MS4- C.26	MS5- D2.7	MS6- D8.1	MS6- D1.2	MS2- D4.4	MS3- B9.8	MS5- D1.3	MS8- C7.2
MS1-E3.1	阳性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性
MS1-E2.6	阳性	阳性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性
MS2-C3.1	阴性	阴性	阳性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性
MS2-C3.1	阴性	阴性	阴性	阳性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性
MS4-D9.3	阴性	阴性	阴性	阴性	阳性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性
MS4-B9.1	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阳性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性
MS8-C.26	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阳性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性
MS5-D2.7	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阳性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性
MS5-D8.1	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阳性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性
MS6-D8.1	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阳性	阴性	阴性	阴性	阴性
MS2-D4.4	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阳性	阴性	阴性	阴性
MS3-B9.8	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阳性	阴性	阴性
MS5-D1.3	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阳性	阴性
MS8-C7.2	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阳性

阳性
阴性
未测试

图 3

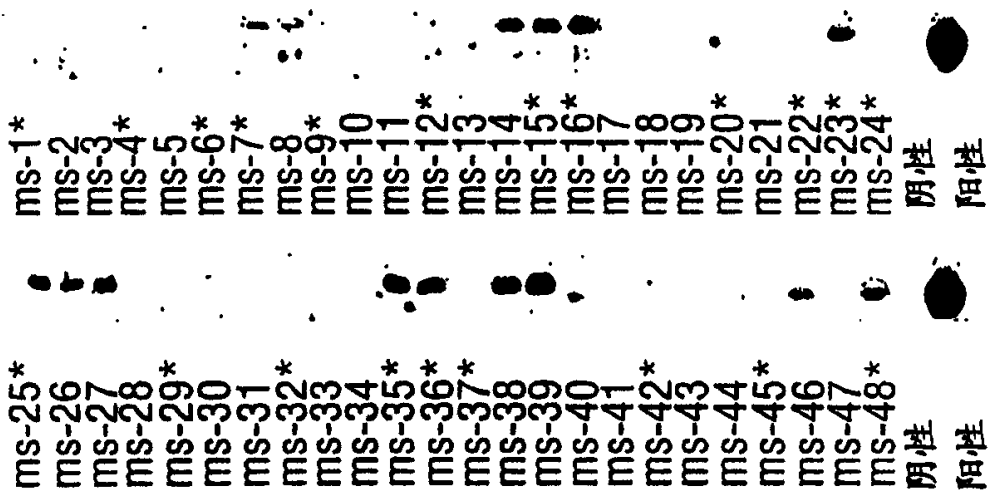


图 4

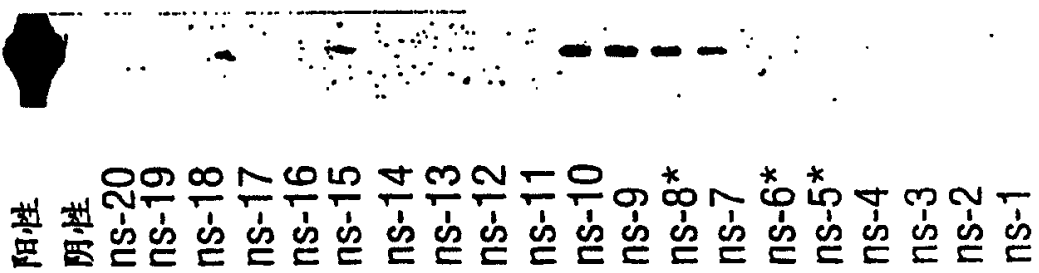


图 5

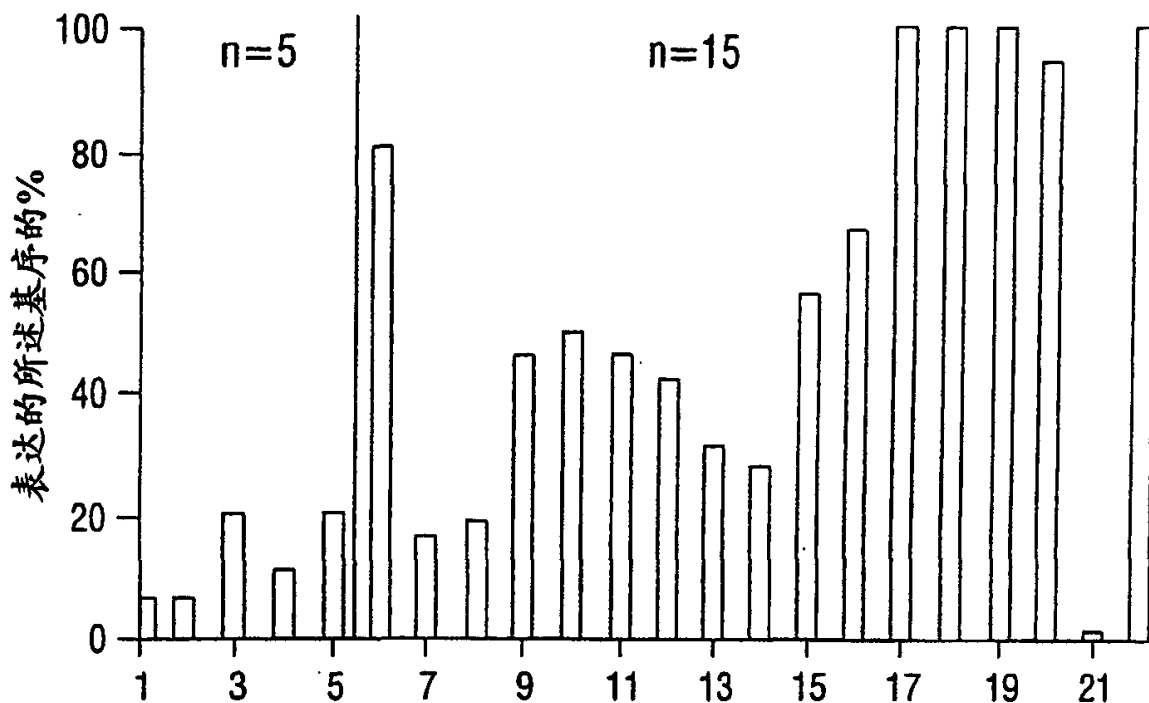


图 6

来自正常个体的样品和来自 MS 患者的样品

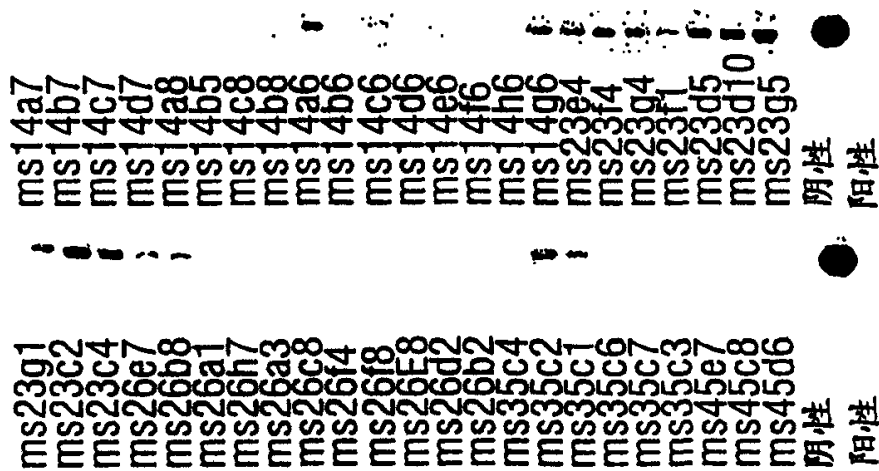


图 7

专利名称(译)	T细胞受体的Vβ - Dβ - Jβ序列及其检测方法		
公开(公告)号	CN1355852A	公开(公告)日	2002-06-26
申请号	CN00806558.6	申请日	2000-02-22
[标]申请(专利权)人(译)	贝勒医学院		
申请(专利权)人(译)	贝勒医学院		
当前申请(专利权)人(译)	贝勒医学院		
[标]发明人	JZ张		
发明人	J·Z·张		
IPC分类号	G01N33/53 A61K38/00 A61K38/08 A61P1/04 A61P3/10 A61P5/14 A61P9/10 A61P19/02 A61P21/00 A61P21/04 A61P25/00 A61P29/00 A61P37/00 A61P37/06 C07H21/02 C07H21/04 C12N15/00 C12N15/09 C12Q1/68 C12Q1/6883 G01N33/566 G01N33/58 A01N37/18		
CPC分类号	C12Q2600/158 C12Q1/6883 A61P1/04 A61P19/02 A61P21/00 A61P21/04 A61P25/00 A61P27/02 A61P29/00		
代理人(译)	姜建成		
优先权	60/121311 1999-02-23 US		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

在一个实施方案中,本发明涉及第一寡核苷酸,所述第一寡核苷酸包括序列 5' - CTAGGGCGGGCGGGACTCACCTAC - 3'或衍生自它的序列或与其互补的核酸序列。可以将所述第一寡核苷酸与长度在15至30个核苷酸之间、不包含该第一寡核苷酸序列、且在Vβ13.1T细胞的Vβ13.1基因的Vβ至Jβ区域中发现的核酸一起使用,来扩增该Vβ13.1基因的一部分,其中,该寡核苷酸序列和所述核酸序列不存在于Vβ13.1基因对的同一条链上。用另一种方法,可以将所述第一寡核苷酸与一种标记部分一起用于检测发现于Vβ13.1T细胞的T细胞受体中的LGRAGLTY基序的方法中。这种基序与自身免疫病有关,所述自身免疫病例如多发性硬化(MS)。一旦检测出该基序,就可以治疗该自身免疫病或监测其发展。通过给予包含LGRAGLTY基序的肽,可以治疗所述的自身免疫病。

